

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Química

João Vitor de Assis

***SÍNTESE DE DERIVADOS DA ISONIAZIDA, POTENCIAIS AGENTES
ANTIMICROBIANOS
E
ESTUDO VISANDO A SÍNTESE DA ALLOENDURACIDINA VIA REAÇÕES DE
AZIRIDINAÇÃO INTRAMOLECULAR***

JUIZ DE FORA

2013

João Vitor de Assis

***SÍNTESE DE DERIVADOS DA ISONIAZIDA, POTENCIAIS AGENTES
ANTIMICROBIANOS
E
ESTUDO VISANDO A SÍNTESE DA ALLOENDURACIDIDINA VIA REAÇÕES DE
AZIRIDINAÇÃO INTRAMOLECULAR***

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.

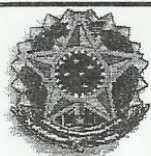
Orientador: Dr. Mauro Vieira de Almeida

Co-Orientador: Dr. Sérgio Antônio Fernandes

Co-Orientador Estrangeiro: Dr. Robert H. Dodd

JUIZ DE FORA

2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

UFJF
Pós-Graduação
em Química

A presente tese, intitulada “**Síntese de derivados da isoniazida, potenciais agentes antimicrobianos e estudo visando a síntese da alloenduracididina via reações de aziridinação intramolecular**”, de autoria de **João Vitor de Assis**, submetida à Comissão Examinadora abaixo assinada, foi aprovada para obtenção do grau de **DOUTOR EM QUÍMICA** em 25 de julho de 2013.

Juiz de Fora, 25 de julho de 2013.

Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Robert Hugh Dodd
Institut de Chimie des Substances Naturelles

Prof. Dr. Adilson David da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Marcus Vinicius Nora de Souza
Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Laurent Frederic Gil
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Ricardo José Alves
Universidade Federal de Minas Gerais

*Dedico esse trabalho à minha família,
meus pais, João e Dita
e minha irmã Mariângela
pelo carinho e presença constante sem os quais
não seria possível a concretização deste sonho.*

À vocês minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

...a Deus, fonte da vida e inspiração maior,

...ao Prof. Mauro pela orientação, competência,

amizade e pelo constante estímulo no desenvolvimento de

minha carreira científica,

...ao Dr Robert por me acolher em seu laboratório e me proporcionar uma das

maiores experiências da minha vida que foi morar em outro país,

...aos Drs Kevin Cariou e Josiane Thierry pelas valorosas discussões e sugestões

durante a realização do trabalho no ICSN,

...aos Drs Pascal Retailleau e Renata Diniz pelas difrações de raios X dos

cristais obtidos nesse trabalho,

...aos amigos da equipe 46 e as demais pessoas que eu tive a oportunidade de

conhecer durante o período de estágio no ICSN Sophie (ma colloc de labo),

Fernanda, Coco, Diego, Alex, Stephanie, Simon, Kalanidhi, Ronan, Rosa, Amanda,

Susana, Meryem, Marie, Franck,

...ao Dr. Sérgio da UFV e seus alunos que me acolheram em seu laboratório durante

minha estadia em Viçosa,

...aos pesquisadores Andre Báfica (UFSC) e Maria Cristina S. Lourenço (FIOCRUZ),

pela realização dos ensaios biológicos,

...aos meus amigos de laboratório Taís, Joana, Fernanda, Celso, Guto, André, Gisele, Lucas, Mariana, Sílvia, Maurício, Aline, Simone, Elaine, Débora, Cristiane, Patrícia,

...aos demais amigos do Nupeq Gustavo, Arturene, Rafael, Luciano, Juliana, Roberta, Camila, Willian, Bianca, Fábio, Balbino, Lígia, Angelina, Eloah, Marcus, Tatiana, Lippy, Elgte, Luciano, Vitor, Betinho, Diego, Vanessa, Harlem entre outros que passaram pela UFJF.

...a todos os professores do Departamento de Química que contribuíram de forma direta para a minha formação acadêmica, em especial, aos profs. Drs., Mireille, Mara, Giovanni, Fernanda, Aloísio e Adilson.

...às secretarias do Departamento de Química, Alice e Simone pela atenção, paciência e ajuda sempre que foram requisitadas,

...aos meus amigos Evandro (Cabeção), Rafael, Rulian, Léo, Tiago, Márcio (primo), Ricardo, Rosana e tanto outros que passaram ao longo desses anos,

...aos amigos Déa, Beto, Juninho, Vanda, Bárbara, Ro, Acarília, Josy, Monise, Raissa, Fábio, Ana, Felipe, Hind, Juliana, Kaline, Karen e tantos outros com quem pude compartilhar passeios e viagens durante minha estadia na França,

...CAPES, FAPEMIG, ICSN-CNRS e CNPq pelo apoio financeiro.

Resumo

"Síntese de derivados da isoniazida, potenciais agentes antimicrobianos e estudo visando a síntese da Alloenduracididina via reações de aziridinação intramolecular"

Doutorando: *João Vitor de Assis*

Orientador: *Dr. Mauro Vieira de Almeida*

Co-orientador: *Dr. Sérgio Antônio Fernandes*

Co-orientador estrangeiro: *Dr. estrangeiro: Robert H. Dodd*

Palavras-chave: *tuberculose, isoniazida, química supramolecular, alloenduracididina, aziridinação.*

A tuberculose (TB) ocupa um lugar de destaque entre as doenças negligenciadas, principalmente devido ao grande número de mortes que essa doença ocasiona em todo o mundo. A isoniazida (INH) é um dos fármacos mais antigos utilizados no tratamento da TB e continua sendo uma das mais eficientes. No entanto, em razão dos seus efeitos colaterais e o surgimento de cepas resistentes a esse e a outros fármacos, faz-se necessária à busca por novas substâncias ativas contra essa doença.

O primeiro capítulo deste trabalho descreve a síntese de candidatos a novos agentes antituberculose, a partir da condensação de derivados da D-galactose ou da curcumina com a isoniazida. Alguns compostos sintetizados foram avaliadas *in vitro* contra o *Mycobacterium tuberculosis*. Os resultados mostraram que o análogo derivado do citral apresentou atividade semelhante à INH, e através do seu encapsulamento em nanopartículas de PLGA (ácido poli-lático-co-glicólico) a sua atividade foi superior. Nesse trabalho foi realizado, ainda, o encapsulamento da isoniazida com a Hp- β -ciclodextrina, Me- β -ciclodextrina, ácido *p*-sulfônico calixar[4]eno (SO₃CX4) e o ácido *p*-sulfônico calixar[6]eno (SO₃CX6). Os sistemas supramoleculares, assim obtidos, foram estudados principalmente por RMN de ¹H e a atividade antituberculose desses complexos (MIC=1,6 a 2,6 μ mol/L) foram semelhantes à isoniazida (MIC=1,5 μ mol/L).

O segundo capítulo descreve os resultados obtidos na tentativa de preparação do aminoácido alloenduracididina. A guanidina cíclica foi obtida pela reação de uma isotiourea com a 4,5-diamina preparada a partir de uma aziridina. Essa aziridina foi obtida por uma reação de aziridinação intramolecular do sulfamato do (2*R*)-2-(*terc*-butoxicarbonil)-aminopent-4-eno catalisada por ródio em presença de iodosilbenzeno.

Abstract

“Synthesis of isoniazid derivatives, potential antimicrobial agents and studies on the synthesis of the Alloenduracididine *via* intramolecular aziridination”

Student: *João Vitor de Assis*

Advisor: *Dr. Mauro Vieira de Almeida*

Co-advisor: *Dr. Sérgio Antônio Fernandes*

Co-advisor: *Dr. Robert H. Dodd*

Keywords: *tuberculosis, isoniazid, supramolecular chemistry, Alloenduracididine, aziridination.*

Tuberculosis occupies a prominent place among the neglected diseases, mainly due to the great number of deaths that it causes all around the world. Isoniazid (INH) is one of the oldest and most common drugs used in the treatment of tuberculosis. However, despite its excellent antimycobacterial activity, INH causes side effects related to its hepatic and neuronal toxicity and cases of isoniazid resistant strains of the bacillus have emerged worldwide.

The first chapter of this work describes the synthesis of potential new antitubercular compounds obtained from the condensation of D-galactose or curcumin derivatives with isoniazid. The synthesized compounds were evaluated *in vitro* against *Mycobacterium tuberculosis*. The results showed that the citral-derived isoniazid analogue has an activity similar to INH and when it was encapsulated using the system of PLGA nanoparticles (poly-lactic-co-glycolic acid) its activity was increased. INH was also encapsulated in Hp- β -cyclodextrin, Me- β -cyclodextrin, p-sulphonic acid calixar[4]ene (SO₃CX₄) and p-sulphonic acid calixar[6]ene (SO₃CX₆) and the supramolecular system thus obtained were studied using ¹H NMR as the major tool. The antitubercular activity (1.6 - 2.6 μ mol/L) of these complexes was similar to that of INH (1.5 μ mol/L).

The second chapter describes the results obtained in the preparation of the amino acid alloenduracididine using synthetic strategy analogous to that used for the preparation of enduracididine. The cyclic guanidine was obtained by the reaction of a isothiourea with 4,5-diamine prepared from an aziridine intermediate. The late one was obtained by a rhodium-catalyzed intramolecular aziridination of (2*R*)-2-(*tert*-

butoxycarbonyl)-aminopent-4-enyl sulfamate with iodosylbenzene. The application of the methodology developed in the course of the work to appropriate substrates will lead to the preparation of other amino acids containing the guanidinium group.

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

AIDS: Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA)

BK: Bacilo de Koch

Boc: terc-butoxicarbonil

Boc₂O: dicarbonato de di-terc-butila

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CCS: Cromatografia em Coluna de Sílica

COSY: Mapa de contornos ¹H x ¹H

CIM: Concentração Inibitória Mínima

DMF: *N,N*-dimetilformamida

DMA: *N,N*-dimetilacetamida

Et₃N: trietilamina

EMAR: *Espectrometria de Massas de Alta Resolução*

F. F: Faixa de Fusão

FM: Fórmula Molecular

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

IV: infravermelho

IC₅₀: Concentração inibitória mínima necessária para inibir 50% do crescimento

Lit.: Literatura

MO: Micro-ondas

MM: Massa Molar

mmol: milimol

Ms: mesila

°C: graus Celsius

Pi: piridina

Rend: rendimento

Rf: fator de retenção

RMN de ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN de ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

t.a.: temperatura ambiente

TB: Tuberculose

TBS: *tert*-butildimetilsilil

TBDPS: *tert*-butildifenilsilil

TMS: Tetrametilsilano

TFA: ácido trifluoracético

THF: tetraidrofurano

TMS: tetrametilsilano

v/v: volume por volume

v: número de onda

μ: Micro

Símbolos e abreviações usadas nas atribuições dos espectros de RMN

δ: deslocamento químico

m: multiplete

d: duplete

ppm: partes por milhão

dd: duplete duplo

s: simpleto

ddt: duplo duplo triplete

sl: simpleto largo

Hz: hertz

t: triplete

J: constante de acoplamento

Artigos publicados durante o período de iniciação científica, mestrado e doutorado

1. De Assis, J. V.; Couri, M. R. C.; Porto, R. S.; De Almeida, W. B.; Dos Santos, L. H. R.; Diniz, R.; De Almeida, M. V. J. Synthesis of Mercaptobenzothiazole and Mercaptobenzimidazole Condensed with Inositol Derivatives. *J. Heterocyclic Chem.* **2013**, *50*, 142.
2. De Faria, T. J. Roman, M.; De Souza, N. M.; De Vecchi, R.; De Assis, J. V.; Dos Santos, A. L. G.; Bechtold, I. H.; Winter, N.; Soares, M. J.; Silva, L. P.; De Almeida, M. V.; Báfica, A. An isoniazid analogue promotes nanoparticle-Myco bacterium tuberculosis interactions and enhances bacterial killing by macrophages. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **2012**, *56*, 2259.
3. De Assis, J. V.; Teixeira, M. G.; Soares, C. G. P.; Lopes, J. F.; Carvalho, G. S. L.; Lourenço, M. C. S.; De Almeida, M. V.; De Almeida, W. B.; Fernandes, S. A. Experimental and theoretical NMR determination of isoniazid and sodium p-sulfonatocalix[n]arenes inclusion complexes. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012**, *47*, 539.
4. De Almeida, M. V.; Couri, M. R. C.; De Assis, J. V.; Anconi, C. P. A.; Dos Santos, H. F.; De Almeida, W. B. ¹H NMR analysis of O-methyl-inositol isomers: a joint experimental and theoretical study. *Magn. Reson. Chem.* **2012**, *50*, 608.
5. De Almeida, M. V.; De Assis, J. V.; Couri, M. R. C.; Anconi, C. P. A.; Guerreiro, M. C.; Dos Santos, H. F.; De Almeida, W. B. Experimental and Theoretical Investigation of Epoxide Quebrachitol Derivatives Through Spectroscopic Analysis *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5458.
6. Cardoso, S. H.; De Assis, J. V.; De Almeida, M. V.; Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R. C.; De Souza, M. V. N. Synthesis and antitubercular activity of isoniazid condensed with carbohydrate derivatives. *Quím. Nova.* **2009**, *32*, 1557.

7. Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; De Assis, J. V.; Diniz, R.; Speziali, N.; De Souza, M. V. N. Synthesis and characterization of hydroxyalkyl and oxazoliny ethionamide derivatives *J. Sulfur. Chem.* **2008**, 29, 145.

8. De Almeida, M. V.; Cardoso, S. H.; De Assis, J. V.; De Souza, M. V. N. Synthesis of 2-mercaptobenzothiazole and 2-mercaptobenzimidazole derivatives condensed with carbohydrates as a potential antimicrobial agents. *J. Sulfur. Chem.* **2007**, 28,17.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1.1. Introdução Geral.....	19
1.1.1. Transmissão.....	20
1.1.2. Tratamento.....	22
1.1.2.1. Fármacos de primeira escolha.....	22
1.1.2.2. Fármacos de segunda escolha.....	23
1.1.3. Estrutura da micobactéria.....	25
1.1.4. Isoniazida.....	26
1.1.5. Justificativa geral do Capítulo 1.....	29
Parte I.....	30
1.2. Síntese de derivados da isoniazida com a D-galactose.....	31
1.2.1. Objetivos e justificativas.....	31
1.2.2. Resultados e discussões.....	34
1.2.2.1. Plano de Síntese dos derivados de carboidrato.....	34
1.2.2.2. Síntese e caracterização da 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose 12	34
1.2.2.3. Síntese e caracterização da 6-desoxi-6-iodo-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose 13	36
1.2.2.4. Síntese e caracterização dos derivados da galactose 14a-c	38
1.2.2.4.1. Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-hexilamino-1',2':3',4'-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose 14c	38
1.2.2.5. Síntese e caracterização dos compostos poli-hidroxilados 15a-c	41
1.2.2.5.1. Caracterização do 6'-N-hexilamino-6'-desoxi-D-galactopiranosose 15c	42
1.2.2.6. Síntese e caracterização das misturas anoméricas 1-[6'-desoxi-6'-N-(dodecilamino)-1'-D-galactopiranosil]-2-isonicotinoil-hidrazina 16a ($\alpha + \beta$) e 1-[6'-desoxi-6'-N-(octilamino)-1'-D-galactopiranosil]-2-isonicotinoil-hidrazina 16b ($\alpha + \beta$).....	44
Parte II.....	47
1.3. Estudo das interações intermoleculares entre derivados de calixarenos e	

ciclodextrinas com a isoniazida e avaliação antituberculose dos complexos de inclusão formados.....	48
1.3.1. Objetivos e justificativas.....	48
1.3.2. Resultados e discussões.....	50
1.3.2.1. Hospedeiros utilizados nos complexos de inclusão.....	50
1.3.2.2. Análise da variação dos deslocamentos químicos de RMN de ¹ H dos complexos 1/17 , 1/18 , 1/19 e 1/20	51
1.3.2.3. Determinação da estequiometria.....	56
1.3.2.4. Preparo dos complexos e das misturas físicas no estado sólido para realização das caracterizações e dos testes biológicos.....	61
1.3.2.4.1. Espectroscopia no Infravermelho.....	62
1.3.2.4.2. Estudo termoanalítico por análise de calorimetria de varredura (DSC).....	65
1.3.2.4.3. Determinação da estrutura do complexo por <i>NOE</i>	66
 Parte III.....	 71
1.4. Síntese de hidrazonas derivadas da isoniazida.....	72
1.4.1. Justificativas e objetivos.....	72
1.4.2. Resultados e discussões.....	74
1.4.2.1. Síntese de hidrazonas lipofílicas pela reação com aldeídos.....	74
1.4.2.1.1. Caracterização do 3,7-dimetil-2,6-octadienil-isonicotinoil-hidrazona 28	75
1.4.2.1.2. Caracterização do 3'-carboamida- <i>N</i> -dodecil-piridina 35	78
1.4.2.1.3. Caracterização do (<i>E</i>)- <i>N'</i> -3,7-dimetil-2,6-octadienoil-isonicotinoil-hidrazona 38	81
1.4.2.2. Síntese de hidrazonas aromáticas derivadas da curcumina.....	82
1.4.2.2.1. Procedimento para a síntese da dibenzalacetona 42a e de seus derivados substituídos 42b-e	82
1.4.2.2.2. Caracterização da (1 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-1,5-difenil-penta-1-4-dien-3-ona 42e	83
1.4.2.3. Procedimento para a síntese das hidrazonas 43a-e	85
1.4.2.3.1. Caracterização da (1 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-1,5-(ditienil-2'il)-1,4-dien-3-ona-2-isonicotinoil-hidrazona 43e	86

Parte IV.....	87
1.5. Atividade biológica.....	89
1.6. Conclusões.....	93
1.7. Parte experimental.....	94
1.8. Referências bibliográficas.....	119

CAPÍTULO 2

2.1. Introdução.....	132
2.1.1. Enduracididina.....	132
2.1.2. β -Hidroxienduracididina e enduracididina: vias de acesso descritas na literatura.....	134
2.1.2.1. Síntese da β -Hidroxienduracididina.....	134
2.1.2.2. Síntese da enduracididina.....	136
2.1.3. Aplicação da reação de aziridinação por transferência de nitrenos.....	137
2.1.3.1. Aziridinação de olefinas por adição de nitrenos.....	138
2.1.4. Reações de abertura de aziridinas.....	142
2.2. Objetivos e Justificativas.....	144
2.3. Resultados e discussão.....	146
2.3.1. Síntese da (R)-alilglicina por transferência de fase.....	146
2.3.2. Aplicação das condições de aziridinação	158
2.3.3. Abertura da aziridina.....	167
2.3.4. Abertura do sulfamato cíclico.....	173
2.3.5. Obtenção da guanidina.....	178
2.3.6. Ciclização da guanidina.....	180
2.3.7. Etapas finais.....	185
2.4. Conclusões e perspectivas.....	190
2.5. Parte experimental.....	192
2.6. Referências bibliográficas.....	215

CAPÍTULO 1

***SÍNTESE DE DERIVADOS DA ISONIAZIDA, POTENCIAIS AGENTES
ANTIMICROBIANOS***

1.1. Introdução Geral

Como esse trabalho envolve a preparação de substâncias com potencial atividade antibacteriana, focando principalmente em tuberculose, será feito aqui um breve resumo sobre essa doença.

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada por uma bactéria que afeta principalmente os pulmões, em função de se reproduzir e desenvolver rapidamente em áreas com maior disponibilidade de oxigênio. Os principais sintomas são: tosse (em geral que persiste por mais de 15 dias), febre, suor noturno, dor no tórax, anorexia (falta de apetite) e adinamia (indisposição) (ROZMAN, 1995).

Acredita-se que esta doença já era conhecida no antigo Egito, uma vez que foram encontradas lesões em múmias contendo a mesma (DE SOUZA, 2005). No entanto, somente em 24 de março de 1882 foi descoberto o micro-organismo responsável pela TB, o *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 1.1), isolado pelo cientista alemão Robert Koch, que posteriormente viria a ser batizado de bacilo de Koch (BK) em sua homenagem. A partir de então, a data passou a ser assinalada como dia mundial da tuberculose (CARDOSO, 2009; GUIMARÃES, 2010).

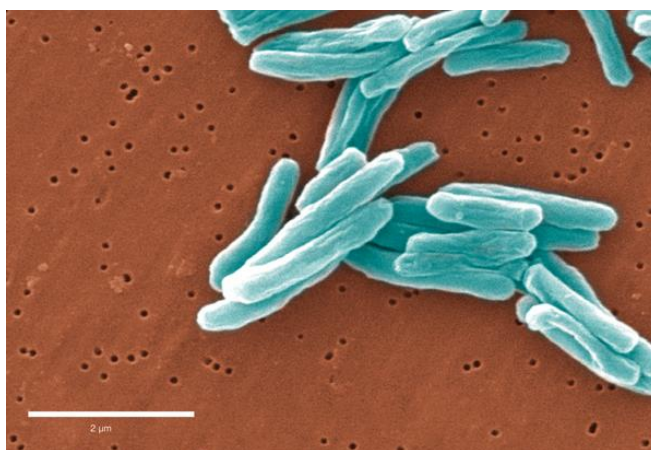


Figura 1.1. Foto do *Mycobacterium tuberculosis* (OSBORNE, 2013).

A TB está associada a uma doença do passado, que entre o final do século XIX e meados do XX provocou a morte de grandes poetas românticos como Castro Alves e Álvares de Azevedo, no Brasil e John Keats e Lord Byron, na Europa. Ela é vista como um mal debelado que, em determinado momento da história, obrigou centenas de pessoas a se exilar por anos em sanatórios ou em cidades de clima quente para se tratar (CORREA, 2009).

Mas, ao contrário do que possa parecer, a tuberculose não ficou para trás. Hoje perdeu seu romantismo e deixou de ser cantada em versos por literários tísicos (PORTO, 2007), e passou a ser um grande problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, onde as condições sanitárias costumam ser negligenciadas (BARRY, 2000), sendo hoje a maior causa de morte por doença infecciosa.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) houve a notificação de 5,8 milhões de novos casos de TB no ano de 2011 (Figura 1.2), onde 80% destes casos estão concentrados em apenas 22 países. No ano de 2012 o Brasil apresentou 70 mil novos casos de TB, ocupando a 17ª posição entre os países com maior incidência da TB no mundo (WHO, 2012; BRASIL, 2013).

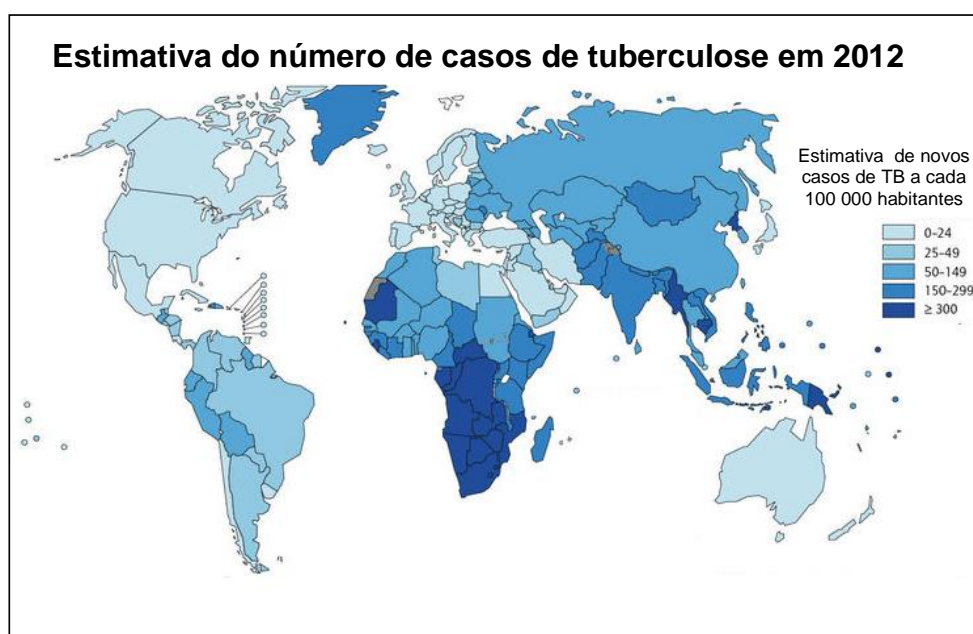


Figura 1.2. Estimativa da incidência de casos de tuberculose no mundo em 2012 (WHO, 2012).

1.1.1. Transmissão

A TB é disseminada basicamente pelo ar através da tosse, fala ou espirro de uma pessoa infectada que libera no ar milhões de bacilos que podem permanecer em suspensão por horas. Quando um indivíduo inala essas bactérias, muitas ficam no trato respiratório superior (garganta e nariz), onde a infecção é improvável de acontecer. Contudo, se os bacilos de Kock atingirem os alvéolos pulmonares a infecção pode iniciar. Em primeiro lugar, os bacilos se multiplicam nos alvéolos e um pequeno número entra na circulação sanguínea disseminando-se por todo corpo.

Os exames utilizados para o diagnóstico da TB são: a baciloscopia do escarro (exame mais utilizado no diagnóstico da tuberculose pulmonar), a radiologia do tórax (revela sombras características das lesões produzidas pela doença), o teste tuberculínico (que evidencia o contato prévio com o bacilo) e a cultura do escarro ou outros líquidos em meio apropriado.

A TB pode se manifestar no indivíduo quando o sistema imunológico não consegue se defender devido a grande quantidade de bacilos ou em situações de baixa imunidade, como acontece com pessoas que fazem uso prolongado de alguns remédios como a cortisona (FERNANDES, 2006). Quando a tuberculose compromete outros órgãos que não sejam os pulmões (tuberculose extra-pulmonar), os sintomas vão depender da localização da doença, sendo que nesses casos não há risco de contágio (FERNANDES, 2006; GANDOLFO, 2002).

Um grande fator que influenciou no aumento drástico do número de casos de tuberculose se deve a disseminação da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), aliado ao surgimento de linhagens de cepas multirresistentes (KLIMESOVA, 2002; BRANCO, 2012) aos medicamentos comumente utilizados, como a isoniazida, rifampicina, pirazinamida e o etambutol (drogas de primeira linha) (DE SOUZA, 2006; DE ALMEIDA, 2007).

A resistência adquirida pelas bactérias, na maioria dos casos, está relacionada com as modificações em sua estrutura (Figura 1.3), no sentido de bloquear as interações do fármaco com a enzima alvo, permitindo o desenvolvimento da bactéria mesmo na presença de altas concentrações do antibiótico.

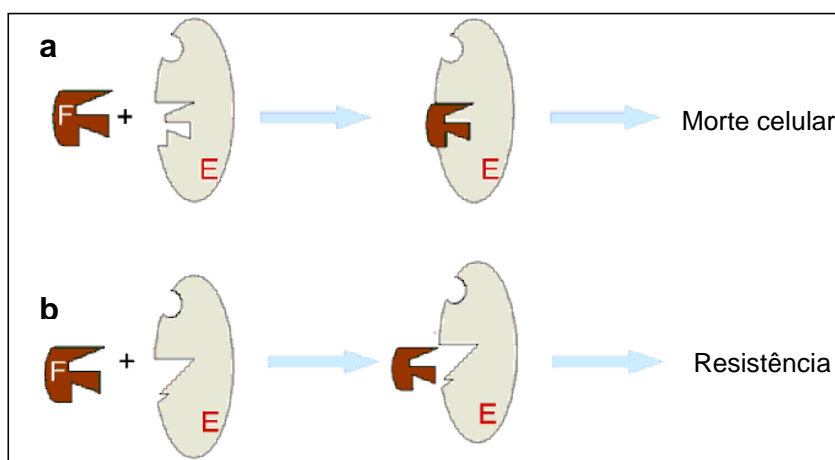


Figura 1.3. **a)** Fármaco (F) altera um determinado alvo (E), ocasionando a morte celular. **b)** Um alvo previamente modificado para evitar a ligação com o fármaco e proporcionar a resistência ao tratamento.

1.1.2. Tratamento

O tratamento empregado nos pacientes com tuberculose é restrito aos poucos fármacos que apresentam ação bacteriostática (inibe o crescimento da bactéria) e bactericida (causa a morte da bactéria) (Tabela 1.1) (DE ROSA, 2006).

Tabela 1.1. Fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose.

Fármacos	Forma de ação
Rifampicina	Bacteriostático e bactericida
Etambutol	Bacteriostático
Isoniazida	Bacteriostático e bactericida
Pirazinamida	Bactericida

Os fármacos utilizados contra a tuberculose podem ser divididos em duas categorias:

1.1.2.1. Fármacos de primeira escolha

Também conhecidos como fármacos de primeira linha, apresentam alto nível de eficácia e níveis toleráveis de toxicidade. Esse tratamento consiste na utilização dos medicamentos isoniazida (INH) (1), etambutol (2), pirazinamida (3) e rifampicina (4) (Figura 1.4). Bons resultados são conseguidos em um tratamento com duração de 6 meses, sob prescrição de isoniazida, rifampicina e pirazinamida durante os dois primeiros meses, em seguida, apenas isoniazida e rifampicina.

A administração dos fármacos isoniazida e rifampicina por nove meses também se mostra eficaz quando o *Mycobacterium tuberculosis* é susceptível. Apesar do tratamento da tuberculose ser eficaz e barato, custando entre US\$ 10 e 20 por um período de seis meses dependendo do país, a taxa de abandono ao tratamento é muito elevada. Isto se deve principalmente aos efeitos colaterais, como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira (DE SOUZA, 2005; CARDOSO, 2008).

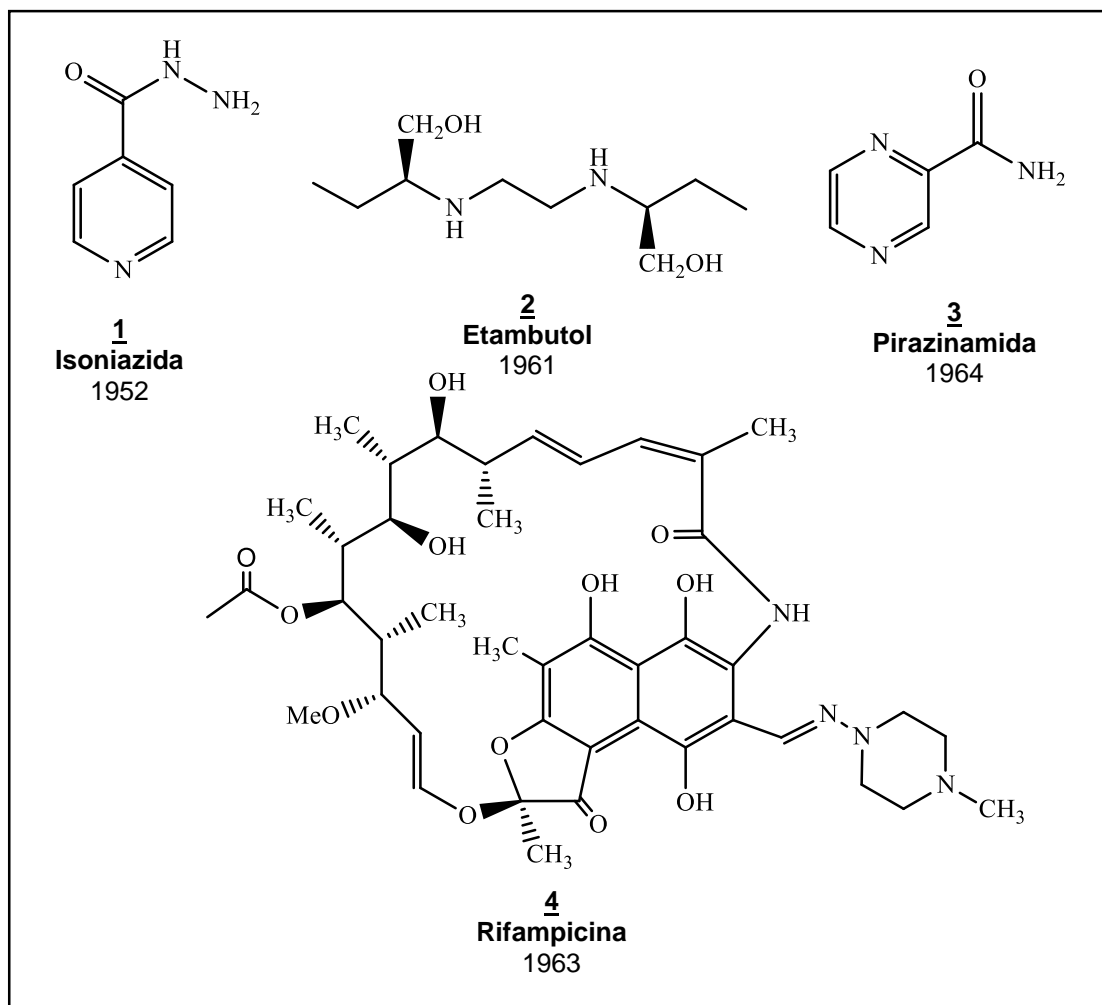


Figura 1.4. Fármacos de primeira escolha para tratamento da TB.

1.1.2.2. Fármacos de segunda escolha

Quando os fármacos utilizados no tratamento de “primeira escolha” se mostram ineficazes, devido ao surgimento de bactérias resistentes, utilizam-se os medicamentos canamicina (**5**), ácido *p*-aminosalicílico (**6**), cicloserina (**7**), terizidona (**8**), etionamida (**9**) e a tiacetazona (**10**) (Figura 1.5). No entanto, a utilização destes fármacos, de acordo com o quadro clínico do paciente, apresentam algumas desvantagens, como maiores efeitos colaterais, uma maior duração no tratamento (entre 18 e 24 meses) e um alto custo em relação aos medicamentos de “primeira escolha” (DE SOUZA, 2005).

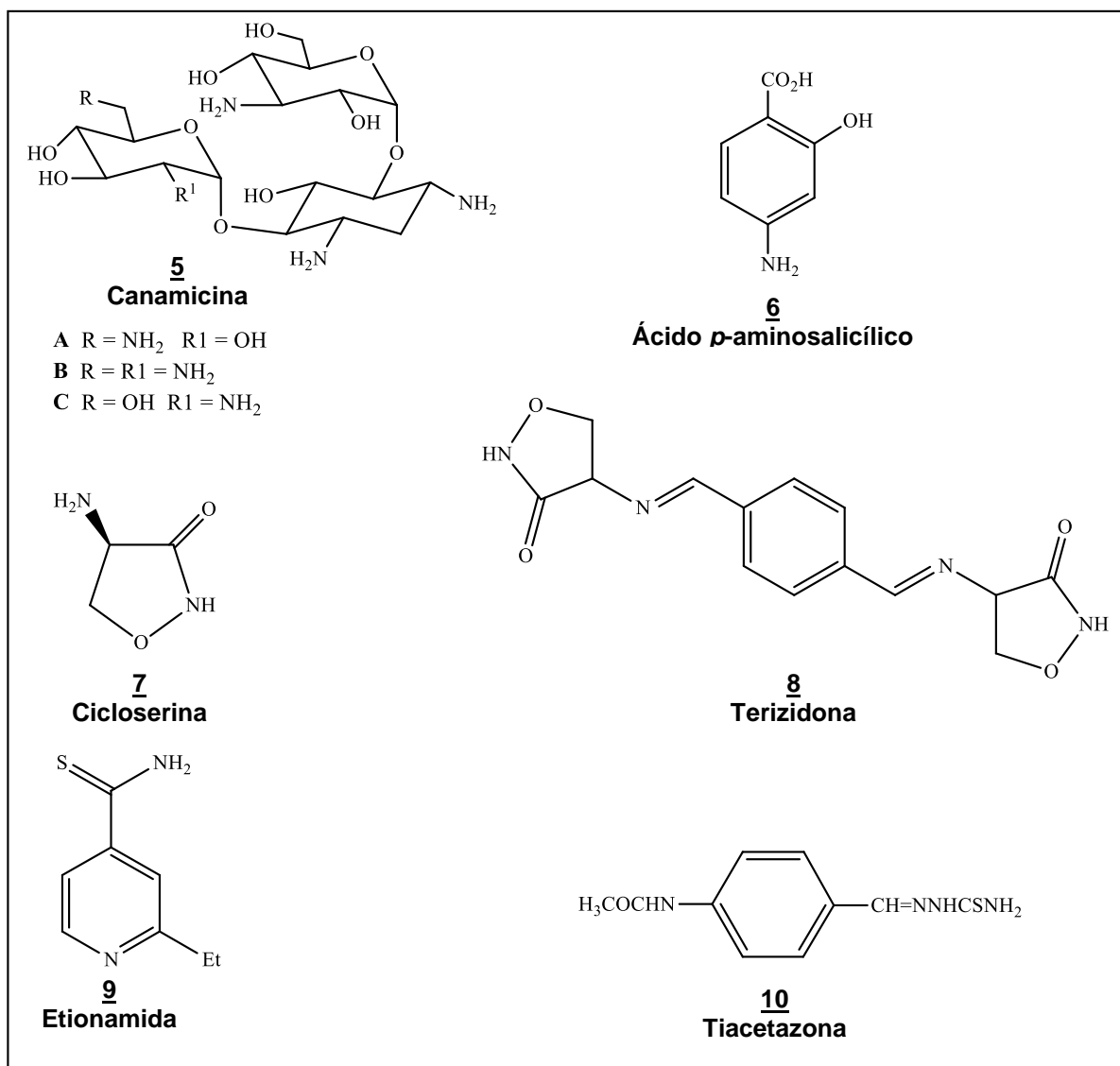


Figura 1.5. Estrutura de fármacos de segunda escolha.

Em função das altas taxas de abandono do tratamento pelos pacientes, a partir dos anos 90 do século XX a Organização Mundial de Saúde (OMS) implantou o DOTS (Directly Observed Treatment Short-Course). Este programa foi adotado por 182 países, sendo que 77% da população mundial está sendo diagnosticada e tratada pelos métodos propostos por esse programa, que baseia-se em cinco elementos (FERNANDES, 2006; NAYYAR, 2005; BRASIL (b), 2013; BOARETTO, 2012):

- comprometimento político sustentável para aumentar os recursos humanos e financeiros;

- acesso a diagnósticos de qualidade oferecendo atenção especial para a detecção de casos entre pessoas infectadas pelo HIV e outros grupos de risco;
- padronização da quimioterapia de curto prazo para todos os casos de TB e monitoramento por uma segunda pessoa que entrega e observa a ingestão de cada dose de medicação;
- suprimento ininterrupto de fármacos com qualidade assegurada;
- sistema de registro e relatórios possibilitando avaliação global do desempenho do programa.

1.1.3. Estrutura da micobactéria

A parede celular do *Mycobacterium tuberculosis* possui uma estrutura complexa e semelhante às outras micobactérias, ou seja, constituída de arabinogalactanas e peptidoglicanas entrelaçadas e ligadas a cadeias polissacarídeas, que servem de suporte para os ácidos micólicos (DAFFÉ, 1990).

Arabinogalactanas

A arabinogalactana é constituída por resíduos de carboidratos sob a forma furanosídica (arabinofuranose (D-Araf) e galactofuranose (D-Galf)) raramente encontrada na natureza (DAFFÉ, 1990). Na estrutura da arabinogalactana do *Mycobacterium* (*Rhodococcus* e *Nocardia*) podem ser encontrados também os carboidratos D-glicose e D-manose (DAFFÉ, 1993).

Peptidoglicanas

As peptidoglicanas das micobactérias são responsáveis pela forma da bactéria, em função de se comportarem como um verdadeiro exoesqueleto em torno da membrana plasmática. Elas são constituídas por unidades alternadas de *N*-acetilglicosamina e do ácido *N*-glicosil-murâmico.

Ácidos micólicos

Os ácidos micólicos presentes em bactérias são constituídos por uma cadeia de ácidos graxos β -hidroxilados e alquilados na posição α contendo cerca de 60 a 90 átomos de carbono ligados covalentemente a arabinogalactana. A biossíntese

desses ácidos graxos tem despertado a atenção de grupos de pesquisa, pois tal processo é essencial nas atividades da bactéria, já que fornecem precursores importantes para a manutenção celular (ANDRADE, 2008).

Assim, o desenvolvimento de fármacos que possam inibir a biossíntese micobacteriana de lipídeos torna-se um alvo promissor no planejamento de novos agentes antimicobacterianos. A seguir (Figura 1.6) temos algumas estruturas (isoniazida, triclosan, tiofeno-diazaborina, ceruleína e tiolactomicina) conhecidas por inibir a biossíntese de ácidos graxos, sendo a isoniazida a mais conhecida.

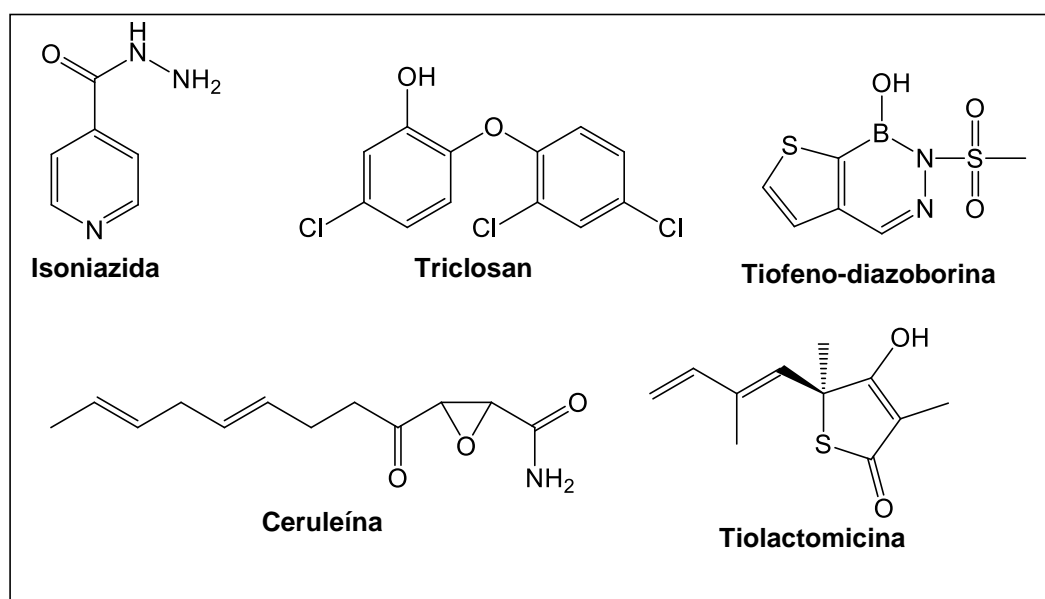


Figura.1.6. Estrutura de inibidores de ácidos graxos bacterianos.

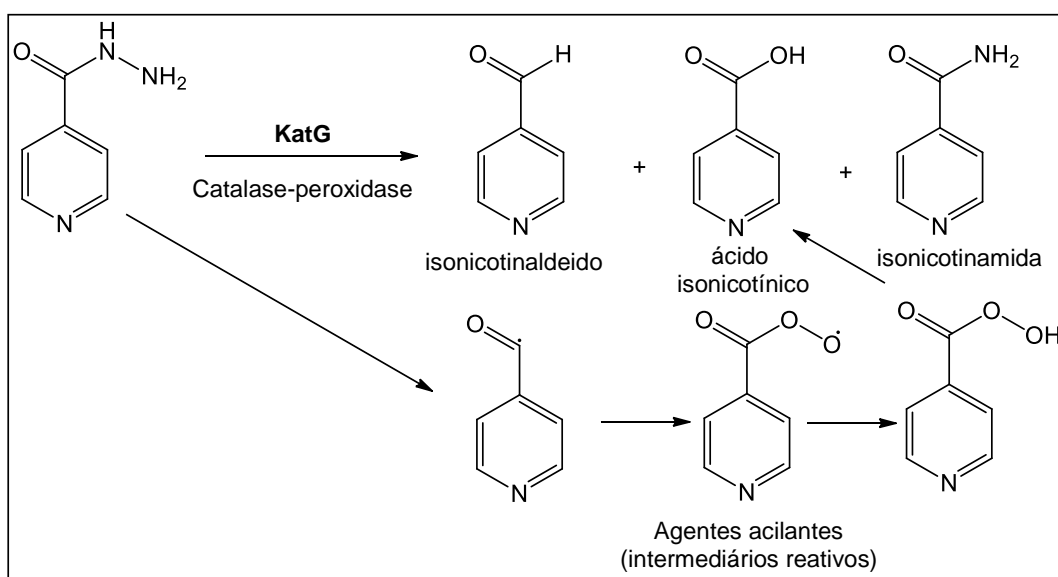
1.1.4. Isoniazida

A obtenção de novos compostos heterocíclicos vem se caracterizando como um importante campo de investigação dentro da química orgânica, pois mais da metade de todos os compostos conhecidos possuem um anel heterocíclico, com destaque para os fármacos, vitaminas e princípios ativos descobertos em plantas e organismos marinhos. Se pensarmos apenas nos fármacos, poderíamos definir a história da química medicinal pelos heterociclos.

Quando se pensa em heterociclos que possuem atividade contra a tuberculose, um dos primeiros a ser lembrado é a isoniazida, que teve sua atividade comprovada em 1952 e apresenta uma concentração inibitória mínima (CIM) variando de 0,02 a 0,2 µg/mL. Desde a sua descoberta a INH tem sido objeto de numerosos estudos para determinar o seu mecanismo de ação. Embora este não

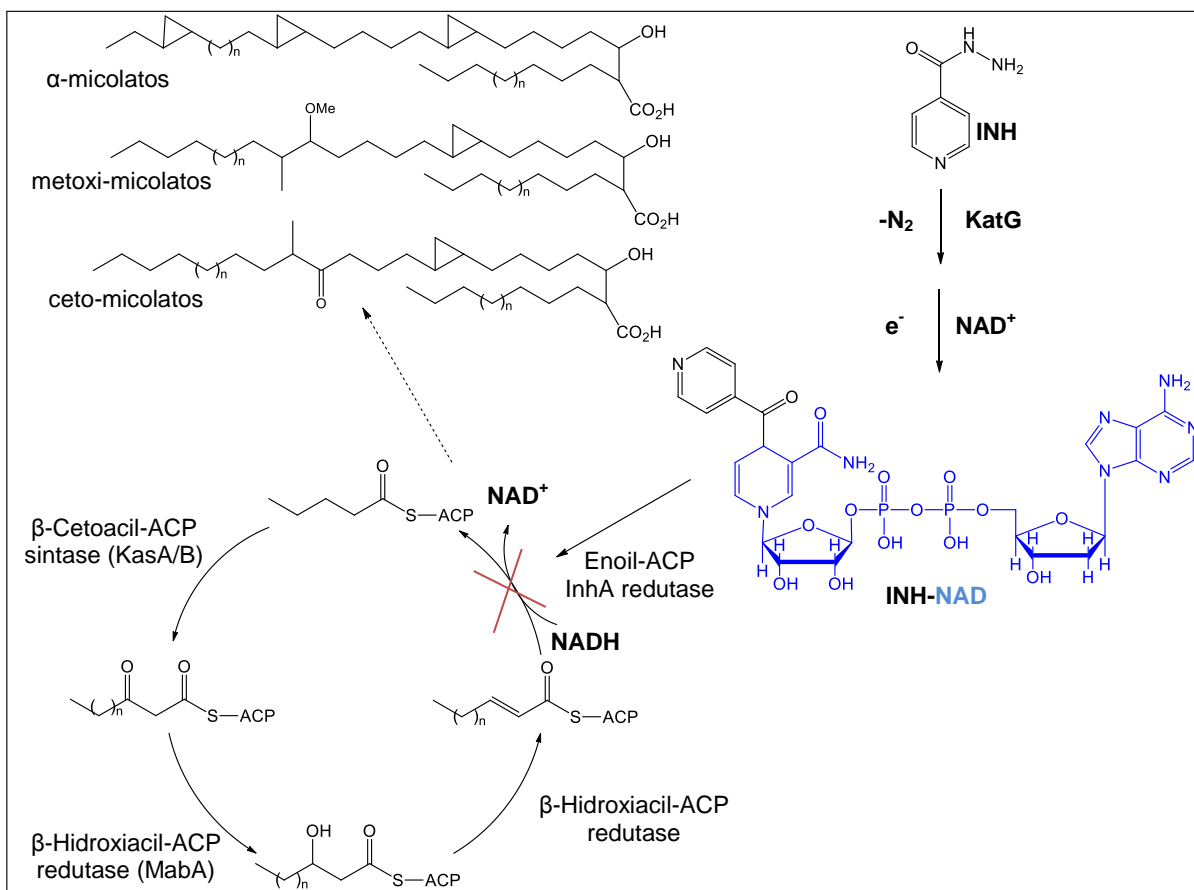
seja completamente compreendido, uma proposta que é amplamente aceita envolve duas etapas intracelulares, cada uma está relacionada com uma enzima do *M. tuberculosis* (YOYA, 2010; ANDRAUD, 1994; GRAHAM, 2004).

Primeiro ocorre uma etapa de ativação (oxidação) da INH pela catalase-peroxidase KatG (REZA, 2005), cuja a função principal é a desintoxicação celular, resultando nos produtos isonicotinaldeído, ácido isonicotínico e isonicotinamida, formados por intermediários reativos (Esquema 1.1).



Esquema 1.1. Produtos formados pela ação da catalase-peroxidase micobacteriana.

Esses intermediários reativos como o radical isonicotinoíla e o ácido perisonicotínico são capazes de acilar a posição quatro do anel nicotinamida do cofator NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo), formando um aduto no sítio ativo da enzima InhA redutase, inativando-a (Esquema 1.2). Em consequência, ocorre a interrupção da biossíntese dos ácidos micólicos, principais constituintes da parede celular micobacteriana (ANDRADE, 2008).



Esquema 1.2. Proposta para o mecanismo de ação da INH.

1.1.5. Justificativa geral do Capítulo 1

Os fármacos disponíveis para o tratamento da tuberculose foram descobertos em meados do século XX, podendo-se destacar a isoniazida, em 1952, o etambutol, sintetizado em 1960 e empregado somente em 1968 e a pirazinamida, sintetizada em 1936, porém só utilizada em 1970 (DE SOUZA, 2005; NAYYAR, 2005). Desde a descoberta da rifampicina em 1965, poucos fármacos foram introduzidos no tratamento da tuberculose (PINHEIRO, 2010).

Este fato reforça a impressão de que nos últimos anos muitos laboratórios não deram prioridade ao desenvolvimento de fármacos antituberculose. A principal razão por essa falta de interesse é pelo fato da tuberculose ser predominante em países em desenvolvimento com poucos recursos financeiros (FERNANDES, 2006).

Assim, alternativas que se mostrem eficientes sob o ponto de vista da síntese de novos candidatos a agentes antibacterianos que atuem tanto contra o *M. tuberculosis* como contra outros tipos de bactérias se fazem de suma importância. Muitos são os métodos utilizados para o desenvolvimento de novos fármacos, sendo os métodos de modificação molecular um dos mais utilizados.

Esta estratégia baseia-se na modificação de grupos funcionais presentes em uma molécula, visando melhorar suas características (solubilidade, propriedade físico-químicas e atividade biológica) com o objetivo de se obter fármacos mais potentes, com menores efeitos colaterais, redução do tempo de tratamento e que possam combater bactérias resistentes e super-resistentes. Com este intuito, o objetivo deste capítulo foi desenvolver substâncias derivadas da isoniazida que sejam capazes de atuar contra o *Micobacterium tuberculosis*.

CAPÍTULO 1

Parte I

Síntese de derivados da isoniazida com a D-galactose

Parte I

1.2. Síntese de derivados da isoniazida com a D-galactose

1.2.1. Objetivos e justificativas

Os carboidratos são encontrados de forma abundante na natureza, estando livres como a glicose ou associados na forma de carboidratos modificados, fazendo parte das membranas celulares e do DNA, sendo este responsável pelas informações genéticas nas células. A parede celular da micobactéria é constituída de polímeros como as lipoarabinomanas, peptoglicanas e arabinogalactanas. Esses compostos são formados por um esqueleto de galactose com ramificações de arabinose, demonstrando a importância dos carboidratos para as micobactérias (TAVEIRA, 2007).

Em trabalhos recentes desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa (CARDOSO, 2009) foram sintetizados diversos análogos da isoniazida **1** condensados na posição anomérica de diferentes carboidratos (Figura 1.6). Vários desses análogos apresentaram atividade contra o *M. tuberculosis*, sendo que o derivado da galactose apresentou um dos melhores valores de CIM (0,62 µg/mL).

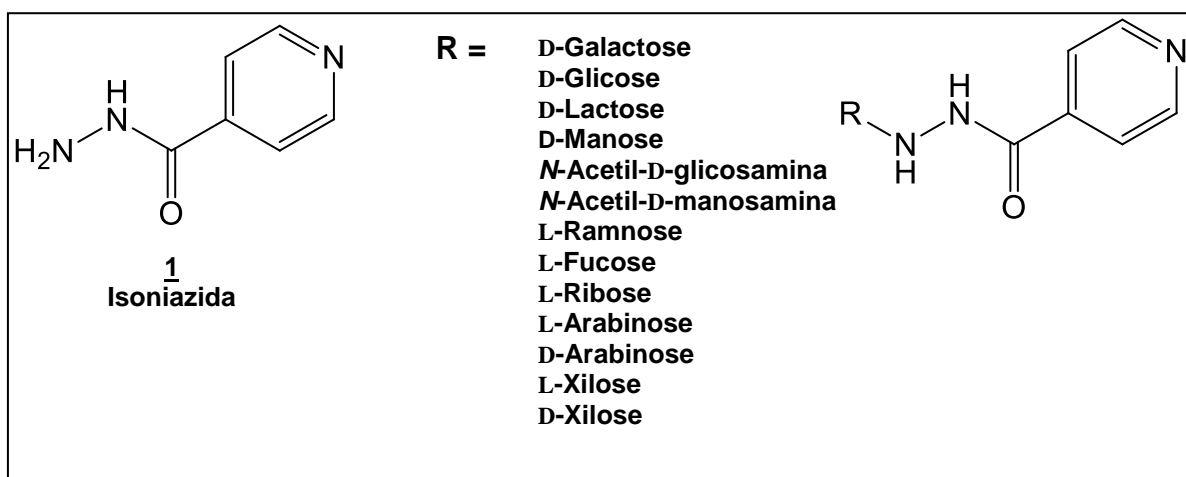


Figura 1.6. Estrutura da isoniazida e de seus derivados.

Estudos de relação estrutura e atividade têm mostrado que a lipofilicidade é um fator de extrema importância no desenvolvimento de novos fármacos, pois tal fator está intrinsecamente relacionado à penetração do fármaco através da

membrana celular das micobactérias, que apresenta uma constituição lipofílica (DE ALMEIDA, 2009; JUNIOR, 2009; JUNIOR, 2010).

Diversos trabalhos são encontrados na literatura utilizando carboidratos ligados à cadeias lipofílicas que apresentaram bons resultados contra o *M. Tuberculosis*, sendo que a diferença principal entre esses derivados é o tamanho da cadeia (Figura 1.7) (KATIAR, 2005; LE HYARIC, 2007).

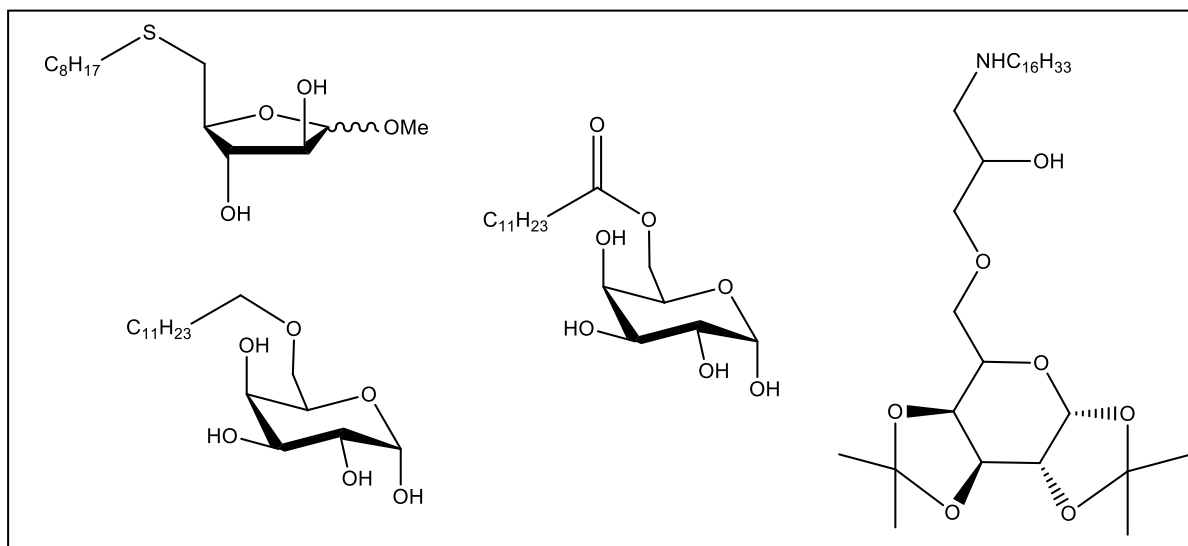


Figura 1.7. Compostos lipofílicos com atividade contra a tuberculose.

Este tipo de estrutura foi alvo de pesquisa em nosso grupo (LE HYARIC, 2007; TAVEIRA, 2007), onde foi realizada a síntese e avaliação antituberculose de diferentes aminas lipofílicas ligadas a uma porção açúcar. Alguns desses compostos apresentaram um CIM, *in vitro*, contra o *M. Tuberculosis* inferior a 3,12 µg/mol (Figura 1.8).

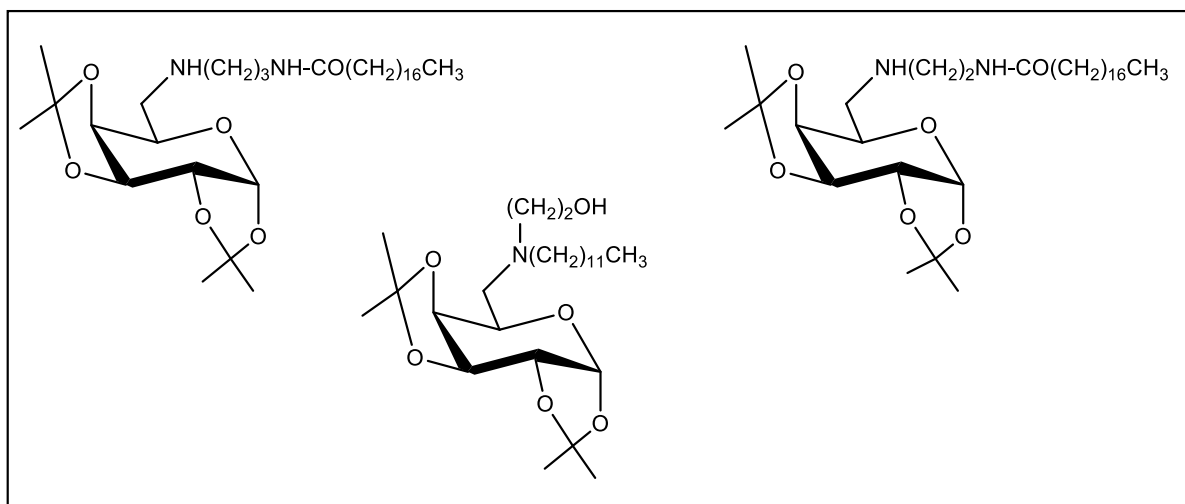


Figura 1.8. Aminas lipofílicas com ação antituberculose.

Esses resultados nos motivaram a buscar novos compostos derivados de carboidratos com características lipofílicas, que possam atuar contra a tuberculose, através da condensação da isoniazida com derivados alquilados na posição 6 da D-galactose (Figura 1.9).

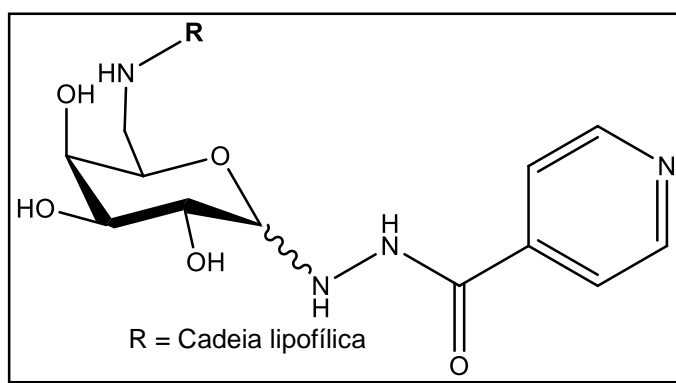
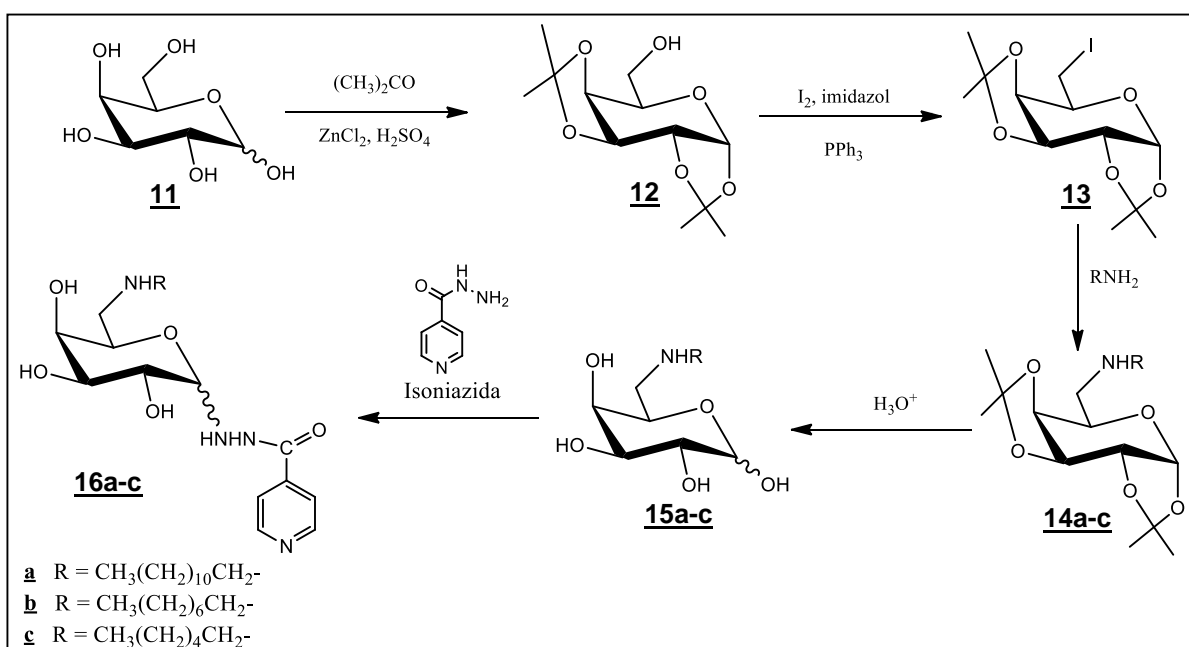


Figura 1.9. Estrutura proposta para os derivados da isoniazida.

1.2.2. Resultados e discussões

1.2.2.1. Plano de Síntese dos derivados de carboidrato

Nesta parte do trabalho que visou a síntese dos derivados de carboidratos com a isoniazida, foi planejada, inicialmente, a transformação da hidroxila da posição C-6 da galactose **11** em um grupo de saída para formação do iodeto **13**. Em seguida, seria realizada a sua substituição por derivados nitrogenados de cadeia longa (**14a-c**), os quais seriam tratados em meio ácido para fornecer os derivados desprotegidos (**15a-c**). A última etapa seria a adição da isoniazida na posição anomérica do carboidrato para obtenção dos compostos almejados (**16a-c**) (Esquema 1.3).

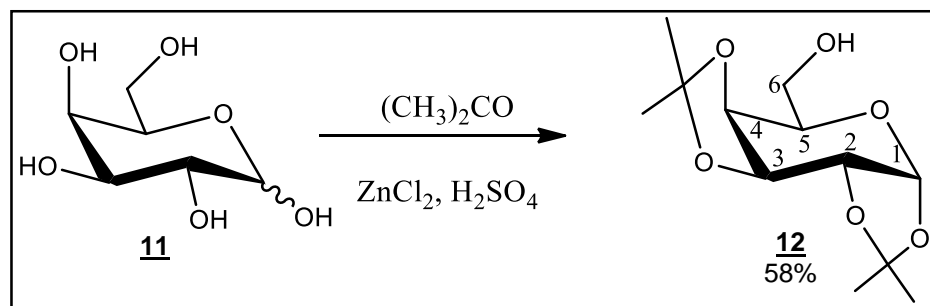


Esquema 1.3. Plano de síntese dos derivados **16a-c**.

1.2.2.2. Síntese e caracterização da 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **12**

A reação de proteção das hidroxilas sob a forma de acetais isopropilidênicos presentes nas posições C-1, C-2, C-3 e C-4 da D-galactose foi realizada em presença de acetona anidra, cloreto de zinco anidro e ácido sulfúrico concentrado, durante 8h à temperatura ambiente (Esquema 1.4).

O intermediário **12** foi purificado por coluna cromatográfica (hexano/acetato de etila) fornecendo um óleo amarelo em 58% de rendimento que foi caracterizado pela análise de seus espectros no IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C e por comparação com os dados da literatura (PERRONE, 1999; AMARANTE, 2005).



Esquema 1.4. Reação de obtenção do composto **12**.

No espectro no infravermelho de **12** verificou-se a presença de uma banda larga referente ao sinal de absorção em 3483 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação O-H. As bandas em 2989 e 2939 cm^{-1} podem ser atribuídas às deformações axiais das ligações C-H de alifático. A banda de absorção intensa em 1070 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do carboidrato.

No espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura 1.10) observou-se a presença dos simples (δ 1,32, 1,43 e 1,51) correspondentes aos hidrogênios de CH_3 (12H) dos grupos isopropilídenos, evidenciando, desta maneira, a ocorrência da reação de proteção.

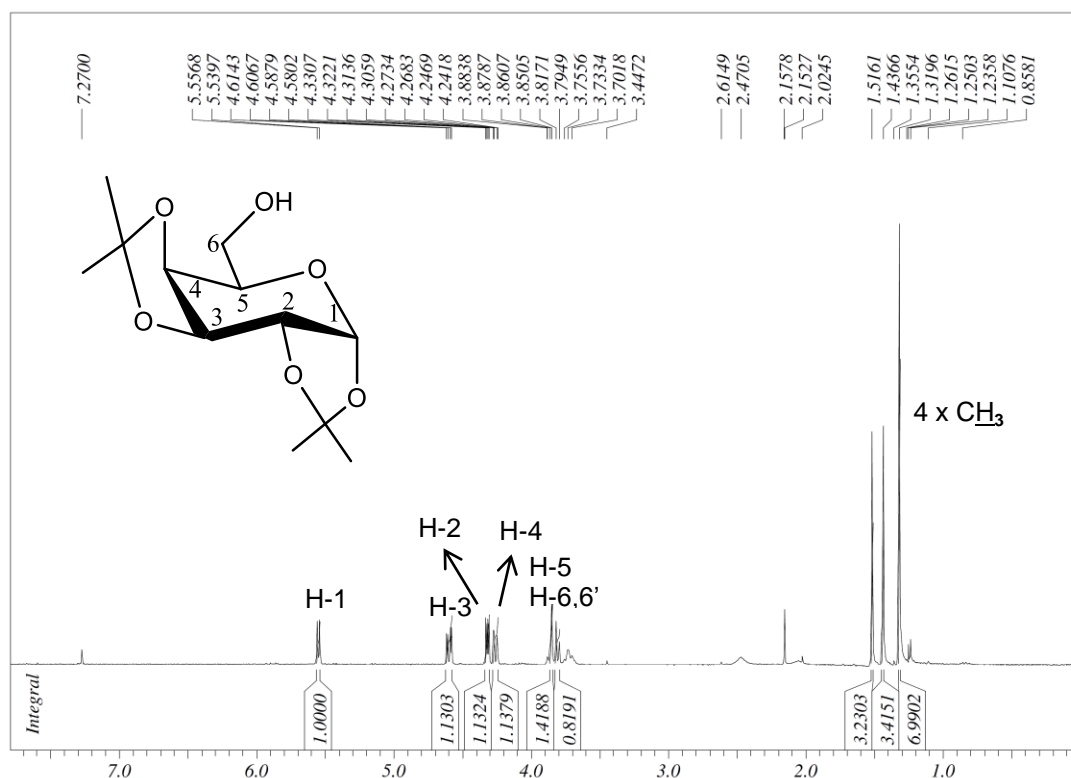
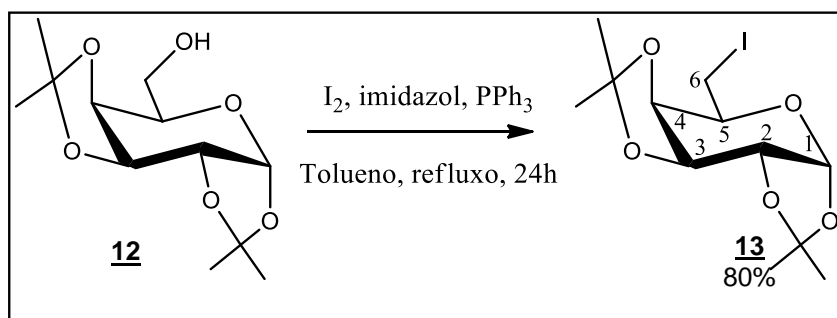


Figura 1.10. Espectro de RMN de ^1H do composto **12** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **12** observou-se quatro sinais entre δ 26,2 e 24,5 que podem ser atribuídos aos carbonos metílicos e dois sinais em δ 109,6 e 108,8 referentes aos carbonos não hidrogenados do grupo isopropilideno. Em ambos os espectros verificou-se também os sinais correspondentes aos hidrogênios e carbonos do anel piranosídico.

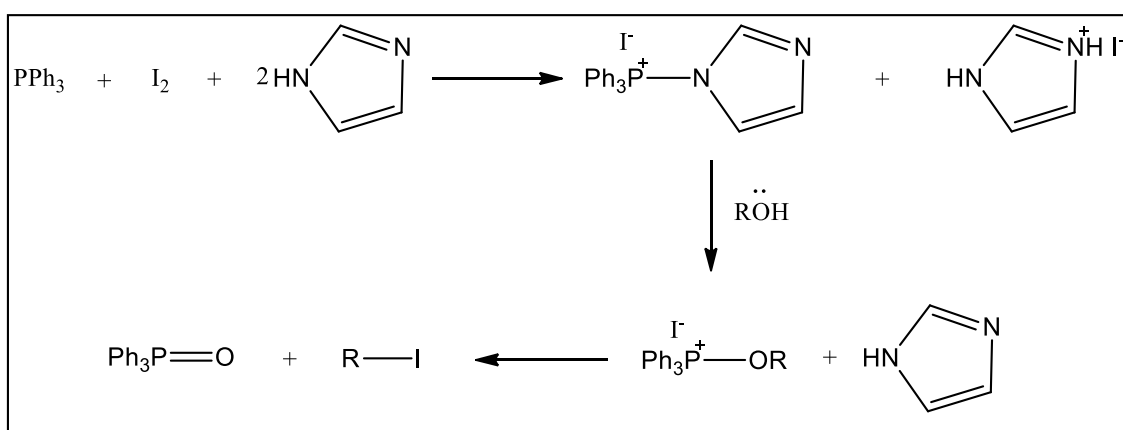
1.2.2.3. Síntese e caracterização da 6-desoxi-6-iodo-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **13**

A síntese de **13** foi realizada a partir do intermediário protegido **12** pela substituição da hidroxila da posição C-6 do carboidrato por iodo. A reação foi realizada utilizando-se trifenilfosfina, imidazol e iodo em tolueno sob refluxo (GAREGG, 1984) por 24 h (rend. 80%)(Esquema 1.4).



Esquema 1.4. Reação de obtenção do composto **13**.

A reação de iodação ocorre em um sistema heterogêneo que em função da presença do imidazol e da trifenilfosfina é gerado um complexo parcialmente solúvel que combina com o álcool para gerar o iodeto desejado (Esquema 1.5) (GAREGG, 1984; GAREGG, 1980).



Esquema 1.5. Proposta para o mecanismo de formação do iodeto.

O intermediário **13** foi purificado por coluna cromatográfica, usando-se como eluente a mistura hexano/acetato de etila, obtendo-se um sólido branco em 80% de rendimento que foi caracterizado por ponto de fusão e análise de seus espectros no IV, e RMN de ^1H e de ^{13}C .

No espectro no IV do composto **13** não foi observado a banda de absorção próxima a 3500 cm^{-1} relativa ao estiramento da ligação O-H, evidenciando a substituição da hidroxila pelo átomo de iodo.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H do composto **4**, observa-se um deslocamento de δ 3,84 para 3,30 do sinal referente aos hidrogênios H-6 e H-6', quando comparado com o espectro do composto **12**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.11) verificou-se a presença de um sinal em δ 2,4 atribuído ao carbono C-6 ligado ao átomo de iodo. Este mesmo sinal no composto de partida **12** encontra-se em δ 62,4. Este deslocamento pode ser explicado pela blindagem provocada pela nuvem eletrônica do átomo de iodo.

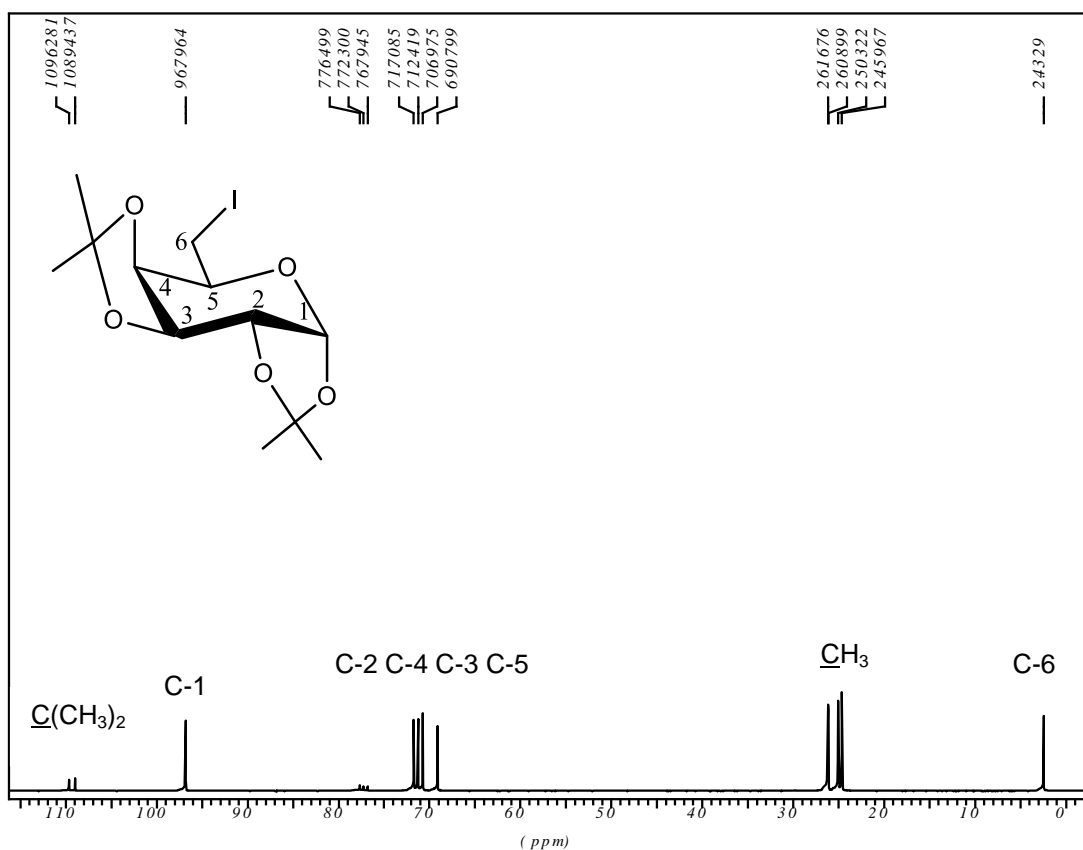
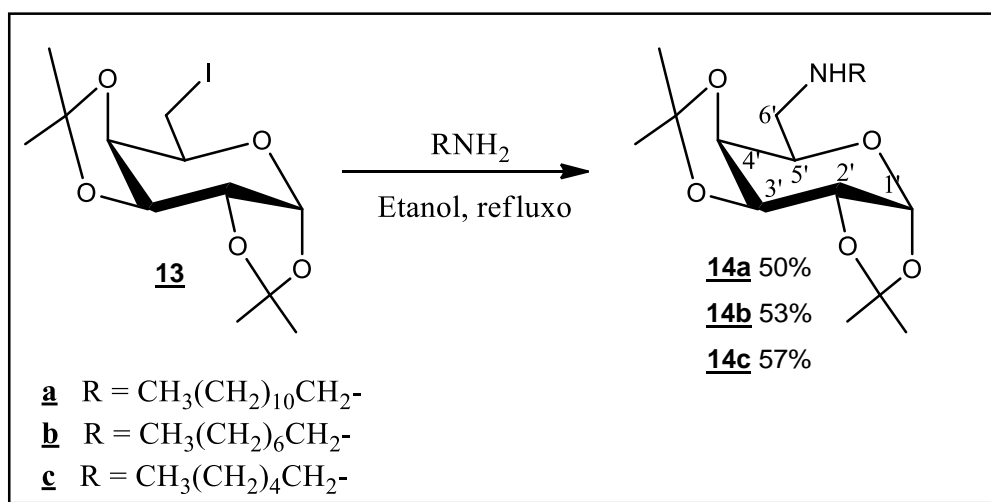


Figura 1.11. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **13** (CDCl_3 , 75 MHz).

1.2.2.4. Síntese e caracterização dos derivados da galactose **14a-c**

Esta parte da síntese visou a substituição do iodeto do composto **13** por aminas de cadeia longa que tínhamos disponíveis no laboratório (dodecilamina, octilamina e hexilamina). Esta reação foi realizada em etanol sob refluxo por 48 h (Esquema 1.6). Após o término da reação foi realizada uma extração líquido-líquido em diclorometano e água. A fase orgânica foi evaporada e o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica, obtendo-se os compostos **14a-c** em rendimentos que variam de 50 a 57%, como óleos amarelos, que foram caracterizados pelas análises de seus espectros no IV e RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.6. Reação para obtenção dos compostos **14a-c**.

Como os derivados **14a-c** possuem estruturas muito semelhantes, será discutido apenas a caracterização do composto **14c**.

1.2.2.4.1. Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-hexilamino-1',2':3',4'-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosse **14c**

No espectro no infravermelho do composto **14c** (Figura 1.12) verificou-se a presença de bandas de absorção entre 2854 a 2987 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos das ligações C-H de alifático e a presença de uma banda de absorção de grande intensidade em 1070 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação C-O-C.

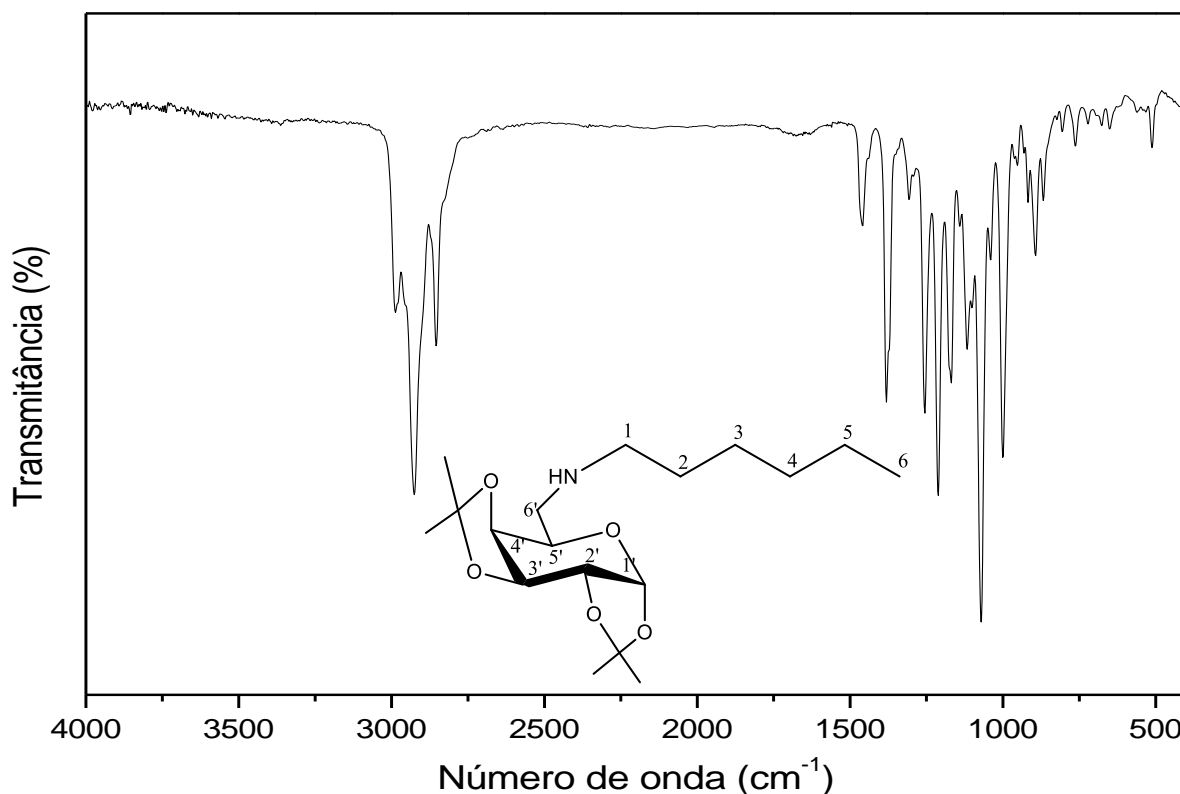


Figura 1.12. Espectro no infravermelho (KRS-5) do composto **14c**.

No espectro de RMN de ^1H de **14c** (Figura 1.13) observou-se a presença de quatro sinais entre δ 1,53 e 1,27 correspondentes aos hidrogênios do grupo isopropilideno (12H) e aos hidrogênios H-2, H-3, H-4 e H-5 da cadeia alifática (8H). Observou-se também um duplete em δ 5,52 que foi atribuído a H-1' ($J_{1',2'} = 5,0$ Hz). Puderam ser observados três dupletos duplos em δ 4,58, 4,29 e 4,18 correspondentes a H-3' ($J_{3',4'} = 2,2$ Hz e $J_{3',2'} = 7,9$ Hz), H-2' ($J_{2',1'} = 5,0$ Hz) e H-4' ($J_{4',5'} = 1,8$ Hz e $J_{4',3'} = 7,9$ Hz) respectivamente, e ainda, um multiplete entre δ 2,93-2,60 que foi atribuído aos hidrogênios H-6'a, H6'b (carboidrato), H-1a e H-1b (cadeia alifática), totalizando quatro hidrogênios CH_2N .

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.14) observam-se oito sinais entre δ 31,9 e 22,7 correspondentes aos carbonos metílicos do grupo isopropilideno e aos carbonos C-2, C-3, C-4 e C-5 da cadeia alifática. Observou-se também a presença de dois sinais em δ 49,9 e 49,6 atribuídos aos carbonos C-6' e C-1 que estão ligados ao nitrogênio e quatro sinais entre δ 72,2 e 66,6 correspondentes aos carbonos C-2', C-3', C-4' e C-5' da unidade açúcar, além do sinal em δ 96,6 correspondente a C-1'.

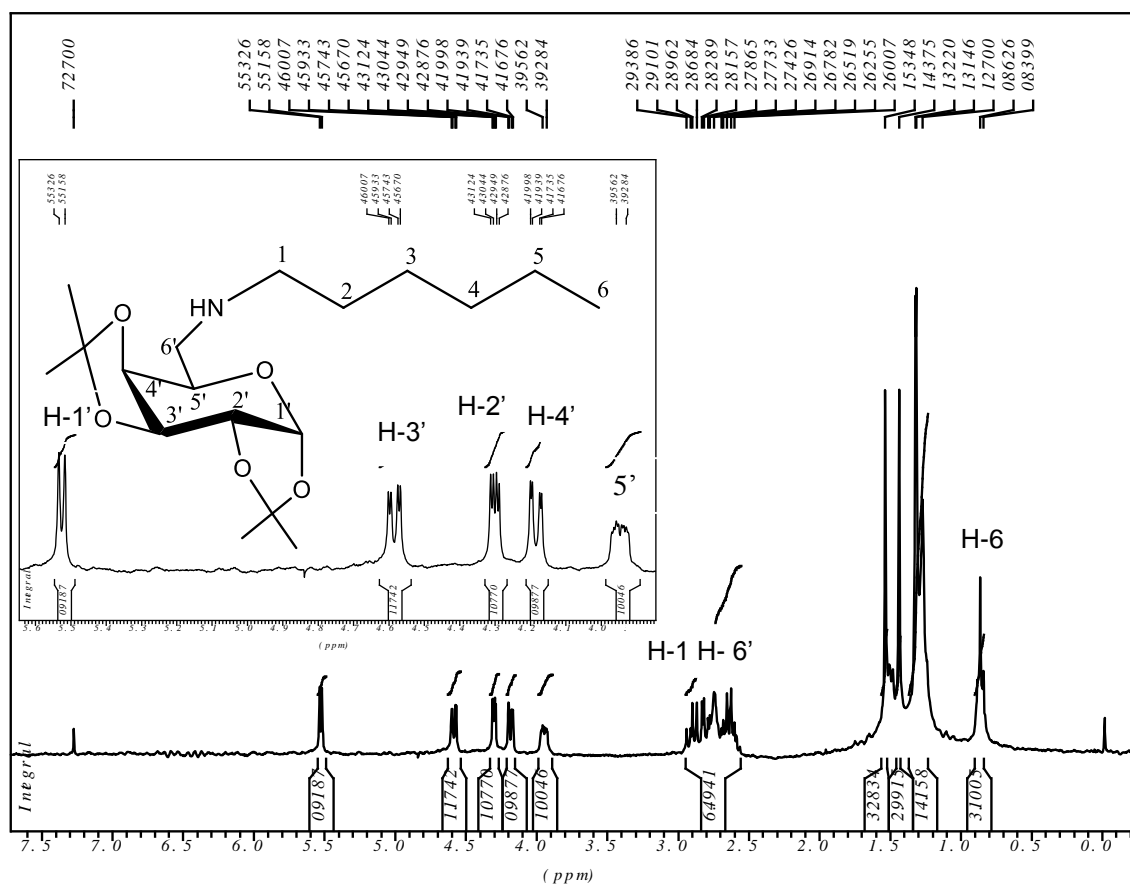


Figura 1.13. Espectro de RMN de ¹H do composto **14c** (CDCl₃, 300 MHz).

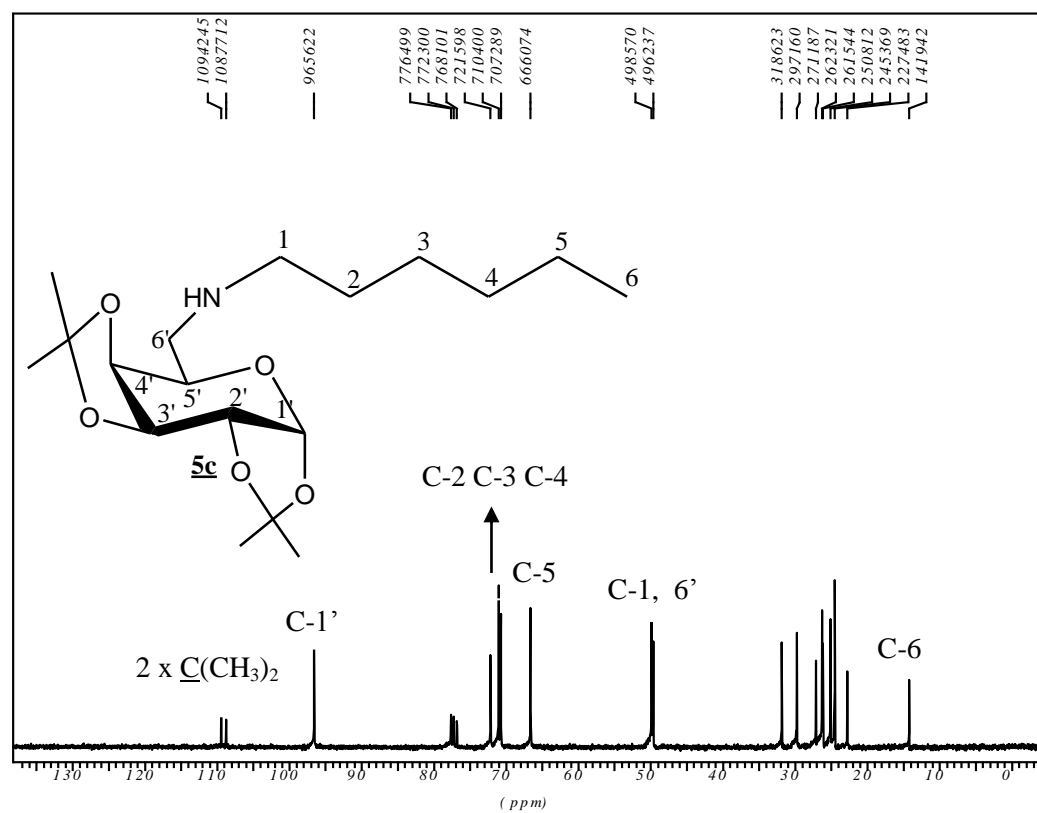
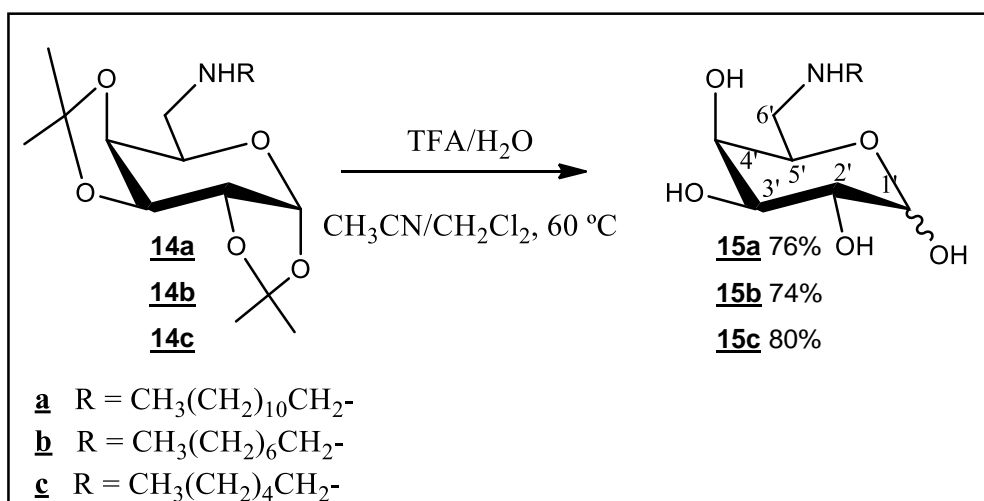


Figura 1.14. Espectro de RMN de ¹³C do composto **14c** (CDCl₃, 75 MHz).

1.2.2.5. Síntese e caracterização dos compostos poliidroxiados **15a-c**

Seguindo a rota sintética, o próximo passo é o acoplamento da isoniazida na posição anomérica do carboidrato. Por essa razão, foi realizada a remoção dos grupos isopropilideno a partir da adição de uma solução de ácido trifluoroacético/água (1:1, v/v) às soluções desses compostos em uma mistura de acetonitrila/diclorometano (7:3). As soluções foram mantidas sob agitação magnética durante 20 h a 60 °C (Esquema 1.7). Após a purificação por coluna cromatográfica (CH₂Cl₂/MeOH 8:2) foram obtidos os compostos **15a-c** (74-80%) sob a forma de misturas anoméricas ($\alpha + \beta$) que foram caracterizadas pelas análises de seus espectros no infravermelho, RMN de ¹H e RMN de ¹³C.

Como alternativa para remoção dos grupos isopropilidenos dos derivados de carboidrato (**14a-c**) foi testado a adição de trifluoreto de boro eterato de metila (BF₃.OMe₂), mas esta condição reacional se mostrou muito drástica para a desproteção destes compostos, pois foi observado, por placa CCD, a formação de diversos compostos polares que não puderam ser caracterizados.



Esquema 1.7. Reação para obtenção dos compostos **15a-c**.

Em função da semelhança entre os derivados **15a-c**, será discutido apenas a caracterização do composto **15c**.

1.2.2.5.1. Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-hexilamino-D-galactopiranosose **15c**.

No espectro no infravermelho do composto **15c** verificou-se a presença de bandas de absorção intensas na região de 3350 cm^{-1} referentes aos estiramentos da ligação O-H e, ainda, bandas de absorção em torno de $2923\text{-}2856\text{ cm}^{-1}$ referentes aos estiramentos da ligação C-H alifático.

No espectro de RMN de ^1H do composto **15c** (Figura 1.15) verificou-se, em relação ao material de partida, o desaparecimento dos sinais referentes aos grupos isopropilideno.

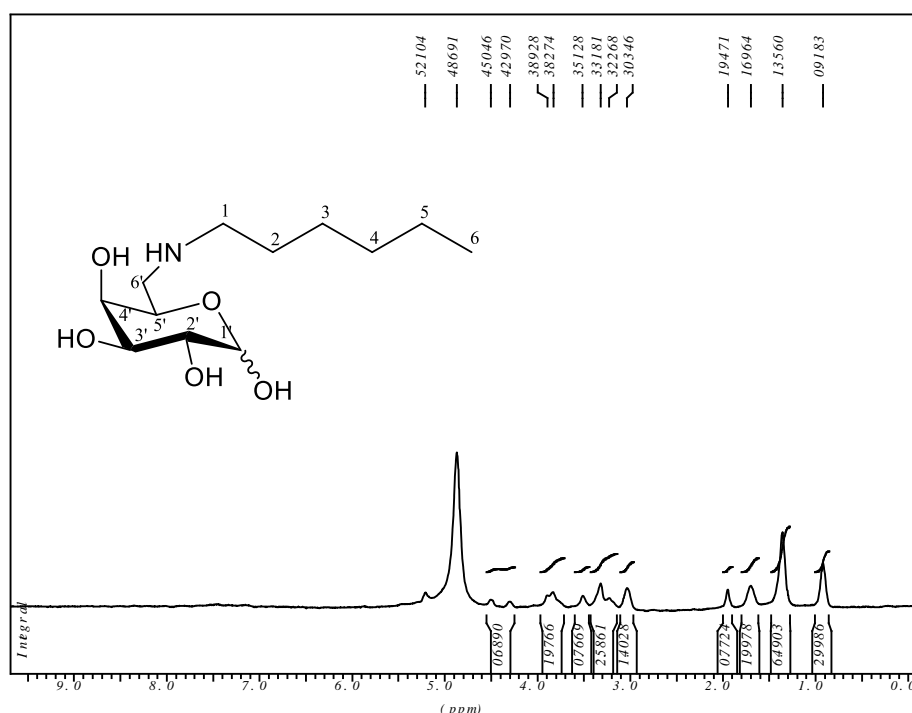


Figura 1.15. Espectro de RMN de ^1H do composto **15c** (CD_3OD , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **15c** (Figura 1.16) observou-se os sinais referentes ao anel piranosídico e a cadeia alifática, bem como a ausência dos sinais correspondentes aos carbonos dos grupos isopropilideno. Os sinais dos carbonos do carboidrato aparecem duplicados devido à presença dos anômeros α e β . As atribuições dos sinais foram feitas por comparação com os dados obtidos na literatura para esse carboidrato (KATRITZKY, 1996; SATO, 2004).

Uma forma de atribuir os deslocamentos químicos referentes aos anômeros α e β é pela análise dos efeitos eletrônicos entre o par de elétrons do orbital molecular não-ligante do oxigênio (η_o) do anel piranosídico e o orbital molecular antiligante (σ^*) da ligação entre C-1 e o átomo de oxigênio do anômero α (Figura 1.17). Neste caso

ocorre uma sobreposição desses orbitais, ocasionando um aumento na densidade eletrônica sobre o carbono C-1 (DA SILVA, 2011; SILVA, 2011). Assim, pelo espectro de RMN de ^{13}C , pode ser atribuído que o sinal referente ao carbono C-1 do anômero α encontra-se mais próximo do TMS (δ 94,1) quando comparado com o sinal do carbono C-1 do anômero β (98,6).

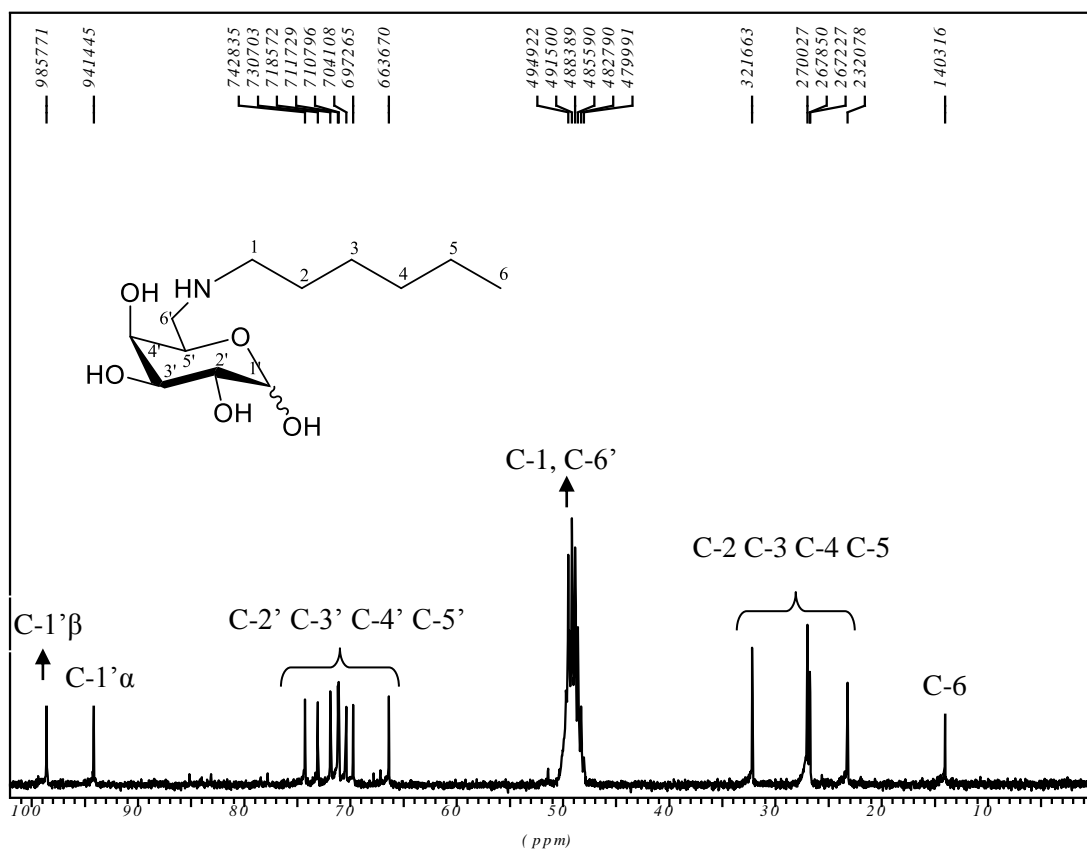


Figura 1.16. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15c** (CD_3OD , 75 MHz).

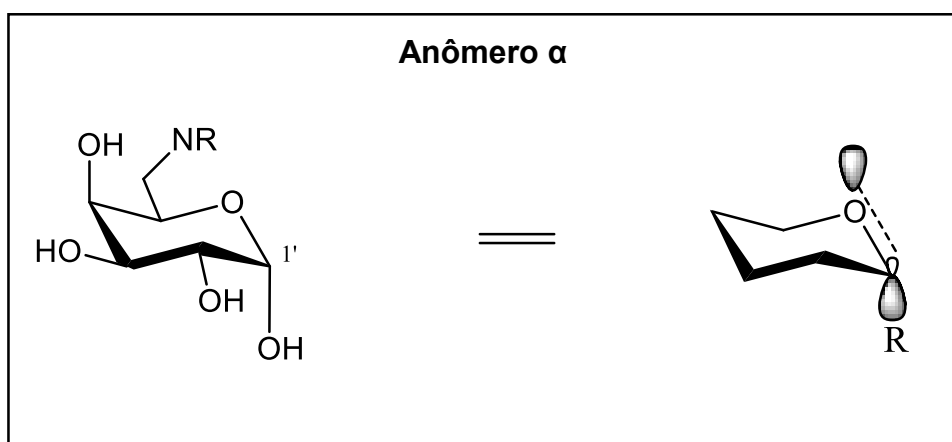
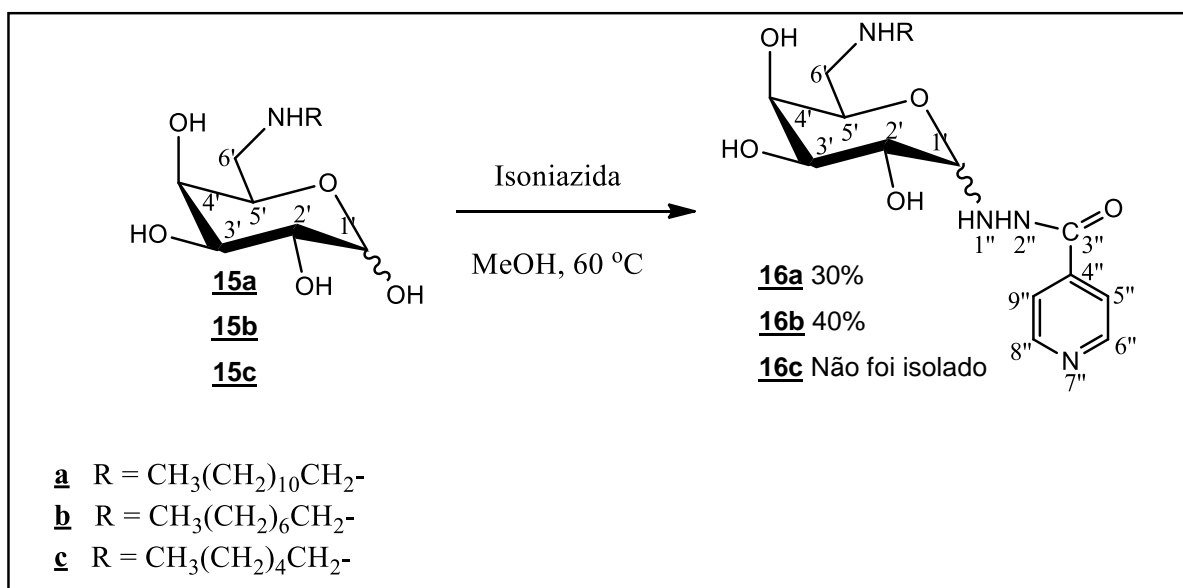


Figura 1.17. Interação dos elétrons do orbital molecular não-ligante do oxigênio endocíclico com o orbital molecular antiligante (σ^*) da ligação entre C-1'-OH.

1.2.2.6. Síntese e caracterização das misturas anoméricas 1-[6'-desoxi-6'-N-(dodecilamino)-1'-D-galactopiranosil]-2-isonicotinoil-hidrazina 16a ($\alpha + \beta$) e 1-[6'-desoxi-6'-N-(octilamino)-1'-D-galactopiranosil]-2-isonicotinoil-hidrazina 16b ($\alpha + \beta$)

As sínteses das misturas anoméricas 16a (rend. 30%) e 16b (rend. 40%) foram realizadas a partir da reação da isoniazida com os respectivos compostos 15a e 15b em metanol anidro (Esquema 1.8). As reações permaneceram sob aquecimento por 48h à 60 °C.

Foi realizada a tentativa de preparação do composto 16c utilizando as mesmas condições de obtenção dos compostos 16a e 16b, mas a quantidade de produto obtido foi muito pequena, possivelmente pelas dificuldades de purificação por coluna cromatográfica, por se tratar de um produto com elevada polaridade. Como não tínhamos quantidades suficientes do material de partida e com o fim do período de doutorado não foi possível realizar outras tentativas.



Esquema 1.8. Reação para obtenção das misturas anoméricas 16a e 16b.

Os compostos finais foram obtidos após purificação por coluna cromatográfica (diclorometano/metanol) como óleos de cor amarelada que foram caracterizados por análise de seus espectros no IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C.

Em função da semelhança entre os derivados 16a-b, será discutido apenas a caracterização do composto 16b.

No espectro na região do infravermelho para o composto **16b** (Figura 1.18) pode-se observar na região de 3400 cm^{-1} uma banda de absorção larga e intensa característica de compostos poliidroxilados. Na região de 1670 cm^{-1} observou-se uma banda de grande intensidade que foi atribuída ao estiramento das ligações C=O do grupo hidrazido.

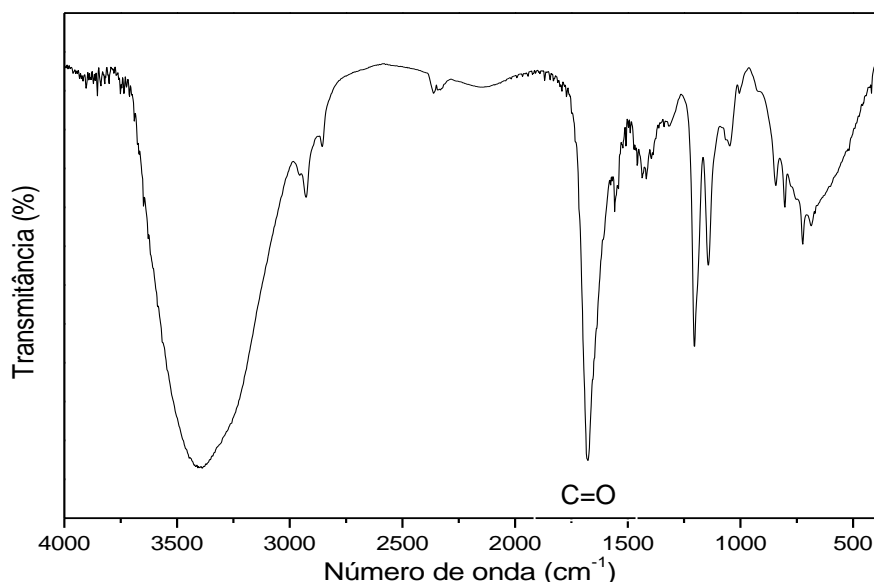


Figura 1.18. Espectro de infravermelho (KRS-5) do composto **16b**.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H do composto **16b** (Figura 1.18) observou-se a presença dos sinais correspondentes à porção aromática entre δ 8,71 e 7,77, os sinais referentes à cadeia alifática entre δ 1,64 e 0,82 e os sinais correspondentes à unidade carboidrato entre δ 4,20 e 2,96. Não foi possível fazer uma atribuição sobre a configuração (α e β) por RMN de ^1H dos compostos (**16a** e **16b**) obtidos, pois a região dos sinais referentes a unidade carboidrato ficou sem definição.

Seguindo o mesmo raciocínio mostrado anteriormente (Figura 1.17) sobre a interação do orbital molecular não-ligante do oxigênio do anel piranosídico com o orbital molecular antiligante da ligação entre C-1 e o átomo de nitrogênio da isoniazida, é possível atribuir que os sinais em δ 90,4 e 92,6 no espectro de RMN de ^{13}C do composto **16b** (Figura 1.19) se referem aos carbonos C-1 α e C-1 β dos compostos **16b α** e **16b β** , respectivamente. Para essa mistura foram observados também os sinais referentes à unidade açúcar entre δ 60,0 e 75,6, além dos sinais referentes a cadeia alifática entre δ 14,5 e 30,3 e os sinais dos carbonos aromáticos, da unidade isoniazida, em δ 123,3 (C-5'' e C-6'') e 152 (C-6'' e C-8'').

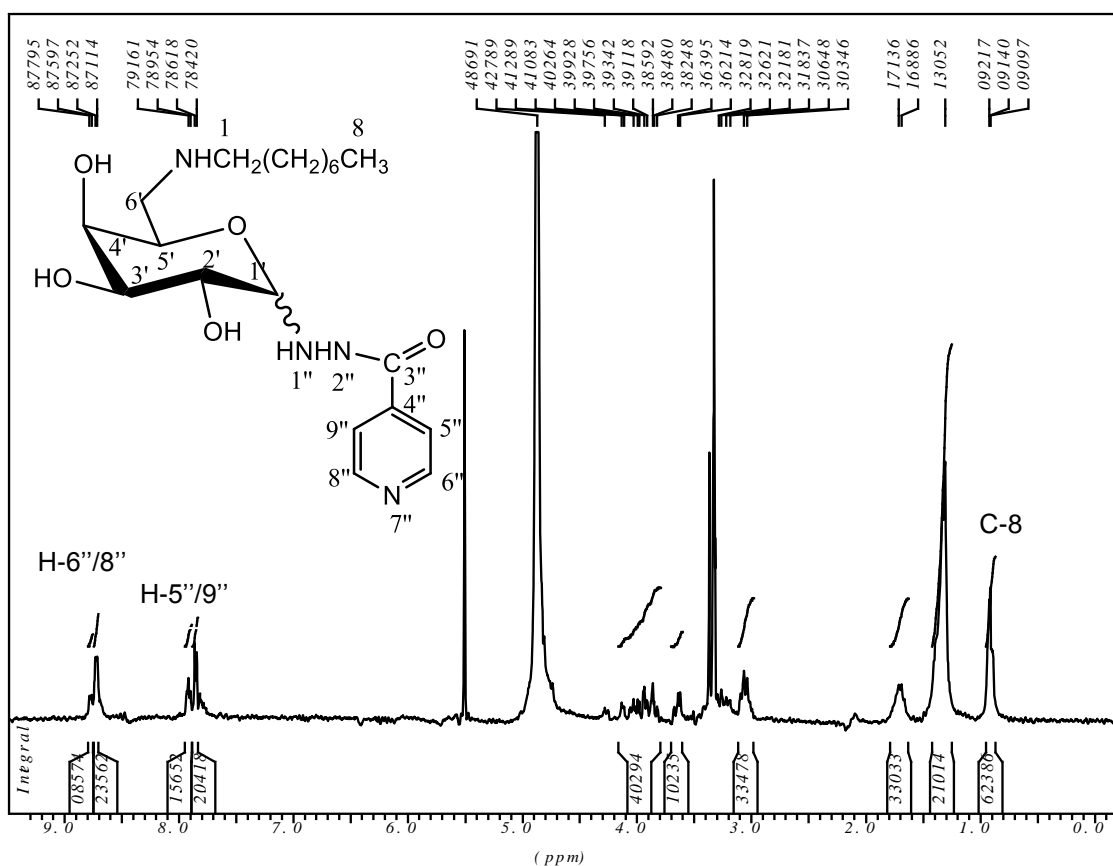


Figura 1.18. Espectro de RMN de ^1H da mistura anomérica **16b** (CD_3OD , 300 MHz).

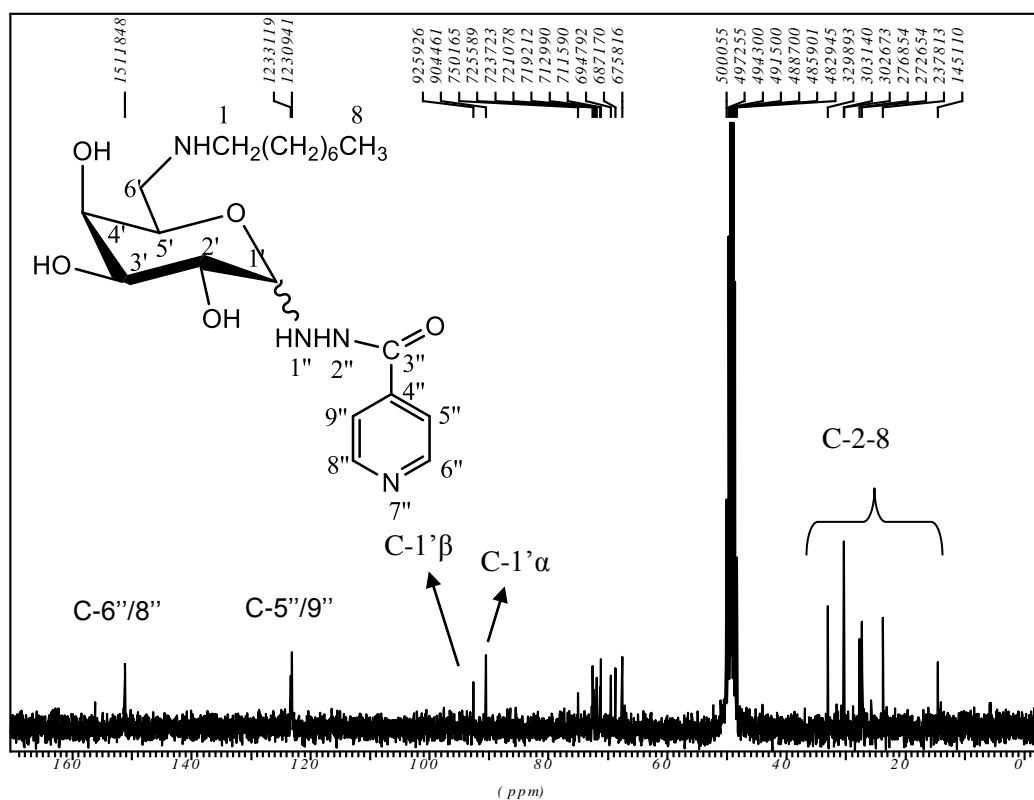


Figura 1.19. Espectro de RMN de ^{13}C da mistura anomérica **16b** (CD_3OD , 75 MHz).

CAPÍTULO 1

Parte II

**(Desenvolvida em colaboração com o professor Sérgio Antônio
Fernandes da UFV)**

**Estudo das interações intermoleculares entre derivados de
calixarenos e ciclodextrinas com a isoniazida e avaliação
antituberculose dos complexos de inclusão formados**

Parte II

1.3. Estudo das interações intermoleculares entre derivados de calixarenos e ciclodextrinas com a isoniazida e avaliação antituberculose dos complexos de inclusão formados

1.3.1. Objetivos e justificativas

A química supramolecular é uma área da química que estuda as interações intermoleculares não covalentes entre duas ou mais moléculas. Estas interações podem ser dirigidas por forças eletrostáticas, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e interações π - π . Essas interações são responsáveis pelos sistemas conhecidos como hóspede-hospedeiro.

Uma das aplicações dos sistemas hóspede-hospedeiro é na liberação controlada de fármacos que tem sido alvo de pesquisas há pelo menos quatro décadas. Desde que foi sugerida sua aplicação na indústria farmacêutica (Tabela 1.2) muitos resultados foram obtidos, especialmente na manipulação molecular de carreadores e no estudo de suas interações com as drogas encapsuladas (DE FATIMA, 2009; ARANTES, 2009).

Tabela 1.2. Produtos contendo β -ciclodextrina aprovados no mercado (DAVIS, 2004).

Fármaco	Via de administração	Nome comercial	País
Benexate	Oral	Ulgut, Lonmiel	Japão
Dexametasona	Dérmica	Glymesason	Japão
Iodo	Tópico	Nimedex, Mesulid	Europa
Nicotina	Sublingual	Nitropen	Japão
Nimesulida	Oral	Nimedex, Mesulid	Europa
Nitroglicerina	Sublingual	Nitropen	Japão
Omeprazol	Oral	Omebeta	Europa
Dinoprostone	Sublingual	Prostarmon E	Japão
Piroxicam	Oral	Brexin e Cicladol	Europa e Brasil
Ácido Tiaprofênico	Oral	Surgamyl	Europa

O sistema de liberação, também conhecido como *drug delivery system*, oferece inúmeras vantagens quando comparado com os processos convencionais de dosagem, pois estas formulações alteram substancialmente alguns parâmetros farmacocinéticos como, por exemplo, o tempo de meia vida do fármaco, sua depuração do organismo e seu volume de distribuição. Além do mais, a toxicidade do medicamento é reduzida drasticamente quando administrada sob a forma encapsulada (DE FATIMA, 2009).

Os calixarenos e as ciclodextrinas são grandes representantes desses sistemas de liberação controlada por ter a vantagem de contornar propriedades físico-químicas limitantes (como a solubilidade aquosa ou em membranas) das drogas encapsuladas. Também são observadas na literatura diversas aplicações biológicas para os calixarenos na sua forma livre como antiviral, antifúngico, anticâncer e antibacteriano (DAVIS, 2004).

Neste sentido, esta parte do trabalho teve como objetivo o estudo das interações dos complexos de inclusão formados entre o *p*-sulfonato de sódio do calix[4]areno **17** (SO_3NaCX_4), *p*-sulfonato de sódio do calix[6]areno **18** (SO_3NaCX_6), hidroxipropil- β -ciclodextrina **19** (Hp- β -CD) e a metil- β -ciclodextrina **20** (Me- β -CD) com o antimicobacteriano isoniazida (**1**) (Figura 1.20).

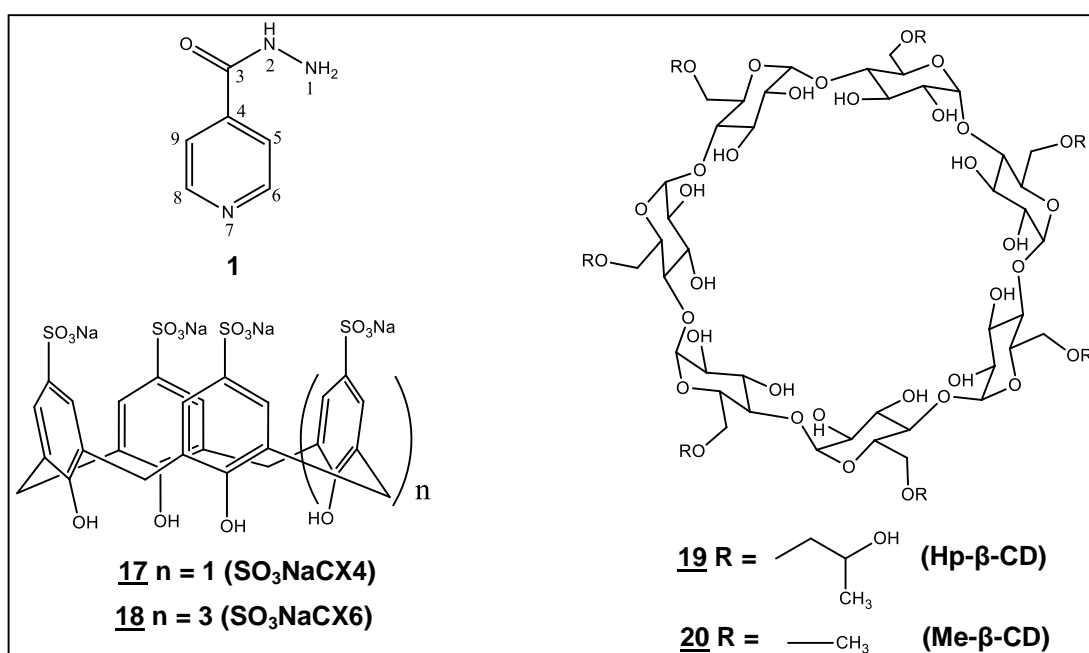


Figura 1.20. Sistemas carreadores (**17** a **20**) e a isoniazida (**1**).

1.3.2. Resultados e discussões

1.3.2.1. Hospedeiros utilizados nos complexos de inclusão

Para os complexos de inclusão que serão apresentados a seguir foram utilizados duas ciclodextrinas (Hp- β -CD (**19**) e Me- β -CD (**20**)) obtidas comercialmente. As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos naturais, isoladas pela primeira vez em 1891 por Villiers como subprodutos da degradação do amido pela bactéria *Bacillus amylobacter* (SZEJTLI, 1996). Mais tarde demonstrou-se que não só bactérias, mas algumas espécies de plantas possuem enzimas do tipo ciclodextrinas glicosiltransferases, responsáveis pela hidrólise parcial do amido e ciclização das unidades de glicopirranose (LOFTSSON, 2001).

As três CDs mais conhecidas são a alfa (α), beta (β) e gama (γ) ciclodextrina (CD), constituídas por seis, sete e oito unidades de glicose, respectivamente (Figura 1.21). Estas subunidades apresentam grupos hidroxila primários e secundários em sua estrutura, orientados para o exterior da molécula, o que confere a superfície exterior um caráter hidrofílico, enquanto a cavidade interior é hidrofóbica.

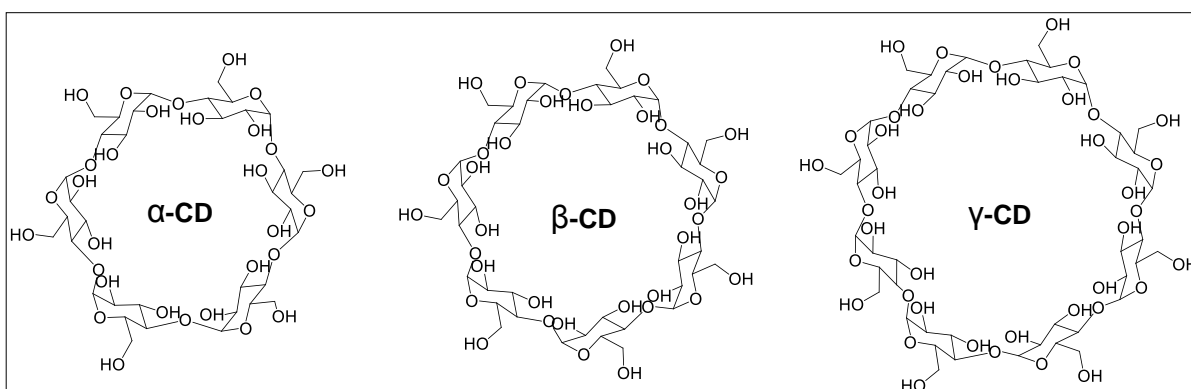
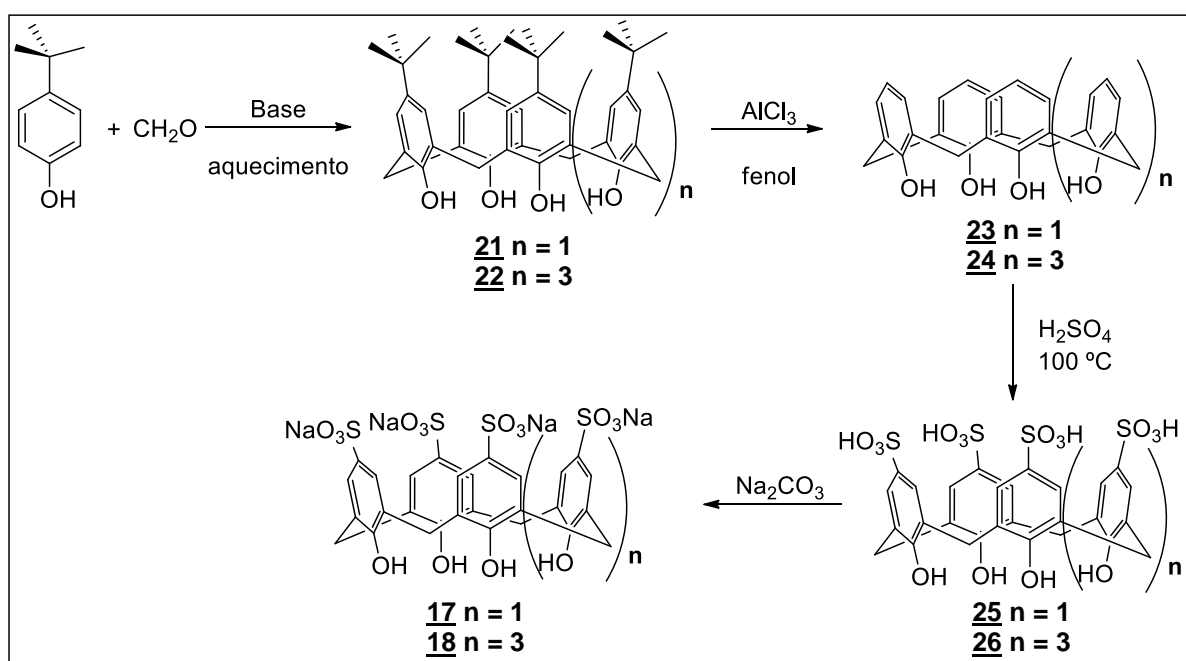


Figura 1.21. Estrutura geral das ciclodextrinas.

Foram utilizados também como hospedeiros dois derivados de calix[*n*]arenos (SO_3NaCX_4 (**17**) e SO_3NaCX_6 (**18**)) disponíveis no laboratório do professor Sérgio. Os calix[*n*]arenos constituem uma importante classe de compostos do ponto de vista da *Química Supramolecular* (DE FATIMA, 2009). Eles são preparados a partir da condensação do *p*-*tert*-butilfenol com formaldeído ou enxofre na presença de uma base com temperatura e solventes apropriados, fornecendo de maneira seletiva macrociclos de quatro, seis ou oito unidades fenólicas (GUSTSCHE, 1989; CASNATI, 2004; IQBAL, 1986). Tais compostos apresentam uma química distinta

dos fenóis *para*-substituídos, o que permite modificações estruturais aparentemente de difícil obtenção. Como consequência, o número de derivados de calix[*n*]arenos, de longe, excede o de outras classes de sistemas hospedeiros.

Os derivados de calix[*n*]arenos **17** e **18** foram sintetizados pelo tratamento de *p*-*tert*-butilfenol e formaldeído na presença de NaOH ou KOH em éter difenílico ou xileno para fornecer os *p*-*tert*-butilcalix[*n*]arenos (**21** e **22**). Os calix[*n*]arenos (**23** e **24**) foram obtidos, respectivamente, a partir do tratamento dos *p*-*tert*-butilcalix[*n*]arenos (**21** e **22**) com cloreto de alumínio (AlCl₃) e fenol em tolueno. Em seguida, os calix[*n*]arenos **23** e **24** foram tratados com ácido sulfúrico concentrado sob aquecimento para fornecer os ácidos *p*-sulfônicos calix[*n*]arenos **25** e **26**. Para a obtenção dos respectivos sais de sódio **17** e **18**, os derivados **25** e **26** foram tratados com carbonato de sódio (Esquema 1.9) (GUSTSCHE, 1989; CASNATI, 2004).



Esquema 1.9. Procedimento para obtenção dos hospedeiros **17** e **18**.

1.3.2.2. Análise da variação dos deslocamentos químicos de RMN de ¹H dos complexos 1/17, 1/18, 1/19 e 1/20

A ressonância magnética nuclear é um dos principais métodos não só para elucidação estrutural de compostos orgânicos e inorgânicos como também para estudo dos compostos do tipo hóspede-hospedeiro. Esta técnica permite a

caracterização tanto em solução quanto em estado sólido (LOFTSSON, 1993; SCHEIDER, 1998).

O processo de inclusão de um fármaco na cavidade de ciclodextrinas e calixarenos modifica o ambiente químico e magnético dos núcleos envolvidos levando a um deslocamento químico destes sinais, o qual permite extrair um grande volume de informações a partir da análise de seus espectros. As variações nos espectros de RMN em alguns casos são limitadas a décimos de ppm, uma vez que durante a formação de um composto de inclusão são observadas apenas interações entre hóspede e hospedeiro sem a formação de qualquer ligação covalente (PIRES, 2011).

Basicamente as ciclodextrinas possuem seis hidrogênios que podem ser analisados por RMN de H^1 (Figura 1.22):

- ✓ Superfície externa: H-1, H-2 e H4
- ✓ Cavidade: H-3 e H-5
- ✓ Saída estreita da cavidade: H-6

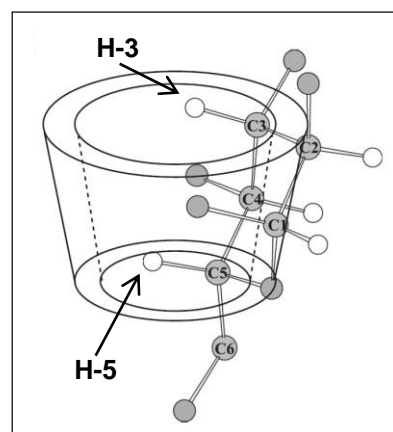


Figura 1.22. Representação esquemática da estrutura tridimensional das ciclodextrinas.

As interações (forças de Van de Waals, ligação de hidrogênio, etc.) que ocorrem na CD que podem ser percebidas por RMN são geralmente em H-3 e H-5 e às vezes em H-6, dependendo das características da molécula hóspede (FIGUEIRAS, 2007; PINTO, 2005).

Diferentemente das ciclodextrinas, os calix[n]arenos tem uma composição diferenciada devido à presença dos anéis aromáticos, fazendo com que os hidrogênios aromáticos de uma molécula hóspede sofram interações eletrostáticas do tipo π - π face-face (Figura 1.23a) e principalmente extremidade-face (Figura 1.23b).

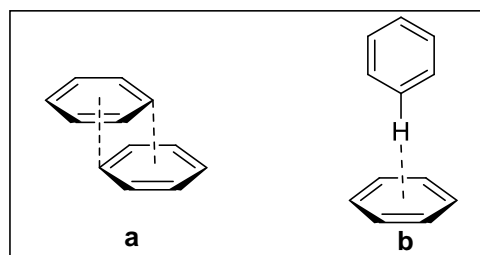


Figura 1.23. a) Orientação face-face. b) Orientação extremidade-face.

Os complexos analisados nesta parte do trabalho foram obtidos através da mistura equimolar dos hospedeiros $\text{SO}_3\text{NaCX4}$ **17**, $\text{SO}_3\text{NaCX6}$ **18**, Hp- β -CD **19** e a Me- β -CD **20** (10 mmol L^{-1}) com o hóspede isoniazida **1** (10 mmol L^{-1}) em $0,6 \text{ mL}$ de D_2O (Figura 1.24).

Hóspede	+	Hospedeiro	$\xrightarrow{\text{D}_2\text{O}}$	Complexo de inclusão
INH (1)		$\text{SO}_3\text{NaCX4}$ (17)		INH/ $\text{SO}_3\text{NaCX4}$ (1/17)
		$\text{SO}_3\text{NaCX6}$ (18)		INH/ $\text{SO}_3\text{NaCX6}$ (1/18)
		HP- β -CD (19)		INH/ HP- β -CD (1/19)
		Me- β -CD (20)		INH/ Me- β -CD (1/20)

Figura 1.24. Esquema de formação dos complexos de inclusão.

Através dos espectros de RMN de ^1H observou-se as primeiras evidências da formação dos complexos de inclusão entre a isoniazida **1** com os hospedeiros **17**, **18**, **19** e **20**. Estas observações foram possíveis pelas modificações nos deslocamentos químicos dos hidrogênios dos sistemas hóspede-hospedeiro.

Iniciaremos esta análise pelos complexos da isoniazida com os calix[4]arenos (**1/17** e **1/18**) (Figura 1.25), onde foi possível observar um efeito de blindagem mais pronunciado para os hidrogênios aromáticos da isoniazida (**H-5,9** e **H-6,8**) (Figura 1.26 e Tabela 1.3) possivelmente pelas interações do tipo π - π extremidade-face que geralmente ocorre neste tipo de sistema. Estes resultados nos fornecem indícios que a unidade aromática da isoniazida encontra-se no interior da cavidade dos calix[n]areno **17** e **18**.

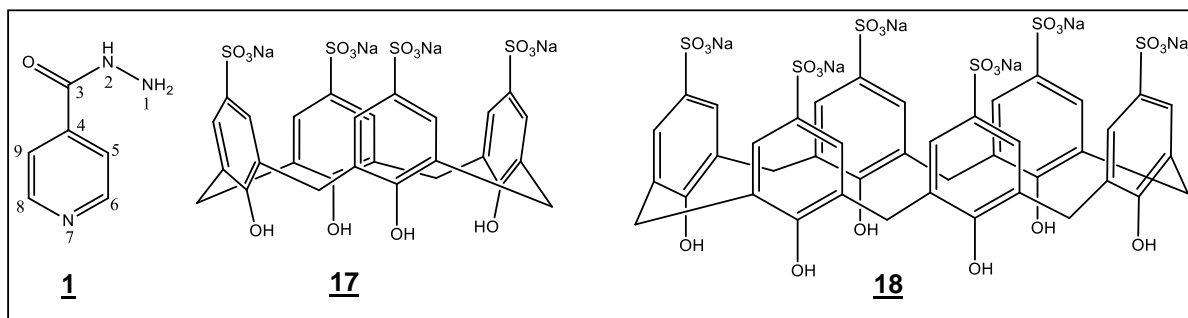


Figura 1.25. Compostos utilizados para obtenção dos complexos **1/17** e **1/18**.

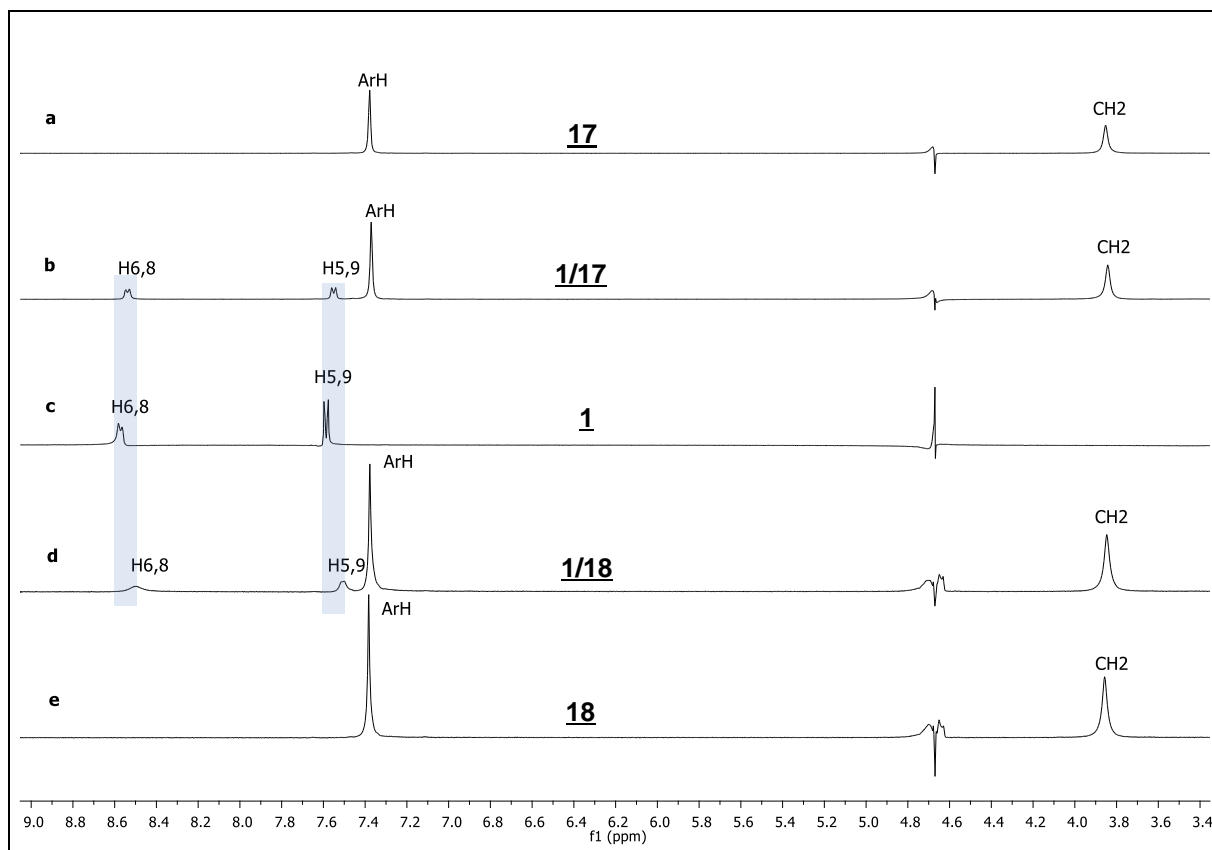


Figura 1.26. Espectro de RMN de ^1H dos compostos: a) SO_3NaCX_4 (**17**); b) $\text{INH}/\text{SO}_3\text{NaCX}_4$ (**1/17**); c) isoniazida (**1**); d) $\text{INH}/\text{SO}_3\text{NaCX}_6$ (**1/18**); e) SO_3NaCX_6 (**18**); (D_2O , 300 MHz).

Tabela 1.3. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e as diferenças de deslocamentos ($\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$) entre os complexos **1/17** e **1/18** e as formas livres.

	1	17	1/17	1/17	18	1/18	1/18
Hidrogênio	δ	δ	Δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$
H-5,9	7,59	-	7,54	0,05	-	7,50	0,09
H-6,8	8,57	-	8,47	0,10	-	8,50	0,07
CH₂	-	3,89	3,84	0,05	3,86	3,85	0,01
Ar-H	-	7,45	7,37	0,08	7,38	7,37	0,01

Os indícios da formação dos complexos entre a isoniazida e as ciclodextrinas (**1/19** e **1/20**) (Figura 1.27) podem ser verificadas através dos espectros de RMN de ^1H (Figura 1.28 e Tabela 1.4). Embora as variações dos deslocamentos químicos entre os hidrogênios dos complexos (**H-5,9** e **H-6,8** da isoniazida e **H-3** e **H-5** das ciclodextrinas) e a sua forma livre tenha sido pequena, os valores encontrados estão de acordo com trabalhos descritos na literatura (PIRES, 2011).

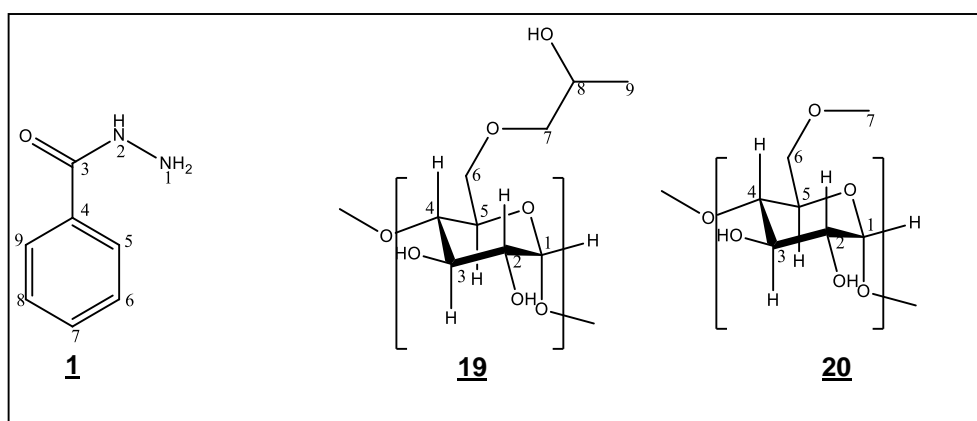


Figura 1.27. Estrutura dos compostos utilizados para obtenção dos complexos **1/19** e **1/20**.

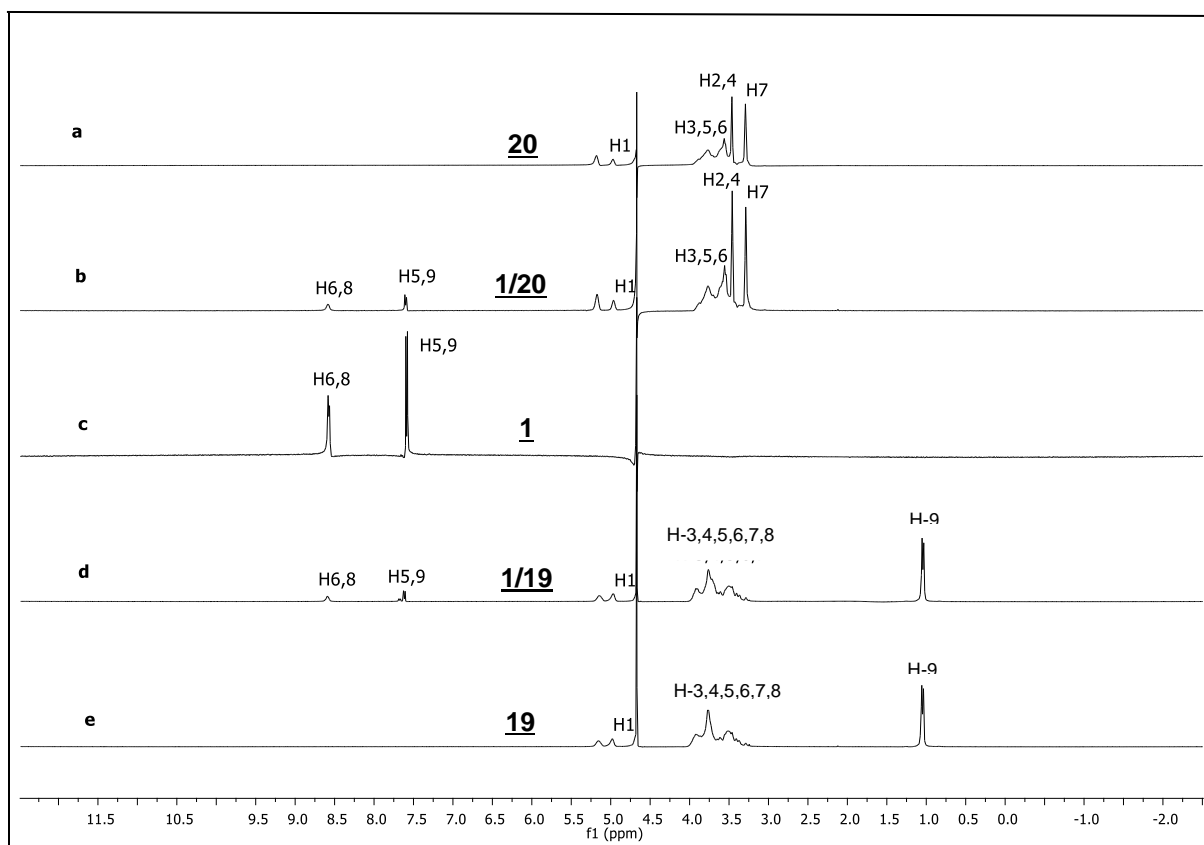


Figura 1.28. Espectro de RMN de ^1H dos compostos: a) Me- β -CD (**20**); b) INH/ Me- β -CD (**1/20**); c) isoniazida (**1**); d) HP- β -CD (**1/19**); e) HP- β -CD (**19**) (D_2O , 300 MHz).

Tabela 1.4. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e as diferenças de deslocamentos ($\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$) entre os complexos **1/19** e **1/20** e as formas livres.

	1	19	1/19	1/19	20	1/20	1/20
Hidrogênio	δ	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$	δ	δ	$\Delta\delta = \delta_{\text{liv}} - \delta_{\text{comp.}}$
H-5,9	7,59	-	7,62	-0,03	-	7,60	-0,01
H-6,8	8,57	-	8,58	-0,01	-	7,54	0,03
H-3	-	3,92	3,91	0,01	3,85	3,76	0,09
H-5	-	3,77	3,76	0,01	3,80	3,72	0,08

1.3.2.3. Determinação da estequiometria

Uma metodologia muito utilizada para caracterização de complexos supramoleculares é a titulação por RMN. Através desta técnica é possível determinar a estequiometria do complexo de inclusão formado entre um hóspede e um hospedeiro (Figura 1.29).

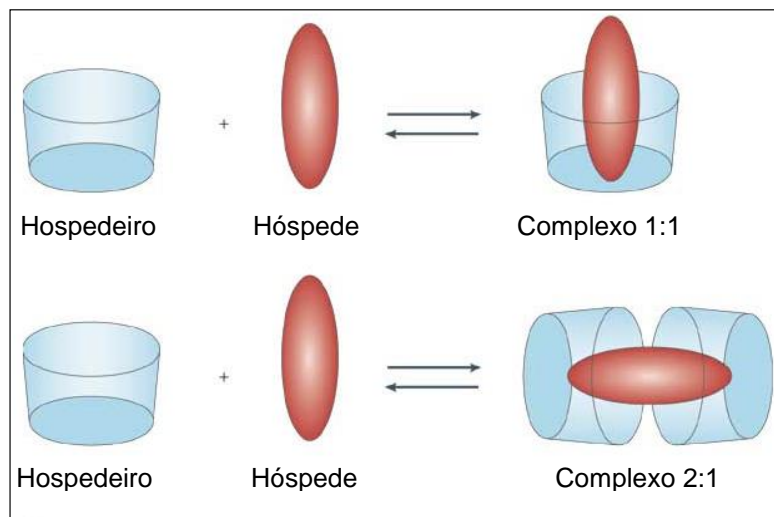


Figura 1.29. Algumas das possibilidades de estequiometria para complexos de inclusão.

Os métodos mais utilizados na determinação da estequiometria de complexação são:

a) variação contínua de um dos componentes (Figura 1.30a) (BOSTSI, 1997).

b) variação contínua de ambos os componentes (método Job) (Figura 1.30b) (DJEDAINI, 1990).

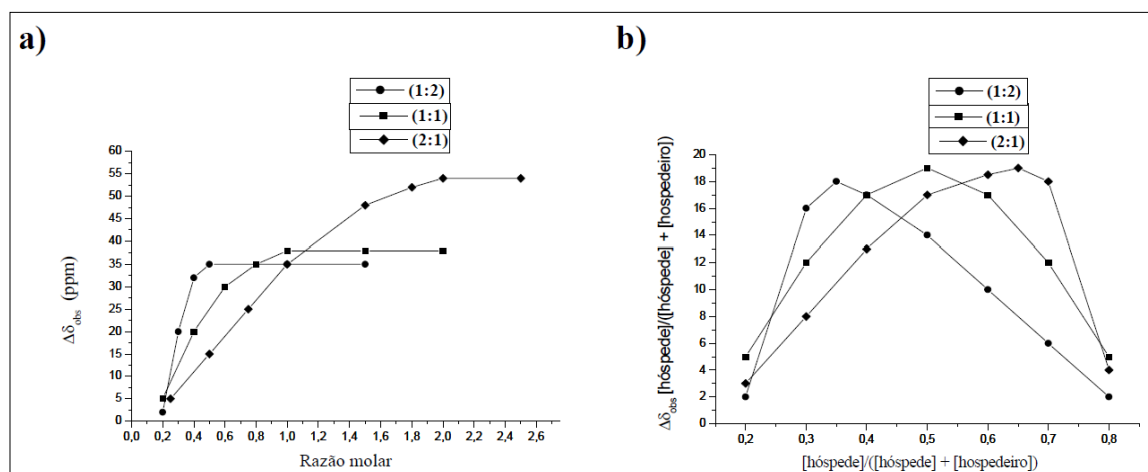


Figura 1.30. Titulação por RMN de ^1H : a) método com variação contínua de um dos componentes b) método Job.

O primeiro método consiste em observar a variação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios do hospedeiro em soluções distintas perante a variação da

razão molar do hóspede em relação ao hospedeiro. O ponto estequiométrico é atingido quando $\Delta\delta_{\text{obs}}$ permanece constante, de forma análoga à titulação de pH, enquanto que no método Job a variação da razão molar ocorre em ambos os componentes e o ponto estequiométrico é obtido quando o $\Delta\delta_{\text{obs}}$ atinge ponto máximo.

Neste trabalho foi utilizado o método Job para determinar a estequiometria dos complexos formados, assim, as soluções a serem tituladas foram preparadas a partir de soluções estoques dos hospedeiros (calixarenos e ciclodextrinas) (10 mmol L^{-1}) e da isoniazida (10 mmol L^{-1}) em água deuterada, sendo elas diluídas através da variação contínua das espécies, de tal forma que a soma das concentrações das mesmas se mantivesse constante ($[\text{Hospedeiro}] + [\text{isoniazida}] = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) (Tabela 1.5). As soluções preparadas ficaram em repouso por 24 horas, em seguida realizou-se as medidas de RMN de ^1H .

Para obter informações sobre a estequiometria da INH com a cavidade dos hospedeiros foi observado o efeito da presença dos hospedeiros no deslocamento químico dos sinais da INH através de espectros simples de RMN de ^1H em diferentes razões molares. É possível observar pelos espectros de RMN de ^1H (Figura 1.31) o deslocamento dos sinais dos hidrogênios relativos à INH. Este pequeno deslocamento é esperado conforme a literatura (FERNANDES, 2007; FERNANDES, 2005), pois a formação de complexos de inclusão com pequenas moléculas causa um efeito sobre o hóspede.

Tabela 1.5. Diluições para preparação das soluções para titulação.

Teste	Razão molar (mol L^{-1})	Volume (hospedeiro)	Volume (isoniazida)
1	12:3	0,48	0,12
2	10,5:4,5	0,42	0,18
3	9:6	0,36	0,24
4	7,5:7,5	0,30	0,30
5	6:9	0,24	0,36
6	4,5:10,5	0,18	0,42
7	3:12	0,12	0,48

Os sinais referentes aos hidrogênios H-5 e H-9 da isoniazida foram escolhidos para esse estudo, pois são sinais que não apresentaram sobreposições e possuem melhor definição. Como ilustração será mostrado somente a expansão dos espectros referentes ao complexo **1/18** (INH/SO₃NaCX6) (Figura 1.31), mas os resultados para todos os complexos estão expostos na tabela 1.6.

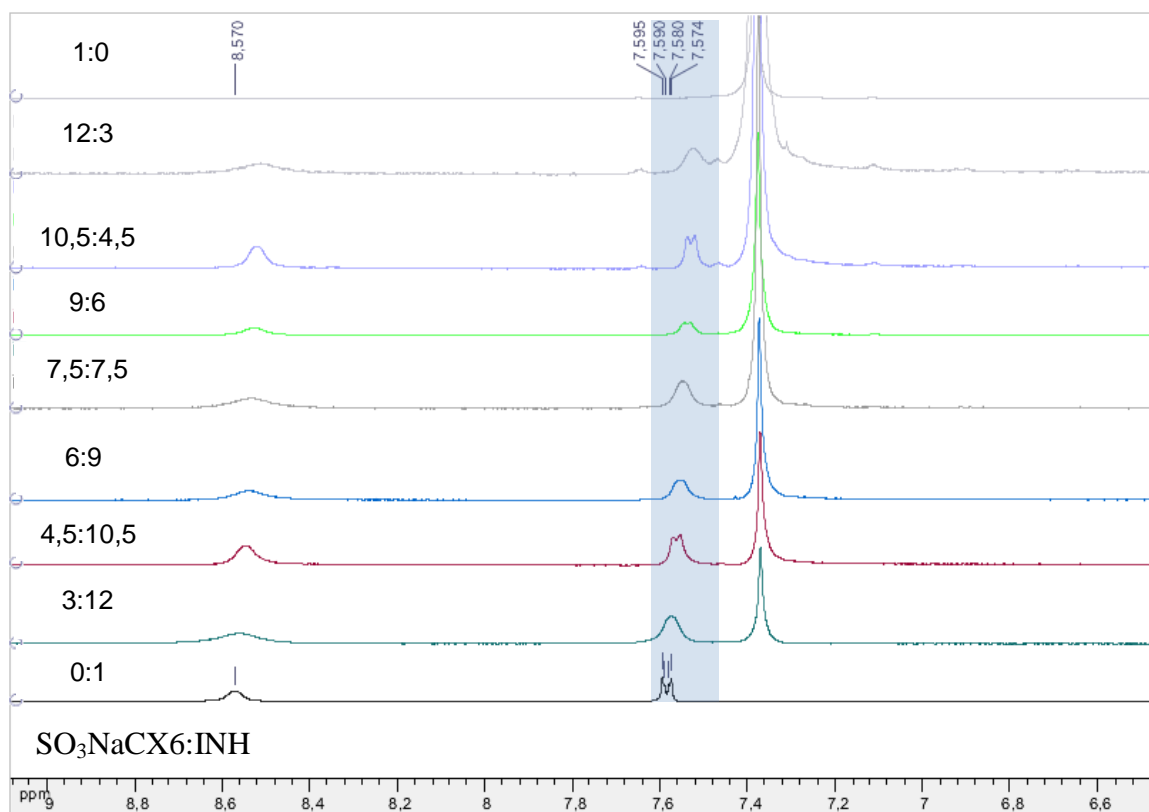


Figura 1.31. Espectros de RMN de ¹H das soluções do SO₃NaCX6 e INH em diferentes concentrações (D₂O, 300 MHz).

Tabela 1.6. Valores de deslocamento químico de RMN de ^1H dos complexos e as diferenças de deslocamento químico ($\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexada}}$).

Razão Molar (Hospedeiros:INH)	$\text{SO}_3\text{NaCX4}$		$\text{SO}_3\text{NaCX6}$		Me- β -CD		Hp- β -CD	
	$\delta_{\text{complexado}}$	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexado}}$	$\delta_{\text{complexado}}$	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexado}}$	$\delta_{\text{complexado}}$	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexado}}$	$\delta_{\text{complexado}}$	$\Delta\delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexado}}$
12:3	7,5415	0,0465	7,5160	0,0720	7,6005	-0,0125	7,6010	-0,0130
10,5:4,5	7,552	0,0360	7,5265	0,0615	7,5995	-0,0115	7,5990	-0,0110
9:6	7,559	0,0290	7,5345	0,0535	7,597	-0,0090	7,5980	-0,0100
7,5:7,5	7,564	0,0240	7,5420	0,0460	7,5955	-0,0075	7,5960	-0,0080
6:9	7,568	0,0200	7,5510	0,0370	7,5940	-0,0065	7,5945	-0,0065
4,5:10,5	7,5725	0,0155	7,5590	0,0290	7,5930	-0,0050	7,5930	-0,0050
3:12	7,577	0,0110	7,5700	0,0180	7,5915	-0,0035	7,5910	-0,0030

A interpretação dos dados expostos na tabela 1.16 foi realizada pela construção dos gráficos: $(\Delta\delta_{\text{obs}} \cdot r)$ em função de r

Onde: $\Delta\delta_{\text{obs}}$ = variação do deslocamento ($\delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexado}}$)

$$r = [\text{INH}]/([\text{INH}] + [\text{Ciclodextrina ou calixareno}])$$

Para um dado valor de r , a concentração do complexo INH:hospedeiro atingirá um máximo correspondente ao ponto onde a derivada $d[\text{INH:hospedeiro}]/dr = 0$. Isto poderá ser observado nos gráficos de $\Delta\delta_{\text{obs}}r$ vs r , quando sua derivada for igual a zero, ou seja, onde $\Delta\delta_{\text{obs}}$ atinge o valor máximo.

Pela análise dos gráficos (Figura 1.32) sugere-se que a estequiometria dos complexos seja de 1:1, apesar dos gráficos 1.32a e 1.32d apresentarem pontos similares aos pontos estequiométricos (1:1). Este fato pode ser explicado pela pequena variação que cada sinal apresenta no decorrer da titulação, embora outros equilíbrios em solução possam coexistir.

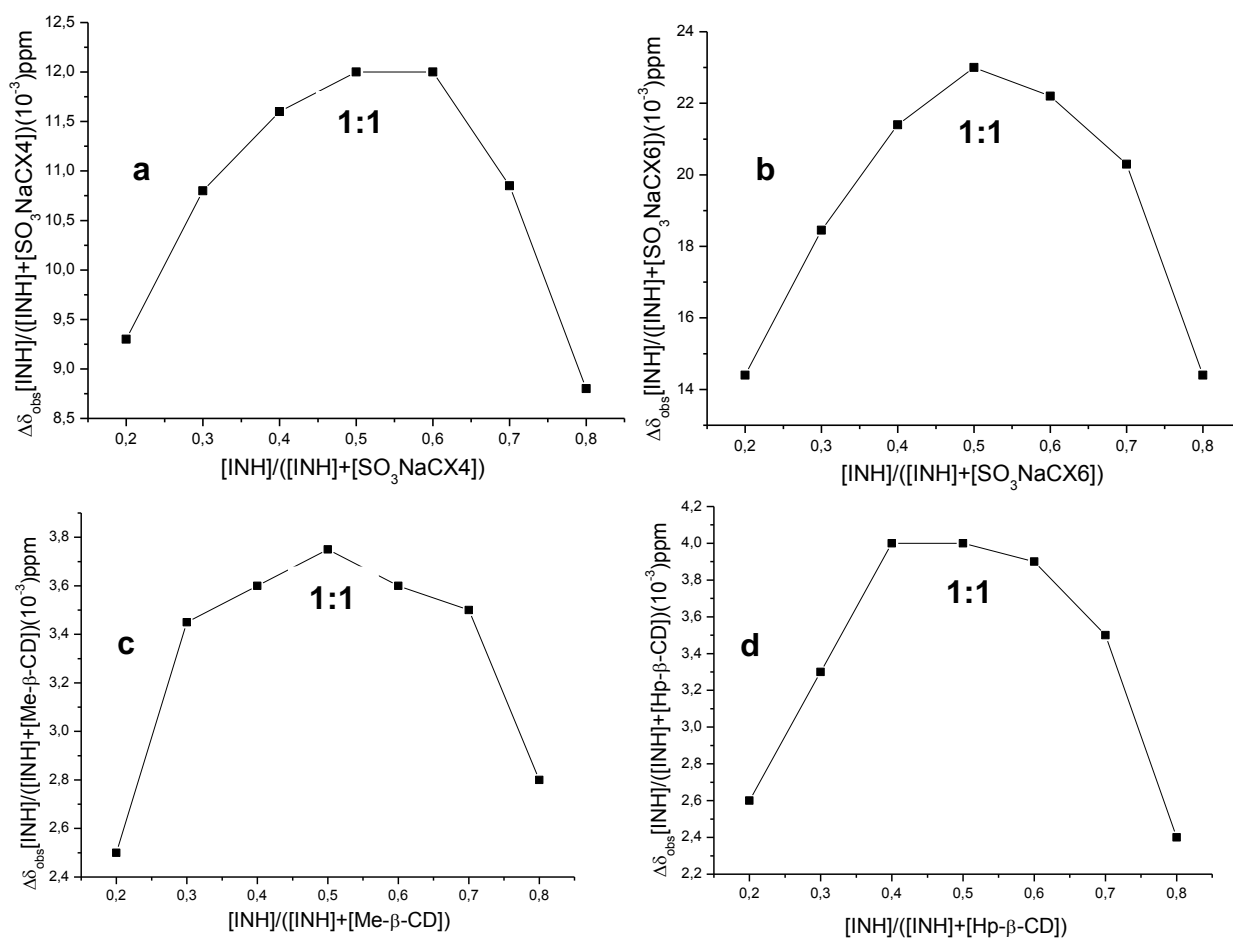


Figura 1.32. Gráficos das titulações determinados por meio do método de Job para os complexos. (a) $\text{SO}_3\text{NaCX}_4:\text{INH}$ (b) $\text{SO}_3\text{NaCX}_6:\text{INH}$ (c) $\text{Me-}\beta\text{-CD}:\text{INH}$ (d) $\text{Hp-}\beta\text{-CD}:\text{INH}$.

1.3.2.4. Preparo, caracterização e avaliação anti-TB dos complexos e das misturas físicas

Em solução aquosa os complexos de inclusão encontram-se em um equilíbrio dinâmico entre as formas livre e complexada, no qual a molécula-hóspede se associa e dissocia constantemente da molécula-hospedeira (Figuras 1.33) (STELLA, 1997).

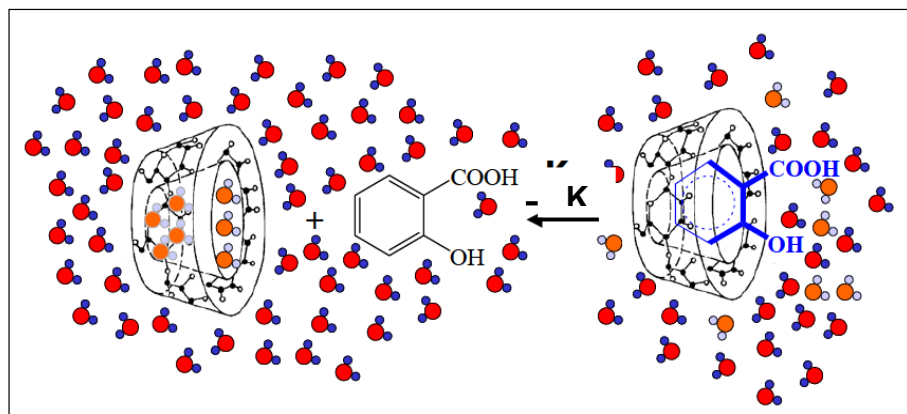


Figura 1.33. Esquema de formação do complexo de Inclusão entre o ácido salicílico e uma molécula hospedeira (DE MACEDO, 2012).

Mudanças de temperatura podem afetar a complexação entre o hóspede e o hospedeiro, na maioria dos casos aumentar a temperatura diminui o valor da constante de associação aparente, e este efeito foi relatado como sendo um possível resultado da redução das forças de interação, tais como as Forças de Van der Waals e as forças hidrofóbicas (FIELDING, 2000; SCHNEIDER, 1998).

Existem várias técnicas para obtenção dos complexos de inclusão no estado sólido, mas em alguns casos é necessária a utilização de aquecimento. Assim, no intuito de preservar a integridade, estrutura e atividades biológica foi escolhido o método de liofilização, que consiste na eliminação do solvente através de um prévio congelamento e posterior secagem a pressões reduzidas (CAO, 2005; RODRIGUEZ, 2006; VENTURA, 2005).

Assim, para obtenção dos complexos liofilizados, quantidades equimolares dos hospedeiros e da isonizada foram pesados e dispersos em água destilada. As dispersões foram misturadas em agitador magnético por 48 horas e em seguida as soluções resultantes foram congeladas em N_2 e levadas a sublimação.

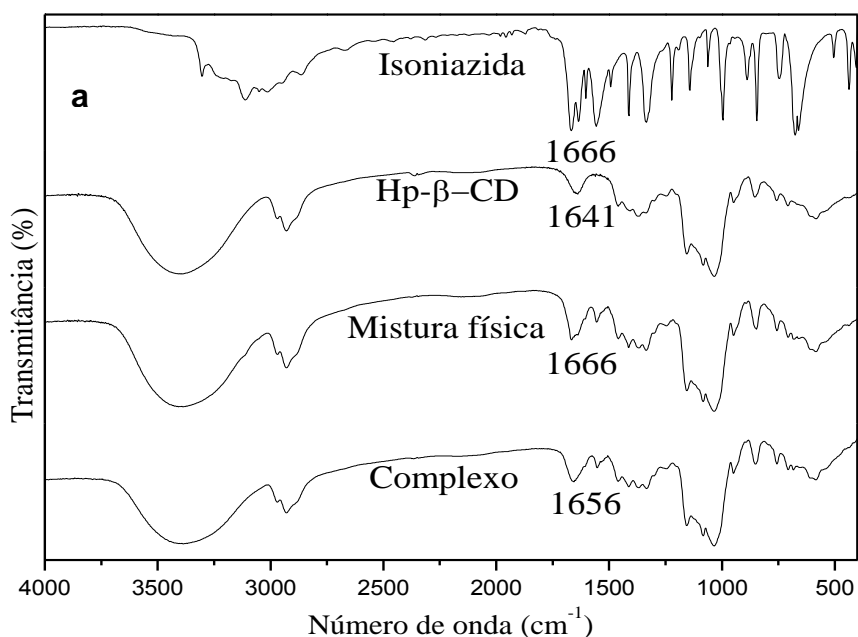
As misturas físicas foram preparadas utilizando-se as mesmas razões molares dos grupos comparados no intuito de servirem como referência para a comparação com os complexos de inclusão liofilizados.

1.3.2.4.1. Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho é uma das metodologias que são frequentemente utilizadas na caracterização de complexos de inclusão no estado sólido por serem determinações rápidas e precisas, ainda que esta técnica apresente limitações com relação às informações fornecidas (CUNHA, 2007; LYRA, 2010). Quando ocorre a complexação, as bandas de absorção podem mudar de posição, diminuir a intensidade ou até mesmo desaparecer (CORTI, 2007).

Em função das fracas interações envolvidas na formação dos complexos de inclusão, as mudanças nas bandas correspondentes aos grupos do hóspede ou do hospedeiro são bastante sutis. Contudo, esta técnica apresenta bons resultados quando a molécula hóspede possui bandas de absorção características, como é o caso da banda referente a carboníla (C=O) da isoniazida, em regiões distintas das moléculas hospedeiras (CABRAL, 1994).

Comparando os espectro do fármaco livre, hospedeiro, mistura física e o complexo de inclusão liofilizado para os complexos derivados das ciclodextrinas (Hp- β -CD e Me- β -CD) (Figura 1.34a-b) e os derivados dos calixarenos (SO₃NaCX4 e SO₃NaCX6) (Figura 1.35a-b), percebe-se que os complexos com as ciclodextrinas apresentaram um pequeno deslocamento das bandas próximos da região de 1655-1656 cm⁻¹ associadas aos estiramentos das ligações C=O da carboníla, quando comparado com o material de partida e a mistura física (Figura 1.34a-b).



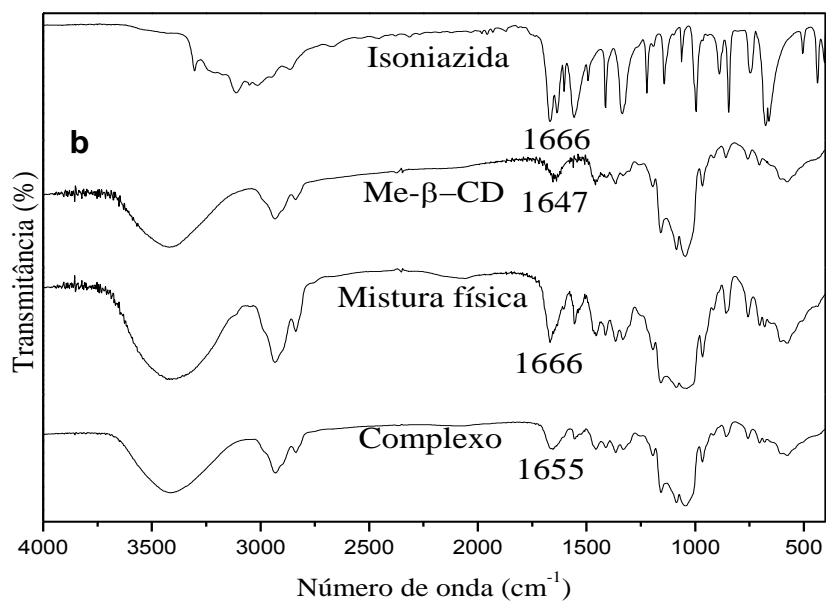
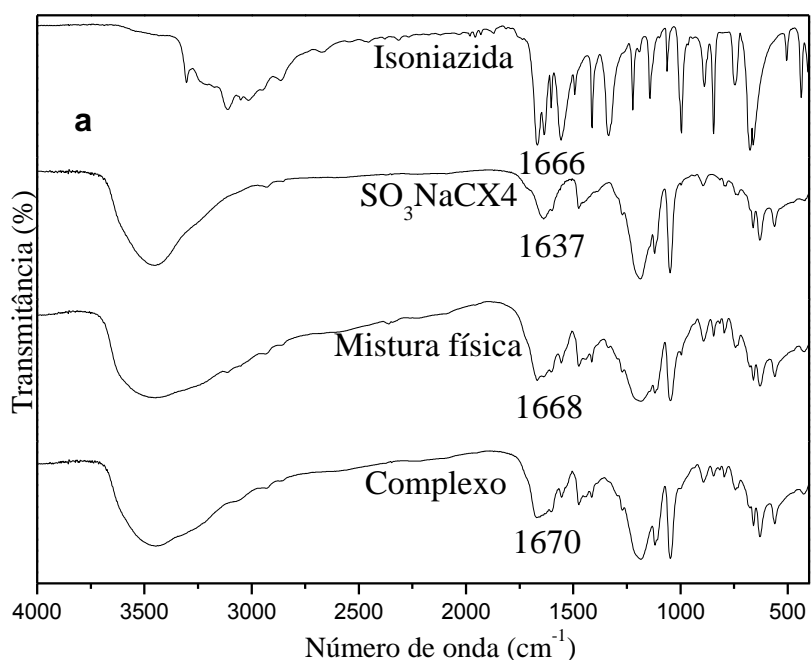


Figura 1.34. Espectro no infravermelho da isoniazida, hospedeiros, mistura física e do complexo liofilizado. (a) Hp-β-CD (b) Me-β-CD.

As mesmas diferenças não foram observadas entre os espectros envolvendo os calixarenos (Figura 1.35). Uma explicação seria o fato da presença de uma banda próxima a essa região referente as ligações S=O dos grupos sulfonatos dos derivados dos calixarenos. Uma outra observação foi que os espectros no IV entre a mistura física e os complexos de inclusão (SO₃NaCX4 e SO₃NaCX6) demonstraram grandes semelhanças, indicando a possibilidade de ter ocorrido a formação do complexo no processo de obtenção da mistura física, pois geralmente este corresponde à sobreposição dos espectros das moléculas hóspede e hospedeira.



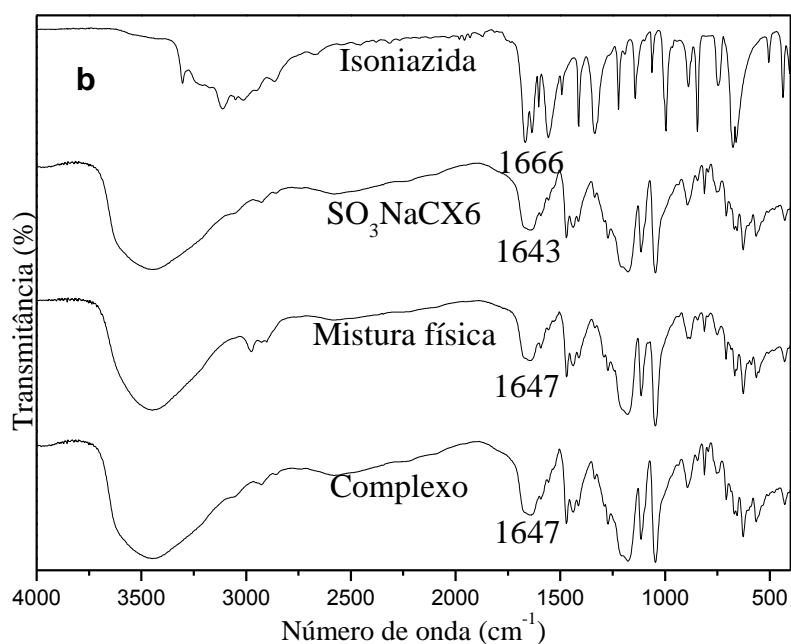


Figura 1.35. Espectros no infravermelho da isoniazida, hospedeiros, mistura física e do complexo liofilizado. (a) $\text{SO}_3\text{NaCX4}$ (b) $\text{SO}_3\text{NaCX6}$.

1.3.2.4.2. Estudo termoanalítico por análise de calorimetria de varredura (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é outra metodologia largamente empregada no estudo de complexos de inclusão no estado sólido. Isso pode ser observado nos inúmeros trabalhos publicados recentemente (KAROYO, 2011; ALMEIDA, 2011; DE LISI, 2011).

A formação de um composto supramolecular pode ser atribuído pela diferença nos perfis das curvas de DSC entre as misturas físicas e os complexos de inclusão. A formação do complexo pode ser caracterizada por deslocamentos ou desaparecimentos de eventos relacionados à fusão ou a decomposição, porém quando não ocorre a interação entre o hóspede e o hospedeiro as curvas são apresentadas como um somatório de ambos os componentes (FERNANDES, 2002).

Neste sentido, foi utilizado a técnica de DSC para complementar a atribuição da formação dos complexos INH/hospedeiros. Para isso foram obtidos curvas de DSC da INH, hospedeiro, mistura física e do complexo liofilizado para os 4 hospedeiros utilizados neste trabalho (Figura 1.36 (a) Hp- β -CD; (b) Me- β -CD; (c) $\text{SO}_3\text{NaCX4}$ e (d) $\text{SO}_3\text{NaCX6}$).

Com base nas propriedades termodinâmicas das amostras e nas comparações entre as curvas de DSC foi possível atribuir à formação dos complexos. Nas análises realizadas observou-se o desaparecimento do pico referente à fusão da INH nas amostras candidatas a complexo. Sugere-se que esse desaparecimento se deve à ocorrência de interação entre o hóspede e o hospedeiro.

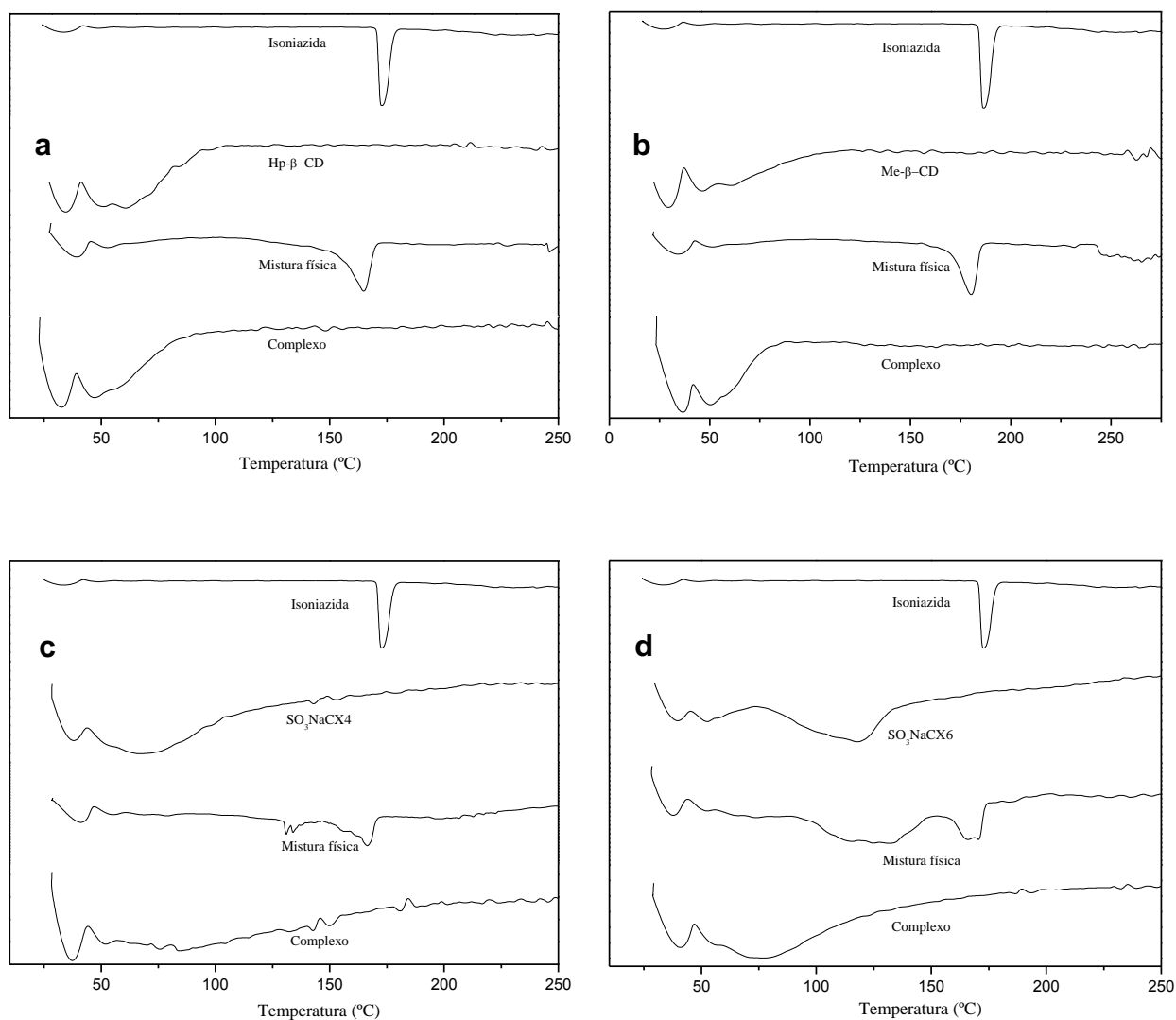


Figura 1.36. Termogramas de calorimetria diferencial de varredura da isoniazida, hospedeiros, mistura física e do complexo liofilizado. (a) Hp-β-CD (b) Me-β-CD (c) SO₃NaCX4 (d) SO₃NaCX6.

1.3.2.4.3. Determinação da estrutura do complexo por NOE

Outra metodologia empregada no estudo de complexos de inclusão é pela análise das interações dipolares homo (^1H - ^1H) ou heteronucleares (^1H - ^{13}C) através do efeito nuclear de Overhauser (NOE). Os experimentos de diferença de NOE,

NOESY 1D ou ROESY 1D aplicados ao estudo de complexos podem revelar uma associação supramolecular.

O experimento ROESY permite a determinação das interações dos hidrogênios do hospedeiro que se encontram em direção ao centro da cavidade com os hidrogênios do hóspede. A informação obtida a partir deste experimento pode dar indícios da estrutura do complexo formado.

Os espectros dos complexos com as ciclodextrinas INH/Hp- β -CD (**1/19**) e INH/Me- β -CD (**1/20**) (Figuras 1.37 e 1.38, respectivamente) mostram os incrementos de *ROE* dos hidrogênios H-3,5 das ciclodextrinas (**19** e **20**) quando a região dos hidrogênios H-5,9 da isoniazida são irradiados, sugerindo que a molécula da isoniazida encontra-se inclusa na cavidade das ciclodextrinas (Figura 1.39).

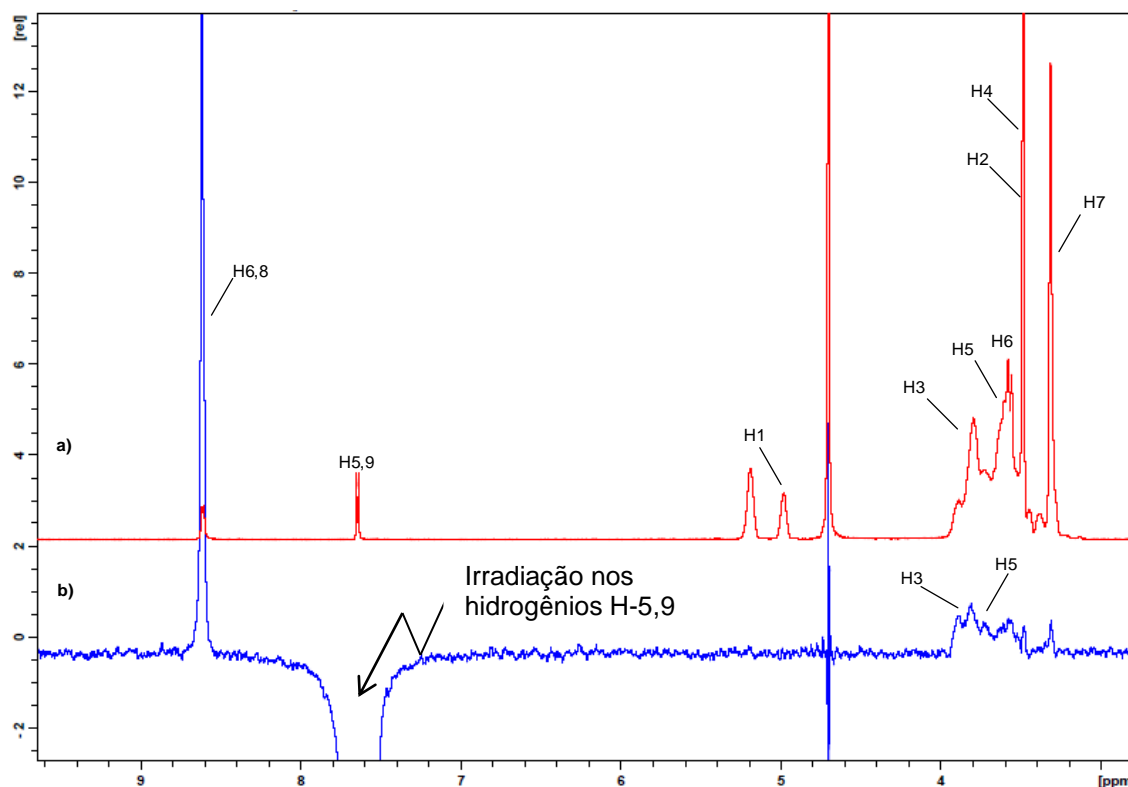


Figura 1.37. Espectros de RMN de ^1H (D_2O , 400 MHz) **a)** complexo isoniazida/Hp- β -CD (**1/19**); **b)** Espectro 1D-ROESY irradiado nos hidrogênios H-5,9 do complexo isoniazida/Hp- β -CD (**1/19**).

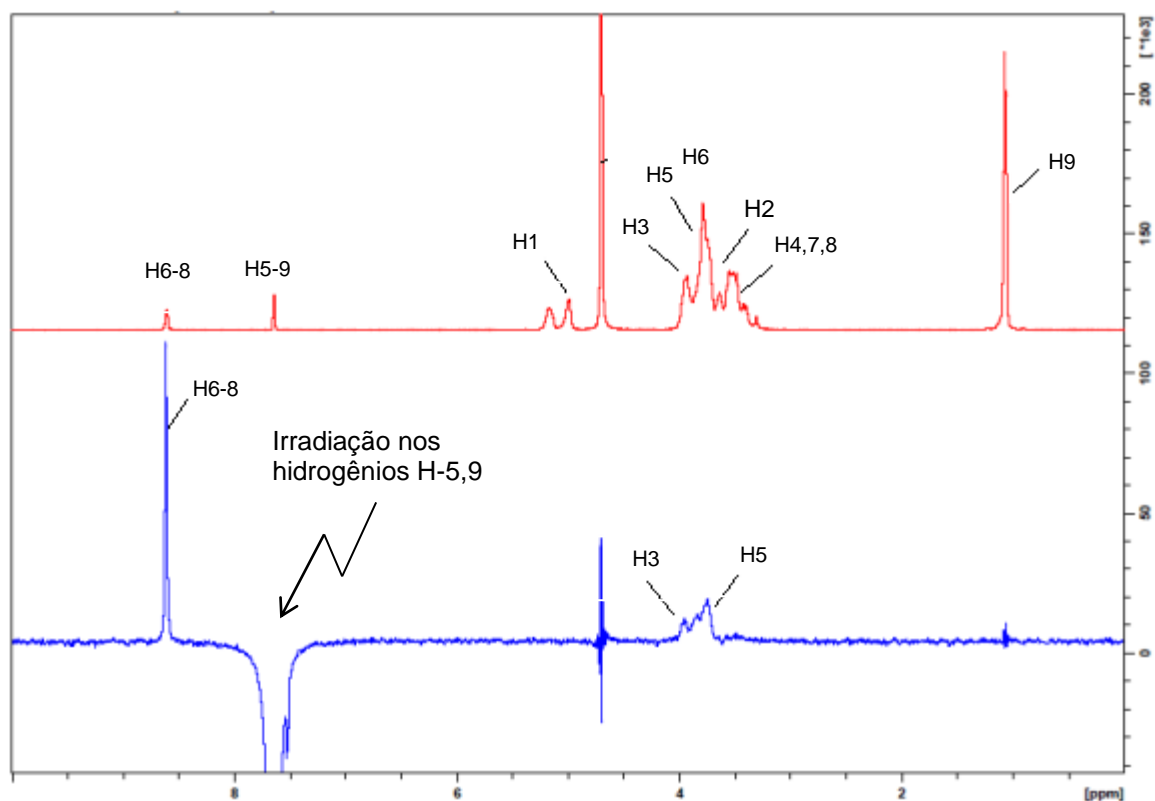


Figura 1.38. Espectros de RMN de ^1H (D_2O , 400 MHz) **a)** complexo isoniazida/Me- β -CD (1/20); **b)** Espectro 1D-ROESY irradiado nos hidrogênios H-5,9 do complexo isoniazida/Me- β -CD (1/20)

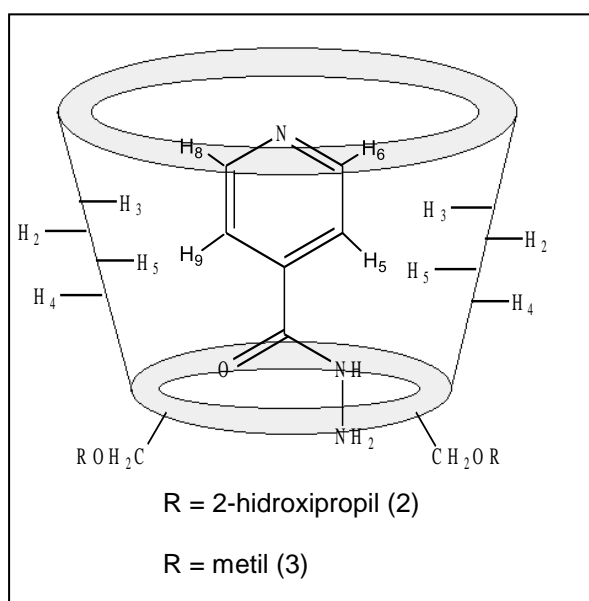


Figura 1.39. Proposta para as topologias dos complexos Isoniazida/ciclodextrinas (1/19 e 1/20).

Para os complexos da isoniazida com os calixarenos (**1/17** e **1/18**) achou-se conveniente realizar a irradiação na região dos hidrogênios H-6,8 da isoniazida (Figura 1.40) devido a proximidade dos hidrogênios H-5,9 da isoniazida com os hidrogênios aromáticos dos calixarenos (H_{ar}). Como pode ser observado, não ocorreu incremento de *ROE* nos hidrogênios (H_{ar} e CH_2) dos calixarenos, possivelmente pelas distâncias entre os núcleos e, ainda, a alta flexibilidade conformacional que os calixarenos possuem (IKEDA, 1997) (quatro conformações para o calix[4]areno e oito para o calix[6]areno) (Figura 1.41).

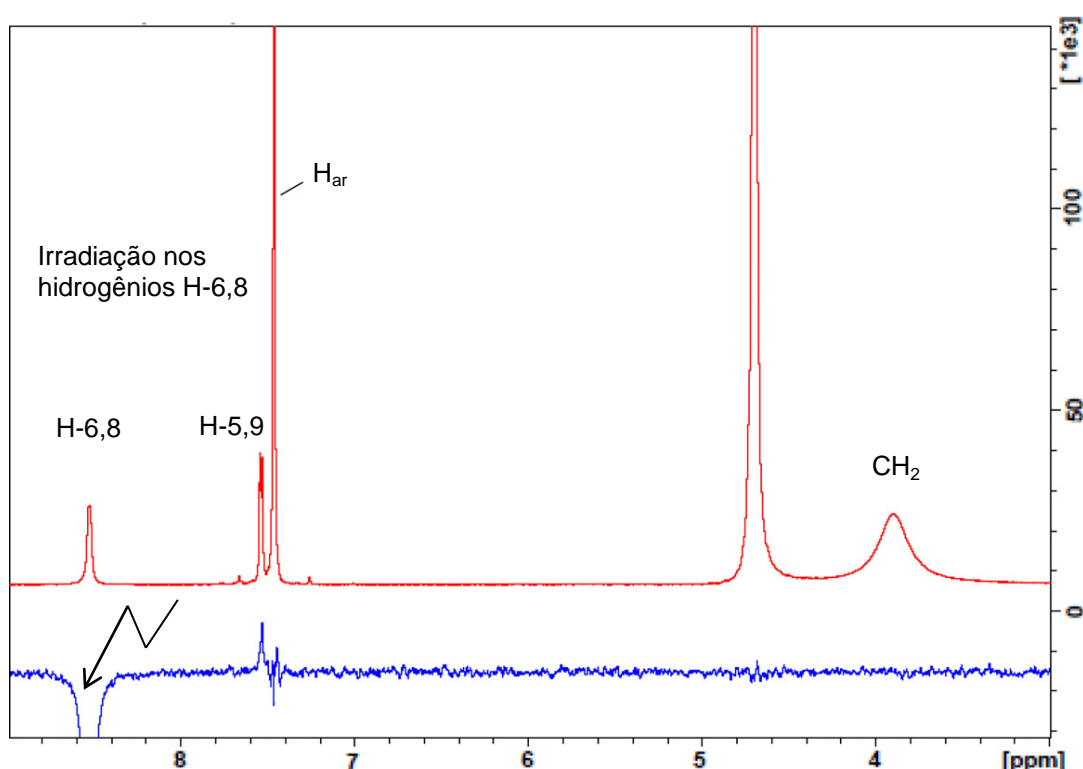


Figura 1.40. Espectros de RMN de 1H (D_2O , 400 MHz) **a**) complexo isoniazida/ SO_3NaCX_4 (**1/17**); **b**) Espectro 1D-ROESY irradiado nos hidrogênios H-6,8 do complexo isoniazida/ SO_3NaCX_4 (**1/17**).

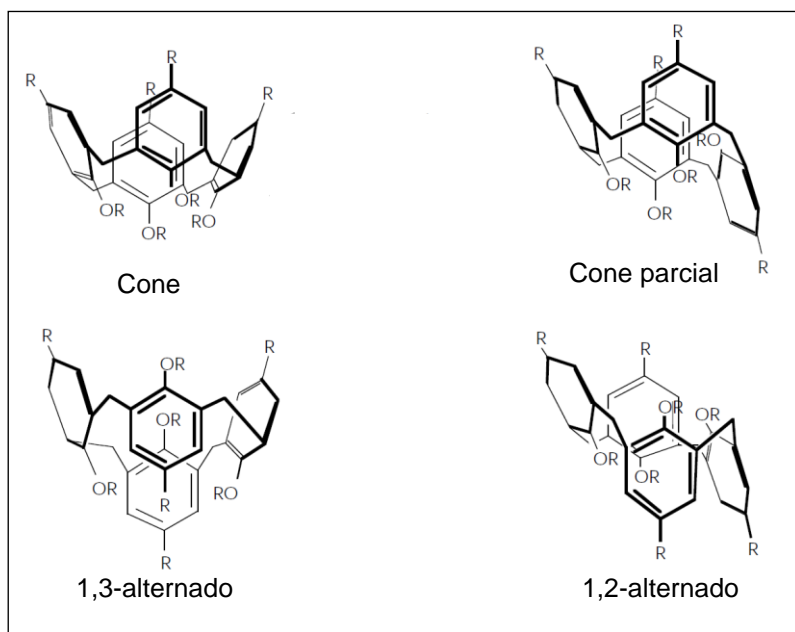


Figura 1.41. Possíveis conformações para o calix[4]areno (VERAVONG, 2000).

Estudos teóricos envolvendo os processos de complexação da isoniazida com os hospedeiros (**17** e **20**) foram desenvolvidos pelo grupo do professor Wagner B. Almeida (UFMG) (DE ASSIS, 2012) no sentido de complementar a caracterização dos complexos de inclusão, bem como fornecer os possíveis arranjos supramoleculares (Figura 1.42).

Apesar de se tratar de estruturas complexas, os dados teóricos obtidos nesses estudos são condizentes com os valores experimentais observados por RMN de ^1H , mostrando que os métodos computacionais podem ser utilizados como suporte para indicar a estrutura desses compostos.

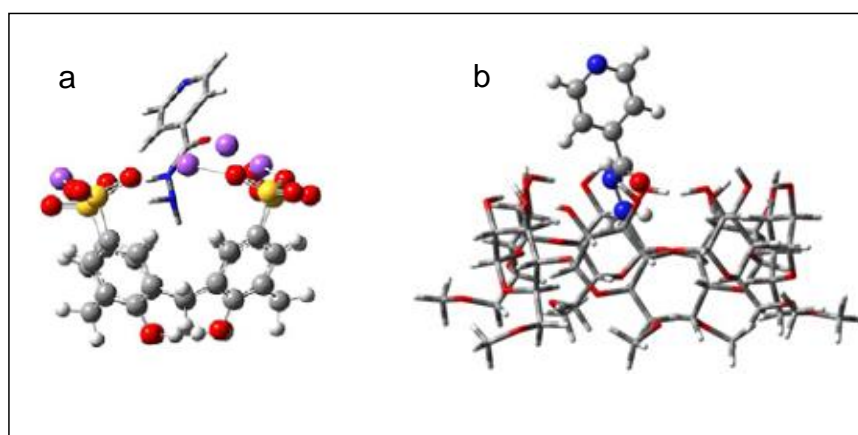


Figura 1.42. Possíveis arranjos supramoleculares para os complexos:
a) INH/SO₃NaCX₄ (**1/17**); b) INH/Me- β -CD (**1/20**).

CAPÍTULO 1

Parte III

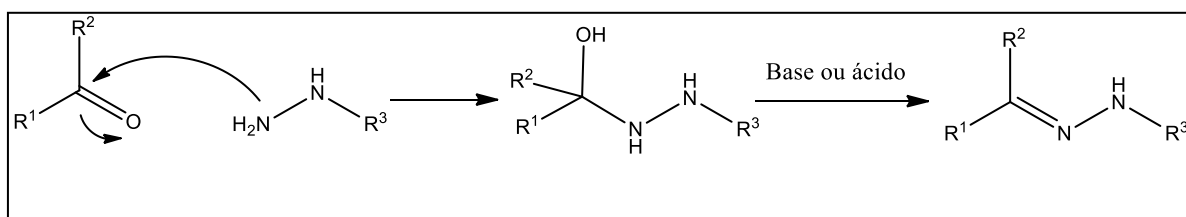
Síntese de hidrazonas derivadas da isoniazida

Parte III

1.4. Síntese de hidrazonas derivadas da isoniazida.

1.4.1. Justificativas e objetivos

As hidrazonas são derivados nitrogenados de aldeídos e cetonas que apresentam dois átomos de nitrogênio interconectados, sendo preparadas por meio de reações de adição nucleofílica a compostos carbonilados, sendo esta reação catalisada por um ácido ou uma base (Esquema 1.10).



Esquema 1.10. Condição para obtenção de uma hidrazona.

A função hidrazona consiste em um importante grupo farmacofórico, estando presente em inúmeras substâncias bioativas, induzindo principalmente às atividades anti-inflamatória (BARREIRO, 2002), antimicrobiana (ZAHÍNOS, 2008; BHATT, 1984) e antituberculose (OZDEMIR, 2010) (Figura 1.43).

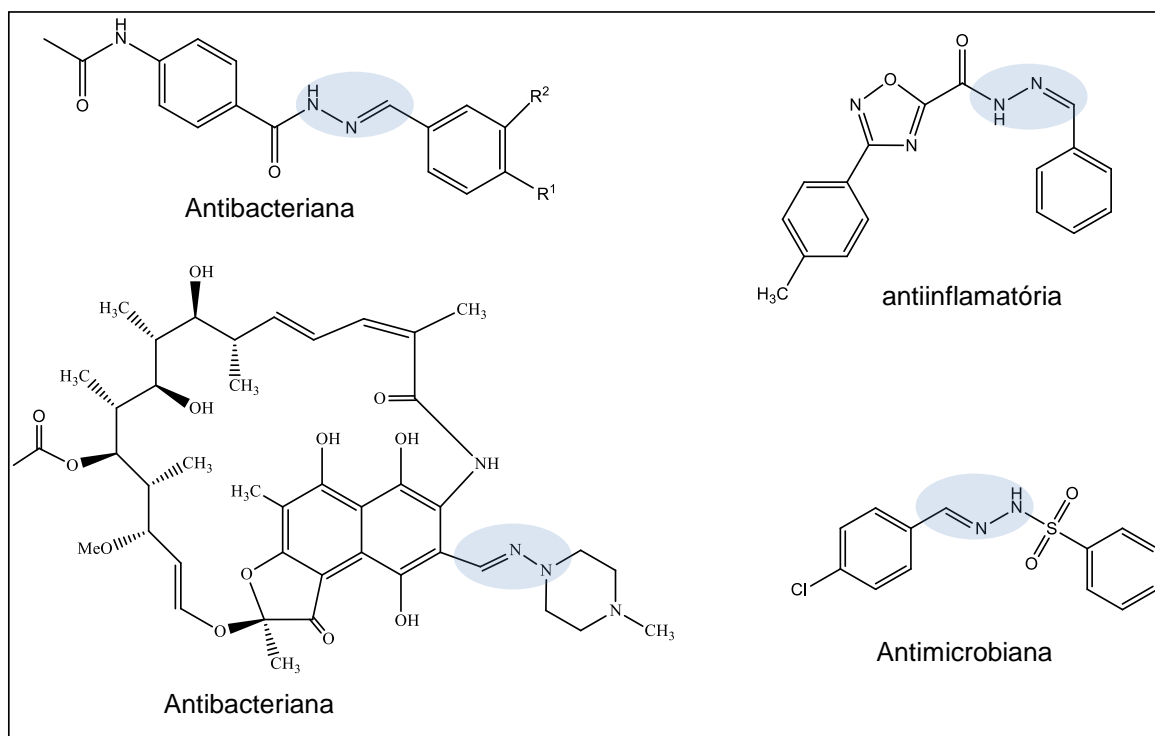


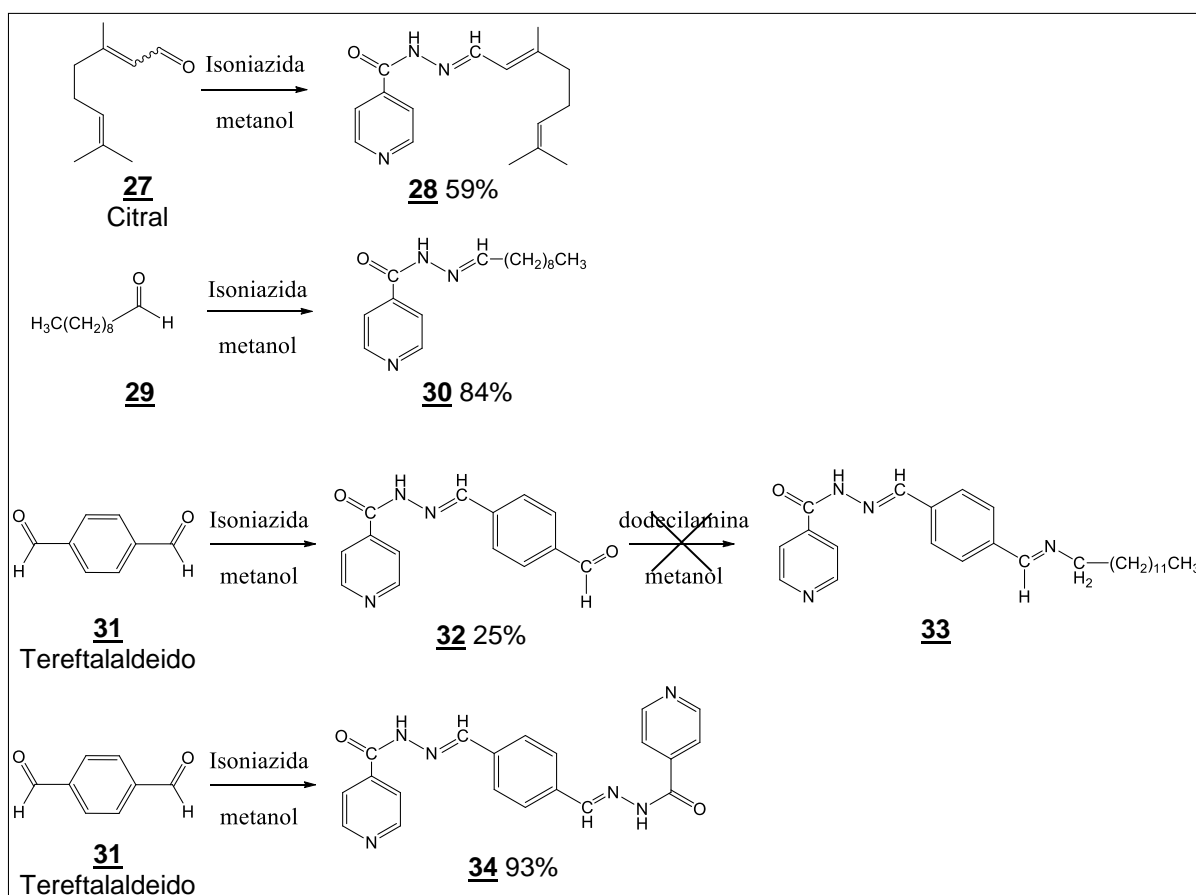
Figura 1.43. Exemplos de substâncias bioativas contendo a função hidrazona.

1.4.2. Resultados e discussões

1.4.2.1. Síntese de hidrazonas lipofílicas pela reação com aldeídos

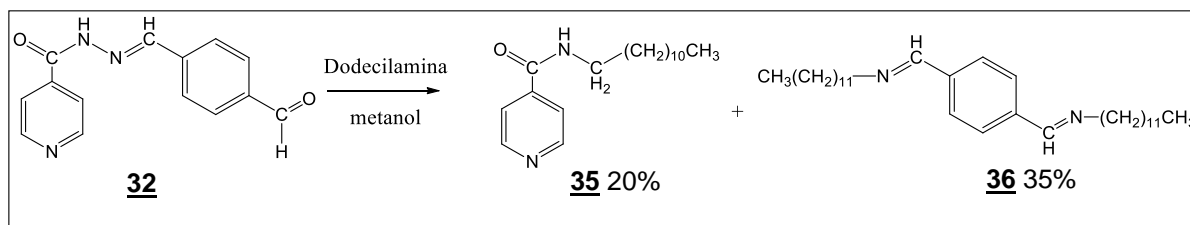
A síntese das hidrazonas (Esquema 1.11) foi realizada pela adição nucleofílica da isoniazida aos aldeídos citral **27** (mistura de neral e geranial), decanal **29** e o tereftaldeído **31** em metanol anidro sob refluxo por 24 h. O composto **34** foi filtrado do meio reacional com 93% de rendimento, enquanto que para obtenção dos compostos **28** (59%) e **30** (80%) o meio reacional foi evaporado e o sólido obtido foi recristalizado em etanol a quente.

A preparação do composto **32** (25%) foi realizada em metanol anidro a 30 °C por 12 h, o qual foi purificado por coluna cromatográfica usando-se como eluente a mistura acetato de etila/metanol. Em seguida, foi realizada a tentativa de obtenção do composto **33** através da reação do composto **32** com a dodecilamina em metanol anidro à temperatura ambiente, mas não foi observada a formação do composto almejado **33**.



Esquema 1.11. Preparação de hidrazonas com cadeia lipofílica saturada ou insaturada.

Através da análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foi possível atribuir a formação dos compostos **35** e **36**, na reação do composto **32** com a dodecilamina (Esquema 1.12).



Esquema 1.12. Formação dos compostos **35** e **36**.

Um dos objetivos desta parte do trabalho era reagir diferentes aminas de cadeia alifática com a função aldeído presente na estrutura do composto **32**, com a intenção de obter derivados que apresentassem um espaçador aromático entre a unidade isoniazida e cadeia alifática, mas como o derivado **32** se mostrou instável não foi possível seguir esta estratégia.

Como os derivados **28**, **30**, **32**, **34**, **35** e **36** possuem estruturas muito semelhantes, será discutido apenas a caracterização dos compostos **28** e **35**.

1.4.2.1.1. Caracterização do (*E*)-*N*'-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ilideno-isonicotinoil-hidrazona **28**

No espectro vibracional na região do infravermelho do composto **28** observa-se uma banda de absorção em 3447 cm^{-1} referente ao modo de estiramento da ligação N-H e O-H e bandas em 3044 e 2982 cm^{-1} referentes aos modos de estiramento das ligações C-H aromático e alifático, respectivamente. Observou-se, ainda, uma banda de absorção intensa em 1770 cm^{-1} referente ao modo de estiramento da ligação C=O.

No espectro de RMN de ^1H de **28** (Figura 1.45) observou-se três simpletos entre δ 1,74 e 1,57 correspondentes aos hidrogênios dos grupos metila (H-3a, H-8 e H-9), um sinal largo em δ 2,17 correspondente aos hidrogênios H-4 e H-5, um duplete em δ 5,95 (1H, $J_{2,1} = 9,7\text{ Hz}$) referente ao hidrogênio H-2, um duplete em δ 8,48 (1H, $J_{1,2} = 9,7\text{ Hz}$) correspondente a H-1 e, ainda, dois dupletos em δ 8,62 e 7,78 atribuídos aos hidrogênios piridínicos H-6'/8' e H-5'/9', respectivamente.

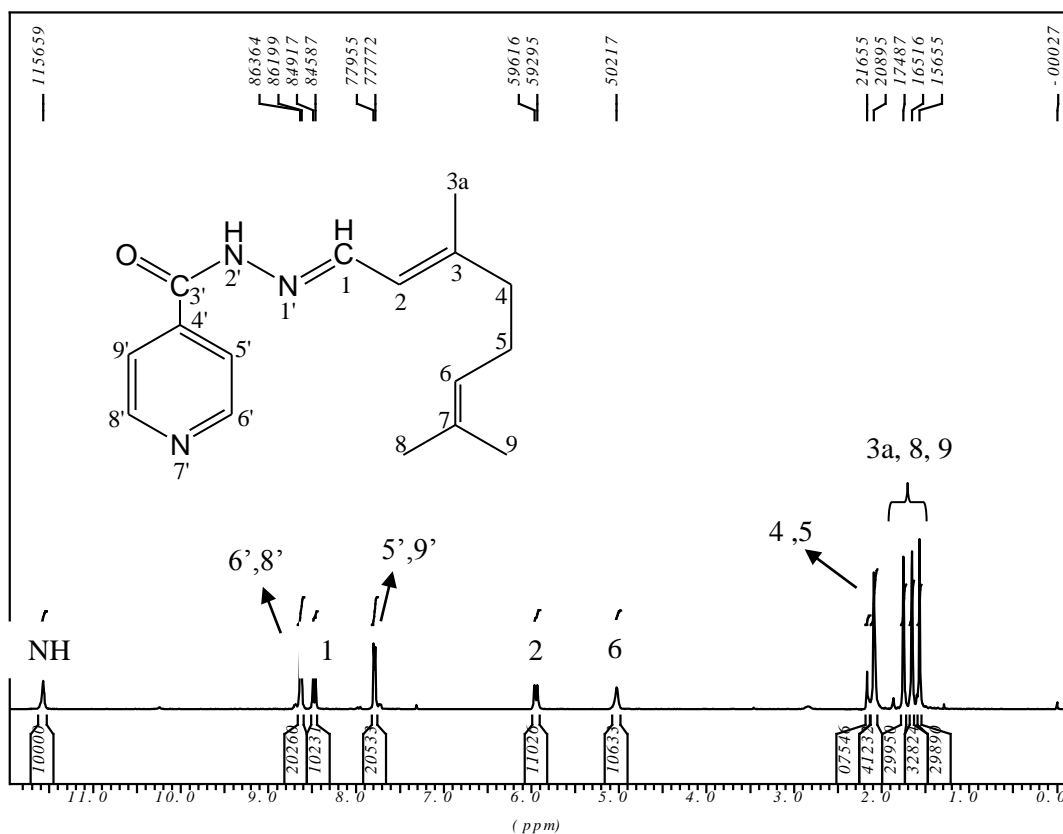


Figura 1.45. Espectro de RMN de ^1H do composto **28** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **28** (Figura 1.46) observam-se quatro sinais entre δ 26,2 e 17,5 atribuídos aos carbonos C-3a, C-4, C-5, C-8 e C-9. Observou-se também a presença de dois sinais em δ 150,4 e 121,6 atribuídos aos carbonos C-6'/8' e C-5'/9' respectivamente.

O grupo de pesquisa de Pihlasalo e cols (PIHLASALO, 2007) realizaram a atribuição dos sinais de ^{13}C para o citral (Figura 1.47), onde a principal diferença entre os isômeros *E* e *Z* está no sinal referente ao carbono C-4, como pode ser visto na Tabela 1.6. Através desses dados é possível atribuir que o sólido obtido nesta reação se trata de um derivado do geranial (isômero *E*) devido à presença do sinal em δ 40,3 atribuído a C-4 no espectro de RMN de ^{13}C do composto **28**.

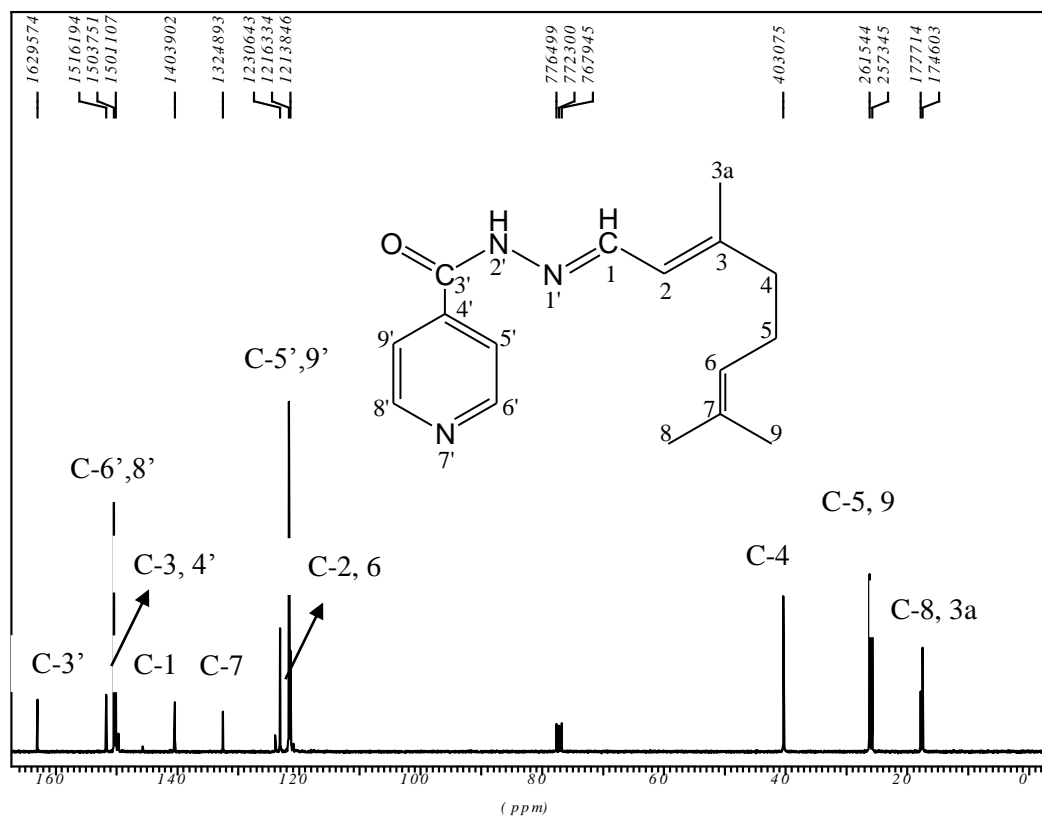


Figura 1.46. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **28** (CDCl_3 , 75 MHz).

Tabela 1.6. Dados dos isômeros do citral.

C	Z (Neral)	E (Geranial)	28
1	190,7	191,3	140,4
2	129,2	128,0	121,4
3	163,8	163,9	150,1
3a	24,9	17,4	17,4
4	32,9	41,0	40,3
5	27,7	26,5	26,2
6	123,7	123,9	121,4
7	133,6	132,9	132,5
8	17,7	17,7	17,7
9	25,8	25,8	25,7

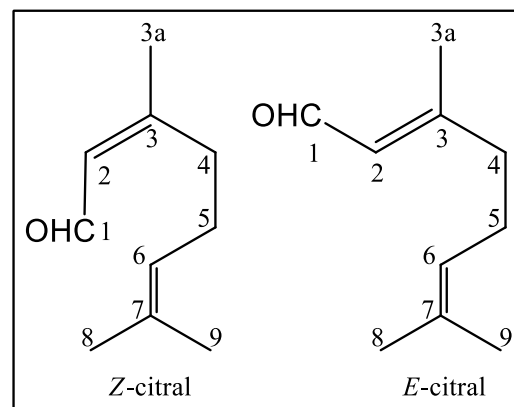


Figura 1.47. Estrutura dos isômeros do citral.

A estrutura do composto **28** pode ser confirmada pela difração de raios X, onde se observa que a ligação dupla da função hidrazona também encontra-se em *E*. (Figura 1.48).

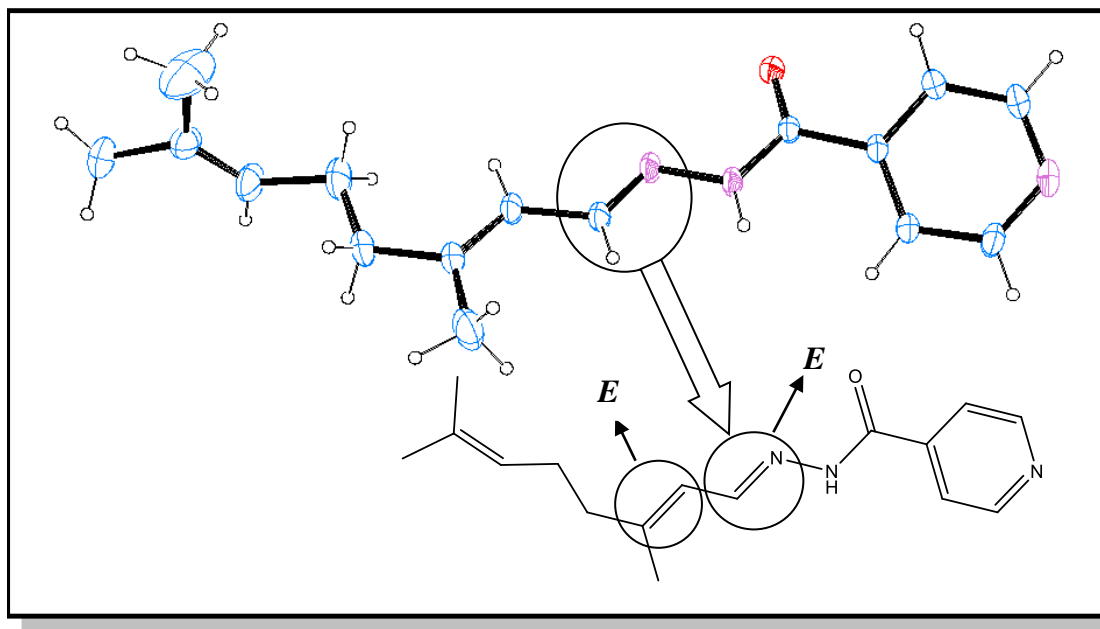


Figura 1.48. Estrutura do cristal do composto **28**.

1.4.2.1.2. Caracterização do 3'-carboamida-*N*-dodecil-piridina **35**

No espectro vibracional no infravermelho do composto **35** observa-se uma banda em 3312 cm^{-1} referente ao modo de estiramento da ligação N-H, em 3061 e 2924 cm^{-1} bandas referentes aos modos de estiramento das ligações C-H de aromático e alifático, respectivamente. Observou-se, ainda, uma banda de grande intensidade em 1629 cm^{-1} atribuído ao modo de estiramento da ligação C=O.

No espectro de RMN de ^1H de **35** (Figura 1.49) observou-se a presença de um multipeto entre δ 0,76 e 0,78 atribuído ao CH_3 , e ainda, sinais entre δ 1,13 e 3,34 referentes aos demais hidrogênios da cadeia alifática. Observou-se também dois dupletos em δ 8,54 ($J_{5'-4'} = 6\text{ Hz}$) e 7,51 ($J_{4'-5'} = 6\text{ Hz}$) que podem ser atribuídos aos hidrogênios aromáticos (H-5',7' e H-4',8').

No espectro de RMN de ^{13}C da amida **35** verificou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos alifáticos entre δ 40,4 e 14,2 enquanto que os sinais referentes aos carbonos aromáticos foram observados em δ 150,4, 142,1 e 121,1 atribuídos aos carbonos C5',7', C-3' e C-4',8', respectivamente.

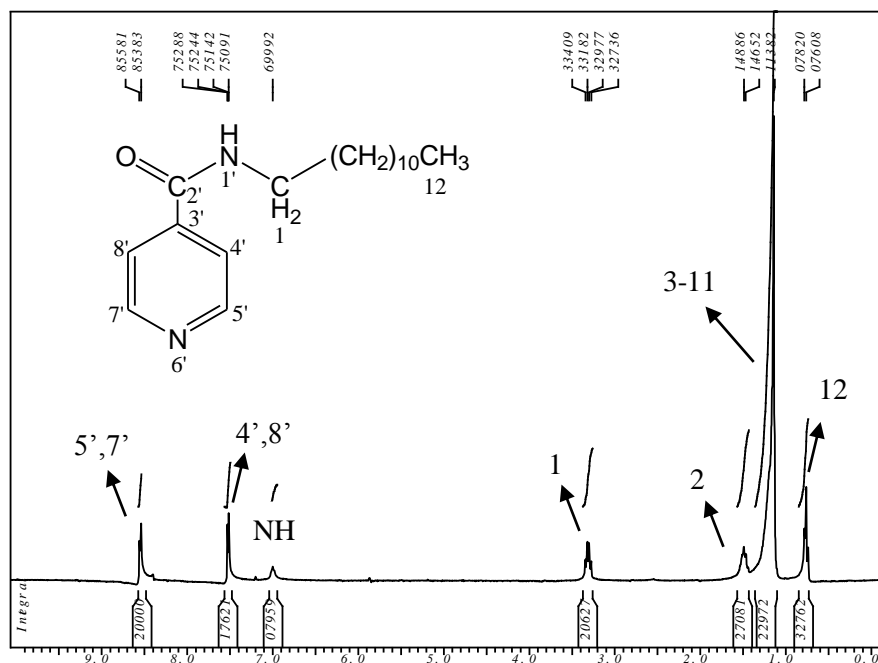


Figura 1.49. Espectro de RMN de ^1H do composto **35** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de massas do composto **35** (Figura 1.50) foi encontrado o pico de massa 289,6 que corresponde à fórmula mínima $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}$ [$\text{M} - \text{H}$]. O valor da massa esperada para tal composto é de 289,4 [$\text{M} - \text{H}$].

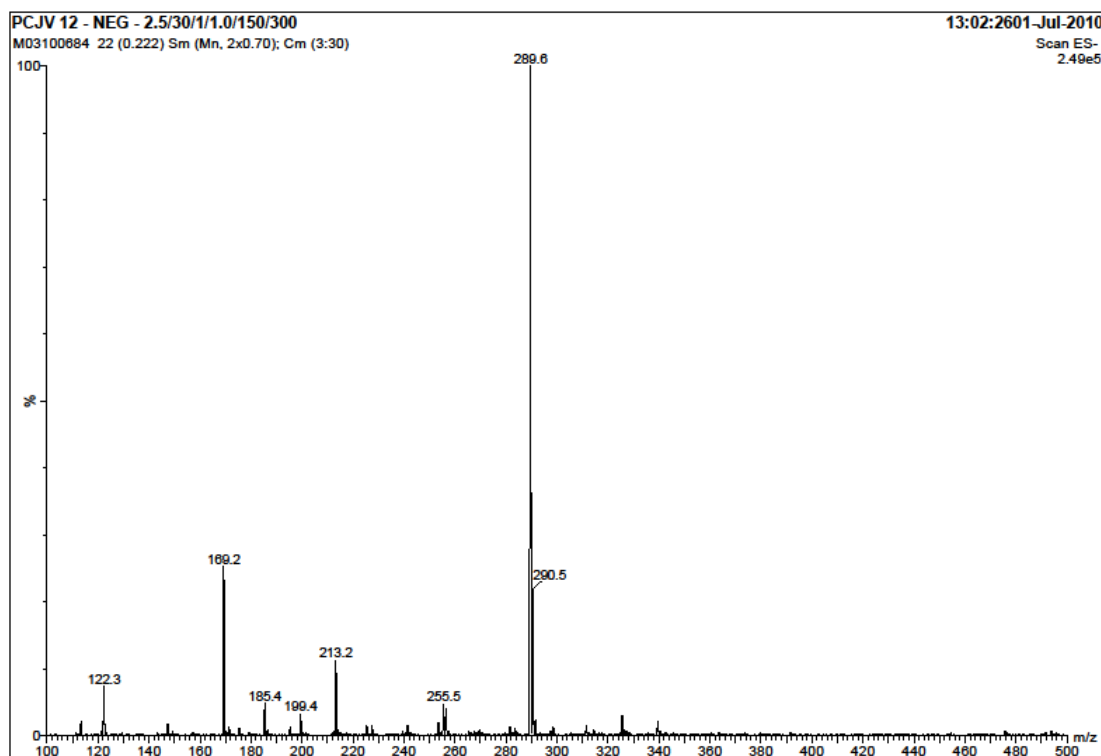
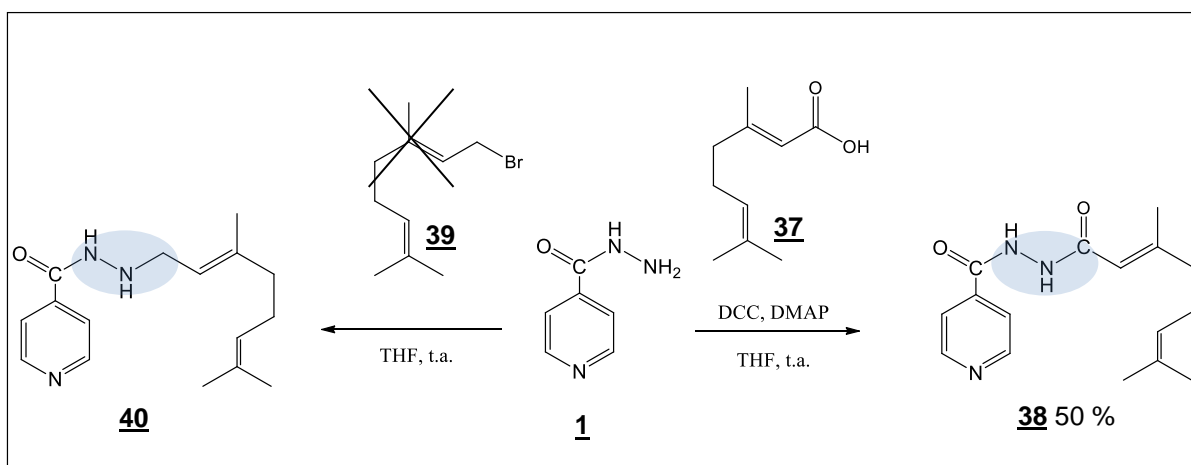


Figura 1.50 Espectro de massas do composto **35**.

As hidrazonas lipofílicas sintetizadas nesta parte do trabalho foram avaliadas contra o *Mycobacterium tuberculosis*, onde foi possível verificar uma ótima atividade para o composto derivado do citral **28** (estes dados serão discutidos na parte IV-atividade biológica). Em razão deste resultado resolvemos avaliar a influência do grupo funcional hidrazona na atividade biológica deste composto.

Neste sentido, de acordo com os reagentes que tínhamos no laboratório, foi planejada a obtenção de dois análogos (**38** e **40**) (Esquema 1.13) que não possuem a função hidrazona em suas estruturas. Para obtenção do composto **38**, foi realizada uma reação do tipo amidação entre a isoniazida **1** e o ácido gerânico **37** em presença de dicitloexilcarbodiimida (DCC) e 4-dimetiaminopiridina (DMAP) em tetraidrofurano (THF) durante 24h à temperatura ambiente. O composto **38** foi isolado em 50% de rendimento após purificação por coluna cromatográfica (diclorometano/metanol 9:1).

Para a obtenção do derivado **40**, foi planejada uma reação de substituição do bromo presente no brometo de geranila **39**. Esta reação foi realizada em metanol à 50 °C por 24 h. Após este tempo, foi verificado por placa cromatográfica a formação de diversos subprodutos, e ainda, que a maior parte da isoniazida não tinha reagido. Através do RMN de ^1H do bruto reacional foi possível atribuir à formação de uma pequena quantidade do possível produto desejado, mas devido à complexidade para realizar a separação do mesmo por cromatografia, não foi possível obter este produto.



Esquema 1.13. Rota sintética para obtenção dos análogos do composto **28**.

1.4.2.1.3. Caracterização do (*E*)-*N*'-3,7-dimetil-2,6-octadienoil-isonicotinoil-hidrazona **38**

No espectro de RMN de ^1H de **38** (Figura 1.51) observaram-se dois simpletos em δ 1,52 e 1,61 correspondentes aos hidrogênios dos grupos metila (H-8 e H-9), um multipletto entre δ 2,01 – 2,05 correspondente aos hidrogênios 3a, H-4 e H-5, um sinal largo em δ 4,98 referente ao hidrogênio H-6, dois dupletos em δ 7,64 ($J_{5-6'} = 6$ Hz) e 8,58 ($J_{6-5'} = 6$ Hz) atribuídos aos hidrogênios piridínicos H-5'/9' e H-6'/8', respectivamente.

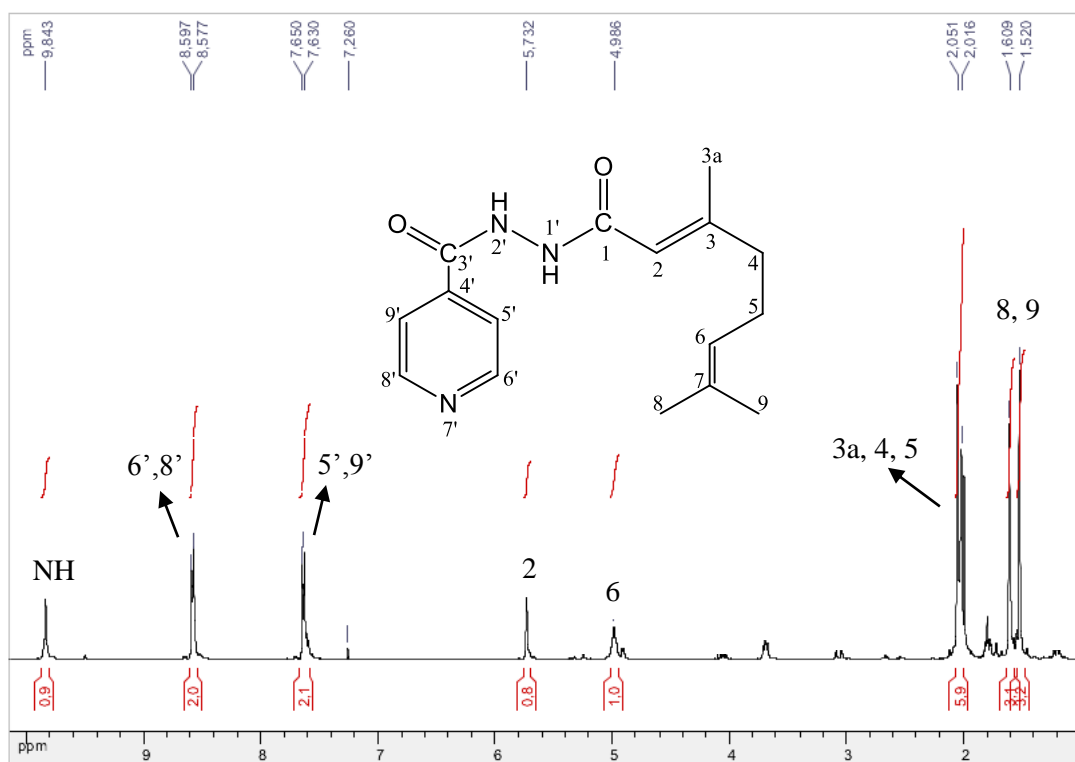


Figura 1.51. Espectro de RMN de ^1H do composto **38** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **38** observam-se sinais entre δ 17,77 – 26,14 atribuídos aos carbonos C-3a, C-4, C-5, C-8 e C-9. Observou-se também a presença de dois sinais em δ 150,4 e 121,6 atribuídos aos carbonos C-6'/8' e C-5'/9' respectivamente e ainda dois sinais em δ 159,1 e 163,6 atribuídos aos carbonos das carbonilas C-1 e C-3'.

1.4.2.2. Síntese de hidrazonas aromáticas análogas as curcuminas

1.4.2.2.1. Procedimento para a síntese da dibenzalacetona **42a** e de seus derivados substituídos **42b-e**

As hidrazonas aromáticas sintetizadas nesta parte do trabalho foram preparadas pela condensação da isoniazida com cetonas análogas as curcuminas. A curcumina (Figura 1.52) é uma cetona natural derivada da cúrcuma (*Curcuma longa*), uma especiaria utilizada na Ásia que tem sido extensivamente investigada. Estudos relacionando estrutura e atividade de derivados de curcumina têm sido realizados a fim de se desenvolverem moléculas com melhores atividades (CHANDRU, 2007; LIANG, 2008). Vários desses derivados têm apresentado atividade antiprotozoária (ARAUJO, 2008), antifúngica (APISARIYAKUL, 1995), anti-inflamatória (ARAUJO, 2001), etc.

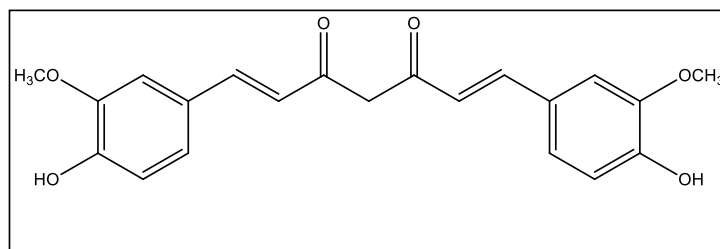
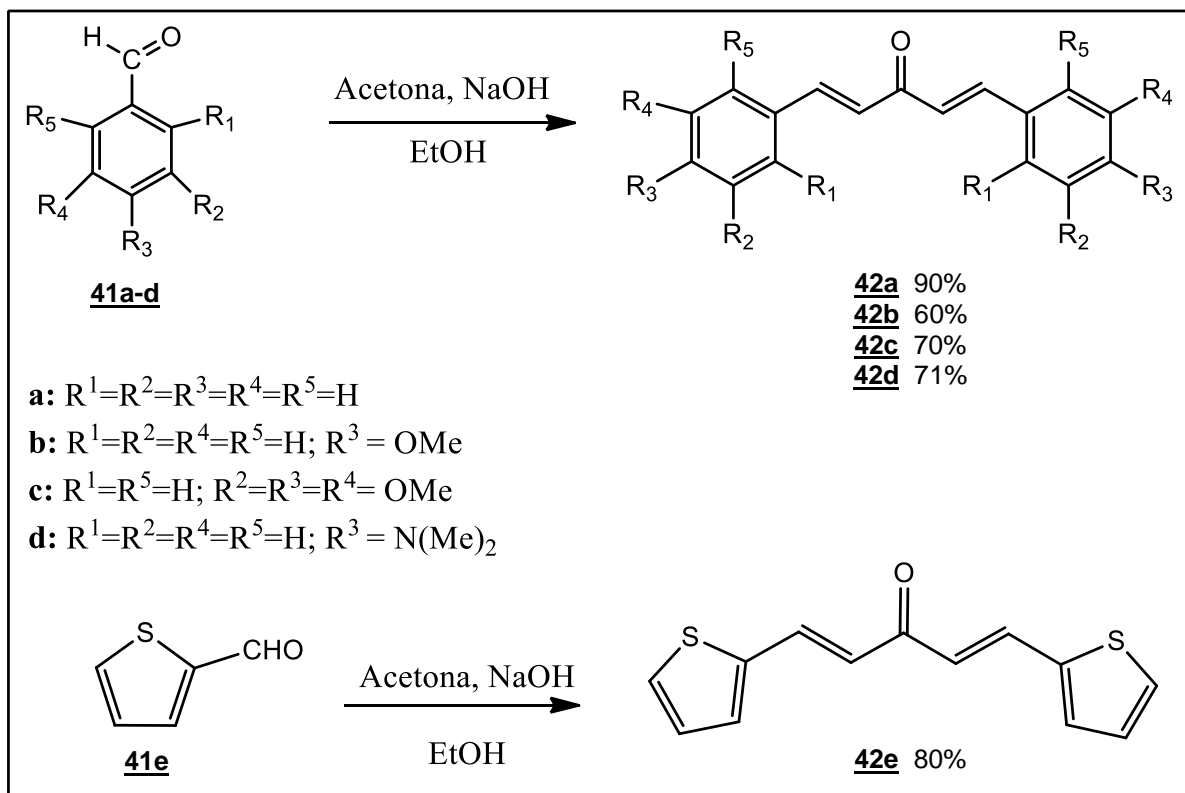


Figura 1.52. Estrutura da curcuminas.

Para a obtenção das hidrazonas aromáticas análogas a curcumina foi realizada, inicialmente, a preparação das cetonas aromáticas **42a-e** através de reações de condensação aldólica em meio básico (REZENDE, 2007; GOMES, 2011; FRANCO, 2010). Para a síntese destas cetonas, os aldeídos aromáticos benzaldeído **41a**, *p*-metoxibenzaldeído **41b**, 3,4,5-trimetoxibenzaldeído **41c**, *p*-dimetilaminobenzaldeído **41d** e o tiofeno carboxialdeído **41e** foram condensados com a acetona na presença de uma solução aquosa de NaOH. As misturas reacionais permaneceram sob agitação magnética à temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos, quando observou-se a formação de um precipitado floculento. Os sólidos formados foram então separados por filtração a vácuo e lavados com H₂O/EtOH, a fim de eliminar o excesso de base, e recristalizado em hexano/AcOEt na proporção de 3:1 v/v ou em EtOH obtendo-se os compostos **42a-e** em 60 a 90% de rendimento (Esquema 1.14). Essas cetonas foram caracterizadas por análises de seus espectros no IV, RMN de ¹H e de ¹³C.



Esquema 1.14. Rota sintética para obtenção das cetonas **42a-e**.

Devido à semelhança estrutural dos compostos **42a-e** será apresentada a caracterização apenas da cetona **42e**.

4.2.2.1.1. Caracterização da (1E,4E)-1,5-bis(tiofen-2'-il)-penta-1,4-dien-3-ona **42e**

No espectro vibracional no infravermelho de **42e** observou-se a presença de bandas de absorção em 3099 e 3073 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos das ligações C-H de aromático e a presença de uma banda de absorção intensa em 1663 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=O.

No espectro de RMN de ^1H de **42e** (Figura 1.52) observou-se a presença de dois dupletos, sendo o primeiro em δ 6,81 correspondente aos hidrogênios olefínicos H-1 e H-5 ($J_{1,2} = 15,7$ Hz) e outro em δ 7,83 correspondente aos hidrogênios H-2 e H-4 ($J_{2,1} = 15,7$ Hz). A partir das constantes de acoplamento foi possível atribuir a relação trans (Figura 1.53) entre os grupos ligados aos carbonos das duplas ligações.

No espectro de RMN de ^{13}C de **42e** (Figura 1.54) foram observados os sinais entre δ 124,0 e 140,9 correspondentes aos carbonos aromáticos (C-1', C-3', C-4' e C-5') e olefínicos (C-1, C-2, C-4 e C-5) e um sinal em δ 187,9 correspondente ao carbono C-3.

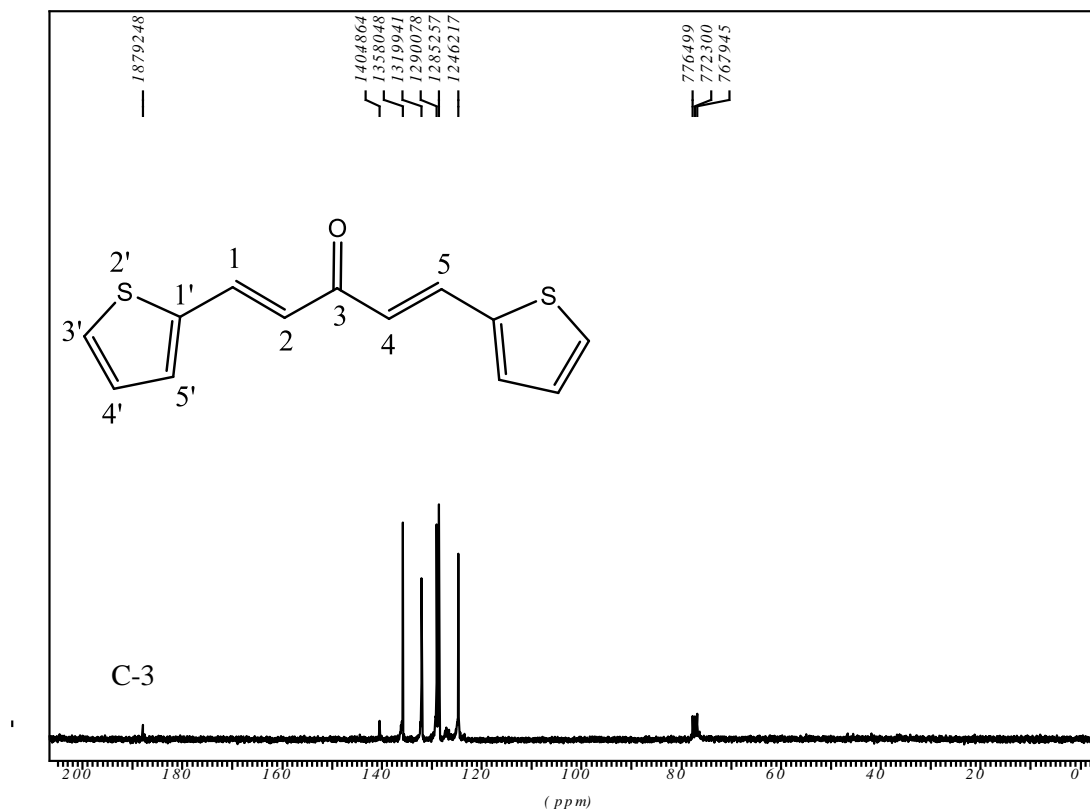
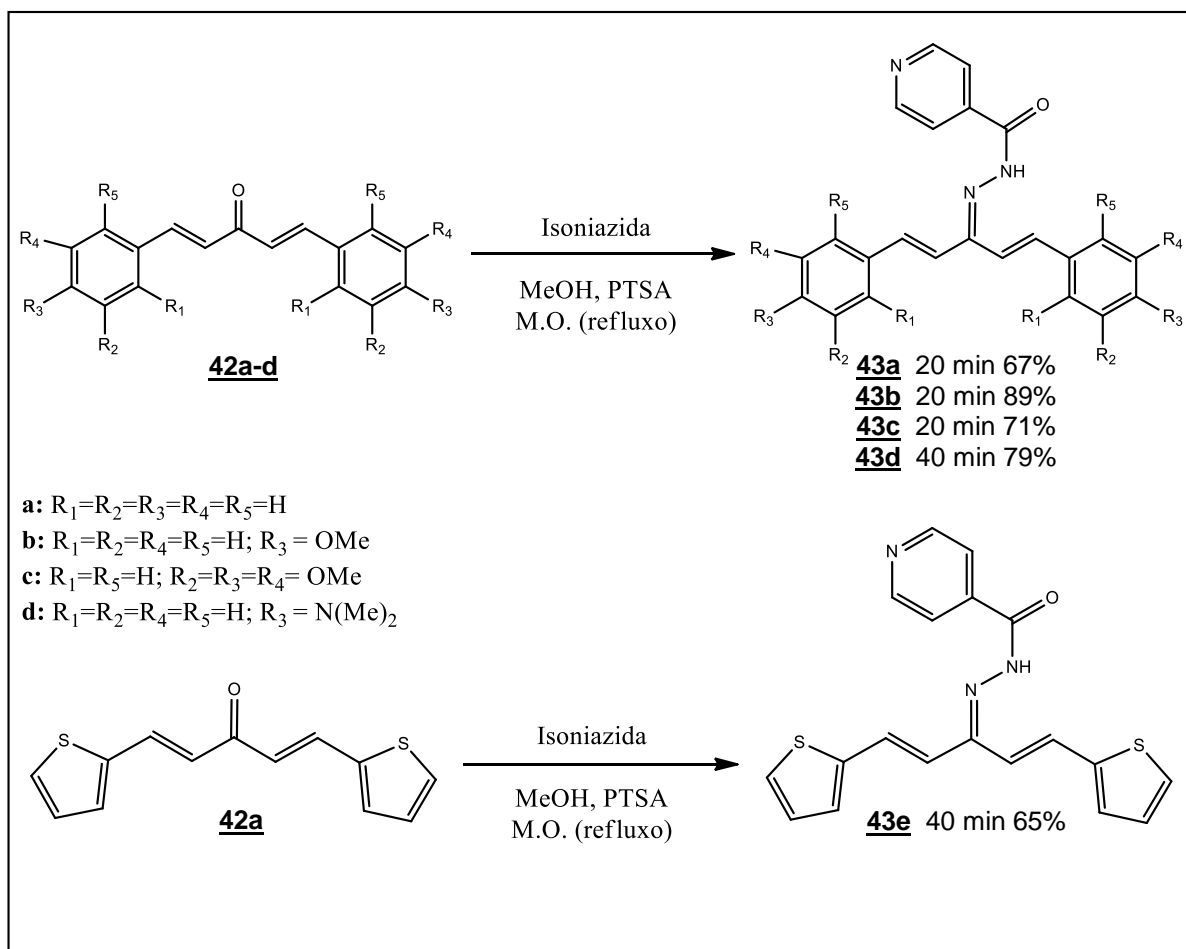


Figura 1.54. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **42a** (CDCl_3 , 75 MHz).

1.4.2.3. Procedimento para a síntese das hidrazonas **43a-e**

A partir das cetonas análogas da curcumina descritas anteriormente (Esquema 1.14), foi realizada a síntese das hidrazonas **43a-e** (Esquema 1.15) pela adição da isoniazida e ácido *p*-toluenossulfônico às soluções das cetonas **42a-e** em metanol. Nestas reações foi utilizado como fonte de aquecimento um forno de micro-ondas, obtendo-se tempos reacionais que variaram de 20 a 40 minutos.

Os compostos **43a-e** foram obtidos após purificação por coluna cromatográfica em rendimentos que variaram de 65 a 89% e foram caracterizados por análise de seus espectros no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C e massas de alta resolução.



Esquema 1.15. Preparação das hidrazonas **23a-e**.

Devido à semelhança estrutural dos compostos **43a-e** será apresentada a caracterização apenas da hidrazona **43e**.

1.4.2.3.1. Caracterização da (1E,4E)-1,5-(ditiênil-2'íl)-1,4-dien-3-ona-2-isonicotinoil-hidrazona **43e**.

No espectro vibracional na região do infravermelho pode-se observar bandas de absorção próximas de 3400 cm^{-1} referentes ao modo de estiramento da ligação N-H. Observou-se ainda bandas intensas em 1650 cm^{-1} atribuídas aos modos de estiramento da ligação C=O.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 1.55) observa-se dois sinais em δ 8,62 e 7,64 referentes aos hidrogênios H-6''/8'' e H-5''/9'' da unidade isoniazida. Pode-se verificar ainda sinais entre δ 7,31 e 6,60 que podem ser atribuídos aos demais hidrogênios aromáticos e olefínicos.

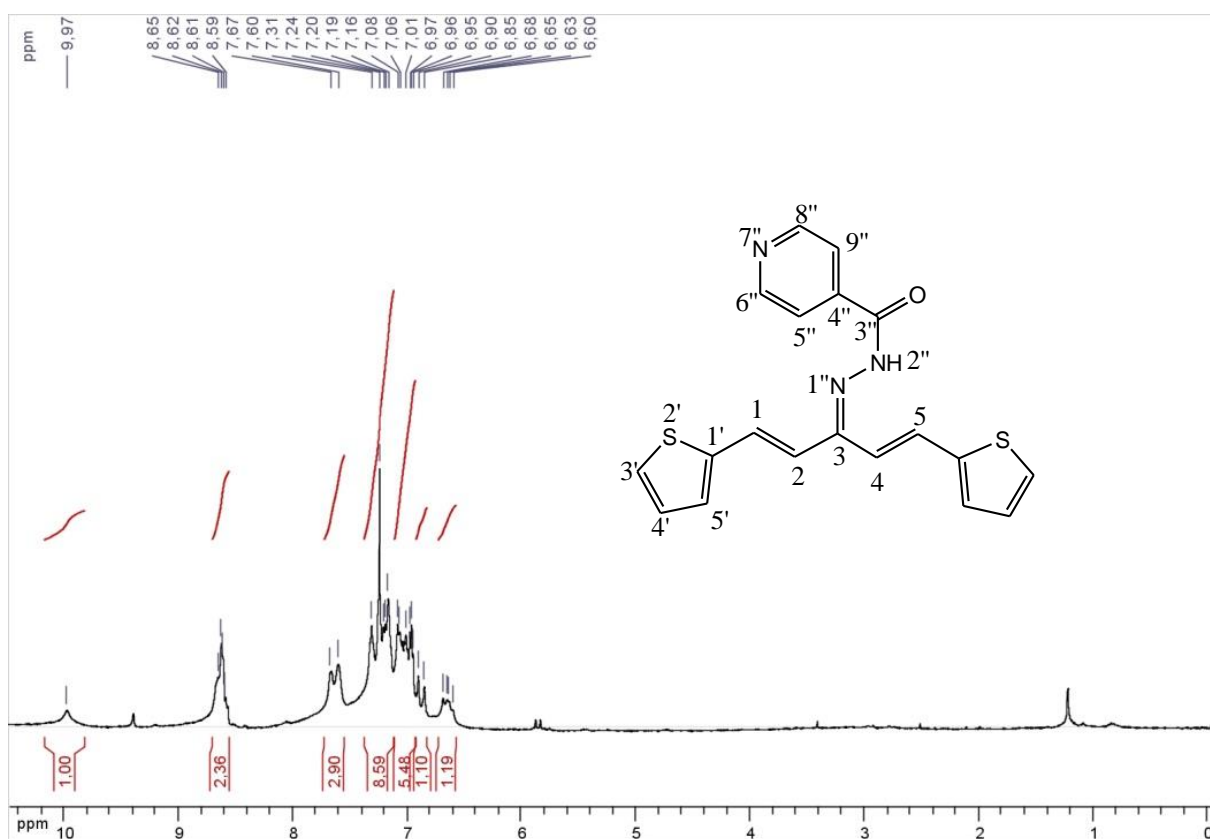


Figura 1.55. Espectro de RMN de ^1H do composto **43e** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C observam-se três sinais entre δ 141,5 e 140,2 correspondentes aos carbonos aromáticos C-1' e C-4'; os sinais em δ 149,7 e 121,5 foram atribuídos aos carbonos C-6''/8'' e C-5''/9''. Observou-se ainda dois sinais em δ 150,6 e 150,5 atribuídos aos carbonos C-3 e C-3''.

No espectro de massas do composto **43e** (Figura 1.56) foi encontrado o pico de massa 366,0744 que corresponde à fórmula mínima $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{OS}_2$ [M + H]. O valor da massa esperada para tal composto foi de 366,0735 [M + H].

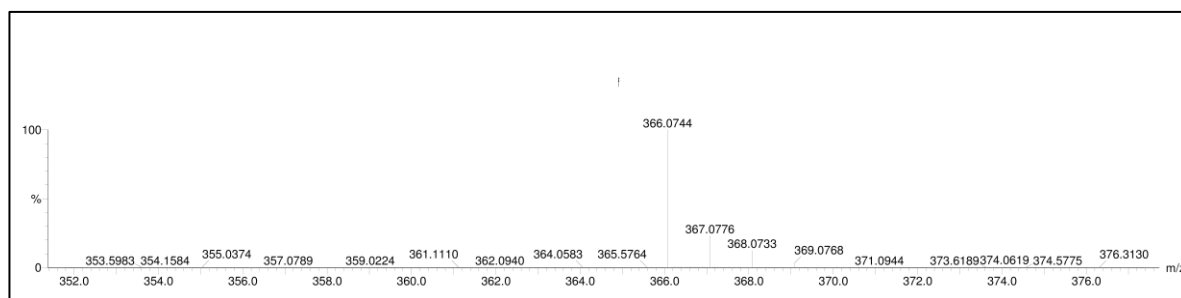


Figura 1.56. Espectro de massas do composto **43e**.

CAPÍTULO 1

Parte IV

Avaliação da atividade biológica

Parte IV

1.5. Atividade biológica

1.5.1. Teste antibacteriano contra o *M. tuberculosis*

As atividades antimicrobianas dos complexos da Parte II (Tabela 1.7) e dos compostos **43a**, **43b**, **43c**, **43d** e **43e** da Parte III foram avaliadas *in vitro* contra o *M. tuberculosis* H37Rv ATTC 27294 utilizando-se o método colorimétrico Alamar Blue (MABA) para a determinação da concentração mínima inibitória (CIM₉₀) no IPEC-FioCruz em colaboração com a pesquisadora Maria Cristina S. Lourenço. O CIM₉₀ pode ser definido como a menor concentração da substância capaz de inibir 90% do crescimento bacteriano.

Os resultados da Tabela 1.7 mostram que os complexos apresentaram uma significativa atividade biológica contra o *M. tuberculosis* (CIM₉₀ = 2,5 µg/mL) quando comparados com os fármacos de primeira linha isoniazida (INH CIM₉₀ = 0,2 µg/mL) e rifampicina (RIP MIC₉₀ = 1,0 µg/mL). Quando leva-se em consideração a massa molar dos compostos (CIM₉₀ = 1,6 a 2,6 µmol/L) é possível observar que os CIMs para os complexos se aproximam ainda mais daqueles dos fármacos de primeira linha (INH = 1,5 µmol/L e RIP = 1,2 µmol/L).

Observa-se ainda que os valores dos CIMs entre os complexos e as misturas físicas são próximos. Uma possível explicação para esses resultados seria a formação dos complexos a partir das misturas físicas no processo de solubilização e diluição da amostras.

Tabela 1.7. Avaliação biológica dos complexos da Parte II contra o *M. tuberculosis*.

Complexos da Parte II		
Compostos	CIM ₉₀ (µg/mL)	CIM ₉₀ (µmol/L)
Complexo SO ₃ NaCX4/INH	2,5	2,6
Mistura Física SO ₃ NaCX4/INH	2,5	2,6
Complexo SO ₃ NaCX6/INH	2,5	1,8
Mistura Física SO ₃ NaCX6/INH	5,0	3,6
Complexo Me-βCD/INH	2,5	1,7
Mistura Física Me-βCD/INH	2,5	1,7
Complexo Hp-βCD/INH	2,5	1,6
Mistura Física Hp-βCD/INH	5,0	3,1
RIP (droga de referência)	1,0	1,2
INH	0,2	1,5

Os resultados (Tabela 1.8) mostram que as hidrazonas **43a**, **43b**, **43c**, **43d** e **43e** (Figura 1.57) da parte III também apresentaram atividade biológica contra o *M. tuberculosis*. A melhor atividade observada foi para o composto **43c** com um CIM de 3,12 µg/mL.

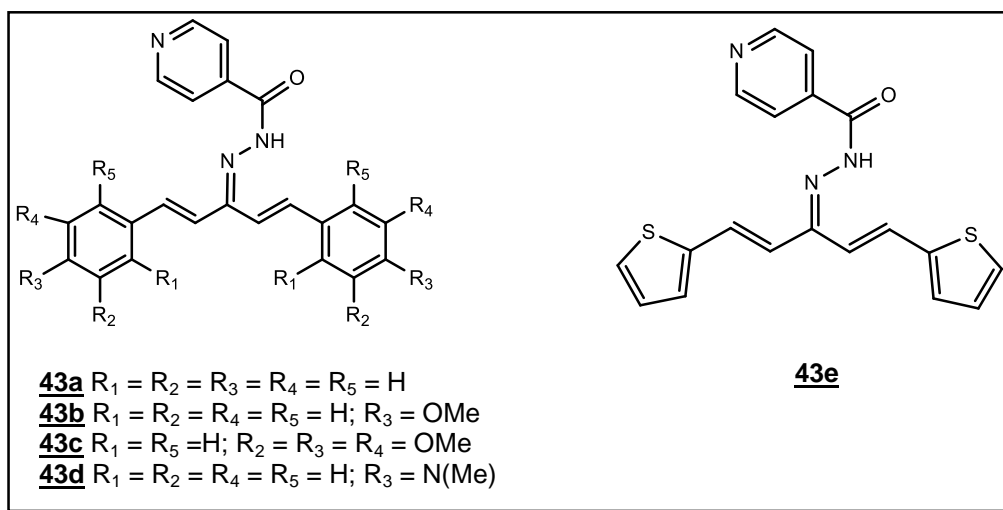


Figura 1.57. hidrazonas derivadas da curcumina.

Tabela 1.8. Avaliação biológica dos compostos da Parte III contra o *M. tuberculosis*.

Compostos da Parte III		
Compostos	CIM ₉₀ (µg/mL)	CIM ₉₀ (µmol/L)
43a	12,5	35,4
43b	6,25	15,1
43c	3,12	5,85
43d	25,0	56,9
43e	25,0	68,5
RIP (droga de referência)	1,0	1,2
INH	0,2	1,5

1.5.2. Teste antibacteriano pelo método da susceptibilidade à resazurina

Este teste antibacteriano foi realizado no ICB-UFJF em colaboração com Prof. Dr. Henrique Couto Teixeira. Para avaliação do CIM os análogos foram solubilizados e diluídos em uma placa de 96 poços em várias concentrações. Nesses poços, as bactérias *M. bovis*, *M. smegmatis* (ATCC14468), *M. abscessus* (ATCC199777) e *M. chelonae* (ATCC5752) foram então adicionadas e incubadas durante sete dias a 37°C. Após este período, o CIM foi obtido pelo método de redução pela resazurina.

Apenas o composto **30** (Figura 1.58) (Tabela 1.9) mostrou atividade bactericida contra *M. smegmatis* em uma concentração de 800 µg/mL, sendo que o padrão utilizado (isoniazida) não apresentou atividade.

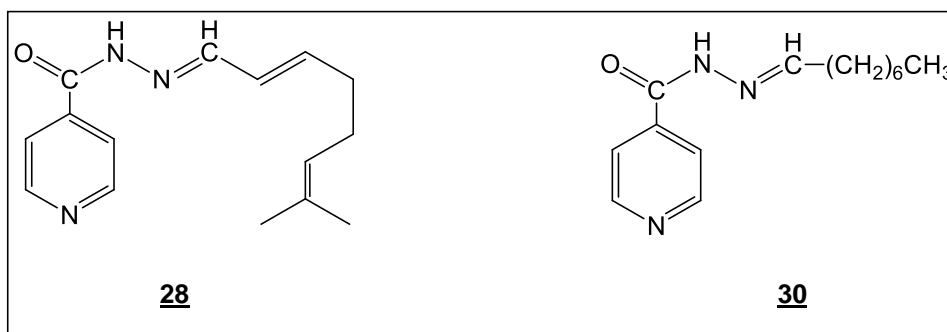


Figura 1.58. Hidrazonas lipofílicas avaliadas contra diferentes bactérias.

Tabela 1.9. Avaliação biológica dos compostos **28** e **30a**.

Bactérias	Concentração Mínima Inibitória			
	RIF	INH	28	30
<i>M. bovis</i>	0,3 µg/mL	-	-	-
<i>M. chelonae</i>	-	-	-	-
<i>M. abscessus</i>	-	-	-	-
<i>M. smegmatis</i>	-	-	-	800 µg/mL

Como os resultados sobre as bactérias *M. bovis*, *M. smegmatis*, *M. abscessus* e *M. chelonae* não foram satisfatórios, o grupo do Prof. Henrique passou a testar essas substâncias como antiinflamatórios e aguarda-se os resultados.

1.5.3. Avaliação contra o *M. tuberculosis* e estudo de nanoencapsulação

A atividade antimicobacteriana do composto **28** (Figura 1.58) foi avaliada *in vitro*, no Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina sob orientação do Prof. Dr. Andre Báfica, empregando-se o método colorimétrico do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol 2-il)-2,5-difeniltetrazolio), através do tratamento direto em culturas de *M. tuberculosis* H37Rv. Tanto a isoniazida livre (Figura 1.56b) quanto o composto **28** (Figura 1.56c) reduziram significativamente a viabilidade do *M. tuberculosis*, enquanto que o tratamento de **28** com nanopartículas poliméricas

de PLGA (ácido poli-lático-co-glicólico) (Figura 1.59e) conduziu a uma atividade antimicobacteriana superior à isoniazida encapsulada (Figura 1.59d).

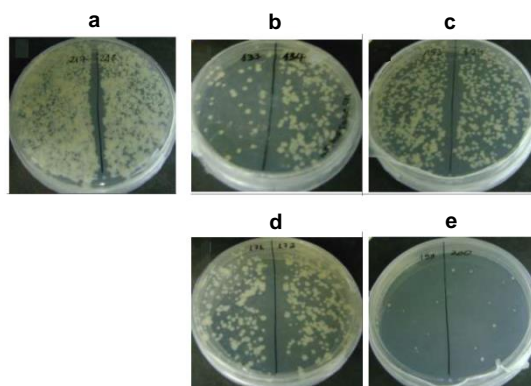


Figura 1.59. Atividade antimicobacteriana **a)** grupo controle positivo, sem tratamento, após 6 dias de incubação. **b)** grupo tratado com INH (100 µg/mL) após 6 dias de incubação. **c)** grupo tratado com o composto **28** (100 µg/mL) após 6 dias de incubação. **d)** grupo tratado com nanopartículas contendo INH (100µg/mL) após 6 dias de incubação. **e)** grupo tratado com nanopartículas contendo o composto **28** (100µg/mL) após 6 dias de incubação.

Além da melhor atividade biológica, o composto **28** permitiu uma eficiência de encapsulação 4 vezes maior que a isoniazida, ficando esse valor entre 70 e 80% (Figura 1.60) (ROMAN, 2012).

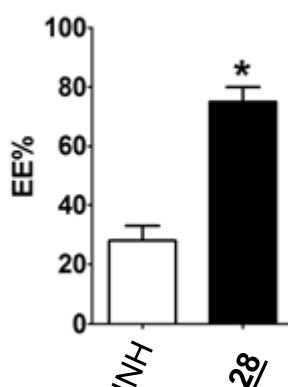


Figura 1.60. Taxa de encapsulação da isoniazida e do composto **28** nas nanopartículas poliméricas de PLGA.

Os compostos **16a**, **16b**, **30**, **32**, **34**, **35** e **38** também foram enviados para a avaliação antituberculose e realização dos testes de nanoencapsulamento e aguarda-se os resultados.

1.6. Conclusões

Neste trabalho descrevemos a síntese de trinta e uma substâncias, sendo quinze inéditas, a saber: seis derivados da galactose (**14b**, **15a**, **15b**, **15c**, **16a** e **16b**), quatro complexos de inclusão (**17/1**, **18/1**, **19/1** e **20/1**) e cinco análogos de curcuminas (**43a**, **43b**, **43c**, **43d** e **43e**). Todos compostos foram sintetizados utilizando-se metodologias simples que forneceram derivados da isoniazida em rendimentos de moderados a satisfatórios.

Os compostos **16a** e **16b** da Parte I foram obtidos sob a forma de misturas anoméricas.

A metodologia empregada na parte II possibilitou a obtenção dos complexos $\text{SO}_3\text{NACX}_4\text{:INH}$ (**17/1**), $\text{SO}_3\text{NACX}_6\text{:INH}$ (**18/1**), Hp- β -CD:INH (**19/1**) e Hp- β -CD:INH (**20/1**), caracterizados por três métodos: Ressonância Magnética Nuclear, espectroscopia na região do infravermelho e calorimetria diferencial de varredura. Os resultados obtidos sugerem que o método de complexação em fase líquida e posterior liofilização foi adequado. A caracterização por espectroscopia de RMN de ^1H possibilitou a construção de gráficos pelo método de Job, com os quais foram possíveis atribuir a estequiometria dos complexos.

Os complexos foram testados quanto a sua atividade antibacteriana contra o *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv utilizando-se a metodologia Alamar Blue no Laboratório de Bacteriologia (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz FioCruz-RJ exibindo um CIM que varia de 2,5 a 5,0 $\mu\text{g/mL}$, e quando leva-se em consideração a massa molecular dos compostos (Tabela 1.7), a atividade biológica dos complexos (1,6 – 2,6 $\mu\text{mol/L}$) assemelham-se a isoniazida (1,5 $\mu\text{mol/L}$).

Os compostos **43a**, **43b**, **43c**, **43d** e **43e** da parte III foram testados na FioCruz-RJ e apresentaram CIMs entre 3,12 e 25 $\mu\text{g/mL}$. Esses resultados promissores sugerem que tais compostos podem servir como candidatos a protótipos para a preparação de novos agentes antituberculose.

O composto nanoencapsulado **28**, demonstrou *in vitro* ser mais eficaz que a isoniazida neste estudo preliminar, considerando que estes dados precisam ser melhores avaliados frente às cepas clínicas resistentes ao fármaco isoniazida. Além disso, estes resultados são promissores e sugerem uma melhor avaliação através de estudos *in vivo*.

1.7. Parte experimental

1.7.1. Materiais e métodos das Partes I e III

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono 13 da parte I e III deste capítulo foram obtidos no espectrofotômetro *BRUKER AVANCE DRX/300* no Departamento de Química da UFJF. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão e referenciados pelo TMS ($\delta = 0$).

Os pontos de fusão apresentados neste trabalho foram obtidos em aparelho digital MQAPF-Microquímica no Departamento de Química da UFJF.

Os espectros de Infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BOMEM-FTIR MB-120 no Departamento de Química da UFJF.

Os espectros de massas foram obtidos no ICSN (França) com um aparelho Kratos MS-80 e em Farmanguinhos (Fiocruz/RJ) em um espectrômetro modelo ZQ quadrupolo simples.

As reações conduzidas por aquecimento com irradiação por microondas foram realizadas em um aparelho de micro-ondas CEM Discover System[®].

Para cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,2-0,5mm. Como reveladores foram utilizados vapores de iodo, vaporização com solução etanólica de ácido sulfúrico à 20% v/v e lâmpada ultravioleta (UV).

O acompanhamento das reações foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD), pelo uso de cromatofolhas de sílica gel 60F₂₅₄ suportada em placa de alumínio ou sílica-gel 60G suportada em lâminas de vidro.

Nos procedimentos de purificação, por extração ou coluna cromatográfica, foram usados solventes P.A.

1.7.2. Materiais e métodos das Parte II (Complexos de inclusão)

Ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da parte II deste capítulo foram obtidos no espectrofotômetro VARIAN MERCURY de 300 MHz no Departamento de Química da UFV. Os experimentos de ROESY 1D foram obtidos em um espectrômetro VARIAN de 400 MHz no Instituto de Química da UNICAMP. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão e referenciados pelo TMS ($\delta = 0$).

Infravermelho

Os espectros de Infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BOMEM-FTIR MB-120 no Departamento de Química da UFJF.

Calorimetria exploratória diferencial

A caracterização por calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada empregando-se o equipamento DSC-60 (Shimadzu) do Departamento de Química da UFJF no intervalo de temperatura de 0 a 250 °C, utilizando-se cápsula de alumínio selada, com massa de amostra de aproximadamente 4 mg, razão de aquecimento de 10 °C/min e atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 10mL/min⁻¹.

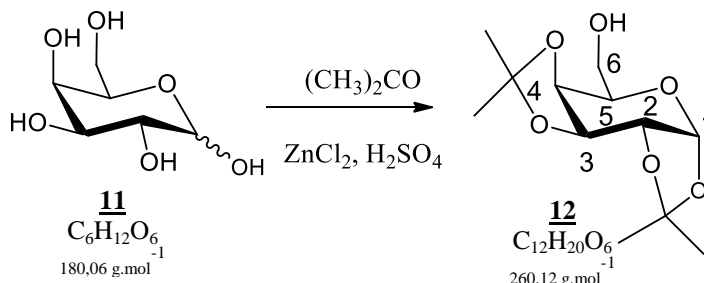
Liofilização

O processo de liofilização foi realizado empregando-se o liofilizador Terroni do Departamento de Veterinária da UFV.

1.7.3.Preparação dos compostos do capítulo 1

1.7.3.1. Parte I

1.7.3.1.1.Obtenção do 1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **12**



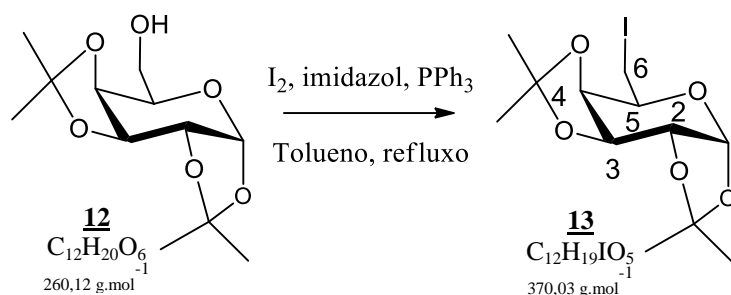
A um balão de fundo redondo de 500 mL foram adicionados 5 g (37 mmol) de cloreto de zinco anidro (previamente seco sob aquecimento em bico de Bunsen) e 100 mL de acetona anidra. Em seguida, foram adicionados à solução 5,0 g (28 mmol) de D-galactose **1** e 0,20 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por 8 horas. O acompanhamento da reação foi feito por CCD, utilizando-se como eluente acetato de etila/metanol 8:2 e hexano/acetato de etila 8:2. Após o término da reação adicionou-se uma solução saturada de carbonato de cálcio, sob agitação magnética, até a completa neutralização. Em seguida, o meio reacional foi filtrado e a solução foi concentrada sob pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado por cromatografia (hexano/acetato de etila) fornecendo 4,2 g (16,14 mmol) do produto protegido **12** (58 %).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,32-1,51 (s, 12H, 4 CH_3); 3,70-3,88 (m, 3H, **H-5**, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 4,27 (dd, 1H, $J_{4-5} = 1,5\text{Hz}$, $J_{4-3} = 8,0\text{Hz}$, **H-4**); 4,33 (dd, 1H, $J_{2-3} = 2,4$ $J_{2-1} = 5,1\text{Hz}$, **H-2**); 4,61 (dd, 1H, $J_{3-2} = 2,4$ $J_{3-4} = 8,0\text{Hz}$, **H-3**); 5,55 (d, 1H, $J_{1-2} = 5,1\text{Hz}$, **H1**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 26,2-24,5 (4 CH_3); 62,4 (**C-6**); 68,3 (**C-2**); 70,7 (**C-3**); 70,9 (**C-4**); 71,7 (**C-5**); 96,5 (**C-1**); 109,6 e 108,9 (**C**_{ipso}).

IV: (v, KRS-5): 3485, 2989, 2934, 1381, 1209, 1066, 902, 507 cm^{-1} .

1.7.3.1.2. 6-Desoxi-6-iodo-1,2:3,4-di-O-isopropilideno- α -D-galactopirranose **13**



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 4,0 g (15,4 mmol) de **12** juntamente com 100 mL de tolueno, 6,48 g (24,9 mmol) de trifenilfosfina, 1,7 g (24,9 mmol) de imidazol e 6,3 g (24,9 mmol) de iodo. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética sob refluxo por 24 horas. A reação foi acompanhada por placa cromatográfica, utilizando-se como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila 9:1. Após o término da reação, o meio reacional foi tratado com uma solução aquosa saturada de bissulfito de sódio e, em seguida, extraída com acetato de etila (3 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica (hexano/acetato de etila) fornecendo o composto **13** (4,5 g, 12,16 mmol, 80 %) como um sólido.

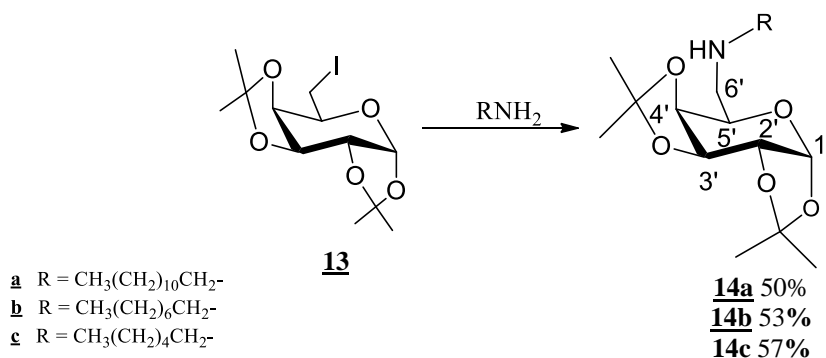
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,31-1,51 (s, 12H, 4 CH_3); 3,18 (dd, 1H, $J_{6-5} = 7,0$ e $J_{6-6'} = 9,7\text{Hz}$, **H-6**); 3,28 (dd, 1H, $J_{6'-5} = 7,0$, $J_{6'-6} = 9,8\text{Hz}$, **H-6'**); 3,91 (t, 1H, $J_{5-6} = 6,80$, **H-5**); 4,26-4,28 (m, 1H, **H-4**); 4,36 (d, 1H, $J_{2-3} = 7,8\text{Hz}$, **H-2**); 4,58 (d, 1H, **H-3**); 5,51 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,4\text{Hz}$, **H-1**).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 2,43 (**C-6**); 24,6-26,2 (4 CH_3); 69,1 (**C-5**); 70,7 (**C-3**); 71,3 (**C-4**); 71,7 (**C-2**); 96,9 (**C-1**); 109,0 e 109,7 (**C**_{ipso}).

IV: (v, KBr): 2972, 2929, 2903, 1389, 1369, 1255, 1207, 1067, 997, 903, 555 cm^{-1} .

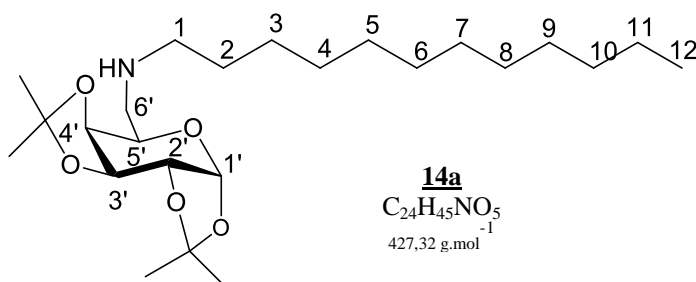
F. F.: 71-72 $^\circ\text{C}$; Lit. (GAREG, 1984): 72 $^\circ\text{C}$.

1.7.3.1.3. Metodologia geral para obtenção das aminas **14a**, **14b** e **14c** derivadas da D-galactose



A uma solução do iodeto **13** (370 mg, 1 mmol) em 20 mL de etanol foi adicionada lentamente a dodecilamina, octilamina ou a hexilamina (1,3 mmol). As misturas permaneceram sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. As reações foram acompanhadas por CCD usando-se como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila 8:2. Após o término das reações o solvente foi evaporado a securo e o resíduo foi extraído com acetato de etila (3 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica (hexano/acetato de etila) fornecendo os compostos **14a**, **14b** e **14c** na forma de óleos em 50, 53 e 57% de rendimento, respectivamente.

Caracterização do 6'-desoxi--6'-N-dodecilamino-1',2':3',4'-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **14a**



Rendimento: 50% (213 mg, 0,49 mmol).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 0,88 (m, 3H, **H**12); 1,25-1,53 (s, 32H, **H**-2, **H**-3, **H**-4, **H**-5, **H**-6, **H**-7, **H**-8, **H**-9, **H**-10, **H**-11 e 4CH₃); 2,50-2,57 (m, 2H, **H**-1); 2,81-2,88 (m, 2H, **H**-6'); 3,91-3,92 (m, 1H, **H**-5'); 4,25 (d, 1H, $J_{4-5} = 4,8\text{Hz}$ **H**-4'); 4,33 (d,

1H, $J_{2-3} = 8,1\text{Hz}$, **H-2'**); 4,54 (d, 1H, $J_{3-2} = 7,9\text{Hz}$, **H-3'**); 5,51 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0\text{Hz}$, **H-1'**).

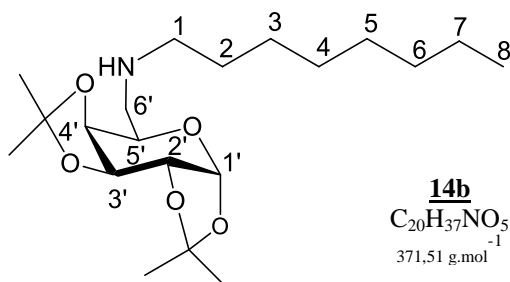
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 14,1 (**C-12**); 22,8-32,1 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**, **C-8**, **C-9**, **C-10**, **C-11** e 4 **CH₃**); 54,2 (**C-1**); 55,8 (**C-6'**); 65,3 (**C-5'**); 70,9-71,4 (**C-3'**, **C-4'**, **C-2'**); 96,6 (**C-1'**); 108,4 e 108,8 (**C_{ipso}**).

IV: (v, KRS-5): 2993, 2927, 2853, 1373, 1208, 1062, 995, 886 cm^{-1} .

MS (ES⁺, m/z): encontrado: 428,6 (M+H).

calculado: 428,4 (M+H).

Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-octilamino-1',2':3',4'-di-O-isopropilideno- α -D-galactopirranose **14b**



Rendimento: 53% (196 mg, 0,53 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 0,83-0,85 (m, 3H, **H8**); 1,25-1,52 (s, 24H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **H-7** e 4**CH₃**); 2,52-2,83 (m, 4H, **H-1** e **H6'**); 3,91-3,93 (m, 1H, **H-5'**); 4,24 (d, 1H, $J_{4-5} = 3,3\text{Hz}$ **H-4'**); 4,33 (d, 1H, $J_{2-3} = 7,92\text{Hz}$, **H-2'**); 4,55 (d, 1H, **H-3'**); 5,49 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,1\text{Hz}$, **H-1'**).

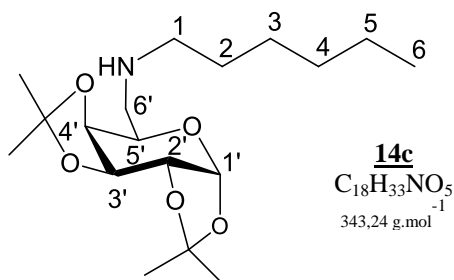
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 14,3 (**C-8**); 22,8-32,1 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**); 54,3 (**C-1**); 55,9 (**C-6'**); 65,5 (**C-5'**); 71,0-71,5 (**C-3'**, **C-4'**, **C-2'**); 96,7 (**C-1'**); 108,4 e 108,9 (**C_{ipso}**).

IV: (v, KRS-5): 2996, 2925, 2859, 1207, 1055, 1012, 990, 876 cm^{-1} .

MS (ES⁺, m/z): encontrado: 372,6 (M+H).

calculado: 372,5 (M+H).

Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-hexilamino-1',2':3',4'-di-O-isopropilideno- α -D-galactopiranosose 14c



Rendimento: 57% (195 mg, 0,57 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 0,83-0,85 (m, 3H, **H6**); 1,26-1,53 (m, 20H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5** e 4**CH₃**); 2,65-2,71 (m, 2H, **H-1**); 2,86-2,91 (m, 2H, **H-6'**); 3,97-3,99 (m, 1H, **H-5'**); 4,18 (d, 1H, $J_{4-5} = 7,9\text{Hz}$, **H2'**); 4,55-4,59 (d, 1H, **H4'**); 4,57 (dd, 1H, $J_{3-4} = 2,2 \text{ Hz}$, $J_{3-2} = 7,9\text{Hz}$ **H3'**); 5,50 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,1\text{Hz}$, **H1'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 14,2 (**C-6**); 22,7-31,9 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6** e 4 **CH₃**); 49,6 (**C-1**); 49,8 (**C-6'**); 66,6 (**C-5'**); 70,0-72,2 (**C-3'**, **C-4'**, **C-2'**); 96,6 (**C-1'**); 108,8 e 109,4 (**C_{ipso}**).

IV: (v, KRS-5): 2996, 2900, 2859, 1207, 1054, 1012, 990, 876, 610 cm^{-1} .

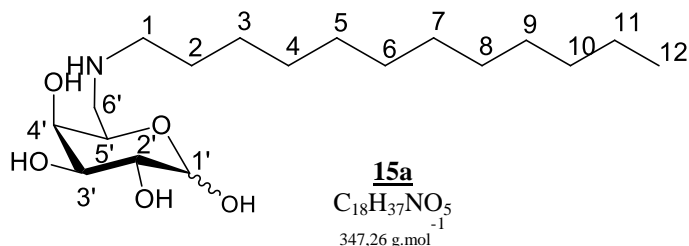
MS (ES⁺, m/z): encontrado: 366,5 (M+Na).

calculado: 366,2 (M+Na).

1.7.3.1.4. Metodologia Geral para obtenção dos compostos poliidroxilados 15a, 15b e 15c.

Os derivados protegidos 14a, 14b ou 14c (0,42 mmol) foram solubilizados em uma mistura de acetonitrila/diclorometano (7:3, 5 mL) e em seguida foi adicionada lentamente 1 mL de uma solução de ácido trifluoracético/água destilada 1:1 v/v. As misturas permaneceram sob agitação magnética à 60° C por 20 horas. As reações foram acompanhadas por CCD usando-se como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila 8:2 e diclorometano/metanol 8:2. Após o término das reações o solvente foi evaporado a securo e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano/metanol) fornecendo os composto 15a, 15b ou 15c sob a forma de óleos em 76, 74 e 80% de rendimento, respectivamente.

Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-dodecilamino-D-galactopiranosose **15a**



$$[\alpha]_D^{20} = +6,5 \text{ (c=0,46, MeOH)}.$$

Rendimento: 76% (111 mg, 0,32 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 0,86-0,90 (m, 3H, **H12**); 1,25-1,55 (m, 20H, **H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11**); 4,29-4,31 (m, 3H, **H-2', H-4', H-3'**); 4,58 (d, 1H, $J_{3-4} = 6\text{Hz}$, **H5'**).

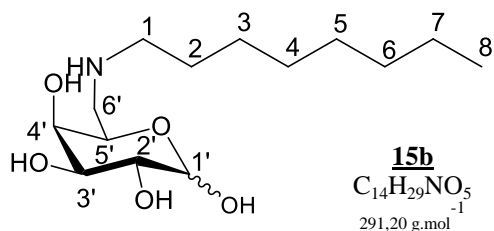
RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 14,2 (**C-12**); 22,9-32,1 (**C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11**); 54,9-55,0 (**C-1, C-6'**); 66,6 (**C-5'**); 70,0-73,1 (**C-3', C-4', C-2'**); 96,6 (**C-1' α**); 96,6 (**C-1' β**).

IV: (**v, KRS-5**): 3420, 2900, 1607, 1456, 1113, 985, 876, 511 cm^{-1} .

MS (ES^+ , m/z): encontrado: 370,0 (M+Na).

calculado: 370,3 (M+Na).

Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-octilamino-D-galactopiranosose **15b**



$$[\alpha]_D^{20} = +13,8 \text{ (c=0,58, MeOH)}.$$

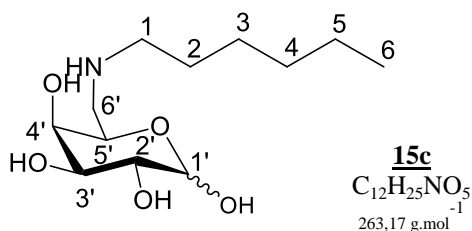
Rendimento: 74% (90 mg, 0,31 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 0,84-0,91 (m, 3H, **H-8**); 1,25-1,55 (m, 16H, **H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7**); 3,30-4,10 (m, 6H, **H-1, H-6', H-2', H-4'**); 3,90-4,20 (m, 2H, **H-5 e H3'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 14,0 (**C-8**); 23,8-33,2 (**C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7**); 64,5 (**C-1**); 65,6 (**C-6'**); 70,1-74,6 (**C-2', C-3', C-4', C-5'**); 94,5 (**C-1' α); 98,9 (**C-1' β).****

IV: (v, KRS-5): 3421, 2912, 1445, 1112, 900, 811 cm^{-1} .

Caracterização do 6'-desoxi-6'-N-hexilamino-D-galactopiranosose **15c**



$[\alpha]_D^{20} = + 1,8$ (c=0,55, MeOH).

Rendimento: 80% (88 mg, 0,33 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 0,91 (m, 3H, **H6**); 1,35-1,69 (m, 8H, **H-2, H-3, H-4, H-5**); 3,03-3,31 (m, 4H, **H-1, H-6'**); 3,50-3,52 (m, 2H, **H-2**); 3,82-3,90 (m, 2H, **H-3' e H4'**); 4,29-4,50 (m, 1H, **H-5'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 14,0 (**C-6**); 23,2-32,2 (**C-2, C-3, C-4, C-5**); 66,4 (**C-1**); 69,72-74,3 (**C-2', C-3', C-4', C-5'**); 94,1 (**C-1' α); 98,6 (**C-1' β).****

IV: (v, KRS-5): 3421, 2912, 1445, 1112, 900, 811 cm^{-1} .

MS (ES $^+$, m/z): encontrado: 265,0 (M+Na).

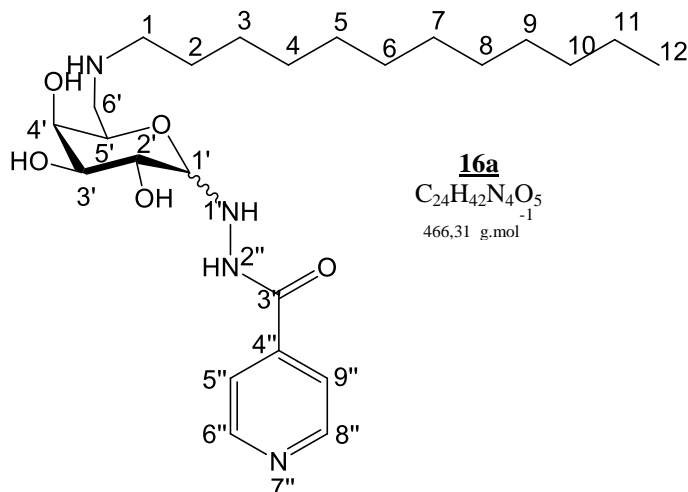
calculado: 264,2 (M+Na).

1.7.3.1.4. Metodologia Geral para obtenção dos compostos derivados da isoniazida **16a, 16b**

Solubilizou-se a isoniazida (0,38 mmol, 1,5 equiv.) em 20 mL de metanol à 60°C e em seguida foi adicionado 0,25 mmol dos derivados de carboidratos **15a** ou **15b**. As misturas reacionais foram mantidas sob agitação à 60 °C por 48h. As reações foram acompanhadas por CCD usando-se como eluente as misturas de solventes diclorometano/metanol 8:2. Após o término das reações o solvente foi evaporado a secura e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (eluente:

diclorometano/metanol) fornecendo os composto **16a**, **16b** em 30 e 40% de rendimento, respectivamente.

Caracterização da mistura anomérica 6'-desoxi-1-6'-N-(dodecilamino)-D-galactopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **16a (α + β)**



$[\alpha]_D^{20} = +14,1$ (c=0,85, MeOH).

Rendimento: 30% (34 mg, 0,07 mmol).

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 0,86-0,90 (m, 3H, **H12**); 1,16-1,25 (m, 20H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **H-7**, **H-8**, **H-9**, **H-10**, **H-11**); 3,29-4,28 (m, 4H, **H-2'**, **H-4'**, **H-3'**, **H5'**); 7,85-7,93 (m, 2H, **H5''**, **9''**); 8,65-8,67 (m, 2H, **H6''**, **8''**).

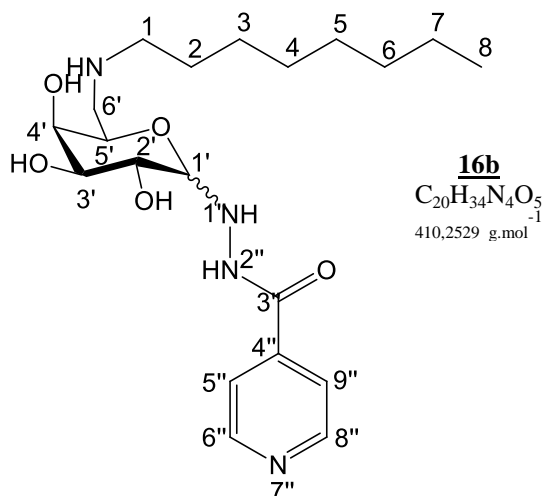
RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 14,6 (**C-12**); 23,9-33,2 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**, **C-8**, **C-9**, **C-10**, **C-11**); 70,1-75,6 (**C-2'**, **C-3'**, **C-4'**, **C-5'**); 91,1 (**C-1' α**); 92,9 (**C-1' β**); 123,6 (**C-5''**, **9''**); 152,1 (**C-6''**, **8''**).

IV: (v, KRS-5): 3410, 2910, 1621, 1451, 1120, 980, 520 cm^{-1} .

MS (ES $^+$, m/z): encontrado: 467,3 (M+H).

calculado: 467,3 (M+H).

Caracterização da mistura anomérica 1-6'-[N(octilamino)-6'-desoxi-D-galactopiranosil]-2-isonicotinoil-hidrazina 16b (α + β)



$[\alpha]_D^{20} = +19,6$ (c=0,56, MeOH).

Rendimento: 40% (41 mg).

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 0,91-0,92 (m, 3H, **H-8**); 1,16-1,30 (m, 12H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **H-7**); 3,82-4,27 (m, 4H, **H-2'**, **H-3'**, **H-4'**, **H5'**); 7,84-7,91 (m, 2H, **H5''**, **9''**); 8,71-8,78 (m, 2H, **H6''**, **8''**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 14,5 (**C-8**); 23,8-32,9 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**); 67,6-75,1 (**C-2'**, **C-3'**, **C-4'**, **C-5'**); 90,4 (**C-1' α); 92,6 (**C-1' β); 123,1 e 123,3 (**C-5''**, **9''**); 151,2 (**C-6''**, **8''**).****

IV: (ν , KRS-5): 3420, 2900, 1607, 1456, 1113, 985, 876, 511 cm^{-1} .

MS (ES^+ , m/z): encontrado: 411,5 (M+Na).

calculado: 411,3 (M+Na).

1.7.3.2. Parte II

1.7.3.2.1. Preparação das amostras

1.7.3.2.2. Complexos entre a isoniazida e os hospedeiros

Os complexos de inclusão foram preparados solubilizando quantidades equimolares dos hospedeiros ($\text{SO}_3\text{NaCX4}$ **17**, $\text{SO}_3\text{NaCX6}$ **18**, Hp- β -CD **19** ou Me- β -CD **20**) (10 mmol L^{-1}) e do hóspede (isoniazida) (10 mmol L^{-1}) em $0,6 \text{ mL}$ de D_2O e mantidos em contato por 48h antes de realizar os experimentos (Figura 1.57).

Hóspede (10 mmol L^{-1})	+	Hospedeiro (10 mmol L^{-1})	$\xrightarrow{\text{D}_2\text{O (0,6 mL)}}$	Complexo de inclusão
INH (1)		$\text{SO}_3\text{NaCX4}$ (17)		INH/ $\text{SO}_3\text{NaCX4}$ (1/17)
		$\text{SO}_3\text{NaCX6}$ (18)		INH/ $\text{SO}_3\text{NaCX6}$ (1/18)
		HP- β -CD (19)		INH/ HP- β -CD (1/19)
		Me- β -CD (20)		INH/ Me- β -CD (1/20)

Figura 1.57. Sistemas carreadores (**17** a **20**) e a isoniazida (**1**).

1.7.3.2.3. Experimentos de titulação

Estequiometria

As soluções tituladas foram preparadas a partir de soluções estoques dos hospedeiros (calixarenos e ciclodextrinas) (10 mmol L^{-1}) e da isoniazida (10 mmol L^{-1}) diluindo-as através da variação contínua das concentrações das espécies, de tal forma que a soma das concentrações das mesmas se mantivesse constante ($[\text{Hospedeiro}] + [\text{isoniazida}] = 10 \text{ mmol L}^{-1}$), conforme a tabela.1.8. As soluções preparadas ficaram em repouso por 24 horas, em seguida, realizou-se as medidas de RMN de ^1H .

Tabela 1.8. Diluições para preparação das soluções para titulação.

Teste	Razão molar (mol L ⁻¹)	Volume (hospedeiro)	Volume (isoniazida)
1	12:3	0,48	0,12
2	10,5:4,5	0,42	0,18
3	9:6	0,36	0,24
4	7,5:7,5	0,30	0,30
5	6:9	0,24	0,36
6	4,5:10,5	0,18	0,42
7	3:12	0,12	0,48

Os valores de $\Delta\delta_{\text{obs}}$ dos sinais do hópede foram correlacionados com as concentrações das espécies tituladas através de gráficos ($\Delta\delta_{\text{obs}}$ [hóspede]/([hóspede] + [hospedeiro]) *versus* [hóspede]/([hóspede] + [hospedeiro])).

1.7.3.2.4. Preparação dos complexos no estado sólido

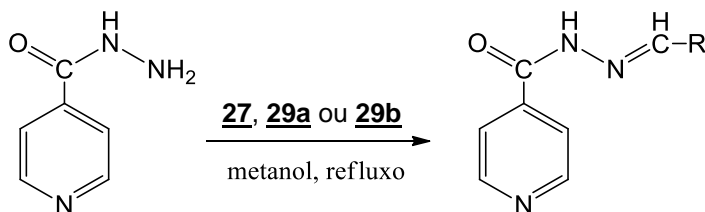
Os complexos de inclusão foram preparados a partir do método de suspensão. A molécula a ser encapsulada (isoniazida) foi adicionada, no estado sólido, a uma solução aquosa dos hospedeiros (SO₃NaCX4 **17**, SO₃NaCX6 **18**, Hp-β-CD **19** ou Me-β-CD **20**) na proporção molar de 1:1 (INH/hospedeiro). As misturas foram mantidas sob agitação magnética por 48h à temperatura ambiente e, em seguida, foram liofilizado utilizando-se um liofilizador Terroni.

1.7.3.2.5. Preparação das misturas físicas (MF)

As misturas físicas de isoniazida e hospedeiros (INH/hospedeiros) foram preparadas mediante pesagem de quantidades equimolares (1:1). A massa de cada sistema binário foi triturada em um gral de porcelana, com auxílio de um pistilo, até homogeneização (aproximadamente 5 minutos).

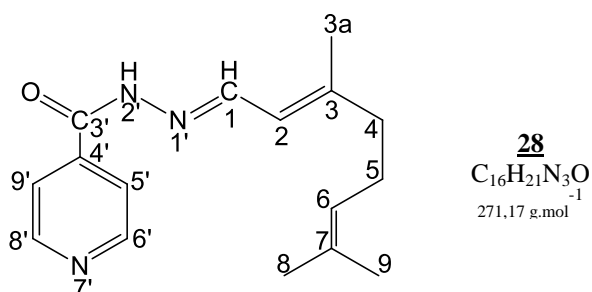
1.7.3.3. Parte III

1.7.3.3.1. Metodologia geral para a obtenção das hidrazonas lipofílicas alifáticas



Em uma solução dos aldeídos **27** (citral), **29a** (decanal) e **29b** (octanal) (1,0 mmol) em metanol anidro foi adicionada a isoniazida **1** (1,2 mmol). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética sob refluxo por 24 horas. O acompanhamento da reação foi realizado por CCD, utilizando-se como eluente diclorometano/metanol 9,5:0,5. Após o fim da reação o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo formado foi recristalizado em etanol a quente, levando a formação dos compostos **28**, **30a** e **30b** em 90%, 84% e 80% de rendimento, respectivamente.

Caracterização do (*E*)-*N'*-(*E*)-3,7-dimetil-2,6-octadienil-isonicotinoil-hidrazida **28**



Rendimento: 90%.

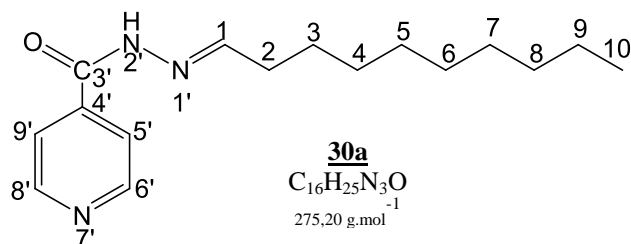
Faixa de fusão: 125 - 126 °C, Lit. (HEARN, 2009): 124 - 125 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,5-1,7 (s, 9H, 3 x CH₃); 2,1 (sl, 4H, **H-4** e **H-5**); 5,0 (sl, 1H, **H-6**); 5,9 (d, 1H, *J*_{2,1} = 9,9 Hz, **H-2**); 7,7 (d, 2H, *J*_{5,6} = 5,0 Hz, **H-5'** e **H-9'**); 8,5 (d, 1H, **H-1**); 8,62 (d, 2H, *J*_{6,5} = 5,0 Hz, **H-6'** e **H-8'**); 11,6 (sl, 1H, **NH**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 17,4-17,8 (**C-3a** e **C-8**); 25,7-26,2 (**C-5** e **C-9**), 40,3 (**C-4**), 121,4-123,1 (**C-6**, **C-2**, **C-5'** e **C-9'**); 132,5 (**C-7**), 140,4 (**C-1**), 150,1-151,6 (**C-4'**, **C-6'**, **C-7'**, **C-8'**) 162,9 (**C-3'**).

IV: (v, KBr): 3044, 2982, 1700, 1560, 1290, 1030 cm⁻¹.

Caracterização do (*E*)-*N'*-decil-isonicotinoil-hidrazida



Rendimento: 84%.

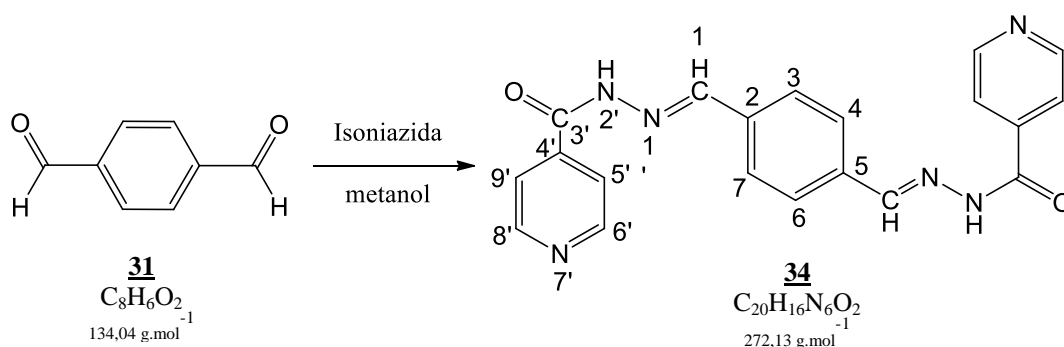
F. F: 83 - 84 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 0,84 – 0,88 (m, 3H, CH₃); 1,23-1,44 (m, 18H, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **H-7**, **H-8**, **H-9**); 7,71 (d, 2H, *J*₅₋₆ = 6,0 Hz, **H-5'** e **H-9'**); 7,74 (s, 1H, NH); 8,63 (d, 2H, *J*₆₋₅ = 6,0 Hz, **H-6'** e **H-8'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 14,2 (**C-10**); 22,8 - 32,8 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**, **C-8**, **C-9**); 121,6 (**C-5'** e **C-9'**); 140,6 (**C-4'**); 150,4 (**C-6'** e **C-8'**); 155,4 (**C-1**); 162,9 (**C=O**).

IV: (ν, KBr): 3248, 3072, 2918, 2847, 1651, 1543, 1028 cm⁻¹.

1.7.3.3.2. Síntese e caracterização da (*E*)-*N'*-(4-formilbenzilideno)isonicotino-hidrazida **34**



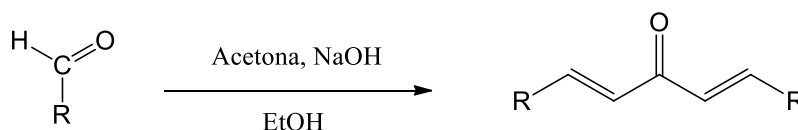
Em uma solução do aldeído **31** (1,0 mmol) em metanol anidro foi adicionada a isoniazida **1** (2,2 mmol). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética sob refluxo por 24 horas. O acompanhamento da reação foi realizado por CCD, utilizando-se como eluente diclorometano/metanol 9,5:0,5. Ao fim da reação foi observado a formação de um precipitado que foi separado por filtração a vácuo e lavado com metanol gelado.

Rendimento: 93%.

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm): 121,6 (C-5' e C-9'); 127,8 - 129,9 (C-3, C-4, C-6 e C-7) 136,9 (C-1); 139,6 - 143 (C-2 e C-5)); 150,3 e 150,5 (C-6' e C-8'); 161,9 (C=O); 192,9 (HC=O).

IV: (v, KBr): 3456, 3180, 2950, 2837, 1701, 1660, 1556, 1294, 816, **685** cm^{-1} .

1.7.3.3.4. Metodologia geral para a obtenção das cetonas análogas a curcumina. **42a-e**



41a-e

a : R = fenil

b : R = 4'-metoxifenil

c : R = 3',4',5'-trimetoxifenil

d : R = 4'-dimetilaminofenil

e : R = tiofen-2'-il

42a 90%

42b 60%

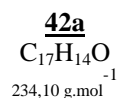
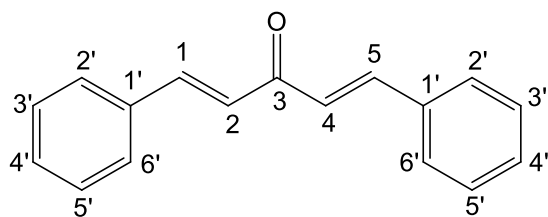
42c 70%

42d 71%

42e 80%

A uma mistura de solução aquosa de hidróxido de sódio 10% (2 mmol) e acetona (1 mmol) foi adicionada gota a gota uma solução etanólica do respectivo aldeído aromático (2 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e a temperatura ambiente por 30 minutos para os compostos **42a**, **42b**, **42c** e **42d** e 15 horas para composto **42e**. O acompanhamento das reações foi feito por CCD, utilizando-se como eluente hexano/acetato de etila 7/3. Ao fim da reação foi observado a formação de um precipitado floculento que foi separado por filtração e lavado com uma mistura gelada de $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ para eliminar o excesso de base, fornecendo as cetonas **42a-e** em 60 - 90% de rendimento.

Caracterização da (1*E*,4*E*)-1,5-(difenil)penta-1,4-dien-3-ona 42a



Rendimento: 90%.

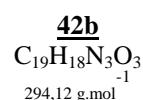
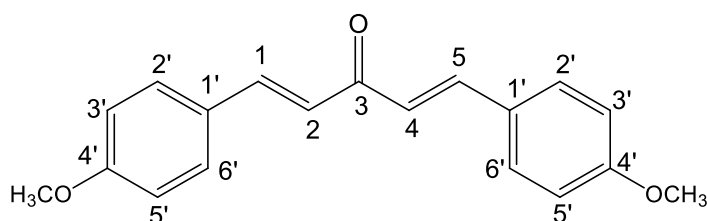
Faixa de fusão: 110 – 113 °C (Lit. (WEBER, 2005) 110 – 112 °C).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 7,09 (d, 2H, $J_{2-1} = 16$ Hz, **H-2** e **H-4**); 7,38 – 7,50 (m, 6H, **H-3'**, **H-4'** e **H-5'**); 7,60 – 7,62 (m, 4H, **H-2'** e **H-6'**); 7,74 (d, 2H, $J_{1-2} = 16$ Hz, **H-1** e **H-5**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 125,7 (**C-2** e **C-4**); 128,6 (**C-3'** e **C-5'**); 129,1 (**C-2'** e **C-6'**); 130,6 (**C-4'**); 135,0 (**C-1'**); 143,6 (**C-1** e **C-5**); 188,9 (**C=O**).

IV: (ν, KRS-5): 3060, 3012, 1653, 1598, 1449, 1339, 1190, 978, 750, 687 cm⁻¹.

Caracterização da (1*E*,4*E*)-1,5-bis-(4'-metoxifenil)penta-1,4-dien-3-ona 42b



Rendimento: 60%.

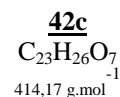
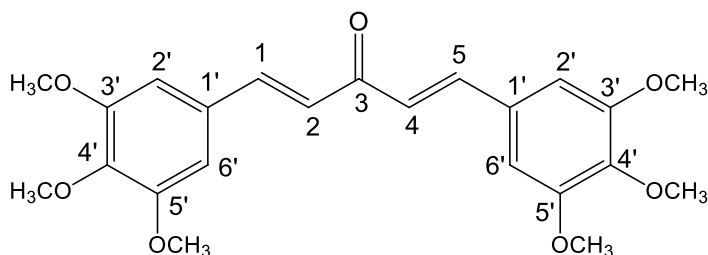
F. F.: 126 - 128 °C (Lit. (WEBER, 2005) 128 - 130 °C).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 3,82 (s, 6H, OCH₃); 7,90 – 7,96 (m, 6H, **H-2**, **H-4**, **H-3'** e **H-5'**); 7,68 (d, 2H, $J_{1-2} = 16$ Hz, **H-1** e **H-5**); 7,55 (d, 4H, $J_{2-3'} = 8,5$, **H-2'** e **H-6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 55,6 (OCH₃); 114,7 (**C-2** e **C-4**); 123,7 (**C-3'** e **C-5'**); 127,8 (**C-1'**); 130,2 (**C-2'** e **C-6'**); 142,7 (**C-1** e **C-5**); 161,7 (**C-4'**); 188,9 (**C=O**).

IV: (ν, KRS-5): 2957, 2831, 1583, 1504, 1245, 1166, 1025, 986, 820, 522 cm⁻¹.

Caracterização da (1E,4E)-1,5-bis(3',4',5'-trimetoxifenil)penta-1,4-dien-3-ona 42c



Rendimento: 70%.

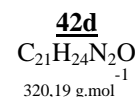
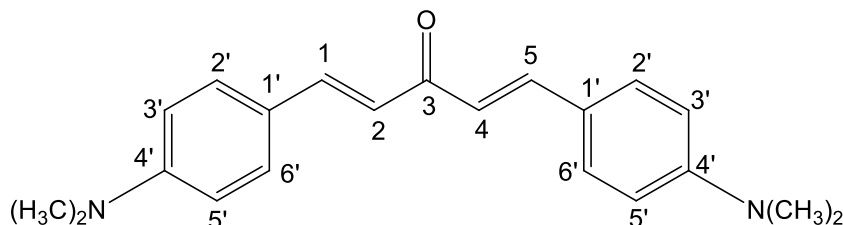
F. F.: 126-129 °C (Lit. (ADEVA, 2000): 128 °C).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 3,91 (s, 18H, OCH_3); 6,82 – 6,87 (m, 4H, **H-2'** e **H-6'**); 6,96 (d, 2H, $J_{2-1} = 15,9 \text{ Hz}$, **H-2** e **H-4**); 7,65 (d, 2H, $J_{1-2} = 15,9 \text{ Hz}$, **H-1** e **H-5**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 56,5 (OCH_3); 105,7 (**C-2'** e **C-6'**); 124,9 (**C-2** e **C-4**); 130,5 (**C-1'**); 140,6 (**C-4'**); 143,4 (**C-1** e **C-5**); 153,7 (**C-3'** e **C-5'**); 188,7 (**C=O**).

IV: (**v**, **KRS-5**): 3012, 2941, 2831, 1614, 1583, 1402, 1276, 1119, 986 cm^{-1} .

Caracterização da (1E,4E)-1,5-bis(4'-dimetilaminofenil)penta-1,4-dien-3-ona 42d



Rendimento: 71%.

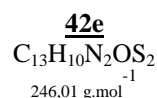
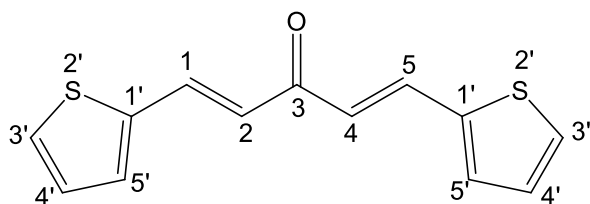
Faixa de fusão: 183 - 187 °C (Lit. (LIANG, 2008) 185 °C).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 3,03 (s, 12H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 6,69 (d, 4H, **H-3'** e **H-5'**); 6,89 (d, 2H, $J_{2-1} = 15,8$, **H-2** e **H-4**); 7,52 (d, 4H, $J_{2'-3'} = 8,7 \text{ Hz}$, **H-2'** e **H-6'**); 7,69 (d, 2H, $J_{1-2} = 15,7 \text{ Hz}$, **H-1** e **H-5**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 40,2 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 112,0 (**C-3'** e **C-5'**); 121,5 (**C-2** e **C-4**); 123,0 (**C-1'**); 130,2 (**C-2'** e **C-6'**); 143,1 (**C-1** e **C-5**); 151,9 (**C-4'**); 189,1 (**C=O**).

IV: (**v**, **KRS-5**): 3031, 2895, 1640, 1601, 1579, 1344 cm^{-1} .

Caracterização da (1E, 4E)-1,5-bis(tiofen-2'-il)penta-1,4-dien-3-ona **42e**



Rendimento: 80%.

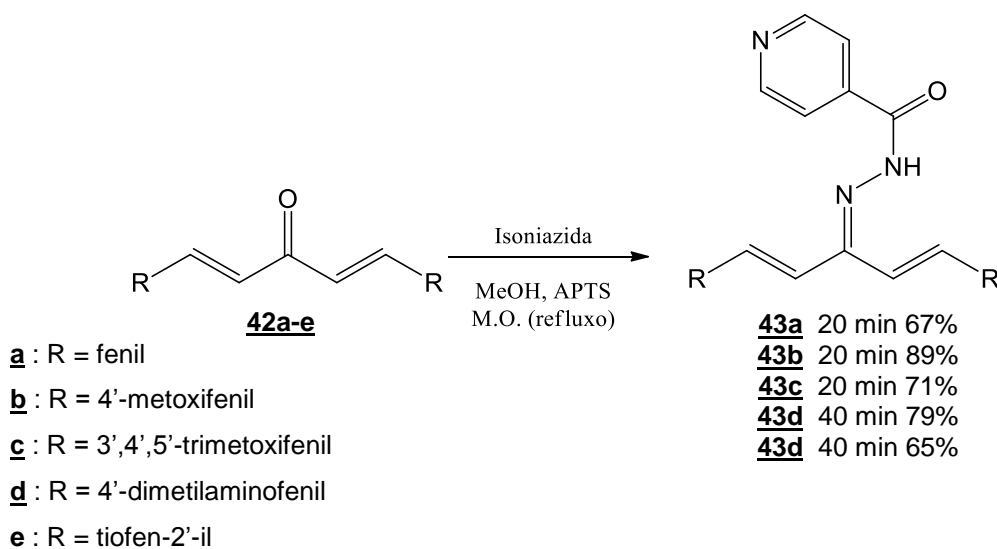
Faixa de fusão: 112 - 115 °C (Lit. (RULE, 1995) 115 - 117 °C).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 6,81 (s, 2H, $J_{2-1} = 15,7$ Hz, **H-2** e **H-4**); 7,06 – 7,09 (m, 2H, **H-4'**); 7,33 (d, 2H, $J_{5'-4'} = 4,9$ Hz, **H-5'**); 7,40 (d, 2H, $J_{3'-4'} = 5,0$ Hz, **H-3'**); 7,83 (d, 2H, $J_{1-2} = 15,7$ Hz, **H-1** e **H-5**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 124,5 (**C-5'**); 128,6 (**C-4'**); 129,5 (**C-2** e **C-4**); 131,9 (**C-3'**); 135,8 (**C-1** e **C-5**); 140,5 (**C-1'**); 187,9 (**C=O**).

IV: (**v, KRS-5**): 3099, 1663, 1609, 1566, 981 cm^{-1} .

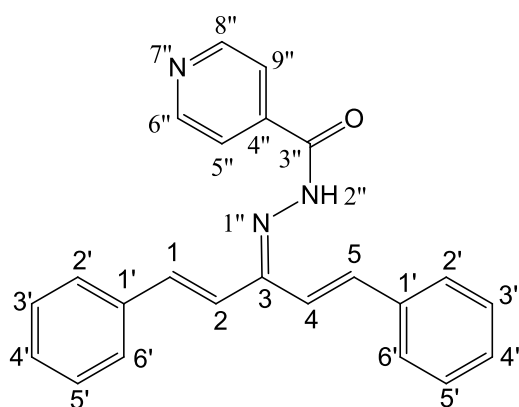
1.7.3.3.5. Metodologia geral para a obtenção dos derivados da isoniazida **43a-e**



A um balão de fundo redondo foram adicionadas as cetonas **42a-e** (0,5 mmol), ácido *p*-toluenossulfônico (APTS) (0,25 mmol) e 20 mL de metanol anidro. Essas soluções permaneceram sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente. Em seguida foi adicionada a isoniazida (0,6 mmol). Essas misturas

reacionais foram aquecidas em um forno de micro-ondas (Programa: refluxo, potência: 100 W). O acompanhamento das reações foi feito por CCD, utilizando-se como eluente diclorometano/acetato de etila 1:1. Após o término da reação o meio reacional foi concentrado sob pressão reduzida e o bruto obtido foi purificado por cromatografia (diclorometano/acetato) levando a formação dos compostos **43a-e** em 65 – 89% de rendimento.

Caracterização da (1E,4E)-1,5-(difenil)penta-1,4-dien-3-ona-2-isonicotinoil-hidrazida **43a**



43a
 $C_{23}H_{19}N_3O$
 $353,15 \text{ g.mol}^{-1}$

Rendimento: 67%.

F. F.: 110 – 113 °C.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 6,81 – 7,60 (m, 14H, **H-1**, **H-2**, **H-4**, **H-5** (olefina), **H-1'**, **H-2'**, **H-3'**, **H-4'** e **H-5'**, **H-6'**); 7,76 – 7,77 (m, 2H, **H-5''** e **H-9''**); 8,73 – 8,75 (m, 2H, **H-6''** e **H-8''**); 9,65 (sl, 1H, **NH**).

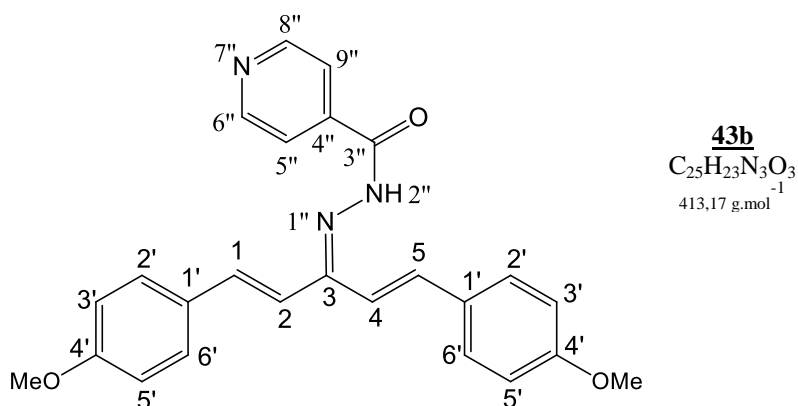
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 126,4 e 126,8 (**C-5''** e **C-9''**); 131,6 e 131,7 (**C-2** e **C-4**); 136 – 140,6 (**C-1'**, **C-2'**, **C-3'**, **C-4'**, **C-5'**, **C-6'**, **C-1** e **C-5**); 147,2 e 148,3 (**C-6'** e **C-8''**); 151,3 (**C=N**); 161,1 (**C=O**).

IV: (v, KRS-5): 3061, 1652, 1578, 1441, 1178, 968, 739, 681 cm^{-1} .

EMAR (ES⁺, m/z): encontrado: 354,1606 (M+H).

calculado: 354,1606 (M+H).

Caracterização da (1E,4E)-1,5-bis(4'-metoxifenil)penta-1,4-dien-3-ona-2-isonicotinoil-hidrazida 43b



Rendimento: 89%.

F. F.: 110 – 113 °C.

RMN ¹H (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ (ppm): 6,35 – 7,75 (m, 12H, **H-1**, **H-2**, **H-4**, **H-5** (olefina), **H-2'**, **H-3'**, **H-5'**, **H-6'**); 8,29 (d, 2H, J_{5''-6''} = 5,5 Hz, **H-5''** e **H-9''**); 8,84 (d, 2H, J_{6''-5''} = 5,5 Hz, **H-6''** e **H-8''**).

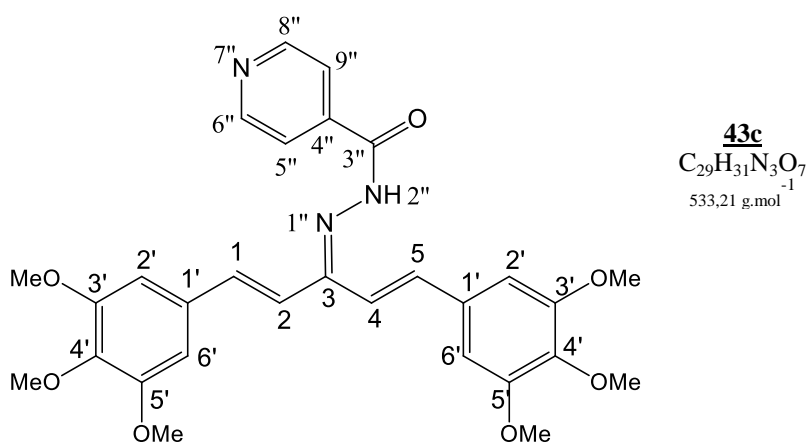
RMN ¹³C (75 MHz, (CD₃)₂CO): δ (ppm): 119,9 (**C-3'** e **C-5'**); 126,1, 128,5, 128,7, 129,7, 130,0, 130,4, 137,1 e 139,6 (**C-5''**, **C-9''**, **C-2**, **C-4**, **C-1'**, **C-2'** e **C-6'**, **C-1** e **C-5**); 147,2 e 148,3 (**C-6'** e **C-8''**); 149,3 (**C=N**); 159,3 (**C-4'**); 166,1 (**C=O**).

IV: (ν, KRS-5): 3034, 3022, 1640, 1570, 1452, 1339, 1190, cm⁻¹.

EMAR (ES⁺, m/z): encontrado: 414,1815 (M+H).

calculado: 414,1818 (M+H).

Caracterização da (1E,4E)-1,5-bis(3',4',5'-trimetoxifenil)penta-1,4-dien-3-ona-isonicotinoil-hidrazida 43c



Rendimento: 71%.

F. F.: 126-129 °C.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 3,75 – 3,89 (m, 18H, CH_3); 6,39 – 6,44 (m, 2H, **H-2** e **H-4**); 6,56 – 6,58 (m, 4H, **H-2'** e **H-6'**); 7,04 – 7,09 (m, 2H, **H-1**, **H-5**); 7,79 – 7,80 (m, 2H, **H-5''** e **H-9''**); 8,84 (d, 2H, $J_{6''-5''} = 6,0 \text{ Hz}$, **H-6''** e **H-8''**).

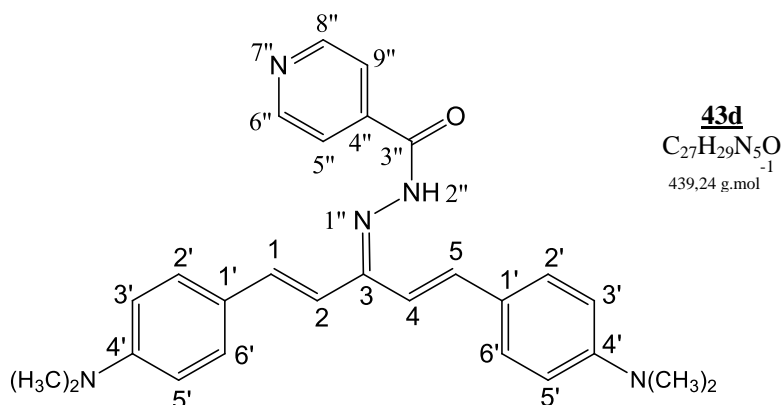
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 56,3, 57,5 (OCH_3); 103,4 e 104,2 (**C-2'** e **C-6'**); 121,2; 128,4; 131,7; 134,8; (**C-1**, **C-2**, **C-4**, **C-5**, **C-2'**, **C-4'**, **C-6'**, **C-5''** e **C-9''**); 150,7 (**C-6''** e **C-8''**); 149,3 (**C=N**); 159,3 (**C-4'**); 164,2 (**C=O**).

IV: (v, KRS-5): 3015, 2960, 2890, 1620, 1583, 1120, 972 cm^{-1} .

EMAR (ES^- , m/z): encontrado: 532,2092 (M-H).

calculado: 532,2084 (M-H).

Caracterização da (1*E*,4*E*)-1,5-bis(4'-dimetilaminofenil)penta-1,4-dien-3-ona **43d**



Rendimento: 79%.

F. F.: 183 – 187 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 3,03 (s, 12H, N(CH₃)₂); 6,69 (d, 4H, H-3' e H-5'); 6,89 (d, 2H, J₂₋₁ = 15,8, H-2 e H-4); 7,52 (d, 4H, J_{2'-3'} = 8,7 Hz, H-2' e H-6'); 7,69 (d, 2H, J₁₋₂ = 15,7 Hz, H-1 e H-5).

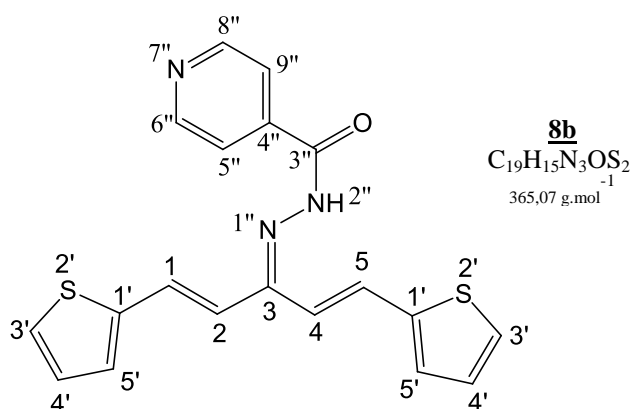
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 40,2 (N(CH₃)₂); 112,0 (C-3' e C-5'); 121,5 (C-2 e C-4); 123,0 (C-1'); 130,2 (C-2' e C-6'); 143,1 (C-1 e C-5); 151,9 (C-4').

IV: (ν, KRS-5): 3021, 2880, 1690, 1635, 1555, 1332 cm⁻¹.

EMAR (ES⁺, m/z): encontrado: 414,2453 (M+H).

calculado: 440,2450 (M+H).

Caracterização da (1*E*, 4*E*)-1,5-bis(tiofen-2'-il)penta-1,4-dien-3-ona-isonicotinoil-hidrazida **23e**



Rendimento: 65%.

F. F.: 112 - 115 °C.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 6,60 – 7,31 (m, 12H, **H-1**, **H-2**, **H-4**, **H-5** (olefina), **H-3'** e **H-5'**); 7,60 – 7,67 (m, 2H, **H-5''** e **H-9''**); 8,59 – 8,65 (m, 2H, **H-6''** e **H-8''**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 115,4 (**C-3'** e **C5'**); 121,4; 123,9; 125,0; 127,1; 127,2; 129,5; 130,6 (**C-1'**, **C-3'**, **C-4'**, **C-5'**, **C-1**, **C-2**, **C-4**, **C-5**, **C-5''** e **C-9''**); 149,7 (**C-6'** e **C-8''**); 150,6 (**C=N**).

IV: (v, KRS-5): 3012, 1671, 1605, 1555, 970 cm⁻¹.

EMAR (ES⁺, m/z): encontrado: 366,0744 (M+H).

calculado: 366,0735 (M+H).

1.8. Referências bibliográficas

ADEVA, M. **Open analogues of arcyriaflavin A. Synthesis through Diels-Alder reaction between maleimides and 1-aryl-3-tert-butyldimethylsiloxy-1,3-butadienes.** The Journal of Organic Chemistry, v. 65, p. 3387, 2000.

ALMEIDA, C. G. *et al.* **Antibacterial activity of lipophilic fluoroquinolone derivatives.** Medicinal Chemistry, v. 5, p. 419, 2009.

ALMEIDA, H. M.; MARQUES, H. M. C. **Physicochemical characterization of finasteride:PEG 6000 and finasteride:Kollidon K25 solid dispersions, and finasteride: β -cyclodextrin inclusion complexes.** Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v. 2011, p. 70, 397.

AMARANTE, G. W. **Síntese de compostos anfifílicos derivados da D-galactose, potenciais agentes surfactantes.** Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2005.

ANDRADE, C. H. *et al.* **Abordagem racional no planejamento de novos tuberculostáticos: inibidores da InhA, enoil-ACP redutase do M. tuberculosis.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 44, p. 167, 2008.

ANDRAUD, C. *et al.* **Theoretical and experimental investigations of the nonlinear optical properties of vanillin, polyenovanillin, and bisvanillin derivatives.** Journal of the American Chemical Society, v. 116, p. 2094, 1994.

APISARIYAKUL, A. *et al.* **Antifungal activity of turmeric oil extracted from Curcuma longa (Zingiberaceae).** Journal of Ethnopharmacology. v. 49, p. 163, 1995.

ARANTES, L. M. *et al.* **Proparacaine complexation with β -cyclodextrin and p-sulfonic acid calix[6]arene, as evaluated by varied $^1\text{H-NMR}$ approaches.** Magnetic Resonance in Chemistry, v. 47, p. 757, 2009.

ARAÚJO, C. A. C. **Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against *Leishmania amazonensis***. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 94, p. 791, 2008.

ARAÚJO, C. A. C. *et al.* **Biological activities of curcuma longa L.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 5, p. 723, 2001.

BARBOSA, A. C. R. N. *et al.* **Aquecimento em forno de micro-ondas/desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais.** Química Nova, v. 24, p. 901, 2001.

BARREIRO, E. J. *et al.* **Química medicinal de derivados N-acilidrazônicos, protótipos de agentes antiinflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos.** Química Nova, v. 25, p. 129, 2002.

BARRY, C. E. **Use of genomics and combinatorial chemistry in the development of new antimycobacterial drugs.** Biochemical pharmacology, v. 59, p. 221, 2000.

BHATT, D. J. *et al.* **Studies on sulphonylhydrazones: Activity of aryl sulphonyl-(4-substituted)-aceto/propieophenonehydrazones.** Journal of the Indian Chemical Society, p. 788, 1984.

BOARETTO, C. *et al.* **Os desafios para o controle da tuberculose e novas perspectivas.** Caderno de Saúde Coletiva, v. 20, p. 135, 2012.

BOTSI, A. *et al.* **(+)- and (-)- α -Pinene as chiral recognition probes with natural cyclodextrins and their permethylated derivatives. An aqueous NMR study.** Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, p. 89, 1997.

BRANCO, F. S. C. *et al.* **A Química medicinal de novas moléculas em fase clínica para o tratamento da tuberculose.** Revista Virtual Química, v. 4, p. 287, 2012.

BRASIL (a). Ministério da Saúde. http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Mar/25/apres_padrao_base_22_02_2013_site.pdf, acesso em: 30 mai. 2013.

BRASIL (b). Ministério da Saúde. http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_de_recomendacoes_tb.pdf, acesso em: 30 Jun. 2013.

CABRAL, M. H. **Structure and properties of cyclodextrins: inclusion complex formation.** Revista portuguesa de farmácia, v. 44, p. 77, 1994.

CAO, F. *et al.* **The physicochemical characteristics of freeze-dried scutellarin-cyclodextrin tetracomponent complexes.** Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 31, p. 747, 2005.

CARDOSO, S. H. **Síntese de derivados do 2-mercaptobenzotiazol, do 2-mercaptobenzimidazol, da isoniazida e da etionamida, candidatos a novos agentes antimicrobianos e estudos visando a síntese da alloenduracididina.** Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

CARDOSO, S. H. *et al.* **Synthesis and antitubercular activity of isoniazid condensed with carbohydrate derivatives.** Quimica Nova, v. 32, p. 1557, 2009

CASNATI, A. *et al.* **Enlarging the size of calix[4]arene-crowns-6 to improve Cs⁺/K⁺ selectivity: a theoretical and experimental study Original.** Tetrahedron, v. 60, p. 7869, 2004.

CHANDRU, H. *et al.* **In vivo growth inhibitory and anti-angiogenic effects of synthetic novel dienone cyclopropoxy curcumin analogs on mouse Ehrlich ascites tumor.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 15, p. 7696, 2007.

CORREA, T. A. **Síntese de amino-álcoois derivados de carboidratos, potenciais agentes antituberculose.** Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora,

2009.

CORTI, G. *et al.* **Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl-beta-cyclodextrin.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 45, p. 480, 2007.

CUNHA, F. M. S. S.; SÁ, B. L. C. L. **Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 28, p. 1, 2007.

DA SILVA, C. O. **Efeito anomérico em carboidratos: Fatos e hipóteses.** Revista Virtual de Química, v. 3, p. 235, 2011.

DAFFÉ, M. *et al.* **Predominant structural features of the cell wall arabinogalactan of Mycobacterium tuberculosis as revealed through characterization of oligoglycosyl alditol fragments by gas chromatography/mass spectrometry and by ¹H and ¹³C NMR analyses.** The Journal of Biological Chemistry, v. 265, p. 6737, 1990.

DAFFÉ, M. *et al.* **Major structural features of the cell wall arabinogalactans of Mycobacterium, Rhodococcus, and Nocardia spp.** Carbohydrate Research, v. 249, p. 383, 1993.

DAVIS, M. E. *et al.* **Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 3, p.1023, 2004.

DE ALMEIDA, M. V. *et al.* **Synthesis and antitubercular activity of lipophilic moxifloxacin and gatifloxacin derivatives.** Bioorganic & medicinal chemistry letters, v. 17, p. 5661, 2007.

DE ASSIS, J. V. *et al.* **Experimental and theoretical NMR determination of isoniazid and sodium p-sulfonatocalix[n]arenes inclusion complexes.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 47, 539, 2012.

DE FÁTIMA, A. *et al.* **Calixarenes as new platforms for drug design current drug discovery technologies.** Current Drug Discovery Technologies. v. 6, p. 151, 2009.

DE FATIMA, **Calixarenes as new platforms for drug design.** Current Drug Discovery Technologies, v. 6, p. 151, 2009.

DE LISI, R. *et al.* **Temperature-controlled poly(propylene) glycol hydrophobicity on the formation of inclusion complexes with modified cyclodextrins. A DSC and ITC study,** v. 13, p. 12571, 2011.

DE MACEDO, M. **Avaliação Farmacológica do complexo de inclusão sufentanil-2-hidroxiopropil- β -Ciclodextrina.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Departamento de Ciências da Saúde, Bragança Paulista, 2012.

DE ROSA, H. J. **Efeitos da rifampicina na farmacocinética e hepatotoxicidade da isoniazida.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2006.

DE SOUZA, M. V. N. **A tuberculose e o desenvolvimento de novos tuberculostáticos em Far-Manguinhos (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro.** Revista Virtual de Química, v. 1, p. 9, 2009.

DE SOUZA, M. V. N. *et al.* **Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro.** Química Nova, v. 28, p. 678, 2005.

DE SOUZA, M. V. N. *et al.* **Fluoroquinolones: An important class of antibiotics against tuberculosis.** Current medicinal chemistry, v. 13, p. 455, 2006.

DJEDAINI, F. *et al.* **Nuclear magnetic resonance investigation of the stoichiometries in β -cyclodextrin:steroid inclusion complexes.** Journal Pharmaceutical Sciences, v. 79, p. 643, 1990.

FERNANDES, C. M. *et al.* **Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nifedipine-cyclodextrins inclusion compounds.**

European Journal of Pharmaceutical Sciences. v. 15, p. 79, 2002.

FERNANDES, J. P. S. **Síntese e atividade antimicrobacteriana de ésteres do ácido pirazinóico e quinolona.** Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FERNANDES, S. A. *et al.* **Investigation of tetracaine complexation with beta-cyclodextrins and p-sulphonic acid calix[6]arenes by nOe and PGSE NMR.** Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v. 57, p. 395, 2007.

FERNANDES, S. A. *et al.* **Non-covalent synthesis' of a chiral host of calix[6]arene and enantiomeric discrimination.** Magnetic Resonance in Chemistry, v. 43, p.398, 2005.

FIELDING, L. **Determination of association constants (K_a) from solution NMR Data.** Tetrahedron, v. 56, p.6151, 2000.

FIGUEIRAS, A. *et al.* **The Role of L-arginine in inclusion complexes of omeprazole with cyclodextrins.** Pharmaceutical Research, v. 24, p. 377, 2007.

FRANCO, L. L. **Síntese e caracterização de diidroperóxidos e tetraoxanos, novos candidatos a antimaláricos.** Dissertação (Mestrado em Saúde), Universidade Federal de Juiz de Fora, 2010.

GANDOLFO, R. C. *et al.* **Metabólitos secundários das esponjas aplysina fistularis e dysidea sp. e atividade antituberculose da 11-cetofistularina-3.** Quimica Nova, v. 33, p. 1858, 2010.

GAREGG, P. J. **Some aspects of regio-, stereo-, and chemoselective reactions in carbohydrate chemistry.** Pure and Applied Chemistry, v. 56, p. 845, 1984.

GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. **Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration.** Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, p. 2866,

1980.

GOMES, P. R. **Síntese, caracterização e avaliação biológica de fenilhidrazonas derivadas de análogos da curcumina.** Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2011.

GRAHAM, S. T. *et al.* **Nitric oxide generated from isoniazid activation by KatG: Source of nitric oxide and activity against Mycobacterium tuberculosis.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 48, p. 3006, 2004.

GUIMARÃES, D. O. *et al.* **Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes:** Quimica Nova, v. 33, p. 667, 2010.

GUSTSCHE, C. D. *et al.* **p-Tert-Butylcalix[4]arene.** Organic Syntheses, v. 68, p. 234, 1989.

HERAN, M. J. *et al.* **Preparation and antitubercular activities in vitro and in vivo of novel Schiff bases of isoniazid.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 44, p. 4169, 2009.

IKEDA, A. ; SHINKAI, S. **Novel cavity design using calix[n]arene skeletons: toward molecular recognition and metal binding chemical reviews,** v. 97, p. 1713, 1997.

IQBAL, M. *et al.* **Calixarenes. 18. synthesis procedures for p-tert-butylcalix[4]arene.** The Journal Organic Chemistry, v. 51, p. 742, 1986.

JUNIOR, C. O. *et al.* **Preparation and antitubercular activity of lipophilic diamines and amino alcohols.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 104, p. 703, 2009.

JUNIOR, C. O. *et al.* **Trypanocidal activity of lipophilic diamines and amino Alcohols**. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 64, p. 624, 2010.

KAROYO, A. *et al.* **Formation of host-guest complexes of β -cyclodextrin and perfluorooctanoic acid**. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 115, p. 9511, 2011.

KATIAR, D. *et al.* **Synthesis and antimycobacterial activities of glycosylated amino alcohols and amines**. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 40, p. 351, 2005.

KATRITZKY, A. R. *et al.* **Comprehensive Heterocyclic Chemistry II**, Elsevier Science Ltda, 1996.

KLIMESOVA, V. *et al.* **Synthesis and preliminary evaluation of benzimidazole derivatives as antimicrobial agentes**. *European journal of medicinal chemistry*, v. 37, p. 409, 2002.

LE HYARIC, M. *et al.* **Synthesis of amphiphilic galactopyranosyl diamines and amino**. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 42, p. 1076, 2007.

LIANG, G. *et al.* **Synthesis and anti-inflammatory activities of mono-carbonyl analogues of curcumin**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 1525, 2008.

LIANG, G. *et al.* **Synthesis and anti-inflammatory activities of mono-carbonyl analogues of curcumin**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 1525, 2008.

LOFTSSON, T. *et al.* **Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics**, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 2, p. 95, 1993.

LOFTSSON, T. *et al.* **Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice**. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 225, p. 15, 2001.

LYRA, M. A. M. *et al.* **Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 31, p. 117, 2010.

NAYYAR, A.; JAIN, R. **Recent advances in new structural classes of anti-tuberculosis agents.** Current Medicinal Chemistry, v. 12, p. 1873. 2005.

OSBORNE, R. **First novel anti-tuberculosis drug in 40 years.** Nature biotechnology, v.31, p. 89, 2013

ÖZDEMİR, A. *et al.* **Synthesis of some novel hydrazone derivatives and evaluation of their antituberculosis activity.** Marmara Pharmaceutical Journal, v. 14, p. 79, 2010.

PERRONE, C. *et al.* **Assinalamentos de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 em uma série de novos derivados de carboidratos.** Ressonancia Magnetica Nuclear, v. 6, p. 61, 1999.

PIHLASALO, J. *et al.* **Conformational equilibria of citral.** Journal of Molecular Structure: Theochem, v. 814, p. 33, 2007.

PINTO, L. M. A. *et al.* **Physico-chemical characterization of benzocaine- β -cyclodextrin inclusion complexes.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical, v. 39, p. 956, 2005.

PIRES, M. A. S. **Preparo de compostos de inclusão de hidroclorotiazida, pioglitazona e claritromicina em ciclodextrinas por diferentes técnicas: caracterização e estudos biológicos.** Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Minas Gerais, 2011

PORTO, Â. **Representações sociais da tuberculose: estigma e preconceito.** Revista de Saúde Pública, v. 41, p. 43, 2007.

REZA, A. G. *et al.* **Correlation between isoniazid resistance and superoxide reactivity in Mycobacterium tuberculosis KatG.** Journal of the American Chemical Society, v. 127, p. 13428, 2005.

REZENDE, M. C. *et al.* **Preparation, spectroscopic and acidity properties of two hydrazones:an organic lab experimete.** Química Nova, v. 30, p. 229, 2007.

RODRIGUEZ, P. *et al.* **Drug solubilization and delivery from cyclodextrin-pluronic aggregates.** Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 6, p. 3179, 2006.

ROMAN, M. **Estudo farmacocinético de um análogo lipofílico da isoniazida, denominado JVA, administrado em camundongos,** Dissertação (Mestre em Farmacologia). Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

ROZMAN, M. A. **Aids e tuberculose na casa de detenção de São Paulo.** Dissertação (Mestrado em Medicina Preventiva) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

RULE, N. G. **Syntheses of 4H-thiopyran-4-one 1,1-dioxides as precursors to sulfone-containing analogs of tetracyanoquinodimethane.** The Journal of Organic Chemistry, v. 60, p. 1665, 1995.

SATO, K. *et al.* **Synthesis of D-rubranitrose by using a novel method for constructing functionalized branched-chain structures.** Tetrahedron Letters, v. 45, p. 1523, 2004.

SCHEIDER, J. *et al.* **NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes.** Chemical Reviews, v. 98, p. 1755, 1998.

SCHNEIDER, H. J. *et al.* **NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes.** Chemical Reviews, v. 98, p. 1755, 1998.

SILVA, G. B. **Efeitos fisiológicos e bioquímicos do estresse salino em ananas**

porteanus. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.

STELLA, V. J. *et al.* **Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery**. *Pharmaceutical Research*, v. 14, p. 556, 1997.

SZEJTLI, J. *et al.* **In Comprehensive Supramolecular Chemistry**, ed. Pergamon Press: Oxford, 1996.

TAVEIRA, A. F. **Síntese de amino-álcoois acoplados com derivados da D-galactose e da D-glicose, potenciais agentes antituberculose**. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2007.

TAVEIRA, A. F. *et al.* **Preparation and antitubercular activities of alkylated amino alcohols and their glycosylated**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 15, p. 7789, 2007.

VENTURA, C. A. *et al.* **Preparation of celecoxib-dimethyl-beta-cyclodextrin inclusion complex: characterization and in vitro permeation study**. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 40, p. 624, 2005.

VERAVONG, S. *et al.* **Synthesis of tetraalkylated calix[4]arenes and studies of their conformational behaviors**. *Science Asia*, v. 26, p. 163, 2000.

VRIELINK, A. *et al.* **Crystal and molecular structures of 5-allyl-25-methoxy-26,27,28-tribenzoylcalix[4]arene**. *Journal of Inclusion Phenomena*, v. 4, p. 199, 1986.

WEBER, W. M. **Anti-oxidant activities of curcumin and related enones**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 13, p. 3811, 2005.

World Health Organization. *Global tuberculosis report 2012*, 2012.

YOYA, G. K. **Synthese d'analogues cinnamiques: Inhibiteurs potentiels contre**

Mycobacterium tuberculosis. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais), Université de Toulouse, Toulouse, 2010.

ZAHÍNOS, E. V. *et al.* **Coordination behaviour of schiff base 2-acetyl-2-thiazoline hydrazone (ATH) towards cobalt(II), nickel(II) and copper(II).** Polyhedron, v. 27, p. 879, 2008.

CAPÍTULO 2

***ESTUDO VISANDO A SÍNTESE DA ALLOENDURACIDIDINA VIA REAÇÕES DE
AZIRIDINAÇÃO INTRAMOLECULAR***

2.1. Introdução

2.1.1. Enduracidina

Nos anos 50 do século XX o grupo de pesquisa de Wyeth (SINGH, 2000) iniciou um programa de pesquisa para identificar novos compostos a partir da fermentação microbiana. Assim, em 1958 uma mistura complexa de cinco novos antibióticos foi isolada de *Streptomyces hygrosopicus*, LL-AC98 (DE VOE, 1970).

As estruturas da mistura AC98 foram elucidadas somente em 2002 (HE, 2002). Os cinco compostos isolados, as manopeptimicinas α - ϵ , são peptídeos cíclicos glicosilados compostos pela serina (Ser), glicina (Gly), tirosina (Tyr), metilfenilalanina (MePhe) e dois aminoácidos raros, a β -hidroxi-alloenduracididina (Aiha-B) e a β -hidroxi-enduracididina (Aiha-A) (Figura 2.1).

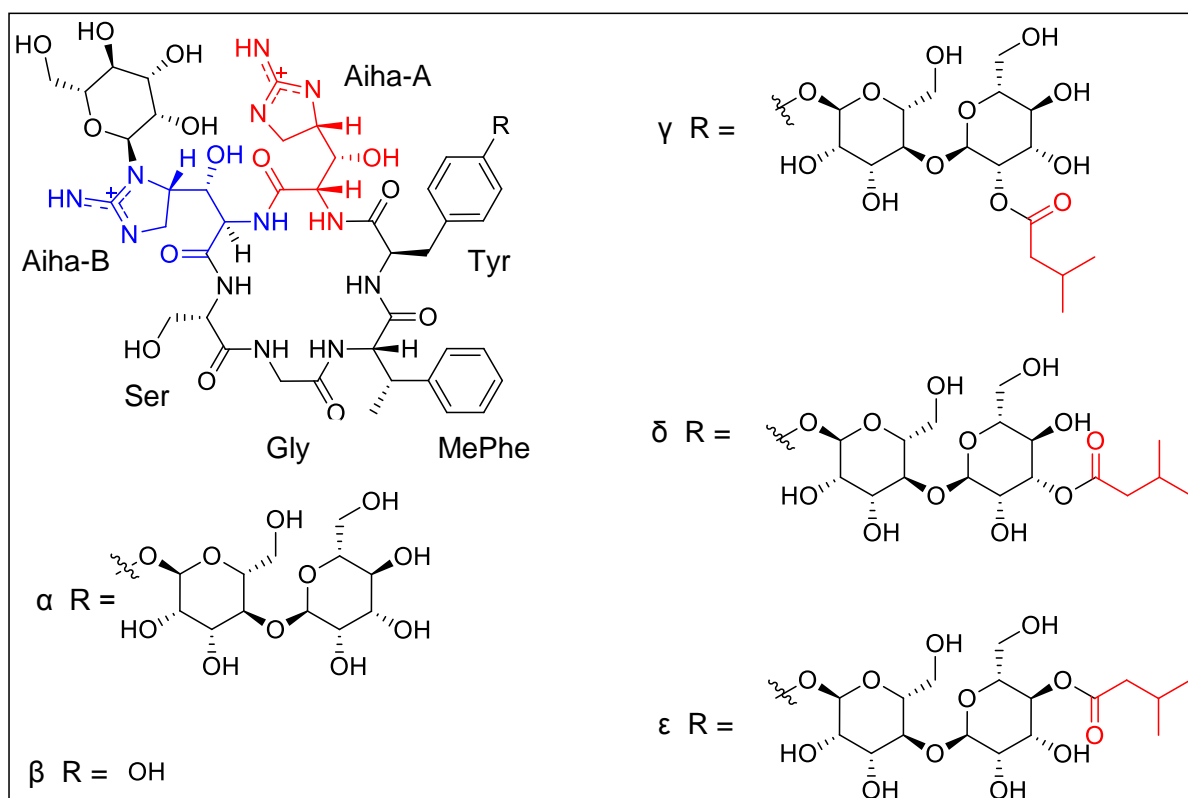


Figura 2.1. Estruturas das manopeptimicinas α - ϵ .

A β -hidroxi-enduracididina é designada segundo as regras da IUPAC como ácido α -amino- β -[4'-(2'-iminoidazolidinil)]- β -hidroxipropiônico (Aiha), seu nome trivial se deve a semelhança estrutural com a alloenduracididina **1** e a enduracididina **2**, que são aminoácidos isolados pela primeira vez em 1968 de *Streptomyces fungicidicus* como parte de um ciclopeptídeo, a enduracidina, que apresenta uma potente atividade antibiótica (Figura 2.2) (GOTO, 1968).

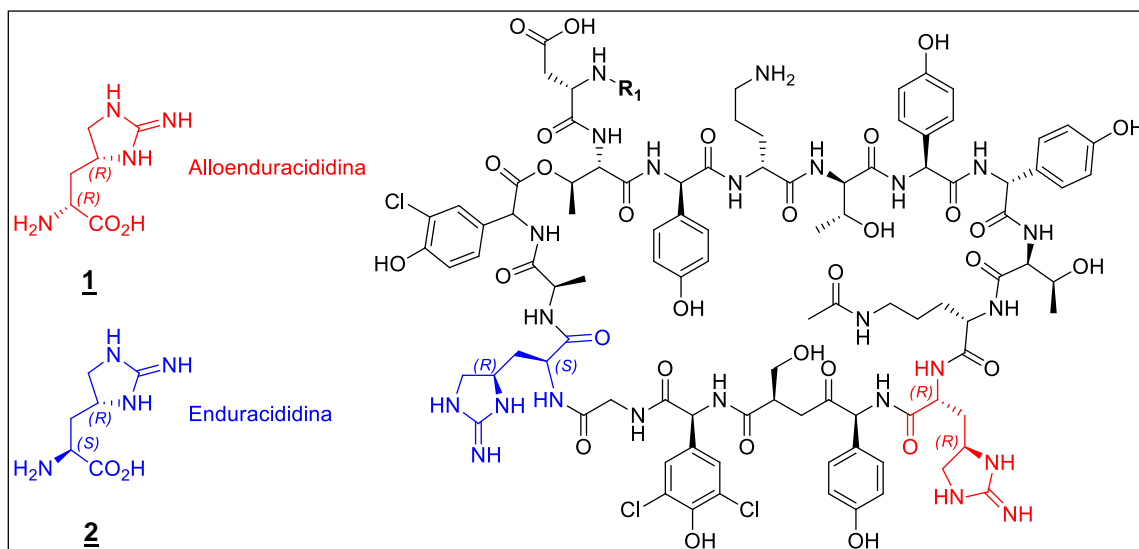


Figura 2.2. Estrutura da Enduracididina.

2.1.2. β -Hidroxienduracididina e enduracididina: vias de acesso descritas na literatura

2.1.2.1. Síntese da β -Hidroxienduracididina

Existem dois trabalhos recentes na literatura sobre a síntese da β -Hidroxienduracididina, o primeiro realizado por Oberthür *et al* (SCHWORER, 2009) em 2009 e outro em 2010 por Van Nieuwenhze *et al* (OLIVIER, 2010).

Trabalho de Oberthür (SCHWORER, 2009)

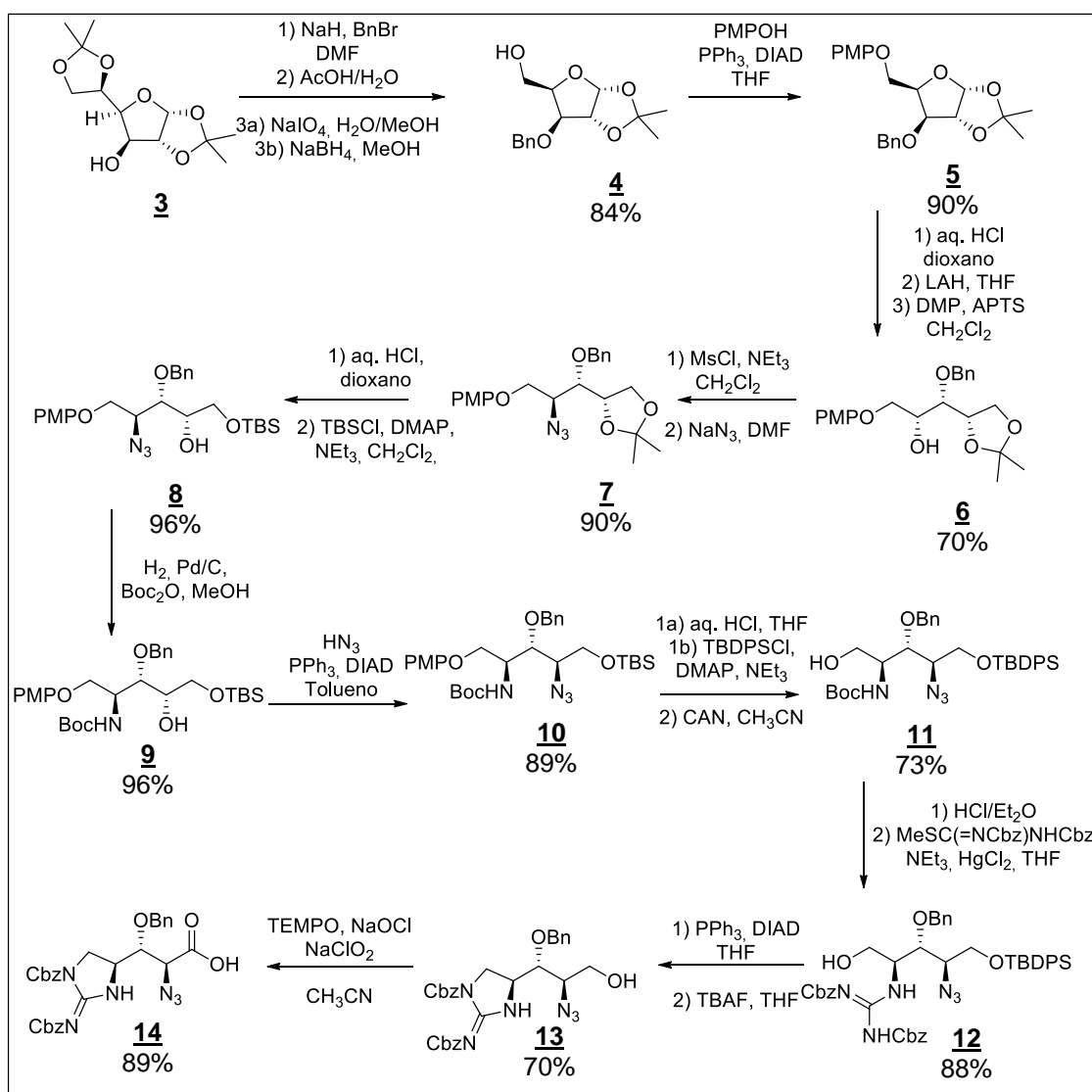
No trabalho realizado por Oberthür *et al* (Esquema 2.1) a glicose protegida **3** foi convertida no 3-O-benzil-1,2-O-isopropilideno-D-xilose **4** em 4 etapas. Após uma proteção do álcool primário por um grupamento *p*-metoxifenil éter (PMP), foi realizado uma hidrólise ácida do grupamento isopropilideno do derivado **5** seguido por uma redução com LiAlH_4 , e por último uma proteção com 2,2-dimetoxipropano levando a formação do composto **6**.

O grupamento azido foi introduzido na posição 4 do composto **6** com inversão de configuração. O acetal do intermediário **7** foi hidrolisado em meio ácido seguido pela proteção seletiva por um grupamento silila conduzindo ao azido-álcool **8**. O grupamento azido do composto **8** foi hidrogenado e em seguida protegido com o grupamento *tert*-butoxicarbonil (Boc), levando a formação do composto **9**.

Para obter o aminoácido L o grupamento azido foi introduzido no composto **9** com inversão de configuração utilizando-se as condições de reações de Mitsunobu,

levando a formação do composto **10**. Foi verificado que o grupamento *tert*-butildimetilsilil (TBS) era lábil para as etapas seguintes da síntese, assim ele foi substituído pelo *tert*-butildifenilsilil (TBDPS) e o grupamento *p*-metoxifenol (PMP) foi removido com nitrato cérico de amônio (CAN) fornecendo o álcool **11**. A amina do composto **11** foi inicialmente desprotegida em meio ácido e em seguida tratada com bis(benziloxycarbonil)isotiourea, fornecendo a guanidina **12**.

A guanidina cíclica **13** foi obtida a partir da reação de ciclização intramolecular do composto **12** utilizando-se as condições de reação de Mitsunobu. O aminoácido L protegido sob a forma da azida **14** foi obtido pela oxidação do álcool primário com *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO) e hipoclorito de sódio (NaOCl).

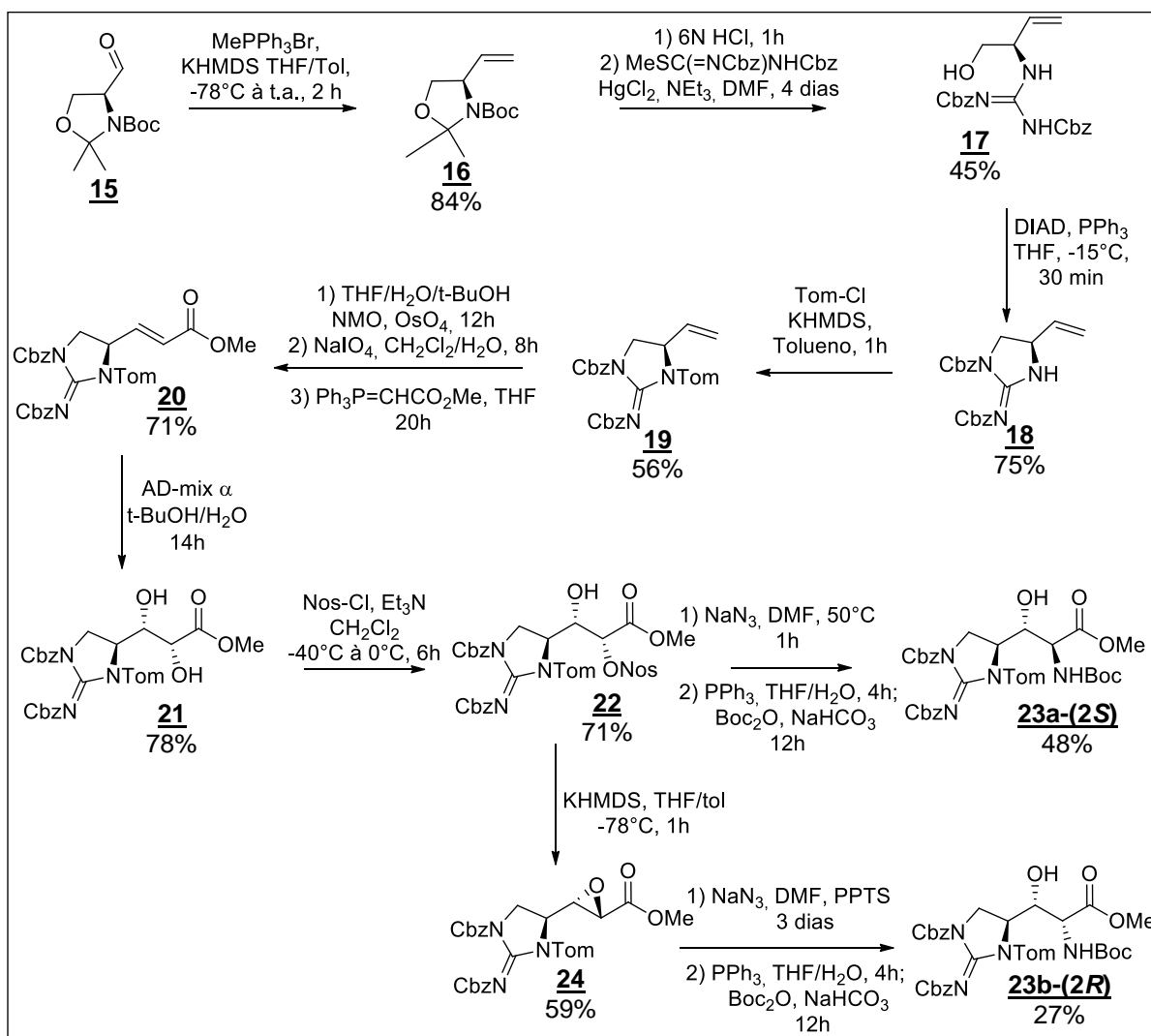


Esquema 2.1. Síntese da β -L-hidroxiinduracidina.

Trabalho de Nieuwenhze (OLIVIER, 2010)

O aldeído **15** (Esquema 2.2) obtido a partir da L-serina foi convertido no alceno **16** por uma reação de Wittig. O composto **16** foi inicialmente desprotegido em meio ácido e em seguida tratado com bis(benziloxicarbonil)isotioureia, fornecendo a guanidina **18** após a reação de ciclização intramolecular. A guanidina cíclica **18** foi protegida com o grupo triisopropilsililoxi de metila (Tom) com a finalidade de realizar uma desproteção seletiva do nitrogênio da guanidina no momento da introdução da porção manosila.

O alceno **19** foi submetido a uma clivagem oxidativa e o aldeído resultante foi submetido a uma olefinização de Wittig levando a formação do éster **20** com uma proporção de 17:1 em favor do isômero *E*. O composto **20** foi inicialmente oxidado (**21**) e posteriormente monosulfonilado, obtendo o composto **22** que é intermediário comum para obtenção dos isômeros da β -hidroxi-enduracididina.

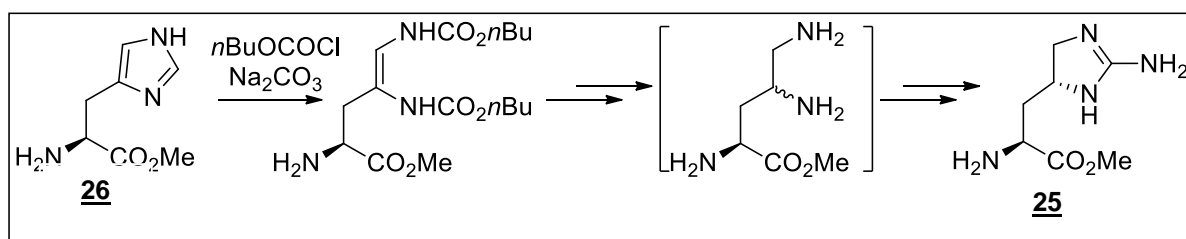


Esquema 2.2. Síntese da L e β -D-hidroxienduracididina.

A β -L-hidroxi-enduracididina protegida **23a-(2S)** foi obtida pela substituição do grupo nosila pelo grupamento azido com posterior redução e proteção com Boc. A β -D-hidroxi-enduracididina protegida **23b-(2R)** foi obtida pela reação de adição com azida de sódio ao epóxido **24** com retenção de configuração, seguida igualmente da redução e proteção com Boc.

2.1.2.2. Síntese da enduracididina

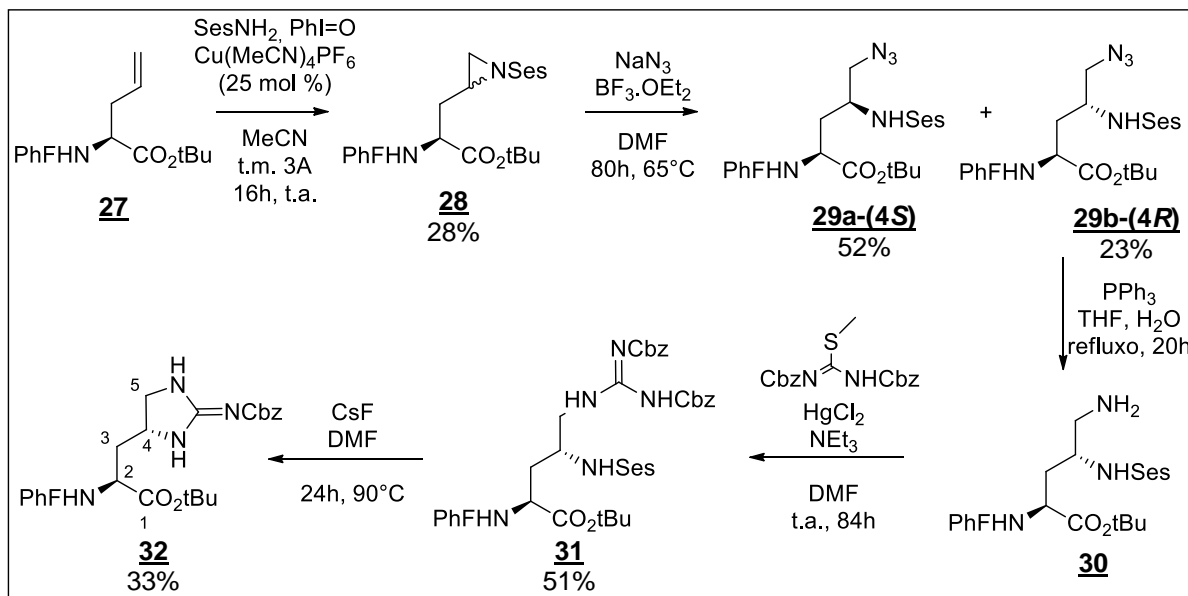
A primeira síntese da enduracididina foi realizada sob a forma éster metílico (**25**) em 1975 por Tsuji *et al* (TSUJI, 1975), tendo sido utilizado como etapa chave a clivagem oxidativa do anel imidazólico do histidinato de metila **26** (Esquema 2.3).



Esquema 2.3. Síntese da enduracididina por Tsuji.

A segunda síntese da enduracididina foi desenvolvida por Dodd *et al* (SANIERE, 2004), utilizando-se como etapa chave a reação de aziridinação intermolecular por transferência de nitrenos (DAUBAN, 2003).

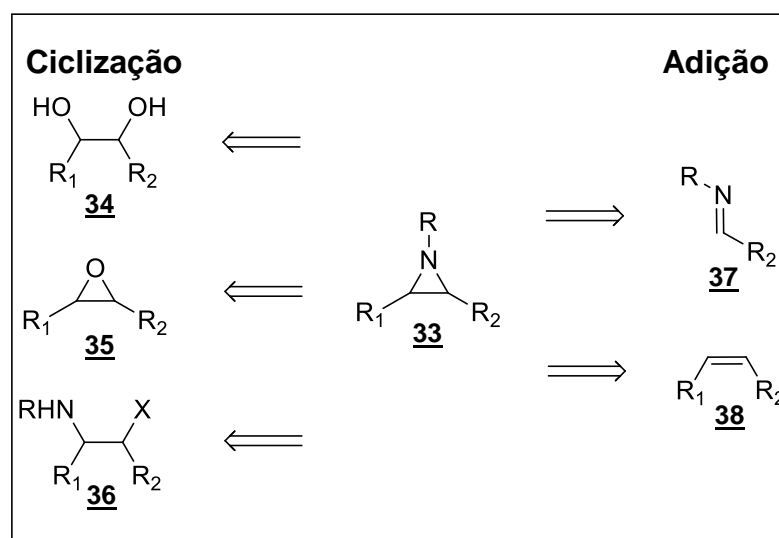
Nesta síntese utilizou-se como material de partida a alilglicina protegida **27** (Esquema 2.4) que foi submetida a reação de aziridinação em presença de uma sulfonamida (SesNH_2), um catalisador de cobre e o iodossilbenzeno, levando a formação da aziridina **28** sob a forma de diastereoisômeros (4S:4R 7:3) que foram submetidos a reação de abertura com azida de sódio (**29a-(4S)** e **29b-(4R)**). A enduracididina **32** foi obtida após a redução e guanidação do diastereoisômero **29b-(4R)**.



Esquema 2.4. Síntese da enduracidina desenvolvida pelo grupo de Dodd.

2.1.3. Aplicação da reação de aziridinação por transferência de nitrenos

Aziridinas (**33**) são compostos cíclicos que apresentam dois átomos de carbono e um de nitrogênio e constituem uma importante família de compostos heterocíclicos, pois podem ser utilizadas como intermediários em síntese orgânica, como na obtenção de heterociclos complexos, aminoácidos (SWEENEY, 2002) e substâncias naturais (WATSON, 2006). As aziridinas podem ser obtidas, de maneira geral, a partir de 1,2-dióis **34**, epóxidos **35** e aminoálcoois **36** via reações de ciclização e a partir de iminas **37** e alcenos **38** por reações de adição (Esquema 2.5).

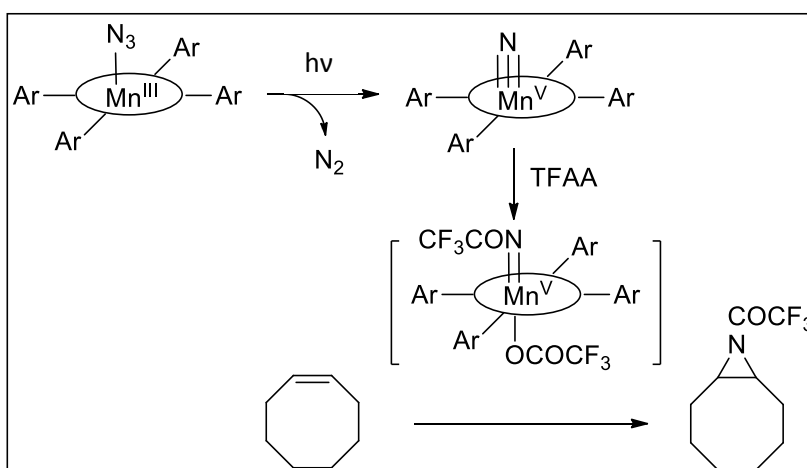


Esquema 2.5. Formas de obtenção de aziridinas.

A metodologia mais empregada para obtenção de aziridinas é pela adição de nitrenos a alcenos. Um grande avanço nesta técnica foi obtido pela utilização de nitrenos estabilizados por complexos de metais de transição como o cobre e o ródio.

2.1.3.1. Aziridinação de olefinas por adição de nitrenos

A obtenção de aziridinas por transferência de nitrenos ao longo dos anos era realizada sob condições drásticas, como reações de termólise ou fotólise em derivados nitrogenados (ATKINSON, 1969). Essas condições se tornam incompatíveis quando se utiliza numerosos grupos funcionais. Nos anos 80 do século XX a utilização de nitrenos estabilizados por metais de transição permitiram o desenvolvimento de um grande número de métodos mais eficazes para obtenção de aziridinas. A primeira aziridinação eficaz desse tipo de reação foi realizada em 1983 por Groves e Takahashi (GROVES, 1983) (Esquema 2.6).



Esquema 2.6. Aziridinação por ativação com um complexo de manganês.

Dois outros precursores foram particularmente estudados a fim de obter formas de gerar nitrenos mais facilmente, são eles: haloaminas e iminoiodanos.

Aziridinação por haloaminas

As haloaminas apresentam uma carga negativa sobre o átomo de nitrogênio que está ligado a um halogênio, conferindo propriedades particulares as reações de adição. Entre essas espécies, a Cloroamina-T e a Bromoamina-T são as precursoras de nitrenos mais utilizados e disponíveis comercialmente (Figura 2.3).

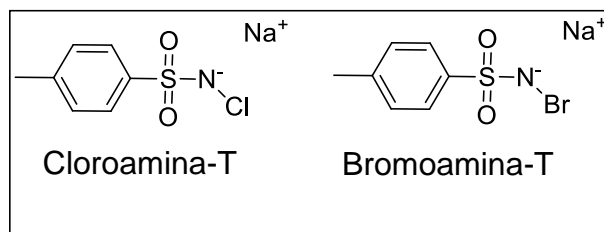


Figura 2.3. Haloaminas.

Aziridinação por iminoiodanos

Entre os precursores de nitrenos, os iminoiodanos são substâncias que ganharam mais atenção na formação da ligação C-N nas reações de aziridinação, apresentam em sua estrutura o iodo hipervalente (Figura 2.4) (MORIARTY, 2005; VASCONCELOS, 2012).

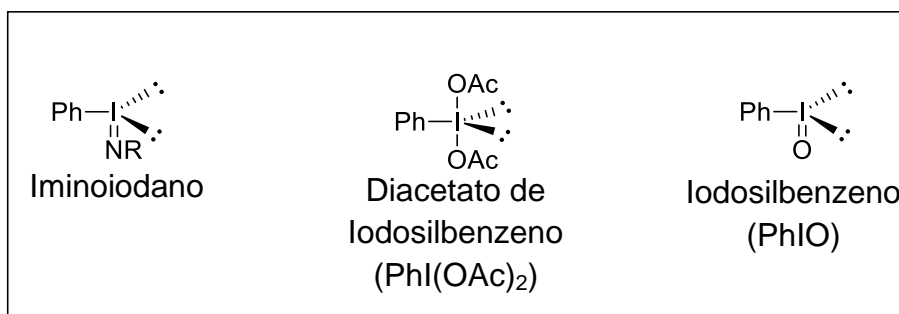
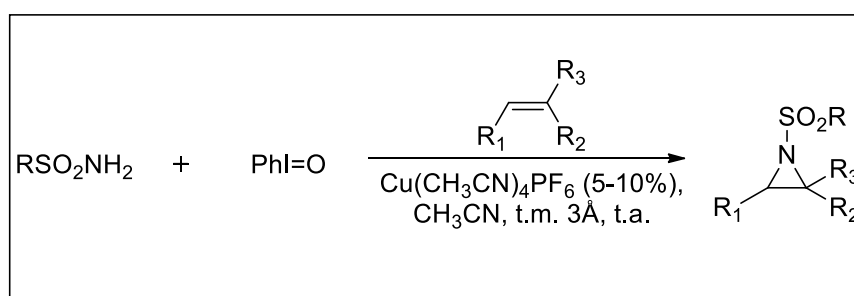


Figura 2.4. Espécies de iodo hipervalente.

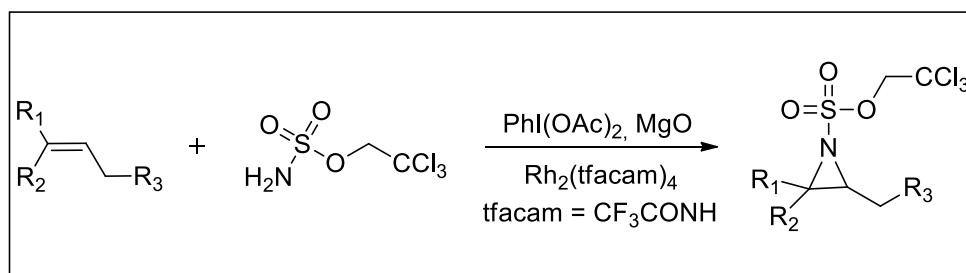
Geração *in situ* de nitreno

O maior problema dos iminoiodanos são as suas complicadas condições de preparação, além da dificuldade de isolamento e caracterização. Para contornar essas dificuldades de preparação e ampliar o campo de aplicação, o grupo de Dodd (DAUBAN, 2001) desenvolveu em 2001 um método simples de geração *in situ* de nitrenos para aplicação nas reações de aziridinação (Esquema 2.7).



Esquema 2.7. Aziridinação “one-pot” catalisado por cobre.

Em 2002 o grupo de Du Bois (GUTHIKONDA, 2002) desenvolveu uma reação similar de aziridinação catalisada por complexos de ródio (Esquema 2.8).



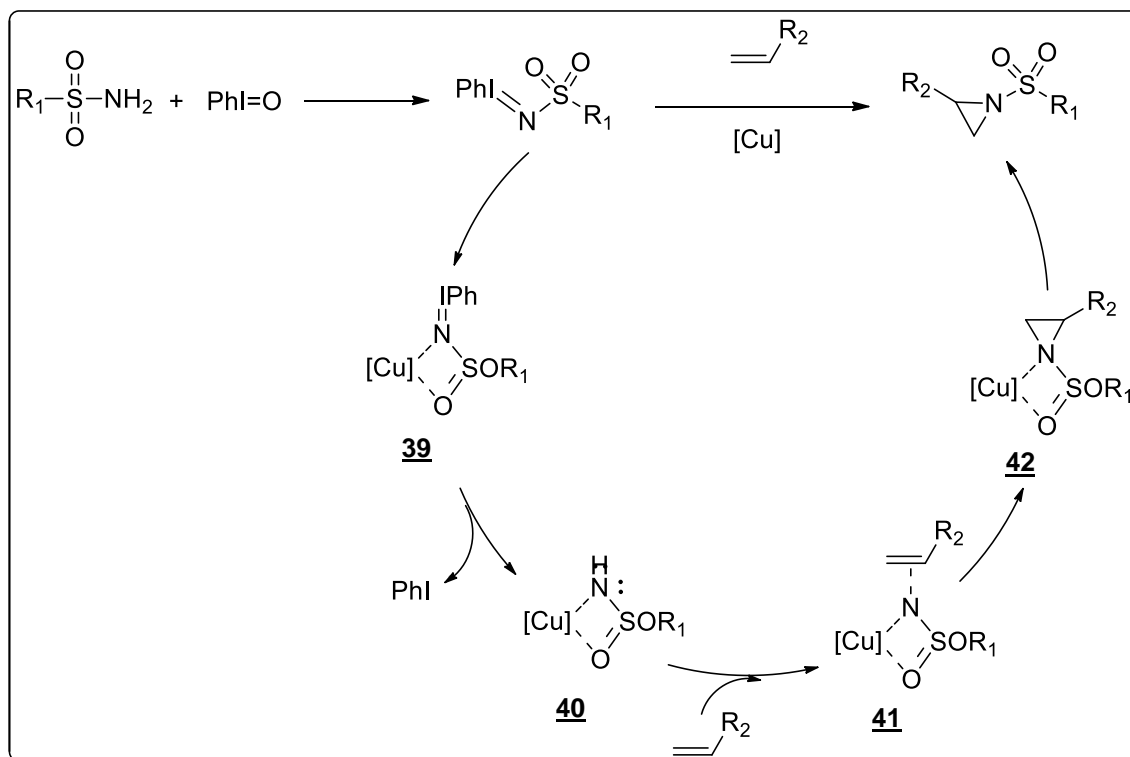
Esquema 2.8. Aziridinação “one-pot” catalisada por ródio.

É importante mencionar que a maior parte dos iminoiodanos isolados ou preparados *in situ* são derivados de sulfonamidas, e essa utilização se deve a presença do grupo sulfonil que estabiliza a carga negativa no nitrogênio do iminoiodano formado.

Mecanismo reacional dos nitrenos

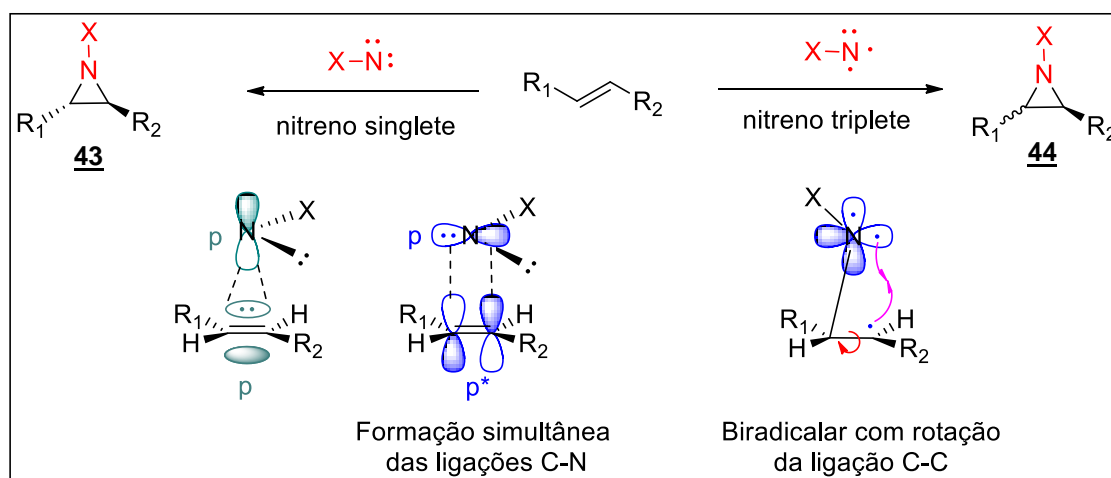
Estudos cinéticos e cálculos teóricos realizados por Norrby (BRANDT, 2000) e Scott (GILLESPIE, 2001), combinados com os trabalhos experimentais de Evans (EVANS, 1993), Jacobsen (LI, 1993; LI, 1995) e Andersson (SODERGREN, 1997) permitiram propor um mecanismo de aziridinação catalisada por cobre via nitrenos. A primeira etapa do mecanismo é a formação da ligação cobre-nitrogênio **39**, e ainda a ligação cobre-oxigênio do grupo S=O que ajuda a fragilizar a ligação nitrogênio-iodo, levando a formação do nitreno **40** após a eliminação do iodosilbenzeno (PhI) (Esquema 2.9).

A adição do nitreno à olefina (intermediário **41**) pode ocorrer por um mecanismo concertado (nitreno no estado singlete) ou radicalar (nitreno no estado tripleto), dependendo do substrato utilizado, levando a formação da aziridina **42**.



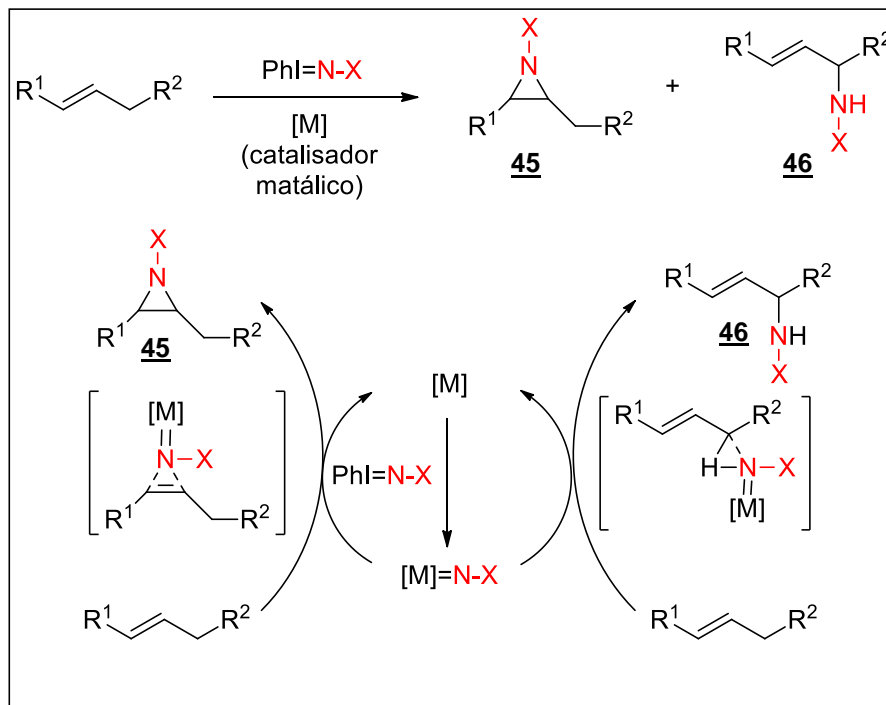
Esquema 2.9. Mecanismo de aziridinação via nitrenos.

Os nitrenos são gerados normalmente no estado singlete, mas podem rearranjar rapidamente para o estado triplete, energeticamente favorável. Os nitrenos no estado singlete reagem com alcenos, de maneira concertada, formando duas ligações C-N com retenção da configuração (**43**), enquanto que no estado triplete podem conduzir a uma mistura de isômeros (**44**) (MAESTRE,2013; KUNDU, 2012).



Esquema 2.10. Geração de nitrenos.

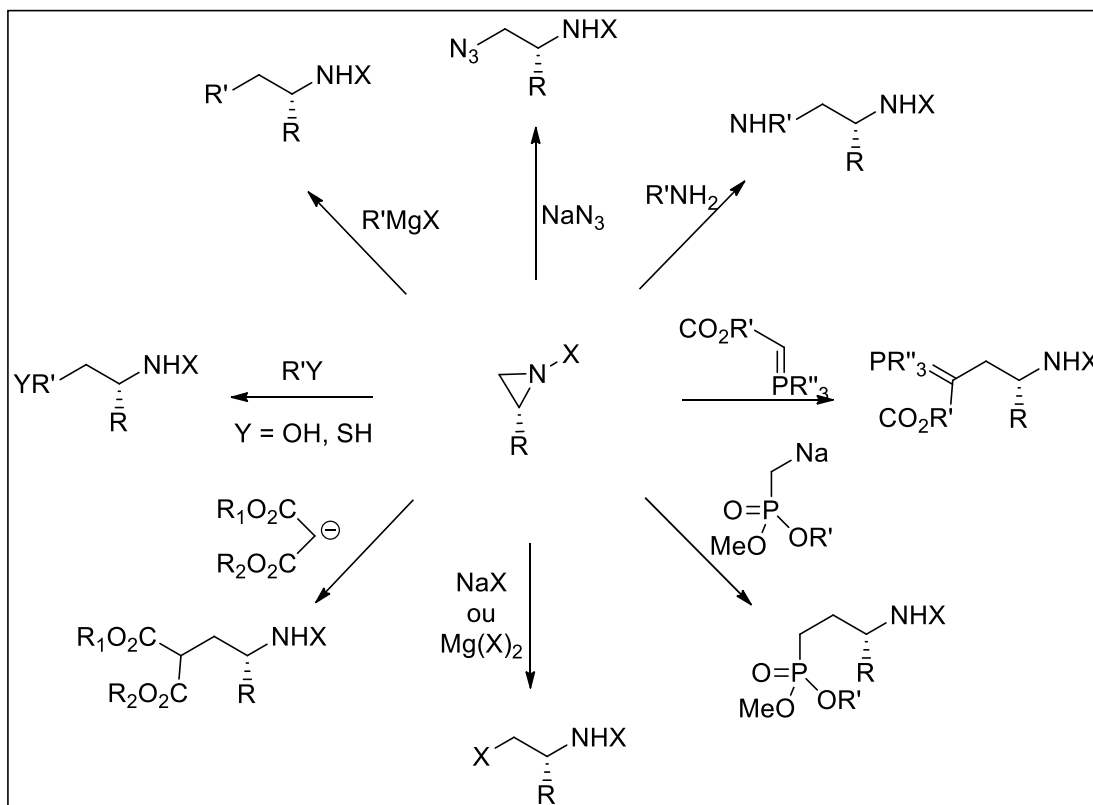
Um inconveniente nas reações de aziridinação através de nitrenos é a possibilidade da formação, além das aziridinas (**45**), produtos de C-H aminação (LIU, 2013) na posição alílica (**46**) (Esquema 2.11).



Esquema 2.11. Mecanismo de aziridinação e C-H aminação.

2.1.4. Reações de abertura de aziridinas

Em razão da tensão anelar combinada com a polarização das ligações carbono-nitrogênio, as aziridinas possuem uma grande reatividade em condições relativamente brandas, o que as tornam blocos construtores versáteis em síntese orgânica (Esquema 2.12).



Esquema 2.12. Exemplos de aberturas nucleofílicas de aziridinas.

As aziridinas podem ser classificadas de duas formas em função da natureza do grupo ligado ao átomo de nitrogênio (Figura 2.5). O primeiro grupo é composto por aziridinas "não ativadas" **47**, onde a reação ocorre na maioria das vezes após uma protonação com um ácido de Lewis. No segundo grupo, as aziridinas "ativadas" **48** possuem um substituinte retirador de elétrons que podem estabilizar por ressonância o estado de transição na reação de abertura por um nucleófilo.

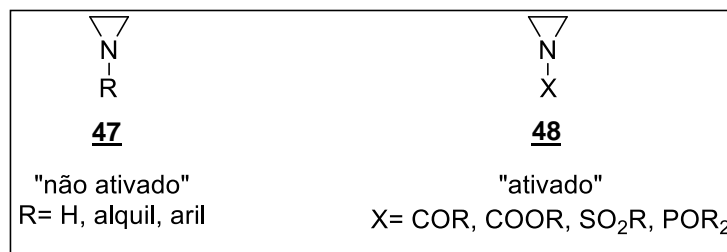
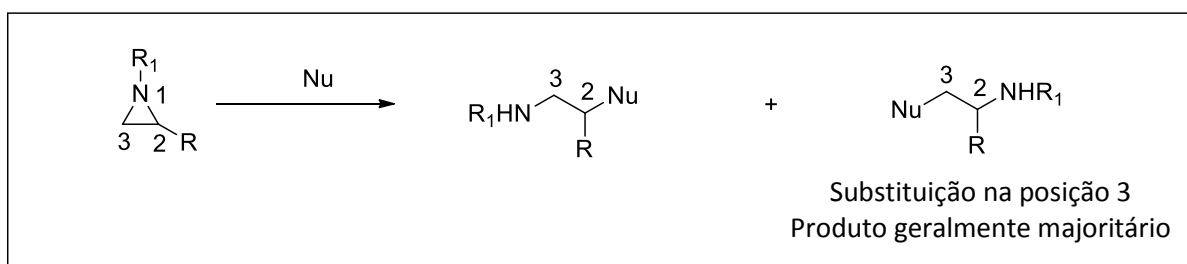


Figura 2.5. Tipos de aziridinas.

As reações de abertura das aziridinas ocorrem por ataque nucleofílico sobre carbono, de um modo análogo às reações de abertura de epóxidos. Quando a aziridina é assimétrica, as reações de abertura podem levar a formação de dois

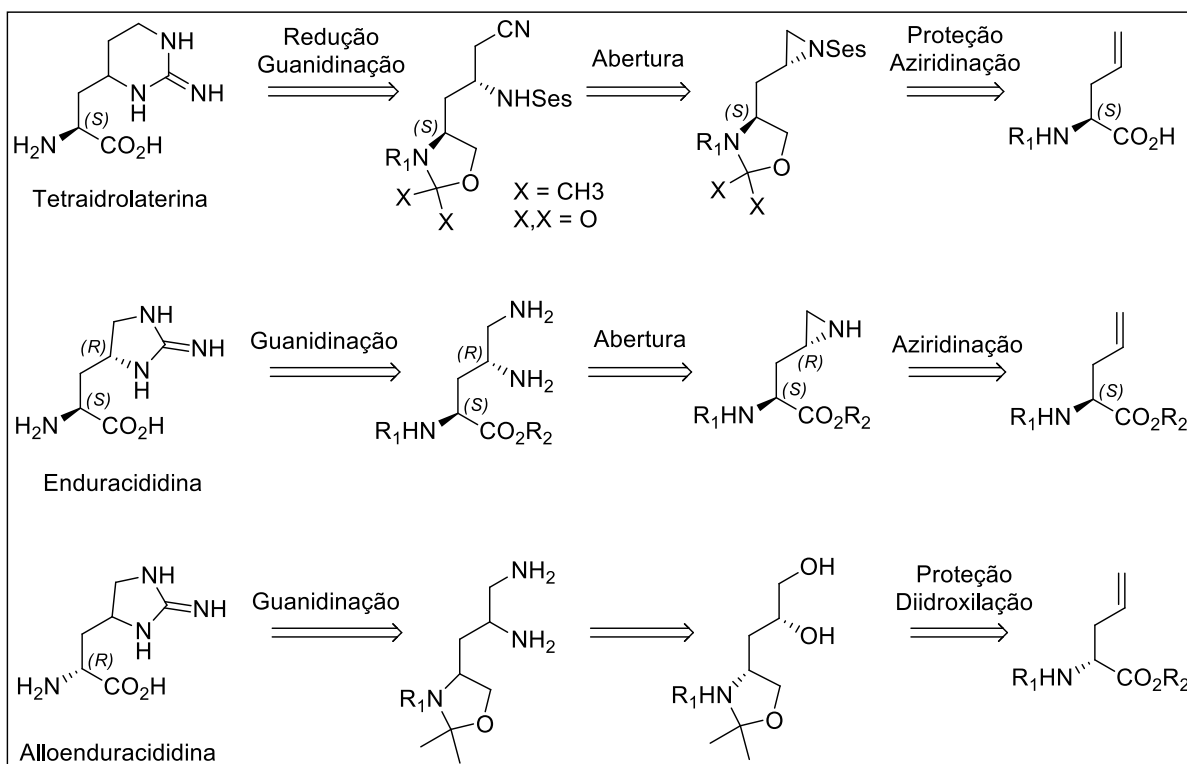
produtos (Figura 2.13), embora o ataque nucleofílico ocorra preferencialmente sobre o carbono menos substituído.



Esquema 2.13. Possíveis produtos da abertura de uma aziridina

2.2. Objetivos e Justificativas

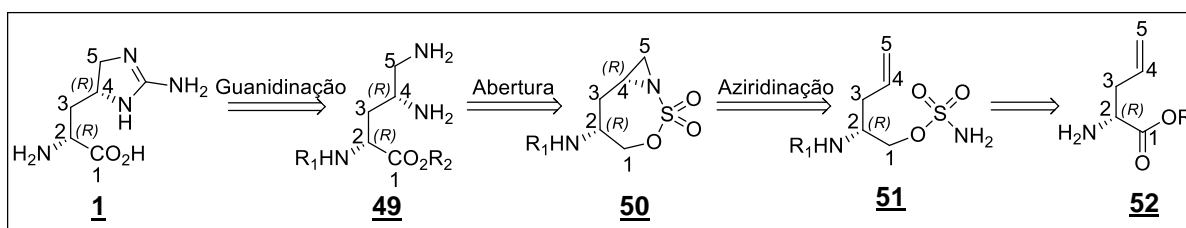
Fundamentado nos trabalhos desenvolvidos pelo grupo do professor Dodd em reações de aziridinação intermolecular aplicadas em síntese total, como na síntese da tetraidrolaterina realizada por Benohoud (BENOHOUD, 2009; BENOHOUD, 2008), da enduracididina por Lemman (LEMAN, 2004) e Morelle (MORELLE, 2010) e ainda da alloenduracididina sintetizada via reação de dihidroxilação por Cardoso (CARDOSO, 2008) (Esquema 2.14), neste capítulo será descrita uma rota sintética para obtenção da alloenduracididina via reação de aziridinação intramolecular.



Esquema 2.14. Retrossíntese para obtenção de tetraidrolaterina, enduracididina e alloenduracididina.

A utilização de reações de aziridinação intramolecular para a síntese da alloenduracididina se constitui em uma proposta interessante, como pode ser observado pela retrosíntese da molécula alvo (Esquema 2.15).

A alloenduracididina ($2R, 4R$) **1** poderá ser obtida pela guanidinação da diamina **49**, proveniente de uma reação de abertura nucleofílica do biciclo **50**, obtido por uma reação de aziridinação do sulfamato **51**. O material de partida seria a (R)-alilglicina **52**.



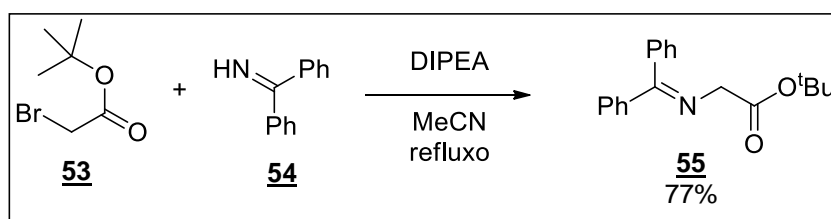
Esquema 2.15. Retrossíntese para obtenção alloenduracididina.

Em algumas etapas da reação utilizaremos uma numeração não oficial, pois segundo a IUPAC quando há formação de heterociclo devemos considerá-lo como a cadeia principal, mas por questões de didática e clareza e no intuito de facilitar a análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , manteremos a mesma numeração em todas as etapas.

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Síntese da (*R*)-alilglicina por transferência de fase

A primeira etapa de síntese consistiu na obtenção da base de Schiff **55** pelo tratamento do bromoacetato de *tert*-butila **53** com a benzofenona imina **54** em presença de DIPEA sob refluxo (Esquema 2.16). Após o término da reação o produto foi separado por filtração e lavado com etanol à frio, obtendo-se um sólido branco (77%) que foi caracterizado por ponto de fusão e análise de seus espectros no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C e massas.



Esquema 2.16. Reação de formação da base de Schiff.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 2.6) observa-se um simpleto (9H) em δ 1,46 referentes aos três CH_3 do grupo *tert*-butoxicarbonila, bem como a presença de outro simpleto (2H) em δ 4,12 referentes aos hidrogênios H-2 e H-2'. Os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos foram observados entre δ 7,17 – 7,67.

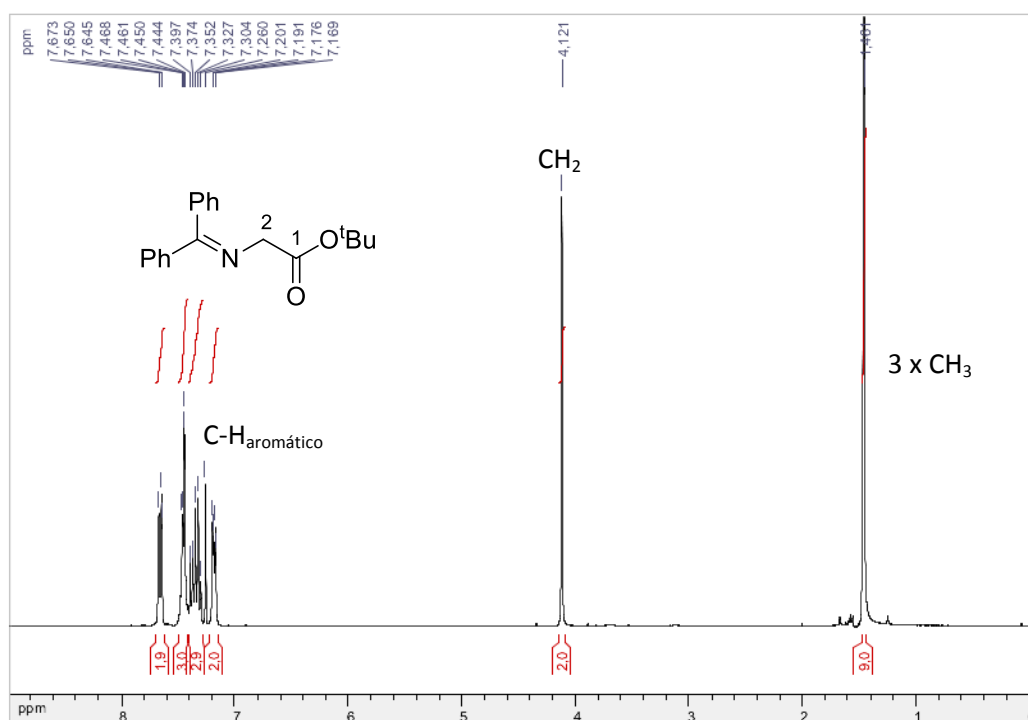


Figura 2.6. Espectro de RMN de ^1H do composto **55** (CDCl_3 , 300 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C observa-se a presença de um sinal em δ 28,2 referente aos carbonos do grupo *terc*-butoxicarbonila, um sinal em δ 56,5 atribuído ao carbono ligado ao nitrogênio (C-2), bem como sinais correspondentes aos carbonos aromáticos entre 127,8-132,5.

Síntese do catalisador de transferência de fase

Catalisadores de transferência de fase para a preparação de compostos quirais a partir de substratos proquirais têm sido empregados por diversos grupos de pesquisas. Os catalisadores derivados do alcaloide cinchona são muito utilizados, como a cinchonina e a cinchonidina (Figura 2.7) que são facilmente acessíveis e transformáveis em sais quaternários (OOI, 2007; LYKKE, 2013).

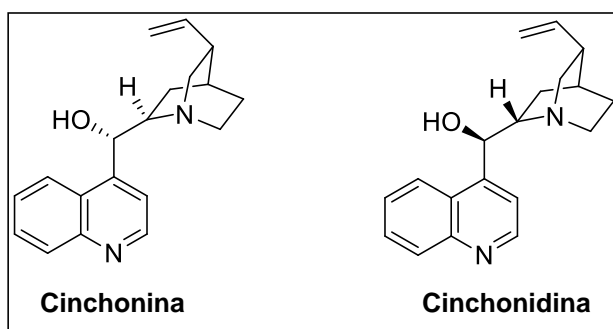
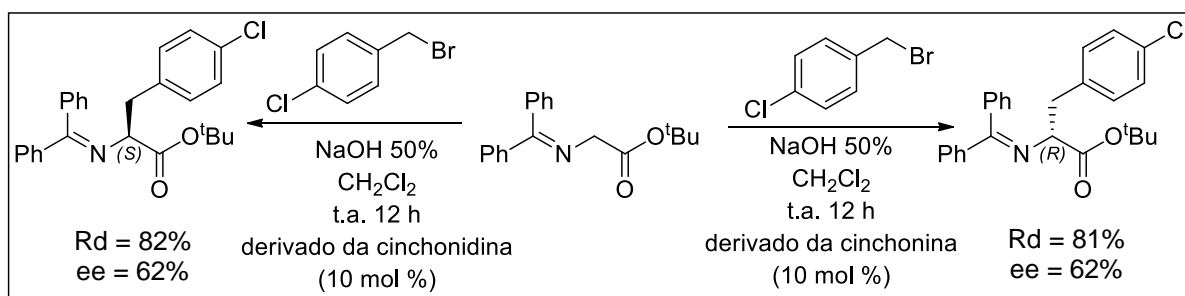


Figura 2.7. Derivado da cinchona.

A alquilação assimétrica por transferência de fase foi desenvolvida por Dolling (DOLLING, 1984) em 1984. Em 1989 a equipe de O'Donnell (O'DONNELL, 1989) realizou a primeira alquilação assimétrica do glicinato de *terc*-butila **3**, conduzindo aos aminoácidos D ou L, em função do derivado da cinchona utilizado (Esquema 2.17).



Esquema 2.17. Reação de alquilação com derivados da cinchona.

Em 1997 Corey *et al* (COREY, 1997) e Lygo *et al* (LYGO, 2004) realizaram modificações nos catalisadores e obtiveram excessos enantioméricos acima de 90% nas reações de alquilação (Figura 2.8).

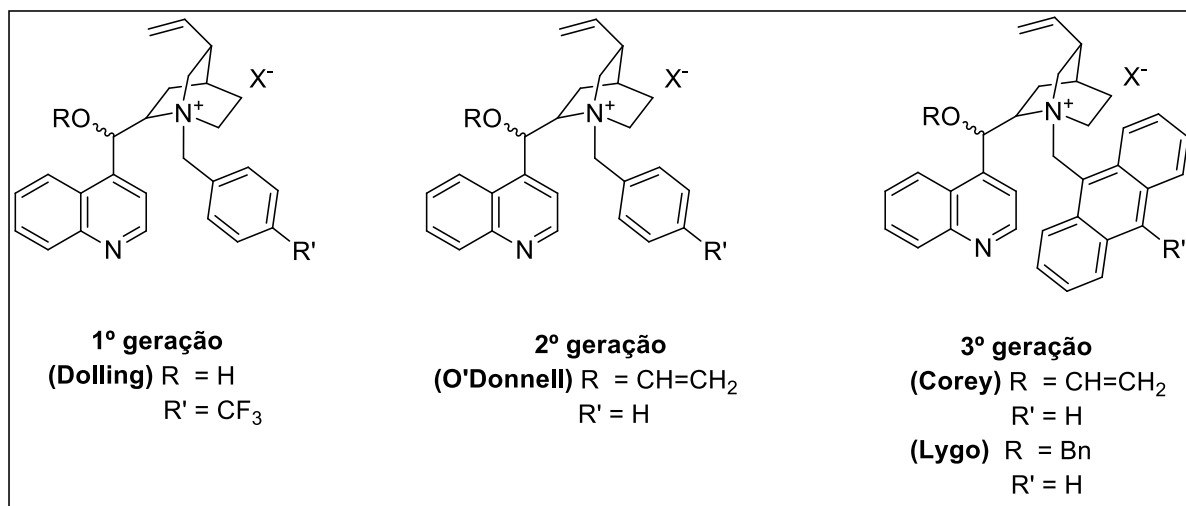


Figura 2.8. Catalisadores derivados da cinchona.

Lygo e Andrews (LYGO, 2004) realizaram um estudo em 2004, onde a explicação para alta seletividade nas reações de alquilação assimétrica é a formação de uma interação entre o íon amônio (N⁺) e o oxigênio (O⁻) do enolato, assim como uma interação do tipo $\pi - \pi$ stacking entre o grupo fenila da imina e a porção quinoleína do catalisador (Figura 2.9).

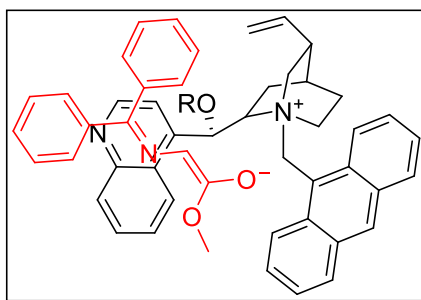
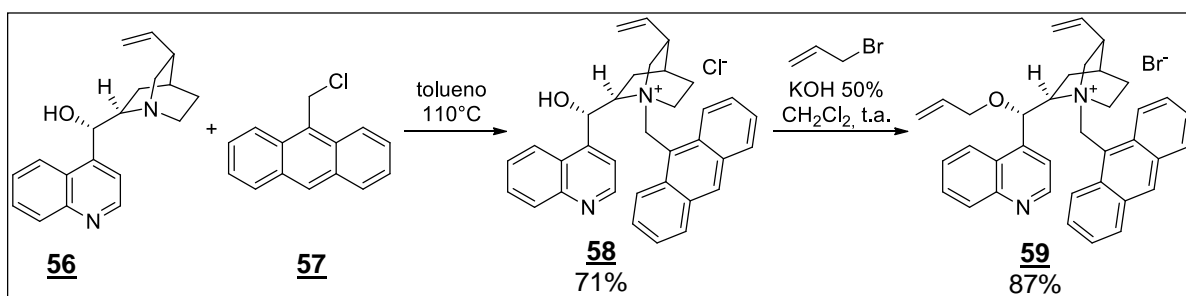


Figura 2.9. Interação entre o catalisador e o substrato.

Como a alloenduracididina apresenta a configuração absoluta *R* na posição 2, foi escolhido o catalisador de terceira geração derivado da cinchonina para realizar a reação de alquilação do glicinato de *tert*-butila **55**.

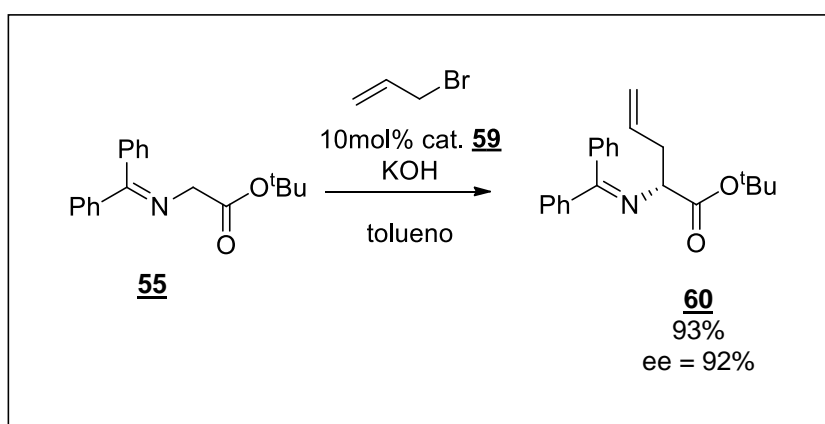
A preparação do catalisador de terceira geração **59** consistiu inicialmente na alquilação da cinchonina **56** com clorometil antraceno **57** para fornecer a amina quaternária **58**. Em seguida, a hidroxila foi desprotonada com uma solução de NaOH

para permitir a O-alkilação pelo brometo de alila, a fim de obter o catalisador desejado com um rendimento global de 62% (Esquema 2.18). Os compostos **58** e **59** foram obtidos sob a forma de sólidos amarelos e foram caracterizados por ponto de fusão e análise de seus espectros no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C , massas e atividade óptica.



Esquema 2.18. Reação de obtenção do catalisador **59**.

A base de Schiff **55** foi submetida a reação de alquilação assimétrica com brometo de alila em presença do catalisador **59** (10 mol%) e uma solução de KOH 50% em tolueno. A mistura reacional ficou sob agitação vigorosa à temperatura ambiente por 24 h (Esquema 2.19). A suspensão foi extraída com acetato de etila e a fase orgânica foi evaporada fornecendo o composto **60** (93%) sob a forma de um óleo amarelo que foi caracterizado pelos espectros no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C , massas e atividade óptica.



Esquema 2.19. Reação de alquilação por transferência de fase.

Mecanismo

Os catalisadores de transferência de fase são utilizados pela facilidade de transferir uma molécula de uma fase para outra, permitindo assim um aumento na velocidade da reação. No caso do catalisador utilizado neste trabalho, ele facilita a solubilização do íon enolato na fase orgânica, onde se encontra o eletrófilo (Figura 2.10).

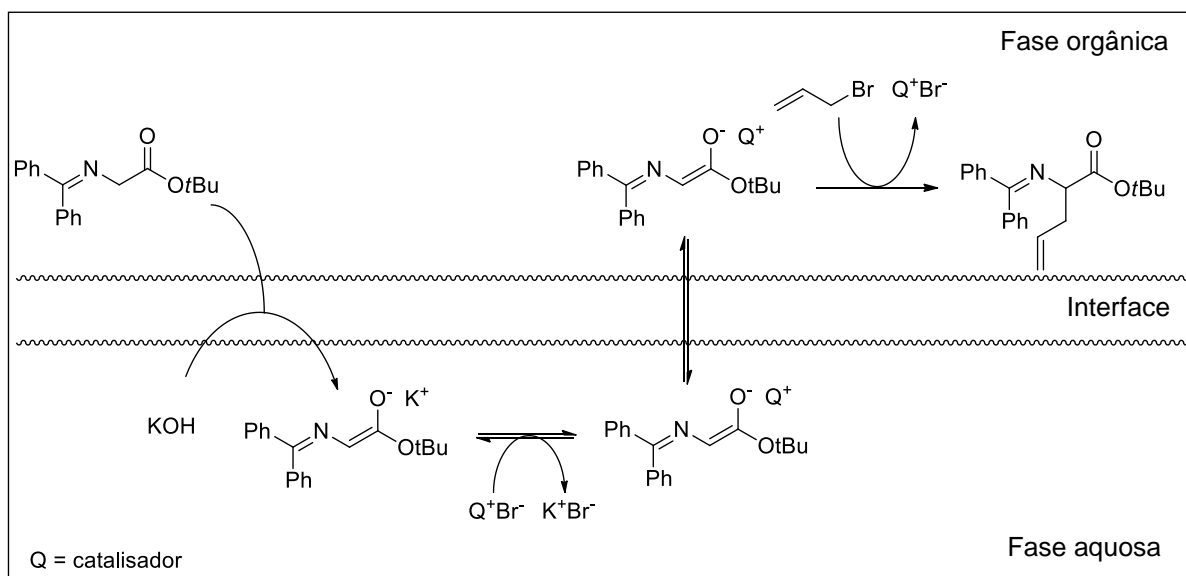


Figura 2.10. Mecanismo de alquilação por transferência de fase.

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 2.11), auxiliado pelo mapa de contornos COSY e por comparação com os espectros do composto **55**, permitiu inferir sobre a formação do composto **60**, pela presença de um duplo duplo tripleto (ddt) em δ 5,74 ($J_{4-5\text{trans}} = 17,2$ Hz, $J_{4-5\text{cis}} = 10,2$ Hz, $J_{4-3} = 7,1$ Hz) atribuído a H-4 característico de olefinas terminais, e ainda um duplo duplo próximo de δ 4,00 (H-2) com integração para somente um hidrogênio, onde antes havia um simpleto com integração para dois hidrogênios, evidenciando a alquilação nesta posição. A configuração *R* na posição dois do composto **60** foi atribuída pela comparação com dados de poder rotatório disponíveis na literatura.

Através da análise do espectro de RMN de ^{13}C do composto **60** (Figura 2.12), observou-se com o auxílio do DEPT e dos mapas de contornos HMQC e HMBC os sinais em δ 38,3 e 117,4 referente aos grupos CH_2 de C-3 e C-5. Entre δ 128,1 e 139,1 observam-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos e em δ 170,2 e 171,0 observaram-se os sinais referentes ao carbono carbonílico (C=O) e imínico (C=N), respectivamente.

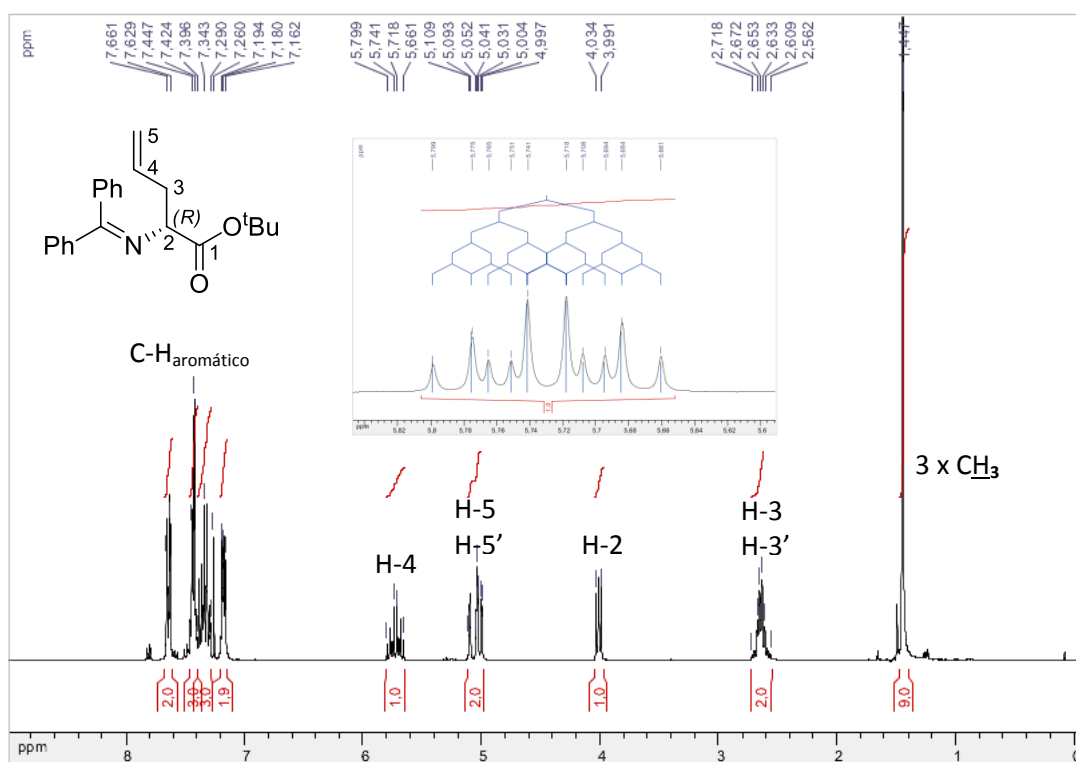


Figura 2.11. Espectro de RMN de ^1H do composto **60** (CDCl₃, 300 MHz).

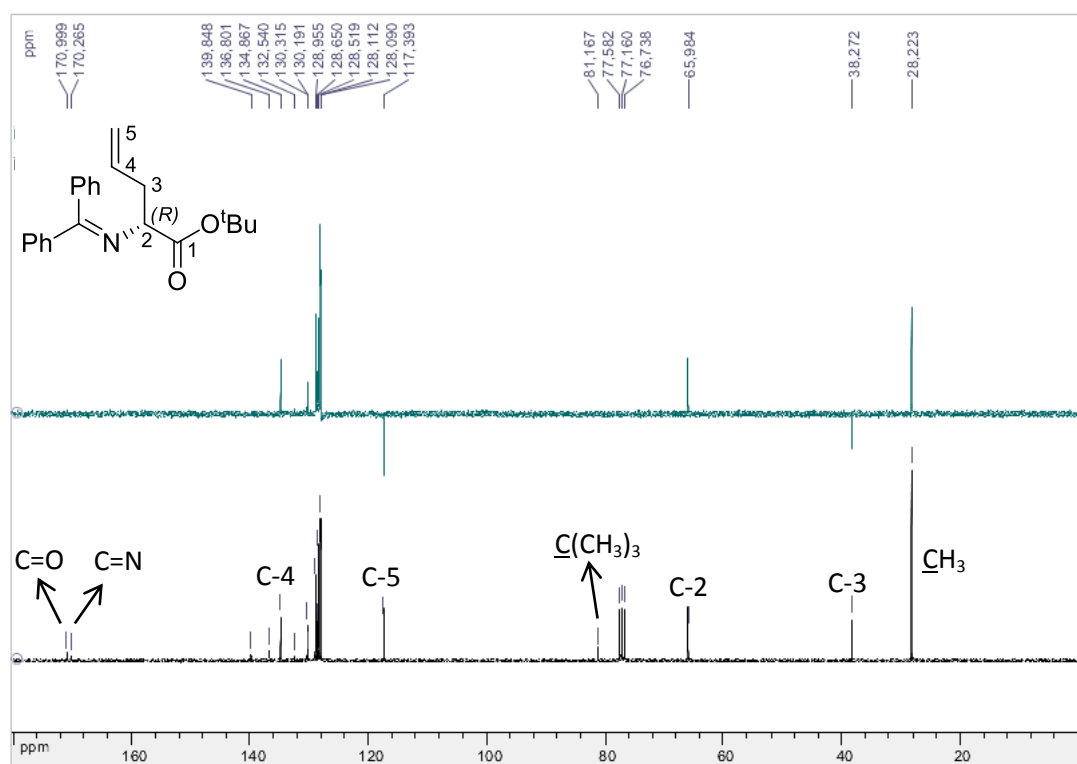


Figura 2.12. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 do composto **60** (CDCl₃, 75 MHz).

A síntese do composto **62** foi realizada a partir do éster derivado da (*R*)-alilglicina **60**. Primeiramente a função imina foi hidrolisada em meio ácido com uma solução de ácido cítrico 15% em THF para fornecer a amina **61** (96%) sob a forma de um óleo amarelo volátil, após uma extração ácido base. Em seguida, foi realizada a proteção da amina **61** com o grupamento Boc, pela adição do dicarbonato de *tert*-butila (Boc_2O) e NEt_3 em diclorometano (Figura 2.20).

A escolha do grupamento Boc se deve a trabalhos realizados anteriormente pelo grupo de Dodd (BENOHOUD, 2009; SANIERE, 2004; MORELLE, 2010), onde foi relatado vantagens relacionadas à estabilidade e aplicações em síntese de produtos naturais derivados de aminoácidos, pois podem ser facilmente hidrolisados e possui a possibilidade de se apresentar sob a forma de carbamato cíclico (oxazolidinona) devido a reações intramoleculares, como será mostrado mais adiante.

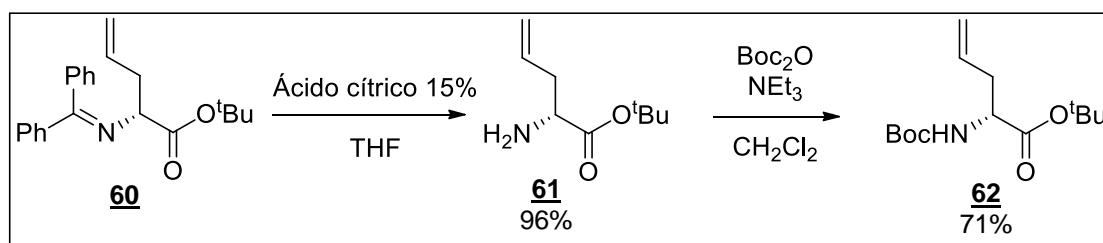


Figura 2.20. Reação de obtenção do composto **62**.

Pela análise do espectro de RMN ^1H (Figura 2.13), e por comparação com os espectros do composto **60**, foi possível atribuir a formação do composto **61** pela ausência dos sinais referentes aos hidrogênios da região de aromático, a presença de um multipeto em δ 1,51 referentes aos hidrogênios do grupo NH_2 e ainda o deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H-2 (dd) para região mais próxima do TMS (δ 3,40).

Através da análise do espectro de RMN de ^{13}C do composto **61** (Figura 2.14) observou-se com o auxílio dos mapas de contornos HMQC e HMBC a ausência dos sinais dos carbonos aromáticos e do grupo imínico ($\text{C}=\text{N}$) e ainda o deslocamento do sinal referente a C-2 para região mais próxima do TMS (δ 54,2), evidenciando a ocorrência da reação.

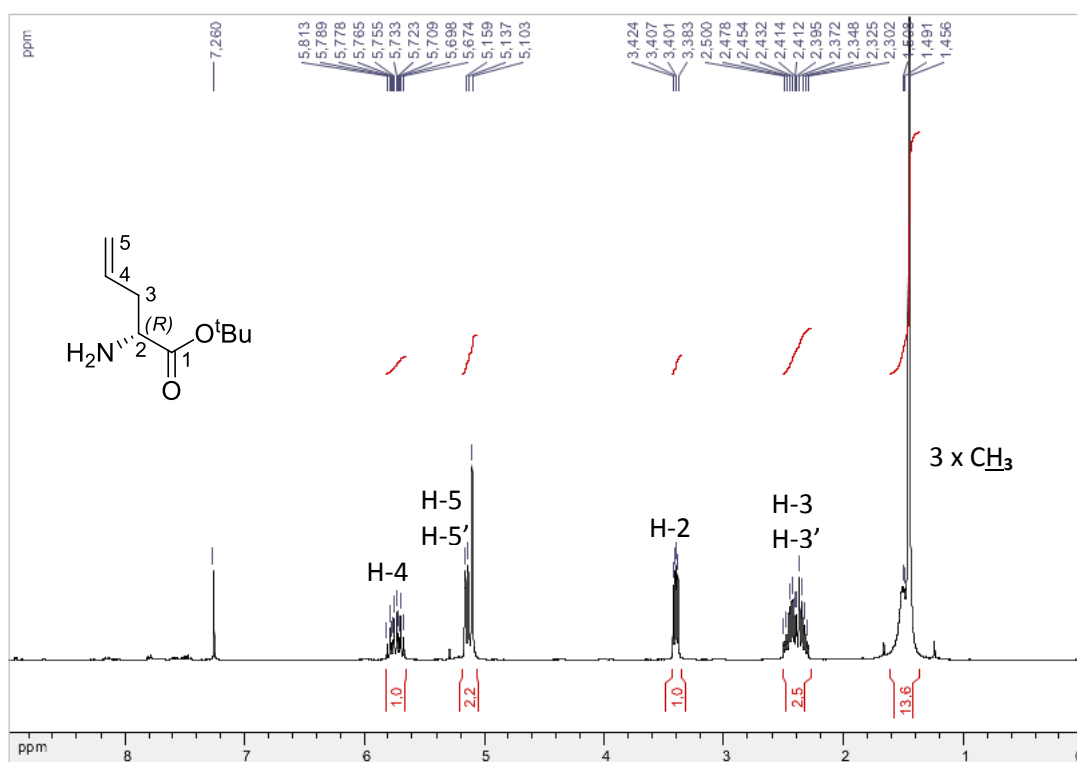


Figura 2.13. Espectro de RMN de ^1H do composto **61** (CDCl₃, 300 MHz).

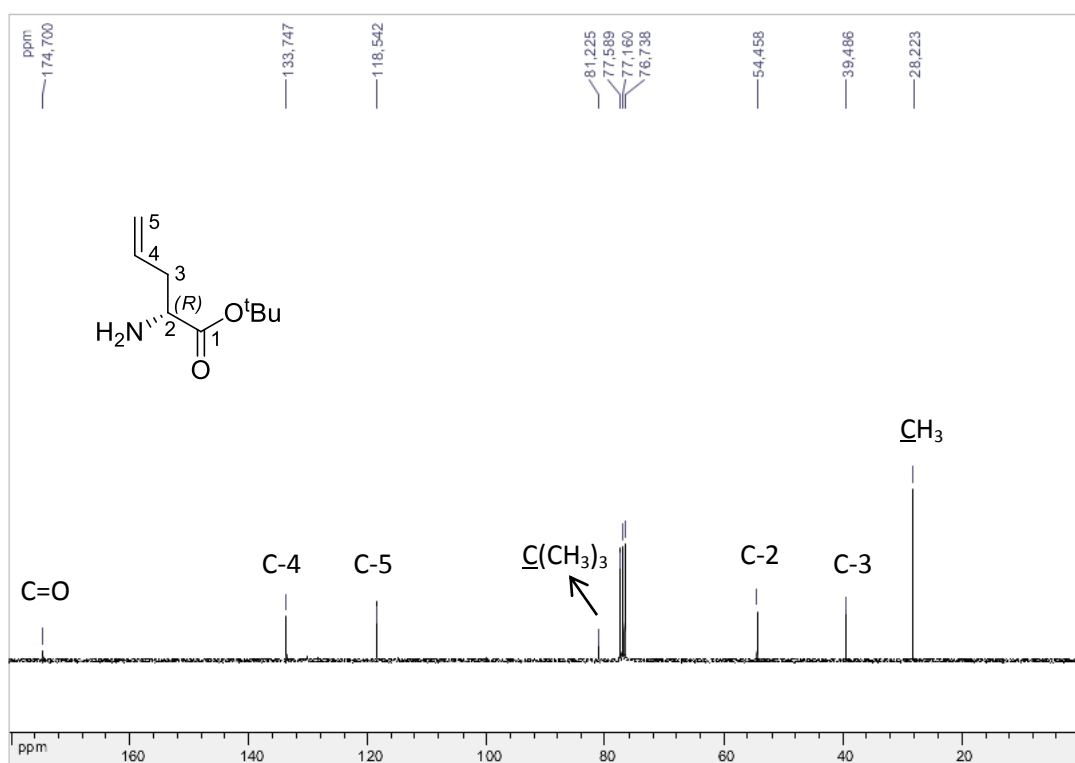


Figura 2.14. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **61** (CDCl₃, 75 MHz).

A formação do composto **62** foi evidenciada no espectro de RMN de ^1H (Figura 2.15) pelo aumento do valor de integração do simpleto em δ 1,44 referentes aos carbonos metílicos devido a entrada do grupo Boc e pelo deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H-2, inicialmente em δ 3,40 para 4,24.

Através da análise do espectro de RMN de ^{13}C do composto **62** observou-se, com o auxílio dos mapas de contornos HMQC e HMBC, a presença dos sinais referentes ao carbono da carbonila (C=O) em δ 155,3, ao carbono ipso (δ 79,8) e aos carbonos metílicos em δ 28,5 do grupamento Boc.

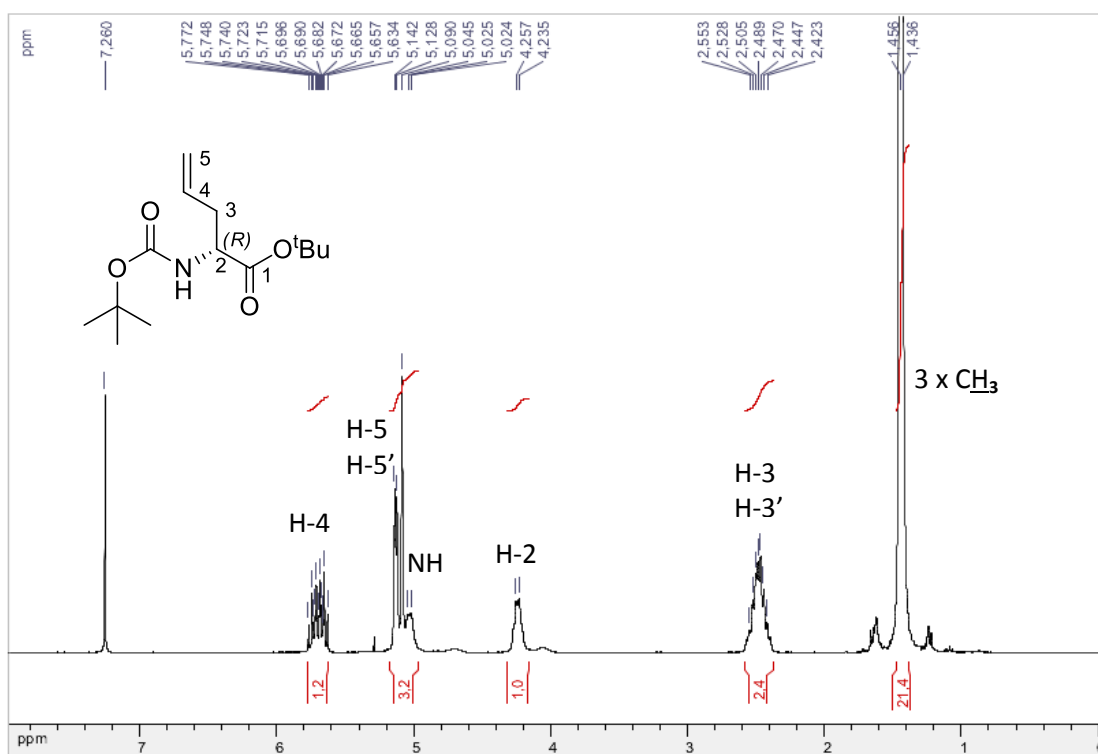


Figura 2.15. Espectro de RMN de ^1H do composto **62** (CDCl_3 , 300 MHz).

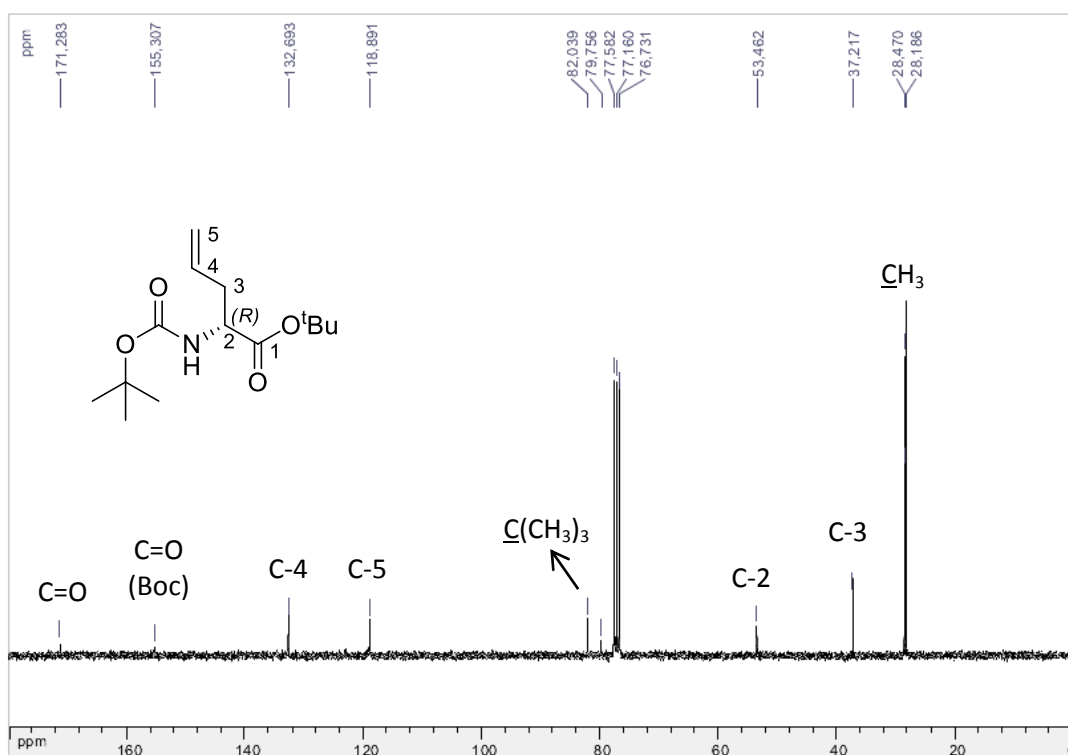
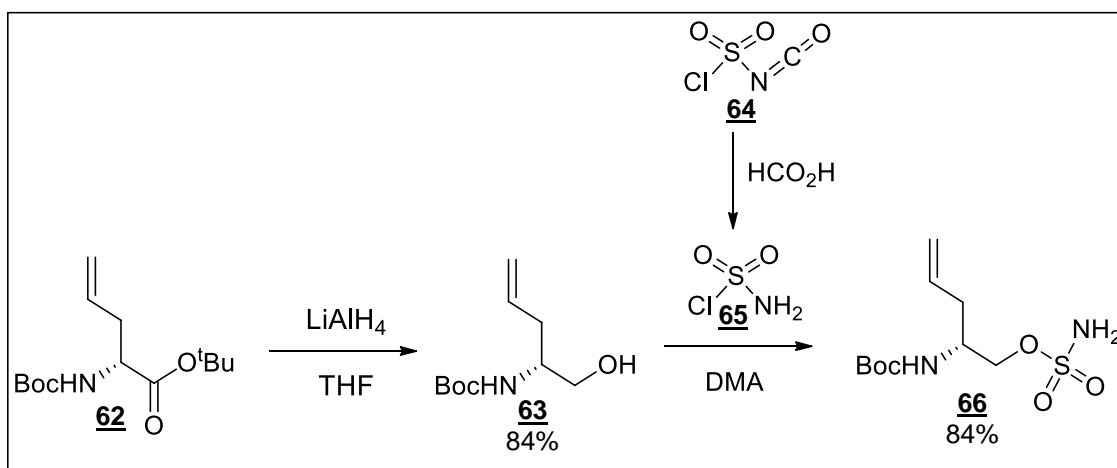


Figura 2.15. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **62** (CDCl_3 , 75 MHz).

A síntese do sulfamato **66** (Esquema 2.21) foi realizada a partir do éster **62**. Primeiramente, o grupo éster de **62** foi reduzido com LiAlH_4 em THF para fornecer o álcool **63** em 84% de rendimento. Em seguida **63** foi solubilizado em DMA e tratado com cloreto de sulfamoíla **65**, preparado *in situ* pela reação do isocianato de clorossulfonila **64** com ácido fórmico (OKAMA, 2000), fornecendo o sulfamato **66** (84%).



Esquema 2.21. Reação de obtenção do sulfamato **66**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **63** (Figura 2.17) verifica-se a presença de um simpleto largo (9H) em δ 1,44 correspondentes aos três CH_3 do grupo *tert*-butoxicarbonila, além de um multipletto entre δ 2,19 - 2,36 correspondente aos hidrogênios H-3 e H-3'. O multipletto entre δ 3,57 - 3,70 pode ser atribuído à superposição dos sinais de H-1, H-1' e H-2. Em δ 4,69 pode-se observar um sinal referente ao hidrogênio do grupo NH. Em δ 5,10 - 5,15 e 5,78 puderam ser observados os sinais referentes aos hidrogênios olefínicos H-4, H-5 e H-5', respectivamente.

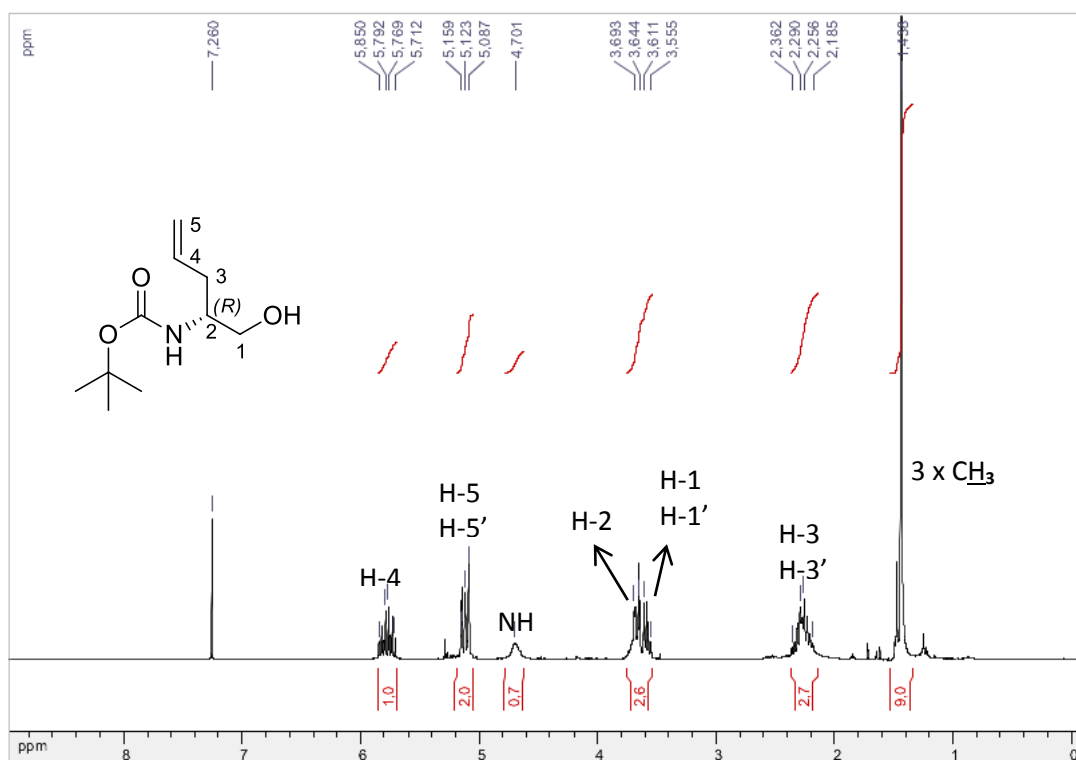


Figura 2.17. Espectro de RMN de ^1H do composto **63** (CDCl_3 , 300 MHz).

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 2.18) do composto **66**, auxiliado pelo mapa de contornos COSY e por comparação com os espectros do composto **63**, sugere a formação do composto **66** pela presença de um sinal largo em δ 5,23 (2H) referente aos hidrogênios do grupo sulfamato (NH_2), e ainda o deslocamento do sinal referente aos hidrogênios H-1 e H-1' para região mais distante do TMS, inicialmente em δ 3,57 - 3,70 para 4,11 - 4,27.

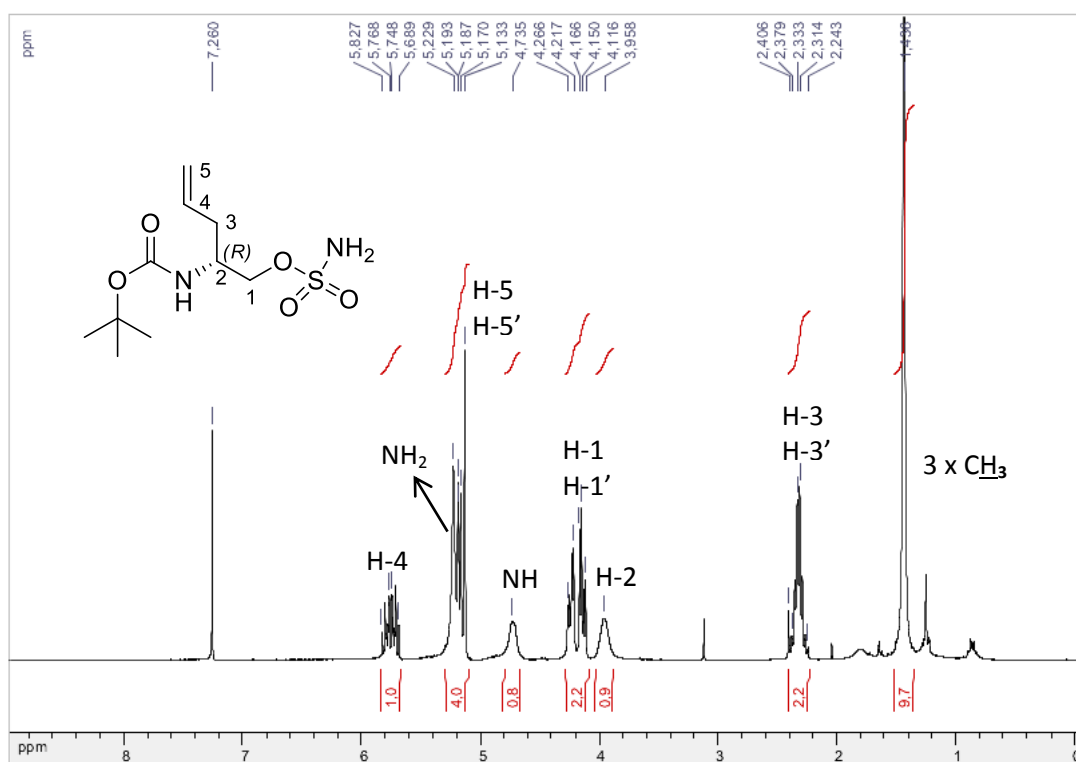
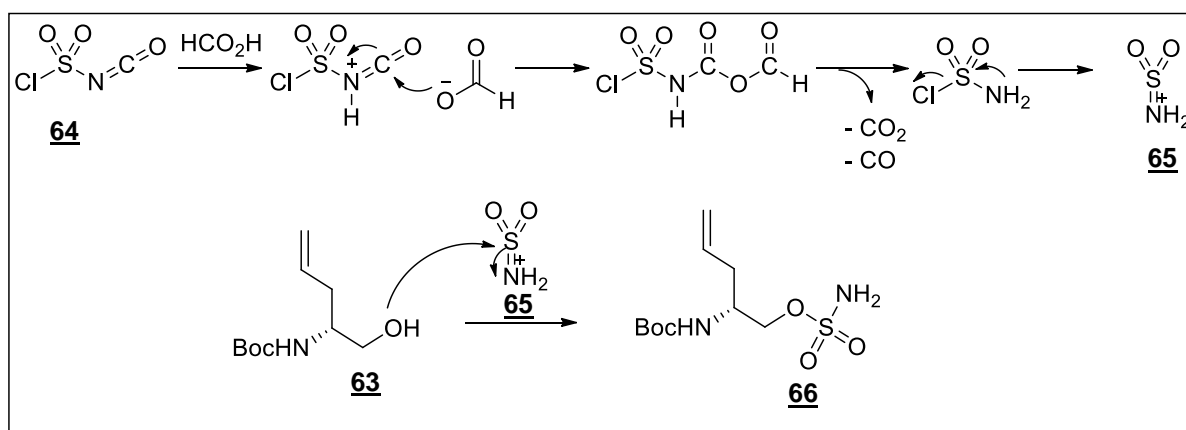


Figura 2.18. Espectro de RMN de ^1H do composto **66** (CDCl_3 , 300 MHz).

Uma proposta do mecanismo da reação para formação do sulfamato **66** a partir do cloreto de sulfamoíla preparado *in situ* é apresentado abaixo (Esquema 2.22).

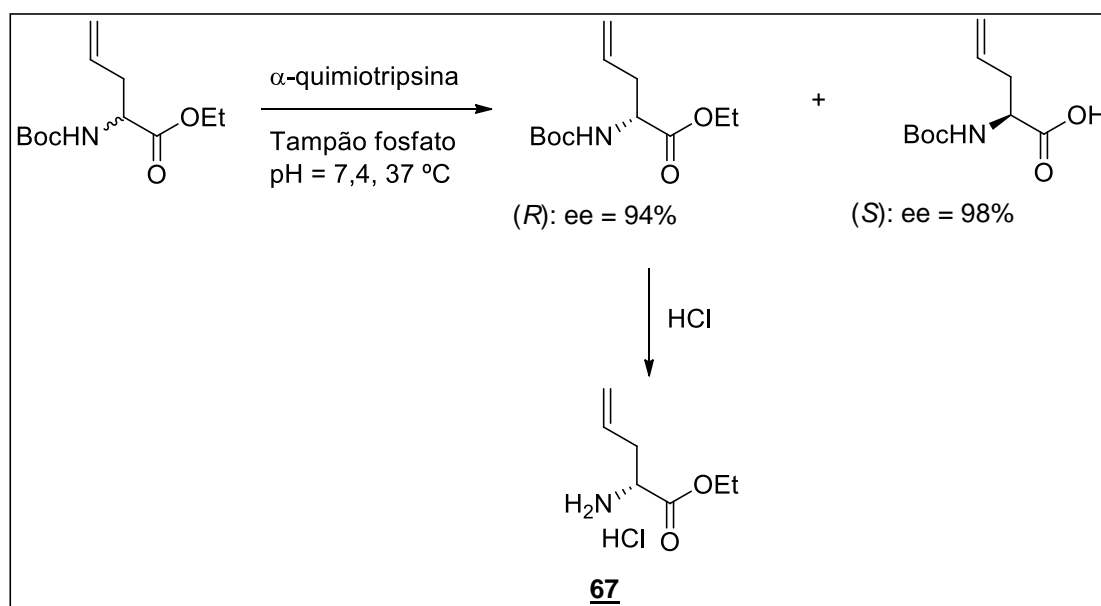


Esquema 2.22. Mecanismo proposto para formação do sulfamato **66**.

Outra rota sintética utilizada para obter intermediário 63.

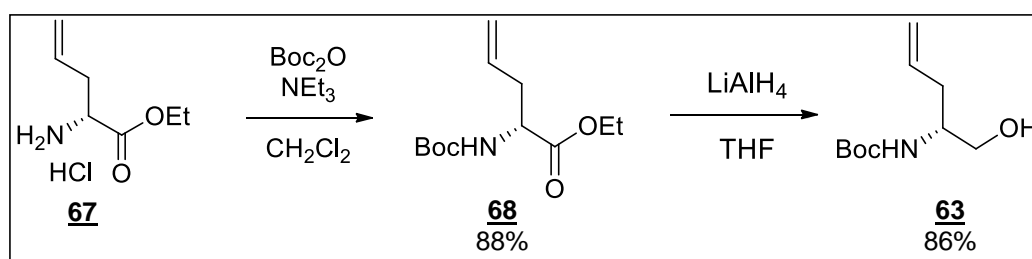
Uma quantidade suplementar do álcool **63** foi obtida a partir do éster etílico **67** disponível no laboratório. Este intermediário foi sintetizado em grandes

quantidades e em bom excesso enantiomérico por resolução enzimática, seguido da remoção do grupo protetor Boc em meio ácido (Esquema 2.23).



Esquema 2.23. Rota sintética para obtenção do éster **67**.

A rota sintética utilizada para obtenção do álcool **63** a partir do éster **67** é similar ao procedimento mostrado anteriormente, onde é realizada a proteção da amina do composto **67** com o grupamento Boc pela adição do dicarbonato de *tert*-butil (Boc_2O) e NEt_3 em diclorometano fornecendo o composto **68** (88%), seguida pela redução do grupo éster com LiAlH_4 em THF levando a formação do álcool **63** em 86% de rendimento (Esquema 2.24).

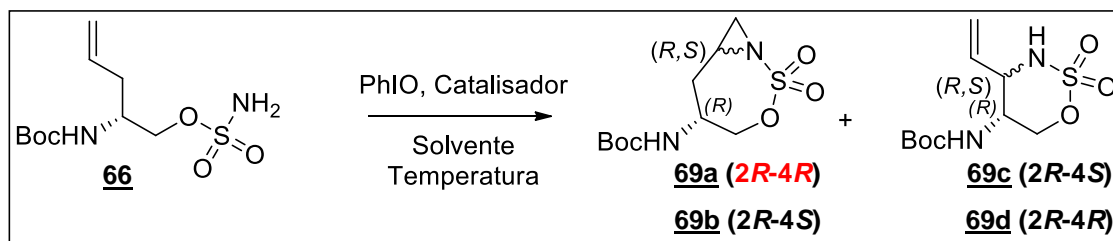


Esquema 2.24. Rota alternativa para obtenção do composto **63**.

2.3.2. Aplicação das condições de aziridinação

O próximo passo envolveu a obtenção das aziridinas (**69a** (*2R-4R*) e **69b** (*2R-4S*)) por meio de uma reação intramolecular entre o nitrogênio e a dupla ligação do composto **66** para a qual foram utilizadas as condições de aziridinação por geração *in situ* de iminoiodanos, catalisadas por cobre ou ródio conforme metodologia

desenvolvida pelo grupo de Dod (MORELLE, 2010) (Esquema 2.25). Os resultados podem ser vistos na tabela 2.1.



Esquema 2.25. Reação de aziridinação.

Tabela 2.1. Resultados dos experimentos de aziridinação.

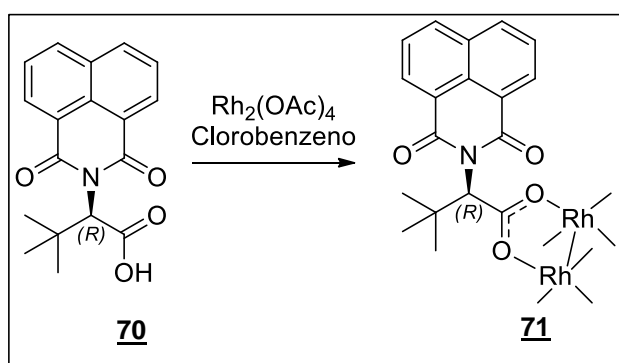
Teste	Solvente	Tempo (h)	Temp. (°C)	Catalisador (equivalente)	Rend. 69a-b (%)	*HPLC 69a-b (<i>RR:RS</i>)	Rend. 69c-d (%)	Rend. total
1	CH ₃ CN	23	-20	Rh ₂ (AcO) ₄ (5%)	15	19:81	13	28
2	CH ₃ CN	20	0	Rh ₂ (AcO) ₄ (5%)	52	25:75	18	70
3	(CH ₂ Cl) ₂	15	-20	Rh ₂ (AcO) ₄ (5%)	57	9:91	22	79
4	(CH ₂ Cl) ₂	15	0	Rh ₂ (AcO) ₄ (5%)	46	9:91	24	70
5	(CH ₂ Cl) ₂	16	-20	Cu(MeCN) ₄ ⁺ PF ₆ ⁻ (5%)	-	-	-	-
6	(CH ₂ Cl) ₂	31	20	Cu(MeCN) ₄ ⁺ PF ₆ ⁻ (5%)	9	26:74	-	10
7	CH ₃ CN	17,5	20	Cu(MeCN) ₄ ⁺ PF ₆ ⁻ (5%)	46	63:37	-	69
8	(CH ₂ Cl) ₂	15,5	20	Rh ₂ {(S)-nttl} ₄ (2,5%)	66	49:51	8	74
9	(CH ₂ Cl) ₂	14	-20	Rh ₂ {(R)-nttl} ₄ (2,5%)	63	58:41	14	77
10	CH ₃ CN	15	-20	Rh ₂ {(R)-nttl} ₄ (2,5%)	65	67:33	-	65
11	CH ₃ CN	20	-40	Rh ₂ {(R)-nttl} ₄ (2,5%)	69	63:37	-	69

* A relação dos diastereoisômeros foi determinada por HPLC.

Nos testes 1, 2, 3 e 4 foi utilizado o catalisador aquiral de ródio ($\text{Rh}_2(\text{AcO})_4$) com iodosilbenzeno variando a temperatura e o solvente, mas além de não obter um rendimento satisfatório, ocorreu a formação de produtos de C-H aminação (**69c (2R-4S)** e **69d (2R-4R)**) e a diastereoseletividade não foi favorável ao diastereoisômero de interesse (**69a (2R-4R)**) para a síntese da aloenduracididina. A utilização do catalisador de cobre (Teste 7) melhorou a diastereoseletividade, mas o rendimento não foi bom.

No intuito de melhorar o diastereoseletividade da reação foi utilizado um catalisador quiral de ródio, o $\text{Rh}_2\{(\text{S})\text{-nttl}\}_4$ desenvolvido pelo grupo de Muller (MULLER, 2003), e disponível no laboratório, que permitiu uma melhora no rendimento, mas a diastereoseletividade ainda não foi favorável. Assim, utilizou-se um catalisador de ródio com a configuração invertida $\text{Rh}_2\{(\text{R})\text{-nttl}\}_4$ **71**.

Para a obtenção do catalisador **71**, o (*R*)-*N*-naftoil-*terc*-leucina (nttl) **70**, disponível no laboratório, foi complexado com ródio por uma substituição dos ligantes acetato do composto $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (Esquema 2.26). Nesta reação, o ligante acetato é eliminado continuamente sob a forma de ácido acético que é neutralizado com Na_2CO_3 presente no extrator de Soxhlet (Figura 2.19).



Esquema 2.26. Reação de complexação.

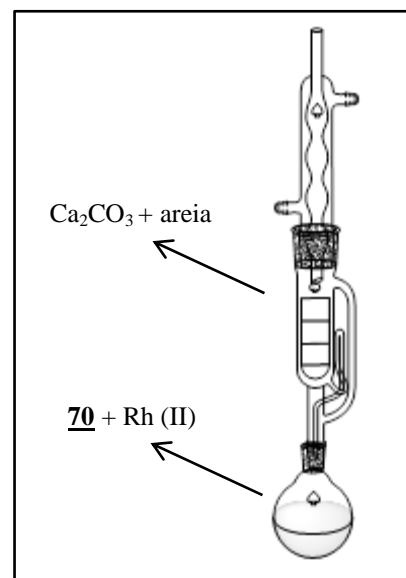


Figura 2.19. Disposição da aparelhagem.

Como pode ser observado nos testes 9, 10 e 11 (Tabela 2.1), o catalisador $\text{Rh}_2\{(\text{R})\text{-nttl}\}_4$ **71** foi o que apresentou melhores resultados. A condição reacional

apresentada no teste 10 foi escolhida para a realização em maior escala, pois apresenta a melhor diastereoseletividade.

Os compostos **69a-d** foram parcialmente separáveis por cromatografia, permitindo assim a atribuição de suas configurações pela análise dos seus espectros de massas de alta resolução (HRMS-ESI), RMN de ^1H e RMN de ^{13}C com o auxílio dos espectros de correlação COSY, HMQC, HMBC e NOESY. A relação diastereoisomérica das aziridinas formadas (**69a-b**) foi determinada por HPLC.

Será dada abaixo maior ênfase à caracterização do composto **69a**. Os dados dos compostos **69a-d** estão descritos na parte experimental.

A formação das aziridinas pode ser evidenciada no seu espectro de RMN ^1H (Figura 2.20) pelo desaparecimento do sinal em δ 5,23, referente aos hidrogênios do grupo NH_2 , e ainda dos sinais referentes aos hidrogênios H-4 (δ 5,76, 1H) e H-5 (δ 5,13-5,23, 2H) característicos de olefinas terminais.

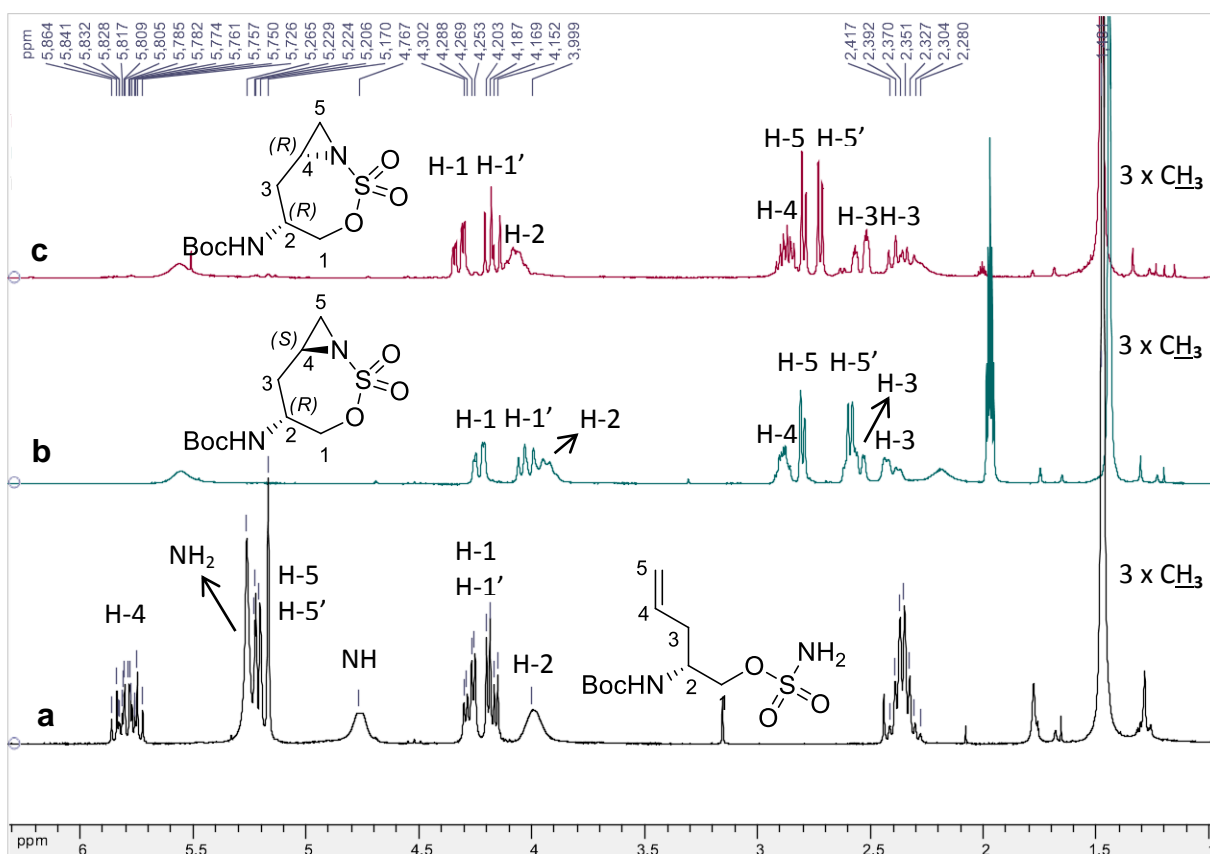


Figura 2.20. Espectro de RMN de ^1H dos compostos: a) **66**, b) **69b** e c) **69a** (CDCl_3 , 300 MHz).

Esses compostos possuem dois centros assimétricos, sendo que a estereoquímica da posição 2 é conhecida (*R*). Nessas condições, com a utilização da técnica NOESY foi possível atribuir a configuração do segundo centro assimétrico. A configuração cis do biciclo pode ser evidenciada pela correlação entre os hidrogênios H-2 e H-4 (**69a** (*2R-4R*)) (Figura 2.21), enquanto que na configuração trans a correlação ocorre entre os hidrogênios H-2 e H-5 (**69b** (*2R-4S*)) (Figura 2.22).

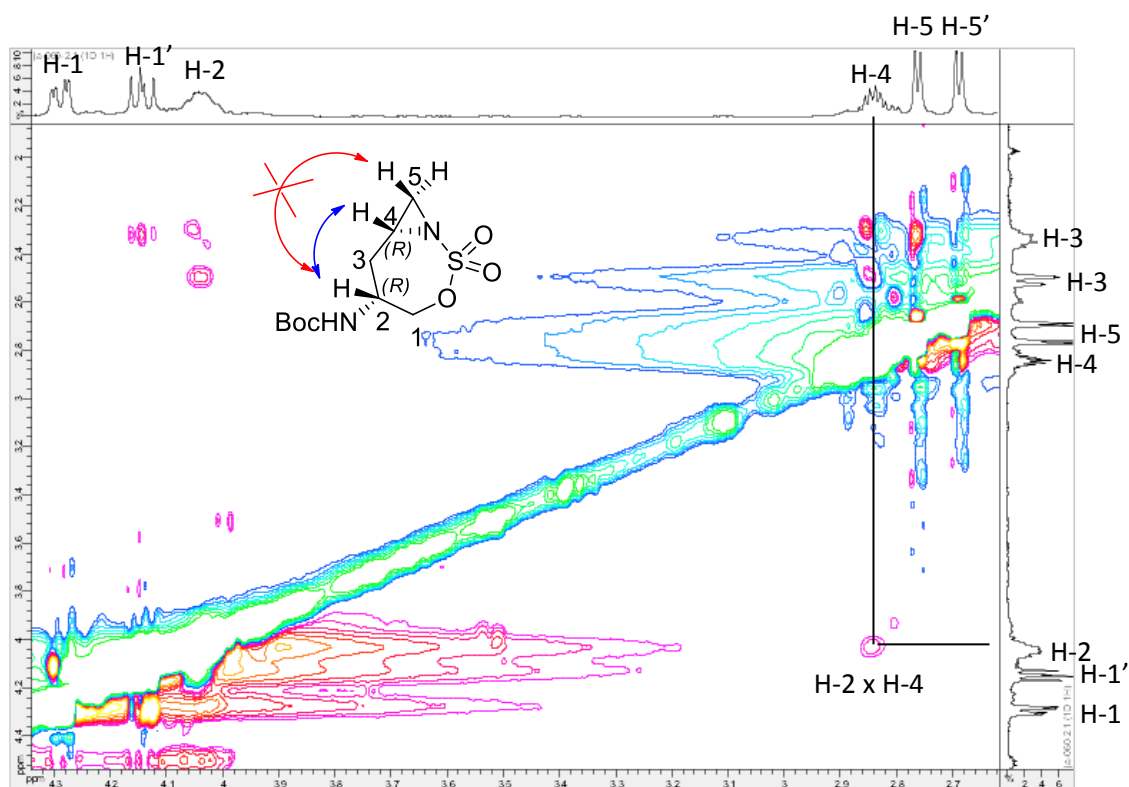


Figura 2.21. Mapa de contornos NOESY de **69a** (CDCl_3 , 500 MHz).

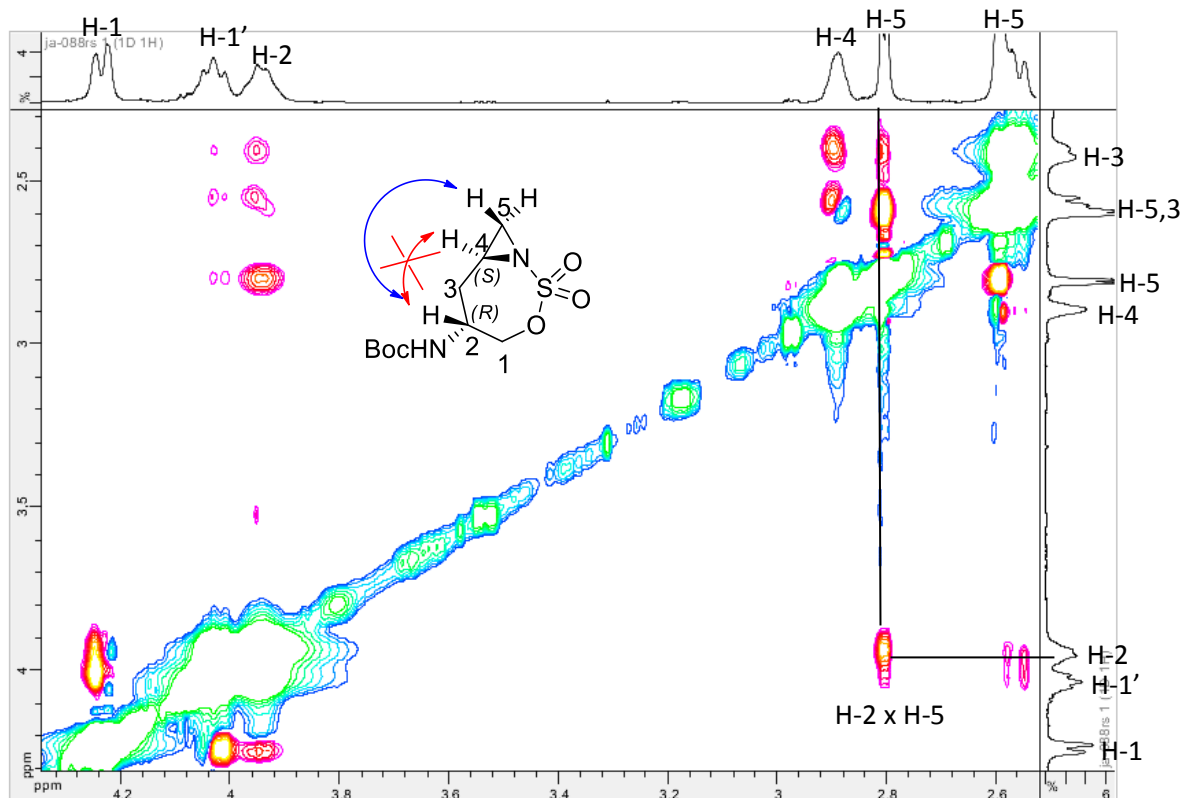


Figura 2.22. Mapa de contornos NOESY de **69b** (CDCl₃, 500 MHz).

No espectro de RMN de ¹³C do composto **69a** (Figura 2.23) foi observado o deslocamento dos sinais típicos de carbonos olefínicos C-4 e C-5, inicialmente em δ 134,3 e 118,2, para 39,5 e 38,5, respectivamente. A estrutura obtida por difração de raios X após a recristalização em clorofórmio é apresentada a seguir (Figura 2.24).

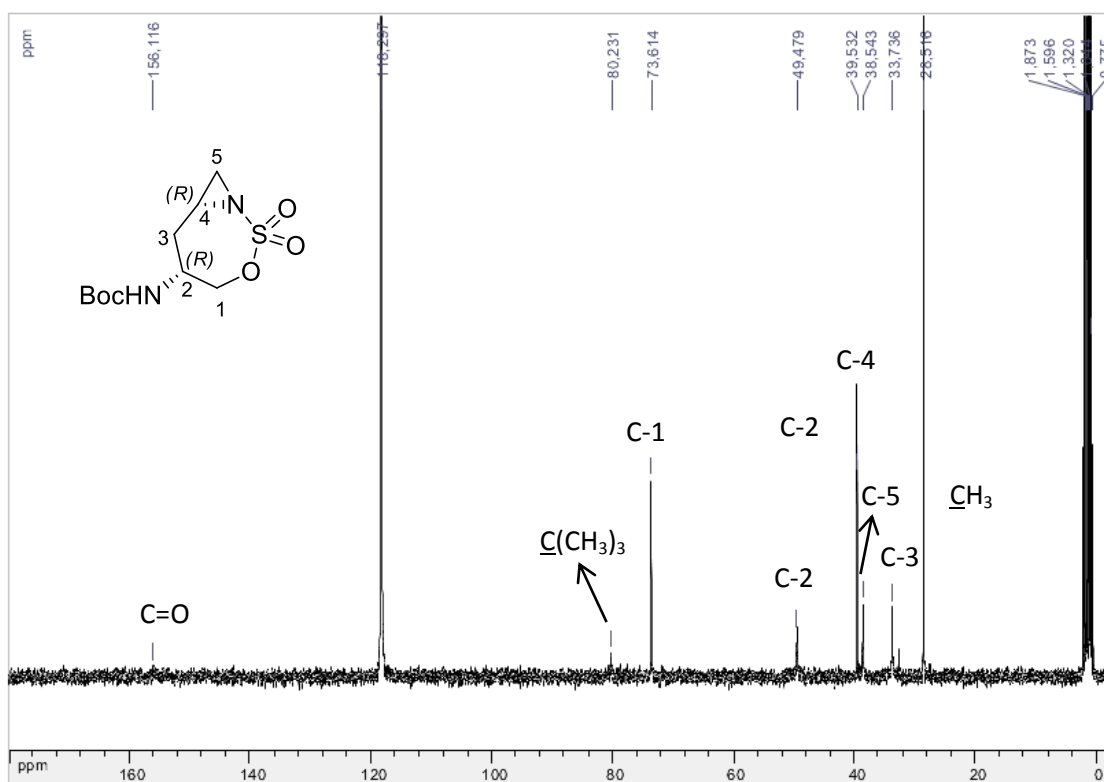


Figura 2.23. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **69a** (CD_3CN , 75 MHz).

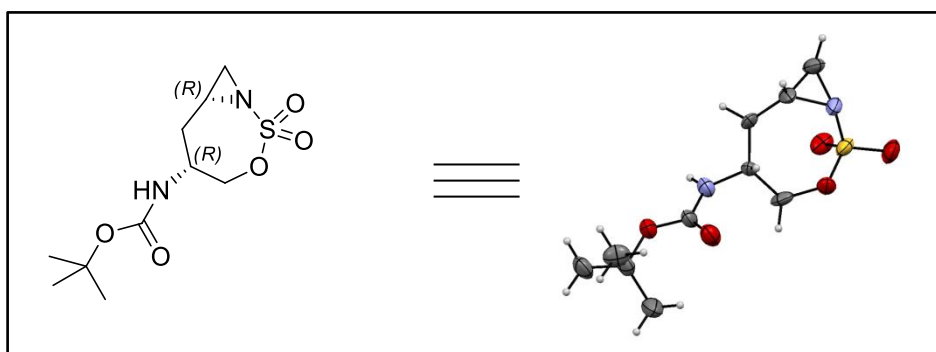


Figura 2.24. Estrutura obtida por difração de raios do composto **69a**.

A formação dos produtos de C-H aminação pode ser evidenciada nos espectros de RMN de ^1H pela permanência dos sinais referentes aos hidrogênios H-4 e H-5 atribuídos a dupla ligação, e ainda o deslocamento do sinal referente a H-3 para região mais distante do TMS em função da formação da ligação C-N nesta posição (Figura 2.25).

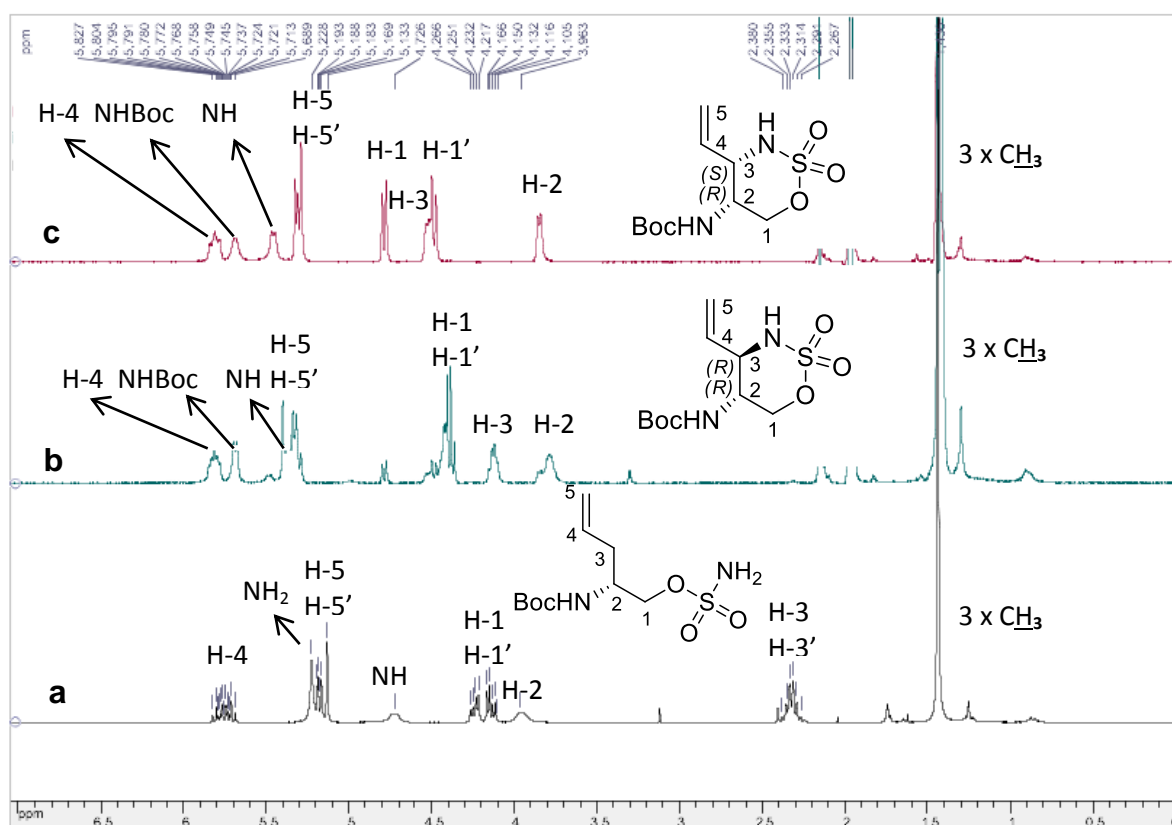


Figura 2.25. Espectro de RMN de ^1H dos compostos: a) **66**, b) **69d** e c) **69c** (CDCl_3 , 300 MHz).

Para o composto **71** observa-se no espectro de RMN de ^1H (Figura 2.26) os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos (24H) entre δ 7,47 – 8,77, um sinal em δ 5,83 (4H) referente ao hidrogênio H-2 e em δ 1,29 um simpleto referente aos hidrogênios do grupo CH_3 .

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 do composto **71** (Figura 2.27), observou-se em δ 187,6 um sinal referente ao carbono C-1, e ainda em δ 163,2 e 164,8 os sinais referentes aos carbonos carbonílicos (C=O). Foi possível atribuir também os sinais entre δ 122,8 – 133,6 referentes aos carbonos aromáticos, além do sinal em δ 36,4 atribuído ao carbono ipso ($\text{C}(\text{CH}_3)$).

Outra evidência indicando a formação do complexo **71** é pelo espectro de massas de alta resolução, onde é possível observar um pico referente ao íon molecular em 1481,2129 que corresponde a fórmula mínima $\text{C}_{72}\text{H}_{64}\text{N}_4\text{O}_{16}\text{Rh}_2$ [$\text{M} + \text{Cl}^-$], cujo valor calculado é igual a 1481,2116.

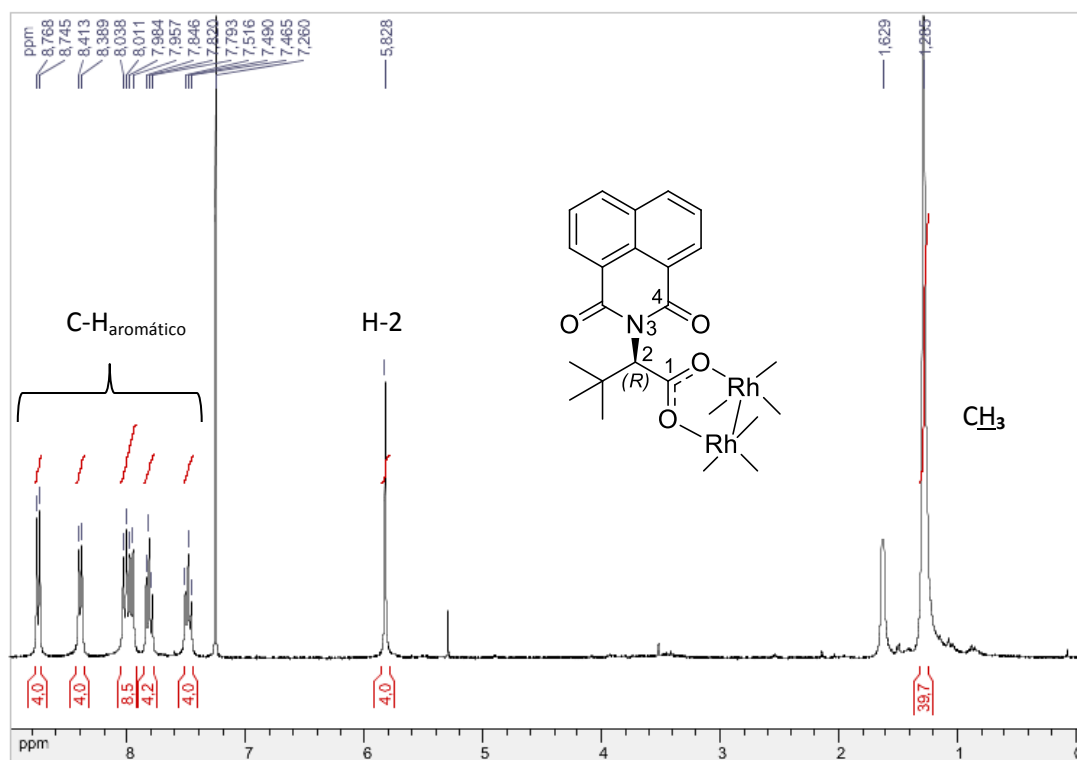


Figura 2.26. Espectro de RMN de ¹H do composto **71** (CDCl₃, 300 MHz).

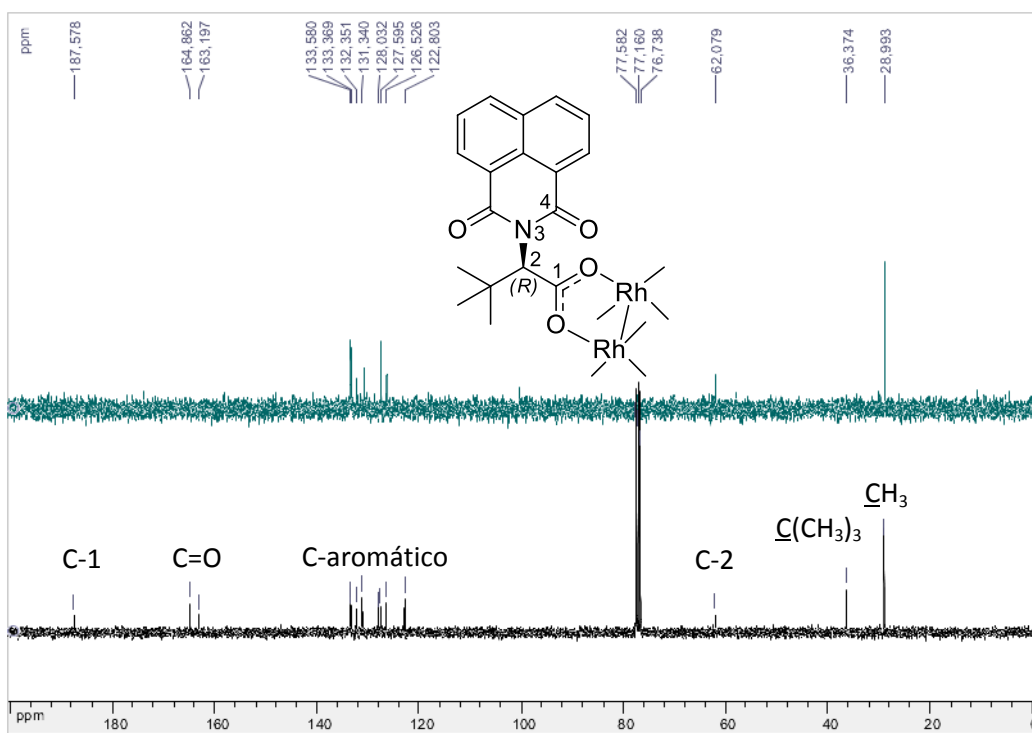
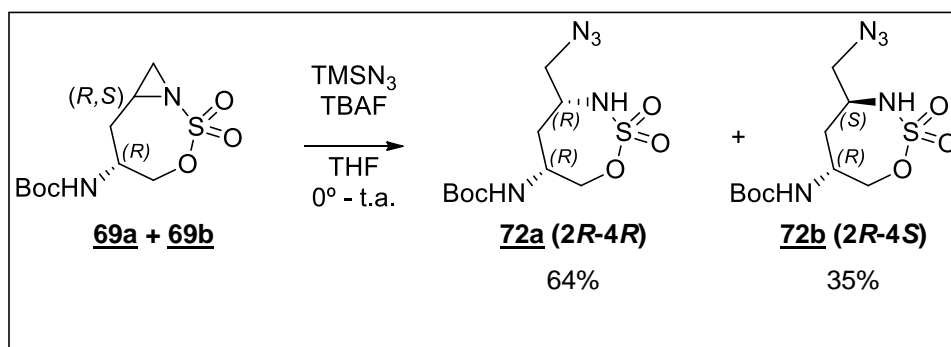


Figura 2.27. Espectro de RMN de ¹³C e DEPT 135 do composto **71** (CDCl₃, 75 MHz).

2.3.3. Abertura da aziridina

Para obtenção dos compostos **72a** e **72b** inicialmente foi efetuada a reação da mistura dos diastereoisômeros **69a** e **69b** com azida de trimetilsilila (TMSN_3) e fluoreto de tetra-*N*-butilamônio (TBAF) em tetraidrofurano (THF) à temperatura ambiente (Esquema 2.27).



Esquema 2.27. Reação de abertura da aziridina.

Após o término da reação foi realizado uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água, a fase orgânica foi evaporada e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: éter de petróleo/acetato de etila 8/2). Os compostos **72a** e **72b** foram obtidos como um óleo (64%) e um sólido (35%), respectivamente, e foram caracterizados por análise de seus espectros no IV, RMN de ^1H e de ^{13}C e massas.

A partir da análise do espectro no IV dos compostos **72a** (Figura 2.28) e **72b** foi possível atribuir a entrada do grupo azido em função do surgimento de uma banda forte de absorção em 2104 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento assimétrico das ligações $\text{N}=\text{N}^+=\text{N}^-$.

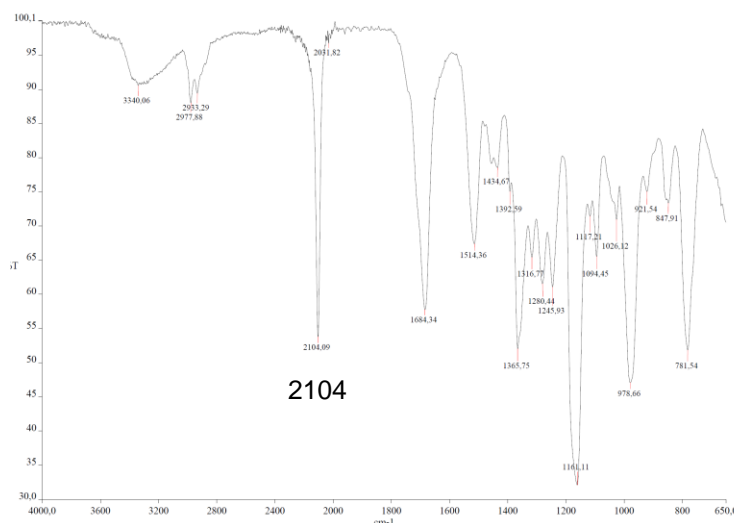
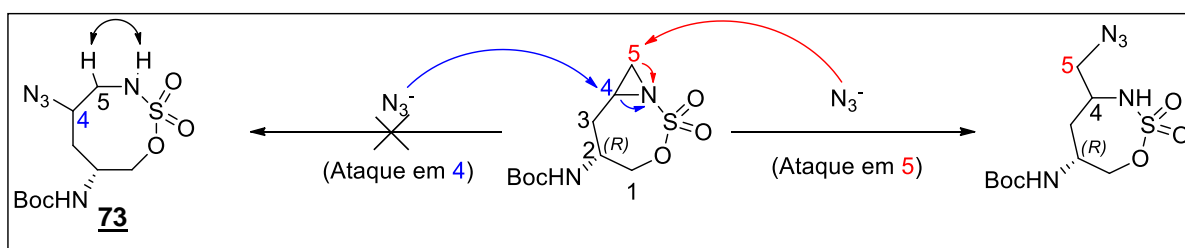


Figura 2.28. Espectro no infravermelho de **72a**.

A análise do espectro de RMN de ^1H de **72a** (Figura 2.29), auxiliado pelo mapa de contornos COSY (Figura 2.30) e por comparação com os espectros do composto **69a**, permitiu inferir que o ataque ocorreu na posição C-5 da aziridina (Esquema 2.28). Isso pode ser justificado pelo fato do sinal atribuído a H-4, com integração para um hidrogênio, em δ 3,53 acoplar com o hidrogênio do grupo NH.

Verificou-se, ainda, um multipletto em δ 3,31-3,40 (2H) atribuído a H-5 e H-5' não estar acoplando com o hidrogênio do grupo NH, fato que seria observado se ocorresse a formação do produto **73** (Esquema 2.28). Além disso, é possível atribuir que a posição 4 apresenta a configuração *R* em função do acoplamento de H-2 com H-4 no espectro de NOESY (Figura 2.31).



Esquema 2.28. Possibilidades de abertura das aziridinas.

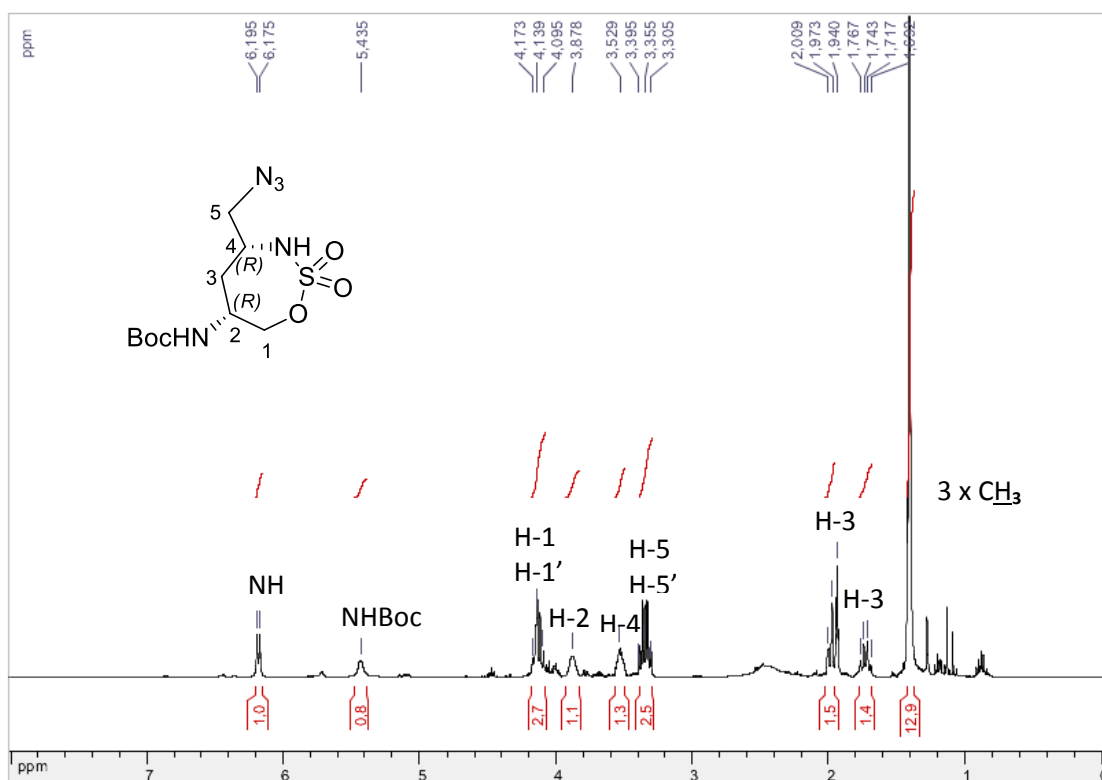


Figura 2.29. Espectro de RMN de ^1H do composto **72a** (CDCl_3 , 500 MHz).

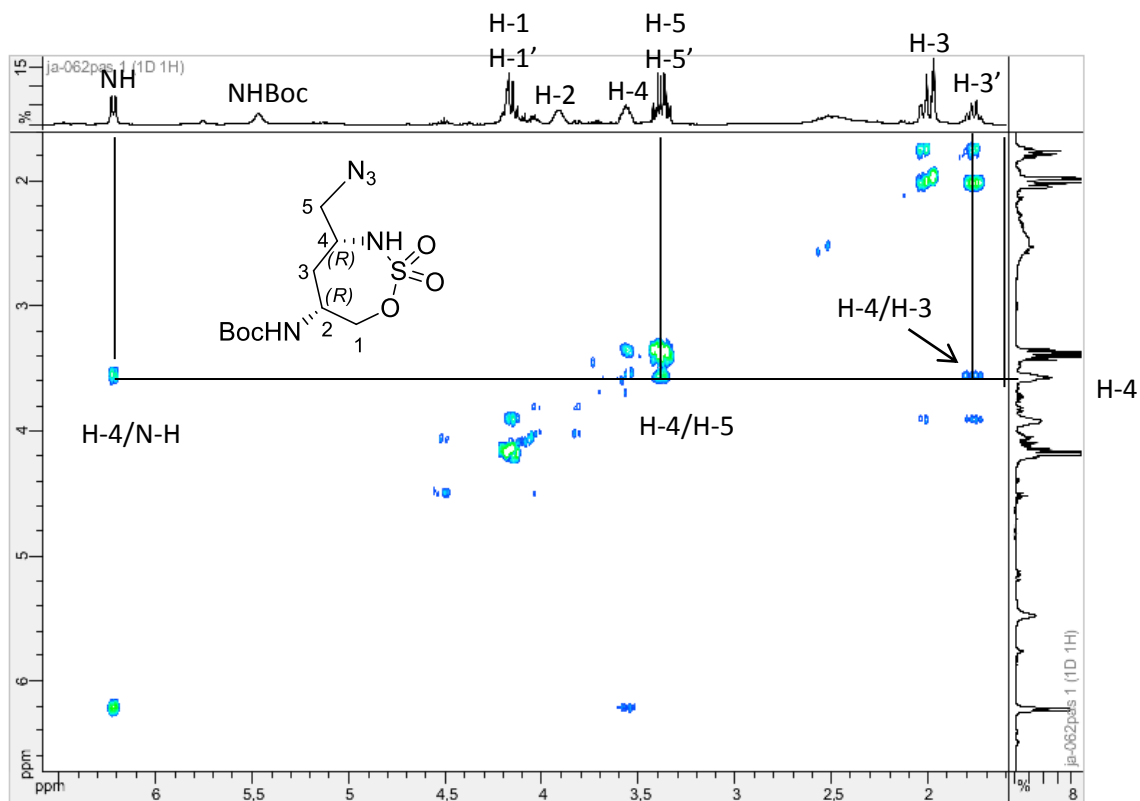


Figura 2.30. Mapa de contornos COSY do composto **72a** (CDCl_3 , 500 MHz).

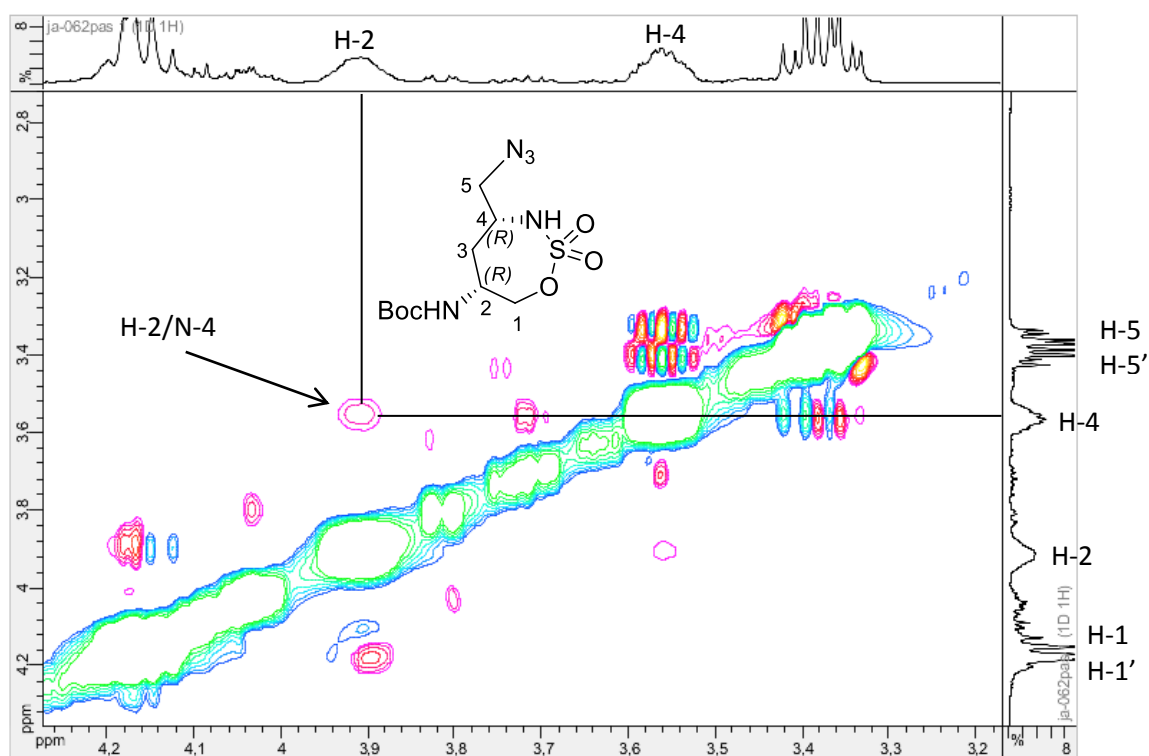


Figura 2.31. Mapa de contornos NOESY do composto **72a** (CDCl_3 , 500 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **72a** (Figura 2.32) observar-se um sinal em δ 37,9 atribuído a C-3, três sinais entre δ 49,6 – 55,5 correspondentes aos carbonos C-2, C-4 e C-5 e, ainda, o sinal em δ 71,4 referente ao carbono C-1. Os sinais de carbono foram atribuídos com o auxílio do mapa de contornos HSQC (Figura 2.33). O composto **72a** se mostrou ser muito instável, mesmo quando armazenado a baixa temperatura ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) e sob atmosfera de argônio.

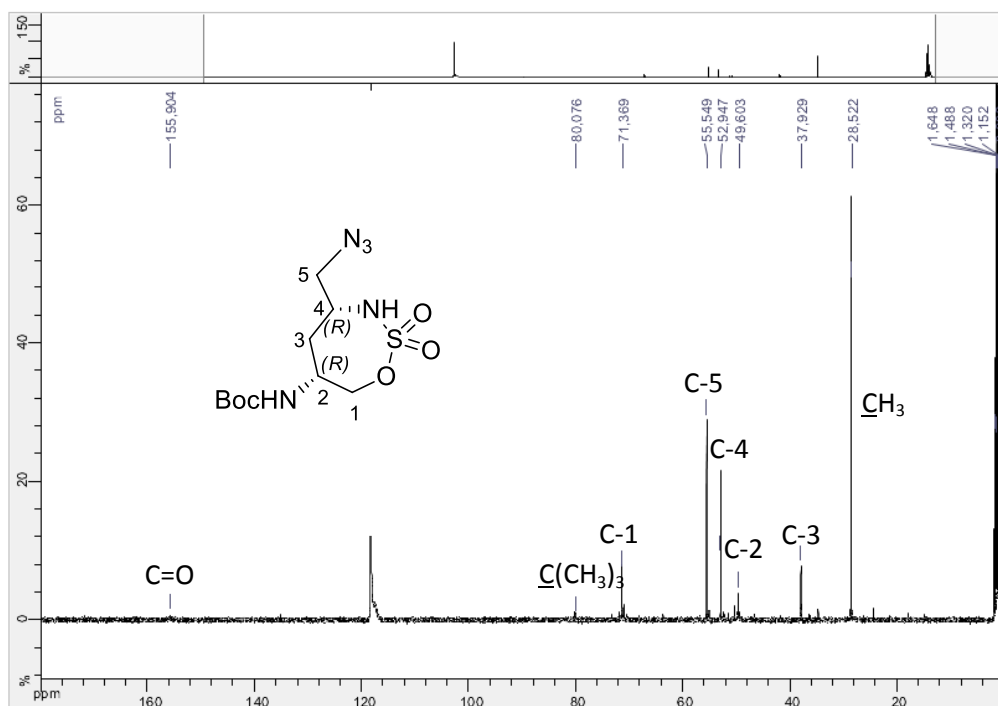


Figura 2.32. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **72a** (CDCl_3 , 125 MHz).

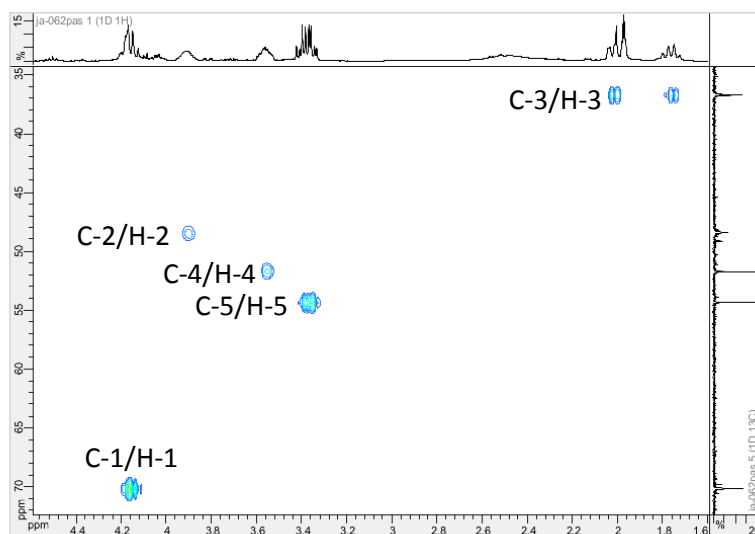


Figura 2.33. Mapa de contornos HSQC do composto **72a** (CDCl_3 , 500 MHz).

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 2.34) auxiliado pelo COSY (Figura 2.35) do diastereoisômero **72b** foi possível atribuir que a abertura da aziridina também ocorreu na posição 5 do anel, devido o acoplamento do hidrogênio H-4 (δ 3,60) com o hidrogênio do grupo NH. A análise deste foi feita tendo-se como partida o sinal correspondente ao hidrogênio H-3 (mais próximo do TMS) em δ 1,95 – 2,13 estabelecendo-se, então, por intermédio das correlações, as conectividades entre os hidrogênios H-3/H-2, H-3/H-4, H-2/H-1, H-4/H-5.

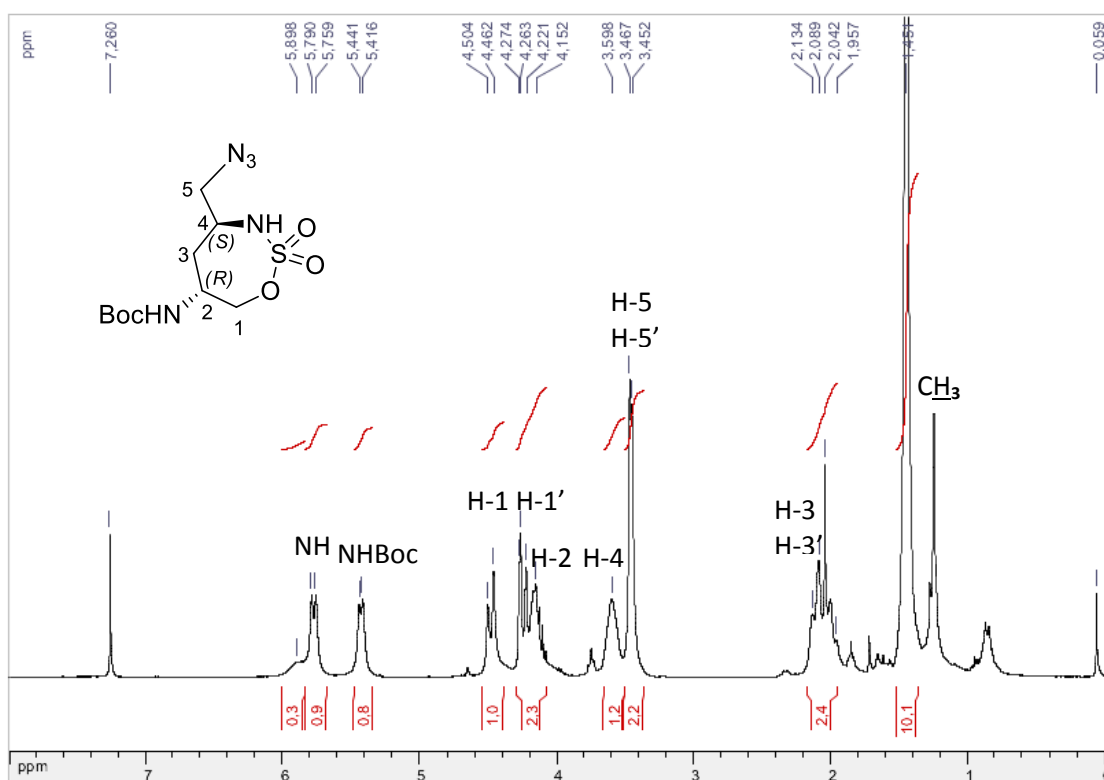


Figura 2.34. Espectro de RMN de ^1H do composto **72b** (CDCl_3 , 300 MHz).

Após análise do espectro de RMN de ^{13}C de 20b (Figura 2.36), com o auxílio do mapa de contornos HSQC, foi possível atribuir o sinal em δ 37,6 a C-3, três sinais entre δ 47,4 - 55,3 correspondentes aos carbonos C-2, C-4 e C-5 e, ainda, o sinal em δ 71,7 referente ao carbono C-1. A estrutura do composto **72b** pode ser confirmada por difração de raios X após a recristalização em clorofórmio (Figura 2.37).

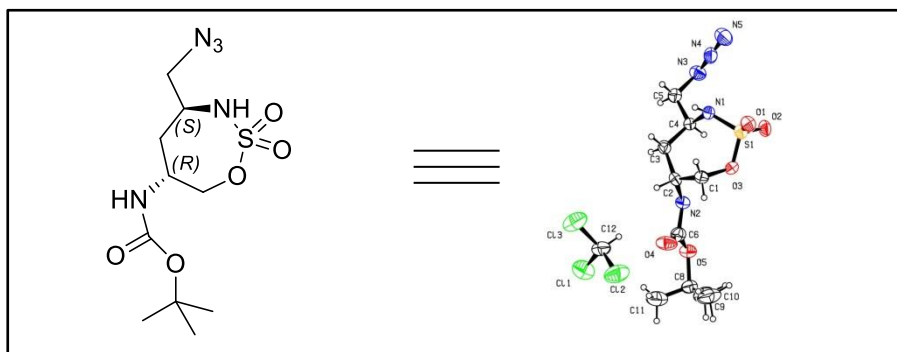


Figura 2.37. Estrutura obtida por difração de raios X do composto **72b (2R-4S)**.

2.3.4. Abertura do sulfamato cíclico

Os sulfamatos cíclicos podem funcionar como bons eletrófilos em reações de substituição nucleofílica no carbono que contém o oxigênio. Alguns exemplos de aberturas de sulfamatos estão descritos na literatura (Figura 2.38) (MELENDEZ, 2003; BALDWIN, 1990). Para isso, primeiro o nitrogênio do sulfamato tem que ser ativado por um grupo receptor de elétrons.

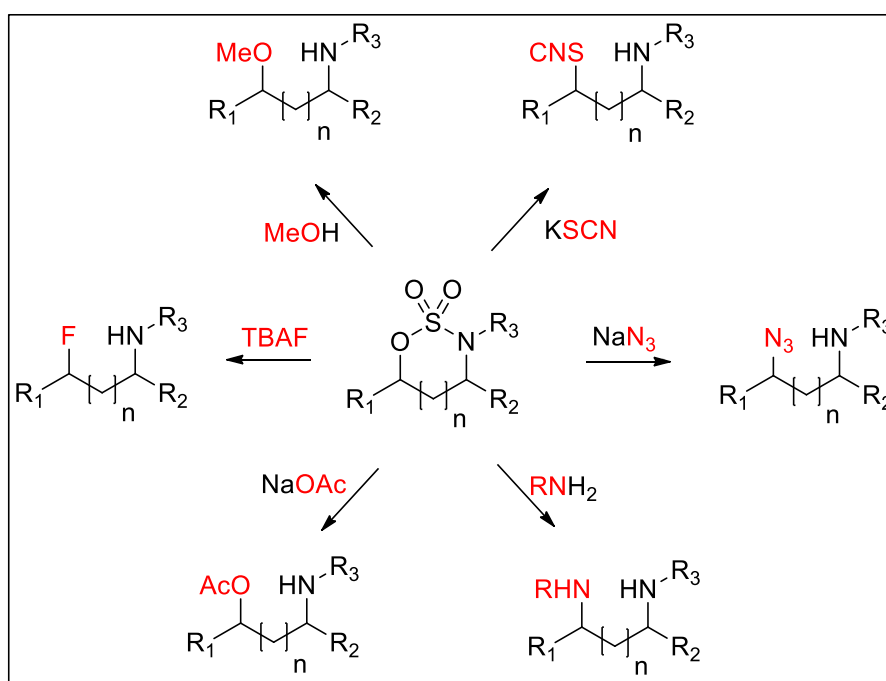
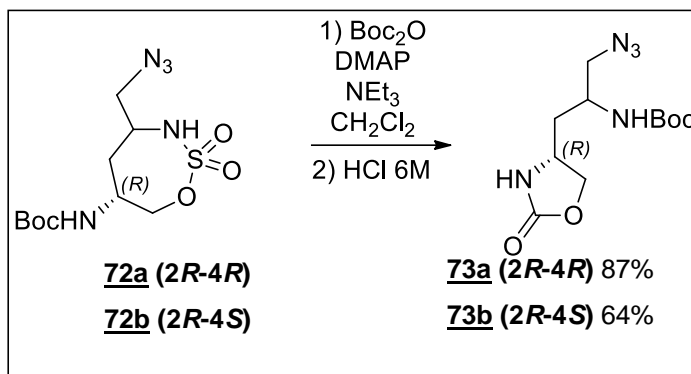


Figura 2.38. Exemplos de aberturas de sulfamatos cíclicos.

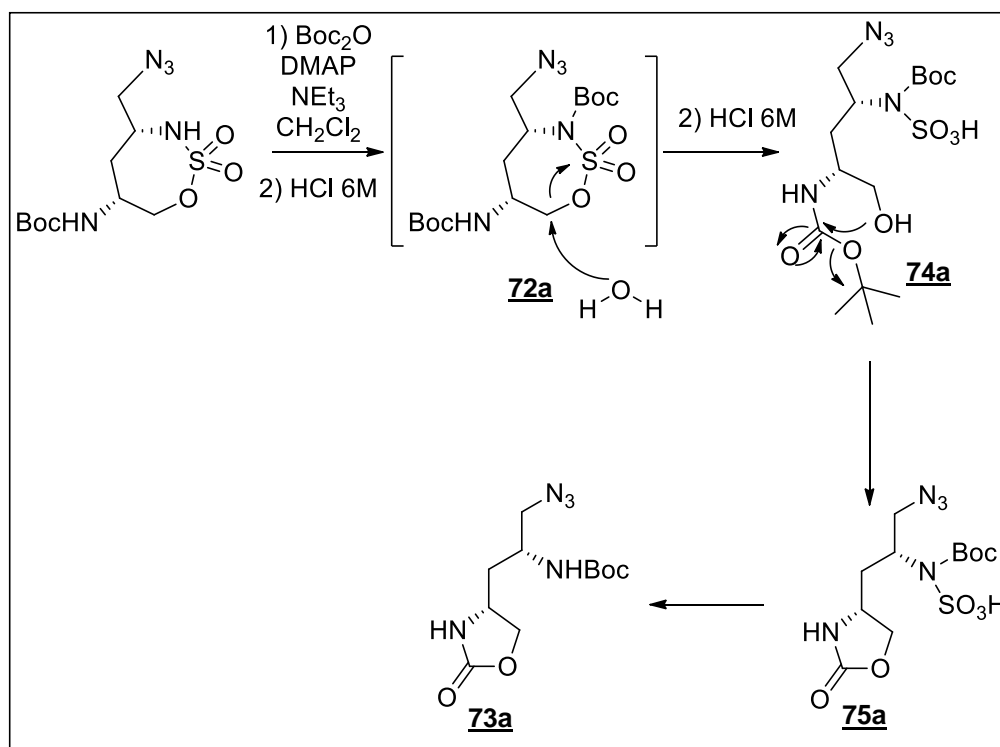
Em nossa síntese foi escolhido o grupo Boc como ativador, em função de trabalhos desenvolvidos pelo grupo de Dodd (BENOHOUD, 2008; MORELLE, 2010). Para isso, os compostos **72a (2R-4R)** e **72b (2R-4S)** foram tratados com Boc_2O em presença de trimetilamina, DMAP e diclorometano como solvente (Esquema 2.29).

Os intermediários protegidos se mostraram instáveis na tentativa de purificação. Assim, após o fim da reação, o solvente foi removido e o bruto reacional foi tratado com uma solução de HCl 6M à temperatura ambiente (Esquema 2.29), que após a purificação por coluna cromatográfica (CH₂Cl₂/MeOH 98/2) forneceu os compostos **73a** (87%) e **73b** (64%).



Esquema 2.29. Reação de abertura dos sulfamatos **72a** e **72b**.

O álcool esperado **74a** (Esquema 2.30) não foi isolado, pois ocorreu uma reação intramolecular envolvendo a hidroxila alcoólica e o grupo carbamato, levando a formação da oxazolidinona **73a**, onde o grupo SO₃ do intermediário **75a** foi hidrolisado.



Esquema 2.30. Proposta para o mecanismo de abertura.

A formação do intermediário **75a** pode ser evidenciada pelo espectro de massas de alta resolução (Figura 2.39), onde é possível observar um pico referente ao íon molecular em 364,0926 que corresponde a fórmula mínima $C_{11}H_{18}N_5O_7S$ [M - H], cujo valor calculado é igual a 364,0927. Esse mesmo intermediário foi obtido após a reação do derivado protegido **72a** com uma mistura de água e acetonitrila (1:1) à 60 °C na ausência de meio ácido (Esquema 2.31).

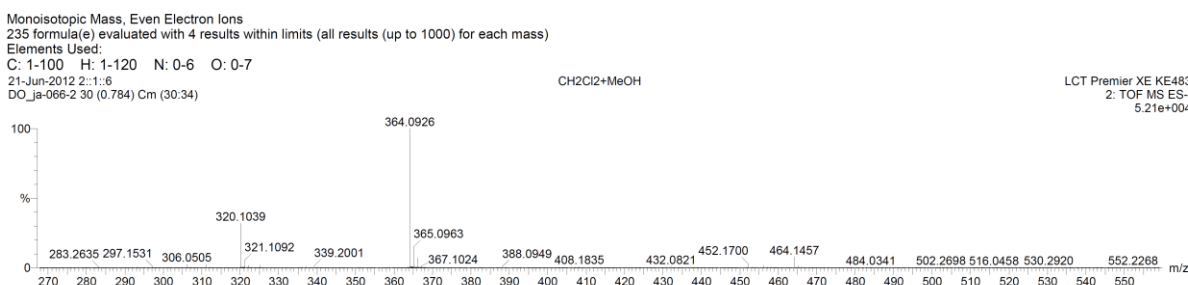
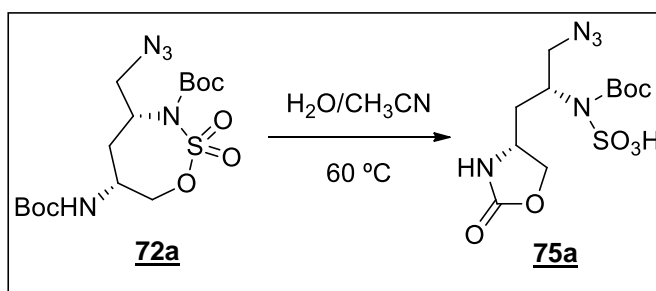


Figura 2.39. Espectro de massas do composto **75a**.



Esquema 2.31. Formação do intermediário **75a**.

Pela análise dos espectros de RMN 1D e 2D e a obtenção dos espectros de massas de alta resolução dos compostos **73a** e **73b** foi possível evidenciar a formação da porção oxazolidinona. Devido a similaridade estrutural será mostrado somente a caracterização do diastereoisômero **73a**.

No espectro de RMN de 1H de **73a** (Figura 2.40) observou-se a presença de um simpleto em δ 1,44 (9H) correspondente aos hidrogênios do CH_3 do grupo Boc. Verificou-se, ainda, dois dupletos duplos em δ 3,46 e 3,57 atribuídos a H-5 ($J_{5-5'} = 12$ Hz, $J_{5-4'} = 4$ Hz) e H-5'. Foram observados também os seguintes sinais: um sinal largo em δ 3,74 correspondente a H-2, um sinal largo atribuído a H-4 em δ 3,84, um duplete duplo em δ 3,99 atribuído a H-1' ($J_{1'-1} = 8,4$ Hz, $J_{1'-2} = 5,8$ Hz) e um triplete em δ 4,51 atribuído a H-1 ($J_{1-1'} = 8,4$ Hz).

Observou-se também a presença de dois sinais em δ 4,74 e 6,04 que foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos NHBoc e NH do anel oxazolidinônico, respectivamente. Para elucidação dos acoplamentos entre os hidrogênios e, conseqüentemente, a atribuição dos mesmos, foi feito o mapa de contornos COSY (Figura 2.41).

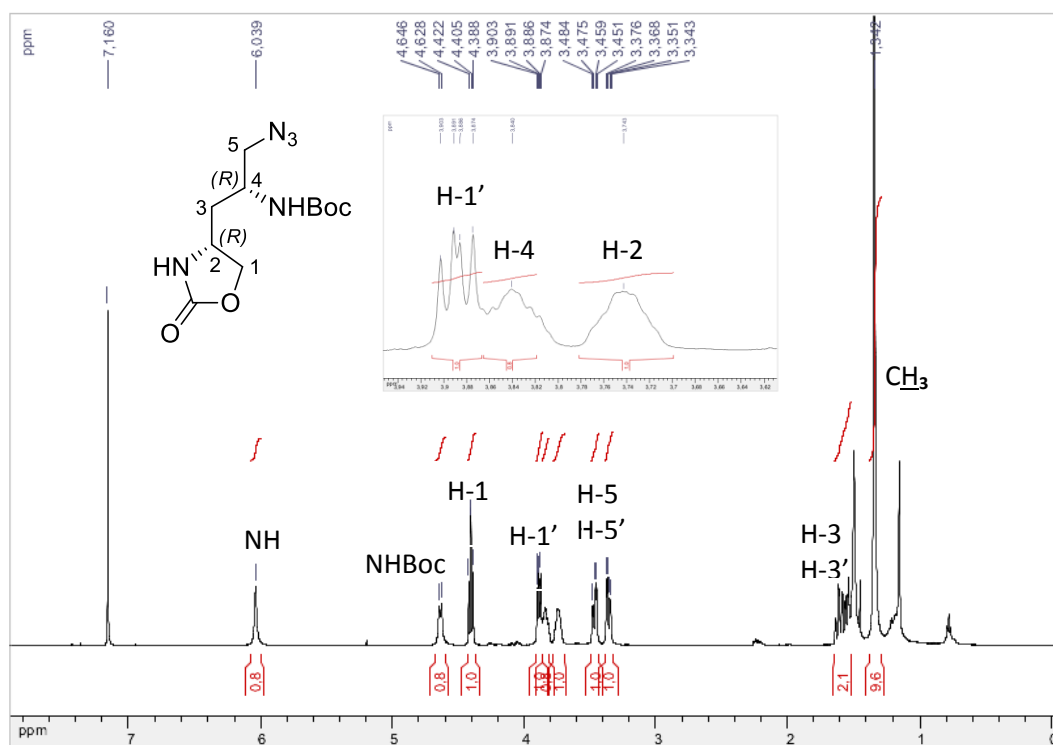


Figura 2.40. Espectro de RMN de ^1H do composto **73a** (CDCl_3 , 500 MHz).

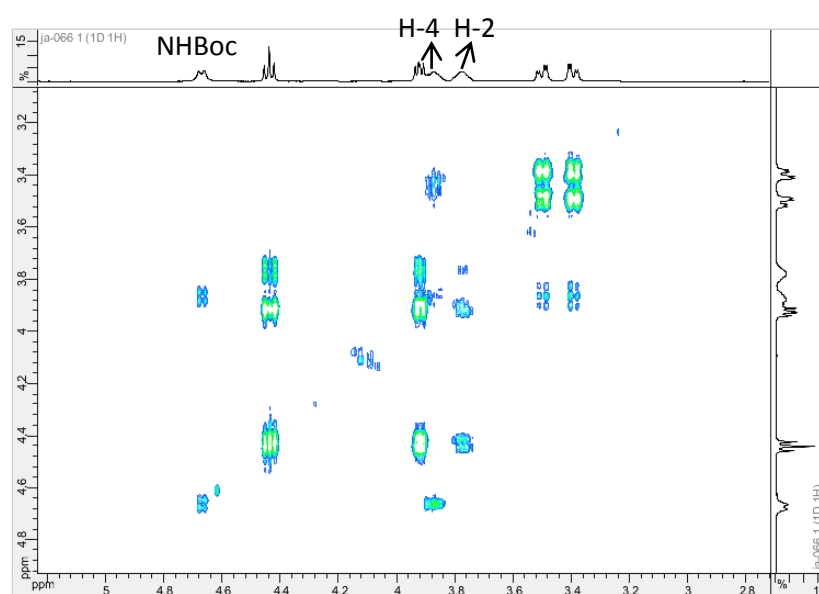


Figura 2.41. Mapa de contornos COSY do composto **73a** (CDCl_3 , 500 MHz).

Pelo espectro de RMN de ^{13}C de **73a** (Figura 2.42) com o auxílio do mapa de contornos HSQC foi possível observar um sinal em δ 39,5 atribuído a C-3 e três sinais em δ 46,9 49,6 e 55,5 correspondentes aos carbonos C-4, C-2 e C-5 respectivamente. O sinal correspondente ao carbono da carbonila (C=O) do carbamato em δ 158,9 foi atribuído por meio da análise do mapa de contornos HMBC (Figura 2.43) pela observação da correlação J^3 deste sinal com H-1 (δ 4,40 e 3,89).

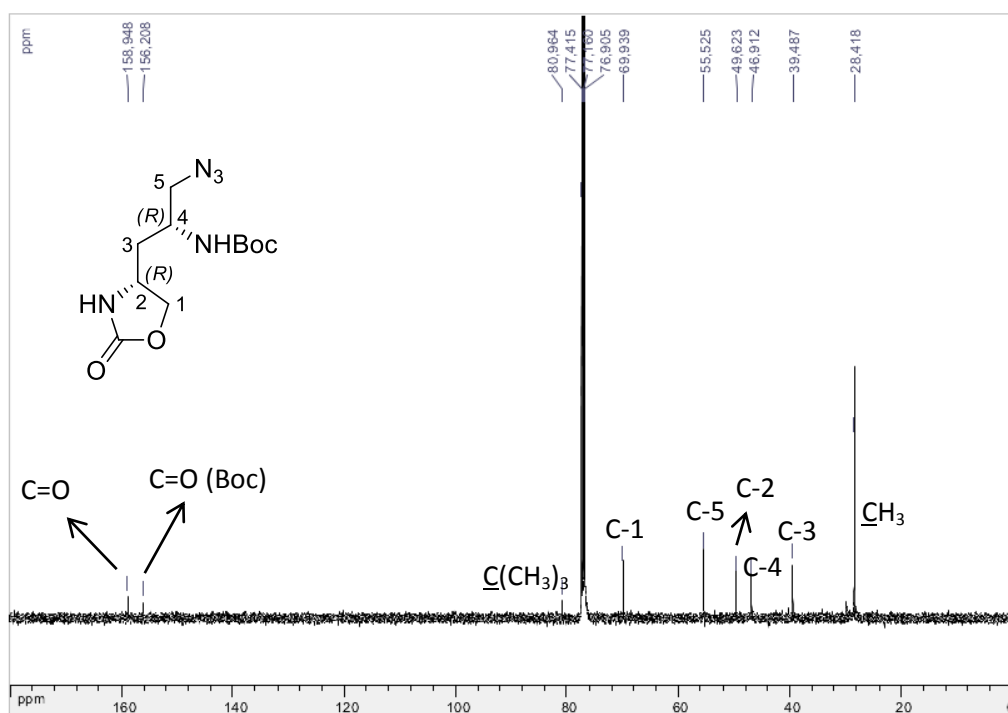


Figura 2.42. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **73a** (CDCl_3 , 125 MHz).

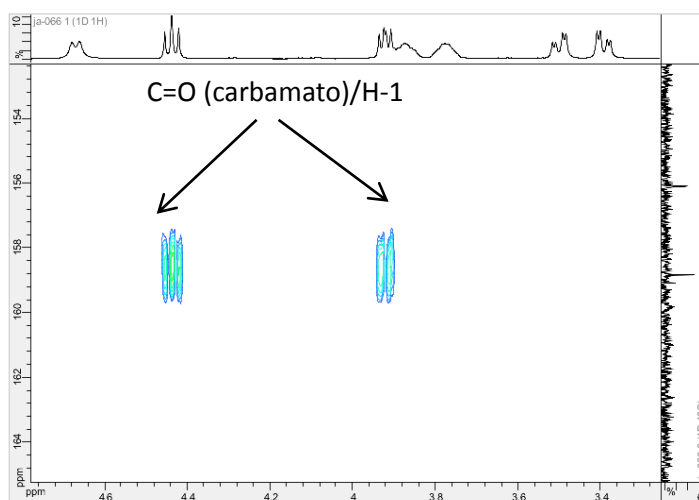


Figura 2.43. Mapa de contornos HMBC do composto **73a** (CDCl_3 , 500 MHz).

aos CH₂ benzílicos e, ainda, os sinais de C-H aromático entre δ 7,37-7,61 presentes no grupo protetor Cbz. Não foi possível atribuir a configuração da posição quatro pelo espectro de NOESY, pois o sinal atribuído a H-4 se encontra na mesma região do hidrogênio de referência (H-2).

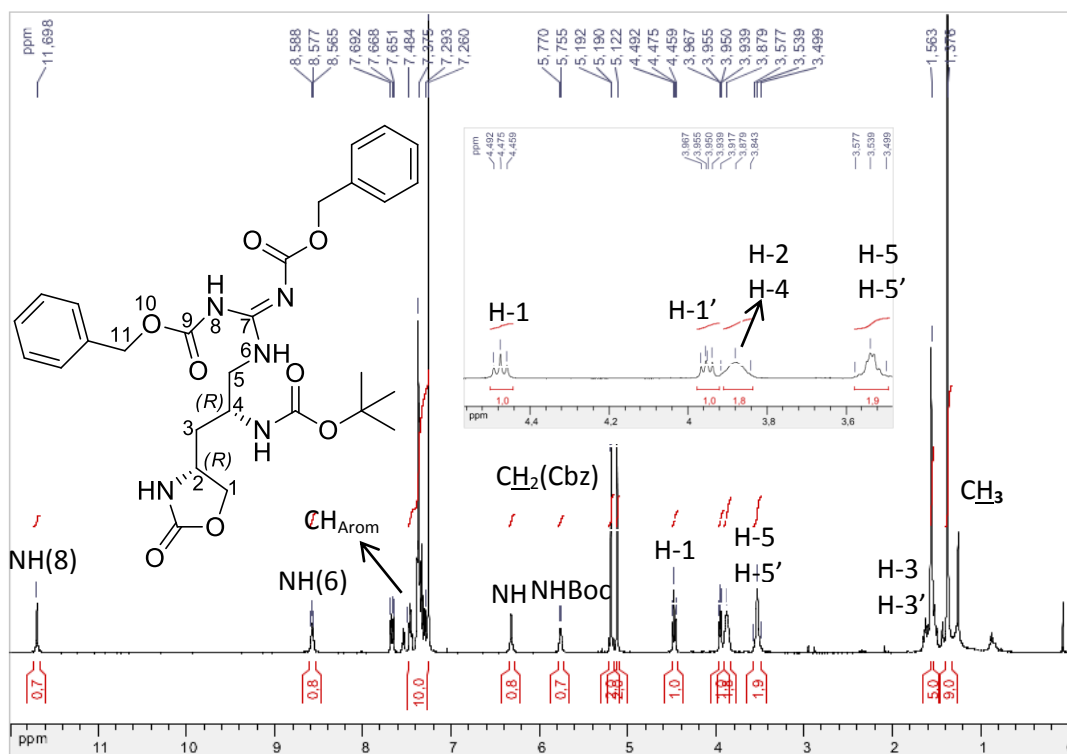


Figura 2.44. Espectro de RMN de ¹H do composto **76a** (CDCl₃, 500 MHz).

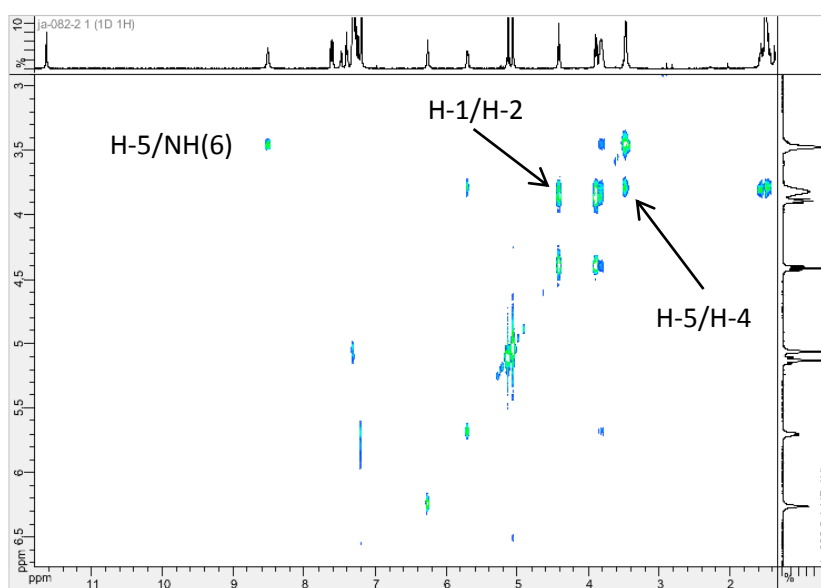


Figura 2.45. Mapa de contornos COSY do composto **76a** (CDCl₃, 500 MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **76a** (Figura 2.46), observou-se em δ 28,4 um sinal referente ao grupo CH_3 ; em δ 68,7 e 70,0 observa-se dois sinais referentes a um grupo CH_2 evidenciado pelo espectro DEPT e que foram atribuídos aos carbonos do grupo CH_2 benzílico.

Os sinais correspondentes aos carbonos da carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do carbamato em δ 159,0 e da ligação $\text{C}=\text{N}$ em δ 156,9 foram atribuídos por meio da análise do mapa de contornos HMBC pela correlação J^β com os hidrogênios H-1 (δ 4,49 e 3,95) e H-5 (3,57 – 3,49), respectivamente.

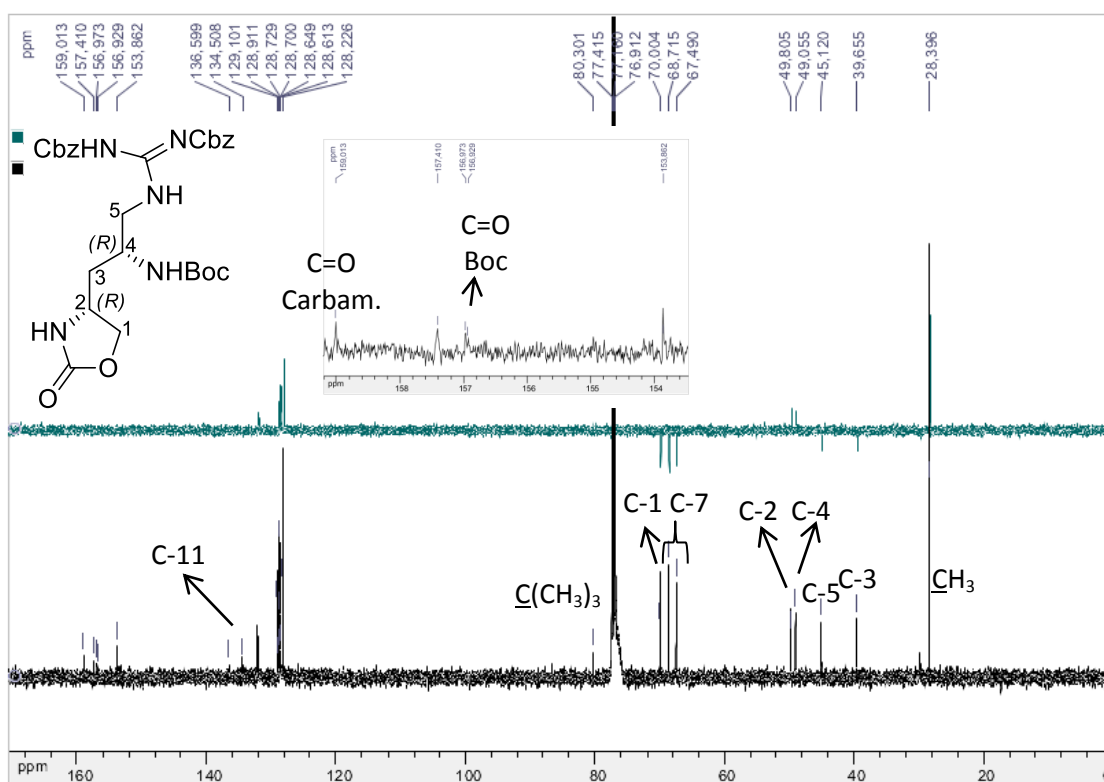


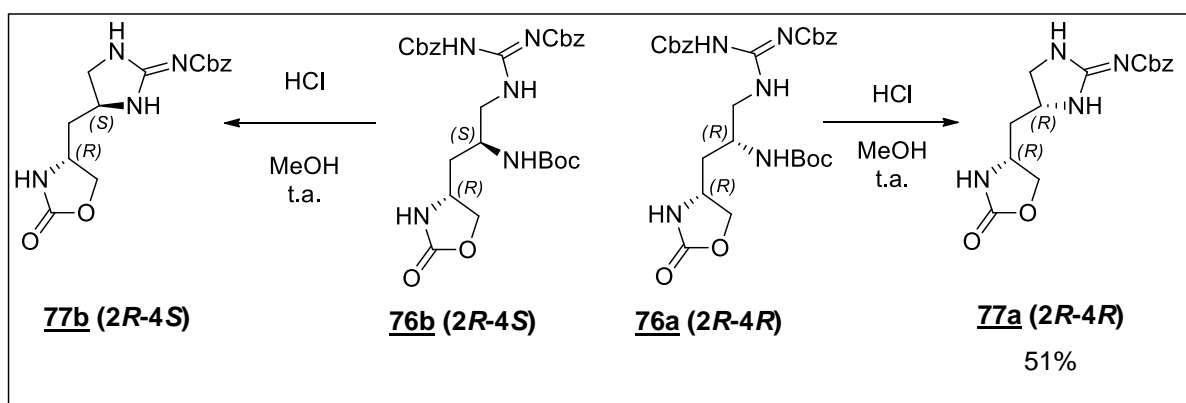
Figura 2.46. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 do composto **76a** (CDCl_3 , 125 MHz).

2.3.6. Ciclização da guanidina

A próxima etapa da reação para obtenção da alloenduracididina consistiu na ciclização da guanidina, conduzida pelo tratamento do composto **76a** com uma solução metanólica de HCl à temperatura ambiente para promover a remoção do grupo protetor Boc, seguido da ciclização para formação do anel aminoimidazolina (Esquema 2.33). Após o fim da reação o solvente foi evaporado e o bruto reacional

foi purificado por coluna cromatográfica (CH₂Cl₂/MeOH 95/05) levando a formação do composto **77a** (51%).

Foi feita a tentativa de ciclização da guanidina do composto **76b**, seguindo as mesmas condições utilizadas para obtenção do composto **77a**, mas a quantidade de produto foi muito pequena, pois a atribuição foi realizada somente pelo espectro de massas de alta resolução. Como o diastereoisômero da alloenduracididina com a configuração 2*R* 4*S* (Figura 2.47) não era o interesse principal deste trabalho e não havia tempo suficiente para continuar esta série em função do término do estágio de doutorado sandwich no ICSN, não foi possível realizar outros ensaios.



Esquema 2.33. Reação de ciclização da guanidina.

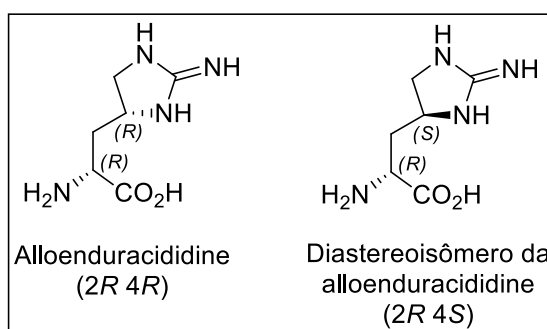


Figura 2.47. Estrutura da alloenduracididina e seu diastereoisômero.

A análise do espectro de RMN ¹H do composto **77a** (Figura 2.48), auxiliado pela comparação com o espectro do composto **76a**, permitiu inferir sobre a formação da guanidina cíclica. Verificou-se a ausência do simpleto em δ 1,37 referentes aos nove hidrogênios metílicos do grupo Boc e, ainda, a ausência do simpleto em δ 5,19 correspondentes ao CH₂ benzílico.

A atribuição dos demais sinais foi realizada com o auxílio do mapa de contornos COSY (Figura 2.49), utilizando-se como partida o sinal em δ 3,17 correspondente ao hidrogênio H-3 (mais próximo do TMS), e estabelecendo-se as correlações entre os hidrogênios H-3/H-2, H-2/H-1, H-1/H-1', H-3/H-4, H-4/H-5.

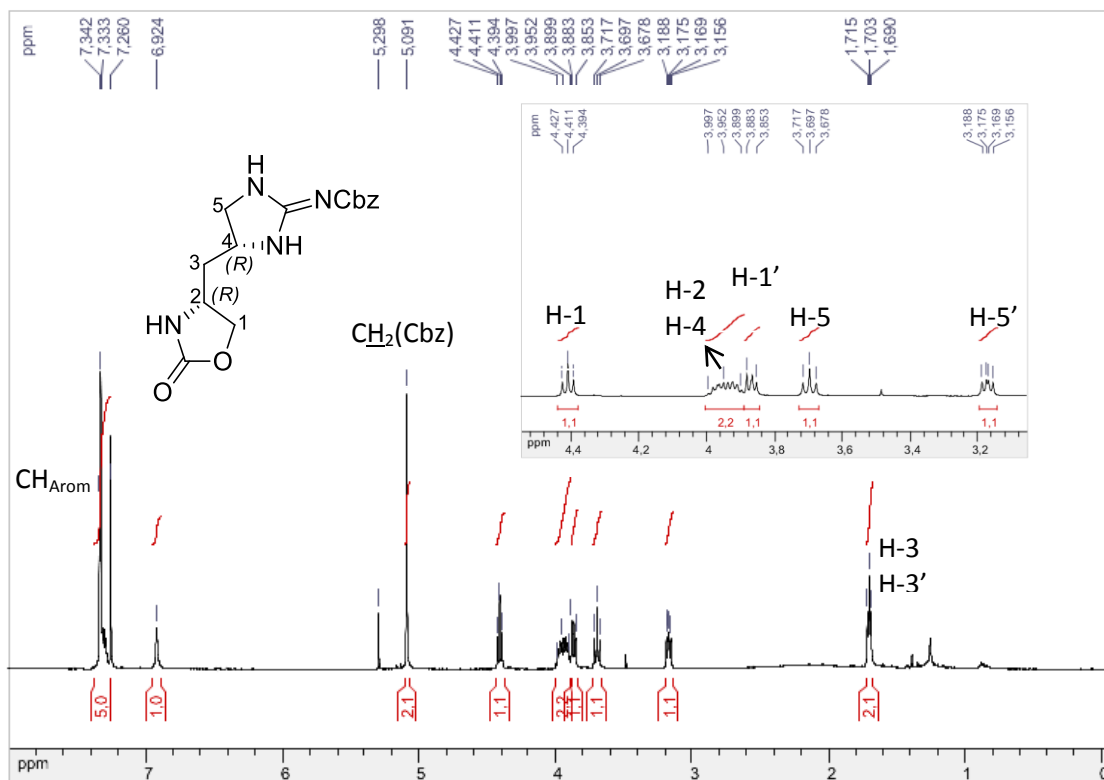


Figura 2.48. Espectro de RMN de ^1H do composto **77a** (CDCl_3 , 500 MHz).

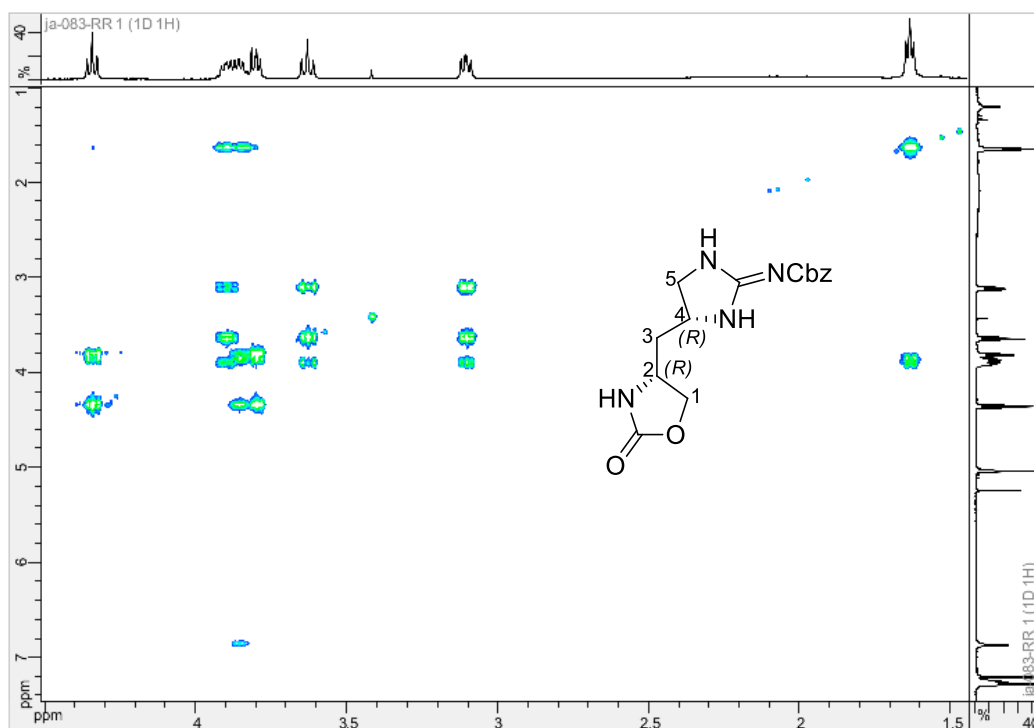


Figura 2.49. Mapa de contornos COSY do composto **77a** (CDCl_3 , 500 MHz).

Pelo espectro de RMN de ^{13}C de **77a** (Figura 2.50) com o auxílio do mapa de contornos HSQC foi possível observar um sinal em δ 41,1 atribuído a C-3, três sinais em δ 48,4, 49,3 e 50,8 correspondentes aos carbonos C-5, C-2 e C-4 respectivamente; em δ 67,3 e 70,3 observa-se dois sinais referentes a um grupo CH_2 evidenciado pelo espectro DEPT, atribuídos ao carbono do grupo CH_2 benzílico e ao carbono C-1, respectivamente.

Os sinais correspondentes aos carbonos da carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do carbamato em δ 159,9, e da ligação $\text{C}=\text{N}$ em δ 164,0 foram atribuídos por meio da análise do mapa de contornos HMBC (Figura 2.51) pela correlação J^3 com os hidrogênios H-1 (δ 3,88 e 4,41) e H-5 (3,17 e 3,70), respectivamente.

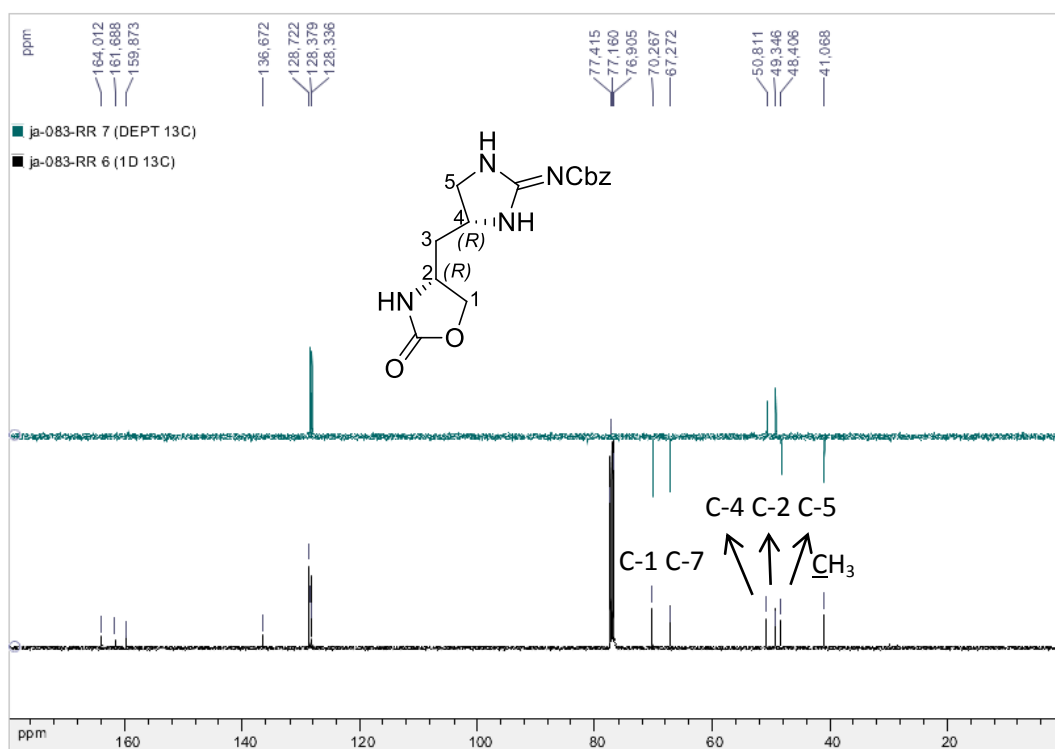


Figura 2.50. Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 do composto **77a** (CDCl_3 , 125 MHz).

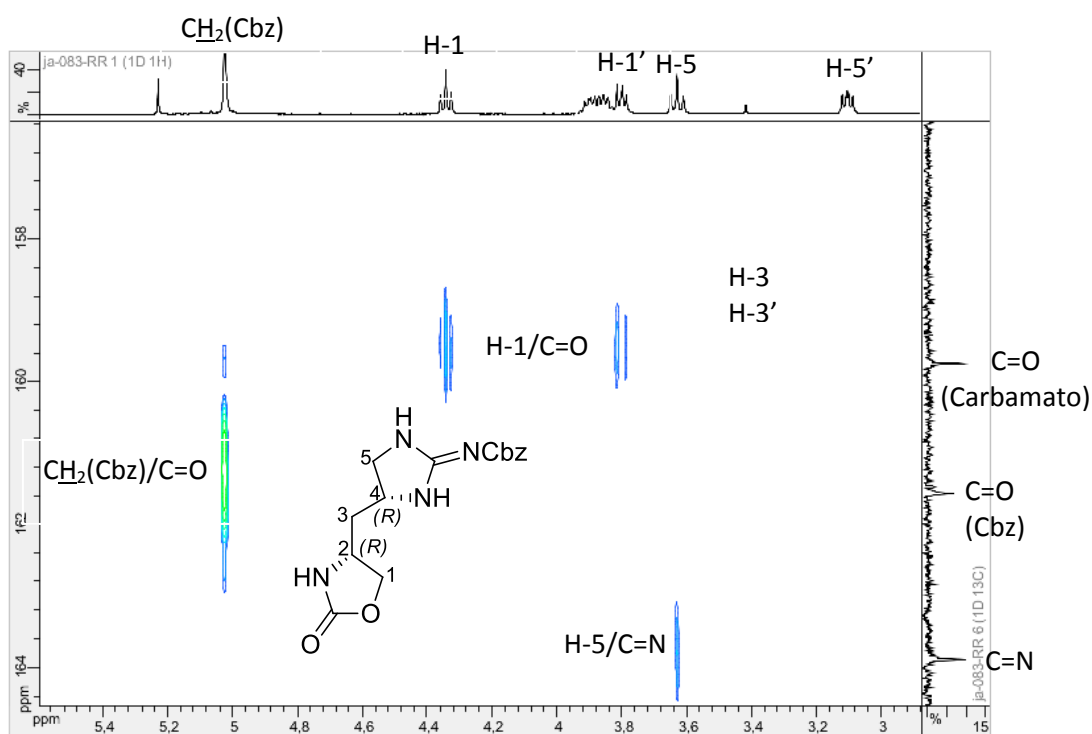
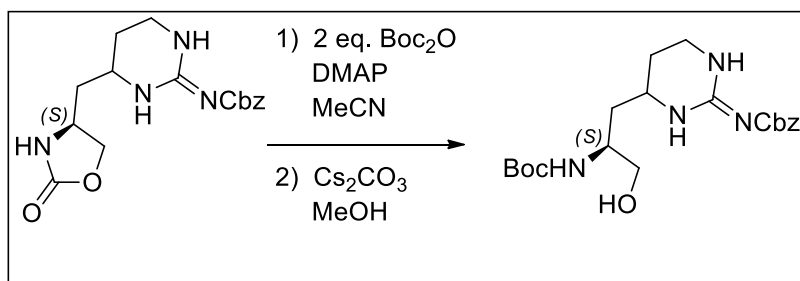


Figura 2.51. Mapa de contornos HMBC do composto **77a** (CDCl_3 , 500 MHz).

2.3.7. Etapas finais

O grupo de Ishizuka (ISHIZUKA, 1987) descreveu em 1987 um processo de abertura de oxazolidinonas em condições brandas, evitando assim a epimerização de centros quirais presentes na estrutura. O processo ocorre normalmente em duas etapas: primeiro é necessária a proteção do nitrogênio por um grupo Boc, que permite o enfraquecimento da ligação N-C=O do carbamato cíclico; na segunda etapa este intermediário protegido é tratado com carbonato de céσιο.

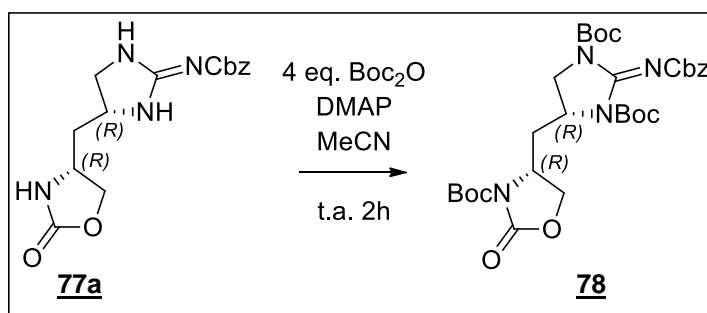
Este procedimento foi utilizado por Benohoud na síntese da tetraidrolaterina (Esquema 2.34), onde foi utilizado 2 equivalentes de Boc₂O e a proteção foi regioseletiva.



Esquema 2.34. Procedimento utilizado por Benohoud na abertura da oxazolidinona.

A mesma estratégia de proteção para o nitrogênio foi utilizada no composto **77a**, aplicando-se 2 equivalentes de Boc₂O e DMAP em MeCN à temperatura ambiente. Não foi observada uma seletividade nesta reação, como foi relatado na síntese da tetraidrolaterina (BENOHOUD, 2009), mesmo quando foi utilizado uma baixa temperatura (0°C).

Como a reação de proteção não foi seletiva, utilizou-se um excesso de Boc₂O para promover a total proteção do composto **77a**. Após o fim da reação o solvente foi evaporado e o bruto reacional foi purificado por coluna cromatográfica (CH₂Cl₂/MeOH 95/05) levando a formação do composto **78** (75 %) (Esquema 2.35).



Esquema 2.35. Reação de proteção do composto **77a**.

A formação do composto **78** pôde ser evidenciada pelo espectro de RMN de ^1H (Figuras 2.52b e 2.53) pela presença de três simpletos (27H) entre δ 1,49 – 1,54 referentes aos átomos de hidrogênios metílicos de três grupos Boc. Foi observado ainda o deslocamento dos sinais referente aos hidrogênios H-3 e H-3' (δ 2,20 – 2,01) atribuído à interação com o oxigênio da carbonila do grupo Boc e o deslocamento do sinal atribuído a H-5' (d, $J_{5'-4} = 11$ Hz) em δ 3,66 por estar acoplando somente com H-4.

Observou-se uma instabilidade do composto **78**, possivelmente devido à presença de “traços” de H_2O , como podemos verificar pelo espectro obtido após 24h (Figura 2.52c). Através do espectro de massas de alta resolução (Figura 2.54) foi observado um pico referente ao íon molecular em 635,2936 que foi atribuído a formação do intermediário **79** (Esquema 2.36) que apresenta a fórmula mínima $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_{11}$ [M - H], cujo valor calculado é igual a 635,2928.

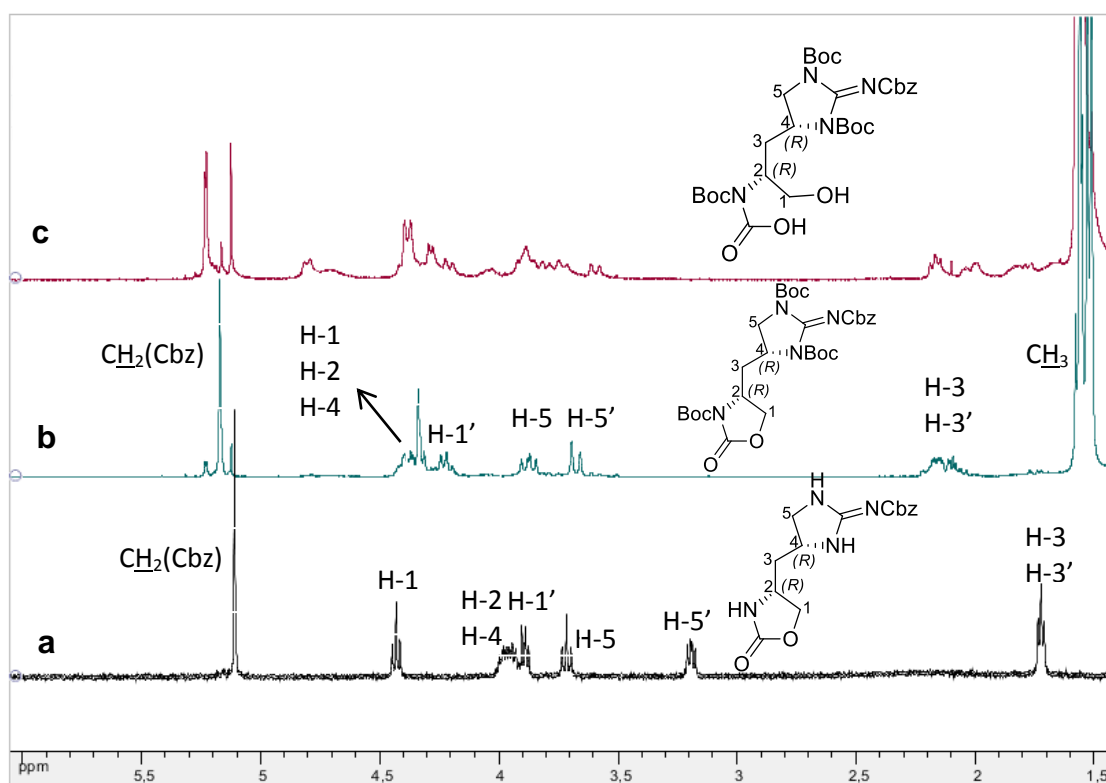


Figura 2.52. Espectro de RMN de ^1H dos compostos: **a) 77a**, **b) 78** e **c) 79** (CDCl_3 , 300 MHz).

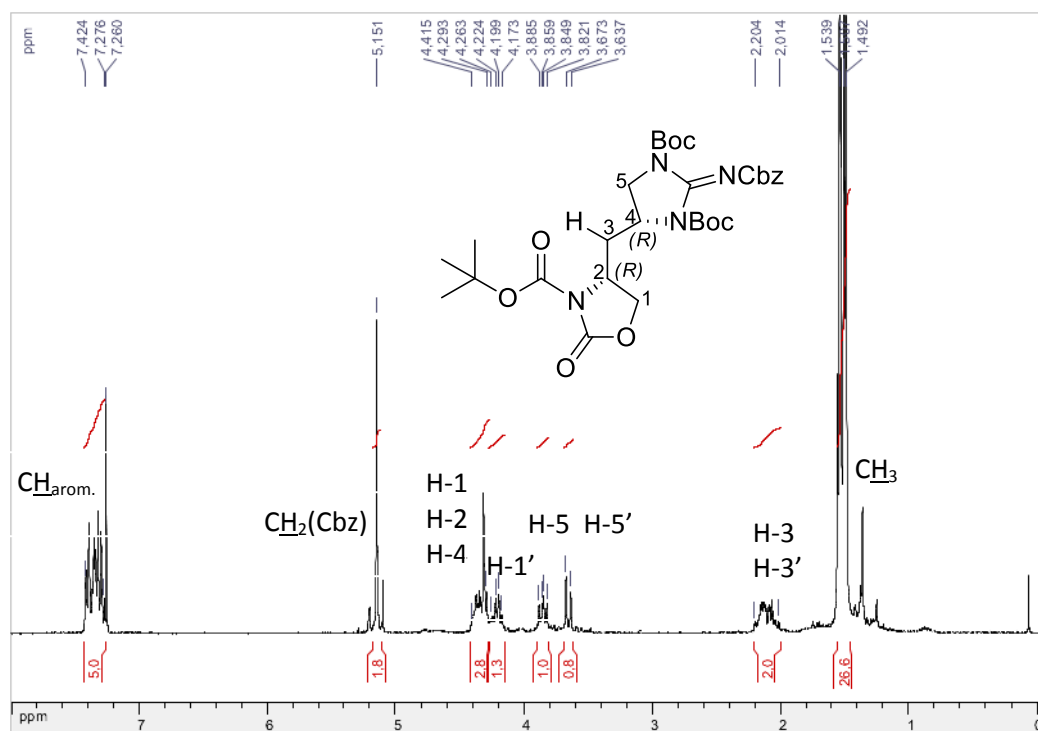
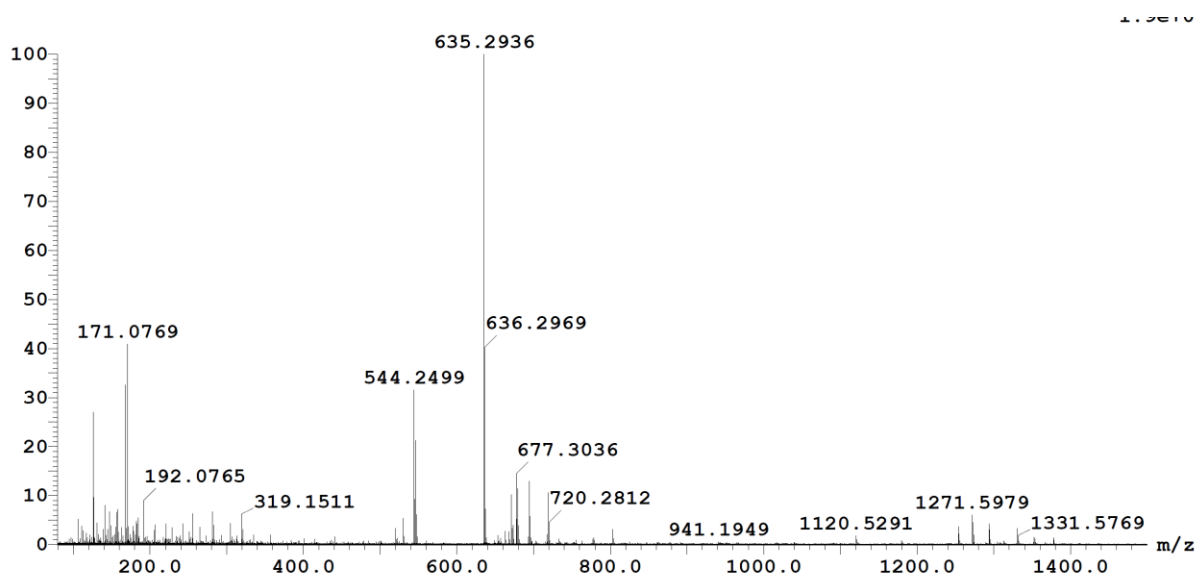
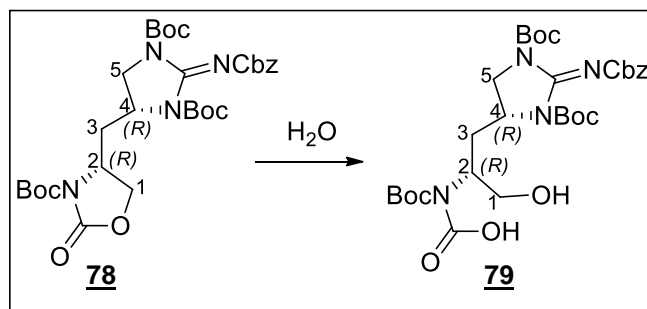


Figura 2.53. Espectro de RMN de ^1H do composto **78** (CDCl₃, 300 MHz).



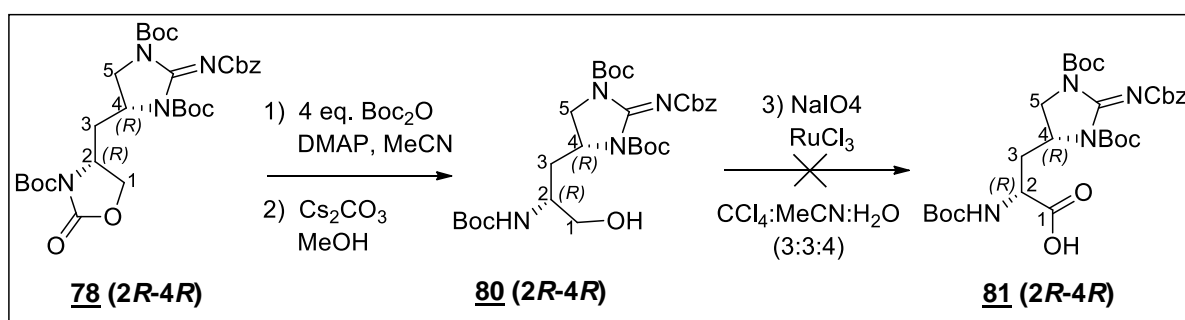
2.54. Espectro de massas do composto **79**.



Esquema 2.36. Reação de formação do intermediário **79**.

Em função da instabilidade do composto **78**, achou-se conveniente realizar o tratamento com carbonato de céσιο (Cs_2CO_3) o bruto reacional obtido após a reação de proteção com o grupo Boc (Esquema 2.37). A formação do composto **80** foi evidenciada somente pelo espectro de massas de alta resolução do bruto reacional (Figura 2.55), pois foi realizada, sem êxito, uma tentativa de purificação. Como esta última etapa também envolvia um produto instável, a tentativa de oxidação foi realizada com o bruto reacional, seguindo as condições utilizadas na síntese da tetraidrolaterina, pelo tratamento com NaIO_4 e RuCl_3 (Esquema 2.37).

Em função do término do tempo de estágio de doutorado no ICSN/CNRS-França, a etapa de oxidação foi realizada somente duas vezes, a partir do bruto reacional da reação de abertura da oxazolidinona **80** (partindo-se de aproximadamente 50 mg do composto **78**), mas em nenhuma das tentativas conseguiu-se isolar o produto de oxidação **81**.



Esquema 2.37. Tentativa de obtenção do aminoácido **81**.

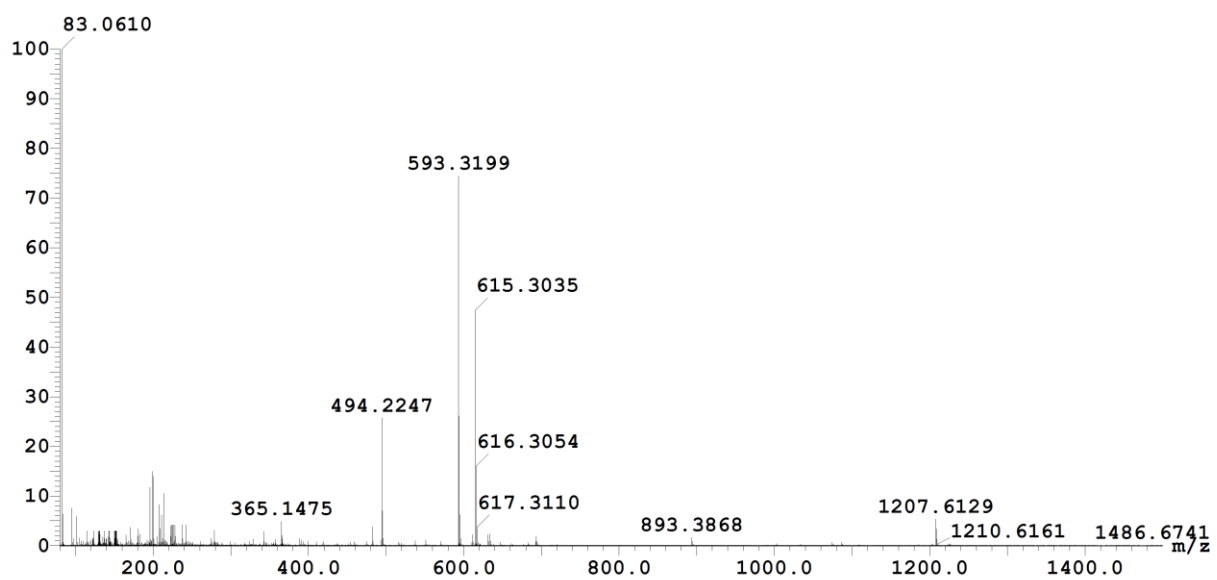
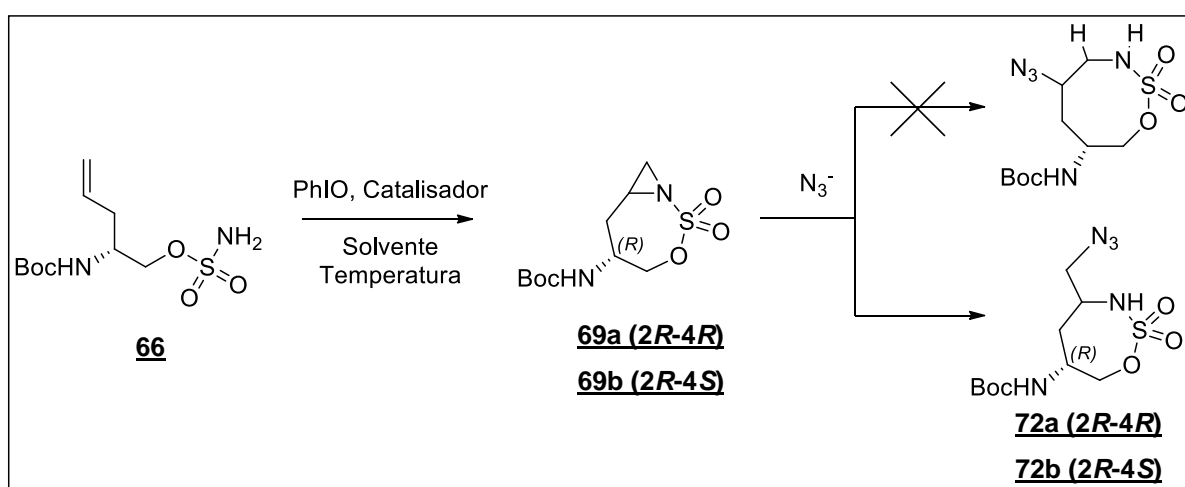


Figura 2.55. Espectro de massas do composto **80** (teórico: 593,3187; experimental: 593,3199).

2.4. Conclusões e perspectivas

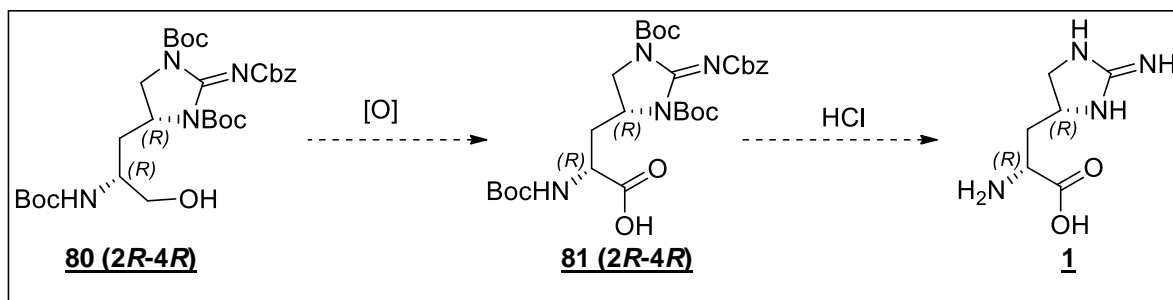
Neste capítulo foram apresentados os resultados de uma nova rota sintética para obtenção da alloenduracididina, utilizando-se como etapa chave a reação de aziridinação intramolecular via geração de nitrenos. Diversas condições foram testadas para essa reação e observou-se que o solvente desempenhava um papel importante na estereoseletividade, assim como o catalisador quiral de ródio ($\text{Rh}\{(R)\text{-nttl}\}_4$). Verificou-se também que a abertura das aziridinas ocorreram de forma regioseletiva e que a diferença de polaridade dos produtos formados possibilitou a separação dos mesmos por cromatografia (Esquema 2.38).



Esquema 2.38. Abertura regioseletiva das aziridinas.

Apesar dos resultados infrutíferos na etapa final de oxidação, para obtenção do composto **81**, acredita-se que a rota sintética utilizada neste trabalho é uma boa alternativa para a síntese total da alloenduracididina. Assim, a síntese de quantidades adicionais do intermediário **80 (2R-4R)** para realizar novos ensaios de oxidação com NaIO_4 e RuCl_3 ou com outras metodologias já descritas na literatura (JACKSON, 2002; MAMAI, 2001) para compostos similares faz-se necessária.

Como a alloenduracididina **81** estaria sob forma protegida pelos grupos Boc e CBz, a última etapa seria um tratamento em meio ácido para fornecer a alloenduracididina **1** na sua forma livre (Esquema 2.39).



Esquema 2.39. Etapas finais para a síntese da enduracidina.

A metodologia de aziridinação intramolecular descrita neste trabalho poderá ser utilizada, se aplicada em substratos adequados, para obtenção de outros produtos naturais, como a enduracidina **2** e seus análogos β -hidroxi-alloenduracidina **82** e β -hidroxi-enduracidina **83** que estão presentes nas estruturas das manopeptimicina (Figura 2.56).

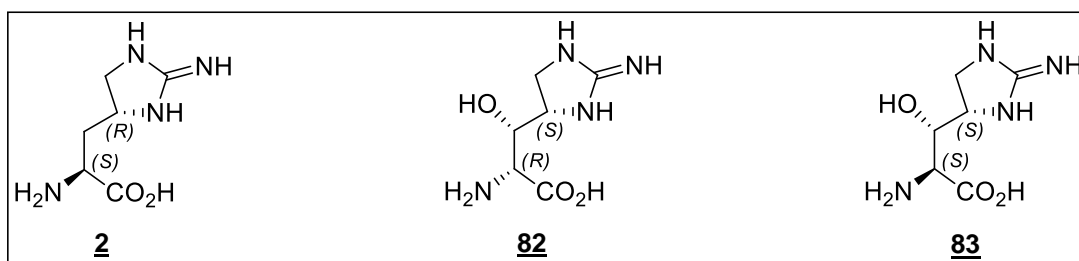


Figura 2 56. Estrutura dos análogos da alloenduracidina.

2.5. Parte experimental

2.5.1. Material e métodos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono 13 foram adquiridos através do aparelho BRUKER AC300 ou AC500 (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C). Os pontos de fusão apresentados nesta parte do trabalho foram medidos em aparelho digital Buchi B-540 com aparato capilar.

Os poderes rotatórios específicos $[\alpha]_D$ foram medidos em um polarímetro JASCO P-1010.

Os espectros no Infravermelho foram registrados em espectrofotômetro Fourier Perkin–Elmer 1600 FT-IR.

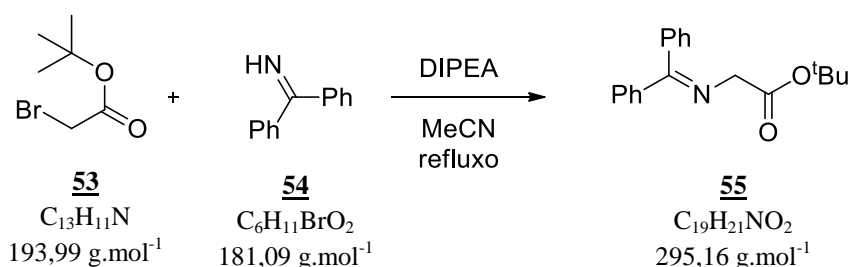
Os espectros de massa de alta resolução (ESI-HRMS) foram obtidos com um aparelho Kratos MS-80 spectrometer.

O acompanhamento das reações foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD), pelo uso de cromatofolhas de sílica gel 60F₂₅₄ suportada em placa de alumínio.

Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna usando sílica gel 60G 0,063-0,200mm (70-230 mesh ASTM). Como reveladores foram utilizados vapores de iodo, vaporização com solução etanólica de ácido sulfúrico à 20% v/v, solução etanólica de ninidrina a 15% p/v e lâmpada ultravioleta (UV).

2.5.2. Preparação dos compostos do capítulo 2

2.5.2.1. Obtenção do *N*-(difenilmetileno)glicinato de *tert*-butila **55**



Em um balão de fundo redondo acoplado a um condensador de refluxo e munido de agitação magnética adicionou-se, sob atmosfera de argônio, 1,5 mL de bromoacetato de *tert*-butila **53** (10 mmol) e 10 mL de MeCN. Em seguida, foram adicionados à solução 1,7 mL de benzofenona imina **54** (10 mmol) e 1,7 mL de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (10 mmol). O meio reacional foi aquecido sob refluxo por 40 h quando a CCD (Hept/AcOEt 8/2) mostrou o consumo do material de partida. A mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa de ácido acético (50 %, v/v) à temperatura ambiente e em seguida foi resfriada a 0 °C. O produto precipitado foi separado por filtração e lavado com etanol a frio, fornecendo 2,27 g de *N*-(difenilmetileno)glicinato de *tert*-butila **55** (77 %) como um sólido branco.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 4,12 (s, 2H, CH_2); 7,17 - 7,18 (m, 2H, CH_{ar}); 7,30 - 7,47 (m, 6H, CH_{ar}); 7,65 - 7,67 (m, 2H, CH_{ar}).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 56,5 (CH_2); 81,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 127,8; 128,2; 128,4; 128,7; 128,9; 130,2; 130,5; 132,5 (10 x CH_{ar}); 139,5; 169,9 ($\text{C}=\text{N}$); 171,6 ($\text{C}=\text{O}$).

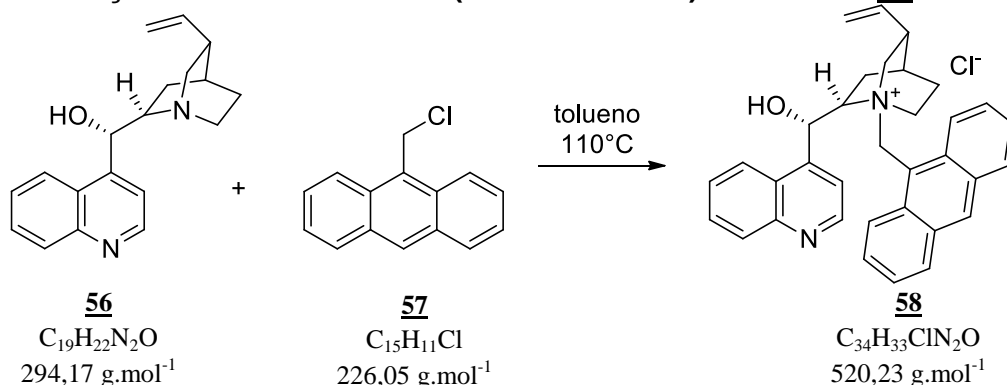
EM (ES^+ , m/z): encontrado: 296,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

calculado: 296,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

IV (v, filme): 2976, 1733, 1620, 1447, 1366, 1216, 1141, 847, 784, 692 cm^{-1} .

F.F.: 109 - 111 °C (Lit. (O'DONNELL, 1982): 113,5 °C).

2.5.2.2. Obtenção do cloreto de *N*-9-(antracênilmetil)cinchonina **58**



Em um balão de fundo redondo acoplado a um condensador de refluxo e munido de agitação magnética, adicionou-se 5,0 g de cinchonina **56** e 50 mL de tolueno, e em seguida 4,06 g de clorometil antraceno **57**. O meio reacional foi aquecido sob refluxo por 6 h quando a CCD (CH₂Cl₂/MeOH 9/1) mostrou o consumo do material de partida. A mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente e 100 mL de éter meti-*terc*-butílico (MTBE) foram adicionados. O precipitado formado foi separado por filtração e lavado com éter metil-*terc*-butílico fornecendo 6,28 g do composto **58** (71 %) como um sólido amarelo.

$[\alpha]_D^{20} = + 278$ (c = 1,00, CHCl₃) lit. (LYGO, 1999): + 240 (c = 1,00, CHCl₃).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 0,58 - 0,72 (m, 1H); 1,31 - 1,44 (m, 1H); 1,53 - 1,33 (m, 1H); 1,63 - 1,82 (m, 3H); 1,89 - 2,01 (m, 1H); 2,27 - 3,78 (m, 1H); 2,49 (t, J = 12 Hz, 1H); 4,18 - 4,30 (m, 1H); 4,38 - 4,49 (m, 1H); 4,67 - 4,77 (m, 1H); 4,88 (d, J = 17,1 Hz, 1H); 5,03 (d, 1H, J = 10,5 Hz); 5,59 (ddd, 1H, J = 17,1 10,5 6,6 Hz); 6,50 (d, J = 13,5 Hz, 1H); 6,90 - 7,34 (m, 8H); 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 7,55 (d, 1H, J = 7,5 Hz); 7,61 (d, 1H, J = 8,4 Hz); 7,87 (s, 1H); 8,06 (d, J = 4,5 Hz, 1H); 8,26 (d, J = 4,8 Hz, 1H); 8,43 (d, J = 8,7 Hz, 1H); 8,86 (d, J = 4,2 Hz, 1H); 8,95 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 9,25 (d, J = 9,3 Hz, 1H).

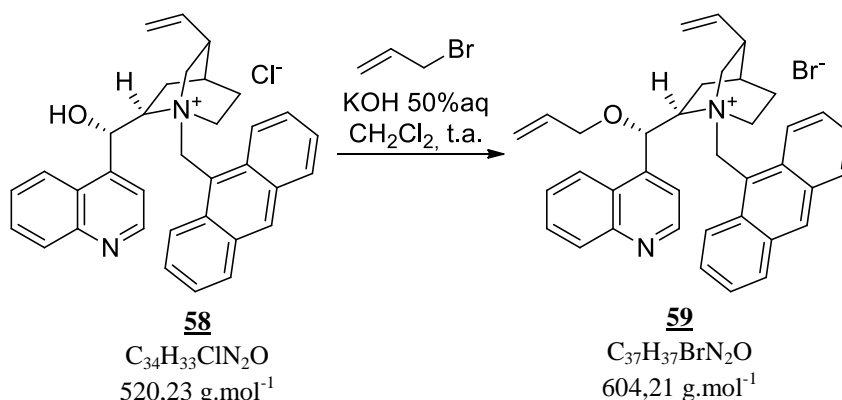
RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ (ppm): 22,7; 24,2; 26,4; 38,1; 54,0; 54,2; 57,6; 66,8; 67,7; 117,5; 118,2; 120,2; 124,2; 124,6; 125,0; 127,0; 127,3; 127,6; 128,2; 128,5; 129,0; 130,1; 130,4; 130,9; 132,8; 133,1; 135,6; 145,7; 146,9; 149,4.

EM (ES⁺, m/z): encontrado: 485,3 (M+H⁺); calculado: 485,3 (M+H⁺).

IV (v, filme): 3053, 2901, 1626, 1586, 1567, 1506, 1450, 1419, 1261, 1067 cm⁻¹.

P.F.: 180 °C (Lit. (LYGO, 1999): 166-167°C).

2.5.2.3. Obtenção do brometo de *O*-(9)-alil-*N*-9-antracenilmetilcinchonina **59**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se 500 mg (0,96 mmol) de cloreto de *N*-9-(antracenilmetil)cinchonina **58**, 4,4 mL de CH_2Cl_2 , 0,25 mL (2,9 mmol) de brometo de alila e 0,54 mL (5,0 mmol) de uma solução aquosa de KOH (50 %, v/v). A mistura reacional ficou sob agitação vigorosa à temperatura ambiente por 6 h. A reação foi diluída com água destilada (4,5 mL) e extraída com CH_2Cl_2 (5 x 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em CH_2Cl_2 e MTBE à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, fornecendo 507 mg (87 %) do composto **59** como um sólido amarelo.

$[\alpha]_D^{20} = +292$ ($c=1,00$, $CHCl_3$).

RMN de 1H (300MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 1,18 - 1,33 (m, 2H); 1,67 - 1,81 (m, 2H); 1,99 - 2,20 (m, 2H); 2,19 - 2,43 (m, 1H); 2,45 - 2,74 (m, 1H); 3,02 (t, $J = 11,4 \text{ Hz}$, 1H); 4,23 - 4,44 (m, 3H); 5,10 (d, 10,2 Hz, 1H); 5,22 (d, 17,4 Hz, 1H); 5,54 - 5,94 (m, 4H); 6,20 - 6,38 (m, 1H); 6,47 - 6,69 (m, 1H); 7,22 - 7,28 (m, 1H); 7,52 - 7,63 (m, 3H); 7,72 - 7,99 (m, 3H); 8,00 - 8,28 (m, 4H); 8,62 - 8,74 (m, 1H); 8,96 - 9,14 (m, 1H); 9,80 - 9,98 (m, 1H).

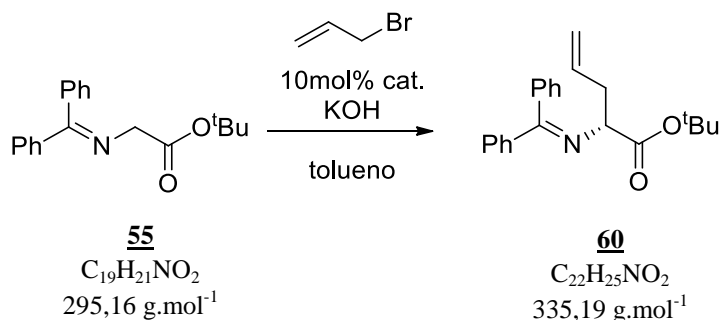
RMN de ^{13}C (75MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 22,8; 23,0; 24,0; 26,4; 31,9; 38,0; 44,9; 54,7; 55,2; 57,1; 57,1; 59,2; 70,2; 70,3; 77,4; 117,8; 118,3; 123,5; 124,6; 125,1; 126,1; 127,2; 127,7; 127,9; 128,9; 127,7; 128,9; 128,9; 129,1; 130,3; 131,1; 131,7; 132,5; 132,7; 133,6; 134,1; 135,4; 135,7; 148,7; 148,8.

EM (ES^+ , m/z): encontrado: 525,3 ($M+H^+$); calculado: 525,3 ($M+H^+$).

IV (v, filme): 3050, 2951, 1623, 1587, 1567, 1508, 1448, 1259, 1057, 990 cm^{-1} .

F.F.: 141 - 142 $^\circ\text{C}$ (Lit. (O'DONNELL, 1999): 142 - 144 $^\circ\text{C}$).

2.5.2.4. Obtenção do (2R)-2[(difenilmetilene)amino]pent-4-enoato de *tec*-butila



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se o éster **55** (300 mg, 1,02 mmol), o catalisador **59** (64 mg, 0,106 mmol), solução aquosa de hidróxido de potássio 50% (2 mL), brometo de alila (110 μL , 1,27 mmol) em 10 mL de tolueno. A mistura reacional ficou sob agitação vigorosa à temperatura ambiente por 24 h. A suspensão foi diluída com acetato de etila (30 mL) e lavada com água (4 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida fornecendo 316 mg (93 %) de **60** sob a forma de um óleo amarelo.

$[\alpha]_D^{20} = +85$ (c=0,95, CHCl_3) lit. (MORELLE, 2010) (*R*) : + 72 (c = 1,92, CHCl_3);
 (lit.(COREY, 1997) (*S*) : - 95 (c = 1,90, CH_2Cl_2)).

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,44 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 2,60 - 2,67 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$); 4,00 (dd, $J = 7,2, 5,4$ Hz, 1H, **CH**); 4,99 - 5,10 (m, 2H, $=\text{CH}_2$); 5,72 (ddt, $J_{4-5\text{trans}} = 17,2$ Hz, $J_{4-5\text{cis}} = 10,2$ Hz, $J_{4-3} = 7,1$ Hz, 1H, $=\text{CH}$); 7,16 - 7,82 (m, 10H, CH_{ar}).

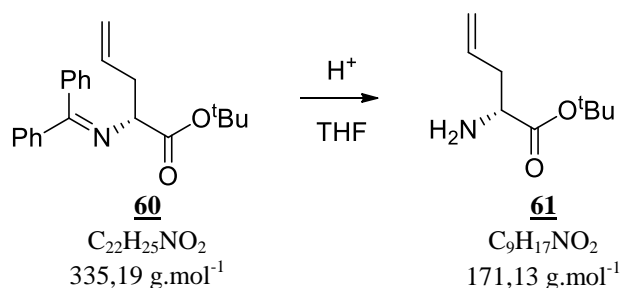
RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 38,3 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 66,0 (**CH**); 81,1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 117,4 ($=\text{CH}_2$); 128,1; 128,4; 128,5; 128,6; 128,9 (10 CH_{ar}); 134,9 ($=\text{CH}$); 138,9 (2x C_{ar}); 170,2 ($\text{C}=\text{N}$); 171,0 ($\text{C}=\text{O}$).

EM (ES^+ , m/z): encontrado: 358,2 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

calculado: 358,2 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

IV (v, filme): 3063, 2978, 2931, 1732, 1150, 696 cm^{-1}

2.5.2.5. Obtenção do (2R)-2-aminopent-4-enoato de *tec*-butila **61**



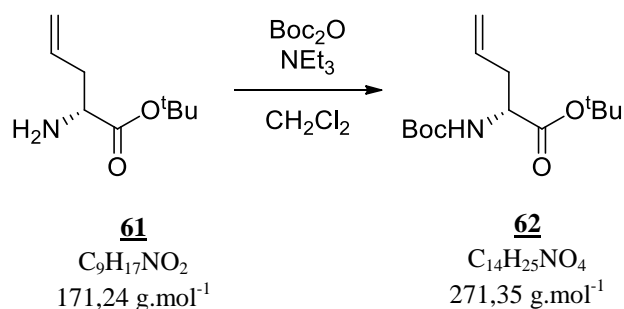
Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se o ester **60** (1,18 g, 3,50 mmol) em 35 mL de THF. Em seguida, 10,5 mL de uma solução de ácido cítrico 15 % foi adicionada. A mistura reacional ficou sob agitação vigorosa à temperatura ambiente por 4,5 h. A suspensão foi diluída com água (30 mL) e extraída com MTBE (2 x 30 mL). O pH da fase orgânica foi ajustado para 8 com uma solução saturada de KHCO_3 e extraída com MTBE (5 x 50 mL). Após a extração, a fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl e seca com sulfato de sódio anidro. A mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida fornecendo 580 mg (96 %) da amina **61**, sob a forma de um óleo amarelo muito volátil.

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,45 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1,51 (m, 2H, NH_2); 2,30 - 2,50 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$); 3,40 (dd, $J = 6,9$ 5,4 Hz, 1H, CH); 5,10 - 5,16 (m, 2H, $=\text{CH}_2$); 5,74 (ddt, $J_{4-5\text{trans}} = 16,7$ Hz, $J_{4-5\text{cis}} = 10,4$ Hz, $J_{4-3} = 7,2$ Hz, 1H, $=\text{CH}$).

RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 39,3 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 54,2 (CH); 81,0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 118,3 ($=\text{CH}_2$); 133,5 ($=\text{CH}$); 174,5 ($\text{C}=\text{O}$).

IV (v, filme): 3369, 3079, 2977, 2933, 1729, 1641, 1368, 1277, 1251, 1154, 994, 918, 767 cm^{-1} .

2.5.2.6. Obtenção do (2R)-2[(*tert*-butoxicarbonil)amino]pent-4-enoato de *tert*-butila **62**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se sob atmosfera de argônio a amina **61** (210 mg, 1,23 mmol) e trietilamina (NEt₃) (0,26 mL, 1,84 mmol) em 7,0 mL de CH₂Cl₂. Em seguida, adicionou-se o dicarbonato de *tert*-butila (Boc₂O) (324 mg, 1,48 mmol). O meio reacional resultante ficou sob agitação à temperatura ambiente por 15 h. A mistura foi diluída com água (20 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 40 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH₂Cl₂) fornecendo o composto **62** (84 %) sob a forma de um óleo claro.

$[\alpha]_D^{20} = -12,4$ (c=0,67, CHCl₃).

RMN de ¹H (300MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,44 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,46 (s, 9H, C(CH₃)₃); 2,42 -2,55 (m, 2H, CH₂-CH); 4,24 - 4,26 (m, 1H, CH); 5,02 - 5,03 (bs, 1H, NH); 5,10 - 5,14 (m, 2H, =CH₂); 5,70 (ddt, $J_{4-5trans} = 17,6$ Hz, $J_{4-5cis} = 9,5$ Hz, $J_{4-3} = 7,0$ Hz, 1H, =CH).

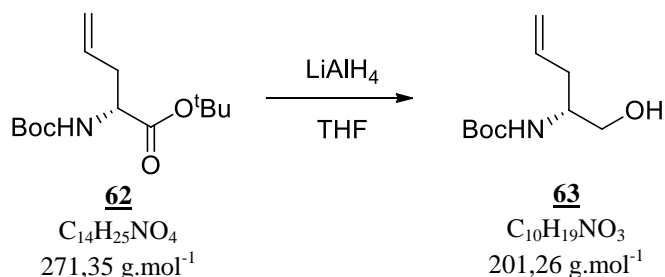
RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,2 (C(CH₃)₃); 28,5 (C(CH₃)₃); 37,2 (CH₂-CH); 53,5 (CH); 79,8 (C(CH₃)₃); 82,0 (C(CH₃)₃); 118,9 (=CH₂); 132,7 (=CH); 155,3 (NH-CO₂); 171,2 (C=O).

EMAR (ES⁺, m/z): encontrado: 294,1682 (M+Na⁺).

calculado : 294,1682 (M+Na⁺).

IV (v, filme): 3363, 2979, 2933, 1713, 1496, 1366, 1249, 1149, 1022, 918 cm⁻¹.

2.5.2.7. Obtenção do (2R)-2(terc-butoxicarbonil)aminopent-4-en-1-ol **63**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se sob atmosfera de argônio o composto **62** (186 mg, 0,69 mmol) em 8,5 mL de THF. A solução foi resfriada a 0 °C e o hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄) (53 mg, 1,38 mmol) foi adicionado lentamente. O meio reacional resultante foi elevado à temperatura ambiente e mantido, sob agitação, por 2 h. O excesso de LiAlH₄ foi destruído com acetato de etila e depois com sulfato de sódio umedecido em água. A mistura foi filtrada em uma coluna de celite e lavada com acetato de etila. O filtrado foi seco com sulfato de sódio e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH₂Cl₂/MeOH 99/1) fornecendo o composto **63** (84 %) sob a forma de um óleo.

$[\alpha]_D^{20} = -7,1$ (c=1,00, CHCl₃) lit. (KIM, 1998) : - 5,2 (c = 1,0 CHCl₃).

RMN de ¹H (300MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,44 (s, 9H, C(CH₃)₃); 2,19 - 2,36 (m, 3H, CH₂-CH and OH); 3,57 - 3,70 (m, 3H, CH - CH₂ and CH₂OH); 4,69 (bs, 1H, NH); 5,10 - 5,15 (m, 2H, CH₂=); 5,78 (ddt, $J_{4-5trans} = 17,0$ Hz, $J_{4-5cis} = 10,3$ Hz, $J_{4-3} = 7,1$ Hz, 1H, =CH).

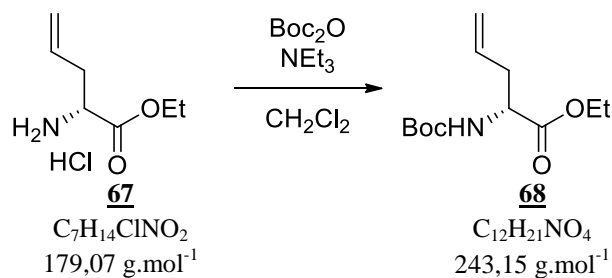
RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,5 (C(CH₃)₃); 36,1 (CH₂-CH); 52,4 (CH); 65,6 (CH₂-OH) 79,9 (C(CH₃)₃); 118,3 (CH₂=); 133,3 (CH=); 156,6 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 200,1287 (M-H⁻).

calculado: 200,1278 (M-H⁻).

IV (v, filme): 3361, 2979, 2933, 1687, 1542, 1392, 1367, 1251, 1171, 1057, 993, 916 cm⁻¹.

2.5.2.8. Obtenção do (2R)-2[(*tec*-butoxicarbonil)amino]pent-4-enoato de etila **68**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se sob atmosfera de argônio o cloridrato da amina **67** (2,0 g, 11,22 mmol) e trietilamina (3,90 mL, 28 mmol) em 60,0 mL de CH_2Cl_2 . Em seguida, adicionou-se o dicarbonato de *terc*-butila (2,93 g, 13,43 mmol). O meio reacional resultante ficou sob agitação à temperatura ambiente por 16 h. A mistura foi diluída com água (20 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 70 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH_2Cl_2) fornecendo o composto **68** (88 %) sob a forma de um óleo.

$[\alpha]_D^{20}$: -15,2 ($c=1,03$, CHCl_3).

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,27 (t, $J = 7,1$, 3H, CH_3); 1,44 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 2,42-2,60 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$); 4,14-4,25 (m, 2H, CH_2CH_3); 4,31-4,38 (m, 1H, CH-N); 5,05 (m, 1H, NH); 5,09 - 5,16 (m, 2H, $=\text{CH}_2$); 5,71 (ddt, $J_{4-5\text{trans}} = 17,5 \text{ Hz}$, $J_{4-5\text{cis}} = 9,6 \text{ Hz}$, $J_{4-3} = 7,2 \text{ Hz}$, 1H, $=\text{CH}$).

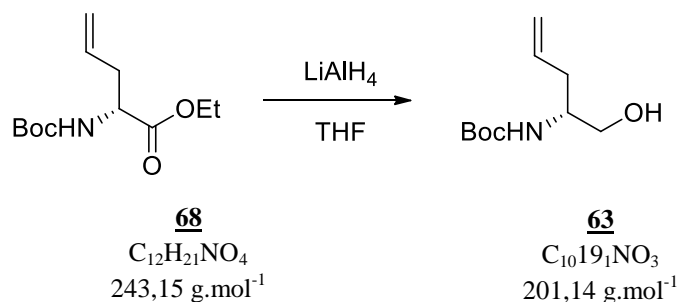
RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 14,4 (CH_3); 28,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 37,0 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 53,1 (CH); 61,5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$); 79,9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 119,2 ($=\text{CH}_2$); 132,5 ($=\text{CH}$); 155,3 (NH-C=O); 172,2 (C=O).

EMAR (ES^+ , m/z): encontrado: 266,1360 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

calculado : 266,1369 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

IV (v, filme): 3363, 2980, 1716, 1501, 1368, 1161, 1050, 1026 cm^{-1} .

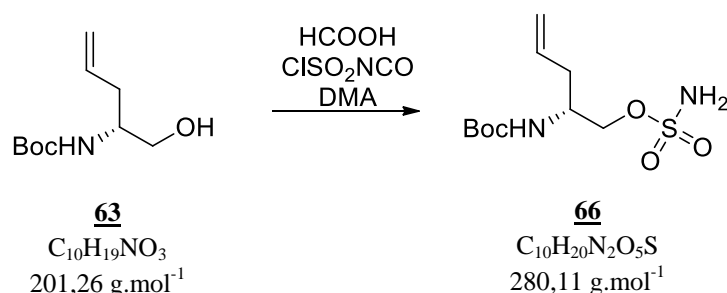
2.5.2.9. Obtenção do (2*R*)-2(*tert*-butoxicarbonil)aminopent-4-en-1-ol



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se sob atmosfera de argônio o composto **68** (2,51g, 10,33 mmol) em 110 mL de THF. A solução foi resfriada a 0 °C e o hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄) (509,6 mg, 13,43 mmol) foi adicionado lentamente. O meio reacional resultante foi elevado à temperatura ambiente e mantido, sob agitação, por 2 h. O excesso de LiAlH₄ foi destruído com acetato de etila e depois com sulfato de sódio umedecido em água. A mistura foi filtrada em uma coluna de celite e lavada com acetato de etila. O filtrado foi seco com sulfato de sódio e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH₂Cl₂/MeOH 99/1) fornecendo o composto **63** (86 %) sob a forma de um óleo.

$[\alpha]_D^{20}$: -6,3 (c=1,00, CHCl₃) lit. (KIM, 1998) : - 5,2 (c = 1,0 CHCl₃).

2.5.2.10. Obtenção do sulfamato do (2R)-2(terc-butoxicarbonil)aminopent-4-eno



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se lentamente, sob atmosfera de argônio a 0 °C, o ácido fórmico (0,42 mL, 11,0 mmol) no isocianato de clorosulfonila (0,96 mL, 11,0 mmol) à 0 °C. O meio reacional ficou sob agitação à temperatura ambiente por 18 h, formando-se um sólido branco que foi solubilizado em dimetilacetamida (DMA) (11 mL). A solução foi resfriada à 0 °C e adicionou-se, lentamente, uma solução do álcool **63** em 7 mL de DMA. O meio reacional resultante foi elevado à temperatura ambiente e mantido sob agitação por 2 h. A mistura foi diluída com água (10 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1) fornecendo o composto **66** (84 %) sob a forma de um sólido.

$[\alpha]_D^{20} = + 9,1$ ($c=0,84$, CHCl_3) lit. (MORELLE, 2010): $+ 5,2$ ($c = 0,85 \text{ CHCl}_3$).

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,44 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 2,24-2,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 3,95 (1H, m, NH-CH); 4,11 - 4,27 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-O}$); 4,73 (m, 1H, NH); 5,13-5,23 (m, 4H, $\text{CH}_2=$ and NH_2) 5,69-5,82 (m, 1H, CH=)

RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 35,7 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 49,2 (NH-CH) 71,7 ($\text{CH}_2\text{-O}$) 80,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 119,2 ($\text{CH}_2=$); 133,3 (CH=); 155,8 (C=O)

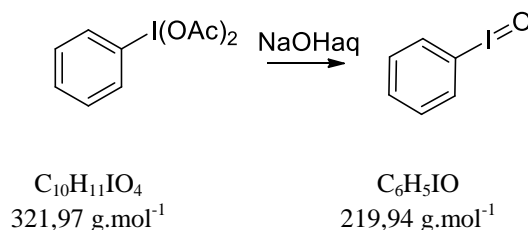
EMAR (ES^- , m/z): encontrado: 279,1016 (M-H)

calculado: 279,1015 (M-H)

IV (v, filme): 3367, 3085, 2974, 2931, 1686, 1514, 1366, 1167, 921, 819 cm^{-1}

P.F.: 68,5 °C

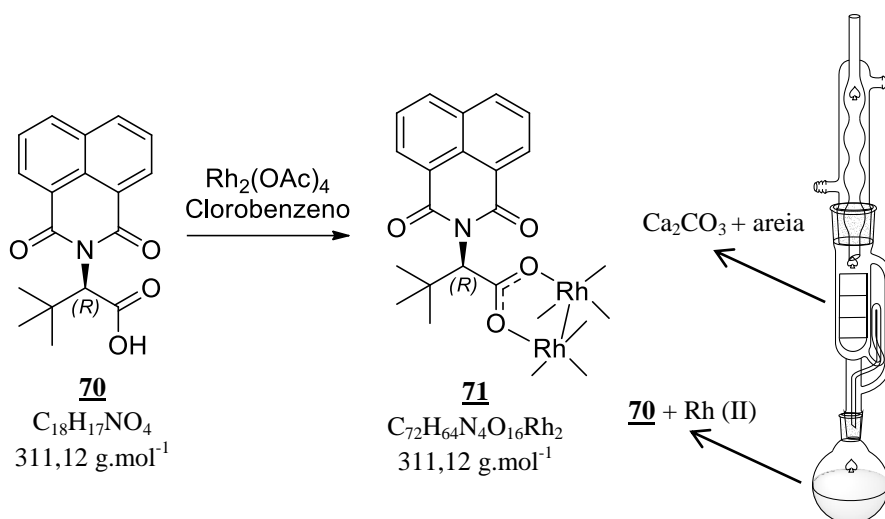
2.5.2.11. Obtenção do Iodosilbenzeno



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se lentamente uma solução de hidróxido de sódio 3 M (56 mL) sobre o iodosilbenzeno diacetato (10 g, 31 mmol). A solução amarela ficou, sob agitação vigorosa, por 2,5 h. A mistura foi diluída com água (56 mL) e mantida por mais 1 h sob agitação. O precipitado foi separado por filtração e lavado com água e CH_2Cl_2 , em seguida ficou sob pressão reduzida por 36 h. O iodosilbenzeno (5,6 g, 82 %) foi obtido como um sólido amarelo (o produto formado é sensível e explosivo e deve ser armazenado sob atmosfera de argônio à baixa temperatura).

P.F.: 218 °C (Lit. (DAUBAN, 2001): 210 °C)

2.5.2.12. Obtenção do tetrakis[*N*-1,8-Naftoil-(*R*)-*terc*-leucinato de ródio (II).
[Rh₂{*R*}-nttl]₄ **71**



Em um balão de fundo redondo acoplado a um extrator de soxhler contendo uma mistura de carbonato de sódio e areia, adicionou-se, sob atmosfera de argônio, o ácido carboxílico **70** (502 mg, 1.6 mmol) e o tetraacetato de ródio (II) (91 mg, 0,2 mmol) em 110 mL de clorobenzeno. O meio reacional foi mantido sob refluxo por 6 dias. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de óxido de alumínio ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8/2) fornecendo o complexo **71** (61 %) sob a forma de um sólido verde.

$[\alpha]_D^{20} = -56$ (c=0,12, CHCl_3) lit. (MULLER, 2003) $[\text{Rh}_2\{(\text{S})\text{-nttl}\}_4]$: +71 (c = 0,10, CHCl_3).

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,28 (s, 36H); 5,82 (s, 4H); 7,49 (m, 4H); 7,82 (m, 4H); 8,00 (m, 8H); 8,39 (m, 4H); 8,75 (m, 4H).

RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,9; 36,4; 62,1; 122,8; 122,9; 126,5; 127,6; 128,0; 131,0; 131,3; 132,4; 133,4; 133,6; 163,2; 164,9; 187,6.

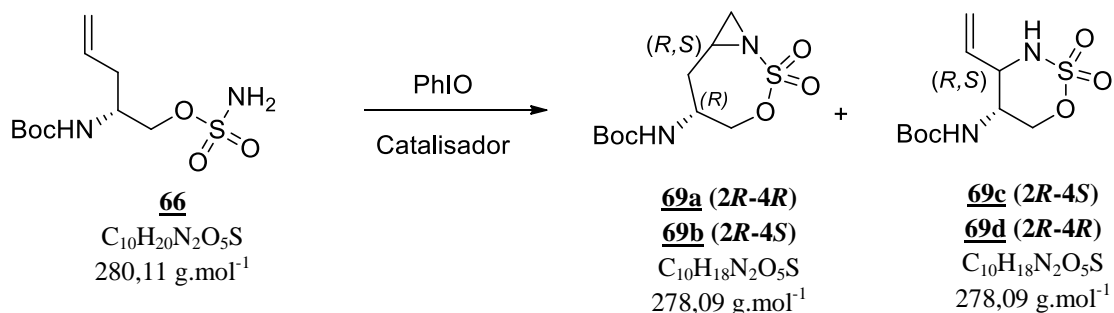
EMAR (ES^- , m/z): encontrado: 1481,2116 (M+Cl⁻).

calculado: 1481,2121 (M+Cl⁻).

IV (v, filme): 2966, 2923, 2845, 1705, 1664, 1606, 1588, 1397, 1375, 1339, 1053, 777 cm^{-1} .

P.F.: 172 °C (ponto de decomposição).

2.5.2.13. Procedimento geral de aziridinação



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se, sob atmosfera de argônio, peneira molecular 3 Å (300 mg) e o catalisador (2,5 – 5,0 mol %). A solução foi resfriada e adicionou-se o sulfamato **66** (50 mg, 0,18 mmol) dissolvido no solvente (2 mL). Após 10 minutos sob agitação, o iodossilbenzeno (72 mg, 0,32 mmol) foi adicionado. A mistura foi filtrada em uma coluna de celite e lavada com acetato de etila. O filtrado foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (heptano/acetato de etila 8/2).

Composto **69a (2R,4R)**:

$[\alpha]_D^{20} = +9,0$ (c=1,02 CHCl₃) Lit. (MORELLE, 2010): + 5,65 (c = 0,54, CHCl₃).

RMN de ¹H (300MHz, CD₃CN): 1,41 (s, 9H, C(CH₃)₃); 2,24 - 2,35 (m, 1H, C(H)H-CH); 2,45 - 2,50 (m, 1H, C(H)H-CH); 2,66 (d, 1H, J₅₋₄ = 5,7Hz, C(H)H-N); 2,73 (d, 1H, C(H)H-N); 2,76 - 2,85 (m, 1H, CH-CH₂); 3,96 - 4,04 (m, 1H, CH-NHBoc); 4,11 (dd, 1H, J_{1-1'} = 11Hz, J₁₋₂ = 8,4Hz, C(H)H-O); 4,26 (dd, 1H, J = 11Hz, J = 3,7Hz, J = 1,5Hz, C(H)H-O); 5,50 (bs, 1H, NH).

RMN de ¹³C (75MHz, CD₃CN): δ (ppm): 28,5 (C(CH₃)₃); 33,7 (CH₂-CH); 38,5 (CH₂-N); 39,5 (CH-CH₂); 49,5 (CH-NHBoc); 73,6 (CH₂-O); 80,2 (C(CH₃)₃); 156,1 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 277,0852 (M-H).

calculado: 277,0858 (M-H).

IV (v, filme): 3374, 2967, 2933, 1685, 1516, 1354, 1245, 1160, 988, 802, 675 cm⁻¹.

Composto 69b (2R,4S):

$[\alpha]_D^{20} = +2,4$ (c=0,91 CHCl₃) .

RMN de ¹H (300MHz, CD₃CN): 1,41 (s, 9H, C(CH₃)₃); 2,37 (dd, 1H, $J_{3-3'} = 15,7$ Hz, $J_{3-4} = 5,7$ Hz, C(H)H-CH); 2,34 - 2,54 (m, 1H, C(H)H-CH); 2,56 (d, 1H, $J_{5-4} = 5,9$ Hz, C(H)H-N); 2,77 (d, 1H, C(H)H-N); 2,82-2,89 (m, 1H, CH-NH); 3,86 - 3,96 (m, 1H, CH-NHBoc); 4,00 (t, 1H, $J_{1-1'} = 11$ Hz, C(H)H-O); 4,20 (dd, 1H, $J_{1'-1} = 11$ Hz, $J_{1'-2} = 3,3$ Hz, C(H)H-O); 5,53 (bs, 1H, NH).

RMN de ¹³C (75MHz, CD₃CN): δ (ppm): 28,5 (C(CH₃)₃); 32,5 (CH₂-CH); 34,8 (CH₂-N); 39,0 (CH-CH₂); 48,3 (CH-NHBoc); 73,5 (CH₂-O); 80,3 (C(CH₃)₃); 157,1 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 277,0859 (M-H).

calculado: 277,0858 (M-H).

IV (v, filme): 3375, 2982, 1687, 1520, 1366, 1308, 1178, 991, 784, 670 cm⁻¹.

Composto 69c (2R,4S):

$[\alpha]_D^{20} = +3,9$ (c = 0,51, CHCl₃) Lit. (MOELLE, 2010):+ 2,6 (c = 0,48, CHCl₃).

RMN de ¹H (500 MHz, CD₃CN): 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃); 3,83 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, CH-NHBoc); 4,46 (d, $J = 11,4, 3,8$, 1H, C(H)H-O); 4,50 (m, 1H, CH-N); 4,76 (dd, $J = 12,0, 2,2$ Hz, 1H, C(H)H-O); 5,28 (m, 2H,=CH₂); 5,44 (d, $J = 11,4$ Hz, NH); 5,67 (bs, 1H, CH-NHBoc); 5,76-5,82 (m, 1H, =CH).

RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃CN): δ (ppm): 28,5 (C(CH₃)₃); 46,3 (CH₂-CH); 60,9 (CH₂-N); 77,3 (CH₂-O); 80,2 (C(CH₃)); 117,8 (=CH₂); 133,7 (=CH); 164,9 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 277,0847 (M-H).

calculado: 277,0858 (M-H).

IV (v, filme): 3264, 2980, 1666, 1546, 1427, 1370, 1284, 1193, 1164, 894, 766 cm⁻¹.

Composto 69d (2*R*,4*R*):

$[\alpha]_D^{20} = +6,9$ (c = 0,51, CHCl₃)

RMN de ¹H (500 MHz, CD₃CN): 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃); 3,73 - 3,80 (m, 1H, CH-NHBoc); 4,08 - 4,13 (m, 1H, CH-N); 4,34 - 4,40 (m, 2H, CH₂-O); 5,26 - 5,38 (m, 3H, =CH₂, NH); 5,66 (d, 1H, CH-NHBoc); 5,76-5,82 (m, 1H, =CH).

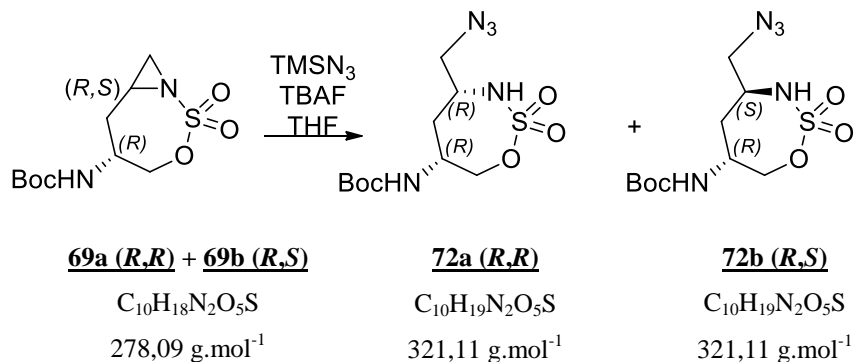
RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃CN): δ (ppm): 28,5 (C(CH₃)₃); 47,9 (CH₂-CH); 61,5 (CH₂-N); 72,7 (CH₂-O); 77,4 (C(CH₃)); 120,2 (=CH₂); 133,7 (=CH); 154,5 (C=O).

HRMS (ES⁻, m/z): encontrado: 277,0847 (M-H).

calculado: 277,0853 (M-H).

IV (v, filme): 3267, 2926, 1686, 1524, 1438, 1368, 1251, 1191, 1164, 815, 785 cm⁻¹.

2.5.2.14. Obtenção do (2*R*,4*R*)-(4-(azidometil)-2',2'-dioxido-1',2',3'-oxatiazepan-2-il)-carbamato de *tert*-butila **72a e do (2*R*,4*S*)-(4-(azidometil)-2',2'-dioxido-1',2',3'-oxatiazepan-2-il)-carbamato de *tert*-butila **72b****



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se, sob atmosfera de argônio, a mistura dos compostos **69a** e **69b** (100 mg, 2,04 mmol) em THF (10 mL). A solução foi resfriada a 0 °C e foram adicionados sucessivamente azida de trimetilsilila (84 µL, 0,65 mmol) e fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF) (1 M em THF) (45 µL, 0,042 mmol). O meio reacional resultante foi elevado à temperatura ambiente e mantido sob agitação por 16 h. A mistura foi diluída com água (20 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (éter de petróleo/acetato de etila 8/2) fornecendo o composto **72a (R,R)** (71 mg, 64 %) como um óleo e o **72b (R,S)** (41 mg, 35 %) como um sólido branco.

Composto 72a (R,R): (71 mg, 64%).

$[\alpha]_D^{20} = + 9,9$ (c=1,02 , MeOH).

RMN de ^1H (500MHz, CD_3CN): δ (ppm): 1,41 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1,69 - 1,77 (m, 1H, $\text{CH}(\text{H})\text{-CH-N}$); 1,97 - 2,01 (m, 1H, $\text{CH}(\text{H})\text{-CH-N}$); 3,31 - 3,40 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}_3$); 3,88 (bs, 1H, CH-NH-Boc); 4,09 - 4,17 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-OSO}_2$); 5,44 (bs, 1H, NH-Boc); 6,18 (d, 1H, $J=6,0\text{Hz}$, NH).

RMN de ^{13}C (125MHz, CD_3CN): δ (ppm): 28,5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 37,9 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 49,6 (CH-NH); 52,9 (CH-NH-SO_2); 55,5 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$); 71,4 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 80,6 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 118,3 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 320,1040 (M-H).

calculado: 320,1029 (M-H).

IV (v, filme): 3340, 2933, 2978, 2104, 1684, 1514, 1365, 1161, 979, 782 cm⁻¹

Composto 72b (R,S): (41 mg, 34 %)

$[\alpha]_D^{20} = + 8,9$ (c=1,30 , MeOH).

RMN de ¹H (300MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,45 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,95-2,13 (m, 2H, CH₂-CH-N); 3,45-3,47 (m, 2H, CH₂-N₃); 3,60 (m, 1H, CH-NH-SO₂); 4,15-4,27 (m, 1H, CH-NH-Boc, CH(H)-OSO₂); 4,41 - 5,44 (m, 1H, CH(H)-OSO₂); 5,53 (m, 1H, NH-Boc); 5,77 (m, 1H, NH)

RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,4 (C(CH₃)₃); 37,6 (CH₂-CH); 47,4 (NH-CH) 49,2 (CH-NH-SO₂); 55,3 (CH₂-N₃) 71,8 (CH₂-O); 80,6 (C(CH₃)₃); 155,2 (C=O).

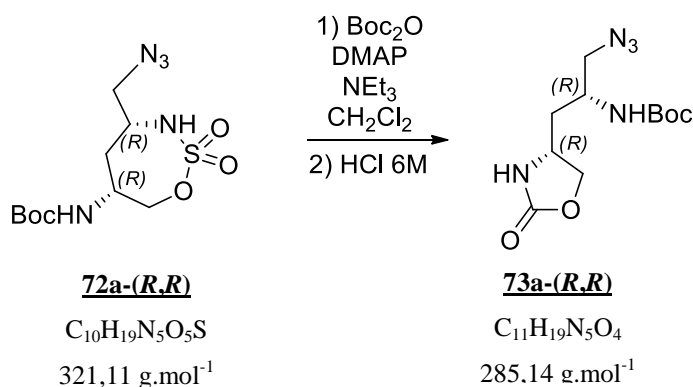
EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 320,1026 (M-H).

calculado: 320,1029 (M-H).

IV (v, filme): 3291, 2979, 2930, 2102, 1677, 1513, 1349, 1248, 1166, 1089, 1012, 910 cm⁻¹

F.F.: 74,2 - 75,0 °C.

2.5.2.15. Obtenção do (2*R*,4*R*) 5-azido-4-[*tert*-butoxicarbonilamino]propil)-2-oxazolidinona **73a**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se sob atmosfera de argônio o composto **72a** (210 mg, 0,65 mmol) em CH₂Cl₂ (10 mL). A solução foi resfriada a 0 °C e foram adicionados sucessivamente DMAP (9,9 mg, 0,081 mmol), tretilamina (0,1 mL, 15,9 μmol) e Boc₂O (194,2 mg, 0,889 mmol). O meio reacional foi mantido sob agitação à temperatura ambiente e após todo o consumo do material de partida (2 h) o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi solubilizado em uma solução aquosa de HCl 6 M (5 mL) e mantido por 4 h à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH₂Cl₂/MeOH 98/2) fornecendo o composto **73a (R,R)** (172 mg, 87 %) como um óleo.

$$[\alpha]_D^{20} = +3,9 \text{ (c=0,51, CHCl}_3\text{)}.$$

RMN de ¹H (300MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,44 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,55-1,74 (m, 2H, CH₂-CH-N); 3,46 (dd, 1H, *J*₅₋₅=12Hz, *J*₅₋₄=4Hz, C(H)H-N₃); 3,57 (dd, 1H, C(H)H-N₃); 3,80 (sl, 1H, CH-NH); 3,94 (sl, 1H, CH-NH-Boc); 3,99 (dd, 1H, *J*₁₋₁=8,4Hz, *J*₁₋₂=5,8Hz, C(H)H-O); 4,51 (t, 1H, C(H)H-O); 4,74 (d, 1H, *J*=9Hz, NHBoc); 6,04 (bs, 1H, NH).

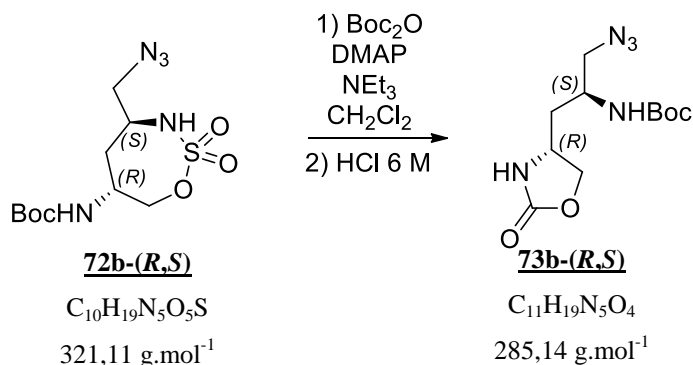
RMN de ¹³C (75MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,4 (C(CH₃)₃); 39,5 (CH₂-CH); 46,9 (CH-NH-Boc) 49,6 (CH-NH); 55,5 (CH₂-N₃); 70,0 (CH₂-O); 80,9 (C(CH₃)₃); 156,2 (C=O (Boc)); 158,9 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 284,1358 (M-H).

calculado: 284,1359 (M-H).

IV (v, filme): 3315, 2978, 2927, 2101, 1746, 1689, 1522, 1367, 1245, 1167 cm⁻¹.

2.5.2.16. Obtenção do (2*R*,4*S*) 5-azido-4-[*tert*-butoxycarbonylamino]propil)-2-oxazolidinona **73b**



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se, sob atmosfera de argônio, o composto **72b** (80 mg, 0,25 mmol) em CH_2Cl_2 (7 mL). A solução foi resfriada a 0 °C e foram adicionados sucessivamente DMAP (3,7 mg, 0,03 mmol), tretilamina (39 μL , 6,2 μmol) e Boc_2O (77 mg, 0,35 mmol). O meio reacional foi mantido sob agitação à temperatura ambiente e após o consumo total do material de partida (2 h) o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi solubilizado em água (5 mL) e mantido por 4 h sob agitação à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de sílica flash ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2) fornecendo o composto **73b (R,S)** (46 mg, 64 %) como um óleo.

$$[\alpha]_D^{20} = -5,7 \text{ (c=0,96, CHCl}_3\text{)}.$$

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,45 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1,70-1,85 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH-N}$); 3,44 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}_3$); 3,80 (m, 1H, CH-NH-Boc); 3,90-3,99 (m, 1H, CH-NH) 4,05 (dd, 1H, $J= 6,0 \text{ } 8,7$, CH(H)-O); 4,53 (1H, t, $J= 8,4$, CH(H)-O); 6,10 (m, 1H, NH)

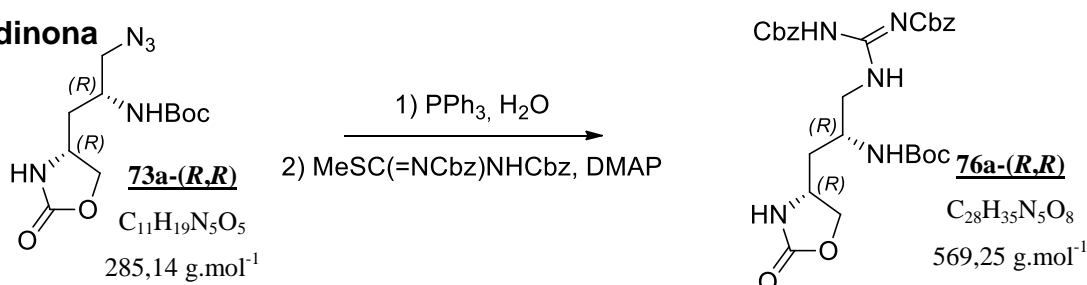
RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 38,7 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 47,9 (CH-NH-Boc) 50,6 (CH-NH); 55,3 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$); 70,3 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 80,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 155,6 (C=O (Boc)); 159,7 (C=O).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 308,1342 (M-H).

calculado: 308,1335 (M-H).

IV (v, filme): 3327, 2979, 2930, 2101, 1747, 1690, 1521, 1367, 1248, 1167, 1052, 939 cm^{-1} .

2.5.2.17. Obtenção do (2*R*,4*R*) 5-([benziloxicarbonilamino]benziloxicarbonilimino]metilamino)-4-[*tert*-butoxicarbonilamino]propil)-2-oxazolidinona



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se o composto **73a** (170 mg, 0,596 mmol), trifetilfosfina (204 mg, 0,775 mmol) e água (0,67 mL, 37 mmol) em THF (18 mL). A mistura reacional foi aquecida sob refluxo e acompanhada por CCD (éter de petróleo/acetato de etila 1/1). Após 5,5 h o solvente foi removido e o resíduo formado foi solubilizado em DMF (5,0 mL). Em seguida, adicionou-se bis-(benziloxicarbonil)-metilisotiuréia (413 mg, 1,15 mmol) e DMAP (85 mg, 0,69 mmol). O meio reacional resultante foi mantido sob agitação por 17 h à temperatura ambiente. A mistura foi diluída com água (30 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 50 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/05) fornecendo o composto **76a (R,R)** (310 mg, 92 %) como um óleo.

$$[\alpha]_D^{20} = +34,1 \text{ (c=0,50 CHCl}_3\text{)}$$

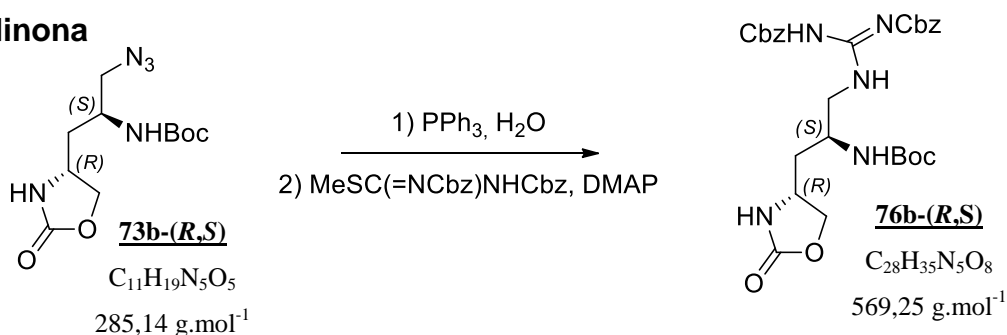
RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,37 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1,56 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$); 3,5 -3,58 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 3,94 (bs, 2H, CH-NH-Boc and CH-NH); 3,95 (dd, 1H, $J_{1-2} = 6,5\text{Hz}$, $J_{1-1'} = 8,5\text{Hz}$, $\text{C}(\text{H})\text{H-O}$); 4,47 (t, 1H, $\text{C}(\text{H})\text{H-O}$); 5,12 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}_{\text{ar}}$); 5,20 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}_{\text{ar}}$); 5,76 (bs, 1H, NH-Boc) 6,18 (bs, 1H, NH); 7,37 - 7,61 (m, 10H, CH_{ar}); 8,58 (bs, 1H, NH); 11,70 (bs, 1H, NH).

RMN de ^{13}C (125MHz, CDCl_3): δ (ppm): 28,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 39,7 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 45,1 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 49,0 (CH-NH-Boc) 49,8 (CH-NH); 67,5 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 68,7 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 70,0 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 80,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 128,2-128,7 (10x CH_{ar}); 132,3; 134,5(C); 153,8; 156,9; 157,4; 159,01 ($\text{C}=\text{O}$ (Boc)).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 568,2396 (M-H); calculado: 568,2408 (M-H).

IV (v, filme): 3285, 3058, 2932, 1744, 1638, 1572, 1437, 1249, 1119, 720, 694 cm^{-1} .

2.5.2.18. Obtenção do (2*R*,4*S*) 5-([benziloxicarbonilamino] [benziloxicarbonilimino]metilamino)-4-[*terc*-butoxicarbonilamino]propil)-2-oxazolidinona



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética, adicionou-se o composto **73a** (27 mg, 0,095 mmol), trifetilfosfina (33 mg, 0,125 mmol) e água (0,1 mL, 5,55 mmol) em THF (3 mL). A mistura reacional foi aquecida sob refluxo e acompanhada por CCD (éter de petróleo/acetato de etila 1/1). Após 8 h o solvente foi removido e o resíduo formado foi solubilizado em DMF (1,5 mL). Em seguida, adicionou-se bis-(benziloxicarbonil)-metilisotiuréia (68 mg, 0,19 mmol) e DMAP (14 mg, 0,114 mmol). O meio reacional resultante foi mantido sob agitação por 20 h à temperatura ambiente. A mistura foi diluída com água (10 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 20 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, a mistura foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash (CH₂Cl₂/MeOH 95/05) fornecendo o composto **76b (R,S)** (49 mg, 90 %) como um óleo.

$$[\alpha]_D^{20} = +4,3 \text{ (c=0,51, CHCl}_3\text{)}$$

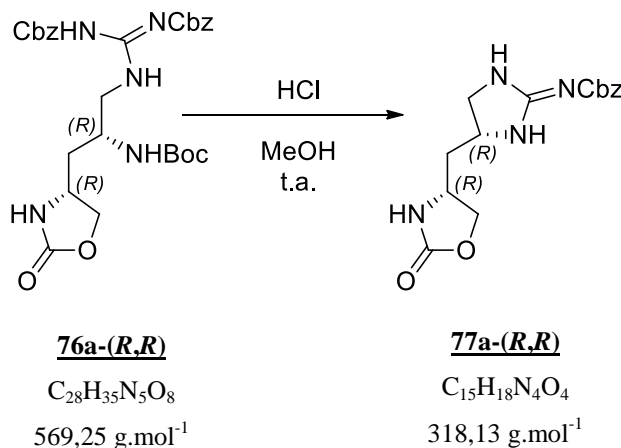
RMN de ¹H (300MHz, CDCl₃): δ (ppm): 1,36 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,72 (bs, 2H, CH₂-CH); 3,48 -3,58 (m, 2H, CH₂-NH); 3,85 (bs, 1H, CH-NH-Boc); 3,97 - 4,02 (m, 2H, CH-NH and CH(H)-O); 4,49 - 4,53 (m, 1H, CH(H)-O); 5,11 - 5,21 (m, 4H, CH₂-C_{ar}); 5,27 (bs, 1H, NH-Boc) 5,84 (bs, 1H, NH); 7,27 - 7,41(m, 10H, CH_{ar}); 8,61 (bs, 1H, NH); 11,68 (bs, 1H, NH).

RMN de ¹³C (125MHz, CDCl₃): δ (ppm): 28,4 (C(CH₃)₃); 38,9 (CH₂-CH); 47,9 (CH₂-NH); 49,2 (CH-NH-Boc) 50,7 (CH-NH); 67,6 (CH₂-O); 68,7 (CH₂-O); 70,2 (CH₂-O); 80,4 (C(CH₃)₃); 128,6-129,1 (10xCH_{ar}); 1153,8; 156,9; 159,22; 163,09 (C=O (Boc)).

EMAR (ES⁻, m/z): encontrado: 570,2560 (M-H); calculado: 570,2564 (M-H).

IV (v, filme): 3334, 2929, 1733, 1622, 1571, 1322, 1248, 1049, 910, 730, 670 cm⁻¹.

2.5.2.19. (2R,4R) N-benziloxicarbonilamino-[(2-amino-4,5-diidro-1H-imidazol-4-il)-metil]-2-oxazolidinona



Em um balão de fundo redondo munido de agitação magnética adicionou-se, sob atmosfera de argônio, a guanidina **76a** (151 mg, 0,27 mmol), 3 mL de uma solução de HCl (1,25 M em metanol) e 3,0 mL de metanol. O meio reacional resultante ficou sob agitação à temperatura ambiente. Após 24 h o solvente foi evaporado e o resíduo formado foi purificado em coluna cromatográfica de sílica flash ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/05), fornecendo o composto **77a** (84 mg, 51 %) sob a forma de um óleo claro.

$$[\alpha]_D^{20} = (c=0,51, \text{CHCl}_3).$$

RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3): δ (ppm): 1,70 (t, 2H, $J_{3-2} = 6,0\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}$); 3,17 (dd, 1H, $J_{5-4} = 6,5\text{Hz}$, $J_{5-5'} = 9,5\text{Hz}$, C(H)H-NH); 3,70 (t, 1H, C(H)H-NH); 3,88 (dd, 1H, $J_{1-2} = 6,5\text{Hz}$, $J_{1-1'} = 8,5\text{Hz}$, C(H)H-O); 3,90 - 3,99 (m, 2H, CH-NH , CH-NH); 4,41 (t, 1H, C(H)H-O); 5,30 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}_{\text{ar}}$); 6,92 (s, 1H, NH); 7,33-7,34 (m, 5H, CH_{ar}).

RMN de ^{13}C (125MHz, CDCl_3): δ (ppm): 41,1 ($\text{CH}_2\text{-CH}$); 48,4 ($\text{CH}_2\text{-NH}$); 49,3 (CH-NH); 50,8 (CH-NH); 67,3 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 70,3 ($\text{CH}_2\text{-O}$); 128,3-128,7 (5x CH_{ar}); 136,7; 159,9; 161,7; 164,0 (C=O).

EMAR (ES^- , m/z): encontrado: 319,1409 (M-H).

calculado: 319,1406 (M-H).

IV (v, filme): 3328, 2930, 1732, 1615, 1408, 1227, 1099, 1026, 909, 728, 698 cm^{-1} .

2.6. Referências bibliográficas

ATKINSON, R. S. *et al.* **Reactive intermediates. Part VII. Oxidation of 3-aminobenzoxazolin-2-one: Stereospecific Addition of the amino-nitrene to olefins.** Journal of the Chemical Society C, p. 772, 1969.

BALDWIN, J. E.; SPIVEY, A. C.; SCHOFIELD, C. J. **Cyclic sulphamidates: New synthetic precursors for β -functionalised α -amino acids.** Tetrahedron: Asymmetry, v. 1, p. 881, 1990.

BENOHOUD, M. **Aziridination d'olefines mediee par l'iode hypervalent catalysée par le cuivre. Application à la synthèse totale de la tétrahydrolathyrine et à l'aminohydroxylation régiosélective d'ester ω -insaturés.** Tese (Doutorado em Química), Université de Paris XI, França. 2008.

BENOHOUD, M.; LEMAN, L.; CARDOSO, S. H.; RETAILLEAU, P.; DAUBAN, P.; THIERRY, J.; DODD, R. H. **Total synthesis and absolute configuration of the natural amino acid tetrahydrolathyrine.** The Journal of Organic Chemistry, v. 74, p. 5331, 2009.

BRANDT, P. *et al.* **Mechanistic studies of copper-catalyzed alkene aziridination.** Journal of the American Chemical Society, v. 122, p. 8013, 2000.

CARDOSO, Silva H. **Síntese de derivados do 2-mercaptobenzotiazol, do 2-mercaptobenzimidazol, da isoniazida e da etionamida, candidatos a novos agentes antimicrobianos e estudos visando a síntese da alloenduracididina.** Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

COREY, E. J. ; XU, F. ; NOE, M. C. **A rational approach to catalytic nantioselective enolate alkylation using a structurally rigidified and defined chiral quaternary ammonium salt under phase transfer conditions.** Journal of the American Chemical Society, v. 119, p. 12414, 1997.

DAUBAN, P.; DODD, R. H. **Iminoiodanes and C-N bond formation in organic. Synthesis.** Synlett, v. 45, p. 1571, 2003.

DAUBAN, P.; SANIERE, L.; TARRADE, A.; DODD, R. H. **Copper-Catalyzed nitrogen transfer mediated by iodosylbenzene PhI=O.** Journal of the American Chemical Society, v. 123, p. 7707, 2001.

DE VOE, S. E. *et al.* **Antibiotic AC98 and production.** US Patent 3495004, 1970.

DOLLING, U. H. *et al.* **Efficient catalytic asymmetric alkylations. Enantioselective synthesis of (+)-indacrinone via chiral phase-transfer catalysis.** Journal of the American Chemical Society, v. 106, p. 446, 1984.

EVANS, D. A.; *et al.* **Bis(oxazoline)-copper complexes as chiral catalysts for the enantioselective aziridination of olefins.** Journal of the American Chemical Society, v. 115, p. 5328, 1993.

GILLESPIE, K. M. *et al.* **Mechanism of alkene aziridination in the [(biaryldiimine)CuI] catalyst system; Precise substrate orientation via two-centre binding.** Chemical Communications, v. 8, p. 785, 2001.

GOTO, S. *et al.* **In Vitro and in vivo evaluation of enduracidin, a new peptide antibiotic substance.** Journal of antibiotics, v. 21, p. 119, 1968.

GROVES, J. T.; TAKAHASHI, T. J. **Activation and transfer of nitrogen from a nitridomanganese(V) porphyrin complex. Aza analog of epoxidation.** Journal of the American Chemical Society, v. 105, p. 2073, 1983.

GUTHIKONDA, K.; DU BOIS, J. **A Unique and highly efficient method for catalytic olefin aziridination.** Journal of the American Chemical Society, v. 124, p. 13672, 2002.

HE, H. *et al.* **Mannopectimycins, novel antibacterial glycopeptides from streptomyceshygroscopicus, LL-AC98.** Journal of the American Chemical

Society, v. 124, p. 9729, 2002.

ISHIZUKA, T.; KUNIEDA, T. **Mild and selective ring-cleavage of cyclic carbamates to amino alcohols.** Tetrahedron Letters, v. 28, p. 4185, 1987.

JACKSON, M. D. *et al.* **Studies on the formation and incorporation of streptolidine in the biosynthesis of the peptidyl nucleoside antibiotic streptothricinskie.** The Journal of Organic Chemistry, v. 67, p. 2934, 2002.

KIM, K. S.; AHN, K. H. **Ring opening of homochiral bicyclic oxazolidinones: synthesis of allylglycinol derivatives.** Synthetic Communications, v. 28, p. 1387, 1998.

KUNDU, S. *et al.* **Lewis acid trapping of an elusive copper–tosylnitrene intermediate using scandium triflate.** Journal of the American Chemical Society, v. 134, p. 14710, 2012.

LEMAN, L. **Etude de la réaction d'aziridination par des iminoiodanes d'oléfines fonctionnalisées, catalysée par le cuivre. Application à la synthèse de produits naturels.** (Doutorado em Química), Université de Paris XI, França. 2004.

LI, Z.; CONSER, K. R. JACOBSEN, E. N. **Asymmetric alkene aziridination with readily available chiral diimine-based catalysts.** Journal of the American Chemical Society, v. 115, p. 5326, 1993.

Li, Z.; QUAN, R. W.; JACOBEN, E. N. **Mechanism of the (diimine) copper-catalyzed asymmetric aziridination of alkenes. Nitrene transfer via ligand-accelerated catalysis.** Journal of the American Chemical Society, v. 117, p. 5889, 1995.

LIU, Y. *et al.* **Nonheme iron-mediated amination of C(sp³)–H bonds. Quinquepyridine-supported iron-imide/nitrene intermediates by experimental studies and DFT calculations.** Journal of the American Chemical Society, v. 135, p. 7194, 2013.

LYGO, B.; ANDREWS, B. I. **Asymmetric phase-transfer Catalysis utilizing chiral quaternary ammonium salts: Asymmetric alkylation of glycine imines.** *Accounts of Chemical Research*, v. 37, p. 518, 2004.

LYGO, B. WAINWRIGHT, P. G. **A new class of asymmetric phase-transfer catalysts derived from Cinchona alkaloids - Application in the enantioselective synthesis of α -amino acids.** *Tetrahedron Letters*. V.38, p. 8595, 1997.

LYGO, B.; WAINWRIGHT, P. G. **Phase-transfer catalysed asymmetric epoxidation of enones using N-anthracenylmethyl-substituted Cinchona alkaloids.** *Tetrahedron*, v. 55, p. 6289, 1999.

LYKKE, L. *et al.* **Catalytic asymmetric diaziridination.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 135, p. 4695, 2013.

MAESTRE, L. *et al.* **A General mechanism for the copper- and silver-catalyzed olefin aziridination reactions: Concomitant involvement of the singlet and triplet pathways.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 135, p. 1338, 2013.

MAMAI, A.; *et al.* **Synthesis of conformationally constrained arginine and ornithine analogues based on the 3-substituted pyrrolidine.** *The Journal of Organic Chemistry*, v. 66, p. 64, 2001.

MELLENDEZ, R. E.; LUBELL, W. D. **Synthesis and reactivity of cyclic sulfamidites and sulfamidates.** *Tetrahedron*, v. 59, p. 2581, 2003.

MORELLE, M. **Vers la synthèse stéréosélective des deux isomères naturels de la β -hydroxy-enduracididine, composants-clé des mannopeptimycines.** Tese (Doutorado em Química), Université de Paris XI, França. 2010.

MORIARTY, R. M. **Organohypervalent Iodine: Development, applications, and future directions.** *The Journal of Organic Chemistry*, v. 70, p. 2893, 2005.

MULLER, P.; ALLENBACH, Y.; ROBERT, E. **Rhodium(II)-catalyzed olefin**

cyclopropanation with the phenyliodonium ylide derived from Meldrum's acid.

Tetrahedron: Asymmetry, v. 14, p. 779, 2003.

O'DONNELL, M. J.; BENNETT, W. D.; WU, S. **The stereoselective synthesis of alpha-amin acids by phase-transfer catalysis.** Journal of the American Chemical Society, v. 111, p. 2353, 1989.

O'DONNELL, M. J.; DELGADO, F.; POTTORF, R. S. **Enantioselective solid-phase synthesis of α -amino acid derivatives.** Tetrahedron, v. 55, p. 6347, 1999.

O'DONNELL, M. J.; POLT, R. L. **A mild and efficient route to Schiff base derivatives of amino acids.** The Journal of Organic Chemistry, v. 47, p. 2663, 1982.

OKAMA, M; IWASHITA, S.; KOIZUMI, N. **Efficient general method for sulfamoylation of a hydroxyl group.** Tetrahedron Letters, v. 41, p. 7047, 2000.

OLIVIER, K. S. ; VAN NIEUWENZHE, M. S. **Synthetic studies toward the mannopeptimycins: synthesis of orthogonally protected β -hydroxyenduracididines.** Organic Letters, v. 12, p. 1680, 2010.

OOI, T.; MARUOKA, K. **Recent advances in asymmetric phase-transfer catalysis.** Angewandte Chemie International. v. 46, p. 4222, 2007.

SANIERE, L.; LEMAN, L.; DAUBAN, P.; DODD, R. H. **Iminoiodane mediated aziridination of α -allylglycine: access to a novel rigid arginine derivative and to the natural amino acid enduracididine.** Tetrahedron, v. 60, p. 5889, 2004.

SANIERE, L. ; LEMAN, L.; DAUBAN, P.; DODD, R. H. **Iminoiodane mediated aziridination of α -allylglycine: access to a novel rigid arginine derivative and to the natural amino acid enduracididine.** Tetrahedron, v. 60, p. 5889, 2004.

SCHWORER, C. J. *et al.* **Synthesis of Highly Functionalized Amino Acids: An Expedient Access to L- and D- β -Hydroxyenduracididine Derivatives.** European

Journal of Organic Chemistry, v. 35, p. 6129, 2009.

SINGH, M. P. *et al.* **Antibacterial leads from microbial natural products discovery.** Current Opinion in Drug Discovery & Development, v. 3, p. 167, 2000.

SODERGREN, M. J. *et al.* **Readily available nitrene precursors increase the scope of Evans' asymmetric aziridination of olefins.** Tetrahedron: Asymmetry, v. 8, p. 3563, 1997.

SWEENEY, J. B. **Aziridines: epoxides' ugly cousins?.** Chemical Society Reviews, v. 31, p. 247, 2002.

TSUJI, S. *et al.* **Synthesis of Enduracididine, a component amino acid antibiotic Enduracidin.** Chemistry Letters, v. 4, p. 1281, 1975.

VASCONCELOS, R. S. *et al.* **Estudo por espectrometria de massas de soluções de hidróxi(tosilóxi)iodobenzeno: propostas para mecanismos de desproporção.** Química Nova, v. 35, p. 1593, 2012.

WATSON, I. D. G. *et al.* **Advances in nitrogen transfer reactions involving aziridines.** Accounts of Chemical Research, v. 39, p. 194, 2006.