

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACUDADE DE FARMÁCIA**

**DANIELLE FERREIRA DIAS**

**SÍNTESE DE POTENCIAIS AGENTES  
ANTIFÚNGICOS INIBIDORES DE  
GLICOSAMINA-6-FOSFATO SINTASE**

**Belo Horizonte  
2009**

**DANIELLE FERREIRA DIAS**

**SÍNTESE DE POTENCIAIS AGENTES  
ANTIFÚNGICOS INIBIDORES DE  
GLICOSAMINA-6-FOSFATO SINTASE**

Tese, requisito parcial, para obtenção do grau de doutora, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Orientador Prof. Ricardo José Alves – UFMG.

Belo Horizonte  
2009

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, pelas oportunidades, amizades e descobertas.

Ao Ricardo pelos ensinamentos de vida e de química.

Au Dr. Bernard Badet pour m'avoir reçu dans son équipe à l'ICSN-CNRS et pour ça collaboration.

À minha família pelo apoio e compreensão incondicionais.

Ao Hugo pelo companheirismo, carinho e cuidado.

Às amigas Cris, Paola, Rozângela, Susana, Marilda, Carla Graziela, Ana Paula, Eni e Rute, pela força, e amizade, principalmente nos momentos mais difíceis. Sem vocês não seria possível realizar esse trabalho.

Aos amigos Renato, André, Marilda, Diogo, Fernanda, Roxane, Ana Paula, Kézia, Magno, Cristal, Carla, Hugo, Haline, Flávio, Rô, Rute, Paola, Arianne, Nádia, Alisson, Luís, Flávia, Carla, Maria Angélica, Renata, Daniel, Carol, Thiago, Dôra, Ricardo, Basílio, Thaís, Lavina e Raquel pelos momentos de descontração e auxílio mútuo no laboratório, assim como pela partilha dos ensinamentos adquiridos e dos desafios vencidos.

Aux Dr. Philippe Durand et Marie-Ange Badet-Denisot pour leur accueil au laboratoire.

Au Philippe pour tous les enseignements et opportunités de découvrir des nouvelles techniques et réactions. Merci pour votre confiance et collaboration.

Aux copains de l'ICSN: Susana, Céline, Cendrine, Renato, Florence, Sophie, Lucimar, Franck Dubois, Joelle, Stephanie, Sylviane, Sebastien et Maryon, Odile, Estelle, Franck et Nathalie, Myriem, Sabrina, Alain pour toutes les aides avec la recherche et la vie. And thank you Jignesh. I'm very grateful for all the good moments spent together as well as the good progress in chemistry.

Aos amigos dos laboratórios vizinhos: Patrícia, Celinho, Suzan, Denise, Cristiane, Pricila, Zé Antônio, Fernando, Isabela, Pauline, Léo, Cris, Elaine, Délia, Guilherme, Sávia, Berta, Juliana, Luciene e Fabiana pelas ajudas e amizade. À Sônia pelo “*Bom dia, Química Farmacêutica!*” diário e amizade.

Às professoras Maria Aparecida de Rezende e Elzília de Aguiar Nunan, pela realização dos testes de atividade antimicrobiana *in vitro* em seus laboratórios. Às alunas Luíza, Michele Cristina e Marcilene, pelo auxílio nos testes de atividade antimicrobiana *in vitro*, et Dra. Céline Roux, merci pour les tests enzymatiques.

Aos amigos Rossimíriam, Rose, Lucienir, Ivana, Gustavo, Claiton, Leandro, Inácio, Cássia e Fernando, muito obrigada por toda ajuda.

Às famílias *Cunha Figueiredo* e *Soares de Miranda*, por todo carinho.

Às amigas lá de casa: Cris, Denise, Paola, Janaína Lube, Janaína Scaramussa, Grazielle e Dorinha, e aos *agregados*: Renato Márcio, Germano José, Gustavo e Hugo Edgar. Obrigada pela companhia, amizade e bons momentos.

Aos amigos da *Maison du Brésil*, principalmente, Daniela e Leandro, Marilice, Mário, Carol e Flávio, e Patrícia, pela companhia, amizade e momentos de descontração e descobertas.

Aos órgãos de fomento CAPES e CNPQ, pelas bolsas de doutorado no Brasil e no exterior, respectivamente, à FAPEMIG pelo apoio financeiro na pesquisa e à l'ICSN-CNRS pour la bourse en France (trois mois).

## RESUMO

Os aminoaçúcares são importantes componentes estruturais da parede celular de fungos e bactérias. A enzima glicosamina-6-fosfato sintase (GlmS), que catalisa a primeira etapa da via biossintética dos aminoaçúcares que é a formação de D-glicosamina-6-fosfato a partir de D-frutose-6-fosfato, tem sido estabelecida como um alvo atrativo para o desenvolvimento de fármacos antimicrobianos. É descrita, neste trabalho, a síntese de análogos aromáticos de 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato (ADGP) e seu epímero, o 2-amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato (ADMP), dois inibidores importantes da GlmS. Além disso, é descrita também a síntese de um derivado fluorado, análogo de D-frutose-6-fosfato, um dos substratos da GlmS. Os derivados aromáticos foram obtidos por reação de 3-aminofenol ou 3-benzoilresorcinol com epicloridrina racêmica ou com derivados adequadamente protegidos de (*R*) e (*S*)-*N*-*terc*-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-4-hidroxi-1,3-oxazolidina. O análogo fluorado foi obtido a partir da D-arabinose protegida, a qual foi submetida à reação com o difluorometiltiofosfonato de dietila, que forneceu o intermediário difluorado de frutose que foi desprotegido e fosforilado enzimaticamente. Nenhum dos compostos testados apresentou atividade contra *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* quando analisados pelo método de difusão em ágar e na concentração de 1mg/mL. Para os fosfatos aromáticos, a avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de diluição seriada contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Sacharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli*. Estes não apresentaram atividade frente aos microorganismos testados até a concentração de 10 mg/mL. O teste para a avaliação da atividade inibitória da enzima GlmS foi realizado para os fosfatos aromáticos e estes se mostraram inibidores modestos, com valores de  $CI_{50}$  na faixa de mmol/L.

## ABSTRACT

The aminosugars are very important structural components of bacteria and fungi cell walls. Glucosamine-6-phosphate synthase (GlmS), which catalyses the first step of the aminosugar biosynthetic pathway i.e. the formation of D-glucosamine-6-phosphate from D-fructose-6-phosphate, is therefore an interesting target in the fight against microorganisms. In this work is described the synthesis of aromatic analogs of 2-amino-2-deoxy-D-glucitol-6-phosphate (ADGP) and its epimer 2-amino-2-deoxy-D-manitol-6-phosphate (ADMP) two important inhibitors of GlmS: three phosphoramides and two phosphates; and a fluorine derivative of D-fructose-6-phosphate, the substrate of GlmS. The aromatic derivatives were obtained from the reaction of 3-nitrophenol or 3-benzoylresorcinol with racemic epichlorohydrine or the appropriately protected *R* and *S* *tert*-butyl 1,1-dimethyl-4-hydroxymethyl-2,2-dimethyl-3-oxazolidine carboxylate. For the fluorine derivative synthesis, the protected D-arabinose was the starting material and the reaction with diethyl difluoromethylthiophosphonate afforded the difluorinated D-fructose derivative which was deprotected to give the derivative 1,1-difluoromethyl-D-fructose and was phosphorylated with hexokinase. None of the compounds showed antifungal activity against *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* when evaluated using the agar diffusion method, in the concentration of 1 mg/mL. Antifungal activity of phosphates was evaluated by a serial dilution microplate method against *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Sacharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*. They showed no activity against the microorganisms tested, until the concentration of 10 mg/mL. In the enzymatic assay against GlmS, the aromatic phosphates analogs displayed modest inhibitory activity, with IC<sub>50</sub> in the mmol L<sup>-1</sup> range.

## RÉSUMÉ

Les aminosucres sont d'importants composants des structures de la paroi cellulaire des champignons et des bactéries. L'enzyme glucosamine-6-phosphate synthase (GlmS), catalyse la première étape de la biosynthèse des hexosamines: la conversion du D-fructose-6-phosphate en D-glucosamine-6-phosphate et il a été démontré que son inhibition peut être utile contre les micro-organismes pathogènes. Le travail de cette thèse décrit la synthèse des analogues aromatiques du 2-amino-2-désoxy-D-glucitol-6-phosphate (ADGP) et son épimer, le 2-amino-2-désoxy-D-mannitol-6-phosphate (ADMP), qui sont des deux inhibiteurs plus important de la GlmS. Dans ce travail est également décrite la synthèse d'un dérivé difluoré, analogue du D-fructose-6-phosphate, l'un des substrats de la GlmS. Les dérivés aromatiques ont été obtenus par la réaction du 3-aminophénol ou 3-benzoylresorcinol avec l'épichlorohydrine racémique ou les dérivés protégés de configurations *R* et *S* du carboxylate de *tert*-butyl 1,1-diméthyl-4-hydroxyméthyl-2,2-diméthyl-3-oxazolidine. L'analogue difluoré a été obtenu à partir de l'arabinose protégée qui a été soumis à la réaction avec le difluorométhylthiophosphonate de diéthyle. L'intermédiaire a été déprotégé et phosphorylé enzymatiquement. Aucun des composés testés n'a pas montré d'activité contre *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* quand analysés par la méthode de diffusion en agar et en concentration de 1mg/mL. Pour les phosphates aromatiques, l'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de dilution en série contre le *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Sacharomyces cerevisiae* et *Escherichia coli*. Ces composés n'ont montré aucune activité contre les microorganismes testés jusqu'à la concentration de 10 mg/mL. Le test d'évaluation de l'inhibition de l'enzyme GlmS a été réalisé pour les phosphates aromatiques. Ces composés ont montré une faible activité avec valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'ordre de mmol/L.

## LISTA DE FIGURAS

1.1 - Exemplos de fármacos usados clinicamente.....	19
1.2 - Reação catalisada pela GlcN6P sintase .....	20
1.3 - Representação esquemática da bissíntese de hexosaminas.....	20
1.4 - Representação esquemática do sítio ativo da GlcN6P sintase com seus substratos.....	21
1.5 - Mecanismo simplificado de formação de glicosamina-6-fosfato, catalisada pela GlcN6P sintase.....	22
1.6 - Análogos multissubstratos inibidores de GlcN6P sintase de <i>Candida albicans</i> .....	24
1.7 - Estrutura dos análogos bissubstratos de GlcN6P sintase, derivados de 2-amino-2-desoxi-D-glucitol e L-glutamina .....	25
1.8 - Estruturas do 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato <b>III</b> e os derivados <b>XI-XX</b> .....	26
1.9 - Estruturas do estado de transição <i>cis</i> -enolamina <b>II</b> , do ADGP <b>III</b> e do ADMP <b>XXI</b> e suas constantes de inibição para a enzima GlcN6P sintase de <i>Candida albicans</i> .....	28
2.1 - Estruturas químicas dos derivados aromáticos <b>1-5</b> .....	29
2.2 - Estruturas simplificadas dos análogos aromáticos planejados neste trabalho em comparação aos inibidores ADGP ( <b>III</b> ) e ADMP ( <b>XXI</b> ).....	29
2.3 - Estrutura do análogo difluorado de D-frutose-6-fosfato <b>6</b> .....	30
2.4 - Proposta simplificada do mecanismo de inibição de GlcN6P sintase por <b>6</b> .....	30
3.1 - Proposta de síntese para a obtenção de <b>1</b> .....	32
3.2 - Proposta de síntese para a obtenção de <b>2</b> e <b>3</b> .....	33
3.3 - Proposta de síntese para a obtenção de <b>4</b> e <b>5</b> .....	34
3.4 - Proposta de síntese para a obtenção de <b>6</b> .....	35
4.1 - Proposta para a síntese <b>1</b> , via derivado benzoilado <b>9</b> .....	36
4.2 - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>8</b> .....	37
4.3 - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C e subespectro DEPT 135 de <b>8</b> .....	37
4.4 - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>30</b> .....	38
4.5 - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C e subespectro DEPT 135 de <b>30</b> .....	39
4.6 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>9</b> .....	40
4.7 - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>9</b> .....	40
4.8 - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C e subespectro DEPT 135 de <b>9</b> .....	41
4.9 - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>31</b> .....	42
4.10 - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>31</b> .....	42

/continua.



## LISTA DE FIGURAS (continuação)

4.11 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>10</b> .....	43
4.12 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>10</b> .....	44
4.13 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>12</b> .....	45
4.14 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>12</b> .....	46
4.15 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>12</b> .....	47
4.16 - Esquema para a síntese de <b>1</b> <i>via</i> derivados do 4-metoxifenol.....	48
4.17 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>32</b> .....	49
4.18 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>32</b> .....	49
4.19 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>33</b> .....	50
4.20 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>33</b> .....	51
4.21 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>35</b> .....	52
4.22 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>35</b> .....	52
4.23 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>35</b> .....	53
4.24 - Esquema para a síntese de <b>35</b> a partir de 3-aminofenol ( <b>37</b> ). .....	53
4.25 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>38</b> .....	54
4.26 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>38</b> .....	55
4.27 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>39</b> .....	56
4.28 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>39</b> .....	56
4.29 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>40</b> .....	57
4.30 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>40</b> ..	58
4.31 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>36</b> .....	59
4.32 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>36</b> .....	60
4.33 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>36</b> ..	60
4.34 - Reação para a obtenção de <b>41</b> a partir de <b>33</b> .....	61
4.35 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>41</b> .....	62
4.36 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>41</b> ..	63
4.37 - Esquema proposto para a síntese de <b>1</b> a partir do diol <b>31</b> . .....	64
4.38 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>42</b> .....	65
4.39 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>42</b> ..	66
4.40 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>46</b> .....	67
4.41 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>46</b> ..	67
4.42 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>44</b> .....	68

/continua.

## LISTA DE FIGURAS (continuação)

4.43 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>44</b> .....	69
4.44 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>14</b> .....	70
4.45 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>14</b> .....	70
4.46 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ - subespectro DEPT de <b>14</b> .....	71
4.47 - Espectro na região do infravermelho de <b>1</b> . ....	72
4.48 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>1</b> .....	72
4.49 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>1</b> .....	73
4.50 - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>47</b> .....	74
4.51 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>47</b> .....	74
4.52 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>47</b> .....	75
4.53 - Esquema proposto para a obtenção de <b>2</b> e <b>3</b> .....	76
4.54 - Etapas envolvidas na reação de Mitsunobu.....	77
4.55 - Cromatogramas obtidos para os compostos <b>17S</b> e <b>17R</b> e a mistura destes.....	77
4.56 - Equilíbrio dinâmico da rotação da ligação C-N do carbamato... ..	78
4.57 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>17</b> .....	79
4.58 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>17</b> .....	79
4.59 - Cromatogramas obtidos para os compostos <b>18R</b> e <b>18S</b> e a mistura destes .....	80
4.60 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>18</b> .....	81
4.61 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>18</b> .....	81
4.62 - Representação das reações envolvidas na etapa de fosforilação do fenol.....	82
4.63 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>19</b> .....	83
4.64 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>19</b> . ....	84
4.65 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>19</b> . ....	84
4.66 - Cromatogramas obtidos para os compostos <b>19R</b> e <b>19S</b> e a mistura destes .....	85
4.67 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>2</b> . ....	86
4.68 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>2</b> . ....	87
4.69 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>2</b> . ....	87
4.70 - Proposta de síntese para a obtenção das fosforamidas <b>4</b> e <b>5</b> .....	88
4.71 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>21</b> .....	89
4.72 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>21</b> .....	89
4.73 - Cromatogramas obtidos para os compostos <b>21R</b> e <b>21S</b> e a mistura destes. ....	90
4.74 - Representação esquemática da reação de fosforilação.....	91

/continua.

## LISTA DE FIGURAS (continuação)

4.75 - Reação de formação do halocarbeno na reação de fosforilação..	91
4.76 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>22</b> .....	92
4.77 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>22</b> .....	92
4.78 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>22</b> .....	93
4.79 - Cromatogramas obtidos para os compostos <b>22S</b> e <b>22R</b> e a mistura destes.....	93
4.80 - Cromatograma obtido para o produto da reação de desproteção de <b>22</b> .....	94
4.81 - Proposta para a fragmentação da amina <b>48</b> .....	95
4.82 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>48</b> .....	96
4.83 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>48</b> .....	96
4.84 - Estruturas químicas de análogos fluorados de D-frutose-6-fosfato modificados em C-1.....	97
4.85 - Tentativas de síntese de <b>6</b> , via éster <b>52</b> ou via o difluoroenol <b>53</b> .....	97
4.86 - Esquema de síntese proposto para a obtenção de <b>6</b> , via reação de Reformatsky, a partir de <b>54</b> .....	98
4.87 - Proposta de síntese de <b>6</b> por reação de <b>25</b> com brometo de difluorometilfosfonato de dietila....	98
4.88 - Tentativa de síntese de <b>6</b> via reação com o ânion difluorometilfosfato de dietila.....	99
4.89 - Proposta para a obtenção de <b>26</b> a partir da reação de <b>25</b> com difluorometilfosfonato de dietila.....	99
4.90 - Reação de obtenção de <b>59</b> a partir de <b>60</b> e do íon de lítio <b>61</b> .....	99
4.91 - Esquema de síntese proposto para a obtenção do análogo difluorado de D-frutose-6-fosfato <b>6</b> . .....	100
4.92 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>25</b> .....	101
4.93 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>25</b> .....	102
4.94 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>26</b> ..	103
4.95 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>26</b> .....	104
4.96 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>26</b> .....	105
4.97 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>26</b> .....	105
4.98 - Mecanismo proposto para a oxidação de <b>26</b> com periodinano de <i>Dess-Martin</i> .....	106
4.99 - Produtos obtidos na reação de oxidação de <b>26</b> .....	106
4.100 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>27</b> .....	107
4.101 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>27</b> .....	108
4.102 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>27</b> .....	108
4.103 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>27</b> .....	109

/continua.

## LISTA DE FIGURAS (conclusão)

4.104 - Seqüência de reações planejadas para a síntese de <b>28</b> , por reação de <b>25</b> com difluorometilfosfonato de dietila <b>60</b> .....	110
4.105 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>58</b> . .....	111
4.106 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>58</b> . .....	112
4.107 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>58</b> . .....	112
4.108 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>58</b> . .....	113
4.109 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>62</b> . .....	114
4.110 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ de <b>62</b> . .....	115
4.111 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>62</b> .....	115
4.112 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>62</b> . .....	116
4.113 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>28</b> .....	117
4.114 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>28</b> .....	117
4.115 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>28</b> . .....	118
4.116 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>29</b> . .....	119
4.117 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>29</b> . .....	120
4.118 - Possíveis produtos para a reação de desproteção de <b>28</b> . .....	120
4.119 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ e subespectro DEPT 135 de <b>29</b> . .....	121
4.120 - Reação de fosforilação de <b>29</b> catalisada por hexoquinase. ....	121
4.121 - Espectros de RMN de $^{19}\text{F}$ da reação de obtenção de <b>6</b> . .....	122
4.122 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>6</b> . .....	123
4.123 - Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ de <b>6</b> . .....	124
4.124 - Estruturas dos compostos submetidos aos testes de avaliação de atividade biológica .....	125

## LISTA DE TABELAS

1.1 - Exemplos de análogos de L-glutamina inibidores de GlcN6P sintase.....	23
1.2 - Inibidores de GlcN6P sintase de <i>Escherichia coli</i> que interagem com o domínio isomerase ...	24
1.3 - Valores das potências inibitórias para os compostos <b>IV</b> a <b>IX</b> contra a GlcN6P sintase de <i>Candida albicans</i> . ....	25
1.4 - Atividade antifúngica <i>in vitro</i> de ADGP ( <b>III</b> ) e seus derivados.....	27
4.1 – Condições empregadas nas tentativas de obtenção de <b>14</b> a partir de <b>36</b> ..	61
5.1 – Inibição de GlnS por ADGP e os compostos <b>2</b> e <b>3</b> ..	163

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACN	Acetonitrila
ADGP	2-Amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato
ADMP	2-Amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato
BHI	Meio de cultura <i>Brain Heart Infusion</i>
Bn	Benzila
BOC	<i>Terc</i> -butoxicarbonila
CAN	Nitrato cérico amoniacal
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCS	Cromatografia em Coluna de Sílica
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória em 50% das células
CIM	Concentração inibitória mínima
<i>Cipso</i>	Carbono aromático sem hidrogênio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CV	Cone de voltagem
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
ddd	Duplo dupleto duplo
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
ELSD	<i>Evaporative Light Scattering Detector</i>
F.F.	Faixa de Fusão
F.M.	Fórmula Molecular
FMDP	Ácido <i>N</i> <sup>3</sup> -(4-metoxifumaroil)-L-2,3-diaminopropanóico
GlcN6P sintase	Glicosamina-6-fosfato sintase
GlmS, GfaT	Glicosamina-6-fosfato sintase
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectroscopy</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
LDA	Diisopropilamideto de lítio

m	Multipleto
M.M.	Massa Molecular
m/v	Massa por volume
°C	Graus Celsius
Pd-C	Catalisador Paládio-Carvão
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
q	Quarteto
Qn	Quinteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPMI	Meio de cultura desenvolvido no <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
s	Simpleto
sl	Sinal largo
S <sub>N</sub> 2	Reação de Substituição Nucleofílica Bimolecular
T	Triplete
TBFA	Fluoreto de tetrabutilamônio
td	Triplete duplo
TEA	Trietilamina
TEBA	Cloreto de trietilbenzilamônio
THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UFC	Unidade Formadora de Colônias
v/v	Volume por volume
$\delta$	Deslocamento químico (RMN) / deformação angular (IV)
$\bar{\nu}$	Número de onda
$[\alpha]_D$	Poder rotatório específico

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	18
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS .....	29
3 PLANO DE SÍNTESE .....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
4.1 Síntese de 3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenilfosforamidato de dietila 1.. .....	36
4.2 Síntese de Diidrogenofosfato de (S)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenila 2 e de diidrogenofosfato de (R)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenila 3 .....	75
4.3 Tentativa de síntese de ácido 3-((2-(S)-amino-3-hidroxi-propoxi)fenil)fosforamídico 4 e de ácido 3-((2-(R)-amino-3-hidroxi-propoxi)fenil)fosforamídico 5 .....	88
4.4 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose-6-fosfato 6 .....	97
4.5 Testes de atividade biológica .....	124
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	126
5.1 Métodos gerais .....	126
5.2 Sínteses .....	127
<u>5.2.1 Síntese de 2-[(3-nitrofenoxi)metil]oxirano (8).....</u>	127
<u>5.2.2 Síntese de benzoato de 2-hidroxi-3-(3-nitrofenoxi)propila (9).. .....</u>	129
<u>5.2.3 Síntese de benzoato de 2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)propila (10).....</u>	130
<u>5.2.4 Síntese de benzoato de 3-(3-aminofenoxi)-2-metanossulfoniloxipropila (11). .....</u>	131
<u>5.2.5 Síntese de benzoato de 3-[3-(dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxipropila (12).....</u>	131
<u>5.2.6 Síntese de 1-(4-metoxifenoxi)-3-(3-nitrofenoxi)-2-propanol (32) .....</u>	132
<u>5.2.7 Síntese de 2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)-3-(3-nitrofenoxi)propano (33).. .....</u>	133
<u>5.2.8 Síntese de 3-(3-aminofenoxi)-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (34) .....</u>	134
<u>5.2.9 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (35) .....</u>	134
<u>5.2.10 Síntese de 3-(dietilfosforilamino)fenol (38).....</u>	135
<u>5.2.11 Síntese de 2-[(3-dietilfosforilaminofenoxi)metil]oxirano (39) .....</u>	136
<u>5.2.12 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)-2-propanol (40). .....</u>	137



<u>5.2.13 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (35) a partir de 40</u> .....	137
<u>5.2.14 Síntese de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (36)</u> . ....	138
<u>5.2.15 Síntese de 2-amino-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (47)</u> .....	139
<u>5.2.16 Tentativa de síntese de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-propanol (14) a partir de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (36)</u> .....	139
<u>5.2.17 Síntese de 2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)-1-propanol (41)</u> .....	140
<u>5.2.18 Síntese de 3-(3-nitrofenoxi)-1,2-propanodiol (31)</u> .....	141
<u>5.2.19 Síntese de 1-(<i>terc</i>-butildimetilsililoxi)-2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)propano (42)</u> .....	141
<u>5.2.20 Síntese de 3-(3-aminofenoxi)-1-(<i>terc</i>-butildimetilsililoxi)-2-metanossulfoniloxiopropano (43)</u> .....	142
<u>5.2.21 Síntese de 1-(<i>terc</i>-butildimetilsililoxi)-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxiopropano (44)</u> .....	143
<u>5.2.22 Síntese de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-propanol (14)</u> .....	143
<u>5.2.23 Síntese de 3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenilfosforamidato de dietila (1)</u> .....	144
<u>5.2.24 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>)-2-amino-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-3-hidroxi-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano (16)</u> .....	145
<u>5.2.25 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>)-2-amino-3-(3-(benziloxi)fenoxi)-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano 17</u> .....	146
<u>5.2.26 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>) 2-amino-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)3-(3-(hidroxi)fenoxi)-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano 18</u> .....	147
<u>5.2.27 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>) 2-amino-3-(3-(bis(benziloxi)phosphoriloxi)fenoxi)-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-1-hidroxi-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano 19</u> .....	148
<u>5.2.28 Síntese de diidrogenofosfato de (<i>S</i>)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenila 2 e de diidrogenofosfato de (<i>R</i>)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenila 3</u> .....	149
<u>5.2.29 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>) 2-amino-3-(3-nitrofenoxi)-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-1-hidroxi-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano 21</u> .....	150
<u>5.2.30 Síntese de (<i>R</i>) e (<i>S</i>) 2-amino-3-(3-(bis(benziloxi)phosphorilamino)fenoxi)-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-1-hidroxi-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propano 22</u> .....	151
<u>5.2.31 Tentativa de síntese do ácido (<i>R</i>) e (<i>S</i>)-3-(2-amino-<i>N</i>-(<i>terc</i>-butoxicarbonil)-1-hidroxi-<i>N,O</i>-(isopropilideno)propoxi)fenilfosforamídico 23</u> .....	152
<u>5.2.32 Síntese de 2,3,4,5-tetra-<i>O</i>-benzil-D-arabinose 25</u> .....	153
<u>5.2.33 Síntese de 3,4,5,6-tetra-<i>O</i>-benzil-1-desoxi-1-(<i>O</i>-dietiltiofosfonato)-1,1-difluoro-D-glucitol e 3,4,5,6-tetra-<i>O</i>-benzil-1-desoxi-1-(<i>O</i>-dietiltiofosfonato)-1,1-difluoro-D-manitol 26</u> .....	154
<u>5.2.34 Síntese de difluorometiltiofosfonato de dietila 59</u> .....	156

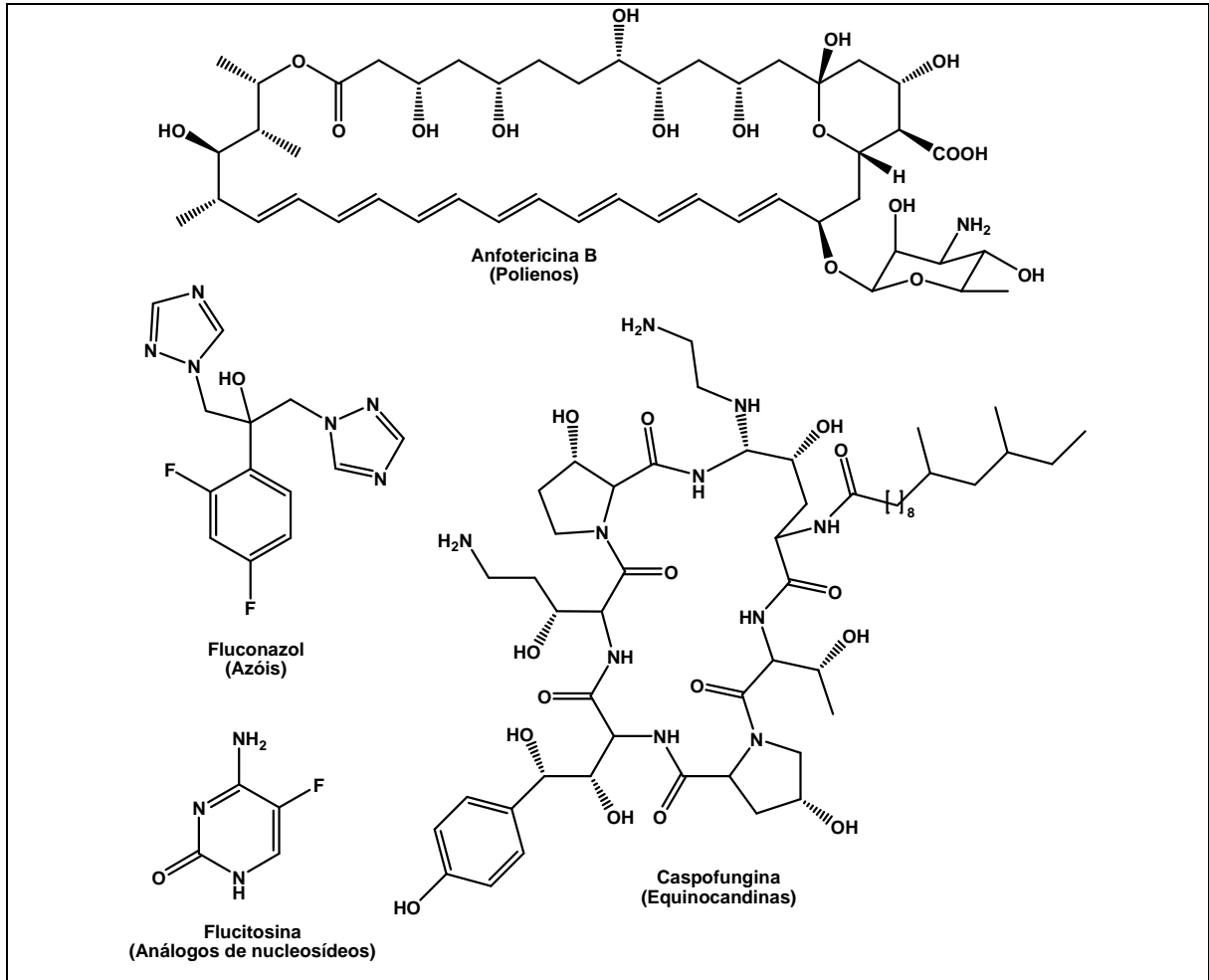
<b><u>5.2.35 Síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-1-(O-dietiltiofosforil)-D-frutose 27</u></b> .....	156
<b><u>5.2.36 Tentativa de síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose 28 a partir de 27.</u></b> .....	157
<b><u>5.2.37 Síntese do 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1-(O-dietilfosforil)-1,1-difluoro-D-glucitol e 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1-(O-dietilfosforil)-1,1-difluoro-D-manitol 58.</u></b> .....	158
<b><u>5.2.38 Síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-1-(O-dietilfosforil)-D-frutose 62.</u></b> .....	159
<b><u>5.2.39 Síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose 28 a partir de 62.</u></b> .....	160
<b><u>5.2.40 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose 29.</u></b> .....	161
<b><u>5.2.41 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose-6-fosfato 6.</u></b> .....	162
<b>5.3 Ensaio Biológicos.</b> .....	163
<b><u>5.3.1 Determinação da atividade enzimática.</u></b> .....	163
<b><u>5.3.2 Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>.</u></b> .....	164
<b><u>5.3.2.1 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar.</u></b> .....	164
<b><u>5.3.2.2 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de diluição seriada.</u></b> .....	164
<b>CONCLUSÕES</b> .....	166
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	168

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas ainda não são totalmente controladas clinicamente e vêm crescendo nos últimos anos, sendo uma importante causa de mortalidade e morbidade de pacientes hospitalizados. Sobretudo as infecções invasivas por *Candida* e *Aspergillus* são um problema comum em pacientes imunocomprometidos (ANAISSIE, 2008; BOROWSKI, 2000; GEOGOPAPADAKOU et al., 1994). Isso tem levado ao desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, à tendência ao aumento da dose do fármaco utilizado no tratamento e à combinação de dois ou mais antifúngicos (FOHER et al., 2006).

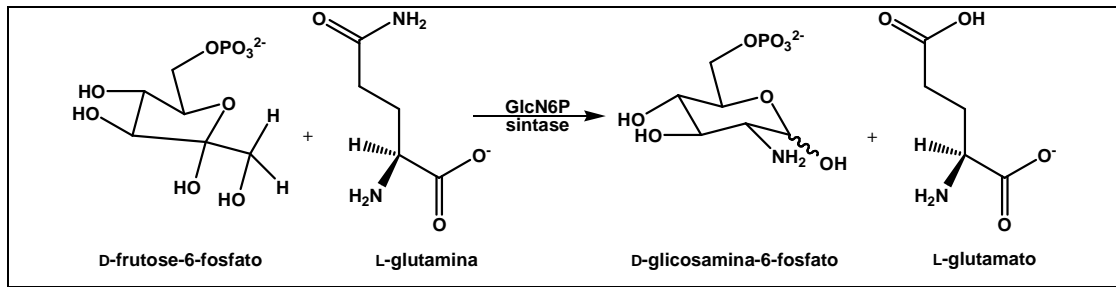
Os alvos moleculares dos agentes antifúngicos disponíveis no arsenal terapêutico são bastante diversificados. Tem-se como exemplo os que atuam na parede celular dos fungos (equinocandinas), no ergosterol presente na membrana fosfolipídica (polienos), na síntese de ergosterol (azóis, alilaminas), na síntese do DNA e RNA (análogos de nucleosídeos), na síntese de proteínas (sordarinas) e os que atuam na montagem dos microtúbulos (griseofulvina) (ODDS et al., 2003). Destes, apenas fármacos das classes dos polienos (anfotericina B e suas várias formulações), análogos de nucleosídeos (flucitosina), azóis (cetoconazol, fluconazol, itraconazol e voriconazol) e equinocandinas (caspofungina) são utilizados no tratamento de infecções fúngicas invasivas (WINGARD et al., 2004). Alguns destes fármacos estão representados na figura 1.1.

O agente antifúngico ideal deveria ter elevada atividade antifúngica, amplo espectro de ação, ser fungicida, ter baixa indução à resistência, ser ativo contra microrganismos resistentes aos outros fármacos, possuir baixa toxicidade e preço acessível. Nenhum dos fármacos antifúngicos disponível para uso apresenta todas essas características (BOROWSKI, 2000). O desenvolvimento racional de novos agentes antifúngicos baseia-se em duas estratégias: modificação de um fármaco já conhecido ou a busca de novos fármacos que atuem em alvos moleculares, conhecidos ou não (BOROWSKI, 2000).

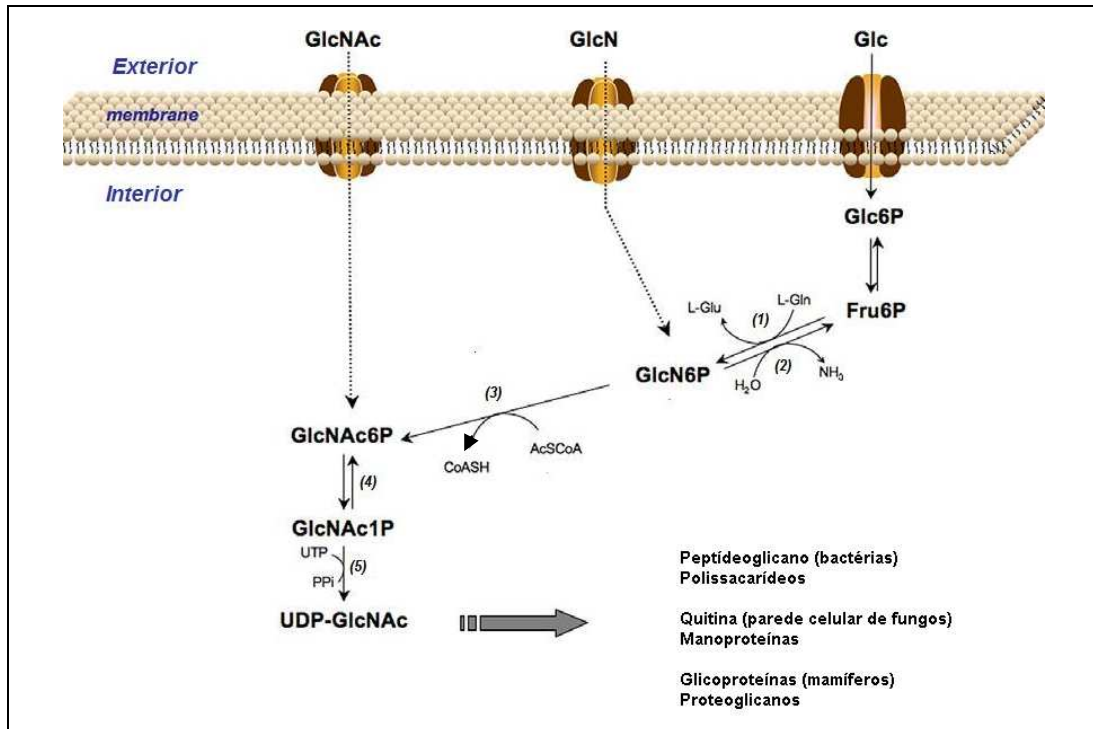


**Figura 1.1** – Exemplos de fármacos usados clinicamente.

A enzima glicosamina-6-fosfato sintase (GlcN6P sintase) vem sendo estudada como um novo alvo para agentes antifúngicos (CHAMARA et al., 1985; MILEWSKI et al., 1985; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1986; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1987; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1990a; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1990b; AUVIN et al., 1991; BADET-DENISOT et al., 1995; MILEWSKI et al., 1997; LERICHE et al., 1997; LE CAMUS et al., 1998a; LE CAMUS et al., 1998b; WALKER et al., 2000; BOROWSKI, 2000; ZGÓDKA et al., 2001; MILEWSKI et al., 2002; CHITTUR et al., 2002; JANIAC et al., 2003; MILEWSKI et al., 2006; MELCER et al., 2007; DURAND et al., 2008; VIANA et al., 2008, GONZÁLES-IBARRA et al., 2009). Esta enzima é responsável pela primeira etapa da biossíntese de quitina: a transformação da D-frutose-6-fosfato em D-glicosamina-6-fosfato e com isso está envolvida diretamente na síntese da parede celular dos fungos (WARREN, 1972) (Figura 1.2 e 1.3).

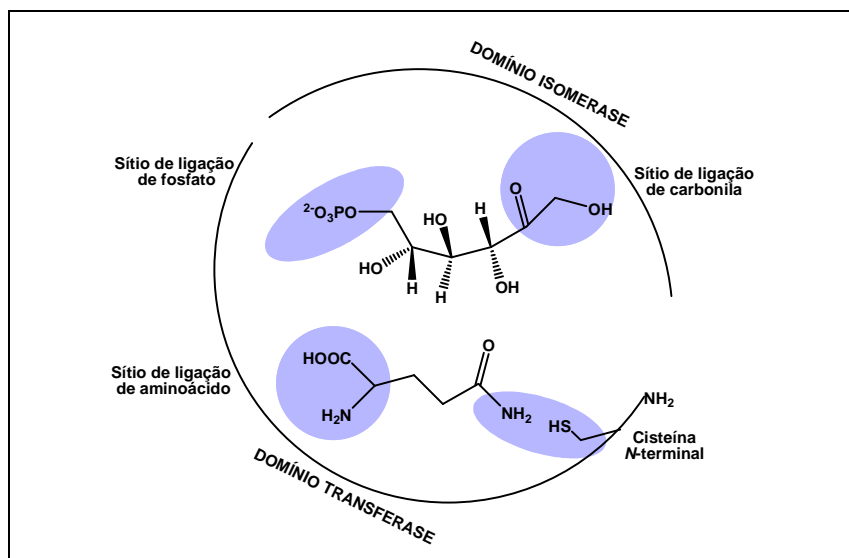


**Figura 1.2** – Reação catalisada pela GlcN6P sintase (BEARNE, 1996).



**Figura 1.3** – Representação esquemática da biossíntese de hexosaminas. (1) GlcN6P sintase; (2) GlcN6P desaminase; (3) GlcN6P *N*-acetiltransferase; (4) Fosfoglicosamina mutase; (5) *N*-acetilglicosamina-1P uridil transferase (DURAND et al., 2008).

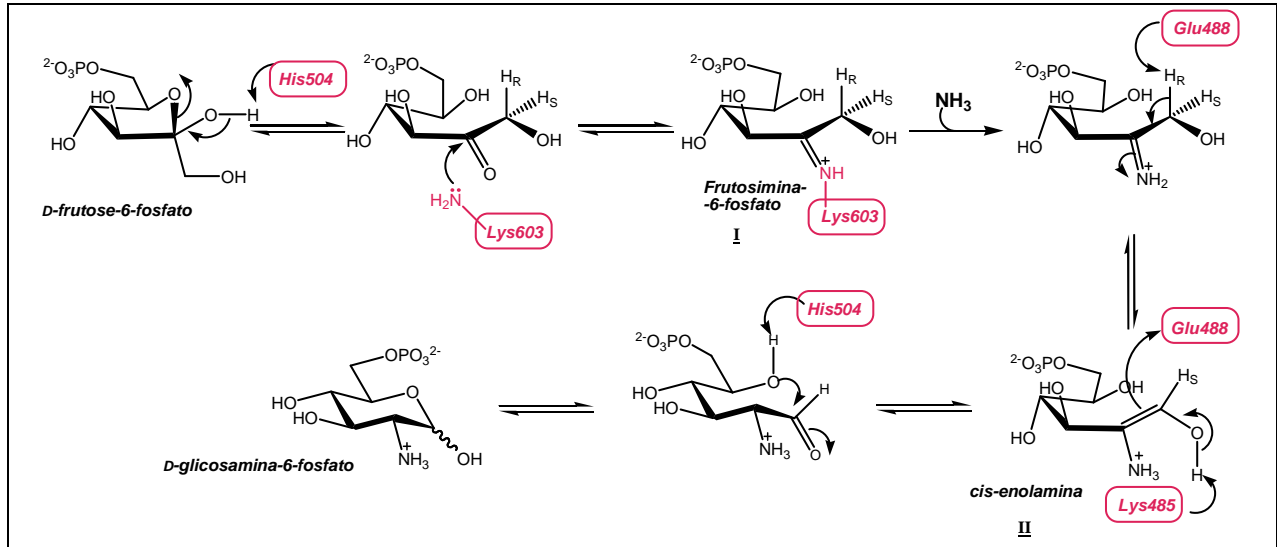
Na *via* biossintética da quitina, inicialmente D-frutose-6-fosfato é convertida em D-glicosamina-6-fosfato, por ação de GlcN6P sintase. Em seguida, a *N*-acetil-D-glicosamina-6-fosfato é isomerizada a *N*-acetil-D-glicosamina-1-fosfato (GlcN1P), esta é convertida em uridina-5'-difosfo-*N*-acetil-D-glicosamina (UDP-GlcNAc) (Figura 1.4), substrato para a enzima quitina sintase (MUNRO et al., 1995). A GlcN6P sintase possui alta especificidade para L-glutamina como doadora de grupo amino (que se liga no domínio transferase da enzima) e para D-frutose-6-fosfato (que se liga no domínio isomerase), substrato aceptor do grupo amino. É uma enzima essencial para o fungo e a deleção de seu respectivo gene é letal (WHELAN et al., 1975). A Figura 1.4 é uma representação esquemática do sítio ativo da GlcN6P sintase com os substratos L-glutamina e D-frutose-6-fosfato ligados.



**Figura 1.4** – Representação esquemática do sítio ativo da GlcN6P sintase com seus substratos (CHITTUR et al., 2002).

Em *Escherichia coli*, a GlcN6P sintase é também chamada de GlmS. A GlmS possui estrutura homodimérica e cada monômero é formado por dois domínios estruturais: o *N*-terminal, que é o domínio glutaminase e que catalisa a formação de amônia pela hidrólise de glutamina; e o *C*-terminal que é o domínio isomerase e é responsável pela adição de amônia à D-frutose-6-fosfato e assim formar D-glicosamina-6-fosfato (BADET et al., 1987). Nos eucariotos a enzima é chamada de Gfa (Gfa1 para *Candida albicans* e GfaT para humanos) e se apresenta na forma homotetramérica (TEPLYAKOV et al., 1998). Foi determinado por cristalografia de raios X que existe um canal conectado a ambos os domínios. Este é um canal hidrofóbico, responsável pela transferência de amônia entre os dois domínios (MASSIÈRE et al., 1998; TEPLYAKOV et al., 2001; MOUILLERON et al., 2006; RACZYNSKA et al., 2007). Este canal é bloqueado pelo grupo indol de um resíduo de triptofano e é aberto somente para a passagem da amônia. Com esse bloqueio, somente a amônia produzida na hidrólise da L-glutamina pela GlcN6P sintase chega ao domínio isomerase e isso impede que íons amônio, presentes no ambiente celular cheguem ao domínio isomerase. A hidrólise da L-glutamina somente ocorre quando a D-frutose-6-fosfato está ligada ao sítio isomerase (MOUILLERON et al., 2006).

Para entender o mecanismo da reação catalisada pela GlcN6P sintase vêm sendo realizados muitos estudos cinéticos, bioquímicos e estruturais utilizando-se as enzimas de *E. coli* e de *Candida albicans*. De um modo geral, essa reação acontece em três passos: (i) hidrólise da L-glutamina; (ii) transporte da amônia liberada ao sítio isomerase, pelo canal de amônia, para reação com D-frutose e (iii) isomerização da frutosimina-6-fosfato (**I**) em D-glicosamina-6-fosfato (Figura 1.5) (MILEWSKI, 2002; TEPLAYKOV et al., 2002; MOUILLERON et al., 2008; FLOQUET et al., 2009).



**Figura 1.5** – Mecanismo simplificado de formação de glicosamina-6-fosfato, catalisada pela GlcN6P sintase. Estão assinalados os estados de transição frutosimina-6-fosfato e *cis*-enolamina (MOUILLERON et al., 2006).

A síntese de análogos de glutamina, como potentes inibidores da enzima, é descrita por diversos autores. Estes compostos têm demonstrado alta seletividade, sendo que alguns são inibidores irreversíveis por se ligarem covalentemente à enzima (ZGÓDKA, et al., 2001; CHMARA et al., 1998; WALKER et al., 2000; AUVIN et al., 1991; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1987; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1990a; ANDRUSZKIEWICZ et al., 1990b). Destes trabalhos, a maioria relata estudos com derivados do ácido *N*<sup>3</sup>-(4-metoxifumaroil)-L-2,3-diaminopropanóico (FMDP) (Tabela 1.1), que é um potente e seletivo inibidor de GlcN6P sintase. Estes derivados são, na sua maioria, ésteres e/ou amidas de FMDP ou dí, tri e polipeptídeos contendo FMDP em suas estruturas (ANDRUSZKIEWICZ et al.; 1990a). Esses derivados peptídicos apresentam elevada atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo*, mas são instáveis em solução e não possuem propriedades farmacocinéticas favoráveis. Na tabela 1.1 estão representados alguns análogos de L-glutamina e as respectivas constantes de inibição ( $K_i$  ou  $K_{irr}$ ) para GlcN6P sintase.

**Tabela 1.1** – Exemplos de análogos de L-glutamina inibidores de GlcN6P sintase (MILEWSKI, 2002).

DON $K_{irr} = 2,8 \mu\text{mol/L}$	$\gamma\text{-Glu(P)NDEA}$ $K_i = 235 \mu\text{mol/L}$	FMDP $K_{irr} = 5,1 \mu\text{mol/L}$	EADP $K_{irr} = 14,3 \mu\text{mol/L}$	BDAP $K_{irr} = 15 \mu\text{mol/L}$
Anticapsina $K_{irr} = 9 \mu\text{mol/L}$	DSON $K_{irr} = 0,37 \mu\text{mol/L}$	$\gamma\text{-GSA}$ $K_i = 0,03 \mu\text{mol/L}$	$\gamma\text{-GDFTG}$ $K_i = 36 \text{mmol/L}$	$\gamma\text{-GHM}$ $K_i = 160 \mu\text{mol/L}$

$K_i$  = constante de inibição;  $K_{irr}$  = constante de inibição irreversível.

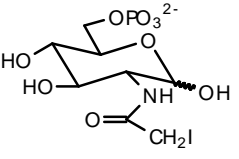
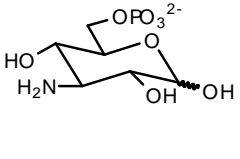
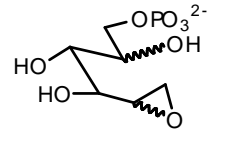
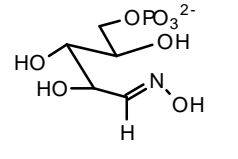
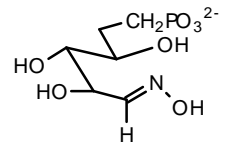
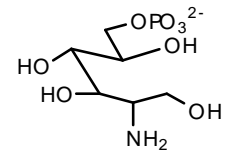
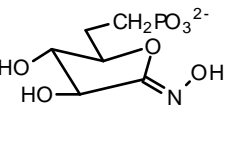
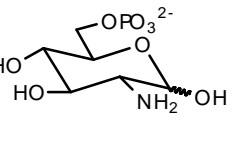
Existem poucos trabalhos que relatam o uso de análogos de D-frutose-6-fosfato como inibidores de GlcN6P sintase. Leriche e colaboradores relataram a síntese de uma mistura diastereoisomérica de 1,2-anidro-hexitóis fosforilados em C-6 (AHP) que inibiu a GlcN6P sintase de *Escherichia coli* com constante de inibição irreversível ( $K_{irr}$ ) de 1,4 mmol/L (LERICHE et al., 1997).

Foi relatada, também, a inibição da enzima pela glicosamina-6-fosfato (GlcN-6-P), com constante de inibição ( $K_i$ ) de 0,35 mmol/L (KUCHARCZYK et al., 1990), e a inativação pelo derivado *N*-iodoacetil-glicosamina-6-fosfato (IAGN) com  $K_{irr}$  de 0,22 mmol/L (BEARNE, 1996) (Tabela 1.2).

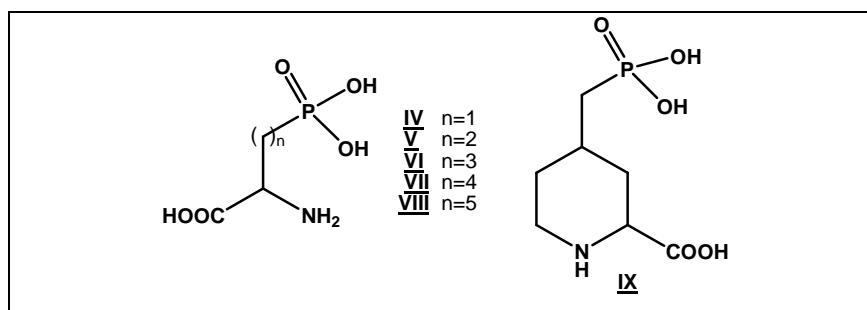
Análogos que mimetizam os estados de transição frutosinima-6-fosfato (I) e *cis*-enolamina (II) (Figura 1.5) foram sintetizados e avaliados como potenciais inibidores da enzima (BADET-DENISOT et al., 1995; LE CAMUS et al., 1998a; LE CAMUS et al., 1998b). A oxima de arabinose-5-fosfato (APO) e seu análogo metileno-fosfonato (AMPO), bem como o 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato (III) (ADGP) estão entre os análogos da *cis*-enolamina (II) (Figura 1.5), enquanto que 5-metilfosfono-D-arabino hidroximolactona (MPAH) mimetiza a frutosinima-6-fosfato (I) (Figura 1.5). Estes compostos e suas respectivas constantes de inibição para a GlcN6P sintase de *Escherichia coli* estão representados na tabela 1.2.



**Tabela 1.2** – Inibidores de GlcN6P sintase de *Escherichia coli* que interagem com o domínio isomerase (MILEWSKI, 2002).

			
IAGN $K_{\text{irr}} = 0,22 \text{ mmol/L}$	K6P $K_i = 5,9 \text{ mmol/L}$	AHP $K_{\text{irr}} = 1,4 \text{ mmol/L}$	APO $K_i = 14,3 \text{ } \mu\text{mol/L}$
			
AMPO $K_i = 0,36 \text{ mmol/L}$	ADGP <u>III</u> $K_i = 25 \text{ } \mu\text{mol/L}$	MPAH $K_i = 0,4 \text{ mmol/L}$	GlcN-6-P $K_i = 0,35 \text{ mmol/L}$

Chittur e colaboradores descreveram a síntese de análogos multissubstratos e inibidores da GlcN6P sintase. Esses inibidores se ligaram simultaneamente ao sítio de ligação do grupo fosfato (do domínio isomerase) e ao sítio de ligação de aminoácido (do domínio transferase) (Figura 1.6) (CHITTUR et al., 2002).



**Figura 1.6** – Análogos multissubstratos inibidores de GlcN6P sintase de *Candida albicans* (CHITTUR et al., 2002).

A concentração inibitória mínima ( $CI_{50}$ ) para essas substâncias foi determinada, e, assim, foi deduzida a distância aproximada entre esses dois sítios (com base na distância entre o carbono  $\alpha$  do aminoácido e o átomo de fósforo do fosfonato) (Tabela 1.3). Foi observado que à medida que a cadeia carbônica do substrato aumenta ocorre uma redução da atividade inibitória. Os compostos **IV** e **IX** foram os mais ativos com valores de  $CI_{50}$  0,01 e 0,40  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente. O composto **IX**, que é análogo estrutural de **VI**, apresentou maior potência que **V**. Isso pode ser devido à natureza rígida da molécula, que pode ter facilitado a interação deste à enzima. Por outro lado, verificou-se também que o sítio de ligação da glutamina pode tolerar grupos volumosos e que neste caso, a natureza hidrofóbica do anel piperidínico pode ter facilitado a interação de **IX** à enzima. Com os dados obtidos neste estudo os

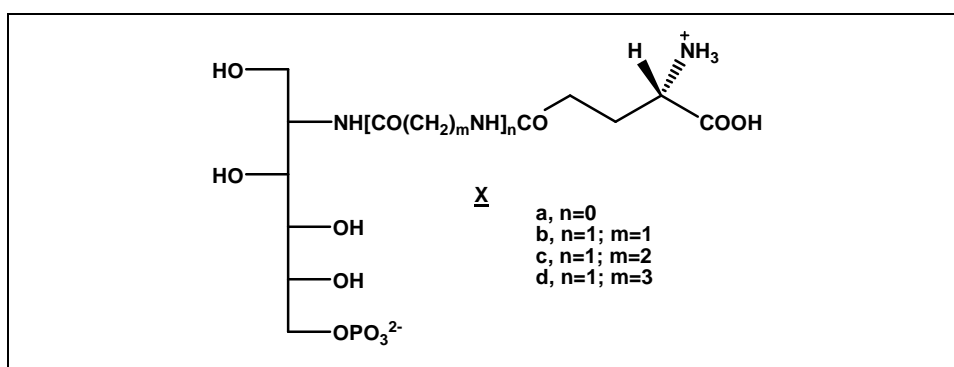
autores consideraram que a distância entre os sítios de ligação do fosfato e do aminoácido é de aproximadamente 3 Å (CHITTUR et al., 2002).

**Tabela 1.3** – Valores das potências inibitórias para os compostos **IV** a **IX** contra a GlcN6P sintase de *Candida albicans* (CHITTUR et al., 2002).

<i>Composto</i>	<i>CI<sub>50</sub> (μmol/L)</i>	<i>Distância entre Cα-P(Å)</i>
<b>IV</b>	0,01	2,87
<b>V</b>	10	4,25
<b>VI</b>	210	5,38
<b>VII</b>	250	6,73
<b>VIII</b>	270	7,94
<b>IX</b>	0,4	4,83

Cα – carbono alfa; P – átomo de fósforo do fosfonato.

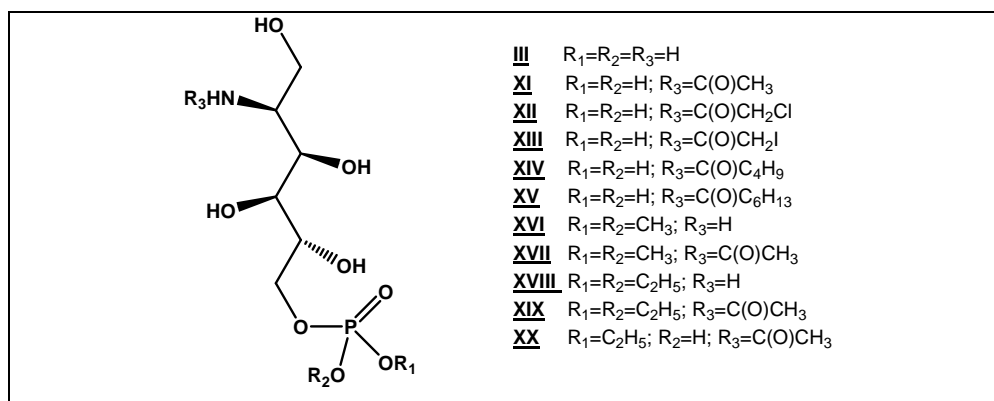
Badet-Denisot e colaboradores relataram a síntese de análogos bissubstratos (Figura 1.7) para avaliar as propostas para o mecanismo de ação da GlcN6P sintase (BADET-DENISOT et al., 1995). Estes foram planejados de modo que a distância entre os resíduos do hexitol e de glutamina dos substratos aumentasse por inserção de glicina, β-alanina ou ácido γ-aminobutírico. Desta forma, seriam obtidas informações sobre a distância entre os sítios de ligação do substrato durante a catálise. No entanto, nenhum dos compostos sintetizados apresentou inibição significativa até 3 mmol/L. Isso foi atribuído à alta flexibilidade destes compostos, que prejudicaria uma correta orientação para entrarem no sítio de ligação, e à possível mudança na conformação da proteína com a ligação a estes substratos (BADET-DENISOT et al., 1995).



**Figura 1.7** – Estrutura dos análogos bissubstratos de GlcN6P sintase, derivados de 2-amino-2-desoxi-D-glucitol e L-glutamina (BADET-DENISOT et al., 1995).

O 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato (ADGP, **III**), apesar de ser um potente inibidor de GlcN6P sintase, possui baixa atividade antifúngica. Isso foi atribuído à baixa penetração através da parede celular do fungo em razão de sua elevada polaridade (BADET-DENISOT et al., 1995). Na tentativa de melhorar sua atividade antifúngica foram sintetizados derivados mais lipofílicos que ADGP (**III**)

(Figura 1.8) (JANIAK et al., 2003). Assim, derivados de **III** modificados no grupo amino de C-2 e no grupo fosfato de C-6 foram planejados e sintetizados. As modificações em C-2 consistiram na obtenção de amidas em que o tamanho e a natureza da cadeia carbônica fossem variados. Com relação a C-6 foram obtidos os ésteres dimetílico, dietílico e monoetílico de fosfato. Essas substâncias foram avaliadas com relação a suas atividades antifúngica e inibitória da GlcN6P sintase.



**Figura 1.8** – Estruturas do 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato (**III**) e dos derivados **XI-XX** (JANIAK et al., 2003).

Todos os derivados foram inibidores mais fracos que o ADGP para a GlcN6P sintase. A atividade inibitória foi reduzida após a *N*-acilação do ADGP (derivados **XI** a **XV**) e a esterificação do grupo fosfato reduziu a potência inibitória (derivados **XVI** e **XVIII**), embora com menor intensidade que o observado para os compostos *N*-acilados. O teste para a determinação da CI<sub>50</sub> foi realizado com a enzima pura e também com um extrato celular. Os valores de CI<sub>50</sub> para os ésteres de fosfato foram maiores para a enzima pura do que para o extrato celular. Isso pode ser atribuído à presença de esterases no extrato, que catalisariam a hidrólise dos ésteres a ADGP. Tanto a acilação do grupo amino quanto a esterificação do grupo fosfato na molécula de ADGP não influenciaram na maneira da inibição (competitiva) (JANIAK et al., 2003). Esses compostos também foram submetidos ao teste de atividade antifúngica e o resultado pode ser verificado na tabela 1.4. O derivado **XIII** foi excluído, pois não apresentou atividade contra a enzima.

**Tabela 1.4** – Atividade antifúngica *in vitro* de ADGP (**III**) e seus derivados (JANIÁK et al., 2003).

Compostos	CIM (mg/mL)					
	<i>C. albicans</i> ATCC 10261	<i>C. albicans</i> ATCC 26278	<i>C. famata</i>	<i>C. humicola</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9736
<b>III</b>	5	5	5	5	>10	2.5
<b>XI</b>	5	5	>10	5	25	0.75
<b>XII</b>	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<b>XIV</b>	2.5	2.5	2.5	5	5	2.5
<b>XV</b>	10	10	5	10	10	5
<b>XVI</b>	0.3	0.3	0.6	ND	2.5	0.6
<b>XVII</b>	5	10	>10	ND	5	1.25
<b>XVIII</b>	0.6	0.6	1.25	1.25	2.5	0.6
<b>XIX</b>	10	5	10	ND	5	1.25
<b>XX</b>	2.5	2.5	10	5	1.25	10

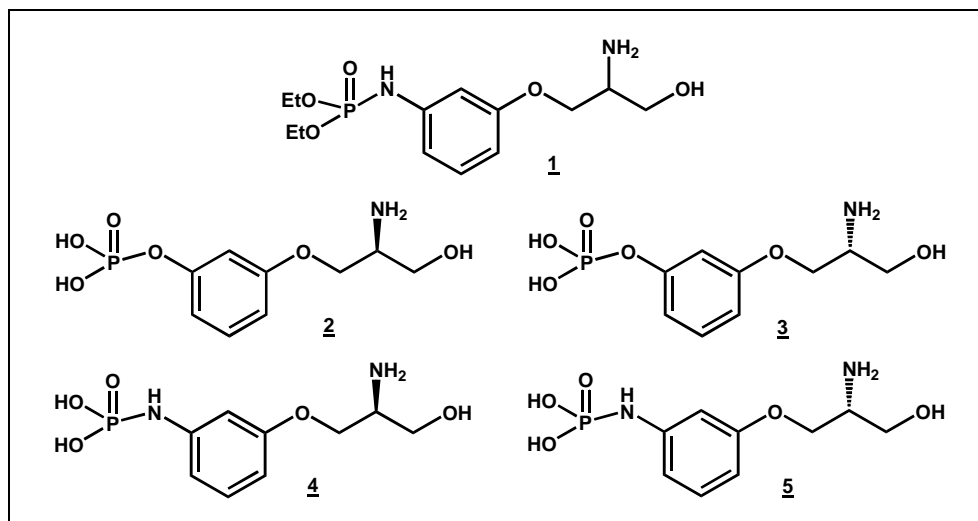
Os compostos analisados apresentaram, em sua maioria, atividade antifúngica baixa (concentrações inibitórias mínimas entre 2,5 e 10 mg/mL). Entretanto, os ésteres **XVI** e **XVIII** foram consideravelmente mais ativos do que **III**. O *N*-acetil-ADGP (**XI**), apesar de ser um inibidor mais fraco da GlcN6P sintase do que o ADGP (**III**) inibiu o crescimento fúngico em concentrações similares ou até mesmo menores que **III**. O maior caráter lipofílico desses ésteres, comparado ao do ADGP, deve favorecer a penetração nas células de *Candida albicans*, o que foi confirmado pelos autores que demonstraram que **III**, **XI** e **XVI** penetram em células de *C. albicans* ATCC10261 em parte por difusão passiva e em parte por transporte ativo. Estudos de metabolismo intracelular para os derivados *N*-acetil-ADGP (**XI**) e para o éster dimetílico (**XVI**) demonstraram que estes derivados são metabolizados ao penetrarem nas células, levando à formação de ADGP (**III**). Desta forma, estes ésteres estariam funcionando como pró-fármacos.

Estudos recentes, de inibição da glicosamina-6-fosfato sintase de *Candida albicans*, demonstraram que o derivado 2-amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato (ADMP, **XXI**) (Figura 1.9), que é um epímero em C-2 do ADGP (**III**), é o inibidor mais eficiente, com constante de inibição de 9  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto que para o ADGP (**III**) a constante de inibição foi de 35  $\mu\text{mol/L}$ . O ADMP (**XXI**), assim como o ADGP, é análogo do estado de transição *cis*-enolamina **II** (WOJCIECHOWSKI et al., 2005; MILEWSKI et al., 2006). A inversão de configuração de C-2 permite que o ADMP faça uma ligação de hidrogênio a mais que o ADGP no sítio ativo da enzima com o resíduo de glutamato 591 (Glu591) (RACZYNSKA et al., 2007).



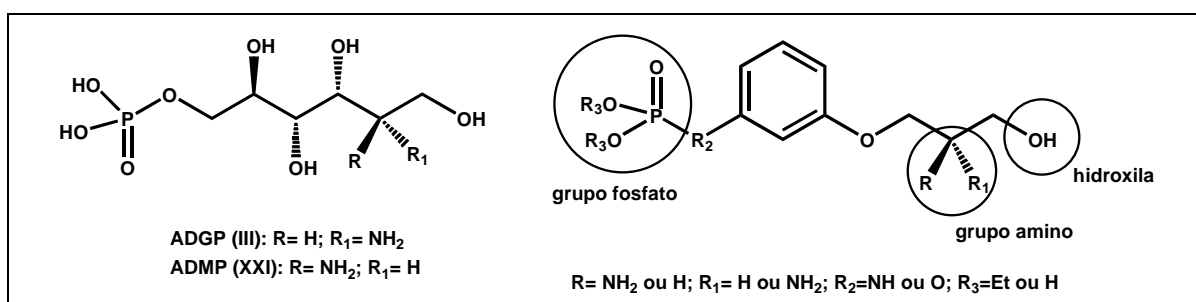
## 2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Foram objetivos, neste trabalho, a síntese e a avaliação da atividade antimicrobiana de cinco análogos aromáticos: as fosforamidas **1**, **4** e **5**, derivados de 3-aminofenol, e os fosfatos **2** e **3**, derivados do resorcinol. (Figura 2.1).



**Figura 2.1** – Estruturas químicas dos derivados aromáticos **1-5**.

Estes derivados aromáticos foram planejados de modo a conterem um grupo fosforamido ou fosfato, um grupo amino e uma hidroxila (Figura 4.1). Estes teriam a distância entre o grupo fosforila e o grupo amino, grupos importantes na interação com o sítio ativo da enzima, próxima à observada para os derivados de carboidratos (sete ligações entre os átomos de nitrogênio e de fósforo para os inibidores conhecidos e oito para os derivados não carboidrato). Essa distância, além da restrição conformacional imposta pelo núcleo aromático, favoreceria o encaixe no sítio ativo da enzima.

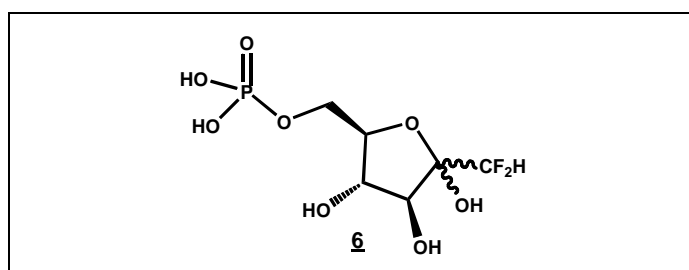


**Figura 2.2** – Estruturas simplificadas dos análogos aromáticos planejados neste trabalho em comparação aos inibidores ADGP (**III**) e ADMP (**XXI**).

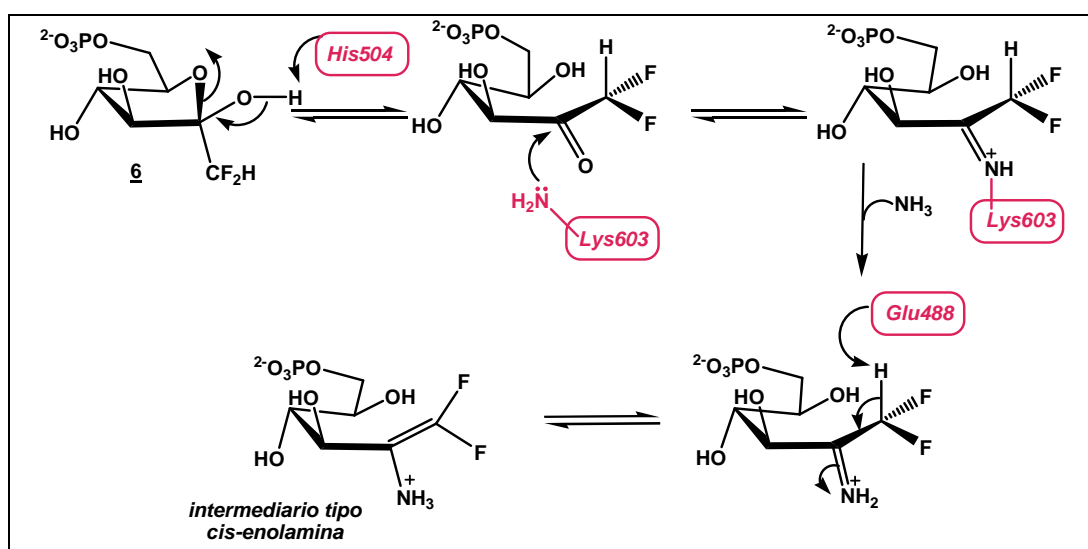
Estes compostos aromáticos seriam análogos mais lipofílicos que o ADGP (**III**) e ADMP (**XXI**), o que favoreceria sua penetração através da parede celular de fungos por transporte passivo. O derivado **1**, poderia ter seu grupo dietila hidrolisado por ação de esterases presentes nas células e assim liberar a substância ativa, o que melhoraria a atividade antifúngica, relativamente ao protótipo (ADGP). A

substituição de carboidratos por grupos aromáticos vem sendo descrita como estratégia de síntese de moléculas bioativas (FINLEY et al., 1999; RAIBER et al., 2007).

Objetivou-se também a síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose-6-fosfato **6** (Figura 2.3), que foi planejado pela equipe do Dr. Bernard BADET (ICSN/ CNRS), no âmbito de um projeto de obtenção de análogos fluorados de D-frutose-6-fosfato. Espera-se que a presença dos átomos de flúor contribua para a inibição da GlcN6P sintase na etapa de isomerização do intermediário tipo *cis*-enolamina em D-glicosamina-6-fosfato. Como o análogo difluorado **6** não possui a hidroxila necessária para a ciclização, este manteria o açúcar na forma aberta e, dessa forma, a reação catalisada pela enzima deveria parar neste intermediário, sendo impossível a formação do produto, a D-glicosamina-6-fosfato (Figura 2.4).



**Figura 2.3** – Estrutura do análogo difluorado de D-frutose-6-fosfato **6**.



**Figura 2.4** – Proposta simplificada do mecanismo de inibição de GlcN6P sintase por **6**.

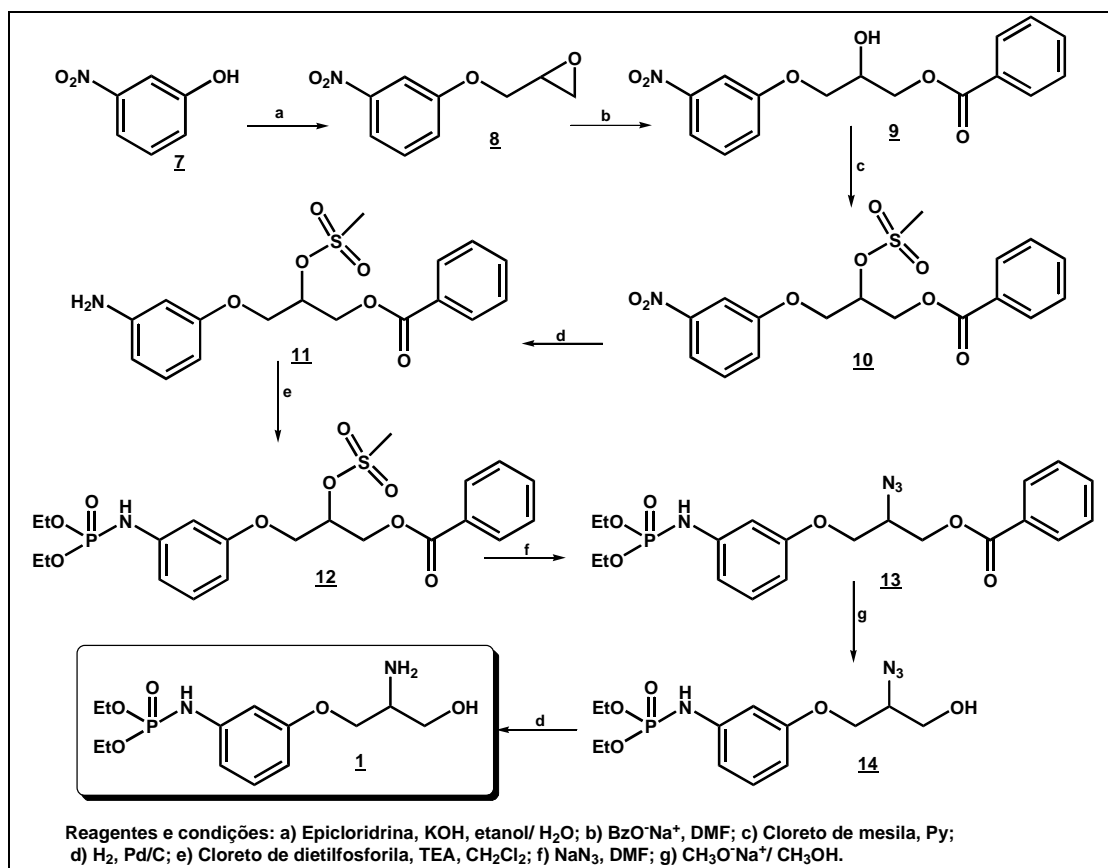
Compostos contendo flúor em suas estruturas têm tido considerável interesse nos últimos anos devido à sua crescente importância nas ciências da saúde, especialmente no desenvolvimento de fármacos (ISEKI, 1998; HAGMANN, 2008). A introdução do flúor nas moléculas permite modificações nos compostos bioativos, como por exemplo, na densidade eletrônica, acidez e basicidade, e

frequentemente leva à descoberta de novos e potentes agentes medicinais e ferramentas bioquímicas (ISEKI, 1998; CUENCA et al, 2005). Além disso, a presença do flúor na estrutura pode acarretar em modificações de interações, estabilidade metabólica, mudanças nas propriedades físicas e reatividade seletiva (HAGMANN, 2008). O flúor pode atuar como aceptor de hidrogênio e a substituição do grupo hidroxila por flúor em compostos bioativos, devido à similaridade do comprimento da ligação C-F e C-O (aproximadamente 1,39 e 1,43 Å, respectivamente), pode ser efetuada mantendo-se a atividade biológica (ISEKI, 1998).



### 3 PLANO DE SÍNTESE

Para a obtenção de **1**, planejou-se, inicialmente, uma rota sintética de oito etapas a partir de 3-nitrofenol (**7**) (Figura 3.1).



**Figura 3.1** – Proposta de síntese para a obtenção de **1**.

A primeira etapa dessa síntese seria a obtenção do éter glicídico **8**, por reação de **7** com epícloridrina e base (SCHWENDER et al., 1970). Em seguida, seria efetuada a abertura do anel oxirano do éter glicídico (**8**) com benzoato, seguida da mesilação da hidroxila secundária de **9** (JUNG et al., 2004). As etapas seguintes seriam a redução do grupo nitro de **10** a amina por hidrogenação catalítica (AVERY et al., 1980), a fosforilação do grupo amina de **11** com cloreto de dietilfosforila (HAMMERSCHMIDT et al., 2000) e a substituição do grupo mesiloxila por azido (**13**) (TEODOROVIC et al., 2005). A remoção do grupo benzoíla de **13** seria efetuada por reação de transesterificação com solução de metóxido de sódio em metanol (CZIFRÁK et al., 2006) e o grupo azido de **14** seria reduzido para a obtenção do produto final, a fosforamida protegida **1** (LEE et al., 2001) (Figura 3.1).

Para a obtenção dos fosfatos **2** e **3** e das fosforamidas **4** e **5**, foram propostas rotas de síntese a partir de derivados protegidos da serina, os ésteres metílicos **15R** e **15S** e dos derivados aromáticos

correspondentes: 3-benzoilresorcinol para os fosfatos **2** e **3** (Figura 3.2) e 3-nitrofenol para as fosforamidas **4** e **5** (Figura 3.3). Esses análogos seriam obtidos puros opticamente, uma vez que o éster metílico da serina **15**, que é o material de partida proposto para a síntese de ambos, seria utilizado na forma enantiomericamente pura (disponível comercialmente) e em cada série, *R* ou *S*, separadamente.

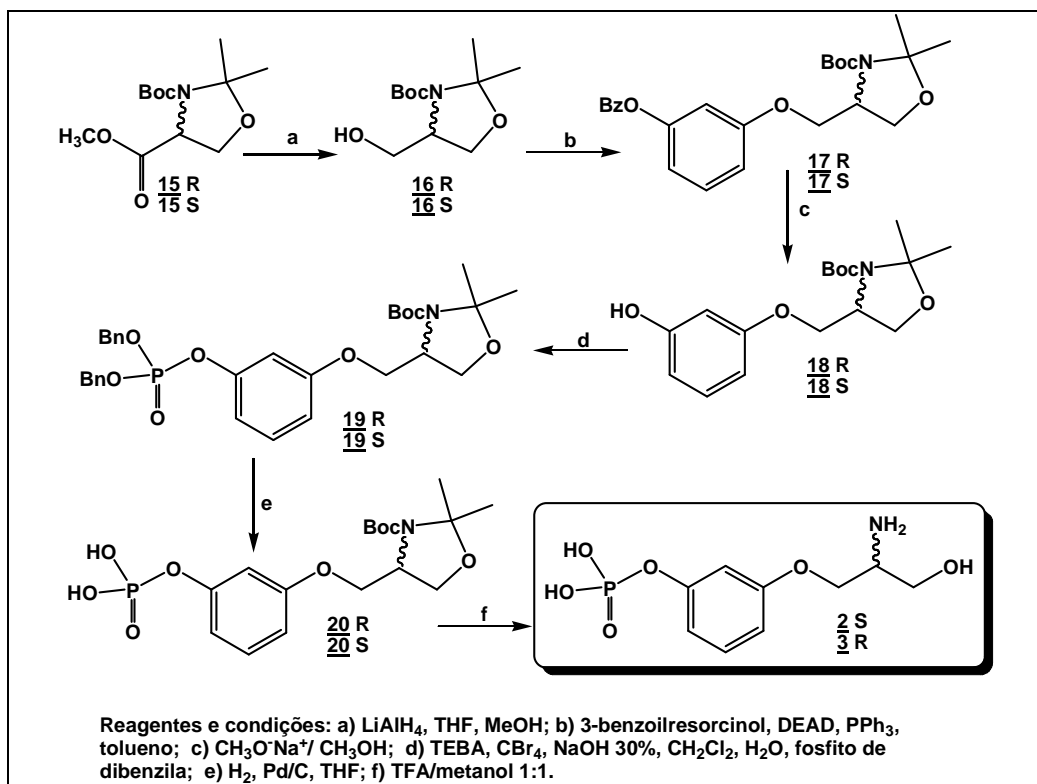
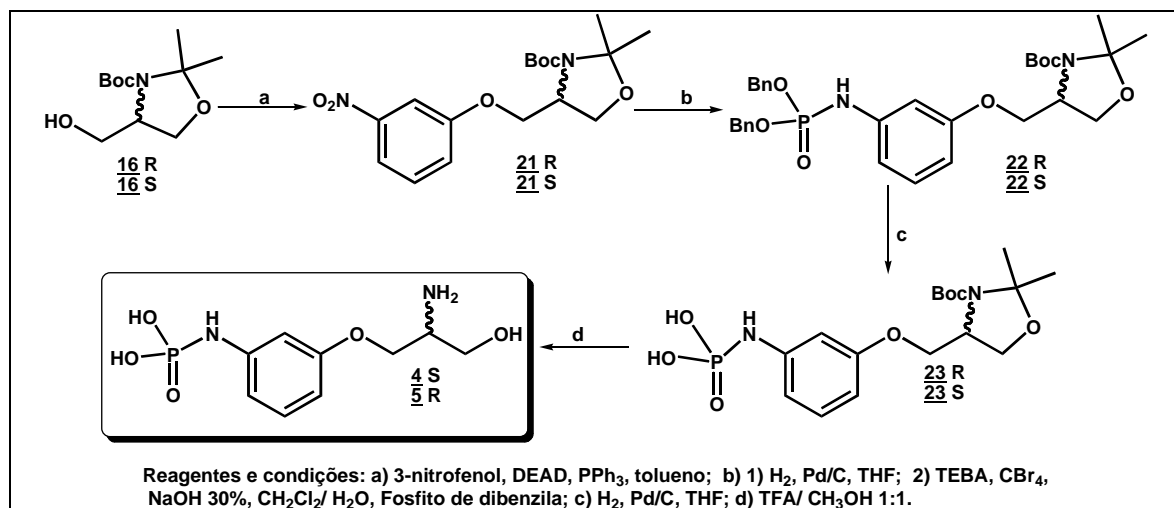


Figura 3.2 – Proposta de síntese para a obtenção de **2** e **3**.

Primeiramente, o éster metílico da serina **15** seria reduzido ao álcool correspondente por reação com hidreto de alumínio e lítio (ROUSH et al., 1995) e a reação deste com o 3-benzoilresorcinol conduziria ao éter **17** por reação de Mitsunobu (PAVÉ et al., 2003). Em seguida, a desproteção do éter aromático **17**, com metóxido de sódio em metanol, produziria o fenol **18** que seria submetido às condições de fosforilação com fosfito de dibenzila em condições de transferência de fase (ZWIERZAK, 1975) para a obtenção do fosfato protegido **19**. Este seria desprotegido por hidrogenação catalítica (BURLINGHAM et al., 2001) e a remoção dos grupo *N*-Boc e isopropilideno com TFA (MEFFRE et al., 1996) forneceria os análogos aromáticos **2** e **3**.

Para a síntese das fosforamidas **4** e **5** seriam realizadas etapas semelhantes às planejadas para a obtenção dos fosfatos (Figura 3.3).



**Figura 3.3** - Proposta de síntese para a obtenção de **4** e **5**.

Assim como para os fosfatos, o análogo serinol **16R** e/ou **16S** seria submetido às condições para a reação de Mitsunobu para a obtenção do éter aromático **21** (PAVÉ et al., 2003). A redução do grupo nitro a amino por hidrogenação catalítica e a fosforilação da anilina formada por reação com fosfito de dibenzila, em condições de transferência de fase (ZWIERZAK, 1975), deveria fornecer a fosforamida protegida **22**. Em seguida, a remoção dos grupo benzila, por hidrogenação catalítica e a remoção dos grupos *N*-Boc e isopropilideno de **22** com TFA (MEFFRE et al., 1996) conduziria às fosforamidas, puras opticamente **4S** e **5R**.

Para a obtenção do análogo difluorado da D-frutose-6-fosfato **6** foi planejada uma rota de síntese em seis etapas (Figura 3.4), a partir do ditioacetal da D-arabinose perbenzilada **24**, que era disponível no laboratório.

O ditioacetal da D-arabinose **24** seria submetido à reação de desproteção em presença de iodo (OHLSSON et al., 2001), e em seguida, a D-arabinose perbenzilada **25** seria submetida à reação de acoplamento com (dietoxiofosforil)difluorometil-lítio (OBAYASHI et al., 1982; PIETTRE et al., 1996b). A oxidação de **26**, com o reagente de *Dess-Martin* (PIGNARD et al., 2006), conduziria ao derivado **27** que poderia ser clivado, em presença de metóxido de sódio em metanol, e produzir o derivado **28**. As etapas seguintes seriam a desproteção das hidroxilas de **28** por hidrogenação catalítica (STORZ et al., 1998) e a fosforilação enzimática de **29**, por ação da hexoquinase, em presença de trifosfato de adenosina (ATP) (BESSEL et al., 1973), que levaria a **6**, o análogo difluorado da D-frutose-6-fosfato, potencial inibidor de GlcN6P sintase.

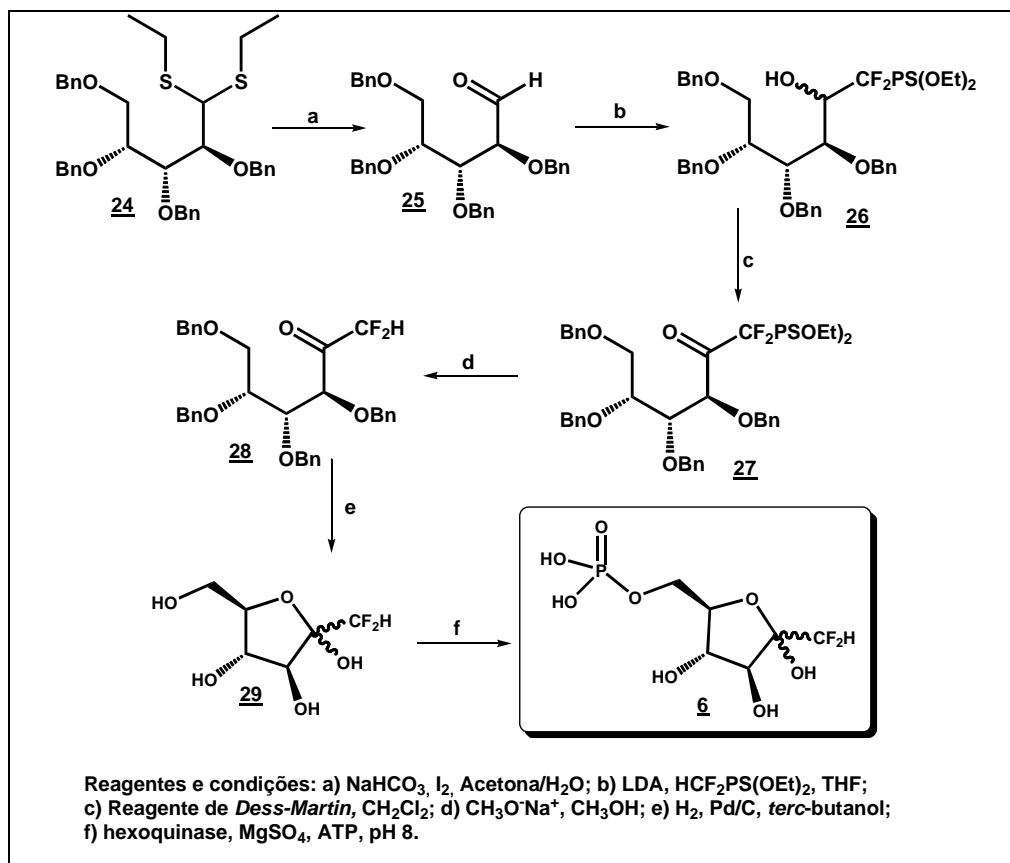
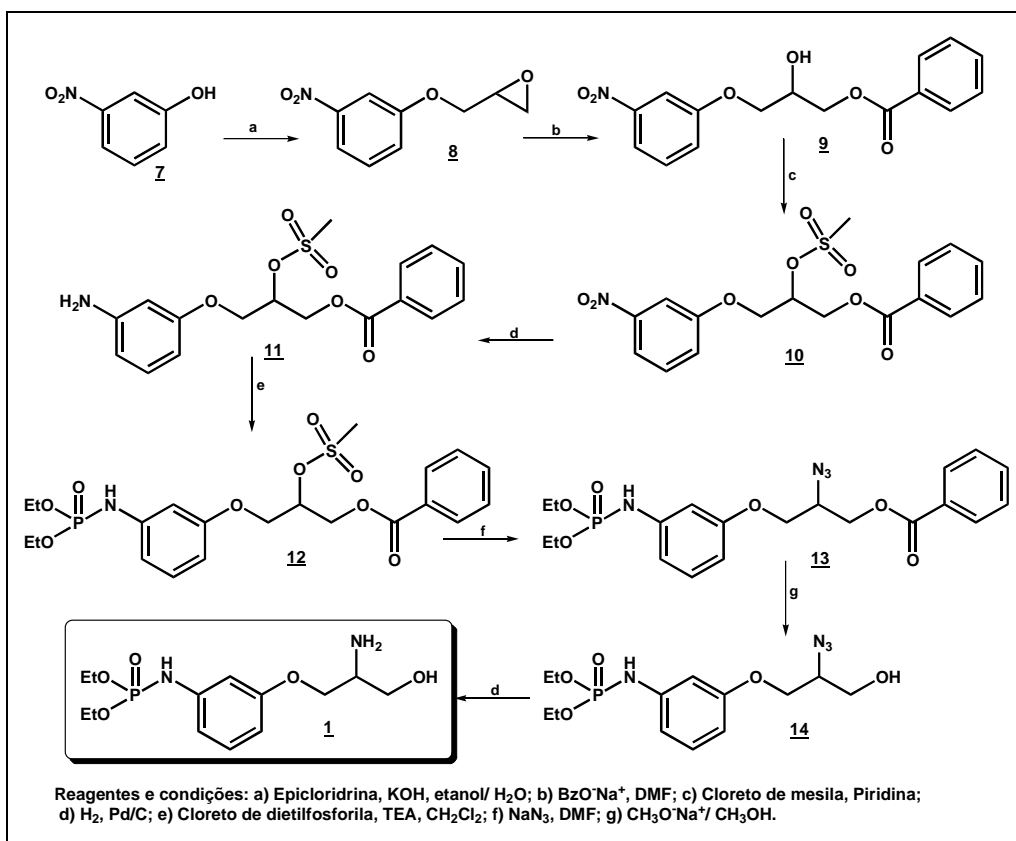


Figura 3.4 - Proposta de síntese para a obtenção de 6.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Síntese de 3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenilfosforamidata de dietila (**1**).

Para a síntese de **1** foi planejada, primeiramente, uma rota sintética em seis etapas a partir de 3-nitrofenol (**7**) (Figura 4.1).



**Figura 4.1** – Proposta para a síntese de **1**, via derivado benzoilado **9**.

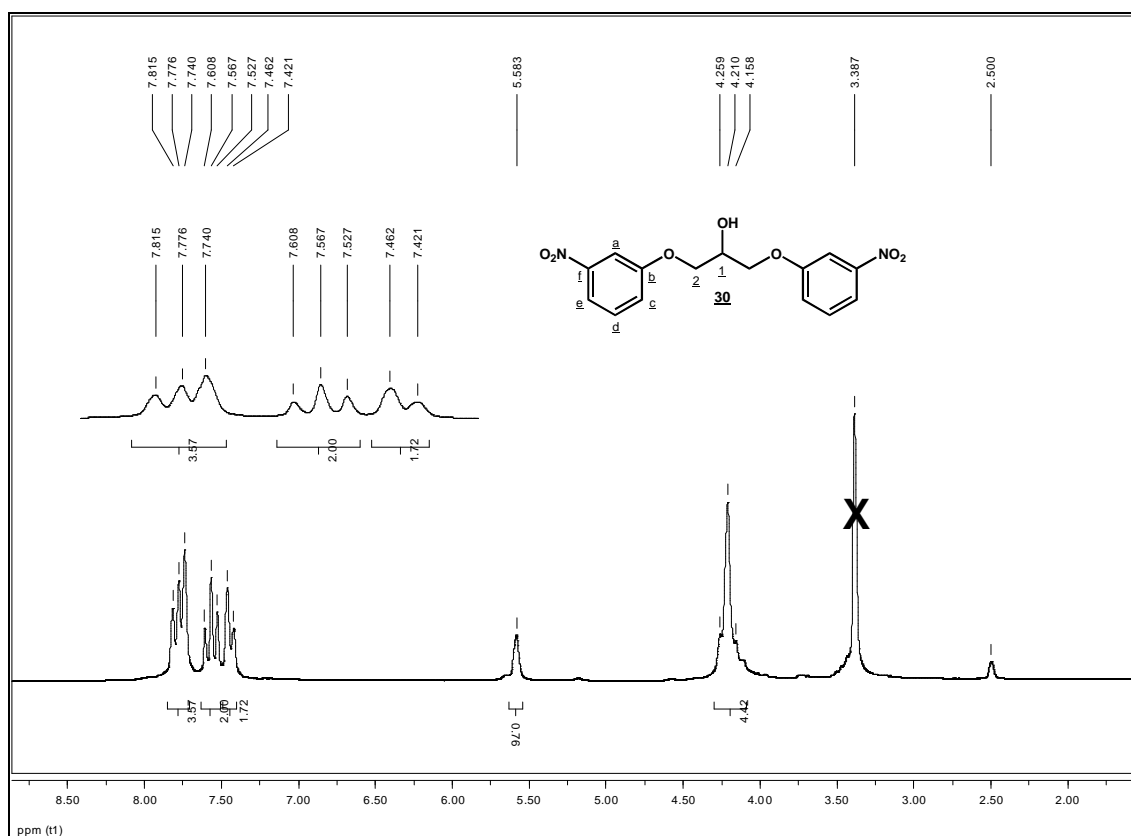
A primeira etapa dessa rota de síntese foi a reação do 3-nitrofenol com epicloridrina em presença de hidróxido de potássio (SCHWENDER et al., 1970) (Figura 4.1). O produto **8** foi obtido com 72% de rendimento, como um sólido branco amorfo.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **8** (Figura 4.2) foi observado, em  $\delta$  2,83 ppm, um duplete duplo que foi atribuído a H-1; em  $\delta$  2,98 ppm, um tripleto referente ao hidrogênio H-1' e em  $\delta$  3,39-3,45 ppm, um multiplete, que foi atribuído a H-2. Os dupletos duplos centrados em  $\delta$  4,01 e 4,41 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-3'. No espectro RMN de <sup>13</sup>C de **8** (Figura 4.3), foram observados os sinais de ressonância dos carbonos aromáticos. O sinal observado em  $\delta$  109,2 ppm foi atribuído a C-a, em  $\delta$  122,0 ppm, referente a C-c, em  $\delta$  130,2 ppm, o sinal referente a C-d. Os sinais em  $\delta$  149,4 ppm e  $\delta$  159,2 ppm, referentes aos carbonos não hidrogenados, foram atribuídos aos carbonos C-f e C-

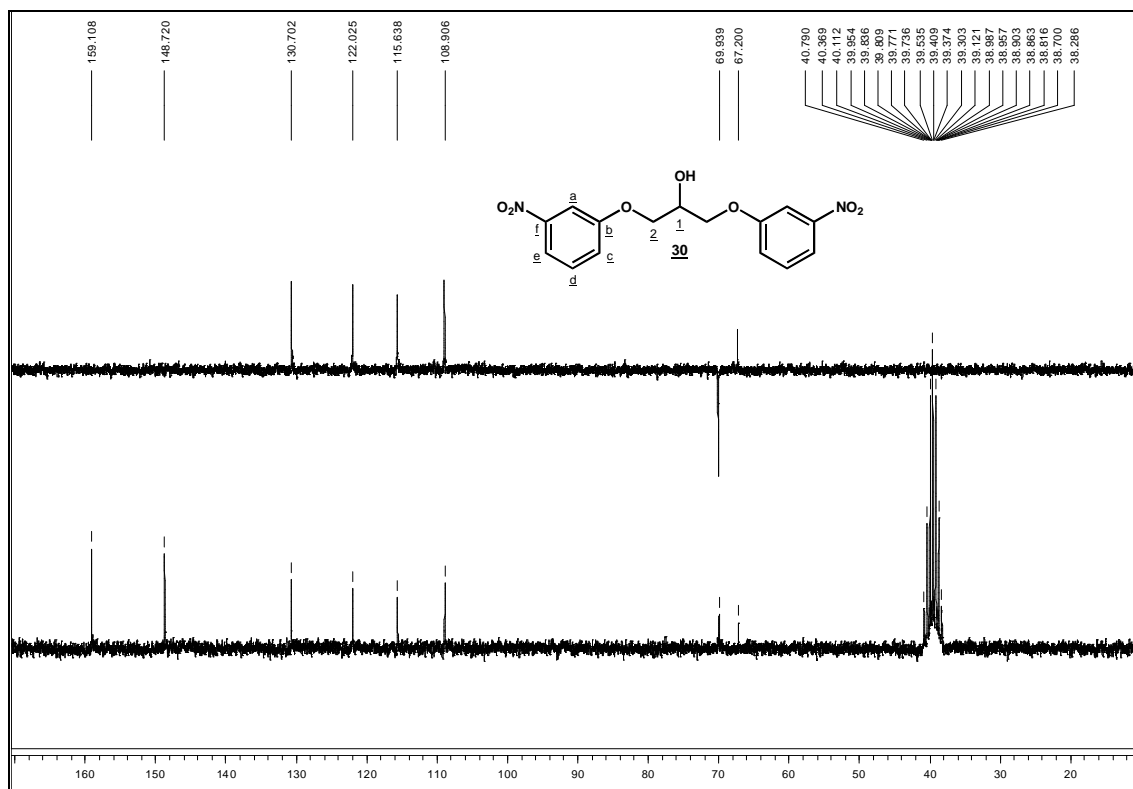


Desta reação, também foi isolado o dímero **30**, com rendimento de 8%. É observado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.4), que a proporção dos hidrogênios aromáticos está o dobro em relação aos hidrogênios da cadeia alifática, o que confirma a presença de dois grupos fenila em relação à cadeia alifática. Além disso, o multipletto em  $\delta$  4,16-4,26 ppm, com integral referente a quatro hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2, e, em  $\delta$  5,58 ppm, um sinal largo, referente ao hidrogênio H-1.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 4.5), a presença de dois sinais referentes à ressonâncias dos carbonos alifáticos, sugerem a existência de um plano de simetria na molécula. O sinal de ressonância em  $\delta$  67,2 ppm foi atribuído a C-1 e o sinal em  $\delta$  69,9 ppm, a C-2. Foram observados também os sinais de ressonância referentes aos carbonos aromáticos.



**Figura 4.4** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **30** (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).



**Figura 4.5** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **30** (50 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

A reação de abertura do epóxido do éter glicídico **8** com benzoato de sódio foi realizada em dimetilformamida (DMF) como solvente (Figura 4.1, página 36). Esta foi uma reação lenta e com rendimento de 30%. Nesta reação, foi observada a formação de um subproduto: o diol **31**, obtido com rendimento de 35%. As tentativas de reação tendo tetraidrofurano (THF) e acetonitrila como solventes ou utilizando o método de transferência de fase foram infrutíferas.

No espectro de absorção na região do infravermelho de **9** (Figura 4.6) a banda em  $1716\text{ cm}^{-1}$  é referente à carbonila de éster aromático.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.7) foi observado, além de outros, o sinal entre  $\delta 7,41\text{-}7,42\text{ ppm}$ , um multipeto, referente ao hidrogênio *meta* em relação à carbonila do grupo benzoato; em  $\delta 7,60\text{ ppm}$ , um tripleto triplo, atribuído ao hidrogênio em *para* à carbonila e em  $\delta 8,03\text{-}8,09\text{ ppm}$ , um multipeto, atribuído aos hidrogênios em *orto* em relação à carbonila. Em  $\delta 4,19\text{-}4,22\text{ ppm}$ , foi observado um multipeto atribuído aos hidrogênios H-3; em  $\delta 4,38\text{-}4,48\text{ ppm}$ , foi observado um multipeto referente ao hidrogênio H-2 e em  $\delta 4,56\text{-}4,59\text{ ppm}$  o sinal referente aos hidrogênios H-1. O simpleto observado em  $\delta 2,24\text{ ppm}$  foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **9** (Figura 4.8) os sinais de ressonância em  $\delta 128,6$  e  $129,8\text{ ppm}$  foram atribuídos aos carbonos *orto* e *meta* à carbonila do grupo benzoíla; em  $\delta 129,5\text{ ppm}$  foi observado o



sinal de ressonância para o carbono *ipso*, em  $\delta$  133,8 ppm o sinal referente ao carbono em *para* à carbonila e em  $\delta$  166,8 ppm o sinal de ressonância do carbono carbonílico. Os espectros obtidos para **9** estão representados nas figuras 4.6 a 4.8.

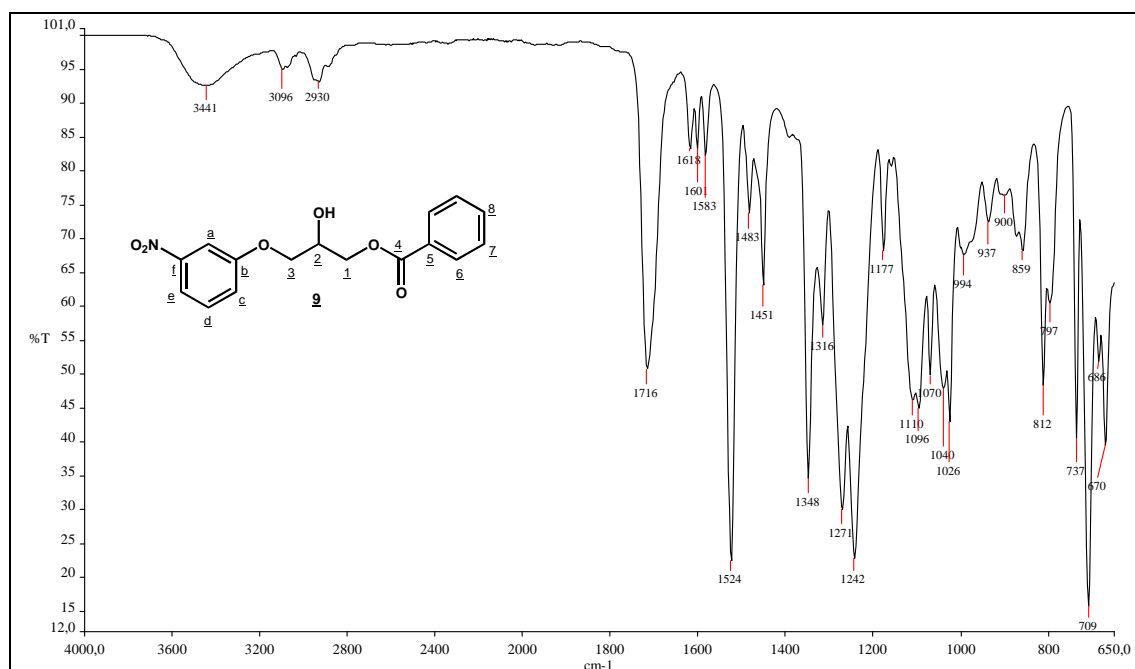


Figura 4.6 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **9**.

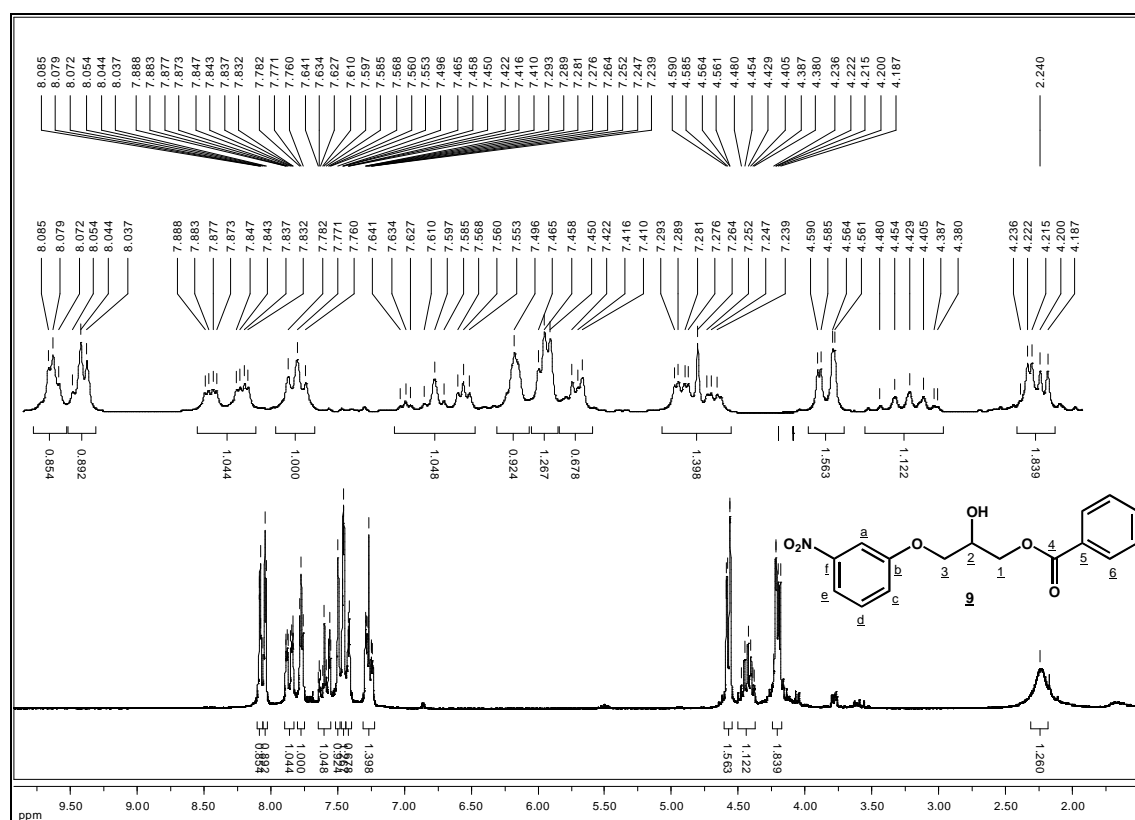
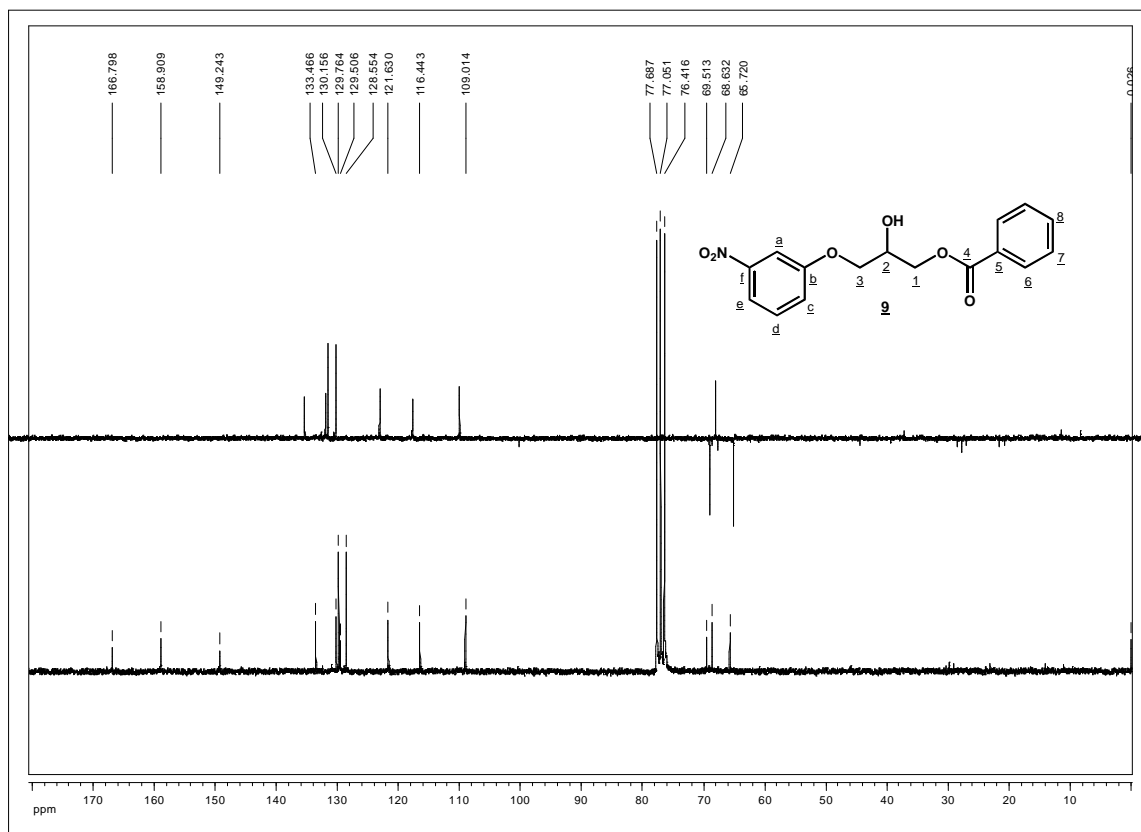


Figura 4.7 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **9** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.8** – Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **9** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do subproduto **31** (Figura 4.9) foram observados, entre outros, os sinais em  $\delta$  3,82 a 5,07 ppm foram atribuídos aos hidrogênios da cadeia alifática.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 4.10), os sinais referentes aos carbonos da cadeia alquílica foram observados em  $\delta$  62,2, 69,5 e 70,2 ppm e atribuídos a C-1, C-2 e C-3, respectivamente. Em  $\delta$  108,4, 115,1, 122,7 e 130,3 ppm foram observados os sinais de ressonância dos carbonos aromáticos hidrogenados C-a, C-e, C-c e C-d, respectivamente. Os sinais observados em  $\delta$  148,4 e 159,1 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos não hidrogenados, C-f e C-b, respectivamente.

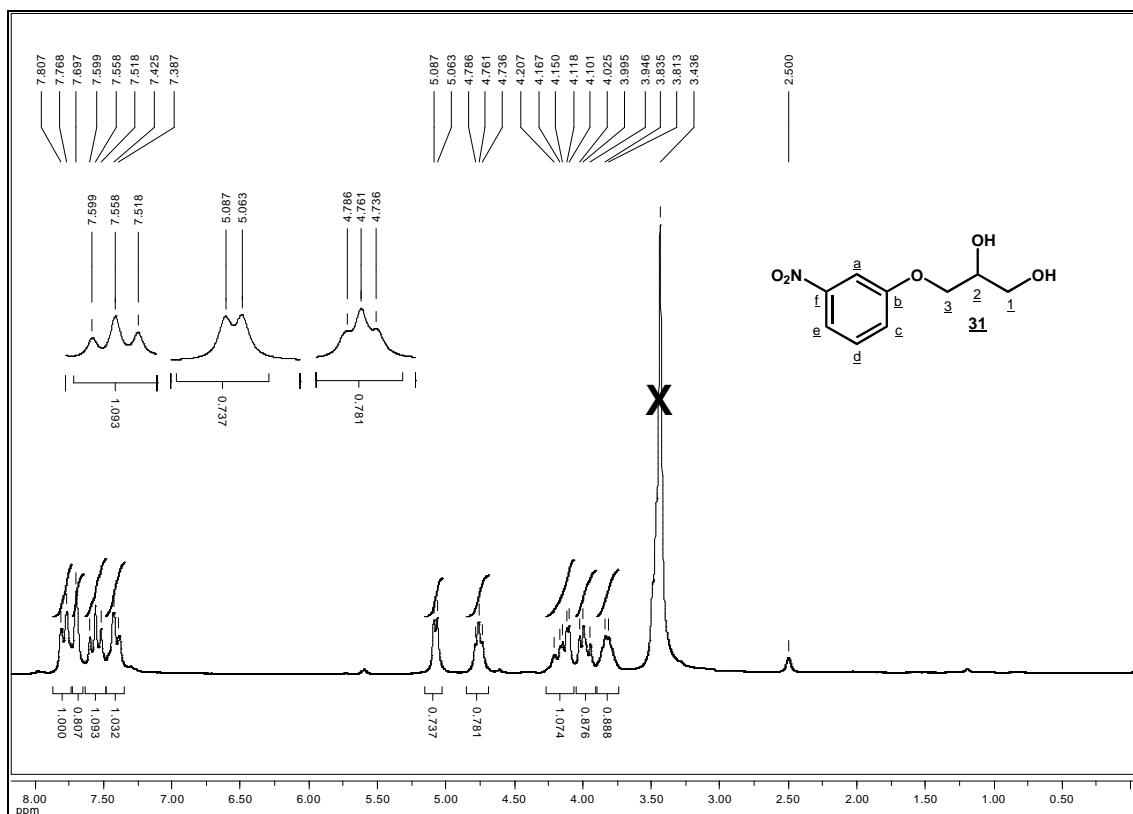


Figura 4.9 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **31** (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

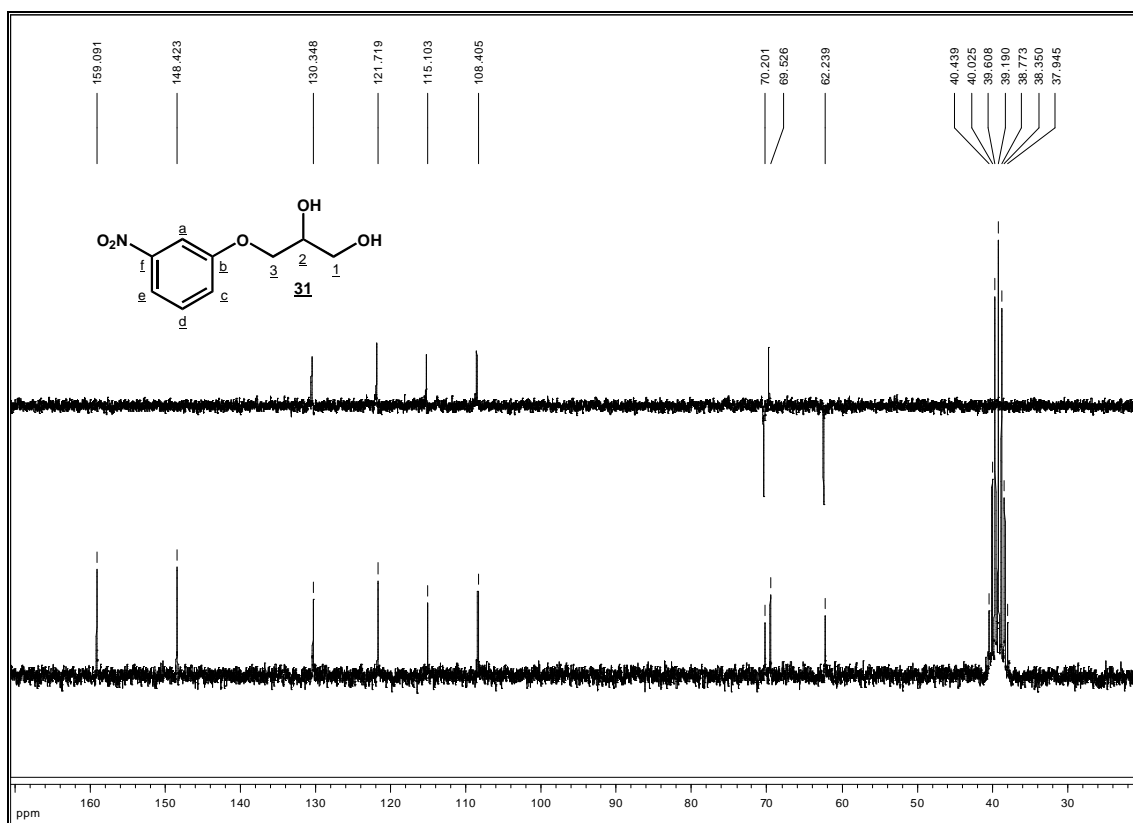


Figura 4.10 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **31** (50 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

Dando continuidade à rota proposta, o álcool **9** foi submetido à reação de mesilação com cloreto de metanossulfonila em piridina anidra (Figura 4.1, página 36) (JUNG et al., 2004) com o objetivo de converter a hidroxila em bom grupo abandonador. As reações de mesilação foram completas, por CCD, em aproximadamente uma hora e o produto foi isolado com rendimentos de cerca de 80%.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **10** (Figuras 4.11), foi observado um simpleto em  $\delta$  3,14 ppm o qual foi atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo metanossulfonila. Foi observada também a mudança do sinal de ressonância atribuído a H-2, de  $\delta$  4,38-4,48 ppm, no material de partida, para  $\delta$  5,29-5,39 ppm, o que caracteriza a transformação química desejada.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **10** (Figura 4.12) o sinal de ressonância do carbono metílico do grupo metanossulfonila foi observado em  $\delta$  38,9 ppm e o sinal atribuído ao carbono C-2 mudou de  $\delta$  68,6 ppm para  $\delta$  76,7 ppm, mais desprotegido com o grupo metanossulfonila em relação ao composto anterior, com a hidroxila livre.

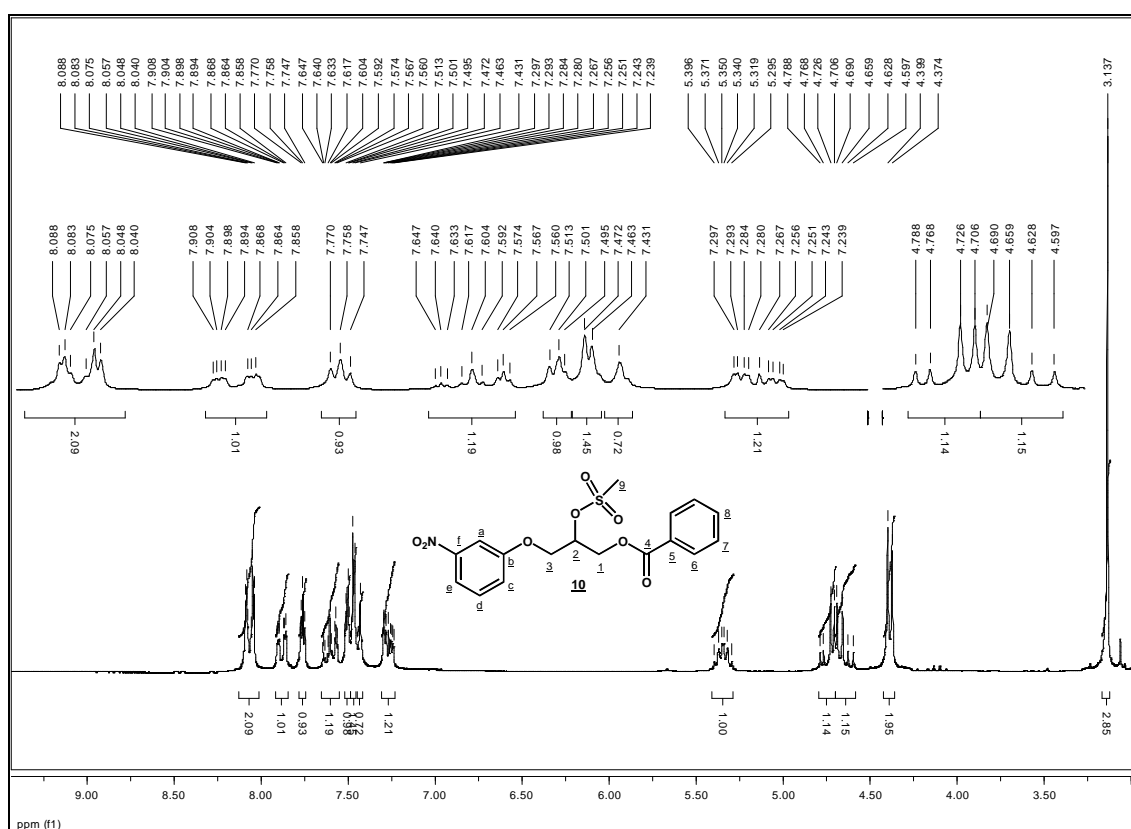
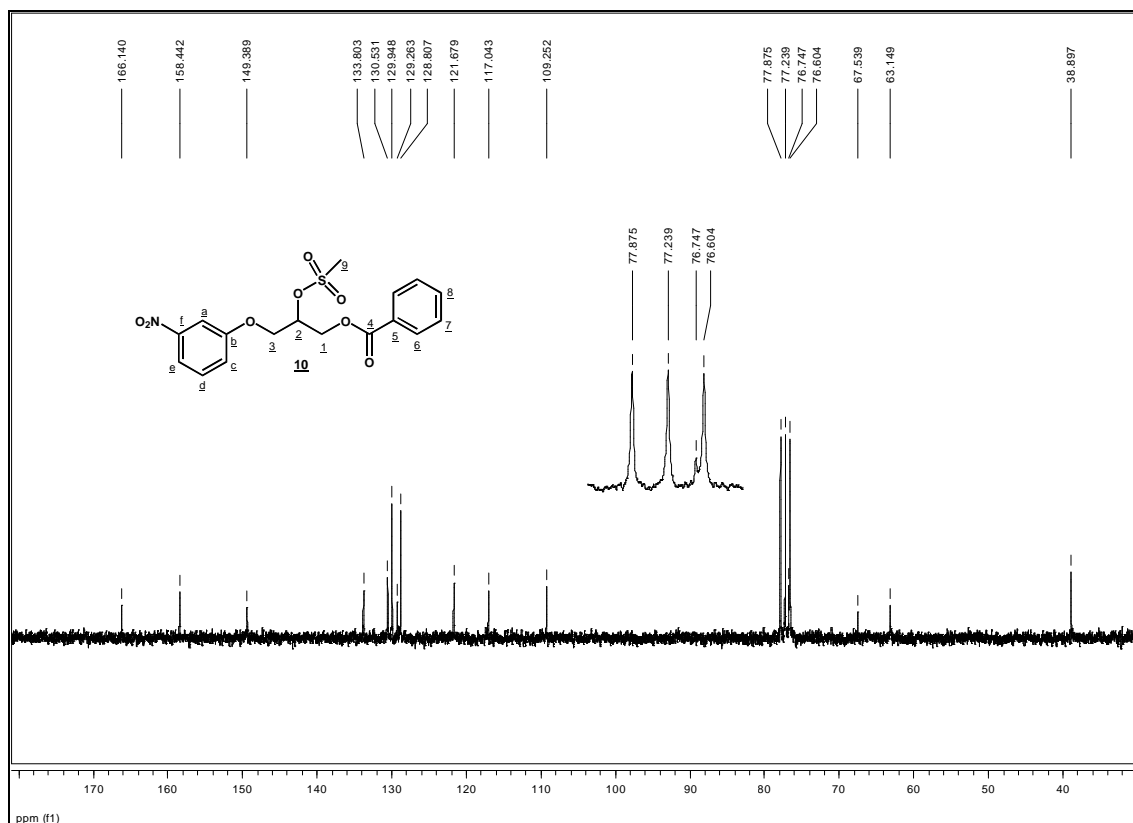
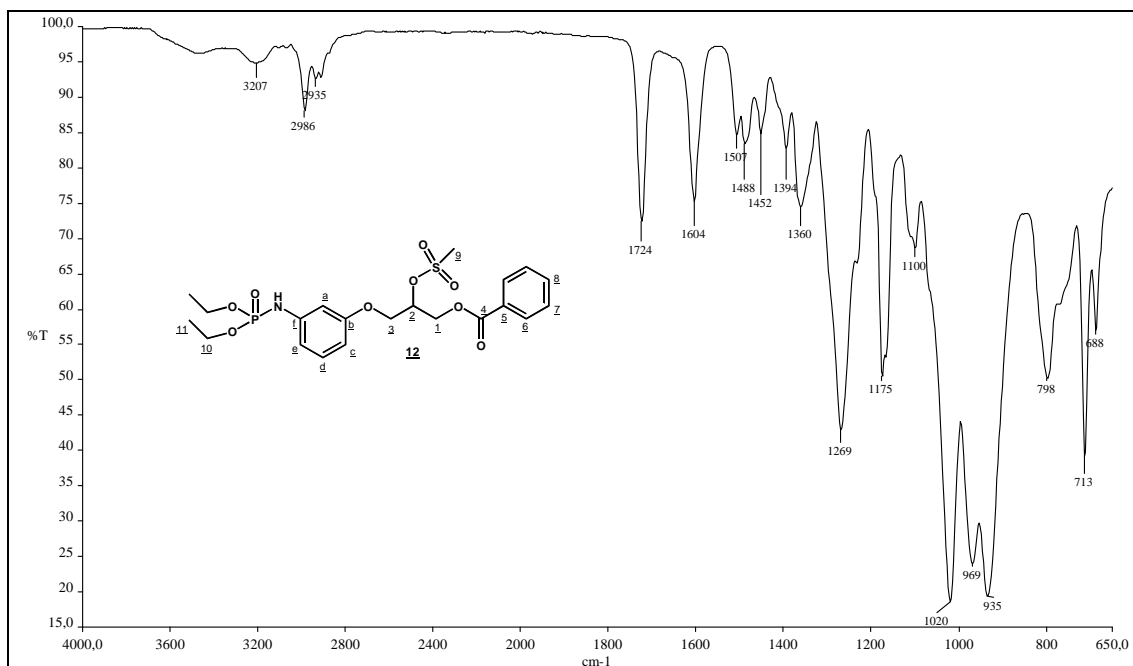


Figura 4.11 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **10** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.12** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **10** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Para a introdução do grupo dietilfosforila em **10**, é necessária a redução do grupo nitro a amino (Figura 4.1, página 36). Para tanto, o método de escolha foi a hidrogenação catalítica utilizando paládio/carvão como catalisador (AVERY et al., 1980). Foi observado, por cromatografia em camada delgada (CCD), que a reação apresentava mais de um produto e dessa forma sua purificação foi realizada após a etapa de fosforilação (HAMMERSCHMIDT et al., 2000). O resíduo foi solubilizado em THF e submetido às condições de fosforilação. Após verificar que a reação não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação por cromatografia em coluna de sílica (CCS). O produto **12** foi obtido com 26% de rendimento, ainda contendo impurezas. No espectro de absorção na região do infravermelho de **12** (Figura 4.13) foram observadas bandas intensas em 1020, 969 e 935  $\text{cm}^{-1}$  referentes às vibrações das ligações C-O-P do grupo fosforamido e a banda em 3207  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento da ligação N-H.



**Figura 4.13** – Espectro de absorção na região do infravermelho de **12**.

O núcleo de fósforo  $^{31}\text{P}$  tem abundância de 100%, número de spin de  $\frac{1}{2}$  e segue as mesmas regras do acoplamento hidrogênio–hidrogênio. O fósforo pode acoplar com muitos núcleos como, por exemplo:  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (este último acoplamento pode ser observado no espectro de RMN de carbono-13), além do acoplamento fósforo–fósforo, flúor ( $^{31}\text{P}$ - $^{19}\text{F}$ ), boro ( $^{31}\text{P}$ - $^{10}\text{B}$  e  $^{11}\text{B}$ ), e uma variedade de metais, especialmente, metais de transição (KÜHL, 2008). Esse acoplamento é percebido nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  obtidos, porque estes não são desacoplados ao fósforo, e pode ser observado em até quatro ligações ao redor do fósforo ( $^4J$ ). As constantes de acoplamentos são da ordem de 200-700 Hz para  $J_{\text{H-P}}$  e de 0,5 a 20 Hz para  $J_{\text{HC-P}}$  (SILVERSTEIN et al., 2006; DIXON, 1987).

Os sinais de ressonância dos hidrogênios do grupo dietilfosforila podem aparecer como dupletos triplos ou tripletos ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ) e como quintetos ou quartetos duplos ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ). Esses sinais não são bem resolvidos e sugerem que os hidrogênios metilênicos do grupo etila não são, nesse caso, equivalentes (SILVERSTEIN et al., 2006).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da dietilfosforamida **12** (Figura 4.14) o tripleto centrado em  $\delta$  1,38 ppm e o multipletto entre  $\delta$  4,22-4,33 ppm, foram atribuídos aos sinais dos hidrogênios metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforilamino, respectivamente. Foi possível observar também que houve mudança no deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos após a redução do grupo nitro. Estes ficaram mais protegidos em relação ao derivado nitro, indicando a presença do grupo amino. O sinal atribuído a H-a mudou de  $\delta$  7,76 ppm para  $\delta$  6,64 ppm; o de H-c de  $\delta$  7,26 ppm para  $\delta$  6,69 ppm; H-d de  $\delta$  7,4-7,5 ppm para  $\delta$  7,16 ppm e o sinal de H-e mudou de  $\delta$  7,88 ppm para  $\delta$  6,51 ppm.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **12** (Figura 4.15) foram observados, entre outros, em  $\delta$  16,1 e 63,3 ppm, os sinais de ressonância dos carbonos metílicos e metilênicos, respectivamente, do grupo dietilfosforilamino. Além disso, foi observado que os sinais referentes aos carbonos C-a, C-c e C-e estão mais protegidos em relação aos seus correspondentes no análogo **10**. Foi observado, também, o acoplamento C-P para os carbonos C-a e C-e ao fósforo, confirmando a fosforilação do grupo amino. O duplete em  $\delta$  104,3 ppm com  $J_{\text{CCNP}} = 7,7$  Hz, foi atribuído a C-a e o duplete em  $\delta$  111,2 ppm com  $J_{\text{CCNP}} = 6,9$  Hz a C-e. Foi observado que o valor das integrais dos sinais de ressonância dos hidrogênios do grupo dietilfosforilamino está muito acima ao esperado, isso indica que o produto está contaminado pelo reagente ou, pelo seu produto de degradação, ácido dietilfosfórico.

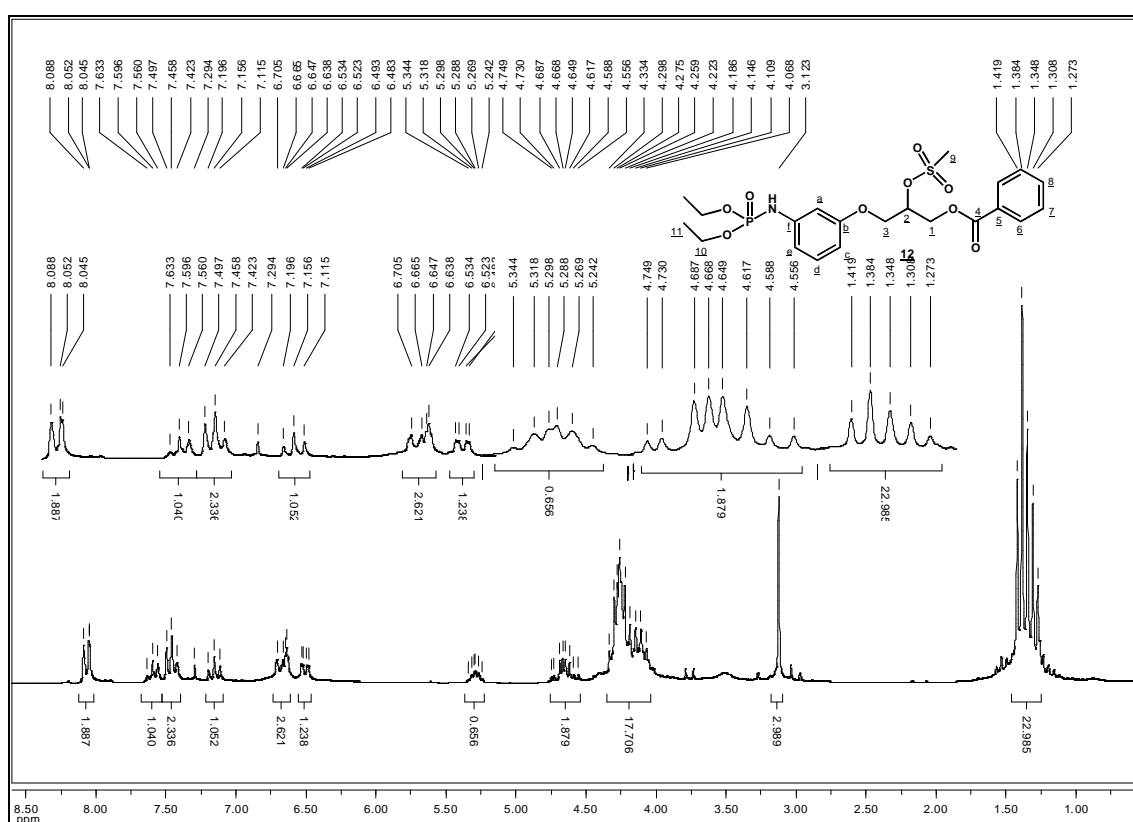
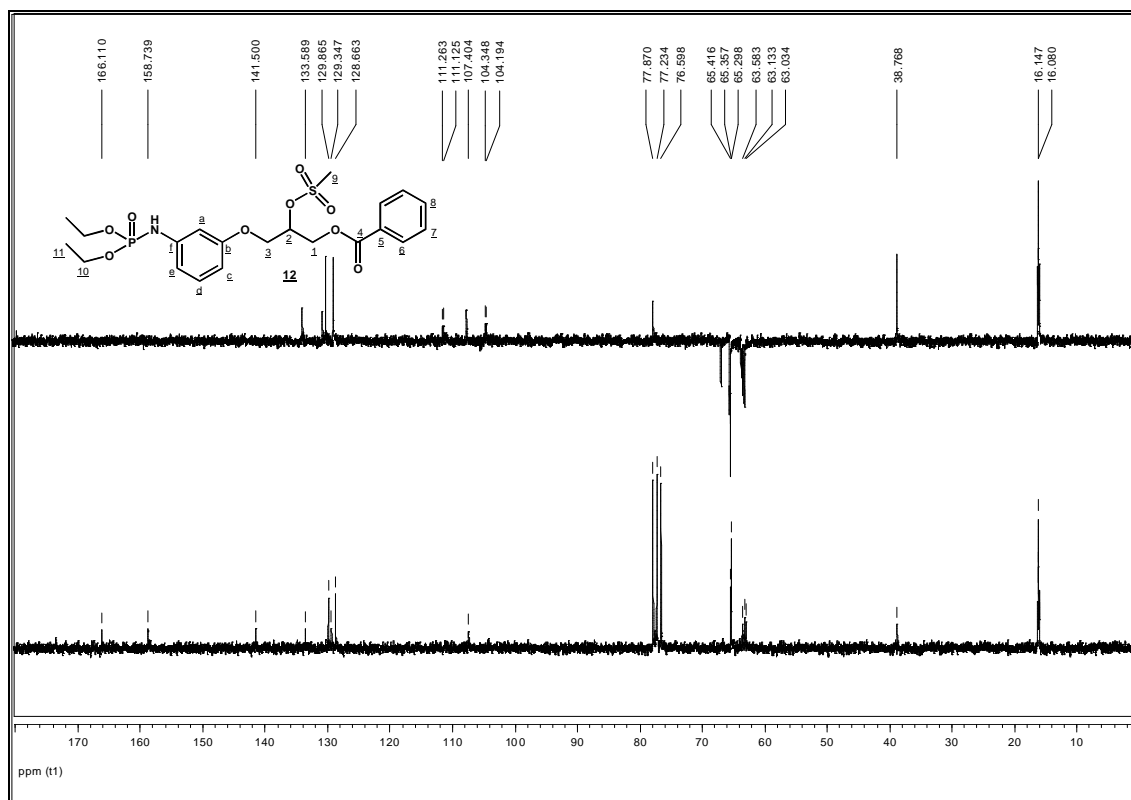


Figura 4.14 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **12** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

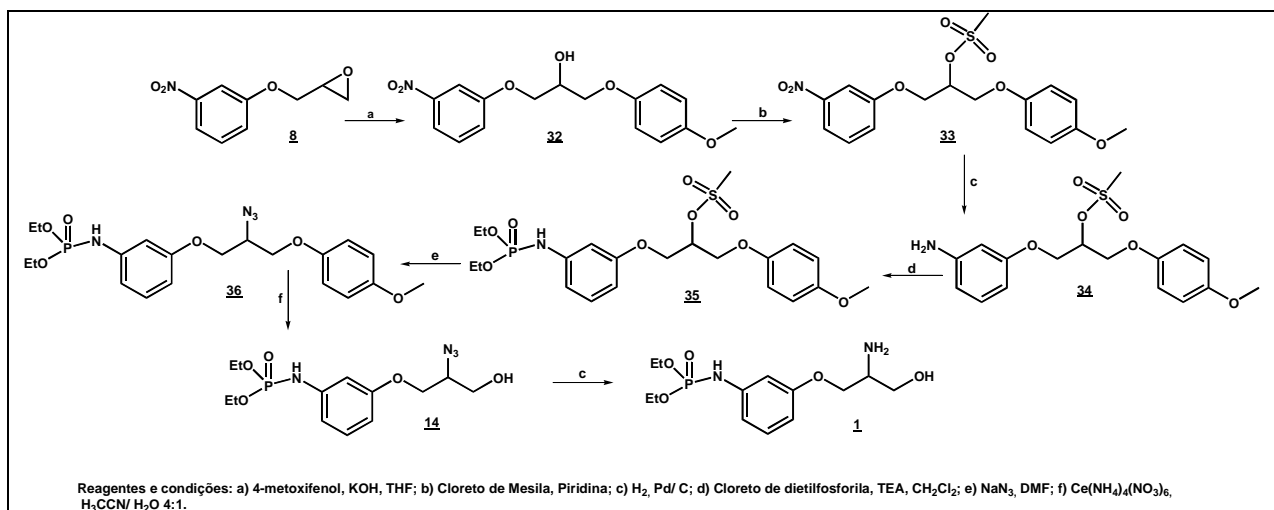


**Figura 4.15** – Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **12** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Com repetidas reações para a obtenção de **12**, não foi obtida quantidade suficiente para dar prosseguimento à rota de síntese. Isto, devido ao baixo rendimento desta etapa e ao fato de que na etapa de abertura do anel oxirano os rendimentos não foram bons, devido à formação do diol **31**. Isso nos levou ao planejamento de uma nova rota sintética, em que foi utilizado outro reagente para a abertura do epóxido **8**. O reagente escolhido foi o 4-metoxifenol que tem sido utilizado como grupo protetor de grupos amino e hidroxila (FUKUYAMA, et al., 1985; MATSUZAKI et al., 1993; TROST et al., 2002; DE LAMO MARIN et al., 2005; VERKADE et al., 2006). Este é um grupo estável em meio fortemente ácido ou básico, em condição de hidrogenação catalítica, e em reação com  $\text{LiAlH}_4$  e, pode ser facilmente removido em condições de oxidação como a reação com nitrato cérico amoniacal (CAN,  $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$ ) (GREENE et al., 2007). Na reação de remoção do grupo 4-metoxifenila com CAN forma-se um derivado desprotegido e benzoquinona (DE LAMO MARIN et al., 2005).

Foi proposta uma nova rota sintética para a obtenção do derivado **1** que está representada na Figura 4.16. O éter **32** foi obtido por reação de abertura do epóxido de **8** com o 4-metoxifenol, em presença de hidróxido de potássio (SURENDRA et al., 2003), com rendimento quase quantitativo.





**Figura 4.16** – Esquema para a síntese de **1** via derivados do 4-metoxifenol.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **32** (Figuras 4.17) foram observados os sinais referentes aos hidrogênios do grupo 4-metoxifenila: em  $\delta$  3,76 ppm, um simpleto referente aos três hidrogênios do grupo metoxila e o multipeto observado em  $\delta$  6,80-6,88 ppm foi atribuído aos quatro hidrogênios aromáticos. Em  $\delta$  2,69 ppm foi observado um simpleto referente ao hidrogênio da hidroxila, e os hidrogênios da cadeia alifática foram atribuídos aos sinais observados no intervalo de  $\delta$  4,11 a 4,46 ppm. Os hidrogênios aromáticos foram atribuídos ao dupeto duplo centrado em  $\delta$  7,25 ppm referente a H-c, ao tripleto centrado em  $\delta$  7,42 ppm, referente a H-d e ao multipeto em  $\delta$  7,74-7,84 ppm, referente aos hidrogênios H-a e H-e.

No espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **32** (Figura 4.18) foram observados os sinais de ressonância dos carbonos do grupo 4-metoxifenila. O sinal observado em  $\delta$  55,9 ppm, foi atribuído ao carbono metílico, em  $\delta$  114,9 e 115,7 ppm atribuído aos carbonos aromáticos hidrogenados e em  $\delta$  152,6 e 154,4 ppm os sinais referentes aos carbonos aromáticos não hidrogenados. Os sinais referentes aos carbonos da cadeia alifática foram observados em  $\delta$  68,8 ppm, atribuído para C-2 e em  $\delta$  69,4 e 69,6 ppm os sinais referentes aos carbonos C-1 e C-3. Os sinais em  $\delta$  109,2; 116,3; 121,7 e 130,2 ppm são referentes aos carbonos aromáticos hidrogenados C-a, C-e e C-c e C-d, respectivamente. Os sinais de ressonância dos carbonos aromáticos não hidrogenados foram observados em  $\delta$  149,3 e 159,1 ppm, C-f e C-b, respectivamente.

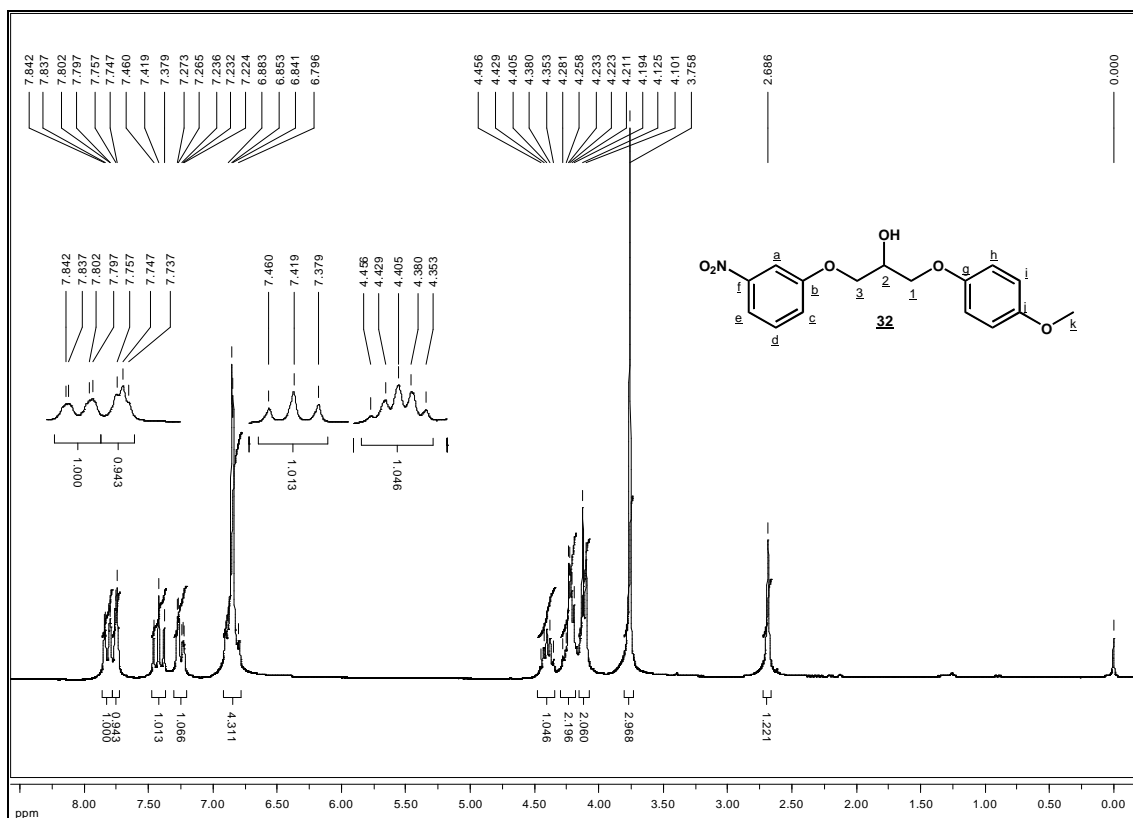


Figura 4.17 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **32** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

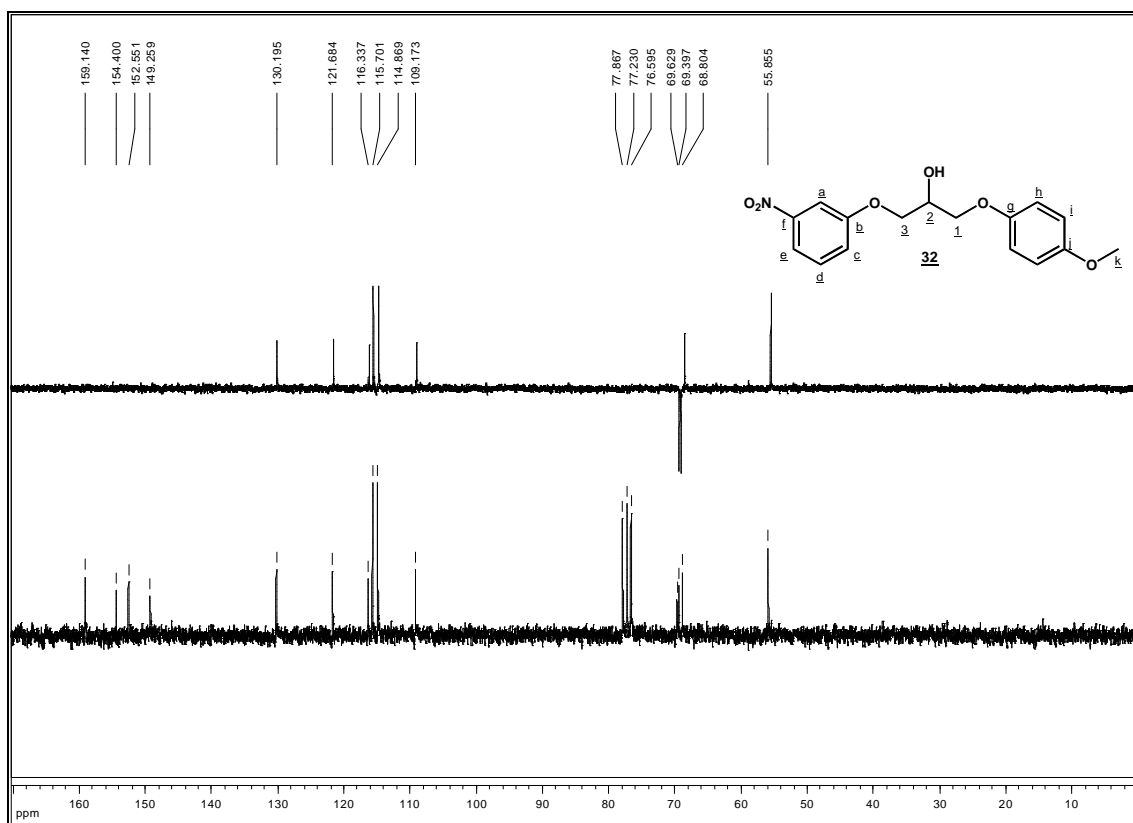


Figura 4.18 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C e subspectro DEPT 135 de **32** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

A mesilação da hidroxila de **32** com cloreto de metanossulfonila em piridina forneceu o derivado **33** (Figura 4.16) na forma de um sólido com rendimento de 89% (JUNG et al., 2004).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **33** (Figura 4.19) foi observado, além de outros sinais, um simpleto em  $\delta$  3,16 ppm referente aos hidrogênios metílicos do grupo metanossulfonila. A mudança no sinal de ressonância do hidrogênio H-2 de  $\delta$  4,19-4,26 ppm para  $\delta$  5,26 ppm evidencia a mesilação da hidroxila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **33** (Figura 4.20) o sinal em  $\delta$  38,6 ppm foi atribuído ao carbono metílico do grupo metanossulfonila. Além disso, a mudança do sinal de C-2 de  $\delta$  68,8 ppm para  $\delta$  77,5 ppm, confirma a presença do grupo metanossulfonila.

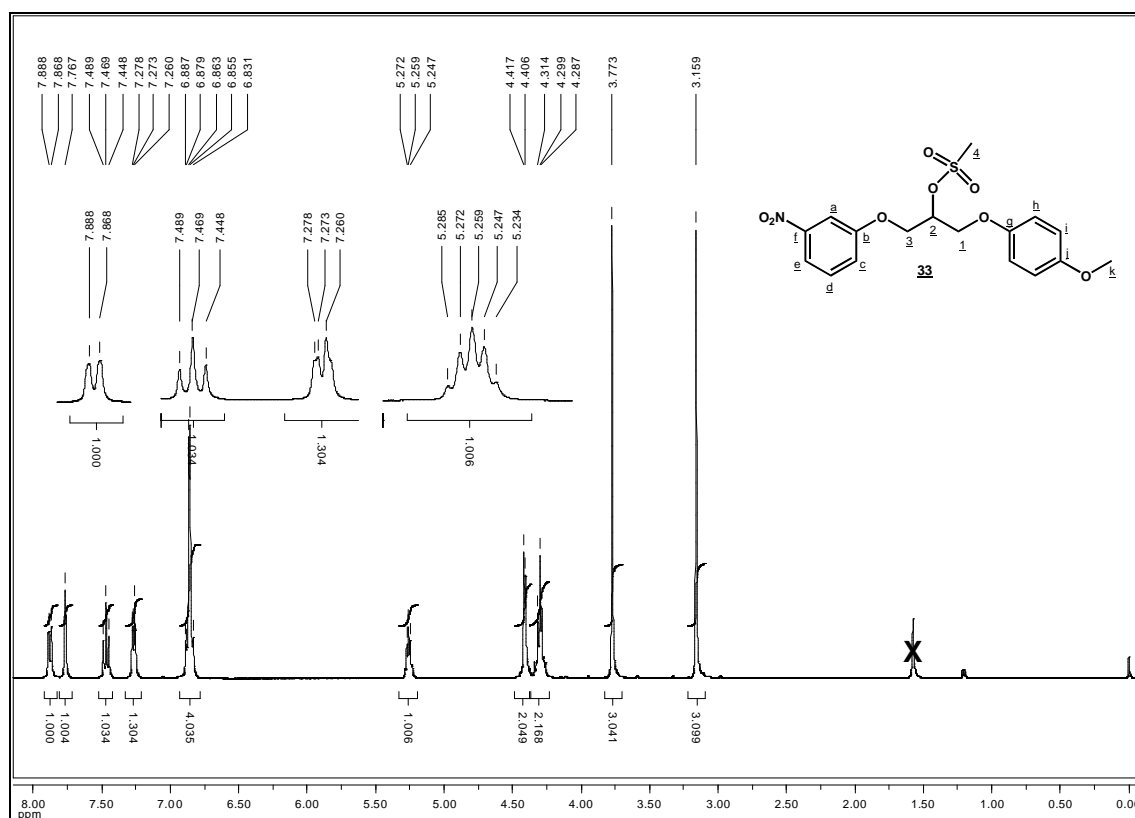


Figura 4.19 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **33** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

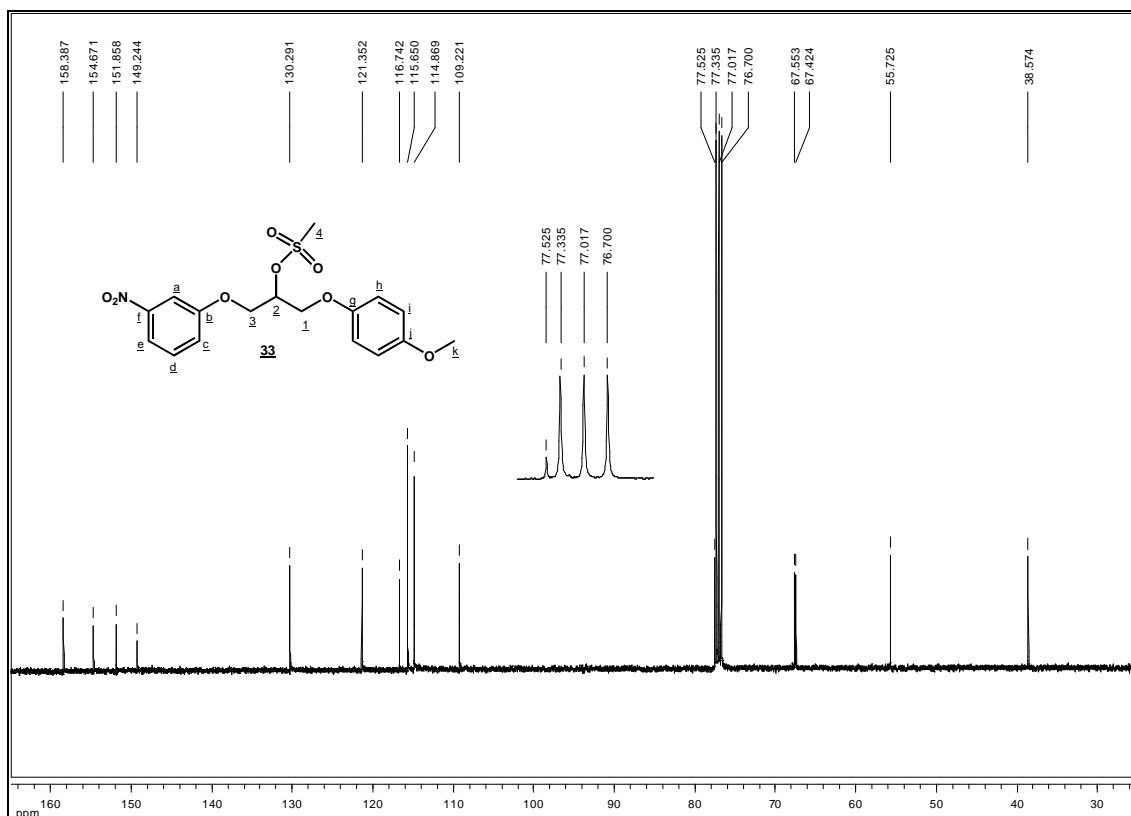
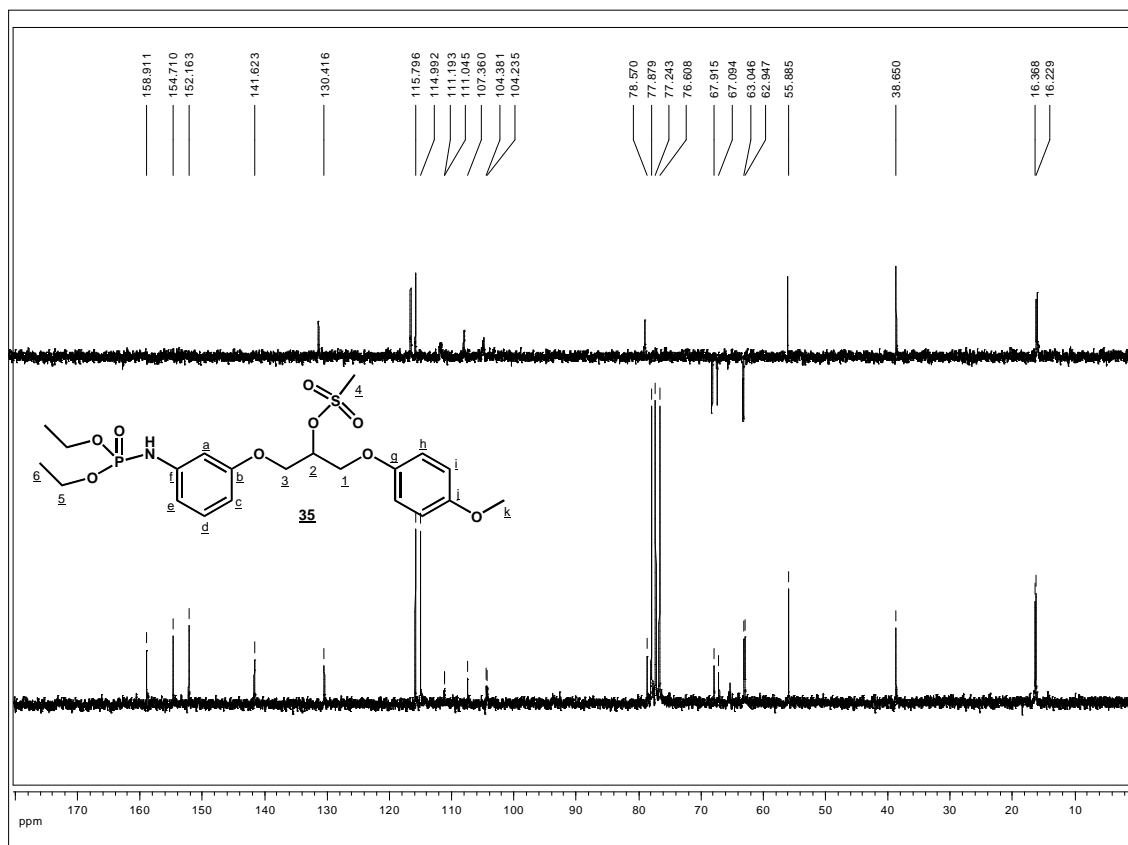


Figura 4.20 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **33** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

As etapas seguintes foram a redução do grupo nitro de **33** a amino e o acoplamento com cloreto de dietilfosforila para fornecer o intermediário fosforilado **35** (Figura 4.16, página 48). A reação de redução forneceu um óleo amarelo que foi utilizado, sem prévia purificação, na reação de fosforilação em THF, conforme descrito anteriormente para **12** (página 44). Após verificar que a reação não mais evoluía, foi realizada a elaboração e o resíduo obtido foi purificado por CCS fornecendo **35** como um óleo transparente, com 60% de rendimento, em 2 etapas. No espectro de absorção na região do infravermelho de **35** (Figura 4.21), foram observadas as bandas fortes em 1018, 971 e 941  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas às deformações das ligações P-O-C do grupo fosforamido e a banda em 3173  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação N-H.

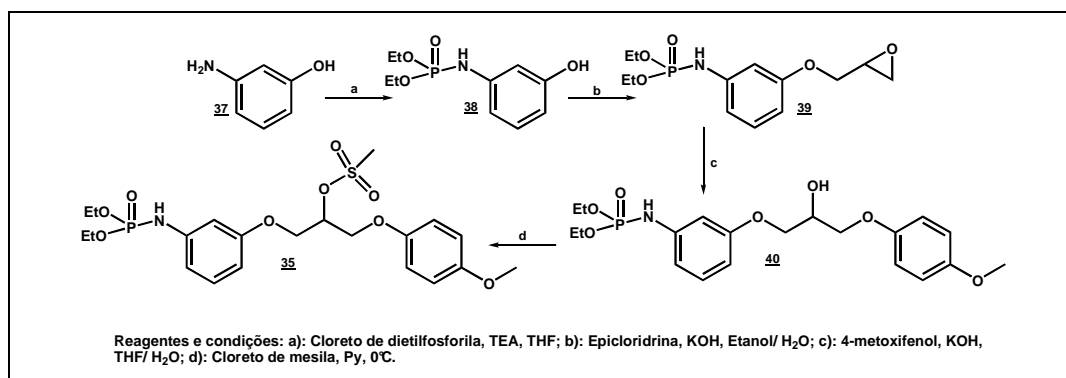
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **35** (Figura 4.22) os sinais de ressonância dos hidrogênios metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforilamino foram observados, como multipletos, entre  $\delta$  1,26-1,42 e  $\delta$  4,07-4,20 ppm, respectivamente. Foi observado também que os hidrogênios aromáticos H-a, H-c, H-d e H-e estão mais protegidos, em relação aos hidrogênios correspondentes no derivado nitro **33**. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **35** (Figura 4.23) foram observados os sinais de ressonância dos carbonos do grupo dietilfosforamida em  $\delta$  16,3 ppm e em  $\delta$  63,0 ppm, sendo estes atribuídos aos carbonos metílicos e metilênicos, respectivamente. Os carbonos aromáticos C-a, C-c e C-e estão mais protegidos para a fosforamida **35** que para **33**, confirmando a redução do grupo nitro. Outra evidência





**Figura 4.23** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **35** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

Alternativamente, o intermediário **35** foi obtido a partir de 3-aminofenol (**37**), em quatro etapas, conforme representado na Figura 4.24, uma etapa a menos em relação ao esquema anterior (Figura 4.16, página 48), a partir de 3-nitrofenol.

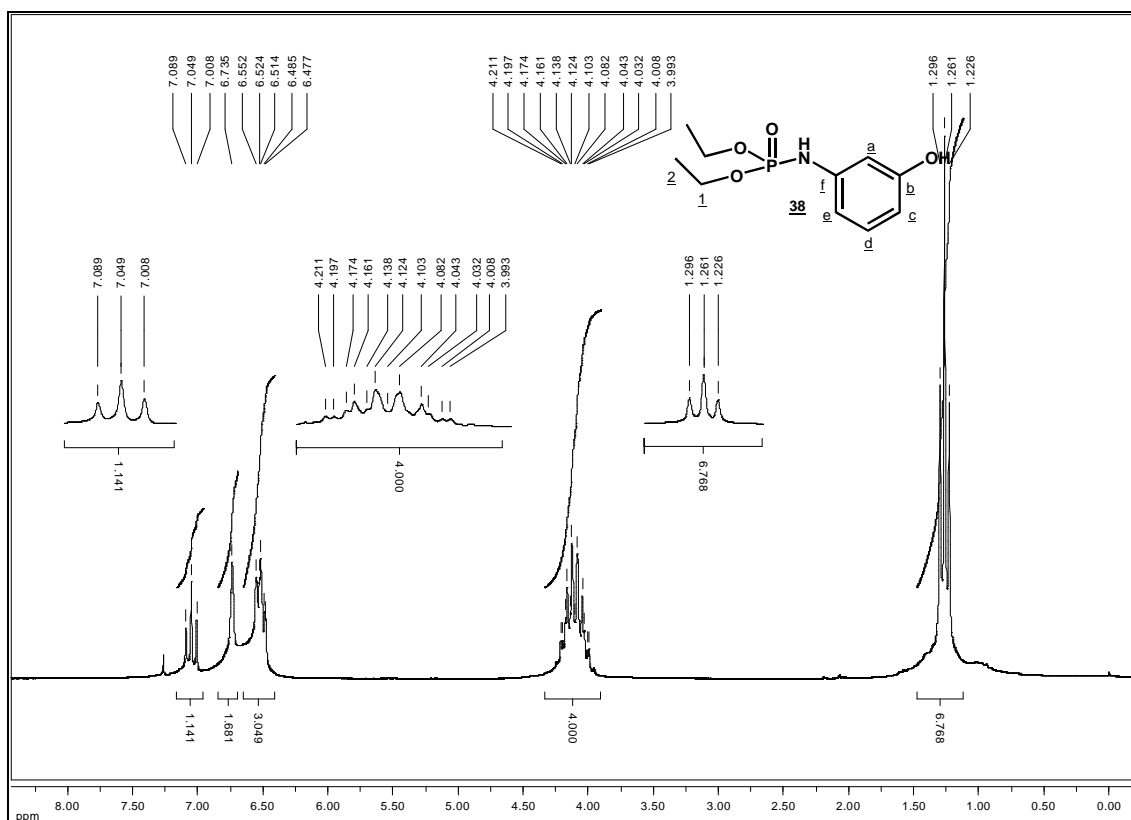


**Figura 4.24** – Esquema para a síntese de **35** a partir de 3-aminofenol (**37**).

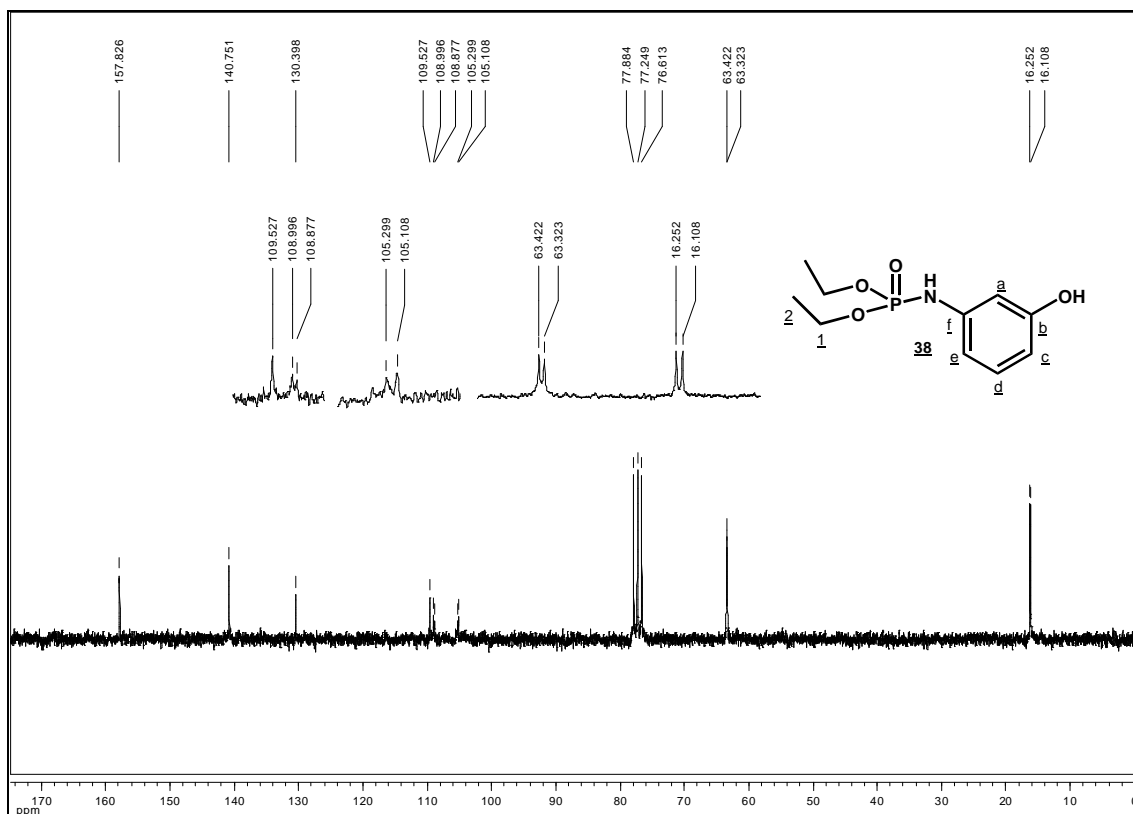
A fosforilação de 3-aminofenol (**37**) foi realizada nas mesmas condições descritas para o derivado benzilado **12**; em presença de cloreto de dietilfosforila e trietilamina, como base (HAMMERSCHMIDT et al., 2000). Nesta reação o derivado **38** foi obtido como produto majoritário, isolado com 59% de rendimento, como um óleo marrom.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **38** (Figura 4.25) foram observados o triploto centrado em  $\delta$  1,26 ppm e o multipeto em  $\delta$  3,99-4,21 ppm que foram atribuídos aos hidrogênios metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforamino, respectivamente. O multipeto em  $\delta$  6,48-6,55 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-c e H-e, o simpleto presente em  $\delta$  6,74 ppm foi atribuído a H-a e o triploto centrado em  $\delta$  7,05 ppm referente a H-d.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **38** (Figura 4.26) foi verificada a presença dos sinais em  $\delta$  16,2 e 63,4 ppm, atribuídos aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforamino, respectivamente. Os sinais de ressonância dos carbonos aromáticos foram observados em  $\delta$  105,2 ppm, C-a; em  $\delta$  108,9 ppm, C-e, dupletos, com acoplamento C-P, o que comprova a fosforilação quimiosseletiva do grupo amino. Foram observados também os sinais em  $\delta$  109,5 ppm referente a C-c; em  $\delta$  130,4 ppm referente a C-d, e os sinais relativos aos carbonos não hidrogenados em  $\delta$  140,8 e 157,8 ppm, C-f e C-b, respectivamente.



**Figura 4.25** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **38** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.26** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **38** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A etapa seguinte foi a reação de **38** com epícloridrina em presença de hidróxido de potássio (Figura 4.24). O éter glicídico fosforilado **39** foi isolado com 45% de rendimento, como um óleo transparente. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **39** (Figura 4.27) foi observado um tripleto centrado em  $\delta$  1,31 ppm, atribuído aos hidrogênios metílicos e em  $\delta$  4,02-4,24 ppm, um multipeto, referente aos hidrogênios metilênicos do grupo dietilfosforilamino. Foi observado que o sinal referente a H-3' está sobreposto ao sinal referente a H-4. Os sinais centrados em  $\delta$  2,76 ppm, um dupeto duplo, e em  $\delta$  2,90 ppm, tripleto, foram atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-1'; entre  $\delta$  3,31-3,39 ppm, multipeto, foi atribuído a H-2 e o dupeto duplo centrado em  $\delta$  3,93 ppm foi atribuído a H-3.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **39** (Figura 4.28) os sinais de ressonância em  $\delta$  45,0; 50,3 e 68,9 ppm foram atribuídos aos carbonos C-1, C-2 e C-3, respectivamente. Os sinais observados em  $\delta$  104,5 e 110,7 ppm, foram referentes aos carbonos C-a e C-e, acoplados ao fósforo, respectivamente, com constantes de acoplamento de 7,5 Hz para cada. Em  $\delta$  107, 6 ppm foi observado o sinal referente a C-a; em  $\delta$  130,2 ppm o sinal referente a C-d e os sinais em  $\delta$  141,5 e 159,6 ppm foram atribuídos aos carbonos não hidrogenados C-f e C-b, respectivamente.



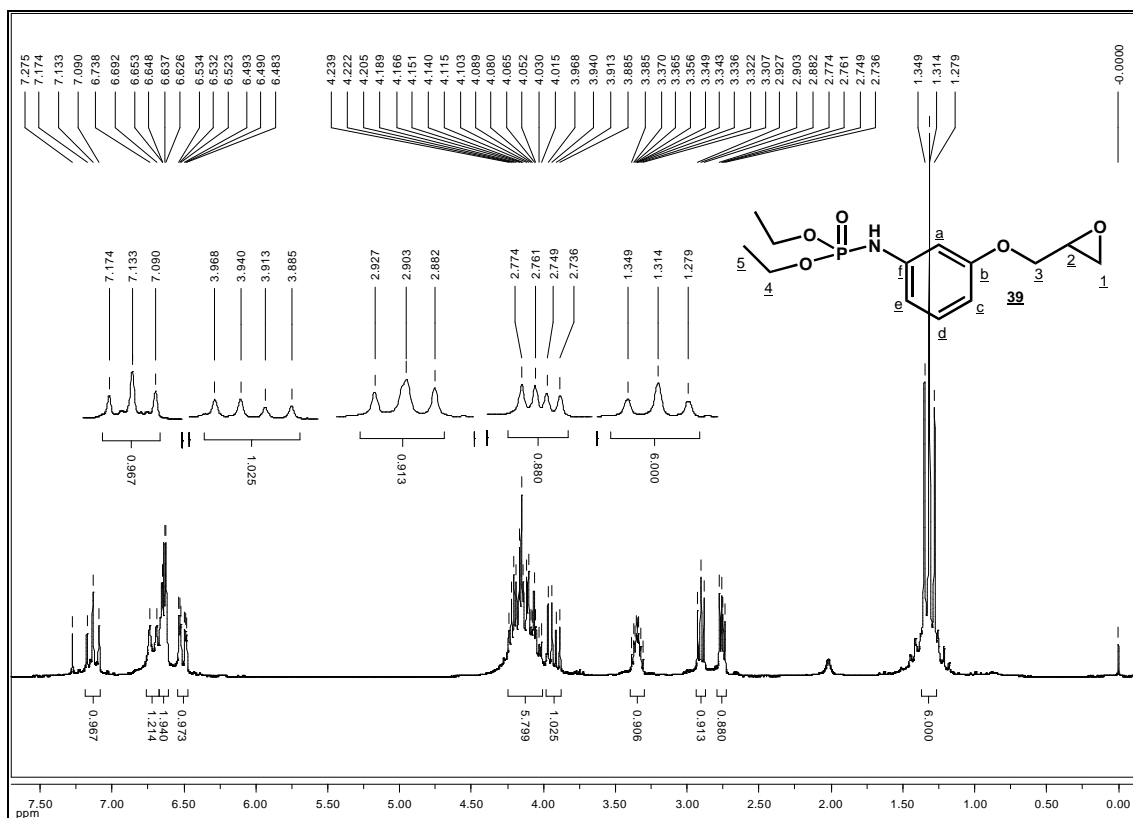


Figura 4.27 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **39** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

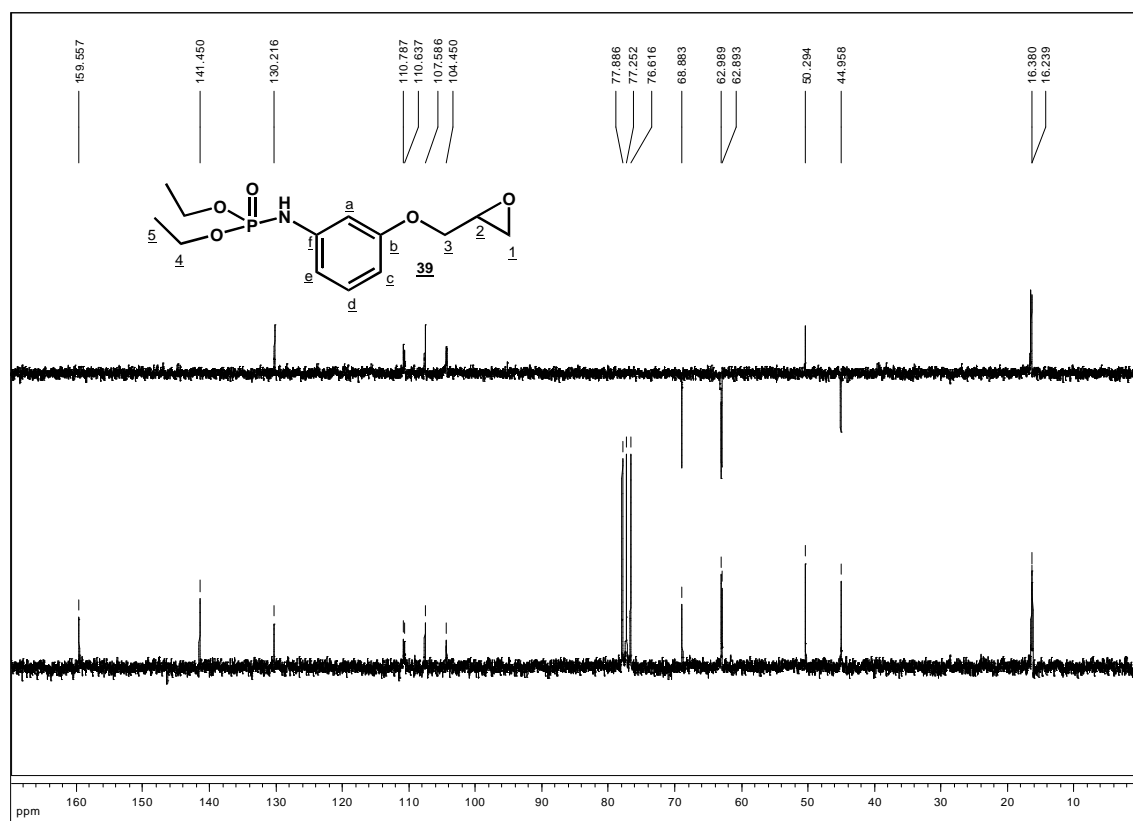


Figura 4.28 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **39** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A abertura do epóxido de **39** com 4-metoxifenol (Figura 4.24, página 53) foi realizada nas mesmas condições relatadas para o derivado nitrado **32** (SURENDRA et al., 2003). O álcool **40** foi obtido com rendimento de 66%.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.29) foram observados, entre outros, os sinais de ressonância dos hidrogênios do grupo 4-metoxifenila, o simpleto em  $\delta$  3,75 ppm referente aos hidrogênios metílicos e o duplete centrado em  $\delta$  6,84 ppm foi atribuídos aos hidrogênios aromáticos. Os sinais referentes à ressonância dos hidrogênios H-1 e H-3, foram observados como um multipeto de integral referente a oito hidrogênios, sendo os quatro da cadeia alquílica e os hidrogênios metilênicos do grupo dietilfosforilamino. O quinteto centrado em  $\delta$  4,35 ppm foi atribuído a H-2.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **40** (Figura 4.30), o sinal em  $\delta$  55,9 ppm foi atribuído ao carbono metílico, em  $\delta$  114,8 e 115,8 ppm foram observados os sinais referentes aos carbonos aromáticos hidrogenados e em  $\delta$  152,8 e 154,3 ppm os sinais referentes aos carbonos não hidrogenados do grupo 4-metoxifenila. Os sinais em  $\delta$  68,9 e 69,0 ppm foram atribuídos aos carbonos C-1 e C-3 e em  $\delta$  69,8 ppm, a C-2. Os sinais do grupo dietilfosforamino foram observados em  $\delta$  16,2 ppm, relativo aos carbonos metílicos, e em  $\delta$  62,9 ppm relativo aos carbonos metilênicos, novamente como dupletos.

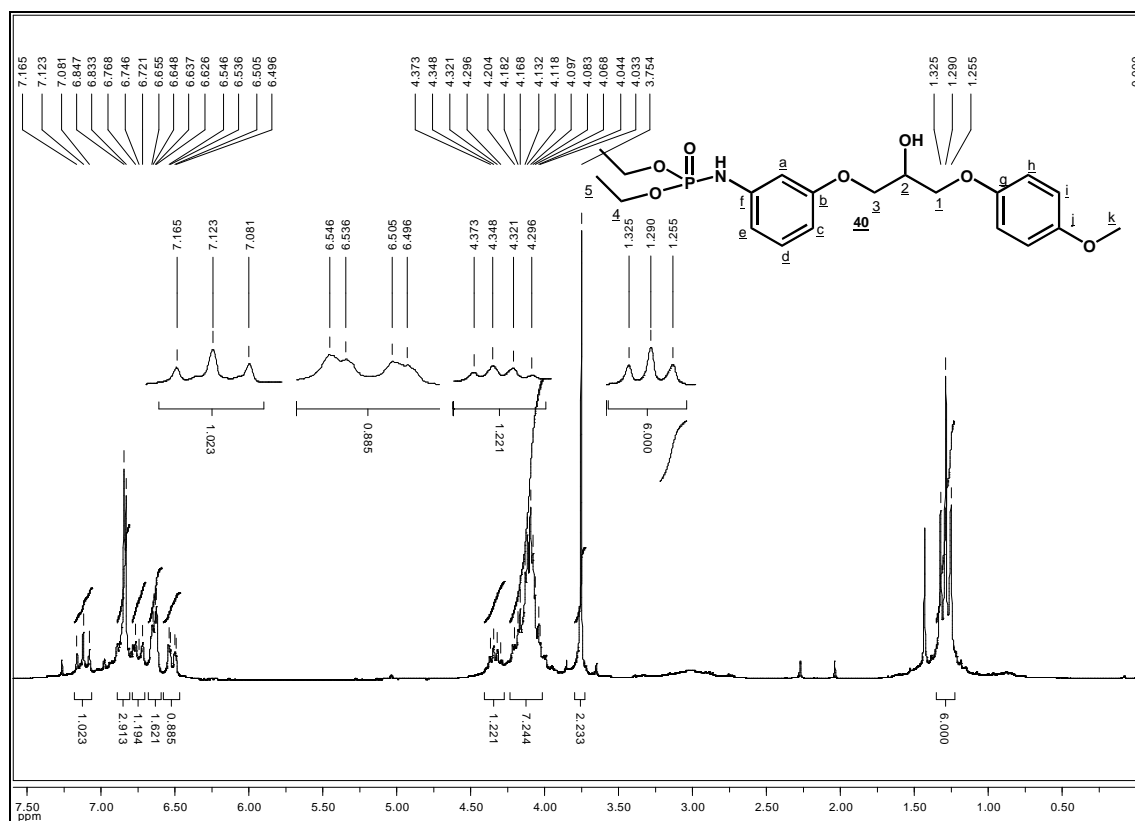
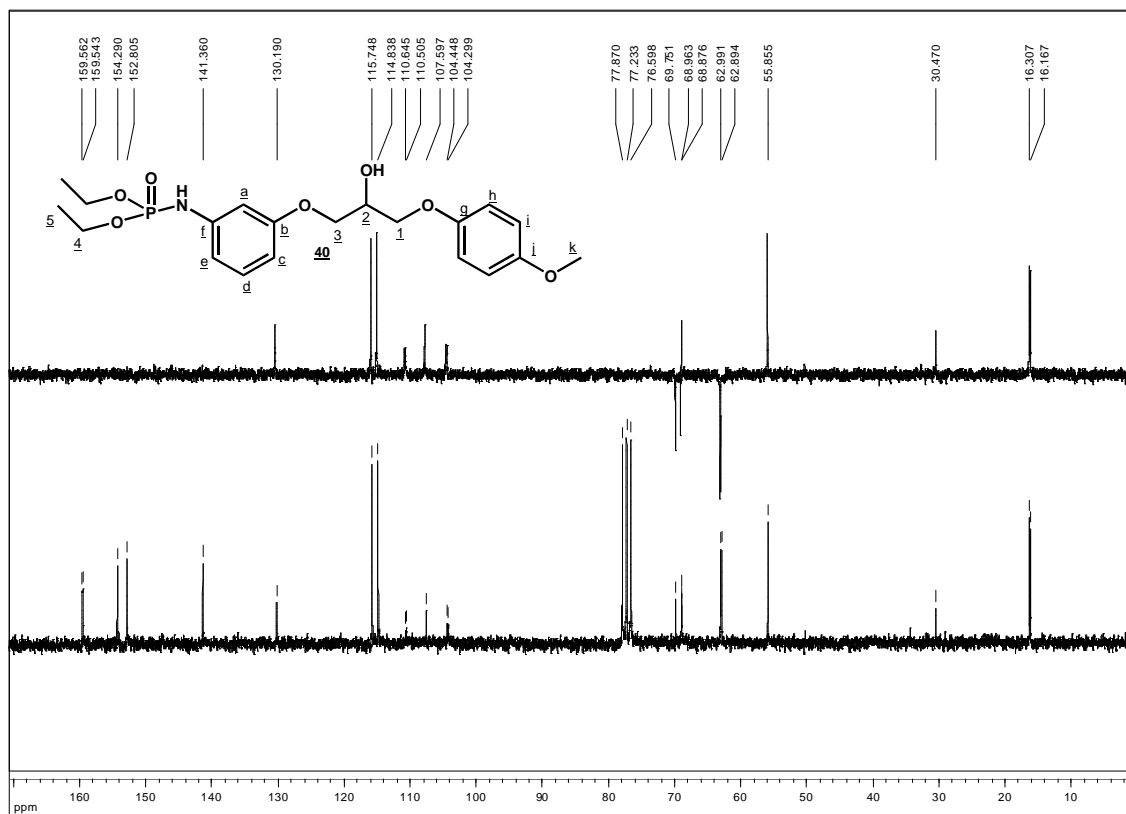


Figura 4.29 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **40** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.30** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **40** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A última etapa para se chegar ao derivado em comum **35** foi a reação de proteção da hidroxila de C-2 de **40** com um grupo metanossulfonila. Assim, foi realizada a reação do álcool **40** com cloreto de metanossulfonila em piridina anidra, sob banho de gelo (JUNG et al., 2004). O produto dessa reação foi obtido com 66% de rendimento e foi comparado ao obtido anteriormente por RMN, IV e CCD apresentando perfil idêntico ao obtido anteriormente.

Com isso, para se chegar ao derivado comum **35**, foram utilizadas duas *vias* distintas: a partir de 3-nitrofenol ou a partir de 3-aminofenol. Apesar de a rota sintética a partir de 3-aminofenol apresentar uma etapa a menos, esta não foi a mais eficiente, uma vez que apresentou rendimento global de 11%, ao passo que, a partir de 3-nitrofenol, **35** foi obtido com rendimento de 36%. Foi observado que as reações envolvendo substratos fosforilados apresentaram rendimentos inferiores e misturas de difíceis purificação por CCS, quando comparadas às mesmas reações com compostos nitrados. Assim, pode-se inferir que o grupo fosforilamino não é estável o suficiente para manipulações sucessivas e deve ser inserido nas etapas finais da rota de síntese.

Dando continuidade à síntese do análogo não carboidrato **1**, a etapa seguinte foi a substituição do grupo metanossulfonila de **35** por azido em DMF anidra e sob aquecimento (aproximadamente  $60^\circ\text{C}$ ) (Figura 4.16, página 48) (TEODOROVIC et al., 2005). Após o término da reação, o solvente foi eliminado até a obtenção de um resíduo e este foi submetido à purificação por CCS. O derivado azido

fosforilado **36** foi isolado na forma de um sólido branco com rendimento de 50%. No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 4.31), as bandas em 2139 e 2093  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à vibração das ligações N=N do grupo azido.

Nos espectros de RMN de **36** (Figuras 4.32 e 4.33) foram observados, entre outros, os sinais de ressonância característicos dos hidrogênios e carbonos do grupo dietilfosforilamino. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **36** (Figura 4.32) foi observada a mudança no sinal de H-2, um quinteto em  $\delta$  5,21 ppm, para um multipeto em  $\delta$  4,10-4,19 ppm, juntamente com os hidrogênios H-1, H-3 e os quatro hidrogênios metilênicos do grupo dietilfosforamino.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **36** (Figura 4.33) foi observada a mudança do sinal de C-2, que após a introdução do grupo azido ficou mais protegido: de  $\delta$  78,6 ppm para  $\delta$  59,5 ppm. O acoplamento característico C-P dos sinais observados para aos carbonos aromáticos próximos ao fósforo evidenciou a presença do grupo fosforila: os dupletos centrados em  $\delta$  104,3 e 110,8 ppm foram atribuídos aos carbonos C-a e C-e, respectivamente. Os sinais em  $\delta$  107,5 e 130,2 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos hidrogenados C-c e C-d, respectivamente e os sinais em  $\delta$  159,1 e 141,2 ppm, são referentes aos carbonos aromáticos não hidrogenados, C-b e C-f, respectivamente.

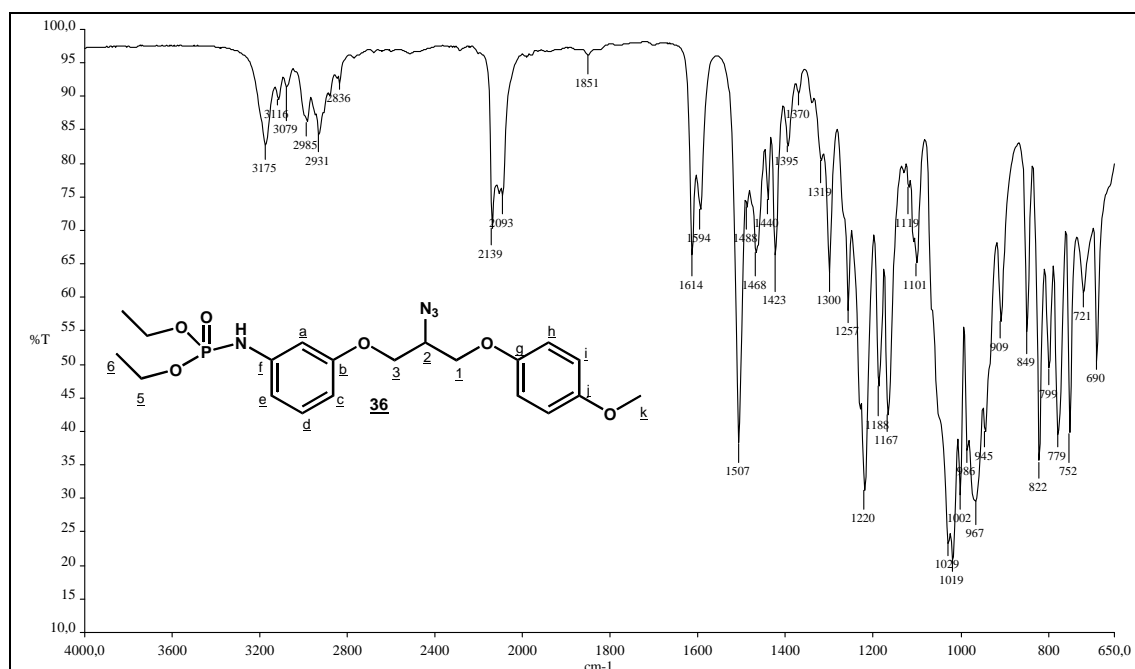


Figura 4.31 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **36**.

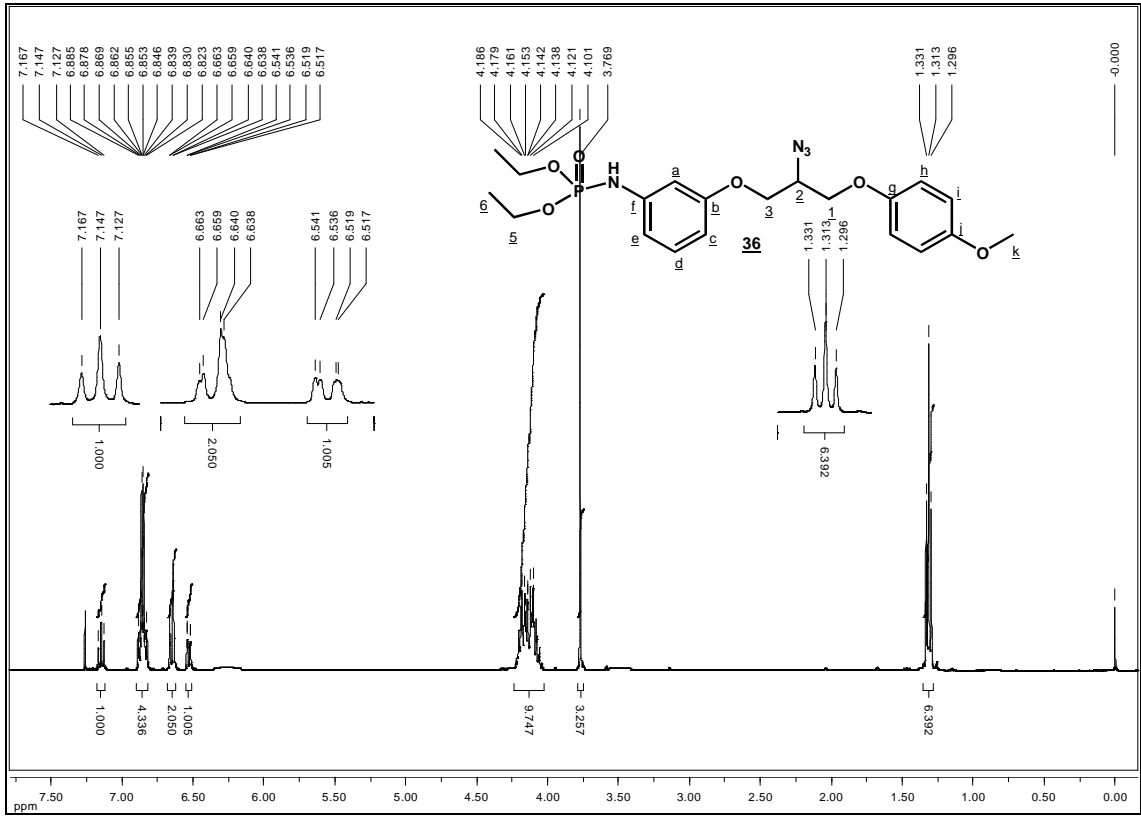


Figura 4.32 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **36** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

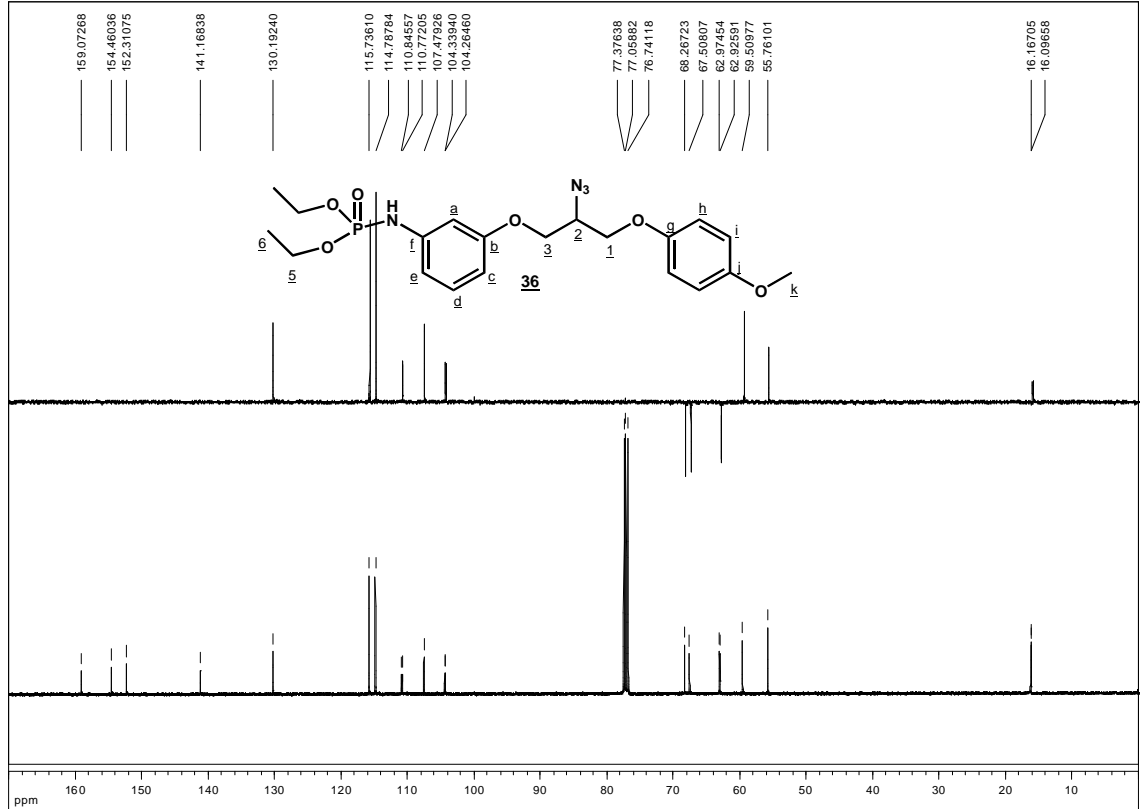


Figura 4.33 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **36** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

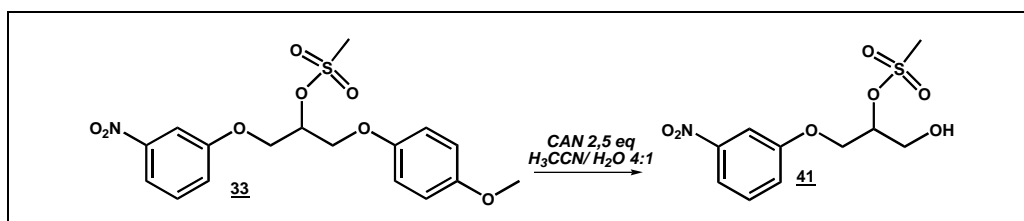
A remoção fácil e rápida do grupo 4-metoxifenila por reação de oxidação com nitrato cérico amoniacal (CAN) é bastante relatada (MASAKI et al., 1996; FUKUYAMA et al., 1985; NICOLAOU et al., 1997; GREENE et al., 2007; CHOI et al., 2007; TROST et al., 2002). Quando o derivado azido fosforilado **36** foi submetido às condições para a remoção do grupo 4-metoxifenila (solução acetonitrila/água 4:1, banho de gelo e de 1,5 até 4,0 equivalentes molares de CAN) não foi observada a formação de um produto. Na maioria das vezes, o material de partida foi recuperado e em outras, com o aumento do tempo de reação, todo o material de partida foi consumido, mas, no entanto, nenhum produto foi isolado. Foi observada a formação de substâncias muito polares, que ficavam retidas quando submetidas à purificação por CCS. Foram realizadas novas tentativas, o tempo de reação e a quantidade de CAN foram variados. Em nenhuma das reações realizadas foi isolada substância diferente do derivado azido **36**. As condições empregadas para esta etapa de síntese estão resumidas na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1** – Condições empregadas nas tentativas de obtenção de **14** a partir de **36**.

<i>Reação</i>	<i>Tempo de reação (h)</i>	<i>Quantidade de CAN (eq.)</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Resultado</i>
<b>1</b>	1	2,5	0°C	Não reagiu
<b>2</b>	8	4,5	0°C	-*
<b>3</b>	6	4,0	-10°C	-*
<b>4</b>	24	1,5	T. amb.	Não reagiu

-\* nenhum produto isolado.

Para estudar essa reação, o derivado éter nitrado **33** foi submetido à reação com CAN (Figura 4.34), na mesma condição utilizada inicialmente para **35** (2,5 equivalentes molares de CAN e banho de gelo) (TROST et al., 2002). Em 15 minutos de reação, foi observado por CCD, que todo o material de partida havia sido consumido, mostrando estar de acordo com o descrito na literatura (MASAKI et al., 1996; FUKUYAMA et al., 1985; NICOLAOU et al., 1997; CHOI et al., 2007; TROST et al., 2002). Após purificação por CCS, foi obtido um sólido de cor alaranjada, com rendimento de 65%, caracterizado como sendo o álcool **41**, produto da remoção do grupo 4-metoxifenila.



**Figura 4.34** – Reação para a obtenção de **41** a partir de **33**.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **41** (Figura 4.35) não foram observados os sinais característicos do grupo 4-metoxifenila e em  $\delta$  2,68 ppm foi observado um simpleto que foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila de C-1.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **41** (Figura 4.36) o sinal em  $\delta$  62,1 ppm foi atribuído a C-1; em  $\delta$  67,5 ppm, atribuído a C-3 e o sinal em  $\delta$  80,5 ppm foi atribuído a C-2. Além disso, não foram observados os sinais de ressonância referente aos carbonos do grupo 4-metoxifenila, confirmando a desproteção da hidroxila.

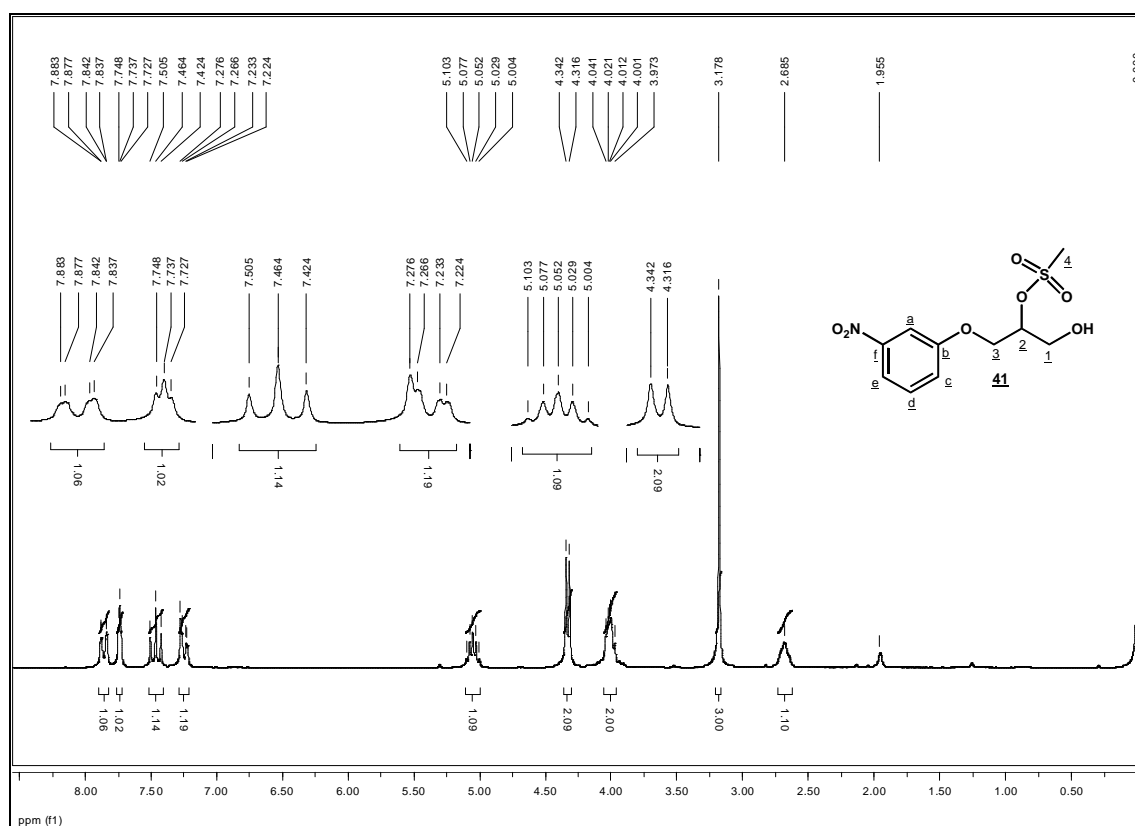


Figura 4.35 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **41** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

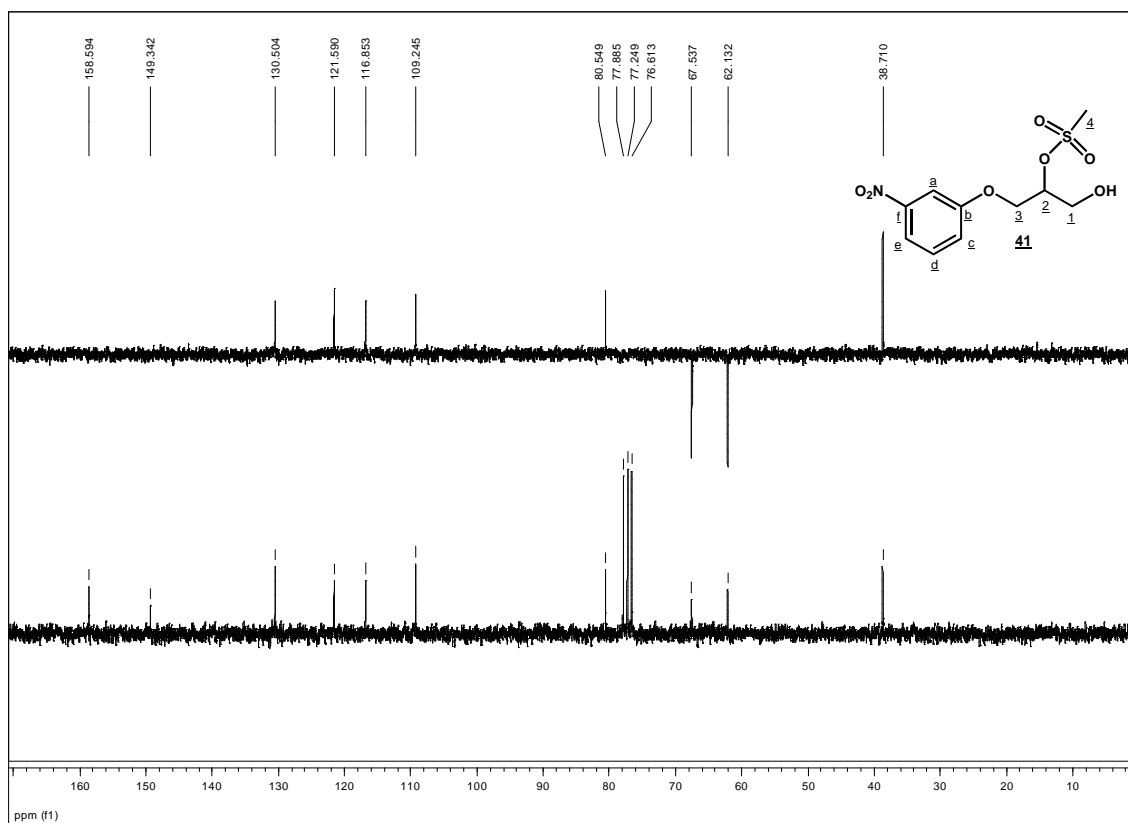
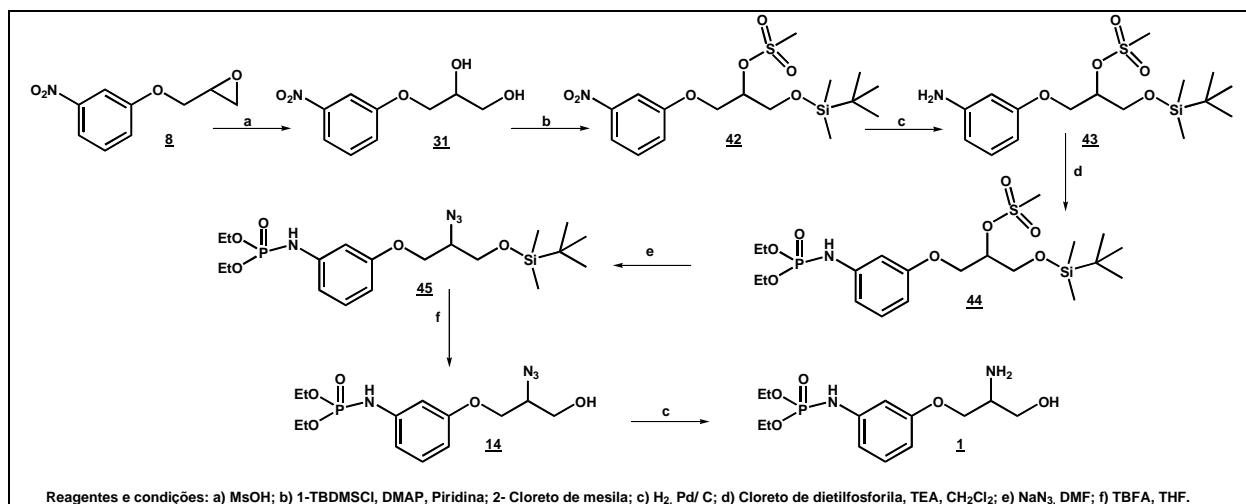


Figura 4.36 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **41** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A desproteção da hidroxila do derivado nitrado **33** sugere que o grupo dietilfosforilamino de **36** está interferindo na reação com CAN e assim dificultando a remoção do grupo 4-metoxifenila, nestas condições.

Paralelamente a esses estudos, foram realizadas outras reações na tentativa de se chegar à fosforamida **1** (Figura 4.16, página 48). Foi proposta outra rota de síntese, a partir do diol nitrado **31**, como representado na figura 4.37. Primeiramente, a hidroxila primária do diol **31** seria protegida pelo grupo *tert*-butildimetilsilila (CHEVALLIER et al., 2006) e, em seguida, a hidroxila de C-2 seria mesilada (JUNG et al., 2002). A redução do grupo nitro de **42** a amino, por hidrogenação catalítica (AVERY et al., 1980), forneceria o substrato para a reação de fosforilação com cloreto de dietilfosforila (HAMMERSCHMIDT et al., 2000). Em seguida, a fosforamida **44** seria submetida à reação com azida de sódio em DMF anidra (TEODOROVIC et al., 2005), seguida pela desproteção da hidroxila primária por fluoreto de tetrabutilamônio (COREY et al., 1972) e à redução do grupo azido a amino para conduzir ao análogo não carboidrato **1**.





**Figura 4.37** – Esquema proposto para a síntese de **1** a partir do diol **31**.

O diol **31** foi obtido pela hidrólise ácida do éter glicídico **8** (TOKUNAGA et al., 1997), na forma de um óleo transparente e utilizado, sem purificação prévia, na etapa seguinte, a proteção da hidroxila primária pelo grupo *tert*-butildimetilsilila (Figura 4.37).

O grupo protetor para a hidroxila primária foi escolhido *tert*-butildimetilsilila por ser volumoso e reagir, preferencialmente com hidroxilas menos impedidas estericamente. Desta forma, a proteção da hidroxila primária poderia ser realizada seletivamente e, além disso, o éter *tert*-butildimetilsilílico é resistente a condições básicas e é facilmente removido por tratamento com fluoreto de tetrabutilamônio (TBFA) (COREY et al., 1972; CHEVALLIER et al., 2006). Assim, **31** foi submetido à reação com cloreto de *tert*-butildimetilsilila em piridina anidra sob banho de gelo (CHEVALIER et al., 2006). Após verificar, por CCD, o consumo do material de partida, foi adicionado ao meio reagente quantidade suficiente de cloreto de metanossulfonila para a mesilação da hidroxila secundária. Quando foi observado o consumo do material de partida, o solvente foi eliminado e prosseguiu-se o processo de purificação por CCS. Desta reação foram isolados dois produtos: o 1-*tert*-butildimetilsililoxi-2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)propano (**42**) e um subproduto, o 1,2-bis-*tert*-butildimetilsililoxi-3-(3-nitrofenoxi)propano (**46**), com rendimentos de 65% e 12%, respectivamente.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **42** (Figura 4.38) foram observados os sinais dos hidrogênios do grupo *tert*-butildimetilsilila: em  $\delta$  0,11 ppm, um simpleto referente aos seis hidrogênios dos grupos metila ligados ao silício e em  $\delta$  0,91 ppm um simpleto atribuído aos nove hidrogênios do grupo *tert*-butila. O simpleto em  $\delta$  3,13 ppm foi atribuído aos hidrogênios do grupo metanossulfonila. Em  $\delta$  3,96; 4,29-4,32 e 4,96 ppm foram observados os sinais dos hidrogênios da cadeia alquílica. Os hidrogênios aromáticos H-c, H-d, H-a e H-e foram relacionados aos sinais em  $\delta$  7,25; 7,47; 7,75 e 7,88 ppm, respectivamente.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **42** (Figura 4.39) foram observados os sinais referentes aos carbonos do grupo *terc*-butildimetilsilila: em  $\delta$  -5,2 e -5,3 ppm o sinal atribuído a C-4; em  $\delta$  26,0 ppm o sinal referente aos carbonos hidrogenados do grupo *terc*-butila, C-6 e em  $\delta$  18,5 ppm o sinal relativo ao carbono não hidrogenado C-5. O sinal em  $\delta$  38,7 ppm foi atribuído ao carbono do grupo metanossulfonila. Os sinais em  $\delta$  62,4; 67,6 e 80,0 ppm foram atribuídos aos carbonos alifáticos C-1, C-3 e C-2, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos foram observados em  $\delta$  109,3 e 116,8 ppm referente a C-a e C-e; em  $\delta$  121,5 e 130,5 ppm os sinais referentes a C-c e C-d e em  $\delta$  149,4 e em 158,7 ppm os sinais atribuídos aos carbonos não hidrogenados C-f e C-b, respectivamente.

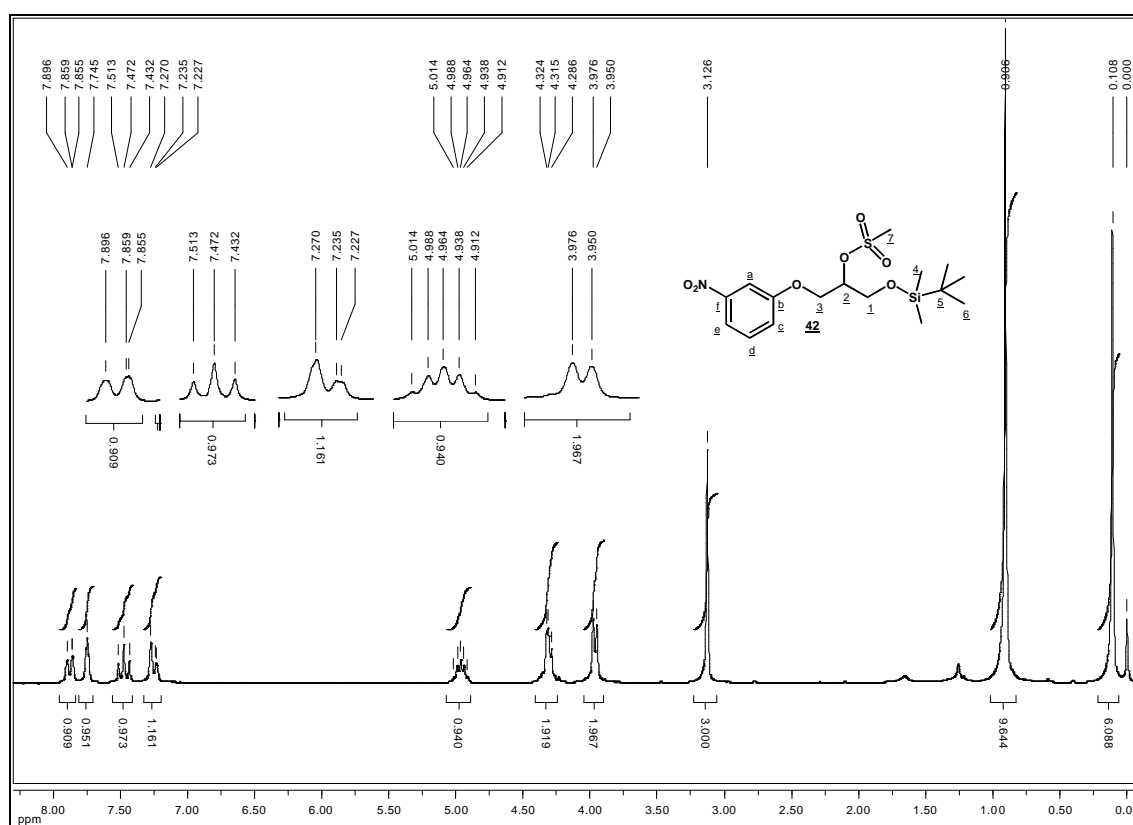
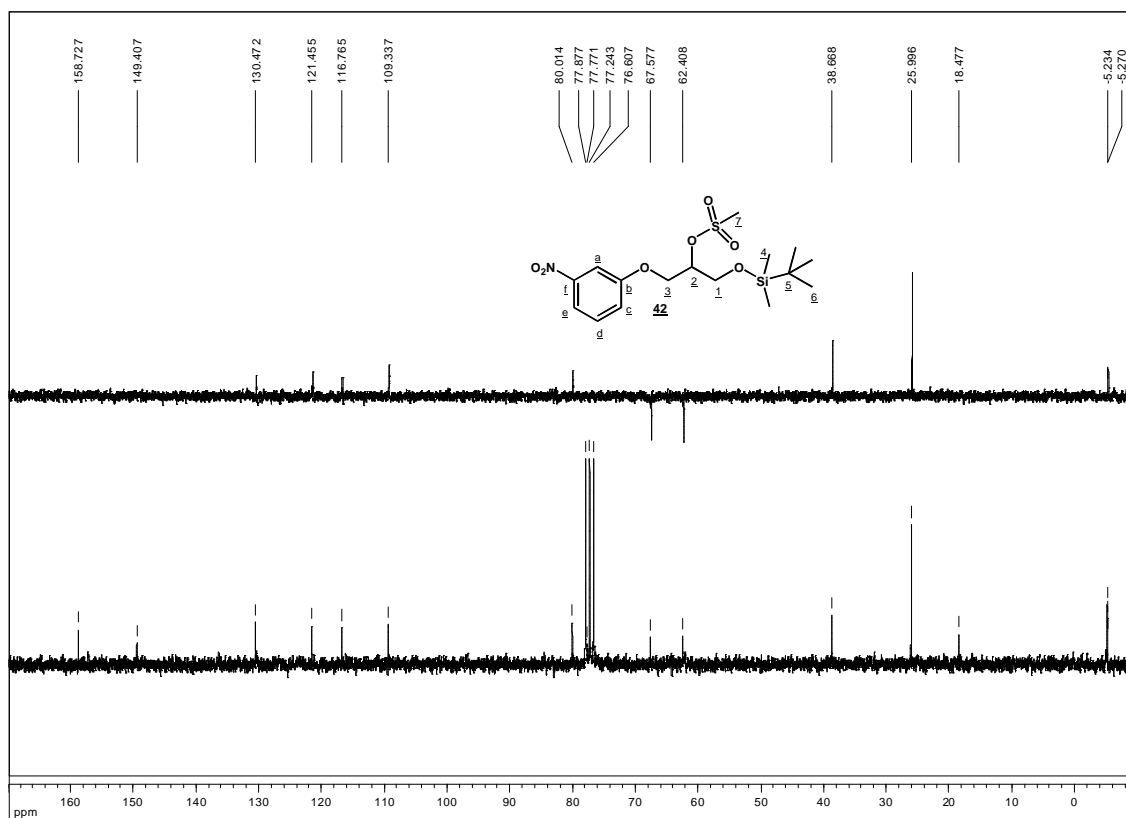


Figura 4.38 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **42** (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.39** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **46** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do subproduto **46** (Figura 4.40), foram observados que os sinais relativos ao grupo *tert*-butildimetilsilila estavam duplicados ou com o valor de integral duas vezes maior, em relação aos outros sinais, confirmando a presença de dois éteres silílicos na molécula. Em  $\delta$  0,10 ppm foi observado um simpleto referente aos 12 hidrogênios metílicos e em  $\delta$  0,90 ppm, o sinal referente aos 18 hidrogênios dos grupos *tert*-butila do grupo *tert*-butildimetilsilila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **46** (Figura 4.41) foram observados os sinais em  $\delta$  -4,4 e -5,1 ppm referentes aos carbonos C-4, em  $\delta$  26,0 e 26,1 ppm os sinais atribuídos a C-6 e em  $\delta$  18,4 e 18,5 ppm os sinais dos carbonos não hidrogenados dos grupos *tert*-butildimetilsilila. Os sinais dos carbonos da cadeia alifática foram observados em  $\delta$  64,8 e 71,0 ppm (C-1 e C-3) e em  $\delta$  72,0 ppm, o sinal referente a C-2. Foram observados também os sinais referentes aos carbonos aromáticos em  $\delta$  109,1, 115,9, 121,7 e 130,1 ppm (C-a, C-e; C-c e C-d, respectivamente). Os sinais em  $\delta$  149,4 e 159,8 ppm foram atribuídos aos carbonos não hidrogenados, C-f e C-b, respectivamente.

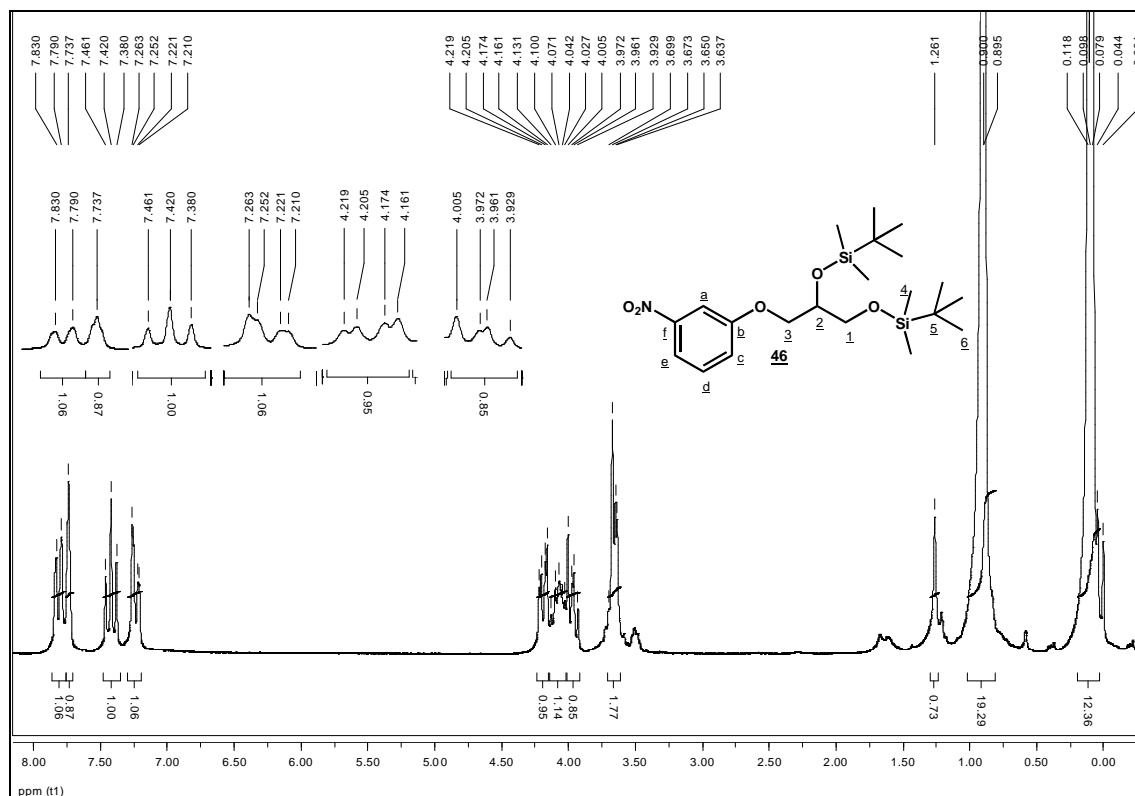


Figura 4.40 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **46** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

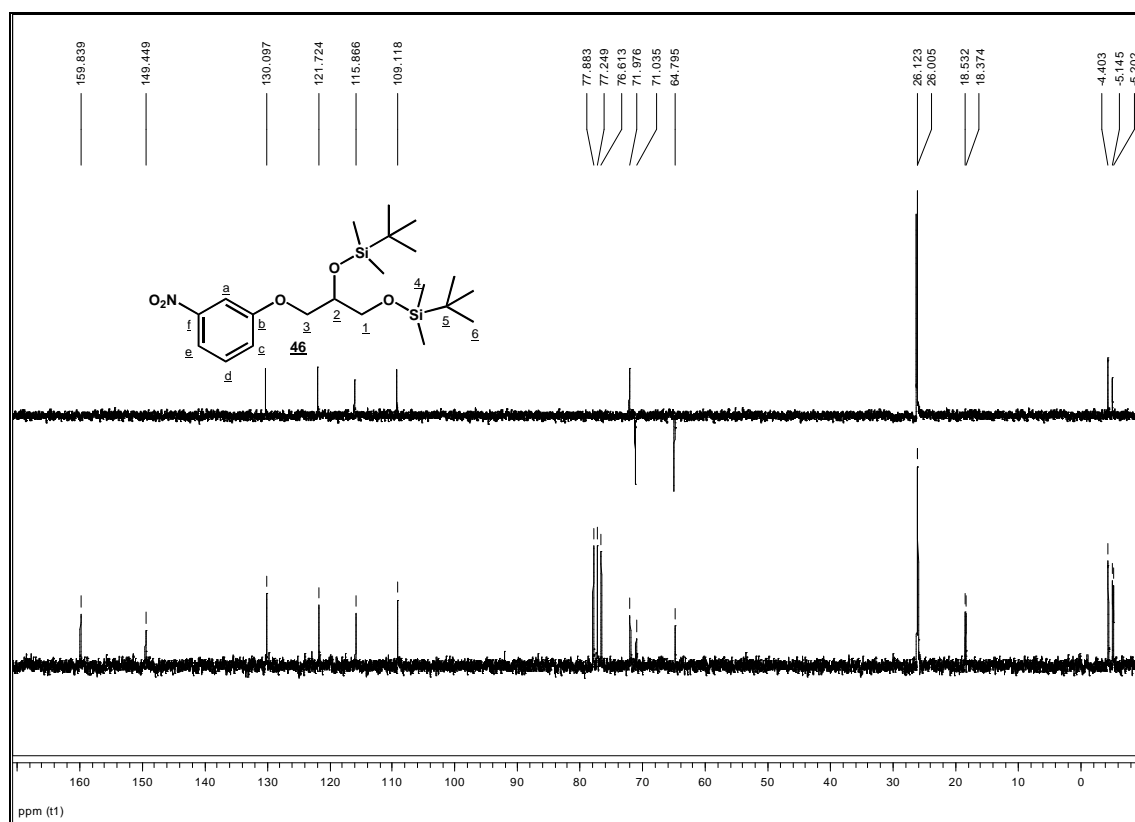
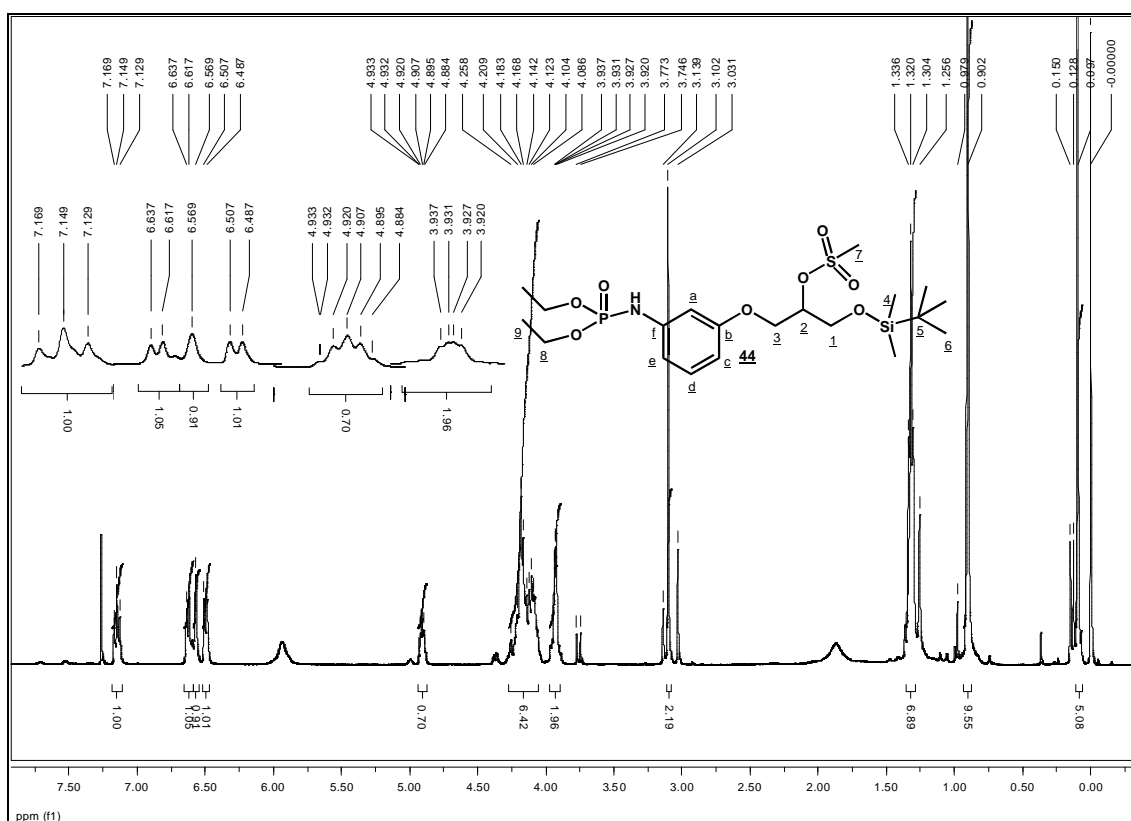


Figura 4.41 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **46** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

As etapas seguintes foram a redução do grupo nitro de **42** a amino (AVERY et al., 1980) seguida pela reação da amina resultante com o cloreto de dietilfosforila (HAMMERSCHMIDT et al., 2000) (Figura

4.37, página 64). O derivado nitro **42** foi submetido a reação de hidrogenação catalítica em hidrogenador Parr, utilizando-se paládio/carvão como catalisador. Depois de verificado término da reação, o catalisador foi removido por filtração e o solvente foi evaporado até resíduo, o qual foi submetido à reação de fosforilação com cloreto de dietilfosforila em presença de trietilamina (HAMMERSCHMIDT et al., 2000). A fosforamida **44** foi obtida com rendimento de 42%.

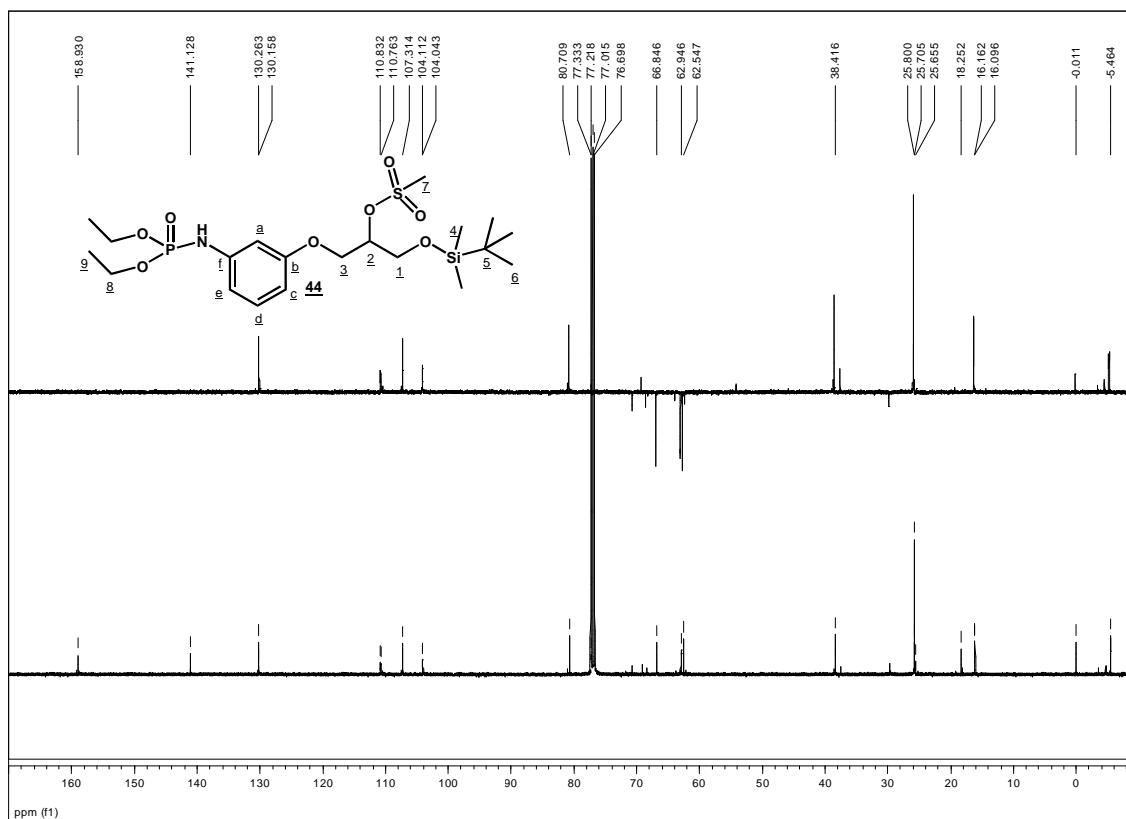
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **44** (Figura 4.42) foram observados, entre outros, os sinais referentes aos hidrogênios do grupo dietilfosforilamino: em  $\delta$  1,32 ppm um tripleto, atribuído aos hidrogênios metílicos e em  $\delta$  4,09-4,26 ppm, um multipletto atribuído aos hidrogênios metilênicos. Os sinais de ressonância dos hidrogênios aromáticos sofreram modificações no deslocamento químico após a redução do grupo nitro e fosforilação do amino: o sinal atribuído a H-a passou de  $\delta$  7,75 ppm para  $\delta$  6,57 ppm; H-c, de  $\delta$  7,25 ppm para  $\delta$  6,62 ppm; H-e de  $\delta$  7,88 ppm para  $\delta$  6,49 ppm e H-d, de  $\delta$  7,47 ppm para  $\delta$  7,15 ppm.



**Figura 4.42** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **44** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **44** (Figura 4.43) os sinais observados em  $\delta$  16,1 e 62,5 ppm foram atribuídos aos carbonos C-8 e C-9 do grupo dietilfosforilamino, respectivamente. Além disso, foram observados os acoplamentos C-P dos carbonos adjacentes à fosforamida (em  $\delta$  104,1 e 110,8 ppm, C-a e C-e, respectivamente), confirmando a fosforilação de **41**. Outra evidência da obtenção de **44** é que,

como os carbonos aromáticos estão mais protegidos, os sinais estão mais próximos ao TMS, em comparação aos mesmos carbonos no derivado anterior nitrado **42**.



**Figura 4.43** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **44** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A etapa seguinte foi a reação de substituição do grupo metanossulfonila de **44** por azido, por reação com azida de sódio em DMF anidra (Figura 4.37, página 64) (TEODOROVIC et al., 2006). Ao analisar o produto isolado desta reação, foi observado que, além da substituição do grupo metanossulfonila em C-2, ocorreu também a remoção do grupo *tert*-butildimetilsilila em uma única etapa. Com isso, a partir da fosoramida mesilada e sililada **44** foi possível obter o derivado azido álcool **14**, com 41% de rendimento. No espectro de absorção na região do infravermelho de **14** (Figura 4.44), a banda em  $2095\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à vibração das ligações N=N de grupo azido.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **14** (Figura 4.45) não foram observados os sinais referentes aos hidrogênios do grupo *tert*-butildimetilsilila, bem como os sinais relativos aos hidrogênios do grupo metanossulfonila. Além disso, o sinal em  $\delta 2,95\text{ ppm}$  foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila de C-1.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **14** (Figura 4.46), assim como no espectro de  $^1\text{H}$  não foram observados os sinais referentes aos carbonos ou aos hidrogênios dos grupos *tert*-butildimetilsilila e metanossulfonila. Foi observada a mudança do sinal relativo a C-2, de  $\delta 80,7\text{ ppm}$  para  $\delta 62,5\text{ ppm}$ , confirmando a substituição pelo grupo azido.

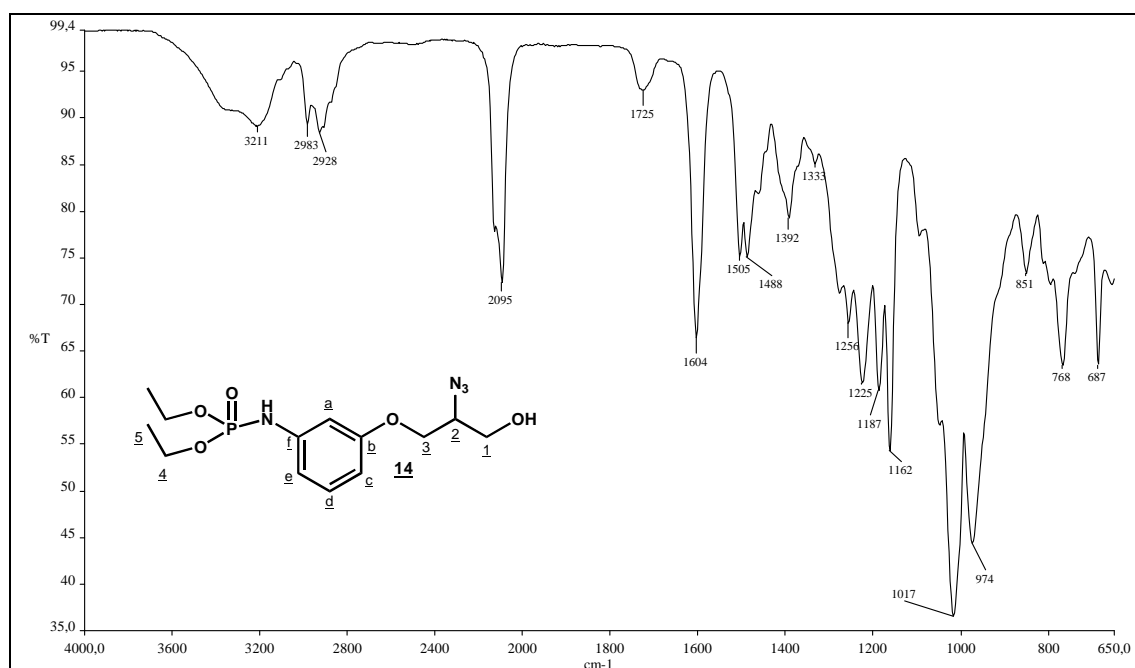


Figura 4.44 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **14**.

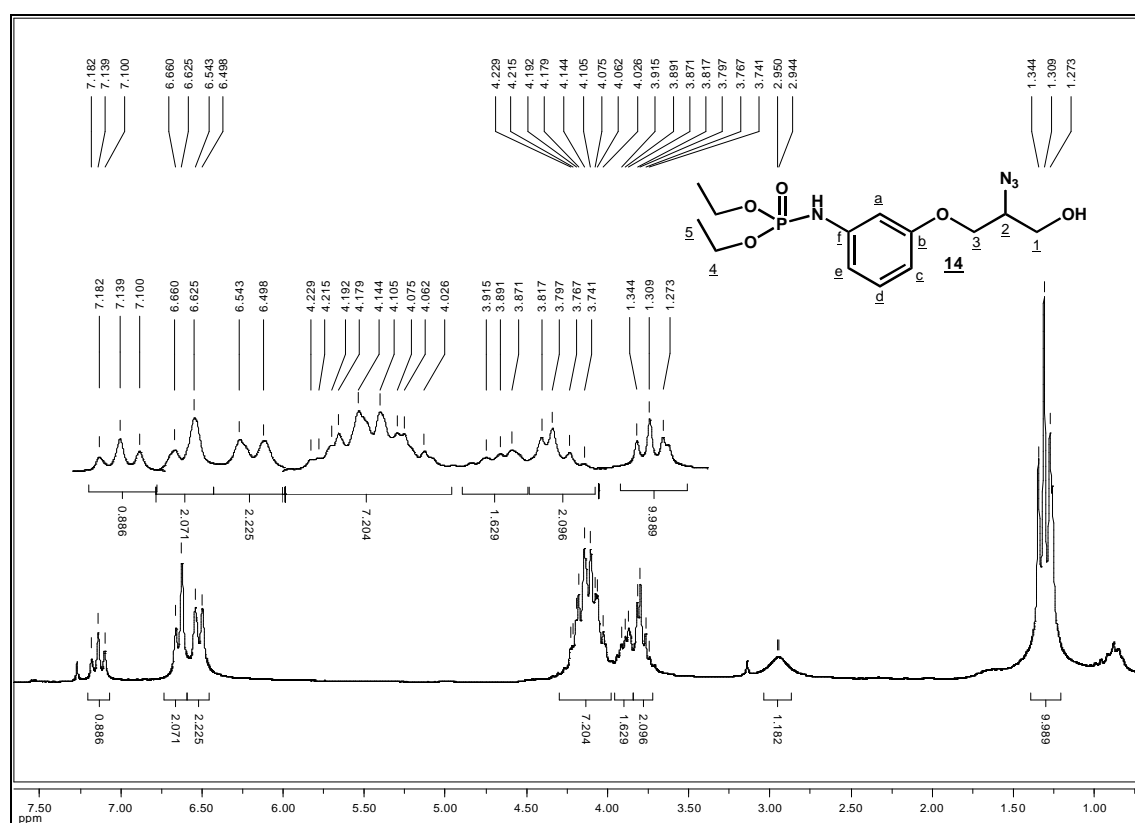
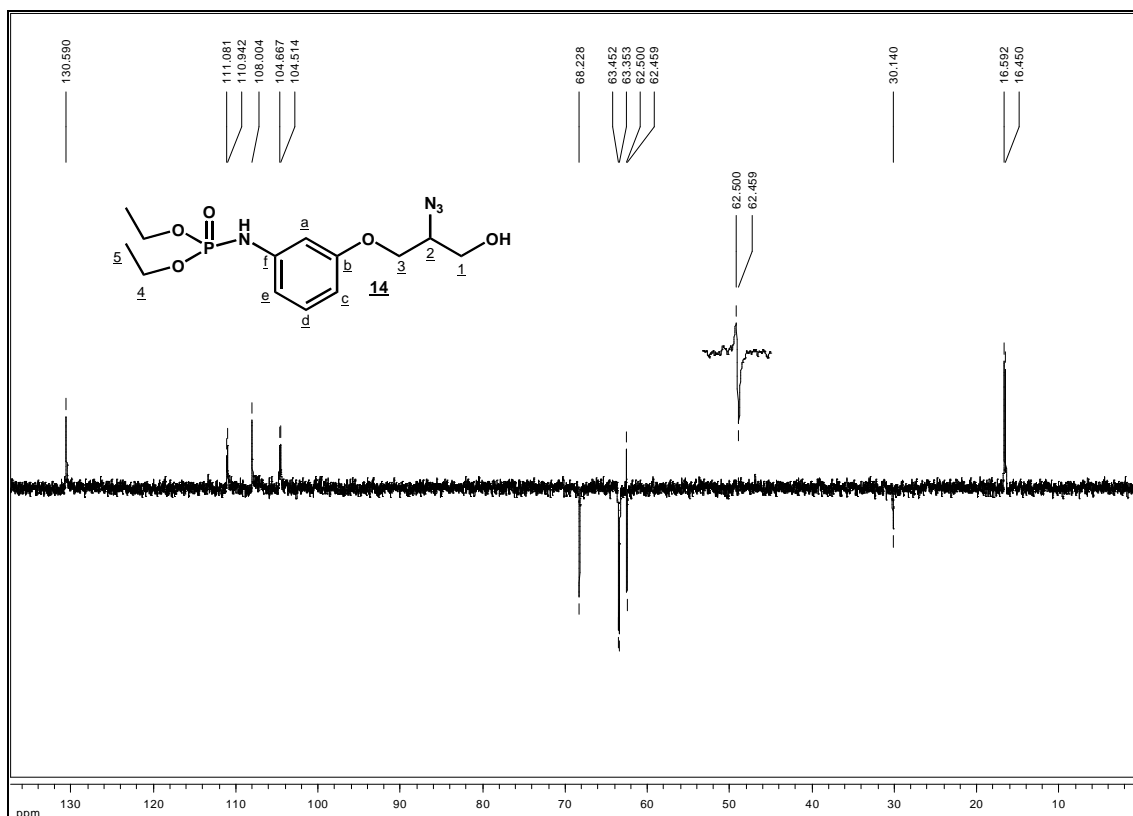


Figura 4.45 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **14** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.46** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  - subspectro DEPT 135 de **14** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A etapa final para se chegar ao amino álcool **1** foi a redução do grupo azido a amino por hidrogenação catalítica em aparelho Parr (LEE et al., 2001) (Figura 4.37, página 64). O produto **1** foi obtido com 49% de rendimento, como um óleo transparente. O rendimento global a partir do éter glicídico nitrado **8**, foi de 4,0%. No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 4.47) não foi observada a banda, na região de  $2100\text{ cm}^{-1}$ , característica de grupo azido, indicando a redução do mesmo. Foram observadas, entre outras, as bandas características dos estiramentos das ligações P-O-C em  $1016$  e  $972\text{ cm}^{-1}$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1** (Figura 4.48) os sinais de ressonância dos hidrogênios do grupo dietilfosforilamino foram observados em  $\delta$  1,31 ppm um tripleto, atribuído aos hidrogênios metílicos, e em  $\delta$  4,05-4,16 ppm, um multipletto, referente aos hidrogênios metilênicos e H-2. Os dupletos duplos centrados em  $\delta$  3,61 e 3,68 ppm foram atribuídos aos H-1 e os centrados em  $\delta$  3,90 e 4,00 ppm, aos hidrogênios H-3. O dupletto duplo centrado em  $\delta$  6,55 ppm foi atribuído a H-c, e o dupletto duplo centrado em  $\delta$  6,64 ppm foi atribuído a H-e. Os tripletos centrados em  $\delta$  6,68 e 7,12 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-a e H-d, respectivamente.



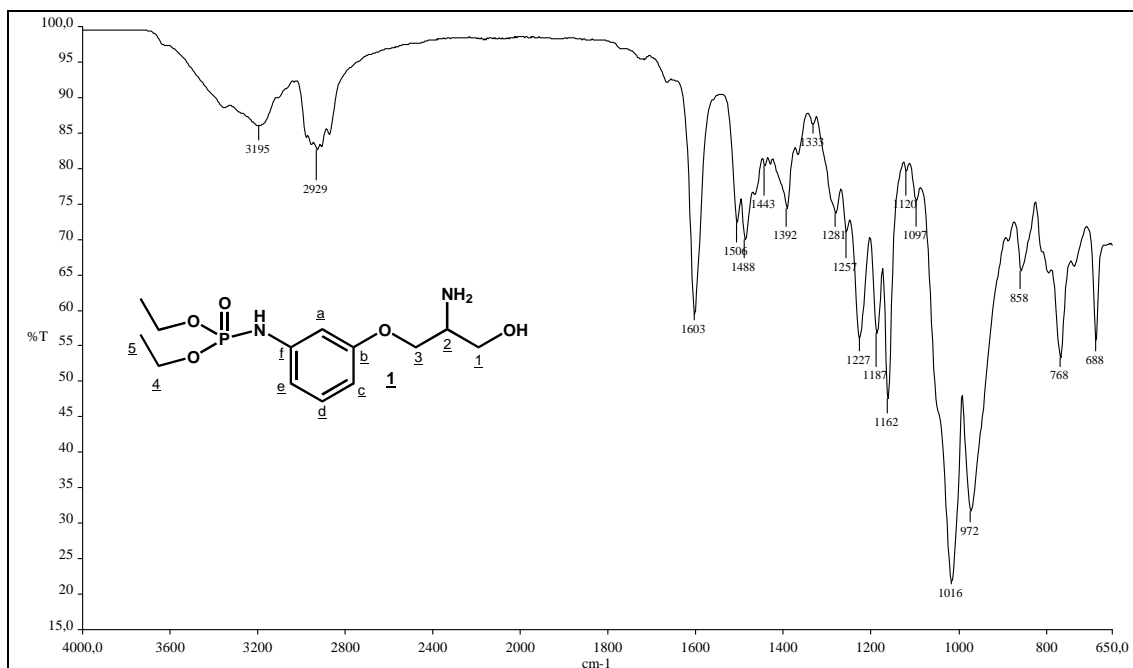


Figura 4.47 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **1**.

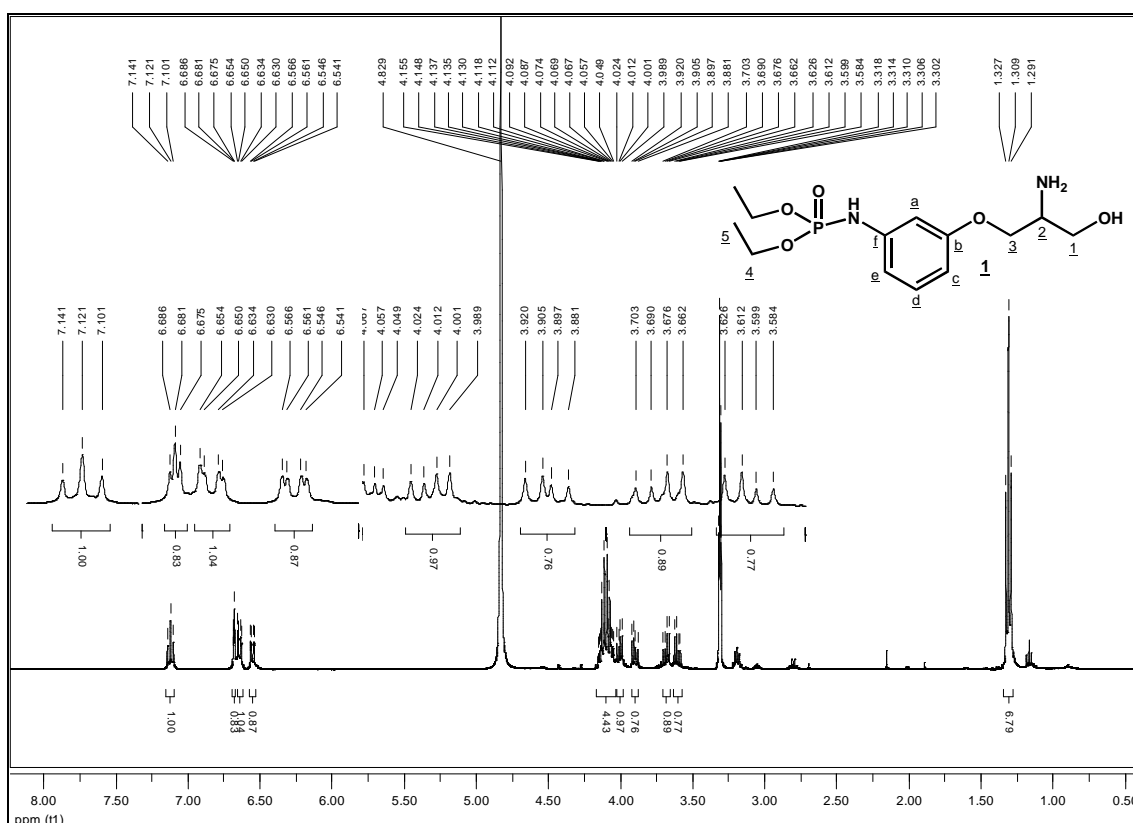
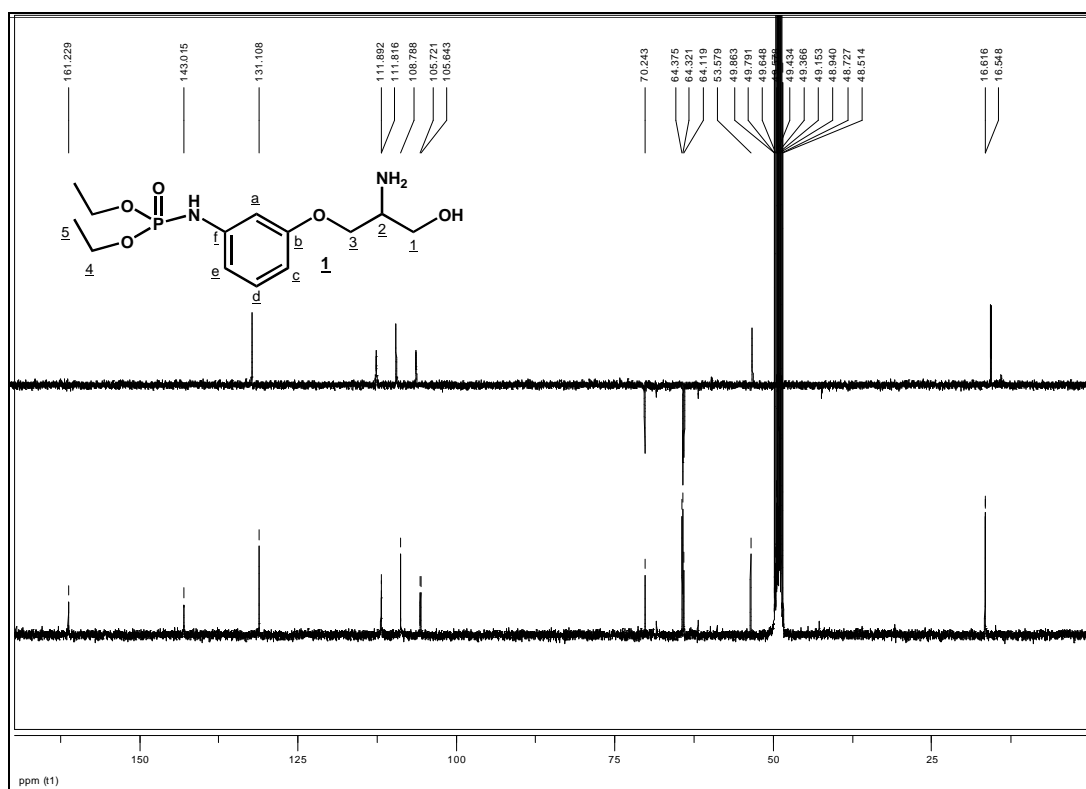


Figura 4.48 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1** (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1** (Figura 4.49) foram observados os sinais de ressonância dos carbonos da cadeia alifática C-1 e C-3 em  $\delta$  64,1 e 70,2 ppm, respectivamente. O sinal referente a C-2 mudou de  $\delta$  62,5 para 53,6 ppm, confirmando a redução do grupo azido. Os sinais atribuídos aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforamino foram observados em  $\delta$  16,6 e 64,3 ppm,

respectivamente. A presença do grupo fosforamido pode ser confirmada pelo acoplamento C-P observado nos sinais de ressonância dos carbonos C-a e C-e de **1**. Em  $\delta$  105,7 e 111,8 ppm foram observados esses acoplamentos com  $J_{\text{CCNP}}$  de 7,8 e 7,6 Hz, respectivamente. Os outros carbonos aromáticos foram atribuídos aos sinais em  $\delta$  108,8 e 131,1 ppm, C-c e C-d, e os sinais em  $\delta$  143,0 e 161,2 ppm atribuídos aos carbonos não hidrogenados C-f e C-b.

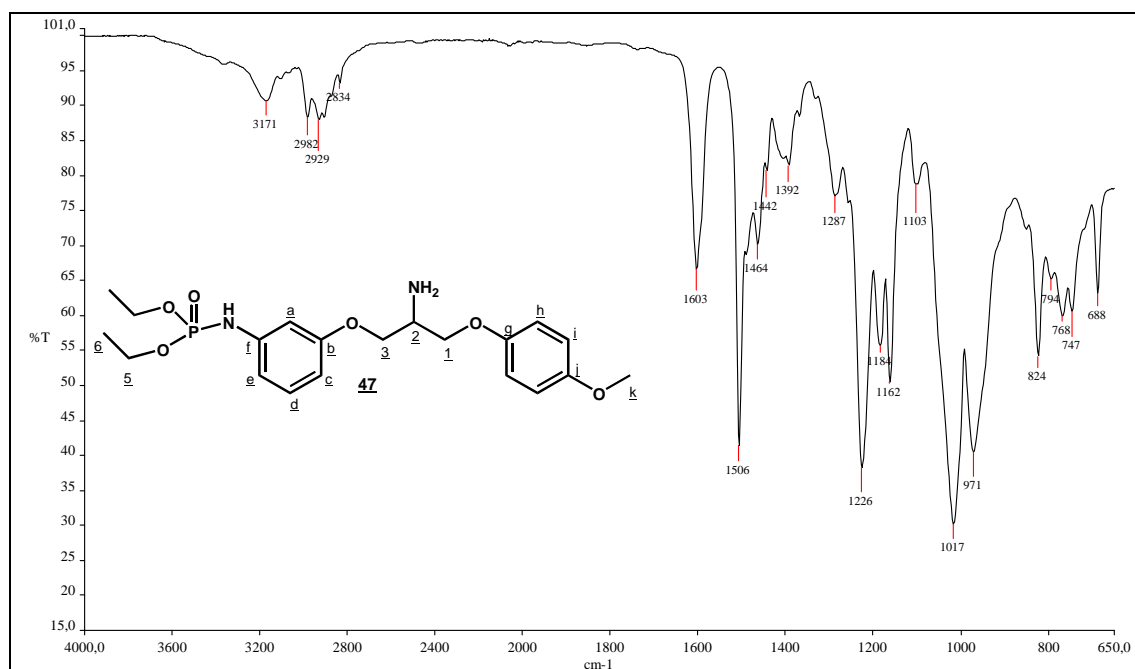


**Figura 4.49** – Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **1** (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

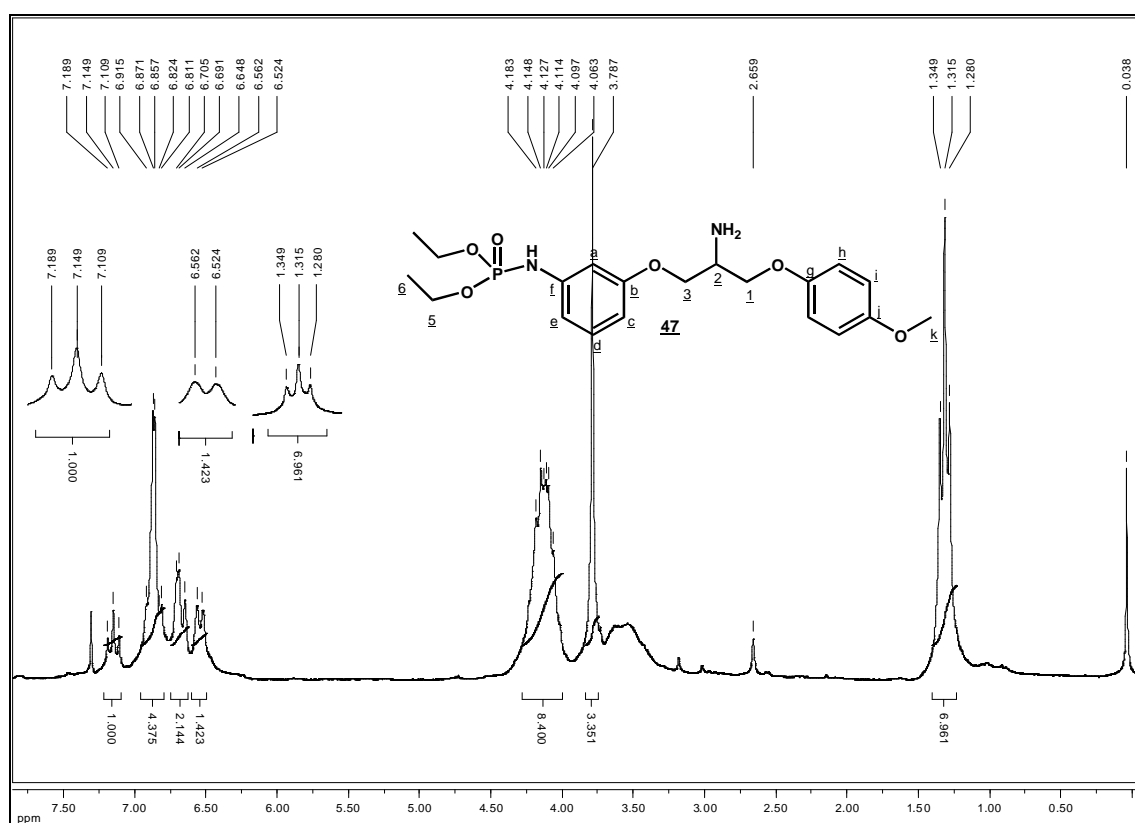
A reação de hidrogenação catalítica do derivado azido **36** levou à obtenção de 2-amino-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (**47**) (LEE et al., 2001) com 67% de rendimento. O derivado amino **47** foi sintetizado com o objetivo de avaliar a participação do grupo *p*-metoxifenila na possível atividade antimicrobiana. No espectro de absorção na região do infravermelho de **47** (Figura 4.50), não foi observada a banda característica de absorção de ligações N=N de grupo azido, indicando a redução do mesmo.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.51) foram observados, entre outros, os sinais do grupo dietilfosforamido, o tripleto centrado em  $\delta$  1,32 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-5 e o multipletto em  $\delta$  4,06-4,18 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-4 e aos cinco da cadeia alifática, H-1, H-2 e H-3. O simpleto em  $\delta$  3,79 ppm foi atribuído aos hidrogênios metílicos e o multipletto em  $\delta$  6,81-6,91 ppm aos hidrogênios aromáticos do grupo 4-metoxifenila. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **47** (Figura 4.52) foram observados, entre outros, os sinais em  $\delta$  56,7 ppm e  $\delta$  115,6 e 116,5 ppm atribuídos aos

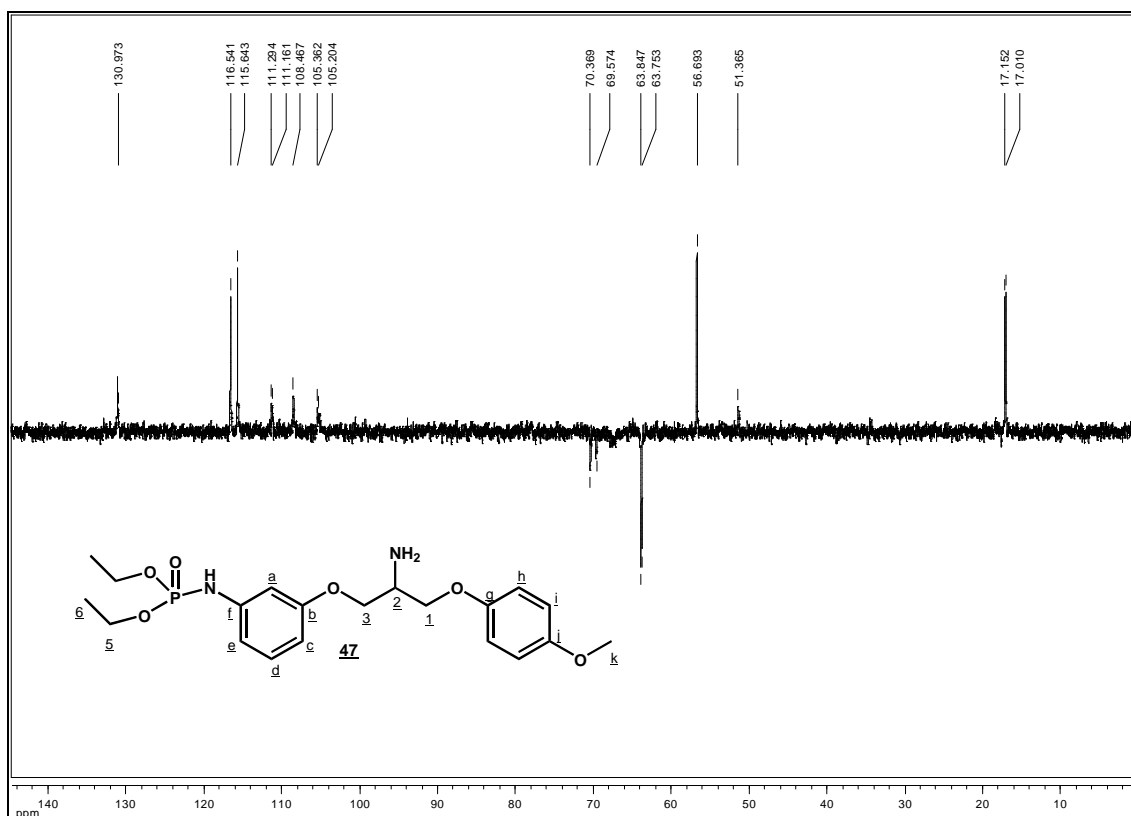
carbonos hidrogenados do grupo 4-metoxifenila. Os sinais em  $\delta$  17,1 e 63,8 ppm são referentes aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforilamino, respectivamente. A mudança do sinal referente a C-2, de  $\delta$  59,5 ppm para  $\delta$  51,4 ppm confirma a redução do grupo azido.



**Figura 4.50** – Espectro de absorção na região do infravermelho de **47**.



**Figura 4.51** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **47** (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.52** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – subespectro DEPT 135 de **47** (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

## 4.2 Síntese de Diidrogenofosfato de (*S*)-3-(2-amino-3-hidroxiopropoxi)fenila **2** e de diidrogenofosfato de (*R*)-3-(2-amino-3-hidroxiopropoxi)fenila **3**.

Dando continuidade à obtenção de possíveis inibidores de GlcN6P sintase, foi efetuada a síntese dos enantiômeros fosfatos **2** e **3** a partir de 3-benzoilresorcinol e de (*S*)-*tert*-butil-1,1-dimetil-4-hidroxi-2,2-dimetil-3-oxazolidina **16S** e (*R*)-*tert*-butil-1,1-dimetil-4-hidroxi-2,2-dimetil-3-oxazolidina **16R** (Figura 4.53), ésteres metílicos de serina protegida **15R** e **15S**, respectivamente.

A primeira etapa para a síntese dos fosfatos **2** e **3** foi a obtenção do álcool **16** por redução do éster metílico **15**. O éster **15** é um composto versátil em síntese orgânica e vem sendo utilizado em larga escala na síntese estereocontrolada de uma variedade de moléculas contendo nitrogênio, como aminoácidos e aminoaçúcares (THANDER et al., 2009; AVEZONA et al., 2002; LIANG et al., 2001; GARNER et al., 1992). Além disso, os grupos protetores de **15** são estáveis suficientemente para serem utilizados na síntese e permitem a desproteção em condições seletivas e suaves (DONDONI et al., 1997). A redução do éster **15** pode ser realizada utilizando-se vários agentes redutores: boroidreto de sódio (FOSS et al., 2007; WILLIAMS et al., 1996), boroidreto de lítio (DONDONI et al., 1997;

MEFFRE et al., 1994) e hidreto de alumínio e lítio (ROUSH et al., 1995), levando à obtenção do produto esperado com bons rendimentos.

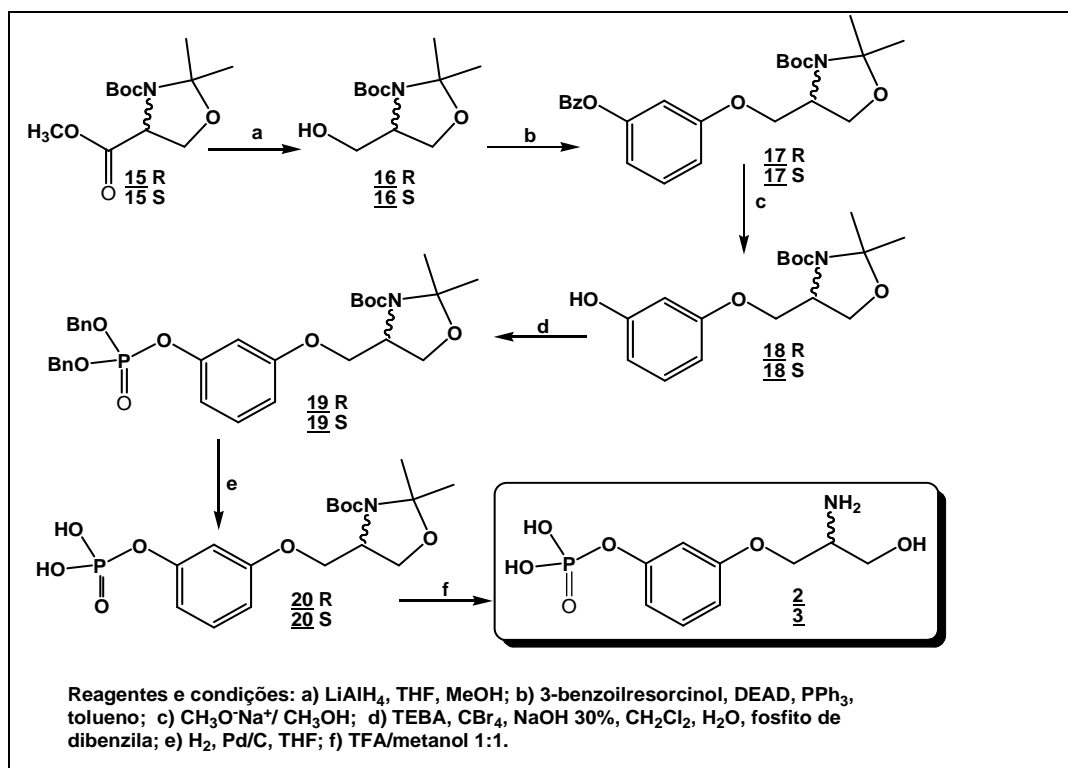
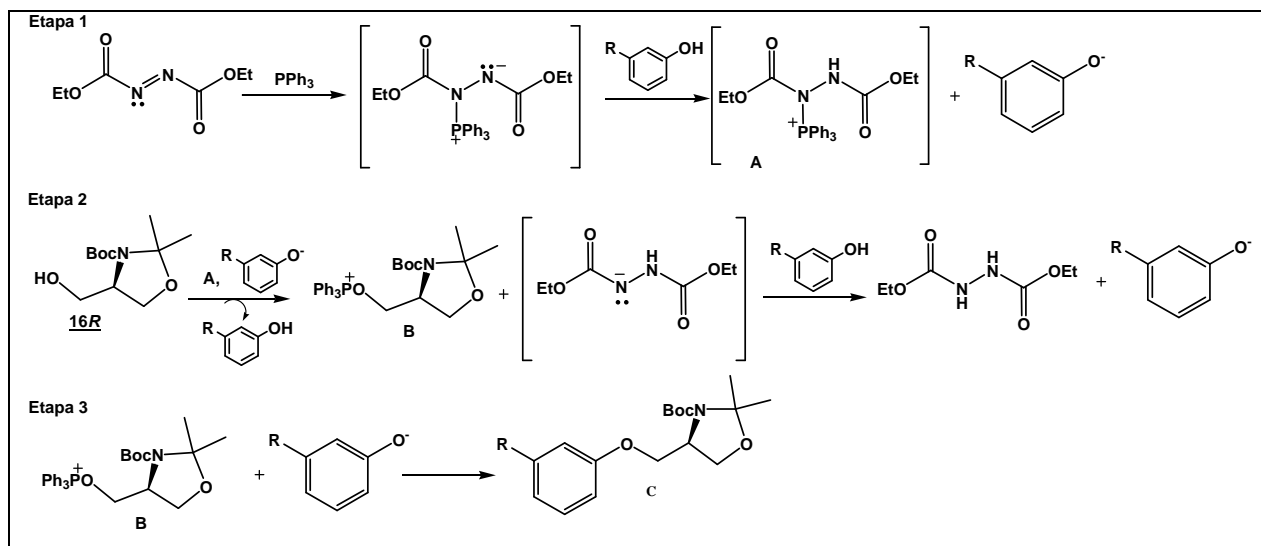


Figura 4.53 – Esquema proposto para a obtenção **2** e **3**.

No presente trabalho, a reação de redução do éster metílico **15S** foi realizada em presença de hidreto de alumínio e lítio em éter etílico sob aquecimento (ROUSH et al., 1995). Dessa reação foi possível isolar o álcool **16R** com 46% de rendimento. Quando na reação foi utilizado borohidreto de lítio, o mesmo álcool **16R** foi obtido com um melhor rendimento, 71%. O mesmo procedimento foi seguido para a obtenção de **16S**, a partir de **15R**, e este foi obtido com um rendimento de 90%. As substâncias **16R** e **16S** foram caracterizadas pela comparação dos valores obtidos para o poder rotatório específico e dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura (DONDONI et al., 1997; WILLIAMS et al.; 1996).

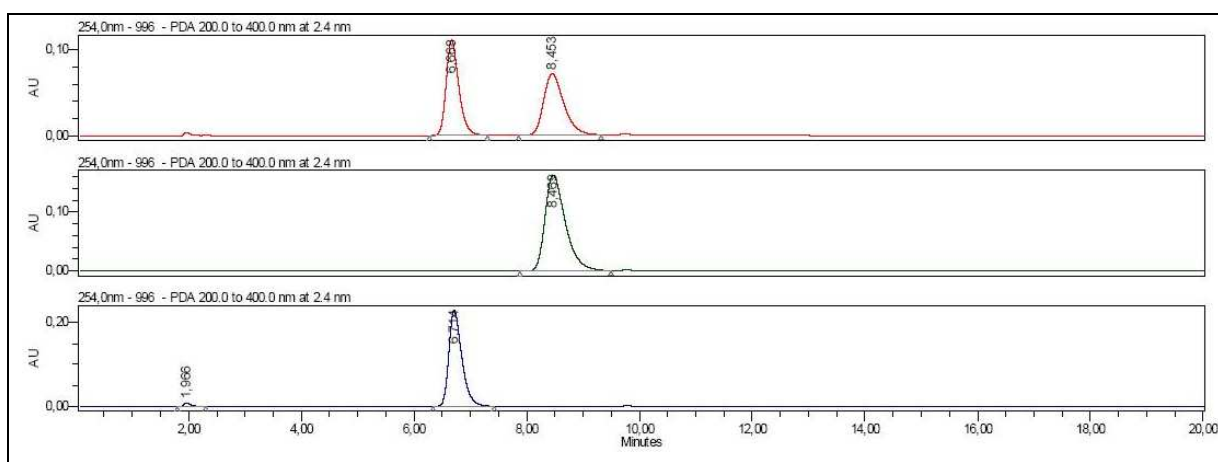
Em seguida, o álcool **16R** foi submetido à reação, nas condições de Mitsunobu, para a formação do derivado benzilado **17R**. O processo de esterificação, nas condições de Mitsunobu, pode ser resumido em 3 etapas (Figura 4.54). Primeiramente, ocorre a formação do aduto de fosfônio quaternário **A** entre trifenilfosfina ( $\text{PPh}_3$ ) e azodicarboxilato de dietila (DEAD) (Figura 4.54, etapa1). Em seguida, o amino álcool **16R** reage com o aduto de fosfônio quaternário **A** e forma o intermediário **B**. Por fim, o ataque nucleofílico por  $\text{S}_{\text{N}}2$  do fenolato em **B** leva ao produto desejado **C**. Esta reação deve ser realizada em solventes apróticos como éter etílico, tetraidrofurano ou tolueno e pode ser tanto à temperatura ambiente quanto sob aquecimento (MITSUNOBU, 1981). Um problema dessa reação é a dificuldade na obtenção do produto puro. Diversos autores relatam o uso de trifenilfosfina ligada a um suporte em

polímero, que desta forma, permitiria a realização dessa reação em condições de síntese em fase sólida. Uma vez que a trifenilfosfina estaria ligada em resinas, tanto esta como o seu óxido formado na reação, poderiam ser eliminados do meio reacional por filtração (TUNOORI et al., 1998; PELLETIER et al., 2000; LIZARZABURU et al., 2002).



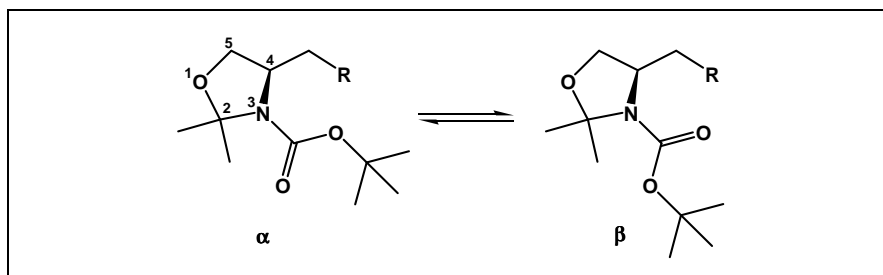
**Figura 4.54** – Etapas envolvidas na reação de Mitsunobu (LIZARZABURU et al., 2002).

Os éteres **17R** e **17S** foram obtidos com rendimentos de 68 e 76%, respectivamente, após purificação por cromatografia em coluna de sílica, na forma de óleo transparente. Uma mistura destes foi submetida à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para comprovar a pureza enantiomérica dos compostos isolados. Foi observado um tempo de retenção de 8,47 min. para **17S** (em verde) e tempo de retenção de 6,71 min. para **17R** (em azul) (Figura 4.55).



**Figura 4.55** – Cromatogramas obtidos para os compostos **17S** (em verde) e **17R** (em azul) e a mistura destes (em vermelho); coluna AD-H 5  $\mu$ m; eluição isocrática com mistura de heptano/ álcool etílico 2% e detector UV a 254 nm.

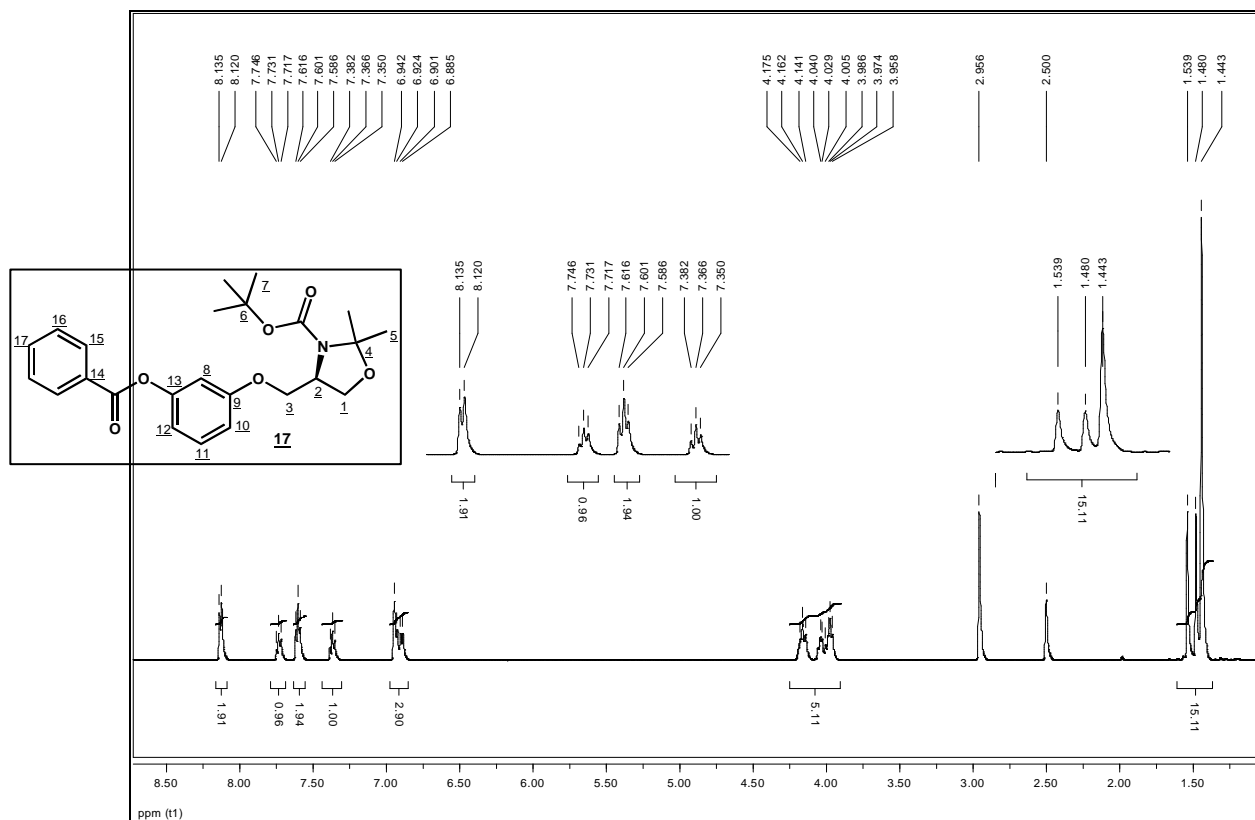
Compostos contendo os grupos oxazolidino e *N-terc*-butoxicarbonila possuem uma característica: seus espectros de RMN apresentam sinais duplicados quando estes são obtidos em experimentos à temperatura ambiente. Isso ocorre devido ao equilíbrio dinâmico entre dois confôrmeros ( $\alpha$  e  $\beta$ ) formados pela rotação da ligação C-N do grupo carbamato (GARNER et al., 1987; MONACHE et al., 1995; AVEZONA et al., 2003) (Figura 4. 56). No confôrmero  $\alpha$ , a carbonila do carbamato está em uma conformação *sin* em relação à ligação C-2-N, enquanto que para o confôrmero  $\beta$  essas duas ligações estão em orientação *anti*. Esse equilíbrio também foi descrito para carbamatos do tipo *N*-Cbz (MONACHE et al., 1995).



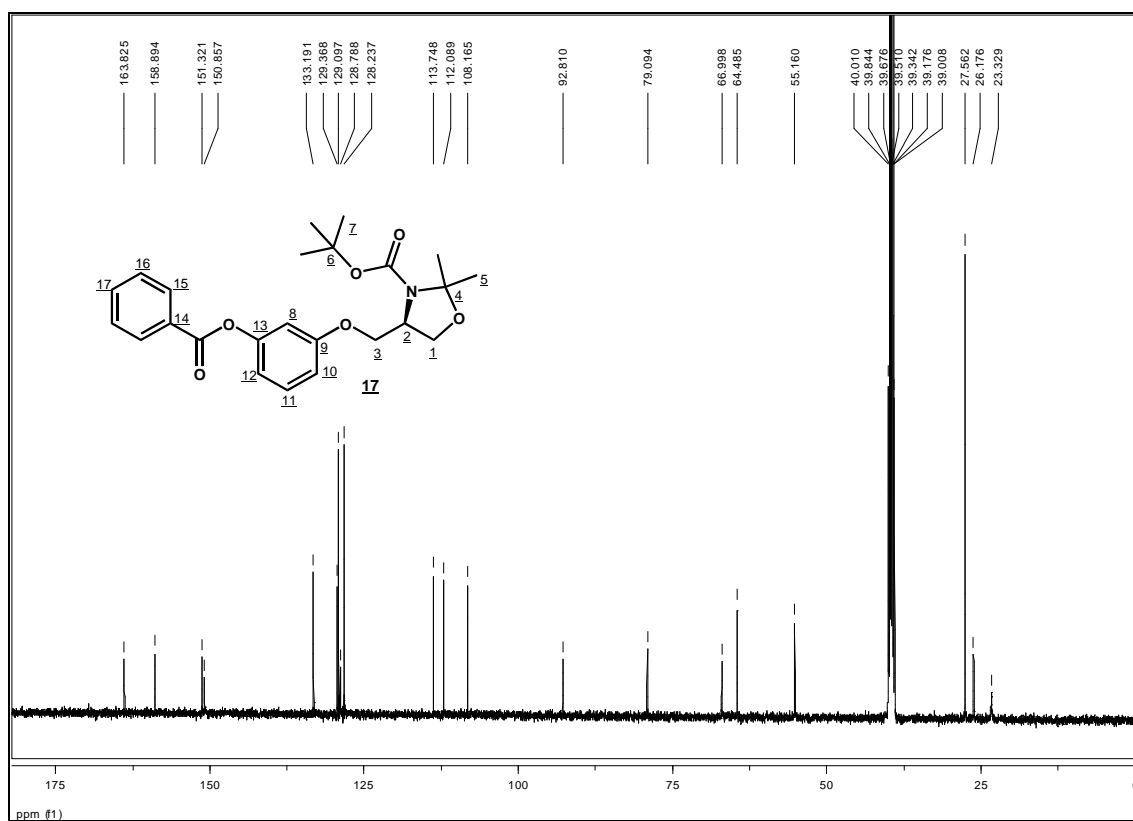
**Figura 4.56** – Equilíbrio dinâmico da rotação da ligação C-N do carbamato.

Para minimizar esse efeito de duplicação dos sinais, os espectros de RMN da maioria dos compostos contendo o grupo oxazolidino foram obtidos à temperatura de 90°C. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **17R** ou **17S** (Figura 4.57), foram observados, entre outros, os sinais referentes aos hidrogênios do grupo benzoíla: em  $\delta$  7,60 ppm, um tripleto referente aos hidrogênios em *meta* à carbonila do éster; em  $\delta$  7,73 ppm, um tripleto referente aos hidrogênios em *para* à carbonila do éster e em  $\delta$  8,13 ppm um duplete referente aos hidrogênios em *orto*. O multiplete entre  $\delta$  3,96-4,18 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-1, H-2 e H-3. O multiplete entre  $\delta$  6,89-6,94 ppm foi atribuído aos hidrogênios aromáticos H-8, H-10 e H-12 e o tripleto em  $\delta$  7,37 ppm foi observado como o sinal de ressonância de H-11.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **17** (Figura 4.58) foram observados, entre outros, os sinais de ressonância dos carbonos do grupo benzoíla: em  $\delta$  128,2 ppm (C-16); em  $\delta$  128,8 ppm (C-14); em  $\delta$  129,1 ppm (C-15) e em  $\delta$  133,2 ppm (C-17). O sinal em  $\delta$  163,8 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico do grupo benzoíla e em  $\delta$  150,9 ppm foi observado o sinal referente à carbonila do grupo *N*-Boc. Os sinais referentes aos carbonos C-1, C-2 e C-3 foram observados em  $\delta$  64,5, 55,2 e 67,0 ppm, respectivamente. Em  $\delta$  108,2 ppm foi observado o sinal de ressonância de C-8, em  $\delta$  112,1 ppm o sinal referente a C-12, em  $\delta$  113,7 ppm o sinal referente a C-10 e em  $\delta$  129,4 ppm o sinal relativo a C-11.



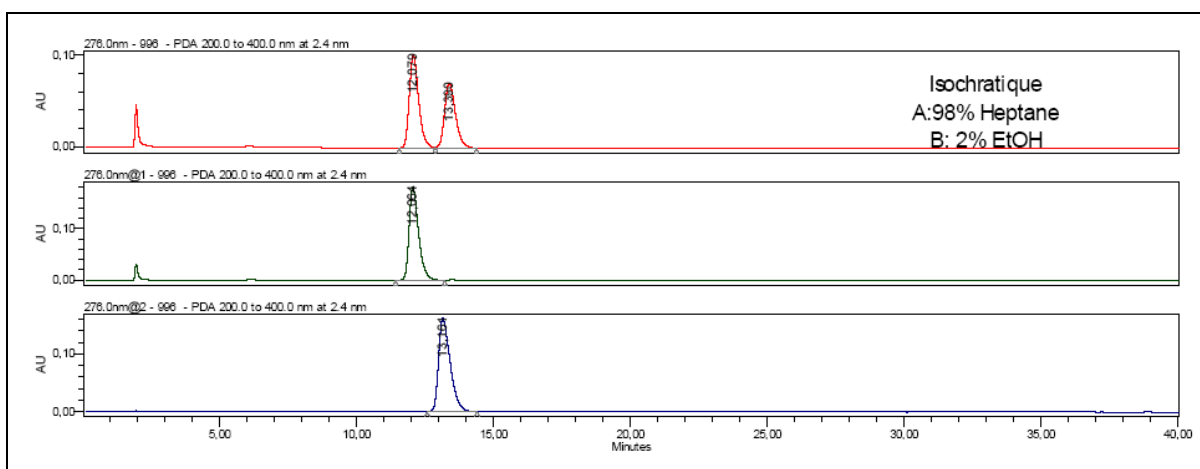
**Figura 4.57** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **17** (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $90^\circ\text{C}$ ).



**Figura 4.58** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **17** (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $90^\circ\text{C}$ ).



Para a desproteção da hidroxila fenólica de **17**, foi utilizada a reação de transesterificação, na qual o éster benzoato reage com metóxido de sódio em metanol anidro a 0°C e forma benzoato de metila e o fenol desprotegido (Figura 4.53, página 76) (CZIFRÁK et al., 2006). O fenol **18R** foi obtido, após purificação por cromatografia em coluna de sílica, com 95% de rendimento. Pelo mesmo procedimento seu enantiômero foi obtido com 85%, ambos na forma de sólido branco amorfo. Pela análise do cromatograma obtido por CLAE quiral para **18** pode-se confirmar que estes foram obtidos puros enantiomericamente (Figura 4.59). Foi observado o tempo de retenção de 12,09 min. para **18S** (em azul) e de 13,40 min. para **18R** (em verde).



**Figura 4.59** – Cromatogramas obtidos para os compostos **18R** (em verde) e **18S** (em azul) e a mistura destes (em vermelho); coluna AD-H 5 $\mu$ m e detector UV a 276 nm.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **18** (Figuras 4.60 e 4.61, respectivamente) não foram observados os sinais referente aos hidrogênios e carbonos do grupo benzoíla, comprovando a remoção do mesmo. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **18** (Figura 4.60) foi observado, entre outros, um sinal largo em  $\delta$  8,98 ppm, atribuído ao hidrogênio da hidroxila fenólica. O sinal de ressonância dos hidrogênios H-8, H-10 e H-12 estão mais protegidos que os correspondentes no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **17**.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **18** (Figura 4.61) foi observada a mudança nos sinais de ressonância atribuídos aos carbonos C-8, C-10 e C-12, mais protegidos em **18** que em relação ao derivado benzoílado **17**. Estes mudaram de  $\delta$  108,2 para 102,1 ppm (C-8), de  $\delta$  113,7 para 105,0 ppm (C-10) e de  $\delta$  112,1 para 108,0 ppm (C-12). Foram observados, entre outros, os sinais de ressonância dos grupos *N*-Boc e isopropila. Em  $\delta$  23,4 e 26,2 ppm e em  $\delta$  92,8 ppm foram observados os sinais referentes aos carbonos C-5 e C-4 respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos hidrogenados do grupo *N*-Boc foram observados em  $\delta$  27,6 ppm. Em  $\delta$  79,0 ppm foi observado o sinal relativo ao carbono não hidrogenado e em  $\delta$  150,8 ppm, o sinal atribuído ao carbono carbonílico.

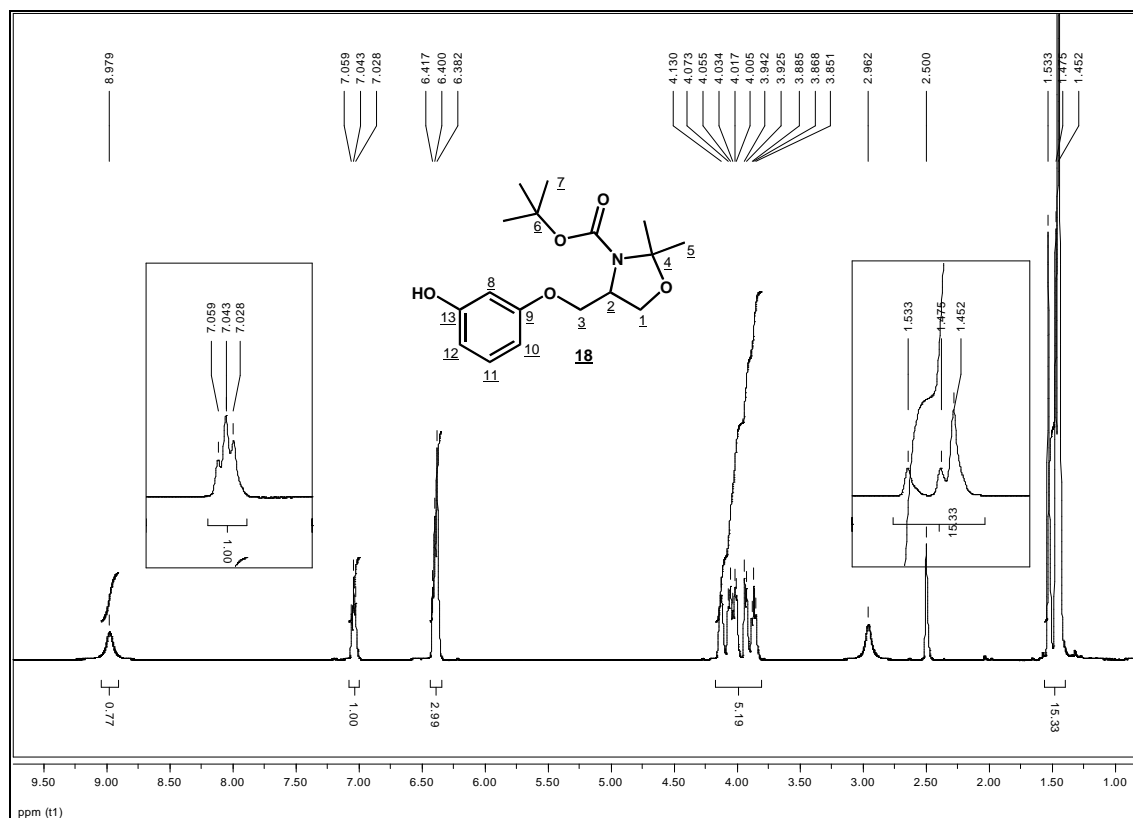


Figura 4.60 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **18** (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $90^\circ\text{C}$ ).

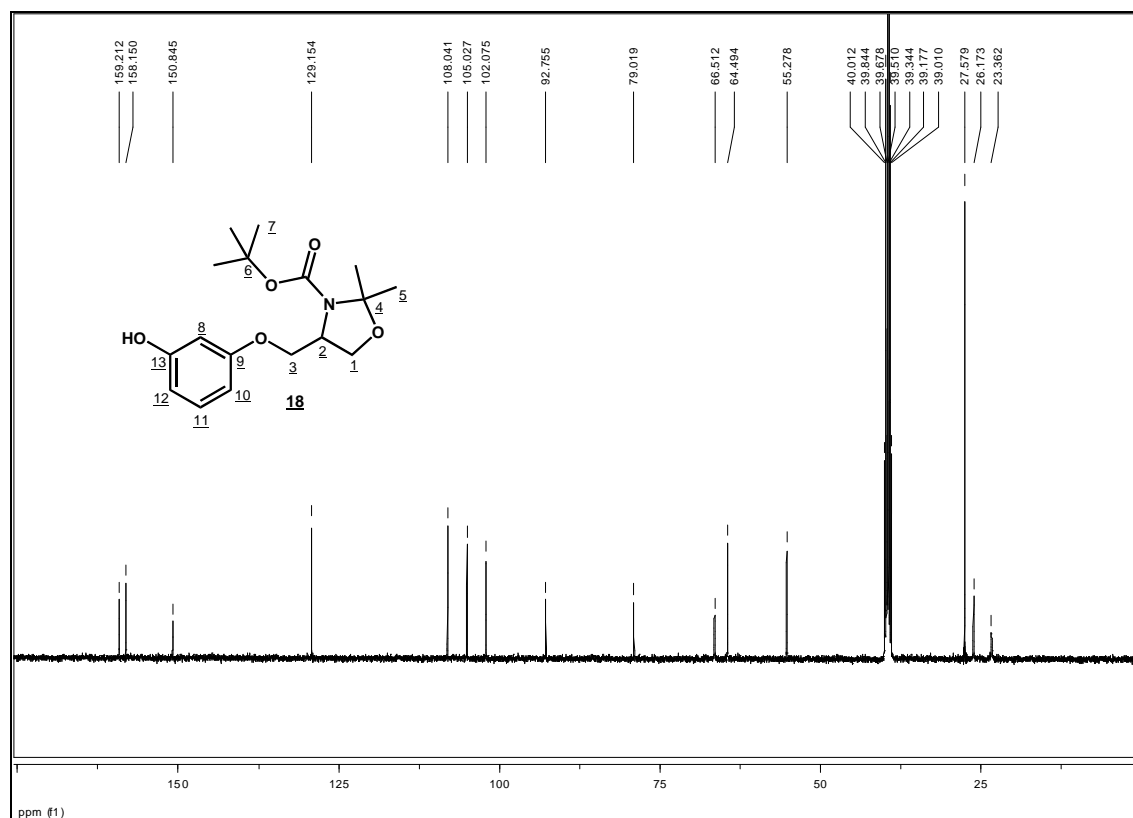
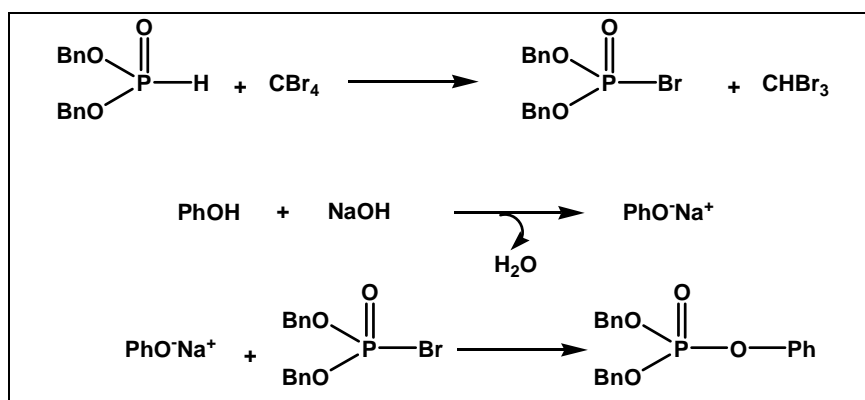


Figura 4.61 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **18** (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $90^\circ\text{C}$ ).

Para a introdução do grupo dibenzilfosforila em fenóis, vem sendo relatada na literatura a técnica em que se utiliza o fosfito em presença de base (DMAP) para a remoção do próton do fosfito e de um agente doador de halogênio ( $\text{CCl}_4$  ou  $\text{CBr}_4$ ) (DEPREZ et al., 2002; SILVERBERG et al., 1996). Esses reagentes podem também ser utilizados em condições de transferência de fases (ZWIERZAC, 1975, ILIA et al., 2006). Nestas condições, a reação de fosforilação é rápida, seletiva e com elevados rendimentos (SILVERBERG et al., 1996).

A reação de fosforilação de **18** foi realizada com fosfito de dibenzila em presença de tetrabrometo de carbono, cloreto de trietilbenzilamônio (TEBA), como agente transferidor de fase, e de solução aquosa de hidróxido de sódio 30 % m/v, como base (Figura 4.53, página 76). Nesta reação, inicialmente ocorre a reação do fosfito de dibenzila com o tetrabrometo de carbono para a formação do brometo de dibenzilfosforila (Figura 4.62). Ao mesmo tempo, o fenol é ionizado por reação com a base e, logo em seguida, ocorre a reação do fenolato formado com o brometo de fosforila (Figura 4.62). O fosfato de dibenzila **19** foi obtido com 89% de rendimento para **19R** e 76% para **19S**.



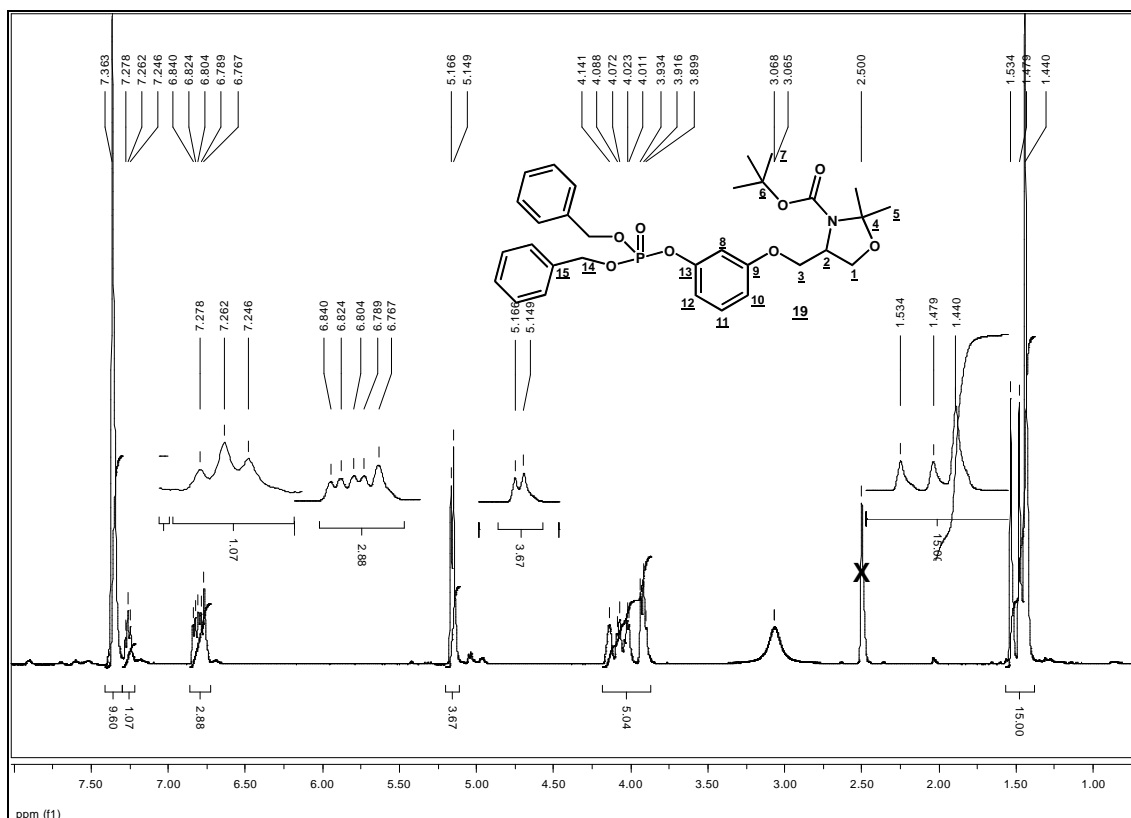
**Figura 4.62** – Representação das reações envolvidas na etapa de fosforilação do fenol (ILIA et al., 2003).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **19** (Figura 4.63), foram observados, entre outros, os sinais relativos ao grupo dibenzilfosforila. Em  $\delta$  5,15-5,17 ppm, foi observado um multipeto referente aos hidrogênios metilênicos dos grupos benzila e, em  $\delta$  7,36 ppm, um sinal largo, com integração para dez hidrogênios, atribuído aos hidrogênios aromáticos dos grupos benzila. Foi observada a mudança no deslocamento químico dos sinais referentes aos hidrogênios H-8, H-10 e H-12. Estes ficaram mais desprotegidos após a desproteção e introdução do grupo dibenzilfosforila.

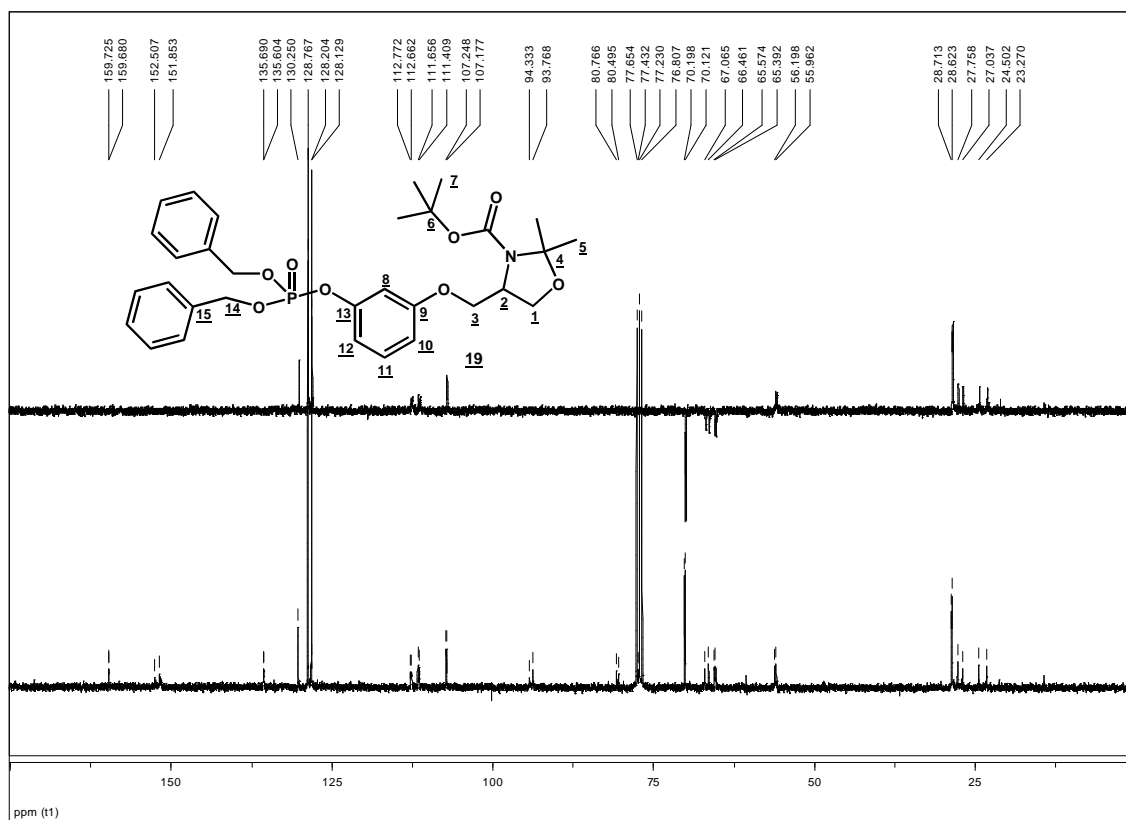
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **19** descrito não foi realizado sob aquecimento, pois foi verificada a degradação do grupo fosfato com a elevação da temperatura. Por isso, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **19** (Figura 4.64) os sinais de ressonância dos carbonos se encontram duplicados. Neste espectro, foram observados, entre outros, os sinais referentes aos carbonos do grupo dibenzilfosforila: em  $\delta$  70,1 e 70,2

ppm (sinais atribuídos aos carbonos metilênicos), em  $\delta$  128,2 e 128,8 ppm (sinais referentes aos carbonos aromáticos hidrogenados) e em  $\delta$  135,6 e 135,7 ppm (sinais referentes aos carbonos não hidrogenados). Foram observados que os sinais de ressonância dos carbonos C-8, C-10 e C-12 estão mais desprotegidos. Estes mudaram de  $\delta$  102,1 para 107,2 e 107,3 ppm (C-8); de  $\delta$  105,0 para 111,4 e 111,7 ppm (C-10) e de  $\delta$  108,0 para 112,7 e 112,8 ppm (C-12).

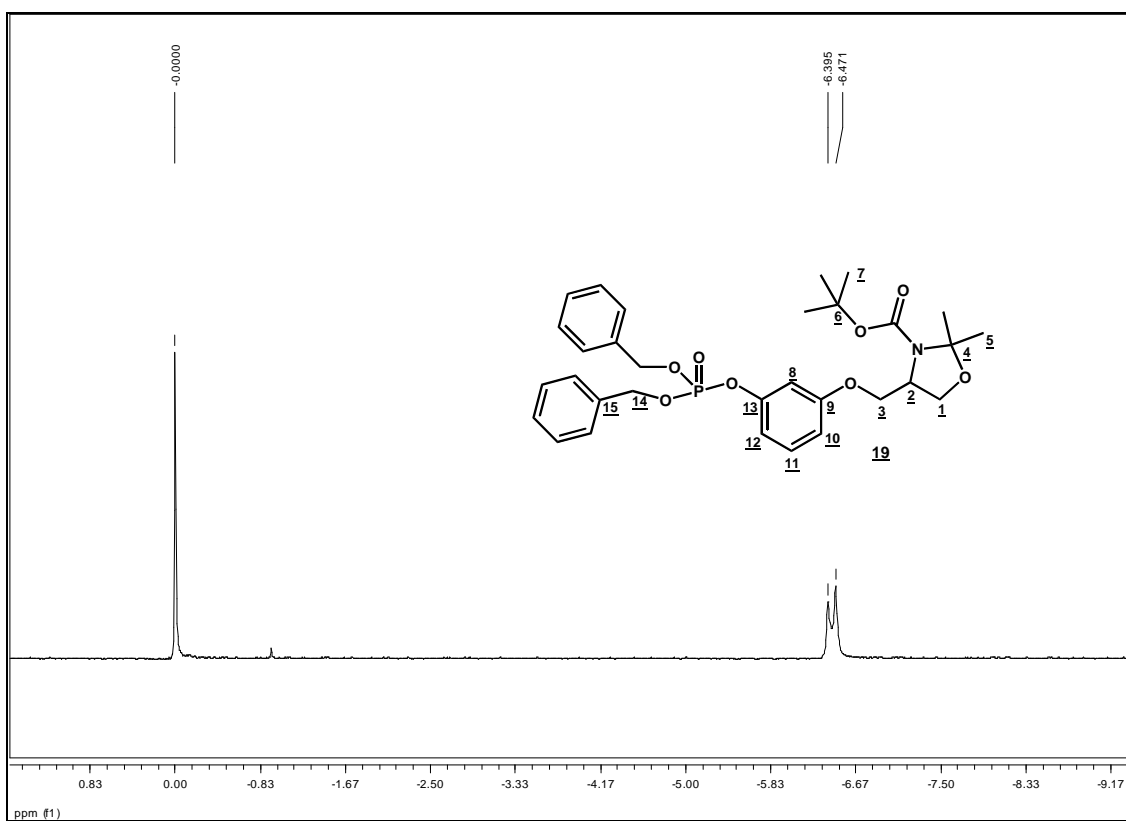
No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **19** (Figura 4.65) foi observado o sinal em  $\delta$  -6,40 e -6,47 ppm, em relação ao  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Este é um padrão bastante utilizado em experimentos de RMN de  $^{31}\text{P}$  e a maioria dos espectros obtidos neste trabalho foram calibrados com solução de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{D}_2\text{O}$  como referência externa.



**Figura 4.63** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **19** (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $90^\circ\text{C}$ ).

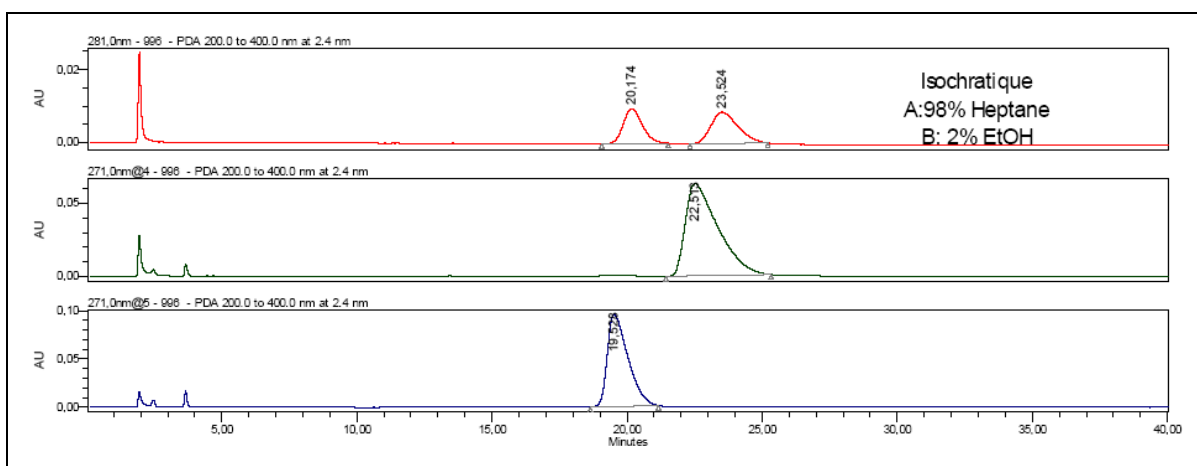


**Figura 4.64** – Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **19** (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.65** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **19** (121,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , referência  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{D}_2\text{O}$ ).

A pureza enantiomérica foi comprovada pela análise dos cromatogramas obtidos para os produtos fosforilados **19R** e **19S** puros e em mistura (Figura 4.66). O derivado **19S** apresentou tempo de retenção de 19,67 min. (cromatograma em azul) e seu enantiômero **19R**, um tempo de retenção de 22,94 min. (cromatograma em verde). Em vermelho, foi observado o cromatograma da mistura dos dois enantiômeros **19R** e **19S**.

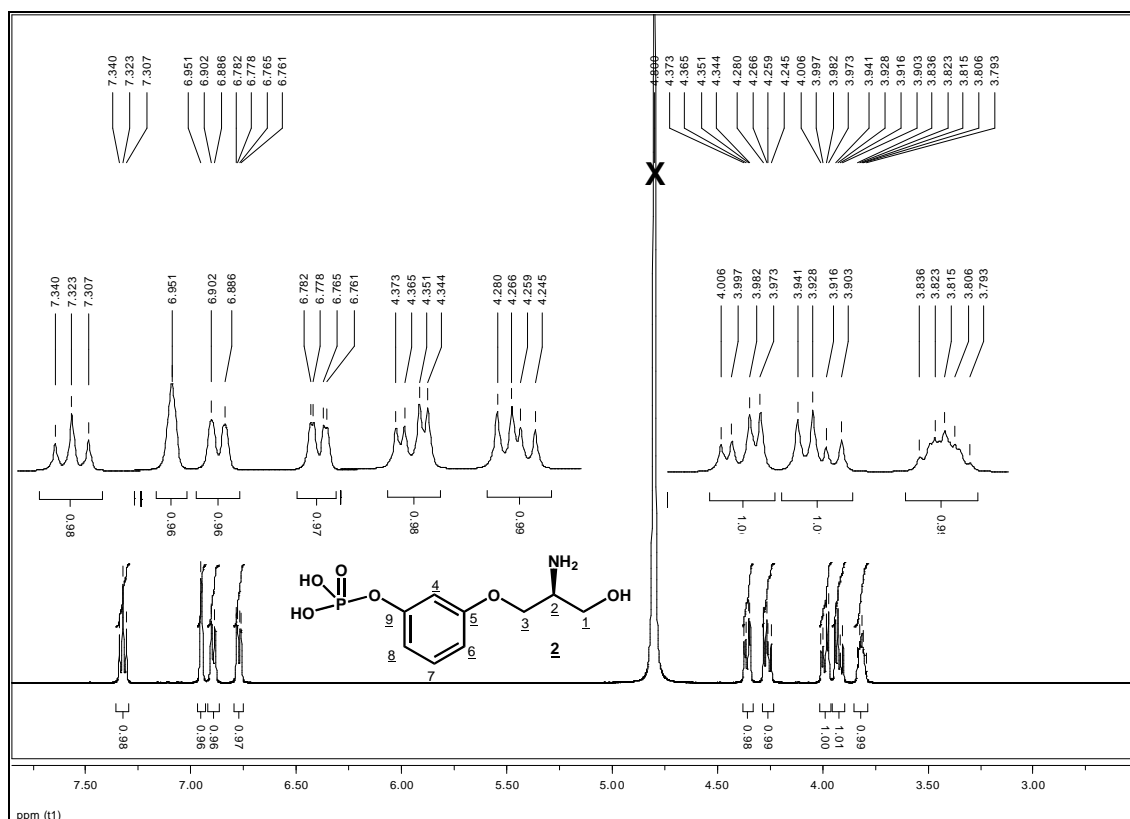


**Figura 4.66** – Cromatogramas obtidos para os compostos **19R** (em azul) e **19S** (em verde) e a mistura destes (em vermelho) coluna AD-H, 5 $\mu$ m, detector UV a 271 nm.

Em seguida, foi realizada a desproteção do grupo fosfato e a remoção dos grupos *N*-Boc e isopropilideno de **19**, para a obtenção dos fosfatos **2** e **3** (Figura 4.53, página 76). A desproteção de grupos dibenzilfosforila pode ser realizada por reação de hidrogenação catalítica com paládio/carvão (BURLINGHAM et al., 2001) e o os grupo *N*-Boc e isopropilideno podem ser removidos, simultaneamente por reação em meio ácido, que pode ser: tratamento por ácido trifluoroacético (TFA) (MEFFRE et al., 1996, KOBAYASHI et al., 2007); ácido metanossulfônico (GRIJALVO et al., 2007) ou ácido clorídrico (MARVIN et al., 2007).

Para a hidrogenação catalítica, foi utilizada pressão de hidrogênio de 40 psi em hidrogenador Parr e catalisador paládio/carvão a 10% durante uma hora. Após este tempo, foi verificado o término da reação. O catalisador foi removido por filtração a vácuo, o solvente evaporado e o resíduo submetido à reação de desproteção dos grupos *N*-Boc e isopropilideno, por TFA em mistura de diclorometano e metanol como solventes (KOBAYASHI et al., 2007; MEFFRE et al., 1996). Após o término da reação, a mistura de solventes e o TFA foram eliminados sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi analisado e purificado por CLAE preparativa. As frações apropriadas foram reunidas, liofilizadas e caracterizadas como os fosfatos desprotegidos **2** e **3**. Como os espectros de RMN de **2** e **3** são idênticos, serão apresentados e discutidos os espectros de **2**.

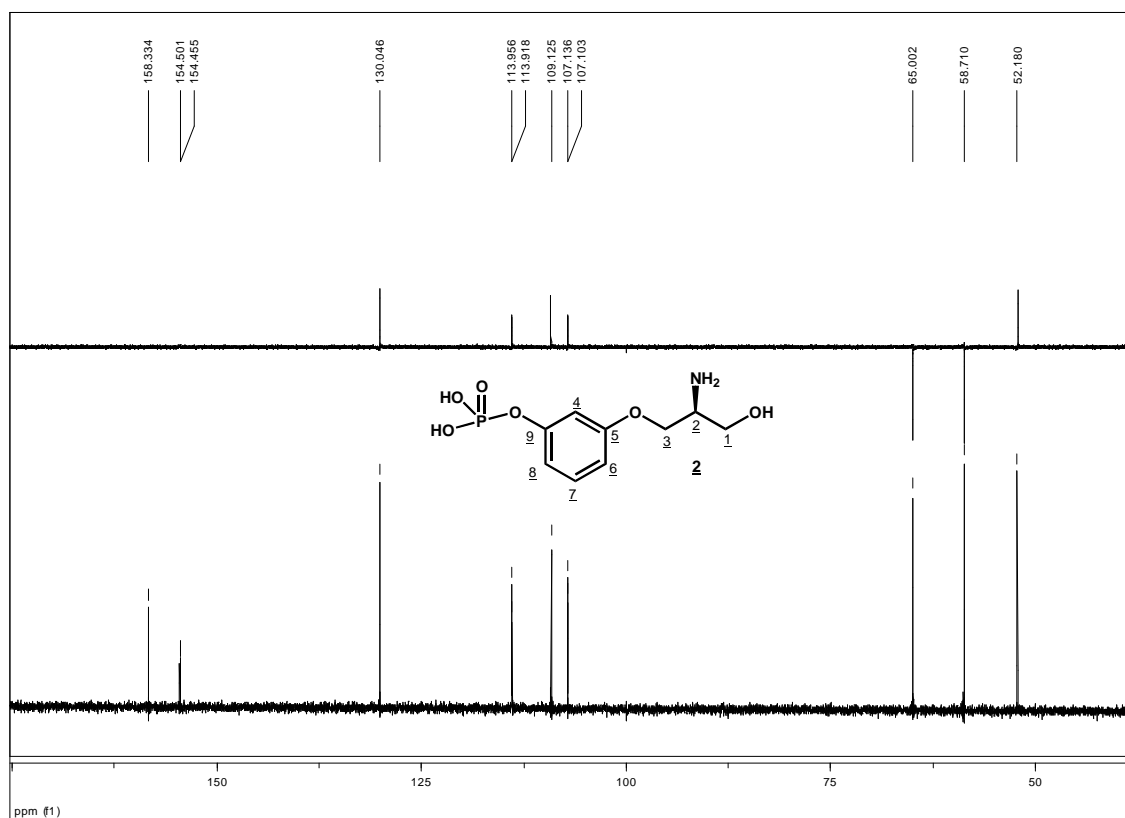
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2** (Figura 4.67) foram observados os sinais referentes aos hidrogênios da cadeia alifática: entre  $\delta$  3,79-3,84 ppm, um multipletto referente H-2; os dupletos duplos centrados em  $\delta$  3,92 e 3,99 ppm são relativos aos hidrogênios H-1 e H-1'; os dupletos duplos em  $\delta$  4,26 e 4,36 ppm, são atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-3'. Os sinais centrados em  $\delta$  6,77; 6,89; 6,95 e 7,32 ppm foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos H-6, H-8, H-4 e H-7, respectivamente.



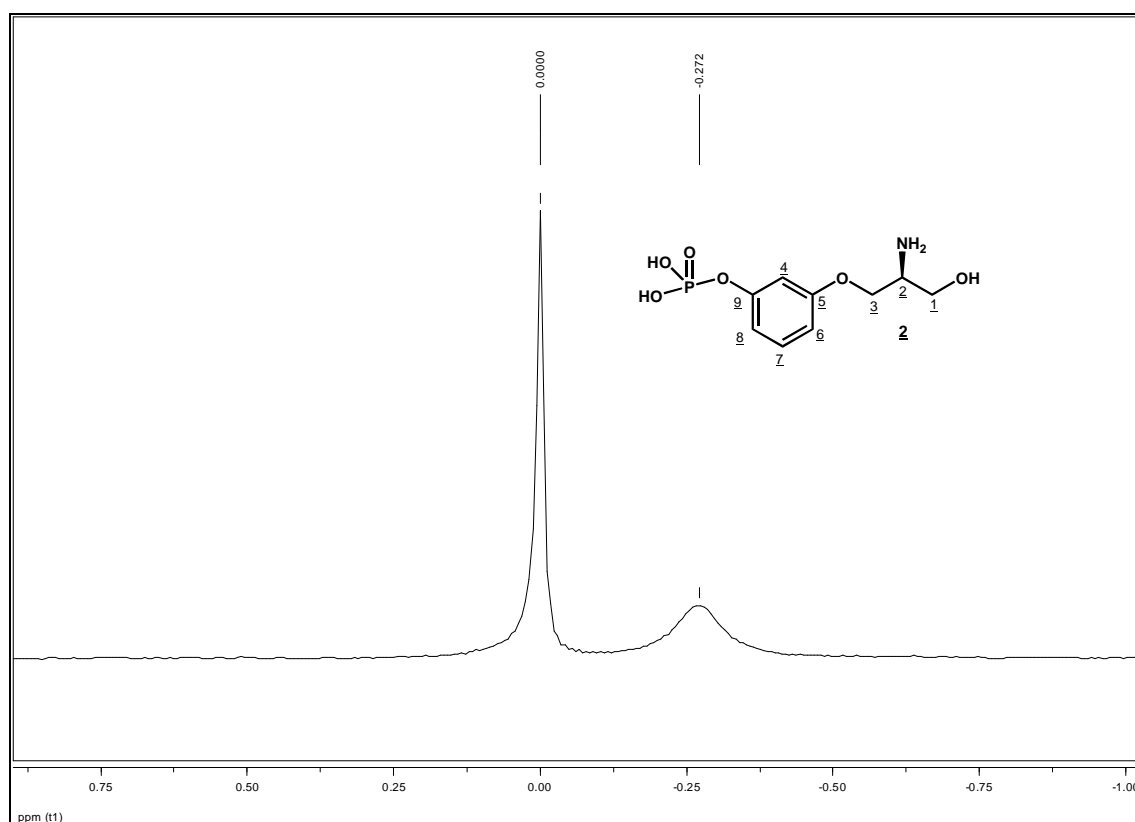
**Figura 4.67** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2** (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2** (Figuras 4.68) foram observados os sinais em  $\delta$  52,2, 58,7 e 65,0 ppm referentes aos carbonos alifáticos C-2, C-1 e C-3, respectivamente. Os dupletos centrados em  $\delta$  107,1 e 113,9 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos C-4 e C-8, acoplados ao fósforo; em  $\delta$  109,1 e 130,0 ppm os carbonos C-6 e C-7 e em  $\delta$  154,5 e 158,3 ppm os sinais dos carbonos não hidrogenados C-9 (dupletto, devido ao acoplamento com o fósforo) e C-5. No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **2** (Figura 4.69) foi verificado o sinal de ressonância do fósforo em  $\delta$  -0,27 ppm, em relação ao  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Como esse sinal é referente ao átomo de fósforo do fosfato desprotegido, era esperado que este apresentasse sinal bem próximo ao do  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

Os análogos aromáticos **2** e **3** foram obtidos com rendimentos globais de 19% e 30%, respectivamente, e foram submetidos aos testes de inibição da enzima GlcN6P sintase e de avaliação de sua atividade antifúngica.



**Figura 4.68** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **2** (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

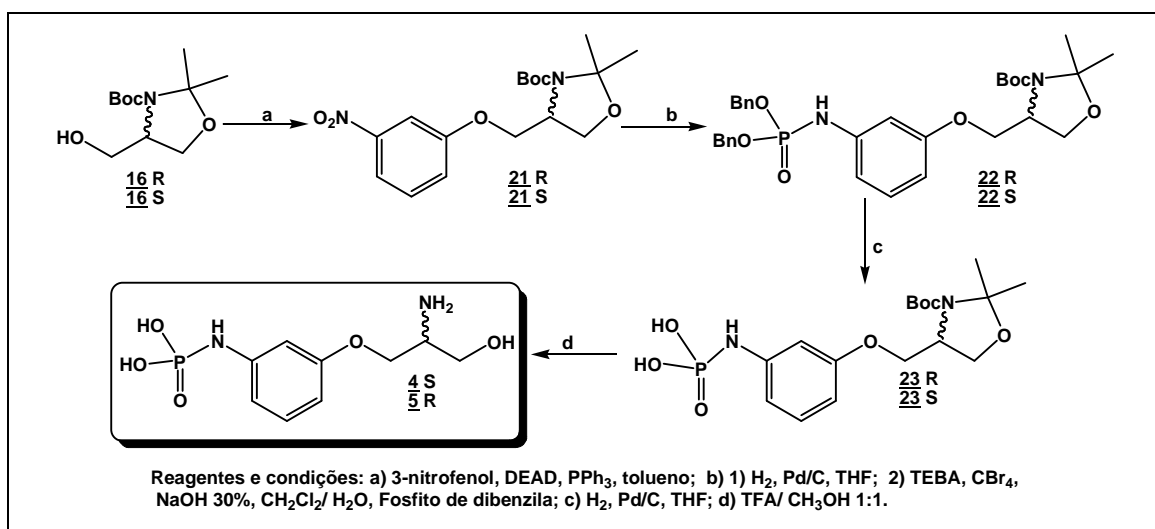


**Figura 4.69** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **2** (202,4 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , referência  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ).



### 4.3 – Tentativa de síntese do ácido (*S*) 3-(2-amino-3-hidroxiopropoxi)fenilfosforamídico **4** e ácido (*R*) 3-(2-amino-3-hidroxiopropoxi)fenilfosforamídico **5**

Para a síntese das fosforamidas **4** e **5**, foi planejada uma rota em cinco etapas, a partir do 3-nitrofenol e dos álcoois quirais **16R** e **16S** (Figura 4.70).



**Figura 4.70** – Proposta de síntese para a obtenção das fosforamidas **4** e **5**.

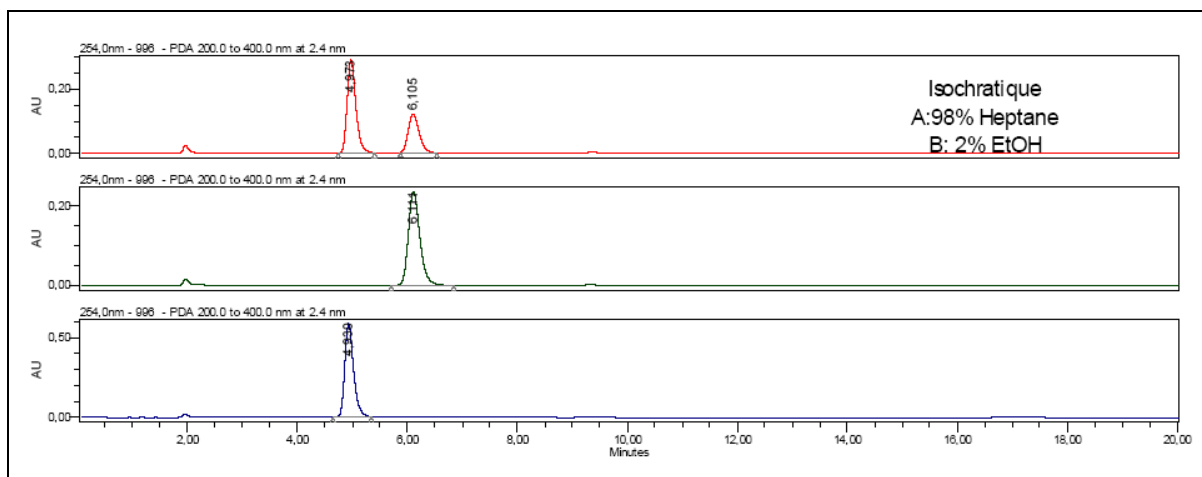
A primeira etapa foi a reação do 3-nitrofenol com o álcool **16R**, nas condições para a síntese do éter **21R**, por reação de Mitsunobu (trifenilfosfina e DEAD em tolueno a 80°C) (Figura 4.54; página 77) (PAVÉ et al., 2003). Após purificação por coluna, **21R** foi obtido na forma de um sólido amorfo com 81% de rendimento. O enantiômero **21S** foi obtido seguindo o mesmo procedimento com rendimento de 73%, também na forma de um sólido amorfo.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **21** (Figura 4.71), foram observados, entre outros, os simpletos referentes aos hidrogênios do grupo isopropilideno em  $\delta$  1,48 e 1,55 ppm. Em  $\delta$  1,45 ppm, foi observado o simpleto referente aos nove hidrogênios do grupo *tert*-butila do *N*-Boc. O multipletto em  $\delta$  3,96-4,24 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-1, H-2 e H-3.

No espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **21** (Figura 4.72), foram observados, entre outros, os sinais em  $\delta$  55,1, 64,4 e 67,5 ppm relativos aos carbonos C-2, C-1 e C-3, respectivamente. Os sinais em  $\delta$  23,3 e 26,2 ppm foram atribuídos aos carbonos metílicos e o sinal em  $\delta$  92,9 ppm foi atribuído ao carbono não hidrogenado do grupo isopropila. Os sinais referentes aos hidrogênios do grupo *N*-Boc foram observados em  $\delta$  27,5 e 79,2 ppm, e em  $\delta$  150,9 ppm, o sinal referente à carbonila.



A pureza enantiomérica do éter **21** foi verificada pela análise dos cromatogramas obtidos por CLAE em fase quiral (Figura 4.73). Em vermelho é observado o cromatograma da mistura dos dois enantiômeros **21R** e **21S**; em verde o cromatograma para **21S**, com tempo de retenção de 6,11 min., e, em azul, o cromatograma para **21R**, que apresentou tempo de retenção de 4,93 min.



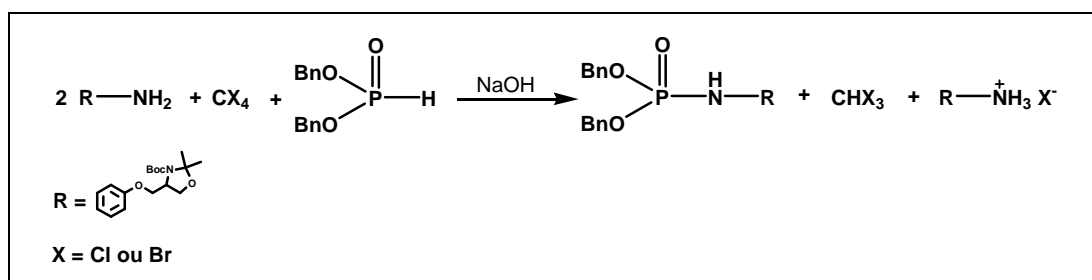
**Figura 4.73** – Cromatogramas obtidos para os compostos **21R** (em azul) e **21S** (em verde) e a mistura destes (em vermelho) (coluna AD-H 5 $\mu$ m; detector UV a 254 nm e com eluente a mistura heptano/álcool etílico 2%).

A etapa seguinte foi a redução do grupo nitro de **21** a amino, seguida por sua fosforilação (Figura 4.70, página 88). O derivado amino foi obtido após reação de hidrogenação catalítica de **21** em presença de catalisador paládio/carvão 10% em hidrogenador Parr (AVERY et al., 1980). Depois de verificado o consumo do material de partida, a mistura reagente foi filtrada, concentrada e utilizada, sem purificação prévia, na etapa seguinte, a fosforilação.

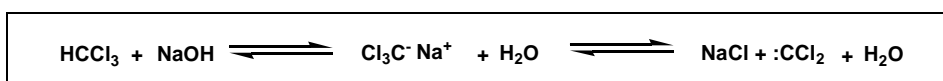
Tem sido descrita a obtenção de fosforamidas por reações com o agente fosforilante *N,N*-diisopropilfosforamidato de dibenzila ( ${}^i\text{Pr}_2\text{NP}(\text{OBn})_2$ ) e um oxidante, como por exemplo ácido *m*-cloroperbenzóico (mCPBA) (AINGE et al., 2007; BURLINGHAM et al., 2001; DE NAPOLI et al., 2000; ALMEIDA et al., 1999; CHOW et al., 1998; YU et al., 1988). A amina resultante da redução de **21**, foi submetida à reação nestas condições, não se observando a fosforilação desejada.

Outro método que vem sendo empregado é a reação de fosforilação utilizando o haleto de dibenzilfosforila produzido *in situ*, por reação do fosfito de dibenzila com um agente doador de halogênio ( $\text{CBr}_4$ , por exemplo) (Figura 4.74), de modo semelhante ao empregado para a *O*-fosforilação (página 82). Nestas condições, é previsto que um mol da amina reaja com o haleto de hidrogênio formado (HBr), e desta forma, aconselha-se usar um excesso da amina para garantir um melhor rendimento (ILIA et al., 2006). A quantidade de base é importante, uma vez que foi relatado que o aumento da concentração da solução de hidróxido de sódio leva à formação de halocarbênio que pode reagir com a amina (Figura 4.75) (WEBER et al., 1972). A concentração elevada da base pode

ainda hidrolisar o fosfito de dibenzila e contribuir para o aparecimento de contaminantes no meio reacional. Esses efeitos podem ser reduzidos se a concentração de base utilizada for menor que 30% m/v e se a temperatura do meio de reação estiver abaixo de 10°C no momento da adição dos reagentes (ILIA et al., 2006). Outros pontos a serem considerados, a velocidade de agitação e a presença do agente transferidor de fase influenciam na quantidade de produto formado.



**Figura 4.74** – Representação esquemática da reação de fosforilação.

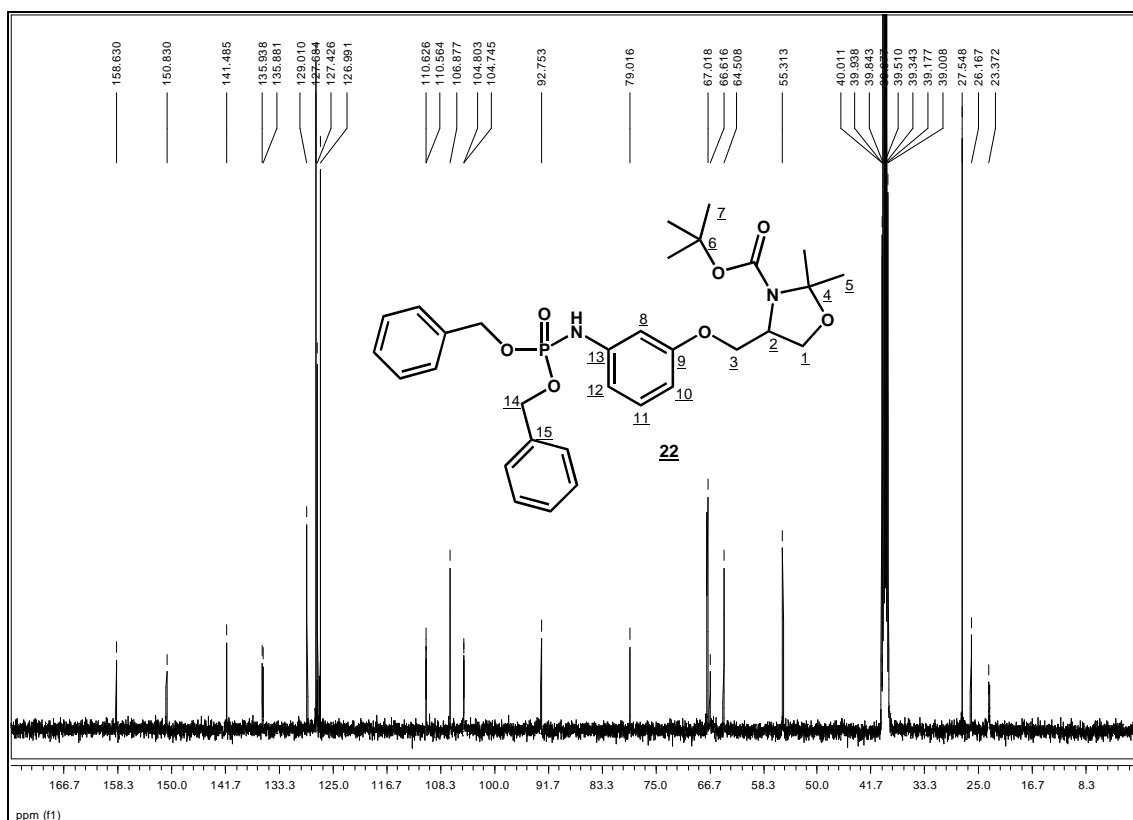
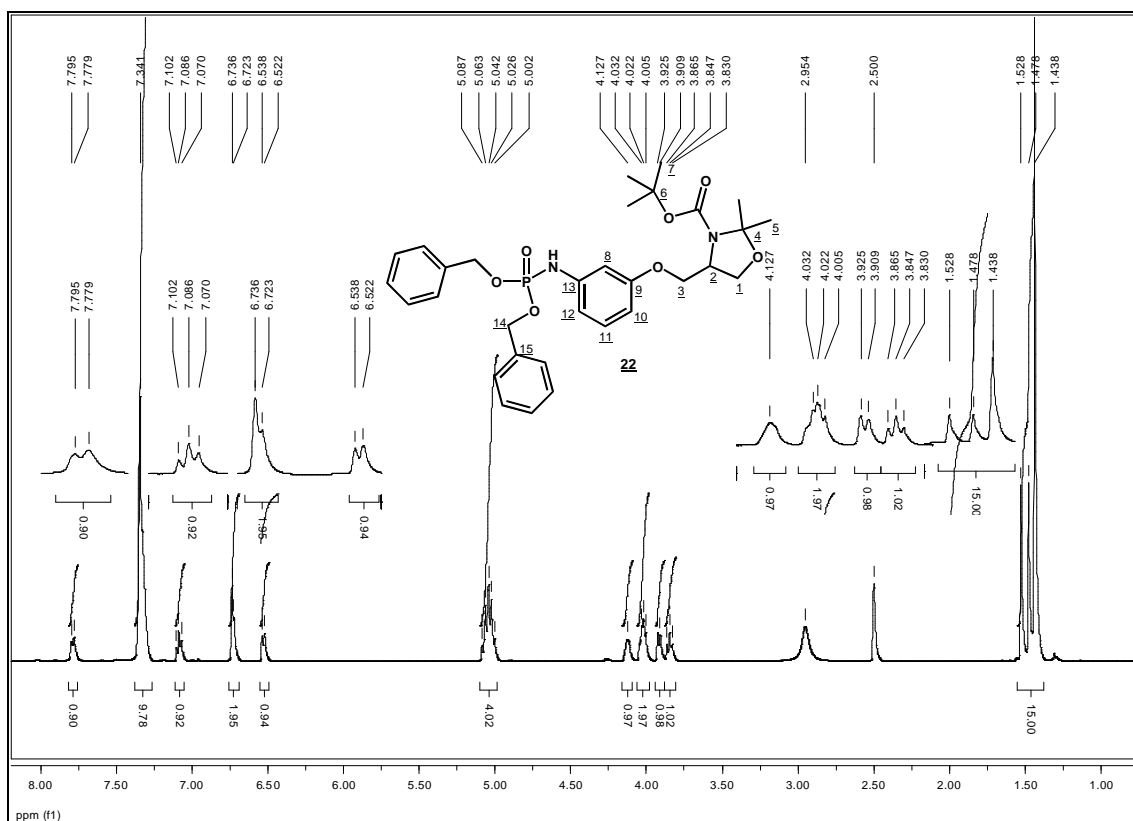


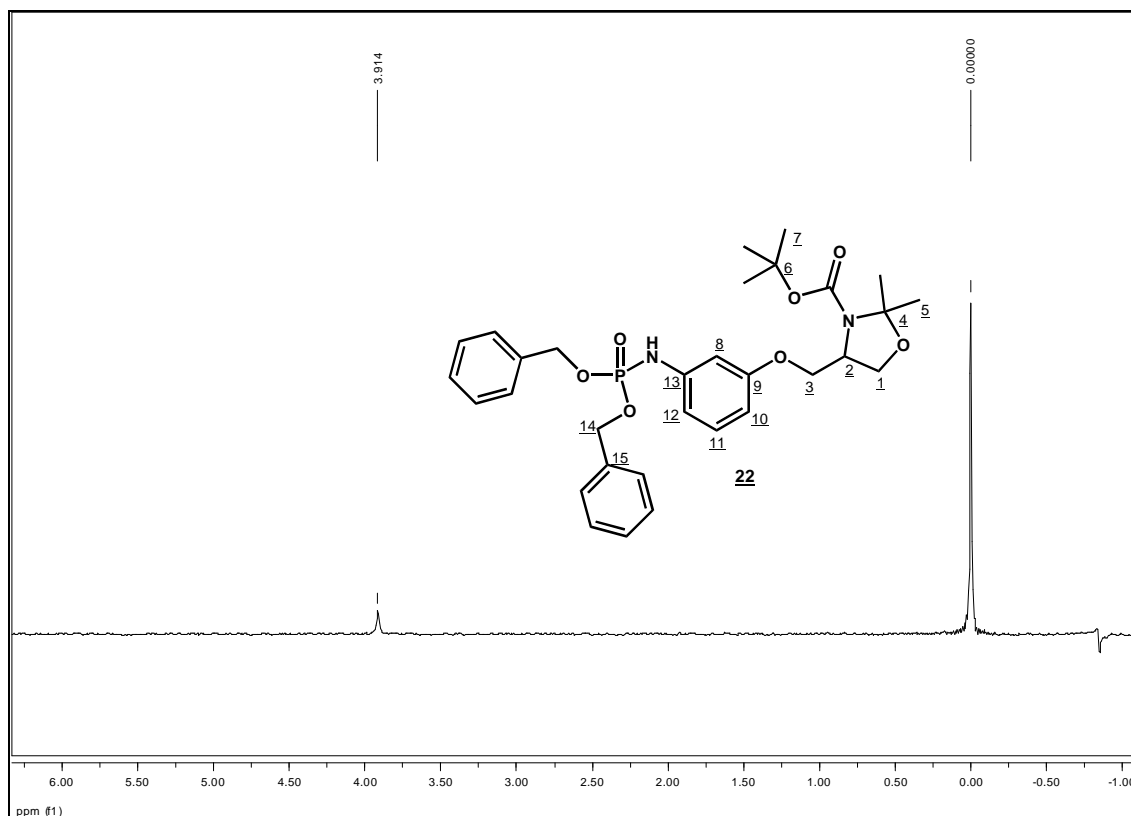
**Figura 4.75** – Reação de formação do halocarbênio na reação de fosforilação (ILIA et al., 2003).

Para a fosforilação da amina obtida pela redução de **21R**, foram utilizados dois equivalentes molares de fosfito de dibenzila, 0,04 equivalentes de cloreto de trietilbenzilamônio, 0,5 equivalentes de CBr<sub>4</sub> e dois equivalentes da base (NaOH). A fosforamida **22R** foi obtida com rendimento de 63% e para o enantiômero **22S**, 66%.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **22** (Figura 4.76) foi observado, entre outros, o multipletto entre δ 5,00-5,09 ppm que foi atribuído aos hidrogênios metilênicos do grupo dibenzilfosforamida. Em δ 7,34 ppm, foi observado um sinal largo atribuído aos dez hidrogênios aromáticos dos grupos benzila. Foi observado também que houve mudança no deslocamento químico dos sinais dos hidrogênios aromáticos. Estes estão mais protegidos em **22** que em seu análogo nitrado **21**. Os sinais de H-8 e H-12 mudaram de δ 7,74 e 7,80 ppm para δ 6,72-6,74 ppm. O sinal de H-10 mudou de δ 7,43-7,45 ppm para δ 6,53 ppm e H-11 que mudou de δ 7,58 ppm para δ 7,09 ppm.

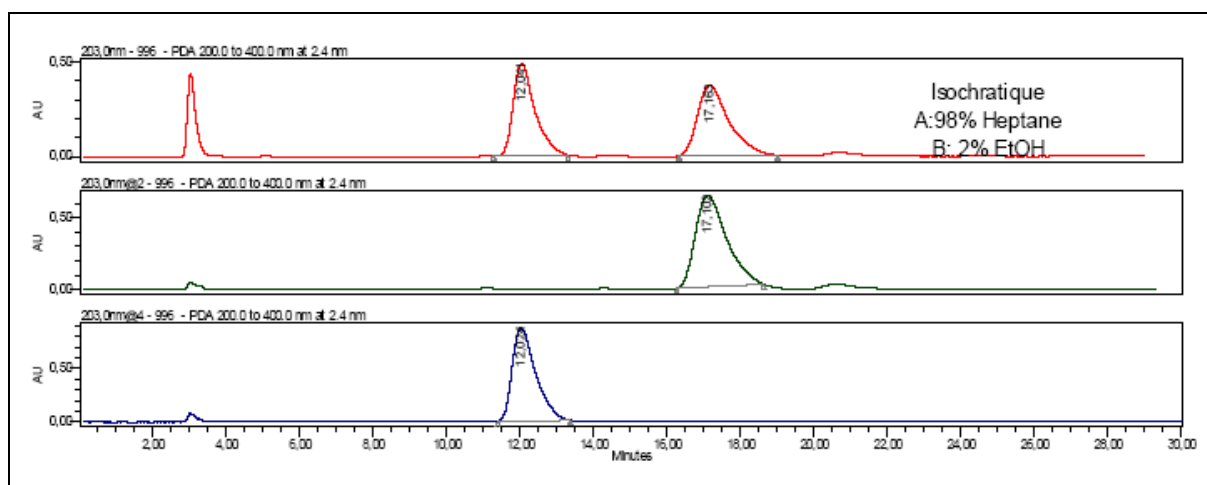
No espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **22** (Figura 4.77), o sinal em δ 67,0 ppm foi atribuído aos carbonos metilênicos, os sinais em δ 127,0; 127,4 e 127,7 ppm aos carbonos aromáticos hidrogenados e em δ 135,9 ppm os sinais relativos aos carbonos C-15 do grupo dibenzilfosforila. O acoplamento C-P observado nos sinais referentes aos carbonos aromáticos C-8 e C-12, em δ 104,8 e 110,6 ppm, respectivamente, comprovam a presença do grupo fosforamido na estrutura de **22**. No espectro de RMN de <sup>31</sup>P de **22** (Figura 4.78) foi observado um sinal em δ 3,91 ppm.





**Figura 4.78** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **22** (121,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

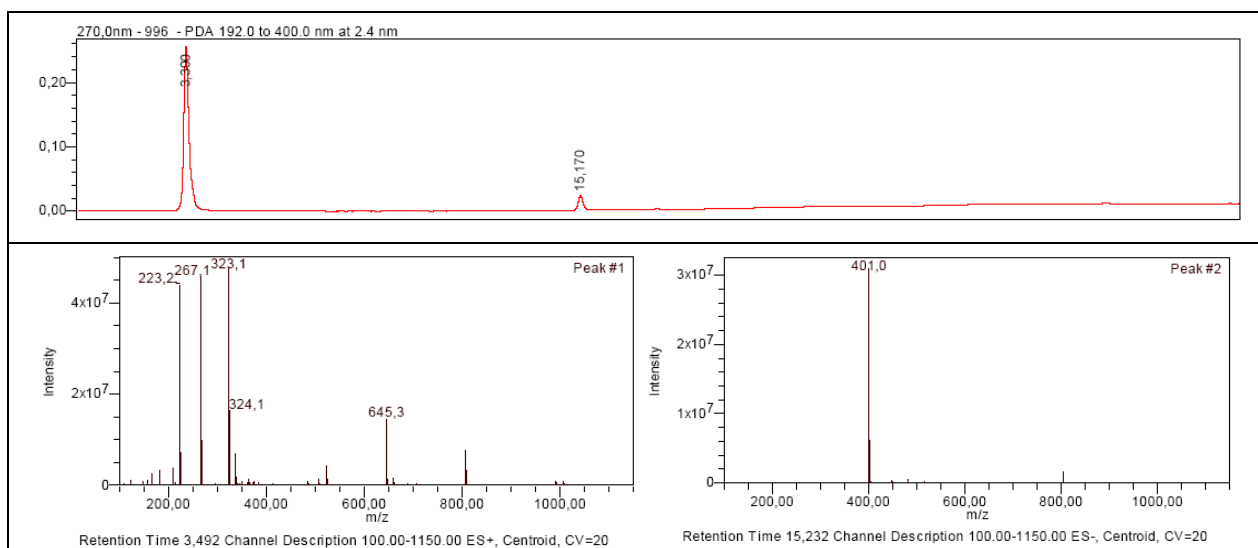
Para confirmar a pureza enantiomérica de **22**, foi realizada a separação de uma mistura dos isômeros **22R** e **22S** por CLAE em fase quiral (em vermelho, Figura 4.79). A análise dos cromatogramas obtidos, após injeção da solução dos enantiômeros separadamente, permitiu a atribuição de cada pico à respectiva fosforamida: **22S** (em azul, com tempo de retenção de 17,10 min.) e **22R** (em verde e com tempo de retenção de 12,02 min.).



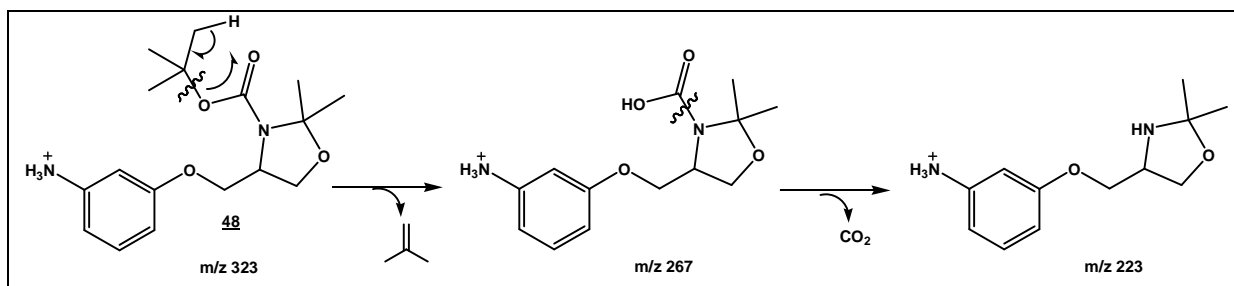
**Figura 4.79** – Cromatogramas obtidos para os compostos **22S** (azul); **22R** (verde) e a mistura destes (vermelho); coluna OD-H 10  $\mu\text{m}$  (4,6x 250 mm) e eluente mistura de heptano: álcool etílico 2%.

A desproteção de dibenzilfosforamida seguindo o método de hidrogenação catalítica é descrita com rendimentos satisfatórios (SCHICK et al., 1996; BURLIGHAM et al., 2001). Diante disso, a etapa seguinte foi a remoção dos grupos benzila de **22** por reação de hidrogenólise em presença de catalisador paládio/carvão 10%, em hidrogenador Parr (Figura 4.70, página 88). Ao analisar o resíduo obtido nesta reação por CCD, foi verificada a presença de dois produtos. Esta mistura foi analisada por CLAE acoplado a um detector de massas e foi observado, pela análise do cromatograma, que um desses componentes era o produto esperado **23**, com m/z 401 e outro, majoritário, correspondendo a 97,5% da mistura analisada e com m/z 323 (Figura 4.80). Este último foi caracterizado como o produto de hidrogenólise da ligação P-N da fosforamida **22**, a amina **48**, que possui massa molecular de 322,39 g/mol (Figura 4.80). A proposta para a fragmentação observada no espectro de massas obtido para **48**, está representada na Figura 4.81.

Na reação de desproteção dos grupos benzila, inicialmente forma-se a fosforamida desprotegida **23**, que sofre clivagem da ligação P-N, e libera a anilina **48**. Existem relatos de que fosforamidas podem ser hidrolisadas em meio ácido pela protonação do nitrogênio e conseqüente liberação da amina neutra após a quebra da ligação P-N (RAHIL et al., 1981; FENESAN et al., 2000; LEVINA et al., 2008; OHKUBO et al., 2008). Mesmo com a adição de trietilamina ao meio reacional (2,5 equivalentes molares) com o intuito de manter o meio reacional levemente alcalino, não foi evitada a remoção do grupo fosfato em **23**.



**Figura 4.80** – Cromatograma obtido para o produto da reação de desproteção de **22**. Em vermelho, o cromatograma obtido utilizando-se detector ELSD e, abaixo, os espectros de massas correspondente a cada pico observado (à esquerda, o espectro de massas correspondente ao pico com tempo de retenção de 3,5 min., ES+ e CV 20; e à direita, o espectro correspondente ao pico com tempo de retenção de 15,2 min., ES-, CV 20).



**Figura 4.81** – Proposta para a fragmentação da amina **48**.

Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **48** (Figura 4.82), não foram observados os sinais referentes ao grupo dibenzilfosforilamino. Em  $\delta$  1,29 ppm foi observado o sinal referente aos hidrogênios do grupo isopropila e em  $\delta$  1,47, 1,50 e 1,58 ppm foram observados os sinais referentes aos hidrogênios do grupo *N*-Boc. O multiplete observado em  $\delta$  3,82-3,84 ppm foi atribuído a H-2 e o sinal entre  $\delta$  4,01-4,21 ppm aos hidrogênios H-1 e H-3. Os sinais observados em  $\delta$  6,73 ppm e em  $\delta$  6,64 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-8 e H-12 e o tripleto duplo centrado em  $\delta$  7,02 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-10 e H-11. O sinal entre  $\delta$  6,33-6,38 ppm, referente a dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios do grupo amino.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **48** (Figura 4.83), não foram observados os acoplamentos C-P, para os carbonos aromáticos C-8 e C-12, em  $\delta$  109,6 e 115,6 ppm, respectivamente, o que comprova a ausência do grupo dibenzilfosforilamino e confirma a clivagem da ligação P-N na reação de desproteção das hidroxilas de **22**. Os sinais em  $\delta$  23,6; 24,8; 27,1; 28,0 ppm são referentes aos carbonos C-5 e em  $\delta$  95,1 e 95,5 ppm a C-4, do grupo isopropila. Em  $\delta$  28,9 ppm foi observado o sinal atribuído a C-7. Em  $\delta$  81,8 e 82,3 ppm, foram observados os sinais referentes a C-6 e em  $\delta$  154,1 ppm o sinal atribuído ao carbono carbonílico do grupo *N*-Boc. Os sinais dos outros carbonos aromáticos foram observados em  $\delta$  113,5 e 114,1 ppm (C-10) e em  $\delta$  132,0 ppm (C-11). Os sinais em  $\delta$  153,5 e 161,1 ppm foram atribuídos aos carbonos não hidrogenados, C-13 e C-9, respectivamente.



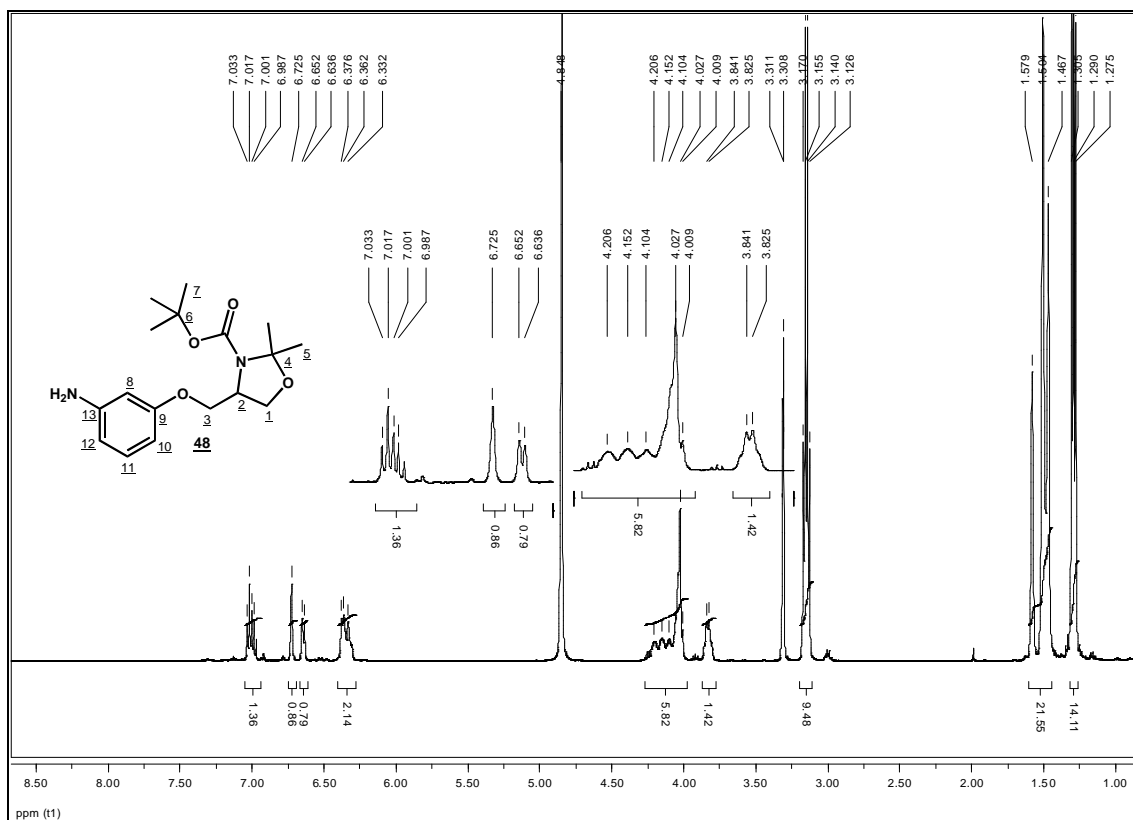


Figura 4.82 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **48** (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

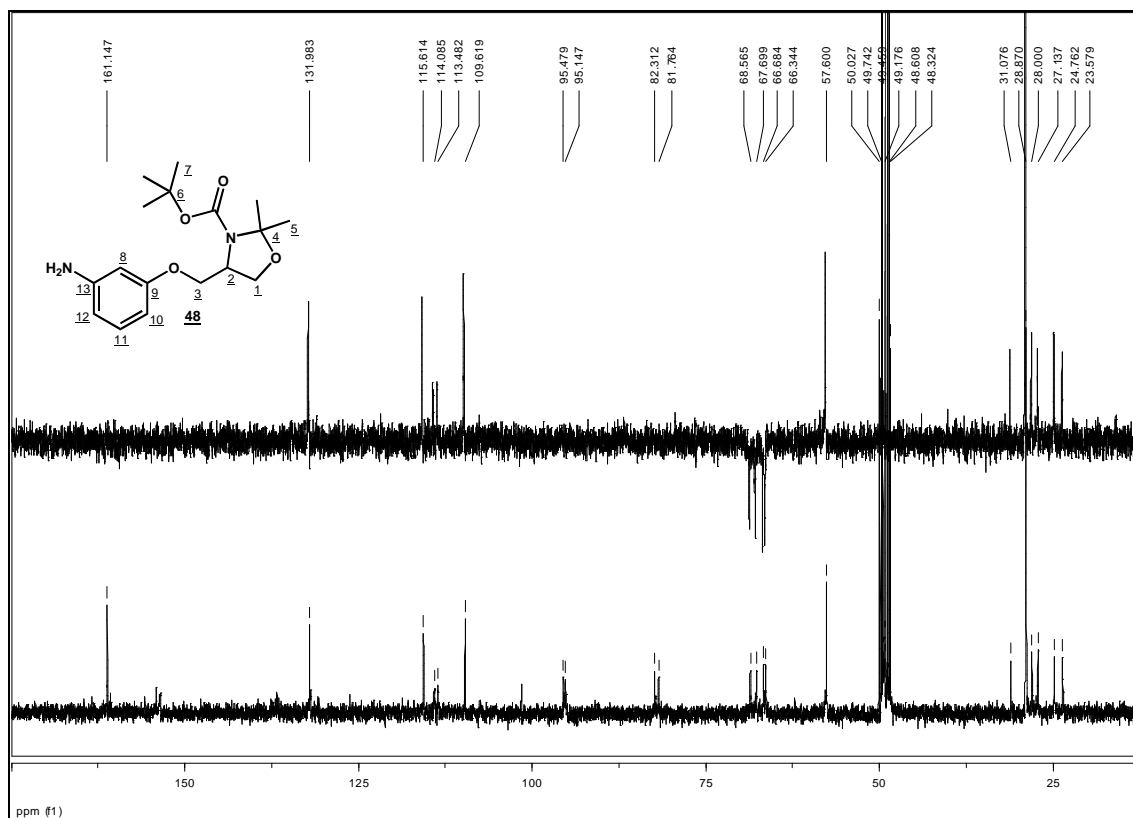
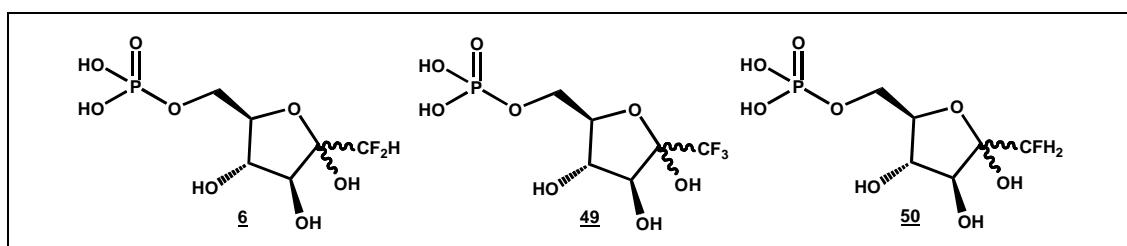


Figura 4.83 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **48** (75,5 MHz, MeOD).

#### 4.4 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose-6-fosfato **6**

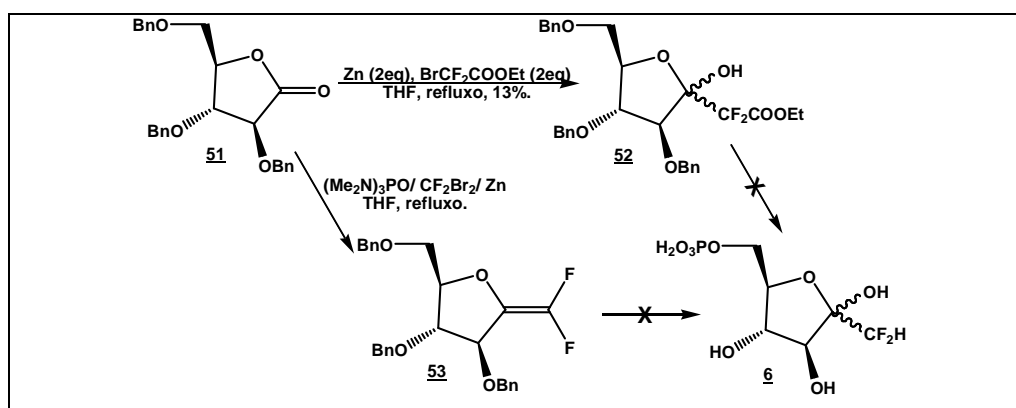
A síntese de análogos de D-frutose-6-fosfato como possíveis inibidores de GlcN6P sintase vem sendo estudada há alguns anos pela equipe do Dr. Bernard Badet. Estes análogos seriam obtidos por modificação em C-1, pela substituição da hidroxila de C-1 por  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{CF}_2\text{H}$  e  $-\text{CFH}_2$  que atuam como bons grupos miméticos da hidroxila (Figura 4.86). Os análogos **49** e **50** foram sintetizados anteriormente em seu laboratório no ICSN-CNRS e no presente trabalho é descrita a obtenção do análogo difluorado **6** (Figura 4.86), preparado durante o estágio realizado naquele laboratório.



**Figura 4.84** – Estruturas químicas de análogos fluorados de D-frutose-6-fosfato modificados em C-1.

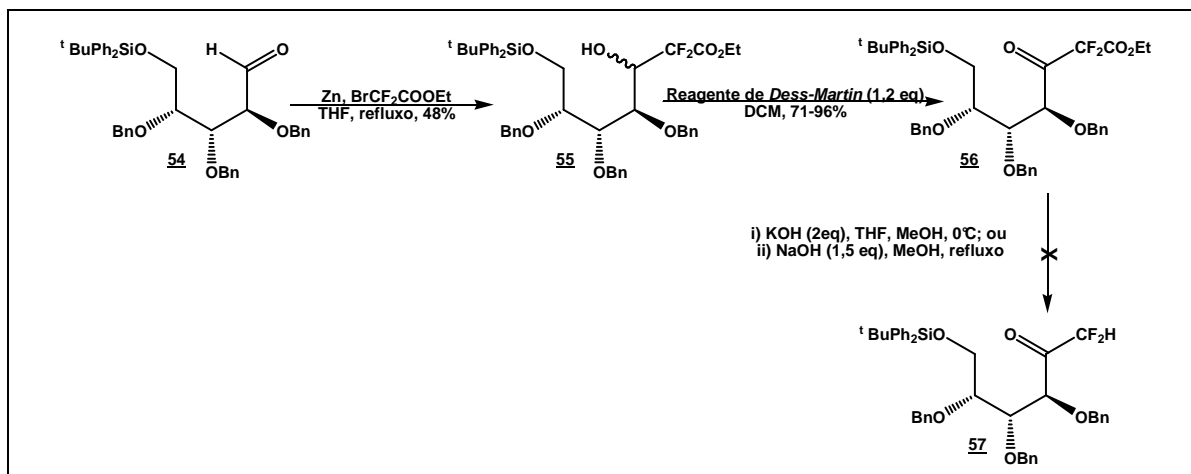
Com vistas à obtenção do derivado difluorado **6**, Badet e colaboradores já haviam realizadas várias tentativas de síntese. A primeira delas consistiu na introdução do grupo difluorometila na lactona **51** por reação de Reformatsky (KARCHE et al., 2007). No entanto, o rendimento dessa etapa foi de apenas 13%. Isto foi atribuído ao fato de que o organozinco formado não teria sido estável suficientemente no meio de reação. Mesmo quando foi utilizado iodeto de samário, outro catalisador para essa reação, não foram obtidos melhores resultados.

Alternativamente, Badet e colaboradores, planejaram a síntese de **6**, passando pelo intermediário difluoroenol **53** (Figura 4.85). Este foi obtido pela reação da lactona **51** com 2-bromo, 2,2-difluoroacetato de etila em presença de zinco e de hexametilfosforamida (HMPT) (HOULTON et al., 1996). No entanto, foram encontrados problemas na reprodutibilidade da reação.



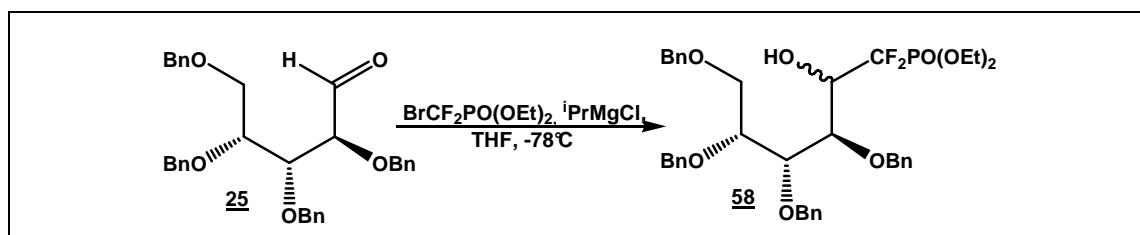
**Figura 4.85** – Tentativas de síntese de **6**, via éster **52** ou difluoroenol **53**.

Outra *via* sintética foi proposta por esses pesquisadores, tendo como material de partida a D-arabinose tribenzilada **54**. Esta foi submetida às condições da reação de Reformatsky, o que conduziu ao intermediário **55** com rendimento de 48%. Em seguida, a oxidação da hidroxila utilizando-se o reagente de *Dess-Martin* forneceu **56**. No entanto, não houve sucesso na etapa de descarboxilação, o que inviabilizou essa rota sintética (Figura 4.86).



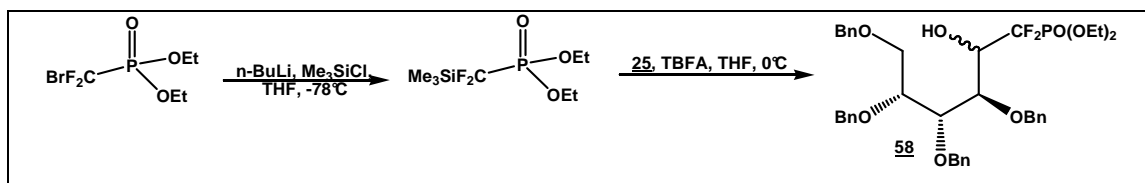
**Figura 4.86** – Esquema de síntese proposto para a obtenção de **6**, *via* reação de Reformatsky, a partir de **54**.

Em outra tentativa de obtenção de **6**, foi planejada a reação do derivado tetrabenzilado **25** com o bromodifluorometilfosfonato de dietila em presença de cloreto de isopropilmagnésio em THF a -78°C (Figura 4.87). Nestas condições, a mistura dos diastereoisômeros **58** foi obtida com rendimento insatisfatório.



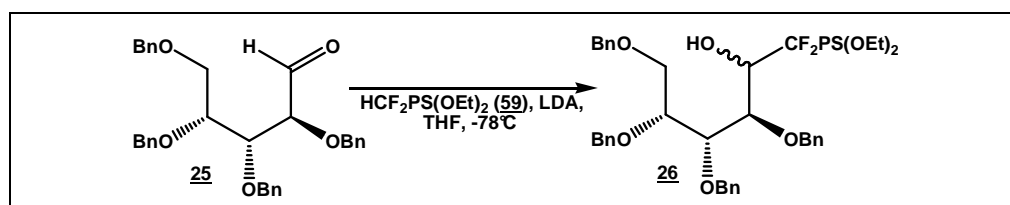
**Figura 4.87** – Proposta de síntese de **6** por reação de **25** com brometo de difluorometilfosfonato de dietila.

Em outra alternativa de síntese de **6**, foi realizada a introdução do grupo difluorometilfosfonato de dietila pelo caminho mostrado na figura 4.88. Para isso, o bromodifluorometilfosfonato foi tratado com butil-lítio e o ânion resultante reagiu com cloreto de trimetilsilano para produzir o derivado sililado correspondente (NIESCHALK et al., 1996). A reação deste com **25**, em presença de fluoreto de tetrabutilamônio (TBFA), forneceu **58** com baixo rendimento.



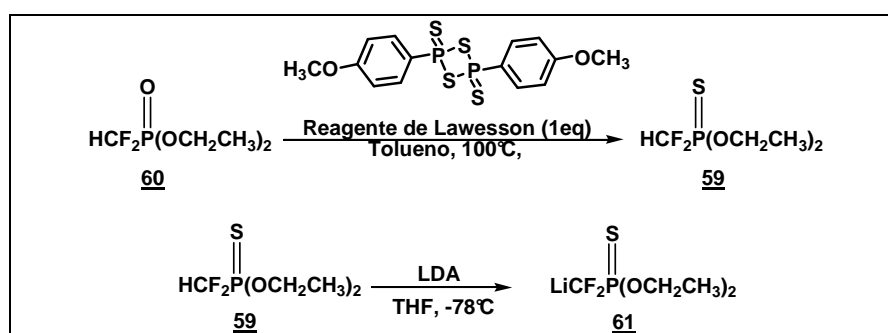
**Figura 4.88** – Tentativa de síntese de **6** via reação com o ânion difluorometilfosfonato de dietila.

No presente trabalho, a obtenção de **6** foi planejada a partir da reação de acoplamento do aldeído **25** com difluorometiltiofosfonato de dietila **59** (Figura 4.89).



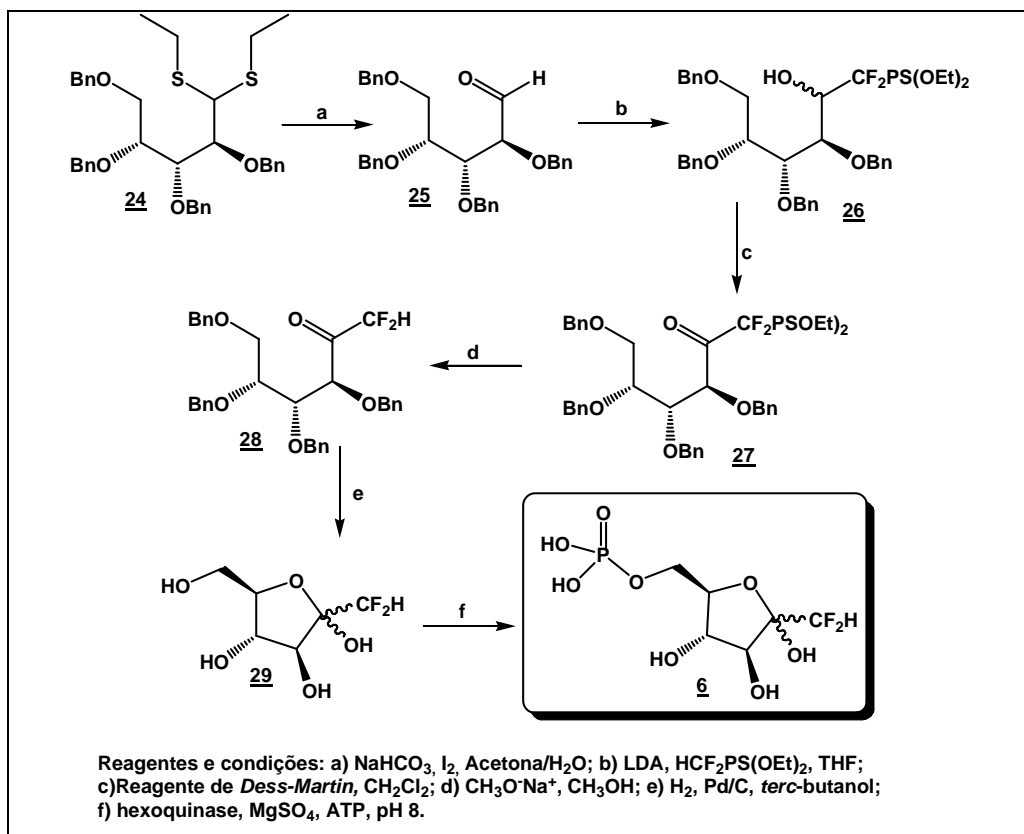
**Figura 4.89** – Proposta para a obtenção de **26**, a partir da reação de **25** com difluorometiltiofosfonato de dietila **59**.

Tem sido relatado que o ânion resultante da reação de **59** com diisopropilamido de lítio (LDA) (Figura 4.90) é estável por muitas horas em temperaturas de até  $-40^{\circ}\text{C}$ , ao contrário do ânion de **60**, que é estável apenas até  $-78^{\circ}\text{C}$  (PIGNARD et al., 2006; PIETTRE et al., 1996a). Para a obtenção de **59**, o difluorometilfosfonato de dietila **60** foi submetido à reação com um equivalente molar do reagente de Lawesson em tolueno sob refluxo (Figura 4.90) (ARNONE et al., 1997). A reação foi acompanhada por RMN de  $^{31}\text{P}$  e o consumo do material de partida foi verificado pelo desaparecimento do sinal referente ao fósforo do material de partida **60**, em  $\delta 4,86$  ppm, e pelo aparecimento do sinal de ressonância de fósforo do produto **59**, em  $\delta 72,68$  ppm. O tiofosfonato de dietila **59** foi obtido na forma de um óleo transparente com 81% de rendimento.



**Figura 4.90** – Reação de obtenção de **59** a partir de **60** e do íon de lítio **61**.

A partir de então, foram realizadas as etapas da rota de síntese proposta para a síntese do análogo difluorado **6** a partir do ditioacetal da arabinose perbenzilada **24**, que era disponível no laboratório (Figura 4.91).

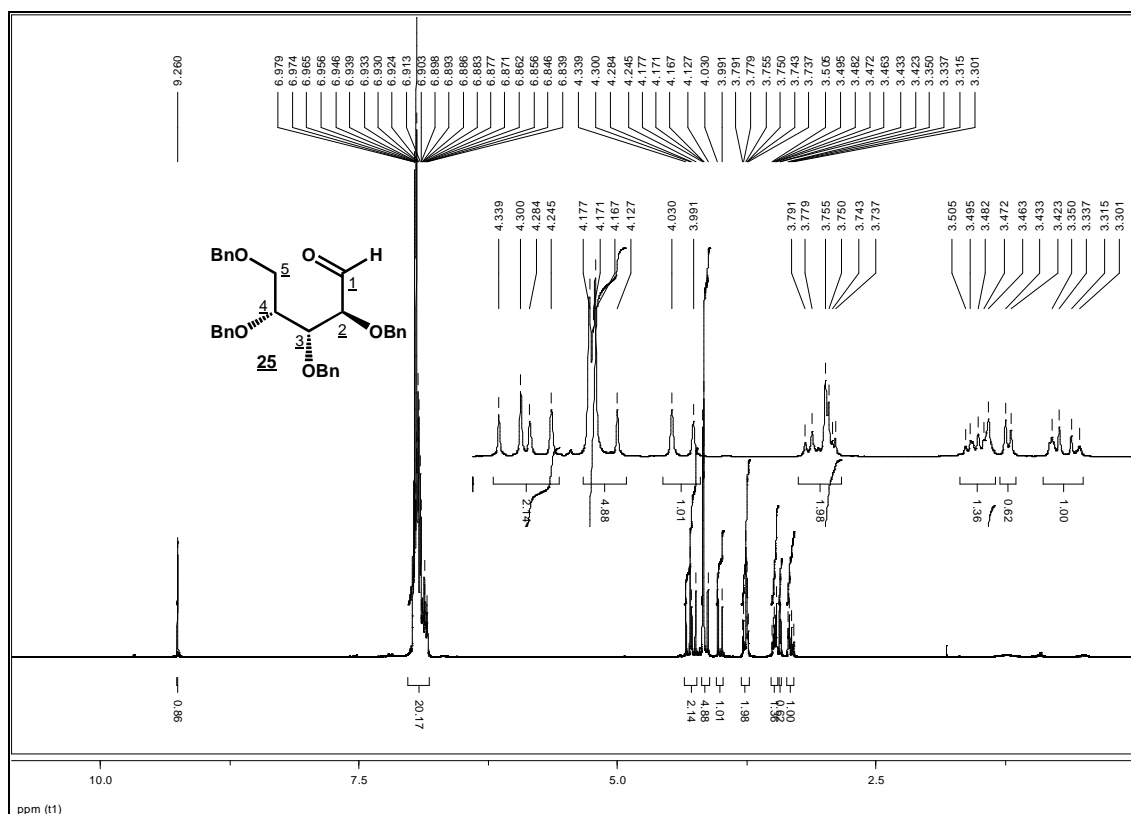


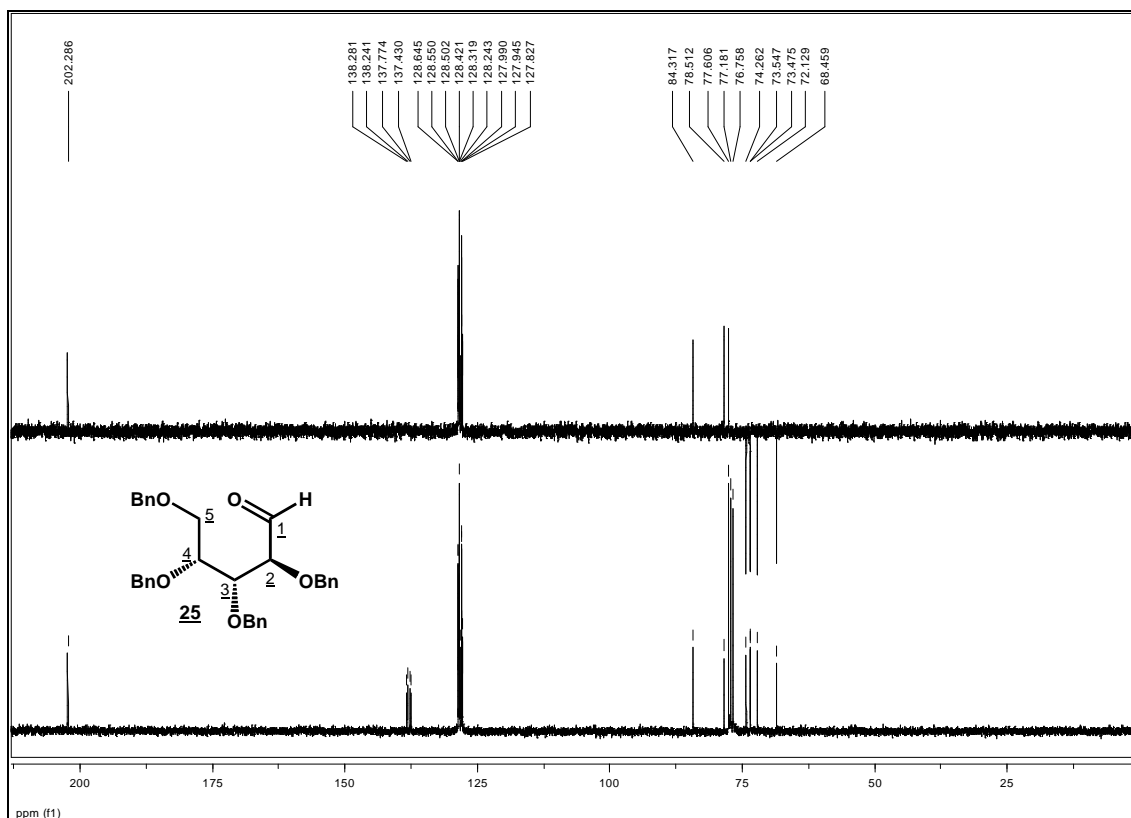
**Figura 4.91** – Esquema de síntese proposto para a obtenção do análogo difluorado de D-frutose-6-fosfato **6**.

Para a desproteção do ditioacetal da arabinose **24** foram utilizados dois métodos. No primeiro, o ditioacetal **24** foi submetido à reação com cloreto de mercúrio em presença de carbonato de cálcio em acetonitrila/água 9:1 (STORZ et al., 1998; BONNETTE et al., 1996) e a arabinose perbenzilada **25** foi obtida com rendimento médio de 65%. Alternativamente, essa reação foi realizada utilizando-se iodo ressublimado em solução de acetona/água 3:2 em presença de bicarbonato de potássio (OHLSSON et al., 2001). Nestas condições, o produto desprotegido **25** foi obtido com 81% de rendimento, na forma de óleo transparente. Por apresentar maior rendimento e como o iodo é menos tóxico que o cloreto de mercúrio, este foi o método utilizado nas reações para a obtenção de maiores quantidades de **25**.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **25** (Figuras 4.92 e 4.93, respectivamente) não foram observados os sinais referentes aos hidrogênios e carbonos dos grupos etila do ditioacetal, confirmando a sua remoção. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **25** (Figura 4.92), foi verificado, entre outros, o sinal de H-1, em  $\delta$  9,26 ppm, na forma de um simpleto. Foram observados os sinais de ressonância dos hidrogênios dos grupos benzila: em  $\delta$  4,37, 4,50-4,56; 4,63 e 4,68 ppm relativos aos hidrogênios metilênicos e o multipletto entre  $\delta$  7,21-7,36 ppm referente aos hidrogênios aromáticos. Os dupletos duplos centrados em  $\delta$  3,69 e 3,81 ppm foram atribuídos aos hidrogênios H-5 e em  $\delta$  3,84 ppm, o sinal referente a H-4. O multipletto observado entre  $\delta$  4,01-4,12 ppm foi atribuído a H-2 e o triplete centrado em  $\delta$  4,14 ppm a H-3.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 4.93) foi observado, entre outros, o sinal em  $\delta$  202,3 ppm referente à ressonância do carbono carbonílico C-1. O sinal observado em  $\delta$  84,3 ppm foi atribuído a C-2, os sinais em  $\delta$  77,6 e 78,5 ppm referentes a C-3 e C-4 e em  $\delta$  68,5 ppm foi observado o sinal referente a C-5.





**Figura 4.93** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **25** (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

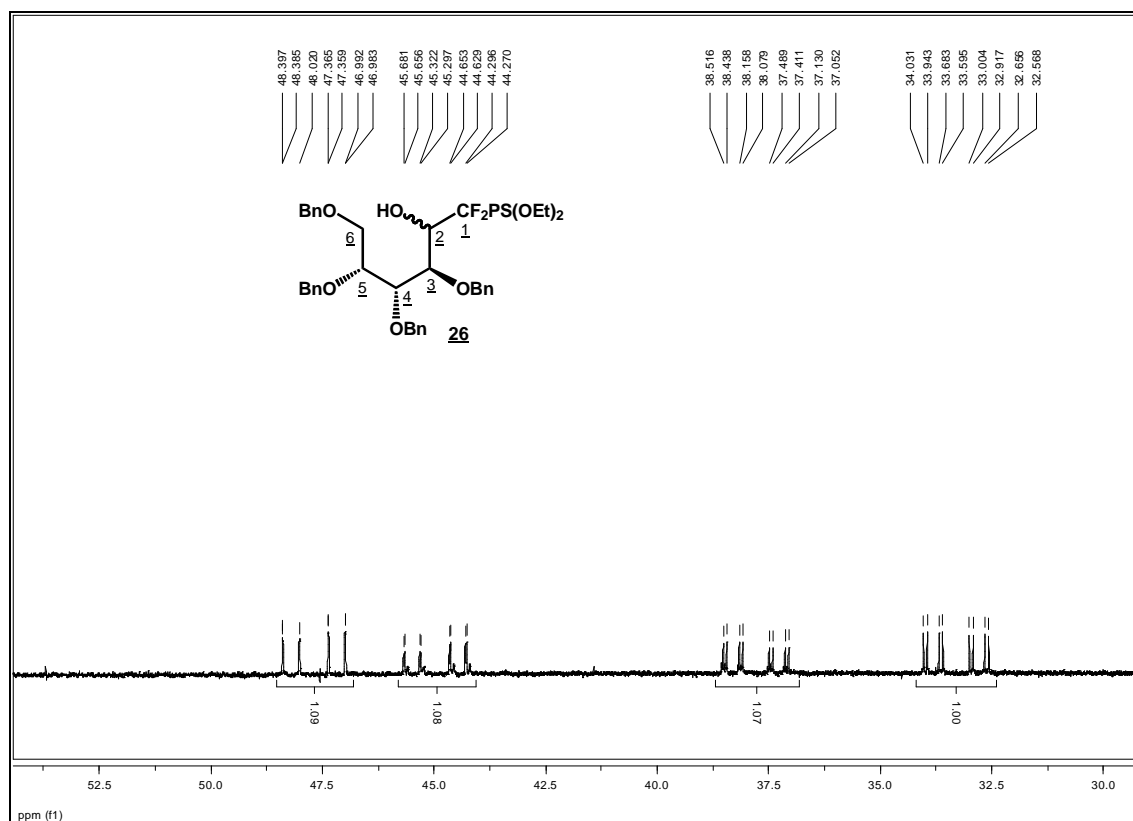
A etapa seguinte foi o acoplamento da arabinose protegida **25** com o difluorometiltiofosfonato de dietila **59**, o agente doador do grupo  $\text{CF}_2$ , em presença de LDA (Figura 4.91) (PIETTRE et al., 1996b). Primeiramente, o sal de lítio do tiofosfonato **61** foi formado pela adição de solução de LDA à solução de **59** em THF, a  $-78^\circ\text{C}$ . Em seguida, a solução de **25** em THF, previamente resfriada a  $-78^\circ\text{C}$ , foi adicionada (OBAYASHI et al., 1982; PIETTRE et al., 1996b). Para essa reação, os reagentes foram adicionados lentamente e a temperatura do banho foi mantida a  $-78^\circ\text{C}$ .

O intermediário **26** foi obtido com rendimento de 73% na forma de mistura de diastereoisômeros e como um óleo amarelo transparente. Este rendimento foi reprodutível em todas as reações de acoplamento realizadas.

O flúor  $^{19}\text{F}$  possui abundância natural de 100% e número de spin de  $\frac{1}{2}$ . Com isso, o flúor é quase tão facilmente detectado, por RMN, quanto o hidrogênio (JAMESON, 1987). Nos espectros de RMN de  $^{19}\text{F}$  obtidos são observados os acoplamentos flúor-fósforo e flúor-hidrogênio, e no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{31}\text{P}$  são observados o acoplamento destes núcleos com flúor. Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , em alguns casos, foram observados o acoplamento carbono-flúor do tipo  $^2J_{\text{C-F}}$  ou  $^3J_{\text{C-F}}$ . Na maioria das vezes o sinal de ressonância referente ao carbono que está ligado ao flúor não aparece pois estes, além do acoplamento C-F, podem apresentar acoplamento C-P, o que deixa o sinal reduzido e de difícil observação.

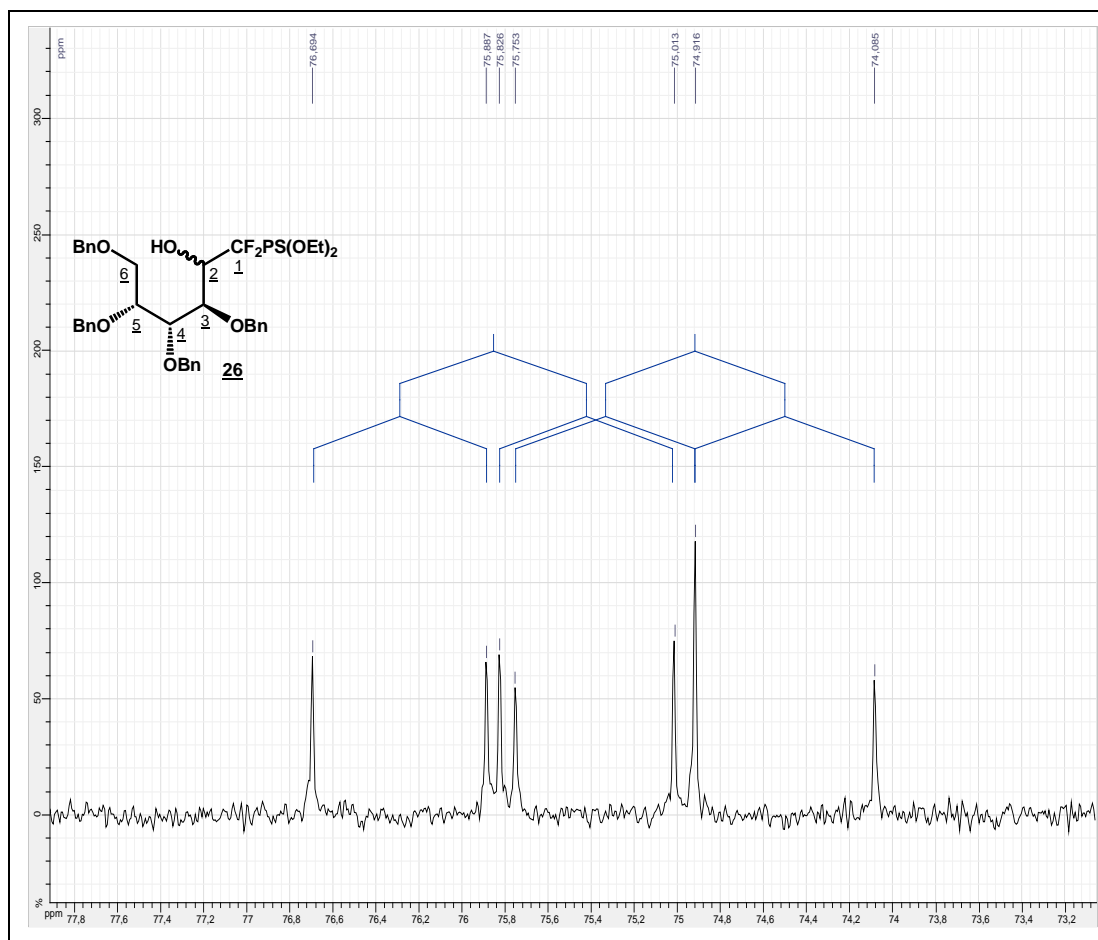
No espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **26** (Figura 4.94) foram observados os sinais da mistura de diastereoisômeros com seus respectivos quatro dupletos duplos, decorrentes do acoplamento flúor-flúor e do acoplamento flúor-fósforo (com constantes de acoplamento da ordem de 300 e 100 Hz, respectivamente). Nos espectros acoplados ao hidrogênio, foram observados ainda os acoplamentos flúor-hidrogênio (cerca de 20 Hz).

No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **26** (Figura 4.95) foram observados os sinais referentes ao fósforo do tiofosfonato para cada diastereoisômero. Foi observado um duplete duplo centrado em  $\delta$  75,9 ppm com constantes de  $J_{\text{F-F}}$  de 106,8 Hz e  $J_{\text{F-P}}$  de 98,4 Hz. Para o outro diastereoisômero foi observado o sinal de ressonância do fósforo, o tripleto centrado em  $\delta$  74,9 Hz com constantes  $J_{\text{F-F}}=J_{\text{F-P}}$  de 101,3 Hz.



**Figura 4.94** – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **26** (282,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).





**Figura 4.95** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  **26** (121,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

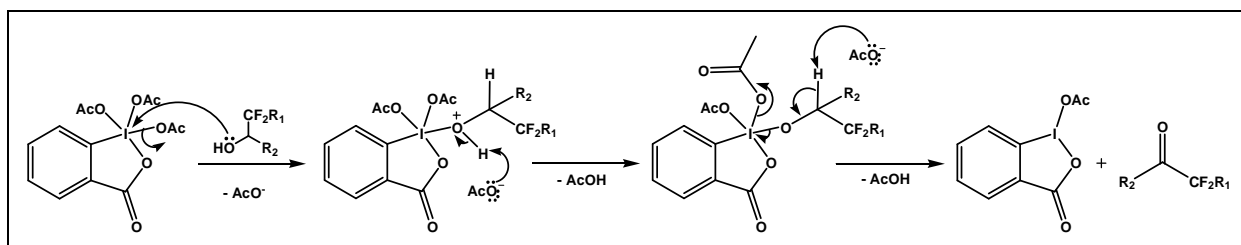
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **26** (Figura 4.96) foram observados, entre outros, os sinais referentes aos hidrogênios metílicos e metilênicos dos grupos dietilfosfonila (em  $\delta$  1,24-1,39 ppm e em  $\delta$  4,1 à 4,31 ppm, respectivamente). Os sinais de ressonância dos hidrogênios de **26** estão sobrepostos, o que impossibilitou sua atribuição inequívoca.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **26** (Figura 4.97) os sinais em  $\delta$  16,4 e 64,7 e 65,0 ppm foram atribuídos aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo dietilfosforila, respectivamente. Os sinais observados em  $\delta$  69,6 e 69,5 ppm foram atribuídos aos carbonos C-6 e os sinais observados na região de  $\delta$  75,2 a 79,9 ppm foram atribuídos aos carbonos C-3, C-4 e C-5. Os sinais observados em  $\delta$  72,3 a 74,5 ppm foram atribuídos aos carbonos metilênicos dos grupos benzila e em  $\delta$  127,7 a 128,7 ppm foram observados os sinais de ressonância dos carbonos aromáticos hidrogenados e os sinais em  $\delta$  137,9 a 138,5 ppm referentes os carbonos não hidrogenados.



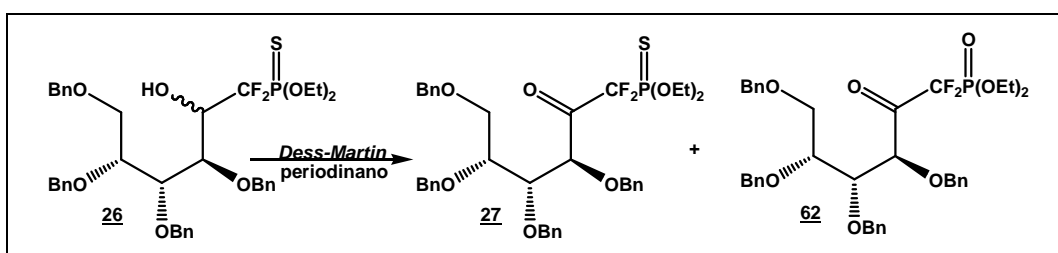
A oxidação de **26** foi realizada por reação com o reagente de *Dess-Martin* (periodinano de *Dess-Martin*) (Figura 4.91, página 100) (FOX et al., 2005; COX et al., 2002; COX et al., 2001). Esse reagente permite a oxidação de álcoois primários a aldeídos e álcoois secundários em cetonas com algumas facilidades: reações rápidas, não necessitam de grande excesso do agente oxidante e são de fácil elaboração (quando comparada com outros reagentes, por exemplo o dicromato de piridínio) (DESS et al., 1983).

O mecanismo proposto para essa reação está representado na figura 4.98. Primeiramente ocorre o ataque do par de elétrons do oxigênio da hidroxila ao átomo de iodo do reagente de *Dess-Martin*, com liberação de um íon acetato. Em seguida, ocorre a abstração de um próton na parte do carboxilato, para a oxidação a cetona desejada (Figura 4.98).



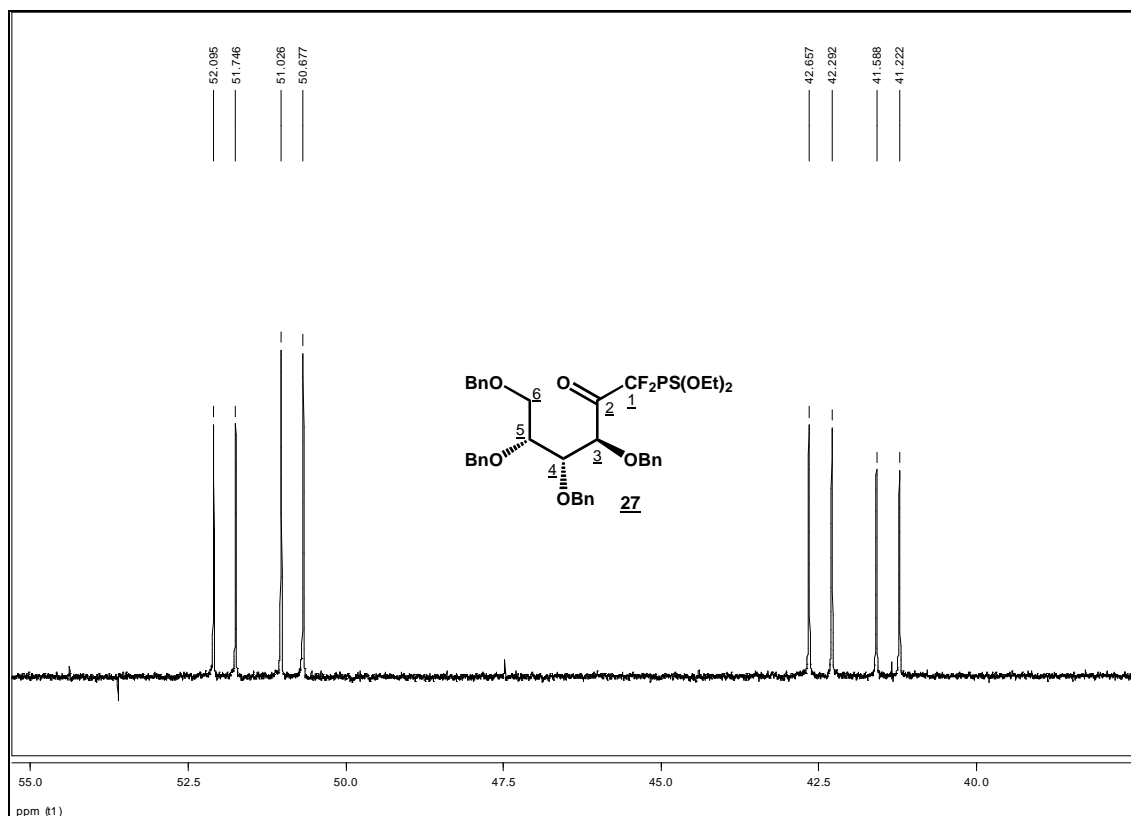
**Figura 4.98** - Mecanismo proposto para a oxidação de **26** com periodinano de *Dess-Martin*.

O intermediário **27** foi obtido na forma de um óleo transparente com 61% de rendimento, e, mesmo depois de repetidas reações, modificando o tempo e a quantidade do agente oxidante utilizado, não foi possível melhorar esse rendimento. Outro produto isolado desta reação foi o fosfonato **62**, resultante da oxidação da hidroxila alcoólica e do grupo tiofosfonato de **26** com rendimento de 29% (Figura 4.101).



**Figura 4.99** – Produtos obtidos na reação de oxidação de **26**.

No espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **27** (Figura 4.100) podemos observar os dois dupletos duplos, centrados em  $\delta$  51,39 ppm e em  $\delta$  41,94 ppm, referentes aos dois átomos de flúor presentes na estrutura de **27**. Estes possuem constantes de 98,3 e 102,8 Hz para os acoplamentos flúor-fósforo e 302,7 e 302,3 Hz para os acoplamentos flúor-flúor.



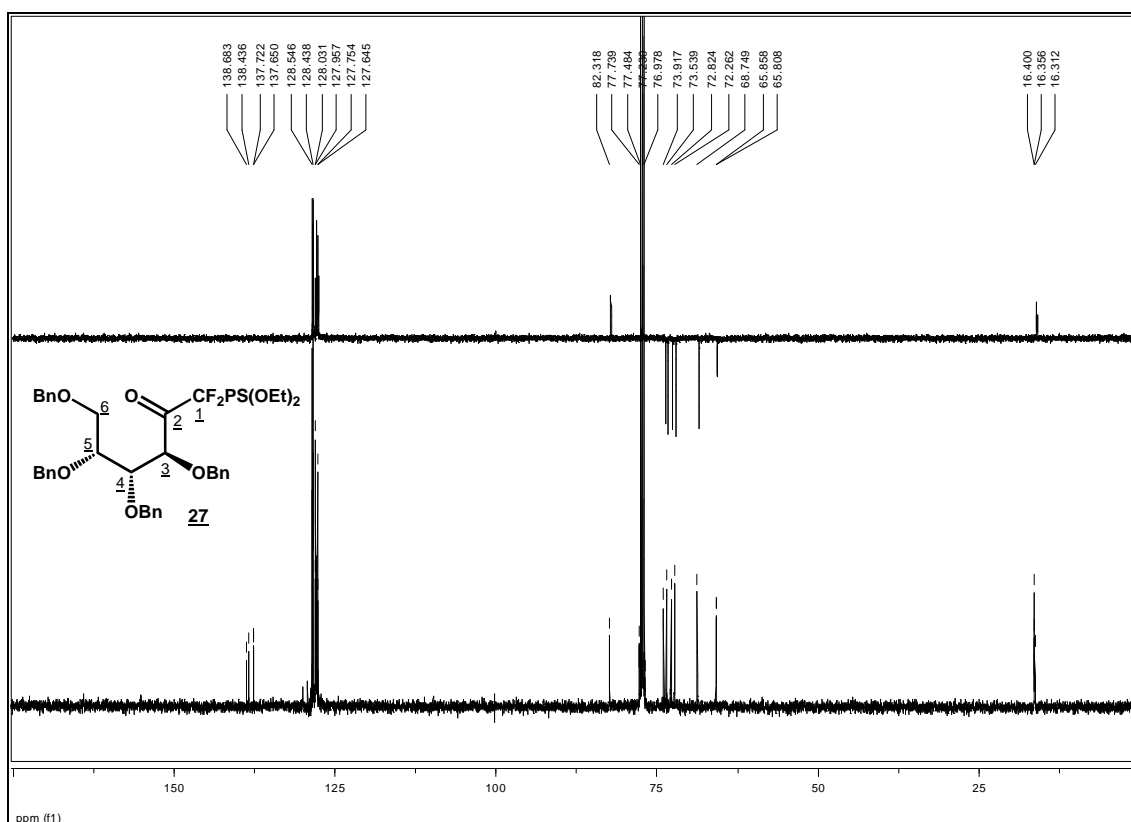
**Figura 4.100** – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **27** (282,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **27** (Figura 4.101) foi observado o duplete duplo, centrado em  $\delta$  70,33 ppm, referente ao fósforo acoplado aos dois átomos de flúor, com constantes  $J_{\text{F-P}}$  de 103,3 e 99,1 Hz.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **27** (Figura 4.102), foram observados os sinais de ressonância dos hidrogênios do grupo dietiltiofosfonila. Os tripletos encontrados em  $\delta$  1,29 e 1,35 ppm foram atribuídos aos hidrogênios metílicos e o multiplete observado em  $\delta$  4,22-4,33 ppm, referente a sete hidrogênios, foi atribuído aos quatro hidrogênios metilênicos, H-4 e dois hidrogênios benzílicos. Os outros hidrogênios do grupo benzila foram observados em  $\delta$  4,41-4,48; 4,59; 4,69 ppm e o multiplete observado em  $\delta$  7,18-7,35 ppm referente aos hidrogênios aromáticos. Os dupletos duplos centrados em  $\delta$  3,58 e 3,74 ppm foram atribuídos a H-6 e H-6'; o multiplete observado em  $\delta$  3,88-3,90 ppm foi atribuído a H-5 e o sinal largo centrado em  $\delta$  5,07 ppm referente a H-3.

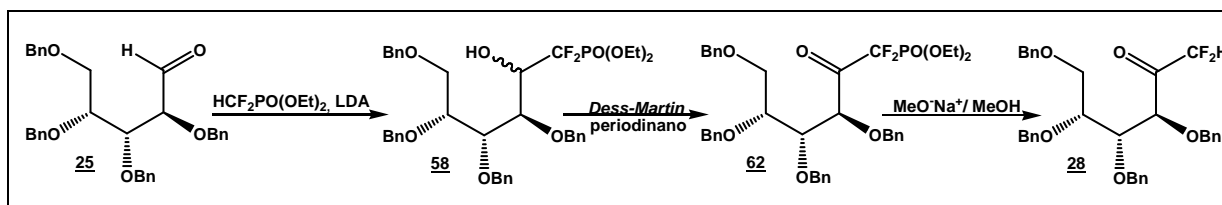


No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **27** (Figura 4.103) foram observados os sinais de ressonância dos carbonos do grupo dietilfosfonila: em  $\delta$  16,4 ppm os carbonos metílicos e em  $\delta$  65,8 ppm os sinais referentes aos carbonos metilênicos. Em  $\delta$  72,3 a 73,9 ppm foram observados os sinais referentes aos carbonos metilênicos do grupo benzila e em  $\delta$  127,6 a 128,5 ppm os carbonos hidrogenados e em  $\delta$  137,6 a 138,7 ppm os sinais relativos aos carbonos não hidrogenados do grupo benzila. O sinal observado em  $\delta$  68,7 ppm foi atribuído a C-6, o sinal observado em  $\delta$  77,5 ppm é relativo a C-5, o duplete centrado em  $\delta$  77,6 ppm, referente ao acoplamento carbono-flúor, foi atribuído a C-4 e em  $\delta$  82,3 ppm foi observado o sinal relativo a C-3.



A etapa seguinte seria a clivagem da ligação  $\text{CF}_2\text{-P}$ , por reação do tiosfosfonato **27** com metóxido de sódio em metanol anidro (Figura 4.91, página 100) (FOX et al., 2005). O protocolo descrito preconiza uma reação relativamente rápida e que necessita de quantidade catalítica de metóxido de sódio (FOX et al., 2005; PIETTRE, et al., 1996b). No entanto, quando **27** foi submetido a essas condições e, mesmo deixando por um tempo maior (duas horas em banho a  $-10^\circ\text{C}$ ; três horas em banho de gelo e por dezenove horas à temperatura ambiente) e acrescentando maior quantidade de reagente (até três equivalentes molares), não foi observado, por CCD, ou por RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{19}\text{F}$  ou de  $^{31}\text{P}$  nenhum outro composto nesta reação que não o material de partida, o tiosfosfonato de dietila **27**.

Diante do insucesso da obtenção de **28** pela solvólise da ligação C-P do tiofosfonato **27**, foi prevista a obtenção de **58** via reação de **25** com difluorometilfosfonato de dietila, seguindo as mesmas condições estabelecidas para a preparação de **26**. Em seguida, **58** seria oxidado à cetona e o intermediário **62** seria submetido à reação para a formação de **28** (Figura 4.104).



**Figura 4.104** – Sequência de reações planejadas para a síntese de **28**, por reação de **25** com difluorometilfosfonato de dietila **60**.

O intermediário difluorometilfosfonato **58** foi obtido com 70% de rendimento, como uma mistura de diastereoisômeros, seguindo as mesmas condições empregadas descritas na obtenção de **26**.

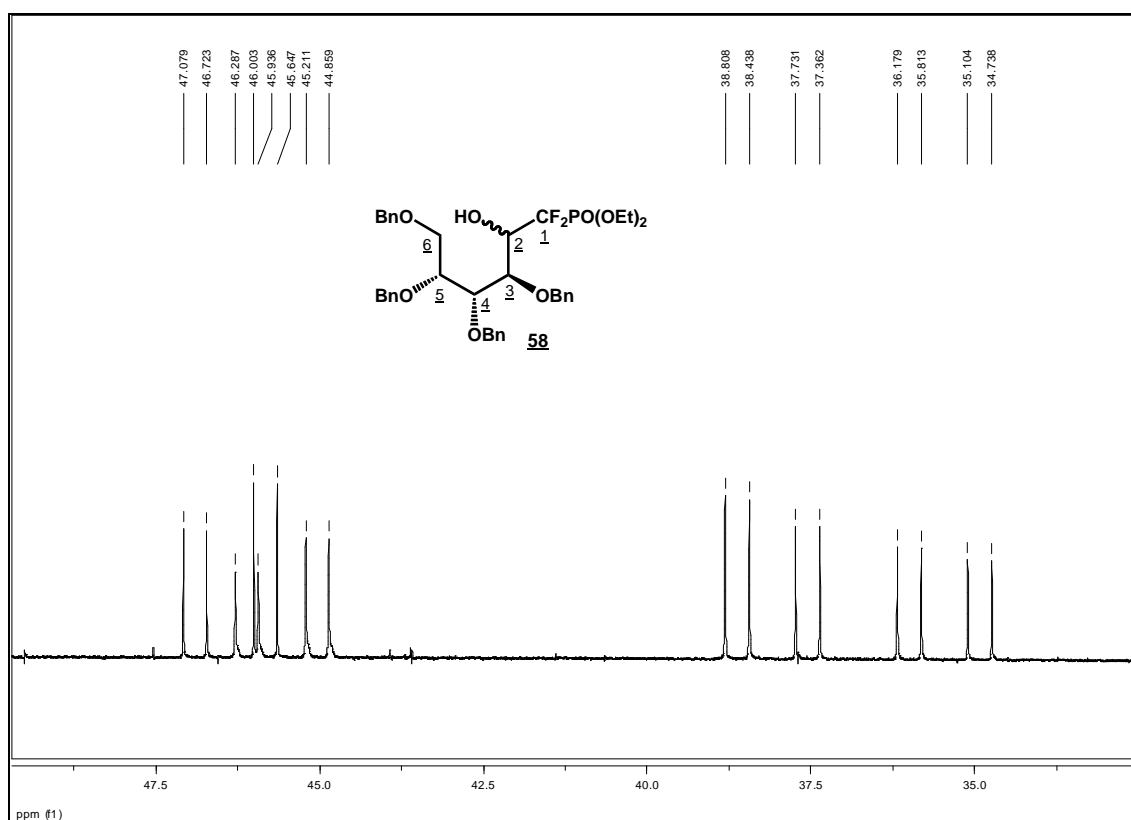
No RMN de  $^{19}\text{F}$  de **58** (Figura 4.105), foram observados os quatro duplos dupletos duplos, referentes aos dois átomos de flúor de cada diastereoisômero de **58** acoplados ao hidrogênio de C-2 e ao outro flúor. Estes apresentaram constantes de acoplamento da ordem de 5 a 23 Hz para o acoplamento flúor-hidrogênio, de 99 a 103 Hz para o acoplamento flúor-fósforo e de 303 a 304 Hz para o acoplamento flúor-flúor. Comparando os espectros de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **26** e de **58** foi possível observar que as constantes de acoplamento flúor-flúor não são as mesmas, as constante flúor-flúor são maiores no espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **26**.

No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **58** (Figura 4.106), foram observados os sinais dos átomos de fósforo para cada diastereoisômero, dois dupletos duplos centrados em  $\delta$  6,2 e 6,3 ppm, tendo como referência o  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **58** (Figura 4.107), foram observados os sinais referentes aos hidrogênios metílicos em  $\delta$  1,33-1,39 ppm, e em  $\delta$  4,22-4,33 ppm os sinais dos hidrogênios metilênicos do grupo difluorometilfosfonato de dietila. Foram observados também os sinais referentes aos hidrogênios dos grupos benzila: em  $\delta$  4,47-4,78 ppm, um multiplete atribuído aos hidrogênios metilênicos e outro em  $\delta$  7,31-7,35 ppm atribuído aos hidrogênios aromáticos. Os sinais dos hidrogênios da cadeia sacarídea não foram inequivocamente atribuídos devido à sua superposição.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **58** (Figura 4.108) os sinais observados em  $\delta$  16,6 ppm foram atribuídos aos carbonos metílicos e o tripleto centrado em  $\delta$  64,9 ppm foi atribuído aos carbonos metilênicos do grupo difluorometilfosfonato de dietila. Os sinais observados em  $\delta$  72,3 a 74,1 ppm

foram atribuídos aos carbonos metilênicos, os sinais em  $\delta$  127,9 a 128,6 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos hidrogenados e os sinais em  $\delta$  137,9 a 138,5 ppm, foram atribuídos aos carbonos não hidrogenados dos grupos benzila. O sinal observado em  $\delta$  69,7 ppm foi atribuído a C-6, o duplete triplo centrado em  $\delta$  71,2 ppm, foi atribuído a C-2. O duplete centrado em  $\delta$  75,8 ppm foi atribuído a C-3 e os sinais observado em  $\delta$  79,3 e 79,7 ppm foram atribuídos a C-4 e C-5.



**Figura 4.105** – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **58** (282,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



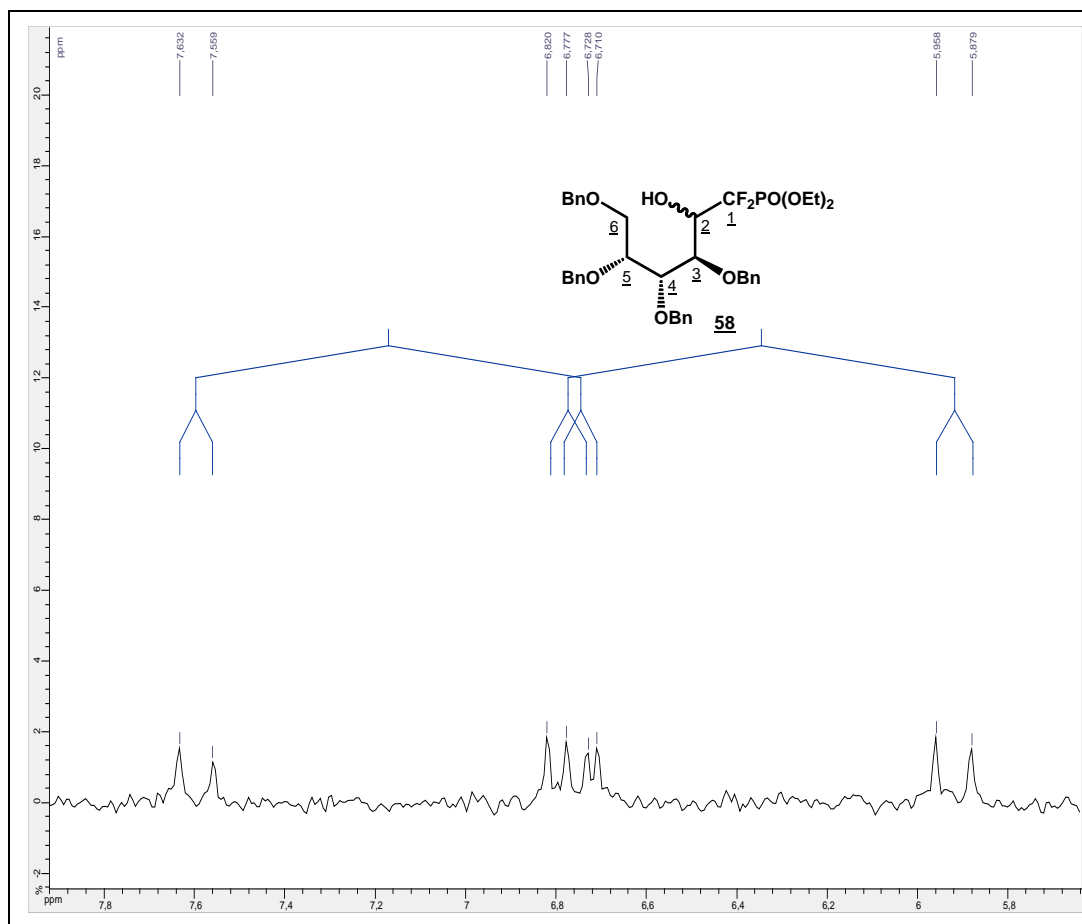


Figura 4.106 – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  **58** (121,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

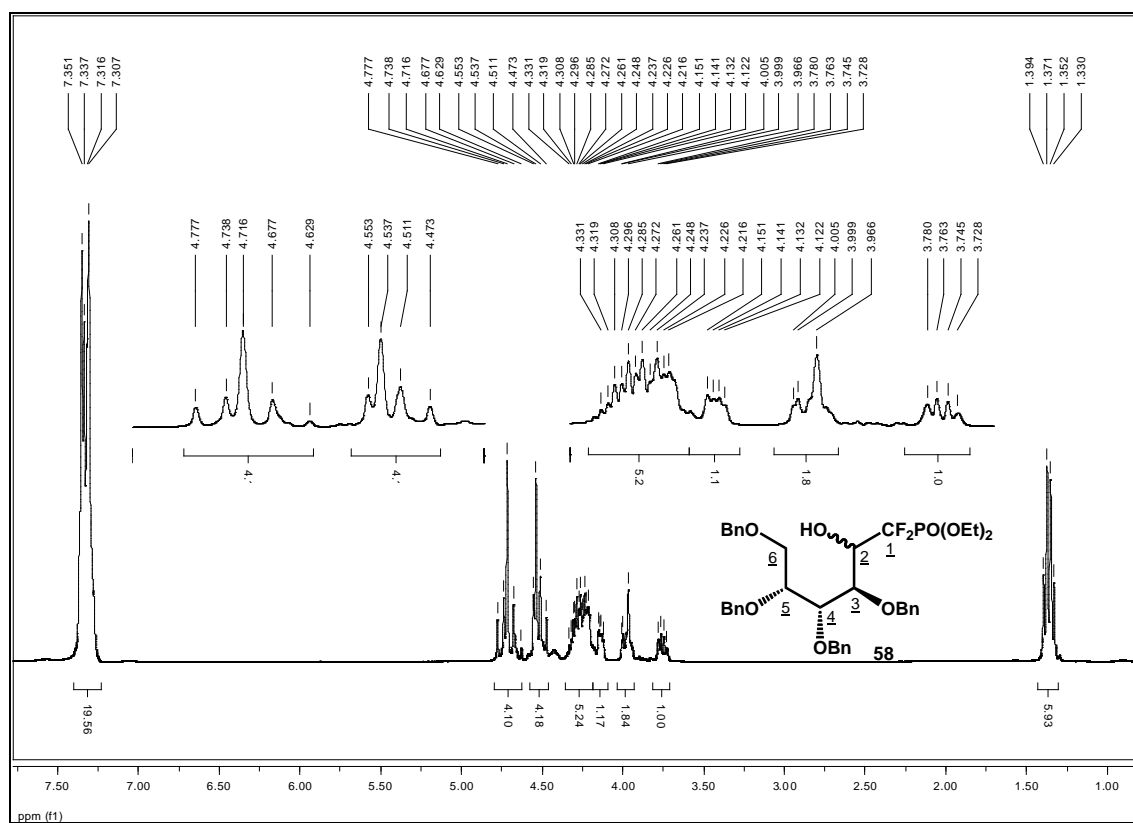
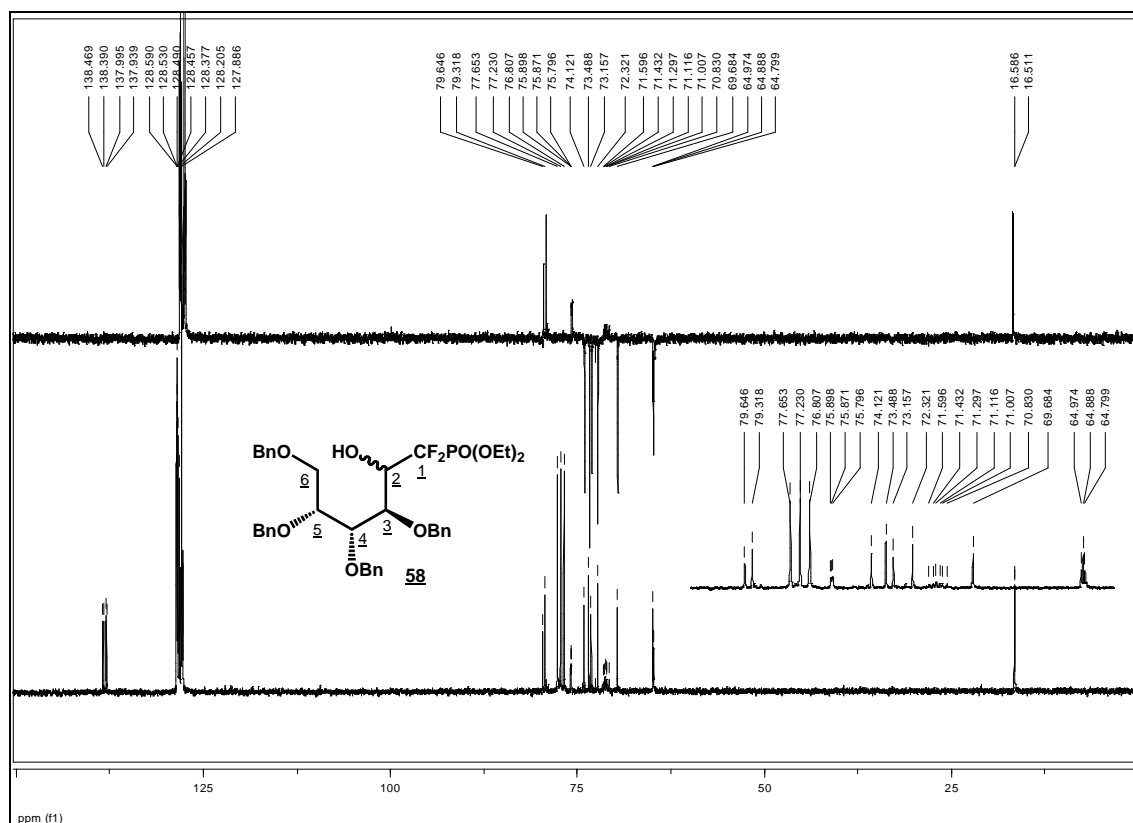


Figura 4.107 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **58** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.108** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **58** (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

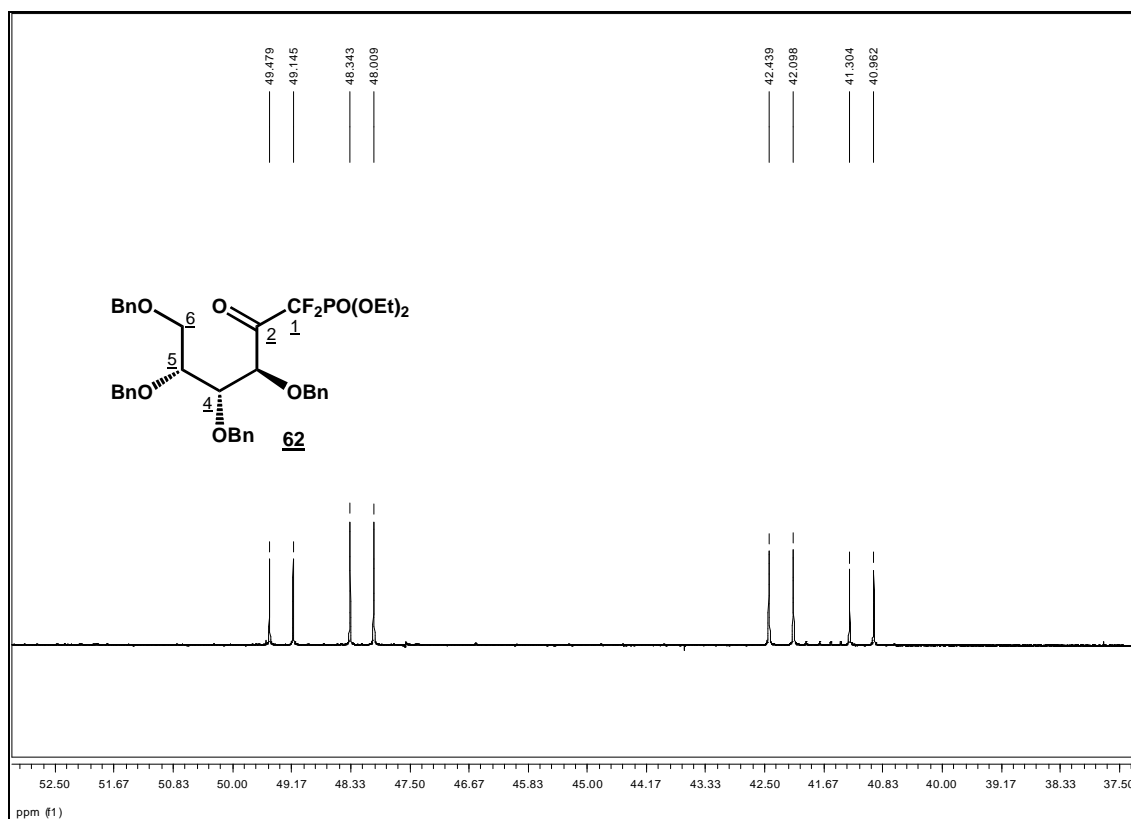
A etapa seguinte foi a oxidação da hidroxila de C-2 de **58** por reação com o reagente de *Dess-Martin* em diclorometano (Figura 4.104) (FOX et al., 2005; COX et al., 2002; COX et al., 2001). Foi utilizado o mesmo método descrito para a síntese de **27** e a cetona **62** foi obtida com 83% de rendimento, na forma de um óleo transparente.

Nos espectros de RMN de  $^{19}\text{F}$  (Figura 4.109) foram observados os sinais de ressonância dos dois átomos de flúor de **62**, os dupletos duplos centrados em  $\delta$  41,70 e em 48,74 ppm, referentes ao acoplamento flúor-flúor com constante de 320 Hz e ao acoplamento flúor-fósforo com constante 94,1 e 96,8 Hz.

No espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de **62** (Figura 4.110) foi observado um duplete duplo centrado em  $\delta$  3,08 ppm com constantes  $J_{\text{P-F}}$  de 96,3 e de 94,5 Hz.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **62** (Figura 4.111) os sinais em  $\delta$  1,32-1,38 ppm e em  $\delta$  4,24-4,36 ppm foram atribuídos aos hidrogênios do grupo difluorometilfosfonato de dietila. Os sinais em  $\delta$  4,44-4,55; 4,59 e 4,69 ppm foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos e o multiplete em  $\delta$  7,17-7,36 ppm foi atribuído aos hidrogênios aromáticos dos grupos benzila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **62** (Figura 4.112) foram observados, entre outros, os sinais referentes aos carbonos metílicos e metilênicos do grupo difluorometilfosfonato de dietila, em  $\delta$  16,5 ppm e em  $\delta$  66,0 ppm, respectivamente. O sinal observado em  $\delta$  68,7 ppm foi atribuído a C-6, e em  $\delta$  77,5 ppm o sinal referente a C-5. O duplete centrado em  $\delta$  77,8 ppm foi atribuído a C-4 e o sinal em  $\delta$  81,5 ppm foi atribuído a C-3.



**Figura 4.109** – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **62** (282,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

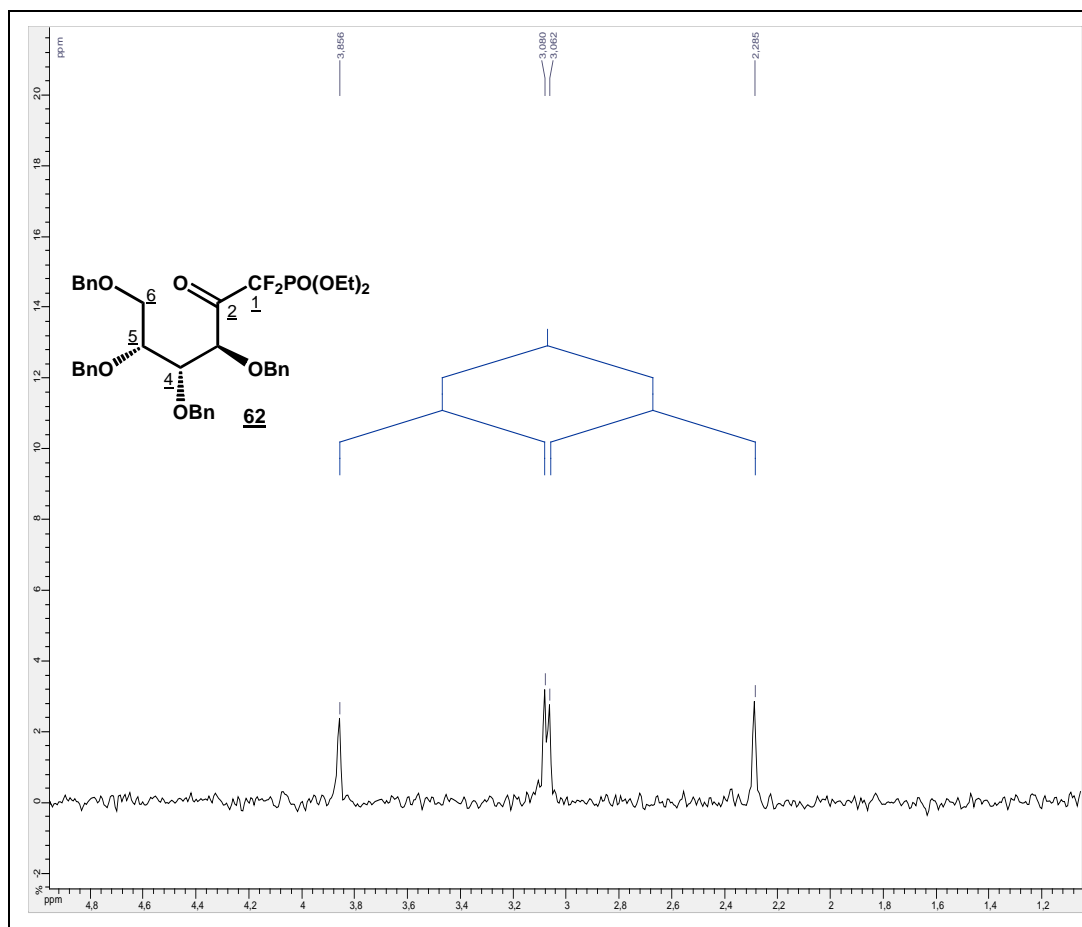


Figura 4.110 – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  **62** (121,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

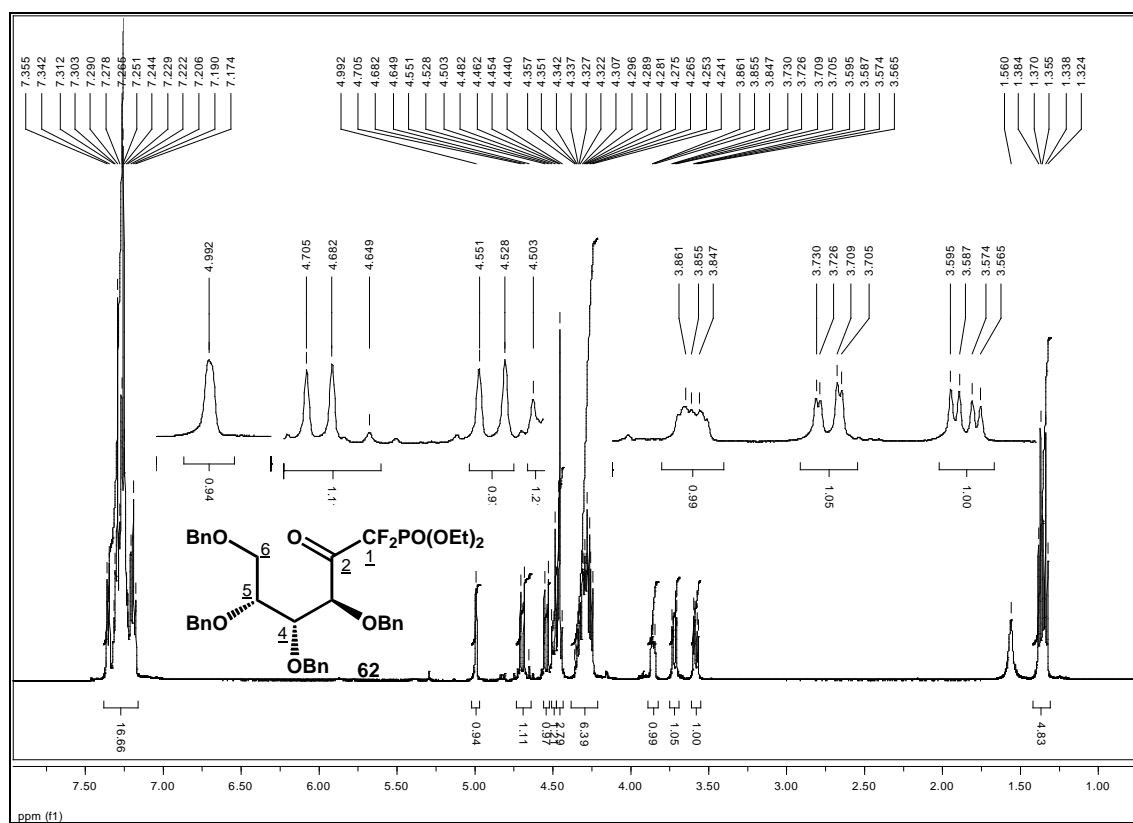
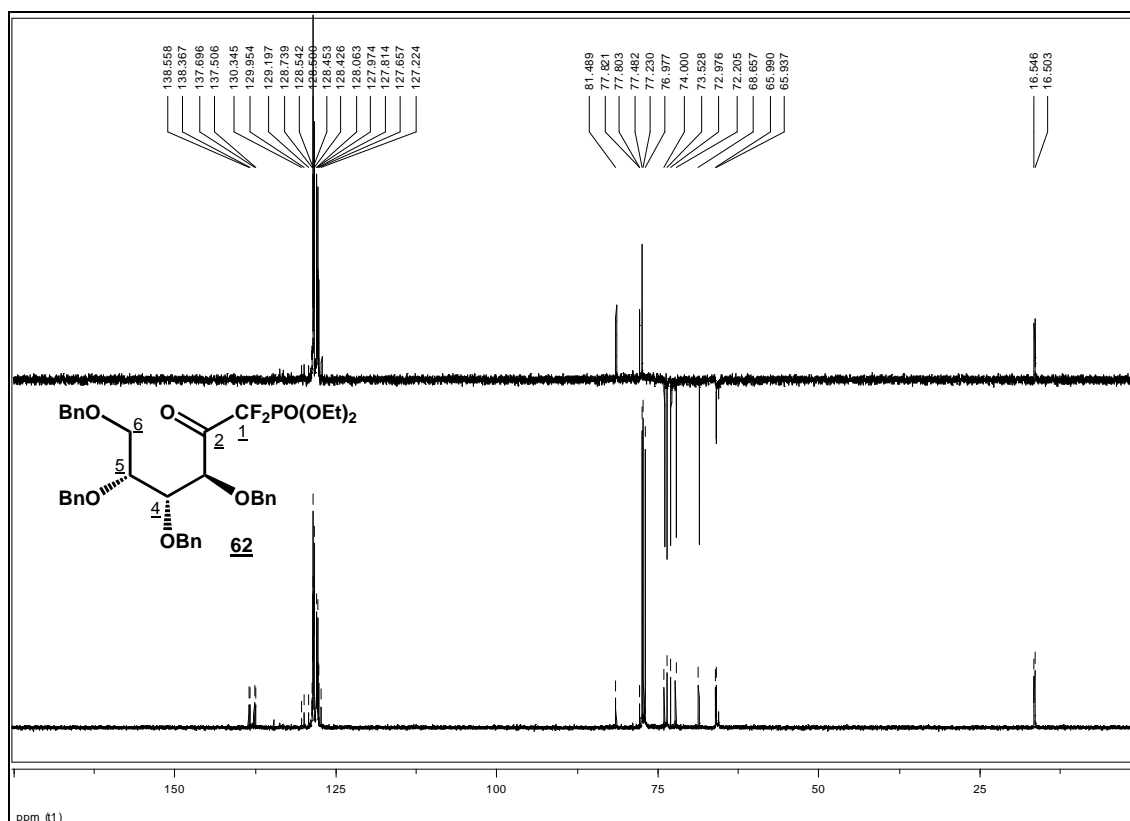


Figura 4.111 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **62** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.112** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **62** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A solvólise de **62** com metóxido de sódio em metanol anidro (Figura 4.104, página 110) (PIETTRE et al., 1996b; BOUVET et al., 1999; FOX et al., 2005) conduziu ao intermediário **28** com 74% de rendimento, após purificação por cromatografia em coluna. A reação foi realizada à temperatura de  $-10^\circ\text{C}$  e foi completa após uma hora da adição da base.

No espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **28** (Figura 4.113) foram observados os sinais referentes aos dois átomos de flúor: o duplo duplo duplo centrado em  $\delta 32,64$  ppm, com constantes  $J_{\text{F-F}}$  de 313,6 Hz,  $J_{\text{F-H}}$  de 54,1 Hz e  $J_{\text{F-H}}$  de 1,4 Hz e o duplo duplo centrado em 34,04 ppm com constantes  $J_{\text{F-F}}$  de 312,7 Hz e  $J_{\text{F-H}}$  de 53,2 Hz.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **28** (Figura 4.114) não foram observados os sinais referentes aos hidrogênios do grupo dietilfosfonila, comprovando a sua remoção. Em  $\delta 4,18$  ppm foi observado um duplo duplo atribuído a H-4. O multipeto observado em  $\delta 4,35$ - $4,71$  ppm foi atribuído a H-3 e aos hidrogênios metilênicos dos grupos benzila. Em  $\delta 3,76$ - $3,81$  ppm, foi observado um multipeto, com integração referente a dois hidrogênios, atribuído a H-5 e H-6' e o duplo duplo centrado em  $\delta 3,68$  ppm foi atribuído a H-6. No espectro de  $^{13}\text{C}$  de **28** (Figura 4.115) foi observado, entre outros, o tripeto centrado em  $\delta 108,8$  ppm referente a C-1, com os acoplamentos carbono-flúor. O tripeto centrado em  $\delta 196,8$  ppm foi atribuído a C-2.

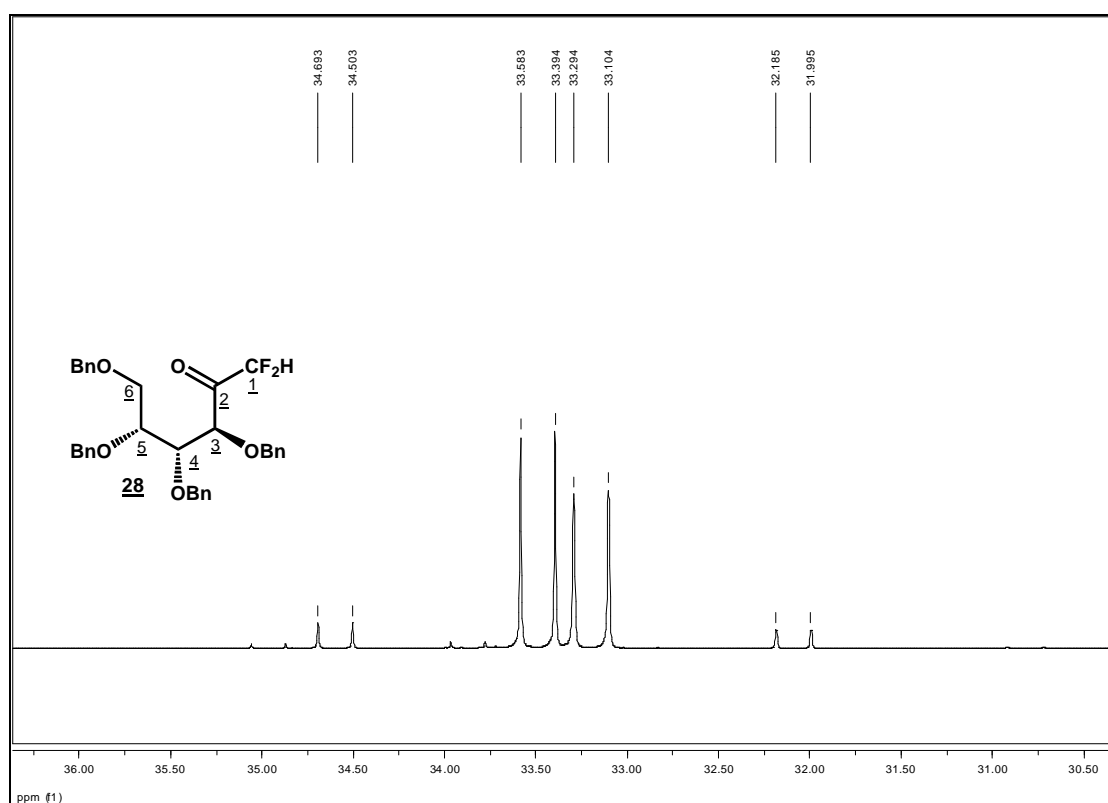


Figura 4.113 – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **28** (282,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

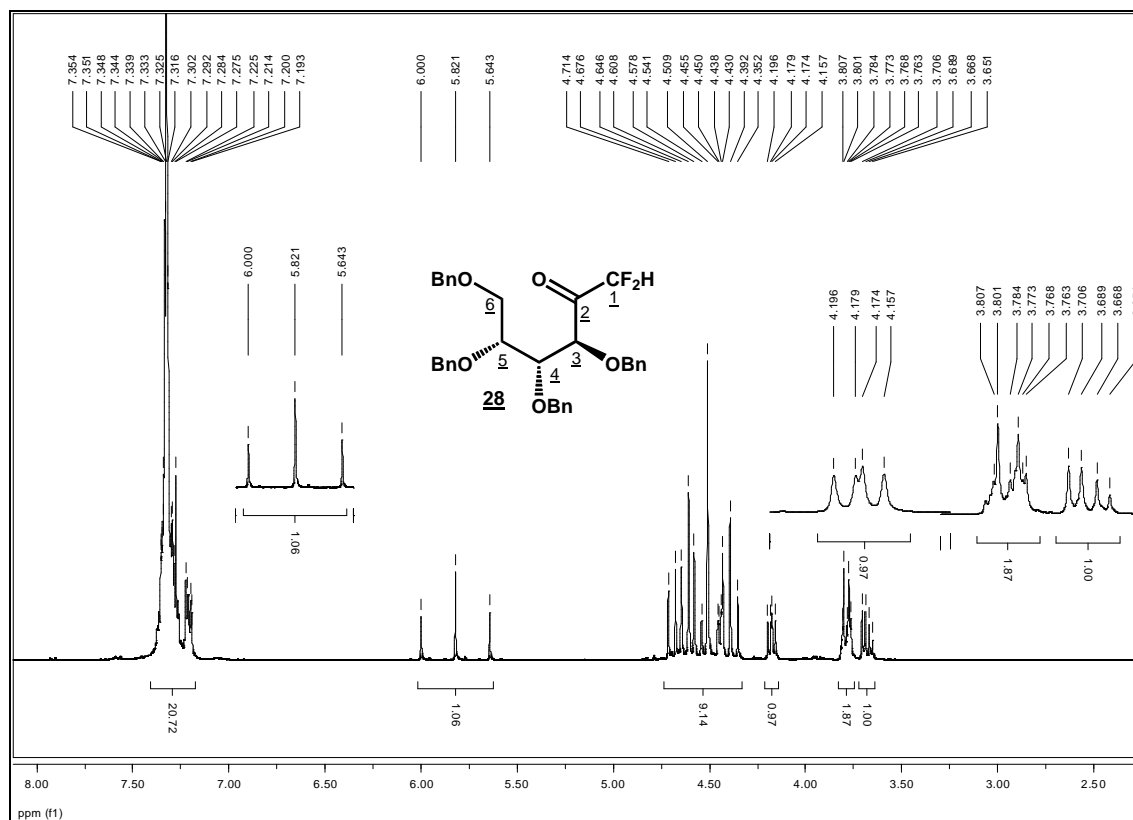
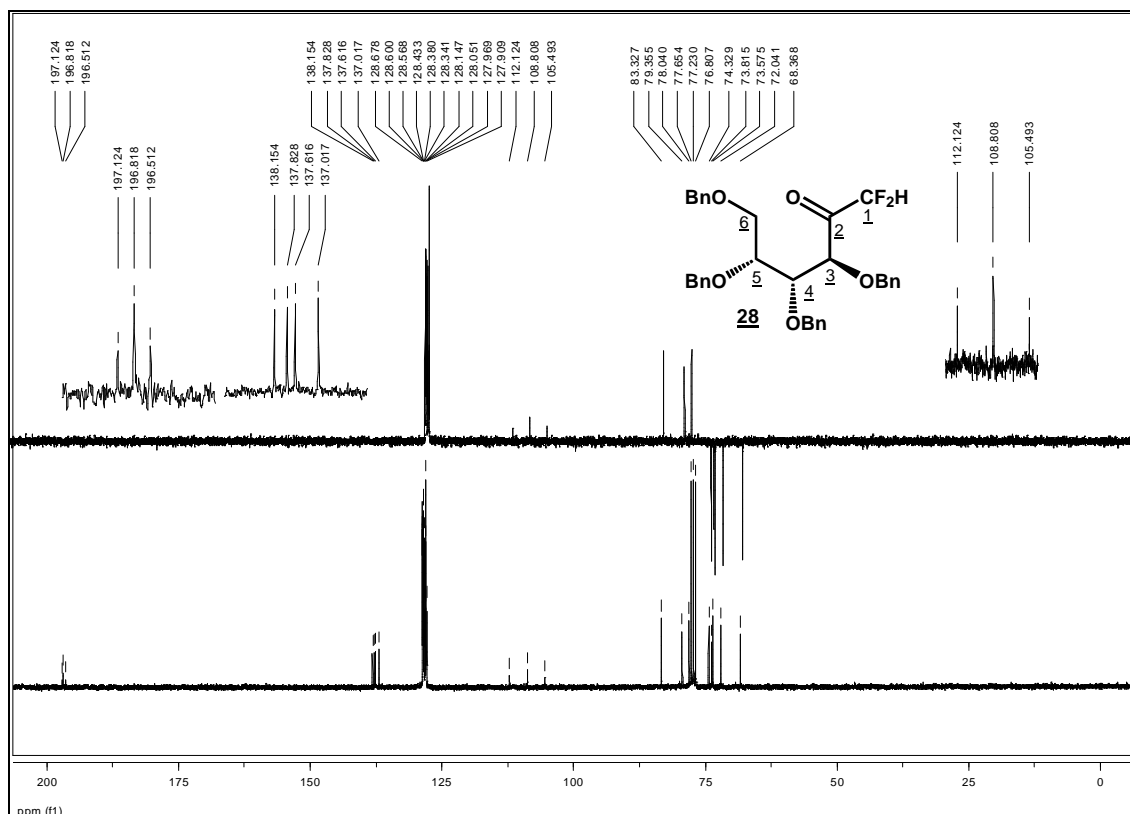


Figura 4.114 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **28** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.115** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **28** (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

A etapa seguinte foi a desproteção das hidroxilas de **28** por reação de hidrogenólise, em hidrogenador Parr, utilizando-se paládio/carvão a 10% como catalisador (Figura 4.91, página 100) (BONNETTE et al., 1996; STORZ et al., 1998). O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD e também por RMN. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **29** (Figura 4.116), a ausência dos sinais referentes aos hidrogênios dos grupos benzila e no espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  (Figura 4.117) o desaparecimento dos sinais referentes aos átomos de flúor de **28**, auxiliaram no acompanhamento da reação de desproteção.

Após serem desprotegidas, as hidroxilas de **28** são potenciais nucleófilos para reagirem com a carbonila de C-2, por reação intramolecular. São esperadas duas formas para **29**, dependendo da hidroxila responsável pela ciclização: a forma furanosídica **29f** (quando a hidroxila de C-5 reage com a carbonila de C-2) e a piranosídica **29p** (quando a hidroxila de C-6 que reage com C-2) (Figura 4.118). Cada uma destas formas pode ainda apresentar dois anômeros:  $\alpha$  ou  $\beta$ , dependendo da face em que ocorreu o ataque nucleofílico da hidroxila ao carbono carbonílico. O intermediário **29** foi obtido com 52% de rendimento após purificação por CCS e foi utilizado, na forma de mistura, na etapa seguinte.

Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **29** (Figura 4.116), foram observados três tripletos centrados em  $\delta$  5,75, 5,81 e 5,85 ppm, referentes a H-1, com acoplamento ao flúor e constantes  $J_{\text{F-H}}$  de 54 Hz. A

presença de três sinais para H-1 sugere que existem, no mínimo, três estruturas diferentes e predominantes para **29**.

No espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **29** (Figura 4.117), foram observados seis dupletos duplos, referentes aos átomos de flúor dos anômeros *alfa* e *beta* de **29f** e **29p**. Nestes, as constantes de acoplamento ( $J_{\text{F-F}}$ ) observadas foram da ordem de 285 a 292 Hz e as constantes de acoplamento flúor-hidrogênio foram de 52,9 a 54 Hz.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **29** (Figura 4.119), foi observado que os sinais referentes aos carbonos estão triplicados, confirmando a presença da mistura de isômeros. Os sinais de ressonância em  $\delta$  61,0, 61,6 e 63,8 ppm foram atribuídos aos carbonos metilênicos C-6 e os tripletos centrados em  $\delta$  113,1 e 113,4 ppm foram atribuídos a C-1, com constantes  $J_{\text{F-C}}$  de 249,5 e 246,5 Hz, respectivamente.

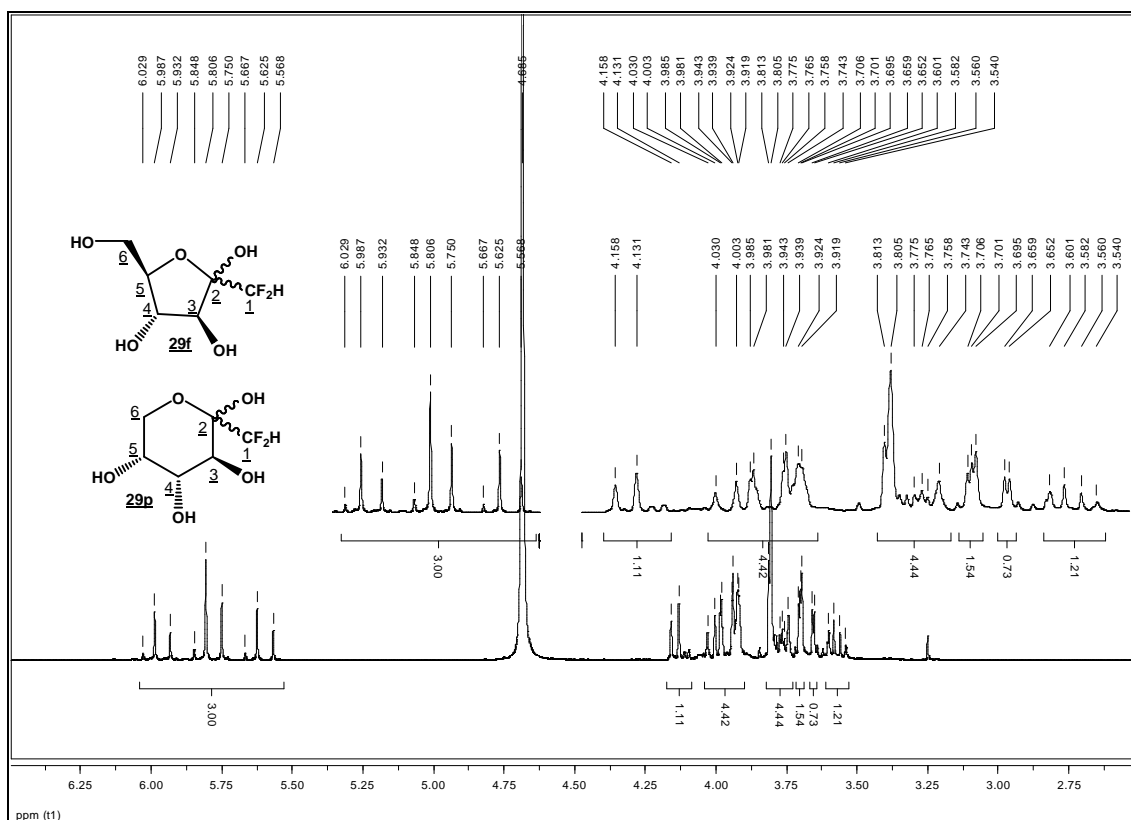


Figura 4.116 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **29** (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).



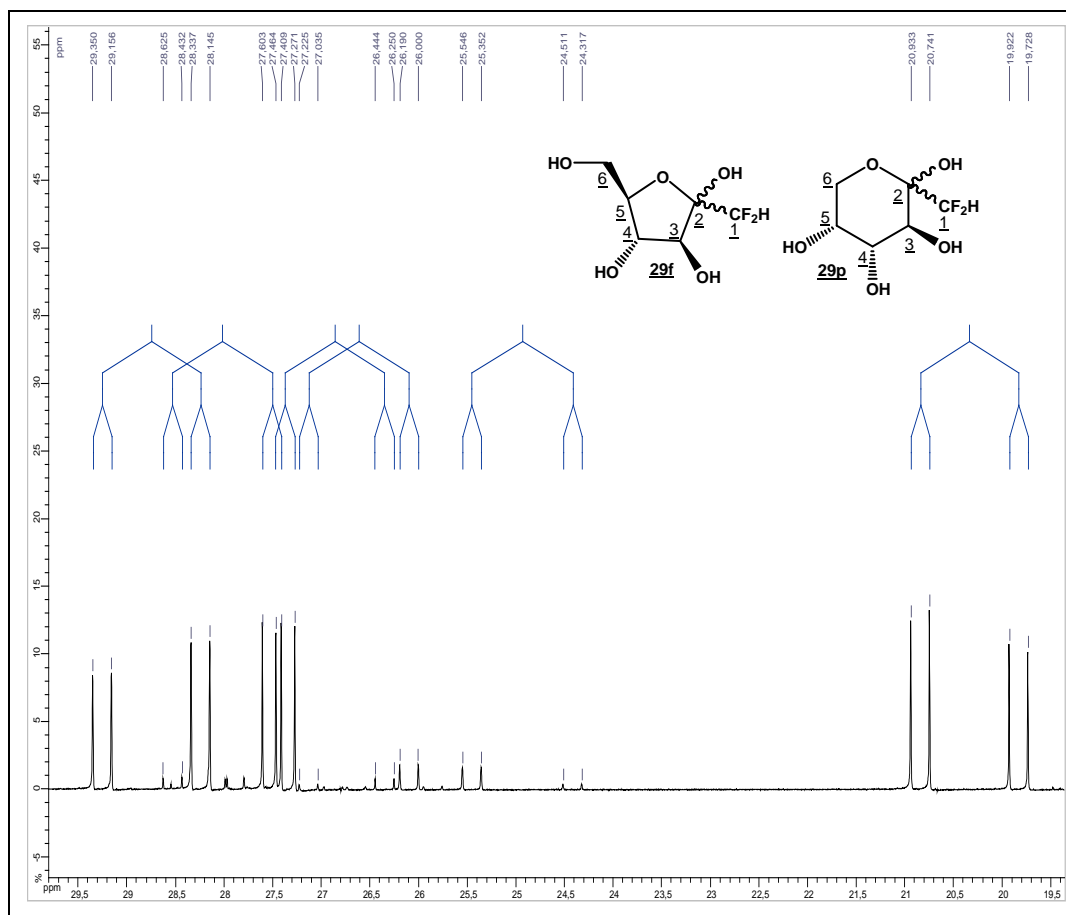


Figura 4.117 – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **29** (282,4 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

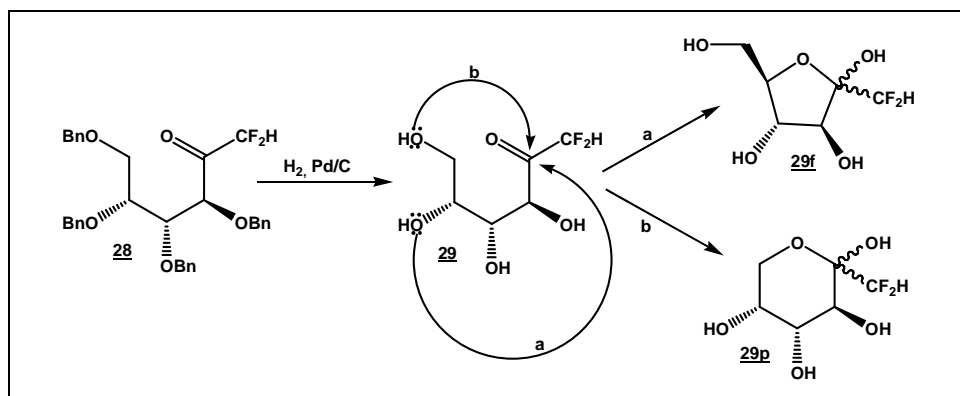


Figura 4.118 – Possíveis produtos para a reação de desproteção de **28**.

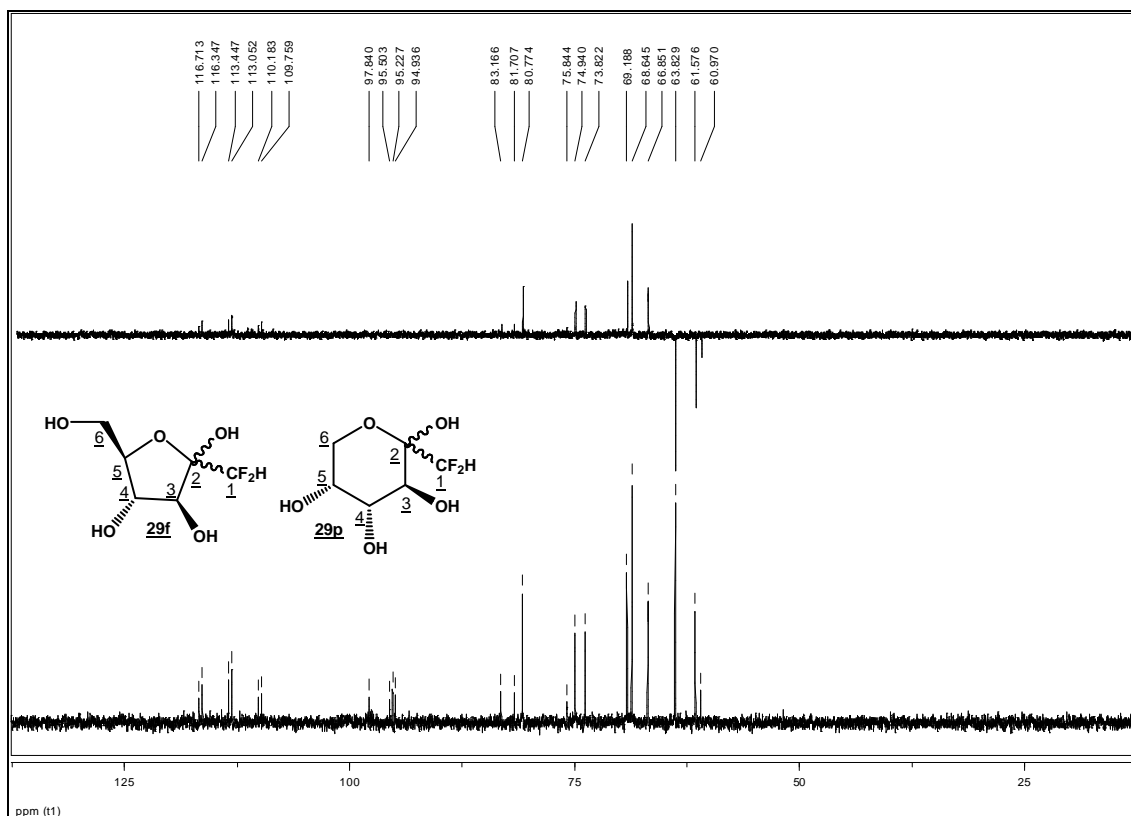


Figura 4.119 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e subspectro DEPT 135 de **29** (75,5 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

A fosforilação da hidroxila de C-6 de **29** foi catalisada pela enzima hexoquinase em presença de trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 4.120) (BESSEL et al., 1973; WHONG et al., 1983). O meio de reação foi mantido em pH 8 para o melhor funcionamento da enzima. A hexoquinase catalisa a fosforilação completa e regioseletiva de carboidratos desprotegidos e modificações na estrutura de análogos de glicose não afetam a capacidade fosforilante da enzima, que é mais tolerante a modificações que deleções de grupos no sítio de fosforilação (CHENAULT et al., 1997). Além disso, furanoses que se assemelham à glicose, principalmente em C-4 e C-3, são bons substratos para a hexoquinase, como é o caso de **29f** (CHENAULT et al., 1997). Da mesma forma que os outros análogos fluorados, o monofluorado **50** e o trifluorado **49** (Figura 4.84; página 97), o derivado difluorado **6** foi obtido por reação de **29** com ATP em presença de hexoquinase.

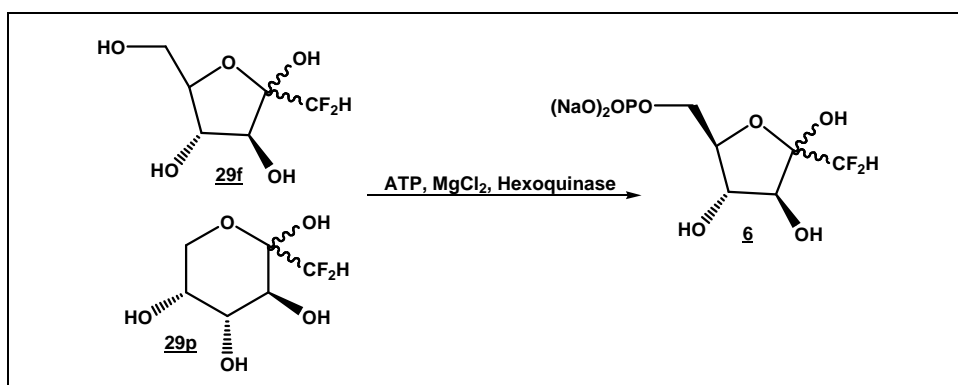
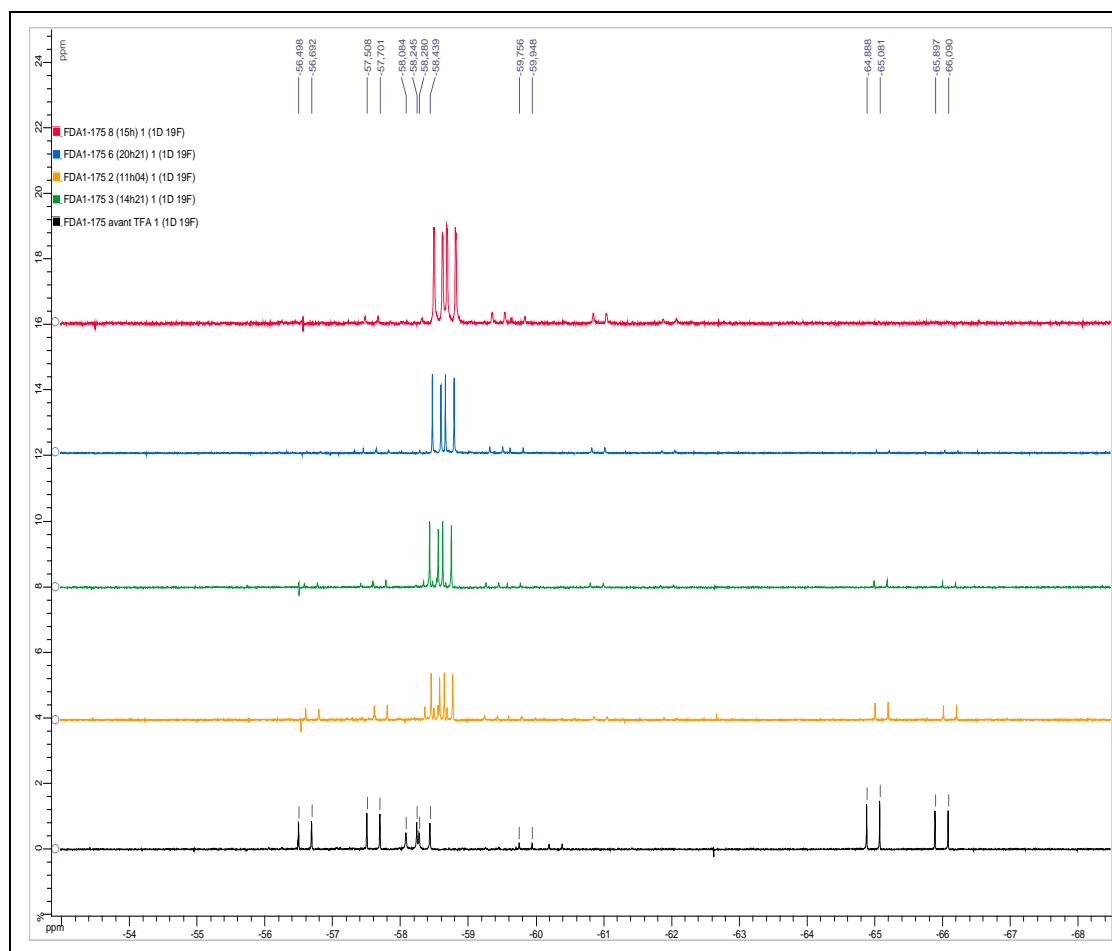


Figura 4.120 – Reação de fosforilação de **29** catalisada por hexoquinase.

O desenvolvimento da reação foi acompanhado por análise de CCD e do espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$ . Foi observado que não houve o consumo total do material de partida. O espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  obtido para a reação de fosforilação de **29** está representado na figura 4.121. Foi observado, no espectro do material de partida **29** representado em preto, a mistura das formas piranosídicas e furanosídicas. No espectro em amarelo, após duas horas do início da reação, foi observado o aparecimento de sinais na região de  $\delta$ -59 a -58 ppm e que os sinais atribuídos ao material de partida **29** ficaram menos intensos. Com o passar do tempo de reação, os sinais do material de partida ficaram menores e os novos sinais ficaram mais intensos. Após 12 e 33 horas do início da reação (espectros em azul e em vermelho, respectivamente) foi observado que a reação não mais evoluía. Para a obtenção do espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  desta reação foi utilizado como referência interna solução de ácido trifluoroacético (TFA) em  $\text{D}_2\text{O}$ .

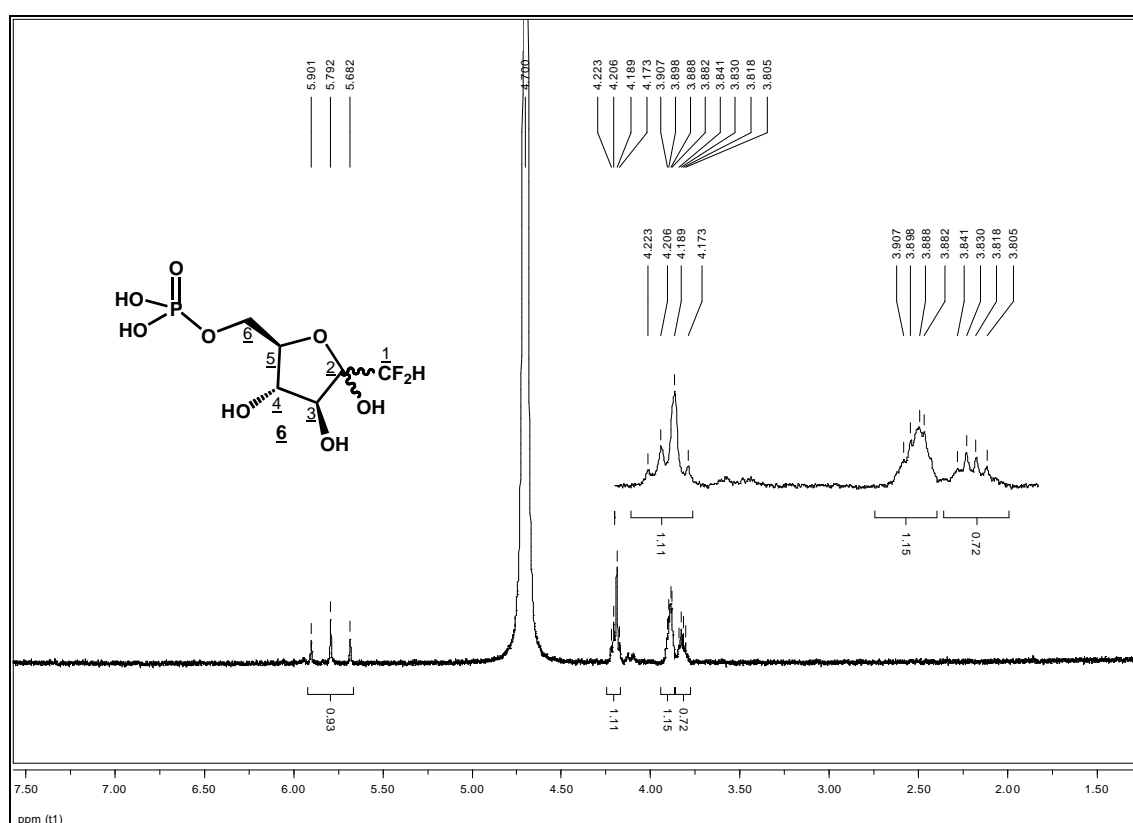


**Figura 4.121** – Espectros de RMN de  $^{19}\text{F}$  da reação de obtenção de **6** (282,4 MHz, referência TFA). Em preto, o espectro do material de partida; em amarelo com duas horas de reação; em verde com cinco horas; em azul com 12 horas e em vermelho com 33 horas de reação.

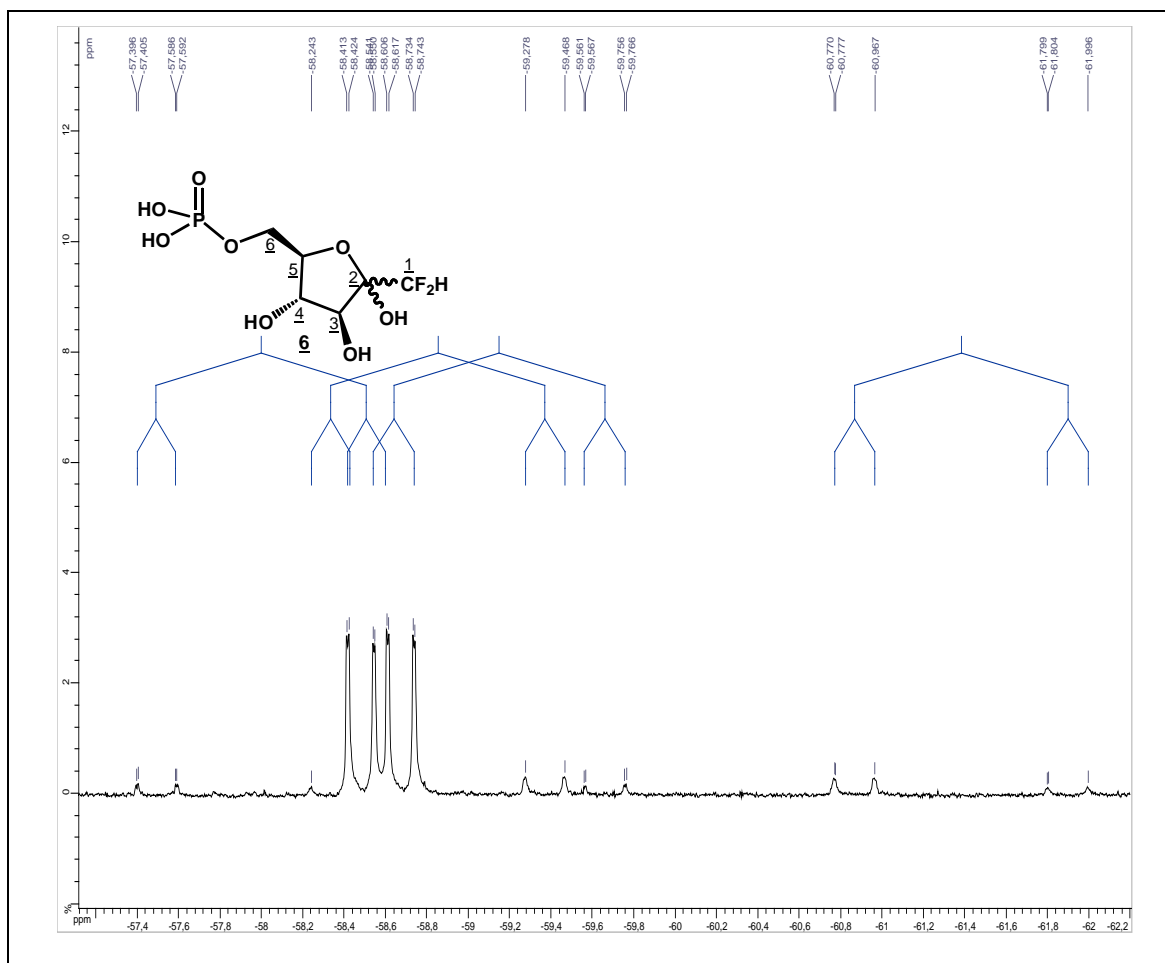
O análogo difluorado da D-frutose **6** foi purificado por cromatografia de troca iônica e as frações apropriadas foram reunidas, evaporadas e liofilizadas. O composto **6** foi obtido na forma de um sólido branco amorfo, com 61% de rendimento.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **6** (Figura 4.122) foram observados os sinais referentes aos hidrogênios: em  $\delta$ 3,80-3,84 ppm um multipletto referente a H-6; em  $\delta$ 3,88-3,91 ppm um multipletto referente a dois hidrogênios H-6' e H-5; em  $\delta$ 4,17-4,22 ppm um multipletto, referentes a dois hidrogênios, o qual foi atribuído aos hidrogênios H-4 e H-3. E por fim, o tripлетto centrado em  $\delta$ 5,80 ppm foi atribuído a H-1, com constante de acoplamento  $J_{\text{F-H}}$  de 54,6 Hz.

No espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **6** (Figura 4.124) foram observados os sinais referentes aos átomos de flúor; quatro dupletos duplos referentes aos dois átomos de flúor de cada anômero. Nestes, o acoplamento flúor-flúor foi observado com constantes de acoplamento da ordem de 285 a 292 Hz e o acoplamento flúor-hidrogênio da ordem de 52 a 54 Hz.



**Figura 4.122** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **6** (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).



**Figura 4.123** – Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  de **6** (282,4 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , referência TFA).

O análogo difluorado **6** foi obtido com rendimento global de 11%, a partir do ditioacetal de D-arabinose tribenzilada **24** e via derivado fosfonato **62**.

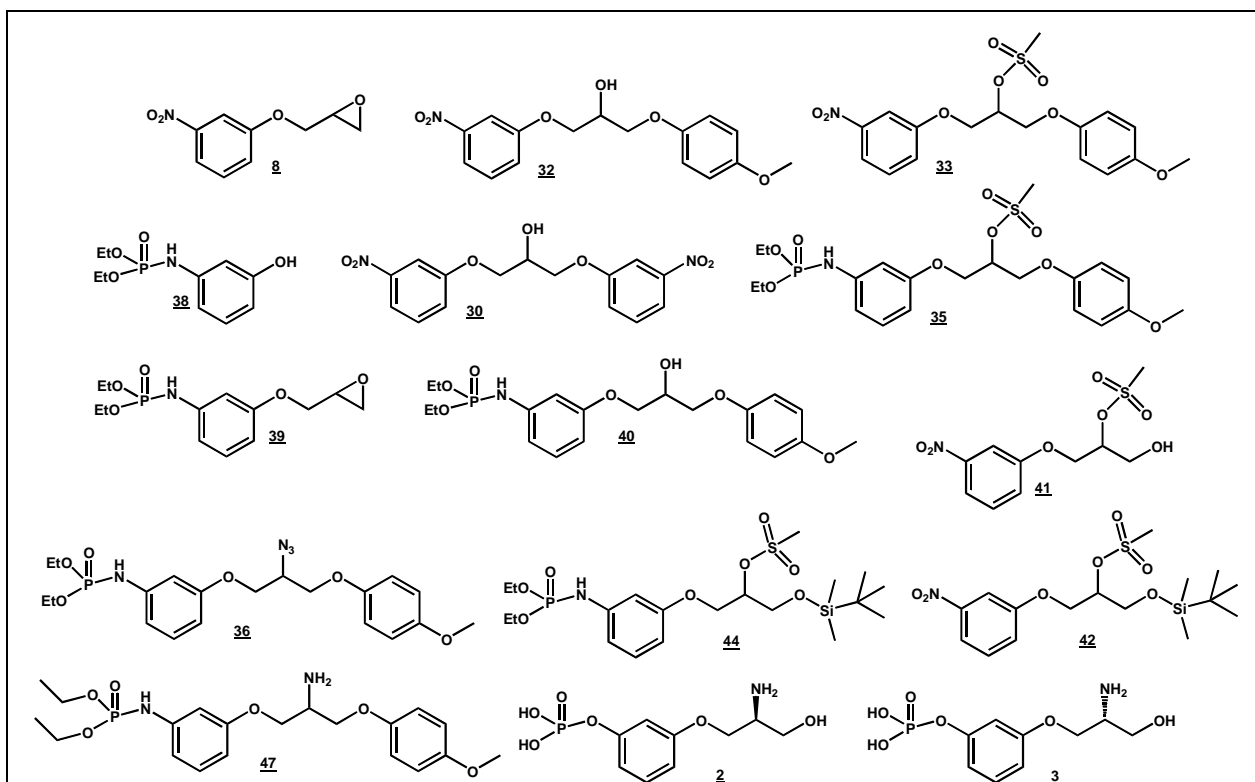
#### 4.5 Testes de atividades biológicas

As substâncias **8**, **30**, **32**, **33**, **35**, **36**, **38**, **39**, **40**, **41**, **42**, **44** e **47** foram avaliadas contra os microrganismos *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis* pelo método de difusão em ágar. Estes foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia da UFMG pela equipe da Prof<sup>ª</sup> Elzília de Aguiar Nunan. No teste foram utilizados os controles positivo e negativo. Destas, nenhuma apresentou atividade na concentração de 1 mg/mL contra esses microrganismos.

Já as substâncias **2** e **3** foram avaliadas contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* pelo método de diluição seriada, no Laboratório de Micologia do Instituto

de Ciências Biológicas da UFMG pela equipe da professora Maria Aparecida de Rezende. No teste foram utilizados os controles positivo e negativo para cada microrganismo. Estas substâncias não apresentaram atividade nas concentrações testadas, até 10 mg/mL.

Os fosfatos **2** e **3** foram avaliados também quanto à capacidade inibitória da enzima glicosamina-6-fosfato sintase, de *Escherichia coli*, pelo método colorimétrico de Morgan-Elson. O teste foi realizado pela Dra. Céline Roux, no ICSN-CNRS, França. Estes apresentaram  $CI_{50}$  de 3,15 e 3,22 mmol/L, respectivamente, mostrando serem inibidores fracos de GlmS.



**Figura 4.124** - Estruturas dos compostos submetidos aos testes de avaliação de atividade biológica.

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Métodos gerais

Os solventes utilizados foram obtidos a partir de similares comerciais seguindo procedimentos específicos (ASSUMPCÃO et al., 1967):

- Metanol anidro – tratado com magnésio ativado pelo iodo sob refluxo e destilado;
- Piridina e dimetilformamida anidras – acondicionadas previamente em frasco contendo hidróxido de potássio em lentilha e destiladas;
- Tetraidrofurano anidro – tratado com sódio e benzofenona e destilado antes do uso;
- Acetonitrila grau CLAE – disponível comercialmente para uso em cromatografia líquida de alta eficiência.

Os demais solventes utilizados foram utilizados sem prévia purificação e/ou destilação.

Para cromatografia em camada delgada de fase normal, realizada para o acompanhamento das reações, utilizou-se sílica-gel 60 G Merck® ou placas cromatográficas de sílica 60 F254 (Merck®) de 0,25 mm de espessura. Para a cromatografia em camada delgada de fase reversa foram utilizadas placas cromatográficas de sílica DC Gel RP-18 F<sub>254S</sub> Merck®. Os reveladores utilizados foram: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v, solução etanólica de ninidrina 0,3% m/v, solução etanólica de ácido molibidênico 3% m/v, solução de acetato de chumbo 1% m/v em benzeno e vapor de iodo sublimado. Para cromatografia em coluna de sílica, realizada como método de purificação de misturas, utilizou-se sílica-gel 60, 0,063 a 0,200 mm ou 0,040 a 0,063 mm da Merck®.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, foram obtidos em espectrômetro *BRUKER Avance DPX200* ou *Avance DRX400*, no Departamento de Química, ICEX, UFMG para os compostos sintetizados no Brasil e os espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F e <sup>31</sup>P em espectrômetro *BRUKER AC300* ou *AC500* para os compostos obtidos no ICSN – França. As constantes de acoplamento foram expressas em Hz e os deslocamentos químicos em ppm. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e/ou de <sup>13</sup>C foram calibrados a partir do TMS, ou do sinal residual do solvente ou ainda, de resíduo de água. Os espectros de RMN de <sup>19</sup>F foram calibrados a partir de solução de hexaflúorobenzeno em CDCl<sub>3</sub>, na maioria dos casos, ou por ácido trifluoroacético (TFA) em D<sub>2</sub>O, para os espectros de **6**. Os espectros de RMN de <sup>31</sup>P foram calibrados a partir de solução de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em D<sub>2</sub>O, como referência interna.

Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro com transformada de Fourier – *PERKIN ELMER Spectrum One*, no Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia da UFMG.

Os pontos de fusão foram medidos em aparelho Microquímica *MQAPP 301* no Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG, e não foram corrigidos.

Os poderes rotatórios específicos  $[\alpha]_D$  foram medidos em polarímetro *PERKIN ELMER Polarimeter 341*, caminho ótico de 1,0 dm, temperatura interna 20°C no Departamento de Química, ICEX, UFMG ou para os compostos obtidos no ICSN – França em polarímetro *JASCO P-1010*, caminho ótico de 1,0 dm, e temperatura interna de 20°C.

Para a comprovação da pureza enantiomérica dos compostos sintetizados na França foi realizada análise por cromatografia líquida de alta eficiência de fase quiral. Foram otimizados bomba e injetor *Alliance Waters® 2695 Separations Module* e colunas *AD-H Chiralpack®* (4,6 x 150mm; 5µm) e *OD Chiralpack®* (4,6 x 250mm; 10µm). Como fase móvel foi utilizada uma mistura de heptano grau CLAE e álcool etílico absoluto com fluxo de 0,8 mL/min., detector *PDA Waters® 996 Photodiode Array Detector* em comprimentos de onda específico para cada composto analisado e volume de injeção de 10µL.

A purificação dos compostos **2** e **3** foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência em coluna *Atlantis® Prep dC18 OBD* (5 µm, 19 x 150 mm); bomba e injetor *Waters® 600 Pump and Controller*; detectores *ELSD Waters® 2424 ELS Detector* e *UV Waters® 2996 Photodiode Array Detector* e Colector Automático *Waters® 2767 Sample Manager*.

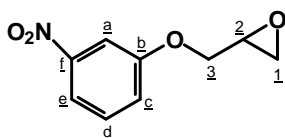
## 5.2 Sínteses

### **5.2.1 Síntese de 2-[(3-nitrofenoxi)metil]oxirano (8)** (SCHWENDER et al., 1970; XU et al., 2004)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 2 g (14,4 mmol) de 3-nitrofenol (**7**) dissolvidos em 40 mL de THF e 0,85 g (15,2 mmol) de KOH dissolvidos em 1 mL de água destilada. A solução foi deixada sob agitação magnética por 15 minutos. Após esse tempo, 6,8 mL (8 g; 87 mmol) de epiclorigrina foram adicionados lentamente. O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 24 h quando foi observado, por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; revelador: vapor de iodo



sublimado), que o material de partida havia sido consumido. O THF foi eliminado à pressão reduzida e o resíduo foi transferido para um funil de separação e extraído com acetato de etila (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água destilada até pH 7. A fase orgânica foi secada com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e concentrada até resíduo. O resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:1). Foram obtidos 2,02 g (10,3 mmol) de **8**, um sólido branco amorfo, que corresponde a 72% de rendimento.



FM:  $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_4$

MM: 195,17 g/mol

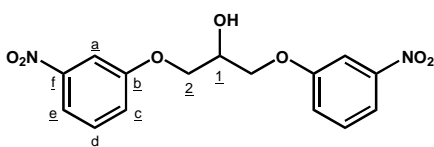
FF: 58,9 – 59,8 °C

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 2,83 (dd, 1H,  $J_{1-2}=2,3$  Hz e  $J_{1-1'}=4,5$  Hz, H-1); 2,98 (t, 1H,  $J_{1-2}=J_{1-1'}=4,5$  Hz, H-1'); 3,40-3,46 (m, 1H, H-2); 4,01 (dd; 1H,  $J_{3-2}=6,0$  Hz e  $J_{3-3'}=11,0$  Hz, H-3); 4,41 (dd, 1H,  $J_{3'-2}=4,2$  Hz e  $J_{3'-3}=11,0$  Hz, H-3'); 7,27-7,32 (m, 1H, H-c); 7,47 (t, 1H,  $J_{c-d}=J_{d-e}=8,1$  Hz, H-d); 7,78 (s, 1H, H-a); 7,86 (dd, 1H,  $J_{d-e}=8,1$  Hz e  $J_{c-e}=0,8$  Hz, H-e).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 44,6 (C-1); 50,0 (C-2); 69,6 (C-3); 109,2 (C-a); 116,4 (C-e); 122,0 (C-c); 130,2 (C-d); 149,4 (C-f); 159,2 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3094, 3024 (=CH); 2919, 2880 (C-H); 1621, 1580, 1480 (C=C); 1517, 1346 ( $\text{NO}_2$ ); 1248 (C-O-C); 808 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

Outro produto isolado dessa reação foi o dímero **1,3-bis-(3-nitrofenoxi)-2-propanol (30)**, um sólido branco (0,19 g, 8% de rendimento).



FM:  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$

MM: 334,27 g/mol

FF: 108,0 – 112,3 °C.

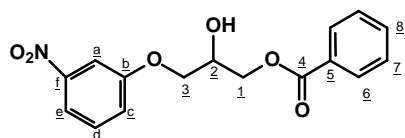
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 4,16-4,26 (m, 4H, H-2); 5,58 (sl, 1H, H-1); 7,44 (d, 2H,  $J_{c-d}=8,1$  Hz, H-c); 7,57 (t, 2H,  $J_{c-d}=J_{d-e}=8,1$  Hz, H-d); 7,74-7,81 (m, 4H, H-a e H-e).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 67,2 (C-1); 69,9 (C-2); 108,9 (C-a); 115,6 (C-e); 122,0 (C-c); 130,7 (C-d); 148,7 (C-f); 159,1 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3336 (O-H); 3095 (=CH); 2928 (C-H); 1616, 1582, 1482 (C=C); 1518, 1341 ( $\text{NO}_2$ ); 1289; 1244 (C-O-C); 815 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### 5.2.2 Síntese de benzoato de 2-hidroxi-3-(3-nitrofenoxi)propila (**9**).

A um balão de fundo redondo contendo 5 mL de DMF anidro foram adicionados **8** (0,3 g; 1,53 mmol) e benzoato de sódio (0,66 g; 4,59 mmol). A reação foi mantida em agitação magnética e sob aquecimento a 60°C até que foi verificado por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; reveladores: vapor de iodo sublimado e solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v), após 24 h, o consumo do material de partida. O DMF foi destilado à pressão reduzida e ao resíduo foram adicionados água e acetato de etila (15 mL). Em seguida, a fase aquosa foi lavada por acetato de etila (3x 15 mL), a fase orgânica foi secada com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada à pressão reduzida. O resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (hexano/acetato de etila 9:1). Foi obtido 0,15 g (0,46 mmol) do álcool **9**, na forma de óleo transparente, o que corresponde a 30% de rendimento.



FM: C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>

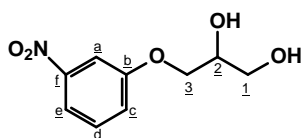
MM: 317,30 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 2,24 (sl, 1H, OH); 4,19-4,22 (m, 2H, H-3); 4,38-4,48 (m, 1H, H-2); 4,56-4,59 (m, 2H, H-1); 7,27 (ddd, 1H, *J*= 0,92; 2,25 e 8,26 Hz, H-c); 7,41-7,42 (m, 2H, H-7); 7,45-7,47 (m, 1H, H-d), 7,60 (tt, 1H, *J*= 1,76 e 7,33 Hz, H-8); 7,77 (t, 1H, *J*= 2,25 Hz, H-a); 7,86 (ddd, 1H, *J*= 0,92; 2,25 e 8,05 Hz, H-e); 8,03-8,09 (m, 2H, H-6).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 65,7 (C-1); 68,6 (C-2); 69,5 (C-3); 109,0 (C-a); 116,4 (C-e); 121,6 (C-c); 128,6; 129,8 (C-6 e C-7); 129,5 (C-5); 130,2 (C-d); 133,5 (C-8); 149,2 (C-f); 158,9 (C-b); 166,8 (C-4).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>): 3441 (O-H); 3097 (=CH); 2930 (C-H); 1716 (C=O); 1618, 1601, 1583 (C=C); 1524, 1348 (NO<sub>2</sub>); 1271, 1248 (C-O-C); 812 (C-H aromático *m*-disubstituído); 737 (C-H aromático mono substituído).

Desta reação foi isolado também o diol **31**, produto da abertura do anel oxirano, com rendimentos entre 28 e 48%.



FF: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>

MM: 213,19 g/mol

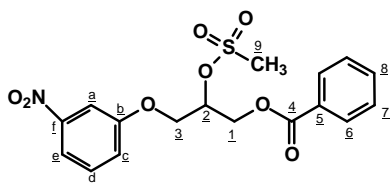
RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 3,82 (d, 1H,  $J= 4,4$  Hz, H-1 ou H-3); 3,94-4,02 (m, 1H, H-2); 4,10-4,21 (m, 1H); 4,76 (t, 1H,  $J=5,0$  Hz, H-1 ou H-3); 5,07 (d, 1H,  $J=4,7$  Hz, H-1 ou H-3); 7,41 (d, 1H,  $J_{c-d}= 8,0$  Hz, H-c); 7,56 (t, 1H,  $J_{c-d}=J_{d-e}= 8,0$  Hz, H-d); 7,69-7,81 (m, 2H, H-a e H-e).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl $_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 62,2 (C-1); 69,5 (C-2); 70,2 (C-3); 108,4 (C-a); 115,1 (C-e); 122,7 (C-c); 130,3 (C-d); 148,4 (C-f), 159,1 (C-b).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3248 (OH); 2962, 2922 (C-H); 1620, 1578, 1485 (C=C); 1515, 1351 (NO $_2$ ); 1134, 1077 (C-O-C); 805, 736 (CH aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.3 Síntese de benzoato de 2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)propila (10)** (JUNG et al., 2004)

O intermediário **9** (0,18 g; 0,59 mmol) foi solubilizado em 3 mL de piridina anidra e transferido para um balão de fundo redondo acoplado a um tubo de CaCl $_2$  e em banho de gelo. Em seguida, foi adicionado 0,1 mL (0,13g; 1,18 mmol) de cloreto de metanossulfonila e foi mantida a agitação magnética até que se observou, por CCD (eluente: CH $_2$ Cl $_2$ ; revelador: vapor de iodo sublimado), após 1h, o consumo do material de partida. Solução de HCl 3 mol/L foi adicionada à mistura reacional até pH 1. A solução foi extraída com acetato de etila (3x 20 mL) e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO $_3$  até pH 8. Em seguida a fase orgânica foi lavada com água destilada até pH 7, secada em MgSO $_4$ , filtrada e evaporada até resíduo. Foi obtido 0,19 g (0,48 mmol) de **10**, um óleo transparente, que corresponde a 81% de rendimento.



FM: C $_{17}$ H $_{17}$ NO $_8$ S

MM: 395,36 g/mol

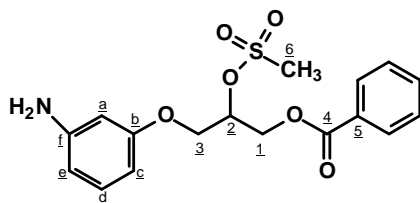
RMN de  $^1\text{H}$  (CDCl $_3$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 3,14 (s, 3H, H-9); 4,38 (d, 2H,  $J= 5,04$  Hz, H-1); 4,65 (dd, 1H,  $J_{3-2}= 6,3$  Hz e  $J_{3-3'}= 12,4$  Hz, H-3); 4,75 (dd, 1H,  $J_{3-2}= 4,0$  e  $J_{3-3'}= 12,4$  Hz, H-3'), 5,29-5,40 (m, 1H, H-2); 7,26 (ddd, 1H,  $J= 0,8; 2,3$  e  $8,3$  Hz, H-c); 7,43-7,51 (m, 3H, H-7 e H-d); 7,60 (tt, 1H,  $J= 1,7$  e  $7,3$  Hz, H-8); 7,76 (t, 1H, 2,3 Hz, H-a), 7,88 (ddd, 1H,  $J= 0,8; 2,3; 8,1$  Hz, H-e); 8,04-8,10 (m, 1H, H-6).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl $_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 38,9 (C-9); 63,1 e 67,5 (C-1 e C-3); 76,7 (C-2); 109,3 (C-a); 117,0 (C-e); 121,7 (C-c); 128,8 e 129,9 (C-6 e C-7); 129,3 (C-5); 130,5 (C-d); 133,8 (C-8); 149,4 (C-f); 158,4 (C-b); 166,1 (C-4).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3097 (=CH); 2924 (C-H); 1719 (C=O); 1624; 1601, 1584, 1485 (C=C); 1524, 1341 ( $\text{NO}_2$ ); 1268, 1248 (C-O); 1175 ( $\text{SO}_2$ ); 1103, 1071 (C-O-C); 795, 733 (C-H aromático *m*-dissubstituído); 713 (C-H aromático mono substituído).

### **5.2.4 Síntese de benzoato de 3-(3-aminofenoxi)-2-metanossulfoniloxipropila (11)** (AVERY et al., 1980).

A redução do grupo nitro de **10** (0,16 g; 0,40 mmol, em 30 mL de THF) foi realizada por reação de hidrogenação catalítica, utilizando 40 mg de catalisador Pd-C em reator Parr a uma pressão de cerca de 20 psi. O sistema foi deixado em agitação mecânica até que por CCD (eluentes:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  2%; reveladores: vapor de iodo sublimado e solução etanólica de ninidrina 0,3% m/v) foi verificado o consumo do material de partida. A suspensão foi filtrada e o solvente foi eliminado à pressão reduzida. Foi obtido um óleo amarelo (0,10 g) que foi utilizado, sem prévia purificação, na etapa de fosforilação.

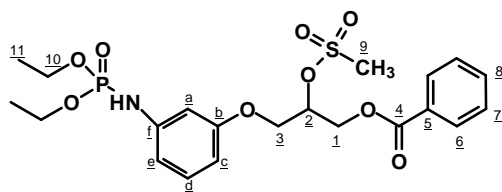


FM:  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NOS}$

MM: 365,34 g/mol

### **5.2.5 Síntese de benzoato de 3-[3-(dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxipropila (12)** (HAMMERSCHMIDT et al., 2000).

Em um balão de fundo redondo contendo 0,16 g de **11** e 5 mL de THF, foram adicionados 0,06 mL (0,04 g; 0,40 mmol) de trietilamina e 0,1 mL (0,12 g, 0,70 mmol) de cloreto de dietilfosforila. A reação foi mantida sob agitação magnética até se observar, por CCD (eluyente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  2%; revelador: vapor de iodo sublimado), o consumo do material de partida. Após 30 h, o solvente foi eliminado e ao resíduo foram adicionados 50 mL de acetato de etila/éter etílico 1:1. Essa solução foi transferida para um funil de separação e lavada com solução aquosa de HCl 1 mol/L até pH 2, com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  até pH 8 e com água destilada até pH 7. A fase orgânica foi secada em  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporada até resíduo. O resíduo foi submetido à purificação em CCS ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  2%). Foram obtidos 52,4 mg (0,10 mmol) de **12**, um óleo amarelo, que correspondem a 26% de rendimento, em 2 etapas, a partir de **10**.

FM: C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>9</sub>PS

MM: 501,45 g/mol

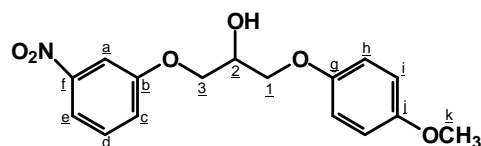
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 1,38 (t, 6H,  $J_{\text{COP}} = 7,2$  Hz, H-11); 3,12 (s, 3H, H-9); 4,07-4,19 (m, 2H, H-1 ou H-3); 4,22-4,33 (m, 4H, H-10); 4,60 (dd, 1H,  $J = 6,4$  e  $J_{\text{gem}} = 12,4$  Hz, H-1 ou H-3); 4,71 (dd, 1H,  $J = 3,8$  e  $J_{\text{gem}} = 12,4$  Hz, H-1 ou H-3); 5,24-5,34 (m, 1H, H-2); 6,51 (d, 1H,  $J_{\text{e-d}} = 8,0$  Hz, H-e); 6,64 (s, 1H, H-a); 6,69 (d, 1H,  $J_{\text{c-d}} = 8,0$  Hz, H-c); 7,16 (t, 1H,  $J_{\text{e-d}} = J_{\text{c-d}} = 8,0$  Hz, H-d); 7,42-7,63 (m, 3H, H-7 e H-8); 8,07 (d, 2H,  $J_{\text{6-7}} = 7,1$  Hz, H-6).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 16,1 (d,  $J_{\text{COP}} = 6,0$  Hz, C-11); 38,8 (C-9); 63,3 (d,  $J_{\text{COP}} = 5,0$  Hz, C-10); 65,3 e 65,4 (C-1 e C-3); 77,6 (C-2); 104,3 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 7,7$  Hz, C-a); 107,4 (C-c); 111,2 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 6,9$  Hz, C-e); 128,7; 129,9 (C-6 e C-7); 129,4 (C-5); 130,3 (C-d); 133,6 (C-8); 141,5 (C-f); 158,7 (C-b); 166,1 (C-4).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>): 3207 (N-H); 2986, 2935 (C-H); 1724 (C=O); 1604; 1507; 1488 (C=C); 1175 (SO<sub>2</sub>); 1269 (C-O); 1175 (P=O e C-O-C); 1020; 969; 935 (C-O-P); 798 (CH aromático *m*-dissubstituído); 713 (CH aromático mono substituído).

### **5.2.6 Síntese de 1-(4-metoxifenoxi)-3-(3-nitrofenoxi)-2-propanol (32)** (SURENDRA et al., 2003).

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 3,2 g (26 mmol) de 4-metoxifenol dissolvidos em 10 mL de THF e, em seguida, foi adicionado 1,5 g (26,6 mmol) de KOH solubilizado em 1,5 mL de água destilada. A solução foi deixada sob agitação magnética por cerca de 20 minutos. Após esse tempo, foram adicionados 5,5 g (13 mmol) de **8**. A reação foi acompanhada por CCD (eluentes: hexano/acetato de etila 7:3 e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; revelador: vapor de iodo sublimado) até que foi observado, após 2 h, o consumo do material de partida. O solvente foi eliminado à pressão reduzida e o resíduo foi solubilizado em 50 mL da mistura éter etílico/acetato de etila 1:1. A fase orgânica foi lavada com solução de NaOH 3 mol/L para a remoção do fenol que pode ser verificada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). A fase orgânica foi lavada com água destilada até pH 7, secada em MgSO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada até resíduo. O produto **32** foi obtido na forma de um óleo amarelo (3,98 g; 12,5 mmol; 96% de rendimento) não sendo necessária purificação posterior. EM (ESI+, *m/z*) para C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub>Na (M+Na): 342,0954. Encontrado: 342,0943.

FM: C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub>

MM: 319,30 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz,  $\delta$ ): 2,69 (s, 1H, OH); 3,76 (s, 3H, H-k); 4,11 (d, 2H,  $J=5,1$  Hz, H-1 ou H-3); 4,19-4,26 (m, 1H, H-2); 4,35-4,46 (m, 2H, H-1 ou H-3); 6,80-6,88 (m, 4H, H-h e H-i); 7,25 (dd, 1H,  $J_{c-e}=1,4$  e  $J_{c-d}=8,1$  Hz, H-c); 7,42 (t, 1H,  $J_{c-d}=J_{e-d}=8,1$  Hz, H-d); 7,74-7,84 (m, 2H, H-a e H-e).

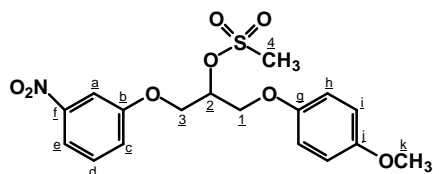
RMN de <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ): 55,9 (C-k); 68,8 (C-2); 69,4 e 69,6 (C-1 e C-3); 109,2 (C-a); 114,9 e 115,7 (C-h e C-i); 116,3 (C-e); 121,7 (C-c); 130,2 (C-d); 149,3 (C-f); 152,6 (C-g); 154,4 (C-j); 159,1 (C-b).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>): 3434 (O-H); 3097 (=CH); 2935, 2835 (C-H); 1618, 1582, 1505 (C=C); 1524, 1348 (NO<sub>2</sub>); 1224 (C-O-C); 814 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 736 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.7 Síntese de 2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)-3-(3-nitrofenoxi)propano (33)**

(JUNG et al., 2004)

Em um balão de fundo redondo, mantido em banho de gelo, foram adicionados 1,1 g (3,4 mmol) de **32**, 6 mL de piridina anidra e 0,5 mL (0,78 g; 6,8 mmol) de cloreto de metanossulfonila. O sistema foi fechado com tubo de CaCl<sub>2</sub> e mantido em banho de gelo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; revelador: vapor de iodo sublimado) até consumo do material de partida, após 1h. A elaboração foi realizada conforme o procedimento descrito para **10** (página 130). Foi obtido 1,2 g (3,02 mmol) de **33**, um sólido amarelo, que correspondem a 89% de rendimento. EM (ESI+, *m/z*) para C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>8</sub>Na (M+Na): 420,0729. Encontrado: 420,0712.

FM: C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>8</sub>S

MM: 397,34 g/mol

FF: 76,8 – 77,6 °C

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz,  $\delta$ ): 3,16 (s, 3H, H-4); 3,77 (s, 3H, H-k); 4,29-4,31 (m, 2H, H-1); 4,41-4,42 (m, 2H; H-3); 5,26 (qn, 1H,  $J_{1-2}=J_{2-3}=2,5$  Hz, H-2); 6,83-6,89 (m, 4H, H-h e H-i); 7,27 (dd, 1H,  $J_{c-d}=3,9$  Hz e  $J_{d-e}=0,9$  Hz, H-c); 7,47 (t, 1H,  $J_{c-d}=J_{d-e}=3,9$  Hz, H-d); 7,77 (s, 1H, H-a); 7,87 (d, 1H,  $J_{d-e}=3,9$  Hz, H-e).

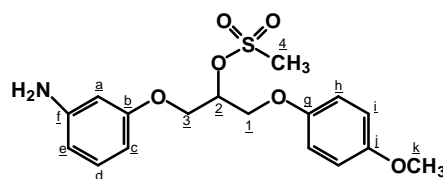
RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz,  $\delta$ ): 38,6 (C-4); 55,7 (C-k); 67,4 (C-1); 67,6 (C-3); 77,5 (C-2); 109,2 (C-a); 114,9 e 115,7 (C-h e C-i); 116,7 (C-e); 121,4 (C-c); 130,3 (C-d); 149,2 (C-f); 151,9 (C-g); 154,7 (C-j); 158,4 (C-b).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3097 (=CH); 2937, 2836 (C-H), 1618, 1583, 1506 (C=C); 1526, 1347 ( $\text{NO}_2$ ); 1226 (C-O-C); 1172 ( $\text{SO}_2$ ); 820 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 795, 735 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.8 Síntese de 3-(3-aminofenoxi)-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (34)**

(AVERY et al., 1980)

Foram adicionados 0,5 g de **33** (1,26 mmol), 40 mL de  $\text{CH}_3\text{OH}$  anidro e 150 mg de Pd-C em reator Parr. Foi seguido o mesmo procedimento descrito para **11** (página 131). Foi obtido 0,44 g de um resíduo contendo **34**, na forma de óleo transparente, que foi utilizado na etapa de fosforilação, sem prévia purificação.

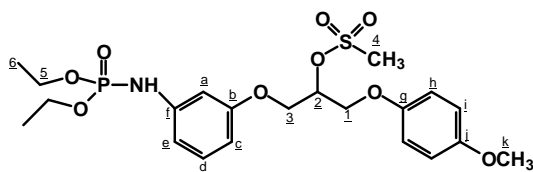


FM:  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_6\text{S}$

MM: 367,37 g/mol

### **5.2.9 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (35)** (HAMMERSCHMIDT et al., 2000).

Em um balão de fundo redondo contendo o resíduo de **34** (0,83 g) foram adicionados 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e 0,47 mL (0,34g; 3,4 mmol) de TEA. A agitação foi mantida por cerca de 10 minutos e em seguida, foi acrescentado 0,65 mL (0,78g; 4,51 mmol) de cloreto de dietilfosforila. A reação foi mantida sob agitação magnética até se verificar, por CCD (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  2%; revelador: vapor de iodo sublimado), o consumo do material de partida. Para a elaboração foi seguido o mesmo procedimento descrito para **12** (página 131). O produto foi purificado por CCS ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  1%). Foi obtido 0,75 g (1,5 mmol) de **35**, um óleo transparente, o que corresponde a 60% de rendimento, em 2 etapas. EM (ESI+, m/z) para  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{NO}_9\text{PSNa}$  (M+Na): 526,1277. Encontrado: 526,1254.

FM: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>9</sub>PS

MM: 503,50 g/mol

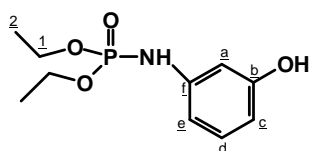
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 1,26-1,42 (m, 6H, H-6); 3,15 (s, 3H, H-4); 3,77 (s, 3H, H-k); 4,07-4,20 (m, 4H, H-5); 4,22-4,30 (m, 4H, H-1 e 3); 5,21 (qn, 1H, J<sub>1-2</sub>= J<sub>2-3</sub>= 5,2 Hz, H-2); 6,51 (dd, 1H, J<sub>d-e</sub>= 8,0 Hz e J<sub>e-c</sub>= 2,0 Hz, H-e); 6,62-6,69 (m, 2H, H-a; H-c); 6,85 (sl, 4H, H-h e H-i); 7,15 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>= J<sub>d-e</sub>= 8,0 Hz, H-d).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 16,3 (d, J<sub>CCOP</sub>= 7,0 Hz; C-6); 38,7 (C-4); 55,9 (C-k); 63,0 (d, J<sub>COP</sub>= 5,0 Hz; C-5); 67,1 (C-1); 67,9 (C-3); 78,6 (C-2); 104,3 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,3 Hz, C-a); 107,4 (C-c); 111,1 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,4 Hz, C-e); 115,0 e 115,8 (C-i e C-h); 130,4 (C-d); 141,6 (C-f); 152,2 (C-g); 154,7 (C-j); 158,9 (C-b).

IV(ν<sub>máx</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3173 (N-H); 2984 e 2935 (C-H); 1605, 1507, 1458 (C=C); 1357 e 1172 (SO<sub>2</sub>); 1172 (P=O); 1228 (C-O); 1018, 971, 941 (C-O-P); 825 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 795 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.10 Síntese de 3-(dietilfosforilamino)fenol (38)** (HAMMERSCHMIDT et al., 2000).

Para a síntese de **38** foi seguida a mesma técnica descrita para **12** (página 131). Para CCD foi utilizado hexano/acetato de etila 2:8 como eluente e vapor de iodo sublimado como revelador. Na purificação do produto por CCS foi utilizada uma mistura de hexano/acetato de etila 3:7 como fase móvel. 0,5 g (4,6 mmol) de 3-aminofenol (**37**) forneceu 0,66 g (2,7 mmol) de **38**, obtido como um óleo marrom, o que corresponde a 59 % de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>4</sub>PNa (M+Na): 286,0751. Encontrado: 286,0745.

FM: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>4</sub>P

MM: 245,23 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 1,26 (t, 6H, J<sub>CCOP</sub>= 7,0 Hz, H-2); 3,99-4,21 (m, 4H, H-1); 6,48-6,55 (m, 2H, H-c e H-e); 6,74 (s, 1H, H-a); 7,05 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>=J<sub>d-e</sub>=8,1 Hz, H-d).

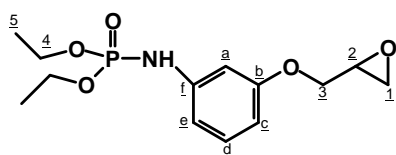


RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 16,2 (d,  $J_{\text{CCOP}} = 7,2$  Hz; C-2); 63,4 (d,  $J_{\text{COP}} = 5,0$  Hz; C-1); 105,2 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 9,5$  Hz; C-a); 108,9 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 5,9$  Hz; C-e); 109,5 (C-c); 130,4 (C-d); 140,8 (C-f); 157,8 (C-b).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3288 (O-H); 3115 (NH); 1615, 1596 (C=C); 1227 (C-O); 1162 (P=O); 1004, 990 e 952 (P-O-C); 774 e 759 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.11 Síntese de 2-[(3-dietilfosforilaminofenoxi)metil]oxirano (39)** (SCHWENDER et al., 1970)

Para a síntese de **39** foi utilizada a metodologia descrita para **8** (página 127). 0,51 g (2,1 mmol) de **38** forneceu 0,28 g (0,9 mmol) de **39**, um óleo amarelo transparente com 45% de rendimento após purificação por CCS ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  1%). EM (ESI+,  $m/z$ ) para  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_5\text{PNa}$  (M+Na): 324,0977. Encontrado: 324,0993.



FM:  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_5\text{P}$

MM: 301,30 g/mol

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 1,31 (t, 6H,  $J_{\text{CCOP}} = 7,1$  Hz, H-5); 2,76 (dd, 1H,  $J_{1-1'} = 4,9$  e  $J_{1-2} = 2,6$  Hz, H-1); 2,90 (t, 1H,  $J_{1-1'} = J_{1'-2} = 4,6$  Hz, H-1'); 3,31-3,39 (m, 1H, H-2); 3,93 (dd, 1H,  $J_{3-2} = 5,6$  Hz e  $J_{3-3'} = 11,0$  Hz, H-3); 4,02-4,24 (m, 6H, H-4 e H-3'); 6,48-6,53 (m, 1H, H-e); 6,63-6,74 (m, 2H, H-a e H-c); 7,13 (t, 1H,  $J_{c-d} = J_{d-e} = 8,4$  Hz, H-d).

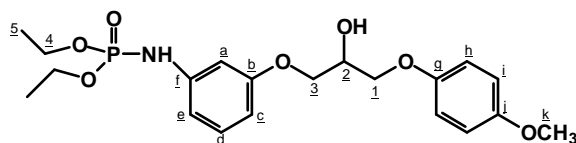
RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 16,3 (d,  $J_{\text{CCOP}} = 7,0$  Hz; C-5); 45,0 (C-1); 50,3 (C-2); 62,9 (d,  $J_{\text{COP}} = 4,8$  Hz; C-4); 68,9 (C-3); 104,5 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 7,5$  Hz; C-a); 107,6 (C-c); 110,7 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 7,5$  Hz; C-e); 130,2 (C-d); 141,5 (C-f); 159,6 (C-b).

IV( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3172 (N-H); 2985 e 2908 (C-H); 1603, 1506 e 1487 (C=C); 1227 (C-O); 1188 (P=O); 1163 (C-O-C); 1015 e 969 (P-O-C); 767 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### 5.2.12 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)-2-propanol (**40**)

(SURENDRA et al., 2003).

Para a síntese de **40** foi utilizada a metodologia descrita para **32** (página 132). A reação foi acompanhada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 2%; revelador: vapor de iodo sublimado) e o produto (**40**) foi purificado por CCS (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1%). 0,17 G de **39** (0,6 mmol) forneceu 0,18 g do álcool **40** (0,4 mmol; 66% de rendimento). EM (ESI+, m/z) para C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>7</sub>PNa (M+Na): 448,1501. Encontrado: 448, 1511.



FM: C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>7</sub>P

MM: 425,43 g/mol

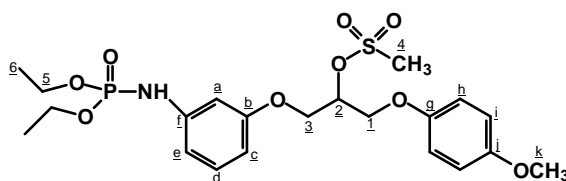
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 1,29 (t, 6H, J<sub>CCOP</sub>= 7,0 Hz, H-5); 3,75 (s, 3H, H-k); 4,03-4,20 (m, 8H, H-4, H-1 e H-3); 4,35 (qn, 1H, J<sub>1-2</sub>= J<sub>2-3</sub>= 5,2 Hz, H-2); 6,52 (dd, 1H, J<sub>d-e</sub>= 8,1 Hz e J<sub>e-c</sub>= 2,0 Hz, H-e); 6,63-6,66 (m, 2H, H-a e H-c); 6,84 (d, 4H, J<sub>h-i</sub>= 2,8 Hz, H-h e H-i); 7,12 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>= J<sub>d-e</sub>= 8,4 Hz, H-d).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 16,2 (d, J<sub>CCOP</sub>= 7,0 Hz; C-5); 55,9 (C-k); 62,9 (d, J<sub>CCOP</sub>= 4,8 Hz; C-4); 68,9 e 69,0 (C-1 e C-3); 69,8 (C-2); 104,4 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,5 Hz; C-a); 107,6 (C-c); 110,6 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,0 Hz; C-e); 114,8 e 115,8 (C-h e C-i); 130,2 (C-d); 141,4 (C-f); 152,8 (C-g); 154,3 (C-j); 159,6 (d, J<sub>CCNP</sub>= 0,95 Hz; C-b).

IV(ν<sub>máx</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3208 (O-H e N-H); 2983 e 2930 (C-H); 1603, 1506 e 1459 (C=C); 1229 (C-O); 1186 (P=O); 1015 e 974 (P-O-C); 824 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 767 e 746 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### 5.2.13 Síntese de 3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-2-metanossulfoniloxi-1-(4-metoxifenoxi)propano (**35**) a partir de **40** (JUNG et al., 2004)

Para a síntese de **35** a partir de **40** foi seguida a metodologia descrita para **33**. Para acompanhar a reação foi utilizado CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 2%; revelador: vapor de iodo sublimado). 65 mg (0,15 mmol) de **40** forneceram 51 mg (0,10 mmol) de **35**, que corresponde a 66% de rendimento. O derivado mesilado fosforilado **35** foi caracterizado pela comparação de seus espectros de IV e RMN com amostra anteriormente obtida.

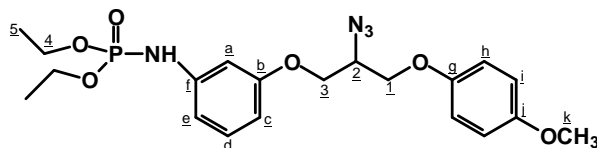
FM: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>9</sub>PS

MM: 503,50 g/mol

### 5.2.14 Síntese de 2-azido-3-[(3-diethylfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano

**(36)** (TEODOROVIC et al., 2005).

Em um balão de fundo redondo acoplado a um tubo de CaCl<sub>2</sub> foram adicionados 0,75 mg (1,5 mmol) de **35**, 1,0 g (15 mmol) de NaN<sub>3</sub> e 10 mL de DMF anidra. A reação foi deixada sob agitação magnética a 60°C até que foi verificado por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 3%; revelador: vapor de iodo sublimado) o consumo do material de partida. O solvente foi eliminado e o resíduo foi submetido à purificação em CCS (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1%). Foi obtido 0,34 g (0,75 mmol) de **36**, um sólido branco, o que corresponde a 50% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>PNa (M+Na): 473,1566. Encontrado: 474,1554.

FM: C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>P

MM: 450,46 g/mol

FF: 87,0 – 87,8 °C

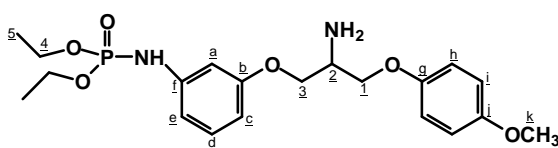
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ): 1,31 (t, 6H, J<sub>CCOP</sub>= 7,2 Hz, H-5); 3,77 (s, 3H, H-k); 4,10-4,19 (m, 9H, H-1, H-2, H-3, H-4); 6,53 (d, 1H, J<sub>d-e</sub> = 8,8 Hz, H-e); 6,65 (dd, 2H, J<sub>c-d</sub> = 8,0 Hz e J<sub>a-c</sub> = 1,3 Hz, H-a e H-c); 6,82-6,88 (m, 4H, H-h e H-i); 7,15 (t, 1H, J<sub>d-c</sub> = J<sub>d-e</sub> = 7,8 Hz, H-d).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, δ): 16,1 (d, J<sub>CCOP</sub> = 7,0 Hz; C-5); 55,8 (C-k); 59,5 (C-2); 62,9 (d, J<sub>COP</sub> = 4,8 Hz; C-4); 67,5 e 68,3 (C-1 e C-3); 104,3 (d, J<sub>CCNP</sub> = 7,5 Hz; C-a); 107,5 (C-c); 110,8 (d, J<sub>CCNP</sub> = 7,3 Hz; C-e); 114,8 e 115,7 (C-h e C-i); 130,2 (C-d); 141,2 (C-f); 152,3 (C-g); 154,5 (C-j); 159,1 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>): 3175 (N-H); 2984 e 2931 (C-H); 2139 e 2093 (N=N=N); 1604 e 1506 (C=C); 1220 (P=O e C-O-C); 1188 e 1167 (SO<sub>2</sub>); 1029, 1019 e 967 (P-O-C); 822 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 779 e 752 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.15 Síntese de 2-amino-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (47)** (LEE et al., 2001).

40 mg (0,09 mmol) de **36** foram submetidos à hidrogenação catalítica utilizando 20 mg de catalisador Pd-C em reator Parr. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 5%; reveladores: vapor de iodo sublimado e solução etanólica de ninidrina 0,3%.) até que foi verificado o consumo do material de partida. Para a elaboração, foi seguida a mesma metodologia descrita para **11** (página 131) e foram obtidos 25 mg (0,06 mmol) do produto **47**, um óleo transparente, correspondendo a 67% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>PNa (M+Na): 447,1661. Encontrado: 447,1656.



FM: C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>P

MM: 424,43 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 1,32 (t, 6H, J<sub>CCOP</sub>= 6,9 Hz, H-5); 3,79 (s, 3H, H-k); 4,06-4,18 (m, 9H, H-1, H-2, H-3 e H-4); 6,54 (d, 1H, J<sub>d-e</sub>= 7,8 Hz, H-e); 6,65-6,71 (m, 2H, H-a e H-c); 6,81-6,91 (m, 4H, H-h e H-i); 7,15 (t, 1H, J<sub>d-c</sub>= J<sub>d-e</sub>= 7,8 Hz, H-d).

RMN de <sup>13</sup>C – subspectro DEPT 135 (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 17,1 (d, J<sub>CCOP</sub>= 7,1 Hz; C-5); 51,4 (C-2); 56,7 (C-k); 63,8 (d, J<sub>COP</sub>= 4,7 Hz; C-4); 69,6 e 70,4 (C-1 e C-3); 105,3 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,9 Hz; C-a); 108,5 (C-c); 111,2 (d, J<sub>CCNP</sub>= 6,7 Hz; C-e); 115,6 e 116,5 (C-h e C-i); 131,0 (C-d).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>): 3171 (N-H); 2982, 2929 (C-H); 1603; 1506; 1464 (C=C); 1226 (C-O e P=O); 1184; 1162 (C-O-C); 1017, 971 (P-O-C); 824 (CH aromático *p*-dissubstituído); 747 (CH aromático *m*-dissubstituído).

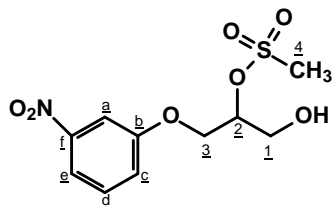
### **5.2.16 Tentativa de síntese de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-propanol (14) a partir de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-(4-metoxifenoxi)propano (36)** (TROST et al., 2002).

Em um balão de fundo redondo, em banho de gelo, foram adicionados 50 mg (0,11 mmol) de **36** solubilizado em 1 mL de CH<sub>3</sub>CN grau CLAE. Em seguida, foram acrescentados 0,148 g (0,27 mmol) de nitrato cérico amoniacal (CAN) dissolvidos em 0,25 mL de água destilada gelada. A agitação e o resfriamento foram mantidos durante todo o tempo e a reação foi acompanhada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 5%; reveladores: vapor de iodo sublimado e solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v) até

que foi verificado que a reação não se desenvolvia. Em seguida, o solvente orgânico foi eliminado sob pressão reduzida e o resíduo foi lavado com acetato de etila (3x 10 mL) e água destilada (10 mL). A fase orgânica foi secada em MgSO<sub>4</sub>, filtrada e eliminada em rotavapor. O resíduo foi submetido à purificação por CCS (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 2%) e o produto puro foi caracterizado como sendo o material de partida **36**, que não reagiu (35 mg, 70%).

### **5.2.17 Síntese de 2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)-1-propanol (41)** (TROST et al., 2002).

Em um balão de fundo redondo, em banho de gelo, foram adicionados 0,3 g (0,75 mmol) de **33** e 12 mL de CH<sub>3</sub>CN grau CLAE. Em seguida foram adicionados, gota a gota, 3 mL de solução de 1,03 g (1,88 mmol) de CAN em 3 mL de água destilada. Foi observada a mudança de coloração da reação após 5 minutos (de laranja a amarelo) e, por CCD (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1%), foi confirmado o término da reação. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por CCS (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Obteve-se 0,14 g (0,48 mmol) do produto (**41**), um sólido laranja, o que corresponde a 65% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>7</sub>SNa (M+Na): 314,0311. Encontrado: 314,0311.



FM: C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>7</sub>S

MM: 291,22 g/mol

FF: 76,9 – 77,8 °C

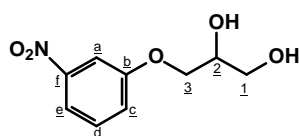
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 2,68 (s, 1H, OH); 3,18 (s, 3H, H-4) 3,97-4,04 (m, 2H, H-1); 4,33 (d, 2H, J<sub>3-3'</sub>= J<sub>3-2</sub>= J<sub>3'-2</sub>= 5,0 Hz, H-3); 5,05 (qn, 1H, J<sub>1-2</sub>= J<sub>2-3</sub>= 5,0Hz, H-2); 7,25 (dd, 1H, J<sub>c-a</sub>= 2,0 Hz e J<sub>c-d</sub>= 8,2 Hz, H-c); 7,46 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>= J<sub>d-e</sub>= 8,2 Hz, H-d); 7,74 (t, 1H, J<sub>a-c</sub>= J<sub>a-e</sub>= 2,0 Hz, H-a); 7,86 (dd, 1H, J<sub>d-e</sub>= 8,2 Hz e J<sub>e-c</sub>= 1,1 Hz, H-e).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): 38,7 (C-4); 62,1 (C-1); 67,5 (C-3); 80,5 (C-2); 109,2 (C-a); 116,8 (C-e); 121,6 (C-c); 130,5 (C-d); 149,3 (C-f); 158,6 (C-b).

IV(ν<sub>máx</sub>, cm<sup>-1</sup>): 3415 (OH); 3103 e 3058 (=CH); 2948 (C-H); 1623 e 1579 (C=C); 1518 e 1347 (NO<sub>2</sub>); 1252 (SO<sub>2</sub>); 1169; 1079 (C-O-C); 794 e 739 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### 5.2.18 Síntese de 3-(3-nitrofenoxi)-1,2-propanodiol (31) (TOKUNAGA et al., 1997).

Um balão de fundo redondo contendo 0,93 g de **8** (4,77 mmol) em 7 mL de THF e 0,1 mL (0,15 g, 1,54 mmol) de ácido metanossulfônico foi deixado sob refluxo. Após verificar por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; reveladores: vapor de iodo e solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v) que a reação havia se completado, o solvente foi eliminado à pressão reduzida até obtenção de um resíduo que foi submetido à etapa de proteção da hidroxila primária, sem prévia purificação.

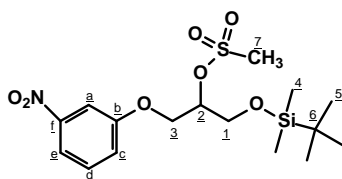


FF: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>

MM: 213,19 g/mol

### 5.2.19 Síntese de 1-(*tert*-butildimetilsiloxi)-2-metanossulfoniloxi-3-(3-nitrofenoxi)propano (42) (CHEVALLIER et al., 2006; JUNG et al., 2004).

O resíduo de **31** foi solubilizado em 3 mL de piridina anidra e a solução foi mantida em banho de gelo. Foram adicionados a essa solução 1,07 g (7,15 mmol) de cloreto de *tert*-butildimetilsilila e 60 mg (0,5 mmol) de DMAP. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; revelador: solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v). Ao verificar que a reação não mais evoluía foi acrescentado ao meio reagente 0,7 mL (1,09 g, 9,53 mmol) de cloreto de metanossulfonila. Em aproximadamente 1 h a reação havia se completado e foi realizada a elaboração conforme a descrita para **10** (página 130). Foi obtido 1,26 g (3,10 mmol) de **42**, que correspondem a 65% de rendimento em relação a **8**, utilizado na etapa anterior. EM (ESI+, m/z) para C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub>SSiNa (M+Na): 428,1. Encontrado: 428,1.



FM: C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub>SSi

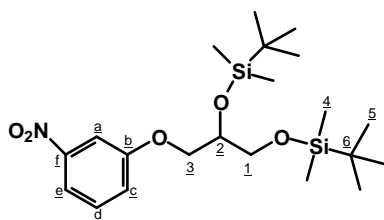
MM: 405,48 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, δ): 0,11 (s, 6H, H-4); 0,91 (s, 9H, H-5); 3,13 (s, 3H, H-7); 3,96 (d, 2H, J= 5,2 Hz, H-1 ou H-3); 4,29-4,32 (m, 2H, H-1 ou H-3); 4,96 (qn, 1H, J<sub>2,3</sub>= J<sub>1,2</sub>= 4,9 Hz, H-2); 7,25 (d, 1H, J<sub>c-d</sub>= 7,0 Hz, H-c); 7,47 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>=J<sub>d-e</sub>= 8,1 Hz, H-d); 7,75 (s, 1H, H-a); 7,88 (d, 1H, J<sub>d-e</sub>=8,1 Hz, H-e).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz, δ): -5,2 e -5,3 (C-4); 18,5 (C-6); 26,0 (C-5); 38,7 (C-7); 62,4 (C-1); 67,6 (C-3); 80,0 (C-2); 109,3 (C-a); 116,8 (C-e); 121,5 (C-c); 130,5 (C-d); 149,4 (C-f); 158,7 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2953; 2929 e 2857 (CH); 1619; 1583; 1483 (C=C); 1529 e 1348 ( $\text{NO}_2$ ); 1249 (C-O); 1175 ( $\text{SO}_2$ ); 1113 (C-O-C); 834; 812 (Si- $\text{CH}_3$ ); 778 e 736 (CH aromático *m*-dissubstituído).

Dessa reação também se isolou o **1,2-bis-(*terc*-butildimetilsililoxi)-3-(3-nitrofenoxi)-propano (46)**, 0,25 g; 0,57 mmol), com 12% de rendimento.



FM:  $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{Si}_2$

MM: 441,64 g/mol

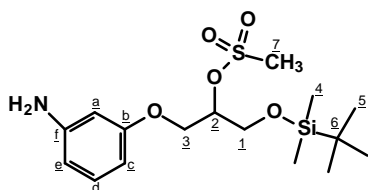
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 0,10 (s, 12H, H-4); 0,90 (s, 18H, H-5); 3,64-3,70 (m, 2H, H-1 ou H-3); 3,96 (dd, 1H,  $J = 6,50$  Hz e  $J_{\text{gem}} = 8,80$  Hz, H-1 ou H-3); 4,03-4,13 (m, 1H, H-2); 4,19 (dd, 1H,  $J = 2,70$  Hz e  $J_{\text{gem}} = 8,80$  Hz, H-1 ou H-3); 7,24 (d, 1H,  $J_{\text{d-c}} = 7,0$  Hz, H-c); 7,42 (t, 1H,  $J_{\text{c-d}} = J_{\text{d-e}} = 8,14$  Hz, H-d); 7,74 (s, 1H, H-a); 7,81 (d, 1H,  $J_{\text{d-e}} = 8,14$  Hz, H-e).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): -5,1; -4,4 (C-4); 18,4; 18,5 (C-6); 26,0; 26,1 (C-5); 64,8 e 71,0 (C-1 e C-3); 72,0 (C-2); 109,1 (C-a); 115,9 (C-e); 121,7 (C-c); 130,1 (C-d); 149,4 (C-f); 159,8 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2953; 2929 e 2857 (C-H); 1620; 1582; 1484 (C=C); 1531 e 1349 ( $\text{NO}_2$ ); 1249; 1101 (C-O-C); 830 (Si- $\text{CH}_3$ ); 774 e 736 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

### 5.2.20 Síntese de 3-(3-aminofenoxi)-1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-metanosulfoniloxipropano (43) (AVERY et al., 1980).

A síntese de **43** foi realizada de acordo com a técnica descrita para **11** (página 131). 0,24 G (0,59 mmol) de **42** forneceu 0,20 g de um resíduo que, após elaboração, foi utilizado na etapa de fosforilação.

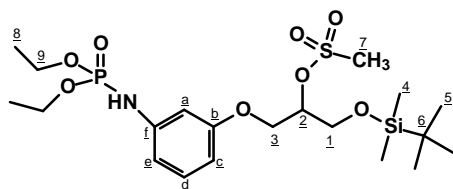


FM:  $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{SSi}$

MM: 375,6 g/mol

**5.2.21 Síntese de 1-(*terc*-butildimetilsililoxi)-3-[(3-dietilfosforilamino) fenoxi]-2-metanossulfoniloxipropano (44)** (HAMMERSCHMIDT et al., 2000).

Em um balão de fundo redondo contendo o resíduo de **43** (0,20 g) foram adicionados 3 mL de THF e 0,12 mL (80 mg; 0,87 mmol) de TEA. A agitação foi mantida por cerca de 10 minutos. Foi acrescentado 0,25 mL (0,3 g; 1,74 mmol) de cloreto de dietilfosforila e a agitação foi mantida até se verificar, por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 2%; revelador: vapor de iodo sublimado), o consumo do material de partida. A elaboração foi realizada conforme descrito para **12** (página 131) e o resíduo foi purificado por CCS (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1%). Foi obtido 0,13 g (0,25 mmol) de **44**, um óleo transparente, que corresponde a 42 % de rendimento, em 2 etapas. EM (ESI+, m/z) para C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>8</sub>PSSiNa (M+Na): 534,1723. Encontrado: 534,1721.



FM: C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>8</sub>PSSi

MM: 511,57 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ): 0,09 (s, 6H, H-4); 0,90 (s, 9H, H-5); 1,32 (t, 6H, J<sub>CCOP</sub>= 6,4 Hz, H-8); 3,10 (s, 3H, H-7); 3,92-3,94 (m, 2H, H-1 ou H-3); 4,09-4,26 (m, 6H, H-9 e H-1 ou H-3); 4,91 (qn, 1H, J<sub>1-2</sub>= J<sub>2-3</sub>= 4,8 Hz, H-2); 6,49 (d, 1H, J<sub>c-d</sub>= 7,9 Hz, H-e); 6,57 (s, 1H, H-a); 6,62 (d, 1H, J<sub>CCNP</sub>= 7,9 Hz, H-c); 7,15 (t, 1H, J<sub>c-d</sub>= J<sub>d-e</sub>= 7,9 Hz, H-d).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, δ): -5,5 (C-4); 16,1 (d, J<sub>CCOP</sub>= 7,0 Hz; C-8); 18,3 (C-6); 25,7 (C-5); 38,4 (C-7); 62,5 (C-9); 62,9 e 66,8 (C-1 e C-3); 80,7 (C-2); 104,1 (d, J<sub>CCNP</sub>= 6,8 Hz; C-a); 107,3 (C-c); 110,8 (d, J<sub>CCNP</sub>= 7,0 Hz; C-e); 130,3 (C-d); 141,1 (C-f); 158,9 (C-b).

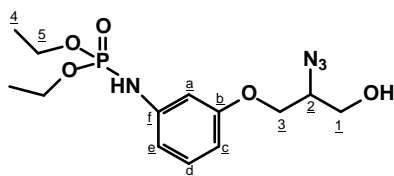
IV(ν<sub>máx</sub>, cm<sup>-1</sup>): 2984; 2921 e 2856 (C-H); 1604; 1506; 1488 e 1451 (C=C); 1229 (C-O); 1165 (SO<sub>2</sub>); 1095 (C-O-C); 1023; 971 e 932 (P-O-C); 768 e 705 (CH aromático *m*-dissubstituído).

**5.2.22 Síntese de 2-azido-3-[(3-dietilfosforilamino)fenoxi]-1-propanol (14)** (TEODOROVIC et al., 2005).

Em um balão de fundo redondo acoplado a um tubo de CaCl<sub>2</sub> anidro foram adicionados 0,1 g (0,2 mmol) de **44**, 0,13 g (2 mmol) de NaN<sub>3</sub> e 2 mL de DMF anidra. A reação foi deixada sob agitação magnética e a 60°C até que foi verificado por CCD (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 5%; revelador: vapor de iodo sublimado) o consumo do material de partida. O solvente foi eliminado sob pressão reduzida até



a obtenção de um resíduo que foi purificado por CCS ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  1%). Foram obtidos 28 mg (0,08 mmol) de **14**, que correspondem a 41 % de rendimento.



FM:  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_5\text{P}$

MM: 344,34 g/mol

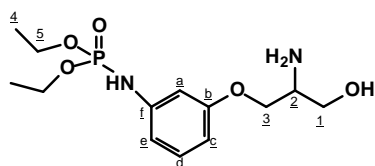
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz,  $\delta$ ): 1,31 (t, 6H,  $J_{\text{COP}} = 7,1$  Hz, H-4); 2,95 (sl, 1H, OH); 3,74-3,92 (m, 3H, H-2 e H-1 ou H-3); 4,03-4,23 (m, 6H, H-5 e H-1 ou H-3); 6,50-6,66 (m, 3H, H-a, H-c, H-e); 7,14 (t, 1H,  $J_{\text{c-d}} = J_{\text{d-e}} = 8,1$  Hz, H-d).

RMN de  $^{13}\text{C}$  – subespectro DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz,  $\delta$ ): 16,5 (d,  $J_{\text{COP}} = 7,1$  Hz; C-4); 62,4 (C-1), 62,5 (C-2); 63,4 (d,  $J_{\text{COP}} = 4,8$  Hz; C-5); 68,2 (C-3); 104,6 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 7,7$  Hz; C-a); 108,0 (C-c); 111,0 (d,  $J_{\text{CCNP}} = 7,0$  Hz; C-e); 130,6 (C-d).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3211 (O-H e N-H); 2983 e 2928 (CH); 2095 (N=N); 1604, 1505 e 1488 (C=C); 1225 (C-O), 1187 e 1162 (P=O e C-O-C); 1016 e 972 (P-O-C); 768 (CH aromático *m*-dissubstituído).

### **5.2.23 Síntese de 3-(2-amino-3-hidroxiopropoxi)fenilfosforamidata de dietila (1)** (LEE et al., 2001).

Foram adicionados 40 mg de **14** (0,09 mmol), 3 mL de  $\text{CH}_3\text{OH}$  anidro e 20 mg de paládio/carvão em um balão de fundo redondo e sob atmosfera de  $\text{H}_2$ . O sistema foi deixado por duas horas em agitação magnética até que, por CCD (eluentes:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  5%; reveladores: vapor de iodo sublimado e solução etanólica de ninidrina 0,3% m/v), foi verificado o consumo do material de partida. A suspensão foi filtrada para retirar o catalisador e o solvente foi eliminado sob pressão reduzida até a obtenção de resíduo. O resíduo foi purificado por cromatografia em camada de sílica preparativa em sílica com indicador de fluorescência (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  10%;). A fosforamida protegida **1** foi obtida com rendimento de 49% (14 mg, 0,044 mmol), na forma de um óleo transparente.



FM:  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$

MM: 318,34 g/mol

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz,  $\delta$ ): 1,31 (t, 6H,  $J = 7,2$  Hz, H-4); 3,61 (dd, 1H,  $J_{1-1'} = 11,2$  e  $J_{1-2} = 6,2$  Hz, H-1); 3,68 (dd, 1H,  $J_{1'-2} = 5,4$  Hz e  $J_{1-1'}$ , H-1'); 3,90 (dd, 1H,  $J_{3-3'} = 9,3$  e  $J_{3-2} = 6,2$  Hz, H-3); 4,00 (dd, 1H,  $J_{3'-2} = 4,8$  Hz e  $J_{3-3'}$ , H-3'); 4,05-4,16 (m, 5H, H-2 e H-5); 6,55 (dd, 1H,  $J_{c-d} = 8,0$  e  $J_{c-e} = 2,0$  Hz, H-c); 6,64 (dd, 1H,  $J_{e-c}$  e  $J_{e-d} = 8,0$  Hz, H-e); 6,68 (t, 1H,  $J_{a-e} = J_{a-c} = 2,2$  Hz, H-a); 7,12 (t, 1H,  $J_{e-d} = J_{c-d} = 8,0$  Hz, H-d).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz,  $\delta$ ): 16,6 (d,  $J_{\text{COP}} = 6,8$  Hz, C-4); 53,6 (C-2); 64,1 (C-1); 64,3 (d,  $J_{\text{COP}} = 5,4$  Hz, C-5); 70,2 (C-3); 105,7 (d,  $J_{\text{CNP}} = 7,8$  Hz, C-a); 108,8 (C-c); 111,8 (d,  $J_{\text{CNP}} = 7,6$  Hz, C-e); 131,1 (C-d); 143,0 (C-f); 161,2 (C-b).

IV ( $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3195 (N-H); 2929 (C-H); 1603, 1506, 1488 (C=C); 1227, 1187, 1162 (P=O, C-O-C); 1016, 972 (P-O-C); 768, 688 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

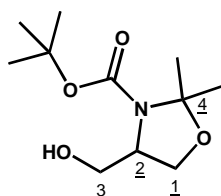
#### **5.2.24 Síntese de (R) e (S)-2-amino-N-(terc-butoxicarbonil)-3-hidroxi-N,O-(isopropilideno)propano 16**

**Método A** (ROUSH et al., 1995): Em um balão bitubulado acoplado a um condensador de refluxo, sob atmosfera de argônio foram acrescentados 22 mg (0,58 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$  e 2 mL de éter etílico. Em seguida, foi acrescentado 0,15 g (0,58 mmol) do (S)-dicarboxilato de 3-(1,1-dimetil)-4-metil-2,2-dimetil-3,4-oxazolidino **15S** solubilizado em 2 mL de éter etílico e a reação foi mantida sob refluxo por uma hora. Após esse tempo, foi verificado, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2; revelador: solução etanólica de ácido molibdênico 3% m/v), o consumo do material de partida. Foram acrescentados à mistura reagente, resfriada em banho de gelo e água, 5 mL de acetato de etila e 3 mL de água destilada. O sistema bifásico foi filtrado em Celite®, as fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (3x de 10 mL). As fases orgânicas reunidas foram secadas em  $\text{MgSO}_4$ , filtradas e eliminadas à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: éter de petróleo/acetato de etila 3:1) e o álcool **16R** foi obtido na forma de um óleo transparente (65 mg; 0,3 mmol), o que corresponde a 48% de rendimento.

**Método B** (DONDONI et al., 1997; MEFFRE et al., 1994): Em um balão bitubulado, foram adicionados 0,4 g (1,54 mmol) do dicarboxilato de 3-(1,1-dimetil)-4-metil-2,2-dimetil-3,4-oxazolidino **15S** e 10 mL de THF/ $\text{CH}_3\text{OH}$  4:1 e o mesmo foi mantido sob atmosfera de argônio. A mistura foi resfriada a  $-10^\circ\text{C}$  em um banho contendo gelo e NaCl. Em seguida, foram adicionados 67 mg (3 mmol) de  $\text{LiBH}_4$ . A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 15 horas e foi monitorada por CCD (eluente: ciclohexano/acetato de etila 2:1; revelador:

solução etanólica de ácido molibidênico 3% m/v). Após esse tempo foram adicionados 10 mL de água a 0°C. A solução foi lavada com éter etílico (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secadas em MgSO<sub>4</sub>, filtradas e eliminadas à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: ciclohexano/acetato de etila 3:1) e o álcool **16R** foi obtido com 71% de rendimento (0,25 g, 1,09 mmol) na forma de um óleo transparente. EM (ESI+, m/z) para C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>Na (M+Na): 254,1369. Encontrado: 254,1362. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -23,3 (c 1, CHCl<sub>3</sub>) (Lit. = -23,9 (c 1, CHCl<sub>3</sub>) (DONDONI et al., 1997).

O enantiômero **16S** foi obtido seguindo-se o método B. 0,3 G (1,16 mmol) de **15R** forneceu 0,24g (1,04 mmol) do álcool **16S** puro, o que corresponde a 90% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>Na (M+Na): 254,1369. Encontrado: 254,1369. [α]<sub>D</sub> = 22,9 (c 1,05, CHCl<sub>3</sub>); (Lit. = 23,6 (c 1,44, CHCl<sub>3</sub>) (WILLIAMS et al.; 1996).



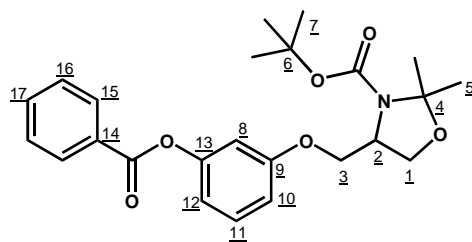
F. M.: C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>

M. M.: 231,29 g/mol

### **5.2.25 Síntese de (R) e (S)- 2-amino-3-(3-(benzoiloxi)fenoxi)-N-(terc-butoxicarbonil)-N,O-(isopropilideno)propano 17** (PAVÉ et al., 2003).

À uma mistura de 0,25 g (1,2 mmol) de 3-benzoilresorcinol, 0,20 g (1mmol) do álcool **16R** e 0,31 g (1,2 mmol) de PPh<sub>3</sub> em 8 mL de tolueno, sob atmosfera de argônio, foi adicionado 0,2 mL (1,2 mmol) de azodicarboxilato de dietila (DEAD). A mistura reagente foi mantida por 40 horas a 80°C. Após esse tempo foi verificado, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2; revelador: solução etanólica de ácido molibidênico 3% m/v), que a reação não mais evoluía. A solução foi lavada com 10 mL de solução de NaOH 1 mol/L e com água destilada (3x 15 mL). A fase orgânica foi secada em MgSO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) e forneceu 0,29 g do éter **17R** (0,68 mmol), 67% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>Na (M+Na): 450,1893. Encontrado: 450,1898. [α]<sub>D</sub> = -49,0 (c 1, CHCl<sub>3</sub>).

Para o isômero **17S**: 0,21 G de **16S** (0,9 mmol) produziu 0,29 g (0,68 mmol) de **17S**, o que corresponde a 76% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>Na (M+Na): 450,1893. Encontrado: 450,1892. [α]<sub>D</sub> = 49,2 (c 1,05, CHCl<sub>3</sub>).

F. M.: C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>

M. M.: 427,49 g/mol

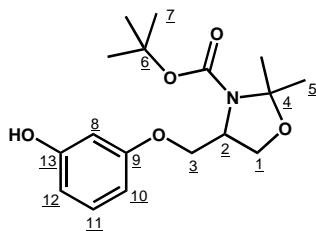
RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, 90°C, δ): 1,44 (s, 9H, H-7); 1,48 e 1,54 (2s, 6H, H-5); 3,96-4,18 (m, 5H, H-1; H-2 e H-3); 6,89-6,94 (m, 3H, H-8; H-10 e H-12); 7,37 (t, 1H, *J*<sub>11-12</sub>= *J*<sub>12-10</sub>= 7,7 Hz; H-11); 7,60 (t, 2H, *J*<sub>16-17</sub>= *J*<sub>16-15</sub>= 7,0 Hz; H-16); 7,73 (t, 1H, *J*<sub>17-16</sub>= 7,5 Hz; H-17); 8,13 (d, 2H, *J*<sub>15-16</sub>= 7,5 Hz; H-15).

RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz, 90°C, δ): 23,3 e 26,2 (C-5); 27,6 (C-7); 55,2 (C-2); 64,5 (C-1); 67,0 (C-3); 79,1 (C-6); 92,8 (C-4); 108,2 (C-8); 112,1 (C-12); 113,7 (C-10); 128,2 (C-16); 128,8 (C-14); 129,1 (C-15); 129,4 (C-11); 133,2 (C-17); 150,9 (C=O NBoc); 151,3 (C-9); 158,9 (C-13); 163,8 (C=O Bz).

### **5.2.26 Síntese de (R) e (S)- 2-amino-N-(terc-butoxicarbonil)3-(3-(hidroxi)fenoxi)-N,O-(isopropilideno)propano 18**

À uma solução de **17R** (0,19 g, 0,44 mmol) em 3 mL de CH<sub>3</sub>OH anidro, resfriado a 0 °C, foram adicionados 24 mg (0,44 mmol) de metóxido de sódio. Após 30 minutos de reação o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (hexano/acetato de etila 8:2) e o produto foi obtido na forma de um sólido branco amorfo; 0,14 g (0,42 mmol; 95% de rendimento). EM (ESI+, m/z) para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>Na (M+Na): 346,1631. Encontrado: 346,1634. [α]<sub>D</sub>= -34,5 (c 1, CHCl<sub>3</sub>). FF: 110,6-111,6 °C.

O enantiômero **18S** foi preparado seguindo o mesmo procedimento. 0,18 g (0,42 mmol) de **17S** forneceu 0,12 g (0,36 mmol) de **18S**, um sólido branco amorfo, que corresponde a 85% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>Na (M+Na): 346,1631. Encontrado: 346,1636. [α]<sub>D</sub>= 36,0 (c 1,02, CHCl<sub>3</sub>). FF: 110,7-111,7 °C.

F. M.: C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>

M. M.: 323,38 g/mol

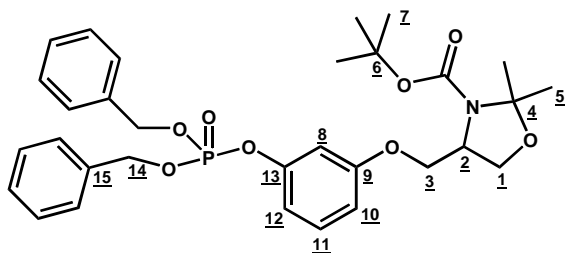
RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, 90°C, δ): 1,45 (s, 9H, H-7); 1,47 (s, 3H, H-5); 1,53 (s, 3H, H-5); 3,87 (t, 1H, *J*<sub>3,3'</sub>= *J*<sub>2,3</sub>= 9,4 Hz, H-3); 3,93 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub>= 8,5 Hz, H-1); 4,00-4,02 (m, 1H, H-1); 4,05 (t, 1H, *J*<sub>3,3'</sub>= *J*<sub>2,3</sub>= 9,4 Hz, H-3); 4,13 (sl, 1H, H-2); 6,38-6,42 (m, 3H, H-8, H-10, H-12); 7,04 (t, 1H, *J*<sub>11,10</sub>= *J*<sub>11,12</sub>= 8,0 Hz, H-11); 8,98 (sl, 1H, OH).

RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz, 90°C, δ): 23,4 (C-5); 26,2 (C-5); 27,6 (C-7); 55,3 (C-2); 64,5 (C-1); 66,5 (C-3); 79,0 (C-6); 92,8 (C-4); 102,1 (C-8); 105,0 (C-10); 108,0 (C-12); 129,2 (C-11); 150,8 (C=O Mboc); 158,1 (C-13); 159,2 (C-9).

### **5.2.27 Síntese de (R) e (S) 2-amino-3-(3-(bis(benziloxi)phosphoriloxi)fenoxi)-N-(terc-butoxicarbonil)-1-hidroxi-N,O-(isopropilideno)propano 19** (ZWIERZAK, 1975).

Uma solução de fosfito de dibenzila (0,12 g; 0,46 mmol) e do fenol **18R** (0,10 g; 0,31 mmol) em 2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi adicionada a um balão contendo outra solução constituída por 53 mg (0,16 mmol) de CBr<sub>4</sub>, 3 mg (1,28 x 10<sup>-5</sup> mol) de cloreto de trietilbenzilamônio (TEBA), 100 µL de solução de NaOH 30% m/v, 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e 1 mL de água destilada. A agitação foi mantida durante 30 minutos, a temperatura ambiente quando foi verificado, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3; revelador: solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v), o consumo do material de partida. Em seguida, foram adicionados 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, as fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com água destilada (3x 5 mL), secada em MgSO<sub>4</sub>, filtrada e destilada à pressão reduzida. O produto foi purificado por CCS (hexano/acetato de etila 7:3) sendo obtido 0,17 g (0,28 mmol, 89% de rendimento) de **19R**, um óleo transparente. EM (ESI+, m/z) para C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>8</sub>PNa (M+Na): 606,2233. Encontrado: 606,2230. [α]<sub>D</sub>= -37,0 (c 1,03, CHCl<sub>3</sub>).

O enantiômero **19S** foi obtido com 76% de rendimento (0,15 g, 0,26 mmol). EM (ESI+, m/z) para C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>8</sub>PNa (M+Na): 606,2233. Encontrado: 606,2228. [α]<sub>D</sub>= 37,4 (c 1,01, CHCl<sub>3</sub>).

F. M.: C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>8</sub>P

M. M.: 583,61 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, 90°C, δ): 1,44 (sl, 9H, H-7); 1,48 (s, 3H, H-5); 1,53 (s, 3H, H-5); 3,90-4,14 (m, 5H, H-1, H-2 e H-3); 5,15-5,17 (m, 4H, H-14); 6,77-6,84 (m, 3H, H-8, H-10 e H-12); 7,26 (t, 1H, *J*<sub>11-12</sub>= *J*<sub>11-10</sub>= 8,5 Hz; H-11); 7,36 (sl, 10H, H-aromáticos).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz, δ): 23,3; 24,5; 27,0; 27,8 (C-5); 28,6; 28,7 (C-7); 56,0; 56,2 (C-2); 65,4; 65,6 (C-1); 66,5; 67,1 (C-3); 70,1; 70,2 (C-14); 80,5; 80,8 (C-6); 93,8; 94,3 (C-4); 107,2; 107,3 (C-8); 111,4; 111,7 (C-10); 112,7; 112,8 (C-12); 128,2; 128,8 (C-16); 130,3 (C-11); 135,6; 135,7 (C-15); 151,8; 152,5 (C-13 e C=O NBoc), 159,7 (C-9).

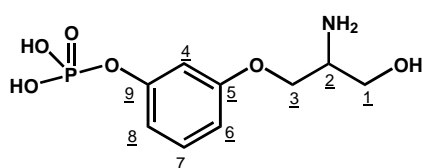
RMN de <sup>31</sup>P (CDCl<sub>3</sub>, 121,5 MHz, δ, referência H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em D<sub>2</sub>O): -6,40 e -6,47.

**5.2.28 Síntese de diidrogenofosfato de (S)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)-fenila 2 e de diidrogenofosfato de (R)-3-(2-amino-3-hidroxi-propoxi)fenila 3** (BURLINGHAM et al., 2001; MEFFRE et al., 1996).

O dibenzilfosfato **19R** 0,16 g (0,27 mmol) foi dissolvido em 2 mL de THF e foi acrescentado a essa solução cerca de 40 mg de catalisador Pd-C 10%. O frasco foi fechado, o ar foi trocado por hidrogênio e este foi mantido a uma pressão de 40 psi durante uma hora. Após esse tempo o hidrogênio foi retirado, a solução foi filtrada e o solvente removido à pressão reduzida. Foi observado, por CDD (eluente: hexano/acetato de etila 1:1; revelador: luz ultravioleta e solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v), o consumo do material de partida. O resíduo de **20R** foi solubilizado em 2 mL de metanol e foi adicionado 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA). A mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente durante três horas, quando por CCD de fase reversa (eluente: solução de acetato de amônio 10 mmol/L/CH<sub>3</sub>CN 15:5; revelador: solução etanólica de ninidrina 0,3% m/v) foi verificado que a reação não mais evoluía. O solvente foi evaporado e o TFA foi eliminado por codestilação, por repetidas vezes, utilizando uma mistura CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1:1. O produto foi purificado por CLAE preparativa (coluna *Atlantis® Prep dC18 OBD*, 5 μm, 19 x 150 mm) sendo eluído com 100% de solução de acetato de amônio 10 mmol/L durante 7 min., seguido de eluição em gradiente de 0 a 60% de CH<sub>3</sub>CN em solução de acetato de amônio durante 15 min., com um fluxo de 17 mL/min.

monitorado por detector evaporativo por espalhamento de luz (ELSD). As frações foram reunidas, destiladas e liofilizadas. Foram obtidos 35 mg (0,13 mmol) de **2S**, um sólido branco amorfo, o que correspondem a 48% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>6</sub>PNa (M+Na): 286,0456. Encontrado: 286,0455.  $[\alpha]_D = +7,2$  (c 0,5, H<sub>2</sub>O). FF: 168,0 – 168,7 °C.

Para a síntese do aminofosfato **3R**, 0,13 g (0,22 mmol) de **19S** foi submetido às condições de desbenzilação e remoção dos grupos *N*-Boc e diisopropila por TFA. Após purificação e liofilização, foram obtidos 39 mg (0,15 mmol) de **3R** que correspondem a 68% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>6</sub>PNa (M+Na): 286,0456. Encontrado: 286,0451.  $[\alpha]_D = -7,5$  (c 0,5, H<sub>2</sub>O). FF: 163,9 – 165,0 °C.



F. M.: C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>6</sub>P

M. M.: 263,18 g/mol

RMN de <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, 500 MHz,  $\delta$ ): 3,79-3,84 (m, 1H, H-2); 3,92 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 12,3$  Hz;  $J_{1,2} = 6,6$  Hz, H-1); 3,99 (dd, 1H,  $J_{1,1'} = 12,2$  Hz;  $J_{1,2} = 4,7$  Hz, H-1'); 4,26 (dd, 1H,  $J_{3,3'} = 10,5$  Hz;  $J_{2,3} = 6,6$  Hz, H-3); 4,36 (dd, 1H,  $J_{3,3'} = 10,5$  Hz;  $J_{2,3} = 3,8$  Hz, H-3'); 6,77 (dd, 1H,  $J_{6,7} = 8,2$  Hz;  $J_{6,8} = 2,2$  Hz, H-6); 6,89 (d, 1H,  $J_{8,7} = 8,3$  Hz, H-8); 6,95 (s, 1H, H-4); 7,32 (t,  $J_{7,8} = J_{7,6} = 8,1$  Hz, H-7).

RMN de <sup>13</sup>C (D<sub>2</sub>O, 125 MHz,  $\delta$ ): 52,2 (C-2); 58,7 (C-1); 65,0 (C-3); 107,1 (d,  $J_{\text{COP}} = 4,6$  Hz, C-4); 109,1 (C-6); 113,9 (d,  $J_{\text{COP}} = 4,6$  Hz, C-8); 130,0 (C-7); 154,5 (d,  $J_{\text{COP}} = 6,4$  Hz, C-9); 158,3 (C-5).

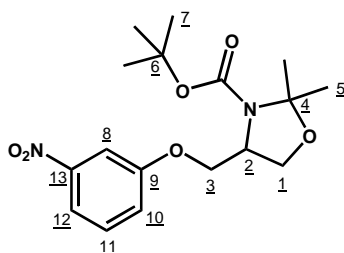
RMN de <sup>31</sup>P (202,4 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$ , referência H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em D<sub>2</sub>O): -0,27.

### **5.2.29 Síntese de (R) e (S) 2-amino-3-(3-nitrofenoxi)-N-(*tert*-butoxicarbonil)-1-hidroxi-N,O-(isopropilideno)propano 21** (PAVÉ et al., 2003).

A uma mistura de 0,215 g (1,54 mmol) de 3-nitrofenol, 0,24 g (1,04 mmol) do álcool **15R** e 0,43 g (1,65 mmol) de PPh<sub>3</sub> em 12 mL de tolueno, sob atmosfera de argônio, foi adicionado 0,26 mL (1,65 mmol) de DEAD. A mistura reacional foi mantida por 7 horas a 80°C. Após esse tempo foi verificado, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2; revelador: solução etanólica de ácido molibidênico 3% m/v), que a reação não mais evoluía. A solução foi lavada com 20 mL de solução de NaOH 1 mol/L e com água destilada (3x 20 mL), a fase orgânica foi secada em MgSO<sub>4</sub>, filtrada e destilada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) e forneceu 0,29 g do

éter **21R** (0,83 mmol), 81% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para  $C_{17}H_{24}N_2O_6Na$  (M+Na): 375,1532. Encontrado: 375,1540.  $[\alpha]_D = -70,3$  (c 1,0,  $CHCl_3$ ). FF: 59,6 – 60,1°C.

Para o enantiômero **21S**: 0,19 g de **15S** (0,82 mmol) forneceu 0,21 g (0,6 mmol; 73% de rendimento).  $[\alpha]_D = +73,3$  (c 1,01,  $CHCl_3$ ). EM (ESI+, m/z) para  $C_{17}H_{24}N_2O_6Na$  (M+Na): 375,1532. Encontrado: 375,1534. FF: 59,2 – 60°C.



F. M.:  $C_{17}H_{24}N_2O_6$

M. M.: 352,38 g/mol

RMN de  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 90°C,  $\delta$ ): 1,45 (s, 9H, H-7); 1,48 (s, 3H, H-5) 1,55 (s, 3H, H-5); 3,96-4,24 (m, 5H, H-1; H-2 e H-3); 7,43-7,45 (m, 1H, H-10); 7,58 (t, 1H,  $J_{11-12} = J_{11-10} = 8,5$  Hz, H-11); 7,74 (sl, 1H, H-8); 7,80 (d, 1H,  $J_{12-11} = 8,5$  Hz; H-12).

RMN de  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz, 90°C,  $\delta$ ): 23,3 e 26,2 (C-5); 27,5 (C-7); 55,1 (C-2); 64,4 (C-1); 67,5 (C-3); 79,2 (C-6); 92,9 (C-4); 108,9 (C-8); 115,2 (C-12); 121,3 (C-10); 130,1 (C-11); 148,6 (C-13); 150,9 (C=O NBoc); 158,6 (C-9).

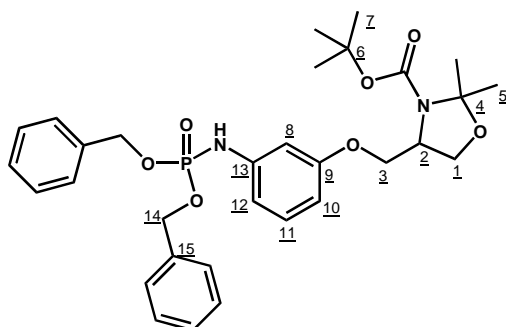
### **5.2.30 Síntese de (R) e (S) 2-amino-3-(3-(bis(benziloxi)phosphorilamino)-fenoxi)-N-(terc-butoxicarbonil)-1-hidroxi-N,O-(isopropilideno)propano 22** (ZWIERZAK, 1975).

O intermediário **21R** (0,25g; 0,72 mmol) foi dissolvido em 3 mL de THF. Aproximadamente 57 mg de catalisador Pd-C 10% foram adicionados à solução. O frasco foi fechado e o ar foi trocado por hidrogênio. A reação foi mantida por 2,5 horas em temperatura ambiente e a uma pressão de 31 psi. Após esse tempo a solução foi filtrada e o THF foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em 2 mL de  $CH_2Cl_2$  e adicionado 0,37 g (1,24 mmol) de fosfito de dibenzila. Esta solução foi adicionada a uma solução contendo 0,19 g (0,57 mmol) de  $CBr_4$ , 200  $\mu L$  de solução de NaOH 30% m/v, 6,5 mg ( $2,84 \times 10^{-5}$  mol) de cloreto de trietilbenzilamônio (TEBA), 1 mL de água e 1 mL de  $CH_2Cl_2$ , em banho de gelo. A agitação foi mantida por 7 horas em temperatura ambiente. Após esse tempo, 15 mL de  $CH_2Cl_2$  foram adicionados, a fase orgânica foi separada, lavada por água destilada (3x 10 mL), secada em  $MgSO_4$ , filtrada e eliminada à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 9:1 a 1:1) e foi obtido 0,26 g (0,45 mmol) do produto **22R**, o que



corresponde a 63% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para  $C_{31}H_{39}N_2O_7PNa$  (M+Na): 605,2393. Encontrado: 605,2392.  $[\alpha]_D = -31,0$  (*c* 0,99;  $CHCl_3$ ).

O enantiômero **22S** (0,19 g; 0,33 mmol) foi obtido com 66% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para  $C_{31}H_{39}N_2O_7PNa$  (M+Na): 605,2393. Encontrado: 605,2390.  $[\alpha]_D = 30,0$  (*c* 1,07;  $CHCl_3$ ).



F. M.:  $C_{31}H_{39}N_2O_7P$

M. M.: 582,25 g/mol

RMN de  $^1H$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, 90°C,  $\delta$ ): 1,44 (sl, 9H, H-7); 1,48 (s, 3H, H-5); 1,52 (s, 3H, H-5); 3,85 (t, 1H,  $J_{gem} = 9,0$  Hz; H-3); 3,91-3,93 (m, 1H, H-1); 4,01-4,03 (m, 2H, H-1 e H-3); 4,13 (sl, 1H, H-2); 5,00-5,09 (m, 4H, H-14); 6,53 (d, 1H,  $J_{10-11} = 8,5$  Hz, H-10); 6,72-6,74 (m, 2H, H-8, e H-12); 7,09 (t, 1H,  $J_{11-12} = J_{11-10} = 8,0$  Hz; H-11); 7,34 (sl, 10H, H-aromáticos); 7,79 (d, 1H,  $J_{HN-P} = 8,5$  Hz, NH).

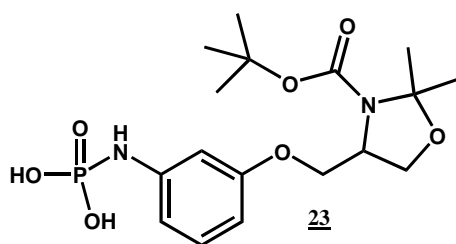
RMN de  $^{13}C$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz, 90°C,  $\delta$ ): 23,4; 26,2(C-5); 27,6 (C-7); 55,3 (C-2); 64,5 (C-1); 66,6 (C-3); 67,0 (d,  $J_{COP} = 5,0$  Hz; C-14); 79,0 (C-6); 92,8 (C-4); 104,8 (d,  $J_{CCNP} = 9,1$  Hz; C-8); 106,9 (C-10); 110,6 (d,  $J_{CCNP} = 7,3$  Hz; C-12); 127,0; 127,4; 127,7 (CH-aromáticos); 129,0 (C-11); 135,9 (d,  $J_{COP} = 6,3$  Hz, C-15); 141,5 (C-13); 150,8 (C=O NBoc), 158,6 (C-9).

RMN de  $^{31}P$  ( $CDCl_3$ , 121,5 MHz,  $\delta$ , referência  $H_3PO_4$  em  $D_2O$ ): 3,91.

### **5.2.31 Tentativa de síntese do ácido (R) e (S)-3-(2-amino-N-(terc-butoxicarbonil)-1-hidroxi-N,O-(isopropilideno)propoxi)fenilfosforamídico 23** (BURLINGHAM et al., 2001).

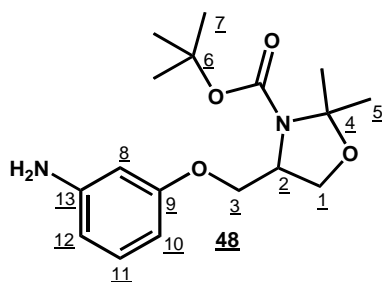
A dibenzilfosforamida **22R** (90 mg; 0,15 mmol) foi dissolvida em 2 mL de THF e foi acrescentado a essa solução cerca de 20 mg de catalisador paládio/carvão a 10%. O frasco foi fechado, o ar foi trocado por hidrogênio e este foi mantido a uma pressão de 32 psi durante uma hora. Após esse tempo o hidrogênio foi retirado, a solução foi filtrada e o solvente eliminado à pressão reduzida. Foi observado, por CDD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3; revelador: luz ultravioleta e solução etanólica de  $H_2SO_4$  15% v/v e também com o eluente:  $CH_3OH/H_2O/NH_4OH$  12:1:1; revelador solução etanólica de ácido molibdênico 3% m/v), que o material de partida havia sido consumido e que mais de um produto havia se formado. O resíduo foi submetido a análise por CLAE (coluna *ZIC-pHilic*

5 $\mu$ m, 4,6x150 mm) eluído com solução de acetato de amônio 10 mmol/L/acetonitrila 5:95 durante 5 min.; seguido de eluição em gradiente até solução de acetato de amônio 10 mmol/L 100% durante 35 min., com um fluxo de 1 mL/min. e monitorado por detector evaporativo por espalhamento de luz (ELSD), de UV a 270 nm e por detector de massas. Pela análise do cromatograma obtido para o resíduo dessa reação o produto majoritário formado é o (*R*) e (*S*) **2-amino-3-(3-aminofenoxi)-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-1-hidroxi-*N,O*-(isopropilideno)propano 48**, com m/z de 323,1 (M+H) e tempo de retenção de 3,23 min. e em menor quantidade, com tempo de retenção de 15,17 min., o produto esperado, o ácido (*R*) e (*S*) **3-(2-amino-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-1-hidroxi-*N,O*-(isopropilideno)propoxi)fenilfosforamídico 23**, com m/z 401,0 (M-H). EM (ESI+, m/z) para 48 C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na (M+Na): 345,1791. Encontrado: 345,1788.



F. M.: C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>P

M.M.: 402,38 g/mol



F. M.: C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

M. M.: 322,39 g/mol

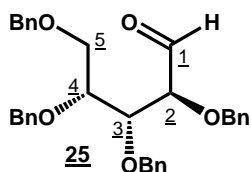
RMN de <sup>1</sup>H de 48 (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz,  $\delta$ ): 1,29 (t, 6H, *J* = 7,5 Hz, H-5); 1,47 (s, 3H, H-7); 1,50 (s, 3H, H-7); 1,58 (s, 3H, H-7); 3,82-3,84 (m, 1H, H-2); 4,01-4,21 (m, 4H, H-1 e H-3); 6,33-6,38 (m, 2H, NH<sub>2</sub>); 6,64 (d, 1H, *J*<sub>12-11</sub> = 7,5 Hz, H-12); 6,73 (sl, 1H, H-8); 7,02 (t, 2H, *J* = 4,8 Hz, H-10 e H-11).

RMN de <sup>13</sup>C de 48 (CD<sub>3</sub>OD, 75,5 MHz,  $\delta$ ): 23,6; 24,8; 27,1; 28,0 (C-5); 28,9 (C-7); 57,6 (C-2); 66,3; 66,7 (C-1); 67,7; 68,6 (C-3); 81,8; 82,3 (C-6); 95,1; 95,5 (C-4); 109,6 (C-8); 113,5; 114,1 (C-10); 115,6 (C-12); 132,0 (C-11); 153,5 (C-13); 154,1 (C=O); 161,1 (C-9).

### 5.2.32 Síntese de 2,3,4,5-tetra-*O*-benzil-D-arabinose 25 (OHLSSON et al., 2001).

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,77 g (1,26 mmol) do ditioacetal da D-arabinose perbenzilada (24) dissolvido em 20 mL de acetona. A esta solução foram acrescentados 10 mL de uma solução de KHCO<sub>3</sub> (2,01 g; 0,02 mol em 10 mL de água) e manteve-se a suspensão em banho de gelo.

Em seguida, foi acrescentado 1,27 g de iodo sublimado (5,02 mmol) e acompanhou-se a reação por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2, revelador: solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% em etanol). Após 30 minutos da adição do iodo, foi verificado que não havia mais material de partida na reação. À mistura reagente foi adicionada solução aquosa de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 30% até o desaparecimento da coloração de iodo em excesso. Logo após, a acetona foi removida em rotavapor e a fase aquosa foi lavada por acetato de etila (3x 25 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com 20 mL de solução saturada de NaCl, secadas em MgSO<sub>4</sub> e destiladas à pressão reduzida. O resíduo foi submetido à purificação por CCS sendo o produto eluído por hexano/acetato de etila 8:2. Foi obtido 0,52 g (1,02 mmol; 81%) de **25** na forma de um óleo transparente. EM (ESI+, m/z) para C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>Na (M+Na) 533,2310. Encontrada: 533,2310. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub>: -24,7 (c 1,09, CHCl<sub>3</sub>).



F. M. : C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>

P. M.: 510,24

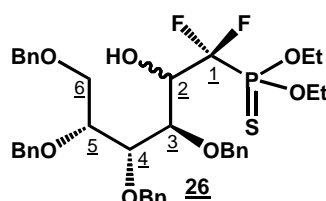
RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz,  $\delta$ ): 3,33 (dd, 1H,  $J_{5,5'} = 10,7$  Hz,  $J_{5,4} = 4,0$  Hz; H-5); 3,45 (dd, 1H,  $J_{5,5'} = 10,3$  Hz,  $J_{5,4} = 2,8$  Hz; H-5'); 3,84 (qn, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 3,6$  Hz, H-4); 4,01-4,12 (m, 1H, H-2); 4,14 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{3,2} = 3,7$  Hz, H-3); 4,37 (d, 1H,  $J_{gem} = 11,6$  Hz, H-benzílicos); 4,50 – 4,56 (m, 5H, H-benzílicos); 4,63 (d, 1H,  $J_{gem} = 11,8$  Hz, H-benzílicos); 4,68 (d, 1H,  $J_{gem} = 11,8$  Hz, H-benzílicos); 7,21 – 7,36 (m, 20H, H-aromáticos); 9,26 (s, 1H, H-1).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz,  $\delta$ ): 68,5 (C-5), 72,1; 73,5; 73,6; 74,3 (CH<sub>2</sub>-benzílicos); 77,6; 78,5 (C-3 e C-4); 84,3 (C-2); 127,8; 127,9; 128,0; 128,2; 128,3; 128,4; 128,5; 128,6 (C-aromáticos); 137,4; 137,8; 138,2; 138,3 (C-*ipso*); 202,3 (C-1).

### **5.2.33 Síntese de 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1-(*O*-dietiltiofosfonato)-1,1-difluoro-D-glucitol e 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1-(*O*-dietiltiofosfonato)-1,1-difluoro-D-manitol **26**** (OBAYASHI et al., 1982; PIETTRE et al., 1996b).

A uma solução de 1,1-difluorometiltiofosfonato de dietila (**59**) (1,0 g; 4,9 mmol) em 2,5 mL de THF anidro foram adicionados, gota à gota, a -78°C e sob atmosfera de argônio, 3,4 mL de uma solução a 1,8 mol/L em hexano (6,12 mmol) de LDA (diisopropilamido de lítio). A agitação foi mantida durante 45 min. a -78°C. Em seguida, foi adicionada, gota a gota durante 8 minutos, uma solução do aldeído **25** (1,25 g, 2,45 mmol) em 3 mL de THF mantida a -78°C antes da adição. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2) e após 3 horas, foi verificado o consumo

do material de partida. Em seguida, foram adicionados 6 mL de solução saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e a agitação foi mantida até que o sistema atingisse a temperatura ambiente. A mistura reagente foi vertida em um funil de separação e lavada 3 vezes com acetato de etila (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de  $\text{NaCl}$  (20 mL), secadas em  $\text{MgSO}_4$  e eliminadas em rotavapor. O produto esperado, um óleo transparente, foi obtido após purificação por CCS (hexano/acetato de etila 9:1) (1,265 g; 1,77 mmol), o que corresponde a 73% de rendimento, como uma mistura de diastereoisômeros. EM (ESI+, m/z) para  $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{F}_2\text{O}_7\text{PSNa}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) 739,2490. Encontrado: 739,2491.



F. M.:  $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{F}_2\text{O}_7\text{PS}$

M. M.: 714,26

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 1,24-1,39 (m, 12H, 4x  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 3,74 (dd, 2H,  $J = 10,7$  Hz;  $J = 5,1$  Hz); 3,80-4,02 (m, 5H); 4,10-4,31 (m, 11H; 4x  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$  e 3H); 4,45-4,75 (m, 18H, 16H  $\text{CH}_2$ -benzílicos e 2H); 7,28-7,34 (m, 40H, H-aromáticos).

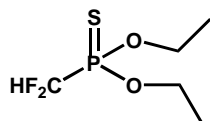
RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75,5 MHz,  $\delta$ ): 16,4 (d,  $J_{\text{COP}} = 6,4$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 64,7 (d,  $J_{\text{COP}} = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 65,0 (d,  $J_{\text{COP}} = 7,3$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 65,1 (d,  $J_{\text{COP}} = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 69,6; 69,8 (C-6); 72,3; 72,7; 72,9; 73,5; 74,1; 74,2; 74,4; 74,5 ( $\text{CH}_2$  benzílicos); 75,2 (d,  $J_{\text{CCP}} = 5,5$  Hz, C-3); 75,8 (d,  $J_{\text{CCP}} = 5,5$  Hz, C-3); 79,3; 79,4; 79,9 (C-4 e C-5); 127,7; 127,8; 127,9; 128,0; 128,1; 128,3; 128,5; 128,6; 128,7 (CH-aromáticos); 137,9; 138,3; 138,4; 138,5 (C-*ipso*).

RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 282,4 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{C}_6\text{F}_6$  em  $\text{CDCl}_3$ ): acoplado ao hidrogênio: 47,69 (ddd,  $J_{\text{F}_2\text{-H}} = 4,2$  Hz;  $J_{\text{P-F}_2} = 105,6$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 289,7$  Hz); 44,98 (ddd,  $J_{\text{F}_1\text{-H}} = 7,3$  Hz;  $J_{\text{P-F}_1} = 101,3$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 298,9$  Hz); 37,789 (ddd,  $J_{\text{F}_2\text{-H}} = 22,1$  Hz;  $J_{\text{P-F}_2} = 101,5$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 298,9$  Hz); 33,30 (ddd,  $J_{\text{F}_1\text{-H}} = 24,8$  Hz;  $J_{\text{P-F}_1} = 98,5$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 289,7$  Hz). Desacoplado ao hidrogênio: 47,69 (dd,  $J_{\text{P-F}_2} = 105,6$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 289,8$  Hz); 44,98 (dd,  $J_{\text{P-F}_1} = 101,4$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 290,2$  Hz); 37,78 (dd,  $J_{\text{P-F}_2} = 101,4$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 290,2$  Hz); 33,30 (dd,  $J_{\text{P-F}_2} = 98,3$  Hz;  $J_{\text{F}_1\text{-F}_2} = 289,8$  Hz).

RMN de  $^{31}\text{P}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 121,5 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{D}_2\text{O}$ ): (desacoplado ao hidrogênio) 74,9 (t,  $J_{\text{P-F}_1} = J_{\text{P-F}_2} = 101,3$  Hz); 75,9 (dd,  $J_{\text{P-F}_2} = 106,8$  Hz;  $J_{\text{P-F}_1} = 98,4$  Hz).

### **5.2.34 Síntese de difluorometiltiofosfonato de dietila 59** (PIGNARD et al., 2006).

Em um balão de fundo redondo foi dissolvido 1,56 g (8,31 mmol) de 1,1-difluorometiltiofosfonato de dietila **60** em 15 mL de tolueno. A solução foi aquecida a 110°C e, em seguida, foram acrescentados 4,06 g (9,97 mmol) do Reagente de Lawesson (2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-dissulfeto). O refluxo foi mantido por aproximadamente 2 horas até que foi detectado por RMN de  $^{31}\text{P}$  o consumo do material de partida. O sistema foi mantido sob agitação até atingir a temperatura ambiente e, em seguida, foi filtrado em *Celite*® e lavado com heptano. O solvente foi removido à pressão reduzida e o resíduo foi purificado por CCS (eluente: heptano/acetato de etila 9:1). Foram obtidos 1,34 g (6,59 mmol) do produto esperado, um óleo incolor, com 81 % de rendimento.



F. M.:  $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{FO}_2\text{PS}$

M. M.: 186,03

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 1,38 (td, 6H,  $J_{\text{H-P}} = 7,1$  Hz;  $J_{\text{H-F}} = 0,4$  Hz;  $\text{HCF}_2\text{PS}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ); 4,25-4,31 (m, 4H,  $\text{HCF}_2\text{PS}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ); 5,85 (td, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 50,2$  Hz;  $J_{\text{H-P}} = 30,3$  Hz;  $\text{HCF}_2\text{PS}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ).

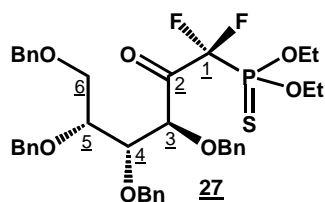
RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 282,4 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{C}_6\text{F}_6$  em  $\text{CDCl}_3$ ): 29,3 (dd,  $J_{\text{P-F}} = 96,0$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 49,9$  Hz).

RMN de  $^{31}\text{P}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 121,5 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{D}_2\text{O}$ ): 73,54 (td,  $J_{\text{P-F}} = 94,9$  Hz,  $J_{\text{P-H}} = 30,3$  Hz).

### **5.2.35 Síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-1-(O-dietiltiofosforil)-D-frutose 27** (FOX et al., 2005).

Em um balão de fundo redondo, sob atmosfera de argônio e em banho de gelo, foi adicionado o difluorometiltiofosfonato **26** (0,19 g, 0,267 mmol) solubilizado em 3 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Em seguida, foi adicionado, gota a gota, 0,9 mL (0,136 g; 0,321 mmol) de solução do Reagente de *Dess-Martin* (15% em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). A reação foi acompanhada por CCD (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /hexano 8:2) e após uma hora, foi detectado o consumo do material de partida. Foram adicionados 10 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  30% m/v e 25 mL de acetato de etila. A agitação foi mantida por 5 min, as fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com 15

mL de solução saturada de NaCl, secadas em MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por CCS (hexano/acetato de etila 9:1) e o produto foi obtido na forma de um óleo transparente (0,116 g; 0,16 mmol; 61% de rendimento). EM (ESI+, m/z) para C<sub>38</sub>H<sub>45</sub>F<sub>2</sub>O<sub>7</sub>PSNa (M+Na) 737,2333. Encontrada: 737,2310. [α]<sub>D</sub>: 72,53 (c 1,0, CHCl<sub>3</sub>). Desta reação, foi isolado também **62**, 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-1-(*O*-dietilfosforil)-*D*-frutose, 54 mg (0,08 mmol, 29% de rendimento).



F. M.: C<sub>38</sub>H<sub>45</sub>F<sub>2</sub>O<sub>7</sub>PS

M. M.: 714,26

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 1,29 (t, 3H, *J*<sub>CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>P</sub> = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 1,35 (t, 3H, *J*<sub>CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>P</sub> = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 3,58 (dd, 1H, *J*<sub>6-6'</sub> = 10,8 Hz; *J*<sub>6-5</sub> = 4,2 Hz, H-6); 3,74 (dd, 1H, *J*<sub>6-6'</sub> = 10,8 Hz; *J*<sub>6'-5</sub> = 2,1 Hz, H-6'); 3,88-3,90 (m, 1H, H-5); 4,22-4,33 (m, 7H, 2xCH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP, H-4 e 2H- benzílicos); 4,41-4,48 (m, 4H, 4H-benzílicos); 4,59 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 11,7 Hz, H- benzílico); 4,69 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 11,4 Hz, H-benzílico); 5,07 (sl, 1H, H-3); 7,18-7,35 (m, 20H, H-aromáticos).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz, δ): 16,4 (t, *J*<sub>CCOP</sub> = 5,5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 65,8 (d, *J*<sub>COP</sub> = 6,53 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 68,7 (C-6); 72,3; 72,8; 73,5; 73,9 (CH<sub>2</sub> - benzílicos); 77,5 (C-5); 77,6 (d, *J*<sub>CCCCF</sub> = 4,63 Hz, C-4); 82,3 (C-3); 127,6; 127,7; 127,9; 128,0; 128,4; 128,5 (C-aromáticos); 137,6; 137,7; 138,4; 138,7 (C-ípsos).

RMN de <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>, 282,4 MHz, δ, referência externa C<sub>6</sub>F<sub>6</sub> em CDCl<sub>3</sub>): desacoplado ao hidrogênio: 51,39 (dd, *J*<sub>P-F1</sub> = 98,3 Hz; *J*<sub>F1-F2</sub> = 302,7 Hz); 41,94 (dd, *J*<sub>P-F2</sub> = 102,8 Hz; *J*<sub>F1-F2</sub> = 302,3 Hz).

RMN de <sup>31</sup>P (CDCl<sub>3</sub>, 121,5 MHz, δ, referência externa H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em D<sub>2</sub>O): desacoplado ao hidrogênio: 70,33 (dd, *J*<sub>P-F1</sub> = 103,3 Hz; *J*<sub>P-F2</sub> = 99,1 Hz).

### **5.2.36 Tentativa de síntese de 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-*D*-frutose 28 a partir de 27** (PIETTRE et al., 1996b; FOX et al., 2005).

Uma solução do tiofosfonato **27** (0,1g; 0,14 mmol) em 1,0 mL de CH<sub>3</sub>OH anidro, mantida em banho de gelo e NaCl (-10°C) e sob atmosfera de argônio, foram acrescentados 8 mg (0,148 mmol) de metóxido de sódio dissolvidos em 0,5 mL de CH<sub>3</sub>OH anidro. A reação foi acompanhada por CCD

(hexano/acetato de etila 7:3) e após 2 horas de agitação, viu-se por CCD que o material de partida não havia reagido. Foram acrescentados mais 4 mg (0,07 mmol) de metóxido de sódio e o banho de gelo foi retirado. A agitação foi mantida por 24 horas e o único produto isolado foi o material de partida.



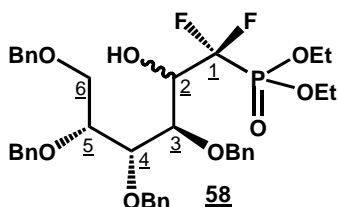
FM: C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

MM: 560,63 g/mol

### 5.2.37 Síntese do 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1-(*O*-dietilfosforil)-1,1-difluoro-D-glucitol e 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1-(*O*-dietilfosforil)-1,1-difluoro-D-manitol 58

(OBAYASHI et al., 1982; PIETTRE et al., 1996b).

À uma solução de difluorometilfosfonato de dietila **60** (1,19 g; 2,5 mmol) em 1 mL de THF anidro foi adicionado, gota a gota a -78°C, sob argônio, 1,73 mL (3,12 mmol) de uma solução de LDA a 1,8 mol/L em hexano. A agitação foi mantida durante 45 minutos, mantendo a temperatura a -78°C e sob argônio. Em seguida foi acrescentada a solução do aldeído **25** (0,64 g; 1,25 mmol) em 5 mL de THF anidro, gota a gota, durante 8 minutos. Após 3 horas foi detectado, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2; revelador: solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v), o consumo do material de partida. Depois desse tempo foi acrescentado 5 mL de solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl e o sistema foi mantido sob agitação até que se atingisse a temperatura ambiente. A solução foi vertida em um funil de separação e a fase aquosa foi lavada por acetato de etila (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com 15 mL de solução saturada de NaCl, secadas em MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) e o produto **58** foi obtido na forma de um óleo transparente (0,61 g, 0,88 mmol) com 70 % de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>38</sub>H<sub>45</sub>F<sub>2</sub>O<sub>8</sub>PNa (M+Na) 721,2718. Encontrado: 721,2730.



F. M.: C<sub>38</sub>H<sub>45</sub>F<sub>2</sub>O<sub>8</sub>P

M. M.: 698,73

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 1,33-1,39 (m, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 3,75 (dd, 1H, J<sub>6-5</sub> = 5,1 Hz; J<sub>6-6'</sub> = 10,5 Hz, H-6); 3,97-4,00 (m, 2H, H-5 et H-6'); 4,14 (dd, 1H, J<sub>4-3</sub> = 6,0 Hz; J<sub>2-3</sub> = 3 Hz; H-3); 4,22-4,33 (m, 5H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP e H-4); 4,47-4,78 (m, 9H, 4CH<sub>2</sub> benzílicos e H-2); 7,31-7,35 (m, 20H, H-aromáticos).

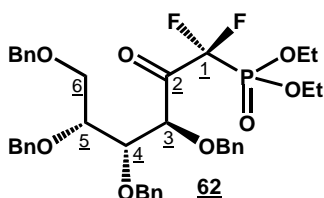
RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75,5 MHz,  $\delta$ ): 16,6 (d,  $J_{\text{COP}} = 5,7$  Hz;  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 64,9 (t,  $J_{\text{COP}} = 6,5$  Hz;  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 69,7 (C-6); 71,2 (dt,  $J_{\text{CCF}} = 22,6$  Hz;  $J_{\text{CCP}} = 12,8$  Hz, C-2); 72,3; 73,2; 73,5; 74,1 ( $\text{CH}_2$  - benzílicos); 75,8 (d,  $J = 6,5$  Hz, C-3); 79,3; 79,7 (C-4 e C-5); 127,9; 128,2; 128,4; 128,5; 128,6 (C-aromáticos), 137,9; 138,0; 138,4; 138,5 (C-*ipso*).

RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 282,4 MHz,  $\delta$ , referência externa  $\text{C}_6\text{F}_6$  em  $\text{CDCl}_3$ ): desacoplado ao hidrogênio: 46,36 (dd,  $J_{\text{P-F1}} = 100,8$  Hz;  $J_{\text{F1-F2}} = 303,7$  Hz); 45,57 (dd,  $J_{\text{F1-H}} = 6,6$  Hz;  $J_{\text{P-F1}} = 99,4$  Hz;  $J_{\text{F1-F2}} = 304,3$  Hz); 38,08 (ddd,  $J_{\text{F2-H}} = 22,7$  Hz;  $J_{\text{P-F2}} = 103,4$  Hz;  $J_{\text{F1-F2}} = 304,0$  Hz); 35,46 (ddd,  $J_{\text{P-F2}} = 103,4$  Hz;  $J_{\text{F1-F2}} = 304,8$  Hz).

RMN de  $^{31}\text{P}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 121,5 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{D}_2\text{O}$ ): desacoplado ao hidrogênio: 6,2 (dd,  $J_{\text{P-F1}} = 104,9$ ;  $J_{\text{P-F2}} = 99,2$  Hz); 6,3 (dd,  $J_{\text{P-F2}} = 103,5$  Hz;  $J_{\text{P-F1}} = 101,1$  Hz).

### **5.2.38 Síntese de 3,4,5,6-tetra-O-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-1-(O-dietilfosforil)-D-frutose 62** (FOX et al., 2005).

Em um balão de fundo redondo, sob atmosfera de argônio e em banho de gelo, foi dissolvido 0,40g (0,58 mmol) do difluorometilfosfonato **58** em 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Foram adicionados 2 mL (0,3 g; 0,69 mmol) de solução do Reagente de Dess-Martin (15% em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Após uma hora foi observado por CCD (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /hexano 8:2), o consumo do material de partida. À mistura reagente foram acrescentados 20 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  30% m/v e 30 mL de acetato de etila, e a agitação foi mantida durante 5 min. As fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (3x 20 mL). As fases orgânicas agrupadas foram lavadas com 20 mL de solução saturada de NaCl, secadas sob  $\text{MgSO}_4$ , filtradas e e concentradas à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (hexano/acetato de etila 9:1) e o produto esperado **62** foi obtido na forma de um óleo transparente (0,33 g; 0,48 mmol; 83% de rendimento). EM (ESI+, m/z) para  $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{F}_2\text{O}_8\text{PNa}$  (M+Na) 719,2562. Encontrado: 719,2555.  $[\alpha]_{\text{D}}$ : 51,32 (*c* 1,  $\text{CHCl}_3$ ).



F. M.:  $\text{C}_{38}\text{H}_{43}\text{F}_2\text{O}_8\text{P}$

M. M.: 696,27

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 1,32-1,38 (m, 6H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 3,58 (dd, 1H,  $J_{6-6'} = 10,7$  Hz,  $J_{6-5} = 3,9$  Hz, H-6); 3,72 (dd, 1H,  $J_{6'-6} = 10,7$  Hz;  $J_{6'-5} = 2,3$  Hz, H-6'); 3,85-3,86 (m, 1H, H-5); 4,24-4,36 (m,



7H, 2H-benzílicos, 4H-CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP e H-4); 4,44-4,55 (m, 3H, H-benzílicos); 4,69 (d, 1H,  $J_{gem}$  = 12,6 Hz, H-benzílico); 4,99 (sl, 1H, H-3); 7,17-7,36 (m, 20H, H-aromáticos).

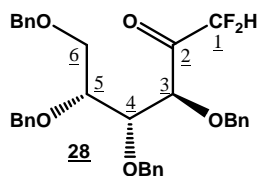
RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75,5 MHz,  $\delta$ ): 16,5 (d,  $J_{COP}$  = 5,5 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 66,0 (d,  $J_{COP}$  = 7,4 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OP); 68,7 (C-6); 72,2; 73,0; 73,5; 74,0 (CH<sub>2</sub>-benzílicos); 77,5 (C-5); 77,8 (d,  $J_{C-P}$  = 3,4 Hz, C-4); 81,5 (C-3); 127,2; 127,6; 127,8; 128,0; 128,1; 128,4; 128,5; 128,6; 128,7; 129,2; 129,9; 130,3 (CH-aromáticos); 137,5; 137,7; 138,4; 138,6 (C-*ipso* aromáticos).

RMN de <sup>19</sup>F (CDCl<sub>3</sub>, 282,4 MHz,  $\delta$ , referência C<sub>6</sub>F<sub>6</sub> em CDCl<sub>3</sub>): desacoplado ao hidrogênio: 48,74 (dd,  $J_{P-F}$  = 93,2 Hz;  $J_{F-F}$  = 321,3 Hz); 41,70 (dd,  $J_{P-F}$  = 96,6 Hz;  $J_{F-F}$  = 321,3 Hz).

RMN de <sup>31</sup>P (CDCl<sub>3</sub>, 121,5 MHz,  $\delta$ , referência H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em D<sub>2</sub>O): desacoplado ao hidrogênio: 3,08 (dd,  $J_{P-F}$  = 96,2 Hz;  $J_{P-F}$  = 94,0 Hz).

### **5.2.39 Síntese de 3,4,5,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose 28 a partir de 62** (PIETTRE et al., 1996b; FOX et al., 2005).

O difluorometilfosfonato **62** (0,335 g; 0,48 mmol) foi dissolvido em 3,5 mL de metanol anidro e mantido sob atmosfera de argônio e em banho de gelo e NaCl (-10°C). O metóxido de sódio (13 mg, 0,24 mmol) dissolvido em 0,5 mL de metanol anidro foi acrescentado à mistura reagente. Após 30 minutos, foi detectado por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3, revelador: solução etanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% v/v) que o material de partida havia sido consumido. Foram acrescentados 20 mL de acetato de etila e 10 mL de solução saturada de NaCl. As fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (3x 15 mL). As fases orgânicas reunidas foram secadas em MgSO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) e o produto foi obtido na forma de um óleo transparente (0,2 g; 0,36 mmol) e com 74% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na (M+Na) 583,2272 e EM (ESI-, m/z) para C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (M-H) 559,2296. Encontrados 583,2274 (M+ Na) e 559,2300 (M- H).  $[\alpha]_D = -8,6$  (CHCl<sub>3</sub>, c 1,0)



FM: C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

MM: 560,63 g/mol

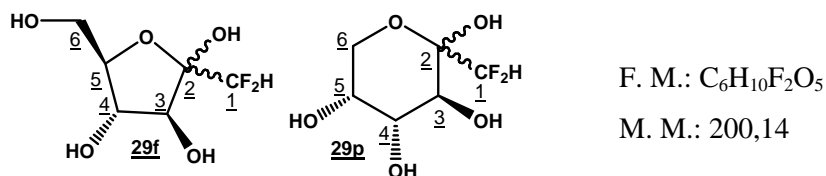
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 3,68 (dd, 1H,  $J_{6,6'} = 11,4$  Hz;  $J_{6,5} = 5,2$  Hz, H-6); 3,76-3,81 (m, 2H, H-6' e H-5); 4,18 (dd, 1H,  $J_{5,4} = 6,7$  Hz;  $J_{4,3} = 5,2$  Hz, H-4); 4,35-4,71 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -benzílicos e H-3); 5,80 (t, 1H,  $J_{\text{H-F}} = 53,8$  Hz, H-1); 7,19-7,35 (m, 20H, H-aromáticos).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75,5 MHz,  $\delta$ ): 68,4 (C-6); 72,0; 73,6; 73,8; 74,4 (C- benzílicos); 78,0 (C-5); 79,3 (C-4); 83,3 (C-3); 108,8 (t,  $J_{\text{C-F}} = 250,1$  Hz; C-1); 127,9; 128,0; 128,1; 128,2; 128,3; 128,4; 128,5; 128,6; 128,7 (C-aromáticos); 137,0; 137,6; 137,8; 138,1 (C-*ipso*); 196,8 (t,  $J_{\text{CC-F}} = 23,1$  Hz, C-2).

RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 282,4 MHz, referência externa  $\text{C}_6\text{F}_6$  em  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): (desacoplado ao hidrogênio) 32,64 (dd,  $J_{\text{F1-F2}} = 313,6$  Hz;  $J_{\text{F1-H}} = 54,1$ Hz); 34,04 (dd,  $J_{\text{F1-F2}} = 312,7$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 53,2$  Hz).

#### **5.2.40 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose 29** (STORZ et al., 1998).

A uma solução do material de partida **28** (0,15 g; 0,27 mmol) dissolvido em 3 mL de uma mistura THF/ $\text{H}_2\text{O}$  2:1 foram adicionados 60 mg do catalisador Pd-C 10%. A suspensão foi mantida durante 40 horas, à temperatura ambiente no reator Parr. Após esse tempo, foi verificado por CCD (eluente: acetato de etila; revelador: solução etanólica de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  15% v/v) e por RMN de  $^{19}\text{F}$  que a reação havia terminado. O catalisador foi filtrado e o solvente foi removido até resíduo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica utilizando um sistema de coletor automático. As condições empregadas foram: por 15 min. gradiente hexano 100% a acetato de etila 100%, e em seguida, 15 min. acetato de etila. As frações apropriadas foram reunidas e concentradas à pressão reduzida até resíduo. Foram obtidos 28,4 mg (0,14 mmol) de uma mistura de produtos desprotegidos, **29p** e **29f**, o que corresponde a 52% de rendimento. EM (ESI+, m/z) para  $\text{C}_6\text{H}_9\text{F}_2\text{O}_5$  (M-H) 199,0412. Encontrado: 199,0412 (M- H).



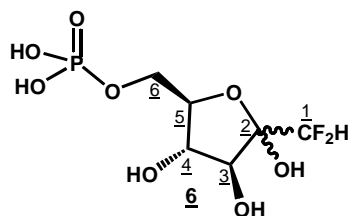
RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 3,57 (dd, 1H,  $J = 12,6$  Hz;  $J = 5,9$  Hz); 3,65 (d, 1H,  $J = 1,8$  Hz); 3,69-3,71 (m, 1H); 3,74-3,81 (m, 6H); 3,92-4,03 (m, 6H); 4,13-4,15 (m, 1H); 5,75 (t, 1H,  $J_{\text{F-H}} = 54,7$  Hz; H-1); 5,81 (t, 1H,  $J_{\text{F-H}} = 54,6$  Hz; H-1); 5,85 (t, 1H,  $J_{\text{F-H}} = 54,3$  Hz; H-1).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 75,5 MHz,  $\delta$ ): 61,0; 61,6; 63,8 (C-6); 66,9; 68,6; 69,2 (CH); 73,8; 74,9; 75,8 (CH); 80,8; 81,7; 83,2 (CH); 95,2 (t,  $J_{\text{C-F}} = 21,3$  Hz, C-2); 97,8 (C-2); 113,1 (t,  $J_{\text{C-F}} = 249,5$  Hz, C-1); 113,4 (t,  $J_{\text{C-F}} = 246,5$  Hz, C-1).

RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 282,4 MHz,  $\delta$ , referência  $\text{C}_6\text{F}_6$  em  $\text{CDCl}_3$ ): acoplado ao hidrogênio: 20,33 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 285,7$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 54,4$  Hz); 24,93 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 292,4$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 54,4$  Hz); 26,61 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 292,4$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 52,9$  Hz); 26,86 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 288,1$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 54,4$  Hz); 28,02 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 288,1$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 54,4$  Hz); 28,75 (dd,  $J_{\text{F-F}} = 285,8$  Hz;  $J_{\text{F-H}} = 54,4$  Hz).

#### **5.2.41 Síntese de 1-desoxi-1,1-difluoro-D-frutose-6-fosfato 6** (BESSEL et al., 1973).

Foi dissolvido 23 mg (0,115 mmol) de **29** em 2,5 mL de água destilada e foram acrescentados 95 mg (0,173 mmol) de ATP e 47 mg (0,23 mmol) de  $\text{MgCl}_2$  a esta solução. O pH foi ajustado a 8,2 por adição de solução de NaOH 0,5 mol/L. Em seguida, foram adicionados 9,7 mg (360 unidades) de hexoquinase dissolvido em 1 mL de água destilada. A agitação foi mantida por 21 horas à temperatura ambiente até que foi verificado, por CCD (eluente: acetonitrila/solução de  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  9,5 mmol/L 8:2; revelador: solução 1% de  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$  em benzeno) e por RMN de  $^{19}\text{F}$ , que a reação não mais evoluía. Foram acrescentados à mistura reagente 3 g de carvão ativado (previamente tratado com HCL 1 mol/L e lavado com água destilada até pH 7). Em seguida a suspensão foi filtrada e lavada com água destilada e o filtrado foi evaporado até um volume de aproximadamente 4 mL. A mistura reagente foi tratada com carvão ativado, após ser concentrada, foi submetida à purificação por cromatografia em coluna de troca iônica em resina *BIORAD*<sup>®</sup> *AGI-X8* (100 a 200 mesh) utilizando 200 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  a um gradiente de 0,1 a 0,3 mol/L. As frações apropriadas foram agrupadas, concentradas à pressão reduzida e liofilizadas. Foram obtidos 21 mg de **6** (0,07 mmol; 61% de rendimento), um sólido branco amorfo. EM (ESI, m/z) para  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{F}_2\text{O}_8\text{PNa}$  (M+Na) 303,1. Encontrado: 303,0 (M+Na).



F. M.:  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{F}_2\text{O}_8\text{P}$

M. M.: 280,12

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 3,80-3,84 (m, 1H, H-6); 3,88-3,91 (m, 2H, H-6' e H-5); 4,17-4,22 (m, 2H, H-3 e H-4); 5,80 (t, 1H,  $J_{\text{F-H}} = 54,6$  Hz;  $\text{CF}_2\text{H}$ ).

RMN de  $^{19}\text{F}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 282,4 MHz,  $\delta$ , referência TFA em  $\text{D}_2\text{O}$ ): -61,38 (dd,  $J_{\text{F-F}}= 291,0$  Hz;  $J_{\text{F-H}}= 55,6$  Hz); -59,15 (dd,  $J_{\text{F-F}}= 288,1$  Hz;  $J_{\text{F-H}}= 55,6$  Hz); -58,85 (dd,  $J_{\text{F-F}}= 292,4$  Hz;  $J_{\text{F-H}}= 52,3$  Hz); -58,0 (dd,  $J_{\text{F-F}}= 287,1$  Hz;  $J_{\text{F-H}}= 52,3$  Hz).

### 5.3 Ensaios Biológicos

**5.3.1 Determinação da atividade enzimática** (Laboratório de enzimologia – ICSN-CNRS, França) (GHOSH et al., 1962; BURGHARDT et al., 2004; BADET et al., 1987).

A GlnS disponível no laboratório foi obtida, caracterizada e quantificada pela Dra. Céline Roux. O ensaio de atividade foi realizado em placa de 96 poços. Foi utilizada solução tampão contendo: solução de diidrogenofosfato de potássio 100 mmol/L pH 7,2; solução de cloreto de potássio 50 mmol/L; solução de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) 1 mmol/L. Foram utilizadas também 4  $\mu\text{L}$  de solução de Fru6P 0,4 mmol/L e 4  $\mu\text{L}$  de solução de glutamina (Gln) 4 mmol/L. Os inibidores foram usados nas seguintes concentrações: ADGP de 0-0,5 mmol/L e as substâncias a serem testadas de 0-7 mmol/L e enzima, foi usado 10  $\mu\text{L}$ . O volume final em cada poço foi de 100  $\mu\text{L}$ , que foi completado com a solução tampão. Após a adição dos reagentes a placa foi incubada a 37°C por 10 min. e em seguida foi adicionado 0,06 unidades de GlnS para iniciar a reação. Após 30 minutos a reação foi interrompida pela adição de 10  $\mu\text{L}$  de solução de anidrido acético 1,5% em acetona, recém preparada, e 50  $\mu\text{L}$  de solução 0,2 mol/L de tetraborato de potássio. A solução foi deixada a 80°C por 30 minutos e então a microplaca foi centrifugada. Em seguida, foram adicionados 130  $\mu\text{L}$  do reagente de Erlich (10% m/v de *p*-dimetilaminobenzaldeído dissolvido em 87% de ácido acético/13% de ácido clorídrico concentrado) em cada poço. A quantidade de GlcN6P formada foi medida pelo valor da absorbância do aduto de Erlich formado a 585 nm. A velocidade inicial de formação da GlcN6P, em função da concentração do inibidor possibilitou a determinação do valor de  $\text{CI}_{50}$  (a inibição fornece uma velocidade inicial igual a 50% da velocidade na ausência de inibidor). Os valores obtidos para os fosfatos **2** e **3** estão descritos na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1** – Inibição de GlnS por ADGP, e os compostos **2** e **3**.

<i>Substância</i>	<i><math>\text{CI}_{50}</math>, mmol/L<sup>*</sup></i>
<b>ADGP</b>	0,294 ( $\pm$ 0,07)
<b>2</b>	3,156 ( $\pm$ 1,00)
<b>3</b>	3,220 ( $\pm$ 1,70)

\*valores médios de três experimentos, desvio padrão em parênteses.

### **5.3.2 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro***

**5.3.2.1 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar** (Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico – Departamento de Produtos Farmacêuticos – Faculdade de Farmácia – UFMG) (GAVIN, 1957).

As substâncias **8, 30, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 44** e **47**, obtidas nesse trabalho, foram avaliadas contra bactérias (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), fungo filamentosos (*Aspergillus niger* ATCC 16404) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601, *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida tropicalis* ATCC 1641), na concentração de 1 mg/mL, em teste de difusão em ágar.

O controle utilizado nos testes com fungo e leveduras foi solução aquosa de anfotericina B, na concentração de 2 mg/mL em água destilada, armazenada sob refrigeração, no prazo máximo de uma semana. Para os testes de atividade antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* utilizou-se como controle a solução aquosa de gentamicina, na concentração de 1 mg/mL. Para as demais bactérias o controle utilizado foi solução aquosa de cloranfenicol, na concentração de 1 mg/mL. No momento dos testes, discos de papel foram impregnados com 10 mL da solução controle de anfotericina B, 10 mL da solução controle de gentamicina e 10 mL da solução controle de cloranfenicol. As substâncias a serem testadas foram utilizadas na concentração de 1 mg/mL do solvente adequado e o disco impregnado com 20 mL da solução a ser testada. Como branco foi utilizado disco impregnado com 20 mL do solvente utilizado para solubilizar cada substância testada. Após incubação a 37 °C por vinte e quatro horas (bactérias), setenta e duas horas (*Aspergillus niger*) e quarenta e oito horas (leveduras), mediu-se o halo de inibição com auxílio de paquímetro. Todos os testes foram feitos em triplicata. Todas as substâncias avaliadas não apresentaram atividade, na concentração de 1 mg/mL.

**5.3.2.2 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de diluição seriada** (Laboratório de micologia – Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biológicas- UFMG).

Para o teste de atividade antifúngica foram utilizados os microrganismos: *Candida albicans* ATCC 18804, *Candida krusei* ATCC 20298, *Sacharomyces cerevisiae* ATCC 2601, que foram estocados em ágar Sabouraud, e *Escherichia coli* ATCC 8739, que foi mantida em meio sólido BHI. Os microrganismos foram repicados 24 horas antes da realização do ensaio e foram deixados em estufa a

35°C. Em uma placa de 96 poços foi colocada a solução dos compostos testados, **2S** e **3R**, dissolvidos em meio RPMI em suas sucessivas diluições (as concentrações finais testadas foram de 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156, 0,078 e 0,039 mg/mL). O inóculo foi preparado a partir de uma suspensão de cada cultura jovem em solução salina estéril a 0,85% m/v e com leitura de 75 a 77% de transmitância a 530 nm (o que corresponde a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Em seguida, o inóculo foi diluído em meio RPMI até a concentração de  $10^3$  UFC/mL. Após a adição dos microrganismos, a placa foi incubada a 35°C e a leitura foi feita visualmente em 24 e 48 horas após incubação. Foi observada a presença de microrganismos (presença de turvação do meio de cultura) nos poços contendo o inibidor na sua maior concentração, 10 mg/mL. Com isso foi concluído que não houve inibição do crescimento dos microrganismos até a concentração de 10 mg/mL das substâncias testadas. O ensaio foi realizado em duplicata e com os controles de crescimento positivo (onde foi utilizado o microrganismo com o meio de cultura) e negativo (onde foi utilizado somente o meio RPMI).

## CONCLUSÕES

Neste trabalho foi relatada a síntese de 48 substâncias, sendo que destas, 38 são inéditas (**1**, **2**, **3**, **9**, **10**, **11**, **12**, **14**, (*R*) e (*S*)-**17**, (*R*) e (*S*)-**18**, (*R*) e (*S*)-**19**, (*R*) e (*S*)-**20**, (*R*) e (*S*)-**21**, (*R*) e (*S*)-**22**, (*R*)-**23**, **26**, **27**, **31**, **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **38**, **39**, **40**, **41**, **42**, **43**, **44**, **46**, **47**, (*R*)-**48**.

Para a obtenção da fosforamida **1** foram seguidas três rotas sintéticas distintas. Destas, a primeira, *via* derivado benzoilado **9**, não foi concluída devido aos baixos rendimentos das reações de abertura do epóxido com benzoato de sódio e de fosforilação. Uma segunda tentativa foi utilizando o 4-metoxifenol como grupo protetor de C-1, a partir de 3-nitrofenol. Como **1** poderia ser obtido, nesta segunda tentativa, também a partir de 3-aminofenol, foi realizada paralelamente a síntese do intermediário comum **35**, *via* 3-aminofenol. Esta continha uma etapa a menos em relação a rota com o 3-nitrofenol. Após chegar ao intermediário comum para essas duas rotas, **35**, foi observado que, mesmo com uma etapa a mais, a rota a partir de 3-nitrofenol apresentou melhor rendimento que a correspondente, com o 3-aminofenol. No entanto, não foi possível a desproteção do grupo 4-metoxifenila de **36**, inviabilizando essa rota sintética para a obtenção de **1**. Em seguida, uma nova tentativa foi a partir do diol **31** e que utilizou o grupo *tert*-butildimetilsilila como grupo protetor de C-1. Com esta última tentativa, a fosforamida **1** foi obtida com rendimento global de 4%.

Os derivados fosfatos **2** e **3** foram obtidos a partir de 3-nitrofenol e do álcool protegido de serina **15**. Os intermediários tiveram sua pureza enantiomérica comprovada por CLAE em fase quiral e os produtos finais foram obtidos com rendimentos de 19 e 30%, respectivamente. Já as fosforamidas **4** e **5**, foram planejadas de modo que sua síntese seguisse quase a mesma seqüência de reações que os fosfatos, no entanto, ao realizar a etapa de remoção dos grupos benzilas de **22**, ocorreu também a quebra da ligação P-N, não sendo obtido o produto desejado.

O derivado difluorado **6** foi planejado *via* reação da D-arabinose com o difluorometiltiofosfonato de dietila. No entanto, na etapa de solvólise para a quebra da ligação C-P de **27**, não foi obtido o produto desejado. Realizou-se a reação de **25** com o difluorometilfosfonato de dietila e **58** foi obtido com rendimento satisfatório. A partir disso, foi possível a obtenção do derivado protegido **28** que quando submetido à reação de hidrogenação catalítica para a remoção dos grupos benzila, forneceu **29**, uma mistura dos anômeros *alfa* e *beta* das formas furano e piranosídica. O análogo difluorado **6** foi obtido com rendimento global de 11% *via* reação de fosforilação enzimática de **29**

Nenhuma das substâncias testadas apresentou atividade antimicrobiana. As substâncias **8**, **30**, **32**, **33**, **35**, **36**, **38**, **39**, **40**, **41**, **42**, **44** e **47** foram avaliadas contra *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis* pelo método de difusão em ágar, na concentração de 1 mg/mL. Os fosfatos **2** e **3** foram testados contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* pelo método de diluição seriada na concentração de até 10 mg/mL e não apresentaram atividade.

No teste de inibição da GlnS de *Escherichia coli*, pelo método de Moragn-Elson, os fosfatos **2** e **3** mostraram ser inibidores modestos, com valores de  $CI_{50}$  de 3,15 e 3,22 mmol/L, respectivamente.



## REFERÊNCIAS

AINGE, G. D.; PARLANE, N. A.; DENIS, M.; DYER, B. S.; HARER, A.; HAYMAN, C. M.; LARSEN, D. S.; PAINTER, G. F. Phosphatidylinositol Mannoside Ether Analogues: Syntheses and Interleukin-12-Inducing Properties. **J. Org. Chem.**, 72, 5291-5296, 2007.

ALMEIDA, M. V.; DUBREUI, D.; CLEOPHAX, J.; VERRE-SEBRI, C.; PIPELIER, M.; PRESTAT, G.; VASS, G.; GERO, S. D. Stereoselective Synthesis of Inositol Mono, Bis and Trisphosphate Analogues From 6-Deoxy-D-Inositol Precursors. **Tetrahedron**, 55, 7251-7270, 1999.

ANAÏSSIE, E. J. Diagnosis and therapy of fungal infections in patients with leukemia-new drugs and immunotherapy. **Best Pract. Res. Clin. Haematol.**, 21, 683-690, 2008.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. Synthesis of  $N^3$ -fumaramoyl-L-2,3-diaminopropanoic acid analogues, the irreversible inhibitors of glucosamine synthetase. **Int. J. Peptide Protein Res.**, 27, 449-453, 1986.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. Synthesis and biological properties of  $N^3$ -(4-methoxyfumaryl)-L-2,3-diaminopropanoic acid dipeptides, a novel group of antimicrobial agents. **J. Med. Chem.**, 30, 1715-1719, 1987.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; ZIENIAWA, T.; BOROWSKI, E. Antimicrobial properties of  $N^3$ -(iodoacetyl)-L-2,3-diaminopropanoic acid-peptide conjugates. **J. Med. Chem.**, 33, 2755-2759, 1990b.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; MILEWSKI, S.; ZIENIAWA, T.; BOROWSKI, E. Anticandidal properties of  $N^3$ -(4-methoxyfumaryl)-L-2,3-diaminopropanoic acid oligopeptides. **J. Med. Chem.**, 33, 132-135, 1990a.

ARNONE, A.; NOVO, B.; PREGNOLATO, M.; RESNATI, G.; TERRENI, M. Conversion of Thio- and Selenophosphoryl into Phosphoryl Group by Perfluoro *cis*-2,3-Dialkylloxaziridines. **J. Org. Chem.**, 62, 6401-6403, 1997.

ASSUMPCÃO, R. M. V.; MORITA, T. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes**. São Paulo: Edagr Blüncher LTDA, 1967. 627 p.

AUVIN, S.; COCHET, O.; KUCHARCZYK, N.; LE GOFFIC, F.; BADET, B. Synthesis and evaluation of inhibitors for *Escherichia coli* glucosamine-6-phosphate synthase. **Bioorg. Chem.**, 19, 2, 143-151, 1991.

AVERY, M. A.; VERLANDER, M. S.; GOODMAN, M. Synthesis of 6-aminoisoproterenol. **J. Org. Chem.**, 45, 2750-2753, 1980.

AVEZONA, A.; BUSTO, J. H.; CATIVIOLA, C.; CORZANA, F.; PEREGRINA, J. M.; ZURBANO, M. M. Asymmetric Hetero Diels-Alder as an Access to Carbacephams. **J. Org. Chem.**, 67, 598-601, 2002.

AVEZONA, A.; BUSTO, J. H.; CORZANA, F.; JIMÉNEZ-OSÉS, G.; PEREGRINA, J. M. Conformational analysis of *N*-Boc-*N,O*-isopropylidene- $\alpha$ -serinals. A combined DFT and NMR study. **Tetrahedron**, 59, 5713-5718, 2003.

BADET, B.; VERMOOT, P. Y.; HAUMONT, F.; LEDERER, F.; LE GOFFIC, F. Glucosamine synthase from *Escherichia coli*: Purification, Properties, and Glutamine-Utilizing Site Location. **Biochem.**, 26, 1940-1948, 1987.

BADET-DENISOT, M. A.; LERICHE, C.; MASSÈRIE, F.; BADET, B. Nitrogen transfer in *E. coli* glucosamine-6-P synthase. Investigations using substrate and bisubstrate analogs. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 5, 815-820, 1995.

BEARNE, S. L. Active site-directed inactivation of *Escherichia coli* glucosamine-6-phosphate synthase. **J. Biol. Chem.**, 271, 3052-3057, 1996.

BESSEL; E. M.; THOMAS, P. The Deoxyfluoro-D-glucopyranose 6-Phosphates and their Effect on Yeast Glucose Phosphate Isomerase. **Biochem. J.**, 131, 77-82, 1973.

BONNETTE, C.; SALMON, L.; GAUDEMER, A. Synthesis of 5-Phosphate-D-arabinohydroxamic Acid, a Potent Transition State Analogue Inhibitor of 6-Phosphate-D-glucose Isomerase. **Tetrahedron Lett.**, 37, 1221-1224, 1996.

BOROWSKI, E. Novel approaches in the rational design of antifungal agents of low toxicity. **II Farmaco**, 55, 206-208, 2000.

BOUVET, D.; O'HAGAN, D. The synthesis of 1-Fluoro- and 1,1-Difluoro- Analogues of 1-Deoxy-D-xylulose. **Tetrahedron**, 55, 10481-10486, 1999.

BURGHARDT, C. K.; KOCHAN, J. P. Method for measuring glucosamine-6-phosphate. **Eur. Pat. Appl.** EP1431396, 2004.

BURLINGHAM, B. T.; WIDLANSKI, T. S.; Synthesis and Biological Activity of *N*-Sulfonylphosphoramidates: Probing the Electrostatic Preferences of Alkaline Phosphatase. **J. Org. Chem.**, 66, 7561-7567, 2001.

CHENAULT, H. K.; MANDES, R. F.; HORNBERGER, K. R. Synthetic Utility of Yeast Hexokinase. Substrate Specificity, Cofactor Regeneration, and Product Isolation. **J. Org. Chem.**, 62, 331-336, 1997.

CHEVALLIER, O. P.; MIGAUD, M. E. Investigation of acetyl migrations in furanosides. *Beilstein J. Org. Chem.*, 2, 1-6, 2006.

CHITTUR, S. V.; GRIFFITH, R. K. Multisubstrate analogue inhibitors of glucosamine-6-phosphate synthase from *Candida albicans*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12, 2639-2642, 2002.

CHMARA, H.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; BOROWSKI, E. Inactivation of glucosamine-6-phosphate synthetase from *Salmonella typhimurium* LT2 by fumaroyl diaminopropanoic acid derivatives, a novel group of glutamine analogs. *Biochim. Biophys. Acta*, 870, 357-366, 1985.

CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; MIGNINI, F.; BOROWSKI, E. Antibacterial action of dipeptides containing an inhibitor of glucosamine-6-phosphate isomerase. *Microbiol.*, 144, 1349-1358, 1998.

CHOI, Y.; PU, Y.; PEACH, M. L.; KANG, J. H.; LEWIN, N. E.; SIGANO, D. M.; GARFIELD, S. H.; BLUMBERG, P. M.; MARQUEZ, V. E. Conformationally Constrained Analogues of Diacylglycerol (DAG). 28. DAG-dioxolanones Reveal a New Additional Interaction Site in the C1b Domain of PKC  $\xi$ . *J Med. Chem.*, 50, 3465-3481, 2007.

CHOW, C. P.; BERKMAN, C. E. Synthesis of *N*-Phosphoryl Amino Acids via Phosphoramidite Amine-Exchange. *Tetrahedron Lett.*, 39, 7471-7474, 1998.

COREY, E. J.; VENKATESWARLU, A. Protection of hydroxyl groups as tert-butyldimethylsilyl derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 6190-6191, 1972.

COX, R. J.; GIBSON, J. S.; MARTIN, M. B. M. Aspartyl Phosphonates and Phosphoramidates: The First Synthetic Inhibitors of Bacterial Aspartate-Semialdehyde Dehydrogenase. *Chem. Bio. Chem.*, 3, 874-886, 2002.

COX, R. J.; HADFIELD, A. T.; MARTIN, M. B. M. Difluoromethylene analogues of aspartyl phosphate: the first synthetic inhibitors of aspartate semi-aldehyde dehydrogenase. *Chem. Commun.*, 1710-1711, 2001.

CUENCA, A. B.; HOOGE, F.; GOUGE, V.; CASTELOT-DELIENCOURT, G.; OULYADI, H.; LECLERC, E.; JUBAULT, P.; PANNECOUCHE, X.; QUIRION, J.-C. Addition of Ethyl Bromodifluoroacetate to Lactones: Reactivity and Stereoselectivity. *Synlett.*, 17, 2627-2630, 2005.

CZIFRÁK, K.; HADADY, Z.; DOCSA, T.; GERGELY, P.; SCHMIDT, J.; WESSJOHANN, L.; SOMSÁK, L. Synthesis of *N*-( $\beta$ -D-glucopyranosyl) monoamides of dicarboxylic acids as potential inhibitors of glycogen phosphorylase. *Carbohydr. Res.*, 341, 947-956, 2006.

DE LAMO MARIN, S.; MARTENS, T.; MIOSKOWSKI, C.; ROYER, J. Efficient *N-p*-Methoxyphenyl Amine Deprotection through Anodic Oxidation. *J. Org. Chem.*, 70, 10592-10595, 2005.

DE NAPOLI, L.; DE LUCA, S.; DI FABIO, G.; MESSERE, A.; MONTESARCHIO, D.; MORELLI, G.; GENNARO PICCIALLI, G.; TESAURO, D. A Facile Solid-Phase Strategy for the Synthesis of Oligonucleotide–Tetraphenylporphyrin Conjugates. **Eur. J. Org. Chem.**, 1013-1018, 2000.

DEPREZ, P.; MANDINE, E.; GOFFLO, D.; MEUNIER, S.; LESUISSE, D. Small Ligands Interacting with the Phosphotyrosine Binding Pocket of the Src SH<sub>2</sub> Protein. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 12, 1295-1298, 2002.

DESS, D. B.; MARTIN, J. C. Readily Accessible 12-I-5<sup>1</sup> Oxidant for the conversion of Primary and Secondary alcohols to Aldehydes and Ketones. **J. Org. Chem.**, 48, 4155-4156, 1983.

DIXON, K. R. Phosphorous to Bismuth. *In*: MASON, J. **Multinuclear NMR**. New York: Plenum, 1987. 369-402.

DONDONI, A.; PERRONE, D. Synthesis of *N*-(tert-Butoxycarbonyl)-*N,O*-isopropylidene Serinal from Serine Methyl Ester by a reduction-Oxidation Sequence. **Synthesis**, 527-529, 1997.

DURAND, P.; GOLINELLI-PIMPANEAU, B.; MOUILLERON, S.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M. A. Highlights of glucosamine-6-phosphate synthase. **Arch. Biochem. Biophys.**, 474, 302-317, 2008.

FENESAN, I.; POPESCU, R.; SCOZZAFAVA, A.; CRUCIN, V.; MATEICIUC, E.; BAUER, R.; ILIES, M. A.; SUPURAN, C. T. Carbonic Anhydrase Inhibitors; A New Class of High Affinity Inhibitors of Isozymes I and II. **J. Enzyme Inhib.**, 15, 297-310, 2000.

FINLEY, J.B.; ATIGADDA, V.R.; DUARTE, F.; ZHAO, J.J.; BROUILLETTE, W.J.; AIR, G.M.; LUO, M. Novel Aromatic Inhibitors of Influenza Virus Neuraminidase Make Selective Interactions with Conserved Residues and Water Molecules in the Active Site. **J. Mol. Biol.**, 293, 1107-1119, 1999.

FLOQUET, N.; DURAND, P.; MAIGRET, B.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M.-A.; PERAHIA, D. Ordering of C-terminal Loop and Glutaminase Domains of Glucosamine-6-Phosphate Synthase Promotes Sugar Ring Opening and Formation of the Ammonia Channel **J. Mol. Biol.**, 385, 653-664, 2009.

FOHER, C.; FORNECKER, L.; NIVOIX, Y.; CORLINA, C.; MARINESCU, C.; HERBRECHT, R. Antifungal combination treatment: a future perspective. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 27S, S25-S30, 2006.

FOSS, Jr. F. W.; SNYDER, A. H.; DAVIS, M. D. ; ROUSE, M. ; OKUSA, M. D. ; LYNCH, K. R.; MACDONALDA, T. L. Synthesis and biological evaluation of  $\gamma$ -aminophosphonates as potent, subtype-selective sphingosine 1-phosphate receptor agonists and antagonists. **Bioorg. Med. Chem.**, 15, 663-677, 2007.

FOX, D. T.; POULTER, C. D. Synthesis and evaluation of 1-Deoxy-D-Xylulose 5-phosphonic Acid Analogues as Alternate Substrates for Methylerythritol Phosphate Synthase. **J. Org. Chem.**, 70, 1978-1985, 2005.

FUKUYAMA, T.; LAIRD, A. A.; HOTCHKISS, L. M. *p*-Anisyl group: A versatile protecting group for primary alcohols. **Tetrahedron Lett.**, 26, 6291-6292, 1985.

GARNER, P.; PARK, J. M. 1,1-Dimethylethyl (*S*)- or (*R*)-4-formyl-2,2-Dimethyl-3-oxazolidine carboxylate: A Useful Serinal Derivative. **Org. Synth.**, 70, 18-22, 1992.

GARNER, P.; PARK, J. M. The Synthesis and Configurational Stability of Differentially Protected  $\beta$ -Hydroxy- $\alpha$ -amino Aldehydes. **J. Org. Chem.**, 52, 2361-2364, 1987.

GAVIN, J. J. Microbiological Process Report. Analytical Microbiology. II The Diffusion Methods. **Appl. Microbiol.**, 5, 25-33, 1957.

GEOGOPAPADAKOU, N. H.; WALSH, T. J. Human mycoses: Drugs and targets for emerging Pathogens. **Science**, 264, 371-373, 1994.

GHOSH, S.; ROSEMAN, S. Glutamine-D-fructose 6-phosphate transamidase from *Escherichia coli*: D-Fructose 6-phosphate + L-glutamine  $\rightarrow$  D-Glucosamine 6-phosphate + L-glutamate. **Methods Enzymol.**, 5, 414-417, 1962.

GONZÁLEZ-IBARRA, J.; MILEWSKI, S.; VILLAGÓMEZ-CASTRO, J. C.; CANO-CANCHOLA, C.; LÓPEZ-ROMERO, E. *Sporothrix schenckii*: purification and partial biochemical characterization of glucosamine-6-phosphate synthase, a potential antifungal target. **Med. Mycol.**, 1-12, 2009.

GREENE, T. W.; WULTS, P. G. M. **Protective groups in organic chemistry**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 2007. 1082 p.

GRIJALVO, S.; LLEBARIA, A.; DELGADO, A. Straightforward Access to Simplified Sphingosine-1-phosphate Analogues. **Synth. Commun.**, 37, 2737-2751, 2007.

HAGMANN, W. K. The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. **J. Med. Chem.**, 51, 4359-4369, 2008.

HAMMERSCHMIDT, F.; HANBAUER, M. Transformation of arylmethylamines into  $\alpha$ -aminophosphonic acids via metalated phosphoramidates: rearrangement of partly configurationally stable *N*-phosphorylated  $\alpha$ -aminocarbanions. **J. Org. Chem.**, 65, 6121-6131, 2000.

HOULTON, J. S.; MOTHERWELL, W. B.; ROSS, B. C.; TOZER, M. J.; WILLIAMS, D. J.; SLAWIN; A. M. Z. A convenient strategy for replacement of the anomeric hydroxyl group by difluoromethyl functionality in carbohydrate derivatives. **Tetrahedron**, 49, 8087-8106, 1996.

ILIA, G.; PETRIC, M.; MACARIE, L.; ILIESCU, S.; POPA, A. The Phosphorylation of Aniline derivatives in Biphasic Systems. **Phosphorus, Sulfur and Silicon**, 181, 1717-1723, 2006.

ISEKI, K. Catalytic Asymmetric Synthesis of Chiral Fluoroorganic Compounds. **Tetrahedron**, 54, 13887-13914, 1998.

JAMESON, C. J. Fluorine. In: **Multinuclear NMR**. New York:Plenum, 1987. 437-446 p.

JANIAK, A. M.; HOFFMANN, M.; MILEWSKA, M. J.; MILEWSKI, S. Hydrophobic derivatives of 2-amino-2-deoxy-D-glucitol-6-phosphate: a new type of D-glucosamine-6-phosphate synthase inhibitors with antifungal action. **Bioorg. Med. Chem.**, 11, 1653-1662, 2003.

JUNG, M.E.; MIN, S. J. Novel formation of a bridged bicyclic furan by rearrangement of a tetrahydrodecalinone. **Tetrahedron Lett.**, 45, 6753-6755, 2004.

KARCHE, N. P.; PIERRY, C.; POULAIN, F.; OULYADI, H.; LECLERC, E.; PANNECOUCKE, X.; QUIRION, J.-C. Synthesis of  $\beta$ -CF<sub>2</sub>-D-Mannopyranosides and  $\beta$ -CF<sub>2</sub>-D-Galactopyranosides by Reformatsky Addition onto 5-Ketohexoses. **Synlett.**, 1, 123-126, 2007.

KOBAYASHI, H.; OHASHI, J. I.; FUJITA, T.; IWASHITA, T.; NAKAO, T.; MATSUNAGA, T.; FUSEYANI, N. Complete Structure Elucidation of Shishididemniols, Complex Lipids with Tyramine-Derived Tether and Two Serinol Units, from a Marine Tunicate of the Family Didemnidae. **J. Org. Chem.**, 72, 1218-1225, 2007.

KUCHARCZYK, N.; DENISOT, M. A.; LE GOFFIC, F.; BADET, B. Glucosamine-6-phosphate synthase from *Escherichia coli*: determination of the mechanism of inactivation by N<sup>3</sup>-fumaroyl-L-2,3-diaminopropionic derivatives. **Biochem.**, 29, 3668-3676, 1990.

KÜHL, O. **Phosphorus-31 NMR Spectroscopy**. Verlag Berlin Heidelberg : Springer, 2008. 131 p.

LE CAMUS, C.; BADET-DENISOT, M. A.; BADET, B. Arabinose-5-phosphate oxime vs its methylenephosphonate mimetic as high energy intermediate of the glucosamine-6P synthase catalyzed reaction. **Tetrahedron Lett.**, 39, 2571-2572, 1998b.

LE CAMUS, C.; CHASSAGNE, A.; BADET-DENISOT, M. A.; BADET, B. Stereoselective synthesis of 5-methylphosphono-D-arabino hydroximolactone, inhibitor of glucosamine-6-phosphate synthase and phosphoglucose isomerase. **Tetrahedron Lett.**, 39, 287-288, 1998a.

LEE, S. H.; YONN, J.; CHUNG, S. H.; LEE, Y. S. Efficient asymmetric synthesis of 2,3-diamino-3-phenylpropanoic acid derivatives. **Tetrahedron**, 57, 2139-2145, 2001.

LERICHE, C.; BADET-DENISOT, M. A.; BADET, B. Affinity labeling of *Escherichia coli* glucosamine-6-phosphate synthase with a fructose-6-phosphate analog. **Eur. J. Biochem.**, 245, 418-422, 1997.

LEVINA, A. S.; MIKHALEVA, E. A.; REPKOVA, M. N.; ZARYTOVA, V. F. Synthesis of Polyamine-Containing Oligonucleotides. **Russ. J. Bioorg. Chem.**, 34, 80-86, 2008.

LIANG, X.; ANDERSCH, J.; BOLS, M. Garner's aldehyde. **J. Chem. Soc., Perkin Trans 1**, 2136-2157, 2001.

LIZARZABURU, M. E.; SHUTTLEWORTH, S. J. Synthesis of Aryl Ethers from aminoalcohols using polymer-supported triphenylphosphine. **Tetrahedron Lett.**, 43, 2157-2159, 2002.

MARVIN, C. C.; VOIGHT, E. A.; BURKE, S. D. Synthesis of (+)-Didemnerinolipid B via Ketalization/Ring-Closing Metathesis. **Org. Lett.**, 9, 5357-5359, 2007.

MASAKI, Y.; YOSHIZAWA, K.; ITOH, A. Total synthesis of thromboxane B<sub>2</sub> starting from (R,R)-tartaric acid as a chiral pool. **Tetrahedron Lett.**, 37, 9321-9324, 1996.

MASSIÈRE, F.; BADET-DENISOT, M.-A. The mechanism of glutamine-dependent amidotransferases. **Cell. Mol. Life Sci.**, 54, 205-222, 1998.

MATSUZAKI, Y.; ITO, Y.; NAKAHARA, Y.; OGAWA, T. Synthesis of branched poly-N-acetyl-lactosamine type pentaantennary pentacosasaccharide: Glycan part of a glycosyl ceramide from rabbit erythrocyte membrane **Tetrahedron Lett.**, 34, 1061-1064, 1993.

MEFFRE, P.; DURAND, P.; BRANQUET, E.; LE GOFFIC, F. A Straightforward synthesis of *N*-Boc-L-serinal and *N*-Boc-L-threoninal acetonides. **Synth. Commun.**, 24, 2147-2152, 1994.

MEFFRE, P.; GAUZY, L.; DURAND, P.; BRANQUET, E.; LE GOFFIC, F. Synthesis of Optically Active  $\beta,\gamma$ -Alkynylglycine Derivatives. **Tetrahedron**, 52, 11215-11238, 1996.

MELCER, A.; Lacka, I.; GABRIEL, I.; WOJCIECHOWSKI, M.; LIBEREK, B.; WISNIEWSKI, A.; MILEWSKI, S. Rational design of *N*-alkyl derivatives of 2-amino-2-deoxy-D-glucitol-6P as antifungal agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 17, 6602-6606, 2007.

MILEWSKI, S. Glucosamine-6-phosphate synthase – the multi-facets enzyme. **Biochim. Biophys. Acta**, 1597, 173-192, 2002.

MILEWSKI, S.; CHMARA, H.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; BOROWSKI, E. Synthetic derivatives of  $N^3$ -fumaroyl-L-2,3-diaminopropanoic acid inactivate glucosamine synthetase from *Candida albicans*. **Biochim. Biophys. Acta**, 828, 247-254, 1985.

MILEWSKI, S.; HOFFMANN, M.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; BOROWSKI, E. Investigation of mechanism of nitrogen transfer in glucosamine 6-phosphate synthase with the use of transition state analogs. **Bioorg. Chem.**, 25, 283-296, 1997.

MILEWSKI, S.; JANIAK, A.; WOJCIECHOWSKI, M. Structural analogues of reactive intermediates as inhibitors of glucosamine-6-phosphate synthase and phosphoglucose isomerase. **Arch. Biochem. Biophys.**, 450, 39-49, 2006.

MITSUNOBU, O The use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. **Synthesis**, 1-28, 1981.

MONACHE, G. D.; Di GIOVANNI, M. C.; MAGGIO, F.; MISITI, D.; ZAPPIA, G. Convenient Preparation of *O*-Benzyl-*N*-Cbz-D-serinol, an Intermediate in  $\beta$ -Hydroxy- $\alpha$ -amino Acid Synthesis. **Synthesis**, 1155-1158, 1995.

MOUILLERON, S.; BADET-DENISOT, M.-A.; GOLINELLI-PIMPANEAU, B. Ordering of C-terminal Loop and Glutaminase Domains of Glucosamine-6-Phosphate Synthase Promotes Sugar Ring Opening and Formation of the Ammonia Channel **J. Mol. Biol.**, 377, 1174-1185, 2008.

MOUIRELLON, S.; BADET-DENISOT, M.-A.; GOLINELLI-PIMPANEAU, B. Glutamine Binding Opens The Ammonia Channel and Activates Glucosamine-6P Synthase **J. Biol. Chem.**, 281, 4404-4412, 2006.

MUNRO, C. A.; GOW, N. A. R. Chitin biosynthesis as a target for antifungals *In*: DIXON, G. K.; COPPING, L. G.; HOLLDMON, D. W. (Ed.) **Antifungals Agents – Discovery and mode of Action**. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd, 1995. 292p.

NICOLAOU, K. C.; XU, J.-Y.; KIM, S.; OHSHIMA, T.; HOSOKAWA, S.; PFEFFERKORN, J. Synthesis of the Tricyclic Core of Eleutherobin and Sarcodictyins and Total Synthesis of Sarcodictyin A. **J. Am. Chem. Soc.**, 119, 11353-11354, 1997.

NIESCHALK, J.; BATSANOV, A. S.; O'HAGAN, D.; HOWARD, J. Synthesis of monofluoro- and difluoro- methylenephosphonate analogues of sn-glycerol-3-phosphate as substrates for glycerol-3-phosphate dehydrogenase and the X-ray structure of the fluoromethylenephosphonate moiety. **Tetrahedron**, 52, 165-176, 1996.

OBAYASHI, M.; ITO, E.; MATSUI, K.; KONDO, K. (Diethylphosphoryl)Difluoromethylithium – Preparation and Synthetic Application. **Tetrahedron Lett.**, 23, 2323-2326, 1982.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J. P.; GROW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **TRENDS in Microbiol.**, 11, 272-279, 2003.



OHKUBO, A.; KUWAYAMA, Y.; KUDO, T.; TSUNODA, H.; SEIO, K.; SEKINE, M. *O*-Selective Condensation Using P-N Bond Cleavage in RNA Synthesis without Base Protection. **Org. Lett.**, 10, 2793-2796, 2008.

OHLSSON, J.; MAGNUSSON, G. A Short and practical route to 3-*O*-benzoyl azidosphingosine. **Carbohydr. Res.**, 331, 91-94, 2001.

PAVÉ, G.; USSE-VERSLUYS, S.; VIAUD-MASSUARD, M.-C.; GUILLAUMET, G. Synthesis of 3-Aminochroman Derivatives by Radical Cyclization. **Org. Lett.**, 5, 4253-4256, 2003.

PELLETIER, J. C.; KINCAID, S. Mitsunobu reaction modifications allowing product isolation without chromatography: application to a small parallel library. **Tetrahedron Lett.**, 41, 797-800, 2000.

PIETTRE, S. R.; GIROL, C.; SCHELCHER, C. G. A New Strategy for the Conversion of Aldehydes into Difluoromethyl Ketones. **Tetrahedron Lett.**, 37, 4711-4712, 1996b.

PIETTRE, S. R.; RABOISSON, P. Easy and General Access to a  $\alpha,\alpha$ -Difluoromethylene Phosphonothionic Acids. A New Class of Compounds. **Tetrahedron Lett.**, 37, 2229-2232, 1996a.

PIGNARD, S.; LOPIN, C.; GOUHIER, G.; PIETTRE, S. R. Phosphonodifluoromethyl and Phosphonothiodifluoromethyl Radicals. Generation and Addition onto Alkenes and Alkynes. **J. Org. Chem.**, 71, 31-37, 2006.

RACZYNSKA, J.; OLCHOWY, J.; KONARIEV, P. V.; SVERGUN, D. I.; MILEWSKI, S.; RYPNIEWSKI, R. The Crystal and Solution Studies of Glucosamine-6-phosphate Synthase from *Candida albicans*. **J. Mol. Biol.**, 372, 672-688, 2007.

RAHIL, J.; HAAKE, P. Reactivity and Mechanism of Hydrolysis of Phosphoramides. **J. Am. Chem. Soc.**, 103, 1723-1734, 1981.

RAIBER, E.-A.; WILKINSON, J.A.; MANETTI, F.; BOTA, M.; DEAKIN, J.; GALLAGHER, J.; LYON, M.; DUCKI, S.W. Novel heparin/heparan sulfate mimics as inhibitors of HGF/SF-induced MET activation **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 17, 6321-6325, 2007.

ROUSH, W. R.; HUNT, J. A. Asymmetric Allylboration of 2-*N*,3-*O*-Isopropylidene-*N*-Boc-*L*-serinal: Diastereoselective Synthesis of the Calicheamicin  $\gamma^1$  Amino Sugar. **J. Org. Chem.**, 60, 798-806, 1995.

SCHICK, A.; KOLTER, T.; GIANNIS, A.; SANDHOFF, K. Synthesis of Phosphoramidate Analogues of Sphinganine-1-phosphate. **Tetrahedron**, 52, 2945-2956, 1996.

SCHWENDER, C. F.; FARBER, S.; BLAUM, C.; SHAVEL, J. Derivatives of 3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalenone as  $\beta$ -adrenergic blocking agents. 1. Bunolol and related analogs. **J. Med. Chem.**, 13, 684-688, 1970.

SILVERBERG, L. J.; DILLON, J. L.; VEMISHETTI, P. A Simple, Rapid and Efficient Protocol for the Selective Phosphorylation of Phenols with Dibenzyl Phosphite. **Tetrahedron Lett.**, 37, 771-774, 1996.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. John Wiley & Sons, Inc LTC: Rio de Janeiro. 2006. 490 p.

STORZ, T.; VASELLA, A. N-Monoalkylation of Tetra-O-benzyl-D-arabinonamide: Synthesis of Some Open-Chain Analogues of N-Acetylneuraminic acid and Their Evaluation as Sialidase Inhibitors. **Helv. Chim. Acta**, 81, 1896-1907, 1998.

SURENDRA, K.; KRISHNAVENI, N. S.; NAGESWAR, Y. V. D.; RAO, K. R. Highly regioselective ring opening of oxiranes with phenoxides in the presence of  $\beta$ -cyclodextrin in water. **J. Org. Chem.**, 68, 4994-4995, 2003.

TEODOROVIC, P.; SLÄTTERGARD, R.; OSCARSON, S. Improved synthesis of 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose. **Carbohydr.Res.**, 340, 2675-2676, 2005.

TEPLYAKOV, A.; LERICHE, C.; OBMOLOVA, G.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M. A. From Lobry de Bruyn to enzyme-catalyzed ammonia channelling: molecular studies of D-glucosamine-6P synthase. **Nat. Prod. Rep.**, 19, 60-69, 2002.

TEPLYAKOV, A.; OBMOLOVA, G.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M.-A. Channeling of ammonia in Glucosamine-6-phosphate Synthase **J. Mol. Biol.**, 313, 1093-1102, 2001.

TEPLYAKOV, A.; OBMOLOVA, G.; BADET-DENISOT, M. A.; BADET, B.; POLIKARPOV, I. Involvement of the C terminus in intramolecular nitrogen channeling in glucosamine 6-phosphate synthase: evidence from a 1.6 Å crystal structure of the isomerase domain. **Structure**, 6, 1047-1055, 1998.

THANDER, L.; SARKAR, K.; CHATTOPADHYAY, S. K. Stereoselective synthesis of 2-azetidinyglycine and aminopyrrolidone derivatives from Garner's aldehyde. **Tetrahedron Asymmetry**, 20, 1213-1216, 2009.

TOKUNAGA, M.; LARROW, J. F.; KAKIUCHI, F.; JACOBSEN, E. N. Asymmetric catalysis with water: efficient kinetic resolution of terminal epoxides by means of catalytic hydrolysis. **Science**, 277, 936-938, 1997.

TROST, B. M.; GUNZNER, J. L.; DIRAT, O.; RHEE, Y. H. Callipeltoside A: Total synthesis, assignment of the absolute and relative configuration, and evaluation of synthetic analogues. **J. Am. Chem. Soc.**, 124, 10396-10415, 2002.

TUNOORI, A. R.; DUTTA, D.; GEORG, G. I. Polymer-Bound Triphenylphosphine as Traceless Reagent for Mitsunobu Reactions in Combinatorial Chemistry: Synthesis of Aryl Ethers from Phenols and Alcohols. **Tetrahedron Lett.**, 39, 8751-8754, 1998.

VERKADE, J. M. M.; VAN HEMERT, L. J. C.; QUAEDFLIEG, P. J. L. M.; ALSTERS, P. L.; VAN DELFTA, F. L.; RUTJES, P. J. T. Mild and efficient deprotection of the amine protecting *p*-methoxyphenyl (PMP) group. **Tetrahedron Lett.**, 47, 8109-8113, 2006.

VIANA, R. M. R.; PRADO, M. A. F.; ALVES, R.J. Síntese e modificações de derivados heterocíclicos de D-arabinose: potenciais inibidores de glicose-6-fosfato isomerase e de glicosamina-6-fosfato sintase. **Quim. Nova**, 31, 1710-1713, 2008.

WALKER, B.; BROWN, M. F.; LYNAS, J. F.; MARTIN, S. L.; McDOWELL, A.; BADET, B.; HILL, A. J. Inhibition of *Escherichia coli* glucosamine synthetase by novel electrophilic analogues of glutamine – comparison with 6-diazo-5-oxo-norleucine. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 10, 2795-2798, 2000.

WARREN, L.; GOTTSCHLK, A. (Ed.) *Glycoproteins*, p. 1097-1126, Amsterdam: Elsevier, 1972. *Apud* CHMARA, H.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; BOROWSKI, E. Inactivation of glucosamine-6-phosphate synthetase from *Salmonella typhimurium* LT2 by fumaroyl diaminopropanoic acid derivatives, a novel group of glutamine analogs. **Biochim. Biophys. Acta**, 870, 357-366, 1985.

WEBER, W. P.; GOKEL, G. W. An improved procedure for the Hofmann carbylamine synthesis of isonitriles. **Tetrahedron Lett.**, 13, 1637-1640, 1972.

WHELAN, W. L.; BALLOU, C. E. Sporulation in D-Glucosamine Auxotrops of *Saccharomyces cerevisiae*: Meiosis with Defective Ascospore Wall Formation. **J. Bacteriol.**, 124, 1545-1557, 1975.

WILLIAMS, L.; ZHANG, Z.; SHAO, F.; CARROLL, P. J.; JOULLI, M. M. Grignard Reactions to Chiral Oxazolidine Aldehydes. **Tetrahedron**, 52, 11673-11694, 1996.

WINGARD, J. R., LEATHER, H. A new era of antifungal therapy. **Biol. Blood Marrow Transpl.**, 10, 73-90, 2004.

WOJCIECHOWSKI, M.; MILEWSKI, S.; MAZERSKI, J.; BOROWSKI, E. Glucosamine-6-phosphate synthase, a novel target for antifungal agents. Molecular modelling studies in drug design. **Acta Biochim. Pol.**, 52, 647-653, 2005.

WONG, C.-H.; WHITESIDES, G. M. Synthesis of Sugars by Aldoses-Catalysed Condensation Reactions. **J. Org. Chem.**, 48, 3199-3205, 1983.

XU, Y.; XU, J.H.; PAN, J.; ZHAO, L.; ZHANG, S. L. Biocatalytic resolution of nitro-substituted phenoxypropylene oxides with *Trichosporon loubierii* epoxide hydrolase and prediction of their enantiopurity variation with reaction time. **J. Mol. Catal.B: Enzym.**, 27, 155-159, 2004.

YU, K.-L.; FRASER-REID, F.; GROSS, P. M. A Novel Reagent for the Synthesis of *myo*-Inositol Phosphates: *N,N*-Diisopropyl Dibenzyl Phosphoramidite. **Tetrahedron Lett.**, 29, 979-982, 1988.

ZGÓDKA, D.; JEDRZEJCZAK, R.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. Amide and ester derivatives of *N*<sup>3</sup>-(4-methoxyfumaroyl)-(S)-2,3-diaminopropanoic acid: the selective inhibitor of glucoasamine-6-phosphate synthase. **Bioorg. Med. Chem.**, 9, 931-938, 2001.

ZWIERZAK, A. Phase-Transfer-Catalysed Phosphorylation of Amines in an Aqueous System. **Synthesis**, 507-509, 1975.