

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Izabel Luzia Miranda

**ESTUDOS DE NOVAS ROTAS PARA A SÍNTESE ESTEREOSSELETIVA DA
(-)-CITOXAZONA E DA (+)-5-*EPI*-CITOXAZONA E ENSAIOS DE
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Belo Horizonte
2019

UFMG/ICEx/DQ. 1331^a
T. 606^a

Izabel Luzia Miranda

**ESTUDOS DE NOVAS ROTAS PARA A SÍNTESE ESTEREOSSELETIVA DA
(-)-CITOXAZONA E DA (+)-5-*EPI*-CITOXAZONA E ENSAIOS DE
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

Belo Horizonte
2019

Ficha Catalográfica

M672m Miranda, Izabel Luzia
2019 Estudos de novas rotas para a síntese
T estereosseletiva da (-)-citoxazona e da (+)-5-epi-
citoxazona e ensaios de atividade antibacteriana
[manuscrito] / Izabel Luzia Miranda. 2019.
[xvi], 153 f. : il.

Orientador: Gaspar Diaz Muñoz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses 2. Citocinas - Teses 3.
Agentes antibacterianos - Teses 4. Olefinas - Teses 5.
Estafilococos aureos - Teses 6. Estereoquímica - Teses
I. Muñoz, Gaspar Diaz, Orientador II. Título.


CDU 043

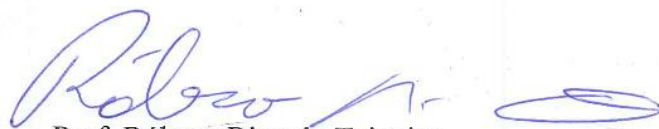
"Estudos de Novas Rotas para a Síntese Estereosseletiva da (-)-Citoxazona e da (+)-5-*epi* -Citoxazona e Ensaios de Atividade Antibacteriana"


Izabel Luzia Miranda

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Gaspar Diaz Muñoz - Orientador
UFMG


Prof. Giovanni Wilson Amarante
UFJF


Prof. Róbson Ricardo Teixeira
UFV


Prof. Claudio Luis Donnici
UFMG


Prof. Amanda Silva de Miranda
UFMG

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me permitir chegar até aqui colocando tantas pessoas maravilhosas em meu caminho nesse percurso, essa foi uma das maneiras através das quais eu senti Sua presença nos momentos mais difíceis.

Agradeço ao meus pais, Rosa e José Carlos, pelo seu amor infinito e incondicional. Por suas orações e principalmente pela sua fé em Deus e em mim, nos momentos em que eu começava a perdê-las, pois foi o que me amparou e não me deixou desistir.

Aos meus irmãos Ana e José Danizete, pelos momentos de leveza em dias difíceis, por torcerem por mim e por compartilhar momentos bons e ruins.

Ao Gabriel pelo amor, amizade e companheirismo durante todos esses anos.

À Megzinha, que mesmo por um breve período, fez meus dias mais felizes.

Ao professor Gaspar pela grande oportunidade de aprendizado, pela confiança e ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório 280 e da Química: Suélen, Ana Luísa e Rafael, pela amizade, pelos conselhos e apoio; à Izabela, Ítala, Daniele, Karolyna, Gabriel, Lorena, Marcela, Flaviana, Pedro, Davi, Paulo, Nayara, Carolina e Alix, cujas convivências, mais longas ou mais curtas, também me trouxeram muito aprendizado.

Ao professor Claudio Luis Donnici pela sua confiança quando ingressei no doutorado, pelos conselhos e amizade.

Aos professores, técnicos e demais funcionários do departamento de Química, que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho, em especial à D. Sandra e ao Sr. Luiz pelo carinho e solicitude.

Às funcionárias da secretaria de Pós-graduação: Alessandra, Lilian, Fabiana e Ana Carolina por sempre nos receberem e auxiliarem de maneira atenciosa.

À Raquel e à Betânia pela disponibilidade em realizar os experimentos para obtenção de espectros no IV e de rotação específica.

À professora Marisa A. N. Diaz, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, pela realização dos ensaios para avaliação de atividade antibacteriana.

Aos órgãos de fomento: CAPES, pela bolsa concedida, ao CNPq e FAPEMIG, pelos financiamentos possibilitaram a realização de nossas pesquisas.

E à UFMG pela infraestrutura.

Sumário

Abreviações e Símbolos	iv
Lista de figuras	v
Lista de esquemas	vii
Lista de tabelas	ix
Lista de anexos	ix
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
Apresentação	xivi
CAPÍTULO 1	1
Síntese total estereosseletiva da (–)-citoxazona e da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona	1
1. Introdução geral	2
1.1. Oxazolidinonas	6
1.1.1. (–)-Citoxazona e (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona	12
1.1.1.1. Sínteses totais da (–)-citoxazona e da <i>epi</i> -citoxazona	14
1.2. Objetivos gerais	29
1.2.1. Objetivos específicos	29
CAPÍTULO 1	30
PARTE I	30
Rota sintética para a obtenção da (–)-citoxazona e da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir D-4-hidroxi-fenilglicina	30
2. Resultados e discussão	31
2.1. Rota sintética para a obtenção da (–)-citoxazona a partir D-4-hidroxi-fenilglicina tendo uma reação de condensação de Claisen como etapa-chave	31
2.2. Síntese da (–)-citoxazona e da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir da D-4-hidroxi-fenilglicina através de uma reação de adição de cianeto ao seu respectivo aminoaldeído	38
2.3. Conclusões	54
CAPÍTULO 1	55
PARTE II	55
Síntese total estereosseletiva da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir do D-manitol	55
3.1. Resultados e discussão	56
3.2. Conclusões	81
CAPÍTULO 2	82
Ensaio antibacteriano dos compostos e intermediários preparados frente às cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas de animais com mastite bovina	82
4.1. Introdução	83
4.2. Resultados e discussão	85

4.2.1. Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	85
4.3. Conclusões	88
CAPÍTULO 3	89
PARTE EXPERIMENTAL	89
5. Material e Métodos	90
5.1. Purificação de solventes	90
5.1.1. Tetraidrofurano	90
5.1.2. Diclorometano	91
5.1.3. Trietilamina e di-isopropiletilamina (DIPEA).....	91
5.1.4. Dimetilformamida	91
5.1.5. Dimetilsulfóxido	91
5.1.6. Metanol, etanol e <i>terc</i> -butanol.....	91
5.1.7. Acetato de etila	91
5.2. Procedimentos sintéticos referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I	92
5.2.1. Preparação do (2 <i>R</i>)-[(<i>terc</i> -butoxicarbonil)amino](4-metoxifenil)acetato de metila (74)	92
5.2.2. Preparação do (<i>S</i>)-2-((<i>terc</i> -butoxicarbonil)amino)-3-fenilpropanoate de etila (77)	93
5.2.3. Preparação do (<i>S</i>)-4-((<i>terc</i> -butoxicarbonil)amino)-3-oxo-5-fenilpentanoato de etila (78).....	94
5.2.4. Preparação do (1 <i>R</i>)-2-hidroxi-1-(4-metoxifenil)etil)carbamato de <i>terc</i> -butila (81)	95
5.2.5. Preparação do IBX (1-hidroxi-1,2-benziodoxol-3(H)-ona-1-óxido).....	96
5.2.6. Preparação da periodinana de Dess-Martin	96
5.2.7. Preparação do (<i>R</i>)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]carbamato de <i>terc</i> -butila (80)	97
5.2.7.1. Oxidação de Swern.....	97
5.2.7.2. Oxidação empregando periodinana de Dess-Martin.....	97
5.2.7.3. Oxidação empregando IBX (1-hidroxi-1,2-benziodoxol-3(H)-ona-1-óxido)	98
5.2.8. Preparação do 2-ciano-2-hidroxi-1-(4-metoxifenil)etil)carbamato de <i>terc</i> -butila (79a e 79b)	98
5.2.9. Preparação dos (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- e (4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-4-(4-metoxifenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilatos de metila (83 e 84)	99
5.2.10. (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- 4-(4-metóxifenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilato de metila (83) ..	100
5.2.11. (4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)- 4-(4-metóxifenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilato de metila (84)...	100
5.2.12. Preparação da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona e da (-)-citoxazona	101

5.2.12.1. (-)-citoxazona.....	101
5.2.12.2. (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona	101
5.3. Procedimentos sintéticos referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II.....	102
5.3.1. Preparo do 3,3-dimetoxipentano.....	102
5.3.2. Preparação do (1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1,2-bis((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)etano-1,2-diol (91)	103
5.3.3. Preparação do cloreto de (4-metoxi-benzil)-trifenil-fosfônio (89).....	104
5.3.4. Preparação do 2,3- <i>O</i> -(3-pentilideno)-(<i>R</i>)-gliceraldeído (90).....	105
5.3.5. Preparação das olefinas 88a e 88b	105
5.3.5.1. (<i>S,Z</i>)-2,2-dietil-4-(4-metoxiestiril)-1,3-dioxolano (88a):.....	106
5.3.5.2. (<i>S,E</i>)-2,2-dietil-4-(4-metoxiestiril)-1,3-dioxolano (88b):.....	106
5.3.6. Preparação dos diois 87a e 87b	107
5.3.6.1. (1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1-((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etano-1,2-diol (87a):	107
5.3.6.2. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etano-1,2-diol (87b):	108
5.3.7. Preparação do (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-2-azido-1-((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etanol (92).....	108
5.3.8. Preparação do (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-2-amino-1-((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etanol (85).....	109
5.3.9. Preparação da (4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-[(1 <i>R</i>)-1,2-di-hidroxi-1,3-dioxolan-4-il]-4-(4-metoxifenil)-1,3-oxazolidin-2-ona (93)	110
5.3.10. Preparação da 5- <i>epi</i> -citoxazona.....	111
5.3.11. Preparação de (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>R</i>)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-hidroxi-1-(4-metóxi- <i>epi</i> -fenil)etil)carbamato de <i>terc</i> -butila (95)	112
ANEXOS	113
6.1. Espectros no infravermelho referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I.....	114
6.2. Espectros no infravermelho referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II	119
6.3. Espectros de RMN referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I	122
6.4. Espectros de RMN referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II	133
6.5. Espectros de massas de alta resolução referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I..	145
6.5. Espectros de massas de alta resolução referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II .	148
ARTIGOS REFERENTES A ESSE TRABALHO	151

Abreviações e Símbolos

δ	Deslocamento químico em relação ao tetrametilsilano
J	Constante de acoplamento escalar em Hertz (Hz)
HRMS (ESI)	<i>High Resolution Mass Spectrometry (Electrospray Ionization)</i>
IV	Infravermelho
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
DEPT	<i>Distortion Enhancement by Polarization Transfer</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
s	Simpleto
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
t	Tripleto
m	multipleto
MHz	Megahertz
Tf	Temperatura de fusão
CCD	Cromatografia em camada delgada
m/z	Razão massa/carga
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
AcOEt	Acetato de etila
THF	Tetraidrofurano
DMF	Dimetilformamida
(+)-CSA	(+)-ácido canforsulfônico
IBX	1-hidroxi-1,2-benziodoxol-3(H)-ona-1-óxido
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMSO	Dimetilsulfóxido
NMO	<i>N</i> -óxido de 4-metilmorfolina
MCC	<i>Multi Column Chromatography</i>

Lista de figuras

Figura 1. Estruturas químicas do ácido (+)- e (-)-tartárico.....	2
Figura 2. Estrutura química <i>S</i> -anfetamina.....	3
Figura 3. Interconversão entre os enantiômeros <i>R</i> - e <i>S</i> -talidomida.....	4
Figura 4. Exemplos de fármacos racêmicos substituídos pela sua versão enantiomericamente pura entre 1994 e 2011.....	5
Figura 5. Anel oxazolidin-2-ona.....	6
Figura 6. Exemplos de substratos empregados na síntese de oxazolidinonas.....	7
Figura 7. Primeiras oxazolidinonas antibacterianas reportadas por pesquisadores da DuPont.....	8
Figura 8. Agentes antibacterianos não tóxicos, linezolida e eperezolida.....	8
Figura 9. Linezolida, primeiro agente antimicrobiano da classe das oxazolidinonas.....	9
Figura 10. Mecanismo de ação da Linezolida na inibição das primeiras etapas de síntese protéica.....	9
Figura 11. Estrutura do fosfato de tedizolida.....	10
Figura 12. Oxazolidinonas que apresentaram atividades anticâncer.....	10
Figura 13. Auxiliares quirais contendo o núcleo oxazolidinona.....	11
Figura 14. Estrutura da (-)-citoxazona.....	12
Figura 15. Estrutura da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona (não natural).....	13
Figura 16. Oxazolidinonas híbridas citoxazona-linezolida e <i>epi</i> -citoxazona-linezolida.....	13
Figura 17. Exemplos de substratos e etapas-chave envolvidas em algumas rotas sintéticas descritas na literatura para obtenção da (-)-citoxazona e da 5- <i>epi</i> -citoxazona..	15
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do éster etílico indesejado.....	33
Figura 19. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) do éster etílico indesejado.....	34
Figura 20. Subespectro Dept (50 MHz, CDCl ₃) do éster etílico indesejado.....	34
Figura 21. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do β-cetoéster 78	36
Figura 22. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do β-cetoéster 78	37
Figura 23. Espectro no infravermelho do álcool 81	40
Figura 24. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do aldeído 80	42
Figura 25. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do aldeído 80	42
Figura 26. Modelo Felkin-Ahn para a reação de adição de cianeto à carbonila.....	45

Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da cianoidrina em mistura 1,2- <i>anti</i> (79a) e 1,2- <i>syn</i> (79b)	46
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da cianoidrina em mistura 1,2- <i>anti</i> (79a) e 1,2- <i>syn</i> (79b).	47
Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura das oxazolidinonas derivadas 82a e 82b	48
Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura das oxazolidinonas derivadas 82a e 82b	49
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster 83 , precursor da (-)-citoxazona.....	50
Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster 84 , precursor da 5- <i>epi</i> -citoxazona.	51
Figura 33. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6) da 5- <i>epi</i> -citoxazona.....	52
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (-)-citoxazona.	52
Figura 35. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) da (-)-citoxazona.....	33
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do cloreto de (4- metoxi-benzil)-trifenil-fosfônio (89).	60
Figura 37. Classificação da estabilidade e reatividade dos íldeos.....	61
Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da olefina 88a	62
Figura 39. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) da olefina 88a	62
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da olefina 88a	63
Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da olefina minoritária <i>E</i> 88b ...	64
Figura 42. Espectro no infravermelho do diol 87a	67
Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do diol 87a	68
Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de D_2O) do diol 87a	68
Figura 45. Espectro no Infravermelho do sulfito 86	69
Figura 46. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do sulfito 86	70
Figura 47. Espectro no infravermelho do azidoálcool 92	71
Figura 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) azidoálcool 92	72
Figura 49. Espectro no infravermelho do aminoálcool 85	73
Figura 50. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do aminoálcool 85	74
Figura 51. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de D_2O) do aminoálcool 85	74

Figura 52. Espectro no IV da oxazolidinona 93	75
Figura 53. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6) da oxazolidinona 93	76
Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6) da oxazolidinona 93	77
Figura 55. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário 95	79
Figura 56. Mecanismo da reação de inversão de Mitsunobu.	80
Figura 57. Fotografia da microplaca empregada no ensaio para determinação qualitativa e visual da CIM.	86
Figura 58. Estrutura da cefoperazona.....	86

Lista de esquemas

Esquema 1. Primeiras sínteses totais da (-)-citoxazona reportadas por Sakamoto e colaboradores ²⁷ (em azul) e por Mori e Seki ²⁸ (em vermelho).	17
Esquema 2. Síntese quimioenzimática da (-) e (+)-citoxazona.	18
Esquema 3. Síntese total da (-)-citoxazona a partir do (<i>S</i>)-2,3- <i>O</i> -isopropilidengliceraldeído.	19
Esquema 4. Síntese total da (-)-citoxazona partindo de uma imida quirál.	20
Esquema 5. Síntese dos enantiômeros (-)- e (+)-citoxazona através do acoplamento de Petasis.	21
Esquema 6. Abordagem sintética para obtenção da (-)- e (+)-citoxazona empregando rearranjo imino 1,2-Wittig de hidroximatos.	22
Esquema 7. Síntese total da (-)-citoxazona empregando <i>N-terc</i> -butanossulfinil imina como auxiliar quirál.	23
Esquema 8. Síntese da (4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)- <i>epi</i> -citoxazona utilizando a reação de Henry.	24
Esquema 9. Síntese total da (-)-citoxazona proposta por Sudalai e equipe.	25
Esquema 10. Abordagem sintética da (-)-citoxazona por meio de uma aminação estereosseletiva.	26
Esquema 11. Síntese da (+)- <i>epi</i> -citoxazona empregando resolução cinética de Sharpless.	27
Esquema 12. Análise retrossintética para obtenção da (-)-citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina.	31
Esquema 13. Rota sintética preparação da (-)-citoxazona por meio de uma reação de condensação de Claisen.	32

Esquema 14. Rota para obtenção do produto de condensação de Claisen derivado da L-fenilalanina.	35
Esquema 15. Análise retrossintética para obtenção da (-)-citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina.	38
Esquema 16. Síntese da (-)-citoxazona e da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina por meio de adição de cianeto.	39
Esquema 17. Mecanismo da reação de oxidação de Swern.	41
Esquema 18. Mecanismo de oxidação de álcoois empregando periodinana de Dess-Martin.	43
Esquema 19. Análise retrossintética da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir do D-manitol....	57
Esquema 20. Rota sintética para a obtenção da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona a partir do D-manitol.	58
Esquema 21. Cicloadição [2+2] irreversível de Vedejs (1973).	60
Esquema 22. Ciclo catalítico da reação de di-hidroxilação empregando OsO ₄ /NMO...	65
Esquema 23. Mecanismo da redução do grupo azido.	73
Esquema 24. Mecanismo para a reação de ciclização, seguida da hidrólise do grupo cetol, para a síntese de 93 empregando trifosgênio.	75
Esquema 25. Análise retrossintética da (-)-citoxazona a partir do aminoálcool 85	78
Esquema 26. Rota sintética para a obtenção da (-)-citoxazona a partir do aminoálcool 85	78

Lista de tabelas

Tabela 1. Estereosseletividade em reações de di-hidroxição empregando OsO ₄	66
Tabela 2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da (+)-5- <i>epi</i> -citoxazona e dos intermediário 85 e 93 frente aos isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> ..	87

Lista de anexos

Anexo 1. Espectro no infravermelho do éster 74	114
Anexo 2. Espectro no infravermelho do éster 77	114
Anexo 3. Espectro no infravermelho do β-cetoéster 78	115
Anexo 4. Espectro no infravermelho do aldeído 80	115
Anexo 5. Espectro no infravermelho da mistura de cianoidrinas 79a e 79b	116
Anexo 6. Espectro no infravermelho do derivado oxazolidinona 83	116
Anexo 7. Espectro no infravermelho do derivado oxazolidinona 84	117
Anexo 8. Espectro no infravermelho da (-)-citoxazona.	117
Anexo 9. Espectro no infravermelho da 5- <i>epi</i> -citoxazona.	118
Anexo 10. Espectro no infravermelho do diol 91	119
Anexo 11. Espectro no infravermelho do sal de Wittig 89	119
Anexo 12. Espectro no infravermelho do sal da <i>Z</i> -olefina 88a	120
Anexo 13. Espectro no infravermelho do sal da <i>E</i> -olefina 88b	120
Anexo 14. Espectro no infravermelho do sal do diol minoritário (<i>syn</i>) 87b	121
Anexo 15. Espectro no infravermelho do aminoálcool <i>N</i> -Boc protegido 95	121
Anexo 16. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do éster 74	122
Anexo 18. Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) do derivado <i>N</i> -Boc protegido da L-fenilalanina.	122
Anexo 18. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do derivado <i>N</i> -Boc protegido da L-fenilalanina.	123
Anexo 19. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do éster derivado da L-fenilalanina.	123
Anexo 20. Espectro de RMN de ¹ H do produto de homocondensação do acetato de etila (200 MHz, CDCl ₃)	124
Anexo 21. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do β-cetoéster 78	124
Anexo 22. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do álcool 81	125
Anexo 23. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do álcool 81	125

Anexo 24. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do álcool 81	126
Anexo 25. Subespectro Dept (100 MHz, CDCl ₃) do aldeído 80	126
Anexo 26. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) da mistura das oxazolidinonas derivadas 82a e 82b	127
Anexo 27. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do éster 84	127
Anexo 28. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do éster 83	128
Anexo 29. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da 5- <i>epi</i> -citoxazona.	128
Anexo 30. Subespectro DEPT (100 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da 5- <i>epi</i> -citoxazona.	129
Anexo 31. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da 5- <i>epi</i> -citoxazona....	130
Anexo 32. Mapa de contornos COSY (400 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da 5- <i>epi</i> -citoxazona....	130
Anexo 33. Mapa de contornos HMQC (400 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da 5- <i>epi</i> -citoxazona....	131
Anexo 34. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da (-)-citoxazona.	132
Anexo 35. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do 3,3-dimetoxipentano.	133
Anexo 36. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) do 3,3-dimetoxipentano.	133
Anexo 37. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do diol 91	134
Anexo 38. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do diol 91	134
Anexo 39. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do diol 91	135
Anexo 40. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do aldeído 90	135
Anexo 41. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do aldeído 90	136
Anexo 42. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do aldeído 90	136
Anexo 43. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) do sal de Wittig (89).	137
Anexo 44. Subespectro DEPT (50 MHz, CDCl ₃) do sal de Wittig (89).	137
Anexo 45. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) da olefina 88a	138
Anexo 46. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do diol 80a	138
Anexo 47. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do diol 80a	139
Anexo 48. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do diol minoritário (80b).....	139
Anexo 49. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) diol minoritário (80b).....	140
Anexo 50. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) diol minoritário (80b).....	140
Anexo 51. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do sulfito 86	141
Anexo 52. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do sulfito 86	141
Anexo 53. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do azidoálcool 92	142
Anexo 54. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do azidoálcool 92	142
Anexo 55. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do aminoálcool 85	143

Anexo 56. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do aminoálcool 85	143
Anexo 57. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do aminoálcool <i>N</i> -Boc protegido 95	144
Anexo 58. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl ₃) do aminoálcool <i>N</i> -Boc protegido 95	144
Anexo 59. Espectro de massas (ESI-MS) do éster 74	145
Anexo 60. Espectro de massas do β-cetoéster 78	145
Anexo 61. Espectro de massas (ESI-MS) álcool 81	146
Anexo 62. Espectro de massas (ESI-MS) da mistura de cianoidrinas 79a e 79b	146
Anexo 63. Espectro de massas (ESI-MS) do éster 84	146
Anexo 64. Espectro de massas (ESI-MS) do éster 83	147
Anexo 65. Espectro massas (ESI-MS) da 5- <i>epi</i> -citoxazona.	147
Anexo 66. Espectro massas (ESI-MS) da (-)-citoxazona.	147
Anexo 67. Espectro massas (ESI-MS) do diol 91	148
Anexo 68. Espectro massas (ESI-MS) do sal de Wittig 89	148
Anexo 69. Espectro massas (ESI-MS) da olefina 88a	149
Anexo 70. Espectro massas (ESI-MS) do diol 87a	149
Anexo 71. Espectro de massas (ESI-MS) do azidoálcool 92	149
Anexo 72. Espectro massas (ESI-MS) do aminoálcool 85	150
Anexo 73. Espectro massas (ESI-MS) da oxazolidinona 93	150
Anexo 74. Espectro massas (ESI-MS) do aminoálcool <i>N</i> -Boc protegido 95	150

RESUMO

As oxazolidinonas compreendem uma classe de compostos naturais e sintéticos que apresentam atividade antibacteriana contra uma ampla variedade de bactérias Gram-positivas. Nessa classe destacam-se a (-)-citoxazona e seus isômeros, como a (+)-5-*epi*-citoxazona. No presente trabalho foram desenvolvidas novas rotas sintéticas estereosseletivas partindo dos substratos quirais, D-4-hidroxifenilglicina que forneceu a (-)-citoxazona e a (+)-5-*epi*-citoxazona, e D-manitol, que forneceu a (+)-5-*epi*-citoxazona. A abordagem para a síntese da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona foi realizada em 9 etapas, com rendimentos globais de 6 e 14%, respectivamente, a partir da D-4-hidroxifenilglicina. A principal etapa dessa abordagem baseia-se na adição estereosseletiva de NaCN ao aminoaldeído *N*-Boc protegido ((*R*)-1-(4-metóxifenil)-2-oxoetil]carbamato de *terc*-butila) que forneceu a mistura das cianoidrinas, 2-ciano-2-hidroxi-1-(4-metoxifenil)etil)carbamato de *terc*-butila, 1,2-*anti* e 1,2-*syn*, com 89% de rendimento. Entretanto, essa etapa evidenciou somente uma razoável estereosseletividade (1,0:1,84) em favor do produto *anti*-Felkin-Anh, a cianoidrina 1,2-*syn*, precursor da *epi*-citoxazona. A mistura dessas cianoidrinas não pôde ser separada por cromatografia em coluna. As etapas seguintes foram realizadas com essa mistura para a obtenção dos isômeros oxazolidinônicos (4*R*,5*R*)- e (4*R*,5*S*)-4-(4-metoxifenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilatos de metila (**83** e **84**). Essa nova mistura foi separada por cromatografia em coluna, evidenciando a estereosseletividade obtida na etapa de adição de cianeto. Finalmente, os derivados **83** e **84** foram, individualmente, submetidos a reações de redução da função éster, levando à (-)-citoxazona e a (+)-5-*epi*-citoxazona.

A segunda estratégia para a síntese do anel oxazolidinona, produziu o isômero não natural (+)-5-*epi*-citoxazona, em 8 etapas, com rendimento global de 17% via uma nova rota a partir do 2,3-*O*-(3-pentilideno)-(*R*)-gliceraldeído (**90**), proveniente do D-manitol como o material de partida quiral. Essa estratégia se baseou em dois pilares fundamentais. A reação de olefinação de Wittig entre o (*R*)-gliceraldeído cetal (**90**) com o ilídeo, gerado a partir do cloreto de (4-metoxi-benzil)-trifenil-fosfônio, levou à formação preferencial da olefina (*S,Z*)-2,2-dietil-4-(4-metoxiestiril)-1,3-dioxolano (**88a**) (*Z:E* 4:1), após extensos esforços para a sua purificação em coluna cromatográfica. Na outra etapa-chave, o grupo volumoso do alceno cetal **88a** permitiu o controle intramolecular dos centros assimétricos da molécula alvo na di-hidroilação, promovido pela aproximação do OsO₄ à face oposta ao grupo cetal volumoso, proporcionando a formação majoritária do (1*S*,2*S*)-1-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etano-1,2-diol (**87a**), denominado *anti* (*anti/syn* 6:1), com 72% de rendimento, após a separação da mistura por cromatografia em coluna. Subseqüentes etapas a partir do diol **87a**, sulfociclicização, abertura

regiosseletiva do anel sulfito com azida de sódio, redução do grupo azida e *N,O*-heterociclicização, levaram ao derivado (4*R*,5*S*)-5-[(1*R*)-1,2-di-hidroxietil]-4-(4-metoxifenil)-1,3-oxazolidin-2-ona (**93**). Finalmente, a clivagem oxidativa do diol **93** e redução do aldeído resultante produziu a (+)-5-*epi*-citoxazona, com 79% de rendimento (duas etapas).

Os valores de rotação específica encontrados para a (–)-citoxazona e a (+)-5-*epi*-citoxazona se mostraram condizentes com os descritos na literatura. Ensaio preliminares para determinação de concentração inibitória mínima (CIM) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* foram realizados empregando os intermediários (1*S*,2*R*)-2-amino-1-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etanol (**85**) e **93**, bem como a (+)-5-*epi*-citoxazona, apontando o aminoálcool **85** como potencial agente antibacteriano, apresentando CIM de 0,25 mg/mL para as cepas de *S. aureus* 8923, 9000 e 9005, e de 0,12 mg/mL para as cepas de *S. aureus* 8907 e 8908.

Palavras chaves: (–)-citoxazona, (+)-5-*epi*-citoxazona, D-4-hidroxifenilglicina, D-manitol, olefinação de Wittig, di-hidroxilação estereosseletiva.

ABSTRACT

Oxazolidinones comprise a class of natural and synthetic compounds which exhibit antibacterial activity against a wide variety of Gram-positive bacteria. In this class, (–)-cytoxazone and its isomers, such as (+)-5-*epi*-cytoxazone, stand out. In the present work, new synthetic stereoselective routes were developed from chiral substrates, D-4-hydroxyphenylglycine that provided the (–)-cytoxazone and (+)-5-*epi*-cytoxazone and D-mannitol, which provided (+)-5-*epi*-cytoxazone. The first approach to the synthesis of (–)-cytoxazone and (+)-5-*epi*-cytoxazone was performed in 9 steps, with overall yields of 6 and 14%, respectively, from D-4-hydroxyphenylglycine. The main step of this approach is based on the stereoselective addition of NaCN to the protected *N*-Boc amino (*N*-Boc) (*tert*-butyl ((*R*)-1-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl] carbamate) which provided the mixture of the cyanohydrins, 2-cyano-2-hydroxy-1-(4-methoxyphenyl)ethyl carbamate, 1,2-*anti* and 1,2-*syn* in 89% yield. This step showed a reasonable stereoselectivity (1.0:1.84) in favor of the *anti*-Felkin-Anh product, the 1,2-*syn* cyanohydrin, precursor of (+)-5-*epi*-cytoxazone. The mixture of these cyanohydrins could not be separated by column chromatography. The following steps were carried out with the mixture to obtain the oxazolidinonic (4*R*,5*R*)- and (4*R*,5*S*)-4-(4-methoxyphenyl)-2-oxazolidine-5-carboxylates of methyl isomers (**83** and **84**). This new mixture was separated by column chromatography, allowing to determine the stereoselectivity obtained in the cyanide addition step. Finally, derivatives **83** and **84** were individually subjected to ester function reduction reactions, leading to (–)-cytoxazone and (+)-5-*epi*-cytoxazone.

The second strategy for the synthesis of the oxazolidinone ring produced 5-*epi*-cytoxazone, a non-natural isomer in 8 steps in overall yield of 17% via a new route from 2,3-*O*-(3-pentylidene)-(*R*)-glyceraldehyde (**90**), derived from D-mannitol as the chiral starting material. This strategy was based on two fundamental pillars. The Wittig olefination reaction between the (*R*)-glyceraldehyde ketal (**90**) and the ylide generated from (4-methoxy-benzyl)-triphenylphosphonium chloride led to the preferential formation of the (*S*, *Z*)-2,2-diethyl-4-(4-methoxystyryl)-1,3-dioxolane (**88a**) (*Z*:*E* 4:1) after extensive efforts for chromatographic column purification. In the other key step, the volatile ketal alkene group (**88a**) allowed the intramolecular control of the asymmetric centers of the target molecule in the dihydroxylation, promoted by the approximation of OsO₄ to the opposite face to the volumetric ketal group, providing the majority formation of (1*S*,2*S*)-1-((*R*)-2,2-diethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(4-methoxyphenyl) ethane-1,2-diol (**87a**), named *anti* (6: 1), in 72% yield after separation of the mixture by column chromatography. Subsequent steps from diol **87a**, sulfocyclization, regioselective open of the sulphite ring with sodium azide, reduction of the azide group and *N,O*-

heterocyclization led to (4*R*,5*S*)-5-[(1*R*)-1,2-dihydroxyethyl]-4-(4-methoxyphenyl)-1,3-oxazolidin-2-one (**93**). Finally, oxidative cleavage of diol **93** and reduction of the resulting aldehyde gave (+)-5-*epi*-cytoxazone in 79% yield (two steps).

The specific rotation values found for (–)-cytoxazone and (+)-5-*epi*-citoxazone were in agreement with those described in the literature. Preliminary assays for determination of minimal inhibitory concentration (MIC) against *S. aureus* strains were performed employing the intermediates (1*S*,2*R*)-2-amino-1-((*R*)-2,2-diethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(4-methoxyphenyl) ethanol (**85**), **93** as well as (+)-5-*epi*-cytoxazone, pointing to aminoalcohol **85** as a potential antibacterial agent, having an MIC of 0.25 mg/mL for *S. aureus* strains 8923, 9000 and 9005, and 0.12 mg/mL for strains *S. aureus* 8907 and 8908.

Keywords: (–)-cytoxazone, (+)-5-*epi*-cytoxazone, D-4-hydroxyphenylglycine, D-manitol, Wittig olefination, stereoselective dihydroxylation.

Apresentação

O presente trabalho trata da síntese total da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona, compostos pertencentes à classe das oxazolidin-2-onas, que são oxazolidinas cujo átomo de carbono entre os átomos de oxigênio e nitrogênio se encontra oxidado.

Diversos compostos da classe das oxazolidinonas destacam-se por apresentarem diversas atividades biológicas como antibacteriana, anticancerígena, antialérgica, dentre outras. Atualmente, dois fármacos quirais (linezolida e fosfato de tedizolida), pertencentes à essa classe de compostos, se encontram disponíveis comercialmente para a utilização em tratamentos de infecções bacterianas

Nessa classe de compostos, despontam também a (-)-citoxazona, composto isolado de bactérias do gênero *Streptomyces* e seu isômero sintético a (+)-5-*epi*-citoxazona. Ambos demonstraram promissoras atividades farmacológicas, como antibacteriana por exemplo, impulsionando o interesse pelo desenvolvimento de novas rotas estereosseletivas para a sua obtenção.

Nesse contexto, apresentamos no primeiro capítulo (Parte I) uma rota sintética para obtenção da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona, tendo como etapa-chave uma reação de adição de cianeto ao aldeído **80**, derivado da D-4-hidroxifenilglicina, um aminoácido quiral, comercialmente disponível.

Ainda no primeiro capítulo (Parte II), descreve-se a síntese da (+)-5-*epi*-citoxazona a partir do D-manitol, um substrato quiral comercialmente disponível e de baixo custo. Essa tem como etapas-chave a reação de olefinação de Wittig e uma reação de di-hidroxilação, empregando-se OsO₄/NMO, com indução de estereosseletividade intramolecular.

No segundo capítulo são apresentados os resultados de concentração inibitória mínima (CIM) da (+)-5-*epi*-citoxazona e de dois intermediários obtidos na rota que tem o D-manitol como material de partida. Esses ensaios apontaram o intermediário aminoálcool **85** como um potencial agente antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

No terceiro capítulo são apresentadas as metodologias experimentais empregadas nesse trabalho.

E, por fim, em anexos encontram-se os espectros no infravermelho, de RMN de ¹H, de ¹³C e bidimensionais, além dos espectros de massas que não foram apresentados ao longo da discussão dos resultados. Dois artigos científicos frutos dessa pesquisa, que foram publicados por nosso grupo, também estão inseridos nos anexos.

CAPÍTULO 1

Síntese total estereosseletiva da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona

1. Introdução geral

Durante milhares de anos (3000 a.C. – 1900), o tratamento de diversas doenças foi realizado empregando-se extratos brutos de origem natural como agentes terapêuticos, sendo que as metodologias de purificação para isolamento de compostos, para utilização em tratamentos de maneira mais racional se iniciaram por volta do ano 1800. Nas primeiras décadas do século XX, compostos de origem natural passaram a ser rotineiramente isolados, permitindo a elucidação de sua estrutura.¹

Considerando-se que o vasto número de moléculas de origem natural (pequenas moléculas ou macromoléculas), na grande maioria das vezes, são encontradas em sua forma unquiral, pode-se afirmar que os agentes terapêuticos empregados em diversos tratamentos ao longo dos séculos eram constituídos por compostos quirais, enantiomericamente puros.¹

A quiralidade molecular foi descoberta apenas em 1858, por Louis Pasteur, a partir da separação manual dos cristais dos enantiômeros de tartarato de sódio e amônio.² Isso proporcionou a primeira observação de enantiosseletividade biológica. Em um experimento realizado por Pasteur mostrou-se elevada enantiosseletividade de metabolização do ácido (+)-tartárico (Figura 1) por uma cultura de fungos *Penicillium glaucum*, permitindo inferir que o consumo enantiosseletivo desse ácido está relacionando com sua interação com uma molécula quiral chave existente dentro do micro-organismo. Mas, apenas cerca de um século depois, a importância da quiralidade nos sistemas biológicos de animais e plantas fez despontar o interesse das indústrias farmacêuticas e agroquímicas, por exemplo, por esses compostos.³

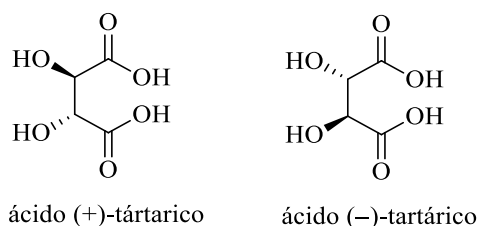


Figura 1. Estruturas químicas do ácido (+)- e (-)-tartárico.

Embora já se tivesse conhecimento da existência da enantiosseletividade no metabolismo e atividade biológica de compostos nos sistemas biológicos, a preocupação com respeito ao

¹ FRANCOTTE, E.; LINDNER, W. **Chirality in Drug Research**, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., 2006.

² PASTEUR, L. Mémoire de L. Pasteur sur la relation qui peut exister entre la forme cristalline et la composition chimique et sur la cause de la polarisation rotatoire. **Compt. Rend. Acad. Sci.**, 34, 535–539, 1858.

³ NGUYEN, L.A.; He, H.; Pham-Huy, C. Chiral Drugs: An Overview. **Int. J. Biomed. Sci.**, 2, 85-100, 2006.

desenvolvimento de fármacos mais seguros e eficazes se iniciou apenas nas últimas décadas do século XX.^{3,4}

Na década de 1950, Sir Pfeiffer observou que, em algumas situações, se o enantiômero empregado fosse o ativo, ao invés de sua mistura racêmica, havia uma possibilidade da diminuição da dose no respectivo tratamento. O caso da *S*-anfetamina (Figura 2), utilizada em tratamentos de pacientes com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, cuja dose do enantiômero puro requerida era inferior em relação à dose de anfetamina racêmica, exemplifica esse aspecto.⁵

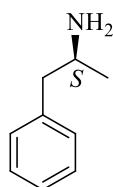


Figura 2. Estrutura química *S*-anfetamina.

Evidenciando que os sistemas biológicos são capazes de interagir e metabolizar cada enantiômero de maneira diferente, podendo gerar respostas farmacológicas distintas, os fármacos racêmicos foram divididos em três grupos: o primeiro, que engloba a maioria dos fármacos racêmicos, são constituídos por um enantiômero que possui maior atividade (eutômero) e um que pode ser inativo ou com menor atividade (distômero), tóxico ou pode exibir outras atividades biológicas, desejadas ou não; o segundo grupo compreende uma mistura em que ambos os enantiômeros são igualmente ativos e possuem a mesma farmacodinâmica; e o último grupo corresponde a uma mistura em que o distômero pode ser convertido em seu enantiômero por inversão quiral dentro do organismo.³

Ainda no final da década de 1950 e início da década de 1960, um dos maiores desastres médicos da história, causado pela talidomida (Figura 3), mudou a maneira como os fármacos eram testados. Esse sedativo, empregado para tratamento de enjôos matinais de gestantes, foi responsável pelo nascimento de mais de 10.000 bebês com malformação, além do aumento do número de casos de abortos espontâneos.⁶

⁴ HUTF, A.J.; O'GRADY, J. Drug chirality: a consideration of the significance of the stereochemistry of antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemother.*, 37, 7-32, 1996.

⁵ KIRAN, M.; YADAV, P.; DEOLEKAR, P.; *et al.* Chiral Chemistry in Pharmacology – A Review. **International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences**, 4, 7-10, 2012.

⁶ VARGESSON, N. Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms. *Birth Defects Res. Part C, Embryo Today: Reviews*, 105, 140-156, 2015.

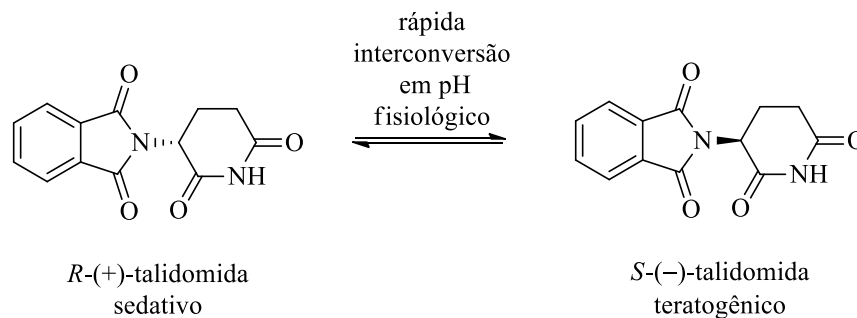


Figura 3. Interconversão entre os enantiômeros *R*- e *S*-talidomida.⁶

Além disso, a partir da década de 1980, o desenvolvimento de métodos analíticos enantiosseletivos, para detecção e quantificação de enantiômeros, além do desenvolvimento de novas metodologias para síntese estereosseletivas e separação de compostos quirais, tornaram-se uma força motriz para o desenvolvimento de novos fármacos quirais.¹

Nesse cenário, a Conferência de Ingredientes Farmacêuticos, ocorrida em Londres em 1997,⁷ marcou o início de uma mudança na área de fármacos quirais a partir do surgimento do conceito de *chiral switch*, que diz respeito ao desenvolvimento e utilização de um enantiômero biologicamente ativo (eutômero), em substituição ao seu racemato anteriormente testado, ou até aprovado e comercializado. O anti-inflamatório não estereoidal ibuprofeno (Figura 4) foi o primeiro medicamento de sua classe a ser comercialmente substituído por sua versão enantiomericamente pura, em 1994, baseado na potência do enantiômero *S* ser cerca de 100 vezes superior à do enantiômero *R*. A partir de então, diversos fármacos passaram pelo mesmo processo, dos quais alguns exemplos são apresentados na Figura 4.⁸

⁷ STINSON, S. C. Chiral Drug Market Shows Signs of Maturity. **Chem. Eng. News**, 75, 38-70, 1997.

⁸ CALCATERRA, A.; D'ACQUARICA, I.; The market of chiral drugs: Chiral switches versus de novo enantiomerically pure compounds. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 147, 323-340, 2018.

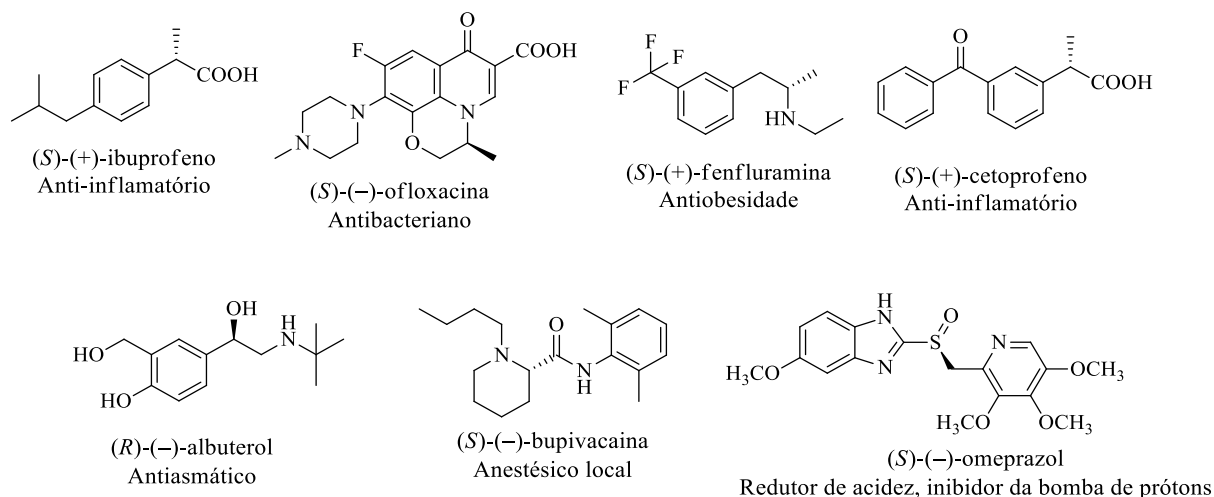


Figura 4. Exemplos de fármacos racêmicos substituídos pela sua versão enantiomericamente pura entre 1994 e 2011.

Como reflexo disso, houve uma diminuição do número de fármacos racêmicos aprovados pela agência americana FDA (*Food and Drug Administration*), entre 2002 e 2015,⁹ alavancando o crescimento do mercado farmacêutico de moléculas quirais, que correspondia a 75% de todos os compostos opticamente ativos disponibilizados mundialmente em 2015 (fármacos, agroquímicos, fragrâncias, sabores, dentre outros) e cuja receita tem previsão de crescimento para cerca de 25 milhões de dólares em 2024.¹⁰

Dessa forma, somando-se os grandes avanços em síntese total estereosseletiva à necessidade do desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes, com menores efeitos adversos e com menor custo para atender às necessidades desse mercado em constante crescimento, é imprescindível o desenvolvimento de novas rotas sintéticas para obtenção de compostos biologicamente ativos. Dentre esses destacam-se as oxazolidinonas, uma classe de compostos quirais que vem apresentando atividades biológicas promissoras como antibacteriana, anticancerígena e antialérgica.

⁹ SANGANYADO, E.; LU, Z.; FU, Q. *et al.* Chiral pharmaceuticals: A review on their environmental occurrence and fate process. **Water Res.**, 124, 527-542, 2017.

¹⁰ GRAND VIEW RESEARCH. Chiral Chemicals Market Analysis By Technology (Traditional Separation Method, Asymmetric Preparation Method [Asymmetric Synthesis Method, Asymmetric Catalysis Method], Biological Separation Method), By Application (Pharmaceuticals, Agrochemicals, Flavors/Fragrances) And Segment Forecasts To 2024. California, 2016. Disponível em < <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/chiral-chemicals-market>>, acesso em 24/10/2018.

1.1. Oxazolidinonas

As oxazolidinonas compreendem uma classe de compostos naturais e sintéticos, que apresentam atividade contra uma variedade de bactérias Gram-positivas,^{11,12} como bactérias do gênero *Staphylococci* resistentes a meticilina e vancomicina, do gênero *Enterococci* também resistente à vancomicina e *Anaerobes* e *Pneumococci* resistentes à penicilina. Entretanto, possuem uma eficácia limitada em relação às bactérias Gram-negativas.¹² Seu mecanismo de ação, embora não seja totalmente claro, inicia-se pela inibição das primeiras etapas de síntese protéica.¹¹

Além disso, os compostos pertencentes a esta classe vêm demonstrando atividades anticâncer e anti-HIV. Além de se mostrarem potenciais moduladores alostéricos positivos de receptor de glutamato metabotrópico, podendo ser empregados para o tratamento da esquizofrenia.¹³ As oxazolidinonas também são conhecidas por exibirem efeitos neurolépticos,¹⁴ psicotrópicos¹⁵ e antialérgicos¹⁶.

As oxazolidinonas (Figura 5) fazem parte de uma classe de compostos chamada azóis, oxazolidinas cujo carbono entre os átomos de oxigênio e nitrogênio se encontra oxidado, sendo então denominadas oxazolidinonas.¹⁷ Essa classe de compostos apresenta elevada relevância tanto do ponto de vista químico quanto biológico, inspirando o desenvolvimento de diversas metodologias sintéticas para a construção de sua estrutura molecular.¹²

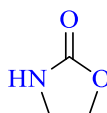


Figura 5. Anel oxazolidin-2-ona.

Os substratos mais comumente empregados em sínteses de oxazolidinonas são aminoácidos e aminoálcoois, entretanto, vários outros compostos vêm sendo relatados como

¹¹ SOOD, R.; BHADAURIYA, T.; RAO, M.; *et al.* Antimycobacterial Activities of Oxazolidinones: A Review. **Infectious Disorders – Drug Targets**, 6, 343-354, 2006.

¹² BOZDOGAN, B.; APPELBAUM, P. C.; Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 23, 113-119, 2004.

¹³ NARESH, A.; RAO, M.V.; KOTAPALLI, S.S.; *et al.* Oxazolidinone derivatives: Cytozone-Linezolid hybrids induces apoptosis and senescence in DU145 prostate cancer cells. **Eur. J. med. Chem.**, 80, 295-307, 2014.

¹⁴ MAJ, J.; ROGOZ, Z.; SKUZA, G.; MAZELA, H. Neuropharmacological profile of EMD 57445, a sigma receptor ligand with potential antipsychotic activity. **Eur. J. Pharmacol.**, 315, 235-243, 1996.

¹⁵ JARREAU, F.; ALBRIGHT, J. D.; SUN, F. W. *Eur. Pat. Appl.* WD 93 2007314. **1993**.

¹⁶ WALSH, D. A.; YANNI, J. M. *US Patent* 5086055, **1992**.

¹⁷ PANDIT, N.; SIGLA, R.K.; SHRIVASTAVA, B. Current Updates on Oxazolidinone and its Significance. **Int. J. Med. Chem.**, 2012, 1-24, 2012.

materiais de partida para a construção desses anéis de cinco membros, como dióis, β -hidroxiácidos, epóxidos e aziridinas, por exemplo (Figura 6).¹⁸

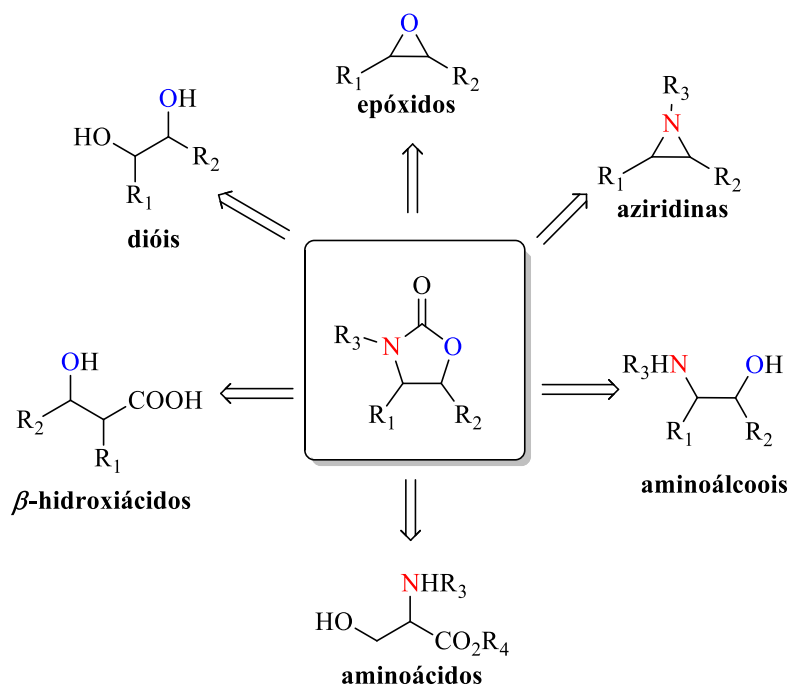


Figura 6. Exemplos de substratos empregados na síntese de oxazolidinonas.

Nesse contexto, tornou-se possível a preparação de uma biblioteca de compostos contendo o núcleo oxazolidin-2-ona, propiciando a descoberta, por pesquisadores da DuPont, de novos agentes antimicrobianos sintéticos,^{19,20} que exibiram potente efeito bacteriostático durante testes *in vitro* e *in vivo* sobre bactérias patogênicas para seres humanos.¹⁹

Após as primeiras sínteses de oxazolidinonas antibacterianas, DuP-721 e DuP-105 (Figura 7) terem sido descritas em 1978 pelo grupo de pesquisadores da DuPont, ocorreu um decréscimo do interesse dos pesquisadores por estas moléculas devido à sua elevada toxicidade.^{11,12}

¹⁸ ZAPPIA, G.; GACS-BAITZ, E.; MONACHE, G. D.; *et al.* Oxazolidin-2-one Ring, a popular Framework in Synthetic Organic Chemistry: Part 1. The construction of the Oxazolidin-2-one Ring. **Curr. Org. Synth.**, 4, 81-, 2007.

¹⁹ MULLER, M.; SCHIMZ, K. L. Oxazolidinones: a novel class of antibiotics. **Cell. Mol. Life Sci.**, 56, 280-285, 1999.

²⁰ MARCHESI, A.; SCHITO, G. C. The oxazolidinones as a new Family of antimicrobial agente **Clin. Microbiol. Infect.**, 7, 66-74, 2001.

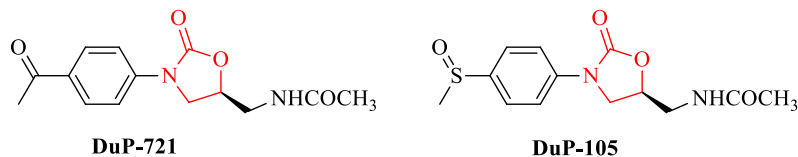


Figura 7. Primeiras oxazolidinonas antibacterianas reportadas por pesquisadores da DuPont.²¹

Mas, em 1996, pesquisadores dos laboratórios UpJohn, atual Pfizer, deram continuidade aos estudos referentes a essas primeiras descobertas, desenvolvendo derivados não tóxicos destes agentes antibacterianos, sendo eles a linezolida, um derivado da morfolina, e a eperezolida, um derivado da piperazina (Figura 8).^{11,12}

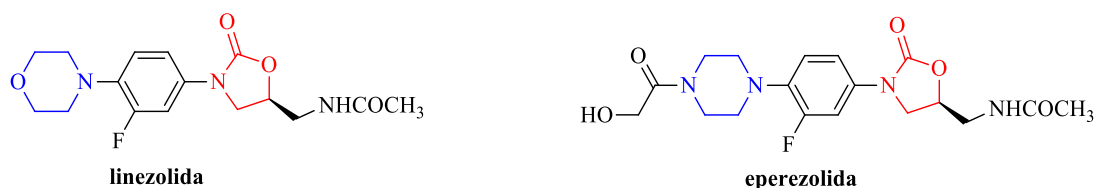


Figura 8. Agentes antibacterianos não tóxicos, linezolida e eperezolida.^{11,12}

A linezolida foi aprovada pela FDA para tratamentos de infecções na pele e pneumonia nosocomial causadas por bactérias do gênero *Staphylococci* resistentes a meticilina, a bacteremia causada por *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina e a bacteremia causada por *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina.¹² Além disso, a linezolida apresenta elevado potencial para tratamento de infecções cirúrgicas, devido às suas propriedades farmacocinéticas como penetração e acumulação em tecidos ósseos, pulmonares, em hematomas e fluidos cerebrospinais.¹² Suas características estruturais (Figura 9), não relacionadas a nenhum outro fármaco deste tipo, sugerem as razões para a sua eficácia através de um mecanismo de ação único (Figura 10), que se inicia pela inibição do complexo ribossomal ternário *N*-formilmetionil-t-RNA-mRNA-70S, que parece ocorrer a partir da formação de uma ligação da linezolida entre o centro peptiltransferase 23S e a subunidade ribossomo 50S, impedindo a formação da ligação dos ribossomos 50S e 30S com mRNA e tRNA para formação do complexo 70S, essencial para o processo de translação bacteriana.²²

²¹ DALY, J.S.; ELIOPALOS, G.M.; REHZNER, E. *et al.* Activity and mechanism of action of DuP105 and Dup721, new oxazolidinone compounds. **J. Antimicrob. Chemother.**, 21, 721-723, 1988.

²² STEVENS, L.D.; DOTTER, B.; MADARAS-KELLY, K. A review of Linezolid: the first oxazolidinone antibiotic. **Expert. Rev. Anti-infect.**, 2, 51-59, 2004.

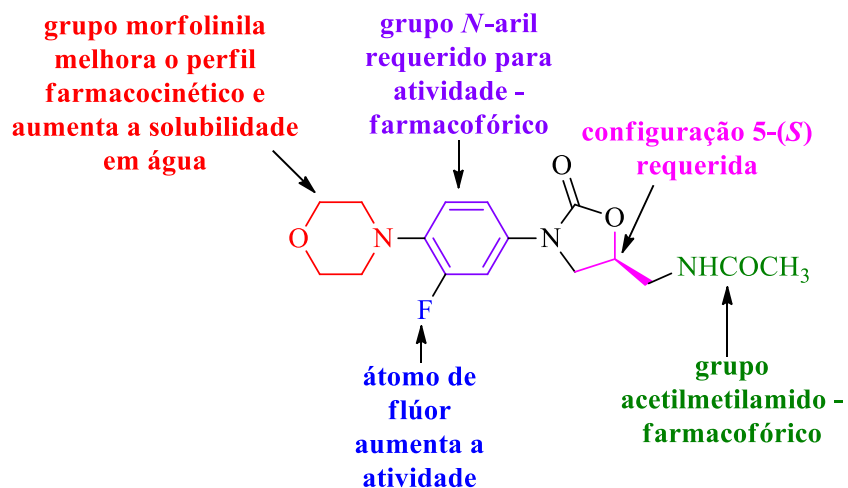


Figura 9. Linezolid, primeiro agente antimicrobiano da classe das oxazolidinonas.²²

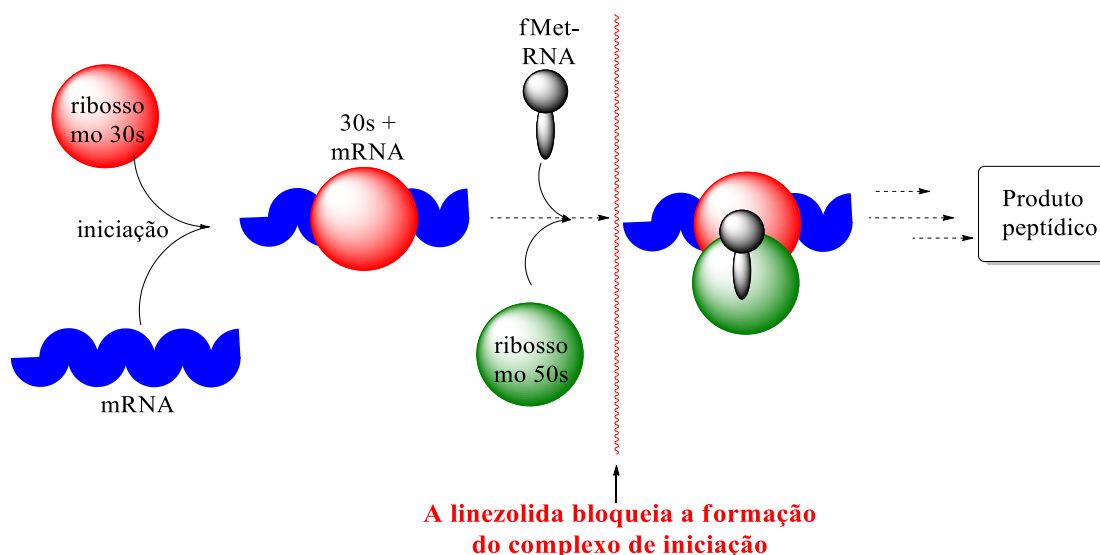


Figura 10. Mecanismo de ação da linezolid na inibição das primeiras etapas de síntese protéica.^{22,23}

Mais de uma dúzia de compostos da classe das oxazolidinonas alcançaram os estudos clínicos, sendo a maioria rejeitada devido à pouca efetividade farmacológica, toxicidade e propriedades farmacocinéticas inadequadas.²⁴ De acordo com a plataforma Drugs.com²⁵, existem atualmente apenas dois compostos desta classe sendo empregados clinicamente e que estão disponíveis comercialmente, a linezolid (nome comercial-Zyvox) e o fosfato de tedizolida (nome comercial Sivextro) (Figuras 8 e 11).

²³ NORRBY, R. Linezolid- A review of the first oxazolidinone. *Exp. Opin. Pharmacother.*, 2, 293-302, 2001.

²⁴ SHAW, K.J.; BARBACHYN, M.R. The oxazolidinones: past, present, and future. *Ann. NY Acad. Sci.* 1241, 48-70, 2011.

²⁵ DRUGS.COM. Oxazolidinone antibiotics. Disponível em <https://www.drugs.com/drug-class/oxazolidinone-antibiotics.html?condition_id>. Acesso em 15 de novembro de 2018.

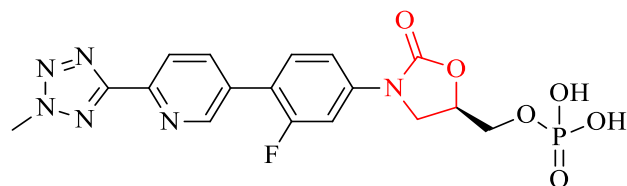


Figura 11. Estrutura do fosfato de tedizolida.²⁶

O fosfato de tedizolida foi descoberto a partir de estudos que buscavam o desenvolvimento de um fármaco capaz de combater cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA), que também adquiriram resistência à linezolida. Em 2014, a FDA aprovou o fosfato de tedizolida (Cubist Pharmaceuticals), como uma oxazolidinona de segunda geração, que exibiu potência contra MRSA de quatro a dezesseis vezes em relação à linezolida.²⁶

Ademais, alguns compostos contendo o anel oxazolidin-2-ona também vêm exibindo pronunciadas atividades anticâncer, destacando-se a posizolida, a torezolida, a (-)-citoxazona, a linezolida e a (-)-*epi*-citoxazona (Figura 12).¹³

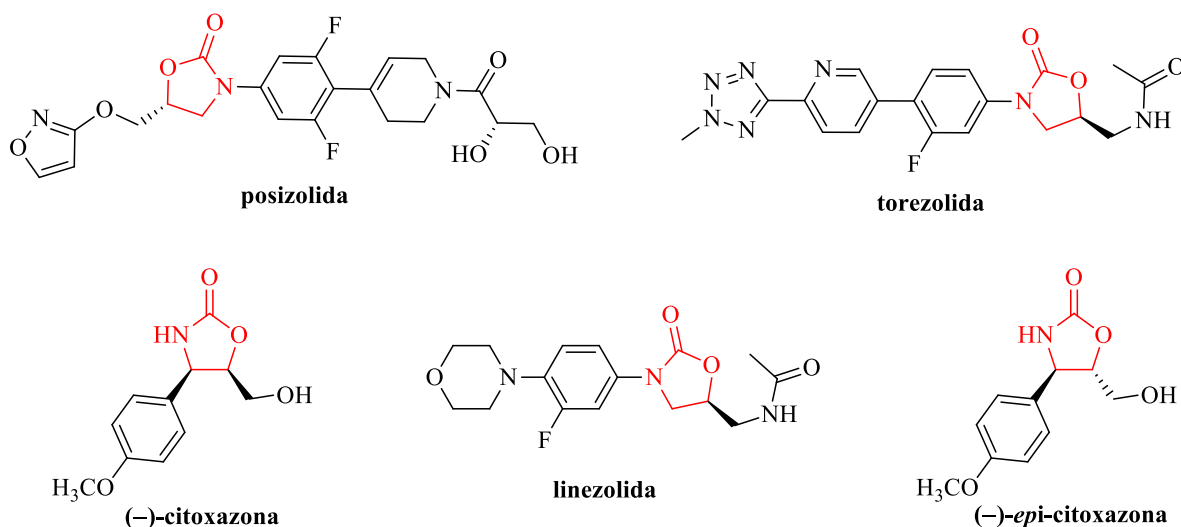


Figura 12. Oxazolidinonas que apresentaram atividades anticâncer.

Adicionalmente, essa classe de compostos tem recebido também grande destaque em síntese assimétrica, desde que Evans descreveu o uso de oxazolidinonas 4-substituídas como auxiliares quirais em 1981. Após isto, o interesse pelo desenvolvimento de auxiliares quirais dessa classe tornou-se crescente, o que pode ser evidenciado pelas variações estruturais dos

²⁶ WONG, E.; RAB, S. Tedizolid Phosphate (Sivextro): A Second-generation Oxazolidinone to treat acute bacterial skin and skin structure infections. *Drug Forecast*, 39, 555-579, 2014.

mesmos contendo o núcleo oxazolidinona, em relação à primeira oxazolidinona reportada por Evans (Figura 13).²⁷

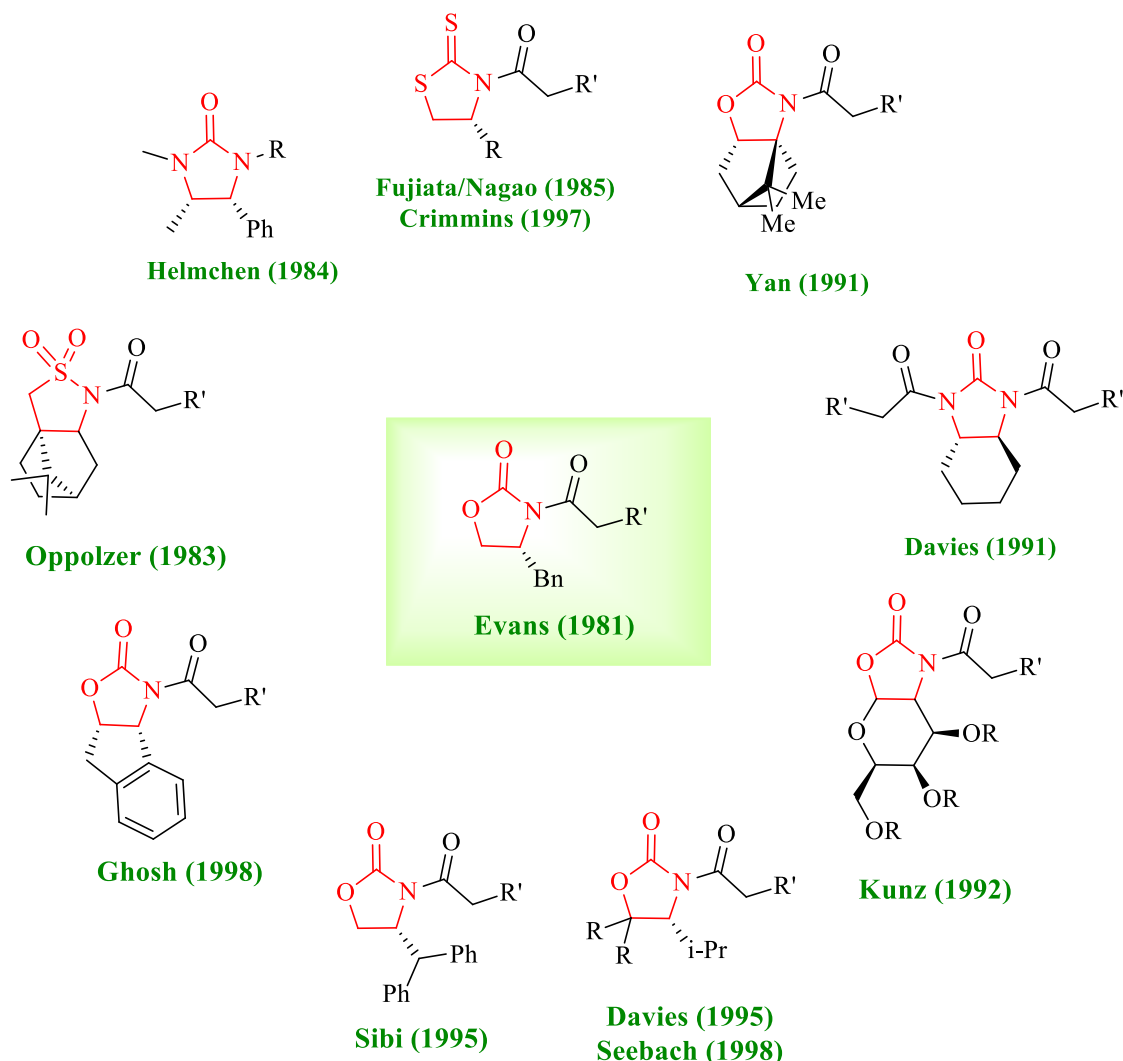


Figura 13. Auxiliares quirais contendo o núcleo oxazolidinona.

Nesse contexto, as oxazolidinonas despontaram como grandes expoentes químicos, cujo potencial, seja como fármacos ou como auxiliares quirais, vêm inspirando o desenvolvimento de novas rotas sintéticas para sua obtenção. Sendo o foco do presente trabalho a síntese do produto natural (-)-citoxazona e de seu epímero não natural, (+)-5-*epi*-citoxazona, ambos pertencentes à classe das oxazolidin-2-onas.

²⁷ EVANS, D.A.; HELMCHEM, G.; RUPING, M. **Chiral Auxiliaries in Asymmetric Synthesis**. In M. Christman, *Asymmetric Synthesis – The Essentials*. Wiley-VCH Verlag GmbH e Co. 2007, p.3-9.

1.1.1. (-)-Citoxazona e (+)-5-*epi*-citoxazona

Embora sejam muito raras as fontes naturais de compostos contendo o núcleo oxazolidin-2-ona,¹⁸ a (-)-citoxazona (Figura 14) foi isolada por Kakeya e colaboradores (1998) a partir de bactérias do gênero *Streptomyces*.²⁸

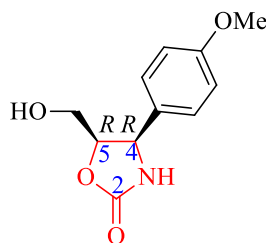


Figura 14. Estrutura da (-)-citoxazona.

Este composto é constituído por um anel oxazolidin-2-ona 4,5-dissubstituído, cuja configuração absoluta (4*R*,5*R*)^{23,29} foi confirmada com base em dados de RMN, dicroísmo circular (CD) e cristalografia de raios-X, por Sakamoto *et al.*³⁰ e Seki e Mori³¹ a partir das primeiras sínteses totais assimétricas publicadas, separadamente, em 1999.

A (-)-citoxazona é um produto natural que tem recebido grande destaque em química orgânica sintética e biológica atualmente. Em suas pesquisas, Kakeya e colaboradores (1999)²⁹ observaram seu efeito modulador de citocinas por meio da inibição da via de sinalização de células Th2 (envolvidas no processo de crescimento e diferenciação de células), mas não das Th1 (responsáveis por reações de hipersensibilidade). Sabendo-se que um desequilíbrio na produção destas citocinas pode ocasionar distúrbios imunológicos como alergias, linfoproliferação progressiva e imunodeficiência grave²⁹, já que estão diretamente ligadas à produção de anticorpos, a (-)-citoxazona despertou imediatamente o interesse dos pesquisadores, que vislumbraram seu potencial farmacológico.

As descobertas feitas por esse grupo motivaram o desenvolvimento de pesquisas visando a síntese total da (-)-citoxazona, seu enantiômero e diastereoisômeros, o que se percebe pelo grande número de publicações a este respeito.^{18,32}

²⁸ KAKEYA, H.; MORISHITA, M.; KOBINATA, K.; *et al.* Isolation and biological activity of a novel cytokine modulator, cytoxazone **J. Antibiot.**, 51,1126-1128, 1998.

²⁹ KAKEYA, H.; MORISHITA, M.; KOSHINO, T. *et al.* Cytoxazone: A novel Cytokine Modulator Containing a 2-oxazolidinone Ring Produced by *Streptomyces* sp. **J. Org. Chem.**, 64, 1052-1053, 1999.

³⁰ SAKAMOTO, Y.; SHIRAIISHI, A.; SEONHEE, J. *et al.* Stereoselective syntheses of cytoxazone, a novel cytokine modulator, and its stereoisomers. **Tetrahedron Lett.**, 40, 4203-4206, 1999.

³¹ SEKI, M.; MORI, K. Synthesis of (-)-Cytoxazone, a Novel Cytokine Modulator Isolated from *Streptomyces* sp. **Eur. J. Org. Chem.**, 11, 2965-67, 1999.

³² MIRANDA, I. L.; LOPES, I. K. B.; DIAZ, M. A. N.; *et al.* Synthesis Approaches to (-)-Cytoxazone, a Novel Cytokine Modulator, and Related Structures. **Molecules**, 21, 1176, 2016.

Estudos como esses, têm contribuído para manter em alta o interesse pelo desenvolvimento de novas rotas sintéticas para obtenção tanto dos isômeros da (-)-citoxazona quanto de seus análogos, a partir de rotas sintéticas estereosseletivas e eficientes. Alguns exemplos dessas sínteses serão apresentados a seguir.

1.1.1.1. Sínteses totais da (-)-citoxazona e da *epi*-citoxazona

As abordagens sintéticas para a síntese da (-)-citoxazona e da *epi*-citoxazona publicadas até o presente momento partem de substratos simples, como derivados do ácido cinâmico, em que as funcionalidades β -aminoácido e α -hidroxi foram introduzidas em um passo crucial por meio da epoxidação enantiosseletiva de Sharpless, di-hidroxilação e aminoidroxilação, ou por meio de alguns indutores de quiralidade conhecidos (Oxazolidinona de Evans, *N-t*-butanossulfonilimidinas) e outros menos usuais. O número de rotas sintéticas para os isômeros da citoxazona, descrito na literatura, reforça o interesse pela obtenção desta estrutura, relativamente simples, baseado principalmente na sua importância biológica como potente modulador da citocinas e sua possível utilização como agente imunoterapêutico.³²

Na figura 17 encontram-se exemplificados alguns substratos empregados em algumas rotas sintéticas descritas na literatura, bem como as etapas-chave para a construção do esqueleto carbônico da (-)-citoxazona.

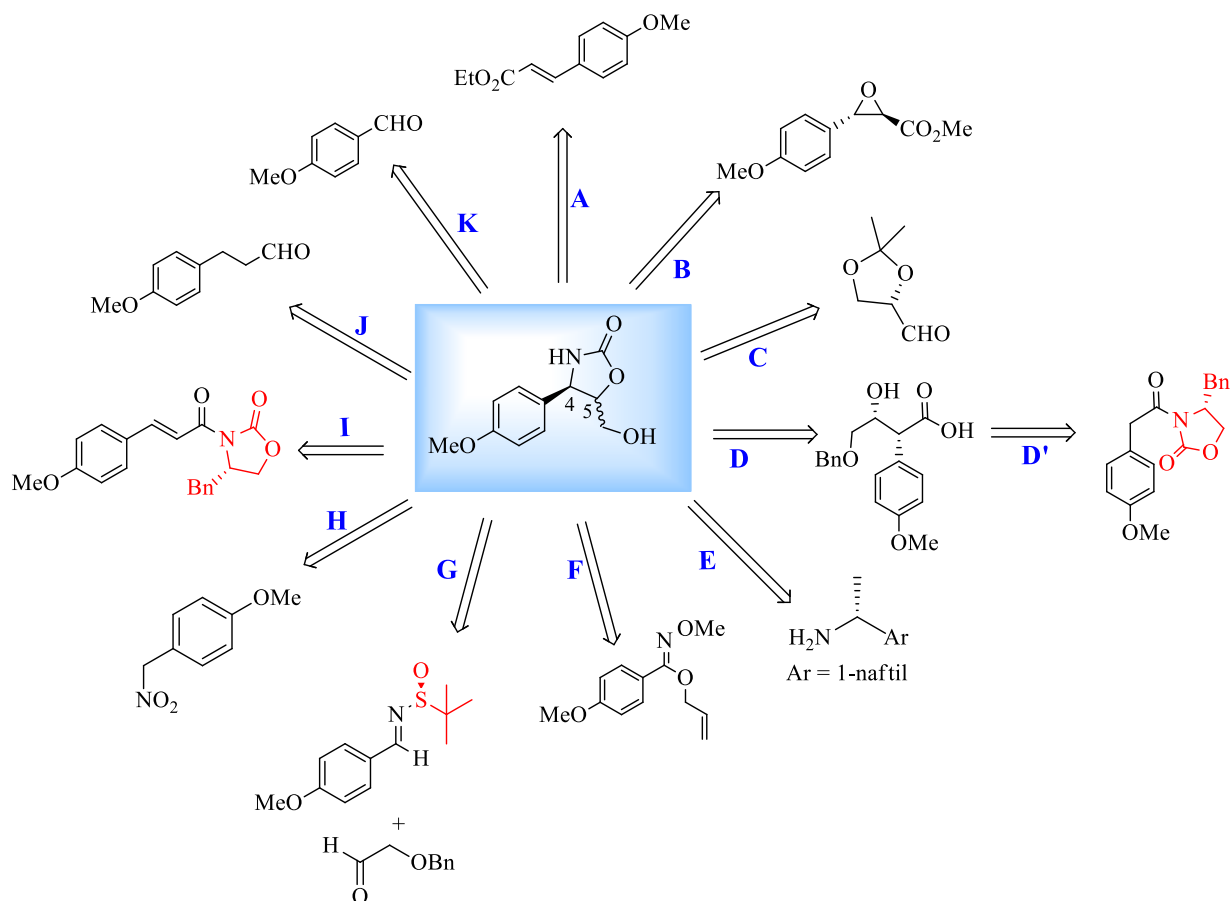
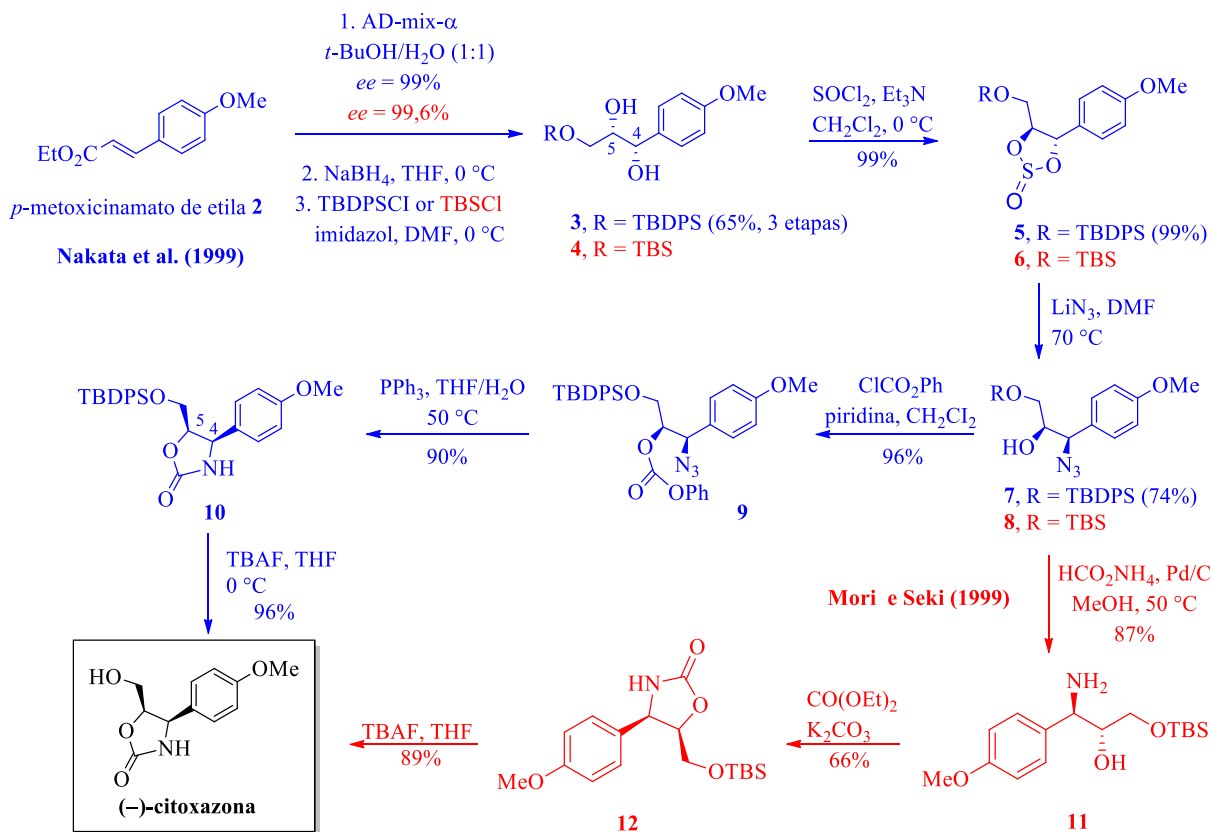


Figura 17. Exemplos de substratos e etapas-chave envolvidas em algumas rotas sintéticas descritas na literatura para obtenção da (-)-citoxazona e da 5-*epi*-citoxazona: **A** = di-hidroxilação assimétrica de Sharpless, **B** = resolução cinética enzimática, **C** = adição de Grignard estereosseletiva, **D** = rearranjo de Curtius; **D'** = adição aldólica estereosseletiva, **E** = acoplamento de Petasis, **F** = rearranjo 1,2-Wittig, **G** = acoplamento reductivo cruzado, **H** = reação de Henry diastereosseletiva, **I** = bromoidroxilação estereosseletiva, **J** = aminação estereosseletiva, **K** = resolução cinética de Sharpless.

A seguir, serão discutidas rotas que utilizaram as metodologias destacadas na figura 17 como etapas-chave para a preparação da (-)-citoxazona e (+)-*epi*-citoxazona.

i- Rotas sintéticas que utilizam di-hidroxilação assimétrica de Sharpless como etapa-chave (A)

As primeiras sínteses totais da (-)-citoxazona, descritas por Sakamoto e colaboradores³⁰ e Mori e Seki³¹ (Esquema 1) têm como etapa-chave a introdução régio- e estereosseletiva do grupo azida no 4-metoxicinamato de etila (**2**). A sequência de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless em **2**, empregando AD-mix- α em *t*-BuOH/H₂O, redução do grupo éster com NaBH₄ em THF e proteção regioseletiva da função hidroxila primária com cloreto de *t*-butildifenilsilila forneceu o diol (4*S*,5*R*)-**3** (numeração adotada para o anel da citoxazona) com 65% de rendimento (3 etapas). O tratamento deste último com SOCl₂ e Et₃N produziu o sulfito cíclico **5** com 99% de rendimento. A abertura régio- e estereosseletiva do sulfito foi feita através de uma reação de substituição nucleofílica com LiN₃ em DMF para fornecer o azido-álcool **7** (74% de rendimento) e o azido-diol desililado (24% de rendimento) que foi quantitativamente convertido a **7** pelo tratamento com TBDPS/imidazol. O azido-álcool **7** foi tratado com ClCO₂Ph/Py fornecendo o fenil carbonato **9** com 96% de rendimento. A heterociclicização foi feita em *one pot* pela redução do grupo azida em **9** pelo tratamento com Ph₃P em THF/H₂O e concomitante ciclização para fornecer a oxazolidinona **10** (90% de rendimento) com a estereoquímica devidamente controlada. Finalmente, a remoção do grupo TBDPS produziu a (-)-oxazolidinona-**1**, com 96% de rendimento.



Esquema 1. Primeiras sínteses totais da (-)-citoxazona reportadas por Sakamoto e colaboradores²⁷ (em azul) e por Mori e Seki²⁸ (em vermelho).

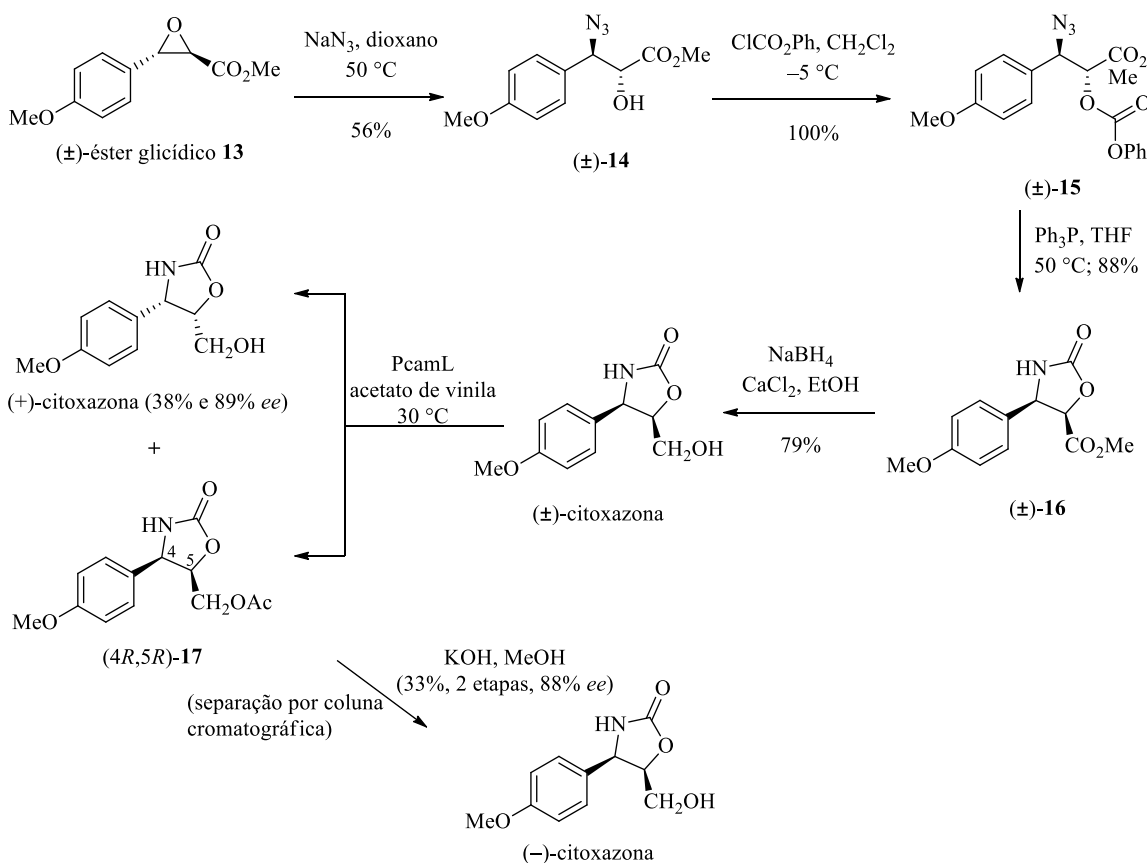
Enquanto Sakamoto e colaboradores³⁰ converteram o azido-álcool **7** no correspondente fenilcarbonato **9**, Mori e Seki (1999)³¹ transformaram o azido-álcool **8** no amino-álcool **11** com 87% de rendimento, pela redução do grupo azida com formato de amônio e Pd/C, Esquema 1. A *N,O*-heterociclização de **11** foi feita pelo tratamento com dietil carbonato, fornecendo o intermediário **12** já possuindo o anel oxazolidin-2-ona com 66% de rendimento. A desililação de **12** produziu a (-)-citoxazona com 89% de rendimento. Estes dois trabalhos estabeleceram a configuração absoluta da estereoquímica da (-)-citoxazona (**1**).

ii- Rota sintética que utiliza resolução cinética enzimática como etapa-chave (B)

Em 2001, Hamersak *et al.*³⁴ realizaram a síntese quimioenzimática dos enantiômeros (-) e (+)-citoxazona, cuja resolução da respectiva mistura racêmica foi feita por meio da esterificação catalisada pela lipase de *Penicillium camemberti* (PcamL) (Esquema 2). Esta rota sintética teve início com a abertura do epóxido glicídico **13** pelo tratamento com NaN₃

³⁴ HAMERSAK, Z.; LJUBOVI, E.; MERCEP, M.; *et al.* Chemoenzymatic synthesis of all four cytoxazone stereoisomers. *Synthesis*, 13, 1989-1992, 2001.

forneendo o azido álcool **14**. Subsequentemente, o tratamento desse intermediário com ClCO₂Ph produziu o fenil carbonato (±)-**15**, que foi submetido a reações de redução do grupo azida e ciclização simultânea em *one pot*, forneendo a oxazolidinona (±)-**16**. Após a redução do grupo éster com NaBH₄ em presença de CaCl₂, produziu a (±)-citoxazona-**1** com 79% de rendimento. A resolução cinética enzimática sobre acetilação de (±)-**1** com acetato de vinila catalisada por PcamL forneceu, após separação em coluna cromatográfica e hidrólise do grupo éster, a (-)-citoxazona, com 33% de rendimento e 88% *ee* (2 etapas).



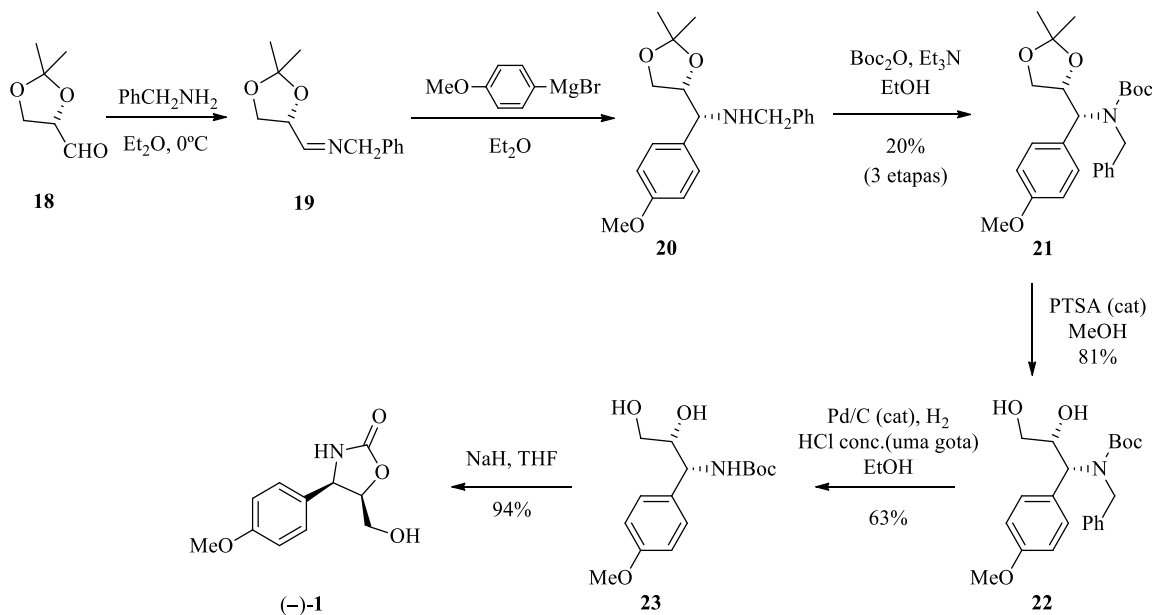
Esquema 2. Síntese quimioenzimática da (-) e (+)-citoxazona.

iii- Rota sintética que utiliza adição de Grignard estereosseletiva como etapa-chave (C)

A abordagem sintética reportada por Madhan e seu grupo³⁵, para a obtenção da (-)-citoxazona, partiu do (*S*)-2,3-*O*-isopropilidengliceraldeído **18** (Esquema 3). O tratamento deste com benzilamina forneceu a imina **19**, que quando submetida à adição estereosseletiva com brometo de *p*-metóxilfenilmagnésio levou ao intermediário **20**, que foi posteriormente *N*-Boc protegido, forneendo **21** com 20% de rendimento (3 etapas). Finalmente, a sequência de

³⁵ MADHAN, A.; KUMAR, A.R.; RAO, V. Stereoselective synthesis of (-)-cytozoxone **Tetrahedron: Asymmetry**, 12, 2009-2011, 2001.

hidrólise quimiosseletiva da unidade isopropilideno, desbenzilação e ciclização regioselectiva forneceu a (-)-citoxazona-**1**, com 9,6% de rendimento global, a partir do aldeído **18**.



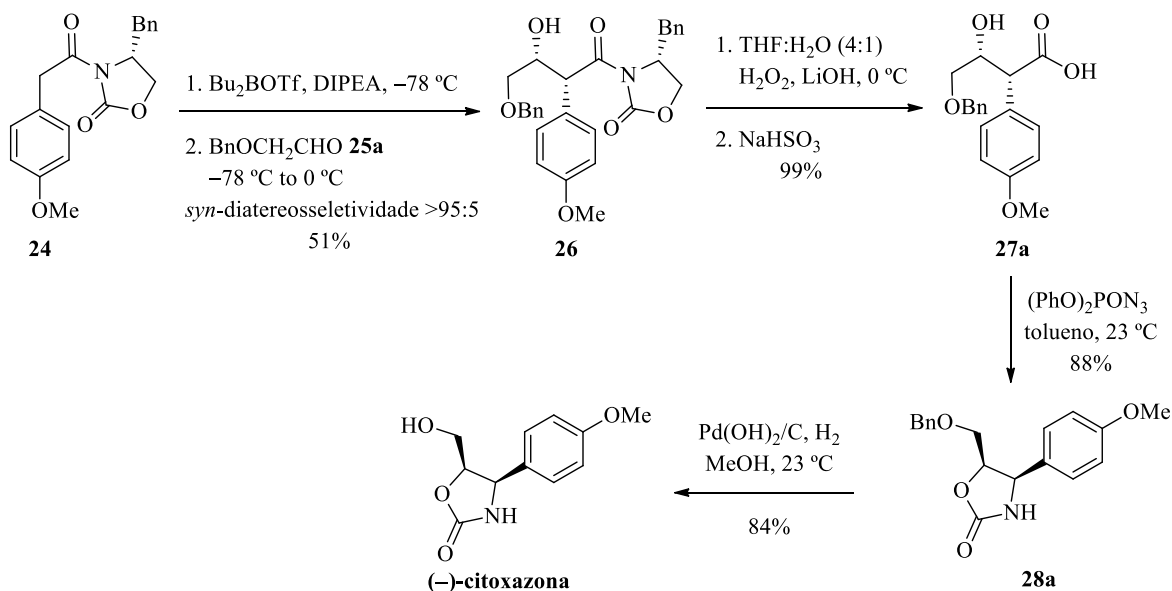
Esquema 3. Síntese total da (-)-citoxazona a partir do (S)-2,3-O-isopropilidenogliceraldeído.

iv- Rota sintética que utiliza rearranjo de Curtius e adição aldólica estereosseletiva como etapas-chave (D e D')

Carter e colaboradores³⁶ exploraram a reação aldólica partindo da imida quirais **24** com um aldeído, mediada por Bu₂BOTf (Esquema 4), no desenvolvimento de uma nova rota de síntese da (-)-citoxazona. A subsequente reação do enolato de dibutilboro de **24** com o benziloxiacetaldeído **25a**, de acordo aos trabalhos pioneiros de Evans e Gage (1989)³⁷, forneceu o aldol **26**, com diastereoseletividade *syn* (> 95:5). A remoção do auxiliar quiral pelo tratamento com hidroxiperóxido de lítio seguida de heterociclização realizada a partir do ácido **27a** em *one-pot* (três etapas: formação da acilazida, rearranjo de Curtius, trapeamento do isocianato) usando difenilfosforilazida produziu o éter-oxazolidinona **28a**. A desproteção usando Pd(OH)₂ e atmosfera de hidrogênio forneceu a (-)-citoxazona, enantiomericamente pura com 84% de rendimento.

³⁶ CARTER, P.H.; LAPORTE, J.R.; SCHERLE, P.A.; *et al.* A new synthesis of cytoxazone and its diastereomers provides key initial SAR information. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 13, 1237-1239, 2003.

³⁷ GAGE, J.R.; EVANS, D.A. Diastereoselective aldol condensation using a chiral oxazolidinone auxiliary: (2*S*, 3*S*)-3-hydroxi-3-phenyl-2-methylpropanoic acid. **Org. Syn.**, 68, 83-90, 1990.



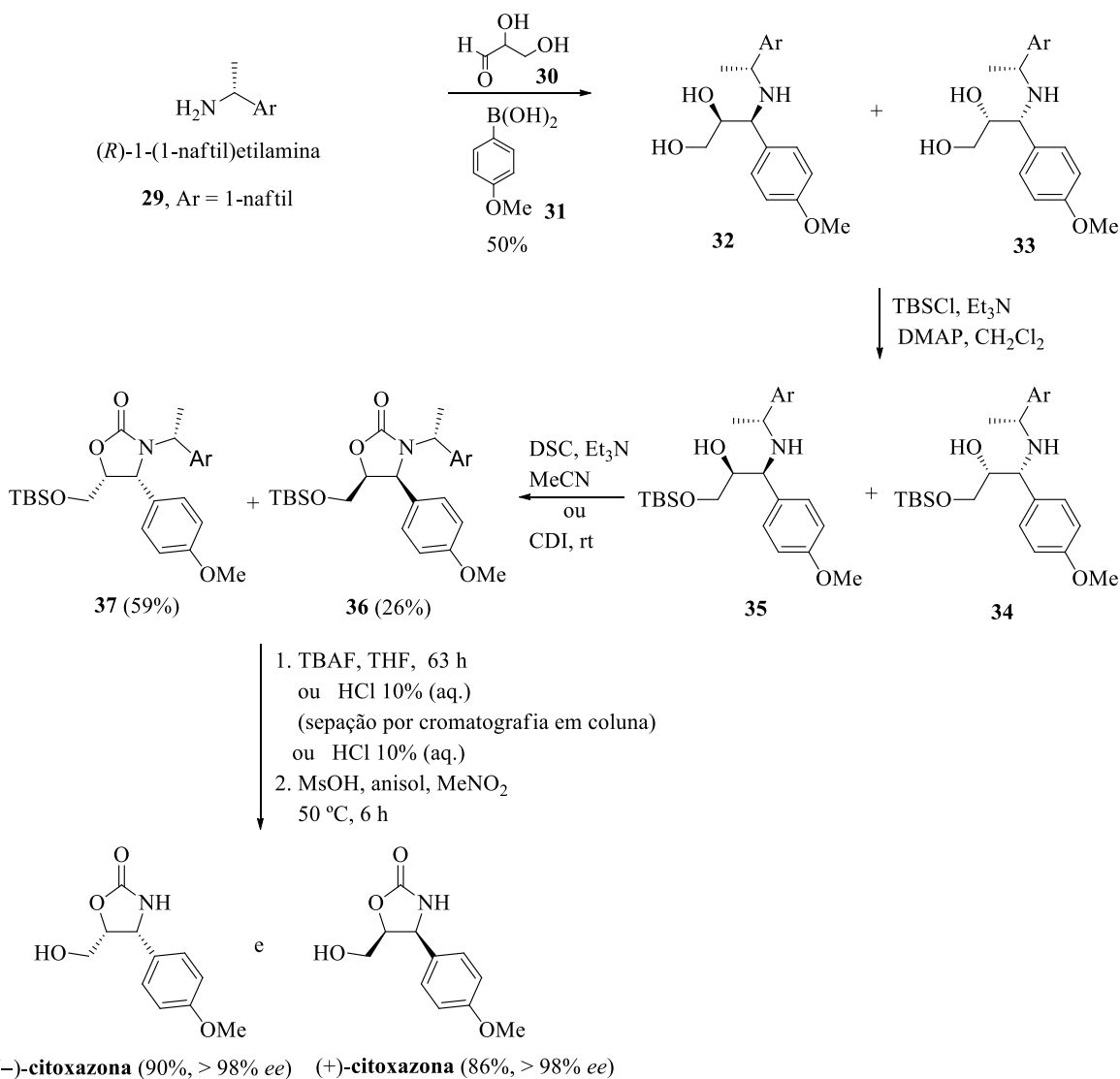
Esquema 4. Síntese total da (-)-citoxazona partindo de uma imida quiral.

v- Rota sintética que utiliza acoplamento de Petasis como etapa-chave (E)

Utilizando o protocolo de Petasis (1997)³⁸, Sugiyama e colaboradores (2004)³⁹ desenvolveram uma rota para a síntese da (-)-citoxazona (Esquema 5). A primeira etapa consistiu na reação de acoplamento entre três componentes, (*R*)-1-(1-naftil)etilamina, gliceraldeído e o ácido 4-metóxilfenilborônico, levando à obtenção da mistura diastereoisomérica (1:1) dos amino diois **32** e **33**. Em seguida, a proteção das hidroxilas primárias da mistura, levou aos respectivos silil éteres **34** e **35**. A etapa de ciclização para formação dos anéis oxazolidin-2-onas **30** e **31** se deu pelo tratamento dos amino diois **36** e **37** com *N,N'*-succinimidil carbonato (DSC) em acetonitrila. Finalmente, a sequência de desililação, separação da mistura diastereoisomérica em coluna cromatográfica e remoção do grupo 1-naftiletila, forneceu ambos os enantiômeros da citoxazona.

³⁸ PETASIS, N.A. Method for the Synthesis of Amines and Amino Acids with Organoboran Derivatives. US6232467 B1, 2001.

³⁹ SUGIYAMA, S.; ARAIS, S.; ISHII, K. Short synthesis of both enantiomers of cytoxazone using the Petasis reaction. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15, 3149-2004.



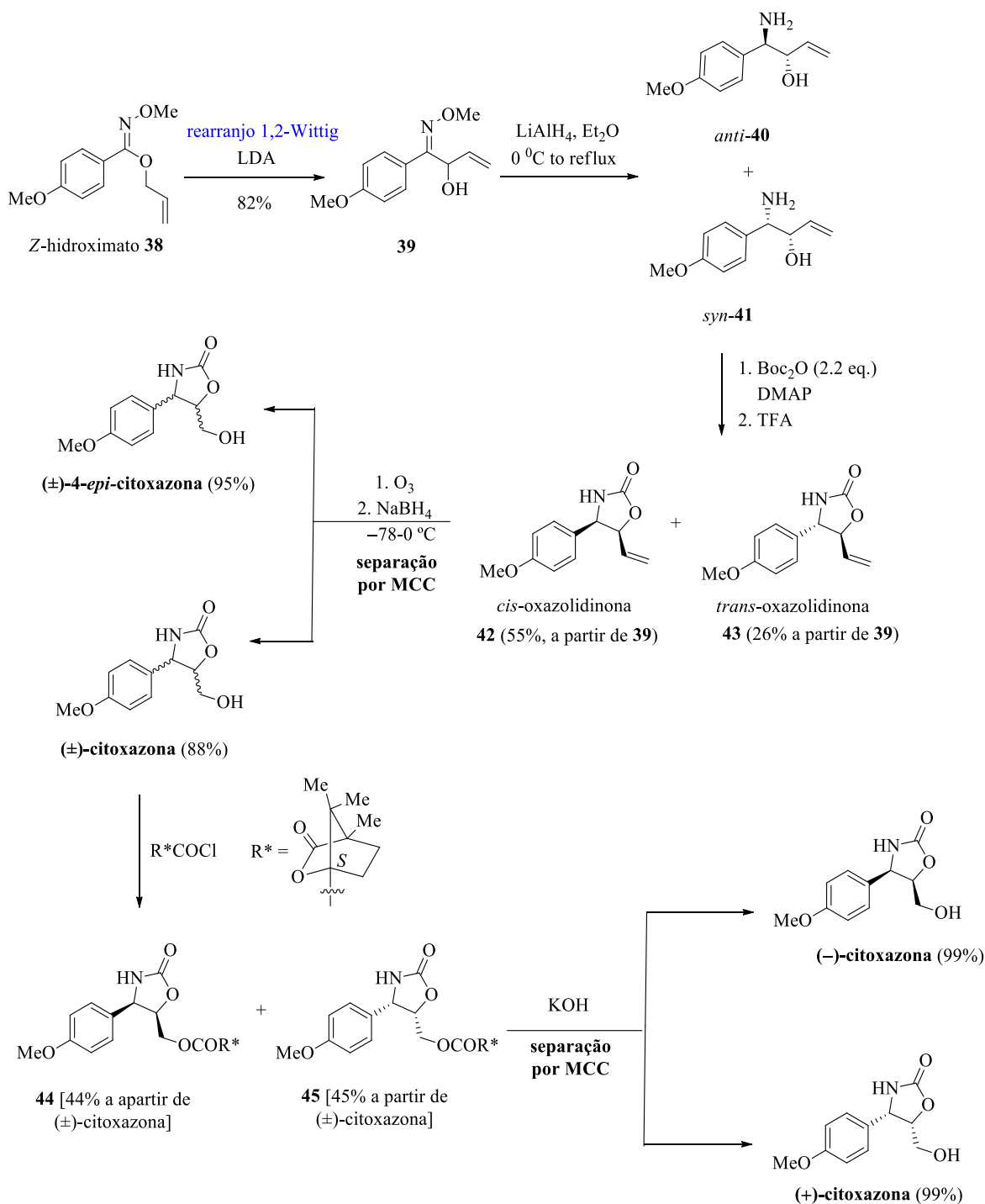
Esquema 5. Síntese dos enantiômeros (-)- e (+)-citoxazona através do acoplamento de Petasis.

vi- Rota sintética que utiliza rearranjo 1,2-Wittig como etapa-chave (F)

Outra abordagem sintética bastante interessante para a preparação da (-)-citoxazona foi desenvolvida Miyata *et al.*⁴⁰, com base no rearranjo imino 1,2-Wittig de hidroximatos (Esquema 6). O *Z*-hidroximato **38**, quando tratado com LDA, forneceu o respectivo produto de rearranjo 1,2-Wittig, éter *Z*-2-hidroximato **39**. A redução do grupo hidroximato e a demetoxilação com LiAlH₄ produziram a mistura do *anti*- e *syn*-aminoalcoóis **40** e **41**. Em seguida, a heterociclicização *in situ* da mistura pela *N*-Boc diproteção e a subsequente *N*-Boc desproteção com TFA levaram, após separação dos diastereoisômeros, aos derivados, *cis*- e *trans*-oxazolidin-2-onas **42** e **43**. Essas oxazolidinonas foram convertidas, separadamente, na (±)-citoxazona e a (±)-4-*epi*-citoxazona, após clivagem oxidativa do alceno terminal, com ozônio e subsequente

⁴⁰ MIYATA, O.; KOIZUMI, T.; ASAI, H.; *et al.* Imino 1,2-Wittig rearrangement of hydroximates and its application to synthesis of citoxazone. **Tetrahedron**, 60, 3893-3914, 2004.

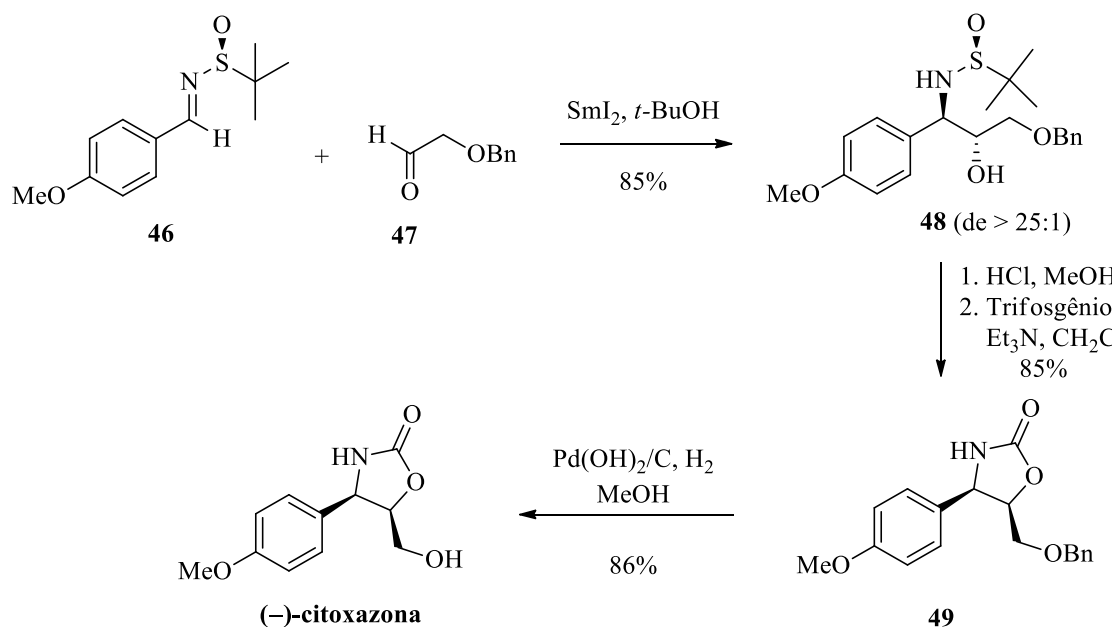
redução com NaBH_4 do aldeído formado. A resolução do racemato (\pm)-citoxazona foi realizada através da acilação com o cloreto canfânico quiral, levando a **44** e **45**, que foram separados por cromatografia multicolumnas (MCC). A hidrólise individual de (*4R,5R*) e (*4S,5S*)-oxazolidinona levou, respectivamente, a (–) e (+)-citoxazona.



Esquema 6. Abordagem sintética para obtenção da (–)- e (+)-citoxazona empregando rearranjo imino 1,2-Wittig de hidroxiomatos.

vii- Rota sintética que parte de sulfinil iminas quirais e utiliza uma reação de acoplamento redutivo cruzado como etapa-chave (G)

N-terc-Butanossulfinil iminas quirais, foram utilizadas pela primeira vez, por Ellman e colaboradores (2002)⁴¹ proporcionando bons resultados em reações de alquilações estereocontroladas. Com base nisso, Lin e colaboradores (2005)⁴² empregaram essa estratégia sintética para obtenção da (-)-citoxazona (Esquema 7). Primeiro obtiveram o derivado amina *terc*-butanossulfinila **48** com bom rendimento e diastereosseletividade (> 25:1) através de uma reação de acoplamento redutivo cruzado entre a (*S*)-*N-terc*-butanossulfinil imina **46** e o aldeído **47**, mediada pelo SmI₂. Vale a pena destacar que a presença do substituinte metoxila na posição *para* no anel aromático, em **46**, conferiu um aumento de diastereosseletividade no acoplamento. Após a remoção, em meio ácido, do auxiliar *terc*-butanossulfinil, heterociclicização e desbenzilação, obteve-se a (-)-citoxazona com 50% de rendimento a partir de **46**.



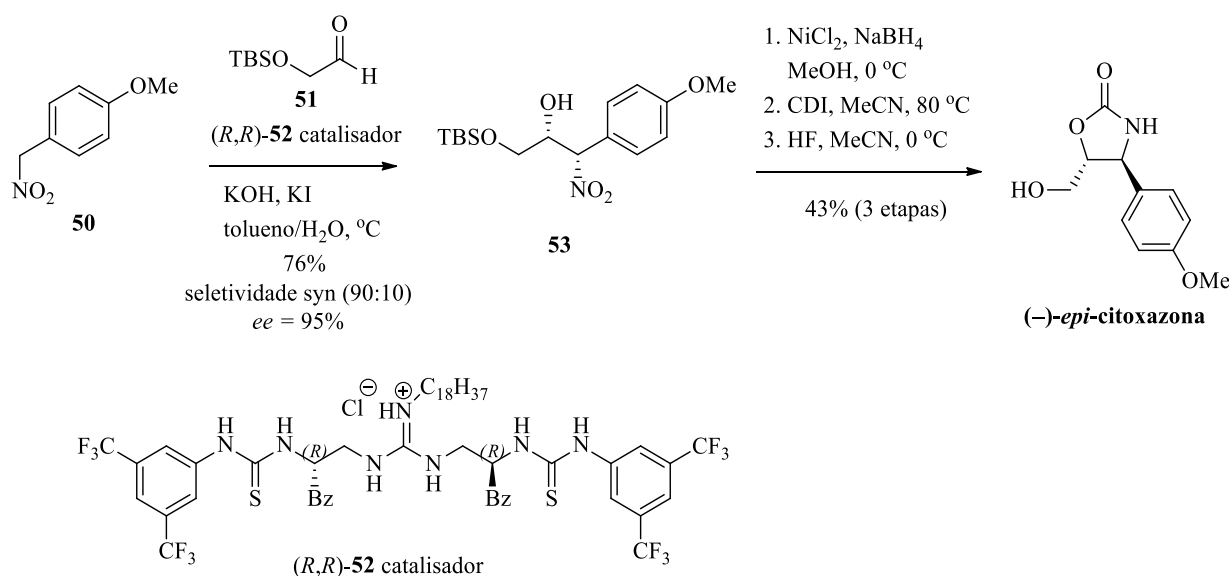
Esquema 7. Síntese total da (-)-citoxazona empregando *N-terc*-butanossulfinil imina como auxiliar quiral.

⁴¹ ELLMAN, J.A.; OWENS, T.D.; TANG, T.P. *N-ter*-butanesulfinyl imines: versatile intermediates for the asymmetric synthesis of amines. **Acc. Chem. Res.**, 35, 984-995, 2002.

⁴² LIN, X.; BENTLEY, P.A.; XIE, H. Auxiliary strategies for the preparation of β-amino alcohols with reductive cross-coupling and a synthesis of (-)-cytoxazone. **Tetrahedron Lett.**, 46, 7849-7852, 2005.

viii- Rota sintética que utiliza reação de Henry diastereosseletiva como etapa-chave (H)

Sohtome e equipe (2006)⁴³ publicaram uma aplicação da reação de Henry (nitroadol), altamente enantio- e diastereosseletiva, entre o aldeído **51** com o 1-metóxi-4-nitrometilbenzeno **50**, usando a guanidina-tiouréia **52** como o catalisador quiral, fornecendo o nitroálcool **53** com seletividade 1,2-*syn* para preparar a (-)-*epi*-citoxazona (Esquema 8). A formação do anel oxazolidinona se deu através de uma sequência de etapas: redução do grupo nitro, ciclização e desililação para produzir a (-)-*epi*-citoxazona com 33% de rendimento global e 95% de *ee* a partir de **50**.



Esquema 8. Síntese da (4*S*,5*R*)-*epi*-citoxazona utilizando a reação de Henry.

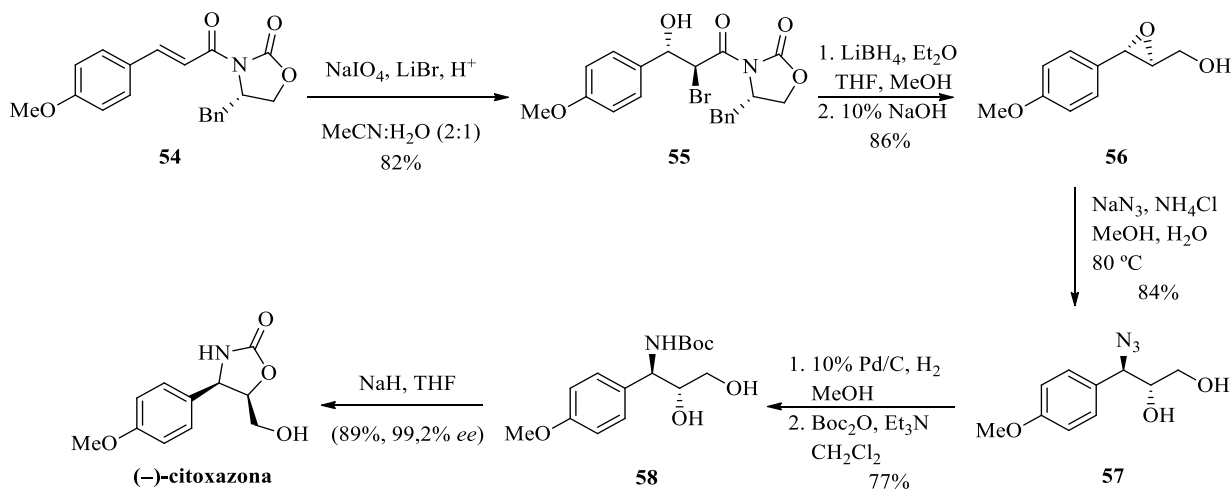
ix- Rota sintética que utiliza reação de bromidroxilação estereosseletiva como etapa-chave (I)

A (-)-citoxazona também foi sintetizada por George e colaboradores em 2007⁴⁴ (Esquema 9). A reação de bromidroxilação diastereosseletiva da carboxamida α,β -insaturada **54** em presença de NaIO₄ e LiBr forneceu a bromidrina **55**. O substituinte quiral (oxazolidinona de Evans) foi removido em presença de LiBH₄, seguido pelo tratamento com NaOH 10%

⁴³ SOHTOME, Y.; HASHIMOTO, Y.; NAGASAWA, K. Diastereoselective and enantioselective Henry (Nitroaldol) reaction utilizing a Guanidine-Thiourea bifunctional organocatalyst. *Eur. J. Org. Chem.*, 13, 2894-2897, 2006.

⁴⁴ GEORGE, S.; NARINA, S.V.; SUDALAI, A. NaIO₄-mediated asymmetric bromohydroxylation of α,β -unsaturated carboxamides with high diastereoselectivity: a short route to (-)-cytoxazone and droxidopa. *Tetrahedron Lett.*, 48, 1375-1378, 2007.

levando ao epoxiálcool **56**, cuja abertura com NaN_3 levou ao respectivo azidoálcool **57**. Este foi convertido no produto de interesse, após redução do grupo azida, *N*-Boc proteção e ciclização.

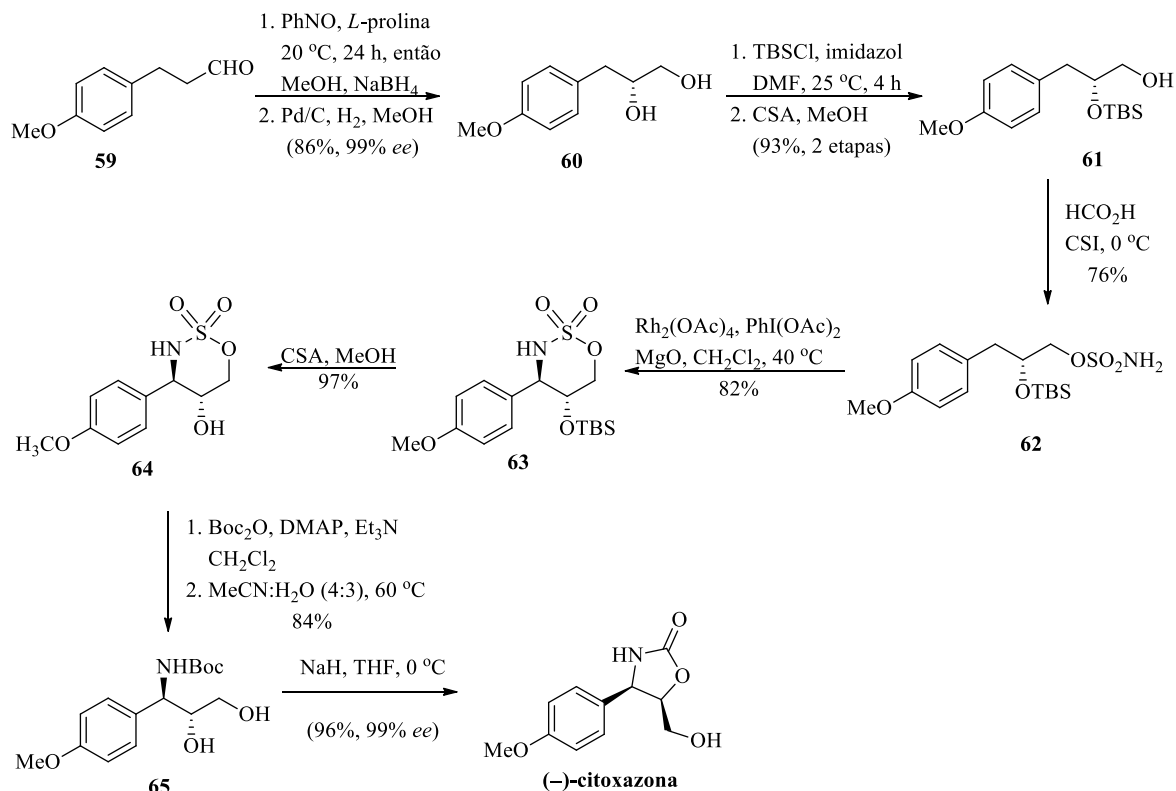


Esquema 9. Síntese total da (-)-citoxazona proposta por Sudalai e equipe.

x- Rota sintética que utiliza reação aminação estereosseletiva como etapa-chave (J)

Em outro trabalho, Narina e seu grupo (2007)⁴⁵ relataram uma elegante rota sintética enantiosseletiva para a preparação da (-)-citoxazona (Esquema 10). A conversão do aldeído de partida no correspondente diol foi feita por meio de uma reação de α -amino-oxilação assimétrica catalisada pela L-prolina em duas etapas: reação do aldeído **59** com nitrosobenzeno, seguida de redução com NaBH_4 e atmosfera de H_2 e Pd/C , produziram o diol quiral **60** com 86% de rendimento e 99% de *ee*. A proteção do diol e desproteção seletiva da hidroxila primária forneceram o respectivo silil álcool **61**. Esse foi convertido no sulfamato éster **62**, que ao ser submetido a uma aminação diastereosseletiva intramolecular, em presença de quantidade catalítica de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ como oxidante, forneceu **63**, com diastereosseletividade *anti* (10:1). Após a separação do diastereoisômero *anti* **63** por cromatografia em coluna, a sequência de desproteção do grupo TBS, carbamoilação com Boc_2O do grupo N-H do anel oxatiazinano em **64**, seguida de abertura deste anel com solução aquosa de CH_3CN e ciclização intramolecular regioseletiva, forneceu a (-)-citoxazona. A síntese da (+)-*epi*-citoxazona foi feita de forma similar à (-)-citoxazona, exceto pela troca da L-prolina pela D-prolina na primeira etapa.

⁴⁵ NARINA, S.V.; KUMAR, T.S.; GEORGE, S.; *et al.* Enantioselective synthesis of (-)-cytoxazone and (+)-*epi*-cytoxazone via Rh-catalyzed diastereoselective oxidative C–H aminations. **Tetrahedron Lett.**, 48, 65-68, 2007.



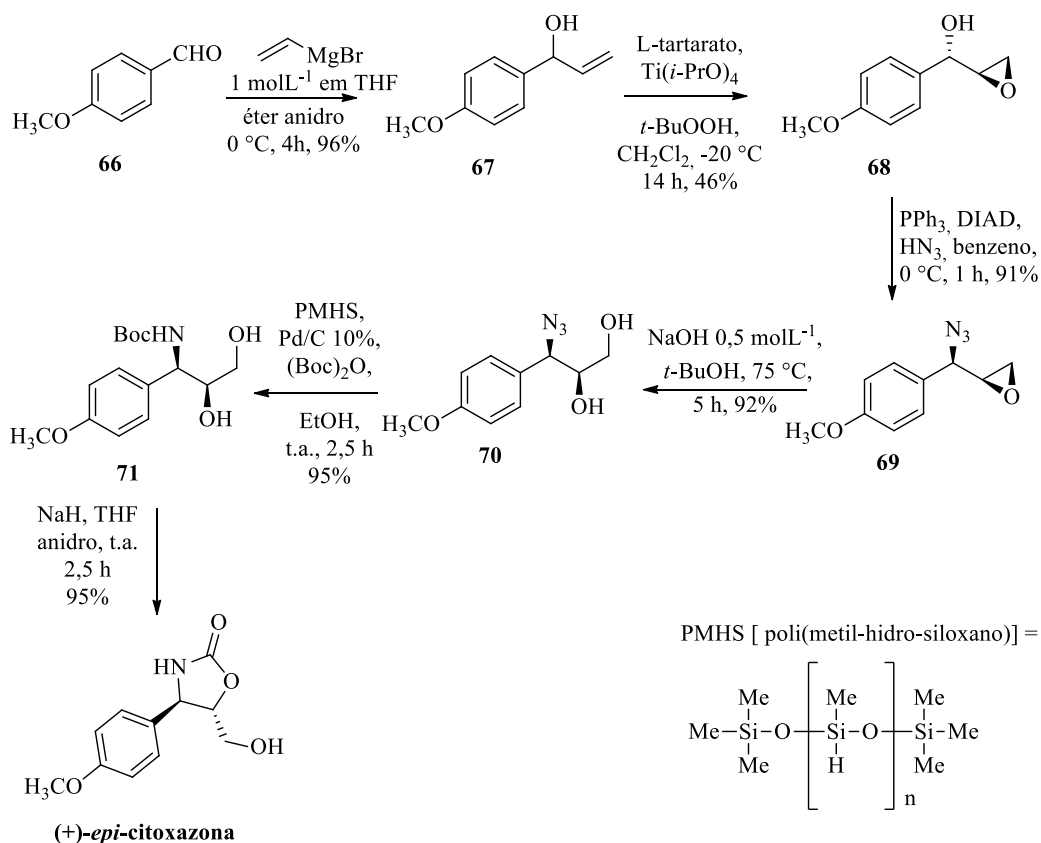
Esquema 10. Abordagem sintética da (-)-citoxazona por meio de uma aminação estereosseletiva.

xi- Rota sintética que utiliza resolução cinética por meio de uma reação de epoxidação de Sharpless como etapa-chave (K)

Smitha e Reddy⁴⁶ sintetizaram a (+)-*epi*-citoxazona em seis etapas a partir do anisaldeído, empregando resolução cinética de Sharpless, seguida de uma inversão de Mitsunobu (Esquema 11). A rota se iniciou pelo tratamento do anisaldeído (**66**) com brometo de vinilmagnésio, levando ao álcool **67**, com 96% de rendimento. Empregando uma etapa de epoxidação enantiosseletiva, na presença de *L*-di-isopropiltartarato, o álcool alílico racêmico (**67**) foi convertido no respectivo epoxiálcool (**68**), com 46% de rendimento. O intermediário **68** foi então submetido a uma reação de inversão de Mitsunobu, em que o ácido hidrazóico sofreu ataque nucleofílico da azida, produzindo a epóxiázida **69**, com 91% de rendimento. Na etapa seguinte, o anel epóxido foi aberto pelo tratamento com NaOH em *t*-BuOH, levando ao azidoálcool **70** com 92% de rendimento. Um etapa de redução do grupo azida, seguida de uma *N*-Boc proteção do grupo amino resultante, em um protocolo *one-pot* e, finalmente, uma ciclização

⁴⁶ SMITHA, G.; REDDY, C.S. Asymmetric Synthesis of (+)-*epi*-Cytosaxone. *Synth. Commun.*, 36, 1795-1800, 2006.

intramolecular na presença de NaH em THF, proporcionaram a (+)-*epi*-citoxazona, com 32% de rendimento global.



Esquema 11. Síntese da (+)-*epi*-citoxazona empregando resolução cinética de Sharpless.

Nesse contexto, pode-se perceber que o grande número de rotas sintéticas desenvolvidas para a síntese dos isômeros da (–)-citoxazona foram motivadas pela grande relevância e importância desses compostos. Do ponto de vista sintético, a construção do esqueleto carbônico desses isômeros é desafiadora, pois embora seja uma molécula relativamente pequena, é também muito funcionalizada, além de conter um anel de cinco membros com dois centros estereogênicos o que requer o desenvolvimento ou aplicação de abordagens sintéticas complexas.

Além disso, do ponto de vista farmacológico, devido às suas marcantes atividades biológicas, é de grande interesse o desenvolvimento de novos estudos que propiciem a síntese total estereosseletiva da (–)-citoxazona e seus isômeros para a avaliação de suas atividades biológicas.

Esses fatores motivaram o desenvolvimento desse trabalho. Cabendo destacar alguns aspectos pontuais e inovadores do presente trabalho em relação às rotas descritas acima, como etapas-chave de menor complexidade (reação adição de cianeto a aldeído, reação de olefinação de Wittig e di-hidroxilação estereosseletiva, empregando OsO₄/NMO), substratos quirais de

baixo custo e uso de grupos de proteção para o controle da estereosseletividade. Além da aplicação de metodologias sintéticas não utilizadas anteriormente para indução de estereosseletividade.

1.2. Objetivos gerais

O presente trabalho objetivou desenvolver novas abordagens para a síntese estereosseletiva da (-)-citoxazona e da (+)-*epi*-citoxazona, partindo de substratos quirais, como D-4-hidroxifenilglicina e o D-manitol, comercialmente disponíveis.

Além disto, o presente trabalho almejou avaliar as potenciais atividades antimicrobianas para *S. aureus*, isoladas de animais com infecção de mastite bovina, da (-)-citoxazona, da (+)-*epi*-citoxazona e de seus intermediários.

1.2.1. Objetivos específicos

O presente trabalho objetivou avaliar a estereosseletividade da reação de adição de cianeto à aminoaldeído, derivado da D-4-hidroxifenilglicina, contendo um grupo *N*-protetor volumoso ligado ao carbono α -carbonílico.

Além disso, almejou-se testar a estereosseletividade em reações de di-hidroilação empregando OsO₄/NMO de uma olefina *Z* contendo um grupo cetal volumoso adjacente, para verificar o favorecimento do produto da aproximação do OsO₄ pela face contrária ao grupo cetal.

CAPÍTULO 1

PARTE I

Rota sintética para a obtenção da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona a partir D-4-hidroxi-fenilglicina

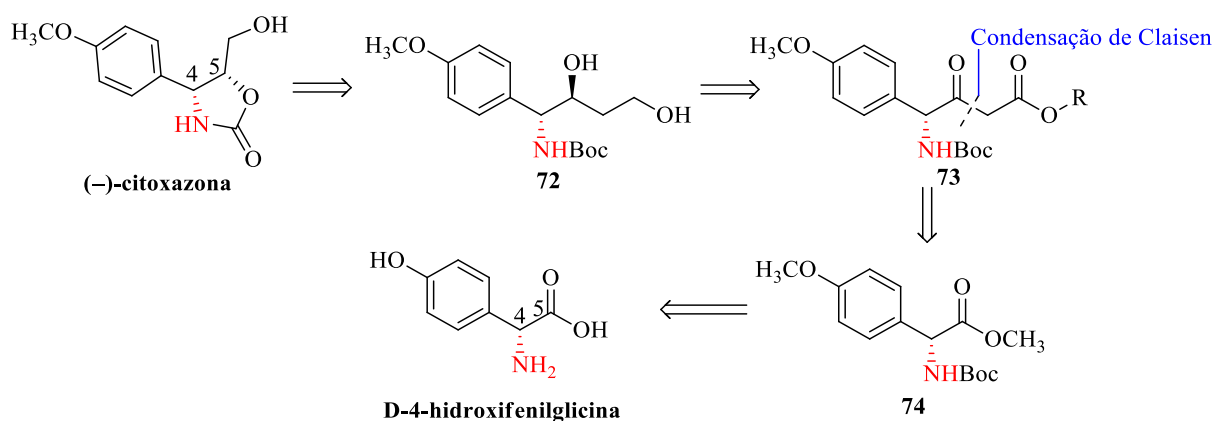
2. Resultados e discussão

2.1. Rota sintética para a obtenção da (-)-citoxazona a partir D-4-hidroxi-fenilglicina tendo uma reação de condensação de Claisen como etapa-chave

Levando-se em consideração as principais rotas para a síntese total estereosseletiva da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona, anteriormente descritas, o presente trabalho apresenta novas abordagens para obtenção desses compostos empregando materiais de partida quirais, de baixo custo e prontamente disponíveis. Além disso, foram empregadas metodologias sintéticas clássicas e de menor complexidade, algumas ainda não utilizadas para a síntese desses compostos, e cujas estereosseletividades foram alcançadas por meio da utilização de grupos protetores volumosos, que já seriam requeridos e que passaram a desempenhar a função de estereoindutores, reduzindo custos comparativamente a outras metodologias que utilizam catalizadores quirais, auxiliares quirais, resolução cinética ou enzimática, por exemplo.

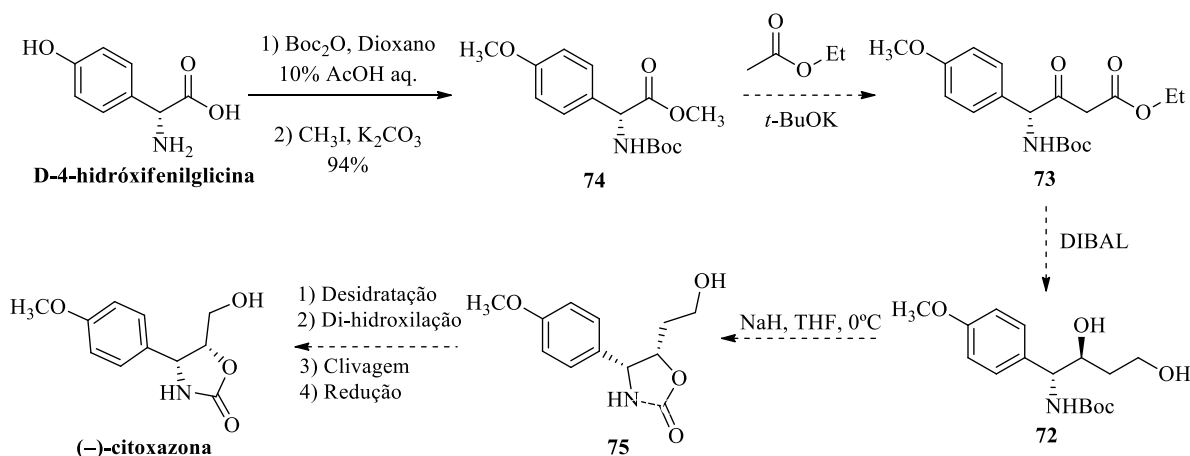
Nesse contexto, propusemos novas rotas sintéticas para preparação da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona.

A primeira delas tem o aminoácido D-4-hidroxi-fenilglicina, como material de partida, cujo centro assimétrico corresponde a um dos requeridos (C4) para a construção do anel oxazolidinona na síntese da (-)-citoxazona, segundo a análise retrossintética (Esquema 12). Dessa maneira, propusemos que o anel oxazolidinona poderia ser obtido empregando uma reação de *N,O*-ciclização, por meio do tratamento do aminodiol **72** com NaH/THF. O aminodiol **72**, por sua vez, poderia ser obtido por meio de uma reação de redução do β -cetoéster **73**, obtido através de uma reação de condensação de Claisen entre o aminoéster **74** e acetato de etila. Finalmente, o aminoéster **74** poderá ser obtido a partir da D-4-hidroxi-fenilglicina, disponível comercialmente.



Esquema 12. Análise retrossintética para obtenção da (-)-citoxazona a partir da D-4-hidroxi-fenilglicina.

A primeira etapa dessa rota sintética (Esquema 13) envolveu uma reação de *N*-Boc proteção da D-4-hidroxifenilglicina, fornecendo um intermediário que foi imediatamente submetido à etapa de esterificação do grupo carboxila e concomitante *O*-metilação da hidroxila fenólica, empregando CH₃I/K₂CO₃, fornecendo o derivado éster metílico (**74**), com 94% de rendimento (duas etapas), cujos dados espectroscópicos e espectrométricos, foram consistentes com os descritos por Kumar e colaboradores³³.



Esquema 13. Rota sintética preparação da (-)-citoxazona por meio de uma reação de condensação de Claisen.

A seguir, tentou-se realizar uma reação de condensação de Claisen do éster **74** com acetato de etila anidro, previamente tratado, em condições solvolíticas, na presença de *t*-BuOK (1,3 equivalentes) como base, à temperatura ambiente.⁴⁷ Entretanto, não obteve-se o β -cetoéster de interesse, além de ser observada apenas a formação do produto de homocondensação do acetato de etila, enquanto o éster **74**, foi recuperado ao término da reação.

Com a finalidade de evitar a reação de homocondensação do acetato de etila, decidimos emprega-lo em quantidade estequiométrica (1,3 equivalentes), bem como a base (*t*-BuOK) e THF anidro como solvente.

Curiosamente, a partir dessa modificação obteve-se o produto de homoacoplamento do acetato de etila, bem como o de transesterificação do éster metílico de partida (**74**), mas não o produto de condensação de Claisen. A formação do éster etílico derivado foi verificada pela análise de seu espectro de RMN de ¹H (Figura 18), no qual a presença dos sinais tripleto em 1,20 ppm e quarteto em 4,17 ppm, além da ausência do simpleto integrado para 3 hidrogênios, que aparecia em 3,70 ppm no espectro do éster metílico de partida (**74**), confirmam a transesterificação indesejada. Os sinais observados nos espectros de RMN de ¹³C (Figura 19) e

⁴⁷ LARGY, E.; HAMON, F.; ROSU, F.; *et al.* Tridentate *N*-donor palladium (II) complexes as efficient coordinating quadruplex DNA binders. **Chem. Eur. J.**, 17, 13274-13283, 2011.

no subespectro Dept (Figura 20) também evidenciam a ocorrência da formação desse produto, chamando a atenção para os sinais dos carbonos C9 e C8 que aparecem em 14,20 e 61,81 ppm, respectivamente.

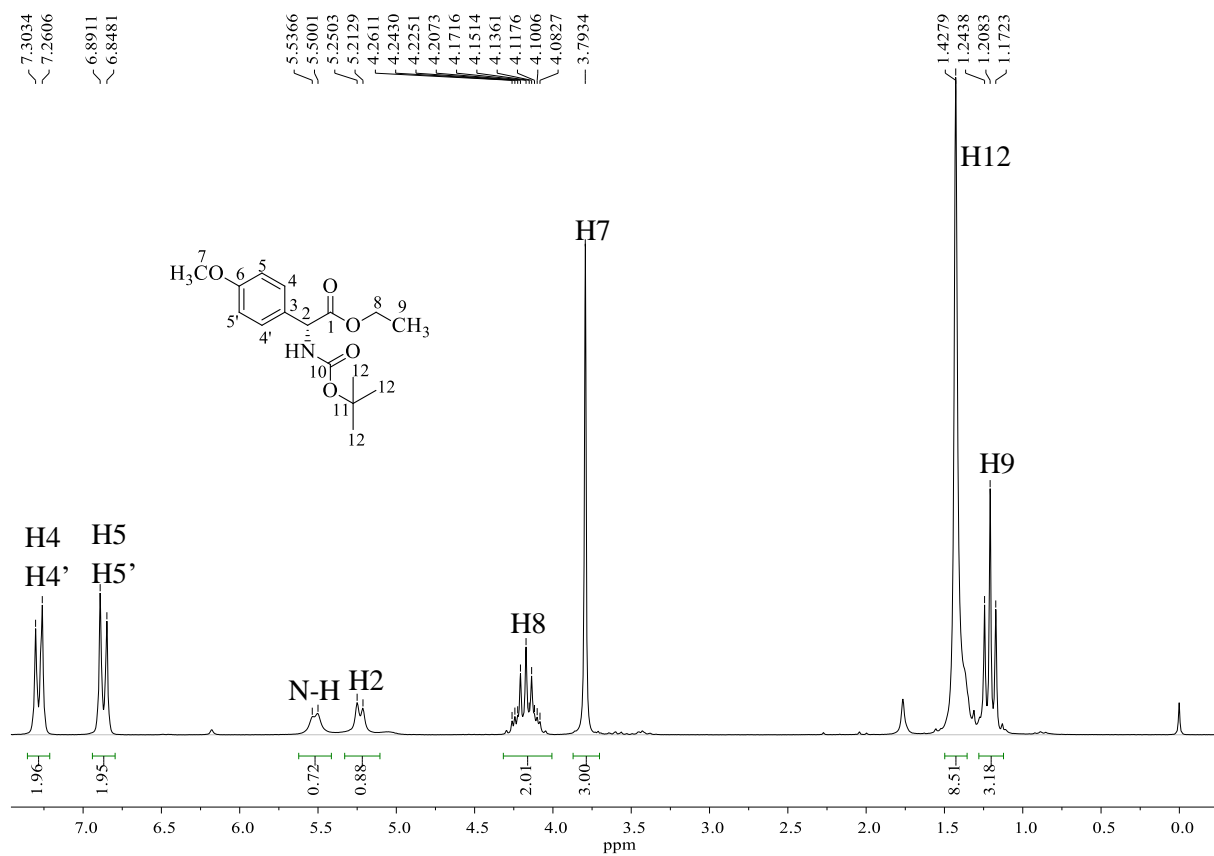


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) do éster etílico indesejado.

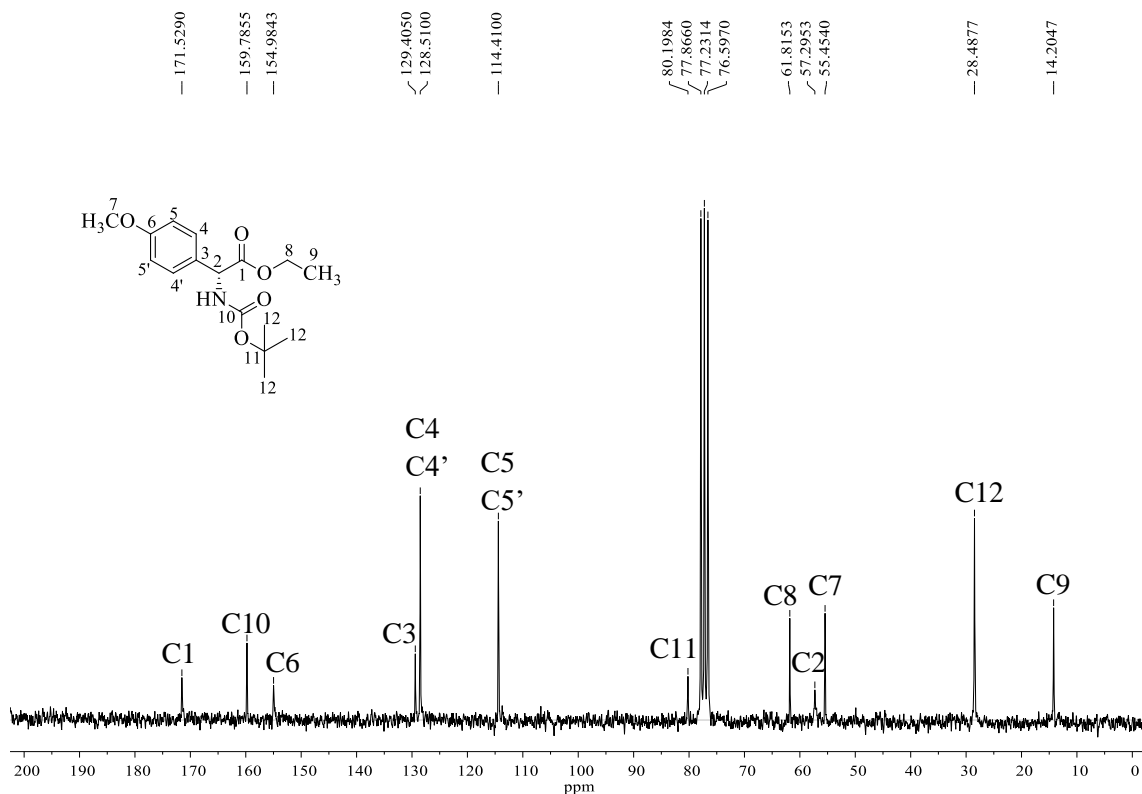


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do éster etílico indesejado.

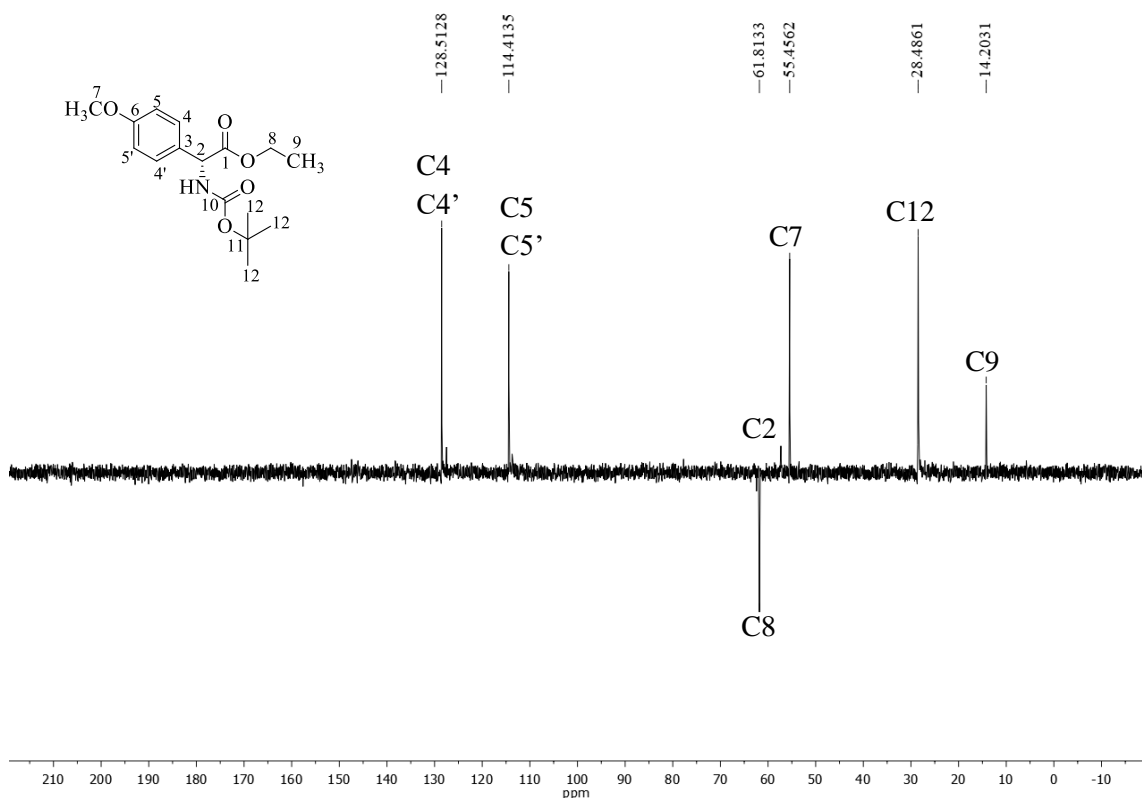
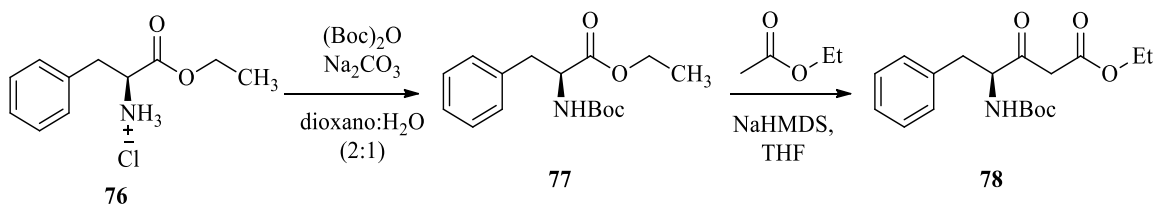


Figura 20. Subspectrum Dept (50 MHz, CDCl_3) do éster etílico indesejado.

A partir dos resultados obtidos, percebeu-se que a realização da condensação de Claisen com esse substrato, não seria trivial. Então, novos estudos empregando um éster derivado da L-

fenilalanina, como modelo, foram realizados para desenvolver e otimizar a metodologia de condensação de Claisen.

Para isto, o éster etílico derivado da L-fenilalanina (**76**), disponível comercialmente, foi submetido a uma reação de *N*-Boc proteção fornecendo o novo substrato **77** para reação de condensação de Claisen (Esquema 14).



Esquema 14. Rota para obtenção do produto de condensação de Claisen derivado da L-fenilalanina.

Modificando as condições reacionais descritas por Largy *et al.*⁴⁷, na primeira tentativa para realização da reação de condensação de Claisen empregando o éster **77**, acetato de etila (1,3 equiv.), na presença de THF anidro como solvente e *t*-BuOK (2,6 equiv.), obteve-se, novamente, apenas o produto de homocondensação do acetato de etila, recuperando-se o substrato. Então decidiu-se aumentar a força da base empregando-se dessa vez o hexametildisilazida de sódio (NaHMDS) em vez de *t*-BuOK.

Na nova tentativa empregaram-se 4 equivalentes de base (NaHMDS), 4 equivalentes de acetato de etila e THF como solvente. Além disso, a reação foi realizada à 0 °C, por um período de 1 hora, levando a formação do produto de condensação desejado **78** com 5% de rendimento. A formação do produto de homocondensação do acetato de etila também foi observada.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 21) deste composto **78** observa-se a presença de um sinal tripleto em 1,26 ppm, bem como um quarteto, 4,17 ppm, atribuídos aos hidrogênios do grupo etoxila. Além de dois dupletos em 3,51 e 3,45 se ppm, atribuídos aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos α -dicarbonílicos (H₂), devido ao acoplamento geminal entre esses hidrogênios.

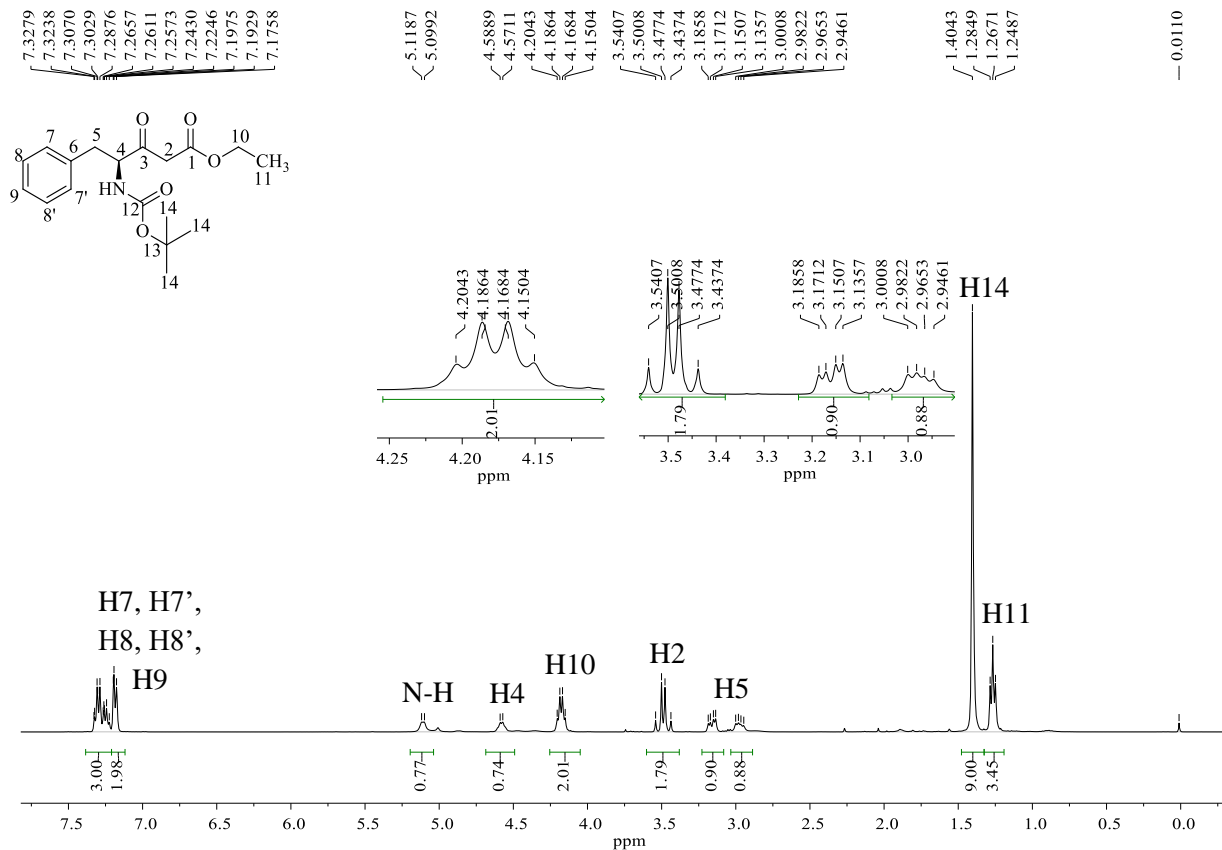


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do β -cetoéster **78**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 22) desse do β -cetoéster (**78**) podemos observar os sinais dos quatorze carbonos magneticamente distintos, sendo três carbonos metilênicos, como pode ser comprovado pelo subespectro DEPT (Anexo 24). Destacando-se os sinais de carbonos carbonílicos de éster e cetona, em 167,02 e 202,05 ppm, respectivamente.

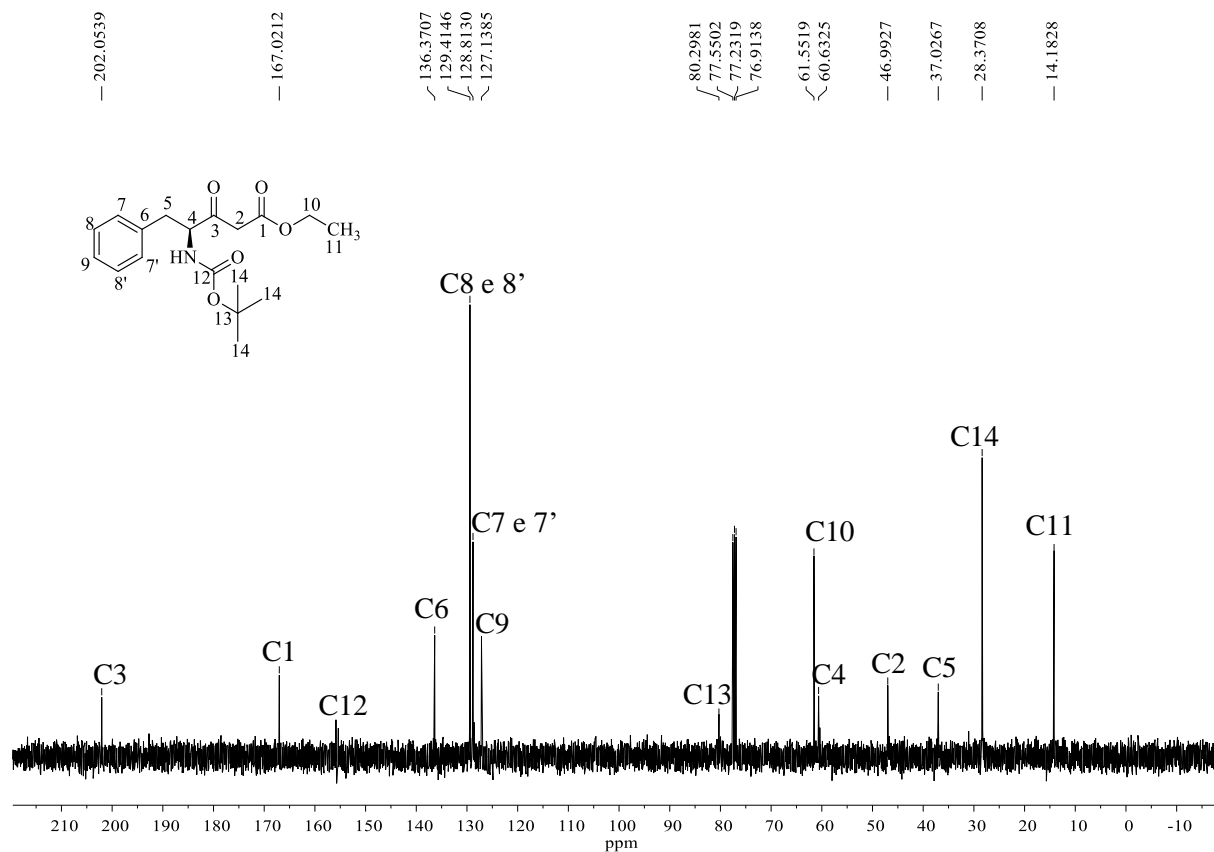


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do β -cetoéster **78**.

Em busca de otimizar o rendimento dessa reação, empregamos as mesmas proporções estequiométricas, mas, dessa vez, diminuimos a temperatura do sistema, que foi mantido a -78 °C por 40 min e, posteriormente, a temperatura foi elevada à ambiente lentamente, sem remoção do banho (CO_2 /etanol). Ao término evidenciou-se a formação do respectivo β -cetoéster (**78**) com 28% de rendimento.

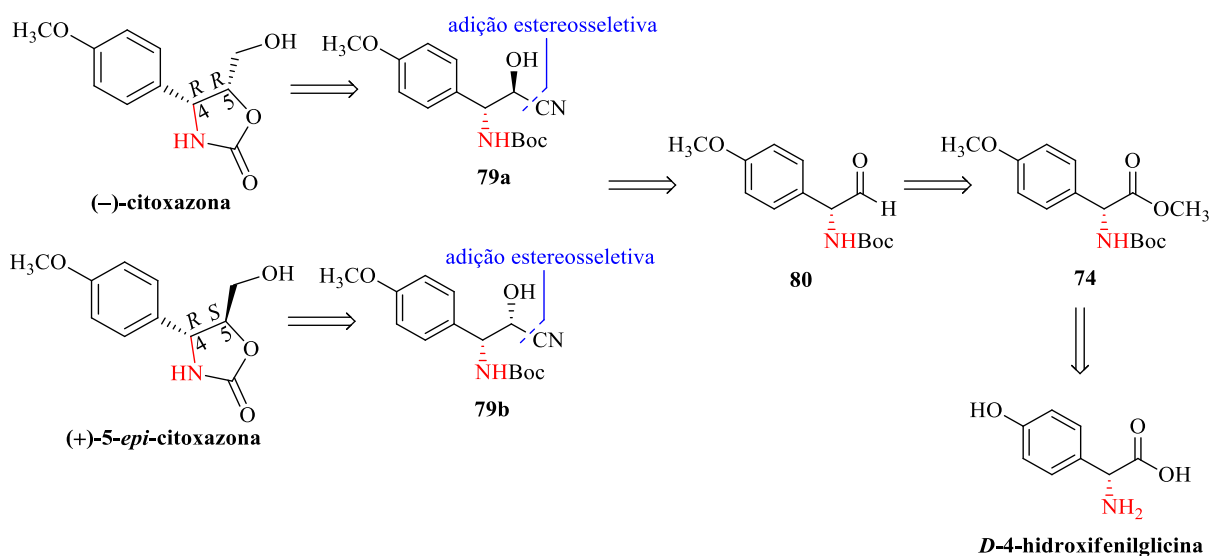
Com o intuito de impedir ou diminuir a formação do produto de homocondensação do acetato de etila, reduzimos a proporção de acetato de etila e NaHMDS, para 2 equivalentes cada um, mas também a -78 °C por 40 min e aquecido à temperatura ambiente. Nessas condições foi possível elevar o rendimento na formação do β -cetoéster (**71**) para 40%. Reduzindo ainda mais o número de equivalentes do AcOEt e NaHMDS, ambos para 1,5 equivalentes, à mesma temperatura obteve-se um menor rendimento (25%) para o produto de condensação **78**. Finalmente foi realizado um teste empregando as “melhores condições” (AcOEt: 2 equiv.; NaHMDS: 2 equiv.), que forneceram melhor rendimento, mas a -5 °C por duas horas, obtendo-se somente 10% de rendimento do produto.

Curiosamente, o rendimento anteriormente obtido de 40% não pode ser reproduzido, em outras tentativas empregando-se as mesmas condições. Eles variaram entre 23, 30 e 34%. A partir desses resultados desalentadores, não consideramos a possibilidade de empregar as condições “otimizadas” com o derivado da L-fenilalanina na condensação de Claisen para o

derivado da D-4-hidroxifenilglicina (**74**), ponderou-se que essa rota não seria viável. Assim, vislumbrou-se uma nova possibilidade para a formação de uma ligação C-C, requerida para a construção do anel (-)-citoxazona, a partir de uma reação de adição de cianeto ao aldeído **80**, derivado da D-4-hidroxifenilglicina, cuja abordagem será apresentada a seguir.

2.2. Síntese da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina através de uma reação de adição de cianeto ao seu respectivo aminoaldeído

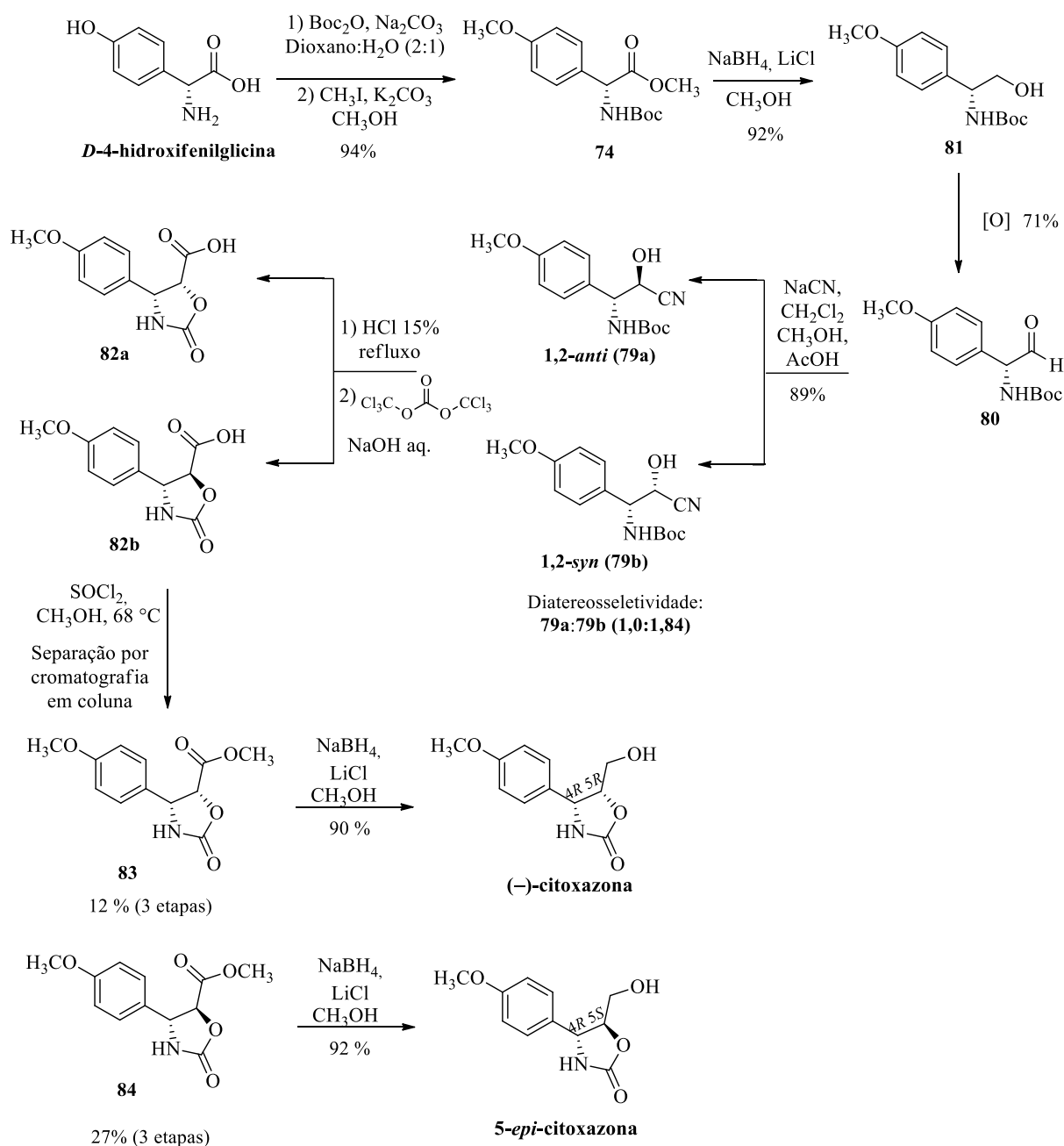
A nova proposta para obtenção da (-)-citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina é apresentada na análise retrossintética (Esquema 15). A formação do anel oxazolidinônico se deu por meio de uma reação de *N,O*-heterociclicização, empregando trifosgênio/NaOH, a partir do aminoácido obtido da hidrólise ácida do cianoidrina **79**. A formação de **79**, por sua vez, foi possível por meio de uma etapa de adição de cianeto ao aldeído **80**, que pode ser obtido em duas etapas, a partir do éster (**74**) derivado da D-4-hidroxifenilglicina: redução da função éster e oxidação da hidroxila do álcool resultante.



Esquema 15. Análise retrossintética para obtenção da (-)-citoxazona a partir da D-4-hidroxifenilglicina.

Nessa rota, a etapa-chave é a reação de adição estereosseletiva de cianeto, cujo produto de adição Felkin-Ahn, com configuração relativa *anti* **79a** forneceu a (-)-citoxazona com os estereocentros (4*R*,5*R*). Enquanto o produto de adição *anti*-Felkin **79b** levou à (+)-5-*epi*-citoxazona, com os estereocentros (4*R*,5*S*).

A partir do éster **74**, preparado anteriormente, a etapa seguinte nessa rota (Esquema 16) envolveu uma reação de redução grupo éster a álcool, empregando NaBH₄ na presença de LiCl.



Esquema 16. Síntese da (-)-citoxazona e da (+)-5-epi-citoxazona a partir da D-4-hidroxiifenilglicina por meio de adição de cianeto.

A formação do aminoálcool **81**, através de uma redução empregando NaBH₄/LiCl, com 92% de rendimento, foi evidenciada através de análises espectroscópicas e espectrométricas, que foram concordantes com as descritas por Kumar e colaboradores,³³ como por exemplo no espectro no infravermelho (Figura 23), a banda em 3373 cm⁻¹, característica de estiramento de

ligação O-H, além da ausência de uma banda em 1743 cm^{-1} , característica de estiramento de ligação C=O de éster, foram as primeiras evidências da ocorrência da reação de redução.

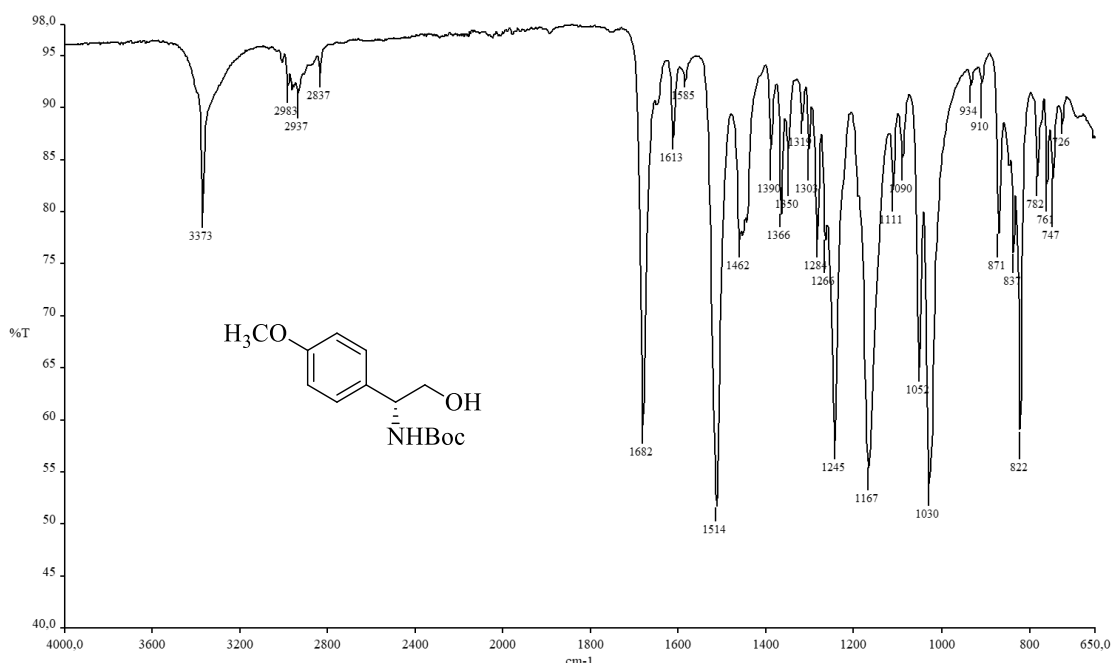
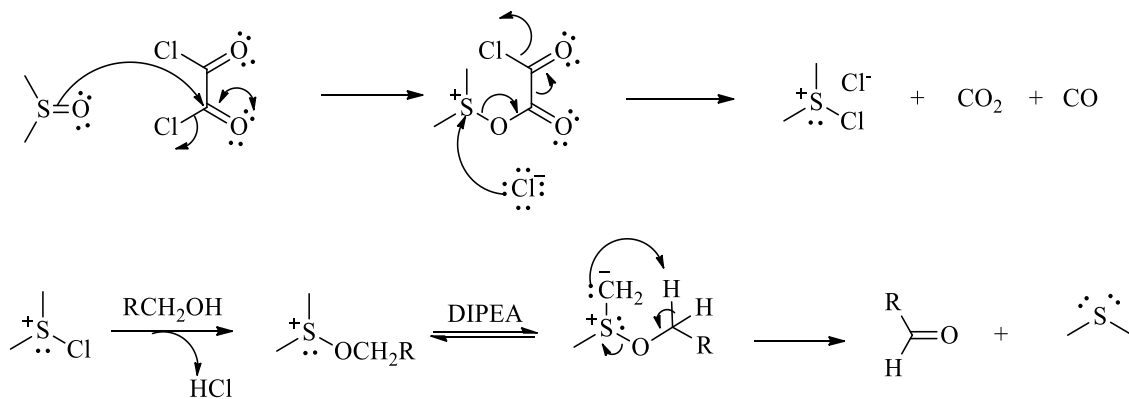


Figura 23. Espectro no infravermelho do álcool **81**.

Para a realização da reação de oxidação do álcool **81** ao aldeído **80** foram testadas três metodologias: oxidação de Swern, oxidação empregando a periodinana de Dess-Martin e o ácido 2-iodoxibenzóico (IBX).

A reação de oxidação de Swern emprega condições reacionais brandas e compatíveis com a maioria dos grupos funcionais. A reação inicia-se pela formação *in situ* da espécie dimetilclorossulfônio a partir do DMSO e do cloreto de oxalila. A reação dessa espécie altamente eletrofílica com o álcool leva ao íon alcóxissulfônico, cuja desprotonação, realizada por uma base adicionada na sequência, fornece o respectivo ílideo de enxofre. A seguir, uma desprotonação intramolecular e o colapso imediato fornece o aldeído de interesse, além do dimetilsulfeto (Esquema 17). No presente trabalho empregou-se di-isopropiletilamina (DIPEA), uma base volumosa, para evitar a remoção do próton α -carbonílico do aldeído formado, minimizando a racemização deste estereocentro.



Esquema 17. Mecanismo da reação de oxidação de Swern.

Sabendo-se que aldeídos contendo grupos retiradores de elétrons α -carbonílicos são mais susceptíveis a racemização, a purificação do resíduo bruto foi feita rapidamente, através de uma coluna cromatográfica filtrante empregando sílica gel, permitindo que o aldeído fosse empregado imediatamente na etapa seguinte, buscando evitar ou minimizar a sua racemização.

A formação do aldeído de interesse (**80**) foi evidenciada, através da análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 24) em que se observa um sinal simpleto integrando para um hidrogênio em 9,43 ppm, característico de hidrogênio de aldeído. Além da ausência dos sinais atribuídos aos hidrogênios etoxílicos, bem como a ausência do sinal correspondente ao hidrogênio hidroxílico do álcool de partida. Adicionalmente, o sinal característico de carbono de carbonila de aldeído observado em 195,28 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 25), o que foi corroborado pelo subespectro DEPT, atestam a formação do respectivo aldeído.

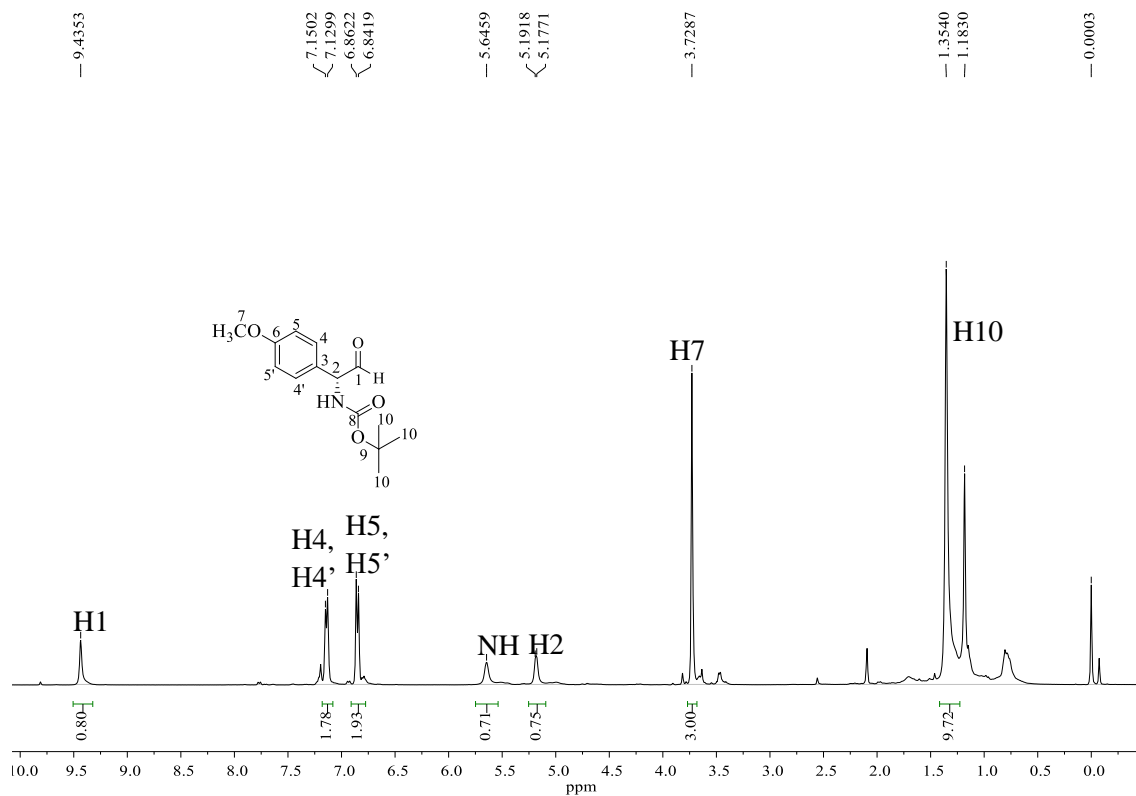


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do aldeído **80**.

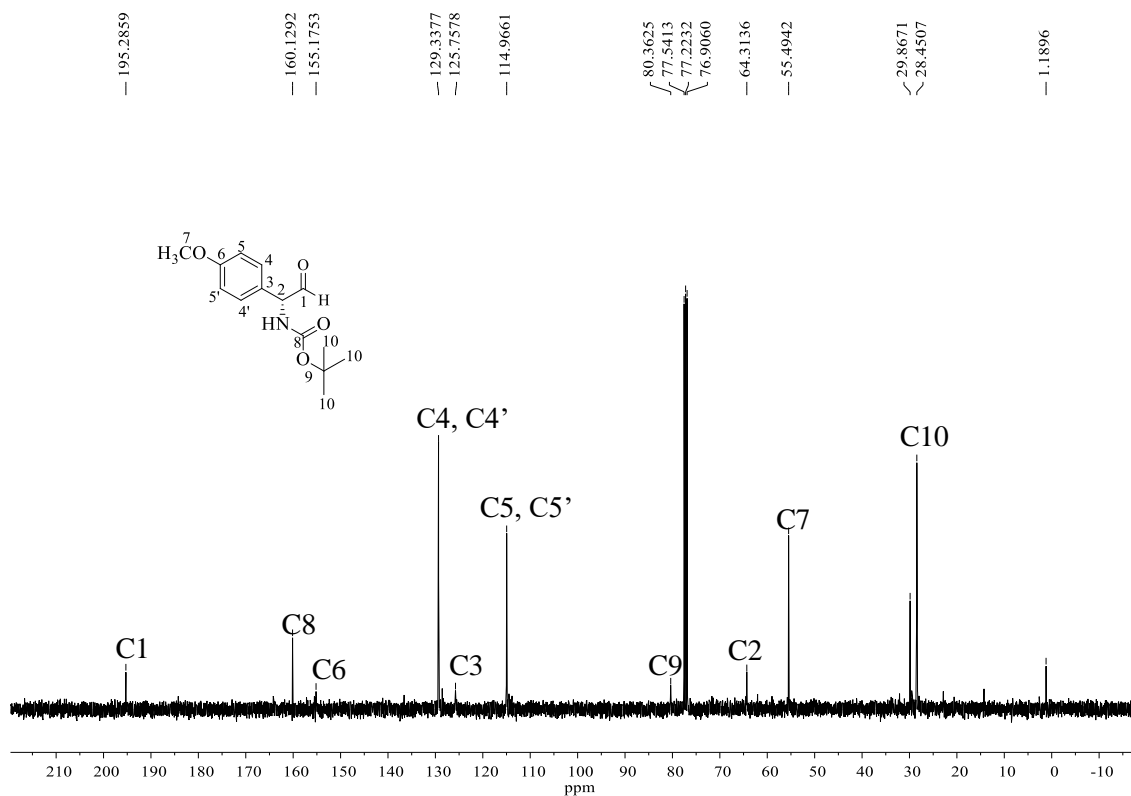
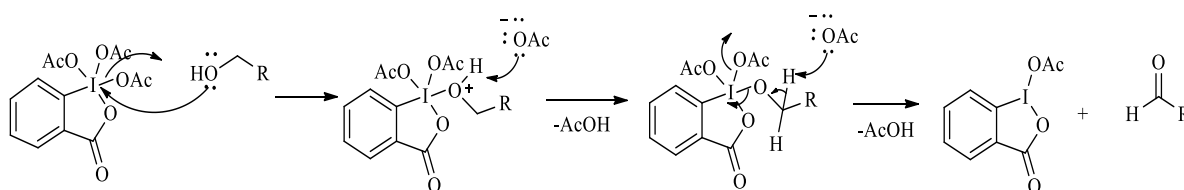


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do aldeído **80**.

Objetivando comparar os rendimentos, o aldeído **80** também foi preparado por meio de reações de oxidação empregando a periodinana de Dess-Martin e IBX.

A periodinana de Dess-Martin, um composto hipervalente de iodo, é comumente empregada para oxidação de álcoois primários e secundários a aldeídos e cetonas, respectivamente, em condições suaves, sem requerimento de excesso do oxidante, que pode ser preparado facilmente, além de serem reações mais rápidas.⁴⁸

O mecanismo da reação se inicia pelo ataque do par de elétrons do oxigênio do álcool ao iodo da periodinana, com a eliminação simultânea de um ânion acetato, posteriormente a remoção de um próton ligado ao carbono alcoílico, fornece o aldeído de interesse, como mostrado no esquema 18.



Esquema 18. Mecanismo de oxidação de álcoois empregando periodinana de Dess-Martin.

Também empregou-se o agente oxidante IBX, precursor do reagente de Dess-Martin, visto que há relatos na literatura de que esse oxidante pode fornecer rendimentos iguais ou superiores aos obtidos empregando-se a periodinana de Dess-Martin ou a oxidação de Swern.^{49,50,51}

Os rendimentos obtidos empregando a oxidação de Swern, periodinana de Dess-Martin e IBX foram de 63, 71, 68%, respectivamente. Além dos rendimentos, considerando-se a maior facilidade e praticidade de preparação do IBX, em relação à periodinana, e às condições reacionais mais trabalhosas exigidas pela oxidação de Swern (destilação da base, SOCl_2 e secagem do CH_2Cl_2 e DMSO), concluímos que, nesse caso, o IBX tornou-se a melhor alternativa.

⁴⁸ DESS, D.B.; MARTIN, J.C. A useful 12-I-5- triacetoxypiperidine (the Dess-Martin Periodinane) for selective oxidation of primary or secondary alcohols and a variety of related 12-I-5 species. **Am. Chem. Soc.**, 113, 7277-7287, 1991.

⁴⁹ REDDY, C.R.; DILIPKUMAR, U.; MALLESH, K.; *et al.* Total synthesis of (+)-cladospolide D. **Tetrahedron: Asymmetry**, 27, 222-225, 2016.

⁵⁰ BARTLETT, S.L.; BEAUNDRY, C.M. High-yielding oxidation of β -hydroxyketones to β -diketones using *o*-iodoxybenzoic acid. **J. Org. Chem.**, 76, 9852-9855, 2011.

⁵¹ FRIGERIO, M.; SANTAGOSTINO, M. A mild oxidizing reagent for alcohols and 1,2-diols: *o*-iodoxybenzoic acid (IBX) in DMSO. **Tetrahedron Lett.**, 35, 8019-8022, 1994.

A síntese da cianoidrinas **79a** e **79b** a partir do aldeído **80** foi realizada em condições ácidas, com a geração, *in situ*, de ácido cianídrico, com adição de ácido acético na solução metanólica de NaCN, que foi posteriormente adicionada à solução do aldeído **80** em CH₂Cl₂.⁵²

A reação de adição nucleofílica do cianeto à carbonila de um aldeído é facilitada em meio ácido, isso porque ocorre a protonação o oxigênio carbonílico, formando-se um íon carboxônio, favorecendo a formação da cianoidrina. Ou seja, em meio ácido a obtenção da cianoidrina ocorre por uma razão termodinâmica, já que nessas condições o produto de adição encontra-se em equilíbrio com HCN e o respectivo aldeído, enquanto, comparativamente, em condições básicas, o equilíbrio é estabelecido entre a cianoidrina e NaCN mais o aldeído. Como o primeiro equilíbrio possui menor constante de equilíbrio, a formação da cianoidrina é favorecida em condições ácidas, suprimindo o deslocamento do equilíbrio no sentido inverso, de formação de HCN e aldeído.⁵³

A racionalização da estereoquímica da cianoidrina formada majoritariamente pode ser feita empregando o modelo de Felkin-Anh, que é sustentado tanto por cálculos teóricos quanto por inúmeros resultados experimentais. Esse modelo leva em consideração a indução assimétrica na adição de um nucleófilo a um composto carbonílico que contenha um centro quiral α à carbonila.⁵⁴

Geralmente, a formação do produto principal é resultado do ataque nucleofílico orientado *anti* ao grupo estericamente dominante, que em nosso caso entende-se ser o grupo (NHBoc), através de uma trajetória de Burgi-Dunitz, que minimize as interações não ligantes com os substituintes adjacentes à carbonila no estado de transição, ou seja, o ataque se dá, preferencialmente, na trajetória de menor repulsão estérica, nesse caso próxima ao H. E esse ataque nucleofílico é o que ocorre preferencialmente, mesmo que o respectivo conformero (**B**, Figura 26) seja o minoritário na mistura reacional. Isso está de acordo com o princípio de Curtin-Hammett, que afirma que são as energias relativas dos estados de transição que direcionam a seletividade de uma reação e não as energias das conformações dos materiais de partida.⁵⁵

Dessa forma, as estereoquímicas dos produtos **79a** e **79b** de adição de cianeto ao aldeído, em meio ácido, podem ser racionalizadas de acordo com o modelo de Felkin-Anh apresentado na Figura 26. Nessa, observa-se um provável equilíbrio existente entre os conformeros **A**, contendo uma ligação de hidrogênio intramolecular, levando a um conformero cíclico de 5-

⁵² FASSLER, A.; BOLD, G.; STEINER, H. A concise synthesis of aza dipeptide isosteres. **Tetrahedron Lett.**, 39, 4925-4928, 1998.

⁵³ BRUCKNER, R. Organic Mechanisms: Reactions, stereochemistry and Synthesis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010, 855p.

⁵⁴ MENGEL, A.; REISER, O. Around and beyond the Cram's rule. **Chem. Rev.**, 99, 1191-1224, 1999.

⁵⁵ CLAYDEN, J.; Greeves, N.; Warren, S., Organic Chemistry. 2 ed.; USA, 2012.

membros e **B**, que não apresenta esta interação⁵⁶. Assim, espera-se que empregando-se um grupo *N*-protetor volumoso (Boc), a formação da ligação de hidrogênio seja dificultada, favorecendo o conformero **B**, que fornecerá o produto Felkin-Ahn, 1,2-*anti*, como o intermediário chave para a síntese da (-)-citosazona.

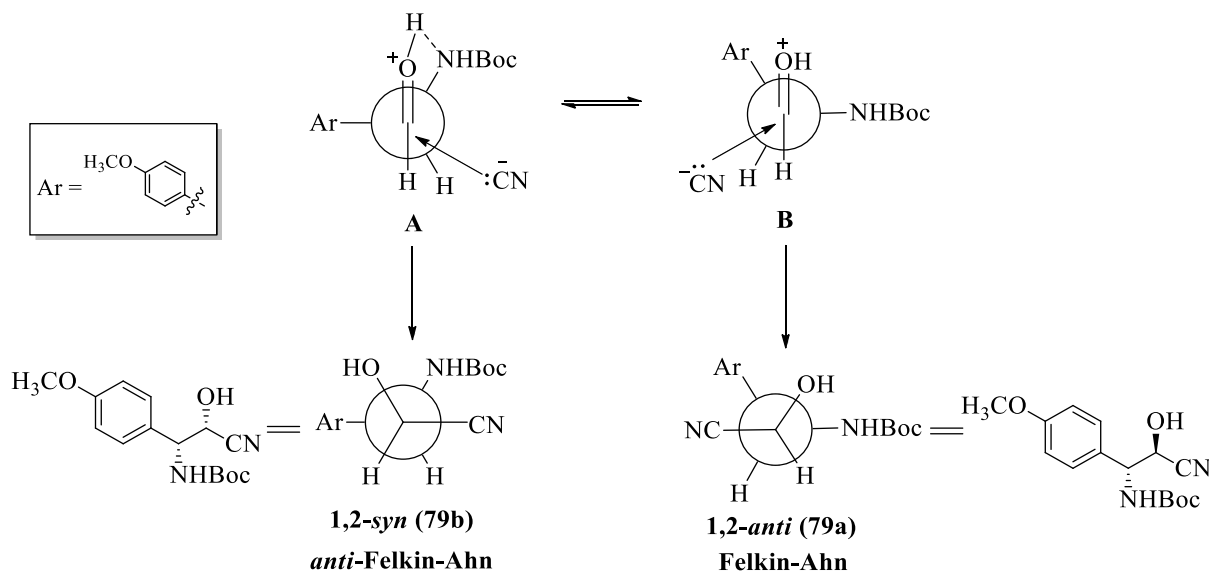


Figura 26. Modelo Felkin-Ahn para a reação de adição de cianeto à carbonila.

A formação das cianoidrinas, 1,2-*anti* (**79a**) e 1,2-*syn* (**79b**), com 89% de rendimento, foi evidenciada pelo espectro de RMN de ¹H da mistura (Figura 27). Como os diastereoisômeros não puderam ser separados por cromatografia em coluna, após várias tentativas, a estereosseletividade da reação não pode ser determinada inicialmente. Entretanto, cabe destacar nesse espectro a ausência do sinal de hidrogênio de aldeído, bem como a presença de dois sinais simpletos alargados em 4,59 e 4,73 ppm, atribuídos aos hidrogênios hidroxílicos. Adicionalmente, os sinais em 5,39 e 5,74 ppm, atribuídos aos sinais de NH, cujas integrais com proporção de 1,84:1,0, sugerem o favorecimento na formação de um dos isômeros em relação ao outro.

⁵⁶ DIAS, L.C.; GIACOMINI, R.; MEIRA, P.R.R.; *et al.* High 1,4-*syn*-induction in the addition of chiral allyltrichlorostannanes to chiral aldehydes. *Arkivoc*, x, 240-, 2003.

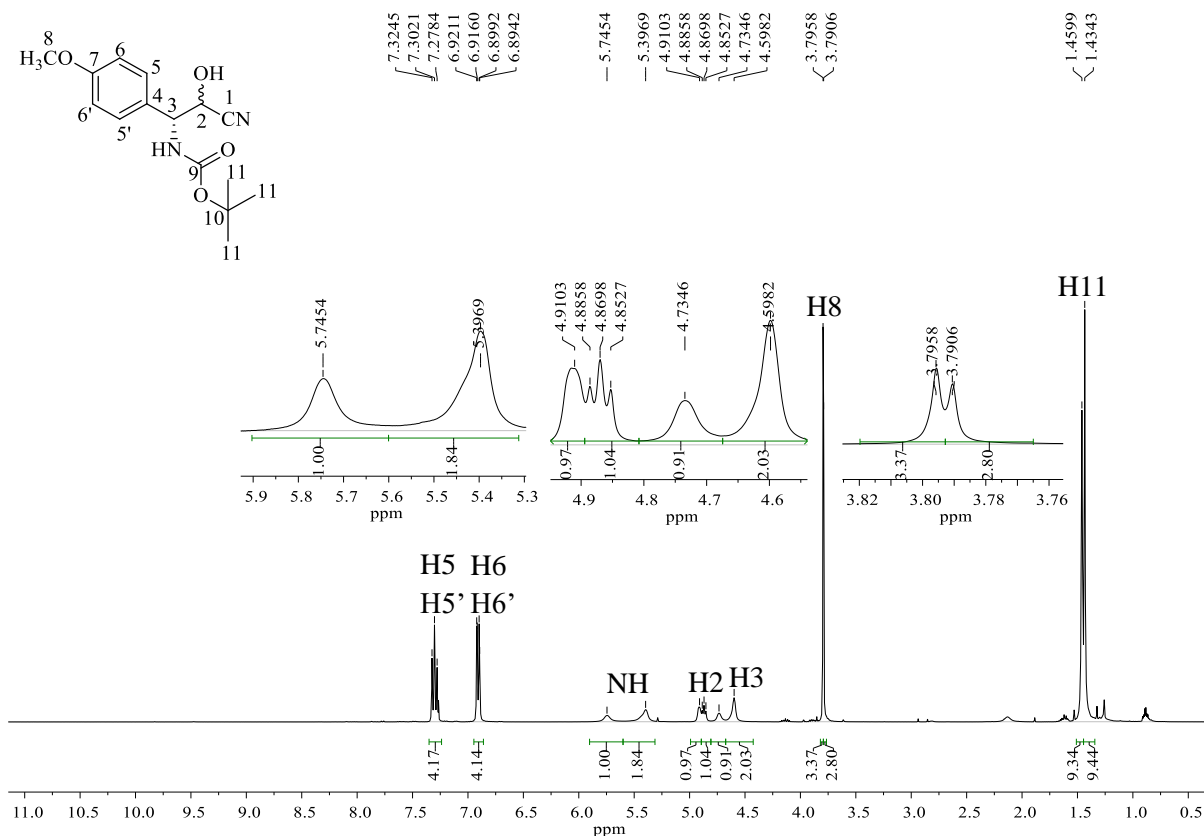


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da cianoidrina em mistura 1,2-*anti* (**79a**) e 1,2-*syn* (**79b**).

Enquanto no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 28) dessa mistura, chama-se a atenção para os sinais em 117,93 e 118,33 ppm, atribuídos aos carbonos nitrílicos, além de estar ausente o sinal atribuído à carbonila de aldeído, que aparecia em 195,28 ppm no material de partida.

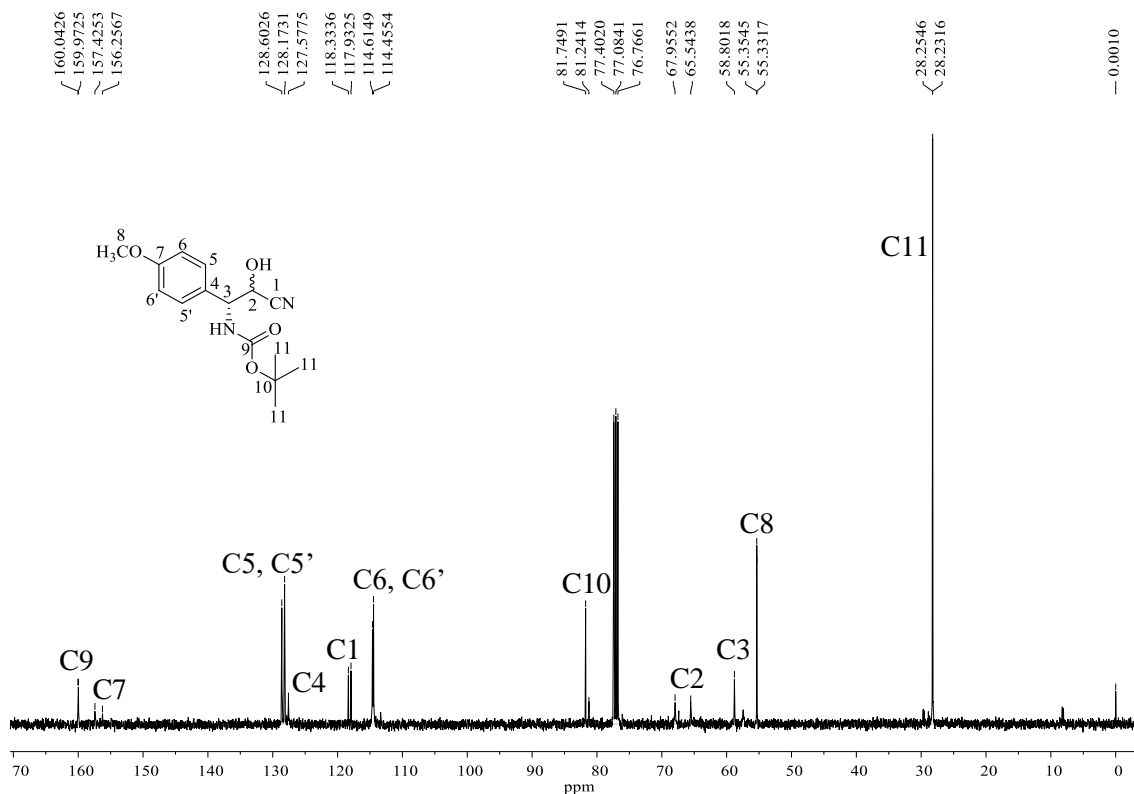


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da cianoidrina em mistura 1,2-*anti* (**79a**) e 1,2-*syn* (**79b**).

A etapa seguinte consistiu em hidrólise do grupo nitrila (**79a** e **79b**), a ácido carboxílico na presença de HCl 15%, condição que também proporcionou a remoção do grupo protetor Boc, levando ao intermediário muito polar contendo grupos amino, hidroxílico e carboxílico, que foi submetido à próxima etapa, sem prévia purificação.

Portanto, o intermediário aminodróxiácido foi submetido a uma reação de *N,O*-ciclização ao ser tratado com NaOH e trifosgênio, um reagente que embora de alta toxicidade proporciona vantagens como uma reação rápida e cujos subprodutos (fosgênio e HCl) são eliminados facilmente por evaporação, mantendo-se o sistema aberto em capela de exaustão.⁵⁷ Essa transformação forneceu os respectivos derivados oxazolidinônicos **82a** e **82b**.

Contudo, as tentativas de purificação das respectivas oxazolidinonas (**82a** e **82b**), que apresentaram fatores de retenção iguais, se mostraram infrutíferas. Ao se empregar cromatografia em coluna (sílica gel), notava-se que nenhuma das frações coletadas correspondia ao produto de interesse, segundo análise dos espectros de RMN.

⁵⁷ OROSKO, E.V.M. *Síntese e relações estrutura-atividade de dipeptidil-nitrilas inibidoras da Cruzaina*, 2014, 150p., Dissertação de Mestrado em Ciências, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2014.

Ao se repetir a reação, tentou-se realizar uma recristalização, para a purificação da mistura de oxazolidinonas, notando-se que tanto o sólido cristalizado, quanto a “água mãe” não continham o produto de interesse.

Para verificar a formação dos produtos de interesse, foi realizado um experimento de RMN, empregando o produto bruto. No espectro de RMN de ^1H (Figura 29) de **82a** e **82b**, nota-se a ausência do sinal dos hidrogênios do grupo Boc, bem como a presença de sinais dupletos em 5,22 e 5,86 ppm, com $^3J = 10,4$ Hz, característicos dos hidrogênios 4 e 5, de anel oxazolidinona com configuração relativa *cis*, assim como outros dois dupletos em 5,96 e 6,08 ppm, com $^3J = 3,4$ Hz, característicos dos hidrogênios 4 e 5 em com configuração relativa *trans*. O espectro de RMN de ^{13}C dessa amostra (Figura 30), apresentou sinais condizentes com os esperados para a mistura desses compostos, cabendo destacar a presença dos sinais de carbonos carbonílicos característicos de grupos carbamato e ácido carboxílico em 169 e 180 ppm, respectivamente. A análise desses espectros confirmam a formação do mistura das oxazolidinonas derivadas **82a** e **82b**, precursores da 5-*epi*-citoxazona e da (-)-citoxazona.

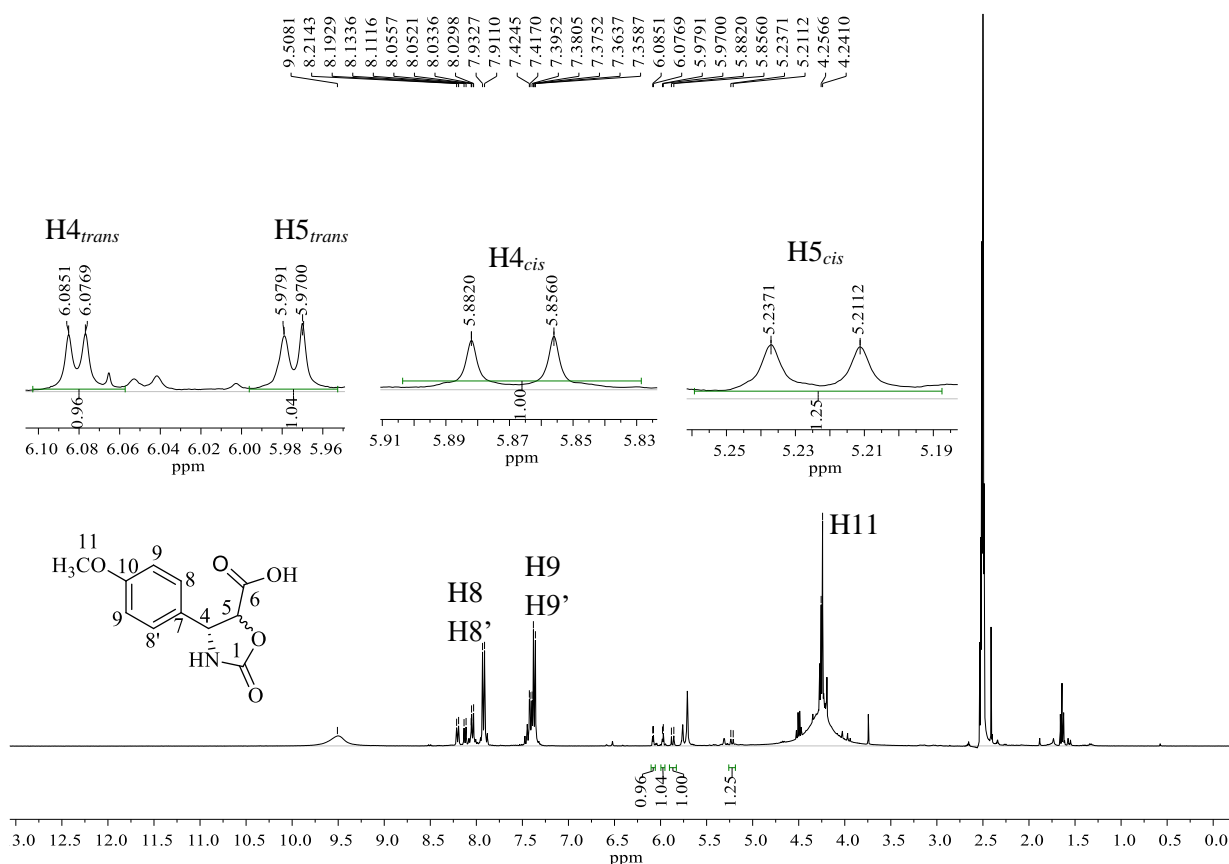


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura das oxazolidinonas derivadas **82a** e **82b**

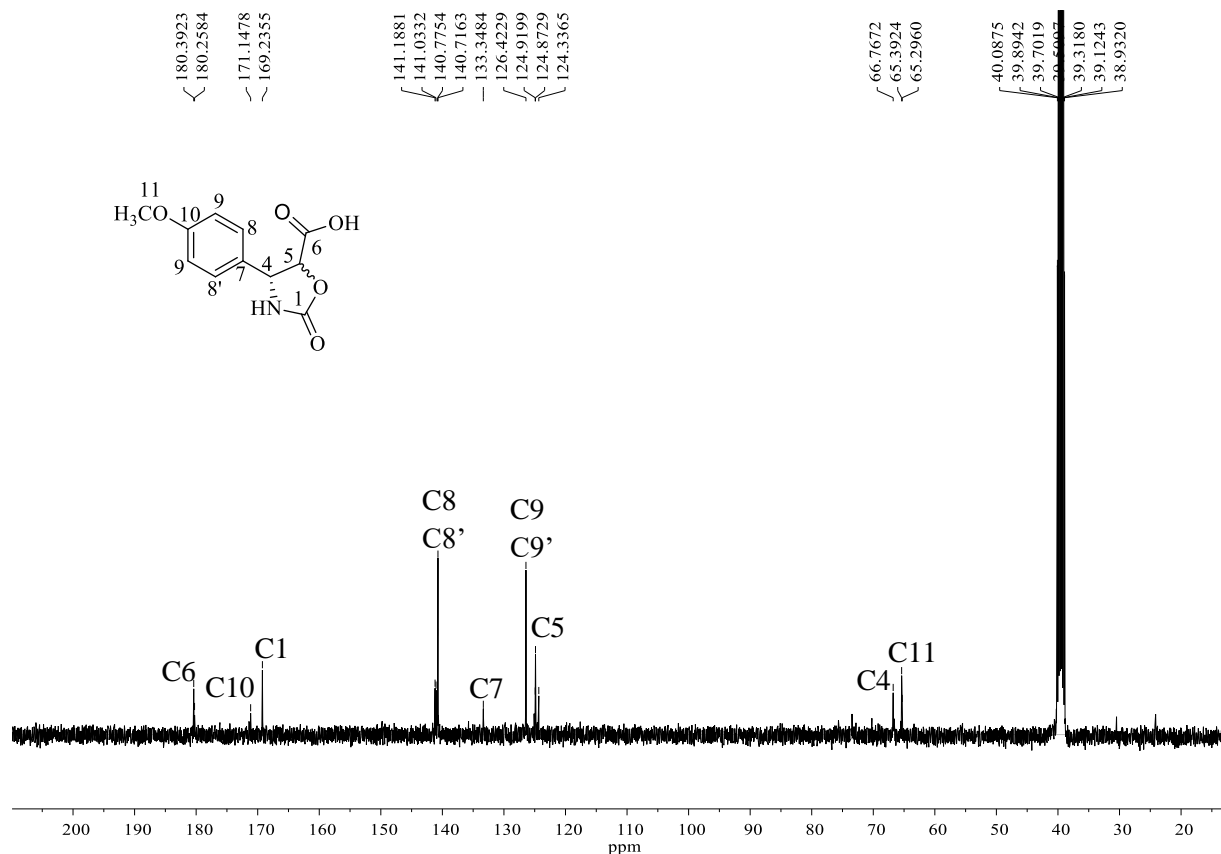


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) da mistura das oxazolidinonas derivadas **82a** e **82b**.

A partir da constatação da ocorrência da reação, a mistura das oxazolidinonas **82a** e **82b** foi submetida a uma tentativa de recristalização em éter etílico aquecido a 35 °C. Após o processo, tanto o precipitado formado, quanto a “água mãe”, cujo solvente foi removido, foram submetidos aos experimentos de RMN, notando-se que nenhuma das amostras continha o produto de interesse, o que sugere a formação de subprodutos de difícil identificação.

A seguir, o produto bruto **82a** e **82b** foi submetido à próxima etapa. A reação de esterificação da função carboxila foi feita utilizando $\text{SOCl}_2/\text{MeOH}$, para produzir a mistura dos respectivos ésteres **83** e **84**, cuja purificação por cromatografia em coluna, permitiu a separação desses diastereoisômeros, obtidos com 12 e 27% de rendimento (três etapas), respectivamente, a partir da mistura das cianoidrinas **79a** e **79b**.

Além disso, a separação desses isômeros oxazolidinônicos sugeriu que a etapa anterior de adição de cianeto à carbonila do aldeído **80** levou às respectivas cianoidrinas 1,2-*anti* **79a** e 1,2-*syn* **79b** na proporção 1,0:1,84. Portanto, durante a reação de adição de cianeto ao aldeído **80**, houve favorecimento do conformero **A** (Figura 27) e, conseqüentemente, da formação do produto *anti*-Felkin, a cianoidrina 1,2-*syn* que leva à (+)-5-*epi*-citoxazona. Enquanto o produto de adição Felkin (1,2-*anti*) leva à (-)-citoxazona.

No espectro de RMN de ^1H do diastereoisômero **83** (Figura 31), verificou-se a presença dos sinais simpletos em 3,33 e 3,80 ppm, atribuídos aos hidrogênios metoxílicos, confirmando a formação do respectivo éster metílico. Além dos sinais dupletos em 5,17 e 5,26 ppm, atribuídos aos hidrogênios 5 e 4, respectivamente, cujas constantes de acoplamento $^3J = 9,16$ Hz, são características de hidrogênios adjacentes em anéis oxazolidinônicos de configuração relativa *cis*.^{58,59,60,61} Essa informação nos permite concluir que esse diastereoisômero corresponde ao precursor da (-)-citoxazona e foi obtido a partir da cianoidrina minoritária 1,2-*anti* **79a**.

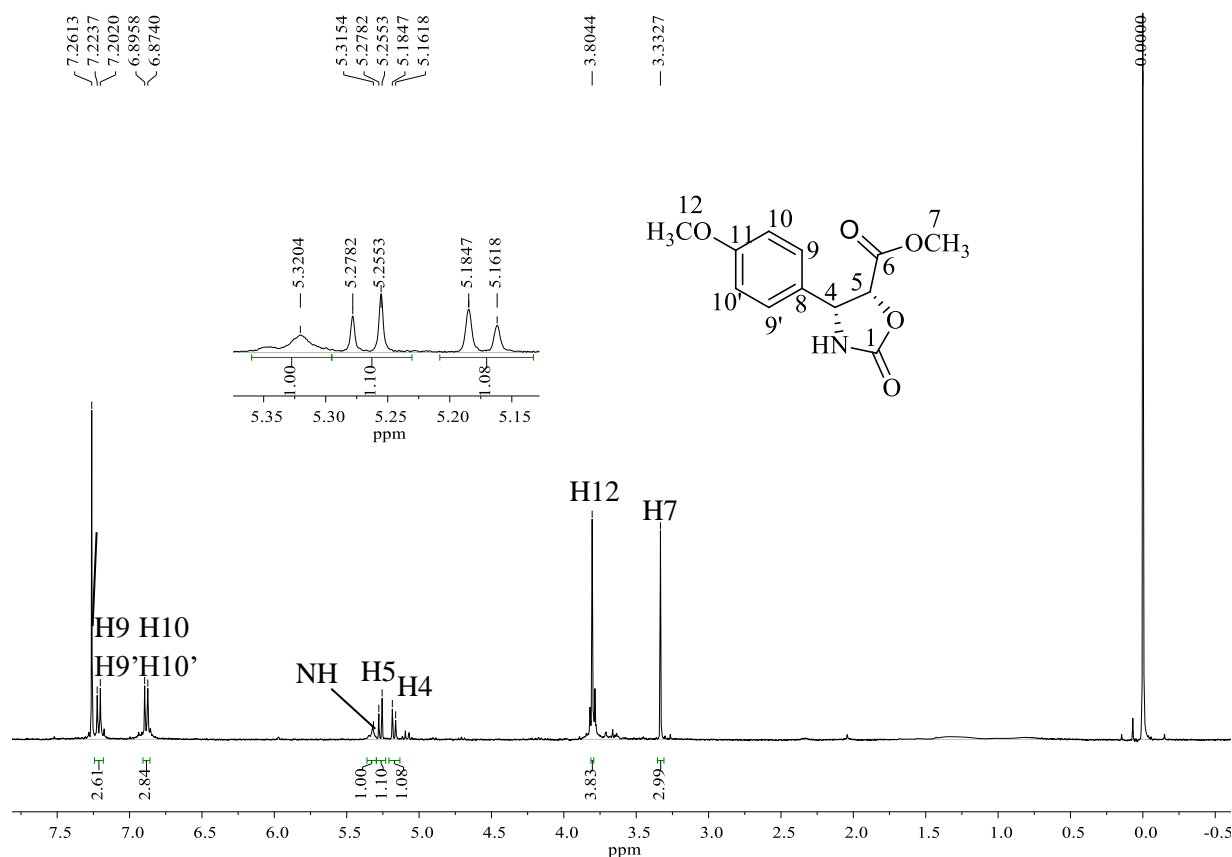


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster **83**, precursor da (-)-citoxazona.

Enquanto o espectro de RMN de ^1H do diastereoisômero oxazolidinônico (**84**), precursor da 5-*epi*-citoxazona (Figura 32), permite inferir a configuração relativa *trans* dos hidrogênios 4 e 5 pela constante de acoplamento $^3J = 5,2$ Hz, característica para esse tipo de hidrogênios com essa estereoquímica em anéis oxazolidinona.

⁵⁸ HOFFMAN, R. V.; MASLOUH, N.; CERVANTES-LEE, F.; High stereoselective synthesis of *syn*- and *anti*-1,2-amino alcohols. **J. Org. Chem.**, 67, 1045-1056, 2002.

⁵⁹ CIAPETTI, P.; TADDEI, M.; ULIVI, P.; CrCl_2 mediated allylation of *N*-protected α -amino aldehydes. A versatile synthesis of polypeptides containing an hydroxyethylene isostere. **Tetrahedron Lett.**, 35, 3183-3186, 1994.

⁶⁰ DIAZ, G.; FREITAS, M. A. A.; RICCI-SILVA, M. E.; *et al.* Easy access to Evans' Oxazolidinones. Stereoselective synthesis and antibacterial activity of a new 2-oxazolidinone derivative. **Molecules**, 19, 7429-7439, 2014.

⁶¹ KEMPF, D. J. Dipeptide analogs. Versatile synthesis of the hydroxyethylene isostere. **J. Org. Chem.**, 51, 3921-3926, 1986.

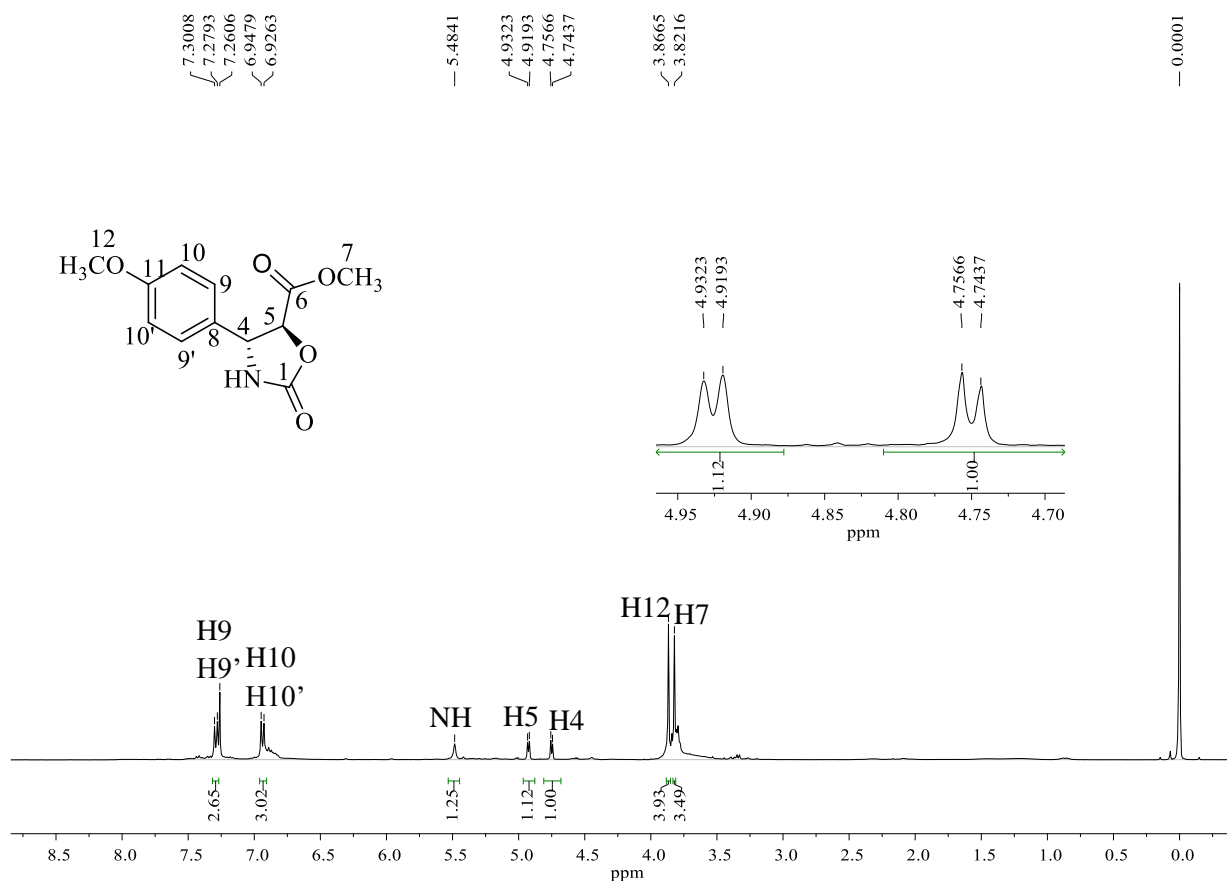
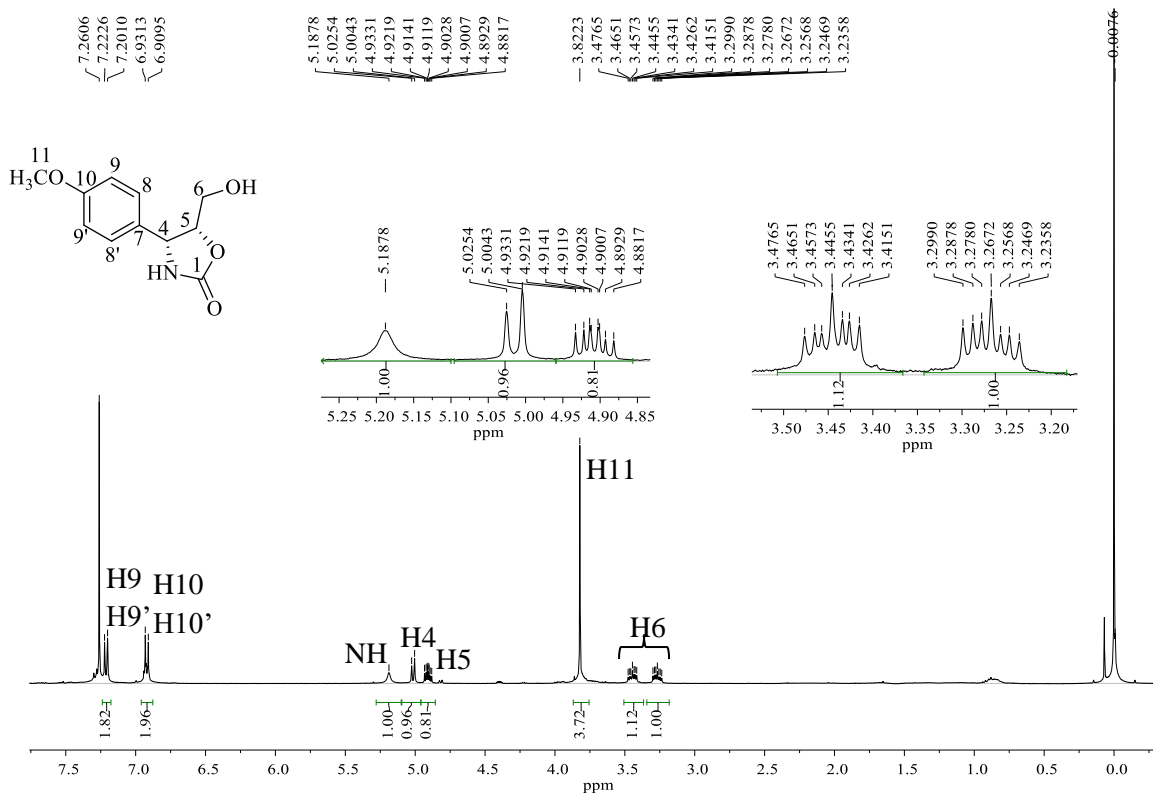
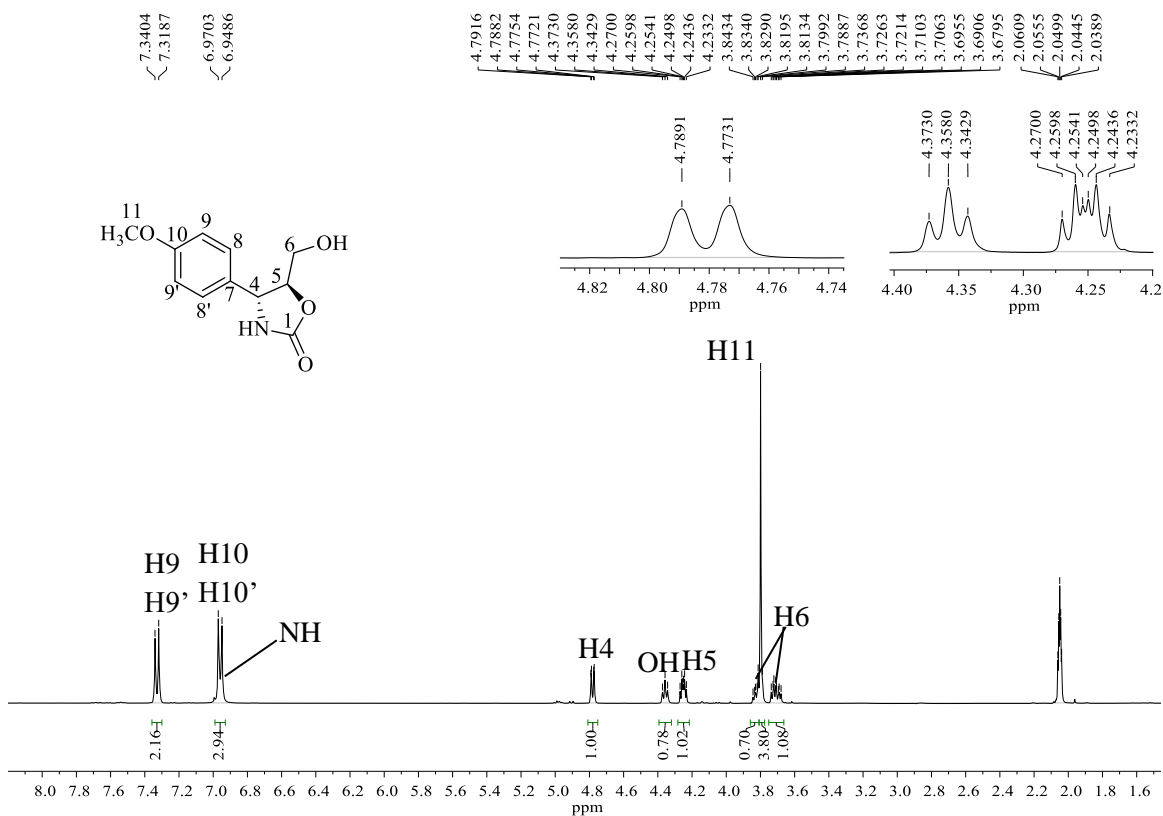


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster **84**, precursor da 5-*epi*-citoxazona.

Finalmente, os intermediários **83** e **84** foram individualmente submetidos a reações de redução do grupo éster, empregando $\text{NaBH}_4/\text{LiCl}$, produzindo os isômeros (-)-citoxazona e (+)-5-*epi*-citoxazona, com 90% e 92% de rendimento, respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H dos compostos finais (Figuras 33 e 34), comprova-se a ocorrência da reação de redução pela ausência dos sinais simples em 3,33 ppm, atribuído aos hidrogênios metoxílicos do grupo éster presente no material de partida. Assim como o aparecimento de sinais duplete e duplo duplete em 4,78 e 4,25 ppm, com $^3J = 5,6$ Hz, no espectro de RMN de ^1H da 5-*epi*-citoxazona (Figura 33), atribuídos aos hidrogênios 4 e 5. No espectro de RMN de ^1H da (-)-citoxazona (Figura 34), notamos a presença de sinais em 5,01 e 4,90 ppm, como o mesmo padrão de desdobramento, mas com $^3J = 8,44$ Hz. Essas constantes de acoplamento foram consistentes com as características de estereoquímicas *trans* e *cis* de anéis de oxazolidinonas descritas na literatura. Adicionalmente, apenas o mapa de contornos NOESY (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*) da (-)-citoxazona (Figura 35) apresentou sinal de correlação entre os hidrogênios 4 e 5, corroborando a configuração *cis* de seu anel oxazolidínico. Além disso, cabe destacar a presença dos sinais multipletos em 3,70 e 3,81 ppm

(Figura 33) e em 3,44 e 3,26 ppm (Figura 34), atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos 6 da 5-*epi*-citoxazona e da (-)-citoxazona, respectivamente.



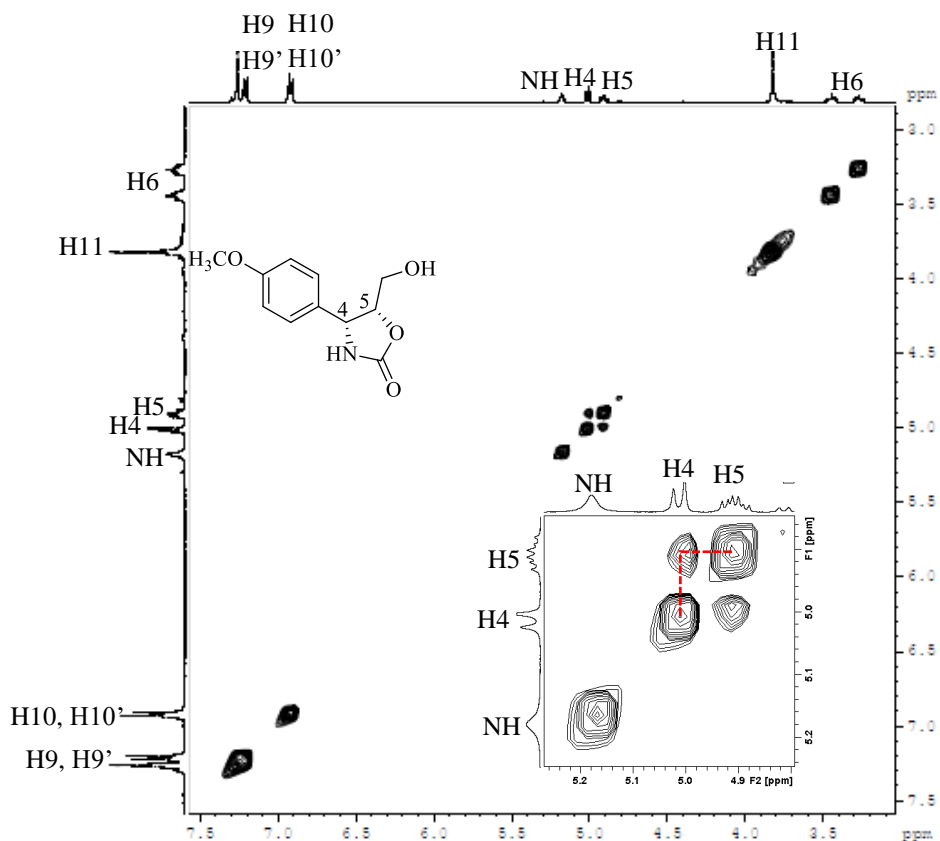


Figura 35. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) da (-)-citoxazona.

Os dados espectroscópicos desses compostos se mostraram concordantes com aqueles relatados na literatura^{62,63,34} evidenciando a configuração relativa dessas oxazolidinonas, que haviam sido sugeridas pela análise das constantes de acoplamento dos hidrogênios 4 e 5 no espectro de RMN de ^1H ^{58, 61, 62, 63} e dos mapas de contornos NOESY.

Além disso, os valores de rotação específica apresentados pela (-)-citoxazona e pela (+)-5-*epi*-citoxazona, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -63,16^\circ$ (c 0,1, MeOH) e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +21,3$ (c 0,15, MeOH) se foram próximos daqueles descritos na literatura.^{34, 62, 63, 64}

⁶² PARASKAR, A. S.; SUDALAI, A. Enantioselective synthesis of (-)-citoxazone and (+)-*epi*-citoxazone, novel cytokine modulators via Sharpless asymmetric epoxidation and L-proline catalyzed Mannich reaction. **Tetrahedron**, 62, 5756-5762, 2006.

⁶³ TOKIC-VUJOSEVIC, Z.; PETROVIC, G.; RAKIC, B.; *et al.* Synthesis of (-)-citoxazone and (+)-*epi*-citoxazone: the chiral pool Approach. **Synth. Commun.**, 35, 435-447, 2005.

⁶⁴ KIM, I.S.; RYU, C.B.; ZEE, O.P.; *et al.* A concise synthesis of (-)-citoxazone and (+)-*epi*-citoxazone using chlorosulfonyl isocyanate. **Tetrahedron**, 62, 9349-58, 2006.

2.3. Conclusões

A síntese da (-)-citoxazona e da (+)-5-*epi*-citoxazona foi satisfatoriamente realizada em 9 etapas, com 6 e 14% de rendimento global, respectivamente, por meio de uma rota estereosseletiva a partir da D-4-hidroxfenilglicina como o material de partida.

O aldeído **73**, foi obtido por meio de três metodologias diferentes: oxidação de Swern, oxidação com a periodinana de Dess-Martin e IBX, que proporcionaram o produto desejado com 63, 71 e 68% de rendimento, respectivamente.

A estereosseletividade da etapa de adição de cianeto ao aldeído **80**, para a obtenção das cianoálcoois **79a** e **79b** foi determinada em etapas posteriores a partir da separação da mistura dos derivados oxazonolidinônicos **83** e **84**, que indicou a formação preferencial do intermediário cianodrina **79b**, produto de adição *anti*-Felkin (1,2-*syn*), em uma proporção 1,84:1,0, que levou à (+)-5-*epi*-citoxazona.

As condições reacionais empregadas, bem como a utilização do aldeído **80** imediatamente na etapa de adição de cianeto, se mostraram eficientes para evitar ou minimizar a racemização do aldeído.

CAPÍTULO 1

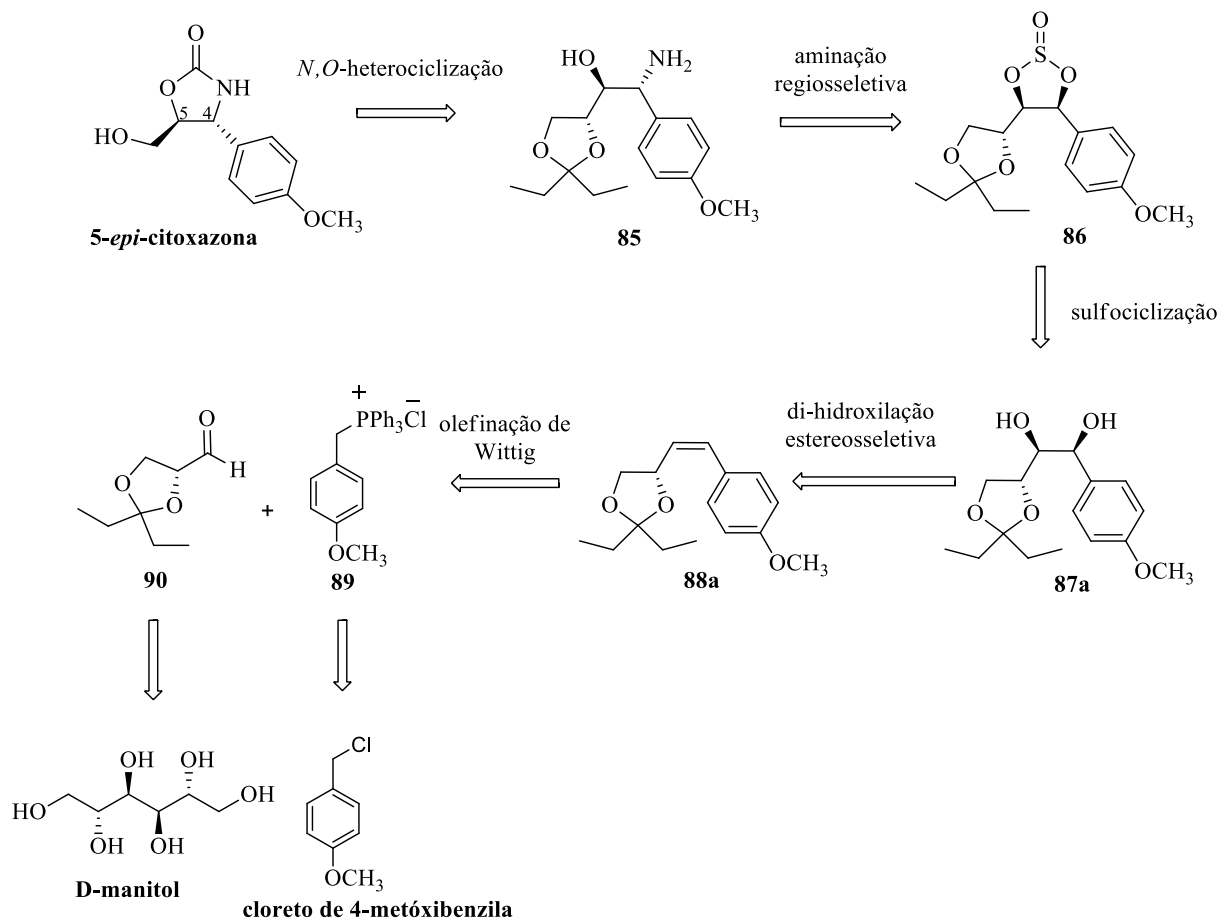
PARTE II

Síntese total estereosseletiva da (+)-5-*epi*-citoxazona a partir do D-manitol

Paralelamente à primeira abordagem descrita acima, outra rota para obtenção dos isômeros (-)-citoxazona e (+)-5-*epi*-citoxazona foi desenvolvida, partindo-se do D-manitol, outro substrato quirál, comercialmente disponível e de baixo custo. Essa abordagem será apresentada a seguir.

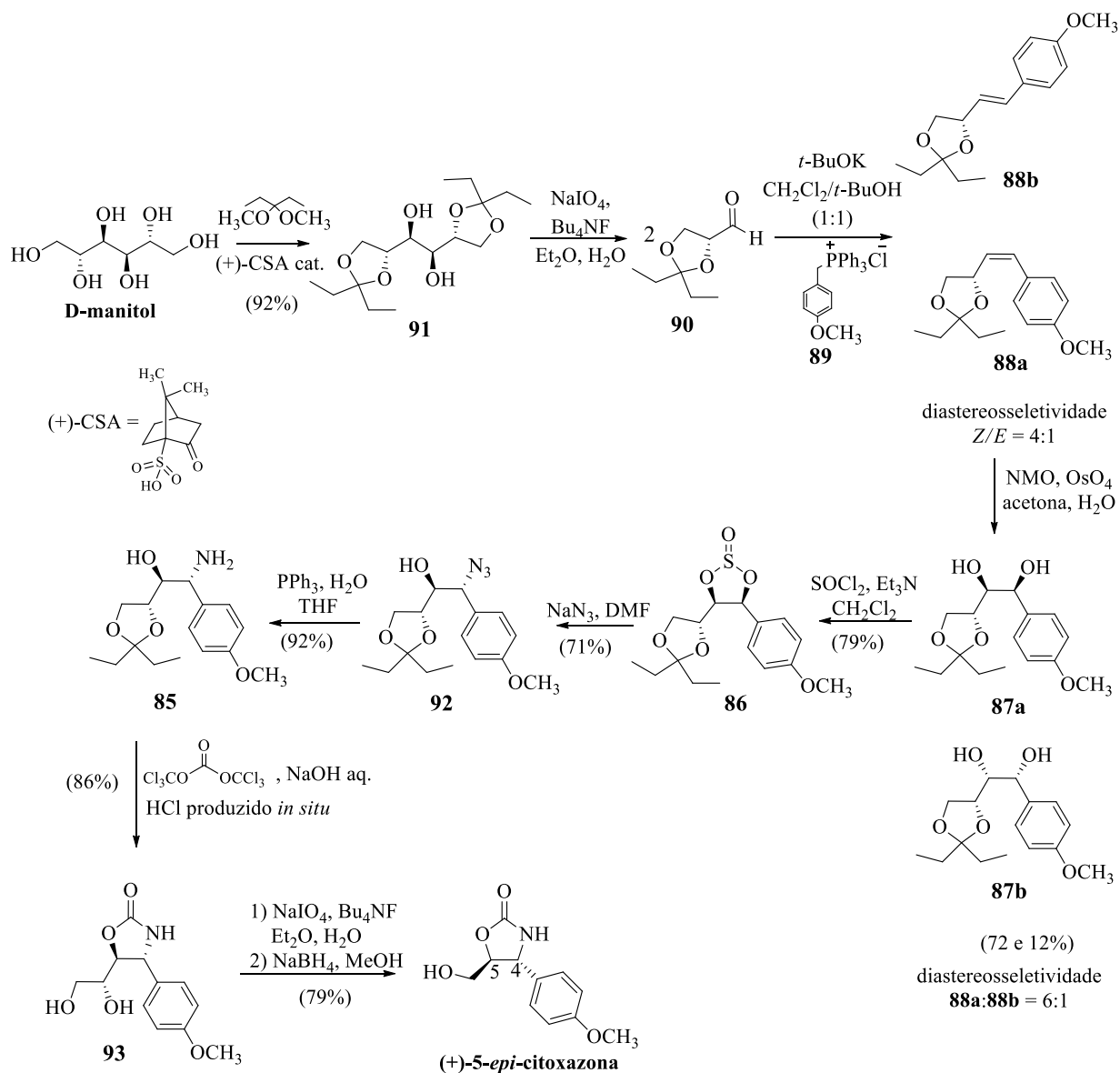
3.1. Resultados e discussão

A análise retrossintética apresentada no Esquema 19 mostra que a (+)-5-*epi*-citoxazona poderia ser obtida por meio de uma reação de *N,O*-heterociclicização do aminoálcool **85** na última etapa da síntese. O intermediário chave **85** poderia ser obtido por meio da abertura regioseletiva no carbono benzílico do sulfito cíclico **86** empregando azida de sódio, fornecendo o respectivo azidoálcool, com inversão do estereocentro e que após redução do grupo azida fornecer o aminoálcool respectivo **85**. Por sua vez, o sulfito **86** poderia ser preparado através de uma reação de sulfociclicização do diol **87a**, o qual seria obtido a partir da olefina *Z* **88a**, através de uma di-hidroxilação estereosseletiva induzida pelo grupo pentilidenocetal volumoso. Por outro lado, o alceno *Z* **88a**, poderia ser obtido por meio de uma reação de olefinação de Wittig entre o (*R*)-gliceraldeído cetal **90**, derivado do D-manitol e o correspondente ílideo gerado *in situ* a partir do sal de Wittig **89**.



Esquema 19. Análise retróssintética da (+)-5-*epi*-citoxazona a partir do D-manitol.

A síntese da (+)-5-*epi*-citoxazona iniciou-se pela obtenção do dicetal **91** a partir do D-manitol, empregando 3,3-dimetoxipentano, previamente obtido através do tratamento da pentan-3-ona com trimetoximetano e ácido *p*-toluenossulfônico, com 92% de rendimento (Esquema 20).



A escolha da preparação do cetal **91** contendo grupos etila foi feita levando-se em consideração trabalhos previamente publicados, os quais indicam que os adutos de Wittig quirais com esses grupos podem ser empregados em síntese assimétrica como auto-indutores de quiralidade intramoleculares em reações de di-hidroxilação estereosseletiva das duplas olefínicas vizinhas a este grupo.⁶⁵ Ou seja, quando esses grupos volumosos se encontram próximos de um centro proquiral podem influenciar sua reatividade e estereosseletividade.^{65,66}

⁶⁵ MULZER, J.; LANGER, O.; HIERSEMANN, M. *et al.* Chiral acetals as stereoinductors: Diastereoface selective alkylation of dihydrobenzoxazine-derived amides enolates. **J. Org.Chem.**, 65, 6540-6546, 2000.

⁶⁶ ALEXAKIS, A.; MANGENEY, P. Chiral acetals in asymmetric synthesis. **Tetrahedron Asymmetry**, 1, 477-511, 1990.

Dessa maneira, o emprego desses cetais representa uma metodologia muito atrativa visto que a maioria deles podem ser obtidos de materiais de partida de baixo custo e disponibilizados comercialmente, como o D-manitol.⁶⁶

Os dados espectroscópicos obtidos para o intermediário **91** foram consistentes com os dados descritos na literatura.⁶⁷

A etapa seguinte consistiu na preparação do (*R*)-gliceraldeído cetal (**90**), a partir de reação de clivagem oxidativa do diol **91** empregando NaIO₄, uma mistura éter etílico/água como solvente e Bu₄NF como o catalisador de transferência de fase.

Buscando-se evitar ou minimizar a sua racemização, o (*R*)-gliceraldeído cetal foi imediatamente submetido à etapa de olefinação de Wittig, pelo tratamento com o respectivo ilídeo formado na reação do (4-metoxibenzil)-trifenilfosfônio (**89**) com *t*-BuOK empregando como solventes a mistura CH₂Cl₂/*t*-BuOH (1:1).⁶⁸

Para isso, o sal de Wittig **89** foi preparado empregando-se trifetilfosfina e cloreto de 4-metoxibenzila. Sua formação pode ser evidenciada pela análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 36), no qual destaca-se o simpleto em 3,71 ppm atribuído aos hidrogênios metoxílicos. O duplete em 5,23 ppm, com constante de acoplamento igual a 13,7 Hz, característica de acoplamento geminal entre hidrogênio e fósforo, foi atribuído aos hidrogênios benzílicos.

⁶⁷ SCHMID, C. R.; BRADLEY, J. D. 2,3-*O*-(3-pentilidene)-D-glyceraldehyde and 2,3-*O*-(3-pentilidene)-L-glyceraldehyde: convenient glyceraldehyde surrogates obtained via a novel periodate-based oxidation system. **Synthesis**, 1992, 587-592schi, 1992.

⁶⁸ DIAZ-MUÑOZ, G.; ISIDORIO, R. G.; MIRANDA, I. L.; *et al.* A concise and eficiente synthesis of tetrahydroquinoline alkaloids using the phase transfer mediated Wittig olefination reaction. **Tetrahedron Lett.**, 58, 3311-3315, 2017.

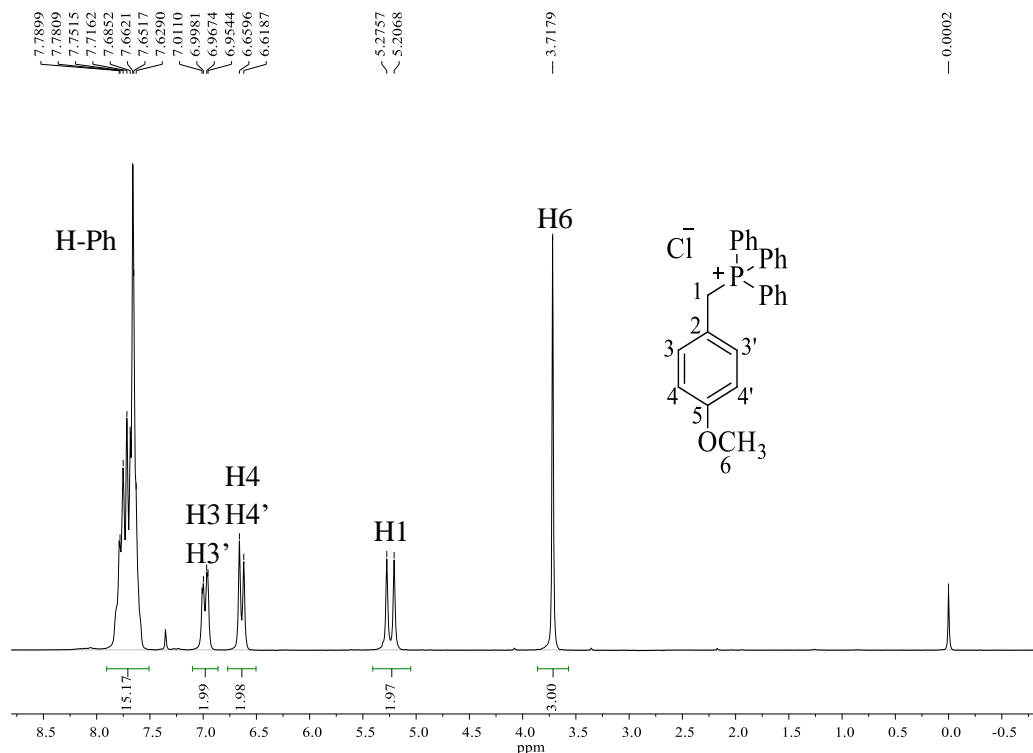
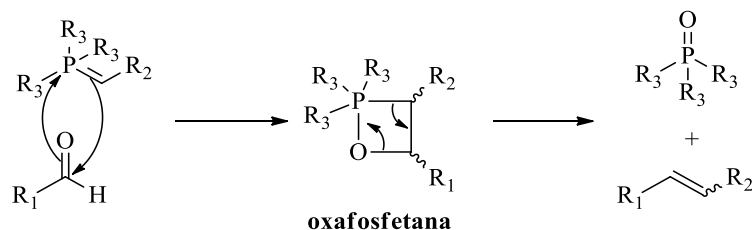


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do cloreto de (4- metoxi-benzil)-trifenil-fosfônio (**89**).

A reação de olefinação de Wittig produziu a mistura das olefinas **88a** e **88b**, *Z/E* (4:1), com rendimento de 85%, nas três etapas a partir do D-manitol. A separação da mistura por cromatografia em coluna, que forneceu os isômeros com rendimentos individuais de 68 e 17%, respectivamente, confirmou a formação preferencial da olefina *Z* (**88a**).

Vedejs e Snobe⁶⁹ propuseram que o mecanismo envolvido nessa reação apresenta uma etapa de cicloadição [2+2] irreversível entre o ilídeo e o aldeído, fornecendo a oxafosfetana, cujo colapso leva à formação de produtos de alta estabilidade, a olefina e o óxido de fosfina (Esquema 21). Sendo a etapa de decomposição da oxafosfetana um processo estereoespecífico, ou seja, oxafosfetana *trans* fornece olefina *E* e oxafosfetana *cis* leva à olefina *Z*.



Esquema 21. Cicloadição [2+2] irreversível de Vedejs (1973).

⁶⁹ VEDEJS, E.; SNOBLE, K. A. J. Direct observation of oxaphosphetanes from typical Wittig reactions. **J. Am. Chem. Soc.**, 95, 5778-5780, 1973.

A diastereosseletividade da olefinação de Wittig pode ser prevista de acordo com o ílideo empregado, cuja classificação é feita de acordo com a natureza de seus substituintes, como é mostrado na Figura 37.⁷⁰

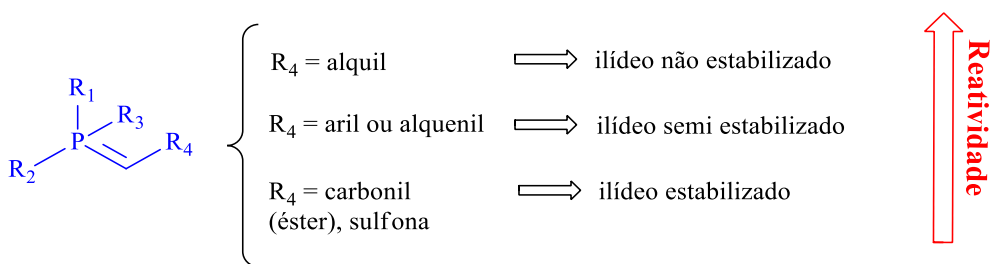


Figura 37. Classificação da estabilidade e reatividade dos ílideos.

Geralmente, na ausência de sais de Li, nota-se uma maior seletividade para a formação do produto *Z* em relação ao produto *E* para ílideos não estabilizados, da mesma forma, ílideos estabilizados proporcionam maior diastereosseletividade *E*.⁷⁰

Entretanto, ílideos semi-estabilizados, como o empregado nesse trabalho, apresentam menor seletividade, cuja previsão não é tão simples.⁷⁰ Apesar disso, a separação dos isômeros obtidos por cromatografia em coluna, permitiu confirmar a formação preferencial do diastereoisômero *Z* em relação ao *E*, na proporção de 4:1.

A estereoquímica da olefina majoritária *Z* **88a** foi confirmada pela análise de seu espectro de RMN de ¹H (Figura 38), cuja constante ³J_{H4-H5} = 11 Hz, relativa ao acoplamento dos hidrogênios olefínicos H₄ e H₅ (numeração realizada fazendo analogia ao anel oxazolidin-2-ona da 5-*epi*-citoxazona), sugerindo que esses hidrogênios se encontram do mesmo lado da dupla ligação, o que foi corroborado pelo mapa de contornos NOESY (Figura 39), onde observa-se a correlação entre estes hidrogênios olefínicos, confirmando a geometria *Z* da dupla ligação.

⁷⁰ BYRNE, P.A.; GILHEANY, D.G. The modern interpretation of the Wittig reaction mechanism. **Chem. Soc. Rev.**, 42, 6670-6696, 2013.

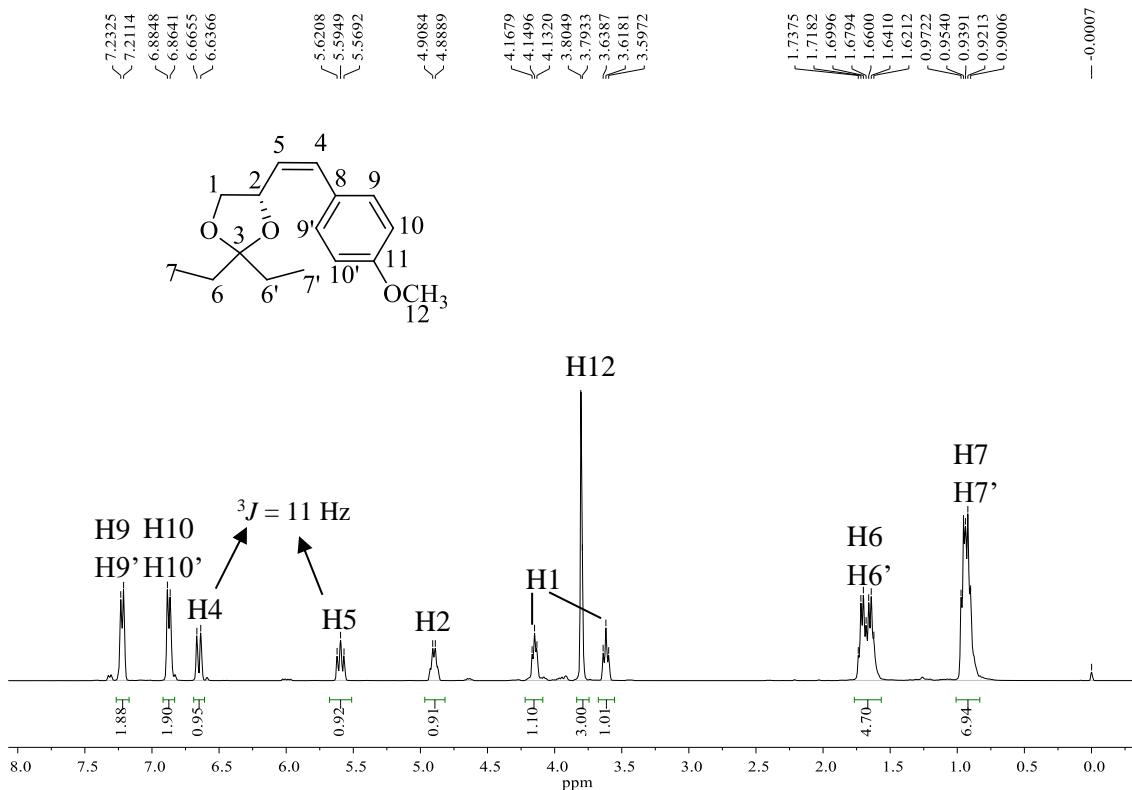


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da olefina **88a**.

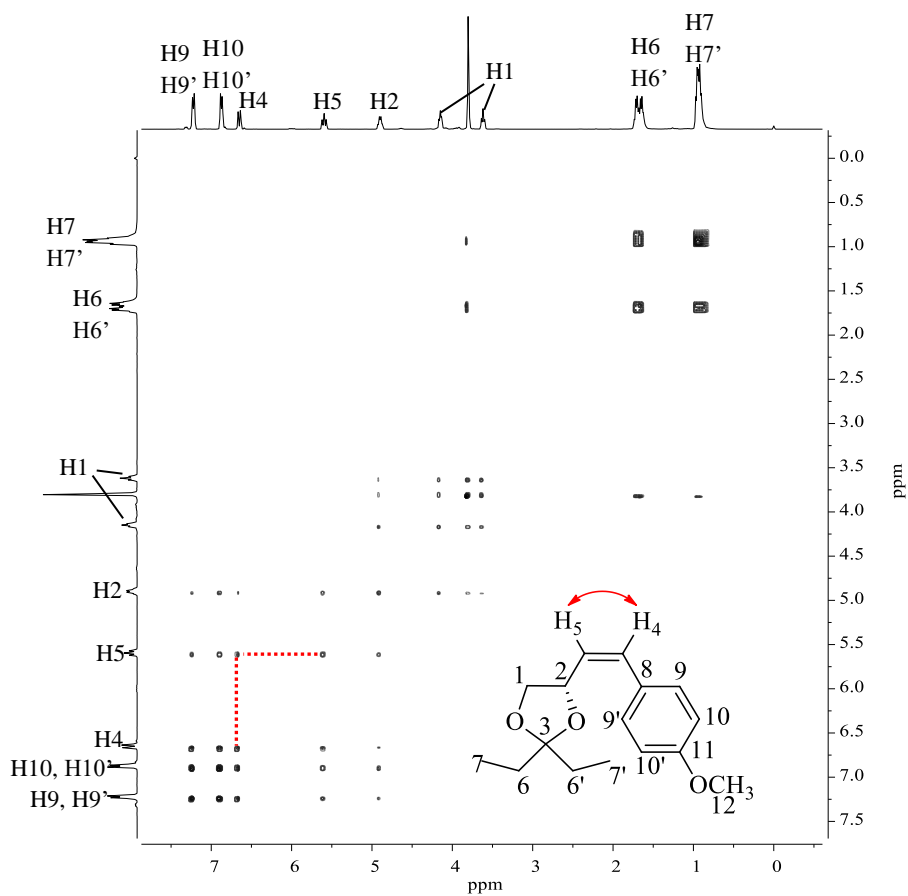


Figura 39. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, CDCl_3) da olefina **88a**.

Os sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 40) da olefina **Z (88a)**, se mostraram consistentes com o esperado para essa molécula, cabendo ressaltar a presença de sinais de carbonos olefínicos em 127,53 e 133,96 ppm.

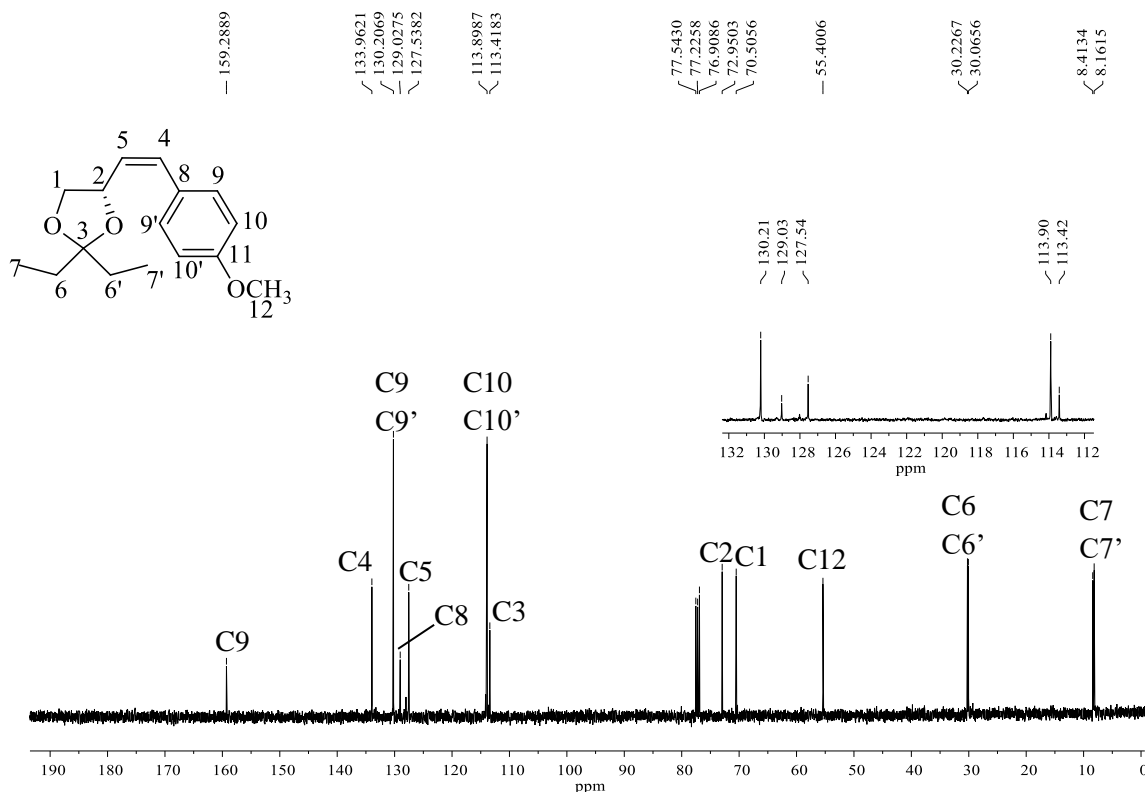


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da olefina **88a**.

A análise similar à anterior, dessa vez do espectro de RMN de ^1H do alceno minoritário **E (88b)** (Figura 41), mostrou que os sinais atribuídos aos hidrogênios olefínicos apresentaram $^3J_{\text{H4-H5}} = 15,8$ Hz, característico de acoplamento entre hidrogênios olefínicos com estereoquímica *E*.

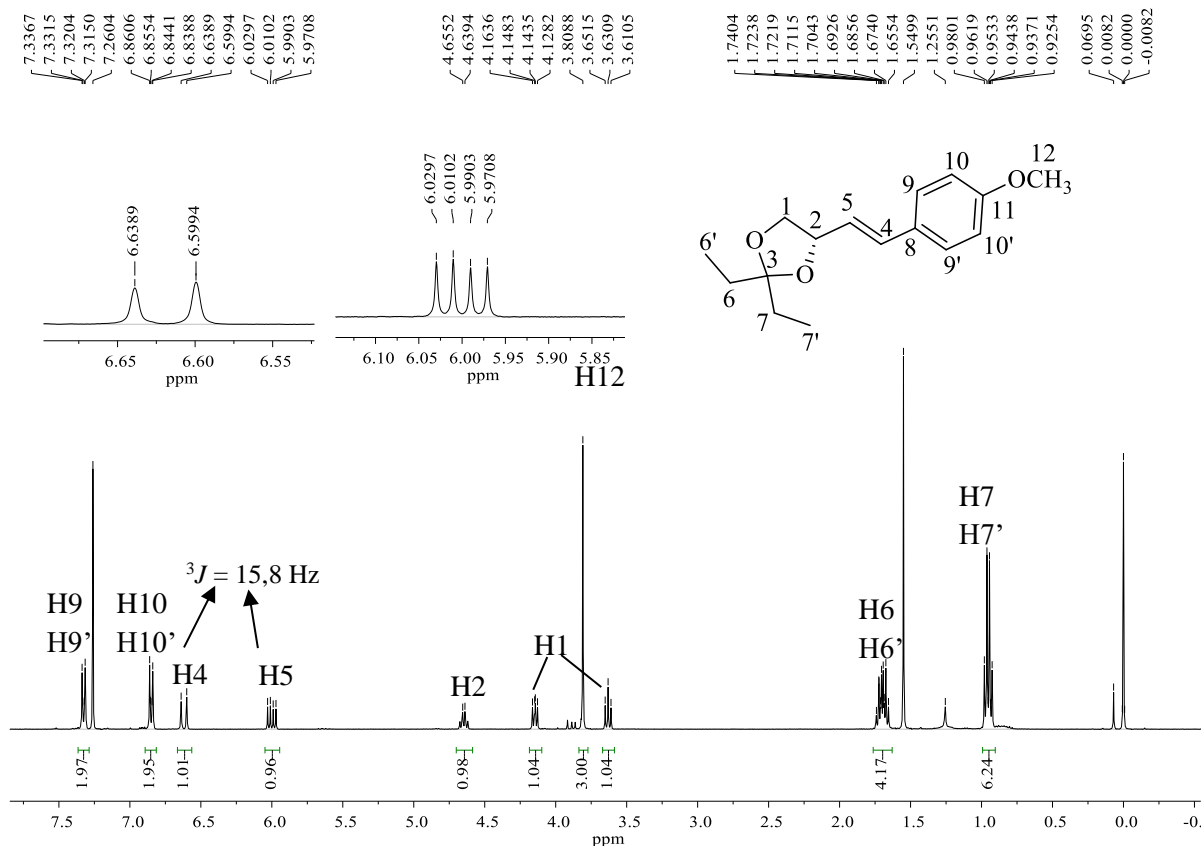
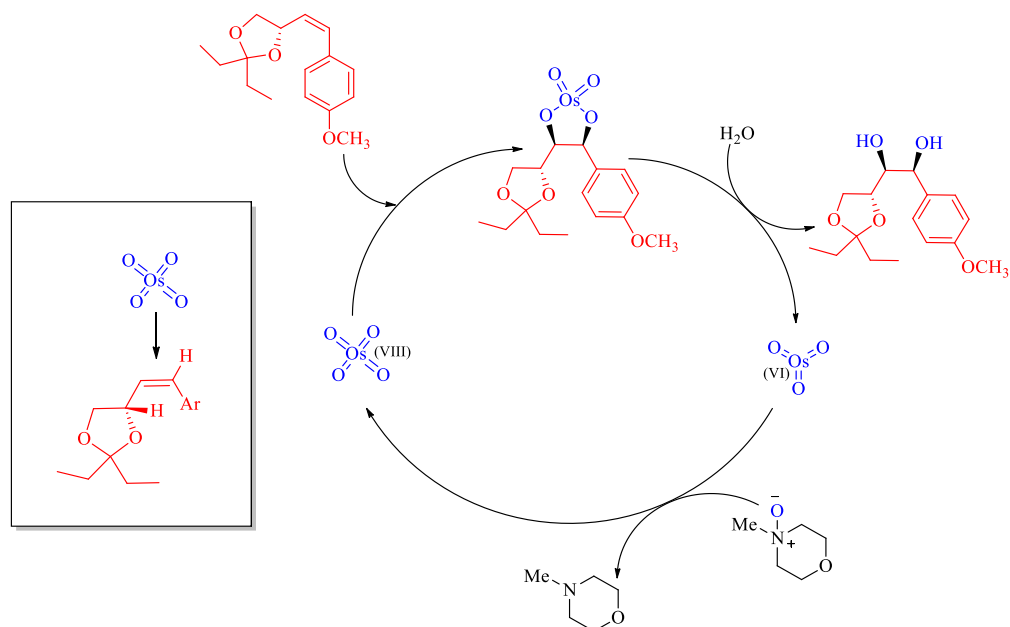


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da olefina minoritária **E 88b**.

Na etapa posterior, a olefina majoritária (*Z*) (**88a**) foi submetida a uma reação de di-hidroxilação estereosseletiva empregando OsO_4 e *N*-óxido de 4-metilmorfolina (NMO) para obtenção dos diois **87a** e **87b**, adotando-se a denominação de diol *anti* para o produto majoritário **87a**.

A metodologia desenvolvida por VanRheenen *et al.*, conhecida como di-hidroxilação de Upjohn, fornece elevados rendimentos empregando quantidades catalíticas de OsO_4 na presença de porções estequiométricas de um co-oxidante, um *N*-óxido de uma amina terciária, como NMO, que é responsável por regenerar OsO_4 , que retoma o ciclo apresentado no esquema 22.⁷¹

⁷¹ VanRheenen, V.; Kelly, R.C.; Cha, D.Y. An improved catalytic OsO_4 oxidation of olefins to *cis*-1,2-glycols using tertiary amine oxides as the oxidant. **Tetrahedron Lett.**, 23, 1973-1976, 1976.



Esquema 22. Ciclo catalítico da reação de di-hidroilação empregando OsO₄/NMO.

Cha e colaboradores (1983)⁷², relataram a obtenção de elevada estereosseletividade *anti* empregando-se OsO₄ e NMO, como co-oxidante, em reações de di-hidroilação de olefinas contendo um grupo cetal quiral adjacente. As observações experimentais publicadas por esse grupo apontaram que o diol formado preferencialmente, nessas reações, é aquele obtido da aproximação do OsO₄ pela face oposta ao grupo cetal volumoso, como ilustrado no Esquema 22.

Alguns desses dados interessantes publicados por Cha *et al.*⁷² são mostrados na Tabela 1, demonstrando que a estereosseletividade *anti* (isto é, aproximação do OsO₄ ocorre *anti* ao grupo cetal) em reações de di-hidroilação de olefinas contendo um grupo cetal vizinho à dupla ligação, empregando tetróxido de ósmio.

⁷² CHA, J.K.; CHRIST, W.J.; KISHI, Y. On stereochemistry of osmium tetroxide oxidation of allylic alcohol systems: empirical rule. **Tetrahedron Lett.**, 24, 3943-3946, 1983.

Tabela 1. Estereosseletividade em reações de di-hidroxilação empregando OsO₄ realizadas por Cha e colaboradores.⁷²

R = H	estequiométrica	6,3	:	1,0
	catalítica	6,0	:	1,0
R = COC(Me) ₃	estequiométrica	6,3	:	1,0
	catalítica	6,1	:	1,0
R = Si(Ph) ₂ (<i>t</i> -Bu)	estequiométrica	8,0	:	1,0
	catalítica	7,2	:	1,0

Baseando-nos nesses resultados obtidos por esses autores, decidimos preparar o (*R*)-gliceraldeído cetal **90** aumentando o volume desse grupo, trocando-se os substituintes metila por etila, objetivando avaliar um possível aumento da diastereosseletividade na etapa de di-hidroxilação em favor do diol *anti* **87a**.

Apesar de termos empregado um substrato com grupo cetal contendo substituinte alquila mais volumoso em relação ao empregado por descritos por Cha *et al.*⁷², os resultados obtidos foram similares aos desse grupo, o diol *anti* formou-se majoritariamente, na proporção de 6:1 em relação ao diol *syn*, o que pode ser verificado após a separação desses compostos, através de cromatografia em coluna.

A separação desses isômeros demandou muito esforço. Após otimização do sistema de eluição (hexano:acetato de etila 75:25) para cromatografia em coluna e recolhendo-se frações com cerca de 1 mL cada (para cerca de 500 mg de produto), foi possível obter frações puras de cada isômero e as frações contendo mistura foram resubmetidas a novas purificações. Esse processo permitiu a separação completa dos estereoisômeros e possibilitou confirmar a formação dos dióis *anti* e *syn* na proporção 6:1 com rendimentos de 72 e 12%, respectivamente.

A confirmação da formação dos diol majoritário **87a** iniciou-se pela análise do seu espectro no IV (Figura 42), onde se observa uma banda larga de estiramento de ligação O-H em 3440 cm⁻¹.

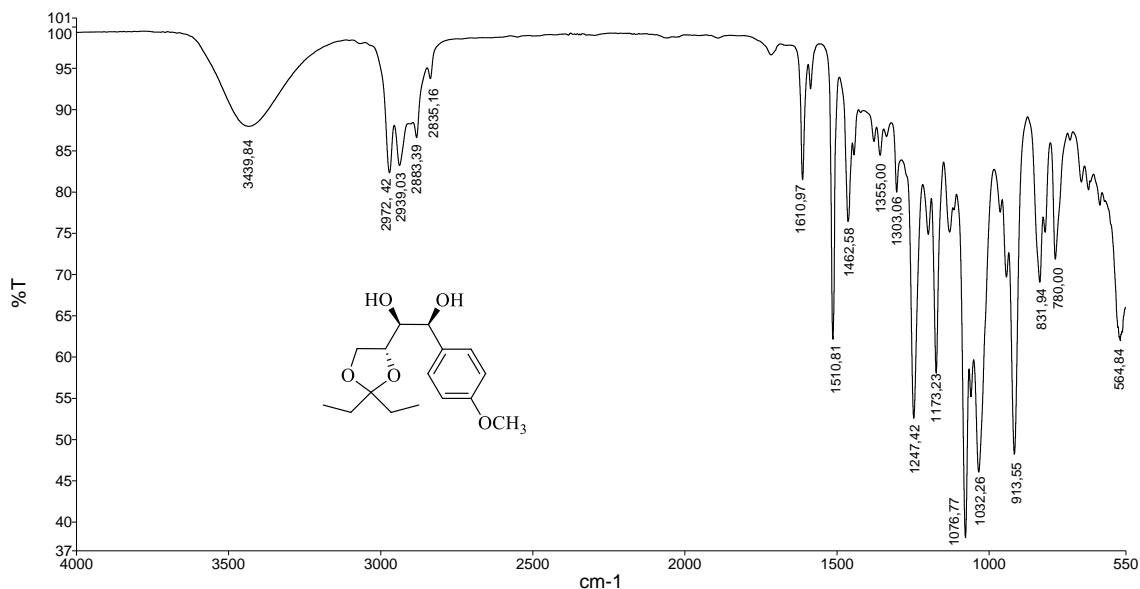
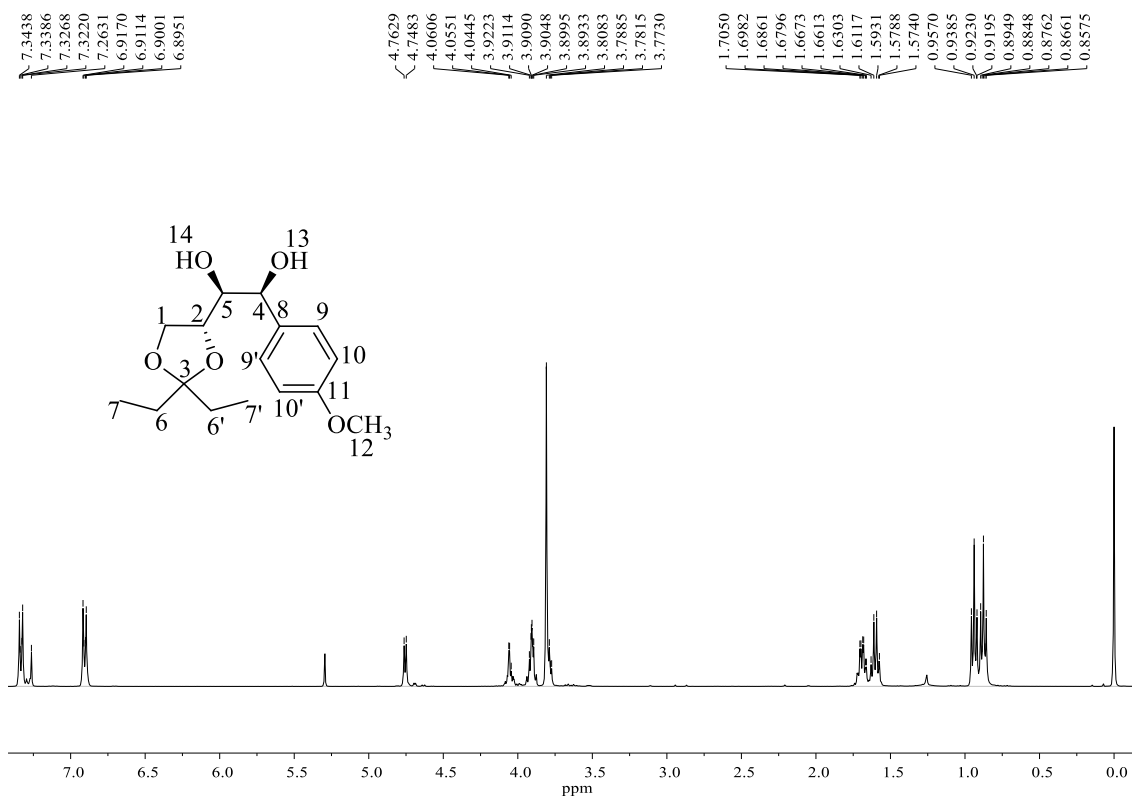
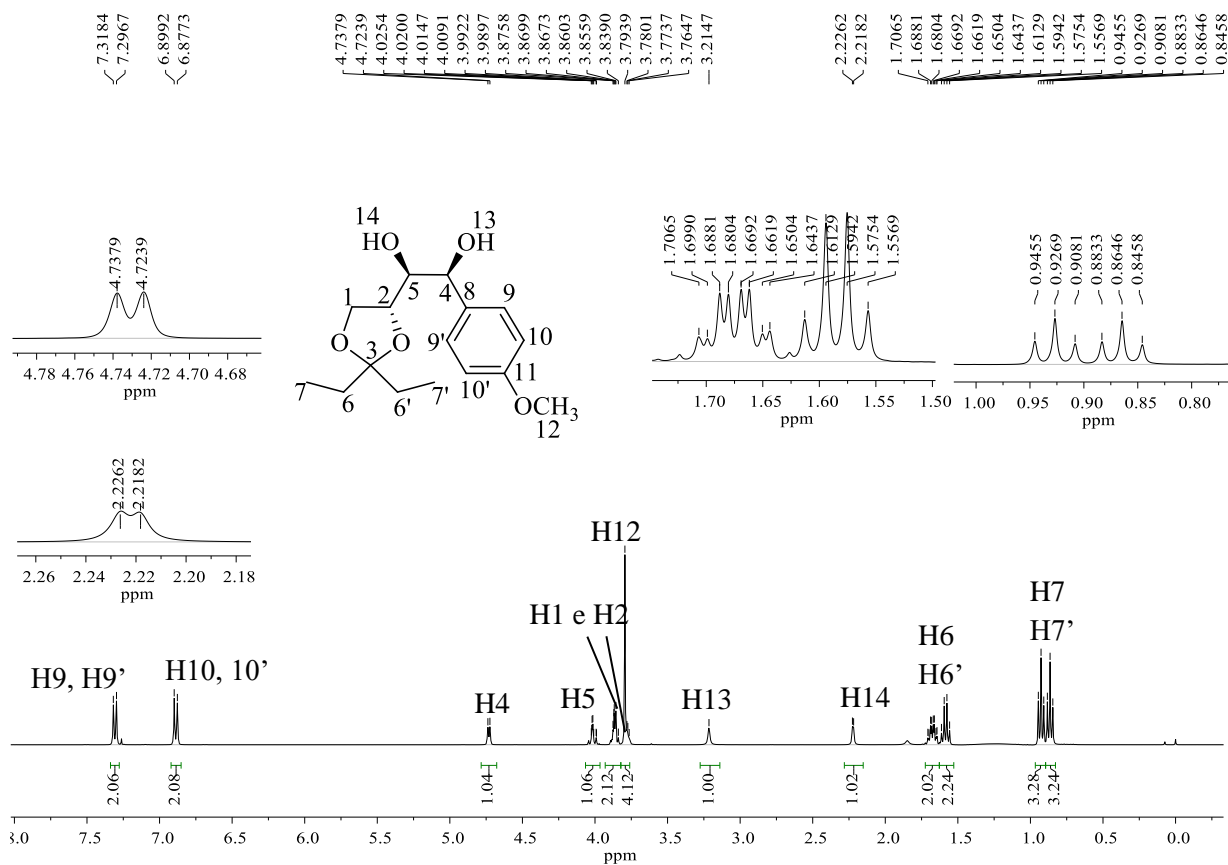


Figura 42. Espectro no infravermelho do diol **87a**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 43) do diol **87a** destacam-se, um sinal duplete em 2,22 ppm e um simpleto em 3,21 ppm, atribuídos aos hidrogênios hidroxílicos, o que foi confirmado através do espectro de RMN de ^1H (Figura 44) realizado após adição de gotas de D_2O à amostra. Além disso, nota-se a ausência de sinais olefínicos do alceno de partida em 5,59 e 6.65 ppm, respectivamente.



A seguir, o diol *anti* **87a** foi tratado com cloreto de tionila e trietilamina fornecendo o respectivo sulfito cíclico **86**, com 79% de rendimento.

Sulfitos cíclicos são *synthons* quirais eletrofilicos muito versáteis, que representam ferramentas poderosas para o controle de estereosseletividade de diois quirais adjacentes e podendo ser considerados sinteticamente equivalentes ou superiores aos epóxidos, frente a vários nucleófilos.^{73,74}

No espectro no IV desse composto **86** (Figura 45), chama a atenção a ausência de bandas características de estiramento O-H, bem como a presença de uma banda intensa em 1217 cm⁻¹, atribuída a estiramento de ligação do grupo S=O, além da banda atribuída a estiramento de ligação S-O em 683 cm⁻¹.

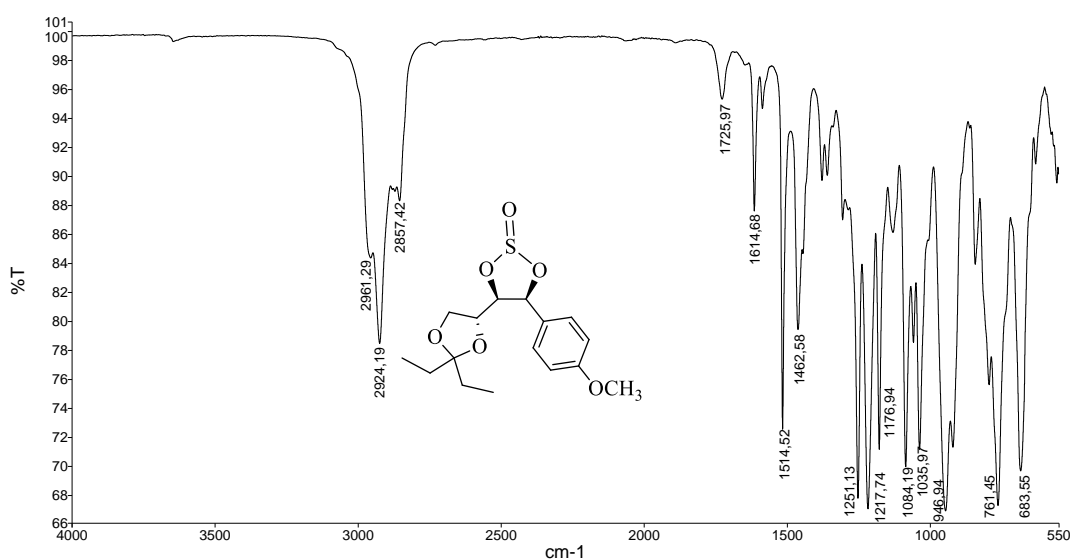


Figura 45. Espectro no Infravermelho do sulfito **86**.

Além disso, o espectro de RMN de ¹H do sulfito **86** (Figura 46), mostra sinais duplicados devido à formação de uma mistura de diastereoisômeros provenientes do centro estereogênico no átomo de enxofre. Entretanto, a mistura não traz consequências negativas para o propósito da síntese, pois na etapa seguinte, a mistura desaparecerá com a abertura do mesmo.

⁷³ MEGIA-FERNANDEZ, A.; MORALES-SANFRUTOS, J.; HERNANDEZ-MATEO, F.; *et al.* Synthetic applications of cyclic sulfites, sulfates and sulfamidates in carbohydrate chemistry. **Curr. Org. Chem.**, 14, 401-432, 2010.

⁷⁴ GARCÍA-GRANADOS, A.; LÓPEZ, P.E.; MELGUIZO, E.; *et al.* Epoxides, cyclic sulfites, and sulfate from natural pentacyclic triterpenoids: theoretical calculations and chemical transformations. **J. Org. Chem.**, 68, 4833-4844, 2003.

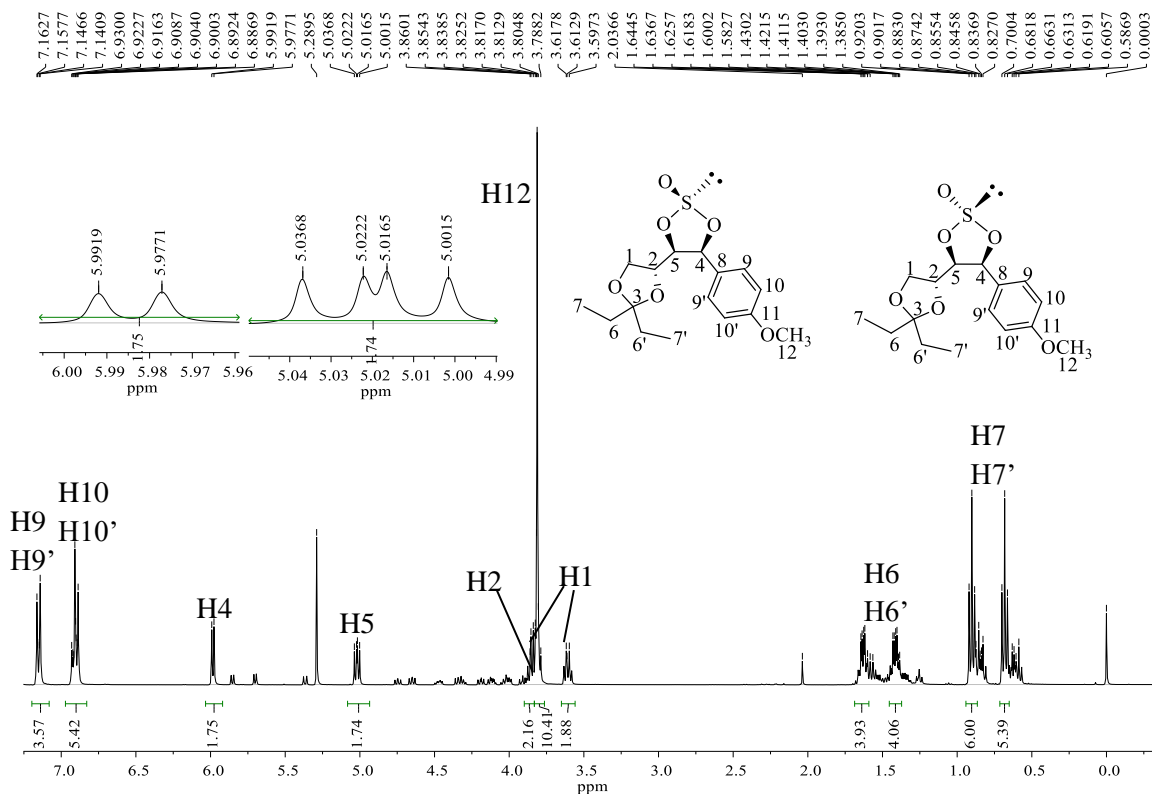


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do sulfito **86**.

A fim de evitar degradação, devido à sua alta reatividade, o sulfito **86** foi imediatamente submetido à próxima etapa, sem prévia purificação.

A abertura regioselectiva do anel do sulfito **86** empregando azida de sódio,^{75,76} forneceu o azidoálcool **92**. A regioselectividade dessa reação de substituição nucleofílica pode ser explicada pela formação preferencial de um pseudocarbocátion benzílico estabilizado.

⁷⁵ MARCH, J. *Advanced Organic Chemistry*. New York: Wiley, 1985.

⁷⁶ SMITH, J.G. Synthetically useful reactions of epoxides. *Synthesis*, 8, 629-656, 1984.

A caracterização do intermediário azidoálcool **92** se iniciou pelo seu espectro no IV (Figura 47), no qual destaca-se a presença da banda intensa em 2109 cm^{-1} relativa ao estiramento de ligação $\text{N}\equiv\text{N}$ da azida. Além da banda característica de estiramento da ligação O-H em 3422 cm^{-1} .

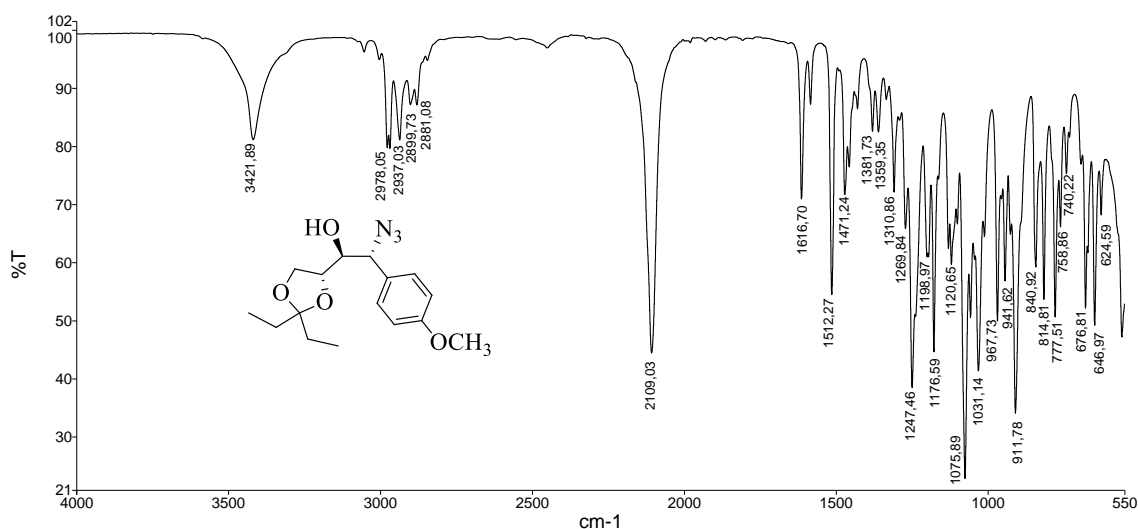


Figura 47. Espectro no infravermelho do azidoálcool **92**.

No espectro de RMN de ^1H do azidoálcool **92** (Figura 48), destaca-se o sinal duplete em 2,15 ppm, atribuído ao hidrogênio hidroxílico, além do sinal atribuído ao hidrogênio benzílico, que agora é visualizado em menor deslocamento químico, 4,72 ppm, confirmando a abertura do anel sulfito.

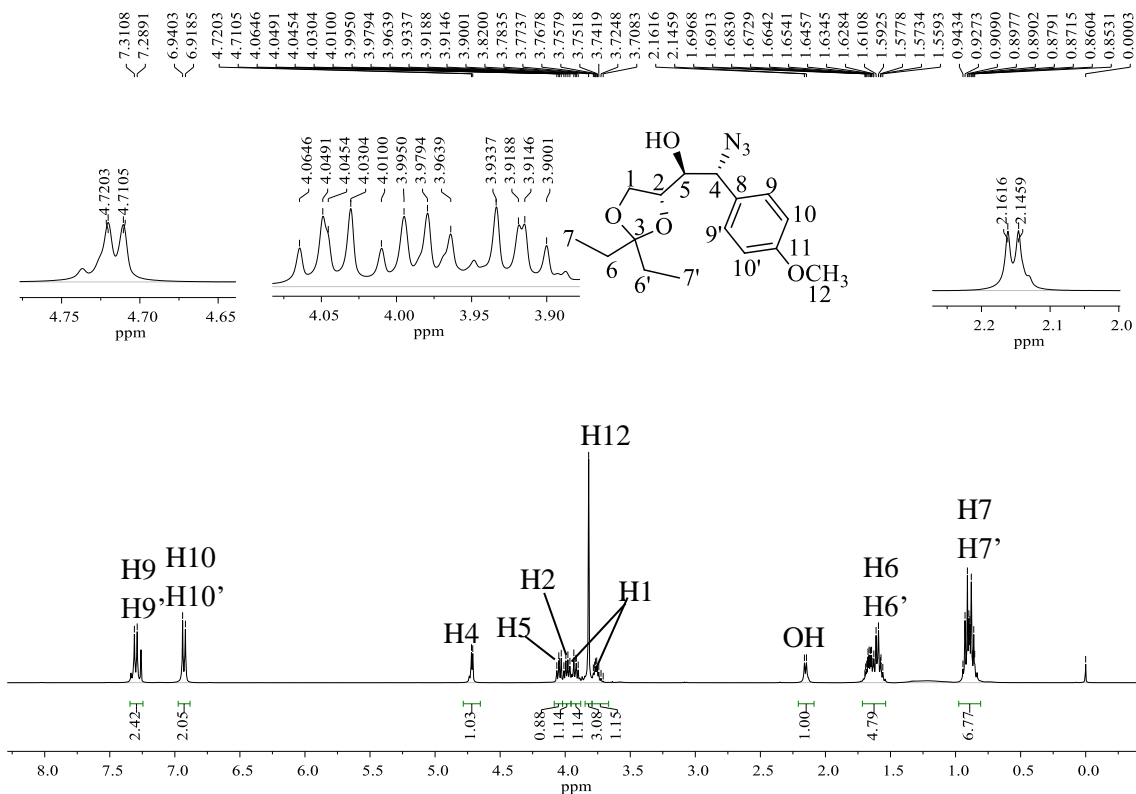
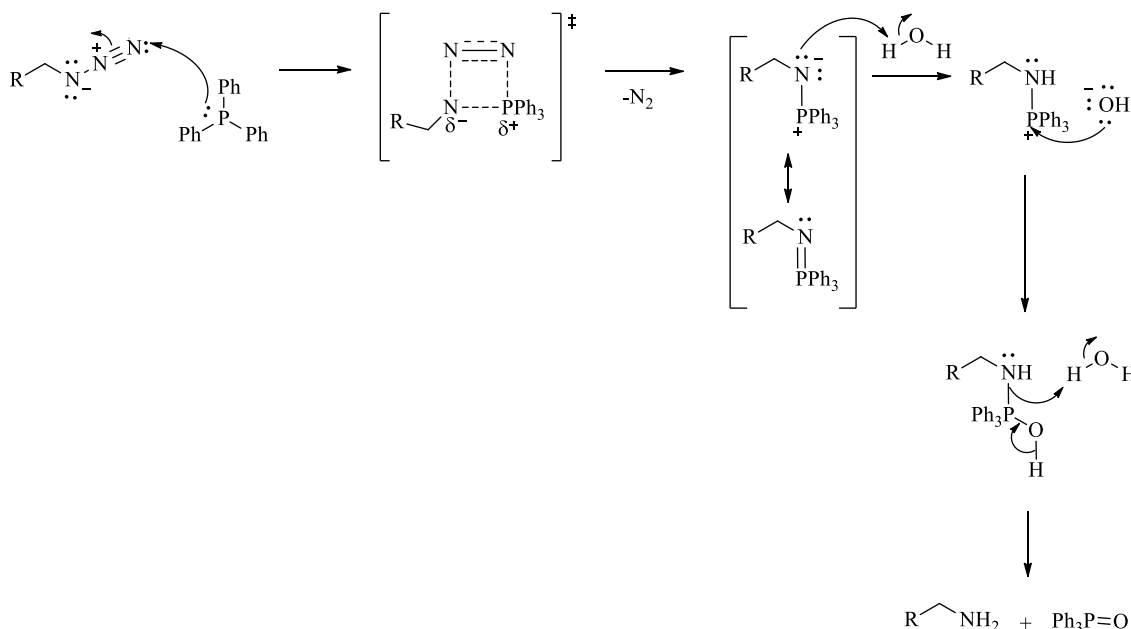


Figura 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) azidoálcool **92**.

A partir do azidoálcool **92** obteve-se o respectivo aminoálcool (**85**) por meio da redução do grupo azido empregando $\text{PPh}_3/\text{H}_2\text{O}$, um protocolo conhecido como reação de Staudinger, cujo mecanismo é apresentado no esquema 23. O processo se inicia pelo ataque do par de elétrons da trifenilfosfina ao grupo azida, formando a respectiva fosfoazida, que após perder uma molécula de N_2 , fornece uma iminofosforana. Esta última, leva à amina de interesse, em meio aquoso, com a formação do óxido de trifenilfosfina, um subproduto de elevada estabilidade.⁷⁷

⁷⁷ LIN, F.L.; HOYT, H.M.; HALBEEK, H.V.; *et al.* Mechanistic investigation of the Staudinger ligation. **J. Am. Chem. Soc.**, 127, 2686-2695, 2005.



Esquema 23. Mecanismo da redução do grupo azido.

A obtenção do aminoálcool **85** pode ser confirmada, pela análise do espectro no IV (Figura 49), onde destaca-se a ausência da banda de estiramento de ligação $N\equiv N$ da azida em 2109 cm^{-1} e a presença das bandas em 3366 e 3299 cm^{-1} relativas a amina primária.

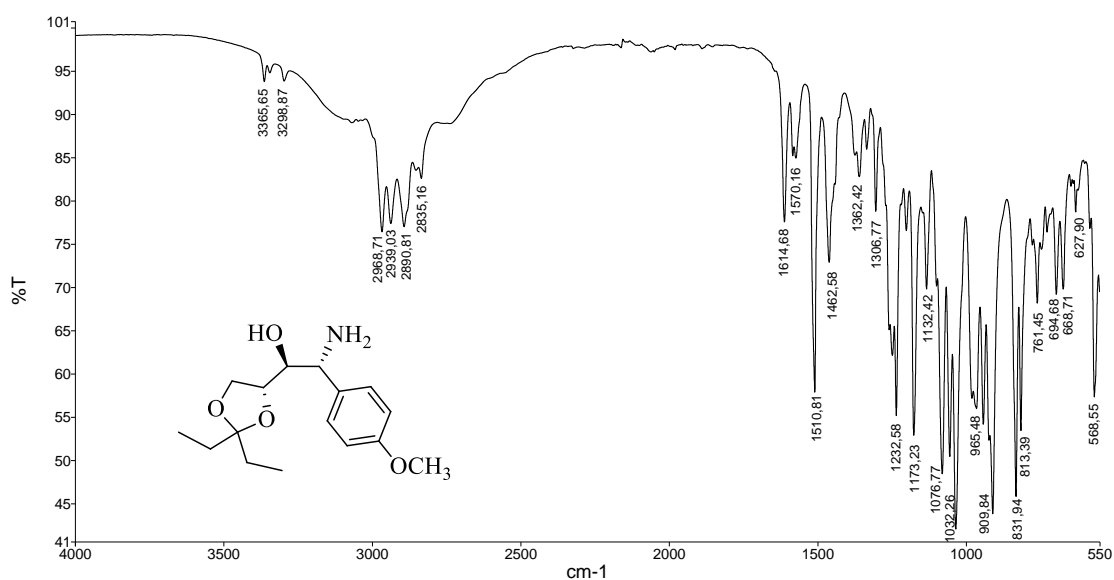


Figura 49. Espectro no infravermelho do aminoálcool **85**.

No espectro de RMN de ^1H do aminoálcool **85** (Figura 50), chama a atenção o sinal duplete atribuído ao hidrogênio benzílico, que aparecia em $4,72\text{ ppm}$ no espectro do azidoálcool de partida, e agora é observado em $4,18\text{ ppm}$, uma região menos desblindada, bem como o sinal simpleto largo em $2,25\text{ ppm}$ integrado para 3 hidrogênios, atribuído aos hidrogênios dos grupos

OH e NH₂. O que foi corroborado pela ausência desse sinal no espectro de RMN de ¹H (Figura 51) realizado após adição de gotas de D₂O, confirmando a redução do grupo azida.

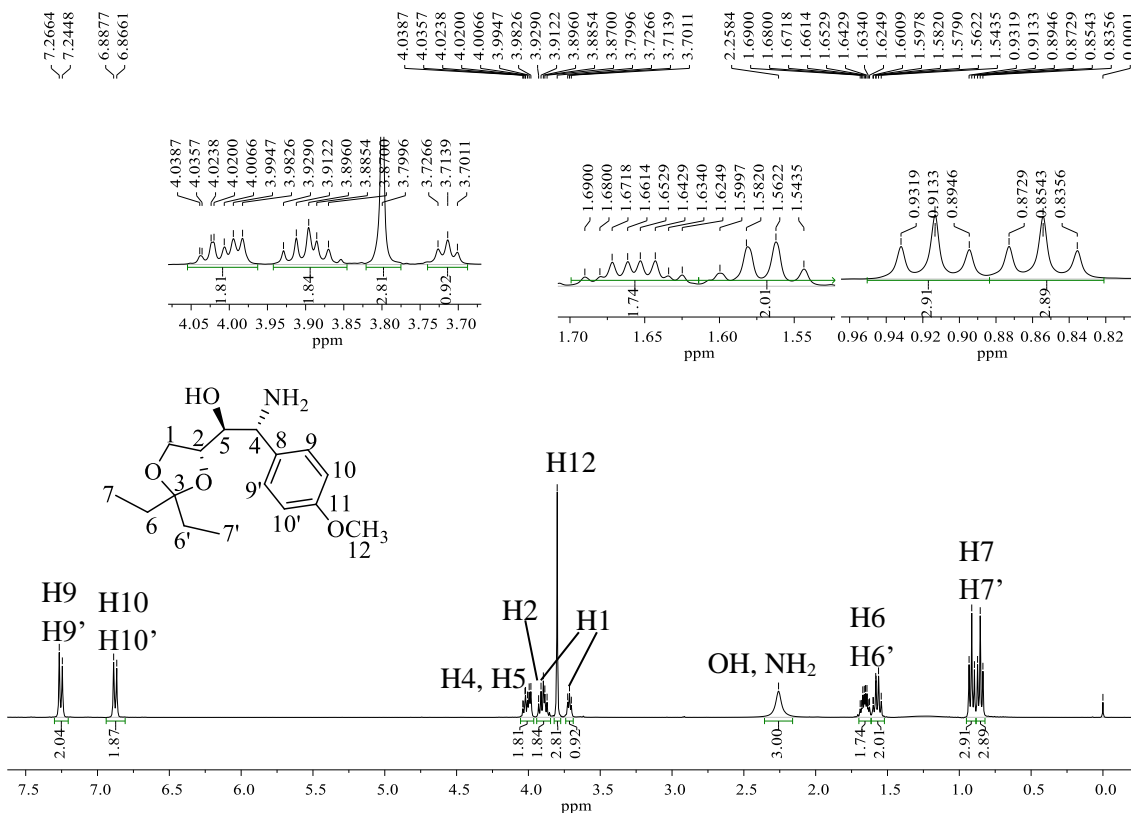


Figura 50. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do aminoálcool 85.

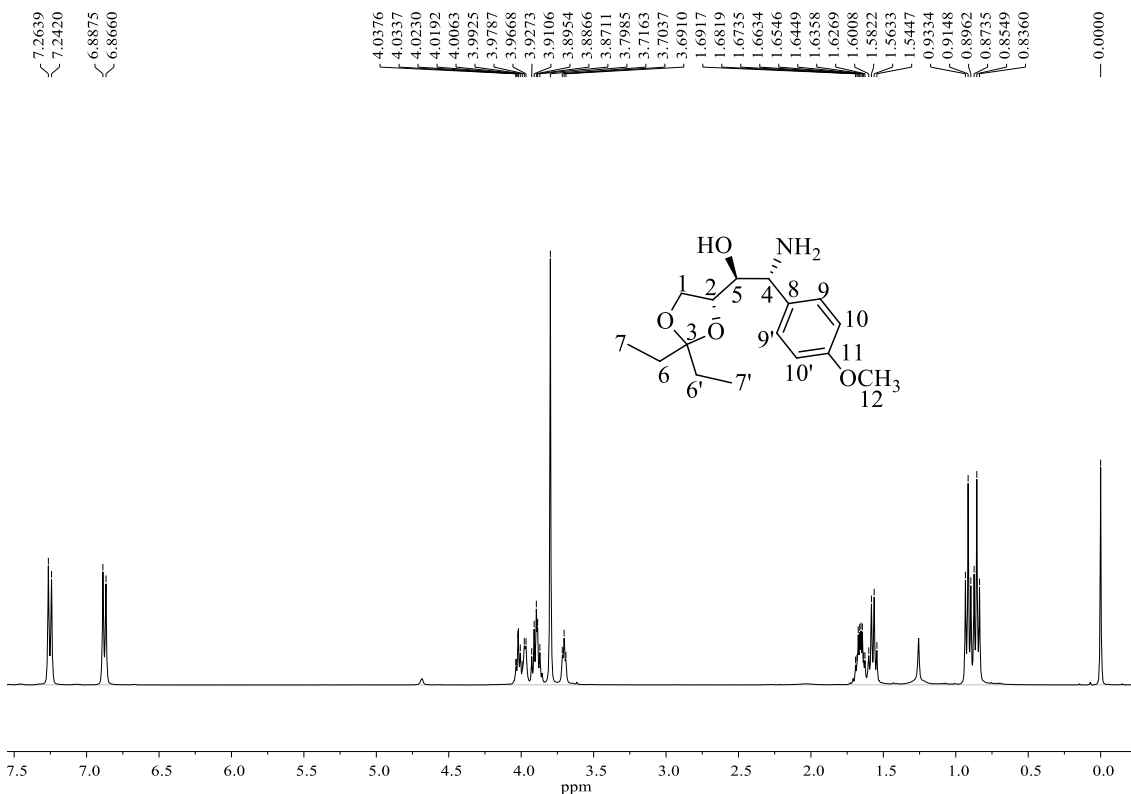
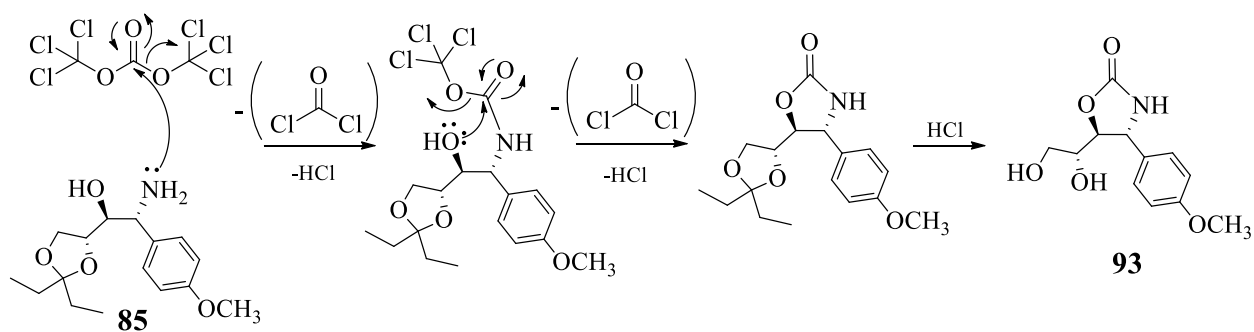


Figura 51. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃+gotas de D₂O) do aminoálcool 85.

A etapa seguinte, consistiu na reação de *N,O*-heterociclicização empregando trifosgênio, cuja formação de HCl *in situ* proporcionou a concomitante desproteção do grupo cetal, evitando a realização de uma etapa adicional de desproteção desse grupo, fornecendo o derivado oxazolidinona **93**, com 86% de rendimento. O mecanismo desse processo é apresentado no esquema 24.



Esquema 24. Mecanismo para a reação de ciclicação, seguida da hidrólise do grupo cetal, para a síntese de **93** empregando trifosgênio.

O espectro no IV desta oxazolidinona (**93**) (Figura 52), apresentou uma banda larga em 3328 cm^{-1} , referente ao estiramento de ligação OH, sugerindo que na reação de *N,O*-ciclicação o grupo cetal sofreu hidrólise.

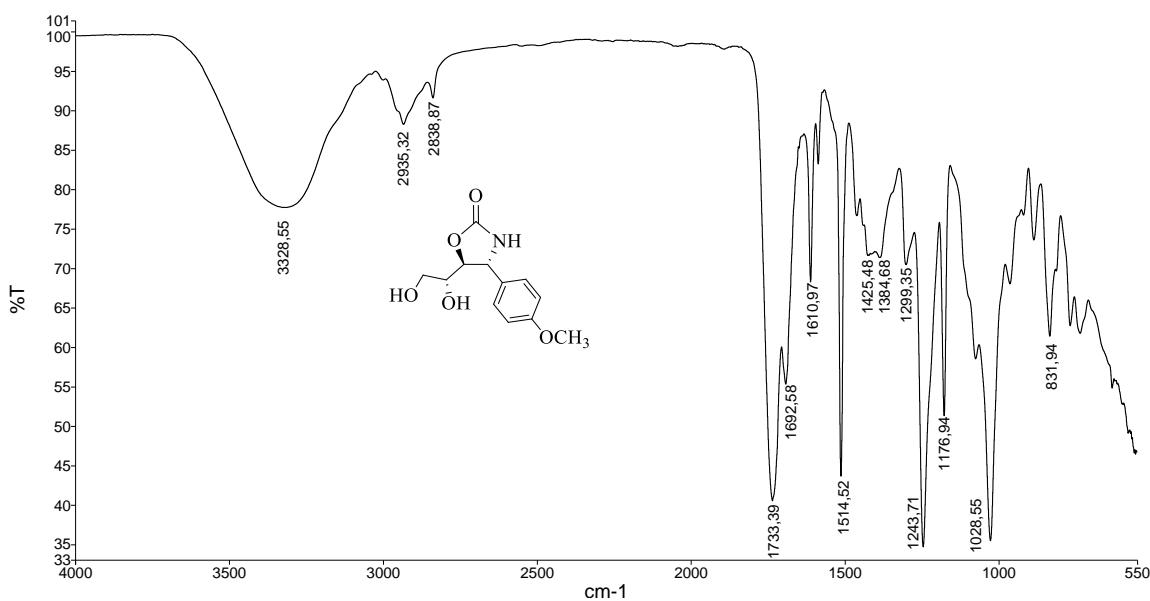
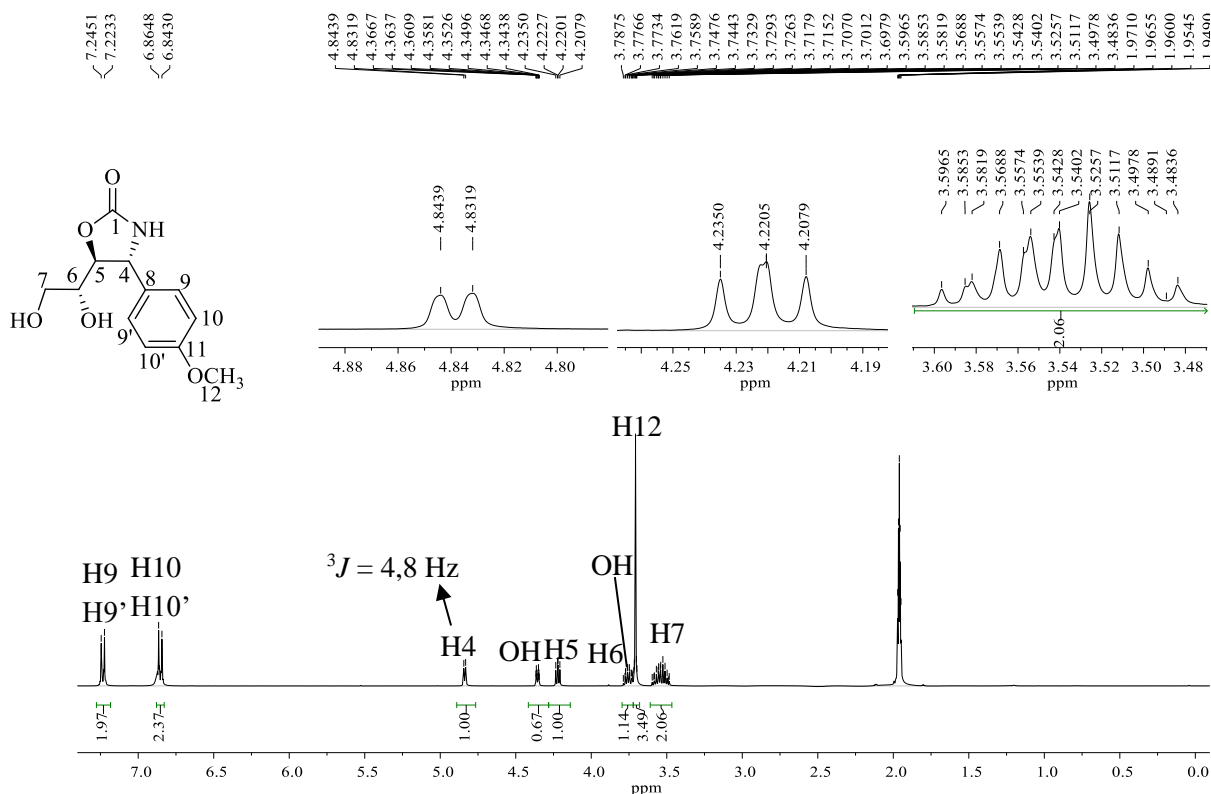


Figura 52. Espectro no IV da oxazolidinona **93**.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 53) do intermediário **93**, confirma a ocorrência da desproteção do grupo cetal concomitantemente com a ciclicação devido à ausência dos sinais tripletos, atribuídos aos hidrogênios metílicos do grupo cetal, que apareciam em 0,85

e 0,91 ppm, do sinal quarteto em 1,56 ppm e do duplo quarteto em 1,65 ppm atribuídos aos hidrogênios metilênicos do grupo cetral do aminoalcoól **85** de partida. Também cabe destacar a presença do sinal duplete atribuído a H4 em 4,83 ppm, cujo $^3J_{H4-H5} = 4,8$ Hz é característica de acoplamento entre os hidrogênios 4 e 5, em anéis oxazolidinona, com configuração relativa *trans*.



Adicionalmente, cabe destacar a presença do sinal de carbonila de grupo carbamato em 160,53 ppm, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 54), confirmando a ocorrência da reação de ciclização.

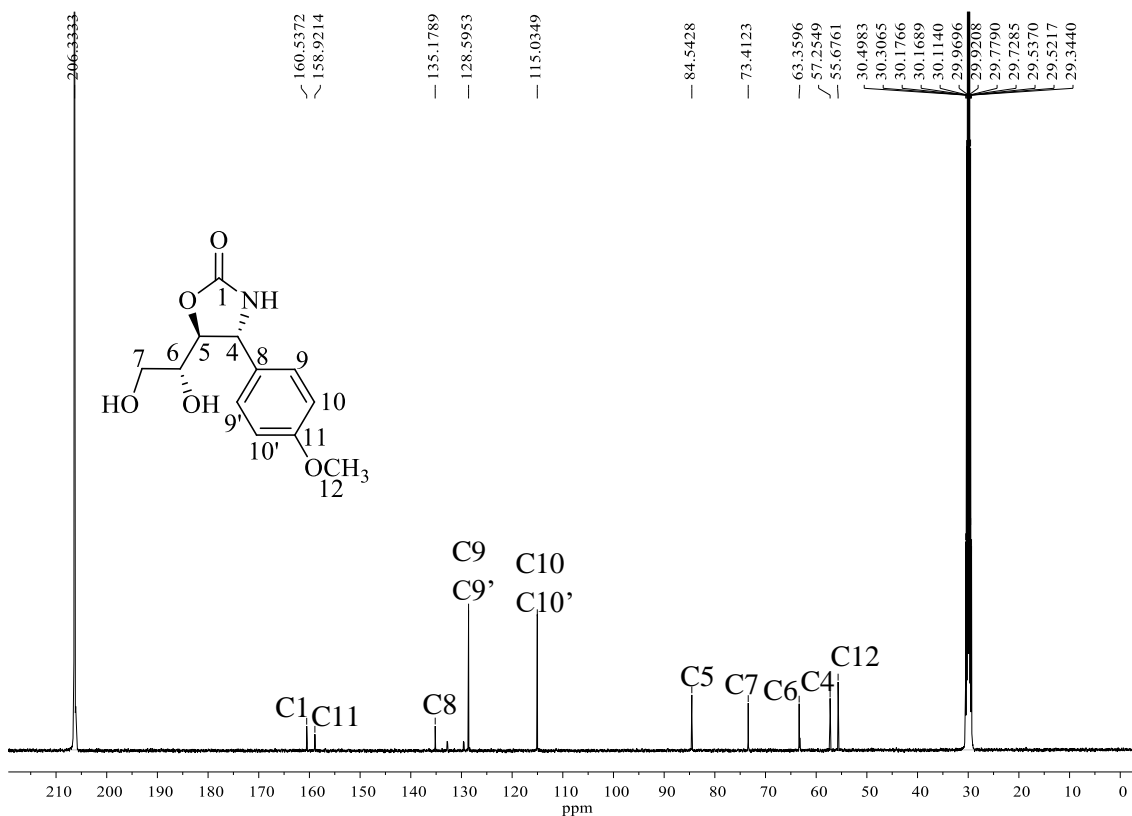


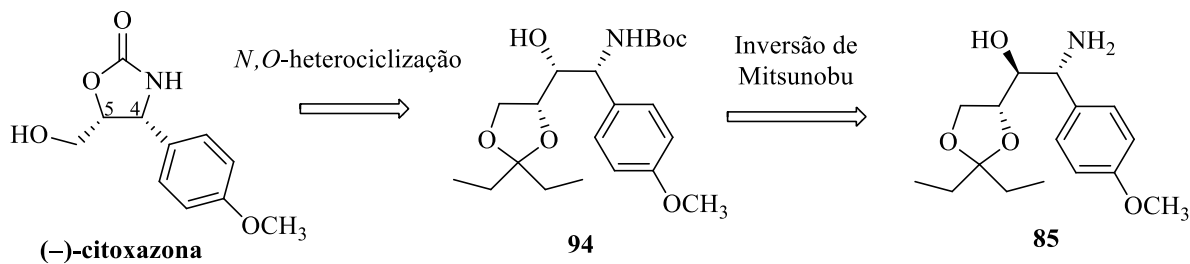
Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6) da oxazolidinona **93**.

Finalmente, etapas consecutivas em *one-pot* de clivagem oxidativa do diol **86** empregando NaIO_4 e redução do aldeído resultante com NaBH_4 , levou à (+)-5-*epi*-citoxazona, com 79% de rendimento (duas etapas).

O valor de rotação específica desse composto $[\alpha]_{\text{D}}^{26,7} +27,5^\circ$ (c 0,4, CH_3OH), foi próximo dos descritos na literatura.⁶³

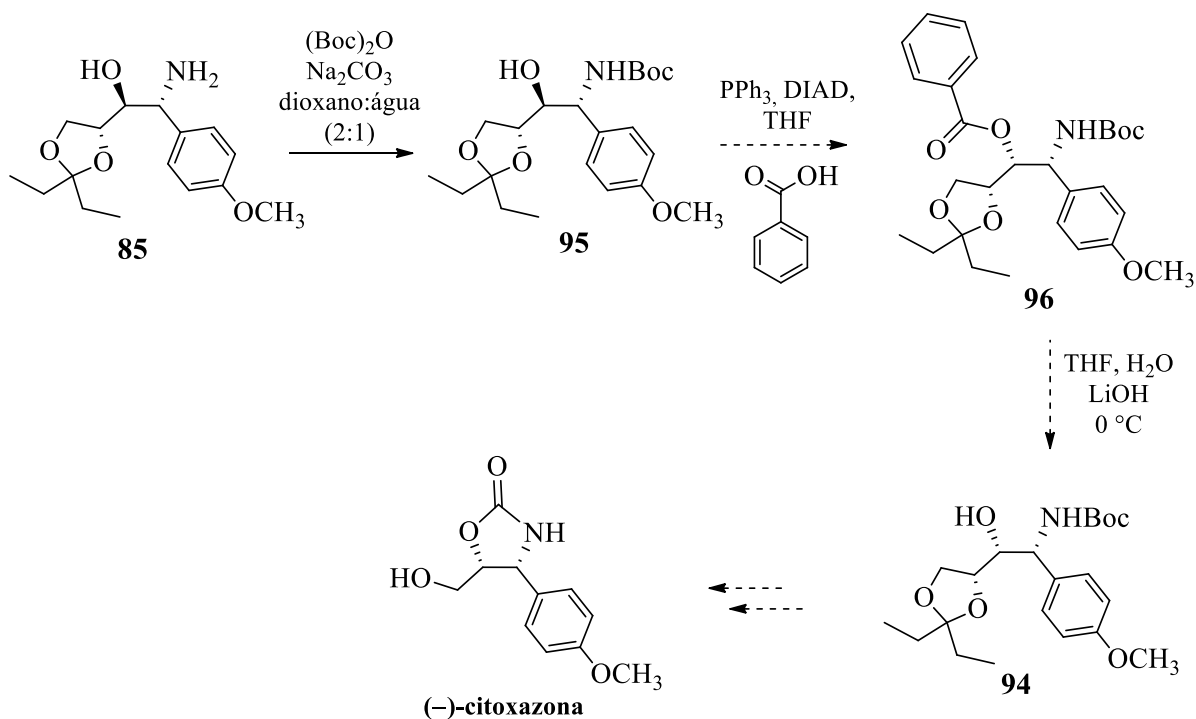
Além de confirmar a estereoquímica da (+)-5-*epi*-citoxazona, os dados de rotação específica, nos permitiram inferir que a estratégia sintética adotada para evitar ou minimizar a racemização do (*R*)-gliceraldeído cetal **90**, empregado-o sem prévia purificação, foi eficiente.

Por sua vez, para a síntese da (–)-citoxazona, considerou-se que a reação de inversão de Mitsunobu da hidroxila no carbono 5 do aminoálcool **85**, seja uma opção viável, segundo a análise retrosintética (Esquema 25). As etapas seguintes serão similares àquelas feitas para a síntese da (+)-*epi*-citoxazona.



Esquema 25. Análise retróssintética da (-)-citoxazona a partir do aminoálcool **85**.

Com essa nova proposta, a seguir, realizou-se a reação de *N*-Boc proteção do aminoálcool **85** produzindo o *N*-Boc derivado **88**, Esquema 26.



Esquema 26. Rota sintética para a obtenção da (-)-citoxazona a partir do aminoálcool **85**.

A obtenção do novo derivado *N*-Boc protegido **95**, foi evidenciada pela análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 55), em que se observa a presença de um sinal simples, integrado para 9 hidrogênios em 1,41 ppm, atribuído aos hidrogênios *terc*-butílicos do grupo protetor Boc.

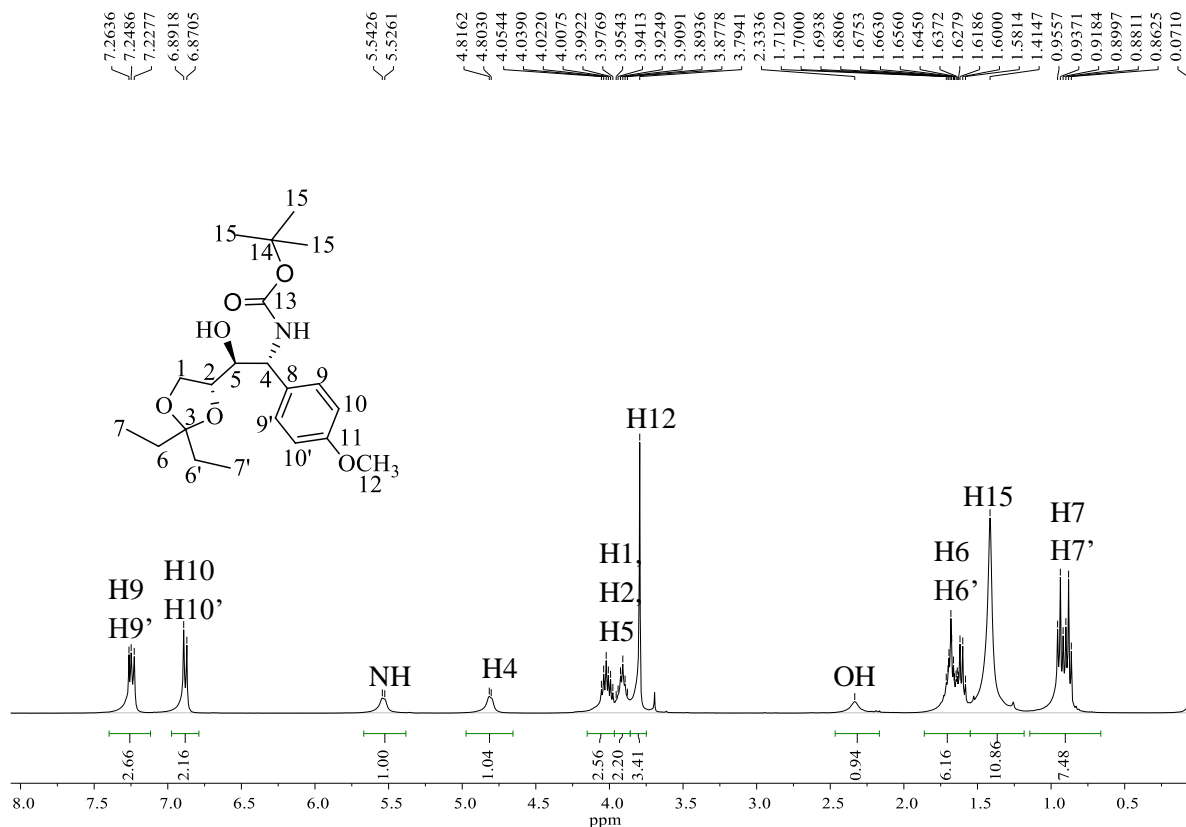


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do intermediário **95**.

A primeira tentativa de reação de inversão de Mitsunobu no intermediário **95** foi realizada empregando di-isopropilazodicarboxilato (DIAD) e ácido benzóico, como nucleófilo em THF anidro. Após cerca de 20 horas de reação à temperatura ambiente verificou-se que o material de partida não havia sido consumido, sendo recuperado após purificação por cromatografia em coluna.

Uma nova tentativa foi realizada, desta vez, a reação sendo feita sob refluxo. Após 18 horas, notou-se, pela análise em CCD, que o material de partida não havia sido consumido, sendo quase totalmente recuperado (cerca de 98%).

Posteriormente, empregou-se ácido 4-nitrobenzóico, um ácido mais forte em relação ao ácido benzoico, sendo a reação realizada sob refluxo e acompanhada por CCD. Novamente, não se obteve o produto de interesse, recuperando-se o material de partida. As mesmas condições foram repetidas outras vezes, infelizmente, os resultados foram infrutíferos.

Acredita-se que o impedimento estérico causado pelos grupos volumosos adjacentes ao carbono carbinólico do composto **95** (Figura 57) tenham dificultado a sua aproximação do intermediário fosfônio **99**, impossibilitando a ativação do grupo OH, através da formação do intermediário **100**, que através de uma reação de substituição levaria ao composto **103**, com inversão do respectivo centro quiral.

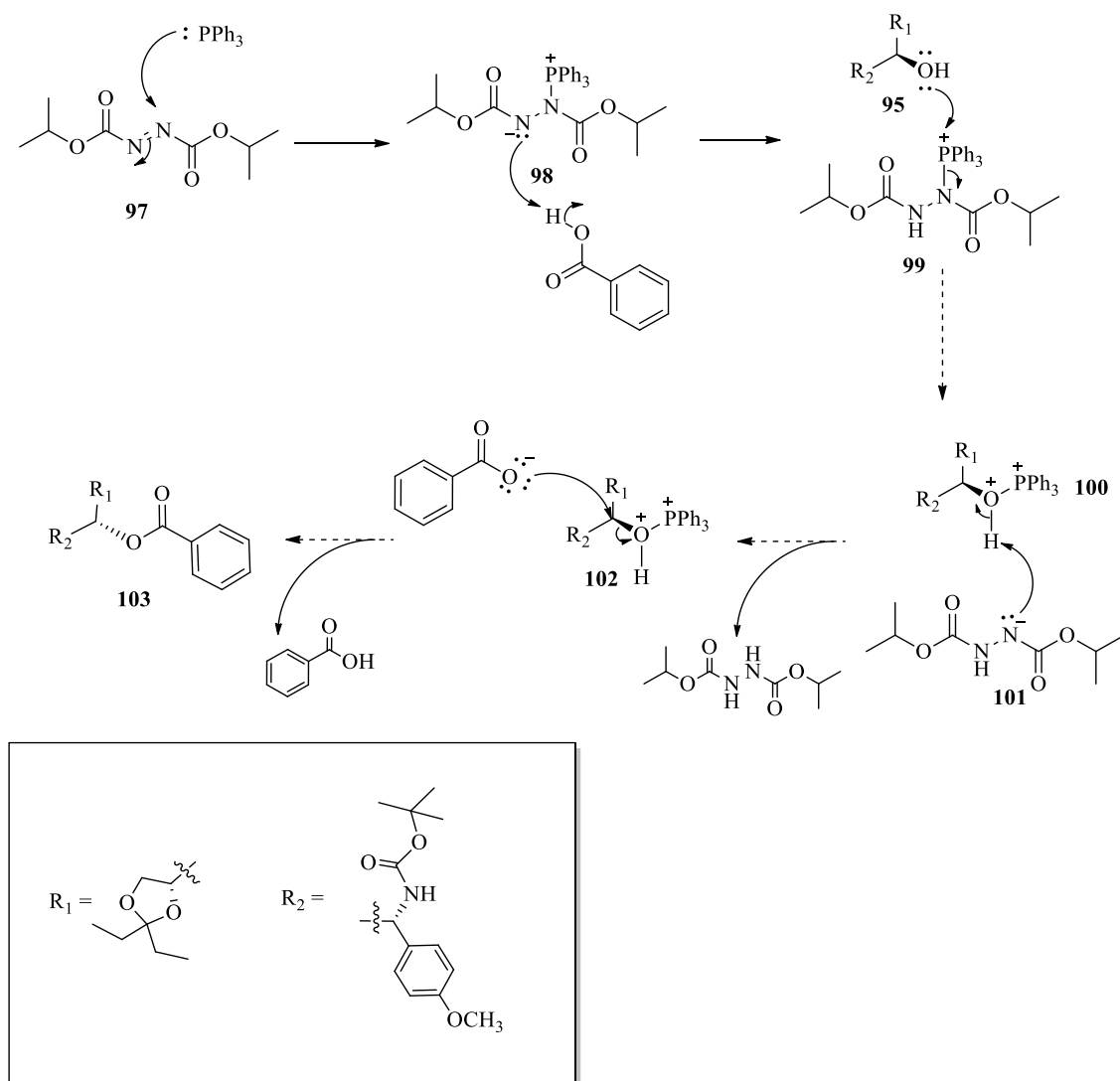


Figura 57. Mecanismo da reação de inversão de Mitsunobu.⁷⁸

⁷⁸ SZE, T. Y.; TOY, P.H. The Mitsunobu Reaction: Origin, Mechanism, Improvements, and Applications. **Chem. Asian J.**, 2, 1340-1355, 2007.

3.2. Conclusões

A síntese da (+)-5-*epi*-citoxazona foi realizada em 10 etapas a partir do D-manitol por meio de uma rota estereosseletiva inédita, com 17% de rendimento global.

A primeira etapa-chave dessa rota, a reação de olefinação de Wittig, forneceu a olefina *Z* seletivamente (*Z:E* 4:1), com 70% de rendimento.

A segunda etapa-chave, uma di-hidroxiilação com indução de diastereosseletividade intramolecular devido à aproximação preferencial do OsO₄ pela face oposta ao grupo cetal volumoso vizinho à dupla ligação da olefina *Z* (**88a**), proporcionou o controle dos centros assimétricos requeridos para construção do esqueleto da molécula-alvo, levando ao diol **87a** preferencialmente (**87a:87b** 6:1), com 72% de rendimento.

As tentativas de obtenção da (-)-citoxazona a partir do aminoálcool **85** se mostraram infrutíferas. A baixa reatividade do derivado *N*-Boc **95** protegido pode estar associada ao impedimento estérico exercido pelos grupos volumosos adjacentes ao carbono carbinólico, dificultando a sua aproximação do intermediário fosfônio **99**, impossibilitando a ativação do grupo OH.

Comparativamente à rota sintética que partiu da D-4-hidroxifenilglicina, essa se mostrou mais inovadora, sendo utilizadas abordagens inéditas para a síntese da (+)-5-*epi*-citoxazona, as quais se mostraram muito eficientes para controlar os centros estereogênicos.

Por outro lado, ambas as rotas desenvolvidas nesse trabalho se mostraram eficientes e viáveis, do ponto de vista econômico, em relação à maioria das rotas descritas na literatura, visto que estereosseletividades foram alcançadas por meio da utilização de grupos protetores volumosos, que já seriam requeridos e que passaram a desempenhar também a função de estereoindutores.

CAPÍTULO 2

Ensaio antibacteriano dos compostos e intermediários preparados frente às cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de animais com mastite bovina

4.1. Introdução

As bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ser encontradas, naturalmente em mucosas dos sistemas respiratório, digestivo e urogenital de seres humanos e animais, tendo sido descritas mais de trinta espécies de *Staphylococcus* spp., das quais algumas estão diretamente ligadas a uma gama de infecções.⁷⁹ Cerca de 30 a 40% das pessoas possuem essa bactéria, que é considerada um patógeno oportunista.⁸⁰

S. aureus é uma bactéria Gram-positiva, geralmente transmitida por alimentos contaminados, causando uma grande variedade de doenças em seres humanos e animais, como infecções alimentares e em glândulas mamárias (mastites), por exemplo.⁷⁹

Essa bactéria é considerada um dos maiores patógenos causadores de infecções clínicas,^{82,81} como infecções da pele e de sua estrutura, infecções osteoarticulares, septicemia, endocardite infecciosa, pneumonia, infecções oculares e infecções do sistema nervoso.^{79,82} Mesmo com a terapia cirúrgica e antibiótica, as infecções da corrente sanguínea estão associadas a uma mortalidade significativa.⁸³

S. aureus, ao contrário de diversas outras bactérias Gram-positivas, não é capaz de formar esporos, mas ainda assim demonstra um grande potencial patogênico, sendo capaz de produzir enzimas catalisadoras da conversão de fibrogênio solúvel em fibrina insolúvel, fazendo com que o sangue coagule ao redor da bactéria, protegendo-a dos mecanismos de defesa do organismo hospedeiro, particularmente do processo de fagocitose, ocasionando a formação de lesões e abscessos.^{81,84} Além disso, os processos controlados pelos patógenos, envolvendo a formação de secreções, causam o recrutamento e destruição de células imunes, transformando as lesões de abscessos em exsudados purulentos, por meio dos quais os *Staphylococcus* se disseminam para produzir novas lesões e infectar novos indivíduos.⁸¹

Devido ao uso excessivo de antimicrobianos para tratamento de infecções, muitas bactérias se adaptaram e desenvolveram mecanismos de defesa, mesmo contra os fármacos mais eficientes, como inativação enzimática, modificação dos alvos desses compostos e redução da concentração do fármaco dentro da célula bacteriana por meio de alteração da permeabilidade

⁷⁹ SILVA, J.G.; ALCÂNTARA, A.M.; MOTA, R.A. Mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistentes à metilicina: Revisão de Literatura. **Pesq. Vet. Bras.**, 38, 223-228, 2018.

⁸⁰ KAWADA-MATSUO, M.; KOMATSUZAWA, H. Factors affecting susceptibility of *Staphylococcus aureus* to antibacterial agents. **J Oral. Biosci.**, 54, 86-91, 2012.

⁸¹ TONG, S. Y.; DAVIS, J.S.; EICHENBERGER, E.; et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clin. Microbiol. Ver.**, 28, 603-661, 2015.

⁸² ONDUSKO, D.S.; NOLT, D. *Staphylococcus aureus*. **Pediatrics in Review**, 39, 287-298, 2018.

⁸³ THOMER, L.; SCHNEEWIND, O.; MISSIAKAS, D. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. **Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.**, 11, 343-364, 2016.

⁸⁴ GOULD, D. J. *Staphylococcus aureus*: a review of the literature. **Clin. Nurs.**, 4, 5-12, 1995.

de sua membrana ou aumento da expressão das bombas de efluxo, que proporcionam saída da substância antibacteriana da célula.⁸⁵

Além disso, essas bactérias estão diretamente associadas a infecções nosocomiais (infecções hospitalares), especialmente as bactérias resistentes a antibióticos. Apesar de não ser um problema recente, a infecção nosocomial levanta grande preocupação ainda nos dias atuais, devido à sua morbidade, mortalidade e pela elevação dos custos hospitalares. Os *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), que correspondem ao maior grupo de bactérias Gram-positivas multifarmaco resistente, emergiram após a década de 1950, correspondem a um dos principais agentes causadores de infecções nosocomiais, levando em consideração a frequência, gravidade e persistência dessas infecções, que estão associadas a elevadas taxas de mortalidade.^{82,85,86}

Antibióticos como vancomicina, daptomicina, clindamicina e linezolida foram aprovados para tratamentos de cepas MRSA, entretanto, algumas cepas já apresentaram resistência a esses fármacos, que está associada à falha terapêutica, causando elevação da mortalidade. Isso evidenciou a grande necessidade pelo desenvolvimento de novos tratamentos imunológicos para combater a crise de saúde pública realacionada às infecções por MRSA.⁸¹

Outra preocupação, do ponto de vista de saúde pública, tem origem na existência de espécies de *Staphylococcus* causadores de mastite bovina contagiosa, com alta ocorrência de casos subclínicos não apresentam alterações macroscópicas na glândula mamária do animal ou no leite. A ocorrência desses casos pode proporcionar a contaminação do leite e equipamentos, que podem transmitir o patógeno para outros animais e para seres humanos.⁷⁹

Outra possibilidade alarmante é a transmissão de *Staphylococcus* de bovinos para trabalhadores e vice-versa, que já foi verificada. Existem relatos de cepas encontradas em bovinos, que se mostraram resistentes a antimicrobianos que não são empregados em tratamentos de mastite, como meticilina. Ou seja, essas resistências foram adquiridas pelos animais através do contato com seres humanos e, por sua vez, essas cepas contendo genes resistentes podem ser transferidas aos seres humanos em possíveis contaminações do leite.⁷⁹

Os grandes riscos oferecidos por bactérias como *S. aureus* requerem o desenvolvimento de novas pesquisas a respeito dessas infecções para o desenvolvimento de vacinas, de novos fármacos e terapias imunológicas.

Nesse âmbito, alguns compostos sintetizados em nosso laboratório vêm sendo testados frente a cepas de *S. aureus*, isolados de animais acometidos pela mastite bovina.

⁸⁵ HANDZLIK, J.; MATYS, A.; KIEC-KONONOWICZ, K. Recent Advances in Multi-Drug Resistance (MDR) Efflux Pump Inhibitors of Gram-Positive Bacteria *S. aureus*. **Antibiotics**, 2, 28-45, 2013.

⁸⁶ MONTEIRO, J.A. Infecções nosocomiais. Alguns aspectos. **Acta Medica Portuguesa**, 6, 135-140, 1993.

4.2. Resultados e discussão

4.2.1. Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às cepas de *Staphylococcus aureus*

Os intermediários **85**, **93** e a (+)-5-*epi*-citoxazona foram submetidos a testes antibacterianos para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) frente às cepas de *Staphylococcus aureus* 8923, 8907, 8908, 9000 e 9005 isoladas de animais com mastite bovina, cedidas pela Embrapa/CNPGL - Juiz de Fora – MG.

Para isso, os ensaios foram realizados pela metodologia padronizada de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 cavidades⁸⁷ com modificações. Cada composto foi submetido a uma diluição seriada, onde a 100 µL de meio de cultura BHI foram adicionados 100 µL do composto a 4 mg/mL; desta solução, 100 µL foram retirados e homogeneizados com 100 µL de meio de cultura na cavidade seguinte, e assim sucessivamente, obtendo-se assim uma série de concentrações do composto variando de 1,0 mg/mL a 0,015 mg/mL, como é mostrado na Figura 57. A esta gama de concentrações, foram adicionados 100 µL de suspensão bacteriana ajustada para concentração final de 10⁶ UFC/mL. Como controle negativo, foi utilizado o solvente dimetilsulfóxido na concentração máxima de 5% (DMSO; Vetec®), sem o composto e como controle positivo foram adicionados 10 µL de cefoperazona (Figura 58) (CEFAVET; SESPO LTDA).

A microplaca foi mantida em estufa de crescimento a 37 °C por 24 h. Após incubação, foram adicionados 20 µL de resazurina 0,5 mg/mL. As microplacas foram incubadas por mais 2 h. A determinação da CIM foi qualitativa e visual, uma vez que os poços com bactérias viáveis são de coloração rósea e os poços com bactérias não viáveis são de coloração azul. Considera-se o valor do CIM a concentração do poço com coloração azul seguido por um poço com crescimento bacteriano. Os testes foram realizados em duplicata.

⁸⁷ CLSI, W. Clinical and laboratory standards institute methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Approved Standard M7-A7, CLSI, seventh ed., PA, USA, 2012.*

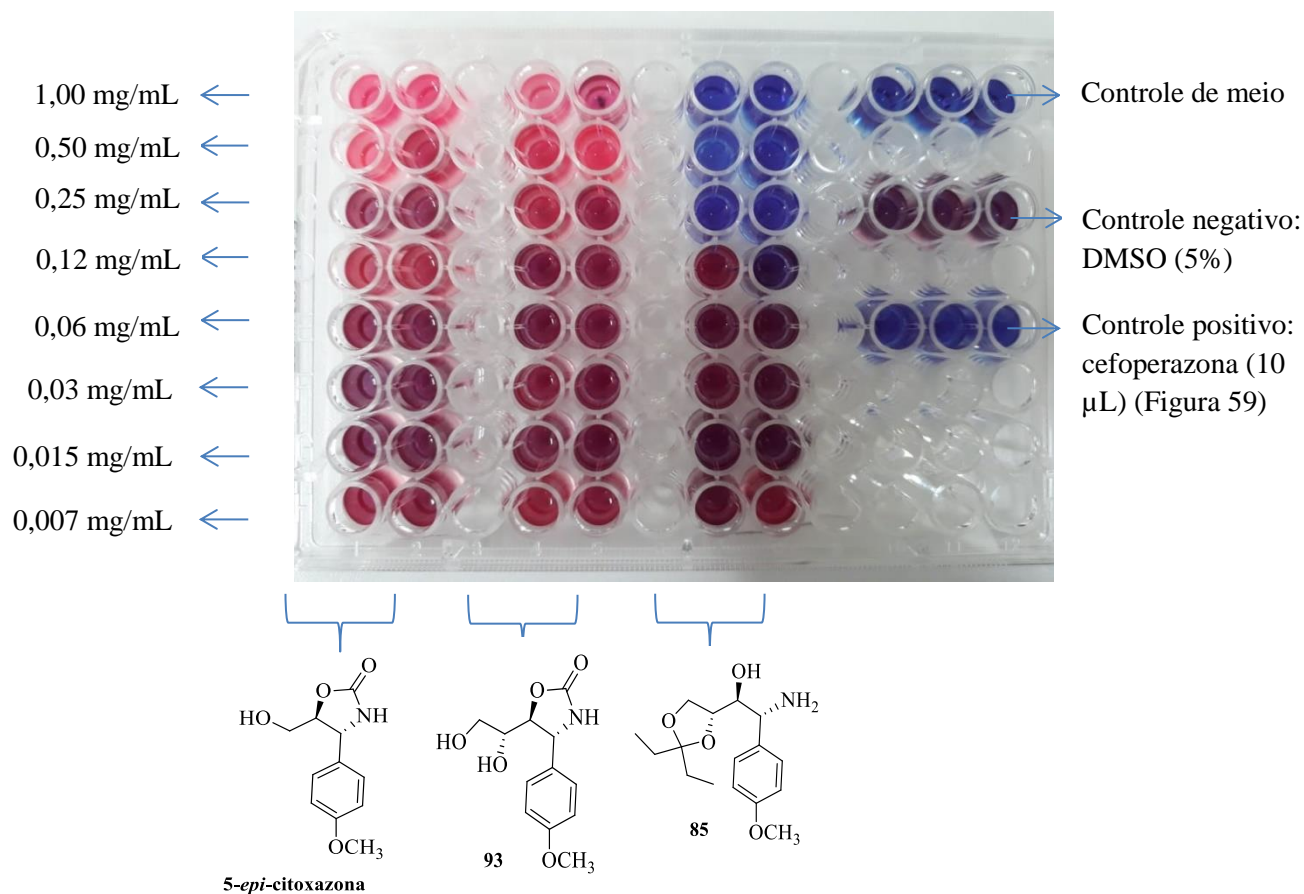


Figura 57. Fotografia da microplaca empregada no ensaio para determinação qualitativa e visual da CIM.

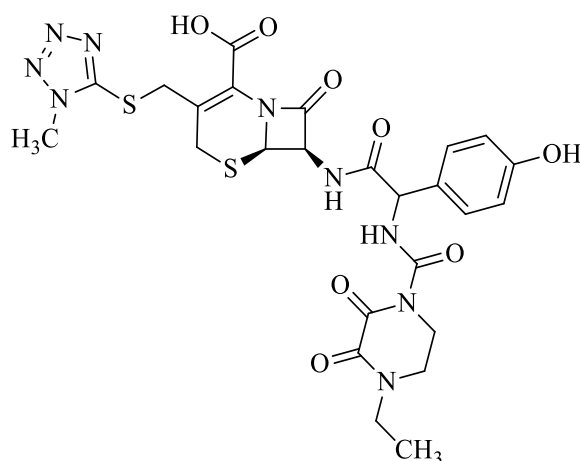


Figura 58. Estrutura da cefoperazona.⁸⁸

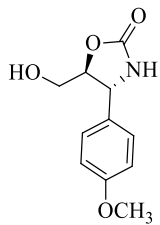
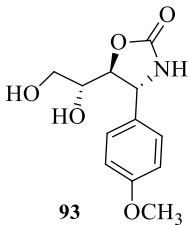
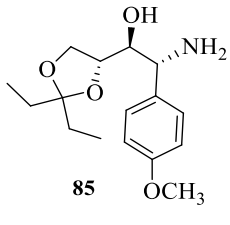
Aligiannis e colaboradores⁸⁹ consideram como forte atividade antimicrobiana, resultados que apresentam CIM até 0,50 mg/mL, como atividade moderada CIM entre 0,6 e 1,50 mg/mL e

⁸⁸ National Center for Biotechnology information. PubChem Compound Database. Disponível em <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cefoperazone#section=Top>> acesso em: 31 de janeiro de 2019.

⁸⁹ ALIGIANNIS, N., KALPOUTZAKIS, E., MITAKU, S. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two origanum species. **J. Agri. Food Chem.**, 49, 4168-4170, 2001.

como fraca atividade CIM acima de 1,60 mg/mL. Dessa forma, baseado nos resultados obtidos para o intermediário aminoálcool **85** (Tabela 2), que apresentou CIM de 0,25 mg/mL para *S. aureus* 8923, 9000 e 9005, e de 012 mg/mL para *S. aureus* 8907 e 8908, esse possui elevado potencial antibacteriano. Avaliações complementares de atividade antibiofilme e de toxicidade para células mamárias dos animais serão realizadas para dar continuidade aos ensaios de avaliação da viabilidade de utilização desses compostos como antibacterianos.

Tabela 2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da (+)-5-*epi*-citoxazona e dos intermediário **85** e **93** frente aos isolados de *Staphylococcus aureus*.

<i>Isolados de S. aureus</i>	Cefoperazona*	CIM (mg/mL)		
		 5- <i>epi</i> -citoxazona	 93	 85
8923	0,06	> 1,00	> 1,00	0,25
9000	0,06	> 1,00	> 1,00	0,25
9005	0,06	> 1,00	> 1,00	0,25
8907	0,06	> 1,00	> 1,00	0,12
8908	0,06	> 1,00	> 1,00	0,12

* Controle positivo

Além disso, a (–)-citoxazona será submetida aos ensaios de atividade antibacteriana, bem como os intermediários sintetizados em ambas as rotas desenvolvidas, dos quais 10 são inéditos. Esses resultados serão posteriormente publicados em artigos científicos.

4.3. Conclusões

Os resultados preliminares de concentração inibitória mínima (CIM) apontaram que o aminoálcool **85** possui grande potencial antibacteriano, apresentando CIM de 0,25 mg/mL para *S. aureus* 8923, 9000 e 9005 e de 0,12 mg/mL para *S. aureus* 8907 e 8908 e será submetido a avaliações complementares de atividade antibiofilme e de toxicidade para as células mamárias dos animais para dar continuidade ao estudo de avaliação de atividade antibacteriana.

CAPÍTULO 3
PARTE EXPERIMENTAL

5. Material e Métodos

Todas as reacções foram monitoradas por CCD utilizando placas de sílica gel Merck.

As purificações foram realizadas com cromatografia em coluna utilizando sílica gel Merck (70–230 ou 230–400 mesh).

O hexano empregado nas purificações cromatográficas foi destilado.

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um equipamento Thermo Scientific Nicolet 380 FT-IR em região de alta frequência (4000 a 600 cm^{-1}).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono (RMN ^{13}C) foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance 400 MHz e em espectrômetro Bruker DPX Avance 200 MHz.

Os deslocamentos químicos foram medidos em relação ao sinal de tetrametilsilano como padrão interno.

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos empregando-se espectrômetro Bruker Micro Tof (resolução = 10.000 FWHM) sob ionização por eletrospray (ESI) e por meio de análises LC-MS/MS empregando um sistema Shimadzu Nexera UHPLC acoplado ao espectrômetro de massas de alta resolução ESI-QTOF Bruker maXis ETD.

As temperaturas de fusão foram determinadas em um aparelho MQAPF-301 e não foram corrigidas.

A rotações específicas foram medidas em polarímetro PerkinElmer 341.

5.1. Purificação de solventes

5.1.1. Tetraidrofurano

Em um frasco âmbar foram adicionados 300 mL de THF sobre peneira molecular 3 Å ativada (20% m/v). O sistema foi fechado com septo e deixado em repouso por 48 horas. Em seguida, o solvente foi transferido para um balão de fundo redondo de 500 mL e adicionou-se uma pequena quantidade de sódio. A mistura foi mantida sob refluxo por uma hora. Decorrido esse período, adicionou-se benzofenona, deixando o sistema sob refluxo até que a mistura adquirisse coloração azul. O solvente foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 3 Å.⁹⁰

⁹⁰ ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. D.; **Purification of Laboratory Chemicals**, 4th ed.; Pergamon Press: Oxford, 1996.

5.1.2. Diclorometano

Em um balão de 500 mL foram adicionados 300 mL de diclorometano e 3 g de hidreto de cálcio. Deixou-se o sistema sob refluxo durante 3 horas, em seguida o solvente foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.⁹⁰

5.1.3. Trietilamina e di-isopropiletilamina (DIPEA)

Em um balão de 100 mL adicionou-se 50 mL da respectiva amina juntamente com 0,5 g de CaH₂. O sistema foi refluxado por 3 horas, destilado e armazenado sobre peneira molecular.⁹⁰

5.1.4. Dimetilformamida

Em um balão de 250 mL adicionou-se 2,5 g de MgSO₄ e 100 mL de dimetilformamida. O sistema foi refluxado por 48 h, destilado a vácuo e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.⁹⁰

5.1.5. Dimetilsulfóxido

Em um balão de 250 mL adicionou-se 100 mL de DMSO juntamente com 2,5 g de CaH₂, o sistema foi mantido sob agitação a temperatura ambiente durante a noite. E após ser destilado sob pressão reduzida, o solvente foi armazenado sobre peneira molecular 4 Å.⁹⁰

5.1.6. Metanol, etanol e *terc*-butanol

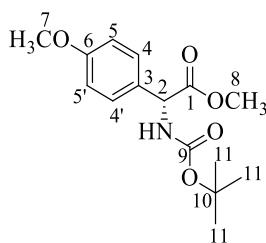
Em um balão de 500 mL adicionou-se 300 mL do respectivo álcool, 1,5 g de Mg e 0,5 g de I₂. O sistema foi refluxado até a descoloração e o total consumo do Mg. Então, o solvente foi destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.⁹⁰

5.1.7. Acetato de etila

A um balão de 500 mL adicionou-se 300 mL de acetato de etila e 3 g de CaH₂. O sistema foi refluxado por 3 h e o solvente destilado e armazenado sobre peneira molecular 4 Å.⁹⁰

5.2. Procedimentos sintéticos referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I

5.2.1. Preparação do (2*R*)-[(*tert*-butoxicarbonil)amino](4-metoxifenil)acetato de metila (74)



Em um balão de 100 mL adicionou-se D-4-hidroxifenilglicina (2 g; 11,9 mmol), dioxano (22 mL), água (11 mL), solução aquosa 0,5 M de Na₂CO₃ (26 mL) e di-*tert*-butildicarbonato (2,59 g; 11,9 mmol) a 0 °C. O sistema foi mantido a esta temperatura por 5 minutos. A mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 24 h. Acidificou-se até pH 2-3, extraiu-se com acetato de etila (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se o aminoácido protegido, que foi imediatamente utilizado na etapa seguinte.

A seguir, adicionou-se a um balão de 25 mL, 4-hidroxi-*D*-fenilglicina *N*-Boc protegida (1,9 g; 7,2 mmol), K₂CO₃ anidro (1,99 g; 14,4 mmol), DMF (10 mL) e CH₃I (3,6 mL; 57,6 mmol). O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 8 horas. O sistema reacional foi neutralizado com solução aquosa 1,0 M de HCl (30 mL), em seguida foi lavado com solução saturada de NaHCO₃ (30 mL) e a fase aquosa extraída com éter etílico (3x30 mL). A fase orgânica foi lavada com brine, seca com Na₂SO₄ anidro, concentrada sob pressão reduzida e purificada por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 85:15), fornecendo o produto de interesse como um sólido amarelado com 94% de rendimento, em duas etapas.

Característica: sólido amarelado

R_f = 0,5 (hexano:AcOEt 70:30)

T_f = 65,5-66,6 °C

T_f Lit. = 66-67 °C³³

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3375, 2977, 2839, 1743, 1706, 1611, 1586, 1510, 1462, 1438, 1392, 1366, 1305, 1244, 1214, 1158, 1112, 1052, 1028, 914, 894, 852, 832, 797, 781, 763.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,27 (d, *J* = 8,25 Hz, H4 e H4'); 6,86 (d, *J* = 8,48 Hz, H5 e H5'); 5,50 (s, 1H, NH); 5,25 (s, 1H, H2); 3,78 (s, 3H, H7); 3,70 (s, 3H, H8); 1,42 (s, 9H, H11).

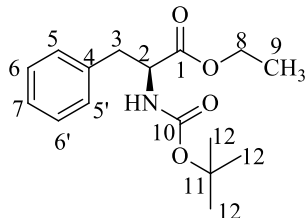
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 172,11 (C1); 159,93 (C9); 155,06 (C6); 129,27 (C3); 128,63 (C4 e C4'); 114,54 (C5 e C5'); 80,30 (C10); 57,30 (C2); 55,51 (C7); 52,80 (C8); 22,55 (C11).

HRMS (ESI): m/z $[M+Na]^+$ calculado para $C_{15}H_{21}NO_5$: 318,1312; encontrado, 318,1320.

$[\alpha]_D^{22}$: -93,8 (c 1,3; $CHCl_3$)

$[\alpha]_D^{25}$: -95,3 (c 1,2; $CHCl_3$)³³

5.2.2. Preparação do (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-fenilpropanoate de etila (77)



Em um balão 25 mL, contendo o cloridrato de L-fenilglicina etil éster (2 g; 8,7 mmol), adicionou-se dioxano (22 mL), água (11 mL), solução aquosa 0,5 M de Na_2CO_3 (26 mL) e di-*tert*-butildicarbonato (2,59 g; 11,9 mmol) a 0 °C. O sistema foi mantido a esta temperatura por 5 minutos. A mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 24 h. Acidificou-se até pH 2-3, extraiu-se com acetato de etila (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , concentrada sob pressão reduzida e o produto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 85:15), fornecendo o produto de interesse, com 96% de rendimento.

Característica: sólido branco

R_f = 0,67 (hexano:AcOEt 7:3)

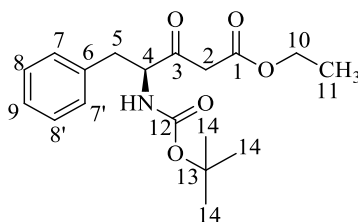
T_f = 67,4-68,7 °C

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{max}$: 3357; 3004; 2970; 1739; 1702; 1509; 1455; 1391; 1365; 1289; 1255; 1219; 1152; 1018; 853; 750.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (J/Hz): 7,38-7,19 (m, 3H, H6, H6', H7); 7,19-7,05 (m, 2H, H5, H5'); 5,02 (d, J = 7,52 Hz, 1H, NH); 4,55 (dd, J = 13,6, 6,4 Hz, 1H, H2); 4,14 (q, J = 7,1 Hz, 2H, H8); 3,21-2,91 (m, 2H, H3); 1,41 (s, 9H, H12); 1,21 (t, J = 7,1 Hz, 3H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 172,00 (C1); 155,23 (C10); 136,28 (C4); 129,49 (C6 e C6'); 128,60 (C5 e C5'); 127,07 (C7); 79,92 (C11), 61,40 (C8); 54,63 (C2); 38,53 (C3); 28,42 (C12); 14,22 (C9).

5.2.3. Preparação do (S)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-oxo-5-fenilpentanoato de etila (78)



A um balão de 25 mL adicionou-se o éster (**74**) (0,218 g; 0,78 mmol), THF (6 mL), acetato de etila (0,152 mL; 1,56 mmol) e NaHMDS 1 mol L⁻¹ (1,56 mL) à -78 °C. O sistema foi mantido a esta temperatura por 40 min. Em seguida removeu-se o banho de gelo e a mistura reacional permaneceu sob agitação à temperatura ambiente sendo monitorada por CCD. Após 2 horas e meia, observou-se o total consumo do material de partida. Então adicionou-se 10 mL de H₂O e extraiu-se com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ e concentradas à pressão reduzida. O resíduo foi purificado empregando cromatografia em coluna (hexano:acetato 90:10) obtendo-se o produto de interesse com 40% de rendimento.

Característica: sólido branco

R_f = 0,30 (hexano:acetato de etila 8:2)

T_f = 63,3-64,2 °C

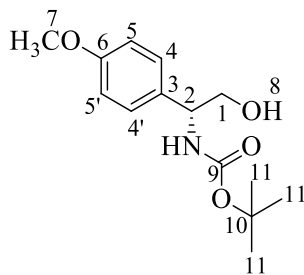
IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3325; 2917; 1744; 1720; 1681; 1522; 1450; 1366; 1313; 1263; 1141; 1031; 849; 700.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,36-7,12 (m, 5H, H7, H7', H8, H8', H9); 5,10 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, NH); 4,57 (d, *J* = 7,12 Hz, 1H, H4); 4,17 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, H10); 3,52 (d, *J* = 16 Hz, 1H, H2); 3,45 (d, *J* = 16 Hz, 1H, H2); 3,16 (dd, *J* = 14 e 6 Hz, 1H, H5); 2,97 (dd, *J* = 14 e 6 Hz, 1H, H5); 1,40 (s, 9H, H14); 1,26 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, H11).

RMN de ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 220,05 (C3); 167,02 (C1); 155,84 (C12); 136,37 (C6); 129,41 (C8 e C8'); 128,81 (C7 e C7'); 127,13 (C9); 80,29 (C13); 61,55 (C10); 60,63 (C4); 46,99 (C2); 37,02 (C5); 28,37 (C14); 14,18 (C11).

HRMS (ESI): *m/z* calculado - [M + Na]⁺ : 358,1630; encontrado: 358,1609;

5.2.4. Preparação do (1*R*)-2-hidroxi-1-(4-metoxifenil)etil)carbamato de *tert*-butila (81)



Em um balão de 100 mL adicionou-se NaBH₄ (0,413 g; 10,92 mmol), LiCl (0,463 g; 42,44 mmol), etanol anidro (55 mL) e o éster **74** (0,806 g; 2,73 mmol). A mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 18 h. Adicionou-se HCl 1,0 M (30 mL) e água destilada (30 mL). Extraíu-se com éter etílico (3x30 mL). A fase orgânica foi lavada com NaHCO₃ (30mL) e brine, seca com Na₂SO₄, concentrada sob pressão reduzida e o resíduo recristalizado em etanol, levando ao produto de interesse como um sólido branco com 92% de rendimento.

Característica: sólido branco

R_f = 0,4 (hexano:AcOEt 1:1)

T_f = 130,4-131,3 °C

T_f Lit. = 130-131 °C³³

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3373, 2983, 2937, 1682, 1613, 1585, 1514, 1462, 1390, 1366, 1350, 1319, 1303, 1284, 1266, 1245, 1167, 1111, 1090, 1052, 1030, 934, 910, 871, 837, 822, 782.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,21 (d, *J* = 8,52 Hz, H4 e H4'); 6,87 (d, *J* = 8,55 Hz, H5 e H5'); 5,27 (s, 1H, NH); 4,71 (s, 1H, H2); 3,78 (s, 5H, H7 e H1); 2,67 (s, 1H, OH); 1,42 (s, 9H, H10).

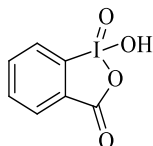
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 159,24 (C8); 156,27 (C6); 131,86 (C3); 127,84 (C4 e C4'); 114,29 (C5 e C5'); 80,01 (C9); 66,86 (C1); 56,62 (C2); 55,39 (C7); 28,46 (C10).

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₄H₂₁NO₄ : 290,1357; encontrado: 290,1367.

[α]_D²³ : -40,1 (c 1,0; CHCl₃)

[α]_D²⁵ : -43,59 (c 1,09; CHCl₃)³³

5.2.5. Preparação do IBX (1-hidroxi-1,2-benziodoxol-3(H)-ona-1-óxido)

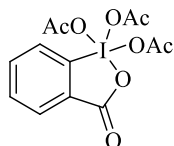


Em um balão de 50 mL contendo uma suspensão de ácido 2-iodobenzóico (3g; 12,1 mmol) em solução de H_2SO_4 0,73 mol L^{-1} (25 mL), adicionou-se KBrO_3 (2,67g; 16 mmol) lentamente. A mistura foi agitada a 70 °C por 4 h, em seguida resfriada em banho de gelo e o sólido filtrado e lavado com H_2O (50 mL) e etanol (10 mL), fornecendo o agente oxidante IBX como um sólido branco com 81% de rendimento.

$T_f = 231,4\text{-}232,5$ °C

$T_{f\text{Lit}} = 233$ °C⁴⁸

5.2.6. Preparação da periodinana de Dess-Martin

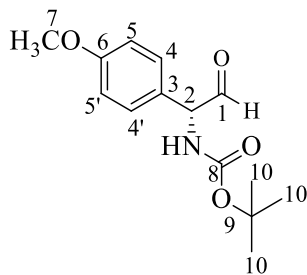


Em um balão de 25 mL contendo uma solução de IBX (1,0; 3,6 mmol) em anidrido acético (5 mL) adicionou-se o ácido *p*-toluenossulfônico (0,004 g; 0,025 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a 80 °C por 2 h e deixada em repouso por 2 dias. A seguir o produto foi filtrado sob atmosfera de argônio e lavado com éter etílico anidro fornecendo o agente oxidante como um sólido branco com 83% de rendimento.

$T_f = 132,8\text{-}134,1$ °C

$T_{f\text{Lit}} = 133\text{-}134$ °C⁴⁸

5.2.7. Preparação do (*R*)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil]carbamato de *terc*-butila (**80**)



5.2.7.1. Oxidação de Swern

Em um balão de 50 mL contendo a solução de cloreto de oxalila (0,16 mL; 1,96 mmol) em CH_2Cl_2 (14 mL), sob agitação à $-78\text{ }^\circ\text{C}$ e atmosfera inerte, adicionou-se DMSO (0,14 mL; 2,07 mmol) gota a gota. Após 30 min em agitação à mesma temperatura, adicionou-se a solução do álcool (**3**) (0,35 g; 1,31 mmol) em CH_2Cl_2 (10 mL) lentamente, observando a formação de uma coloração amarela. O sistema foi mantido nas mesmas condições por mais uma hora. A seguir aumentou-se a temperatura do sistema para $-35\text{ }^\circ\text{C}$, temperatura em que o sistema permaneceu sob agitação por mais uma hora. Após isto, adicionou-se di-isopropiletilamina (DIPEA) (0,35 mL; 2 mmol) lentamente, observando o sumiço da coloração amarela, tornando o sistema transparente. Então a mistura reacional permaneceu sob agitação por 10 min a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Ao término adicionou-se CH_2Cl_2 (5 mL) e solução saturada de NH_4Cl (5 mL), as fases foram separadas e a fase aquosa extraída com CH_2Cl_2 (3x7 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na_2SO_4 e concentradas. O resíduo foi purificado empregando coluna filtrante de sílica gel (hexano:acetato 95:5), fornecendo o aldeído com 63% de rendimento

5.2.7.2. Oxidação empregando periodinana de Dess-Martin

Em um balão de 25 mL contendo a periodinana de Dess-Martin (0,31 g; 0,74 mmol) em CH_2Cl_2 (3 mL), adicionou-se a solução do álcool (**81**) (0,100g; 267,15 mmol) em CH_2Cl_2 (13 mL) e água (0,013 mL) rapidamente. O sistema foi mantido sob agitação, atmosfera inerte e à temperatura ambiente por uma hora e meia. Ao término a mistura reacional foi diluída com CH_2Cl_2 (5 mL) e filtrada em coluna de sílica gel, fornecendo o aldeído de interesse, após evaporação do solvente, em 71% de rendimento.

5.2.7.3. Oxidação empregando IBX (1-hidroxi-1,2-benziodoxol-3(H)-ona-1-óxido)

Em um balão de 25 mL contendo a solução do álcool (**81**) (0,200 g; 0,75 mmol) em CH₃CN adicionou-se o IBX em uma porção. A mistura reacional foi agitada e refluxada durante 2 h. Ao término, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente e filtrado sob celite e o filtrado foi lavado com solução saturada de NaHCO₃ (5 mL), em seguida com solução saturada de NaCl (5 mL) e, finalmente, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, concentrada e purificada em coluna filtrante (hexano:acetato de etila 95:5), fornecendo o produto, como um óleo amarelado com 68% de rendimento.

Característica: óleo viscoso amarelado

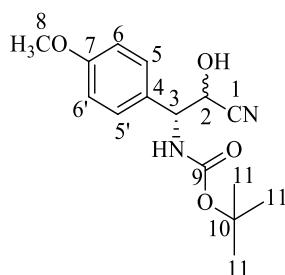
R_f = 0,73 (hexano:acetato de etila 6:4)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3370, 2976, 2918, 2848, 1734, 1697, 1606, 1512, 1454, 1368, 1335, 1310, 1265, 1212, 1158, 1051, 1022, 891, 833.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 9,43 (s, 1H, H1); 7,14 (d, *J* = 8,04 Hz, H4, H4'); 6,85 (d, *J* = 8,48 Hz, H5, H5'); 5,64 (s, 1H, NH); 5,18 (s, 1H, H2); 3,72 (s, 3H, H7); 1,35 (s, 9H, H10);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 195,28 (C1); 160,12 (C8); 155,17 (C6); 129,33 (C4, C4'); 125,75 (C3); 114,96 (C5, C5'); 80,36 (C9); 64,31 (C2); 55,49 (C7); 28,45 (C10).

5.2.8. Preparação do 2-ciano-2-hidroxi-1-(4-metoxifenil)etilcarbamato de *tert*-butila (79a e 79b)



Em um balão de 10 mL adicionou-se NaCN (0,019 g; 0,4 mmol), metanol anidro (0,2 mL) e ácido acético (0,02 mL; 0,43 mmol) sob agitação. Após cinco minutos sob agitação à temperatura ambiente, esta solução foi adicionada à solução do aldeído (0,042 g; 0,16 mmol) em CH₂Cl₂ (0,5 mL), a 0°C, sob atmosfera inerte e agitação vigorosa. Após a adição, a mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por aproximadamente 6 h. Ao término tratou-se o sistema com solução saturada de NaCl (1 mL), solução saturada de NaHCO₃ (1 mL) e agitou-se por mais cinco min. As fases foram separadas e a fase aquosa extraída com CH₂Cl₂ (3x5 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ e concentradas. O resíduo foi

purificado em coluna cromatográfica (hexano:acetato de etila 80:20; 70:30), fornecendo a mistura das cianoidrinas com 55% de rendimento.

Característica: sólido amarelado

Rf: 0,25 e 0,29 (hexano:acetato de etila 7:3)

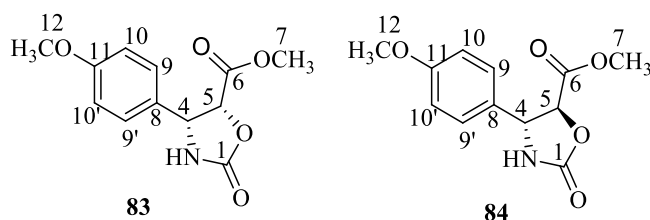
IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3379, 2982, 2932, 2837, 1666, 1613, 1509, 1364, 1302, 1244, 1158, 1083, 1021, 893.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,30 (m, 4H, H5, H5'); 6,90 (m, 4H, H6, H6'); 5,74 (s, 1H, NH); 5,39 (s, 1,84H, NH); 4,88 (m, 2H, H2); 4,73 (s, 0,91H, H3); 4,59 (s, 2,03H, H3); 3,795 (s, 3,37H, H8); 3,790 (s, 2,80H, H8); 1,45 (s, 9,34H, H11); 1,43 (s, 9,44H, H11);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 160,04 (C9); 159,97 (C9); 157,42 (C7); 156,25 (C7); 128,60 (C5, C5'); 128,17 (C5, C5'); 127,57 (C4); 118,33 (C1); 117,93 (C1); 114,61 (C6,C6'); 114,45 (C6,C6'); 81,74 (C10); 81,24 (C10); 67,95 (C2); 65,54 (C2); 58,80 (C3); 55,35 (C8); 55,33 (C8); 28,25 (C11); 28,23 (C11).

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₅H₂₀N₂NaO₄ : 315,1321; encontrado: 315,1313.

5.2.9. Preparação dos (4*R*,5*R*)- e (4*R*,5*S*)-4-(4-metoxifenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilatos de metila (83 e 84)



Em um balão de 10 mL contendo a mistura das cianoidrinas **79a e 79b** (0,054 g; 0,184 mmol) adicionou-se a solução de HCl 15% (3 mL). O sistema foi refluxado por 1 h. Ao término evaporou-se a solução aquosa e o resíduo foi imediatamente submetido à próxima etapa.

Em um balão de 10 mL contendo intermediário **7** (0,071 g; 0,28 mmol) adicionou-se éter etílico (2 mL) e uma solução de NaOH (0,086 g; 2,15 mmol) em H₂O (5 mL) a 0 °C. A mistura foi mantida sob agitação nessa temperatura por 10 min. Em seguida adicionou-se trifosgênio (0,125 g; 0,42 mmol). O sistema foi mantido nessa temperatura ao longo de toda a reação, que foi acompanhada por CCD. Ao término o pH foi ajustado para 2-3 e a mistura foi extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas e concentradas. E o resíduo submetido à próxima etapa.

Em um balão de 10 mL contendo intermediário **82** (0,082 g; 0,35 mmol) adicionou-se MeOH anidro (1 mL) e em seguida SOCl₂ (0,076 mL; 1,05 mmol) a 0 °C. Ao término da adição, a temperatura foi elevada à temperatura ambiente e depois a 68 °C e a reação foi acompanhada

por CCD. Ao término a mistura reacional foi resfriada, tratada com solução saturada de NaHCO_3 (3 mL) a $0\text{ }^\circ\text{C}$ e extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 75:25; 70:30 e 60:40).

5.2.10. (4R,5R)- 4-(4-metóxfenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilato de metila (83)

Característica: sólido amarelado

Rf: 0,36 (hexano : acetato de etila 25:75)

T_f = 104,2-105,1 $^\circ\text{C}$

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3375; 2954; 2841; 2035; 1741; 1612; 1516; 1251; 1182; 1025; 837.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,21 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H₉, H_{9'}); 6,88 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H₁₀, H_{10'}); 5,32 (s, 1H, NH); 5,26 (d, $J = 9,16$ Hz, 1H, H₅); 5,17 (d, $J = 9,16$ Hz, 1H, H₄); 3,80 (s, 3H, H₁₂); 3,33 (s, 3H, H₇).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 166,75 (C₆); 160,38 (C₁₁); 157,73 (C₁); 128,17 (C₉ e C_{9'}); 126,96 (C₈); 114,14 (C₁₀ e C_{10'}); 78,17 (C₅); 57,89 (C₄); 55,34 (C₁₂); 52,10 (C₇).

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₂H₁₃NNaO₅: 274.0686 ; encontrado: 274.0689.

[α]_D²² : -82,9 (c 0,25; MeOH)

[α]_D²³ : -94,5 (c 1,0; MeOH)⁶³

5.2.11. (4R,5S)- 4-(4-metóxfenil)-2-oxooxazolidina-5-carboxilato de metila (84)

Característica: sólido amarelado

Rf: 0,56 (hexano:acetato de etila 25:75)

T_f = 91,8-92,6 $^\circ\text{C}$

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3245; 3142; 2962; 2925; 2840; 1722; 1614; 1586; 1512; 1414; 1304; 1249; 1229; 1172; 1093; 1021; 954; 830.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (J/Hz): 7,29 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H₉, H_{9'}); 6,93 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H₁₀, H_{10'}); 5,48 (s, 1H, NH); 4,92 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H, H₅); 4,75 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H, H₄); 3,86 (s, 3H, H₁₂); 3,82 (s, 3H, H₇).

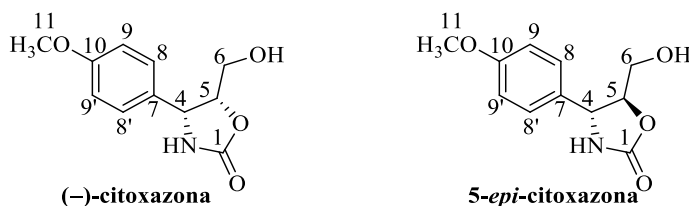
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 168,99 (C₆); 160,55 (C₁₁); 157,43 (C₁); 130,86 (C₈); 127,52 (C₉ e C_{9'}); 114,95 (C₁₀ e C_{10'}); 80,77 (C₅); 58,89 (C₄); 55,62 (C₁₂); 53,27 (C₇).

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₂H₁₃NNaO₅: 274.0686; encontrado: 274.0687.

[α]_D²² : +83,4 (c 0,33; MeOH)

[α]_D²⁰ : +90 (c 1,0; MeOH)⁶³

5.2.12. Preparação da (+)-5-*epi*-citoxazona e da (-)-citoxazona



Em um balão de 10 mL contendo NaBH₄ (0,003 g; 0,1 mmol) e LiCl (0,004 g; 0,1 mmol) adicionou-se metanol anidro (0,5 mL) a 0 °C. A seguir adicionou-se a solução do respectivo intermediário (**83** ou **84**) (0,010 g; 0,025 mmol) em MeOH anidro (0,5 mL). A temperatura do sistema foi elevada à temperatura ambiente, permanecendo sob agitação a esta temperatura por 2 h e sendo acompanhada por CCD. Ao término, adicionou-se H₂O (1 mL) e extraiu-se com acetato de etila (3x3mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 25:75).

5.2.12.1. (-)-citoxazona

Característica: sólido branco

Rf: 0,30 (hexano:acetato de etila 25:75)

T_f = 120,5-121,3 °C

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3441; 3238; 2960; 2928; 2841; 1709; 1611; 1513; 1401; 1249; 1174; 1047; 1026; 992.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,21 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H₉, H_{9'}); 6,91 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, H₁₀, H_{10'}); 5,18 (s, 1H, NH); 5,01(d, *J* = 8,44 Hz, 1H, H₄); 4,90 (ddd; *J* = 8,44; 7,6 ; 4 Hz, 1H, H₅); 3,82 (s, 3H, H₁₁); 3,44 (m, 1H, H₆); 3,26 (m, 1H, H₆).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 160,21 (C₁); 148,12 (C₁₀); 127,89 (C₈ e C_{8'}); 127,24 (C₇); 114,45 (C₉ e C_{9'}); 80,27 (C₅); 62,07 (C₆); 57,30 (4); 55,38 (C₁₁).

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₁H₁₃NNaO₄: 246,0737; encontrado: 274,0735.

[α]_D²⁵: -63,16 (c 0,1; MeOH)

[α]_D²⁵: -65,7 (c 0,1; MeOH)⁶³

5.2.12.2. (+)-5-*epi*-citoxazona

Característica: sólido branco.

R_f = 0,38 (hexano:acetato de etila 25:75)

T_f = 161,3-162,3 °C

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3328; 2935; 1733; 1692; 1610; 1514; 1425; 1384; 1299; 1243; 1176; 1028; 831.

RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6): δ 7,33 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H9, H9'); 6,95 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H10, H10'); 4,78 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H, H4); 4,35 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, OH); 4,29-4,21 (m, 1H, H5); 3,86-3,80 (m, 1H, H6); 3,79 (s, 3H, H11); 3,75-3,66 (m, 1H, H6).

RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6): δ 160,71 (C1); 159,13 (C10); 133,98 (C7); 128,49 (C8 e C8'); 115,13 (C9 e C9'); 85,69 (C5); 62,52 (C6); 57,76 (C4); 55,68 (C11).

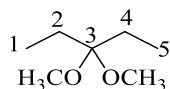
HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NNaO}_4$: 246,0737; encontrado: 246,0730.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+21,3^\circ$ (c 0,15; CH_3OH);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+32,0^\circ$ (c 0,4; CH_3OH)⁶³

5.3. Procedimentos sintéticos referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II

5.3.1. Preparo do 3,3-dimetoxipentano



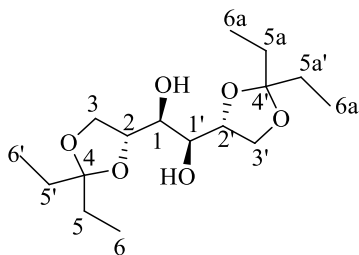
Em um balão de 100 mL adicionou-se 9,4 mL de pentan-3-ona (89 mmol) em seguida, adicionou-se 20,0 mL de metanol anidro, sob atmosfera inerte. A seguir adicionou-se 12,0 mg de ácido *p*-toluenosulfônico (PTSA) e 10,16 mL de trimetilortoformato lentamente. O sistema permaneceu sob refluxo (64 °C) por 4 h. Após isso, a reação foi interrompida adicionando-se de 10 mL de hexano e uma porção de NaOH. O sistema permaneceu sob agitação magnética por 30 min. A seguir, o resíduo foi destilado para obtenção do composto de interesse, recolhido a 120 °C.

Característica: líquido incolor.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): 3,15 (s, 6H, OCH_3); 1,59 (q, $J = 7,5$ Hz, 4H, H2 e H4); 0,82 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H, H1 e H5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): 104,24 (C3); 47,71 (OCH_3); 24,40 (C2 e C4); 7,97 (C1 e C5).

5.3.2. Preparação do (1*S*,2*S*)-1,2-bis((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)etano-1,2-diol (91)



Em um balão de 100 mL adicionou-se D-manitol (5,0 g; 27,45 mmol), DMF (25 mL) e ácido canforsulfônico (0,25 g; 0,686 mmol). Em seguida adicionou-se 3,3-dimetoxipentano (9,07 g; 68,63 mmol) e o sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente e atmosfera inerte por 24 h. Adicionou-se éter etílico (25 mL) e solução saturada de NaHCO₃ (25 mL). A fase aquosa foi então extraída com éter etílico (2x30 mL). As fases orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas com Na₂SO₄ e concentradas sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado empregando cromatografia em coluna, em ordem gradiente de polaridade (hexano:AcOEt 90:10; 80:20; 70:30), obtendo-se o produto de interesse com 92%.

Característica: sólido branco.

R_f = 0,70 (hexano:AcOEt 1:1)

T_f = 87,9-88,4 °C

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3407; 3280; 2941; 2880; 1454; 1356; 1266; 1196; 1175; 1123; 1078; 1043; 987; 913; 763.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,20-4,10 (m, 4H, H3 e H3'); 3,97-3,87 (m, 2H, H2 e H2'); 3,76 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, H1 e H1'); 2,72 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H, OH); 1,71-1,57 (m, 8H, H5, H5', H5a e H5a'); 0,94-0,85 (m, 12H, H6, H6', H6a e H6a').

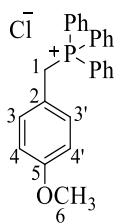
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 113,49 (C4 e C4'); 76,46 (C2 e C2'); 71,82 (C1 e C1'); 67,57 (C3 e C3'); 29,79 e 23,13 (C5, C5', C5a e C5a'); 8,40 e 8,22 (C6, C6', C6a e C6a').

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₆H₃₀O₆: 341.1935 ; encontrado: 341.1938.

[α]_D^{26,7}: +7,6° (*c* 5,0, CH₃OH);

[α]_D²⁵: +7,8° (*c* 5,0, CH₃OH) ⁶⁷

5.3.3. Preparação do cloreto de (4-metoxi-benzil)-trifenil-fosfônio (89)



Em um balão de 100 mL adicionou-se trifenilfosfina (2,17 g; 8,29 mmol), acetonitrila (45 mL) e cloreto de 4-metóxi-benzila (0,86 mL; 6,38 mmol). O sistema foi mantido sob agitação e refluxo por 18 h. O solvente foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia em coluna, em ordem gradiente de polaridade (CH₂Cl₂/CH₃OH 95:5; 90:10; 80:20) fornecendo o produto de interesse com 97% de rendimento.

Característica: sólido branco

R_f = 0,66 (diclorometano:metanol 9:1)

T_f = 236,3-237,6 °C

T_f Lit. = 236-242 °C⁹¹

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3652; 3297; 2782; 1634; 1601; 1503; 1433; 1241; 1172; 1106; 1021; 996; 845; 743; 714; 681.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 7,89-7,53 (m, 15H, H-Ph); 6,98 (dd, *J* = 7,2; 2,6 Hz, 2H, H₃, H_{3'}); 6,63 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₄, H_{4'}); 5,24 (d, *J* = 13,7 Hz, 2H, H₁); 3,71 (s, 3H, H₆).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 159,67 (C₅); 134,99 (d, *J* = 1,55 Hz, C₅ e C_{5'}); 134,32 (d, *J* = 9,6 Hz, C₈ e C_{8'}); 132,61 (d, *J* = 5,3 Hz, C₁₀ e C_{10'}); 130,16 (d, *J* = 12,3 Hz, C₉ e C_{9'}); 118,73 (C₄ e C_{4'}); 117,04 (d, *J* = 84,5 Hz, C₂); 114,27 (d, *J* = 2,9 Hz, C₇); 55,27 (C₆); 30,03 (d, *J* = 46,1 Hz, C₁).

HRMS (ESI): *m/z* [M - Cl]⁺ calculado para C₂₆H₂₄OPCl: 383,1559; encontrado: 383,1551.

⁹¹ KETCHAM, R.; JAMBOTKAR, D.; XARTIXELLI, L. The preparation of *cis*-4-nitro-4'-methoxystilbene *via* the Wittig reaction. *The Journal of Organic Chemistry*, 27,4666-4667, 1962.

5.3.5.1.(S,Z)-2,2-dietil-4-(4-metoxiestiril)-1,3-dioxolano (88a):

Característica: óleo viscoso, transparente e incolor.

R_f = 0,31 (hexano:AcOEt 95:5)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 2972; 2937; 2881; 1728; 1606; 1510; 1461; 1356; 1251; 1170; 1074; 1031; 914; 841; 766.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H9, H9'); 6,87 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, H10, H10'); 6,65 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H, H4); 5,59 (t, *J* = 10,3 Hz, 1H, H5); 4,94-4,85 (m, 1H, H2); 4,15 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, H1); 3,80 (s, 3H, H12); 3,61 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, H1); 1,76-1,56 (m, 4H, H6, H6'); 1,00-0,83 (m, 6H, H7, H7').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159,28 (C9); 133,96 (C4); 130,20 (C9, C9'); 129,02 (C8); 127,53 (C5); 113,89 (C10, C10'); 113,41 (C3); 72,95 (C1); 70,50 (C2); 55,40 (C12); 30,22; 30,06 (C6, C6'); 8,41; 8,16 (C7, C7').

HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculado para C₁₆H₂₃O₃: 263,1647 ; encontrado: 263,1695.

[α]_D^{25.5} : -5.45° (c 1.1, CHCl₃)

5.3.5.2.(S,E)-2,2-dietil-4-(4-metoxiestiril)-1,3-dioxolano (88b):

Característica: óleo viscoso, transparente e incolor.

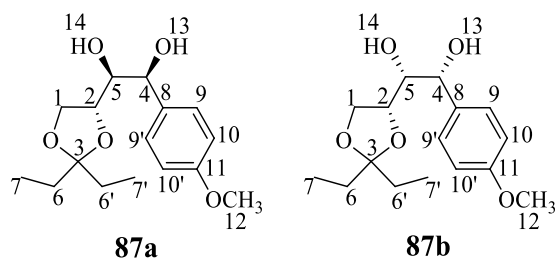
R_f = 0,25 (hexano:AcOEt 95:5)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 2972; 2939; 2882; 1720; 1603; 1511; 1462; 1247; 1171; 1076; 1030; 916.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,32 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H9, H9'); 6,84 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H10, H10'); 6,61 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, H4); 5,99 (dd, *J* = 15,8; 7,8 Hz, 1H, H5); 4,70-4,58 (m, 1H, H2); 4,14 (dd, *J* = 8,0; 6,1 Hz, 1H, H1); 3,80 (s, 3H, H12); 3,63 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H, H1); 1,76-1,62 (m, 4H, H6, H6'); 0,99-0,90 (m, 6H, H7, H7').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159,28 (C9); 133,96 (C4); 130,20 (C9, C9'); 129,02 (C8); 127,53 (C5); 113,89 (C10, C10'); 113,41 (C3); 72,95 (C1); 70,50 (C2); 55,40 (C12); 30,22; 30,06 (C6, C6'); 8,41; 8,16 (C7, C7').

5.3.6. Preparação dos dióis 87a e 87b



Em um balão de 50 mL contendo a solução da olefina **88a** (0,593 g; 2,26 mmol) em acetona (19 mL) e H₂O (2,7 mL), adicionou-se 4-metilmorfolina *N*-óxido (0,303 g; 2,59 mmol) e em seguida a solução de tetróxido de ósmio (0,017 g; 0,067 mmol) em água (0,45 mL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 7 h. A seguir, a mistura foi tratada com solução saturada de sulfito de sódio (10 mL) e mantida sob agitação por 10 min. O sistema foi diluído com H₂O (10 mL) e extraído com CH₂Cl₂ (3x10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 75:15) levando ao respectivo diol em 81% de rendimento.

5.3.6.1. (1*S*,2*S*)-1-((*R*)-2,2-diethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(4-methoxyphenyl)etano-1,2-diol (**87a**):

Característica: óleo viscoso incolor.

R_f = 0,5 (hexano:AcOEt 6:4)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}_{\max}$: 3439; 2972; 2939; 2883; 1610; 1510; 1462; 1247; 1173; 1076; 1032; 913; 831.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ 7,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₉, H_{9'}); 6,88 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₁₀, H_{10'}); 4,73 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, H₄); 4,04-3,97 (m, 1H, H₅); 3,89-3,82 (m, 2H, H₁); 3,79 (s, 4H, H₁₂, H₂); 3,21 (s, 1H, H₁₃); 2,22 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H₁₄); 1,67 (dq, *J* = 7,4; 3,0 Hz, 2H, H_{6'}); 1,58 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₆); 0,92 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H_{7'}); 0,86 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H₇).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159,67 (C₁₁); 131,86 (C₈); 128,40 (C₉ e C_{9'}); 114,05 (C₁₀ e C_{10'}); 113,30 (C₃); 76,98 (C₄); 75,53 (C₅); 75,22 (C₂); 67,39 (C₁); 55,43 (C₁₂); 29,73 e 29,20 (C₆ e C_{6'}); 8,34 e 8,21 (C₇ e C_{7'}).

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₆H₂₄NaO₅: 319,1521; encontrado: 319,1515.

[α]_D^{26,4} : +0,83 (*c* 1,2; CH₃OH).

5.3.6.2. (1*R*,2*R*)-1-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etano-1,2-diol (87b):

Característica: óleo viscoso incolor.

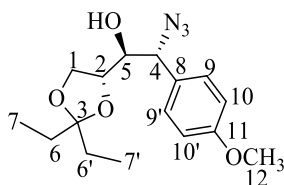
R_f = 0,59 (hexano:AcOEt 6:4)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3340; 3058; 2971; 2938; 2881; 1611; 1511; 1437; 1245; 1172; 1118; 1078; 1033; 920; 721; 694.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,27 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H9 e H9'); 6,89 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H10 e H10'); 4,79 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H, H4); 4,16-4,06 (m, 1H, H5); 3,79 (s, 3H, H12); 3,80-3,74 (m, 1H, H2); 3,69-3,55 (m, 2H, H1); 3,09 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, H13); 2,77 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, H14); 1,66 (dq, *J* = 7,4; 2,7 Hz, 2H) e 1,58 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H) H6 e H6'; 0,91 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) e 0,85 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) H7 e H7'.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159,44 (C11); 132,58 (C8); 127,38 (C9 e C9'); 114,11 (C10 e C10'), 113,23 (C3); 75,52 (C4), 75,26 (C5); 74,46 (C2); 66,79 (C1); 55,44 (C12); 29,74 e 29,15 (C6 e C6'); 8,26 e 8,24 (C7 e C7').

5.3.7. Preparação do (1*S*,2*R*)-2-azido-1-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etanol (92)



Em um balão de 25 mL contendo o diol **87a** (0,139 g; 0,46 mmol), trietilamina (0,28 mL; 2,01 mmol) e CH₂Cl₂ (2 mL), adicionou-se a solução de cloreto de tionila (0,039 mL; 0,54 mmol) em CH₂Cl₂ (0,4 mL) a 0 °C, observando uma coloração marrom avermelhado. O sistema foi mantido sob agitação nesta temperatura por 10 min. A seguir, a mistura foi diluída com éter etílico (10 mL), lavada com água gelada (10 mL) e solução saturada de NaCl (10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ e concentradas e o produto foi imediatamente submetido à próxima etapa.

Em um balão de 25 mL contendo o sulfito **86** (0,166 g; 0,48 mmol) adicionou-se NaN₃ (0,056 g; 0,86 mmol) e dimetilformamida (3 mL). A mistura foi agitada sob atmosfera inerte, a 100 °C por 2 h. Ao término, a mistura foi resfriada com banho de gelo e tratada com H₂O (5 mL). A mistura foi extraída com acetato de etila (3x5 mL), as fases orgânicas foram reunidas,

lavadas com solução saturada de NaCl (10 mL), secas com Na₂SO₄ e concentradas. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato de etila 90:10) fornecendo o azidoálcool **92** com 56% de rendimento (duas etapas).

Característica: óleo amarelo

R_f = 0,31 (hexano:AcOEt 8:2)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3421; 2978; 2937; 2899; 2109; 1616; 1512; 1471; 1247; 1176; 1075; 1031; 911; 777.

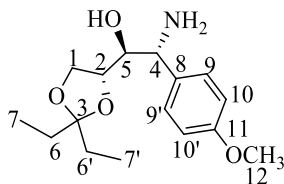
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₉, H_{9'}); 6,92 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H₁₀, H_{10'}); 4,71 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H, H₄); 4,8-3,87 (m, 3H, H₅, H₂, H₁); 3,82 (s, 3H, H₁₂); 3,79-3,67 (m, 1H, H₁); 2,15 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H, OH); 1,71-1,53 (m, 4H, H₆, H_{6'}); 0,97-0,80 (m, 6H, H₇, H_{7'}).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 160,02 (C₁₁); 129,70 (C₈); 128,89 (C₉ e C_{9'}); 114,57 (C₁₀ e C_{10'}); 113,49 (C₃); 75,00 (C₄); 75,66 (C₅); 66,62 (C₁); 66,45 (C₂); 55,52; 29,64 e 29,22 (C₆ e C_{6'}); 8,45 e 8,21 (C₇ e C_{7'}).

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₆H₂₃N₃NaO₄: 344,1586; encontrado: 344,1585.

[α]_D^{26.4}: -69,17° (*c* 1.2, CH₃OH).

5.3.8. Preparação do (1*S*,2*R*)-2-amino-1-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-(4-metoxifenil)etanol (**85**)



Em um balão de 25 mL adicionou-se o azidoálcool (**92**) (0,90 g; 0,28 mmol), trifetilfosfina (0,14 g; 0,56 mmol), THF (1 mL) e água (0,5 mL). A mistura reacional foi agitada a 50 °C por 3 horas e meia. Finalmente, a mistura reacional foi lavada com CH₂Cl₂ para remoção do óxido de trifetilfosfina e a fase aquosa foi concentrada e o resíduo purificado com (diclorometano:metanol 95:5) fornecendo o aminoálcool (**85**) com 92% de rendimento.

Característica: sólido amarelado

R_f = 0,44 (diclorometano:metanol 9:1)

T_f = 94,8-95,6 °C

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3365; 2968; 2939; 2890; 1614; 1510; 1462; 1232; 1173; 1076; 1032; 909; 831.

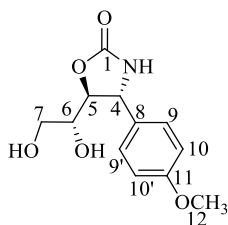
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H9, H9'); 6,87 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H10, H10'); 4,05-3,96 (m, 2H, H4, H5); 3,94-3,84 (m, 2H, H2, H1); 3,79 (s, 3H, H12); 3,78-3,68 (m, 1H, H1); 2,25 (s, 3H, NH_2 , OH); 1,73-1,61 (m, 2H, H6'); 1,57 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H, H6); 0,91 (t, $J = 7,4$, 3H, H7'); 0,85 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, H7).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 159,21 (C11); 134,87 (C8); 128,12 (C9 e C9'); 114,23 (C10 e C10'); 113,07 (C3); 76,56 (C4); 75,60 (C5); 66,37 (C2); 55,87 (C12); 55,47 (C1); 29,64 e 29,15 (C6 e C6'); 8,47 e 8,24 (C7 e C7').

HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{NO}_4$: 296,1862; encontrado: 296,1858.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26,7}$: +5.0° (c 0.6, CH_3OH)

5.3.9. Preparação da (4R,5S)-5-[(1R)-1,2-di-hidroxi-etil]-4-(4-metoxifenil)-1,3-oxazolidin-2-ona (93)



Em um balão de 25 mL contendo o aminoálcool (**85**) (0,082 g; 0,28 mmol), água (2 mL) e éter etílico (3mL), adicionou-se a solução aquosa de NaOH (0,086 g; 2,16 mmol) em água (4,5 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada por 10 min nessa temperatura e em seguida adicionou-se o trifosgênio (0,127 g; 0,43 mmol). A mistura permaneceu sob agitação por 1,5 h. Ao término, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (diclorometano:metanol: 9,5:0,5 e 9:1), fornecendo o derivado oxazolidinona com 86% de rendimento.

Característica: sólido branco.

$R_f = 0,48$ (diclorometano:metanol 9:1)

$T_f = 81.2-82.2$ °C

IV (cm^{-1}) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3328; 2935; 1733; 1692; 1610; 1514; 1425; 1384; 1299; 1243; 1176; 1028; 831.

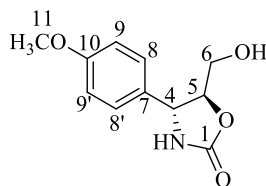
RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6): δ 7,23 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H9, H9'); 6,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H10, H10'); 4,83 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H, H4); 4,39-4,32 (m, 1H, OH); 4,22 (t, $J = 4,92$, 1H, H5); 3,79-3,73 (m, 1H, H6); 3,70 (s, 4H, H12, OH); 3,60-3,46 (m, 2H, H7).

RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6): δ 160,54 (C1); 158,89 (C11); 135,19 (C8); 128,60 (C9 e C9'); 115,04 (C10 e C10'); 84,53 (C5); 73,48 (C7); 63,36 (C6); 57,26 (C4); 55,68 (C12).

HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_5$: 254,1028; encontrado: 254,1024.

$[\alpha]_D^{26.7}$: +24.56° (c 0.57, CH₃OH).

5.3.10. Preparação da 5-*epi*-citoxazona



Em um balão de 25 mL contendo a oxazolidinona (**93**) (0,033 g; 0,135 mmol), éter etílico (0,5 mL) e água (0,25 mL), adicionou-se o fluoreto de tetrabutylamônio (0,0007g; 0,0029 mmol) e o periodato de sódio (0,083 g; 0,36 mmol) lentamente. A mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por uma hora e meia. Ao término, adicionou-se solução saturada de NaHCO₃ (2 mL), extraiu-se com acetato de etila (3x5 mL), as fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ anidro e concentradas. O composto foi imediatamente submetido à próxima etapa, sem prévia purificação.

Em um balão contendo o aldeído, adicionou-se NaBH₄ (0,0061 g; 0,162 mmol) e metanol anidro (1 mL) a 0 °C. A mistura foi mantida sob agitação por 10 min a 0 °C e por 1 h à temperatura ambiente. Após esse período, a reação foi interrompida pela adição de H₂O destilada (3 mL) e a mistura foi extraída com acetato de etila (3x5 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila/éter de petróleo 7,5:2,5 e 9:1), levando à 5-*epi*-citoxazona com 79% de rendimento (duas etapas).

Característica: sólido branco.

R_f = 0,38 (hexano : acetato de etila 25:75)

T_f = 161,3-162,3 °C

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3328; 2935; 1733; 1692; 1610; 1514; 1425; 1384; 1299; 1243; 1176; 1028; 831.

RMN de ¹H (400 MHz, acetona-*d*₆): δ 7,33 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H₉, H_{9'}); 6,95 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H₁₀, H_{10'}); 4,78 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H, H₄); 4,35 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H, OH); 4,29-4,21 (m, 1H, H₅); 3,86-3,80 (m, 1H, H₆); 3,79 (s, 3H, H₁₁); 3,75-3,66 (m, 1H, H₆).

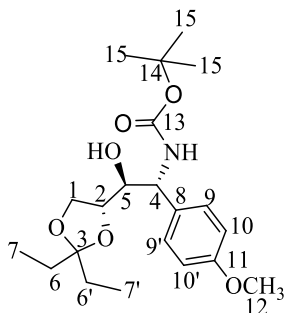
RMN de ¹³C (100 MHz, acetona-*d*₆): δ 160,71 (C₁); 159,13 (C₁₀); 133,98 (C₇); 128,49 (C₈ e C_{8'}); 115,13 (C₉ e C_{9'}); 85,69 (C₅); 62,52 (C₆); 57,76 (C₄); 55,68 (C₁₁).

HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₁H₁₃NNaO₄: 246,0737; encontrado: 246,0730.

$[\alpha]_D^{26.7}$: +27,5° (c 0,4; CH₃OH)

$[\alpha]_D^{25}$: +32,0° (c 0,4; CH₃OH)⁶³

5.3.11. Preparação de (1*R*,2*S*)-2-((*R*)-2,2-dietil-1,3-dioxolan-4-il)-2-hidroxi-1-(4-metóxi-fenil)etil)carbamato de *terc*-butila (95)



Em um balão de 100 mL contendo o aminoálcool (**85**) (0,097 g; 0,328 mmol), adicionou-se dioxano (3 mL), água (1,5 mL), solução aquosa 0,5 M de Na₂CO₃ (1 mL) e di-*terc*-butildicarbonato (0,078 g; 0,360 mmol) a 0 °C. O sistema foi mantido a esta temperatura por 5 min. A mistura permaneceu sob agitação à temperatura ambiente por 24 h. Acidificou-se até pH 2-3, extraiu-se com acetato de etila (3x5 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (hexano:acetato 70:30), levando ao aminoácido protegido com 88% de rendimento.

Característica: sólido branco.

R_f = 0,40 (hexano:acetato 70:30)

IV (cm⁻¹) $\bar{\nu}$ max: 3417; 2973; 2934; 1686; 1613; 1511; 1463; 1366; 1296; 1166; 1077; 1037; 917.

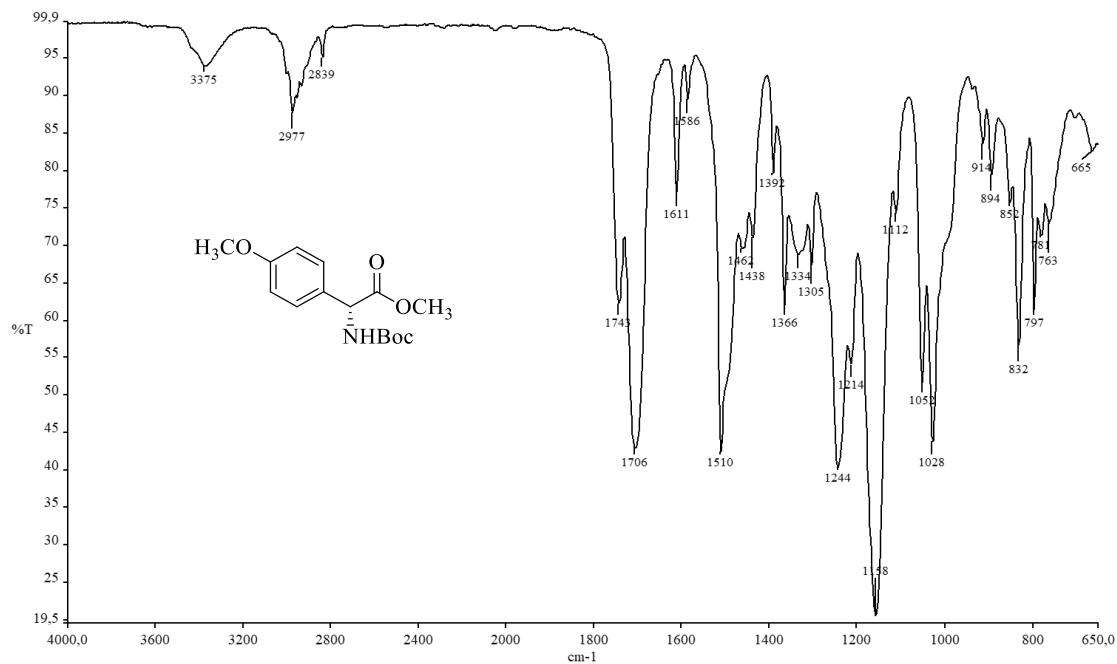
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (J/Hz): 7,23 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H9 e H9'); 6,88 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H10 e H10'); 5,53 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H, NH); 5,53 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, H4); 4,14-3,96 (m, 2H, H5, H2); 3,96-3,85 (m, 2H, H1); 3,79 (s, 3H, H12); 2,33 (s, 1H, OH); 1,85-1,54 (m, 4H, H6 e H6'); 1,41 (s, 9H, H15); 0,93 (t, *J* = 7,4, 3H) e 0,88 (t, *J* = 7,4, 3H) (H7 e H7').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159,17 (C11); 155,76 (C13); 132,43 (C8); 127,99 (C9 e C9'); 114,27 (C10 e C10'); 113,12 (C3); 79,92 (C14); 76,51 (C4); 76,46 (C5); 75,13 (C2); 66,60 (C1); 55,49 (C12); 29,82 e 29,29 (C6 e C6'); 28,55 (C15); 8,37 e 8,25 (C7 e C7').

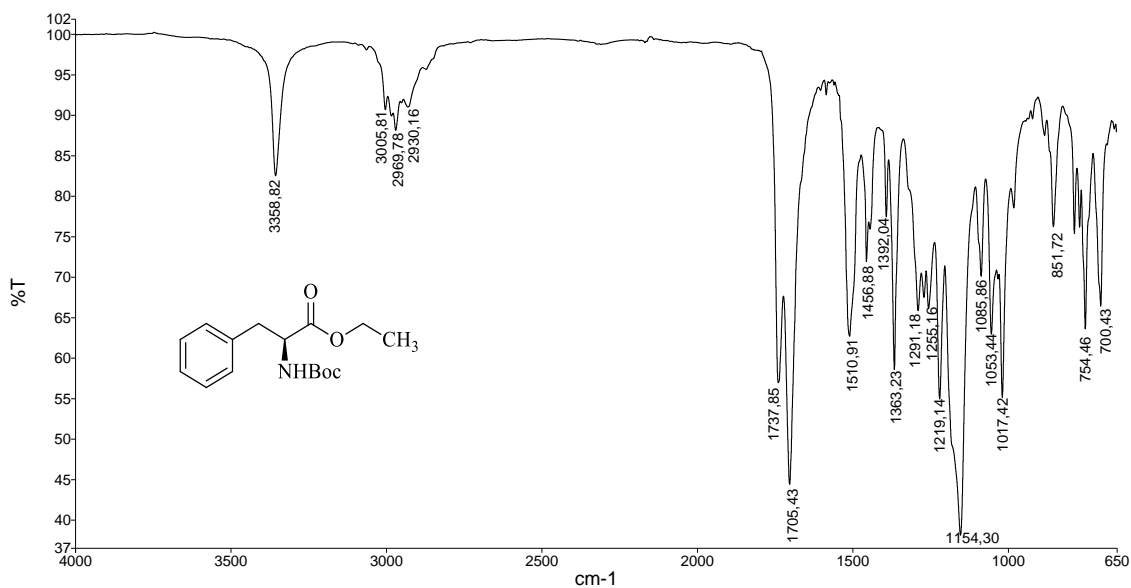
HRMS (ESI): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₁H₃₃NNaO₆: 418.2200 ; encontrado: 418.2192.

ANEXOS

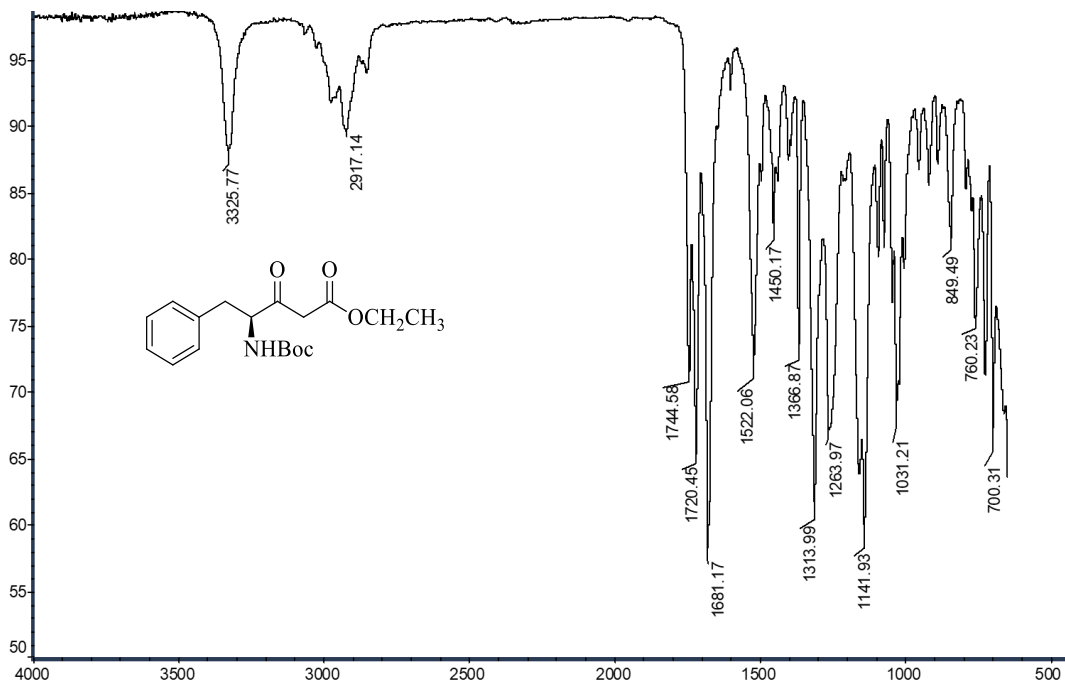
6.1. Espectros no infravermelho referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I



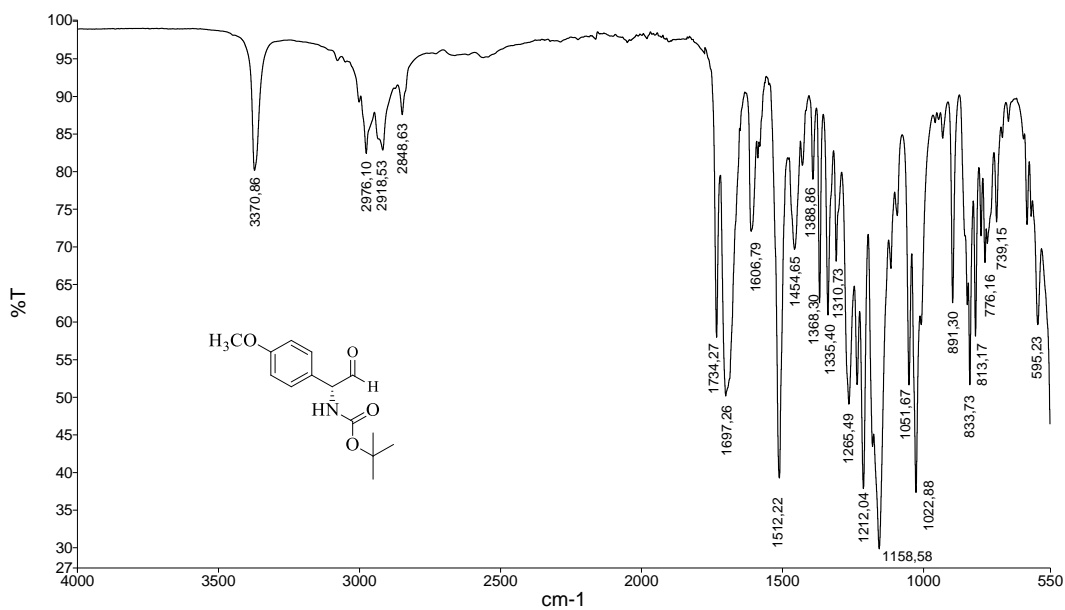
Anexo 1. Espectro no infravermelho do éster 74.



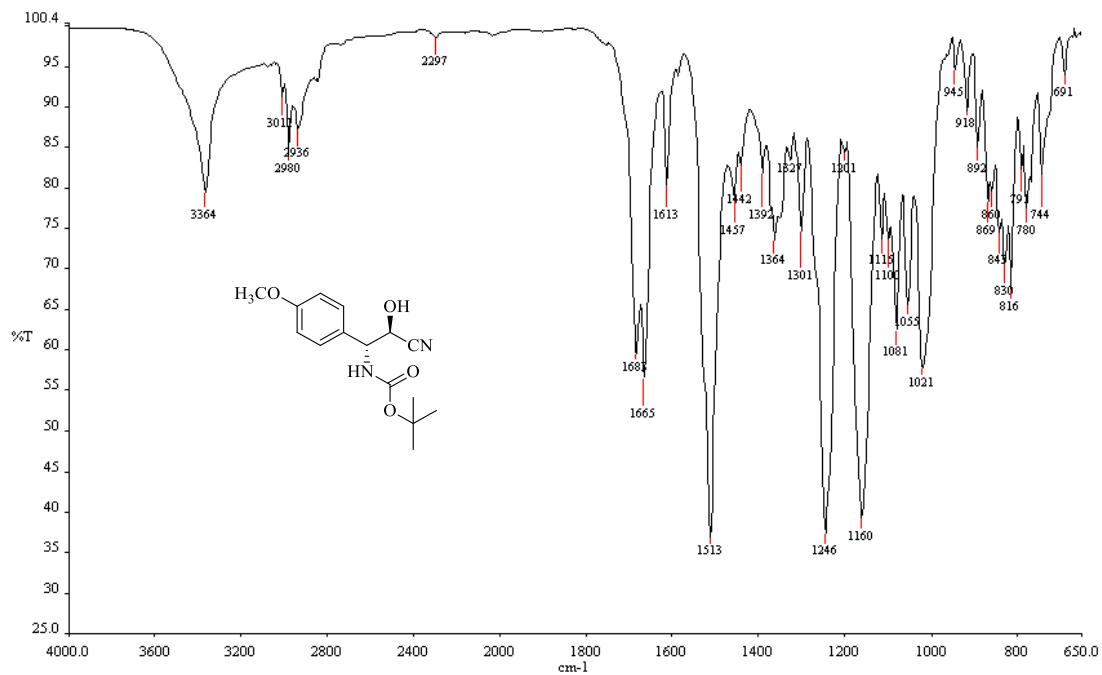
Anexo 2. Espectro no infravermelho do éster 77.



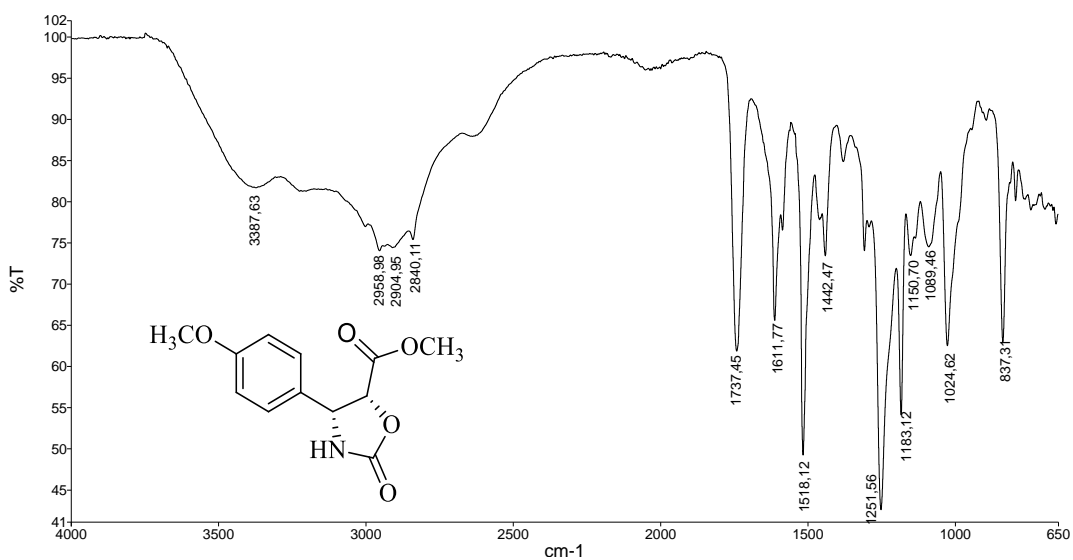
Anexo 3. Espectro no infravermelho do β -cetoéster **78**.



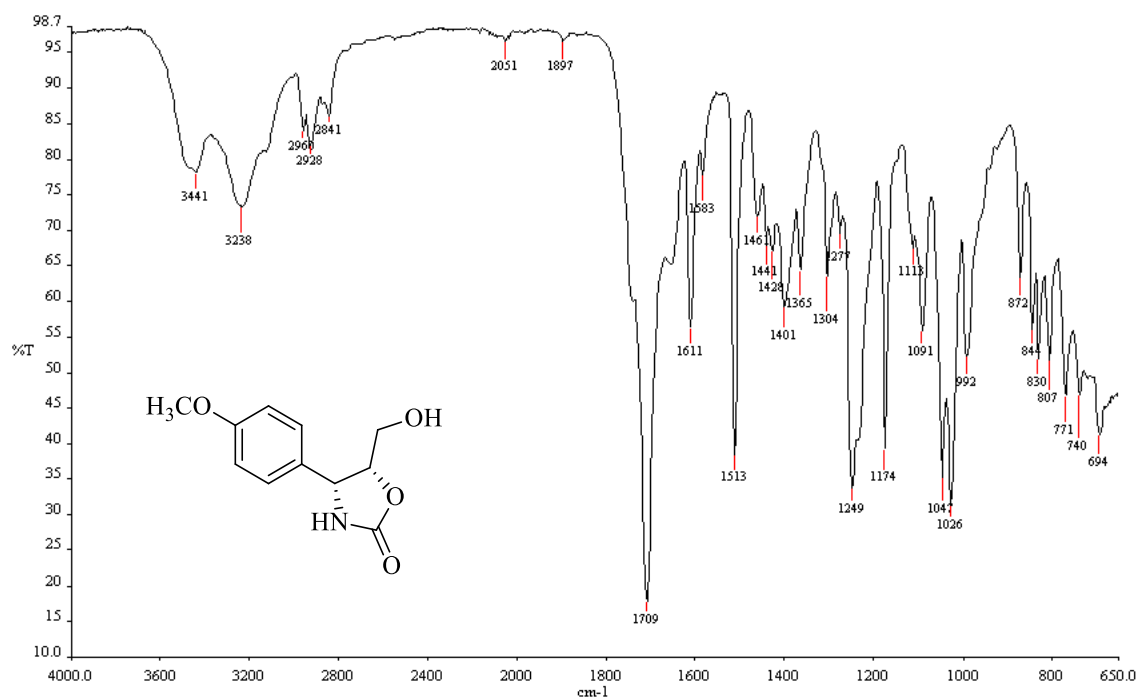
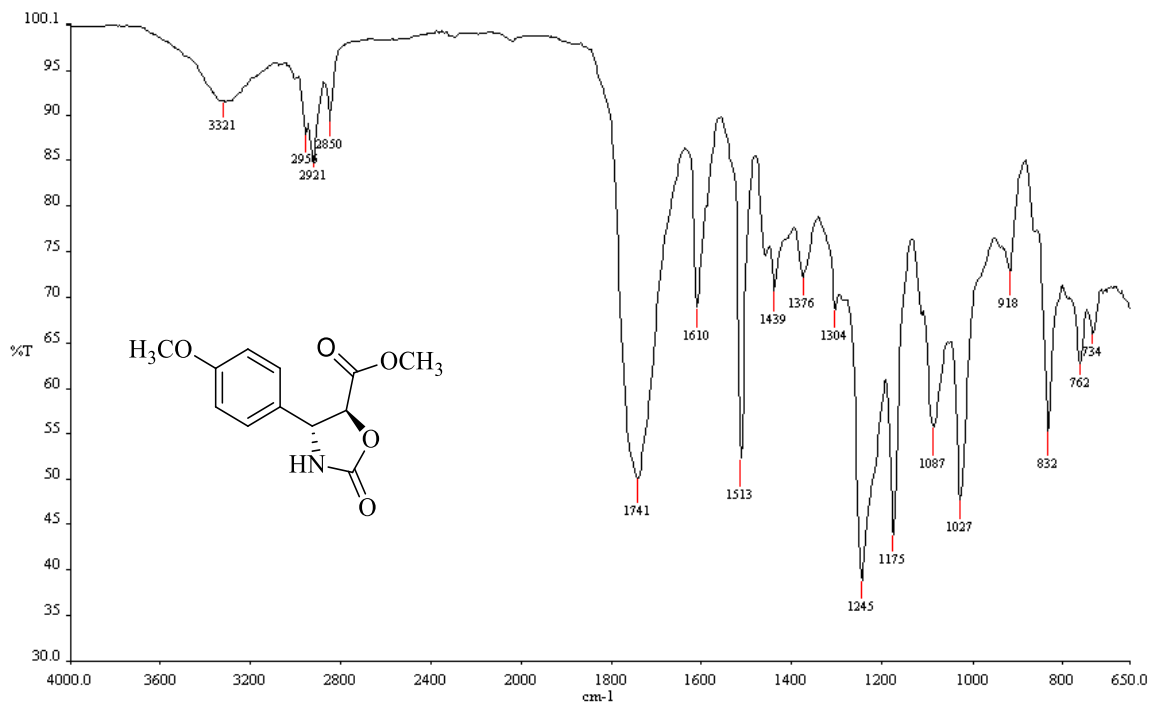
Anexo 4. Espectro no infravermelho do aldeído **80**.

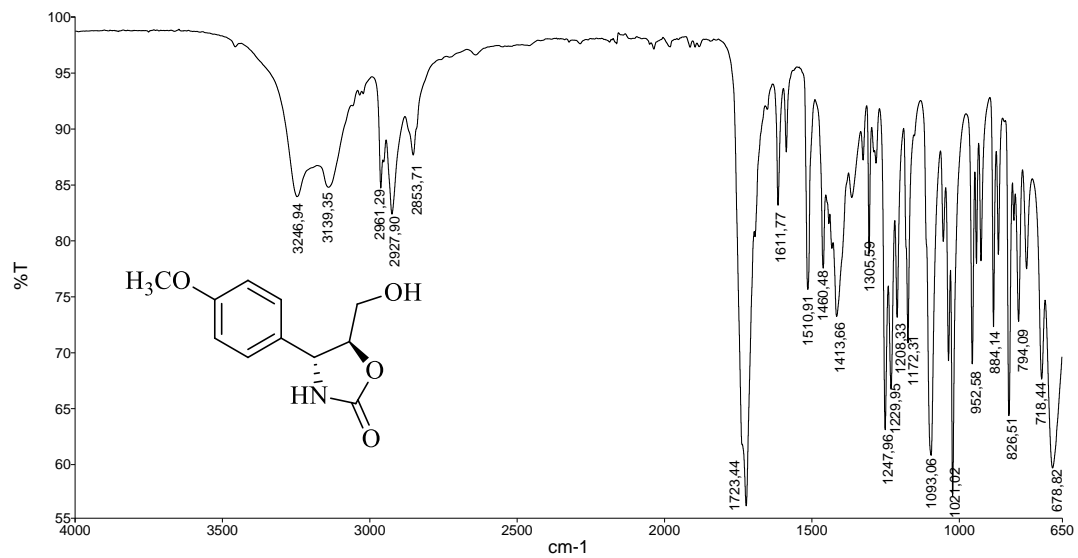


Anexo 5. Espectro no infravermelho da mistura de cianoidrinas **79a** e **79b**.



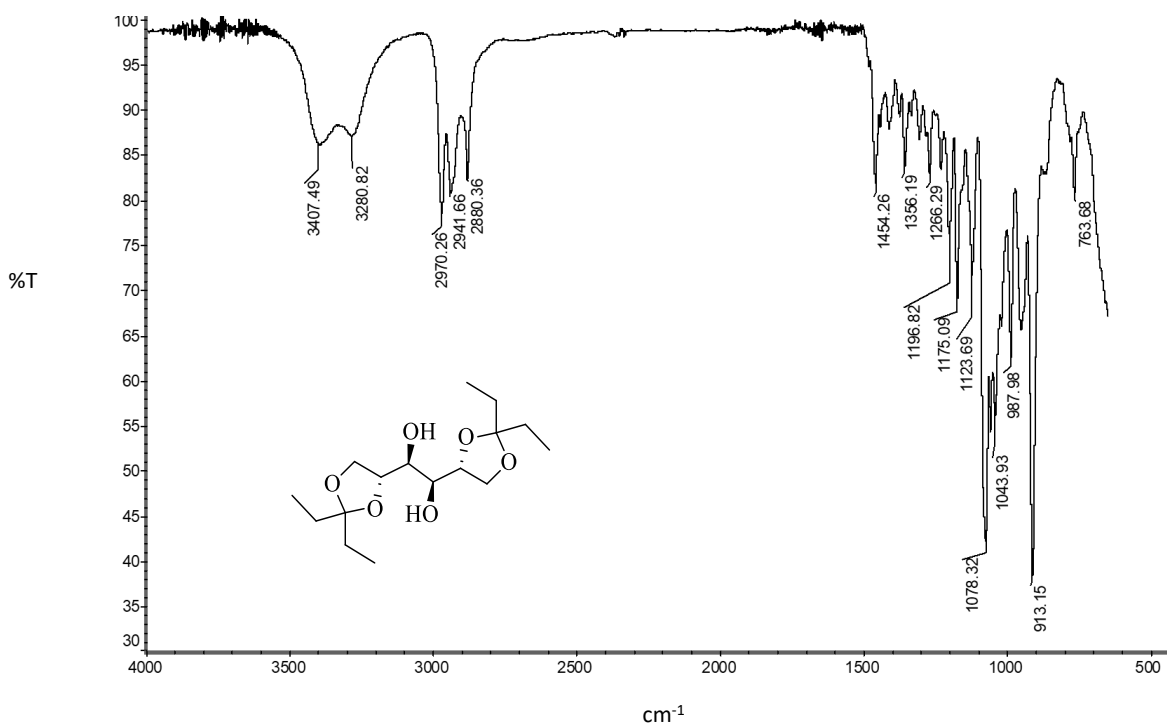
Anexo 6. Espectro no infravermelho do derivado oxazolidinona **83**.



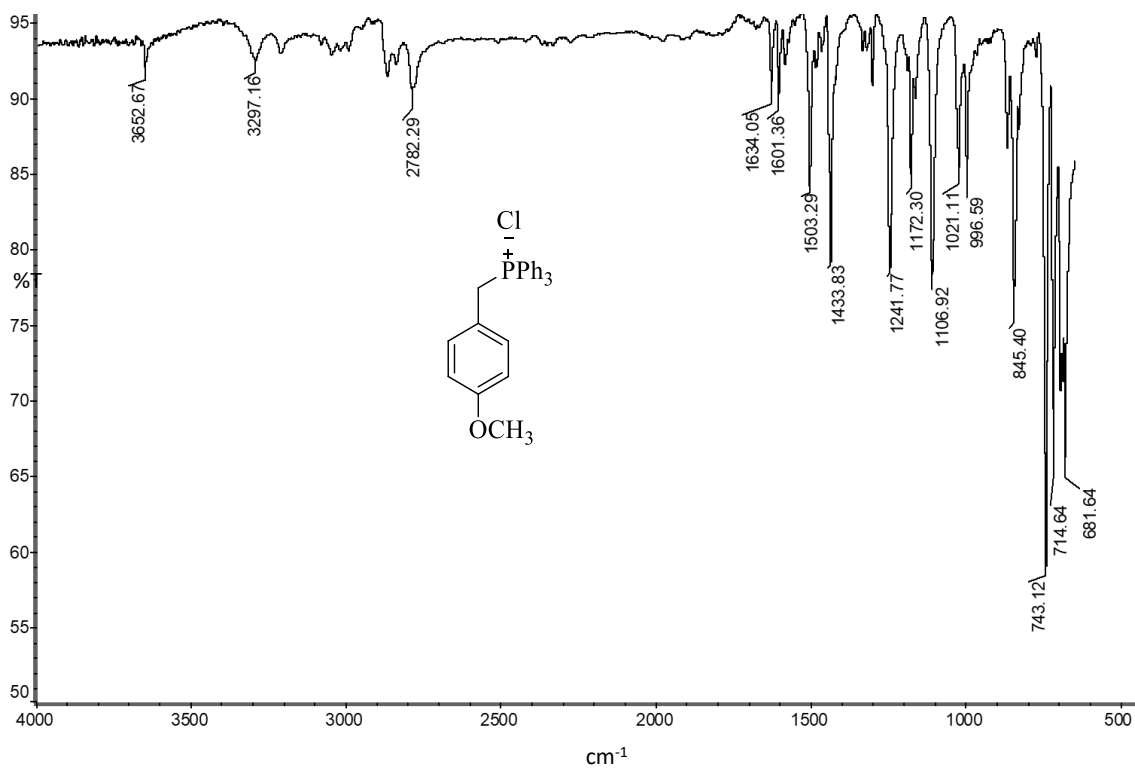


Anexo 9. Espectro no infravermelho da 5-*epi*-citoxazona.

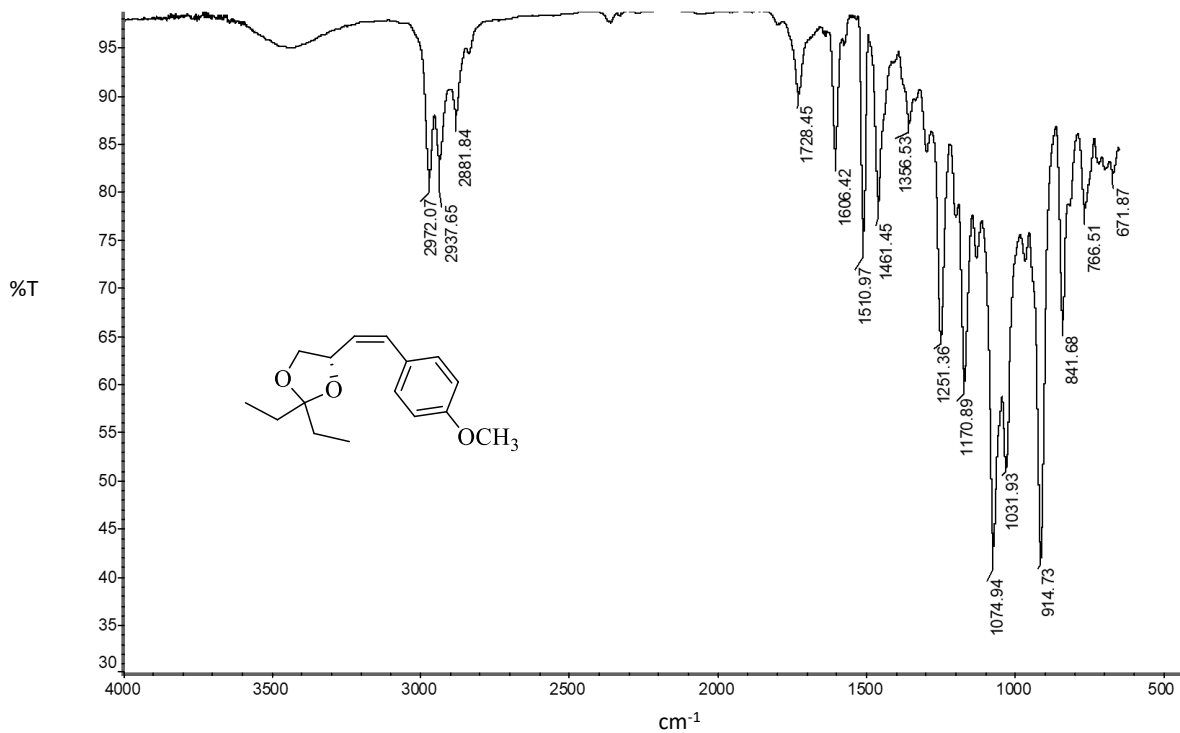
6.2. Espectros no infravermelho referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II



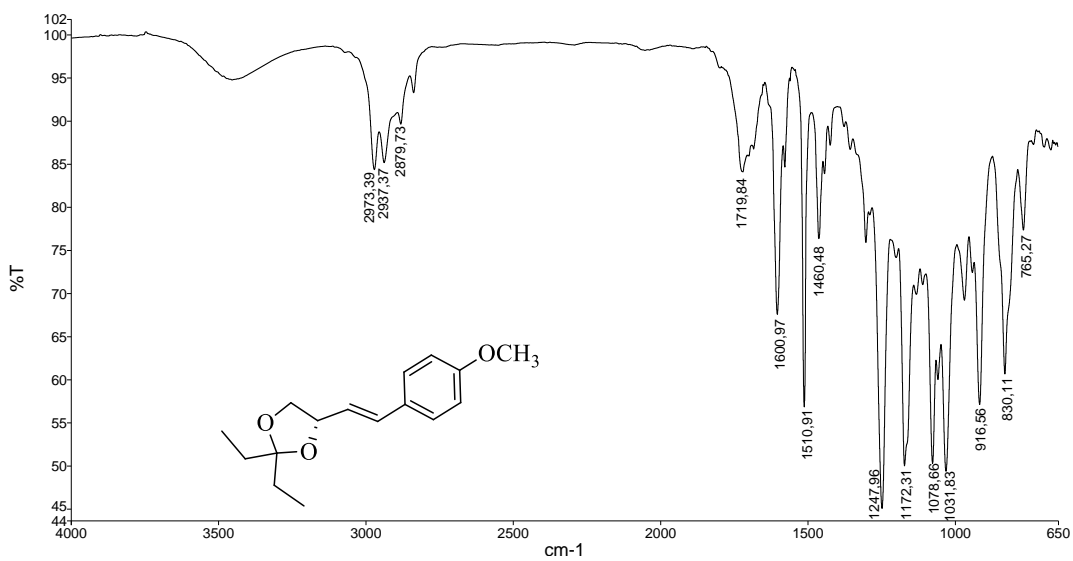
Anexo 10. Espectro no infravermelho do diol **91**.



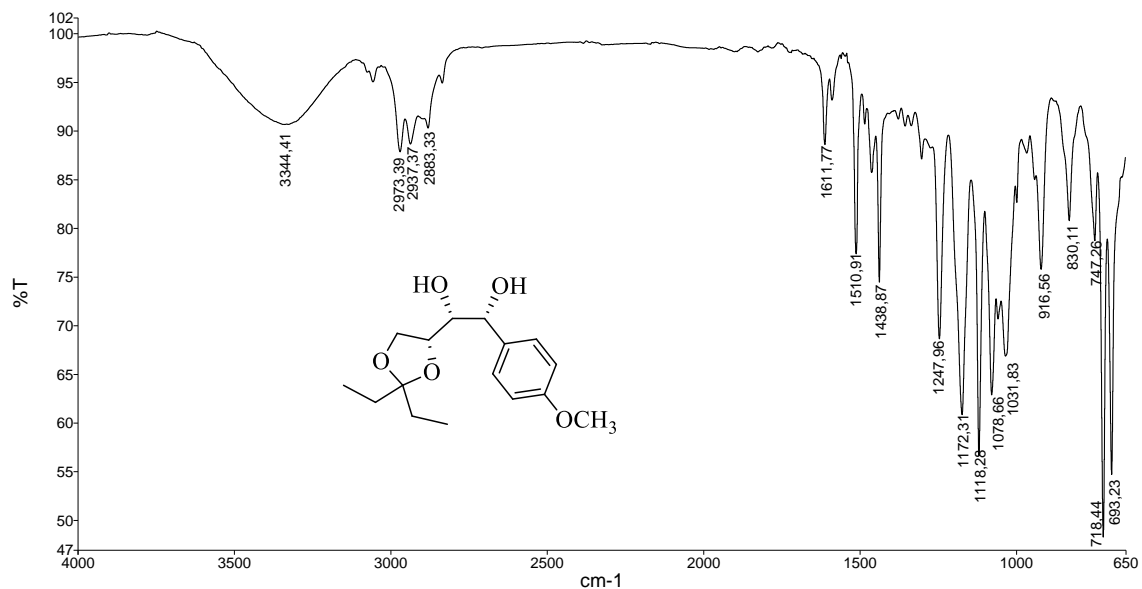
Anexo 11. Espectro no infravermelho do sal de Wittig **89**.



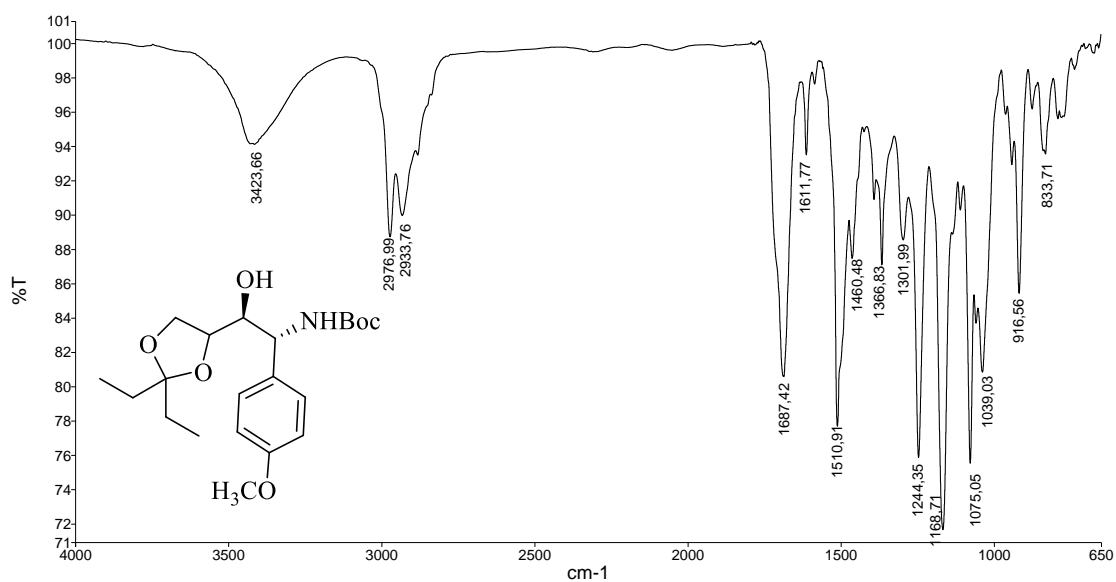
Anexo 12. Espectro no infravermelho do sal da *Z*-olefina **88a**.



Anexo 13. Espectro no infravermelho do sal da *E*-olefina **88b**.

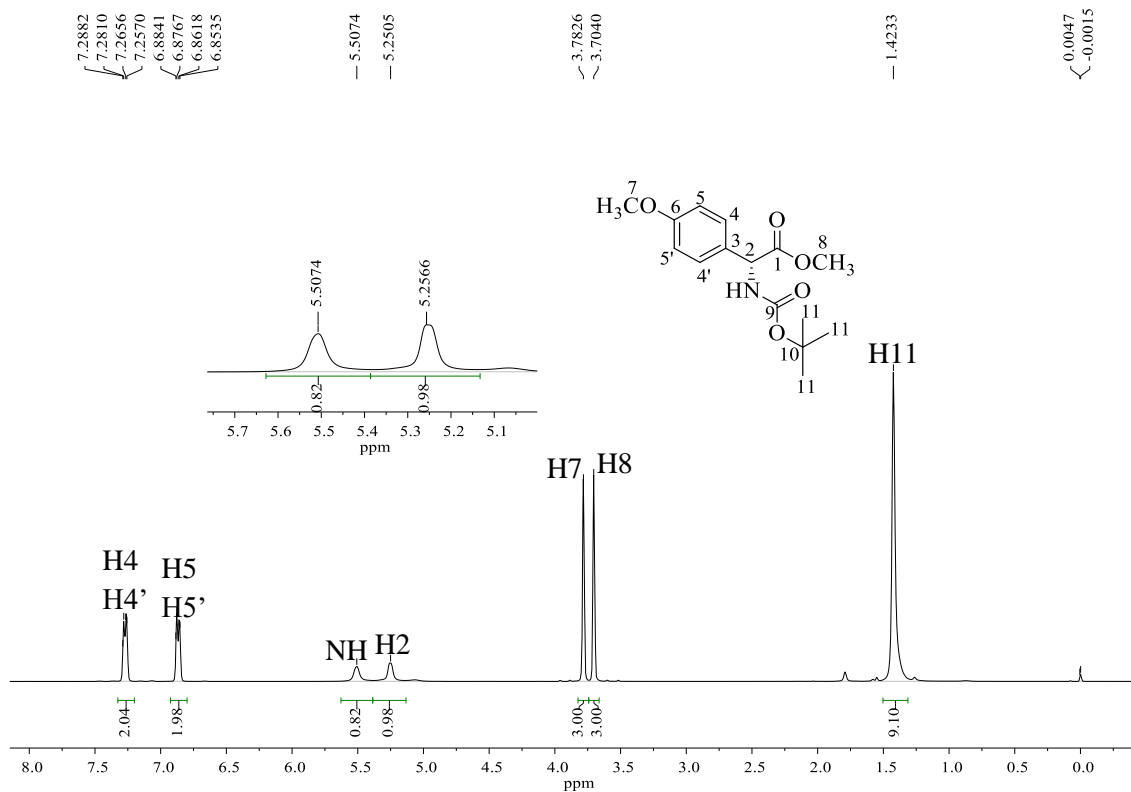


Anexo 14. Espectro no infravermelho do sal do diol minoritário (*syn*) **87b**.

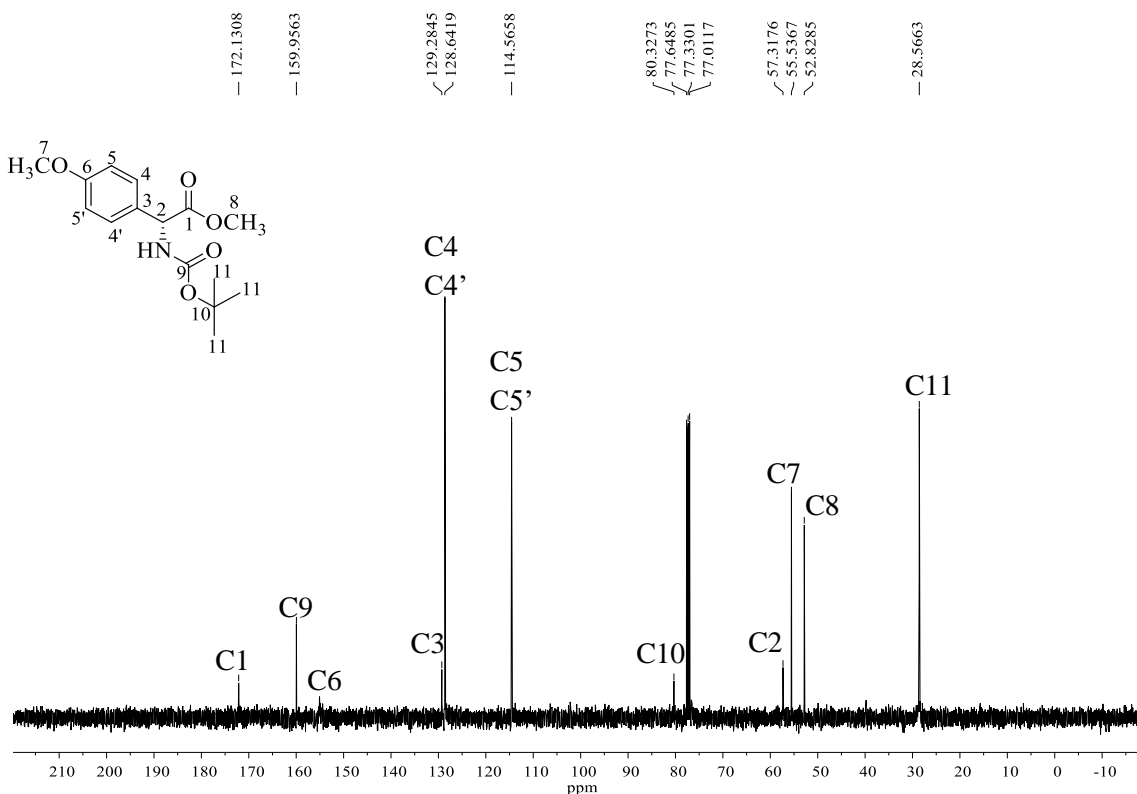


Anexo 15. Espectro no infravermelho do aminoálcool *N*-Boc protegido **95**.

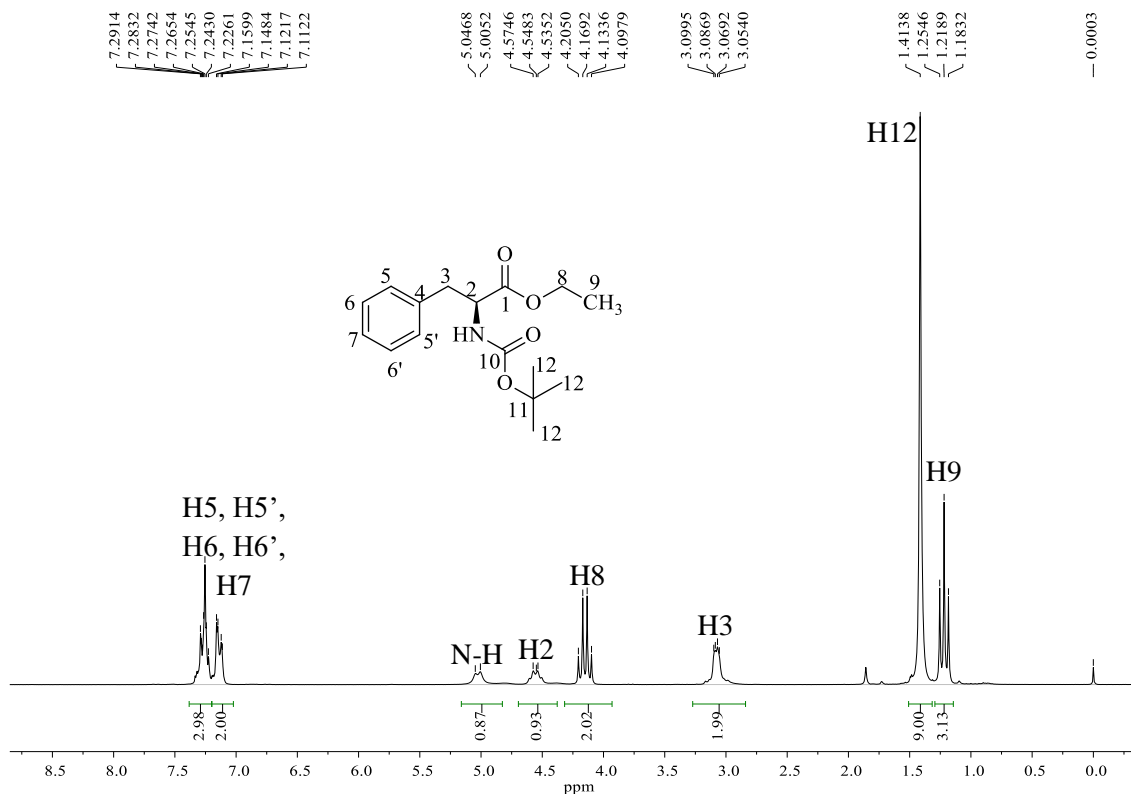
6.3. Espectros de RMN referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I



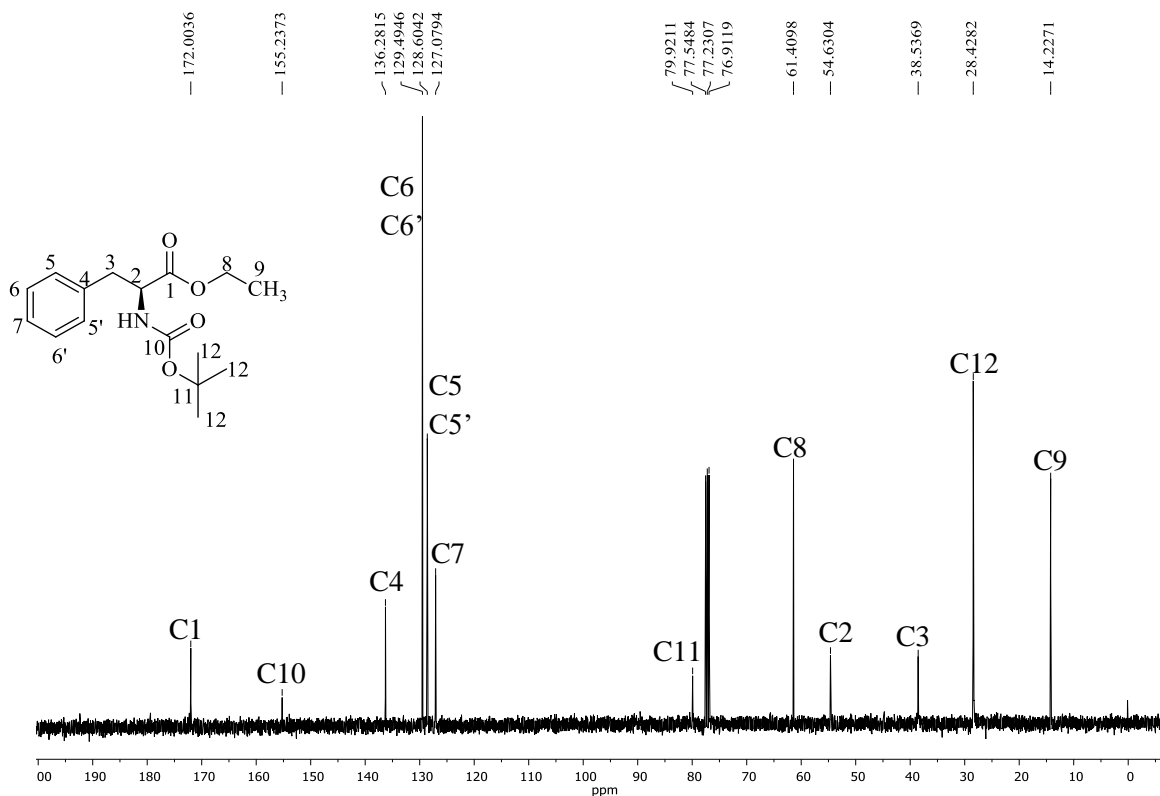
Anexo 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do éster 74.



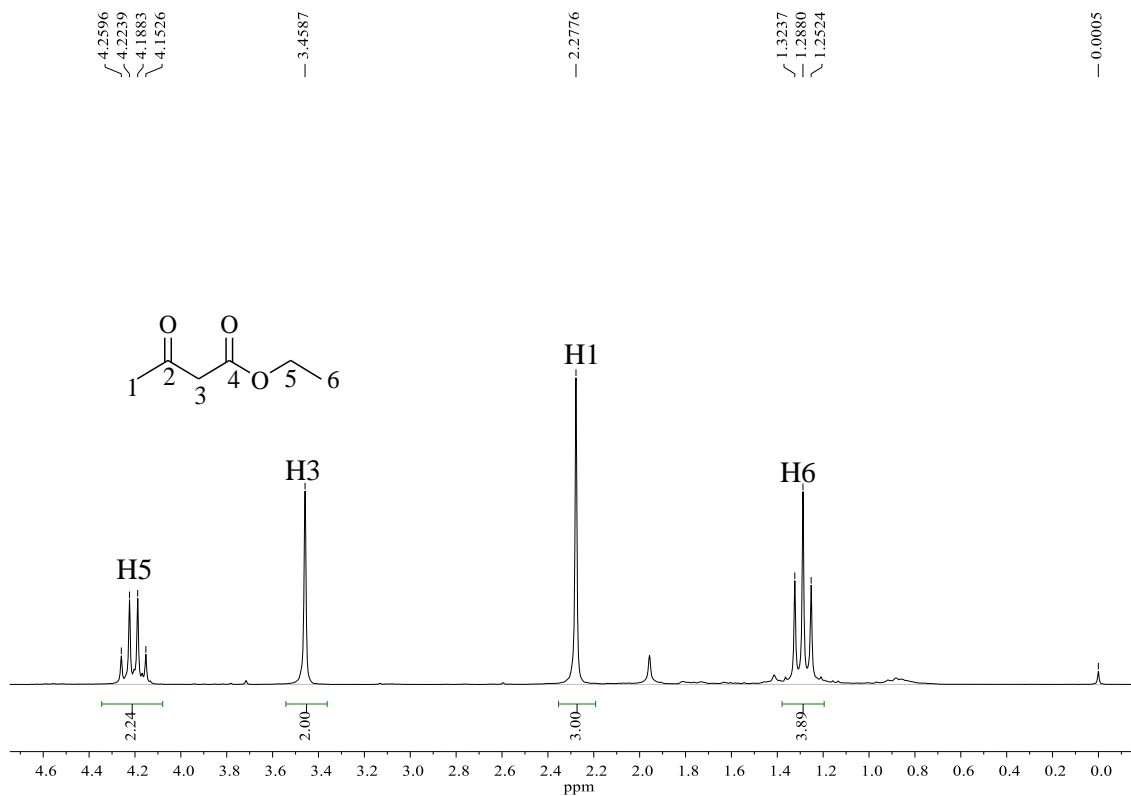
Anexo 17. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do éster 74.



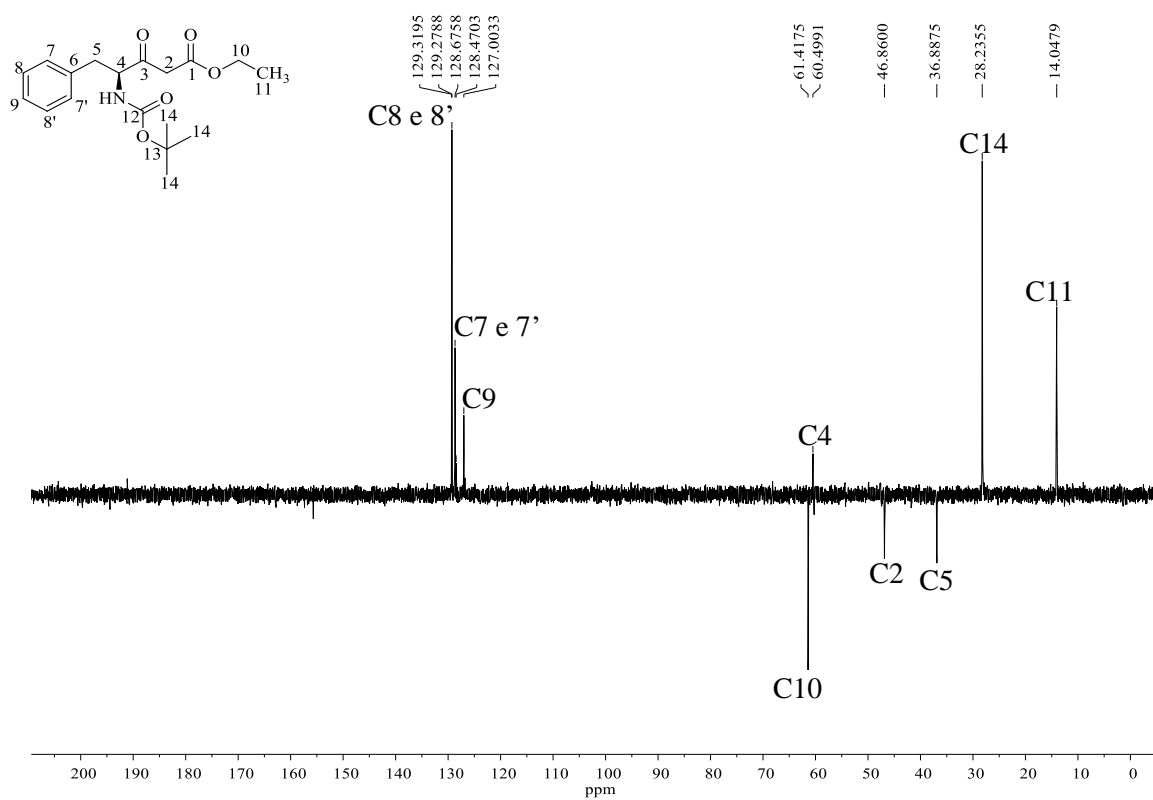
Anexo 18. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do derivado *N*-Boc protegido da L-fenilalanina.



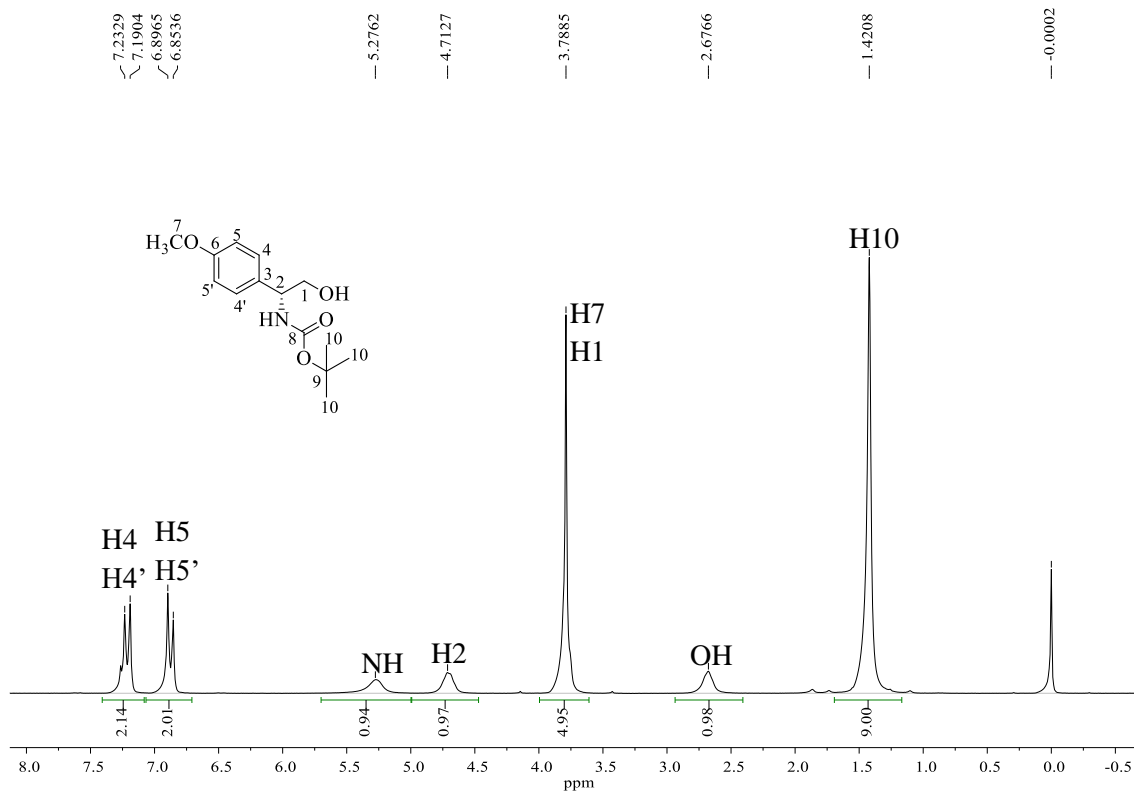
Anexo 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do éster derivado da L-fenilalanina.



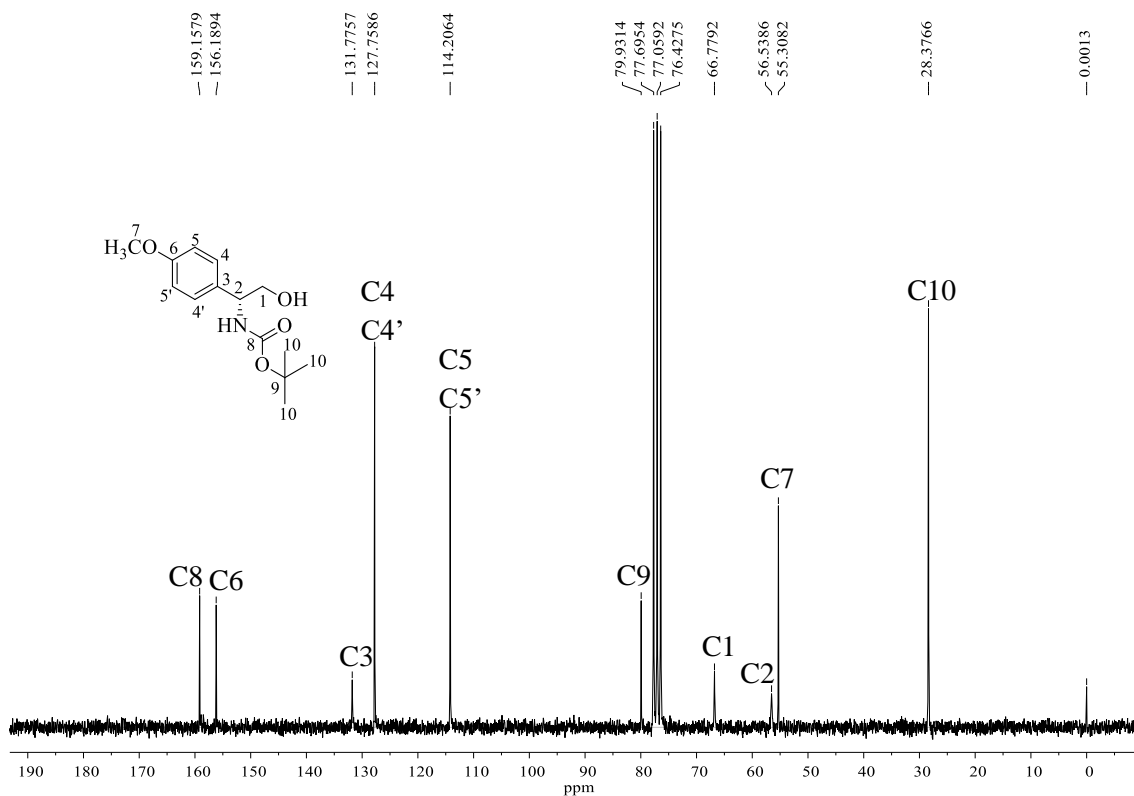
Anexo 20. Espectro de RMN de ^1H do produto de homocondensação do acetato de etila (200 MHz, CDCl_3).



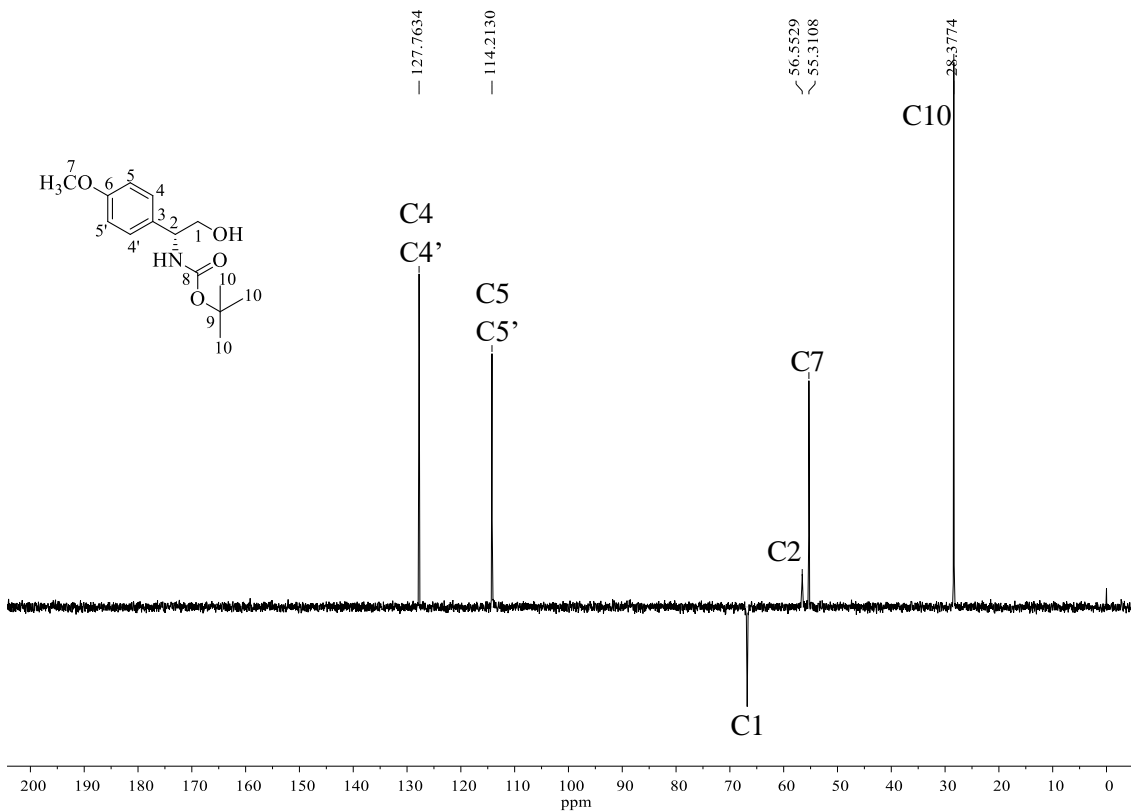
Anexo 21. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do β -cetoéster **78**.



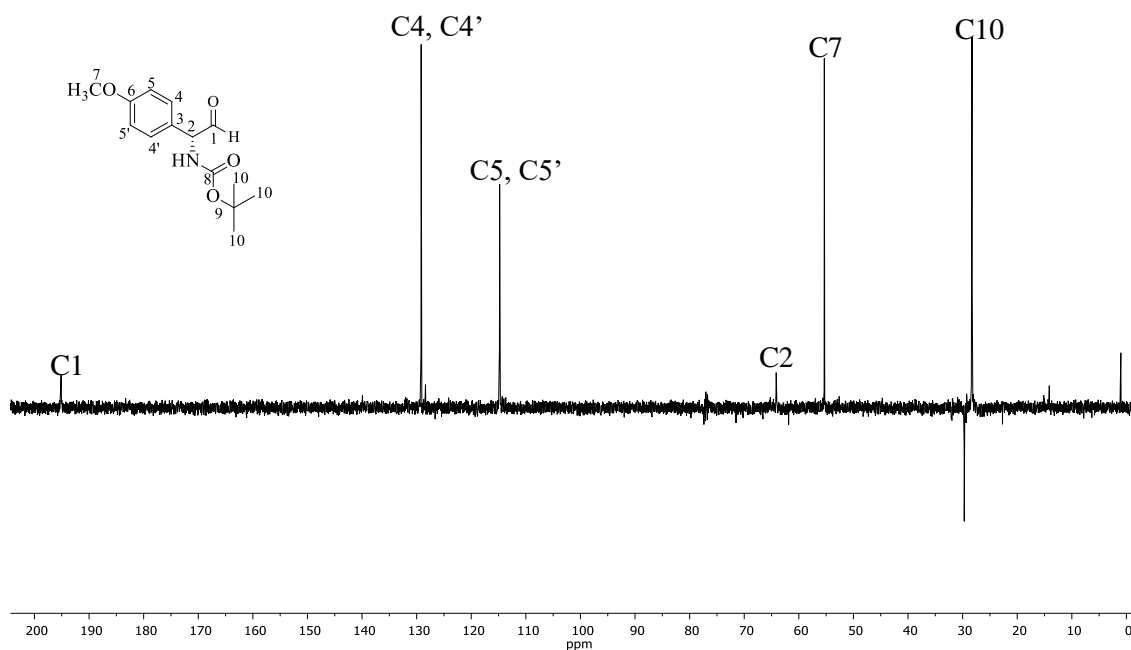
Anexo 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do álcool **81**.



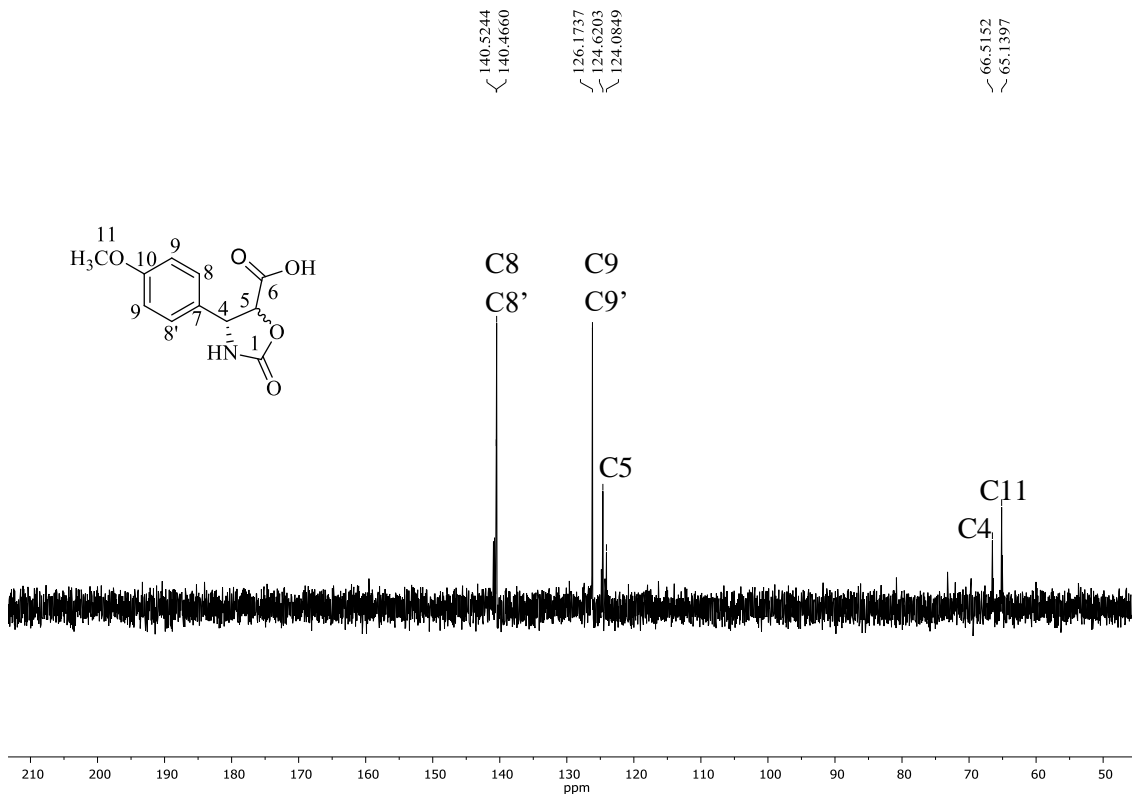
Anexo 23. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do álcool **81**.



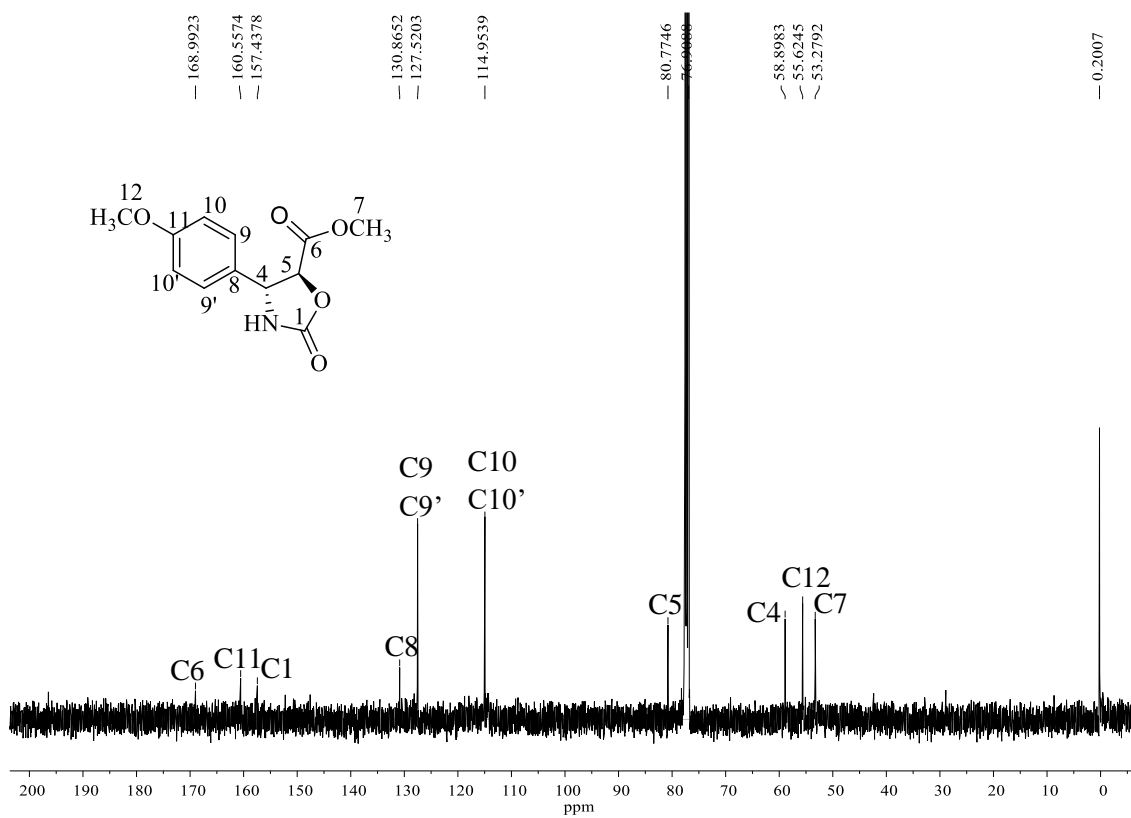
Anexo 24. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl₃) do álcool **81**.



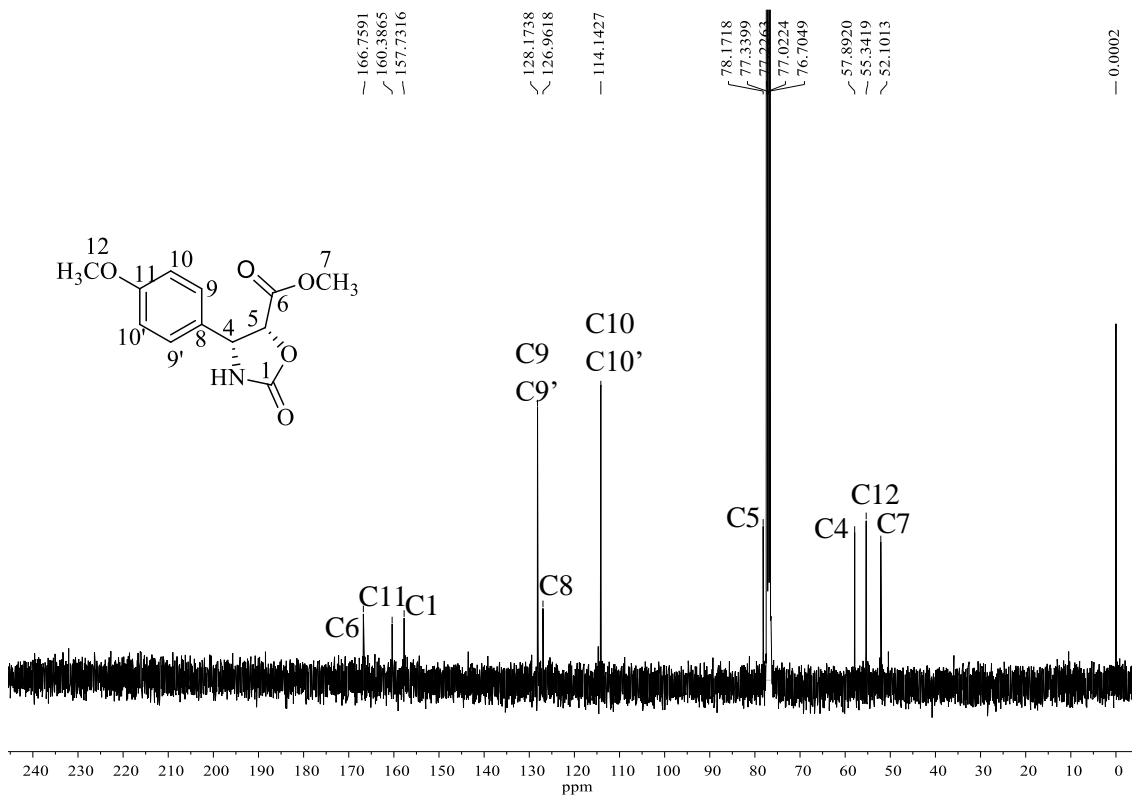
Anexo 25. Subespectro Dept (100 MHz, CDCl₃) do aldeído **80**.



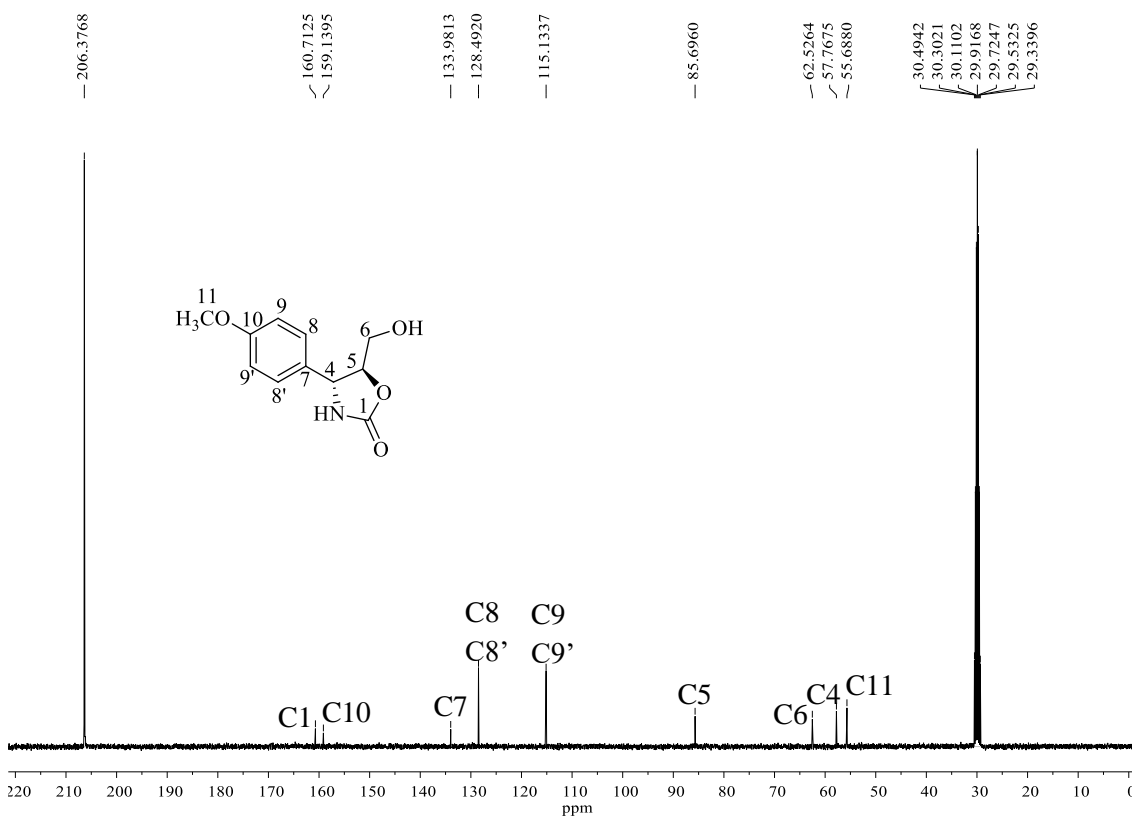
Anexo 26. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) da mistura das oxazolidinonas derivadas **82a** e **82b**.



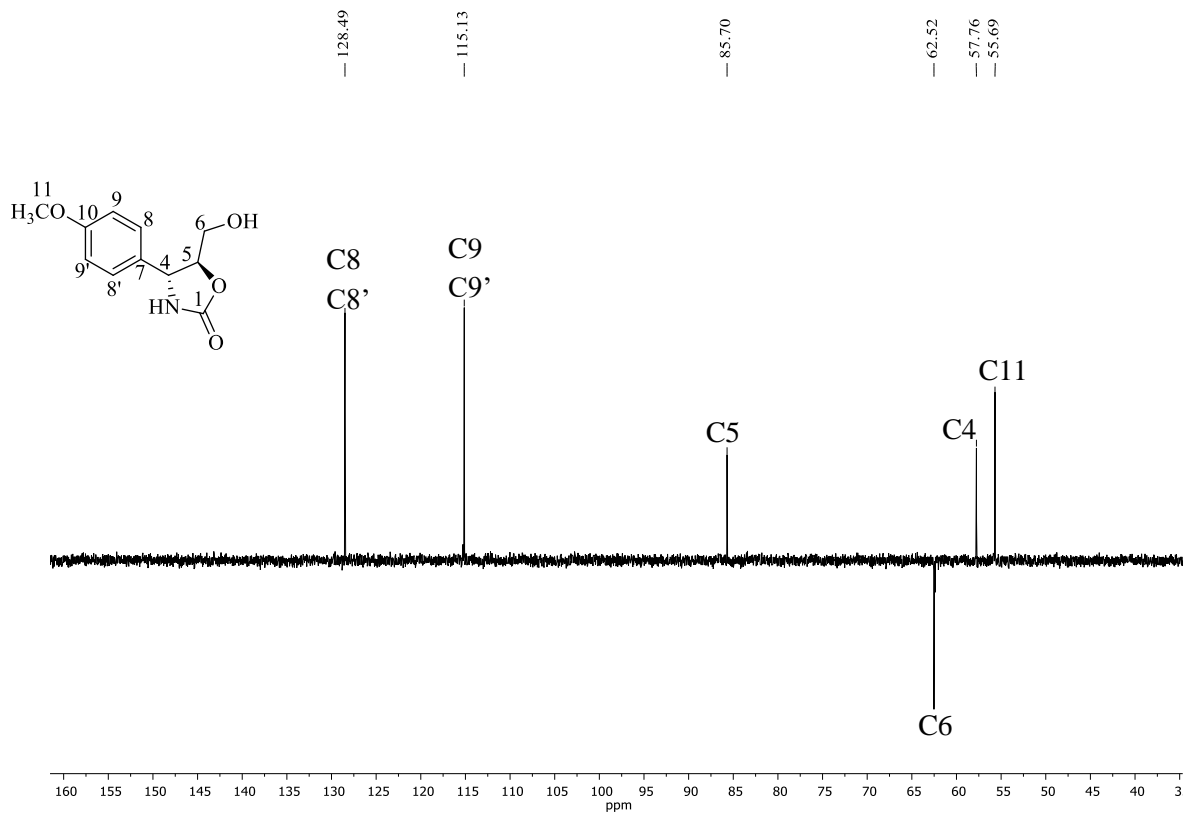
Anexo 27. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do éster **84**.



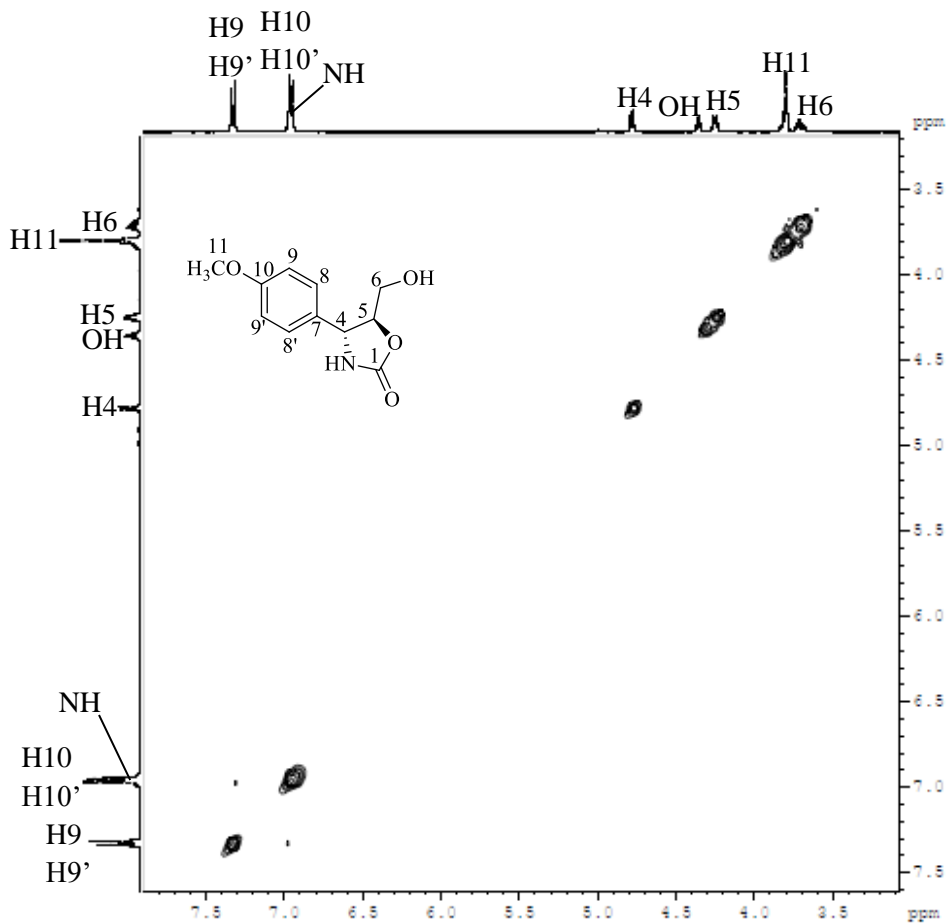
Anexo 28. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do éster 83.



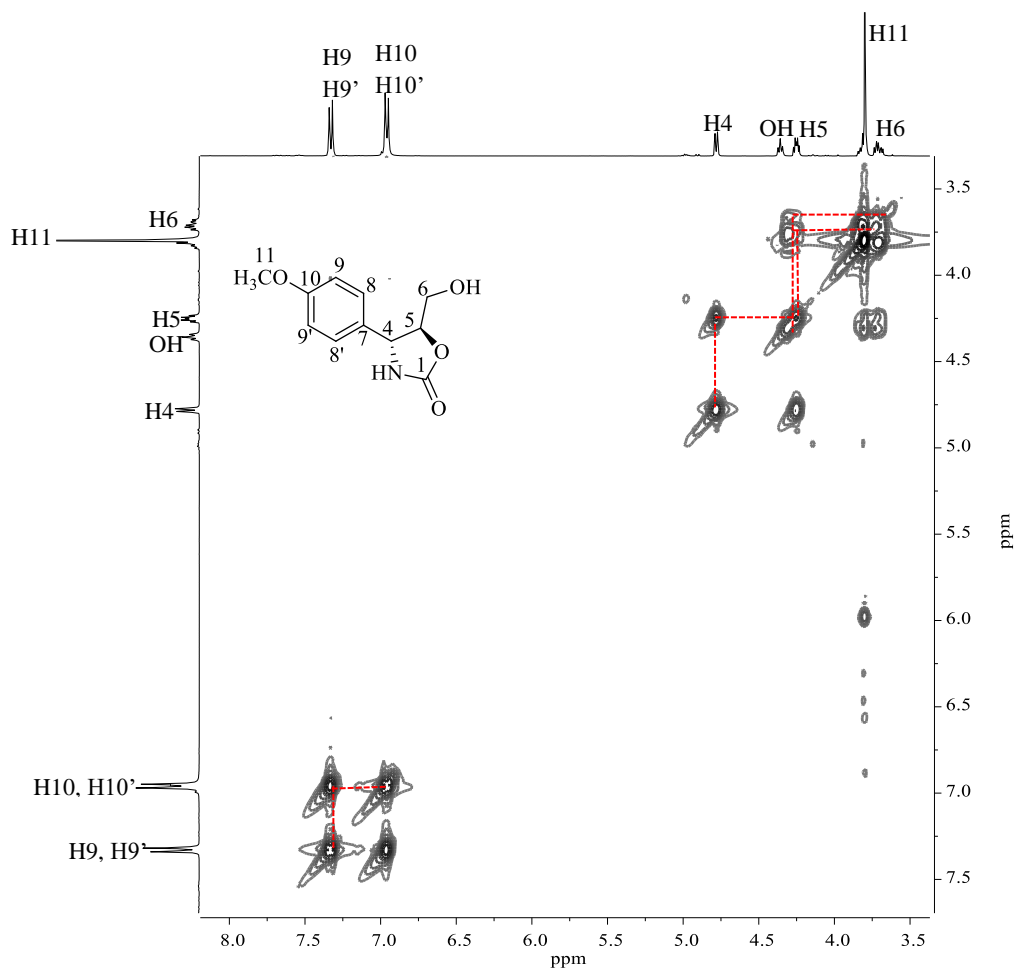
Anexo 29. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, acetona-d₆) da 5-*epi*-citoxazona.



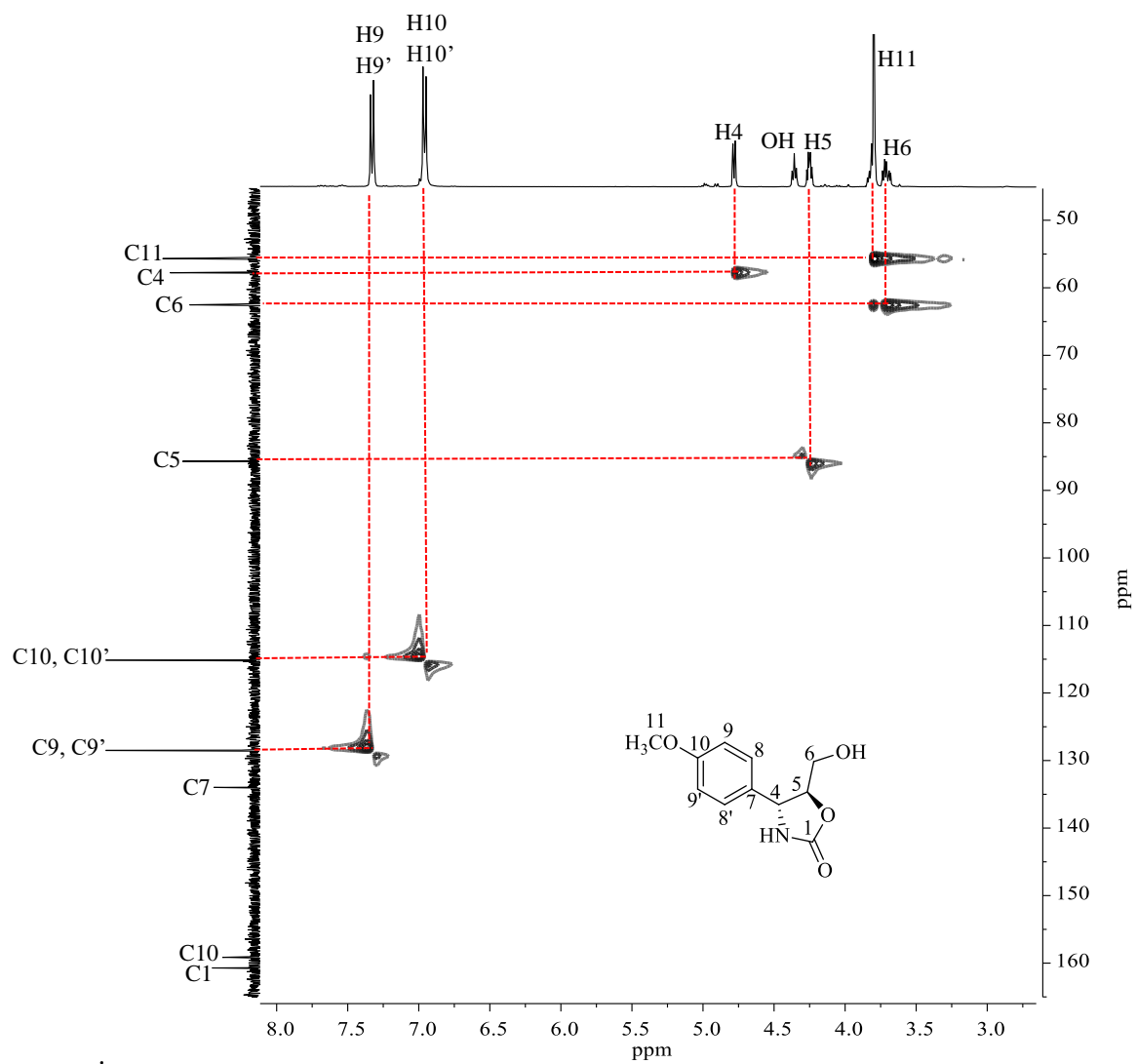
Anexo 30. Subespectro DEPT (100 MHz, acetona- d_6) da 5-*epi*-citoxazona.



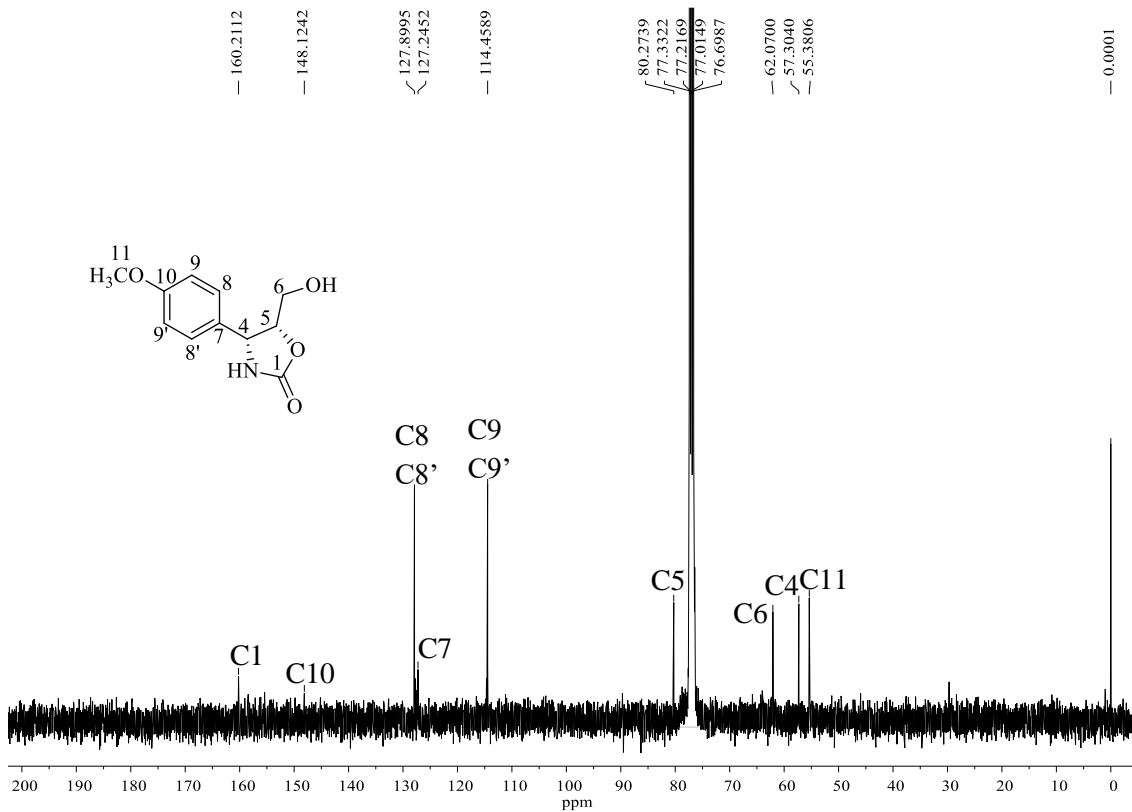
Anexo 31. Mapa de contornos NOESY (400 MHz, acetona- d_6) da 5-*epi*-citoxazona.



Anexo 32. Mapa de contornos COSY (400 MHz, acetona- d_6) da 5-*epi*-citoxazona

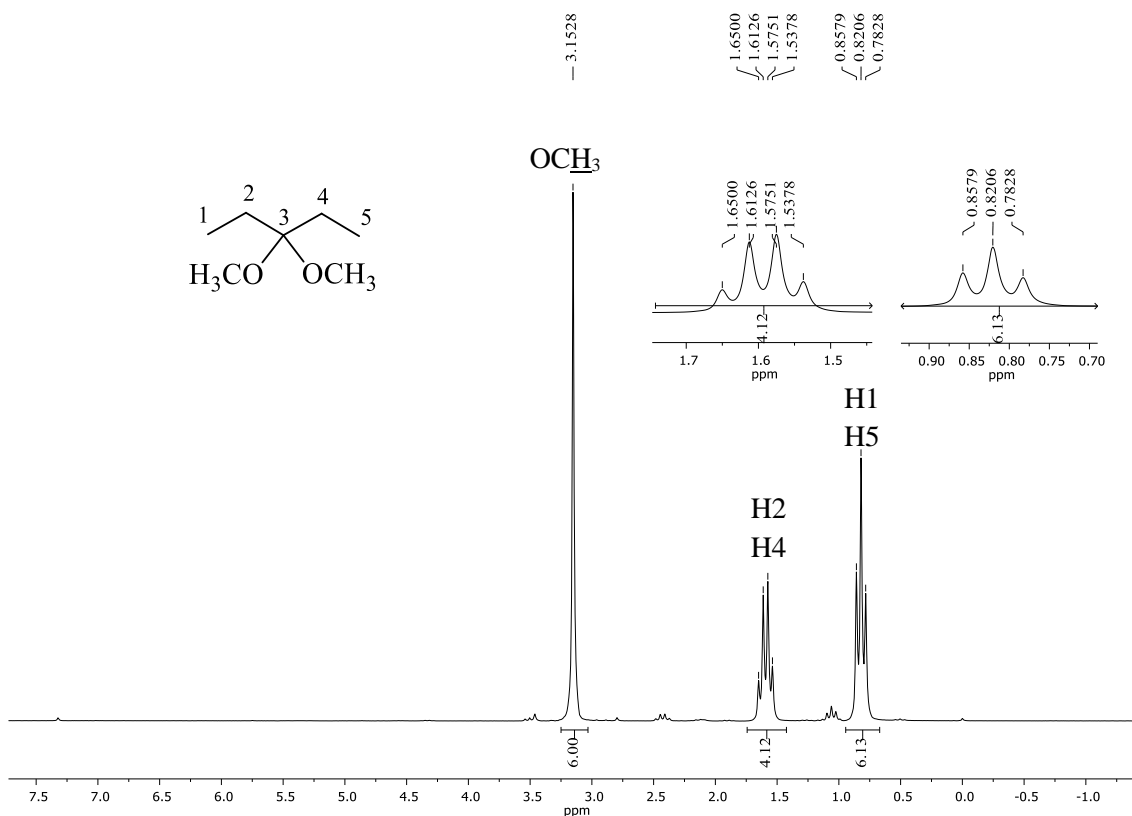


Anexo 33. Mapa de contornos HMQC (400 MHz, acetona-*d*₆) da 5-*epi*-citoxazona.

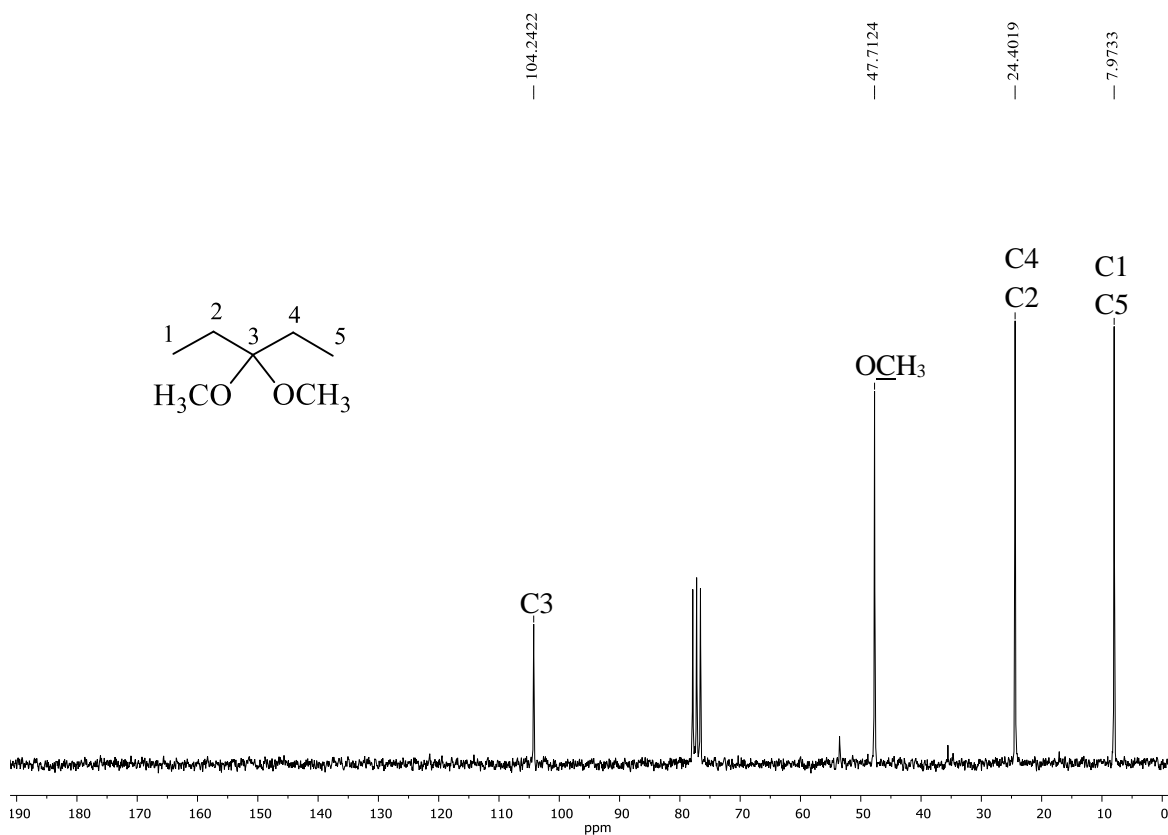


Anexo 34. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da (-)-citoxazona.

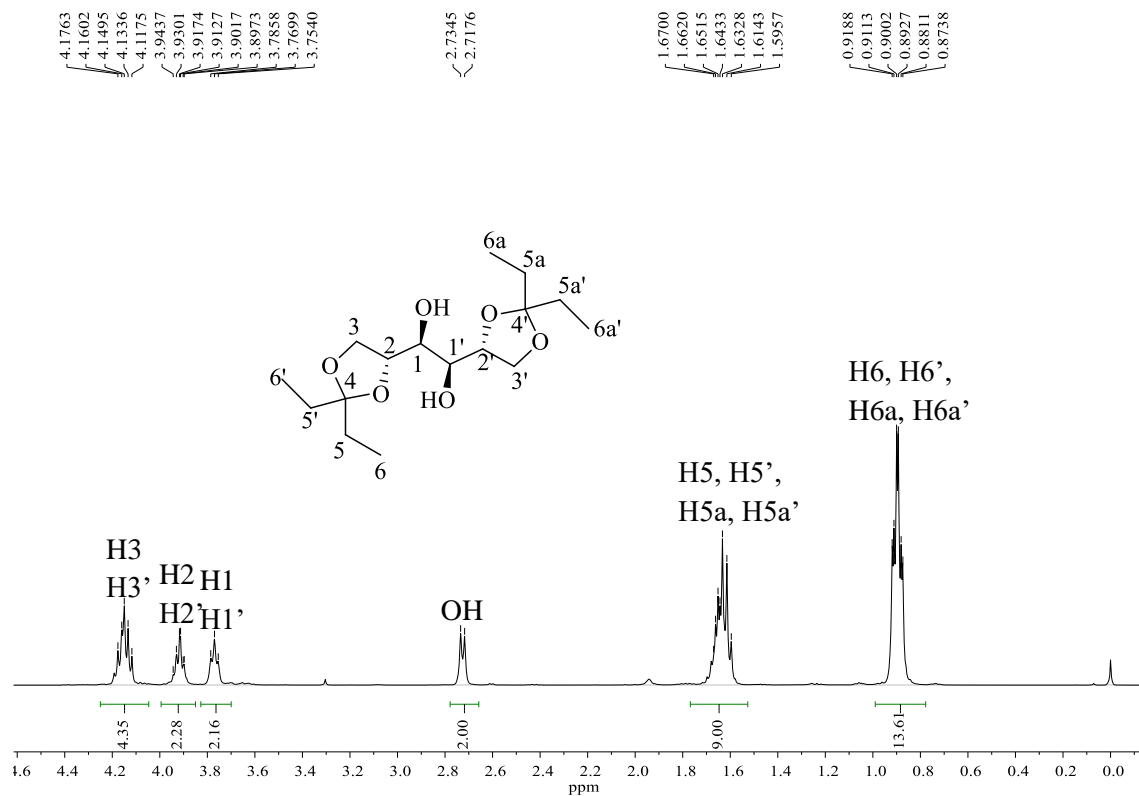
6.4. Espectros de RMN referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II



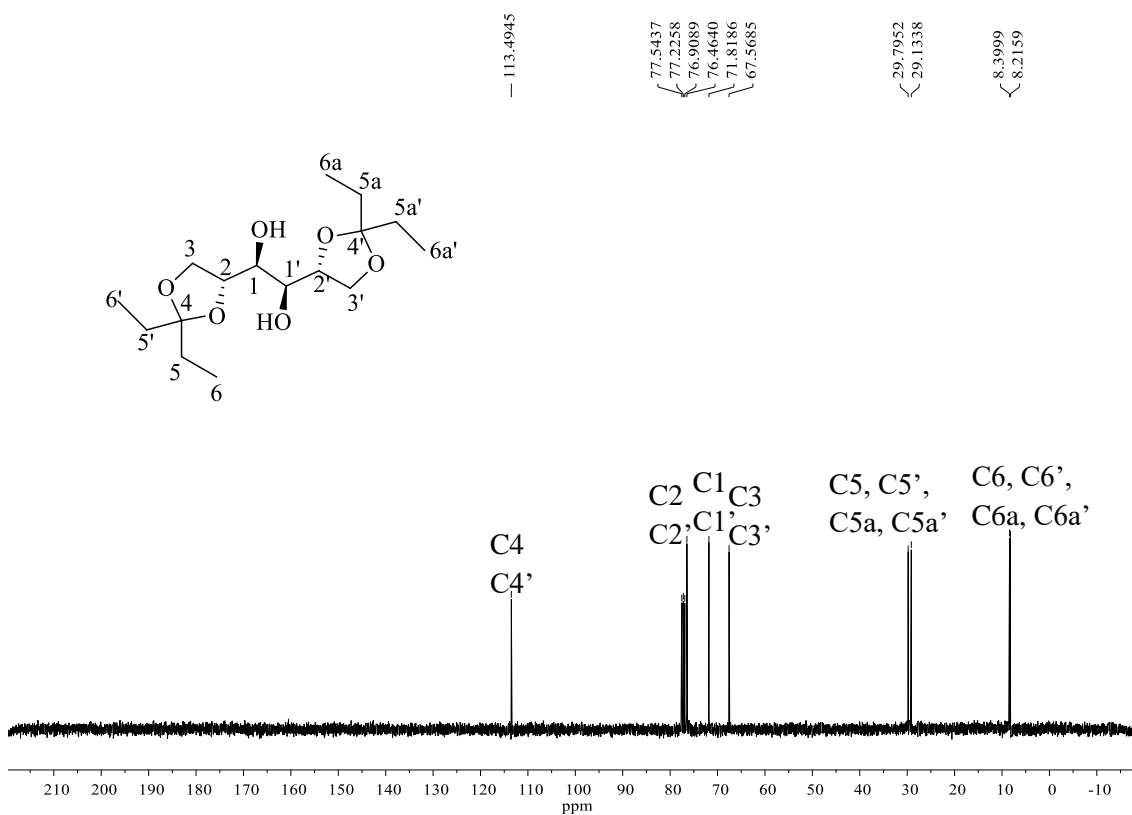
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 3,3-dimetoxipentano.



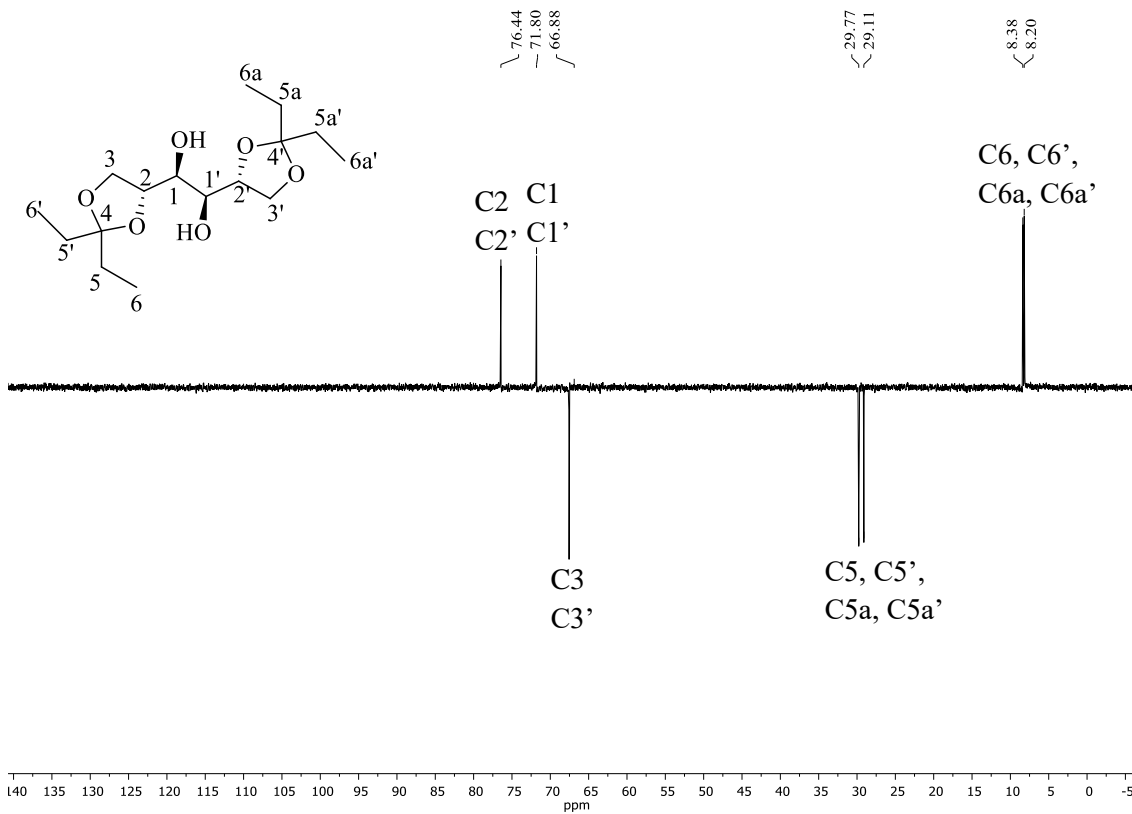
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do 3,3-dimetoxipentano.



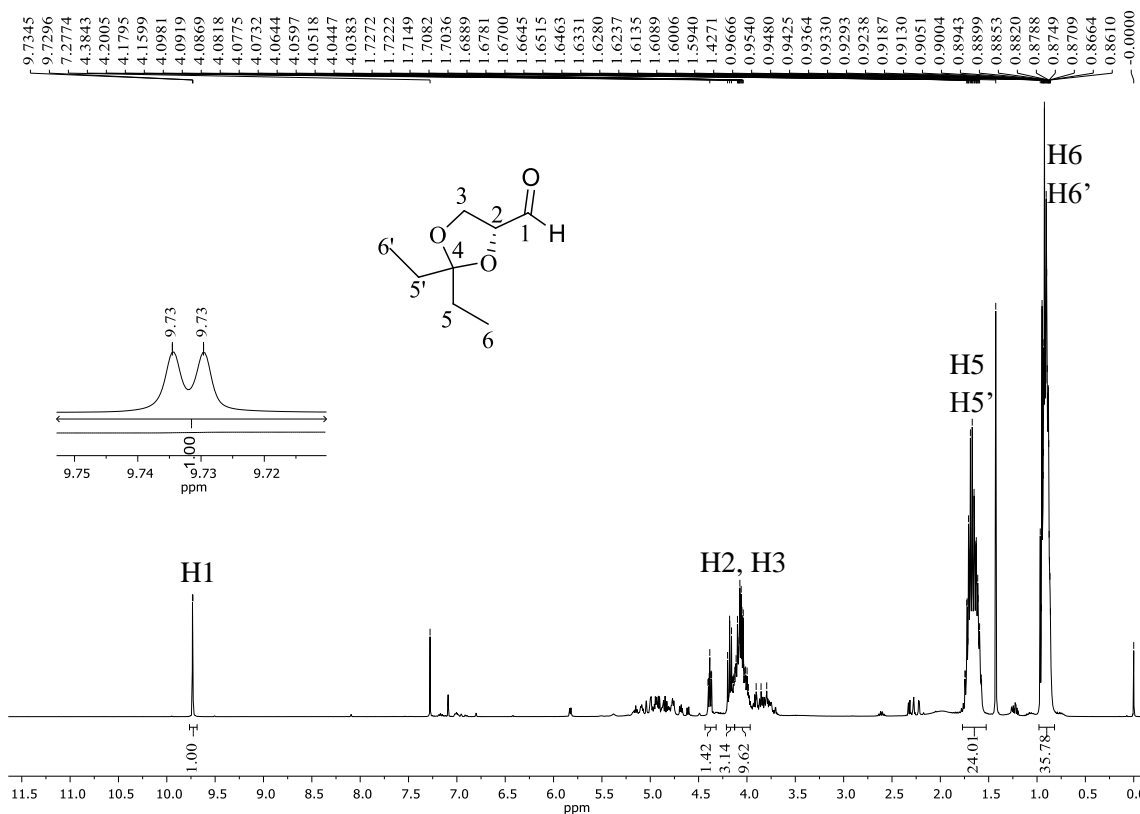
Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do diol **91**.



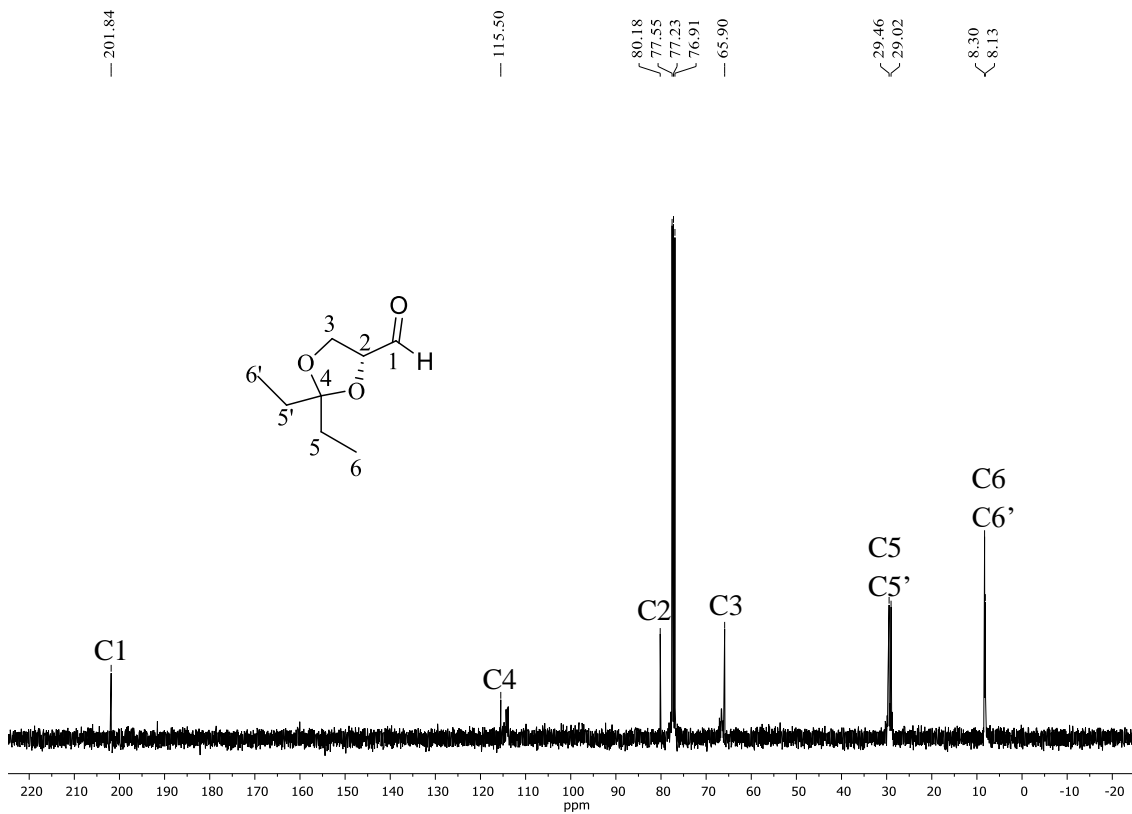
Anexo 38. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do diol **91**.



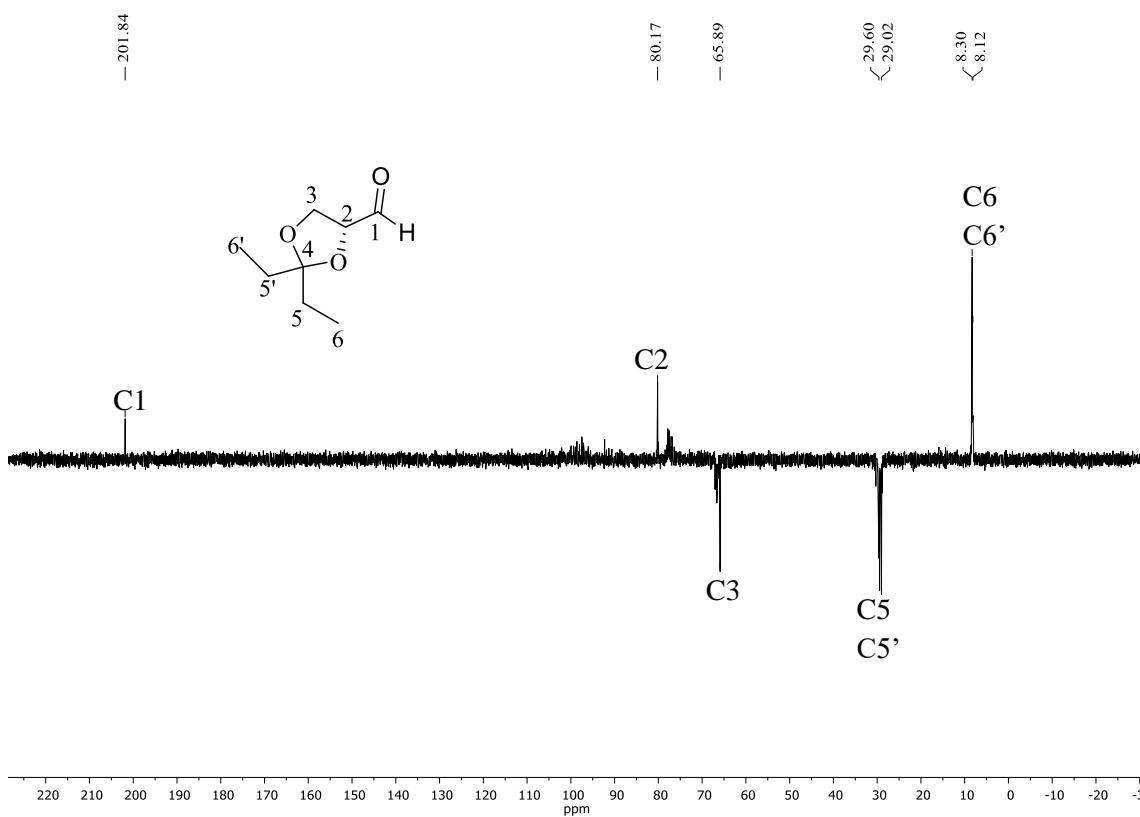
Anexo 39. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do diol **91**.



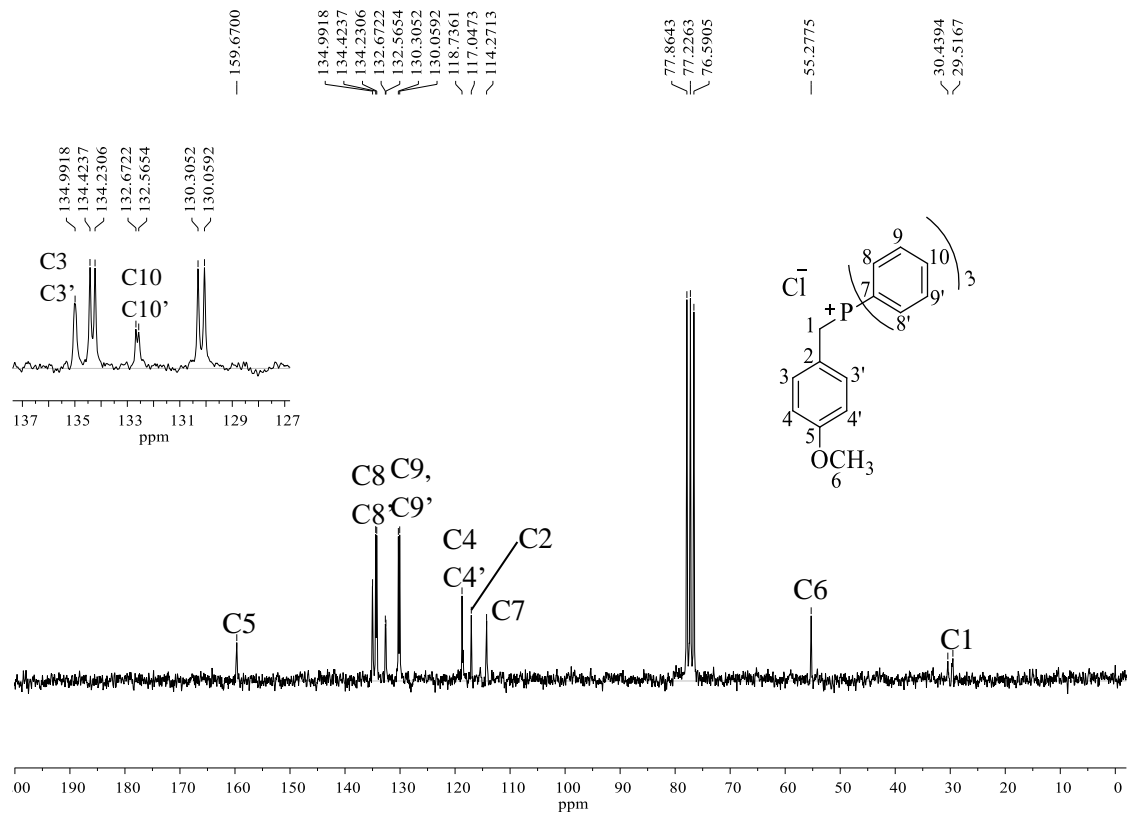
Anexo 40. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do aldeído **90**.



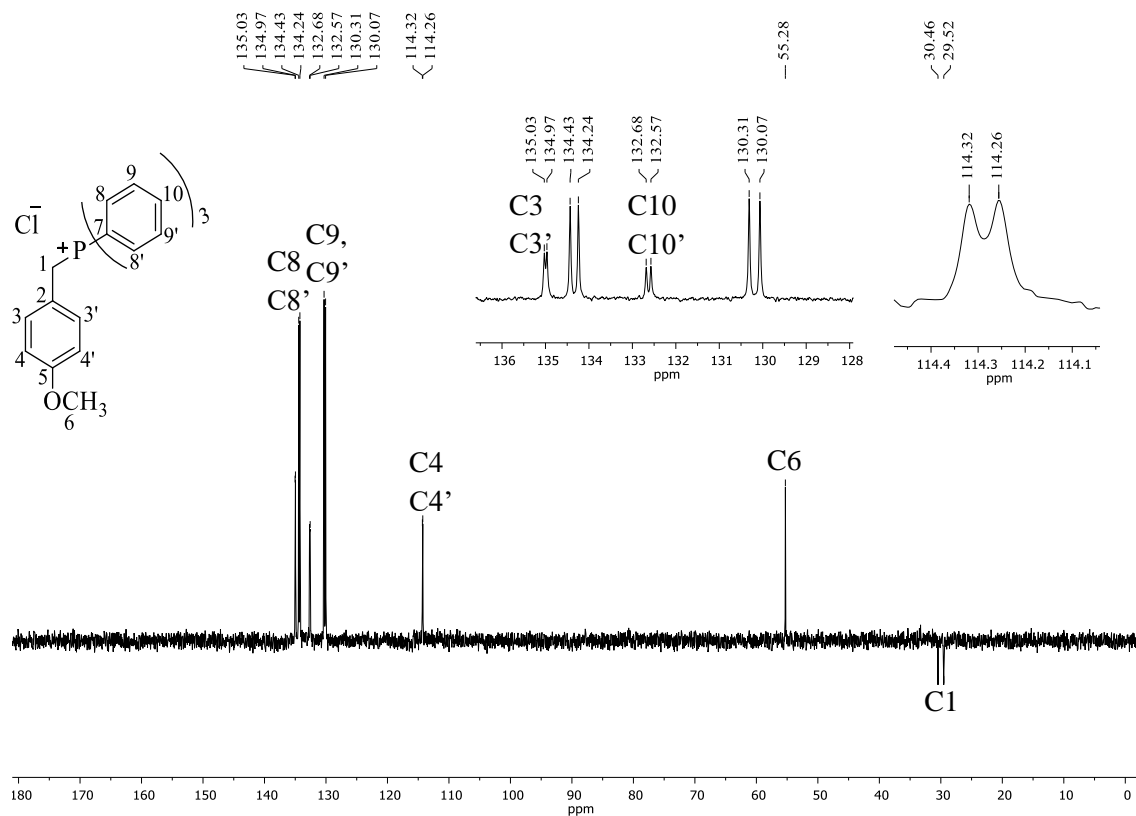
Anexo 41. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do aldeído **90**.



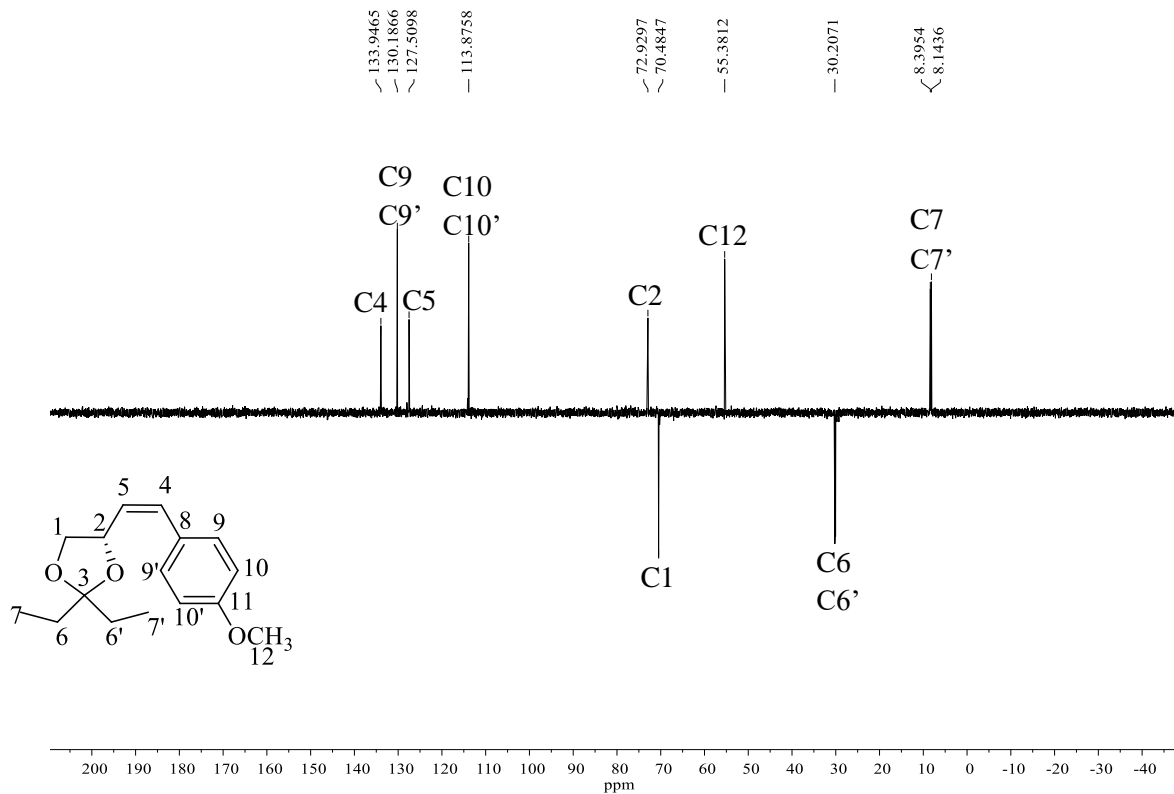
Anexo 42. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do aldeído **90**.



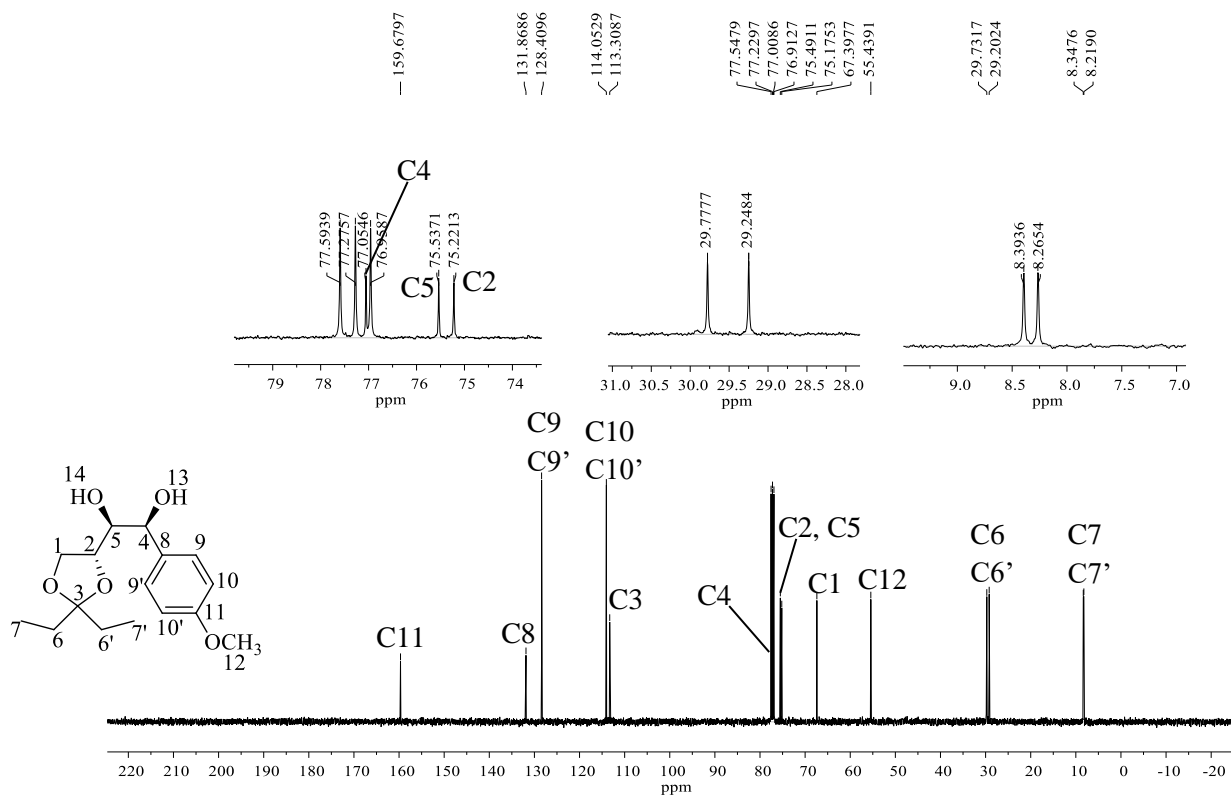
Anexo 43. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) do sal de Wittig (89).



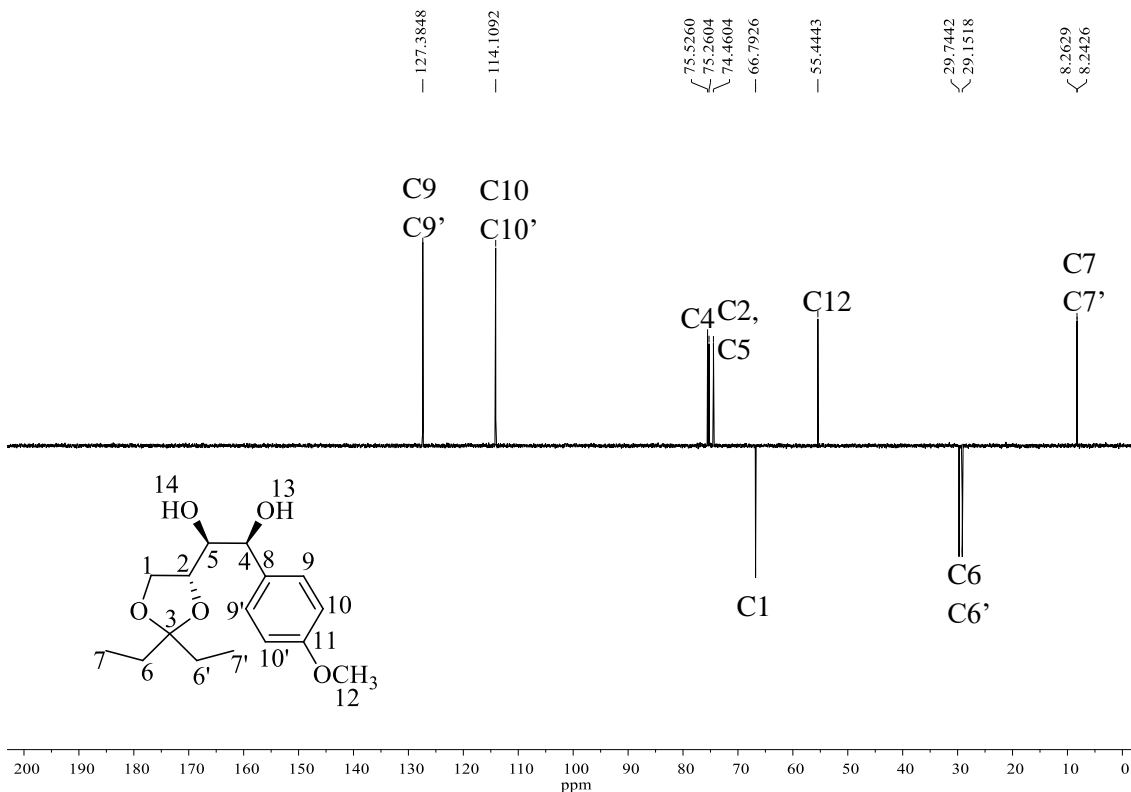
Anexo 44. Subespectro DEPT (50 MHz, CDCl₃) do sal de Wittig (89).



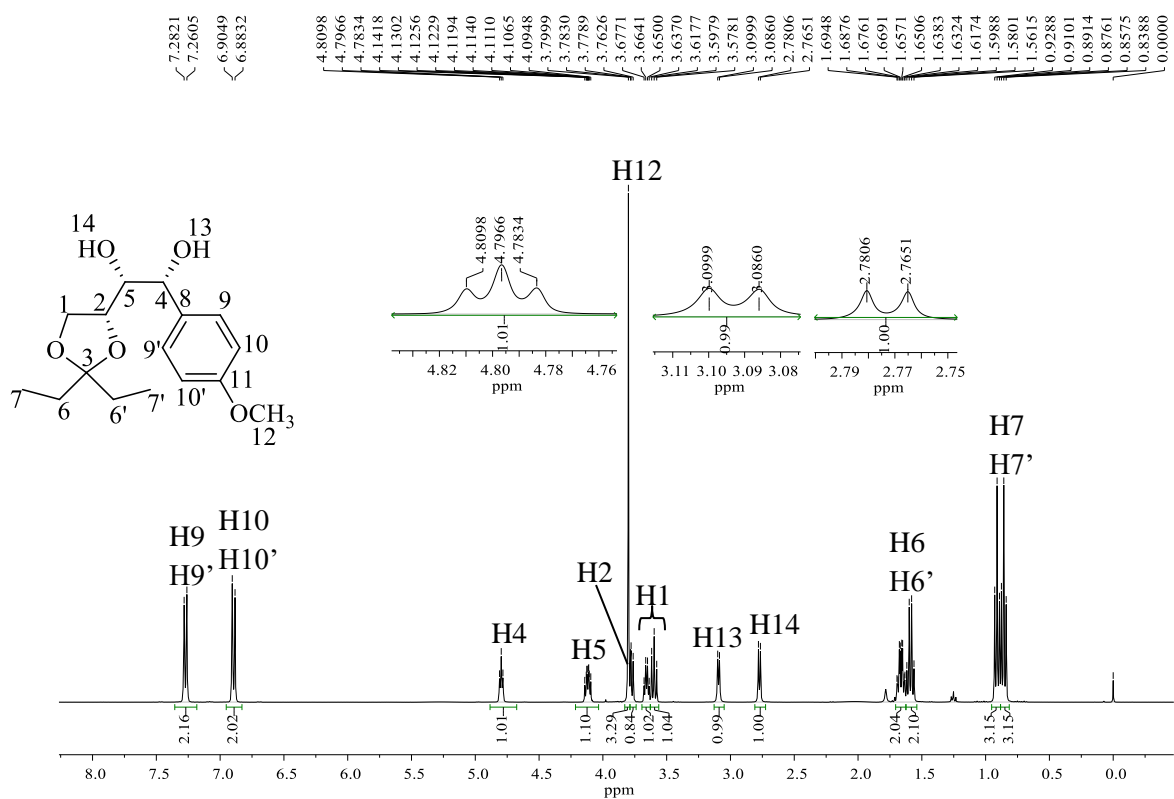
Anexo 45. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl₃) da olefina **88a**.



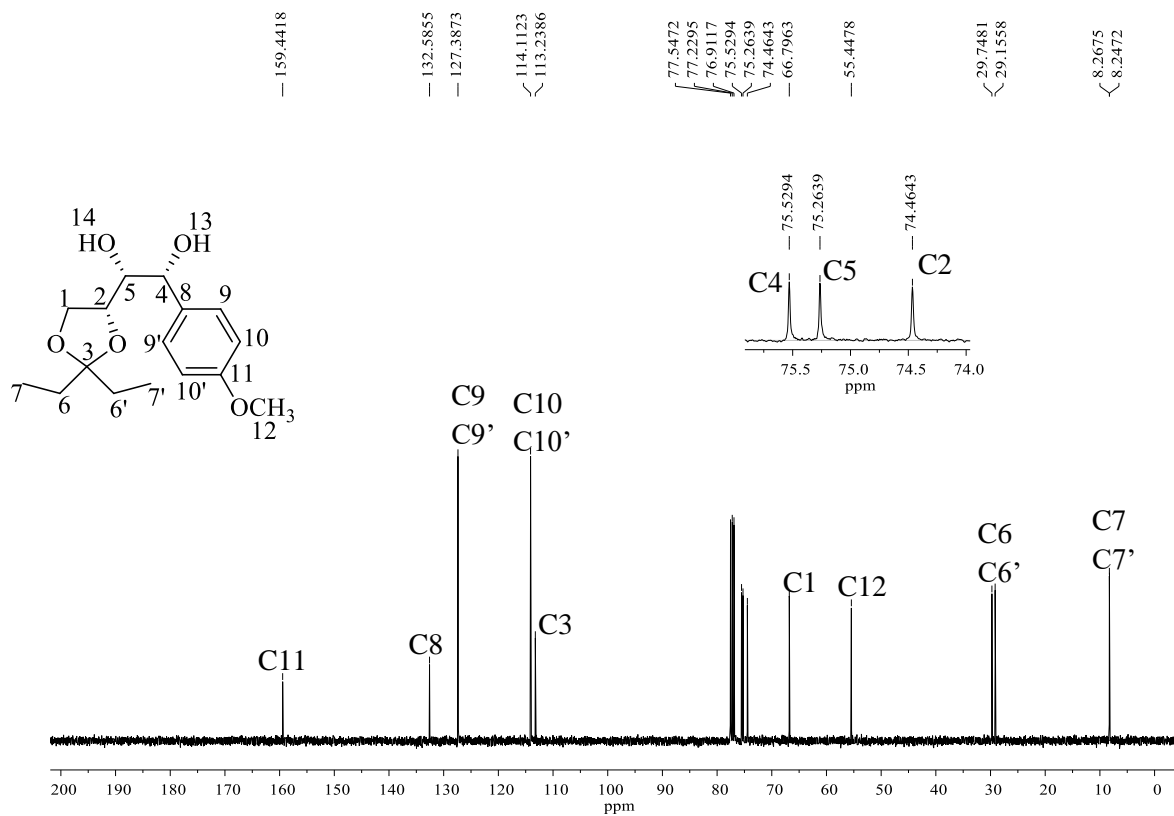
Anexo 46. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do diol **80a**.



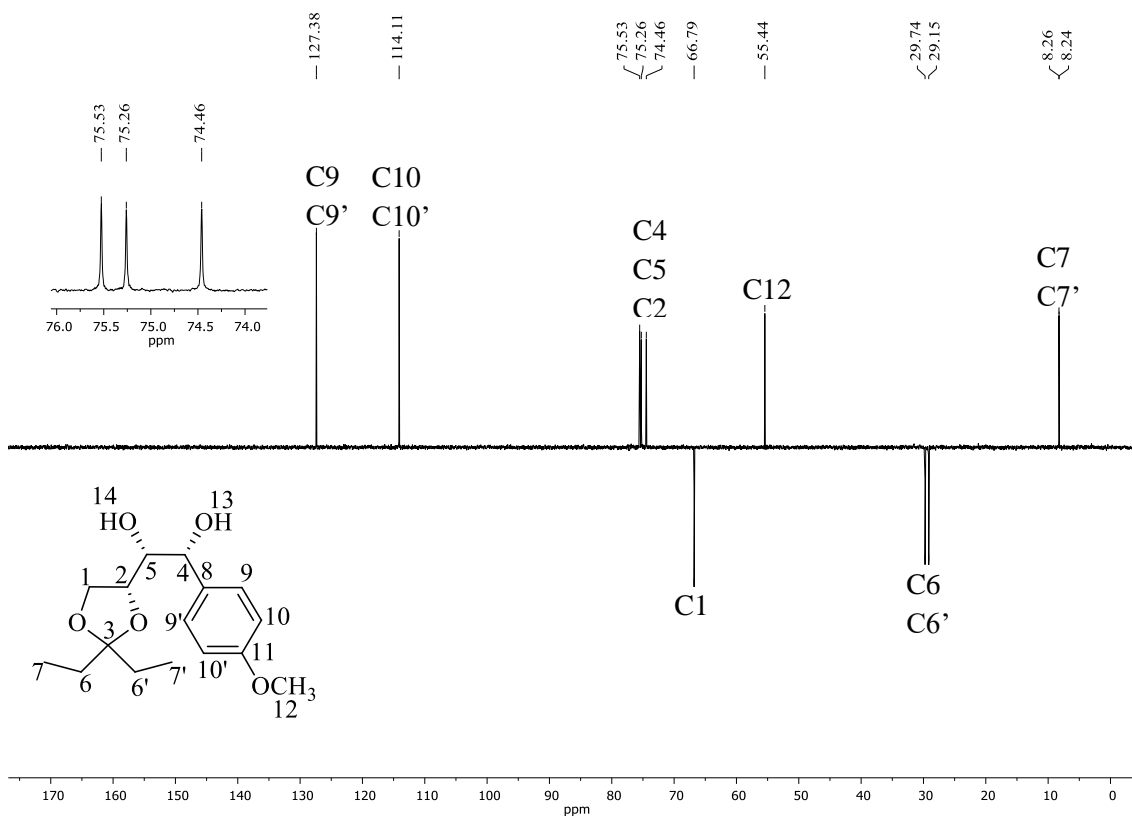
Anexo 47. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do diol **80a**.



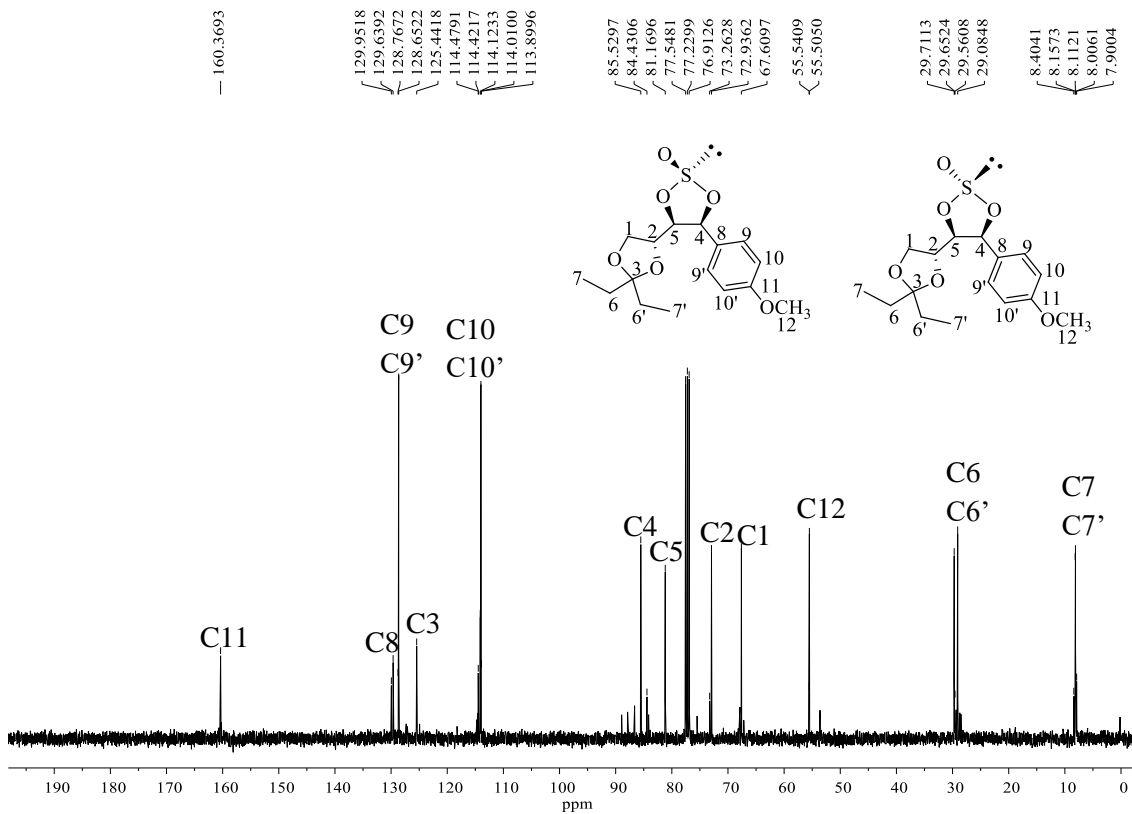
Anexo 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do diol minoritário (**80b**).



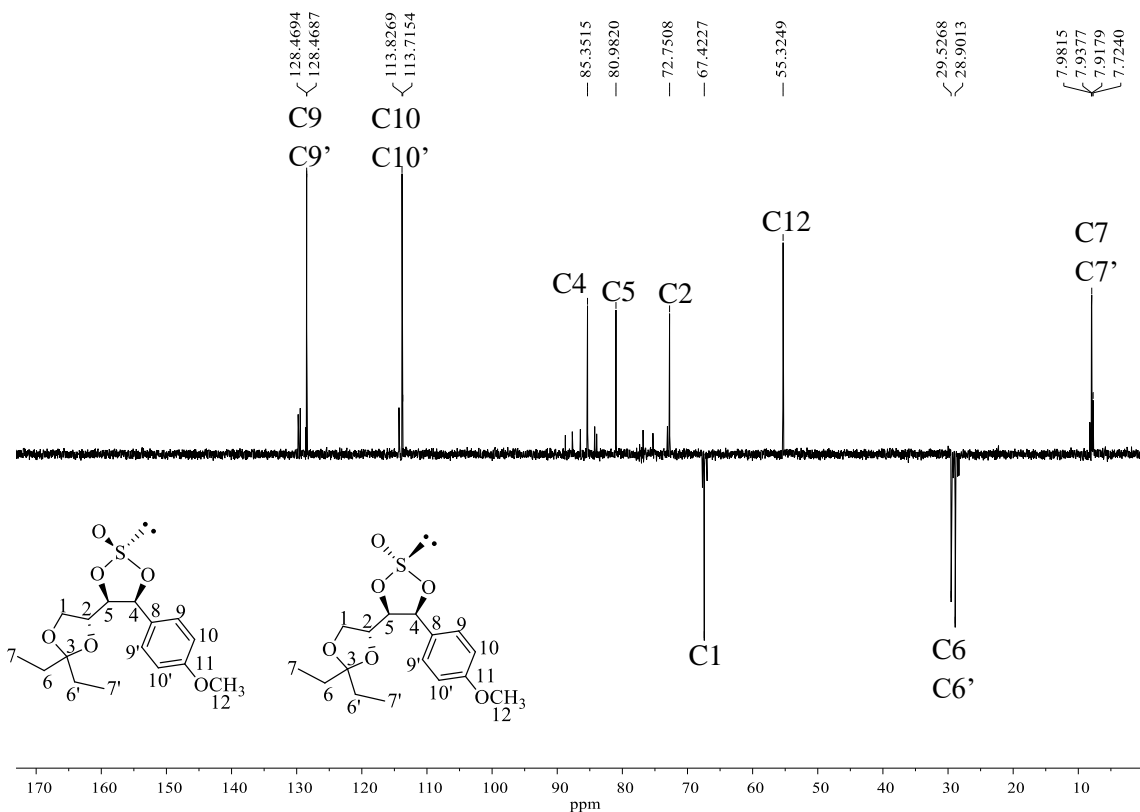
Anexo 49. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) diol minoritário (**80b**).



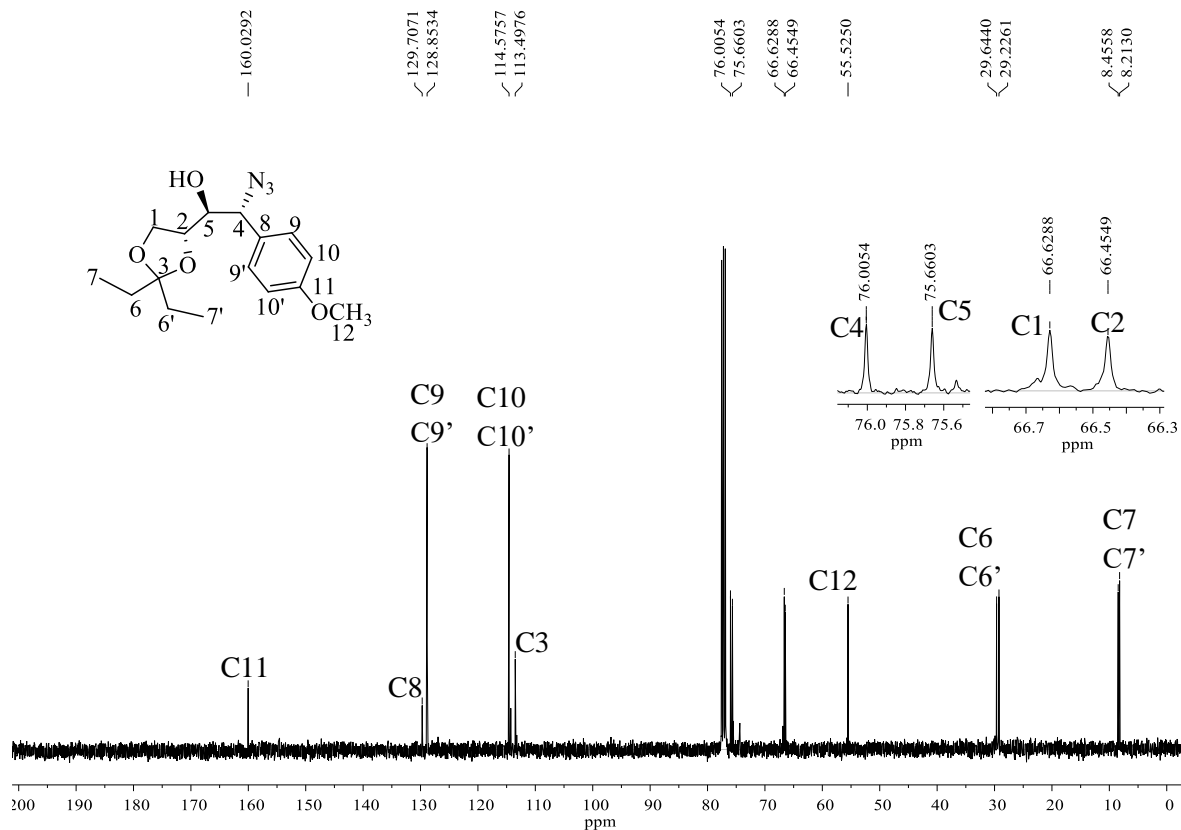
Anexo 50. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) diol minoritário (**80b**).



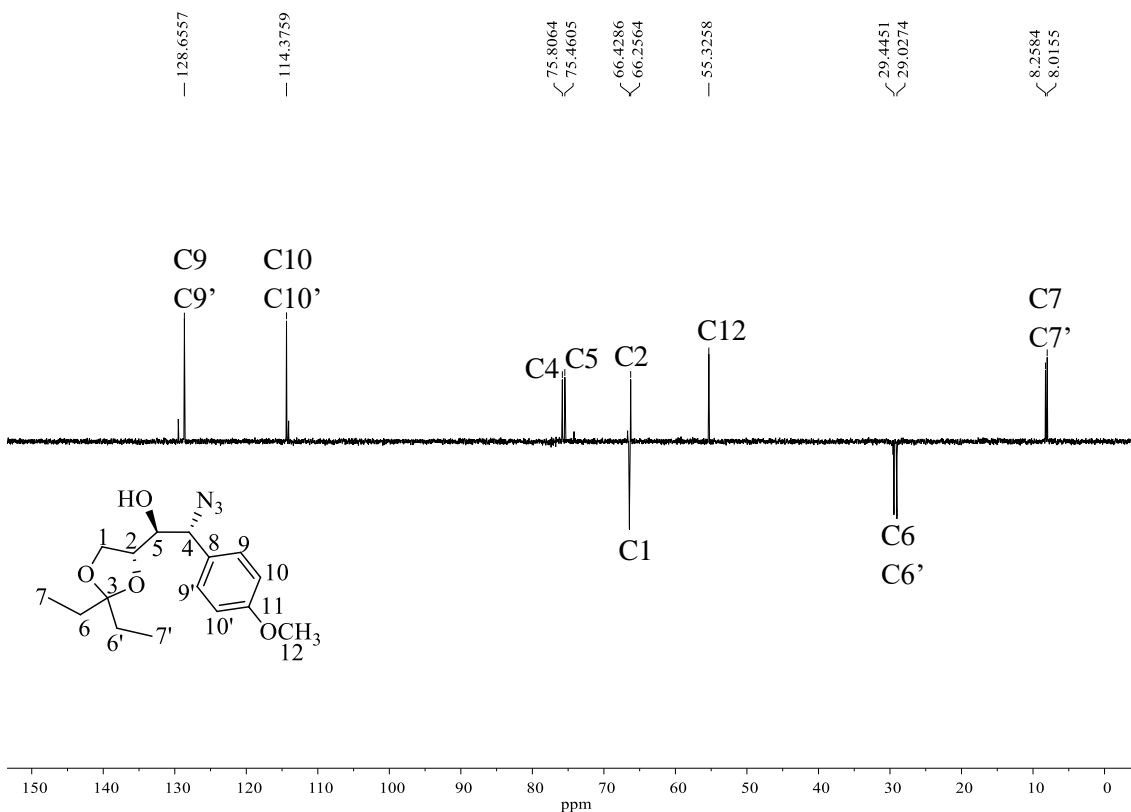
Anexo 51. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do sulfito **86**



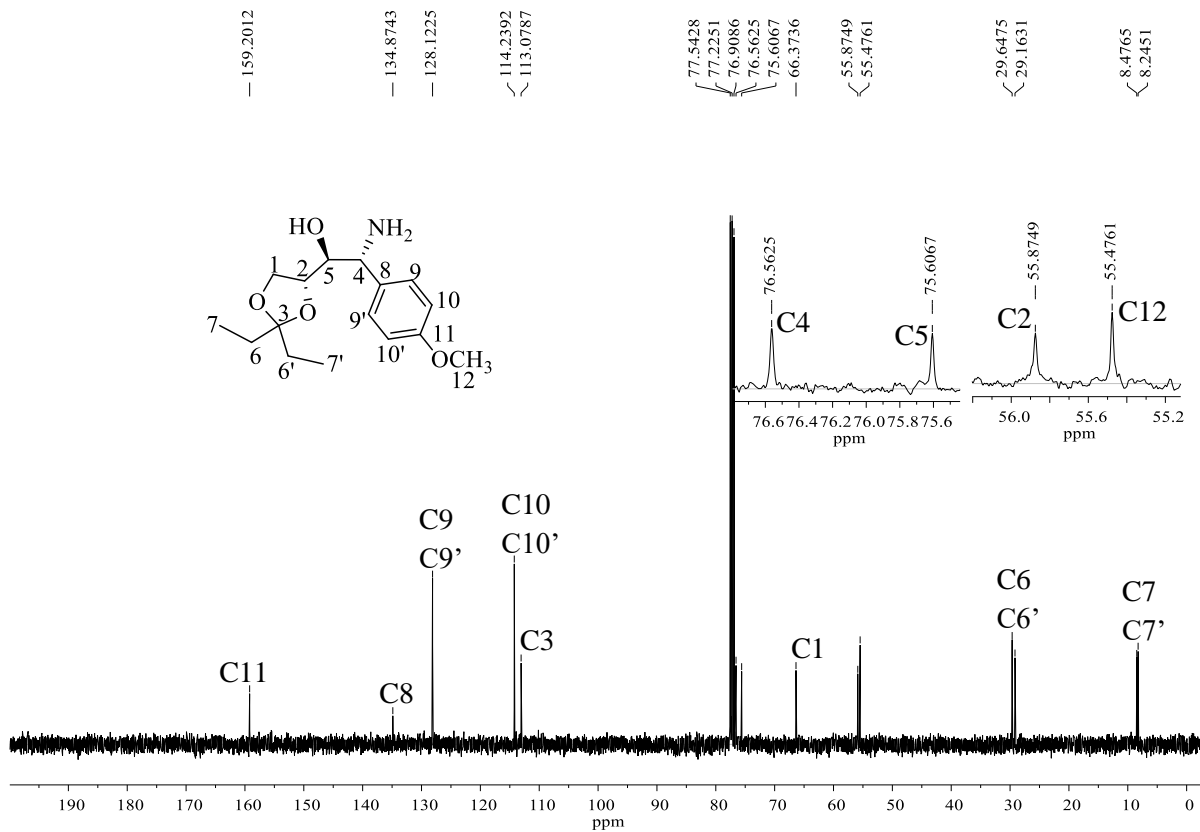
Anexo 52. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do sulfito **86**.



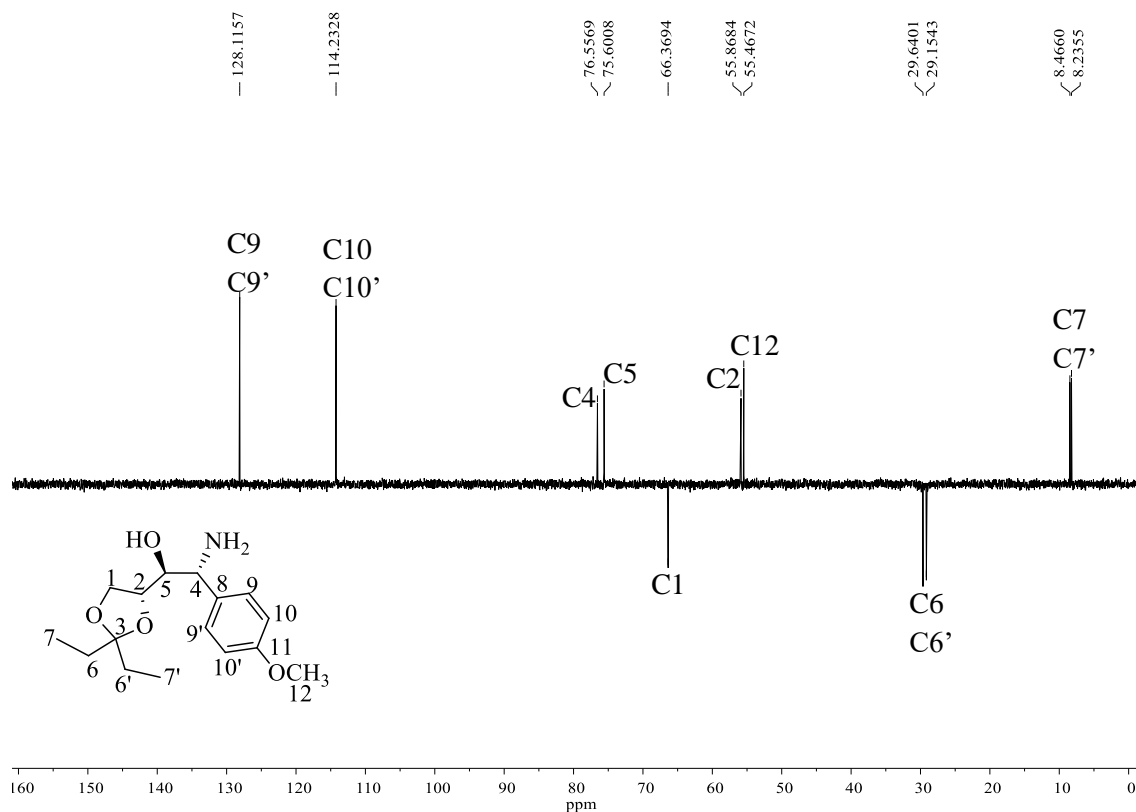
Anexo 53. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do azidoálcool **92**.



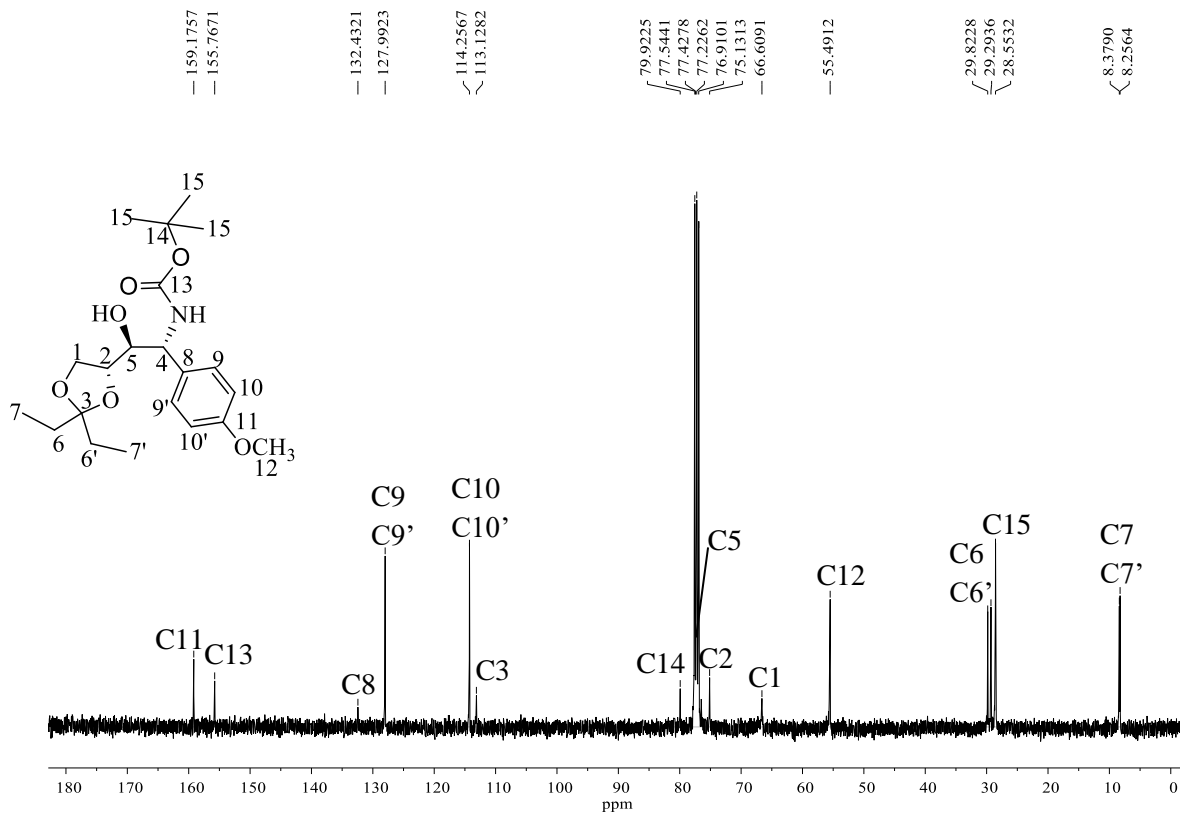
Anexo 54. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do azidoálcool **92**.



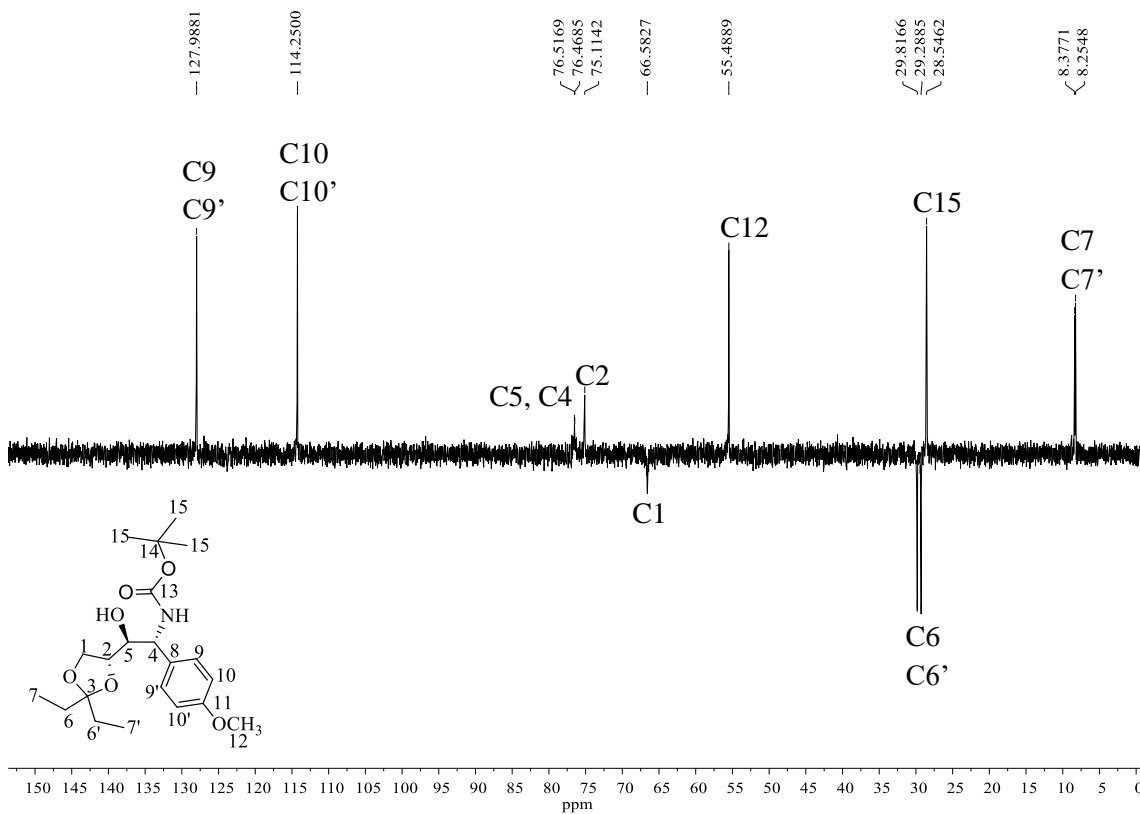
Anexo 55. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do aminoálcool **85**.



Anexo 56. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do aminoálcool **85**.

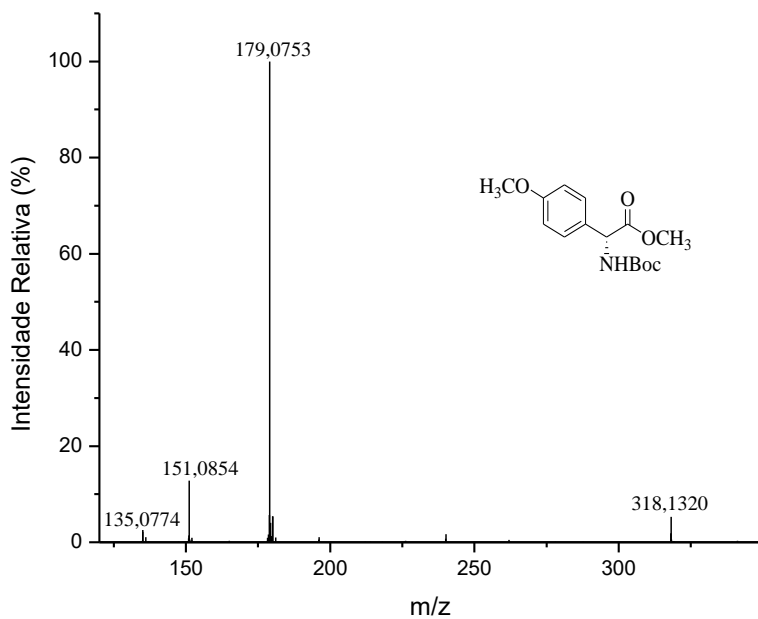


Anexo 57. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do aminoálcool *N*-Boc protegido **95**.

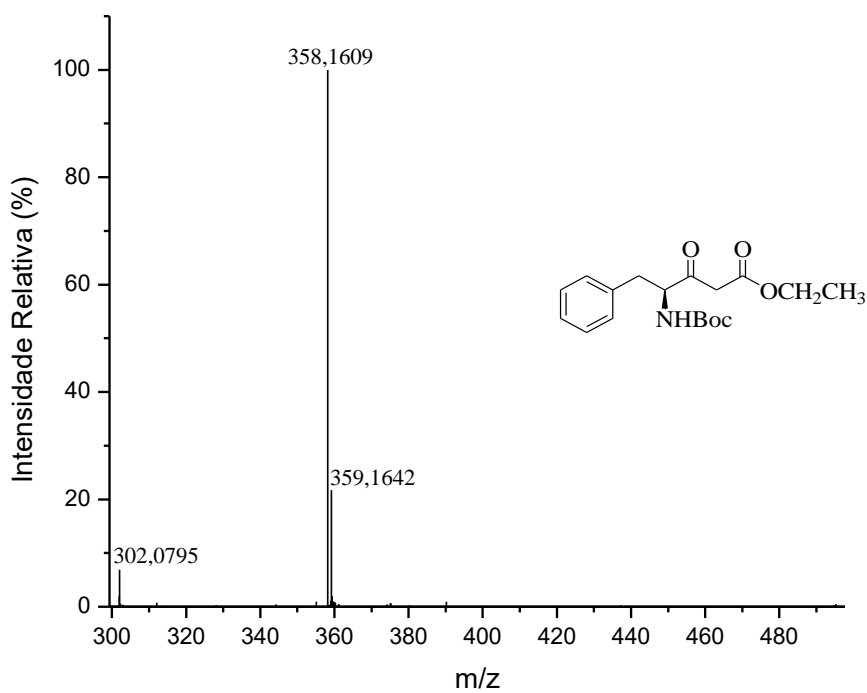


Anexo 58. Subespectro DEPT (100 MHz, CDCl_3) do aminoálcool *N*-Boc protegido **95**.

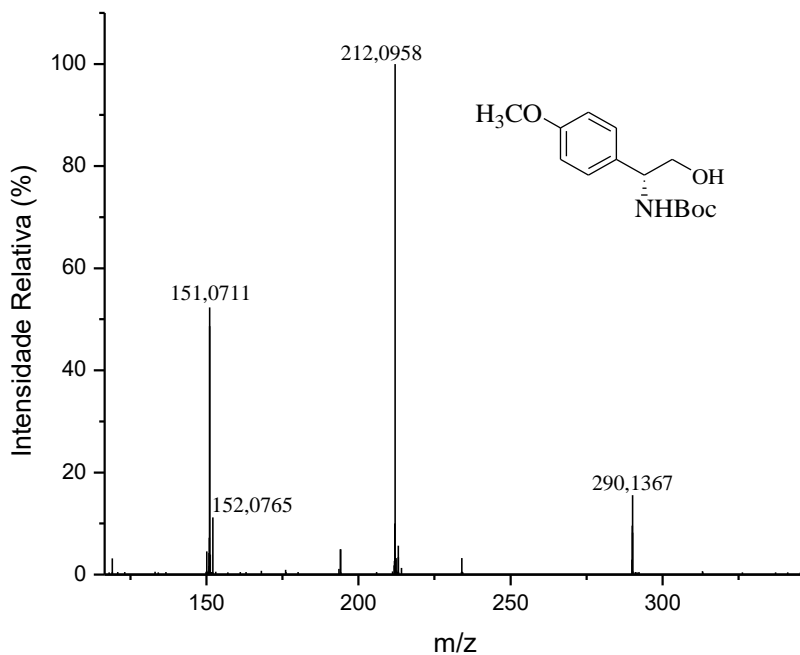
6.5. Espectros de massas de alta resolução referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE I



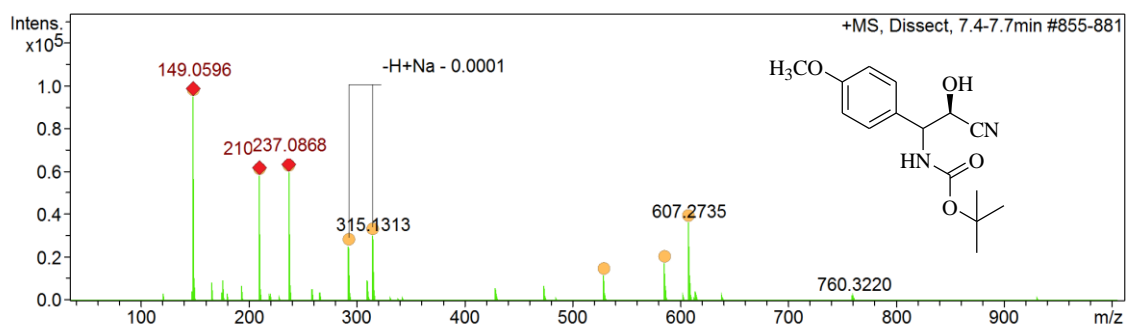
Anexo 59. Espectro de massas (ESI-MS) do éster **74**.



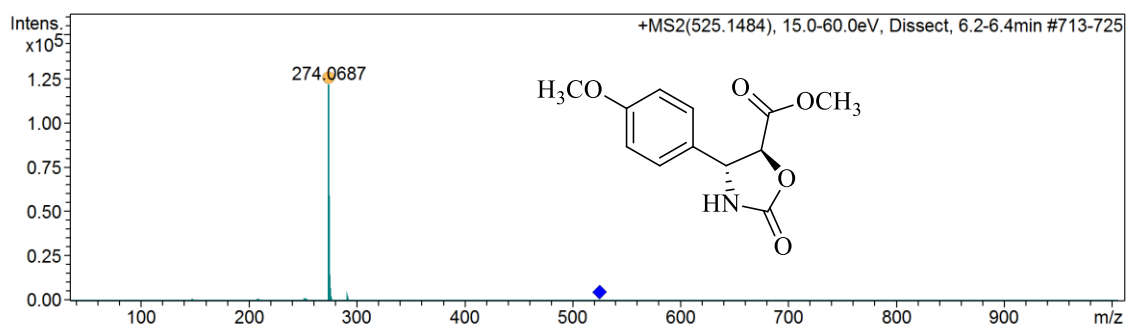
Anexo 60. Espectro de massas do β -cetoéster **78**.



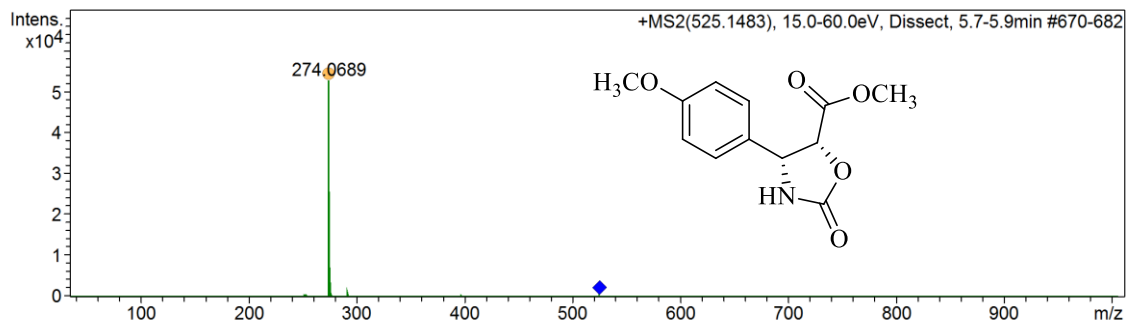
Anexo 61. Espectro de massas (ESI-MS) álcool **81**.



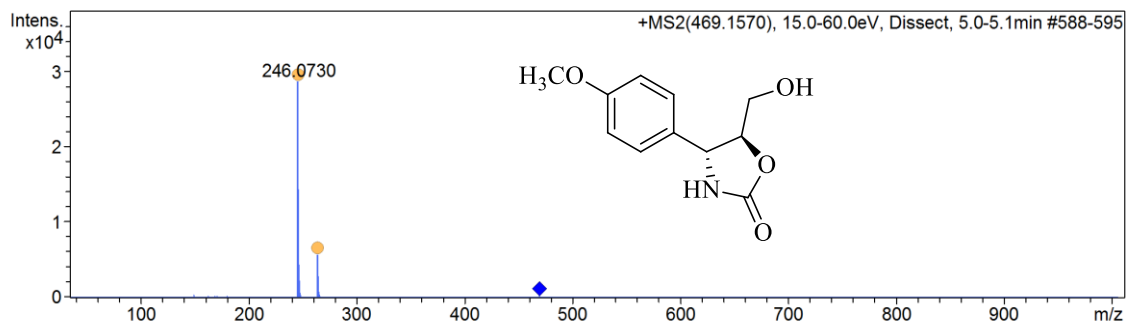
Anexo 62. Espectro de massas (ESI-MS) da mistura de cianodrinas **79a** e **79b**.



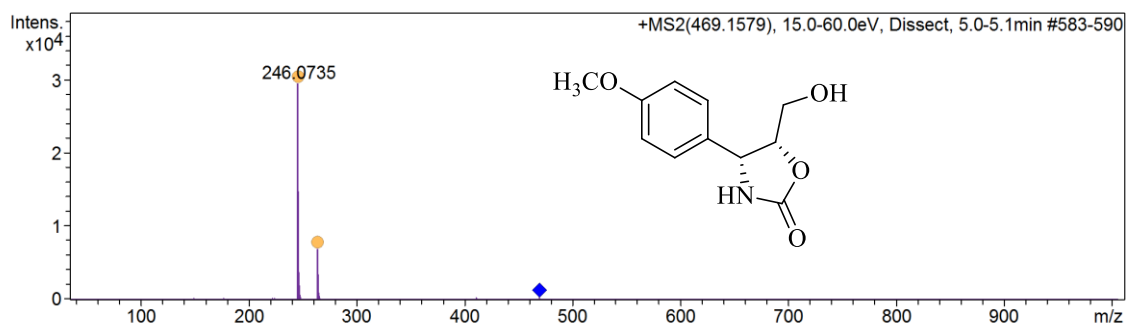
Anexo 63. Espectro de massas (ESI-MS) do éster **84**.



Anexo 64. Espectro de massas (ESI-MS) do éster **83**.

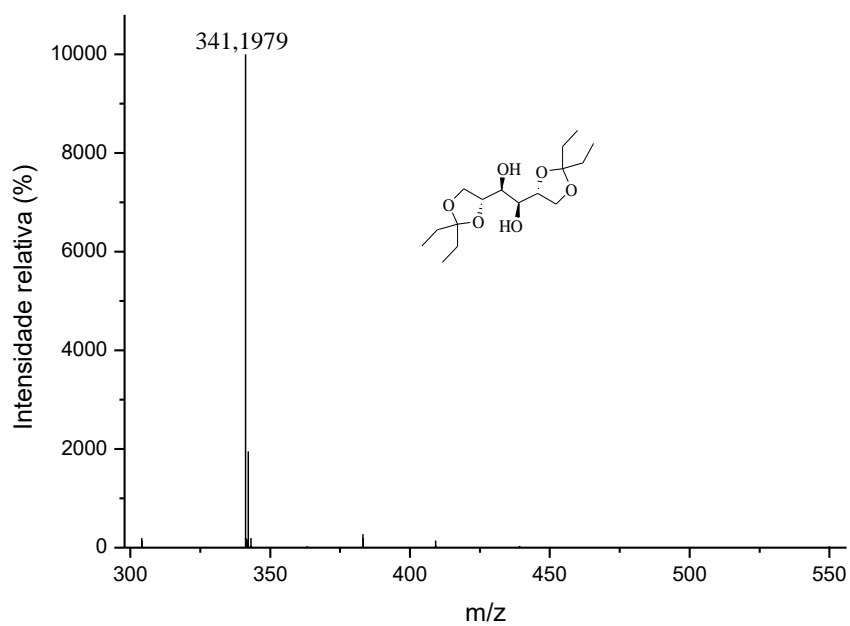


Anexo 65. Espectro massas (ESI-MS) da 5-*epi*-citoxazona.

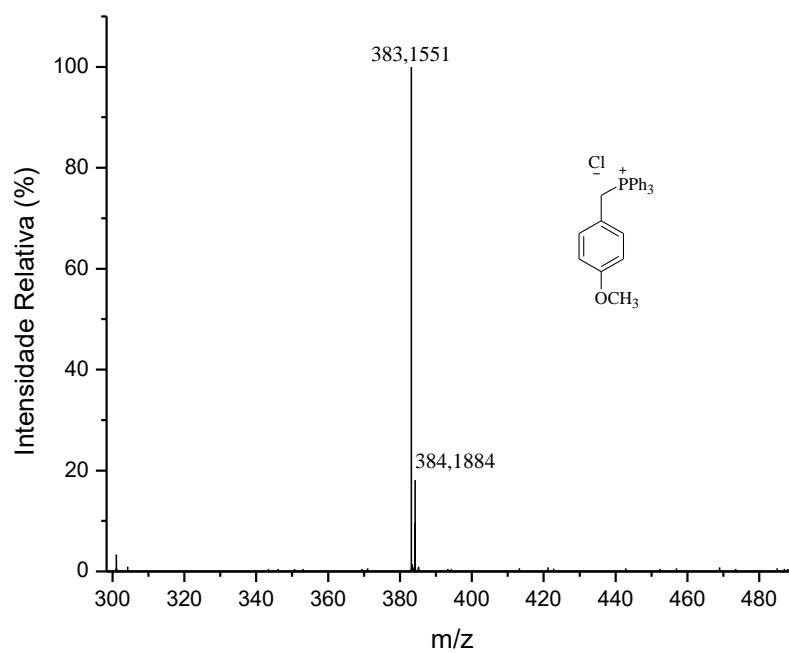


Anexo 66. Espectro massas (ESI-MS) da (-)-citoxazona.

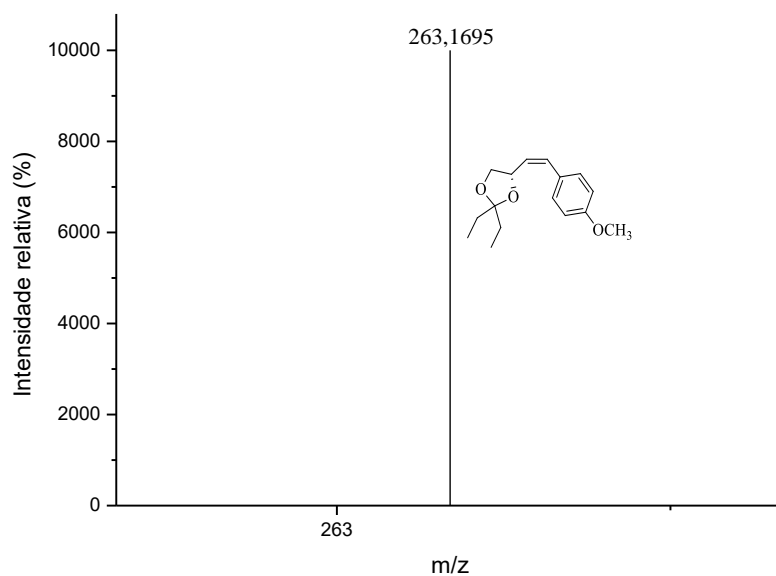
6.6. Espectros de massas de alta resolução referentes ao CAPÍTULO 1 – PARTE II



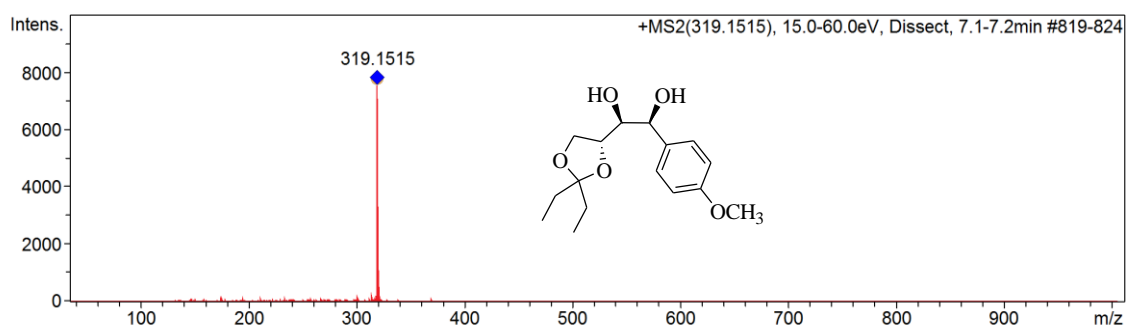
Anexo 67. Espectro massas (ESI-MS) do diol **91**.



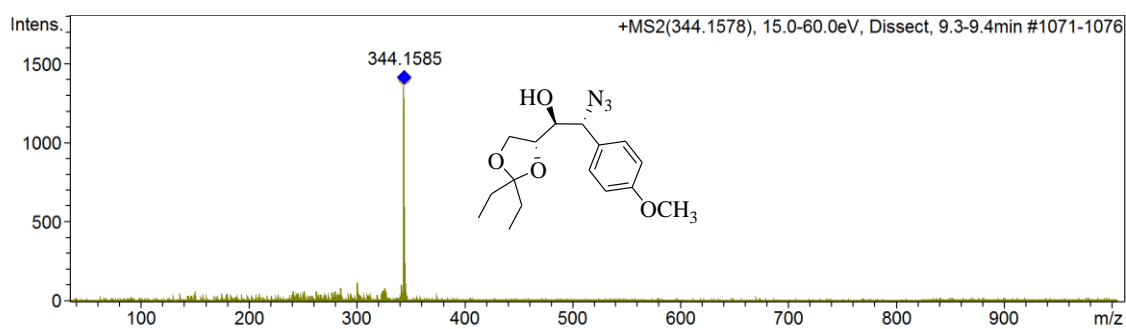
Anexo 68. Espectro massas (ESI-MS) do sal de Wittig **89**.



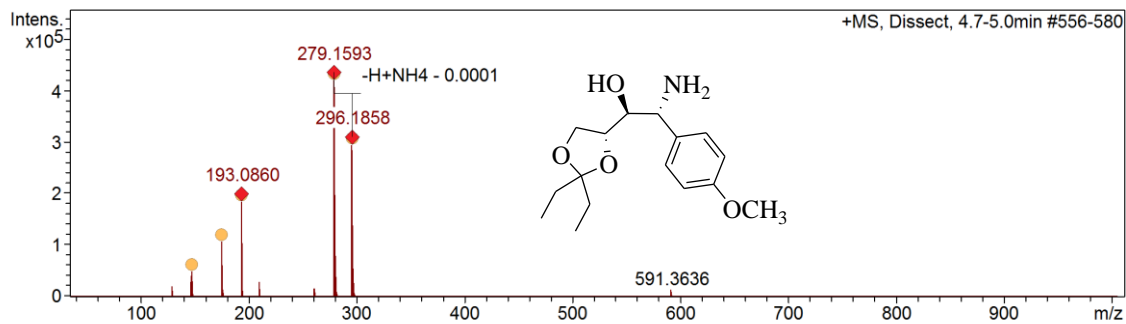
Anexo 69. Espectro massas (ESI-MS) da olefina **88a**.



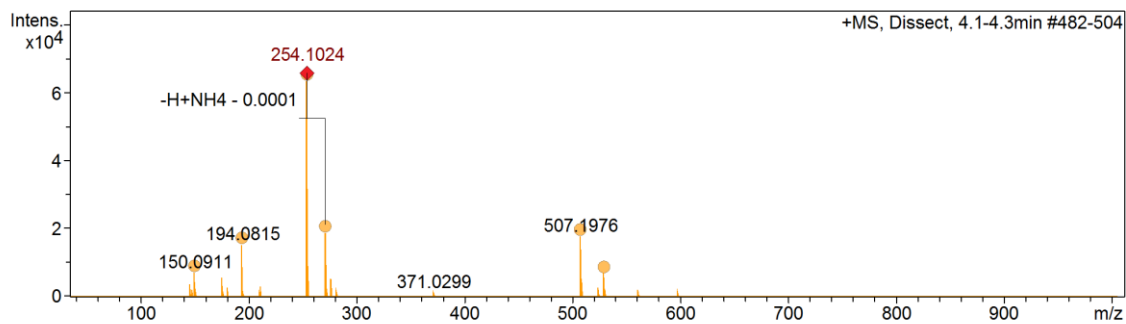
Anexo 70. Espectro massas (ESI-MS) do diol **87a**.



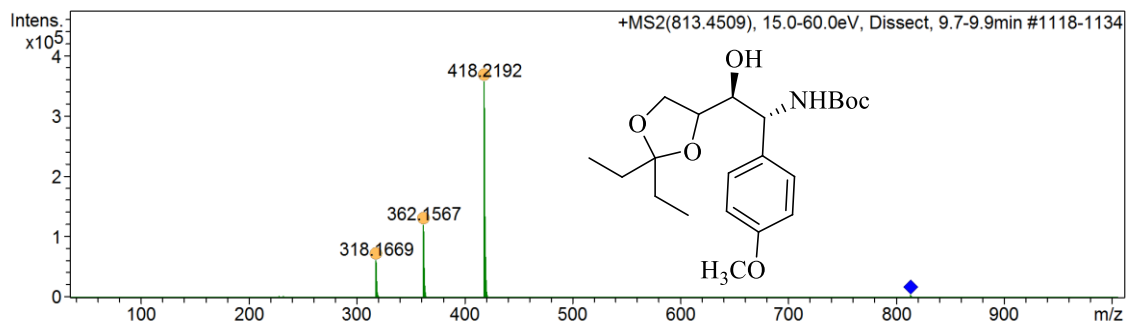
Anexo 71. Espectro de massas (ESI-MS) do azidoálcool **92**.



Anexo 72. Espectro massas (ESI-MS) do aminoálcool **85**.



Anexo 73. Espectro massas (ESI-MS) da oxazolidinona **93**.



Anexo 74. Espectro massas (ESI-MS) do aminoálcool *N*-Boc protegido **95**.

ARTIGOS REFERENTES A ESSE TRABALHO

Review

Synthesis Approaches to (–)-Cytosaxone, a Novel Cytokine Modulator, and Related Structures

Izabel L. Miranda ¹, Ítala K. B. Lopes ¹, Marisa A. N. Diaz ² and Gaspar Diaz ^{1,*}

¹ Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, Brazil; izabelmirandaqui@gmail.com (I.L.M.); italakariny@hotmail.com (I.K.B.L.)

² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 36570-000, Brazil; marisanogueira@ufv.br

* Correspondence: gaspardm@qui.ufmg.br or dmbras@hotmail.com; Tel: +55-31-3409-5728

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 26 July 2016; Accepted: 30 August 2016; Published: 6 September 2016

Abstract: (–)-Cytosaxone, originally isolated from cultures of a *Streptomyces* species has an oxazolidin-2-one 4,5-disubstituted ring. It is known that this natural product presents a cytokine modulator effect through the signaling pathway of Th2 cells (type 2 cytokines), which are involved in the process of growth and differentiation of cells. From this, the interest in the development of research aimed at the total synthesis of this molecule and its analogs has remained high, which can be confirmed by the large number of publications on the topic, more than 30 to date. This review focuses on the various creative methods for the synthesis of (–)-cytosaxone and its congeners. The assessment of the preparation of this oxazolidinone and related structures serves as a treatise on the efforts made in the synthesis of this important class of compound from its first total synthesis in 1999.

Keywords: (–)-cytosaxone; organic synthesis; stereoselective synthesis; biological activity; antimicrobial activities; cytokine modulator

1. Introduction

This review focuses on the various total synthesis strategies for the preparation of (–)-cytosaxone and its congeners. The assessment of the preparation of this oxazolidinone and related structures serves as a treatise on the efforts made in the synthesis of this class of compounds. Emphasis is placed on the literature since the first total synthesis in 1999 until mid-2016. Readers may also consult two excellent surveys of the building of oxazolidin-2-one rings by Rozwadowska et al. [1] and Zappia [2].

1.1. Compounds Containing 2-Oxazolidinone Structural Units and Biological Applications

New synthetic antimicrobial agents have been discovered from the preparation of a library of compounds of the oxazolidin-2-one family (Figure 1) by DuPont researchers [3,4], specifically exerting a bacteriostatic effect during *in vitro* and *in vivo* assays, using human pathogenic bacteria [3].

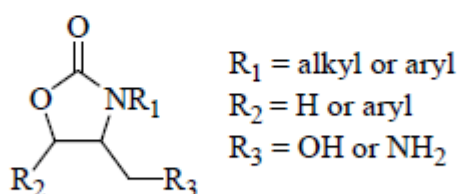


Figure 1. Antimicrobial oxazolidin-2-ones.

New Approach for the Stereoselective Synthesis of (+)-*epi*-CytosazoneIzabel L. Miranda,^a Suélen K. Sartori,^a Marisa A. N. Diaz^b and Gaspar Diaz-Muñoz^{*,a}^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais,
31270-901 Belo Horizonte-MG, Brazil^bDepartamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa,
36570-900 Viçosa-MG, Brazil

The stereoselective total synthesis of (+)-*epi*-cytosazone was performed satisfactorily in 8 steps, in 17% overall yield, via a novel route from 2,3-*O*-(3-pentylidene)-(*R*)-glyceraldehyde. The bulky group alkene-ketal allowed intramolecular control of the target molecule's asymmetric centers in the dihydroxylation step by promoting the approach of OsO₄ to the face opposite to that of the ketal group.

Keywords: cytosazone, *epi*-cytosazone, 2,3-*O*-(3-pentylidene)-(*R*)-glyceraldehyde, Wittig olefination, stereoselective dihydroxylation

Introduction

Oxazolidinones comprise a class of natural and synthetic compounds that exhibit antibacterial activity against a wide range of Gram-positive bacteria,^{1,2} such as methicillin- and vancomycin-resistant *Staphylococci*, vancomycin-resistant *Enterococci*, and penicillin-resistant anaerobes and *Pneumococci*. However, oxazolidinones have limited efficacy against Gram-negative bacteria.² Their mechanism of action, although not fully understood, is thought to be initiated by inhibition of the early stages of protein synthesis.¹

New synthetic antimicrobial agents were discovered by DuPont researchers from a library of compounds containing the oxazolidin-2-one nucleus, analogous to that of (–)-cytosazone (Figure 1).^{3,4} These compounds exhibited high bacteriostatic effect on human pathogenic bacteria in *in vitro* and *in vivo* tests.³

Although natural sources of compounds that contain the oxazolidin-2-one nucleus are very rare,⁵ Kakeya *et al.*⁶ were able to isolate a novel compound belonging to this class, (4*R*,5*R*)-5-hydroxymethyl-4-*p*-methoxyphenyl-1,3-oxazolidin-2-one, ((–)-cytosazone, Figure 1), from *Streptomyces* bacteria. Nakata and co-workers⁷ and Mori and Seki⁸ performed the first asymmetric total syntheses of (–)-cytosazone and thus confirmed its absolute configuration.

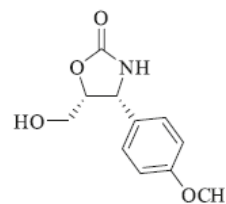


Figure 1. Chemical structure of (–)-cytosazone.

(–)-Cytosazone is a natural product that is important for the therapeutic arsenal currently available to treat many diseases. An example of its importance lies in its cytokine-modulating effect, associated with immunotherapeutic activities, as reported by Kakeya *et al.*⁹

Discovery of the biological potentialities of cytosazone by Kakeya's research group has leveraged the development of studies aimed at the synthesis of this compound, which is evidenced by the large number of publications on this topic, addressed in two important reviews published by Zappia *et al.*⁵ and Miranda *et al.*¹⁰

Like cytosazone, 4-*epi*- and 5-*epi*-cytosazone epimers have attracted the attention of the scientific community because of their pharmacological properties. Some interesting examples are given in racemic and enantioselective synthesis studies.¹¹⁻¹⁶

Lu *et al.*¹² developed a new protocol for the synthesis of (±)-*epi*-cytosazone that consists of a cascade of organocatalytic reactions between a sulfur ylide and a

*e-mail: gaspardm@qui.ufmg.br