

Gustavo Pozza Silveira

**SÍNTESE DE COMPOSTOS RE-SENSIBILIZADORES DE
BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS**

Florianópolis – SC

2006

Gustavo Pozza Silveira

**SÍNTESE DE COMPOSTOS RE-SENSIBILIZADORES DE
BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS**

Tese submetida ao Curso de Pós Graduação em
Química da Universidade Federal de Santa Catarina
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Marcus Mandolesi Sá

Co-Orientador: Prof. Dr. Faruk Nome

Florianópolis – SC

2006

SÍNTESE DE COMPOSTOS RE-SENSIBILIZADORES DE BACTÉRIAS RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS

Esta tese foi julgada e aprovada para obtenção do título de **Doutor em Química**
no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de
Santa Catarina

Florianópolis, 02 de junho de 2006.

Prof. Dr. Faruk Nome
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcus Mandolesi Sá
Orientador

Prof. Dr. Faruk Nome
Co-Orientador

Prof. Antônio Braga
(Dpto QMC-UFSM)

Prof. Dra. Maria da Graça
Nascimento

Prof. Dr. Cesar Zucco

Prof. Dr. Hugo Gallardo

“Não tenho medo das perguntas difíceis:
tenho pavor das respostas fáceis.”

A. Malcot

AGRADECIMENTOS

Em 1999 estava eu concluindo minha graduação em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina. Naquela época, trabalhava no laboratório de Química Bioinorgânica. Apesar de ainda possuir grande interesse pela química de compostos de coordenação, resolvi adentrar no mundo das substâncias orgânicas, mais precisamente na área da Química Sintética. Naquele momento, escolhi o grupo do Prof. Marcus Sá o qual me acolheu prontamente. Assim, em 2002, obtive o grau de mestre em Química sob orientação do Prof. Marcus. Devido ao sucesso de nossa parceria e por achar que ainda havia muito a aprender dentro desse grupo, optei por continuar sob sua orientação para desenvolvermos uma tese de doutorado. Sem dúvida, produzir uma tese de doutorado num grupo em consolidação dentro do Brasil, e mais especificamente fora de São Paulo, é um grande desafio. Assim, durante esses quatro anos, navegamos por inúmeros mares tortuosos. Mas através de um mutuo aprendizado, apreendendo constantemente um com o outro, chegamos ao nosso destino muito mais sabios do que naquele dia em que nos lançamos ao mar da ciência. Tenho certeza que fazemos uma parceria de sucesso, parceria esta que pode ser medida pelos três artigos que publicamos juntos e por muitos que estão próximos de serem publicados. Portanto, gostaria de agradecer ao Prof. Marcus por estes sete anos de convivência e aprendizagem tendo a certeza de que nossa parceria se estenderá por muitos outros anos.

Gostaria de agradecer também as inúmeras discussões científicas que tive com o Prof. Antônio Carlos Joussef. O prof. Joussef é um exemplo de pesquisador, daqueles que realmente veste a camisa da ciência, sempre entusiasmado em transmitir conhecimento e incansável na busca de novas descobertas. Sem dúvida, me espelharei muito nestas virtudes.

Não poderia deixar de, nesse momento, citar o meu amigo e colega de graduação Luciano Fernandes. Apesar das nossas inúmeras diferenças, o Luciano sempre foi uma pessoa paciente que buscou a harmonia de todos os presentes no laboratório. Citando o Luciano, eu gostaria de estender meus agradecimentos a todas as pessoas que fazem parte, ou fizeram, do grupo MESOLAB e LABSEAT: Lidiane, Tula, Márcia, Rodrigo, Juliana, Maikon,

Luciana, Sandro, Luciano Silva, Chumbinho e Kely pela agradável convivência que tivemos ao longo desses anos. E ainda, a Carla pela avaliação das capacidades anti-herpéticas dos compostos preparados e a Dona Marilene pela infinita paciência nas nossas aulas de inglês.

Estando dentro de um sistema onde os recursos são insuficientes, é, sem dúvida, de suma importância que todos se ajudem, algumas vezes emprestando solventes e reagentes, bem como cedendo equipamentos para realização de experimentos. Gostaria de agradecer a todas estas pessoas que acabaram contribuindo de forma direta ou indireta para que esta tese fosse realizada com sucesso, além da UFSC pelas instalações e do CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

Tendo passado tantos anos dentro desta instituição, não poderia deixar de citar algumas pessoas que foram muito importantes por terem me incentivado nas situações adversas, sendo confidentes e sem dúvida amigos como o Cristian, Leila, Alzete, Jerusa, Ricardo, Vanderlei, Deise, Tatuzeira, Peruqueira, Marlon, Daliana. Bem como, os meus amigos da academia: Cewerino, Cão Feroiz, Badalhoca, Da Baixa, Cojaque, Gambá Wagner, Rafael, Maluf, Murilo. E ainda, ao mextre Luiz e galera Natatorium, galera do Tênis, galera Nolimits, galera do Carionxi, galera da Dinâmica e da A.R.L.S. Fênix do Sul.

Finalmente, gostaria de agradecer a Andreza, bem como aos meus pais Eunice e José, que estiveram ao meu lado me dando apoio nos inúmeros momentos difíceis que atravessei durante esses quatro anos.

SUMÁRIO

ÍNDICE ANALÍTICO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS	1
1.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA E ANTIBIÓTICOS	2
1.3 MECANISMOS DE DEFESA BACTERIANA E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS	5
1.5 VANCOMICINA: MODO DE AÇÃO E A RESISTÊNCIA BACTERIANA	8
1.6 ESTRATÉGIAS PARA CONTRA-ATACAR A RESISTÊNCIA À VANCOMICINA	11
1.7 PEQUENAS MOLÉCULAS QUE ATUAM EM SINERGIA COM VANCOMICINA	13
1.8 TRIAGEM DE NUCLEÓFILOS UTILIZANDO QUÍMICA COMBINATÓRIA	13
1.8.1 <i>Química Combinatória</i>	13
1.8.2 <i>Preparação de Pequenas Moléculas que Atuam em Sinergia com a vancomicina</i>	15
1.9 SÍNTESE DE AGENTES HIDROLÍTICOS MAIS EFICIENTES – EFEITO α	18
1.10 METODOLOGIAS SINTÉTICAS PARA SÍNTESE DE DEPSIPEPTÍDEOS	19
1.10.1 <i>Síntese dos Depsipeptídeos Modelo</i>	20
1.10.1.1 Síntese dos Depsipeptídeos em uma Etapa	20
1.10.1.2 Metodologia Geral para Síntese dos Depsipeptídeos	21
1.11 METODOLOGIAS PARA SÍNTESE DOS AGENTES HIDROLÍTICOS E OCORRÊNCIAS NATURAIS	23
1.11.1 <i>N-Hidroxilaminas</i>	23
1.11.1.1 Substituição Nucleofílica em α -Haloácidos	23
1.11.1.2 Adição de Cianeto em Aldoxima e Cetoximas	25
1.11.1.3 Redução de Oximas	26
1.11.2 <i>Ácidos Hidroxâmicos</i>	27
1.11.2.1 Sideróforos	28
1.11.2.2 Inibidores da enzima conversora de angiotensina	29
1.11.2.3 Inibidores da peptido deformilase (PDF)	29
1.11.2.4 Inibidores de Matrix metaloproteinases (MMPs)	30
1.11.2.5 Metodologias para Síntese de Ácidos Hidroxâmicos	31
2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS DA TESE	32
2.1 SÍNTESE DE MODELOS DE PEPTIDOGLICANO ALTERADO	32
2.2 SÍNTESE DE AGENTES HIDROLÍTICOS MAIS EFICIENTES	34
2.3 OBJETIVOS GERAIS DA TESE	35
2.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DA TESE	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1 SÍNTESE DOS DEPSIPEPTÍDEOS	37
3.1.1 <i>Tentativas de Síntese dos Depsipeptídeos em uma Etapa</i>	37
3.1.2 <i>Tentativas de Síntese do Depsipeptídeo em Duas e Três Etapas</i>	39

3.1.3 Síntese dos Depsipeptídeos Através da Preparação dos Respectivos Ésteres Benzílicos.....	44
3.2 AGENTES HIDROLÍTICOS DE CADEIA ABERTA CONTENDO O GRUPO HIDROXILAMINA.....	49
3.2.1 Preparação de N-Hidroxilaminas por Substituição Nucleofílica SN_2	50
3.2.2 Preparação de N-Hidroxilaminas via Nitronas.....	51
3.2.3 Adição de Cianeto em Aldoxima e Cetoximas.....	54
3.2.4 Preparação de Oximas e Redução para N-Hidroxilaminas.....	56
3.2.4.1 Oximas e Hidroxilaminas Aromáticas.....	56
3.2.4.2 Oximas e Hidroxilaminas Alifáticas.....	63
3.2.5 Preparação de Ácidos hidroxâmicos.....	64
3.3 DERIVADOS DA PROLINA COMO AGENTES HIDROLÍTICOS.....	67
3.3.1 Preparação da Prolina Oxima (104).....	68
3.3.1.1 Observações Sobre a Utilização de $NaBH_3CN$ nas Reduções de Oximas.....	79
3.3.2 Preparação do Ácido Prolina Hidroxâmico (106).....	82
3.3.3 Tentativa de Acilação dos Derivados da Prolina.....	86
3.3.4 Acilação dos Derivados da Prolina por uma Rota Mais Viável.....	87
3.3.5 Alquilação dos Derivados da Prolina.....	89
3.4 PERSPECTIVAS E PROPOSTAS.....	92
3.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	93
4 PARTE EXPERIMENTAL.....	97
4.1 INSTRUMENTAÇÃO E REAGENTES.....	97
4.2 DERIVADOS DE DEPSIPEPTÍDEOS.....	97
4.3 OXIMAS.....	104
4.3 HIDROXILAMINAS.....	109
4.5 PROLINAS.....	115
5. CONCLUSÕES.....	120
6. REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS.....	122
ANEXO – ESPECTROS.....	131
DEPSIPEPTÍDEOS.....	134
OXIMAS.....	157
HIDROXILAMINAS.....	174
ÁCIDO HIDROXÂMICO.....	187
DERIVADOS DA PROLINA.....	188

ÍNDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 - SÍNTESE BIOQUÍMICA DO PEPTIDOGLICANO.	10
ESQUEMA 2 - SÍNTESE DE MODELOS DA PORÇÃO TERMINAL D-ALA-D-ALA E D-ALA-D-LAC.	11
ESQUEMA 3 - DERIVADO COLORIDO DE D-ALA-D-LAC UTILIZADO NA TRIAGEM FEITA A PARTIR DE NUCLEÓFILOS PREPARADOS POR QUÍMICA COMBINATÓRIA CAPAZES DE HIDROLISAR A LIGAÇÃO D- ALA-D-LAC.	15
ESQUEMA 4 - SÍNTESE, EM UMA ETAPA, DO DEPSIPEPTÍDEO ALVO 8.	20
ESQUEMA 5 - ACILAÇÃO DE ÁLCOOIS COM ANDRIDOS DE ÁCIDO.	21
ESQUEMA 6 - MECANISMO DE ACOPLAMENTO DE ÁLCOOIS E ÁCIDOS CARBOXÍLICOS UTILIZANDO CARBODIIMIDA.	22
ESQUEMA 7 - SÍNTESE GERAL DE DEPSIPEPTÍDEOS.	22
ESQUEMA 8 - SÍNTESE DE <i>N</i> -HIDROXI- α -AMINOÁCIDOS A PARTIR DE SUBSTITUIÇÃO NUCLEOFÍLICA DE α - BROMOÁCIDOS OU ÉSTERES.	23
ESQUEMA 9 - SÍNTESE DE <i>N</i> -HIDROXI- α -AMINOÁCIDOS A PARTIR DA NITRONA 19.	25
ESQUEMA 10 - FORMAÇÃO DE <i>N</i> -HIDROXI- α -AMINOÁCIDOS ATRAVÉS DA ADIÇÃO DE CIANETO EM ALDOXIMAS OU CETOXIMAS E POSTERIOR HIDRÓLISE ÁCIDA.	25
ESQUEMA 11 - PREPARAÇÃO DE <i>N</i> -HIDROXILAMINOÁCIDOS 25 POR REDUÇÃO COM BH_3CN^-	26
ESQUEMA 12 - DEPENDÊNCIA DO pH REACIONAL NAS REDUÇÕES DE OXIMAS COM BH_3CN^-	26
ESQUEMA 13 - MECANISMO PARA REDUÇÃO DE OXIMAS COM BH_3CN^-	27
ESQUEMA 14 - METODOLOGIA GERAL PARA SÍNTESE DE DERIVADOS DE ÁCIDOS HIDROXÂMICOS.	31
ESQUEMA 15 - ROTA SINTÉTICA ALTERNATIVA PARA SÍNTESE DE DERIVADOS DE ÁCIDOS HIDROXÂMICOS UTILIZANDO TCT.	31
ESQUEMA 16 - SÍNTESE DE DERIVADOS DE ÁCIDOS HIDROXÂMICOS VIA HIDROXILAMINÓLISE DE ÉSTERES.	31
ESQUEMA 17 - ROTA SINTÉTICA DESENVOLVIDA POR CHIOSIS E BONECA PARA A PREPARAÇÃO DO DERIVADO <i>p</i> -NO ₂ BZ-D-ALA-D-LAC 32.	33
ESQUEMA 18 - DOSEAMENTO DE LACTATO.	34
ESQUEMA 19 - SÍNTESE DO DEPSIPEPTÍDEO DERIVADO DO ÁCIDO HIPÚRICO EM UMA ETAPA.	38
ESQUEMA 20 - TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DO DEPSIPEPTÍDEO DERIVADO DO ÁCIDO HIPÚRICO EM DUAS ETAPAS.	40
ESQUEMA 21 - TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DO DEPSIPEPTÍDEO 45 VIA CLORETO ÁCIDO.	40
ESQUEMA 22 - PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES 45 E 47 UTILIZANDO DCC COMO AGENTE DE ACOPLAMENTO.	41
ESQUEMA 23 - TENTATIVA DE HIDRÓLISE SELETIVA DO ÉSTER ETÍLICO 45 E METÍLICO 47.	41
ESQUEMA 24 - PREPARAÇÃO DO METIL ÉSTER 50 EMPREGANDO DIC COMO AGENTE DE ACOPLAMENTO.	43
ESQUEMA 25 - DESPROTEÇÃO SELETIVA DO ÉSTER METIL UTILIZANDO LiBr.	43
ESQUEMA 26 - TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DO BENZIL DEPSIPEPTÍDEO POR TRANSESTERIFICAÇÃO.	44
ESQUEMA 27 - PREPARAÇÃO DO L-LACTATO DE BENZILA 53.	45
ESQUEMA 28 - PREPARAÇÃO DO BENZIL ÉSTER DEPSIPEPTÍDEO 54 DERIVADO DA ALANINA.	46
ESQUEMA 29 - SÍNTESE DO DEPSIPEPTÍDEO MODELO 51 POR HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA.	46
ESQUEMA 30 - METODOLOGIA GERAL PARA SÍNTESE DE DEPSIPEPTÍDEOS MODELO.	47

ESQUEMA 31 - CLIVAGEM DA PORÇÃO LAC POR AGENTES HIDROLÍTICOS DE CADEIA ABERTA.....	49
ESQUEMA 32 - TENTATIVA DE SÍNTESE DA AMINO- <i>N</i> -HIDROXILAMINA POR SUBSTITUIÇÃO NUCLEOFÍLICA.	50
ESQUEMA 33 - PREPARAÇÃO DA NITRONA DERIVADA DA BENZALDEÍDO OXIMA PARA SÍNTESE DE <i>N</i> - HIDROXILAMINAS.	51
ESQUEMA 34 - TENTATIVA DE REAÇÃO ENTRE A Z-FURFURAL OXIMA (60) E ÁCIDO-2-BROMOACÉTICO (62).	53
ESQUEMA 35 - PREPARAÇÃO DA NITRONA 64 E TENTATIVA DE HIDRÓLISE.	53
ESQUEMA 36 - TENTATIVA DE HIDRÓLISE DA NITRONA 64.	53
ESQUEMA 37 - DESCARBOXILAÇÃO DE <i>N</i> -HIDROXI- α -AMINOÁCIDOS.....	54
ESQUEMA 38 - PREPARAÇÃO DO <i>N</i> -HIDROXILAMINOÁCIDO 66.	55
ESQUEMA 39 - TENTATIVA DE ADIÇÃO DE CIANETO NA DIMETILAMINO ACETOXIMA (68).....	55
ESQUEMA 40 - TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DE 70 DERIVADO DO FORMALDEÍDO.....	55
ESQUEMA 41 - SÍNTESE GERAL DE OXIMAS AROMÁTICAS 59, 71-75.....	56
ESQUEMA 42 - ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA PREPARAÇÃO DAS <i>N</i> -ARIL HIDROXILAMINAS 81-85.....	57
ESQUEMA 43 - <i>N,N</i> -DI-BENZIL HIDROXILAMINA (86).....	58
ESQUEMA 44 - REDUÇÃO DA OXIMA 75 PARA RESPECTIVA AMINA 88 COM NaBH_4	59
ESQUEMA 45 - PREPARAÇÃO DO HIDROCLORETO DA PIRIDINA METIL <i>N</i> -HIDROXILAMINA (89).	60
ESQUEMA 46 - MÉTODO ALTERNATIVO PARA SÍNTESE DA PIRIDINA METIL <i>N</i> -HIDROXILAMINA (88).	60
ESQUEMA 47 - SÍNTESE DA <i>O</i> -BENZIL HIDROXILAMINA (90).	61
ESQUEMA 48 - TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DA PIRIDINA METIL- <i>O</i> -BENZIL-HIDROXILAMINA (93).....	62
ESQUEMA 49 - TENTATIVA DE REDUÇÃO DA DIMETILAMINO OXIMA 68 COM NaBH_3CN	63
ESQUEMA 50 - PREPARAÇÃO DA <i>N</i> -ISOPROPIL HIDROXILAMINA (97).	63
ESQUEMA 51 - PREPARAÇÃO DO ÁCIDO GLIOXÍLICO OXIMA (97).....	64
ESQUEMA 52 - SÍNTESE DO BOC-ALANINA ÁCIDO HIDROXÂMICO (101).	65
ESQUEMA 53 - PREPARAÇÃO DO ÁCIDO BOC-ALA HIDROXÂMICO POR UMA ROTA ALTERNATIVA.....	66
ESQUEMA 54 - ROTAS SINTÉTICAS PARA PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS DE PROLINAS.....	67
ESQUEMA 55 - PREPARAÇÃO DE ALDEÍDOS VIA REDUÇÃO DE ÁCIDOS CARBOXÍLICO.	69
ESQUEMA 56 - ROTA SINTÉTICA ESCOLHIDA PARA SÍNTESE DA PROLINA OXIMA (104).	69
ESQUEMA 57 - PREPARAÇÃO DA 2-CLORO-4,6-DI-METOXI-1,3- TRIAZINA (118).	70
ESQUEMA 58 - PREPARAÇÃO DO BOC-ALDEÍDO VIA REDUÇÃO DO ÁCIDO 115.....	70
ESQUEMA 59 - PREPARAÇÃO DA BOC-PROLINA OXIMA (103).	74
ESQUEMA 60 - PREPARAÇÃO DA PROLINA OXIMA (104).	78
ESQUEMA 61 - PREPARAÇÃO DA PROLINA <i>N</i> -HIDROXILAMINA (120).....	82
ESQUEMA 62 - SÍNTESE DO ÁCIDO BOC-PROLINA HIDROXÂMICO (105).....	82
ESQUEMA 63 - SÍNTESE DO ÁCIDO HIDROXÂMICO 105 PELA ROTA ALTERNATIVA.	83
ESQUEMA 64 - TESTE PARA IDENTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS HIDROXÂMICOS COM FeCl_3	83
ESQUEMA 65 - SÍNTESE DO ÁCIDO PROLINA HIDROXÂMICO (106).	84
ESQUEMA 66 - TENTATIVAS DE ACOPLAMENTO DA OXIMA 104 E DO ÁCIDO HIDROXÂMICO 106.	86
ESQUEMA 67 - ROTA SINTÉTICA PROPOSTA PARA SÍNTESE DE <i>N</i> -ACIL PROLINA DERIVADOS.	87
ESQUEMA 68 - SÍNTESE DO DERIVADO BOC-ALA-PRO BENZIL ÉSTER (130).	88

ESQUEMA 69 - PREPARAÇÃO DA BOC-ALA-PRO (131) POR HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA.....	88
ESQUEMA 70 - SÍNTESE DA BOC-ALA-PRO ÁCIDO HIDROXÂMICO (132).	89
ESQUEMA 71 - ROTA SINTÉTICA ALTERNATIVA PARA SÍNTESE DA ALA-PRO OXIMA DERIVADOS.	89
ESQUEMA 72 - ROTA SINTÉTICA PARA PREPARAÇÃO DO ÁCIDO DI-HIDROXÂMICO 136.	89
ESQUEMA 73 - SÍNTESE DO DI-METIL ÉSTER 135 POR ADIÇÃO DE MICHAEL.	90
ESQUEMA 74 - TENTATIVA DE SÍNTESE DO ÁCIDO DI-HIDROXÂMICO 136 DERIVADO DA PROLINA.....	91
ESQUEMA 75 - ESQUEMA ALTERNATIVO PARA PREPARAÇÃO DE COMPOSTO ALVO 139 E 140.	92

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - BACTÉRIAS CORADAS PELO MÉTODO DE GRAM.....	2
FIGURA 2 - ANTIBIÓTICOS CLÁSSICOS.	3
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL DO ANTIBIÓTICO GLICOPEPTÍDICO VANCOMICINA, DESTACANDO OS SETE AMINOÁCIDOS AA-1,...,AA-7 E OS CINCO ANÉIS AROMÁTICOS A, B, C, D, E PRESENTES.	4
FIGURA 4 - (A) ANTIBIÓTICO QUINUPRISTINA-DALFOPRISTINA (B) ANTIBIÓTICOS FLUOROQUINOLÔNICOS CIPROFLOXACINA E MOXIFLOXACINA.	7
FIGURA 5 - ANTIBIÓTICO TEICOPLANINA.	8
FIGURA 6 (A) - LIGAÇÕES ENTRE A VANCOMICINA E A PORÇÃO D-ALA-D-ALA TERMINAL NO PRECURSOR DE PEPTIDOGLICANO (B) INTERAÇÃO ELETROSTÁTICA REPULSIVA ENTRE A VANCOMICINA E A PORÇÃO MODIFICADA D-ALA-D-LAC DO PEPTIDOGLICANO.	10
FIGURA 7 - PEPTÍDEO 2 E ESTUDO COMPUTACIONAL REALIZADO PARA FORMAÇÃO DE UM COMPLEXO ENTRE O PEPTÍDEO 2 E D-ALA-D-LAC.	16
FIGURA 8 - DERIVADOS DE PROLINOL SINTETIZADOS POR CHIOSIS E BONECA.	17
FIGURA 9 - <i>N</i> -ACIL PROLINOL QUE APRESENTOU OS MELHORES RESULTADOS DE CIM.....	17
FIGURA 10 - EXEMPLOS DE α -NUCLEÓFILOS.	18
FIGURA 11 - α -NUCLEÓFILOS.....	19
FIGURA 12 - DERIVADOS DE ALA-LAC QUE PODERÃO SER UTILIZADOS COMO MODELOS MIMÉTICOS DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS QUE POSSUEM O PEPTIDOGLICANO MODIFICADO.	20
FIGURA 13 - <i>N</i> -HIDROXILAMINAS DE OCORRÊNCIA NATURAL.....	24
FIGURA 14 - FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO INTRAMOLECULAR.	24
FIGURA 15 - ESTRUTURA GERAL DAS MICOBACTINAS, OS QUAIS SÃO SIDERÓFOROS RESPONSÁVEIS PELO CRESCIMENTO DAS MICOBACTÉRIAS.	29
FIGURA 16 - CAPTOPRIL E ÁCIDO HIDROXÂMICO DERIVADO DO CAPTOPRIL.	29
FIGURA 17 - POTENTE INIBIDOR DE PDF DERIVADO DE PROLINA ÁCIDO HIDROXÂMICO CONTENDO MODERADA ATIVIDADE ANTI-BACTERIANA.	30
FIGURA 18 - POTENTES INIBIDORES DE MMPS.	30
FIGURA 19 - ESTRUTURA GERAL DOS DEPSIPEPTÍDEOS A SEREM PREPARADOS.	37
FIGURA 20 - ESTRUTURA GERAL DE MOLÉCULAS CONTENDO UM NUCLEÓFILO E GRUPO QUE ATUE COMO BASE.	49
FIGURA 21 - ESTRUTURA GERAL DE <i>N</i> -HIDROXILAMINOÁCIDOS.....	49
FIGURA 22 - ATAQUE NUCLEOFÍLICO DA (<i>Z</i>)- E (<i>E</i>)-BENZALDOXIMAS EM HALETOS DE ALQUILA.	52
FIGURA 23 - FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO NA (<i>Z</i>)-FURFURALDOXIMA 60 TORNA ESTE ISÔMERO O TERMODINAMICAMENTE MAIS ESTÁVEL.	52
FIGURA 24 - DERIVADOS DA PROLINA PREPARADOS POR CHIOSIS E BONECA.	67
FIGURA 25 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA PLACA CROMATOGRÁFICA UTILIZADA PARA CONTROLE DA FORMAÇÃO DO BOC-PROLINAL (102).....	71
FIGURA 26 - HIDROGÊNIO DE ALDEÍDO PARA OS ROTÂMEROS DO BOC-PROLINAL (102) (RMN- ¹ H 400 MHz, CDCl ₃).	72

FIGURA 27- ESPECTRO DE RMN- ¹ H (400 MHz EM CDCl ₃) PARA BOC-PROLINAL (102).	73
FIGURA 28 - PROPOSTAS PARA AS PRINCIPAIS FRAGMENTAÇÕES DO BOC-PROLINAL (102).	73
FIGURA 29 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA PLACA CROMATOGRÁFICA UTILIZADA PARA CONTROLE DA FORMAÇÃO DA BOC-PROLINALDOXIMA (103)	74
FIGURA 30 - ESPECTRO DE IV (CM ⁻¹ , FILME) PARA BOC-PROLINA OXIMA (103).	74
FIGURA 31 - ESPECTRO DE IV (KBr, CM ⁻¹) PARA BOC-PROLINA OXIMA (103).	75
FIGURA 32 - ESPECTRO DE RMN- ¹ H EM (400 MHz, CDCl ₃) PARA BOC-PROLINA OXIMA (103) AMOSTRA SÓLIDA.....	76
FIGURA 33 - ESPECTRO DE RMN- ¹ H EM (400 MHz, D ₂ O) PARA BOC-PROLINA OXIMA 103 AMOSTRA SÓLIDA.....	76
FIGURA 34 - ESPECTRO DE RMN- ¹³ C EM (100 MHz, D ₂ O) PARA BOC-PROLINA OXIMA (103) AMOSTRA SÓLIDA.....	77
FIGURA 35 - PROPOSTAS DE FRAGMENTAÇÕES NO EM PARA O BOC-PROLINA OXIMA (103).	78
FIGURA 36 - ESPECTRO DE IV (CM ⁻¹ , FILME) PARA A PROLINA ÁCIDO OXIMA (104).	78
FIGURA 37 - ESPECTRO DE RMN- ¹ H (400 MHz, D ₂ O) PARA A PROLINA OXIMA (104).	79
FIGURA 38 - PROPOSTA DE COMPLEXOS BIDENTADOS E MONODENTADOS.....	81
FIGURA 39 - PROPOSTAS DE FRAGMENTAÇÕES PARA O ÁCIDO BOC-PRO HIDROXÂMICO (106).	83
FIGURA 40 - ESPECTRO DE RMN- ¹ H (400 MHz, D ₂ O) PARA O ÁCIDO PROLINA HIDROXÂMICO (106).	85
FIGURA 41 - ESPECTRO DE IV, EM FILME, PARA O ÁCIDO PROLINA HIDROXÂMICO (106).	85
FIGURA 42 - PROPOSTAS DE FRAGMENTAÇÕES PARA O ÁCIDO PROLINA HIDROXÂMICO (106).	86

ÍNDICE DE TABELAS

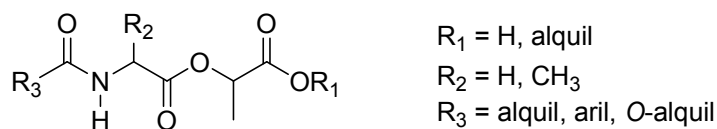
TABELA 1 - PREÇO DE ALGUNS REAGENTES UTILIZADOS NA ROTA SINTÉTICA DESENVOLVIDA POR CHIOSIS E BONECA PARA SÍNTESE DOS DEPSIPEPTÍDEOS MODELOS.	33
TABELA 2 - CONDIÇÕES REACIONAIS EMPREGADAS PARA PREPARAÇÃO DO DEPSIPEPTÍDEO 8 EM UMA ETAPA.	39
TABELA 3 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS EMPREGADAS PARA AS TENTATIVAS DE SÍNTESE DO DEPSIPEPTÍDEO 48.	42
TABELA 4 - DESLOCAMENTOS DE RMN- ¹ H PARA OS DEPSIPEPTÍDEOS 56A-C.	48
TABELA 5 - PONTOS DE FUSÃO PARA OS COMPOSTOS 65 E 66.	55
TABELA 6 - RENDIMENTO REACIONAL PARA PREPARAÇÃO DAS OXIMAS 59, 71-75.	56
TABELA 7 - RENDIMENTO REACIONAL PARA SÍNTESE DE <i>N</i> -ARIL HIDROXILAMINAS 80-84 ATRAVÉS DAS ESTRATÉGIAS A E B.	58
TABELA 8 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS UTILIZADAS PARA PREPARAÇÃO DA PIRIDINA METIL <i>N</i> -HIDROXILAMINA (87).	59
TABELA 9 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DOS COMPOSTOS ABAIXO, ATRAVÉS DO ENSAIO COLORIMÉTRICO DO MTT (CONC. = 250 μM).	94

SIGLAS E ABREVIATURAS

Ala - alanina;
BnOH - álcool benzílico;
BOC - terc-butoxi carbonil;
Brine - solução saturada de cloreto de sódio;
CBM - concentração bactericida mínima;
CC₅₀ - concentração citotóxica para inibir 50% das células;
CCD - cromatografia em camada delgada;
CE₅₀ - concentração inibitória de 50% da replicação viral;
CIM - concentração inibitória mínima;
DCC - díciclo-hexilcarbodiimida;
DIC - diisopropilcarbodiimida;
DIPEA - *N,N*-diisopropil etilenodiamina;
DLDH - *Leuconostoc mesenteroides* D-lactate dehydrogenase;
DMAP - 4-(dimetilamino) piridina;
DMF - dimetil formamida;
DMSO - dimetil sulfóxido;
ES - espectro de massas;
IS - índice de seletividade (IS= CC₅₀/ CE₅₀);
IV - infra vermelho;
Lac - lactato;
Lis - lisina;
MMPs - matrix metaloproteinases;
MRSA - *methicillin-resistant S. aureus*;
MTT - [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil brometo de tetrazol];
NMM - *N*-metilmorfolina;
PDF - peptido deformilase
Pro - prolina;
PRSP - *penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*;
Py - piridina;
Ser - serina;
THF - tetrahydro furano;
UV-VIS - Espectrometria na região ultravioleta – visível;
λ - comprimento de onda.

RESUMO

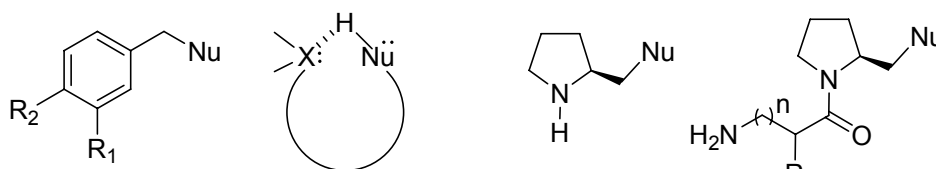
O presente trabalho apresenta a síntese de uma série de depsipeptídeos derivados de alanina e lactato como modelos para porção modificada do peptidoglicano, Ala-Lac, de bactérias resistentes a vancomicina, utilizando condições reacionais brandas e reagentes simples e de baixo custo.



Ala-Lac

Os depsipeptídeos foram sintetizados através de uma metodologia envolvendo acoplamento de L- α -hidroxiácidos e L-aminoácidos *N*-protegidos, seguido de desproteção.

Foram preparados uma série de compostos aromáticos e alifáticos simples contendo α -nucleófilos como grupos oxima, hidroxilamina e ácido hidroxâmico. É apresentada ainda a síntese de moléculas possuindo em sua estrutura nucleófilos potentes e um grupamento básico. E finalmente, são reportadas as preparações de derivados dinucleofílicos da prolina como alternativa aos derivados da prolina sintetizados por Chiosis e Boneca para clivagem seletiva e catalítica da ligação Ala-Lac.



X=grupo básico

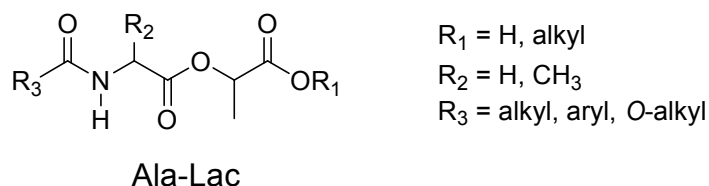
Derivados da prolina

Nu = NOH, NHOH, CONHOH

Os compostos preparados nesta tese tiveram sua atividade anti-herpética avaliada utilizando como modelos virais vírus com genoma DNA: herpes simplex vírus tipo 1 (HSV-1), cepas 29R (resistente ao aciclovir) e KOS. Porém, apesar da baixa citotoxicidade apresentada, os derivados estudados não se mostraram promissores frente às cepas 29R e KOS

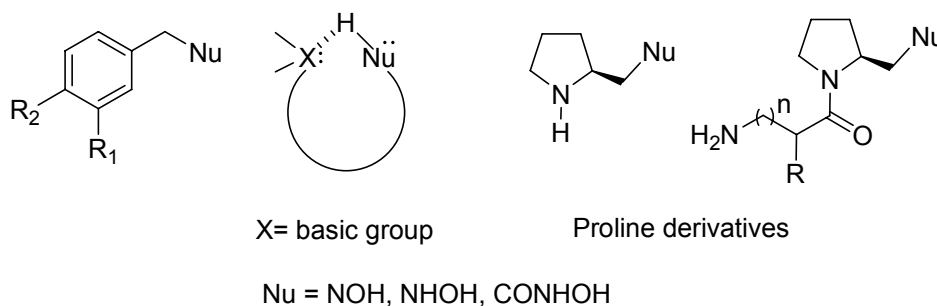
Abstract

This work presents a simple entry to an Ala-Lac derivative and other O-acylated lactates as models to bacterial depsipeptide using mild conditions and easily accessible reagents. These new compounds are targets to investigate selective ester cleavage by hydrolytic agents.



The depsipeptides were readily obtained by a three-step procedure involving esterification, coupling of the resulting ester with the proper α -functionalized acid and deprotection.

A set of simple aromatic and aliphatic compounds carrying α -nucleophiles as oxime, hydroxylamine and hydroxamic acid was synthesized. Moreover, the synthesis of molecules carrying a potent nucleophile and a base group is shown. Besides, di-nucleophiles based on proline scaffolds were also prepared.



Finally, the antiviral activity of the compounds prepared, and their starting materials, were evaluated by using herpes simplex virus type 1 (HSV-1), 29R (acyclovir-resistant) and KOS strains. However, despite the low cytotoxicity observed, the derivatives were not antiherpes-promising drugs.

1 INTRODUÇÃO

No decorrer das últimas décadas, o desenvolvimento de fármacos eficientes no combate a infecções bacterianas¹ revolucionou o tratamento médico, ocasionando a redução drástica da mortalidade causada por doenças microbianas. Lamentavelmente, acompanhando o estabelecimento do novo armamento quimioterápico do Homem contra as bactérias, estas também desenvolveram defesas relativas aos agentes antibacterianos, com o conseqüente aparecimento de resistência. O fenômeno da resistência bacteriana² a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações³ às opções para o tratamento médico de várias infecções bacterianas, representando uma ameaça assustadora para a saúde pública mundial. Esta resistência é proliferada muito rapidamente dentro do reino bacteriano^{4,5} através de transferência genética, atingindo algumas das principais bactérias Gram-positivas como enterococos, estafilococos e estreptococos.

1.1 Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

De acordo com a constituição da parede celular, as bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas.

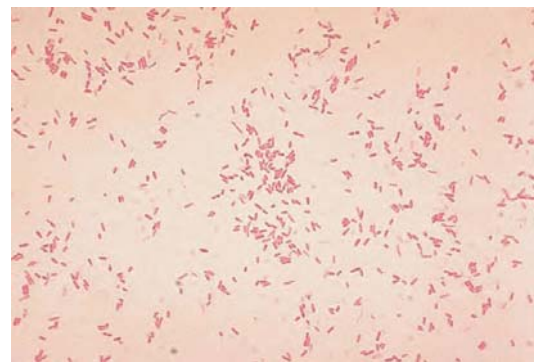
Em 1884, Christian Gram, um bacteriologista dinamarquês, desenvolveu um método empírico o qual consiste, essencialmente, no tratamento sucessivo de um esfregaço bacteriano com os seguintes reagentes: lugol, cristal violeta, álcool e fucsina.⁶

Todas as bactérias, sejam Gram-positivas ou Gram-negativas, absorvem o cristal violeta e o lugol, adquirindo a cor roxa devido ao complexo formado pelas duas substâncias no citoplasma da célula. As Gram-positivas não são descoloridas após tratamento com etanol, mantendo a coloração roxa, enquanto que as Gram-negativas são descoloridas. Alguns estudos sugerem que o complexo cristal violeta-lugol não é removido do citoplasma das bactérias Gram-positivas devido a menor permeabilidade ao álcool, resultante da

presença de uma espessa parede celular. Em seguida, as duas classes de bactérias são tratadas com fucsina, sendo que somente as Gram-negativas adquirem a coloração vermelha do corante.⁶ Desta forma, ao examinar ao microscópio um esfregaço bacteriano corado pelo método de Gram, as bactérias Gram-positivas apresentam cor roxa, já as Gram-negativas revelam-se vermelhas, (Figura 1).⁷



Bactéria Gram-positiva *Bacillus*



Bactéria Gram-negativa
Aeromonas hydrophila

Figura 1 - Bactérias coradas pelo método de Gram.

1.2 Resistência Bacteriana e Antibióticos

O uso extensivo de penicilina após a Segunda Guerra Mundial⁸ desencadeou o surgimento de estreptococos resistentes, identificados como as primeiras cepas de bactérias Gram-positivas não susceptíveis a antibióticos penicilínicos, conhecidos como PRSP (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*). Da mesma forma, os antibióticos de nova geração lançados no mercado nos anos seguintes, como os análogos penicilínicos meticilina e cefalosporina, além de tetraciclina e eritromicina (Figura 2), aos poucos foram se tornando limitados, devido ao desenvolvimento de resistência múltipla em cepas de enterococos e estafilococos infecciosos. A última linha de defesa contra a ameaça do *Staphylococcus aureus* surgiu a partir da descoberta do antibiótico glicopeptídico⁴ vancomicina, isolado do fungo *Amycolatopsis orientalis* pelo grupo Eli Lilly em 1956 (Figura 3). Com o nome originado da expressão inglesa “to vanquish” (aniquilar, destruir), vancomicina tornou-se quase uma lenda devido a sua performance heróica frente a cepas de S.

aureus resistentes a meticilina, conhecidos por MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*). É ativa primariamente⁹ contra cocos Gram-positivos, sendo altamente eficaz contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Clostridium difficile* e *Corynebacterium sp.*, mas não possui atividade contra bactérias Gram-negativas e micobactérias. Vancomicina foi disponibilizada para uso clínico após aprovação pela agência norte-americana reguladora de fármacos e alimentos (US-FDA), em 1958. Nesta mesma época, outros agentes antiestafilococos como cefalosporinas, meticilina, tetraciclina e eritromicina A também passaram a ser utilizados, recebendo uma aceitação clínica muito maior do que a vancomicina sobretudo devido aos aparentes efeitos de toxicidade desta última. Vancomicina tornou-se popular^{4,10-13} a partir do momento em que a sua pureza foi aumentada, resultando na eliminação de muitos dos seus efeitos colaterais, e ainda devido à incidência crescente de resistência bacteriana frente aos outros agentes quimioterápicos.

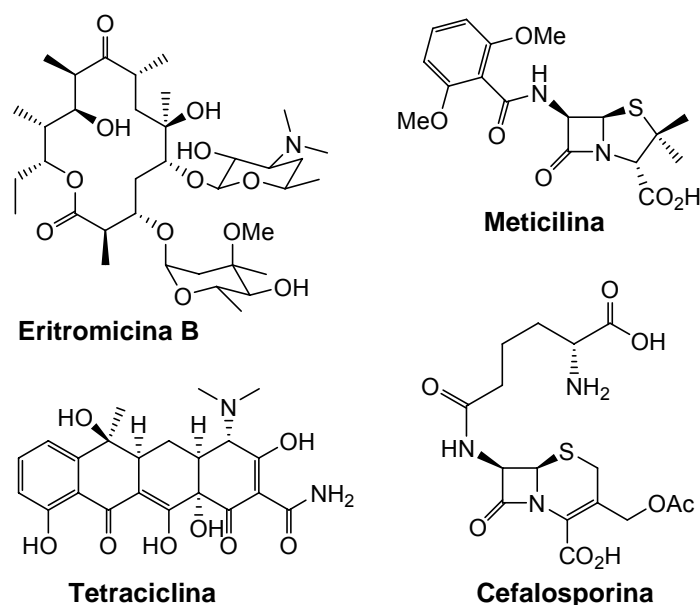


Figura 2 - Antibióticos clássicos.

A consolidação da vancomicina como antibiótico potente e invencível frente a bactérias Gram-positivas multirresistentes trouxe um período de certa tranquilidade na incessante guerra contra microrganismos patógenos, causando inclusive uma desaceleração² nos investimentos de empresas farmacêuticas em programas de descobrimento e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. Entretanto, esta supremacia começou a sofrer abalos

com o aparecimento das primeiras cepas de enterococos resistentes a vancomicina, conhecidos por VRE (*vancomycin-resistant enterococci*). Apesar da natureza não patogênica dos enterococos com relação a pessoas saudias, o surgimento, em 1988, dos primeiros casos de resistência destas bactérias causou enorme alarme, pois os enterococos são capazes de infectar⁴ pacientes imunodeficientes, tais como transplantados e vítimas de AIDS. A ocorrência de colonização intestinal de VRE em pacientes com longos períodos de internação em hospitais pode não resultar em sintomas infecciosos, mas servirá de reservatório¹⁴ para transmissão a outros pacientes. A bactéria pode ser espalhada¹⁵ pelo contato direto ou indireto dentro de uma clínica de saúde ou hospital, bem como através de profissionais de saúde que trabalham em mais de uma instituição, e ainda por pacientes que são transferidos e que já haviam sido infectados. Em uma situação mais preocupante, o temor de que genes causadores de resistência a vancomicina presentes nos VRE fossem transmitidos para estafilococos do tipo MRSA foi recentemente confirmado¹⁶⁻¹⁸ em três casos isolados, sendo conhecidos como VRSA (*vancomycin-resistant S. aureus*).

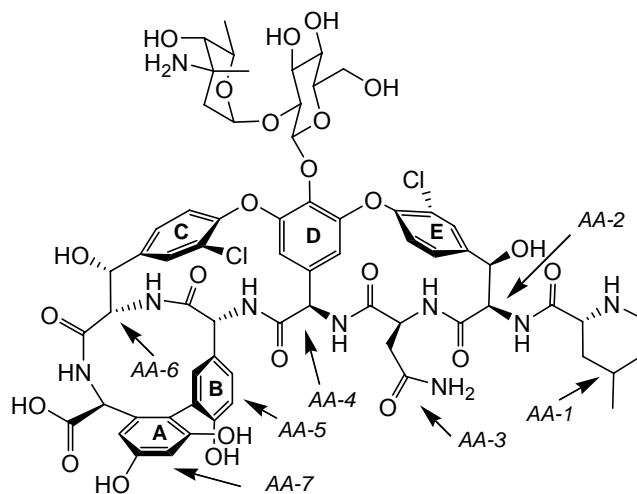


Figura 3 - Representação estrutural do antibiótico glicopeptídico vancomicina, destacando os sete aminoácidos AA-1,...,AA-7 e os cinco anéis aromáticos A, B, C, D, E presentes.

Uma maneira preventiva de combater o avanço de infecções causadas por VRE e VRSA é a implementação¹⁵ de medidas de decréscimo de fontes destas bactérias. O controle das infecções a partir de ações que possibilitem o isolamento de pacientes infectados e a educação da população sobre os

métodos de transmissão de VRE vêm contendo a propagação do microrganismo. Restrições na utilização de antibióticos, além de diretrizes para o emprego de agentes antibacterianos ajudam a diminuir o florescimento de VRE no trato gastrointestinal. Porém, esta medida parece ser de difícil execução, uma vez que o uso de antibióticos de maneira empírica é bastante comum. De fato, o uso abusivo⁹ de antibióticos para tratamento de infecções virais, como caxumba, sarampo e gripe, e febres de etiologia desconhecida que não respondem a antibioticoterapia, além de inútil, também promove o surgimento da resistência.

Diante deste cenário alarmante, vários fármacos que hoje são campeões mundiais de vendas correm o risco de se tornarem obsoletos devido ao aumento da resistência bacteriana. Desta forma, a comunidade médica e científica vêm procurando compreender os fenômenos envolvidos no artefato bacteriano responsáveis pelos mecanismos adaptados de resistência, de modo a criar alternativas e novas estratégias para o combate a bactérias resistentes. A demanda crescente por novas substâncias¹⁹ capazes de inibir, em concentrações baixas, processos vitais de uma ou mais espécies de microrganismos resistentes tem provocado uma verdadeira corrida em busca de agentes antibacterianos de origem natural, semissintética ou sintética cada vez mais eficientes. Apesar dos mais otimistas já terem abandonado o antigo sonho de encontrar uma substância antibacteriana “perfeita” (invencível frente a patógenos multirresistentes, com amplo espectro de ação e sem efeitos colaterais), o descobrimento de novos antibióticos potentes e mais seguros representa não só o avanço por uma melhor qualidade de vida, mas também a participação em um mercado em crescimento²⁰ que movimenta cerca de 25 bilhões de dólares.

1.3 Mecanismos de Defesa Bacteriana e Resistência a Antibióticos

Formalmente, o aparecimento de bactérias resistentes a antibióticos pode ser considerado como uma manifestação natural regida pelo princípio evolutivo de que os organismos adaptam-se geneticamente a mudanças no

seu meio ambiente. Como o tempo de duplicação das bactérias pode ser de apenas 20 minutos, existe a possibilidade de serem produzidas muitas gerações em apenas algumas horas, havendo, portanto, inúmeras oportunidades para uma adaptação evolutiva. A frequência de mutações espontâneas para determinado gene em populações bacterianas é extremamente baixa, sendo de aproximadamente uma por 10^6 - 10^8 células por divisão. Desta forma, a probabilidade é de que uma célula em cada 10 milhões irá, ao dividir-se, produzir uma célula-filha contendo uma mutação em determinado gene. Todavia, como é possível haver um número de células muito maior do que este numa infecção, a probabilidade¹ de uma mutação produzir reversão da sensibilidade e resistência a determinados fármacos pode ser muito alta em algumas espécies de bactérias. Apesar da presença de poucos microrganismos geneticamente modificados não ser suficiente para produzir resistência, se uma população bacteriana infecciosa contendo alguns mutantes resistentes a determinado antibiótico for exposta a este fármaco, os fenoticamente alterados terão uma enorme vantagem seletiva. Na maioria dos casos, a drástica redução da população bacteriana obtida pelo agente quimioterápico permite que as defesas naturais do hospedeiro possam lidar efetivamente com os patógenos invasores. Entretanto, isso não ocorrerá se a infecção for causada por uma população de bactérias inteiramente resistentes ao fármaco⁵ ou se as defesas humanas estiverem momentaneamente deficientes.

Dentre os diferentes mecanismos⁸ de resistência descritos para microrganismos, aqueles mais importantes encontrados em bactérias Gram-positivas podem ser classificados^{5,21} em 3 grupos distintos: (i) destruição do antibiótico (resistência a dalfopristina e penicilinas): enzimas catalisam a degradação do antibiótico ou modificam grupos funcionais farmacologicamente importantes presentes em sua estrutura, criando funções inativas para o reconhecimento molecular; (ii) efluxo contínuo do antibiótico (resistência a tetraciclina e fluoroquinolonas): genes bacterianos mutantes superexpressam proteínas transportadoras de membrana responsáveis pela entrada e saída de substâncias no meio citoplasmático, fazendo com que a retirada do antibiótico para o meio extracelular seja mais rápida que a sua difusão pela membrana bacteriana, mantendo uma concentração insuficiente para atuar como

bloqueador de funções celulares; (iii) reprogramação e modificação da estrutura-alvo (resistência a eritromicina e vancomicina): alvos macromoleculares do antibiótico, como ribossomos, proteínas e constituintes da parede celular, são estruturalmente modificados a partir de genes que os expressam, afetando o reconhecimento do fármaco pelo alvo e diminuindo a sua potência. Utilizando um desses mecanismos, ou uma combinação deles, cepas de bactérias vêm derrotando até os antibióticos mais promissores, independente da classe química a qual pertençam. Os exemplos abaixo ilustram a rápida “ascensão e queda” de novos antibióticos que eram aguardados com otimismo, mas que pouco tempo depois de serem lançados no mercado tiveram casos de resistência associados.

A utilização de uma combinação de quinupristina (um depsipeptídeo cíclico) e dalfopristina (um cetolídeo peptídico) para o tratamento de infecções por VRE foi aprovada pelo US-FDA em 1999 com o nome de Synercid (Figura 4a). Esses derivados de estreptograminas, também conhecidos²² como pristinamicinas e virginiamicinas, inibem a síntese protéica a partir da interação com ribossomos bacterianos. Entretanto, o tratamento com quinupristina-dalfopristina tem um custo elevado e apresenta importantes efeitos colaterais, além de já ter sido relatada a existência de cepas de enterococos pouco susceptíveis a este agente antimicrobiano. Os mecanismos de resistência^{21,22} observados passam por um sistema de efluxo ativo da combinação de antibióticos, além da modificação estrutural da dalfopristina a partir da acetilação do grupo hidroxila em C17 pela enzima acetiltransferase na presença de acetilcoenzima-A.

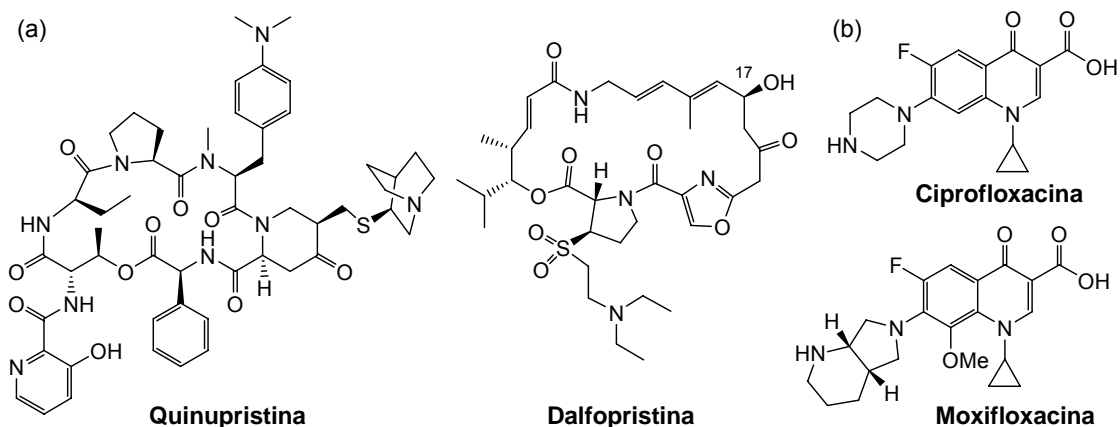


Figura 4 - (a) Antibiótico quinupristina-dalfopristina (b) Antibióticos fluoroquinolônicos ciprofloxacin e moxifloxacin.

Já a classe das 4-quinolonas, primeiros antibióticos genuinamente sintéticos^{21,23} conhecidos há décadas, apresenta atividade antibacteriana a partir de um mecanismo único de inibição da DNA girase e da topoisomerase IV, interferindo na replicação do DNA bacteriano. Apesar das novas gerações de fluoroquinolonas proporcionarem boa disponibilidade oral e efeitos adversos mais reduzidos que suas antecessoras²⁴ (Figura 4b), o aparecimento de resistência bacteriana^{23,24}, em 1999, têm mantido essas substâncias sob intensa vigilância. Dentre as defesas adaptadas das bactérias, incluem-se o efluxo contínuo do antibiótico e a modificação estrutural das topoisomerases.

1.5 Vancomicina: Modo de Ação e a Resistência Bacteriana

Apesar das recentes incidências de resistência de enterococos e estafilococos a antibióticos glicopeptídicos, atualmente a vancomicina (Figura 3) e o antibiótico-irmão teicoplanina²⁵ (Figura 5), isolado de *Actinoplanes teichomyceticus*, ainda são considerados como os últimos recursos para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas. Da mesma maneira que os antibióticos penicilínicos, a vancomicina afeta o metabolismo de construção da parede celular das bactérias. Para tanto, ela liga-se à porção terminal D-Ala-D-Ala de um pentapeptídeo encontrado em precursores de peptidoglicano, interferindo na etapa de transpeptidação^{26,27} (Figura 6a).

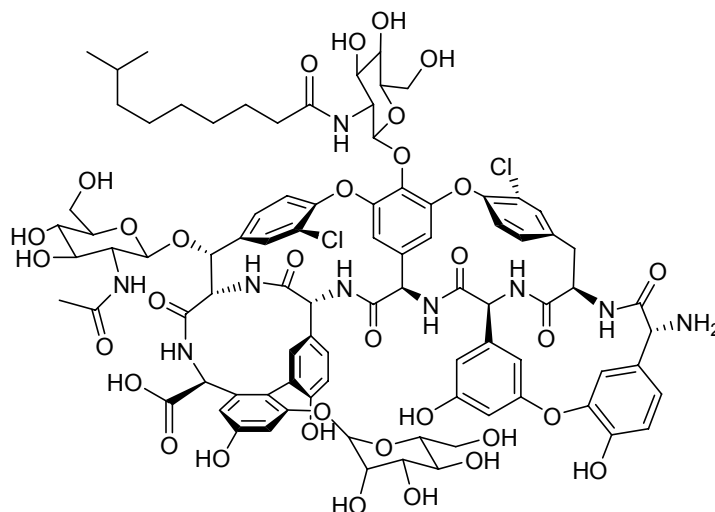
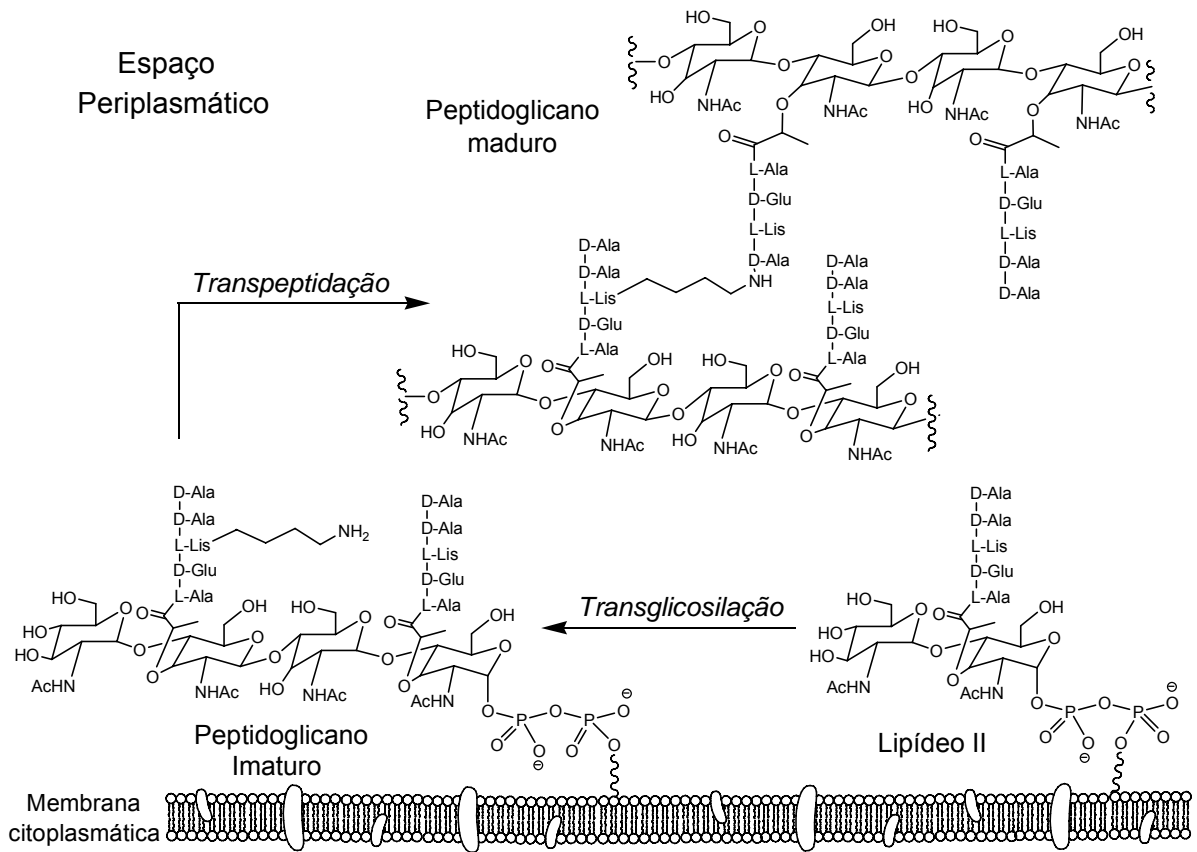


Figura 5 - Antibiótico teicoplanina.

Peptidoglicano é um heteropolímero²⁷ formado por cadeias extensas de polissacarídeos e peptídeos. Esta estrutura é responsável pela rigidez e forma da parede celular das bactérias, além de protegê-las da osmólise⁶ quando em meio hipotônico. A biossíntese de um peptidogilcano é apresentada no Esquema 1. Polimerização do lipídeo II catalisada pela enzima transglicosilase produz o peptidoglicano imaturo, constituído de cadeias longas de polissacarídeos, os quais são transversalmente ligados por transpeptidases para formar o peptidoglicano maduro.

Resistência bacteriana a vancomicina ocorre através da modificação genética em microrganismos, que como resultado²⁸ passam a sintetizar o depsipeptídeo D-Ala-D-Lac ao invés do dipeptídeo D-Ala-D-Ala. A modificação do aminoácido terminal D-alanina por D-lactato introduz uma interação eletrostática repulsiva²⁹ no lugar da ligação de hidrogênio, conforme apresentado na Figura 6. Em consequência, a afinidade da vancomicina pela camada de peptidoglicano diminui em um fator superior a 1000 vezes, com os níveis de resistência sendo diretamente proporcionais²⁶ aos de precursores de peptidoglicano contendo a unidade terminal D-Ala-D-Lac. Embora a origem da sensibilidade de enterococos frente a teicoplanina envolva mecanismos diferentes do da vancomicina, essas características de sensibilidade e resistência frente aos dois glicopeptídeos servem como base³⁰ para uma classificação clínica. Cepas que são resistentes a vancomicina e teicoplanina são classificadas como VanA, já aquelas que são resistentes a vancomicina, mas sensíveis a teicoplanina, são classificadas como VanB. Existe ainda uma terceira categoria^{4,31} de cepas de enterococos resistentes classificados como VanC, apresentando resistência modesta frente a vancomicina a partir de efeitos ainda pouco elucidados. Diferente das cepas VanA e VanB, onde o mecanismo de resistência a vancomicina ocorre pela formação de uma unidade terminal D-Ala-D-Lac no lugar de D-Ala-D-Ala, as do tipo VanC possuem a porção terminal do peptidoglicano modificada para D-Ala-D-Ser, causando diminuição da afinidade da vancomicina pela parede celular ainda em formação.



Esquema 1 - Síntese bioquímica do peptidoglicano.

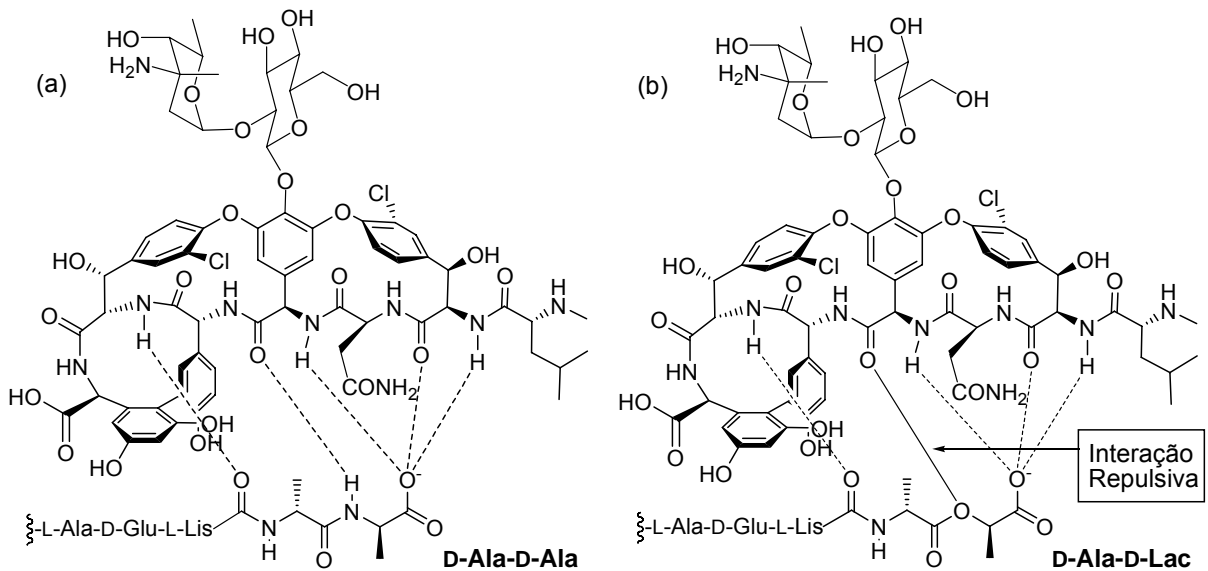
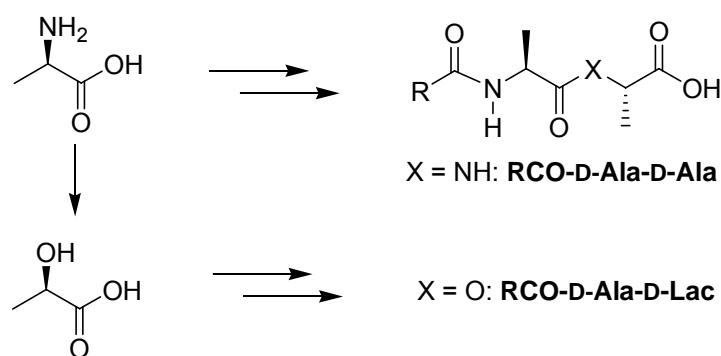


Figura 6 (a) - Ligações entre a vancomicina e a porção D-Ala-D-Ala terminal no precursor de peptidoglicano (b) Interação eletrostática repulsiva entre a vancomicina e a porção modificada D-Ala-D-Lac do peptidoglicano.

1.6 Estratégias para Contra-Atacar a Resistência à Vancomicina

As estratégias iniciais para superar a resistência bacteriana à vancomicina e a outros antibióticos glicopeptídicos foram inicialmente concentradas na obtenção de novas substâncias possuindo alta afinidade pela porção terminal D-Ala-D-Ala e modificada D-Ala-D-Lac presentes, respectivamente, em bactérias susceptíveis e resistentes a vancomicina. Assim, pretendeu-se impedir a biossíntese do peptidoglicano e bloquear³² a construção da parede celular. Desta forma, diversos produtos naturais, sintéticos e semissintéticos têm sido identificados como potenciais agentes antimicrobianos devido à elevada afinidade por modelos de peptidoglicano^{26,33-36} contendo unidades terminais D-Ala-D-Ala ou D-Ala-D-Lac (Esquema 2).



Esquema 2 - Síntese de modelos da porção terminal D-Ala-D-Ala e D-Ala-D-Lac.

Esses estudos revelaram que vários derivados de glicopeptídeos ativos contra bactérias Gram-positivas atuam através de mecanismos mais complexos e menos conhecidos. Diversos efeitos secundários podem contribuir para o aumento da atividade antibacteriana de glicopeptídeos, incluindo^{4,31} processos de dimerização ou oligomerização (envolvendo fenômenos como a multivalência, que amplifica a afinidade entre receptor e ligante) e/ou ancoramento sobre a dupla camada celular fosfolipídica bacteriana (devido à forte interação desta com uma longa cadeia hidrocarbônica presente na estrutura de alguns antibióticos glicopeptídicos). Entretanto, a atividade antibiótica de determinados análogos de vancomicina e teicoplanina não está necessariamente relacionada com a capacidade de promover interações com peptídeos presentes no peptidoglicano. Assim, a inibição de proteínas

responsáveis pela etapa de transglicosilação^{27,37-39} (Esquema 1) impede a construção da parede celular bacteriana nos estágios iniciais. Já antibióticos estruturalmente diferentes dos glicopeptídeos, como as quinolonas e os macrolídeos apresentados anteriormente na Figura 4, atuam a partir de mecanismos⁵ de destruição celular diferenciados, interagindo diretamente sobre o DNA ou sobre ribossomos envolvidos na síntese protéica bacteriana e sendo responsáveis por atividade bactericida pronunciada. Por outro lado, o aparecimento de novas classes de antibióticos possuindo modos de ação até então pouco estudados²¹ e a possibilidade de ocorrência de múltiplas interações atuando em sinergia conferem um grau de complexidade ainda maior para esses sistemas e uma compreensão ainda limitada sobre a totalidade dos processos bioquímicos envolvidos na tríade antibiótico-bactéria-organismo humano. Deste modo, não é surpreendente encontrar exemplos de derivados de glicopeptídeos estruturalmente relacionados que apresentam atividade antimicrobiana de mesma magnitude, mas a partir de modos de ação diferentes, assim como compostos bioativos estruturalmente diferentes que atuam sob mecanismos similares, ocasionando sérias dificuldades em um planejamento racional baseado somente no modo de ação.

Portanto, o descobrimento de novos agentes antibacterianos ativos contra cepas de VRE e VRSA vem sendo realizado principalmente a partir de modificações químicas sobre a estrutura da vancomicina ou teicoplanina, bem como pela preparação de análogos de glicopeptídeos mais simples. Paralelamente, compostos estruturalmente diferentes de glicopeptídeos, como heterociclos de origem natural e sintética, vêm sendo intensivamente investigados e respondem por uma parcela significativa dos novos antibióticos atualmente em desenvolvimento. Basicamente, as principais estratégias químicas visando a obtenção de antibacterianos podem ser classificadas em quatro categorias: (i) compostos estruturalmente relacionados a vancomicina e glicopeptídeos; (ii) análogos de glicopeptídeos estruturalmente mais simples; (iii) pequenas moléculas atuando em sinergia com vancomicina; (iv) heterociclos estruturalmente diversos de origem natural ou sintética.

Este trabalho está focado na preparação de pequenas moléculas que possam atuar em sinergia com a vancomicina. Portanto, far-se-á uma breve apresentação desta metodologia.

1.7 Pequenas Moléculas que Atuam em Sinergia com Vancomicina

Muitas vezes, é vantajoso usar múltiplas drogas para tratar uma infecção a fim de impedir a resistência bacteriana. Apesar de tratamentos empregando combinações de antibióticos em doses subterapêuticas possibilitarem o surgimento de cepas multirresistentes, é mais difícil⁵ que bactérias desenvolvam resistência a duas substâncias com diferentes mecanismos que a um único agente, quando o tratamento é realizado de forma adequada. Uma estratégia alternativa para superar a resistência bacteriana a vancomicina envolve a síntese química de pequenas moléculas capazes de clivar cataliticamente a ligação D-Ala-D-Lac em bactérias resistentes, impedindo a construção da parede celular. Esta metodologia baseia-se na hipótese de reduzir a concentração de precursores de peptidoglicano contendo a unidade terminal modificada e assim re-sensibilizar bactérias não susceptíveis ao antibiótico. Tais moléculas seriam utilizadas em conjunto com a vancomicina, ou com derivados possuindo maior afinidade por precursores de peptidoglicano, para o tratamento de cepas de VRE do tipo VanA ou VanB.

1.8 Triagem de Nucleófilos Utilizando Química Combinatória

1.8.1 Química Combinatória

Nos últimos anos, a química combinatória vem atraindo uma enorme atenção da indústria farmacêutica devido aos seus progressos no descobrimento de novos fármacos. Atualmente, toda grande companhia farmacêutica possui um programa envolvendo química combinatória em seus setores de desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Esta nova área da ciência é considerada como sendo um dos mais importantes avanços para química medicinal, além de ser uma importante ferramenta para pesquisa básica.⁴⁰

O processo de descobrimento de um novo fármaco pode ser feito

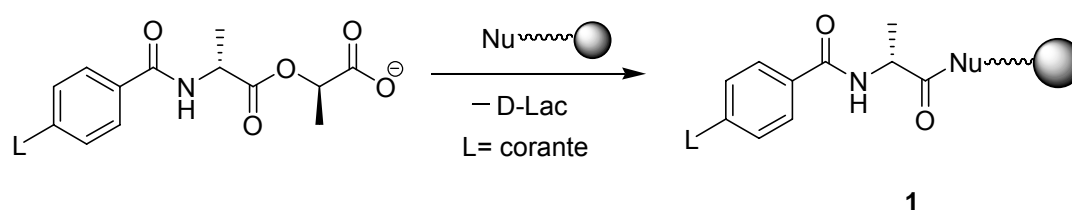
através de várias estratégias, todas envolvendo diversas etapas. O tempo total envolvido em todo processo é de cerca de 15 anos, sendo que aproximadamente um terço do período corresponde a identificação e otimização do composto-protótipo. Em decorrência do aumento significativo no prazo de avaliação clínica de candidatos a drogas ao longo das últimas duas décadas, os grupos envolvidos com estas pesquisas (particularmente as grandes indústrias farmacêuticas) atuam sistematicamente visando a diminuição do tempo de desenvolvimento e otimização da substância candidata a fármaco.⁴¹

As bibliotecas (ou coleções) combinatórias^{42,43} foram primeiramente desenvolvidas para a síntese de peptídeos e oligonucleotídeos. Desde então, o método foi expandido para incluir proteínas, oligômeros sintéticos, pequenas moléculas e oligossacarídeos. A metodologia de preparação é dependente do tipo de biblioteca desejada. Bibliotecas de peptídeos podem ser preparadas tanto quimicamente quanto biologicamente, sendo que as coleções de pequenas moléculas, oligômeros e oligossacarídeos são geralmente criadas por métodos sintéticos. Porém, com o avanço das reações químicas catalisadas por enzimas, algumas destas bibliotecas podem, em princípio, ser sintetizadas por metodologias biossintéticas. Em geral, bibliotecas combinatórias sintéticas são preparadas em fase sólida através de uma técnica que foi primeiramente empregada por Merrifield na síntese de peptídeos.

Coleções combinatórias preparadas com o intuito de se identificar um composto-protótipo, em geral, possuem milhares de substâncias que são testadas sob a forma de misturas de componentes. Algumas coleções são preparadas a partir da escolha de um composto polifuncionalizado (core), o qual dá origem a uma série de outros após reações com um conjunto de moléculas estruturalmente diversas, mas com a mesma funcionalidade/reatividade.⁴¹

1.8.2 Preparação de Pequenas Moléculas que Atuem em Sinergia com a vancomicina

A fim de identificar substâncias capazes de promover a clivagem da porção modificada do peptidoglicano, Chiosis e Boneca²⁶ prepararam o corante derivado de D-Ala-D-Lac **1** e realizaram uma triagem em coleções de nucleófilos utilizando química combinatória (Esquema 3).



Esquema 3 - Derivado colorido de D-Ala-D-Lac utilizado na triagem feita a partir de nucleófilos preparados por química combinatória capazes de hidrolisar a ligação D-Ala-D-Lac.

Em uma biblioteca contendo 50000 tripeptídeos *N*-acilados, observou-se que os conjuntos ativos continham serina na porção amino terminal. Nenhum outro nucleófilo (incluindo Thr, Lis, ou amino derivados) apresentou atividade, sendo que somente três sequências foram ativas: X-L-Lis-L-Ser-dimetiluréia (onde X é variável), X-D-Lis-D-Ser-dimetiluréia e L-Lis-D-Pro-L-Ser-dimetiluréia. A presença exclusiva da dimetiluréia (melhor grupo elétron doador da série) chamou a atenção, pois existiam 15 agentes acilantes na coleção. Este fato levou à crer que todas as sequências ativas continham um nucleófilo (Ser, na porção amino terminal) e um eletrófilo (Lis, Cu²⁺, NH) e que estes deveriam estar orientados de forma a permitir o ataque nucleofílico do grupo hidroxil presente na serina. Ademais, a nucleofilicidade da hidroxila poderia ser intensificada através de uma ligação de hidrogênio intramolecular formada com o grupo dimetiluréia. O predomínio da prolina em moléculas ativas sugeriu que este aminoácido seria capaz de estar envolvido na indução da rigidez conformacional a fim de pré-organizar os sítios ativos para catálise. Com a finalidade de dar suporte às observações estruturais deduzidas a partir dos experimentos envolvendo química combinatória, estudos de modelagem molecular relacionados com o complexo formado entre o peptídeo BnNH-L-Lis-

D-Pro-L-Ser dimetiluréia **2** (Figura 7A) e D-Ala-D-Lac foram realizados. Estes estudos computacionais indicaram que os resíduos lisina e serina da molécula estão bastante próximos no complexo formado. Assim, a porção lisina eletrofílica pode ligar-se ao lactato estabilizando o estado de transição tetraédrico formado, enquanto a nucleofilicidade da hidroxila da lisina é intensificada pela formação de uma ligação de hidrogênio com a carbonila do grupamento $\text{CON}(\text{CH}_3)_2$ (Figura 7B).

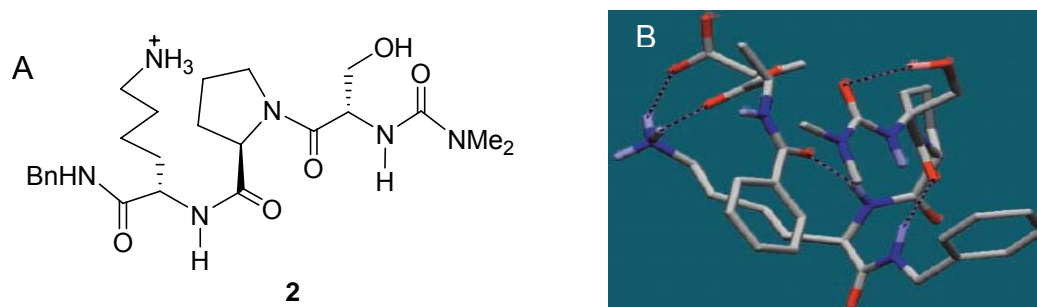


Figura 7 - Peptídeo 2 e estudo computacional realizado para formação de um complexo entre o peptídeo 2 e D-Ala-D-Lac.

O peptídeo BnNH-L-Lis-D-Pro-L-Ser dimetiluréia **2** foi então sintetizado e testado, porém, a sua capacidade para clivar D-Ala-D-Lac em condições fisiológicas foi apenas modesta, uma vez que somente 20% do depsi-peptídeo foi hidrolisado em 24 h.

Os experimentos realizados utilizando química combinatória não foram capazes de produzir possíveis agentes terapêuticos. Porém, a análise dos peptídeos identificados através desta técnica, além dos experimentos com modelagem molecular, foram úteis para o reconhecimento dos elementos que devem estar contidos em uma estrutura simples que possua propriedades catalíticas capazes de clivar a porção terminal modificada do peptidoglicano: presença de um nucleófilo forte, de um eletrófilo capaz de “ancorar” na carboxila do lactato e de quiralidade.²⁶ Por ser uma molécula quiral, conter uma hidroxila primária capaz de participar em uma ligação de hidrogênio intramolecular com o nitrogênio amídico (e assim gerar um nucleófilo mais potente) e ser facilmente acilado, o prolinol foi selecionado como um precursor

adequado para gerar estruturas que preencham os requisitos apresentados acima. Diante disto, foi preparada uma série homóloga de *N*-acil prolinol **3** (Figura 8).²⁶

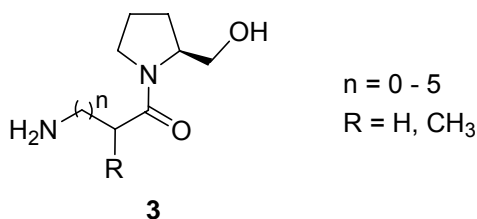


Figura 8 - Derivados de prolinol sintetizados por Chiosis e Boneca.

Os derivados de *N*-acil prolinol **3** tiveram suas atividades examinadas contra cepas de *Enterococcus faecium* altamente resistentes a antibióticos, os quais possuem uma CIM (a concentração inibitória mínima) à vancomicina de 500 µg/mL.²⁶ A atividade inibitória desses protótipos **3** também foi medida em conjunto com a vancomicina, sendo que o melhor resultado de CIM foi obtido pela associação entre a vancomicina e o *N*-acil prolinol **4** (CIM = 62,5 µg/mL). Isto representa uma diminuição de 8 vezes da CIM.²⁶

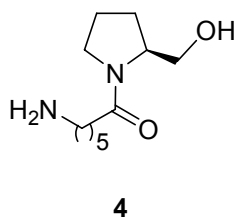


Figura 9 - *N*-acil prolinol que apresentou os melhores resultados de CIM.

A combinação de 50 mM do prolinol derivado **4** e de 62,5 µg/mL de vancomicina gerou um decréscimo de três unidades logarítmicas na atividade bactericida, quando comparada com a obtida para 250 µg/mL do antibiótico ao ser testado isoladamente. Já a modificação da concentração da vancomicina para 250 µg/mL na associação com 50 mM de **4** resultou no decréscimo de quatro unidades logarítmicas na atividade bactericida.²⁶ Entretanto, os derivados de prolinol mostraram-se ineficazes como agentes bacteriostáticos e bactericidas ao serem avaliados na ausência da vancomicina.²⁶

1.9 Síntese de Agentes Hidrolíticos Mais Eficientes – Efeito α

A estratégia utilizada por Chiosis e Boneca, a qual se baseia em empregar pequenas moléculas com capacidade de hidrolisar seletivamente e cataliticamente a ligação D-Ala-D-Lac e atuar em conjunto com a vancomicina, parece ser bastante promissora. Porém, os derivados sintetizados com essa finalidade não se mostraram nada catalíticos. Para diminuir a CIM para a vancomicina de 500 $\mu\text{g/mL}$ (0,345 mM) para 62,5 $\mu\text{g/mL}$ relativo às cepas de *Enterococcus faecium* foram necessários 50 mM do melhor agente hidrolítico apresentado. Ou seja, para aumentar em oito vezes a atividade da vancomina frente a esta cepa seria necessária a presença de um agente hidrolítico em uma concentração molar 145 vezes maior. Portanto, a preparação de agentes hidrolíticos mais eficientes que possam atuar em conjunto com a vancomicina é de grande apelo. Dentro desta alternativa, a utilização de nucleófilos possuindo efeito α parece ser uma estratégia interessante.

O efeito α é definido como o aumento da reatividade de nucleófilos que possuem pares de elétrons não compartilhados sobre o átomo adjacente ao centro nucleofílico quando comparados a um nucleófilo comum, ou seja, nucleófilo que não apresenta efeito α , mas que tenha a mesma basicidade.⁴⁴ A explicação deste tipo especial de efeito tem sido um desafio contínuo para os pesquisadores desde que este fenômeno foi identificado por Edwards e Pearson.⁴⁵

Dentre as espécies que exibem esta reatividade inusitada, estão incluídas as hidroxilaminas **5**, os ácidos hidroxâmicos **6** e as oximas **7** (Figura 10).

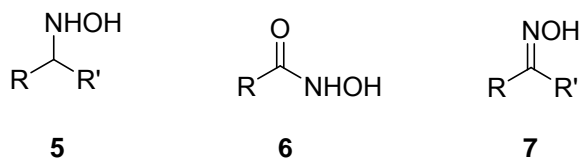


Figura 10 - Exemplos de α -nucleófilos.

Diferentes fatores podem influenciar a reatividade nucleofílica e são importantes para o efeito α . É provável que o átomo eletronegativo que está na

posição α com o seu par de elétrons livres contribua diretamente para o aumento da nucleofilicidade de alguns, senão todos, nucleófilos. A explicação mais freqüentemente proposta para o efeito α é a de que pares de elétrons sobre os átomos na posição α aumentam a nucleofilicidade pela elevação da densidade eletrônica efetiva no centro de reação. Pode-se ainda argumentar que a remoção parcial dos elétrons de Y no nucleófilo X-Y (Figura 11) por doação ao substrato S no caminho que leva ao estado de transição cria uma deficiência eletrônica sobre Y. Esta deficiência eletrônica pode ser estabilizada pela doação eletrônica de X. O resultado será um aumento na densidade eletrônica efetiva sobre Y e, conseqüentemente, na nucleofilicidade de X-Y.⁴⁶

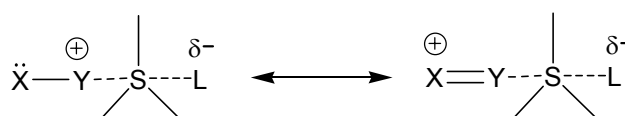


Figura 11 - α -Nucleófilos.

Em termos de teoria dos orbitais moleculares, a idéia mais aceita seria de que o estado fundamental do nucleófilo é desestabilizado pela repulsão dos orbitais ocupados p_π dos átomos adjacentes, levando a um aumento de energia do orbital ocupado de maior nível (HOMO) que participa da reação. Assim, o orbital HOMO do nucleófilo interagiria fortemente com o centro eletrofílico, resultando na diminuição da repulsão entre orbitais p_π e, conseqüentemente, gerando uma maior reatividade.

1.10 Metodologias Sintéticas para Síntese de Depsipeptídeos

Nesta seção, serão apresentadas algumas metodologias sintéticas descritas na literatura para a preparação dos depsipeptídeos que serão utilizados como modelo da porção alterada do peptidoglicano.

1.10.1 Síntese dos Depsipeptídeos Modelo

Foram identificados uma série de derivados de Ala-Lac que poderão ser utilizados para o reconhecimento de moléculas capazes de promover a hidrólise da porção indesejada do peptidoglicano, cuja estrutura básica é apresentada na Figura 12.

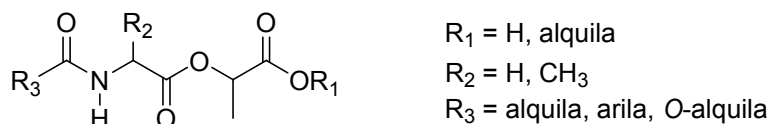
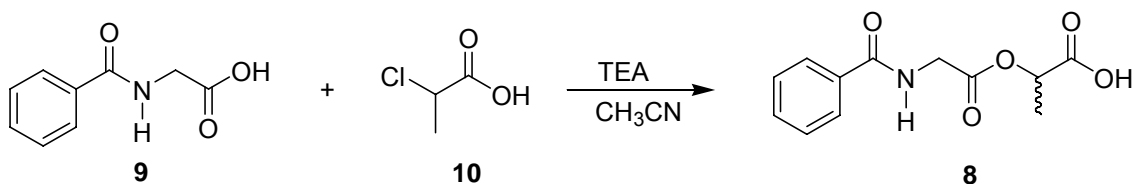


Figura 12 - Derivados de Ala-Lac que poderão ser utilizados como modelos miméticos de bactérias Gram-positivas que possuem o peptidoglicano modificado.

1.10.1.1 Síntese dos Depsipeptídeos em uma Etapa

O depsipeptídeo **8** pode ser preparado, em uma única etapa, através de uma substituição nucleofílica. Desta forma, reação entre os comercialmente disponíveis ácido hipúrico **9** e ácido 2-cloropropiônico **10**, na presença de trietilamina (Et_3N) e CH_3CN , fornece o depsipeptídeo **8** como uma mistura de isômeros, em apenas 30% de rendimento (Esquema 4).⁴⁷

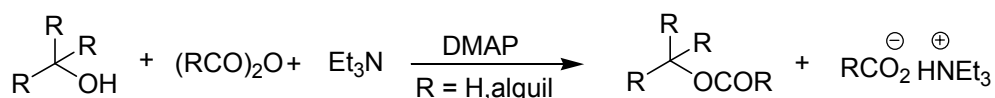


Esquema 4 - Síntese, em uma etapa, do depsipeptídeo alvo 8.

1.10.1.2 Metodologia Geral para Síntese dos Depsipeptídeos

Devido ao baixo rendimento descrito na literatura para a síntese do composto **8** em uma única etapa e em virtude deste procedimento gerar misturas racêmicas, têm sido propostas rotas sintéticas gerais para preparação dos modelos da porção modificada do peptidoglicano alterado apresentados na Figura 12.

Uma metodologia bastante usual para acilação de álcoois, incluindo álcoois terciários, consiste na reação do álcool com um anidrido ou cloreto de ácido na presença de uma quantidade equivalente de Et₃N e uma amina piridina como catalisador (geralmente DMAP) (Esquema 5).⁴⁸



Esquema 5 - Acilação de álcoois com anidridos de ácido.

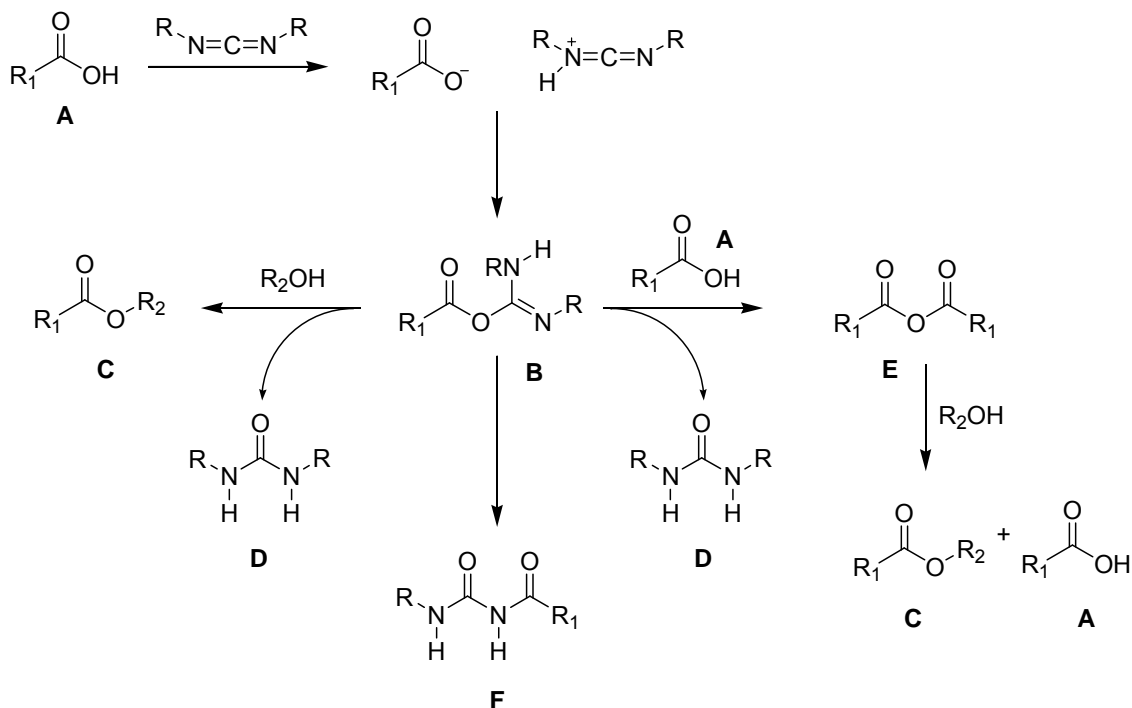
Apesar de ser um excelente método para acilação de álcoois, essa metodologia é muitas vezes inadequada para esterificação de ácidos carboxílicos devido a três fatores: necessidade de formação do anidrido; presença de quantidade equivalente de base (Et₃N); e finalmente, em casos onde o material de partida é valioso, metade da porção RCO₂H é desperdiçada na reação.⁴⁸

Esses problemas podem ser solucionados pela incorporação de uma carbodiimida (DCC,⁴⁸ DIC,⁴⁹ e EDC²⁶, entre outras⁵⁰) na reação. A presença de um equivalente da carbodiimida permite iniciar a síntese com apenas um equivalente do ácido carboxílico o qual pode ser completamente convertido em éster. No entanto, alguns subprodutos podem ser formados (Esquema 6).

Dessa forma, ácido carboxílico **A** reage com a carbodiimida formando o intermediário *O*-acilisoureira **B**, o qual pode ser visto como um éster carboxílico contendo um bom grupo de saída. Em seguida, o intermediário **B** é deixado reagir com um álcool formando o éster almejado **C** e a uréia **D** como subproduto.

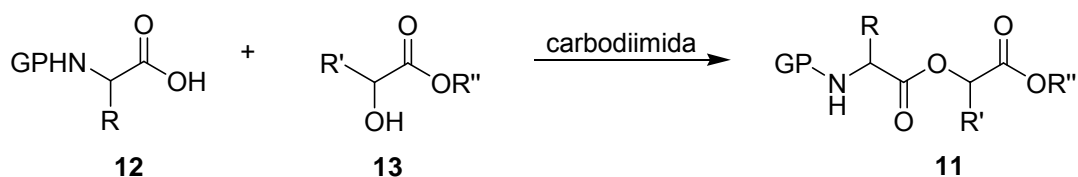
Reações laterais da *O*-acilisoureira **B** podem, ainda, levar a produtos desejados e indesejados. Assim, *O*-acilisoureira **B** pode reagir com um o ácido

carboxílico **A** levando ao anidrido **E**, o qual através de uma reação com moléculas do álcool presentes no meio reacional resulta no composto desejado **C**. E ainda, a isouréia **B** pode sofrer rearranjo a fim de formar a *N*-acilureia **F** (Esquema 6). A utilização de solventes com baixa constante dielétrica como diclorometano e clorofórmio podem minimizar a formação de **F**.⁵¹



Esquema 6 - Mecanismo de acoplamento de álcoois e ácidos carboxílicos utilizando carbodiimida.

Assim, os depsipeptídeos **11** podem ser preparados via acoplamento entre um derivado de aminoácido **12** e um derivado de lactato **13** utilizando-se carbodiimidas como agentes de acoplamento (Esquema 7).



Esquema 7 - Síntese geral de depsipeptídeos.

1.11 Metodologias para Síntese dos Agentes Hidrolíticos e Ocorrências Naturais

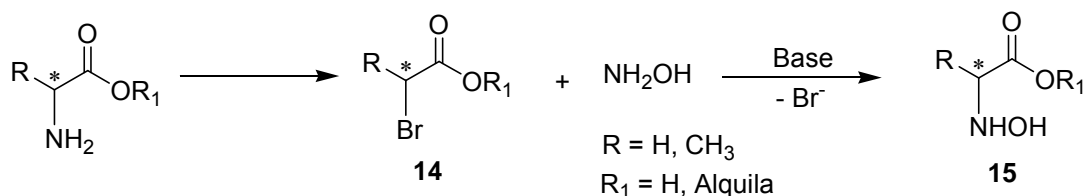
Nesta seção, serão apresentadas algumas metodologias sintéticas descritas na literatura para síntese dos agentes hidrolíticos identificados como possíveis promotores da hidrólise seletiva da ligação Ala-Lac. E ainda, serão abordadas algumas ocorrências naturais de compostos contendo grupos oxima, hidroxilamina e ácidos hidroxâmico com atividade farmacológica.

1.11.1 N-Hidroxilaminas

Um grande número de metodologias sintéticas para preparação de *N*-hidroxilaminas são reportadas na literatura. Serão apresentadas aquelas que foram consideradas como mais promissoras para síntese destes compostos.

1.11.1.1 Substituição Nucleofílica em α -Haloácidos

Tratamento de α -bromoácidos ou ésteres **14** com hidroxilamina, na presença de base, produz o correspondente *N*-hidroxi- α -aminoácido derivado **15**. Apesar dos rendimentos reportados para os produtos obtidos através desta metodologia serem ruins (abaixo de 35%), os materiais de partida são facilmente adquiridos pela bromação de ácidos carboxílicos ou através da reação de α -aminoácidos com ácido nitroso na presença de KBr. Melhores rendimentos para reação podem ser conseguidos utilizando ésteres *t*-butílicos dos α -bromo aminoácidos. Além disso, o método é estereoespecífico e permite a conversão de L-aminoácidos em D-*N*-hidroxilaminoácidos (Esquema 8).^{52,53}



Esquema 8 - Síntese de *N*-hidroxi- α -aminoácidos a partir de substituição nucleofílica de α -bromoácidos ou ésteres.

N-Hidroxi- α -aminoácidos são uma classe de aminoácidos incomuns os quais vêm sendo identificados como componentes de antibióticos peptídicos, como a hadacidina isolada de culturas microbianas de *Penicillium frequentans*⁵⁴. Além disso, *N*-hidroxilaminoácidos são intermediários importantes para preparação de pirazinas *N*-óxidos de ocorrência natural como a emimicina (Figura 13)⁵⁵.

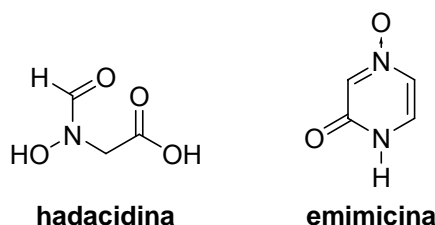


Figura 13 - *N*-hidroxilaminas de ocorrência natural.

De modo semelhante aos α -aminoácidos, *N*-hidroxi- α -aminoácidos apresentam caráter anfótero e, portanto, são solúveis em ácidos minerais e bases diluídas. O valor de seus pK são aproximadamente 2,2 (pK_1) e 5,6 (pK_2) para função carboxila e hidroxilamina, respectivamente. Os valores de pK_2 dos correspondentes α -aminoácidos são de 3 a 4 unidades de pK maiores, enquanto os valores de pK_1 são da mesma ordem de magnitude. Este decréscimo na basicidade da função NH_2OH , quando comparada a basicidade do grupamento NH_2 , pode ser explicada pelo efeito indutivo do grupo hidroxila vizinho (efeito α) ou pela formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o grupo hidroxila e o grupo carboxila como em **16**.⁵³

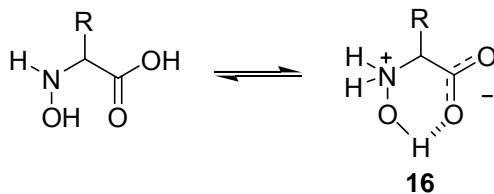
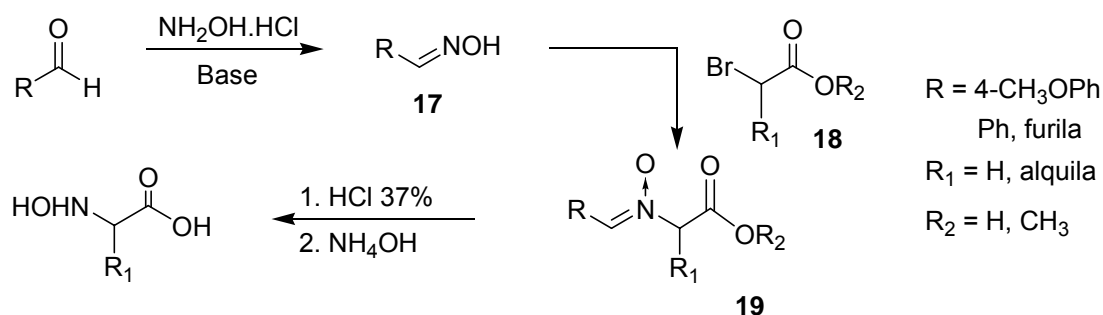


Figura 14 - Formação de ligação de hidrogênio intramolecular.

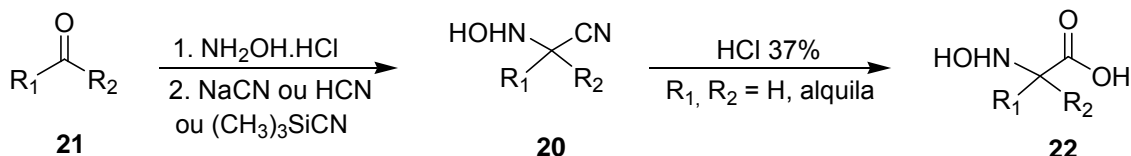
Alternativamente, *N*-hidroxi- α -aminoácidos também podem ser obtidos através da reação de alquilação entre benzaldeído oxima,⁵⁶⁻⁵⁸ anisalaldeído oxima⁵⁴ ou furfuraldeído oxima **17** e o α -bromo ácido ou éster **18**,⁵⁵ os quais produzem a nitrona **19** que é, então, hidrolisada com HCl concentrado, em 50-75 % de rendimento global (Esquema 9).



Esquema 9 - Síntese de *N*-hidroxi- α -aminoácidos a partir da nitrona 19.

1.11.1.2 Adição de Cianeto em Aldoxima e Cetoximas

A preparação de um conjunto significativo de aldoximas geradas *in situ* e cetoximas é descrita na literatura a partir do tratamento destas com NaCN, seguido de hidrólise.⁵⁹ Deste modo, a ciano hidroxilamina **20** é preparada pelo tratamento do respectivo aldeído ou cetona **21** com cloreto de hidroxilamônio em meio básico e subsequente adição de cianeto. Hidrólise ácida do ciano derivado **20** com ácido clorídrico concentrado resulta nos α -hidroxilaminoácidos **22** (Esquema 10).



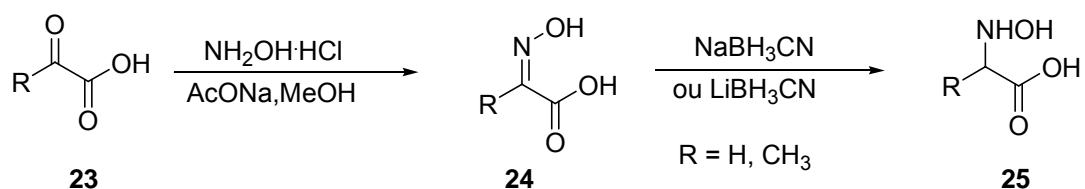
Esquema 10 - Formação de *N*-hidroxi- α -aminoácidos através da adição de cianeto em aldoximas ou cetoximas e posterior hidrólise ácida.

A grande vantagem desta metodologia é que são empregados reagentes de baixo custo e bastante acessíveis. Porém, os produtos são produzidos como misturas racêmicas e os rendimentos são frequentemente menores que 50% em decorrência da formação de subprodutos durante a hidrólise da ciano hidroxilamina.

1.11.1.3 Redução de Oximas

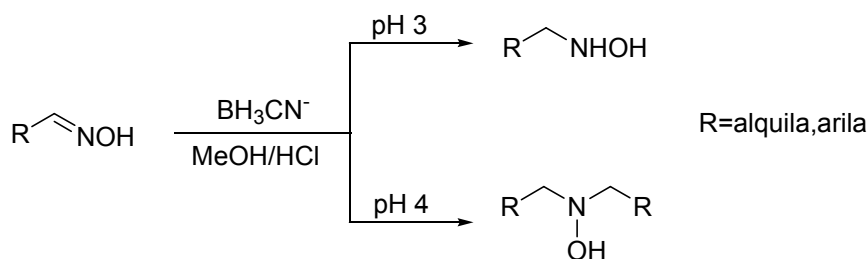
Uma metodologia geral para síntese de hidroxilaminas, incluindo *N*-hidroxi- α -aminoácidos, é a de redução das correspondentes oximas. Na redução, reagentes brandos devem ser empregados com objetivo de evitar a formação das correspondentes aminas. Desta forma, cianoborohidretos são provavelmente os reagentes mais adequados para evitar a redução a aminas.^{53,60,61}

Reação entre o cetoácido **23** e cloreto de hidroxilamônio, na presença de acetato de sódio e metanol aquoso,⁶²⁻⁶⁴ produz a oxima **24** que por sua vez é reduzida com cianoboroidreto de sódio ou lítio para gerar o α -hidroxilaminoácido **25** (Esquema 11).⁶⁵



Esquema 11 - Preparação de *N*-hidroxilaminoácidos **25 por redução com BH_3CN^- .**

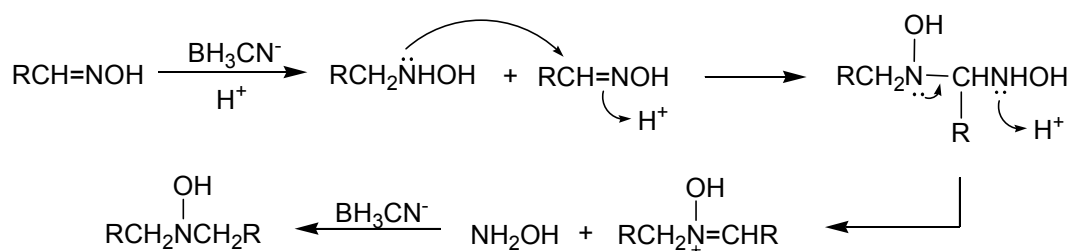
A redução de oximas é extremamente dependente do pH. Em pH 3, é formada uma hidroxilamina monoalquilada. Ao proceder-se a reação em pH 4, contudo, o produto majoritário é uma hidroxilamina dialquilada (Esquema 12).^{60,61}



Esquema 12 - Dependência do pH reacional nas reduções de oximas com BH_3CN^- .

A formação da *N*-hidroxilamina di-alkilada provavelmente ocorre através do mecanismo apresentado no Esquema 13. Contudo, se o pH reacional for diminuído suficientemente a fim de levar a uma redução rápida da oxima para *N*-hidroxilamina mono-alkilada, a etapa de produção da di-alkil-

N-hidroxilamina torna-se desfavorecida.⁶¹



Esquema 13 - Mecanismo para redução de oximas com BH_3CN^- .

Este método possui a vantagem de poder ser utilizado para gerar uma grande diversidade de *N*-hidroxilaminas aromáticas e alifáticas. É importante salientar que *N*-hidroxilaminas polifuncionais, obtidas pela redução das respectivas oximas com cianoboroidreto de sódio, têm sido extensivamente empregadas como precursores de nitronas, importantes intermediários na síntese de produtos naturais a partir de reações de cicloadição intramolecular.^{63,64,66,67}

A geração de *N*-alquil hidroxilaminas a partir da redução de oximas também pode ser realizada pela utilização de borano/tetrahidrofurano,⁵³ borano/piridina⁶⁸ e borano/trimetilamina⁶⁶.

Hidrogenação catalítica de aril cetoximas fornece as respectivas aminas, enquanto que aldoximas geram hidroxilaminas *N,N*-dissubstituídas.⁶⁰ Portanto, este método não é adequado para síntese de *N*-alquil hidroxilaminas.

1.11.2 Ácidos Hidroxâmicos

A década passada parece mostrar o ressurgimento do interesse pelos ácidos hidroxâmicos em decorrência da identificação de uma série destes derivados como bioativos, incluindo sideróforos microbianos, inibidores da zinco protease de relevância oncológica e anti-inflamatória e o antibiótico fosfidomicina, um poderoso agente antimalarial.⁶⁹

A seguir são apresentadas algumas ocorrências de ácidos hidroxâmicos bioativos.

1.11.2.1 Sideróforos

Ferro, enquanto nutriente essencial, não está prontamente disponibilizado em ambientes aquáticos, terrestres ou em hospedeiros animais. Entretanto, os microrganismos têm desenvolvido várias estratégias para adquirir ferro e, ao mesmo tempo, proteger-se dos efeitos tóxicos potenciais. A estratégia mais eficaz é a produção e utilização de sideróforos (do grego *sideros* = ferro, *foros* = transportador).

Um método bastante simples e eficiente de proteger os animais de infecções bacterianas ou fúngicas é privar o organismo da absorção de ferro. Um suprimento adequado de ferro pode ser crítico para muitos microrganismos patogênicos, visto que a transferrina tem uma afinidade muito grande pelo metal.

A grande ocorrência de malária, por exemplo, que representa um dos maiores problemas de saúde no mundo, tem levado ao desenvolvimento de novos agentes antimalariais. Nesse contexto, um considerável número de quelantes de Fe(III), cujos sítios de complexação são hidroxamatos, têm sido propostos como agentes terapêuticos. Estes são capazes de acessar as células infectadas e remover ferro dos parasitas intracelulares interrompendo, desta forma, o ciclo da doença.

Também no tratamento da tuberculose, cólera e lepra, os sideróforos têm alcançado desempenho satisfatório na interrupção do ciclo da doença.

Um outro aspecto interessante na aplicação clínica de sideróforos é a elevação da potência dos antibióticos clássicos, se conjugado a estes sideróforos. O objetivo aqui é adquirir a vantagem da alta seletividade dos sideróforos que, quando conjugados, utilizam captação específica de ferro para a entrada nas bactérias.

Os sideróforos também apresentam papel importante na atividade inibitória de corrosão de metais, principalmente ferro. Também são reportados a utilização de siderófilos na biodegradação da madeira e no branqueamento da polpa de papel.⁷⁰

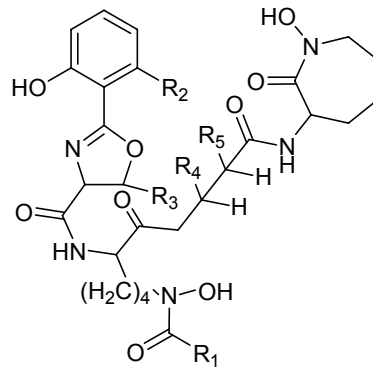
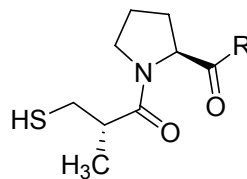


Figura 15 - Estrutura geral das micobactinas, os quais são sideróforos responsáveis pelo crescimento das micobactérias.

1.11.2.2 Inibidores da enzima conversora de angiotensina

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é responsável pela clivagem do dipeptídeo carboxi terminal presente no decapeptídeo angiotensina I a fim de produzir o potente vaso constritor angiotensina II. Compostos que inibem esse processo têm sido caracterizados como agentes capazes de diminuir a pressão sanguínea de seres humanos e animais hipertensivos. Estudos utilizando análogos do anti-hipertensivo captopril, o qual é um derivado da prolina, contendo grupos ácidos (como ácidos hidroxâmicos) revelaram que a sua atividade anti-hipertensiva não é modificada.⁷¹



R = OH Captopril
R = NHOH

Figura 16 - Captopril e ácido hidroxâmico derivado do captopril.

1.11.2.3 Inibidores da peptido deformilase (PDF)

Peptido deformilase (PDF) é uma enzima essencial para o crescimento bacteriano, pois promove a remoção de grupos formil *N*-terminais de polipeptídeos recém-sintetizados. Por não ser encontrada em células

mamárias, essa enzima torna-se alvo atrativo para o desenvolvimento de novos antibióticos. Cabe salientar que, inibidores da deformilase ainda não foram utilizados como drogas antibacterianas e, portanto, compostos preparados a fim de inibir tal enzima não são propensos a formação de resistência cruzada com agentes bacterianos.

A maioria dos inibidores de PDF apresentam uma estrutura comum contendo um grupo quelante+peptidomimético. Embora compostos possuindo diferentes quelantes possam inibir a enzima, somente aqueles contendo ácidos hidroxâmicos ou *N*-formil hidroxamatos mostram atividade antibacteriana apreciável.⁷²

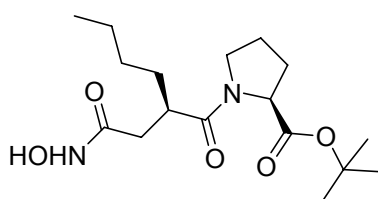


Figura 17 - Potente inibidor de PDF derivado de prolina ácido hidroxâmico contendo moderada atividade anti-bacteriana.

1.11.2.4 Inibidores de Matrix metaloproteinases (MMPs)

Matrix metaloproteinases (MMPs) têm sido reportadas como tendo um papel essencial em inúmeras doenças, como problemas cardíacos e câncer. O desenvolvimento de ambas as patologias, geralmente nos primeiros estágios, é favorecido pela ativação proteolítica de várias MMPs. Por estas razões, inibição das MMPs vêm sendo estudadas como um promissor alvo terapêutico para falha cardíaca e câncer.

Recentemente, Becher e colaboradores⁷³ descreveram a preparação de um conjunto de α -aquil-amino- β -sulfona hidroxamatos como potentes inibidores de MMPs.

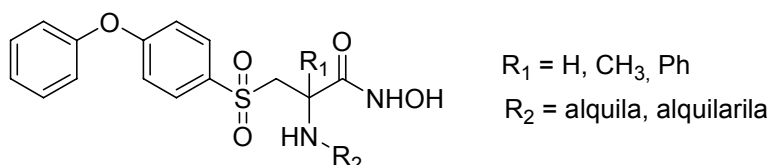
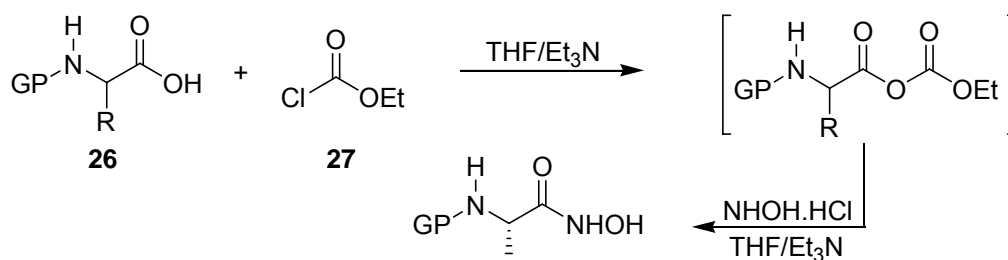


Figura 18 - Potentes inibidores de MMPs.

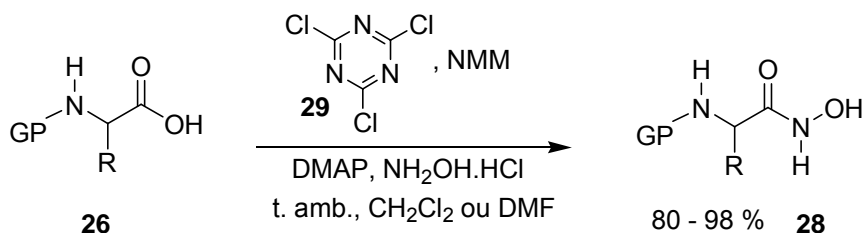
1.11.2.5 Metodologias para Síntese de Ácidos Hidroxâmicos

Inúmeras metodologias são descritas na literatura para preparação de derivados de ácidos hidroxâmicos.⁷⁴ Reddy e colaboradores⁷⁵ reportaram a síntese de uma série de derivados de ácidos hidroxâmicos pelo tratamento de aminoácidos protegidos **26** com cloroformiato de etila (**27**), na presença de Et₃N como base e THF como solvente, seguido de adição de hidroxilamina previamente liberada pelo seu tratamento com Et₃N (Esquema 14).



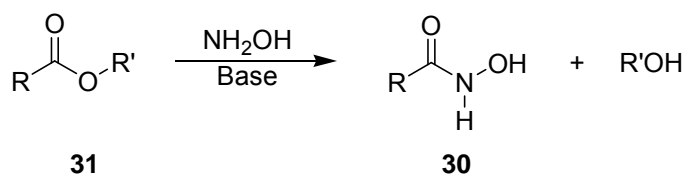
Esquema 14 - Metodologia geral para síntese de derivados de ácidos hidroxâmicos.

Alternativamente, Giacomelli e colaboradores⁷⁴ reportaram a síntese de um conjunto de *N*-amino ácidos hidroxâmicos protegidos **28** a partir dos seus respectivos aminoácidos protegidos **26** utilizando diclorometano ou DMF como solvente e triclortriazina **29** como agente ativante. Os rendimentos obtidos para transformação são excelentes (Esquema 15).



Esquema 15 - Rota sintética alternativa para síntese de derivados de ácidos hidroxâmicos utilizando TCT.

E, ainda, derivados de ácidos hidroxâmicos **31** podem ser preparados através da hidroxilaminólise dos seus respectivos ésteres (Esquema 16).⁷⁶⁻⁸⁰

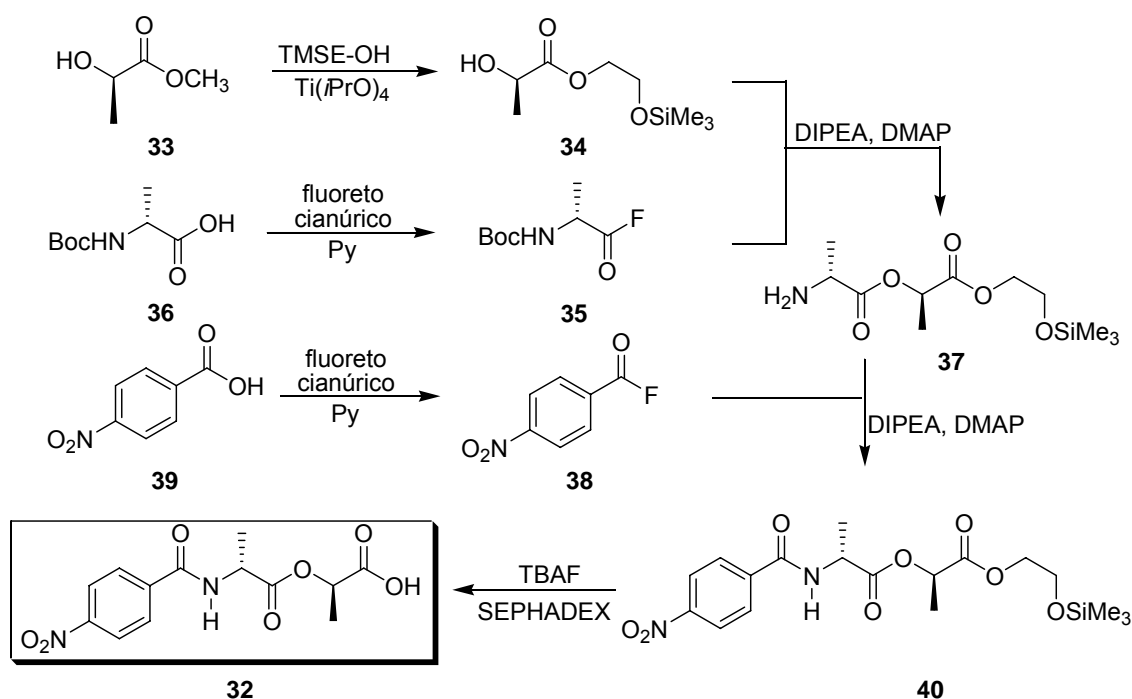


Esquema 16 - Síntese de derivados de ácidos hidroxâmicos via hidroxilaminólise de ésteres.

2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS DA TESE

2.1 Síntese de Modelos de Peptidoglicano Alterado

A preparação do derivado de Ala-Lac (**32**) utilizado por Chiosis e Boneca²⁶ para mimetizar a parede celular de bactérias Gram-positivas resistentes a vancomicina e identificar pequenas moléculas que apresentem capacidade hidrolítica é mostrado no Esquema 17. Transesterificação do D-lactato de metila (**33**) na presença de 2-(trimetilsilil)etanol (TMSE-OH) forneceu, após purificação por cromatografia em coluna, o trimetilsilil lactato (**34**), em 85% de rendimento. O silil derivado **34** foi então deixado reagir com o fluoreto ácido **35** – preparado pelo tratamento da Boc-D-Ala (**36**) com fluoreto cianúrico [2,4,6-trifluoro-1,3,5-triazina] em piridina – na presença de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) e quantidades catalíticas de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) para produzir, após purificação por cromatografia, o trimetilsililetil lactato (**37**) (90% de rendimento). Este, por sua vez, reagiu com o fluoreto de *p*-nitrobenzoila **38** (preparado a partir do ácido *p*-nitrobenzóico (**39**) pelo mesmo procedimento descrito na síntese do fluoreto ácido (**35**) promovido por DIPEA e quantidades catalíticas de DMAP para fornecer, após purificação por cromatografia em gel de sílica, o trimetilsilil *p*-nitrobenzoil derivado de D-Ala-D-Lac (**40**). Subsequente desproteção do grupo trimetilsililetil com fluoreto de tetrabutylamônio (TBAF) e purificação do produto por cromatografia em gel (Sephadex) forneceu o *p*-NO₂Bz-D-Ala-D-Lac (**32**).



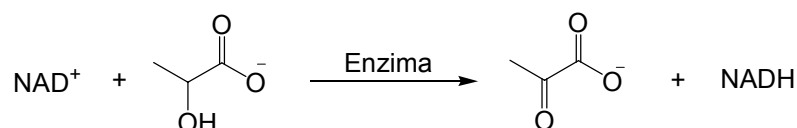
Esquema 17 - Rota sintética desenvolvida por Chiosis e Boneca para a preparação do derivado *p*-NO₂Bz-D-Ala-D-Lac 32.

O acesso ao composto **32**, apesar de eficiente, envolve a utilização de reagentes de custo elevado (Tabela 1)⁷⁶, condições reacionais complexas que incluem separações cromatográficas em gel de sílica e SEPHADEX, e reagentes indesejados (preparação de fluoretos de ácido), além de 4 etapas preparativas e 6 transformações sintéticas. Assim, pretende-se desenvolver metodologias para preparação de derivados miméticos do peptidoglicano modificado Ala-Lac, empregando reagentes baratos e de mais fácil acesso, utilizando condições sintéticas mais simples e um número menor de etapas reacionais.

Tabela 1 - Preço de alguns reagentes utilizados na rota sintética desenvolvida por Chiosis e Boneca para síntese dos depsi-peptídeos modelos.

Reagente	Abreviatura	Pureza	Quantidade	R\$ ⁷⁶
<i>N,N</i> -DIISOPROPILETILAMINA	DIPEA	–	50 mL	99,00
ISOPROPÓXIDO DE TITÂNIO	–	97%	100 mL	180,00
FLUORETO DE TETRABUTILAMÔNIO	TBAF	98%	10 g	240,00
(<i>R</i>)-LACTATO DE METILA	–	97%	5 g	324,00
SEPHADEX(R) LH-20 25-100 μM	SEPHADEX	–	25 g	460,00
4-(DIMETILAMINO)PIRIDINA	DMAP	99%	100g	550,00
2-(TRIMETILSILIL)ETANOL	TMSE-OH	99%	10g	658,00
ÁCIDO TRIFLUOROACÉTICO	TFA	99%	100 mL	920,00

Na identificação dos agentes hidrolíticos potenciais para clivagem da porção alterada do peptidoglicano (D-Lac) em meio aquoso, Chiosis e Boneca utilizaram o depsipeptídeo *p*-NO₂Bz-D-Ala-D-Lac (**32**) o qual possui uma banda de absorção intensa na região do ultravioleta (275 nM)²⁶. Neste trabalho, porém, os possíveis agentes hidrolíticos serão determinados através da geração de D-Lac produzido pela conversão deste para piruvato simultaneamente com a redução de NAD⁺ para NADH. Esta reação é catalisada pela enzima *Leuconostoc mesenteroides* D-lactato desidrogenase (DLDH).⁸¹ Já os derivados contendo L-Lac serão avaliados pelo mesmo procedimento, utilizando-se um kit específico para este isômero. Assim, pretende-se promover a preparação de uma grande quantidade de candidatos a modelos miméticos da porção modificada do peptidoglicano, através de metodologias gerais, sem que haja necessidade da presença um grupo cromofórico em cada molécula.



Esquema 18 - Doseamento de lactato.

Vale ressaltar que os aminoácidos D- possuem valores comerciais muito mais elevados do que os L- aminoácidos. Portanto, criar rotas sintéticas gerais com estes aminoácidos mais viáveis economicamente, e posteriormente estendê-las para os seus enantiômeros, é a melhor estratégia.

2.2 Síntese de Agentes Hidrolíticos Mais Eficientes

Devido aos resultados nada catalíticos obtidos para moléculas preparadas por Chiosis e Boneca, a síntese de agentes hidrolíticos mais eficientes que possam atuar em conjunto com a vancomicina mostra-se de grande apelo.

Estudos computacionais preliminares realizados em nosso grupo de pesquisa indicaram que compostos dinucleofílicos de cadeia aberta contendo α -nucleófilos⁸² seriam capazes de levar a resultados de hidrólise da porção

modificada indesejada (D-Lac) mais promissores. Desta forma, o grupamento amino presente nas moléculas a serem preparadas poderá ancorar na carboxila do depsipeptídeo através de interação iônica facilitando o ataque do α -nucleófilo na carbonila do grupo acil da porção alanina, liberando a porção lactato indesejada.

Deste modo, pretende-se sintetizar moléculas dinucleofílicas simples contendo um grupo básico e um α -nucleófilo.

De maneira análoga aos compostos de cadeia aberta, planeja-se aumentar a atividade dos derivados de *N*-acil prolinol, similares aos preparados por Chiosis e Boneca, sintetizando derivados de *N*-acil prolinas contendo grupos α -nucleofílicos.

2.3 Objetivos Gerais da Tese

Os objetivos gerais deste projeto consistem em:

1. Preparar agentes hidrolíticos mais eficientes, como compostos dinucleofílicos de cadeia aberta e derivados semelhantes aos sintetizados por Chiosis e Boneca possuindo em suas estruturas α -nucleófilos potentes. Pretende-se que estas substâncias atuem em conjunto com a vancomicina para assim re-sensibilizar bactérias resistentes a este antibiótico;
2. Desenvolver metodologias sintéticas para preparação de derivados miméticos de peptidoglicano modificado, Ala-Lac, empregando reagentes baratos e de mais fácil acesso, condições de síntese química mais favoráveis e um número menor de etapas reacionais;
3. Avaliar a capacidade hidrolítica dos compostos sintetizados frente aos depsipeptídeos identificados como modelos miméticos para a porção modificada do peptidoglicano (D-Ala-D-Lac).

4. Avaliar a potencialidade dos compostos preparados frente a alvos diversos.

2.4 Objetivos Específicos da Tese

1. Identificar e desenvolver rotas sintéticas de fácil acesso para preparação de derivados da prolina, bem como agentes hidrolíticos de cadeia aberta, contendo α -nucleófilos como oximas, *N*-hidroxilaminas e ácidos hidroxâmicos, através de adições nucleofílicas, substituições nucleofílicas e reduções.
2. Sintetizar depsipeptídeos derivados da alanina e lactato a partir de reações de acoplamento envolvendo L- α -hidroxiácidos e L-aminoácidos *N*-protegidos e tentar estender as metodologias desenvolvidas para a síntese de depsipeptídeos a partir dos seus respectivos D-isômeros.
3. Determinar a capacidade hidrolítica dos compostos preparados frente aos modelos miméticos desenvolvidos.
4. Avaliar a atividade anti-herpética e a citotoxicidade dos compostos preparados utilizando como modelos virais vírus com genoma DNA: herpes simplex vírus tipo 1 (HSV-1), cepas 29R (resistente ao aciclovir) e KOS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese dos Depsipeptídeos

A literatura apresenta inúmeras metodologias para síntese de depsipeptídeos, sendo que a mais comum é a utilização de substratos protegidos na forma de seus derivados O-benzilados através da utilização de agentes de acoplamento^{83,84}, seguido de hidrogenólise^{35,85}. E ainda, pela substituição de cloretos de ácidos carboxílicos com 2-hidroxiácidos⁴⁷, bem como pela reação dos ésteres benzílicos derivados dos ácidos 2-bromocarboxílicos e um ácido carboxílico, seguido de hidrogenólise⁸⁶.

3.1.1 Tentativas de Síntese dos Depsipeptídeos em uma Etapa

Em uma primeira análise da estrutura modelo apresentada na Figura 19, sugeriu-se o derivado **8** como primeiro alvo sintético para modelos de Ala-Lac (Esquema 19). Esta escolha ocorreu devido à possibilidade desta molécula ser preparada em uma única etapa sintética a partir de uma reação de substituição nucleofílica envolvendo reagentes acessíveis e baratos. Além disto, buscou-se promover uma simplificação estrutural. Apesar do inconveniente de se obter um racemato, a mistura podera ser utilizada para definir a capacidade de reconhecimento dos agentes hidrolíticos a um dos isômeros no momento da clivagem da porção modificada.

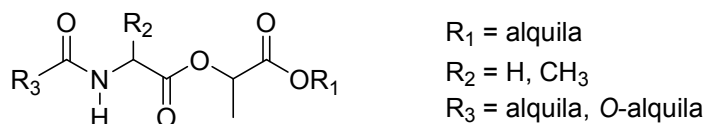
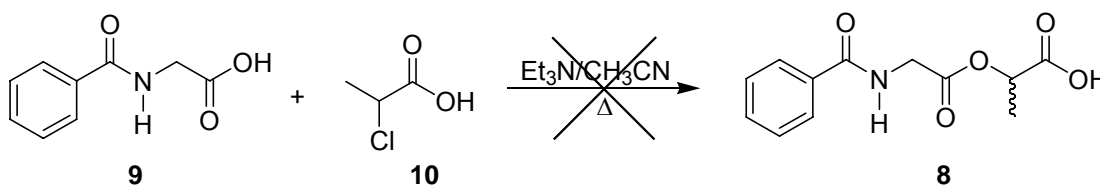


Figura 19 - Estrutura geral dos depsipeptídeos a serem preparados.

Como fora comentado na seção 1.10.1.1, Murphy e Bunting⁴⁷ reportaram a preparação do derivado **8** a partir do ataque nucleofílico do ácido hipúrico (**9**) sobre o ácido 2-cloropropiônico **10**.



Esquema 19 - Síntese do depsipeptídeo derivado do ácido hipúrico em uma etapa.

No entanto, tentativas de síntese do depsipeptídeo **8** através das condições descritas por Murphy e Bunting⁴⁷ (triethylamina, acetonitrila, refluxo – Esquema 19) não levaram ao composto almejado. Desta forma, tentou-se variar as condições experimentais, conforme a Tabela 2, a fim de serem obtidos melhores resultados.

É bem sabido que KF apresenta comportamento de base quando em solução de ácidos carboxílicos em solventes apróticos, bem como quando dissolvido em ácidos carboxílicos na ausência de solvente.⁸⁷ Este comportamento é explicado pela formação de uma ligação de hidrogênio entre a hidroxila da porção ácido do ácido orgânico e o íon fluoreto, gerando assim ânion carbonil altamente reativo.

Assim, tentou-se promover a presente reação na ausência de solvente, porém sem sucesso (reação 01). Este fato pode ser explicado pela não homogeneização do KF, uma vez que o ponto de fusão do ácido hipúrico é 189-191 °C⁸⁸. No entanto, não foi possível realizar o experimento numa temperatura que possibilitasse a fusão do ácido, uma vez que seria necessário a utilização de banhos de óleo especiais. Logo, optou-se por utilizar solventes apróticos como CH_3CN e DMF (reações 02 e 03). A solubilidade do KF em DMF é aproximadamente 3%, a 130 °C, sendo reportado como suficiente para estas reações.⁸⁷ Na verdade, a função do solvente é de apenas solvatar os íons potássio formados e possibilitar que os íons F^- consigam chegar ao interior da solução.⁸⁷ Verificou-se ainda a possibilidade de utilizar o decréscimo na proporção de ácido hipúrico, pois uma quantidade substancial de material de partida estava sendo recuperado após o tratamento aquoso, dificultando uma

possível identificação do depsipeptídeo **8** caso este fosse formado (reações 02-06). Porém, o produto almejado não foi obtido mesmo aumentando-se a temperatura e o tempo reacional (reação 07). Na tentativa de aumentar a quantidade de íons fluoreto na solução, empregou-se TBAB (brometo de tetrabutilamônio) como catalisador de transferência de fase (reação 08). Contudo, o ácido de partida foi novamente recuperado. Foram realizados ainda reações empregando-se outras bases, como carbonato de potássio e piridina em diferentes solventes (reações 09-13), todavia não foi observado formação do depsipeptídeo.

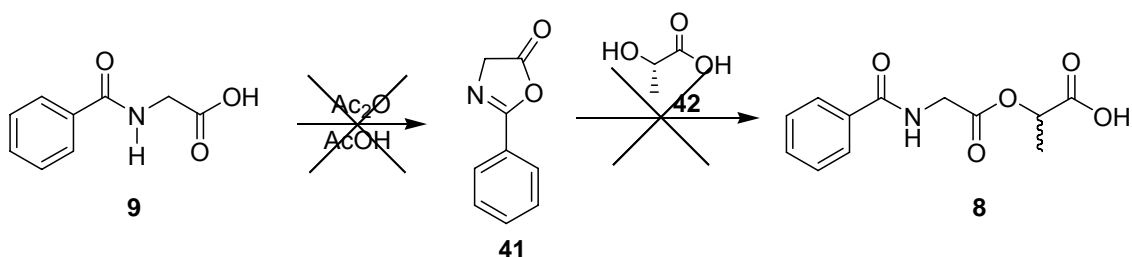
Tabela 2 - Condições reacionais empregadas para preparação do depsipeptídeo 8 em uma etapa.

Reação	Solvente	Base	Temp. (°C)	Tempo (h)	9:10	Aditivo
01	-	KF	130	4	20:1	-
02	CH ₃ CN	KF	130	4	20:1	-
03	DMF	KF	130	4	20:1	-
04	DMF	KF	130	4	5:1	-
05	DMF	KF	130	4	2:1	-
06	DMF	KF	130	4	1:1	-
07	DMF	KF	150	40	1:1	-
08	DMF	KF	130	4	1:1	TBAB
09	DMF	K ₂ CO ₃	25	24	1:1	-
10	DMF	K ₂ CO ₃	150	12	1:1	-
11	CH ₃ CN	K ₂ CO ₃	95	6	1:1	-
12	Acetona	K ₂ CO ₃	60	6	1:1	-
13	THF	Py	25	20	1:1	-

3.1.2 Tentativas de Síntese do Depsipeptídeo em Duas e Três Etapas

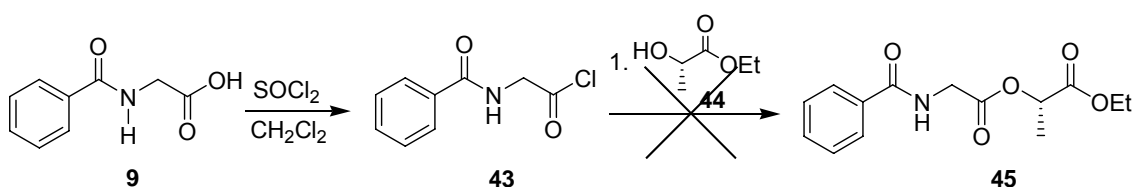
Assim, buscou-se promover a preparação do derivado **8** por meio de rotas alternativas em duas etapas. A primeira delas foi baseada na preparação da azalactona **41**⁸⁹ (não isolada), pela reação entre o ácido hipúrico (**9**), ácido

acético e anidrido acético, com subsequente ataque nucleofílico do ácido L-láctico **42** na azalactona **41**, para fornecer o depsipeptídeo alvo **8**. No entanto, recuperou-se o ácido de partida **9**.



Esquema 20 - Tentativa de preparação do depsipeptídeo derivado do ácido hipúrico em duas etapas.

Devido a não obtenção do depsipeptídeo **8** pela estratégia em duas etapas, tentou-se prepará-lo através de uma rota sintética em três etapas. Deste modo, preparou-se o cloreto ácido **43** pelo tratamento do ácido hipúrico (**9**) com cloreto de tionila em diclorometano (formação de um óleo vermelho-laranja), seguido de reação com L-lactato de etila (**44**) e subsequente hidrólise seletiva do grupo etil. Porém, novamente, a presente metodologias não foi capaz de produzir o composto desejado **45** (Esquema 21).

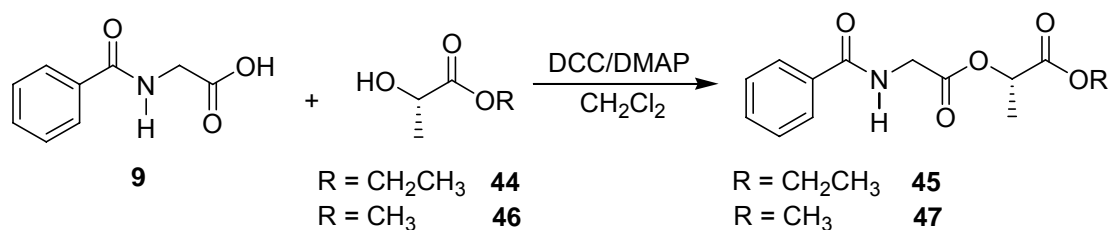


Esquema 21 - Tentativa de preparação do depsipeptídeo **45 via cloreto ácido.**

Portanto, devido à impossibilidade de preparação dos depsipeptídeos alvos, foi necessário partir para uma rota sintética mais elaborada envolvendo a utilização de agentes de acoplamento seguido de hidrólise seletiva.

Desta forma, reação entre o ácido hipúrico (**9**) com os comercialmente disponíveis L-lactatos de etila e metila (**44** e **46**), utilizando DCC como agente

de acoplamento e DMAP como base, em diclorometano, à temperatura ambiente, resultou na formação dos depsipeptídeos protegidos inéditos **45** e **47**, respectivamente (Esquema 22).

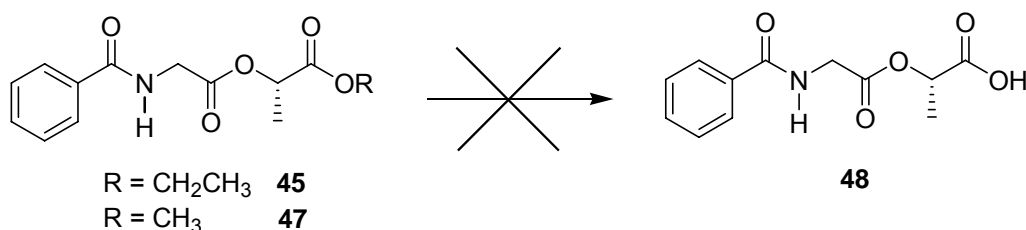


Esquema 22 - Preparação dos ésteres 45 e 47 utilizando DCC como agente de acoplamento.

Os espectros de RMN-¹H para os depsipeptídeos **45** e **47** apresentam um duplete em 1,53 ppm e um quarteto em 5,20 ppm referentes a incorporação da porção lactato, e ainda um duplo duplete em 4,2-4,4 ppm relativo ao grupo CH₂ diastereotópico (Espectro 1, Espectro 4 - anexo).

A hidrólise de ésteres para formação dos respectivos ácidos carboxílicos é uma das transformações orgânicas mais comuns e corriqueiras em laboratório. É bem sabido que ésteres são facilmente clivados em meio ácido e alcalino. No entanto, frequentemente encontramos ésteres que são sensíveis a condições hidrolíticas. Deste modo, inúmeras metodologias as quais empregam condições brandas,⁹⁰ bem como neutras (através de ataques nucleofílicos do tipo S_N2),⁹¹ têm sido desenvolvidas.

A Tabela 3 apresenta as condições reacionais empregadas para as reações de hidrólise seletiva do grupo metil e etil éster do depsipeptídeo **45** e **47** (Esquema 23).



Esquema 23 - Tentativa de hidrólise seletiva do éster etílico 45 e metílico 47.

Primeiramente, tentou-se o emprego de hidróxido de lítio em diferentes solventes (ou misturas de solventes) a fim de realizar a hidrólise seletiva do éster metílico (ou etílico). Porém, os depsipeptídeos de partida foram

recuperados nestas reações (reações 1-3, Tabela 3). Empregou-se então bases mais fortes como KOH e NaOH, porém ácido hipúrico foi formado como produto da hidrólise (BzGli-LacOR) após tratamento reacional, em decorrência das condições básicas drásticas utilizadas (reações 4 e 5, Tabela 3).

Ésteres estericamente desimpedidos podem sofrer ataque nucleofílico do tipo SN₂ de nucleófilos como haletos, cianeto, *t*-butóxido, tiolatos, aminas e tiocianatos.⁹¹ Desta forma, a utilização destes nucleófilos poderia ser interessante numa hidrólise seletiva entre ésteres metílicos e etílicos na presença de ésteres isopropílicos. Assim, investigou-se a utilização de brometo de lítio em piridina ou LiBr em DMF (reações 6-7), porém o material de partida foi recuperado em ambas as tentativas.

Tabela 3 - Condições experimentais empregadas para as tentativas de síntese do depsipeptídeo 48.

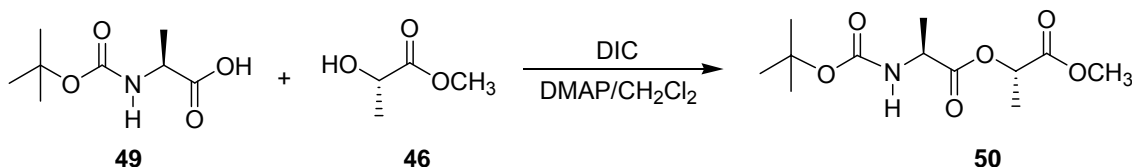
Condição	Solvente	Reagente	Temp. (°C)	Tempo (h)	Composto
01	H ₂ O/MeOH/THF	LiOH	0	1	45 ou 47
02	THF/MeOH	LiOH	0	24	45 ou 47
03	EtOH	LiOH	0	24	45 ou 47
04	MeOH/H ₂ O	NaOH	25	4	9
05	MeOH/THF	KOH	5	1	9
06	Py	LiBr	Refluxo	3,5	45 ou 47
07	DMF	LiBr	Refluxo	2	45 ou 47

Apesar do depsipeptídeo **8** ser um modelo mais simples, as tentativas de síntese deste composto, ou de seu respectivo L-enantiômero **48**, através das metodologias descritas anteriormente não foram capazes possibilitar a obtenção do produto desejado. Assim, partiu-se para a preparação do depsipeptídeo derivado da BOC-alanina, uma vez que este modelo possui uma estrutura mais próxima à encontrada na porção modificada terminal do peptidoglicano Ala-Lac.

Acoplamento da BOC-L-Ala (**49**) com lactato de metila (**46**), utilizando DIC como agente de acoplamento e DMAP como base, levou à formação de um óleo transparente, com 70% de rendimento, o qual foi caracterizado como o éster metílico inédito **50** (Esquema 24).

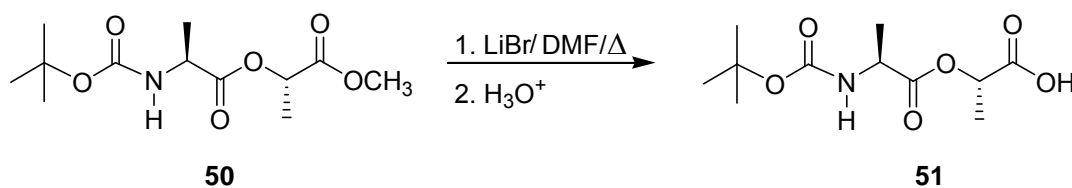
O espectro de RMN-¹H para o éster metil derivado **50** apresenta um multipeto em 1,30-1,60 ppm atribuído às metilas (integração relativa de 15 hidrogênios), um singeto em 3,74 ppm (3 hidrogênios) referente a metoxila, um

quarteto em 4,37 ppm (1 hidrogênio) atribuído ao grupo CH vizinho ao nitrogênio, um singlete largo em 4,99 ppm (1 hidrogênio) o qual desaparece na presença de D₂O, sendo, portanto, referente ao NH e um quarteto em 5,15 ppm (1 hidrogênio) atribuído ao grupamento metino próximo ao oxigênio (Espectro 7 - anexo).



Esquema 24 - Preparação do metil éster 50 empregando DIC como agente de acoplamento.

O depsipeptídeo modelo **51** foi então obtido pela clivagem seletiva do éster metil derivado **50** através de refluxo em DMF na presença de brometo de lítio (substituição S_N2)⁹¹, sendo o produto isolado em 50% de rendimento (Esquema 25).



Esquema 25 - Desproteção seletiva do éster metil utilizando LiBr.

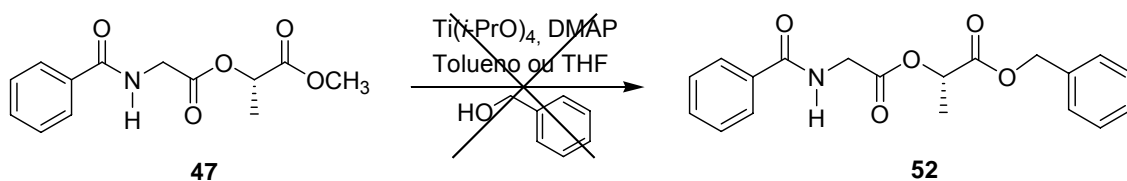
O espectro de IV para o composto apresenta o desaparecimento do sinal referente ao estiramento de C=O em 1713 cm⁻¹ e a formação de um pico em 1677 cm⁻¹ característico de estiramento de C=O de ácidos carboxílicos (Espectro 32 - anexo). Por sua vez, o espectro de RMN-¹H para o derivado desprotegido mostrou a ausência do singlete da metoxila em 3,74 ppm.

Apesar do depsipeptídeo modelo ter sido preparado pela hidrólise seletiva do grupo éster metílico, buscou-se uma rota alternativa para preparação destes compostos modelo, uma vez que o rendimento obtido para esta desproteção foi apenas moderado.

3.1.3 Síntese dos Depsipeptídeos Através da Preparação dos Respectivos Ésteres Benzílicos

É bem sabido que ésteres benzílicos são facilmente desprotegidos através de hidrogenação catalítica, bem como seletivamente hidrogenados quando há presença de outros ésteres na molécula.⁹²

Uma vez que dispúnhamos de uma boa quantidade do metil éster **47**, optou-se em promover a preparação do benzil éster derivado **52** pela transesterificação do depsipeptídeo derivado **47**. No entanto, refluxo do depsipeptídeo **47** em tolueno, na presença de álcool benzílico e DMAP ou refluxo em THF, utilizando $Ti(iPrO)_4$ ⁹³, produziu uma mistura de produtos (Esquema 26).



Esquema 26 - Tentativa de preparação do benzil depsipeptídeo por transesterificação.

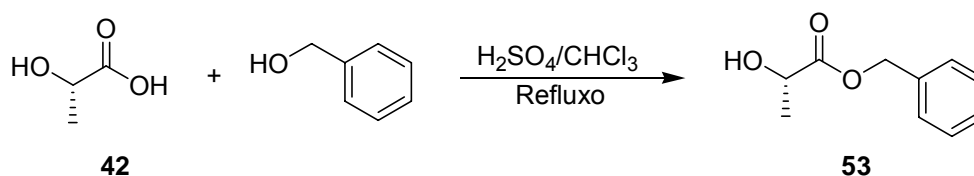
Assim, partiu-se para a preparação do L-lactato de benzila (**53**) a fim de proceder o acoplamento deste com ácido hipúrico (**9**) nas mesmas condições nas quais os ésteres etílico e metílico **45** e **47** foram sintetizados.

Erdoş e Salazar⁹⁴ reportaram, em 1953, a esterificação do álcool benzílico com uma série de ácidos carboxílicos, entre eles o ácido láctico, utilizando ácido clorossulfônico (HSO_3Cl) como catalisador. Tal artigo indicou que a utilização do catalisador para reação entre álcool benzílico e ácido-L-láctico (**42**) gerou L-lactato de benzila (**53**) em 62% de rendimento. Já a mesma reação realizada na ausência do catalisador levou ao produto esperado em apenas 35%. Ao repetir o presente procedimento utilizando HSO_3Cl (previamente destilado), notou-se através de análise de ressonância magnética de hidrogênio a formação de um subproduto que não foi possível de ser caracterizado, além do álcool benzílico de partida e o lactato de benzila esperado. A fim de consumir todo material de partida, adicionou-se uma

quantidade extra de ácido láctico à mistura reacional mantendo-se a mesma sob refluxo. Desta forma, todo álcool benzílico foi consumido, sendo o produto isolado como um óleo viscoso com 35% de rendimento.

Apesar do ácido clorosulfônico ser disponível comercialmente, optou-se em repetir a reação do ácido láctico com álcool benzílico utilizando-se ácido sulfúrico como catalisador.⁹⁵ Inúmeras vantagens podem ser apontadas pelo emprego do H₂SO₄ ao invés de HSO₃Cl, como menor valor comercial, facilidade de aquisição, e maior estabilidade.

Deste modo, ácido L-láctico (**42**) e o álcool benzílico foram mantidos sob refluxo em clorofórmio na presença de quantidades catalíticas de ácido sulfúrico. Após 90 minutos de reação uma quantidade extra de ácido láctico foi adicionada à mistura reacional com o objetivo de garantir o maior consumo possível de álcool benzílico. Após tratamento reacional, a mistura formada foi submetida à destilação à pressão reduzida para resultar na formação do L-lactato de benzila (**53**) em 70% de rendimento (Esquema 27).



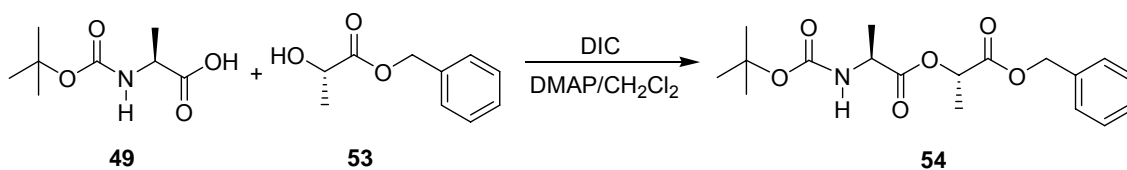
Esquema 27 - Preparação do L-lactato de benzila 53.

O maior consumo do ácido láctico **42** no meio reacional quando comparado com o álcool benzílico pode ser explicado pela formação de um polímero derivado do ácido láctico em decorrência do ataque intermolecular entre as moléculas deste composto. De fato, é notada a presença de um produto polimérico branco juntamente com o óleo formado antes da destilação.

O espectro de RMN-¹H para o L-lactato de benzila (**53**) apresenta um singlete em 5,20 ppm (integração relativa a 2 hidrogênios) o qual é atribuído ao grupo metileno benzílico, além de um singlete em 7,37 ppm (integração relativa a 5 hidrogênios), e ainda um dubleto em 1,42 ppm acoplado a um quarteto em 4,32 ppm (³J= 6,8 Hz) atribuídos ao grupo CH e CH₃, respectivamente (Espectro 9 - anexo).

Portanto, acoplamento da BOC-L-Ala (**49**) com lactato de benzila (**53**), utilizando DIC como agente de acoplamento e DMAP como base, levou ao

lactato de benzila derivado **54** (Esquema 28).

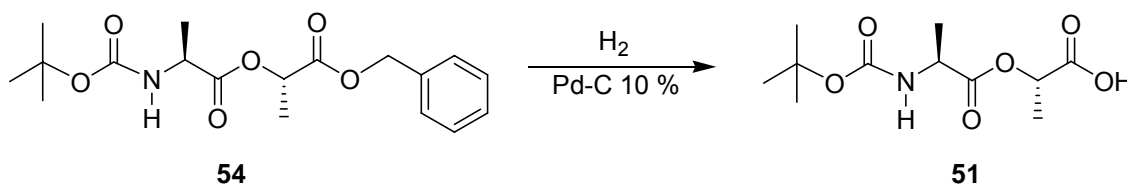


Esquema 28 - Preparação do benzil éster depsipeptídeo **54 derivado da alanina.**

O espectro de RMN-¹H para o éster benzílico derivado **54** apresenta um multiplete em 1,08-1,54 ppm atribuído as metilas (integração relativa a 15 hidrogênios), um quarteto em 4,14 ppm (1 hidrogênio) atribuído ao grupo CH vizinho ao nitrogênio, um singlete em 5,20 ppm (3 hidrogênios) referente aos hidrogênios metilênicos e ao grupamento metino próximo ao oxigênio, e ainda um siglete em 7,46 ppm atribuído aos 5 hidrogênios da fenila (Espectro 12 - anexo).

Subseqüente desproteção do grupo benzila por meio de hidrogenação catalítica utilizando Pd-C 10% gerou o depsipeptídeo modelo **51**, em 86% de rendimento (Esquema 29).

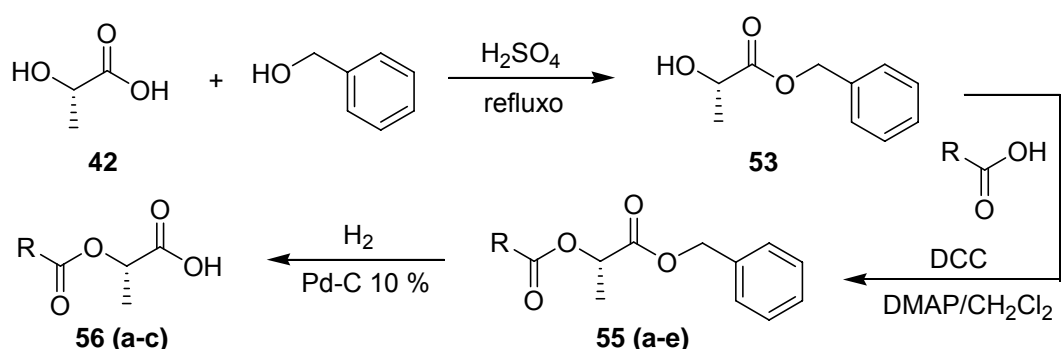
A formação do grupo ácido em **51** é confirmada pelo desaparecimento do pico em 7,45 ppm no RMN-¹H relativo ao grupo fenila, bem como pelo singlete em 5,2 ppm referente ao grupo metileno. E ainda, pela presença de um multiplete com integração relativa a 15 hidrogênios (CH₃ e grupo BOC) entre 1,10-1,50 ppm, um quarteto em 4,03 ppm atribuído ao CH vizinho ao nitrogênio (integração relativa a um hidrogênio) e um quarteto em 4,93 ppm referente ao grupo metino próximo ao oxigênio (Espectro 28).

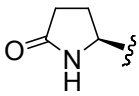


Esquema 29 - Síntese do depsipeptídeo modelo **51 por hidrogenação catalítica.**

Além do maior rendimento obtido para preparação do depsipeptídeo **51** por hidrogenação catalítica, este método mostra-se muito mais interessante do que o de hidrólise seletiva utilizando brometo de lítio em DMF, uma vez que o tratamento e as condições reacionais são mais simples.

Sendo assim, a rota sintética utilizada para síntese do depsipeptídeo modelo **51** via formação dos seus respectivos ésteres benzílico **55 (a-e)** foi estendida para a preparação de uma série de depsipeptídeos **56 (a-c)**. Vale ressaltar que com exceção do depsipeptídeo derivado do ácido piroglutâmico **55a** o qual teve sua preparação reportada através de uma patente⁹⁶ (não apresentada dados de sua preparação), todos os demais depsipeptídeos O-benzilados e desprotegidos preparados são inéditos. É importante destacar ainda que os depsipeptídeos são obtidos como único diastereoisômero, pois a condição sintética empregada não favorece a epimerização do CH α .



R =		EtOCH ₂	PhCH ₂	NCCH ₂	BzNHCH ₂
	a	b	c	d	e
Rend. (% 55) Acoplamento	60	53	48	50	35
Rend. (% 56) hidrogenação	85*	93	95	–	–
Rend. (%) Global**	51	57	46	–	–

* não inédito - patente

** rendimento global medido a partir dos ésteres benzílicos derivados a partir de **52**.

Esquema 30 - Metodologia geral para síntese de depsipeptídeos modelo.

Todos os benzil depsipeptídeos **55** e depsipeptídeos **56** foram caracterizados por RMN e IV. Os deslocamentos para os hidrogênios referentes aos depsipeptídeos obtidos através de análises de RMN-¹H são apresentados na Tabela 4. Já os depsipeptídeos O-benzilados **55** são caracterizados pela presença de um singlete fino em 5,20 ppm o qual está sempre em conjunto com o CH da porção lactato.

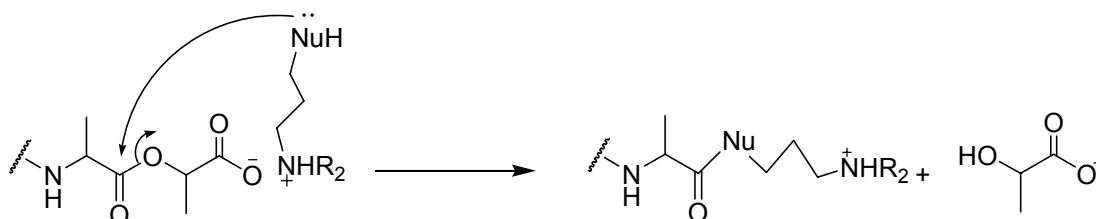
Tabela 4 - Deslocamentos de RMN-¹H para os depsipeptídeos 56a-c.

	CH ₃ (porção lactato)	CH (porção lactato)	R
a	1,50 (d, J = 7,0 Hz)	5,20 (q, J = 7,0 Hz)	2,20-2,55 (2 CH ₂) 4,49 (CH) 6,45 (NH)
b	1,51 (d, J = 7,0 Hz)	5,20 (q, J = 7,0 Hz)	1,23 (CH ₃) 3,63 (CH ₂) 4,13 (CH ₂)
c	1,53 (d, J = 6,8 Hz)	5,20 (J = 6,8 Hz)	3,69 (CH ₂) 7,30 (Ph)

Portanto, apesar das inúmeras metodologias descritas para preparação de depsipeptídeos, Chiosis e Boneca²⁶ optaram por uma rota sintética muito mais complexa envolvendo um maior número de etapas (seção 2.1), utilizando reagentes de custo elevado, além de materiais de partida que necessitam de condições sintéticas especiais, e ainda condições reacionais complexas. De fato, a metodologia ora apresentada mostrou-se geral para preparação de um conjunto representativo de possíveis agentes miméticos de Ala-Lac sem que haja a necessidade de utilização de outros agentes ativadores como *N*-hidroxisuccinimida⁹⁷ ou 8-hidroxiquinolina⁹⁸. Estes depsipeptídeos modelos poderão ser utilizados na avaliação e identificação de compostos nucleofílicos potenciais capazes de clivar seletivamente a ligação éster no depsipeptídeo D-Ala-D-Lac liberando a porção modificada (lactato) do peptidoglicano. E ainda, o método poderá ser estendido para síntese dos respectivos enantiômeros não naturais e, então, a capacidade de agentes hidrolíticos quirais clivarem a ligação depsipeptídica poderá ser avaliada.

3.2 Agentes Hidrolíticos de Cadeia Aberta Contendo o Grupo Hidroxilamina

Estudos computacionais realizados indicaram que compostos difuncionalizados de cadeia aberta contendo nucleófilos potentes como um α -nucleófilo e um grupo com caráter básico seriam capazes de levar a resultados de hidrólise mais promissores. Alternativamente, o grupamento amino poderia ancorar na carboxila do depsipeptídeo através de interação iônica facilitando o ataque do α -nucleófilo na carbonila do grupo acil. Assim, a porção lactato indesejada seria liberada (Esquema 31). E ainda, a presença de um segundo nucleófilo, ou base, na molécula ajudará a tornar o par de elétrons mais disponível para o ataque nucleofílico (Figura 20).



Esquema 31 - Clivagem da porção Lac por agentes hidrolíticos de cadeia aberta.

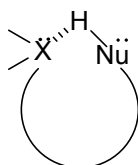


Figura 20 - Estrutura geral de moléculas contendo um nucleófilo e grupo que atue como base.

N-Hidroxilaminoácidos também foram identificados como possíveis agentes hidrolíticos capazes de promover a clivagem da ligação éster (liberando assim a porção lactato) uma vez que esses são poderosos nucleófilos (seção 1.10.2) (Figura 21).

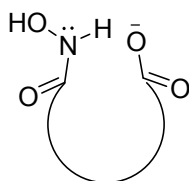


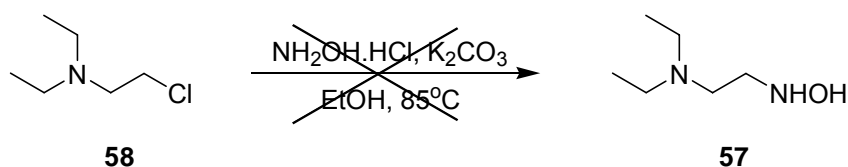
Figura 21 - Estrutura geral de *N*-hidroxilaminoácidos.

Desta forma, procurou-se preparar moléculas dinucleofílicas simples

contendo um grupo amino, ou carboxilato, e um α -nucleófilo (*N*-hidroxilaminas, oximas e *N*-hidroxilaminoácidos).

3.2.1 Preparação de *N*-Hidroxilaminas por Substituição Nucleofílica S_N2

Bultaeu e colaboradores⁹⁹ reportaram, através de uma patente, a preparação da *N*-hidroxilamina **57** derivada do cloreto de *N,N*-dietiletilamina **58** (comercialmente disponível) pelo ataque nucleofílico tipo S_N2 da hidroxilamina sobre o carbono, na presença de carbonato de potássio. Subseqüente dissolução da mistura formada em acetato de etila, seguido de lavagens com bicarbonato e destilação a pressão reduzida levou a formação de um óleo transparente viscoso.



Esquema 32 - Tentativa de síntese da amino-*N*-hidroxilamina por substituição nucleofílica.

A amostra apresenta odor característico de aminas e adquire facilmente a coloração amarela quando exposta à atmosfera ambiente. Adição de HCl gasoso resultou na formação de um precipitado branco bastante higroscópico.

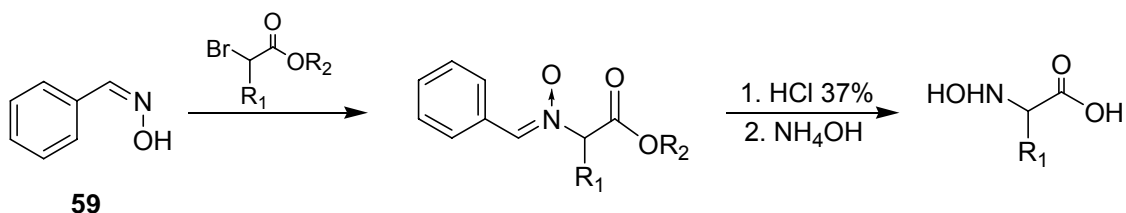
O espectro de RMN-¹H, realizado em CDCl₃ como solvente, apresentou um tripleto em 1,15 ppm com integração relativa a 3 hidrogênios acoplado a um quarteto em 2,60 ppm (2 hidrogênios) atribuídos aos grupos CH₃ e CH₂, respectivamente, e um singlete em 4,84 ppm com integração relativa a 2 hidrogênios. No entanto, o espectro de RMN-¹³C apresentou apenas dois sinais, sendo o primeiro em 12,15 ppm referente ao grupo metila e o segundo em 43,74 ppm relativo ao grupo metileno. Portanto, o sinal em 4,84 ppm no espectro de ressonância de hidrogênio pode ser atribuído à água presente na amostra devido a sua característica higroscópica.

O EM para a amostra apresenta uma série de fragmentos com alto peso molecular (até $m/z \sim 500$) em uma certa periodicidade ($m/z \sim 73-75$). Este é um indicativo de uma possível polimerização de um derivado de amina formado.

3.2.2 Preparação de N-Hidroxilaminas via Nitronas

Inúmeros métodos são descritos na literatura para preparação de *N*-hidroxilaminoácidos.⁵³ Numa primeira análise, pensou-se em promover a síntese desses compostos pela substituição direta (S_N2) de ácidos α -bromo carboxílicos com hidroxilamina. No entanto, devido aos rendimentos reportados para preparação dos compostos por tal metodologia serem muito baixos (< 30% rendimento), e em virtude das dificuldades encontradas na síntese da *N,N*-dimetilaminohidroxilamina por substituição nucleofílica (seção 3.2.1), tal rota foi descartada.

Uma metodologia que parece ser bastante conveniente para preparação desses compostos é a utilização da nitrona do (*Z*)-benzaldeídoxima **59**, uma vez que a seletividade da *N*-alquilação é bastante elevada⁵⁶⁻⁵⁸ (Esquema 33).



Esquema 33 - Preparação da nitrona derivada da benzaldeído oxima para síntese de *N*-hidroxilaminas.

Buehler⁵⁶ promoveu um estudo com (*E*)- e (*Z*)-benzaldeídoxima e concluiu que reações de haletos de alquila com (*Z*)-benzaldeídoxima levam sempre a *N*-alquilação, enquanto a reação desses haletos com (*E*)-benzaldeídoxima produzem predominantemente *O*-alquilação. A explicação para estes fatos é de que na (*Z*)-benzaldeídoxima o anel aromático exerce um forte impedimento estérico sobre o oxigênio impedindo o seu ataque nucleofílico. Por sua vez, na (*E*)-benzaldeídoxima o nitrogênio torna-se impedido pelo anel, enquanto o oxigênio está livre para o ataque nucleofílico. (Figura 22). Porém, as proporções de *N*- versus *O*-alquilação não são meramente reversas quando utiliza-se (*E*)-benzaldeídoxima ao invés da (*Z*)-benzaldeídoxima. Como resultado da conjugação do nitrogênio com o anel aromático em ambos os isômeros, *N*-alquilação parece ser facilitada, e, portanto, pode proceder através de um estado de transição cuja energia de

ativação é consideravelmente menor em comparação com aquele resultante da O-alkilação. Além disto, a utilização de modelos moleculares indica que a aproximação dos haletos na N-alkilação da (*Z*)-benzaldeído oxima parece ser bem menos impedida do que a aproximação dos haletos do (*E*)-isômero para O-alkilação.⁵⁶

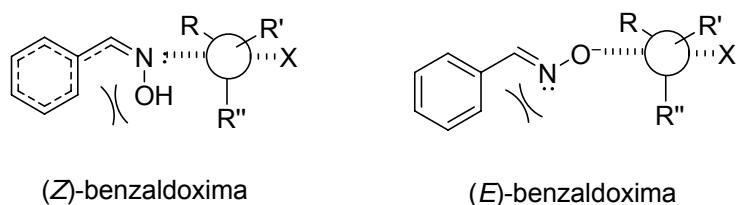


Figura 22 - Ataque nucleofílico da (*Z*)- e (*E*)-benzaloximas em haletos de alquila.

Porém, devido à facilidade pela qual (*Z*)-benzaldeído oxima **59** isomeriza para o seu (*E*)-isômero, o qual é termodinamicamente mais estável, a formação de quantidades substanciais do produto O-alkilado é inevitável.⁵⁷ Goto e colaboradores⁵⁵ resolveram este problema através da utilização da (*Z*)-2-furaldeído oxima (**60**) a qual é termodinamicamente mais estável do que o seu respectivo (*E*)-isômero. Esta maior estabilidade é explicada pela formação de uma ligação de hidrogênio a qual confere ao (*Z*)-isômero uma energia de 5,5 Kcal/mol mais estável do que a forma (*E*) (Figura 23).⁵⁵

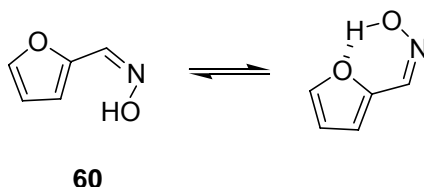
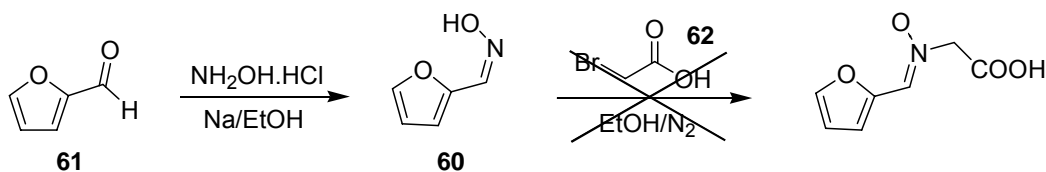


Figura 23 - Formação de ligação de hidrogênio na (*Z*)-furfuraldeído oxima **60 torna este isômero o termodinamicamente mais estável.**

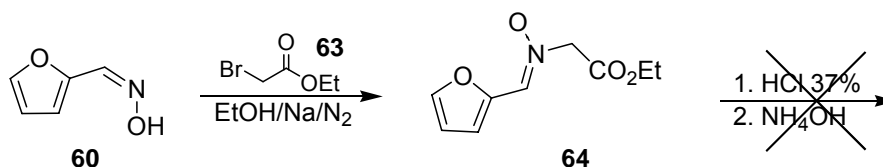
(*Z*)-Furfural oxima **60** foi, portanto, preparada pela reação entre cloreto de hidroxilamônio e furfuraldeído **61**, utilizando hidróxido de sódio como base. No entanto, tentativas de alquilação da oxima **60** com ácido-2-bromoacético (**62**) levaram a recuperação da (*Z*)-furfural oxima (**60**). Como fora reportado por Buehler e Brown⁵⁷, sais de sódio de ácidos bromocarboxílicos são menos reativos do que seus respectivos ésteres. Além disto, o ácido **62** é bastante higroscópico. Esta propriedade pode ter dificultado a formação da nitrona desejada, uma vez que sua formação é reduzida na presença de água que

impede a formação do etóxido de sódio utilizado como base.



Esquema 34 - Tentativa de reação entre a Z-furfural oxima (60) e ácido-2-bromoacético (62).

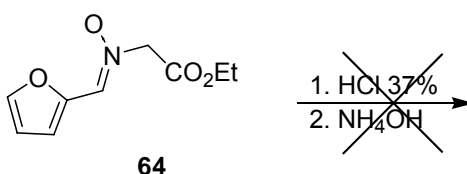
Por sua vez, alquilação do 2-bromoacetato de etila (63) com (Z)-furfural oxima (60), utilizando-se etóxido de sódio em etanol anidro gerou a nitrona esperada inédita 64 como um sólido cristalino, em 75% de rendimento (Esquema 35).



Esquema 35 - Preparação da nitrona 64 e tentativa de hidrólise.

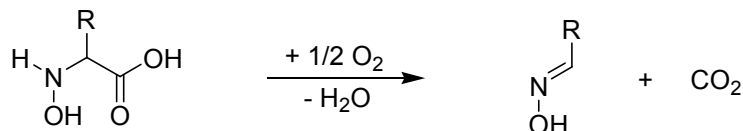
O espectro de RMN- ^1H para nitrona 64 apresenta um tripleto em 1,30 ppm acoplado a um quarteto em 4,28 ppm os quais são atribuídos ao grupos metila e metileno, respectivamente. Bem como, um singleto em 4,74 ppm, com integração relativa a 2 hidrogênios, o qual é atribuído ao grupo CH_2 . E ainda, três multipletos referentes aos hidrogênios do anel em 6,52 ppm, 7,25-7,50 ppm, 7,65 ppm (com integração de um hidrogênio para cada um deles), e finalmente, um multipletto em 7,86 ppm referente ao CH vizinho ao nitrogênio (Espectro 56 - anexo).

A nitrona formada 64 foi então submetida a tratamento com ácido clorídrico concentrado, a 80 °C, por sete minutos, seguido de elevação do pH para 5,5 com hidróxido de amônio. Porém, obteve-se a oxima de partida juntamente com um composto não identificado. Tentativas de purificação por recristalização levaram a decomposição do produto.



Esquema 36 - Tentativa de hidrólise da nitrona 64.

N-Hidroxi- α -aminoácidos são estáveis quando mantidos na forma de sólidos. Em solução, eles sofrem descarboxilação oxidativa dependente do pH na qual resulta na formação da oxima correspondente⁵³, o que pode explicar o não obtenção do produto esperado.

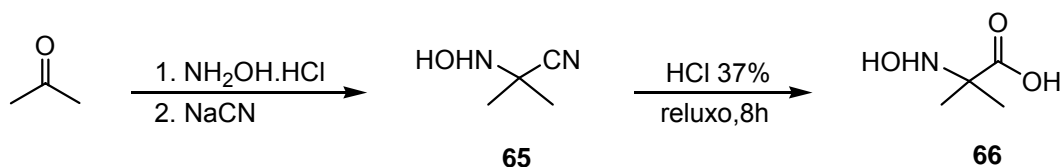


Esquema 37 - Descarboxilação de *N*-hidroxi- α -aminoácidos.

3.2.3 Adição de Cianeto em Aldoxima e Cetoximas

A preparação de um conjunto de *N*-hidroxilaminoácidos é descrita na literatura a partir do tratamento de aldoximas e cetoximas com NaCN, seguido por hidrólise da nitrila.⁵⁹ Desta forma, reação entre cloreto de hidroxilamônio e acetona, na presença de acetato de sódio, seguido de adição de cianeto de sódio a 0 °C e subsequente agitação por 3 dias, à temperatura ambiente, forneceu, após adição de água e tratamento com acetato de etila, seguido de cristalização em acetona/éter de petróleo, a ciano hidroxilamina **65**, em 45% de rendimento (lit.⁵⁹ = 60%). Adição de HCl concentrado sobre o derivado **65**, a 0 °C, e posterior refluxo da solução formada por 8 h gerou, após filtração do sólido formado e lavagem com acetona, o *N*-hidroxilaminoácido **66**, em 24% de rendimento (lit.⁵⁹ = 45%) (Esquema 39). Tentou-se, ainda, preparar por meio desta rota sintética, sem sucesso, *N*-hidroxilaminoácido derivado do formaldeído.

A formação da ciano *N*-hidroxilamina **65** foi confirmada pela presença de um pico fino de baixa intensidade no espectro de infra vermelho em 2238 cm⁻¹ relativo a presença da nitrila na molécula, bem como do pico largo em 3360 cm⁻¹ e um pico fino em 3269 cm⁻¹ atribuídos aos grupos OH e NH, respectivamente. Já o *N*-hidroxilaminoácido **66** foi caracterizado pelo desaparecimento do sinal do CN e pela formação de um pico largo em 3200-2600 cm⁻¹. Ambos compostos tiveram seus pontos de fusão comparados a valores da literatura⁵⁹ (Tabela 5).

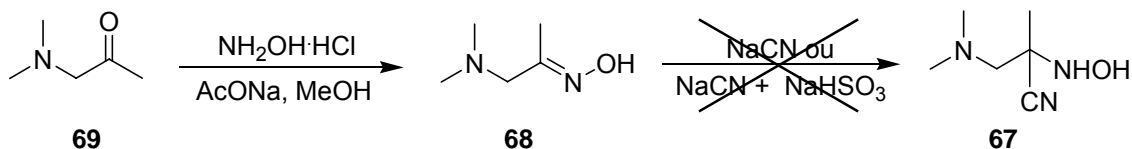


Esquema 38 - Preparação do *N*-hidroxilaminoácido 66.

Tabela 5 - Pontos de fusão para os compostos 65 e 66

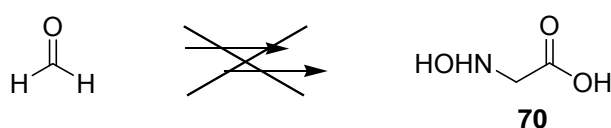
Composto	P.f. (°C)	P.f. lit. (°C) ⁵⁹
65	104-105	98-99
66	170 -171	170 - 171

No entanto, tentativa de síntese da cianoamino *N*-hidroxilamina **67** via adição de NaCN, ou de NaCN+NaHSO₃ (a fim de favorecer a adição de bissulfito análoga a adição em carbonilas seguido de substituição nucleofílica) sobre a amino oxima **68** (preparada pela reação entre a dimetilamino acetona **69** e cloreto de hidroxilaminônio, em metanol, utilizando acetato de sódio como base) não resultou no produto esperado, recuperado-se o material de partida (Esquema 39).



Esquema 39 - Tentativa de adição de cianeto na dimetilamino acetoxima (68).

Apesar do método descrito para preparação do derivado *N*-hidroxilamino ácido **66** ser interessante, a presente metodologia não foi empregada para síntese de outros *N*-hidroxilamino ácidos. Este fato é decorrente do baixo rendimento global obtido para síntese do derivado **66**, bem como do insucesso na síntese do *N*-hidroxilamino ácido **70** derivado do formaldeído, e ainda em consequência da incapacidade de preparação da cianoamino *N*-hidroxilamina **67**.



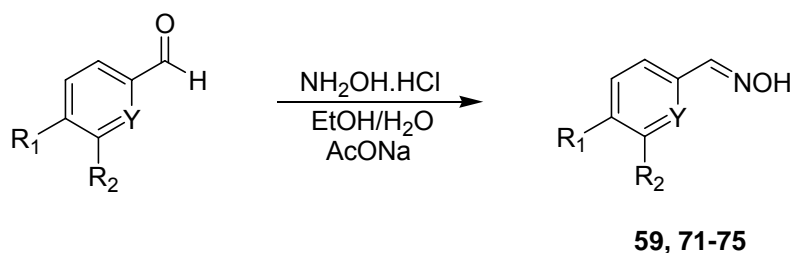
Esquema 40 - Tentativa de preparação de 70 derivado do formaldeído.

3.2.4 Preparação de Oximas e Redução para *N*-Hidroxilaminas

Como fora exposto na seção 1.11.1.3, as reduções de oximas para hidroxilaminas devem ser realizadas utilizando-se agentes redutores brandos a fim de evitar redução total com conseqüente formação das aminas correspondentes. Cianoborohidreto de sódio é atualmente o agente redutor mais utilizado nessas reduções, uma vez que uma grande diversidade de hidroxilaminas aromáticas^{62,67,100,101}, alifáticas⁶³ e cíclicas¹⁰² podem ser geradas. Por sua vez, hidroxilaminas polifuncionais obtidas pela redução das respectivas oximas com NaBH₃CN têm sido extensivamente empregadas como precursores de nitronas, importantes intermediários na síntese de produtos naturais a partir de reações de cicloadição intramolecular.^{63,64,66,67}

3.2.4.1 Oximas e Hidroxilaminas Aromáticas

Uma série de oximas aromáticas foram preparadas pelo método convencional, ou seja, tratamento do respectivo aldeído ou cetona com cloreto de hidroxilamônio na presença de uma base, geralmente acetato de sódio, em meio alcoólico aquoso, à temperatura ambiente, sendo obtidos rendimentos bons a excelentes (Tabela 6).



Esquema 41 - Síntese geral de oximas aromáticas 59, 71-75.

Tabela 6 - Rendimento reacional para preparação das oximas 59, 71-75.

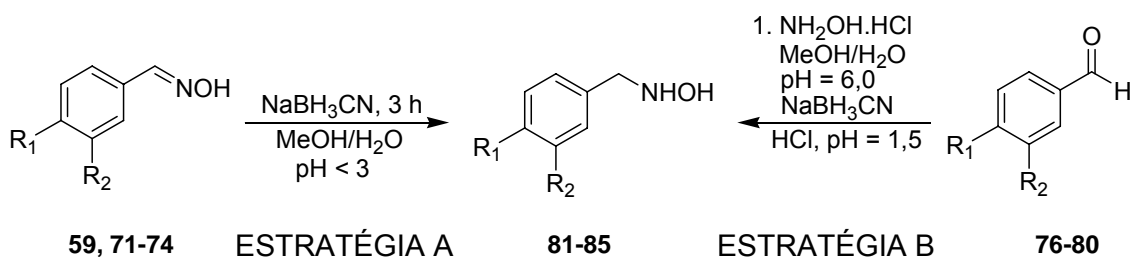
Composto	R ₁	R ₂	Y	Rend. (%)
59	H	H	CH	78
71	(CH ₃) ₂ N	H	CH	83
72	OCH ₃	H	CH	80
73	OH	OCH ₃	CH	80
74	OCH ₂ O		CH	80
75	H	H	N	90

Todas as oximas aromáticas foram caracterizadas por IV e ponto de fusão por comparação a valores da literatura^{62,103-105}.

Já a formação da *N*-benzil hidroxilamina foi realizada a partir de duas estratégias. A primeira delas (estratégia A)⁶⁴ baseou-se na redução das aril (e heteroaril) oximas **59, 71-74** com cianoborohidreto de sódio, em meio alcoólico, utilizando uma solução de ácido clorídrico em metanol 1:1. O pH da solução foi controlado utilizando-se um pHmetro ou através da mudança de coloração causada pela presença do indicador alaranjado de metila. Observou-se que a mudança de coloração se dava num intervalo de pH reacional 0,7-2,1 e que, mesmo após 24 horas de agitação da solução reacional, o potencial hidrogeniônico não era acrescido mais do que uma unidade, não havendo necessidade de mais adição de HCl. Os rendimentos reacionais para a síntese dos *N*-hidroxilamino derivados por meio desta metodologia foram de bons a excelentes (Tabela 7).

Na segunda estratégia (B)⁶² as oximas formadas pela reação do respectivos aldeídos **76-80** com cloreto de hidroxilamônio não foram isoladas. O agente redutor (NaBH₃CN) foi adicionado no início da reação, porém o pH reacional foi mantido acima de 6 durante a formação das oximas. Em seguida, o meio reacional foi acidificado com ácido clorídrico concentrado até pH = 1,5.

Apesar dos rendimentos obtidos para preparação das *N*-aril hidroxilaminas pelo método B serem menores do que os rendimentos globais (considerando a etapa de formação da oxima e posterior redução), esta estratégia pode ser adequada quando o objetivo é apenas a obtenção das *N*-hidroxilaminas, bem como se os aldeídos de partida forem comercialmente disponíveis, de baixo custo ou facilmente preparados.



Esquema 42 - Estratégias utilizadas para preparação das *N*-aril hidroxilaminas 81-85

Tabela 7 - Rendimento reacional para síntese de *N*-aril hidroxilaminas 80-84 através das estratégias A e B.

Composto	R ₁	R ₂	Rend. A (%)	Rend. global ^a (%)	Rend. B (%)
81	H	H	75	58	45
82	(CH ₃) ₂ N	H	87	72	30
83	OCH ₃	H	95	76	40
84	OH	OCH ₃	85	68	- ^b
85	OCH ₂ O		80	72	- ^b

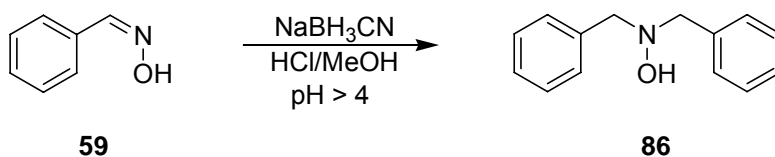
^a. rendimento isolado após purificação, considerando-se a etapa de obtenção da oxima e posterior redução.

^b. reação não foi realizada

É interessante destacar que os espectros de IV para as *N*-aril hidroxilaminas apresentadas na Tabela 7 mostram um pico fino em cerca de 3200 cm⁻¹, além de alguns picos largos e finos na região compreendida entre 3500-2700 cm⁻¹. Já os espectros de IV de *N*-hidroxilaminas isoladas na forma de seus respectivos hidrocloreto apresenta um pico largo que se estende de 3500 a 2000 cm⁻¹. O espectro de RMN-¹H para as *N*-aril hidroxilaminas mostra o desaparecimento do singlete relativo ao grupo metino (entre 7,0 – 8,2 ppm) e o aparecimento do singlete referente ao grupo metileno (entre 3,9 – 4,2 ppm).

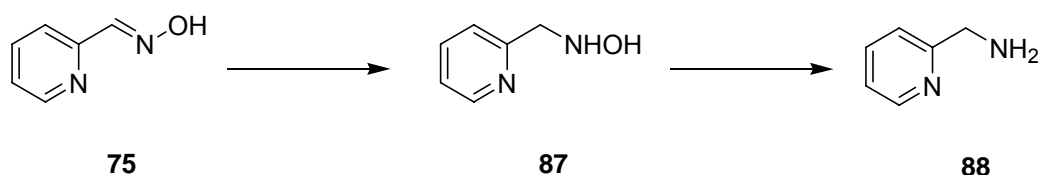
É importante ressaltar que a redução de oximas utilizando cianoborohidreto de sódio como redutor é dependente do pH reacional. Redução da benzaldeidoxima (**59**) resultou na formação da *N,N*-dibenzil hidroxilamina (**86**) (Esquema 43). Todavia, a extensão da presente metodologia para síntese de uma série de *N,N*-hidroxilaminas substituídas não levou aos produtos esperados.^{60,61} Portanto, o método parece ser restrito a determinados compostos.

O espectro de ressonância magnética de hidrogênio para a *N,N*-dibenzil hidroxilamina (**86**) apresenta um singlete em 3,80 ppm referente aos grupos CH₂. Já o espectro de RMN-¹H para a *N*-benzil hidroxilamina (**81**) mostra o sinal atribuído ao grupo metileno em 4,00 ppm, consistente com o efeito de proteção do grupo benzila (Espectro 82 - anexo).



Esquema 43 - *N,N*-Di-benzil hidroxilamina (86**).**

Apesar do método de redução de oximas aromáticas utilizando cianoborohidreto de sódio ter levado às *N*-aril hidroxilaminas desejadas, tentativas de redução da piridina carboxima (**75**), a fim de gerar a respectiva *N*-hidroxilamina **87**, nas mesmas condições utilizadas para a formação das *N*-aril hidroxilaminas **81-85** através de reduções, estratégias A e B, bem como empregando-se ácido *p*-toluenossulfônico/THF ao invés da mistura HCl/MeOH, resultaram na recuperação do material de partida (Tabela 8, reações 1 e 2). Fato similar foi observado quando empregou-se HCl concentrado ou ácido acético glacial em THF utilizando-se NaBH₃CN (Tabela 8, reações 4 e 5). Por sua vez, utilização de NaBH₄ como redutor no lugar de NaBH₃CN promoveu o consumo total do reagente com provável formação da respectiva amina **88** (espectro de IV semelhante ao do reagente comercial)¹⁰⁶ (Tabela 8, reação 5, Esquema 44).



Esquema 44 - Redução da oxima 75 para respectiva amina 88 com NaBH₄.

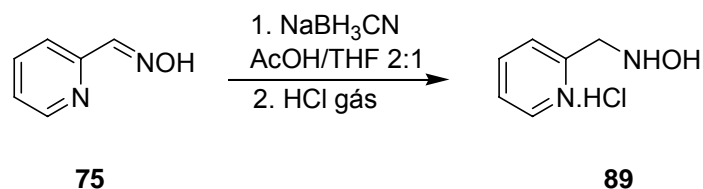
A formação da *N*-hidroxilamina almejada foi possível somente pela reação da piridina oxima **75** com NaBH₃CN numa mistura de ácido acético/THF na razão de 2:1, mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 6h.¹⁰⁷ No entanto, a piridina metil *N*-hidroxilamina **87** foi obtida como uma mistura complexa de compostos. Assim, subsequente dissolução da mistura em diclorometano e adição de ácido clorídrico gasoso resultou na formação do seu respectivo hidrocloreto **89** o qual foi separado por filtração. Todavia, o rendimento foi de apenas 25% (Tabela 8, reação 6, Esquema 45).

Tabela 8 - Condições experimentais utilizadas para preparação da piridina metil *N*-hidroxilamina (87**).**

Reação	Redutor	Ácido/Solv.	Temp. (°C)	Tempo (h)	Comp. obtido	Rend. (%)
1	NaBH ₃ CN	HCl/MeOH	25	24	75	0
2	NaBH ₃ CN	TsOH/THF	25	24	75	0
3	NaBH ₃ CN	AcOH glacial	25	24	75	0
4	NaBH ₃ CN	HCl/THF	25	24	75	0
5	NaBH ₄	HCl/MeOH	75	6	88	>80
6	NaBH ₃ CN	AcOH/THF	0-5	4	89	25

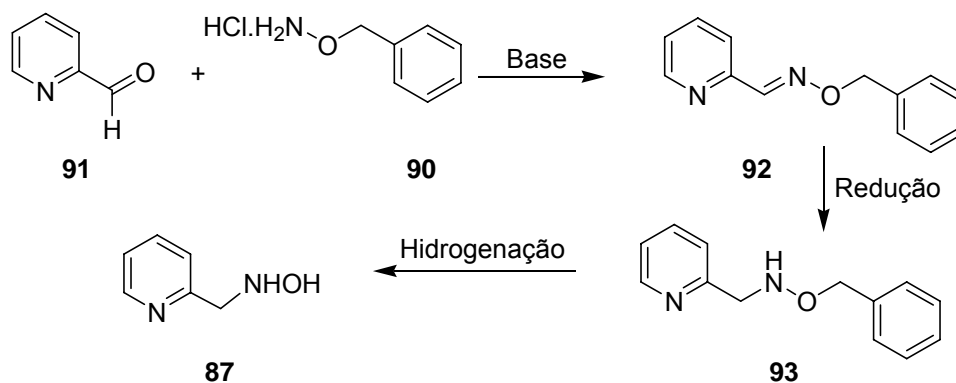
Apesar de existirem duas patentes^{108,109} as quais descrevem a síntese da piridina metil *N*-hidroxilamina na forma livre, seus dados espectrais não foram reportados. O espectro de ressonância magnética de hidrogênio para o hidrocloreto da piridina metil *N*-hidroxilamina **89** foi realizado em D₂O. Porém, foi necessária a adição de gotas de DMSO-d₆ no tubo de RMN a fim de deslocar o sinal da água deuterada, uma vez que o singleto em 4,72 ppm, com integração relativa a dois hidrogênios, atribuído ao grupamento metileno da molécula, é encoberto pelo pico referente ao D₂O (Espectro 76 - anexo).

O espectro de infra vermelho para o composto **89** apresenta uma banda larga que se estende de 3100 a 2000 cm⁻¹ (Espectro 78 - anexo), característica de *N*-hidroxilaminas isoladas na forma de seus hidrocloreto.



Esquema 45 - Preparação do hidrocloreto da piridina metil *N*-hidroxilamina (89**).**

Com a finalidade de aumentar o rendimento para obtenção da piridina metil *N*-hidroxilamina (**87**), tentou-se desenvolver uma rota sintética alternativa. Esta rota baseia-se na reação entre a *O*-benzil hidroxilamina (**90**) e piridina carboxialdeído (**91**) a fim de gerar a *O*-benzil oxima (**92**). Subseqüente redução de **92** à *O*-benzil hidroxilamina (**93**) empregando condições brandas, seguido de hidrogenação catalítica levaria à piridina metil *N*-hidroxilamina desejada **87** (Esquema 46).

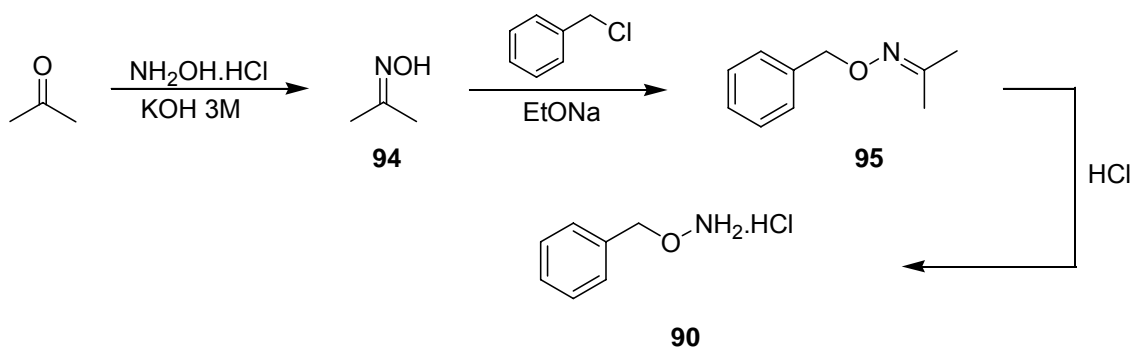


Esquema 46 - Método alternativo para síntese da piridina metil *N*-hidroxilamina (88**).**

Apesar da *O*-benzil hidroxilamina (**90**) ser disponível comercialmente¹¹⁰, esta foi preparada em duas etapas pela aquilação da acetoxima (**94**), seguido de hidrólise da *N*-isopropilideno-*O*-benzil oxima (**95**).¹¹¹

Portanto, formação da oxima **94** foi realizada pela reação entre cloreto de hidroxilamônio e acetona, utilizando-se acetato de sódio anidro como base. Inúmeras oximas foram preparadas e descritas na presente tese empregando-se essa metodologia, todavia o isolamento de **94** apresentou um comportamento singular. Em virtude do baixo número de carbonos na molécula, extrações com diclorometano ou acetato de etila não foram capazes de remover a oxima desejada do meio aquoso durante o tratamento reacional. Porém, ao repetir-se a síntese em maior escala, percebeu-se a formação de 2 fases incolores no balão reacional. A mistura foi então separada num funil de separação e a simples evaporação da fase menos densa resultou na oxima almejada **94** (Esquema 47).

Posterior reação entre **94** e cloreto de benzila, utilizando etóxido de sódio como base, levou a *N*-isopropilideno-*O*-benzil oxima (**95**) a qual foi hidrolisada com ácido clorídrico concentrado para gerar *O*-benzil hidroxilamina (**90**) (Esquema 47). Apesar do método utilizar reagentes e solventes de baixo custo e comercialmente disponíveis, o rendimento reacional global é baixo (7,8%). Além disto, faz-se necessário a separação dos subprodutos formados na etapa de reação entre a acetoxima e o cloreto de benzila por coluna em sílica. Possivelmente, a utilização de brometo de benzila poderia aumentar o rendimento da substituição nucleofílica e diminuir a formação de subprodutos.

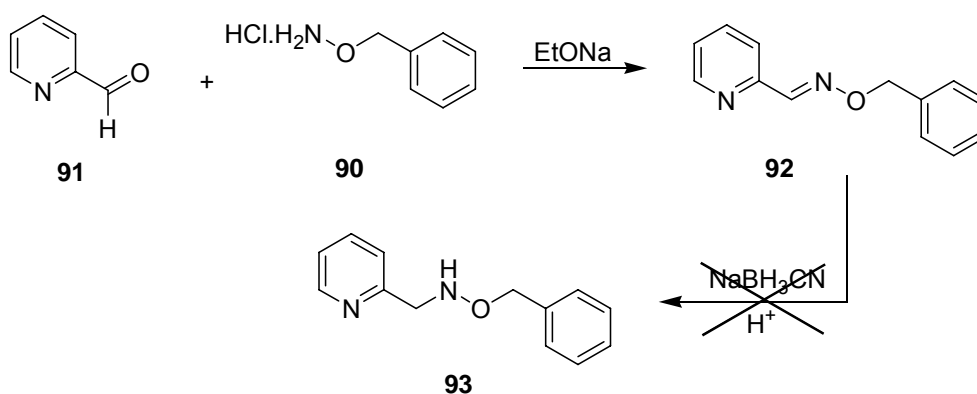


Esquema 47 - Síntese da *O*-benzil hidroxilamina (**90**).

O espectro de RMN de hidrogênio para **90** apresenta um singlete em 5,09 ppm o qual é atribuído ao grupo metileno da molécula, além dos hidrogênios aromáticos 7,31 ppm. É interessante destacar que, apesar do espectro da *O*-benzil hidroxilamina (**90**) ter sido realizado em água deuterada (Espectro 85), enquanto o espectro para *N*-benzil hidroxilamina (**81**) ter sido obtido em CDCl₃ (Espectro 65 - anexo), há um deslocamento de mais de 1 ppm a campo baixo (CH₂ de **81** = 3,80 ppm). Este fato é explicado pelo forte efeito de desblindagem que um átomo de oxigênio exerce sobre o grupo metileno quando comparado a um átomo de nitrogênio.

O-Benzil piridina oxima (**92**) foi então preparada pela reação entre a piridina carboxialdeído (**91**) e *O*-benzil hidroxilamina (**90**).¹¹² O espectro de RMN-¹H para o composto **92** apresenta um singlete com integração de dois hidrogênios em 5,24 ppm referente ao grupo metileno, além de um singlete em 8,26 ppm relativo ao CH=N, e de um singlete atribuído aos hidrogênios aromáticos em 7,51 ppm, e de multipletos referentes aos hidrogênios da piridina em 7,11, 7,52, 7,72 e 8,52 ppm (Espectro 64 - anexo).

No entanto, tentativas de redução utilizando as condições descritas para as aril oximas **59**, **70-74** e piridina carboxima (**75**) (NaBH₃CN/HCl/MeOH; NaBH₃CN/THF/AcOH) não levaram ao composto desejado **94** sendo a oxima de partida **92** recuperada (Esquema 48).

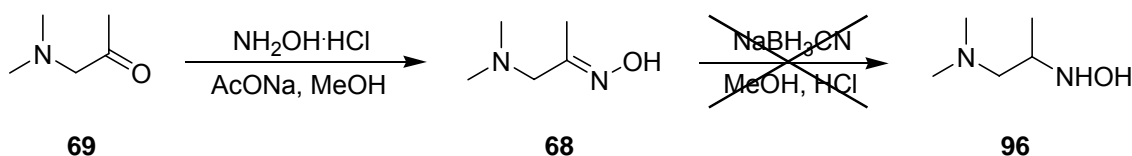


Esquema 48 - Tentativa de preparação da piridina metil-*O*-benzil-hidroxilamina (93**).**

3.2.4.2 Oximas e Hidroxilaminas Alifáticas

Como já foi discutido na seção 3.2.4.1, um dos métodos mais utilizados para preparação de *N*-hidroxilaminas é a redução com cianoborohidreto de sódio da sua respectiva oxima, a qual é preparada pela reação do aldeído correspondente e hidroxilamina em meio básico. Geralmente, são reportados bons a excelentes rendimentos reacionais para redução empregando esse agente redutor.

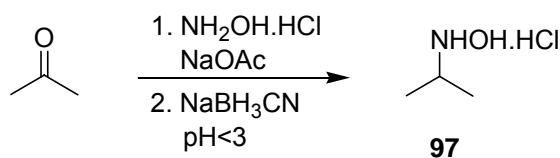
No entanto, a redução da aminoxima **68** para respectiva *N*-hidroxilamina **99** utilizando NaBH_3CN não foi observada, sendo o material de partida recuperado em todas as reações testadas (Esquema 49).



Esquema 49 - Tentativa de redução da dimetilamino oxima **68** com NaBH_3CN .

Por sua vez, o hidrocloreto de *N*-isopropil-hidroxilamina (**97**) (comercialmente disponível) foi preparado pela redução da respectiva oxima **94** (obtida a partir da acetona) (Esquema 50), utilizando cianoboridreto de sódio, em um único balão reacional. No entanto, o rendimento global para esta transformação foi de apenas 15%.

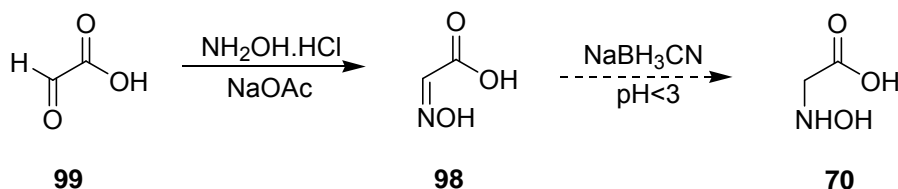
O espectro de IV e ponto de fusão para o produto obtido da síntese representada no Esquema 50 está de acordo com o valor encontrado na literatura¹¹³⁻¹¹⁵.



Esquema 50 - Preparação da *N*-isopropil hidroxilamina (**97**).

Ácido glioxílico oxima (**98**) foi preparado através do respectivo aldeído ácido **99** pelo procedimento descrito para formação de oximas, com 90% de rendimento. Contudo, sua respectiva *N*-hidroxilamina **70** é reportada como

sendo muito instável. Uma vez que o *N*-hidroxilamino ácido parece ser um α -nucleófilo potente e bastante interessante de ser estudado, optou-se por estocá-lo na forma de sua respectiva oxima **97** e prepará-la momentos antes de um estudo de capacidade hidrolítica.



Esquema 51 - Preparação do ácido glioxílico oxima (97).

De um modo geral, os rendimentos reacionais obtidos nas reduções de oximas alifáticas foram baixos. Este fato pode ser atribuído a dois fatores: o primeiro deles diz respeito a maior solubilidade que *N*-hidroxilaminas alifáticas apresentam em água quando comparadas às *N*-hidroxilaminas aromáticas. Na redução com cianoborohidreto de sódio é necessária a realização de tratamento aquoso para eliminar o sal de boro formado como subproduto na reação. Uma alternativa para contornar esse problema seria preparar as respectivas oximas *O*-benziladas^{116,117}, a partir da *O*-benzil-hidroxilamina **90**, as quais podem ser reduzidas (sem maiores problemas de solubilidade em água devido ao maior número de carbonos na molécula) e então submetidas à hidrogenólise. Porém, em virtude dos resultados obtidos na rota alternativa de preparação da piridina metil *N*-hidroxilamina **87** através dessa metodologia (Esquema 48), tal procedimento não foi testado.

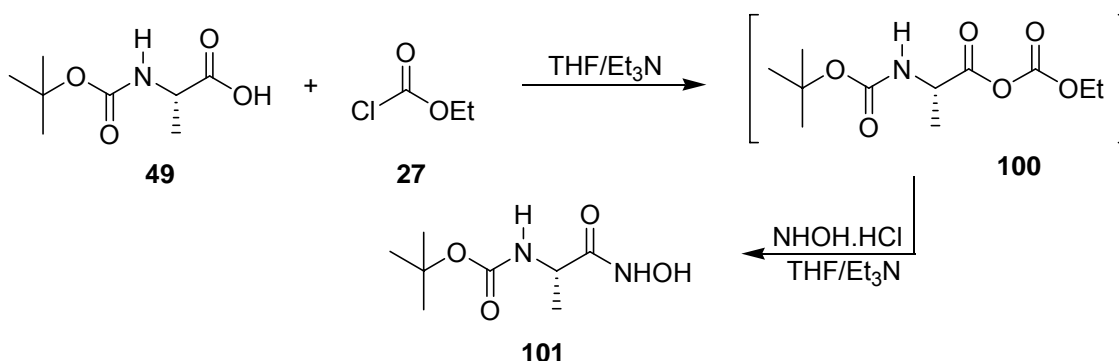
O segundo fator relativo a alquil derivados pode estar relacionado a maior instabilidade que as *N*-hidroxilaminas alifáticas apresentam quando comparadas às aromáticas, pois as suas degradações são muito mais aceleradas na presença de oxigênio e temperatura ambiente.

3.2.5 Preparação de Ácidos hidroxâmicos

Como fora abordado na seção 1.9 Síntese de Agentes Hidrolíticos Mais Eficientes – Efeito α , ácidos hidroxâmicos são potentes α -nucleófilos e podem ser utilizados como alternativa às *N*-hidroxilaminas devido as suas maiores

estabilidades. E ainda, ácidos hidroxâmicos são compostos com grande potencialidade com relação à atividade biológica.⁷⁰⁻⁷³

Os ácidos hidroxâmicos foram preparados a partir do método descrito por Reddy e colaboradores⁷⁵. BOC-Alanina (**49**) foi deixada reagir com cloroformiato de etila (**27**), na presença de trietilamina e THF anidro, para formar o anidrido misto **100**. Subseqüente adição de cloreto de hidroxilamônio sob o anidrido ativado gerou o ácido BOC-Ala hidroxâmico (**101**) em 54% de rendimento (Esquema 52).



Esquema 52 - Síntese do BOC-alanina ácido hidroxâmico (101).

O espectro de RMN-¹H para o ácido hidroxâmico **101** mostra um multiplete em 1,25 ppm referente aos hidrogênios das metilas, bem como um multiplete em 4,17 ppm referente ao grupamento metino, e os referentes aos hidrogênios ligados aos heteroátomos em 5,67, 8,14 e 10,39 ppm (Espectro 87 - anexo).^{74,118}

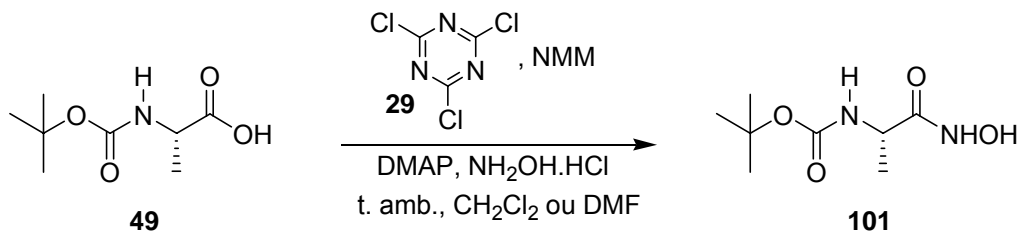
Tentou-se ainda estender a presente metodologia para a síntese de ácidos amino hidroxâmicos a partir de aminoácidos não protegidos como alanina, prolina e glicina. Todavia, foram observadas formações de misturas as quais não foram possíveis de serem identificadas. Possivelmente pode estar ocorrendo uma reação entre uma segunda molécula do aminoácido e o anidrido misto formado com conseqüente produção de um di-peptídeo.

Deste modo, a necessidade dos aminoácidos estarem *N*-protegidos para que a reação ocorra é primordial.

Apesar das dificuldades encontradas, o método mostrou-se interessante para aplicações em sistemas mais complexos.

Alternativamente, o ácido BOC-Ala hidroxâmico (**101**) foi preparado pela

metodologia descrita por Giacomelli⁷⁴ e colaboradores. Logo, reação entre o BOC-Ala **49** e cloreto cianúrico **29**, em diclorometano sem prévio tratamento, levou à formação do produto desejado **101**, em 80% de rendimento (Esquema 53). Portanto, esta parece ser a rota mais adequada para preparação de ácidos hidroxâmicos.



Esquema 53 - Preparação do ácido BOC-Ala hidroxâmico por uma rota alternativa.

Vale ressaltar que o grupo protetor BOC do ácido hidroxâmico **101** poderá ser facilmente clivado em meio ácido levando a formação do correspondente ácido amino hidroxâmico. Este derivado preenche o requisito de composto contendo em sua estrutura um α -nucleófilo juntamente a um grupo básico. Devido à alta reatividade esperada para esta molécula, ela poderá ser preparada momentos antes de um estudo de capacidade hidrolítica.

3.3 Derivados da Prolina como Agentes Hidrolíticos

De maneira análoga aos compostos de cadeia aberta, planeja-se aumentar a capacidade hidrolítica dos derivados de *N*-acil prolina similares aos preparados por Chiosis e Boneca (Figura 24) sintetizando derivados de *N*-acil prolina contendo grupos fortemente nucleofílicos como as funções oxima, ácido hidroxâmico, hidroxilamino e amino.

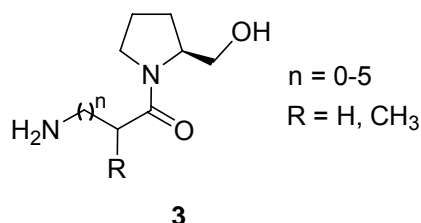
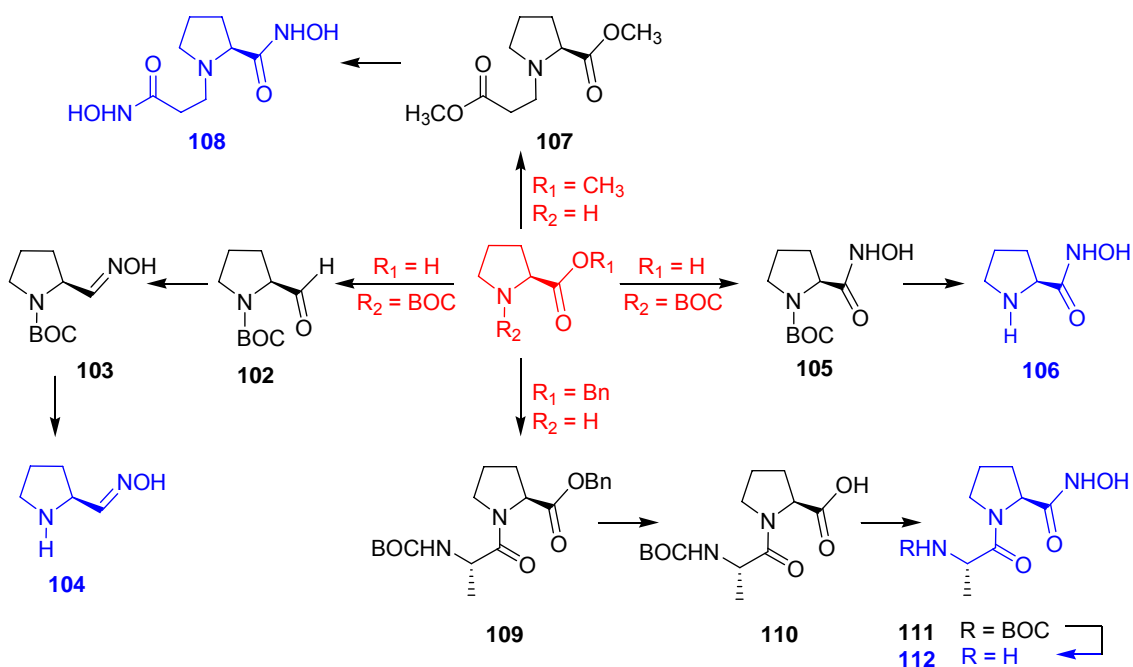


Figura 24 - Derivados da prolina preparados por Chiosis e Boneca.

O Esquema 54 apresenta uma série de rotas sintéticas as quais podem ser utilizadas para preparação dos compostos alvo (representados em azul). Em vermelho, são apresentadas a prolina e seus derivados adquiridos de fonte comercial.



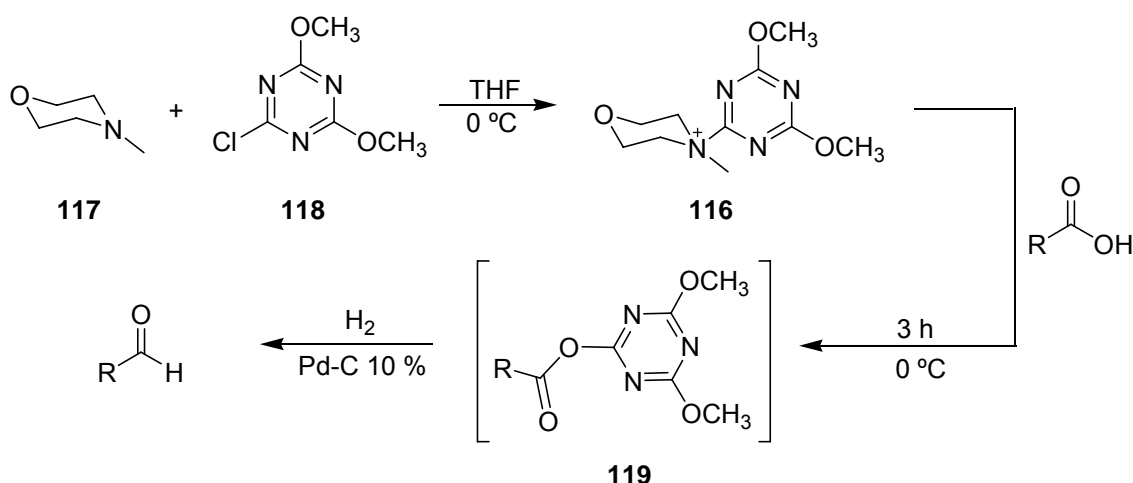
Esquema 54 - Rotas sintéticas para preparação dos derivados de prolinas.

3.3.1 Preparação da Prolina Oxima (104)

Apesar do BOC-prolinal (**102**) ser comercialmente disponível, este reagente não foi adquirido pelo nosso grupo de pesquisa por se tratar de um composto facilmente degradável. Assim, buscaram-se procedimentos para sua preparação.

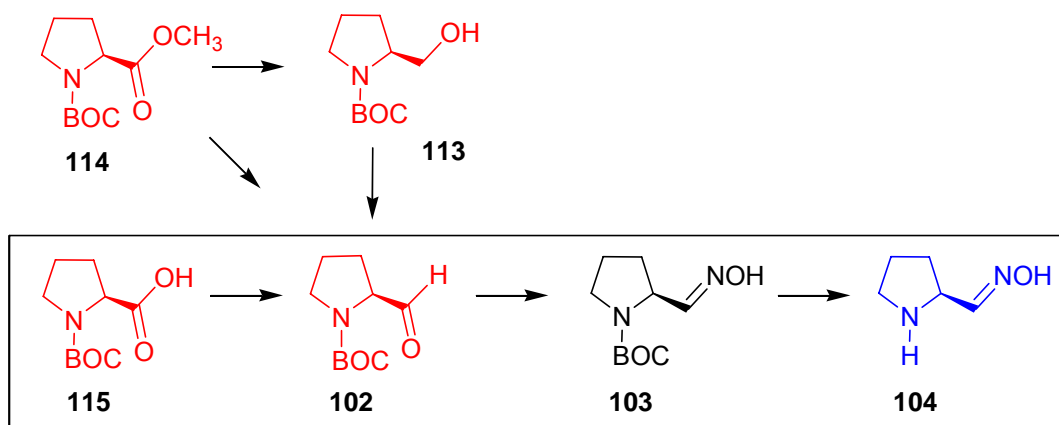
Inúmeras metodologias são descritas na literatura para síntese do BOC-prolinal (**102**). Logo, o aldeído **102** pode ser obtido pela oxidação do BOC-prolinol (**113**) utilizando Py.SO_3 ¹¹⁹⁻¹²², cloreto de oxalila¹²³⁻¹²⁵ ou cloreto isocianúrico¹²⁶. Alternativamente, o intermediário **102** pode ser preparado pela redução de reagentes comercialmente disponíveis, como BOC-prolina metil éster (**114**), com DIBAL-H¹²⁷⁻¹³¹ ou com NaBH_4 ^{122,123,132}, e ainda a partir da redução da BOC-prolina (**115**) com 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (**116**)¹³³.

Embora o BOC-prolinol (**108**) também tenha sido adquirido de fonte comercial, a formação do BOC-prolinal (**102**) via redução do respectivo ácido **115** tornou-se a rota mais atraente, uma vez que o ácido **115** possui menor valor comercial quando comparado ao álcool **113** e ao éster **114**. Já a redução dos derivados da prolina protegidos na forma de ésteres são geralmente efetuadas com hidretos. Além destes redutores geralmente possuem um valor comercial elevado, essas reações demandam maiores cuidados como necessidade de baixa temperatura. Além disso, Taddei e colaboradores¹³³ descreveram uma metodologia bastante interessante para preparação de aldeídos, incluindo o BOC-prolinal (**102**). Esta baseia-se na reação de um ácido carboxílico com o complexo **116**, formado entre NMM (**117**) e 2-cloro-4,6-dimetoxi[1,3,5]triazina (**118**), a fim de formar o éster ativado **119**. O éster então é reduzido ao aldeído por hidrogenação catalítica utilizando Pd-C 10% (Esquema 55).



Esquema 55 - Preparação de aldeídos via redução de ácidos carboxílico.

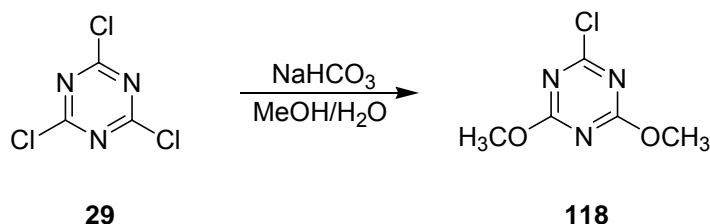
Portanto, preparação da BOC-prolinal (**102**) por redução de seu respectivo ácido **115**, seguido de formação da oxima **103** e subsequente hidrólise do grupo protetor BOC, levará ao derivado de prolina desejado **104**, em três etapas, (Esquema 56, em destaque).



Esquema 56 - Rota sintética escolhida para síntese da prolina oxima (104).

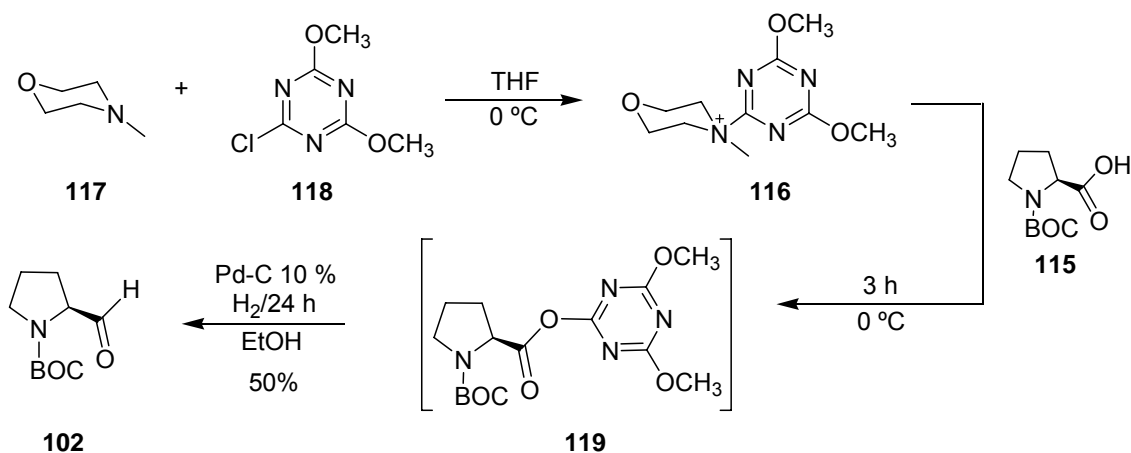
Ainda que a triazina **118** seja disponível comercialmente, sua preparação foi reportada por Copp e colaboradores¹³⁴ pelo tratamento do cloreto cianúrico **29** com três equivalentes de bicarbonato de sódio utilizando-se uma mistura de metanol e água como solvente, a 30 °C, com 60% de rendimento (Esquema 57). O produto foi obtido como um sólido branco o qual deve ser armazenado à baixa temperatura. Desta forma, o composto é estável por um longo período. Sua caracterização foi realizada pela comparação de

seu ponto de fusão com o descrito na literatura (P.f. = 77-78 °C; P.f. lit.¹³⁴ = 78-79 °C).



Esquema 57 - Preparação da 2-cloro-4,6-di-metoxi-1,3- triazina (118).

Subseqüente reação entre 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (**118**) e NMM **117**, a 0 °C, em THF anidro, levou à rápida formação do intermediário ativado **116** como um sólido branco (não isolado). Adição de BOC-prolina **115** dissolvida em THF anidro à mistura reacional, a 0 °C, forneceu o éster ativado derivado da prolina **119**. Hidrogenação catalítica do éster **119** utilizando-se uma bexiga de hidrogênio por 24 h, à temperatura ambiente, resultou no aldeído protegido **102** (Esquema 58), em 50% de rendimento. A reação foi repetida utilizando-se THF sem prévia secagem, porém após o tratamento reacional, recuperou-se o ácido de partida **115** (Esquema 58).



Esquema 58 - Preparação do Boc-aldeído via redução do ácido 115.

A formação do BOC-prolinal (**102**) foi acompanhada por CCD. Foram utilizados BOC-prolina (**115**), BOC-prolinol (**113**) (obtidos de fonte comercial), e uma amostra do éster ativado **119** (alíquota retirada antes da hidrogenação) como padrões para comparação e controle da formação do produto esperado. A Figura 25 apresenta um desenho relativo à placa cromatográfica resultante

do experimento. Cada espécie pode ser facilmente identificada quando a placa de sílica é eluída com uma mistura de acetato de etila/hexano 40:60% e posteriormente revelada em iodo.

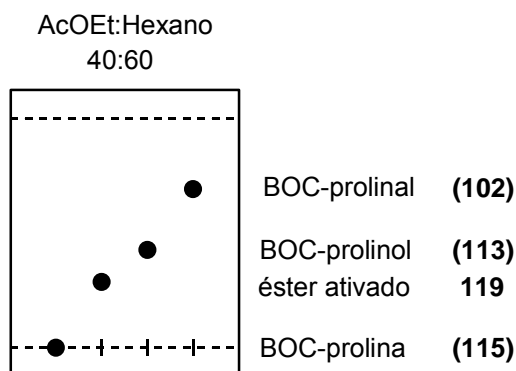


Figura 25 - Representação gráfica da placa cromatográfica utilizada para controle da formação do BOC-prolinal (102).

O espectro de infravermelho para o aldeído **102** apresenta dois picos intensos em 1738 cm^{-1} e 1695 cm^{-1} atribuídos aos estiramentos das carbonilas, bem como um sinal intenso na região de $1380\text{-}1420\text{ cm}^{-1}$ referente aos estiramentos simétricos e assimétricos de CH_3 (Espectro 90 - anexo). A literatura apresenta uma variação para os picos referentes à carbonila. Pettit e colaboradores¹³⁵ reportaram estes sinais em 1785 cm^{-1} e 1705 cm^{-1} , enquanto Reed e Katzenellenbogen¹²⁴ descreveram em 1734 cm^{-1} e 1686 cm^{-1} . Já os demais sinais se repetem nos dois artigos.

Reed e Katzenellenbogen¹²⁴ promoveram um estudo para identificação de possíveis rotâmeros para o aldeído protegido **102** utilizando RMN-¹H. Neste estudo, os espectros foram medidos variando-se a temperatura de -50 a $+50$ °C. Foi reportado que o produto **102** coexiste na forma de uma mistura de rotâmeros numa proporção de 3:2 em decorrência da dificuldade de rotação em torno da ligação C-N da porção carbamato. De fato, tal proporção foi observada na síntese do BOC-prolinal (**102**) (Figura 26).

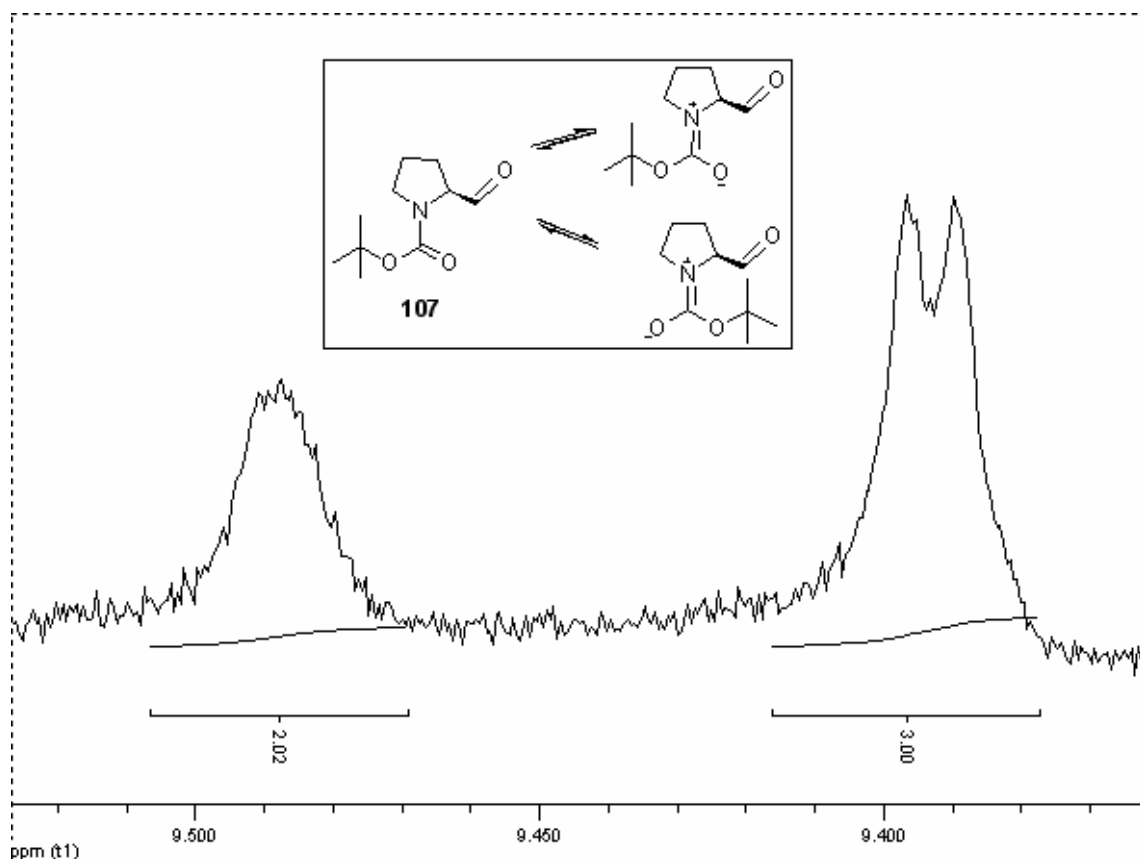


Figura 26 - Hidrogênio de aldeído para os rotâmeros do BOC-prolinal (102) (RMN-¹H 400 MHz, CDCl₃).

No entanto, os sinais respectivos ao hidrogênio do aldeído apresentam uma integração relativa a 0,6 hidrogênio. Além dos hidrogênios dos rotâmeros do aldeído, o espectro de RMN-¹H para o composto **102** apresenta dois singletos em 1,35 ppm e 1,40 ppm com integração relativa a 9 hidrogênios, referentes ao grupo protetor BOC, um multipletto em 1,70-2,40 ppm (4 hidrogênios) atribuídos a dois grupos metilenos, um multipletto em 3,26-3,58 ppm relativos ao grupo CH₂ vizinho ao nitrogênio da pirrolidina e um singletto em 4,00 ppm com integração relativa a 1 hidrogênio, o qual é atribuído ao CH. É ainda observado a presença de um quarteto em 1,21 ppm com constante de acoplamento de 7,2 Hz (integração relativa a 3 hidrogênios) o qual está acoplado a um tripletto em 4,15 ppm (integração relativa a 2 hidrogênios) (Figura 27). Estes sinais são atribuídos à presença de BOC-prolinato de etila formada a partir do ataque nucleofílico de moléculas do etanol utilizado como solvente na redução sobre o éster ativado **119** (Esquema 58).

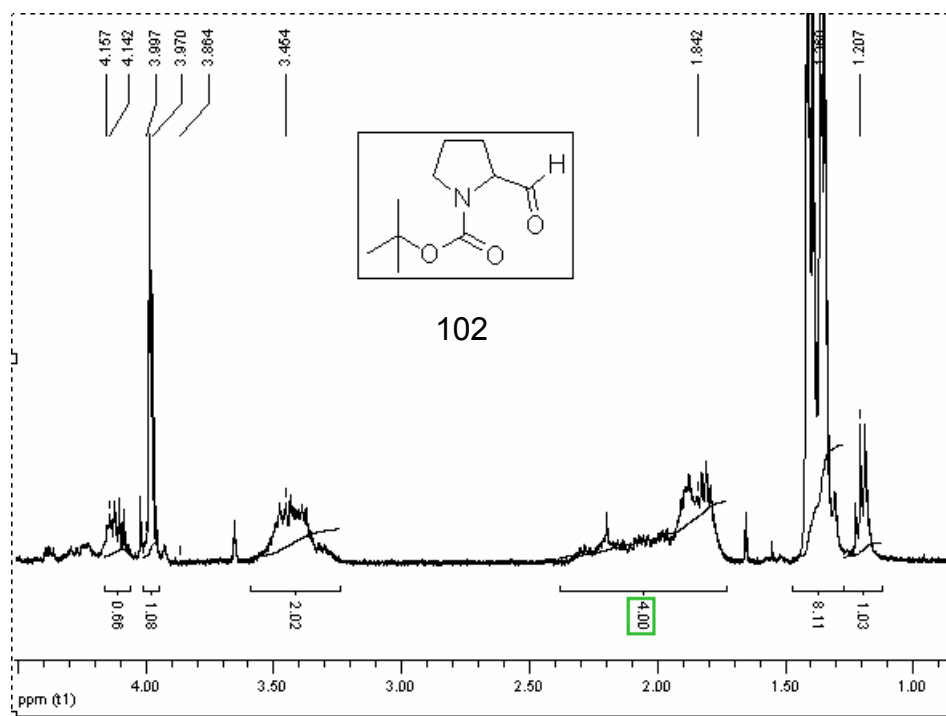


Figura 27- Espectro de RMN-¹H (400 MHz em CDCl₃) para BOC-prolina (**102**).

O derivado **102** foi também caracterizado por espectrometria de massas (EM) e os resultados foram comparados aos encontrados na literatura.¹²⁴ As principais fragmentações são apresentadas abaixo (Figura 28).

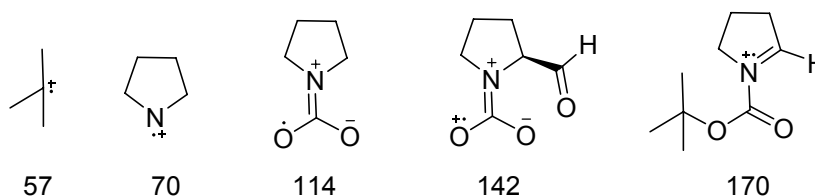
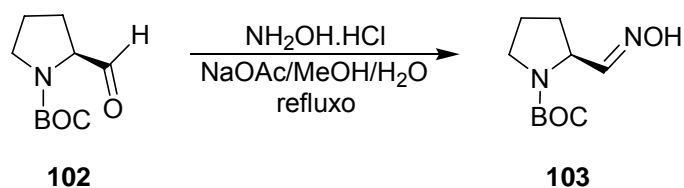


Figura 28 - Propostas para as principais fragmentações do BOC-prolina (**102**).

Foram utilizadas outras bases, como DMAP e trietilamina, no lugar da NMM na presente reação, porém recuperou-se o ácido de partida em todos os casos.

A prolina oxima protegida **103** foi então preparada pela reação entre a prolina aldeído protegida **102** e cloreto de hidroxilamônio utilizando acetato de sódio como base, com 55% de rendimento. No entanto, o aldeído de partida pareceu ser menos reativo do que os demais aldeídos e cetonas apresentados neste trabalho, pois se fez necessário à utilização de refluxo numa mistura de etanol/água por 24 horas. Uma possível explicação para tal fato pode estar

relacionado a presença de grupos volumosos α à carbonila no aldeído **102**.



Esquema 59 - Preparação da BOC-prolina oxima (103).

A formação da oxima **103** foi acompanhada por CCD (Figura 29).

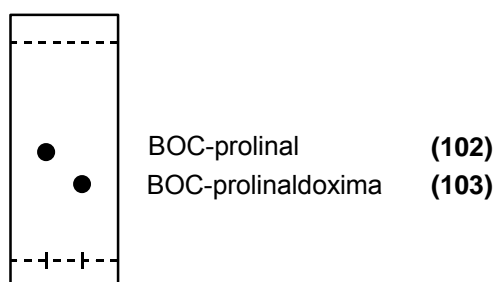


Figura 29 - Representação gráfica da placa cromatográfica utilizada para controle da formação da BOC-prolinaldoxima (103)

O espectro de IV para o composto **103** apresenta um pico largo em 3360 cm^{-1} relativo ao OH da oxima, um pico de intensidade média em 1746 cm^{-1} o qual é atribuído ao estiramento de carbonila do grupo BOC e um pico de intensidade forte em 1698 cm^{-1} referente a C=N (Figura 30).

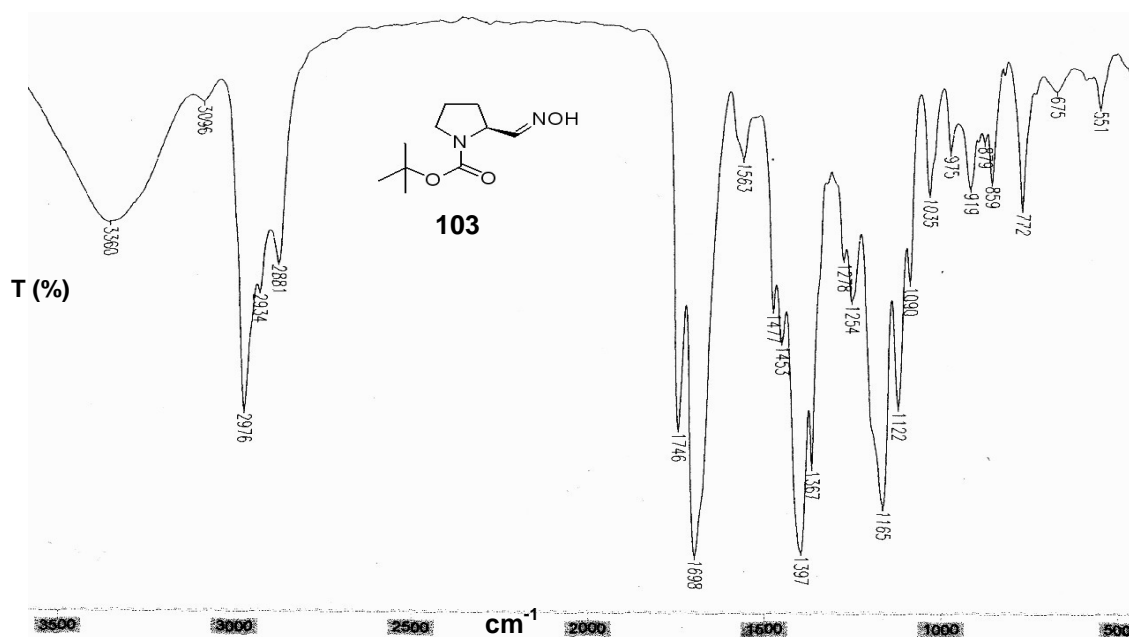


Figura 30 - Espectro de IV (cm^{-1} , filme) para BOC-prolina oxima (103).

Após deixar o óleo formado sobre a bancada por alguns dias, notou-se a formação de um sólido branco com ponto de fusão 158-159 °C. Apesar do derivado **103** ter sido caracterizado como um óleo,¹³⁶ ao analisar os espectros de IV para as amostras sólida e líquida, percebe-se que com exceção dos sinais em cerca de 2350 cm⁻¹ (CO₂) e de um pico intenso em 1679 cm⁻¹ presentes no espectro da amostra sólida, os IVs das duas amostras são muito semelhantes (Figura 30 e Figura 31).

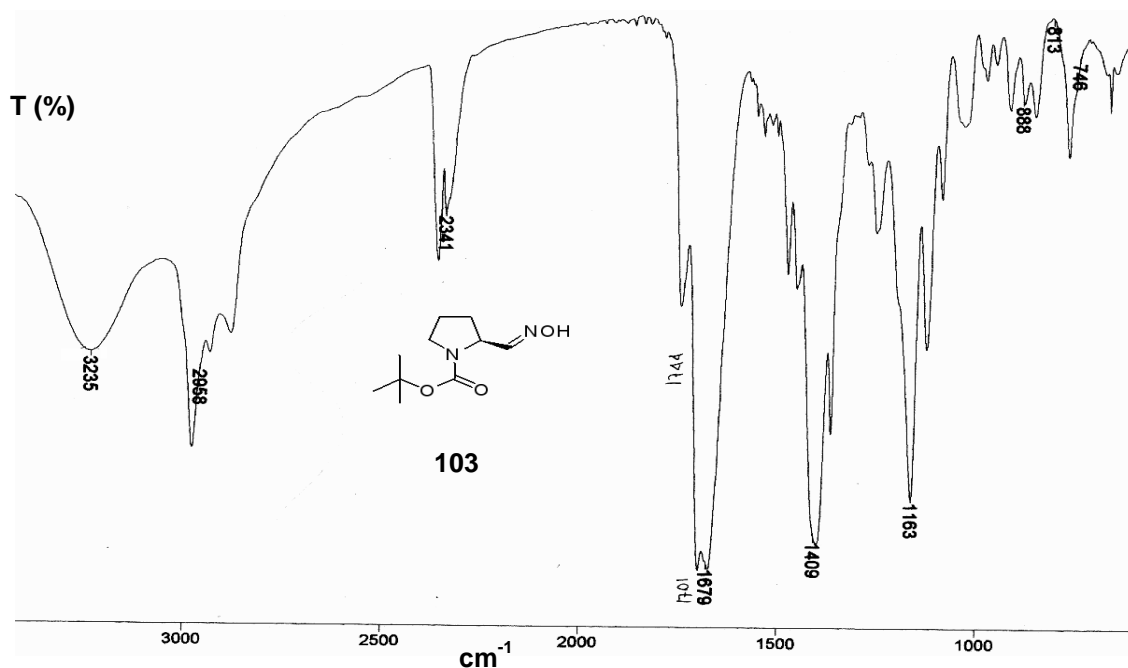


Figura 31 - Espectro de IV (KBr, cm⁻¹) para BOC-prolina oxima (**103**).

O espectro de RMN-¹H realizado para a amostra **103** sólida em CDCl₃ apresenta um dubleto em 1,48 ppm referente as metilas do grupo BOC, um multipletto em 1,80-2,45 ppm com integração de 4 hidrogênios atribuídos a dois metilenos, um multipletto com integração de 2 hidrogênios em 3,25-3,60 ppm referente ao CH₂ vizinho ao nitrogênio da pirrolidina, um singlete em 4,30 ppm (1 hidrogênio) atribuído ao CH, um multipletto largo de 7,30-8,00 ppm (1 hidrogênio) referente ao CH=NOH e um multipletto largo em 9,5-10 ppm atribuído ao OH (Figura 32). O espectro de RMN-¹H também foi realizado em D₂O (Figura 33).

Assim, o óleo amarelo obtido parece estar se transformando num sólido com maior pureza.

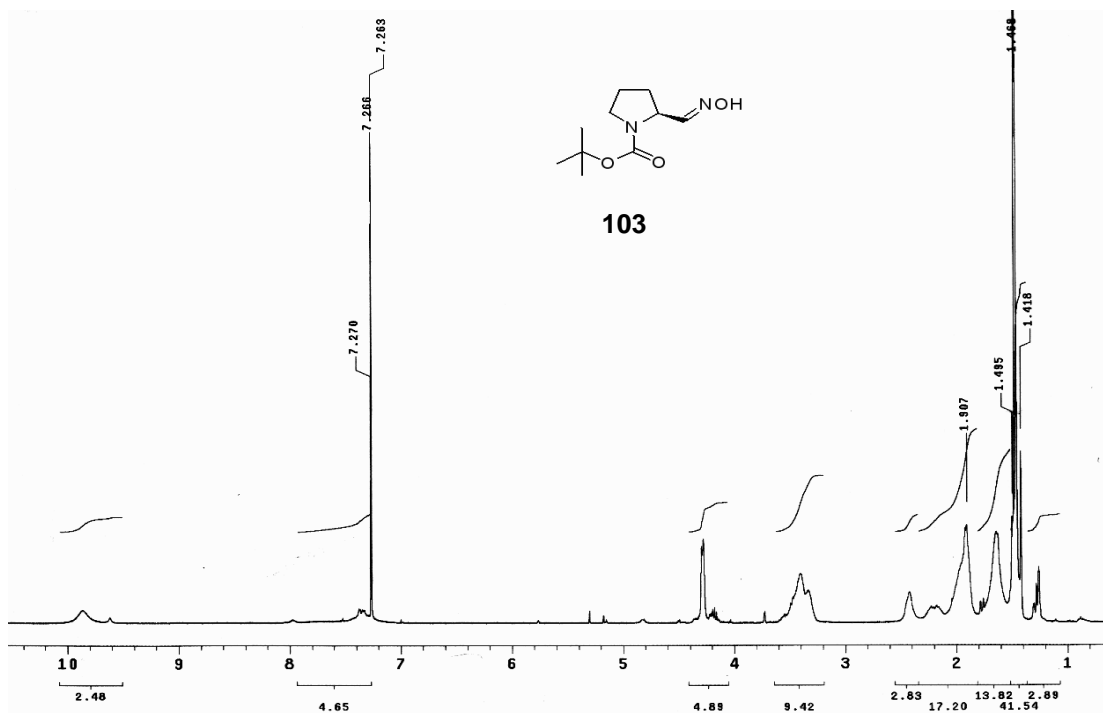


Figura 32 - Espectro de RMN-¹H em (400 MHz, CDCl₃) para BOC-prolina oxima (103) amostra sólida.

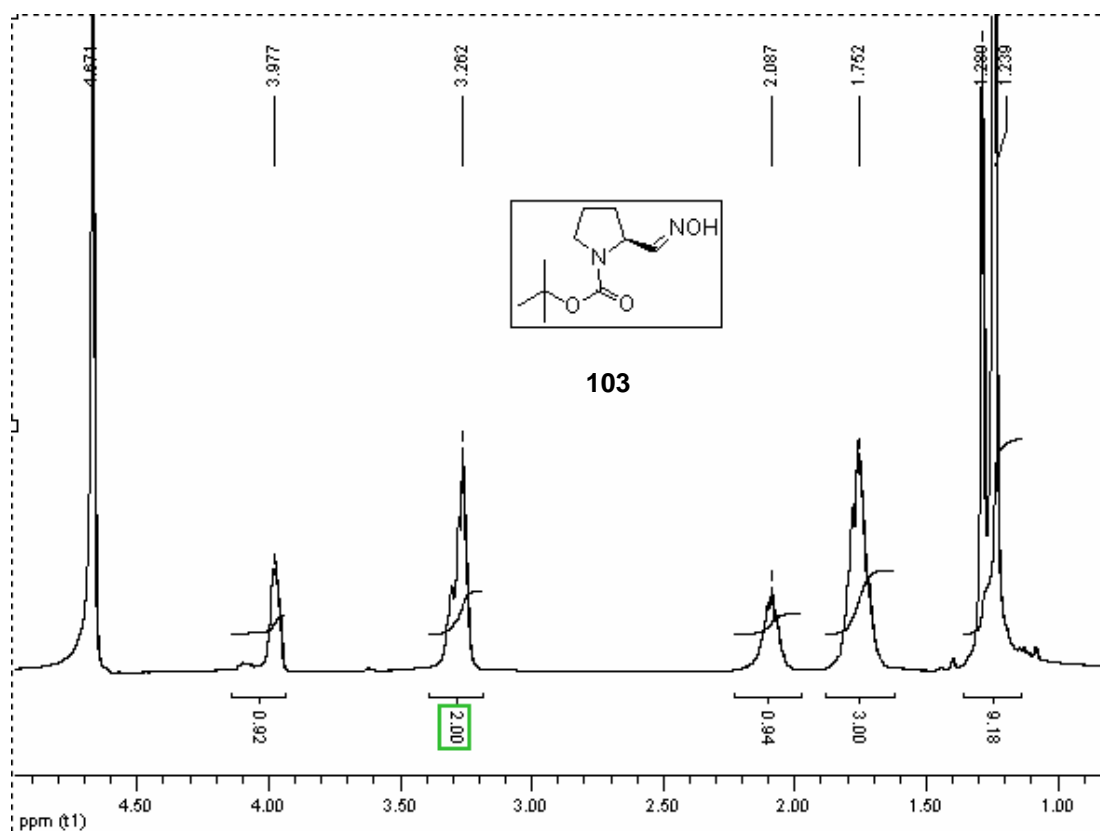


Figura 33 - Espectro de RMN-¹H em (400 MHz, D₂O) para BOC-prolina oxima 103 amostra sólida.

O espectro de RMN-¹³C para a BOC-prolina oxima (**103**), amostra sólida, apresenta os sinais referentes aos grupos metilenos em 23,62, 30,95, 46,74 ppm, além de um sinal em 27,61 ppm referente a três metilas do grupamento BOC, bem como o sinal relativo ao grupo metino em 58,65 ppm e do carbono quaternário em 82,13 ppm. Finalmente, os sinais atribuídos ao carbono ligado ao nitrogênio da função oxima em 155,84 ppm e do carbamato em 172,57 ppm. (Figura 34). Percebe-se, ainda, a presença de um sinal em menor intensidade próximo a cada carbono descrito. Estes sinais podem ser atribuídos à formação dos respectivos rotâmetros.

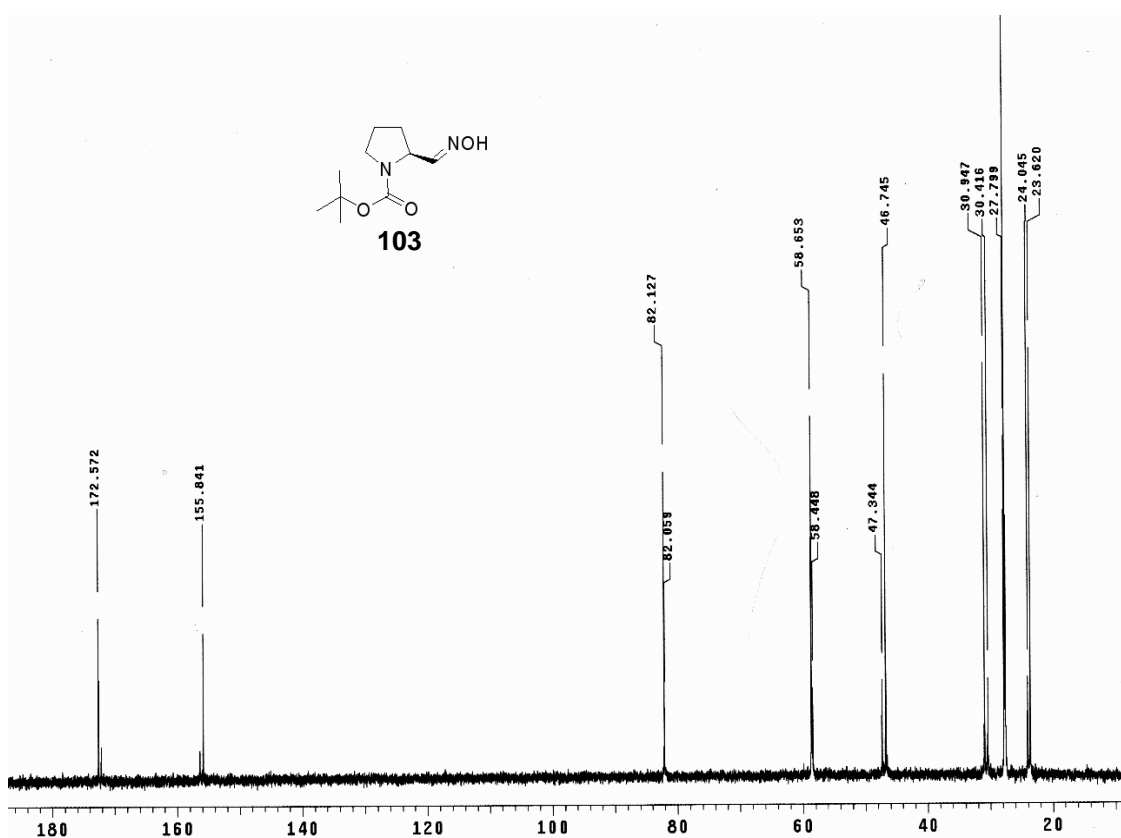


Figura 34 - Espectro de RMN-¹³C em (100 MHz, D₂O) para BOC-prolina oxima (**103**) amostra sólida.

A BOC-prolina oxima (**103**) foi também caracterizada por EM, sendo os seus fragmentos bastante similares aos citados na literatura.¹³⁶ As propostas das principais fragmentações são apresentadas abaixo (Figura 35).

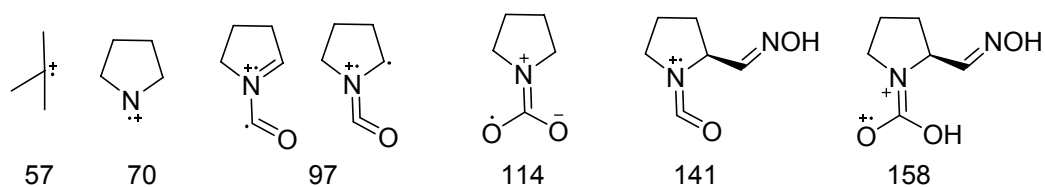
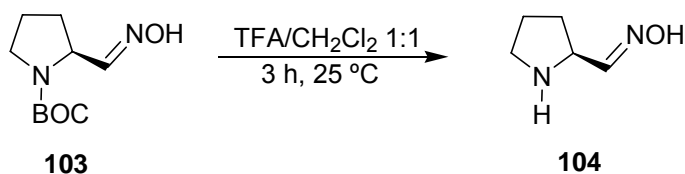


Figura 35 - Propostas de fragmentações no EM para o BOC-prolina oxima (103).

Finalmente, clivagem do grupo protetor BOC com ácido trifluoroacético em diclorometano forneceu a prolina oxima (**104**) inédita.



Esquema 60 - Preparação da Prolina Oxima (104).

A hidrólise do grupo BOC é confirmada pelo desaparecimento do singlete em 1,45 ppm referente aos 9 hidrogênios relativo ao grupo $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, bem como através da diminuição significativa dos picos em torno de 1400 cm^{-1} no espectro de infravermelho atribuídos aos estiramentos de grupos metilas (Figura 36).

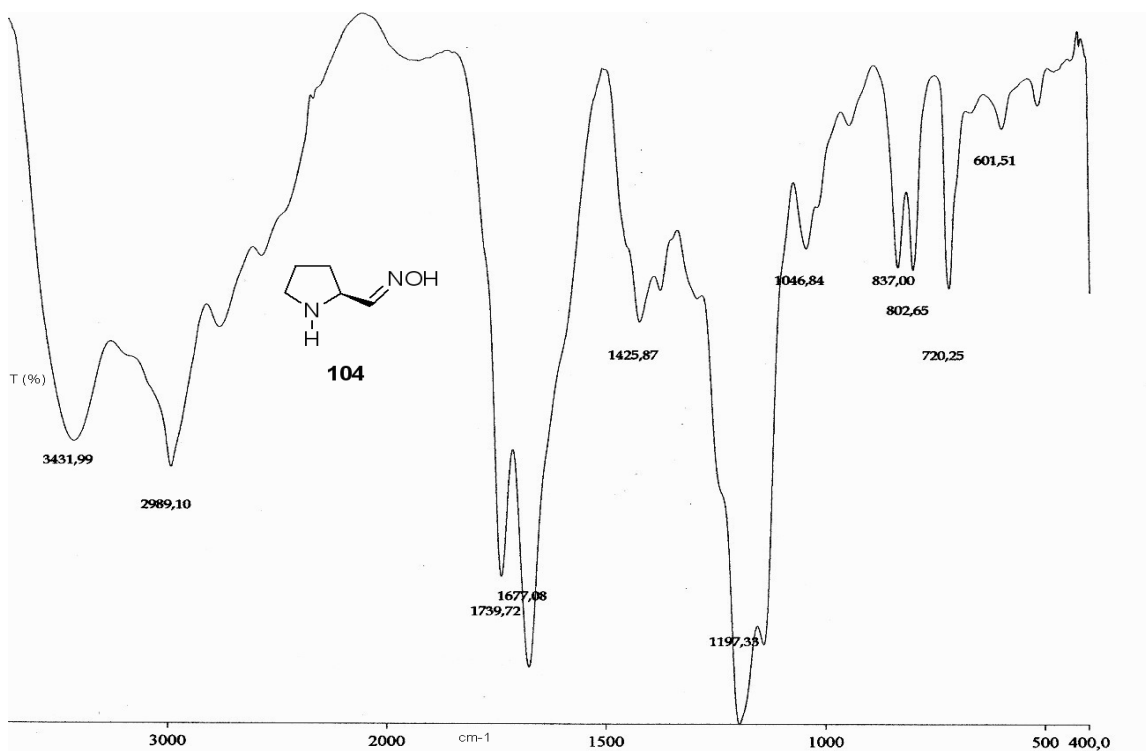


Figura 36 - Espectro de IV (cm^{-1} , filme) para a prolina ácido oxima (104).

O espectro de RMN-¹H para o derivado **104** apresenta um multipletto em 2,10-2,30 ppm, com integração relativa a três hidrogênios, referentes a dois grupos CH₂, um multipletto em 2,45-2,72 ppm relativo a um hidrogênio do grupamento metileno, um multipletto em 3,45-3,65 ppm, com integração relativa a dois hidrogênios, atribuído ao CH₂ vizinho ao nitrogênio da pirrolidina e um mutiplete em 4,27-4,35 ppm com integração de um hidrogênio referente ao grupo metino.

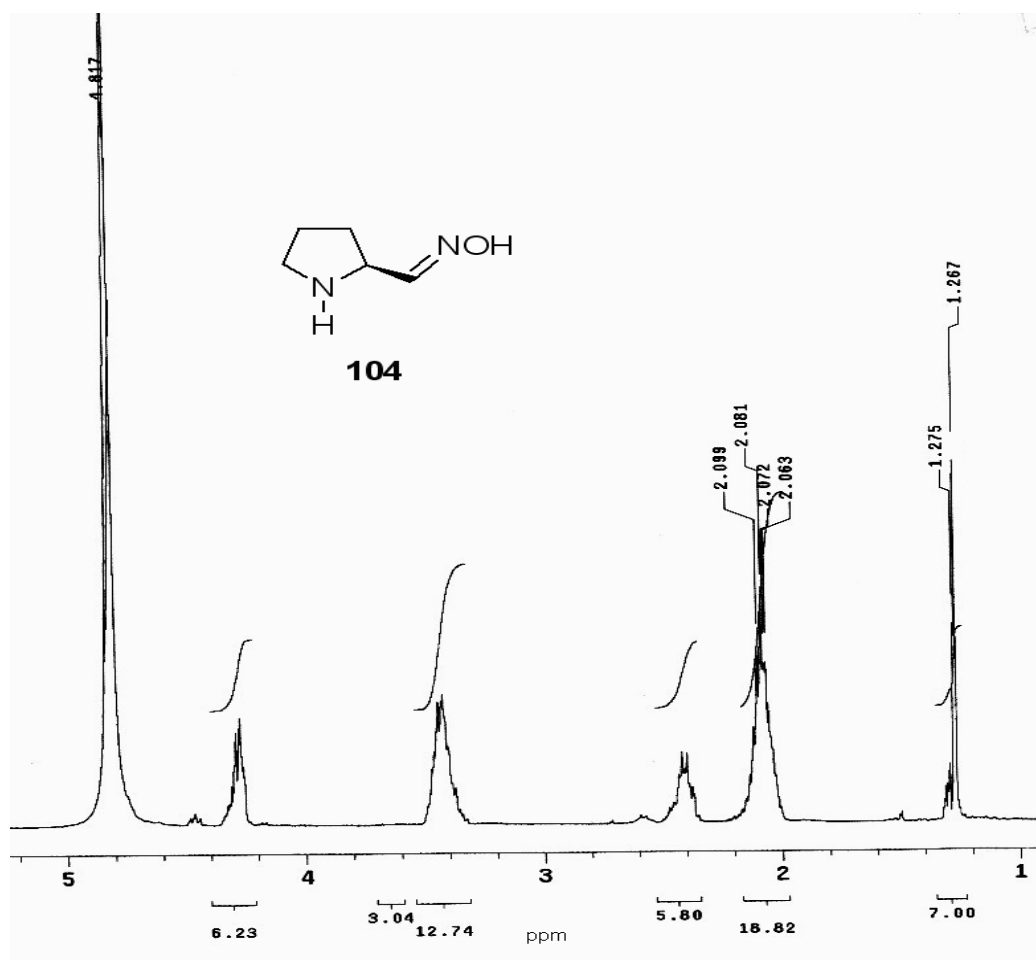


Figura 37 - Espectro de RMN-¹H (400 MHz, D₂O) para a prolina oxima (104).

3.3.1.1 Observações Sobre a Utilização de NaBH₃CN nas Reduções de Oximas

Foram realizadas inúmeras reações de redução empregando cianoborohidreto de sódio como agente redutor. Assim, pretende-se discutir

algumas particularidades da utilização deste agente redutor.

O emprego de um redutor brando como o NaBH_3CN na preparação de *N*-hidroxilaminas se faz necessário, uma vez que a utilização de redutores como NaBH_4 leva a formação da respectiva amina.

Outro aspecto importante diz respeito à utilização de indicadores como alaranjado de metila para o controle do pH reacional durante a redução. O ponto de viragem deste indicador em meio aquoso é 3, sendo esta a faixa ideal para as reduções de oximas às respectivas hidroxilaminas utilizando cianoborohidreto como redutor.^{53,60,61} Assim, em pH abaixo de 3 a solução inicial laranja-amarela geralmente torna-se rosa. As reações de redução com NaBH_3CN foram acompanhadas com pHmetro. Desta forma, observou-se que as reduções ocorrem em pH da solução (misturas de metanol ou etanol e água) na faixa de 1-2, intervalo este que corresponde à mudança de coloração da solução do indicador alaranjado de metila nas misturas de álcool/água utilizados como solvente. O pH reacional eleva-se após algumas horas de reação. Porém, o fator preponderante para este fato parece ser decorrente da evaporação do HCl utilizado e não do consumo do reagente, uma vez que é necessário que o sistema reacional esteja aberto para permitir a evaporação do H_2 formado devido ao excesso de redutor empregado.

No entanto, foram encontradas particularidades e dificuldades nas reduções das amino oximas. A particularidade diz respeito à coloração que a mistura reacional assume nas soluções de oximas contendo grupos amino (compostos **68**, **71** e **75**), uma vez que a solução torna-se vermelha quando o pH está inferior a 3, mas o ponto de viragem é facilmente notado.

Foram observados, nos espectros de infravermelho de algumas reações envolvendo amino oximas, a presença de picos na região de $2550\text{-}2250\text{ cm}^{-1}$, os quais podem ser atribuídos a ligações envolvendo átomos de boro e nitrogênio.¹³⁷ Portanto, especula-se que estejam sendo formados complexos bidentados estáveis envolvendo o redutor NaBH_3CN e as amino-oximas de cadeia aberta e que este seja o fator responsável pela não formação das amino *N*-hidroxilaminas. Este fato também pode explicar o baixo rendimento encontrado na redução da piridina oxima **75**. Já a redução da 4-(*N,N*-dimetilamino) benzaldoxima (**59**) não foi afetada por tal efeito, pois provavelmente a rigidez causada pela presença do anel aromático tenha

impedido a formação do complexo bidentado estável, levando a um complexo monodentado¹³⁸ de menor estabilidade.

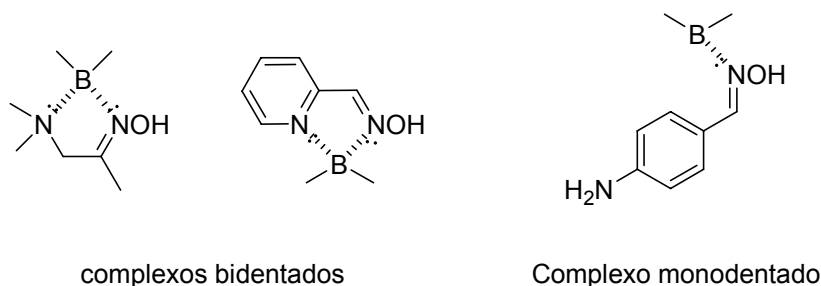


Figura 38 - Proposta de complexos bidentados e monodentados.

Como alternativa para explicar o presente fenômeno pode-se propor um estudo computacional envolvendo a redução de amino oximas a fim de promover uma comparação entre a estabilidade das amino oximas quando complexadas com NaBH₃CN na forma de ligantes bidentados e as demais oximas complexadas na forma monodentada, em meio ácido. Desta forma, tal estudo poderia ajudar a entender as dificuldades encontradas na redução. E ainda, poderiam ser propostas condições experimentais favoráveis para a formação das amino *N*-hidroxilaminas desejadas, classe esta de compostos pouco estudada.

Portanto, esses resultados de reduções de amino oximas com cianoborohidreto de sódio desencorajaram a extensão do presente método para preparação da prolina *N*-hidroxilamina. Assim, se faz necessário buscar métodos alternativos para preparação de derivados de prolina contendo o grupamento hidroxilamina ou intensificar os esforços na síntese de prolinas com grupos nucleofílicos que sejam mais estáveis e facilmente preparados como ácidos hidroxânicos.

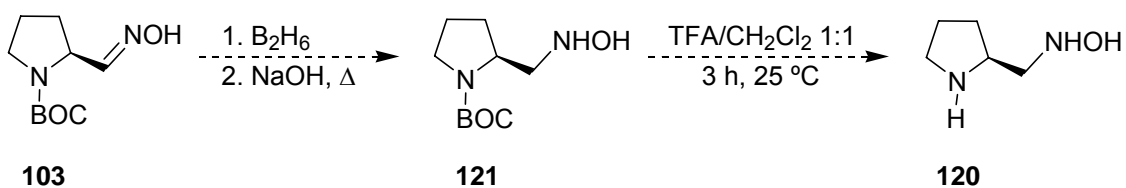
Proposta para Preparação da Prolina *N*-hidroxilamina (**120**)

Devido às dificuldades encontradas nas reduções de oximas contendo nitrogênio amínico livre em sua estrutura para *N*-hidroxilaminas, a preparação da *N*-hidroxilamina prolina (**121**) via redução com NaBH₃CN foi descartada.

Assim, propõe-se uma rota alternativa para obtenção da *N*-hidroxilamina **120** a qual baseia-se na redução da prolina oxima **103** utilizando-se B₂H₆ em

meio básico^{138,139} e subsequente hidrólise do grupo protetor BOC com ácido trifluoroacético (Esquema 61).

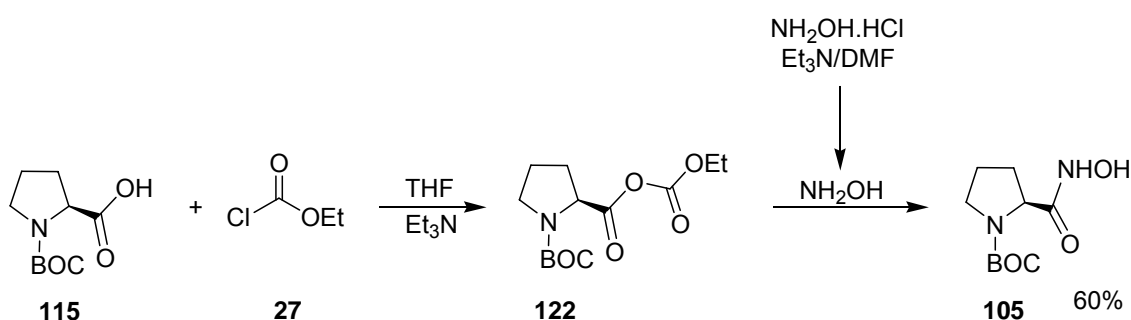
Apesar do cianoborohidreto ser o agente redutor mais adequado para formação das *N*-hidroxilaminas através das respectivas oximas, a vantagem de utilizar diborano é a possibilidade de promover a redução em meio básico. Deste modo, o grupo protetor BOC não sofreria clivagem durante a reação e, portanto, a possibilidade de formação de um complexo estável com boro seria diminuída.



Esquema 61 - Preparação da prolina *N*-hidroxilamina (120).

3.3.2 Preparação do Ácido Prolina Hidroxâmico (106)

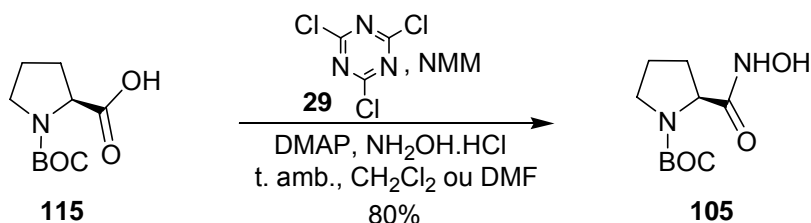
O ácido BOC-prolina hidroxâmico (105) foi sintetizado pelo método de descrito por Reddy e colaboradores,⁷⁵ ou seja, pela formação do anidrido misto ativado 122, não isolado, preparado pela reação entre a BOC-prolina (115) e cloroformiato de etila (27) utilizando THF anidro como solvente, seguido de adição de hidroxilamina previamente liberada pelo tratamento do seu respectivo cloridrato com trietilamina (Esquema 62).



Esquema 62 - Síntese do ácido BOC-prolina hidroxâmico (105).

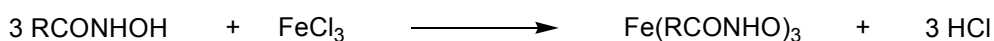
Giacomelli e colaboradores⁷⁴ apresentaram um método de preparação de ácidos hidroxâmicos pela reação entre aminoácidos protegidos e cloreto cianúrico seguido de hidroxilamina em diclorometano (seção 1.11.2.5). Duas vantagens podem ser apontadas para utilização desta metodologia: não

necessidade de secagem do solvente; possibilidade da utilização de um reagente menos sensível à água do que o cloroformiato de etila. Portanto, o ácido hidroxâmico **105** foi alternativamente preparado pela reação entre a BOC-Pro **115** e cloreto cianúrico **29**, em diclorometano sem tratamento, em 80% de rendimento.



Esquema 63 - Síntese do ácido hidroxâmico 105 pela rota alternativa.

Ácidos hidroxâmicos são ligantes potentes os quais formam complexos estáveis com Fe(III), de coloração geralmente roxa, em meio ácido (Esquema 64). Logo, uma metodologia bastante comum para identificação qualitativa da presença ou formação de ácidos hidroxâmicos é a utilização de soluções ácidas de FeCl_3 .¹⁴⁰ Quantitativamente, a formação de compostos de coordenação entre ácidos hidroxâmicos e Ferro(III) pode ser acompanhado por espectrometria UV-VIS pelo surgimento de uma banda com $\lambda_{\text{max}} = 540 \text{ nm}$.¹⁴¹



Esquema 64 - Teste para identificação de ácidos hidroxâmicos com FeCl_3

O teste do FeCl_3 realizado para o composto **105** confirmou a presença da função ácido hidroxâmico na molécula. E ainda, seu ponto de fusão foi comparado com valor encontrado na literatura (P.f. = 168-169 °C; P.f. lit.⁷¹ = 164-167 °C).

O ácido BOC-prolina hidroxâmico (**105**) foi também caracterizada por EM sendo os seus sinais comparados aos encontrados na literatura.⁷¹ As propostas de fragmentações são apresentadas abaixo (Figura 39).

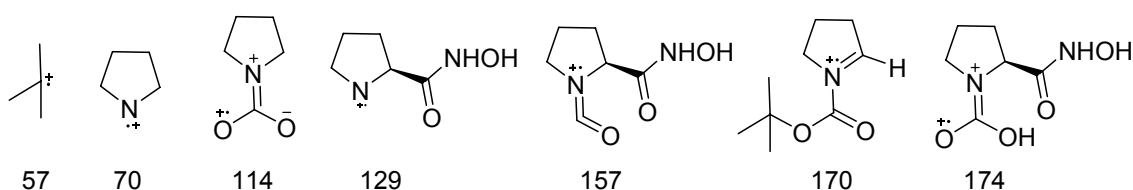
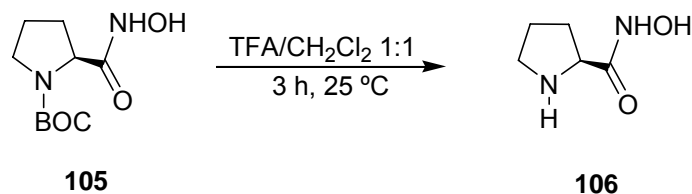


Figura 39 - Propostas de fragmentações para o ácido BOC-pro hidroxâmico

(106).

Clivagem do grupo protetor BOC utilizando uma mistura de diclorometano/ácido trifluoroacético 1:1 resultou no ácido L-prolina hidroxâmico desejado **106** isolado como um óleo transparente, em 95% de rendimento.



Esquema 65 - Síntese do ácido prolina hidroxâmico (106).

Novamente, teste do cloreto férrico para o derivado **106** indicou a presença de ácido hidroxâmico na molécula. O espectro de RMN-¹H para o ácido prolina hidroxâmico mostrou o desaparecimento do singlete relativo ao grupo BOC em 1,45 ppm, além da presença de quatro multipletos: em 1,84, 2,18, 3,18 e 3,26 ppm atribuídos a três grupos metílicos, e um duplo dubleto em 3,95 ppm (J = 2,8 e 6,4 Hz) referente ao hidrogênio metínico (Figura 40). O espectro de infravermelho para o composto **106** mostra o desaparecimento do pico em 1400 cm⁻¹ característico de estiramento simétrico e assimétrico das metilas presentes no grupo BOC. No entanto, da mesma forma que fora observado para o espectro de IV da prolina oxima **104**, o referido espectro apresenta um pico em cerca de 1730 cm⁻¹ juntamente com um sinal em 1674 cm⁻¹, além de uma banda larga em 2200-3000 cm⁻¹ característica de ácido a qual pode ser atribuída ao contra íon TFA (Figura 40).

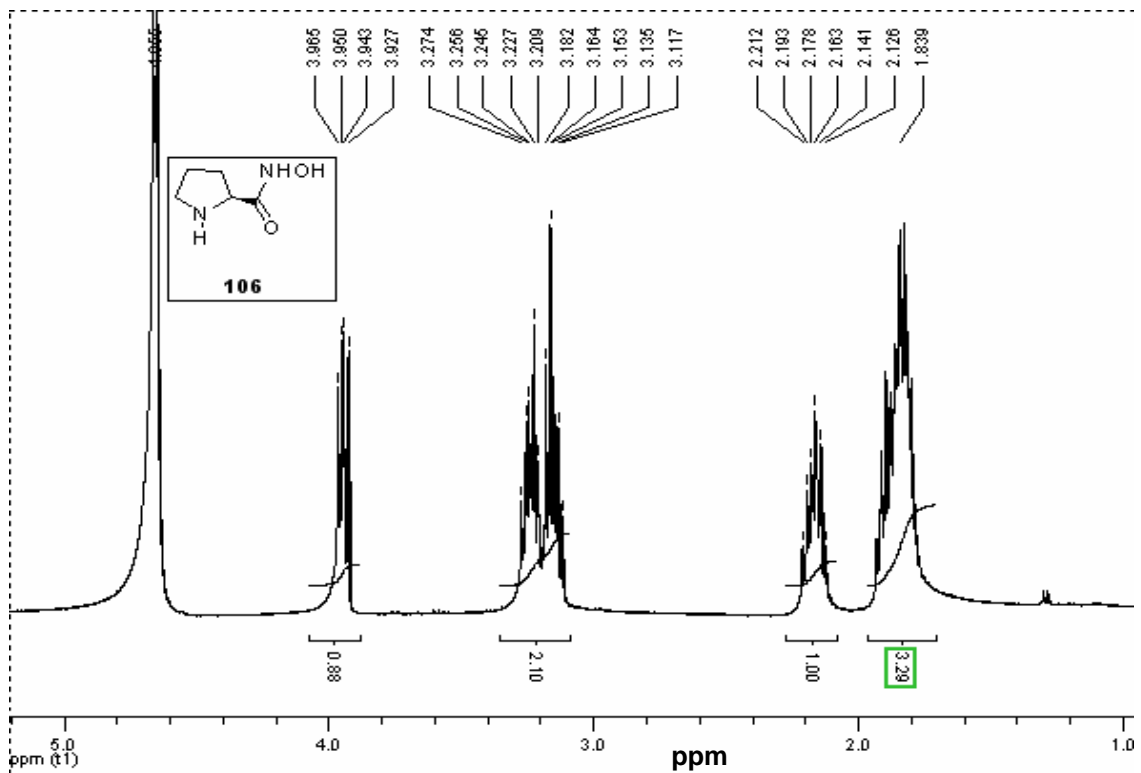


Figura 40 - Espectro de RMN-¹H (400 MHz, D₂O) para o ácido prolina hidroxâmico (106).

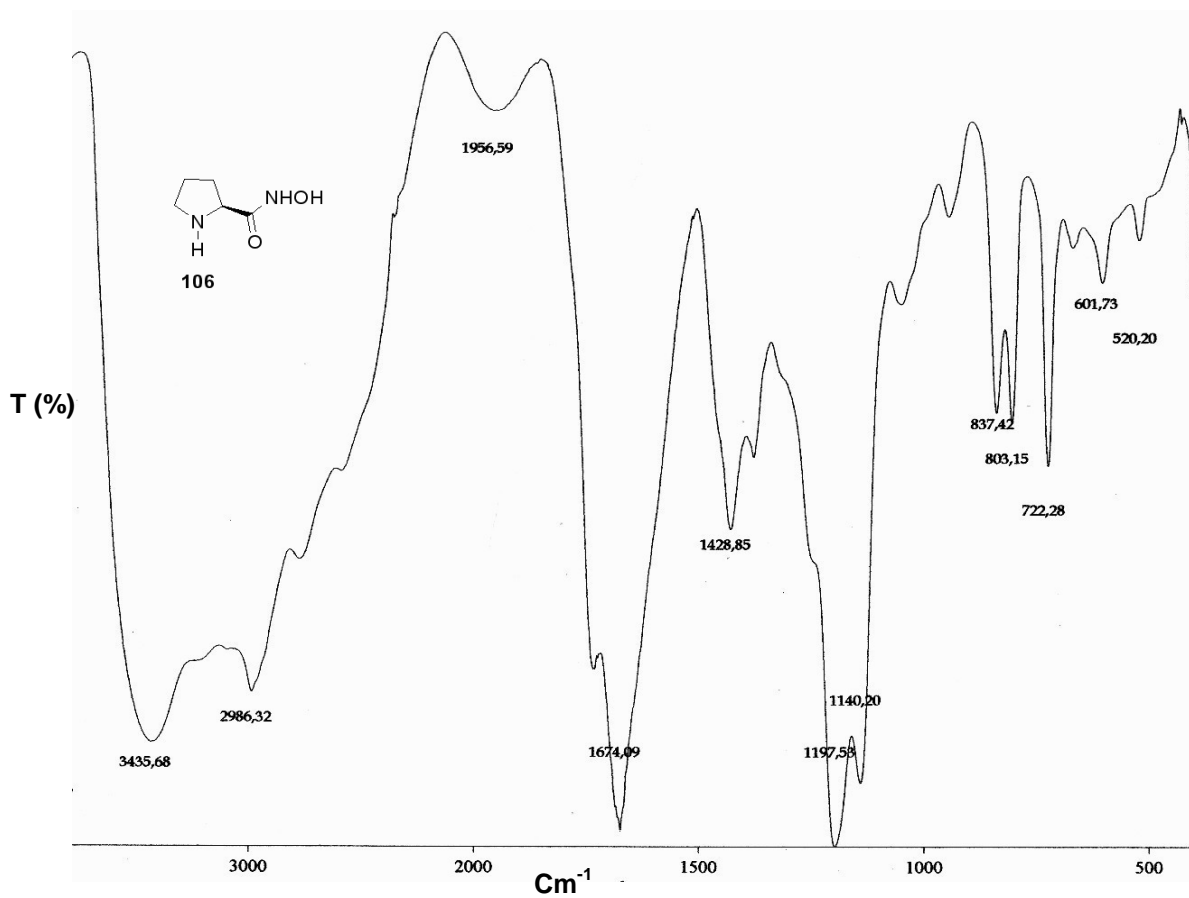


Figura 41 - Espectro de IV, em filme, para o ácido prolina hidroxâmico (106).

O ácido prolina hidroxâmico **106** foi também caracterizado por EM sendo que o sinal m/z 131 foi comparado a literatura.⁷¹ As propostas de fragmentações são apresentadas abaixo (Figura 42).

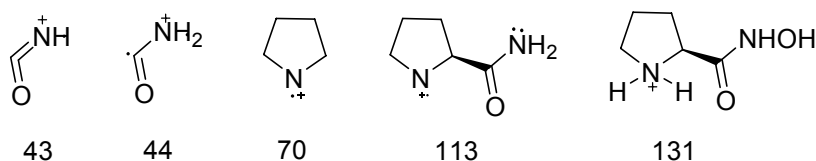
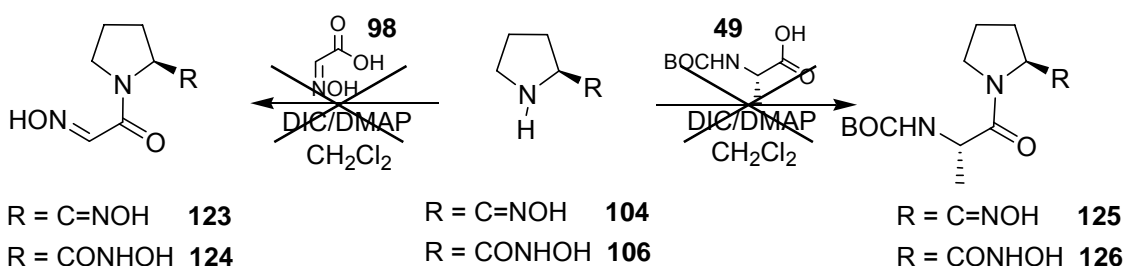


Figura 42 - Propostas de fragmentações para o ácido prolina hidroxâmico (**106**).

3.3.3 Tentativa de Acilação dos Derivados da Prolina

Almquist e colaboradores⁷¹ reportaram a acilação do ácido prolina hidroxâmico (**106**) via éster-succinimida. Desta forma, a prolina oxima (**104**) e o ácido prolina hidroxâmico (**106**) foram submetidos a tratamento com BOC-alanina (**49**) e ácido glioxílico oxima (**98**), utilizando DIC como agente de acoplamento e DMAP como base, com o objetivo de formar os respectivos análogos de dipeptídeos **123-126**. Porém, nenhuma das reações apresentadas no Esquema 65 foi capaz de gerar os dipeptídeos desejados sendo obtidas misturas de compostos. Isto indica que os dois grupos nucleofílicos presentes na molécula competem para o acoplamento.



Esquema 66 - Tentativas de acoplamento da oxima **104** e do ácido hidroxâmico **106**.

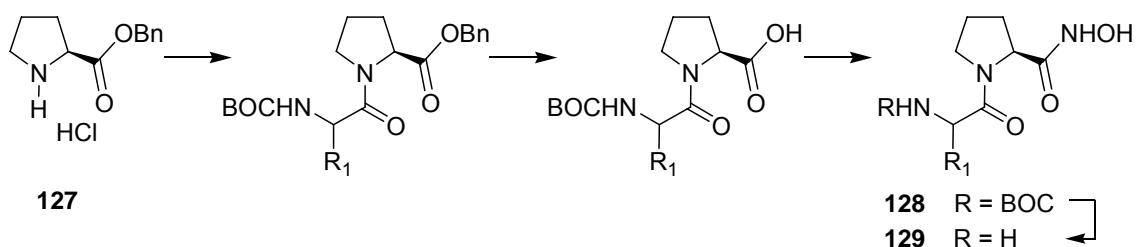
Neste ponto é importante ressaltar que apesar dos insucessos nas reações de acoplamento, a prolina oxima (**104**), bem como o ácido prolina hidroxâmico (**106**), são moléculas que preenchem os requisitos de compostos contendo em sua estrutura um α -nucleófilo com um grupo básico.

Logo, o desenvolvimento de rotas alternativas para preparação destes derivados da prolina contendo além de um α -nucleófilo um grupo básico ligado a porção nitrogênio do anel pirrolidina é de grande apelo.

3.3.4 Acilação dos Derivados da Prolina por uma Rota Mais Viável

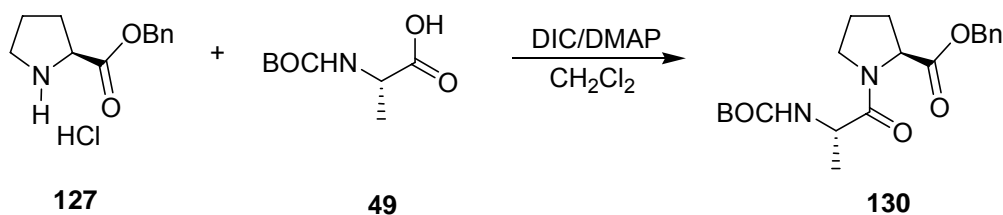
Assim, foi proposta uma rota mais viável para adição de derivados de aminoácidos no nitrogênio da prolina utilizando-se algumas das metodologias descritas neste trabalho. Esta estratégia sintética consiste em utilizar um derivado da prolina O-protégida e assim proceder o acoplamento de aminoácidos *N*-protégidos no nitrogênio do anel pirrolidina utilizando agentes de acoplamento. Esta seria uma maneira de se evitar uma competição entre grupos nucleofílicos no acoplamento. Após a formação do dipeptídeo, a porção ácida da prolina pode ser transformada nos α -nucleófilos obtendo-se, após desproteção dos aminoácidos acoplados à prolina, os compostos contendo um grupo básico e um grupamento nucleofílico semelhantes aos derivados preparados por Chiosis e Boneca.

Portanto, acoplamento da benzil prolina (**127**) (comercialmente disponível) com aminoácidos *N*-protégidos, seguido de hidrogenação catalítica, formação do correspondente ácido hidroxâmico **128**, e clivagem do grupo protetor, forneceria os ácidos amino hidroxâmicos desejados **129** (Esquema 67).



Esquema 67 - Rota sintética proposta para síntese de *N*-acil prolina derivados.

Deste modo, prolina benzil éster (**127**) foi deixada reagir com BOC-L-alanina (**49**), na presença de DIC e quantidades catalíticas de DMAP, em diclorometano anidro, para resultar, após filtração da uréia derivada da carbodiimida e purificação por cromatografia em gel de sílica, BOC-Ala-Pro benzil éster (**130**), como um óleo transparente, em 74% de rendimento (Esquema 68).^{142,143}

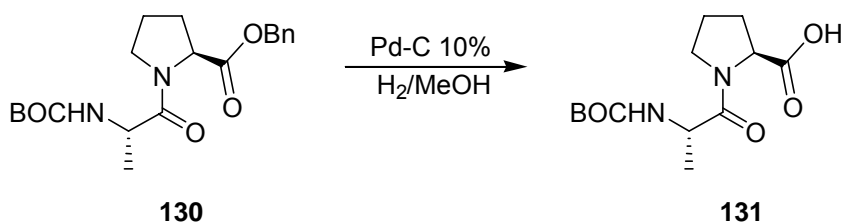


Esquema 68 - Síntese do derivado BOC-Ala-Pro benzil éster (130).

O espectro de RMN-¹H para a BOC-Ala-Pro benzil éster (**130**) apresenta um multiplete em 1,22 ppm com integração relativa a três hidrogênios, atribuídos ao grupo metila, um em 1,27 ppm singlete com integração relativa a nove hidrogênios, referente ao grupo BOC, um duplo dubleto em 5,05-5,15 ppm (²J = 12 Hz) atribuído ao grupamento metileno diastereotópico da porção benzil, além dos demais hidrogênios da porção prolina e hidrogênios aromáticos (Espectro 99 - anexo). Por sua vez, o espectro de infravermelho para o composto **130** mostra três carbonilas, em 1745, 1707 e 1650 cm⁻¹ (Espectro 100 - anexo).

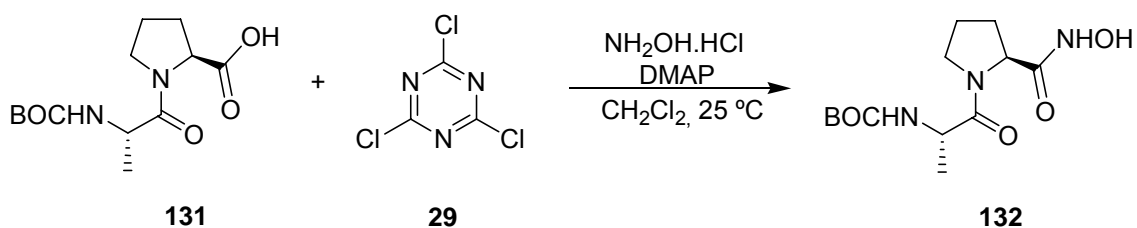
Hidrogenólise do éster benzílico **130** utilizando Pd-C 10% como catalisador forneceu o ácido correspondente **131**, como um sólido branco, em 93% de rendimento.¹⁴⁴

A formação do BOC-Ala-Pro (**131**) é confirmada pelo desaparecimento do sinal relativo ao CH₂ do grupo benzil no espectro de ressonância de hidrogênio, bem como do sinal atribuído ao anel aromático.



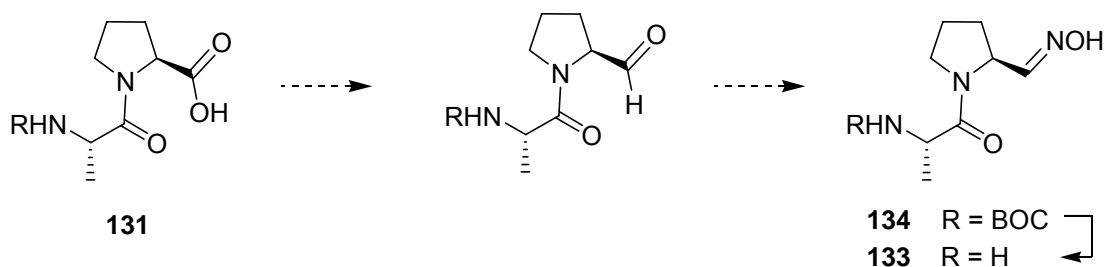
Esquema 69 - Preparação da BOC-Ala-Pro (131) por hidrogenação catalítica.

Em seguida, preparou-se o composto **132** pela reação entre o BOC-L-Pro-L-Ala (**130**) e ácido cianúrico, em diclorometano, seguido de adição de cloreto de hidroxilamônio na presença de DMAP. O produto foi caracterizado por UV, uma vez que **132** forma um complexo com Fe(III), em meio ácido, cujo $\lambda_{\text{max}} = 544 \text{ nm}$.



Esquema 70 - Síntese da BOC-Ala-Pro ácido hidroxâmico (132).

Por sua vez, a preparação da Ala-Pro oxima (133) poderá ser realizada a partir da redução do ácido 131, através da metodologia descrita para preparação da BOC-prolinal (102) (seção 3.3.1 Preparação da Prolina Oxima (104)), seguido de formação da oxima 134 e clivagem do grupo protetor BOC (Esquema 71).

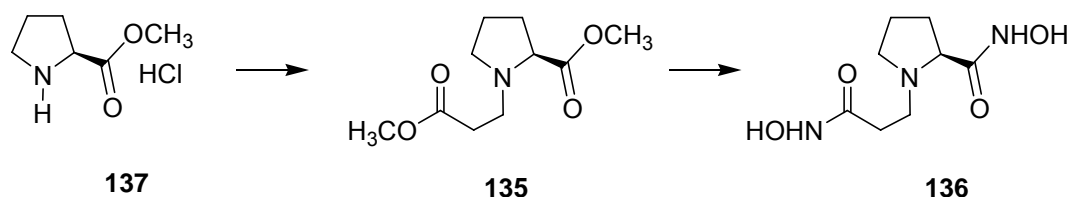


Esquema 71 - Rota sintética alternativa para síntese da Ala-Pro oxima derivados.

3.3.5 Alquilação dos Derivados da Prolina

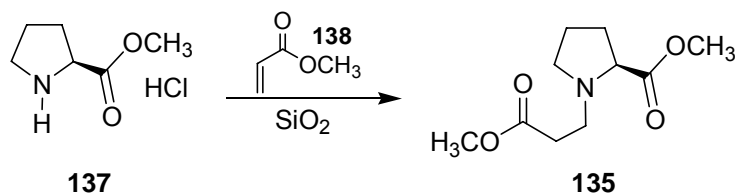
Basu e colaboradores¹⁴⁵ reportaram uma metodologia para síntese de β -amino do tipo aza-Michael de aminas em alcenos promovida por sílica para cr ésteres pela adiçãoomatografia em camada delgada.

Apesar do método desenvolvido por Basu e colaboradores¹⁴⁵ não ter sido reportado para preparação do derivado de prolina 135, o ácido di-hidroxâmico 136 parece ser interessante de ser preparado por essa rota. Portanto, adição de Michael da prolina metil éster (137) seguido de hidroxilaminólise dos ésteres levaria ao composto desejado (Esquema 72).



Esquema 72 - Rota sintética para preparação do ácido di-hidroxâmico 136.

Desta forma, neutralização do cloridrato do prolinato de metila (**137**) com carbonato de potássio em diclorometano, seguido de adição da mistura sobre sílica para CCD (previamente ativada por aquecimento à pressão reduzida) contendo acrilato de metila (**138**) em excesso, à 60 °C, resultou na formação do di-éster derivado da prolina **135**, após purificação num filtro de sílica, como um óleo transparente. No entanto, o rendimento foi de apenas 37% (Esquema 73).

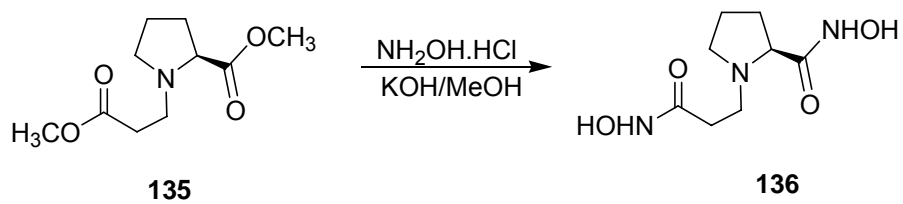


Esquema 73 - Síntese do di-metil éster 135 por adição de Michael.

É importante salientar que apesar do composto **135** já ter sido descrito na literatura,^{146,147} não foram encontrados dados físicos nem detalhes de sua preparação.

O espectro de RMN-¹H para **135** apresenta os sinais das metilenas em 1,74, 1,83, 2,02, 2,34, 2,45, 2,67, 2,97 ppm cada qual com integração relativa a dois hidrogênios, além de dois singletos em 3,57 e 3,64 ppm com integração relativa a três hidrogênios, referentes as metoxilas. Não foi observado a formação de rotâmeros para o composto **135** (Espectro 94 - anexo).

Subsequente adição de hidroxilamina, previamente liberada pela adição de KOH sob o seu hidrocloreto, e recristalização do produto obtido resultou num sólido branco. Dissolução de uma pequena quantidade deste sólido em etanol/HCl, na presença de duas gotas de solução de cloreto de ferro(III), forneceu uma solução azul-roxa intensa a qual indica presença de ácido hidroxâmico. Porém, apesar do espectro de ressonância magnética de hidrogênio para o derivado de ácido hidroxâmico obtido na presente reação mostrar o desaparecimento dos picos relativos às metilas do composto de partida, sua característica é de uma mistura de produtos. A explicação para tal fato pode estar relacionada com a alta reatividade que tal molécula possui em solução. Desta forma, o ácido di-hidroxâmico **136** pode estar sendo formado e rapidamente degradado em solução.

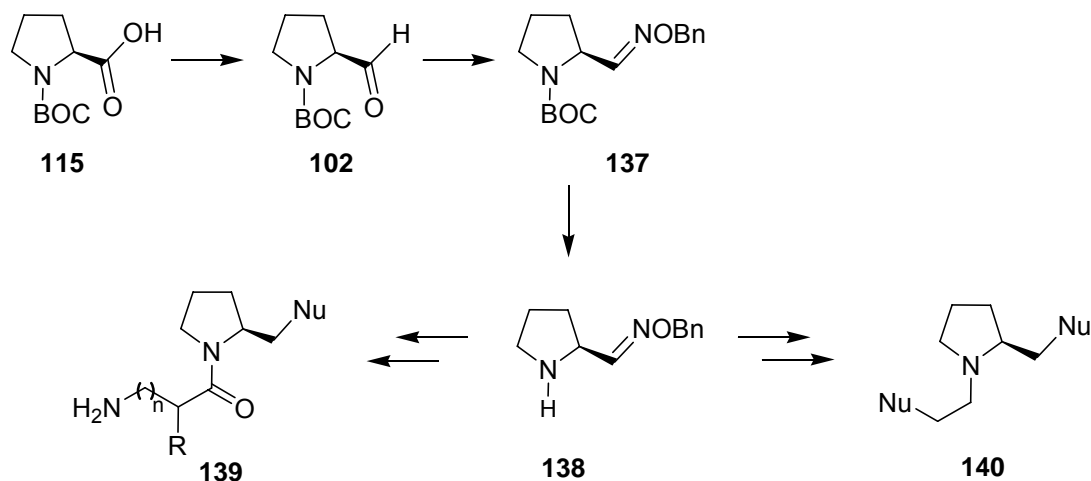


Esquema 74 - Tentativa de síntese do ácido di-hidroxâmico 136 derivado da prolina.

3.4 Perspectivas e Propostas

Proposta de Acilação dos Derivados da Prolina por Uma Rota Alternativa

O Esquema 75 pode ser apontado como alternativo para síntese de derivados da prolina contendo em sua estrutura um nucleófilo e uma base. Preparação da *O*-benzil-oxima-BOC-Pro (**137**) éster pela reação entre o prolinal protegido **107** e *O*-benzil hidroxilamina (**90**), seguido de hidrólise do grupo BOC, produzirá a *O*-benzil-oxima-Pro (**138**) a qual poderá ser utilizada para preparação de uma série de compostos alvo **139** e **140** (Esquema 75).



Esquema 75 - Esquema alternativo para preparação de composto alvo 139 e 140.

3.5 Ensaios Biológicos

Apesar do contínuo desenvolvimento de pesquisas na área dos antivirais, poucos fármacos vêm sendo aprovados pelas autoridades governamentais para uso clínico, e a maioria desses compostos tem aplicações limitadas a poucas doenças. A obtenção de novos fármacos antivirais que sejam, ao mesmo tempo, ativos e de baixa toxicidade, aliado ao desenvolvimento de resistência às terapias usuais, se revela um problema de difícil solução. Desta forma, é imperativo que se pesquise novas alternativas terapêuticas efetivas para doenças virais humanas e veterinárias, à base de compostos com potente atividade, com um mínimo de efeitos colaterais e, preferivelmente, com mecanismos de ação diferentes daqueles dos medicamentos já existentes. Várias pesquisas para o desenvolvimento de novos fármacos antivirais têm sido realizados com base em compostos sintéticos como nucleosídeos¹⁴⁸, dihidroxitriphenilmetanos¹⁴⁹, derivados de porfirinas¹⁵⁰ e pirimidinas¹⁵¹.

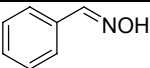
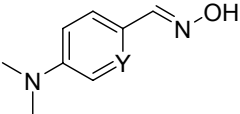
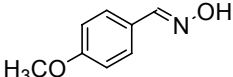
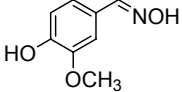
Devido a grande variedade de classes de compostos sintéticos que exibiram atividades antivirais, foram avaliadas a potencial atividade antiviral de uma série de derivados sintéticos preparados neste trabalho, bem como seus respectivos materiais de partida (Tabela 9). Os substratos foram solubilizados em DMSO e estocados a 4°C. No momento dos testes, os mesmos foram diluídos em meio MEM, na concentração final de 250 µM. Como modelos virais foram usados vírus com genoma DNA: herpes simplex vírus tipo 1 (HSV-1), cepas 29R (resistente ao aciclovir) e KOS. A citotoxicidade e a atividade antiviral foram determinadas pelo ensaio colorimétrico do MTT¹⁵², em duplicata. O controle positivo para os testes com o HSV-1 foi o aciclovir (125 µM), e controles celulares e virais foram mantidos em todos os experimentos.¹⁵³

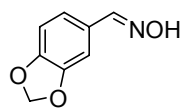
Os percentuais de inibição para todos compostos avaliados frente a cepas de HSV-1 KOS foram baixos. Os melhores resultados foram obtidos para os compostos **103**, **115** e **94** os quais inibiram 45%, 30% e 28% dessa cepa numa concentração de 250 µM, respectivamente. Por sua vez, os compostos **113** e prolina (**141**) mostraram ser os mais promissores frente às cepas de HSV-1 29R (Tabela 9). Assim, o álcool **113** e a prolina (**141**) foram submetidos

a uma nova avaliação da citotoxicidade e da potencial atividade anti-herpética, utilizando a diluição seriada de cada composto-teste (razão1:2), a fim de se determinar os valores de CC₅₀ (concentração citotóxica para inibir 50% das células) e a CE₅₀, (concentração de 50% de replicação viral), respectivamente. Quando de posse dos valores de CC₅₀ e de CE₅₀, é possível calcular os índices de seletividade (IS= CC₅₀/ CE₅₀), o qual indica quão promissora é a atividade antiviral do composto-teste em questão. Em termos comparativos é utilizado o IS referente ao aciclovir, medicamento utilizado para tratamento de herpes, cujo IS é ~200.¹⁵³

Os valores de citotoxicidade para o derivado **113** e a prolina (**141**) foram acima de 500 µM. No entanto, apesar da baixa citotoxicidade observada para estes compostos, estudos da atividade antiviral desses derivados de prolina não foram aprofundados, pois os baixos percentuais de inibição da replicação viral verificadas não são consideradas promissoras na pesquisa de novos fármacos antivirais. Logo, seria necessário um dose muito grande destes compostos para que estes fossem considerados como possíveis fármacos, o que, na prática, é inviável.

Tabela 9 - Resultados da determinação da atividade antiviral dos compostos abaixo, através do ensaio colorimétrico do MTT (Conc. = 250 µM).

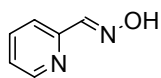
	HSV-1 cepa 29R	HSV-1 cepa KOS
	% de Inibição	% de Inibição
 59	2,5	SI
 71	SI	8,5
 72	SI	4,5
 73	SI	12,0



74

3,5

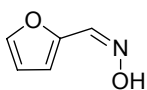
SI



75

SI

SI



60

SI

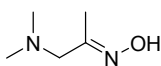
SI



94

5

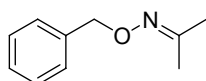
28,0



68

SI

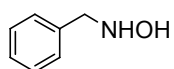
4,0



95

4,0

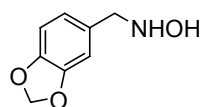
20,5



81

SI

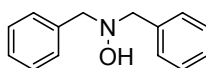
15,0



85

18,5

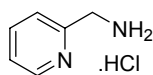
9,5



86

SI

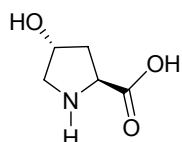
7,0



142

SI

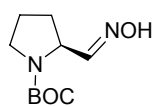
SI



143

SI

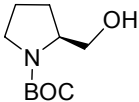
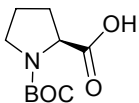
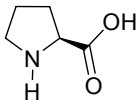
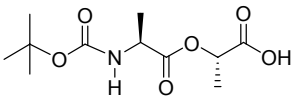
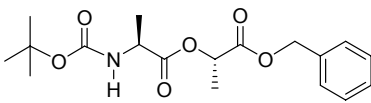
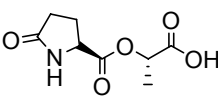
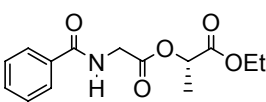
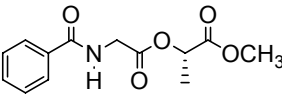
14,0



103

18,5

45,0

	113	47,0	13,5
	115	22,0	30,0
	141	32,0	18,5
	51	SI	SI
	54	SI	SI
	56a	SI	SI
	45	SI	SI
	47	SI	SI

SI = sem inibição

4 PARTE EXPERIMENTAL

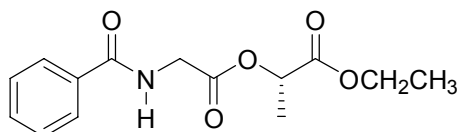
4.1 Instrumentação e Reagentes

Os espectros de infra-vermelho foram obtidos em pastilha de KBr ou filme, em espectrofotômetro Perkin-Elmer FT-IR 1600 com sistema de registro computadorizado, na região de 4000 a 400 cm^{-1} . Os espectros de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C foram obtidos em aparelho RMN Bruker AC-200 e Varian 400 (200 MHz e 400 MHz, respectivamente). Análises Elementares de CHN foram feitas em um aparelho Perkin Elmer 2400. A determinação do ponto de fusão das substâncias sólidas foi realizada em um aparelho Microquímica MQPF301. As análises de CG-EM foram realizadas em um aparelho Shimatzu Q85050, utilizando coluna J&W científico DB-5-M30.

Todos os solventes e reagentes empregados nas sínteses, purificações, caracterizações e ensaios biológicos foram adquiridos de fontes comerciais (Aldrich, Merck, Fluka, Mallinckrodt, Nuclear, Synth) e utilizados sem prévia purificação, com exceção dos cloretos de ácido e piridina, que foram tratados de acordo com procedimentos descritos na literatura.¹⁵⁴

4.2 Derivados de Depsipeptídeos

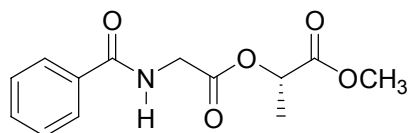
Hipuril-L-lactato de etila (45)



210 mg de DCC (1,0 mmol) foram adicionados a uma solução formada por 179 mg de ácido hipúrico (1,0 mmol), 0,12 mL de lactato de etila (1,1 mmol), 12 mg de DMAP (0,1 mmol) e 5 mL de diclorometano, a 25 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 16 h. Subsequente filtração da uréia formada em funil de büchner, seguido de adição de 5 mL de CH_2Cl_2 à solução filtrada e de lavagens sucessivas com H_2O (3 x 5 mL), AcOH 5% (3x 5 mL) e H_2O (3 x 5 mL), secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtração. Evaporação do solvente em evaporador rotatório à pressão reduzida, forneceu

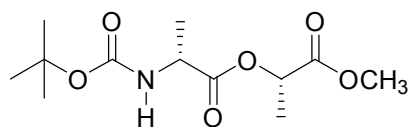
um sólido branco o qual foi recristalizado em AcOEt/éter de petróleo. Rend. = 55%. P.f. = 132-133 °C. CHN: C. 59,55, H. 6,55, N. 5,25. (Exp.): C. 60,21, H. 6,14, N. 5,02. IV (KBr, cm^{-1}): 3316, 3074, 2950, 1764, 1744, 1644, 1188. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,23 (t, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 1,54 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 4,21 (d, 2H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_2), 4,29 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 4,38 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 5,20 (q, 1H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH), 6,70 (s largo, 1H, NH, troca com D_2O), 7,47 (m, 3H, Ph), 7,81 (d, 2H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, Ar-orto). RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ : 14,02 (CH_3), 16,80 (CH_3), 41,59 (CH_2), 61,57 (CH_2), 69,59 (CH), 127,03 (2 x CH), 128,54 (2 x CH), 131,76 (CH), 133,58 (C), 167,45 (CO), 169,61 (CO), 170,23 (CO).

Hipuril-L-lactato de metila (47)



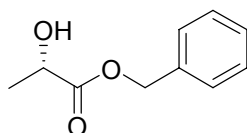
210 mg de dicitclo-hexil carbodiimida (DCC) (1,0 mmol) foram adicionados a uma solução formada por 179 mg de ácido hipúrico (1,0 mmol), 0,10 mL de L-lactato de metila (1,1 mmol), 10 mg de DMAP (0,1 mmol) e 5 mL de diclorometano, a 25 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 16 h. Subsequente filtração da uréia formada em filtro de Büchner, seguido de adição de 5 mL de CH_2Cl_2 à solução filtrada e de lavagens sucessivas com H_2O (3 x 5 mL), AcOH 5% (3 x 5 mL) e H_2O (3 x 5 mL), secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtração e evaporação do solvente em evaporador rotatório à pressão reduzida, forneceu um sólido branco o qual foi recristalizado em AcOEt/éter de petróleo. Rend. 55%. P.f. = 111 °C. CHN (cld): C. 57,28, H. 5,90, N. 5,02. (exp.): C.57,37, H. 5,82, N. 5,18. IV (KBr, cm^{-1}): 3285, 3074, 2945, 1767, 1749, 1643, 1555, 1226. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,53 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 3,76 (s, 3H, OCH_3), 4,31 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,5$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 4,40 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,5$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 5,20 (q, 1H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, 1H, CH), 6,74 (s largo, 1H, NH, troca com D_2O), 7,38-7,54 (m, 3H, Ph), 7,81 (d, 2H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, Ar-orto). RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ : 17,10 (CH_3), 41,87 (CH_2), 52,75 (CH_3), 69,75 (CH), 127,32 (2 x CH), 128,84 (2 x CH), 132,07 (CH), 133,84 (C), 167,76 (CO), 169,89 (CO), 170,99 (CO).

N-(*t*-Butiloxicarbonil)-L-alanil-L-lactato metil éster (50)



1,16 g de DIC (~1,0 equivalentes) foram adicionados a uma solução formada por 1,5 g de Boc-L-Ala (7,93 mmol), 0,91 mL de lactato de metila (~1,0 equivalentes), 0,39 g de DMAP e 20 mL de diclorometano, a 0 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 16 h. Subsequente filtração da uréia formada em funil de büchner, seguido de adição de 15 mL de CH₂Cl₂ à solução filtrada e de lavagens sucessivas com NaHSO₄ 5% (3 x 10 mL), NaHCO₃ 10% (3 x 10 mL) e Brine (1 x 10 mL), secagem da fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtração e evaporação do solvente em evaporador rotatório à pressão reduzida, forneceu um óleo transparente. Rend. 70%. IV (filme, cm⁻¹): 3339, 2970, 1751, 1712, 1511, 1165. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,30-1,60 (m, 15H, C(CH₃)₃, 2CH₃), 3,74 (s, 3H, CH₃), 4,37 (q, 1H, ³J= 7,2 Hz, CH), 4,99 (s, 1H, NH, troca com D₂O), 5,15 (q, ³J= 7,1 Hz, 1H, CH).

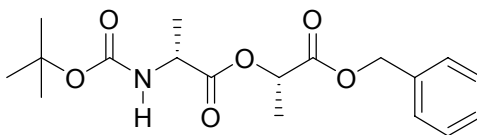
L-Lactato de benzila^{94,95} (53)



Uma solução formada por 87 mL de ácido L-láctico (0,93 mol), 40 mL de álcool benzílico, 0,4 mL de H₂SO₄ e 250 mL de CHCl₃ foi deixada sob refluxo durante 90 minutos. 30 mL de ácido L-láctico foram adicionados à mistura reacional e a mesma foi mantida sob refluxo por mais 90 minutos. Evaporação do clorofórmio em evaporador rotatório levou à formação de uma mistura oleosa a qual foi neutralizada com bicarbonato de sódio. À mistura foram adicionados 100 mL de água gelada e, então, as fases formadas foram separadas. A fase aquosa foi extraída com éter etílico (2 x 20 mL), enquanto que à fase orgânica foram adicionados 100 mL de éter etílico. As fases etéreas foram combinadas, secas com Na₂SO₄ e o solvente evaporado a pressão reduzida. O óleo obtido foi destilado em bomba de vácuo (106 °C/0,1 mmHg; Lit.⁹⁵ 134°C/4 mmHg;) para resultar na formação de 48,70 g de um óleo transparente. Rend. 70%. IV (filme, cm⁻¹): 3442, 1739, 1210, 1129. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,42 (d, 3H, J= 6,8

H_z, CH₃), 2,90 (s, 1H, OH), 4,32 (q, 1H, J= 6,8 Hz, CH), 5,20 (s, 2H, CH₂), 7,37 (s, 5H, Ph). RMN-¹³C (CDCl₃): 20,58 (CH₃), 67,19 e 67,33 (CH, CH₂), 128,15 (5 x CH), 135 (C), 175,77 (CO).

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-*L*-alanil-*L*-lactato benzil éster (54)^{84,155}**



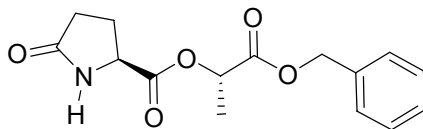
A uma solução contendo 1,28 g de Boc-alanina (**49**) (6,76 mmol), 134 g de L-lactato de benzila (**53**) (7,44 mmol) e 0,275 g (2,25 mmol) de DMAP, em 30 mL de CH₂Cl₂, foram adicionados 1,8 mL de DIC (6,76 mmol) e deixados reagir por 16 h. Filtração da uréia formada, tratamento da solução filtrada com NaHSO₄ 5% (3 x 10 mL), NaHCO₃ (sat.) (3 x 10 mL) e *Brine* (1 x 10 mL), secagem com Na₂SO₄ e evaporação do solvente em evaporador rotatório resultou na formação de um sólido branco amorfo. Este sólido foi dissolvido em uma mistura acetato de etila/hexano (3:7) e filtrado em sílica. O solvente foi deixado evaporar à temperatura ambiente para formar cristais ou quais foram redissolvidos e recristalizados em uma mistura de éter/hexano. Massa obtida = 1,19 g, rend. 50%. P.f. = 77-79 °C. P. f. lit.⁸⁴ = 82-83 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3368, 1759, 1739, 1709, 1522, 1162. RMN-¹H (DMSO) δ: 1,08-1,54 (m, 15H, C(CH₃)₃, 2CH₃), 4,14 (m, 1H, CH), 5,20 (m, 3H, CH, CH₂), 7,46 (s, 5H, Ph). RMN-¹³C (CDCl₃) δ: 16,76 (CH₃), 18,30 (CH₃), 28,24 (3 x CH₃), 48,91 (CH), 67,02 (CH₂), 69,03 (CH), 80,27 (C), 128,45 (CH), 135,07 (C), 155,06 (CO), 170,18 (CO), 172,90 (CO).

Método geral para síntese dos demais depsipeptídeos

A uma solução contendo 1,00 mmol do respectivo ácido, 198 mg (1,10mmol) de L-lactato de benzila, 12 mg (0,10 mmol) de DMAP e 5 mL de CH₂Cl₂ foram adicionados 210 mg de DCC (1,00 mmol) e deixados reagir por 16 h, à temperatura ambiente. Filtração da uréia formada, tratamento da solução filtrada com H₂O (1 x 3 mL), AcOH 5% (1 x 3 mL), NaHCO₃ 5% (1 x 3 mL) e H₂O (1 x 3 mL), secagem com Na₂SO₄ e evaporação do solvente em evaporador rotatório resultou na formação de um sólido branco amorfo. Este

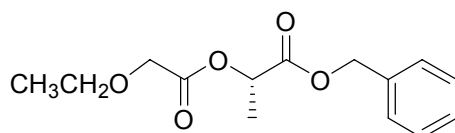
sólido foi dissolvido em uma mistura acetato de etila/hexano e filtrado em sílica. O solvente foi deixado evaporar à temperatura ambiente e então o produto, quando sólido, foi recristalizado em AcOEt/hexano.

Piroglutamil-L-lactato de benzila (55a)



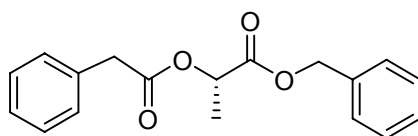
P.f. = 96 °C. Rend. 60%. IV (KBr, cm^{-1}): 3372, 1743 e 1689. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,52 (d, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, 3H, CH_3), 2,20-2,55 (m, 4H, 2CH_2), 4,29 (m, 1H, CH), 5,20 (m, 3H, CH, CH_2Ph), 6,14 (s largo, 1H, NH), 7,35 (s, 5H, Ph).

2-Etoxiacetil-L-lactato de benzila (55b)



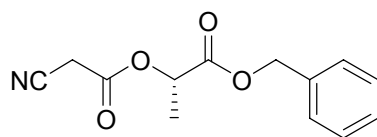
Óleo amarelo claro. Rend. 53% IV (filme, cm^{-1}): 3034, 2978, 1753, 1453, 1271, 1192, 1133. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,23 (t, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 1,51 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 3,58 (q, 2H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_2), 4,13 (s, 2H, CH_2), 5,20 (m, 3H, CH, CH_2Bn), 7,30 (m, 5H, Ph).

2-Fenilacetil-L-lactato de benzila (55c)



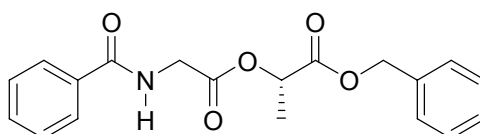
Óleo transparente. Rend 48%. IV (filme, cm^{-1}): 3064, 3032, 2990, 2941, 1744, 1453, 1257, 1200, 1133, 1098. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,48 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 3,67 (s, 2H, CH_2Ph), 5,20 (m, 3H, CH, CH_2Bn), 7,30 (m, 5H, Ph).

2-Cianoacetil-L-lactato de benzila (55d)



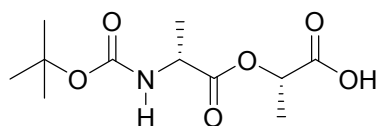
Óleo. Rend. 50%. IV (filme, cm^{-1}): 3320, 2976, 2930, 2264, 1750, 1666, 1524, 1388, 1252, 1181. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,53 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 3,53 (s, 2H, CH_2), 5,20 (m, 3H, CH_2Bn , CH), 7,34 (m, 5H, Ph).

Hipuril-L-lactato de benzila (55e)



Óleo amarelo. Rend. 35%. IV (filme, cm^{-1}): 3342, 3064, 1747, 1652, 1536, 1189. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,52 (d, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_3), 4,20 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 4,40 (dd, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, $^3\text{J} = 5,4$ Hz, CH_2), 5,20 (m, 3H, CH, CH_2Ph), 6,88 (s largo, 1H, NH, troca com D_2O), 7,32-7,51 (m, 8H, Ph), 7,81 (d, 2H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, Ar-orto). RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ : 16,76 (CH_3), 41,53 (CH_2), 67,14 (CH_2Bn), 69,50 (CH), 128,45 (Ph), 135,07 (Ph), 167,44 (NCO), 169,62 (CO_2), 170,07 (CO_2).

Ácido-*N*-(*t*-butoxicarbonil)-L-alanil-L-láctico (51)^{155,156}



Método A

Uma solução formada por 85 mg (0,20 mmol) do **Boc-L-Ala-L-Lac metil éster (50)**, 70 mg de LiBr (0,80 mmol) e 2 mL de DMF foi deixada em refluxo por 1h. Adição de 15 mL de AcOEt e lavagem com HCl 5% (3 x 3 mL), seguido de nova lavagem da fase orgânica com HCl 5% (1 x 3 mL), secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 anidro e evaporação do solvente, à pressão reduzida, forneceu o produto esperado **51**.

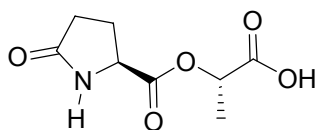
Método B

20 mg de Pd-C 10% foram dispersos numa solução formada por 220 mg de *N*-(*t*-butoxycarbonil)-L-alanil-L-lactato benzil éster (**54**) e 10 mL de acetato de etila e então, deixados sob agitação em atmosfera de hidrogênio, a pressão de 50 psi, a temperatura ambiente, por 4 h. Filtração do catalisador por gravidade, lavagem com NaHCO_{3(sat.)} (2 x 5 mL), secagem com Na₂SO₄ e evaporação do solvente forneceu 50 mg do composto desejado. Acidificação da fase aquosa com HCl_(conc.), seguido de extração com diclorometano (3 x 15 mL), secagem, evaporação do solvente e cristalização em acetato de etila/hexano resultou na obtenção do produto almejado.

Método A: rend. 50%. Método B: rend. 86%. P.f. = 72-73 °C. P.F. lit.¹⁵⁶ = 61-62 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3392, 1759, 1677. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,10-1,50 (m, 15H, C(CH₃)₃, 2CH₃), 4,03 (q, 1H, ³J = 7,2 Hz, CH), 4,92 (m, 1H, CH), 7,32 (d, 1H, ³J = 7,0 Hz, NH). RMN-¹³C (CDCl₃) δ: 17,36 (CH₃), 18,81 (CH₃), 28,91 (3 x CH₃), 49,70 (CH), 69,52 (CH), 80,88 (C), 156,01 (CO₂), 173,70 (CO), 175,28 (CO).

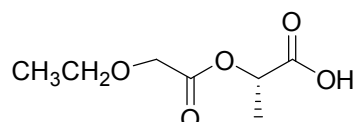
Os demais Depsipeptídeos **55a-c** foram preparados pelo Método B em rendimentos superiores a 80%.

Ácido-pirolglutamil-L-láctico (**56a**)⁹⁶



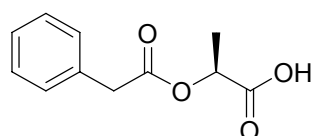
P.f. = 178 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3340, 2971, 2932, 1800-1618, 1573, 1250, 1168. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,50 (d, ³J = 7,0 Hz, 3H, CH₃), 2,20-2,55 (m, 4H, 2CH₂), 4,29 (m, 1H, CH), 5,20 (q, J = 7,0 Hz, 1H, CH), 6,45 (s largo, 1H, NH), 8,30 (s largo, 1H, OH).

Ácido-2-etoxiacetoiloxi-L- láctico (56b)



Óleo transparente. IV (filme, cm^{-1}): 3500-2500, 1800-1600, 1454. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,23 (t, 3H, $^3\text{J}= 7,0$ Hz, CH_3), 1,51 (d, 3H, $^3\text{J}= 7,0$ Hz, CH_3), 3,63 (q, 2H, $^3\text{J}= 7,0$ Hz, CH_2), 4,13 (s, 2H, CH_2), 5,20 (q, $\text{J}= 7,0$ Hz, 1H, CH), 8,34 (s largo, 1H, OH).

Ácido-2-fenilacetil-L-láctico (56c)



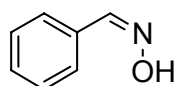
Óleo transparente. IV (filme, cm^{-1}): 3500-2500, 1800-1600, 1455, 1412, 1355. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,53 (d, 3H, $^3\text{J}= 6,8$ Hz, CH_3), 3,69 (s, 2H, CH_2Ph), 5,20 (q, 3H, $^3\text{J}= 6,8$ Hz, CH), 5,70 (s largo, 1H, OH), 7,30 (s, 5H, Ph). RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ : 16,75 (CH_3), 40,73 (CH_2), 68,48 (CH), 127,57 (CH), 128,57 (2 x CH), 129,32 (2 x CH), 133,31 (C), 171,06 (CO), 176,13 (CO).

4.3 Oximas

Medologia geral para preparação de oximas

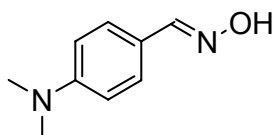
Foram adicionados 20 mmol de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ a uma solução formada por 10 mmol do respectivo aldeído, 20 mmol de NaOAc e 35 mL de metanol 70% e deixados reagir por cerca de 5 h. Evaporação do solvente em evaporador rotatório, dissolução da mistura sólida em 30 mL de CH_2Cl_2 , lavagens com 10% NaHCO_3 (3 x 10 mL), secagem da fase aquosa com Na_2SO_4 anidro, filtração, evaporação e recristalização em solventes adequados (quando necessário) forneceu as oximas desejadas.

(Z)-Benzaldoxima (59)¹⁰⁴



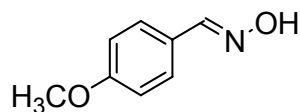
Rend. 78%. P.f. = 35 °C (P.f. lit.¹⁰⁴ = 30-33 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3328, 1663.

(E)-4-N,N-Dimetilamino benzaldoxima (71)^{62,157}



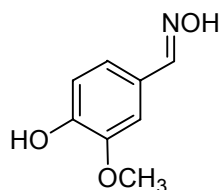
Rend. 83%. P.f. = 149-150 °C (P.f. lit.⁶² = 144-145 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3225, 2970, 2828, 1620, 1585, 1522. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 3,00 (s, 6H, 2CH₃), 6,68 (d, 2H, ³J= 9,0 Hz, Ar-meta), 7,44 (d, 2H, ³J= 9,0 Hz, Ar-orto), 8,06 (s, 1H, CH), 8,13 (s, 1H, OH).

(E)-4-Metoxi benzaldoxima (72)^{62,157}



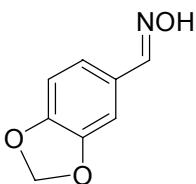
Rend. 80 %. P.f. = 65 °C (P.f. lit.⁶² = 65 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3318, 3257, 1607, 1574, 1514, 1251. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 3,85 (s, 3H, CH₃), 6,90 (d, 2H, ³J= 6,8 Hz, Ar-meta), 7,48 (d, ³J= 6,8 Hz, 2H, Ar-orto), 8,11 (s, 1H, CH).

4-Hidroxi-3-metoxibenzaldoxima (vanilinoxima) (73)¹⁰³



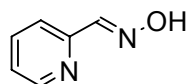
Rend. 80%. P.f. = 118-119 °C (P.f. lit.¹⁰³ = 118-119 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3468, 3172, 1625, 1607.

Piperonaldoxima (74)¹⁰⁵



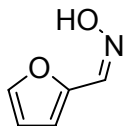
Rend. 80%. P.f. = 103-104 °C (P.f. lit.¹⁰⁵ = 104 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3221, 3150, 3079, 2999, 2915, 2801, 1638, 1605, 1499, 1448, 1253, 1106, 1036. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 6,01 (s, 2H, CH₂), 6,80 (d, 2H, ³J= 8,0 Hz, Ph), 6,95 (d, 2H, ³J= 8,0 Hz, Ph), 7,17 (s, 1H, CH), 8,06 (s, 1H, Ph), 8,45 (s largo, 1H, OH).

(E)-2-Piridina carboxima (75)¹¹⁰



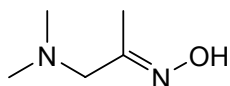
Rend. 90%. P.f. = 112 °C (P.f. lit.¹¹⁰ = 110-112 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3441, 3195, 1574. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 7,31 (t, 1H, ³J= 5,0 Hz, H-5), 7,70 (t, 2H, ³J= 5,0, H-4), 7,78 (d, 2H, ³J= 5,0, H-3), 8,35 (s, 1H, CH), 8,64 (d, 1H, ³J= 4,8 Hz, H-6), 9,98 (s, 1H, OH troca com D₂O).

(Z)-2-Furfuraldoxima (60)⁵⁵



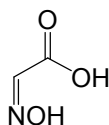
Rend. 91%. P.f. = 91 °C (P.f. lit.⁵⁵ = 89-91°C). IV (KBr, cm⁻¹): 3160, 3031, 3817, 1636, 1574. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 6,54 (s, 1H, H-4'), 7,34 (s, 1H, H-3'), 7,50 (m, 2H, H-5' e CH), 9,68 (s largo, 1H, OH). RMN-¹³C (CDCl₃) δ: 113,15 (CH), 114,35 (CH), 126,32 (CH), 141,16 (CH), 149,09 O(C).

N,N-Dimetilamino acetoxima (68)¹⁵⁸



Rend. 70 %. P.f. = 101 °C (P.f. lit.¹⁵⁸ = 98-99 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3500-2500, 1645, 1480, 1272, 1033. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,94 (s, 3H, CH₃), 2,23 (s, 6H, 2CH₃), 2,95 (s, 2H, CH₂), 8,13 (s largo, 1H, OH). RMN-¹³C (CDCl₃) δ: 12,39 (CH₃), 45,31 (2 x CH₃), 63,60 (CH₂), 156,29 (C).

Ácido glioxálico oxima (98)¹⁵⁹



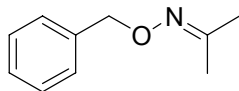
Uma solução contendo 9,6 g de ácido glioxílico monohidratado (104 mmol), 8,7 g de hidrocloreto de hidroxilamina (125 mmol), 10,2 g de acetato de sódio (124 mmol) e 25 mL de água foi deixada sob agitação por 16 h. Tratamento da solução com éter (3 x 25 mL), seguido de combinação das fases orgânicas, secagem com Na₂SO₄ anidro e filtração em papel filtro, resultou na formação de um composto branco. Recristalização em éter/hexano gerou cristais brancos na forma de agulhas. Rend. 90%. P.f. = 147-148 °C (P.f. lit.¹⁵⁹ = 139-141 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3440-2000, 1705, 1640.

Acetona oxima (94)^{160,161}



Adicionou-se KOH 3M numa mistura reacional formada por 40 g de NH₂OH.HCl dissolvidos em 100 mL de acetona até que a solução atingisse pH = 7,0, seguido de refluxo por 90 minutos, levou a formação de uma mistura contendo duas fases. As fases foram separadas em funil de separação sendo que a menos densa foi evaporada em evaporador rotatório para gerar 33 g de um composto branco cristalino. Rend. 79%. P.f. = 65 °C (P.f. lit.¹¹⁰ = 60-63 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3360, 3190, 1677.

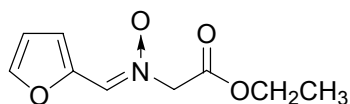
O-Benzil acetoxima (95)⁵⁶



A uma solução formada por 14,6 g (200 mmol) de isopropil oxima, 6,2 g (270 mmol) de sódio metálico e 400 mL de EtOH, sob atmosfera de nitrogênio, foram rapidamente adicionados 24,3 mL de cloreto de benzila. A solução resultante foi deixada sob agitação por cinco dias. Evaporação do solvente em evaporador rotatório resultou na formação de um óleo amarelo o qual foi cromatografado em coluna de gel de sílica (30 g de SiO₂, 4 x 45 cm), utilizando AcOEt/Hexano 5%, onde obteve-se 10,9 g de O-benzil acetoxima como um

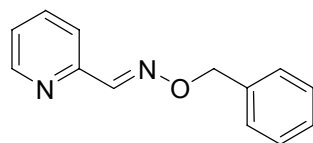
líquido incolor. Rend. 33%. IV (KBr, cm^{-1}): 3451, 3088, 3064, 3031, 2988, 2944, 2918, 2869, 1641, 1446, 1453, 1368, 1979, 1022. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,90 (s, 6H, 2 CH_3), 5,10 (s, 2H, CH_2), 7,38 (m, 5H, Ph).

***N*-Furfurilidenoetoxicarbonilmetilamina *N*-óxido (64)**



255 mg de sódio metálico foram dissolvidos em 7 mL de EtOH anidro, sob N_2 , e então adicionados numa solução formada por 1,11 g de furfuraloxima (10,00 mmol), 1,11 mL de bromo acetato de etila (10 mmol) e 5 mL de etanol em atmosfera de nitrogênio e agitação magnética. A mistura reacional foi mantida sob agitação por 2 h a 40 °C. O solvente foi então evaporado e coevaporado com acetona (mantendo o banho numa temperatura inferior a 40 °C) para fornecer um sólido branco. O sólido foi então dissolvido em 20 mL de água e extraído com diclorometano (3 x 25 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com Na_2SO_4 anidro e o solvente evaporado em evaporador rotatório para gerar cristais. Recristalização em éter resultou na formação de cristais agulha transparentes. Rend. 75%. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,30 (t, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, 3H, CH_3), 4,28 (q, 3H, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, CH_2), 4,74 (s, 2H, CH_2), 6,52 (m, 1H, H-4), 7,25-7,50 (m, 1H, H-3), 7,65 (m, 1H, H-5), 7,86 (m, 1H, CH).

***(E)*-O-Benzil 2-piridina carboxima (92)** ¹¹²



Foram adicionados 319 mg de *O*-benzil hidroxilamina hidrocloreto (**90**) (2 mmols) em uma solução contendo 212 mg de piridina carboxialdeído (2 mmol), 197 mg de NaOAc (2,4 mmol) em 5 mL de acetonitrila e deixados reagir por 24 h. Evaporação do solvente em evaporador rotatório, dissolução da mistura sólida em 15 mL de CH_2Cl_2 e lavagens com 10% NaHCO_3 (3 x 5 mL), seguido de secagem da fase aquosa com Na_2SO_4 anidro, filtração e evaporação forneceu a oxima desejada na forma de um óleo viscoso amarelado. Rend. 73%. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 5,24 (s, 2H, CH_2), 7,11 (m, 1H, H-5), 7,25-7,40 (m,

5H, Ph), 7,52 (t, $^3J= 7,6\text{Hz}$, 1H, H-4), 7,72 (d, $^3J= 7,6\text{Hz}$, 1H, H-3), 8,26 (s, 1H, CH=N), 8,52 (m, 1H, H-6).

4.3 Hidroxilaminas

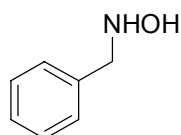
Método A

10 mmol do respectivo aldeído e 0,896 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (12,6 mmol) foram adicionados a 7,5 mL de metanol aquoso 70%. A solução foi ajustada para pH = 6 com KOH 6M (utilizando pHmetro para monitoramento) e então adicionou-se 0,322 g (5,10 mmol) de NaBH_3CN , 15 mL de metanol, 5 mL de H_2O e deixou-se a mistura sob agitação por 3h. Em seguida, acidificou-se a solução reacional para pH = 1,5 com HCl concentrado e deixou-se sob agitação por 16 h. Evaporação da solução em evaporador rotatório até que a mesma atingisse cerca de 15 mL, basificação do meio reacional para pH = 8 com KOH 6M, tratamento com CH_2Cl_2 (6 x 30 mL) e nova evaporação do solvente em evaporador rotatório forneceu a hidroxilamina primária desejada.

Método B

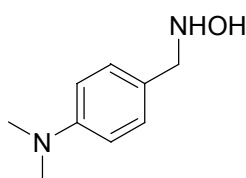
Foram adicionados 2 mmols da respectiva oxima, 2,30 mmols NaBH_3CN e uma ponta de espátula de alaranjado de metila em 20 mL de metanol e deixados sob agitação. Em seguida, adicionou-se HCl/MeOH 1:1 até a viragem do indicador para rosa claro (cerca de 40 gotas, pH acompanhado por pHmetro 2,0-2,1) e a solução deixada sob agitação por 90 minutos. Evaporação do solvente seguido de dissolução da mistura sólida formada em 15 mL de diclorometano e lavagens com Brine (3 x 5 mL), secagem da fase orgânica em Na_2SO_4 anidro, nova evaporação do solvente em evaporador rotatório e recristalização em misturas de acetato de etila/hexano forneceu a hidroxilamina desejada.

***N*-Benzil hidroxilamina (81)^{61,100}**



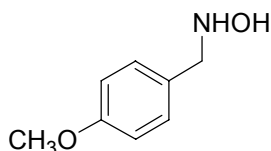
Método A: rend. 45%. Método B: rend. 75 %. P.f. = 56°C (P.f. lit.^{61,100} = 58-59 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3274, 3169, 3081, 3030, 1497, 1453, 1426, 1348, 1065. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 4,00 (s, 4H, 2CH₂), 5,20-6,80 (s largo, 1H, OH), 7,30 (s, 5H, Ph).

4-(*N,N*-Dimetilamino)benzil-*N*-hidroxilamina (82)⁶²



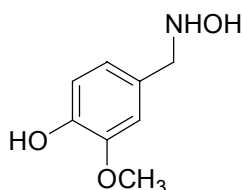
Método A: 30 %. Método B: rend. 87%. P.f. = 89-90 °C (P.f. lit.⁶² = 78-83 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3261, 3081, 1614. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 2,93 (s, 6H, 2CH₃), 3,93 (s, 2H, CH₂), 6,70 (d, 2H, ³J = 8,6 Hz, Ar-meta), 7,19 (d, 2H, ³J = 8,6 Hz, Ar-orto).

4-Metoxibenzil-*N*-hidroxilamina (83)⁶²



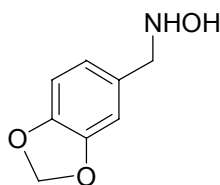
Método A: rend. 40%. Método B: rend. 95%. P.f. = 69-72 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3445, 3224, 3129, 2828, 2635, 1615, 1508, 1247. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,94 (s, 2H, CH₂), 6,89 (d, ³J = 6,0 Hz, 2H, Ph), 7,24 (d, ³J = 6,8 Hz, 2H, Ph).

3-Hidroxi-4-metoxibenzil-*N*-hidroxilamina (84)¹⁶²



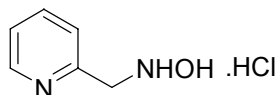
Método A: rend. 85 %. IV (KBr, cm^{-1}): 3354, 3266, 3130, 2840, 1606, 1519, 1282. RMN-¹H (CDCl_3) δ : 3,70-4,10 (m, 5H, CH_2 e OCH_3), 6,90 (m, 3H, Ph).

Piperonal-*N*-hidroxilamina (85)¹⁶³



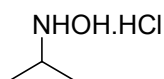
Método A: rend. 80%. IV (KBr, cm^{-1}): 3313, 3082, 2998, 2895, 2795, 1607, 1502, 1486, 1445, 1254. RMN-¹H (D_2O) δ : 4,14 (s, 2H, CH_2), 6,00 (s, 2H, CH_2), 6,97 (m, 3H, Ph).

Hidrocloreto de 2-Hidroxilaminometilpiridina (89)^{108,109}



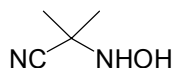
Foram adicionados 1,0 g (8,19 mmol) de piridina carboxima e 0,565 g de NaBH_3CN (9,0 mmol) a 40 mL de AcOH/THF 2:1, sob agitação, a 0 °C. Após a adição, a reação foi deixada à temperatura ambiente por 4 h e 30 minutos. A solução reacional foi colocada em um banho de gelo e então adicionou-se KOH 6M até pH ~7 e extraiu-se com CH_2Cl_2 (fase orgânica tornou-se vermelha). Adição de HCl gasoso precipitou um composto branco o qual foi filtrado em büchner. Recristalização em metanol do produto branco forneceu o composto desejado o qual é estável na geladeira. Rend. 25%. P.f.= 155 °C com decomposição. IV (KBr, cm^{-1}): 3100-2200 (banda larga), 1611. RMN-¹H ($\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO}$) δ : 4,72 (s, 2H, CH_2), 8,03 (t, 1H, $^3\text{J}= 6,5$ Hz, H-5), 8,06 (d, 1H, $^3\text{J}= 8,0$ Hz, H-3), 8,53 (t, $^3\text{J}= 8,0$ Hz, 1H, H-4), 8,81 ($^3\text{J}= 5,8$ Hz, 1H, H-6). RMN-¹³C (D_2O) δ : 52,70 (CH_2), 129,26(CH), 130,70(CH), 144,66(CH), 146,33(C) e 148,53 (CH).

Isopropil-*N*-hidroxilamina (97)¹⁶⁴



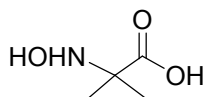
Método A: rend. 15%. P.f. = 75-78 °C (P.f. lit.¹⁶⁴ = 82 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3435, 3086, 2971. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,11 (d, 6H, ³J= 6,4 Hz, 2CH₃), 3,18 (m, 1H, ³J= 6,4 Hz, CH).

2-(*N*-Hidroxilamino)-2-metilpropanonitrila (65)⁵⁹



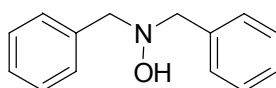
20,24 g de NaCN (413 mmol) foram solubilizados em 66,8 mL de água e então adicionados gota à gota, sob agitação vigorosa, à temperatura ambiente, em uma solução formada por 30,56 g de NH₂OH.HCl (437 mmol), dissolvidos em 23,2 g de acetona e 120 mL de água. A solução resultante foi deixada sob agitação, a temperatura ambiente, por 72 h. Filtração do sólido formado em funil de büchner, seguido de recristalização em éter de petróleo/éter etílico resultou na formação de cristais brancos do produto esperado. Rend. 56%. P.f. = 104-105 °C (P.f. lit.⁵⁹ = 98-99 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3360, 3269, 3000, 2885, 2238, 1655, 1459, 1427, 1384, 1220, 1061.

Ácido 2-metil-2-*N*-hidroxilamino propanóico (66)⁵⁹



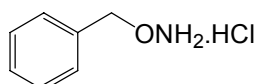
30 mL de HCl 37% foram adicionados, a 0 °C, a 5 g de 2-(hidroxilamino)-2-metilpropanonitrila (65) e a mistura resultante mantida em agitação por 4 h. A solução azul formada foi deixada 16 h na geladeira (~6 °C) e então mantida à temperatura ambiente por mais 60 h. Adição de 20 mL de H₂O seguido de refluxo por 6 h levou a formação de uma solução amarela. Evaporação do HCl e coevaporação da mistura resultante com etanol à pressão reduzida levou a formação de um sólido amorfo. Subsequente adição de acetona, filtração do sólido branco obtido e lavagem com acetona resultou no produto desejado. Rend. = 24%. P.f. = 170 -171 °C (P.f. lit.⁵⁹ = 170 - 171 °C).

***N,N*-di-Benzil hidroxilamina (86)**⁶¹



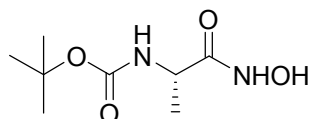
A uma solução formada por 480 mg de benzaldoxima (4 mmol), 400 mg de NaBH₃CN (6,4 mmol), uma ponta de espátula de azul de bromocresol e 20 mL de metanol foram adicionados HCl 37%/MeOH 1:1 até a viragem do indicador para verde e a solução deixada sob agitação por 4h. Evaporação do solvente seguido de adição de 15 mL de Brine e gotas de KOH 6M, extração com AcOEt (3 x 20 mL), secagem da fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, evaporação do solvente em evaporador rotatório e recristalização em éter/acetona forneceu a *N,N*-di-benzil hidroxilamina almejada. Rend. 65%. P.f. = 118 °C (P.f. lit.⁶¹ = 118-119°C). IV (KBr, cm⁻¹): 3223, 3086, 3028, 2856, 1494, 1453. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 3,74 (s, 4H, 2CH₂), 6,26 (s largo, 1H, OH), 7,31 (s, 10H, 2Ph).

***O*-Benzil hidroxilamina hidrocloreto (90)**¹¹⁰



2,0 g de *O*-benzil acetoxima (**95**) e 3,5 mL de HCl 37% foram deixados sob refluxo por 1 h. Filtração do precipitado e lavagens sucessivas com éter etílico forneceu o produto esperado. Rend. 30 %. P.f. = 225 °C (P.f. lit.¹¹⁰ = 238 °C). IV (KBr, cm⁻¹): 3440, 2660, 1985, 1954, 1597. RMN-¹H (D₂O) δ: 5,09 (s, 2H, CH₂), 7,51 (s, 5H, Ph).

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-*L*-alanina-*N*-Hydroxiamida (101)**^{74,117}



Método A

0,188 g de cloroformato de etila (**27**) (1,74 mmol) foi adicionado durante 5 minutos numa solução contendo 0,378 g de Boc-*L*-Ala (**49**) (2,0 mmol), 0,28 mL de Et₃N anidro e 4 mL de THF anidro, sob agitação e atmosfera de nitrogênio, a -10 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a -10 °C, por 20 minutos. Uma segunda solução foi preparada contendo 0,198 g de hidrocloreto

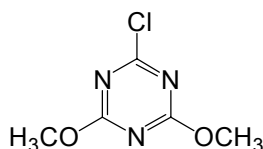
de hidroxilamina (2,8 mmol), 0,4 mL de Et₃N (2,8 mmol) e 6,0 mL de DMF e subseqüentemente filtrada por sucção e adicionada na primeira solução a qual foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 16 h. A mistura reacional foi adicionada sobre uma solução saturada de NH₄Cl e então extraída com AcOEt (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com Brine (1 x 10 mL). Por sua vez, as fases aquosas foram agrupadas e extraídas com diclorometano. Finalmente, as fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado para gerar o composto desejado.

Método B

100 mg de BOC-Prolina (**115**) (0,465 mmol) foram solubilizados em 3 mL de diclorometano sem prévio tratamento, mantendo-se a solução a 0 °C. Em seguida, adicionou-se 0,06 mL de NMM (10% excesso), uma ponta de espátula de DMAP e 36 mg de NH₂OH.HCl (10% excesso). A esta mistura foi adicionado 28 mg de cloreto cianúrico 0,465 mg e então a mistura reacional foi aquecida até a temperatura ambiente e mantida sob agitação por 12 horas. Filtração do sólido formado em celite, seguido de lavagens sucessivas com HCl 1M (3 x 1,0 mL), secagem com Na₂SO₄, filtração e evaporação do solvente, resultou no produto almejado.

Rend.: método A 54%; método B 80%. P.f. = 113 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3342, 3295, 2985, 2917, 1679, 1657, 1368, 1323, 1250, 1165. RMN-¹H (DMSO) δ: 1,25 (m, 12H, 4CH₃), 4,17 (m, 1H, CH), 5,67. 8,14, 10,39 (3s, 2 NH e OH).

2-Cloro-4,6-di-metoxi triazina (**118**)¹³⁴

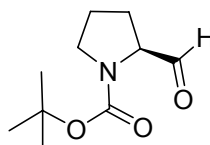


9,98 g de NaHCO₃ (3 equivalentes) foram dissolvidos em 15,6 g de metanol (12,3 equivalentes) e 1,92 g de água (2,7 equivalentes) e em seguida adicionados 10 g de cloreto cianúrico (39,6 mmol), a 35 °C. A mistura reacional foi então mantida sob agitação, entre 30-40 °C, por aproximadamente 15 h.

Adição de 50 mL de água à solução seguido de filtração em filtro büchner, lavagens sucessivas do filtrado com H₂O (3 x 25 mL) e secagem da amostra a 30 °C sob vácuo por 3 h, forneceu um composto branco o qual deve ser estocado à baixa temperatura. Rend. 60%. P.f. = 77-78 °C (P.f. lit.¹³⁴ = 78-79 °C).

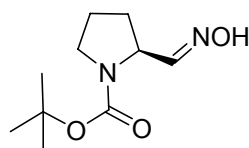
4.5 Prolinas

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-L-prolinal (102)¹³³**



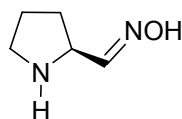
0,93 g de cloro-di-metoxi triazina (5,3 mmol), 30 mL de THF anidro, 0,66 g de *N*-metilmorfolina (5,4 mmol) foram deixados sob agitação, a 0 °C. 1,14 g de Boc-L-Pro (115) (5,3 mmol) em 10 mL THF anidro foi então lentamente adicionado à solução e a mistura resultante mantida a 0 °C por 3 h. O sólido formado foi filtrado sob celite e lavado sucessivamente com EtOH (3 x 10 mL). Adicionou-se 50 mg de Pd-C 10% sob a solução filtrada e conectou-se uma bexiga contendo H₂ ao balão. Após agitação à temperatura ambiente por 24 h o catalisador foi filtrado em celite e o solvente evaporado à pressão reduzida. O sólido foi então redissolvido em AcOEt e lavado sucessivamente com HCl 1M (3 x 15 mL) e NaHCO₃ 5% (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, para fornecer, após filtração e evaporação do solvente, um óleo transparente o qual foi passado numa coluna de SiO₂ utilizando-se uma mistura de AcOEt/Hex 20% em sistema *flash* (altura da coluna = 12 cm; diâmetro = 2,5 cm, R_f aldeído = 0,35, alíquotas ~20 mL)¹⁶⁵. Rend. 50%. EM, m/z 170 (M+ - CHO), 142 (30), 114 (92), 70 (100), 57 (96), 41 (61); EM (lit.¹²⁴, m/z 170 (M+ - CHO), 114 (41), 70 (100), 57 (81). IV (filme, cm⁻¹) 3441, 2976, 2934, 2879, 2775, 1738, 1694, 1400, 1368, 1164. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,35 e 1,40 (2s, 9H, C(CH₃)₃), 1,68-2,01 (m, 3H, CH₂), 2,02-2,53 (m, 1H, CH₂), 3,26-3,58 (m, 2H, CH₂), 4,00-4,30 (m, 1H, CH), 9,40 e 9,50 (d, 1H, ³J = 2,8 Hz e m, 1H, juntos 0,5H, CHO), 9,5-10 (m, 1H, OH).

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-L-prolinaldoxima (115)¹³⁶**



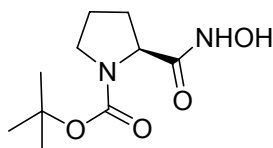
137 mg (1 mmol) de BOC-prolinal (**102**) foram dissolvidos em 2 mL de etanol. Em seguida, adicionou-se 165 mg de acetato de sódio (2 mmol) e 139 mg de NH₂OH.HCl (2 mmol). Deixou-se a solução sob agitação por 12 h. Subseqüente evaporação do solvente, seguido de dissolução da mistura formada em 5 mL de acetato de etila e lavagens sucessivas com NaHCO₃ (2 x 3 mL) e água (1 x 3 mL) forneceu, após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio, filtração e evaporação do solvente, um produto oleoso amarelo. Após algumas semanas sobre a bancada, este óleo formou um sólido branco. O produto oleoso foi ainda purificado por cromatografia em coluna de SiO₄ utilizando-se uma mistura de AcOEt/Hex 20% em sistema *flash* (altura da coluna = 13 cm; diâmetro = 2,5 cm, R_f oxima = 0,35, alíquotas ~10 mL)¹⁶⁵. Rend. 55%. EM, (m/z) 214 (M⁺), 158 (66), 114 (75), 97 (63), 70 (94), 57 (100), 41 (87); EM (lit.¹³⁶) (m/z) 214 (M⁺), 158, 141, 114, 97, 70, 57, 41. IV (filme, cm⁻¹): 3360, 2976, 2934, 2881, 1746, 1698, 1397, 1367, 1165, 1122. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,48 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,80-2,45 (m, 4H, CH₂), 3,25-3,60 (m, 2H, CH₂), 4,30 (m, 1H, CH), 7,30-8,00 (m, 1H, CH), 9,5-10 (m, 1H, OH). RMN-¹³C (D₂O) δ: 23,62 (CH₂), 27,61 (3 x CH₃), 30,95 (CH₂), 46,74 (CH₂), 58,65 (CH), 82,13 (C), 155,84 (C=N), 172,57 (CO).

L-prolinaldoxima (104)



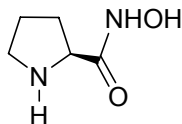
2 mL de ácido trifluoroacético foram adicionados a uma solução formada por 250 mg de Boc-L-Pro oxima (**103**) e 2 mL de CH₂Cl₂, a 0 °C. A solução foi deixada sob agitação, à temperatura ambiente, por 3 h. Evaporação do solvente em evaporador rotatório resultou na formação de um óleo amarelo claro. Rend. 95%. IV (filme, cm⁻¹): 3432, 2989, 1740, 1677, 1425, 1197. RMN-¹H (D₂O) δ: 2,10-2,30 (m, 3H, CH₂), 2,45-2,72 (m, 1H, CH₂), 3,45-3,65 (m, 2H, CH₂), 4,27-4,35 (m, 1H, CH).

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-L-prolina ácido hidroxâmico (105)⁷¹**



0,188 g (1,7 mmol) de cloroformiato de etila (**27**) foi adicionado durante 5 minutos numa solução contendo 0,460 g de Boc-L-Pro (**115**) (2,0 mmol), 0,28 mL de Et₃N anidro e 4 mL de THF anidro, sob agitação e atmosfera de nitrogênio, a -10 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a -10 °C, por 20 minutos. Uma segunda solução foi preparada contendo 0,198 g de hidrocloreto de hidroxilamina (2,8 mmol), 0,4 mL de Et₃N (2,8 mmol) e 6,0 mL de DMF e subseqüentemente filtrada por sucção e adicionada na primeira solução a qual foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por 16 h. A mistura reacional foi adicionada sobre uma solução saturada de NH₄Cl e então extraída com AcOEt (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com Brine (1 x 10 mL). Por sua vez, as fases aquosas foram agrupadas e extraídas com diclorometano. Finalmente, as fases orgânicas foram reunidas, secas com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado para gerar o composto desejado. Teste do FeCl₃ positivo. Rend. 60%. P.f. = 168-169 °C. P.f. lit.⁷¹ = 164-167 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3215, 3034, 2912, 2986, 2883, 1688, 1676, 1414, 1159. RMN-¹H (CDCl₃) δ: 1,45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,98 (m, 3H, CH₂), 1,85-2,50 (m, 1H, CH₂), 3,39 (m, 2H, CH₂), 4,29 (m, 1H, CH), 8,42 e 9,88 (d largo, 2H, OH e NH).

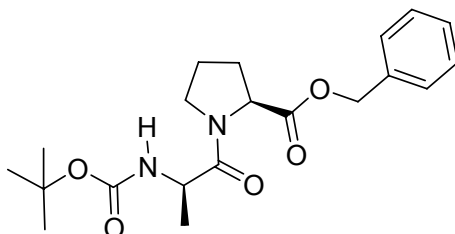
L-Prolina ácido hidroxâmico (106)⁷¹



2 mL de ácido trifluoroacético foram adicionados a uma solução formada por 250 mg de Boc-L-Pro ácido hidroxâmico **105** e 2 mL de CH₂Cl₂, a 0 °C. A solução foi deixada sob agitação, à temperatura ambiente, por 3 h. Evaporação do solvente em evaporador rotatório resultou na formação de óleo transparente. O óleo foi purificado por cromatografia em coluna de SiO₄ utilizando-se misturas de metanol-clorofórmio para resultar num sólido branco cristalino. R_f = 0,1 (metanol/clorofórmio 20%). Rend. 85%. Teste do FeCl₃

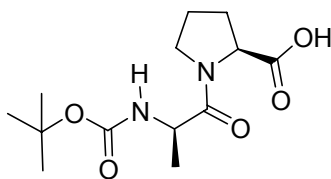
positivo. EM, (m/z) 131 (M+), 113 (6), 70 (100), 44 (70), 43 (82). IV (filme, cm^{-1}): 3427, 2985-2400, 1676. RMN- ^1H (D_2O) δ : 1,84 (m, 3H, CH_2), 2,18 (m, 1H, CH_2), 3,18 (m, 1H, CH_2) e 3,26 (m, 2H, CH_2), 3,95 (dd, $J = 2,8$ e $6,4$ Hz, 1H, CH).

***N*-(*t*-Butiloxicarbonil)-L-alanil-L-prolina benzil éster (130)** ^{142,143}



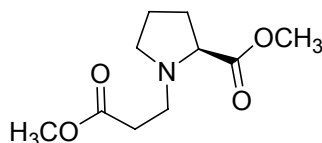
A uma solução formada por 724 mg (3,00 mmol) de prolina benzil éster **127**, 733 mg de DMAP (6,00 mmol) e 567 mg (3,0 mmol) de Boc-Ala **49** em 7 mL de CH_2Cl_2 anidro, a 0°C , foi adicionado 1,2 mL (aprox. 4,5 mmol) de DIC. A mistura reacional foi então deixada sob agitação por 16 h, à temperatura ambiente. Filtração em celite seguido de dissolução do filtrado em 10 mL de CH_2Cl_2 e subsequente lavagens com NaHSO_4 1M (3 x 3,0 mL), NaHCO_3 (sat.) (3 x 3,0 mL) e Brine (1 x 3,0 mL) resultou, após secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 anidro e evaporação do solvente em evaporador rotatório, na formação de uma mistura contendo um óleo transparente e pequenos cristais agulha. Nova dissolução da mistura em CH_2Cl_2 e subsequente filtração dos cristais insolúveis, seguido de cromatografia em coluna (diam. 4,0 cm, alt. 12 cm, AcOEt/Hexano 30 %, $R_f = 0,35$), forneceu 830 mg do composto desejado **BOC-prolina benzil éster (130)** como um óleo transparente. Rend. 74%. IV (filme, cm^{-1}): 3320, 2974, 1745, 1707, 1650, 1502, 1448, 1248, 1170. RMN- ^1H (CDCl_3) δ : 1,25 (m, 3H, CH_3), 1,39 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,98 (m, 3H, CH_2), 2,17 (m, 1H, CH_2), 3,57 (m, 1H, CH_2), 3,65 (m, 1H, CH_2), 4,42 (m, 1H, CH), 4,57 (m, 1H, $\text{NCH}(\text{CH}_3)\text{CO}$), 5,05 (d, 1H, $^2J = 12$ Hz, CH_2Bn) 5,15 (d, 1H, $^2J = 12$ Hz, CH_2Bn), 5,37 (m, 1H, NH), 7,31 (m, 5H, Ph). RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ : 18,45 (CH_3), 25,08 (C^4H_2), 28,55 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29,09 (C^3H_2), 46,93 (C^5H_2), 47,90 (CH), 59,02 (C^2H), 67,05 (CH_2Ph), 79,65 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 128,10 (2CH), 128,26 (CH), 128,51 (2CH), 135 (C), 155,26 (CO), 171,90 (2 CO).

***N*-(*t*-Butoxicarbonil)-L-alanil-L-prolina (131)¹⁴⁴**



Uma mistura formada por 780 mg de *N*-(*t*-butiloxicarbonil)-L-alanil-L-prolina benzil éster, 25 mL de metanol e uma ponta de espátula de Pd-C 10 % foi deixada 24 h sob agitação em atmosfera de hidrogênio (50 psi), à temperatura ambiente. Filtração do Pd-C em celite seguido de evaporação do solvente forneceu 550 mg de ***N*-(*t*-butoxicarbonil)-L-alanil-L-prolina (131)**. Rend. 93 %. P.f. = 140 °C (P.f. lit.¹⁴⁴ = 136-139 °C) IV (KBr, cm⁻¹): 3358, 2984, 1692, 1674, 1648, 1528. RMN-¹H (CD₃OD) δ: 1,18 (m, 3H, CH₃), 1,28 (m, 9H, C(CH₃)₃), 2,02 (m, 3H, CH₂), 2,26 (m, 1H, CH₂), 3,66 (m, 1H, CH₂), 3,78 (m, 1H, CH₂), 4,28 (m, 1H, CH), 4,38 (m, 1H, CH).

2-Metoxicarbonil-etil prolinato de metila (135)^{146,147}



A uma solução formada por 1,65 g (10 mmol) de prolinato de metila cloridrato (**137**) em 20 mL de CH₂Cl₂ foram adicionados 2,5 g K₂CO₃ e deixados sob agitação por 20 minutos. A mistura foi filtrada e o sólido lavado três vezes com CH₂Cl₂ e concentrado em evaporador rotatório até que solução atingisse metade de seu volume. A solução resultante foi então adicionada sobre 20 g de sílica para CCD previamente tratada (10 minutos à 120-130 °C sob pressão reduzida), seguido de adição de 4,5 mL (50 mmol) de acrilato de metila (**138**). A reação foi mantida por 16 h à temperatura de 60 °C. Dissolução da mistura em 150 mL de metanol, seguido de filtração da sílica, resultou na formação de 800 mg de 2-metoxicarbonil-etil prolinato de metila. Rend. 37%. IV (KBr, cm⁻¹): 2953, 2837, 1738, 1437, 1262, 1197, 1174. RMN-¹H (DMSO). δ: 1,74 (m, 1H, CH₂), 1,83 (m, 2H, CH₂), 2,02 (m, 1H, CH₂), 2,34 (q, 1H, ³J= 8,4 Hz, CH₂), 2,45 (t, 3J= 7,6 Hz, 2H, CH₂), 2,67 (m, 1H, CH₂), 2,97 (m, 1H, CH₂), 3,07 (m, 1H, CH₂), 3,16 (m, 1H, CH), 3,57 (s, 3H, OCH₃), 3,64 (s, 3H, OCH₃).

5. CONCLUSÕES

1. Foi desenvolvida uma metodologia geral para preparação de um conjunto representativo de possíveis agentes miméticos de Ala-Lac utilizando-se condições brandas, reagentes simples e de baixo custo. Esses depsipeptídeos modelos poderão ser utilizados na avaliação e identificação de compostos nucleofílicos potenciais capazes de clivar seletivamente a ligação éster no depsipeptídeo Ala-Lac liberando a porção modificada (lactato) do peptidoglicano.
2. Apesar dos rendimentos obtidos para preparação das *N*-aril hidroxilaminas pelo método B (sem isolamento da oxima) serem menores do que os rendimentos globais (considerando a etapa de formação da oxima e posterior redução), esta estratégia pode ser adequada quando o objetivo é apenas a obtenção das *N*-hidroxilaminas, bem como se os aldeídos de partida forem comercialmente disponíveis, de baixo custo ou facilmente preparados.
3. A redução de oximas utilizando NaBH_3CN parece ser a estratégia mais adequada para preparação de *N*-hidroxilaminas quando não existam grupos capazes de sofrerem modificações em meio ácido.
4. A metodologia para preparação de *N*-di-aril hidroxilaminas a partir da redução das respectivas oximas em pH 4 não parece ser geral.
5. Foram observados, nos espectros de infravermelho de algumas reações envolvendo amino-oximas, a presença de picos na região de $2550\text{-}2250\text{ cm}^{-1}$, os quais podem ser atribuídos a ligações envolvendo átomos de boro e nitrogênio. Portanto, especula-se que estejam sendo formados complexos bidentados estáveis envolvendo o redutor NaBH_3CN e as amino-oximas de cadeia aberta e que este seja o fator responsável pela não formação das amino *N*-hidroxilaminas.

6. A prolina oxima **104**, bem como o ácido prolina hidroxâmico **106** são moléculas que preenchem os requisitos de compostos contendo em sua estrutura um α -nucleófilo juntamente de um grupo básico.
7. Não foi possível proceder a acilação de derivados da prolina contendo grupos nucleofílicos como a função oxima e ácido hidroxâmico. Portanto, as acilações devem ocorrer utilizando-se derivados da prolina O-protegidos.
8. Apesar da baixa citotoxicidade apresentada, os percentuais de inibição para todos os compostos avaliados frente a cepas de HSV-1 29R (resistente ao aciclovir) e KOS foram baixos. Portanto, os derivados estudados não se mostraram promissores como drogas anti-herpéticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS

1. RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Farmacologia. 4^a ed.; Edt. Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **2001**, p. 544-556, 576-594.
2. VARALDO, P. E., Antimicrobial Resistance and Susceptibility Testing: an Evergreen Topic. *J. Antimicrob. Chemother.* **2002**, *50*, 1-4.
3. WISE, R., Introduction: Treatment of Gram-positive Infections. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, ii5-ii7.
4. NICOLAOU, K. C.; BODDY, C. N. C.; BRÄSE, S.; WINSSINGER, N., Chemistry, Biology, and Medicine of the Glycopeptide Antibiotics. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2096-2152.
5. WALSH, C. T., Molecular Mechanisms that Confer Antibacterial Drug Resistance. *Nature* **2000**, *406*, 775-781.
6. TRABULSI, L. R.; ALTERTHUN, F.; GAMTERTZ, O. S.; CANDEIAS, J. A. M. Microbiologia. 3^a ed.; Edt. Atheneu: Rio de Janeiro, **1999**, p. 3-51.
7. http://www.fam.br/microrganismos/mb_envelope.htm, acessado em 11/abr 2004.
8. SILVERMAN, R. B. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action. 1^a ed.; Edt. Academic Press: Washington, **1992**, p. 149.
9. KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C.; CUNHA, B. C. A. Dicionário Terapêutico Guanabara. 7^a ed.; Edt. Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **2000**, p. Cap. 18.
10. BOGER, D. L.; KIM, S. H.; MIYAZAKI, S.; STRITTMATTER, H.; WENG, J.-H.; MORI, Y.; ROGEL, O.; CASTLE, S. L.; MCATEE, J.; ALEXANDER, J., Total Synthesis of the Teicoplanin Aglycon. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7416-7417.
11. BOGER, D. L.; MIYAZAKI, S.; KIM, S. H.; WU, J. H.; LOISELEUR, O.; CASTLE, S. L., Diastereoselective Total Synthesis of the Vancomycin Aglycon with Ordered Atropisomer Equilibrations. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3226-3227.
12. EVANS, D. A.; BARROW, J. C.; WATSON, P. S.; RATZ, A. M.; DINSMORE, C. J.; EVRARD, D. A.; DEVRIES, K. M.; ELLMAN, J. A.; RYCHNOVSKY, S. D.; LACOUR, J., Approaches to the Synthesis of the Vancomycin Antibiotics. Synthesis of Orienticin C (bis-Dechlorovancomycin) Aglycon. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3419-3420.
13. NICOLAOU, K. C.; MITCHELL, H. J.; JAIN, N. F.; WINSSINGER, N.; HUGHES, R.; BANDO, T., Total Synthesis of Vancomycin. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 240-244.
14. PATEL, R., Clinical Impact of Vancomycin-Resistant Enterococci. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, iii13-iii21.
15. KAUFFMAN, C. A., Therapeutic and Preventative Options for the Management of Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, iii23-iii30.
16. Staphylococcus aureus Resistant to Vancomycin - United States, 2002. *CDC-MMWR* **2002**, *51*, 565-567.
17. Public Health Dispatch: Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus - Pennsylvania, 2002. *CDC-MMWR* **2002**, *51*, 902.
18. Brief Report: Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus - New York, 2004. *CDC-MMWR* **2004**, *53*, 322.
19. BARREIRO, E. J., Estratégia de Simplificação Molecular no Planejamento Racional de

- Fármacos: a Descoberta de Novo Agente Cardioativo. *Quim. Nova* **2002**, 6B, 1172-1180.
20. SUTCLIFFE, J. A., Antibacterial Agents: Solutions for the Evolving Problems of Resistance. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 4159-4161.
 21. HANCOCK, R. E. W., Mechanisms of Action of Newer Antibiotics for Gram-Positive Pathogens. *Lancet Infectious Diseases* **2005**, 5, 209-218.
 22. KEHOE, L. E.; SNIDWONGSE, J.; COURVALIN, P.; RAFFERTY, J. B.; MURRAY, I. A., Structural Basis of Synercid® (Quinupristin-Dalfopristin) Resistance in Gram-positive Bacterial Pathogens. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 29963-29970.
 23. EMMERSON, A. M.; JONES, A. M., The Quinolones: Decades of Development and Use. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 51, 13-20.
 24. ANDERSSON, M. I.; MACGOWAN, A. P., Development of the Quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, S1, 1-11.
 25. BOGER, D. L.; KIM, S. H.; MORI, Y.; WENG, J.-H.; ROGEL, O.; CASTLE, S. L.; MCATEE, J. J., First and Second Generation Total Synthesis of the Teicoplanin Aglycon. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1862-1871.
 26. CHIOSIS, G.; BONECA, I. G., Selective Cleavage of D-Ala-D-Lac by Small Molecules: Resensitizing Resistant Bacteria to Vancomycin. *Science* **2001**, 293, 1484-1487.
 27. EGGERT, U. S.; RUIZ, N.; FALCONE, B. V.; BRANSTROM, A. A.; GOLDMAN, R. C.; SILHAVY, T. J.; KAHNE, D., Genetic Basis for Activity Differences Between Vancomycin and Glycolipid Derivatives of Vancomycin. *Science* **2001**, 294, 361-364.
 28. WALSH, C. T., Vancomycin Resistance: Decoding The Molecular Logic. *Science* **1993**, 261, 308-309.
 29. MCCOMAS, C. C.; CROWLEY, B. M.; BOGER, D. L., Partitioning the Loss in Vancomycin Binding Affinity for D-Ala-D-Lac into Lost H-Bond and Repulsive Lone Pair Contributions. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9314-9315.
 30. MCCOMAS, C. C.; CROWLEY, B. M.; HWANG, I.; BOGER, D. L., Synthesis and Evaluation of Methyl Ether Derivatives of the Vancomycin, Teicoplanin, and Ristocetin Aglycon Methyl Esters. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 2933-2936.
 31. SÜSSMUTH, R. D., Vancomycin Resistance: Small Molecule Approaches Targeting the Bacterial Cell Wall Biosynthesis. *ChemBioChem* **2002**, 3, 295-298.
 32. ABREU, P. M.; BRANCO, P. S., Natural Product-like Combinatorial Libraries. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 675-712.
 33. ARIMOTO, H.; OISHI, T.; NISHIJIMA, M.; KINUMI, T., Affinity of a Vancomycin Polymer with Bacterial Surface Models. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3347-3350.
 34. CHAMORRO, C.; HOFMAN, J.-W.; LISKAMP, R. M. J., Combinatorial Solid-Phase Synthesis and Screening of a Diverse Tripodal Triazacyclophane (TAC)-based Synthetic Receptor Library Showing a Remarkable Selectivity Towards A Ala-Ala Containing Ligand. *Tetrahedron* **2004**, 60, 8691-8697.
 35. CUNNINGHAM, B. R.; HANNAH, J.; JONES, A. B., Muramyl Peptide Analogs: Synthesis of a Depsipeptide using Orthogonal SPPS. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 9517-9520.
 36. ROTHMAN, J. H.; STILL, W. C., Peptide-Binding Antibiotics: A Solid-Phase Assay for Screening Libraries of Vancomycin Mimics for Selective D-Ala-D-Ala Binding. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 3159-3164.
 37. CHEN, Z.; EGGERT, U. S.; DONG, S. D.; SHAW, S. J.; SUN, B.; LATOUR, J. V.; KAHNE, D., Structural Requirements for VAnA activity of Vancomycin Analogues. *Tetrahedron* **2002**, 58, 6585-6594.

38. GE, M.; CHEN, Z.; ONISHI, H. R.; KOHLER, J.; SILVER, L. L.; KERNS, R.; FUKUZAWA, S.; THOMPSON, C.; KAHNE, D., Vancomycin Derivatives that Inhibit Peptidoglycan Biosynthesis Without Binding D-Ala-D-Ala. *Science* **1999**, *284*, 507-511.
39. KERNS, R.; DONG, S. D.; FUKUZAWA, S.; CARBECK, J.; KOHLER, J.; SILVER, L.; KAHNE, D., The Role of Hydrophobic Substituents in the Biological Activity of Glycopeptide Antibiotics. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12608-12609.
40. LAM, K. S.; LEBL, M.; KRCHŇÁK, V., The "One-Bead-One-Compound" Combinatorial Library Method. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 411-448.
41. ARAÚJO, R. L.; CORRÊA, A. G., Aplicação da Química Combinatória no Desenvolvimento de Fármacos. *Quim. Nova* **2001**, *24*, 236-242.
42. ELLMAN, J. A., Design, Synthesis, and Evaluation of Small-molecule Libraries. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 132-143.
43. THOMPSON, C.; ELLMAN, J. A., Synthesis and Applications of Small-molecule Libraries. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555-600.
44. UM, I.-H.; LEE, J.-S.; YUK, S.-M., An Unexpectedly Small α -Effect in Nucleophilic Attack at sp -Hybridized Carbon: Michael-Type Additions of Primary Amines to 3-Butyn-2-one. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9152-9153.
45. EDWARDS, J. O.; PEARSON, R. G., The Factors Determining Nucleophilic Reactivities. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 16-24.
46. DOMINGOS, J. B. Estudo Mecanístico das Reações do Fosfato de Bis (2,4-Dinitrofenila) com α -Nucleófilos. *Tese de Doutorado, UFSC, Florianópolis - Santa Catarina*, **2003**.
47. MURPHY, J.; BUNTING, J. W., Substrate Inhibition in the Hydrolysis of Hippuric Acid Esters by Carboxypeptidase A. *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 283-294.
48. HASSNER, A.; ALEXANIAN, V., Direct Room Temperature Esterification of Carboxylic Acids. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 4475-4478.
49. SOUERS, A. J.; ELLMAN, J. A., Asymmetric Synthesis of a C-3 Substituted Pípecolic Acid. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1222-1224.
50. HAN, S.-Y.; KIM, Y.-A., Recent Development of Peptide Coupling Reagents in Organic Synthesis. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.
51. <http://en.wikipedia.org/wiki/Carbodiimide>, acessado em 27/jun 2006.
52. GRUNDKE, G.; KEESE, W.; RIMPLER, M., Optically Active *N*-Hydroxy- α -L-Amino Acid Methyl Esters: an Improved and Simplified Synthesis. *Synthesis* **1987**, 1115-1116.
53. OTTENHEIJM, H. C. J.; HERSCHEID, J. D. M., *N*-Hydroxi- α -amino Acids in Organic Chemistry. *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 697-707.
54. SCHOENEWALDT, E. F.; KINNEL, R. B.; DAVIS, P., Improved Synthesis of *anti*-Benzaldoxime. Concomitant Cleavage and Formylation of Nitrones. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 4270-4272.
55. GOTO, G.; KAWAKITA, K.; OKUTANI, T.; MIKI, T., An Improved Synthesis of *N*-Hydroxyamino Acids and Their Esters Using (*Z*)-2-Furaldehyde Oxime. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 3202-3207.
56. BUEHLER, E., Alkylation of *syn*- and *anti*-Benzaldoximes. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 261-265.
57. BUEHLER, E.; BROWN, G. B., A General Synthesis of *N*-Hydroxylamino Acids. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 265-267.
58. POLONSKI, T.; CHIMIÁK, A., Nitrones as Intermediates in the Synthesis of *N*-Hydroxyamino Acid Esters. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2092-2095.

59. NEELAKANTAN, L.; HARTUNG, W. H., α -Hydroxylamino Nitriles and α -Hydroxylamino Acids. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 964-967.
60. LANE, C. F., Sodium Cyanoborohydride - A Highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups. *Synthesis* **1975**, 135-146.
61. BORCH, R. F.; BERNSTEIN, M. D.; DURST, H. D., The Cyanohydridoborate Anion as a Selective Reducing Agent. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2897-2904.
62. GORDON, I. M.; MASKILL, H., Solvolysis of Substituted Benzyl Azoxyarenesulfonates: Characterisation of the Transition State and The Selectivity of Benzylic Intermediates in 50% Aqueous 2,2,2-Trifluoroethanol. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **2001**, 2059-2062.
63. LEBEL, N. A.; BALASUBRAMANIAN, N., Stereospecific Synthesis of 2,3,6-Trisubstituted Piperidines: an Efficient Total Synthesis of (+)-Pumiliotoxin C. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3363-3368.
64. OPPOLZER, W.; SILES, S.; SNOWDEN, R. L., Intramolecular N-alkenylnitron-Additions. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3497-3509.
65. AFZAL, A., Syntheses of α -Hydroxylamino Acids from α -Ceto Acids. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1974**, *47*, 1819-1820.
66. SNIDER, B. B.; LIN, H., Total Synthesis of (-)-FR901483. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7778-7786.
67. SNIDER, B. B.; SHI, B., Synthesis of Pyrindemins A and B. Assignment of the Double Bond Position of Pyrindemin A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1639-1642.
68. KAWASE, M.; KIKUGAWA, Y., Chemistry of Amine-Boranes. Part 5. Reduction of Oximes, O-Acyl-oximes, and O-Alkyl-oximes with Pyridine-Borane in Acid. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1979**, 643-645.
69. ECH-CHAHAD, A.; MINASSI, A.; BERTON, L.; APPENDINO, G., An Expeditious Hydroxyamidation of Carboxylic Acids. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 513-5115.
70. BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; MACHADO, B. C., Sideróforos: "Uma Resposta dos Microorganismos". *Quim. Nova* **2002**, *25*, 1155-1164.
71. ALMQUIST, R. G.; CHAO, W. R.; JENNINGS-WHITE, C., Synthesis and Biological Activity of Carboxylic Acid Replacement Analogs of the Potent Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor 5-(S)-Benzamido-4-oxo-6-phenylhexanoyl-L-proline. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1067-1071.
72. JAIN, R.; SUNDRAM, A.; LOPEZ, S.; NECKERMANN, G.; WU, C.; HACKBARTH, C.; CHEN, D.; WANG, W.; RYDER, N. S.; WEIDMANN, B.; PATEL, D.; TRIAS, J.; WHITEA, R.; YUANA, Z., α -Substituted Hydroxamic Acids as Novel Bacterial Deformylase Inhibitor-Based Antibacterial Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 4223-4228.
73. SINISI, R.; SANI, M.; CANDIANI, G.; PARENTE, R.; PECKER, F.; BELLOSTAC, S.; ZANDA, M., Synthesis of α -Trifluoromethyl- α -amino- β -sulfone Hydroxamates: Novel Nanomolar Inhibitors of Matrix Metalloproteinases. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6515-6518.
74. GIACOMELLI, G.; PORCHEDDU, A.; SALARIS, M., Simple One-Flask Method for the Preparation of Hydroxamic Acids. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2715-2717.
75. REDDY, A. S.; KUMAR, M. S.; REDDY, G. R., A Convenient Method for the Preparation of Hydroxamic Acids. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6285-6288.
76. <http://www.sigma-aldrich.com.br>, acessado em 30/04/2004
77. PINUNG, M. C.; CHAU, J. H.-L., A Convenient Procedure for the Preparation of Amino Acid Hydroxamates from Esters. **1995**, *60*, 8084-8085.
78. SPARKS, S. M.; CHOW, C. P.; ZHU, L.; SHEA, K. J., Type 2 Intramolecular N-Acylnitroso Diels-

- Alder Reaction: Scope and Application to the Synthesis of Medium Ring Lactams. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3025-3035.
79. THOUIN, E.; LUBELL, W. D., Effective Synthesis of Enantiopure Hydroxamates by Displacement of Resin-bound Esters with Hydroxylamine. *Tetrahedron* **2000**, *41*, 457-460.
 80. WATANABE, Y.; IIDA, H.; KIBAYASHI, C., Total Synthesis of (+)-Dihydropinidine, (+)-Monomorine I, and (+)-Indolizidine 223AB (Gephyrotoxin 223AB) by Intramolecular Nitroso Diels-Alder Reaction. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4088-4097.
 81. GUTHEIL, W. G., A Sensitive Equilibrium-Based Assay for D-Lactate Using D-Lactate Dehydrogenase: Application to Penicillin-Binding Protein/DD-Carboxypeptidase Activity Assays. *Anal. Biochem.* **1998**, *259*, 62-67.
 82. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BUNTON, C. A.; NOME, F., Reaction of Bis(2,4-dinitrophenyl) Phosphate with Hydroxylamine. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7051-7058.
 83. LOSSE, G.; BACHMANN, G., Synthese von Depsipeptiden. *Chem. Ber.* **1964**, *97*, 2671-2680.
 84. MATHIAS, L. J.; FULLER, W. D.; NISSEN, D.; GOODMAN, M., Polydepsipeptides. 6. Synthesis of Sequential Polymers Containing Varying Ratios of L-Alanine and L-Lactic Acid. *Macromolecules* **1978**, *11*, 534-539.
 85. LEE, M.; KIM, D. H., Hippuryl- α -methylphenylalanine and Hippuryl- α -methylphenyllacetic Acid as Substrates for Carboxypeptidase A. Syntheses, Kinetic Evaluation and Mechanistic Implication. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 815-823.
 86. BUNTING, J. W.; MURPHY, J., The Hydrolysis of Esteres Related to O-Hippuryl-2-hydroxybutanoic Acid by Carboxypeptidase A. *Can. J. Chem.* **1974**, *52*, 2640-2647.
 87. CLARK, J. H.; MILLER, J. M., Hydrogen Bonding in Organic Synthesis. 3. Hydrogen Bond Assisted Reactions of Cyclic Organic Hydrogen Bond Electron Acceptors with Halogenoalkanes in the Presence of Potassium Fluoride. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 498-504.
 88. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/FLUKA/53280>, acessado em 26/mar 2006.
 89. VANDENBERG, G. E.; HARRISON, J. B.; CARTER, H. E.; MAGERLEIN, B. J., 2-Phenyl-5-oxazolone. *Org. Synth Coll.* **1968**, *5*, 946-948.
 90. BARTON, D. H. R.; BOULD, L.; CLIVE, D. L. J.; MAGNUS, P. D.; HASE, T., Experiments on the Synthesis of Tetracycline. Part VI. Oxidation and Reduction of Potential Ring Precursors. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2204-2215.
 91. MCMURRY, J., Ester Cleavages Via S_N2-Type Dealkylation. In *Org. React.*, John Wiley & Sons: New York, 1974; Vol. 42, pp 187-224.
 92. HARTUNG, W. H.; SIMONOFF, R., Hydrogenolysis of Benzyl Groups Attached to Oxygen, Nitrogen, or Sulfur. In *Org. React.*, John Wiley & Sons: 1953; Vol. 7, pp 263-326.
 93. REHWINKEL, H.; STEGLICH, W., Racemisierungsfreie Umesterung N-geschützter Dipeptid-ester mit Hilfe von Titan(IV)-alkoxiden. *Synthesis* **1982**, 826-827.
 94. ERDOS, J.; SALAZAR, M. E., Estereficacion del Alcohol Benilico con Acidos Monobasicos Empleando Acido Clorosulfonico como Catalizador. *Ciencia* **1953**, *12*, 228-230.
 95. FEIN, M. L.; FISHER, C. H., Laurates of Lactic Acid Esters. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 530-534.
 96. DIKSTEIN, S., Pyroglutamic Acid Derivatives, Their Preparation and Cosmetic Preparations Comprising Them. IS84-71258, 71258, CAN 110:44738, 16/03/1984, **1987**.
 97. ANDERSON, G. W.; ZIMERMAN, J. E.; CALLAHAN, F., The Use of Esteres of N-Hydroxysuccinimide in Peptide Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1839-1842.

98. LAPATSANIS, L.; PROFILIS, C.; CATSOULACOS, P., Synthesis of Some Steroidal Esters of α -Amino Acids. *J. Chem. Eng. Data* **1980**, *25*, 287-289.
99. BULTAEU, G.; ACHER, J.; MONIER, J. C. *N*-[(Diethylamino)ethyl]-2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzamide. DE74-244145, 2441451, CAN 82:170435, 29/08/1974, **1975**.
100. MASKILL, H.; JENCKS, W. P., Solvolysis of Benzyl Azoxytosylate and the Effect of Added Bases and Nucleophiles Trifluoroethanol and Aqueous Acetonitrile. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2062-2070.
101. MORGANT, P. H.; BECKETT, A. H., Synthesis of Some *N*-oxygenated Products of 3,4-Dimethoxyamphetamines and Its *N*-alkyl Derivatives. *Tetrahedron* **1975**, *31*, 2595-2601.
102. HOUSE, H.; LEE, L. F., A New Synthesis of 2-Alkylpyrrolidines and 2-Alkylpiperidines. *J. Org. Chem.* **1976**, 863-869.
103. GANNETT, P. M.; NAGEL, D. L.; REILLY, P. J.; LAWSON, T.; SHARPE, J.; TOTH, B., The Capsaicinoids: Their Separation, Synthesis, and Mutagenicity. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1064-1071.
104. VOGEL, A. I. Practical Organic Chemistry. 3rd ed.; Edt. Longman: London, **1974**, p. 719.
105. WALIA, S.; SAXENA, V. S.; MUKERJEE, S. K., Synthesis and Synergistic Activity of Oxime Ethers Containing a Benzo-1,3-dioxole Group. *J. Agric. Food Chem.* **1985**, *33*, 308-310.
106. <http://www.sigmaaldrich.com/spectra/ftir/FTIR007097.PDF>, acessado em 27/mar 2006.
107. KATRITZKY, A. R.; CUI, X.; LONG, Q.; YANG, B.; WILCOX, A.; ZHANG, Y.-K., Efficient and Facile routes to Nitrones. *Org. Prep. Proc. Int.* **2000**, *32*, 175-183.
108. MA, Z.; PHAM, L. T.; CLARK, R. F.; ZHANG, S.; DJURIC, S. Preparation of Antibacterial 6-*O*-Substituted Erythromycin Derivatives Having Improved Gastrointestinal Tolerance. 2001-US32278, 2002032919, CAN 136:310123, 16/10/2001, **2002**.
109. MEADOW, M.; LYMBURNER, C. J.; THOMPSON, C. A. Purification of Aqueous Peroxy Acids and Peroxy Salt Solutions. US92-202444, 527537, CAN 118:215845, 07/08/1992, **1993**.
110. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/ALDRICH/P58200>, acessado em 12/dez 2005.
111. JOUSSEF, A. C. Free Radical Methods for Synthesis of Biologically Important Compunds. *Tese de Doutorado*, University of Alberta, Edmonton - Alberta, **1991**.
112. RUBINA, K.; GOLDBERG, Y.; A., G.; SHYMANSKA, M., *O*-Alkylation of Pyridine Aldoximes under Phase-Transfer Conditions. *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3129-3138.
113. DOLESCHALL, G., Efficient Synthesis of *N*-Monoalkylated Hydroxylamines. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2993-2994.
114. BJOERGO, J.; BOYD, D. R.; NEILL, D. C.; JENNINGS, W. B., Dynamic Stereochemistry of Imines and Derivatives. Part 11. Synthesis and Stereochemistry of (*E*)- and (*Z*)-Nitrones. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1977**, 254-259.
115. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/ALDRICH/248657>, acessado em 20/mar 2006.
116. DONDAS, H. A.; GRIGG, R.; MARKANDU, J.; PERRIOR, T.; SUZUKI, T.; THIBAUT, S.; THOMAS, W. A.; THORNTON-PETT, M., Stereoselective Electrophile-Induced Mono and Bis-Cyclisation-Fragmentation Reactions of Alkenyl Oxime *O*-allyl and *O*-benzyl Ethers. Synthesis of Dihydropinidine. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 161-173.
117. LIJSER, H. J. P.; TSAI, C.-K., Photosensitized Reactions of Oxime Ethers: A Steady-State and Laser Flash Photolysis Study. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3057-3067.

118. RITTER, A. R.; MILLER, M. J., Amino Acid-Derived Chiral Acyl Nitroso Compounds: Diastereoselectivity in Intermolecular Hetero Diels-Alder Reactions. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4602-4611.
119. MOLANDER, G. A.; ROMERO, J. A. C., Investigations Concerning the Organolanthanide and Group 3 Metallocene-Catalyzed Cyclization-Functionalization of Nitrogen-Containing Dienes. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2631-2643.
120. WALLEN, E. A. A.; CHRISTIAANS, J. A. M.; SAARIO, S. M.; FORSBERG, M. M.; VENALAINEN, J. I.; PASO, H. M.; MANNISTO, P. T.; GYNTHNER, J., 4-Phenylbutanoyl-2(S)-Acylpyrrolidines and 4-Phenylbutanoyl-L-Prolyl-2(S)-Acylpyrrolidines as Prolyl Oligopeptidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2199-2206.
121. MORI, S.; AOYAMA, T.; SHIOIRI, T., New Methods and Reagents in Organic Synthesis. 65. A Stereoselective Synthesis of Tilivalline. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6111-6114.
122. DING, X.; VERA, M. D.; LIANG, B.; ZHAO, Y.; LEONARD, M. S.; JOULLIÈ, M. M., Structure-Activity Relationships of Side-Chain Modified Didemnins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 231-234.
123. HARRIS, B. D.; BHAT, K. L.; JOULLIÈ, M. M., Synthetic Studies of Detoxin Complex. II. Syntheses of Detoxin B1 and B3. *Heterocycles* **1986**, *24*, 1045-1060.
124. REED, P. E.; KATZENELLENBOGEN, J. A., Synthesis of Proline-Valine Pseudodipeptide Enol Lactones, Serine Protease Inhibitors. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2624-2634.
125. BISCHOFBERGER, N.; WALDMANN, H.; SAITO, T.; SIMON, E. S.; LEES, W.; BEDNARSKI, M. D.; WHITESIDES, G. M., Synthesis of Analogs of 1,3-Dihydroxyacetone Phosphate and Glycerinaldehyde 3-Phosphate for Use in Studies of Fructose-1,6-Diphosphate Aldolase. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3457-3465.
126. DE LUCA, L.; GIACOMELLI, G.; PORCHEDDU, A., A Very Mild and Chemoselective Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3041-3043.
127. BARRETT, A. G. M.; PILIPAUSKAS, D., Selective Transformation of O-2-(Trimethylsilyl)ethyl and O-tert-Butyl Carbamates into O-Benzyl Carbamates Using Benzyl Trichloroacetimidate. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5170-5173.
128. COOK, G. R.; STILLE, J. R., Stereochemical Consequences of the Lewis Acid-Promoted 3-Aza-Cope Rearrangement of N-Alkyl-N-Allyl Enamines. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4105-4124.
129. MAPITSE, R.; HAYES, C. J., Scope and Limitations of the Alkylidene Carbene 1,5-CH Insertion Reactions of α -Amino Acid-Derived Substrates. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3541-3542.
130. MORIWAKE, T.; HAMANO, S.; SAITO, S.; TORII, S., A Straightforward Synthesis of Allyl Amines from α -Amino Acids without Racemization. *Chem. Lett.* **1987**, 2085-2088.
131. WORDEN, S. M.; MAPITSE, R.; HAYES, C. J., Towards a Total Synthesis of (-)-Cephalotaxine: Construction of the BCDE-Tetracyclic Core. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6011-6014.
132. JOULLIÈ, M. M.; LIANG, B.; DING, X., Preparation of Deoxo- and Dehydroproline-Containing Tamandarin and Didemnin Analogs. US2001-767080, 2001056178, CAN 136:54029, 22/01/2001, **2001**.
133. FALORNI, M.; GIACOMELLI, G.; PORCHEDDU, A.; TADDEI, M., A Simple Method for the Reduction of Carboxylic Acids to Aldehydes or Alcohols Using H₂ and Pd/C. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8962-8964.
134. CRONIN, J. S.; GINAH, F. O.; MURRAY, A. R.; COPP, J. D., An Improved Procedure for the Large Scale Preparation of 2-Chloro-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazine. *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 3491-3494.
135. PETTIT, G. R.; SINGH, S. B.; HERALD, D. L.; LLOYD-WILLIAMS, P.; KANTOCI, D.; BURKETT, D. D.; BARKBCZY, J.; HOGAN, F.; WARDLAW, T. R., The Dolastatins. 17. Synthesis of

- Dolaproine and Related Diastereoisomers. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6287-6295.
136. CHUNG, Y. J.; RYU, E. J.; KEUM, G.; KIM, B. H., Synthesis of 2-Isoxazoline and α -Hydroxy Ketomethylene Dipeptide Isosteres. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 209-225.
137. <http://www.sigmaaldrich.com/spectra/ftir/FTIR002010.PDF>, acessado em 05/abr 2006.
138. FEUER, H.; VINCENT, B. F. J., A Convenient Synthesis of *N*-Alkylhydroxilamines. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3771-3772.
139. FEUER, H.; VINCENT, B. F. J.; BARTLETT, R. S., The Reduction of Oximes with Diborane. A New Synthesis of *N*-Monosubstituted Hydroxylamines. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 2877-2880.
140. VOGEL, A. I. Practical Organic Chemistry. 3^a ed.; Edt. Longman: London, **1974**, p. 1062-1063.
141. LIPMANN, F.; TUTTLE, L. C., A Specific Micromethod for The Determination of Acyl Phosphates. *J. Biol. Chem.* **1945**, *159*, 21-28.
142. GUY, L.; VIDAL, J.; COLLET, A.; AMOUR, A.; REBOUD-RAVAUX, M., Design and Synthesis of Hydrazinopeptides and Their Evaluation as Human Leukocyte Elastase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4833-4843.
143. GALARDY, R. E., Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme by Phosphoramidates and Polyphosphates. *Biochemistry* **1982**, *21*, 5777-5781.
144. MARQUISEE, M. J.; KAUER, J. C., Collagenase-Sensitive Peptidyl-Nitrogen Mustards as Potential Antitumor Agents. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 1188-1194.
145. BASU, B.; DAS, P.; HOSSAIN, I., Synthesis of β -Amino Esteres via Aza-Michael Addition of Amines to Alkenes Promoted on Silica: A Useful and Recyclable Surface. *Synlett* **2004**, *14*, 2630-2632.
146. KOCHETKOV, N. K.; LIKHOSHERSTOV, A. M., Synthesis of DL-Isoretronecanol. *Zhurnal Vsesoyuznogo Khimicheskogo Obshchestva im. D. I. Mendeleeva* **1960**, *5*, 477-478, CAN 55:8036.
147. KOCHETKOV, N. K.; LIKHOSHERSTOV, A. M.; LEBEDEVA, A. S., The Pyrrolizidine Alkaloids. II. A Stereospecific Synthesis of dl-Isoretronecanol. *Zhurnal Obshchei Khimii* **1961**, *31*, 3461-3469, CAN 57:17047.
148. BARRAL, K.; HIDER, R. C.; BALZARINI, J.; NEYTS, J.; CLERCQC, E. D.; CAMPLO, M., Synthesis and Antiviral Evaluation of 3-Hydroxy-2-methylpyridin-4-one Dideoxynucleoside Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 4371-4374.
149. MIBU, N.; YOKOMIZO, K.; UYEDA, M.; SUMOTO, K., Synthesis and Antiviral Activities of Some 4,4'- and 2,2'-Dihydroxytriphenylmethanes. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 1171-1174.
150. SILVA, E. M. P.; GIUNTINI, F.; FAUSTINO, M. A. F.; TOMÉ, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; S. SILVA, A. M.; SANTANA-MARQUES, M. G.; FERRER-CORREIA, A. J.; CAVALEIRO, J. A. S.; CAEIRO, M. F.; DUARTE, R. R.; TAVARES, S. A. P.; PEGADO, I. S. N.; ALMEIDA, B. D.; DE MATOSD, A. N. P. A.; VALDEIRA, M. L., Synthesis of Cationic β -Vinyl Substituted meso-Tetraphenylporphyrins and Their *in vitro* Activity Against Herpes Simplex Virus Type 1. *J. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3333-3337.
151. HOLY, A.; VOTRUBA, I.; MASOJÍDKOVÁ, M.; ANDREI, G.; SNOECK, R.; NAESENS, L.; CLERCQ, E. D.; BALZARINI, J., 6-[2-(Phosphonomethoxy)alkoxy]pyrimidines with Antiviral Activity. *J. Med. Chem.* **2002**, 1918-1929.
152. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/TOX1>, acessado em 02/abr 2006.
153. FROHNER, C. R. A. Síntese e Avaliação Farmacológica de Sulfonamidas Derivadas de Chalconas e Quinolinás. *Qualificação de Doutorado, UFSC, Florianópolis - SC*, **2005**.

154. PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. Purification of Laboratory Chemicals. 3rd ed.; Edt. Pergamon Press: New York, **1988**, p.
155. NISSEN, D.; GILON, C.; GOODMAN, M., Polydepsipeptides. 4. Synthesis of The Alternating Polydepsipeptides Poly(Ala-Lac) and Poly(Val-Lac). *Makromolekulare Chemie* **1975**, *Suppl. 1*, 23-53, CAN 83:147718.
156. KATAKAI, R.; KOBAYASHI, K.; YAMADA, K.; OKU, H.; EMORI, N., Synthesis of Sequential Polydepsipeptides Utilizing a New Approach for the Synthesis of Depsipeptides. *Biopolymers* **2004**, *73*, 641-644, CAN 141:23896.
157. DALTON, D. R.; FOLEY, H. G., O-Carbamoyloximes. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 4200-4203.
158. OLIVATO, P. R.; RIBEIRO, D. S.; RITTNER, R.; HASE, Y.; DEL PRA, D.; BOMBIERI, G., Stereochemical and Eletronic Interaction Studies of α -Heterosubstituted Acetone Oximes. *Spectrochimica Acta Part A* **1995**, *51*, 1479-1495.
159. RAVE, T. W.; BRESLOW, D. S., Synthesis of Alkyl Oximinoglyoxylates and The Corresponding Acid and Hydroximoyl Chlorides. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 3813-3815.
160. CAUGHLAN, C. N.; TARTAR, H. V.; LINGAFELTER, E. C., A Raman Spectra Study of Hydrogen Bond in Acetoxime. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 1180-1182.
161. SEMON, W. L., The Prepration of Hydroxylamine Hydrochloride and Acetoxime. *J. Am. Chem. Soc.* **1923**, *45*, 188-190.
162. PAI, K. V.; NAYAK, P. V.; SHEREGARA, B. S., Reductive Deoximation of Certain Oximes by Electrolytically Generated Vanadium(II) in Aqueous Sulfuric Acid Media. *Asian J. of Chem.* **1997**, *9*, 728-733.
163. GANEM, B., Spontaneous Deoxygenation of *N*-(3,4-Methylenedioxybenzyl)-acetohydroxamic Acid: an Exceptionally Facile Process. *Experientia* **1976**, *32*, 549.
164. AGAWA, T.; MINAMI, T.; MINAMI, S., Thermal Decomposition of Adducts from Isocyanates and Diethyl Malonate. *Kogyo Kagaku Zasshi* **1965**, *68*, 2370-2373.
165. STILL, W. C.; KAHN, M.; MITRA, A., Rapid Chromatographic Technique for Preparative Sepatarions with Moderate Resolution. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

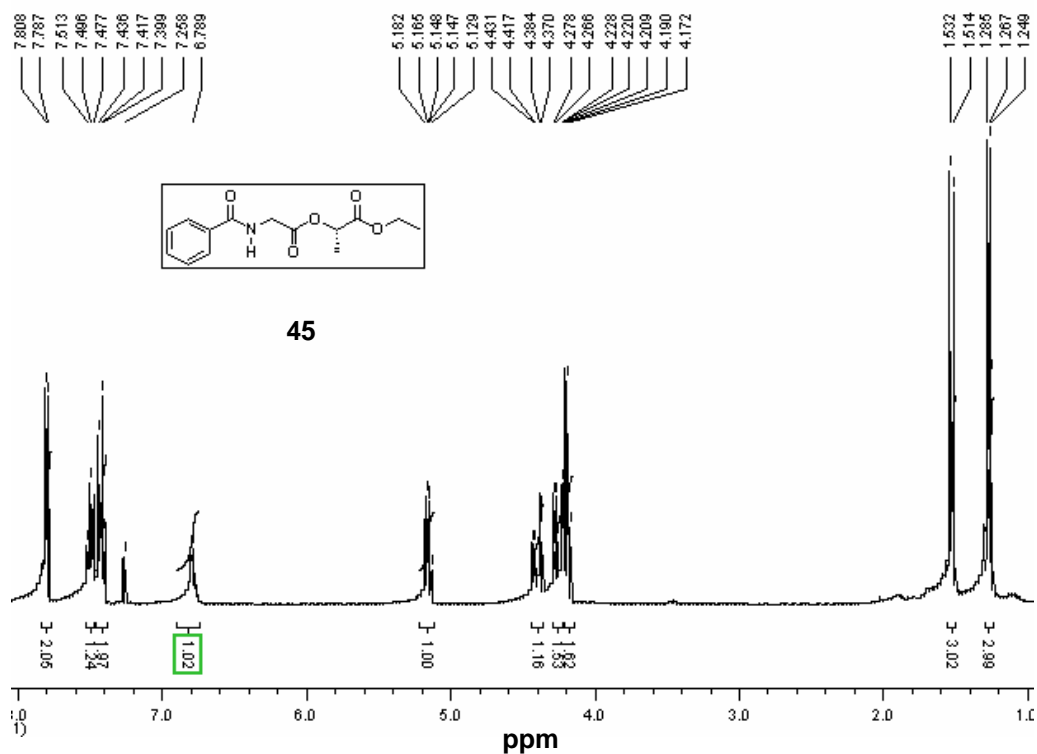
ANEXO – ESPECTROS

ESPECTRO 1 - RMN- ¹ H 400 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 45.	134
ESPECTRO 2 - RMN- ¹ H 100 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 45.	134
ESPECTRO 3 - IV (KBR, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 45.	135
ESPECTRO 4 - RMN- ¹ H 400 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 47.	136
ESPECTRO 5 - RMN- ¹ H 100 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 47.	136
ESPECTRO 6 - IV (KBR, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 47.	137
ESPECTRO 7 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 50.	138
ESPECTRO 8 - IV (KBR, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 50.	138
ESPECTRO 9 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 53.	139
ESPECTRO 10 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 53.	139
ESPECTRO 11 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 53.	140
ESPECTRO 12 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 54.	141
ESPECTRO 13 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 54.	141
ESPECTRO 14 - RMN- ¹³ C 50 MHz DEPT 90° EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 54.	142
ESPECTRO 15 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 54.	142
ESPECTRO 16 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55A.	143
ESPECTRO 17 - ESPECTRO DE IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 55A.	143
ESPECTRO 18 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55B.	144
ESPECTRO 19- IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 55B.	144
ESPECTRO 20 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55C.	145
ESPECTRO 21 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 55C.	145
ESPECTRO 22 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55D.	146
ESPECTRO 23 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 55D.	146
ESPECTRO 24 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55E.	147
ESPECTRO 25 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 55E.	147
ESPECTRO 26 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55E.	148
ESPECTRO 27 - RMN- ¹³ C 50 MHz DEPT EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 55E.	148
ESPECTRO 28 - RMN- ¹ H 200 MHz EM DMSO PARA O DERIVADO 51.	149
ESPECTRO 29 - RMN- ¹ H 200 MHz EM DMSO/D ₂ O PARA O DERIVADO 51.	149
ESPECTRO 30 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 51.	150
ESPECTRO 31 - RMN- ¹³ C 50 MHz DEPT 90° EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 51.	150
ESPECTRO 32 - IV (KBR, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 51.	151
ESPECTRO 33 - IV (KBR, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 56 ^a	152
ESPECTRO 34 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 56B.	153
ESPECTRO 35 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 56B.	153
ESPECTRO 36 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 56C.	154
ESPECTRO 37- RMN- ¹ H 200 MHz EM D ₂ O PARA O DERIVADO 56C.	154
ESPECTRO 38 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCL ₃ PARA O DERIVADO 56C.	155

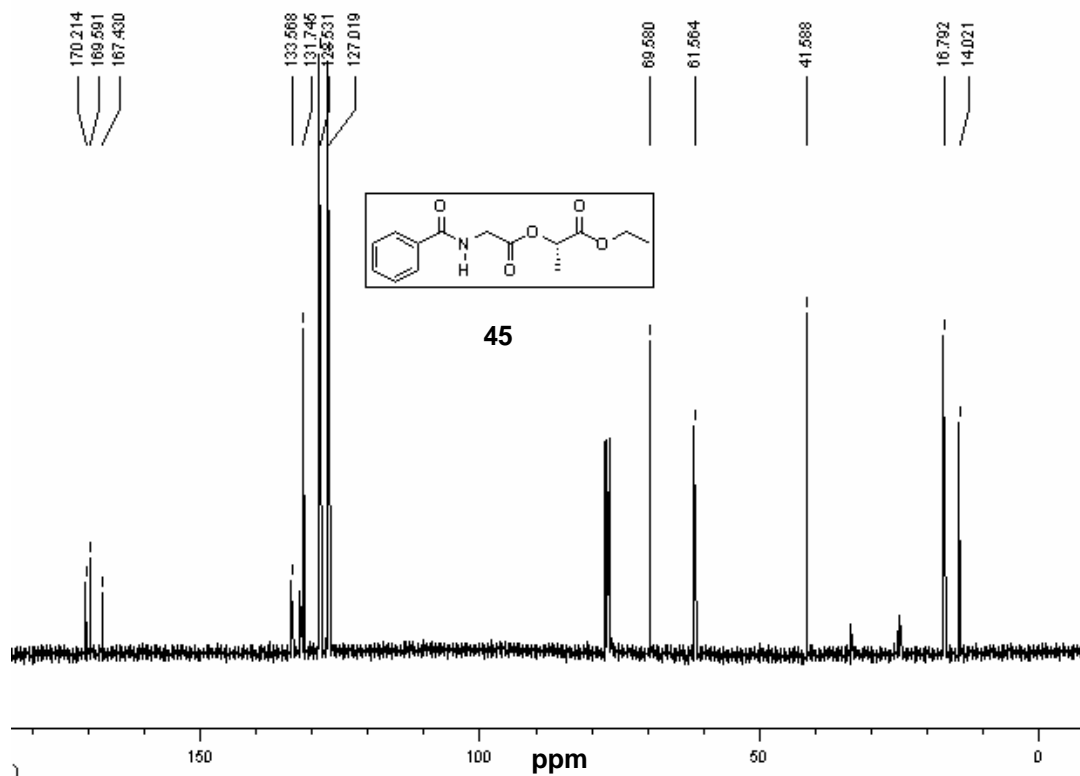
ESPECTRO 39 - RMN- ¹³ C 50 MHz DEPT 90° EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 56C.	155
ESPECTRO 40 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 56C.	156
ESPECTRO 41 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 59.	157
ESPECTRO 42- RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 71.	158
ESPECTRO 43 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 71.	158
ESPECTRO 44 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 72.	159
ESPECTRO 45 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 72.	159
ESPECTRO 46 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 73.	160
ESPECTRO 47 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 74.	161
ESPECTRO 48 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 74.	161
ESPECTRO 49 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 75.	162
ESPECTRO 50 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ /D ₂ O PARA O DERIVADO 75.	162
ESPECTRO 51 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 75.	163
ESPECTRO 52 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 60.	164
ESPECTRO 53 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CD ₃ OD PARA O DERIVADO 60.	165
ESPECTRO 54 - RMN- ¹³ C 50 MHz DEPT 90° EM CD ₃ OD PARA O DERIVADO 60.	165
ESPECTRO 55 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 60.	166
ESPECTRO 56 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 64.	167
ESPECTRO 57 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 94.	168
ESPECTRO 58 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 68.	169
ESPECTRO 59 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO.	169
ESPECTRO 60 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 68.	170
ESPECTRO 61 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 98.	171
ESPECTRO 62 - RMN- ¹ H 400 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 95.	172
ESPECTRO 63 - IV (FILME, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 95.	172
ESPECTRO 64 - RMN- ¹ H 400 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 92.	173
ESPECTRO 65 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 81.	174
ESPECTRO 66 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 81.	174
ESPECTRO 67 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 82.	175
ESPECTRO 68 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 82.	175
ESPECTRO 69 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 83.	176
ESPECTRO 70 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ /D ₂ O PARA O DERIVADO 83.	176
ESPECTRO 71 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 83.	177
ESPECTRO 72 - RMN- ¹ H 200 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 84.	178
ESPECTRO 73 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 84.	178
ESPECTRO 74 - RMN- ¹ H 200 MHz EM D ₂ O PARA O DERIVADO 85.	179
ESPECTRO 75 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 85.	179
ESPECTRO 76 - RMN- ¹ H 200 MHz EM D ₂ O PARA O DERIVADO 89.	180
ESPECTRO 77 - RMN- ¹³ C 50 MHz EM CDCl ₃ PARA O DERIVADO 89.	180
ESPECTRO 78 - IV (KBr, CM ⁻¹) PARA O DERIVADO 89.	181

ESPECTRO 79 - RMN- ¹ H 200 MHz em CDCl ₃ para o derivado 97.	182
ESPECTRO 80 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 97.	182
ESPECTRO 81 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 65.	183
ESPECTRO 82 - RMN- ¹ H 200 MHz em CDCl ₃ para o derivado 86.	184
ESPECTRO 83 - RMN- ¹ H 200 MHz em CDCl ₃ /D ₂ O para o derivado 86.	184
ESPECTRO 84 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 86.	185
ESPECTRO 85 - RMN- ¹ H 400 MHz em D ₂ O para o derivado 90.	186
ESPECTRO 86 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 90.	186
ESPECTRO 87 - RMN- ¹ H 400 MHz em CDCl ₃ para o derivado 101.	187
ESPECTRO 88 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 101.	187
ESPECTRO 89 - EM para o derivado 102.	188
ESPECTRO 90 - IV (filme, cm ⁻¹) para o derivado 102.	188
ESPECTRO 91 - EM para o derivado 103.	189
ESPECTRO 92 - RMN- ¹ H 400 MHz em CDCl ₃ para o derivado 105.	190
ESPECTRO 93 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 105.	190
ESPECTRO 94 - RMN- ¹ H em CDCl ₃ para o derivado 135.	191
ESPECTRO 95 - RMN- ¹ H 400 MHz em CDCl ₃ para o derivado 130.	192
ESPECTRO 96 - RMN- ¹ H 400 MHz em CDCl ₃ /D ₂ O para o derivado 130.	192
ESPECTRO 97 - RMN- ¹³ C 100 MHz em CD ₃ OD para o derivado 130.	193
ESPECTRO 98 - IV (KBr, cm ⁻¹) para o derivado 130.	193
ESPECTRO 99 - RMN- ¹ H 400 MHz em CD ₃ OD para o derivado 131.	194
ESPECTRO 100 - IV (filme, cm ⁻¹) para o derivado 131.	194
ESPECTRO 101 - RMN- ¹ H 2D COSY em CD ₃ OD para o derivado 131.	195

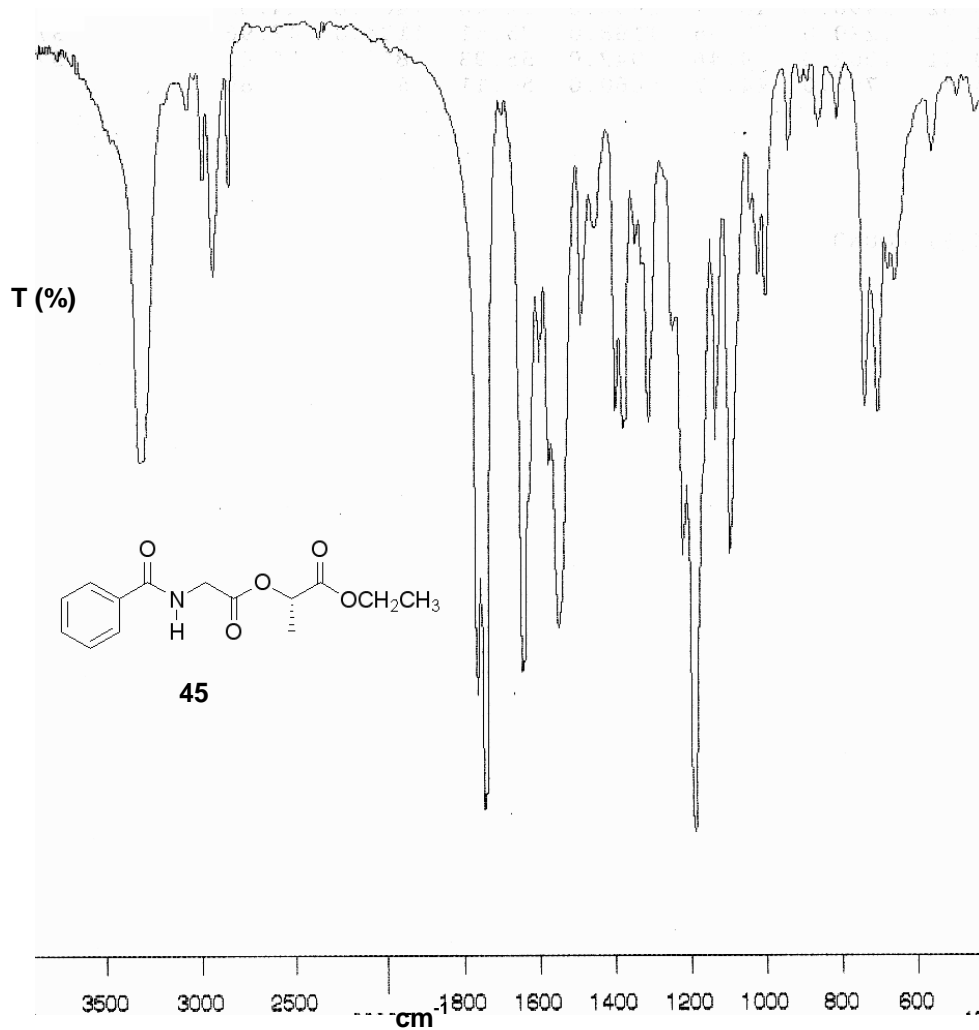
DEPSIPEPTÍDEOS



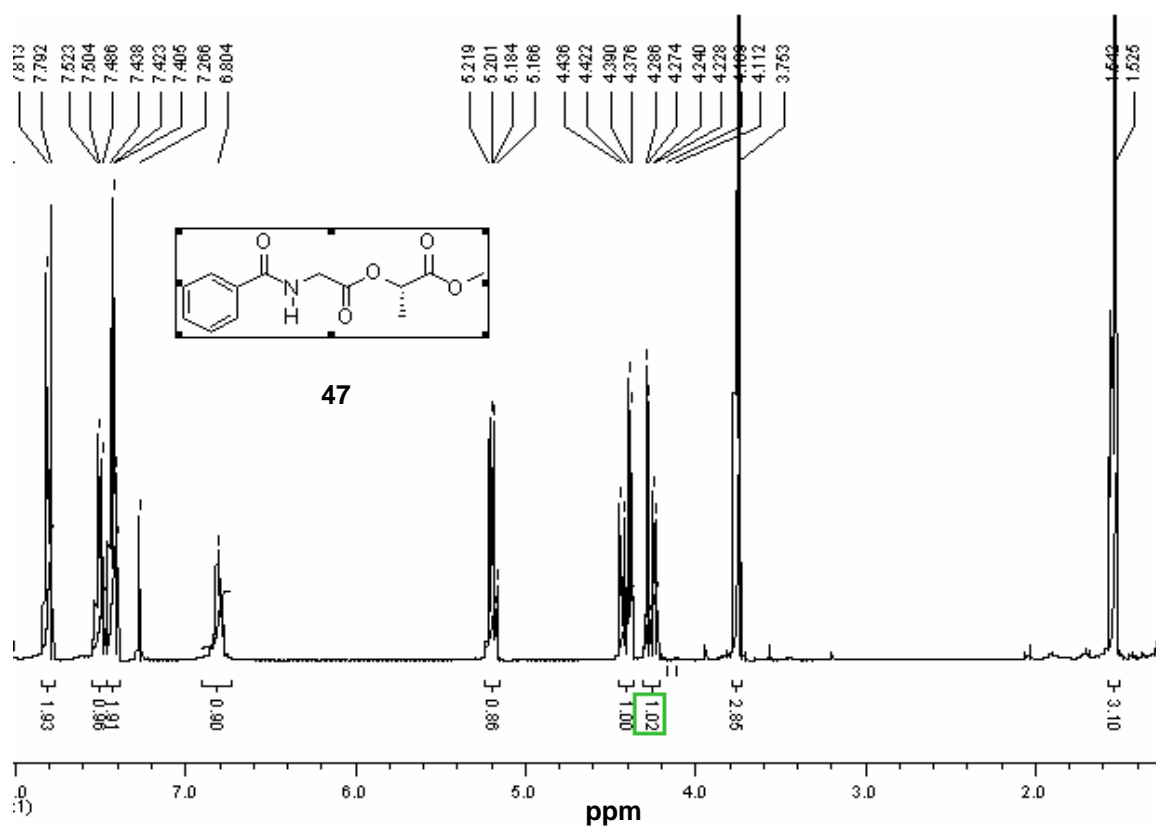
Espectro 1 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 45.



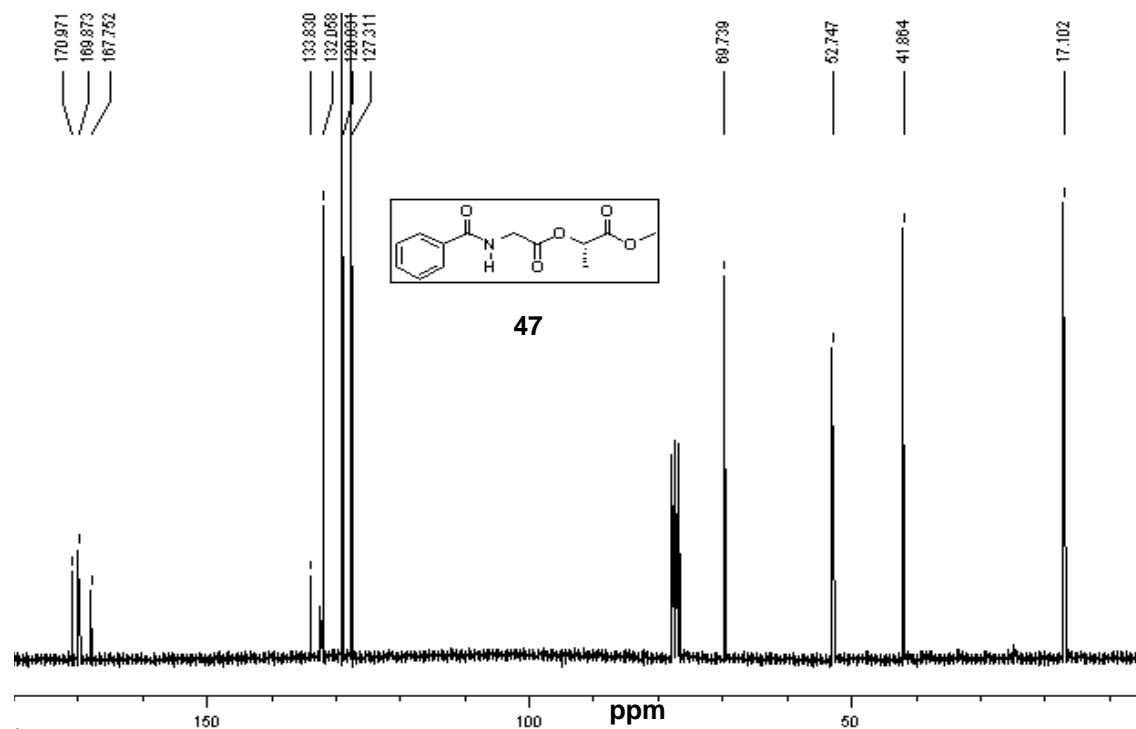
Espectro 2 - RMN-¹³C 100 MHz em CDCl₃ para o derivado 45.



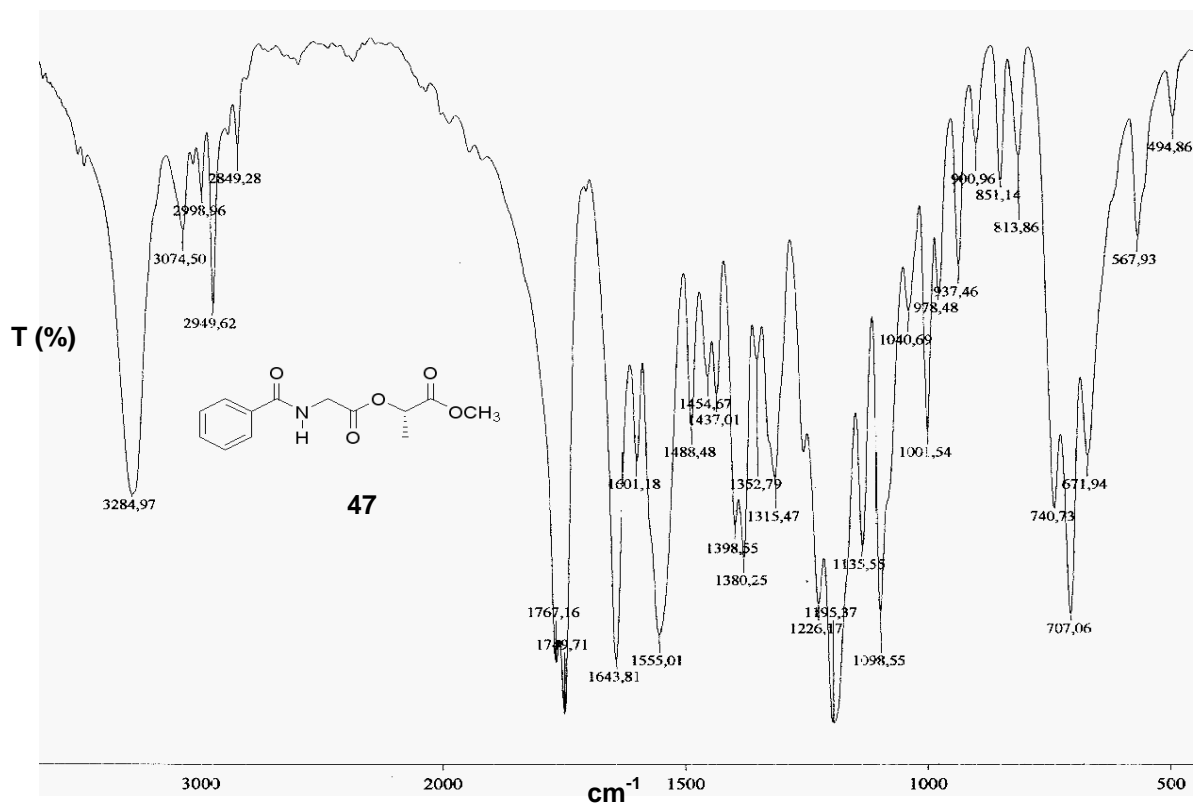
Espectro 3 - IV (KBr, cm^{-1}) para o derivado 45.



Espectro 4 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 47.

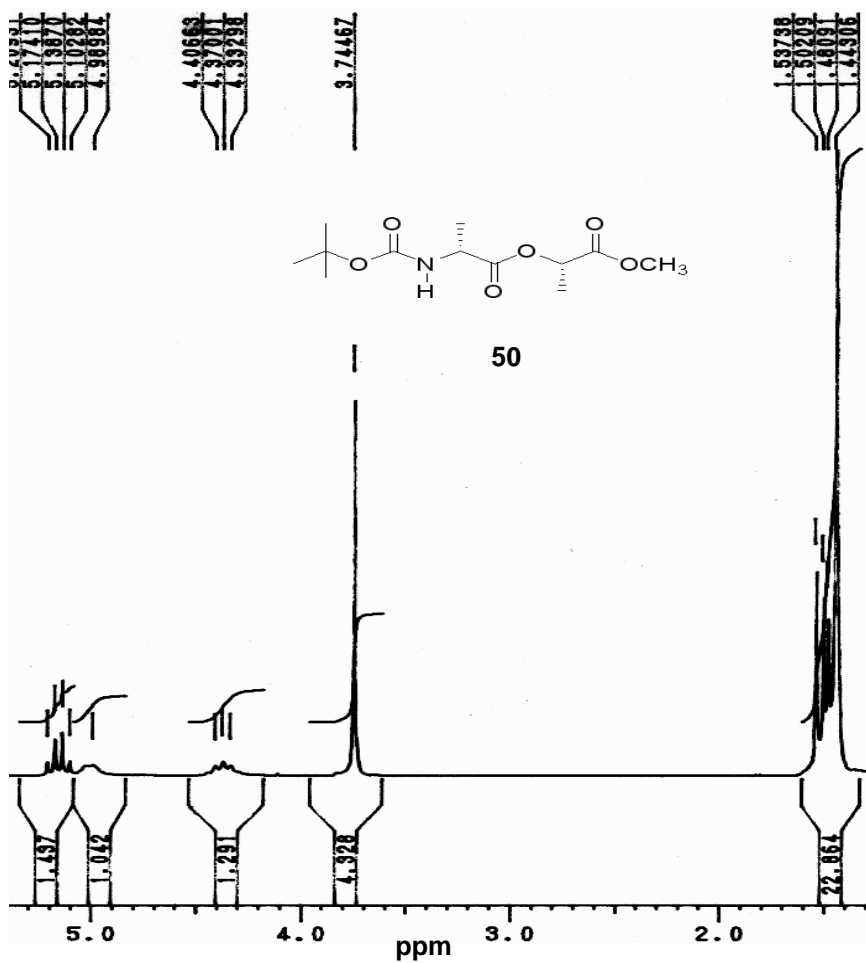


Espectro 5 - RMN-¹³C 100 MHz em CDCl₃ para o derivado 47.

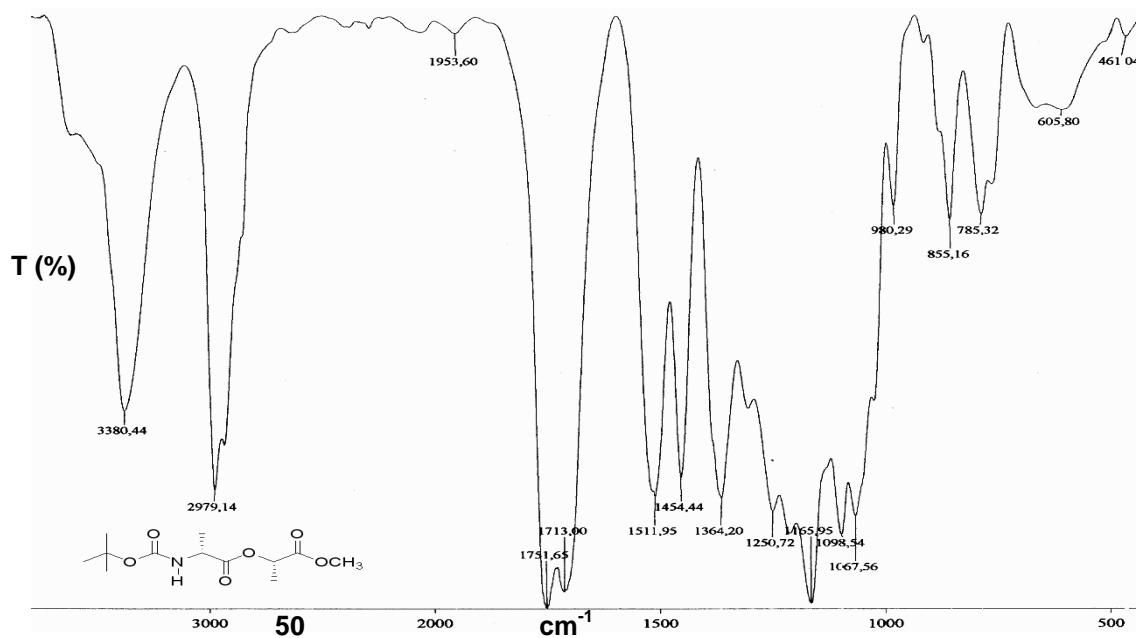


Espectro 6 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 47.

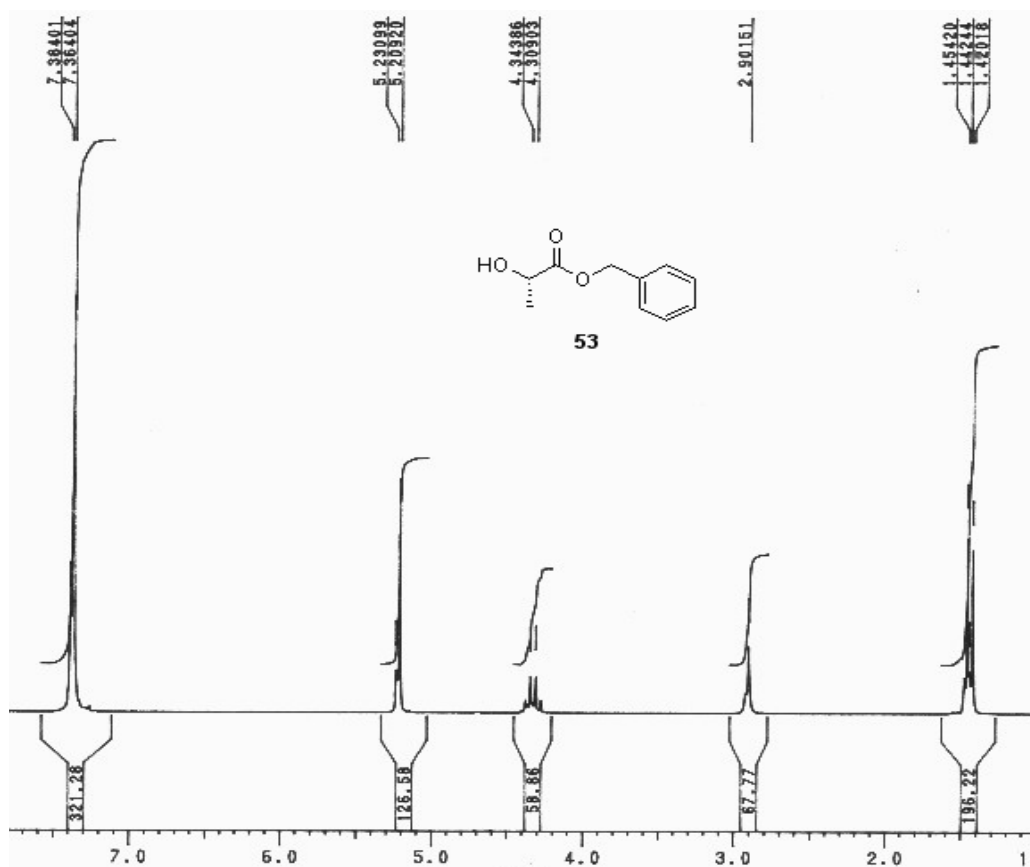
ppm



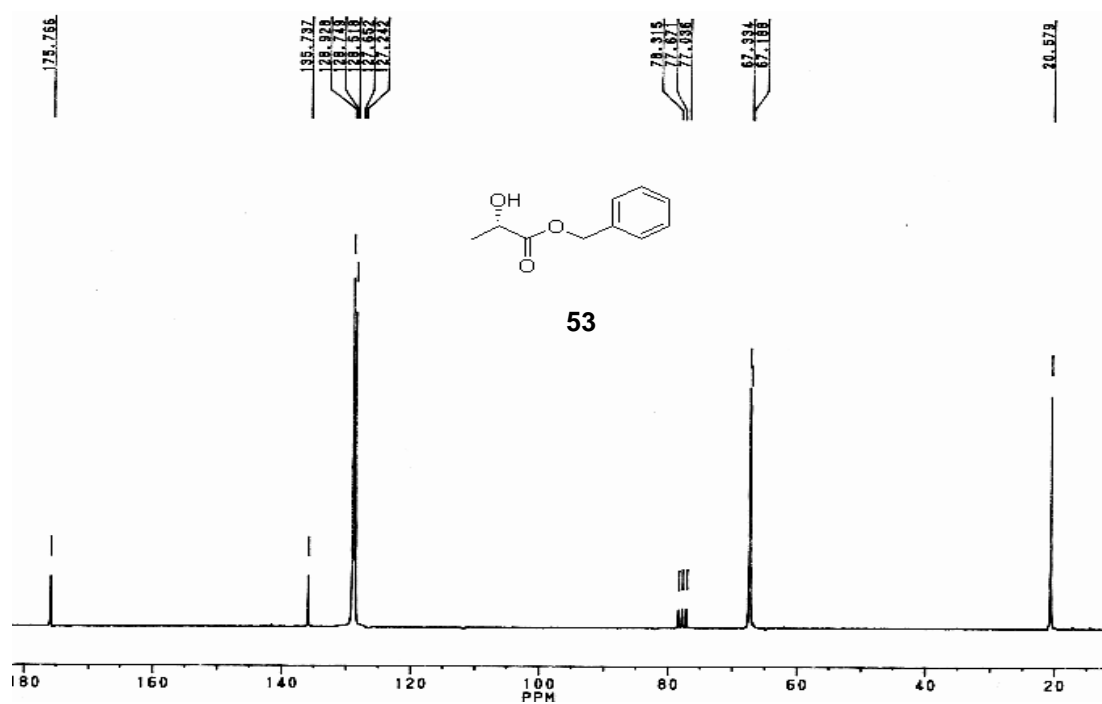
Espectro 7 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 50.



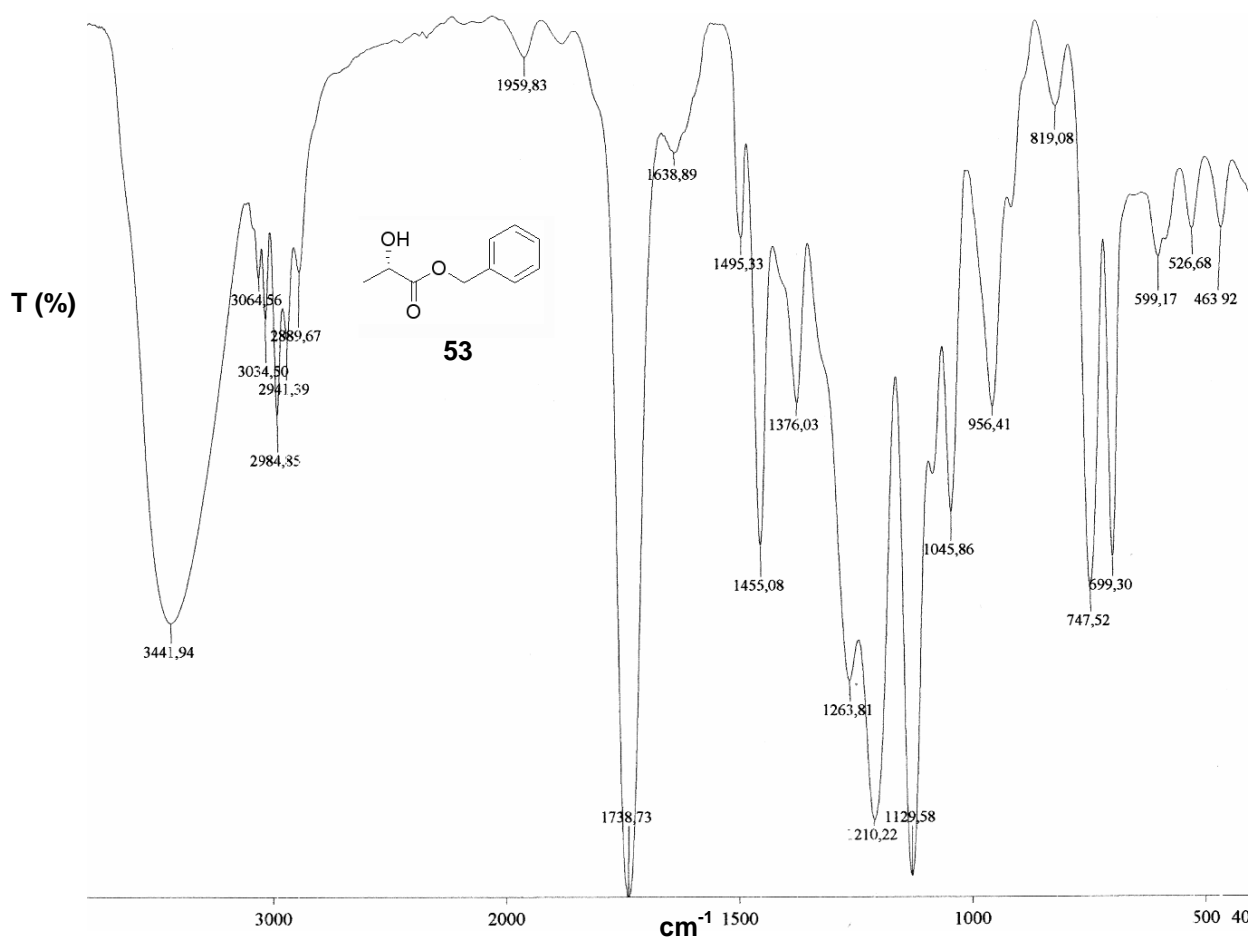
Espectro 8 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 50.



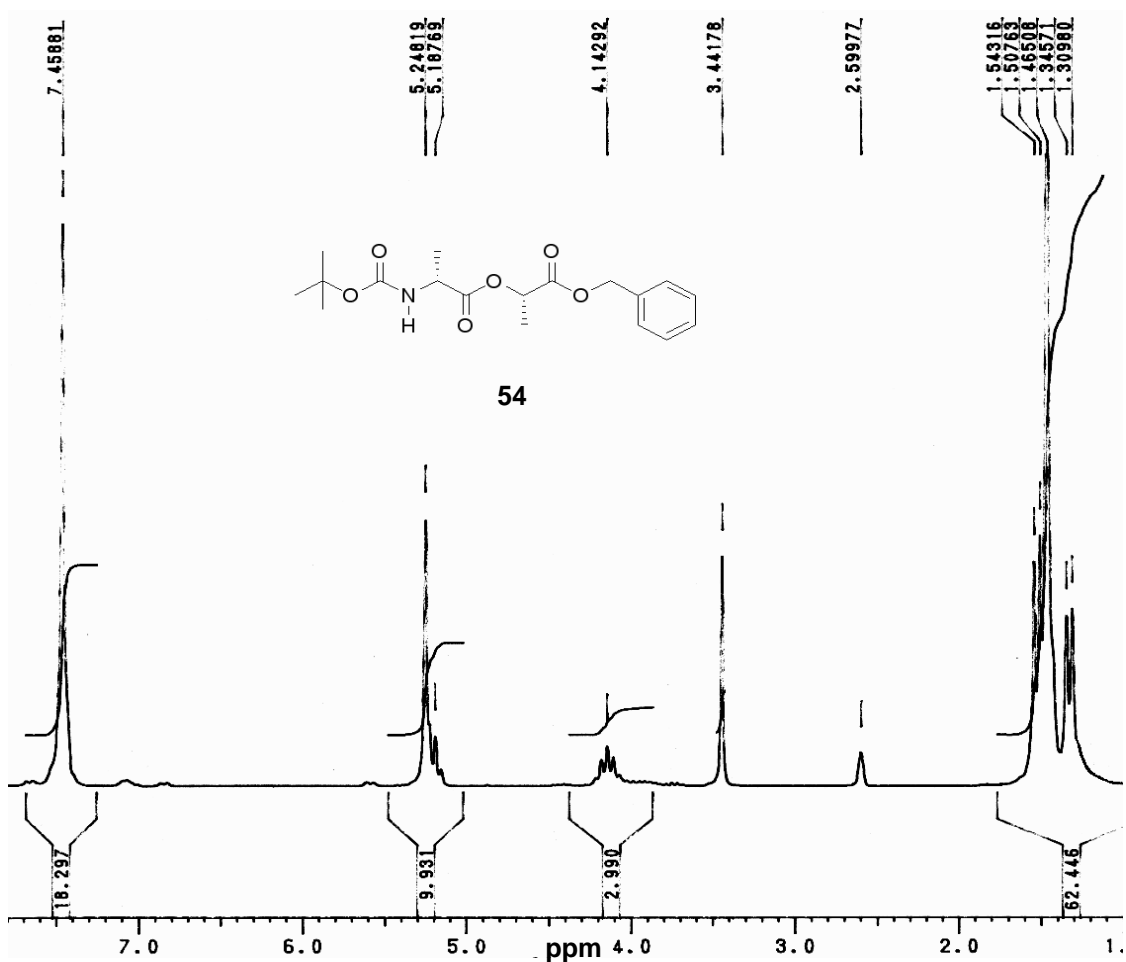
Espectro 9 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 53.



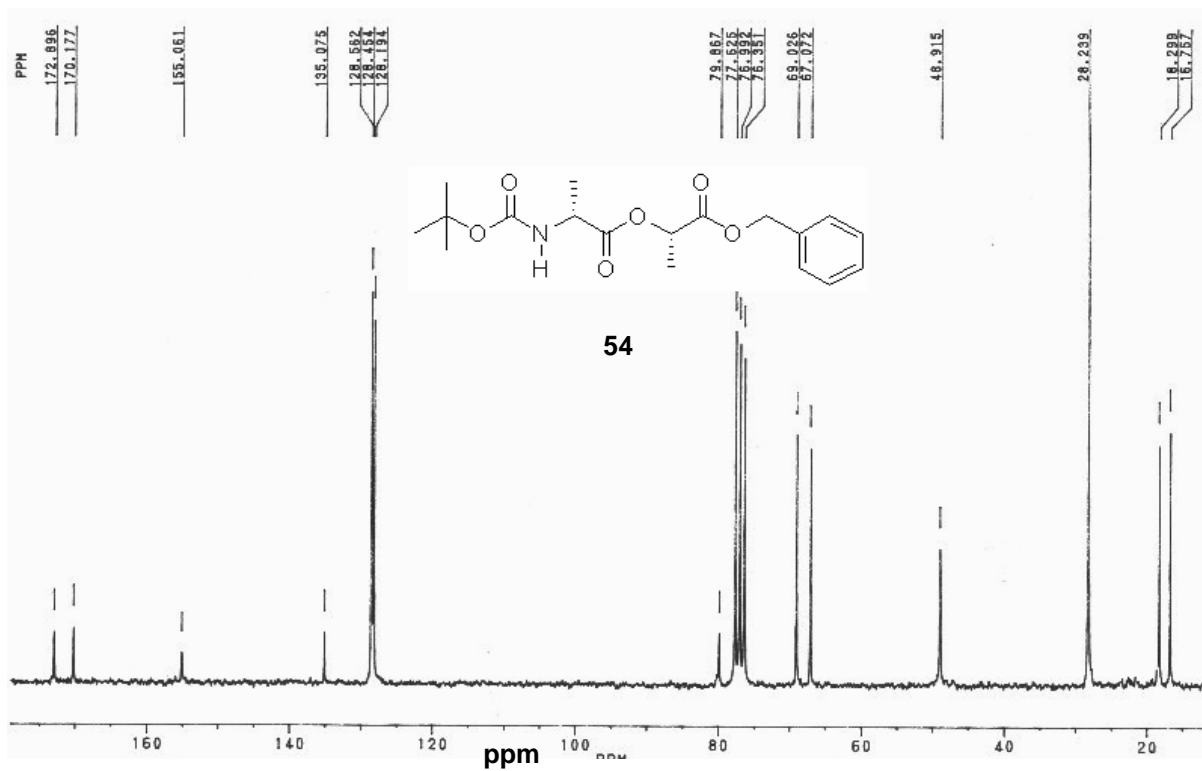
Espectro 10 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 53.



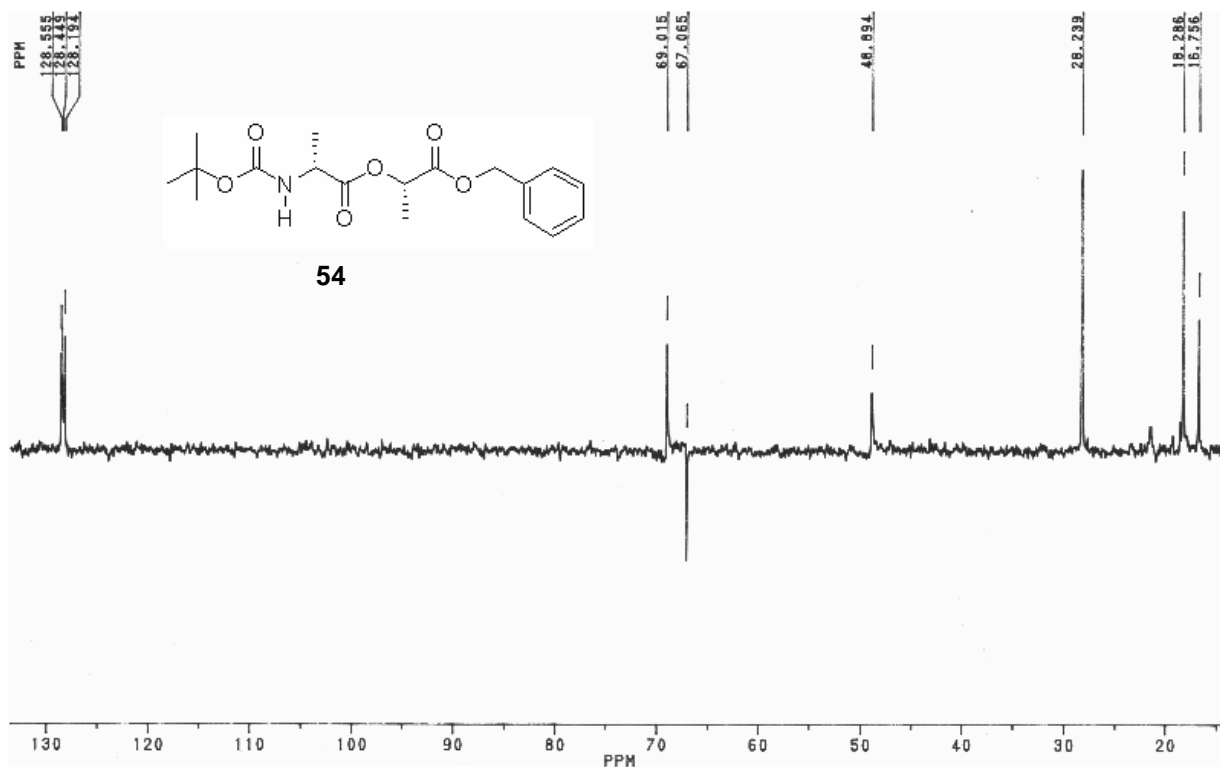
Espectro 11 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 53.



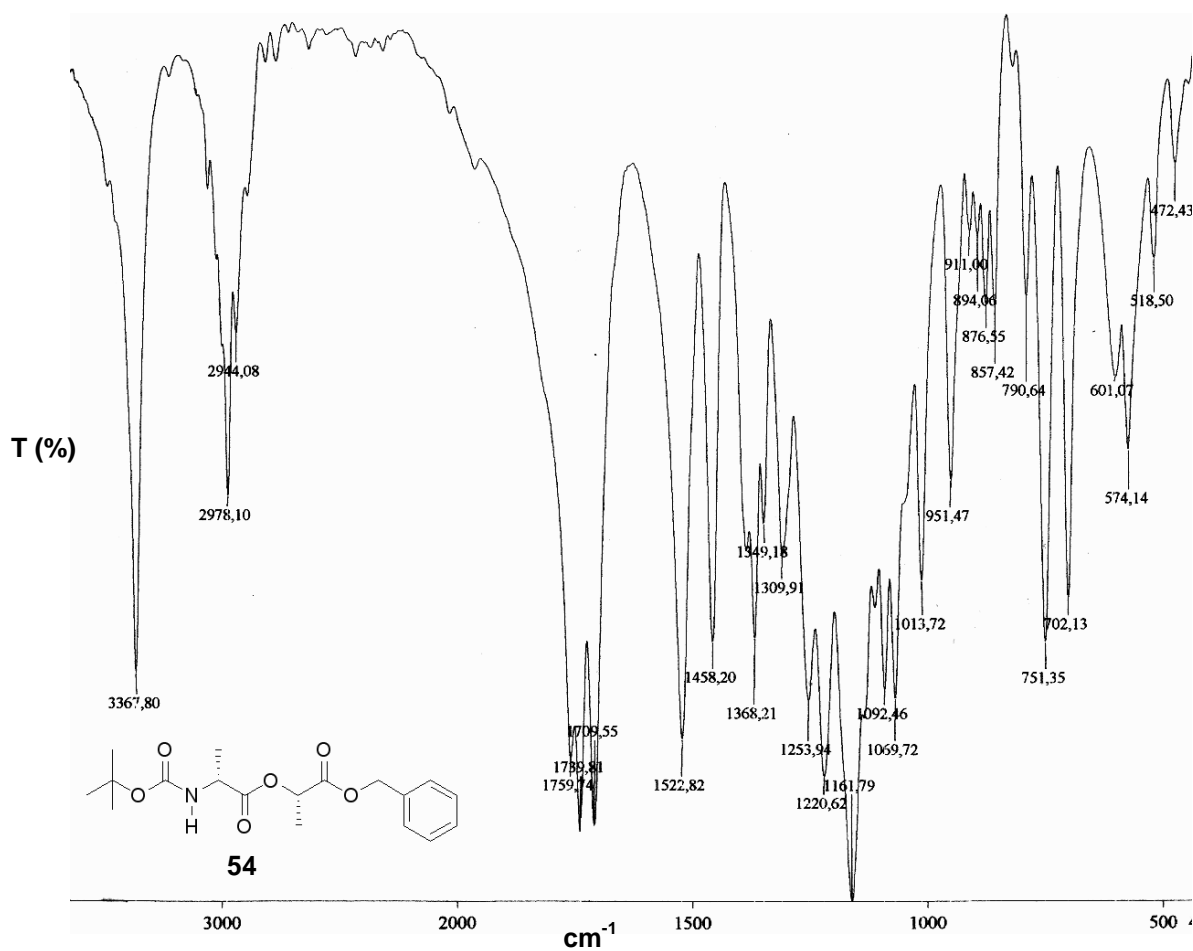
Espectro 12 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 54.



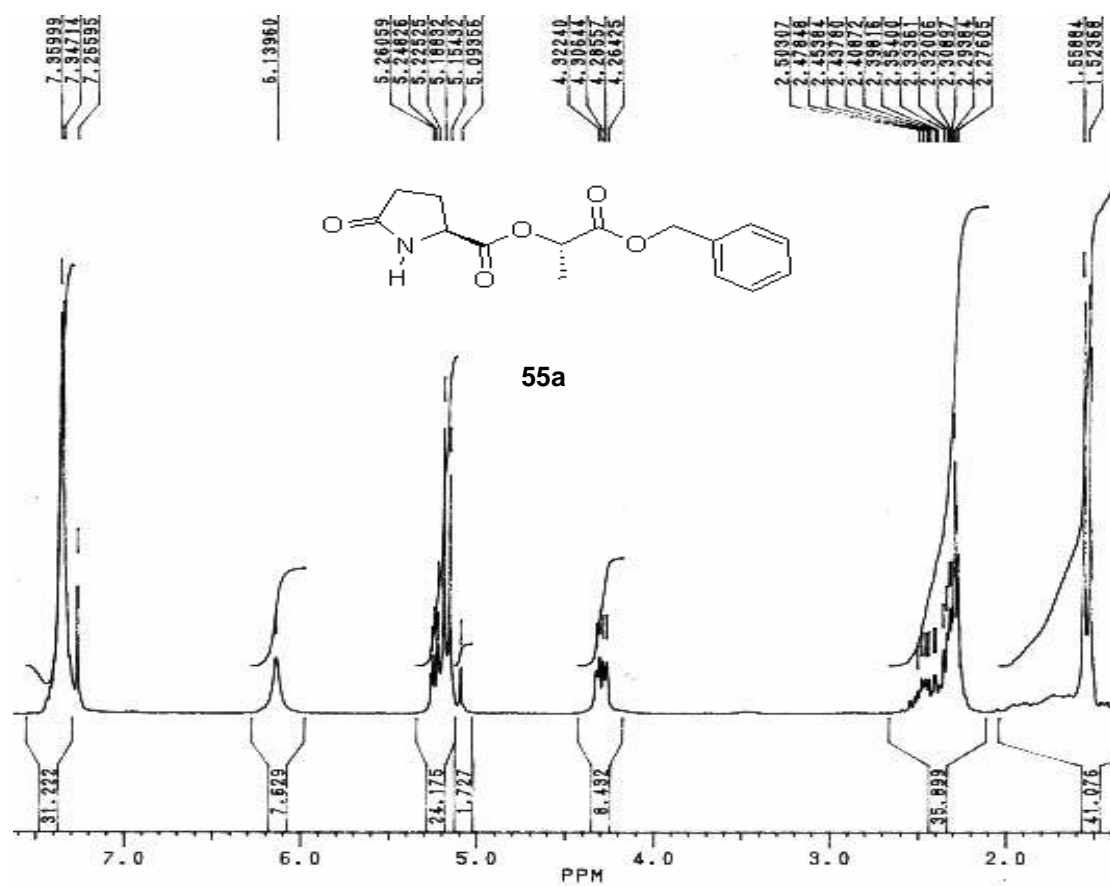
Espectro 13 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 54.



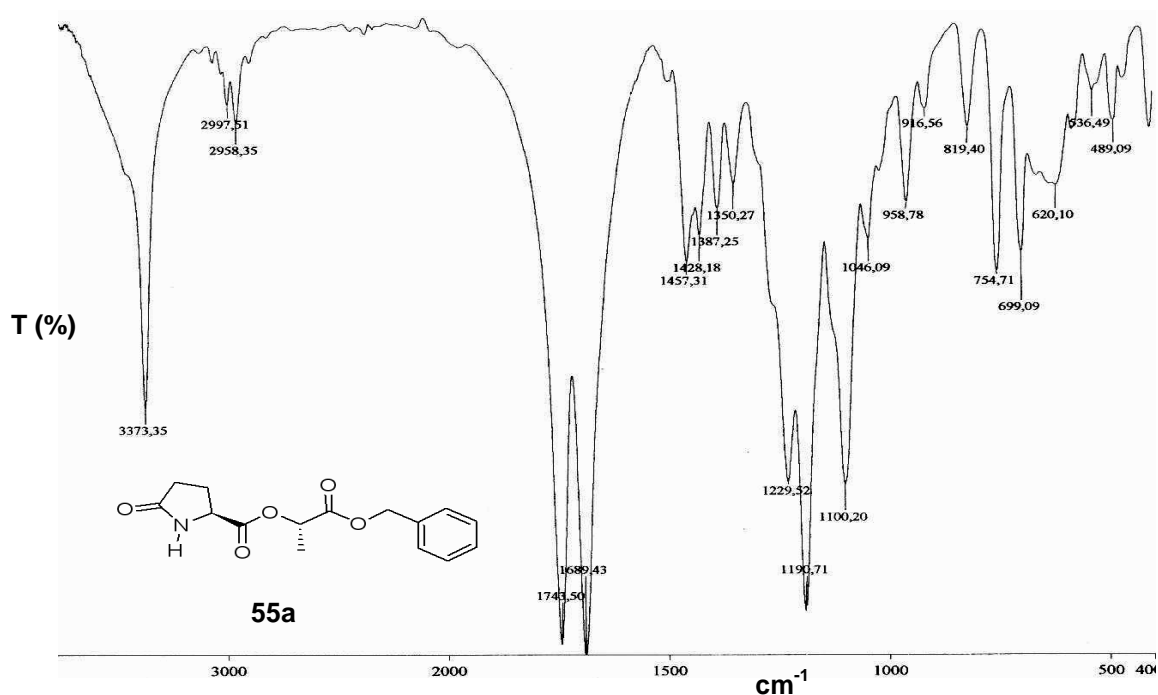
Espectro 14 - RMN-¹³C 50 MHz DEPT 90° em CDCl₃ para o derivado 54.



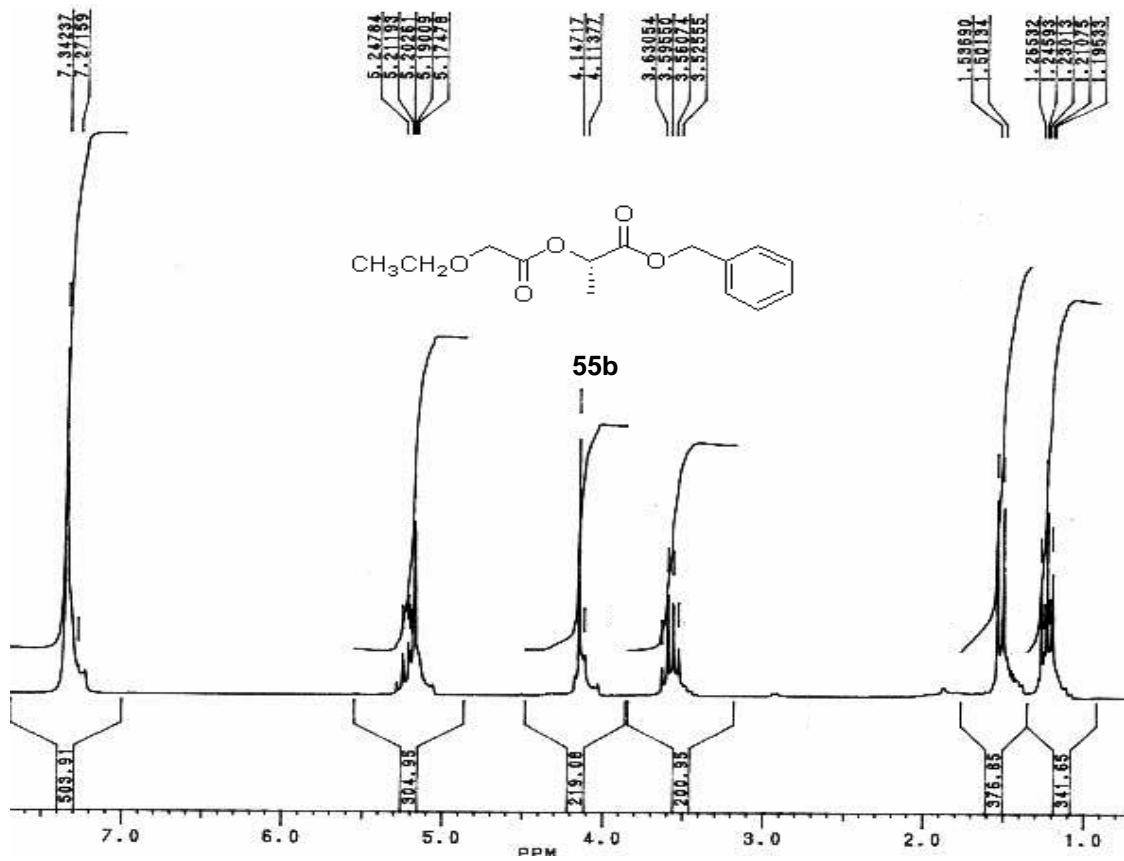
Espectro 15 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 54.



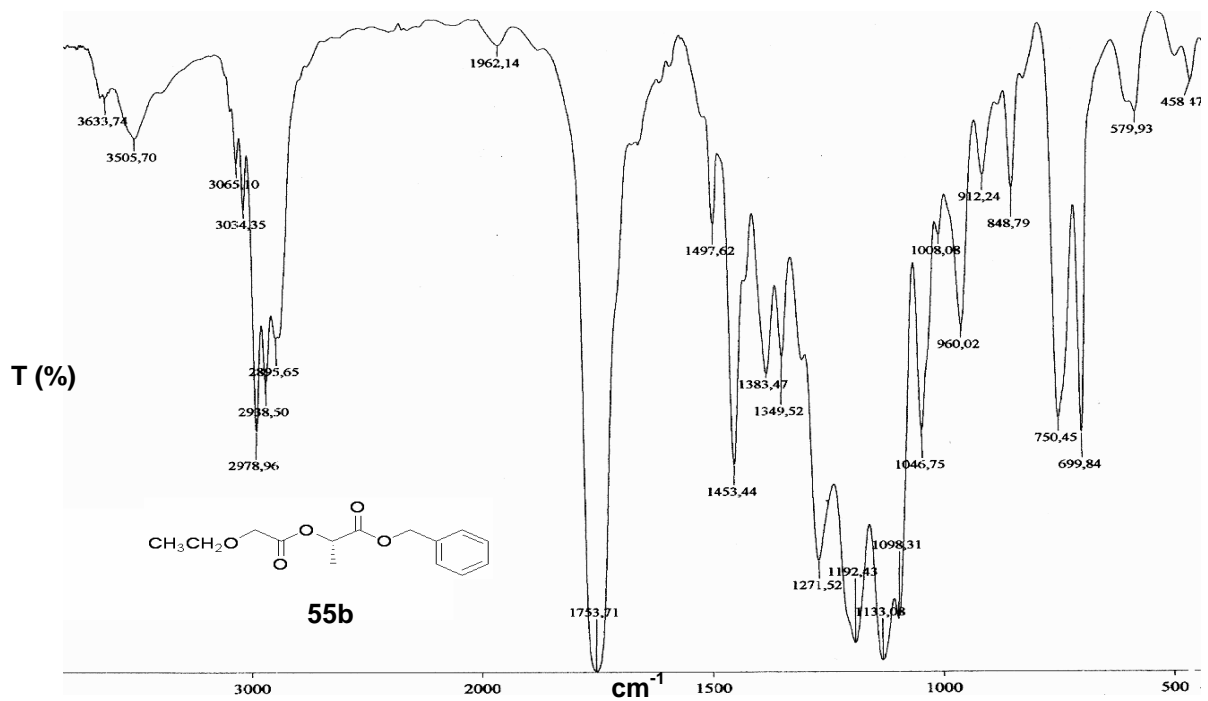
Espectro 16 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 55a.



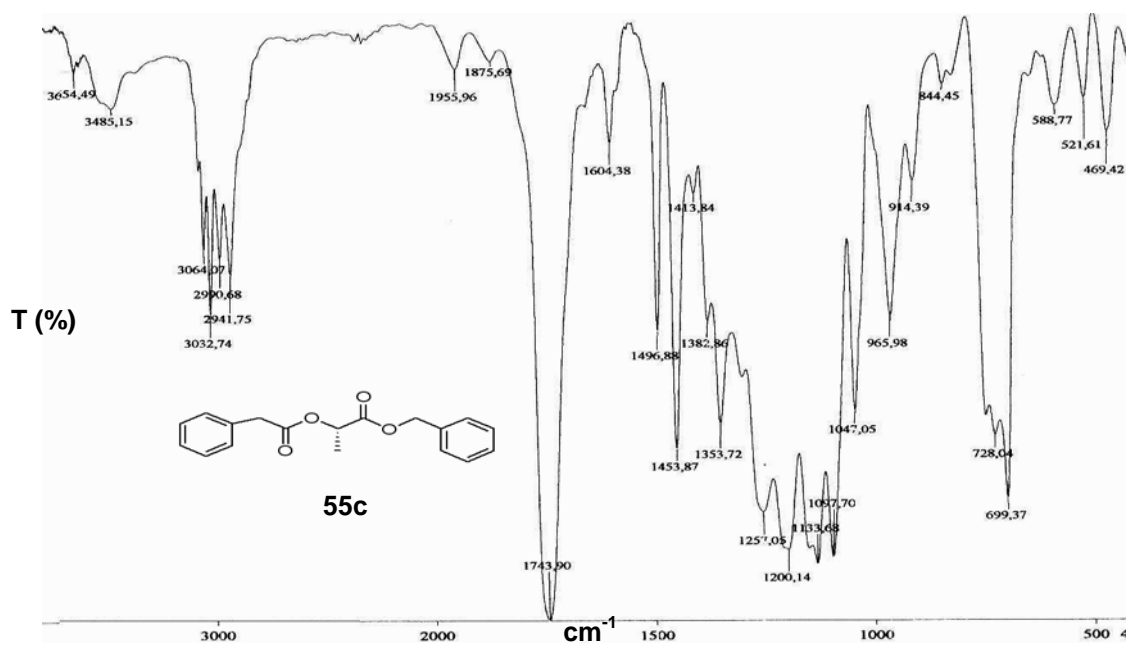
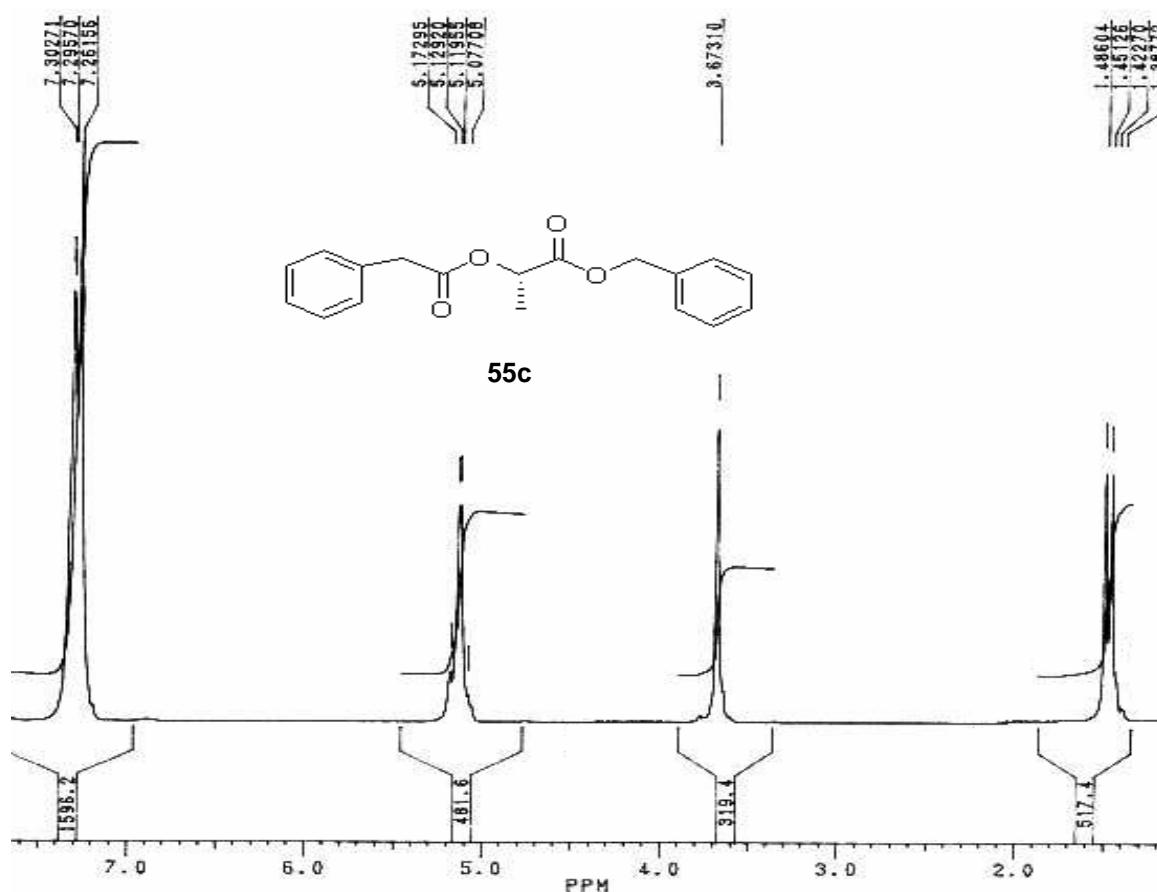
Espectro 17 - Espectro de IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 55a.

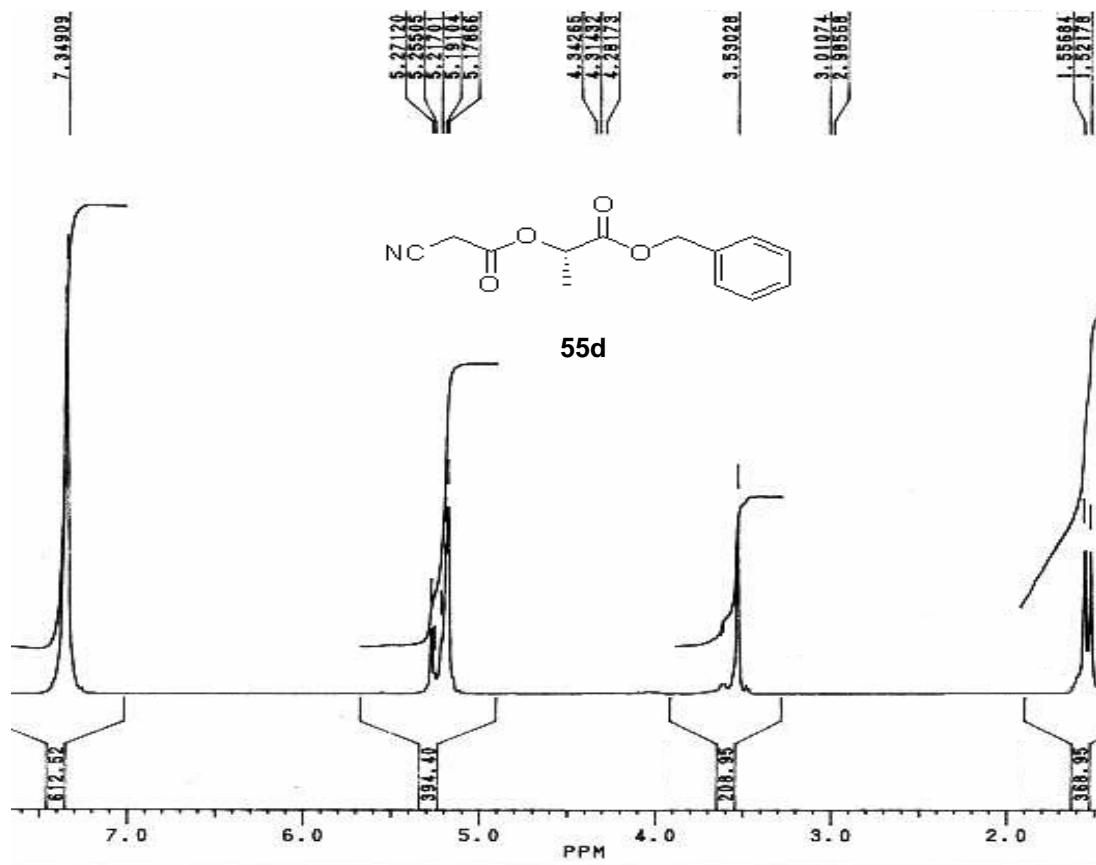


Espectro 18 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 55b.

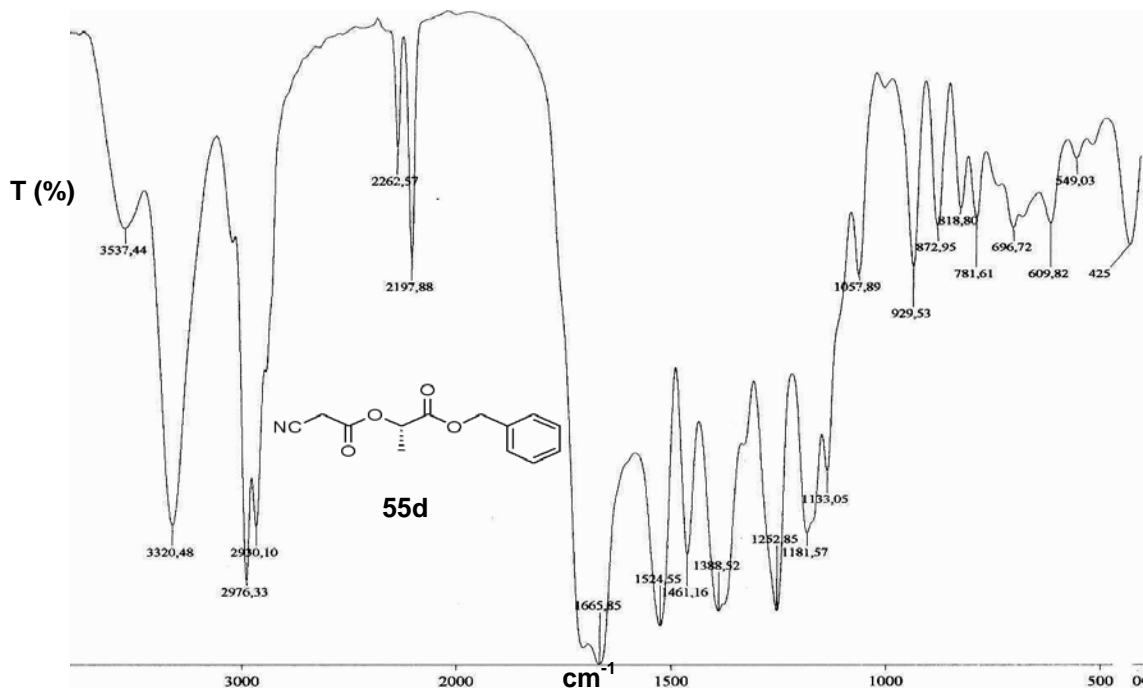


Espectro 19- IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 55b.

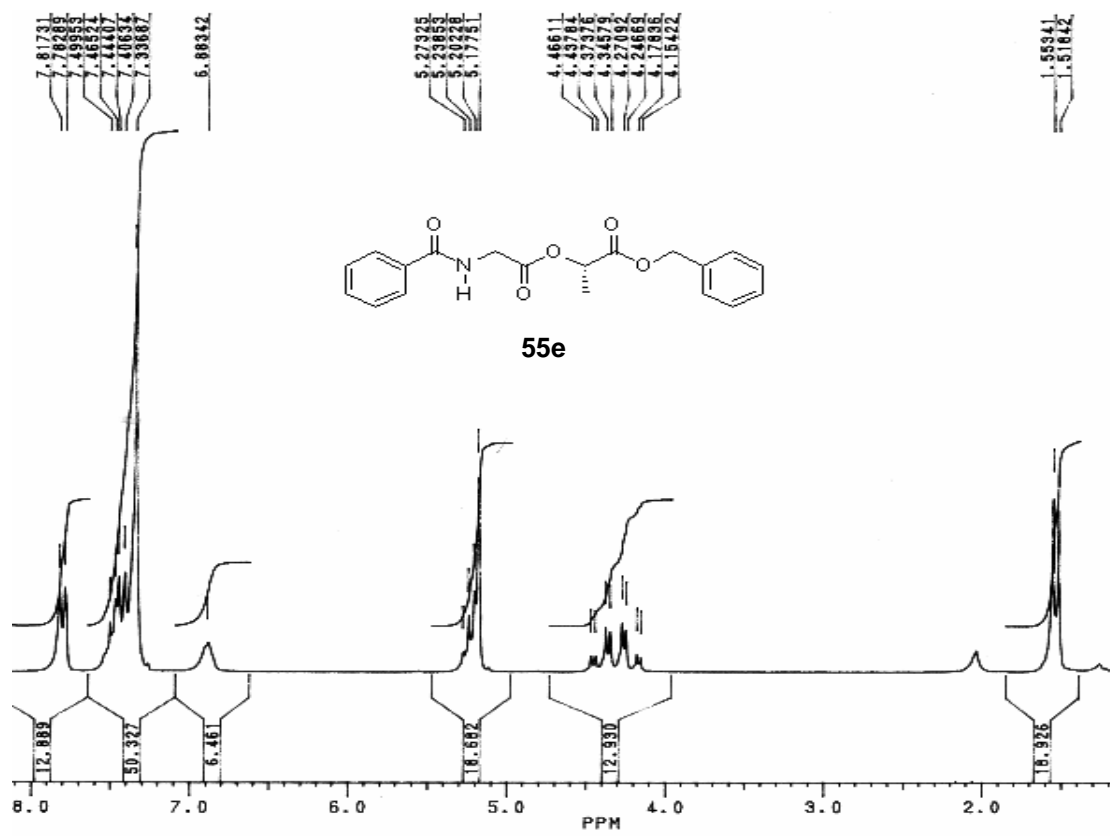




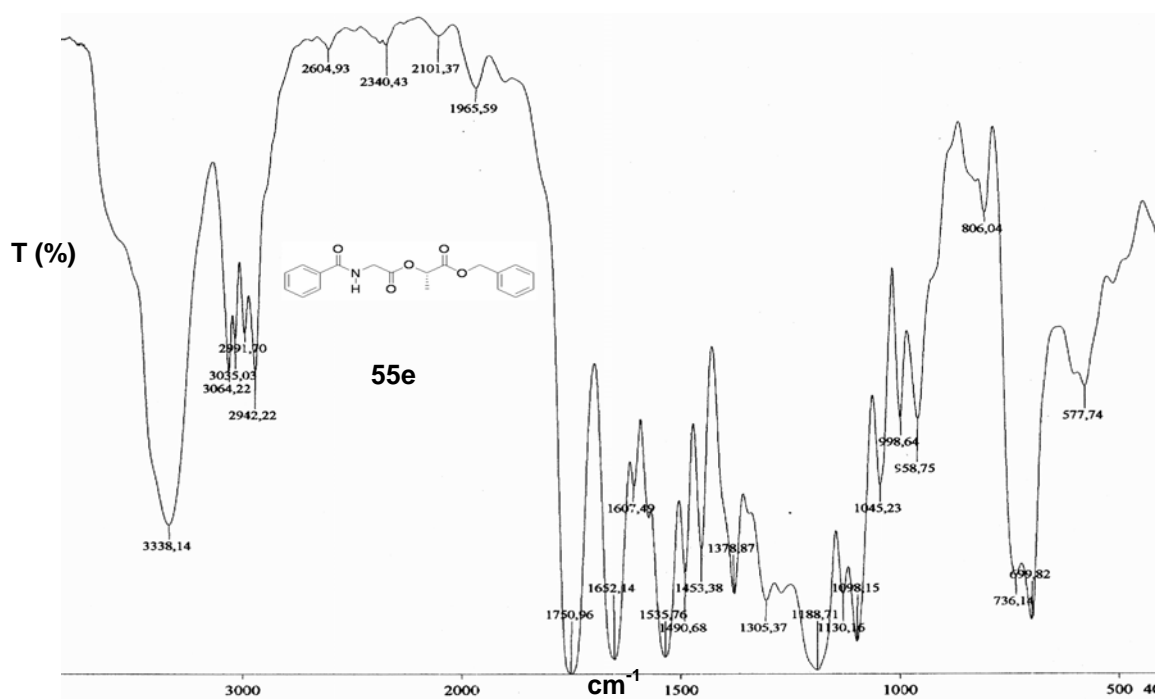
Espectro 22 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 55d.



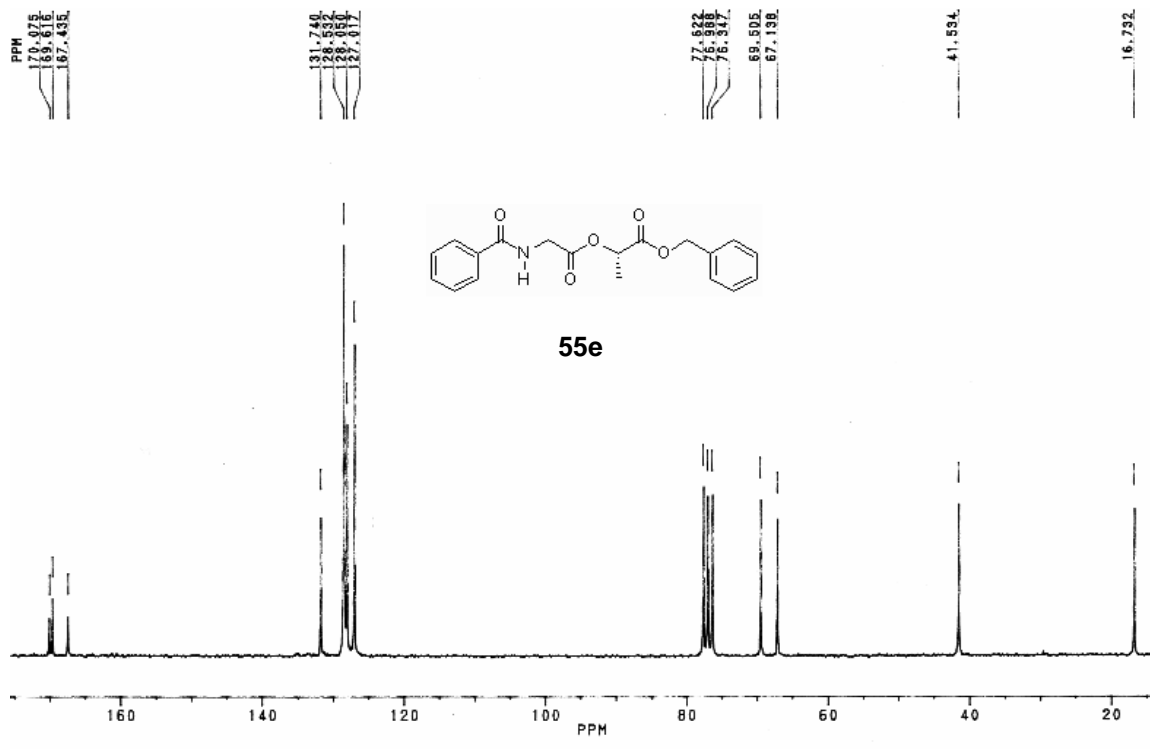
Espectro 23 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 55d.



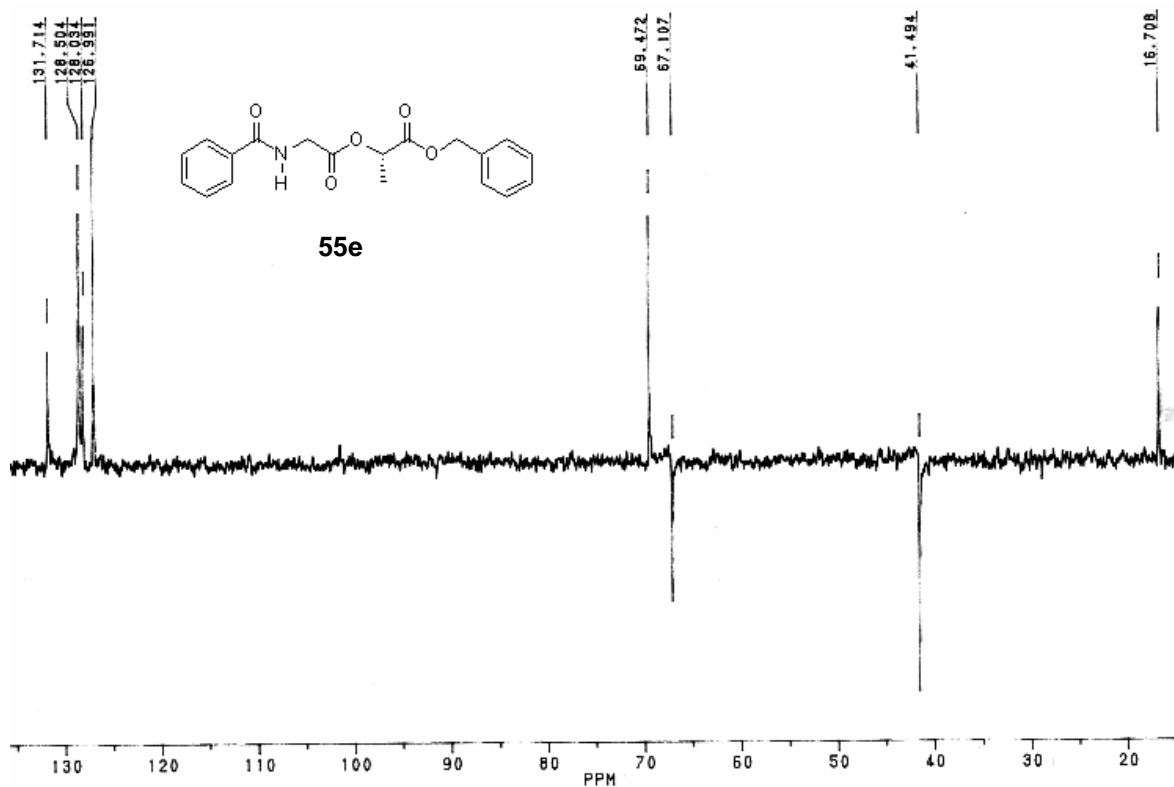
Espectro 24 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 55e.



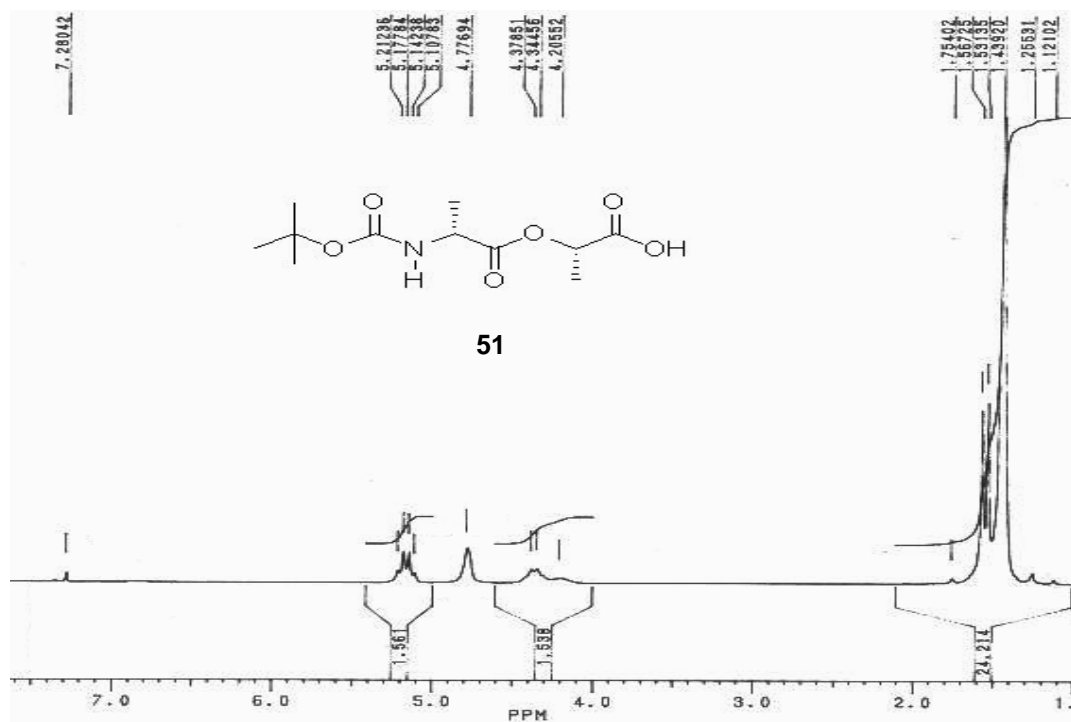
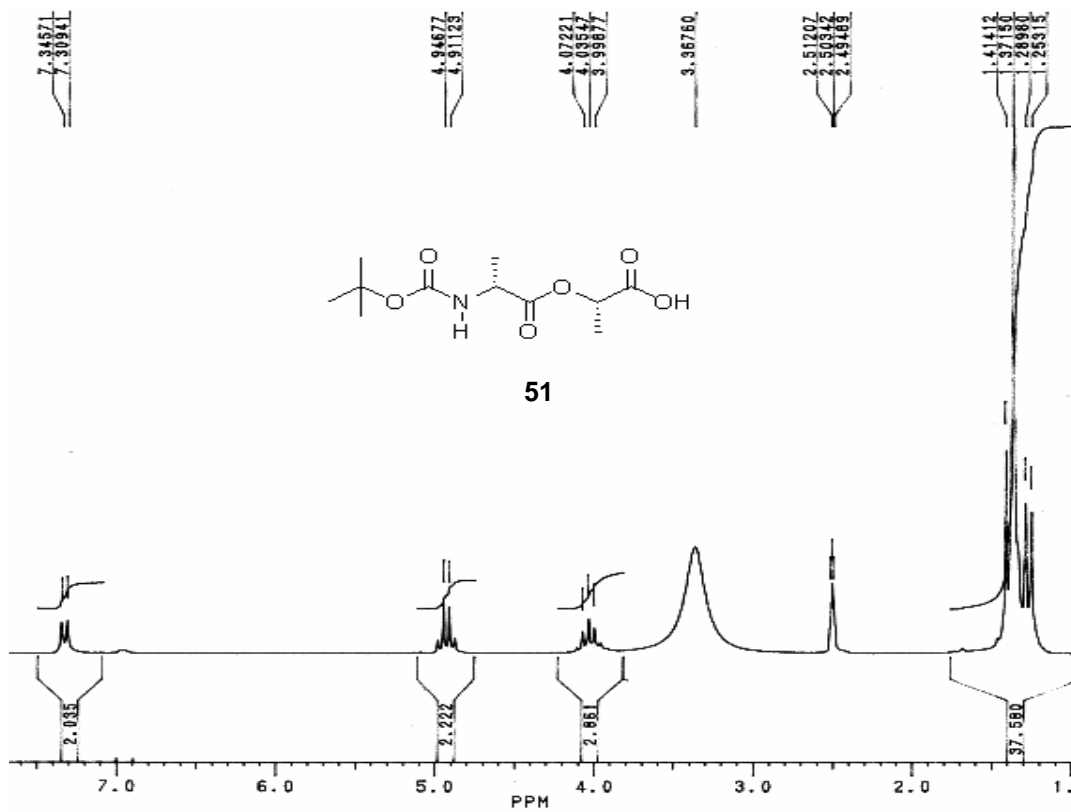
Espectro 25 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 55e.

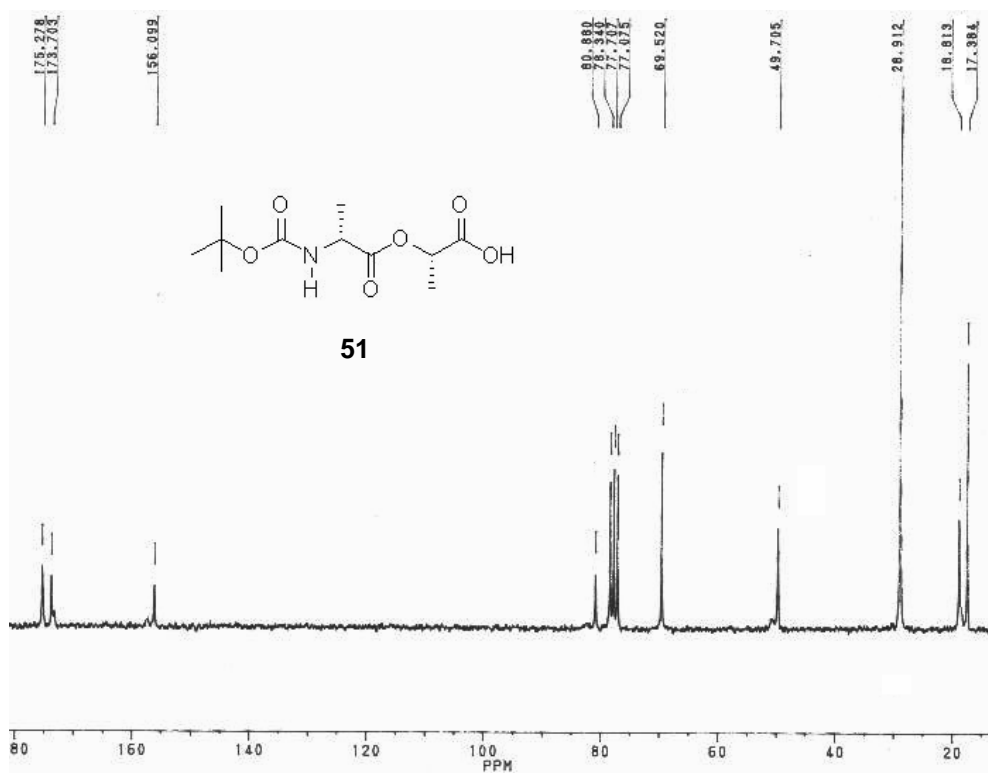


Espectro 26 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 55e.

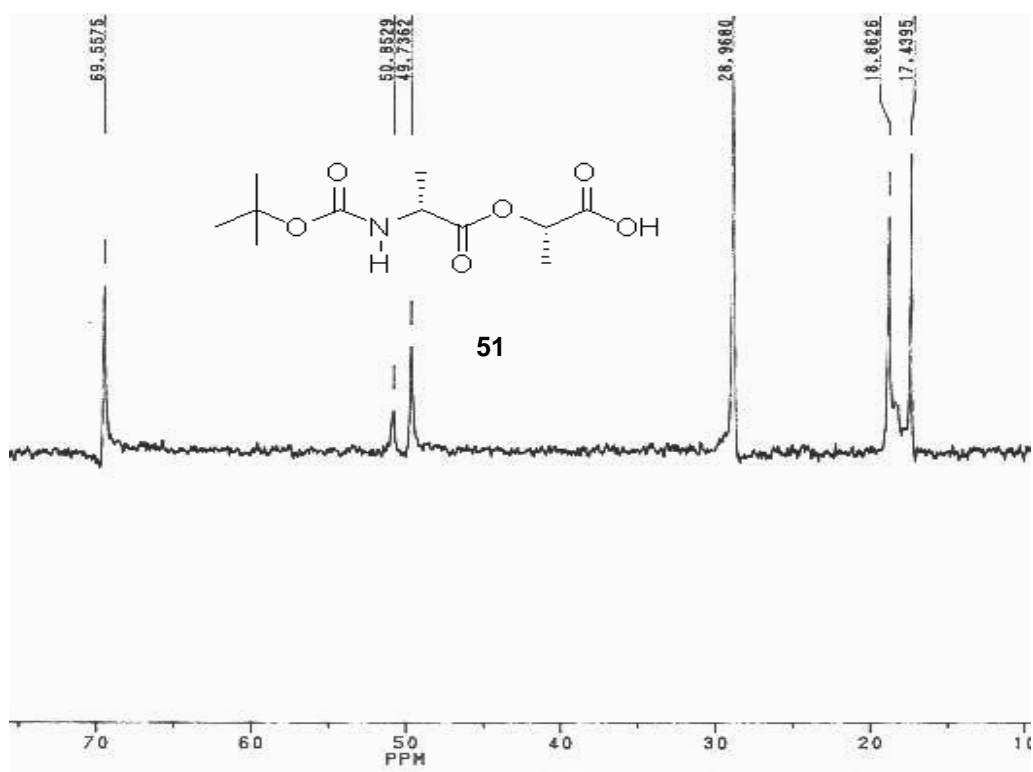


Espectro 27 - RMN-¹³C 50 MHz DEPT em CDCl₃ para o derivado 55e.

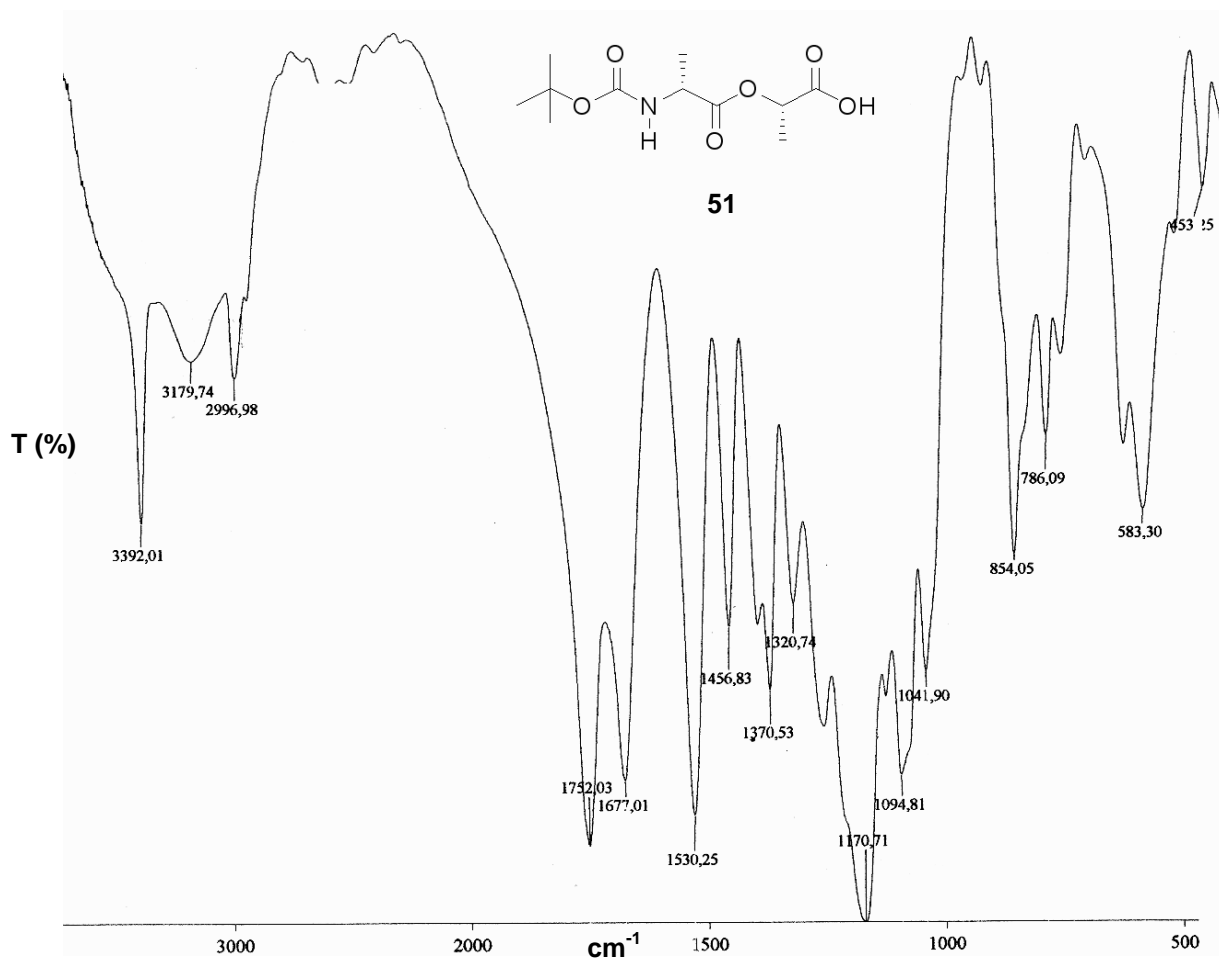




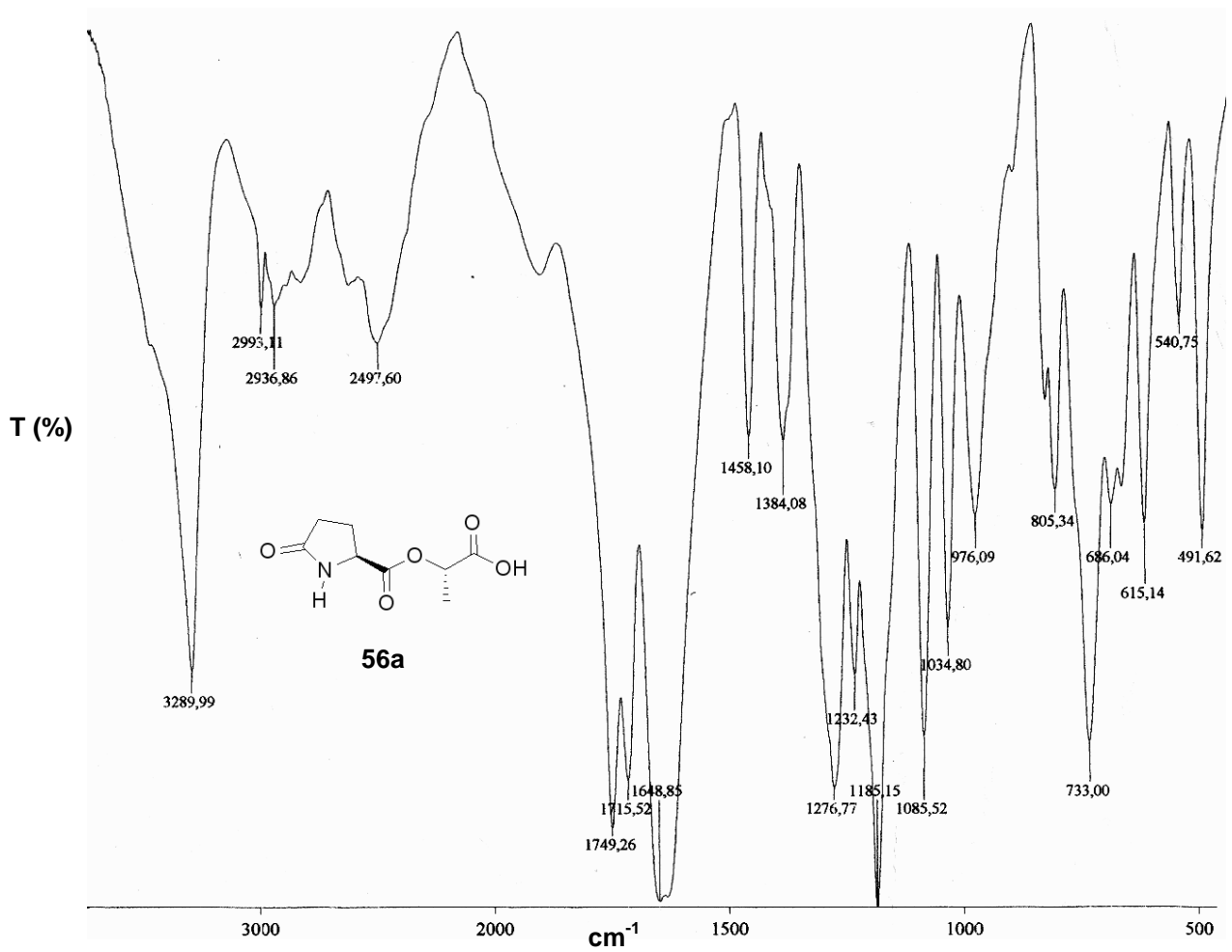
Espectro 30 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 51.



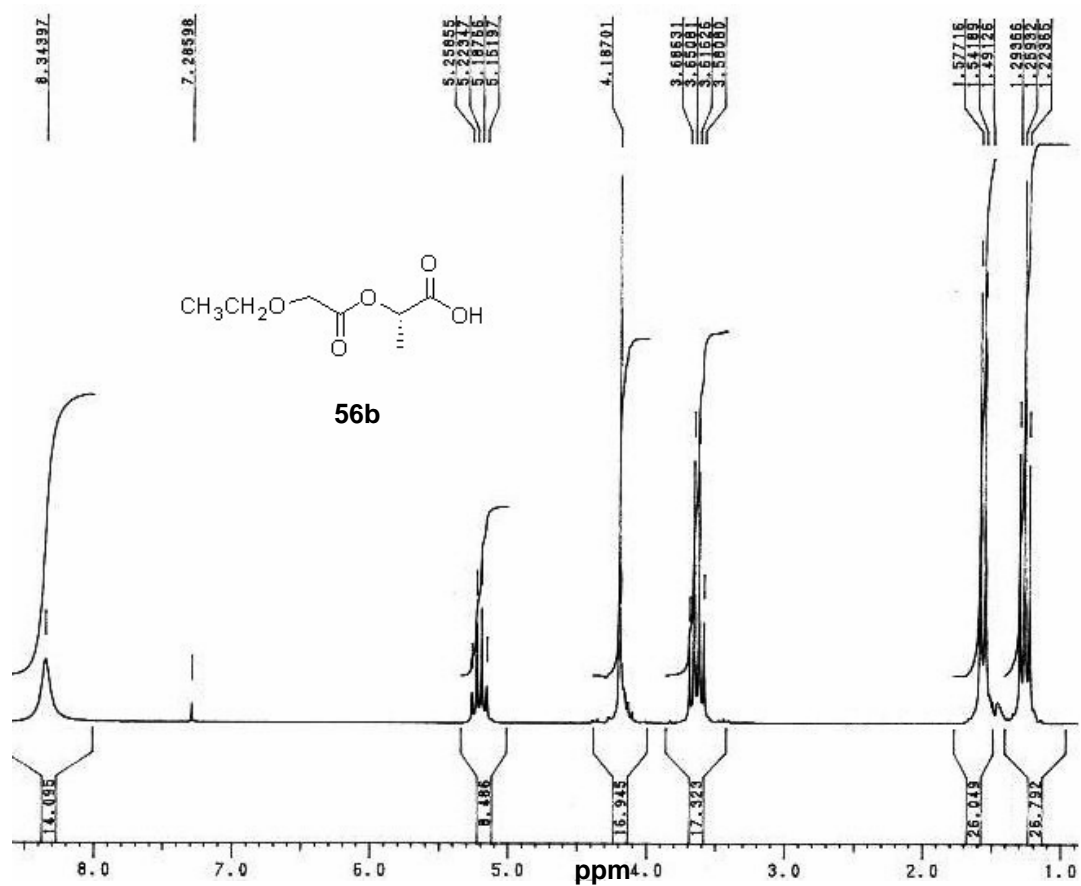
Espectro 31 - RMN-¹³C 50 MHz DEPT 90° em CDCl₃ para o derivado 51.



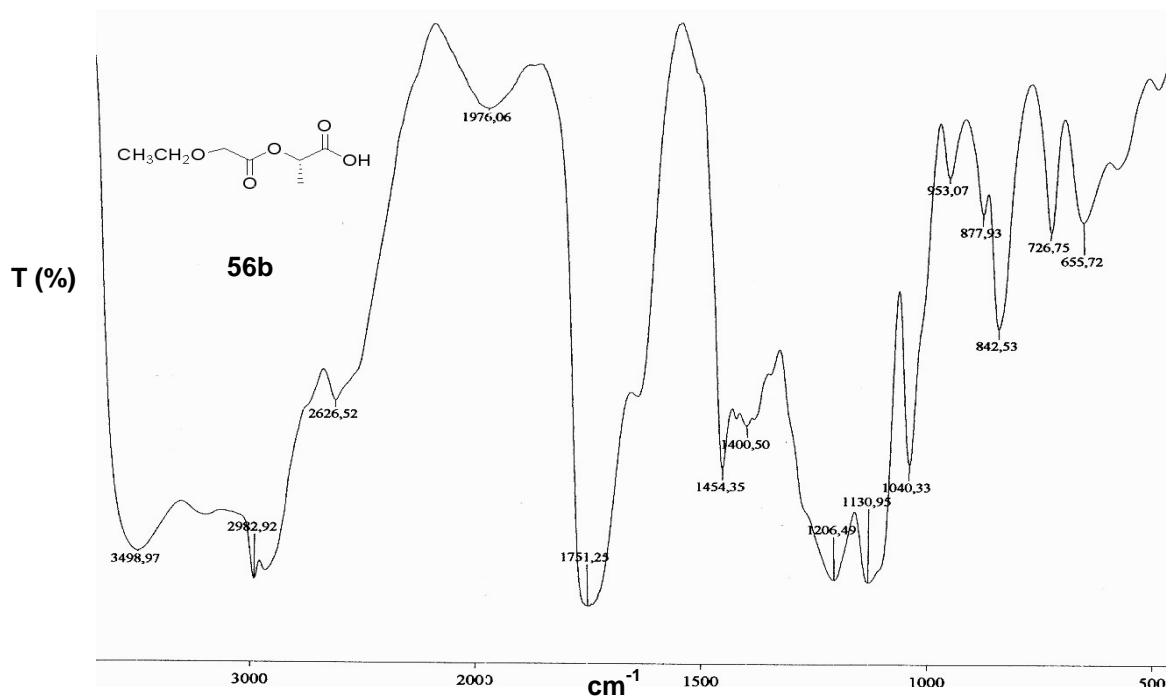
Espectro 32 - IV (KBr, cm^{-1}) para o derivado 51.



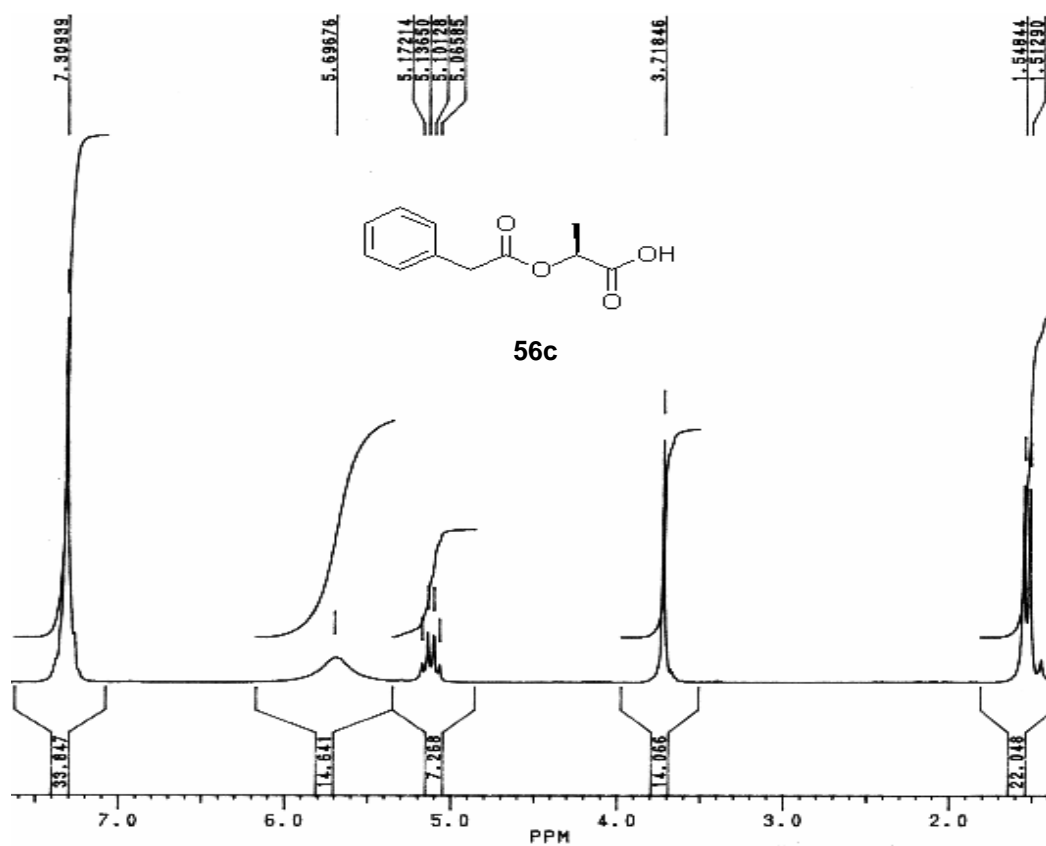
Espectro 33 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 56a.



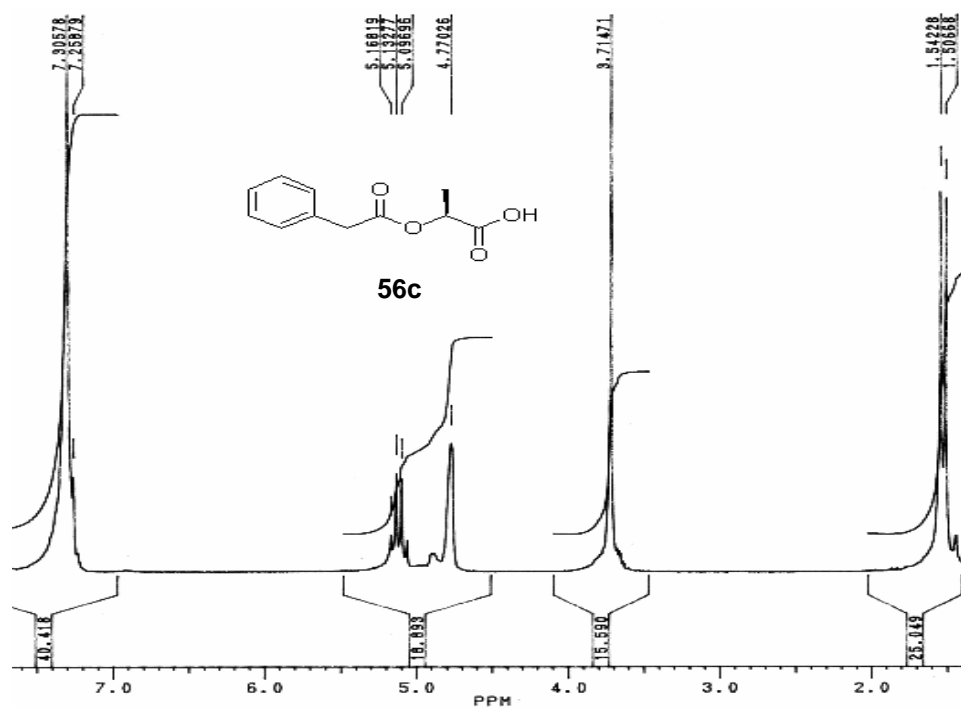
Espectro 34 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 56b.



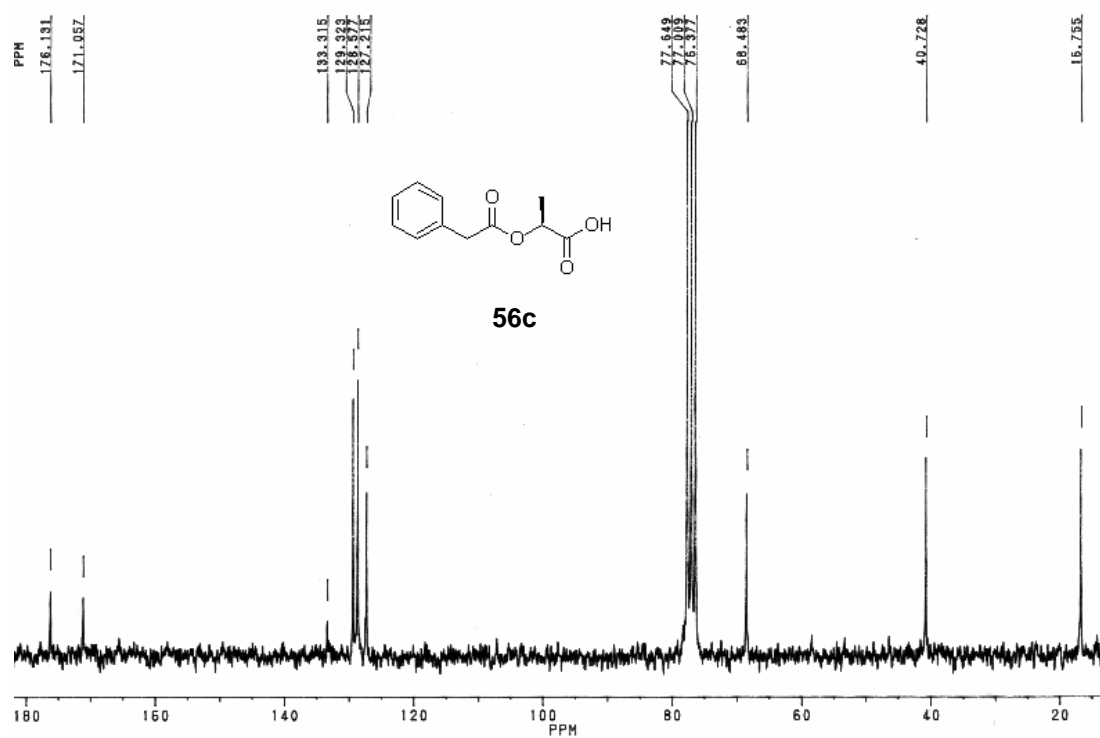
Espectro 35 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 56b.



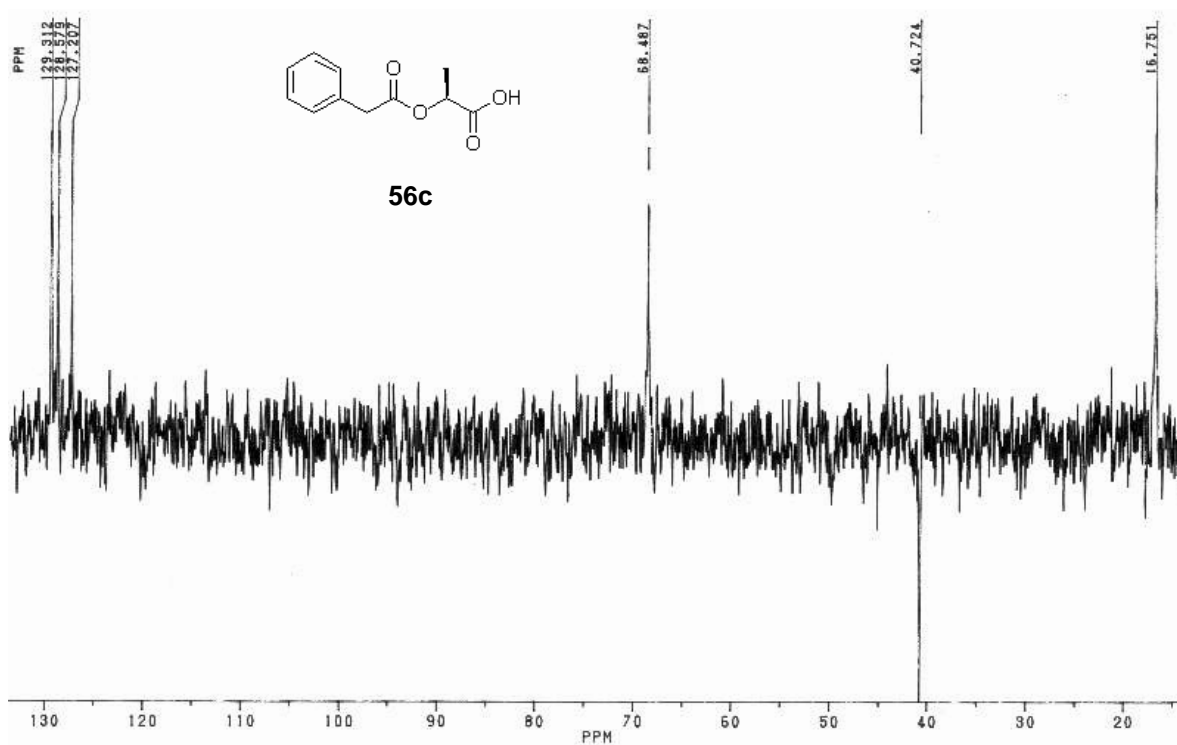
Espectro 36 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 56c.



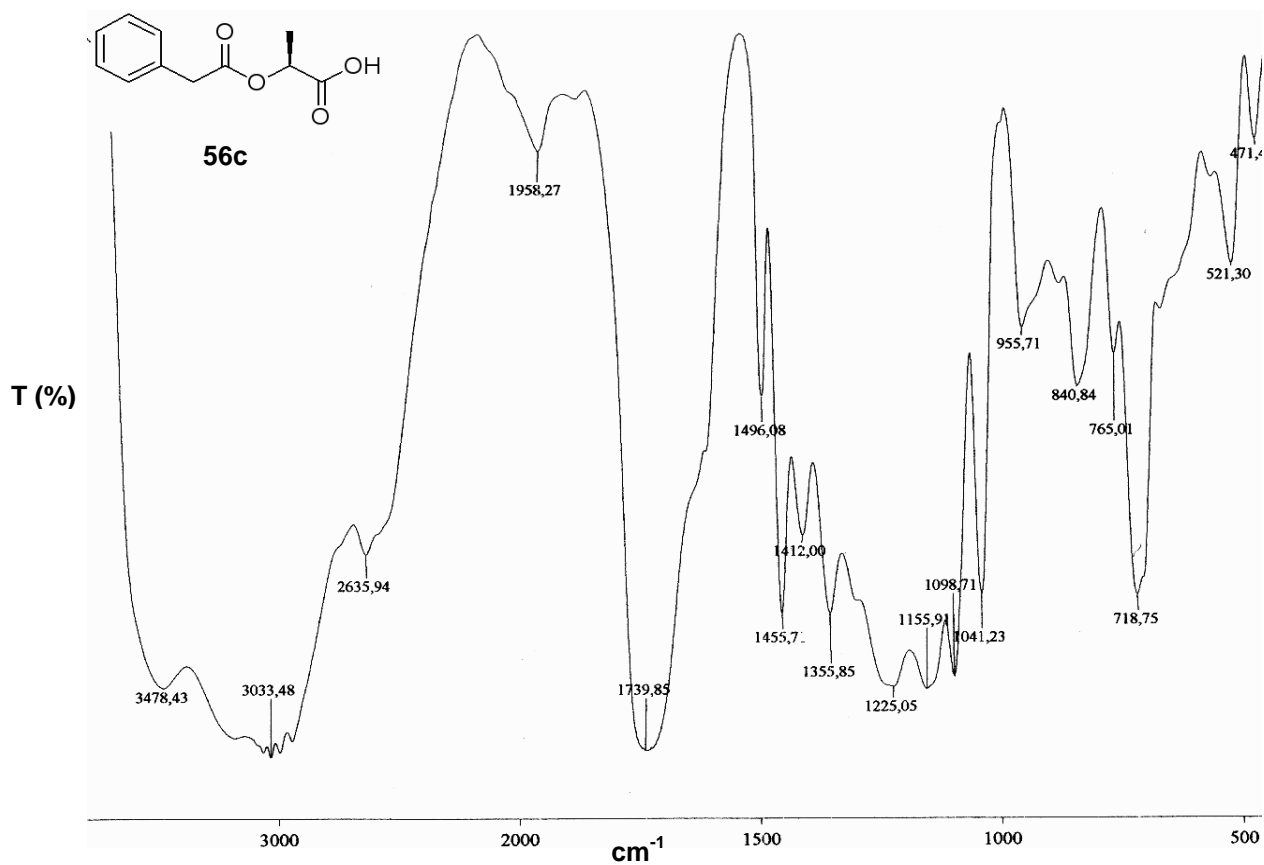
Espectro 37- RMN-¹H 200 MHz em D₂O para o derivado 56c.



Espectro 38 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 56c.

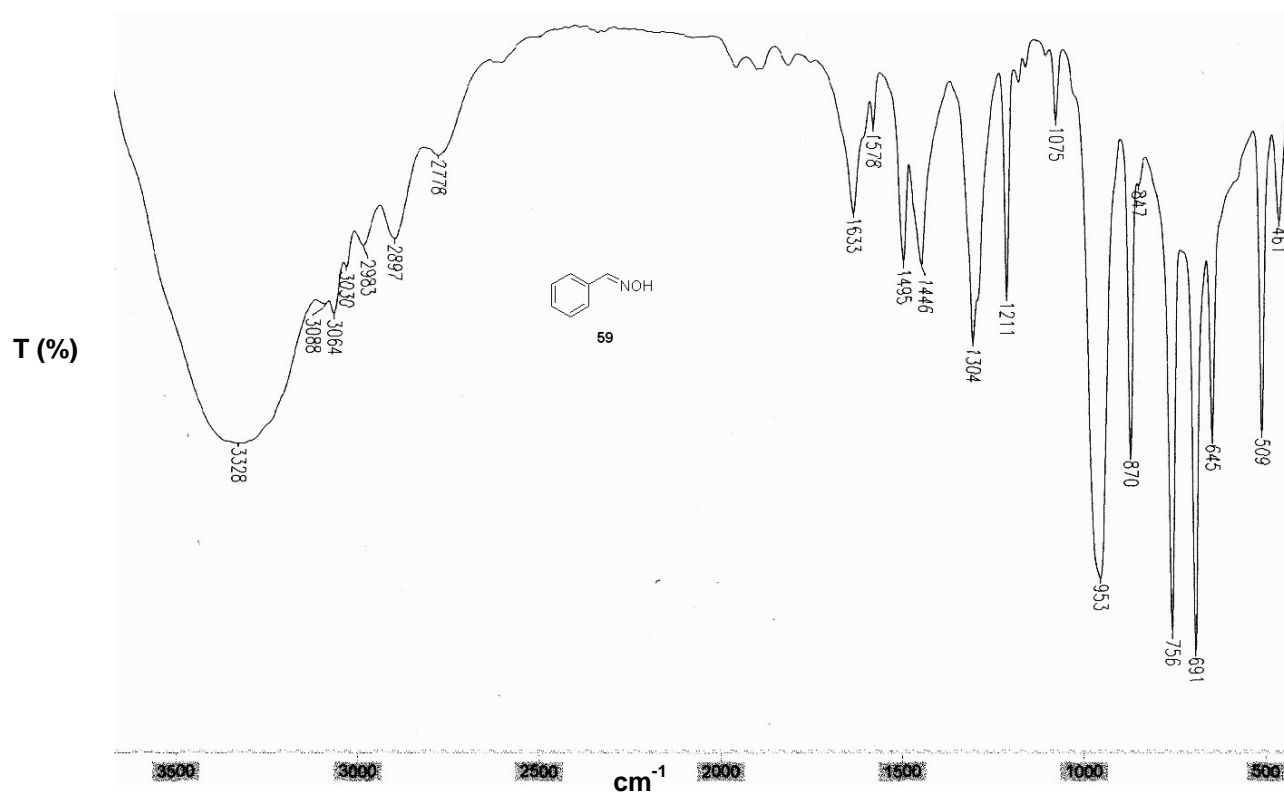


Espectro 39 - RMN-¹³C 50 MHz DEPT 90° em CDCl₃ para o derivado 56c.

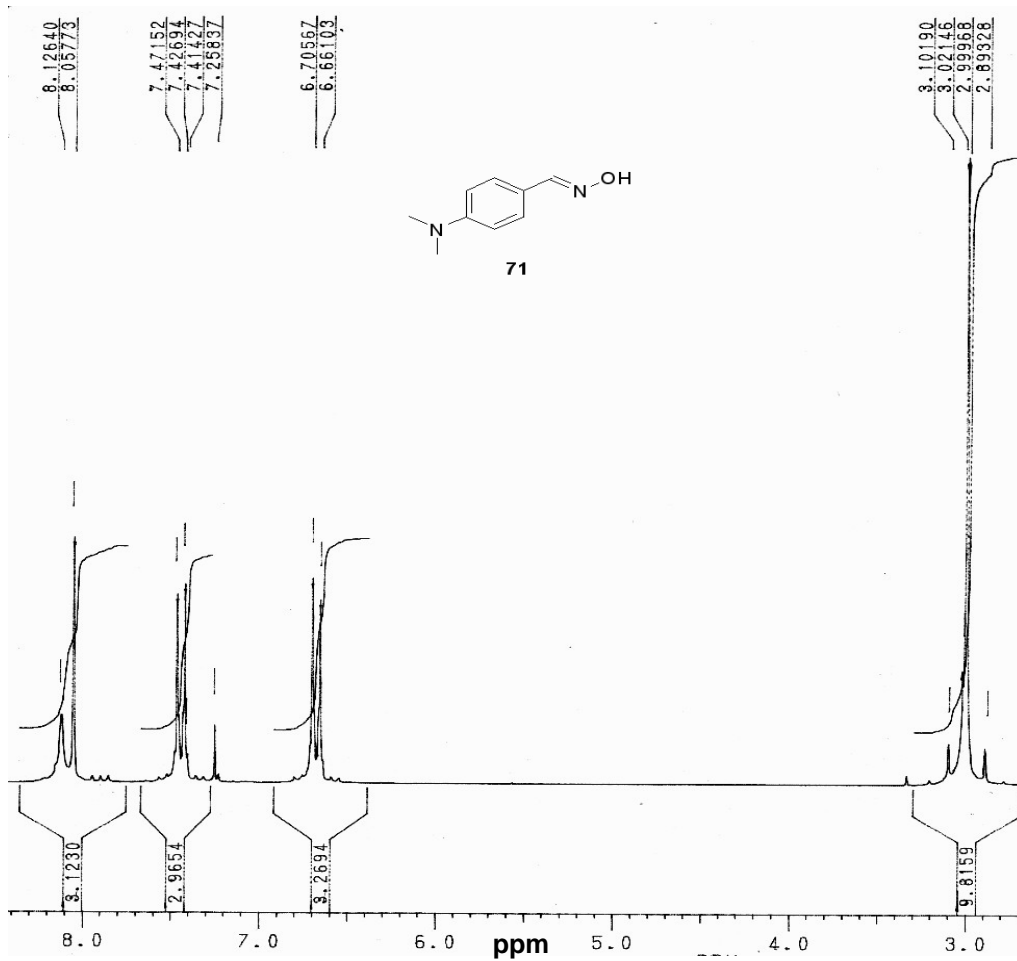


Espectro 40 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 56c.

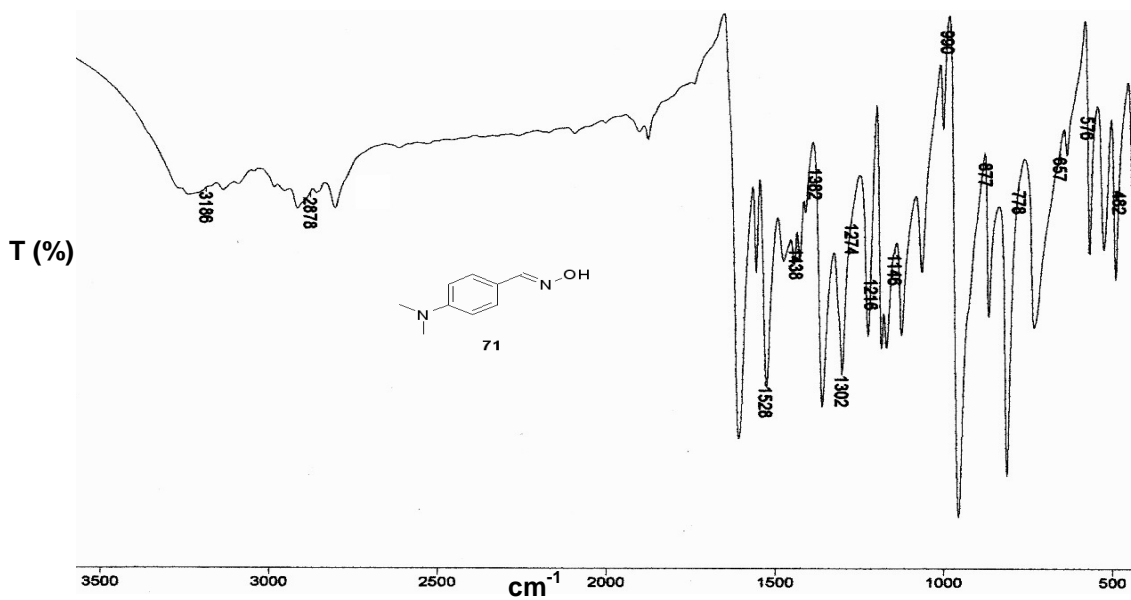
OXIMAS



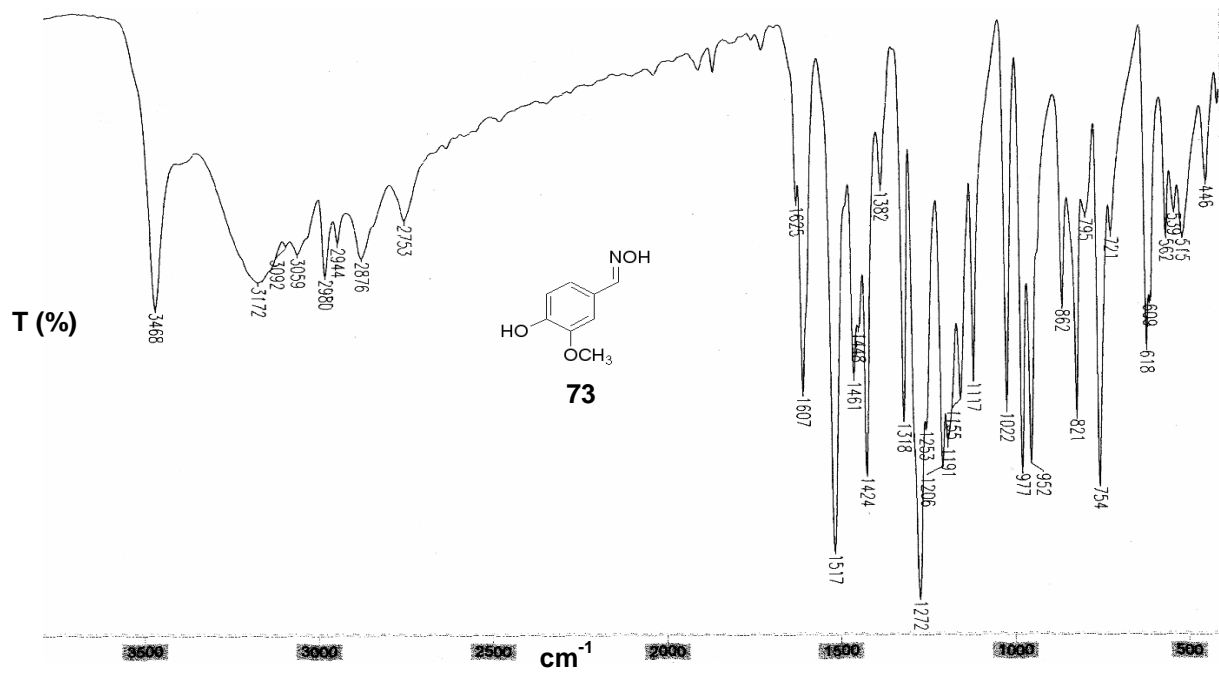
Espectro 41 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 59.



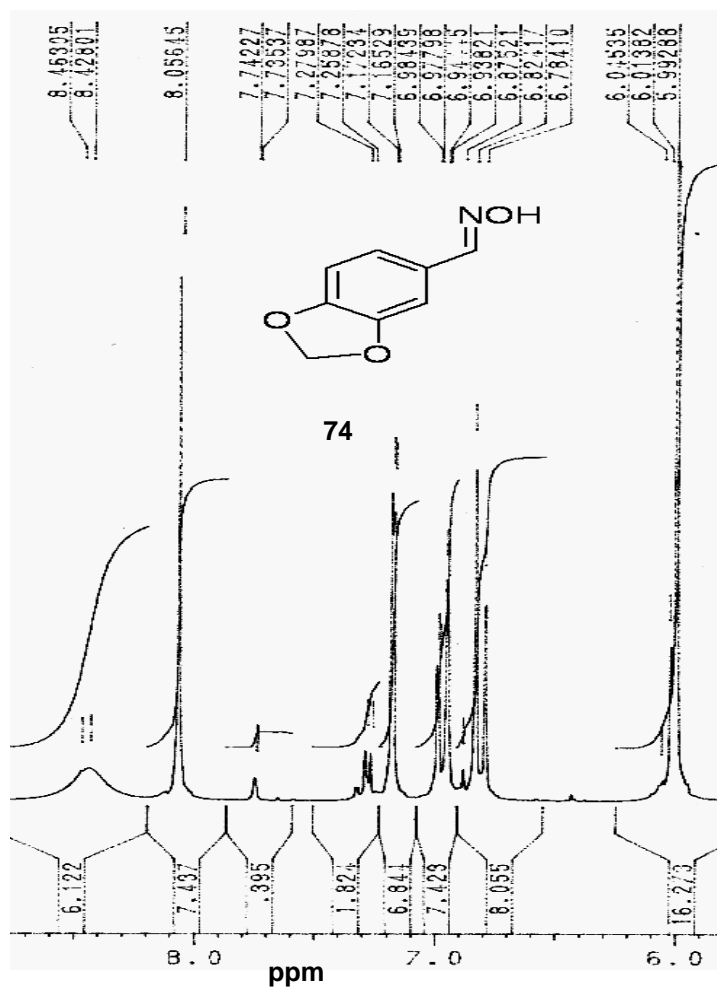
Espectro 42- RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 71.



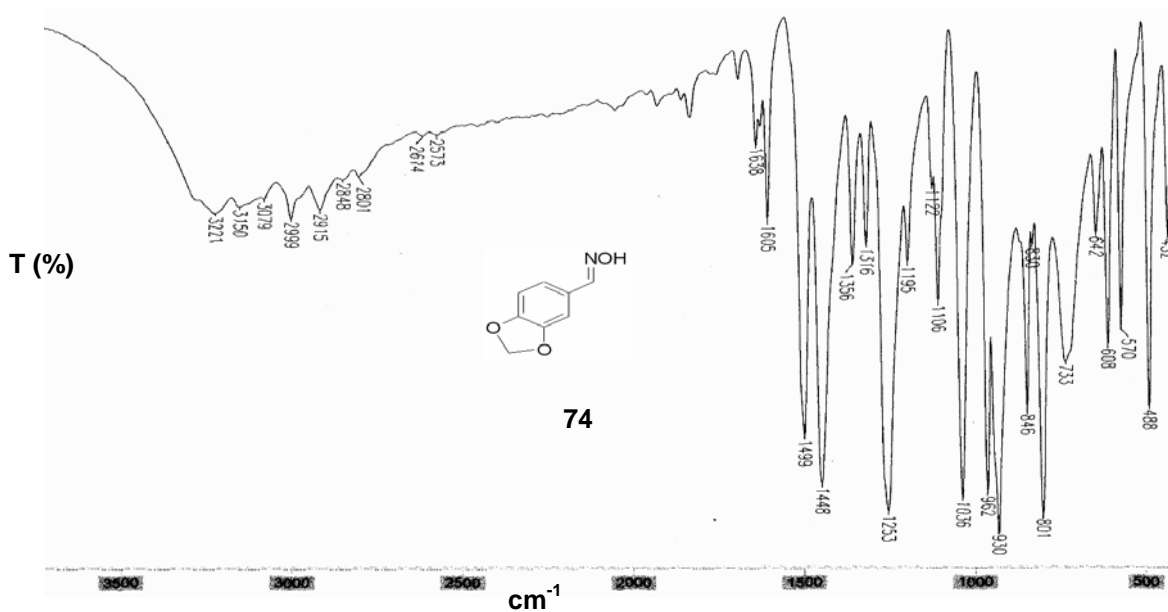
Espectro 43 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 71.



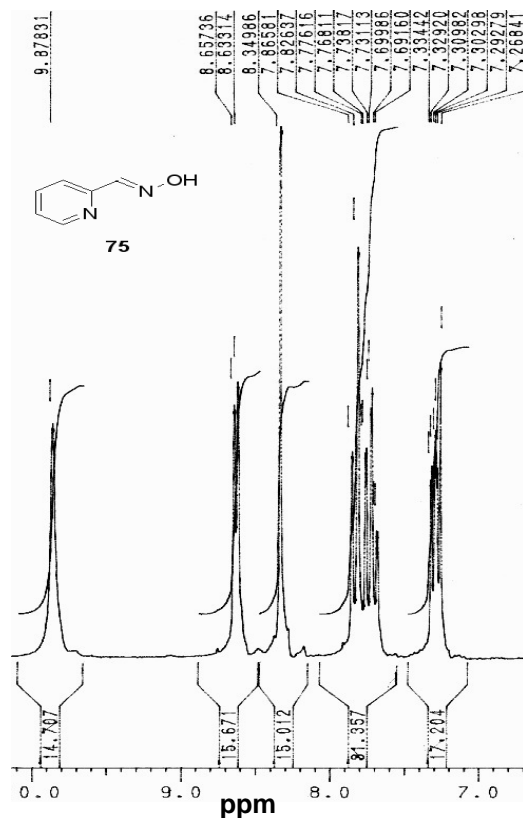
Espectro 46 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 73.



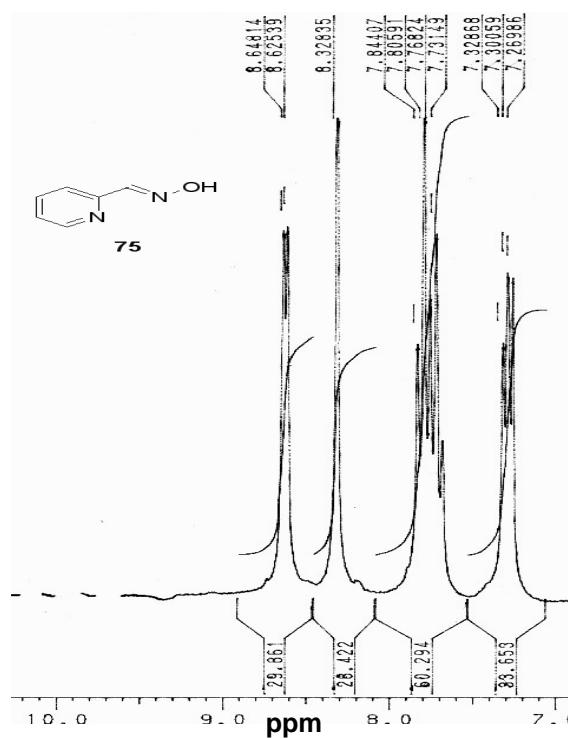
Espectro 47 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 74.



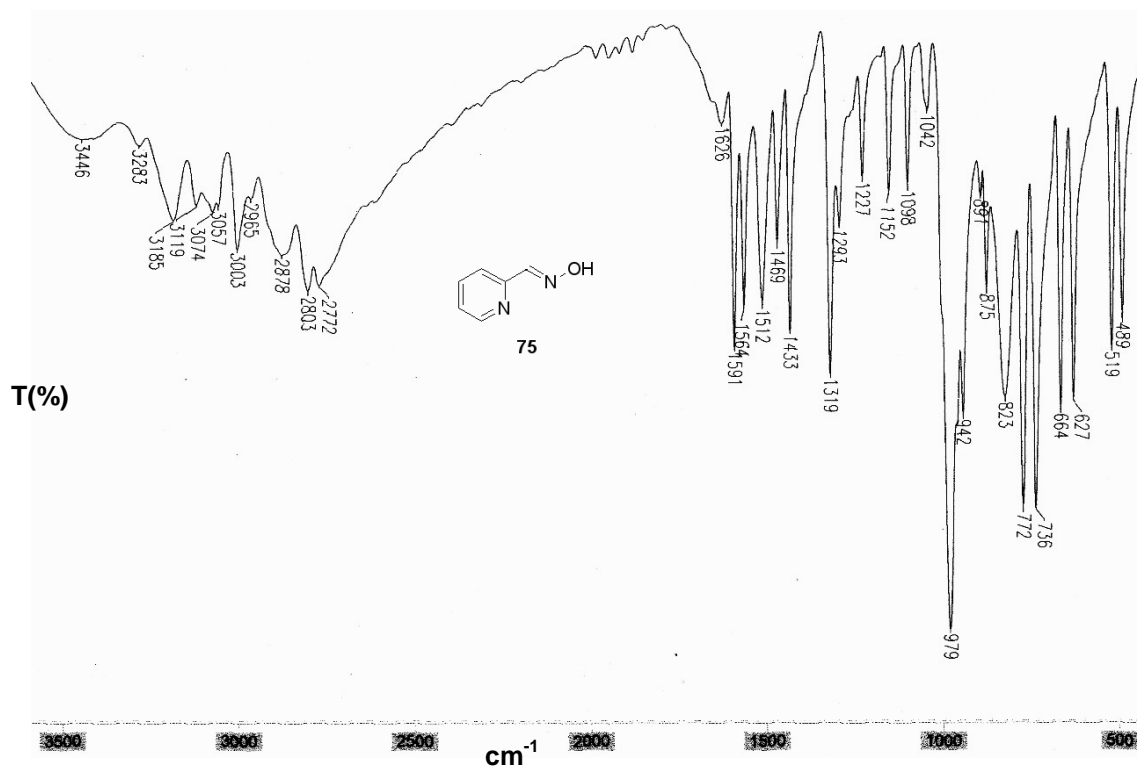
Espectro 48 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 74.



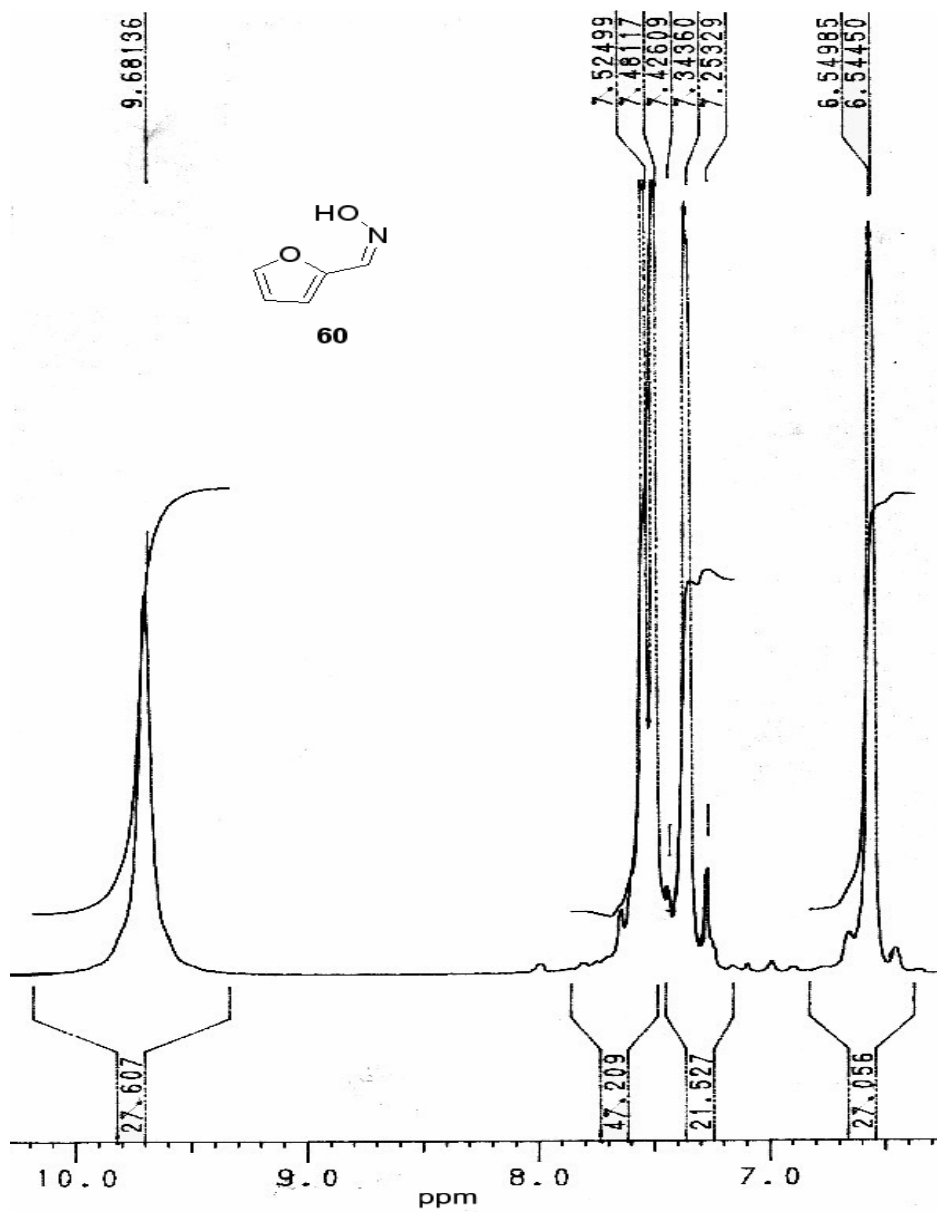
Espectro 49 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 75.



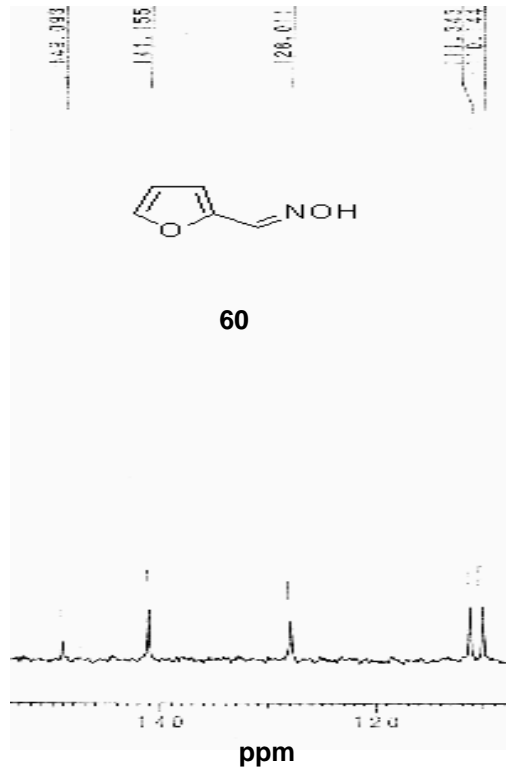
Espectro 50 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃/D₂O para o derivado 75.



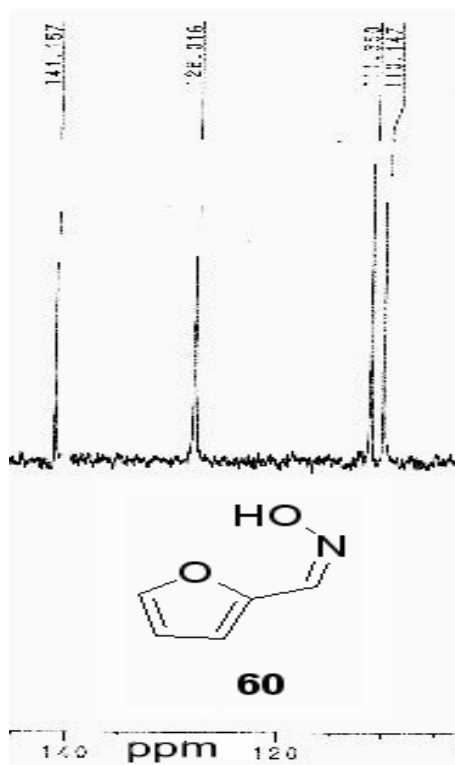
Espectro 51 - IV (KBr, cm^{-1}) para o derivado 75.



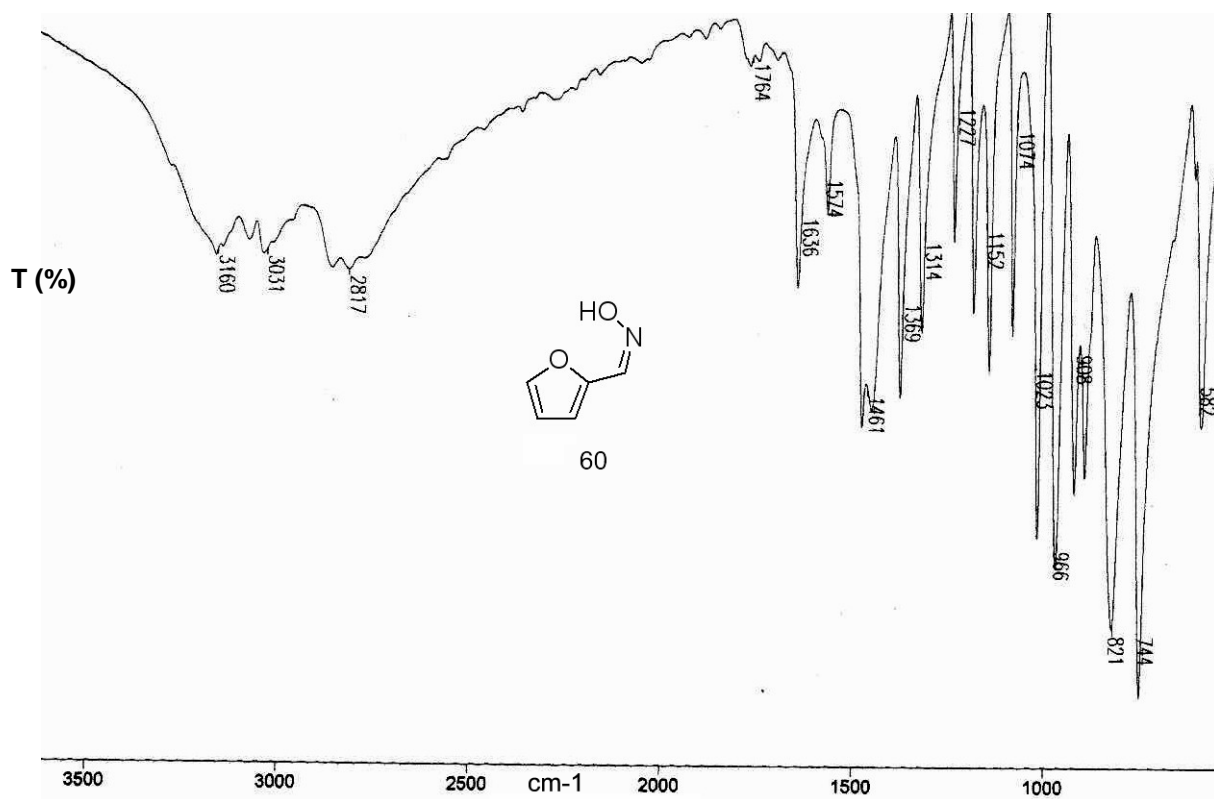
Espectro 52 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 60.



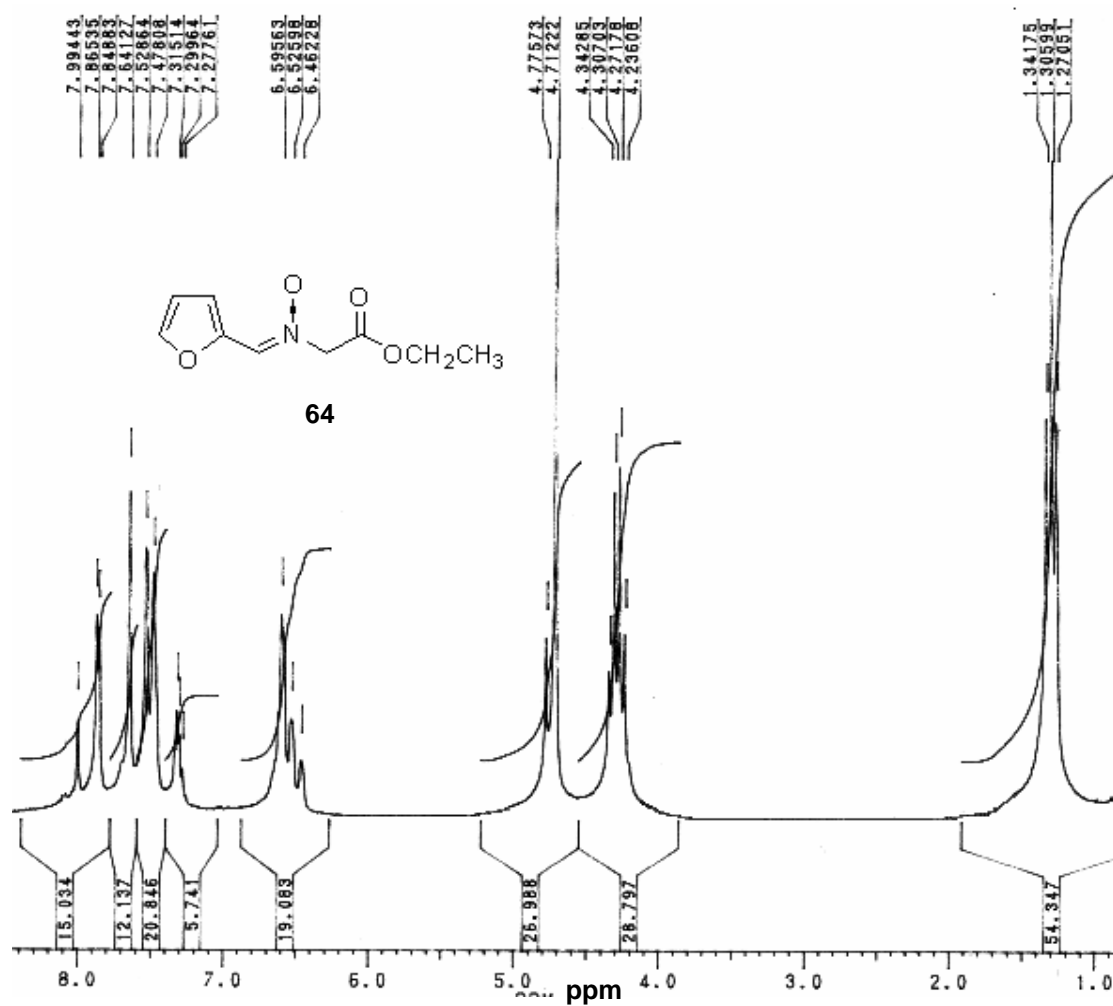
Espectro 53 - RMN-¹³C 50 MHz em CD₃OD para o derivado 60.



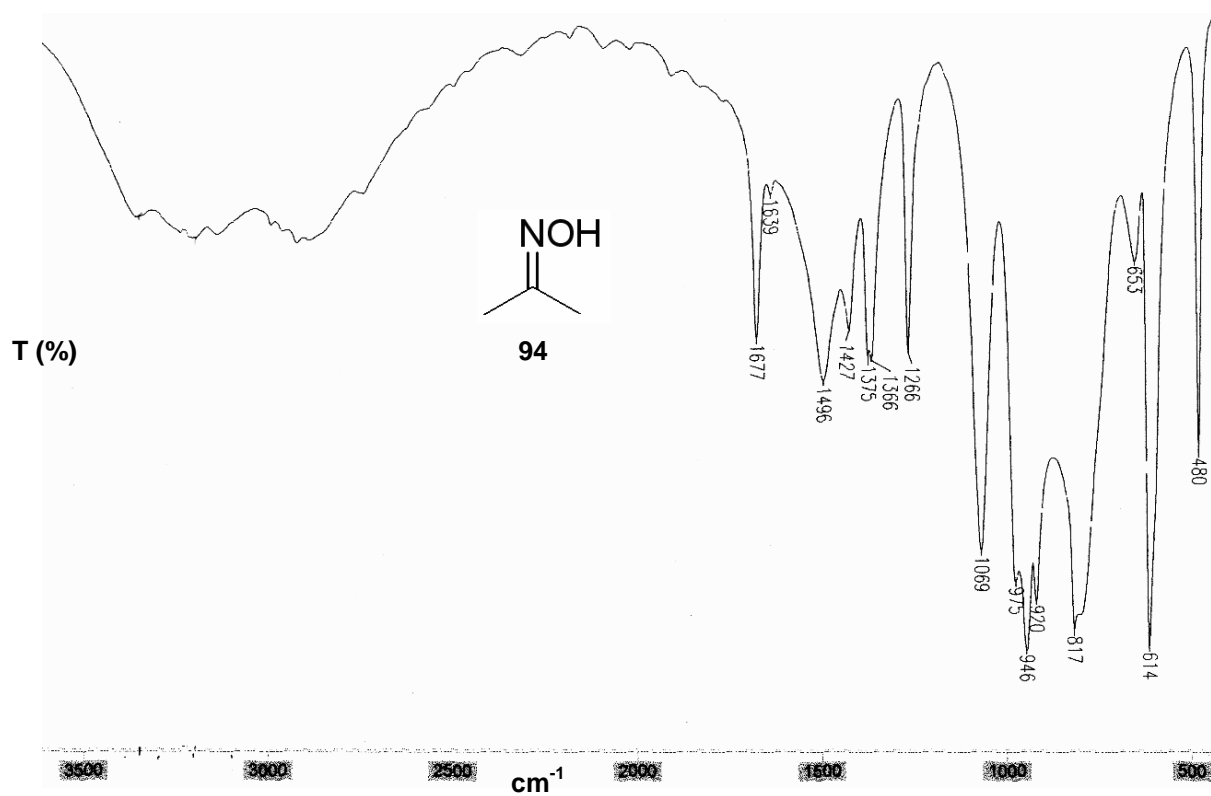
Espectro 54 - RMN-¹³C 50 MHz Dept 90° em CD₃OD para o derivado 60.



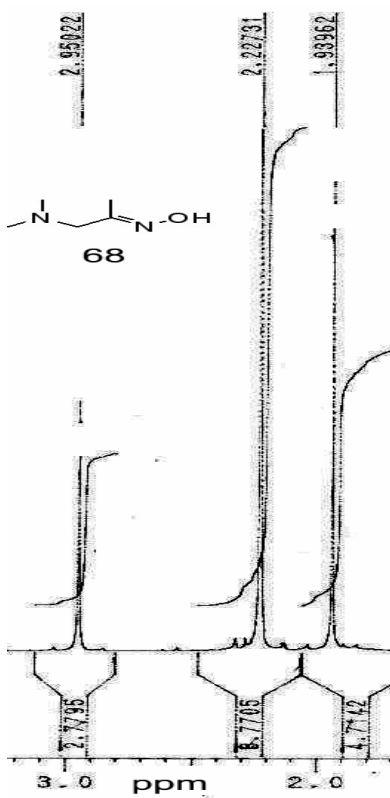
Espectro 55 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 60.



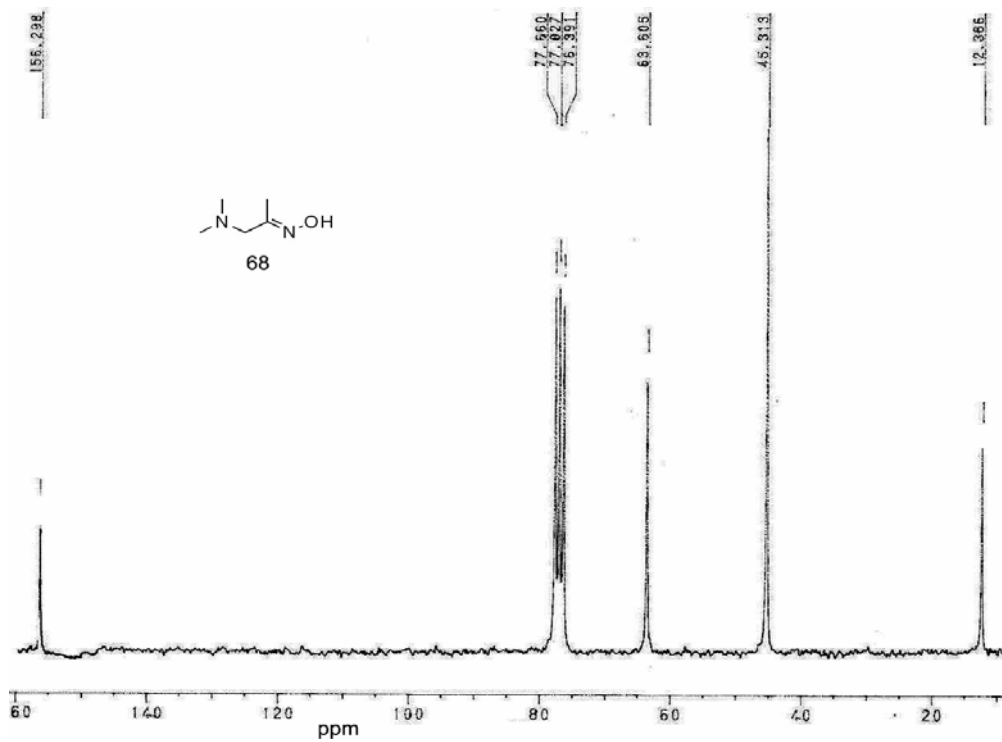
Espectro 56 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 64.



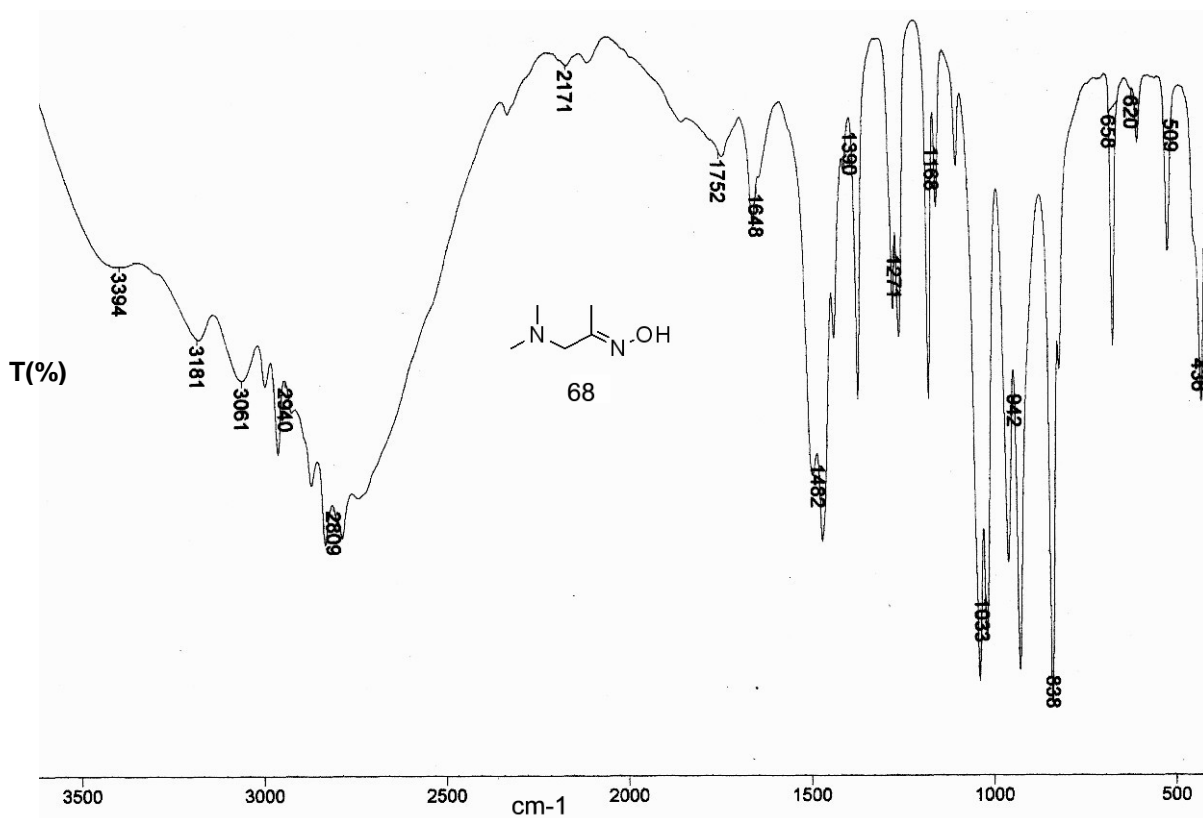
Espectro 57 - IV (KBr, cm^{-1}) para o derivado 94.



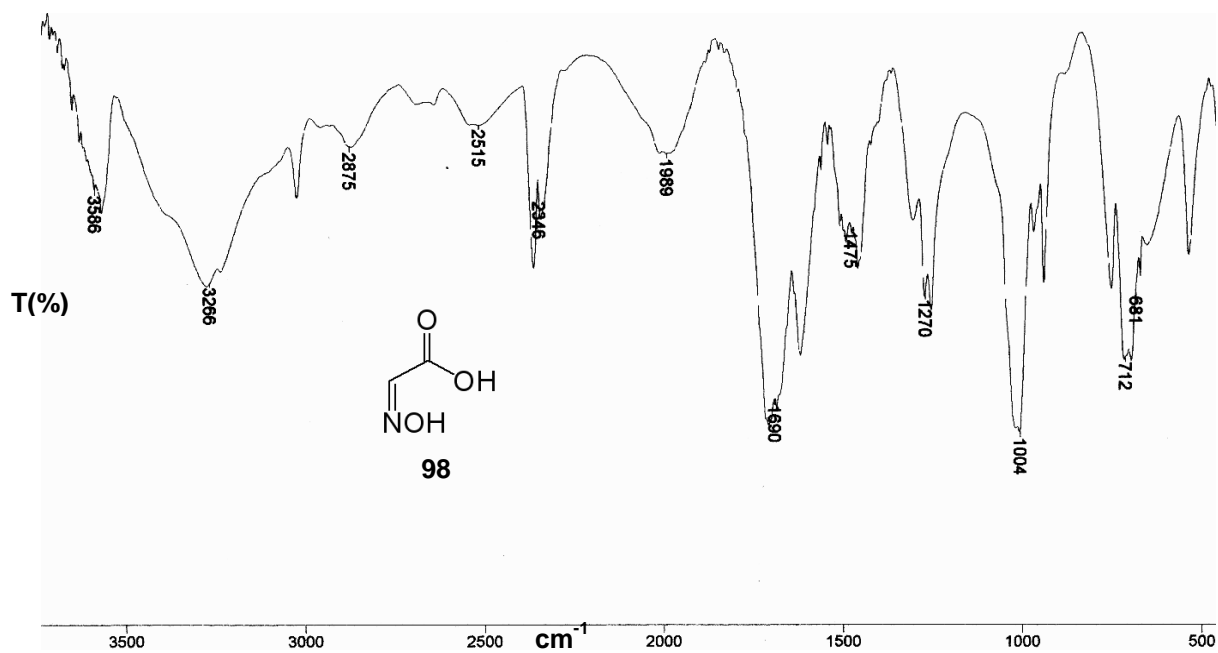
Espectro 58 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 68



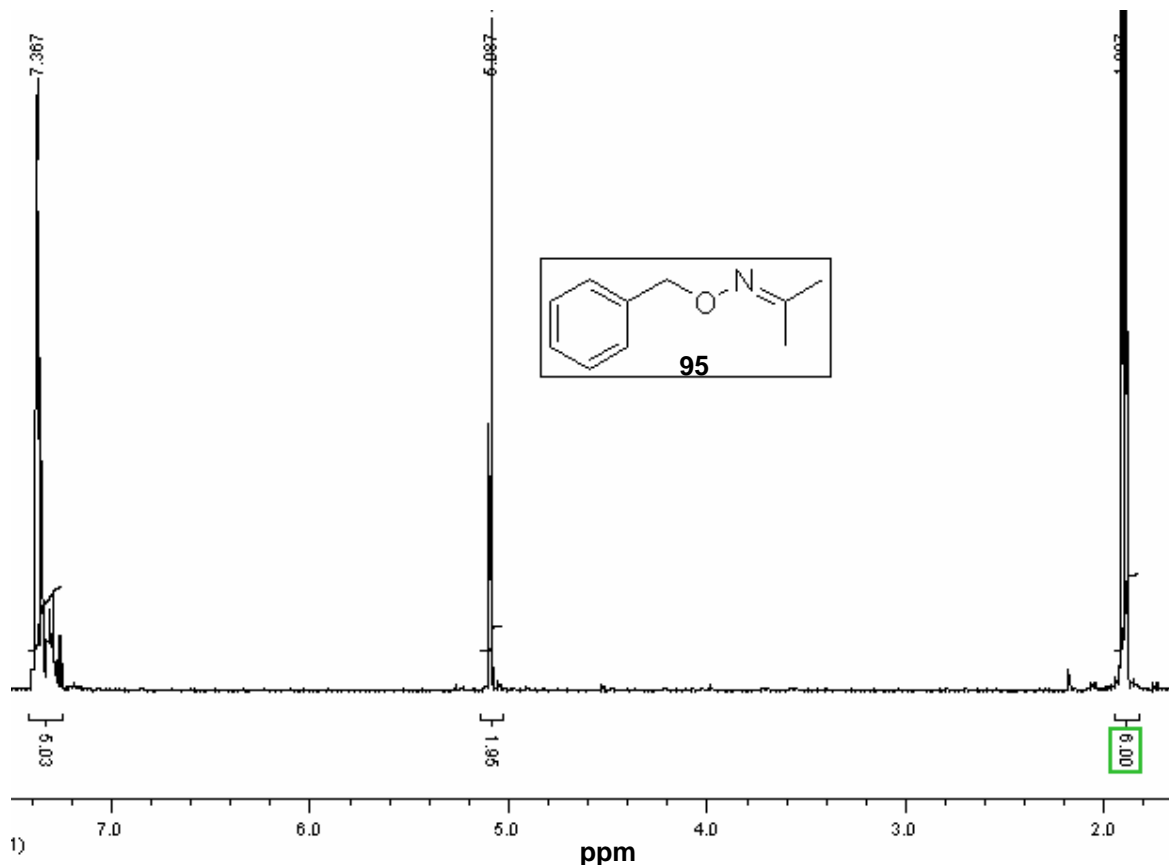
Espectro 59 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado



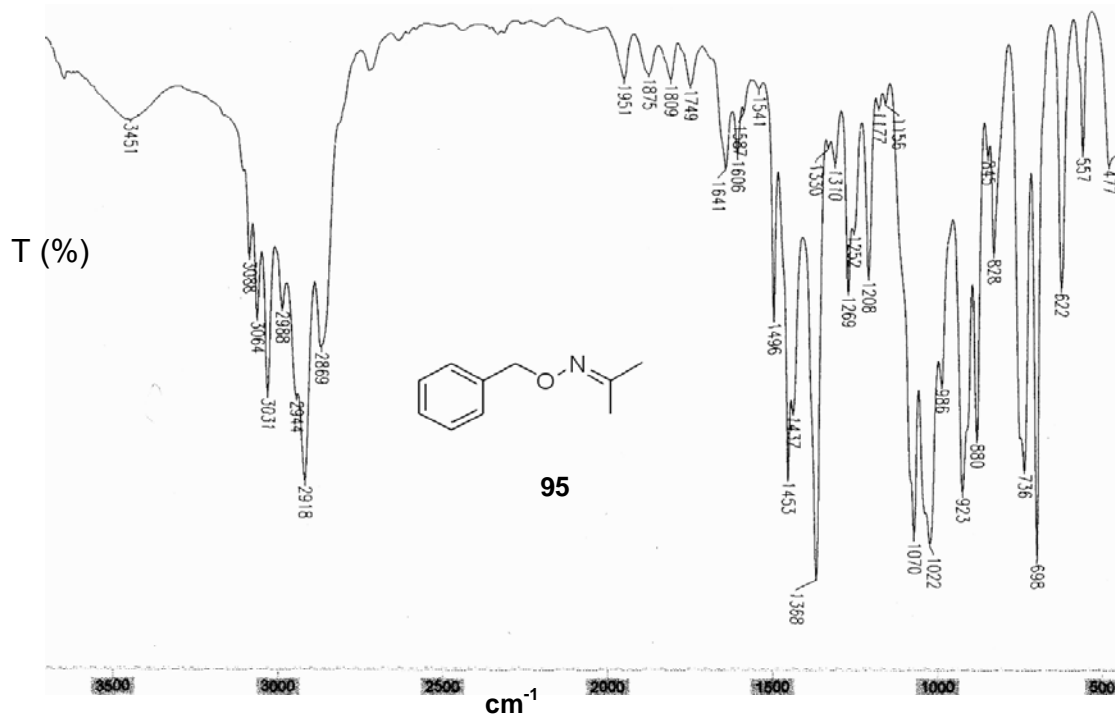
Espectro 60 - IV (KBr , cm^{-1}) para o derivado 68.



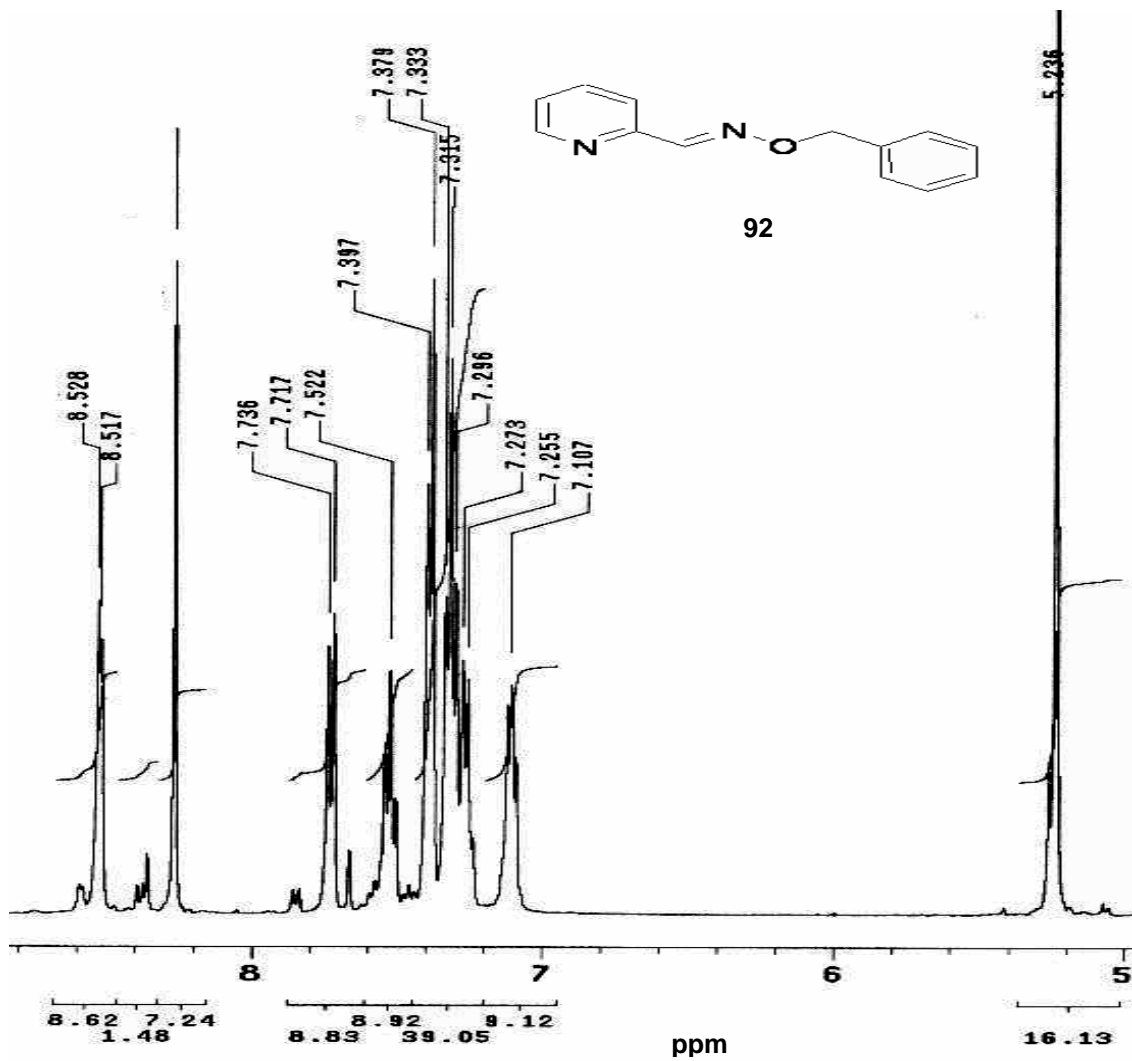
Espectro 61 - IV (KBr, cm^{-1}) para o derivado 98.



Espectro 62 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 95.

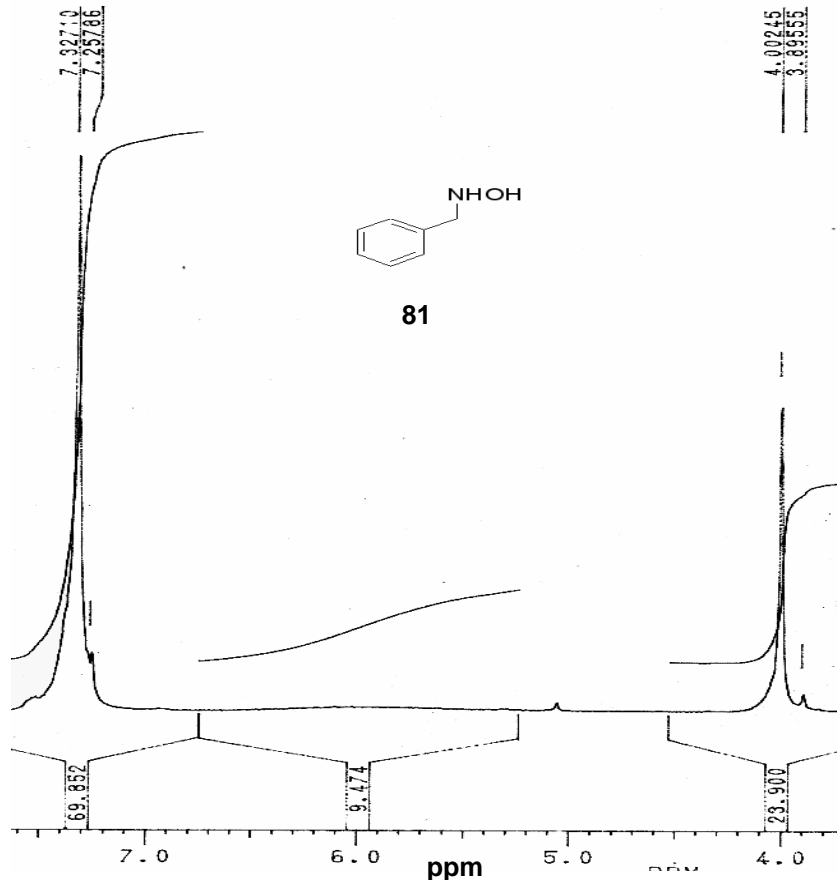


Espectro 63 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 95.

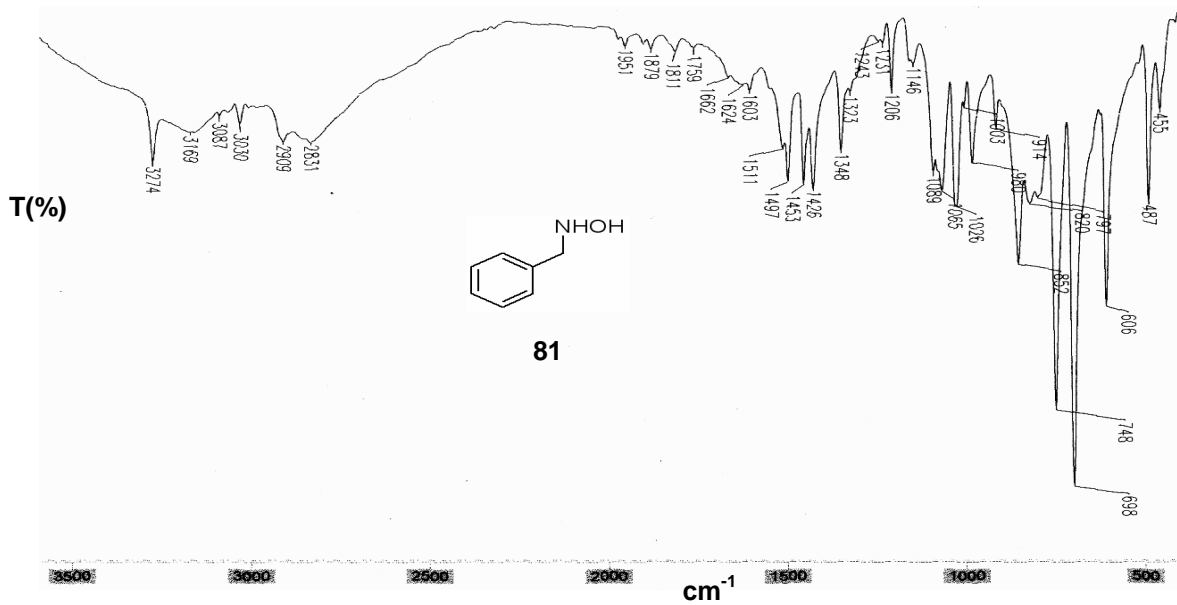


Espectro 64 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 92.

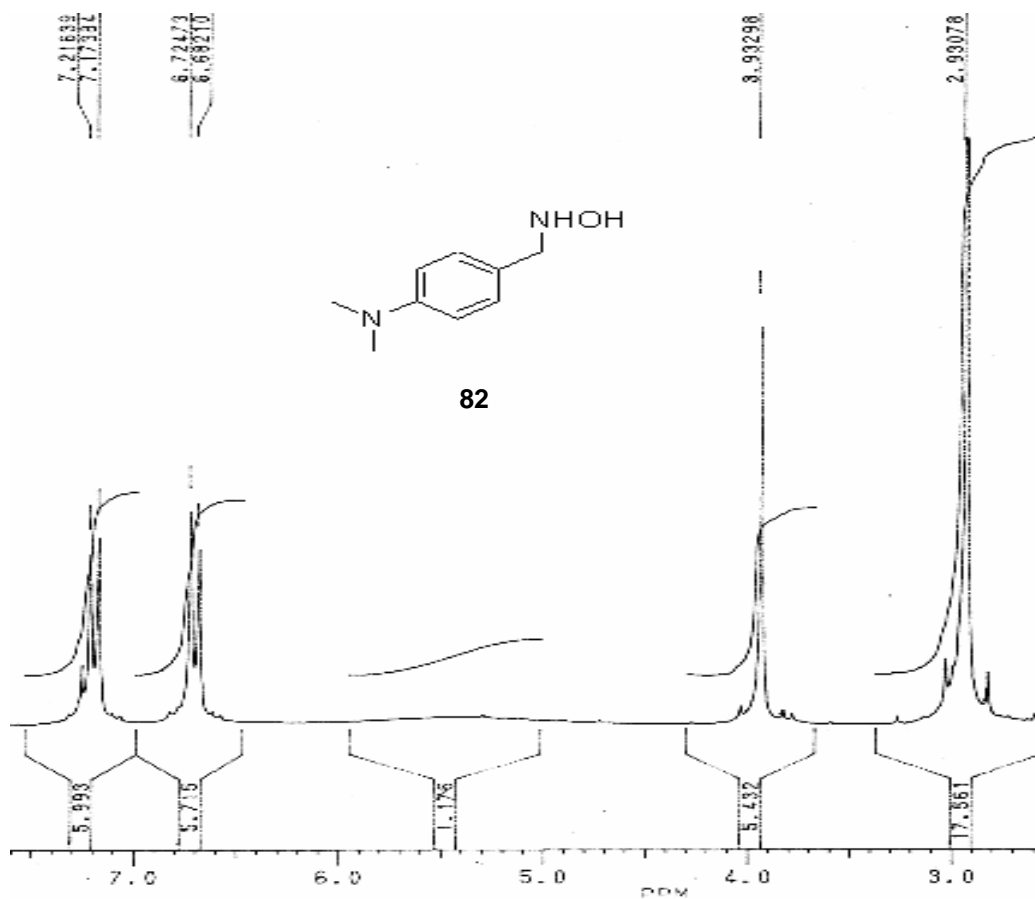
HIDROXILAMINAS



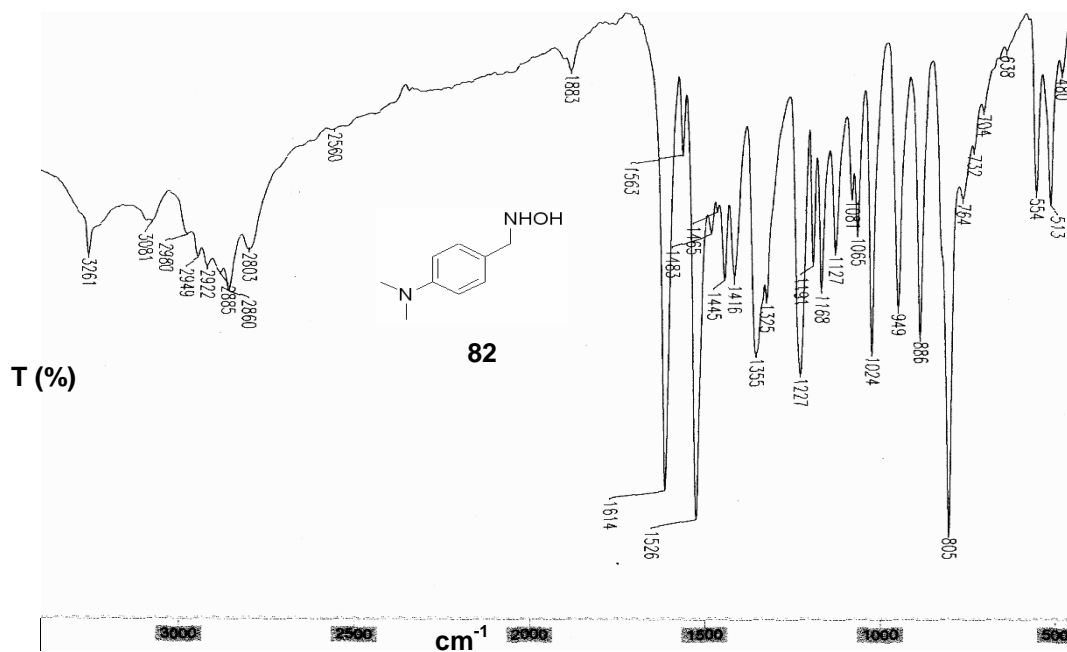
Espectro 65 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 81.



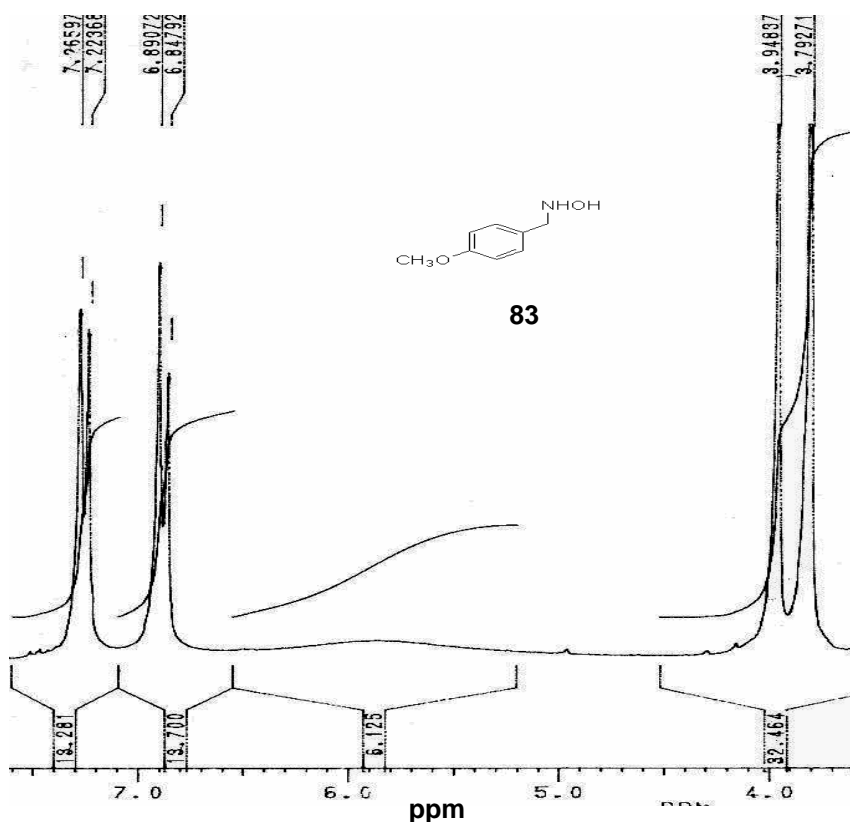
Espectro 66 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 81.



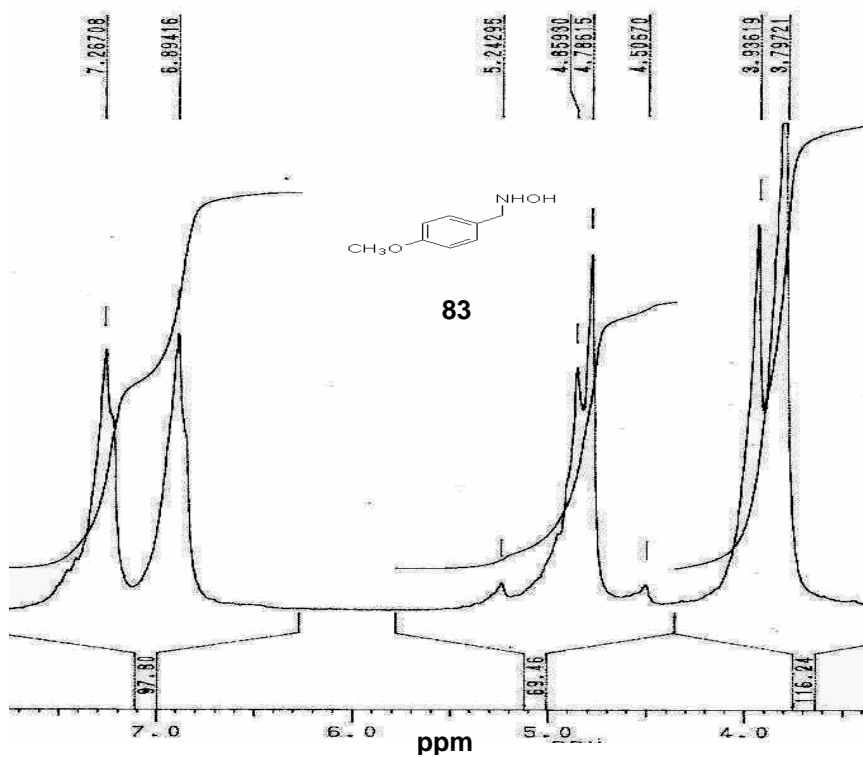
Espectro 67 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 82.



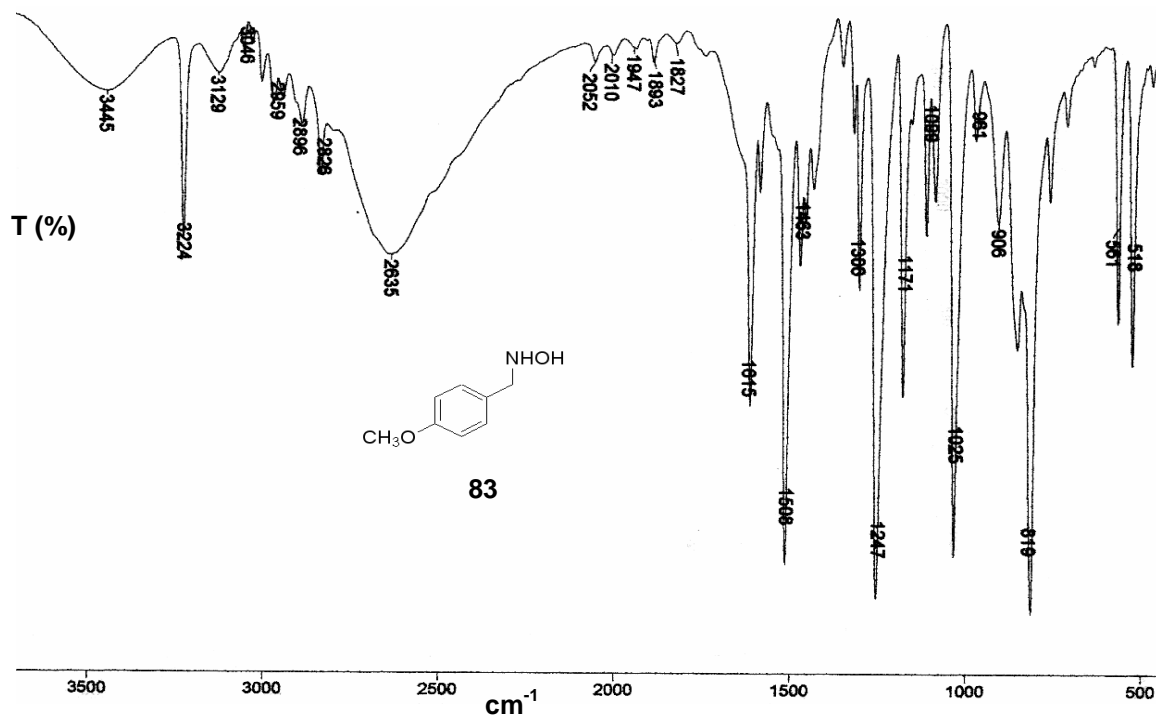
Espectro 68 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 82.



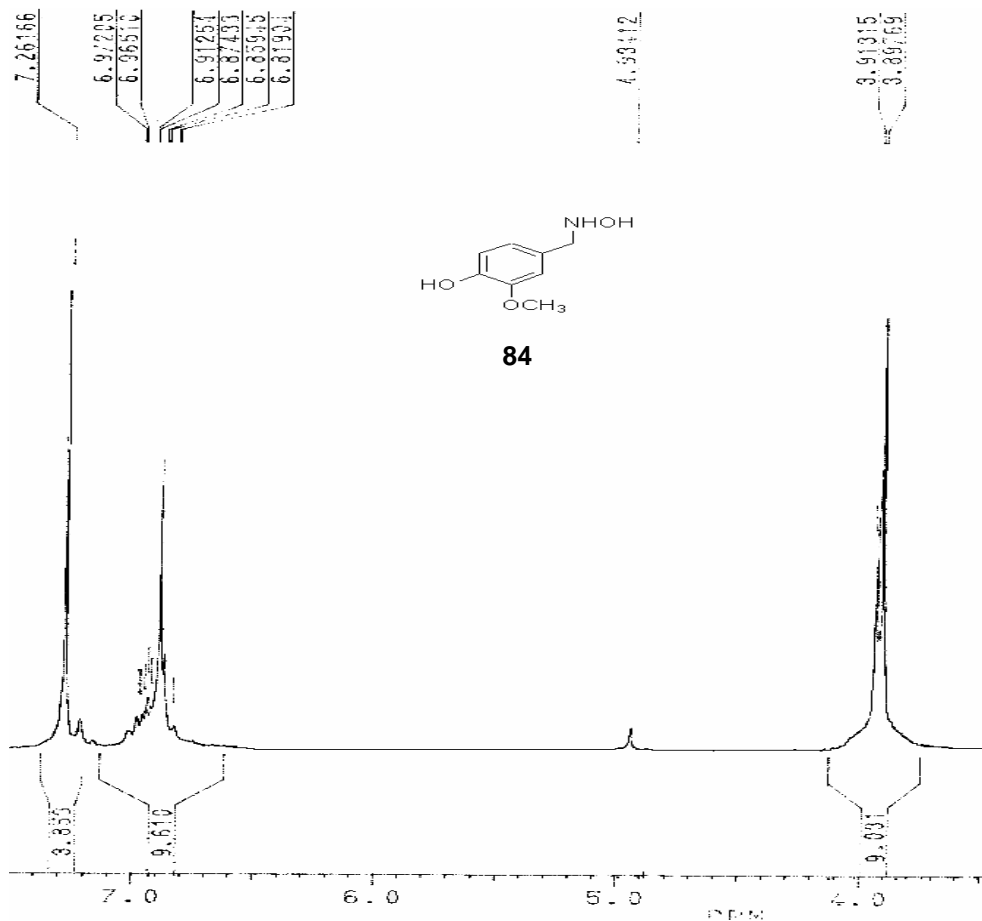
Espectro 69 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 83.



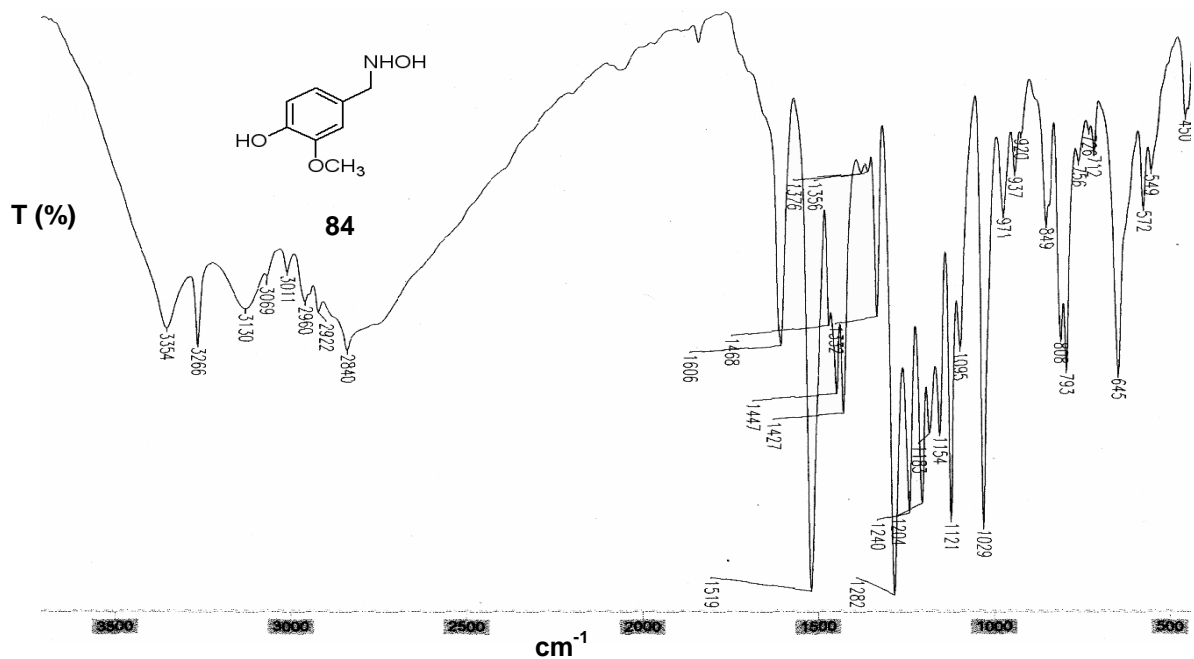
Espectro 70 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃/D₂O para o derivado 83.



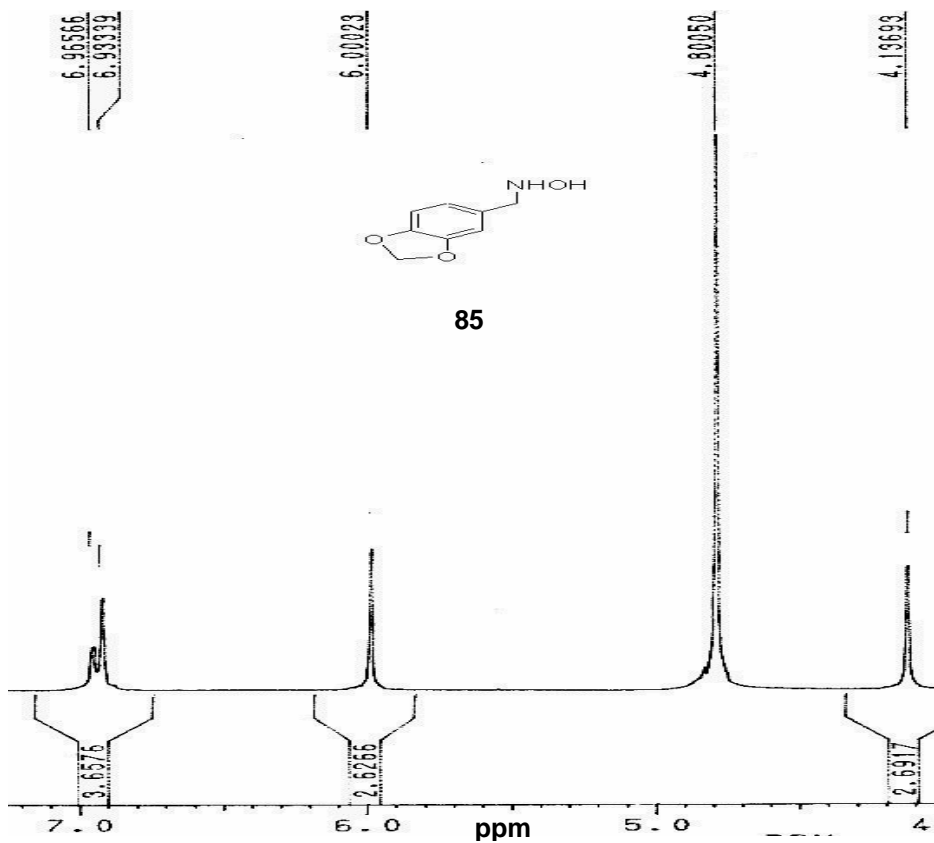
Espectro 71 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 83.



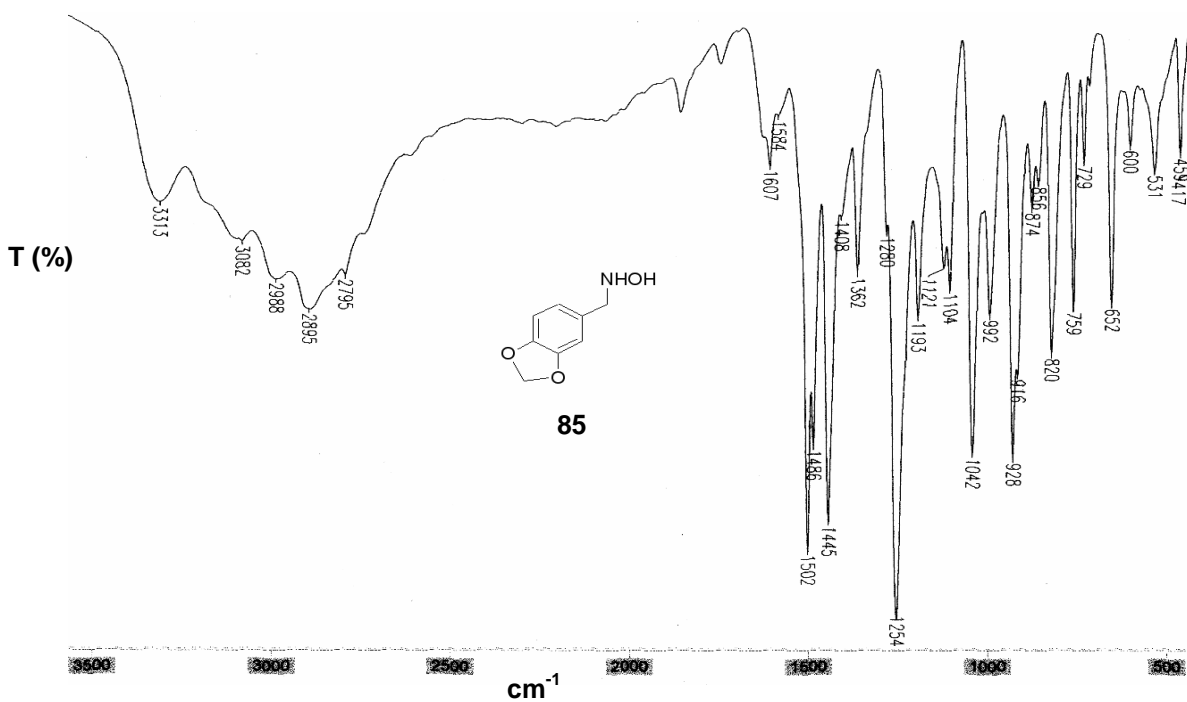
Espectro 72 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 84.



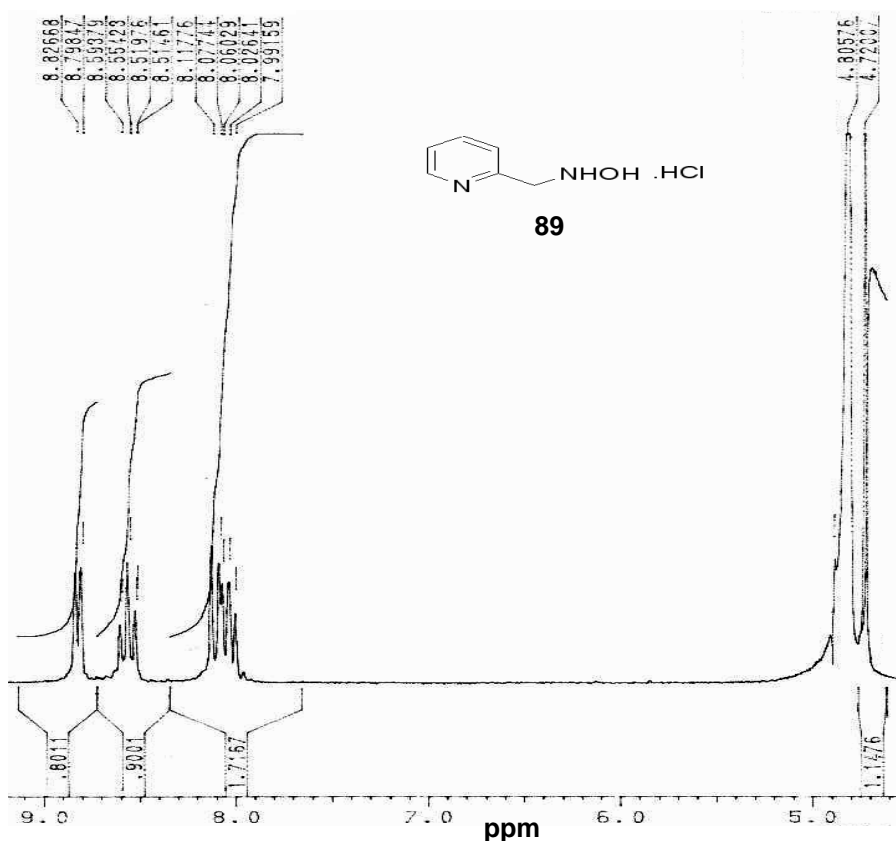
Espectro 73 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 84.



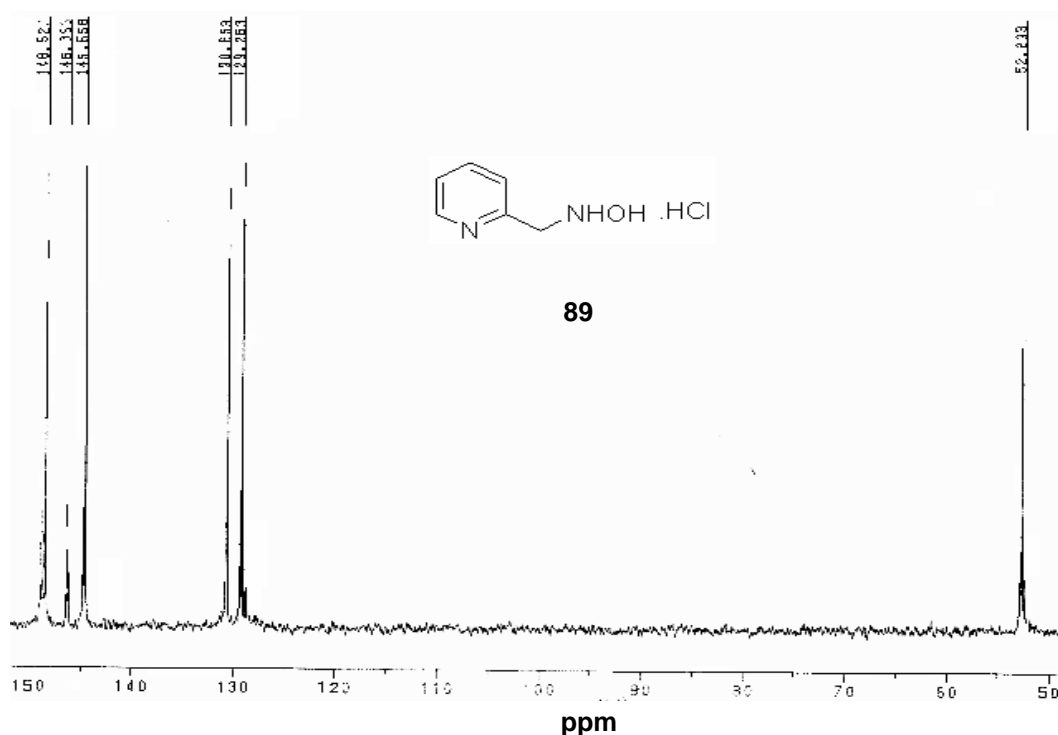
Espectro 74 - RMN-¹H 200 MHz em D₂O para o derivado 85.



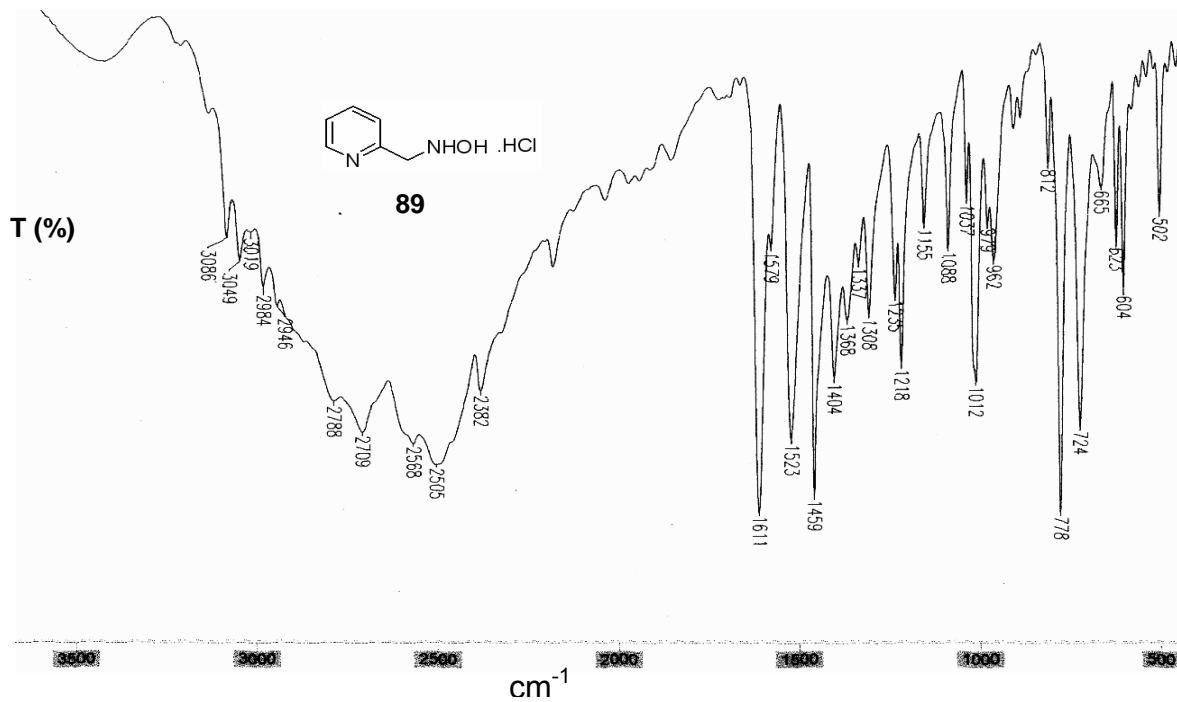
Espectro 75 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 85.



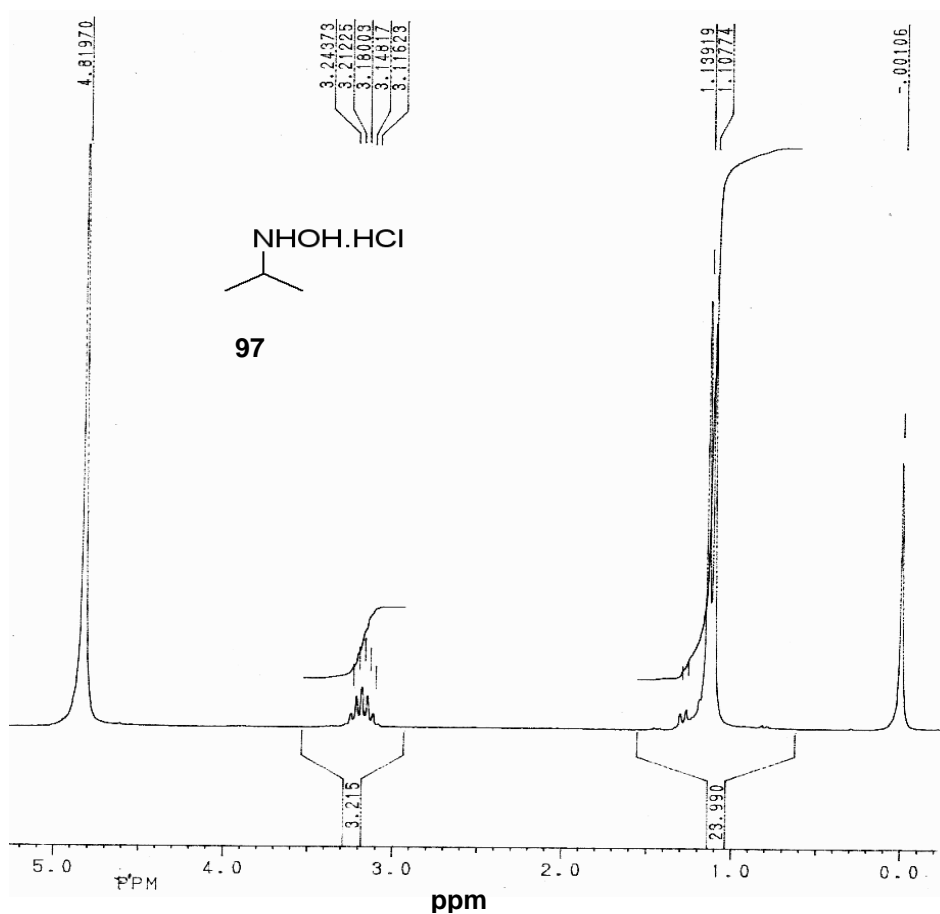
Espectro 76 - RMN-¹H 200 MHz em D₂O para o derivado 89.



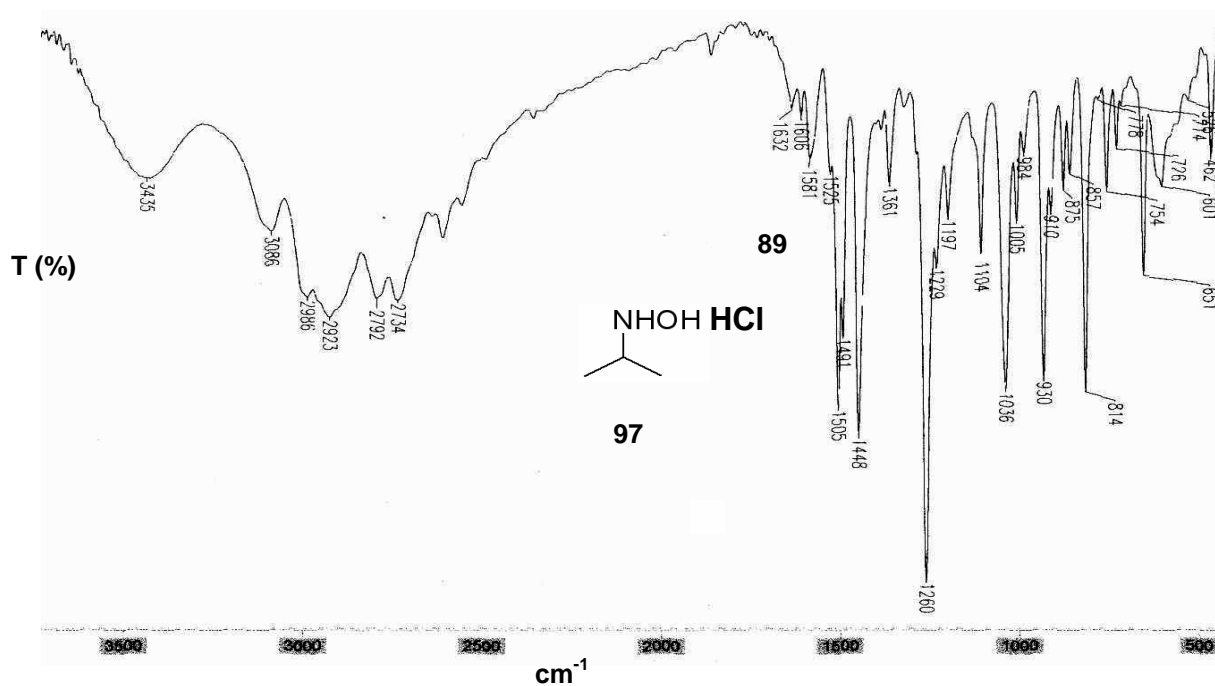
Espectro 77 - RMN-¹³C 50 MHz em CDCl₃ para o derivado 89.



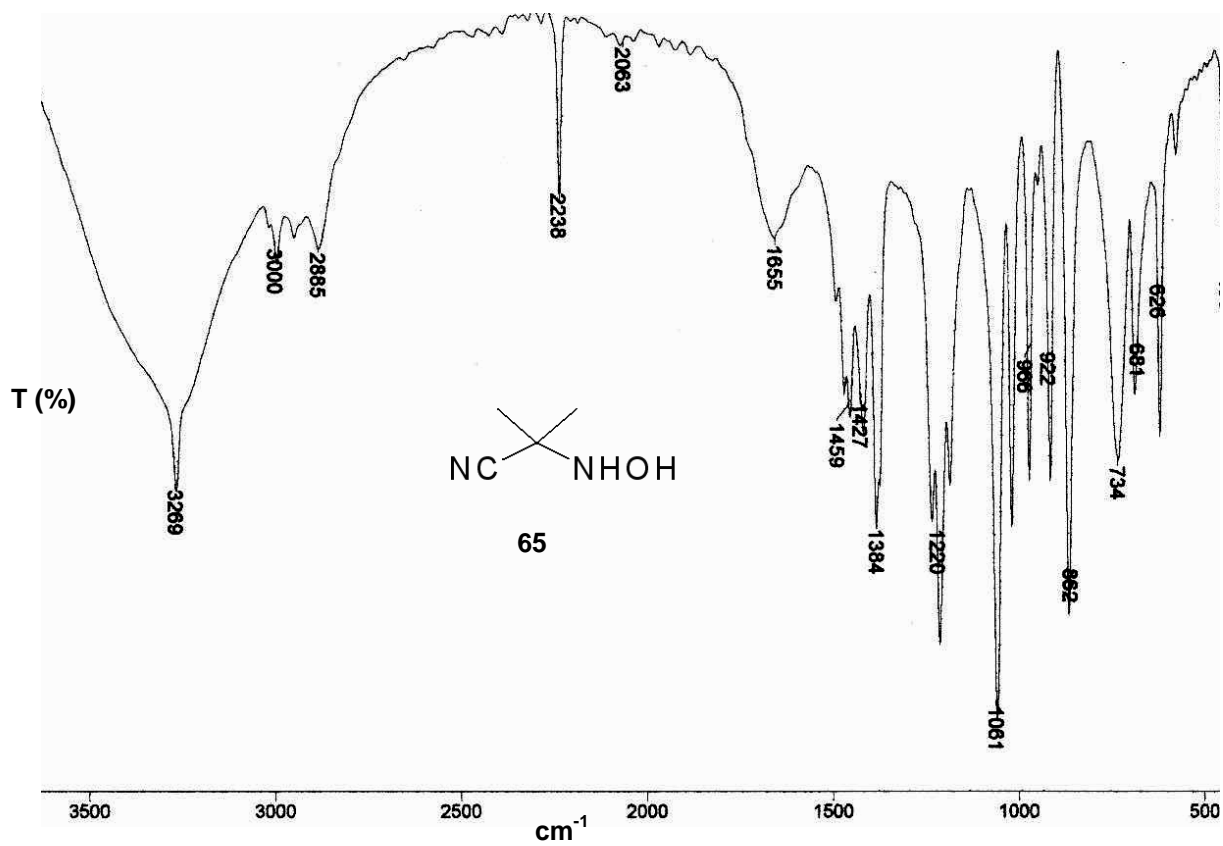
Espectro 78 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 89.



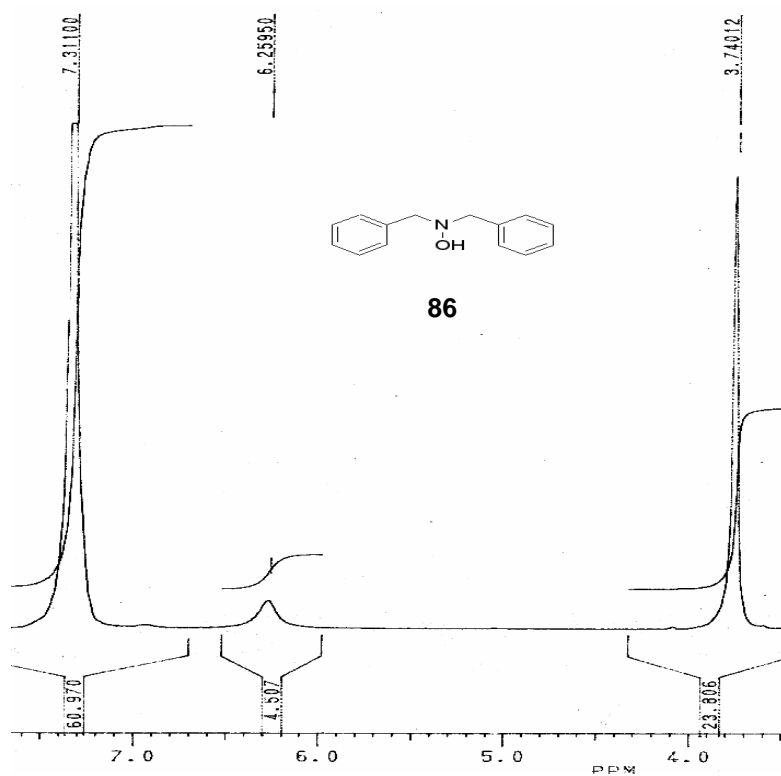
Espectro 79 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 97.



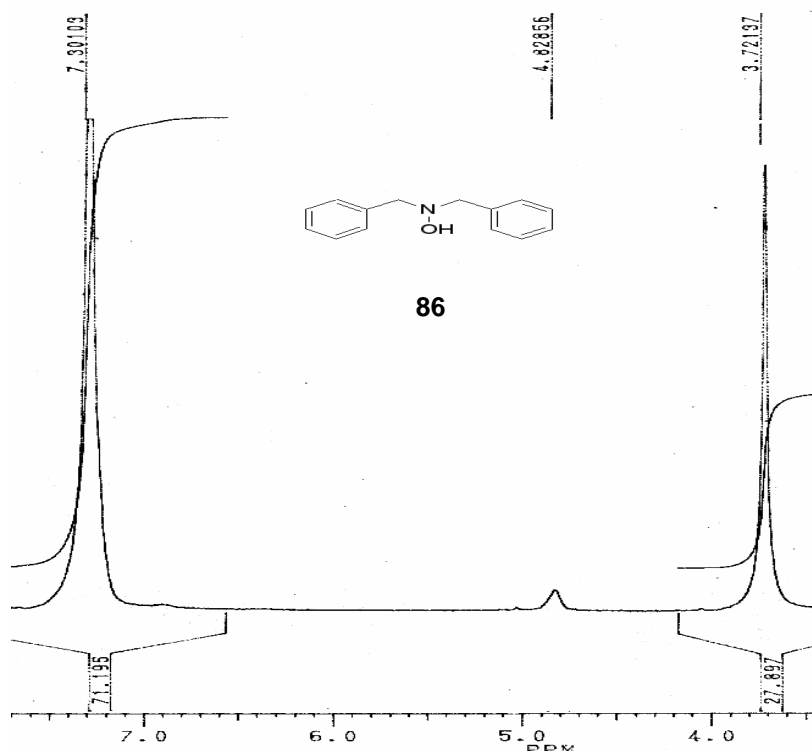
Espectro 80 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 97.



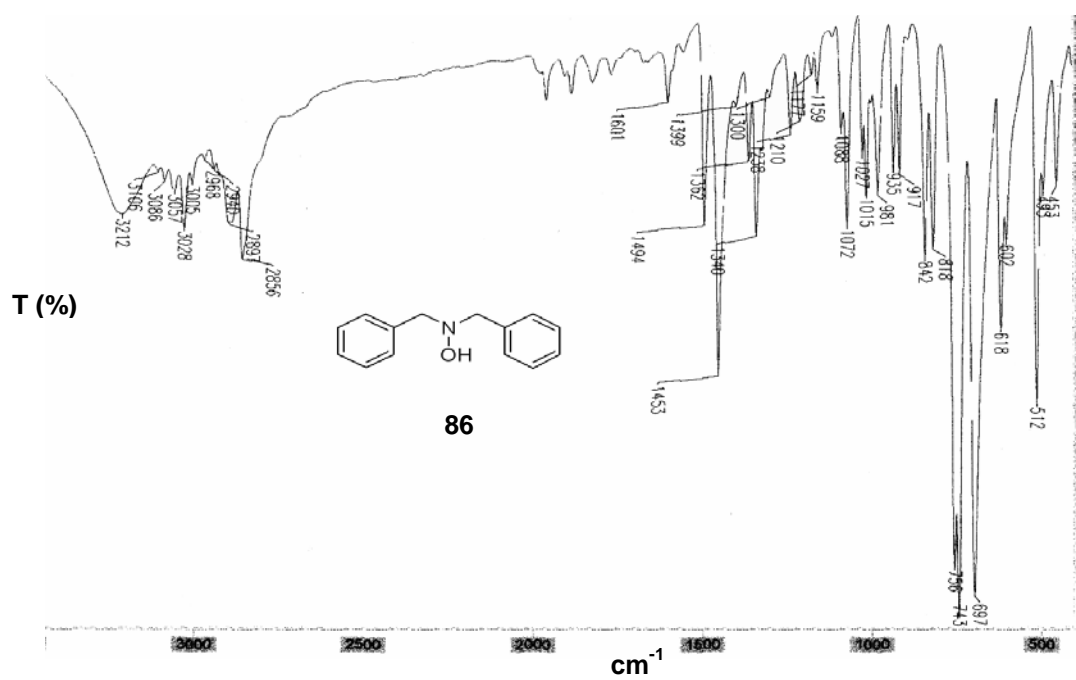
Espectro 81 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 65.



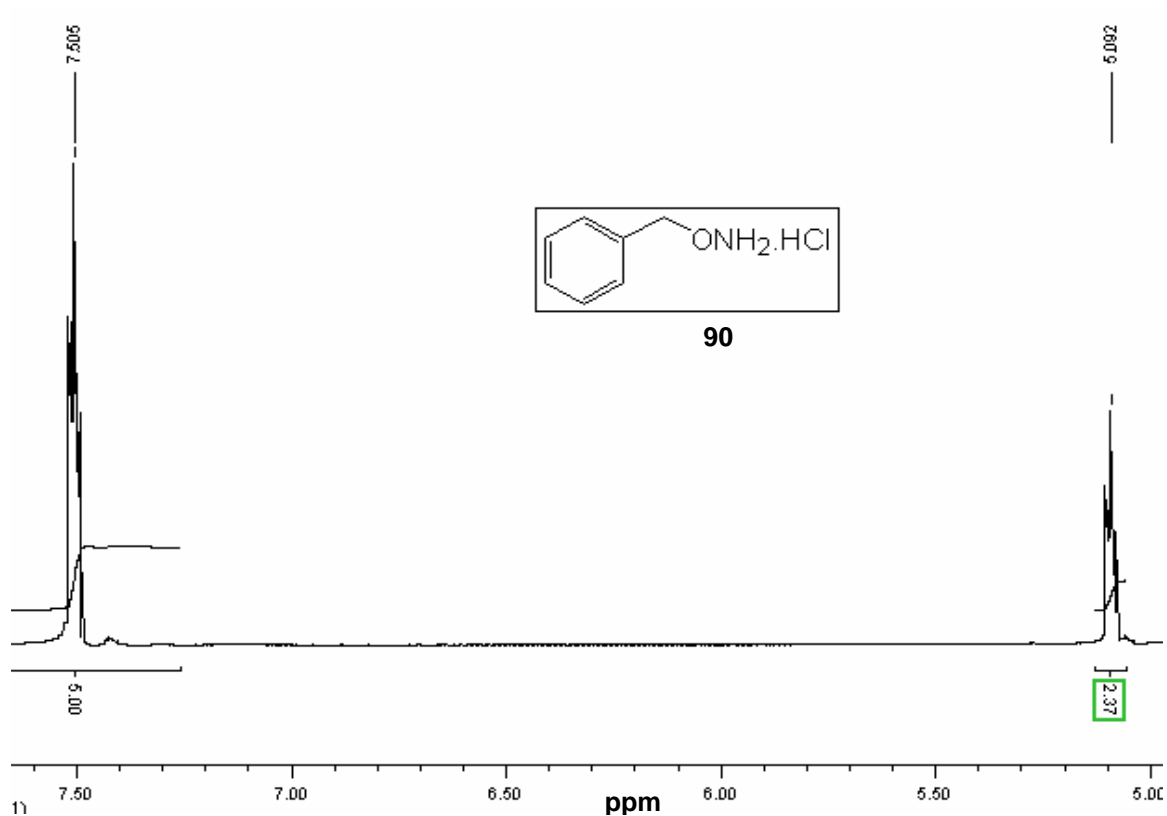
Espectro 82 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃ para o derivado 86.



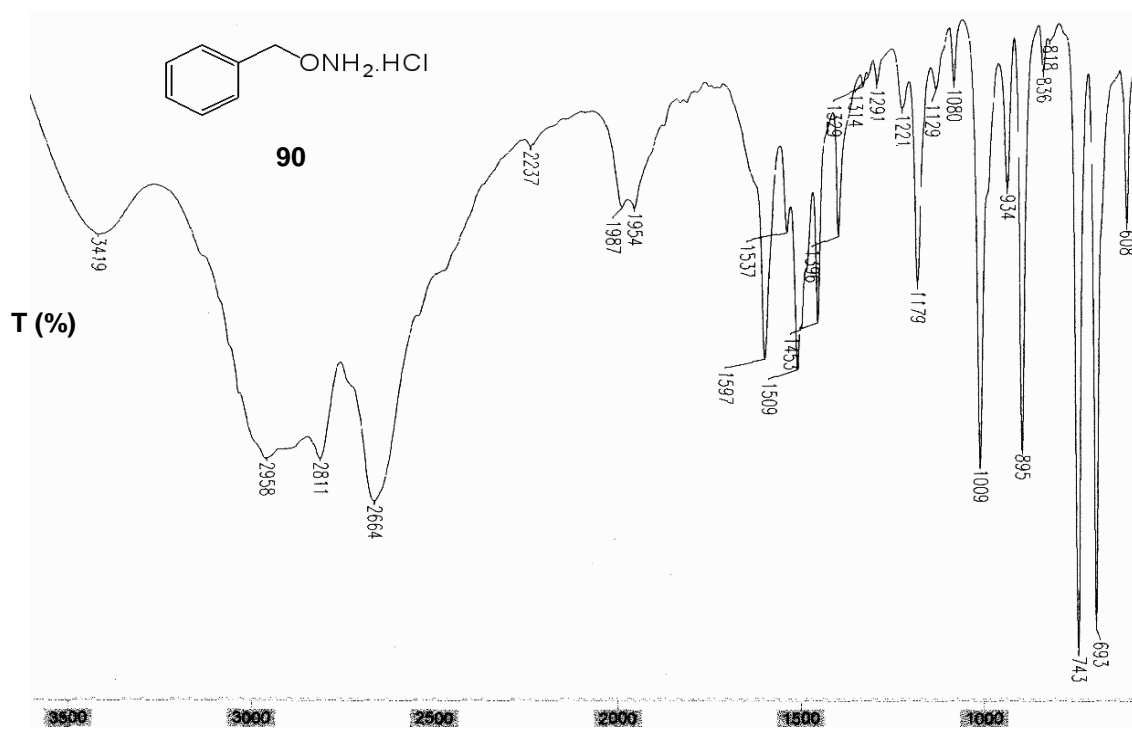
Espectro 83 - RMN-¹H 200 MHz em CDCl₃/D₂O para o derivado 86.



Espectro 84 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 86.

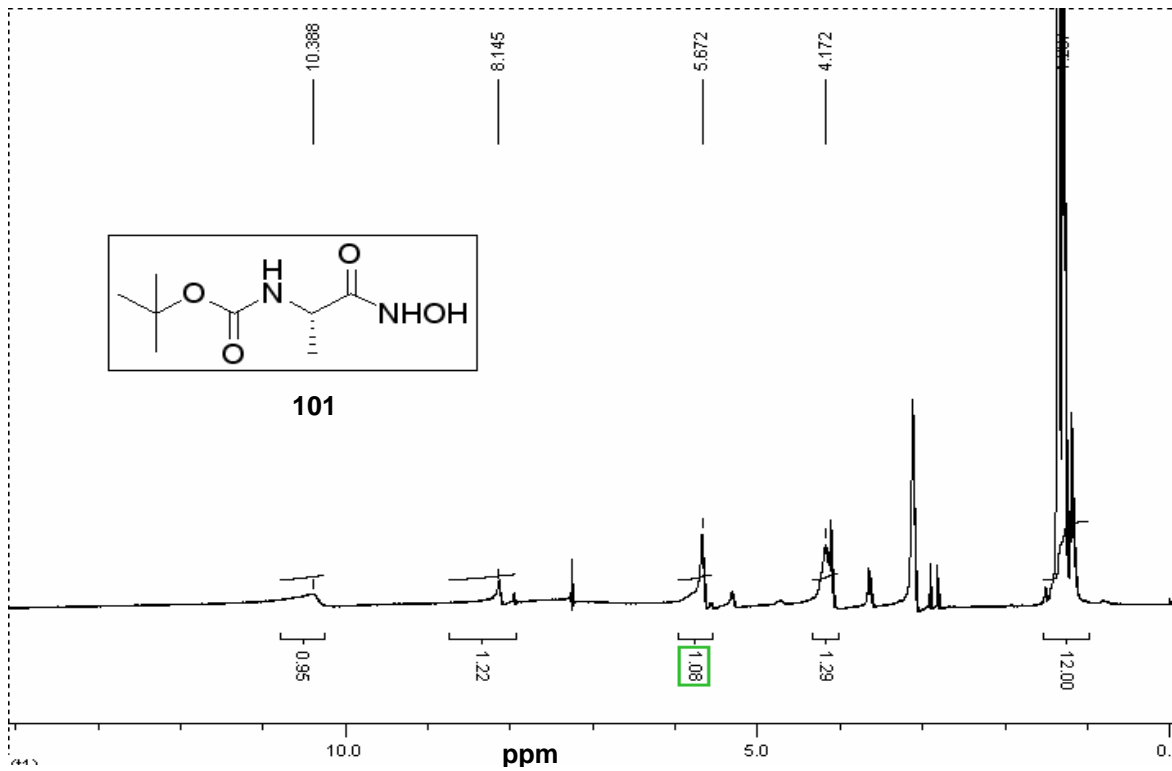


Espectro 85 - RMN-¹H 400 MHz em D₂O para o derivado 90.

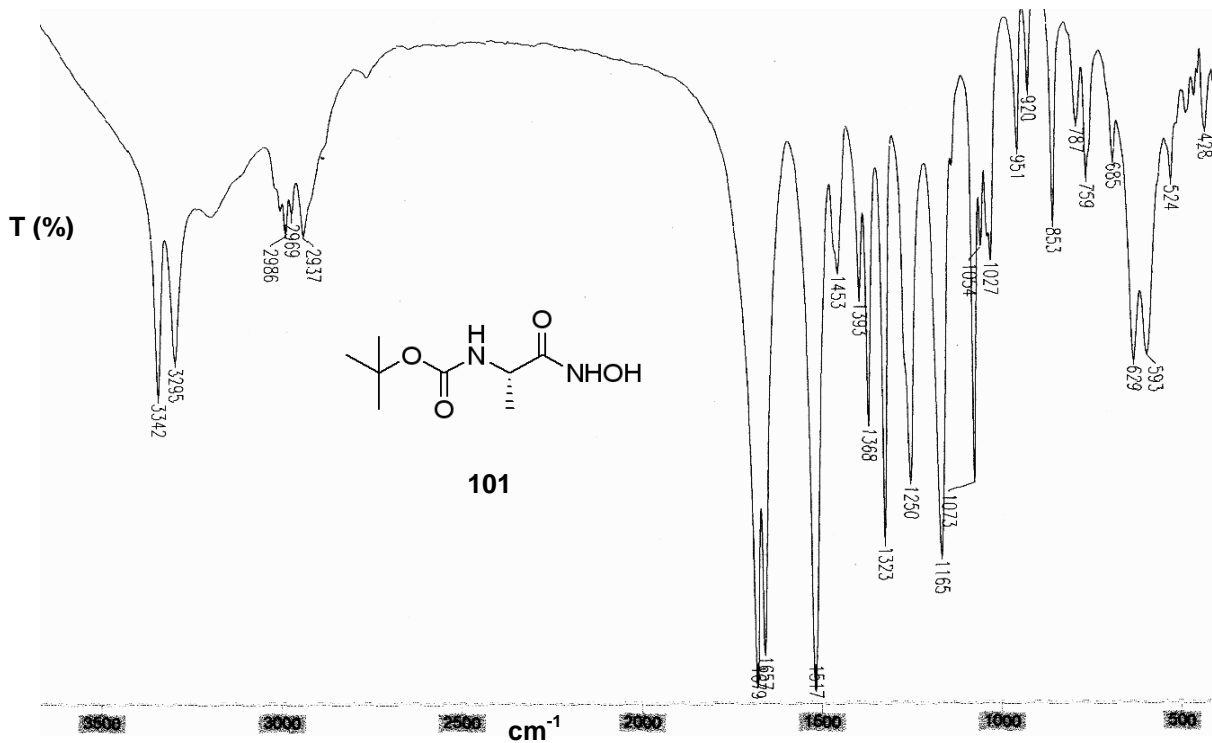


Espectro 86 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 90.

ÁCIDO HIDROXÂMICO

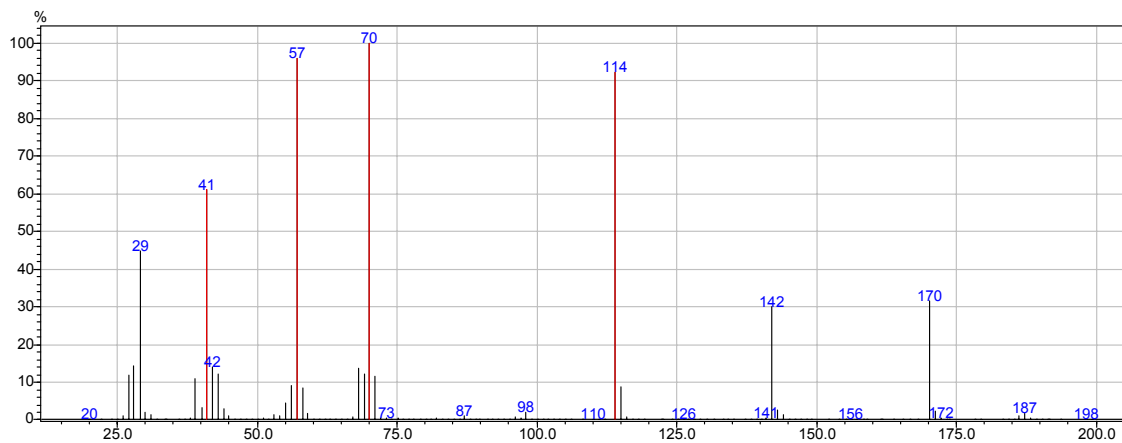
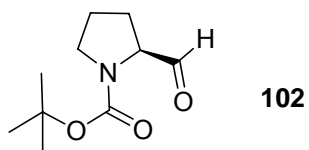


Espectro 87 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 101.

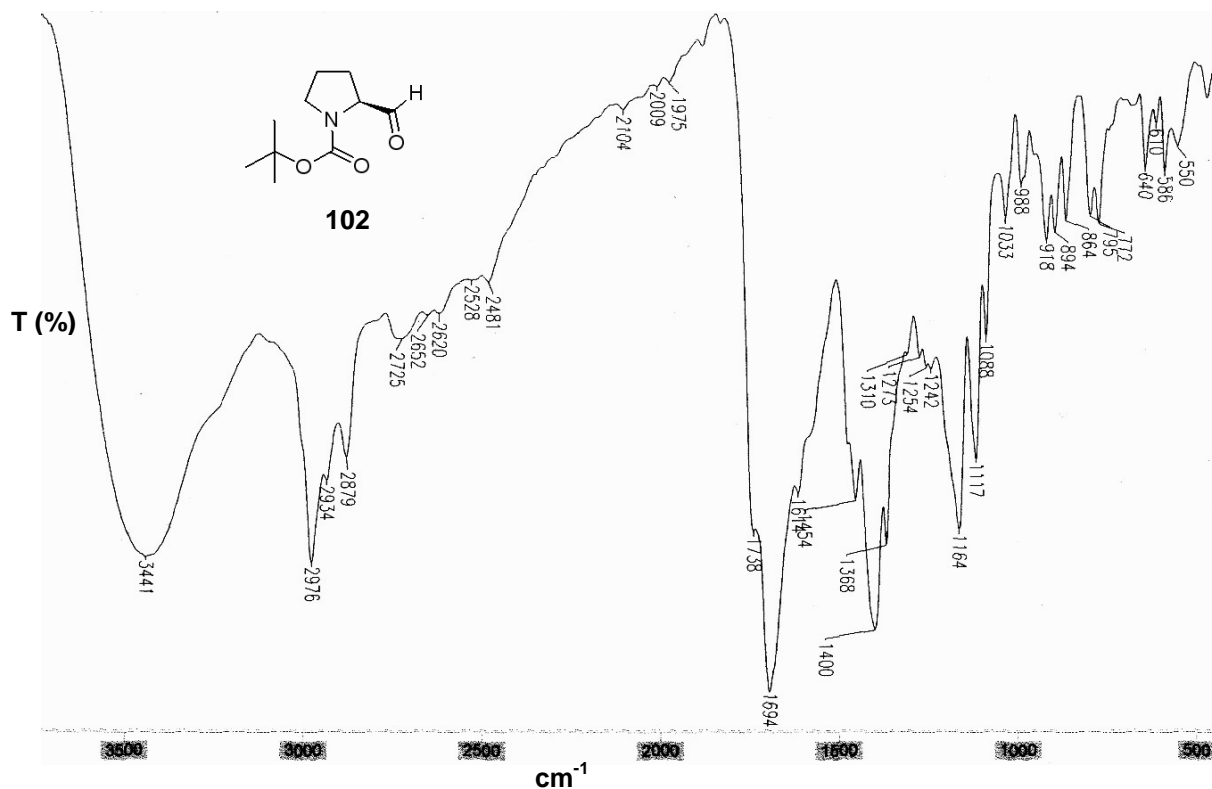


Espectro 88 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 101.

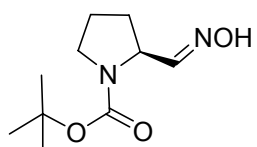
DERIVADOS DA PROLINA



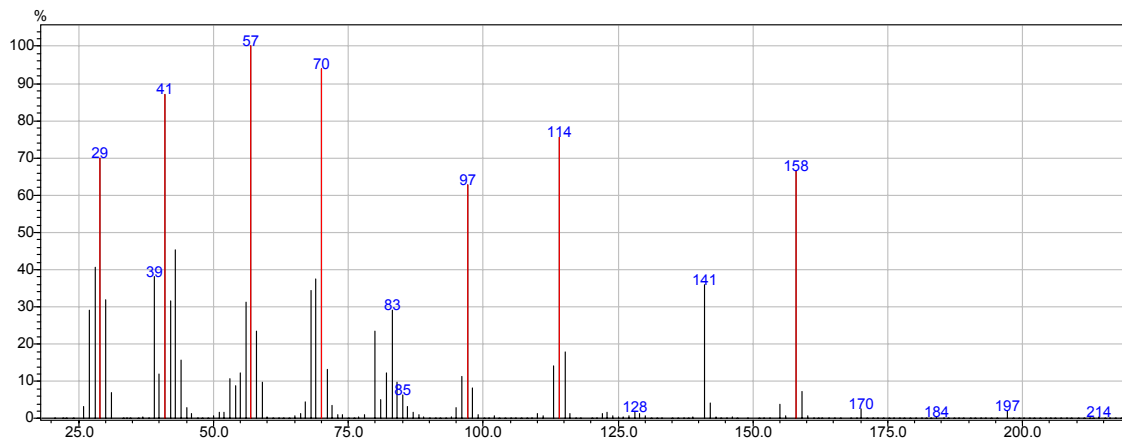
Espectro 89 - EM para o derivado 102



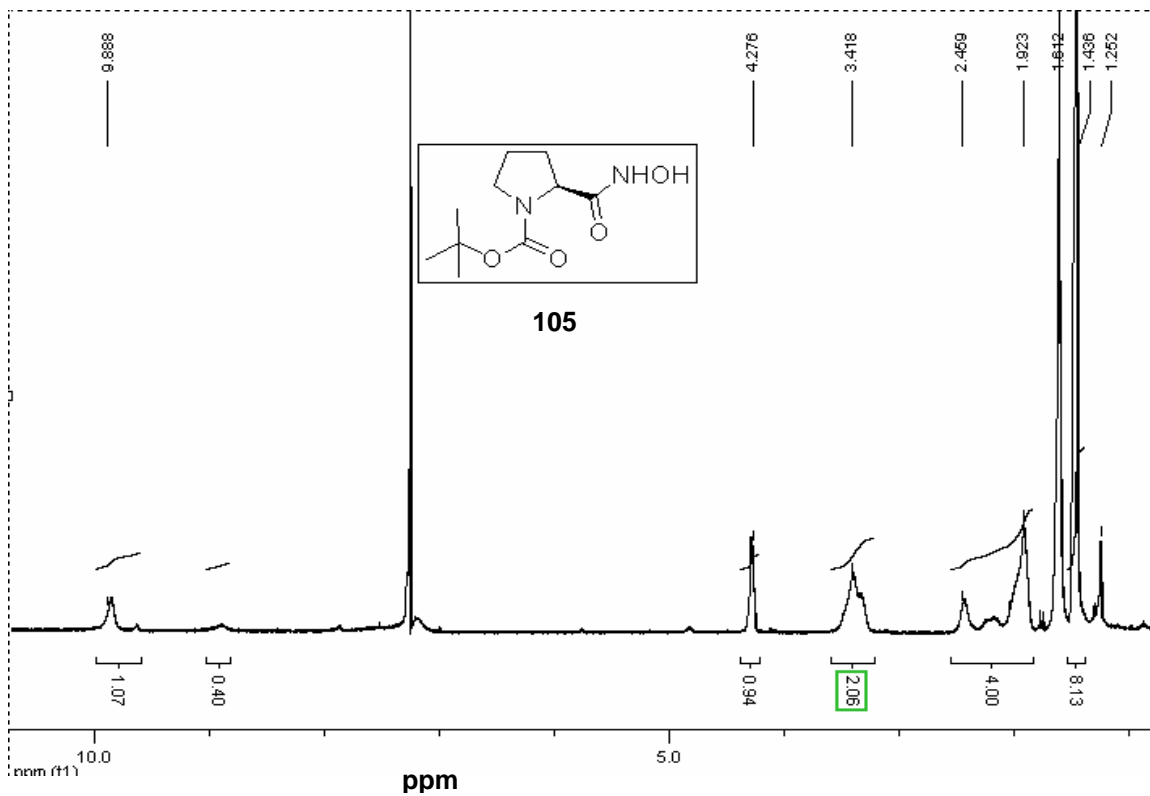
Espectro 90 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 102.



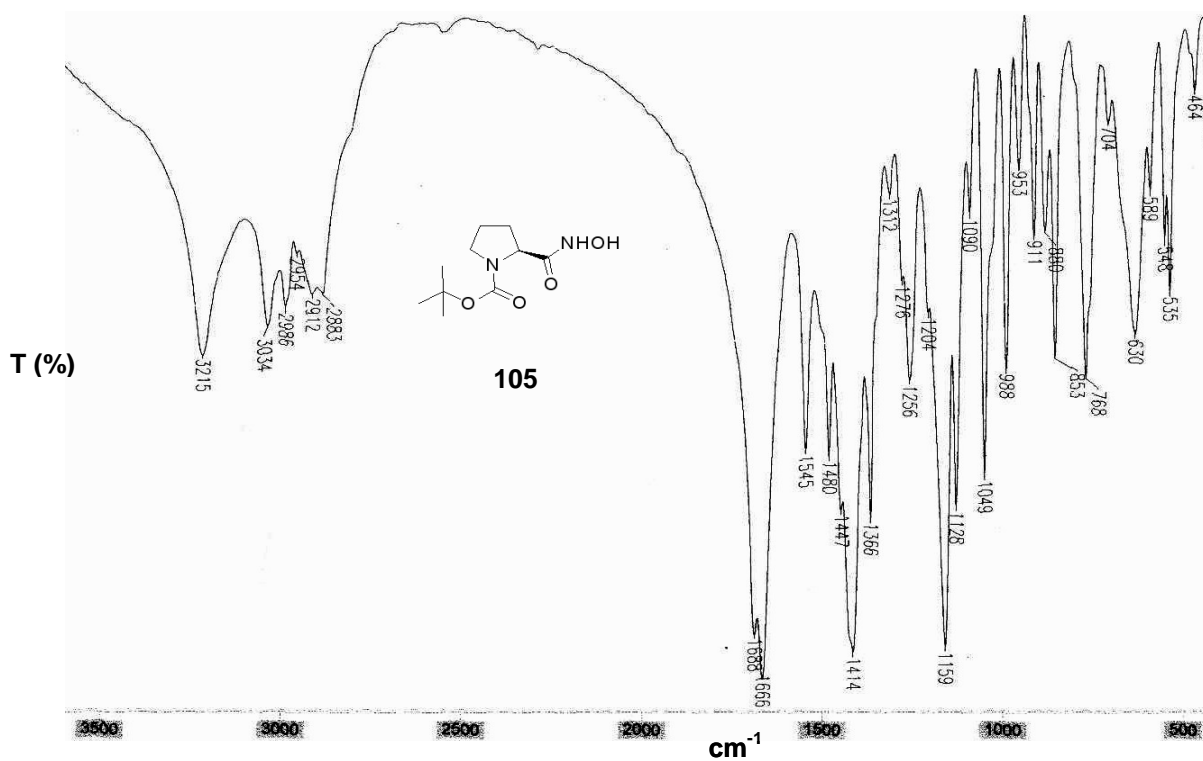
103



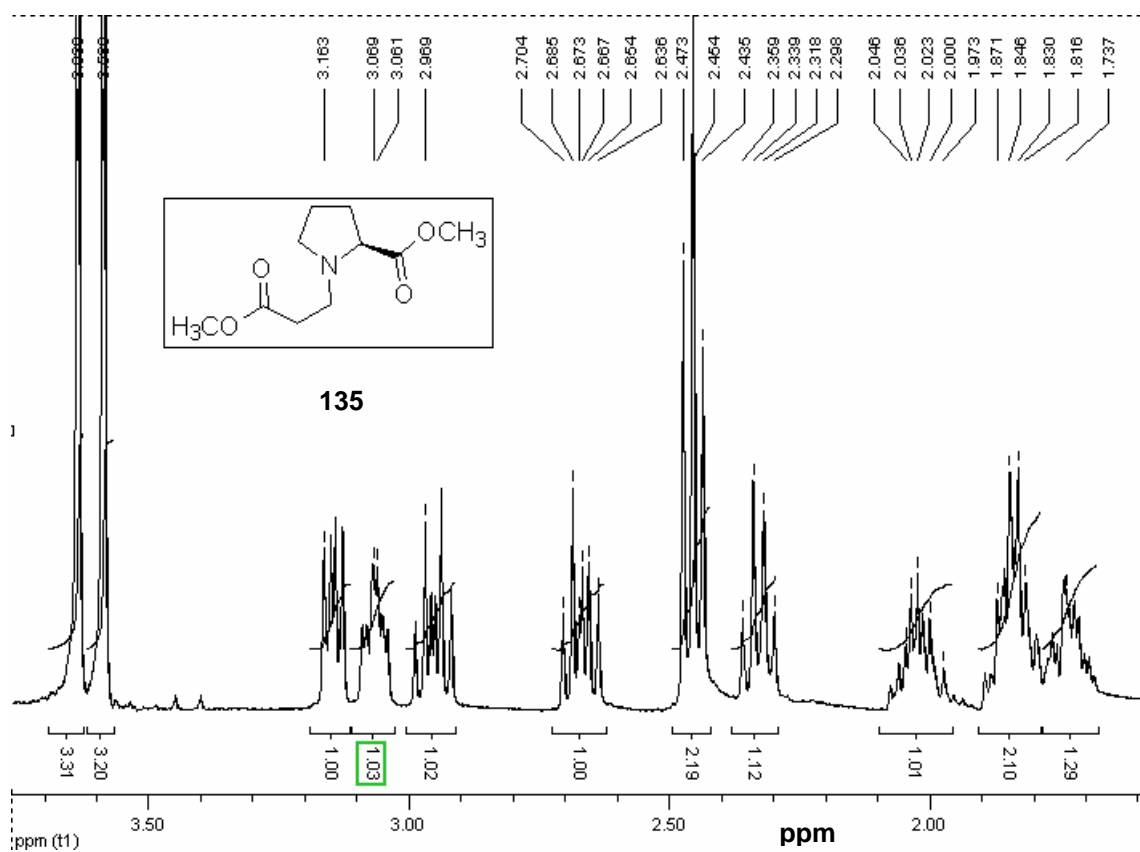
Espectro 91 - EM para o derivado 103.



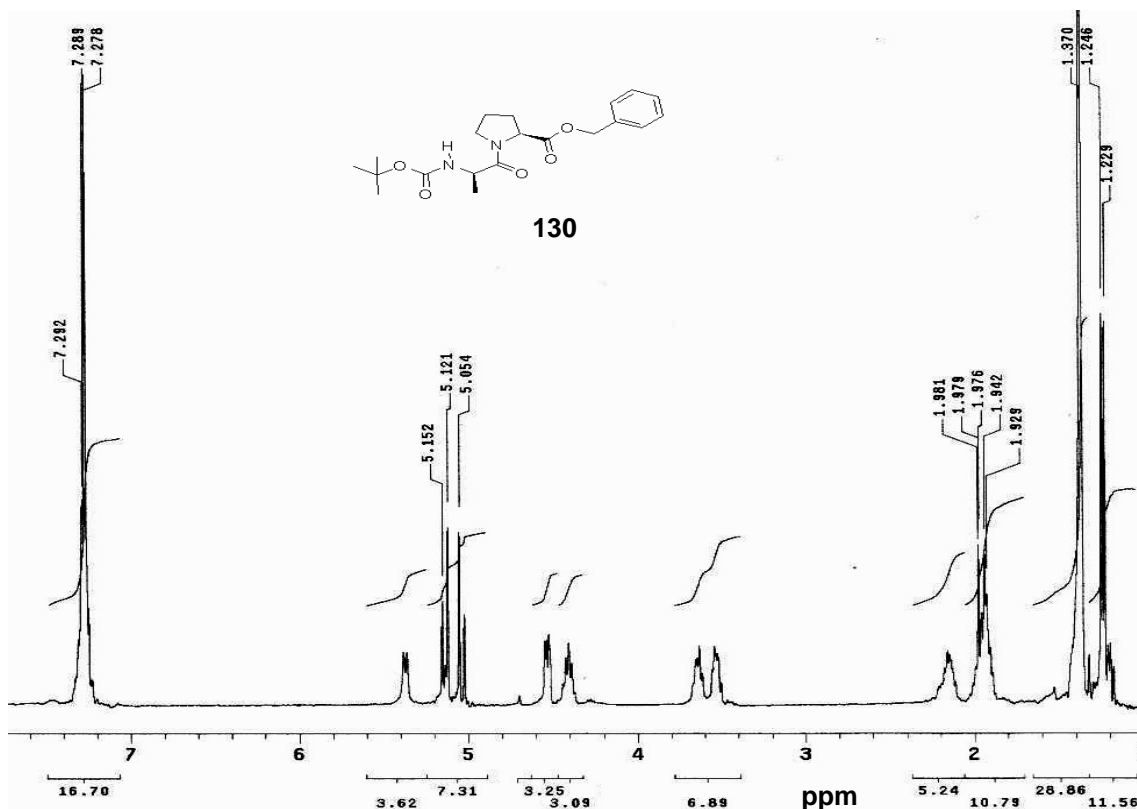
Espectro 92 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 105.



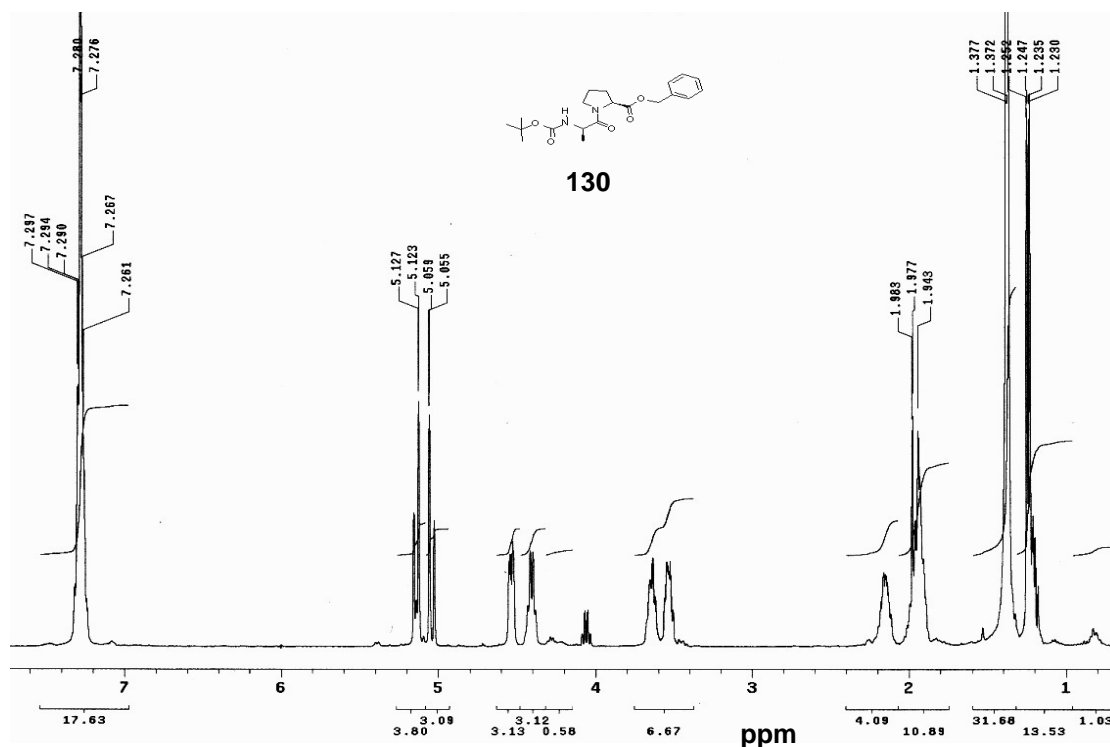
Espectro 93- IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 105.



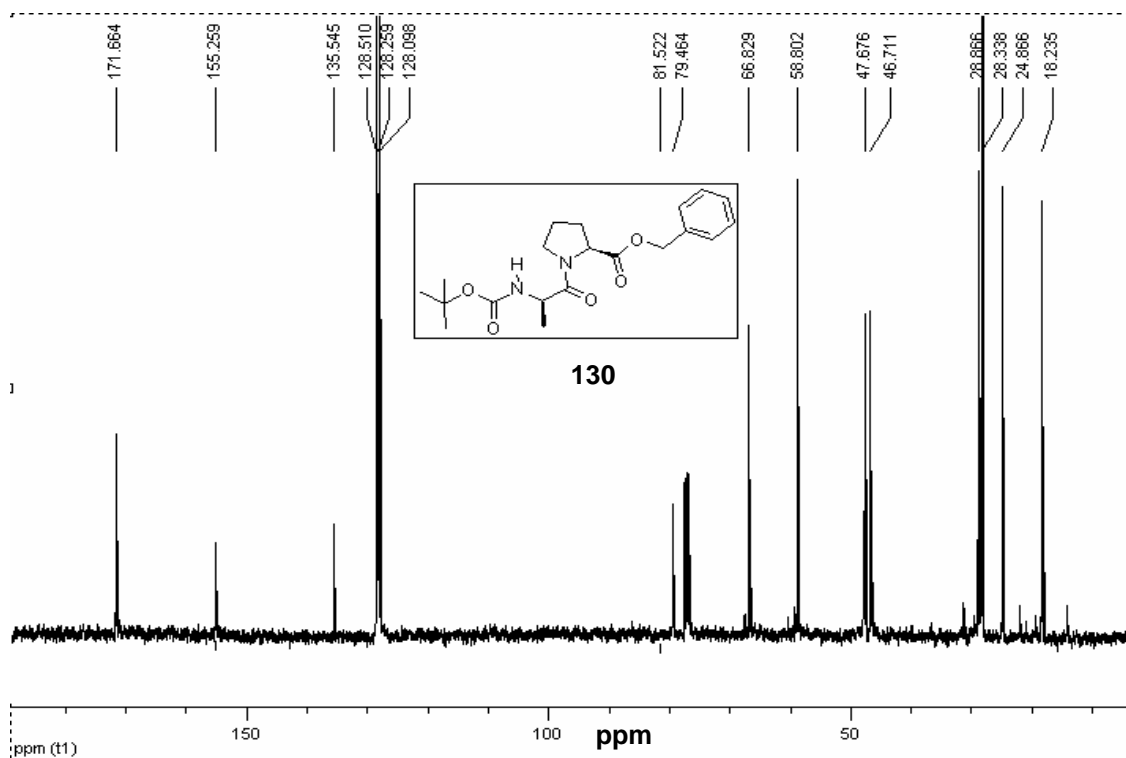
Espectro 94 - RMN-¹H em CDCl₃ para o derivado 135.



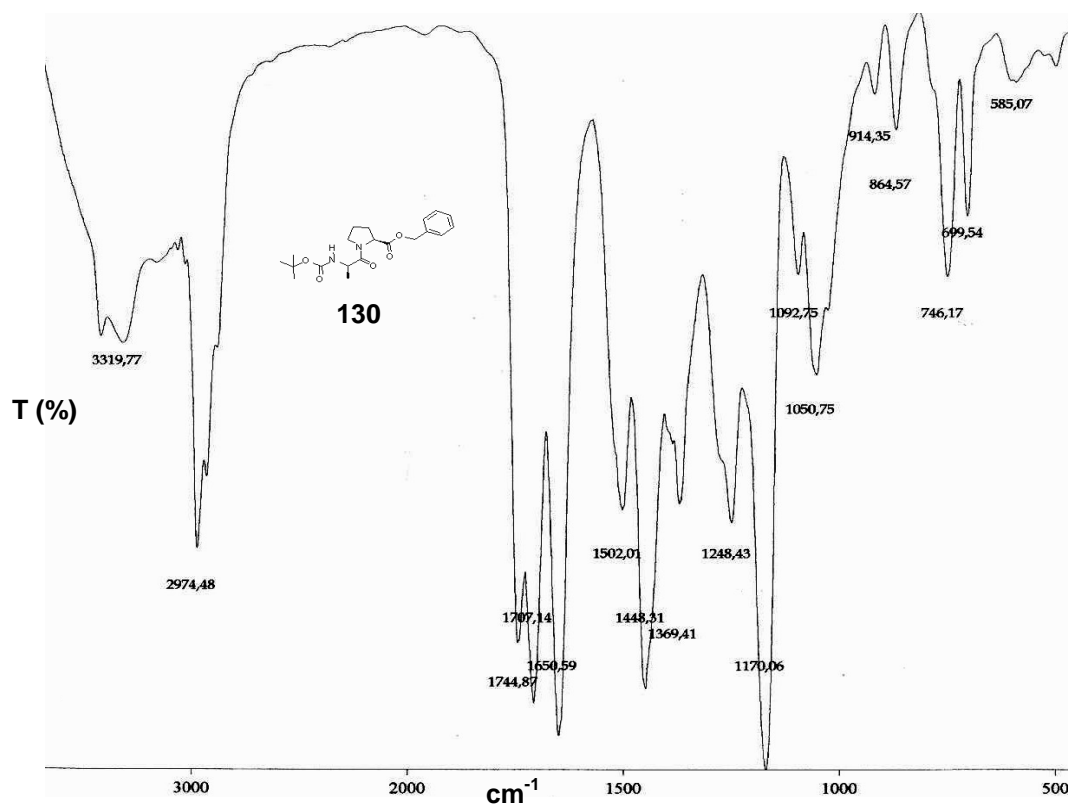
Espectro 95 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃ para o derivado 130.



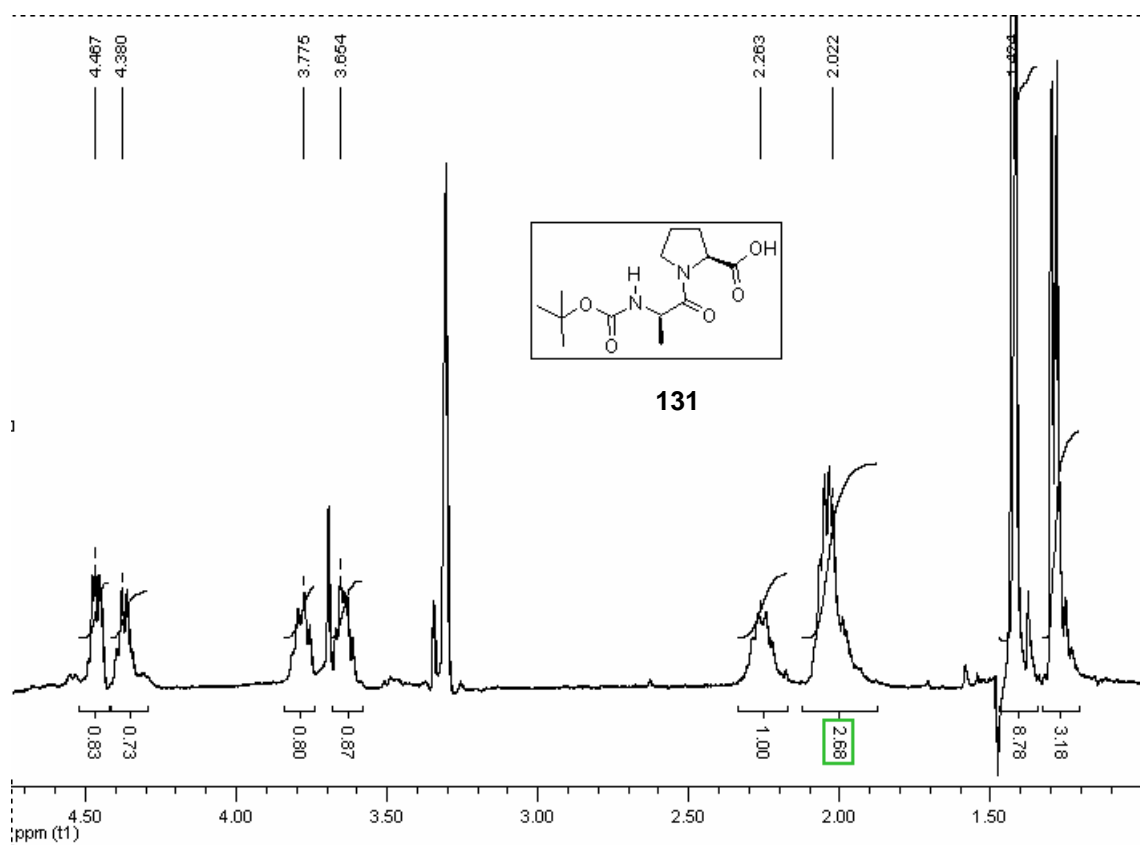
Espectro 96 - RMN-¹H 400 MHz em CDCl₃/D₂O para o derivado 130.



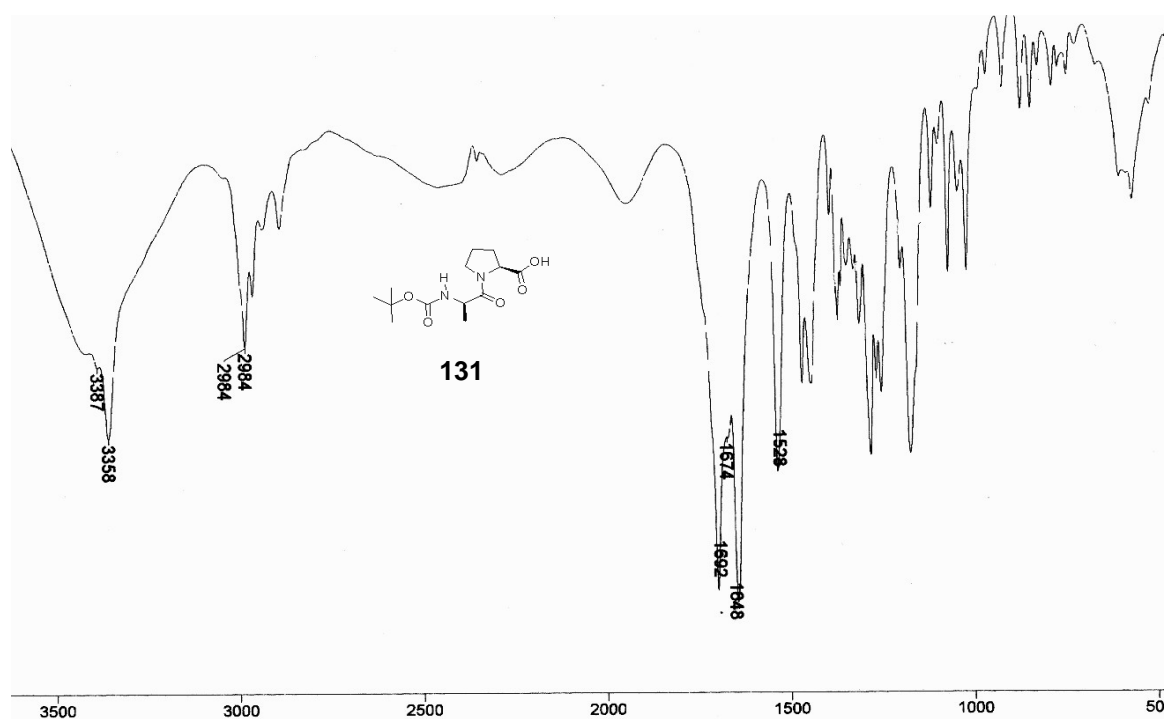
Espectro 97 - RMN-¹³C 100 MHz em CD₃OD para o derivado 130.



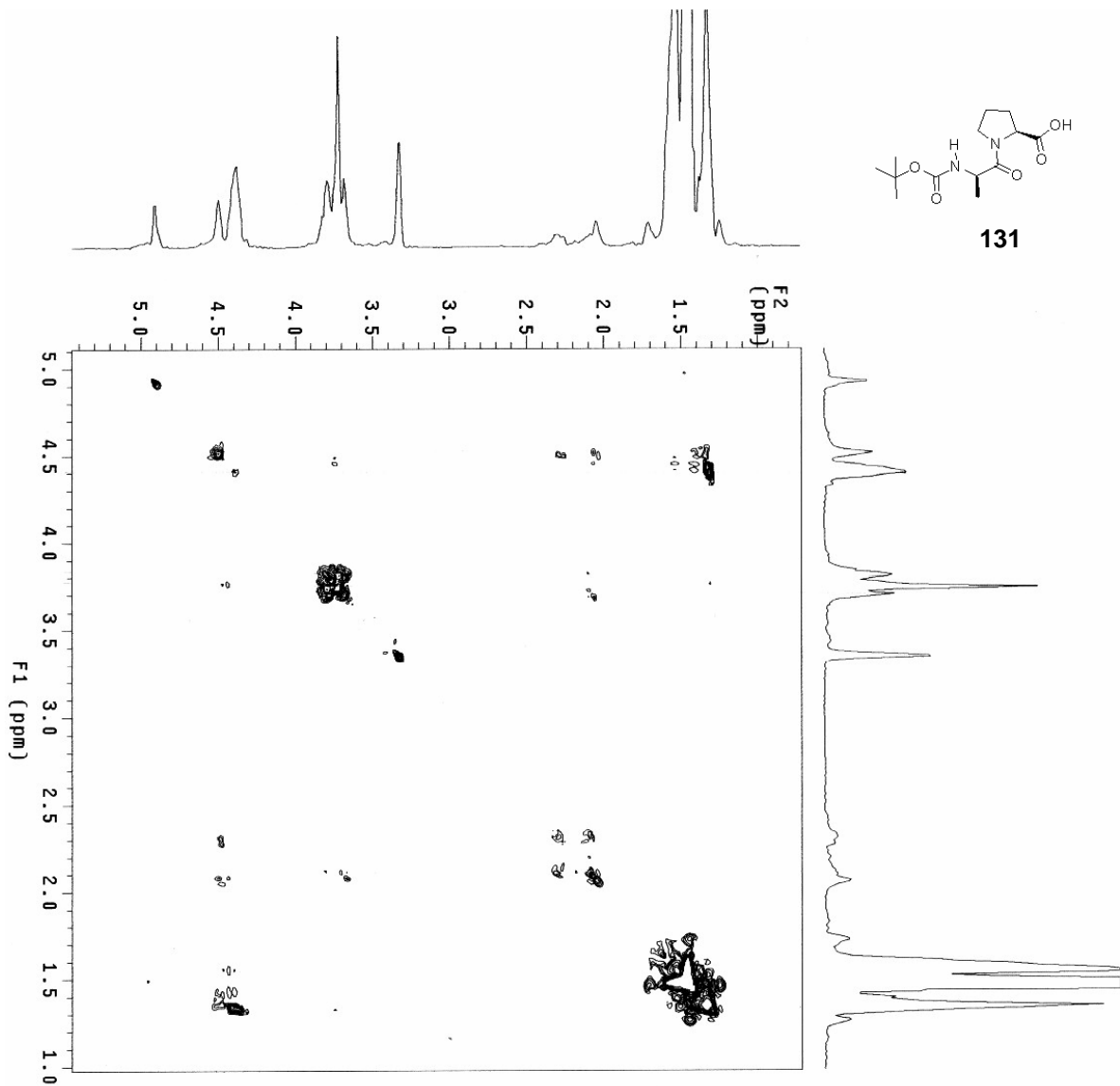
Espectro 98 - IV (KBr, cm⁻¹) para o derivado 130.



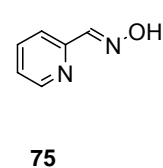
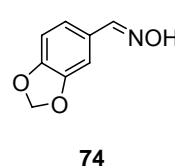
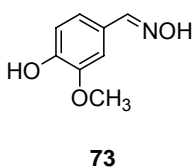
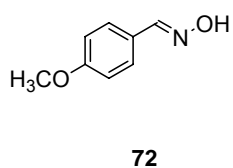
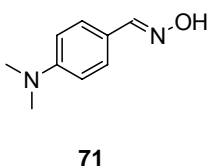
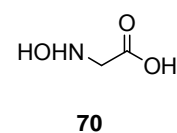
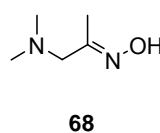
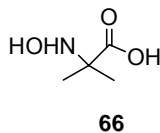
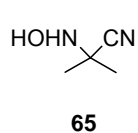
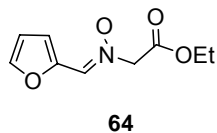
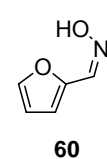
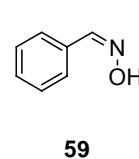
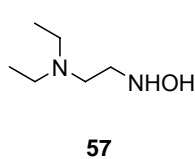
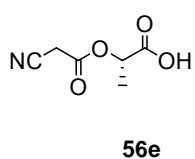
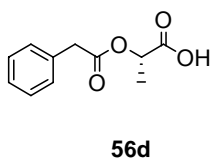
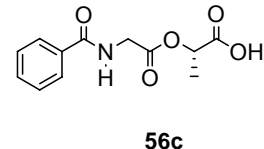
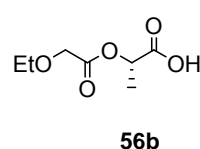
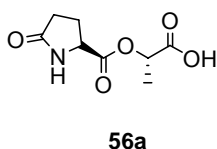
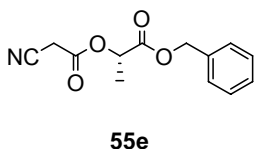
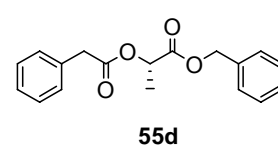
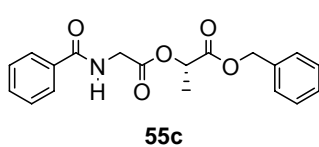
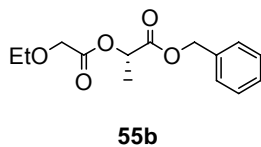
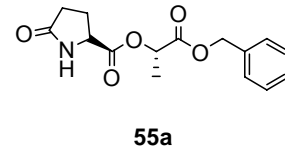
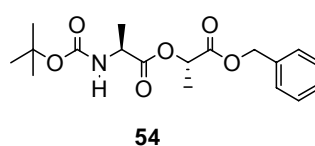
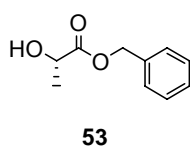
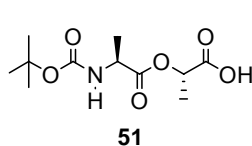
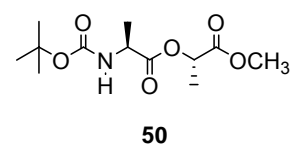
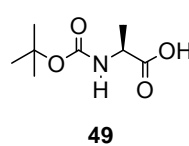
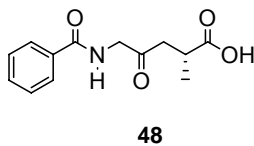
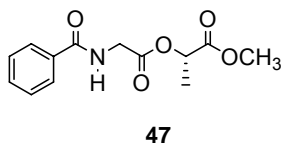
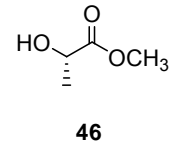
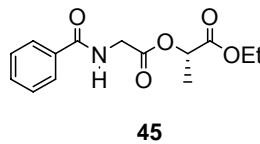
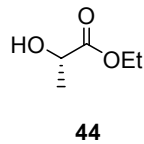
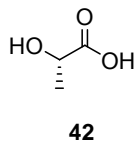
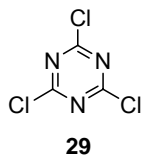
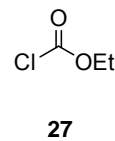
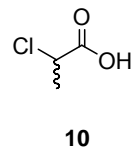
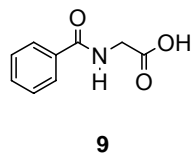
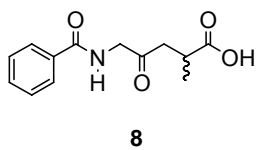
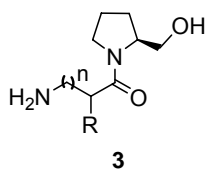
Espectro 99 - RMN-¹H 400 MHz em CD₃OD para o derivado 131.

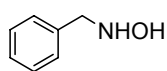


Espectro 100 - IV (filme, cm⁻¹) para o derivado 131

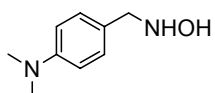


Espectro 101 - RMN-¹H 2D COSY em CD₃OD para o derivado 131.

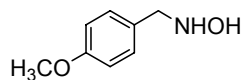




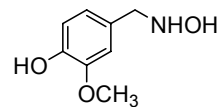
81



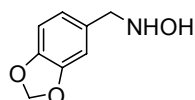
82



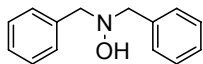
83



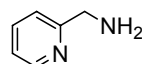
84



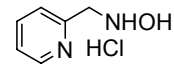
85



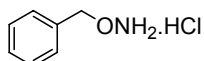
86



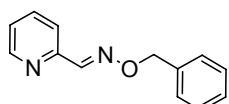
88



89



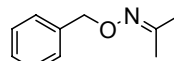
90



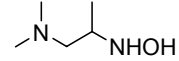
92



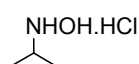
94



95



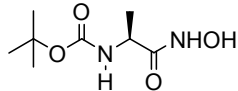
96



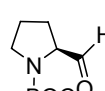
97



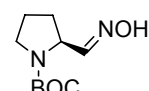
98



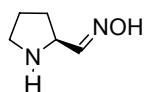
101



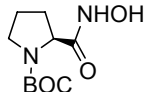
102



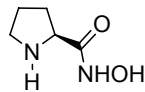
103



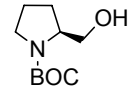
104



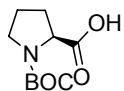
105



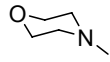
106



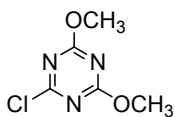
113



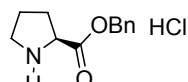
115



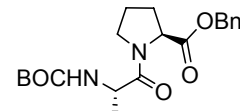
117



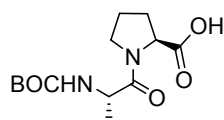
118



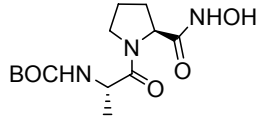
127



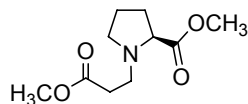
130



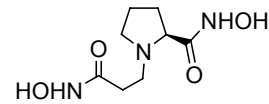
131



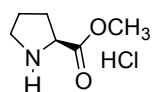
132



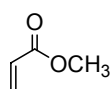
135



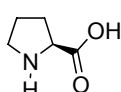
136



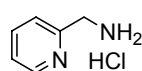
137



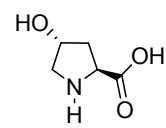
138



141



142



143