



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Jeielly Gomes Ferreira

**RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA DE DIÓIS PROPARGÍLICOS E  
SUA APLICAÇÃO COMO BLOCOS DE CONSTRUÇÃO DE  
MOLÉCULAS QUIRAIS BIOATIVAS**

Recife

2016

Jeielly Gomes Ferreira

**RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA DE DIÓIS PROPARGÍLICOS E  
SUA APLICAÇÃO COMO BLOCOS DE CONSTRUÇÃO DE  
MOLÉCULAS QUIRAIS BIOATIVAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Luiz Principal

Recife

2016

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Monick Raquel Silvestre da S. Portes, CRB4-1217

F383r      Ferreira, Jeily Gomes  
             Resolução cinética enzimática de dióis propargílicos e sua aplicação como  
             blocos de construção de moléculas quirais bioativas / Jeily Gomes Ferreira. –  
             2016.  
             193 f.

             Orientador: Jefferson Luiz Princival.  
             Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química,  
             Recife, 2016.  
Inclui referências e anexos.

             1. Química. 2. Sínteses orgânicas. 3. Biocatálise. 4. Resolução cinética  
             enzimática. I. Princival, Jefferson Luiz (orientador). II. Título.

540                      CDD (22. ed.)                      UFPE-FQ 2017-38

**JEIELY GOMES FERREIRA**

**RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA DE DIÓIS PROPARGÍLICOS E SUA APLICAÇÃO  
COMO BLOCOS DE CONSTRUÇÃO DE MOLÉCULAS QUIRAIS BIOATIVAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovado em: 29/07/2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profº Jefferson Luiz Princival (Orientador)**

Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Profº Ronaldo Nascimento de Oliveira**

Departamento de Química  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Profº Ricardo Lima Guimarães**

Centro Acadêmico do Agreste  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Profº Dimas José da Paz Lima**

Instituto de Química  
Universidade Federal de Alagoas

---

**Profª Juliana Alves Vale**

Departamento de Química  
Universidade Federal da Paraíba

*Dedico esse trabalho a minha família, em especial aos meus pais e minha irmã, e a minha noiva e companheira Flávia Pereira, pelo incentivo, motivação e carinho que sempre me deram.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelas conquistas que vem proporcionando em minha vida.

Ao Professor Jefferson Princival, pela orientação, amizade, companheirismo e por toda contribuição e ajuda.

A Professora Ivani Malvestiti pela colaboração e supervisão.

A Professora Teresinha Gonçalves e a Iza Mirela do Departamento de Antibióticos pela colaboração em realizar os testes de atividades citotóxicas.

Aos colegas do LCO: Dyego Maia, Pedro Toledo, Dartagnan Pires, Alana Bittencourt, Tarcísio Tomé, Emmanuel Dias, Julieta Rangel, Jeisyanne Souza, por toda contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq, INCT/INAMI e FACEPE pelo suporte financeiro e bolsa concedida.

## RESUMO

Dióis propargílicos são intermediários alquinílicos com grande potencial sintético. Embora a utilização destes compostos visando a síntese de produtos naturais bioativos seja conhecida, até ao início deste trabalho, nenhum estudo envolvendo a resolução cinética enzimática (RCE) desta classe de compostos tinha sido relatada na literatura. Com isso, o objetivo principal deste trabalho foi a obtenção de dióis propargílicos em sua forma enantiomericamente enriquecida, a partir de um processo de RCE usando a lipase *Candida antarctica* como biocatalisador. Os compostos quirais oriundos destas biotransformações seriam então empregados como intermediários sintéticos visando a preparação de moléculas quirais de interesse biológico. Um dos compostos sintetizados, o composto (*R,S*)-non-2-ino-1,4-diol **20h**, foi utilizado na síntese do 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) **19**, um composto detoxicante de ocorrência natural, através do estudo da oxidação regioseletiva de sistemas alílicos. Além disso, os dióis (*R,S*)-pent-2-ino-1,4-diol **20a**, (*R,S*)-hept-2-ino-1,4-diol **20c**, (*R,S*)-hex-2-ino-1,4-diol **20g** (um produto natural) e **20h** foram submetidos a ensaios de atividade citotóxica, mostrando atividades antiproliferativas interessantes.

**Palavras-Chave:** Diol. Resolução Cinética Enzimática. Enzimas. 4-HNE.

## ABSTRACT

Propargyl diols are alkynylic intermediates with great synthetic potential. Despite their use aiming at the synthesis of bioactive natural products be known, until the beginning of this thesis, no enzymatic kinetic resolution studies of propargylic diols had been reported yet. Thus, the main objective of this work was the obtaining propargylic diols in its enantiomerically enriched form, from an enzymatic kinetic resolution (EKR) process using *Candida antarctica* lipase as biocatalyst. Chiral compounds from these biotransformations would then be employed as synthetic intermediates for the preparation of chiral molecules of biological interest. One of the diols synthesized, the compound (*R,S*)-non-2-yn-1,4-diol (diol **20h**) was used in the synthesis of 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) (diol **19**), a detoxicant naturally occurring compound, through the study of regioselective oxidation of allylic systems. Furthermore, when diols (*R,S*)-pent-2-yn-1,4-diol (diol **20a**), (*R,S*)-hept-2-yn-1,4-diol (diol **20c**), (*R,S*)-hex-2-yn-1,4-diol (diol **20g**) (a natural product) and (*R,S*)-non-2-yn-1,4-diol (diol **20h**) were subjected to cytotoxic tests, interesting antiproliferative activities were observed.

**Keywords:** Propargylic diol. Enzymatic Kinetic Resolution. Enzymes. 4-HNE.

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                     |                                                     |
|---------------------|-----------------------------------------------------|
| RMN $^1\text{H}$    | - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio       |
| RMN $^{13}\text{C}$ | - Ressonância magnética nuclear de carbono          |
| $\delta$            | - Deslocamento químico em ppm                       |
| Hz                  | - Hertz                                             |
| s                   | - Simpleto                                          |
| <i>d</i>            | - Dupleto                                           |
| <i>dd</i>           | - Duplo dupleto                                     |
| <i>t</i>            | - Tripleto                                          |
| <i>tt</i>           | - Tripleto de tripleto                              |
| <i>qt</i>           | - Quadrupletto                                      |
| <i>ddt</i>          | - Duplo duplo tripleto                              |
| <i>quint.</i>       | - Quintupletto                                      |
| <i>sext.</i>        | - Sextupletto                                       |
| <i>m</i>            | - Multipletto                                       |
| <i>J</i>            | - Constante de acoplamento                          |
| ppm                 | - Parte por milhão                                  |
| e.e.                | - Excesso enantiomérico                             |
| c                   | - Conversão                                         |
| <i>E</i>            | - Razão enantiomérica                               |
| RCE                 | - Resolução cinética enzimática                     |
| CAL-B               | - <i>Candida antarctica</i> lipase-B                |
| $[\alpha]_D$        | - Rotação específica                                |
| IR                  | - Infravermelho                                     |
| THF                 | - Tetraidrofurano                                   |
| PCC                 | - Clorocromato de piridínio                         |
| PBC                 | - Bromocromato de piridínio                         |
| GST                 | - Glutathione-S-transferase                         |
| GSH                 | - Glutathione                                       |
| 4-HNE               | - 4-hidróxi-2-nonenal                               |
| MTT                 | - Brometo de 3-(4,5-dimetil)-2,5-difenil tetrazólio |
| CG                  | - Cromatografia gasosa                              |
| CCD                 | - Cromatografia em camada delgada                   |
| AcOEt               | - Acetato de Etila                                  |
| TEMPO               | - <i>N</i> -oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina       |

## SUMÁRIO

|           |                                                                        |            |
|-----------|------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1</b>  | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                | <b>11</b>  |
| 1.1       | BIOCATÁLISES .....                                                     | 11         |
| 1.1.1     | Definição .....                                                        | 11         |
| 1.1.2     | Um breve histórico .....                                               | 11         |
| 1.1.3     | Enzimas .....                                                          | 14         |
| 1.1.3.1   | Teorias e aspectos mecanísticos da catálise enzimática .....           | 17         |
| 1.1.3.2   | Lipases .....                                                          | 22         |
| 1.1.3.2.1 | <i>Resolução Cinética Enzimática (RCE)</i> .....                       | 23         |
| 1.1.3.2.2 | <i>RCE de álcoois quirais</i> .....                                    | 24         |
| 1.1.3.3   | Lacases .....                                                          | 29         |
| 1.1.3.4   | Glutathione S-transferases (GSTs) .....                                | 34         |
| 1.1.3.4.1 | <i>Atividades das GSTs e resistência a inseticidas</i> .....           | 35         |
| 1.2       | QUIRALIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA .....                                | 38         |
| 1.3       | COMPOSTOS ALQUINILCARBINÓIS .....                                      | 43         |
| 1.4       | COMPOSTOS 4-HIDRÓXI-2-ALQUENAL .....                                   | 46         |
| 1.4.1     | Metodologias sintéticas para o (E)-4-Hidróxi-2,3-nonenal (4-HNE) ..... | 50         |
| <b>2</b>  | <b>OBJETIVOS .....</b>                                                 | <b>52</b>  |
| 2.1       | OBJETIVO GERAL .....                                                   | 52         |
| 2.2       | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                            | 52         |
| <b>3</b>  | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                    | <b>53</b>  |
| 3.1       | SÍNTESES DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS RACÊMICOS .....              | 53         |
| 3.1.1     | Sínteses usando di-ânions de lítio .....                               | 53         |
| 3.1.2     | Sínteses mediadas por $\text{CeCl}_3$ .....                            | 58         |
| 3.2       | RCE DA MISTURA RACÊMICA DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS .....         | 63         |
| 3.3       | TESTES DE ATIVIDADES CITOTÓXICAS .....                                 | 75         |
| 3.4       | SÍNTESES DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS RACÊMICOS .....             | 78         |
| 3.5       | RCE DA MISTURA RACÊMICA DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS .....        | 86         |
| 3.6       | SÍNTESE DO 4-HIDRÓXI-2-NONENAL (4-HNE) A PARTIR DO DIOL 20h .....      | 89         |
| 3.6.1     | Oxidação regiosseletiva do diol 36 usando cromo(VI) .....              | 92         |
| 3.6.2     | Oxidação regiosseletiva do diol 36 usando manganês(IV) .....           | 100        |
| 3.6.3     | Oxidação regiosseletiva do diol 36 usando cloreto de cobre(I) .....    | 107        |
| 3.6.4     | Oxidação regiosseletiva do diol alílico 36 usando lacase .....         | 109        |
| <b>4</b>  | <b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>                                 | <b>114</b> |
| 4.1       | CONCLUSÕES .....                                                       | 114        |

|               |                                                                                                                                      |            |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2           | PERSPECTIVAS.....                                                                                                                    | 115        |
| <b>5</b>      | <b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....</b>                                                                                                | <b>116</b> |
| 5.1           | INFORMAÇÕES GERAIS.....                                                                                                              | 116        |
| 5.2           | PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS RACÊMICOS 20a-u .....                                            | 118        |
| 5.3           | PROCEDIMENTO GERAL PARA A SEQUENCIA HIDROGENAÇÃO/HIDRÓLISE DOS COMPOSTOS (S)-24f, (R)-25f, (S)-24s, (R)-25s, (S)-24u e (R)-25u ..... | 119        |
| 5.4           | PROCEDIMENTO GERAL PARA AS RCEs DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS RACÊMICOS EM ESCALA PREPARATIVA .....                               | 125        |
| 5.5           | PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DAS HIDRÓXI-ALQUINONAS 28-30 .....                                                                 | 133        |
| 5.6           | PROCEDIMENTO GERAL PARA AS SÍNTESES DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS RACÊMICOS 31-33 .....                                          | 133        |
| 5.7           | PROCEDIMENTO GERAL PARA AS RCEs DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS RACÊMICOS 31-33 EM ESCALA ANALÍTICA.....                           | 135        |
| 5.8           | SÍNTESE DO DOL ALÍLICO 36 .....                                                                                                      | 135        |
| 5.9           | SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DOL ALÍLICO 36 COM PCC .....                                                                | 136        |
| <b>5.9.1</b>  | <b>Preparação do clorocromato de piridínio suportado em alumina (PCC/alumina) .....</b>                                              | <b>136</b> |
| 5.10          | PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO 36 COM MnO <sub>2</sub> .....                        | 136        |
| <b>5.10.1</b> | <b>Procedimentos para as preparações dos MnO<sub>2</sub> .....</b>                                                                   | <b>137</b> |
| 5.11          | SINTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO 36 COM CuCl/TEMPO...139                                                        |            |
| 5.12          | SINTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO 36 COM LACASE/TEMPO.....                                                       | 139        |
|               | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                              | <b>141</b> |
|               | <b>ANEXOS.....</b>                                                                                                                   | <b>150</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 BIOCATÁLISE

#### 1.1.1 Definição

Biocatálise pode ser definida como um processo no qual se utilizam enzimas isoladas ou células integras para catalisar reações químicas. Tipicamente, reações químicas catalisadas por enzimas são aquelas que estão relacionadas a processos biológicos, tais como, em processos fermentativos para produção de etanol, e também em processos digestivos onde as moléculas presentes no alimento são fragmentadas para produção de energia.<sup>1</sup>

#### 1.1.2 Um breve histórico

A humanidade tem utilizado as enzimas há milhares de anos em processos de fermentação como uma forma de produzir e conservar alimentos, tais como, queijo, cerveja, vinagre e vinho. Esses procedimentos eram técnicas muito utilizadas no Egito antigo, onde estes métodos foram registrados em papiros egípcios antigos.<sup>2</sup> A partir do século XVIII, a área da biocatálise começou a receber mais atenção, e teve seus primórdios na área científica. O primeiro isolamento de enzimas foi realizado em 1833 por dois cientistas franceses, Payen e Persoz, que conseguiram isolar uma mistura de amilases a partir de um extrato de malte.<sup>3</sup> Em 1835, o químico sueco J. J. Berzelius demonstrou a primeira reação de hidrólise enzimática do amido, usado na produção de dextrinas. Um ano depois, em 1836, o alemão Theodor Schwan conseguiu isolar a primeira enzima proveniente de tecido animal, a “pepsina”. Com a explicação mecanística para fermentações realizadas por leveduras apresentada por Justus Von Liebig em 1839, ocorreu o marco inicial para o melhor entendimento das reações enzimáticas.<sup>4</sup> Dois acontecimentos isolados deram início à era moderna da biocatálise. Primeiramente, em 1858, Louis Pasteur conduziu o primeiro registro de um experimento de resolução cinética enzimática, onde tratou uma solução do sal de amônio do ácido tartárico racêmico com uma cultura de

---

<sup>1</sup> Johannes, T.; Simurdiak, M. R.; Zhao, H.; *Biocatalysis*, “*Encyclopedia of Chemical Processing*”, Taylor & Francis, **2007**, pág. 101.

<sup>2</sup> Ghanem, A.; *Tetrahedron*, **2007**, 63, 1721.

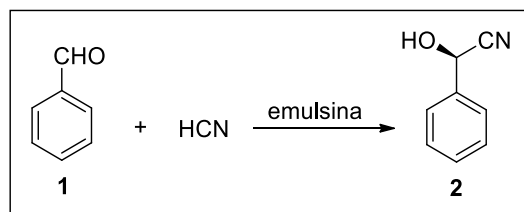
<sup>3</sup> Payen, A.; Persoz, J. F.; *Ann. Chim. Phys.*, **1833**, 53, 73.

<sup>4</sup> Hoffmann-Ostenhof, O.; *Enzymologie*; Springer: Wien, **1954**.

*Penicillium glaucum*, que levou apenas ao consumo do enantiômero ácido (+)-tartárico e um consequente enriquecimento do enantiômero (-)-tartárico.<sup>5</sup> Em 1897, Eduard Buchner comprovou de forma indiscutível que as transformações biológicas não ocorrem apenas com o uso de células vivas, relatando a fermentação alcoólica com células livres de extrato de levedura. A célula de levedura produz a enzima, e a enzima provoca a fermentação.<sup>6</sup>

A motivação causada devido a todos esses avanços, levaram ao desenvolvimento de várias teorias, tais como, a teoria chave-fechadura de Emil Fischer (1894), e também a teoria cinética enzimática de Victor Henri (1903), que diz que o complexo enzima-substrato é a etapa chave da catálise enzimática. Leonor Michaelis e Maud L. Menten expressaram matematicamente em 1913 a teoria de V. Henri, onde eles postularam que inicialmente a enzima E se liga ao substrato S em uma etapa rápida reversível para formar o complexo enzima-substrato ES ( $E + S \rightarrow ES$ ), seguido por uma etapa lenta de formação do produto P mais a enzima livre ( $ES \rightarrow P + E$ ).

Durante a primeira metade do século 20, os processos biocatalíticos começaram a ser muito utilizados por grupos de pesquisas acadêmicos e também na indústria. Em 1913, L. Rosenthaler realizou a síntese de (*R*)-mandelonitrila **2** pelo tratamento de benzaldeído **1** com HCN na presença de emulsina (contendo oxinitrilases) (Esquema 1)<sup>7</sup>, e deu início a catálise assimétrica enzimática moderna.



**Esquema 1:** Preparação biocatalisada da (*R*)-mandelonitrila **2**

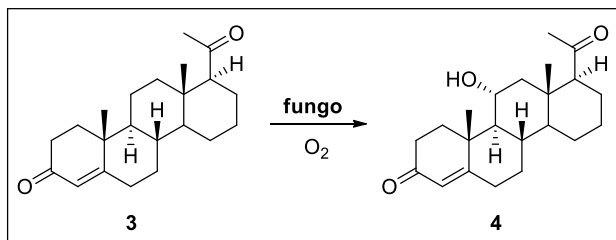
Outro marco da biocatálise moderna, mais voltado ao campo industrial, foi a hidroxilação microbiana régio- e estereosseletiva de esteroides, demonstrada pelas empresas farmacêuticas Schering, Pfizer e Merck. Como exemplo, podemos citar a hidroxilação oxidativa da progesterona **3** promovida por cepas de *Rhizopus arrhizus* ou *Aspergillus niger* (Esquema 2).<sup>8</sup>

<sup>5</sup> (a) Pasteur, L. C. R.; *Seances Acad. Sci.*, **1858**, 46, 615. (b) Gal, J.; *Chirality*, **2008**, 20, 5.

<sup>6</sup> (a) Buchner, E.; *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1897**, 36, 117. (b) Jaenicke, L.; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, 46, 6776.

<sup>7</sup> (a) Rosenthaler, L.; *Biochem. Z.*, **1908**, 14, 238. (b) Dadashipour, M.; Asano, Y.; *ACS Catal.*, **2011**, 1, 1121. (c) Effenberger, F.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 1555.

<sup>8</sup> Hogg, J. A.; *Steroids*, **1992**, 57, 593.



**Esquema 2:** Hidroxilação oxidativa da progesterona **3** catalisada por fungo.

Esses avanços culminaram na primeira obtenção de uma enzima na sua forma cristalina, possibilitando a James B. Sumner postular em 1926 que as enzimas são constituídas de proteínas.

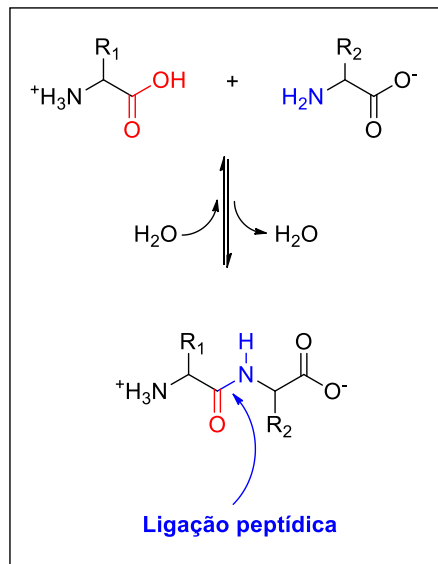
Da década de 1980 até a atualidade, com o surgimento da tecnologia do DNA recombinante,<sup>9</sup> ocorreu uma revolução no campo do desenvolvimento de novas enzimas. A engenharia de proteínas e o “screening” molecular se tornaram procedimentos úteis para fornecer enzimas derivadas das naturais.<sup>10</sup>

<sup>9</sup> Glick, B. R.; Pasternak, J. J.; Patten, C. L.; *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. ASM Press: Washington, DC, **2010**.

<sup>10</sup> Ema, T.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 2765–2770.

### 1.1.3 Enzimas

As enzimas são macromoléculas constituídas por proteínas que possuem a habilidade de catalisar reações químicas e/ou bioquímicas com alta régio-, estéreo- e quimiosseletividade. Essas proteínas são formadas por uma sequência de resíduos de aminoácidos ligados covalentemente entre si por ligações peptídicas (Esquema 3). Os aminoácidos podem possuir características hidrofílicas (polares) ou hidrofóbicas (apolares), dependendo da natureza do grupamento R, e a distribuição destes grupos ao longo da cadeia proteica determina a função, o arranjo tridimensional e o comportamento da enzima.<sup>11</sup>



**Esquema 3:** Formação de proteínas através de ligações peptídicas.

As enzimas podem ser isoladas de diversas fontes, tais como, organismos animais e vegetais, e micro-organismos. Estima-se que existam milhares de enzimas disponíveis na natureza,<sup>12</sup> onde apenas uma pequena fração desse total é conhecida.

As enzimas são classificadas em seis classes, de acordo com critérios da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB),<sup>13</sup> e sua classificação depende do tipo de reação que catalisa (Tabela 1).

<sup>11</sup> Lehninger, A.; *Biochemistry*, Worth Publ Inc, New York, 6ª edição, **2013**.

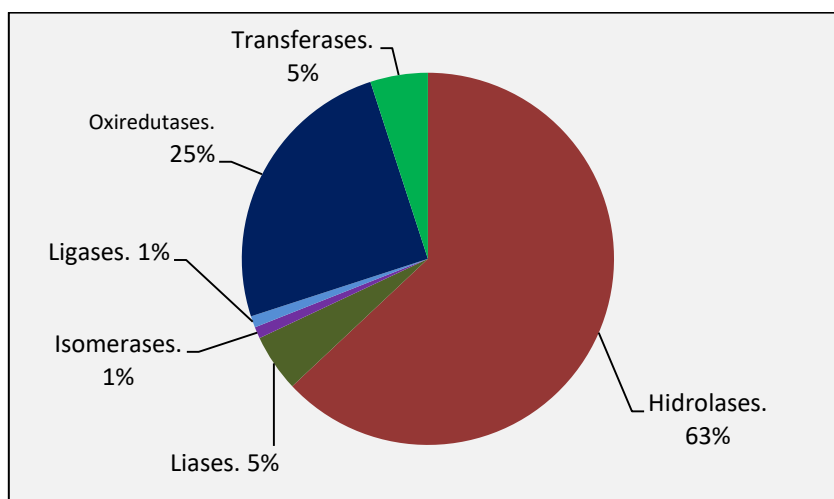
<sup>12</sup> Kindel, S.; *Technology*, **1981**, *1*, 62.

<sup>13</sup> *International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Enzyme Nomenclature*. Academic Press, New York, **1992**.

**TABELA 1:** Classificação das enzimas de acordo com a IUBMB.

| <b>Classes de Enzimas</b>     | <b>Tipo de reação catalisada</b>                                                             | <b>Exemplos de enzimas</b>                                    |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b><i>Oxidoreductases</i></b> | Oxidação/redução, envolvendo a transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio e oxigênio. | Desidrogenases, oxidases, oxigenases, peroxidases             |
| <b><i>Transferases</i></b>    | Transferência de grupos funcionais, tais como, acil, metil, fosforil, amino.                 | Aminoácido transaminases                                      |
| <b><i>Hidrolases</i></b>      | Reações de hidrólise, e em condições específica a reação inversa.                            | Lipases, acilases, nitrilases, esterases, amidases, proteases |
| <b><i>Liasas</i></b>          | Adição/eliminação sobre ligações C=C, C=N, C=O.                                              | Aldolases, oxinitrilases, hidroxinitrila liases               |
| <b><i>Isomerases</i></b>      | Reações de isomerização                                                                      | Sintetases, glicina ligase                                    |
| <b><i>Ligases</i></b>         | Formação/clivagem de duas moléculas frente a ligações C-O, C-S, C-N, C-C.                    | Racemases, glicose, isomerase                                 |

No campo industrial, as hidrolases possuem usos destacados (cerca de 63%), devido a importância comercial relativa dos produtos que elas fornecem (Figura 1).<sup>14</sup>

**Figura 1:** Usos relativos das diversas classes de enzimas na indústria.

A utilização de enzimas, como qualquer outro catalisador, em reações químicas podem apresentar suas vantagens e desvantagens como destacadas abaixo.

<sup>14</sup> Faber, K.; Biotransformations in Organic Chemistry, Springer-Verlag, Berlin, 6<sup>th</sup> ed., **2011**.

**- Vantagens no uso de enzimas:<sup>15</sup>**

1. São catalisadores extremamente eficientes. Podem ser usadas em quantidades muito pequenas (da ordem de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  mol%), e aceleram o processo em cerca de  $10^8$  a  $10^{20}$  em relação às reações não catalisadas.
2. São catalisadores “verdes”, reagentes ambientalmente aceitáveis, pois são biodegradáveis.
3. Atuam sob condições médias, na faixa de temperatura entre 20-40 °C e de pH 5-8.
4. São compatíveis umas com as outras, podendo ser utilizadas como sistemas multi-enzimáticos em processos do tipo “cascata”.
5. Podem biotransformar substratos não naturais, e podem atuar em ambientes diferentes do seu ambiente natural, tais como em solventes orgânicos.
6. Catalisam uma grande gama de reações químicas, apresentando elevadas seletividades, tais como:
  - I. *Quimiosseletividade*: Atuam em apenas um único grupo funcional específico, na presença de várias outras funções químicas.
  - II. *Regiosseletividade*: Discriminam entre grupos funcionais idênticos, mas que estão em regiões distintas do arranjo da molécula.
  - III. *Enantiosseletividade*: Como as enzimas propiciam um ambiente quiral para os substratos, elas podem levar a formação de apenas um enantiômero no caso da biotransformação de um substrato pró-quiral, ou desempenhar uma resolução cinética frente a uma mistura racêmica, onde um dos enantiômeros reage mais rapidamente que o outro.

**- Desvantagens no uso de enzimas:<sup>14</sup>**

O uso de enzimas em biotransfomações de compostos não naturais muitas vezes encontra algumas dificuldades. Pois, as enzimas apresentam certa sensibilidade, sendo algumas sensíveis a solventes e reagentes orgânicos, a temperaturas elevadas e a altas pressões. O custo para a utilização de enzimas isoladas em reações químicas é relativamente

---

<sup>15</sup> (a) Wolfenden, R.; Snider, M.J.; *Acc. Chem. Res.*, **2001**, 34, 938. (b) Garcia-Junceda, E.; *Multi-step Enzyme Catalysis*. Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.

alto. Geralmente, algumas enzimas só apresentam atividades frente a seus substratos naturais e estando em seu ambiente natural (a atividade catalítica enzimática é maximizada em água).

**- Enzimas isoladas vs. sistemas de células íntegras:**

As reações biocatalisadas podem ser realizadas através do uso de enzimas isoladas ou de células íntegras. As enzimas isoladas apresentam alguns benefícios, como por exemplo, a alta produtividade devido a maior concentração, facilidade no processo de purificação dos produtos, e em muitos casos podem ser reutilizadas. Mas, muitas vezes estão associadas ao inconveniente da necessidade dos cofatores para desempenharem suas funções.<sup>16</sup> Já a aplicação com células íntegras dispensa a dependência de cofatores, no entanto podem levar a formação de subprodutos (pois são sistemas multi-enzimáticos).<sup>1</sup>

**1.1.3.1 Teorias e aspectos mecanísticos da catálise enzimática**

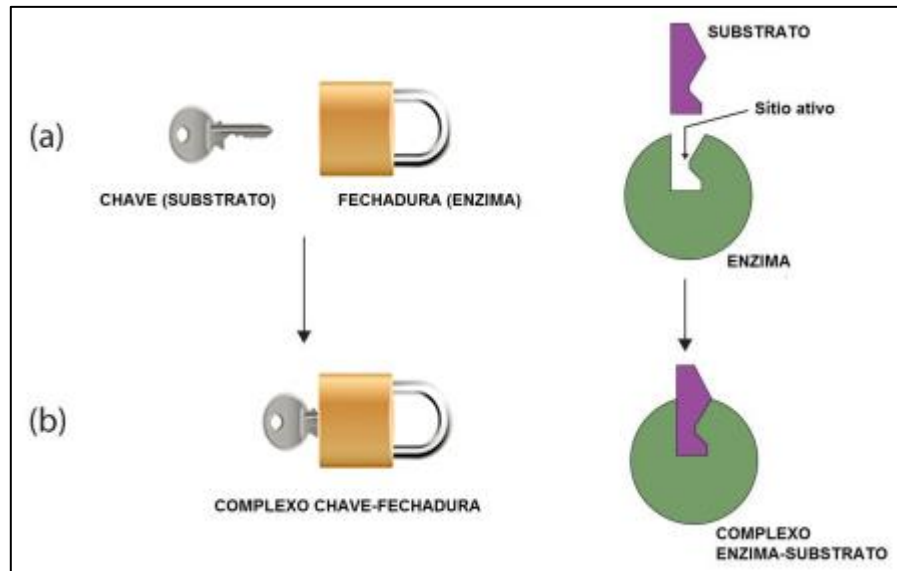
No decorrer dos anos, foram desenvolvidos vários modelos no sentido de explicar os mecanismos de ação das enzimas e com isso fornecer um entendimento molecular sobre a catálise enzimática. Dentre essas teorias, podemos citar principalmente o modelo chave-fechadura desenvolvida por Emil Fischer em 1894, o modelo do encaixe ou ajustamento induzido proposta por D. Koshland em 1958, a regra da ligação a três pontos postulada por A. G. Ogston em 1948, juntamente com os princípios dos efeitos entrópicos (termodinâmicos) e os fatores cinéticos.<sup>14</sup>

No modelo chave-fechadura, a enzima é tratada como uma estrutura totalmente rígida e o substrato apresenta uma interação com o sítio ativo da enzima da mesma forma que uma chave e uma fechadura (Figura 2), ou seja, de acordo com essa teoria apenas o substrato que tivesse um encaixe perfeito com o sítio ativo era passível de ser biotransformado. Essa teoria apresentou algumas falhas, pois não conseguia explicar a “promiscuidade enzimática”,<sup>17</sup> ou seja, o fato das enzimas não serem totalmente específicas a substratos naturais e poderem catalisar outros tipos de reações envolvendo substratos não naturais incomuns a elas.

---

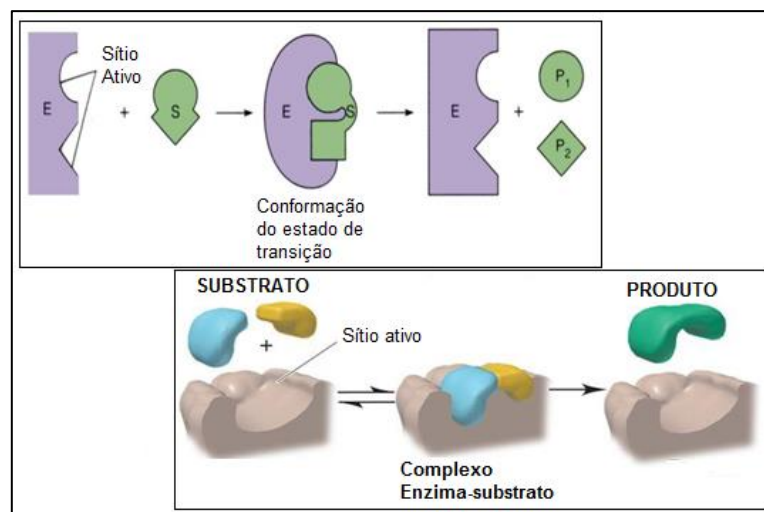
<sup>16</sup> Milner, S. E.; Maguire, A. R.; *Arkivoc*, **2012**, 321.

<sup>17</sup> Khersonsky, O.; Tawfik, D. S.; *Annu. Rev. Biochem.*, **2010**, 79, 471–505.



**Figura 2:** Representação esquemática do mecanismo chave-fechadura.

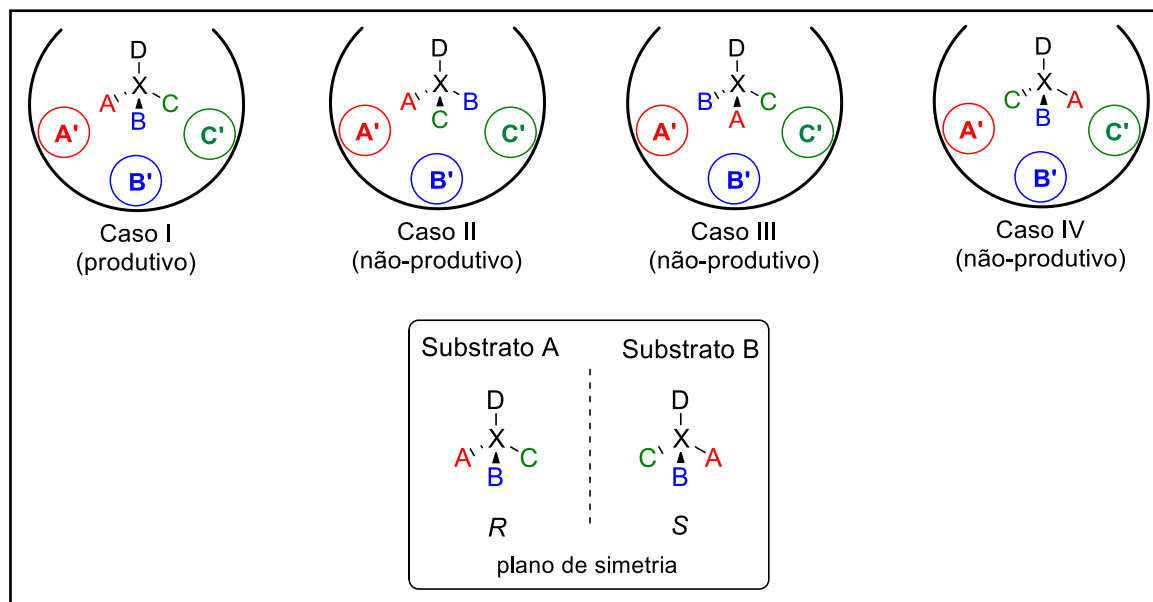
Um modelo mais consistente é o proposto pela teoria do ajustamento induzido, onde estabeleceu que as enzimas não eram estruturas completamente rígidas, e sim possuíam uma certa flexibilidade, principalmente em seu sítio ativo, adquirindo conformações variadas de acordo com o arranjo espacial do substrato (Figura 3).<sup>18</sup> Esse modelo, mais sofisticado que o chave-fechadura, conseguiu explicar o fenômeno da “promiscuidade enzimática” que ocorre na maioria das enzimas.



**Figura 3:** Representação esquemática do mecanismo por ajustamento induzido.

<sup>18</sup> (a) Koshland, D. E.; *Nature*, **2004**, 432, 447. (b) Koshland, D. E.; Neet, K.E.; *Annu. Rev. Biochem.*, **1968**, 37, 359.

Para explicar como as enzimas catalisam as reações com uma elevada enantiosseletividade, sendo seletiva a apenas um dos enantiômeros numa mistura enantiomérica, Ogston postulou a regra dos três pontos, onde para a enantiosseletividade ser maximizada o substrato deveria se fixar no mínimo a três diferentes pontos de ligação dentro do sítio ativo da enzima (Figura 4).<sup>19</sup> Por exemplo, de acordo com a figura 4, o substrato A é o único que satisfaz a regra dos três pontos (Caso I).



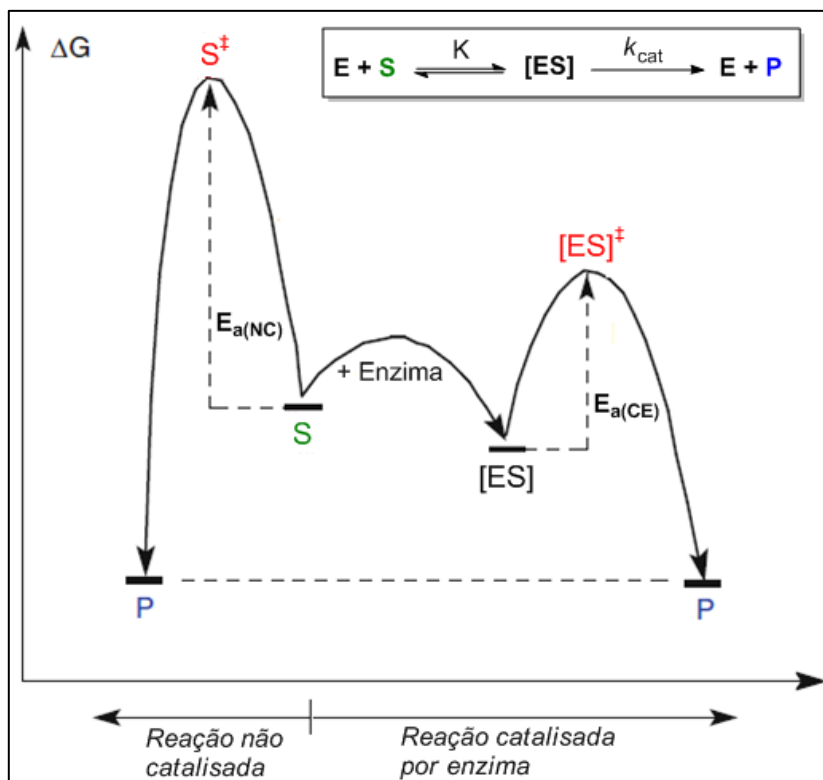
**Figura 4:** Representação esquemática da discriminação enantiomérica enzimática.

A alta seletividade das reações enzimáticas também pode ser explicada levando-se em consideração os fatores cinéticos. As enzimas aceleram a velocidade das reações através do abaixamento da barreira energética (energia de ativação –  $E_a$ ) entre reagentes e produtos, estando essa diminuição da  $E_a$  relacionada com a estabilização do estado de transição pela enzima (Figura 5).<sup>20</sup> De acordo com a lei de Arrhenius,  $k_{cat} = A \cdot e^{-E_a/RT}$ , quando a energia de ativação é diminuída o termo ( $e^{-E_a/RT}$ ) é aumentado, consequentemente a constante de velocidade ( $k_{cat}$ ) também aumenta.<sup>21</sup>

<sup>19</sup> Ogston, A.G.; *Nature*, **1948**, 162, 963.

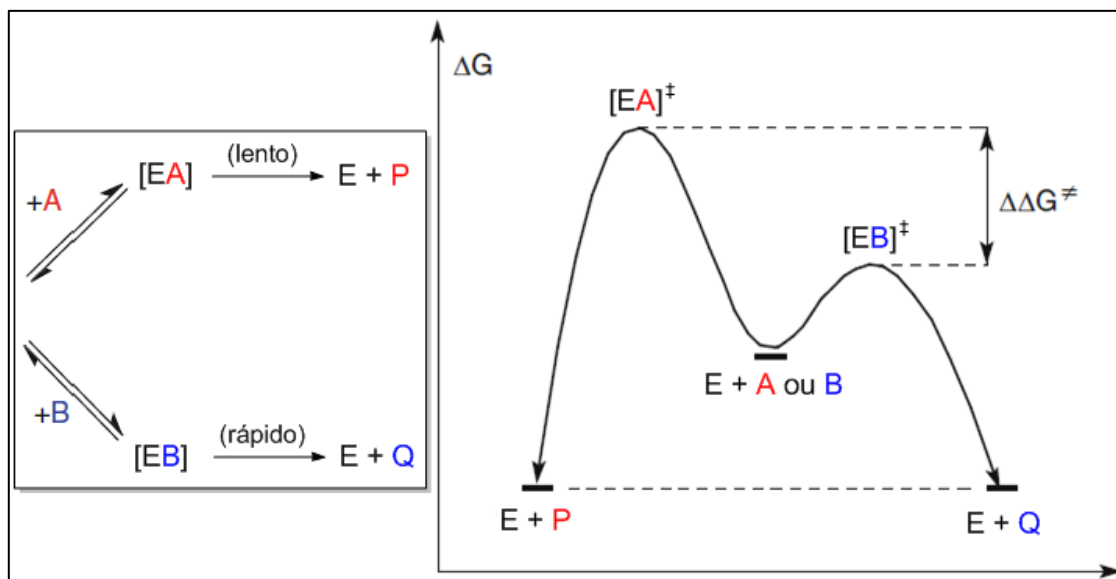
<sup>20</sup> Kraut, J.; *Science*, **1988**, 242, 533.

<sup>21</sup> (a) Georlette, D.; Blaise, V.; Collins, T.; D'Amico, S.; Gratia, E.; Hoyoux, A.; Marx, J.C.; Sonan, G.; Feller, G.; Gerday, C.; *FEMS Microbiology Reviews*, **2004**, 28, 25. (b) Lonhienne, T.; Gerday, C.; Feller, G.; *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1543, 1.



**Figura 5:** Diagrama de energia para reação catalisada por enzima vs. reação não catalisada. ( $E_{a(NC)}$  – Energia de ativação da reação não catalisada;  $E_{a(CE)}$  – Energia de ativação para reação catalisada por enzima).

Como consequência, a estereosseletividade enzimática surge da diferença de energia existente no estado de transição, associado à formação dos dois complexos diastereoméricos no sítio ativo da enzima. Estes complexos diastereoméricos possuem energias livres ( $\Delta G$ ) diferentes, permitindo sua “discriminação quiral”, ou seja, que um dos enantiômeros (A ou B) seja biotransformado mais rapidamente que o outro (Figura 6).



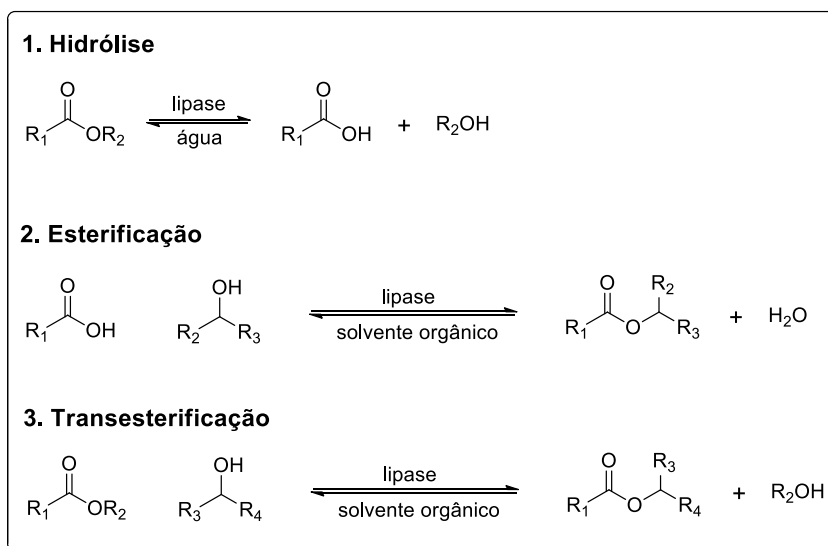
**Figura 6:** Diagrama de energia para uma catálise enzimática enantiosseletiva.

Por último, a eficiência catalítica das enzimas está ligada a fatores termodinâmicos, como o efeito entrópico.<sup>22</sup> O termo da entropia ( $\Delta\Delta S^\ddagger$ ) está relacionado com as diferenças das energias de ativação dos complexos diastereoméricos ( $\Delta\Delta G^\ddagger$ ). A entropia contribui para o balanço energético do processo através da “ordem” do sistema, sendo influenciada pela orientação dos reagentes e flexibilidade conformacional do sítio ativo durante o ajuste induzido, e também por efeitos de concentração e solvatação, o que torna a catálise enzimática favorável.

<sup>22</sup> Ottosson, J.; Rotticci-Mulder, J. C.; Rotticci, D.; Hult K.; *Protein Science*, **2001**, 10, 1769.

### 1.1.3.2 Lipases

Da classe das hidrolases, as lipases (triacilglicerol acil-hidrolase, EC 3.1.1.3) são as enzimas mais bem estabelecidas como biocatalisadores na área de síntese orgânica. Além de catalisarem com eficiência uma ampla faixa de reações químicas e serem suscetíveis a um grande número de substratos não-naturais, as lipases apresentam a vantagem de não dependerem do uso de cofatores.<sup>26c</sup> Em geral, as lipases são muito utilizadas em três tipos de reações, onde compostos enantiomericamente puros são fornecidos. São estas: reações de hidrólise, reações de esterificação e transesterificação (Esquema 4).<sup>23</sup> Mais recentemente, publicações na literatura mostraram que as lipases possuem a habilidade “promíscua” (outros tipos de reações podem ser catalisadas. Um exemplo são as reações aldólicas assimétricas).<sup>24</sup> Após a descoberta por Klibanov que lipases são capazes de catalisar reações em solventes orgânicos,<sup>25</sup> a faixa de possibilidades para aplicação desses biocatalisadores em processos químicos aumentou. Atualmente, é possível encontrar na literatura aplicações com o uso de CO<sub>2</sub> supercrítico<sup>2</sup> e também em líquidos iônicos<sup>2</sup> como solventes.



**Esquema 4:** Algumas reações catalisadas por lipases.

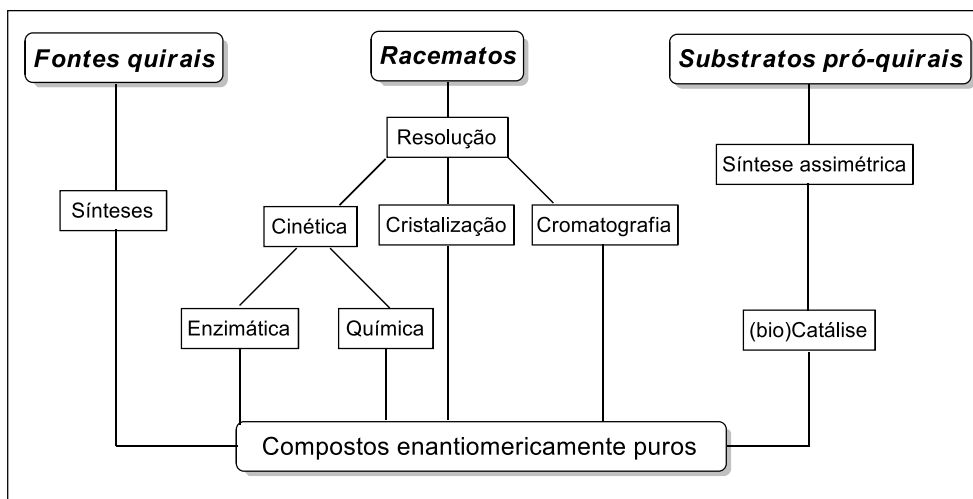
<sup>23</sup> Gotor-Fernández, V.; Brieva, R.; Gotor, V.; *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **2006**, *40*, 111.

<sup>24</sup> (a) Guan, Z.; Fu, J.P.; He, Y.H.; *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 4959. (b) Li, C.; Feng, X.W.; Wang, N.; Zhou, Y.J.; Yu, X.Q.; *Green Chem.*, **2008**, *10*, 616.

<sup>25</sup> Kirchner, G.; Scollar, M. P.; Klibanov, A. M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 7072.

### 1.1.3.2.1 Resolução Cinética Enzimática (RCE)

Dentre os métodos estereosseletivos usados para obtenção de compostos enantiomericamente puros (Figura 7), a Resolução Cinética Enzimática (RCE) se destaca como uma das principais e mais eficientes alternativas.<sup>26</sup> Com isso, a RCE de racematos tem se tornado uma ferramenta importante para obtenção de substâncias quirais de interesse biológico.<sup>27</sup>

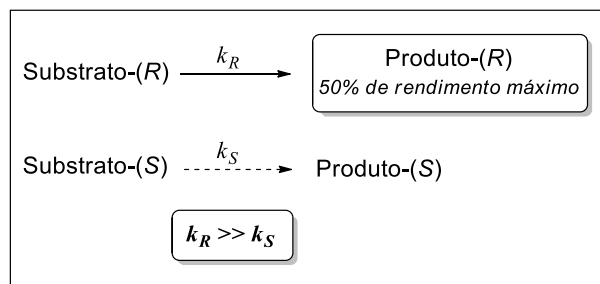


**Figura 7:** Métodos para obtenção de compostos enantiomericamente puros.

A RCE é um procedimento, usado para separação de enantiômeros de uma mistura racêmica, onde um dos enantiômeros é mais facilmente transformado por um biocatalisador, resultando assim em uma amostra enantioenriquecida do enantiômero menos reativo. Nesse processo é requerido que  $k_R \neq k_S$ , onde  $R$  e  $S$  são as configurações dos enantiômeros. Assim, por exemplo, se o ( $R$ )-substrato é o único que reage, então  $k_S \approx 0$  e a mistura racêmica fornece 50% do ( $S$ )-substrato e 50% do ( $R$ )-produto (a conversão máxima para a RCE de dois enantiômeros é de 50%) (Figura 8).

<sup>26</sup> (a) Gotor-Fernández, V.; Busto, E.; Gotor, V.; *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, 348, 797. (b) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3331. (c) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y.; *Chirality*, **2005**, 17, 1.

<sup>27</sup> Brabcova, J.; Filice, M.; Gutarra, M.; Palomo, J. M.; *Curr. Bio. Compd.*, **2013**, 9, 113.

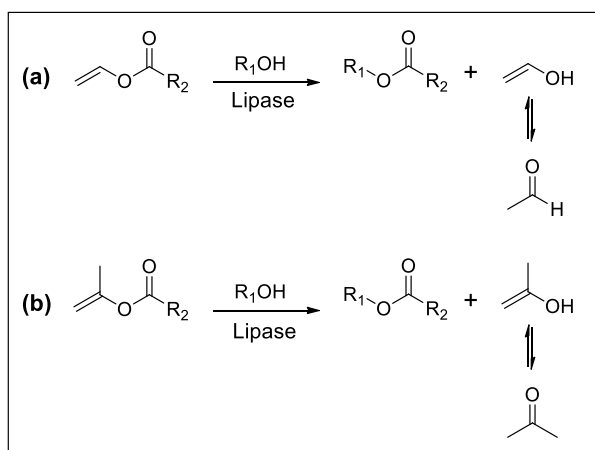


**Figura 8:** Resolução cinética convencional (conversão máxima de 50%).

#### 1.1.3.2.2 RCE de álcoois quirais

A RCE de álcoois quirais, catalisada por lipases, é um método assimétrico muito atrativo para obtenção de intermediários sintéticos enantiomericamente puros ou enriquecidos. Dentre estes métodos, a transesterificação em meio orgânico catalisado por lipase é uma das técnicas mais exploradas pelos químicos orgânicos. Assim, na presença de um doador de acila, solvente e temperatura adequados, um dos enantiômeros da mistura racêmica é seletivamente acilado, enquanto que o outro enantiômero permanece inalterado em sua forma enantiopura.<sup>26b</sup>

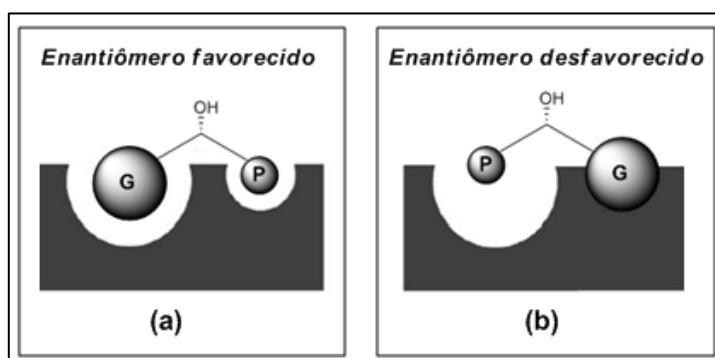
O processo de transesterificação irreversível pode ser alcançado quando ésteres enólicos são utilizados como doadores de acila, onde a reação inversa é desfavorecida devido à tautomerização do enol resultante, que leva a formação de um composto carbonílico volátil (Figura 9).<sup>28</sup>



**Figura 9:** Transesterificações irreversíveis catalisadas por lipase.

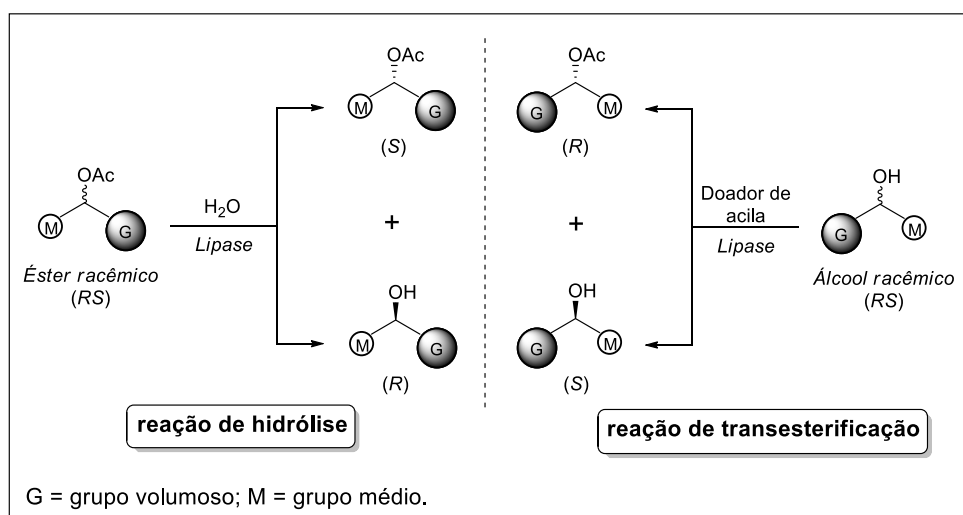
<sup>28</sup> Hanefeld, U.; *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 2405.

O modelo empírico mais recente para explicar o reconhecimento quiral pelas lipases é a regra de Kazlauskas.<sup>29</sup> Esta regra estabelece que a maioria das lipases possuem a mesma enantiopreferência frente a determinado substrato, apresentando apenas diferenças no grau de enantiosseletividade. Nesta regra, o modelo do sítio ativo da lipase é considerado como consistindo de duas cavidades de tamanhos diferentes, um grande e outro pequeno (Figura 10).



**Figura 10:** Ilustração exemplificativa da interação entre o sítio catalítico de uma lipase e os enantiômeros de um álcool secundário quiral de acordo com a regra de Kazlauskas. O grupo volumoso é representado por G, e o grupo pequeno é representado por P.

Embora o modelo proposto por Kaslauskas e colaboradores tenha sido destinado para a hidrólise de ésteres, esta regra também tem sido extrapolada e bem aceita para a acilação de álcoois secundários (Esquema 5).



**Esquema 5:** Reações de hidrólise e transesterificação de álcoois secundários catalisadas por lipase. A enantiopreferência das reações segue o modelo empírico de Kazlauskas.

<sup>29</sup> Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A.; *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656.

Para álcoois secundários, possuindo um substituinte grande e um médio ligados ao centro assimétrico, submetidos à resolução cinética mediada por uma lipase, a estereosseletividade é explicada observando-se o modelo, onde o enantiômero ativo interage com o sítio catalítico através de um arranjo espacial favorável (Figura 10).

A enantiosseletividade de uma RCE catalisada por lipase pode ser definida pelo excesso enantiomérico (ee) e pela razão enantiomérica ou fator de seletividade  $E$ .<sup>2</sup> O ee determina a pureza enantiomérica do composto, e seu valor pode ser dado pela equação 1:

$$\% ee_R = \frac{R-S}{R+S} \times 100 \quad (1),$$

para o caso em que  $R > S$ . [ $R$  – concentração do enantiômero ( $R$ ).  $S$  – concentração do enantiômero ( $S$ )].

A estereosseletividade é descrita pelo valor de  $E$ , que é definido pela razão das constantes cinéticas específicas para cada enantiômero:

$$E_{RS} = \frac{(k_{cat}/k_M)_R}{(k_{cat}/k_M)_S} \quad (2),$$

onde  $k_{cat}$  é a constante de velocidade e  $k_M$  é a constante de Michaelis-Menten.

O valor de  $E$  também pode ser expresso em função dos excessos enantioméricos do produto ( $ee_p$ ) e do substrato ( $ee_s$ ), e da conversão ( $c$ ), numa equação desenvolvida por Sih e colaboradores.<sup>30</sup>

$$E = \frac{\ln[1 - c(1 + ee_p)]}{\ln[1 - c(1 - ee_p)]} = \frac{\ln[1 - c(1 - ee_s)]}{\ln[1 - c(1 + ee_s)]} \quad (3)$$

A conversão ( $c$ ) é expressa pela seguinte equação 4,

$$c = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p} \quad (4),$$

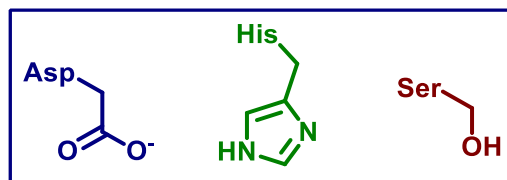
<sup>30</sup> (a) Chen, C.-S.; Wu, S.-H.; Girdaukas, G.; Sih, C. J.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 2812. (b) Chen, C.-S.; Sih, C. J.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1989**, 28, 695.

e logo após substituição do termo  $c$  e manipulações algébricas, a seletividade  $E$  pode ser expressa apenas em termos dos excessos enantioméricos  $ee_p$  e  $ee_s$  na seguinte equação 5.<sup>31</sup>

$$E = \frac{\ln \left[ \frac{1-ee_s}{1+(ee_s/ee_p)} \right]}{\ln \left[ \frac{1+ee_s}{1+(ee_s/ee_p)} \right]} \quad (5)$$

Uma RCE que apresenta um valor de  $E$  igual a 1, é considerada uma reação não seletiva. Para a resolução ser aceitável,  $E$  deve possuir um valor mínimo igual a 20.

O mecanismo reacional que ocorre no sítio ativo da lipase envolve uma tríade catalítica (resíduos dos aminoácidos serina-histidina-aspartato – Figura 11), que está presente na maioria das hidrolases.

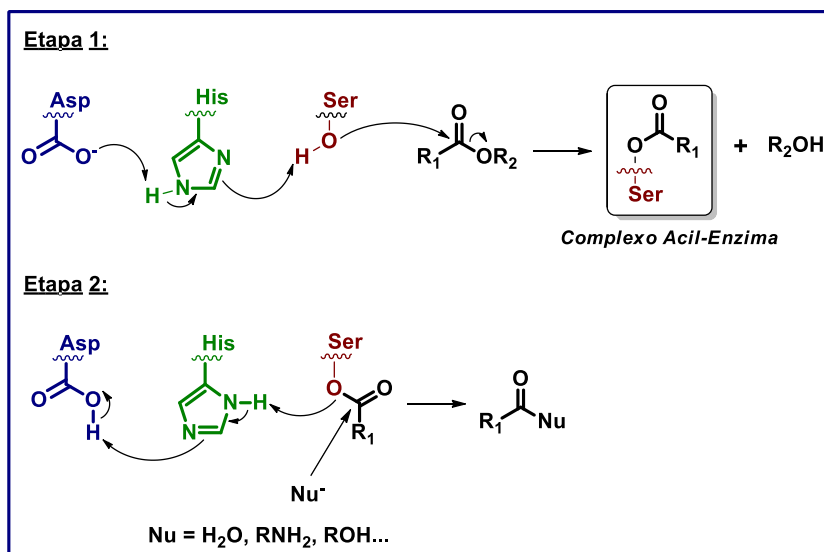


**Figuras 11:** Tríade catalítica.

O arranjo espacial desses três resíduos de aminoácidos favorece a formação do alcoolato na unidade serina, que por sua vez faz um ataque nucleofílico na carbonila do substrato doador de acila, levando a formação do intermediário acil-enzima (Esquema 6 – etapa 1). Na etapa seguinte, um nucleófilo apropriado ( $H_2O$ , álcool ou amina) ataca o intermediário acil-enzima, fornecendo o produto acilado e regenerando a enzima que retorna ao ciclo catalítico (Esquema 6 – etapa 2).<sup>32</sup>

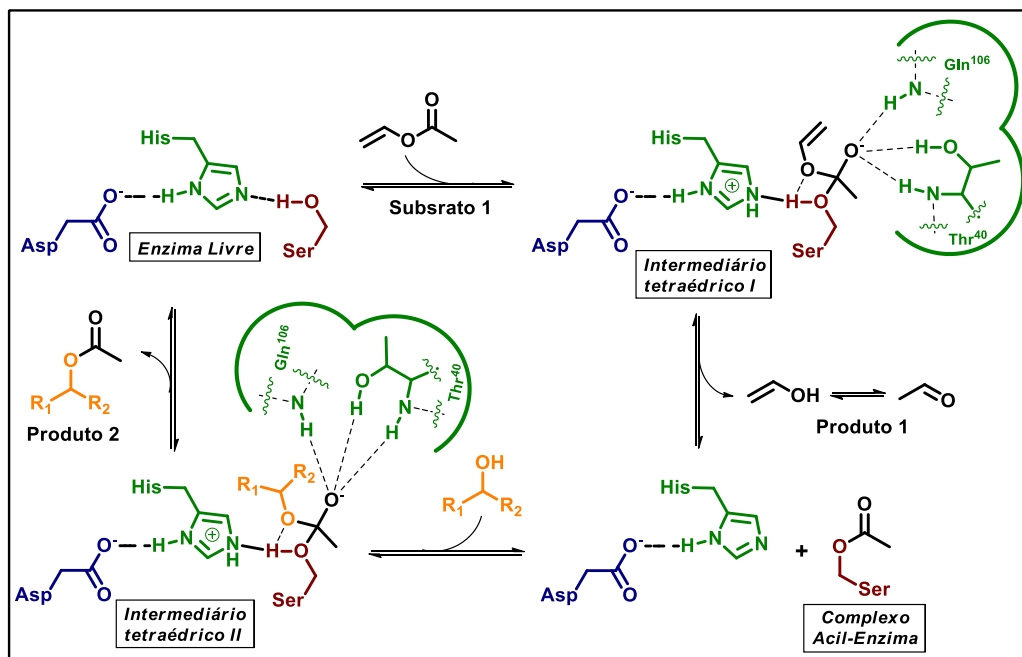
<sup>31</sup> Straathof, A. J. J.; Jongejan, J. A.; *Enzyme Microb. Technol.*, **1997**, 21, 559.

<sup>32</sup> (a) Raza, S.; Fransson, L.; Hult, K.; *Protein Science*, **2001**, 10, 329. (b) Häffner, F.; Norin, T.; Hult, K.; *Biophys. J.*, **1998**, 74, 1251.



**Esquema 6:** Mecanismo promovido pela tríade catalítica no sítio ativo de uma lipase.

No esquema 7 é mostrado o ciclo catalítico para uma resolução cinética enzimática de um álcool secundário catalisado por uma lipase, onde é evidenciado a estabilização do oxianion nos intermediários tetraédricos por outros resíduos de aminoácidos presente na enzima.<sup>33</sup>



**Esquema 7:** Ciclo catalítico para a RCE de um álcool secundário catalisado por lipase.

<sup>33</sup> (a) Ema, T.; *Curr. Org. Chem.*, **2004**, 8, 1009. (b) Kwon, H. C.; Shin, D. Y.; Lee, J. H.; Kim, S. W.; Kang, J. W.; *J. Microbiol. Biotechnol.*, **2007**, 17, 1098.

### 1.1.3.3 Lacases

As Lacases (Oxidoredutases, E.C.1.10.3.2) são enzimas biologicamente importantes que pertencem ao grupo das oxidases. Elas catalisam a oxidação de uma vasta gama de substratos orgânicos tais como, fenóis, polifenóis, anilinas, arilaminas, hidroxi-indóis, benzenotióis, e compostos metálicos orgânicos/inorgânicos aos correspondentes radicais, usando oxigênio molecular comoceptor de elétrons.<sup>34</sup> Essa ampla especificidade das lacases frente a diversos tipos de substratos fazem delas enzimas “ambientalmente amigáveis” com elevados potenciais industriais. Alguns exemplos das aplicações biotecnológicas das lacases no campo industrial são, a delignificação e branqueamento da pasta de papel, o tratamento de efluentes provenientes da indústria de tintura, têxtil, couro, e petroquímica, na preparação de biossensores, como marcadores de DNA, em ensaios imunoquímicos, e nas sínteses de moléculas orgânicas.<sup>34</sup>

A enzima Lacase foi primeiramente obtida a partir da árvore laca-japonesa (*Rhus vernicifera*), no ano de 1883 por Yoshida, que anos depois chegou à elucidação da enzima. Posteriormente, em 1896, Bertrand e Laborde, observaram a presença de lacase em fungos.<sup>35</sup> Os principais fungos produtores de lacase são os ligninolíticos basidiomicetos (“fungos da podridão branca”), que excretam a enzima extracelularmente, proporcionando assim uma purificação enzimática mais simples. Atividade biológica das lacases tem sido encontrada em fungos, bactérias, plantas, e insetos. Entretanto, as lacases fúngicas possuem grande interesse comercial devido ao seu potencial redox mais elevado, comparado com as outras formas dessa enzima que são isoladas a partir de outros organismos.<sup>34a</sup>

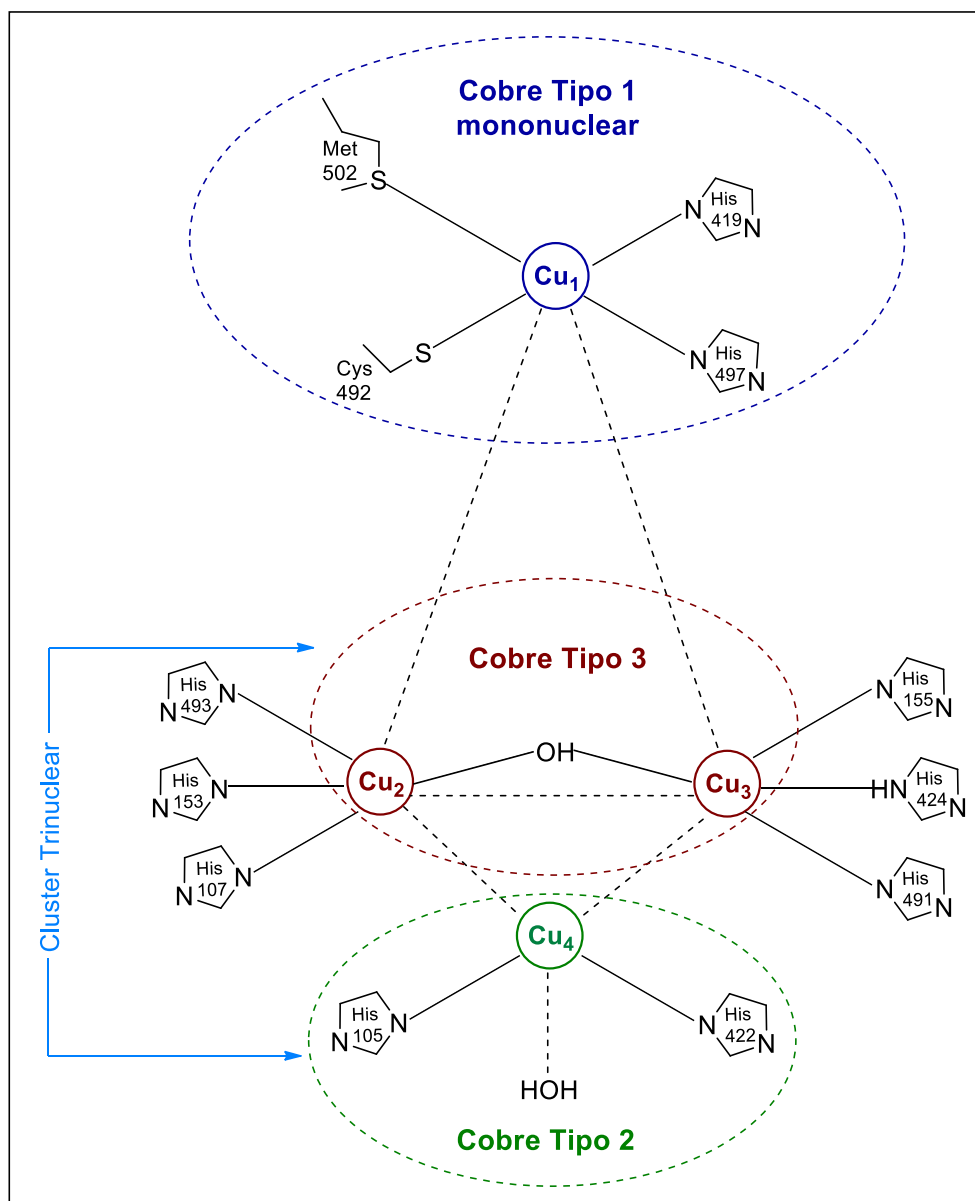
Estruturalmente, as lacases são glicoproteínas diméricas ou tetraméricas, contendo quatro átomos de cobre por monômero. Estes sítios de cobre das lacases são classificados em três grupos (Figura 12): tipo 1 ou centro de cobre azul, tipo 2 ou cobre normal e tipo 3 ou centros de cobres binucleares acoplados.<sup>36</sup> O cobre tipo 1 mostra coordenação com duas histidinas, uma cisteína e uma metionina como ligantes. O centro de cobre de tipo 1 mostra uma banda de absorção eletrônica intensa perto de 600nm ( $\epsilon = 5000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), que é responsável pela sua cor azul. O cobre tipo 2 possui duas histidinas e uma molécula de água como ligantes. O cobre do tipo 3 está coordenado com três histidinas e uma ponte de hidroxila. Dependendo

<sup>34</sup> (a) Khomutov, S. M.; Shutov, A. A.; Chernikh, A. M.; Myasoedova, N. M.; Golovleva, L. A.; Donova, M. V.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2016**, 123, 47. (b) Senthivelan, T.; Kanagaraj, J.; Panda, R. C.; *Biotech. Bioprocess Eng.*, **2016**, 21, 19.

<sup>35</sup> Upadhyay, P.; Shrivastava, R.; Agrawal, P. K.; *Biotech.*, **2016**, 6, 15.

<sup>36</sup> Dwivedi, U. N.; Singh, P.; Pandey, V. P.; Kumar, A.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2011**, 68, 117.

da estrutura e das propriedades desses centros de cobre, as lacases são divididas em lacases de baixo potencial redox e de elevado potencial redox.



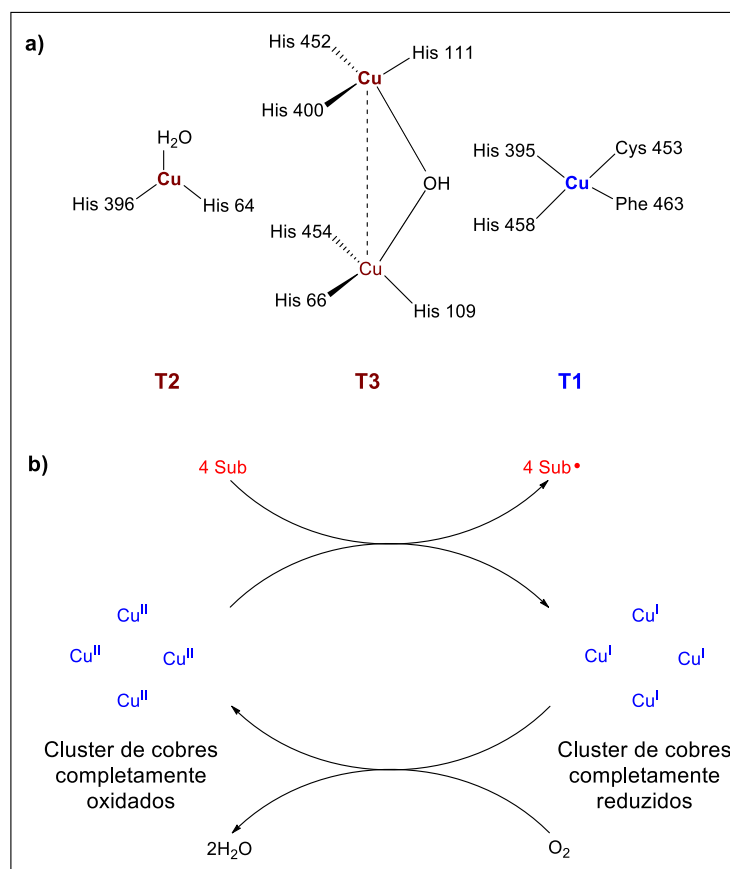
**Figura 12:** Representação esquemática dos centros de coordenação de cobre nas lacases.

Ao contrário das enzimas peroxidases, as lacases consomem  $\text{O}_2$  em vez de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para oxidar os monolignóis. Para desempenhar essa função catalítica, as lacases dependem de átomos de Cobre que estão distribuídos nos sítios ativos como mencionado acima.<sup>36</sup>

As reações catalisadas por lacases ocorrem pela oxidação monoelétrica de uma molécula do substrato adequado ao radical reativo correspondente. Inicialmente, a enzima retira elétrons dos substratos e converte estes em radicais livres, os quais podem ser polimerizados. Após receber quatro elétrons, a enzima doa-os para o oxigênio molecular para este formar moléculas de água (Equação 6 e Esquema 8).<sup>36,37</sup> No geral, existem três etapas principais durante o processo de oxidação catalítica realizada pela lacase:

1. Redução do cobre tipo 1 pelo substrato;
2. Transferência interna de elétrons do Cu tipo 1 para o cluster (aglomerado) trinuclear de Cobre tipo 2 e tipo 3.
3. Redução do oxigênio a água pelos Cobre tipo 2 e tipo 3.

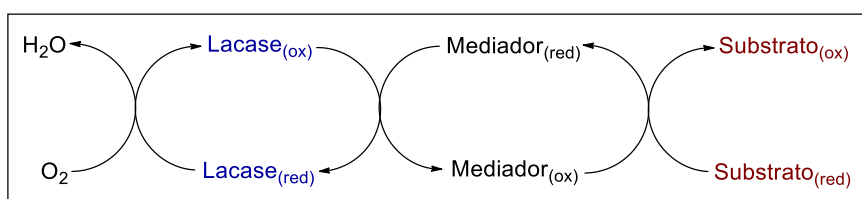
A reação global é a seguinte:  $4RH + O_2 \longrightarrow 4R^{\bullet} + 2H_2O$  (6)



**Esquema 8:** (a) Modelo do sítio catalítico da lacase de *Trametes versicolor*. (b) Representação esquemática do ciclo catalítico promovido pela lacase, produzindo duas moléculas de água a partir da redução de uma molécula de oxigênio molecular e da concomitante oxidação de quatro moléculas do substrato aos correspondentes radicais (no sítio de cobre T1).

<sup>37</sup> Riva, S.; *Trends Biotech.*, **2006**, 24, 219.

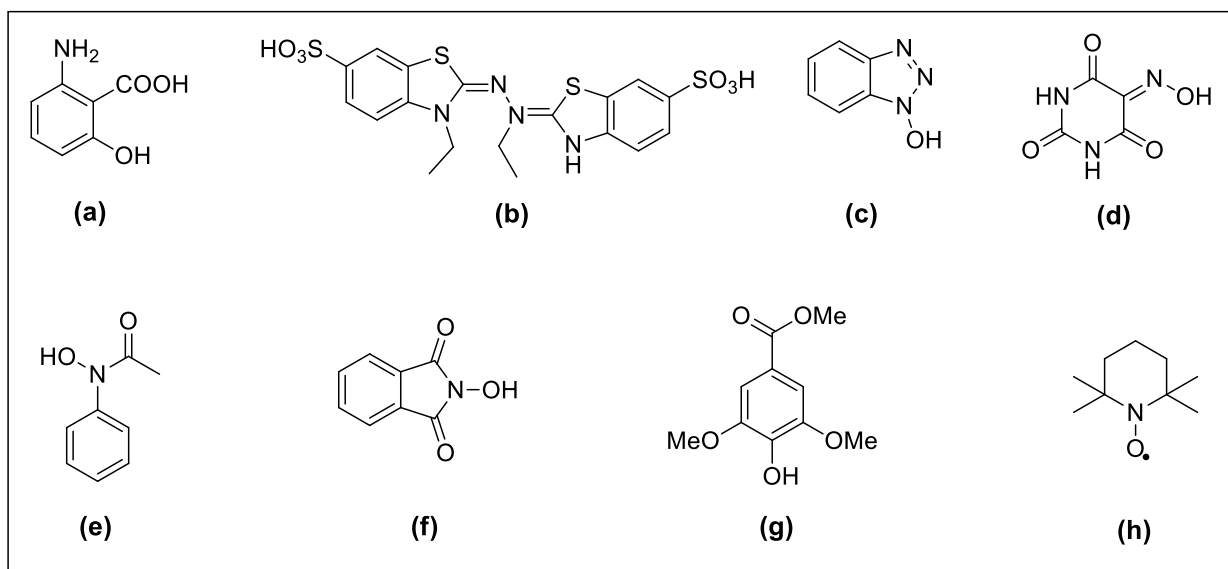
Muitas vezes, os substratos de interesse não podem ser oxidados diretamente pelas lacases, ou porque são compostos volumosos e muito grandes para penetrar no sítio ativo da enzima ou porque possuem um potencial redox particularmente elevado. De forma a “imitar a natureza”, é possível driblar esta limitação com o uso dos chamados 'mediadores químicos', os quais são compostos adequados que atuam como substratos intermediários para a lacase, cujas formas radicais oxidadas são capazes de interagir com os substratos de potenciais redox elevados.<sup>37</sup> No esquema 9 é mostrado um esquema mecanístico para a oxidação catalisada por lacase na presença de um mediador.



**Esquema 9:** Representação esquemática do ciclo redox catalisado por lacase na presença de um mediador químico.

O sistema mediador de lacase (LMS) foi primeiramente descrito por Bourbonnais e Paice em 1990, quando utilizaram o ABTS [2,2-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)] como mediador químico. Ele foi desenvolvido originalmente para solucionar os problemas existentes durante o processo de biobranqueamento das celuloses de madeira.<sup>35</sup> O mecanismo dessa reação mediada por ABTS procede da seguinte forma: a lacase é ativada pelo oxigênio, que em seguida oxida o mediador. Em seguida, o mediador difunde-se na celulose e oxida a lignina, que é convertida em fragmentos menores e, portanto, esses são facilmente removidos da celulose com o auxílio da extração alcalina.

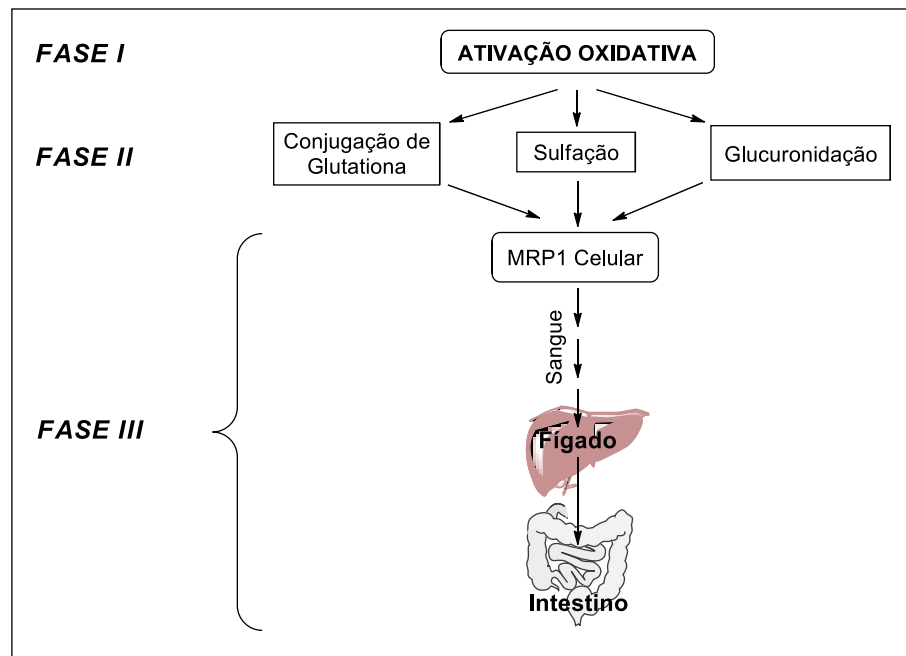
Com o passar dos anos, novos mediadores químicos foram sendo descobertos e empregados na oxidação catalítica promovida por lacase de diversos substratos.<sup>37</sup> Exemplos de mediadores químicos, utilizado no sistema mediador/lacase, são mostrados na figura 13.



**Figura 13:** Exemplos de mediadores da lacase: (a) Ácido 3-hidroxiantranílico (HAA); (b) 2,2-azino-bis-[ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico] (ABTS); (c) *N*-hidroxibenzotriazol (HBT); (d) Ácido violúrico (VLA); (e) *N*-hidroxiacetanilida (NHA); (f) *N*-hidroxiftaimida (HPI); (g) Metil éster do ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzóico (Ácido siringico); (h) *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO).

#### 1.1.3.4 Glutationas S-transferases (GSTs)

Glutationas S-Transferases (GSTs; EC 2.5.1.18) são enzimas encontradas na maioria dos organismos vivos. As GSTs são responsáveis principalmente pelo processo de detoxificação celular, metabolizando uma grande variedade de substâncias xenobióticas de origem exógenas (drogas, pesticidas, carcinogênicos, etc.), assim como compostos tóxicos de origem endógena, resultante, por exemplo, da peroxidação de lipídeos a partir do estresse oxidativo.<sup>38</sup> A bioativação dos xenobióticos ocorre através da conjugação catalisada por GST entre o tripeptídeo glutatona (GSH) e a respectiva toxina possuindo um grupo eletrofílico, levando a formação de substratos mais solúveis em meio aquoso, facilitando assim a excreção.<sup>39</sup> Essa ação da GST acontece durante a fase II do processo de detoxificação (Figura 14), chamada também de fase de conjugação.<sup>40</sup>



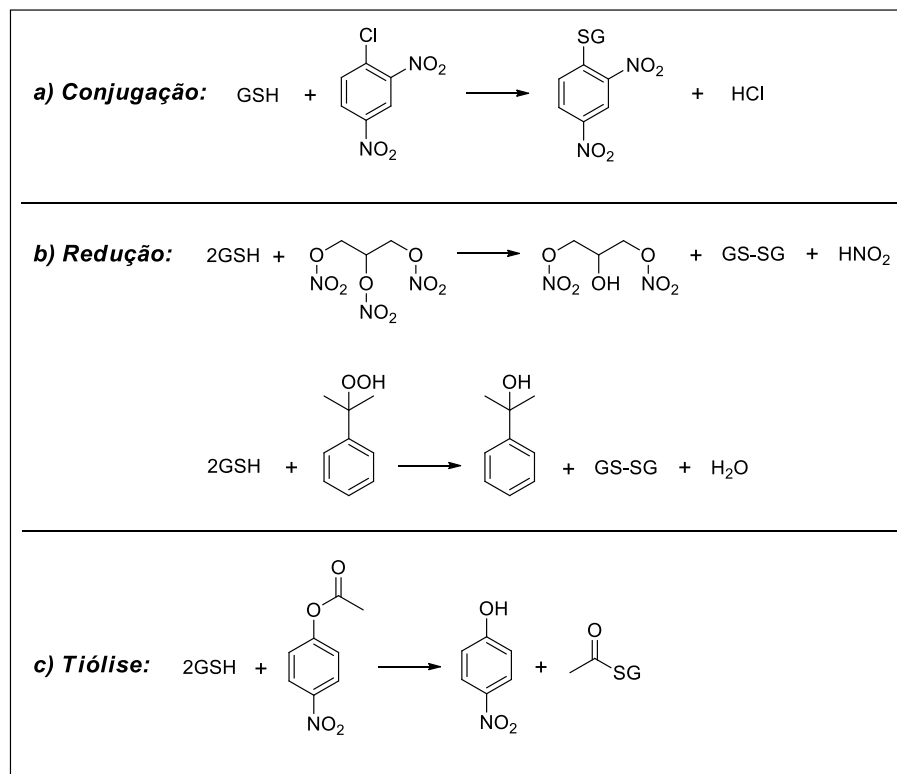
**Figura 14:** Fases do processo de detoxificação.

<sup>38</sup> Hayes, J. D.; Flanagan, J. U.; Jowsey, I. R.; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2005**, 45, 51.

<sup>39</sup> Lumjuan, N.; Stevenson, B. J.; Prapanthadara, L.; Somboon, P.; Brophy, P. M.; Loftus, B. J.; Severson, D. W.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2007**, 37, 1026.

<sup>40</sup> Liska, D. J.; *Altern. Med. Rev.*, **1998**, 3, 187.

Dentre as reações químicas catalisadas pelas GSTs, podemos citar principalmente as reações de conjugação, de redução e de tiólise (Esquema 10).<sup>38</sup>



**Esquema 10:** Principais tipos reações catalisadas pelas GSTs.

#### 1.1.3.4.1 Atividades das GSTs e resistência a inseticidas

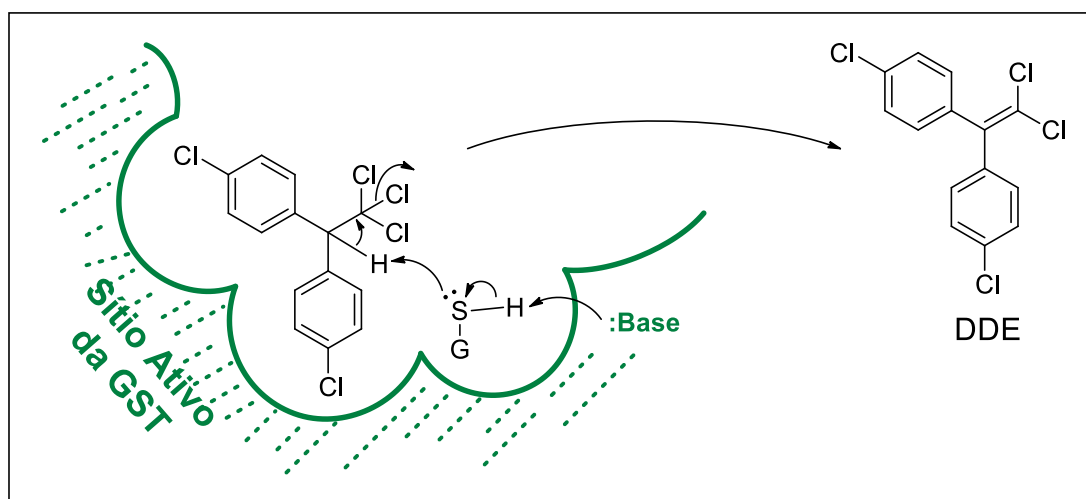
Um grande número de doenças desenvolvida em humanos está associado ao efeito de transmissão através de mosquitos vetores. Uma forma muito comum de combater esse tipo de problema é através da utilização de inseticidas químicos. Devido ao número limitado de inseticidas usados no controle de pragas em saúde pública, levando a uma ausência na rotatividade de praguicidas com mecanismos de ações diferenciados, populações de insetos passam a desenvolver uma resistência pronunciada a esses inseticidas.<sup>41</sup>

Essa resistência pode ser entendida como a habilidade desenvolvida por determinada linhagem de suportar uma dose de composto tóxico que normalmente a levaria a morte. Ela

<sup>41</sup> (a) Lumjuan, N.; Rajatileka, S.; Changsom, D.; Wicheer, J.; Leelapat, P.; Prapanthadara, L.; Somboon, P.; Lycett, G.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2011**, 41, 203. (b) Hemingway, J.; Ranson, H.; *Annu. Rev. Entomol.*, **2000**, 45, 371.

surge principalmente devido a dois efeitos: mutações genéticas, em muitos casos, resultantes da alteração de um único gene regulador, podendo desencadear efeitos cascatas complexos de expressão de genes não relacionados, aumentando o nível metabólico; e modificação do sítio-alvo pela alteração dos aminoácidos que se ligam aos inseticidas, tornando estes menos efetivos e inofensivos.<sup>41b,42</sup>

Três grupos de enzimas (Esterases, Monooxigenases e Glutathione S-Transferases) são responsáveis pela ação metabólica que confere resistência a pesticidas organoclorados, organofosfatos, carbamatos e piretroides.<sup>41b</sup> A atividade dehidroclorinase das GSTs frente a moléculas de diclorodifeniltricloroetano (DDT) foi primeiramente observada em espécies de moscas domésticas.<sup>43</sup> O mecanismo dessa detoxificação se inicia com a formação do ânion tiolato proveniente da GSH no sítio ativo da GST, e este ânion atua como uma base e abstrai um átomo de hidrogênio do DDT que resulta na eliminação de um átomo de cloro, levando a formação do Diclorodifenildicloroetileno (DDE) (Figura 15).<sup>54</sup> A resistência evidenciada em insetos está relacionado ao elevado nível de atividade das GSTs, como demonstrado em diversos estudos e pesquisas.<sup>44</sup>



**Figura 15:** Mecanismo hipotético comum para a atividade dehidroclorinase das GSTs.

<sup>42</sup> (a) Weill, M.; Lutfalla, G.; Mogensen K.; Chandre, F.; Berthomieu, A.; Berticat, C.; Pasteur, N.; Philips, A.; Fort, P.; Raymond, M.; *Nature*, **2003**, 423, 136. (b) Hemingway, J.; Field, L.; Vontas, J.; *Science*, **2002**, 298, 96. (c) Brogdon, W. G.; McAllister, J. C.; *Emerg. Infect. Dis.*, **1998**, 4, 605.

<sup>43</sup> Clark, A.G.; Shamaan, N.A.; *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1984**, 22, 249.

<sup>44</sup> Enayati, A. A.; Ranson, H.; Hemingway, J.; *Insect Mol. Biol.*, **2005**, 14, 3.

As GSTs são divididas em três principais classes: Citosólicas, Microsomais e Mitocondriais. Apenas as duas primeiras classes são encontradas nos organismos dos insetos,<sup>39</sup> sendo que o grupo das citosólicas está subdividido em seis subclasses: Delta, Epsilon, Omega, Sigma, Theta e Zeta.<sup>45</sup> Apesar dessa grande diversidade de classes de GSTs, os estudos mostram que apenas as citosólicas das subclasses Delta e Épsilon estão diretamente ligadas ao fenômeno da resistência,<sup>46</sup> sendo observado para a Épsilon que os seus níveis de expressão e de atividade foram significativamente aumentados em insetos resistentes a inseticidas.<sup>41a</sup>

As GSTs citosólicas são formadas por duas subunidades resultando em homodímeros ou heterodímeros. Cada subunidade possui dois sítios de ligação, o sítio G e o sítio H. O sítio G, que é altamente conservado, está localizado na região N-terminal da enzima e tem a função de se ligar a glutathione (GSH). Esse resíduo N-terminal pode atuar como base interagindo com o grupo sulfidrílica da GSH, gerando ânions tiolatos.<sup>47</sup> O sítio H, que é mais variável estruturalmente, se encontra na região C-terminal e sua função é a interação com os substratos. Essa variabilidade característica do sítio H confere às GST, em parte, a possibilidade de biotransformar uma ampla gama de substratos eletrofílicos.<sup>39,46</sup>

---

<sup>45</sup> Ranson, H.; Rossiter, L.; Ortelli, F.; Jensen, B.; Wang, X.; Roth, C. W.; Collins, F. H.; Hemingway, J.; *Biochem. J.*, **2001**, 359, 295.

<sup>46</sup> Hemingway, J.; Hawkes, N. J.; McCarroll, L.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2004**, 34, 653.

<sup>47</sup> Armstrong, R.N.; *Chem. Res. Toxicol.*, **1991**, 4, 131.

## 1.2 QUIRALIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA

A quiralidade é um fenômeno natural muito abrangente, sendo formalmente definida como uma propriedade geométrica. Uma molécula é denominada como quiral quando ela pode coexistir como duas formas (enantiômeros) possuindo estruturas químicas iguais, mas que são entre si imagens especulares não-sobreponíveis. A quiralidade desempenha um papel muito importante em nosso cotidiano, estando relacionada ao contexto de aplicação no desenvolvimento de substâncias bioativas.<sup>48</sup>

Enantiômeros possuem as mesmas propriedades químicas e físicas em um ambiente aquiral. Entretanto, em um ambiente quiral ambos enantiômeros podem apresentar propriedades bastante distintas. Como o ambiente fisiológico dentro de um organismo vivo é quiral, então dois enantiômeros geralmente possuem ações diferenciadas sobre este, levando por exemplo, a diferentes sabores, odores, toxicidades e ações biológicas. Esse comportamento diferenciado produzido pelas substâncias quirais, é conhecido como atividade biológica.<sup>49</sup>

Exemplo de enantiômeros com efeitos farmacológicos distintos são muito comuns (Figura 16): (S)-warfarina **5** é um anticoagulante seis vezes mais potente que seu respectivo enantiômero *R*; (S)-propanolol **6** é um anti-hipertensivo e anti-arrítmico usado no tratamento de doenças do coração enquanto que o enantiômero *R* atua como um anticoncepcional.<sup>50</sup> Outro caso é o da talidomida **7**, que durante a década de 60 era administrado em mulheres grávidas na forma racêmica para o alívio do mal-estar matinal. No entanto, enquanto o isômero *R* é um sedativo que alivia o mal-estar matinal como náuseas e vômitos, o isômero *S* é um agente teratogênico (que causa má formação em fetos, como deformação nos braços e nas pernas).<sup>51</sup> Pesquisas posteriores mostraram que mesmo se administrando apenas o enantiômero (*R*)-talidomida este levaria também aos efeitos colaterais, pois o enantiômero *R* sofre um processo de tautomerização em pH ácido (pH estomacal) levando a formação do enantiômero *S* teratogênico.<sup>52</sup>

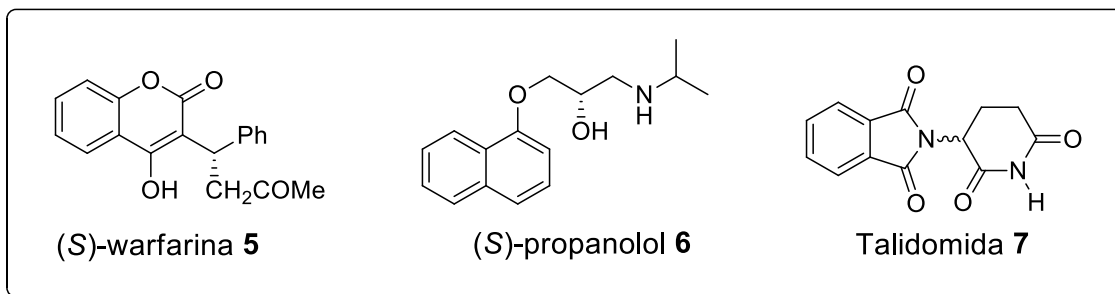
<sup>48</sup> Blaser, H.-U.; *Rend. Fis. Acc. Lincei*, **2013**, 24, 213.

<sup>49</sup> (a) Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T.; *Science*, **1977**, 197, 789. (b) Stephen, C. S.; *Chem. Eng. News*, **2001**, 79, 79. (c) Breuer, M.; Ditrich, K.; Habicher, T.; Hauer, B.; Kessler, M.; Stümer, R.; Zelinski, T.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 788.

<sup>50</sup> Parker, D.; *Chem. Rev.*, **1991**, 91, 1441.

<sup>51</sup> Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova*, **2001**, 24, 683.

<sup>52</sup> (a) Ali, I.; Gupta, V. K.; Aboul-Enein, H. Y.; Singh, P.; Sharma, B.; *Chirality*, **2007**, 19, 453. (b) Eriksson, T.; Bjorkman, S.; Roth, B.; Fyge, A.; Hoglund, P.; *Chirality*, **1995**, 7, 44.



**Figura 16:** Exemplos de moléculas onde os enantiômeros possuem atividades biológicas distintas.

Devido a essas observações, tornou-se iminente uma maior exigência a partir dos órgãos governamentais para que compostos farmacologicamente ativos sejam produzidos e comercializados em suas respectivas formas enantiopuras. Como exemplo, podemos citar a *U.S. Food and Drugs Administration (FDA)*, uma espécie de “Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) dos Estados Unidos”, que é responsável pela fiscalização do comércio de alimentos e fármacos. A partir de 1992 a *FDA* passou a exigir a avaliação dos efeitos biológicos dos fármacos antes de serem lançados no mercado e também que estes fossem preferencialmente encapsulados como enantiômeros puros.<sup>53</sup>

Fármacos quirais são muito importantes não somente devido as suas funções biológicas, mas também por possuírem um potencial econômico bastante elevado. O mercado farmacêutico apresenta um crescimento médio anual de aproximadamente 6,0%, desenvolvendo-se cerca de 51% de 2008 a 2015, representando um aumento de US\$ 372 bilhões de dólares no faturamento global (Tabela 2).<sup>54</sup> Estima-se que o mercado farmacêutico mundial deverá atingir o faturamento global de cerca de US\$ 1,4 trilhões de dólares no ano de 2019.<sup>54b</sup>

<sup>53</sup> (a) Pelletier D. L.; *Nutr. Rev.*, **2005**, 63, 171; (b) *US Food & Drug Administration (2004) Pharmaceutical Current Good Manufacturing Practices (cGMPs) for the 21<sup>st</sup> Century – a Risk-Based Approach: Final Report.*

<sup>54</sup> (a) Santos, E. C.; Ferreira, M. A.; *Revista Nexos Econômicos*, **2012**, 7, 95. (b) 2016 Global life sciences outlook, *Moving forward with cautious optimism*. Deloitte, **2016**. (c) *Top 10 Pharma Companies in World 2015*, fonte de pesquisa na web: <http://www.mbaskool.com/fun-corner/top-brand-lists/13558-top-10-pharmaceutical-companies-in-world-2015.html?limitstart=0>, pesquisado em 18/04/2016.

**Tabela 2:** As 10 maiores empresas em vendas no mundo até o ano de 2015.

|                                  | <b>Ranking<br/>2015</b> | <b>2015<br/>Vendas<br/>(US\$)</b> | <b>2011<br/>Vendas<br/>(US\$)</b> | <b>2010<br/>Vendas<br/>(US\$)</b> | <b>2009<br/>Vendas<br/>(US\$)</b> | <b>2008<br/>Vendas<br/>(US\$)</b> |
|----------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <b>JOHNSON &amp;<br/>JOHNSON</b> | 1                       | 71,3                              | 56,4                              | 56,8                              | 58,6                              | 60,6                              |
| <b>NOVARTIS</b>                  | 2                       | 58,8                              | 51,6                              | 46,9                              | 41,9                              | 39,5                              |
| <b>ROCHE</b>                     | 3                       | 50,3                              | 34,9                              | 32,9                              | 32,6                              | 30,1                              |
| <b>PFIZER</b>                    | 4                       | 49,6                              | 56,4                              | 56,8                              | 58,6                              | 60,6                              |
| <b>MERCK</b>                     | 5                       | 44,0                              | 40,1                              | 37,5                              | 37,9                              | 38,5                              |
| <b>SANOFI</b>                    | 6                       | 43,9                              | 39,5                              | 38,5                              | 38,2                              | 38,9                              |
| <b>GLAXOSMITHKLINE<br/>(GSK)</b> | 7                       | 41,4                              | 34,5                              | 34,0                              | 35,4                              | 36,9                              |
| <b>ASTRAZENECA</b>               | 8                       | 25,7                              | 36,9                              | 35,9                              | 34,7                              | 32,7                              |
| <b>ELI LILLY</b>                 | 9                       | 23,1                              | -----                             | -----                             | -----                             | -----                             |
| <b>ABBVIE</b>                    | 10                      | 18,8                              | -----                             | -----                             | -----                             | -----                             |
| <b>Mercado Global</b>            | -----                   | 1.100,0                           | 855,5                             | 794,8                             | 753,8                             | 727,3                             |

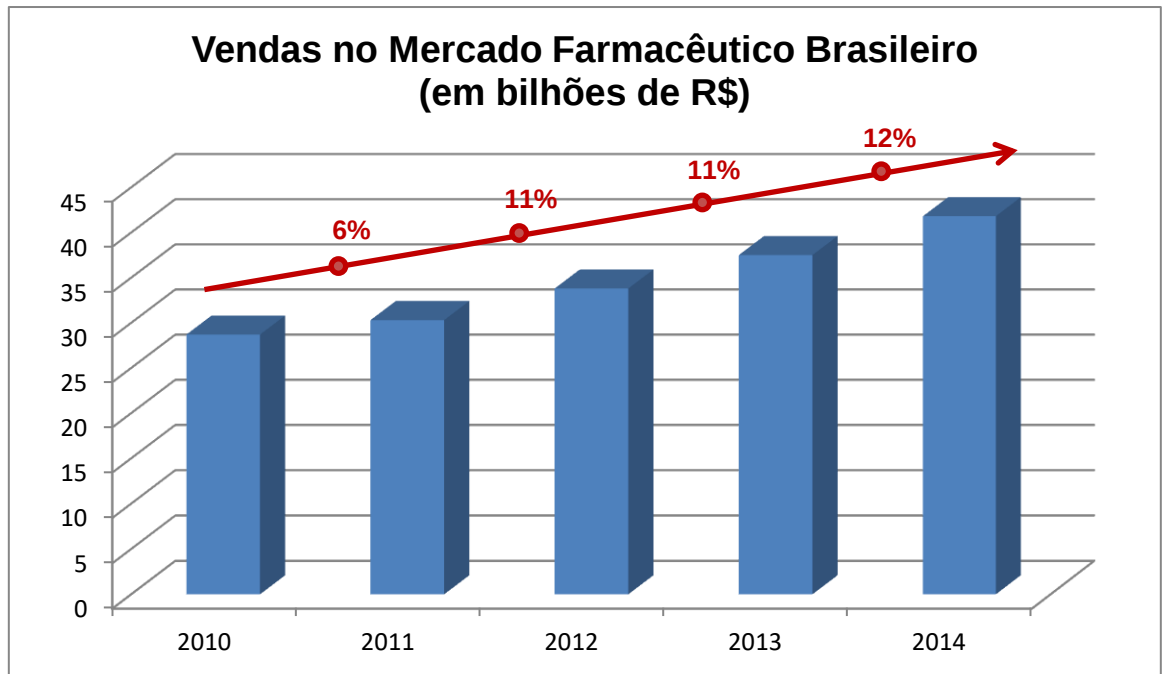
A tabela 3 mostra o ranking mundial entre 10 principais países no mercado farmacêutico, onde também é mostrada a evolução entre os anos de 2013 e 2015.<sup>55</sup>

**Tabela 3:** Ranking mundial do mercado farmacêutico.

| <b>Ranking</b> | <b>2013</b>    | <b>2015</b>    |
|----------------|----------------|----------------|
| <b>1</b>       | Estados Unidos | Estados Unidos |
| <b>2</b>       | China          | China          |
| <b>3</b>       | Japão          | Japão          |
| <b>4</b>       | Alemanha       | Alemanha       |
| <b>5</b>       | França         | França         |
| <b>6</b>       | Brasil         | Reino Unido    |
| <b>7</b>       | Itália         | Brasil         |
| <b>8</b>       | Reino Unido    | Itália         |
| <b>9</b>       | Espanha        | Canadá         |
| <b>10</b>      | Canadá         | Espanha        |

<sup>55</sup> Fonte web: <http://sbcc.com.br/brasil-ocupa-a-7a-posicao-no-ranking-mundial-do-mercado-de-medicamentos/>, pesquisado em 18/04/2016.

O Brasil ocupa uma posição muito importante no cenário mundial do mercado farmacêutico, e a estimativa é que no ano de 2018 o Brasil esteja na 4º posição do ranking mundial.<sup>56</sup> O mercado farmacêutico desempenha uma grande contribuição para o mercado nacional brasileiro, onde teve um faturamento de cerca de R\$ 41,8 bilhões de reais no ano de 2014. Na figura 17 é mostrado um gráfico com a evolução dos valores das vendas no mercado farmacêutico brasileiro.



**Figura 17:** Evolução das vendas no mercado farmacêutico brasileiro. Seta em vermelho mostra o crescimento de 2010 a 2014 (em porcentagem).

<sup>56</sup> Fonte web: <http://www.interfarma.org.br/guia2015/site/guia/index.php?val=34&titulo=Dados%20de%20mercado>, pesquisado em 18/04/2016.

Como consequência a indústria, juntamente com os químicos orgânicos e biólogos sintéticos tem um enorme interesse no desenvolvimento de metodologias eficientes e de baixo custo para o acesso a compostos quirais enantiopuros. Existem três principais vias para a obtenção de compostos opticamente ativos:<sup>57</sup>

- através da utilização de matéria prima quiral (“chiral-pool”) a partir de uma fonte natural de moléculas quirais, tais como, L-aminoácidos, carboidratos, alcaloides, terpenos, etc.;
- através de sínteses assimétricas, que usam reagentes auxiliares quirais em quantidades catalíticas ou estequiométricas para induzir assimetria. Estes apresentam na maioria dos casos a desvantagens pelo alto custo e também por não serem reutilizáveis.
- E por último, pelo uso de enzimas como biocatalisadores indutores de quiralidade, através da resolução de racematos, biotransformação de substratos pró-quirais, etc.

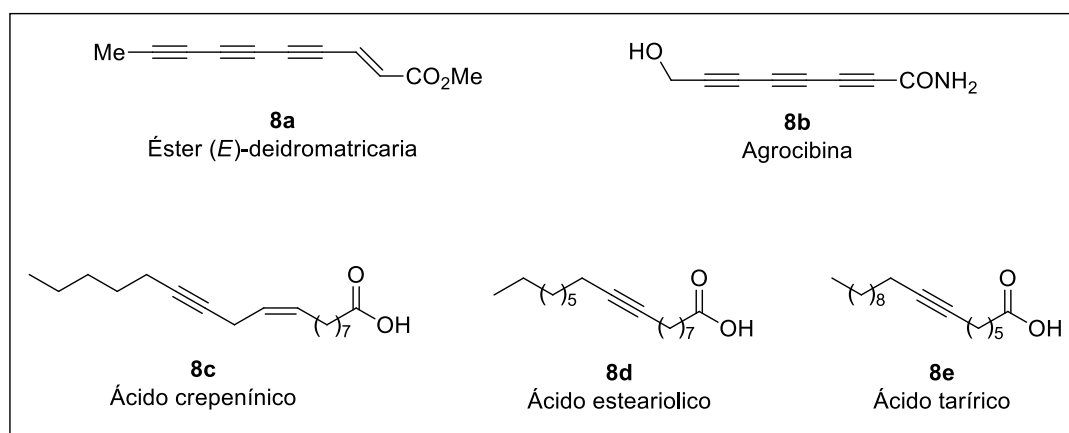
Desses três métodos, a biocatálise se apresenta como um dos mais promissores, sendo que a sua aplicação industrial em química fina vem crescendo a cada ano, devido às inúmeras vantagens que as enzimas oferecem e aos avanços científicos e tecnológicos no campo da biotecnologia.

---

<sup>57</sup> Rouf, A.; Taneja, S. C.; *Chirality*, **2014**, 26, 63.

### 1.3 COMPOSTOS ALQUINILCARBINÓIS

Produtos naturais acetilênicos é uma classe de compostos orgânicos que possuem pelo menos uma ligação tripla carbono-carbono. Estes compostos são vastamente encontrados em plantas, fungos, algas e esponjas marinhas, insetos e também estão presentes em humanos em quantidades traços. O primeiro produto natural acetilênico a ser isolado foi o éster (*E*)-dehidromatricaria (**8a**, Figura 18), que foi isolado em 1826, seguido pelo isolamento e caracterização de outros compostos acetilênicos até o ano de 1952 (Figura 18).<sup>58</sup>



**Figura 18:** Produtos naturais acetilênicos historicamente e biossinteticamente importantes

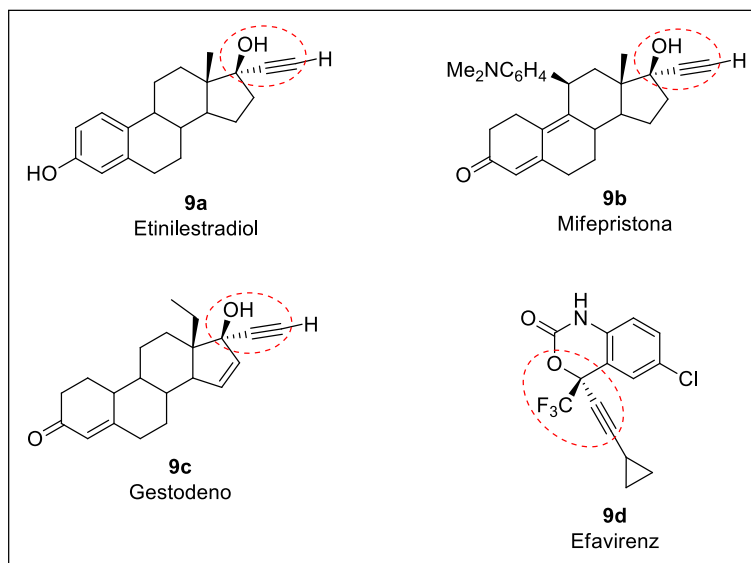
É relatado na literatura que estes compostos acetilênicos possuem elevados potenciais bioativos, e dentre essas moléculas acetilênicas biologicamente ativas, aquelas que possuem uma ligação tripla na posição geminal a um grupo hidroxila (isto é, possuem uma função álcool propargílico), merecem ser destacadas.<sup>59</sup> Esta classe é bem representada em quase todos os fármacos acetilênicos comercializados, incluindo as progestinas esteroidais associadas ao etinilestradiol nos contraceptivos orais, o agente abortivo mifepristona (**9b**), o gestodeno (**9c**),<sup>60</sup> e no efavirenz (**9d**)<sup>61</sup>, um inibidor da transcriptase reversa do HIV-1 (Figura 19).

<sup>58</sup> Minto, R. E.; Blacklock, B. J.; *Prog. Lip. Res.*, **2008**, 47, 233.

<sup>59</sup> Listunov, D.; Maraval, V.; Chauvin, R.; Genisson, Y.; *Nat. Prod. Rep.*, **2015**, 32, 49.

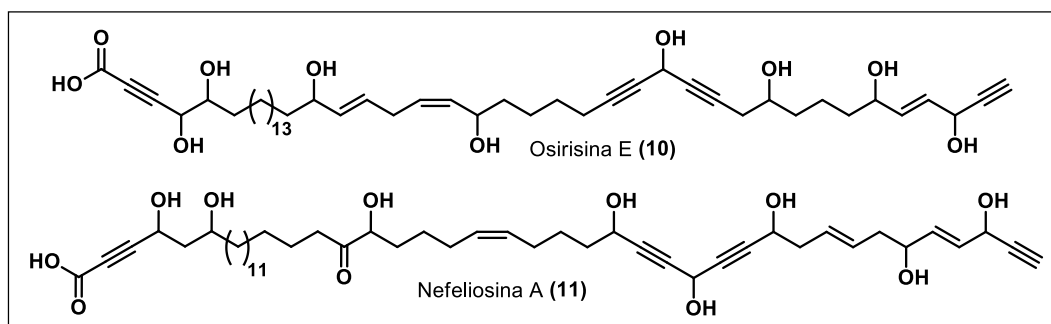
<sup>60</sup> Hofmeister, H.; Annen, K.; Laurent, H.; Petzoldt, K.; Wiechert, R.; *Arzneim. Forsch.*, **1986**, 36, 781.

<sup>61</sup> Thompson, A. S.; Corley, E. G.; Huntington, M. F.; Grabowski, E. J. J.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 8937.



**Figura 19:** Ocorrência da unidade álcool propargílico (círculo vermelho) em alguns fármacos.

Também podem ser destacados alquínipolcarbinóis isolados a partir de organismos marinhos, que são compostos que apresentam efeitos citotóxicos elevados. Exemplos são os alquínipolcarbinóis Osirisina E (**10**)<sup>62</sup> e a Nefeliosina A (**11**)<sup>63</sup>, que exibe efeito citotóxico contra a leucemia ( $LC_{50} = 25\mu M$ ) (Figura 20).

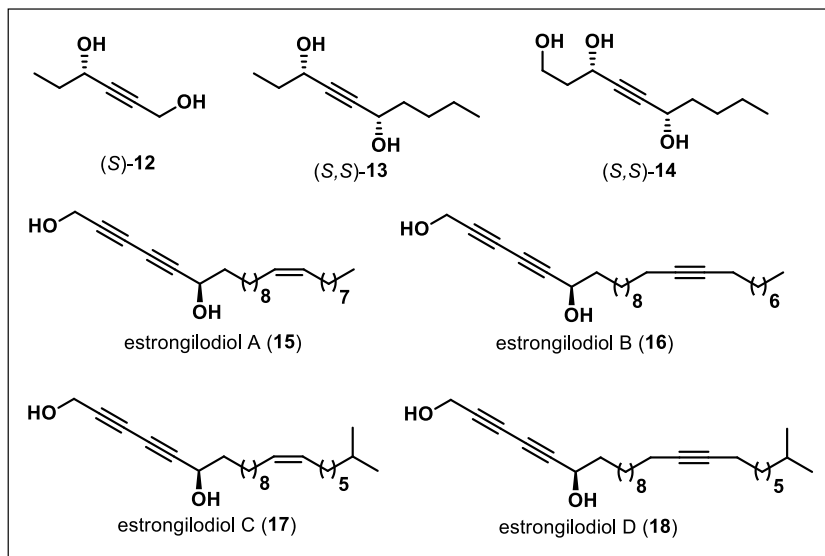


**Figura 20:** Exemplos de alquínipolcarbinóis bioativos isolados a partir de organismos marinhos.

<sup>62</sup> Shin, J.; Seo, Y.; Cho, K. W.; Rho, J. R.; *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8711.

<sup>63</sup> Kobayashi, J.; Naitoh, K.; Ishida, K.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; *J. Nat. Prod.*, **1994**, 57, 1300.

Embora a maioria dos estudos publicados tenha sido realizada com foco em macromoléculas dessa classe, alguns exemplos de moléculas pequenas contendo a função diol propargílico também têm sido relatados na literatura. Exemplos são os dióis propargílicos de cadeias pequenas (**12-14**) que são produtos naturais produzidos por fungos *Clitocybe catinus*<sup>64</sup>, e os metabolitos bioativos estrongilodióis (**15-18**) obtidos a partir de esponjas marinhas (Figura 21).<sup>65</sup>



**Figura 21:** Exemplos de dióis propargílicos bioativos de cadeias pequenas.

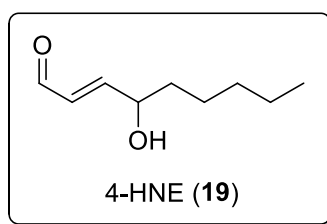
Apesar de existirem trabalhos envolvendo testes de atividades citotóxicas desses tipos de compostos, poucos são os trabalhos que envolvem sua preparação, empregando métodos quimioenzimáticos. Esse foi um dos fatores que direcionou um dos objetivos do nosso grupo de pesquisa em trabalhar com essa classe de compostos.

<sup>64</sup> Arnone, A.; Nasini, G.; Pava, O. V. *Phytochemistry* **2000**, 53, 1087-1090.

<sup>65</sup> (a) Liu, F.; Zhong, J.; Li, S.; Li, M.; Wu, L.; Wang, Q.; Mao, J.; Liu, S.; Zheng, Wang, M.; Bian, Q. *J. Nat. Prod.* **2016**, 79, 244-247. (b) Ankisetty, S.; Slattery, M. *Mar. Drugs* **2012**, 10, 1037-1043.

## 1.4 COMPOSTOS 4-HIDRÓXI-2-ALQUENAIIS

A classe de compostos 4-hidróxi-2-alquenais foi descoberta na década de 1960 em estudos que visavam a caracterização de substâncias tóxicas provenientes da auto-oxidação de ácidos graxos poli-insaturados e triglicerídeos.<sup>66</sup> 4-Hidróxi-2-alquenais são produtos endógenos resultante da peroxidação de lipídeos, sendo o aldeído  $\alpha,\beta$ -insaturado *trans*-4-hidróxi-2,3-nonenal (4-HNE **19**) (Figura 22) o produto majoritário dessa peroxidação lipídica proveniente do processo de estresse oxidativo.<sup>67</sup>



**Figura 22:** Estrutura química do 4-hidróxi-2-nonenal **19**.

O estresse oxidativo celular ocorre, por exemplo, devido à exposição do organismo vivo a agentes diversos, como oxidantes, inseticidas, radiação UV, etc. Esse fenômeno leva a formação de radicais livres, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, causando a modificação de biomoléculas tais como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, podendo ocasionar a morte celular.<sup>68</sup>

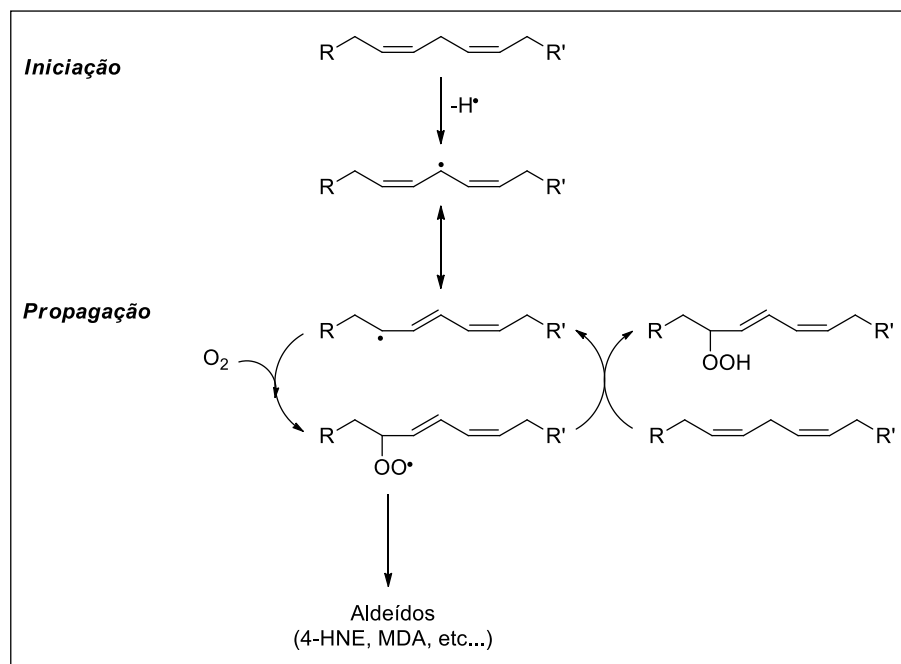
A peroxidação de lipídeos é desencadeada por radicais livres, e ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Esquema 14). Na primeira etapa uma espécie reativa abstrai um átomo de hidrogênio do ácido graxo, gerando um carbono radical. Em meio aeróbio, esse radical formado se combina com oxigênio, produzindo o radical peroxila, que por sua vez pode abstrair outro hidrogênio de outro ácido graxo, promovendo a etapa de propagação. Na última etapa os radicais são aniquilados originando produtos não radicalares, ou também, os radicais peroxilas e alcóxilas podem sofrer clivagens e gerar aldeídos, como por exemplo, o 4-HNE.<sup>69</sup>

<sup>66</sup> (a) Esterbauer, H.; Schaur, R. J.; Zollner, H.; *Free Radic. Biol. Med.*, **1991**, 11, 81. (b) *Redox Biology* 1 (2013) 145–152.

<sup>67</sup> Petersen, D. R.; Doorn, J. A.; *Free Radic. Biol. Med.*, **2004**, 37, 937.

<sup>68</sup> Yang, Y.; Sharma, R.; Sharma, A.; Awasthi, S.; Awasthi, Y.C.; *Acta Biochim. Pol.*, **2003**, 50, 319.

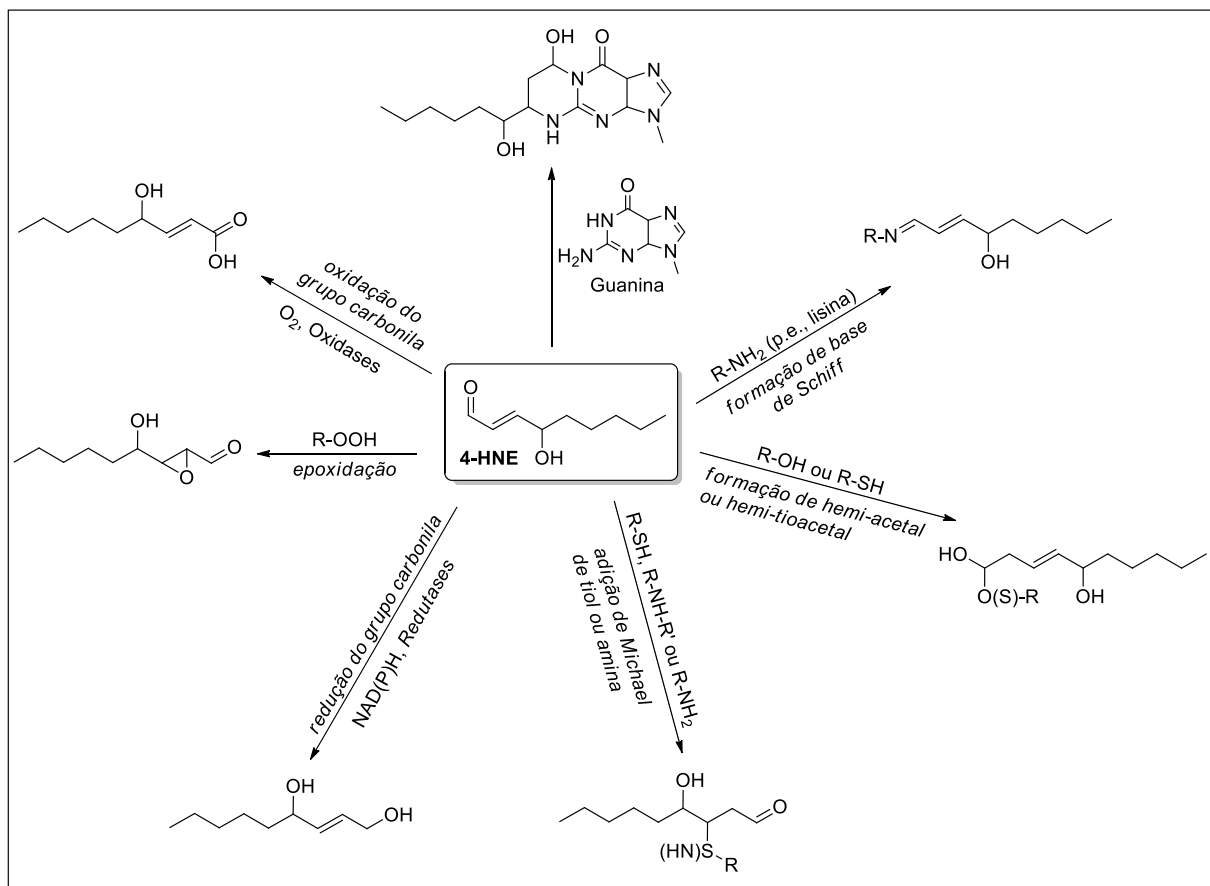
<sup>69</sup> (a) Lima, E. S.; Abdalla, D. S. P.; *Brazilian J. Pharm. Sci.*, **2001**, 37, 293. (b) Schneider, C.; Porter, N. A.; Brash, A. R.; *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 15539. (c) Shoeb, M.; Ansari, N. H.; Srivastava, S. K.; Ramana, K. V.; *Curr. Med. Chem.*, **2014**, 21, 230.



**Esquema 14:** Esquema representativo do processo de peroxidação lipídica.

O 4-HNE possui três sítios funcionais, sendo um grupo aldeído, uma dupla ligação conjugada a carbolina, e um grupo hidroxila que contribui para a reatividade pelo efeito de polarização que causa sobre a ligação C=C e também facilita a reação de ciclização interna levando a formação de tio-acetais.<sup>70</sup> Devido a esta multifuncionalização o 4-HNE pode sofrer diversos tipos de reações frente a biomoléculas (Esquema 15).

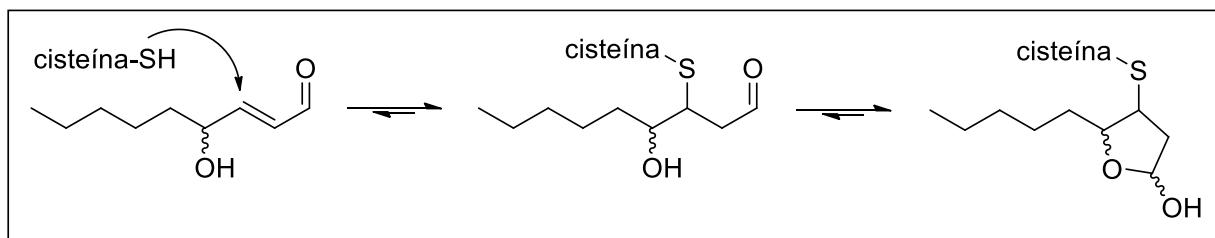
<sup>70</sup> Poli, G.; Schaur, R. J.; *IUBMB Life*, **2000**, 50, 315.



**Esquema 15:** Algumas reações do 4-HNE com diferentes biomoléculas.

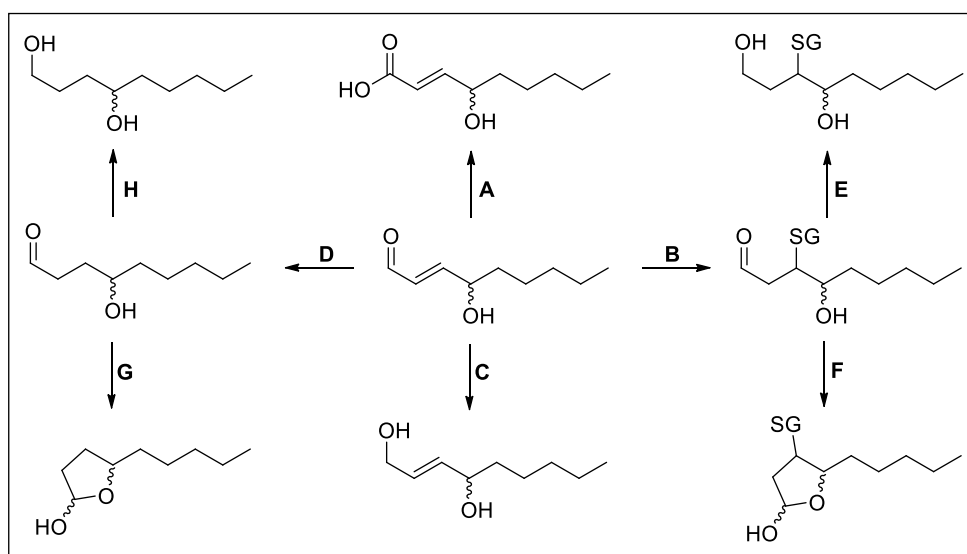
Três rotas metabólicas básicas para o 4-HNE têm sido propostas: redução do grupo carbonila à álcool, oxidação do aldeído ao respectivo ácido carboxílico, e conjugação a glutathione (GSH) via adição de Michael catalisada por GST.<sup>70</sup>

Adição 1,4 do tiol ao 4-HNE ocorre rapidamente, resultando em um enolato que sofre rearranjo tautomérico subsequente para a forma ceto seguido da protonação. Devido à liberdade de rotação da ligação C2-C3, a forma ceto sofre reação de ciclização gerando o hemiacetal cíclico (lactol) (Esquema 16). O equilíbrio favorece a ciclização e o aduto cíclico é a forma predominante. Para conjugados da GSH em solução aquosa, a espécie lactol representa 95% do produto final.<sup>67</sup>



**Esquema 16:** Adição de Michael de tiol ao 4-HNE seguida de uma ciclização intramolecular.

A interação de 4-HNE com nucleófilos protéicos celulares é refletida na capacidade de uma célula biotransformar esse xenobiótico em um intermediário menos reativo, e isso pode ocorrer por diversas vias biocatalisadas (Esquema 17).<sup>67</sup>



**Esquema 17:** Principais vias para biotransformação do 4-HNE. **(A)** oxidação a 4-HNA catalisada por ALDH2. **(B)** conjugação a GSH catalisada por GST. **(C)** biorredução ao diol DHN. **(D)** biorredução da ligação C=C levando ao 4-HAA. **(E)** biorredução fornecendo o GS-DHN. **(F)** rearranjo espontâneo levando ao hemiacetal cíclico. **(G)** rearranjo espontâneo levando ao lactol. **(H)** biorredução do 4-HAA.

Estudos recentes evidenciaram que o 4-HNE está relacionado também na patogênese de diversas doenças, tais como, aterosclerose, Alzheimer e Parkinson.<sup>69c</sup> Isto se deve as propriedades reativas elevadas do 4-HNE frente à modificação de proteínas e do DNA.

Em contra partida, relatos na literatura indicam que o 4-HNE também pode desempenhar um efeito benéfico, dependendo de sua concentração celular. Em concentração sub-letal ou pouco acima do nível endógeno, o 4-HNE estimula a expressão de enzimas

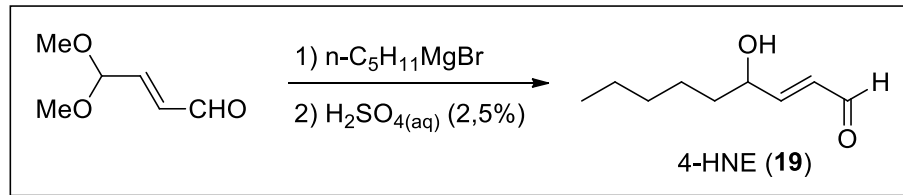
antioxidantes e detoxificantes e induz uma resposta adaptativa, levando a uma proteção celular contra o estresse oxidativo.<sup>71</sup>

Outros diferentes estudos sugerem que tal composto pode ser substrato natural das GSTs e de acordo com pesquisas realizadas em insetos do gênero *Drosophila melanogaster*, as classes Delta e Epsilon estão envolvidas diretamente no metabolismo do 4-HNE.<sup>72</sup>

#### 1.4.1 metodologias sintéticas para o (E)-4-Hidroxi-2,3-nonenal (4-HNE)

O composto (E)-4-hidroxi-2,3-nonenal (4-HNE, **19**) é um produto da peroxidação lipídica, vastamente utilizado como biomarcador em processos patofisiológicos.<sup>73</sup> Este exibe várias atividades biológicas tais como citotoxicidade, genotoxicidade e atividade quimiotática.<sup>74</sup> Devido a essas características, e à escassez de métodos de síntese, o 4-HNE apresenta um elevado valor comercial (1 mg dessa substância custa cerca de \$ 80 dólares).<sup>75</sup>

O 4-HNE foi primeiramente sintetizado por Grée e colaboradores em 1986, usando como reagente de partida o fumaraldeído monodimetil acetal, seguido pela utilização de um reagente de Grignard para aumentar a cadeia da função álcool (Esquema 18).<sup>76</sup>



**Esquema 18:** Síntese do 4-HNE a partir do fumaraldeído monodimetil acetal.

Nos anos seguintes, outras metodologias foram propostas para a síntese do 4-HNE (**19**), tais como: em 1992 por Gardner (Esquema 19a) a partir do (Z)-3-nonenol e usando técnicas de epoxidação;<sup>77</sup> em 1995 por Matsushita (Esquema 19b) usando técnicas de hidroxilação

<sup>71</sup> Chen, Z. H.; Niki, E.; *IUBMB Life*, **2006**, 58, 372.

<sup>72</sup> Sawicki, R.; Singh, S. P.; Mondal, A. K.; Benes, H.; Zimniak, P.; *Biochem J.*, **2003**, 370, 661.

<sup>73</sup> (a) Poli, G.; Biasi, F.; Leonarduzzi, G.; *Mol. Asp. Med.*, **2008**, 29, 67. (b) Petersen, D. R.; Door, J. A.; *Free Radic. Biol. Med.*, **2004**, 37, 937. (c) Zarkovic, N.; *Mol. Asp. Med.*, **2003**, 24, 281.

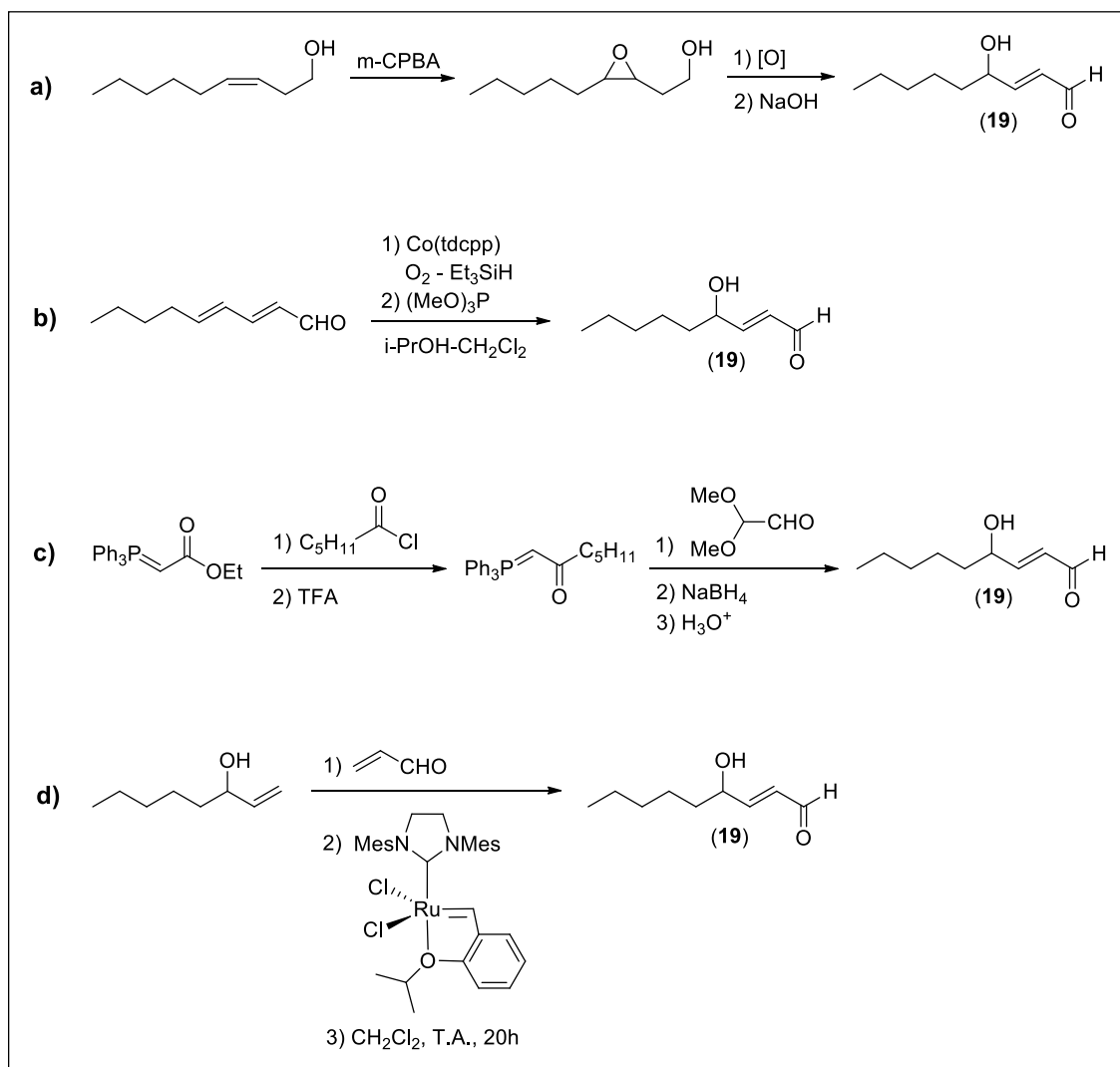
<sup>74</sup> (a) Pryor, W.A.; Porter, N.A.; *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, 8, 541. (b) Esterbauer, H., Schaur, R.J., and Zoliner, H.; *Free Radic. Biol. Med.* **1991**, 11, 81. (c) Sodum, R.S., and Chung, F.; *Cancer Res.*, **1988**, 48, 320.

<sup>75</sup> Fontes da web: (a) <http://www.scbt.com/datasheet-202019-4-hydroxynonenal.html>. (b) <http://www.caymaneurop.com/app/template/Product.vm/catalog/32100/a/z>. Pesquisado em 18/04/2016.

<sup>76</sup> Grée, R.; Tourbah, H.; Carrié, R.; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4983.

<sup>77</sup> Gardner, H. W.; Bartelt, R. J.; Weisleder, D.; *Lipids*, **1992**, 27, 686.

regiosseletiva de compostos  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturados;<sup>78</sup> em 2006 por Kurangi (Esquema 19c) a partir de reagentes de Wittig;<sup>79</sup> e em 2007 por Soulère (Esquema 19d) a partir da reação de metátese cruzada de olefinas usando catalisador de Grubbs de 2ª geração.<sup>80</sup>



**Esquema 19:** Metodologias usadas na preparação do 4-HNE.

A escassez de métodos simples para a síntese do 4-HNE, as suas aplicações bioquímicas e o seu elevado valor de comércio, foram alguns dos motivos que estimularam nosso grupo a realizar estudos visando a obtenção do 4-HNE a partir de rotas mais simples e eficientes.

<sup>78</sup> Matshusita, Y-I; Sugamoto, K.; Nakama, T.; Sakamoto, T.; Matsui, T.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 1879.

<sup>79</sup> Kurangi, R. F.; Tilve, S. G.; Blair, I. A.; *Lipids*, **2006**, 41, 877.

<sup>80</sup> Soulère, L.; Queneau, Y.; Doutheau, A.; *Chem. Phys. Lipids*, **2007**, 150, 239.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Sínteses de compostos alquilcarbinóis e suas aplicações destes na preparação de moléculas de interesses biológicos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar dióis propargílicos racêmicos. Submeter os dióis propargílicos racêmicos a reação de resolução cinética enzimática mediada por lipase em meio orgânico para a obtenção dos respectivos dióis em suas formas enantiomericamente puras. Aplicar então os dióis propargílicos enantiopuros e/ou seus derivados na preparação de moléculas de interesse biológico.

2. Avaliar os potenciais citotóxicos dos dióis propargílicos e derivados preparados frente a linhagens de células tumorais.<sup>81</sup>

3. i) Sintetizar o composto 4-hidróxi-2-nonenal (4-HNE, **19**); ii) aplica-lo como biomarcador para verificar se a resistência a inseticida presente em populações de mosquitos *Aedes Aegypti* está relacionada à atividade das GSTs totais frente à metabolização do 4-HNE.<sup>82</sup>

---

<sup>81</sup> Todos os testes de atividades antitumorais foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas da Profª Drª Teresinha Gonçalves do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

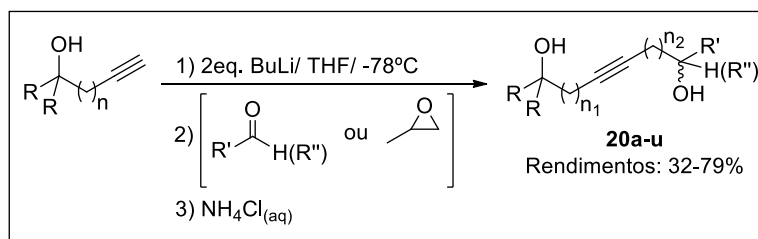
<sup>82</sup> Os testes bioquímicos serão realizados pelo grupo de pesquisa da Profª Drª Constância Ayres, do Departamento de Entomologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM-FIOCRUZ. Resultados iniciais desse trabalho de testes bioquímicos, resultaram em parte da dissertação de mestrado da aluna Elisama Helvecio, apresentada no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM-FIOCRUZ, Recife, 2014.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 SÍNTESES DE DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS RACÊMICOS

##### 3.1.1 Sínteses usando di-ânions de lítio

A etapa inicial deste trabalho consistiu na preparação da mistura racêmica dos dióis propargílicos internos. A metodologia empregada para obtenção desses compostos foi baseada nas reações de adição 1,2 à carbonila de aldeídos e cetonas (comercialmente disponíveis) e de substituição nucleofílica em epóxidos (abertura do anel oxirânico) utilizando como nucleófilo o correspondente di-ânion alquínil-lítio,<sup>83</sup> levando a formação dos respectivos dióis em rendimentos que variaram de razoáveis a bons (Esquema 20).

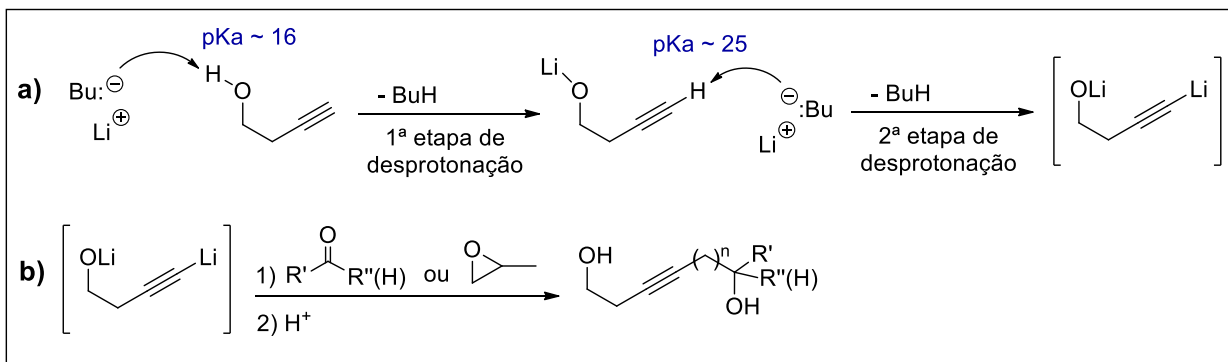


**Esquema 20:** Esquema geral para as sínteses dos dióis propargílicos internos racêmicos.

Inicialmente foram utilizados dois equivalentes de *n*-butillítio para desprotonarem as funções álcool e acetileno do precursor álcool propargílico. A primeira etapa de desprotonação ocorre na hidroxila, devido o hidrogênio dessa função ser mais ácido ( $pK_a = 16$ ) que o hidrogênio acetilênico ( $pK_a = 25$ ), seguida pela segunda etapa de desprotonação da função alquino, levando a formação do respectivo diânion (Esquema 21a). Por sua vez, o ânion acetileno por possuir uma maior nucleofilicidade que o aniôn alcóxido,<sup>84</sup> atua preferencialmente como o nucleófilo (a C-alquilação é mais favorecida que a O-alquilação) frente aos respectivos eletrófilos (aldeído, cetona ou epóxido), levando a formação do diol desejado (Esquema 21b). A vantagem no uso desses tipos de espécies dianiônicas na preparação dos dióis propargílicos, está no fato de que etapas de proteção/desproteção são desnecessárias nesses casos.

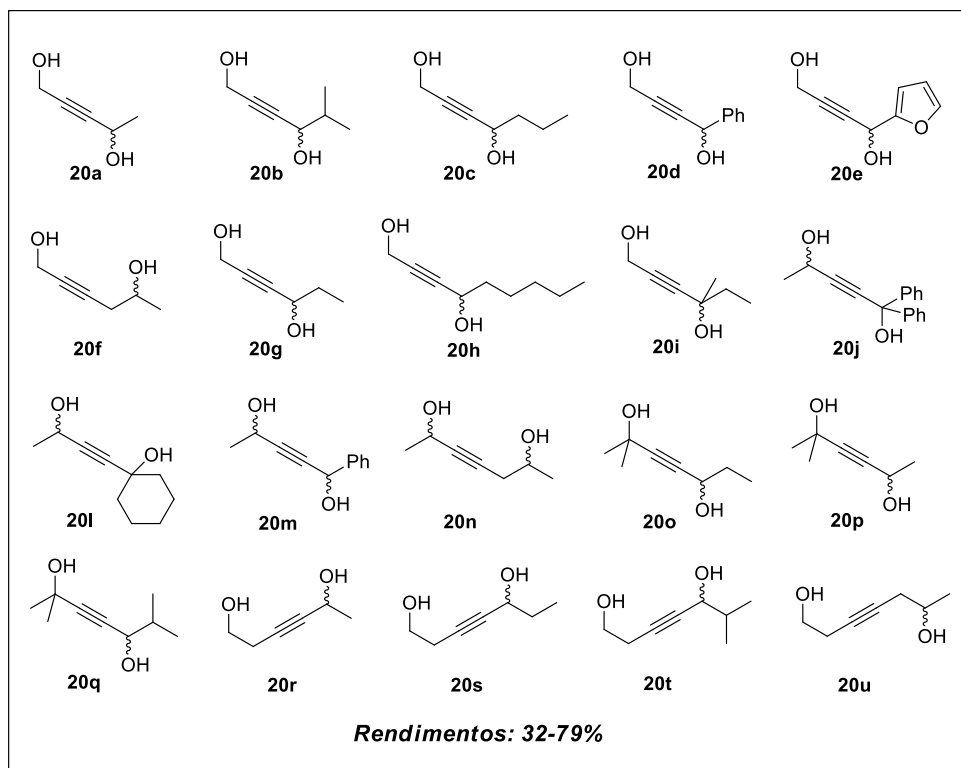
<sup>83</sup> (a) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry*. Elsevier, 2ª Ed., pág. 79, **1998**. (b) Yamaguchi, M.; Hirao, I.; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 391.

<sup>84</sup> Isenmann, A. F.; *Princípios da Síntese Orgânica*. Armin Franz Isenmann – Timóteo/MG, 2ª Edição, **2013**.



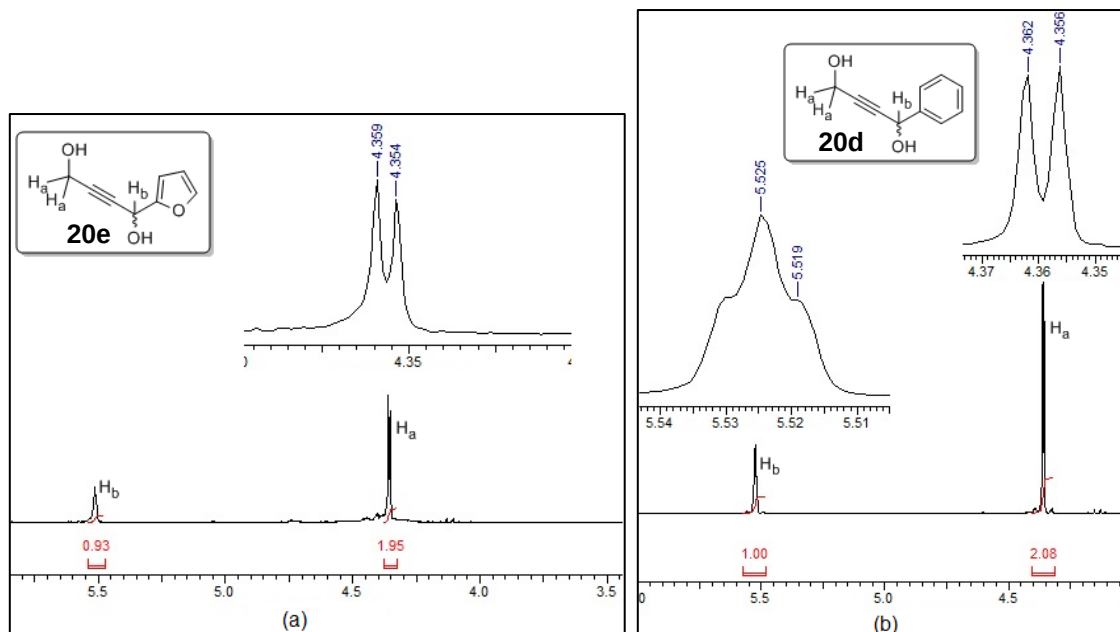
**Esquema 21:** Mecanismos gerais para formação dos dióis propargílicos internos racêmicos.

Todas as reações para obtenções dos dióis propargílicos, foram acompanhadas através de cromatografia em camada delgada (CCD). Na figura 23 abaixo estão mostrados os exemplos dos dióis propargílicos sintetizados. Todos os dióis preparados no presente trabalho se mostraram estáveis à luz ambiente e também não sofreram nenhum tipo de degradação quando armazenados a  $-5^{\circ}\text{C}$  por vários meses, exceto o diol **20e** que apresentou sinais de decomposição em condições ambientes e a  $-5^{\circ}\text{C}$ , se tornando com o tempo um óleo escuro e formando um precipitado preto. Vale ressaltar que, até o presente momento, ainda não tem sido relatado na literatura as sínteses dos dióis propargílicos **20s** e **20u**.



**Figura 23:** Dióis propargílicos internos sintetizados.

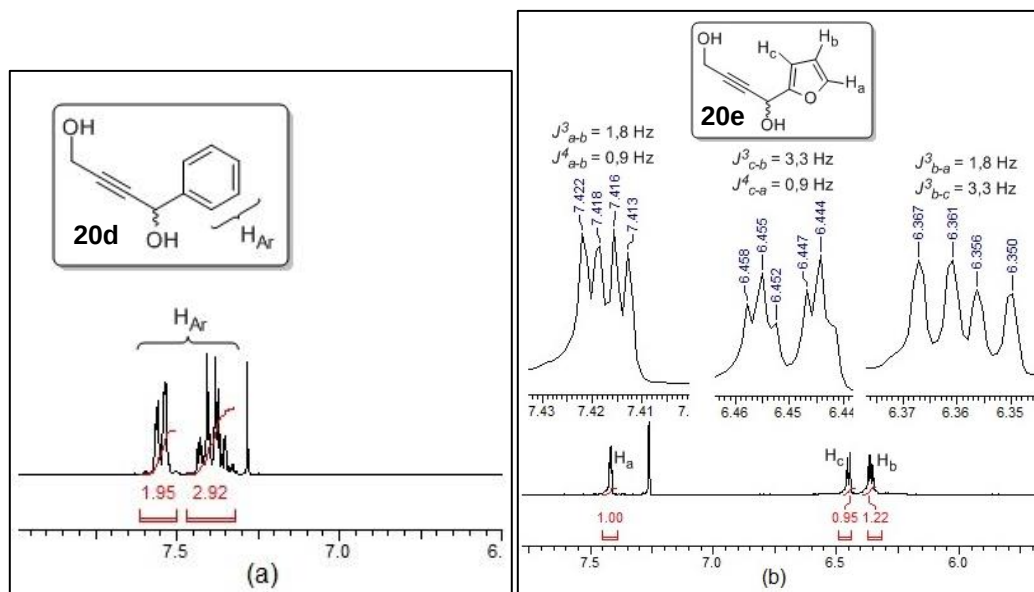
Todos os dióis sintetizados foram submetidos a técnicas de caracterização através de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ . Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foi possível observar os sinais característicos de hidrogênios carbinólicos caindo numa faixa espectral que variou de 3,5 ppm até 5,5 ppm, sendo que os sinais que caíram em região de campo mais baixo (próximo de 5,5 ppm) são relativos aos hidrogênios carbinólicos vizinhos a sistemas aromáticos e por isso sofrem o efeito anisotrópico aromático de desblindagem (Figura 24).<sup>85</sup>



**Figura 24:** Espectros parciais de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para região dos hidrogênios carbinólicos dos compostos **(a)** diol **20e** e **(b)** diol **20d**.

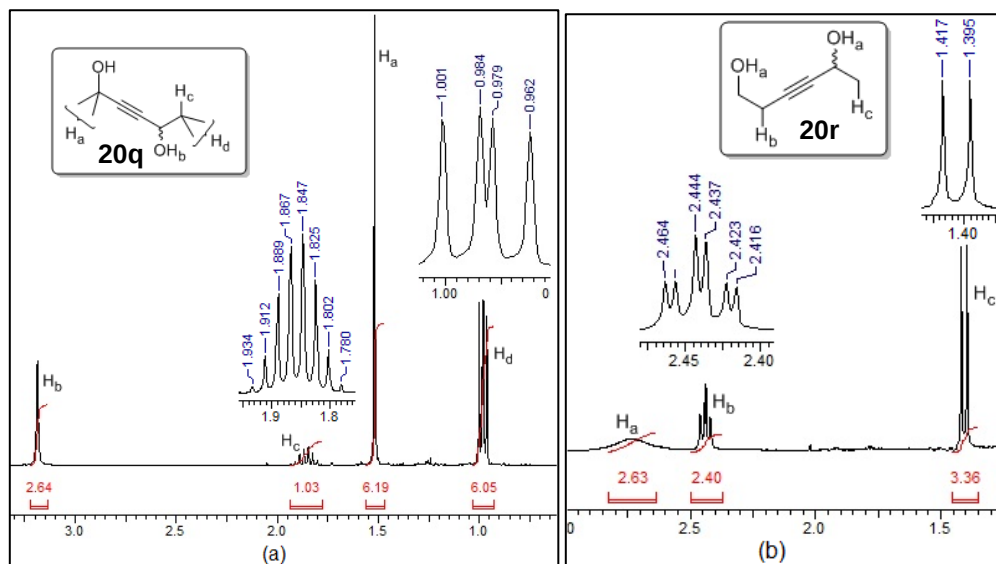
Para os dióis possuindo anéis aromáticos em suas estruturas, foram observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  sinais em regiões espectrais características na faixa de 6,0 ppm até 8,0 ppm (Figura 25).

<sup>85</sup> Baranac-Stojanović, M.; Koch, A.; Kleinpeter, E.; *Chem. Eur. J.*, **2012**, 18, 370.



**Figura 25:** Espectros parciais de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para região dos hidrogênios aromáticos dos compostos **(a)** diol **20d** e **(b)** diol **20e**.

Também, a partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , foram possíveis as caracterizações de todos os hidrogênios hidroxílicos que apresentaram sinais na faixa de 2,0 ppm a 4,0 ppm, e de todos os hidrogênios alquílicos com sinais variando na faixa de 0,5 ppm a 2,5 ppm (Figura 26).



**Figura 26:** Espectros parciais de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para regiões dos hidrogênios hidroxílicos e alquílicos dos compostos **(a)** diol **20q** e **(b)** diol **20r**.

Complementarmente, os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  vieram a confirmar estruturalmente todos os dióis sintetizados, onde os carbonos carbinólicos, acetilênicos, alquílicos e aromáticos característicos nas moléculas, foram devidamente atribuídos.

Na figura 27 é mostrado espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do diol **20d** onde é possível observar os sinais referentes aos carbonos carbinólicos  $\text{C}_a$  e  $\text{C}_d$  em 51,0 ppm e 64,5 ppm, os sinais referentes aos carbonos alquínílicos  $\text{C}_b$  e  $\text{C}_c$  em 84,8 ppm e 85,4 ppm, e os sinais referentes aos carbonos aromáticos  $\text{C}_e$  e  $\text{C}_f$  em 126,5 ppm, 128,4 ppm, 128,6 ppm e 140,2 ppm.

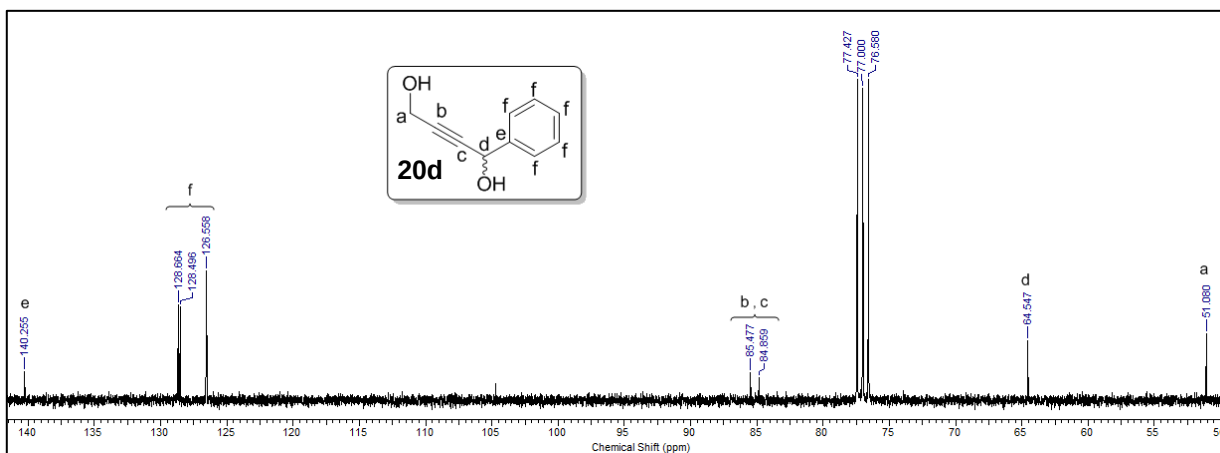


Figura 27: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do diol **20d**.

Na figura 28 é mostrado espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do diol **20h** onde é possível observar os sinais referentes aos carbonos alquílicos  $\text{C}_e$  em 13,9 ppm, 22,5 ppm, 24,8 ppm, 31,4 ppm e 37,4 ppm, os sinais referentes aos carbonos carbinólicos  $\text{C}_a$  e  $\text{C}_d$  em 50,6 ppm e 62,2 ppm, e os sinais referentes aos carbonos alquínílicos  $\text{C}_b$  e  $\text{C}_c$  em 82,8 ppm e 86,7 ppm.

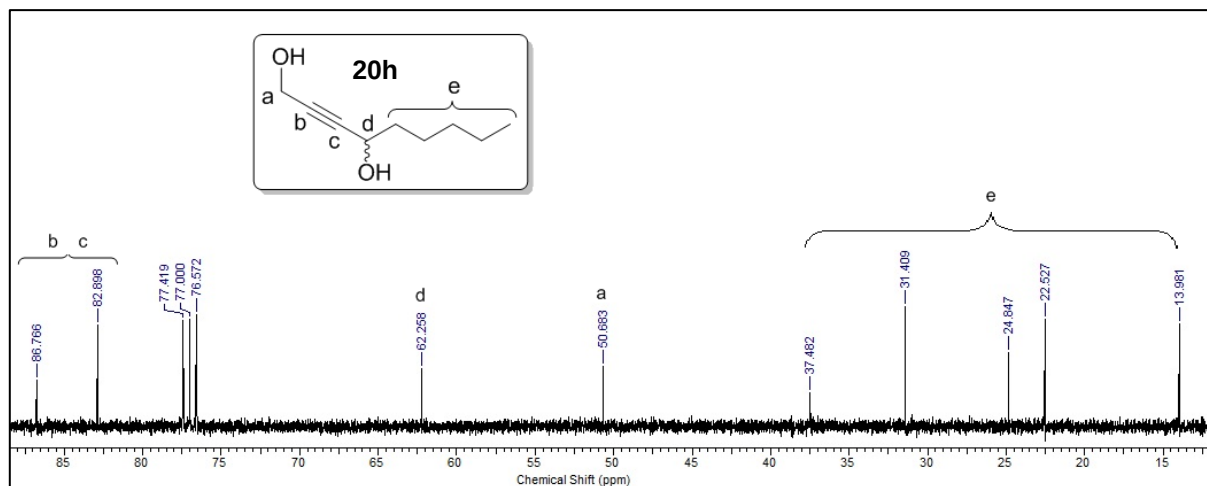


Figura 28: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do diol **20h**.

Para maiores informações e detalhes espectrais dos dióis sintetizados, ver a seção “6 ANEXOS” (pág. 136) ao final deste trabalho.

### 3.1.2 Sínteses mediadas por $\text{CeCl}_3$

A química de organolantanídeos é uma área amplamente aplicada em sínteses orgânicas. Dentre esses compostos organometálicos, os compostos de organocério apresentam grandes destaques em sínteses orgânicas devido às características especiais de reatividades desses reagentes, e também devido à elevada abundância natural relativa do cério e do baixo custo desse metal e de seus derivados.<sup>86</sup> Na literatura diversos trabalhos mostram a grande aplicabilidade dos reagentes de organocério frente a formação de ligações carbono-carbono.<sup>87</sup>

Existem vários métodos usados para a preparação de dióis propargílicos, mas a metodologia geralmente utilizada é através da reação de adição 1,2 a carbonílas de aldeídos e cetonas usando quantidades estequiométricas de reagentes organoalquillítio, derivados de álcoois propargílicos protegidos, ou de forma alternativa, pelo adição direta dos respectivos sais de lítio di-funcionalizados.<sup>88</sup> Contudo, essas reações de adição 1,2 são muitas vezes acompanhadas de reações laterais, tais como enolização, redução e condensação, levando a formação de subprodutos indesejáveis.<sup>88a</sup> Essas reações secundárias ocorrem devido a elevada basicidade e potencial de oxidação dos reagentes organolítio, e levam a formação dos produtos desejados em baixos rendimentos. Formas de evitar essas reações secundárias indesejadas são através do uso de técnicas para diminuir a basicidade dos reagentes organolítio ou usando etapas de proteção/desproteção. Com isso, uma das estratégias que podem ser usadas com o objetivo de minimizar esses efeitos indesejados é transformar as espécies de organolítio em outras espécies organometálicas através de reações de transmetalção. E como alternativa para esse fim, reagentes organolantanídeos, em especial reagentes organocério, podem ser utilizados por possuírem muito baixa basicidade e alta nucleofilicidade.<sup>86,89</sup> Outra característica importante é a capacidade dos sais de lantanídeos em serem excelentes ácidos de Lewis, devido ao elevado caráter oxofílico e em ser capaz de coordenar com compostos carbonílicos.

<sup>86</sup> Hartley, F. R.; The chemistry of the Metal-Carbon bond, Molander, G. A., John Wiley and Sons: England, **1989**, 5, Capítulo 8, pg. 319.

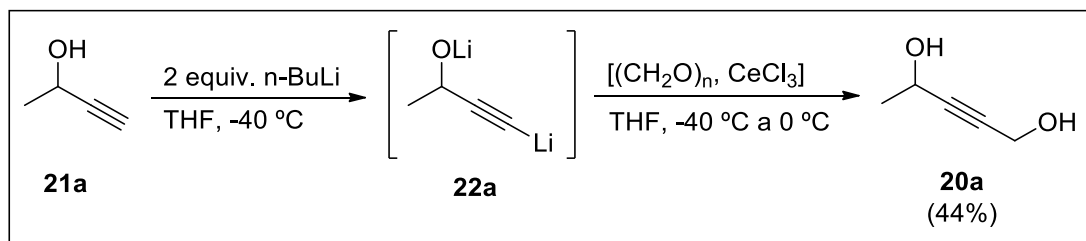
<sup>87</sup> (a) Imamoto, T.; Kusumoto, T.; Yokoiama, M.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*; **1982**, 1042. (b) Imamoto, T.; Kusumoto, T.; Tawarayama, Y.; Sugiura, Y.; Mita, T.; Hatanaka, Y.; Yokoyama, M.; *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 3904.

<sup>88</sup> (a) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry*. Elsevier, 2ª Ed., pág. 79, **1998**. (b) Li, J.; Kong, W.; Fu, C.; Ma, S.; *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 5104; (c) Ferreira, J. G.; Princival, C. R.; Oliveira, D. M.; Nascimento, R. X.; Princival, J. L.; *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13, 6458.

<sup>89</sup> Evans, D. F.; Fazakerley, G. V.; Phillips, R. F.; *J. Chem. Soc.*, **1971**, 1931.

Então, na tentativa de otimizar todos os rendimentos obtidos nas sínteses dos dióis propargílicos internos a partir das reações entre os respectivos di-ânions de lítio com aldeídos e cetonas (seção 3.1.1), todas essas reações foram realizadas utilizando ânions de organocério obtidos através do processo de transmetalização. Já é conhecido que os reagentes de organocério possuem baixas basicidade e altas nucleofilidades,<sup>86,89</sup> o que torna essas espécies mais seletivas e seus usos evita a ocorrência de reações secundárias e fornece os produtos desejados em elevados rendimentos.

Baseado no rendimento obtido na preparação do diol propargílico **20a** (preparado em 32% de rendimento usando o respectivo di-ânion de lítio), foi avaliada a possibilidade da utilização de outros reagentes organometálicos. Uma das alternativas, seria o emprego do sal de lantanídeo  $\text{CeCl}_3$ , que apresenta como características sua alta oxofilidade e baixa basicidade. Com isso, primeiramente, o di-ânion de lítio **22a**, derivado do álcool propargílico 3-butin-2-ol **21a**, foi preparado e então a solução desse di-ânion em THF a  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  foi adicionada a uma solução equimolar de paraformaldeído e  $\text{CeCl}_3$  em THF a  $-40\text{ }^\circ\text{C}$ , que após tratamento da mistura reacional e purificação do bruto reacional forneceu o diol **20a** em um rendimento de 44% (Esquema 22). A partir deste diferente resultado, essa reação foi realizada nas mesmas condições reacionais usando quantidades de  $\text{CeCl}_3$  que variaram de 0,1 a 2,0 equivalentes. Os rendimentos obtidos para todas essas reações são mostrados na tabela 4.



**Esquema 22:** Preparação do diol propargílico **15a** usando di-ânion de cério a  $-40\text{ }^\circ\text{C}$ .

**Tabela 4:** Resultados da preparação do diol propargílico **20a** na ausência e presença de CeCl<sub>3</sub>.

| Entrada | CeCl <sub>3</sub> (equiv..) | Temperatura (°C) | Tempo (h) | Rendimento (%) |
|---------|-----------------------------|------------------|-----------|----------------|
| 1       | 0                           | -78 °C           | 20        | 32             |
| 2       | 0,1                         | -40 °C           | 4         | 67             |
| 3       | 0,3                         | -40 °C           | 4         | 82             |
| 4       | 0,5                         | -40 °C           | 4         | 90             |
| 5       | 0,5                         | -78 °C           | 4         | 90             |
| 6       | 0,5                         | 0 °C             | 4         | 35             |
| 7       | 1,0                         | -40 °C           | 4         | 44             |
| 8       | 1,5                         | -40 °C           | 4         | 34             |
| 9       | 2,0                         | -40 °C           | 4         | 30             |

Observando os resultados mostrados na tabela 4, é possível ver que dentre todas as condições, o uso de 0,5 equivalentes de CeCl<sub>3</sub> levou a formação de **20a** em melhor rendimento (tabela 4, entradas 4 e 5), ao contrário do que ocorre quando a razão estequiométrica do sal de lantanídeo é aumentada, que forneceu o diol **20a** em apenas 30% de rendimento com o uso de 2,0 equivalentes de CeCl<sub>3</sub> (tabela 4, entrada 9).

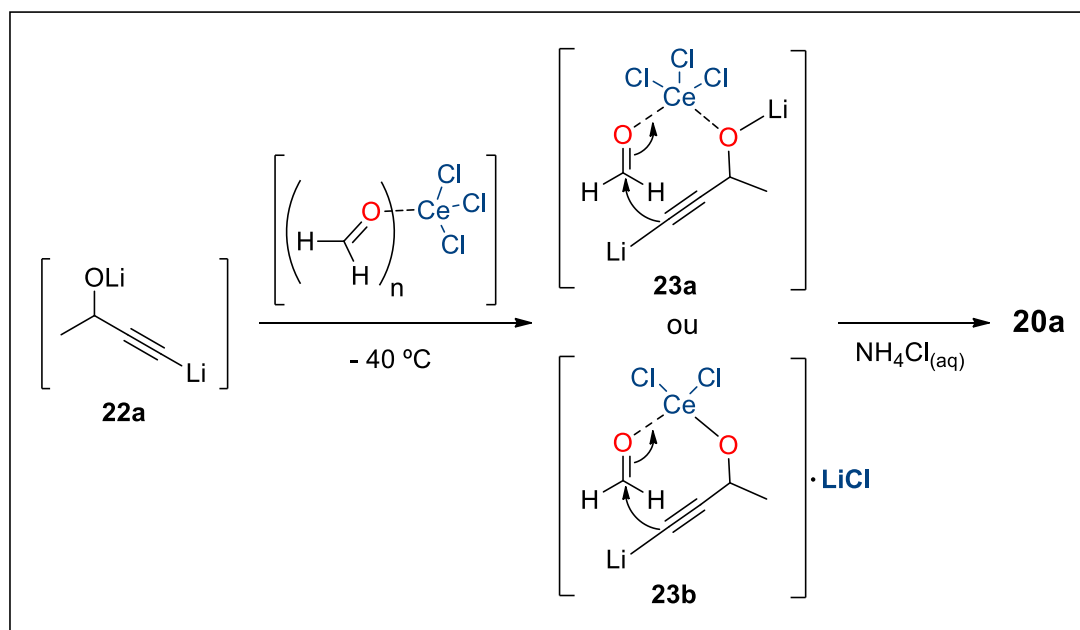
Animados por esses resultados, essa metodologia foi empregada na preparação de todos os dióis propargílicos obtidos a partir da reação de adição 1,2 em aldeídos e cetonas (dióis **20a-e**, **20g-m** e **20o-t**). Os resultados são mostrados na tabela 5, onde foi possível a obtenção de rendimentos na faixa de 90-100%.<sup>90</sup>

<sup>90</sup> Os resultados desse trabalho estão em processo de escrita para publicação.

**Tabela 5:** Resultados das sínteses dos dióis propargílicos catalisadas por  $\text{CeCl}_3$ . Condições: álcool propargílico (3mmol), n-butilítio (6,6mmol), composto carbonílico (3mmol),  $\text{CeCl}_3$  (0,5mmol), THF,  $-40^\circ\text{C}$ .

| Entrada | Diol Propargílico | Rendimento (%) sem $\text{CeCl}_3$ | Rendimento (%) com $\text{CeCl}_3$ |
|---------|-------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1       | 20a               | 32                                 | 90                                 |
| 2       | 20b               | 71                                 | 100                                |
| 3       | 20c               | 70                                 | 91                                 |
| 4       | 20d               | 79                                 | 100                                |
| 5       | 20e               | 71                                 | 100                                |
| 6       | 20g               | 67                                 | 94                                 |
| 7       | 20h               | 75                                 | 100                                |
| 8       | 20i               | 36                                 | 90                                 |
| 9       | 20j               | 77                                 | 100                                |
| 10      | 20l               | 61                                 | 90                                 |
| 11      | 20m               | 69                                 | 100                                |
| 12      | 20o               | 58                                 | 93                                 |
| 13      | 20p               | 48                                 | 91                                 |
| 14      | 20q               | 72                                 | 100                                |
| 15      | 20r               | 43                                 | 90                                 |
| 16      | 20s               | 51                                 | 92                                 |
| 17      | 20t               | 59                                 | 97                                 |

Os resultados satisfatórios dessas reações podem estar relacionados às características intrínsecas dos reagentes que leva a uma forte interação entre o alcóxido de lítio com o  $\text{CeCl}_3$ , assim a formação de um complexo de cério poderia ser gerado. A formação desse complexo deve alterar a reatividade da espécie di-aniônica de acordo com os seguintes possíveis efeitos: i) ativação do composto carbonílico, através da interação  $\text{CeCl}_3\text{-OR}_2$ , levando a formação do complexo intermediário **23a**; ou ii) formação do complexo intermediário  $[\text{alcóxi-CeCl}_2]\text{LiCl}$  **23b**, devido o ataque nucleofílico do ânion alcóxido ao  $\text{CeCl}_3$  liberar um equivalente de  $\text{LiCl}$ . Um mecanismo plausível é mostrado no esquema 23.



**Esquema 23:** Mecanismo plausível proposto para as sínteses dos dióis propargílicos catalisadas por  $\text{CeCl}_3$ .

### 3.2 RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA (RCE) DAS MISTURAS RACÊMICAS DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS

Na parte anterior foram discutidas as sínteses e as caracterizações de todos os dióis propargílicos internos. Uma vez que tínhamos todos esses compostos em suas formas racêmicas em mãos, devidamente purificados e caracterizados, partimos para a etapa seguinte do projeto que foi o estudo da resolução cinética enzimática (RCE) desses compostos.

São muitos os trabalhos na literatura que descrevem a resolução cinética enzimática de álcoois secundários racêmicos,<sup>91</sup> mas poucos descrevem a resolução de álcoois propargílicos funcionalizados<sup>92</sup>. No entanto, nenhum trabalho descreve a resolução de dióis propargílicos, que são importantes intermediários nas sínteses de substâncias bioativas e estão frequentemente presentes como partes em produtos naturais.<sup>93,64,65</sup>

Em geral, uma eficiente resolução cinética de álcoois racêmicos para produzir compostos enantiopuros pode ser alcançada pelo uso de uma Lipase como biocatalisador, como já foi mencionado na introdução, por exemplo, a *Candida Antarctica Lipase B* (CAL-B), um agente acilante e um solvente apolar. E a partir de uma observação estrutural dos dióis propargílicos sintetizados anteriormente, estes poderiam ser passíveis de resolução enzimática de acordo com a regra de Kazlauskas<sup>29,94</sup>, considerando que a parcela álcool secundário na molécula possui um grupo volumoso e um grupo médio ligados ao estereocentro.

Inicialmente, foi necessária a obtenção dos parâmetros cromatográficos em coluna quiral para todos os compostos, primordial para o acompanhamento da cinética da RCE através de

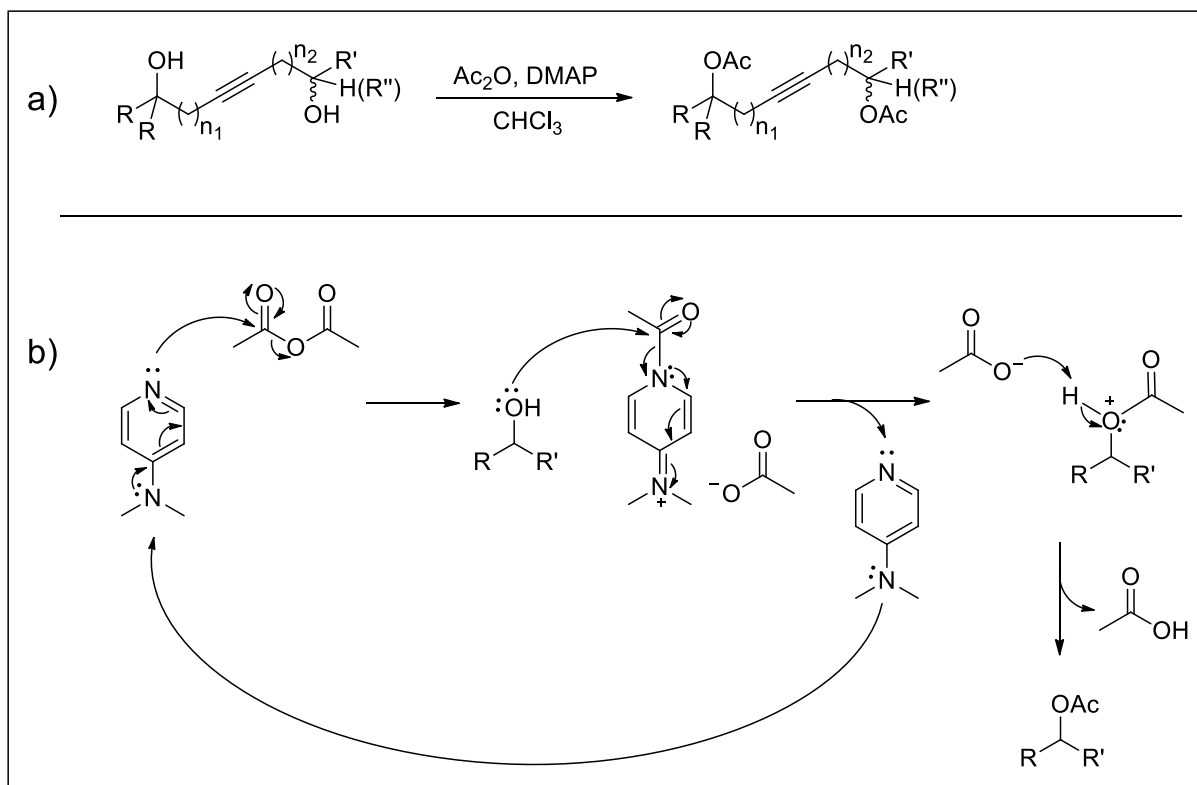
<sup>91</sup> (a) Ferreira, H. V.; Rocha, L. C.; Severino, R. P.; Porto, A. L. M.; *Molecules*, **2012**, *17*, 8955. (b) Chojnacka, A.; Obara, R.; Wawrzenczyk, C.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2007**, *18*, 101. (c) Rocha, L. C.; Rosset, I. G.; Luiz, R. F.; Raminelli, C.; Porto, A. L. M.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2010**, *21*, 926. (d) Rocha, L. C.; Rosset, I. G.; Melgar, G. Z.; Raminelli, C.; Porto, A. L. M.; Jeller, A. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2013**, *24*, 1427. (e) Andrade, L. H.; Barcellos, T.; *Org. Lett.*, **2009**, *14*, 3052. (f) Comasseto, J. V.; Santos, A. A.; Costa, C. E.; Princival, J. L.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, *17*, 2252. (g) Comasseto, J. V.; Costa, C. E.; Clososki, G.; Zanutto, S.; Nascimento, M. G.; Barchesi, H. B.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 3945.

<sup>92</sup> (a) Morgan, B.; Oehlschlager, A. C.; Stokest, T. M.; *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 3231. (b) waldinger, C.; Schneider, M.; Botta, M.; Corelli, F.; Summa, V.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, *7*, 1485. (c) Xu, D.; Li, Z.; Ma, S.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 3657. (d) Xu, D.; Li, Z.; Ma, S.; *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 6343. (e) Raminelli, C.; Comasseto, J. V.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 3117. (f) Chen, P.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2013**, *97*, 184.

<sup>93</sup> (a) Amador, M.; Ariza, X.; Garcia, J.; Sevilla, S.; *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 4511. (b) Amador, M.; Ariza, X.; Garcia, J.; Ortiz, J.; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 2691. (c) Ariza, X.; Bach, J.; Berenguer, R.; Farras, J.; Fontes, M.; Garcia, J.; Lopez, M.; Ortiz, J.; *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 5307. (d) Liu, S.; Kim, J. T.; Dong, C.G.; Kishi, Y.; *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4520. (e) Serra, S.; Cominetti, A. A.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, *24*, 1110. (f) Reddy, A. S.; Srihari, P.; *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 6370. (g) Srihari, P.; Reddy, A. S.; Yadava, J. S.; Yedlapudi, D.; Kalivendi, S. V.; *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 5616.

<sup>94</sup> Jing, Q.; Kazlauskas, R. J.; *Chirality*, **2008**, *20*, 724.

cromatografia gasosa (CG) em fase estacionária quiral. Com isso, os dióis **20a-u** e os respectivos diacetatos, obtidos de acordo com o esquema 24,<sup>95</sup> foram submetidos a várias rampas cromatográficas (variando-se a temperatura da coluna e a pressão do gás de arraste) utilizando-se uma coluna quiral com composição de 10% de  $\beta$ -ciclodextrina em cianopropil-fenil-metilpolisiloxano.

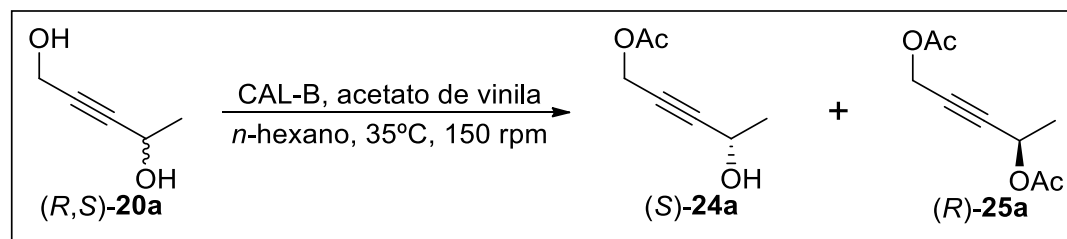


**Esquema 24:** (a) Método geral utilizado na preparação dos diacetatos. (b) Mecanismo geral para acetilação de álcool catalisada por DMAP.

<sup>95</sup> (a) Xu, S.; Held, I.; Kempf, B.; Mayr, H.; Steglich, W.; Zipse, H.; *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 4751. (b) Klemenc, S.; *Forensic Sci. Int.*, **2002**, *129*, 194.

Dentre todos os compostos submetidos à varredura por CG quiral, apenas os dióis **20d**, **20e**, **20i**, **20j**, **20l**, **20m**, **20n** e **20p**, e seus respectivos diacetatos, não apresentaram nenhuma separação cromatográfica relativa a seus enantiômeros após exaustivas análises.

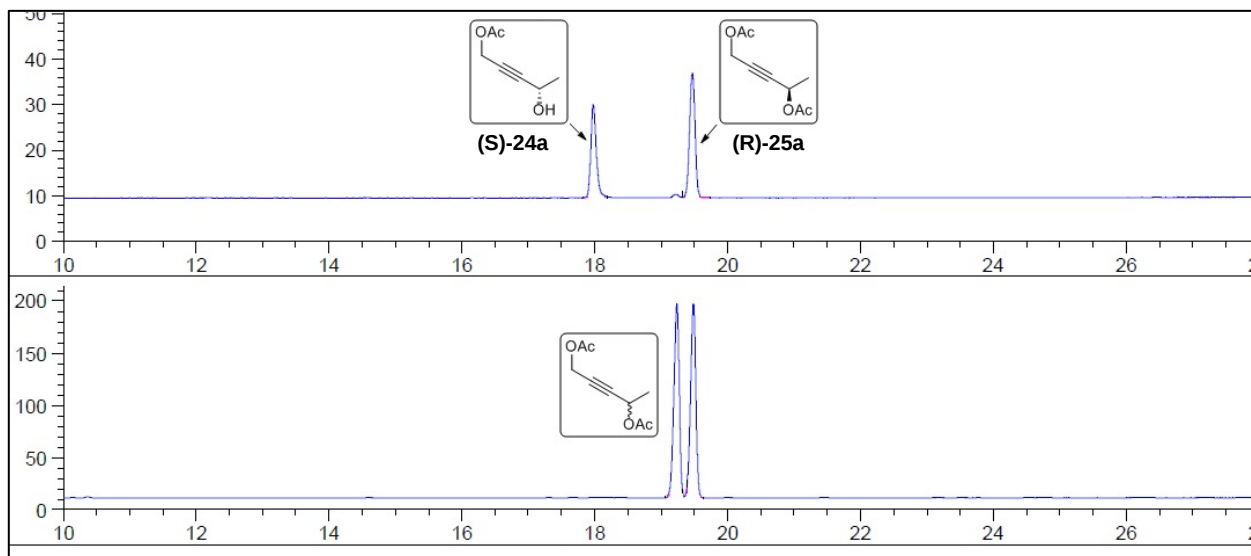
De posse dos dados cromatográficos otimizados para os dióis e/ou diacetatos, realizou-se inicialmente uma RCE do diol **20a** em escala analítica (uso de 0,1 mmol do substrato) com o intuito de verificar a melhor condição reacional. Então, a partir de resultados prévios obtidos em nosso grupo e também de dados reportados na literatura<sup>91,92e</sup>, 0,1 mmol do diol **20a** foi submetido à reação biocatalisada utilizando-se CAL-B, acetato de vinila como doador de acila e *n*-hexano como solvente, em um shaker orbital a rotação de 150 rpm e a temperatura de 35 °C, com o objetivo de obter ambos enantiômeros (monoacetato e diacetato) isolados em elevados excessos enantioméricos (Esquema 25). Alíquotas foram retiradas do meio reacional entre períodos de 30 minutos, e o progresso da resolução enzimática foi acompanhada a partir de cromatografia gasosa acoplada a fase estacionária quiral, tendo-se como referência o cromatograma do padrão racêmico do diacetato de **20a**. Os dados cromatográficos mostraram que a resolução sob essas condições se processa muito rapidamente, e com isso pobres excessos enantioméricos foram obtidos para os produtos desejados.



**Esquema 25:** Resolução cinética enzimática do diol **(R,S)-20a**.

É conhecido na literatura que a polaridade do solvente pode afetar a enantiosseletividade enzimática, e alguns trabalhos relacionam o aumento da seletividade em lipases ao uso de solventes polares.<sup>96</sup> Logo, a partir dessas informações, a reação anterior foi repetida utilizando-se dessa vez uma mistura dos solventes THF:*n*-hexano numa proporção de 1:1. Da mesma forma, alíquotas do meio reacional foram retiradas de tempos em tempos e o progresso da RCE foi acompanhado por CG quiral (Figura 29).

<sup>96</sup> (a) Costa, V. E. U.; Amorim, H. L. N.; *Quím. Nova*, **1999**, 22, 863. Mezzetti, A.; Keith, C.; Kazlauskas, R. J.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 3917; (c) Duan, Z.Q.; Du, W.; Liu, D.H.; *Biores. Technol.*, **2011**, 102, 11048.



**Figura 29:** (a) cromatograma da RCE em escala analítica do diol (R,S)-**20a** no tempo de 4 horas. (b) cromatograma do diacetato racêmico de **20a**.

Sob essas novas condições, as análises via CG quiral mostraram que o melhor tempo para se obter excelentes excessos enantioméricos foi 4 horas (Tabela 6).

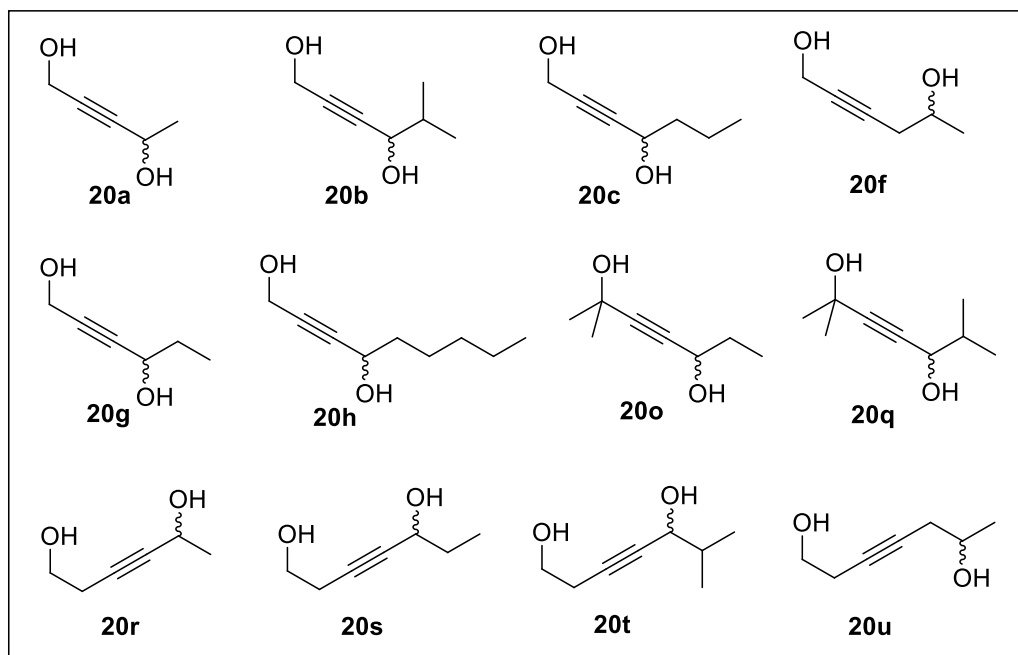
**Tabela 6:** Resultados da RCE de (R,S)-**20a** em escala analítica.

| Entrada | Tempo (h) | e.e.(%) - (S)- <b>24a</b> | e.e.(%) - (R)- <b>25a</b> |
|---------|-----------|---------------------------|---------------------------|
| 1       | 0,5       | 85,9                      | 62,2                      |
| 2       | 1         | 59,8                      | 79,9                      |
| 3       | 2         | 64,0                      | 82,0                      |
| 4       | 3         | 94,0                      | 97,0                      |
| 5       | 4         | 99,0                      | 99,0                      |
| 6       | 5         | 98,5                      | 97,1                      |
| 7       | 6         | 98,4                      | 98,0                      |
| 8       | 7         | 98,3                      | 94,9                      |

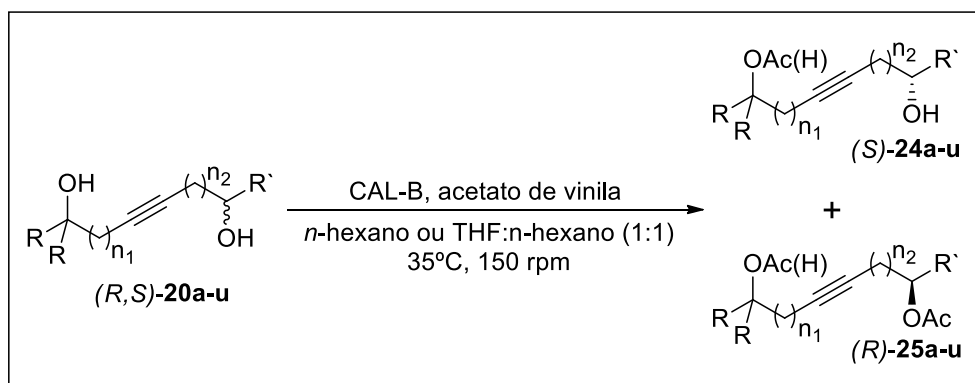
*e.e.(%): excessos enantioméricos obtidos a partir dos dados cromatográficos em coluna quiral  $\beta$ -ciclodextrina.*

Os resultados apresentados na tabela 6 mostraram que a CAL-B foi bastante seletiva em resolver os enantiômeros do diol **20a**, fornecendo os respectivos monoacetato e o diacetato em elevados excessos enantioméricos (99%) após 4 horas de resolução.

Motivados por esses resultados, submetemos todos os outros dióis propargílicos (Figura 30), que foram separados por CG-quiral, à resolução cinética enzimática em escala analítica utilizando as mesmas condições descritas anteriormente. No caso específico do diol **20f**, foi necessário o uso também de uma mistura dos solventes THF:*n*-hexano (1:1). Para os demais dióis usou-se apenas *n*-hexano como solvente (Esquema 26).

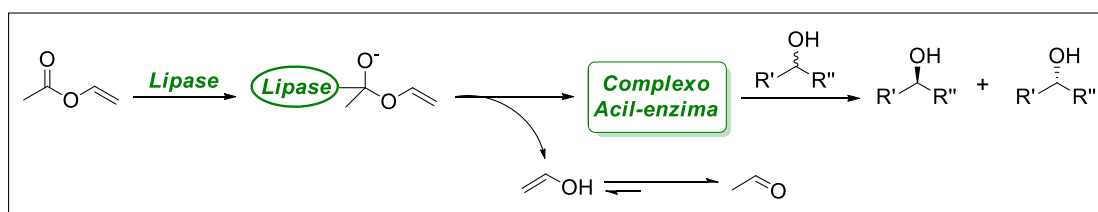


**Figura 30:** Dióis propargílicos submetidos à RCE em escala analítica catalisada por CAL-B.



**Esquema 26:** RCE dos dióis propargílicos racêmicos em escala analítica.

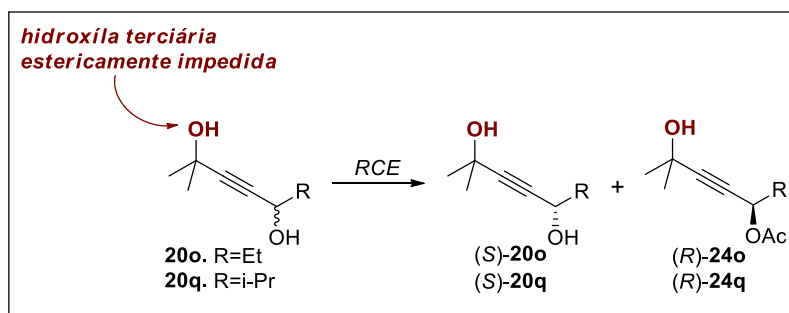
É importante salientar que a utilização do acetato de vinila como um substrato doador de acila é fundamental para promover a irreversibilidade da resolução cinética enzimática, pois o uso de um éster com a parcela alcoólica não vinila fornece como subproduto um álcool no meio reacional, levando ao surgimento de competição entre este e o substrato quiral a ser acetilado (Esquema 27).<sup>28</sup>



**Esquema 27:** Importância do acetato de vinila para a irreversibilidade da RCE.

Dentre os dióis propargílicos apresentados na figura 30, **20c** e **20h** não foram passíveis de resolução enzimática, sendo que a CAL-B não apresentou nenhuma seletividade para esses dióis após 72 e 24 horas de RCE, respectivamente. Isto pode estar relacionado ao fato desses dióis **20c** e **20h** possuírem grupos de volumes semelhantes ligados ao centro estereogênico, levando assim a uma divergência com a regra de Kazlauskas.

Nos casos isolados das resoluções para os dióis **20o** e **20q**, ao invés de se obter o monoacetato e o diacetato como produtos, obtiveram-se os respectivos dióis (**20o**, **20q**) e monoacetatos (**24o**, **24q**) enantioenriquecidos (Esquema 28). Isso se deve ao fato desses dióis possuírem uma hidroxila terciária, o que torna a sua acetilação desfavorável devido ao impedimento estérico.<sup>97</sup>



**Esquema 28:** RCE dos dióis propargílicos **20o** e **20q**.

<sup>97</sup> Fischer, C. B.; Xu, S.; Zipse, H.; *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 5779.

Os resultados para as RCEs em escalas analíticas dos dióis propargílicos **20a-u** (Figura 30) estão apresentado na tabela 7. Os resultados mostraram que a CAL-B apresentou uma alta seletividade frente a esses dióis propargílicos (os valores da razão enantiomérica *E* foram maiores que 200), fornecendo os produtos em elevados excessos enantioméricos na faixa de 96% até >99%. Todas as conversões foram totais, apresentando valores máximos de 50%. Os tempos reacionais para as RCEs variaram dependendo do substrato, sendo o mais curto de 30 minutos e o mais longo de 48 horas.

**Tabela 7:** Resultados das RCEs em escalas analíticas dos dióis propargílicos internos (*R,S*)-**20a-u** (0,1 mmol) com acetato de vinila (5 equiv.) catalisada por CAL-B (0,01 g) em 1,5 mL de solvente.

| Entrada | Diol | Produto | <i>t</i> (h) | <i>c</i> (%) | <i>e.e.</i> (%) | C.A.     | <i>E</i> |
|---------|------|---------|--------------|--------------|-----------------|----------|----------|
| 1       | 20a  | 24a     | 4            | 50           | >99             | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25a     |              | 50           | >99             | <i>R</i> |          |
| 2       | 20b  | 24b     | 48           | 50           | 98              | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25b     |              | 50           | 97              | <i>R</i> |          |
| 3       | 20f  | 24f     | 0.5          | 50           | >99             | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25f     |              | 50           | >99             | <i>R</i> |          |
| 4       | 20g  | 24g     | 2            | 50           | 98              | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25g     |              | 50           | 99              | <i>R</i> |          |
| 5       | 20o  | 20o     | 8            | 50           | >99             | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 24o     |              | 50           | >99             | <i>R</i> |          |
| 6       | 20q  | 20q     | 48           | 50           | 99              | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 24q     |              | 50           | 99              | <i>R</i> |          |
| 7       | 20r  | 24r     | 1            | 50           | >99             | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25r     |              | 50           | >99             | <i>R</i> |          |
| 8       | 20s  | 24s     | 1.5          | 50           | 98              | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25s     |              | 50           | 99              | <i>R</i> |          |
| 9       | 20t  | 24t     | 24           | 50           | 96              | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25t     |              | 50           | 99              | <i>R</i> |          |
| 10      | 20u  | 24u     | 0.75         | 50           | >99             | <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25u     |              | 50           | >99             | <i>R</i> |          |

*t* (h): tempo de reação;

*c* (%): conversão a partir de cromatografia quiral;

*e.e.* (%): excesso enantiomérico;

C.A.: Configuração Absoluta a partir da regra de Kazlauskas;

De posse dos dados fornecidos na tabela 7 pelas RCEs em escala analítica, partimos então para a realização das RCEs dos dióis propargílicos **20a-u** (Figura 30) utilizando uma escala preparativa (quantidade de 3 mmol de substrato), para posteriores isolamentos dos produtos, consequentes caracterizações e cálculos dos rendimentos isolados. As mesmas condições reacionais das RCEs em escalas analíticas (Esquema 26) foram empregadas para as RCEs em escalas preparativas.

Os resultados das RCEs realizadas em escalas preparativas são mostrados na tabela 8.<sup>98</sup> Alguns valores para os excessos enantioméricos dos produtos sofreram uma diminuição com o aumento da quantidade do substrato (entrada 2, 4, 8 e 9), mesmo assim as seletividades mantiveram-se com valores elevados ( $E > 200$ ). Esse efeito relacionado à diminuição da enantiosseletividade com o aumento da escala de reação ainda não é bem claro, mas alguns trabalhos relatam esse efeito.<sup>99</sup> As conversões foram calculadas a partir dos rendimentos isolados dos respectivos produtos, apresentando valores de razoáveis (27%) a excelentes (50%).

Todos os respectivos dióis, monoacetatos e diacetatos enantioenriquecidos foram isolados e purificados através de coluna cromatográfica e devidamente caracterizados através de técnicas espectroscópicas de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e infravermelho (IV). A partir dos espectros de IV é possível se observar as bandas alargadas intensas relativas aos estiramentos axiais das ligações O-H nos dióis na faixa de  $3300\text{ cm}^{-1}$  (Figura 31a), bandas de estiramentos O-H de intensidade média ( $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ ) e estiramentos axiais C=O ( $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ ) intensas para os monoacetatos (Figura 31b), e o desaparecimento dessas bandas de estiramento O-H nos diacetatos e o surgimento das bandas intensas relativas aos estiramentos axiais das ligações C=O ( $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ ) presentes nos grupos acetatos (Figura 31c).

---

<sup>98</sup> Resultados publicados: Ferreira, J. G.; Princival, C. R.; Oliveira, D. M.; Nascimento, R. X.; Princival, J. L. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 6458-6462 (DOI: 10.1039/C5OB00386E).

<sup>99</sup> Fishman, A.; Eroshov, M.; Dee-Noor, S.S.; Van Mil, J.; Cogan, U. Effenberger, R.; *Biotechnol Bioeng.*, **2001**, *74*, 256.

**Tabela 8:** Resultados das RCEs em escalas preparativas dos dióis propargílicos internos (*R,S*)-**20a-u** (3 mmol) com acetato de vinila (5 equiv.) catalisada por CAL-B (0,3 g) em 40 mL de solvente.

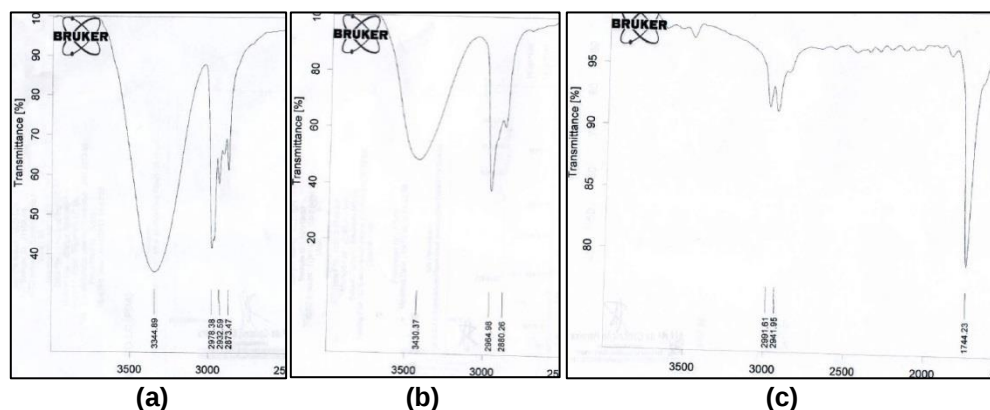
| Entrada | Diol | Produto | <i>t</i> (h) | rend (%) | e.e. (%) | C.A.           | <i>E</i> |
|---------|------|---------|--------------|----------|----------|----------------|----------|
| 1       | 20a  | 24a     | 4            | 49       | >99      | *(-)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25a     |              | 47       | >99      | (+)- <i>R</i>  |          |
| 2       | 20b  | 24b     | 48           | 47       | 96       | *(-)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25b     |              | 40       | 94       | (+)- <i>R</i>  |          |
| 3       | 20f  | 24f     | 0.5          | 49       | >99      | (+)- <i>S</i>  | >200     |
|         |      | 25f     |              | 49       | 96       | *(+)- <i>R</i> |          |
| 4       | 20g  | 24g     | 2            | 48       | 89       | *(-)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25g     |              | 43       | 99       | (+)- <i>R</i>  |          |
| 5       | 20o  | 20o     | 8            | 48       | >99      | <i>S</i>       | >200     |
|         |      | 24o     |              | 32       | 95       | <i>R</i>       |          |
| 6       | 20q  | 20q     | 48           | 50       | 99       | *(+)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 24q     |              | 50       | 98       | (+)- <i>R</i>  |          |
| 7       | 20r  | 24r     | 1            | 40       | >99      | *(-)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25r     |              | 45       | 99       | (+)- <i>R</i>  |          |
| 8       | 20s  | 24s     | 1.5          | 49       | 85       | *(-)- <i>S</i> | >200     |
|         |      | 25s     |              | 45       | 99       | (+)- <i>R</i>  |          |
| 9       | 20t  | 24t     | 24           | 43       | 49       | <i>S</i>       | >200     |
|         |      | 25t     |              | 27       | 99       | <i>R</i>       |          |
| 10      | 20u  | 24u     | 0.75         | 44       | >99      | (+)- <i>S</i>  | >200     |
|         |      | 25u     |              | 45       | 95       | *(+)- <i>R</i> |          |

*t* (h): tempo de reação;

c (%): conversão a partir do rendimento isolado;

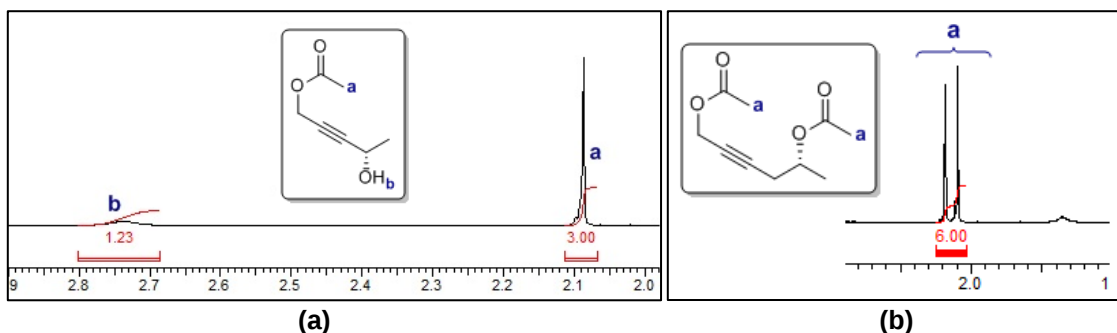
e.e. (%): excesso enantiomérico;

C.A.: Configuração absoluta a partir da regra de Kazlauskas; (\*) Configuração absoluta determinada a partir da comparação com dados de rotação ótica disponíveis na literatura.



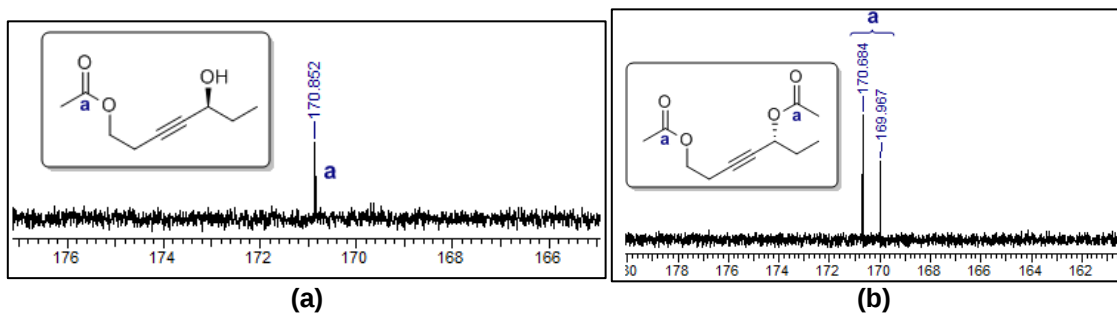
**Figura 31:** Espectros parciais de infravermelhos para (a) diol, (b) monoacetato e (c) diacetato.

Da mesma forma, nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foi possível caracterizar os grupos  $\text{CH}_3$   $\alpha$  carbonílicos dos acetatos, que aparecem como simpletos intensos na faixa de 2,0 ppm a 2,1 ppm (Figura 32).



**Figura 32:** Espectros parciais de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para regiões dos hidrogênios  $\alpha$  carbonílicos nos (a) monoacetatos e (b) diacetatos.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi possível caracterizar todos os carbonos carbonílicos característicos de ésteres na região de 170 ppm (Figura 33).



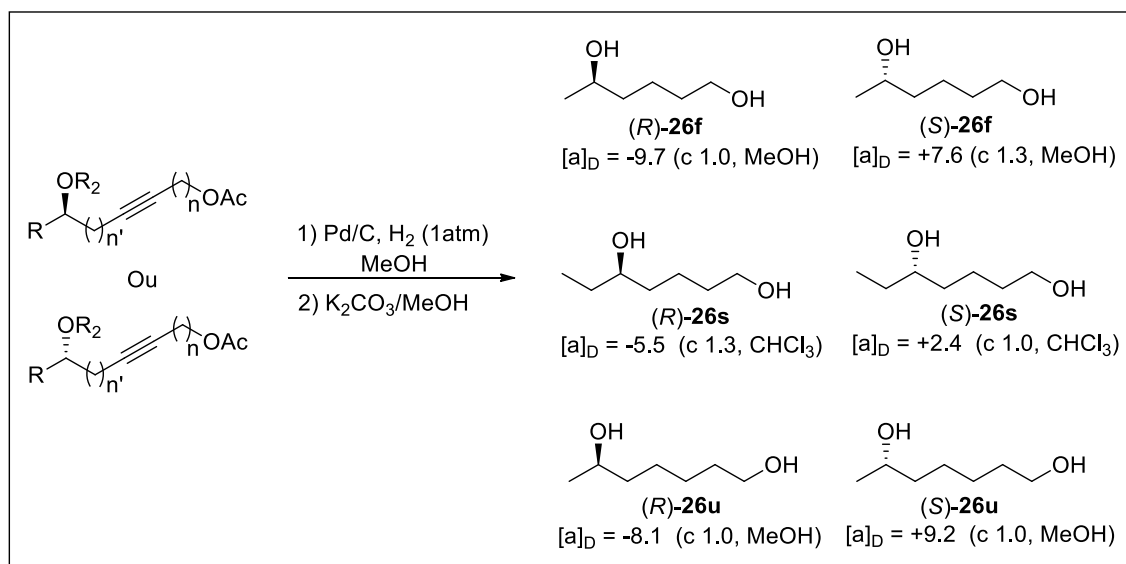
**Figura 33:** Espectros parciais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para regiões dos carbonos carbonílicos de ésteres nos (a) monoacetatos e (b) diacetatos.

As configurações absolutas dos produtos (S)-**24a**, (S)-**24b**, (S)-**24r** e (S)-**20q**, obtidos nas RCEs apresentados na tabela 8 acima, foram determinadas a partir da comparação com dados de rotação ótica disponíveis na literatura. Para (S)-(-)-**24a**: rotação específica experimental  $^{Exp}[\alpha]_D^{20} = -21,2$  (c 1,0,  $\text{CHCl}_3$ ), rotação específica reportada na literatura<sup>100</sup>  $^{Lit}[\alpha]_D^{20} = +8,1$  (c 0,71,  $\text{CHCl}_3$ ) para o enantiômero (R)-(+)-**24a**. Para (S)-(-)-**24b**: rotação específica experimental  $^{Exp}[\alpha]_D^{20} = -0,45$  (c 1,3,  $\text{CHCl}_3$ ), rotação específica reportada na literatura<sup>101</sup>  $^{Lit}[\alpha]_D^{26} = -1,1$  (c 4,0,  $\text{CHCl}_3$ ). Para (S)-(-)-**24r**: rotação específica experimental  $^{Exp}[\alpha]_D^{20} = -18,4$  (c 1,0,

<sup>100</sup> Trost, B. M.; Quintard, A.; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, 51, 6704.

<sup>101</sup> Chang, X.-W.; Zhang, D.-W.; Chen, F.; Dong, Z.-M.; Yang, D.; *Synlett*, **2009**, 3159.

CHCl<sub>3</sub>), rotação específica reportada na literatura<sup>102</sup> Lit[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = + 11,0 (c 0,70, CHCl<sub>3</sub>) para o enantiômero (R)-(+)-**24r**. Para (S)-(+)-**20q**: rotação específica experimental<sup>Exp</sup>[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 1,3 (c 1,0, CHCl<sub>3</sub>), rotação específica reportada na literatura<sup>103</sup> Lit[α]<sub>D</sub><sup>31</sup> = + 1,83 (c 0,77, CHCl<sub>3</sub>). Para os compostos (R)-(+)-**25f**, (S)-(-)-**24s** e (R)-(+)-**25u** que não possuíam os dados de rotações óticas previamente reportados na literatura, esse substratos alquinílicos enantioenriquecidos foram convertidos nos correspondentes dióis alquílicos através de uma sequencia de reações de hidrogenação/hidrólise usando Pd/C e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em MeOH realizadas em duas etapas no mesmo balão, e tiveram as suas stereoquímicas diretamente atribuídas a partir das comparações dos valores das rotações óticas obtidas experimentalmente com os valores disponíveis na literatura para o dióis alquílicos (R)-**26f**<sup>104</sup>, (S)-**26s**<sup>105</sup> e (R)-**26u**<sup>106</sup> (Esquema 29).



**Esquema 29:** Obtenção dos dióis alquílicos via reações de hidrogenação/hidrólise e rotação ótica.

No caso particular do composto (S)-(-)-**24g**, esse substrato foi convertido ao diol (S)-**20g**, através de uma reação de hidrólise usando K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em MeOH, e teve sua stereoquímica atribuída pela comparação da rotação ótica obtida experimentalmente para (S)-**20g** <sup>Exp</sup>[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -

<sup>102</sup> Hu, S.; Hager, L. P.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 872.

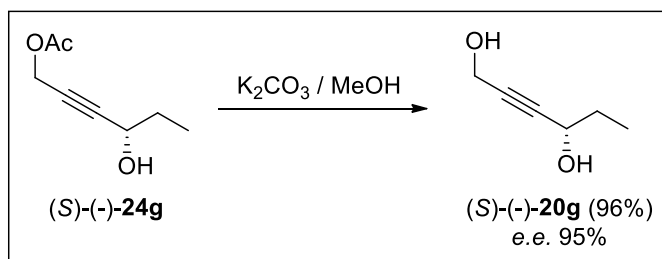
<sup>103</sup> Harada, S.; Takita, R.; Ohshima, T.; Matsunaga, S.; Shibasaki, M.; *Chem. Commun.*, **2007**, 948.

<sup>104</sup> Wada, K.; Ishida, T.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1979**, 1154.

<sup>105</sup> Seehafer, K.; Rominger, F.; Helmchen, G.; Langhans, M.; Robinson, D. G.; Ozatä, B.; Brügger, B.; Strating, J. R. P. M.; van Kuppeveld, F. J. M.; Klein, C. D.; *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 5872.

<sup>106</sup> Edegger, K.; Stampfer, W.; Seisser, B.; Faber, K.; Mayer, S. F.; Oehrlin, R.; Hafner, A.; Kroutil, W.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1904.

7,2 (c 1,0, MeOH) com o valor reportado na literatura<sup>107</sup>  $[\alpha]_D = -7,2$  (c 1,0, MeOH). Além disso, o composto (S)-(-)-2-pentin-1,4-diol [(S)-(-)-**20g**] é um produto natural que pode ser isolado a partir de extratos de uma cultura do fungo *Clitocybe Catinus*, pertencendo a uma classe de dióis propargílicos quirais extraídos desse mesmo fungo que possuem atividades antibacterianas,<sup>107</sup> e foi obtido em 96% de rendimento com um excesso enantiomérico de 95% (Esquema 30).<sup>98</sup>



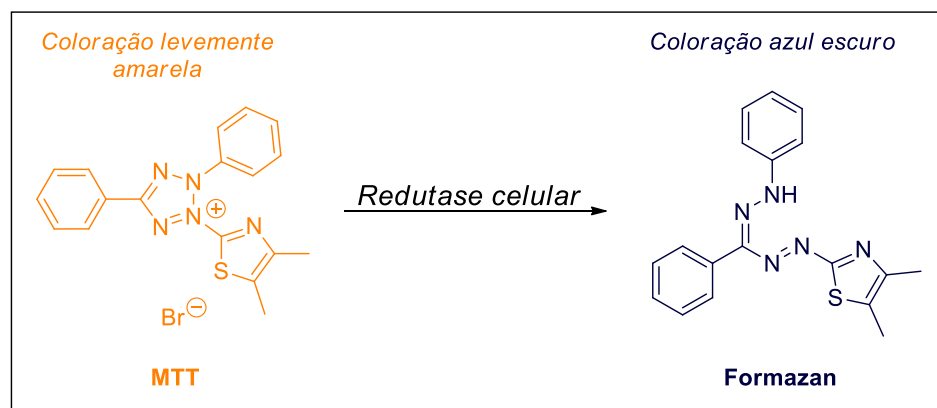
**Esquema 30:** Preparação do composto (S)-(-)-2-pentin-1,4-diol [(S)-(-)-**20g**].

Todas as estereoquímicas dos produtos obtidos nas RCEs, determinadas experimentalmente, estão de acordo com a regra de Kazlauskas.<sup>29,94</sup>

<sup>107</sup> Arnore, A.; Nasini, G.; Pava, O. V.; *Phytochem.*, **2000**, 53, 1087.

### 3.3 TESTES DE ATIVIDADES CITOTÓXICAS

Como exposto na introdução, compostos da classe dos dióis propargílicos e seus derivados são conhecidos por apresentarem atividades biológicas (ver seção 1.3). Como até o presente momento, nenhum trabalho fazendo o uso dos dióis propargílicos **20a-u** (Figura 23) e seus derivados como agentes citotóxicos tinham sido publicados na literatura, decidiu-se realizar testes de citotoxicidades. Com isso, após todas as etapas de sínteses e caracterizações para os dióis propargílicos internos **20a-u** e os produtos das RCEs, aplicamos todos esses compostos em experimentos testes de atividades citotóxicas realizados *in vitro* contra linhagens de células tumorais HEP-2, NCI-H292, MCF-7, K562, HL-60, J774.A1 e RAW 264.7 obtidas a partir do banco de células do estado do Rio de Janeiro/Brasil.<sup>108</sup> As atividades antiproliferativas dos compostos foram avaliadas através da metodologia do ensaio colorimétrico empregando o sal de tetrazólio MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio).<sup>109</sup> O MTT, que possui uma coloração levemente amarelada, sofre uma reação de redução celular na mitocôndria ativa levando a formação do produto *Formazan* que possui uma coloração azul escuro (Esquema 31), e essa reação ocorre somente nas células vivas. Logo esse ensaio detecta as células vivas e não as células mortas, e o sinal gerado depende do grau de ativação celular.



**Esquema 31:** Redução celular do MTT ao produto Formazan.

<sup>108</sup> Todos os testes de atividades antitumorais foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Teresinha Gonçalves do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>109</sup> (a) Alley, M. C.; Scudiero, D. A.; Monks, A.; Hursey, M. L.; Czerwinski, M. J.; Fine, D. L.; Abbott, B. J.; Mayo, J. G.; Shoemaker, R. H.; Boyd, M. R.; *Cancer Res.*, **1988**, *48*, 589. (b) Scudiere, D. A.; Shoemaker, R. H.; Paul, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R.; *Cancer Res.*, **1988**, *48*, 4827. (c) Mosmann, T.; *J. Immunol. Methods*, **1983**, *65*, 55.

Uma triagem inicial foi realizada para determinar o potencial citotóxico dos compostos a uma concentração final de 100 µg/mL, usando a doxorrubicina<sup>110</sup> como controle positivo. Os resultados obtidos nos testes estão apresentados na tabela 9.<sup>111</sup>

**Tabela 9:** Atividade antiproliferativa dos dióis propargílicos contra linhagens de células tumorais HEP-2, NCI-H292, MCF-7, K562, HL-60, J774.A1 e RAW 264.7.

| Entrada | Composto  | Porcentagem de células mortas (%) |             |            |            |            |             |            |
|---------|-----------|-----------------------------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
|         |           | HEP-2                             | NCI-H292    | MCF-7      | K562       | HL-60      | J774.A1     | RAW 264.7  |
| 1       | 20a       | 100 (0.0)                         | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  |
| 2       | 20b       | 42.7 (0.0)                        | 69.8 (10)   | 28.7 (3.2) | 20.9 (9.6) | 0.0 (0.3)  | 2.0 (8.9)   | 17.8 (1.3) |
| 3       | 20c       | 100 (0.0)                         | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (2.7)  | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  |
| 4       | 20d       | 28.1 (2.7)                        | 86.9 (2.9)  | 68.1 (0.0) | 3.8 (0.0)  | 29.5 (2.3) | 17.1 (2.7)  | 16.0 (0.8) |
| 5       | 20f       | 14.8 (0.0)                        | 20.2 (4.8)  | 0.0 (6.3)  | 0.0 (1.2)  | 11.0 (0.0) | 60.8 (5.4)  | 8.5 (8.3)  |
| 6       | (R/S)-20g | 100 (0.0)                         | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  |
| 7       | (R)-20g   | 38.8 (0.0)                        | 55.7 (8.5)  | 52.5 (2.7) | 40.9 (3.1) | 12.1 (0.0) | 0.2 (0.5)   | 9.6 (3.4)  |
| 8       | (S)-20g   | 31.3 (0.0)                        | 85.0 (9.0)  | 51.6 (4.6) | 27.0 (5.0) | 1.4 (2.2)  | 1.7 (1.4)   | 19.5 (7.3) |
| 9       | 20h       | 100 (0.0)                         | 100 (9.1)   | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)  | 100 (0.0)   | 100 (0.0)  |
| 10      | 20i       | 0.0 (0.0)                         | 5.0 (0.2)   | 27.2 (0.6) | 16.0 (9.8) | 13.3 (4.3) | 61.2 (8.2)  | 0.0 (0.0)  |
| 11      | 20j       | 84.0 (1.1)                        | 91.0 (3.0)  | 27.3 (5.5) | 80.0 (7.0) | 96.1 (1.1) | 93.1 (0.2)  | 95.0 (3.1) |
| 12      | 20l       | 9.3 (0.0)                         | 6.6 (2.6)   | 40.8 (3.3) | 16.7 (4.3) | 8.9 (1.6)  | 57.5 (3.8)  | 4.2 (3.7)  |
| 13      | 20q       | 0.0 (0.0)                         | 21.5 (1.9)  | 40.7 (0.0) | 9.7 (6.7)  | 7.3 (0.0)  | 55.3 (0.2)  | 0.0 (0.0)  |
| 14      | 20r       | 2.2 (0.0)                         | 0.3 (1.4)   | 17.8 (0.8) | 25.1 (3.1) | 0.0 (0.0)  | 16.5 (3.5)  | 9.4 (3.7)  |
| 15      | 20s       | 12.9 (0.0)                        | 15.5 (3.6)  | 34.3 (5.5) | 0.0 (0.0)  | 5.1 (9.8)  | 42.6 (10.8) | 6.1 (8.6)  |
| 16      | 20t       | 85.7 (0.0)                        | 49.9 (1.6)  | 54.1 (1.2) | 0.0 (0.0)  | 0.0 (4.9)  | 30.4 (5.5)  | 17.8 (0.8) |
| 17      | 20u       | 84.1 (0.0)                        | 71.5 (10.7) | 69.5 (0.0) | 0.0 (0.0)  | 9.6 (5.0)  | 15.7 (5.9)  | 19.3 (2.3) |
| 18      | DOX       | 79,4 (2,6)                        | 94.1 (2.0)  | 74.8 (2.1) | 91.7 (1.4) | 92.9 (0.6) | 96.0 (0.1)  | 96.5 (0.8) |

\*Resultados estão expressos como médias (desvio padrão) a partir do ensaio do MTT após 72h de incubação.

\*DOX = Doxorubicina foi o controle positivo.

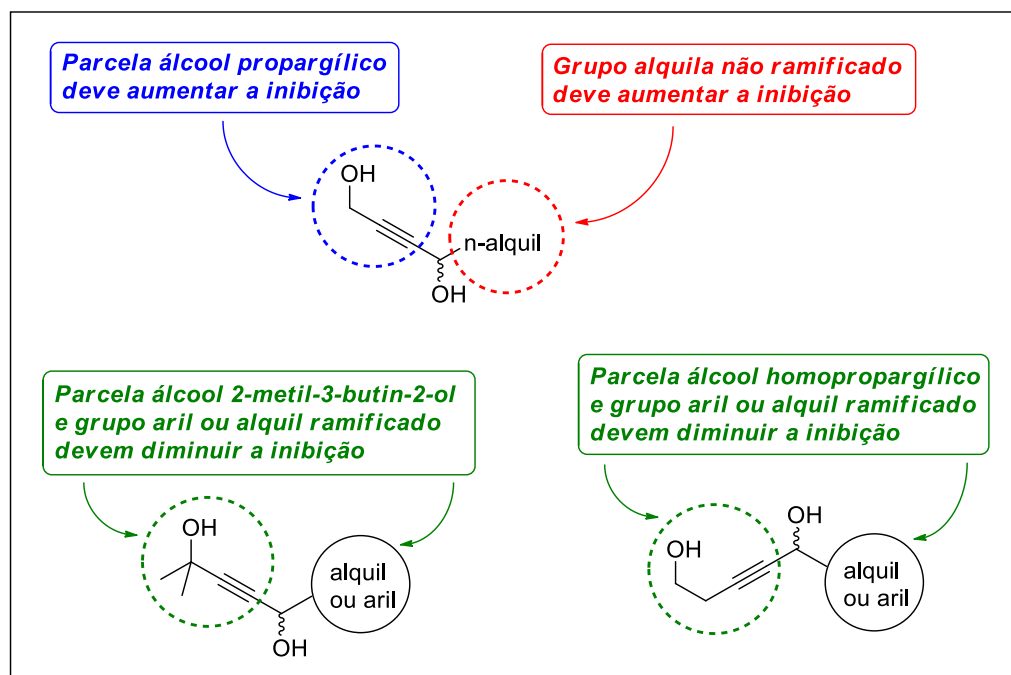
Embora todos os compostos dióis **20a-u** possuam estruturas químicas muito semelhantes, resultados bastante distintos foram obtidos após a avaliação contra as sete linhagens de células tumorais. Como mostrado na tabela 9, dentre todos os compostos usados na triagem, os dióis **20a**, **20c**, (R/S)-**20g**, e **20h** se destacaram devido as suas elevadas atividades antitumorais *in vitro*, exibindo 100% de inibição contra todas as linhagens de células testadas. O diol **20j** apresentou resultados razoáveis para as atividades antiproliferativas, levando as inibições de crescimentos das seguintes linhagens HEP-2 (84%), NCI-H292 (91%), HL-60 (96%), J774.A1 (93%), K562 (80%) e RAW 264.7 (95%) (Tabela 7, entrada 11). Já os dióis **20b**, **20d**, **20f**, **20i**, **20l-u** exibiram baixa ou nenhuma citotoxicidade.

Verificando as estruturas dos compostos mais ativos (**20a**, **20c**, (R/S)-**20g**, e **20h**), é possível observar que o comportamento citotóxico pode está associado a presença do grupo

<sup>110</sup> Tacara, O.; Srimornsakb, P.; Dassa, C. R.; *J. Pharm. Pharmacol.*, **2013**, 65, 157.

<sup>111</sup> Resultados publicados: Princival, I. M. R. G.; Ferreira, J. G.; Silva, T. G.; Aguiar, J. S.; Princival, J. L.; *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **2016**, 26, 2839 (doi:10.1016/j.bmcl.2016.04.060).

hidroxila primário (função álcool propargílico) e da cadeia alquílica lateral não ramificada como grupos terminais (Figura 34). Esses indícios ficam mais evidentes quando os compostos **20a**, **20c**, (R/S)-**20g**, e **20h** são comparados estruturalmente com os outros dióis propargílicos testados (Figuras 23 e 34).



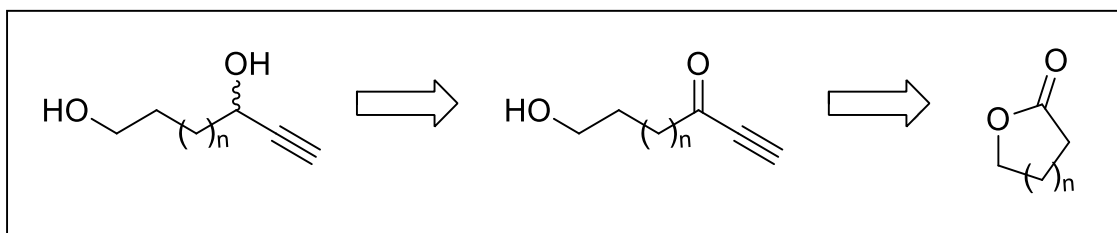
**Figura 34:** Relação estrutura química vs. inibição celular baseada nos resultados empíricos.

Como havíamos sintetizado ambos os enantiômeros do produto natural **20g**, testamos sua atividade biológica empregando os enantiômeros separadamente. Surpreendentemente, quando os enantiômeros puros (R)-**20g** e (S)-**20g** foram submetidos separadamente aos ensaios *in vitro*, ambos mostraram ser muito menos eficazes do que a mistura racêmica (R/S)-**20g**. Assim, comparando os resultados é possível observar que para as células HL-60 o composto (R/S)-**20g** tem mostrado ser 70 vezes mais eficaz que o enantiômero (S)-**20g** (Tabela 9, entrada 8) isoladamente, enquanto que se comparado com o enantiômero (R)-**20g** frente as células J774.A1 o racemato **20g** é 500 vezes mais citotóxico (Tabela 9, entrada 7).

### 3.4 SÍNTESES DE DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS RACÊMICOS

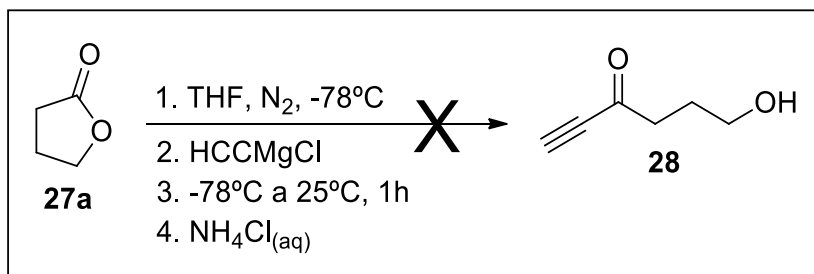
Essa parte do trabalho consistiu-se na preparação de dióis funcionalizados com um grupamento alquino terminal. Esses tipos de substratos possuem um potencial sintético muito interessante, pois podem fornecer blocos de construções quirais polifuncionalizados, o que os tornam mais versáteis na aplicação em sínteses de moléculas bioativas.

A forma idealizada para preparação desses tipos de dióis propargílicos foi através da abertura de anel lactônico utilizando um ânion acetileto como nucleófilo, o que levaria a formação de uma hidróxi-cetona propargílica. Submetendo essa hidróxi- $\alpha$ -alquinona a reação de redução do grupo carbonila, obteríamos o diol propargílico terminal desejado (Esquema 32).



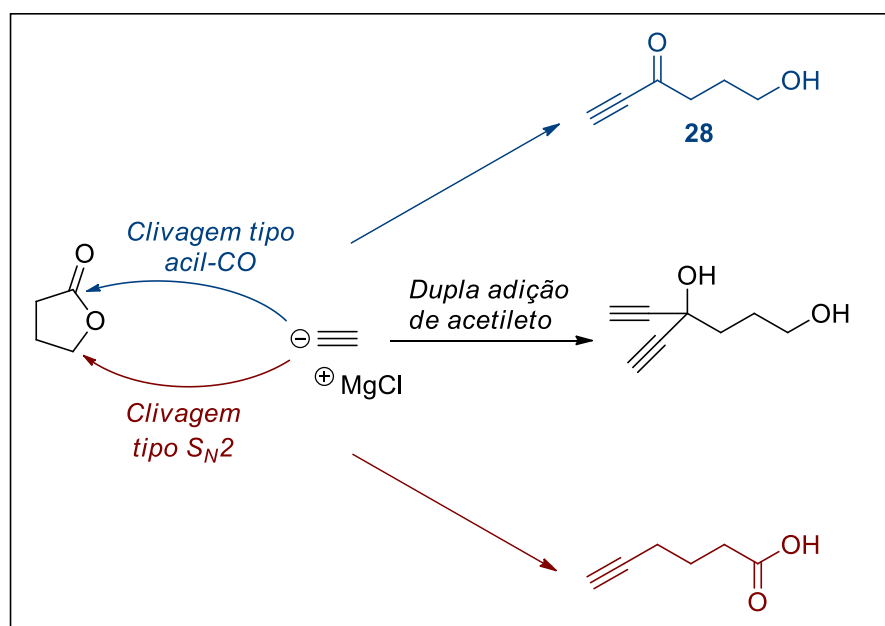
**Esquema 32:** Retrossíntese para obtenções dos dióis propargílicos terminais racêmicos.

Então, primeiramente submetemos a  $\gamma$ -butirolactona **27a** a reação com o organometálico cloreto de etinilmagnésio disponível em nosso laboratório e adquirido comercialmente. A reação foi processada a temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$  e sob atmosfera de  $\text{N}_2$  (Esquema 33). Análise via cromatografia em camada delgada (CCD) mostrou a formação de uma mistura complexa de produtos no meio reacional. Após purificação do bruto reacional em coluna de gel de sílica, não foi possível se isolar a hidróxi- $\alpha$ -alquinona **28**.



**Esquema 33:** Reação entre a  $\gamma$ -butirolactona e o cloreto de etinilmagnésio.

A não formação da alquinona **28** pela rota mostrada no esquema 33 pode estar associada à baixa quimiosseletividade do nucleófilo acetileto de magnésio frente à abertura do anel lactônico via clivagem acil-CO. Ogura e colaboradores relataram que acetiletos de magnésio não são nucleófilos adequados para a obtenção de alquinonas via abertura de lactonas.<sup>112</sup> Devido ao ânion etinilmagnésio possuir uma reatividade acentuada, reações laterais podem ser favorecidas, como por exemplo, a clivagem tipo S<sub>N</sub>2 pelo ataque ao carbono carbinólico,<sup>113</sup> e reações de dupla adição a carbonila,<sup>112</sup> levando a subprodutos indesejados (Esquema 34).



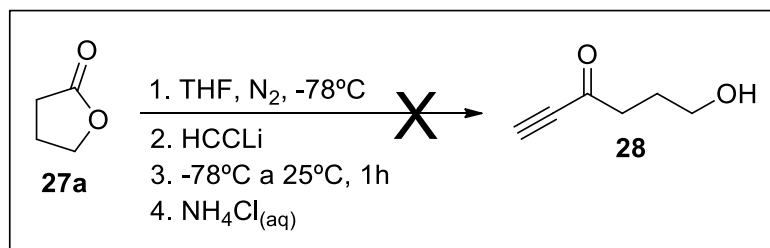
**Esquema 34:** Tipos de reações do ânion acetileto de magnésio sobre a  $\gamma$ -butirolactona.

Já é bastante conhecido que reagente organolítio são mais reativos que os similares reagentes de Grignard.<sup>114</sup> Como a ligação C-Li possui um caráter mais iônico que a ligação C-Mg, então o ânion acetileto de lítio é um nucleófilo mais “duro” que o seu análogo de magnésio,<sup>113a</sup> e com isso são mais quimiosseletivos frente a adição no grupo carbonila. Logo, a partir dessas informações, repetimos a reação anterior ilustrada no esquema 24 utilizando-se dessa vez o ânion etinillítio como nucleófilo, empregando as mesmas condições reacionais (Esquema 35).

<sup>112</sup> (a) Ogura, H.; Takahashi, H.; Itoh, T.; *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 72. (b) Cavicchioli, S.; Savoia, D.; Trombini, C.; Umani-Ronchi, A.; *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 1246.

<sup>113</sup> (a) Ho, T.L.; *Chem. Rev.*, **1975**, 75, 1. (b) Liotta, D.; Santiesteban, H.; *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 18, 4369.

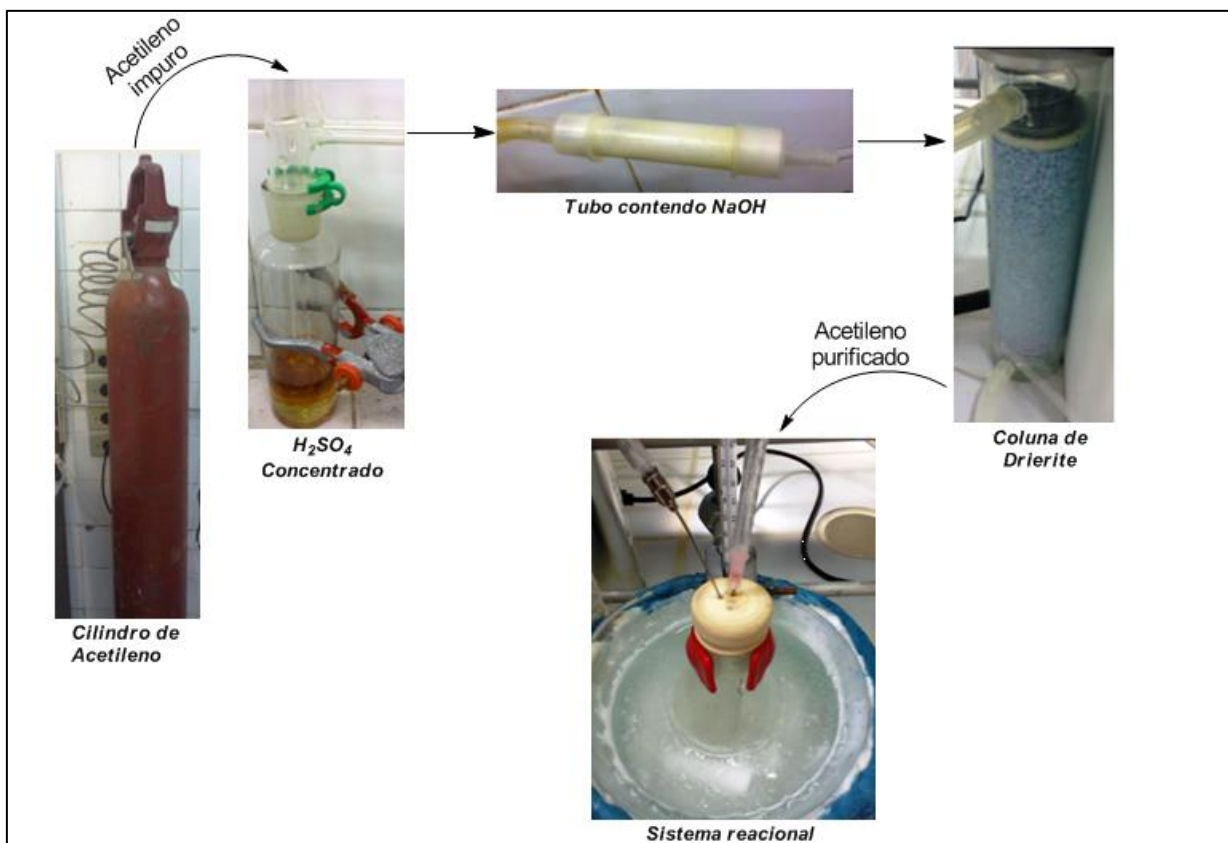
<sup>114</sup> Gilman, H.; Kirby, R. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1933**, 55, 1265.



**Esquema 35:** Reação entre a  $\gamma$ -butirolactona e o acetileto de lítio.

Por não ser disponível comercialmente, o ânion etinillítio foi preparado em nosso laboratório a partir de uma reação ácido-base entre o gás acetileno e *n*-BuLi, seguindo protocolos descritos na literatura.<sup>83a,115</sup> O acetileno usado na preparação é inicialmente passado por um sistema de purificação na seguinte ordem: 1) primeiramente o acetileno é borbulhado em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado para retirar o excesso de acetona estabilizante; 2) depois o gás é passado através de um tubo contendo lentilhas de NaOH para retirar os vapores residuais de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> que é arrastado pelo acetileno; 3) e por último, passado através de uma coluna de Drierite® para se retirar resíduos de umidade. Em seguida o acetileno é borbulhado no solvente THF à - 78°C por certo período de tempo, seguido então da adição lenta da solução de *n*-BuLi. É importante ressaltar que a formação do ânion HCCLi deve ser feita em solução diluída (da ordem de 0,2 M) e a baixa temperatura (- 78 °C), pois soluções concentradas e temperaturas mais altas favorecem a formação do di-ânion de lítio Li-CC-Li, que se apresenta como um sólido de coloração branca em solução.<sup>83a</sup> Na figura 35 é mostrado uma imagem esquemática desse processo.

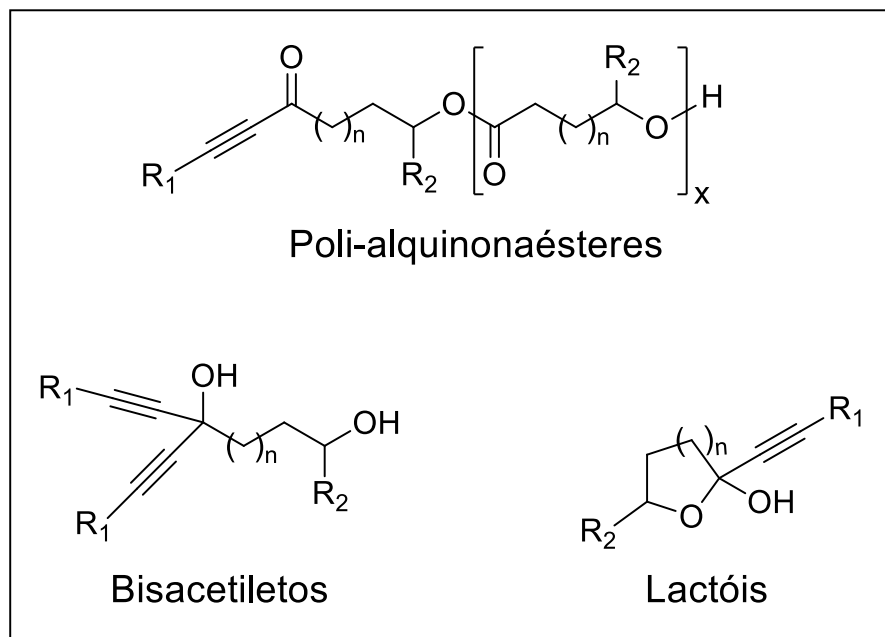
<sup>115</sup> Midland, M. M.; *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 2250.



**Figura 35:** Ilustração esquemática da purificação do gás acetilênico.

Da mesma forma como quando utilizamos o ânion cloreto de etinilmagnésio, análise via CCD mostrou também a formação de uma mistura complexa de produtos no meio reacional para a reação com o ânion  $HCCLi$ , e não foi possível isolar a alquinona **28**. Doubsky e coautores mostraram em um trabalho publicado em 2003,<sup>116</sup> em que o uso de alquinillítio para abertura de  $\gamma,\delta,\epsilon$ -lactonas leva a formação de uma mistura complexa de subprodutos, onde eles foram capazes de identificar compostos do tipo poli-alquinonaésteres, bisacetilenos e lactóis (Figura 36).

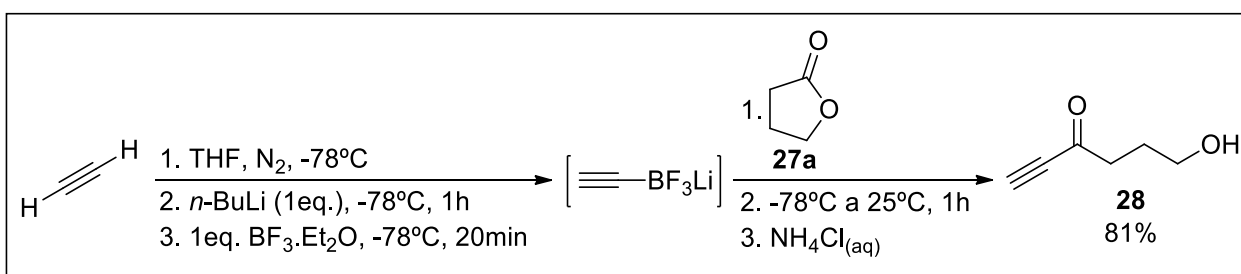
<sup>116</sup> Doubský, J.; Ludvík, S.; Lešetický, L.; Koutek, B.; *Synlett*, **2003**, 937.



**Figura 36:** Alguns subprodutos formados durante a reação de abertura de lactona com HCCLi.

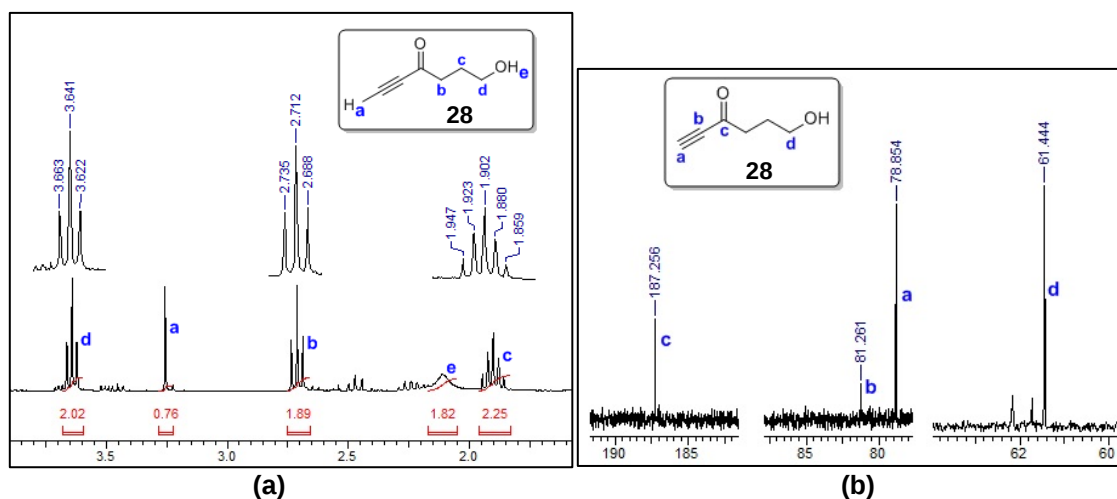
Nesse mesmo trabalho, Doubisky e colaboradores desenvolveram uma metodologia eficiente para abertura de  $\gamma$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ -lactonas utilizando reagentes alquinitrfluoroboratos como nucleófilos.<sup>116</sup> Por serem reagentes menos básicos, e nucleófilos mais macios, do que seus análogos ânions de lítio e magnésio, os alquinitrfluoroboratos apresentaram uma elevada quimiosseletividade frente a abertura do anel lactônico via clivagem acil-CO, fornecendo as respectivas alquinonas em excelentes rendimentos.

Motivados por esse trabalho encontrado na literatura, utilizamos então essa metodologia para obtenção de nossas alquinonas desejadas, empregando o aniôn etinitrfluoroborato de lítio, preparado *in situ* através da adição de um equivalente de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O numa solução de acetileto de lítio (previamente preparada de acordo com esquema da figura 31 em THF a - 78 °C, como nucleófilo na abertura da  $\gamma$ -butirolactona **27a** (Esquema 36).



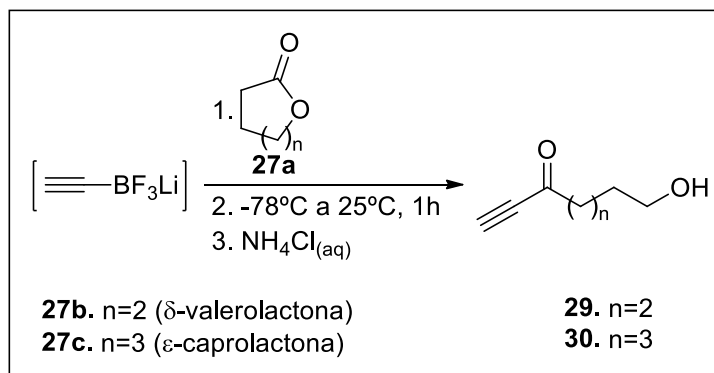
**Esquema 36:** Reação entre a  $\gamma$ -butirolactona **27a** e o etinitrfluoroborato de lítio.

A análise da reação via CCD mostrou a formação de um produto com  $R_f$  próximo ao  $R_f$  da  $\gamma$ -butirolactona, mas revelando numa coloração intensa em vanilina sulfúrica. O bruto reacional foi submetido à purificação em coluna de gel de sílica fornecendo como produto um óleo incolor em 81% de rendimento. Esse produto foi submetido à caracterização através de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , mostrando que a hidroxialquinoína **28** tinha sido formada. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 37a) foi possível caracterizar o sinal relativo ao hidrogênio acetilênico sendo um simpleto em 3,2 ppm, os sinais relativos aos hidrogênios carbinólicos sendo um tripleto em 3,6 ppm, e os sinais relativos aos hidrogênios alquílicos fornecendo um quinteto e um tripleto em 1,9 ppm e 2,7 ppm, respectivamente. Já no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 37b) foi possível se observar os sinais relativos ao carbono carbonílico em 187,2 ppm, aos carbonos acetilênicos em 78,8 ppm e 81,2 ppm, e ao carbono carbinólico em 61,4 ppm.



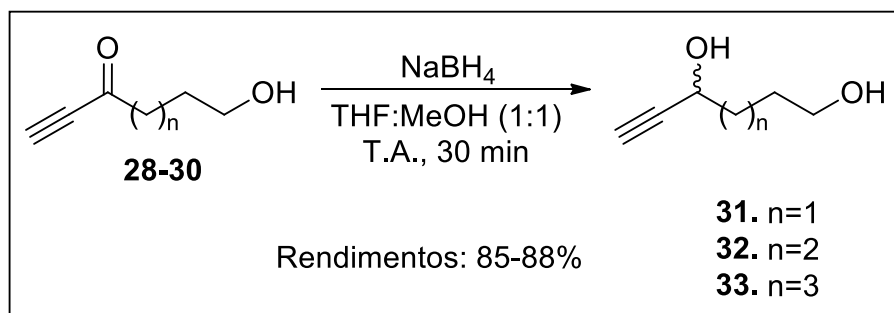
**Figura 37:** Espectros parciais de (a) RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), da hidroxialquinoína **28**.

A partir desse excelente resultado obtido anteriormente, submetemos a  $\delta$ -valerolactona **27b** e a  $\epsilon$ -caprolactona **27c** a reação de abertura do anel com o etiniltrifluoroborato de lítio, para obtenção das respectivas hidróxi-alquinoínas **29** e **30** (Esquema 37).



**Esquema 37:** Sínteses das hidróxi- $\alpha$ -alquinonas **29** e **30**.

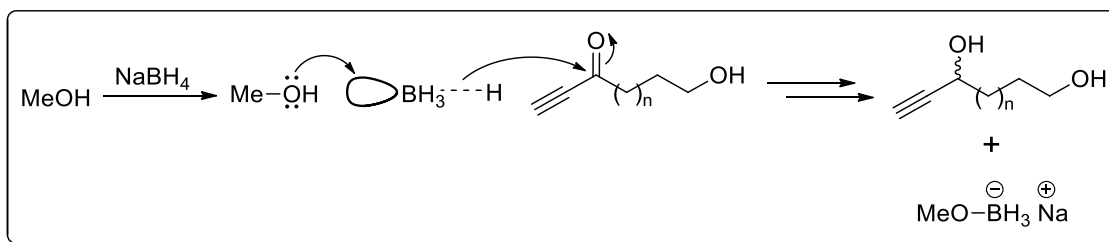
De posse das alquinonas **28**, **29** e **30**, submetemos esses compostos, sem prévia purificação, a reação de redução do grupamento carbonila utilizando um sistema de borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) em numa mistura de THF:MeOH (1:1), para obtenção dos respectivos dióis propargílicos terminais racêmicos **31**, **32** e **33** (Esquema 38).



**Esquema 38:** Reações de redução das hidróxi-alquinonas com  $\text{NaBH}_4$ .

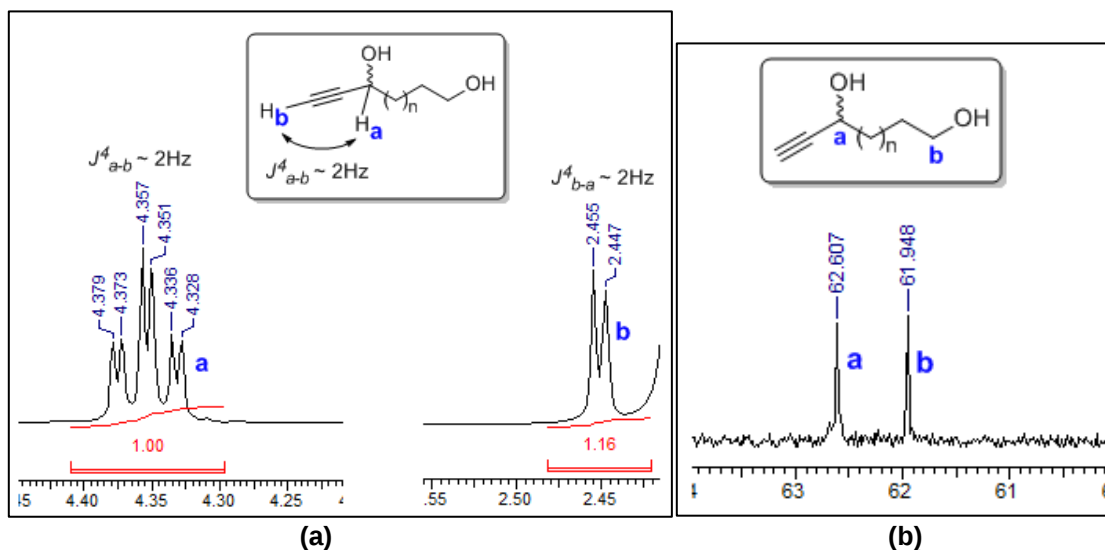
Observa-se que o  $\text{NaBH}_4$  é pouco solúvel em THF, e a adição de MeOH ao meio reacional além de ajudar a solubilizar o  $\text{NaBH}_4$ , também desempenha uma função catalítica na reação de redução do grupo carbonila,<sup>117</sup> ativando a transferência de hidreto (Esquema 39).

<sup>117</sup> Brown, H. C.; Mead, E. J.; Rao, B. C. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 6209.



**Esquema 39:** Mecanismo da redução da alquinona catalisado por MeOH.

Os dióis propargílicos **31**, **32** e **33** foram obtidos como óleos incolores após a etapa de purificação, em rendimentos na faixa de 85-88%. Ambos compostos foram devidamente caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ . A partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foi possível observar o sinal relativo ao hidrogênio carbinólico ligado ao centro quiral como um tripleto de dubleto em 4,3 ppm, onde o acoplamento deste com o hidrogênio acetilênico possui uma constante  $J^4$  da ordem de 2Hz (Figura 38a). Já nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi possível observar o surgimento do sinal relativo ao carbono carbinólico quiral em torno de 62 ppm, e o consequente desaparecimento do sinal relativo ao carbono carbonílico que aparecia próximo de 190 ppm (Figura 38b).

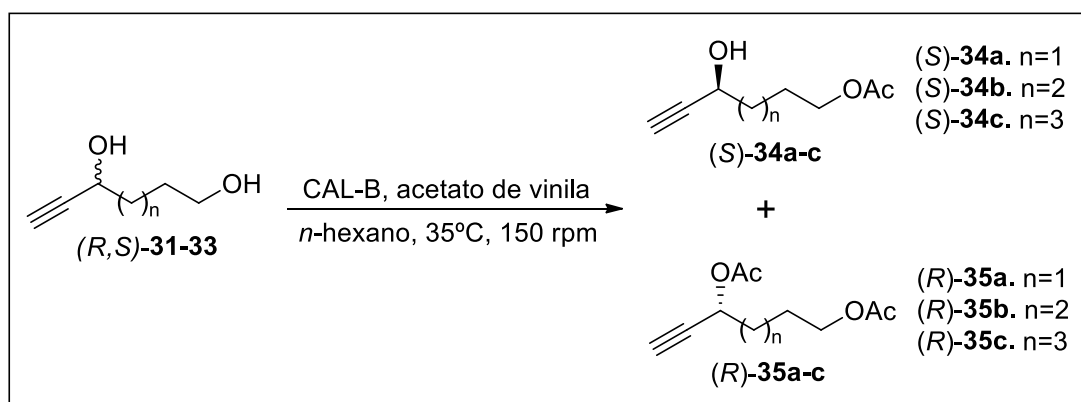


**Figura 38:** Espectros parciais (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (a) RMN de  $^1\text{H}$  e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$ , característicos para os dióis propargílicos **31**, **32** e **33**.

Uma vez com os dióis propargílicos **31**, **32** e **33** devidamente purificados e caracterizados em mãos, partimos para etapa seguinte do trabalho que foi a resolução cinética enzimática (RCE) desses compostos.

### 3.5 RESOLUÇÃO CINÉTICA ENZIMÁTICA (RCE) DAS MISTURAS RACÊMICAS DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS

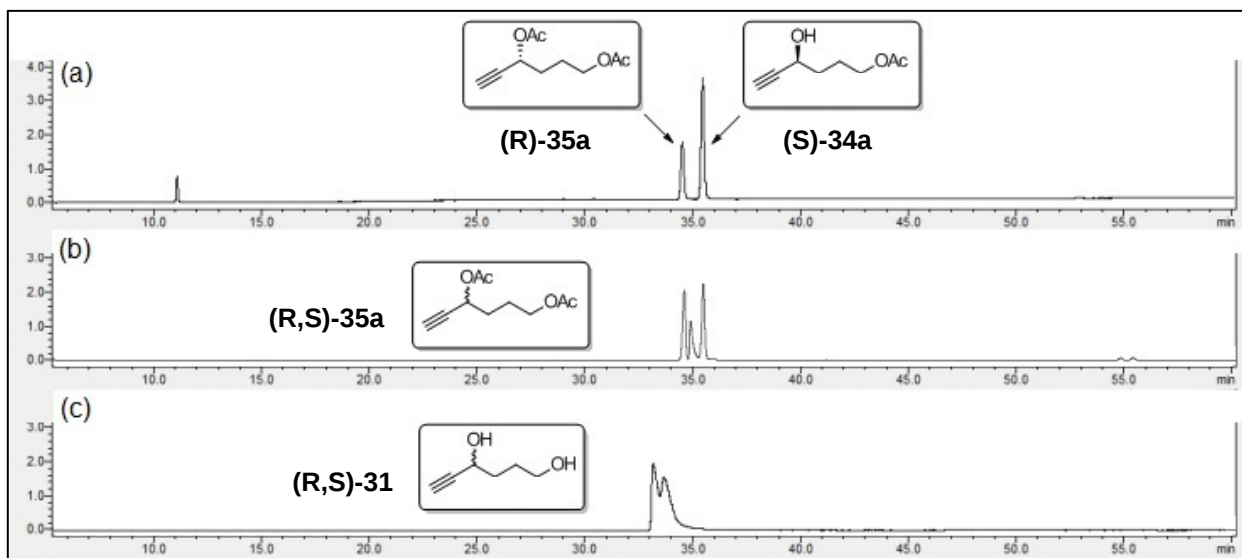
Até o presente momento, nenhum trabalho relatando a RCE de dióis propargílicos terminais foi publicado e baseado em nossos resultados apresentados no início dessa discussão submetemos os dióis propargílicos **31**, **32** e **33** a reação de RCE em escala analítica catalisada por CAL-B (Esquema 40), empregando condições reacionais pré-utilizadas em nossos experimentos,<sup>98</sup> e tendo como objetivo verificar a seletividade da CAL-B frente a esses substratos.



**Esquema 40:** Resolução cinética enzimática dos dióis propargílicos **31**, **32** e **33**.

Alíquotas foram retiradas do meio reacional entre intervalos de tempos definidos, e o progresso da resolução enzimática foi acompanhado a partir de CG quiral, tendo-se como referências os cromatogramas dos padrões racêmicos dos diacetatos de **31**, **32** e **33**. Os Dados cromatográficos mostraram que as resoluções sob essas condições se processaram de forma eficiente, e a CAL-B apresentou seletividade frente aos enantiômeros de **31**, **32** e **33**.

No caso diol **31**, a RCE se processou muito lentamente, e após 8 horas a resolução ainda não tinha ocorrido por completo (Figura 39). Logo, foi necessário um tempo mais longo para que a RCE do diol **31** se processe completamente.

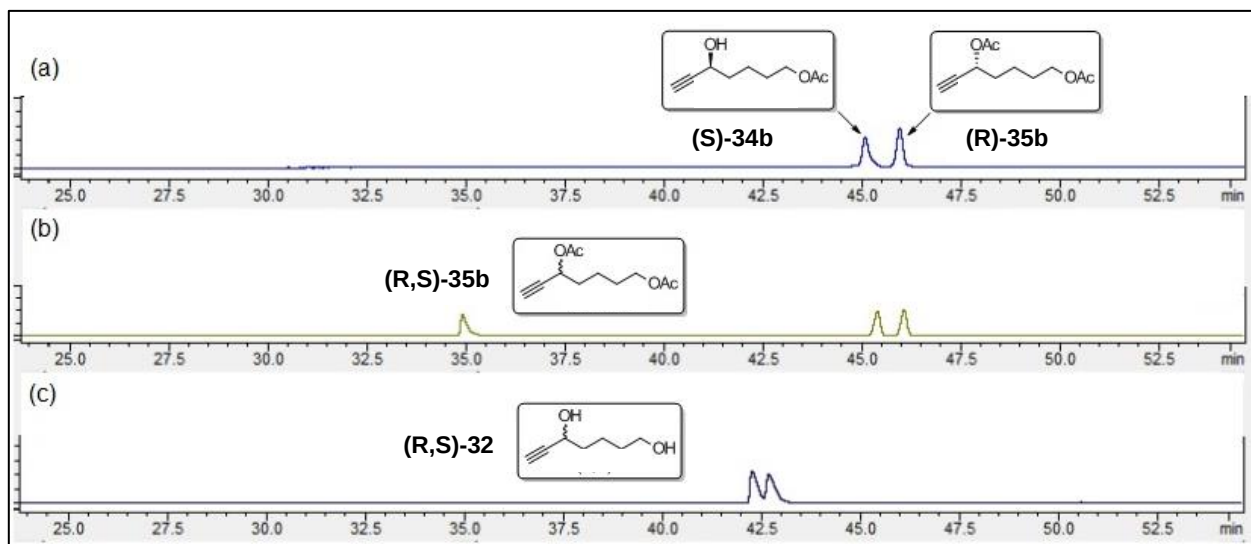


**Figura 39:** (a) cromatograma da RCE em escala analítica do diol *(R,S)*-**31** no tempo de 8 horas. (b) cromatograma do diacetato *(R,S)*-**35a**. (c) cromatograma do diol *(R,S)*-**31**.

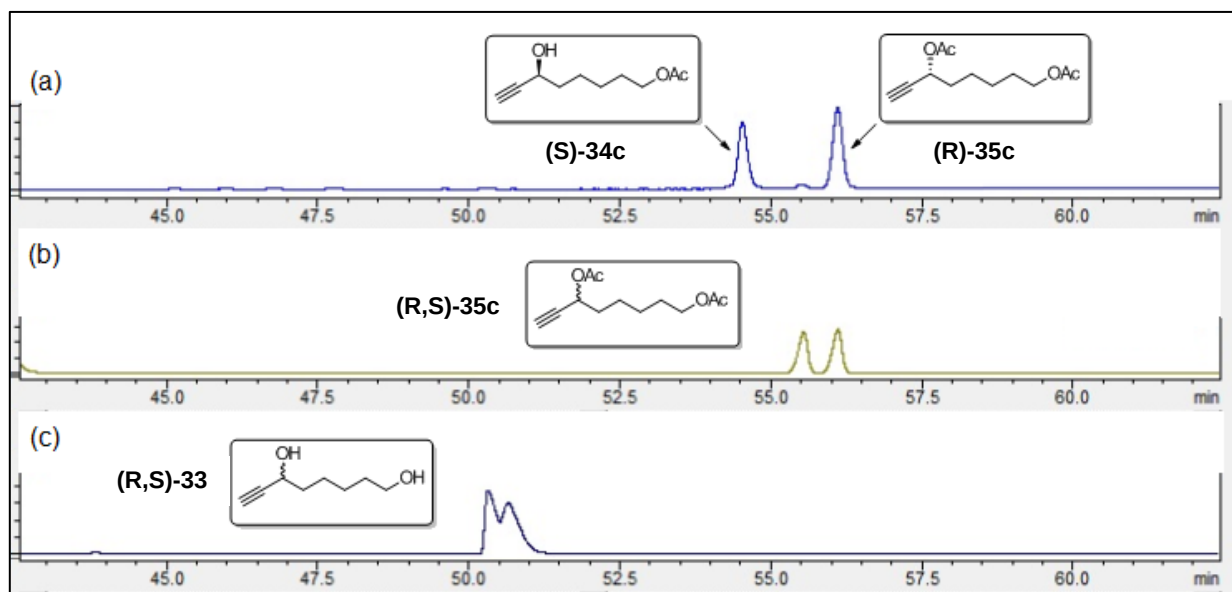
Já para os dióis **32** e **33**, as RCEs se processaram rapidamente, apresentando um tempo aparentemente ótimo de 1 hora para ambos os dióis (Figuras 40 e 41). Esse aumento nas velocidades dessas RCEs comparando-se com a velocidade da RCE do diol **31**, deve estar relacionado ao aumento da cadeia alquílica nos dióis **32** e **33** em relação aos seus grupos médios, favorecendo assim as RCEs de acordo com a regra de Kazlauskas.

Os excessos enantioméricos obtidos para as RCEs de **32** e **33** foram bons, sendo maiores que 95% em ambos os casos para os respectivos diacetatos *(R)*-**35b** e *(R)*-**35c**. Como já citado anteriormente (Ver seção 3.2), esses valores de e.e.(%) podem ser otimizados através do uso de um solvente polar (como por exemplo, THF), o que tornará a lipase mais seletiva.<sup>96</sup> Então, as RCEs dos dióis **32** e **33** foram repetidas utilizando uma mistura dos solvente n-hexano/THF numa proporção de 1:1 (v/v), na tentativa de melhorar os resultados para os excessos enantioméricos (e.e.) dos produtos dessas resoluções. Após análises, observou-se para essas condições que os tempos das RCEs foram aumentados, e que os e.e. dos produtos ainda precisam ser otimizados.<sup>118</sup>

<sup>118</sup> Este trabalho deverá ser conduzido por um aluno de iniciação científica do nosso grupo de pesquisa.



**Figura 40:** (a) cromatograma da RCE em escala analítica do diol (R,S)-32 no tempo de 1 horas. (b) cromatograma do diacetato (R,S)-35b. (c) cromatograma do diol (R,S)-32.



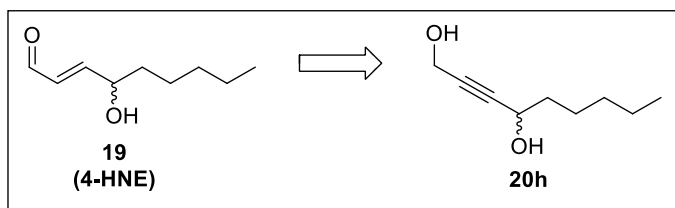
**Figura 41:** (a) cromatograma da RCE em escala analítica do diol (R,S)-33 no tempo de 1 horas. (b) cromatograma do diacetato (R,S)-35c. (c) cromatograma do diol (R,S)-33.

### 3.6 SÍNTESE DO COMPOSTO 4-HIDRÓXI-2-NONENAL (4-HNE, **19**) A PARTIR DO DIOL PROPARGÍLICO (R,S)-**20h**

Como relatado na introdução deste trabalho (ver seção 1.4), o composto 4-HNE (**19**) é um dos principais produtos formados durante a peroxidação de lipídeos resultante do estresse oxidativo, e é uma substância muito tóxica para a maioria dos organismos vivos (inclusive para insetos), levando a sérios níveis de apoptose. Algumas evidências direcionam a ideia de que a resistência a inseticidas apresentada por insetos da espécie *Aedes Aegypti* pode estar relacionada à facilidade de excreção do xenobiótico 4-HNE por parte desses insetos. Essa resistência pronunciada pode ser promovida por classes específicas de enzimas Glutathione-S-transferases (GST), que são hábeis em metabolizar substratos  $\alpha,\beta$ -insaturados. Com isso, existe a importância de verificar se essa resistência está mesmo relacionada como a excreção do 4-HNE desempenhada pelas GSTs, e também caracterizar qual classe das GST está envolvida nesse processo metabólico.

Visto que o 4-HNE possui um preço de venda elevado, quase não está disponível comercialmente, e poucas rotas estão descritas na literatura para sua síntese (ver seção 1.4.1), resolvemos então, desenvolver uma nova rota sintética para o 4-HNE que pudesse ser mais eficaz, usando reagentes simples, baratos e de baixas toxicidades, tendo como reagente de partida o diol propargílico **20h** preparado em etapas anteriores desse projeto.

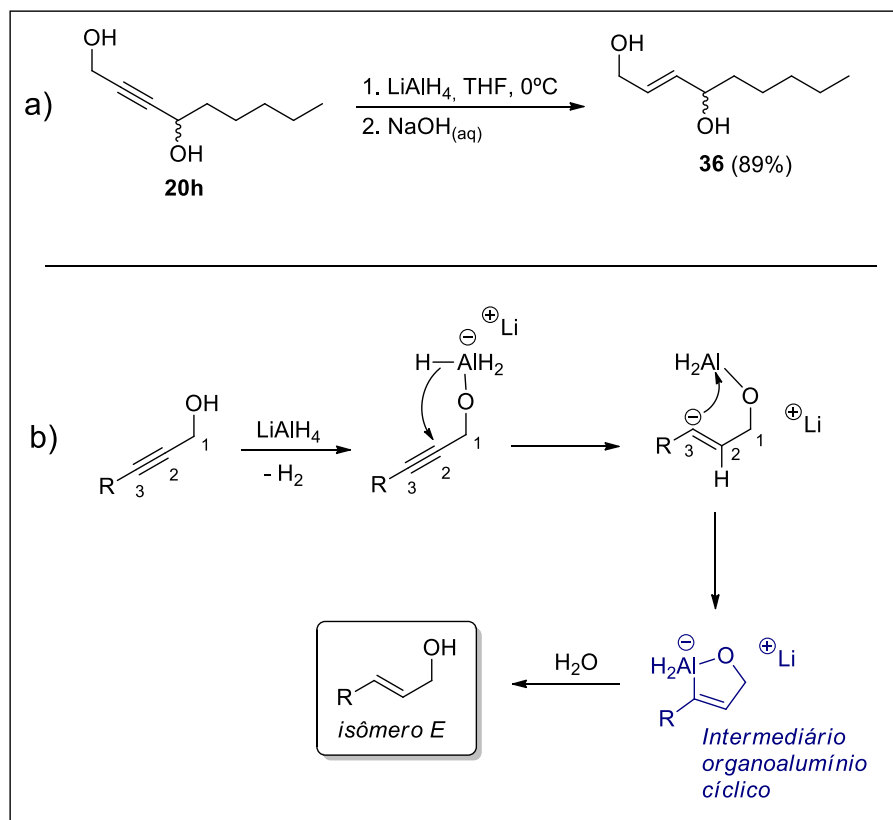
A ideia central para obtenção do 4-HNE a partir de **20h** seria através de uma oxidação regioseletiva da hidroxila primária a respectiva função aldeído (Esquema 41). A oxidação de álcoois para se obter aldeídos, cetonas ou compostos carboxílicos é uma das transformações de grupos funcionais mais relevantes e atrativas em química orgânica, devido à utilidade destes derivados como precursores sintéticos. E uma grande variedade de reagentes estequiométricos é utilizada para promover estas reações de oxidação, tais como peróxidos, organo-iodo hipervalente, óxidos de crômio ou reagentes à base de enxofre.<sup>119</sup>



**Esquema 41:** Análise retróssintética para preparação do 4-HNE **19**.

<sup>119</sup> *Modern Oxidation Methods*, 2nd edn., (Ed.: J.-E. Bäckvall), Wiley-VCH, Weinheim, 2011.

Inicialmente, partimos para obtenção do diol alílico **36** a partir da redução da ligação tripla em **20h** com alumínio hidreto de lítio ( $\text{LiAlH}_4$ ) seguindo procedimento já descrito na literatura (Esquema 42a).<sup>120</sup> É importante ressaltar que a redução de ligação tripla a ligação dupla promovida por  $\text{LiAlH}_4$  só é possível quando há a presença de uma função hidroxila na posição  $\alpha$  ao grupo alquino (ou seja, uma parcela álcool propargílico), e esse tipo de redução em THF leva exclusivamente a formação da dupla de configuração *E* (*trans*).<sup>120</sup> A etapa chave no mecanismo da reação que explica essa estereosseletividade é a formação de um intermediário organoalumínio cíclico (Esquema 42b). Na etapa inicial da reação é formada uma espécie alcóxi-alumínio que sofre uma transferência de hidreto intramolecular para o carbono C2, gerando consequentemente o carbânion em C3. Em seguida, esse carbânion realiza um ataque nucleofílico sobre o alumínio levando a formação da espécie organoalumínio cíclico possuindo a dupla em uma configuração pseudo *E*. A hidrólise posterior do organoalumínio com retenção de configuração fornece o respectivo álcool alílico na configuração *E*.



**Esquema 42:** (a) Síntese do diol alílico **36**. (b) Mecanismo geral para a redução de tripla ligação em álcoois propargílicos por  $\text{LiAlH}_4$ .

<sup>120</sup> (a) Grant, B.; Djerassi, C.; *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 968. (b) Corey, E. J.; Kalzeneilenbogen, J. A.; Posner, G. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 4245.

Após purificação do composto **36**, a estrutura química do mesmo foi confirmada através de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ . Foi possível observar no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  o conjunto de sinais característicos dos hidrogênios olefínicos de configuração *trans* ( $J^3_{\text{trans}}$  é da ordem de 12-18 Hz), sendo um dubleto de tripleto em 5,8 ppm com constante de acoplamento  $J^3_{\text{a-b (trans)}} = 16$  Hz, e um duplo dubleto em 5,7 ppm com constante  $J^3_{\text{b-a (trans)}} = 16$  Hz (Figura 42). Já no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  também observamos os sinais característicos dos carbonos olefínicos em 129,6 ppm e 134,4 ppm (Figura 43).

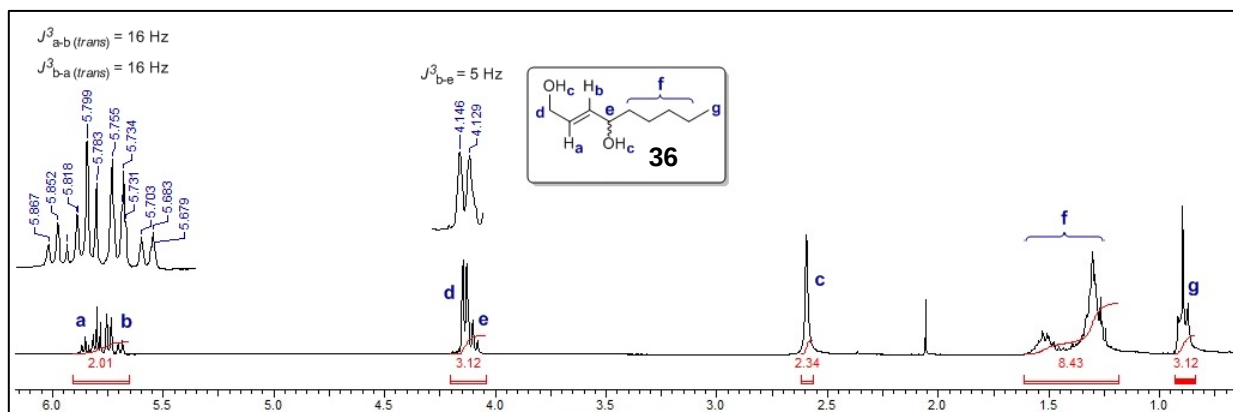


Figura 42: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do diol alílico **36**.

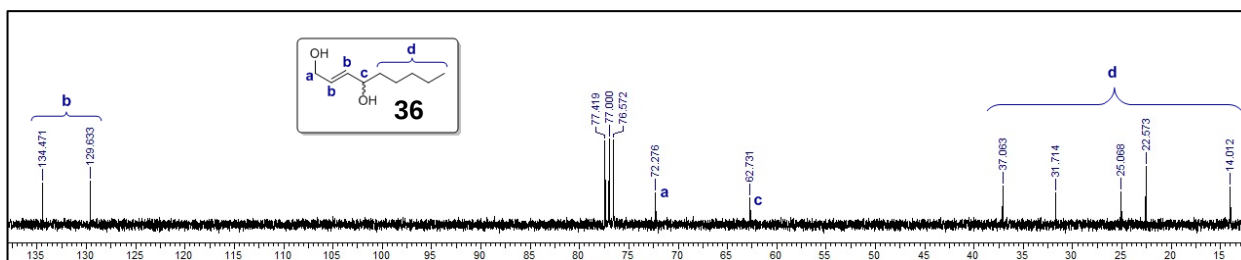


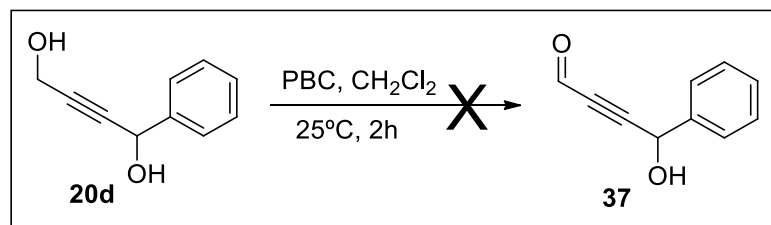
Figura 43: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do diol alílico **36**.

Após a síntese e caracterização do composto **36**, partimos então para a etapa de oxidação regioseletiva da hidroxila primária de **36**, onde diferentes agentes oxidantes foram testados.

### 3.6.1 Oxidação regiosseletiva do diol alílico **36** usando agentes oxidantes de cromo(VI)

É conhecido na literatura que agentes oxidantes de cromo(VI) contendo íons amônio quaternário oxidam álcoois primários aos respectivos aldeídos.<sup>121</sup>

Rao e colaboradores publicaram um trabalho onde fizeram um estudo da oxidação de dióis com bromocromato de piridínio (PBC).<sup>122</sup> Nesse trabalho eles obtiveram boas seletividades frente à oxidação da hidroxila primária, obtendo os respectivos hidróxi-aldeídos em bons rendimentos. Então, aplicamos essa metodologia frente à oxidação do diol propargílico **20d** (Esquema 43), pois tínhamos esse composto disponível em nosso laboratório em grande quantidade, e não ainda tínhamos o diol **36** em boa quantidade. Também, nesse experimento teste da oxidação de **20d** com PBC, poderíamos verificar se o PBC seria seletivo em oxidar apenas a hidroxila propargílica primária, mesmo com a presença da hidroxila propargilbenzílica secundária no sistema.



**Esquema 43:** Oxidação do diol **20d** ao hidróxi-aldeído **37**.

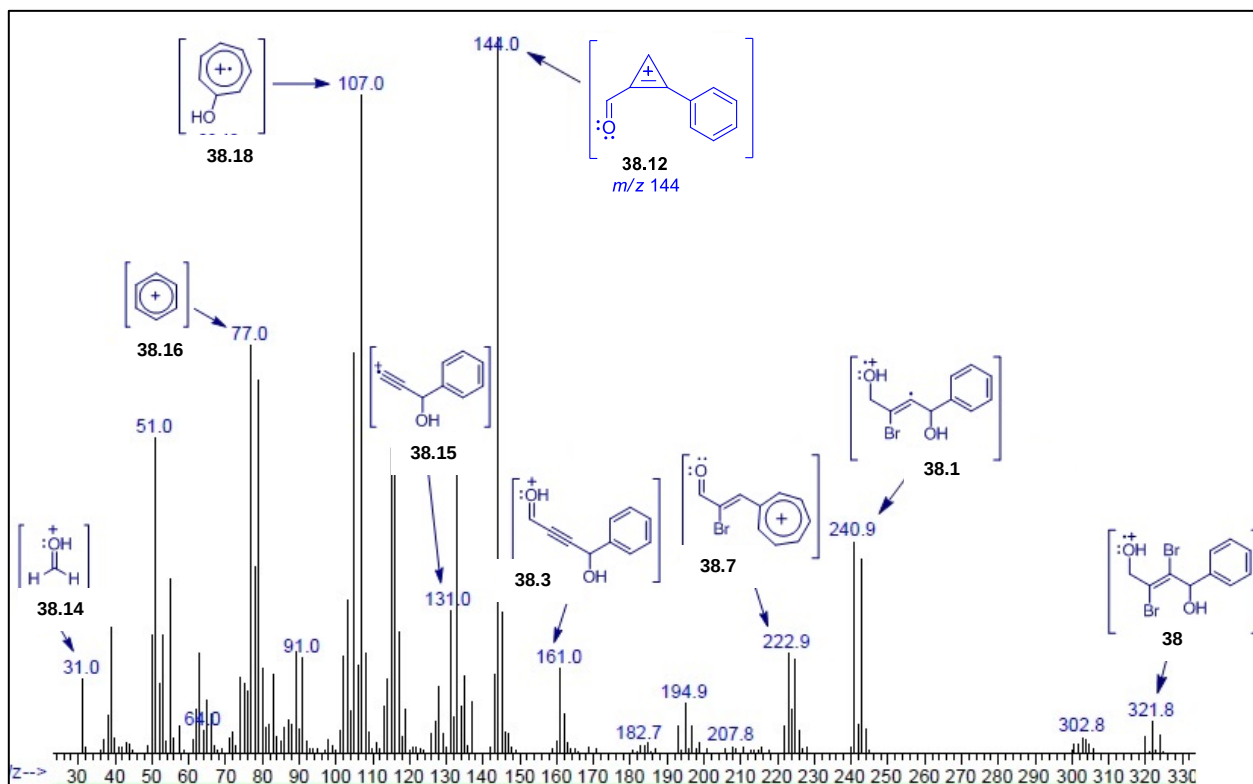
O progresso dessa reação foi acompanhado por CCD, onde foi possível constatar o total consumo do reagente de partida **20d** e a formação de um produto mais apolar. Esse produto formado foi purificado em coluna de gel de sílica fornecendo um sólido marron/alaranjado.

<sup>121</sup> (a) Patel, S.; Mishra, B. K.; *Tetrahedron*, **2007**, 63, 4367. (b) Tojo, G.; Fernandez, M.; *Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones*. Springer. **2006**.

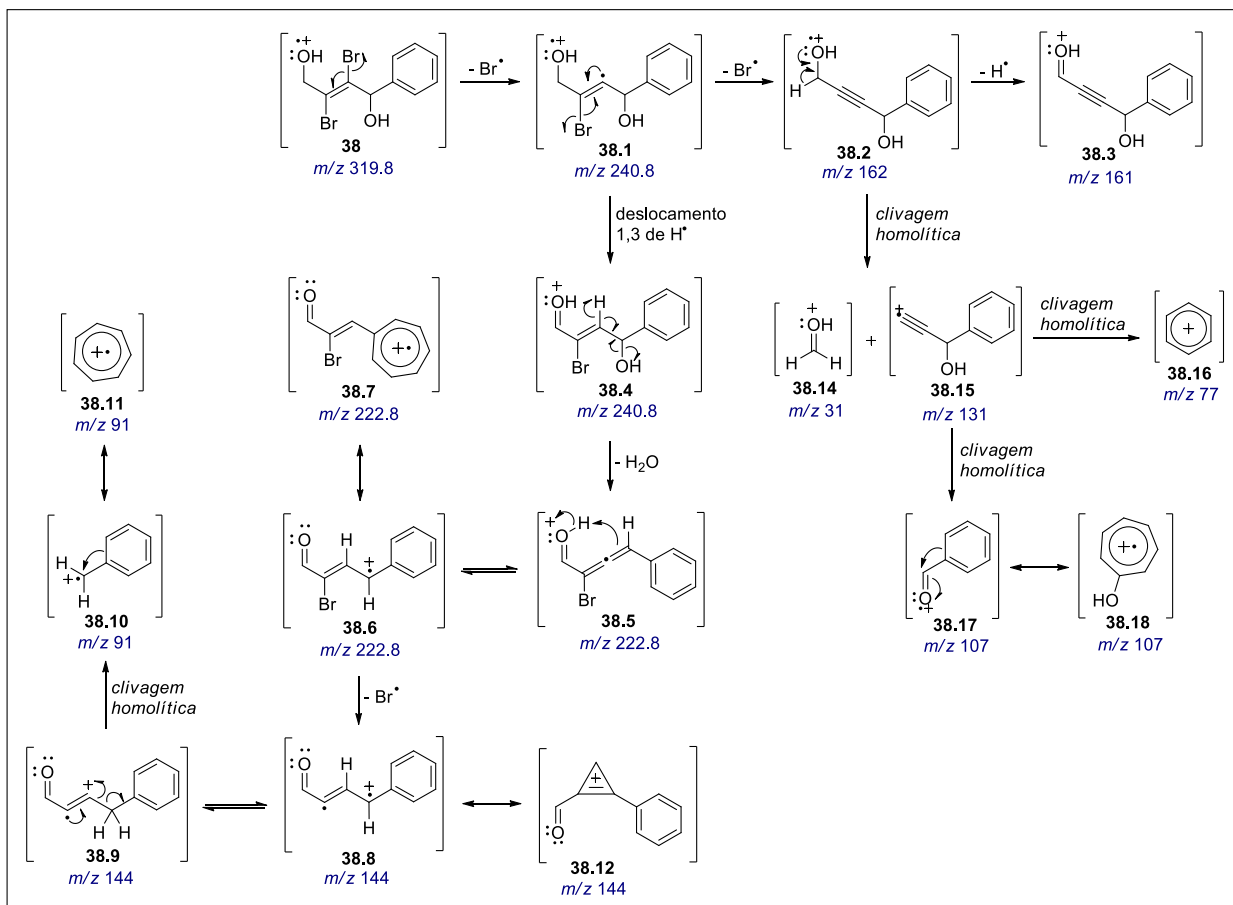
<sup>122</sup> Rao, P. S. C.; Suri, D.; Kothari, S.; Banerji, K. K.; *Int. J. Chem. Kinet.*, **1998**, 30, 285.

Análises de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  indicaram que o produto formado não foi o hidroxialdeído **37** (Esquema 43), pois não observamos nos espectros os sinais característicos do hidrogênio e do carbono da função aldeído. Também, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostrou o desaparecimento dos sinais relativo aos carbonos acetilênicos, indicando que houve algum tipo de reação sobre a ligação tripla. Para solucionar esse impasse, visto que apenas a partir dos espectros de RMN não foi possível elucidar a estrutura do composto formado, realizamos uma análise de espectrometria de massas da amostra. O espectro de massas mostrou 3 picos M ( $m/z$  319,8), M+2 ( $m/z$  321,8) e M+4 ( $m/z$  323,8), com proporção 1:2:1, que é o padrão isotópico característico de compostos dibromados. Pela análise dos principais picos relativos ao padrão de fragmentação da amostra (Figura 44), chegamos à conclusão que o composto formado na reação apresentada no esquema 43 foi o diol 2,3-dibromo alílico **38**.

No esquema 44 podemos ver as principais fragmentações do composto **38**. É possível observar um pico em  $m/z$  240,9 que representa a espécie **38.1** resultante da perda de um átomo de bromo. Essa espécie **38.1** por sua vez pode perder uma molécula de HBr e levar a formação da espécie **38.3** de pico  $m/z$  161. A espécie **38.1**, através de um deslocamento 1,3 de hidreto radical, pode levar também à formação do intermediário **38.4**, que por sua vez sofre uma desidratação pela perda de uma molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  e leva a formação da espécie **38.7** de pico base  $m/z$  222,8. A partir de **38.7**, através da perda de um bromo radical, é formada a espécie **38.13** que representa o pico base com  $m/z$  144.

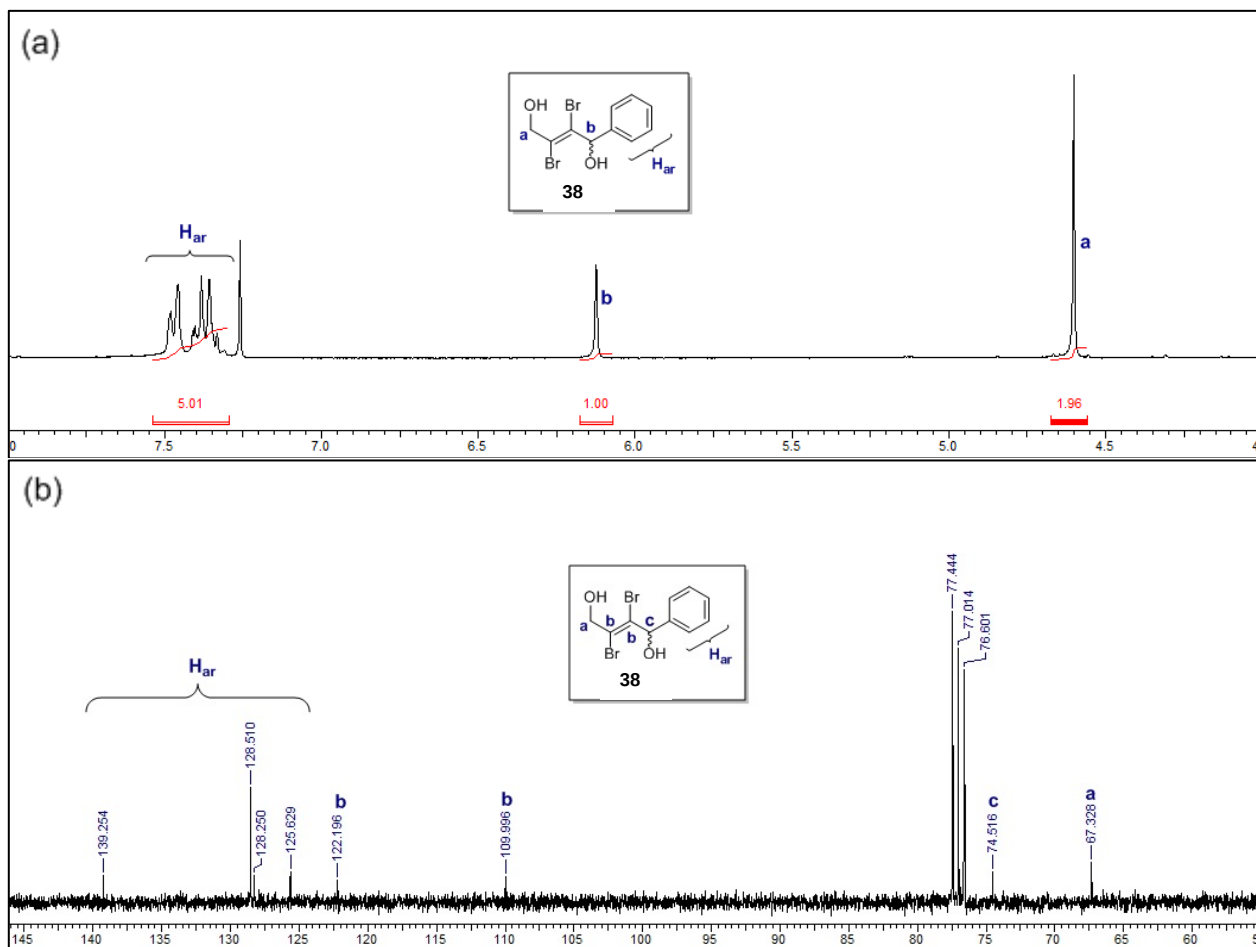


**Figura 44:** Espectro de massas do diol 2,3-dibromo alílico **30**.



**Esquema 44:** Principais fragmentações do íon pai **38** observado no espectro de massas.

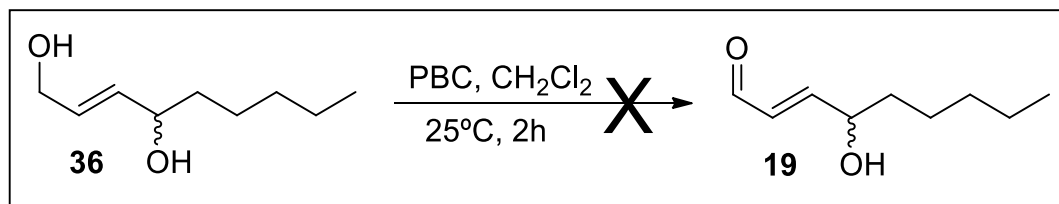
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 45a) foi possível observar dois singletos em 4.6 ppm e 6.1 ppm característicos dos hidrogênios carbinólicos que não possuem acoplamentos; e no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 45b) foi possível observar os sinais em 109 ppm e 122 ppm característicos de carbonos ligados a átomos de bromo.



**Figura 45:** Espectros de (a) RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do diol 2,3-dibromo alílico **38**.

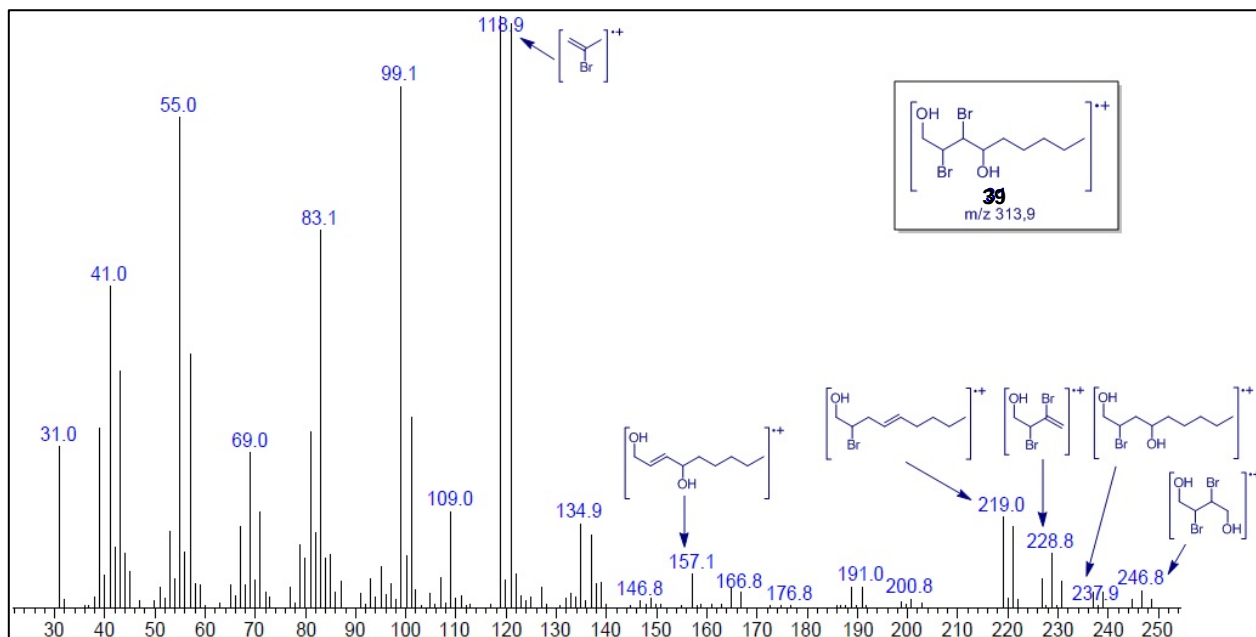
Associando as informações obtidas nos espectros de massas, RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , a estrutura do composto **38** pôde ser determinada.

A partir desses resultados, resolvemos verificar se a reação do diol alílico **36** com o PBC resultaria na formação do 4-HNE **19** (produto resultante da oxidação regioseletiva da hidroxila primária), ou se o produto gerado seria o 2,3-dibromo-1,4-diol resultante da bromação da dupla ligação. Então, diol **36** foi submetido à reação com o PBC usando as mesmas condições da reação anterior (Esquema 45).



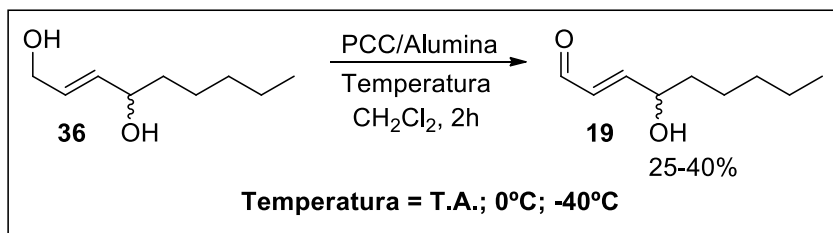
**Esquema 45:** Reação do diol alílico **36** com PBC.

Análise do progresso da reação via CCD mostrou o consumo do reagente de partida **36** e a consequente formação de outro produto, o qual foi submetido a análise de espectrometria de massas. A partir do espectro de massas desse produto formado (Figura 46), observamos que a reação do diol **36** com PBC não levou ao produto **19** desejado, e sim ao respectivo 2,3-dibromononano-1,4-diol **39**.



**Figura 46:** Espectro de massas de 2,3-dibromononano-1,4-diol **39**.

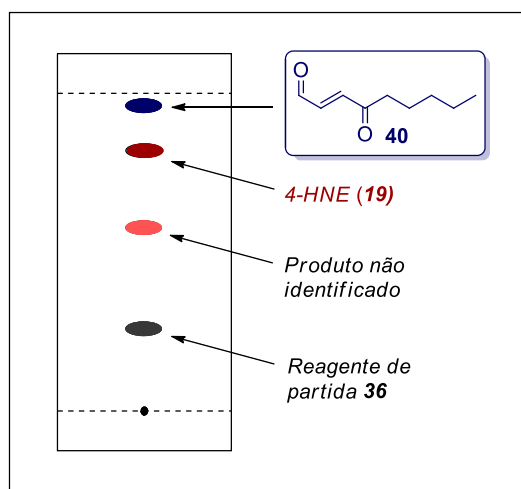
Devido ao nosso insucesso na tentativa de se obter o 4-HNE **19** utilizando PBC, resolvemos então utilizar o reagente análogo de cloro, o clorocromato de piridínio (PCC), na intenção de evitar a reação na tripla ligação e induzir a oxidação regiosseletiva da hidroxila primária. Com isso, submetemos o diol alílico **36** à reação com PCC suportado em alumina, em diclorometano como solvente, e a três temperaturas diferentes: a temperatura ambiente, 0 °C e – 40 °C (Esquema 46). A ideia de realizar essa reação a temperaturas diferentes foi avaliar se haveria alguma mudança na reatividade e na seletividade da reação. O acompanhamento das reações foi feito via análise visual em CCD. Na reação realizada a temperatura ambiente todo o reagente de partida foi consumido, mas três produtos principais foram formados. Na reação realizada a 0 °C houve uma pequena redução na reatividade, pois o reagente de partida não foi totalmente consumido, mas a seletividade permaneceu inalterada, onde os mesmos três produtos observados antes foram formados. Já na reação a – 40 °C, quase não houve consumo de reagente e formação de produto, mostrando que a reatividade do PCC é sensível à temperatura.



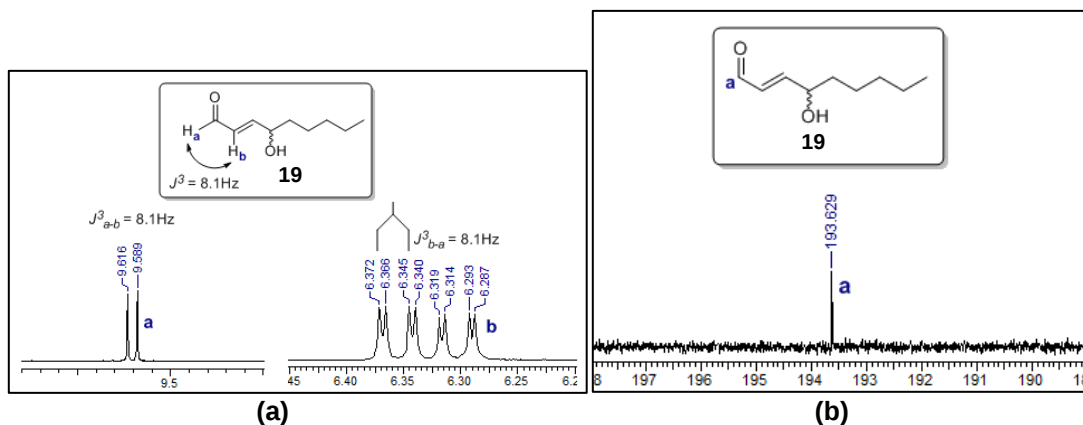
**Esquema 46:** Reação do diol alílico **36** com PCC.

Os três produtos formados nas reações anteriores observados via CCD (Figura 47) foram isolados, e foi possível caracterizar apenas dois deles através de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ . O produto formado em maior quantidade foi confirmado ser o 4-HNE **19**, mas este foi obtido em baixo rendimento. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **19** (Figura 48a) foi possível observar o sinal relativo ao hidrogênio do grupo aldeído que acopla com o hidrogênio olefínico  $\alpha$  a carbonila e fornece um duplete com constante  $J^3 = 8,1\text{Hz}$  em 9,6 ppm. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **19** (Figura 48b) observamos o sinal característico do carbono da função aldeído em 193 ppm.

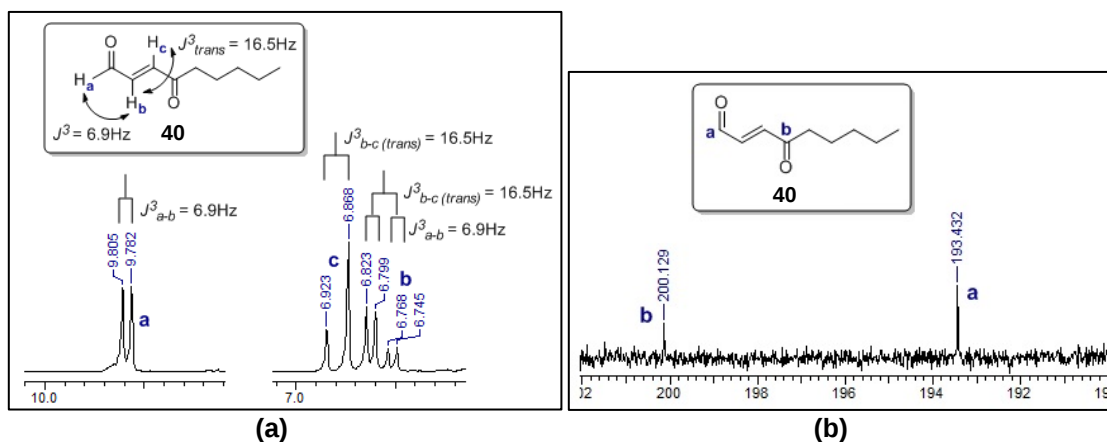
O outro composto formado em quantidade intermediária foi confirmado ser o produto dioxidado, ou seja, o ceto-aldeído **40**. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **40** (Figura 49a) mostrou os sinais característicos dos hidrogênios olefínicos (duplete em 6,9 ppm e duplo duplete em 6,7 ppm) e do grupo aldeído que acopla com o hidrogênio olefínico  $\alpha$  a carbonila e fornece um duplete com constante  $J^3 = 8,1\text{Hz}$  em 9,6 ppm. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **40** (Figura 49b) observamos os sinais característicos dos carbonos da função aldeído em 193 ppm e do grupo cetona em 200 ppm.



**Figura 47:** Ilustração da placa CCD para a reação de **36** com PCC. A placa foi eluída em *n*-hexano:AcOEt (1:1) e revelada em vanilina sulfúrica.

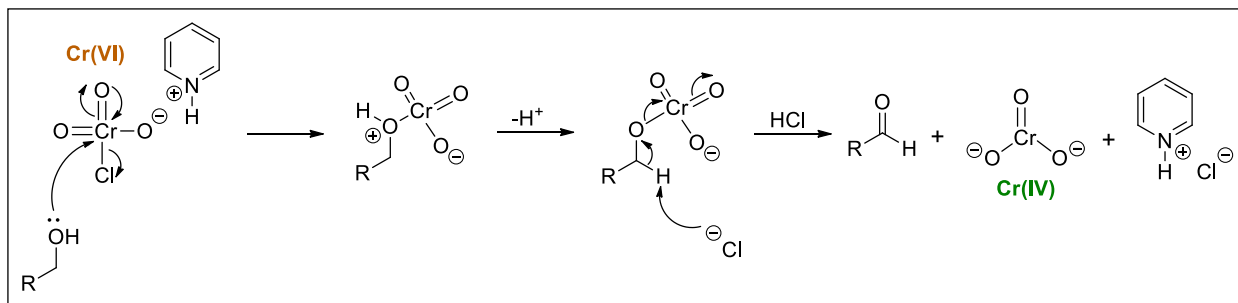


**Figura 48:** Espectros parciais (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (a) RMN de  $^1\text{H}$  e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$  do 4-HNE 19.



**Figura 49:** Espectros parciais (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (a) RMN de  $^1\text{H}$  e (b) RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 40.

O mecanismo de oxidação de álcool com PCC pode ser entendido como mostrado no esquema 47. Inicialmente ocorre um ataque nucleofílico por parte da hidroxila ao átomo de cromo(VI), levando a formação de um éster de cromo. Numa etapa posterior o hidrogênio carbinólico é abstraído pelo ânion cloreto levando a formação do aldeído e da espécie de cromo(IV).<sup>121b</sup>

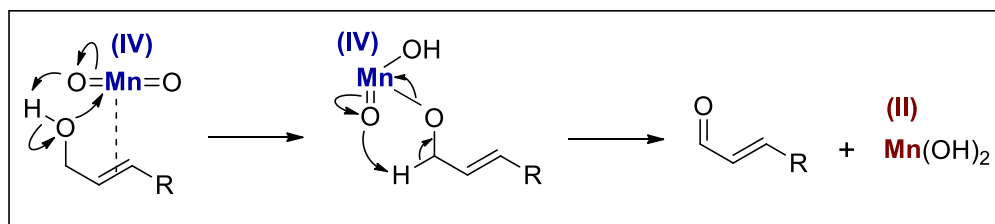


**Esquema 47:** Mecanismo geral para oxidação de álcool primário a aldeído promovido por PCC.

Devido a essas dificuldades iniciais encontradas para síntese do 4-HNE **19**, recorreremos à literatura para tentar encontrar uma solução para esse problema e obter **19** em um maior rendimento.

### 3.6.2 Oxidação regioseletiva do diol alílico **36** usando agentes oxidantes de manganês(IV)

Já é bem conhecido na literatura que dióxido de manganês ( $\text{MnO}_2$ ) é um bom agente oxidante para oxidação de álcoois alílicos e benzílicos a aldeídos e cetonas.<sup>121b</sup> A presença de uma insaturação adjacente a função álcool é imprescindível para que o Mn(IV) desempenhe sua função oxidativa, como podemos visualizar no mecanismo geral mostrado no esquema 48.



**Esquema 48:** Mecanismo geral para oxidação de álcoois a aldeídos promovido por  $\text{MnO}_2$ .

Diversos trabalhos relatam a oxidação dos mais diferentes tipos de álcoois  $\alpha,\beta$ -insaturados com  $\text{MnO}_2$ ,<sup>121b,123</sup> mas em nossas pesquisas não encontramos nenhum trabalho que tratasse da oxidação regioseletiva de dióis alílicos. Então, a partir dessa revisão que fizemos na literatura resolvemos testar o  $\text{MnO}_2$  como agente oxidante para promover a oxidação regioseletiva da hidroxila primária do diol alílico **36**. Optamos por usar o  $\text{MnO}_2$  pelo

<sup>123</sup> (a) Lou, J.D.; Ge, J.; Zou, X.N.; Zhang, C.; Wang, Q.; Ma, Y.C.; *Oxid. Comm.*, **2011**, 34, 361. (b) Lou, J.D.; Xu, Z.N.; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 6149. (c) Blackburn, L.; Wei, X.; Taylor, R. J. K.; *Chem. Commun.*, **1999**, 1337. (d) Hirano, M.; Yakabe, S.; Chikamori, H.; Clark, J. H.; Morimoto, T.; *J. Chem. Research (S)*, **1998**, 770. (e) Gritter, R. J.; WALLACE, T. J.; *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1051.

fato deste ser um reagente comercial bastante barato, podendo ser preparado a baixo custo, possuir uma baixa toxicidade comparado aos agentes oxidantes de cromo (PCC e PBC), e também as reações com  $\text{MnO}_2$  apresentam uma vantagem na hora de se realizar a extração do bruto reacional, onde é necessário geralmente realizar apenas uma filtração simples.

Nos experimentos iniciais, empregamos o  $\text{MnO}_2$  adquirido comercialmente. Várias tentativas foram feitas frente à oxidação de **36**, mas o  $\text{MnO}_2$  comercial se mostrou inativo não oxidando quantidade alguma do reagente de partida **36**. Então, realizamos a ativação deste  $\text{MnO}_2$  comercial usando diferentes metodologias descritas na literatura.<sup>121b,124</sup> Novos experimentos foram realizados, agora utilizando-se o  $\text{MnO}_2$  comercial previamente ativado, mas não conseguimos observar indícios da oxidação do diol **36**.

Em contrapartida, resolvemos preparar o  $\text{MnO}_2$  em nosso laboratório a partir da reação de  $\text{KMnO}_4$  com  $\text{MnSO}_4$ . Três tipos de  $\text{MnO}_2$  foram preparados:  $\text{MnO}_2$  sob condição neutra;  $\text{MnO}_2$  sob condição básica;  $\text{MnO}_2$  sob condição ácida.<sup>125</sup> Ambos os tipos de  $\text{MnO}_2$  preparados foram também suportados em alumina neutra, pois já é conhecido que suportes sólidos de elevada área superficial podem promover um controle de reatividade e seletividade do catalisador.<sup>126</sup> Com isso, tínhamos preparados seis tipos de  $\text{MnO}_2$ :  $\text{MnO}_2$ (neutro);  $\text{MnO}_2$ (neutro/alumina);  $\text{MnO}_2$ (básico);  $\text{MnO}_2$ (básico/alumina);  $\text{MnO}_2$ (ácido);  $\text{MnO}_2$ (ácido/alumina). Todos esses tipos de  $\text{MnO}_2$  foram previamente ativados em estufa a 120 °C antes do uso.

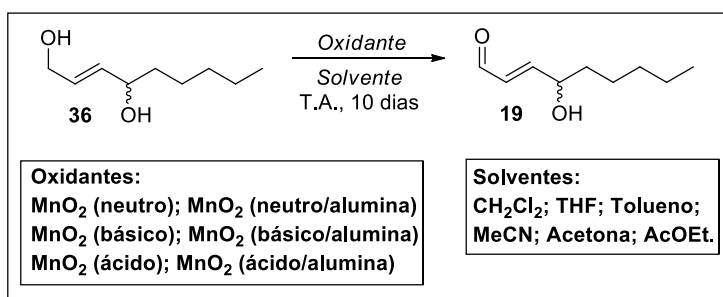
Inicialmente realizamos uma triagem usando os seis tipos de  $\text{MnO}_2$  preparados, onde ambos foram utilizados frente a oxidação do diol alílico **36** em diferentes solventes (diclorometano, THF, acetonitrila, tolueno, acetona e acetato de etila) a temperatura ambiente e o grau de reatividade e seletividade desses diferentes sistemas foram preliminarmente avaliados através de CCD. Nessas reações iniciais, utilizamos 0,25 mmol do diol alílico **36** e 3 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$ , e as reações foram acompanhadas durante um período de 10 dias (Esquema 49). Posteriormente, verificou-se que nessas condições as reações tenderam a atingir um estado de equilíbrio quando os tempos reacionais são longos, onde mesmo após os 10 dias de reação, o reagente de partida **36** não havia sido completamente consumido. Mas, para alguns dos sistemas empregados, foi possível observar uma maior seletividade na formação do 4-HNE **19**, comparando-se com o método empregando o agente oxidante PCC.

<sup>124</sup> (a) Kimura, T.; Fujita, M.; Ando, T.; *Chem. Lett.*, **1988**, 1387. (b) Cohen, N.; Banner, B. L.; Blount, J. F.; Tsai, M.; Saucy, G.; *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 3229.

<sup>125</sup> (a) Stavrescu, R.; Kimura, T.; Fujita, M.; Vinatoru, M.; Ando, T.; *Synth. Commun.*, **1999**, 29, 1719. (b) Fu, X.; Feng, J.; Wang, H.; Ng, K. M.; *Catal. Commun.*, **2009**, 10, 1844.

<sup>126</sup> Clark, J. H.; *Catalysis of Organic Reactions by Supported Inorganic Reagents*, VCH, New York, **1994**.

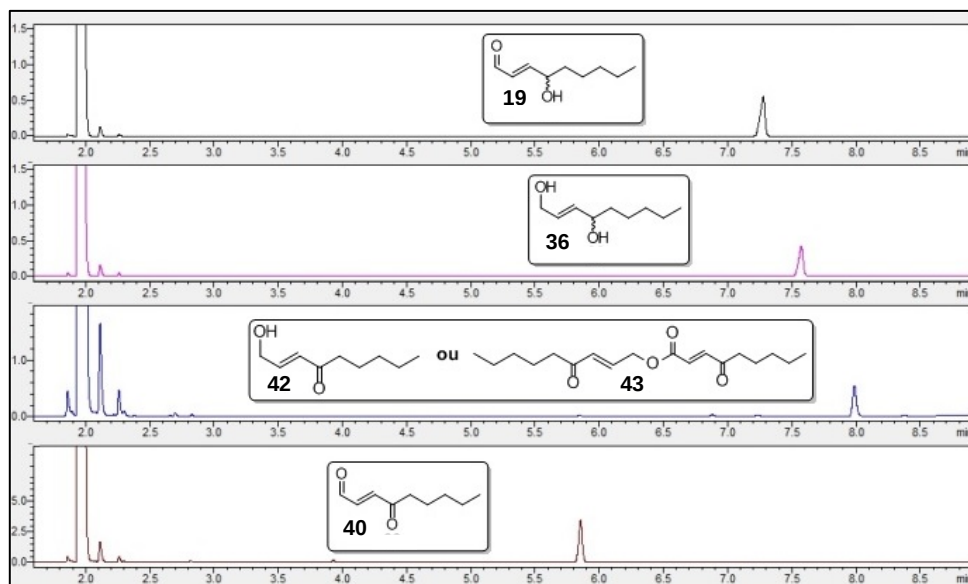
Nessa primeira triagem observamos que os melhores resultados foram obtidos nos seguintes sistemas: 1)  $\text{MnO}_2$ (básico) em acetona; 2)  $\text{MnO}_2$ (ácido/alumina) em acetona; 3)  $\text{MnO}_2$ (ácido) em AcOEt; 4)  $\text{MnO}_2$ (neutro/alumina) em AcOEt. Essas escolhas foram baseadas no grau de seletividade da oxidação, observando-se a formação do 4-HNE **19** e também a quantidade de subprodutos gerados.



**Esquema 49:** Reações do diol alílico **36** com vários os 6 tipos de  $\text{MnO}_2$  em diferentes solventes.

A partir desses melhores resultados obtidos na primeira triagem, realizamos uma segunda triagem utilizando quantidades maiores de  $\text{MnO}_2$  nas reações (10 e 20 mols equivalentes) sob as mesmas condições. Alíquotas foram retiradas das reações após intervalos de tempos de 2h, 24h, 48h, 72h, e 5 dias. As alíquotas foram submetidas a análises via cromatográfica gasosa, tendo-se como referências os cromatogramas padrões (Figura 50) do diol alílico **36**, do 4-HNE **19**, do cetoaldeído **40**, e do outro produto não identificado isolado, que achamos ser a hidroxí-cetona **42** ou o éster **43** que pode estar sendo gerado via uma reação de esterificação oxidativa<sup>127</sup> intermolecular.

<sup>127</sup> Ekoue-Kovi, K.; Wolf, C.; *Chem. Eur. J.*, **2008**, 14, 6302.



**Figura 50:** Cromatogramas padrões de **19**, **36**, **40**, e **42** ou **43**.

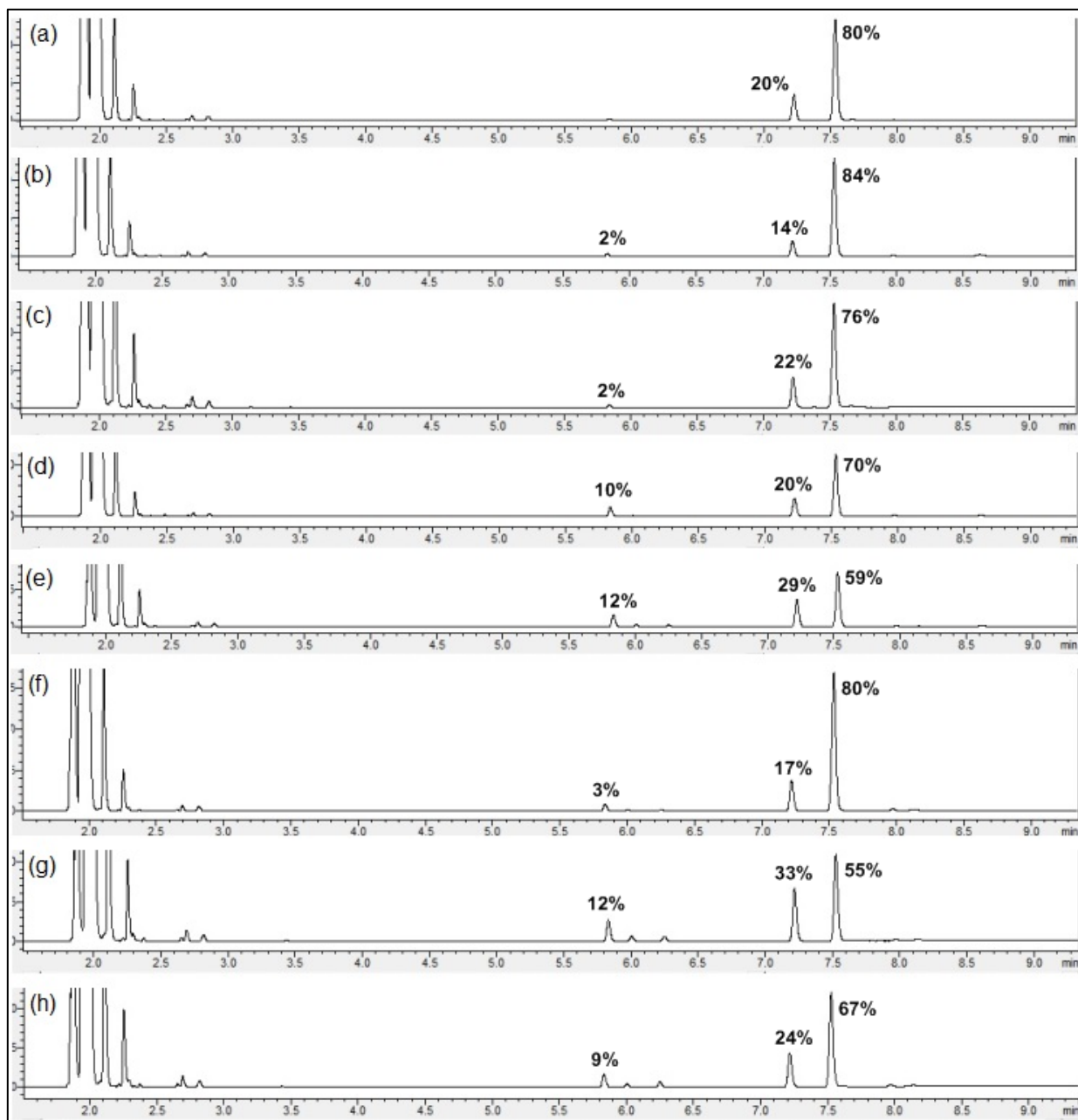
Na figura 51 estão mostrados os cromatogramas para as alíquotas retiradas das reações após um período de 5 dias. Os valores percentuais relativos para as áreas sobre os picos estão em evidências em cada cromatograma. A partir dos cromatogramas, observamos que as reações realizadas com o uso de 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  apresentaram as melhores seletividades, sendo que a reação realizada com  $\text{MnO}_2$  (básico) em acetona apresentou a maior seletividade, rendendo o 4-HNE **19** em 20% e sem formação de qualquer subproduto (Figura 51a). Já a partir de uma observação do balanço entre reatividade e seletividade, observamos que a reação realizada com 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) em AcOEt apresentou o melhor resultado dessa segunda triagem, pois mostrou um maior consumo do reagente de partida **36**, e também uma maior formação do 4-HNE **19** (33%), mesmo formando uma maior quantidade (12%) do subproduto **40** (Figura 51g). Observamos também nessa segunda triagem, que quanto maior o tempo reacional, maior foi a quantidade de subproduto **40** formado, e também que apenas traços do produto desconhecido (possivelmente **42** ou **43**) foi formado com o uso de  $\text{MnO}_2$  como agente oxidante.

Então, resolvemos repetir o experimento realizado em acetato de etila como solvente utilizando 30 e 40 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido), com o intuito de tentar promover a oxidação regioseletiva de **36** num curto intervalo de tempo. As reações foram acompanhadas durante 5 dias e os cromatogramas das alíquotas estão mostrados na figura 52. As regioseletividades observadas foram razoáveis, sendo que o maior consumo do reagente **36**, e

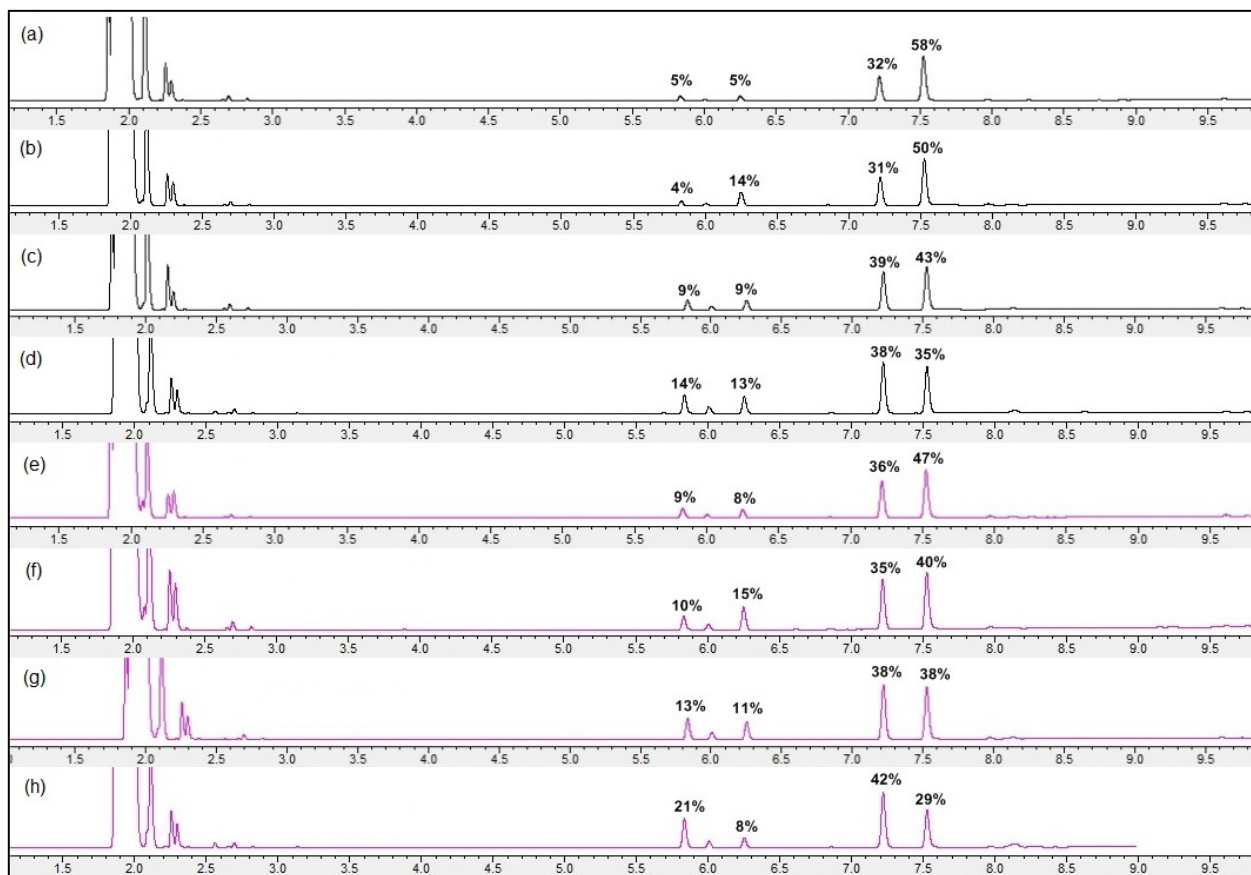
como consequência a maior formação de 4-HNE **19** (42%), ocorreu quando utilizamos 40 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) durante 5 dias (Figura 52h).

Numa tentativa de avaliar a reatividade e a seletividade dos melhores sistemas reacionais testados para a oxidação do diol alílico **36** a uma temperatura superior a temperatura ambiente, realizamos uma terceira triagem onde 0,25 mmol do diol **36** foi oxidado usando 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$ (básico) em acetona, 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$ (ácido) em AcOEt e 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$ (ácido) em AcOEt. Essas reações foram deixadas sob agitação e aquecimento a 70 °C durante 4 dias. Foram retiradas alíquotas nos períodos de 1 hora, 3 horas, 4 horas, 24 horas e 4 dias, e as alíquotas foram analisadas por CG. Após as análises, observamos que os resultados não foram muito satisfatórios, onde foi possível de se obter o 4-HNE **19** em rendimentos apenas na faixa de 13-28%.

Esses diferentes resultados obtidos para os tipos distintos de  $\text{MnO}_2$  utilizados podem está associados as estruturas morfológicas, cristalinidades e áreas superficiais características de cada um dos tipos de  $\text{MnO}_2$ , levando a mudanças nas reatividades e seletividades desses catalisadores.<sup>125b</sup>



**Figura 51:** Cromatogramas das alíquotas retiradas após 5 dias das reações com: **(a)** 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (básico) em acetona; **(b)** 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido/alumina) em acetona; **(c)** 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) em  $\text{AcOEt}$ ; **(d)** 10 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (neutro/alumina) em  $\text{AcOEt}$ ; **(e)** 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (básico) em acetona; **(f)** 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido/alumina) em acetona; **(g)** 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) em  $\text{AcOEt}$ ; **(h)** 20 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (neutro/alumina) em  $\text{AcOEt}$ .



**Figura 52:** Cromatogramas das alíquotas retiradas das reações com 30 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) em AcOEt após (a) 24h, (b) 48h, (c) 72h e (d) 5 dias. Cromatogramas das alíquotas retiradas das reações com 40 mols equivalentes de  $\text{MnO}_2$  (ácido) em AcOEt após (e) 24h, (f) 48h, (g) 72h e (h) 5 dias.

### 3.6.3 Oxidação regiosseletiva do diol alílico **36** usando cloreto de cobre(I)

Oxidações catalíticas utilizando metais de transição são particularmente interessantes sobre condições aeróbicas, porque o oxigênio gera água como único subproduto.<sup>128</sup> Dentre todos os métodos que usam complexos metálicos para realizar oxidações aeróbicas, provavelmente, os catalisadores contendo cobre se mostram como os mais eficientes.<sup>129</sup> Recentemente, sistemas utilizando uma mistura catalítica de cobre/TEMPO (Cu<sup>I</sup>/TEMPO) foram empregados eficientemente na oxidação de álcoois primários, levando a formação dos hidroxi-aldeídos correspondentes.<sup>130</sup>

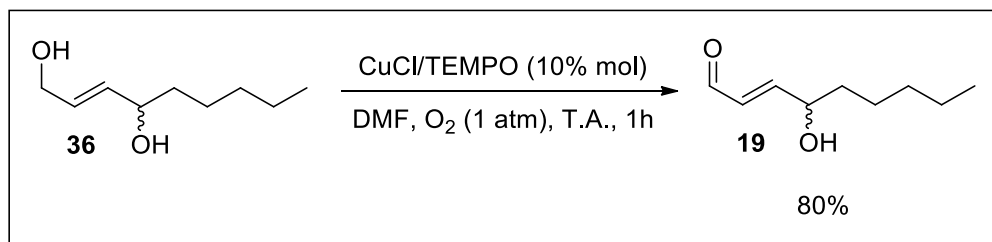
Com isso, baseados nesses resultados e informações disponíveis na literatura, resolvemos aplicar um sistema constituído pela mistura de cloreto de cobre(I) (CuCl) e *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO) com o intuito de realizar a oxidação regiosseletiva do diol alílico **36** e com isso levar a formação do 4-HNE **19** em um rendimento isolado mais elevado do que aqueles obtidos quando usamos PCC ou MnO<sub>2</sub> como agentes oxidantes.

Sendo assim, 1 mmol do diol alílico **36** foi submetido a uma reação de oxidação aeróbica na presença de quantidades catalíticas de CuCl e TEMPO (10% mol) em *N,N*-dimetilformamida (DMF) como solvente (Esquema 50).<sup>130a</sup> Foi necessário o borbulhamento de ar atmosférico (ar, 1 atm) na reação durante o período de 1 hora para levar ao total consumo do reagente de partida **36**. Após o final da reação, foi possível se isolar o 4-HNE **19** em um rendimento de 80%. Também, apenas quantidade traço do subproduto **40** foi observada durante a análise da reação, para o tempo reacional de 1 hora, o que mostrou a elevada seletividade desse sistema frente a oxidação regiosseletiva da hidroxila primária.

<sup>128</sup> a) Nishimura, T.; Onoue, T.; Ohe, K.; Uemura, S.; *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 6750. b) Dijkman, A.; Marino-Gonzalez, A.; Payeras, A. M.; Arends, I. W. C. E.; Sheldon, R. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 6826.; c) Gligorich, K. M.; Sigman, M. S.; *Chem. Commun.*, **2009**, 3854. d) Endo, Y.; Ckval, J.-E. B.; *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 12596. e) Cardona, F.; Parmeggiani, C.; *Green Chem.*, **2012**, 14, 547.

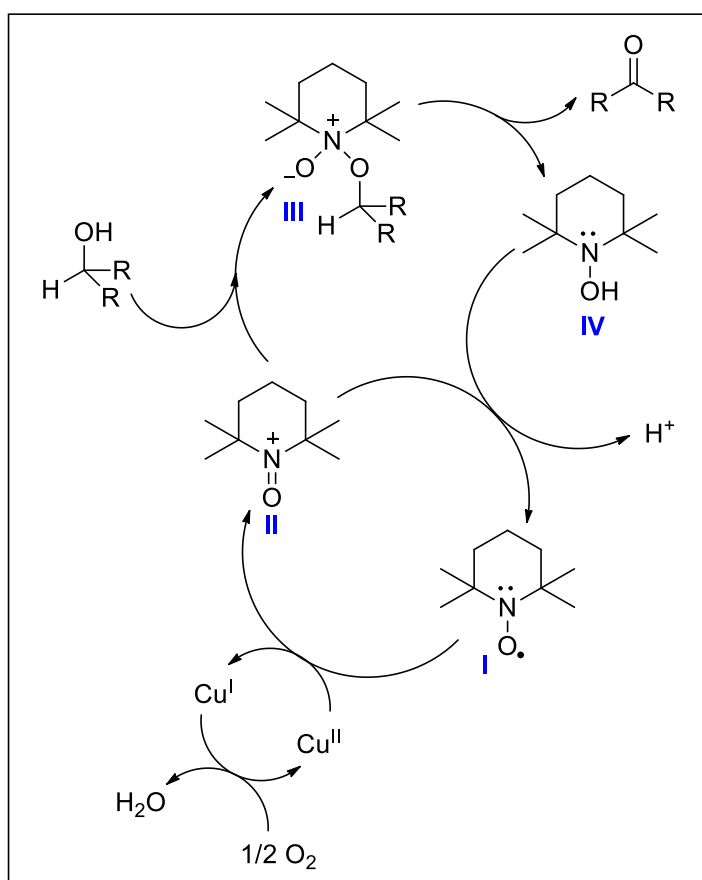
<sup>129</sup> a) Semmelhack, M. F.; Schmid, C. R.; Corts, D. A.; Chou, C. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 3374. b) Mark, I. E.; Giles, P. R.; Tsukazaki, M.; Brown, S. M.; Urch, C. J.; *Science*, **1996**, 274, 2044. c) Gamez, P.; Arends, I.W. C. E.; Sheldon, R. A.; Reedijk, J.; *Adv. Synth. Catal.*, **2004**, 346, 805. (d) Hoover, J. M.; Stahl, S. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 16901. (e) Allen, S. E.; Walvoord, R. R.; Padilla-Salinas, R.; Kozlowski, M. C.; *Chem. Rev.*, **2013**, 113, 6234.

<sup>130</sup> (a) Ho, X.-H.; Oh, H.-J.; Jang, H.-Y.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 5655. (b) Ryland, B. L.; Stahl, S. S.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 8824.



**Esquema 50:** Oxidação aeróbica do diol alílico **36** catalisada por  $\text{CuCl/TEMPO}$ .

No esquema 51 abaixo está ilustrado o mecanismo para essa reação de oxidação promovida pelo sistema cobre/TEMPO.<sup>130</sup>

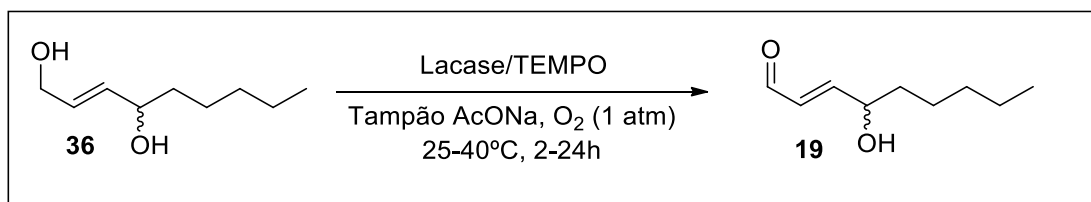


**Esquema 51:** Mecanismo para reação de oxidação promovida por  $\text{Cu(I)/TEMPO}$ . O TEMPO (I) é oxidado pelo cobre à espécie oxoamônio (II), que por sua vez leva a oxidação do álcool via o intermediário (III).

### 3.6.4 Oxidação regiosseletiva do diol alílico **36** usando lacase

As lacases são enzimas da classe das oxidases muito importantes em processos oxidativos de variados substratos químicos.<sup>34</sup> Da mesma forma que nos complexos metálicos de cobre, o potencial oxidativo das lacases se deve a presença de átomos de cobre em seus sítios ativos.<sup>36</sup> Trabalhos publicados na literatura, relatam o uso eficaz do sistema biocatalítico lacase/TEMPO para desempenhar reações oxidativas de álcoois.<sup>131</sup> Baseados nesses dados, resolvemos realizar uma triagem usando esse sistema biocatalítico lacase/TEMPO para promover a oxidação regiosseletiva do diol alílico **36** ao 4-HNE **19**.

Com isso, 0,1 mmol do diol alílico **36** foi submetido a reações de oxidação aeróbica biocatalisadas, usando dois tipos de lacases fúngicas (Tipo 1: lacase de *Trametes Versicolor*; Tipo 2: lacase de *Pleurotus Ostreatus*). As reações foram realizadas usando as lacases na presença de TEMPO como mediador químico, usando apenas as lacases, e usando apenas o TEMPO como agente oxidante. Soluções tampão de acetato de sódio, nas faixas de pH de 3,6, 4,0, 4,4, 4,8 e 5,6, foram usadas como solventes. As reações foram agitadas em um agitador orbital a temperaturas programadas de 25 °C, 30 °C e 40 °C, mantidas abertas sobre pressão atmosférica ambiente. Os progressos das reações foram analisados por cromatografia gasosa retirando-se alíquotas nos períodos de 2 horas e 24 horas (Esquema 51). Todos os resultados obtidos nas reações para essa triagem estão mostrados nas tabelas 10,11 e 12 abaixo.<sup>132</sup>



**Esquema 51:** Oxidação aeróbica do diol alílico **36** catalisada por lacase/TEMPO.

<sup>131</sup> a) Fabbrini, M.; Galli, C.; Gentili, P.; Macchitella, D.; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 7551. b) Arends, I. W. C. E.; Li, Y.-X.; Ausan, R.; Sheldon, R. A.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 6659. c) Díaz-Rodríguez, A.; Lavandera, I.; Kanbak-Aksu, S.; Sheldon, R. A.; Gotor, V.; Gotor-Fernández, V.; *Adv. Synth. Catal.*, **2012**, 354, 3405.

<sup>132</sup> Os resultados desse trabalho estão em processo de escrita para publicação.

**Tabela 10:** Oxidação biocatalítica do diol alílico **36**. Condições: 0,1 mmol de **36**, lacase (25 U), TEMPO (0,03 mmol), tampão AcONa (5 mL), 25 °C, 160 rpm.

| Entrada | Composto | C1   | C2   | C3   | C4   | C5   | Tempo (h) | pH  | Temp. (°C) |
|---------|----------|------|------|------|------|------|-----------|-----|------------|
| 1       | 40       | 4%   | 3%   | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 3,6 | 25         |
| 2       | 19       | 16%  | 13%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 3       | 36       | 40%  | 60%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 4       | 42 ou 43 | 40%  | 24%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 5       | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 6       | 40       | 33%  | 28%  | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 7       | 19       | 24   | 28%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 8       | 36       | 0%   | 4%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 9       | 42 ou 43 | 43%  | 40%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 10      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 11      | 40       | 23%  | 3%   | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,0 |            |
| 12      | 19       | 27%  | 14%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 13      | 36       | 14%  | 59%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 14      | 42 ou 43 | 36%  | 24%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 15      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 16      | 40       | 20%  | 22%  | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 17      | 19       | 25%  | 29%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 18      | 36       | 0%   | 9%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 19      | 42 ou 43 | 0%   | 40%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 20      | p.n.d    | 55%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 21      | 40       | 21%  | 20%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,4 |            |
| 22      | 19       | 29%  | 30%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 23      | 36       | 15%  | 21%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 24      | 42 ou 43 | 35%  | 29%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 25      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 26      | 40       | 16%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 27      | 19       | 36%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 28      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 29      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 30      | p.n.d    | 48%  | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 31      | 40       | 41%  | 9%   | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,8 |            |
| 32      | 19       | 44%  | 23%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 33      | 36       | 4%   | 42%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 34      | 42 ou 43 | 5%   | 26%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 35      | p.n.d    | 5%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 36      | 40       | 0%   | 20%  | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 37      | 19       | 0%   | 66%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 38      | 36       | 0%   | 10%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 39      | 42 ou 43 | 0%   | 2%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 40      | p.n.d    | 100% | 2%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 41      | 40       | 32%  | 12%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 5,6 |            |
| 42      | 19       | 60%  | 48%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 43      | 36       | 0%   | 32%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 44      | 42 ou 43 | 0%   | 8%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 45      | p.n.d    | 8%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 46      | 40       | 0%   | 6%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 47      | 19       | 0%   | 75%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 48      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 49      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 50      | p.n.d    | 100% | 19%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |

\* **C1:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 1/TEMPO. **C2:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 2/TEMPO. **C3:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 1. **C4:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 2. **C5:** Rendimentos a partir de CG usando apenas TEMPO.

\*\* p.n.d = Produto não determinado.

**Tabela 11:** Oxidação biocatalítica do diol alílico **36**. Condições: 0,1 mmol de **36**, lacase (25 U), TEMPO (0,03 mmol), tampão AcONa (5 mL), 30 °C, 160 rpm.

| Entrada | Composto | C1   | C2   | C3   | C4   | C5   | Tempo (h) | pH  | Temp. (°C) |
|---------|----------|------|------|------|------|------|-----------|-----|------------|
| 1       | 40       | 5%   | 18%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 3,6 | 30         |
| 2       | 19       | 21%  | 28%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 3       | 36       | 36%  | 18%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 4       | 42 ou 43 | 38%  | 36%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 5       | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 6       | 40       | 41%  | 10%  | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 7       | 19       | 52%  | 8%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 8       | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 9       | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 10      | p.n.d    | 7%   | 82%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 11      | 40       | 16%  | 58%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,0 |            |
| 12      | 19       | 26%  | 32%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 13      | 36       | 21%  | 4%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 14      | 42 ou 43 | 37%  | 6%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 15      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 16      | 40       | 7%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 17      | 19       | 7%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 18      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 19      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 20      | p.n.d    | 86%  | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 21      | 40       | 29%  | 41%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,4 |            |
| 22      | 19       | 32%  | 34%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 23      | 36       | 12%  | 10%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 24      | 42 ou 43 | 27%  | 15%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 25      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 26      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 27      | 19       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 28      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 29      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 30      | p.n.d    | 100% | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 31      | 40       | 36%  | 36%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,8 |            |
| 32      | 19       | 46%  | 41%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 33      | 36       | 12%  | 12%  | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 34      | 42 ou 43 | 6%   | 11%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 35      | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 36      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 37      | 19       | 4%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 38      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 39      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 40      | p.n.d    | 96%  | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 41      | 40       | 21%  | 14%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 5,6 |            |
| 42      | 19       | 71%  | 83%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 43      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 44      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 45      | p.n.d    | 8%   | 3%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 46      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 47      | 19       | 0%   | 49%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 48      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 49      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 50      | p.n.d    | 100% | 51%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |

\* **C1:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 1/TEMPO. **C2:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 2/TEMPO. **C3:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 1. **C4:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 2. **C5:** Rendimentos a partir de CG usando apenas TEMPO.

\*\* p.n.d = Produto não determinado.

**Tabela 12:** Oxidação biocatalítica do diol alílico **36**. Condições: 0,1 mmol de **36**, lacase (25 U), TEMPO (0,03 mmol), tampão AcONa (5 mL), 40 °C, 160 rpm.

| Entrada | Composto | C1   | C2   | C3   | C4   | C5   | Tempo (h) | pH  | Temp. (°C) |
|---------|----------|------|------|------|------|------|-----------|-----|------------|
| 1       | 40       | 17%  | 34%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 3,6 | 40         |
| 2       | 19       | 27%  | 30%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 3       | 36       | 11%  | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 4       | 42 ou 43 | 45%  | 36%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 5       | p.n.d    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 6       | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 7       | 19       | 34%  | 8%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 8       | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 9       | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 10      | p.n.d    | 66%  | 92%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 11      | 40       | 52%  | 58%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,0 |            |
| 12      | 19       | 33%  | 34%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 13      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 14      | 42 ou 43 | 15%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 15      | p.n.d    | 0%   | 8%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 16      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 17      | 19       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 18      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 19      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 20      | p.n.d    | 100% | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 21      | 40       | 56%  | 50%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,4 |            |
| 22      | 19       | 36%  | 40%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 23      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 24      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 25      | p.n.d    | 8%   | 10%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 26      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 27      | 19       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 28      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 29      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 30      | p.n.d    | 100% | 100% | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 31      | 40       | 41%  | 37%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 4,8 |            |
| 32      | 19       | 43%  | 57%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 33      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 34      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 35      | p.n.d    | 16%  | 6%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 36      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 37      | 19       | 0%   | 10%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 38      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 39      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 40      | p.n.d    | 100% | 90%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 41      | 40       | 24%  | 18%  | 0%   | 0%   | 0%   | 2         | 5,6 |            |
| 42      | 19       | 60%  | 76%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 43      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 44      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 45      | p.n.d    | 16%  | 6%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 46      | 40       | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 24        |     |            |
| 47      | 19       | 44%  | 85%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 48      | 36       | 0%   | 0%   | 100% | 100% | 100% |           |     |            |
| 49      | 42 ou 43 | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |
| 50      | p.n.d    | 56%  | 15%  | 0%   | 0%   | 0%   |           |     |            |

\* **C1:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 1/TEMPO. **C2:** Rendimentos a partir de CG usando lacase Tipo 2/TEMPO. **C3:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 1. **C4:** Rendimentos a partir de CG usando apenas lacase Tipo 2. **C5:** Rendimentos a partir de CG usando apenas TEMPO.

\*\* p.n.d = Produto não determinado.

A partir da análise dos dados expostos nas tabelas 10, 11 e 12, podemos observar que os melhores resultados de seletividades para a formação do 4-HNE **19** foram obtidos quando utilizamos a lacase tipo 2 (lacase de *Pleurotus Ostreatus*) juntamente com TEMPO como mediador químico (Tabelas 10, 11 e 12, coluna C2), a um pH do sistema igual a 5,6 (Tabela 10, entradas 46 a 50; Tabela 11, entradas 41 a 45; Tabela 12, entradas 46 a 50). Dentre esses melhores resultados, foi possível se obter o 4-HNE **19** em 85% de rendimento, levando a formação apenas do produto não determinado (p.n.d) em 15% de rendimento (Tabela 12, entradas 46 a 50). Nos casos em que foram utilizadas apenas as lacases tipos 1 e 2, na ausência de TEMPO como mediador, e apenas o TEMPO como agentes oxidantes (Tabelas 10, 11 e 12, colunas C3, C4 e C5), não ocorreu consumo do reagente de partida **36**, não havendo formação alguma do produto **19**.

## 4 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

### 4.1 CONCLUSÕES

Os dióis (*R,S*)-**20a-u**, (*R,S*)-**31**, (*R,S*)-**32** e (*R,S*)-**33** foram sintetizados em bons rendimentos. A metodologia desenvolvida com o uso de  $\text{CeCl}_3$ , para a síntese dos dióis (*R,S*)-**20a-u**, forneceu os respectivos produtos de adição 1,2 em rendimentos na faixa de 90-100%.

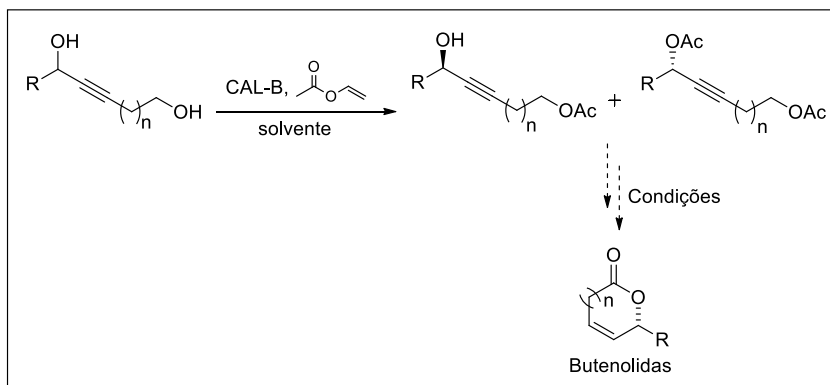
As resoluções cinéticas enzimáticas dos dióis testados foram eficientes, mostrando que a CAL-B possui uma seletividade elevada frente aos enantiômeros desses substratos. Com isso, foram obtidos excelentes excessos enantioméricos, superiores a 99% para alguns casos, e conversões de até 50% para alguns casos. O composto (*S*)-(-)-**24g** levou à síntese do produto natural (*S*)-(-)-2-pentin-1,4-diol [(*S*)-(-)-**20g**], uma substância que pode ser isolada do fungo *Clitocybe Catinus* e apresenta atividade antibacteriana.

Todos os dióis sintetizados, juntamente com seus derivados obtidos nas RCEs, foram submetidos a testes de atividades citotóxicas. Apenas os dióis **20a**, **20c**, (*R/S*)-**20g**, e **20h** apresentaram resultados satisfatórios para as atividades antiproliferativas, levando a 100% de inibição frente a todos os tipos de células tumorais testadas.

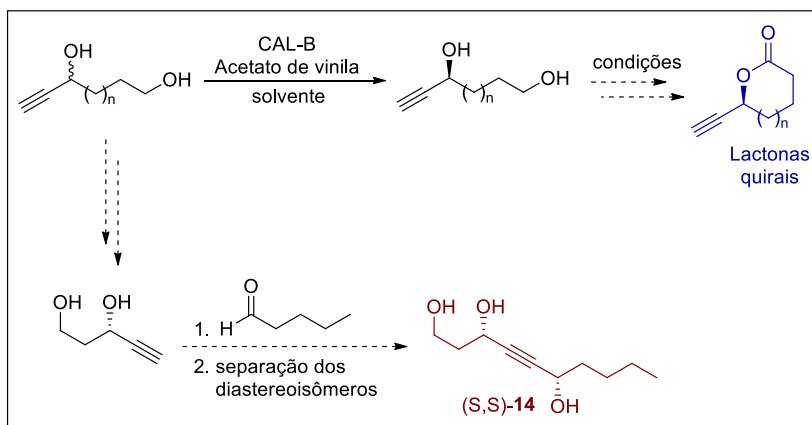
O composto 4-hidróxi-2-nonenal (4-HNE, **19**) foi obtido eficientemente a partir da oxidação regioseletiva do diol alílico **36**, usando  $\text{CuCl}$  e lacase.

## 4.2 PERSPECTIVAS

1. Aplicar os produtos enantioenriquecidos, obtidos nas RCEs dos dióis propargílicos internos **20a-u**, na preparação de butenolidas bioativas:



2. Otimizar as condições das RCEs em escalas analíticas para as misturas racêmicas dos dióis propargílicos terminais **31**, **32** e **33**. Realizar essas RCEs em escala preparativa usando as melhores condições, para um posterior isolamento e caracterização dos respectivos enantiômeros, e aplicação destes nas sínteses de lactonas quirais funcionalizadas e do produto natural (S,S)-**14**<sup>64</sup>:



3. Aplicar os dióis propargílicos terminais **31**, **32** e **33**, nas formas racêmicas e enantiopuras, e os seus derivados obtidos nas RCEs, em testes de atividades citotóxicas frente a células tumorais.

4. Realizar medidas de IC<sub>50</sub> para os dióis **20a**, **20c**, (R/S)-**20g**, e **20h** que apresentaram os melhores resultados de inibição para os testes de atividade antiproliferativa.

## 5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 5.1 INFORMAÇÕES GERAIS

As análises de RMN de  $^1\text{H}$  a 300 MHz e de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 75 MHz, foram realizadas em um espectrômetro da VARIAN<sup>®</sup> modelo Unity Plus-300 em clorofórmio-*d* ( $\text{CDCl}_3$ ). Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm, em relação ao pico residual do  $\text{CDCl}_3$  (7,26 ppm) no caso dos espectros de hidrogênio, e em relação ao pico central do  $\text{CDCl}_3$  (77 ppm) no caso dos espectros de carbono.

Os espectros de HRMS foram obtidos em um cromatógrafo LCMS-IT-TOF da SHIMADZU<sup>®</sup>.

As análises de espectrometria de massas foram realizadas em um aparelho CGMS da modelo QP-5050A da SHIMADZU<sup>®</sup>.

As análises de cromatografia gasosa foram feitas em um equipamento da AGILENT<sup>®</sup> modelo 7890A, utilizando detector por ionização em chama (FID) e  $\text{N}_2$  como gás de arraste, e em um equipamento da SHIMADZU<sup>®</sup> modelo 2010 Plus, utilizando detector por ionização em chama (FID) e  $\text{N}_2$  como gás de arraste.

As colunas quirais utilizadas para as análises foram a HP-CHIRAL-20B ( $\beta$ -cyclodextrin in 35%-phenyl-methylpolysiloxane) da AGILENT<sup>®</sup> com as dimensões 30m x 0,32mm x 0,25 $\mu\text{m}$ , a CICLODEX-B (10%- $\beta$ -cyclodextrin in cyanopropyl-phenyl-methylpolysiloxane) da AGILENT<sup>®</sup>, e a Beta Dex<sup>™</sup> 120 (10% de  $\beta$ -ciclodextrina em cianopropil-fenil-metilpolisiloxano) da SUPELCO<sup>®</sup> com as dimensões 30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ .

As reações biocatalisadas foram realizadas numa incubadora orbital da TECNAL<sup>®</sup> modelo TE-424.

Os ângulos de desvio ótico foram medidos em um polarímetro digital da marca JASCO<sup>®</sup> P-2000.

CAL-B (NOVOZYM 435<sup>®</sup>, *lipase-B a partir de C. antarctica imobilizada*; 10,000 PLU/g) foi adquirida da NOVOZYM Inc.

Todas as linhagens de células de câncer foram doadas pelo banco de células do Rio de Janeiro (Brasil): MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano), NCI-H292 (mucoepidermoide de pulmão humano), HL-60 (leucemia promielocítica aguda humana), K562 (leucemia eritromieloblastoide humano), Hep-2 (carcinoma da laringe), J774A.1 (monócito macrófago de rato), K562 (leucemia mielóide humana) e RAW (monócito-macrófago leucêmico de rato).

Os solventes e reagentes utilizados obtidos comercialmente foram tratados de acordo com métodos descritos na literatura.<sup>133</sup> O tetraidrofurano (THF) foi destilado e seco num sistema de refluxo na presença de sódio metálico/benzofenona sob atmosfera de N<sub>2</sub>. As purificações em coluna de sílica foram realizadas utilizando sílica gel 70-230 mesh ASTM da MACHEREY-NAGEL<sup>®</sup>, conforme descrição da literatura.<sup>134</sup>

As análises em cromatografia de camada delgada (CCD) foram feitas utilizando placas de sílica suportada em alumínio TLC 20x20 cm sílica gel 60 da MACHEREY-NAGEL<sup>®</sup>.

O sistema eluente utilizado foi uma mistura cicloexano/acetato de etila com a proporção variando de acordo com a polaridade de cada composto. Os sistemas de revelação empregados foram: Câmara de lodo molecular, e solução contendo 1g de vanilina, 1 mL de ácido sulfúrico e 100 mL de MeOH.

Os nomes IUPAC para cada composto foram obtidos usando o software ChemDraw Ultra<sup>®</sup> versão 12.02.

---

<sup>133</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of laboratory chemicals*, Pergamon, New York, **1988**.

<sup>134</sup> Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A.; *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2923.

## 5.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS RACÊMICOS 20a-u

### PROCEDIMENTO USANDO DI-ÂNIONS DE LÍTIO

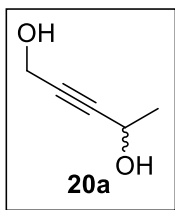
A uma solução do correspondente álcool propargílico (3 mmol) em THF anidro (15 mL) resfriada à -78°C e sob atmosfera de N<sub>2</sub>, foi adicionado *n*-BuLi (6,6 mmol, 2.5M) gota-à-gota durante um período de 1h. Após a adição, a solução resultante foi agitada por 2h à -78°C e então adicionou-se uma solução do respectivo eletrófilo (aldeído, cetona ou epóxido, 3 mmol) em THF anidro (2 mL). Posteriormente, a mistura foi agitada durante a noite. Após esse período, a mistura foi tratada com uma solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl (5 mL) e extraída com AcOEt (3 x 5 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 5 mL), seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e o solvente evaporado. Após evaporação o resíduo bruto foi purificado em coluna de gel de sílica utilizando o sistema *n*-Hexano/AcOEt (1:1).

### PROCEDIMENTO USANDO CeCl<sub>3</sub>

A uma solução do correspondente álcool propargílico (3 mmol) em THF anidro (15 mL) resfriada à -40°C e sob atmosfera de N<sub>2</sub>, foi adicionado *n*-BuLi (6,6 mmol, 2.5M) gota-à-gota durante um período de 1h (balão 1). Após a adição, essa mistura do balão 1 foi agitada por 2h à -40°C, e então essa mistura do balão 1 foi adicionada a um segundo balão (balão 2) contendo uma mistura do respectivo eletrófilo (aldeído ou cetona, 3 mmol) e CeCl<sub>3</sub> (anidro) (0,1 mmol, 0,3 mmol, 0,5 mmol, 1,0 mmol, 1,5 mmol e 2,0 mmol) em THF anidro (2 mL) a -40°C, agitada previamente durante 30 minutos. Posteriormente, a mistura resultante no presente no balão 2 foi agitada durante 4 horas. Após esse período, a mistura foi tratada com uma solução diluída de HCl<sub>(aq.)</sub> e extraída com AcOEt (3 x 5 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl (3 x 5 mL), seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e o solvente evaporado. Após evaporação o resíduo bruto foi purificado em coluna de gel de sílica utilizando o sistema *n*-Hexano/AcOEt (1:1).

### 5.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SEQUENCIA HIDROGENAÇÃO/HIDRÓLISE DOS COMPOSTOS (S)-24f, (R)-25f, (S)-24s, (R)-25s, (S)-24u e (R)-25u

Em um balão contendo uma solução do correspondente acetato propargílico (1,0 mmol) em MeOH (5 mL), a temperatura ambiente, foi adicionado 10mg de Pd/C em uma única porção. A mistura foi então acoplada a uma atmosfera de H<sub>2</sub> (1 atm) e deixada reagindo durante a noite. Posteriormente, a suspensão foi filtrada em sílica e o solvente orgânico evaporado em um evaporador rotativo. Depois, o bruto reacional foi submetido a uma reação de hidrólise na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in MeOH. O óleo obtido foi então purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica usando uma mistura de n-hexano/AcOEt na proporção de 4:1 como eluente.

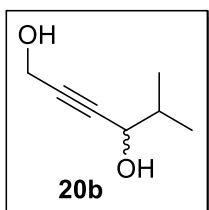


**(R,S)-pent-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20a:** Óleo; Rendimento: 0,31g (di-ânion de Li, 32%); (ânion de Ce, 90%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.44 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 3.60 (2H, s), 4.28 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.57 (1H, qt,  $J^3 = 6.3$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  24.0, 50.6, 58.1, 82.1, 87.5.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3328, 2983, 2927, 2873, 1645, 1416, 1371, 1327, 1149, 1076, 1022, 986, 886, 604.

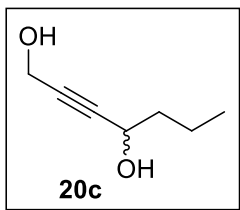


**(R,S)-5-metilhex-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20b:** Óleo; Rendimento: 0,27g (di-ânion de Li, 71%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.0 (6H, dd,  $J^3 = 6$  Hz), 1.88 (1H, oct,  $J^3 = 6$  Hz), 3.13 (2H, s), 4.21 (1H, dt,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 1.5$  Hz), 4.32 (2H, d,  $J^4 = 1.5$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.5, 18.0, 34.3, 50.7, 67.7, 83.7, 85.3.

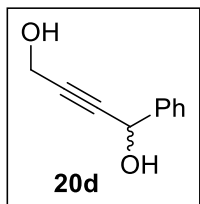
**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3325, 2964, 1459, 1144, 1107, 1019.



**(R,S)-hept-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20c:** Óleo; Rendimento: 0,26g (di-ânion de Li, 70%); (ânion de Ce, 91%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.9 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.47 (2H, sext,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.60-1.77 (2H, m), 3.58 (2H, s), 4.30 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.43 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

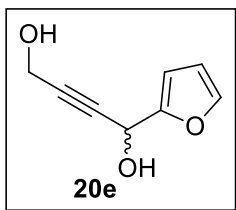
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  13.6, 18.4, 39.5, 50.6, 61.9, 82.8, 86.6.



**(R,S)-1-fenilbut-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20d:** Sólido; Rendimento: 0,38g (di-ânion de Li, 79%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  2.22 (2H, s), 4.35 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 5.52 (1H, t,  $J^4 = 1.8$  Hz), 7.35-7.45 (3H, m), 7.5-7.6 (2H, m).

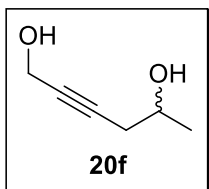
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  51.0, 64.4, 84.8, 85.4, 126.5, 128.4, 128.6, 140.2.



**(R,S)-1-(furan-2-yl)but-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20e:** Óleo; Rendimento: 0,32g (di-ânion de Li, 71%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  4.35 (2H, d,  $J^4 = 1.5$  Hz), 5.51 (1H, t,  $J^4 = 1.5$  Hz), 6.35 (1H, dd,  $J^3 = 3.3$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 6.44 (1H, dt,  $J^3 = 3.3$  Hz,  $J^4 = 0.9$  Hz), 7.41 (1H, dd,  $J^3 = 1.8$  Hz,  $J^4 = 0.9$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  50.4, 57.6, 82.7, 83.9, 107.7, 110.3, 142.9, 152.4.

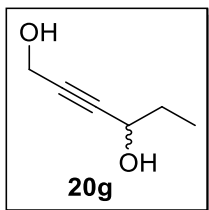


**(R,S)-hex-2-ino-1,5-diol. (R,S)-20f:** Óleo; Rendimento: 0,18g (54%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.25 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 2.31 (1H, ddt,  $J^2 = 16.3$  Hz,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 2.44 (1H, ddt,  $J^2 = 16.3$  Hz,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 2.94 (2H, s), 3.97 (1H, sext,  $J^3 = 6.6$  Hz), 4.26 (2H, t,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  22.2, 29.1, 51.0, 66.3, 80.7, 82.6.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3354, 2972, 2930, 1644, 1453, 1422, 1376, 1354, 1224, 1137, 1116, 1085, 1010, 939, 831, 637.

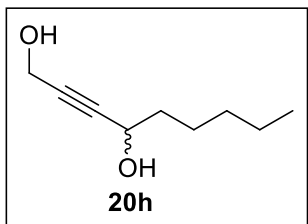


**(R,S)-hex-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20g:** Óleo; Rendimento: 0,23g (di-ânion de Li, 67%); (ânion de Ce, 94%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.99 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.65-1.80 (2H, m), 3.99 (2H, s), 4.30 (2H, d,  $J^4 = 1.5$  Hz), 4.35 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.5$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.4, 30.5, 50.4, 63.3, 82.9, 86.3.

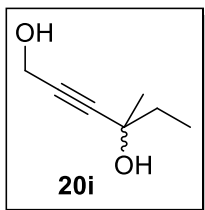
**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 2928, 1644, 1456, 1144, 1011, 887, 620.



**(R,S)-non-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20h:** Óleo; Rendimento: 0,35g (di-ânion de Li, 75%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.90 (3H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 1.25-1.50 (6H, m), 1.60-1.80 (2H, m), 3.31 (2H, s), 4.31 (2H, t,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.49 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

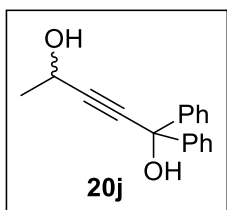
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  13.9, 22.5, 24.8, 31.4, 37.4, 50.6, 62.2, 82.8, 86.7.



**(R,S)-4-metilhhex-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20i:** Óleo; Rendimento: 0,14g (di-ânion de Li, 36%); (ânion de Ce, 90%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.03 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.47 (3H, s), 1.71 (2H, q,  $J^3 = 7.5$  Hz), 2.88 (2H, s), 4.30 (2H, s).

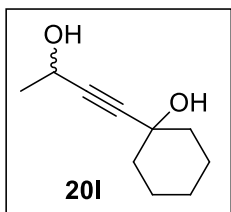
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  8.93, 28.9, 36.2, 50.7, 68.6, 81.4, 89.1.



**(R,S)-1,1-difenilpent-2-ino-1,4-diol. (R,S)-20j:** Óleo; Rendimento: 0,58g (di-ânion de Li, 77%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.51 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 4.64 (1H, q,  $J^3 = 6.6$  Hz), 7.2-7.4 (6H, m), 7.55-7.65 (4H, m).

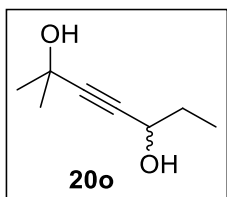
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  24.0, 58.3, 74.1, 86.6, 89.9, 125.9, 127.6, 128.2, 144.7.



**(R,S)-1-(3-hidroxibut-1-ino)ciclohexanol. (R,S)-20l:** Óleo; Rendimento: 0,31g (di-ânion de Li, 61%); (ânion de Ce, 90%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.42 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.45-1.95 (10H, m), 3.67 (1H, s), 4.54 (1H, q,  $J^3 = 6.6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  23.2, 24.2, 25.1, 39.6, 57.9, 68.4, 86.1, 87.4.

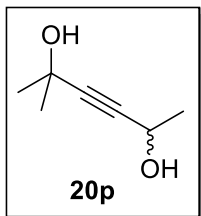


**(R,S)-2-metilhept-3-ino-2,5-diol. (R,S)-20o:** Óleo; Rendimento: 0.25g (di-ânion de Li, 58%); (ânion de Ce, 93%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.96 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.49 (6H, s), 1.6-1.75 (2H, m), 2.84 (2H, s), 4.30 (1H, t,  $J^3 = 6.6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.4, 30.7, 31.3, 63.4, 65.0, 82.8, 89.5.

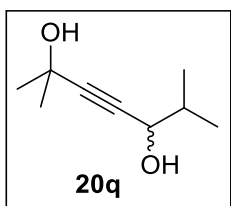
**IV (filme)  $\text{cm}^{-1}$ :** 3335, 2977, 2934, 2877, 1645, 1456, 1372, 1234, 1162, 1022, 954, 884, 845, 787, 668.



**(R,S)-2-metilhex-3-ino-2,5-diol. (R,S)-20p:** Óleo; Rendimento: 0,18g (di-ânion de Li, 48%); (ânion de Ce, 91%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.44 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.52 (6H, s), 3.13 (2H, s), 4.55 (1H, q,  $J^3 = 6.6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  24.2, 31.2, 58.0, 64.9, 83.9, 88.6.

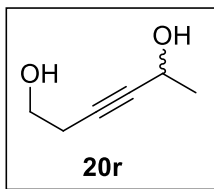


**(R,S)-2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol. (R,S)-20q:** Óleo; Rendimento: 0,34g (di-ânion de Li, 72%); (ânion de Ce, 100%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.98 (6H, dd,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.51 (6H, s), 1.85 (1H, oct,  $J^3 = 6.6$  Hz), 3.18 (2H, s), 4.16 (1H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.1, 31.2, 31.3, 34.3, 65.0, 67.5, 81.7, 90.2.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3340, 2971, 2878, 1738, 1459, 1373, 1234, 1162, 1025, 952, 862, 715.

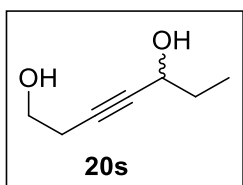


**(R,S)-hex-3-ino-1,5-diol. (R,S)-20r:** Óleo; Rendimento: 0,15g (di-ânion de Li, 43%); (ânion de Ce, 90%).

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.40 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.44 (2H, td,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 2.73 (2H, s), 3.69 (2H, t,  $J^3 = 6.3$  Hz), 4.49 (1H, qt,  $J^3 = 6.3$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  22.9, 24.4, 58.2, 60.8, 81.1, 84.1.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3337, 2977, 2934, 2887, 1735, 1647, 1420, 1376, 1330, 1154, 1049, 1009, 932, 880.



**(R,S)-hept-3-ino-1,5-diol. (R,S)-20s:** Óleo; Rendimento: 0.19g (di-ânion de Li, 51%); (ânion de Ce, 92%).

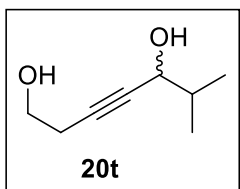
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.0 (3H, d,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.6-1.8 (2H, m), 2.48 (2H, td,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 3.18 (2H, s), 3.72 (2H, t,  $J^3 = 6$  Hz), 4.31 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.4, 22.9, 30.9, 60.8, 63.6, 82.1, 82.9.

**IV** (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3344, 2964, 2931, 2881, 2245, 1647, 1456, 1424, 1334, 1147, 1044, 963, 845, 646.

---

**(R,S)-6-metilhept-3-ino-1,5-diol. (R,S)-20t:** Óleo; Rendimento: 0.25g (di-ânion de Li, 59%); (ânion de Ce, 97%).



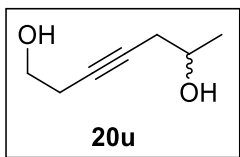
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.97 (6H, dd,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.83 (1H, oct,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.47 (2H, td,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 2.87 (2H, s), 3.71 (2H, t,  $J^3 = 6$  Hz), 4.14 (1H, d,  $J^3 = 6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.1, 22.9, 34.5, 60.9, 67.9, 81.7, 82.7.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3345, 2963, 2883, 2232, 1644, 1461, 1379, 1331, 1268, 1184, 1149, 1032, 955, 846, 645.

---

**(R,S)-hept-3-ino-1,6-diol. (R,S)-20u:** Óleo; Rendimento: 0,20g (52%);



**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.22 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 2.26 (1H, ddt,  $J^2 = 16.5$  Hz,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 2.33-2.38 (1H, m), 2.39-2.47 (2H, m), 2.74 (2H, s), 3.68 (2H, t,  $J^3 = 6.3$  Hz), 3.91 (1H, sext,  $J^3 = 6.3$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  22.2, 23.0, 29.1, 61.0, 66.4, 78.5, 79.5.

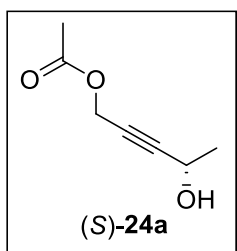
**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3346, 2920, 1647, 1421, 1049, 939, 842, 648.

---

#### 5.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS RESOLUÇÕES CINÉTICAS ENZIMÁTICAS (RCEs) DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS INTERNOS 20a-u EM ESCALAS PREPARATIVAS

Em um erlenmeyer com capacidade para 125 mL adicionou-se o diol propargílico (3 mmol), CAL-B (0,3 g), 30 mL de solvente [*n*-hexano ou THF:*n*-hexano (1:1)] e acetato de vinila (5 equiv., 15 mmol, 1,385 mL). A mistura reacional foi agitada em um *Shaker* a uma temperatura de 35 °C e rotação de 150 rotações por minuto (rpm). O progresso da resolução foi acompanhado via CG quiral, utilizando-se os correspondentes como padrões como referências. Depois de alcançado uma conversão adequada, a enzima imobilizada foi removida por filtração e a solução resultante foi concentrada. O resíduo orgânico foi submetido à coluna cromatográfica em gel de sílica para se obter os respectivos enantiômeros separadamente.

**(S)-4-hidroxipent-2-ino-1-acetato. (S)-24a:** Óleo; Rendimento: conversão 49% (0,21g);



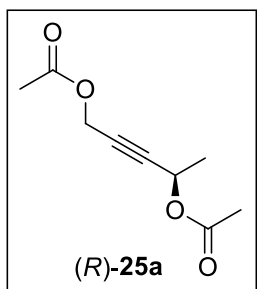
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.43 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.08 (3H, s), 2.73 (1H, s), 4.55 (1H, qt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.5$  Hz), 4.68 (2H, d,  $J^4 = 1.5$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  20.6, 23.8, 52.2, 57.9, 77.6, 88.6, 170.4.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3407, 2984, 2936, 2877, 1746, 1437, 1379, 1332, 1231, 1157, 1084, 1028, 965, 890, 608.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -21.2$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee >99%.

**(R)-pent-2-ino-1,4-diacetato. (R)-25a:** Óleo; Rendimento: conversão 47% (0,26g);



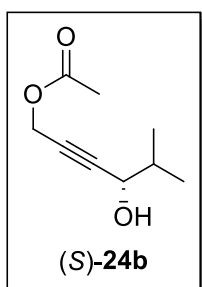
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.46 (3H, d,  $J^3 = 6.9$  Hz), 2.05 (3H, s), 2.07 (3H, s), 4.67 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 5.45 (1H, qt,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  20.6, 20.9, 21.0, 52.0, 60.0, 78.6, 84.9, 169.7, 170.1.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2991, 2941, 1744, 1438, 1370, 1226, 1169, 1060, 1023, 939, 844, 607.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +110.7$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.

**(S)-4-hidroxi-5-metilhex-2-ino-1-acetato. (S)-24b:** Óleo; Rendimento: conversão 47% (0,24g);

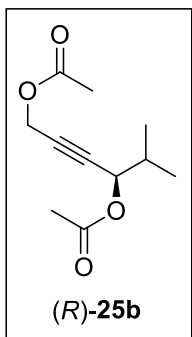


**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.98 (6H, dd,  $J^3 = 6.9$  Hz), 1.87 (1H, oct,  $J^3 = 6.9$  Hz), 2.09 (3H, s), 4.20 (1H, tt,  $J^3 = 6.0$  Hz,  $J^4 = 1.5$  Hz), 4.71 (2H, d,  $J^4 = 1.5$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.7, 18.2, 21.0, 34.5, 52.6, 67.9, 79.5, 86.8, 170.6.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3430, 2964, 2880, 1742, 1439, 1374, 1231, 1151, 1111, 1030, 970, 928, 835, 609.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0.51$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 96%.



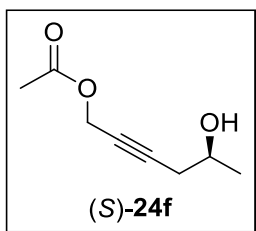
**(R)-5-metilhex-2-ino-1,4-diacetate. (R)-25b:** Óleo; Rendimento: conversão 40% (0,24g);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.98 (6H, dd,  $J^3 = 6.9$  Hz), 1.90-2.05 (1H, m), 2.08 (6H, s), 4.69 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 5.23 (1H, dt,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.0, 20.6, 20.8, 32.1, 52.0, 52.1, 68.6, 79.8, 82.8, 169.8.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2968, 2936, 2877, 1746, 1435, 1373, 1227, 1159, 1080, 1023, 986, 937, 606.

$[\alpha]_D^{20} = +83.2$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 94%.



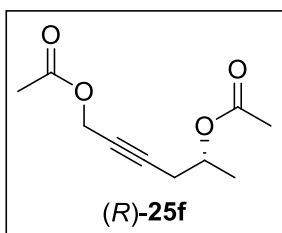
**(S)-5-hidroxihex-2-ino-1-acetate. (S)-24f:** Óleo; Rendimento: conversão 49% (0,23g);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.25 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 1.84 (1H, s), 2.09 (3H, s), 2.30-2.50 (2H, m), 3.96 (1H, sext,  $J^3 = 6$  Hz), 4.67 (1H, t,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  20.7, 22.3, 29.2, 52.6, 66.2, 77.2, 83.8, 170.4.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3406, 2956, 2924, 2854, 2238, 1744, 1456, 1378, 1362, 1230, 1150, 1115, 1086, 1026, 966, 833, 606.

$[\alpha]_D^{20} = +10.9$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee >99%.



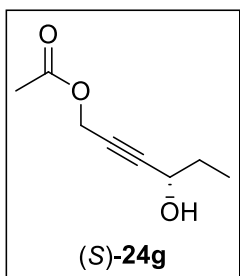
**(R)-hex-2-ino-1,5-diacetate. (R)-25f:** Óleo; Rendimento: conversão 49% (0,29g);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.31 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 2.04 (3H, s), 2.09 (3H, s), 2.45-2.55 (2H, m), 4.65 (2H, t,  $J^4 = 2.1$  Hz), 4.98 (1H, sext,  $J^3 = 6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  19.1, 20.7, 21.2, 25.8, 52.5, 68.5, 76.1, 82.7, 170.3, 170.4.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2955, 2924, 2854, 1744, 1458, 1376, 1224, 1154, 1131, 1061, 1023, 958, 831, 606.

$[\alpha]_D^{20} = +31.0$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 96%.



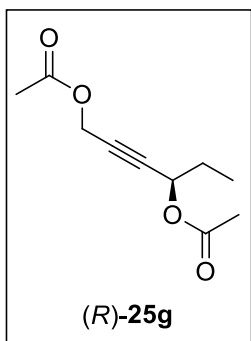
**(S)-4-hidroxihex-2-ino-1-acetate. (S)-24g:** Óleo; Rendimento: conversão 48% (0,22g);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$ . 0.97 (3H, t,  $J^3 = 7.2$  Hz), 1.68 (2H, sext,  $J^3 = 7.2$  Hz), 2.06 (3H, s), 2.51. (1H, s), 4.32 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.68 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.3, 20.6, 30.4, 52.2, 63.4, 78.5, 87.6, 170.3.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3410, 2967, 2932, 2875, 1740, 1443, 1375, 1231, 1151, 1093, 1032, 966.

$[\alpha]_D^{20} = -3.3$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 89%.



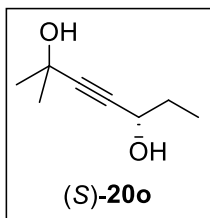
**(R)-hex-2-ino-1,4-diacetate. (R)-25g:** Óleo; Rendimento: conversão 43% (0,25g);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$ . 0.96 (3H, t,  $J^3 = 7.2$  Hz), 1.75 (2H, sext,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.04 (3H, s), 2.05 (3H, s), 4.66 (2H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 5.31 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.1, 20.5, 20.8, 27.7, 52.0, 64.8, 79.3, 83.9, 169.8, 170.0.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2972, 2938, 1745, 1440, 1372, 1228, 1166, 1028, 966.

$[\alpha]_D^{20} = +79.6$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.



**(S)-2-metilhept-3-ino-2,5-diol. (S)-20o:** Óleo; Rendimento: conversão 58% (0,24g);

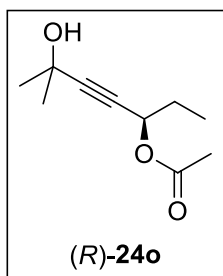
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.00 (3H, t,  $J^3 = 7.2$  Hz), 1.52 (6H, s), 1.51-1.8 (2H, m), 2.89 (2H, s), 4.33 (1H, t,  $J^3 = 6.3$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.4, 30.7, 31.3, 63.4, 65.0, 82.8, 89.6.

**IV** (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3354, 2958, 2925, 2854, 1461, 1377, 1235, 1165, 1023, 949, 848.

$[\alpha]_D^{20} = -2,6$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee > 99%.

**(R)-6-hidroxi-6-metilhept-4-ino-3-acetate. (R)-24o:** Óleo; Rendimento: conversão 32% (0,18g);



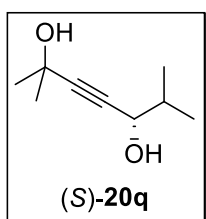
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.96 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.48 (6H, s), 1.73 (2H, sext,  $J^3 = 7.2$  Hz), 2.05 (3H, s), 2.49 (1H, s), 5.3 (1H, t,  $J^3 = 6.3$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.2, 21.0, 27.9, 31.2, 64.9, 65.1, 79.1, 90.1, 170.0.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2955, 2923, 2853, 1740, 1460, 1375, 1228, 1167, 1019, 955.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +99.7$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 95%.

**(S)-2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol. (S)-20q:** Óleo; Rendimento: conversão 50% (0,23g);



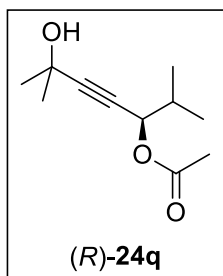
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.98 (6H, dd,  $J^3 = 6.9$  Hz), 1.51 (6H, s), 1.85 (1H, oct,  $J^3 = 6.6$  Hz), 3.18 (2H, s), 4.16 (1H, d,  $J^3 = 6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.1, 31.2, 31.3, 34.3, 64.9, 67.5, 81.7, 90.2.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3345, 2962, 2930, 2873, 1640, 1461, 1378, 1365, 1328, 1235, 1166, 1021, 952, 861, 827, 802, 717.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.3$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.

**(R)-6-hidroxi-2,6-dimetilhept-4-ino-3-acetato. (R)-24q:** Óleo; Rendimento: conversão 50% (0,29g);



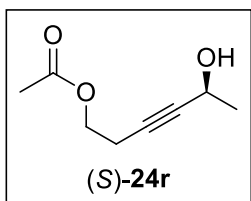
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.99 (6H, dd,  $J^3 = 8$  Hz), 1.51 (6H, s), 1.99 (1H, oct,  $J^3 = 6$  Hz), 2.08 (3H, s), 2.64 (1H, s), 5.22 (1H, d,  $J^3 = 6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.1, 20.9, 31.2, 32.3, 64.9, 68.8, 78.0, 90.6, 170.1.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3429, 2976, 2932, 2875, 1740, 1467, 1372, 1229, 1170, 1021, 982, 956, 900, 863, 716, 607.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +99.7$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 98%.

**(S)-5-hidroxi-hex-3-ino-1-acetato. (S)-24r:** Óleo; Rendimento: conversão 40% (0,19g);



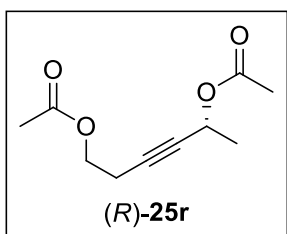
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$ . 1.39 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.04 (3H, s), 2.20 (1H, s), 2.51 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 4.12 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 4.48 (1H, qt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  19.1, 20.7, 24.4, 58.2, 62.2, 79.8, 83.8, 170.8.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3409, 2973, 2923, 1735, 1376, 1241, 1154, 1076, 1042.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18.4$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee > 99%.

**(R)-hex-3-ino-1,5-diacetato. (R)-25r:** Óleo; Rendimento: conversão 45% (0,27g);



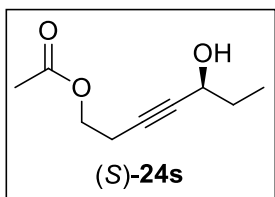
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.42 (3H, d,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.03 (6H, s), 2.52 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 4.11 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 5.4 (1H, qt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  19.1, 20.7, 21.1, 21.4, 60.4, 61.9, 80.1, 80.7, 169.8, 170.6.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2926, 2860, 2251, 1740, 1445, 1374, 1234, 1169, 1050, 948, 848, 644, 608, 523.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +95.4$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.

**(S)-5-hidroxihept-3-ino-1-acetate. (S)-24s:** Óleo; Rendimento: conversão 49% (0,19g);



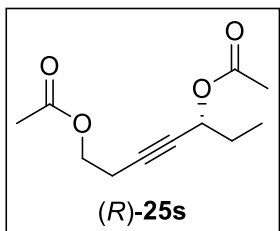
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.97 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.6-1.75 (2H, m), 2.05 (3H, s), 2.54 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 4.14 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 4.28 (1H, q,  $J^3 = 6$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.3, 19.1, 20.8, 30.9, 62.2, 63.7, 80.7, 82.7, 170.8.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3419, 2968, 2931, 2877, 1736, 1453, 1426, 1378, 1241, 1148, 1041, 967, 606.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.6$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 85%.

**(R)-hept-3-ino-1,5-diacetate. (R)-25s:** Óleo; Rendimento: conversão 45% (0,23g);



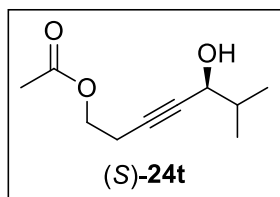
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.96 (3H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 1.72 (2H, sext,  $J^3 = 7.5$  Hz), 2.04 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.53 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.12 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 5.26 (1H, tt,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.2, 19.1, 20.7, 20.9, 28.0, 62.4, 65.3, 79.0, 81.4, 169.9, 170.6.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2970, 2936, 1741, 1453, 1374, 1233, 1165, 1037, 965, 893, 606.

$[\alpha]_D^{20} = +94.0$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.

**(S)-5-hidroxi-6-metilhept-3-ino-1-acetate. (S)-24t:** Óleo; Rendimento: conversão 73% (0,40g)



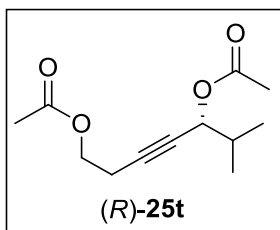
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.97 (6H, dd,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.84 (1H, oct,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.03 (1H, s), 2.06 (3H, s), 2.56 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 4.10-4.2 (3H, m).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.3, 18.0, 19.1, 20.7, 34.4, 62.3, 67.8, 81.3, 81.5, 170.8.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3434, 2962, 2930, 2873, 1742, 1468, 1386, 1366, 1240, 1148, 1039, 606.

$[\alpha]_D^{20} = -0.34$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 49%.

**(R)-6-metilhept-3-ino-1,5-diacetate. (R)-25t:** Óleo; Rendimento: conversão 27% (0,18g);



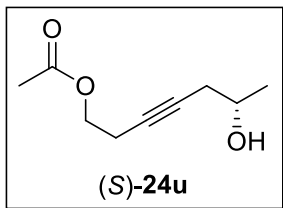
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.0 (6H, dd,  $J^3 = 8$  Hz), 1.97 (1H, oct,  $J^3 = 6.6$  Hz), 2.07 (3H, s), 2.09 (3H, s), 2.58 (2H, td,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz), 4.17 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 5.2 (1H, dt,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 2.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  17.4, 18.1, 19.2, 20.7, 20.9, 32.3, 62.1, 69.1, 77.8, 81.9, 170.0, 170.7.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2966, 2933, 2876, 1742, 1467, 1433, 1385, 1370, 1337, 1235, 1158, 1134, 1071, 1043, 1021, 982, 935, 900, 605.

$[\alpha]_D^{20} = +102.5$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 99%.

**(S)-6-hidroxihept-3-ino-1-acetate. (S)-24u:** Óleo; Rendimento: conversão 44% (0,22g);



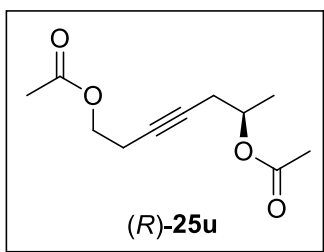
**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.22 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 2.05 (3H, s), 2.25 (1H, ddt,  $J^2 = 16.2$  Hz,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.4$  Hz), 2.35 (1H, ddt,  $J^2 = 16.2$  Hz,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.4$  Hz), 2.49 (2H, tt,  $J^3 = 6.9$  Hz,  $J^4 = 2.4$  Hz), 3.89 (1H, sext,  $J^3 = 6.3$  Hz), 4.14 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  19.2, 20.8, 22.1, 29.2, 62.5, 66.3, 78.1, 78.4, 170.9.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 3421, 2962, 2921, 2860, 1735, 1454, 1376, 1239, 1114, 1041, 939, 824, 641, 608.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +11.6$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee > 99%.

**(R)-hept-3-ino-1,6-diacetato. (R)-25u:** Óleo; Rendimento: conversão 45% (0,29g);



**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.27 (3H, d,  $J^3 = 6.3$  Hz), 2.02 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.35-2.42 (2H, m), 2.43-2.51 (2H, m), 4.10 (2H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 4.93 (1H, sext,  $J^3 = 6.3$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  19.0, 19.1, 20.7, 21.1, 25.7, 62.5, 68.9, 77.1, 77.8, 170.3, 170.7.

**IV** (filme)  $\text{cm}^{-1}$ : 2970, 2926, 2863, 1739, 1443, 1375, 1239, 1136, 1048, 961, 641, 607.

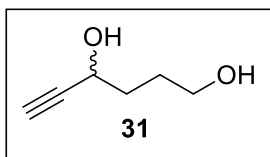
$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +19.0$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ); ee = 95%.

## 5.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESES DAS HIDRÓXI-ALQUINONAS 28-30

Em um balão com capacidade para 100 mL contendo 50 mL de THF (seco) sob fluxo de  $N_2$  e a temperatura de  $-78^\circ C$ , foi borbulhado gás acetileno (previamente purificado) durante um período de 5 minutos. Depois, adicionou-se *n*-BuLi (4,8 mL, 2,3M, 11 mmol) lentamente, e após a completa adição deixou-se o sistema agitando a  $-78^\circ C$  por um período de 30 minutos. Em seguida, adicionou-se o  $BF_3 \cdot Et_2O$  gota-a-gota e a mistura foi deixada agitando por 10 minutos a  $-78^\circ C$ . Posteriormente, a respectiva lactona (10 mmol) foi adicionada em uma única porção via seringa. A mistura reacional foi lentamente aquecida a temperatura ambiente, e então agitada por mais 1 hora. Depois, a reação foi tratada com solução saturada de  $NH_4Cl_{(aq)}$ , extraída com  $Et_2O$  (3x 30mL), a fase orgânica foi seca com  $Na_2SO_4$ , filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O bruto reacional foi utilizado na reação posterior sem prévia purificação.

## 5.6 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS SÍNTESES DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS 31-33

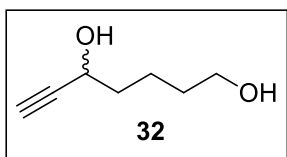
Num balão com capacidade para 30 mL contendo a respectiva hidróxi-alquinona (**28-30**) e uma mistura dos solventes MeOH:THF na proporção 1:1, foi adicionado 1,5 mol/equivalentes de  $NaBH_4$  (pulverizado) em porções. A mistura reacional foi deixada agitando por um tempo de 30 minutos. Em seguida, a reação foi tratada com água destilada, extraída com AcOEt (3x 20 mL), a fase orgânica foi seca com  $Na_2SO_4$ , filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado em coluna de gel de sílica com *n*-hexano:AcOEt (1:1), fornecendo os respectivos dióis em rendimentos na faixa de 85-88%.



**Hex-5-ino-1,4-diol 31:** Óleo; Rendimento: 0,97g (85%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.65-1.90 (4H, m), 2.46 (1H, d,  $J^4 = 2.4$  Hz), 2.83 (2H, s), 3.68 (2H, m), 4.44 (1H, td,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 2.4$  Hz).

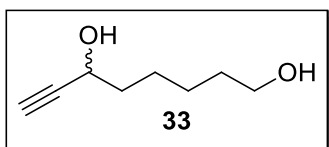
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  28.1, 34.6, 61.7, 62.3, 72.9, 84.7.



**Hept-6-ino-1,5-diol 32:** Óleo; Rendimento: 1,12g (87%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.45-1.65 (4H, m), 1.68-1.80 (2H, m), 2.45 (1H, d,  $J^4 = 1.8$  Hz), 2.66 (2H, s), 3.64 (2H, t,  $J^3 = 6$  Hz), 4.36 (1H, td,  $J^3 = 6$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  21.2, 31.9, 37.1, 61.8, 62.4, 72.7, 84.9.



**Oct-7-ino-1,6-diol 33:** Óleo; Rendimento: 1,25g (88%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  1.30-1.63 (6H, m), 1.65-1.78 (2H, m), 2.40 (2H, s), 2.66 (2H, s), 2.45 (1H, d,  $J^4 = 2.4$  Hz), 3.62 (2H, t,  $J^3 = 6.6$  Hz), 4.35 (1H, td,  $J^3 = 6.6$  Hz,  $J^4 = 2.4$  Hz).

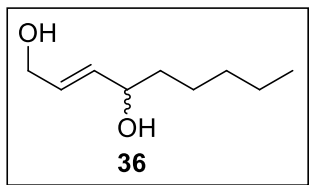
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  24.7, 25.3, 32.4, 37.4, 61.9, 62.6, 72.7, 85.0.

## 5.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA AS RESOLUÇÕES CINÉTICAS ENZIMÁTICAS DOS DIÓIS PROPARGÍLICOS TERMINAIS 31-33 EM ESCALAS ANALÍTICAS

Em um erlenmeyer com capacidade para 10 mL adicionou-se o diol propargílico (0,2 mmol), CAL-B (0,02 g), 3 mL de solvente (*n*-hexano ou *n*-hexano/THF (1:1)) e acetato de vinila (5 equiv., 1 mmol, 0,1 mL). A mistura reacional foi agitada em um *Shaker* a uma temperatura de 35 °C e rotação de 150 rotações por minuto (rpm). O progresso da resolução foi acompanhado via CG quiral, utilizando-se os correspondentes como padrões como referências.

## 5.8 SÍNTESE DO DIOL ALÍLICO 36

Em um balão com capacidade para 100 mL pesou-se 0,76g (20 mmol) de  $\text{LiAlH}_4$  (com cuidado!!!) e o sistema foi colocado sob fluxo de  $\text{N}_2$ . Depois adicionou-se ao balão 20 mL de THF(seco) e o sistema foi colocado num banho de gelo. Em seguida, uma solução do diol propargílico **20h** (1,56g, 10 mmol) em 10 mL de THF(seco) foi adicionada lentamente ao balão com ajuda de uma seringa. O mistura reacional foi agitada por cerca de 4 horas. Posteriormente, a reação foi tratada (cuidado, adição deve ser lenta!!!) com água destilada e solução 10% de NaOH. A mistura foi filtrada a vácuo em camada fina de celite, e lavada com AcOEt. A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrada e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado em coluna de gel de sílica com *n*-hexano:AcOEt (1:1), fornecendo o diol alílico **36** em rendimento de 89%.



**(E)-non-2-eno-1,4-diol 36:** Óleo; Rendimento: 1,41g (89%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.89 (3H, t,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.20-1.38 (6H, m), 1.40-1.60 (2H, m), 2.59 (2H, s), 4.05-4.20 (3H, m), 5.71 (1H, dd,  $J^3_{trans} = 15.6$  Hz,  $J^3 = 6.3$  Hz), 5.82 (1H, dt,  $J^3_{trans} = 15.6$  Hz,  $J^3 = 6.0$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  14.0, 22.5, 25.0, 31.7, 37.0, 62.7, 72.2, 129.6, 134.4.

## 5.9 SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO 36 COM PCC

Em um balão com capacidade para 20 mL adicionou-se 2g de PCC/Alumina (1mmol/g). Depois adicionou-se 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e deixou-se o sistema sob agitação. Em seguida, uma solução do diol alílico **36** (0,32g, 2 mmol) em 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi adicionado ao balão, e o progresso da reação foi acompanhado via CCD por um tempo de 4 horas. Posteriormente, a mistura reacional foi filtrada a vácuo sob camada fina de celite e lavado com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , e o filtrado foi evaporado. O bruto reacional foi então purificado em coluna de gel de sílica com *n*-hexano:AcOEt (4:1).

### 5.9.1 Preparação do clorocromato de piridínio suportado em alumina (PCC/ALUMINA)<sup>135</sup>

A uma solução de  $\text{CrO}_3$  (6,0g) em HCl 6,0M (11mL) contido em um becker foi adicionado piridina (4,75g) cuidadosamente durante 10 minutos a 40°C. Depois, a mistura foi resfriada a 10°C até um sólido amarelo-laranja ser formado. Posteriormente, a mistura foi reaquecida a 40°C fornecendo uma solução, e então alumina neutra (50g) foi adicionada a solução e a mistura é agitada a 40°C. Em seguida a solução foi evaporada em um evaporador rotativo, fornecendo um sólido de coloração laranja que foi seco a vácuo durante 2 horas a temperatura ambiente.

## 5.10 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO 36 COM $\text{MnO}_2$

Em um balão com capacidade para 20 mL contendo uma solução do diol alílico **36** (0,25 mmol) em 3 mL respectivo solvente (DCM, THF, acetonitrila, tolueno, acetona ou AcOEt), adicionou-se a quantidade adequada de mol/equivalentes do respectivo tipo de  $\text{MnO}_2$  (3, 10, 20, 30 e 40 mols equivalentes). As reações foram realizadas a temperatura ambiente e sobre aquecimento a 70° C. O progresso das reações foi acompanhado via CCD e por cromatografia gasosa acoplada a FID, por tempo conveniente (de 2h a 10 dias).

<sup>135</sup> Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5th Edition, **1989**, pag. 426.

### 5.10.1 Procedimentos para as preparações dos dióxidos de manganês ( $\text{MnO}_2$ )<sup>136</sup>

#### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SOBRE CONDIÇÃO NEUTRA ( $\text{MnO}_2$ (neutro))

A um becker foi adicionado 15mL de uma solução aquosa de  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (12g) e aquecida a 80°C. Depois, foi adicionada gota a gota 60 mL de uma solução aquosa de  $\text{KMnO}_4$  (9,6g) e a mistura foi agitada. Após 30 minutos o sistema foi aquecido a 100°C onde permaneceu por mais 30 minutos. Por fim, o precipitado foi filtrado e lavado à vácuo com água destilada, até a água sair incolor, e seco em estufa por 24 horas a 100°C.

#### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SUPORTADO EM ALUMINA SOBRE CONDIÇÃO NEUTRA ( $\text{MnO}_2$ (neutro/alumina))

Sobre 100g de alumina neutra contido em um Becker, foi adicionado 20mL de uma solução aquosa de  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (3g) gota a gota, e a mistura foi agitada durante 10 minutos. Então, 200mL de uma solução aquosa de  $\text{KMnO}_4$  (2g) foi adicionado a mistura a temperatura ambiente, e agitado durante 1 hora. Em seguida, o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, até a água sair incolor, e depois seco em estufa a 100°C durante 24 horas.

#### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SOBRE CONDIÇÃO BÁSICA ( $\text{MnO}_2$ (básico))

Em um Becker contendo 11,7ml de uma solução aquosa de NaOH 40% sob agitação vigorosa foi adicionado gota a gota 15mL de uma solução aquosa de  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (12g). Depois, o sistema foi aquecido a 80°C e 60 mL de uma solução aquosa de  $\text{KMnO}_4$  (9,6g) foi adicionada gota a gota a mistura, e então agitada durante 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi aquecida a 100°C durante 20 minutos, resfriada a temperatura ambiente, então o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, até a água sair incolor, e depois seco em estufa por 24 horas a 100°C.

---

<sup>136</sup> (a) Stavrescu, R.; Kimura, T.; Fujita, M.; Vinatoru, M.; Ando, T.; *Synth. Commun.*, **1999**, 29, 1719. (b) Fu, X.; Feng, J.; Wang, H.; Ming Ng, K.; *Catal. Commun.*, **2009**, 10, 1844.

### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SUPORTADO EM ALUMINA SOBRE CONDIÇÃO BÁSICA ( $\text{MnO}_2$ (básico/alumina))

Sobre 100g de alumina neutra contido em um Becker, foi adicionado 11,7ml de uma solução aquosa de NaOH 40%, e então a mistura foi agitada vigorosamente por 5 minutos. Depois, foi adicionado gota a gota 15mL de uma solução aquosa de  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (12g). Em seguida, o sistema foi aquecido a 80°C e 60 mL de uma solução aquosa de  $\text{KMnO}_4$  (9,6g) foi adicionada gota a gota a mistura, e então agitada durante 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi aquecida a 100°C durante 20 minutos, resfriada a temperatura ambiente, então o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, até a água sair incolor, e depois seco em estufa por 24 horas a 100°C.

### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SOBRE CONDIÇÃO ÁCIDA ( $\text{MnO}_2$ (ácido))

A um balão foi adicionado 8,5g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e 3,5g de  $\text{KMnO}_4$  e a mistura foi agitada durante 1 hora a temperatura ambiente. Depois, a mistura foi transferido para um Becker, e então 200mL de água destilada foi adicionado ao Becker e a mistura foi agitada a temperatura ambiente. Em seguida, 100mL de uma solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,0M foi adicionada gota a gota a essa mistura, e o sistema foi agitado por 17 horas. Posteriormente, o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada e depois com etanol, e seco em estufa a 100°C por 24 horas.

### PREPARAÇÃO DE DIÓXIDO DE MANGANÊS SUPORTADO EM ALUMINA SOBRE CONDIÇÃO ÁCIDA ( $\text{MnO}_2$ (ácido/alumina))

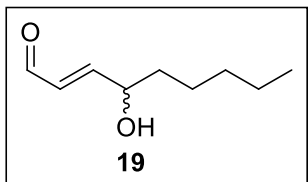
A um balão foi adicionado 8,5g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e 3,5g de  $\text{KMnO}_4$  e a mistura foi agitada durante 1 hora a temperatura ambiente. Depois, a mistura foi transferido para um Becker contendo 100g de alumina neutra sob agitação, e então 200mL de água destilada foi adicionado ao Becker e a mistura foi agitada a temperatura ambiente. Em seguida, 100mL de uma solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,0M foi adicionada gota a gota a essa mistura, e o sistema foi agitado por 17 horas. Posteriormente, o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada e depois com etanol, e seco em estufa a 100°C por 24 horas.

### 5.11 SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO **36** COM CuCl/TEMPO

Em um balão contendo uma solução do diol alílico **36** (1 mmol) em 2 mL de DMF, foi adicionado 0,01g de CuCl (0,1 mmol) e 0,015g de TEMPO (0,1 mmol). Essa mistura foi agitada por 2 horas sobre uma atmosfera de oxigênio (1 atm), seguida de extração com AcOEt (3 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 5 mL), separada, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e então o solvente foi evaporado. O bruto reacional foi purificado em coluna de gel de sílica usando uma mistura de n-hexano/AcOEt na proporção de 4:1 como eluente, fornecendo o produto 4-HNE **19** em 80% de rendimento.

### 5.12 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DO 4-HNE A PARTIR DA OXIDAÇÃO DO DIOL ALÍLICO **36** COM LACASE/TEMPO

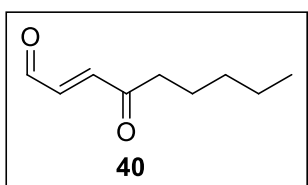
Em um erlenmeyer de 30 mL contendo uma solução do diol alílico **36** (0,1 mmol) em 5 mL de uma solução tampão de AcONa com pH adequado (3,6, 4,0, 4,4, 4,8 e 5,6), foi adicionado 25U de lacase (5U/mL) (para lacase de *Trametes Versicolor* = 25U = 2,5 mg; para lacase de *Pleurotus Ostreatus* = 25U = 6 mg) e 0,03 mmol de TEMPO (5 mg). Então, as reações colocadas sobre agitação em um agitador orbital a uma rotação de 160 rpm, usando temperaturas de 25 °C, 30 °C e 40 °C. Foram retiradas alíquotas das reações em tempos de 2 horas e 24 horas, e o progresso das reações foi acompanhado via cromatografia gasosa.



**(E)-4-hidroxinon-2-enal (4-HNE) 19:** Óleo; 0,125g (80%);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.91 (3H, t,  $J^3 = 6.9$  Hz), 1.20-1.58 (6H, m), 1.60-1.75 (2H, m), 1.83 (2H, s), 4.42-4.50 (1H, m), 6.32 (1H, ddd,  $J^3_{trans} = 15.6$  Hz,  $J^3 = 8.1$  Hz,  $J^4 = 1.8$  Hz), 6.84 (1H, dd,  $J^3_{trans} = 15.6$  Hz  $J^3 = 5.0$  Hz), 9.60 (1H, d,  $J^3 = 8.1$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  13.9, 22.5, 24.8, 31.5, 36.4, 71.1, 130.5, 159.0, 193.6.



**(E)-4-oxonon-2-enal 40:** Óleo;

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  0.91 (3H, t,  $J^3 = 6.6$  Hz), 1.20-1.50 (6H, m), 2.70 (2H, t,  $J^3 = 7.5$  Hz), 6.70-7.0 (2H, m), 9.79 (1H, d,  $J^3 = 6.9$  Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  22.3, 23.2, 31.1, 41.1, 137.2, 144.9, 193.4, 200.1.

## REFERÊNCIAS

1. Johannes, T.; Simurdiak, M. R.; Zhao, H.; *Biocatalysis*, "Encyclopedia of Chemical Processing", Taylor & Francis, **2007**, pág. 101.
2. Ghanem, A.; *Tetrahedron*, **2007**, 63, 1721.
3. Payen, A.; Persoz, J. F.; *Ann. Chim. Phys.*, **1833**, 53, 73.
4. Hoffmann-Ostenhof, O.; *Enzymologie*; Springer: Wien, **1954**.
5. (a) Pasteur, L. C. R.; *Seances Acad. Sci.*, **1858**, 46, 615. (b) Gal, J.; *Chirality*, **2008**, 20, 5.
6. (a) Buchner, E.; *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1897**, 36, 117. (b) Jaenicke, L.; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, 46, 6776.
7. (a) Rosenthaler, L.; *Biochem. Z.*, **1908**, 14, 238. (b) Dadashipour, M.; Asano, Y.; *ACS Catal.*, **2011**, 1, 1121. (c) Effenberger, F.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 1555.
8. Hogg, J. A.; *Steroids*, **1992**, 57, 593.
9. Glick, B. R.; Pasternak, J. J.; Patten, C. L.; *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. ASM Press: Washington, DC, **2010**.
10. Ema, T.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 2765–2770.
11. Lehninger, A.; *Biochemistry*, Worth Publ Inc, New York, 6ª edição, **2013**.
12. Kindel, S.; *Technology*, **1981**, 1, 62.
13. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, Enzyme Nomenclature. Academic Press, New York, **1992**.
14. Faber, K.; *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 6<sup>th</sup> ed., **2011**.
15. (a) Wolfenden, R.; Snider, M.J.; *Acc. Chem. Res.*, **2001**, 34, 938. (b) Garcia-Junceda, E.; *Multi-step Enzyme Catalysis*. Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
16. Milner, S. E.; Maguire, A. R.; *Arkivoc*, **2012**, 321.
17. Khersonsky, O.; Tawfik, D. S.; *Annu. Rev. Biochem.*, **2010**, 79, 471–505.
18. (a) Koshland, D. E.; *Nature*, **2004**, 432, 447. (b) Koshland, D. E.; Neet, K.E.; *Annu. Rev. Biochem.*, **1968**, 37, 359.
19. Ogston, A.G.; *Nature*, **1948**, 162, 963.
20. Kraut, J.; *Science*, **1988**, 242, 533.
21. (a) Georlette, D.; Blaise, V.; Collins, T.; D\_Amico, S.; Gratia, E.; Hoyoux, A.; Marx, J.C.; Sonan, G.; Feller, G.; Gerday, C.; *FEMS Microbiology Reviews*, **2004**, 28, 25. (b) Lonhienne, T.; Gerday, C.; Feller, G.; *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1543, 1.
22. Ottosson, J.; Rotticci-Mulder, J. C.; Rotticci, D.; Hult K.; *Protein Science*, **2001**, 10, 1769
23. Gotor-Fernández, V.; Brieva, R.; Gotor, V.; *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **2006**, 40, 111.

24. (a) Guan, Z.; Fu, J.P.; He, Y.H.; *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 4959. (b) Li, C.; Feng, X.W.; Wang, N.; Zhou, Y.J.; Yu, X.Q.; *Green Chem.*, **2008**, 10, 616.
25. Kirchner, G.; Scollar, M. P.; Klibanov, A. M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 7072.
26. (a) Gotor-Fernández, V.; Busto, E.; Gotor, V.; *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, 348, 797. (b) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3331. (c) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y.; *Chirality*, **2005**, 17, 1.
27. Brabcova, J.; Filice, M.; Gutarra, M.; Palomo, J. M.; *Curr. Bio. Compd.*, **2013**, 9, 113.
28. Hanefeld, U.; *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 2405.
29. Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A.; *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656.
30. (a) Chen, C.-S.; Wu, S.-H.; Girdaukas, G.; Sih, C. J.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 2812. (b) Chen, C.-S.; Sih, C. J.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1989**, 28, 695.
31. Straathof, A. J. J.; Jongejan, J. A.; *Enzyme Microb. Technol.*, **1997**, 21, 559.
32. (a) Raza, S.; Fransson, L.; Hult, K.; *Protein Science*, **2001**, 10, 329. (b) Hæffner, F.; Norin, T.; Hult, K.; *Biophys. J.*, **1998**, 74, 1251.
33. (a) Ema, T.; *Curr. Org. Chem.*, **2004**, 8, 1009. (b) Kwon, H. C.; Shin, D. Y.; Lee, J. H.; Kim, S. W.; Kang, J. W.; *J. Microbiol. Biotechnol.*, **2007**, 17, 1098.
34. (a) Khomutov, S. M.; Shutov, A. A.; Chernikh, A. M.; Myasoedova, N. M.; Golovleva, L. A.; Donova, M. V.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2016**, 123, 47. (b) Senthivelan, T.; Kanagaraj, J.; Panda, R. C.; *Biotech. Bioprocess Eng.*, **2016**, 21, 19.
35. Upadhyay, P.; Shrivastava, R.; Agrawal, P. K.; *Biotech.*, **2016**, 6, 15.
36. Dwivedi, U. N.; Singh, P.; Pandey, V. P.; Kumar, A.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2011**, 68, 117.
37. Riva, S.; *Trends Biotech.*, **2006**, 24, 219.
38. Hayes, J. D.; Flanagan, J. U.; Jowsey, I. R.; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2005**, 45, 51.
39. Lumjuan, N.; Stevenson, B. J.; Prapanthadara, L.; Somboon, P.; Brophy, P. M.; Loftus, B. J.; Severson, D. W.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2007**, 37, 1026.
40. Liska, D. J.; *Altern. Med. Rev.*, **1998**, 3, 187.
41. (a) Lumjuan, N.; Rajatileka, S.; Changsom, D.; Wicheer, J.; Leelapat, P.; Prapanthadara, L.; Somboon, P.; Lycett, G.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2011**, 41, 203. (b) Hemingway, J.; Ranson, H.; *Annu. Rev. Entomol.*, **2000**, 45, 371.
42. (a) Weill, M.; Lutfalla, G.; Mogensen, K.; Chandre, F.; Berthomieu, A.; Berticat, C.; Pasteur, N.; Philips, A.; Fort, P.; Raymond, M.; *Nature*, **2003**, 423, 136. (b) Hemingway, J.; Field, L.;

- Vontas, J.; *Science*, **2002**, 298, 96. (c) Brogdon, W. G.; McAllister, J. C.; *Emerg. Infect. Dis.*, **1998**, 4, 605.
43. Clark, A.G.; Shamaan, N.A.; *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1984**, 22, 249.
44. Enayati, A. A.; Ranson, H.; Hemingway, J.; *Insect Mol. Biol.*, **2005**, 14, 3.
45. Ranson, H.; Rossiter, L.; Ortell, F.; Jensen, B.; Wang, X.; Roth, C. W.; Collins, F. H.; Hemingway, J.; *Biochem. J.*, **2001**, 359, 295.
46. Hemingway, J.; Hawkes, N. J.; McCarroll, L.; Ranson, H.; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **2004**, 34, 653.
47. Armstrong, R.N.; *Chem. Res. Toxicol.*, **1991**, 4, 131.
48. Blaser, H.-U.; *Rend. Fis. Acc. Lincei*, **2013**, 24, 213.
49. (a) Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T.; *Science*, **1977**, 197, 789. (b) Stephen, C. S.; *Chem. Eng. News*, **2001**, 79, 79. (c) Breuer, M.; Ditrach, K.; Habicher, T.; Hauer, B.; Kessler, M.; Stümer, R.; Zelinski, T.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 788.
50. Parker, D.; *Chem. Rev.*, **1991**, 91, 1441.
51. Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova*, **2001**, 24, 683.
52. (a) Ali, I.; Gupta, V. K.; Aboul-Enein, H. Y.; Singh, P.; Sharma, B.; *Chirality*, **2007**, 19, 453. (b) Eriksson, T.; Bjorkman, S.; Roth, B.; Fyge, A.; Hoglund, P.; *Chirality*, **1995**, 7, 44.
53. (a) Pelletier D. L.; *Nutr. Rev.*, **2005**, 63, 171; (b) *US Food & Drug Administration (2004) Pharmaceutical Current Good Manufacturing Practices (cGMPs) for the 21<sup>st</sup> Century – a Risk-Based Approach: Final Report.*
54. (a) Santos, E. C.; Ferreira, M. A.; *Revista Nexos Econômicos*, **2012**, 7, 95. (b) 2016 Global life sciences outlook, *Moving forward with cautious optimism*. Deloitte, **2016**. (c) *Top 10 Pharma Companies in World 2015*, fonte de pesquisa na web: <http://www.mbaskool.com/fun-corner/top-brand-lists/13558-top-10-pharmaceutical-companies-in-world-2015.html?limitstart=0>, pesquisado em 18/04/2016.
55. Fonte web: <http://sbcc.com.br/brasil-ocupa-a-7a-posicao-no-ranking-mundial-do-mercado-de-medicamentos/>, pesquisado em 18/04/2016.
56. Fonte web: <http://www.interfarma.org.br/guia2015/site/guia/index.php?val=34&titulo=Dados%20de%20mercado>, pesquisado em 18/04/2016.
57. Rougf, A.; Taneja, S. C.; *Chirality*, **2014**, 26, 63.
58. Minto, R. E.; Blacklock, B. J.; *Prog. Lip. Res.*, **2008**, 47, 233.
59. Listunov, D.; Maraval, V.; Chauvin, R.; Genisson, Y.; *Nat. Prod. Rep.*, **2015**, 32, 49.

60. Hofmeister, H.; Annen, K.; Laurent, H.; Petzoldt, K.; Wiechert, R.; *Arzneim. Forsch.*, **1986**, 36, 781.
61. Thompson, A. S.; Corley, E. G.; Huntington, M. F.; Grabowski, E. J. J.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 8937.
62. Shin, J.; Seo, Y.; Cho, K. W.; Rho, J. R.; *Tetrahedron*, **1998**, 54, 8711.
63. Kobayashi, J.; Naitoh, K.; Ishida, K.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; *J. Nat. Prod.*, **1994**, 57, 1300.
64. Arnone, A.; Nasini, G.; Pava, O. V. *Phytochemistry* **2000**, 53, 1087-1090.
65. (a) Liu, F.; Zhong, J.; Li, S.; Li, M.; Wu, L.; Wang, Q.; Mao, J.; Liu, S.; Zheng, Wang, M.; Bian, Q. *J. Nat. Prod.* **2016**, 79, 244-247. (b) Ankisetty, S; Slattery, M. *Mar. Drugs* **2012**, 10, 1037-1043.
66. (a) Esterbauer, H.; Schaur, R. J.; Zollner, H.; *Free Radic. Biol. Med.*, **1991**, 11, 81. (b) Redox Biology 1 (2013) 145–152.
67. Petersen, D. R.; Doorn, J. A.; *Free Radic. Biol. Med.*, **2004**, 37, 937.
68. Yang, Y.; Sharma, R.; Sharma, A.; Awasthi, S.; Awasthi, Y.C.; *Acta Biochim. Pol.*, **2003**, 50, 319.
69. (a) Lima, E. S.; Abdalla, D. S. P.; *Brazilian J. Pharm. Sci.*, **2001**, 37, 293. (b) Schneider, C.; Porter, N. A.; Brash, A. R.; *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 15539. (c) Shoeb, M.; Ansari, N. H.; Srivastava, S. K.; Ramana, K. V.; *Curr. Med. Chem.*, **2014**, 21, 230.
70. Poli, G.; Schaur, R. J.; *IUBMB Life*, **2000**, 50, 315.
71. Chen, Z. H.; Niki, E.; *IUBMB Life*, **2006**, 58, 372.
72. Sawicki, R.; Singh, S. P.; Mondal, A. K.; Benes, H.; Zimniak, P.; *Biochem J.*, **2003**, 370, 661.
73. (a) Poli, G.; Biasi, F.; Leonarduzzi, G.; *Mol. Asp. Med.*, **2008**, 29, 67. (b) Petersen, D. R.; Door, J. A.; *Free Radic. Biol. Med.*, **2004**, 37, 937. (c) Zarkovic, N.; *Mol. Asp. Med.*, **2003**, 24, 281.
74. (a) Pryor, W.A.; Porter, N.A.; *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, 8, 541. (b) Esterbauer, H., Schaur, R.J., and Zoliner, H.; *Free Radic. Biol. Med.* **1991**, 11, 81. (c) Sodum, R.S., and Chung, F.; *Cancer Res.*, **1988**, 48, 320.
75. Fontes da web: (a) <http://www.scbt.com/datasheet-202019-4-hydroxynonenal.html>. (b) <http://www.caymaneurop.com/app/template/Product.vm/catalog/32100/a/z>. Pesquisado em 18/04/2016.
76. Grée, R.; Tourbah, H.; Carrié, R.; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4983.
77. Gardner, H. W.; Bartelt, R. J.; Weisleder, D.; *Lipids*, **1992**, 27, 686.

78. Matshusita, Y-I; Sugamoto, K.; Nakama, T.; Sakamoto, T.; Matsui, T.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 1879.
79. Kurangi, R. F.; Tilve, S. G.; Blair, I. A.; *Lipids*, **2006**, 41, 877.
80. Soulère, L.; Queneau, Y.; Doutheau, A.; *Chem. Phys. Lipids*, **2007**, 150, 239.
81. Todos os testes de atividades antitumorais foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Teresinha Gonçalves do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.
82. Os testes bioquímicos serão realizados pelo grupo de pesquisa da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Constância Ayres, do Departamento de Entomologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM-FIOCRUZ. Resultados iniciais desse trabalho de testes bioquímicos, resultaram em parte da dissertação de mestrado da aluna Elisama Helvecio, apresentada no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM-FIOCRUZ, Recife, 2014.
83. (a) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry*. Elsevier, 2<sup>a</sup> Ed., pág. 79, **1998**. (b) Yamaguchi, M.; Hirao, I.; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 391.
84. Isenmann, A. F.; *Princípios da Síntese Orgânica*. Armin Franz Isenmann – Timóteo/MG, 2<sup>a</sup> Edição, **2013**.
85. Baranac-Stojanović, M.; Koch, A.; Kleinpeter, E.; *Chem. Eur. J.*, **2012**, 18, 370.
86. Hartley, F. R.; *The chemistry of the Metal-Carbon bond*, Molander, G. A., John Wiley and Sons: England, **1989**, 5, Capítulo 8, pg. 319.
87. (a) Imamoto, T.; Kusumoto, T.; Yokoiama, M.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*; **1982**, 1042. (b) Imamoto, T.; Kusumoto, T.; Tawarayama, Y.; Sugiura, Y.; Mita, T.; Hatanaka, Y.; Yokoyama, M.; *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 3904.
88. (a) Brandsman, L.; *Preparative acetylenic chemistry*. Elsevier, 2<sup>a</sup> Ed., pág. 79, **1998**. (b) Li, J.; Kong, W.; Fu, C.; Ma, S.; *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 5104; (c) Ferreira, J. G.; Princival, C. R.; Oliveira, D. M.; Nascimento, R. X.; Princival, J. L.; *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13, 6458.
89. Evans, D. F.; Fazakerley, G. V.; Phillips, R. F.; *J. Chem. Soc.*, **1971**, 1931.
90. Os resultados desse trabalho estão em processo de escrita para publicação.
91. (a) Ferreira, H. V.; Rocha, L. C.; Severino, R. P.; Porto, A. L. M.; *Molecules*, **2012**, 17, 8955. (b) Chojnacka, A.; Obara, R.; Wawrzenczyk, C.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2007**, 18, 101. (c) Rocha, L. C.; Rosset, I. G.; Luiz, R. F.; Raminelli, C.; Porto, A. L. M.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2010**, 21, 926. (d) Rocha, L. C.; Rosset, I. G.; Melgar, G. Z.; Raminelli, C.; Porto, A. L. M.; Jeller, A. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2013**, 24, 1427. (e) Andrade, L. H.; Barcellos, T.; *Org. Lett.*, **2009**, 14, 3052. (f) Comasseto, J. V.; Santos, A. A.; Costa, C. E.; Princival, J. L.; *Tetrahedron:*

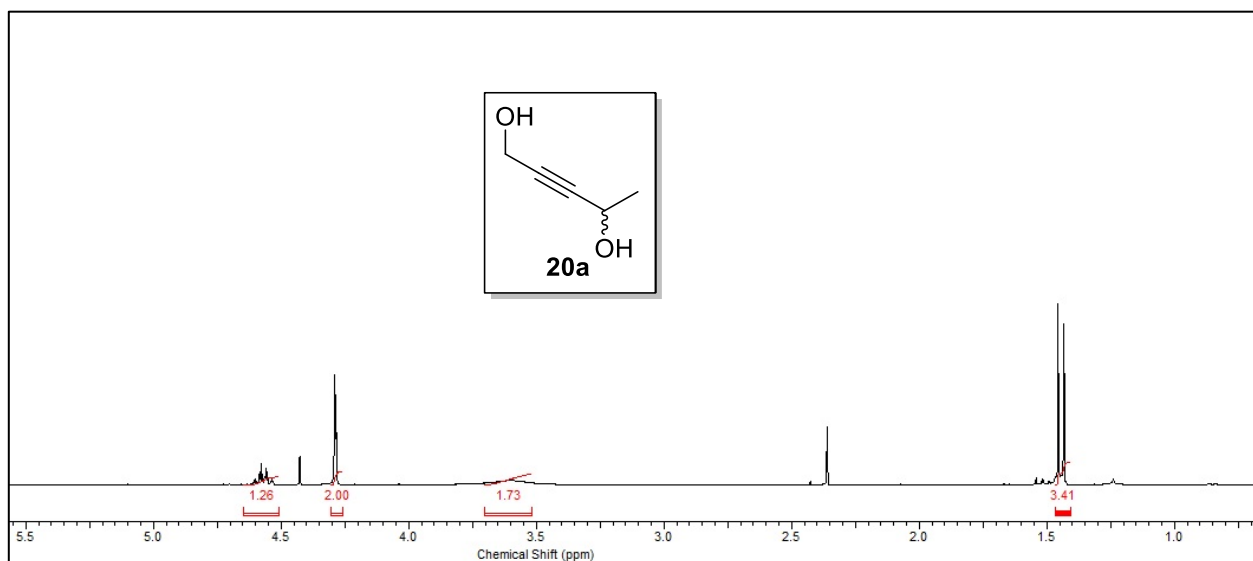
- Asymmetry*, **2006**, *17*, 2252. (g) Comasseto, J. V.; Costa, C. E.; Clososki, G.; Zanotto, S.; Nascimento, M. G.; Barchesi, H. B.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 3945.
92. (a) Morgan, B.; Oehlschlager, A. C.; Stokest, T. M.; *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 3231. (b) waldinger, C.; Schneider, M.; Botta, M.; Corelli, F.; Summa, V.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, *7*, 1485. (c) Xu, D.; Li, Z.; Ma, S.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 3657. (d) Xu, D.; Li, Z.; Ma, S.; *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 6343. (e) Raminelli, C.; Comasseto, J. V.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 3117. (f) Chen, P.; *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, **2013**, *97*, 184.
93. (a) Amador, M.; Ariza, X.; Garcia, J.; Sevilla, S.; *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 4511. (b) Amador, M.; Ariza, X.; Garcia, J.; Ortiz, J.; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 2691. (c) Ariza, X.; Bach, J.; Berenguer, R.; Farras, J.; Fontes, M.; Garcia, J.; Lopez, M.; Ortiz, J.; *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 5307. (d) Liu, S.; Kim, J. T.; Dong, C.G.; Kishi, Y.; *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4520. (e) Serra, S.; Cominetti, A. A.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, *24*, 1110. (f) Reddy, A. S.; Srihari, P.; *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 6370. (g) Srihari, P.; Reddy, A. S.; Yadava, J. S.; Yedlapudi, D.; Kalivendi, S. V.; *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 5616.
94. Jing, Q.; Kazlauskas, R. J.; *Chirality*, **2008**, *20*, 724.
95. (a) Xu, S.; Held, I.; Kempf, B.; Mayr, H.; Steglich, W.; Zipse, H.; *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 4751. (b) Klemenc, S.; *Forensic Sci. Int.*, **2002**, *129*, 194.
96. (a) Costa, V. E. U.; Amorim, H. L. N.; *Quím. Nova*, **1999**, *22*, 863. Mezzetti, A.; Keith, C.; Kazlauskas, R. J.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 3917; (c) Duan, Z.Q.; Du, W.; Liu, D.H.; *Biores. Technol.*, **2011**, *102*, 11048.
97. Fischer, C. B.; Xu, S.; Zipse, H.; *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 5779.
98. Resultados publicados: Ferreira, J. G.; Princival, C. R.; Oliveira, D. M.; Nascimento, R. X.; Princival, J. L. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 6458-6462 (DOI: 10.1039/C5OB00386E).
99. Fishman, A.; Eroshov, M.; Dee-Noor, S.S.; Van Mil, J.; Cogan, U. Effenberger, R.; *Biotechnol Bioeng.*, **2001**, *74*, 256.
100. Trost, B. M.; Quintard,, A.; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, *51*, 6704.
101. Chang, X.-W.; Zhang, D.-W.; Chen, F.; Dong, Z.-M.; Yang, D.; *Synlett*, **2009**, 3159.
102. Hu, S.; Hager, L. P.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 872.
103. Harada, S.; Takita, R.; Ohshima, T.; Matsunaga, S.; Shibasaki, M.; *Chem. Commun.*, **2007**, 948.
104. Wada, K.; Ishida, T.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1979**, 1154.

105. Seehafer, K.; Rominger, F.; Helmchen, G.; Langhans, M.; Robinson, D. G.; Ozatä, B.; Brügger, B.; Strating, J. R. P. M.; van Kuppeveld, F. J. M.; Klein, C. D.; *J. Med. Chem.*, **2013**, 56, 5872.
106. Edegger, K.; Stampfer, W.; Seisser, B.; Faber, K.; Mayer, S. F.; Oehrlein, R.; Hafner, A.; Kroutil, W.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1904.
107. Arnore, A.; Nasini, G.; Pava, O. V.; *Phytochem.*, **2000**, 53, 1087.
108. Todos os testes de atividades antitumorais foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Teresinha Gonçalves do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.
109. (a) Alley, M. C.; Scudiero, D. A.; Monks, A.; Hursey, M. L.; Czerwinski, M. J.; Fine, D. L.; Abbott, B. J.; Mayo, J. G.; Shoemaker, R. H.; Boyd, M. R.; *Cancer Res.*, **1988**, 48, 589. (b) Scudiere, D. A.; Shoemaker, R. H.; Paul, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R.; *Cancer Res.*, **1988**, 48, 4827. (c) Mosmann, T.; *J. Immunol. Methods*, **1983**, 65, 55.
110. Tacara, O.; Srimornsakb, P.; Dassa, C. R.; *J. Pharm. Pharmacol.*, **2013**, 65, 157.
111. Resultados publicados: Princival, I. M. R. G.; Ferreira, J. G.; Silva, T. G.; Aguiar, J. S.; Princival, J. L.; *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **2016**, 26, 2839 (doi:10.1016/j.bmcl.2016.04.060).
112. (a) Ogura, H.; Takahashi, H.; Itoh, T.; *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 72. (b) Cavicchioli, S.; Savoia, D.; Trombini, C.; Umani-Ronchi, A.; *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 1246.
113. (a) Ho, T.L.; *Chem. Rev.*, **1975**, 75, 1. (b) Liotta, D.; Santiesteban, H.; *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 18, 4369.
114. Gilman, H.; Kirby, R. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1933**, 55, 1265.
115. Midland, M. M.; *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 2250.
116. Doubský, J.; Ludvík, S.; Lešetický, L.; Koutek, B.; *Synlett*, **2003**, 937.
117. Brown, H. C.; Mead, E. J.; Rao, B. C. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 6209.
118. Este trabalho deverá ser conduzido por um aluno de iniciação científica do nosso grupo de pesquisa.
119. *Modern Oxidation Methods*, 2nd edn., (Ed.: J.-E. Bäckvall), Wiley-VCH, Weinheim, 2011.
120. (a) Grant, B.; Djerassi, C.; *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 968. (b) Corey, E. J.; Kalzeneilenbogen, J. A.; Posner, G. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 4245.
121. (a) Patel, S.; Mishra, B. K.; *Tetrahedron*, **2007**, 63, 4367. (b) Tojo, G.; Fernandez, M.; *Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones*. Springer. **2006**.
122. Rao, P. S. C.; Suri, D.; Kothari, S.; Banerji, K. K.; *Int. J. Chem. Kinet.*, **1998**, 30, 285.

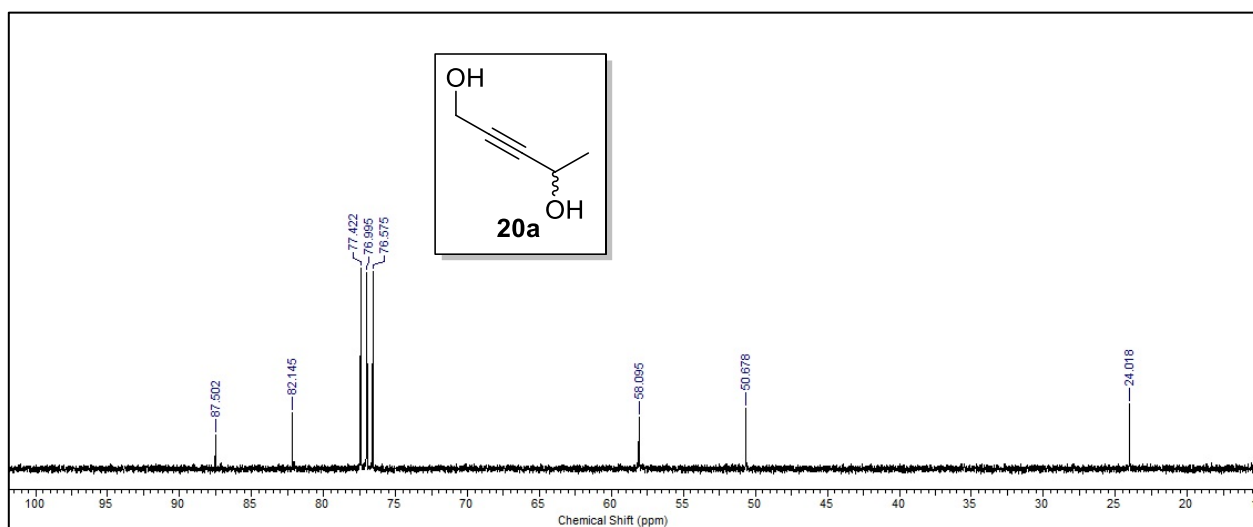
123. (a) Lou, J.D.; Ge, J.; Zou, X.N.; Zhang, C.; Wang, Q.; Ma, Y.C.; *Oxid. Comm.*, **2011**, 34, 361. (b) Lou, J.D.; Xu, Z.N.; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 6149. (c) Blackburn, L.; Wei, X.; Taylor, R. J. K.; *Chem. Commun.*, **1999**, 1337. (d) Hirano, M.; Yakabe, S.; Chikamori, H.; Clark, J. H.; Morimoto, T.; *J. Chem. Research (S)*, **1998**, 770. (e) Gritter, R. J.; WALLACE, T. J.; *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1051.
124. (a) Kimura, T.; Fujita, M.; Ando, T.; *Chem. Lett.*, **1988**, 1387. (b) Cohen, N.; Banner, B. L.; Blount, J. F.; Tsai, M.; Saucy, G.; *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 3229.
125. (a) Stavrescu, R.; Kimura, T.; Fujita, M.; Vinatoru, M.; Ando, T.; *Synth. Commun.*, **1999**, 29, 1719. (b) Fu, X.; Feng, J.; Wang, H.; Ng, K. M.; *Catal. Commun.*, **2009**, 10, 1844.
126. Clark, J. H.; *Catalysis of Organic Reactions by Supported Inorganic Reagents*, VCH, New York, **1994**.
127. Ekoue-Kovi, K.; Wolf, C.; *Chem. Eur. J.*, **2008**, 14, 6302.
128. a) Nishimura, T.; Onoue, T.; Ohe, K.; Uemura, S.; *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 6750. b) Dijkman, A.; Marino-Gonzalez, A.; Payeras, A. M.; Arends, I. W. C. E.; Sheldon, R. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 6826.; c) Gligorich, K. M.; Sigman, M. S.; *Chem. Commun.*, **2009**, 3854. d) Endo, Y.; Ckval, J.-E. B.; *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 12596. e) Cardona, F.; Parmeggiani, C.; *Green Chem.*, **2012**, 14, 547.
129. a) Semmelhack, M. F.; Schmid, C. R.; Cortes, D. A.; Chou, C. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 3374. b) Mark, I. E.; Giles, P. R.; Tsukazaki, M.; Brown, S. M.; Urch, C. J.; *Science*, **1996**, 274, 2044. c) Gamez, P.; Arends, I.W. C. E.; Sheldon, R. A.; Reedijk, J.; *Adv. Synth. Catal.*, **2004**, 346, 805. (d) Hoover, J. M.; Stahl, S. S.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 16901. (e) Allen, S. E.; Walvoord, R. R.; Padilla-Salinas, R.; Kozlowski, M. C.; *Chem. Rev.*, **2013**, 113, 6234.
130. (a) Ho, X-H.; Oh, H-J.; Jang, H-Y.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 5655. (b) Ryland, B. L.; Stahl, S. S.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 8824.
131. a) Fabbrini, M.; Galli, C.; Gentili, P.; Macchitella, D.; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 7551. b) Arends, I. W. C. E.; Li, Y.-X.; Ausan, R.; Sheldon, R. A.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 6659. c) Díaz-Rodríguez, A.; Lavandera, I.; Kanbak-Aksu, S.; Sheldon, R. A.; Gotor, V.; Gotor-Fernández, V.; *Adv. Synth. Catal.*, **2012**, 354, 3405.
132. Os resultados desse trabalho estão em processo de escrita para publicação.
133. Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of laboratory chemicals*, Pergamon, New York, **1988**.
134. Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A.; *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2923.
135. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Edition, **1989**, pag. 426.

136. (a) Stavrescu, R.; Kimura, T.; Fujita, M.; Vinatoru, M.; Ando, T.; *Synth. Commun.*, **1999**, 29, 1719. (b) Fu, X.; Feng, J.; Wang, H.; Ming Ng, K.; *Catal. Commun.*, **2009**, 10, 1844.

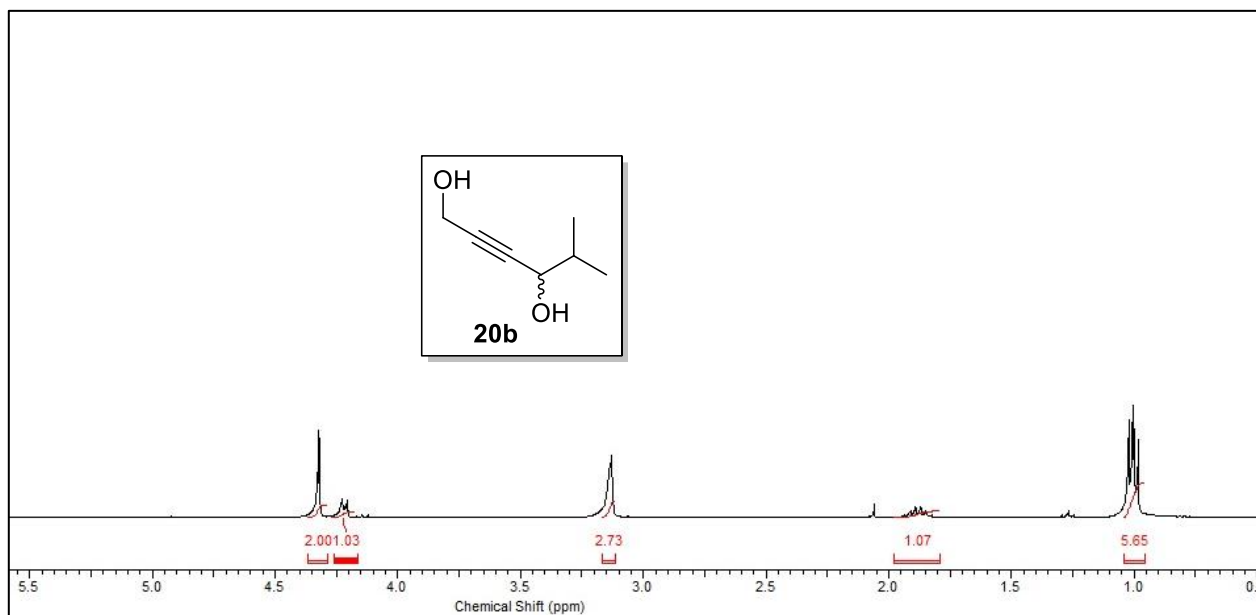
## ANEXOS



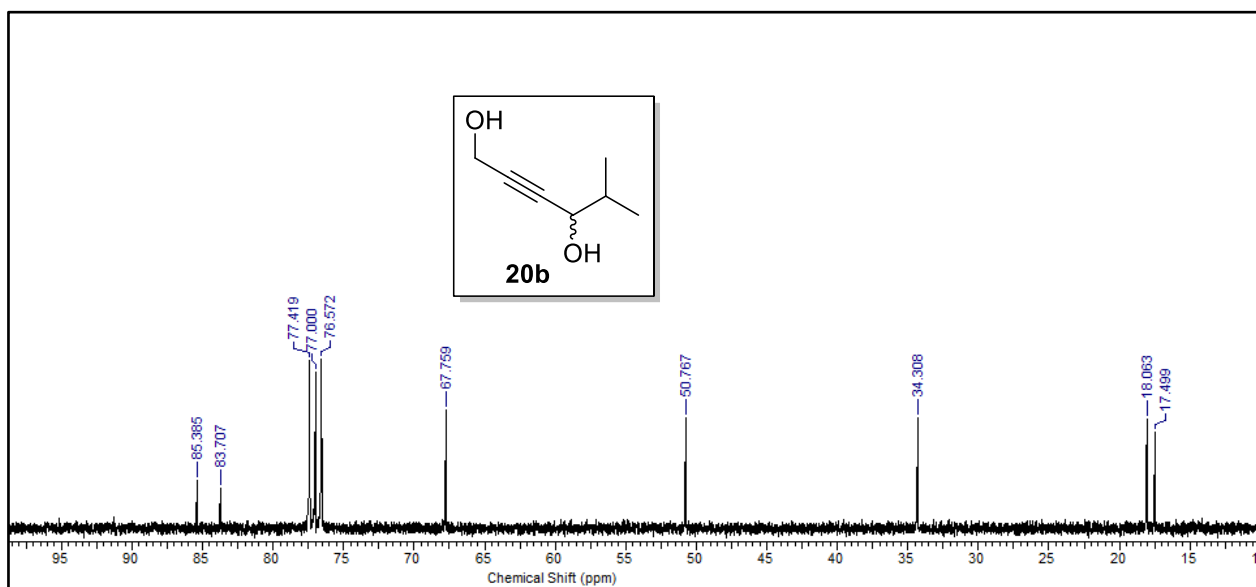
**Anexo 1:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do pent-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20a**.



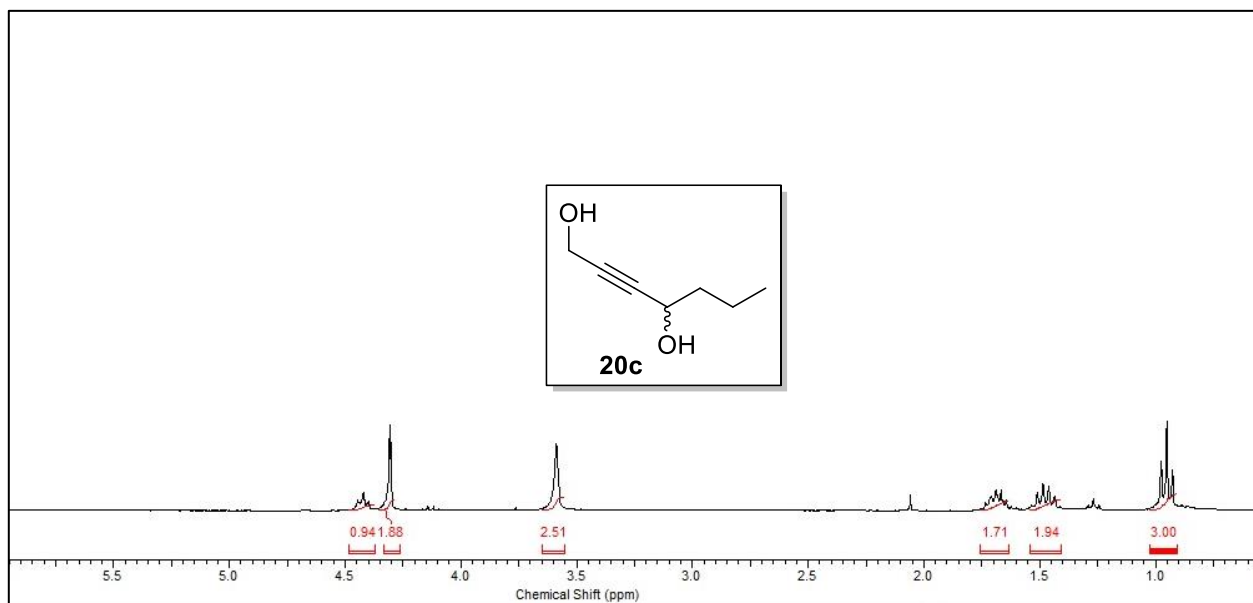
**Anexo 2:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do pent-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20a**.



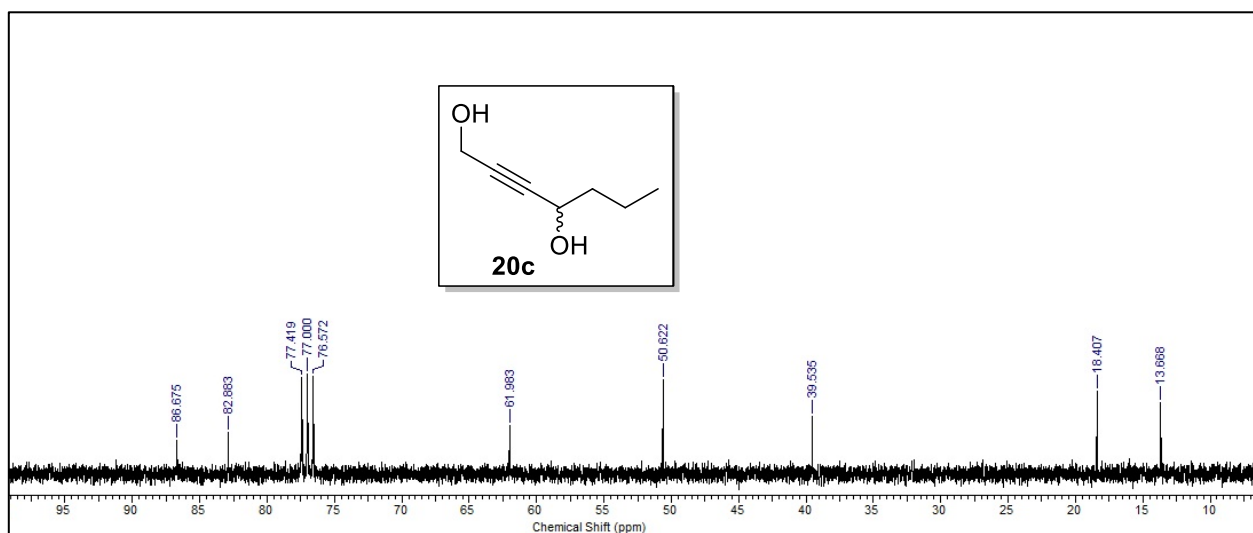
**Anexo 3:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 5-metilhex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20b**.



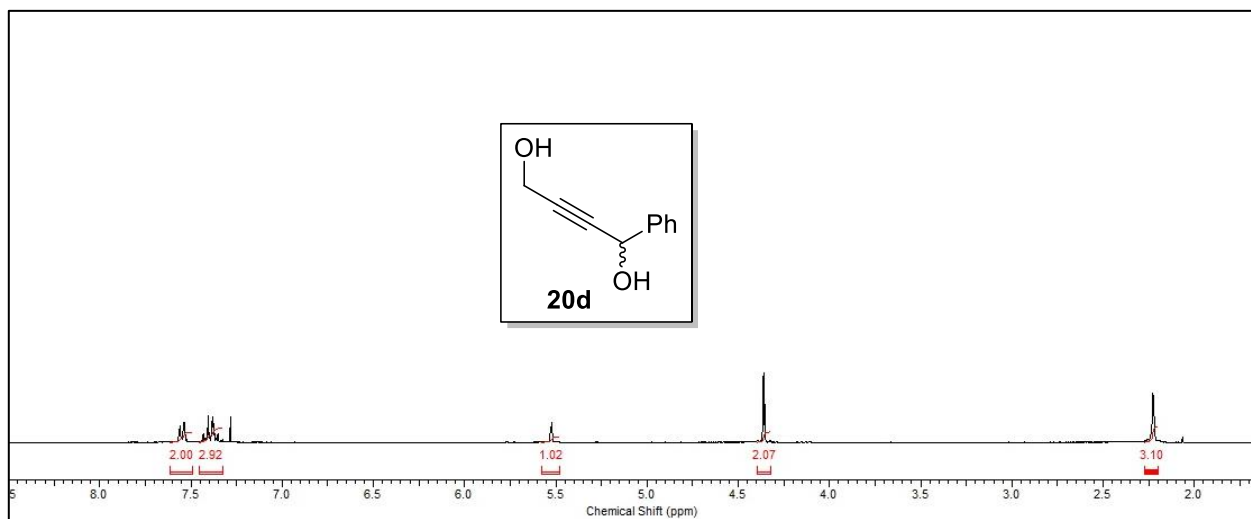
**Anexo 4:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 5-metilhex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20b**.



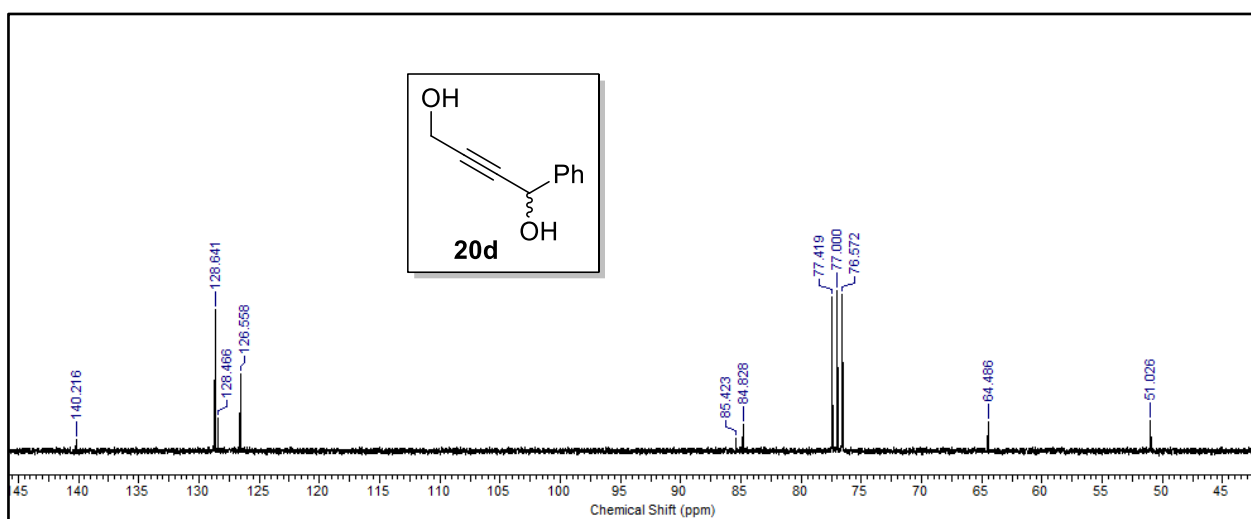
**Anexo 5:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20c**.



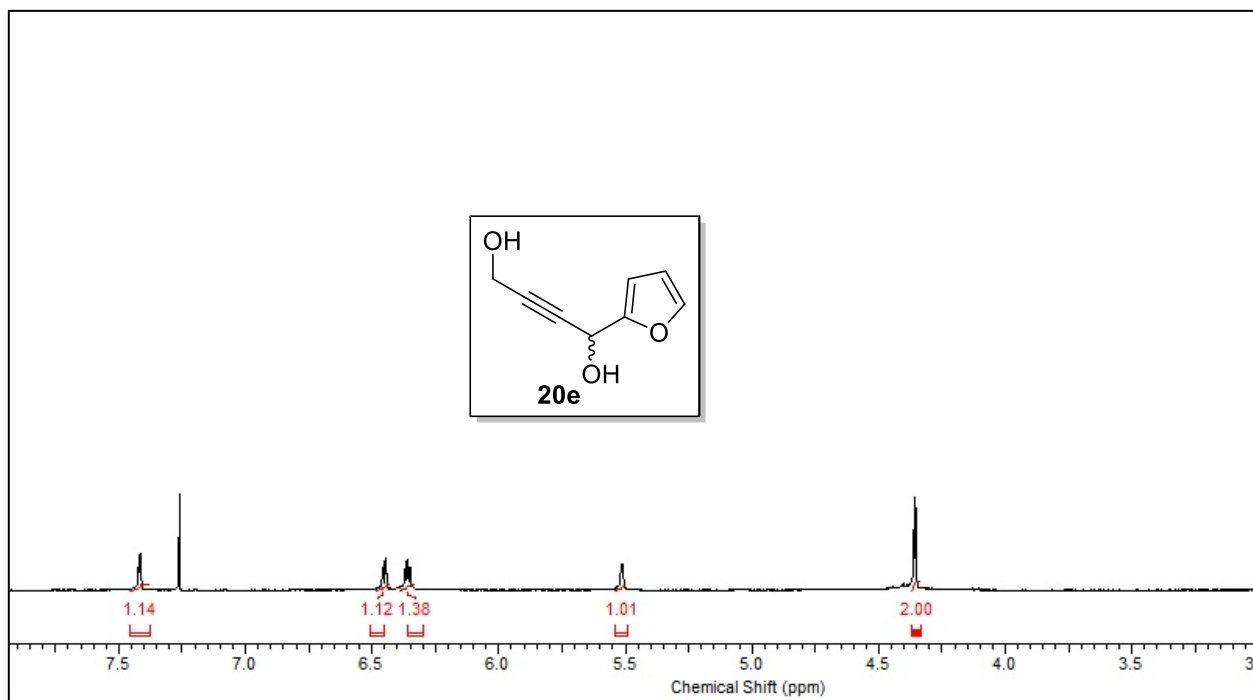
**Anexo 6:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20c**.



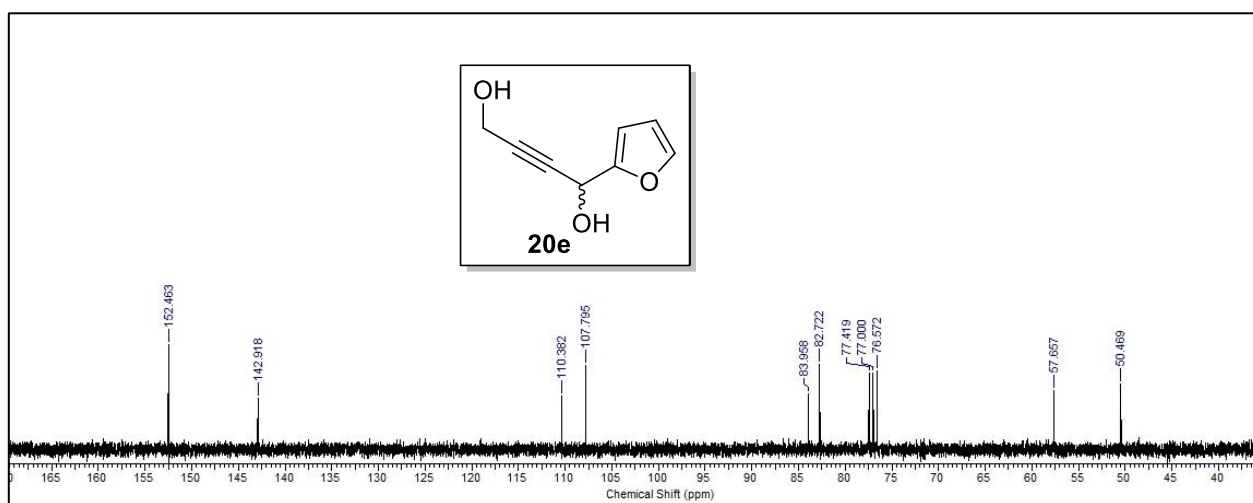
**Anexo 7:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-fenilbut-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20d**.



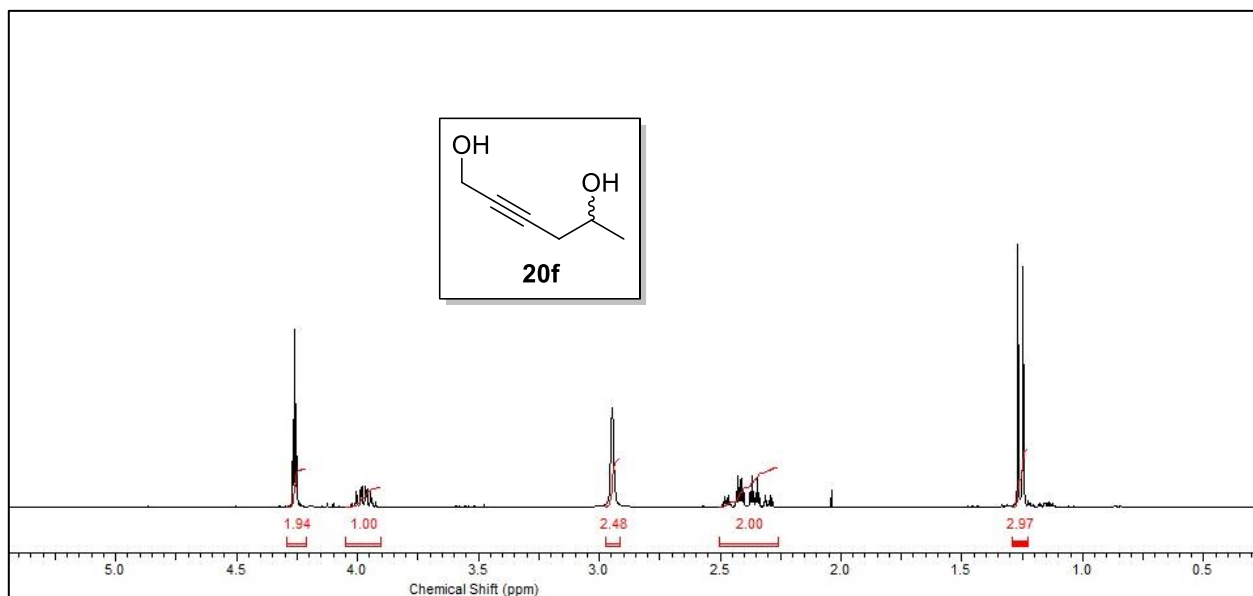
**Anexo 8:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-fenilbut-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20d**.



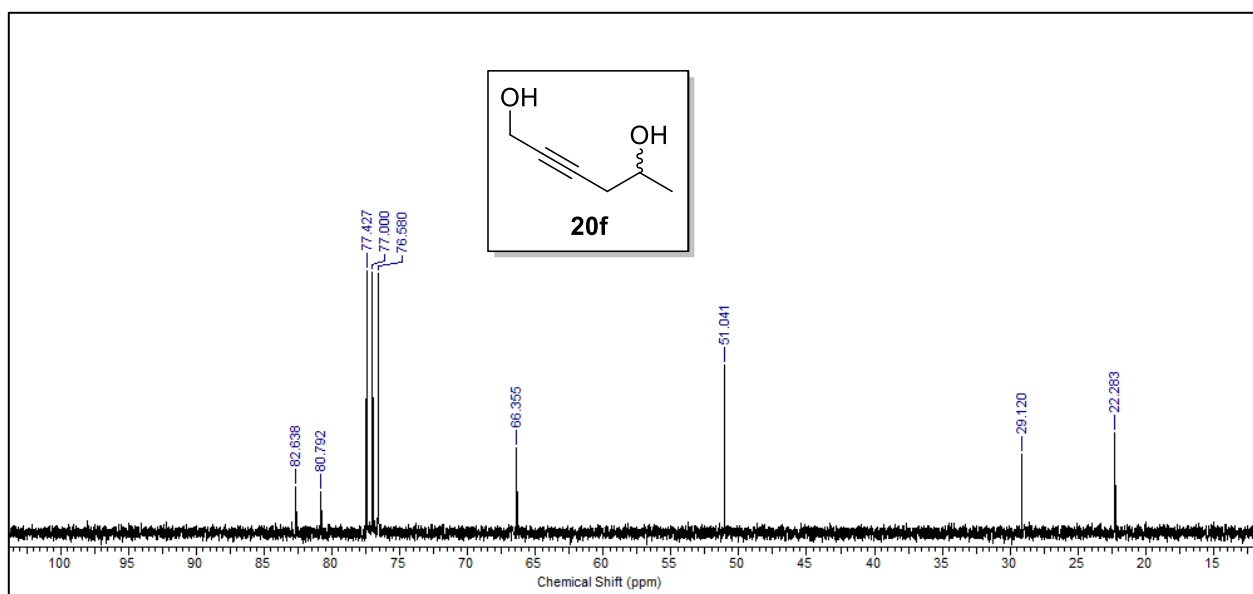
**Anexo 9:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(furan-2-il)but-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20e**.



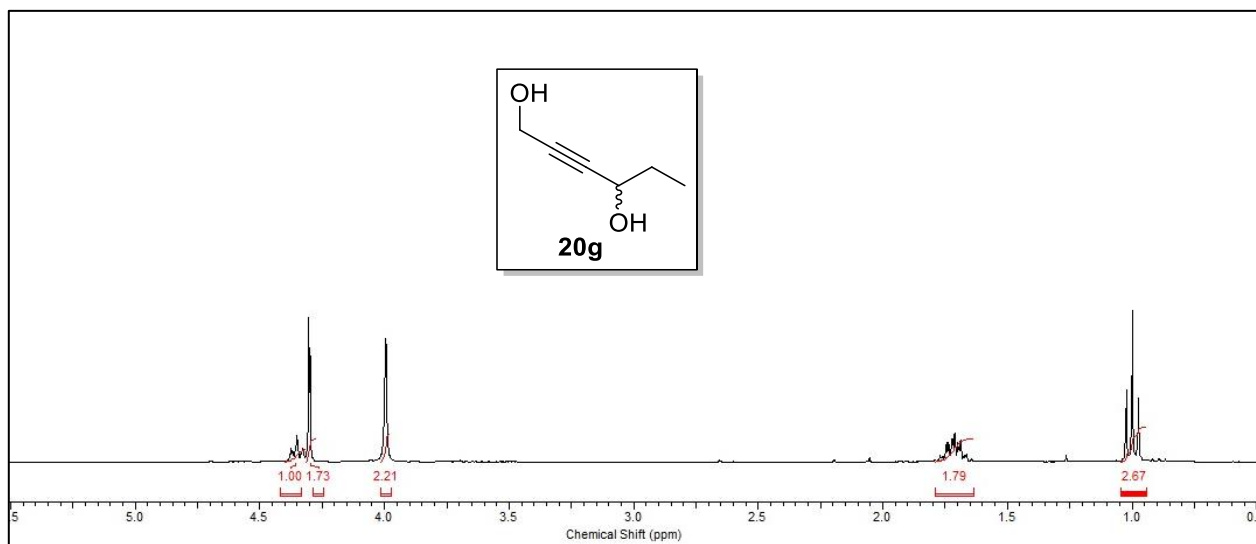
**Anexo 10:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(furan-2-il)but-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20e**.



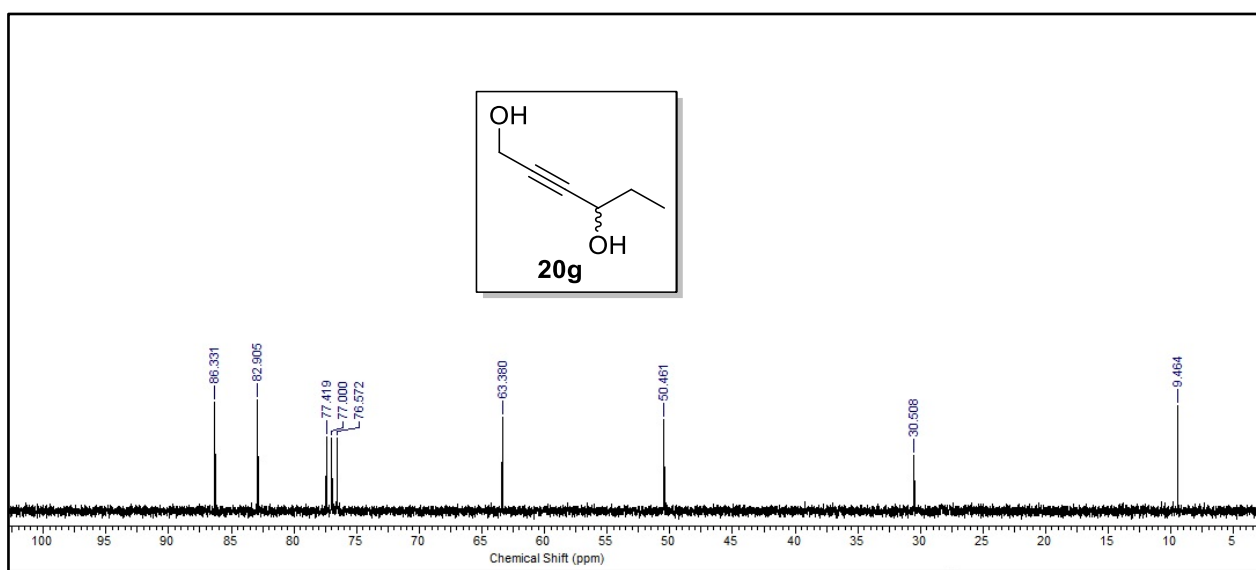
Anexo 11: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-2-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20f**.



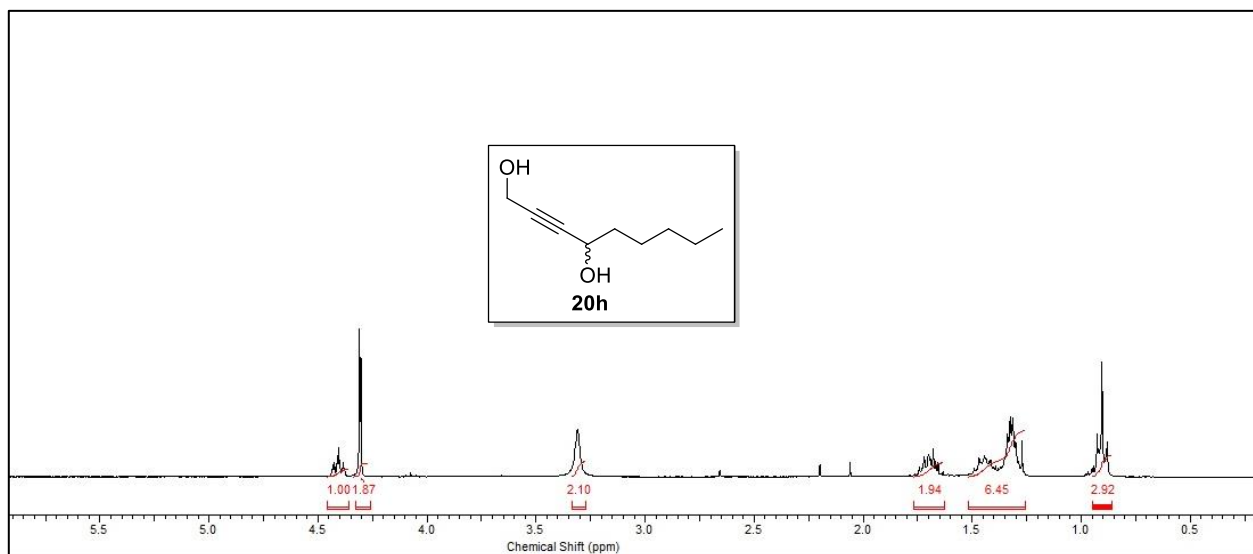
Anexo 12: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-2-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20f**.



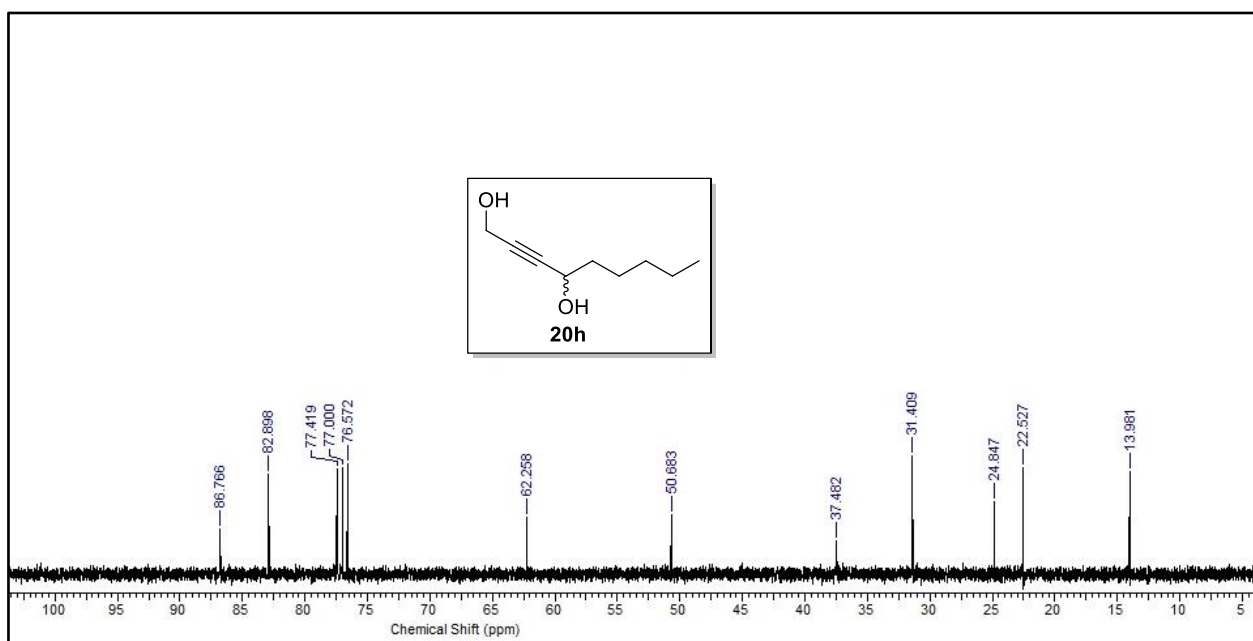
**Anexo 13:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20g**.



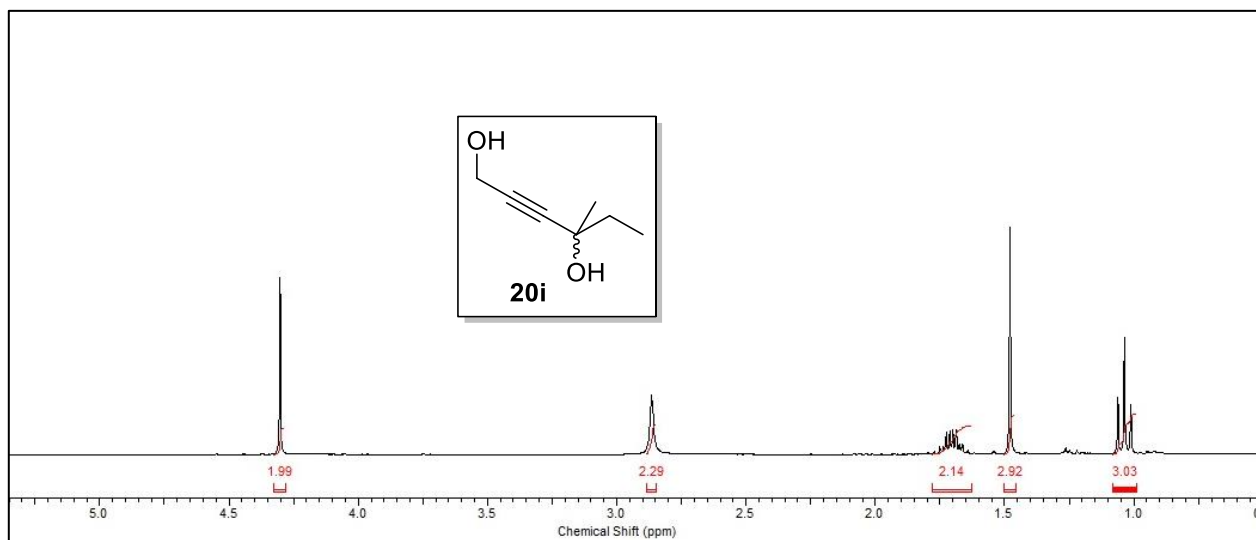
**Anexo 14:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20g**.



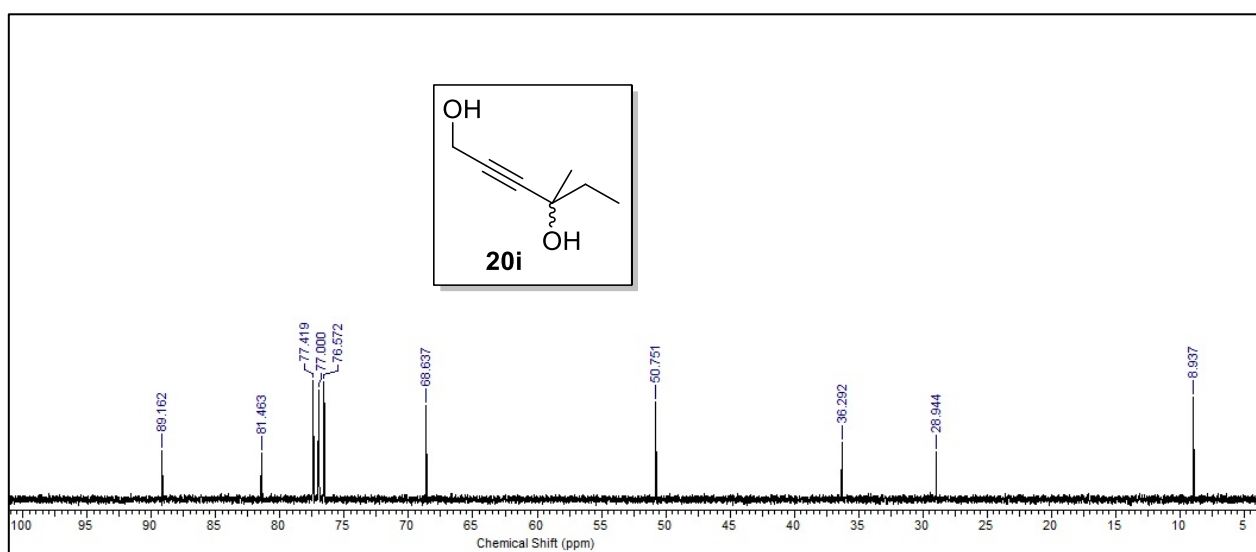
**Anexo 15:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do non-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20h**.



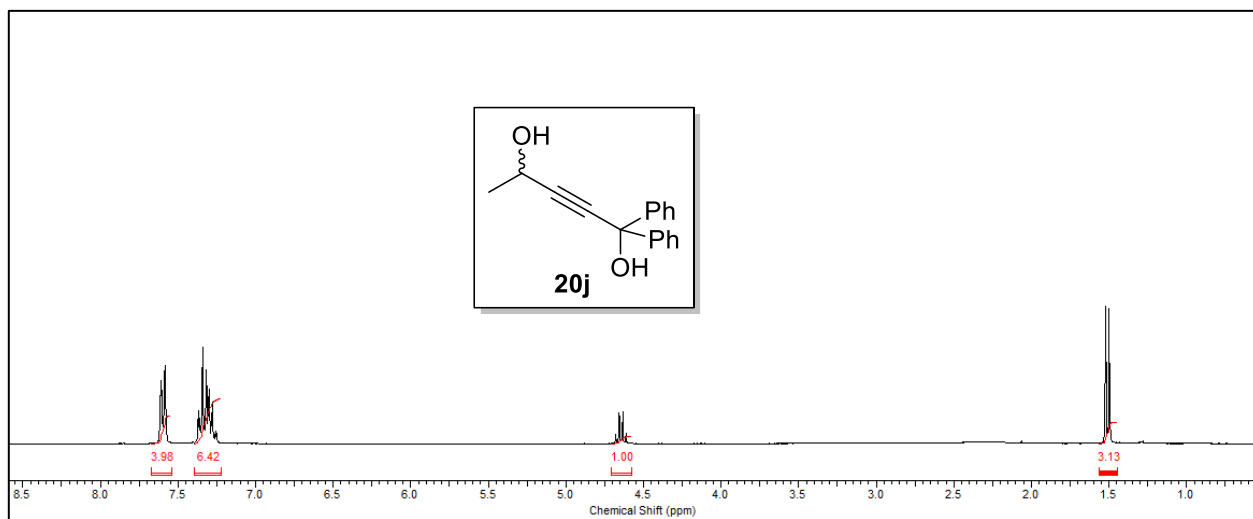
**Anexo 16:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do non-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20h**.



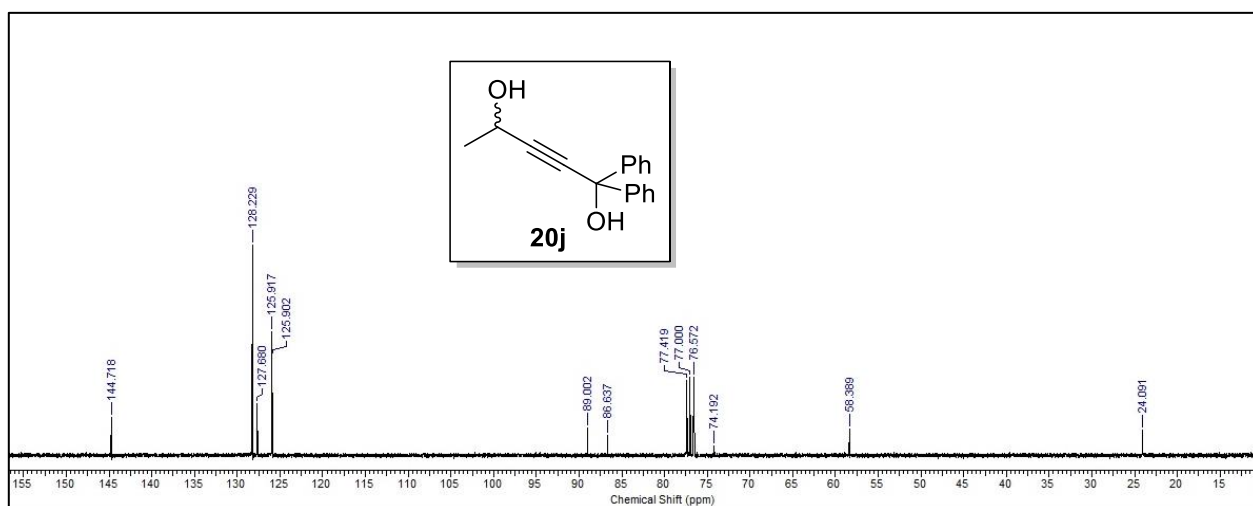
**Anexo 17:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-metilhex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20i**.



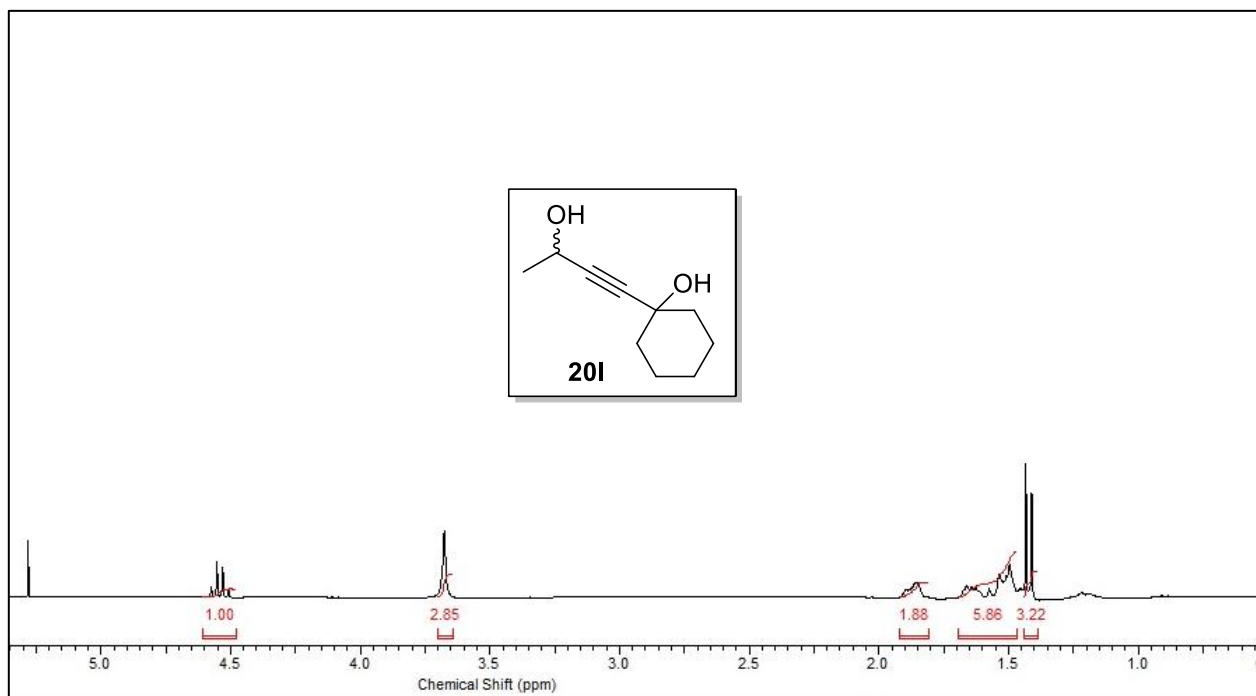
**Anexo 18:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-metilhex-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20i**.



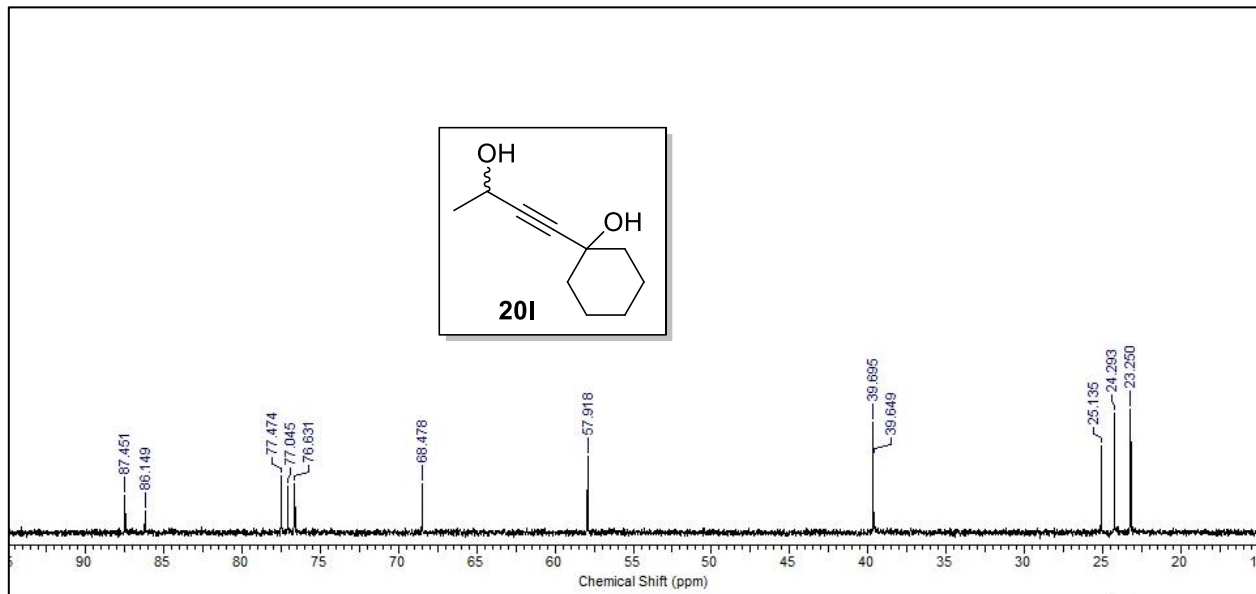
**Anexo 19:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1,1-difenilpent-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20j**.



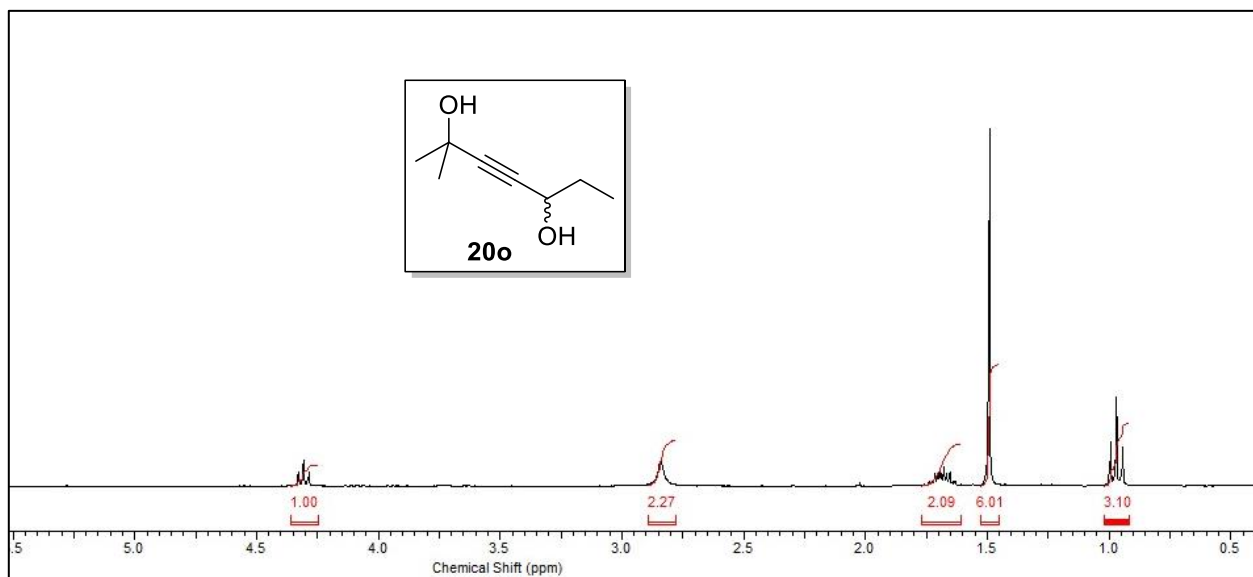
**Anexo 20:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1,1-difenilpent-2-ino-1,4-diol (*R,S*)-**20j**.



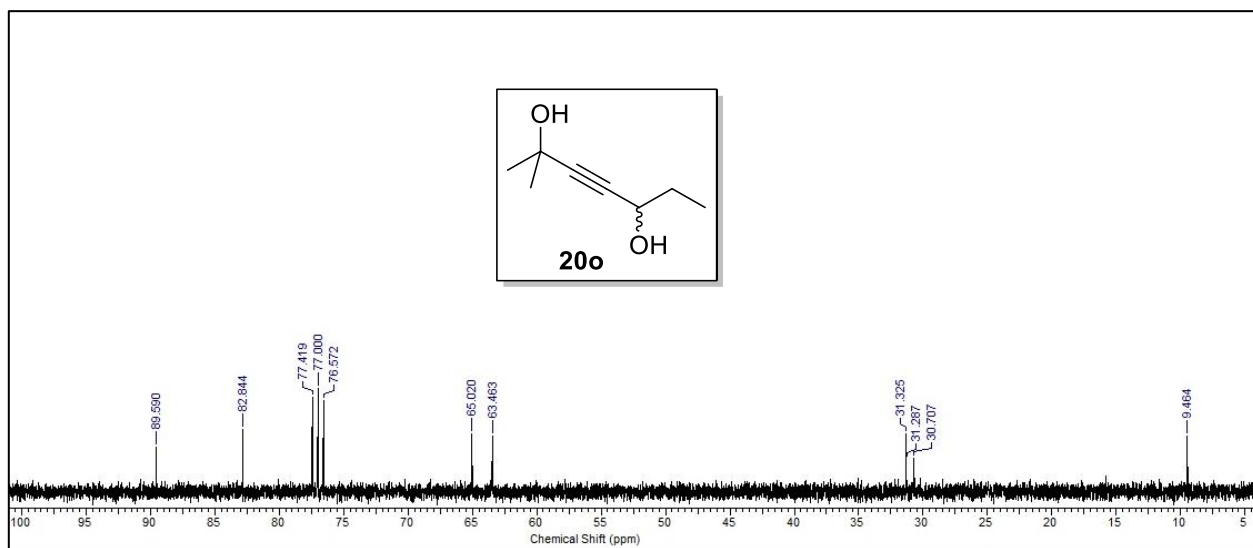
**Anexo 21:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-hidroxibut-1-in-1-il)ciclohexanol (*R,S*)-**20I**.



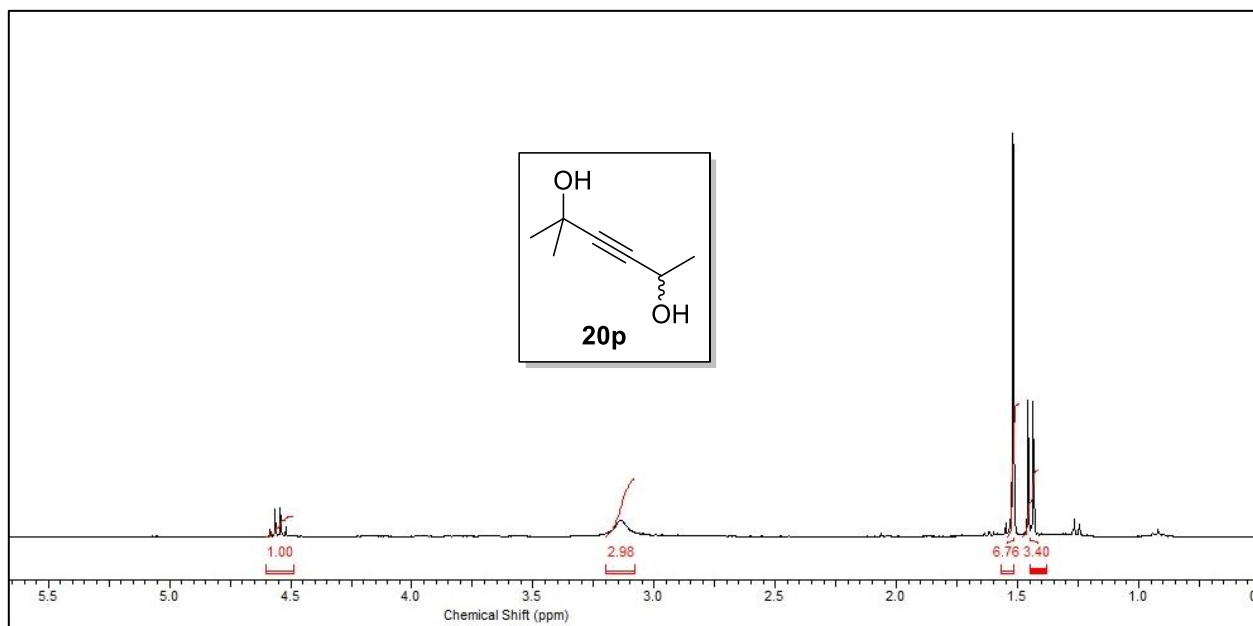
**Anexo 22:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-hidroxibut-1-in-1-il)ciclohexanol (*R,S*)-**20I**.



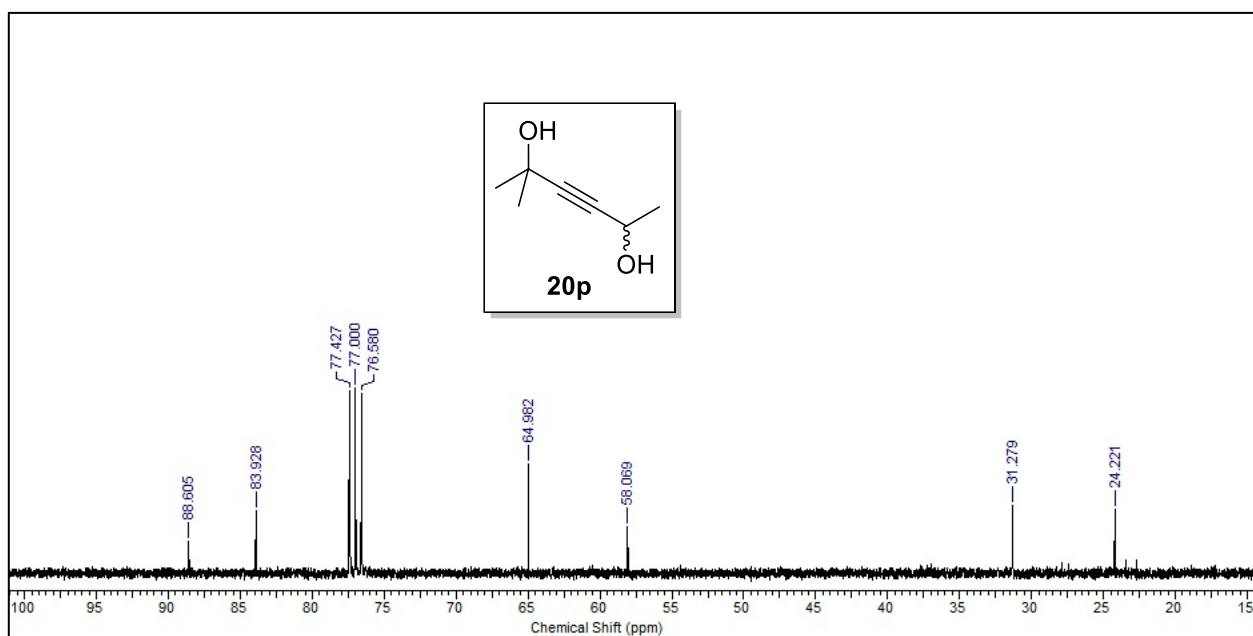
**Anexo 23:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 2-metilhept-3-ino-2,5-diol (*R,S*)-**20o**.



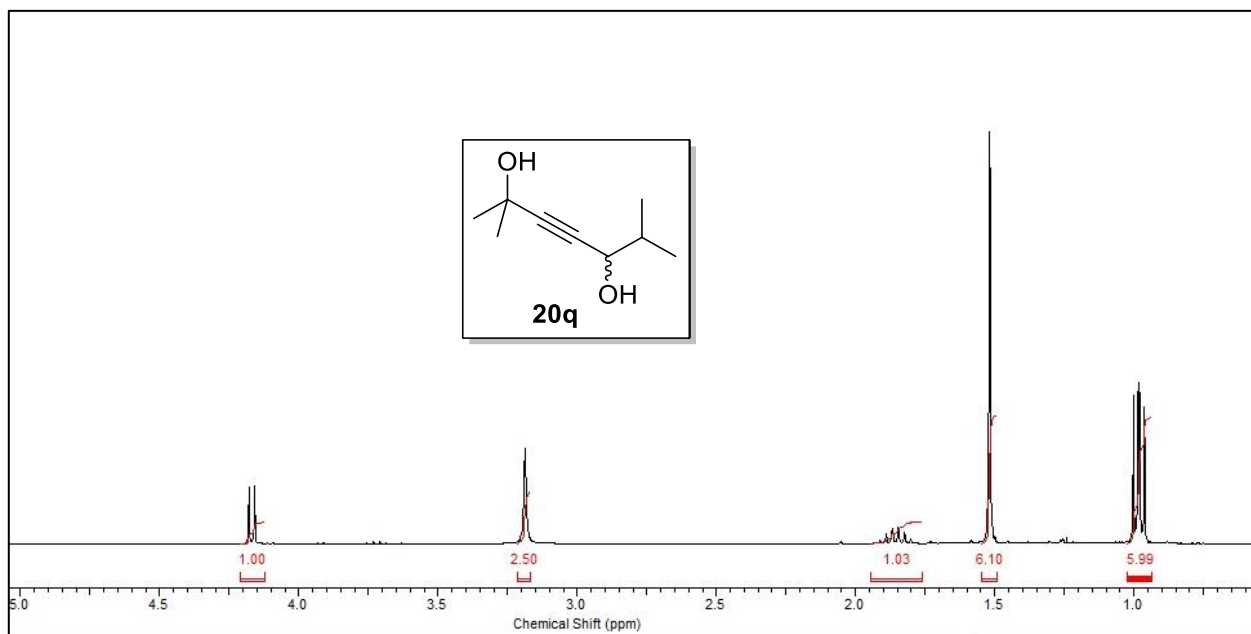
**Anexo 24:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 2-metilhept-3-ino-2,5-diol (*R,S*)-**20o**.



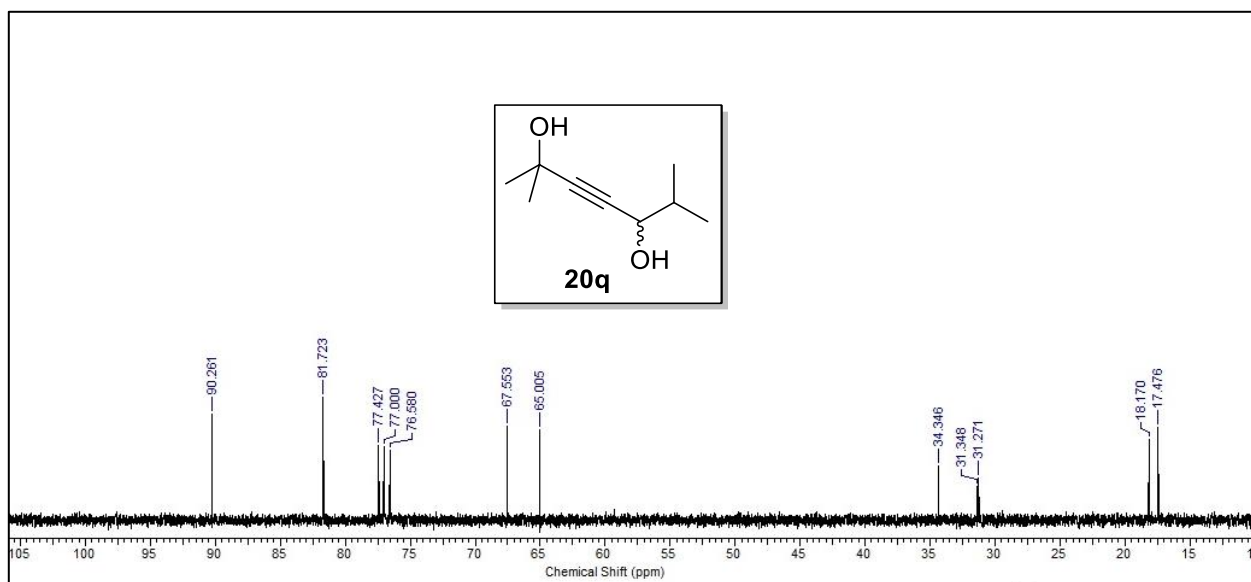
**Anexo 25:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 2-metilhex-3-ino-2,5-diol (*R,S*)-**20p**.



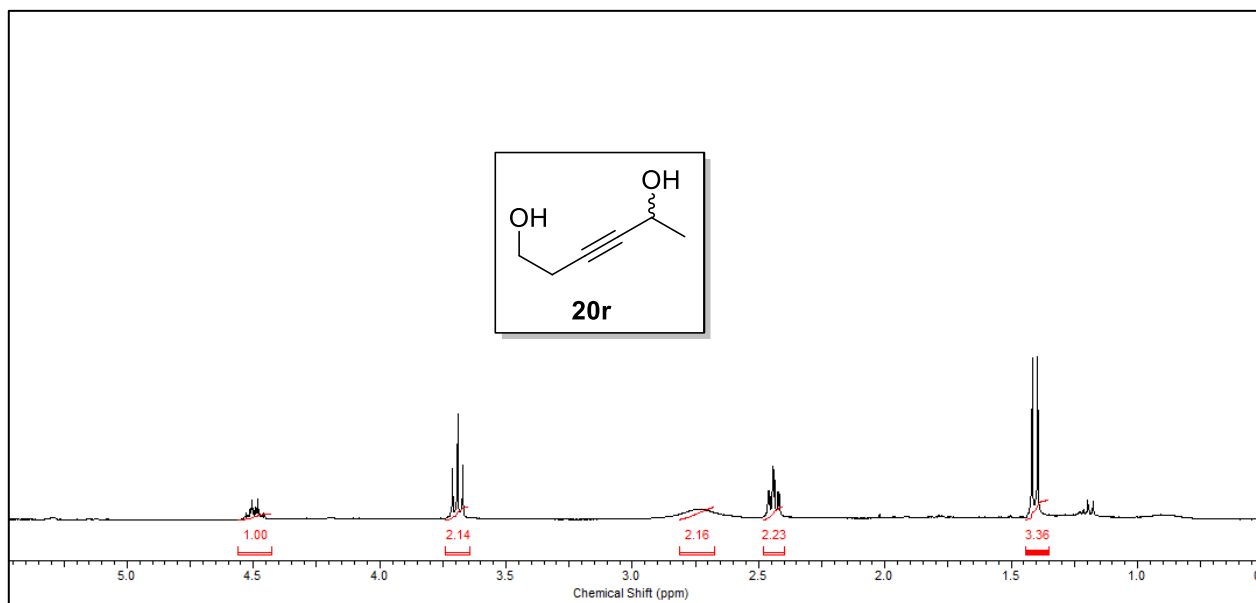
**Anexo 26:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 2-metilhex-3-ino-2,5-diol (*R,S*)-**20p**.



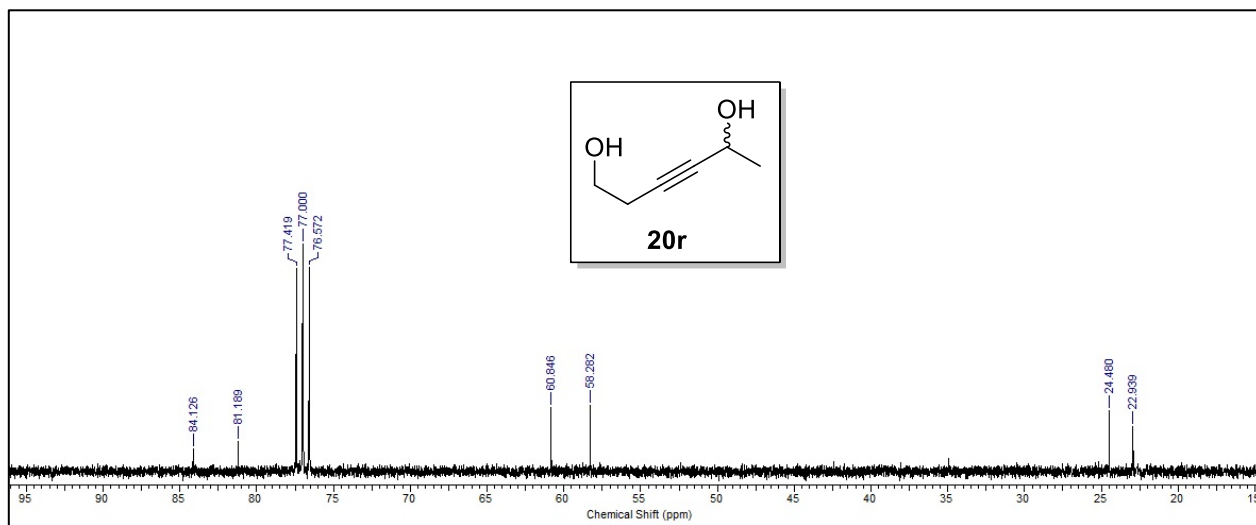
**Anexo 27:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol **20q**.



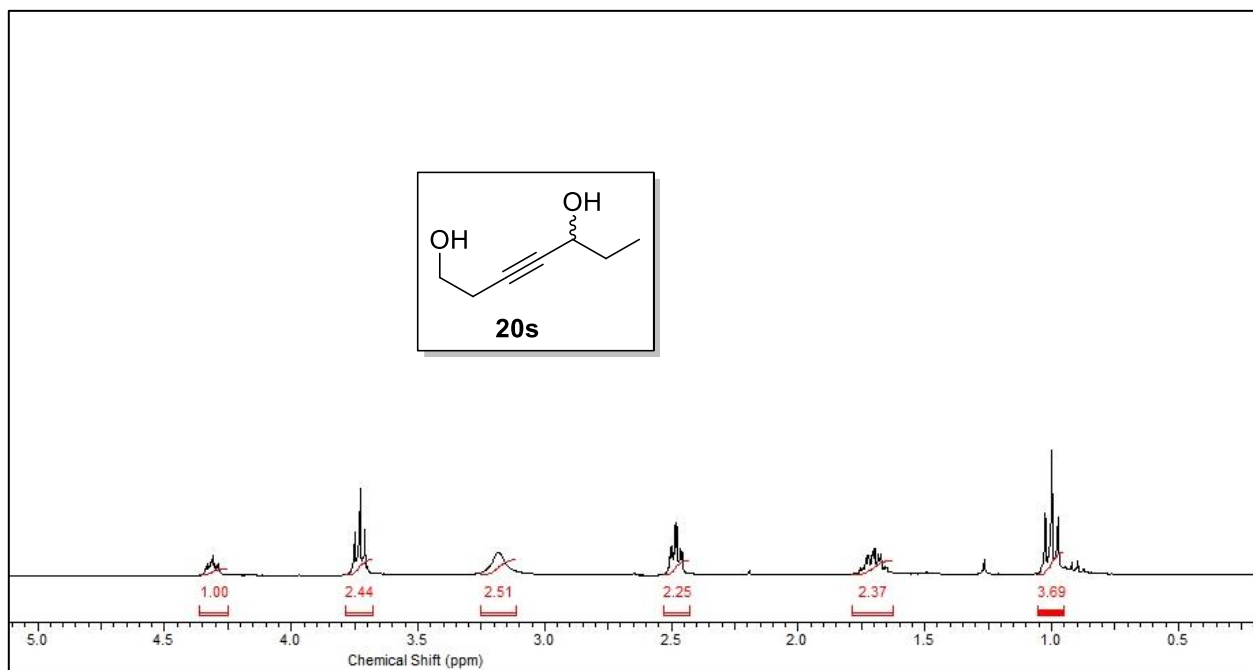
**Anexo 28:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol **20q**.



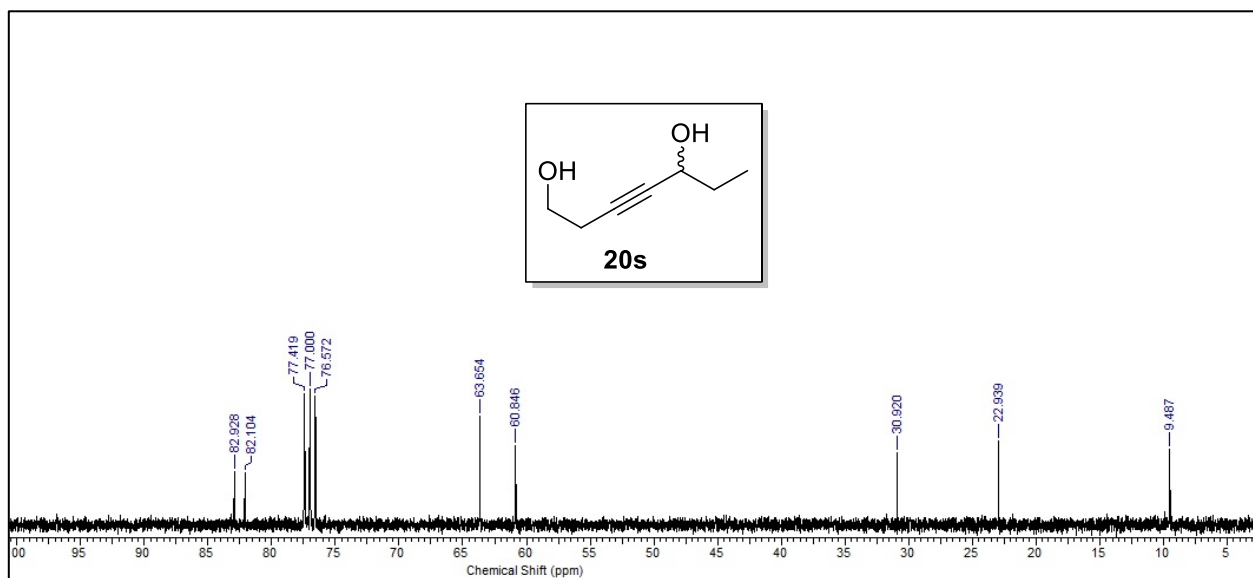
**Anexo 29:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20r**.



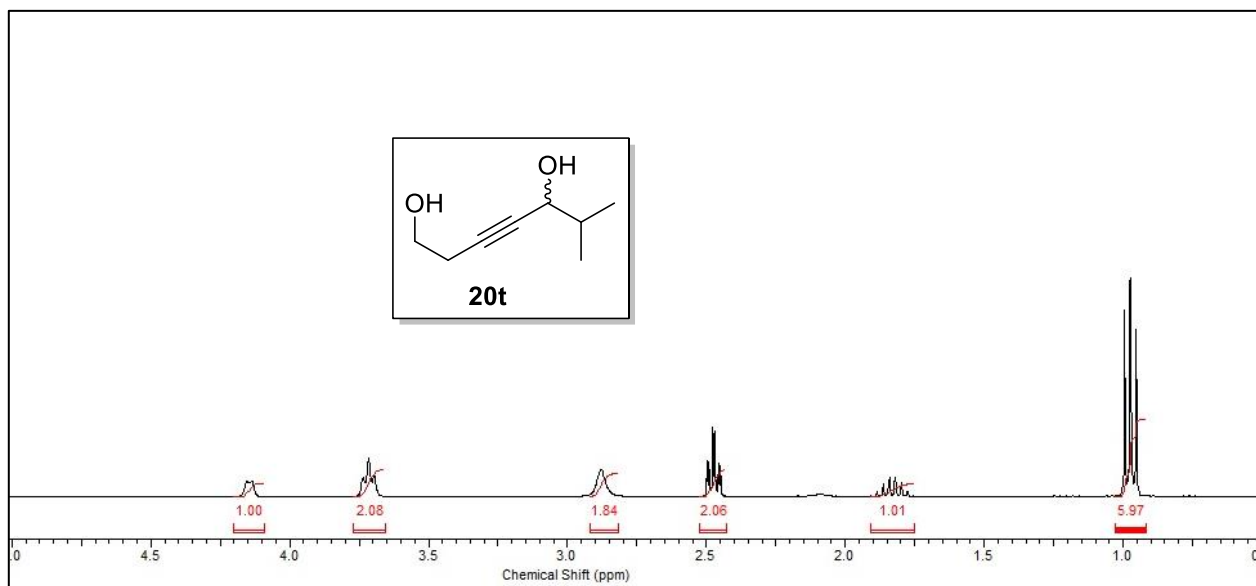
**Anexo 30:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20r**.



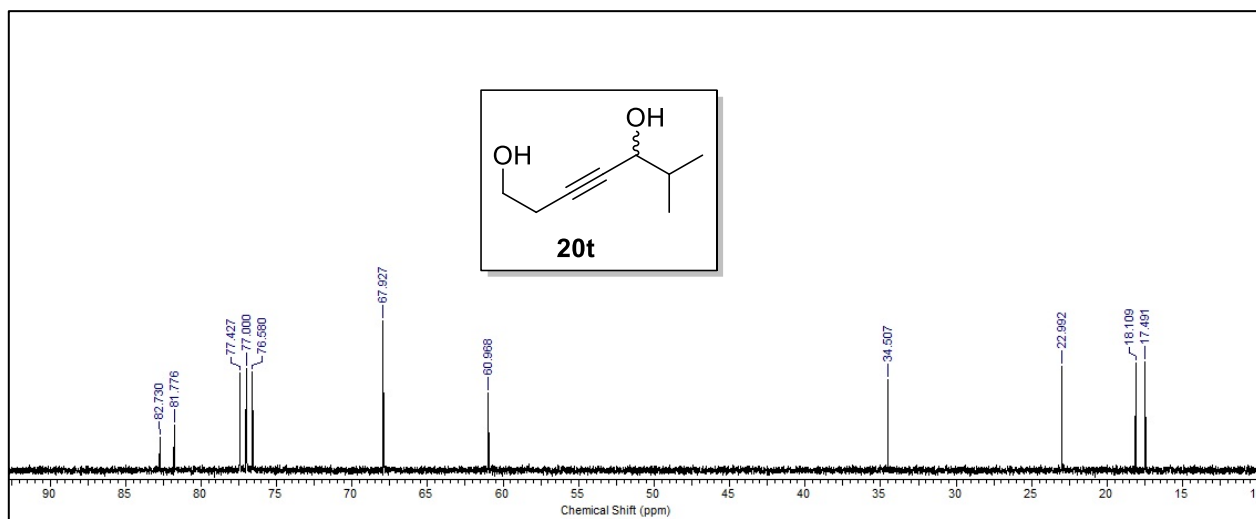
**Anexo 31:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20s**.



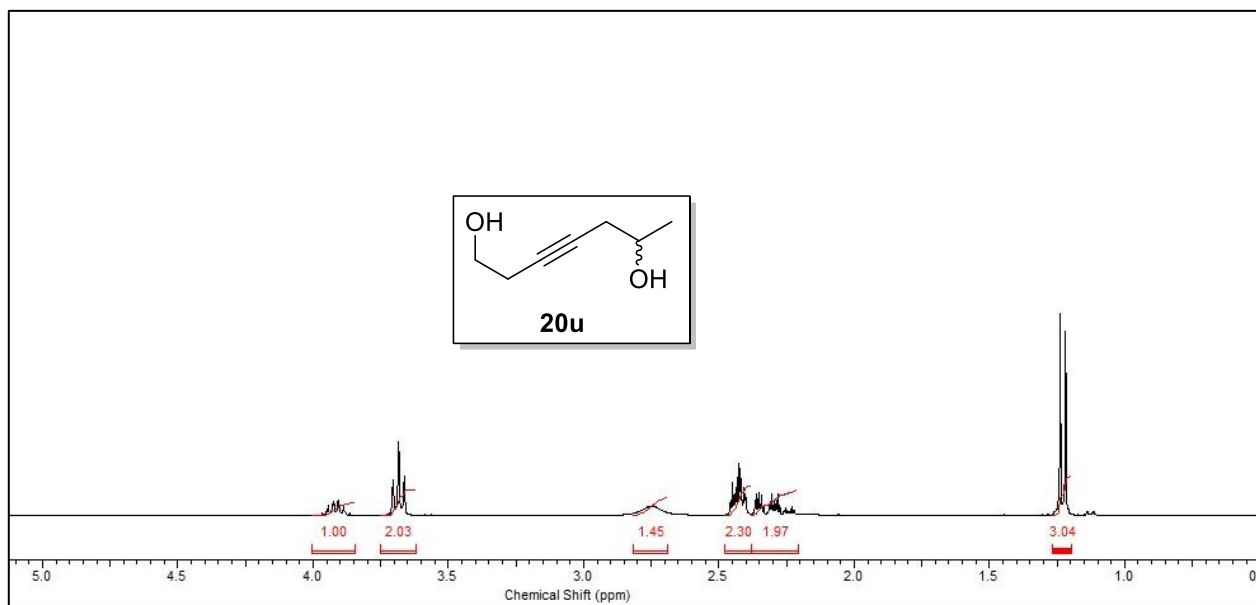
**Anexo 32:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20s**.



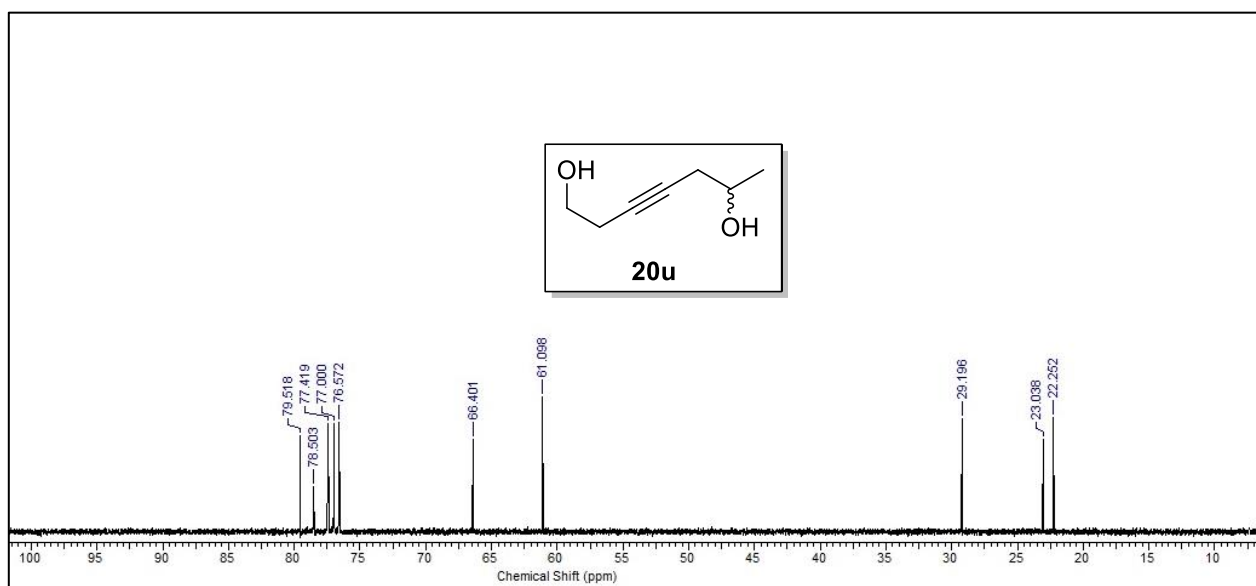
**Anexo 33:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 6-metilhept-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20t**.



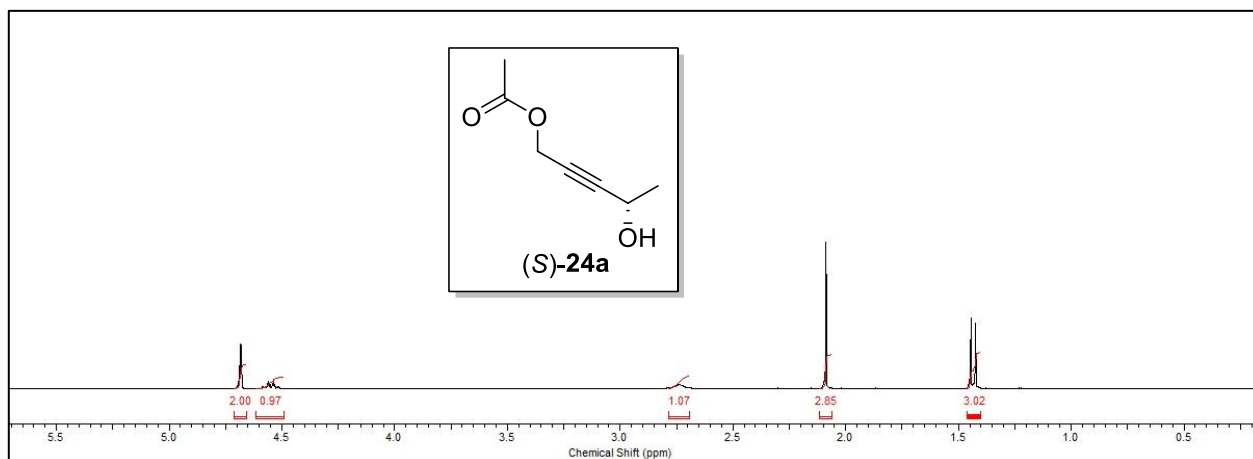
**Anexo 34:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 6-metilhept-3-ino-1,5-diol (*R,S*)-**20t**.



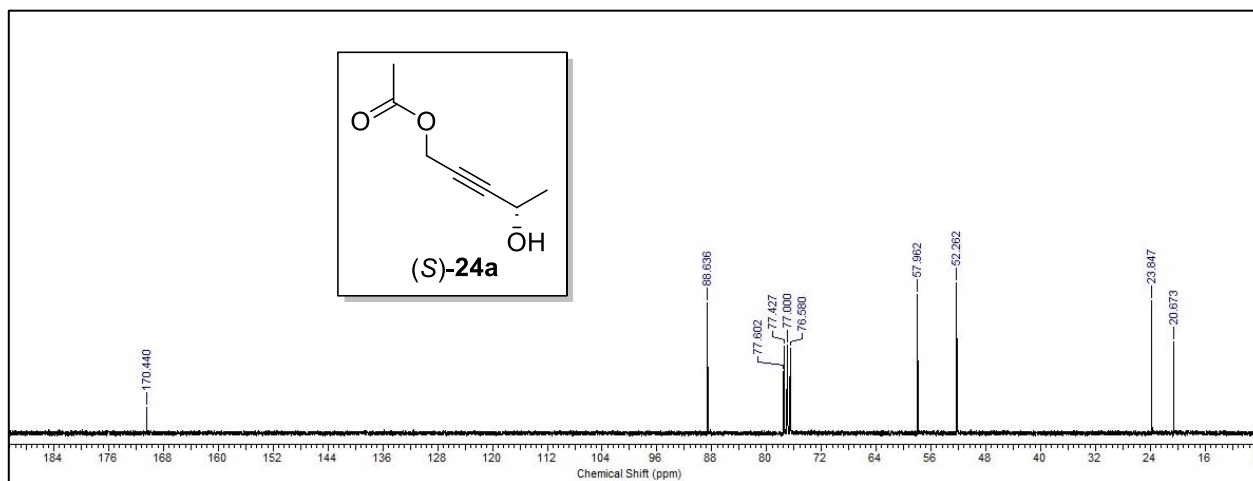
**Anexo 35:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do hept-3-ino-1,6-diol (*(R,S)*)-**20u**.



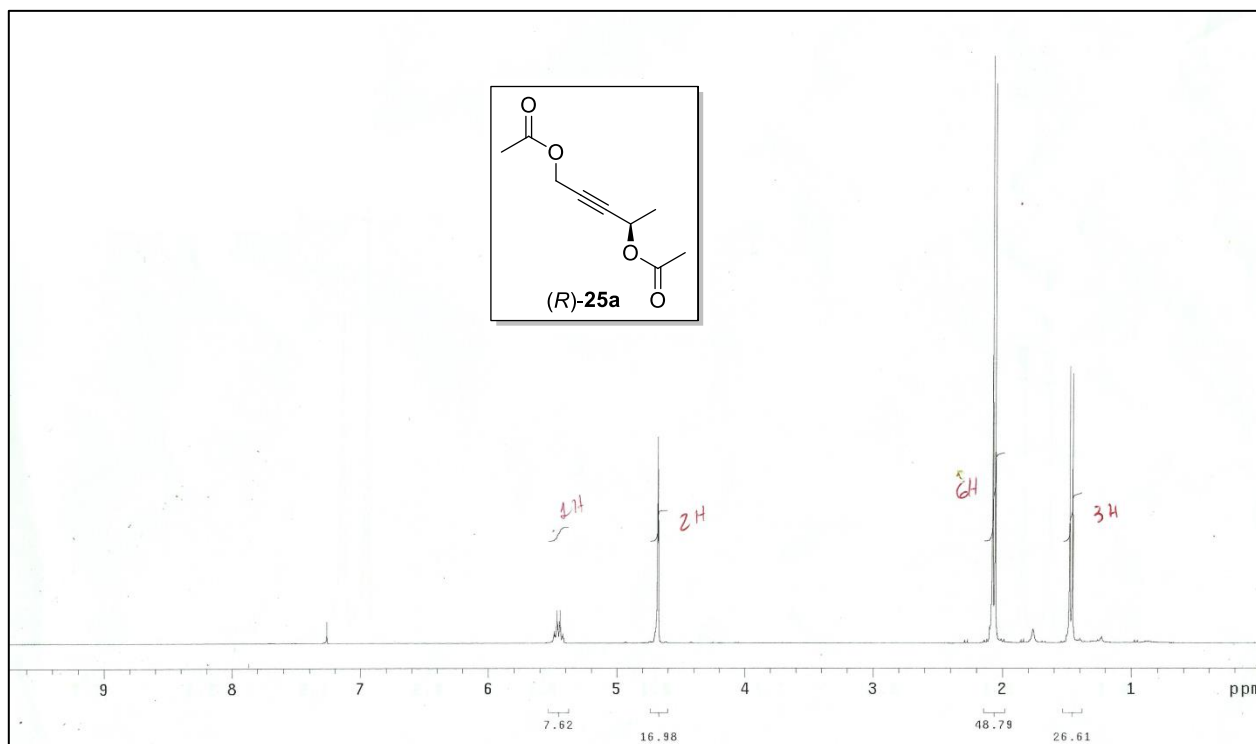
**Anexo 36:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do hept-3-ino-1,6-diol (*(R,S)*)-**20u**.



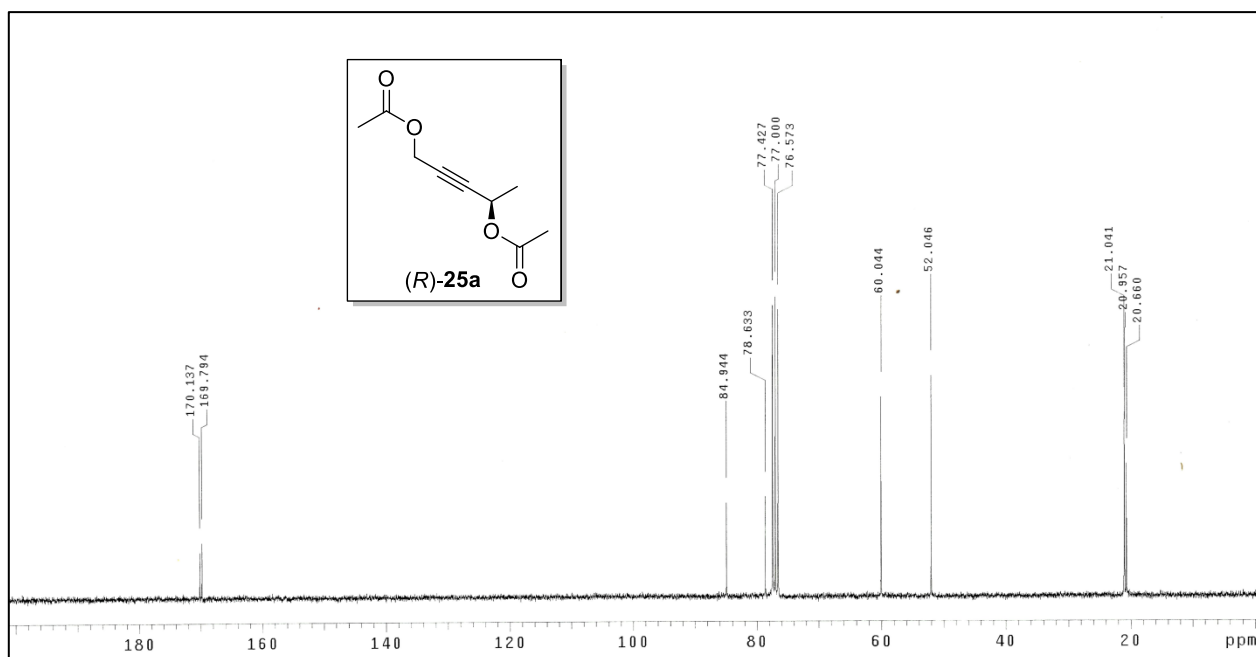
**Anexo 37:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxipent-2-ino-1-acetato (S)-24a.



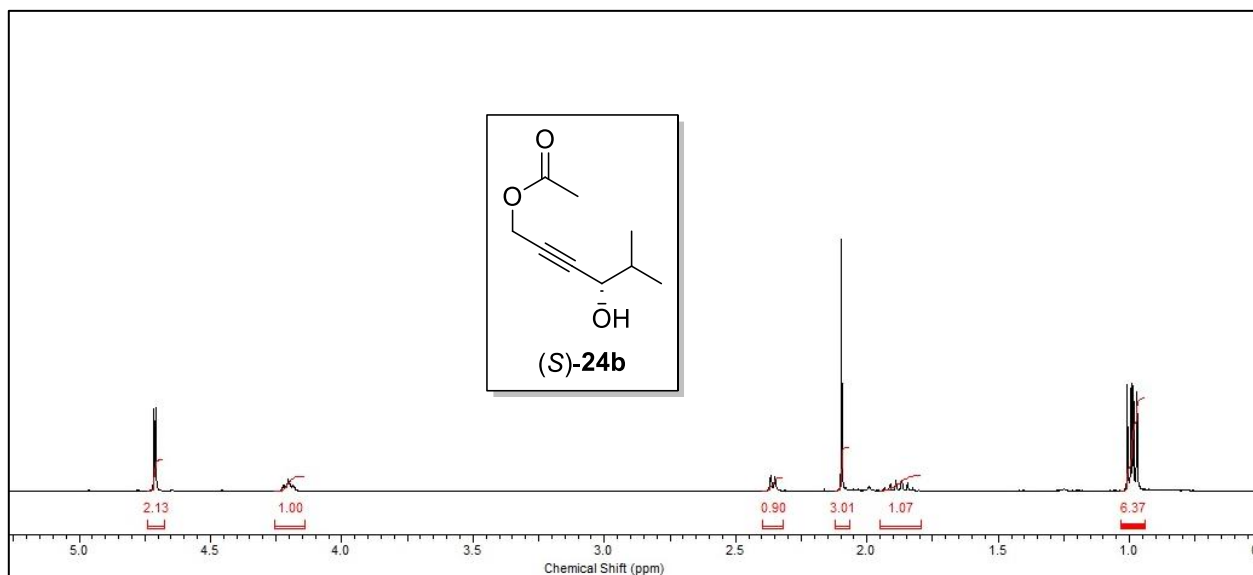
**Anexo 38:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxipent-2-ino-1-acetato (S)-24a.



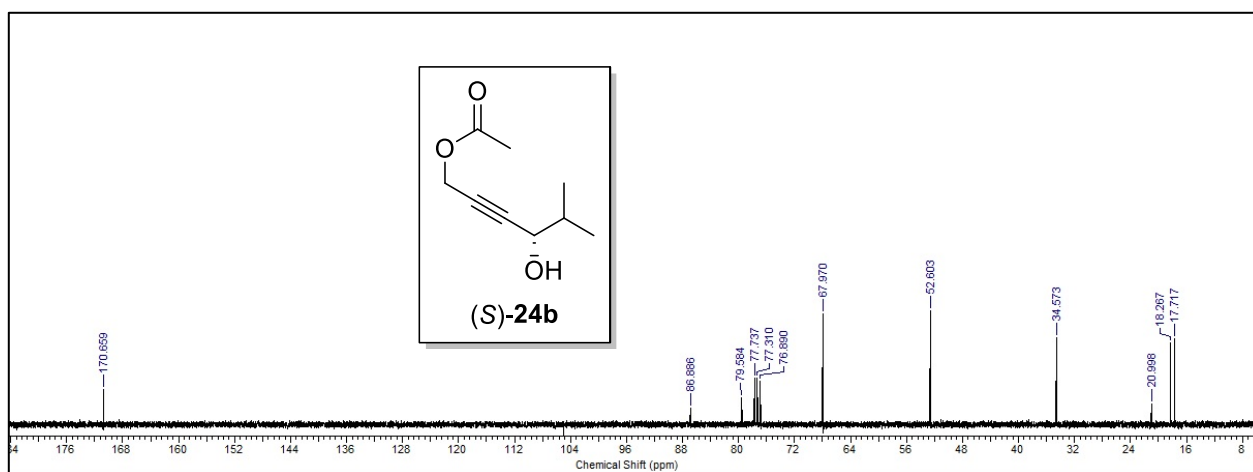
Anexo 39: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-pent-2-ino-1,4-diacetato (R)-25a.



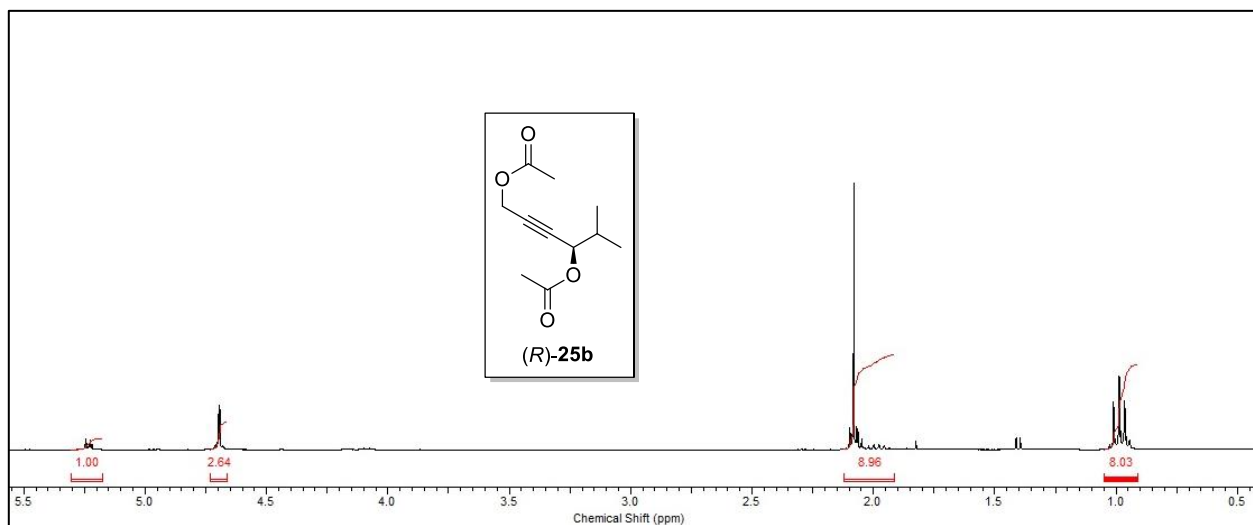
Anexo 40: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-pent-2-ino-1,4-diacetato (R)-25a.



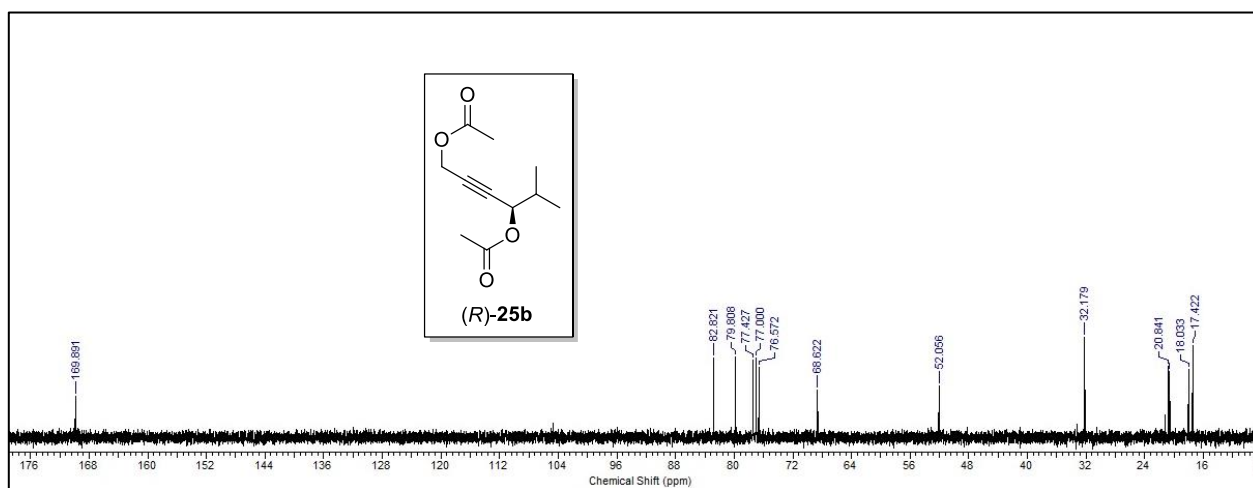
**Anexo 41:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxi-5-metilhex-2-ino-1-acetato (S)-24b.



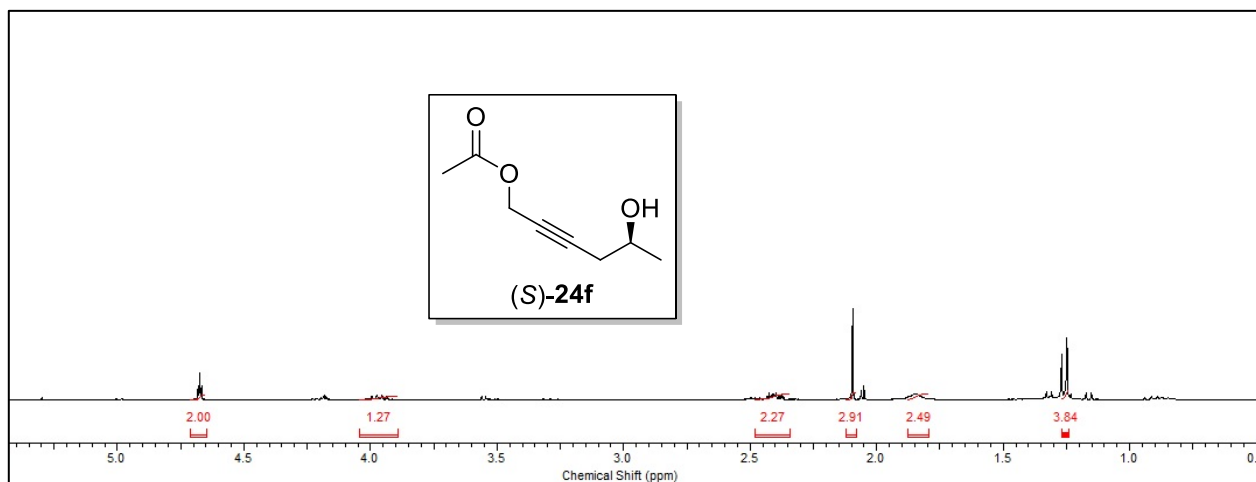
**Anexo 42:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxi-5-metilhex-2-ino-1-acetato (S)-24b.



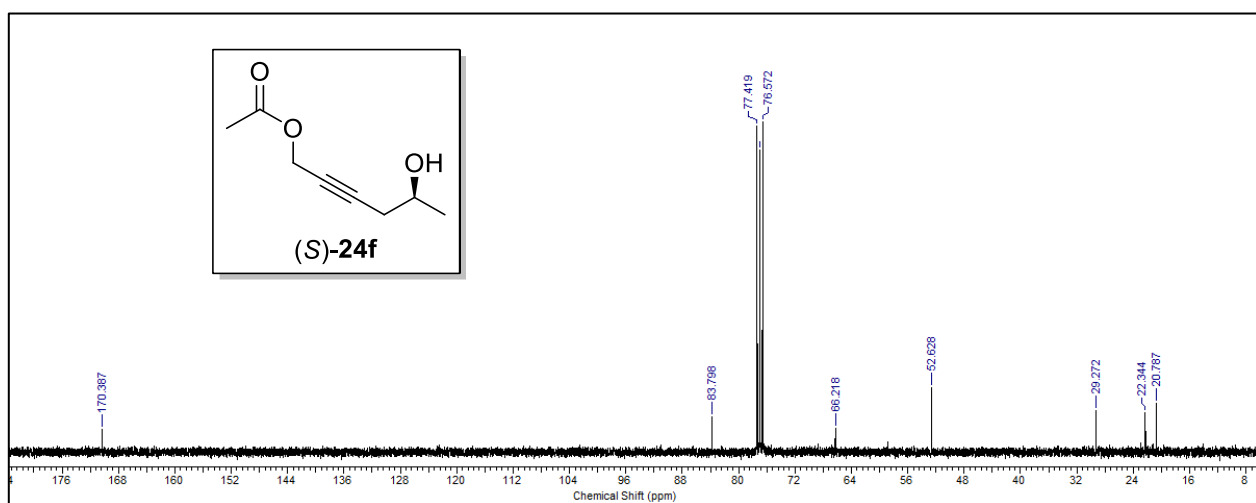
**Anexo 43:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-5-metilhex-2-ino-1,4-diacetato (R)-25b.



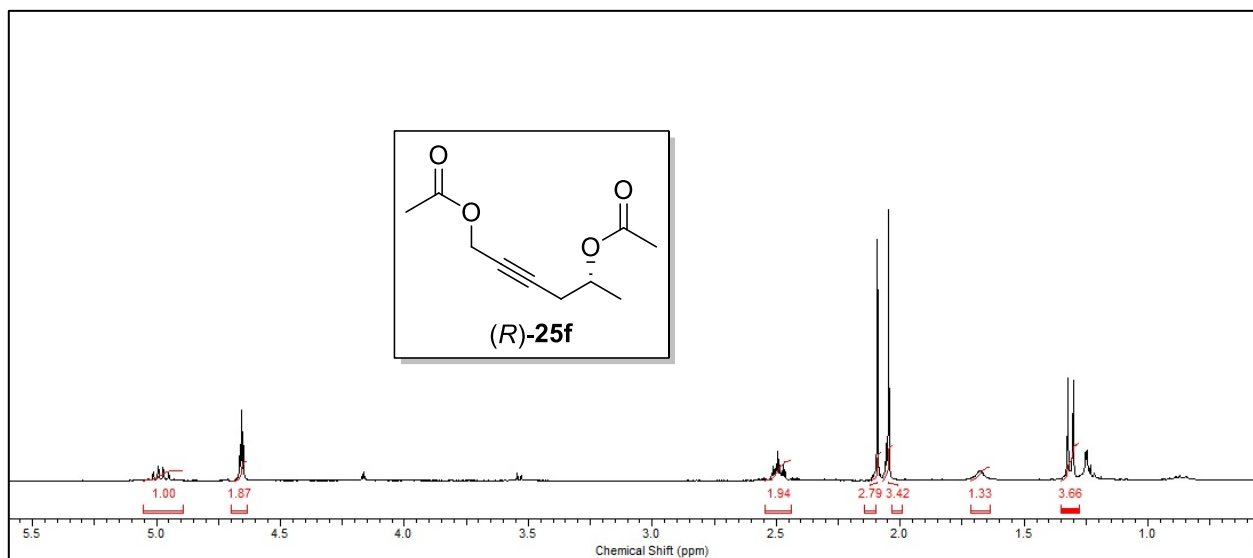
**Anexo 44:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-5-metilhex-2-ino-1,4-diacetato (R)-25b.



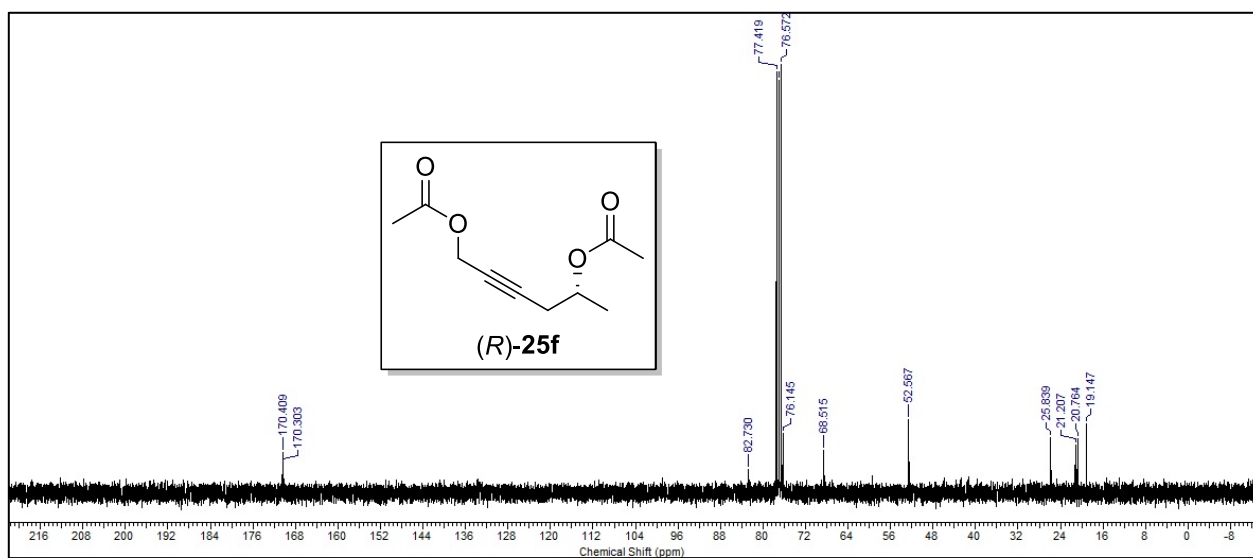
**Anexo 45:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxi-hex-2-ino-1-acetato (S)-24f.



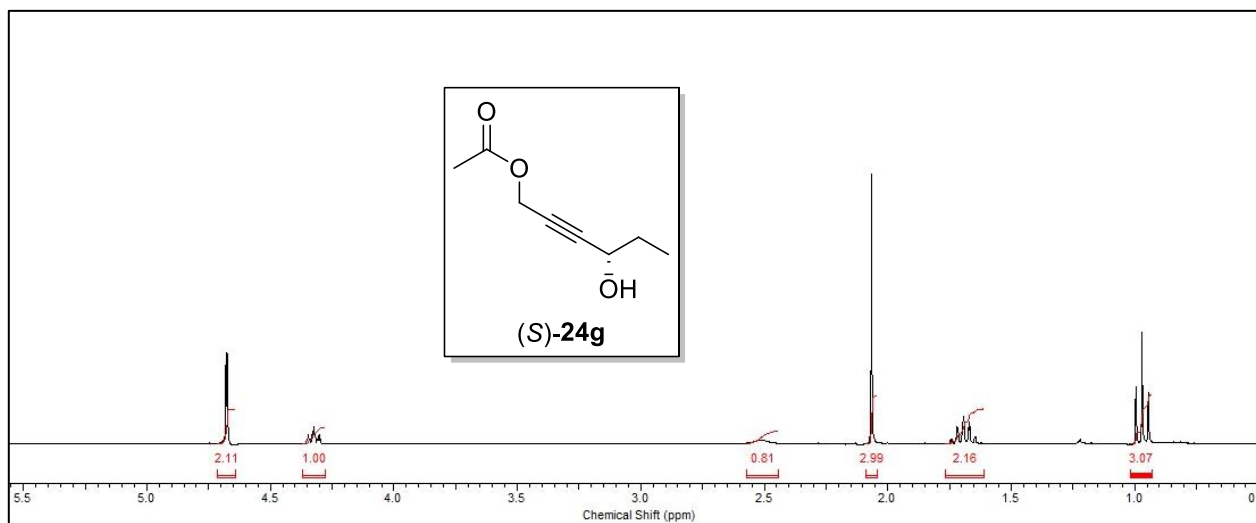
**Anexo 46:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxi-hex-2-ino-1-acetato (S)-24f.



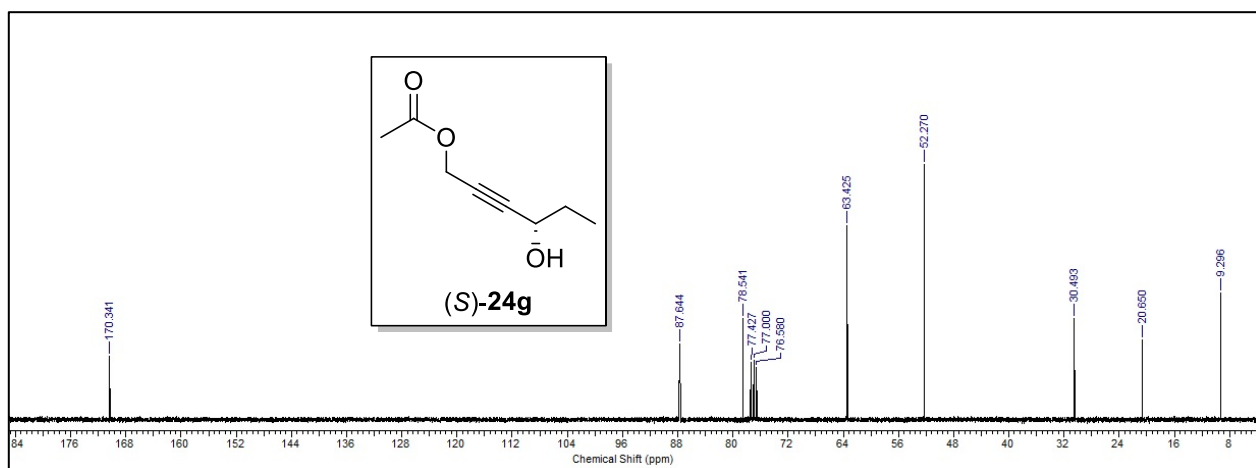
**Anexo 47:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-2-ino-1,5-diacetato (R)-25f.



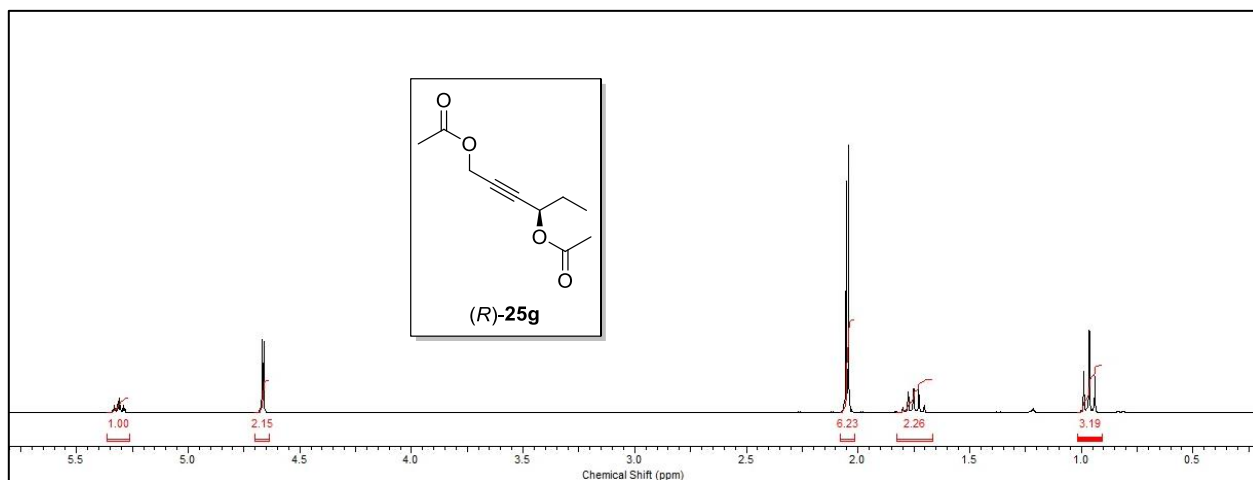
**Anexo 48:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-2-ino-1,5-diacetato (R)-25f.



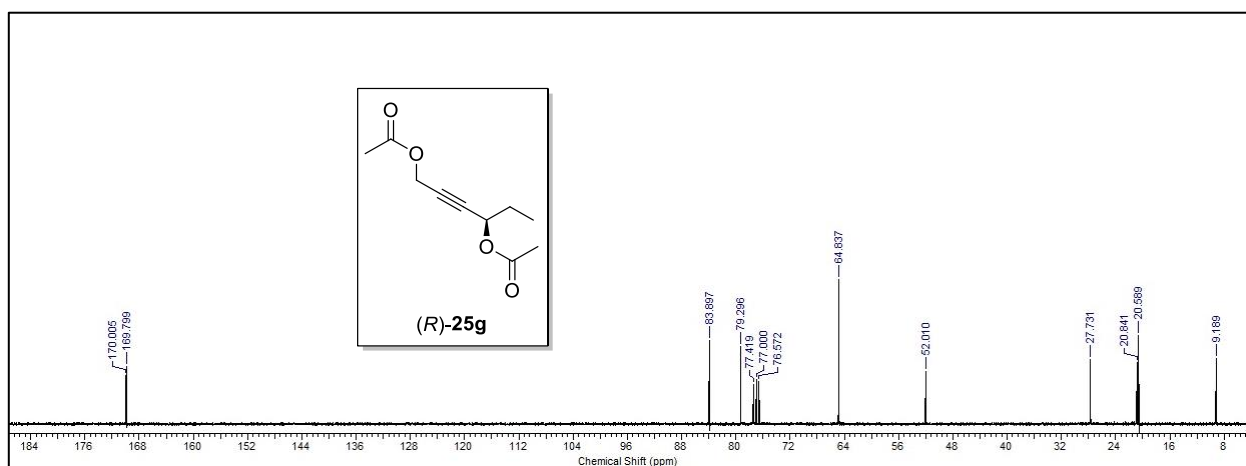
**Anexo 49:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxi-hex-2-ino-1-acetato (S)-24g.



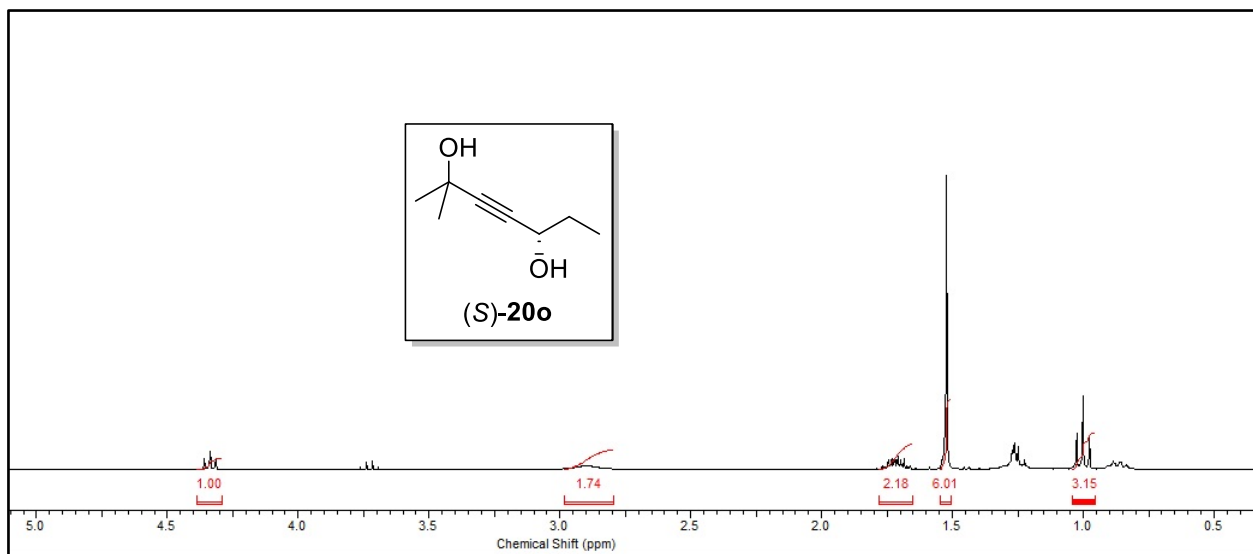
**Anexo 50:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-4-hidroxi-hex-2-ino-1-acetato (S)-24g.



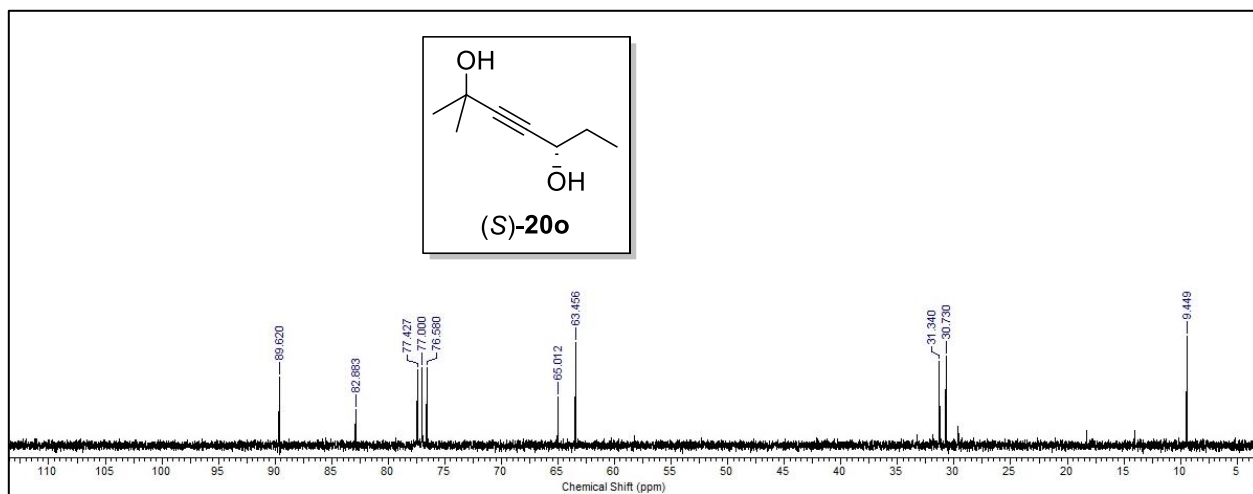
Anexo 51: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-2-ino-1,4-diacetato (R)-25g.



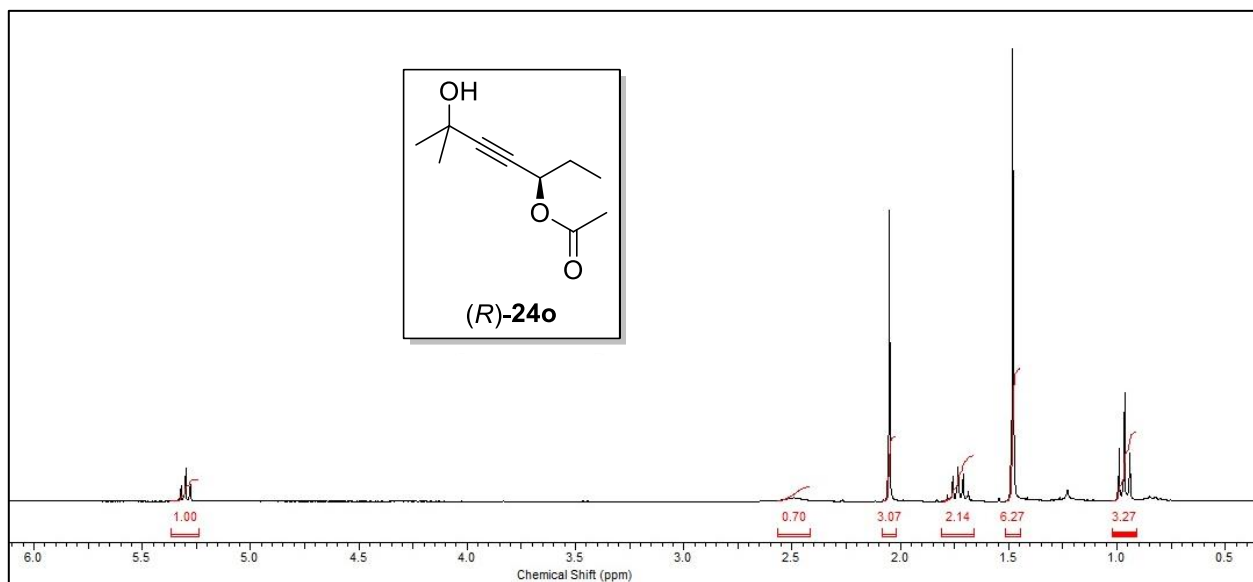
Anexo 52: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-2-ino-1,4-diacetato (R)-25g.



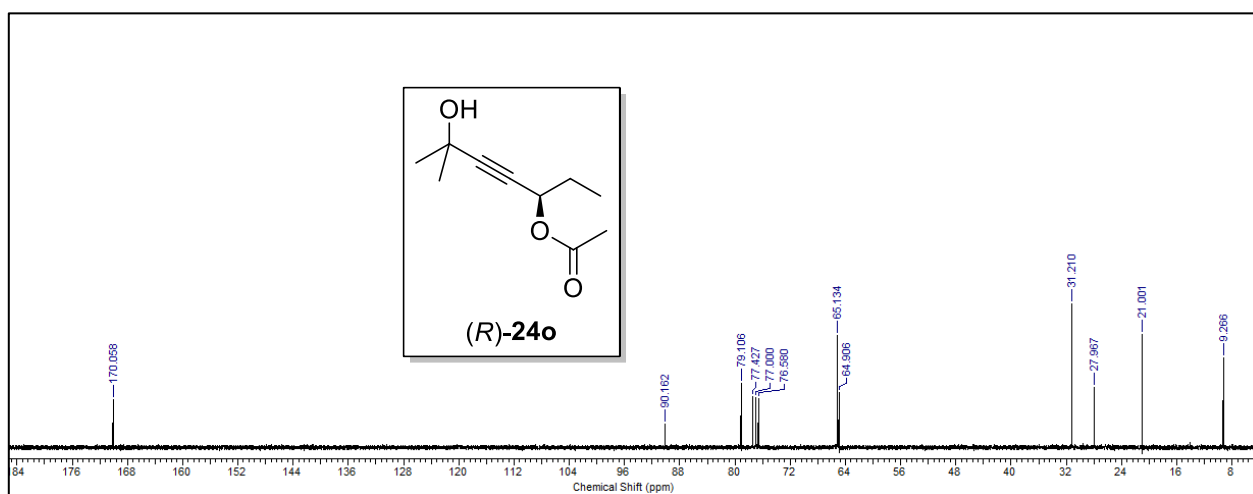
**Anexo 53:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-2-metilhept-3-ino-2,5-diol (S)-20o.



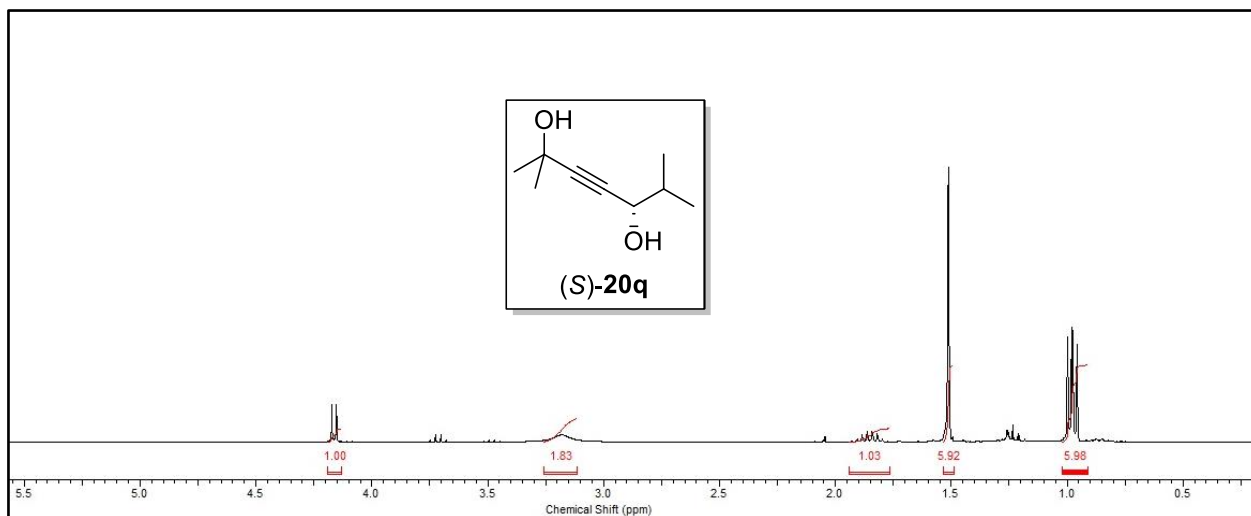
**Anexo 54:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-2-metilhept-3-ino-2,5-diol (S)-20o.



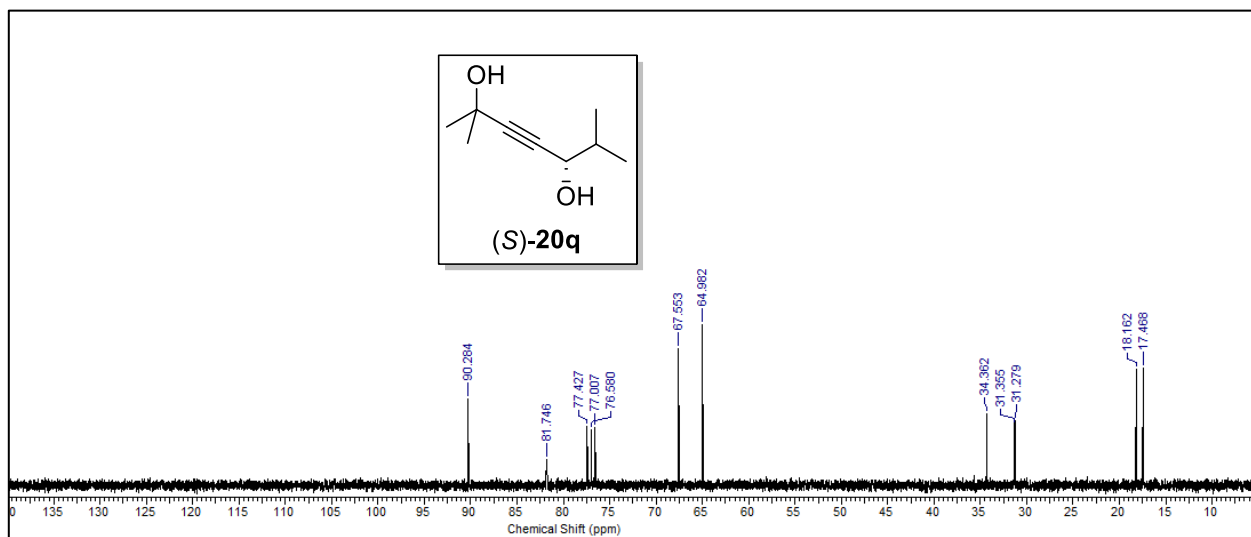
**Anexo 55:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-hidroxi-6-metilhept-4-ino-3-acetato (R)-24o.



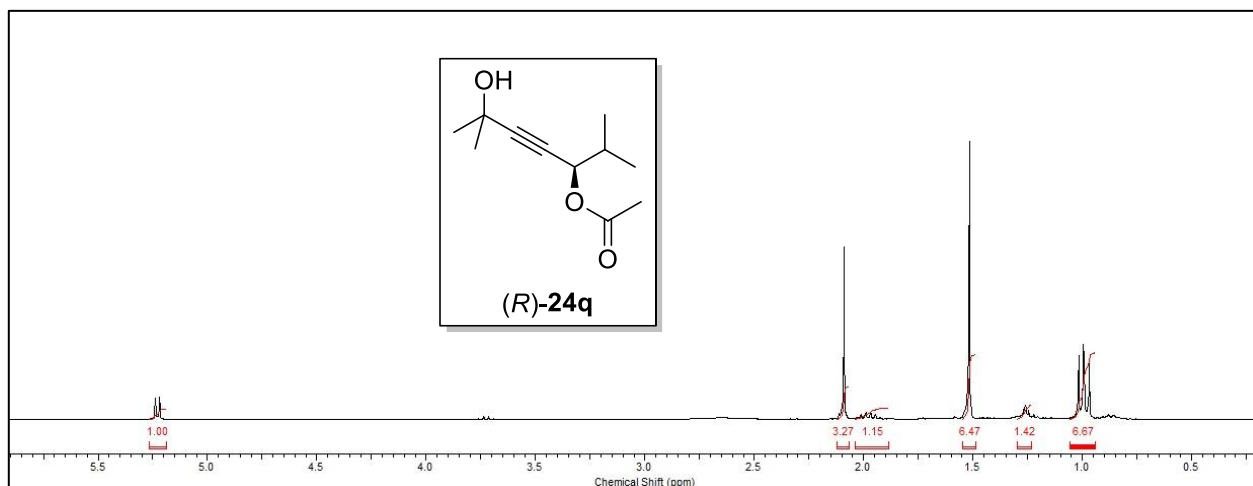
**Anexo 56:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-hidroxi-6-metilhept-4-ino-3-acetato (R)-24o.



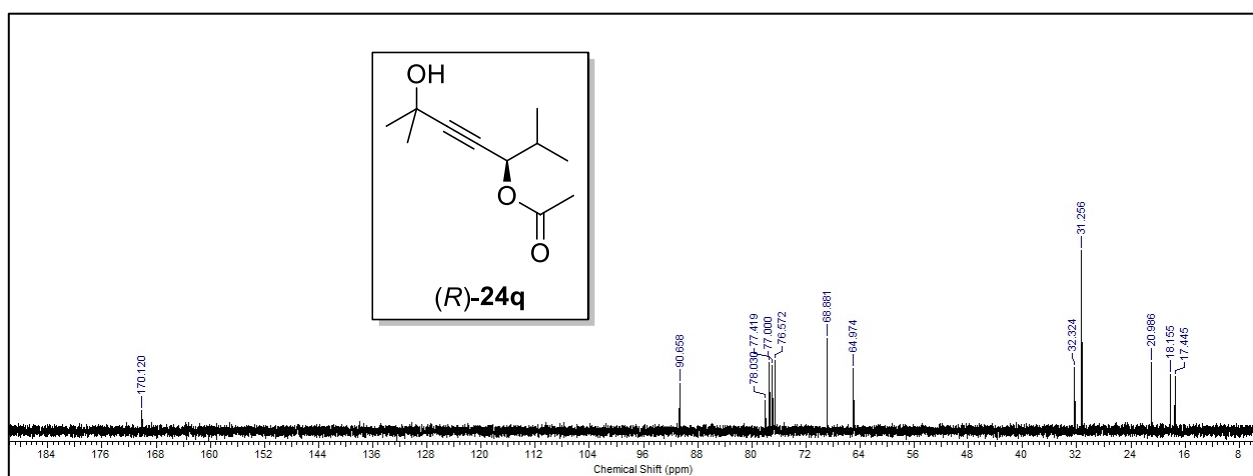
**Anexo 57:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol (S)-20q.



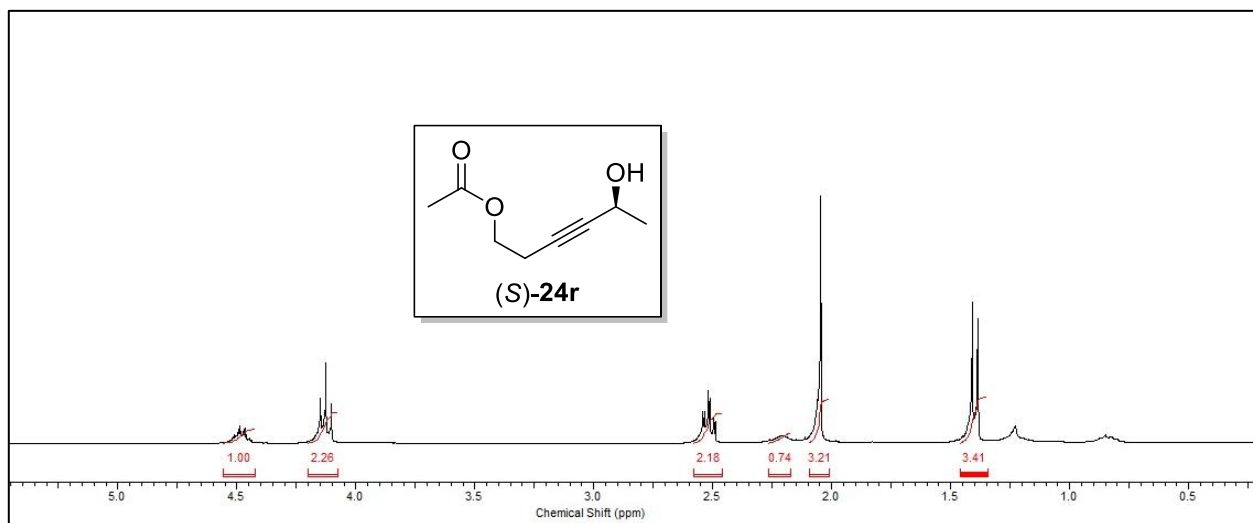
**Anexo 58:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-2,6-dimetilhept-3-ino-2,5-diol (S)-20q.



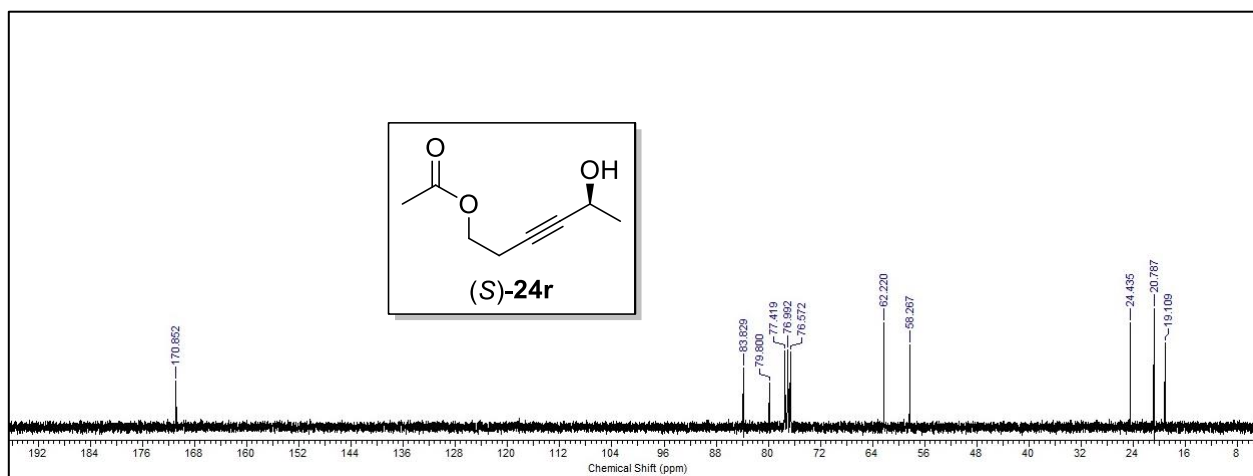
**Anexo 59:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-hidroxi-2,6-dimetilhept-4-ino-3-acetato (R)-24q.



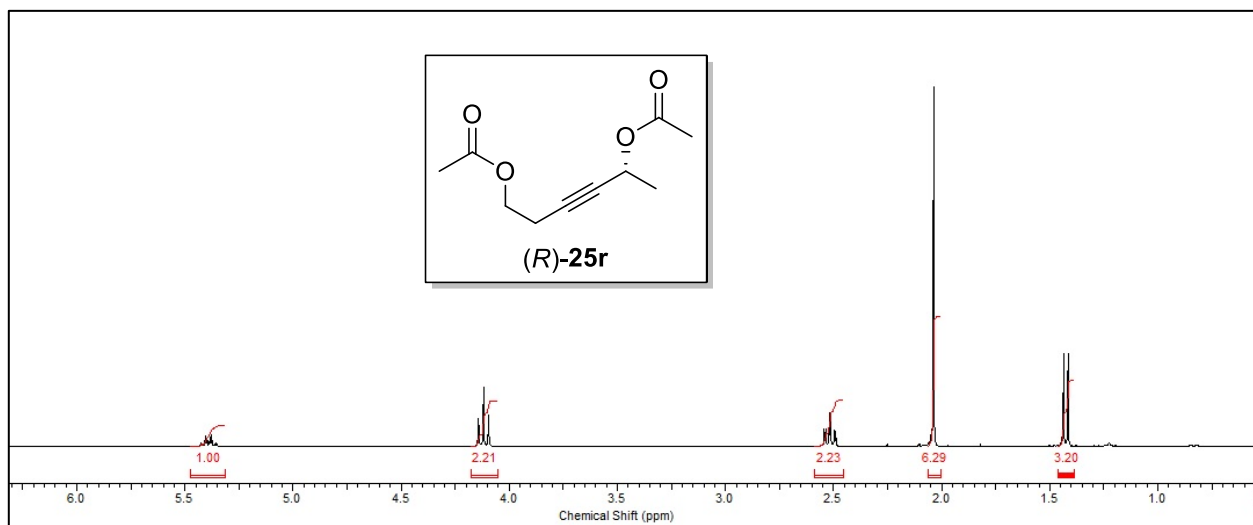
**Anexo 60:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-hidroxi-2,6-dimetilhept-4-ino-3-acetato (R)-24q.



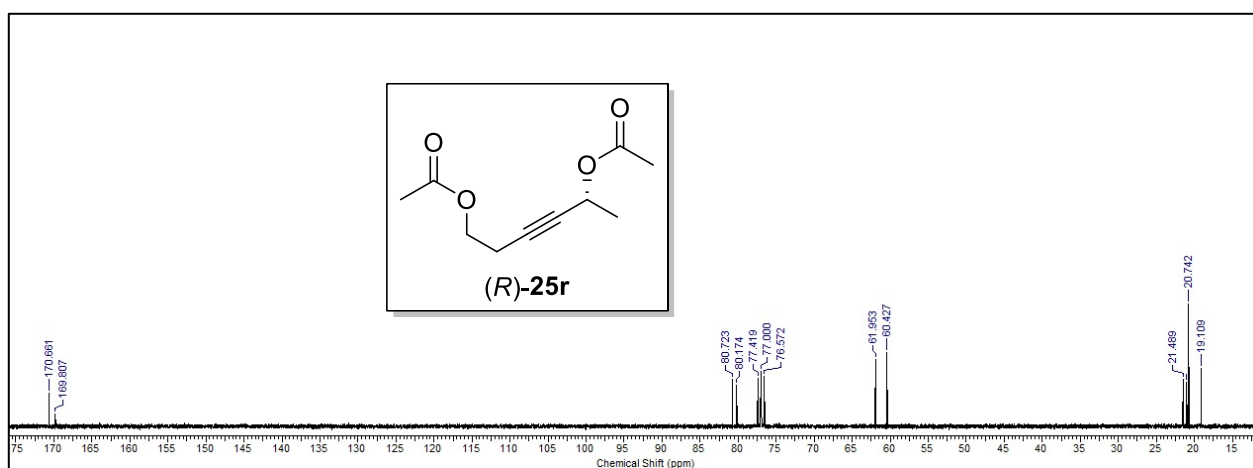
**Anexo 61:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxihex-3-ino-1-acetato (S)-24r.



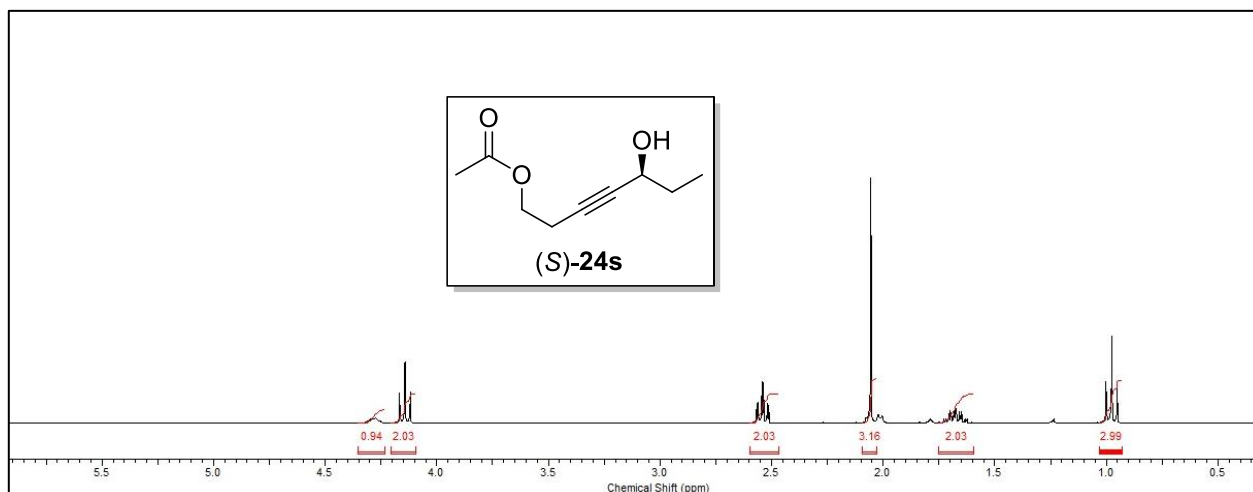
**Anexo 62:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxihex-3-ino-1-acetato (S)-24r.



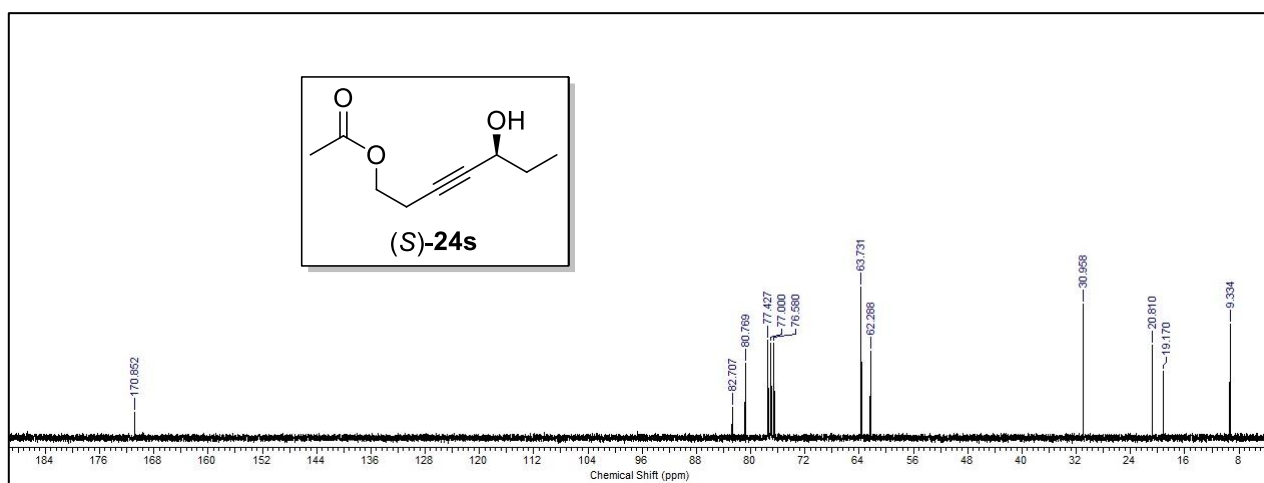
**Anexo 63:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-3-ino-1,5-diacetato (R)-25r.



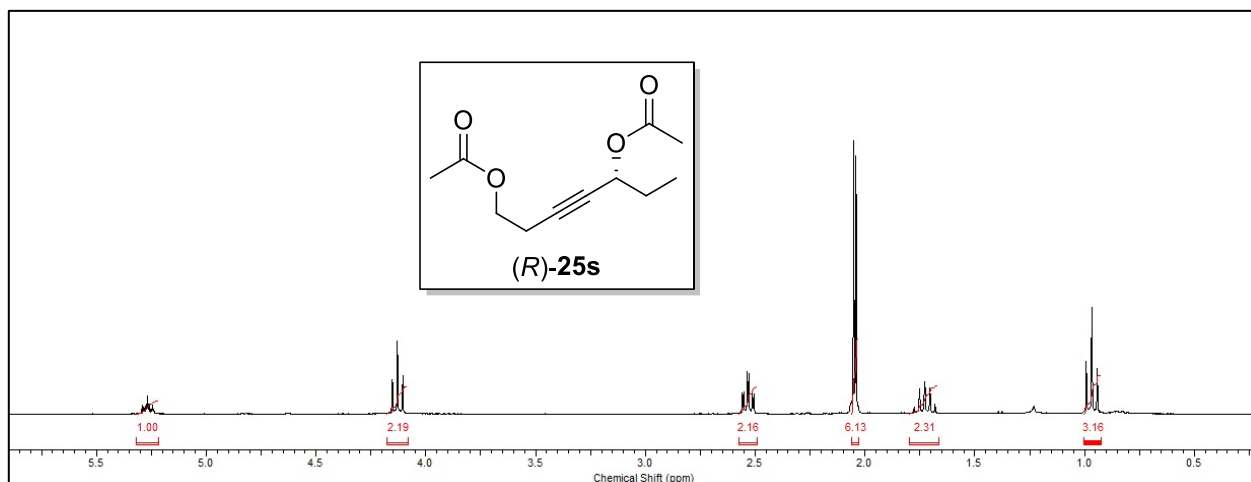
**Anexo 64:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hex-3-ino-1,5-diacetato (R)-25r.



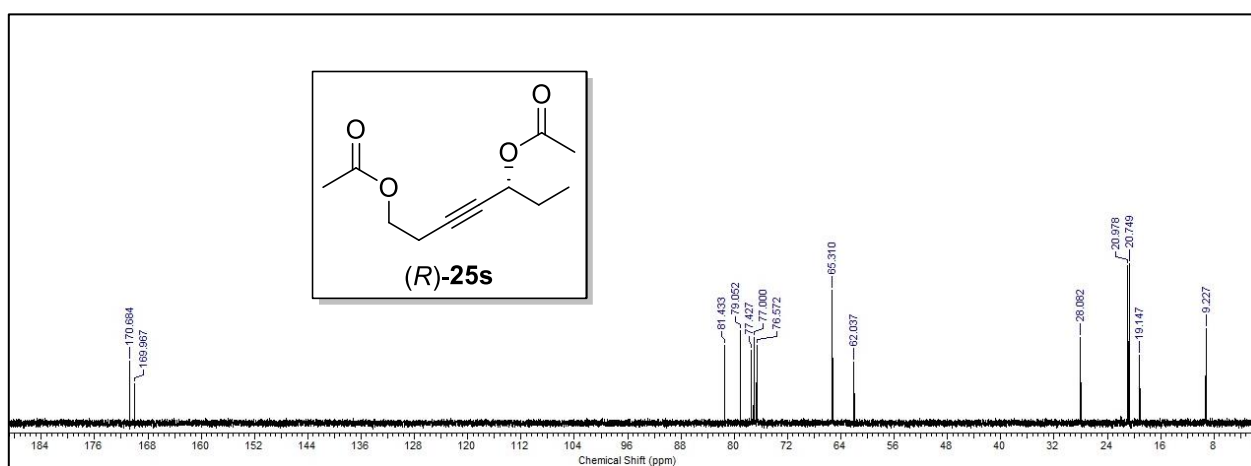
**Anexo 65:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxihept-3-ino-1-acetato (S)-24s.



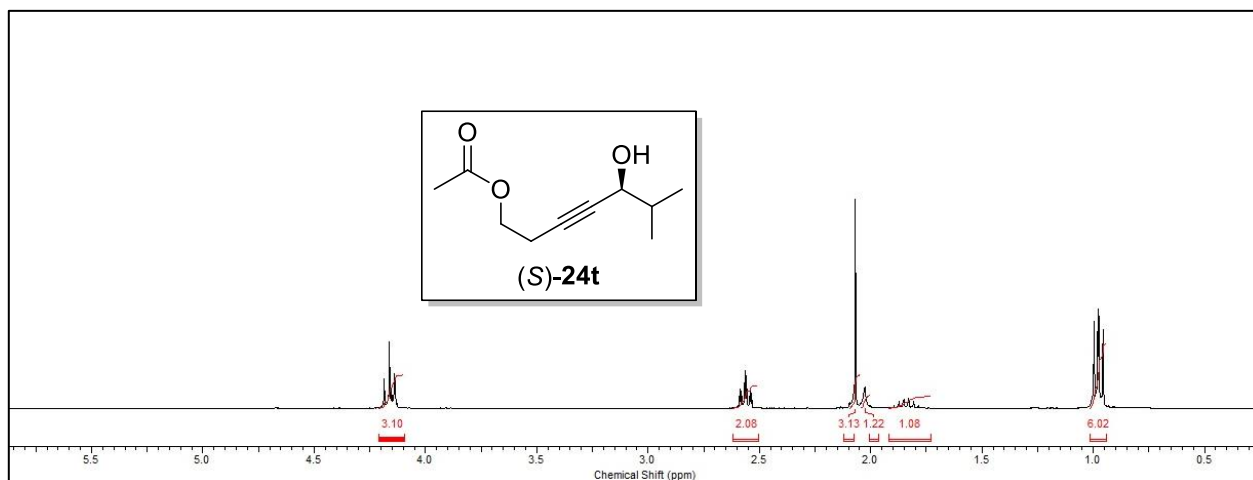
**Anexo 66:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxihept-3-ino-1-acetato (S)-24s.



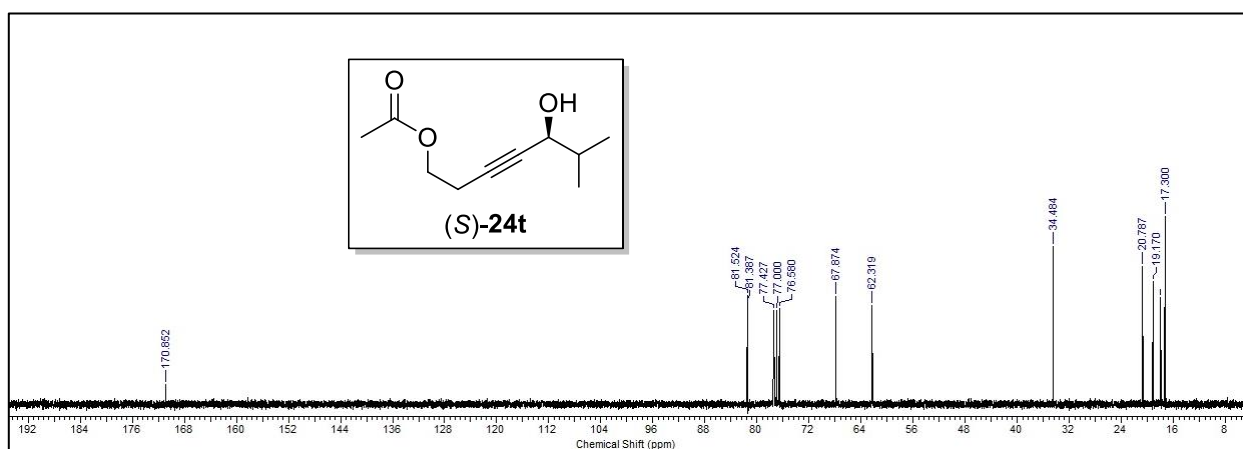
Anexo 67: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hept-3-ino-1,5-diacetato (R)-25s.



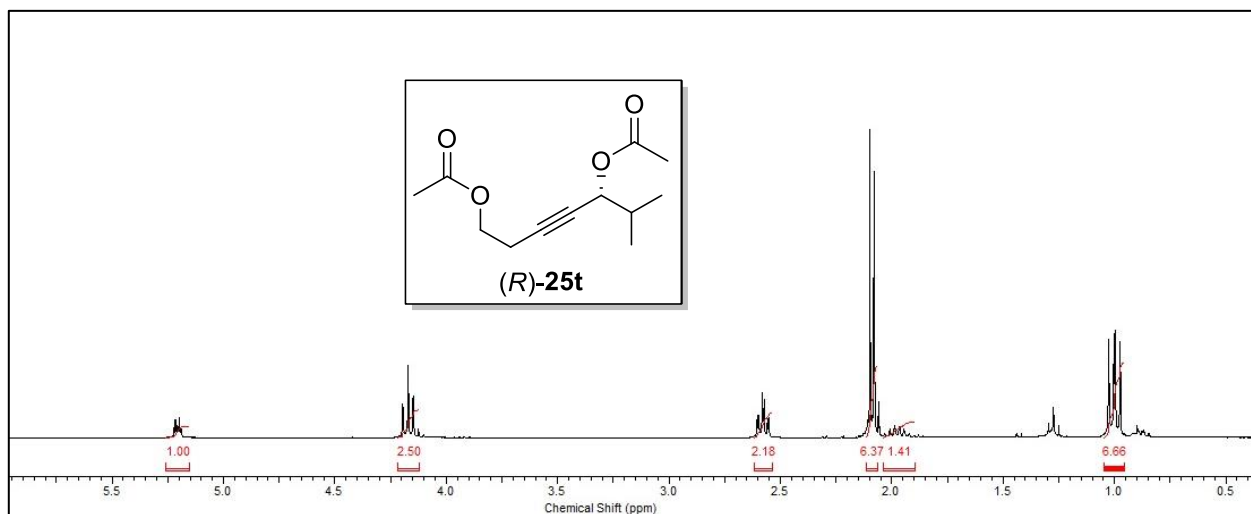
Anexo 68: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hept-3-ino-1,5-diacetato (R)-25s.



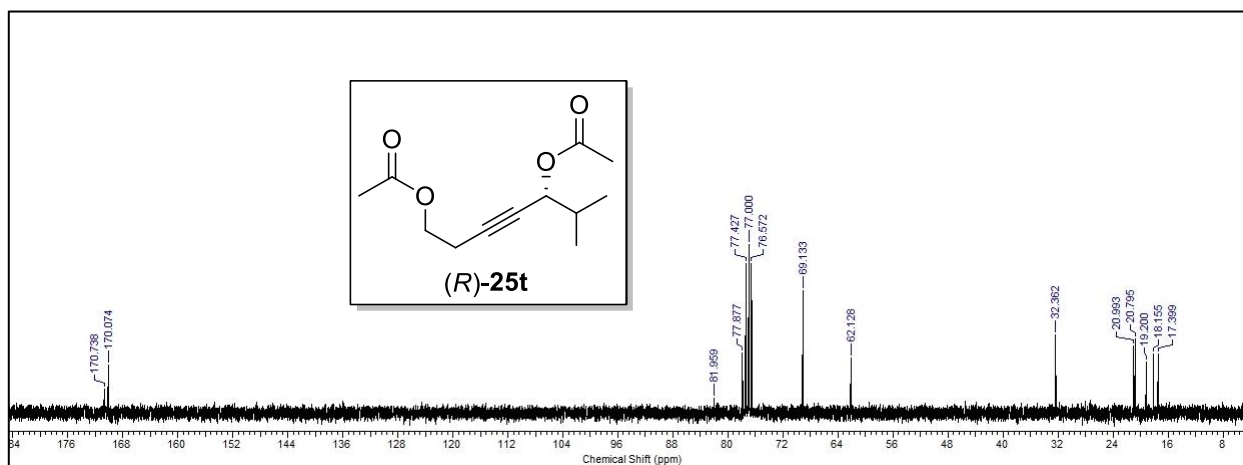
**Anexo 69:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxi-6-metilhept-3-ino-1-acetato (S)-24t.



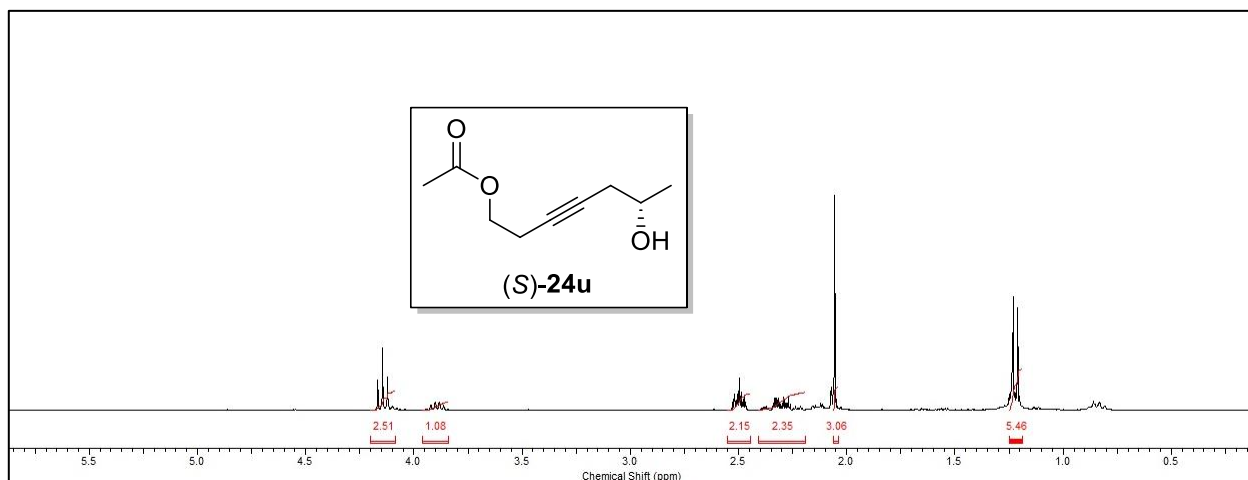
**Anexo 70:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-5-hidroxi-6-metilhept-3-ino-1-acetato (S)-24t.



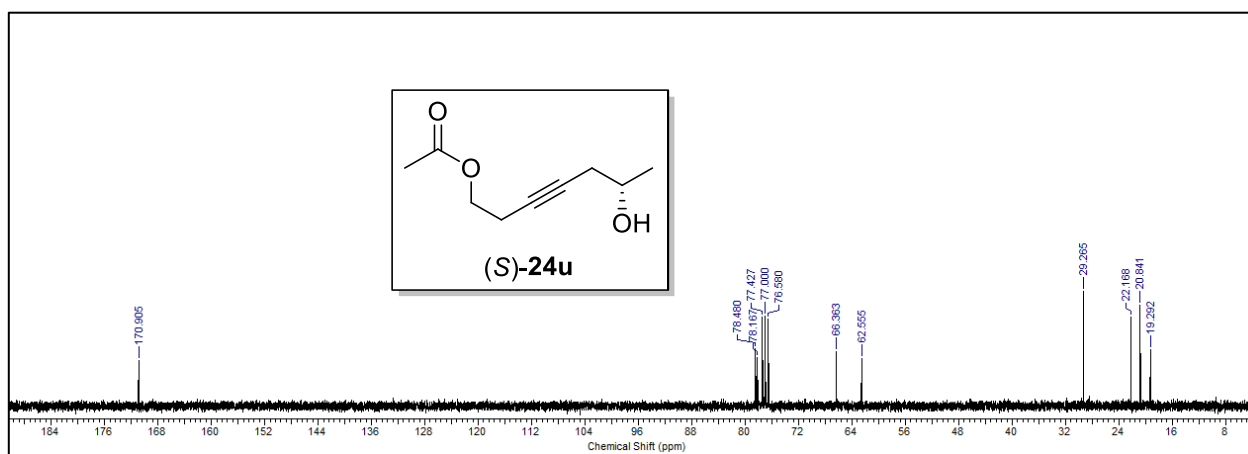
**Anexo 71:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-metilhept-3-ino-1,5-diacetato (R)-25t.



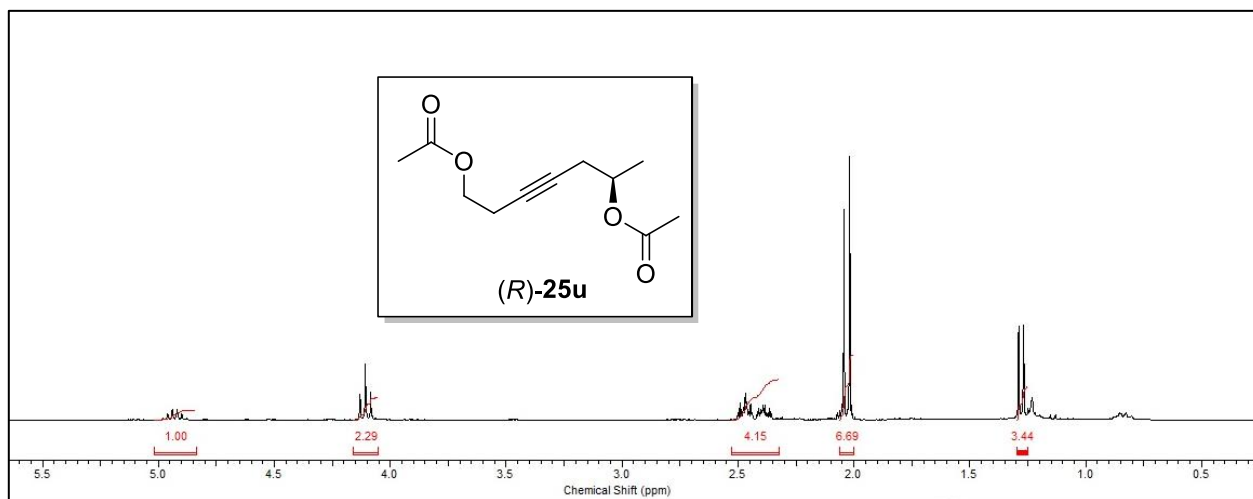
**Anexo 72:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-6-metilhept-3-ino-1,5-diacetato (R)-25t.



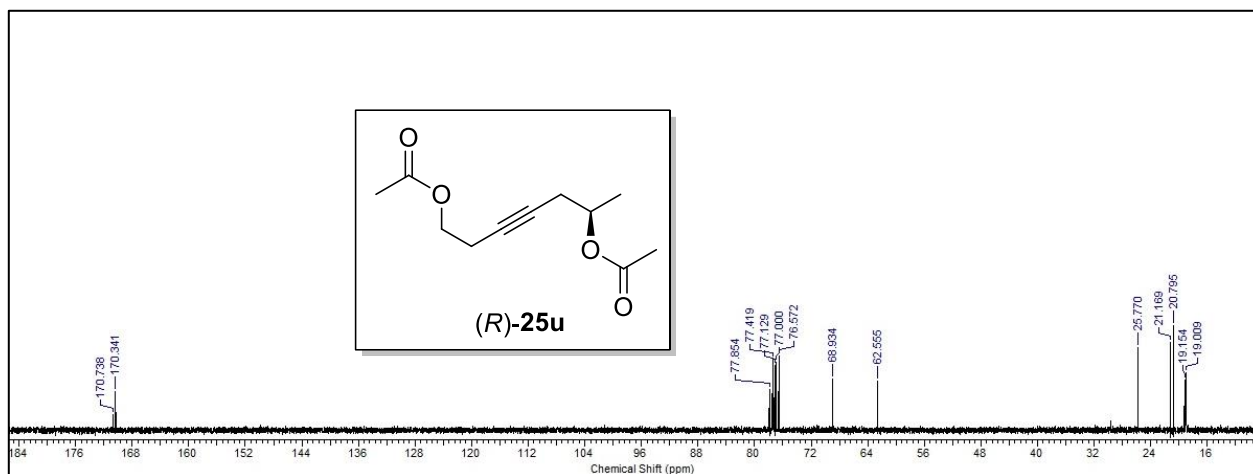
**Anexo 73:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-6-hidroxihept-3-ino-1-acetato (S)-24u.



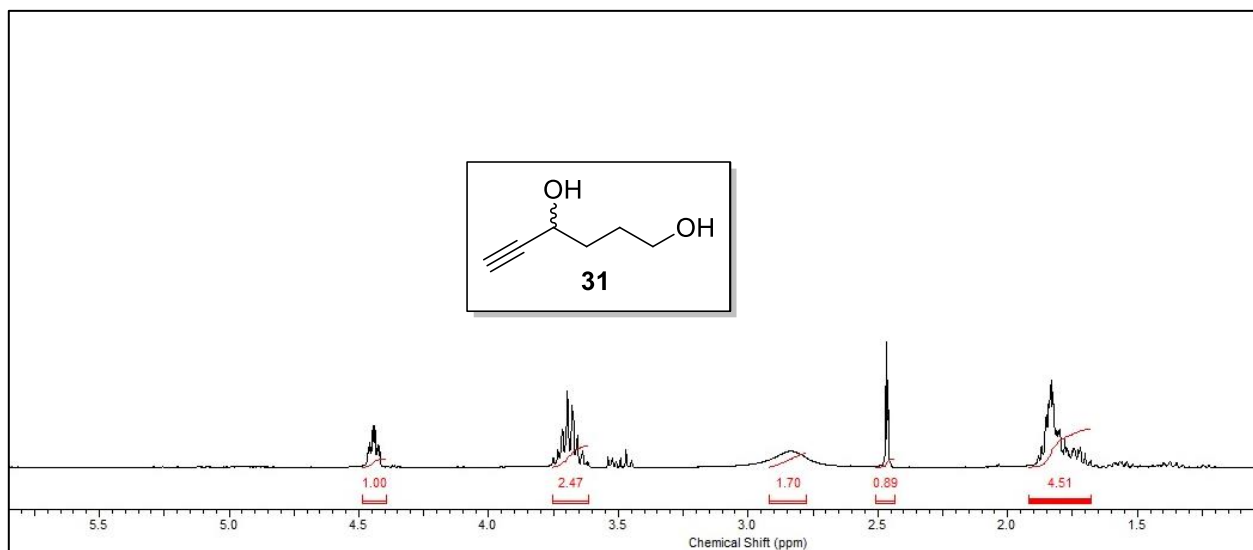
**Anexo 74:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (S)-6-hidroxihept-3-ino-1-acetato (S)-24u.



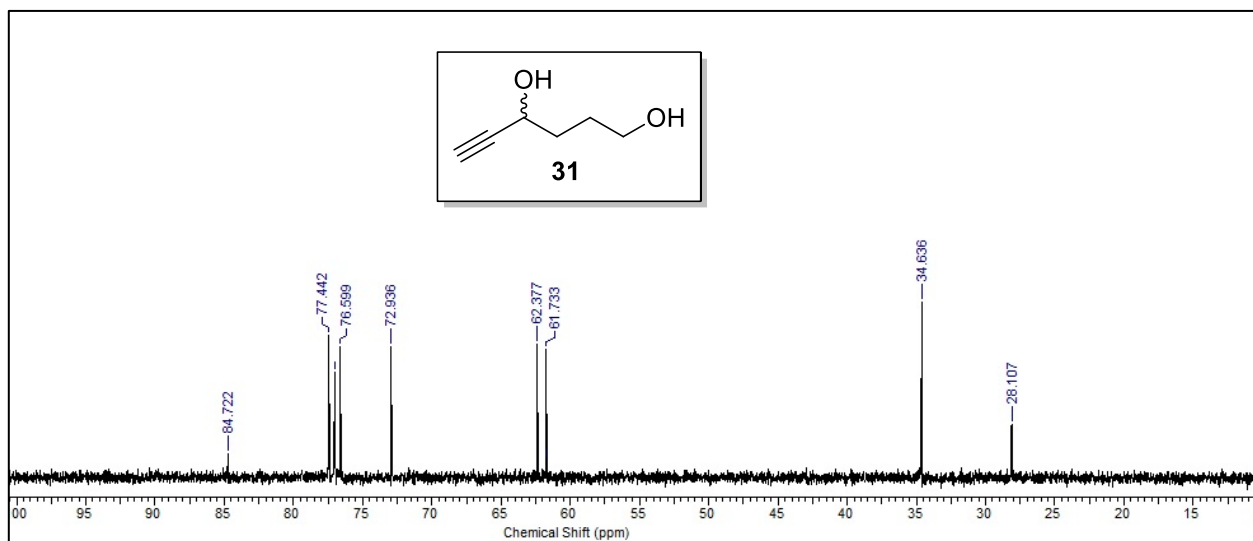
Anexo 75: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hept-3-ino-1,6-diacetato (R)-25u.



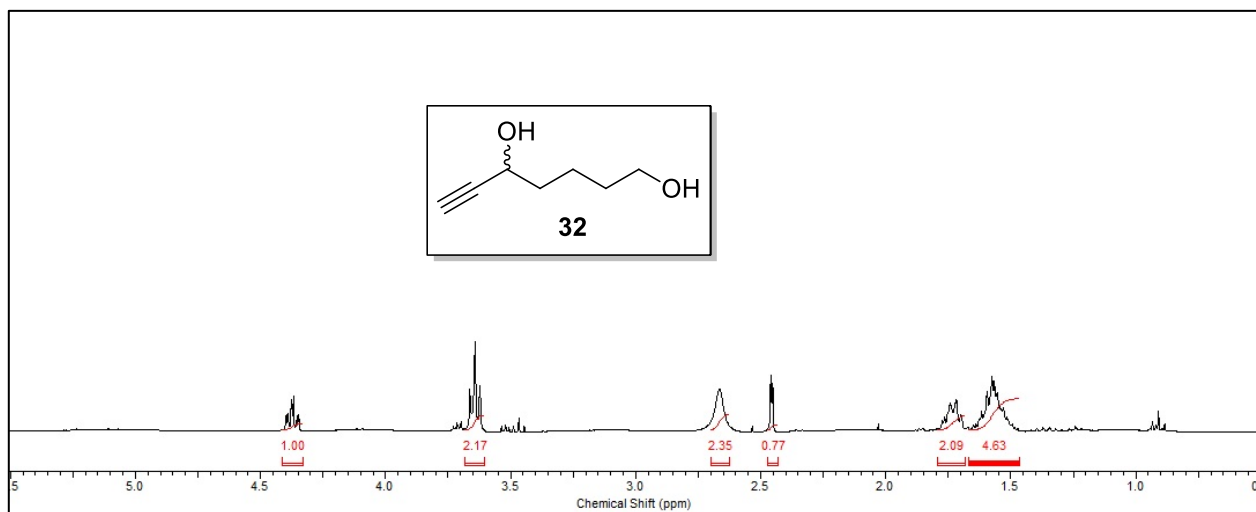
Anexo 76: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (R)-hept-3-ino-1,6-diacetato (R)-25u.



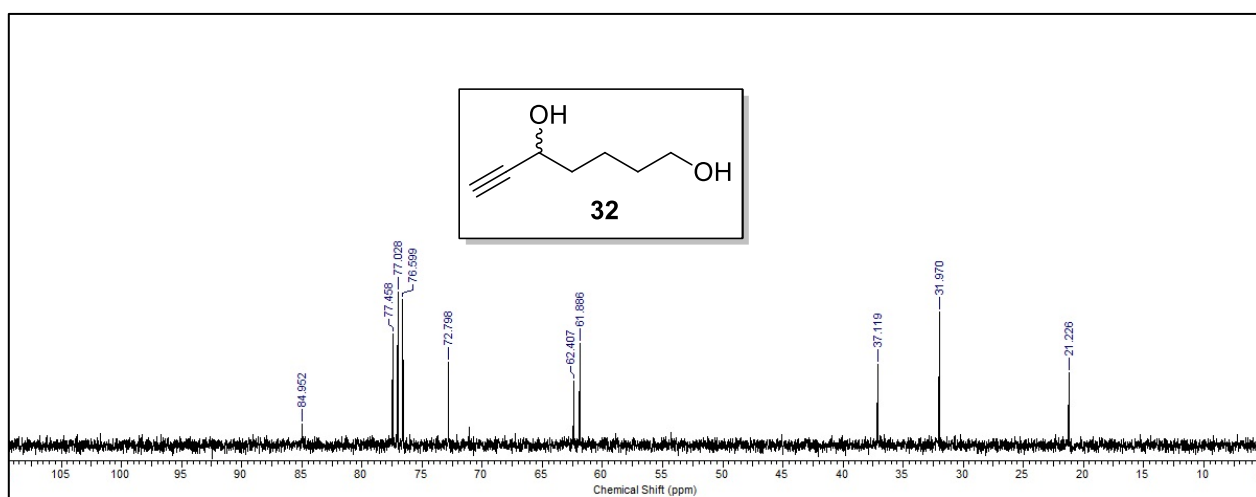
**Anexo 77:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-5-ino-1,4-diol (*R,S*)-**31**.



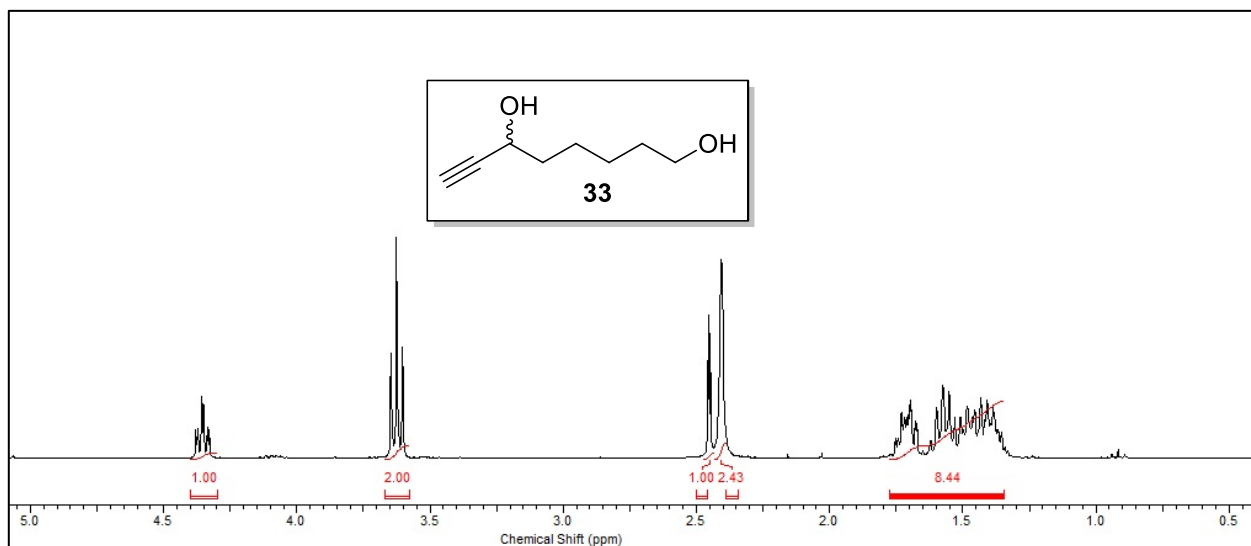
**Anexo 78:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hex-5-ino-1,4-diol (*R,S*)-**31**.



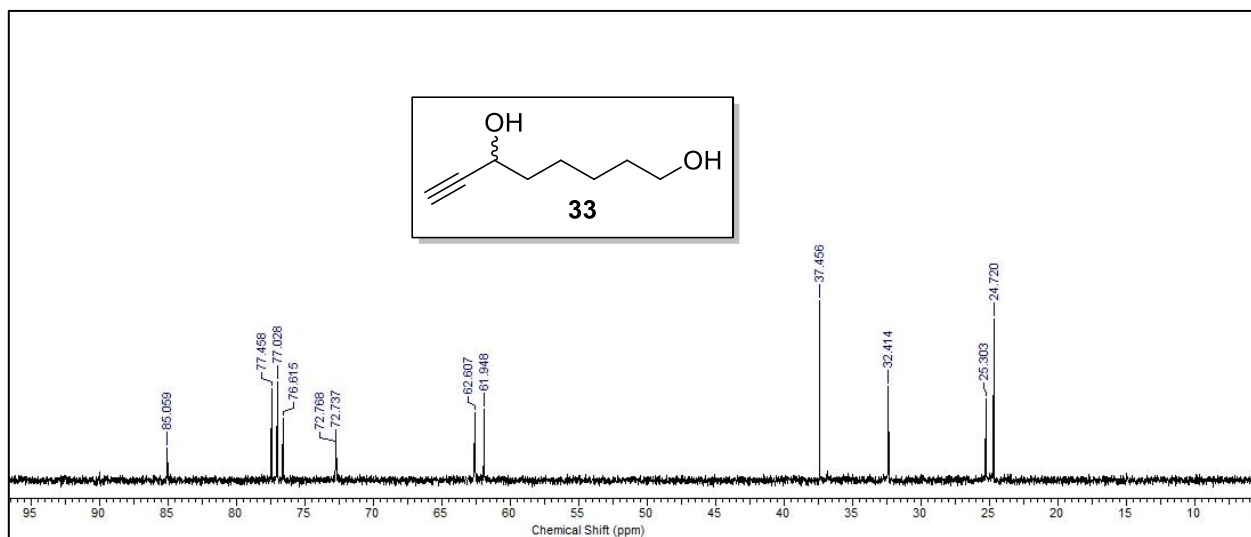
**Anexo 79:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-6-ino-1,5-diol (*R,S*)-**32**.



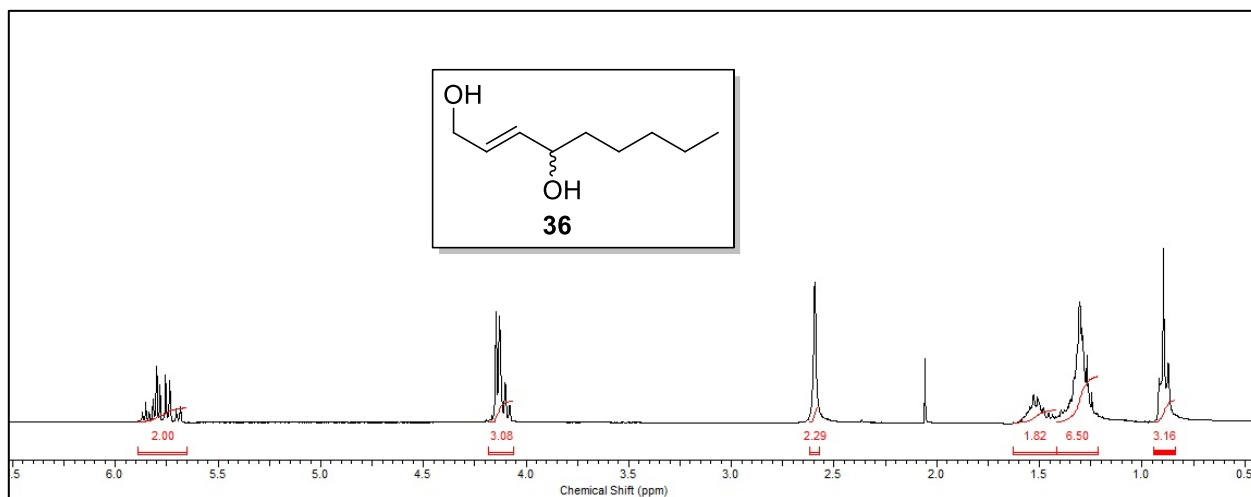
**Anexo 80:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do hept-6-ino-1,5-diol (*R,S*)-**32**.



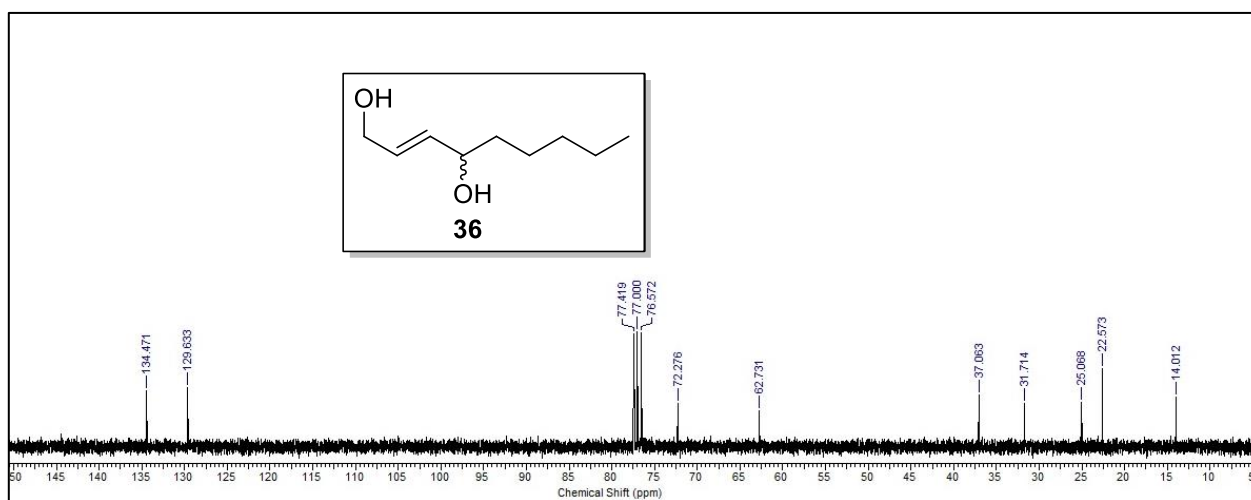
**Anexo 81:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do oct-7-ino-1,6-diol (*R,S*)-**33**.



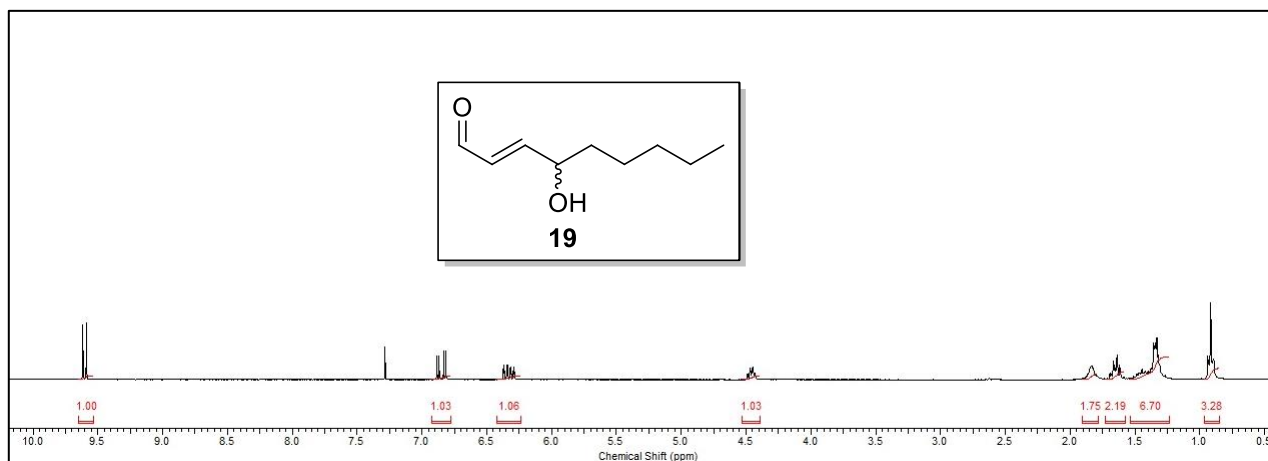
**Anexo 82:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do oct-7-ino-1,6-diol (*R,S*)-**33**.



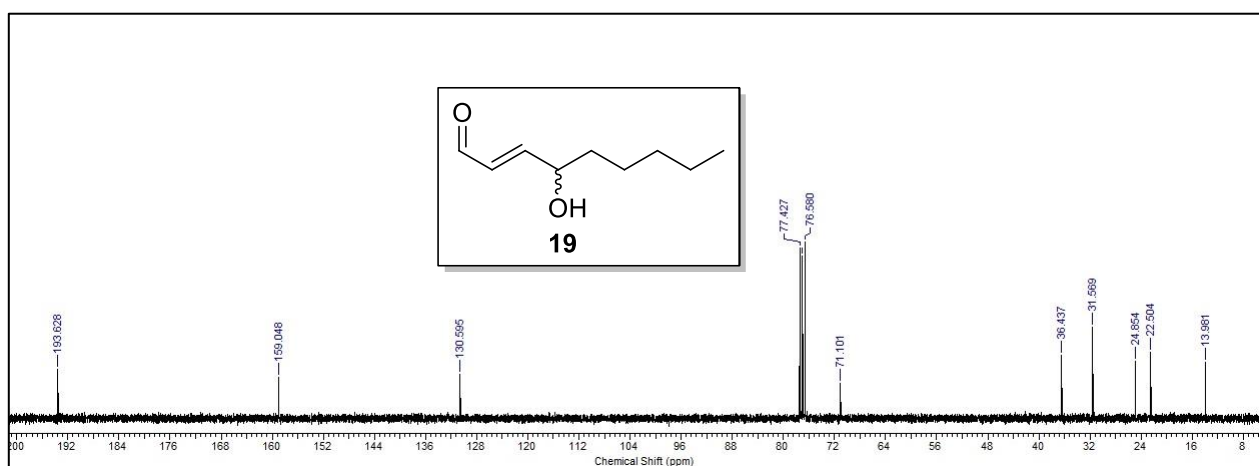
**Anexo 83:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (*E*)-non-2-eno-1,4-diol **36**.



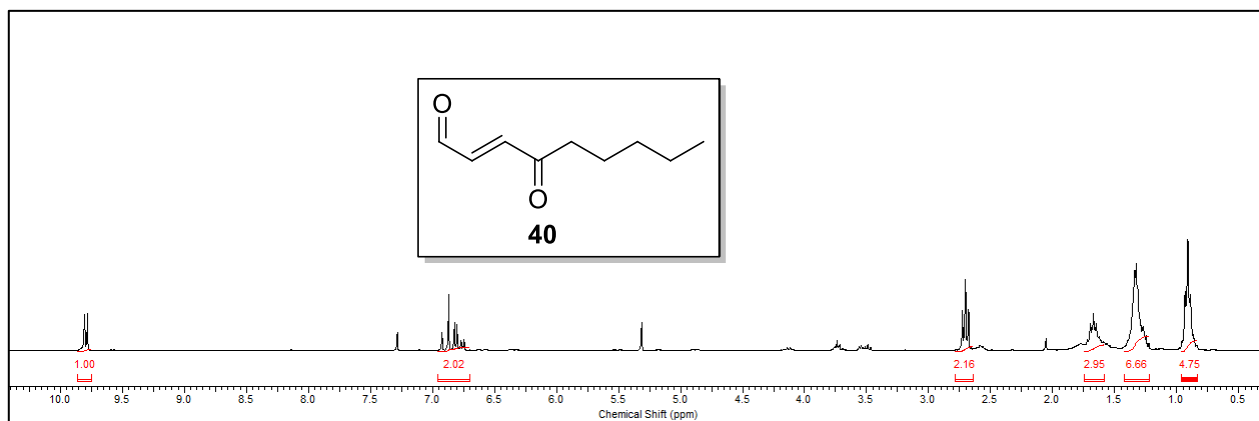
**Anexo 84:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (*E*)-non-2-eno-1,4-diol **36**.



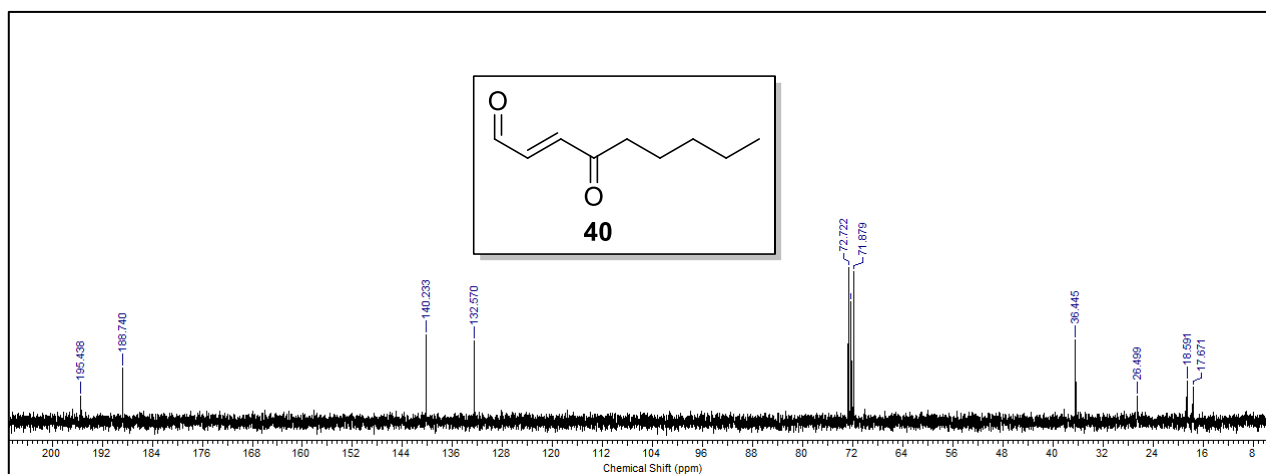
**Anexo 85:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (*E*)-4-hidroxinon-2-enal (4-HNE) **19**.



**Anexo 86:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (*E*)-4-hidroxinon-2-enal (4-HNE) **19**.



Anexo 87: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do (E)-4-oxonon-2-enal **40**.



Anexo 88: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do (E)-4-oxonon-2-enal **40**.