

Cátia Castanheira Caratão

SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ESPIRO-LACTÂMICOS

Mestrado em Química Medicinal

Departamento de Química

FCTUC

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Cátia Castanheira Caratão

SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ESPIRO-LACTÂMICOS

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química
Medicinal**

Professora Doutora Teresa Margarida Vasconcelos Dias Pinho e Melo

Doutora Susana Margarida Martins Lopes

Setembro de 2017

Universidade de Coimbra

*“A sabedoria consiste em compreender que o tempo
dedicado ao trabalho nunca é perdido.”*

Ralph Waldo Emerson

Agradecimentos

Quando somos pequeninos temos muitos sonhos. Sonhamos com o possível e o impossível, mas tudo o que queremos é ser felizes. Muitos dos meus sonhos tornaram-se objetivos de vida, alguns realizados e outros à espera do momento certo para se tornarem realidade. Este trabalho é um desses objetivos e sinto-me feliz e agradecida por ter comigo todos aqueles que, ao longo deste percurso, me acompanharam e me incentivaram a atingi-lo. Não poderia deixar de prestar os meus sinceros agradecimentos por toda a ajuda prestada.

À Professora Doutora Teresa Pinho e Melo agradeço, em primeiro lugar, a orientação desde o início desta dissertação. Agradeço também por toda a instrução, apoio e confiança na minha capacidade, por toda a disponibilidade e incentivo prestados para a realização deste trabalho.

À Doutora Susana Lopes, pela partilha dos seus conhecimentos científicos, do seu espírito crítico e dos conselhos cedidos, que foram uma mais-valia e um estímulo para a minha aprendizagem. Agradeço igualmente pela incansável prestabilidade para alcançar a resposta para muitos problemas que foram surgindo no decurso deste trabalho. Não foi só uma orientadora como também uma amiga.

À Doutora Isabel Soares agradeço todo o apoio e conselhos transmitidos. Por toda a perseverança e grande profissionalismo, aliados a momentos de boa disposição.

À Doutora Ana Lúcia Cardoso, à Doutora Dina Murtinho e à Doutora Elisa Serra, tenho a agradecer toda a simpatia e disponibilidade demonstradas.

Ao Pedro Cruz pela colaboração nos estudos de RMN e pela sua incansável prestabilidade e paciência durante esta etapa.

Ao Grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra agradeço todo o acolhimento, apoio e diversão, que se tornaram essenciais para manter um bom ambiente de trabalho. Um grande obrigada a todas estas pessoas que estiveram sempre a meu lado, que me fizeram rir quando menos me apetecia e que me fizeram chorar de

tanto rir. Obrigada por me mostrarem como é trabalhar numa verdadeira equipa, onde a entreatajuda e a partilha são duas máximas sempre presentes deste laboratório. Não posso deixar de agradecer, particularmente, à Andreia Alves, ao Américo Alves, à Nélia Tavares, à Inês Fonseca e à Margarida Esteves, por todos os momentos marcantes e inesquecíveis. À Dona Lurdes, por todos os conselhos e confidências, ajuda e apoio prestados durante este trabalho.

Aos meus colegas de curso e amigos tenho que agradecer o apoio que me deram em todos os momentos e o facto de terem sempre acreditado nas minhas capacidades. Agradeço de forma especial à Inês Fonseca, à Ana Tomé e à Adriana Carvalho, por me terem acompanhado diariamente, e por me terem dado ânimo e transmitido positivismo quando mais precisei.

Não importa a distância a que estamos da nossa cidade natal, sabemos que quando voltarmos aquelas pessoas que nos são mais queridas vão estar de braços abertos à nossa espera. Aos meus amigos, sobretudo os de sempre, Pedro Pereira, Inês Filipa, Inês Costa, Bryan Amorim e Susana Chivarria, tenho a agradecer todos os anos em que sempre estiveram ao meu lado, nos melhores e nos piores momentos.

Aos meus pais e à minha irmã Bianca, as melhores pessoas do mundo, agradeço do fundo do coração por me terem ensinado a amar verdadeiramente. Obrigada por toda a educação, compreensão, carinho e, principalmente, por todos os sacrifícios. Obrigada por me terem apoiado em todos os momentos, por me terem incitado a lutar quando mais queria desistir e por terem sempre acreditado em mim. Obrigada por me permitirem chegar onde cheguei hoje.

Agradeço ainda à minha restante família, pelo apoio, incentivo e carinho demonstrado durante este percurso de cinco anos.

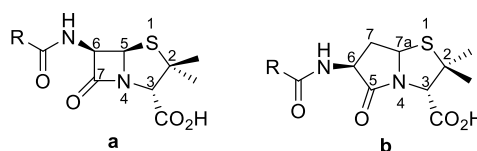
Índice

Nomenclatura	IX
Abreviaturas	XI
Resumo	XIII
Abstract	XV
Capítulo I – Introdução	3
1.1 - β -Lactamas	3
1.1.1 - Vias de síntese de β -lactamas	5
1.2 - Espiro- β -lactamas	6
1.2.1 - Síntese de spiro- β -lactamas via reações de ciclo-adição 1,3-dipolar.....	8
1.2.2. - Outros métodos para a síntese de espiro- β -lactamas	10
1.3 - γ -Lactamas	13
1.3.1 - Vias de Síntese do núcleo γ -lactâmico	15
1.3.2 - Síntese de Espiro- γ -lactamas	20
Referências	24
Capítulo II – Síntese de espiro- γ -lactamas quirais	31
2.1 - Objetivos	31
2.2 - Síntese da diazo- γ -lactama	31
2.3 - Síntese de espiro- γ -lactamas quirais a partir de diazo- γ -lactamas	48
2.4 - Conclusão	52
Referências	54
Capítulo III – Síntese de Espiro- β -lactamas quirais	57
3.1 - Objetivos	57
3.2 - Síntese dos 6-alkilidenopenicilanatos	58
3.3 - Ciclo-adição [3+2] formal de aziridinas com metil vinil cetona e 6-alkilidenopenicilanatos	59
3.4 - Reações de ciclo-adição 1,3-dipolar sob irradiação de micro-ondas	66
3.5 - Conclusão	69

Referências	71
Capítulo IV – Parte Experimental	75
4.1 – Instrumentação	75
4.2 – Solventes e Reagentes	76
4.3 – Métodos Sintéticos referentes ao Capítulo II	77
4.3.1 – Síntese de Tiazolidinas	77
4.3.2 – Síntese de Diazo- γ -lactamas	79
4.3.3 – Síntese de Espiro- γ -lactamas	83
4.4 – Métodos Sintéticos referentes ao Capítulo III	86
4.4.1 – Síntese de precursores das espécies 1,3-dipolares	86
4.4.2 – Ciclo-adição [3+2] formal da metil vinil cetona com aziridinas..	87
4.4.3 – Ciclo-adição 1,3-dipolar de 6-alkilidenopenicilanatos com	
iletos de azometino	89
Referências	91

Nomenclatura

A ordem de numeração clássica dos compostos β -lactâmicos, apresentado no exemplo 1a, continua a ser comumente utilizada na literatura^a e foi a numeração utilizada nesta tese para compostos β -lactâmicos. Relativamente aos compostos γ -lactâmicos e aos restantes compostos, a nomenclatura utilizada nesta tese segue as regras gerais da IUPAC.^b Foi utilizado o sistema Hantzsch-Widman para compostos heterociclos monocíclicos e o sistema de nomenclatura para anéis fundidos (Exemplo 1b).^c



Exemplo 1

^aJastrzebski, J. T. B. H.; Koten, G. *Penicillins*. Em *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II* (Eds.: Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V.), Elsevier, Oxford, **1996**, col. 1B, cap.1.20.

^bFernandes, A. C.; Herold, B.; Maia, H.; Rauter, A. P.; Rodrigues, J. A. R. *Guia IUPAC para a Nomenclatura de Compostos Orgânicos*, LIDEL, Lisboa, **2002**.

^cMcNaught, A. D.; Smith, P. A. S., *Nomenclature of Heterocyclic Compounds*. Em *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Ed. Otto Meth-Cohn; Pergamon Press, **1984**, Vol. 1, 7-45.

Abreviaturas

6-APA	Ácido 6-aminopenicilânico
Bn	Benzilo
Bu	Butilo
COSY	do inglês <i>COrelated Spectroscopy</i>
d	Dupleto
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
DMAD	Dimetil acetilenodicarboxilato
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EMAR	Espectrometria de massa de alta resolução
Equiv	Equivalentes
ESI	do inglês <i>ElectroSpray Ionization</i>
HMBC	do inglês <i>Heteronuclear Multiple-Bond Correlation</i>
HMQC	do inglês <i>Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation</i>
IV	Espectroscopia de Infra-Vermelho
IUPAC	do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
m	Multiplete
MH ⁺	lão molecular positivo
MW	Micro-ondas, do inglês <i>Microwave</i>
NOESY	do inglês <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
p.f.	Ponto de fusão
Ph	Fenilo
PM	Peneiros moleculares
ppm	Partes por milhão
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
q	Quarteto
QSAR	do inglês <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>

RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
RMN ¹³ C	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear protónica
SAR	do inglês <i>Structure-Activity Relationship</i>
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetra-hidrofurano
TLC	Cromatografia em camada fina, do inglês <i>Thin Layer Chromatography</i>
TMS	Tetrametilsilano
Ts	Tosil
VIH	Vírus de Imunodeficiência Humana

Resumo

O estudo da síntese de espiro- β -lactamas desenvolvido pelo Grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra, levou à descoberta de compostos líder com propriedades anti-VIH e anti-*Plasmodium berghei* muito interessantes. Desta forma, o trabalho de investigação apresentado nesta tese de mestrado teve como principal objetivo a síntese de novos compostos espirocíclicos quirais partindo de compostos γ - e β -lactâmicos, na expectativa de atingir resultados igualmente promissores. Este propósito foi alcançado através do estudo da síntese e reatividade de diazo- γ -lactamas e de 6-alquilidenopenicilanatos derivados de diazo- β -lactamas, em reações de ciclo-adição.

No primeiro capítulo são apresentados alguns exemplos relevantes da literatura que descrevem a síntese e as propriedades biológicas de compostos espiro- β -lactâmicos. Além disso, estão também descritos exemplos de métodos sintéticos para a obtenção do núcleo γ -lactâmico e de compostos espiro- γ -lactâmicos.

No segundo capítulo pretendeu-se apresentar a otimização da via sintética utilizada para a obtenção da diazo- γ -lactama pretendida, bem como o estudo da reatividade de diazo- γ -lactamas em reações de ciclo-adição 1,3-dipolar aplicadas na síntese de novas γ -lactamas espirocíclicas recorrendo a diferentes dipolarófilos. A diazo- γ -lactama reagiu com dipolarófilos como o acetilenocarboxilato de dimetilo, o propiolato de metilo ou maleimidadas *N*-substituídas, para obter espiro- γ -lactamas quirais.

No terceiro capítulo encontra-se descrito o estudo da reatividade de 6-alquilidenopenicilanatos em reações de ciclo-adição [3+2] formal e ciclo-adição 1,3-dipolar com diferentes espécies 1,3-dipolares, com o intuito de preparar espirociclopírrolidinopenicilanatos quirais. Ainda neste capítulo foram apresentados os ensaios efetuados numa reação modelo que usa metil vinil cetona uma vez que mimetiza o comportamento dos 6-alquilidenopenicilanatos em reações de ciclo-adição deste tipo.

Em síntese, algumas das metodologias propostas no decurso desta tese conduziram à obtenção de diversas lactamas espirocíclicas quirais, que se espera terem propriedades farmacológicas de interesse.

Abstract

The study of the synthesis of spiro- β -lactams developed by the Organic Chemistry Group of the University of Coimbra, led to the discovery of lead compounds with interesting anti-HIV and anti-*Plasmodium berghei* properties. Accordingly, the main objective of the research work presented in this thesis was the synthesis of new chiral spirocyclic compounds starting from β - and γ -lactams, with the aim of obtaining equally promising results. To achieve this goal, the synthesis and reactivity of diazo- γ -lactams and 6-alkylidenepenicillanates derived from diazo- β -lactams was explored in cycloaddition reactions.

Initially, we present the synthetic procedures described in the literature to afford β -lactams as well as the different methodologies applied to the synthesis of spirocyclic β -lactams, and their biological properties. We also describe several synthetic methods to obtain the γ -lactam moiety and spiro- γ -lactam compounds.

In the second chapter we describe the optimization of each step of the procedure to achieve the intended diazo- γ -lactam. Following this, we explored the 1,3-dipolar cycloaddition of diazo- γ -lactams with different dipolarophiles, as a route to the formation of new chiral spiro- γ -lactams. Diazo- γ -lactams reacted with dipolarophiles such as dimethyl acetylenedicarboxylate, methyl propiolate or *N*-substituted-maleimides, to afford chiral spiro- γ -lactams.

In the third chapter, the reactivity of 6-alkylidenepenicillanates in [3+2] formal and 1,3-dipolar cycloadditions with different 1,3-dipolar species was studied, with the objective of preparing chiral spiropyrrolidinopenicillanates. Herein, we also describe a model reaction which uses methyl vinyl ketone to mimic the role of 6-alkylidenepenicillanates in [3+2] formal cycloadditions.

In summary, some of the methodologies described in this thesis allowed the preparation of several new chiral spirocyclic lactams, a new class of compounds which is expected to have interesting pharmacological properties.

Capítulo I

Introdução

Introdução

As lactamas são amidas cíclicas com um anel variável, tal como as α -, β - e γ -lactamas. Apesar das β -lactamas serem antibióticos notáveis, há outros derivados β -lactâmicos que exibem efeitos farmacológicos adicionais como atividade antiviral e anti-inflamatória. Adiante serão fornecidos exemplos de compostos conhecidos e descritos na literatura.

1.1. β -Lactamas

O anel β -lactâmico é a estrutura central de vários compostos farmacologicamente ativos, tais como as penicilinas e as cefalosporinas.^{1,2,3,4,5,6,7} As β -lactamas (2-azetidionas) (Figura 1.1a) são amidas cíclicas de 4 membros que foram inicialmente sintetizadas por Staudinger, em 1907 (Figura 1.1.a).^{8,9} No entanto, o potencial efeito antibiótico destes compostos só foi reconhecido em 1928 por Alexander Fleming, que descobriu a penicilina – uma substância com propriedades antibacterianas. No princípio da década de 40, teve início a produção industrial e o uso terapêutico do primeiro antibiótico β -lactâmico, a penicilina natural benzilpenicilina (também conhecida por penicilina G) (Figura 1.1.b).^{5,10,11,12,13}

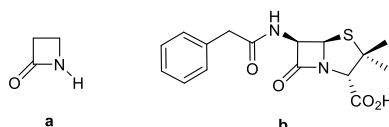


Figura 1.1. a) Estrutura de 2-azetidionas; b) estrutura da penicilina G.

Os compostos derivados de β -lactamas naturais, semi-sintéticas ou sintéticas, são extremamente relevantes na área da química medicinal devido à sua atividade antibiótica.^{14,15} Os principais antibióticos desta classe e algumas estruturas dos principais inibidores das β -lactamases (enzimas que inativam os antibióticos β -lactâmicos), como é o caso do ácido clavulânico e do sulbactam, contêm um anel β -lactâmico na sua estrutura (Figura 1.2).^{16,17} Este anel pode aparecer de diversas formas, fundido a estruturas cíclicas ou ligado a substituintes acíclicos, como é o caso das β -lactamas monocíclicas. No caso particular das penicilinas o anel β -lactâmico encontra-se fundido a um anel de tiazolidina enquanto nas cefalosporinas a um anel de di-hidrotiazina.^{11,18}

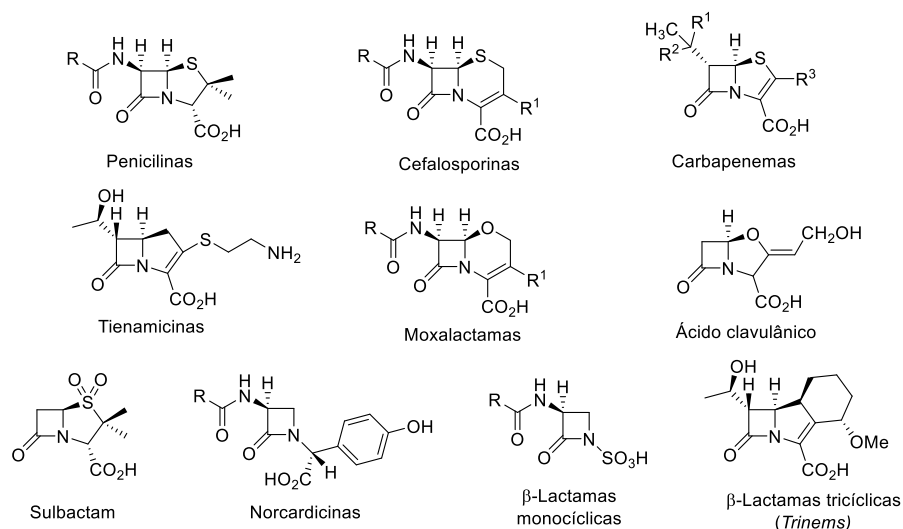


Figura 1.2. Estrutura dos principais antibióticos β -lactâmicos e inibidores das β -lactamases.

Os antibióticos β -lactâmicos atuam como agentes bactericidas inibindo a fase final da síntese da parede bacteriana por inibição das transpeptidases e carboxipeptidases, enzimas bacterianas que catalisam as reações de síntese do peptidoglicano – um biopolímero fundamental que confere a forma à célula, mantém a sua integridade estrutural e protege o organismo de ruptura osmótica.^{11,18,19} Infelizmente, a resistência bacteriana perturba a terapia antibiótica devido à ação das β -lactamases, que hidrolisam irreversivelmente a ligação CO-N do anel β -lactâmico, resultando na sua inativação. Este é o mecanismo mais usual de resistência bacteriana a este tipo de antibióticos.^{20,21} Apesar dos problemas associados a este fenómeno, os antibióticos β -lactâmicos continuam a ser amplamente utilizados devido à sua elevada eficácia, baixo custo, baixa toxicidade e efeitos secundários reduzidos.^{11,21} No entanto, o uso clínico excessivo destes agentes antibacterianos contribuiu para o aumento do número e para a difusão de estirpes bacterianas resistentes, através de processos de transferência do gene das β -lactamases e de mutações.^{4,22}

Os compostos β -lactâmicos são extremamente importantes para a humanidade^{4,6,7} devido à conhecida atividade antibacteriana, mas também dada a sua capacidade para atuar como inibidores das β -lactamases²³ e de outras enzimas, para inibir a absorção de colesterol e ainda demonstram ter atividade antituberculose, anticancerígena^{2,14} e antiviral²⁴, entre outras (Figura 1.3). As β -lactamas também são sínteses de elevado

interesse em síntese orgânica, fornecendo vias para a obtenção de α - e β -aminoácidos e peptídeos.²⁵

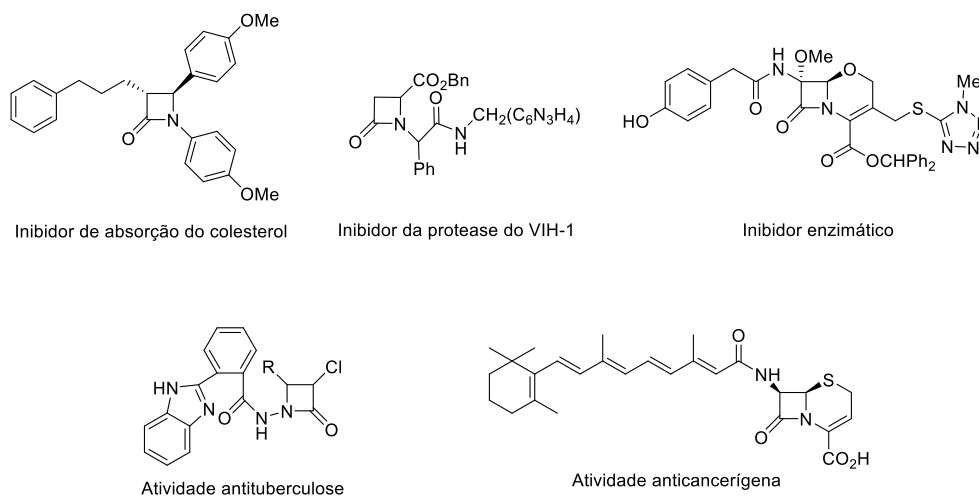


Figura 1.3. Exemplos ilustrativos de compostos β -lactâmicos com diferentes atividades biológicas.^{13,24}

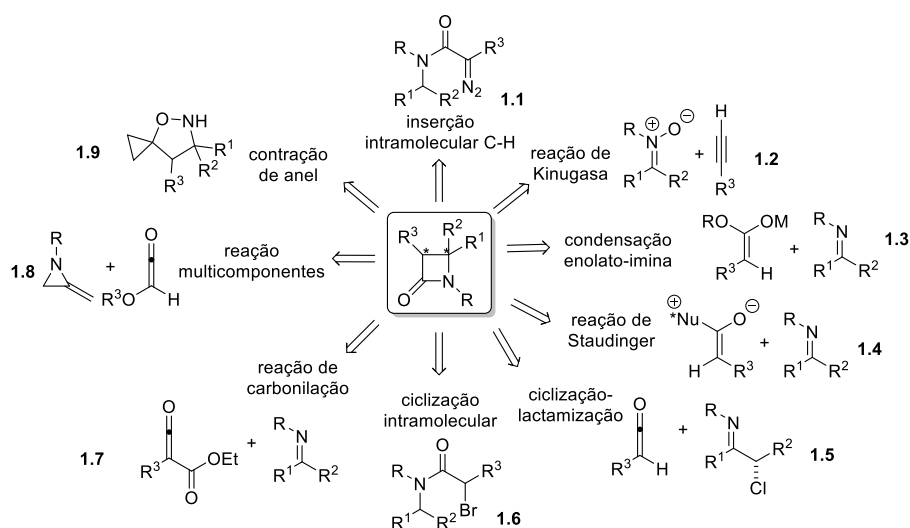
1.1.1 Vias de síntese de β -lactamas

Os métodos sintéticos para a construção do anel β -lactâmico foram amplamente desenvolvidos ao longo do último século a partir de quase todos os conjuntos possíveis de sintões. Ainda assim, surge a necessidade de inovação ou de melhoria de estratégias já conhecidas e descritas na literatura. A síntese, a reatividade e o estudo das propriedades biológicas das β -lactamas, têm uma certa relevância para a ciência, resultando em vários artigos de revisão sobre o tema.^{7,26,27,28}

As β -lactamas podem ser obtidas a partir da eficiente reação de inserção intramolecular C-H de compostos diazo **1.1**, provenientes da geração de um intermediário carbeno (ou carbenóide).²⁹ Em 1972, foi reportada a primeira síntese de uma β -lactama utilizando uma nitrona e um derivado alquino segundo uma reação de Kinugasa **1.2**.³⁰ A utilização de cetenos, como derivados do enolato, para reagir com iminas e formar o núcleo β -lactâmico segundo uma reação de condensação enolato-imina **1.3**, foi inicialmente descrita por Gilman e Speeter em 1943.³¹ No entanto, e até à data, a síntese assimétrica catalítica de β -lactamas mais eficaz continua a ser a reação de Staudinger **1.4**, onde ocorre a ciclo-adição de cetenos com iminas.³¹ Em 2008 surgiu uma reação de ciclização

assimétrica catalisada por NHC seguida de lactamização, para libertar o catalisador e obter a β -lactama desejada **1.5**, com um resultado estereoquímico variável.

Também as reações de ciclização intramolecular **1.6**,³² de carbonilação **1.7**,³³ multicomponentes partindo de metilenoaziridinas **1.8**³⁴ e de contração de anel **1.9**,³⁵ são utilizadas na síntese de β -lactamas (Esquema 1.1).



Esquema 1.1

1.2 Espiro- β -lactamas

As espiro- β -lactamas possuem na sua estrutura química um átomo comum a dois anéis, para além do anel β -lactâmico, e são moléculas alvo particularmente interessantes uma vez que derivados destes compostos demonstram propriedades biológicas relevantes, nomeadamente atividade antibacteriana,³⁶ antiviral,³⁷ antifúngica,³⁸ antimalárica,³⁰ inibição de β -lactamases³⁹ e de absorção de colesterol⁴⁰ (Figura 1.4). Também podem desempenhar outras funções como precursores de β -aminoácidos α,α -disubstituídos, péptidos e β -turn miméticos.^{5,41,42}

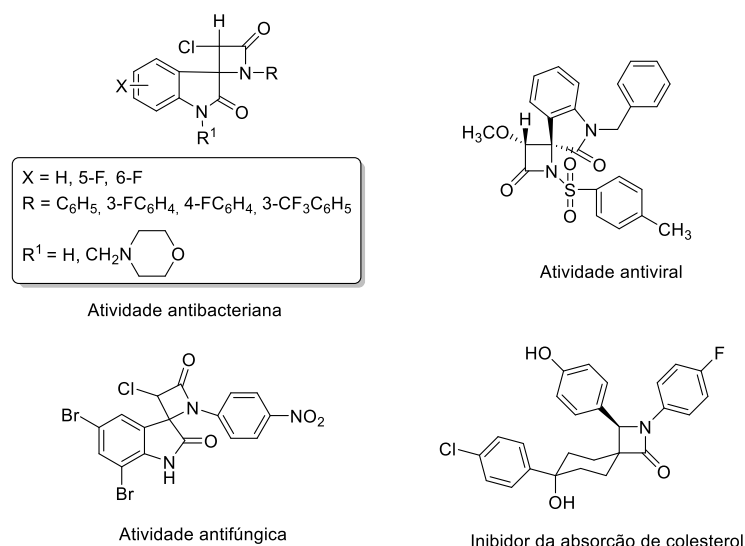


Figura 1.4. Exemplos ilustrativos de compostos espiro- β -lactâmicos com diferentes atividades biológicas.

Este tipo de espiro- β -lactamas está presente em certos compostos naturais, o que leva a um interesse acrescido na síntese destes compostos,^{43,44} como é o caso de certos alcalóides isolados a partir de um briozóário marinho (Figura 1.5).⁴⁵

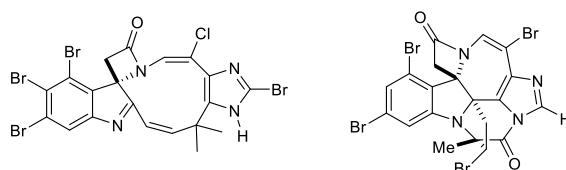
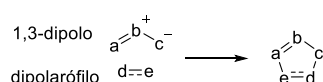


Figura 1.5. Alcalóides isolados a partir de um briozóário marinho.

Atualmente, existem alguns artigos de revisão que destacam as diversas metodologias aplicadas na síntese e reatividade de β -lactamas espirocíclicas, dando particular atenção às propriedades biológicas únicas destes compostos. Bari e os seus colaboradores enfatizaram a síntese estereosseletiva de β -lactamas espirocíclicas, bem como as suas propriedades biológicas em diversas áreas.⁵ Os avanços feitos na última década nas diferentes reações utilizadas na preparação de espiro- β -lactamas não convencionais, foram descritos pelo grupo de investigação de Alcaide.⁴ E ainda, Singh e colaboradores destacaram a síntese, a reatividade e a importância biológica de 2-azetidionas espirocíclicas.⁶

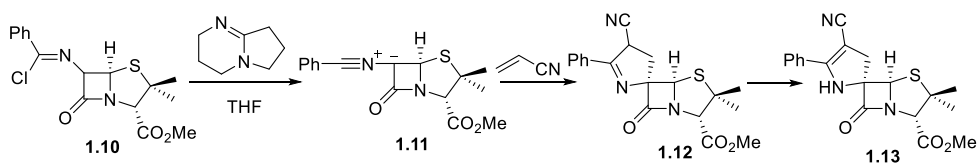
1.2.1 Síntese de espiro-β-lactamas via reações de ciclo-adição 1,3-dipolar

A ciclo-adição 1,3-dipolar é um método muito eficaz utilizado na preparação de compostos heterocíclicos de cinco membros, que envolve a reação de um dipolarófilo (como alquenos, alquinos, carbonilos e nitrilos) e um 1,3-dipolo (moléculas orgânicas que partilham quatro eletrões num sistema π com um máximo de três átomos) (Esquema 1.2).^{46,47} Na literatura estão descritos diversos exemplos de preparação de espiro-β-lactamas via reações de ciclo-adição 1,3-dipolar, que serão descritos mais adiante.



Esquema 1.2

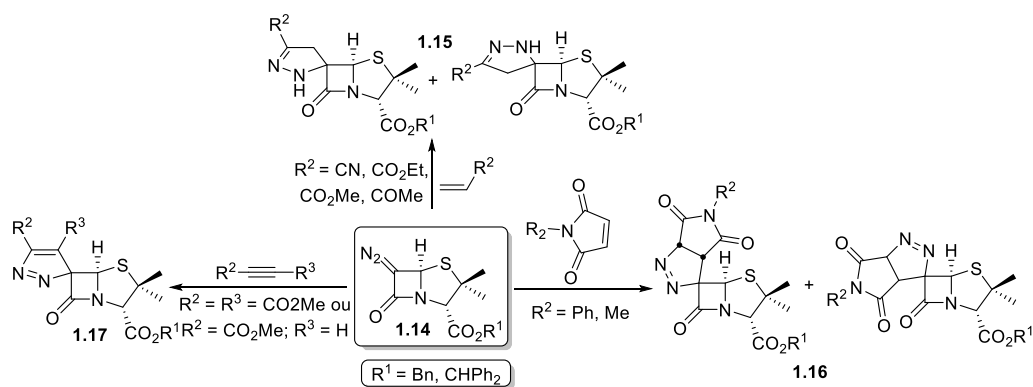
O primeiro exemplo de preparação de compostos espirocíclicos derivados de penicilinas e cefalosporinas via reações de ciclo-adição 1,3-dipolar foi descrito por Hirai e os seus colaboradores, em 1976 (Esquema 1.3).⁴⁸ Tratando a β-lactama **1.10** com a base DBN (1,5-diazobicyclo[4.3.0]-5-noneno), foi gerado o intermediário 1,3-dipolar **1.11** que participou na ciclo-adição com o acrilonitrilo para dar o ciclo-aducto **1.12**. A isomerização deste último originou a espiro-β-lactama **1.13** (Esquema 1.3). Foi descrito que a ciclo-adição ocorreu pela face da β-lactama com menor impedimento estérico, a face α. Este método foi depois aplicado a outros dipolarófilos tais como o acrilato de metilo, acetilenodicarboxilato e o azodicarboxilato de dietilo.



Esquema 1.3.

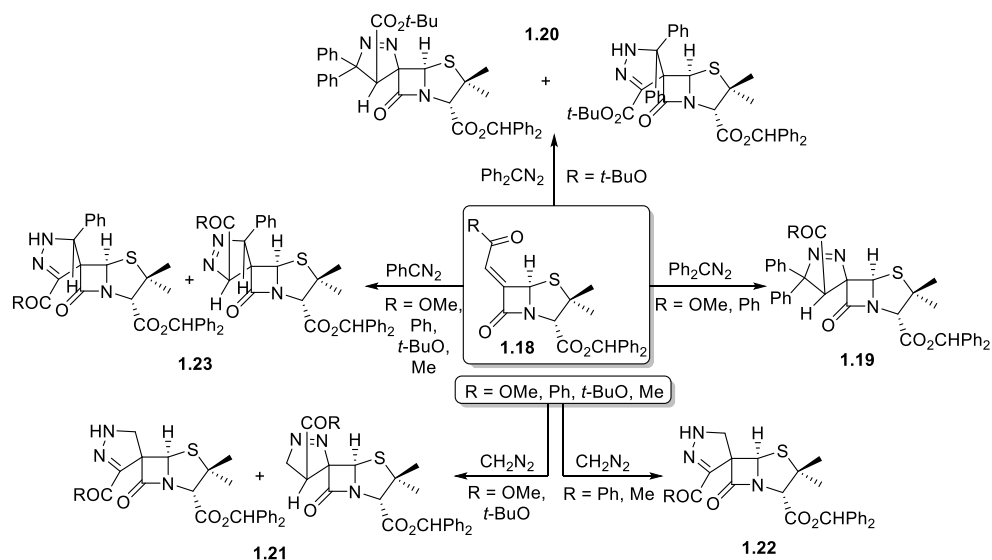
Na década de 70, os grupos de investigação de Sheehan e de Campbell demonstraram que espiro-2-pirazolinopenicilanatos podem ser obtidos a partir da reação de ciclo-adição 1,3-dipolar de 6-diazopenicilanatos com acrilamidas, acrilonitrilos e acrilatos.^{49,50} Mais recentemente, o grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra explorou a síntese de derivados de espiro-2-pirazolina-β-lactamas quirais **1.15** a partir da reação de 6-diazopenicilanatos **1.14** com outros dipolarófilos. Os 6-diazopenicilanatos **1.14** participaram também na ciclo-adição 1,3-dipolar com maleimididas *N*-substituídas e alquinos

deficientes em elétrons, para dar espiro-1-pirazolina- β -lactamas **1.16** e espiro-3H-pirazole- β -lactamas **1.17**, respectivamente. Todas estas reações ocorreram de forma estereosseletiva, o que pode ser explicado considerando que o ciclo-aducto maioritário resultou da adição do dipolarófilo ao lado α da β -lactama, com menor impedimento estéreo (Esquema 1.4). Neste estudo demonstrou-se que as reações estudadas foram mais eficazes quando se partiu do 6-diazopenicilanato de benzidrilo do que o 6-diazopenicilanato de benzilo, o que é uma indicação de que o grupo éster no penicilanato influencia significativamente o rendimento dos produtos isolados.⁵¹



Esquema 1.4

Em 2014, Pinho e Melo e colaboradores decidiram explorar a ciclo-adição 1,3-dipolar dos 6-alkilidenopenicilanatos **1.18** com diferentes compostos diazo e provaram que esta é uma metodologia eficaz para a preparação de espiropirazolinapenicilanatos (Esquema 1.5).⁵² A síntese regio- e estereosseletiva de espiro-1-pirazolinapenicilanatos **1.19** foi alcançada através da reação de ciclo-adição de 6-(Z)-(1-metoxicarbonilmetileno)- e 6-(Z)-(1-benzoilometileno)penicilanatos com difenildiazometano. Todavia, quando se partiu do 6-(Z)-(1-*tert*-butoxicarbonilmetileno)penicilanato foram obtidos dois produtos resultantes de estereoquímicas opostas (**1.20**). As reações de ciclo-adição 1,3-dipolar do diazometano com o 6-(1-*tert*-butoxicarbonilmetileno)- e 6-(1-metoxicarbonilmetileno)penicilanatos levaram à formação de dois regioisómeros **1.21**, contrariamente aos derivados acetilo e benzoílo em que se observou regioespecificidade (**1.22**). O fenildiazometano reagiu com os 6-alkilidenopenicilanatos **1.18** para dar espiropirazolinapenicilanatos **1.23**, onde se verificou tautomerização.



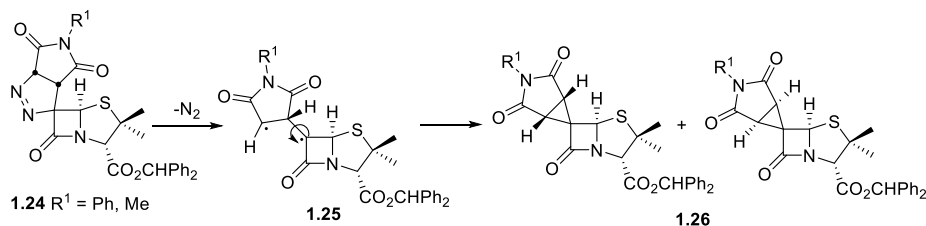
Todas as espiropirazolina- β -lactamas descritas neste capítulo foram obtidas de forma estereosseletiva, o que pode ser explicado pelo facto de a adição ocorrer pela face α da β -lactama que possui menor impedimento estéreo.

1.2.2 Outros métodos para a síntese de espiro- β -lactamas

Apesar da obtenção de espiro- β -lactamas a partir de reações de ciclo-adição 1,3-dipolar ser a metodologia de maior relevância para esta tese, estão descritas na literatura outras estratégias sintéticas utilizadas para a preparação destes compostos espirocíclicos tais como, reações de ciclo-adição [2+2] de cetenos e iminas, reações de ciclização²⁶, entre outras.⁸ Muito sucintamente, vão ser apresentados exemplos de alguns destes tipos de síntese de espiro- β -lactamas bem como reações de contração de anel partindo de compostos espirocíclicos.⁵³

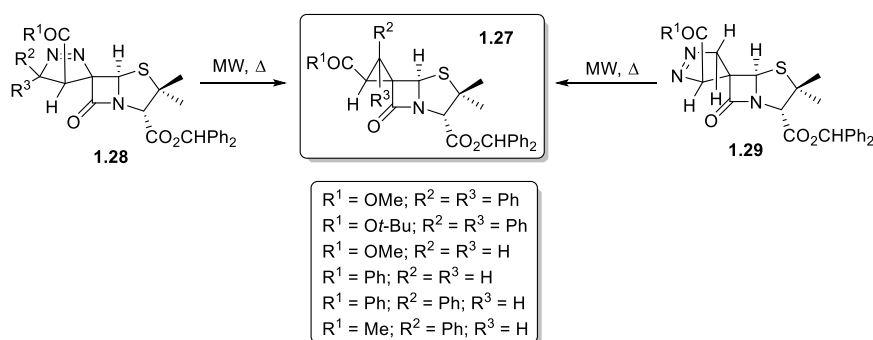
No seguimento do estudo desenvolvido pelo grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra, foi realizada a preparação estereosseletiva de espirociclopropil- β -lactamas a partir da reação de eliminação de azoto de espiro-1-pirazolina- β -lactamas sob irradiação de micro-ondas. A síntese de ciclopropanos não foi estereoespecífica, o que levou à proposta de um mecanismo por passos via clivagem do anel 1-pirazolina, resultando num birradical de cadeia aberta (**1.25**), seguida de fecho do anel, levando à formação de uma mistura de diastereoisómeros. Assim, foi demonstrada a eficácia da

metodologia de contração de anel de espiropirazolinapenicilanatos **1.24** para a síntese de espirociclopropilpenicilanatos **1.26** (Esquema 1.6).⁵¹



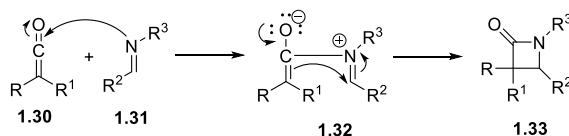
Esquema 1.6

Por último, a contração do anel de espiro-1-pirazolinapenicilanatos **1.28** e **1.29** por eliminação de azoto molecular para formar os espirociclopropilpenicilanatos **1.27** ocorreu de forma estereoespecífica. Este resultado indica que um mecanismo concertado pode estar envolvido na eliminação de azoto molecular a partir das espiro-1-pirazolina-β-lactamas (Esquema 1.7).⁵²



Esquema 1.7

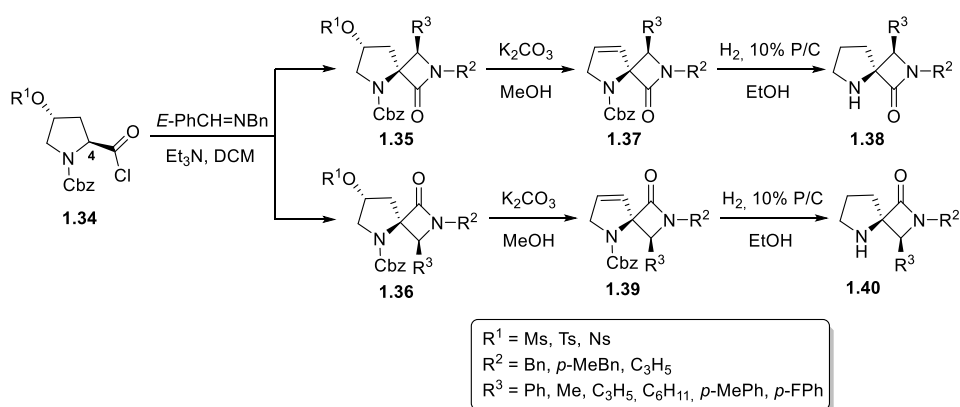
A reação de ciclo-adição [2+2] formal entre iminas e cetenos, mais conhecida por reação de Staudinger,⁵⁴ é uma das vias sintéticas mais utilizadas para a preparação de derivados de β-lactamas (Esquema 1.8).^{6,55,56} No primeiro passo o ceteno **1.30** sofre ataque nucleófilo por parte da imina **1.31** para formar um intermediário zwitteriônico **1.32**, que cicliza, dando origem a um anel β-lactâmico, a 2-azetidiona **1.33**.⁷



Esquema 1.8

A síntese assimétrica de espiro-β-lactamas derivadas de prolina via reação de Staudinger foi descrita por Khasanov e colaboradores.⁵⁷ Foi desenvolvida uma metodologia na qual a presença de um centro quiral no carbono 4 do cloreto de ácido de partida dirige

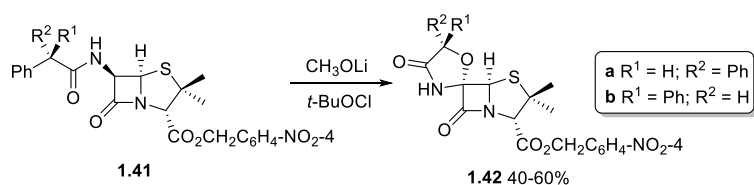
a estereosseletividade da reação, sendo depois sacrificado para formar as espiro- β -lactamas quirais. A reação entre a imina E -PhCH=NBn e o ceteno gerado *in situ* a partir do cloreto de ácido **1.34** na presença de trietilamina, resultou na formação das espiro- β -lactamas diastereoisoméricas **1.35** e **1.36** (Esquema 1.9). Estas 2-azetidionas foram em seguida transformadas nas espiro- β -lactamas derivadas de prolina **1.38** e **1.40**, respetivamente, por eliminação do ácido metassulfónico com K_2CO_3 /MeOH seguida de hidrogenação da dupla ligação e desproteção do grupo protetor benziloxicarbonilo (Cbz).



Esquema 1.9

As reações de ciclização são um dos métodos sintéticos utilizados na síntese de β -lactamas²⁶ assim como também na preparação de compostos β -lactâmicos com estrutura espirocíclica.

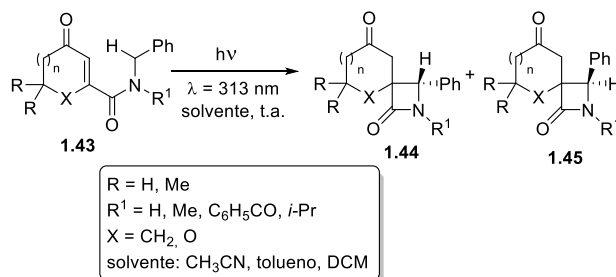
O grupo de investigação de Kopel descreveu a preparação de penicilinas espirocíclicas derivadas de oxazolidinonas a partir de uma reação de ciclização oxidativa (Esquema 1.10).⁵⁸ A oxidação do composto **1.41** com metóxido de lítio e hipoclorito de *t*-butilo e posterior ciclização intramolecular, resulta na formação da espiro- β -lactama **1.42**, com rendimentos de 40 a 60%.



Esquema 1.10

Na literatura estão também descritos alguns exemplos de síntese de espiro- β -lactamas através de métodos fotoquímicos.⁵⁹ Esta estratégia sintética foi descrita pelo

grupo de Le Blanc, no qual as oxoamidas **1.43** sofrem abstração intramolecular de hidrogénio sob ativação fotoquímica seguida de ciclização, para dar origem às 2-azetidionas espirocíclicas **1.44** e **1.45** (Esquema 1.11).⁶⁰



Esquema 1.11

1.3 γ -Lactamas

O anel da γ -lactama, também conhecido como γ -butirolactama, pirrolidin-2-ona, azolidin-2-ona ou 2-oxopirrolidina, é o núcleo estrutural de um vasto número de compostos naturais e não-naturais que desempenham diversas atividades biológicas. Posto isto, as γ -lactamas são moléculas de grande interesse para a química medicinal e surge a necessidade de desenvolver novas estratégias para a obtenção desta porção estrutural (Figura 1.6).⁶¹



Figura 1.6. Estrutura do anel γ -lactâmico.

A diversidade de fontes naturais de γ -lactamas reflete-se no espetro de atividades biológicas exibidas. De facto, esta estrutura central pode ser encontrada em certos organismos como bactérias, fungos, plantas, ou até animais. Apesar da escassa informação descrita na literatura sobre a biossíntese de γ -lactamas,^{62,63,64} é sabido que o ácido glutâmico, a glutatona⁶³, a prolina e o ácido γ -aminobutírico (GABA)⁶⁵ são os principais precursores das γ -lactamas em organismos vivos.

A Codinaeopsina⁶⁶ e a pirrolidinona Ascosali A⁶⁷, extraídas de fungos distintos, têm uma estrutura relativamente parecida que envolve um núcleo de decalina e um anel γ -

lactâmico (Figura 1.7). Ambas são ativas contra *P. falciparum*, um parasita protozoário unicelular responsável pela malária em humanos. Apesar da sua atividade anti-malária, não têm utilização terapêutica uma vez que mostraram elevada citotoxicidade.

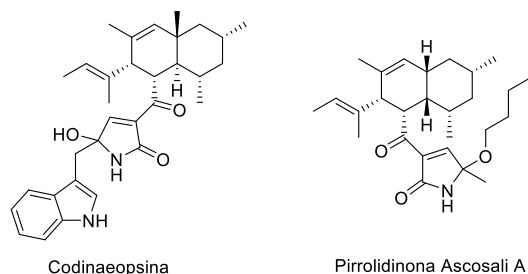


Figura 1.7. Estrutura de γ -lactamas naturais derivadas de fungos.

Anantina e isoanantina, compostos que pertencem à pequena família de α -metileno- γ -lactamas naturais, foram isoladas a partir das folhas da planta africana *Cynometra*, tradicionalmente utilizada para tratar tosse e dor (Figura 1.8).⁶⁸ Ambas apresentam atividade citotóxica, anti-tumoral e anti-inflamatória,⁶⁹ como a grande maioria das α -metileno- γ -lactamas.

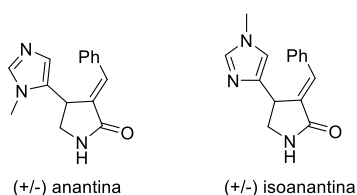


Figura 1.8. Estrutura de γ -lactamas naturais provenientes de plantas.

A Salinosporamida A contém na sua estrutura um núcleo γ -lactama- β -lactona invulgar (Figura 1.9). Este composto foi isolado de uma bactéria marinha, *Salinispora tropica*, por Fenical *et al.*^{70,71} Dada a semelhança com o inibidor proteossômico específico 20S, foi diretamente testado para esse efeito tendo demonstrado uma atividade anticancerígena promissora.⁷² Além disso, demonstrou atividade contra uma linha celular tumoral de cancro do cólon. Atualmente encontra-se em ensaios clínicos de fase I para o tratamento do cancro. Vários grupos de investigação divulgaram a síntese estereosseletiva deste composto, o que permitiu a realização de estudos SAR relevantes.⁷³

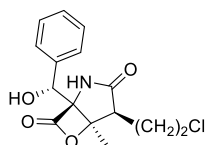


Figura 1.9. Estrutura da Salinosporamida A isolada a partir de uma bactéria.

A lactama cíclica do ácido glutâmico, conhecida há mais de um século mas pouco entendida, pode ser utilizada no tratamento de distúrbios neurodegenerativos quando considerada como um análogo ou reservatório do glutamato. Isto é, previne a amnésia em ratos e aumenta a aprendizagem associada à idade e diminui a perda de memória induzida pelo álcool em humanos.⁷⁴ O ácido piroglutâmico, também presente nos tecidos de plantas, é comercializado como uma “smart drug” com o intuito de melhorar a circulação sanguínea no cérebro.

O risco associado às reações de hipersensibilidade devido ao uso de β -lactamas é um problema considerável e, por isso, um dos nossos objetivos é também obter derivados não- β -lactâmicos (como é o caso das γ -lactamas). Nos últimos anos, foram desenvolvidas inúmeras estratégias sintéticas para preparar compostos γ -lactâmicos não-naturais que demonstraram propriedades farmacológicas de interesse.⁶¹

As γ -lactamas representam uma importante classe de compostos tanto do ponto de vista sintético como biológico e, por isso, nos próximos anos espera-se um aumento do número de fármacos no mercado que contenham o núcleo γ -lactâmico.

1.3.1 Vias de síntese do núcleo γ -lactâmico

Em 1986, foram divulgados os primeiros análogos γ -lactâmicos das penicilinas com atividade antibiótica.^{75,76,77,78} Segundo Baldwin *et al.*, que desenvolveu o composto **1.46**, o aumento da reatividade e da atividade biológica de análogos γ -lactâmicos de penicilinas pode ser alcançado através da deslocalização do par de elétrons desemparelhado do nitrogênio lactâmico com o sistema π da olefina (e estabilização na presença de um grupo aceitador de elétrons) (Figura 1.10).⁷⁹ De acordo com esta hipótese, o grupo de Eli Lilly's realizou estudos de modelação molecular adicionais nos compostos **1.47** (Figura 1.10). Os resultados mostraram que a diminuição da atividade resultante da baixa tensão do anel

das γ -lactamas comparativamente com as β -lactamas pode ser compensada pela existência da cadeia lateral aciloamina em C7.

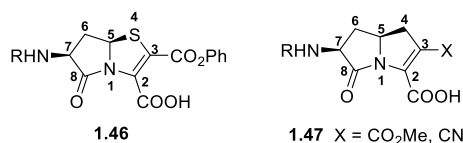
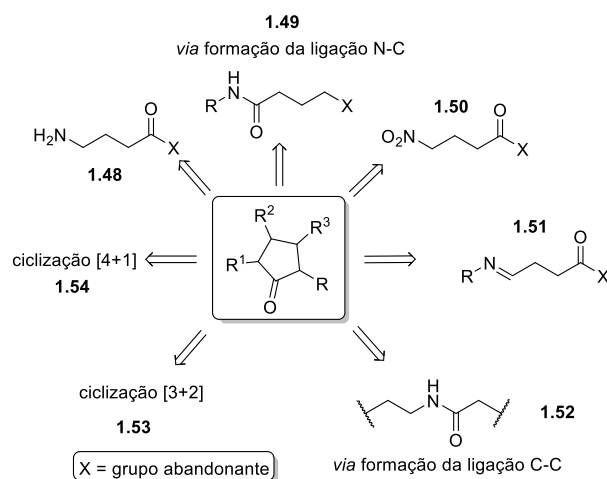


Figura 1.10. Primeiras estruturas de γ -lactamas não-naturais com atividade biológica.

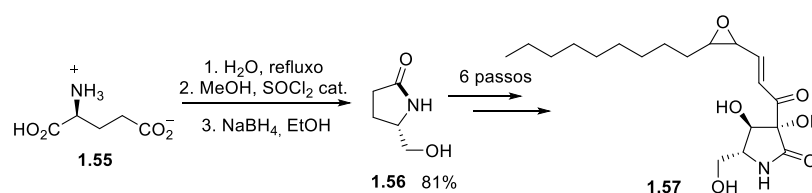
Apesar destes dois compostos apresentarem uma baixa atividade antibacteriana, incentivaram muitos químicos a desenvolver novas vias sintéticas para a obtenção eficiente de compostos biologicamente ativos, que contenham um anel γ -lactâmico na sua estrutura.⁸⁰ Desde então, foram reportadas diversas γ -lactamas farmacologicamente ativas, incluindo compostos antibióticos, anti-inflamatórios, citotóxicos e antitumorais.

Foram desenvolvidas inúmeras aproximações sintéticas para a preparação de estruturas γ -lactâmicas.^{81,82,83} A metodologia mais utilizada envolve a ciclização através da formação de uma amida via reação intramolecular de um grupo carboxílico ou derivados e uma amina (**1.48** e **1.49**) ou precursores de aminas (**1.50** e **1.51**). São também conhecidas outras estratégias de fecho de anel como a formação de uma ligação C-C (**1.52**). Mais recentemente, foi também divulgada uma série de reações de ciclização do tipo [3+2] (**1.53**) e [4+1] (**1.54**) para obter o núcleo γ -lactâmico de uma forma mais confluyente. Além disso, o núcleo γ -lactâmico ainda pode ser obtido a partir da modificação de anéis de cinco membros pré-existentes através de processos de redução ou oxidação (Esquema 1.12). Estas estratégias são extremamente importantes uma vez que permitem explorar o potencial desta porção estrutural em química medicinal. De seguida, serão apresentados alguns exemplos das possíveis metodologias de síntese para preparar o núcleo γ -lactâmico.



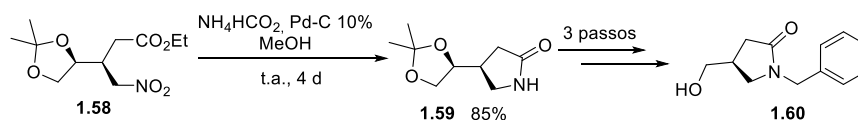
Esquema 1.12

Partindo do ácido *L*-glutâmico **1.55**, Williams e seus colaboradores realizaram, em 1999, uma reação de ciclização intramolecular para obter a γ -lactama **1.56**. O aminoácido de partida **1.55** cicliza e utiliza quantidades catalíticas de SOCl_2 para converter o grupo carboxílico ao éster correspondente, por geração *in situ* de um cloreto de ácido. A subsequente redução com NaBH_4 em etanol, conduz à formação da γ -lactama **1.56** com um rendimento de 81% (Esquema 1.13).⁸⁴ Este consistiu no primeiro passo para a síntese global da (+)-pramanicina **1.57**, o que permitiu estabelecer a estereoquímica da pramanicina encontrada na natureza. A (-)-pramanicina é um composto natural e apresenta atividades antimicrobiana e antibacteriana.⁸⁵



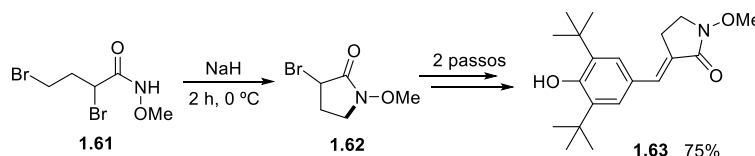
Esquema 1.13

Em 2004, Costa *et al.* utilizou uma reação de ciclização intramolecular para obter a γ -lactama **1.59** (Esquema 1.14). Partindo da γ -aminoéster **1.58**, é necessário um excesso de formato de amônio e um elevado tempo de reação para que ocorra a redução completa do grupo nitro. Esta reação de ciclização catalisada por paládio é um passo-chave para a síntese do composto (*S*)-WEB-1868 (**1.60**), um estimulante cognitivo.⁸⁶



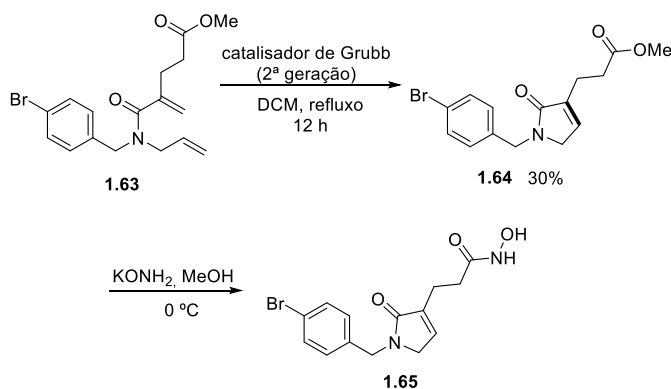
Esquema 1.14

O grupo de investigação de Katamaya demonstrou que a ciclização intramolecular por *N*-alquilação da γ -bromo amida **1.61**, na presença de uma base forte, conduziu à correspondente γ -lactama *N*-metoxissubstituída **1.62** (Esquema 1.15).⁸⁷ A síntese desta γ -lactama é o passo essencial para a obtenção do composto **1.63**, que possui uma potente atividade anti-inflamatória e demonstra atividade inibitória *in vivo* contra artrite induzida por adjuvantes.

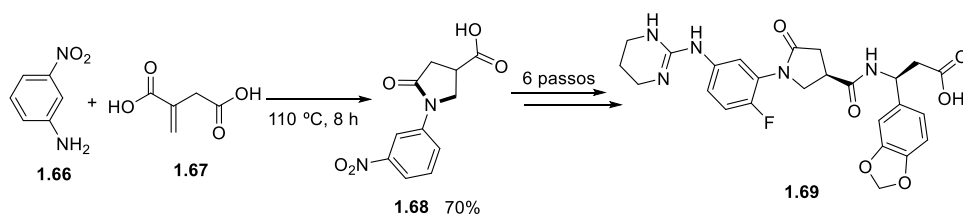


Esquema 1.15

Uma outra estratégia para a síntese de γ -lactamas é a metátese do fecho de anel.⁸⁸ Em 2011, Han e Carafa utilizaram esta metodologia na síntese do composto **1.65**, um inibidor da histona desacetilase (HDAC), que é um agente anticancerígeno (Esquema 1.16).^{89,90} Partindo do composto **1.63** obtém-se a lactama **1.64** com um rendimento de 30%, por ciclização via formação de uma ligação C-C recorrendo ao catalisador de Grubb. Em seguida o grupo éster metílico da γ -lactama **1.64** reage com o KONH_2 a 0 °C, conduzindo à formação da hidroxamina desejada **1.65**. Este grupo, no seu último estudo, desenvolveu δ -lactamas com boa potência inibitória das HDAC. No entanto, depois dos estudos QSAR, continuaram com a síntese de uma série de γ -lactamas. Todos os compostos foram avaliados como inibidores das HDAC e na inibição do crescimento de células cancerígenas. Um dos compostos γ -lactâmicos mais ativos demonstrou uma boa atividade inibitória em sete linhas celulares humanas cancerígenas e apresentou características farmacocinéticas promissoras. Graças aos estudos de acoplamento, os autores mostraram que o núcleo γ -lactâmico acoplava melhor com o local ativo do que o núcleo δ -lactâmico.

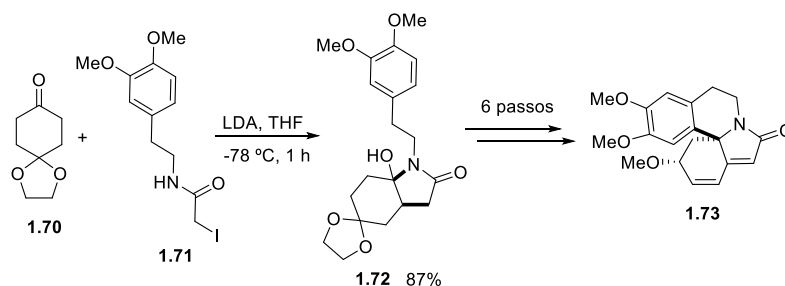


Em 2004, Dominguez *et al.* utilizou uma reação de ciclização [4+1] no primeiro passo da síntese de *N*-aril- γ -lactamas.⁹¹ O núcleo γ -lactâmico do composto **1.68** é obtido a partir da ciclização da 3-nitroanilina **1.66** (unidade de um átomo) com o ácido itacônico **1.67** (unidade de quatro átomos), na ausência de solvente e a elevada temperatura (Esquema 1.17). A γ -lactama **1.68** (70%) é obtida como uma mistura racêmica de enantiômeros, sendo depois separados recorrendo ao auxiliar quiral Evans. É a partir do enantiômero ativo que se leva a cabo a síntese de certos derivados das γ -lactamas. Uma vez que alguns destes conseguem mimetizar um dipéptido capaz de interagir de forma específica com um recetor, foi preparada e testada uma série de compostos com estas propriedades. Os estudos SAR permitiram aos autores identificar o composto **1.69** como o análogo mais seletivo e potente, e por isso um forte candidato para o tratamento da osteoporose.⁹²



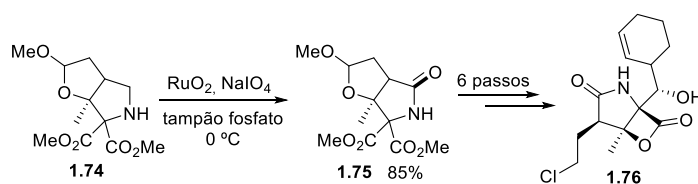
Em 2003, Zhang *et al.* conseguiu realizar a síntese global do erisotramidina 2 **1.73**, um composto natural acoplado a um sistema tetracíclico.⁹³ O anel γ -lactâmico deste composto foi obtido via uma reação de ciclização do tipo [3+2]. Neste exemplo, a unidade de dois átomos é o enolato formado *in situ* a partir do composto **1.70** e a unidade de três átomos é a α -iodoamida **1.71** (Esquema 1.18). A γ -lactama **1.72** foi obtida após uma hora de reação a -78 °C, com um rendimento de 87%. Uma sequência de 6 passos conduz à

formação da erisotramidina 2 (**1.73**), sendo o esqueleto eritrinano deste composto responsável pelas suas atividades sedativas, hipotensivas, a nível do SNC e ainda, como bloqueador neuromuscular.⁹⁴



Esquema 1.18

Uma outra forma de preparar o núcleo γ -lactâmico é através da utilização de compostos γ -lactâmicos como blocos de construção, uma vez que na sua estrutura existe um anel de cinco membros (ou seja, uma γ -lactama mascarada). A oxidação de derivados da pirrolidina é uma via amplamente utilizada para a obtenção do núcleo γ -lactâmico. O grupo de investigação de Fukuyama aplicou esta estratégia na síntese da (-)-salinosporamida A **1.76**.⁹⁵ A oxidação da pirrolidina **1.74** mediada por ruténio à temperatura de 0 °C, conduziu à formação da γ -lactama **1.75** com um rendimento de 85% e sem a oxidação do acetal cíclico. Os investigadores chegaram à conclusão que a porção diéster pobre em eletrões é crucial para a quimiosseletividade (Esquema 1.19).



Esquema 1.19

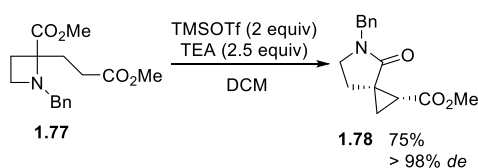
Apesar da importância de todas estas metodologias sintéticas, é ainda necessário superar alguns dos desafios encontrados desenvolvendo novas sínteses eficientes de γ -lactamas.

1.3.2 Síntese de Espiro- γ -lactamas

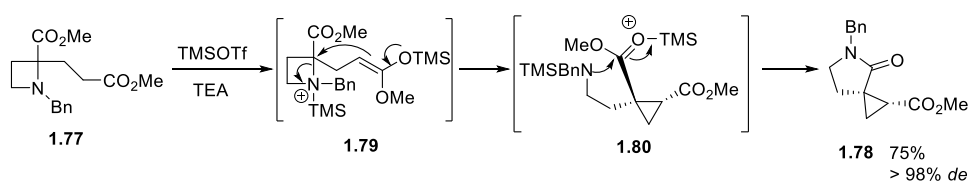
Os compostos espirocíclicos têm estimulado a imaginação dos químicos teóricos, sintéticos e medicinais, dada a sua estrutura relevante e interesses farmacológicos. O

esqueleto espirocíclico é, de facto, uma ferramenta útil para o desenvolvimento de moléculas biologicamente ativas específicas com o farmacoforo apropriado para interagir com os locais de ligação proteicos desejados.⁹⁶

As espirociclopropil- γ -lactamas têm sido utilizadas como intermediários chave para a síntese de ciclopropilaminoácidos.⁹⁷ Apesar do recente progresso nesta área, a síntese estereosseletiva eficiente deste sistema em anel tão pequeno continua a ser um desafio. Em 2012, Nocquet e colaboradores divulgaram a síntese de α -espirociclopropil- γ -lactamas (**1.78**) a partir de uma nova reação de abertura-fecho do anel de azetidina **1.77** em cascata (Esquema 1.20).⁹⁸ Neste processo intramolecular, os anéis ciclopropano e pirrolidina são gerados num só passo sintético com elevada estereosseletividade. A reação de espirociclicização abaixo descrita representa um exemplo raro de abertura de anel nucleofílica de azetidinas **1.77**,⁹⁹ uma vez que não ocorre a formação de um sal de azetidínio quaternário por *N*-alquilação e que não utiliza um grupo *N*-atrator de elétrões.^{100,101,102,103} Nocquet acredita que o passo chave do processo é a abertura de anel tipo S_N2 do anel de azetidina **1.77** ativado com TMSOTf, formando-se um silil ceteno acetal **1.79** por tratamento com TMSOTf e TEA. O aminoéster **1.80** obtido sofre, por último, uma ciclização intramolecular para originar a lactama de cinco membros **1.78**, por reação do grupo amina com o grupo éster na posição γ (Esquema 1.21). Esta reação é altamente regiosseletiva uma vez que não se verifica a formação da lactama de seis membros. De facto, a abertura do anel da azetidina requer uma maior ativação do que as aziridinas como consequência da reduzida tensão de anel e eletrofilicidade.

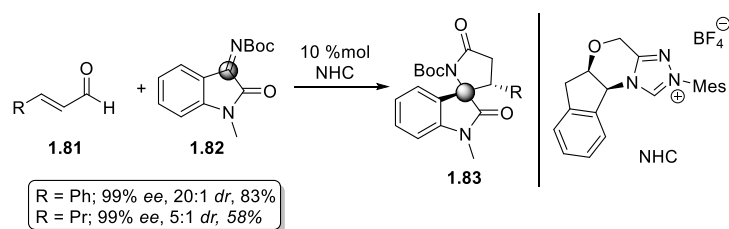


Esquema 1.20



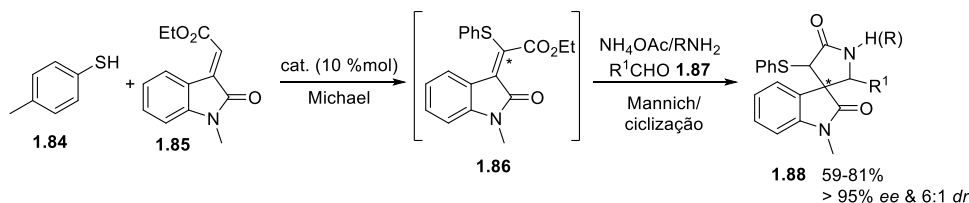
Esquema 1.21

Tendo em conta o que se conhece, as reações organolíticas altamente enantiosseletivas que utilizam eletrófilos de cetiminas são raras. Também em 2012, o grupo de investigação de Lv utilizou uma reação de ciclização catalisada por NHC (carbeno *N*-heterocíclico) para sintetizar oxindole- γ -lactamas espirocíclicas.¹⁰⁴ A eficaz adição de enóis **1.81** a *N*-Boc cetaminas derivadas da isatina **1.82**, conduziu à formação de oxindole- γ -lactamas espirocíclicas **1.83** com um centro quiral quaternário, com rendimentos superiores a 50% e excelentes diastereo- e enantiosseletividades (superiores a >20:1 *dr* e 99% *ee*) (Esquema 1.22).



Esquema 1.22

Em 2016, o grupo de investigação de Huang divulgou a primeira síntese assimétrica de espiro- γ -lactamas-oxindoles com três estereocentros, um carbono quaternário e dois terciários. A reação tiol-Michael/Mannich/lactamização proposta, inicia-se com uma adição tiol-Michael organocatalítica do benzenotiol **1.84** com o (*E*)-etil-2-(1-metil-2-oxoindolina-3-ilideno)acetato **1.85**, na presença de um catalisador fluorado reciclável.¹⁰⁵ O produto **1.86** obtido foi diretamente usado na reação de Mannich, reagindo com uma imina gerada *in situ* a partir do aldeído **1.87** e de uma amina, seguida de ciclização para formar a espiro- γ -lactama-oxindole **1.88** com rendimentos moderados a bons e elevada enantiosseletividade (Esquema 1.23).¹⁰⁶ Os autores acreditam que o carbono da ligação espiro é reponsável pela formação dos dois produtos diastereoisoméricos finais.



Esquema 1.23

Apesar da escassa informação sobre a síntese de γ -lactamas espirocíclicas e a sua possível atividade biológica, é de conhecimento geral que certas lactamas espirocíclicas

possuem atividades biológicas relevantes.⁵ Uma vez que o carbono quiral do espirociclo é um critério importante para a atividade biológica, para os químicos medicinais há um certo interesse em explorar as vias de síntese para a preparação de moléculas análogas (como as espiro- γ -lactamas) bem como a possível atividade biológica e terapêutica das mesmas.

Referências

- (1) Essack, S. Y. *Pharmaceutical Research*. **2001**, 1391–1399.
- (2) Singh, G. S. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, 4 (1), 69–92.
- (3) Fisher, J. F.; Meroueh, S. O.; Mobashery, S. *Chemical Reviews*. **2005**, 395–424.
- (4) Alcaide, B.; Almendros, P. *Top Heterocycl Chem* **2010**, 22, 1–48.
- (5) Bari, S. S.; Bhalla, A. *Top Heterocycl Chem*. 2010, 49–99.
- (6) Singh, G. S.; D’Hooghe, M.; De Kimpe, N. *Tetrahedron* **2011**, 67 (11), 1989–2012.
- (7) Arya, N.; Jagdale, A. Y.; Patil, T. A.; Yeramwar, S. S.; Holikatti, S. S.; Dwivedi, J.; Shishoo, C. J.; Jain, K. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 74, 619–656.
- (8) Baldwin, J. E.; Norris, W. J.; Freeman, R. T.; Bradley, M.; Adlington, R. M.; Long-fox, S.; Schofield, C. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1128–1130.
- (9) Van der Steen., F. H.; Boersma, J.; Spek, A. L.; Van, K. G. *Organometallics* **1991**, 10 (10), 3790.
- (10) Rolinson, G. N. *J. Antimicrob. Chemother.* **1998**, 41 (6), 589–603.
- (11) Sousa, J. *Manual de Antibióticos Antibacterianos*, 2ª Ed., Porto, **2005**.
- (12) Fernandes, R.; Amador, P.; Prudêncio, C. *Rev. Med. Microbiol.* **2013**, 24 (1), 7–17.
- (13) Guimarães, S., Moura, D., Silva, P. S. *Antibióticos β -lactâmicos. In:Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas Manual de Farmacologia e Farmacoterapia*, 5ª edição.; Guimarães, S., Moura, D., Silva, P. S., Porto Editora, Porto, **2006**.
- (14) Singh, G. S. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, 4 (1), 93–109.
- (15) Singh, G. S. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, 4 (1), 69–92.
- (16) Shamsheer S. Bari; Aman Bhalla. *Top Heterocycl Chem* **2010**, No. 22, 49–99.
- (17) van der Steen, F. H.; Jastrzebski, J. T. B. H.; van Koten, G. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29 (20), 2467–2470.
- (18) Guimarães, D. O.; Da Silva Momesso, L.; Pupo, M. T. *Quimica Nova*. **2010**, 667–679.
- (19) Essack, S. Y. *Pharm. Res.* **2001**, 18 (10), 1391–1399.
- (20) Sandanayaka, V. P.; Feigelson, G. B.; Prashad, A. S.; Yang, Y.; Petersen, P. J. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2001**, 11 (8), 997–1000.
- (21) Wilke, M. S.; Lovering, A. L.; Strynadka, N. C. J. *Curr. Opin. Microbiol.* **2005**, 8 (5), 525–533.
- (22) Tuba, R. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, No. 11, 5967–5975.
- (23) Knowles, J. R. *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18 (12), 97–104.
- (24) Sperka, T.; Pitlik, J.; Bagossi, P.; Tözsér, J. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2005**, 15 (12),

- 3086–3090.
- (25) Ojima, I. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28* (9), 383–389.
- (26) Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3988–4035.
- (27) Singh, G. S.; D’hooghe, M.; De Kimpe, N. *Compr. Heterocycl. Chem. III* **2008**, 1–110.
- (28) Almendros, B. A. & P. *J. Org. Prep. Proced. Int.* **2001**, *33*, 315–334.
- (29) Doyle, M. P., Forbes, D. C. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (2), 911–936.
- (30) Marco-Contelles, J. *Angewandte Chemie - International Edition.* **2004**, 2198–2200.
- (31) Baeza, B.; Casarrubios, L.; Sierra, M. A. *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19* (35), 11536–11540.
- (32) Sotgiu, G.; Chiarotto, I.; Feroci, M.; Orsini, M.; Rossi, L.; Inesi, A. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (27), 7852–7858.
- (33) Fordos, E.; Tuba, R.; Parkanyi, L.; Kegl, T.; Ungvary, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, No. 12, 1994–2002.
- (34) Claire C. A. Cariou, C. C. A.; Clarkson, G. J.; Shipman, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9762–9764.
- (35) Diethelm, S.; Carreira, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (23), 8500–8503.
- (36) Joshi, K. C.; Jain, R.; Sharma, V. *J. Indian Chem. Soc.* **1986**, *63*, 430.
- (37) Doyle, M. P.; Forbes, D. C. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (2), 911–936.
- (38) Ojima, I.; Inaba, S. I.; Yoshida, K. *Tetrahedron* **1977**, *18* (41), 3643–3646.
- (39) Hart, D. J., Ha, D. C. *Chem. Rev.* **1989**, *89* (7), 1447–1465.
- (40) France, S.; Weatherwax, A.; Taggi, A. E.; Lectka, T. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37* (8), 592–600.
- (41) Alonso, E.; López-Ortiz, F.; del Pozo, C.; Peralta, E.; Macías, a; González, J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (19), 6333–6338.
- (42) Gmeiner, H. B. and P. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (1), 97–102.
- (43) Xichen Lin, S. M. W. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *42* (14), 2631–2633.
- (44) Shenvi, P. S. B. * and R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (43), 14028–14029.
- (45) Lin, X.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (14), 2631–2633.
- (46) Pinho e Melo, T. M. V. D. *Mecanismos de Reações Orgânicas*; Lisboa, **2005**.
- (47) Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A. *Chem. Rev. (Washington, D. C.)* **1998**, *98* (2), 863–909.
- (48) Koichi Hirai, Yuji Iwano, Tokio Saito, Tetsuo Hiraoka, Y. K. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17* (16), 1303–1306.
- (49) Sheehan, J. C.; Chacko, E.; Lo, Y. S.; Ponzi, D. R.; Sato, E. *J Org Chem.* **1978**, *43*, 4856–4859.

- (50) Campbell, M. M.; Marcus, R. G.; Ray, S. J. *Tetrahedron Letters*. 1979, pp 1441–1444.
- (51) Santos, B. S.; Nunes, S. C. C.; Pais, A. A. C. C.; Pinho E Melo, T. M. V. D. *Tetrahedron* **2012**, *68* (19), 3729–37371.
- (52) Santos, B. S.; Gomes, C. S. B.; Pinho e Melo, T. M. V. D. *Tetrahedron* **2014**, *70* (24), 3812–3821.
- (53) Abe, M.; Iwakura, I.; Yabushita, A.; Yagi, S.; Liu, J.; Okamura, K.; Kobayashi, T. *Chem. Phys. Lett.* **2012**, *527*, 79–83.
- (54) Staudinger, H. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1907**, *356*, 51–123.
- (55) Tidwell, T. T. *Ketenes II: Second Edition*; **2006**.
- (56) Paull, D. H., Weatherwax, A., Lectka, T. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 6771–6803.
- (57) Khasanov, A. B.; Ramirez-Weinhouse, M. M.; Webb, T. R.; Thiruvazhi, M. *J. Org. Chem.* **2004**, *69* (17), 5766–5769.
- (58) Sammes, P. G.; Smith, S.; Ross, B. C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **1984**, 2117–2124.
- (59) Ikeda, M.; Uchino, T.; Ishibashi, H.; Tamura, Y.; Kido, M. *Tetrahedron Lett.* **1984**, No. 12, 758–759.
- (60) Le Blanc, S.; Pete, J.; Piva, O. *Tetrahedron Lett.* **1992**, No. 33, 1993–1996.
- (61) J. Caruano, G. G. M.; R. R. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 10134.
- (62) Maiya, S.; Grundmann, A.; Li, X.; Li, S. M.; Turner, G. *ChemBioChem* **2007**, *8* (14), 1736–1743.
- (63) Kumar, A.; Bachhawat, A. K. *Curr. Sci.* **2012**, *102* (2), 288–297.
- (64) Hamed, R. B.; Gomez-Castellanos, J. R.; Henry, L.; Ducho, C.; McDonough, M. a; Schofield, C. J. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30* (1), 21.
- (65) Bodson, Q.; Denooz, R.; Serpe, P.; Charlier, C. *Acta Clin. Belg.* **2008**, *63* (3), 200–208.
- (66) Kontnik, R.; Clardy, J. *Org. Lett.* **2008**, *10* (18), 4149–4151.
- (67) Osterhage, C.; Kaminsky, R.; König, G. M.; Wright, A. D. *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (20), 6412–6417.
- (68) Tchissambou, L.; Benechie, M.; Khuong-Huu, F. *Tetrahedron* **1982**, *38* (17), 2687–2695.
- (69) Janecka, A.; Wyrebska, A.; Gach, K.; Fichna, J.; Janecki, T. *Drug Discovery Today.* **2012**, 561–572.
- (70) Feling, R. H.; Buchanan, G. O.; Mincer, T. J.; Kauffman, C. A.; Jensen, P. R.; Fenical, W. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, *42* (3), 355–357.
- (71) Fenical, W.; Jensen, P. R.; Palladino, M. A.; Lam, K. S.; Lloyd, G. K.; Potts, B. C. *Bioorganic Med. Chem.* **2009**, *17* (6), 2175–2180.
- (72) Gulder, T. A. M.; Moore, B. S. *Angewandte Chemie - International Edition.* **2010**,

- 9346–9367.
- (73) Macherla, V. R.; Mitchell, S. S.; Manam, R. R.; Reed, K. A.; Chao, T. H.; Nicholson, B.; Deyanat-Yazdi, G.; Mai, B.; Jensen, P. R.; Fenical, W. F.; Neuteboom, S. T. C.; Lam, K. S.; Palladino, M. A.; Potts, B. C. M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (11), 3684–3687.
- (74) Kumar, A.; Bachhawat, A. K. *Curr. Sci.* **2012**, *102* (2), 288–297.
- (75) Baldwin, J. E.; Freeman, R. T.; Lowe, C.; Schofield, C. J.; Lee, E. *Tetrahedron* **1989**, *45* (14), 4537–4550.
- (76) Donald B Boyd, Thomas K Elzey, Lowell D Hatfield, Michael D Kinnick, J. M. M. *J. Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3453–3456.
- (77) D.B Boyd, B.J Foster, L.D Hatfield, W.J Hornback, N.D Jones, J.E Munroe, J. . S. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3457–3460.
- (78) Liu, H. H. W. M. P.-C. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 4093.
- (79) Baldwin, J. E., Lynch, G. P., Pitlik, J. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1991**, *44* (1), 1–24.
- (80) Smith, M. B. *Three Carbon–Heteroatom Bonds: Amides and Derivatives; Peptides; Lactams*, G. T. Verl.; **2005**, Vol. 21.
- (81) Martelli, G.; Orena, M.; Rinaldi, S. *Curr. Org. Chem.* **2014**, *18* (11), 1373–1481.
- (82) Gianluca Martelli, Antonella Monsignori, Mario Orena, S. R. *Curr. Org. Chem.* **2014**, *18* (12), 1539–1585.
- (83) Carmen Nájera, M. Y.. *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10* (12), 2245–2303.
- (84) Barrett, A. G. M.; Head, J.; Smith, M. L.; Stock, N. S.; White, A. J. P.; Williams, D. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (16), 6005–6018.
- (85) Schwartz, R. E.; Helms, G. L.; Bolessa, E. A.; Wilson, K. E.; Giacobbe, R. A.; Tkacz, J. S.; Bills, G. F.; Liesch, J. M.; Zink, D. L.; Curotto, J. E.; Pramanik, B.; Onishi, J. C. *Tetrahedron* **1994**, *50* (6), 1675–1686.
- (86) Nishiwaki, H.; Tsunenari, I.; Izumita, M.; Ikejiri, T.; Kitagawa, H.; Uchida, S. *Yakuri to Chiryō* **1992**, *20*, 2847–2856.
- (87) Ikuta, H., Shiota, H., Kobayashi, S., Yamagishi, Y., Yamada, K., Yamatsu, I., Katayama, K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1995–1998.
- (88) Choi, E.; Lee, C.; Cho, M.; Seo, J. J.; Yang, J. S.; Oh, S. J.; Lee, K.; Park, S. K.; Kim, H. M.; Kwon, H. J.; Han, G. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (23), 10766–10770.
- (89) Lee, C.; Choi, E.; Cho, M.; Lee, B.; Oh, S. J.; Park, S.-K.; Lee, K.; Kim, H. M.; Han, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22* (12), 4189–4192.
- (90) Carafa, V.; Nebbioso, A.; Altucci, L. *Recent Pat. Anticancer. Drug Discov.* **2011**, *6* (1), 131–145.
- (91) Xi, N.; Arvedson, S.; Eisenberg, S.; Han, N.; Handley, M.; Huang, L.; Huang, Q.; Kiselyov, A.; Liu, Q.; Lu, Y.; Nunez, G.; Osslund, T.; Powers, D.; Tasker, A. S.; Wang, L.; Xiang, T.; Xu, S.; Zhang, J.; Zhu, J.; Kendall, R.; Dominguez, C. *Bioorganic Med. Chem.*

- Lett.* **2004**, *14* (11).
- (92) Duong, L. T., Rodan, G. A. In *Rev. Endocr. Metab. Disord.*; **2001**, 95–104.
- (93) Shuanhu Gao , Yong Qiang Tu , Xiangdong Hu , Shaohua Wang , Rongbao Hua , Yijun Jiang , Yuming Zhao , Xiaohui Fan, and S. Z. *Org. Lett.* **2006**, *8* (11), 2373–2376.
- (94) Hitoshi Tanaka, Toshihiro Tanaka, Hideo Etoh, Sachiko Goto, and Y. T. *Heterocycles* **1999**, *51* (11), 2759–2764.
- (95) Satoh, N.; Yokoshima, S.; Fukuyama, T. *Org. Lett.* **2011**, *13* (12), 3028–3031.
- (96) Nocquet, P. A.; Hazelard, D.; Compain, P. *Tetrahedron* **2012**, *68* (22), 4117–4128.
- (97) Moody, C. M.; Young, D. W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, No. 23, 3519–3530.
- (98) Nocquet, P.-A.; Hazelard, D.; Compain, P. *European J. Org. Chem.* **2011**, No. 33, 6619–6623.
- (99) Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3988–4035.
- (100) Couty, F.; Evano, G. *Synlett* **2009**, 3053–3064.
- (101) Vargas-Sanchez, M.; Couty, F.; Evano, G.; Prim, D.; Marrot, J. *Org. Lett.* **2005**, *7* (26), 5861–5864.
- (102) Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Narasimhulu, G.; Satheesh, G. *Synlett* **2009**, 727–730.
- (103) Couty, F.; David, O.; Larmanjat, B.; Marrot, J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (3), 1058–1061.
- (104) Lv, H.; Tiwari, B.; Mo, J.; Xing, C.; Chi, Y. R. *Org. Lett.* **2012**, *14* (21), 5412–5415.
- (105) Huang, Y.; Zheng, C.; Chai, Z.; Zhao, G. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356* (2–3), 579–583.
- (106) Huang, X.; Liu, M.; Pham, K.; Zhang, X.; Yi, W. Bin; Jasinski, J. P.; Zhang, W. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (13), 5362–5369.

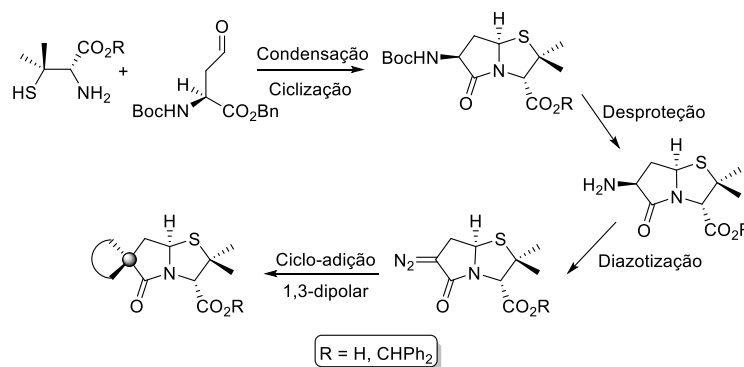
Capítulo II

Síntese de espiro- γ -lactamas quirais

2.1. Objetivos

O estudo da síntese e da atividade biológica de espirociclo- β -lactamas, desenvolvido pelo Grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra, permitiu a descoberta de compostos líder com propriedades anti-HIV e anti-*Plasmodium berghei* muito interessantes.¹ Na expectativa de obter compostos igualmente promissores, decidiu-se explorar a síntese de derivados não- β -lactâmicos, como as γ -lactamas, para a obtenção de novas espiro- γ -lactamas através de reações de ciclo-adição 1,3-dipolar com a diazo- γ -lactama.

Neste capítulo será descrita a síntese otimizada da diazo- γ -lactama bem como todos os exemplos de ciclo-adição 1,3-dipolar desta com diferentes dipolarófilos, o que resultou na preparação de novas espiro- γ -lactamas quirais. Sucintamente, a estratégia utilizada parte da condensação de um aminoácido com um aldeído seguida de ciclização, para obter a γ -lactama. A diazo- γ -lactama é obtida após desproteção e diazotização do composto bicíclico, sendo depois utilizada na reação de ciclo-adição 1,3-dipolar com o objetivo de alcançar novos espirocíclicos γ -lactâmicos (Esquema 2.1).

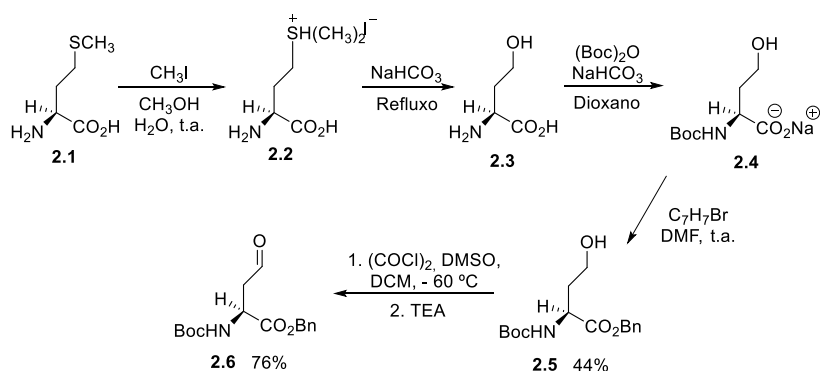


Esquema 2.1

2.2. Síntese da diazo- γ -lactama

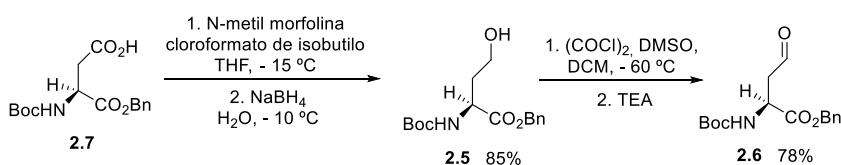
Iniciou-se o trabalho de investigação com a síntese do aldeído **2.6**, tendo como base dois procedimentos distintos descritos na literatura. Segundo Martín-Martinez,² a *L*-metionina **2.1** reage com iodometano em metanol durante 72 horas, para obter o intermediário **2.2**. O álcool **2.3** é obtido a partir da reação do intermediário **2.2** com

NaHCO₃ a refluxo. Antes da conversão ao aldeído, ainda são necessários dois passos sintéticos que consistem na proteção da amina com o grupo Boc (**2.4**) e na proteção do grupo carboxílico com um grupo benzilo (**2.5**). O álcool protegido **2.5** é obtido como um óleo com um rendimento de 44%, e convertido ao aldeído **2.6**, na presença de cloreto de oxalilo e DMSO a -60 °C. Após purificação, obtém-se o (*S*)-benzil 2-(*tert*-butoxicarbonilamina)-4-oxobutanoato (**2.6**) como um óleo amarelado com um rendimento de 76%. O rendimento global da reação é de 60% (Esquema 2.2).



Esquema 2.2

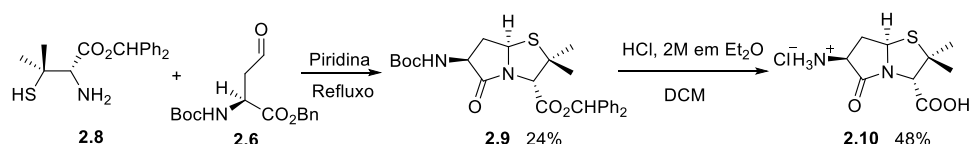
Uma vez que o rendimento global do método acima descrito não foi totalmente satisfatório, recorreu-se ao método de Baldwin descrito na literatura.³ Neste, o álcool **2.5** é sintetizado com bom rendimento (85%) através da reação entre o Boc-*L*-Asp-OBzl **2.7** e a *N*-metil morfolina e o clorofornato de isobutilo em THF a -15 °C, seguido de redução com NaBH₄ a -10 °C. Após purificação, o álcool **2.5** é convertido ao aldeído pretendido **2.6** na presença de cloreto de oxalilo e DMSO a -60 °C. O produto é isolado por cromatografia em coluna e obtido como um óleo amarelado (78%), com um rendimento global de 82% (Esquema 2.3).



Esquema 2.3

Comparando os resultados obtidos com os resultados apresentados na literatura para ambos os procedimentos, verifica-se que o método proposto por Baldwin é mais eficaz. Posto isto, o segundo método apresentado foi o escolhido para a preparação do aldeído no decurso deste estudo.

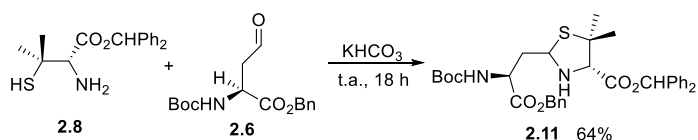
Preparado o aldeído de partida, procedeu-se à síntese da amino- γ -lactama pretendida adaptando um procedimento descrito na literatura para a síntese de β -lactamas (Esquema 2.4).³ O aldeído sintetizado **2.6** reage com o éster benzidrílico da *D*-penicilamina **2.8** em refluxo de piridina durante 18 horas, para se obter o núcleo γ -lactâmico **2.9** com um rendimento moderado de 24%. Em seguida, procedeu-se à desproteção do grupo amina utilizando uma solução de HCl 2M em Et₂O em diclorometano, à temperatura ambiente. Após 22 horas de reação o produto foi isolado com um rendimento de 48%. No entanto, por análise do espectro de RMN protónico verificou-se a ausência de sinais protónicos aromáticos, o que indica a perda do grupo benzidrilo. O rendimento global é de 36%.



Esquema 2.4

Tendo em consideração o resultado pouco satisfatório utilizando o método tradicional, o grupo de Química Orgânica da Universidade de Coimbra desenvolveu uma otimização às metodologias existentes para a síntese da diazo- γ -lactama, que consiste na obtenção da γ -lactama **2.9** a partir de uma estratégia que engloba dois passos – síntese da tiazolidina seguida de ciclização para a obtenção do ciclo de 5 membros.

A reação à temperatura ambiente da *D*-penicilamina **2.8** e do aldeído **2.6** na presença de KHCO₃, conduziu à formação da tiazolidina **2.11** com um rendimento de 64% após 18 horas de reação (Esquema 2.5). Por observação do espectro de RMN protónico verifica-se a formação de um dos diastereoisómeros, no entanto, não é possível tirar conclusões acerca da estereoquímica do isómero obtido.



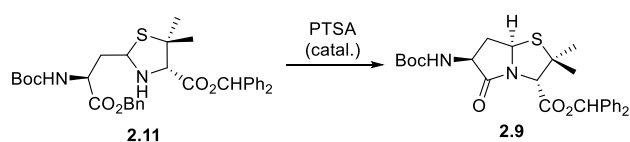
Esquema 2.5

Para a preparação da γ -lactama **2.9** via ciclização da tiazolidina **2.11** foram testadas diferentes condições de reação, as quais se encontram descritas na Tabela 2.1.

Inicialmente foi testada a reação de ciclização da tiazolidina na presença de ácido *p*-toluenosulfônico (PTSA) e a refluxo de tolueno, com diferentes tempos de reação (Reações 1-3). Em todos os casos se verificou a formação do produto desejado, contudo o melhor resultado foi alcançado quando se efetuou a reação durante 70 h, isolando a lactama bicíclica **2.9** com um rendimento de 69% como único produto (Reação 3). Quando se efetuou a mesma reação em tolueno na ausência de ácido *p*-toluenosulfônico durante 75 horas, foi observada a formação do produto com um rendimento moderado de 39% (Reação 4). A tentativa de realizar a ciclização a refluxo de *p*-xileno não foi bem sucedida, uma vez que não se observou a formação do produto desejado (Reação 5).

Comparando esta estratégia sintética para a obtenção da γ -lactama **2.9** com o procedimento inicial que utiliza piridina, com um rendimento global de 36%, verifica-se que a metodologia alternativa é mais eficaz. Apesar do composto **2.9** ser preparado em dois passos, tem um rendimento global mais elevado (44%) e não requer a presença de piridina, um solvente inflamável e tóxico.

Tabela 2.1. Otimização das condições de reação para a síntese do composto bicíclico **2.9**.



Reação	Condições de reação	Rendimento (2.9)
1	Tolueno, 110 °C, 48 h	33%
2	Tolueno, 110 °C, 50 h ^a	36%
3	Tolueno, 110 °C, 70 h	69%
4	Tolueno, 110 °C, 75 h ^b	39%
5	<i>p</i> -Xileno, 140 °C, 24 h	-

^aPurificado por cromatografia em coluna

^bAusência de PTSA (catalítico)

A estrutura do composto **2.9** foi determinada com base em espectros de RMN protónico, carbono 13 e espectros bidimensionais NOESY e COSY. Na Figura 2.1 apresenta-se o espectro de RMN protónico do composto **2.9**, onde podemos identificar sinais característicos, tais como, a presença de dois grupos metilo em C2 que surgem a 1,26 e 1,55 ppm, o sinal do grupo Boc a 1,45 ppm, e ainda os prótons aromáticos na zona próxima dos 7 ppm. Os prótons H-7 (2.01 e 3.18 ppm) aparecem acoplados ao próton H-6 (4.60 ppm) e ao próton H-7a (5.38 ppm), constituindo um típico sistema ABMX.

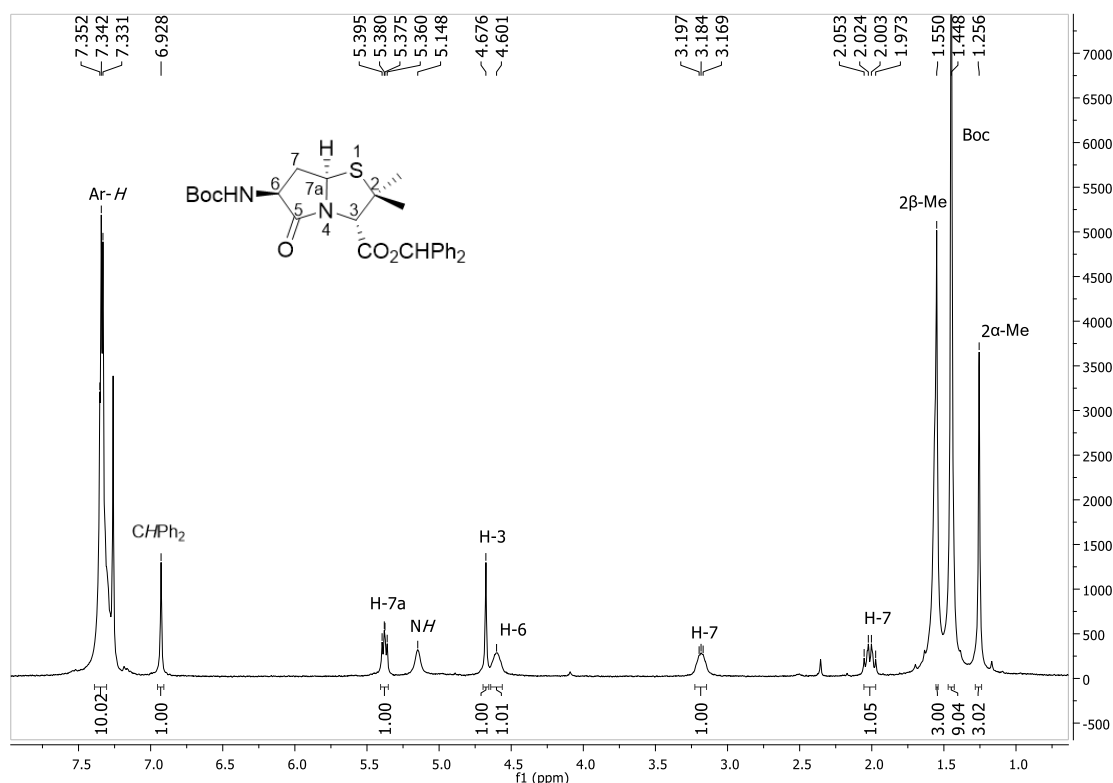


Figura 2.1. Espectro de RMN ^1H protónico do composto **2.9** (CDCl_3).

Na Figura 2.2 estão representadas as principais interações observadas no espectro de NOESY do composto **2.9**, o que permitiu determinar a estereoquímica do mesmo. Neste espectro observam-se picos cruzados entre o próton H-7a e os prótons $2\alpha\text{-Me}$ e H-6, mas não se observam picos cruzados entre H-7a e $2\beta\text{-Me}$, o que permite concluir que o próton H-7a está orientado para o lado oposto ao do próton $2\beta\text{-Me}$ (Figura 2.3).

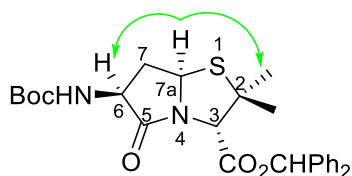


Figura 2.2. Principais correlações observadas no espectro NOESY da γ -lactama de benzidrido **2.9** (CDCl_3).

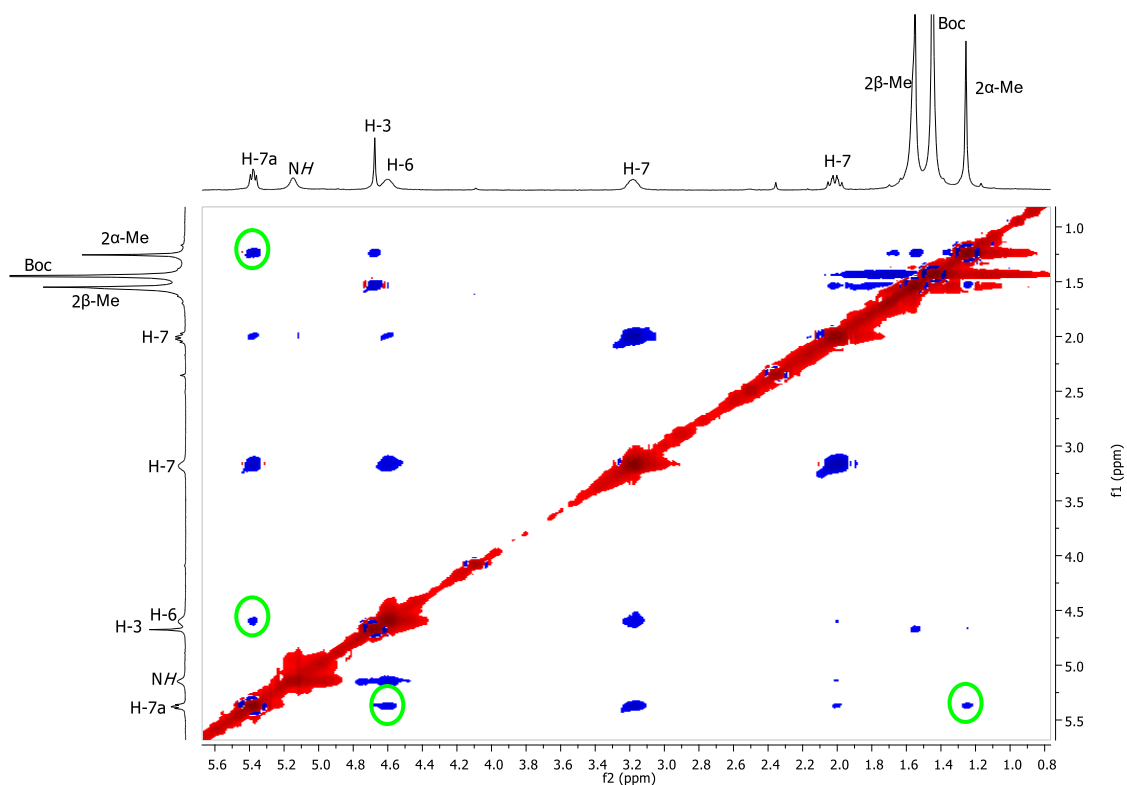
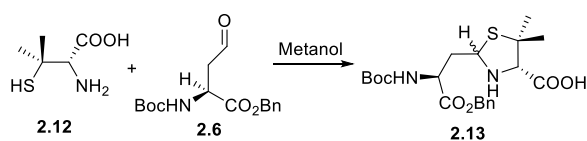


Figura 2.3. Espetro NOESY protónico do composto **2.9** (CDCl_3).

Uma vez alcançada a γ -lactama desejada **2.9**, procedeu-se à desproteção da mesma utilizando uma solução de HCl 2M em Et_2O . No entanto, após 5 dias de reação não se verificou a desproteção do grupo amina do anel da lactama. Este resultado levou-nos a explorar a condensação direta da *D*-penicilamina na forma ácida **2.12** com o aldeído **2.6**,⁴ permitindo a obtenção de uma mistura diastereoisomérica da tiazolidina **2.13**. Uma vez mais foi necessário otimizar as condições de reação, que se encontram abaixo descritas (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Otimização das condições de reação para a síntese da tiazolidina **2.13**.

Reação	<i>D</i> -penicilamina (Equiv.)	Condições de reação	Rendimento (2.13)
1	0.9	25 °C, 18 h*	69% (56:44)
2	0.9	25 °C, 43 h*	83% (61:39)
3	0.9	t.a., 24 h	67% (60:40)
4	0.8	t.a., 24 h	90% (64:36)
5	0.75	t.a., 18 h	92% (64:36)
6	0.50	t.a., 19 h	52% (75:25)

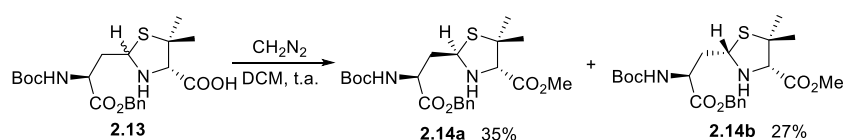
*Rendimento calculado com base no espectro de ^1H RMN.

Com o intuito de obter o produto desejado com o melhor rendimento, foram otimizadas as condições de reação variando os equivalentes de *D*-penicilamina **2.12**, a temperatura e o tempo de reação. Posto isto, nas reações em que se usou 0.9 equivalentes do aminoácido a 25 °C foi possível obter o produto desejado com bons rendimentos (Reações 1 e 2). No entanto, a análise do espectro de RMN protónico mostrou que o produto estava contaminado com *D*-penicilamina de partida indicando o consumo incompleto do reagente limitante. Assim, nas tentativas seguintes foram testados diferentes equivalentes molares para determinar o valor mais apropriado. Estas reações foram realizadas em metanol e à temperatura ambiente, por um período de tempo variável entre 18 h e 24 h (Reações 3-6). O melhor resultado foi obtido quando se efetuou a reação com 0.75 equivalentes de *D*-penicilamina, conduzindo à formação da tiazolidina pretendida **2.13** com um rendimento de 92%, obtida como uma mistura de diastereoisómeros na proporção 64:36 (Reação 5). Tanto para valores superiores como inferiores ao considerado ideal (0.75 equiv.), verifica-se uma diminuição do rendimento (Reações 3, 4 e 6).

Por observação do espectro de RMN protónico verifica-se a formação de uma mistura de diastereoisómeros das tiazolidinas **2.13**, uma vez que se observam dois conjuntos de sinais correspondentes aos prótons de ambas as tiazolidinas. Este resultado corrobora a informação já conhecida e descrita na literatura, que afirma que a reação de condensação de aldeídos ou cetonas com a *D*- ou *L*-cisteína ocorre via um processo em que o centro quiral α (C4 na tiazolidina) não é afetado e se cria um novo centro assimétrico na posição C2 da tiazolidina. Um dos aspetos mais importantes da reatividade das tiazolidinas

é a possibilidade de participarem em reações diastereosseletivas, dando origem ao desenvolvimento de vias sintéticas para novos compostos heterocíclicos quirais.⁵

Antes de proceder à ciclização da tiazolidina **2.13** foi realizado um ensaio que consistia na esterificação da mesma com o diazometano, em diclorometano e à temperatura ambiente. Esta estratégia foi utilizada com o objetivo de confirmar a existência de ambos os diastereoisómeros da tiazolidina ácida na mistura, uma vez que o grupo ácido presente na estrutura do composto **2.13** torna o espectro de RMN protónico complexo dificultando a atribuição dos sinais. Assim, obteve-se uma mistura de diastereoisómeros **2.14a** e **2.14b** sendo possível separá-los por cromatografia em coluna com rendimentos de 35% e 27%, respetivamente (Esquema 2.7).



A estereoquímica do composto **2.14b** foi determinada com base em espectroscopia de RMN protónico e bidimensionais COSY e NOESY (400 MHz). Na Figura 2.4 está representado o espectro de RMN ¹H do composto **2.14b**, onde é evidente a presença dos protões 2 α -Me e 2 β -Me que surgem a 1,19 e 1,62 ppm respetivamente, o sinal do grupo Boc a 1,43 ppm, e ainda os protões do fenilo do grupo benzilo (CH₂Ph) a 7,37 ppm como um sinal multiplete. Os protões H-6 (2,31 e 3,55 ppm) estão acoplados com o protão H-7 (4,44 ppm) e com o protão H-5 (4,62 ppm), formando o sistema ABMX.

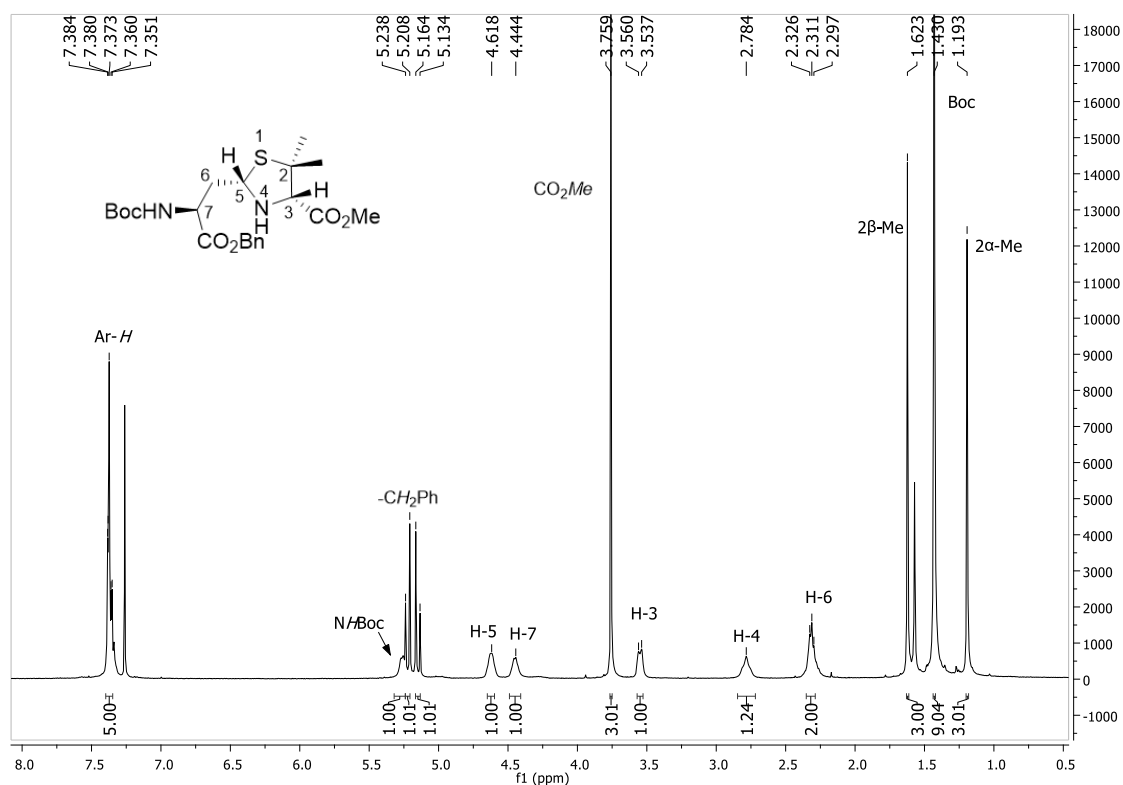


Figura 2.4. Espectro de RMN ^1H protónico do composto **2.14b** (CDCl_3).

Através dos espectros bidimensionais é possível identificar os principais acoplamentos e correlações protônicas, que estão abaixo apresentadas (Figura 2.5). O espectro COSY do produto **2.14b** mostra picos cruzados do próton H-5 com os prótons H-4 e H-6, e ainda do próton H-7 com o próton H-6 e com os prótons do grupo benzilo ($-\text{CH}_2\text{Ph}$) (Figura 2.6). No espectro NOESY foi possível determinar a estereoquímica do composto **2.14b**, uma vez que se observam picos cruzados entre o próton H-5 e os prótons H-3 e 7-NH mas não se observam picos cruzados entre o próton H-5 e os prótons $2\alpha\text{-Me}$, o que permite concluir que o próton H-5 está orientado para o lado oposto aos dos prótons $2\alpha\text{-Me}$ (Figura 2.7).

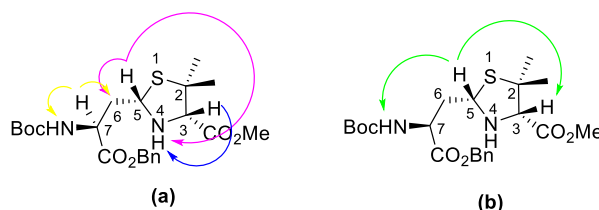


Figura 2.5. (a) Principais acoplamentos observados no espectro COSY do composto **2.14b** (CDCl_3); (b) Principais correlações observadas no espectro NOESY do composto **2.14b** (CDCl_3).

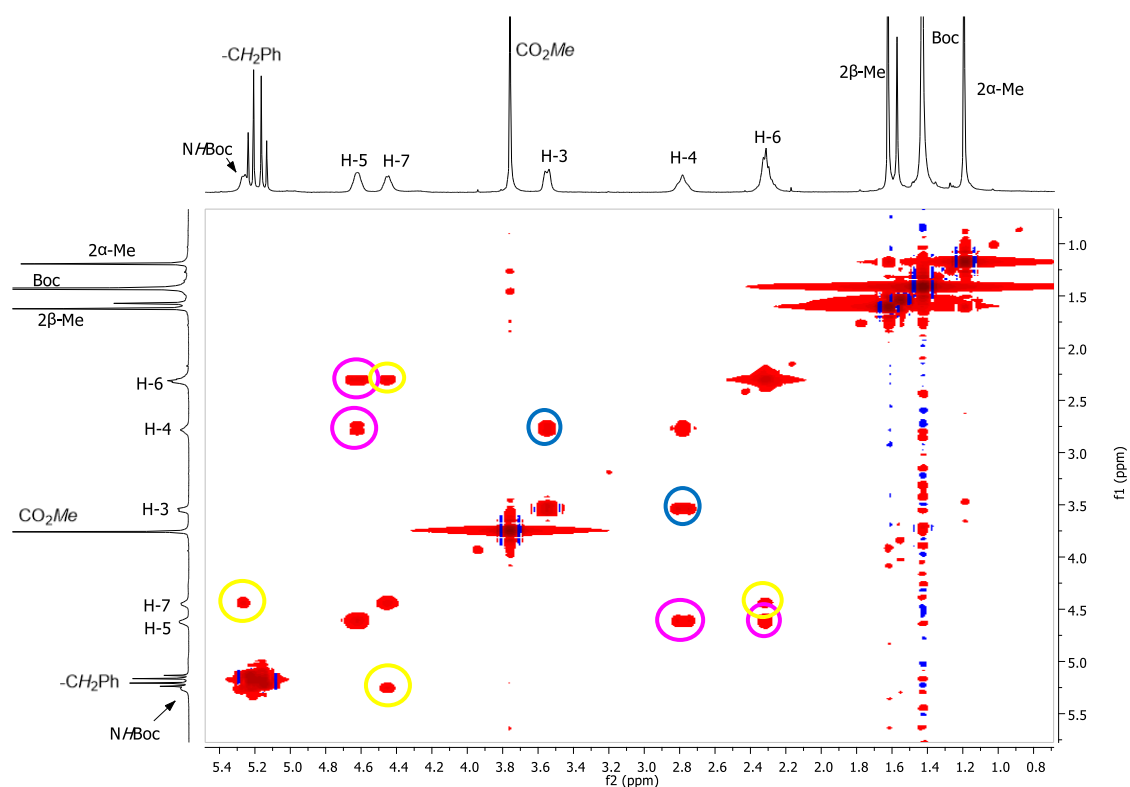


Figura 2.6. Expansão do espectro COSY do composto **2.14b** (CDCl_3).

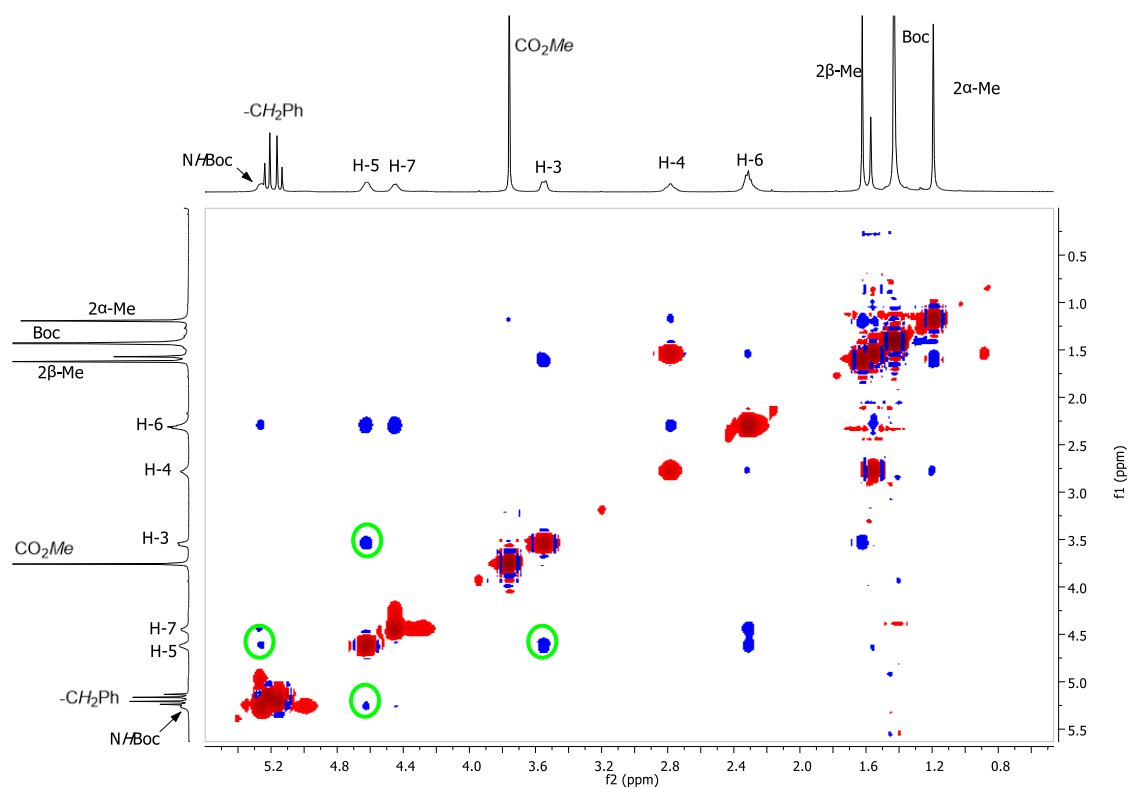
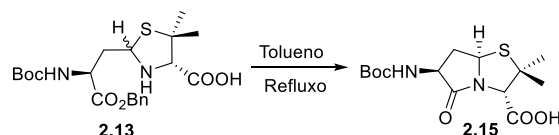


Figura 2.7. Expansão do espectro NOESY do composto **2.14b** (CDCl_3).

Uma vez que foi possível comprovar a existência dos diastereoisómeros na mistura **2.13**, resolveu-se partir diretamente para a ciclização da tiazolidina **2.13** na expectativa de obter apenas um dos isómeros. Posto isto, foi necessário otimizar as condições de reação para a preparação do composto bicíclico **2.15** (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Otimização das condições de reação para a síntese do composto bicíclico **2.15**.

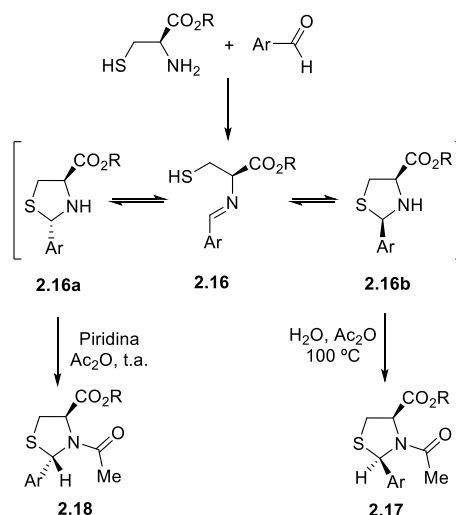


Reação	Condições de reação	Rendimento (2.15)
1	7 h, PTSA	43%
2	24 h, PTSA	61%
3	48 h, PTSA	44%
4	24 h	80%
5	48 h	47%
6	72 h	44%

A ciclização da tiazolidina **2.13** em refluxo de tolueno a 110 °C foi testada na presença de ácido *p*-toluenosulfónico com diferentes tempos de reação (Reações 1-3). O melhor resultado foi obtido após 24 horas de reação, isolando a γ -lactama **2.15** com um rendimento de 61% (Reação 2). Foram ainda realizados três ensaios na ausência do ácido *p*-toluenosulfónico (PTSA), em que se fez variar novamente o tempo de reação (Reações 4-6). Ao fim de 24 horas de reação, obteve-se o melhor rendimento para o composto bicíclico **2.15** (80%) (Reação 4). Quando se aumentou o tempo de reação para 48 e 72 horas, foi alcançado o mesmo produto mas com rendimentos significativamente inferiores (Reações 5 e 6). Os resultados permitem então concluir que o ácido *p*-toluenosulfónico não é essencial para a obtenção do produto desejado. Apesar de partirmos de uma mistura de diastereoisómeros **2.13**, observa-se a formação de um único produto quiral.

Este resultado está de acordo com a informação descrita na literatura, onde é referido que uma reação de *N*-acilação de uma mistura diastereoisomérica de tiazolidinas **2.16**, onde há equilíbrio entre os diastereoisómeros **2.16a** e **2.16b**, em certas condições experimentais permite a obtenção de produtos diastereoisomericamente puros.^{6,7} Quando a acilação decorre numa mistura de anidrido acético e água a 100 °C obtém-se unicamente o isómero *cis* **2.17**. Desta forma, ao utilizar este método para acetilar uma mistura de

tiazolidinas (3*S*,6*S*) e (3*R*,6*S*) obtém-se só o enantiómero com a estereoquímica (3*S*, 6*S*). Por outro lado, se a acilação for efetuada em piridina e anidrido acético à temperatura ambiente obtém-se apenas o diastereoisómero *trans* **2.18** (3*R*,6*S*) (Esquema 2.6).

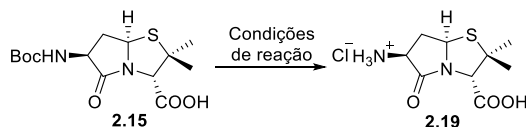


Esquema 2.6

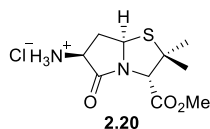
Comparando a via sintética acima descrita com a via que usa a éster *D*-penicilamina de benzidrilo (**2.8**) como reagente de partida, com um rendimento global de 44%, conclui-se que partindo da *D*-penicilamina na forma ácida (**2.12**) o processo é significativamente mais eficaz com um rendimento global de 74%.

O passo seguinte consiste na desproteção do grupo amina da γ -lactama **2.15** utilizando uma solução de HCl 2M em Et₂O. Foram testados diferentes solventes bem como diferentes equivalentes de ácido, a fim de obter o hidrocloreto ácido **2.19** (Tabela 2.4).

Tabela 2.4. Otimização das condições de reação para a desproteção do composto bicíclico **2.15**.

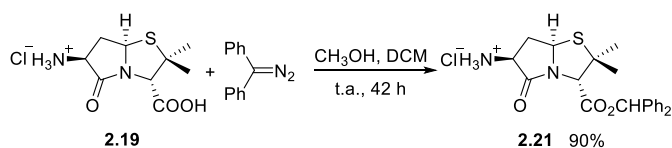


Reação	HCl 2M em Et ₂ O (Equiv.)	Condições de reação	Rendimento
1	5.0	22 h, Metanol	2.20 57%
2	5.0	24 h, THF	-
3	5.0	24 h, <i>t</i> -Butanol	2.19 33%
4	10.0	78 h, <i>t</i> -Butanol	2.19 43%
5	10.0	5 d, <i>t</i> -Butanol	2.19 56%
6	15.0	6 d, <i>t</i> -Butanol	2.19 93%



Com base num procedimento descrito na literatura,⁸ procedemos à desproteção da γ -lactama **2.15** utilizando 5.0 equivalentes de uma solução de HCl 2M em éter etílico, e metanol como solvente. Ao fim de 22 horas o produto foi isolado e, por análise do espectro de RMN protónico verificou-se a perda do sinal correspondente ao grupo Boc, o que seria de esperar, mas também se observou o aparecimento de um sinal correspondente a um éster metílico. Este resultado indica que ocorreu a esterificação do grupo ácido da γ -lactama, conduzindo à formação do produto **2.20** (Reação 1). Posto isto, decidiu-se alterar o solvente da reação para evitar a esterificação com o metanol. A mesma reação em THF não foi bem sucedida, visto que o sinal protónico correspondente ao grupo protetor Boc estava presente no espectro de RMN protónico (Reação 2). Recorrendo ao *t*-butanol como solvente, partindo do pressuposto que o processo de esterificação seria desfavorecido devido a efeitos estéreos, foram realizados diversos ensaios variando o tempo de reação e/ou os equivalentes de HCl (Reações 3-6). Com 5.0 equivalentes de HCl, verificou-se a desproteção parcial do grupo amina ao fim de 24 horas de reação (Reação 3). Aumentando para 10 equivalentes molares de ácido, não se verificou a desproteção completa do grupo amina após 78 horas e 5 dias de reação (Reações 4 e 5). Finalmente, foi possível obter a amino- γ -lactama na forma de hidrocloreto **2.19** com um rendimento de 93% utilizando 15 equivalentes de ácido em *t*-butanol, ao fim de 6 dias de reação à temperatura ambiente (Reação 7).

O passo seguinte consistiu na síntese do éster de benzidrilo **2.21**, seguindo um procedimento conhecido da literatura para sintetizar outros derivados.⁸ O hidrocloreto **2.19** sintetizado no passo anterior reagiu com o difenildiazometano numa solução de metanol e diclorometano, à temperatura ambiente. O hidrocloreto **2.21** foi isolado com um rendimento de 90%, após 42 horas de reação (Esquema 2.8).



Esquema 2.8

Comparando os espectros de RMN protónico do hidrocloreto **2.19** com o produto obtido **2.21**, observa-se o aparecimento dos sinais protónicos referentes aos prótons aromáticos na zona entre 7.0-7.5 ppm, e ainda o aparecimento de um singlete a 6.93 ppm que corresponde ao próton do grupo benzidrilo (CHPh_2). Todos os outros sinais são comuns a ambos os espectros uma vez que a introdução do grupo benzidrilo não causou alterações significativas nos desvios químicos desses prótons (Figura 2.8).

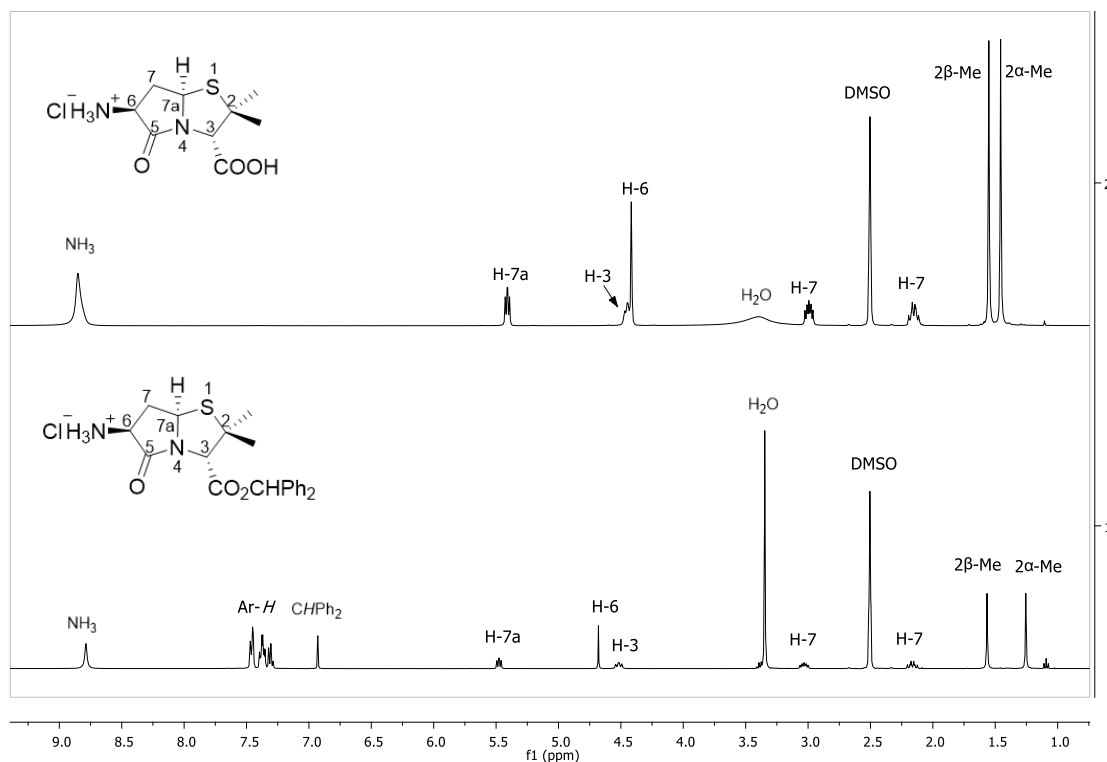
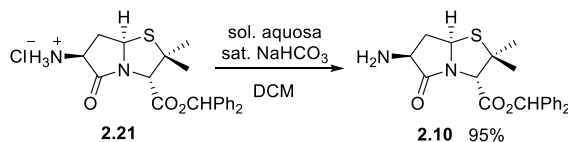


Figura 2.8. Comparação dos espectros de RMN protónico dos compostos **2.19** e **2.21** ($\text{DMSO-}d_6$).

A neutralização do hidrocloreto **2.21** é feita com recurso a uma solução aquosa de NaHCO_3 em diclorometano e, após uns minutos em agitação, a amino- γ -lactama **2.10** é isolada por extração com um rendimento de 95% (Esquema 2.9).



Esquema 2.9

Para confirmar a estereoquímica observada na estratégia alternativa que recorre à *D*-penicilamina **2.12**, recorreu-se à espectroscopia de RMN protónico e bidimensional NOESY (400 MHz). Na Figura 2.9 está representado o espectro de RMN ^1H da amino- γ -

lactama **2.10** onde estão evidenciados os sinais mais relevantes para a identificação do composto.

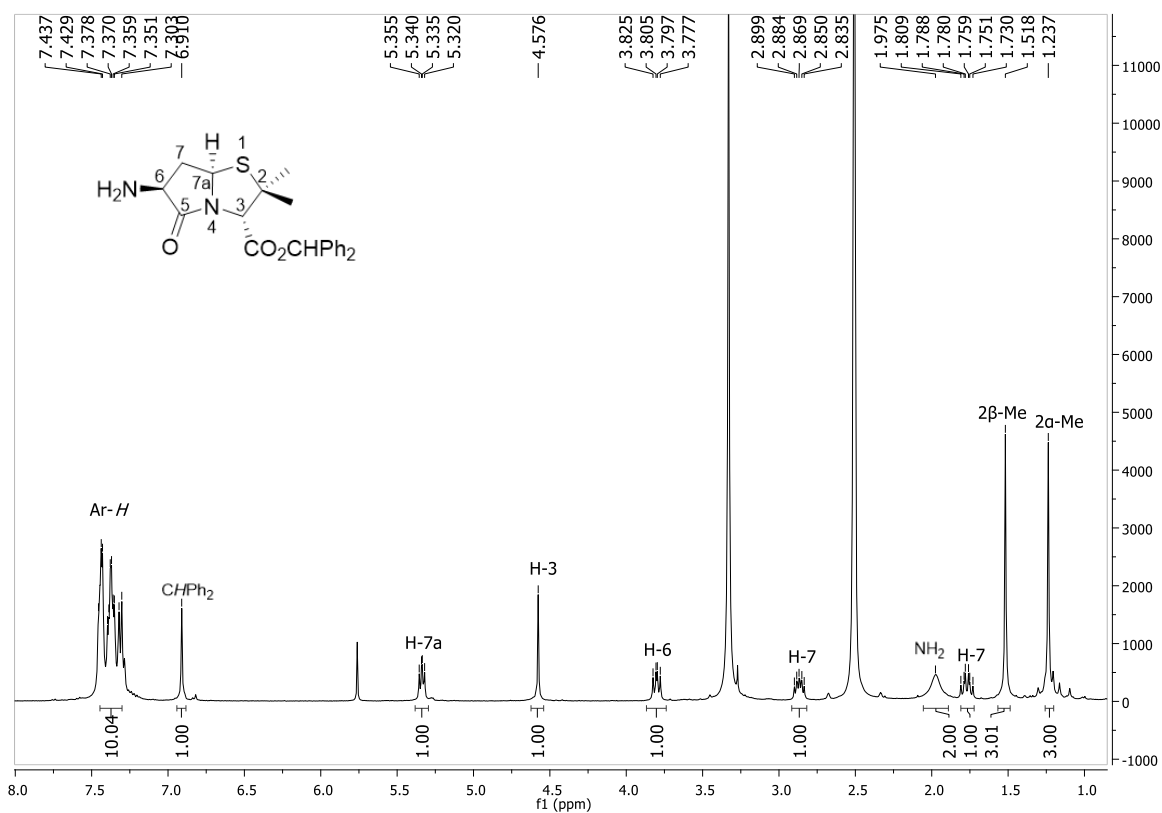


Figura 2.9. Espectro de RMN protônico do composto **2.10** (CDCl_3).

Através dos espectros bidimensional NOESY é possível confirmar a estereoquímica do composto **2.10**, por observação das principais correlações protônicas (Figura 2.10). No espectro de NOESY verificam-se picos cruzados entre o próton H-7a (5.34 ppm) e os prótons H-6 (3.80 ppm) e 2 α -Me (1.24 ppm) (Figura 2.11).

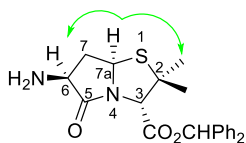


Figura 2.10. Principais correlações observadas no espectro NOESY do composto **2.10** (CDCl_3).

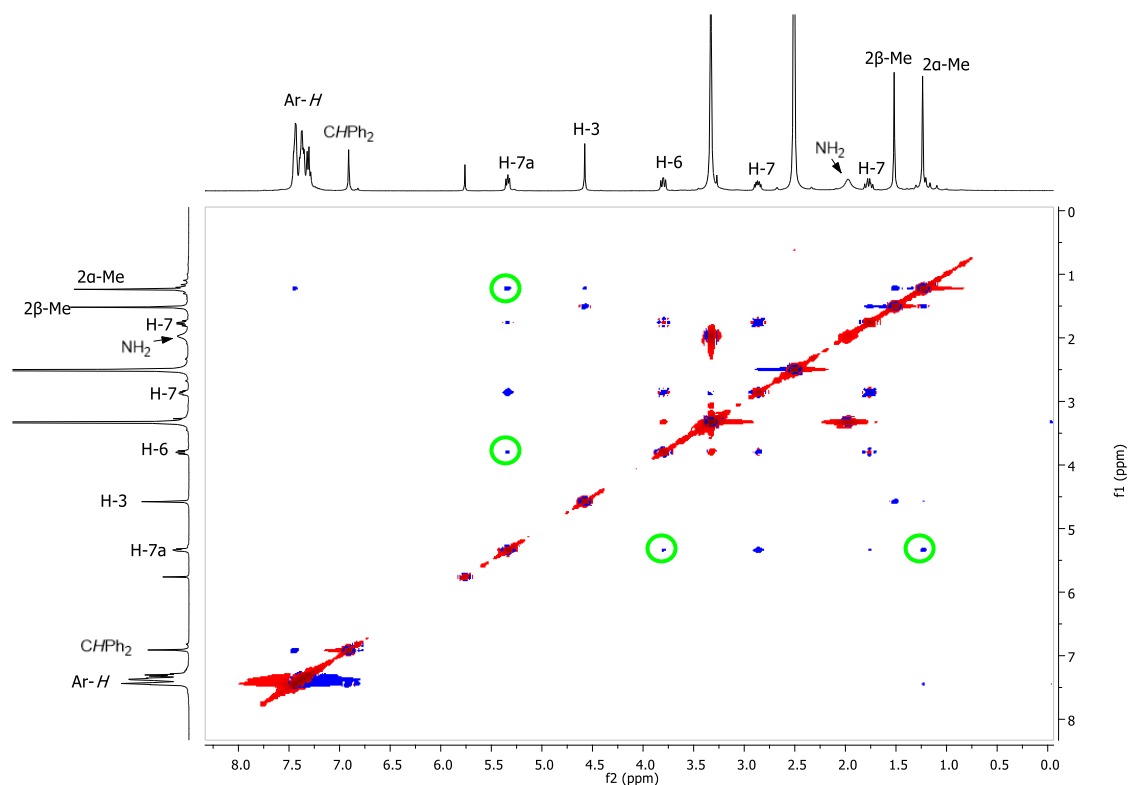


Figura 2.11. Espectro NOESY do composto **2.10** (CDCl_3).

Para obter a diazo- γ -lactama **2.22** foram realizados inúmeros ensaios onde foram alterados determinados parâmetros de modo a otimizar as condições de reação. Inicialmente procedeu-se à reação de diazotização da amino- γ -lactama **2.10** com o nitrito isoamílico em acetato de etilo, de acordo com um procedimento conhecido (Esquema 2.10).⁹ Utilizando TFA como catalisador, foram realizados diversos ensaios à temperatura ambiente com diferentes tempos de reação. No entanto, após 4 h, 18 h e 19 h de reação, não se verificou a formação do produto pretendido. Por repetição da mesma reação na ausência de TFA durante 69 horas, o resultado não foi diferente do observado nos casos anteriores.

Com base num procedimento utilizado anteriormente no nosso grupo de investigação para a síntese de 6-diazopenicilanatos, realizou-se a reação da amino- γ -lactama **2.10** com o nitrito de etilo em diclorometano (Esquema 2.10).¹ Antes de proceder à otimização do último passo sintético, foi necessário sintetizar o nitrito de etilo segundo um método conhecido na literatura.¹⁰ Usando 6.0 equivalentes de nitrito de etilo foram realizados dois ensaios à temperatura ambiente, na ausência e na presença de TFA. Em ambas as reações não se observou a formação do diazo **2.22**. Num outro ensaio, na

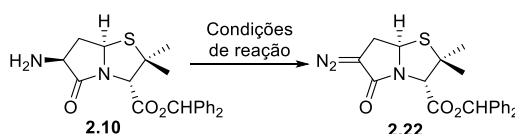
ausência de catalisador e à temperatura ambiente, o resultado foi igualmente insatisfatório ao fim de 4 dias de reação. Também com 10.0 equivalentes molares de nitrito de etilo a 5 °C, não foi possível obter a diazo- γ -lactama desejada **2.22**.



Esquema 2.10

Considerando os resultados insatisfatórios acima descritos para ambas as metodologias, foi necessário recorrer a um método clássico para a síntese de diazo- β -lactamas que usa nitrito de sódio na presença de ácido como agente de diazotização.¹¹ As diversas tentativas de otimização da reação estão descritas na Tabela 2.5.

Tabela 2.5. Otimização das condições de reação para a obtenção da diazo- γ -lactama **2.22** recorrendo ao nitrito de sódio.



Reação	NaNO ₂ (Equiv.)	Catalisador	Condições de reação	Rendimento (2.22)
1	1.5	HCl 2M em Et ₂ O	Acetona/H ₂ O, t.a., 3 h	-
2	1.5	-	Etanol/H ₂ O, t.a., 5 h	-
3	2.5	HClO ₄	DCM/H ₂ O, 0 °C, 4 h	57%
4	2.5	HClO ₄	DCM/H ₂ O, 0 °C, 3 h	60%
5	2.5	HClO ₄	DCM/H ₂ O, 0 °C, 2 h	67%
6	2.5	HClO ₄	DCM/H ₂ O, 0 °C, 1 h	97%
7	2.5	HClO ₄	DCM/H ₂ O, 0 °C, 30'	Diazotização incompleta

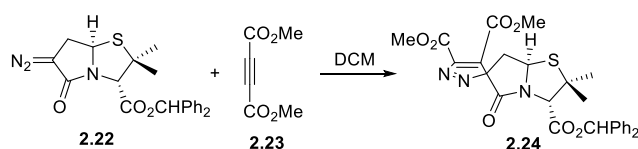
A reação à temperatura ambiente da amino- γ -lactama **2.10** com 1.5 equivalentes de nitrito de sódio, tanto na ausência como na presença de HCl, não conduziu à formação da diazo- γ -lactama pretendida (Reações 1 e 2). As restantes reações com o nitrito de sódio (2.5 equiv.) ocorreram a 0 °C na presença de HClO₄, numa mistura de diclorometano e água (Reações 3-7). Ao fim de 4 horas de reação, o produto foi isolado e, por análise do espetro de RMN ¹H foi possível identificar o produto pretendido bem como outros sinais que correspondem à degradação do mesmo (Reação 3). Tendo em consideração este resultado, o tempo de reação dos restantes ensaios foi inferior. O melhor resultado foi alcançado após

uma hora de reação, isolando a diazo- γ -lactama **2.22** com um rendimento de 97% (Reação 6). Tendo em consideração os dados da Tabela 2.5, é de notar que o tempo de reação é um fator importante uma vez que aumentando o tempo de reação observa-se diminuição do rendimento e degradação do produto (Reações 3-5). No entanto, a aplicação das mesmas condições de reação durante apenas 30 minutos não permite a diazotização completa da γ -lactama, verificando-se por RMN protónico a presença da amino- γ -lactama de partida (Reação 7).

2.3. Síntese de espiro- γ -lactamas quirais a partir de diazo- γ -lactamas

Foi estudada a reatividade da diazo- γ -lactama **2.22** em reações de ciclo-adição 1,3-dipolar com alquinos deficientes em eletrões, o que resultou na síntese de novas espiro- γ -lactamas que incorporam o anel 3*H*-pirazol. Os alquinos deficientes em eletrões utilizados no decurso desta tese foram o acetilenodicarboxilato de dimetilo (**2.23**) e o propiolato de metilo (**2.25**). Na tabela 2.6 estão apresentadas as diversas tentativas realizadas para a obtenção da espiro- γ -lactama **2.24**.

Tabela 2.6. Otimização das condições de reação de ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama **2.22** com o acetilenodicarboxilato de dimetilo (**2.23**).



Reação	Condições de reação	Rendimento (2.24)
1	45 °C, 4 h	30%
2	t.a., 4 h	31%
3	t.a., 1 h	34%
4	0 °C, 4 h	72%

Mimetizando as condições de reação testadas no nosso grupo de investigação para a síntese das espiro- β -lactamas,¹ foi realizado um ensaio entre a diazo- γ -lactama **2.22** e o acetilenodicarboxilato de dimetilo (**2.23**) em diclorometano a 45 °C. Após quatro horas de reação, o produto **2.24** foi isolado com um rendimento de 30% (Reação 1). A reação à temperatura ambiente da diazo- γ -lactama **2.22** com o DMAD (**2.23**) durante 4 horas, conduziu à formação da espiro- γ -lactama pretendida **2.24**, com um rendimento de 31%

(Reação 2). Foi realizado um ensaio nas mesmas condições mas, ao fim de uma hora de reação, o produto foi isolado com um rendimento de 34% (Reação 3). Considerando os resultados obtidos nas reações 1 a 3, conclui-se que as alterações feitas no tempo e na temperatura da reação não causaram qualquer impacto significativo no valor do rendimento do produto desejado. Posto isto, foi realizada uma última tentativa a 0 °C uma vez que a diazo- γ -lactama **2.22** é preparada a esta temperatura e, além disso, é instável à temperatura ambiente. Seguindo esta estratégia, a espiro- γ -lactama **2.24** foi isolada com um rendimento significativamente superior (72%) ao fim de 4 horas de reação (Reação 4). É de salientar que acima da temperatura ambiente, a presença de impurezas observadas por TLC são mais evidentes do que as verificadas à temperatura de 0 °C.

A estrutura do composto **2.24** foi determinada com base em espectros de RMN protónico, carbono 13 e bidimensionais NOESY, HMQC e HSQC (400 MHz). Na Figura 2.12 está representado o espectro de RMN protónico da espiro- γ -lactama **2.24**, onde é possível identificar os sinais correspondentes ao anel γ -lactâmico bem como os sinais atribuídos aos grupos dos ésteres metílicos (3.87 e 3.95 ppm).

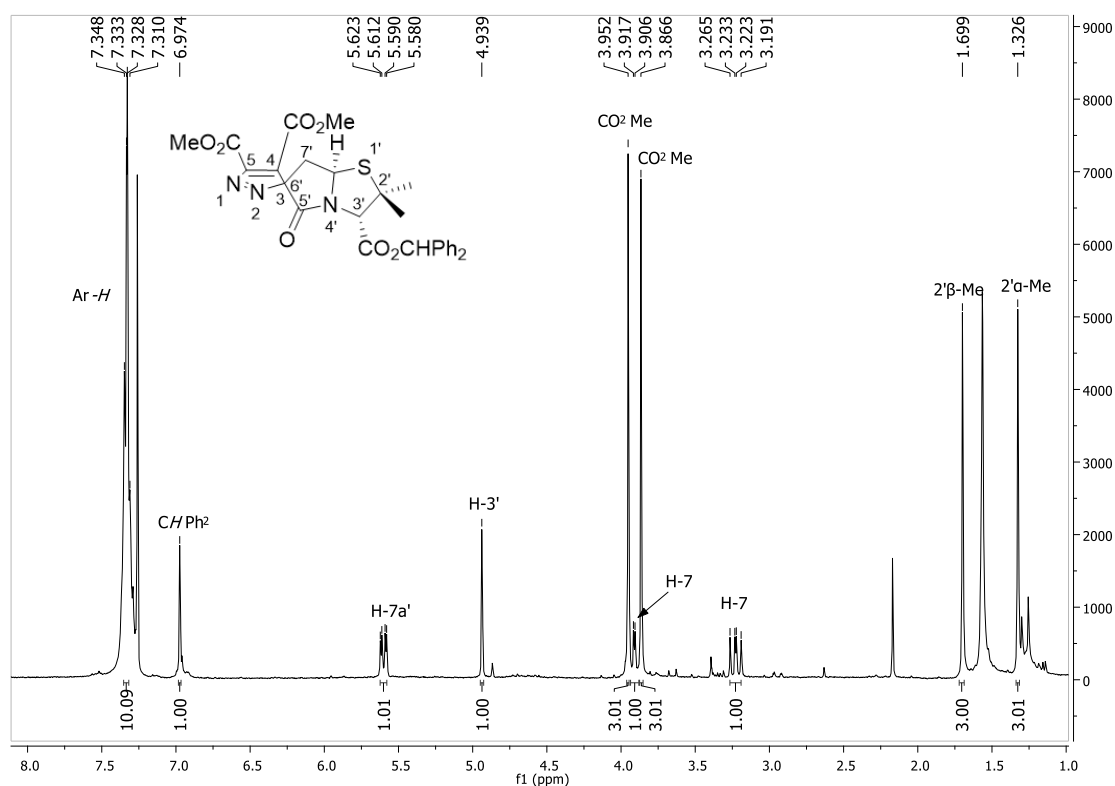


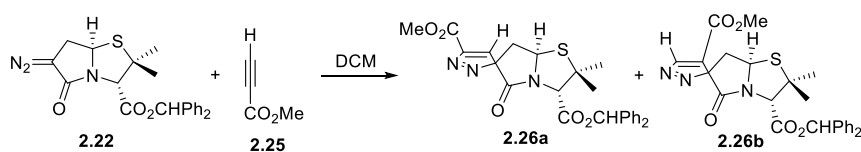
Figura 2.12. Espectro RMN protónico do composto **2.24** (CDCl₃).

Esta reação de ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama **2.22** com o acetilenodicarboxilato de dimetilo (**2.23**) ocorreu de forma estereosseletiva, como se verifica no caso das ciclo-adição 1,3-dipolar de 6-diazopenicilanatos com o mesmo dipolarófilo.¹² Este resultado pode ser explicado considerando que o ciclo-adiuto maioritário resultou da aproximação do dipolarófilo pela face α da γ -lactama, que tem menor impedimento estéreo.

Na Tabela 2.7 estão descritos os diversos ensaios da reação de ciclo-adição 1,3-dipolar utilizando o propiolato de metilo (**2.25**).

Todas as tentativas de ciclo-adição da diazo- γ -lactama **2.22** com o propiolato de metilo (**2.25**) foram realizadas em diclorometano e à temperatura ambiente, variando apenas o tempo de reação (Reações 1-3). Em todos os ensaios foi observada a formação de dois regioisômeros da espiro- γ -lactama **2.26**, sendo o regioisômero **2.26a** o maioritário em todos os casos. Ao fim de 8 horas de reação, isolam-se os produtos com um rendimento global de 31% (Reação 1). Aumentando o tempo de reação para 19 horas verifica-se um aumento significativo no rendimento de ambos os produtos, **2.26a** (38%) e **2.26b** (31%) (Reação 2). No entanto, após 22 horas de reação verifica-se uma diminuição ligeira do rendimento (Reação 3).

Tabela 2.7. Otimização das condições de reação de ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama **2.22** com o propiolato de metilo (**2.25**).

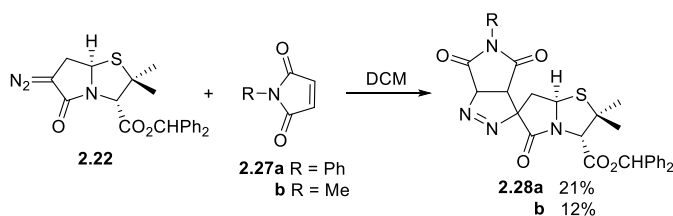


Reação	Condições de reação	Rendimento	
		(2.26a)	(2.26b)
1	t.a., 8 h	24%	7%
2	t.a., 19 h	38%	31%
3	t.a., 22 h	30%	27%

A análise do espectro de RMN ¹H do composto **2.26b** indica tratar-se do regioisômero do composto **2.26a**. No espectro de RMN ¹H do composto **2.26a** observa-se um sinal singlete a 6.60 ppm que corresponde ao próton H-4 mas no espectro de RMN ¹H do produto **2.26b** não há evidência deste sinal. Contudo, a aproximação deste próton ao nitrogénio (N-1)

provoca um aumento do desvio químico e, por isso, é possível que este sinal esteja na zona dos prótons aromáticos. Apesar de não ser possível confirmar esta suposição através de espectroscopia de RMN bidimensional, o resultado de espectrometria de massa de alta resolução indica que este produto é um isómero constitucional da espiro- γ -lactama **2.26a**. Então, para confirmar a estrutura do composto **2.26b** seria necessário recorrer à cristalografia de raios-X.

Foi também explorada a reatividade da diazo- γ -lactama **2.22** com maleimidas *N*-substituídas **2.27** (Esquema 2.11). Ambas as reações foram realizadas em diclorometano e à temperatura ambiente, durante 1 hora. A ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama **2.22** com a *N*-fenil (**2.27a**) e *N*-metilmaleimida (**2.27b**) levou à formação das espiro- γ -lactamas **2.28**. Partindo da diazo- γ -lactama **2.22**, a reação com a *N*-fenilmaleimida (**2.27a**) conduziu à formação da γ -lactama **2.28a**, a qual foi isolada por coluna cromatográfica com um rendimento de 21%. Quando se utilizou a *N*-metilmaleimida (**2.27b**) formou-se a espiro- γ -lactama **2.28b**, embora com um rendimento pouco satisfatório de 12%. No entanto, em ambos os casos foi também isolado um produto secundário que, por análise do espectro de RMN protónico verifica-se que não contém o sinal correspondente ao grupo fenilo nem ao grupo metilo provenientes das *N*-maleimida substituídas **2.27a** e **2.27b**, respetivamente.



Esquema 2.11

A estrutura do composto **2.28a** foi determinada com base em espectros de RMN protónico, carbono 13 e bidimensionais HMQC, HMBC, NOESY e COSY. Na Figura 2.12 está representado o espectro de RMN ¹H da espiro- γ -lactama **2.28a**, sendo possível observar os sinais protónicos característicos do núcleo γ -lactâmico de partida bem como o aparecimento de outros sinais provenientes da *N*-fenilmaleimida (**2.27a**). O sinal multiplete a 7.47 ppm corresponde ao grupo fenilo da maleimida e ainda se observam dois sinais dubletos (3.44 e 6.01 ppm) que correspondem aos prótons H-3a' e H-6a', respetivamente (Figura 2.13).

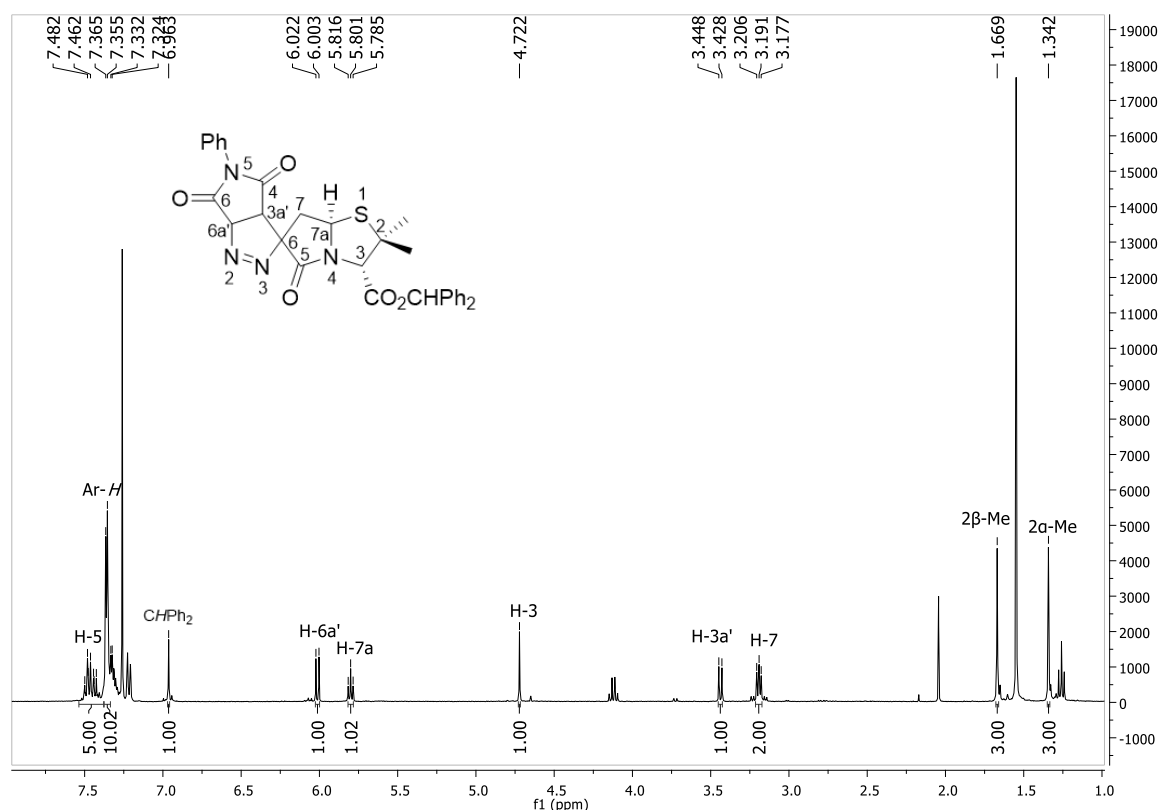


Figura 2.13. Espetro de RMN protónico do composto **2.28a** (CDCl₃).

Tendo em consideração o resultado satisfatório obtido na reação de ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama **2.22** com o acetilenoicarboxilato de dimetilo (**2.23**), que levou à síntese da espiro- γ -lactama **2.24** com um rendimento de 72%, seria relevante aplicar as condições de reação utilizadas neste ensaio nas restantes reações de ciclo-adição exploradas.

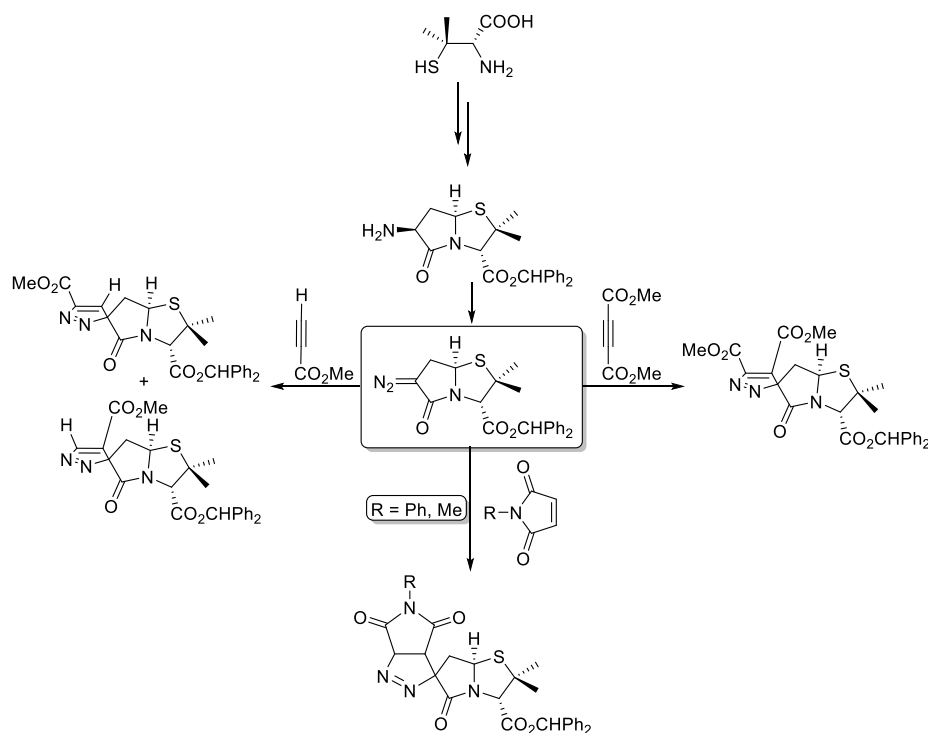
2.4. Conclusão

No presente capítulo apresentou-se a síntese de diazo- γ -lactamas partindo da condensação da *D*-penicilamina com um aldeído. A otimização das condições de reação aplicadas em cada um dos passos sintéticos da metodologia utilizada estão igualmente descritos, sendo possível a obtenção da diazo- γ -lactama com bom rendimento.

No decurso deste capítulo foi apresentada a síntese de novas espiro- γ -lactamas quirais a partir da reação de ciclo-adição 1,3-dipolar da diazo- γ -lactama com alquinos deficientes em eletrões e maleimidas *N*-substituídas. As reações apresentadas ocorreram

de forma diastereosseletiva, resultando da aproximação do dipolarófilo pela face α da γ -lactama, com menor impedimento estéreo.

Em suma, foi demonstrado neste capítulo a síntese dos primeiros compostos espirocíclicos γ -lactâmicos a partir de reações de ciclo-adição 1,3-dipolar de diazo- γ -lactamas. Os resultados obtidos, ainda que prematuros, significam um grande passo para a síntese de novos compostos lactâmicos com possível atividade biológica. Evidentemente, que estudos posteriores são necessários para a otimização da síntese e exploração da reatividade destes compostos e derivados.



Referências

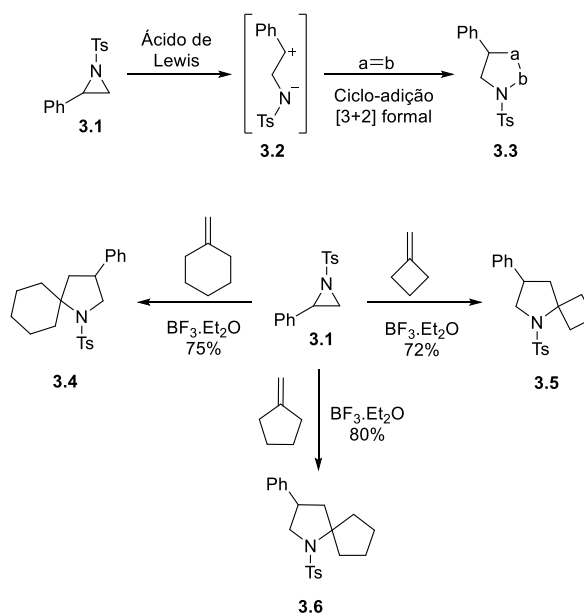
- (1) Santos, B. S.; Nunes, S. C. C.; Pais, A. A. C. C.; Pinho E Melo, T. M. V. D. *Tetrahedron* **2012**, *68* (19), 3729–3737.
- (2) Martin-Martinez, M.; De la Figuera, N.; Latorre, M.; Herranz, R.; Garcia-Lopez, M. T.; Cenarruzabeitia, E.; Del Rio, J.; Gonzalez-Muniz, R. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (20), 3770–3777.
- (3) Baldwin, J. E.; Flinn, A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28* (31), 3605–3608.
- (4) Baldwin, J. E.; Freeman, R. T.; Lowe, C.; Schofield, C. J.; Lee, E. *Tetrahedron* **1989**, *45* (14), 4537–4550.
- (5) Pinho e Melo, T. M. V. D. In *In Targets in Heterocyclic Systems – Chemistry and Properties Attanasi, A.; Spinelli, D., Eds., Italian Society of Chemistry; 2004; Vol. 8*, pp 288–239.
- (6) Szilagyi, L.; Gyorgydeak, Z. *J Am Chem Soc* **1979**, *101* (2), 427–432.
- (7) Pinho E Melo, T. M. V. D.; Gomes, C. S. B.; Rocha Gonsalves, A. M. D. A.; Paixão, J. A.; Beja, A. M.; Ramos Silva, M.; Alte Da Veiga, L. *Tetrahedron* **2002**, *58* (25), 5093–5102.
- (8) Baldwin, J. E.; Norris, W. J.; Freeman, R. T.; Bradley, M.; Adlington, R. M.; Long-fox, S.; Schofield, C. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1128–1130.
- (9) Bycroft B. W., Shute R. E., B. M. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1128–1130.
- (10) Budavari, S. .; Smith, A. .; Heckelman, P. E. .; Assistant, E. In *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*; 1996; p 651.
- (11) Sheehan, J. C.; Commons, T. J. *J. Org. Chem.* **1978**, *43* (11), 2203–2208.
- (12) Santos, B. S.; Nunes, S. C. C.; Pais, A. A. C. C.; Pinho E Melo, T. M. V. D. *Tetrahedron* **2012**, *68* (19), 3729–3737.

Capítulo III

Síntese de espirociclo- β -lactamas quirais

3.1. Objetivos

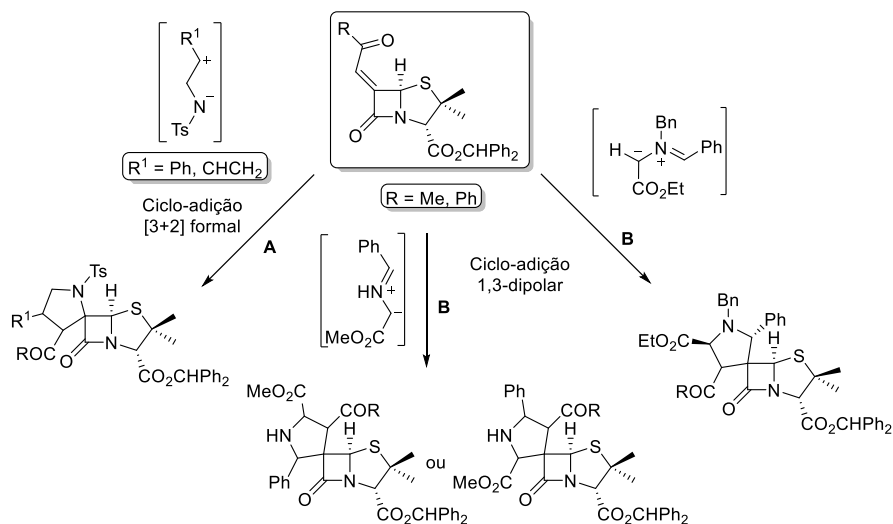
É sabido que na presença de um ácido de Lewis a 2-fenil-*N*-tosilaziridina **3.1** sofre clivagem da ligação C-N para formar o 1,3-dipolo zwitteriônico **3.2**, estabilizado externamente pelos grupos tosilo e aromático (Esquema 3.1). Em seguida, o 1,3-dipolo **3.2** reage com alquenos, alquinos, cetonas, aldeídos, nitrilos e heterocumulenos, para obter ciclo-adutos 1,3-dipolar **3.3**. Mann e colaboradores descreveram que o 1,3-dipolo formal, gerado a partir da 2-fenil-*N*-tosilaziridina **3.1** na presença de trifluoreto de boro em éter etílico (BF₃.Et₂O), reagiu com diferentes alquenos exocíclicos formando espiropirrolidinas **3.4**, **3.5** e **3.6**.¹



Esquema 3.1

Assim sendo, um dos objetivos deste trabalho é a síntese de espirociclo-β-lactamas quirais através de reações de ciclo-adução entre 6-alkilideopenicilanatos e diferentes espécies 1,3-dipolares. Nas reações de ciclo-adução [3+2] formal, as espécies 1,3-dipolares foram geradas a partir de aziridinas na presença de ácidos de Lewis ou catalisadores de paládio (Esquema 3.2, via A). Para as reações de ciclo-adução do tipo 1,3-dipolar foram utilizados íletos de azometino, provenientes de aziridinas e iminas (Esquema 3.2, via B). Neste capítulo é também descrita a síntese de 6-alkilidenopenicilanatos bem como todos os exemplos de ciclo-adução utilizados para a preparação de espirociclopírrrolidinopenicilanatos quirais. Numa fase inicial utiliza-se uma reação modelo

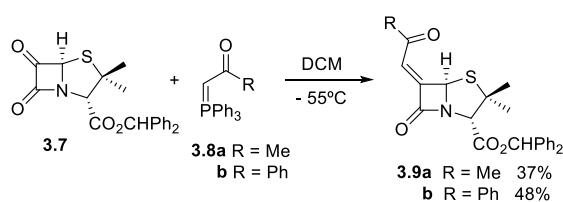
que usa metil vinil cetona para mimetizar o papel dos 6-alkilidenopenicilanos em reações de ciclo-adição [3+2] formal na presença de diferentes catalisadores e, em seguida, efetuam-se reações de ciclo-adição 1,3-dipolar sob irradiação de micro-ondas.



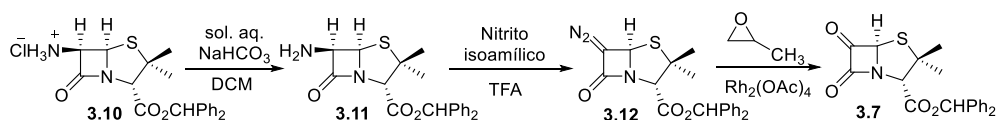
Esquema 3.2

3.2. Síntese dos 6-alkilidenopenicilanos

O estudo da reatividade de 6-alkilidenopenicilanos para a funcionalização do carbono-6, mantendo intacto o núcleo penicilano, foi uma das abordagens exploradas para a síntese de novas espiro-β-lactamas. Os 6-alkilidenopenicilanos **3.9** foram obtidos a partir da reação de Wittig do íleto de fósforo **3.8** apropriado com o 6-oxopenicilano **3.7**, em diclorometano e à temperatura de -55 °C (Esquema 3.3).² O 6-oxopenicilano **3.7** foi preparado a partir do hidrocloreto de benzidrido **3.10**, de acordo com um procedimento conhecido na literatura (Esquema 3.4).³ A neutralização do hidrocloreto **3.10** com uma solução de NaHCO₃ e posterior diazotização, conduz à formação do derivado diazo **3.12**. Por fim, a oxidação da diazo-β-lactama **3.12** catalisada por ródio, na presença de óxido de propileno, permitiu a obtenção do 6-oxopenicilano **3.7**.



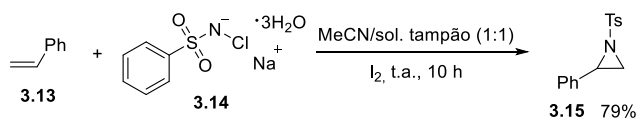
Esquema 3.3



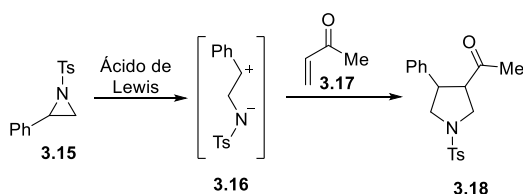
Esquema 3.4

3.3. Ciclo-adição [3+2] formal de aziridinas com metil vinil cetona e com 6-alkilidenopenicilanos

Inicialmente foi utilizada uma reação modelo – reação da aziridina **3.15** com metil vinil cetona (**3.17**), uma vez que esta última mimetiza o papel dos 6-alkilidenopenicilanos na reação em estudo. Assim sendo, foram realizados diversos ensaios utilizando esta estratégia como uma previsão do possível comportamento dos 6-alkilidenopenicilanos. Antes de testar a reação modelo, foi sintetizada a 2-fenil-*N*-tosilaziridina (**3.15**) de acordo com um procedimento descrito na literatura.⁴ A cloramina-T (**3.14**) reage com o estireno (**3.13**), na presença de iodo em acetonitrilo/solução tampão (1:1) (Esquema 3.5). A aziridina **3.15** é purificada por cristalização e obtida com um rendimento de 79%. A 2-fenil-*N*-tosilaziridina (**3.15**), na presença de um ácido de Lewis, transforma-se numa espécie 1,3-dipolar **3.16** que reage com metil vinil cetona (**3.17**) segundo uma reação de ciclo-adição [3+2] formal, originando a pirrolidina **3.18** (Esquema 3.6).



Esquema 3.5



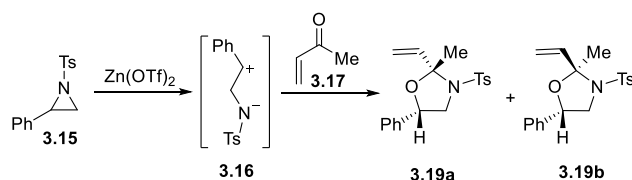
Esquema 3.6

Foram realizadas várias reações de ciclo-adição [3+2] formal utilizando o triflato de zinco [$\text{Zn}(\text{OTf})_2$] como ácido de Lewis e, em cada um dos ensaios foram alterados as quantidades de triflato de zinco e o tempo de reação (Tabela 3.1).

Tendo como base o procedimento descrito na literatura,⁵ utilizou-se 10% mol de Zn(OTf)₂ e, ao fim de 4 horas de reação verificou-se a formação do produto **3.19**, isolado como uma mistura de isómeros com um rendimento global de 25% (Reação 1). Nesta reação foi também isolado um produto secundário **3.20**, que se formou devido à adição de água no final da reação por hidratação do 1,3-dipolo (**3.16**) existente no meio reacional. A formação do produto secundário **3.20** não foi observada nas restantes reações, dado que o isolamento do produto não foi realizado por adição de água mas sim por filtração sob celite (Reações 2-4). Com o intuito de evitar a formação do produto secundário **3.20**, foram adicionados peneiros moleculares (PM) ao meio reacional, como descrito na literatura.⁵ Contudo, em ambas as reações em que se utilizou peneiros moleculares (4 Å) o produto **3.19** foi isolado com pequenas contaminações, e não se verificou alteração significativa do rendimento (Reações 2 e 4). O melhor resultado foi obtido quando se utilizou 20% mol do triflato de zinco na ausência de peneiros moleculares, durante 24 horas de reação, sendo que o produto **3.19** foi obtido como uma mistura com um rendimento global de 34% (Reação 3).

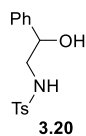
Pela análise dos espectros de RMN, verificou-se a formação de oxazolidinas **3.19** e não das pirrolidinas esperadas. Este resultado indica que ocorreu ciclo-adição do 1,3-dipolo **3.16** com carbonilo cetónico e não com a ligação vinílica da metil vinil cetona **3.17**. Verificou-se também que a oxazolidina **3.19a** é o estereoisómero maioritário em todos os ensaios.

Tabela 3.1. Condições da reação de ciclo-adição [3+2] formal entre a aziridina **3.15** e a metil vinil cetona **3.17**.



Reação	Ácido de Lewis (% mol)	Condições de reação	Rendimento (3.19a/3.19b)
1	10	4 h	25% (54:46)*
2	10	47 h, PM	25% (69:31)
3	20	24 h	34% (52:48)
4	20	48 h, PM	20% (75:25)

* Foi também isolado o composto **3.21** com 11% de rendimento.



Por espectroscopia de RMN protônico, carbono 13 e bidimensionais NOESY, COSY, HSQC e HMBC, foi possível determinar a estrutura dos compostos **3.19**. Na figura 3.1 está representada uma expansão do espectro de RMN ^1H da mistura, onde se observam dois conjuntos de sinais correspondentes aos prótons das oxazolidinas **3.19a** e **3.19b**. Alguns dos sinais relevantes são os sinais singlete referentes aos prótons H-8 (1.86 ppm) e dos prótons H-8' (1.78 ppm). Os prótons H-4 (5.19 ppm) e H-4' (5.06 ppm) dos composto **3.19a** e **3.19b**, respectivamente, aparecem como um duplo dubleto uma vez que formam um sistema ABX com os prótons H-5 e H-5'. A estereoquímica da oxazolidina **3.19a** foi determinada com base no espectro de NOESY, onde se observa a correlação entre o próton H-4 e os prótons H-8, o que confirma a estereoquímica do tipo *cis*.

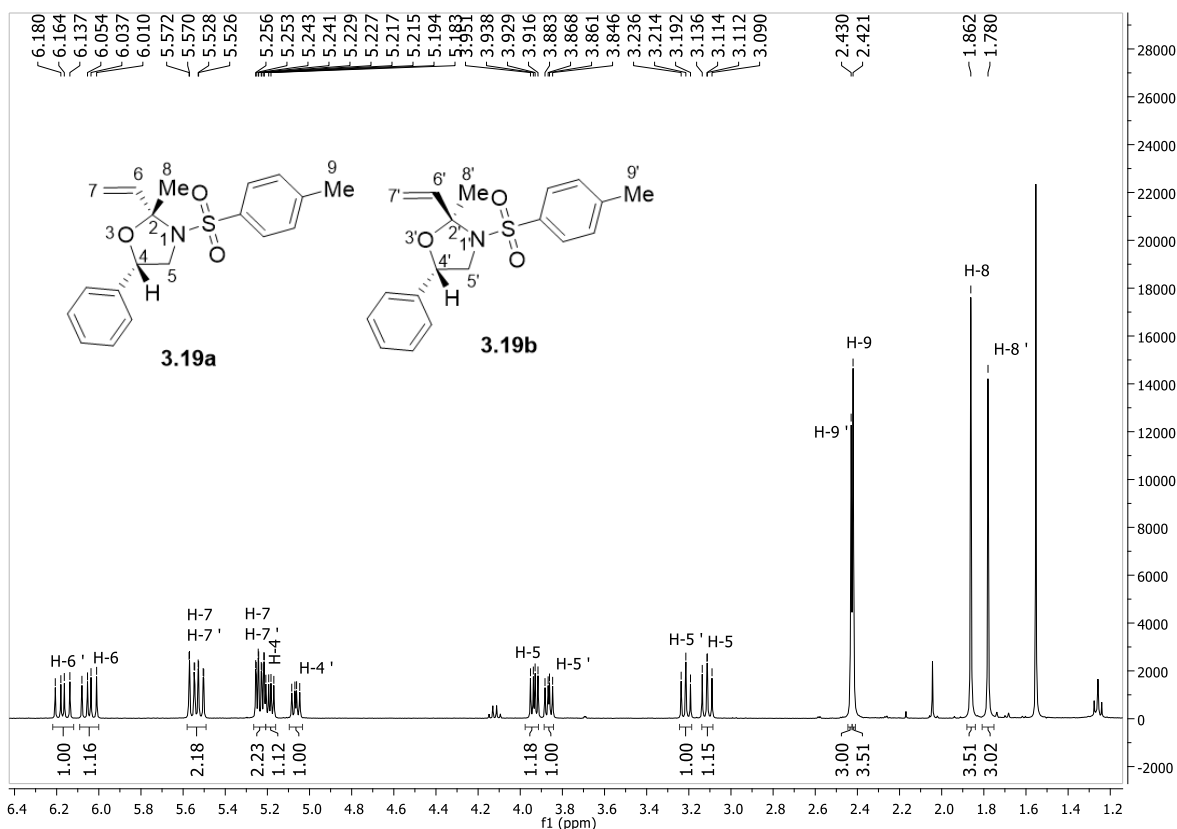
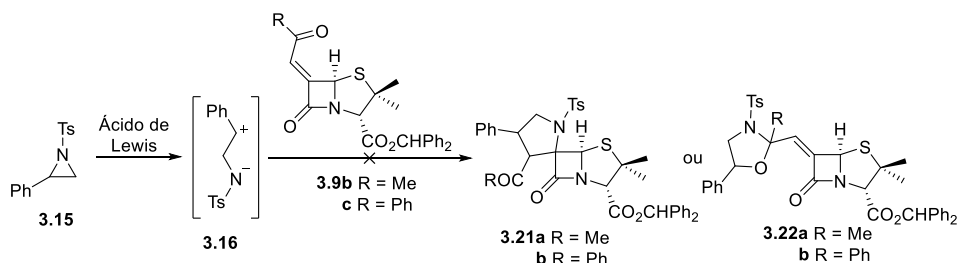


Figura 3.1. Expansão do espectro de RMN ^1H da mistura de oxazolidinas **3.19a/3.19b** (52:48) (CDCl_3).

Apesar de não termos obtido o produto desejado na reação modelo, foi testada a reação de ciclo-adição [3+2] formal entre a aziridina **3.15** e os 6-alkilidenopenicilanos **3.9**, na presença de um ácido de Lewis (Esquema 3.7). Com estes ensaios pretendia-se

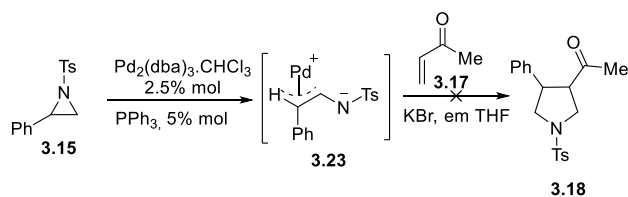
verificar se o dipolo **3.16**, gerado pela abertura do anel de aziridina **3.15**, reagiria com a dupla ligação ou com o grupo carbonilo cetónico do alquilideno **3.9** e se se formaria a espiro-β-lactama **3.21** ou o derivado oxazolidina **3.22**. Numa primeira tentativa, a aziridina **3.15** e o 6-alquilidenopenicilanato de metilo (**3.9a**) foram colocados em agitação à temperatura ambiente, na presença de 20% mol de Zn(OTf)₂ durante 24 horas. Contudo, não se verificou a formação de qualquer produto, sendo possível a recuperação do alquilideno de partida **3.9a** e de uma fração da aziridina **3.15**. A 2-fenil-*N*-tosilaziridina (**3.16**) foi ainda utilizada num outro ensaio de ciclo-adição [3+2] formal com o 6-alquilidenopenicilanato de benzidrilo (**3.9b**), na presença de 100% mol de BF₃.OEt₂ em diclorometano e a -78 °C. No entanto, após quatro horas de reação não se verificou a formação de qualquer um dos possíveis produtos esperados.



Esquema 3.7

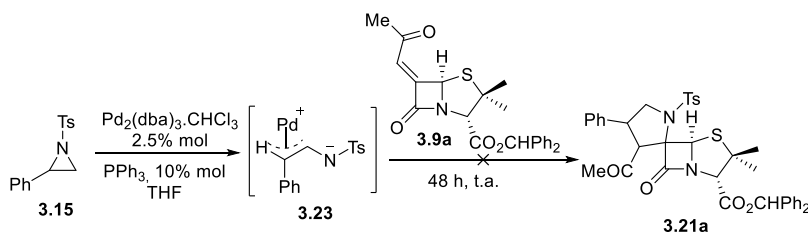
Tendo em consideração os resultados das reações acima descritas, foi proposta a utilização de catalisadores de paládio. Na literatura estão descritos exemplos de reações de ciclo-adição [3+2] formal de vinilaziridinas e cetonas α,β-insaturadas catalisadas por paládio.^{2,6}

Foi então realizada a reação de ciclo-adição [3+2] formal da aziridina **3.15** com metil vinil cetona **3.17**, na presença de 2.5% mol do complexo de paládio Pd₂(dba)₃.CHCl₃, do ligando trifenilfosfina (PPh₃) e de KBr, na expectativa de obter a pirrolidina **3.18** (Esquema 3.8). Os dois ensaios realizados ocorreram nas mesmas condições de reação, à exceção do tempo de reação (24 h e 48 horas). Ao fim de 24 horas de reação não se observou a presença do produto desejado, apenas continha aziridina de partida **3.15** e produtos da degradação da mesma. De igual forma, ao fim de 48 horas de reação, a análise do espectro de RMN protónico permitiu concluir que estávamos perante uma possível degradação da aziridina de partida **3.15**.



Esquema 3.8

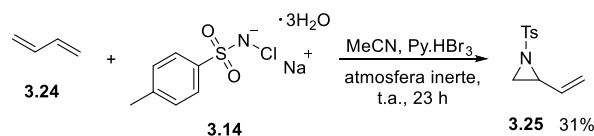
Ainda que os resultados anteriormente obtidos sejam insatisfatórios, foi explorada a reação de cicloadição [3+2] formal entre a aziridina **3.15** e o 6-alquilidenopenicilanato de metilo (**3.9a**) na presença de um catalisador de paládio, com o intuito de alcançar novos espirociclopírrrolidinopenicilanatos **3.21a** (Esquema 3.9). Na presença de 2.5% mol de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3\cdot\text{CHCl}_3$ e de 10% mol de PPh_3 em THF, não se observou a formação de qualquer produto apenas a degradação da aziridina **3.15**.



Esquema 3.9

É sabido que complexos de paládio π -alílicos com um caráter eletrofílico, são o intermediário chave para a reação com nucleófilos, conduzindo aos respectivos produtos de alilação. Estas espécies de paládio π -alílicas são facilmente obtidas de várias formas a partir de diversos substratos orgânicos que contêm, pelo menos, uma dupla ligação.⁷ Uma alternativa à alteração do catalisador seria a substituição da 2-fenil-*N*-tosilaziridina (**3.15**) por outra aziridina vinílica igualmente ativada, que nos possibilitasse a obtenção de pírrrolidinas.

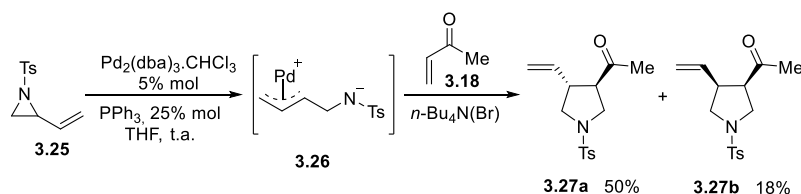
No seguimento deste estudo, foi sintetizada a aziridina vinílica **3.25** segundo um procedimento conhecido.⁹ A reação da cloramina-T **3.14** com o 1,3-butadieno **3.24** na presença de um catalisador de $\text{Py}\cdot\text{HBr}_3$ em acetonitrilo, à temperatura ambiente e sob atmosfera inerte, leva à formação do produto pretendido após 23 horas de reação. A aziridina vinílica **3.25** é obtida como um sólido branco, com um rendimento global de 31% (Esquema 3.10).



Esquema 3.10

Foram realizados diversos ensaios de ciclo-adição [3+2] formal da metil vinil cetona **3.17** com a aziridina vinílica **3.25** utilizando o catalisador de paládio Pd₂(dba)₃.CHCl₃ e o ligando trifenilfosfina (PPh₃). Recorrendo a uma metodologia anteriormente utilizada neste estudo,² foram realizados diversos ensaios com certas alterações nos diferentes parâmetros de modo a alcançar a pirrolidina desejada (**3.27**) (Esquema 3.11).

Numa primeira tentativa utilizou-se 2.5% mol do catalisador Pd₂(dba)₃.CHCl₃ e 5% mol de PPh₃, na presença de KBr em THF. No entanto, ao fim de 46 horas de reação não se verificou a formação do produto desejado **3.27**. Alterando o aditivo para *n*-Bu₄N(Br), também não foi possível obter a pirrolidina **3.27** após 49 horas de reação. Por último, realizou-se um ensaio com 5% mol de Pd₂(dba)₃.CHCl₃ e 25% mol do ligando PPh₃, na presença de *n*-Bu₄N(Br). Após 25 horas de reação, foram isolados por cromatografia em coluna as pirrolidinas isoméricas **3.27a** e **3.27b**, com um rendimento de 50% e 18%, respetivamente.



Esquema 3.11

A estrutura dos compostos **3.27a** e **3.27b** foi identificada a partir dos espetros de RMN protónico, carbono 13 e bidimensionais NOESY e COSY. No espetro de RMN ¹H é possível identificar todos os sinais correspondentes ao composto **3.27a**, tais como, os sinais singletos dos protões metílicos 9-Me e 13-Me a 2.11 e 2.45 ppm, respetivamente, os protões aromáticos H-11 e H-12 pertencentes ao grupo tosilo na zona dos 7.34 e 7.71 ppm, e ainda dois sinais dubletos a 5.08 e a 5.11 ppm que correspondem aos protões vinílicos H-7 (Figura 3.3).

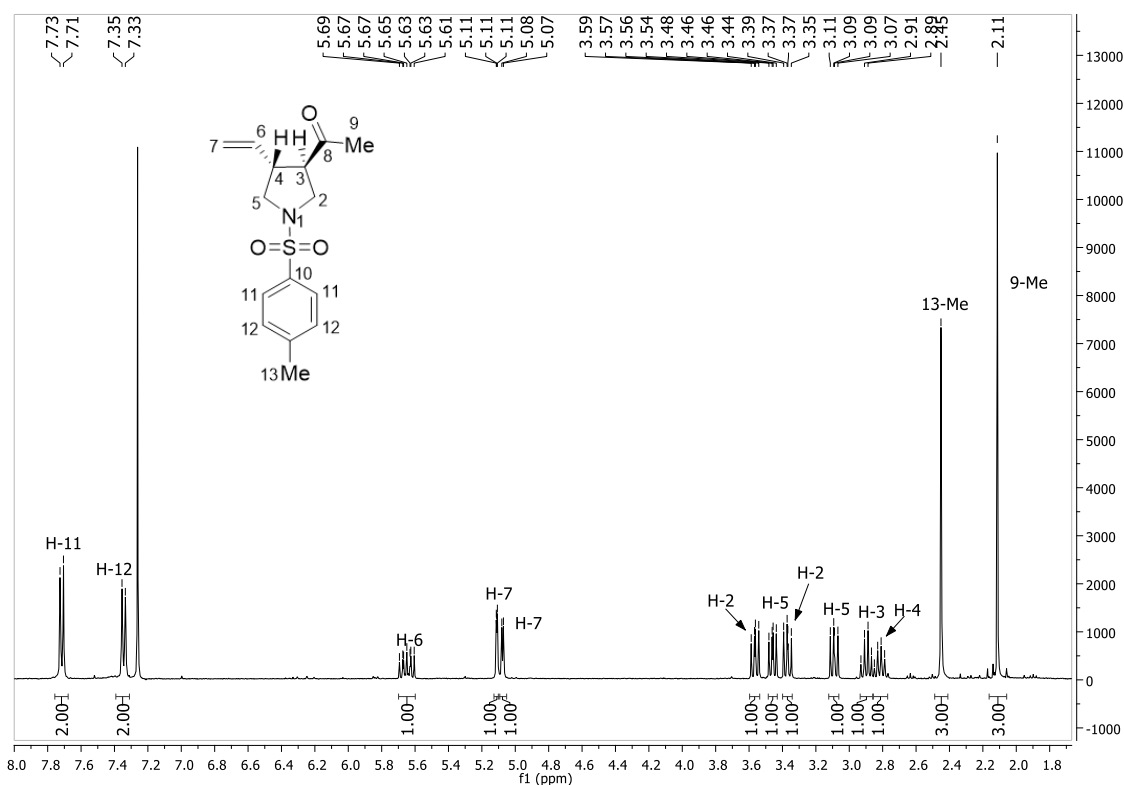


Figura 3.3. Espectro de RMN ^1H do composto **3.27a** (CDCl_3).

A estrutura e a estereoquímica do composto **3.27a** foram determinadas pelos espectros bidimensionais NOESY e COSY. No espectro NOESY não se observa correlação entre os prótons H-3 e H-4, pelo que se conclui que se trata do isómero *trans*. Na figura 3.4 estão representados os principais acoplamentos protónicos que se observam no espectro COSY. Numa expansão deste espectro podemos observar picos cruzados entre o próton H-4 e o próton H-2 e ainda o acoplamento do próton H-4 com os prótons H-5, H-6 e H-7 (Figura 3.5).

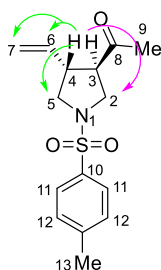


Figura 3.4. Principais acoplamentos observados no espectro COSY do composto **3.27a** (CDCl_3).

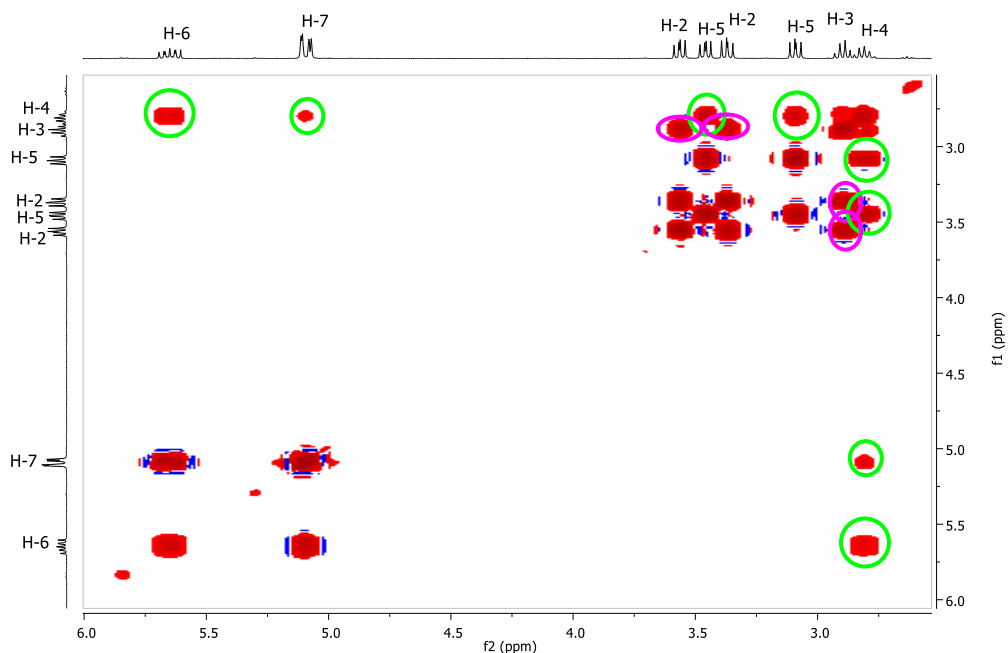
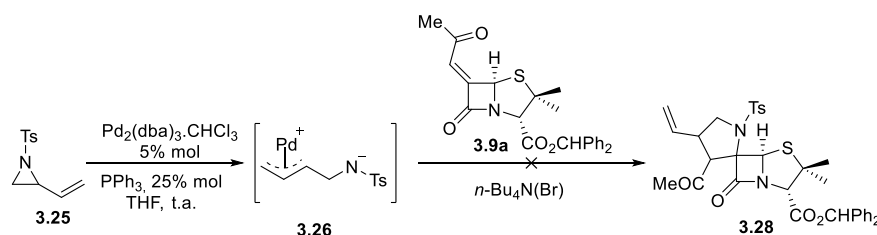


Figura 3.5. Expansão do espectro COSY do composto **3.27a** (CDCl_3).

Partindo da mesma aziridina vinílica **3.25**, foram realizados dois ensaios de ciclo-adição [3+2] formal com o 6-alkilidenopenicilanato de metilo (**3.9a**), recorrendo às mesmas condições de reação aplicadas na síntese das pirrolidinas **3.27** (Esquema 3.12). Contudo, após 24 horas e 32 horas de reação, não se verificou a formação do espiropirrolidinopenicilanato pretendido **3.28**.



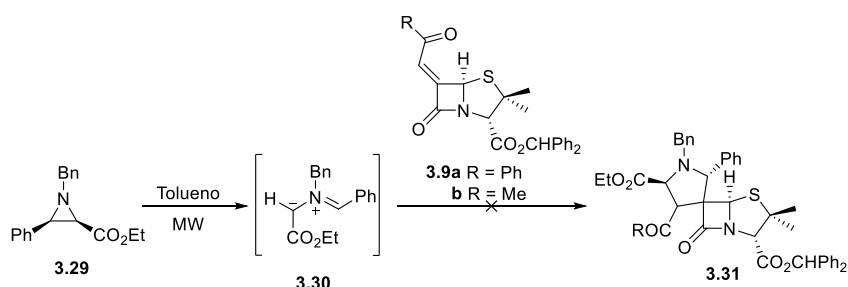
Esquema 3.12

3.4. Reações de ciclo-adição 1,3-dipolar sob irradiação de micro-ondas

É de conhecimento geral que azidas, nitronas e iletos de azometino são as espécies 1,3-dipolares mais apropriadas para a síntese de estruturas privilegiadas com melhor resposta biológica contra viroses.¹¹ Particularmente, os iletos de azometino são gerados *in situ* devido à sua elevada reatividade e/ou tempo de vida curto¹². Estes iletos reagem com olefinas ricas ou deficientes em eletrões, com compostos acetilénicos ou alenoatos,

maioritariamente através de reações de ciclo-adição do tipo [3+2]. Estas reações de ciclo-adição podem ser realizadas sob condições térmicas ou de micro-ondas. Neste contexto, decidiu-se explorar a reatividade de íletos de azometino gerados a partir de aziridinas e iminas.

Recorrendo a uma aziridina anteriormente sintetizada no nosso grupo de investigação, a reação de ciclo-adição 1,3-dipolar sob irradiação de micro-ondas para formar novos espirociclopírrolidinapenicilanatos foi também explorada. Para tal, foram efetuados diversos ensaios de ciclo-adição entre a aziridina **3.29** e os 6-alkilidenopenicilanatos **3.9** em tolueno (Esquema 3.13). A temperatura e o tempo de reação foram os parâmetros alterados em cada ensaio. A tentativa de reação de ciclo-adição do alquilideno **3.9a** com o 1,3-dipolo **3.30**, gerado a partir da aziridina **3.29**, não foi bem sucedida após 3 minutos a 120 °C. Os restantes ensaios utilizaram o alquilideno **3.9b**, fazendo variar o tempo ou a temperatura de reação. Após 3 minutos a 120 °C, comprovou-se por RMN protónico da mistura que não havia formação do produto mas verificou-se a presença de sinais relativos à degradação do alquilideno de partida **3.9b**. Posto isto, foram testadas duas condições de reação distintas, uma a 120 °C durante 2 minutos e outra a 150 °C durante 1 minuto. Em ambas as reações o resultado foi insatisfatório, não se verificando a formação do espirociclo pretendido **3.31**.

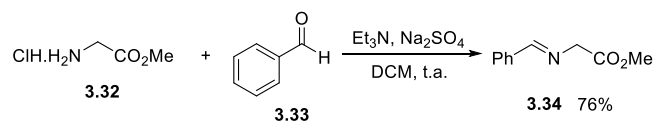


Esquema 3.13

Como os resultados anteriores não foram satisfatórios, decidimos sintetizar a imina **3.34**,¹³ para gerar o íleto de azometino correspondente **3.35** por prototropia e explorar a sua reatividade com os 6-alkilidenopenicilanatos **3.9**.

A glicina **3.32** e o benzaldeído **3.33** reagem na presença de Na₂SO₄ e Et₃N, em diclorometano e à temperatura ambiente, dando origem à imina pretendida **3.34**. Ao fim

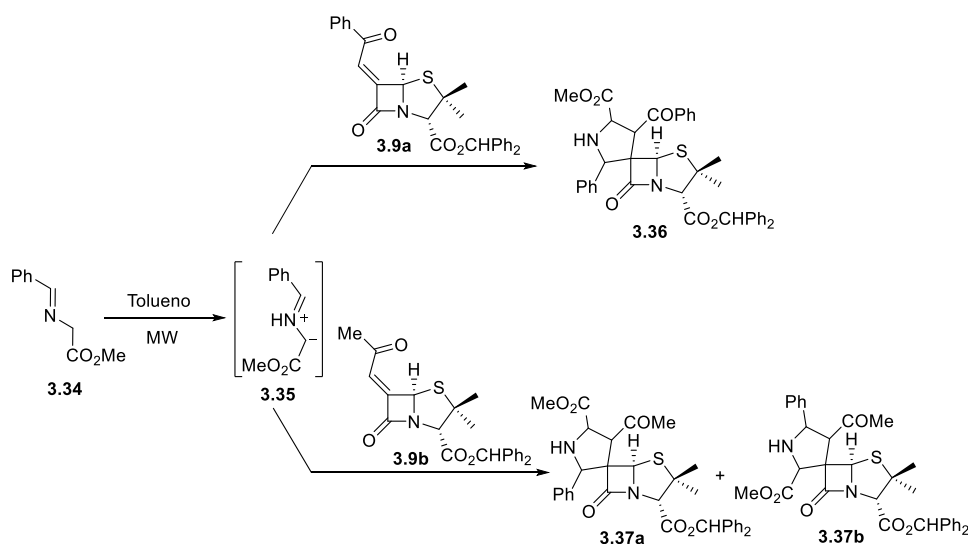
de 18 horas de reação filtram-se os sais da Et₃N e a imina **3.34** é isolada como um óleo amarelado, com um rendimento de 76% (Esquema 3.14).



Esquema 3.14

Foi então estudada a reação de ciclo-adição 1,3-dipolar entre os 6-alquilidenopenicilanatos **3.9** e o ileto de azometino **3.35** formado *in situ*, partindo da imina **3.34**. Para tal, foram efetuados diversos ensaios de ciclo-adição variando determinados parâmetros descritos na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Condições de ciclo-adição 1,3-dipolar entre o ileto de azometino **3.35** e os 6-alquilidenopenicilanatos **3.9a** e **3.9b**.



Reação	Alquilideno (3.9)	Condições de reação	Rendimento (η)
1	R = Ph	150 °C, 1 min	3.36 14%
2	R = Ph	130 °C, 2 min	3.36 27%
3	R = Me	150 °C, 1 min	3.37a/3.37b 27%

Foram efetuadas duas reações de ciclo-adição entre o 6-alquilidenopenicilanato de benzidrilo **3.9a** e o ileto de azometino **3.35** em tolueno, a alta temperatura e num curto período de tempo considerando a facilidade de degradação do alquilideno (Reações 1 e 2). Numa primeira tentativa a reação foi realizada a 150 °C durante 1 minuto, sendo o produto

3.36 isolado como um único produto com rendimento de 14% (Reação 1). A mesma reação durante 2 minutos a 130 °C, conduziu ao mesmo resultado ainda que com um rendimento ligeiramente superior (27%) (Reação 2). A análise do espectro RMN ^1H do composto **3.36** leva-nos a crer que a estrutura seja a apresentada. No entanto, precisaríamos de mais informação para estabelecer a estereoquímica e a regioquímica do composto.

O mesmo procedimento foi utilizado para efetuar a reação de ciclo-adição entre o 6-alkilidenopenicilanato de metilo **3.9b** e o ileto de azometino **3.35** (Reação 3). Após 1 minuto de reação a 150 °C foi possível isolar uma mistura de compostos, com rendimento global de 27%. Pela análise do espectro de RMN protónico observou-se a presença de dois conjuntos de sinais, o que pode indicar a presença de uma mistura dos regioisómeros **3.37a** e **3.37b**. Um dos isómeros é claramente maioritário, no entanto, seria necessário realizar mais estudos espectroscópicos para identificar cada um dos isómeros.

3.5. Conclusão

No presente capítulo pretendia-se obter β -lactamas espirocíclicas quirais a partir de reações de ciclo-adição [3+2] formal entre 6-alkilidenopenicilanatos e diferentes espécies 1,3-dipolares, na presença de um catalisador. Foram também efetuadas reações utilizando a metil vinil cetona como dipolarófilo uma vez que esta simula o papel dos 6-alkilidenopenicilanatos neste tipo de reações de ciclo-adição.

A reação de ciclo-adição da metil vinil cetona com a 2-fenil-*N*-tosilaziridina na presença de $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, levou à formação de uma oxazolidina e não da pirrolidina esperada, o que indica que ocorreu ciclo-adição da espécie 1,3-dipolar ao carbonilo cetónico e não à dupla ligação. Utilizando a mesma aziridina, foram testadas diversas reações de ciclo-adição [3+2] formal de 6-alkilidenopenicilanatos na presença de um ácido de Lewis, o triflato de zinco ($\text{Zn}(\text{OTf})_2$) ou o trifluoreto de boro em éter etílico ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$). Contudo, em nenhuma das tentativas se verificou a formação dos espirociclopírrolidinopenicilanatos quirais desejados.

No decurso deste capítulo foi igualmente descrita a reação modelo da metil vinil cetona com uma aziridina vinílica, na presença do catalisador de paládio $\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$, originando as pirrolidinas esperadas. No entanto, a aplicação das mesmas condições de

reação usando 6-alkilidenopenicilanos como dipolarófilos, não levou à formação de qualquer ciclo-aduto.

A reação de 6-alkilidenopenicilanos com o íleto de azometino, gerado a partir de uma imina, sob irradiação de micro-ondas, levou à formação de espirociclopírrrolidinopenicilanos com baixo rendimento.

Embora os resultados deste estudo exploratório não tenham sido totalmente satisfatórios, são os primeiros exemplos de síntese de compostos espiro-β-lactâmicos quirais a partir de 6-alkilidenopenicilanos com íletos de azometino. Tomando como ponto de partida a reação onde se observou a formação das espiro-β-lactamas pretendidas, seria interessante otimizar as condições de reação com o intuito de melhorar a eficiência da reação. Serão também necessários mais estudos para confirmar a estrutura e determinar a estereoquímica destes ciclo-adutos.

Referências

- (1) Ungureanu, I.; Klotz, P.; Mann, A. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2000**, *39*, 4615–4617.
- (2) Xu, C. F.; Zheng, B. H.; Suo, J. J.; Ding, C. H.; Hou, X. L. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2015**, *54* (5), 1604–1607.
- (3) Ruddle, C. C.; Smyth, T. P. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5* (1), 160–168.
- (4) Ando, T.; Kano, D.; Minakata, S.; Ryu, I.; Komatsu, M. *Tetrahedron* **1998**, *54* (44), 13485–13494.
- (5) Gandhi, S.; Bisai, A.; Prasad, B. A. B.; Singh, V. K. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (6), 2133–2142.
- (6) Huang, Y.; Zheng, C.; Pan, L.; Jin, Q.; G. Z. *J. Org. Chem.* **2011**.
- (7) Patil, N. T.; Yamamoto, Y. *Topics in Organometallic Chemistry.* **2006**, 91–113.
- (8) Cardoso, A. L.; Pinho e Melo, T. M. V. D. *European J. Org. Chem.* **2012**, *33*, 6479–6501.
- (9) Ali, S. I.; Nikalje, M. D.; Sudalai, a. *Org. Lett.* **1999**, *1* (5), 705–707.
- (10) Santos, B. S.; Gomes, C. S. B.; Pinho e Melo, T. M. V. D. *Tetrahedron* **2014**, *70* (24), 3812–3821.
- (11) Nájera, C.; Sansano, J. M. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (22), 4567–4581.
- (12) Pandey, G.; Banerjee, P.; S. R. G. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (11), 4484–4517.
- (13) Harikrishna, S.; Ravindranath, L. K. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014**, *4* (1), 1284–1293.

Capítulo IV

Parte Experimental

Experimental

Neste capítulo encontram-se descritos os instrumentos referentes às técnicas de identificação e caracterização utilizadas ao longo deste trabalho, bem como os métodos necessários à utilização adequada de reagentes e solventes. Dele fazem também parte os procedimentos seguidos com vista à síntese dos compostos abrangidos pelos Capítulos II e III, bem como as respectivas caracterizações. A caracterização dos compostos foi efetuada através de ponto de fusão, espectroscopia de ressonância magnética nuclear protónica (RMN ^1H) e de carbono 13 (RMN ^{13}C), espectroscopia de infra-vermelho (IV) e espectrometria de massa de alta resolução (EMAR).

4.1. Instrumentação

Cromatografia

A evolução das reações foi controlada por cromatografia em camada fina, utilizando para o efeito placas de sílica 60 F₂₅₄, com suporte de alumínio, fornecidas pela Macherey-Nagel.

Para as cromatografias em coluna foi utilizado gel de sílica 60 (0,035-0,070 mm) fornecido pela Acros Organics.

Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho de fase aquecida Falc (pelo método de capilar de vidro aberto), com o número de série R132467.

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e RMN ^{13}C) foram obtidos num espectrómetro Bruker Avance III, operando a 400 MHz (^1H) e a 100 MHz (^{13}C).

Os solventes deuterados utilizados foram o clorofórmio (CDCl_3), o dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$) e o metanol (CD_3OD). Os desvios químicos (δ) são apresentados em ppm relativamente ao padrão interno trimetilsilano (TMS) e os valores das constantes de acoplamento (J) são expressos em Hz.

Espetroscopia de Infra-Vermelho

Os espectros de infra-vermelho foram obtidos num espectrofotómetro *Aglient Technologies Cary 630 FTIR*, utilizando o método de Refletância Total Atenuada (ATR).

Espetroscopia de Massa de Alta Resolução

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos num espectralómetro TOF VG Autospec M com ionização por *electrospray* (ESI).

Micro-ondas

As reações realizadas com irradiação de micro-ondas foram efetuadas num aparelho da marca Discover S-Class da CEM Focused Synthesis System.

4.2. Solventes e Reagentes

Foram utilizados reagentes comercialmente disponíveis com elevado grau de pureza e sem purificação adicional, pela Aldrich, Acros Organics, Alfa Aesar ou Fluorochem. Outros reagentes foram por nós sintetizados seguindo procedimentos conhecidos e descritos na literatura.

Todos os solventes foram usados secos e destilados, de acordo com os procedimentos que se seguem, exceto em reações ou extrações com água, onde foram utilizados apenas destilados.

Acetato de etilo

Este solvente foi refluxado durante 3 horas na presença de carbonato de potássio e de seguida destilado.

Diclorometano

Foi refluxado na presença de cloreto de cálcio durante 3 horas, destilado e guardado sobre peneiros moleculares 4 Å.

Éter etílico, hexano, THF e tolueno

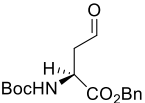
Estes solventes foram secos em refluxo, na presença de fios de sódio e benzofenona. Posteriormente foram destilados e guardados sobre peneiros moleculares 4 Å.

Trietilamina

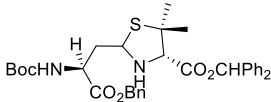
O reagente comercial foi armazenado sobre palhetas de hidróxido de sódio.

Os outros solventes foram fornecidos pela Aldrich, Acros Organics, Alfa Aesar ou Fluorochem e utilizados diretamente, sem qualquer tipo de purificação adicional.

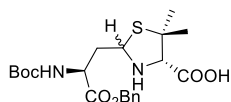
4.3. Métodos Sintéticos referentes ao Capítulo II

 **(S)-Benzil-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-oxobutanoato (2.6).** O aldeído **2.6** foi preparado segundo um método descrito na literatura,¹ e obtido como um óleo amarelado. Segundo o método de Martín-Martínez¹, o aldeído **2.6** foi obtido com um rendimento de 60% e pelo método de Baldwin² o rendimento foi de 82%. RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.42 (9H, s, Boc), 2.99-3.13 (2H, m, CH₂), 4.63 (1H, s, H), 5.17 (2H, s, CH₂Ph), 5.41 (1H, d, *J* = 6.8 Hz), 7.33-7.35 (5H, m, Ar-H), 9.71 (1H, s, H).

4.3.1. Síntese de Tiazolidinas

 **(4S)-2-[(S)-3-(Benziloxi)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-oxopropil]-5,5-dimetiltiazolidino-4-carboxilato de benzidrilo (2.11).** Ao éster benzidrílico da *D*-penicilamina **2.8** (0.762 g, 2.41 mmol, 1.0 equiv.) adiciona-se o KHCO₃ (0.241 g, 2.41 mmol, 1.0 equiv.) e a H₂O destilada (7.4 mL). Por último, adiciona-se o aldeído **2.6** (0.741 g, 2.41 mmol, 1.0 equiv.) dissolvido em etanol (7.4 mL). A mistura reacional fica em agitação à temperatura ambiente durante 2 horas. O solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano] (1:3). A tiazolidina **2.11** foi obtida como um sólido branco por recristalização com acetato de etilo/hexano (0.931 g, 1.54 mmol,

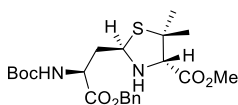
64%). p.f. 168.3-170.1°C (acetato de etilo/hexano). RMN ¹H (CDCl₃) δ 0.98 (3H, s), 1.42 (9H, s), 1.62 (3H, s), 2.25-2.30 (2H, m), 3.65 (1H, sl), 4.44 (1H, dl, *J* = 5.6 Hz), 4.63 (1H, tl, *J* = 6.4 Hz), 5.11 (1H, d, *J* = 12.0 Hz), 5.19 (1H, d, *J* = 12.0 Hz), 5.24 (1H, dl, *J* = 7.6 Hz), 6.98 (1H, s), 7.31-7.38 (15H, m); EMAR (ESI): calculada para C₃₄H₄₁N₂O₆S [M+H⁺] 605.26509, encontrada 605.26798.



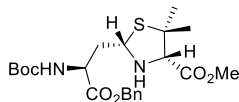
Ácido (4S)-2-[(S)-3-(benziloxi)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-oxopropil]-5,5-dimetiltiazolidino-4-carboxílico (2.13). A uma solução

de *D*-penicilamina **2.12** (73.1 mg, 0.49 mmol, 0.75 equiv.) em metanol (10.0 mL), é adicionado o aldeído **2.6** (200 mg, 0.65 mmol, 1.0 equiv.) e a mistura fica em agitação à temperatura ambiente durante 18 horas. Após este tempo, o solvente é evaporado a pressão reduzida sem aquecimento. O composto **2.13** foi purificado por cristalização e obtido como uma mistura de diastereoisómeros (64:36) como um sólido branco (92%). IV (ATR) v 1157, 1366, 1686, 1702, 1734, 2973 cm⁻¹.

Componente maioritário. RMN ¹H (CD₃OD) δ 1.33 (3H, s), 1.44 (9H, s), 1.66 (3H, s), 2.25-2.37 (2H, m), 3.64 (1H, s), 4.21 (1H, dd, *J* = 9.6 e 4.8 Hz), 4.66 (1H, dd, *J* = 8.0 e 5.6 Hz), 5.14-5.23 (2H, m), 7.36-7.39 (5H, m); EMAR (ESI): calculada para C₂₁H₃₁N₂O₆S [M+H⁺] 439.18828, encontrada 439.18973.



(2S,4S)-2-[(S)-3-(Benziloxi)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-oxopropil]-5,5-dimetiltiazolidino-4-carboxilato de metilo (2.14a) e



(2R,4S)-2-[(S)-3-(benziloxi)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-oxopropil]-5,5-dimetiltiazolidino-4-carboxilato de metilo (2.14b). A

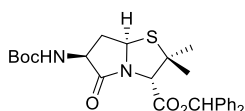
uma solução da tiazolidina ácida **2.13** (730 mg, 1.51 mmol) em diclorometano seco (10 mL) num Erlenmeyer, a 0 °C, é adicionado lentamente diazometano. A mistura reacional é agitada manualmente até cessar a libertação de N₂. O excesso de diazometano é eliminado com um sopro de N₂ e, em seguida, o solvente é evaporado a pressão reduzida sem aquecimento. Após purificação por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)], obtém-se por ordem de eluição: i) composto **2.14a**

obtido como um sólido branco (241 mg, 0.53 mmol, 35%); ii) composto **2.14b** obtido como um óleo amarelado (180 mg, 0.50 mmol, 27%).

Composto 2.14a. IV (ATR) ν 1152, 1495, 1695, 1735, 1751, 3281, 3358 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.16 (3H, s, 2 α -Me), 1.43 (9H, s, Boc), 811.60 (3H, s, 2 β -Me), 1.91-1.95 (1H, m, H-6), 2.12-2.18 (1H, m, H-6), 3.38 (1H, sl, H-4), 3.69 (1H, sl), 3.77 (3H, s, CO_2Me), 4.48 (1H, sl), 4.62 (1H, dd, $J = 10.4$ e 2.4 Hz, H-7), 4.70 (1H, s, H-3), 5.13 (1H, d, $J = 12.0$ Hz), 5.19 (1H, d, $J = 12.0$ Hz), 5.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.35-7.38 (5H, m, Ar-H); EMAR (ESI): calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 453.20350, encontrada 453.20538.

Composto 2.14b. p.f. 104.5-106 $^\circ\text{C}$ (acetato de etilo/hexano). IV (ATR) ν 1057, 1153, 1202, 1702, 1711, 1746, 2977, 3322 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.19 (3H, s, 2 α -Me), 1.43 (9H, s, Boc), 1.62 (3H, s, 2 β -Me), 2.28-2.36 (2H, m, H-6), 2.78 (1H, sl, H-4), 3.55 (1H, dl, $J = 9.2$ Hz, H-3), 3.76 (3H, s, CO_2Me), 4.44 (1H, sl, H-7), 4.62 (1H, sl, H-5), 5.15 (2H, d, $J = 12.0$ Hz, CH_2Ph), 5.22 (2H, d, $J = 12.0$ Hz, CH_2Ph), 5.27 (1H, sl, NH), 7.35-7.38 (5H, m, Ar-H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 28.3, 28.4, 29.3, 38.3, 52.1, 52.3, 59.1, 63.9, 67.5, 74.4, 80.1, 128.5, 128.6, 135.2, 155.2, 169.7, 171.7; EMAR (ESI): calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 453.20409, encontrada 453.20538.

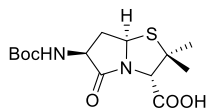
4.3.2. Síntese de Diazo- γ -lactamas



(3S,6S)-6-[(*tert*-Butoxicarbonil)amino]-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrol[2,1-b]tiazol-3-carboxilato de benzidrilo (**2.9**).

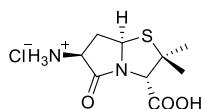
Uma solução da tiazolidina éster de benzidrilo **2.11** (0.119 g, 0.2 mmol, 1.0 equiv.) em tolueno (20 mL) é colocada a refluxo na presença de ácido *p*-toluenosulfônico (quantidade catalítica), durante 70 horas. Após este tempo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o produto foi cristalizado com uma mistura de acetato de etilo e hexano, e obtido como um sólido esbranquiçado (67.1 mg, 0.14 mmol, 69%). p.f. 203.5-204.8 $^\circ\text{C}$ (acetato de etilo/hexano). IV (ATR) ν 1157, 1180, 1283, 1695, 2976, 3307 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.26 (3H, s, 2 α -Me), 1.45 (9H, s, Boc), 1.55 (3H, s, 2 β -Me), 1.97-2.05 (1H, m, H-7), 3.17-3.20 (1H, m, H-7), 4.60 (1H, sl, H-6), 4.68 (1H, s, H-3), 5.15 (1H, sl, NH), 5.38 (1H, dd, $J = 8.0$ e 6.0 Hz, H-7a), 6.93 (1H, s, CHPh_2), 7.33-7.35 (10 H, m, Ar-H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 25.7, 28.3, 31.2, 39.8, 54.2, 57.9, 62.4, 67.4, 78.5, 80.3, 126.9, 127.7, 128.1, 128.4,

128.6, 128.6, 139.2, 167.2, 171.4, 173.1; EMAR (ESI): calculada para $C_{27}H_{33}N_2O_6S$ $[M+H^+]$ 497.20978, encontrada 497.21047.



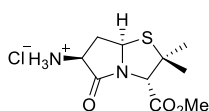
Ácido (3S,6S)-6-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-*b*]tiazol-3-carboxílico (2.15).

Uma solução da tiazolidina ácida **2.12** (3.26 g, 7.44 mmol, 1.0 equiv.) em tolueno (150 mL) é colocada a refluxo durante 24 horas. Após este tempo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e foi adicionado éter etílico para precipitar o composto **2.15**, obtido como um sólido esbranquiçado (1.98 g, 5.98 mmol, 80%). p.f. >225 °C mudança de cor (éter etílico/hexano). IV (ATR) ν 1161, 1279, 1513, 1671, 1708, 2961, 3399 cm^{-1} ; RMN 1H (DMSO- d_6) δ 1.39 (9H, s), 1.45 (3H, s), 1.53 (3H, s), 2.00-2.08 (1H, m), 2.75-2.81 (1H, m), 4.31 (1H, s), 4.49-4.56 (1H, m), 5.31 (1H, dd, $J = 8.0$ e 6.0 Hz), 7.29 (1H, d, $J = 7.2$ Hz); RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ 30.9, 33.4, 36.4, 41.9, 58.7, 62.1, 66.5, 72.4, 83.4, 160.3, 174.6, 176.1; EMAR (ESI): calculada para $C_{14}H_{23}N_2O_5S$ $[M+H^+]$ 331.13186, encontrada 331.13222.



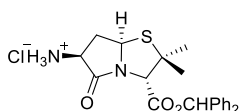
Hidrocloreto do ácido (3S,6S)-6-amino-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-*b*]tiazol-3-carboxílico (2.19).

A uma solução da γ -lactama ácida **2.15** (1.07 g, 3.24 mmol, 1.0 equiv.) em *t*-butanol (122 mL) foi adicionada uma solução de HCl 2M em éter etílico (24 mL). A mistura resultante ficou em agitação durante 6 dias à temperatura ambiente. Após este tempo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento. O composto **2.19** foi obtido por cristalização com éter etílico e obtido como um sólido branco (0,8 g, 3.0 mmol, 93%). p.f. >230 °C mudança de cor (éter etílico/hexano). IV (ATR) ν 738, 1206, 1412, 1504, 1681, 1733, 2405, 2935 cm^{-1} ; RMN 1H (DMSO- d_6) δ 1.46 (3H, s, 2 α -Me), 1.55 (3H, s, 2 β -Me), 2.12-2.19 (1H, m, H-7), 2.96-3.02 (1H, m, H-7), 3.40 (1H, sl, -OH), 4.42 (1H, s, H-6), 4.46 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3), 5.41 (1H, dd, $J = 8.0$ e 6.0 Hz, H-7a), 8.85 (3H, s, NH_3); RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ 25.6, 31.3, 35.8, 51.8, 57.3, 62.2, 66.8, 168.2, 168.8; EMAR (ESI): calculada para $C_9H_{15}N_2O_3S$ $[M+H^+]$ 231.07961, encontrada 231.07979.



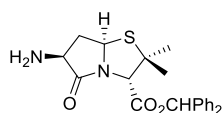
Hidrocloreto de (3S,6S,7aR)-6-amino-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-b]tiazol-3-carboxilato de metilo (2.20).

A uma solução da γ -lactama ácida **2.15** (92.8 mg, 0.28 mmol, 1.0 equiv.) em metanol (6.0 mL) foi adicionada uma solução de HCl 2M em éter etílico (0.7 mL). A mistura resultante ficou em agitação durante 22 horas à temperatura ambiente. Após este tempo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e foi adicionado éter etílico (12.5 mL). A mistura fica em agitação por mais 1 hora e 30 minutos e, em seguida, filtra-se o sólido branco formado (39.4 mg, 0.16 mmol, 57%). RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 1.41 (3H, s), 1.56 (3H, s), 2.10 (1H, dd, $J = 11.2$ e 3.2 Hz), 3.01 (1H, ddd, $J = 12.0$, 6.0 e 2.0 Hz), 3.74 (3H, s), 4.53 (1H, s), 5.45 (1H, dd, $J = 8.0$ e 5.6 Hz), 8.62 (3H, s).



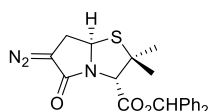
Hidrocloreto de (3S,6S)-6-amino-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-b]tiazol-6-carboxilato de benzidrido (2.21).

A uma solução de hidrocloreto ácido **2.19** (749 mg, 2.81 mmol, 1.0 equiv.) em metanol (2.81 mL) foi adicionado o difenildiazometano (546 mg, 2.81 mmol, 1.0 equiv.) dissolvido em diclorometano (8.43 mL), gota-a-gota. Após 24 horas de reação, adicionou-se mais uma porção de difenildiazometano (273 mg, 0.5 equiv.) e a mistura fica em agitação, à temperatura ambiente, durante mais 20 horas. O solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o composto **2.21** foi purificado por cristalização com éter etílico, e obtido como um sólido esbranquiçado (1.10 g, 2.54 mmol, 90.4%). p.f. 150.2-152 °C (éter etílico/hexano). IV (ATR) ν 696, 1173, 1363, 1717, 2931 cm^{-1} ; RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 1.26 (3H, s), 1.57 (3H, s), 2.12-2.20 (1H, m), 3.00-3.06 (1H, m), 4.52 (1H, dd, $J = 11.2$ e 8.0 Hz), 4.68 (1H, s), 5.48 (1H, dd, $J = 8.0$ e 5.6 Hz), 6.93 (1H, s), 7.29-7.47 (10H, m), 8.79 (3H, s); RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ 25.1, 31.2, 36.0, 51.7, 57.7, 62.3, 66.7, 77.8, 126.4, 126.9, 127.9, 128.1, 128.5, 128.6, 139.6, 139.8, 166.6, 168.5; EMAR (ESI): calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 397.15707, encontrada 397.15804.



(3S,6S)-6-Amino-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-*b*]tiazol-3-carboxilato de benzidrilo (2.10).

A uma solução do hidrocloreto **2.21** (0.68 g, 1.58 mmol) em diclorometano (15.0 mL) foi adicionada solução aquosa de NaHCO₃ (15.0 mL). A mistura fica em agitação durante 30 minutos. Separar a fase orgânica, e extrair a fase aquosa com diclorometano (2 x 10 mL). Secar a fase orgânica com NaSO₄, filtrar e evaporar o solvente a pressão reduzida sem aquecimento. O composto **2.10** foi obtido como um óleo amarelado (0.59 g, 1.50 mmol, 95%). RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 1.24 (3H, s, 2α-Me), 1.52 (3H, s, 2β-Me), 1.73-1.81 (1H, m, H-7), 1.97 (2H, sl, NH₂), 2.84-2.90 (1H, m, H-7), 3.80 (1H, dd, *J* = 11.2 e 8.0 Hz, H-6), 4.58 (1H, s, H-3), 5.34 (1H, dd, *J* = 8.0 e 6.0 Hz, H-7a), 6.91 (1H, s, CHPh₂), 7.30-7.46 (10H, m, Ar-H); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 25.4, 30.7, 54.9, 57.4, 61.7, 66.9, 77.5, 126.4, 126.9, 127.9, 128.1, 128.3, 128.53, 128.54, 139.8, 139.9, 167.1, 175.2; EMAR (ESI): calculada para C₂₂H₂₅N₂O₃S [M+H⁺] 397.15757, encontrada 397.15804.



(3S)-6-Diazo-2,2-dimetil-5-oxohexahidropirrolo[2,1-*b*]tiazol-3-carboxilato de benzidrilo (2.22).

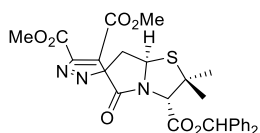
A uma solução da amino-γ-lactama **2.10** (0.25 g, 0.63 mmol) em diclorometano (40.0 mL), num banho de gelo estabilizado a 0 °C, foi adicionada H₂O destilada (40.0 mL) (previamente arrefecida a 0-5 °C). Em seguida, adicionou-se o NaNO₂ (2.5 equiv.) e, por último, solução de 1M de HClO₄ (1.3 mL). A mistura reacional fica em agitação a 0 °C durante 1 hora. Separar a fase orgânica e extrair a fase aquosa com diclorometano (2 x 10 mL). Lavar as fases orgânicas com solução saturada de NaCl, secar com NaSO₄, filtrar e evaporar o solvente a pressão reduzida sem aquecimento. O composto **2.22** foi obtido como um 'fluffy' amarelado (0.2485g, 0.61 mmol, 97%). IV (ATR) ν 696, 1157, 1262, 1701, 2086 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.28 (3H, s), 1.56 (3H, s), 3.20 (1H, dd, *J* = 14.4 e 2.0 Hz), 3.54 (1H, dd, *J* = 14.0 e 7.6 Hz), 4.85 (1H, s), 5.59 (1H, dd, *J* = 7.6 e 1.6 Hz), 6.94 (1H, s), 7.29-7.35 (10H, m); RMN ¹³C (CDCl₃) δ 26.3, 26.5, 33.1, 52.29, 53.4, 58.8, 64.4, 69.9, 78.3, 126.9, 127.7, 128.1, 128.4, 128.6, 128.6, 139.2, 168.0, 170.7.

4.3.3. Síntese de espiro- γ -lactamas

Método A: A uma mistura da diazo- γ -lactama (0.25 mmol) em diclorometano (10 mL) foi adicionado o correspondente dipolarófilo (1.6 ou 2.0 equiv.). A mistura reacional ficou em agitação à temperatura ambiente sob atmosfera inerte durante o tempo indicado em cada caso. O solvente foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano] ou por recristalização, tal como indicado em cada caso.

Método B: A uma mistura da diazo- γ -lactama (0.25 mmol) em diclorometano (10 mL) foi adicionado o correspondente dipolarófilo (1.6 ou 2.0 equiv.). A mistura reacional ficou em agitação a 45 °C sob atmosfera inerte durante o tempo indicado em cada caso. O solvente foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano] ou por recristalização, tal como indicado em cada caso.

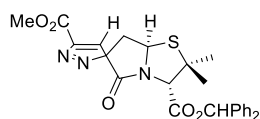
Método C: A uma mistura da diazo- γ -lactama (0.25 mmol) em diclorometano (10 mL) foi adicionado o correspondente dipolarófilo (1.6 ou 2.0 equiv.). A mistura reacional ficou em agitação a 0 °C sob atmosfera inerte durante o tempo indicado em cada caso. O solvente foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano] ou por recristalização, tal como indicado em cada caso.



(3R,3'S,7a'R)-2',2'-Dimetil-5'-oxo-2',3',7',7a'-tetrahydro-5'H-espiro[pirazol-3,6'-pirrolo[2,1-*b*]tiazol]-3',4,5-tricarboxilato de 3'-benzidrilo e 4,5-dimetilo (2.24). Preparado pelos métodos A, B e C, a

partir da diazo- γ -lactama **2.22** (0.40 g, 0.99 mmol, 1.0 equiv.) e do acetilenodicarboxilato de dimetilo (**2.23**) (0.24 mL, 1.98 mmol, 2.0 equiv.) em diclorometano (10 mL). A mistura reacional ficou em agitação durante o tempo e a temperatura indicados em cada caso (ver Tabela 2.6). A purificação por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)] originou o composto **2.24**, obtido como um óleo castanho. Método A: 97.1 mg, 0.18 mmol, 34%; Método B: 0.101 g, 0.18 mmol, 34%; Método C: 0.197 g, 0.36 mmol, 72%. IV (ATR) ν 1125, 1172, 1719, 1735, 2853, 2923, 3395 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.33 (3H, s, 2 α -Me), 1.70 (3H, s, 2 β -Me), 3.23 (1H, dd, J = 16.8 e 12.8 Hz, H-7'), 3.87 (3H, s, CO_2Me), 3.91 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-7'), 3.95 (3H, s, CO_2Me), 4.94 (1H, s, H-3'), 5.60 (1H, dd, J = 13.2 e 4.4 Hz, H-7a'),

6.97 (1H, s, *CHPh*₂), 7.31-7.35 (10H, m, *Ar-H*); RMN ¹³C (CDCl₃) δ 25.6, 30.8, 33.5, 52.3, 52.9, 53.8, 59.9, 71.2, 79.0, 112.0, 126.9, 127.9, 128.1, 128.5, 128.6, 128.7, 138.8, 138.9, 144.0, 144.8, 147.1, 161.5, 161.8, 167.4; EMAR (ESI): calculada para C₂₈H₂₈N₃O₇S [M+H⁺] 550.16358, encontrada 550.16425.

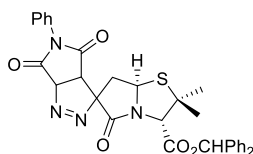


(3*R*,3'*S*,7*a*'*R*)-2',2'-Dimetil-5'-oxo-2',3',7',7*a*'-tetrahydro-5'*H*-espiro[pirazol-3,6'-pirrolo[2,1-*b*]tiazol]-3',5-dicarboxilato de 3'-benzidrilo e 5-metilo (2.26a) e (3*R*,3'*S*,7*a*'*R*)-2',2'-dimetil-5'-oxo-2',3',7',7*a*'-tetrahydro-5'*H*-espiro[pirazol-3,6'-pirrolo[2,1-*b*]tiazol]-3',4-dicarboxilato de 3'-benzidrilo e 4-metilo (2.26b). Preparados pelo

método A, a partir da diazo-γ-lactama **2.22** (0.197 g, 0.48 mmol, 1.0 equiv.) e do propiolato de metilo (**2.25**) (0.08 mL, 0.96 mmol, 2.0 equiv.) em diclorometano (10 mL). A mistura reacional ficou em agitação durante o tempo indicado em cada caso à temperatura ambiente (ver Tabela 2.7). Após purificação por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)], foram obtidos por ordem de eluição: (i) composto **2.26a** como um óleo acastanhado (88.3 mg, 0.18 mmol, 38%); (ii) composto **2.26b** como um sólido (72.7 mg, 0.15 mmol, 31%).

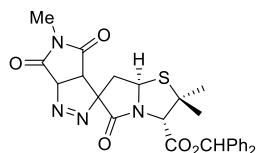
Composto 2.26a. IV (ATR) ν 696, 1172, 1218, 1720, 2964, 3407 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.25 (3H, s, 2α-Me), 1.62 (3H, s, 2β-Me), 3.36 (2H, dd, *J* = 16.0 e 4.0 Hz, H-6), 3.86 (3H, s, CO₂Me), 4.90 (1H, s, H-3'), 5.52 (1H, dd, *J* = 12.8 e 4.0 Hz, H-7*a*'), 6.60 (1H, s, H-4), 6.89 (1H, s, *CHPh*₂), 7.25-7.28 (10H, m, *Ar-H*); RMN ¹³C (CDCl₃) δ 24.6, 29.9, 32.6, 52.7, 59.3, 70.1, 77.9, 106.2, 125.9, 125.9, 126.6, 126.7, 126.9, 127.5, 127.6, 139.2, 144.5, 146.1, 161.1, 166.3, 166.7, 173.8; EMAR (ESI): calculada para C₂₆H₂₆N₃O₅S [M+H⁺] 492.15848, encontrada 492.15877.

Composto 2.26b. IV (ATR) ν 695, 1369, 1650, 1720, 1730, 3259 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.26 (3H, s, 2α-Me), 1.67 (3H, s, 2β-Me), 3.11 (1H, dd, *J* = 15.6 e 12.8 Hz, H-7'), 3.32 (1H, dd, *J* = 15.6 e 4.4 Hz, H-7'), 3.97 (3H, s, CO₂Me), 4.97 (1H, s, H-3'), 5.58 (1H, dd, *J* = 12.8 e 4.4 Hz, H-7*a*'), 6.95 (1H, s, *CHPh*₂), 7.27-7.39 (11H, m, *Ar-H*); RMN ¹³C (CDCl₃) δ 25.7, 31.9, 33.4, 52.7, 53.0, 62.0, 70.3, 78.3, 112.8, 127.0, 127.89, 127.93, 128.2, 128.4, 139.4, 139.5, 158.6, 168.4; EMAR (ESI): calculada para C₂₆H₂₆N₃O₅S [M+H⁺] 492.15816, encontrada 492.15877.



(3S,3a'R,6R,6a'R,7aR)-2,2-Dimetil-4',5,6'-trioxo-5'-fenil-2,3,3a',5',6',6a',7,7a-octahidro-4'H,5H-espiro[pirrolo[2,1-b]tiazol-6,3'-pirrolo[3,4-c]pirazol]-3-carboxilato de benzidrilo (2.28a).

Preparado pelo método A, a partir da diazo- γ -lactama **2.22** (0.21 g, 0.52 mmol, 1.0 equiv.) e da *N*-fenilmaleimida (**2.27a**) (0.144 g, 0.83 mmol, 1.6 equiv.) em diclorometano (10 mL). A mistura reacional ficou em agitação durante 1 hora à temperatura ambiente. O solvente é evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o produto purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)]. O composto **2.28a** foi obtido como um sólido branco (64.5 g, 0.11 mmol, 21%). p.f. 110.2-113.4 °C (acetato de etilo/hexano). IV (ATR) ν 694, 1159, 1169, 1374, 1388, 1713 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.34 (1H, s, 2 α -Me), 1.67 (1H, s, 2 β -Me), 3.18-3.21 (2H, m, H-7), 3.44 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-3a'), 4.72 (1H, s, H-3) 5.80 (1H, t, J = 6.0 Hz, H-7a), 6.01 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6a'), 6.96 (1H, s, CHPh_2), 7.32-7.37 (10H, m, Ar-H), 7.43-7.50 (5H, m, N-Ph); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 26.1, 31.8, 33.3, 43.1, 59.6, 63.7, 68.0, 78.8, 94.8, 101.9, 126.1, 126.8, 127.8, 128.2, 128.5, 128.6, 128.7, 129.3, 129.4, 130.6, 138.9, 139.0, 166.8, 167.3, 167.9, 171.5; EMAR (ESI): calculada para $\text{C}_{32}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 581.18457, encontrada 581.18532.



(3S,3a'R,6R,6a'R,7aR)-2,2,5'-Trimetil-4',5,6'-trioxo-2,3,3a',5',6',6a',7,7a-octahidro-4'H,5H-espiro[pirrolo[2,1-b]tiazol-6,3'-pirrolo[3,4-c]pirazol]-3-carboxilato de benzidrilo (2.28b).

Preparado pelo método A, partindo da diazo- γ -lactama **2.22** (0.21 g, 0.52 mmol, 1.0 equiv.) e da *N*-metilmaleimida (**2.27b**) (92.2 mg, 0.83 mmol, 1.6 equiv.) em diclorometano (10 mL). A mistura reacional ficou em agitação durante 1 hora à temperatura ambiente. O solvente é evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o produto purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)]. O composto **2.28b** foi obtido como um óleo acastanhado (34.3 mg, 0.06 mmol, 12%). IV (ATR) ν 695, 728, 1171, 1718, 2968, 3265 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.34 (3H, s), 1.65 (3H, s), 2.97 (3H, s), 3.12 (2H, dd, J = 9.6 e 6.8 Hz), 3.27 (1H, d, J = 7.6 Hz), 4.70 (1H, s), 5.79 (1H, t, J = 6.4 Hz), 5.87 (1H, d, J = 7.6 Hz), 6.95 (1H, s), 7.29-7.36 (10H, m); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 25.4, 26.1, 31.7, 33.2, 43.1, 59.5, 63.7, 68.0, 78.8, 95.1, 101.1, 126.8, 127.7, 128.2, 128.5, 128.6, 128.7, 138.9, 139.0, 166.8,

168.0, 168.4, 172,4; EMAR (ESI): calculada para C₂₇H₂₆N₄O₅S [M+H⁺] 519.16913, encontrada 519.16967.

4.4. Métodos Sintéticos referentes ao Capítulo III

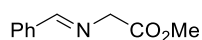
4.4.1. Síntese de precursores das espécies 1,3-dipolares



2-Fenil-*N*-tosilaziridina (3.15). A uma solução de cloramina-T (3.0 g, 10.6 mmol, 1.0 equiv.) é adicionada a solução tampão fosfato (16 mL, pH = 6.86) e o acetonitrilo (16 mL). Em seguida, adiciona-se o iodo (26.9 mg, 1.06 mmol, 0.1 equiv.) e a mistura reacional fica em agitação à temperatura ambiente. Por último, adiciona-se o estireno (2.4 mL, 21.2 mmol, 2.0 equiv.) e coloca-se um balão rico em N₂. O produto é isolado ao fim de 16 horas e separam-se as fases. A fase aquosa é extraída com DCM e recolhe-se a fase orgânica. A esta última adiciona-se agente secante (Na₂SO₄), filtra-se e evapora-se o solvente. O produto precipita em hexano como um sólido branco (2,3054 g, 8.43 mmol, 79%). RMN ¹H (CDCl₃) δ 2.39 (1H, d, *J* = 4.4 Hz), 2.43 (3H, s), 2.98 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 3.77 (1H, dd, *J* = 7.2 e 4.4 Hz), 7.20-7.34 (8H,m), 7.87 (2H, d, *J* = 8.0 Hz).



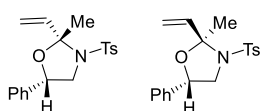
1-Tosil-2-vinilaziridina (3.25). A uma solução do catalisador Py.HBr₃ (24.0 mg, 0.74 mmol, 10% mol) em acetonitrilo (37 mL) é adicionada a cloramina-T (2.29 g, 8.1 mmol, 1.1 equiv.) e, por último, o 1,3-butadieno (2 mL, 7.4 mmol, 20% m/m). A mistura fica em agitação à temperatura ambiente, sob atmosfera inerte durante 23 horas. Após este tempo, o solvente é evaporado a pressão reduzida e o produto é isolado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:4)] e obtido como um sólido branco (0.508 g, 2.28 mmol, 31%). RMN ¹H (CDCl₃) δ 2.22 (1H, d, *J* = 4.4 Hz), 2.45 (3H, s), 2.78 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 3.25-3.30 (1H, m), 5.24 (1H, dd, *J* = 1.2 e 10.0 Hz), 5.40-5.56 (2H, m), 7.34 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.83 (2H, d, *J* = 8.0 Hz).



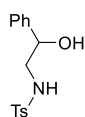
(*E*)-2-(Benzilidenoamino)acetato de metilo (3.34). A uma solução de hidrocloreto de glicinato de metilo **3.32** (1.86 g, 14.8 mmol, 1.0 equiv.) em DCM seco (36 mL), foi adicionado o Na₂SO₄ (14.8 mmol, 1.0 equiv.) e a trietilamina (14.8 mmol, 1.0

equiv.). Após 1 hora em agitação à temperatura ambiente, adiciona-se o benzaldeído **3.33** (9.9 mmol, 0.67 equiv.) e a mistura fica em agitação durante 12 horas. Após este tempo, filtram-se os sais de Et₃N.HCl e Na₂SO₄ formados e adiciona-se H₂O destilada para separar as fases. Extrair a fase aquosa com diclorometano (2 x 10 mL) e lavar a fase orgânica com solução saturada de NaCl. Secar com NaSO₄, filtrar e evaporar o solvente a pressão reduzida sem aquecimento. Obtém-se o composto **3.34** como um óleo amarelado (1.34 g, 7.55 mmol, 76%). RMN ¹H (CDCl₃) δ 3.76 (3H, s), 4.40 (2H, s), 7.38-7.43 (3H, m), 7.76-7.87 (2H, m), 8.27 (1H, s).

4.4.2. Ciclo-adição [3+2] formal da metil vinil cetona com aziridinas



(2R,5S)-2-Metil-5-fenil-3-tosil-2-viniloxazolidina (3.19a), **(2S,5S)-2-Metil-5-fenil-3-tosil-2-viniloxazolidina (3.19b)** e **N-(2-hidroxi-2-feniletil)-4-metilbenzenosulfonamida (3.20)**. A uma mistura de metil vinil



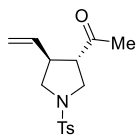
cetona **3.17** (0.09 mL, 1.1 mmol) e Zn(OTf)₂ (20% mol) em diclorometano (5 mL), foi adicionada uma solução da aziridina **3.15** (30.1 mg, 1.1 mmol, 1.0

equiv.) em diclorometano (5 mL). A mistura reacional fica em agitação à temperatura ambiente, durante 24 horas. Após este tempo, o solvente é evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e os produtos são purificados por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:4)]. Obtém-se por ordem de eluição: i) compostos **3.19a** e **3.19b** como uma mistura de estereoisômeros na proporção 52:48, como um óleo acastanhado (87.3 mg, 0.25 mmol, 34%); ii) composto **3.20** como um óleo (23 mg, 0.08 mmol, 11%) (ver Tabela 3.1).

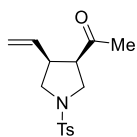
Componente maioritário 3.19a. RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.86 (3H, s, 8-Me), 2.42 (3H, s, 9-Me), 3.11 (1H, dd, *J* = 9.6 e 8.8 Hz, H-5), 3.93 (1H, dd, *J* = 8.8 e 5.2 Hz, H-5), 5.19 (1H, dd, *J* = 9.6 e 5.2 Hz, H-4), 5.25 (1H, dd, *J* = 5.2 e 1.2 Hz, H-7), 5.56 (1H, dd, *J* = 9.6 e 0.8 Hz, H-7), 6.05 (1H, dd, *J* = 17.2 e 10.4 Hz, H-6), 7.27-7.34 (7H, m, Ar-H), 7.70-7.76 (2H, m, Ar-H).

Componente minoritário 3.19b. RMN ¹H (CDCl₃) δ 1.78 (3H, s, 8'-Me), 2.43 (3H, s, 9'-Me), 3.21 (1H, t, *J* = 8.8 Hz, H-5'), 3.86 (1H, dd, *J* = 8.8 e 6.0 Hz, H-5'), 5.06 (1H, dd, *J* = 9.2 e 6.0 Hz, H-4'), 5.22 (1H, dd, *J* = 4.8 e 0.2 Hz, H-7'), 5.52 (1H, dd, *J* = 9.2 e 0.8 Hz, H-7'), 6.17 (1H, dd, *J* = 17.2 e 10.8 Hz, H-6'), 7.27-7.34 (7H, m, Ar-H), 7.70-7.76 (2H, m, Ar-H).

Composto 3.20. RMN ¹H (CDCl₃) δ 2.42 (3H, s, Ar-Me), 2.46 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, 3-OH), 3.00-3.07 (1H, m, 2α-Me), 3.22-3.25 (1H, m, 2β-Me), 4.78-4.82 (1H, m, H-3), 4.97 (1H, dd, *J* = 8.0 e 4.8 Hz, 1-NH), 7.26-7.34 (7H, m, Ar-H), 7.73 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, Ar-H).



1-((3S,4S)-1-Tosil-4-vinilpirrolidino-3-il)etan-1-ona (3.27a) e 1-((3R,4S)-1-tosil-4-vinilpirrolidino-3-il)etan-1-ona (3.27b). Num tubo de Schlenk seco foi



colocado o catalisador de Pd₂(dba)₃.CHCl₃ (51.8 mg, 0.05 mmol, 5% mol) e a PPh₃ (65.6 mg, 0.25 mmol, 25% mol) em THF (3 mL), sob atmosfera inerte. A mistura fica em agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, adiciona-se a metil vinil cetona **3.17** (0.82 mL, 10.0 mmol, 10.0 equiv.),

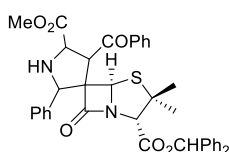
o *n*-Bu₄NBr (0.322 g, 1 mmol, 100% mol) e, por último, a aziridina **3.25** (0.223 g, 1 mmol, 1.0 equiv.) dissolvida em THF (1 mL). A mistura fica em agitação à temperatura ambiente, durante 25 horas. Após este tempo, os produtos são isolados e purificados por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:2)]. Obtém-se por ordem de eluição: (i) composto **3.27a** como um sólido (146 mg, 0.5 mmol, 50%), (ii) composto **3.27b** como um sólido branco (53 mg, 0.18 mmol, 18%).

Composto 3.27a. IV (ATR) ν 661, 818, 933, 1025, 1160, 1335, 1712 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃) δ 2.11 (3H, s, 9-Me), 2.45 (3H, s, 13-Me), 2.82 (1H, dd, *J* = 16.4 e 8.0 Hz, H-4), 2.90 (1H, dd, *J* = 16.8 e 8.4 Hz, H-3), 3.09 (1H, dd, *J* = 10.0 e 8.0 Hz, H-5), 3.37 (1H, dd, *J* = 10.0 e 8.4 Hz, H-2), 3.46 (1H, dd, *J* = 10.0 e 7.6 Hz, H-5), 3.57 (1H, dd, *J* = 10.0 e 8.0 Hz, H-2), 5.08 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-7), 5.11 (1H, m, H-7), 5.61-5.69 (1H, m, H-6), 7.34 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-12), 7.72 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-11); RMN ¹³C δ 21.6, 30.1, 45.9, 49.2, 52.6, 56.0, 117.9, 127.7, 129.8, 133.3, 136.3, 143.8, 205.7.

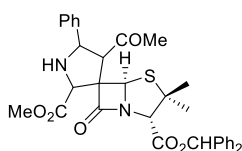
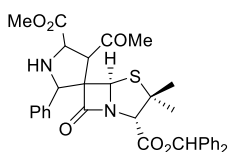
Composto 3.27b. IV (ATR) ν 669, 1159, 1332, 1703, 1719 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃) δ 2.10 (3H, s, 9-Me), 2.26-2.35 (1H, m, H-4), 2.44 (3H, s, 13-Me), 2.63-2.68 (1H, m, H-3), 3.15-3.20 (2H, m, H-2), 3.58-3.66 (2H, m, H-5), 5.03 (2H, t, *J* = 16.0 Hz, H-7), 5.22-5.31 (1H, m, H-6), 7.34 (2H, d, *J* = 8.0, H-12), 7.73 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-11); RMN ¹³C δ 21.6, 27.5, 28.3, 29.9, 38.7, 50.8, 51.1, 51.7, 61.9, 118.5, 127.5, 129.8, 133.5, 134.4, 143.9, 206.4, 207.8.

4.4.3. Ciclo-adição 1,3-dipolar de 6-alkilidenopenicilanos com ilietos de azometino

Procedimento geral: Num tubo apropriado de micro-ondas adiciona-se a imina **3.34** (1.0 e 1.5 equiv.) e, em seguida, o 6-alkilidenopenicilano de benzidrilo (**3.9a** ou **3.9b**) (1.0 equiv.) dissolvido em tolueno (2 mL). A mistura foi colocada sob irradiação de micro-ondas à temperatura e tempo de reação indicados em cada caso.



Espiro[penicilano-6,3'-(4-benzoil-2-fenil-5-metoxicarbonil-1-pirrolidino)]-3-penicilano de benzidrilo (3.36**).** Preparado a partir do 6-alkilidenopenicilano de benzidrilo **3.9a** (0.110 g, 0.23 mmol, 1.0 equiv.) e da imina **3.34** (40.8 mg, 0.23 mmol, 1.0 equiv.), por irradiação de micro-ondas à temperatura de 130 °C durante 2 minutos. O solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e o produto **3.36** foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)], sendo obtido como um óleo acastanhado (70.4 mg, 0.12mmol, 27%). IV (ATR) ν 697, 800, 1090, 1154, 1259, 1735, 1770, 2963, 3295 cm^{-1} ; RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.00 (3H, s), 1.50 (3H, s), 3.08 (3H, s), 4.32 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 4.47 (1H, s), 4.56 (1H, sl), 4.78 (1H, s), 4.82 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 6.79 (1H, s), 7.00-7.18 (4H, m), 7.27-7.40 (10H, m), 7.47-7.50 (2H, m), 7.67-7.74 (2H, m), 7.94-7.96 (2H, m).



Espiro[penicilano-6,3'-(4-acetil-2-fenil-5-metoxicarbonil-1-pirrolidino)]-3-penicilano de benzidrilo (3.37a**) e Espiro[penicilano-6,3'-(4-acetil-5-fenil-2-metoxicarbonil-1-pirrolidino)]-3-penicilano de benzidrilo (**3.37b**).** Preparados a partir do 6-alkilidenopenicilano de benzidrilo **3.9b** (0.182 g, 0.43 mmol, 1.0 equiv.) e da imina **3.34** (0.115 mg, 0.65 mmol, 1.5 equiv.), por irradiação de micro-ondas à temperatura de 150 °C durante 1 minuto. O solvente foi evaporado a pressão reduzida sem aquecimento e os produtos foram purificados por cromatografia em coluna [acetato de etilo/hexano (1:3)], sendo isolados como uma mistura de regioisômeros **3.37** (72:28), com um rendimento global de 27%. IV (ATR) ν 697, 1155, 1167, 1242, 1704, 1735, 1771, 2965 cm^{-1} .

Componente maioritário. RMN ^1H (CDCl_3) δ 1.20 (3H, s), 1.49 (3H, s), 1.60 (3H, s), 3.57 (1H, s), 3.70 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 3.74 (3H, s), 4.60 (1H, s), 4.73 (1H, d, $J = 6.4$ Hz), 5.65 (1H, s), 6.95 (1H, s), 7.30-7.40 (15H, m).

Referências

- (1) Martin-Martinez, M.; De la Figuera, N.; Latorre, M.; Herranz, R.; Garcia-Lopez, M. T.; Cenarruzabeitia, E.; Del Rio, J.; Gonzalez-Muniz, R. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (20), 3770–3777.
- (2) Baldwin, J. E.; Norris, W. J.; Freeman, R. T.; Bradley, M.; Adlington, R. M.; Long-fox, S.; Schofield, C. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1128–1130.