

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia

**AMINOCARBONILAÇÃO DE GLUCAL COM
ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS VIA REAÇÕES
DE ACOPLAMENTO CARBONILATIVO**

Henrique Kenichi Noguchi

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de
São Paulo.

Orientador(a):

Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

São Paulo

2024

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| 1. INTRODUÇÃO | 4 |
| 2. OBJETIVOS | 5 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 5 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 5 |
| 2.2.1. <i>Screening</i> da reação | 5 |
| 2.2.2. Síntese e purificação dos materiais de partida | 5 |
| 2.2.3. Síntese e purificação dos produtos finais | 6 |
| 2.2.4. Desacetilação dos produtos finais | 6 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 6 |
| 3.1. MATERIAIS | 6 |
| 3.2. GLUCAL IODADO E ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS | 7 |
| 3.2.1. Síntese e purificação dos glucais iodados | 7 |
| 3.2.2. Síntese e purificação dos ésteres de aminoácidos e peptídeo | 8 |
| 3.3. PRODUTOS FINAIS | 9 |
| 3.3.1. Síntese e purificação das amidas glucais | 9 |
| 3.3.2. Desacetilação das amidas glucais | 9 |
| 4. RESULTADOS | 9 |
| 4.1. SCREENING | 9 |
| 4.2. TRI-O-ACETIL-2-IODO-D-GLUCAL | 11 |
| 4.3. AMIDAS GLUCAIS | 11 |
| 5. DISCUSSÃO | 14 |
| 5.1. TRI-O-ACETIL-2-IODO-D-GLUCAL | 14 |
| 5.2. ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS E PEPTÍDEO | 17 |
| 5.3. SCREENING | 17 |
| 5.4. AMIDAS GLUCAIS | 18 |
| 5.5. AMIDAS GLUCAIS DESACETILADAS | 21 |
| 6. CONCLUSÕES | 22 |
| REFERÊNCIAS | 23 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------------------|--|
| ORTEP | <i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot</i> |
| RMN ¹ H | Ressonância Magnética Nuclear de Prótons |
| TLC | <i>Thin-layer chromatography</i> |

RESUMO

NOGUCHI, H.K.. Aminocarbonilação de Glucal com Ésteres de Aminoácidos Via Reações de Acoplamento Carbonilativo. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Aminoacúcares são moléculas muitas vezes bioativas – como glucosamina, N-acetilglucosamina e ácido N-acetylneuramínico, com funções intra e extracelulares. Este projeto teve como objetivo preencher uma lacuna na literatura sobre o uso da reação de acoplamento carbonilativo catalisada por paládio para a síntese de aminoacúcares. Para isso, essa reação foi explorada com o objetivo de sintetizar novas amidas glucais, resultantes da reação de aminocarbonilação entre glucais iodados e ésteres de aminoácidos e peptídeos. O projeto engloba o processo de *screening*, bem como a síntese e purificação dos materiais de partida e amidas glucais, demonstrando a versatilidade da reação com a síntese de produtos variados, com diferentes açúcares, grupos protetores e aminoácidos.

Palavras-chave: Iodoglucais; paládio; carbonilação; monóxido de carbono; aminoácidos.

ABSTRACT

Amino sugars are often bioactive molecules - such as glucosamine, N-acetylglucosamine, and N-acetylneuraminic acid, with intra and extracellular functions. This project aimed to fill a gap in the literature regarding the use of palladium-catalyzed carbonylative coupling reactions for the synthesis of amino sugars. For this purpose, this reaction was explored with the goal of synthesizing new glycal amides, resulting from the aminocarbonylation reaction between iodinated glycals and amino acid or peptide esters. The project encompasses the screening process, as well as the synthesis and purification of the starting materials and glycal amides, demonstrating the versatility of the reaction with the synthesis of varied products using different sugars, protecting groups, and amino acids.

Keywords: *lodoglycais; palladium; carbonylation; carbon monoxide; amino acids.*

1. INTRODUÇÃO

Aminoácidos são os blocos de construção de proteínas, unidos por ligações peptídicas (TRUMBO *et al.*, 2002). Com exceção da glicina, cada aminoácido tem um centro quiral e diferentes cadeias laterais, o que confere a cada molécula propriedades específicas (HUGHES, 2009). A síntese de novo de derivados de aminoácidos é fundamental para atender à demanda industrial, especialmente para o desenvolvimento de medicamentos (HANESSIAN, 1993).

Aminoacúcares são moléculas que apresentam relevância fisiológica e farmacológica, como a regulação da função de proteínas e o reconhecimento de sítios biológicos (COLE *et al.*, 1988). Eles podem ser precursores para a síntese de moléculas com aplicações mais complexas, como intracellular trafficking e inibidores de glicosidases, sendo reconhecidos pelas células por ambos os grupos carboidrato e amino (LAI *et al.*, 1994; FLORENT *et al.*, 1988). Exemplos de aminoacúcares com atividade biológica são a glicosamina e a galactosamina - derivados de glicose e galactose, respectivamente (COLE *et al.*, 1988).

Reações de acoplamento carbonilativo são um método eficaz para converter um substituinte haleto em um grupo carbonila (SKOGH *et al.*, 2013). Em um estudo recente, Skogh *et al.* reagiram iodetos heterocíclicos com aminoácidos via

acoplamento carbonilativo *ex situ*, demonstrando ser uma rota conveniente para a ligação entre as duas moléculas. Apesar da utilização da mesma fonte de monóxido de carbono ($\text{Mo}(\text{CO})_6$), o acoplamento carbonilativo *ex situ* ocorre com a geração de monóxido de carbono separada do sistema onde a reação acontecerá, em um reator de duas câmaras. Sendo assim, a reação ocorre na câmara A, enquanto a geração de monóxido de carbono ocorre na câmara B.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este projeto de TCC tem como objetivo criar uma pequena biblioteca de amidas glucais, realizando a síntese pela ligação de glucais iodados com ésteres de L- aminoácidos e peptídeos via reação de acoplamento carbonilativo catalisada por paládio, utilizando $\text{Mo}(\text{CO})_6$ como fonte de monóxido de carbono. A pesquisa visa preencher uma lacuna na literatura sobre a aplicação dessas reações para a síntese de amidas glucais e otimizar as condições reacionais para obter produtos com alto rendimento e pureza.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. *Screening* da reação

Realizar o *screening* da reação, comparando diferentes solventes, catalisadores, bases, temperaturas e fontes de energia, com o objetivo de obter maiores rendimentos com os recursos disponíveis.

2.2.2. Síntese e purificação dos materiais de partida

Síntese dos açúcares iodados (ex: tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal) a partir da reação do açúcar (ex: tri-O-acetil-D-glucal) com N-iodo-succinimida (NIS) e nitrato de prata (AgNO_3) (DHARUMAN; VANKAR, 2014).

Síntese dos ésteres de L-aminoácidos e peptídeos a partir da reação de L-aminoácidos e peptídeos com metanol (MeOH) e cloreto de tionila (SOCl_2) (VOGEL et al., 2015).

Purificação dos açúcares iodados por meio de cromatografia, utilizando um sistema de cromatografia flash (Biotage®), cromatografia de camada delgada, análises em U.V. e utilizando reveladores (ex: vanilina).

2.2.3. Síntese e purificação das amidas glucais

Síntese das amidas glucais pela ligação entre açúcar iodado (ex: tri-O-acetil-2- iodo-D-glucal) com éster de L-aminoácido ou peptídeo pela reação de acoplamento carbonilativo, na presença de solvente (ex: acetonitrila (MeCN)), fonte de monóxido de carbono (ex: MO(CO)₆), base (ex: carbonato de sódio (Na₂CO₃)) e catalisador (ex: Pd(dba)₂).

Purificação das amidas glucais por meio de cromatografia, utilizando um sistema de cromatografia flash (Biotage®), cromatografia de camada delgada, análises em U.V. e utilizando reveladores (ex: vanilina).

2.2.4. Desacetilação dos produtos finais

Realizar a reação de desproteção do grupo acetila dos produtos finais (desacetilação), aumentando sua solubilidade em solventes hidrofílicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

Acetonitrila foi seca sobre fio de sódio metálico usando benzofenona e foi recém-destilada antes do uso. Acetonitrila de grau HPLC foi seca sobre CaH₂ e destilada antes do uso. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma- Aldrich, Alfa Aesar, Acros Organics, Oakwood ou Fluorochem. A iodação de glicais protegidos com O foi realizada usando o protocolo desenvolvido por Dharuman & Vankar. A esterificação de aminoácidos foi realizada usando cloreto de tionila (SOCl₂) e metanol anidro. A cromatografia em coluna flash foi realizada usando gel de sílica com um tamanho de poro de 60 Å, 230-400 Mesh (Sigma-Aldrich, cat.# 22,719-6). A cromatografia em camada delgada (TLC) foi realizada usando placas Merck TLC de gel de sílica 60 F254 e visualizadas sob luz UV ou por coloração com vanilina. Os

espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram registrados em CDCl_3 ou CD_3OD usando um instrumento Bruker DPX 300 (^1H a 300 MHz, ^{13}C a 75 MHz). Os deslocamentos químicos, δ , são reportados em partes por milhão (ppm) e são referenciados ao sinal de TMS. Os picos de ^1H são citados com aproximação de 0,01 Hz e os picos de ^{13}C com aproximação de 0,1 Hz. Espectros de massa de alta resolução (HRMS) foram registrados em um espectrômetro de massa Shimadzu ESI-TOF. Os dados de FTIR foram obtidos usando um Agilent Technologies Cary 630.

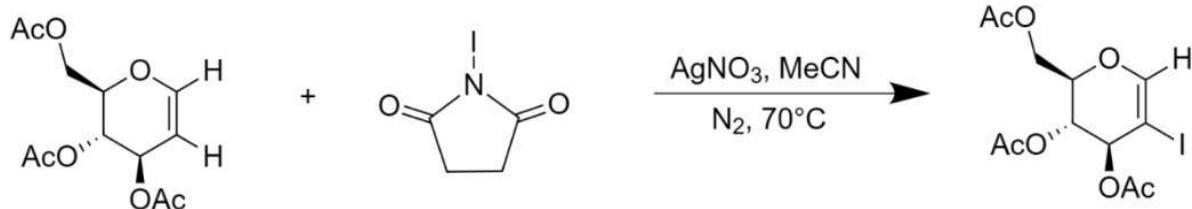
3.2. GLUCAL IODADO E ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS

3.2.1. Síntese e purificação do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal

Para a síntese de todos os exemplos de glucais iodados feitos durante o projeto foi realizada a mesma reação e estequiometria. Dessa maneira, será utilizada como exemplo a reação de síntese de tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal - glucal utilizado para a maior parte das moléculas sintetizadas.

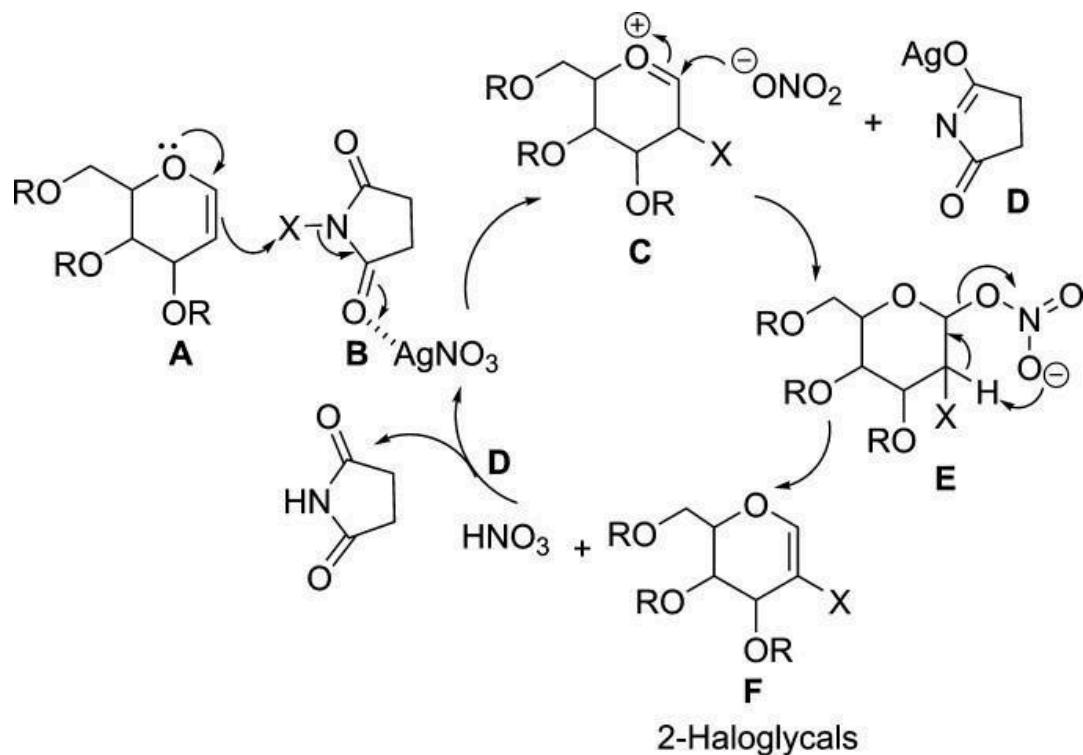
A síntese foi feita em tubo de ensaio, com aquecimento e agitação magnética, sob atmosfera de nitrogênio, na presença de glucal, fonte de iodo, catalisador e solvente, seguindo protocolo de Dharuman e Vankar (DHARUMAN; VANKAR, 2014).

Figura 1. Reação de iodoação do tri-O-acetil-D-glucal.



Fonte: De autoria própria.

Figura 2. Mecanismo proposto para formação dos haloglucais.



Fonte: DHARUMAN, S.; VANKAR, Y. D., 2014

A purificação do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal foi feita, inicialmente, em coluna cromatográfica manual de sílica gel 60 Å, 230-400 mesh. Posteriormente, com um melhor conhecimento da reação e produtos secundários obtidos, a purificação passou a ser feita em cromatógrafo automático (Biotage®), utilizando hexano e acetato de etila. Sendo o último o processo mais utilizado durante o projeto, será descrito em maiores detalhes no tópico discussão.

3.2.2. Síntese e purificação dos ésteres de aminoácidos e peptídeo

A síntese dos ésteres de aminoácidos e peptídeo foi realizada por uma reação simples de esterificação, utilizando cloreto de tionila e metanol anidro, que age como reagente e solvente ao mesmo tempo (VOGEL *et al.*, 2015).

Não era necessária purificação, devido à alta taxa de conversão da reação.

3.3. PRODUTOS FINAIS

3.3.1. Síntese e purificação das amidas glucais

A síntese era realizada em um tubo de ensaio, com aquecimento e agitação por 20 horas, utilizando o glucal iodado, éster de aminoácido, fonte de monóxido de carbono, base, catalisador e solvente, descrita com maiores detalhes no tópico discussão.

A purificação foi realizada no cromatógrafo automático (Biotage®) utilizando hexano e acetato de etila em sílica gel 60 Å, 230-400 mesh.

3.3.2. Desacetilação das amidas glucais

A desacetilação das amidas glucais se deu por uma reação semelhante à desacetilação de Zemplén (WANG, 2010). Foi realizada em um balão pequeno, com agitação magnética à temperatura ambiente.

4. RESULTADOS

4.1. SCREENING

Após análise dos rendimentos utilizando diferentes catalisadores, $Pd(dba)_2$ foi escolhido como o catalisador ótimo para o estudo dos outros parâmetros da reação. Na ausência de catalisador a reação de acoplamento carbonilativo não ocorreu, mesmo depois de 24 horas.

Quanto à base, os maiores rendimentos foram obtidos utilizando as bases inorgânicas. Dessa forma, foi escolhido Na_2CO_3 como base ótima para a reação, visto que gerou o melhor rendimento dentre as bases inorgânicas testadas.

Para a escolha do solvente, após análise dos rendimentos, foi concluído que o solvente ótimo para a reação era MeCN, não sendo necessária alteração, visto que o processo *screening* foi iniciado utilizando MeCN como solvente.

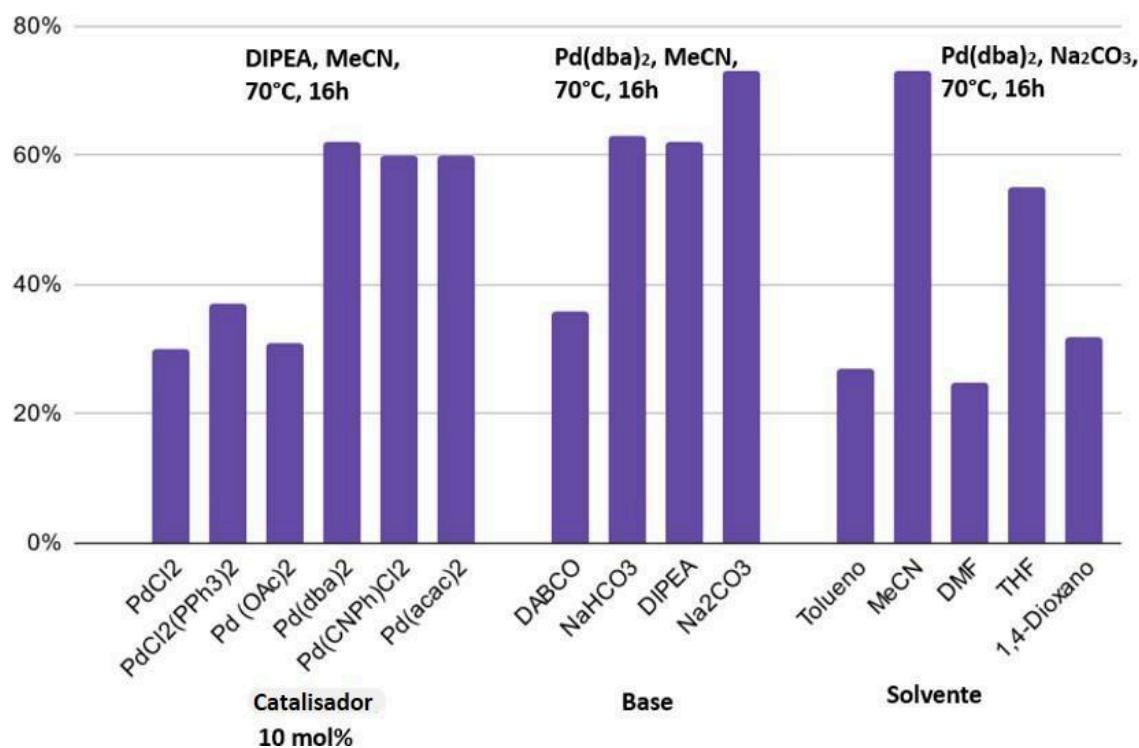
Quanto à temperatura, a ótima foi entre 70-80 °C. Quanto ao tempo de reação, o melhor rendimento (91%) foi obtido depois de 20 horas de reação.

Outras fontes de energia como micro-ondas e ultrassom foram estudadas. A reação com micro-ondas teve rendimento baixo de 24%, e a reação com ultrassom não ocorreu. Também foi realizada a reação utilizando 2-iodo-D-glucal desacetilado e aminoácidos não esterificados. Ambas as reações tiveram rendimentos baixos, de 6% e 8%, respectivamente.

Dessa maneira, as condições ótimas escolhidas foram 0,5 mmol de tri-O-acetyl- 2-iodo-D-glucal, 5 mol% de $\text{Pd}(\text{dba})_2$, 2 equivalentes de base, 1 equivalente de $\text{Mo}(\text{CO})_6$ como fonte de monóxido de carbono, 1 equivalente de éster de aminoácido e MeCN como solvente, por 20 horas à 70 – 80 °C.

Os rendimentos obtidos durante o processo de *screening* estão dispostos no Gráfico 1.

Gráfico 1. Processo de escolha de catalisador, base e solvente (*screening*).



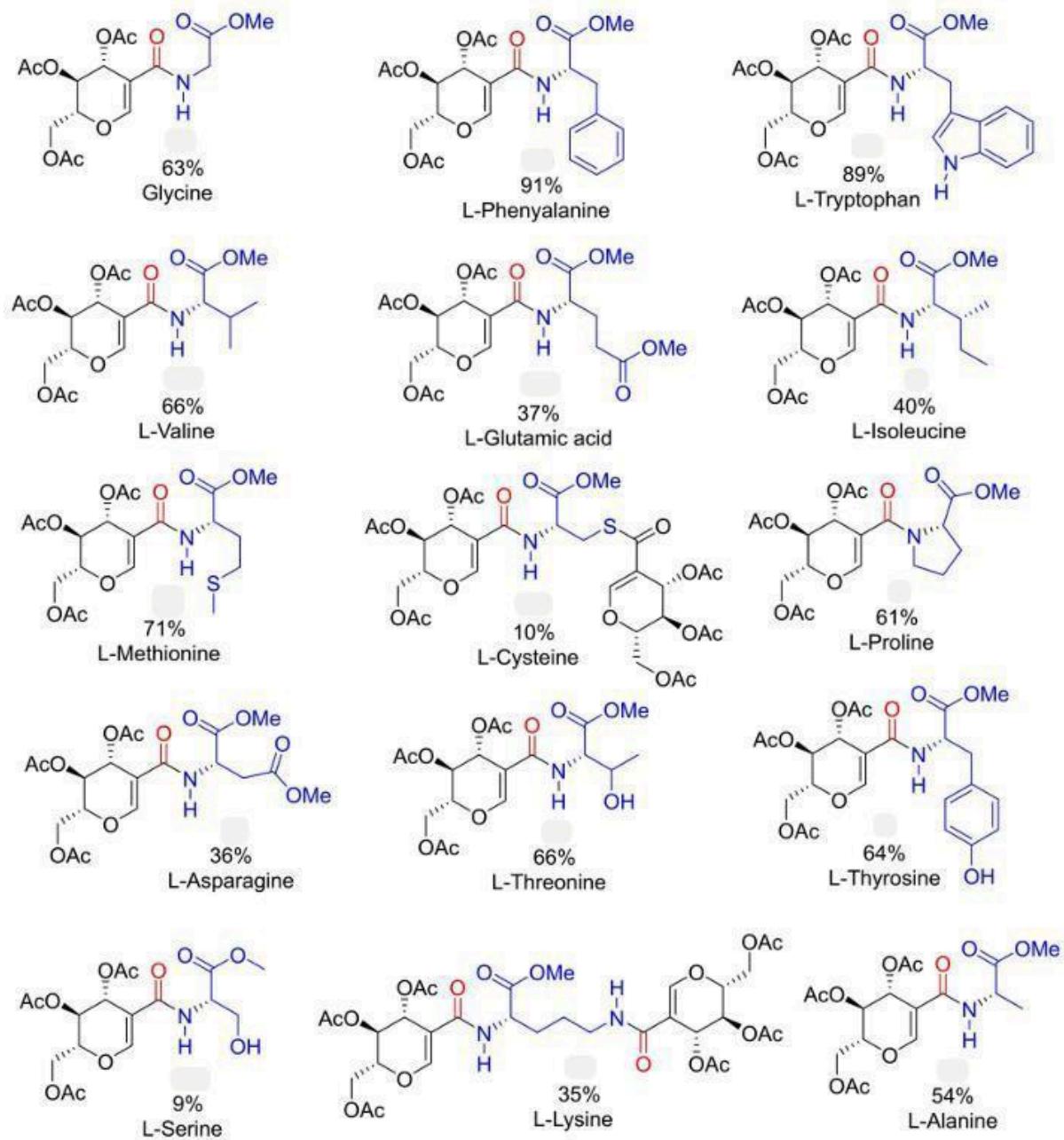
4.2. TRI-O-ACETIL-2-IODO-D-GLUCAL

Após a purificação, o tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal é obtido na forma de um cristal branco. Esta conclusão diverge da conclusão do artigo utilizado como referência para a realização desta reação. Segundo Dharuman e Vankar (2014), o tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal se encontra na forma de um óleo incolor (DHARUMAN; VANKARM, 2014). Entretanto, foi concluído que o glucal iodado se apresenta como um óleo incolor ou amarelado apenas quando impuro, contaminado com tri-O-acetil-D-glucal. Entretanto, quando a purificação é bem-sucedida, o produto se encontra na forma de um cristal branco, ficando amarelado com o passar do tempo ou formando uma solução rosada, quando solubilizado em solventes apolares. É provável que ambas as alterações de cor ocorrem devido à instabilidade da ligação carbono-iodo.

4.3. AMIDAS GLUCAIS

Inicialmente, foram realizadas sínteses utilizando apenas tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal, variando os aminoácidos a serem ligados. Isso resultou na biblioteca de 15 amidas glucais apresentadas na **Figura 3**. Foram utilizados aminoácidos de cadeia lateral grande, pequena, polar, apolar, com apenas H e C, com outras funções nucleofílicas e com anéis aromáticos.

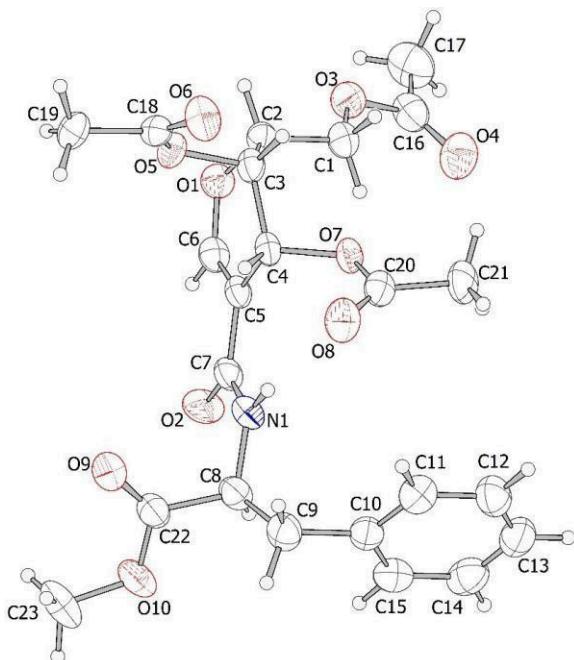
Figura 3: Amidas glucais sintetizadas com tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal.



Fonte: Adaptado de DE JESUS, 2022

Foi obtida também a representação ORTEP (*Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*) da amida glucal de maior rendimento (tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal com éster de L-Fenilalanina), como mostra a **Figura 4**. A representação ORTEP permite visualização 3D da molécula, mostrando posições atômicas e distâncias entre átomos.

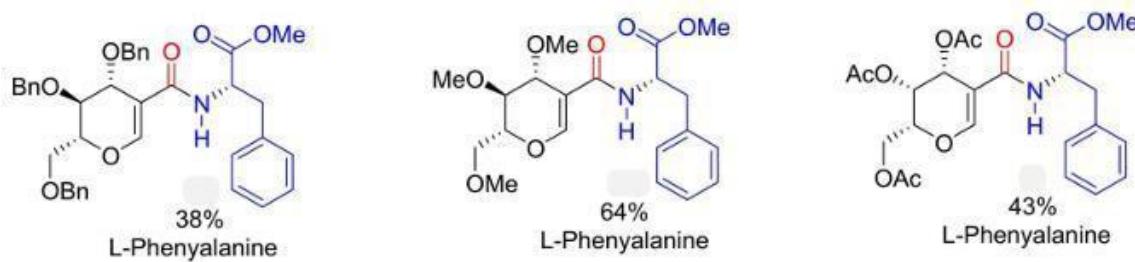
Figura 4: Representação ORTEP da amida glucal do tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal com éster de L-Fenilalanina.



Fonte: DE JESUS, 2022

Após a obtenção de um número satisfatório de exemplos de amidas glucais utilizando tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal, foram sintetizados exemplos utilizando 2-iodo-D-glucal com outros grupos protetores (benzila e metila), e um exemplo com um açúcar diferente (tri-O-acetyl-2-iodo-D-galactal), como mostra a **Figura 5**. Para esses exemplos, não foi alterado o éster de aminoácido a ser ligado, sendo utilizado aquele que forneceu os maiores rendimentos (éster de L-fenilalanina).

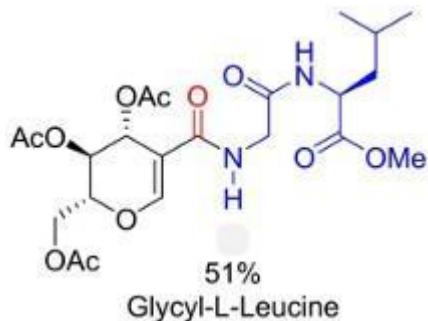
Figura 5: Amidas glucais de L-fenilalanina sintetizadas com diferentes glucais iodados.



Fonte: Adaptado de DE JESUS, 2022.

Além disso, foi realizada a reação do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal com o dipeptídeo Glicil-L-Leucina, como mostra a **Figura 6**.

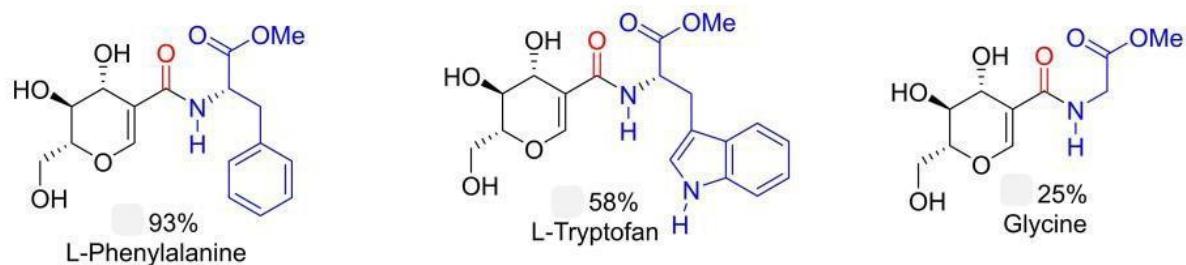
Figura 6: Amida glucal sintetizada com tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal e um dipeptídeo.



Fonte: Adaptado de DE JESUS, 2022.

Por fim, foi realizada a reação de desacetilação (retirada dos grupos protetores acetil), resultando em 3 exemplos de amidas glucais de 2-iodo-D-glucal desacetilado (ésteres de L-Fenilalanina, L-Triptofano e Glicina), como mostra a **Figura 7**.

Figura 7: Amidas glucais desacetiladas.



Fonte: Adaptado de DE JESUS, 2022.

5. DISCUSSÃO

5.1. TRI-O-ACETIL-2-iodo-D-GLUCAL

A síntese do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal consiste na reação de 1 equivalente de tri-O-acetil-D-glucal, 1,2 equivalente de NIS e 0,2 equivalente de AgNO_3 em acetonitrila (solvente) à 70 °C durante 4 horas sob atmosfera de nitrogênio, como

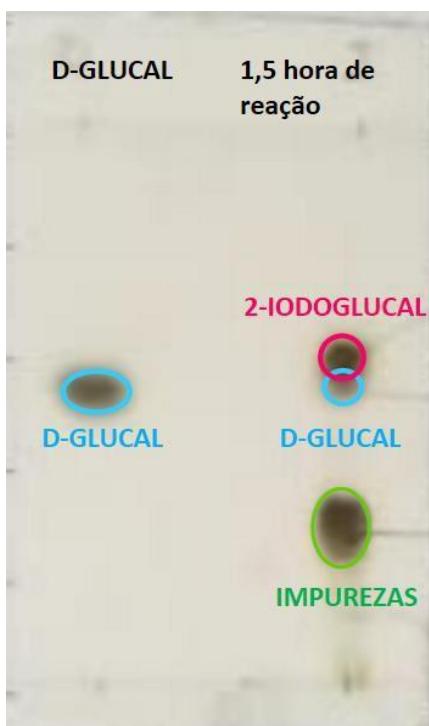
mostra a Figura 1 (DHARUMAN; VANKAR, 2014).

A síntese não era feita para obtenção de grandes quantidades de tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal, visto que a instabilidade dessa molécula ao longo do tempo tornava mais eficiente a síntese de pequenas quantidades no início de cada semana. Sendo assim, as quantidades utilizadas eram 2,64 mmol de tri-O-acetil-D-glucal, 3,17 mmol de NIS, 0,64 mmol de AgNO₃ em 12 mL de acetonitrila à 70 °C durante 4 horas sob atmosfera de nitrogênio.

O processo de purificação no Biotage® era iniciado com 2-4 volumes de coluna (CVs) de uma solução 100% hexano, para retirar impurezas, como a sobra de iodo após término da reação. Quando toda a coloração rosa do iodo tivesse sido extraída com hexano, era realizada uma curva de 0% acetato de etila em hexano até 30% acetato de etila em hexano, que geralmente ocorria em um intervalo de 10 CVs. Essa razão era mantida até que se notasse, por meio de cromatografia em camada delgada (TLC), que não havia mais produto na coluna.

A purificação de glucais iodados se mostrou um grande desafio durante a realização do projeto. A polaridade próxima entre tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal e tri-O-acetil-D-glucal fazia com que as duas moléculas tivessem RFs extremamente próximos - como ilustrado na **Figura 8**. Além disso, a molécula iodada é instável, perdendo seu átomo de iodo ao longo do tempo. Isso, somado ao fato de o rendimento da reação não ser próximo de 100%, fazia com que a sobra do material de partida dificultasse a purificação do açúcar iodado.

Figura 8. TLC comparando tri-O-acetil-D-glucal com 1,5 hora de reação de iodação em solução 33% acetato de etila em hexano.



Fonte: De autoria própria.

Para contornar este problema, era feita uma análise minuciosa das placas de TLC de cada um dos tubos resultantes da cromatografia. A análise consistia na realização de duas placas de TLC, uma mais concentrada e uma menos concentrada para cada tubo (para os tubos próximos do produto). Quando prontas, ambas as placas eram colocadas sob luz U.V. para visualização do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal (tri-O-acetil-D-glucal não é visível sob luz U.V., apenas utilizando vanilina). A mancha era então contornada com um lápis. Posteriormente, ambas as placas eram colocadas em uma solução de vanilina e esquentadas com uma pistola de ar quente até que as manchas ficassem visíveis. Caso a mancha visível ultrapassasse o contorno de grafite na porção de baixo, sabíamos que tri-O-acetil-D-glucal estava presente, contaminando aquele tubo, visto que o RF do tri-O-acetil-D-glucal é menor que o RF do tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal. Portanto, este tubo seria descartado. Eram coletados apenas os tubos com tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal puro, portanto, tubos onde a mancha após uso da vanilina não ultrapassava o contorno de lápis na porção de baixo.

Após purificação, o produto era enviado para análise por RMN¹H, para

garantir que a reação ocorreu com sucesso e que o tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal foi coletado sem contaminação pelo tri-O-acetil-D-glucal.

5.2. ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS E PEPTÍDEO

A reação era iniciada à 0 °C (temperatura controlada com um banho de gelo e termômetro) para conter o calor gerado pelo contato do cloreto de tionila com a solução. Após isso, a reação era deixada overnight à temperatura ambiente.

A estequiometria da reação era de 1 equivalente de aminoácido ou peptídeo, 2 equivalentes de cloreto de tionila e excesso de metanol anidro, visto que era utilizado como solvente. Geralmente, as quantidades utilizadas eram de 10 mmol de aminoácido ou peptídeo, 20 mmol de cloreto de tionila e 20 mL de metanol anidro.

Figura 9: Exemplo da reação de esterificação de aminoácidos (L-Prolina).



Fonte: De autoria própria.

Os ésteres de aminoácidos e peptídeos não necessitaram de purificação, visto que a reação feita tem alta taxa de conversão, não restando aminoácidos não esterificados ou produtos secundários em quantidades suficientes para serem detectados. Dessa maneira, foi realizada apenas a secagem do solvente restante em rotaevaporador e posteriormente com uma bomba de vácuo.

O produto era então enviado para análise em RMN¹H, para garantir que a reação ocorreu com sucesso e a conversão foi total, sem sobra de aminoácidos não esterificados ou formação de produtos secundários indesejados.

5.3. SCREENING

Com os materiais de partida em mãos, iniciamos o estudo investigando as condições ótimas para a obtenção de amidas glucais utilizando o éster de L-fenilalanina como um aminoácido modelo. $\text{Mo}(\text{CO})_6$ foi utilizada como fonte de CO

para evitar o uso de monóxido de carbono gasoso.

O processo foi iniciado testando diversos catalisadores de paládio, como PdCl_2 , $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{Pd}(\text{dba})_2$, $\text{Pd}(\text{PhCN})_2\text{Cl}_2$ e $\text{Pd}(\text{acac})_2$, escolhendo como catalisador ótimo aquele que gerasse o produto em maior rendimento ($\text{Pd}(\text{dba})_2$). Isso foi realizado utilizando DIPEA como base e MeCN como solvente à 70 °C por 16 horas. Após isso, a reação foi feita utilizando duas bases orgânicas, DABCO e DIPEA, e duas bases inorgânicas, NaHCO_3 e Na_2CO_3 . Isso revelou que DIPEA não seria a base ótima para a reação, visto que a reação com Na_2CO_3 obteve um maior rendimento.

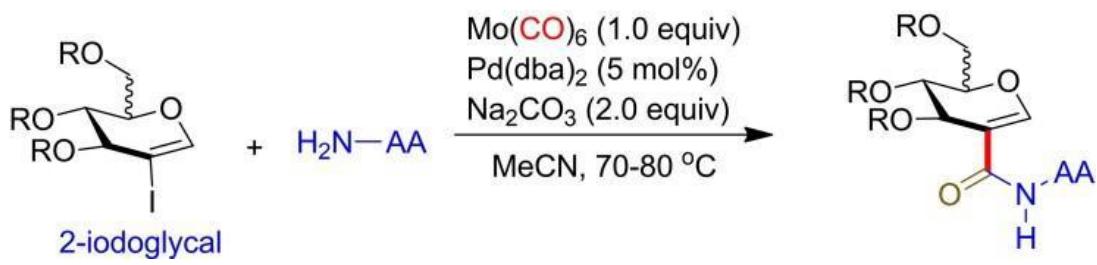
Continuando o processo de *screening*, a reação foi feita com diversos solventes, como tolueno, acetonitrila (MeCN), dimetilformamida (DMF), tetrahidrofurano (THF) e 1,4-dioxano. Entretanto, foi concluído que não seria necessário trocar o solvente utilizado inicialmente (MeCN).

Já com as condições acima (catalisador, base e solvente) bem estabelecidas, foi testado o efeito da variação de temperatura no rendimento da reação, o que revelou que a temperatura utilizada no início do processo de *screening* era a temperatura ótima para a reação. Outras fontes de energia como micro-ondas e ultrassom também foram estudadas, sem resultados satisfatórios.

5.4. AMIDAS GLUCAIS

A síntese das amidas glucais era realizada utilizando 1 equivalente de tri-O-acetil-2-iodo-D-glucal, 1 equivalente de éster de aminoácido ou peptídeo, 1 equivalente de $\text{Mo}(\text{CO})_6$ como fonte de monóxido de carbono, 2 equivalentes de Na_2CO_3 como base, 5 mol% de $\text{Pd}(\text{dba})_2$ como catalisador e MeCN como solvente, por 20 horas à 70 - 80 °C, como mostra a Figura 10. A reação era realizada em um tubo de ensaio, devido ao pequeno volume de solvente utilizado.

Figura 10. Síntese geral das amidas glucais.



Fonte: DE JESUS, 2022

Sendo cada amida glucal decorrente da reação de um açúcar iodado com um éster de aminoácido ou peptídeo específico, não há apenas um método para sua purificação. Sendo assim, cada molécula da biblioteca de amidas glucais sintetizadas foi purificada utilizando misturas e proporções diferentes de solventes. A escolha dos solventes e proporções era feita com base na cadeia lateral do aminoácido ou peptídeo utilizado, sendo realizados testes com TLC anteriores à purificação. Apesar disso, todas elas, com exceção da amida glucal do dipeptídeo, foram purificadas utilizando o sistema automatizado de cromatografia flash (Biotage ®), sendo que a maioria das purificações foi realizada utilizando acetato de etila e hexano como solventes.

No caso da amida glucal do dipeptídeo, o Biotage ® não foi bem-sucedido na purificação. Por conta disso, foi utilizada uma placa preparativa em solução 2:1 hexano e acetato de etila para sua purificação, que teve a sílica raspada e filtrada para obtenção do produto puro, o que foi confirmado por RMN1H.

Para verificar a versatilidade da metodologia, testamos aminoácidos polares, apolares e neutros nas reações. Aminoácidos contendo somente H e C nas cadeias laterais, como glicina, L-valina e L-isoleucina tiveram rendimentos moderados ou bons.

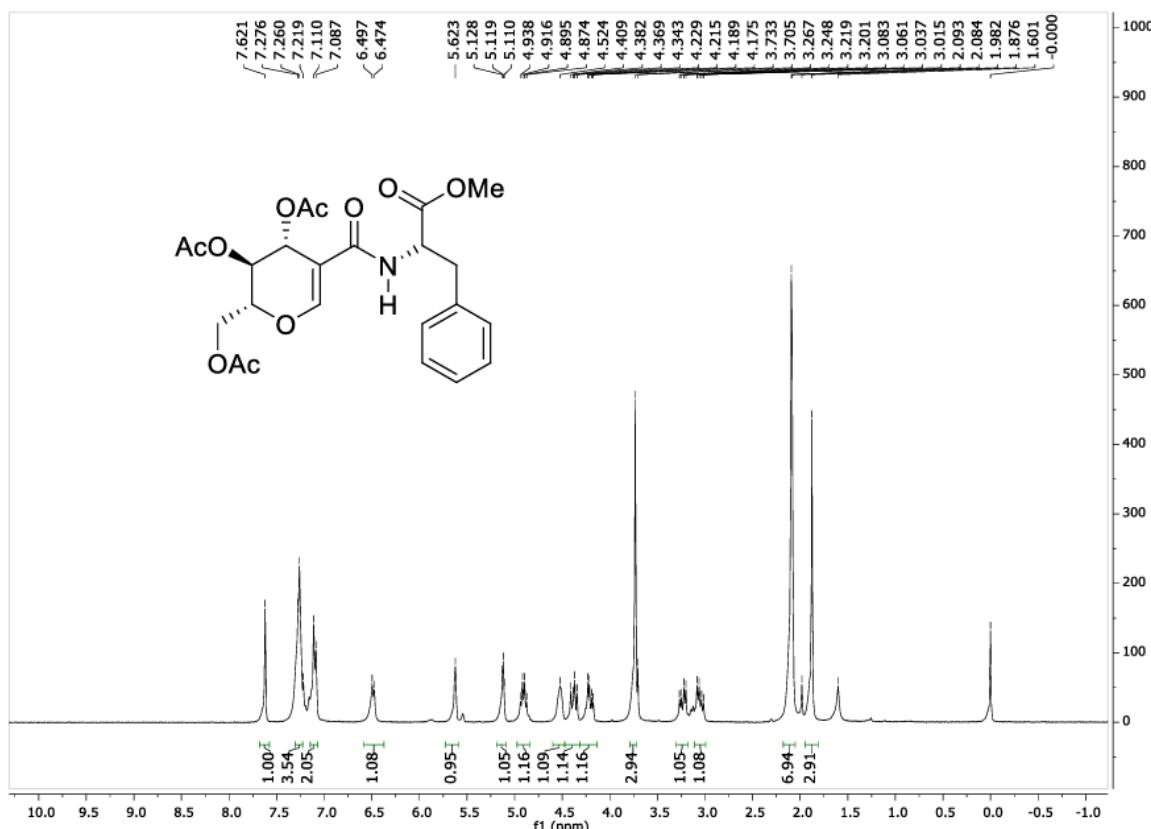
A reação com o éster da L-prolina, que contém uma cadeia lateral cíclica, teve rendimento de 61%, enquanto as reações com ésteres de aminoácidos que contêm anéis aromáticos em suas cadeias laterais, como L-fenilalanina e L-triptofano tiveram rendimentos excelentes, de 91% e 89%, respectivamente. Para a reação com éster de L-ácido glutâmico, o produto foi obtido com rendimento baixo, de apenas 37%.

Referente à reação com ésteres de aminoácidos que contêm enxofre na cadeia lateral, para a L-metionina houve rendimento de 71% do produto desejado, enquanto para a L-cisteína, houve um rendimento de apenas 10%, onde o produto obtido foi resultado de um duplo acoplamento carbonilativo, o que era esperado, devido à nucleofilicidade do grupo tiol. Além da L-cisteína, o éster da L-lisina também formou o produto do duplo acoplamento carbonilativo, devido à amina livre presente na cadeia lateral, com rendimento de apenas 35%.

Com o objetivo de obter produtos mais complexos, tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal foi reagido com o éster de um dipeptídeo (Gly-Leu), obtendo rendimento de 51%.

Abaixo segue um exemplo de RMN ^1H da amida glucal de tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal com éster de L-Fenilalanina (Figura 11). É possível observar os picos entre 7,2 e 6,5 ppm que correspondem aos hidrogênios aromáticos do anel benzênico da fenilalanina. Há também um pico entre 7,5 e 8,0 ppm que corresponde ao hidrogênio vinílico. A presença destes picos é um ótimo indicativo de que a reação ocorreu, juntando o glucal com o éster de aminoácido.

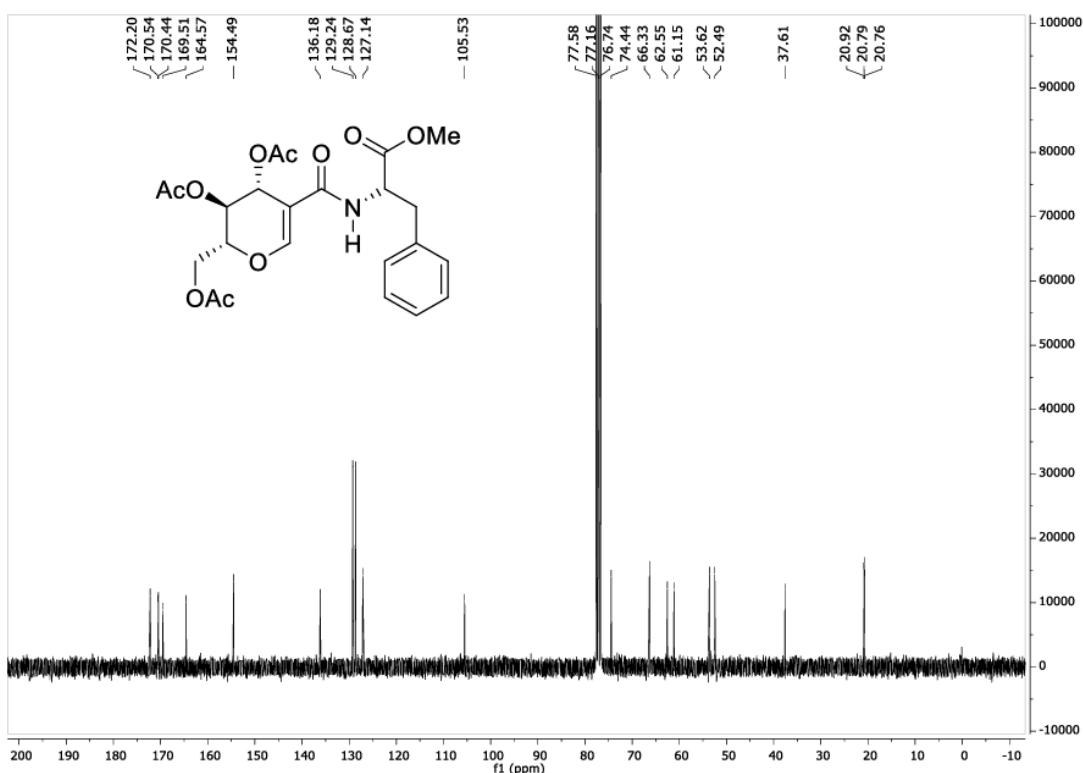
Figura 11: RMN ^1H da amida glucal de tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal com éster de fenilalanina.



Fonte: DE JESUS, 2022.

Já no RMN ^{13}C (Figura 12) é possível observar as carbonilas dos grupos acetil entre 165 e 175 ppm e os carbonos CH₃ dos grupos acetil entre 20 e 21 ppm. Além disso, é possível observar os carbonos aromáticos entre 120 e 130 ppm.

Figura 12: RMN ^{13}C da amida glucal de tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal com éster de fenilalanina.

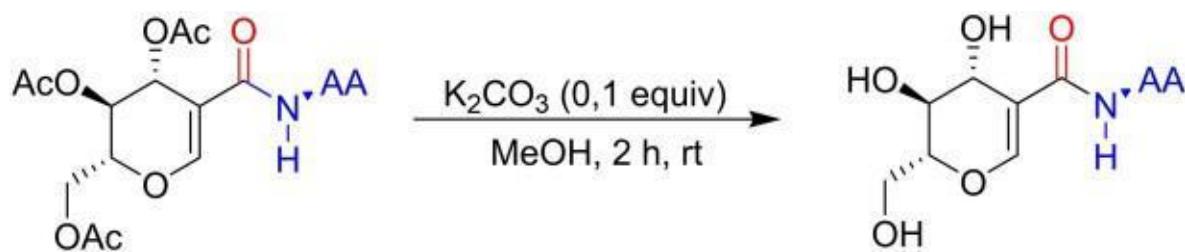


Fonte: DE JESUS, 2022.

5.5. AMIDAS GLUCAIS DESACETILADAS

A reação de desacetilação das amidas glucais foi realizada utilizando K_2CO_3 e MeOH por 2 horas à temperatura ambiente para a retirada dos grupos protetores. Esta reação foi realizada para a produção de apenas 3 exemplos: amidas glucais de tri-O-acetyl-2-iodo-D-glucal com L-Fenilalanina, L-Triptofano e Glicina.

Figura 13. Modelo da reação de desacetilação das amidas glucais protegidas.



Fonte: DE JESUS, 2022

6. CONCLUSÕES

Em resumo, foi desenvolvida uma reação de acoplamento carbonilativo catalisada por paládio entre açúcares iodados e ésteres de aminoácidos ou peptídeos. A reação se mostrou versátil, sendo possível realizá-la utilizando diferentes açúcares iodados com diferentes grupos protetores, bem como diferentes aminoácidos, de cadeias laterais grandes, pequenas, polares, apolares, com anéis aromáticos e com outras porções nucleofílicas, permitindo duplo acoplamento.

Além disso, foi demonstrada também a possibilidade da desproteção dos açúcares nas amidas glucais com altos rendimentos, alterando drasticamente a polaridade das moléculas com uma reação simples, rápida e de condições brandas.

Os produtos obtidos tiveram um rendimento médio de 57%, sendo que os maiores rendimentos foram obtidos para glucais acetilados com ésteres de aminoácidos que contêm anéis aromáticos em suas cadeias laterais.

REFERÊNCIAS

COLE, A.S.; EASTOE, J.E. *The Journal of Organic Chemistry*. 2. ed. [S. l.: s. n.], 1988. DOI <https://doi.org/10.1016/C2013-0-06495-X>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780723617518/biochemistry-and-oral-biology#book-description>. Acesso em: 7 out. 2024.

DE JESUS, J.C. et al. **Synthesis of Glycal Amides from Amino Acid Esters by Carbonylative Coupling Reaction**. *European Journal of Organic Chemistry*, [s. l.], 12 ago. 2022. DOI doi.org/10.1002/ejoc.202200332. Disponível em: <https://chemistryeurope.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejoc.202200332>. Acesso em: 22 set. 2024.

DHARUMAN, S.; VANKAR, Y. D. **Halosuccinimide/AgNO₃-Efficient Reagent Systems for One-Step Synthesis of 2-Haloglycals from Glycals: Application in the Synthesis of 2C-Branched Sugars via Heck Coupling Reactions**. *Organic Letters*, [s. l.], v. 16, p. 1172–1175, 2014. DOI doi.org/10.1021/ol500039s. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ol500039s>. Acesso em: 7 out. 2024.

FLORENT, Jean-Claude; UGHETTO-MONFRIN, Joël; MONNERET, Claude. **Synthesis of aminoglycal derivatives, precursors of glycosidic moieties of antitumor anthracyclines**. *Carbohydrate Research*, [s. l.], v. 181, p. 253-261, 1988. DOI [doi.org/10.1016/0008-6215\(88\)84044-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(88)84044-8). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0008621588840448>. Acesso em: 7 out. 2024.

HANESSIAN, S. **Reflections on the total synthesis of natural products: Art, craft, logic, and the chiron approach**. *Pure and Applied Chemistry*, [s. l.], v. 65, p. 1189-1204, 1993. DOI doi.org/10.1351/pac199365061189. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac199365061189/html>. Acesso em: 7 out. 2024

HUGHES, Andrew B. **Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry: Origins and Synthesis of Amino Acids.** [S. l.]: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 9783527320967.

LAI, E. C. K.; WITHERS, S. G. **Stereochemistry and kinetics of the hydration of 2-acetamido-D-glucal by beta-N-acetylhexosaminidases.** Biochemistry, [s. l.], v. 33, p. 14743-14749, 1994. DOI 10.1021/bi00253a012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7993902/>. Acesso em: 7 out. 2024.

SKOGH, Anna; FRANSSON, Rebecca; SKÖLD, Christian; LARHED, Mats; SANDSTRÖM, Anja. **Aminocarbonylation of 4-Iodo-1H-imidazoles with an Amino Acid Amide Nucleophile: Synthesis of Constrained H-Phe-Phe-NH2 Analogues.** The Journal of Organic Chemistry, [s. l.], v. 78, ed. 23, p. 12251-12256, 2013. DOI doi.org/10.1021/jo4020613. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo4020613>. Acesso em: 7 out. 2024.

TRUMBO, Paula; SCHLICKER, Sandra; A YATES, Allison; POOS, Mary. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids.** Journal of the American Dietetic Association, [s. l.], 2002. DOI 10.1016/s0002-8223(02)90346-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12449285/>. Acesso em: 7 out. 2024.

VOGEL, Emily R.; JACKSON, William; MASTERTON, Douglas S. **Efficient Esterification of Oxidized L-Glutathione and Other Small Peptides.** Molecules, [s. l.], v. 20, p. 10487-10495, 2015. DOI doi.org/10.3390/molecules200610487. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/6/10487>. Acesso em: 7 out. 2024.

WANG, Zerong. **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents.** [S. l.]: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 978-0-471-70450-8.

Documento assinado digitalmente
 HENRIQUE KENICHI NOGUCHI
Data: 16/10/2024 15:38:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Data e assinatura do aluno(a)

Documento assinado digitalmente
 HELIO ALEXANDRE STEFANI
Data: 17/10/2024 15:57:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Data e assinatura do orientador(a)