

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HERBERT MARTINS CARDOZO

**SÍNTESE DE DERIVADOS DE CARBOIDRATOS FUNDAMENTADA NOS
PRECEITOS DA QUÍMICA VERDE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para
a obtenção do grau de Mestre em Química

Prof. Dr. Gustavo Pozza Silveira
Orientador

Porto alegre, Março de 2016

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (setembro/2013) e (março/2016), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Gustavo Pozza Silveira. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtke

Prof. Dr. José Eduardo Damas Martins

Prof. Dr. Marcus Mandolesi Sá

Prof. Dr. Gustavo Pozza Silveira

Herbert Martins Cardozo

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, primeiramente, à UFRGS e ao Instituto de Química pela oportunidade de realizar esse mestrado em seus laboratórios. À CAPES pelo auxílio financeiro.

Agradeço à todas as pessoas que me apoiaram nesses dois anos e meio, principalmente nos últimos seis meses, os quais foram os mais difíceis de superar. A todos os amigos e familiares que me suportaram e me ajudaram a seguir em frente.

Agradeço ao professor Gustavo Pozza pela oportunidade, orientação, paciência e compreensão durante todo esse tempo.

À minha família, Sônia Mara, José Cardozo, Lucia, Gilda, Nathália e Thiago pela força, apoio e pelas palavras de incentivo nos momentos mais difíceis. Aos amigos Dede, Fifo, Gus, Supimpa, Jess, Mari, Vizi, Mei, Tasí, Bonato, Mendel e Feron pelas horas de descontração e pelo apoio incondicional.

Aos colegas de laboratório, Fran, Carol, Shirley e Filipe, assim como todos os ICs que passaram pelo K-210 e E-213 pela companhia e conversas durante as jornadas de trabalho. Aos colegas Vini e Gi, que começaram como colegas e terminaram como grandes amigos, por mais do que eu posso botar em palavras. E aos colegas de corredor, sempre presentes para um café e uma conversa.

E gostaria de finalmente agradecer, por motivos muito pessoais, ao Papa Francisco que, por mais que eu não seja religioso, me tocou com suas palavras motivacionais em um momento de grande provação em minha vida.

LISTA DE TRABALHOS GERADOS A PARTIR DOS RESULTADOS

Cardozo, H. M.; Ribeiro, T. F.; Sá, M. M.; Sebrão, D.; Nascimento, M. G.; Silveira, G. P. Molecular Sieves Mediated Green Per-*O*-Acetylation of Carbohydrate Templates and Lipase Catalyzed Regioselective Alcoholysis of 2,3,5-Tri-*O*-Acetyl-D-Ribonolactone *J. Braz. Chem. Soc.*, **2015**, 26, 755.

Silveira, G. P.; Cardozo, H. M.; Rossa, T. A.; Sá, M. M. D-Ribonolactone, A Versatile Synthetic Precursor of Biologically Relevant Scaffolds *Curr. Org. Synth.*, **2015**, 12, 584.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
ABREVIATURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1 Carboidratos	4
2.1.1 D-Ribonolactona	6
2.2 Proteção de grupos funcionais	10
2.2.1 Acilação	12
2.3 Peneiras moleculares, zeólitas e catálise heterogênea	13
2.4 Enzimas.....	15
2.5 Química Verde.....	17
3. Objetivos.....	20
3.1 Objetivos Gerais	20
3.2 Objetivos Específicos	20
4. Procedimento Experimental	21
4.1 Per- <i>O</i> -acetilações utilizando piridina.....	21
4.1.1 Procedimento Geral para todos os carboidratos utilizando-se piridina.....	21
4.2 Acetilações utilizando peneira molecular 13X/KCl.....	22
4.2.1 Preparação da Peneira Molecular 13X/KCl	22
4.3 Reciclabilidade da Peneira Molecular 13X/KCl.....	25
4.4 Desproteção regioseletiva de 2,3-di- <i>O</i> -acetil-D-ribonolactona (46) utilizando CAL-B	25
4.5 Oxidação da D-ribose	26
4.5.1 Bromo molecular.....	26
4.5.2 Sais de bromo	26
4.5.3 <i>N</i> -Bromosuccinimida	27

5. Resultados e Discussão.....	28
5.1 Acetilação de carboidratos.....	28
5.1.1 Acetilação de D-ribonolactona utilizando piridina.....	28
5.1.2 Prospecção de peneiras moleculares	29
5.1.3 Acetilação da D-ribonolactona utilizando-se peneira molecular 13X/KCl	31
5.1.4 Acetilação de derivados protegidos de D-ribonolactona	32
5.1.5 Acetilação de carboidratos naturais.....	33
5.2 Tratamento reacional	37
5.3 Reciclabilidade da peneira molecular	37
5.4 Desproteção regioseletiva por catálise enzimática	38
5.4.1 Reciclabilidade de enzimas na reação de desproteção seletiva.....	41
5.5 Oxidação de carboidratos.....	42
5.5.1 Sais de bromo	42
5.5.2 Oxidação da D-Ribose (8) utilizando <i>N</i> -bromosuccinimida	43
5.6 Escalonamento	46
5.6.1 Síntese da 2,3-di- <i>O</i> -acetil-D-ribonolactona (46) a partir da D-ribose (8).....	46
CONCLUSÃO.....	48
REFERENCIAS	50
ANEXOS	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cana-de-açúcar, mel e beterraba, fontes de carboidratos.....	4
Figura 2. Glicose (1), um monossacarídeo. Sacarose (2), dissacarídeo composto por uma unidade de glicose e uma unidade de frutose.	5
Figura 3. Nucleosídeo derivado da D-ribonolactona com atividade inibitória ao agente da doença de chagas.	5
Figura 4. Exemplos de carboidratos de grande interesse como blocos de construção na síntese orgânica.....	6
Figura 5. D-ribonolactona.	7
Figura 6. Exemplos de derivados de D-ribonolactona de interesse medicinal.	9
Figura 7. Carvão ativado, sílica gel, peneiras moleculares (beads).....	13
Figura 8. Representação da estrutura básica de uma peneira molecular.	14
Figura 9. Placa de CCD das acetilações com PM (AcOEt/hexano 1:1).....	30
Figura 10. Alcolise catalisada por CAL-B da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-D-ribonolactona (40 , RMN ¹ H, CDCl ₃ , 300 MHz).....	41
Figura 11. Espectro de infravermelho da D-ribonolactona obtida pela reação de oxidação com sais de bromo.	43
Figura 12. Espectros de infravermelho de D-ribonolactona (9), Succinimida (49) e reação de 8 com NBS.	45
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) do bruto da reação de oxidação com NBS.	46
Figura 14. Espectro de RMN ¹ H da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-D-ribonolactona (40) (CDCl ₃ , 400MHz).....	55
Figura 15. Espectro de RMN ¹³ C da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-D-ribonolactona (40) (CDCl ₃ , 100MHz).....	56
Figura 16. Espectro de RMN ¹ H da 2,3- <i>O</i> -isopropilideno-5-acetil-D-ribonolactona (43) (CDCl ₃ , 400MHz).....	57
Figura 17. Espectro de RMN ¹³ C da 2,3- <i>O</i> -isopropilideno-5-acetil-D-ribonolactona (43) (CDCl ₃ , 100MHz).....	58
Figura 18. Espectro de RMN ¹ H da 2-acetil-3,4- <i>O</i> -benzilideno-D-ribonolactona (44) (CDCl ₃ , 400MHz).....	59

Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C da 2-acetil-3,4- <i>O</i> -benzilideno-D-ribonolactona (44) (CDCl ₃ , 100MHz).....	60
Figura 20. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-glicopiranosose (50) (CDCl ₃ , 400MHz).....	61
Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-glicopiranosose (50) (CDCl ₃ , 100MHz).....	62
Figura 22. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-galactopiranosose (51) (CDCl ₃ , 400MHz).....	63
Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-galactopiranosose (51) (CDCl ₃ , 100MHz).....	64
Figura 24. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-manopiranosose (52) (CDCl ₃ , 400MHz).....	65
Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-manopiranosose (52) (CDCl ₃ , 100MHz).....	66
Figura 26. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-xilopiranosose (53) (CDCl ₃ , 400MHz).....	67
Figura 27. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- α/β -D-xilopiranosose (53) (CDCl ₃ , 100MHz).....	68
Figura 28. Espectro de RMN ^1H da per- <i>O</i> -acetil- β -D-ribofuranose (54) e da per- <i>O</i> -acetil- β -D-ribopiranosose (55) (CDCl ₃ , 400 MHz).	69
Figura 29. Espectro de RMN ^1H da 2,3- <i>O</i> -diacetil-D-ribonolactona (46) (CDCl ₃ , 400 MHz).....	70
Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C da 2,3- <i>O</i> -diacetil-D-ribonolactona (46) (CDCl ₃ , 100 MHz).....	71

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Preparação da D-ribonolactona (9) pela oxidação da D-ribose (8) e derivados.....	8
Esquema 2. Síntese em duas etapas do derivado de D-ribonolactona 19 por acoplamento aldol de Mukaiyama seguido de ciclização.	9
Esquema 3. Benzilação e debenzilação de metil alfa-D-glucopiranosose 26	10
Esquema 4. Proteção e desproteção seletiva de derivados de glicose com formação de benzilideno acetal.	11
Esquema 5. Per- <i>O</i> -acetilação da glicose utilizando-se piridina como catalisador/solvente, seguida de desproteção não seletiva.	11
Esquema 6. Acetilação de nucleosídeos com peneira molecular.	15
Esquema 7. Desproteção seletiva de derivados acetilados de carboidratos utilizando-se enzimas.	16
Esquema 8. Desproteção seletiva de derivados acetilados de nucleosídeos na presença de CAL-B e ausência de tampão.	17
Esquema 9. Mecanismo de acetilação catalisada por piridina.....	28
Esquema 10. Acetilação de nucleosídeos utilizando PM 13X/KCl.....	29
Esquema 11. Mecanismo da migração 1,2-acil.	30
Esquema 12. Esquema geral para acetilação de derivados de carboidratos.	34
Esquema 13. Oxidação de álcoois por geração <i>in situ</i> de bromo molecular com sais de bromo.....	42
Esquema 14. Reação de oxidação da D-ribose utilizando sais de bromo.....	43
Esquema 15. Decomposição da <i>N</i> -bromosuccinimida (48).....	44
Esquema 16. Síntese em três etapas de 46 a partir de 8	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados preliminares dos testes com diferentes peneiras moleculares.	29
Tabela 2. Resultados para acetilação da D-ribonolactona (9) com PM.	32
Tabela 3. Acetilação dos derivados 41 e 42 de D-ribonolactona.	33
Tabela 4. Per- <i>O</i> -acetilação de carboidratos naturais. ^a	36
Tabela 5. Rendimentos das reações de acetilação de D-ribonolactona (9) no teste de reciclabilidade.....	38
Tabela 6. Otimização da quantidade de CAL-B na etanólise de 40 em 6 h. ^a	39
Tabela 7. Consumo de 40 (%) através da solvólise em cada álcool utilizado na obtenção de 46	40

ABREVIATURAS

13X MS: Peneira Molecular 13X

13X/KCl: Peneira Molecular 13X com íons Na⁺ trocados por K⁺.

2-BuOH: 2-butanol

4A1000: Peneira Molecular 4Å modificada à 1000 °C

Ac: Acetil

Ac₂O: Anidrido Acético

ACN: Acetonitrila

AcOEt: Acetato de Etila

Bn: Benzila

CAL-B: *Candida Antarctica* lipase B

d: Dublete

dd: Duplo dublete

DMAP: Dimetil amino piridina

DMF: Dimetil formamida

EMAR-IES: Espectômetro de Massas de Alta Resolução- Ionizador Eletrospray

EtOH: Etanol

i-PrOH: Isopropanol

IV (FTIR): Infravermelho

J: Constante de acoplamento

MeOH: Metanol

NBS: *N*-Bromosuccinimida

n-BuOH: *n*-butanol

PM: Peneira molecular

RMN ¹H: Ressonância magnética nuclear de próton

RMN ¹³C: Ressonância magnética nuclear de carbono

t: triplete

Tf: Triflato

TFA: Ácido trifluoroacético

δ: deslocamento químico

RESUMO

Este trabalho apresenta a per-*O*-acetilação de carboidratos e derivados de carboidratos através da utilização de catálise heterogênea com peneira molecular em uma reação sem solvente, baseada nos princípios da Química Verde. A utilização da peneira molecular 13X/KCl como catalisador se mostrou mais eficaz do que o método convencional que emprega excesso de piridina como solvente e DMAP como catalisador, levando à obtenção do produto após 3 horas à 25 °C ou 1 hora à 50 °C. A reação pode ser realizada em escala multigrama em balão aberto. O catalisador é facilmente removido do meio reacional por filtração e reutilizado sem perda significativa da atividade por, no mínimo, quatro ciclos. Esta metodologia verde para acetilação foi aplicada à D-ribonolactona e derivados, assim como carboidratos naturais. Adicionalmente, apresenta-se a reação de desproteção regioseletiva por etanólise enzimática da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona, catalisada pela *Candida Antarctica* lipase B. Estudou-se também duas novas metodologias, baseadas nos princípios da Química Verde, para a obtenção da D-ribonolactona através da oxidação da D-ribose utilizando geração *in situ* de bromo molecular, a partir de sais de bromo e *N*-bromosuccinimida.

ABSTRACT

The present work studies the reaction of per-*O*-acetylation of carbohydrate derivatives with molecular sieves as heterogeneous catalysts under solvent-free conditions, based on the principles of Green Chemistry. The use of 13X/KCl molecular sieves was found to be more efficient than the excess of pyridine coupled with DMAP normally employed in the conventional method, giving high yields of the expected peracetylated product after 3 hours at 25 °C or 1 hour at 50 °C. The reaction can be carried out in gram scale and open flask. The catalyst is readily separated from the medium by filtration and can be reutilized without significant loss of activity. This green procedure for acetylation was extended to D-ribonolactone derivatives and natural carbohydrates. Additionally, the regioselective alcoholysis of acetyl groups catalyzed by *Candida Antarctica* lipase B in EtOH is shown as part of the studies of the research group. We also studied two new methodologies for the obtention of D-ribonolactone through D-ribose oxidation by in situ generation of molecular bromine, from bromine salts and *N*-bromosuccinimide.

1. Introdução

Carboidratos são considerados blocos de construção atraentes em síntese assimétrica não apenas por possuírem diversos grupos funcionais e centros estereogênicos suscetíveis à diversas transformações mas também por sua disponibilidade e baixo custo de produção à partir de matéria prima renovável.¹ Mesmo assim, um dos principais problemas associados ao uso de açúcares naturais na síntese de compostos mais elaborados é a possível coexistência de diferentes isômeros em solução, incluindo as formas cíclicas α - e β - lactol e estruturas de abertura de anel.² Por outro lado, a oxidação do centro anomérico em pentoses e hexoses leva à lactona correspondente em uma estratégia elegante para resolver o problema de lidar com diferentes isômeros em solução. Assim, D-ribose pode ser oxidada por uma variedade de métodos³⁻⁵ para produzir D-ribono-1,4-lactona, a qual vem sendo utilizada como um bloco de construção^{6,7} na síntese de diversos produtos naturais⁸⁻¹⁰ assim como compostos relevantes à química medicinal e à biologia química, incluindo nucleotídeos e C-ribonucleosídeos como antivirais.¹¹⁻¹³

O inconveniente relacionado à utilização de carboidratos como blocos de construção é a presença de diferentes grupos hidroxila de reatividade similar, o que frequentemente requer a aplicação de protocolos de proteção e desproteção.¹⁴ Per-*O*-acilação de carboidratos é uma abordagem comum a este problema.¹⁵⁻¹⁷ De fato, açúcares totalmente acilados são intermediários comuns na síntese de diversos glicosídeos naturais, oligossacarídeos e glicoconjugados. Piridina é largamente utilizada como catalisador em reações de acilação. Entretanto, a exposição prolongada a este reagente pode causar câncer e infertilidade em homens.¹⁸ Trietilamina em combinação com 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) e acetonitrila (ACN) é uma alternativa importante ao uso de piridina na per-*O*-acilação.¹⁹ Mesmo assim, a necessidade da utilização desses reagentes em excesso gera maiores preocupações econômicas e ambientais, além de demandarem tratamento aquoso. Portanto, novas metodologias sintéticas precisam ser desenvolvidas visando diminuir o uso de piridina e seus derivados em síntese orgânica.

Catálise heterogênea está sendo adotada como uma metodologia alternativa para a acilação devido a maiores vantagens relacionadas a seu uso, incluindo separação simples do catalisador heterogêneo do recipiente reacional por filtração no final do processo, podendo ser empregado novamente em uma nova batelada da reação com mínima purificação/reativação, ou até sem tal necessidade, representando ganho econômico e ambiental. Portanto, peneiras moleculares (PM), as quais possuem diversos sítios catalíticos no interior de suas estruturas,²⁰ vêm sendo empregadas com sucesso na acilação de carboidratos,¹⁵ nucleosídeos,²¹ álcoois e fenóis.^{22,23} O caráter básico apresentado por algumas PM é geralmente associado à existência de átomos de oxigênio carregados negativamente, ligados covalentemente à átomos de silício e alumínio.²⁴

Lipase B, obtida da *Candida Antarctica* (CAL-B) é uma enzima largamente utilizada em transformações biocatalisadas, exibindo alto grau de seletividade, possuindo ainda potencial para uso em reações de hidrólise e alcólise²⁵ envolvendo derivados de carboidratos acilados²⁶⁻²⁸ e nucleosídeos.^{29,30} Assim como as PM, estes biocatalisadores heterogêneos podem ser facilmente separados do meio reacional e reutilizados por vários ciclos.

D-Ribonolactona é obtida primariamente a partir da oxidação da D-ribose utilizando-se reagentes nocivos ao ser humano e ao meio ambiente, como o bromo molecular, ou catalisadores metálicos, como paládio.⁵ Portanto, há a necessidade de se desenvolver novas metodologias, de caráter verde, para a obtenção da D-ribonolactona de forma prática e economicamente viável. A oxidação de álcoois a partir de sais de bromo como o NaBr e o NaBrO₃ vem se mostrando promissora como alternativa na utilização de bromo molecular. Ao mesmo tempo, a utilização de *N*-bromosuccinimida como agente oxidante em álcoois e fenóis apresenta vantagens como o manuseio do reagente, condições brandas de reação e fácil separação do subproduto do meio reacional.³¹

Como parte do interesse de nosso grupo de pesquisa em desenvolver metodologias sintéticas para evitar a utilização de protocolos de proteção e desproteção de derivados de carboidratos,¹⁴ aliada ao desenvolvimento de transformações químicas que não requeiram reagentes nocivos ou técnicas complexas de purificação e assim evitar a geração de resíduos tóxicos,^{22,32} o presente trabalho visa trazer uma metodologia

livre de solvente e sem utilização de piridina para a per-*O*-acetilação da D-ribonolactona e um grupo representativo de pentoses e hexoses, através das reação com anidrido acético catalisada por PM. Desenvolvemos também uma metodologia de alcolise regioseletiva do derivado 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona catalizada por CAL-B na obtenção seletiva de 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona e a preparação da D-ribonolactona através da oxidação da D-ribose sem a utilização de bromo molecular.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Carboidratos

Açúcares são conhecidos pela humanidade desde tempos pré-históricos, com pinturas da era da pedra que mostravam situações comuns à época como a colheita do mel (composto principalmente de glicose, frutose e sacarose), e hieróglifos egípcios antigos demonstrando seu processamento. Também, o uso de mel (Figura 1) na Índia é reportado nos mais antigos manuscritos, assim como referências bíblicas descrevem a Palestina como uma terra onde havia larga utilização de mel e leite, na época do Velho Testamento. O cultivo da cana-de-açúcar e o uso da sacarose como agente adoçante parece ter se espalhado pelo nordeste da Índia, onde o plantio se estabeleceu por volta de 300 d.C até a China e Egito. Refinarias de açúcar a partir da cana-de-açúcar se tornaram comuns em países em desenvolvimento e, no final do século 18, a beterraba se estabeleceu na Europa como fonte de açúcar, enquanto a cana-de-açúcar permaneceu exclusiva de regiões tropicais e semi-tropicais.



Figura 1. Cana-de-açúcar, mel e beterraba, fontes de carboidratos.

O termo carboidrato abrange um grupo bem definido de substâncias orgânicas composto por poli-hidróxi-aldeídos e poli-hidróxi-cetonas alifáticas, além de compostos obtidos a partir destes pela redução do grupo carbonila ou pela oxidação de um ou mais grupos terminais para formar ácidos carboxílicos (Figura 2). Eles podem ser separados em dois grupos: monossacarídeos, que não podem ser divididos em unidades menores pelo tratamento com soluções ácidas e sacarídeos complexos (oligossacarídeos e polissacarídeos), formados por dois ou mais monossacarídeos unidos por uma ligação acetal (glicosídica) que podem ser separados por hidrólise.

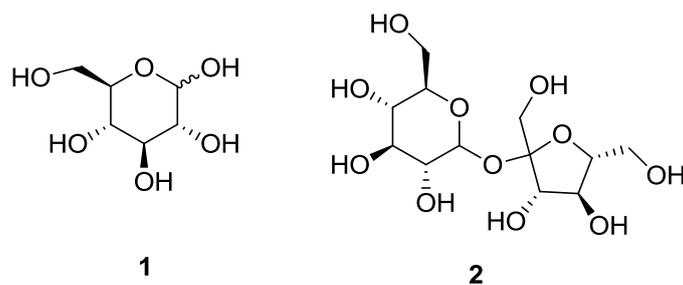


Figura 2. Glicose (1), um monossacarídeo. Sacarose (2), dissacarídeo composto por uma unidade de glicose e uma unidade de frutose.

Outrora considerados como moléculas de baixo interesse nos estudos de química, os carboidratos hoje são vistos como uma poderosa ferramenta na síntese orgânica, largamente estudados e utilizados como blocos de construção em diversas áreas da química, como a síntese de compostos bioativos,³³ com atividade antiviral,³⁴ antineoplásica,³⁵ e antibacteriana.³⁶ Esses derivados mostraram-se eficazes também na inibição de enzimas essenciais ao metabolismo de parasitas responsáveis pela propagação de doenças, como a doença de Chagas (Figura 3).¹⁴ Devido à presença de diversos centros estereogênicos, os carboidratos vem sendo alvos de um crescente estudo em síntese assimétrica. Além disso, seu baixo custo de produção, abundância e facilidade com a qual são obtidos com alto grau de pureza fazem destes matérias primas de alto interesse. Alguns carboidratos de baixa massa molecular como maltose, lactose e glicose (Figura 4) podem ser obtidos comercialmente com alta pureza em grandes quantidades. Devido à presença de diversos grupos hidroxil, carboidratos são altamente solúveis em água, considerado o melhor solvente a ser utilizado em reações, segundo os preceitos da Química Verde.³⁷

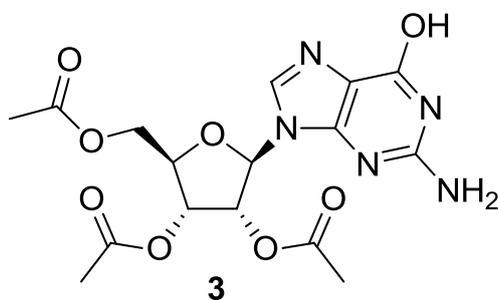


Figura 3. Nucleosídeo derivado da D-ribonolactona com atividade inibitória ao agente da doença de chagas.

Existem diversos obstáculos na utilização de carboidratos na síntese orgânica, como sua limitada solubilidade na maiorias dos solventes não polares próticos, o que diminui o espectro de transformações que podem ser realizadas. A maiorias das reações de oxidação, por exemplo, não são possíveis em solventes próticos. A presença de muitos grupos funcionais, e na grande parte das vezes redundante (muitas hidroxilas) também se mostra uma desvantagem. A maioria dos carbonos no anel são assímétricos e possuem reatividade semelhantes, dificultando a seletividade nas reações. Portanto, diferenças de reatividade dos vários grupos hidroxila necessitam ser consideradas. A presença de diversos grupos funcionais também pode levar a processos indesejados como a isomerização por rearranjo, expansão e contração de anel (piranoses e furanoses) e migração de grupos funcionais. Muito comumente é necessário empregar uma série de protocolos de proteção e desproteção dos grupos funcionais para controlar processos indesejados.³⁷

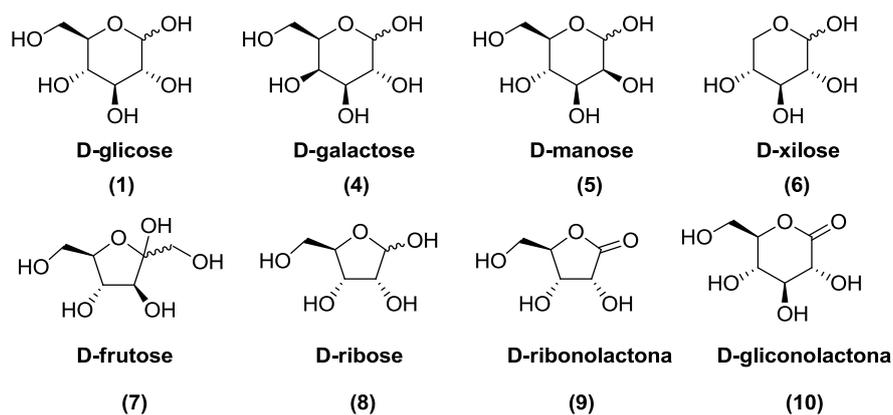


Figura 4. Exemplos de carboidratos de grande interesse como blocos de construção na síntese orgânica.

2.1.1 D-Ribonolactona

Uma das formas de diminuir a problemática com protocolos de proteção e desproteção na utilização de carboidratos em síntese orgânica é obter o centro anomérico em um estado maior de oxidação, controlando assim o número de tautômeros em equilíbrio.³⁸ D-ribonolactona (9), ou D-ribono- γ -lactona é uma aldolactona comercialmente disponível derivada da D-ribose, onde o carbono anomérico se encontra em um estado maior de oxidação (Figura 5).

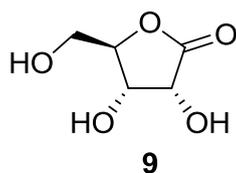


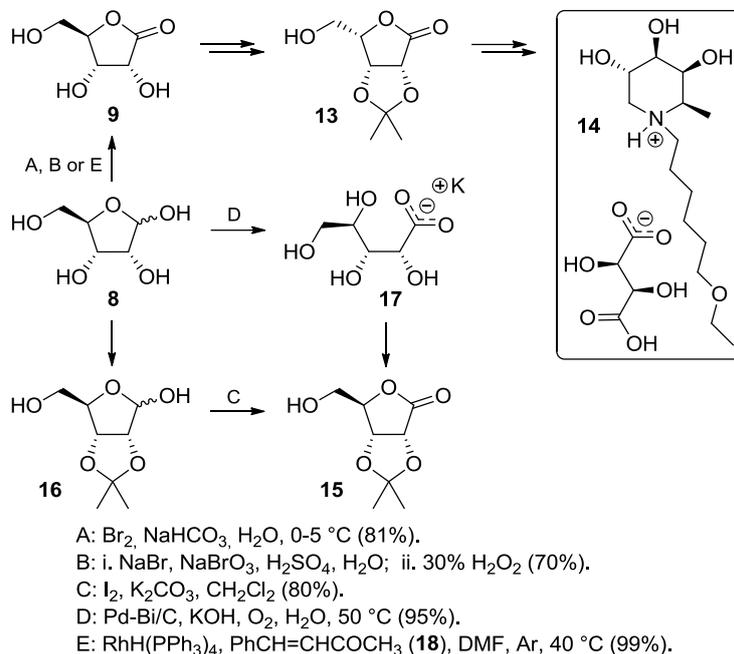
Figura 5. D-ribonolactona.

Embora algumas metodologias para a preparação da D-ribonolactona (**9**) e seus derivados tenham sido reportadas, elas ainda necessitam de melhorias no que concerne à toxicidade dos reagentes e a utilização de catalisadores metálicos caros na síntese em grande escala. A metodologia mais utilizada na obtenção da D-ribonolactona (**9**) consiste na oxidação do centro anomérico da D-ribose (**8**) utilizando bromo molecular (Br_2).^{3,4} Por exemplo, a síntese em escala de quilograma da isopropilideno L-lixonolactona (**13**), precursor do análogo azaçucar da deoxynojirimycin (**14**), partiu da oxidação da D-ribose (**8**) em D-ribonolactona (**9**) com Br_2 (Esquema 1, método A). Entretanto, o uso de Br_2 apresenta muitas desvantagens devido ao caráter perigoso, alta toxicidade e restrições regulamentares. Para resolver os problemas relacionados ao uso de Br_2 , foi desenvolvida uma metodologia, pelo nosso grupo de pesquisa, de geração *in situ* de quantidades catalíticas de bromo molecular através da combinação de NaBr e NaBrO_3 na presença de H_2SO_4 , seguida da adição de 30% H_2O_2 (Esquema 1, método B).³⁹

O uso de iodo molecular como oxidante, que é menos tóxico e mais facilmente manipulável do que bromo molecular, pode ser vantajoso. De fato, a oxidação de uma série de derivados de carboidratos foi recentemente demonstrada.⁴⁰ Embora a preparação de D-ribonolactona (**8**) não tenha sido reportada, seu acetonídeo **15** foi obtida através da oxidação do lactol correspondente **16** utilizando I_2 seguido da neutralização do excesso de oxidante empregado (3 equiv) com uma solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Esquema 1, método C). Entretanto, o tratamento aquoso necessário levou à uma perda de massa e rendimentos reduzidos devido à alta solubilidade do derivado **15** em água e, simultaneamente, sua baixa solubilidade em acetato de etila, solvente utilizado na extração do mesmo.

Um método para oxidação de D-ribose (**8**) catalisada por paládio foi desenvolvida recentemente, porém neste caso a D-ribonolactona (**9**) foi isolada como seu sal D-ribonato **17**, que foi subseqüentemente ciclizado ao acetonídeo **15**, na obtenção da L-lixose.⁵ Os autores reportaram que o uso de catalisadores bimetálicos de

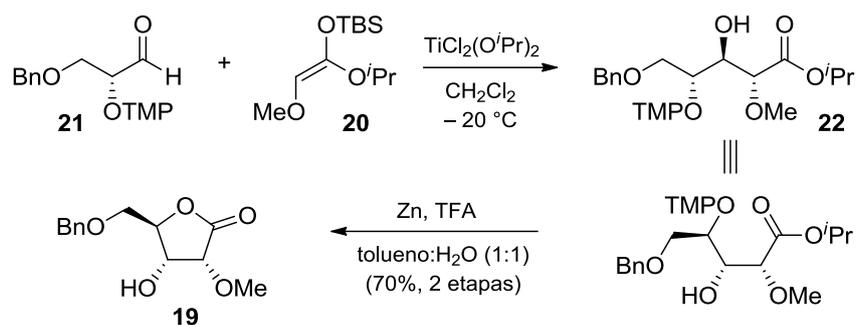
paládio-bismuto são mais resistentes ao envenenamento e podem ser reutilizados (Esquema 1, método D)



Esquema 1. Preparação da D-ribonolactona (**9**) pela oxidação da D-ribose (**8**) e derivados.

Numa abordagem diferente, a síntese de D-ribonolactona (**9**) por transferência de hidreto a partir da D-ribose (**8**) para benzalacetona **19** usando quantidades catalíticas de RhH(PPh₃)₄ resultou numa mistura quantitativa equimolar de D-ribonolactona (**9**) e a cetona saturada correspondente (4-fenil-2-butanona).⁴¹ Após purificação por cromatografia em coluna flash, **9** foi obtida quantitativamente (Esquema 1, método E)

MacMillan e colaboradores apresentaram uma nova estratégia na preparação de uma variedade de D-pentonolactonas, como **19**, baseado na reação de Mukaiyama mediada por titânio (IV) entre um silil ceteno acetal **20** com α,β -dioxialdeído **21**, que pode ser obtido pela α -oxidação enantiosseletiva de álcoois.^{42,43} Subsequente ciclização do β -hidróxiéster **22** usando uma combinação de zinco metálico e ácido trifluoroacético resultaram em pentonolactonas como a 2-O-metil-2-O-benzil D-ribonolactona (**19**, Esquema 2).



Esquema 2. Síntese em duas etapas do derivado de D-ribonolactona **19** por acoplamento aldol de Mukaiyama seguido de ciclização.

D-Ribonolactona vem sendo utilizada como bloco de construção quiral na síntese de diversos produtos naturais complexos como malayamycin (**23**) e neplanocin (**24**) (Figura 6),⁴⁴ assim como na síntese de compostos relevantes para a química medicinal e química biológica, como nucleotídeos e C-ribonucleosídeos, empregados como antivirais.¹¹⁻¹³

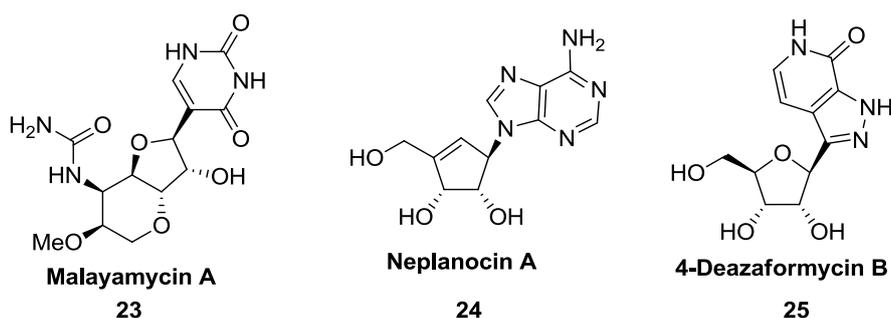


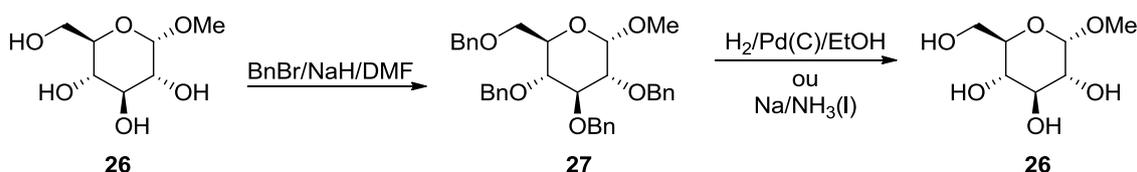
Figura 6. Exemplos de derivados de D-ribonolactona de interesse medicinal.

Uma das grandes problemáticas que permanece com a utilização de D-ribonolactona (**9**) como bloco de construção quiral é a necessidade de aplicação de protocolos de proteção e desproteção para as três hidroxilas presentes em sua estrutura, que por muitas vezes utilizam reagentes e solventes nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. Tendo em vista a crescente aplicabilidade de tal substrato, percebe-se a necessidade de desenvolver e aprimorar novas metodologias de transformação deste composto, de uma forma simples, limpa e economicamente viável.

2.2 Proteção de grupos funcionais

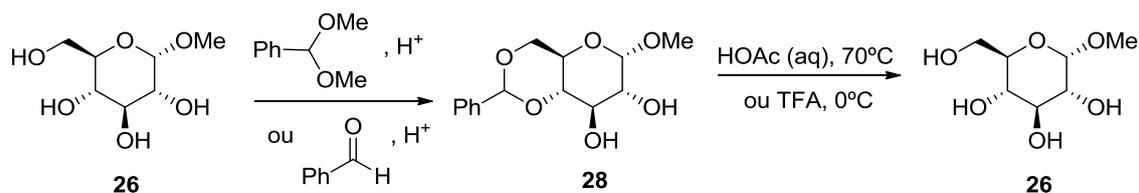
Grupos protetores e estratégias de proteção são componentes importantes na síntese total de moléculas orgânicas. Isto é ainda mais acentuado para a química de carboidratos devido à presença de um grande número de grupos funcionais, em sua maioria iguais (grupos hidroxila), que necessitam de estratégias de proteção regioseletivas trabalhosas.⁴⁵ Além dos problemas associados à proteção de vários grupos funcionais para se manter apenas um grupo reativo, como na glicosilação seletiva, outros pontos devem ser considerados. Grupos protetores não só protegem como também conferem outras propriedades à molécula. Por exemplo, aumentam ou diminuem a reatividade, solubilidade em diferentes solventes, ou até mesmo participam das reações, podendo influenciar no resultado estereoquímico da reação. Por exemplo, doadores glicosídicos acetilados são menos reativos do que os acilados.

Os grupos protetores mais utilizados na química de carboidratos são os éteres, os acetais e os ésteres. O método mais comum de eterificação, a benzilação, é geralmente realizada em meio fortemente básico. Tratamento do α -metil glicosídeo **26** com brometo de benzila em presença de hidreto de sódio em DMF levou ao produto per-benzilado em 81% rendimento. Por sua vez, desproteção seletiva ocorreu pela hidrogenação de **27** empregando-se hidrogênio molecular e paládio suportado sob carbono como catalisador. Alternativamente, o metil glicosídeo **27** foi obtido pela desbenzilação seletiva utilizando condições mais drásticas como o emprego de amônia líquida e sódio metálico (Esquema 3). Alternativas menos básicas, como o emprego de Ag_2O ou triflatos de benzila são possíveis, porém apresentam uma menor eficiência, sendo geralmente utilizados para a introdução de um, ou poucos, grupos benzila. São altamente estáveis e necessitam de ácidos fortes para a desproteção, sendo o processo mais comum através da hidrogenólise catalítica, com o auxílio de catalisadores de paládio.⁴⁵



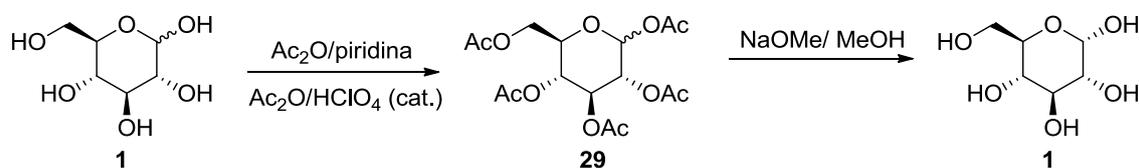
Esquema 3. Benzilação e debenzilação de metil alfa-D-glucopiranosose **26**.

A utilização de grupos benzilideno e isopropilideno são os mais comuns na proteção simultânea de dois grupos hidroxila adjacentes. A introdução do acetal é feita utilizando-se aldeído ou dimetóxi acetal com catálise ácida (Esquema 4). Já a proteção com isopropilideno pode ser obtida utilizando-se 1-metóxi-1-propeno, sendo possível a utilização de acetona, embora com rendimentos menores.⁴⁶ A desproteção é realizada por hidrólise ácida com ácido acético sob aquecimento ou com ácido trifluoroacético à 0 °C, por exemplo (Esquema 4).



Esquema 4. Proteção e desproteção seletiva de derivados de glicose com formação de benzilideno acetal.

Per-*O*-acetilação é frequentemente utilizada na proteção de carboidratos e é geralmente realizada empregando-se anidrido acético como reagente na presença de catalisadores básicos como piridina (Esquema 5) e DMAP.⁴⁷ Entretanto, lidar com grandes volumes de piridina e outros catalisadores homogêneos é problemático devido sua toxicidade e a necessidade do emprego de soluções ácidas para a recuperação da mesma. Portanto, métodos alternativos de proteção de grupos hidroxil vem sendo desenvolvidos utilizando-se condições brandas, diminuição das quantidades de reagentes, recuperação de catalisador e diminuição da geração de resíduos tóxicos que são nocivos ao meio ambiente.⁴⁸



Esquema 5. Per-*O*-acetilação da glicose utilizando-se piridina como catalisador/solvente, seguida de desproteção não seletiva.

2.2.1 Acilação

Esterificação pode ser considerada como a transformação de ácidos carboxílicos, ou seus derivados em ésteres. Esta prática é realizada na síntese de produtos naturais, na proteção ou resolução cinética de ácidos carboxílicos e na indústria de ácidos graxos. Entretanto, sua reação homóloga – a transformação de álcoois em ésteres, como na acilação protetiva de grupos hidroxila – é igualmente importante.⁴⁷

2.2.1.1 Acetilação

Dentre os vários grupos protetores usados na proteção de hidroxilas o grupo acetil é um dos mais comuns devido sua estabilidade em condições reacionais ácidas e por ser de fácil remoção por hidrólise alcalina branda. A combinação mais simples de reagentes utilizados em acetilação emprega anidrido acético na presença de um catalisador ácido ou básico,⁴⁹ podendo-se também empregar ácidos carboxílicos e cloretos de ácido.⁴⁷

A proteção de álcoois pela adição de grupo acetil é feita, geralmente, reagindo-se o álcool com anidrido acético na presença de uma base como piridina ou trietilamina.⁵⁰ Devido à grande demanda por métodos mais seletivos, sensíveis e eficientes para a proteção de grupos hidroxila, novos procedimentos foram desenvolvidos para esta reação. Destaca-se a utilização de catalisadores nucleofílicos à base de fósforo,⁵¹ além de uma variedade de ácidos de Lewis como CoCl_2 ,⁵² $\text{TiCl}_4/\text{AgClO}_4$,⁵³ Me_3SiCl ,⁵⁴ LiClO_4 ,⁵⁵ $\text{Sc}(\text{OTf})_3$,⁵⁶ MeSiOTf ,⁵⁷ $\text{In}(\text{OTf})_3$,⁵⁸ e $\text{Cu}(\text{OTf})_2$.⁵⁹

A crescente procura pela síntese de derivados de carboidratos é acompanhada pela necessidade de se desenvolver metodologias mais limpas, que não utilizem reagentes tóxicos, reduzam a quantidade de resíduo, facilitem a obtenção do produto em alta pureza e que possuam rendimentos próximos às metodologias usuais.¹⁷ A utilização de sólidos inorgânicos como catalisadores heterogêneos na síntese orgânica vem sendo largamente pesquisada. Heteropoliácidos,⁶⁰ zeólitas e peneiras moleculares vem mostrando capacidade de atuar como catalisadores para transformações orgânicas em fase líquida. Por exemplo, na esterificação de álcoois e fenóis,⁶¹ carboidratos¹⁷ e

nucleosídeos.²² As vantagens desses catalisadores heterogêneos sobre os sistemas homogêneos incluem estabilidade, fácil manuseio, ausência de corrosão e outros perigos ambientais, e ainda fácil recuperação e regeneração do catalisador.¹⁷

2.3 Peneiras moleculares, zeólitas e catálise heterogênea

Peneiras moleculares são materiais porosos capazes de absorver seletivamente grandes quantidades de certos compostos, sendo amplamente utilizados em separações de misturas líquidas ou gasosas. A seletividade da peneira molecular é determinada pelo tamanho de seus poros. Moléculas com um diâmetro crítico menor do que o tamanho do poro serão absorvidas, enquanto moléculas maiores serão excluídas. Embora materiais como carvão ativado, géis inorgânicos (sílica gel ou óxido de alumínio ativado, Figura 7) e aluminosilicatos cristalinos (zeólitas) possuam tais propriedades, o termo “peneira molecular” tem sido largamente utilizado para descrever o último grupo.⁶²



Figura 7. Carvão ativado, sílica gel, peneiras moleculares (beads).

Em termos químicos, peneiras moleculares são sólidos aluminosilicatos cristalinos que possuem uma rede tridimensional interconectada por estruturas tetraédricas do tipo TO_4^- , onde T representa átomos de silício ou alumínio, unidos entre si através de átomos de oxigênio comuns entre si (Figura 8).²⁰ Sendo o alumínio trivalente, os tetraedros AlO_4^- induzem cargas negativas na estrutura, que são neutralizadas por cátions de compensação. Estes cátions, juntamente com as moléculas de água, adsorbatos e sais estão localizados nos canais e cavidades desta estrutura microporosa (Figura 8).

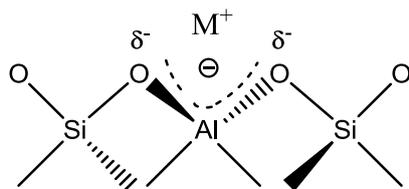


Figura 8. Representação da estrutura básica de uma peneira molecular.²⁰

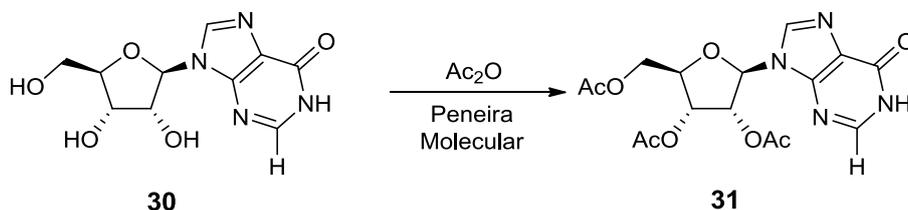
Sua propriedades de troca iônica, capacidade de adsorção, seletividade e atividade catalítica são essencialmente determinadas por sua estrutura. Por apresentarem diversos tipos de estrutura básica em sua rede cristalina, um método de classificação de zeólitas por tipo de estrutura foi proposto por Meier e Olson em 1970,⁶³ baseado na simples descrição da conectividade dos átomos coordenados tetraedricamente na estrutura na maior simetria possível. É utilizado um sistema de código de 3 letras para caracterizar cada estrutura, atribuído por uma comissão estrutural da Associação Internacional de Zeólitas, e registradas em um banco de dados,⁶⁴ contendo diversas informações sobre cada tipo. Até o presente momento encontram-se registrados 229 tipos estruturais diferentes de zeólitas.

As peneiras moleculares podem apresentar caráter predominante ácido ou básico. Acidez superficial é possivelmente a propriedade mais importante das zeólitas, a julgar do ponto de vista de sua aplicação em catálise. De fato, foi a substituição de catalisadores amorfos de sílica-alumina por zeólitas ácidas do tipo faujita no processo de craqueamento catalítico fluidizado de frações de petróleo que iniciou a sua utilização como catalisadores na indústria.⁶⁵ Nas peneiras moleculares aluminosilicatos, os átomos de Si^{+4} e os átomos de O_2^- da estrutura formam uma rede tetraédrica neutra. Porém, se alguns cátions de silício forem substituídos por Al^{+3} , a carga formal do tetraedro passa a ser negativa. Essa carga negativa é balanceada por um cátion metálico ou por um próton de hidroxila formando um sítio ácido de Lewis fraco ou ácido de Bronsted forte, respectivamente.⁷² Prótons das hidroxilas agindo como ácidos de Bronsted estão localizados nos oxigênios que conectam cátions de silício e alumínio tetraedricamente no esqueleto da estrutura. Essas hidroxilas são chamadas de hidroxilas estruturais ou conectivas (SiOHAl).⁶⁵

Os sítios básicos em zeólitas estão associados aos ânions oxigênio pertencentes à rede. Neste caso, por serem intrínsecos, o número de sítios básicos é igual ao número de

átomos de alumínio na estrutura. A força desses sítios depende, entre outros fatores, da acidez do cátion M^+ neutralizando a carga do oxigênio. Por apresentar sítios ácido-básicos conjugados,⁶⁶ quanto menor a acidez do cátion M^+ , maior a basicidade do ânion oxigênio. A acidez do cátion M^+ diminui quando seu raio é aumentado, distribuindo sua carga positiva em um volume maior. Para metais alcalinos presentes em zeólitas a basicidade do oxigênio de rede aumenta na ordem $Li < Na < K < Rb < Cs$.⁶⁷

Sá e colaboradores utilizaram peneiras moleculares de caráter básico na per-*O*-acetilação de nucleosídeos. Este um exemplo de metodologia simples, limpa, barata e que resulta em altos rendimentos reacionais, estando portanto dentro dos preceitos preconizados na Química Verde (Esquema 6).²² Entre as peneiras utilizadas, as de caráter mais básico se mostraram mais eficazes. Portanto, foram submetidas à tratamento de troca iônica com potássio, apresentando assim maior atividade catalítica do que as peneiras comerciais análogas produzindo nucleosídeos acetilados em maiores rendimentos numa série de reações, comparando-se diferentes peneiras moleculares. Em particular, a peneira molecular comercial 13X-MS e sua análoga 13X/KCl, obtida através de troca iônica com potássio, apresentaram maior eficiência.^{21,22}

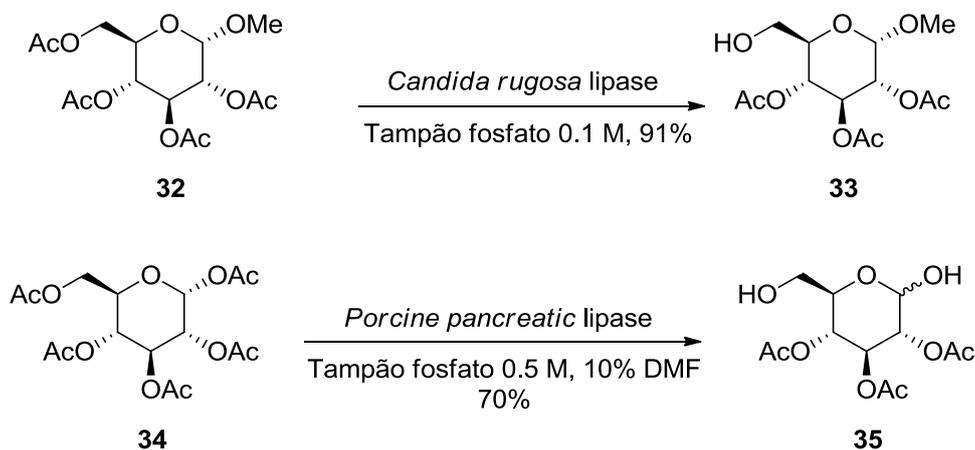


Esquema 6. Acetilação de nucleosídeos com peneira molecular.

2.4 Enzimas

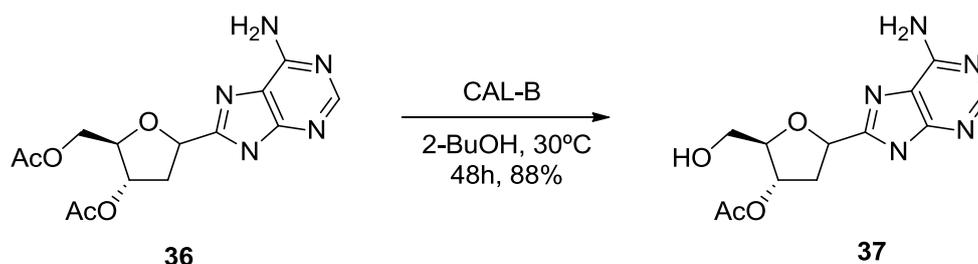
Enzimas são macromoléculas que atuam como catalisadores em reações químicas em seres vivos. São parte importante do metabolismo, responsáveis por transformações desde a produção de energia até a duplicação do DNA e RNA em células. Seus sítios ativos altamente seletivos promovem reações com substratos específicos dependentes da estereoquímica, e são sensíveis à pequenas variações nas condições reacionais, como o pH e a temperatura do meio, tornando-se inativas em condições extremas dos mesmos.

Além de suas propriedades estereodiscriminantes, enzimas são capazes de realizar transformações altamente regioseletivas. Atuando em condições neutras e de acidez e basicidade brandas combinam uma alta seletividade nas reações que catalisam com uma grande compatibilidade de substratos diferentes. Assim, a aplicação desses biocatalisadores na proteção e desproteção de substratos orgânicos são uma alternativa viável aos métodos químicos clássicos. Um exemplo disso é a desproteção seletiva de derivados per-*O*-acetilados de glicosídeos, como o per-*O*-acetil- α -D-metil glicosídeo **32**, onde a desproteção seletiva na hidroxila do carbono 6 é obtida através da reação com a *Candida rugosa* lipase em tampão de fosfato 0.1 M (Esquema 7). Analogamente, é possível obter a desproteção seletiva da hidroxila no carbono anomérico da per-*O*-acetil- α -D-glicopiranosose utilizando-se a *Porcine pancreatic* lipase em uma solução de tampão fosfato 0.5M e 10% DMF, com bons rendimentos (Esquema 7).⁶⁸



Esquema 7. Desproteção seletiva de derivados acetilados de carboidratos utilizando-se enzimas.

Lipase B da *Candida Antarctica* é uma enzima largamente utilizada em transformações biocatalisadas, mostrando um alto grau de seletividade, possuindo um grande potencial em reações de hidrólise e alcólise²⁴ envolvendo derivados acilados de carboidratos e nucleosídeos. Zinni e colaboradores demonstraram a desproteção seletiva de diversos nucleosídeos, como a 3',5'-di-*O*-acetil-2-deoxiadenosina (**36**), em condições brandas, sem a necessidade de emprego de solução tampão de fosfato (Esquema 8).²⁵



Esquema 8. Desproteção seletiva de derivados acetilados de nucleosídeos na presença de CAL-B e ausência de tampão.

Além de promover reações químicas altamente seletivas em condições brandas e evitando a utilização de reagentes químicos nocivos à saúde e ao meio ambiente, as enzimas suportadas em uma matriz sólida, assim como a peneira molecular, são catalisadores heterogêneos facilmente separáveis do meio reacional, podendo ser reutilizados em por vários ciclos, levando assim a síntese orgânica um passo adiante nos princípios da Química Verde.

2.5 Química Verde

Química Verde é uma filosofia imbuída no planejamento de produtos e processos químicos visando a redução ou eliminação do uso e geração de resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente. Ela se aplica em todas as etapas do ciclo de vida de um produto químico, incluindo concepção, manufatura e descarte. Também é conhecida como química sustentável.⁶⁹

Com o intuito de prevenir poluição em nível molecular, os preceitos da química verde se aplicam à todas as áreas da química, e não à uma disciplina em particular, incentivando soluções científicas inovadoras à problemas ambientais reais para reduzir o impacto negativo de produtos e processos químicas na saúde humana e no meio ambiente.

Química Verde é um conceito diferente de processos de remediação (limpeza da poluição). Esses envolvem o tratamento de resíduos ou a limpeza de vazamentos no meio ambiente, incluindo a separação de resíduos danosos de outros materiais, tratando-os até que não sejam mais perigosos, ou concentrando-os para posterior descarte de forma segura. Remediação remove os materiais nocivos do meio ambiente, enquanto

que a química verde trabalha para mantê-los fora do ambiente desde o início. Embora a maioria das medidas de remediação não envolvem Química Verde, se uma tecnologia reduz ou elimina o uso de produtos químicos nocivos utilizados na limpeza de contaminantes ambientais, essa tecnologia se qualifica dentro dos preceitos da Química Verde. Um exemplo disso é a substituição de um adsorvente (químico) usado na captura de mercúrio no ar para descarte seguro por um adsorvente não nocivo, mesmo que de menor eficiência. Usar o adsorvente não nocivo significa que o adsorvente nocivo não precisa ser fabricado, assim a tecnologia de remediação se encaixa nas definições de Química Verde.

2.4.1 Os doze princípios da Química Verde

Propostos pela primeira vez por Paul Anastas e John Warner,⁷⁰ os doze princípios da Química Verde levam em consideração as diferentes formas onde é possível reduzir o impacto da indústria química ao meio ambiente e à saúde, além de apontar as prioridades do desenvolvimento de novas tecnologias químicas. Estes princípios demonstram a largura do conceito de química verde:

1 Prevenir desperdício: planejamento da síntese visando a minimização da geração de resíduo, sendo a maior meta a criação de um processo que não gere qualquer tipo de resíduo para ser tratado ou descartado.

2 Maximizar economia atômica: planejamento da síntese para que o produto final contenha a proporção máxima dos materiais de partida, ou seja, a maioria dos átomos dos produtos de partida se encontram no produto final.

3 Projetar sínteses menos nocivas: planejar sínteses que utilizem substâncias de baixa ou nenhuma toxicidade para seres humanos ou para o meio ambiente.

4 Projetar produtos seguros: planejamento de produtos químicos que são completamente efetivos, porém de baixa ou nenhuma toxicidade.

5 Usar solventes e condições reacionais mais seguras: evitar utilizar solventes, agentes de separação e outros auxiliares químicos. Se for necessário utilizar esses produtos, usar produtos mais seguros.

6 Aumentar eficiência energética: realizar reações à temperatura e pressão ambientes sempre que possível.

7 Usar matéria-prima renovável: utilizar materiais de partida de origem renovável ao invés de fontes não-renováveis. A fonte de matéria prima renovável é geralmente proveniente de produtos agrícolas ou do resíduo de outros processos. A fonte de matéria prima não renovável geralmente são combustíveis fósseis (petróleo, gás natural ou carvão) e minério.

8 Evitar derivação química: evitar a utilização de grupos bloqueadores ou protetores, ou qualquer tipo de modificação temporária sempre que possível. Derivados utilizam reagentes adicionais e geram resíduos.

9 Usar catálise ao invés de condições estequiométricas: minimizar geração de resíduo utilizando reações catalíticas. Catalisadores são efetivos em pequenas quantidades e podem ser reutilizados diversas vezes em uma mesma reação. São preferíveis aos reagentes estequiométricos, que são utilizados em excesso e só podem ser utilizados uma única vez.

10 Planejamento de produtos químicos que se degradem após seu uso: planejar produtos que, ao se degradar, gere substâncias inócuas após seu uso e não se acumulem no meio ambiente.

11 Análise em tempo real para prevenir poluição: incluir monitoramento e controle em tempo real durante o processo de síntese para minimizar ou eliminar a formação de subprodutos.

12 Minimizar o risco de acidentes: planejar produtos químicos e seu estado físico (sólido, líquido ou gás) com a finalidade de minimizar o potencial de causar acidentes, incluindo explosões, incêndios e vazamentos para o meio ambiente

3. Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

Propôr, planejar e desenvolver novas metodologias baseadas nos princípios da Química Verde, para a proteção e desproteção de grupos funcionais em derivados de carboidratos. Analogamente, estudar uma metodologia mais limpa para a oxidação da D-ribose à D-ribonolactona, evitando a utilização de bromo molecular e a utilização de enzimas na desproteção seletiva de derivados per-*O*-acetilados da D-ribonolactona.

3.2 Objetivos Específicos

- Acetilação de derivados de carboidratos utilizando-se peneiras moleculares como catalisadores.
- Oxidação da D-ribose utilizando reagentes menos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente.
- Alcólise seletiva da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona por catálise enzimática.

4. Procedimento Experimental

CAL-B [Novozym 435, 10.000 (PLU) mg-1, sólido) foi doada pela Novozymes A/S (Brasil). A enzima foi utilizada sem purificação ou tratamento adicional. D-ribose (**8**) utilizada da marca Now Sports. D-ribono-1,4-lactona (**9**) e peneiras moleculares 3A, 4A, 5A e 13X adquiridas da Sigma-Aldrich. Peneira Molecular 13X/KCl foi preparada pelo método de difusão utilizando KCl aquoso, segundo a literatura.^{21,22} O catalisador 4A-1000 foi obtido pelo tratamento térmico da PM 4A a 1000 °C por 1 hora.³² Piridina e anidrido acético foram secos e destilados antes de utilizados. Demais reagentes utilizados são de qualidade PA. Pontos de Ebulição foram determinados utilizando-se aparelho Büchi 510 e não foram corrigidos. Espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro FTIR Shimadzu, utilizando pastilhas de KBr (4000-4000cm⁻¹). Espectros de RMN ¹H foram obtidos a 300, 400 ou 500 MHz e os espectros de RMN ¹³C a 75, 100 ou 125 MHz. Deslocamentos químicos foram obtidos em partes por milhão (ppm, δ) relativos à TMS a 0,00 ppm ou solvente (CDCl₃ a 7,27 ppm ou DMSO-d₆ a 2,50 ppm para RMN ¹H e CDCl₃ a 77,2 ppm ou DMSO-d₆ a 39.5 ppm para RMN ¹³C) como padrão interno.

4.1 Per-*O*-acetilações utilizando piridina

4.1.1 Procedimento Geral para todos os carboidratos utilizando-se piridina

Per-*O*-acetilação dos carboidratos naturais catalisada por piridina foram realizadas seguindo-se a literatura, com pequenas variações.⁷¹ Uma mistura contendo carboidrato (1,0 mmol), Ac₂O (1,9 mL; 20 mmol), e piridina (3 mL) foi agitada a 25 °C por 24 h. Adicionou-se 5 mL de CH₂Cl₂ e a fase orgânica foi lavada com HCl 1 M (3 × 5 mL), NaHCO₃ saturado (3 × 5 mL), e NaCl saturado (5 mL). O solvente foi seco com Na₂SO₄ anidro e removido em rotavapor, obtendo-se assim os derivados per-*O*-acetilados. Os carboidratos peracetilados foram caracterizados sem demais purificação e apresentaram físicas e espectroscópicas em acordo com a literatura.⁷²⁻⁷⁶

4.2 Acetilações utilizando peneira molecular 13X/KCl

4.2.1 Preparação da Peneira Molecular 13X/KCl²¹

Uma suspensão contendo 10 g de peneira molecular 13X/KCl e 100 mL de KCl(aq) 1 M foi mantida sob agitação por 24 h. O sólido foi então filtrado à vácuo e seco em estufa a 60 °C por 24 h.

4.2.2 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**)¹⁴

Uma mistura contendo D-ribonolactona **9** (148 mg, 1,0 mmol), Ac₂O (1,9 mL, 20 mmol) e peneira molecular 13X/KCl (600 mg) foi agitada à 25 °C por 3h. O catalisador foi filtrado em celite e lavada com EtOAc (3 mL). O solvente foi removido em rotavapor, obtendo-se 273 mg (99%) do produto **40** como um óleo levemente amarelado. RMN ¹H (CDCl₃): δ5,72 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,72 (t, *J* = 3,1 Hz, 1H), 4,37 (dd, *J* = 15,2 e 3,1 Hz, 2H), 2,18 (3H), 2,14 (6H). RMN ¹³C (CDCl₃): δ170, 169,7, 169,1, 80,1, 69,, 66,3, 62,7, 20,6, 20,4, 20,1.

4.2.3 5-*O*-acetil-2,3-*O*-isopropilidenoribo-1,4-lactona (**43**)⁸⁹

Agitou-se uma mistura contendo 2,3-*O*-isopropilidenoribono-1,4-lactona (**41**) (0,18 mmol), Ac₂O (0,95 mL, 10 mmol) e 13X/KCl (300 mg) à 80 °C por 1h. Após esfriar até a temperatura ambiente, a mistura foi diluída em 3 mL de EtOAc e filtrada em celite. O filtrado foi evaporado com pequenas adições de tolueno (co-solvente) em rotavapor (3x 2 mL), obtendo-se o produto **43** (33 mg, 99%); RMN ¹H (CDCl₃): 4,8-4,76 (m, 2H), 4,71 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H) 4,38 (dd, *J* = 12,1 e 2,7 Hz), 4,24 (dd, *J* = 12,1 e 2,3 Hz), 2,08 (s, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,40 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃): δ173,5, 169,7, 113,8, 79,5, 75,2, 63,5, 26,7, 25,6, 20,6.

4.2.4 2-*O*-acetil-3,4-*O*-benzilideno-D-ribonolactona (**44**)⁸⁹

Agitou-se uma mistura contendo 3,4-*O*-benzilideno-D-ribonolactona (**42**) (0,18 mmol), Ac₂O (0,95 mL, 10 mmol) e 13X/KCl (300 mg) à 80 °C por 1h. Após esfriar até a temperatura ambiente, a mistura foi diluída em 3 mL de EtOAc e filtrada em celite. O filtrado foi evaporado com pequenas adições de tolueno em rotavapor, obtendo-se o produto **44** (42 mg, 99%) como um sólido branco. ¹H-NMR (CDCl₃): 7,51-7,36 (m, 5H), 5,54 (dd, *J* = 3,1 Hz, 1H), 4,87 (dd, *J* = 7,8 and 3,3 Hz, 1H), 4,72 (dd, *J* = 8,2 e 0,7

Hz, 1H), 4,62 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H), 4,39 (dd, $J = 13,3$ e $1,6$ Hz, 1H), 2,26 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 169,9, 165,5, 134,4, 130,4, 128,6, 127,3, 104,9, 74,5, 73,3, 68,4, 67,5, 20,6.

4.2.5 Procedimento geral para os demais carboidratos

Uma mistura contendo carboidrato (0.50 mmol), Ac_2O (10 mmol), e peneira molecular 13X/KCl (300 mg) foi agitada à $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 24h. Após esfriar até a temperatura ambiente, o catalisador foi filtrado em celite e lavado com 2-3 mL de EtOAc. O solvente foi então removido em rotavapor. Purificação por cromatografia flash (EtOAc/Hexano 1:2) foi realizada quando CCD apresentou mistura de produtos intermediários.

4.2.5.1 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetil- α/β -D-glucopiranosose (50)⁷²

155 mg, 80%, $\alpha:\beta = 72:28$. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 6,33 (d, $J = 3,5$ Hz, 0,24 H, H-1 α), 5,72 (d, $J = 8,2$ Hz, 1,00 H, H-1 β), 5,47 (t, $J = 9,8$ Hz, 0,24 H, H-3 α), 5,25 (t, $J = 9,4$ Hz, 1,03 H, H-3 β), 5,16-5,08 (m, 2,62 H, H-2 α , H-2 β , H-4 β , H-4 α), 4,31-4,24 (m, 1,29 H, H-6 $\alpha\alpha$, H-6 $\alpha\beta$), 4,14-4,07 (m, 1,59 H, H-6 $\beta\alpha$, H-6 $\beta\beta$, H-5 α), 3,86-3,82 (m, 1,01 H, H-5 β), 2,18 (s, 0,69 H), 2,12 (s, 2,58 H), 2,10-2,09 (4,10 H), 2,05-2,01 (9,43 H, CH_3). RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 170,6, 170,1, 169,2, 168,9, 91,7, 72,7, 72,7, 70,2, 67,7, 61,4, 20,8, 20,7, 20,6.

4.2.5.2 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetil- α/β -D-galactopiranosose (51)^{73,74}

152 mg, 78%, $\alpha:\beta = 58:42$. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 6,38 (d, $J = 1,96$ Hz, 1 H, H-1 α), 5,71 (d, $J = 8,22$ Hz, 0,6 H, H-1 β), 5,51 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H, H-4 α), 5,43 (d, $J = 3,3$ Hz, 0,6 H, H-4 β), 5,38-5,30 (m, 2,6 H, H-2 α , H-2 β , H-3 α), 5,10-5,06 (dd, $J = 10,6$ and $3,5$ Hz, 0,6 H, H-3 β), 4,38-4,31 (m, 1,6 H, H-6 $\alpha\beta$, H-5 α), 4,14-4,09 (m, 3,2 H, H-6 $\beta\alpha$, H-6 $\beta\beta$, H-5 β), 2,17, 2,16, 2,12, 2,06, 2,05, 2,00. RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 170,4, 170,1, 169,9, 169,4, 168,9, 92,1, 89,7, 82,1, 71,7, 68,7, 67,3, 66,4, 61,2, 61,0, 20,9, 20,0, 20,5.

4.2.5.3 1,2,3,4,6 Penta-*O*-acetil- α/β -D-manopiranoze (52)⁷⁵

154 mg, 79%, $\alpha/\beta = 46:54$. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,09 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H, H-1 α), 5,87 (d, 1H, H-1 β , $J = 1,2$ Hz), 5,46 (dd, 1H, H-2 β , $J = 3,1$ e $1,2$ Hz), 5,37-5,34 (m, 2H, H-3 α , H-4 α), 5,30-5,21 (m, 2H, H-4 β , H-2 α), 5,14 (dd, 1H, H-3 β , $J = 9,8$ e $3,1$ Hz), 4,33 – 4,24 (m, 2H, H-6 $\alpha\beta$, H-6 $\alpha\alpha$), 4,18-4,02 (m, 1H, H-6 $\beta\beta$, H-6 $\beta\alpha$, H-5 α), 3,79 (ddd, 1H, H-5 β , $J = 2,5$ Hz, $J_{5\beta,6\alpha\beta} = 5,5$ Hz, $J_{5\beta,4\beta} = 8,0$ Hz), 2,23, 2,22, 2,18, 2,17, 2,11, 2,10, 2,06, 2,01. RMN ¹³C (CDCl₃): δ 170,6, 169,9, 169,7, 168,0, 90,, 70,6, 68,7, 65,5, 2,1, 20,9, 20,7, 20,6.

4.2.5.4 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil- α/β -D-xilopiranoze (53)⁷⁶

163 mg, 84%, $\alpha/\beta = 57:43$. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,27 (d, 0,11H, $J = 3,8$ Hz, H-1 α), 5,72 (d, 1,0H, $J = 7,0$ Hz, H-1 β), 5,47 (t, 0,07H, $J = 9,7$ Hz, H-3 α), 5,21 (t, 1,11H, $J = 8,3$ Hz, H-3 β), 5,08-4,94 (m, 2,32H, H-2 α , H-4 α , H-2 β , H-4 β), 4,16 (dd, 1,10H, $J = 5,0$ Hz e $12,0$ Hz, H-5 $\alpha\beta$), 3,94 (dd, 0,11H, $J = 5,9$ Hz e $J = 11,1$ Hz, H-5 $\alpha\alpha$), 3,72 (t, 0,03H, $J = 10,9$ Hz, H-5 $\beta\alpha$), 3,53 (dd, 1,11H, $J = 8,5$ Hz e $12,0$ Hz, H-5 $\beta\beta$), 2,18 (s, 0,56H), 2,12 (s, 3,69H), 2,07 (m, 10,29H), 2,03 (s, 0,48H). RMN ¹³C (CDCl₃): δ 170,1, 169,8, 169,7, 169,3, 169,0, 92,0, 89,2, 70,9, 69,3, 8,6, 68,2, 62,8, 60,6, 20,9, 20,8, 20,7, 20,6, 20,5.

4.2.5.5 Per-*O*-acetil- β -D-ribofuranose (54) e per-*O*-acetil- β -D-ribopiranoze (55)⁷¹

120 mg, 61%. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,17 (s, 0,87H), 6,04 (d, $J = 4,8$ Hz, 1,00H), 5,49 (t, $J = 3,6$ Hz, 1,07H), 5,38-5,36 (m, 1,96H), 5,31 (s, 0,78H), 5,19-5,14 (m, 1,32H), 5,07-5,04 (m, 1,15H), 4,41-4,35 (m, 1,67H), 4,33 (d, $J = 3,5$ Hz, 0,67H), 4,16 (dd, $J = 5,3$ Hz e $11,9$ Hz, 1,33H), 4,03 (dd, $J = 3,5$ Hz e $12,1$ Hz, 1,44H), 3,92 (dd, $J = 5,7$ Hz e $12,3$ Hz, 1,42H), 2,15-2,13 (m, 7H), 2,2-2,09 (m, 14H), 2,08 (s, 3H).

4.3 Reciclabilidade da Peneira Molecular 13X/KCl

D-Ribonolactona (**9**, 50 mg, 0,34 mmol), Ac₂O (10 mmol) e peneira molecular 13X/KCl (300 mg) foram adicionados à um balão cônico com filtro acoplado, a mistura foi agitada à 25 °C sob atmosfera de N₂. Após 3h, a mistura foi filtrada sob pressão de N₂. O catalisador foi lavado com 5 mL de EtOAc e filtrado novamente. O sistema foi então lavado com N₂ por 5 minutos para remoção do excesso de solvente e uma nova batelada de reagentes foi adicionada ao balão. Este processo foi repetido mais duas vezes.

4.4 Desproteção regioseletiva de 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) utilizando CAL-B

A uma mistura contendo 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**, 1,46 g, 4,80 mmol), EtOH (50 mL) e CAL-B (730 mg) foi mantida em uma incubadora com controle de temperatura e *shaker* (180 rpm, 35 °C) por 6h. Após, a solução sobrenadante foi decantada e a enzima foi lavada com MeOH (10 mL) e ACN (10 mL). Os solventes combinados foram removidos em rotavapor, obtendo-se o produto como um óleo levemente amarelado. Purificação por cromatografia em coluna flash (EtOAc/hexano 1:1) levou à obtenção de 570 mg de 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**), com rendimento geral de 30% a partir de D-ribose **8**. $[\alpha]_D^{25} +5.5$ (c 5, EtOH); IR (filme) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3495 (OH), 2950, 1796 (C=O, lactona), 1750 (C=O, éster); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5,83 (d, 1H, $J = 6,3$ Hz, H-2), 5,54 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H, H-3), 4,57-4,59 (m, 1H, H-4), 4,01 (dd, 1H, $J = 12,1$ Hz, CH₂), 3,95 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz, CH₂), 2,16 (3H, s), 2,13 (3H, s); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 20,2, 20,5, 61,4, 67,1, 70,6, 83,5, 169,4, 170,0, 171,5; EMAR-IES (CH₃OH) calculado.: C₉H₁₃O₇ [M + H]⁺: 233,0656; experimental: 233,0662.

4.5 Oxidação da D-ribose

4.5.1 Bromo molecular

D-Ribose (**8**, 10,0 g, 67,0 mmol), bicarbonato de sódio (11,2 g, 130 mmol) e água (60 mL) foram adicionados à um balão de 3 bocas equipado com um termômetro, um funil de adição com equalizador de pressão e agitador magnético. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 15 min e então resfriada em banho de gelo. Bromo molecular (1,12 g, 70 mmol) foi adicionado lentamente à reação para que a temperatura não passasse de 5 °C. Após, o funil de adição foi substituído por um septo e a mistura foi agitada por 50 minutos. Adicionou-se bissulfito de sódio (0,65 g, 6,25 mmol) para remover a coloração laranja. A solução aquosa foi então transferida para um balão de 250 mL e a água foi removida em evaporador rotatório até se obter um sólido pastoso. EtOH absoluto (40 mL) e tolueno (10 mL) foram adicionados à suspensão e então evaporados em evaporador rotatório, resultando em um sólido úmido. Adicionou-se 40 mL de etanol absoluto e manteve-se a suspensão alcoólica sob aquecimento em banho de vapor por 30 minutos. A suspensão então foi filtrada e o sólido lavado com etanol absoluto quente (10 mL). Após, a solução etanólica foi mantida sob refrigeração por 18h, levando à formação de cristais brancos. Os cristais foram filtrados, lavados com etanol gelado (10 mL) e éter etílico (10 mL). Após evaporação do solvente em evaporador rotatório, obteve-se 8,16 g de um sólido branco (contendo 35-45% NaBr).³

4.5.2 Sais de bromo

À uma mistura contendo **8** (1 mmol, 150 mg), água (1 mL), NaBr (0,132 mmol, 13,6 mg) e NaBrO₃ (0,92 mmol, 139 mg) em banho de gelo foi adicionada, gota a gota, 0,5 mL de solução de H₂SO₄ 10% seguida pela adição lenta (1 gota a cada 20 minutos) de 0,5 mL de H₂O₂ 30% v/v. Após, a reação foi mantida a 55 °C sob agitação por 72h. Adicionou-se bissulfito de sódio até a coloração alaranjada desaparecer. A água foi então removida em evaporador rotatório e o produto extraído do meio reacional utilizando-se processo similar à reação com bromo molecular.^{3,44}

4.5.3 *N*-Bromosuccinimida

0,5 mmol D-ribose (**8**, 75 mg, 0,5 mmol), NBS (356 mg, 2 mmol) e 5 mL de água deionizada foram adicionados à um balão de 25 mL. A mistura foi mantida sob agitação, à 60 °C, por 4h. Foi possível observar a formação de vapores de bromo durante a reação e o aparecimento de uma cor alaranjada. Após, adicionou-se bicarbonato de sódio lentamente até que a cor alaranjada sumisse por completo. A água foi então removida e evaporador rotatório com a adição de tolueno (2x 2mL), resultando em um sólido pastoso de cor levemente alaranjada contendo D-ribonolactona (**9**) e succinimida. Realizou-se a extração à quente da succinimida presente no sólido com AcOEt (5x 20 mL). Este método de purificação possibilitou a remoção de 80% da succinimida, observado por RMN.

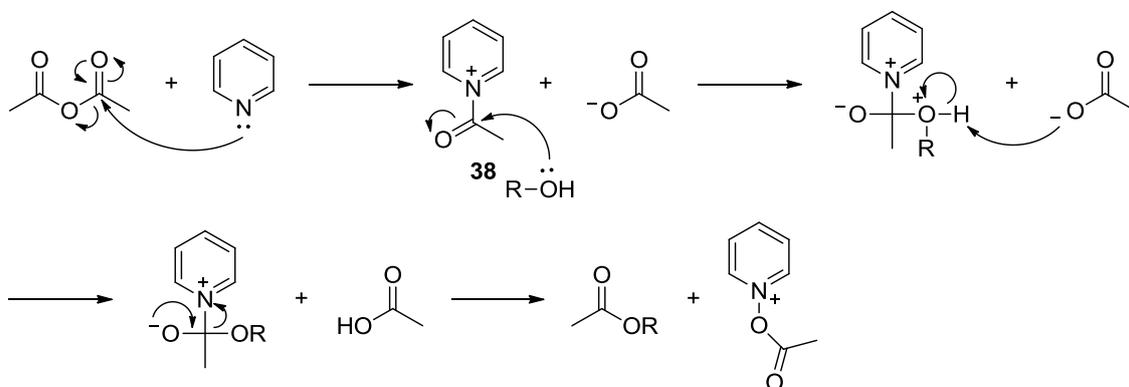
5. Resultados e Discussão

5.1 Acetilação de carboidratos

5.1.1 Acetilação de D-ribonolactona utilizando piridina

A fim de desenvolver metodologias mais limpas (caráter Verde), que possam substituir a utilização da reação clássica de acetilação de carboidratos e derivados que utiliza piridina como solvente e catalisador, pensou-se na utilização de catálise heterogênea com peneiras moleculares. Suas propriedades químicas, como acidez e basicidade, sua baixa toxicidade e fácil manuseio as tornam objetos de estudo atrativos.

Para se determinar a eficácia das reações de acetilação com peneira molecular, realizou-se a per-*O*-acetilação da D-ribonolactona utilizando os métodos empregando-se piridina como solvente. Essa reação se dá inicialmente pelo ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio da molécula de piridina a uma carbonila do anidrido, formando um intermediário *N*-acilpiridínio carboxilato (**38**). Esse intermediário então sofre ataque nucleofílico do carboidrato ou derivado (R-OH), gerando assim o produto acetilado, com formação de ácido e regeneração do catalisador (Esquema 9).⁵³

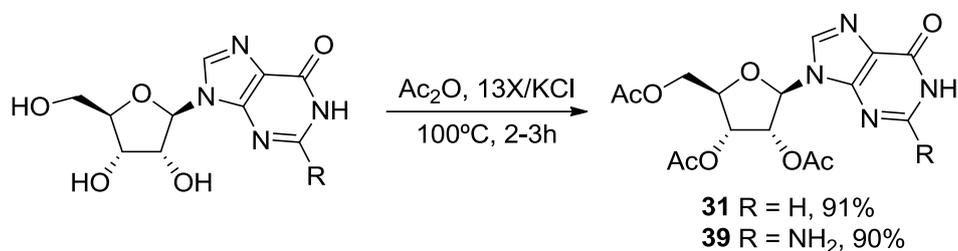


Esquema 9. Mecanismo de acetilação catalisada por piridina.

Reações preliminares apresentaram rendimento máximo de 30%, muito abaixo do reportado na literatura (~90%).⁴⁷ Acreditando-se na possível contaminação dos reagentes em estoque por água, a piridina disponível foi então destilada sob atmosfera de nitrogênio com adição de KOH e o anidrido acético purificado sob atmosfera inerte por microdestilação. Após as purificações, apesar de tomadas todas as precauções, as reações de per-*O*-acetilação utilizando piridina como catalisador apresentaram rendimentos abaixo do esperado, tendo como maior valor obtido o de 65%.

5.1.2 Prospecção de peneiras moleculares

Sá e colaboradores determinaram que a peneira molecular 13X/KCl apresentava os melhores resultados na acetilação de nucleosídeos derivados de D-ribonolactona (Esquema 10).²¹



Esquema 10. Acetilação de nucleosídeos utilizando PM 13X/KCl.

Porém, devido à diferença química entre os nucleosídeos e os carboidratos, optou-se por estudar a eficácia de diversas peneiras moleculares na reação de acetilação da D-ribonolactona. Para tanto, reagiu-se D-ribonolactona com seis peneiras moleculares diferentes, sendo quatro comerciais (3Å, 4 Å, 5 Å e 13X) e duas modificadas (4Å1000 e 13X/KCl, Tabela 1).

Tabela 1. Resultados preliminares dos testes com diferentes peneiras moleculares.



Entrada	Catalisador	Rendimento (%)
1	3 Å	-
2	4 Å	-
3	5 Å	-
4	4 Å 1000	-
5	13X	61
6	13X/KCl	65
7	Piridina	65

Em uma análise qualitativa, cada reação foi monitorada por cromatografia em camada delgada (AcOEt/hexano 1:1). As reações com as peneiras moleculares 3Å, 4Å,

5Å e 4Å1000 apresentaram novas manchas na placa, evidenciando a formação de diversos produtos, possivelmente derivados mono e di-acetilados da D-ribonolactona (Figura 9).

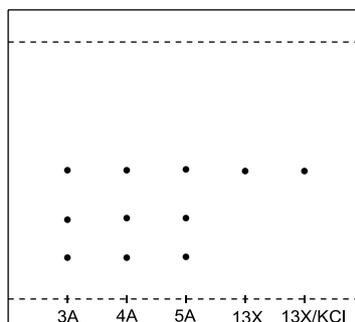
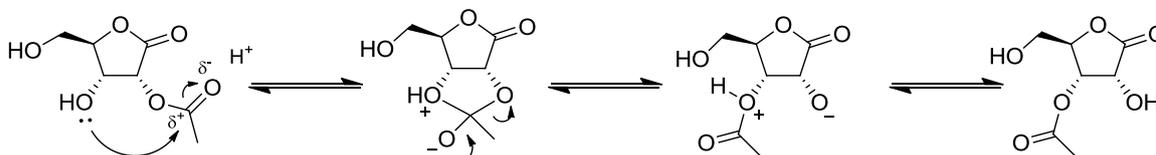


Figura 9. Placa de CCD das acetilações com PM (AcOEt/hexano 1:1).

Tentativas de purificação por cromatografia em coluna mostraram-se ineficazes, apresentando mistura de produtos, possivelmente devido à uma rápida migração 1,2-acil em solução (Esquema 11). Já as reações utilizando as peneiras 13X e 13X/KCl apresentaram apenas uma mancha, correspondente ao produto per-*O*-acetilado, além da mancha do produto de partida na base da placa. Como o material de partida não é solúvel em anidrido acético, a separação é possível por filtração.



Esquema 11. Mecanismo da migração 1,2-acil.

Entre as peneiras moleculares do tipo A, esperava-se um rendimento maior para o modelo 3 Å, uma vez que mantendo-se a mesma proporção de átomos de alumínio e silício entre si, a natureza do contra-íon dita a basicidade da peneira, sendo que a 3Å possui íons potássio, enquanto as peneiras 4Å e 5Å apresentam átomos de sódio e cálcio, respectivamente. Já para as peneiras do tipo 13X, a maior reatividade pode ser explicado pela maior proporção de átomos de silício na estrutura, uma vez que a substituição de cátions Si^{4+} por Al^{3+} gera uma carga formal negativa na estrutura tetraédrica que, ao ser balanceada por um cátion metálico ou próton, formam um sítio ácido.⁶⁵ Como a proporção de Si^{4+} é maior nas peneiras 13X, espera-se menor acidez e maior basicidade. Dentre as peneiras do tipo 13X utilizadas, a 13X/KCl se destacou,

como esperado, devido à maior basicidade gerada pelo contra-íon K^+ . Portanto, optou-se por adotar a peneira molecular 13X/KCl como objeto de estudo na obtenção de derivados per-*O*-acetilados de carboidratos.

5.1.3 Acetilação da D-ribonolactona utilizando-se peneira molecular 13X/KCl

Primeiramente estudou-se a influência da quantidade de catalisador e anidrido acético na reação, variando-se a proporção em relação à quantidade de D-ribonolactona inicial. Iniciando-se com a proporção de 600 mg de 13X/KCl por 1 mmol de carboidrato e 20 equivalentes de anidrido acético, pode-se observar que, à 25°C, a diminuição das quantidades de peneira molecular e anidrido acético pela metade, não concomitantemente, ocasionaram aumento do tempo reacional, observado por CCD. Em contrapartida, o aumento da quantidade de catalisador para 900 mg/mmol acarretou em diminuição do tempo reacional, enquanto que o aumento da quantidade de anidrido acético para 30 equivalentes não apresentou variação significativa na reação. Porém, a utilização de uma quantidade maior de peneira molecular significa uma necessidade de se utilizar mais solvente (AcOEt) na extração do meio reacional. Além disso, a utilização de maior quantidade de peneira molecular pôde ser contornada variando-se a temperatura da reação.

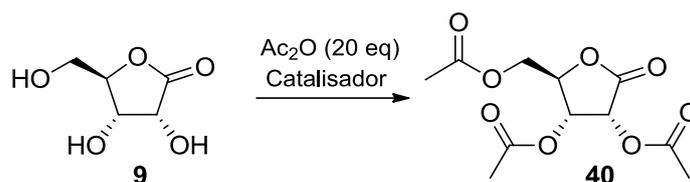
Em um segundo momento estudou-se a influência da temperatura. Ao aumentar-se a temperatura para 50 °C foi possível observar a aparição do produto final em tempos menores de reação e a obtenção do carboidrato peracetilado em alto rendimento após uma hora de reação (Tabela 2, entradas 4 e 5). Tentou-se também realizar a reação à temperaturas maiores, porém o sistema mostrou-se instável à temperaturas maiores que 50 °C, podendo-se observar uma coloração marrom da reação e a aparição de diversas novas manchas na placa de CCD (AcOEt/hexano 1:1). Este fato pode ser explicado pela caramelização de carboidratos, acarretando na diminuição do rendimento e maior dificuldade na purificação reacional (Tabela 2, entrada 5).

Foi possível observar também que a reatividade da peneira molecular diminui com o passar do tempo após secagem e ativação. Este fato pode ser explicado pela propriedade das peneiras moleculares de absorverem umidade do ar, diminuindo a quantidade de sítios ativos disponíveis, contribui pra diminuição do rendimento da

reação. Esse problema foi contornado mantendo-se a peneira molecular armazenada em lotes menores, sob atmosfera inerte, após o processo de ativação e cada utilização nas reações de acetilação. Observou-se assim uma maior durabilidade e confiabilidade da peneira molecular nas reações de acetilação de carboidratos. Peneiras moleculares com até duas semanas após a ativação apresentaram rendimentos semelhantes de quando a mesma é pré-ativada imediatamente antes da reação de acetilação.

Tabela 2.

Tabela 2. Resultados para acetilação da D-ribonolactona (**9**) com PM.



Entrada	Catalisador	Temp. (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	13X	25	2	61
2	13X/KCl	25	2	65
3	13X	25	3	80
4	13X/KCl	25	3	99
5	13X/KCl	50	1	80
6	-	25	2	—
7	Piridina	25	3	65

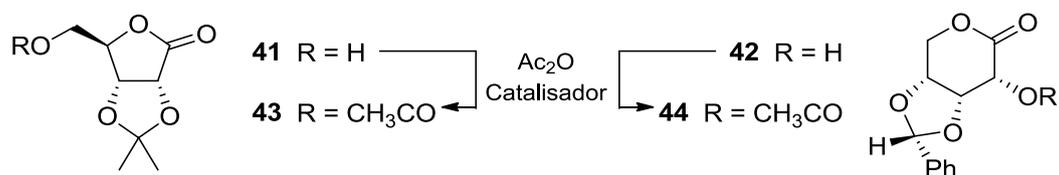
^a Reação monitorada por CCD utilizando 1:1 EtOAc/hexano; 1:1 EtOAc/hexano, revelado em vanilina.

5.1.4 Acetilação de derivados protegidos de D-ribonolactona

Para testar a eficácia do método frente à carboidratos previamente protegidos, foram preparados dois derivados da D-ribonolactona, a 2,3-*O*-isopropilideno-D-ribonolactona (**41**) e a 3,4-*O*-benzilideno-D-ribonolactona (**42**). Esperava-se que, por haver uma quantidade menor de hidroxilas a serem protegidas, essa reação ocorresse em

um tempo menor comparado à reação com a D-ribonolactona. Porém, observou-se um maior tempo reacional sem que houvesse aumento no rendimento, comparativamente. Além disso, a reação com o derivado **41** apresentou rendimento mais baixo. Ao se realizar a mesma reação à 50 °C, foi possível observar um aumento substancial de sua velocidade, bem como do rendimento. Como o derivado **42** é mais resistente à temperaturas elevadas (sofre decomposição em maior temperatura), a reação com o mesmo foi realizada à 80 °C (Tabela 3). É possível que, como esses derivados possuem estruturas mais rígidas, haja um maior impedimento para o ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila, dificultando assim a reação. Uma explicação para o aumento da reatividade é que o aumento da temperatura do sistema possibilita a deformação dos anéis rígidos, permitindo que as hidroxilas tornem-se mais expostas.

Tabela 3. Acetilação dos derivados **41** e **42** de D-ribonolactona.

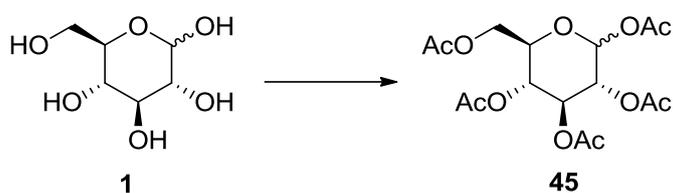


Entrada	Substrato	Catalisador	Temp. (°C)	Tempo (h)	Produto	Rendimento (%)
1	41	Piridina	25	24	43	75
2	41	13X/KCl	25	24	43	60
3	41	13X/KCl	50	1	43	>99
4	42	Piridina	25	24	44	70
5	42	13X/KCl	25	24	44	38
6	42	13X/KCl	80	1	44	>99

5.1.5 Acetilação de carboidratos naturais

Após o sucesso observado para a acetilação da D-ribonolactona (**9**) e os derivados protegidos **41** e **42**, a metodologia foi aplicada para a acetilação de um grupo

de carboidratos naturais (Tabela 4). Estudos preliminares mostraram, por cromatografia em camada delgada, que esses carboidratos demandam maior tempo reacional. Portanto, tratamento de três hexoses (D-glicose, D-galactose, D-manose) e duas pentoses (D-ribose e D-xilose) em excesso de anidrido acético (20 equivalentes) na presença de piridina a 25°C por 24 horas resultaram nos produtos per-*O*-acetilados como uma mistura de anomeros α e β , com rendimentos entre 58 e 66% (tabela 4, entradas 1, 4, 7, 10, 13). Surpreendentemente, os carboidratos per-*O*-acetilados foram obtidos com rendimentos menores quando a piridina foi substituída por peneira molecular 13X/KCl sob as mesmas condições (Tabela 4, entradas 2, 5, 8, 11, 14).



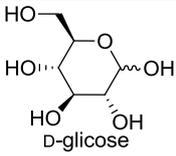
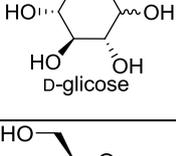
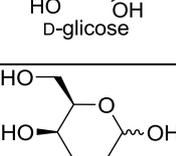
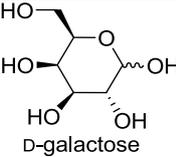
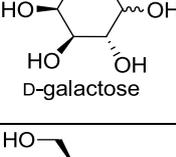
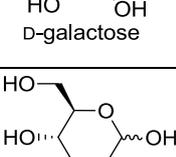
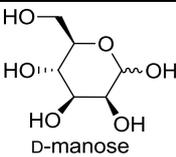
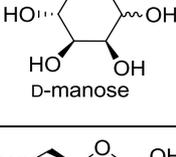
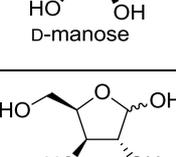
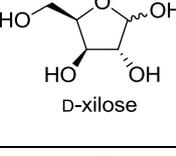
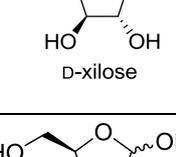
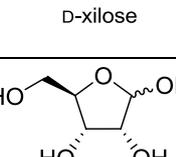
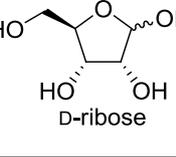
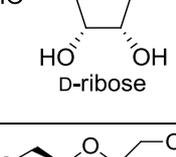
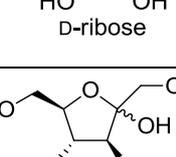
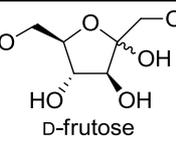
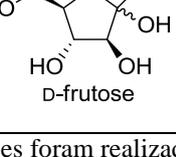
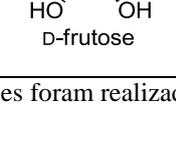
Esquema 12. Esquema geral para acetilação de derivados de carboidratos.

Uma vez que os carboidratos naturais estudados apresentaram baixa solubilidade em anidrido acético à 25 °C, isso pode explicar a reatividade limitada observada quando a peneira molecular 13X/KCl foi utilizada como catalisador (em comparação com a piridina, que atua também como co-solvente da reação). Portanto, foram testadas uma variedade de condições reacionais com o intuito de melhorar a solubilidade do substrato, incluindo a utilização de banho de ultrassom e a adição de duas vezes a quantidade original de anidrido acético. Infelizmente, não foi observada nenhuma melhora na velocidade da reação, tampouco nos rendimentos após 24h à 25 °C. Entretanto, observou-se melhora significativa ao aquecer o sistema à temperaturas até 80°C, obtendo-se os derivados per-*O*-acetilados dos carboidratos naturais com bons rendimentos, após purificação por cromatografia em coluna flash (hexano/EtOAc 3:1). Temperaturas acima de 80 °C favorecem a perda por evaporação do anidrido acético, além de favorecer reações de caramelização dos carboidratos, resultando em subprodutos polimerizados. Com relação à formação dos diastereoisômeros α e β na mistura de produtos, com exceção da per-*O*-acetilglicose, todos os D-carboidratos testados resultaram em quantidades similares dos anomeros α e β quando piridina foi utilizada como catalisador. (Tabela 4, entradas 1 contra 4, 7, 10). Entretanto, o emprego da peneira molecular 13X/KCl levou à formação seletiva do anomero β , com exceção da per-*O*-acetilmanose que resultou preferencialmente no isomero α (Tabela 4, entradas

3, 6, 12, 15 contra 9). Surpreendentemente, os anomeros α da per-*O*-acetil-D-ribose não foram identificados por RMN ^1H na reação utilizando 13X/KCl como catalisador, (Tabela 4, entrada 15) levando-se a crer que não foram formados na reação. No caso da piridina, há preferência pela formação do produto termodinâmico, mais estável, uma vez que a reação ocorre em temperaturas menores e por mais tempo, enquanto que a reação com peneira molecular prevalece a formação do produto cinético, o que poderia explicar as diferenças nas proporções dos anomeros α e β observados.

Finalmente, tentativas de peracetilar uma cetose, a D-frutose, usando tanto piridina quanto o método presente com 13X/KCl, à 25 °C, não resultaram no consumo do material de partida (observado por CCD). Esta reação em altas temperaturas levou à formação de uma mistura complexa de produtos (observado por RMN ^1H , Tabela 4, entrada 18).

Tabela 4. Per-*O*-acetilação de carboidratos naturais.^a

Entrada	Substrato	Catalisador [Tempo (h)]	Temp. (°C)	Rendimento (%)	$\alpha:\beta$ (%) ^b
1		Piridina [24]	25	65	72:28
2		13X/KCl [48]	25	26	nd ^c
3		13X/KCl [24]	80	80	21:79
4		Piridina [24]	25	62	58:42
5		13X/KCl [48]	25	34	nd ^c
6		13X/KCl [24]	80	78	17:83
7		Piridina [24]	25	66	46:54
8		13X/KCl [48]	25	53	nd ^c
9		13X/KCl [24]	80	79	72:28
10		Piridina [24]	25	58	57:43
11		13X/KCl [48]	25	35	nd ^c
12		13X/KCl [24]	80	84	19:81
13		Piridina [24]	25	64	nd ^c
14		13X/KCl [48]	25	20	nd ^c
15		13X/KCl [24]	80	61	0:100 ^d
16		Piridina [24]	25	—	nd ^c
17		13X/KCl [48]	25	—	nd ^c
18		13X/KCl [24]	80	^e	nd ^c

^aTodas as reações foram realizadas por 24h, observadas por CCD utilizando 1:1 EtOAc/hexano, revelados em vanilina.

^bDeslocamentos químicos de H- α and H- β foram atribuídos de acordo com a literatura.⁷¹⁻⁷⁶

^cnd = não determinado.

^dProduto obtido como uma mistura 57:47 de β -D-ribonopiranosose e β -D-ribonofuranose; a presença de anômero α - não foi observada.

^eMistura complexa de produtos foi obtida.

5.2 Tratamento reacional

A reação é realizada em anidrido acético e tem como subprodutos, água e ácido acético. O solvente escolhido para a extração foi o acetato de etila, no qual a ribonolactona mostra uma apreciável solubilidade e é uma opção mais verde do que o diclorometano. Primeiramente utilizou-se um tratamento aquoso, consistindo na lavagem da fase orgânica com solução saturada de NaHCO_3 , água deionizada e NaCl(aq) . Porém esse tratamento gera uma grande quantidade de resíduo aquoso, necessita de operação meticulosa para a remoção eficiente dos resíduos, influenciando no rendimento, uma vez que a per-*O*-acetil-D-ribonolactona é parcialmente em água.

A fim de diminuir a geração de resíduos aquosos, pensou-se no tratamento reacional pela evaporação do anidrido acético em rotavapor à pressão reduzida. Foi possível remover aproximadamente 90% do anidrido do meio reacional à 40 °C. O anidrido restante foi removido utilizando-se tolueno como co-solvente (possível substituir por heptanos, solvente menos nocivo). A mistura de solventes pode ser recuperada no rotavapor e facilmente purificada por destilação, podendo ser reutilizadas em futuras reações, diminuindo-se a geração de resíduos e a utilização de soluções aquosas no tratamento. Evita-se assim, também, maior número de etapas no tratamento.

5.3 Reciclabilidade da peneira molecular

Para se determinar a reciclabilidade da peneira molecular 13X/KCl na reação de peracetilação, realizou-se 4 reações consecutivas de acetilação da D-ribonolactona, à 25°C, com tempo reacional de 3 horas para cada reação. Para minimizar os erros, a reação foi realizada em um balão especial com uma saída adicional contendo um filtro de vidro sinterizado acoplado, e a mistura reacional foi filtrada com o auxílio de pressão positiva de nitrogênio gasoso. Após quatro reações consecutivas, a peneira molecular 13X/KCl mostrou pouca diminuição em sua atividade como catalisador, apresentando um rendimento global de 95,7% (Tabela 5). Os valores de rendimentos maiores que 100% podem ser explicados pelo baixo rendimento da primeira reação. Como a D-ribonolactona é pouco solúvel em acetato de etila, é possível que o material de partida

que não reagiu na primeira batelada tenha permanecido dentro do balão, sendo então consumido nas bateladas seguintes. Embora os valores intermediários de rendimento sejam anormais, o rendimento global nas quatro etapas se mostra condizente com o esperado para a reação e demonstra que a peneira molecular pode ser reutilizada pelo menos quatro vezes sem a necessidade de recuperação e reativação da mesma, consolidando-a como um catalisador viável para a reação de acetilação de carboidratos e derivados.

Tabela 5. Rendimentos das reações de acetilação de D-ribonolactona (**9**) no teste de reciclabilidade.

Reação	Rendimento(%)
1	76,4
2	105,0
3	101,2
4	100,1
TOTAL	95,7

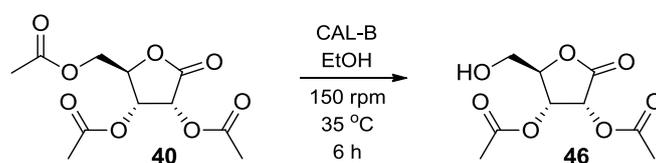
5.4 Desproteção regioseletiva por catálise enzimática

Como uma aplicação sintética para esta metodologia verde na preparação de 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) e outros carboidratos acetilados, imaginou-se que um processo quimioenzimático seria útil na produção de derivados seletivamente desprotegidos. Diversos estudos envolvendo a hidrólise seletiva do grupo 5-*O*-acetil de carboidratos per-*O*-acetilados^{26,27,77-80} e de nucleosídeos^{29,81-83} foram publicados, onde os melhores resultados foram obtidos em sistemas de solução tampão de fosfato. Portanto, realizamos experimentos para avaliar a hidrólise de **40** catalisada por CAL-B em condições fisiológicas (pH = 7,0 à 35 °C). Embora análises por CCD mostrassem a formação de novas espécies após 24h de reação, os produtos são altamente solúveis na meio reacional e tentativas de extração com diclorometano e acetato de etila se mostraram ineficazes. Como um tratamento alternativo, água foi previamente removida em evaporador rotatório, porém tentativas de separar o produto da mistura crua utilizando-se uma variedade de solventes orgânicos mostraram-se ineficazes.

A alcólise regioseletiva do grupo acetila, catalisada por *Candida Antarctica* Lipase B (CAL-B),^{78,81,84} em α - e β -D-ribofuranosídeos foi previamente demonstrada. Portanto, mudamos nosso foco para condições de alcoólise ao invés de hidrólise,

utilizando CAL-B como lipase de escolha. Inicialmente, para determinar a quantidade necessária para a alcólise catalisada em um tempo razoável, reações testes com 0,5 mmol de per-*O*-acetil-D-ribonolactona **40** foram realizadas em etanol com adição de diferentes quantidades de CAL-B (Tabela 6). Enquanto os rendimentos da conversão do produto peracetilado à 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) foram altos para a reação utilizando-se 280 ou 140 mg da enzima comercial (Tabela 6, entradas 1 e 2), ao diminuir a quantidade de CAL-B foi possível observar a diminuição da conversão sob as mesmas condições (tabela 6, entradas 3, 4 e 5).

Tabela 6. Otimização da quantidade de CAL-B na etanólise de **40** em 6 h.^a



Entrada	CAL-B (mg)	Conversão para 46 (%)
1	280	93
2	140	93
3	70	81
4	35	62
5	18	44

^aReação realizada em escala de 0.5 mmol. Conversão determinada por integração dos sinais (RMN ¹H, 400 MHz, DMSO-*d*₆) dos tripletos em 4,88 e 4,68 ppm, atribuídos aos H-4 de **40** e H-4 de **46**, respectivamente.

Para avaliar a influência do tamanho da cadeia carbônica dos álcoois empregados, 2,3,4-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) foi submetida à alcólise, na presença de CAL-B (35 °C, 150 rpm) utilizando-se MeOH, EtOH, *i*-PrOH e *n*-BuOH como solventes. Após o tempo indicado na Tabela 7, uma alíquota da reação foi cuidadosamente retirada do frasco reacional, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o resíduo analisado por RMN ¹H.

Tabela 7. Consumo de **40** (%) através da solvólise em cada álcool utilizado na obtenção de **46**.^a

Álcool	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
MeOH	16	19	25	33	37
EtOH	50	54	59	75	93 ^b
<i>i</i> -PrOH	13	14	22	31	43
<i>n</i> -BuOH	11	19	20	32	52

^aValores obtidos por integração dos tripletos em 4,88 e 4,68 ppm, atribuídos aos H-4 de **40** e H-4 de **46**, respectivamente.

^bA formação competitiva de 3-*O*-acetil-D-ribonolactona (**47**) foi observada.

O espectro de RMN ¹H de cada amostra apresenta, com relação ao tempo de reação, a diminuição do tripleto em 4,88 ppm, que é atribuído ao H-4 do material de partida peracetilado **40**, e a aparição do tripleto em 4,68 ppm, relacionado ao H-4 da 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) formada com produto (Figura 10). A taxa de conversão de 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) para 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) é similar em MeOH, *i*-PrOH e *n*-BuOH. Por exemplo, menos da metade do material de partida **40** foi consumido após 6 horas em *i*-PrOH (Tabela 7). A desacetilação completa de ambos **46** e **47** em *i*-PrOH resultaram em D-ribonolactona **9** como produto exclusivo após 18 horas (Figura 10). Em contrapartida, a utilização de EtOH como solvente levou à reações rápidas e seletivas, com a conversão de **40** a **46** chegando a 75% de rendimento em apenas 4 horas, sem a formação competitiva de outros subprodutos. Entretanto, tempos reacionais maiores (6h) possibilitaram a formação de 3-*O*-acetil-D-ribonolactona (**47**) em quantidades significativas, baseado na aparição de tripletos em 4,45 e 4,39 ppm, correspondentes aos H-2 e H4 em **47**.

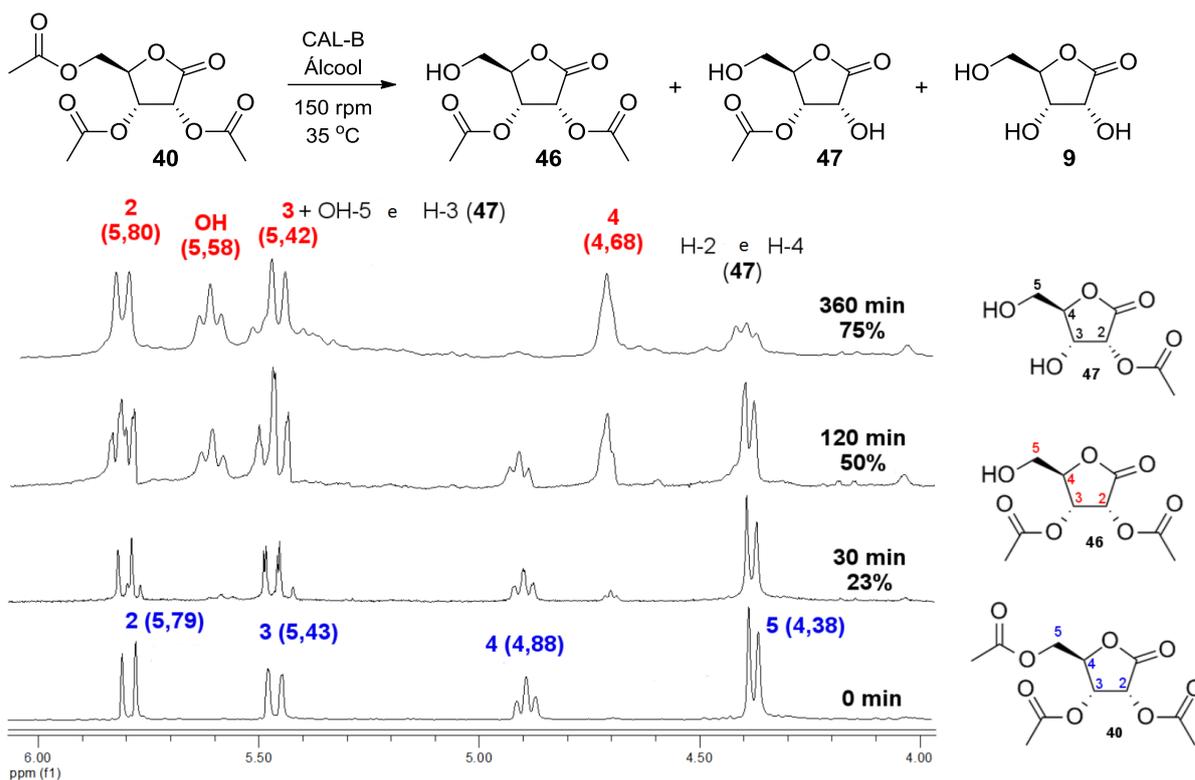


Figura 10. Alcólise catalisada por CAL-B da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**, RMN ¹H, CDCl₃, 300 MHz).

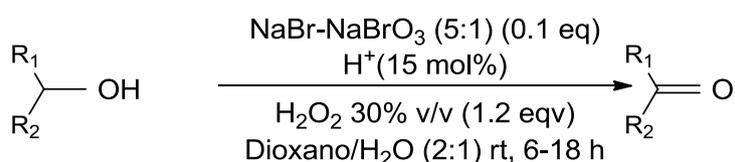
5.4.1 Reciclabilidade de enzimas na reação de desproteção seletiva

A reciclabilidade de enzimas imobilizadas podem ditar a viabilidade econômica de processos biossintéticos. Testes preliminares de reciclabilidade foram realizados previamente dentro do grupo de pesquisa por outro colaborador e não foram reproduzidos no trabalho atual, porém os resultados, embora ainda não definitivos, mostraram-se promissores na consolidação da catálise enzimática como um processo viável química e economicamente. CAL-B foi empregada como catalisador na alcólise de **40** em cinco ciclos subsequentes. Ao final de cada batelada, a enzima foi removida da reação, lavada com MeOH e acetonitrila e utilizada novamente na batelada seguinte. Entretanto, a taxa reacional de formação do produto **46** não se manteve de ciclo pra ciclo e foi gradualmente diminuindo. Esta observação está relacionada à uma possível inibição extensiva da atividade de lipase causada por exposição prolongada ao EtOH, que pode ser capaz de remover a microcamada aquosa da enzima, alterando assim o pH do sítio catalítico.⁸⁵

5.5 Oxidação de carboidratos

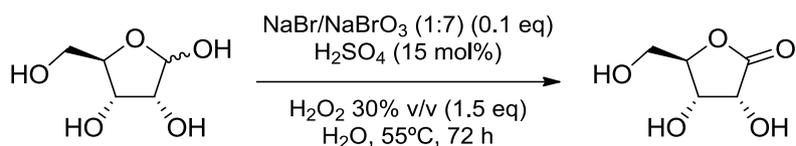
5.5.1 Sais de bromo

A oxidação de álcoois à derivados carbonilados é uma das transformações mais importantes na síntese orgânica. Convencionalmente envolve a utilização de catalisadores metálicos que exigem condições específicas como altas temperaturas, atmosfera inerte e, ocasionalmente, requer o uso de co-catalisadores. Halogênios (Cl_2 , Br_2 e I_2) também são comumente utilizados na oxidação de álcoois. Embora bromo molecular seja de alta periculosidade no manuseio, ainda é largamente utilizado tanto na indústria como na pesquisa por ser muito disponível comercialmente e de baixo custo. Sendo assim, o desenvolvimento de novas metodologias para a oxidação de álcoois que não apresente tais características são de grande necessidade. A utilização de misturas de bromo e diferentes catalisadores baseados em bromo vem sendo estudados na oxidação de diversos álcoois primários e secundários. A geração *in situ* de bromo molecular a partir de uma mistura dos sais brometo de sódio e bromato de sódio em meio ácido, com adição de peróxido de hidrogênio, mostrou-se eficaz para a oxidação de álcoois secundários e benzílicos (Esquema 13).⁸⁶ Portanto, buscou-se estender esta metodologia para a obtenção da D-ribonolactona (**9**), pela oxidação do carbono anômérico da D-ribose (**8**).



Esquema 13. Oxidação de álcoois por geração *in situ* de bromo molecular com sais de bromo.

Resultados preliminares em nosso grupo de pesquisa identificaram a proporção ideal de $\text{NaBr}/\text{NaBrO}_3$ de 1:7 na reação de oxidação da D-ribose (**8**).³⁹ Tratamento de **8** com sais de bromo, em meio aquoso ácido, e adição de H_2O_2 levou à formação de **1** (55 °C, 72h, 50%). O tratamento reacional consiste na eliminação do bromo restante com solução de tiosulfato de sódio 5% e evaporação da água em rotavapor, à pressão reduzida.



Esquema 14. Reação de oxidação da D-ribose utilizando sais de bromo.

O bruto da reação, caracterizado por infravermelho, comprovou a obtenção do produto (Figura 11) quando realizada em pequena escala. No espectro é possível observar a banda característica da D-ribonolactona (estiramento C=O da carbonila em 1780 cm^{-1}). Porém, ao proceder o escalamento da reação para 10 mmol não foi possível obter o produto desejado pelo mesmo procedimento. Devido à grande geração de gases de bromo *in situ*, o balão reacional se mostrou sob grande pressão e ocorreu vazamento de gás, diminuindo assim o bromo molecular disponível na reação. Adicionalmente, a utilização de grandes quantidades de água como solvente da reação acarreta na dificuldade da remoção da mesma em rotavapor, levando à necessidade da utilização de co- evaporadores, como o tolueno.

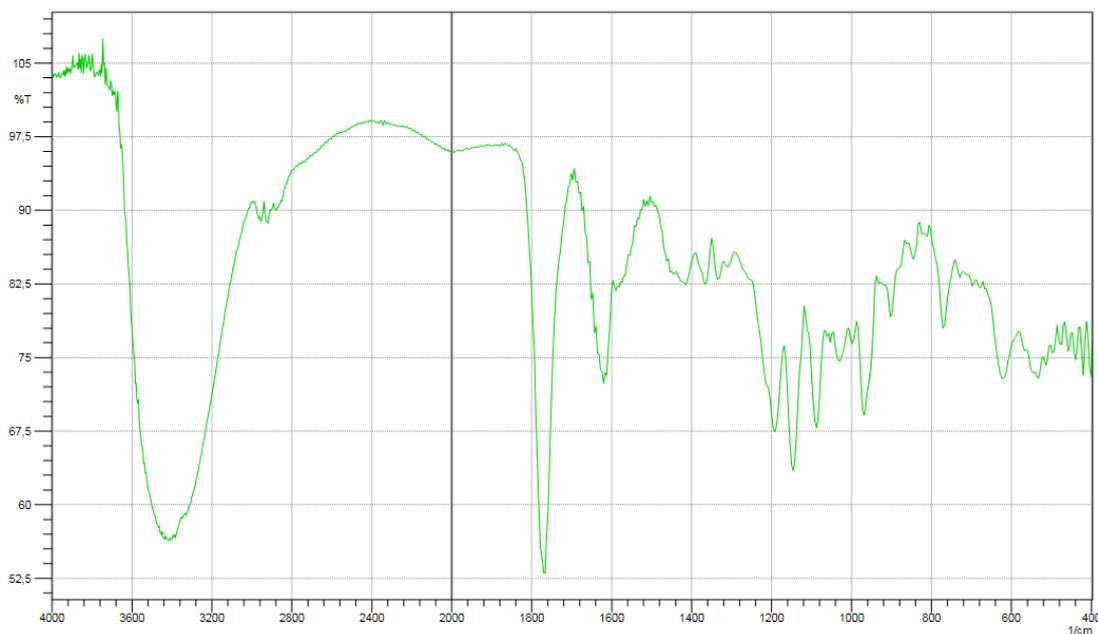
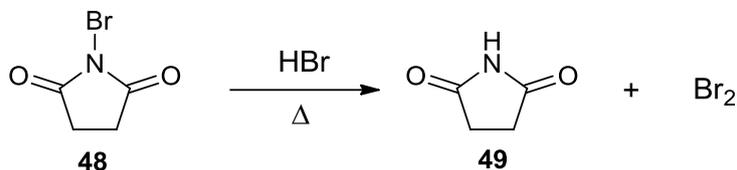


Figura 11. Espectro de infravermelho da D-ribonolactona obtida pela reação de oxidação com sais de bromo.

5.5.2 Oxidação da D-Ribose (8) utilizando N-bromosuccinimida

Dentre as alternativas para a utilização de bromo molecular em reações de oxidação de álcoois à derivados carbonilados, N-bromosuccinimida (**48**, NBS) tem se

mostrado como uma excelente substituta, sendo utilizada, inclusive, na brominação de alcenos.³¹ Em meio ácido e sob aquecimento NBS se decompõe em succinimida (**49**) e Br₂ (Esquema 15), sendo assim uma forma segura de se obter bromo molecular *in situ* sem a necessidade de manusear bromo líquido, que é altamente tóxico e volátil.



Esquema 15. Decomposição da N-bromosuccinimida (**48**).

Por sua vez, NBS pode ser preparada utilizando-se sais de bromo.⁸⁷ Como a D-ribose é insolúvel na grande maioria dos solventes orgânicos, optou-se por utilizar a água como solvente da reação, a segunda opção mais aceitável dentro dos preceitos da Química Verde, atrás apenas de reações sem solvente. Foi possível observar, através de cromatografia em camada delgada e por infravermelho, a obtenção de D-ribonolactona ao reagir D-ribose com 2 equivalentes de NBS à 50°C por 4 horas (Figura 12). No espectro é possível observar que o sinal referente à carbonila do carboidrato **9** e as carbonilas da succinimida **49** aparecem sobrepostas, impossibilitando a distinção entre elas. Porém, é possível observar a presença do estiramento C-O da carboidrato **9** no espectro da reação, em 1080 e 1150 cm⁻¹, que diferem no estiramento C-N em 1190 cm⁻¹.

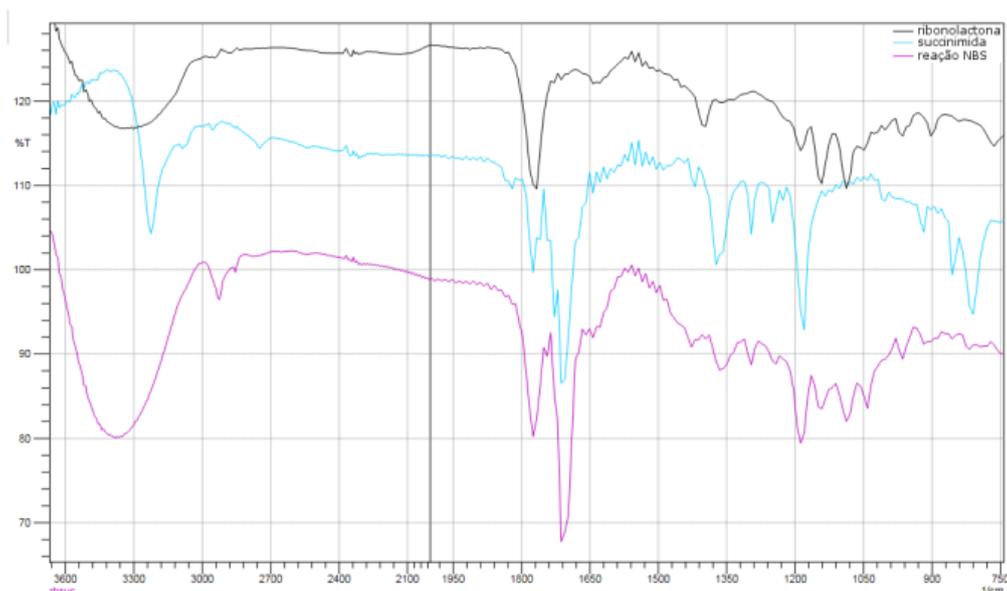


Figura 12. Espectros de infravermelho de D-ribonolactona (**9**), Succinimida (**49**) e reação de **8** com NBS.

Succinimida e D-ribonolactona possuem solubilidades semelhantes nos mesmos solventes, dificultando assim a separação das duas no mesmo sistema.⁸⁸ A melhor alternativa encontrada foi a extração da succinimida presente no meio reacional com EtOAc à quente, onde cinco sucessivas extrações de 50 mL cada (para 6 mmol de succinimida) foram capazes de remover 80% parte da succinimida presente, obtendo-se uma mistura composta por 45% D-ribonolactona, observado por RMN ¹H (figura 13). No espectro é possível comparar as integrais dos sinais referentes aos hidrogênios da D-ribonolactona (δ 4,41, 4,22, 4,12 e 3,57) com a integral do sinal referente aos hidrogênios da succinimida (δ 2,56). Entretanto, observou-se degradação do produto final, caracterizada por uma coloração marrom alaranjado, quando houve um contato prolongado da mistura reacional com o AcOEt quente, possivelmente devido à presença de resquícios de bromo molecular na mistura reacional, levando à possíveis reações paralelas com a D-ribonolactona.

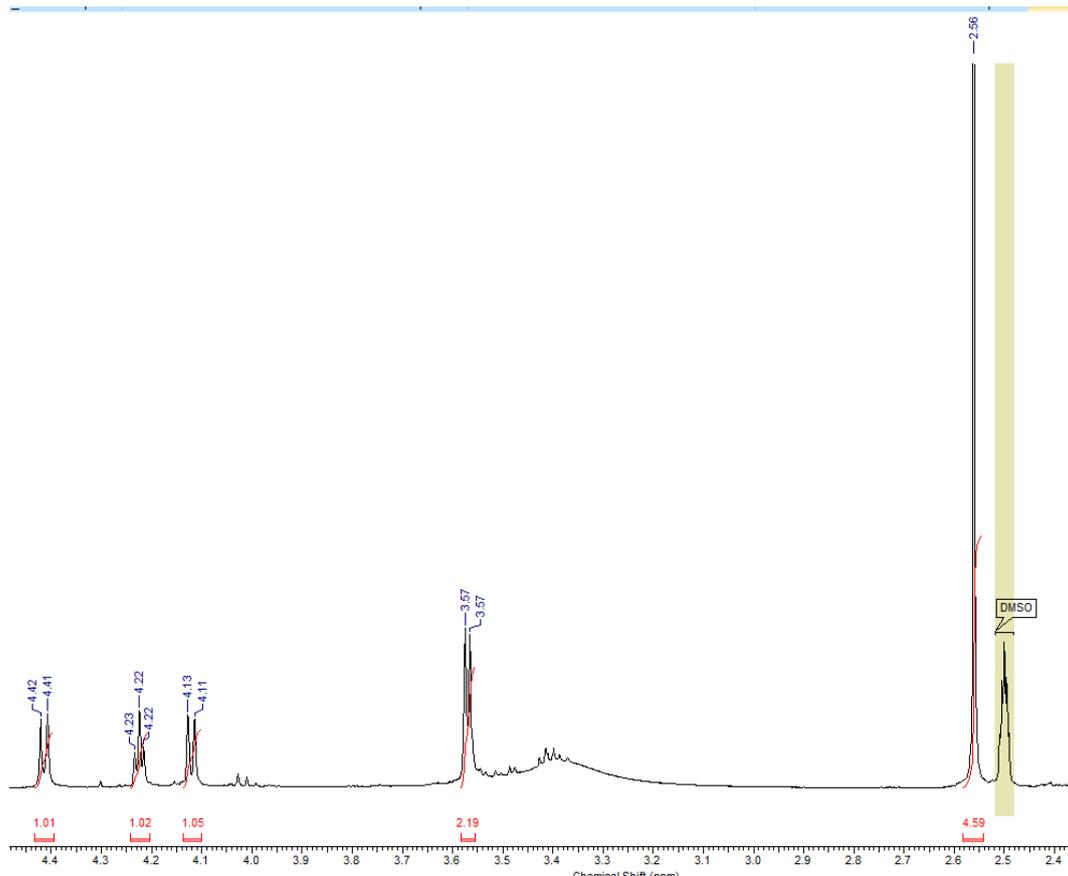


Figura 13. Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) do bruto da reação de oxidação com NBS.

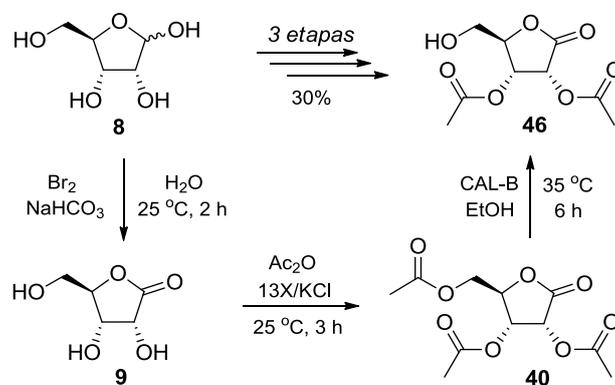
O foco atual no estudo da reação de oxidação de D-ribose com NBS em água é encontrar um tratamento reacional que permita obter a D-ribonolactona em grau de pureza mínimo necessário para a utilização da mesma em etapas seguintes de proteção e desproteção de grupos funcionais, consolidando assim a metodologia.

5.6 Escalonamento

5.6.1 Síntese da 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) a partir da D-ribose (**8**)

Após determinar as melhores condições para a per-*O*-acetilação da D-ribonolactona **9** seguida pela etanolise regioselectiva de seu derivado per-*O*-acetilado **40** para obter 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**), o método foi adaptado para uma escala de 10 mmol, iniciando-se a partir da D-ribose (**8**, Esquema 16). 2,3,5-Tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) foi preparada pela oxidação da D-ribose (**8**) à D-ribonolactona **9** utilizando bromo molecular^{5,89} seguida pela peracetilação catalisada por peneira

molecular 13X/KCl em anidrido acético (58%, duas etapas). Subsequente etanólise catalisada por CAL-B (35 °C, 150 rpm, 6 h) produziu, de forma verde, 2,3-di-*O*-acetil-D-ribonolactona (**46**) após purificação por cromatografia *flash* em sílica gel utilizando EtOAc/hexano 1:3 (0,70 g; 52%; 30% de rendimento total após três etapas).



Esquema 16. Síntese em três etapas de **46** a partir de **8**.

CONCLUSÃO

A acetilação de carboidratos e derivados de carboidratos utilizando peneiras moleculares em reações sem solvente se mostraram alternativas viáveis à metodologia usual de proteção desses derivados, que utiliza reagentes como a piridina, nociva ao ambiente e aos seres humanos. Reações utilizando a peneira molecular 13X/KCl apresentaram altos rendimentos em condições brandas de reação, além de permitir um tratamento reacional sem utilização de soluções aquosas, e com baixa geração de resíduos. Adicionalmente, o catalisador pode ser recuperado e reutilizado em novos ciclos de reações sem que haja perda significativa em sua atividade. Estendeu-se a metodologia para a acetilação de dois derivados protegidos da D-ribonolactona, assim como para a per-*O*-acetilação de diversos carboidratos naturais. Para os carboidratos naturais houve a necessidade de se empregar temperaturas maiores e um maior tempo reacional. Surpreendentemente, foi possível observar uma variação na proporção entre os anômeros α e β , em comparação com a reação utilizando piridina. possivelmente pela reação de acetilação com PM ocorrer à temperaturas maiores e por mais tempo, favorecendo a formação do produto termodinâmico.

Estudou-se também a reação de desproteção regioseletiva da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona através da alcoólise enzimática catalizada pela *Candida Antarctica* lipase B (CAL-B). Sob condições brandas e verdes (etanol como solvente, 35 °C) foi possível obter o produto seletivamente desprotegido em bons rendimentos após 6 horas de reação. Demonstrou-se também que a etapa de proteção através da catálise com peneira molecular, seguida da desproteção regioseletiva por catálise enzimática são processos escaláveis. Foi possível a preparação desses reagentes em grande escala, a partir da D-ribose, obtendo-se um rendimento global de 30%, necessitando apenas de uma etapa de purificação por cromatografia em coluna, mostrando assim a aplicabilidade em escala industrial do processo.

Como parte da pesquisa baseada em reações com D-ribonolactona, propôs-se dois novos métodos para a obtenção da mesma através da oxidação no carbono anomérico da D-ribose, baseados nos preceitos da química verde. O primeiro método mostrado, que consiste na geração *in situ* de bromo molecular a partir de uma mistura de sais de bromo (brometo de sódio e bromato de sódio) em meio ácido se mostrou

promissora, apresentando resultados qualitativos bons em pequena escala, sendo possível obter a D-ribonolactona como uma mistura com sais, em baixa pureza. Porém, esse processo mostrou-se ineficaz quando se tentou aumentar a escala da reação, necessitando assim de maior investigação dos parâmetros da reação, a fim de se desenvolver uma metodologia completa que seja escalável e aplicável em grandes quantidades. O segundo método consiste na geração *in situ* de bromo molecular através da decomposição da *N*-bromosuccinimida em meio aquoso. Este método apresentou resultados favoráveis em condições reacionais brandas (50 °C). Porém, embora a reação seja de fácil preparo e relativamente simples, o tratamento reacional se mostrou complicado e de difícil realização. Foi possível obter a D-ribonolactona com 80% de pureza em uma mistura com succinimida através da extração do cru da reação com acetato de etila à quente. Porém, é preciso um estudo mais extensivo no tratamento do meio reacional para a obtenção da D-ribonolactona em maiores graus de pureza.

REFERENCIAS

- 1 Bols, M.; Carbohydrate Building Blocks, Wiley: New York, **1996**.
- 2 Sá, M. M.; Silveira, G. P.; Caro, M. S. B.; Ellena, J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 18.
- 3 Williams, J. D.; Kamath, V. P.; Morris, P. E.; Townsend, L. B.; *Org. Synth.* **2005**, 82, 75.
- 4 Batra, H.; Moriarty, R. M.; Penmasta, R.; Sharma, V.; Stanciuc, G.; Staszewski, J. P.; Tuladhar, S. M.; Walsh, D. A.; *Org. Process Res. Dev.* **2006**, 10, 484.
- 5 Fan, A.; Jaenicke, S.; Chuah, G.-K.; *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 7720.
- 6 Bhat, K. L.; Chen, S.-Y.; Joullié, M. M.; *Heterocycles* **1985**, 23, 691.
- 7 Han, S.-Y.; Joullié, M. M.; Petasis, N. A.; Bigorra, J.; Corbera, J.; Font, J.; Ortuño, R. M.; *Tetrahedron*, **1993**, 49, 349.
- 8 Hamon, N.; Uttaro, J.-P.; Mathé, C.; Périgaud, C.; *Bioorg. Chem.*, **2010**, 38, 275.
- 9 Caletková, O.; Lásiková, A.; Hajdúch, M.; Džubák, P.; Gracza, T.; *Arkivoc*, **2012**, 6, 365.
- 10 Karlubíková, O.; Palík, M.; Lásiková, A.; Gracza, T.; *Synthesis*, **2010**, 3449.
- 11 Boojamra, C. G.; Cannizzaro, C.; Chen, J. M.; Chen, X.; Cho, A.; Chong, L. S.; Fardis, M.; Jin, H.; Hirschmann, R. F.; Huang, A. X.; Kim, C. U.; Kirschberg, T.; Lee, C. P.; Lee, W.A.; Mackman, R. L.; Markevitch, D. Y.; Oare, D. A.; Prasad, V. K.; Pyun, H.-J.; Ray, A. S.; Sherlock, R.; Swaminathan, S.; Watkins, W. J.; Zhang, J.; US pat. 0288053, 2011.
- 12 Stefko, M.; Slavetínská, L.; Klepetářová, B.; Hocek, M.; *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 442.
- 13 Kubelka, T.; Slavetínská, L.; Hocek, M.; *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 4969.
- 14 Sá, M. M.; Silveira, G. P.; Castilho, M. S.; Pavão, F.; Oliva, G.; *Arkivoc*, **2002**, 8, 112.
- 15 Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M.; *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4661.
16. Kumareswaran, R.; Pachamuthu, K.; Vankar, Y. D.; *Synlett*, **2000**, 1652.
17. Bhaskar, P. M.; Loganathan, D.; *Synlett*, **1999**, 129.
- 18 <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol77/77-16.html> acessado em Fevereiro de 2016.

- 19 Berry, D. J.; DiGiovanna, C. V.; Metrick, S. S.; Murugan, R.; *Arkivoc*, **2001**, 1, 201.
- 20 Martins, L.; Cardoso, D.; *Quim. Nova*, **2006**, 29, 358.
- 21 Sá, M. M.; Meier, L.; *Synlett*, **2006**, 3474.
- 22 Sá, M. M.; Meier, L.; Fernandes, L.; Pergher, S. B. C.; *Catal. Commun.*, **2007**, 8, 1625.
- 23 Yadav, V. K.; Babu, K. G.; Mittal, M.; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 7047.
- 24 Dutra, L. G.; Saibert, C.; Vicentini, D. S.; Sá, M. M.; *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2014**, 386, 35.
- 25 Manoel, E. A.; Pais, K. C.; Cunha, A. G.; Simas, A. B. C.; Coelho, M. A. Z.; Freire, D. M. G.; *Org. Process Res. Dev.*, **2012**, 16, 1378.
- 26 Hennen, W. J.; Sweers, H. M.; Wang, Y.-F.; Wong, C.-H.; *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 4939.
- 27 Gervaise, C.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrières, V.; *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 2083.
- 28 Mendes, A. A.; Rodrigues, D. S.; Filice, M.; FernandezLafuente, R.; Guisan, J. M.; Palomo, J. M.; *Tetrahedron*, **2008**, 64, 10721.
- 29 Sabaini, M. B.; Zinni, M. A.; Mohorčić, M.; Friedrich, J.; Iribarren, A. M.; Iglesias, L. E.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **2010**, 62, 225.
- 30 Zinni, M. A.; Rodríguez, S. D.; Pontiggia, R. M.; Montserrat, J. M.; Iglesias, L. E.; Iribarren, A. M.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **2004**, 29, 129.
- 31 Fan, J.; Shang, Z.; Liang, J.; Liu, X.; Liu, Y.; *J. Phys. Org. Chem.*, **2008**, 21, 945.
- 32 Silva, J. M. R.; Bitencourt, T. B.; Moreira, M. A.; Nascimento, M. G.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **2013**, 95, 48.
- 33 Pathak, T.; *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 1623.
- 34 Cho, J. H.; Bernard, D. L.; Sidwell, R. W.; Kern, E. R.; Chu, C. K.; *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 1140.
- 35 Hocek, M.; Holý, A.; Votruba, I.; Dvořáková, H.; *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 1817.
- 36 Véliz, E. A.; Beal, P. A.; *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 8592.
- 37 Hollingsworth, R. I., Wang, G.; *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 4267.
- 38 Bhat, L. K.; Chen, S.; Joullie, M. M.; *Heterocycles*, **1985**, 23, 691.

- 39 Silveira, G. P.; Carvalho, C. B.; Ribeiro, T. S. Preparação da D-ribonolactona empregando brometo e bromato de sódio. BR Patent 1020130323454, December 12, 2013.
- 40 Fusaro, M. B.; Chagnault, V.; Josse, S.; Postel, D.; *Tetrahedron*, **2013**, 69, 5880.
- 41 Isaac, I.; Stasik, I.; Beaupère, D.; Uzan, R.; *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 383.
- 42 Simonovich, S. P.; Van Humbeck, J. F.; MacMillan, D. W. C.; *Chem. Sci.*, **2012**, 3, 58.
- 43 Peifer, M.; Berger, R.; Shurtleff, V.W.; Conrad, J.C.; MacMillan, D.W.C.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136, 5900.
- 44 Silveira, G. P.; Cardozo, H. M.; Rossa, T. A.; Sá, M. M.; *Curr. Org. Synth.*, **2015**, 12, 584.
- 45 Levy, D. E.; Fügedi, P.; **The Organic Chemistry of Sugars**, 1st Edition, Taylor & Francis Group. 2006.
- 46 Garegg, P. J.; Swahn, C. G.; *Methods Carbohydr. Chem.*, **1980**, 8, 317.
- 47 Otera, J.; **Esterification: Methods, Reactions and Applications**, 2nd Edition, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2003, p. 5.
- 48 Wu, H.; Shen, Y.; Fan, L.; Wan, Y.; Shi, D.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 7995.
- 49 Pearson, A. L.; Roush, W. J.; **Handbook of Reagents for Organic Synthesis: Acetylating Agents and Protecting Groups**, John Wiley, Chichester, 1999.
- 50 Stort, G.; Takahashi, T.; Kawamoto, I.; Suzuki, T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 8272.
- 51 D'Sa, B. A.; Verkade, J. G.; *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 2963.
- 52 Iqbal, J.; Srivastava, R. R.; *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 2001.
- 53 Miyashita, M.; Shiina, I.; Miyoshi, S.; Mukaiyama, T.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1993**, 66, 1516.
- 54 Chandrasekhar, S.; Chander, T. R.; Takhi, M.; *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 3263.
- 55 Dalpazzo, R.; De Nino, A.; Maiuolo, L.; Procopio, A.; Nardi, M.; Bartali, G.; Romeo, R.; *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 5621.
- 56 Ishihara, K.; Kubota, M.; Kurihara, H.; Yamamoto, H.; *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 4560.
- 57 Rocopiou, P. A.; Baugh, A. P. D.; Flack, S. S.; Inglis, G. G. A.; *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 2342.
- 58 Chauhan, K. K.; Frost, C. G.; Love, I.; Waite, D.; *Synlett*, **1999**, 1743.

- 59 Saravanan, P.; Singh, V. K.; *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 2611.
- 60 Heravi, M. M.; Behbahani, F. K.; Bamoharram, F. F.; *J. M. Catal. A: Chem.*, **2006**, 253, 16.
- 61 Li, A.; Li, T.; Ding, T.; *Chem. Commun.*, **1997**, 15, 1389.
- 62 Maesen, T.; *Studies in Surface Science and Catalysis*, **2007**, 168, 1.
- 63 Meier, W. M.; Olson, D. H.; *Adv. Chem. Ser.*, **1971**, 101, 155.
- 64 <http://www.iza-structure.org/databases/>
- 65 Weitkamp, J.; Hunger, M.; *Studies in Surface Science and Catalysis*, **2007**, 168, 787.
- 66 Barthomeuf, D.; *J. Phys. Chem.*, **1984**, 88, 42.
- 67 Joshi, U. D.; Joshi, P. N.; Tamhankar, S. S.; Joshi, V. V.; Rode, C. V.; Shiralkar, V. P.; *Appl. Catal. A*, **2003**, 239, 209.
- 68 Kadereit, D.; Waldmann, H.; *Chem. Rev.*, **2001**, 101, 3367.
- 69 <http://www2.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry#definition>, acessado em Setembro de 2015.
- 70 <http://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry>, acessado em Fevereiro de 2016.
- 71 Aggarwal, N.; Arya, A.; Mathur, D.; Singh, S.; Tyagi, A.; Kumar, R.; Rana, N.; Singh, R.; Prasad, A. K.; *Bioorg. Chem.* **2014**, 53, 83.
- 72 Shi, L.; Zhang, G.; Pan, F.; *Tetrahedron*, **2008**, 64, 2572.
- 73 Bizier, N. P.; Atkins, S. R.; Helland, L. C.; Colvin, S. F.; Twitchell, J. R.; Cloninger, M.; *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 1814.
- 74 Ella-Menye, J.-R.; Nie, X.; Wang, G.; *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 1743.
- 75 Dowlut, M.; Hall, D. G.; Hindsgaul, O.; *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 9809.
- 76 Satgé, C.; Le Bras, J.; Hénin, F.; Muzart, J.; *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8405
- 77 Wernerova, M.; Hudlicky, T.; *Synlett*, **2010**, 2701
- 78 Mastihubová, M.; Szemesová, J.; Biely, P.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 1805.
- 79 Jun, S. J.; Moon, M. S.; Lee, S. H.; Cheong, C. S.; Kim, K. S.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5063.
- 80 Chien, T.-C.; Chern, J.-W.; *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 1215.
- 81 Singh, H. K.; Cote, G. L.; Sikorski, R. S.; *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 5201.

- 82 Ciuffreda, P.; Casati, S.; Santaniello, E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 1577.
- 83 Gallou, F.; Seeger-Weibel, M.; Chassagne, P.; *Org. Process Res. Dev.*, **2013**, 17, 390.
- 84 Iñigo, S.; Porro, M. T.; Montserrat, J. M.; Iglesias, L. E.; Iribarren, A. M.; *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **2005**, 35, 70.
- 85 Abbas, H.; Comeau, L.; *Enzyme Microb. Technol.*, **2003**, 32, 589.
- 86 Joshi, G.; Patil, R. D.; Adimurthy, S.; *RSC Adv.*, **2012**, 2, 2235.
- 87 Adimurthy, S.; Ramachandraiah, G.; Bedekar, A. *Green Chem.* **2006**, 8, 916.
- 88 Wang, K.; Hu, Y.; Yang, W.; Shi, Y.; Li, Y.; *Thermochimica Acta*, **2012**, 538, 79.
- 89 Baggett, N.; Buchanan, J. G.; Fatah, M. Y.; Lachut, C. H.; McCullough, K. J.; Webber, J. M.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1985**, 1826.

ANEXOS

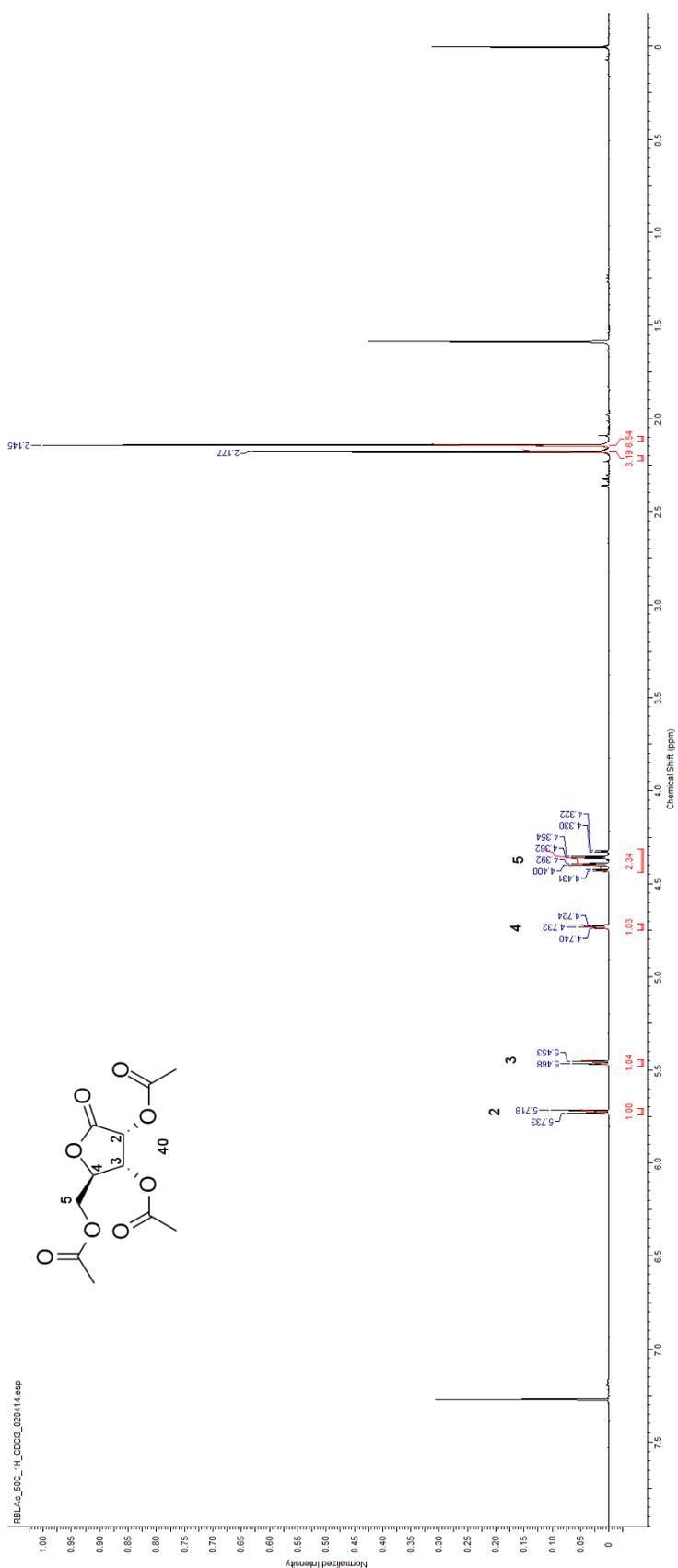


Figura 14. Espectro de RMN ¹H da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) (CDCl₃, 400MHz).

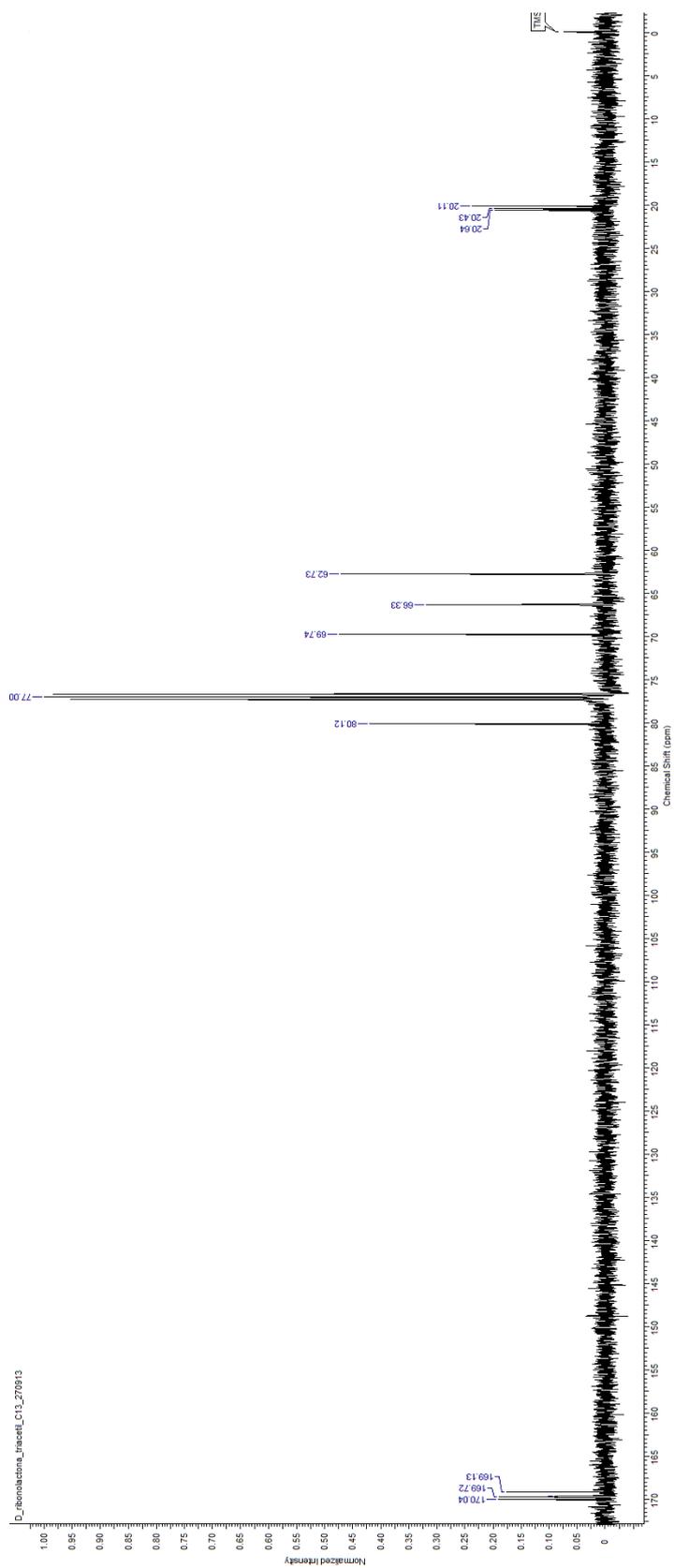


Figura 15. Espectro de RMN ¹³C da 2,3,5-tri-*O*-acetil-D-ribonolactona (**40**) (CDCl₃, 100MHz).

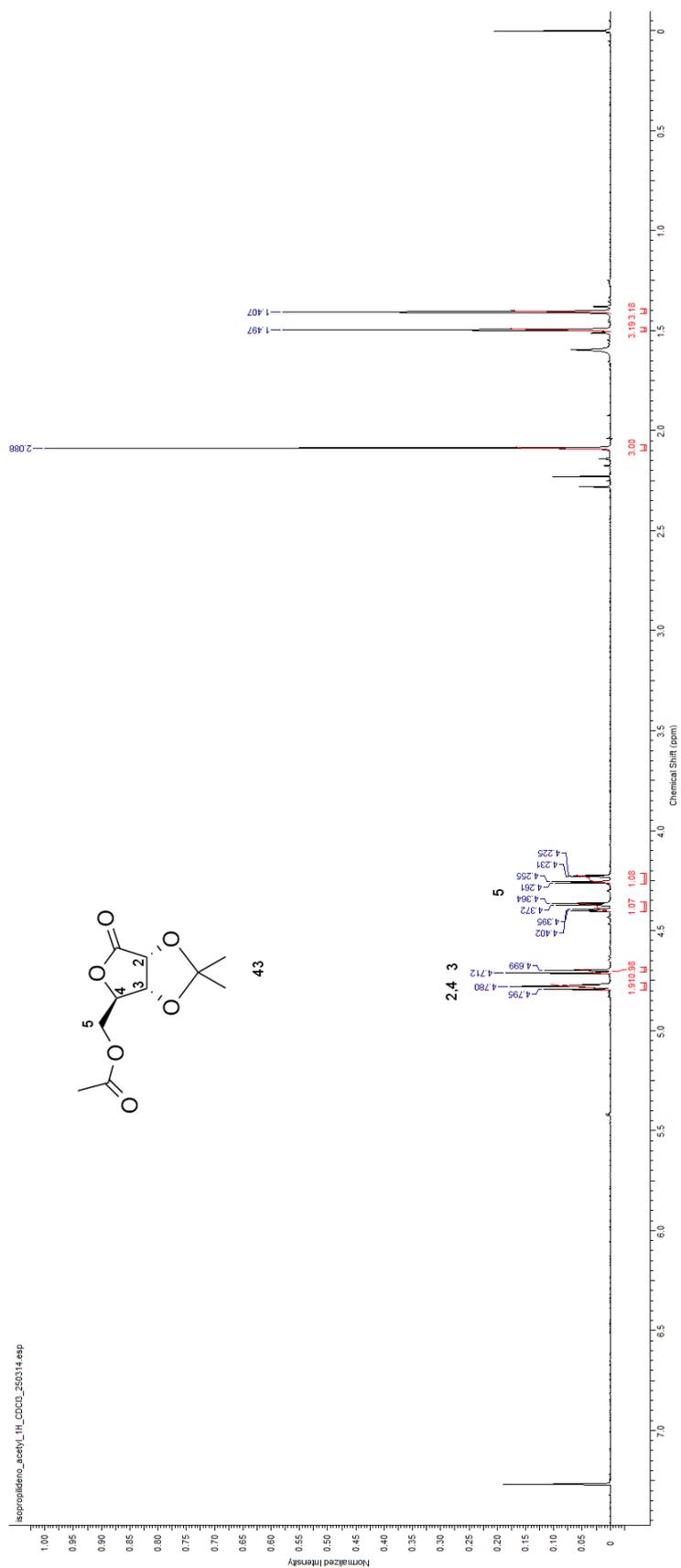


Figura 16. Espectro de RMN ^1H da 2,3-*O*-isopropilideno-5-acetil-D-ribonolactona (**43**) (CDCl_3 , 400MHz).

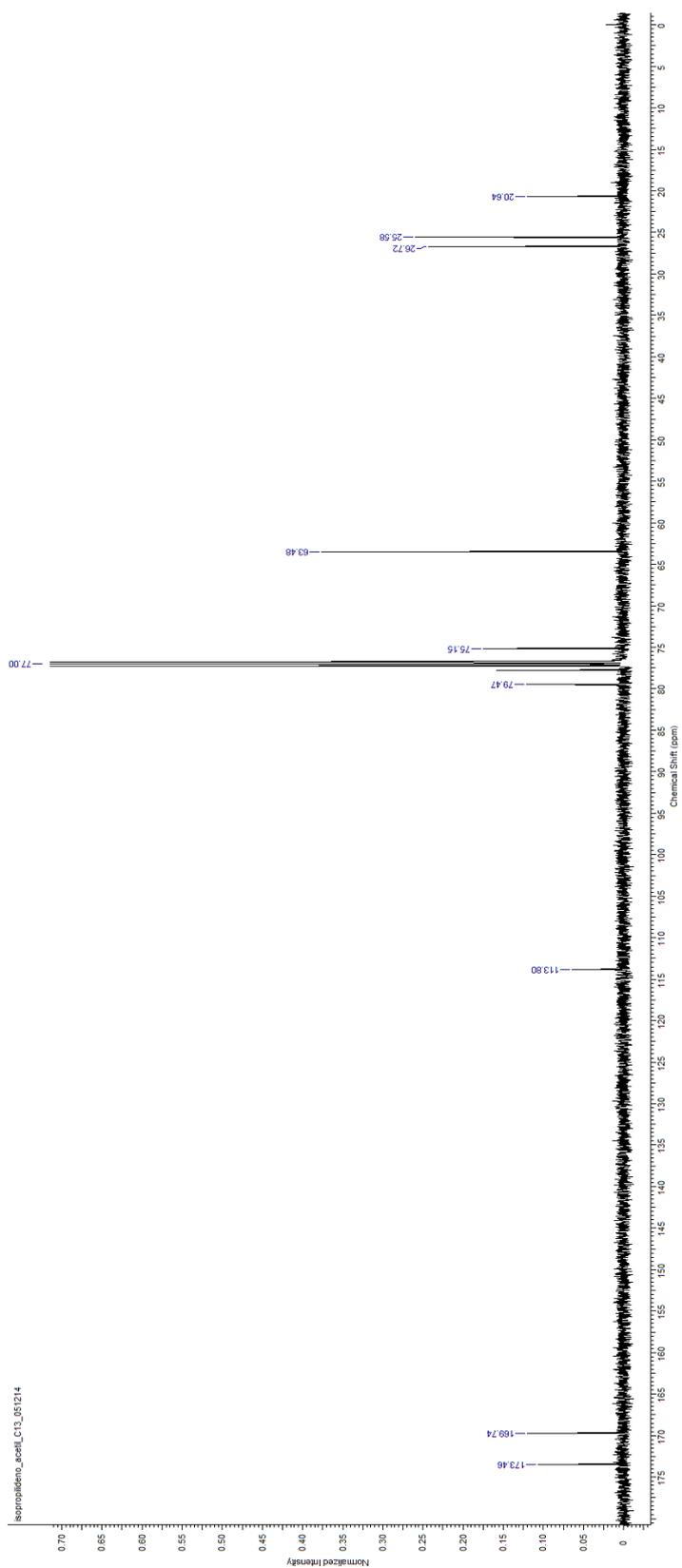


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C da 2,3-*O*-isopropilideno-5-acetil-D-ribonolactona (**43**) (CDCl_3 , 100MHz).

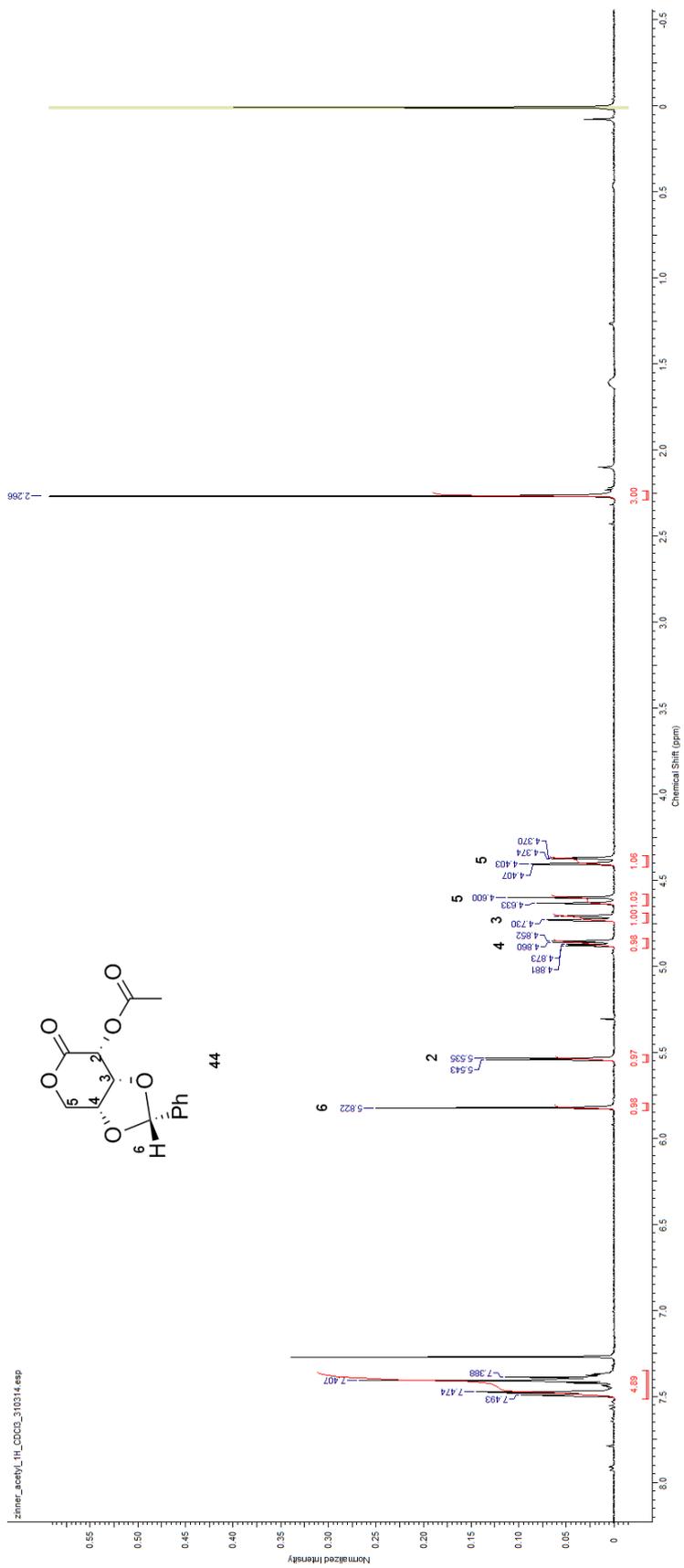


Figura 18. Espectro de RMN ^1H da 2-acetil-3,4-*O*-benzilideno-D-ribonolactona (**44**) (CDCl_3 , 400MHz).

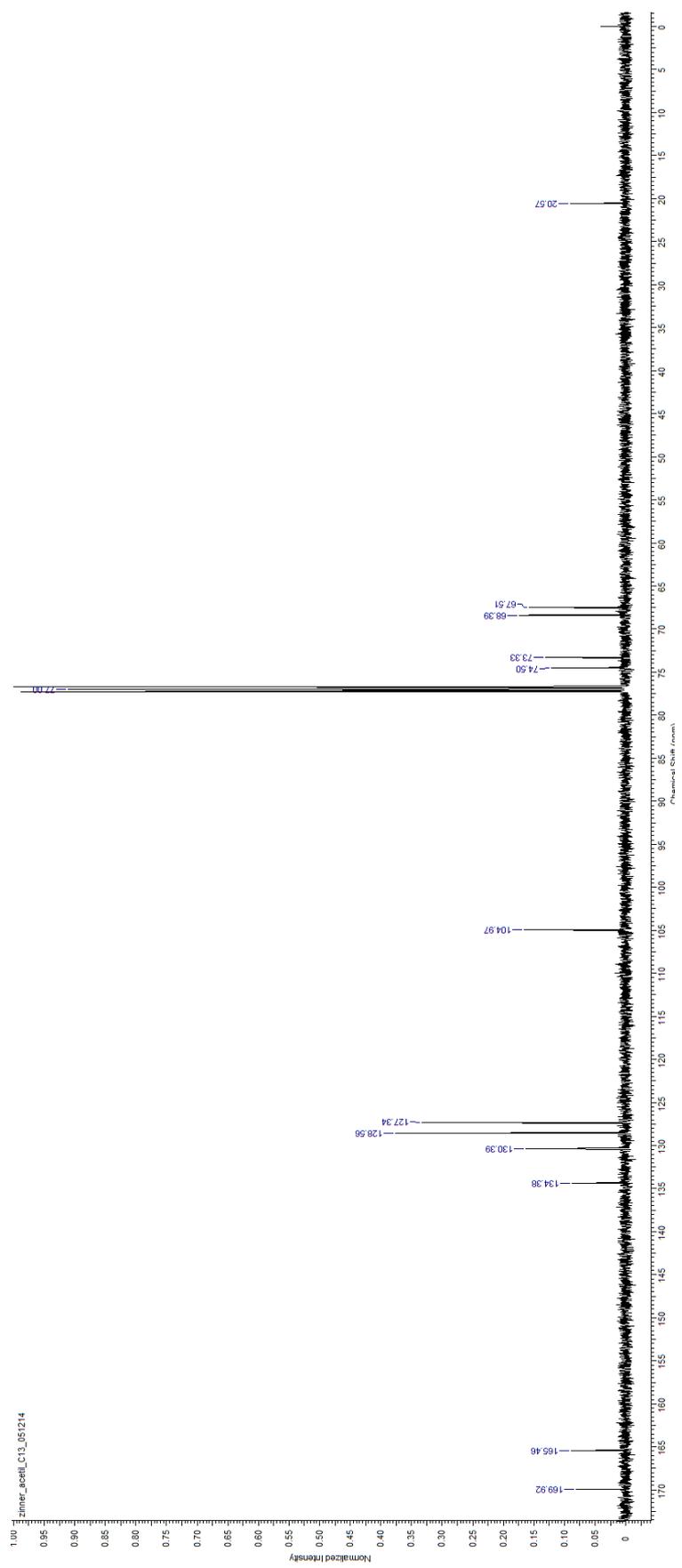


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C da 2-acetil-3,4-*O*-benzilideno-D-ribonolactona (**44**) (CDCl_3 , 100MHz).

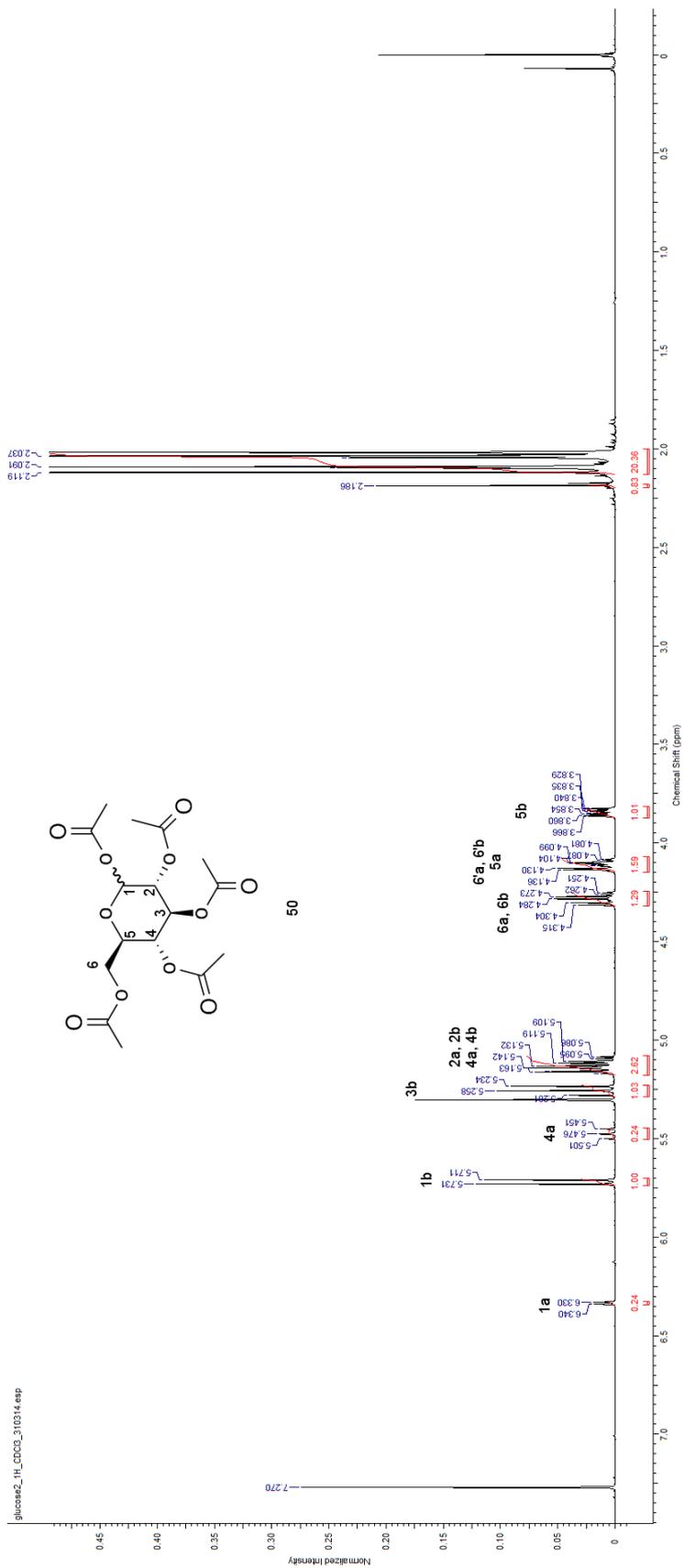


Figura 20. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- α/β -D-glicopiranosse (50) (CDCl_3 , 400MHz).

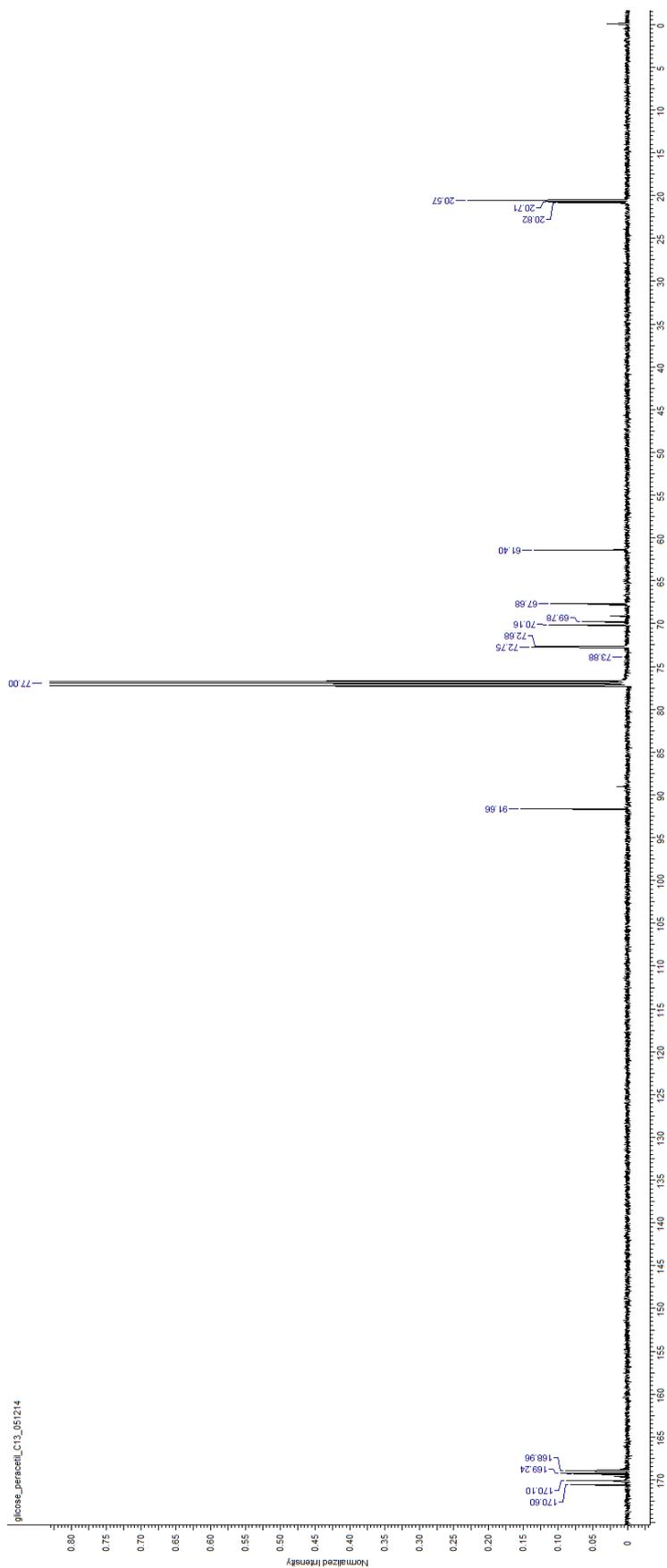


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C da per-*O*-acetil- α/β -D-glicopiranosse (**50**) (CDCl_3 , 100MHz).

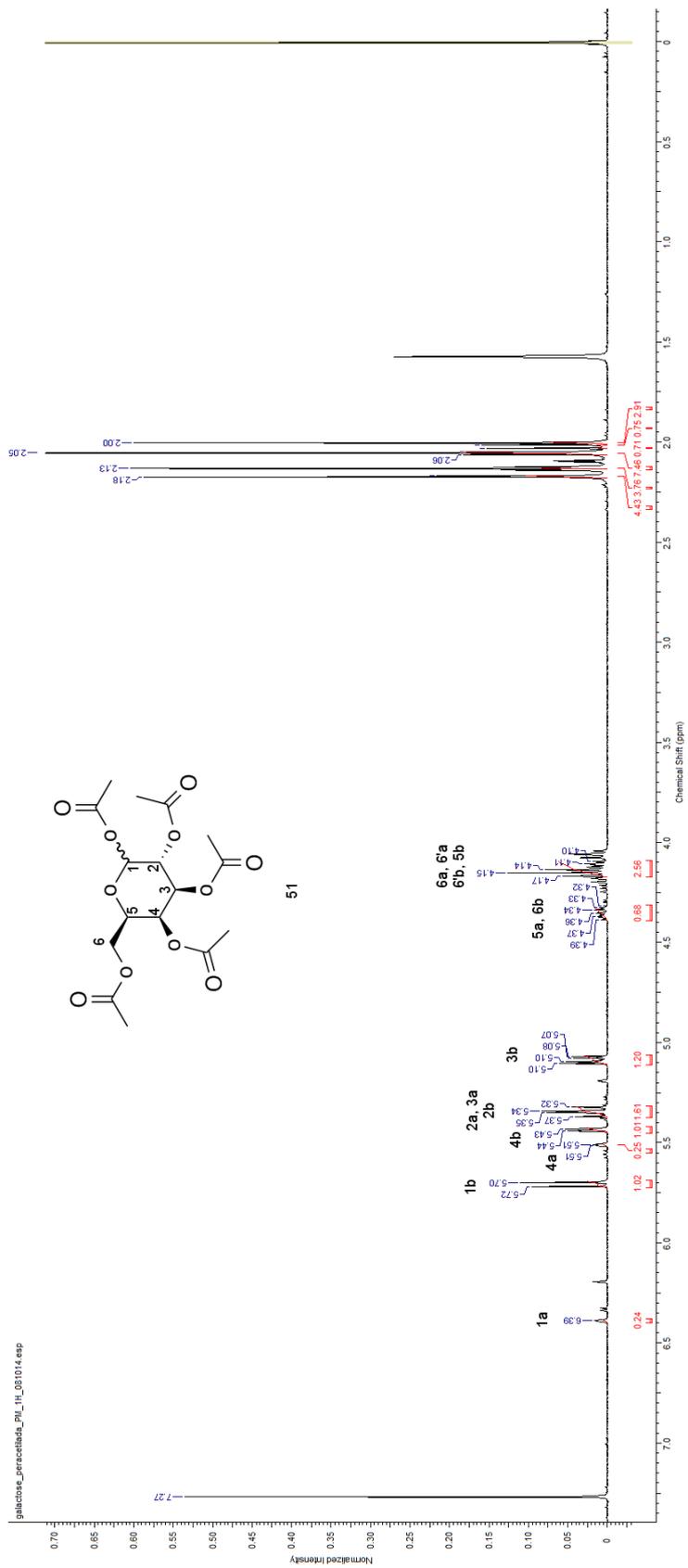


Figura 22. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- α/β -D-galactopiranosse (**51**) (CDCl_3 , 400MHz).

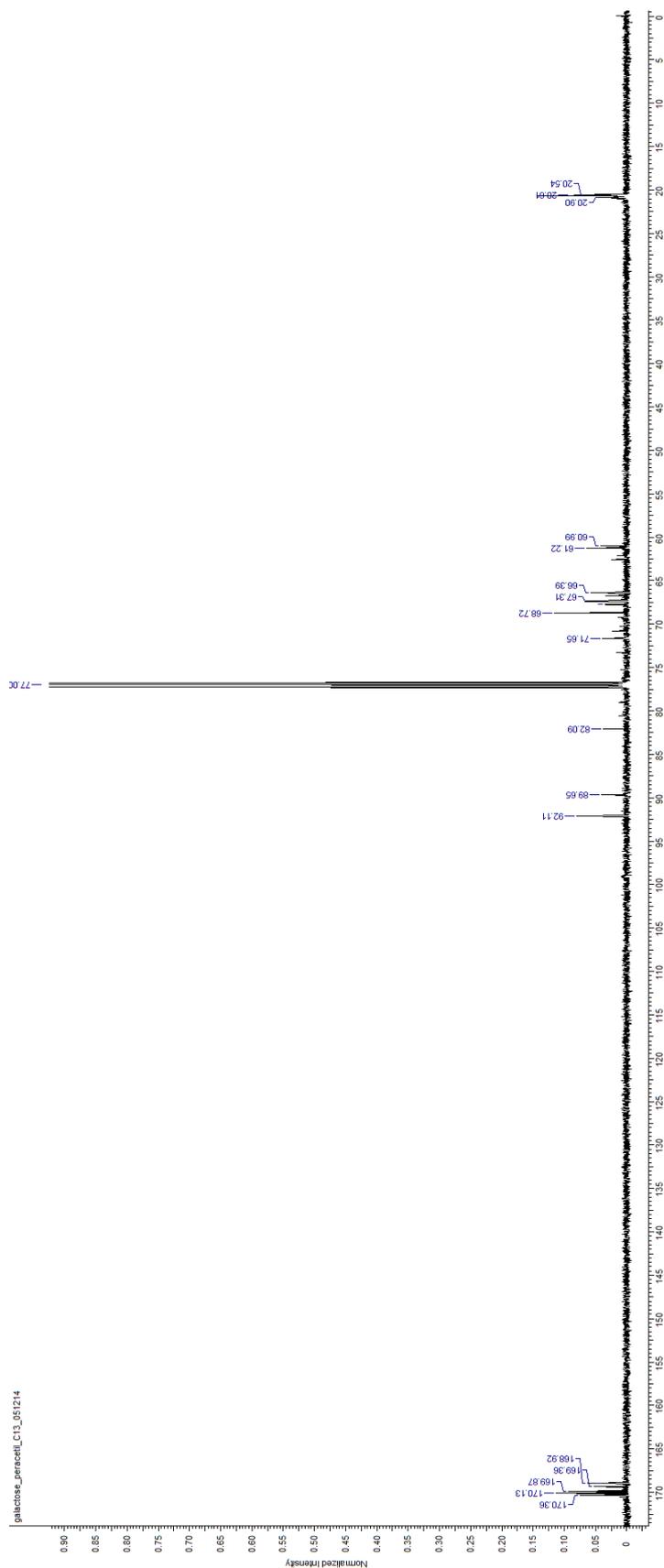


Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C da per-*O*-acetil- α/β -D-galactopiranosse (**51**) (CDCl_3 , 100MHz).

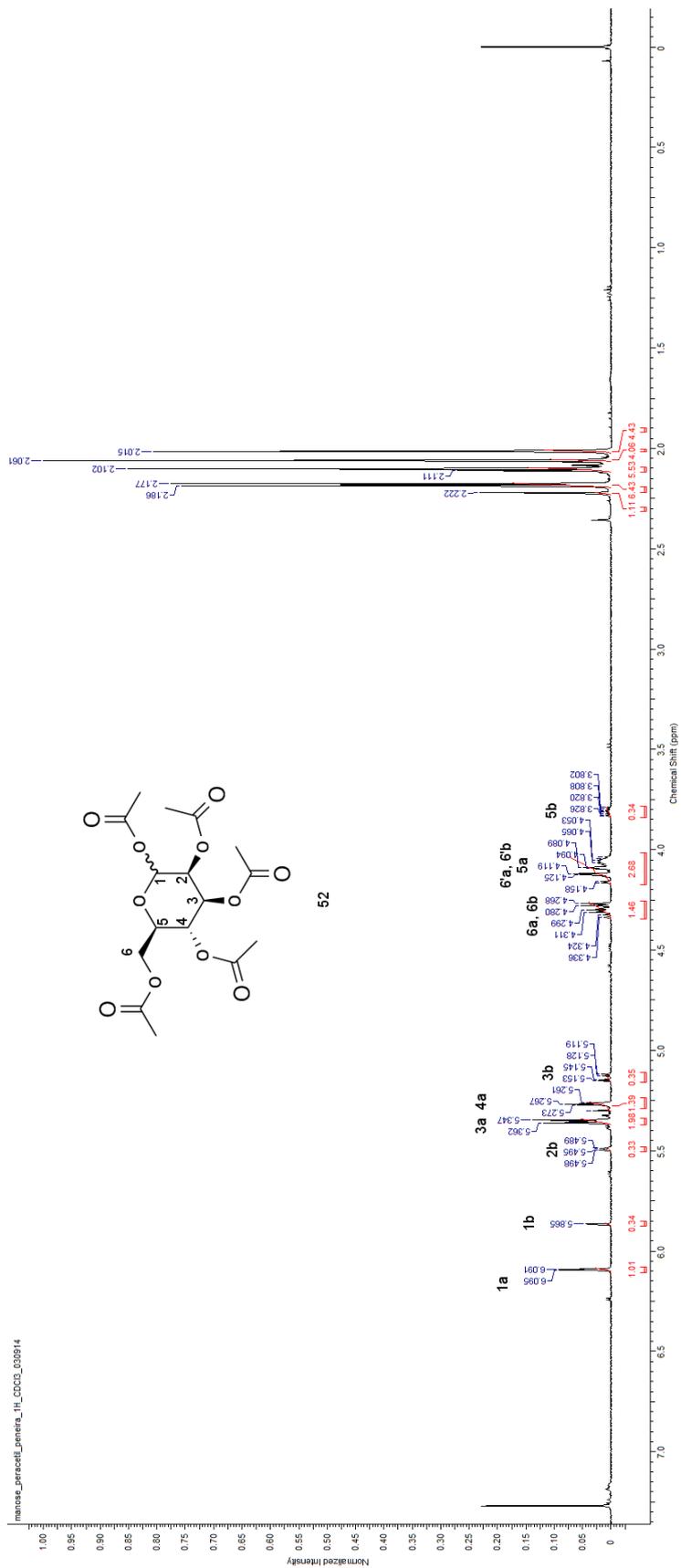


Figura 24. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- α/β -D-manopiranoze (**52**) (CDCl_3 , 400MHz).

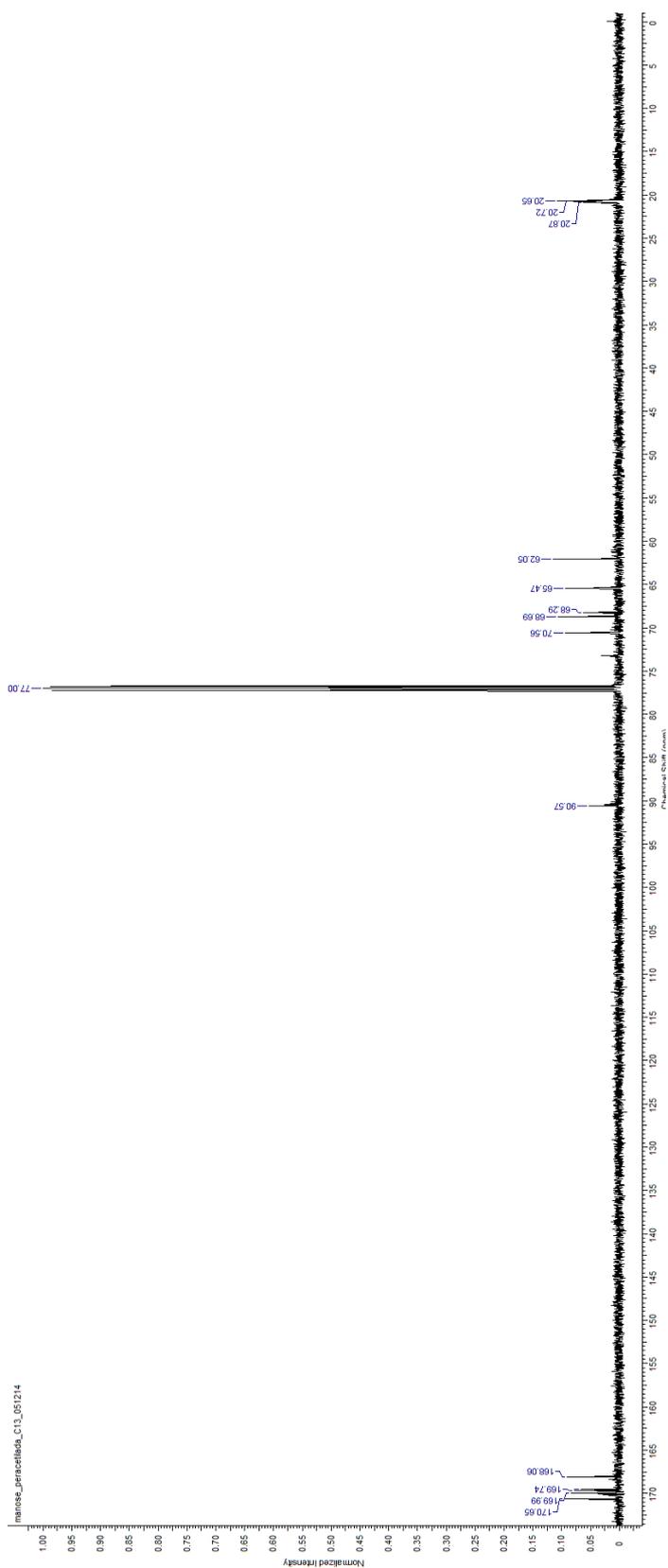


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C da per-*O*-acetil- α/β -D-manopiranosose (**52**) (CDCl_3 , 100MHz).

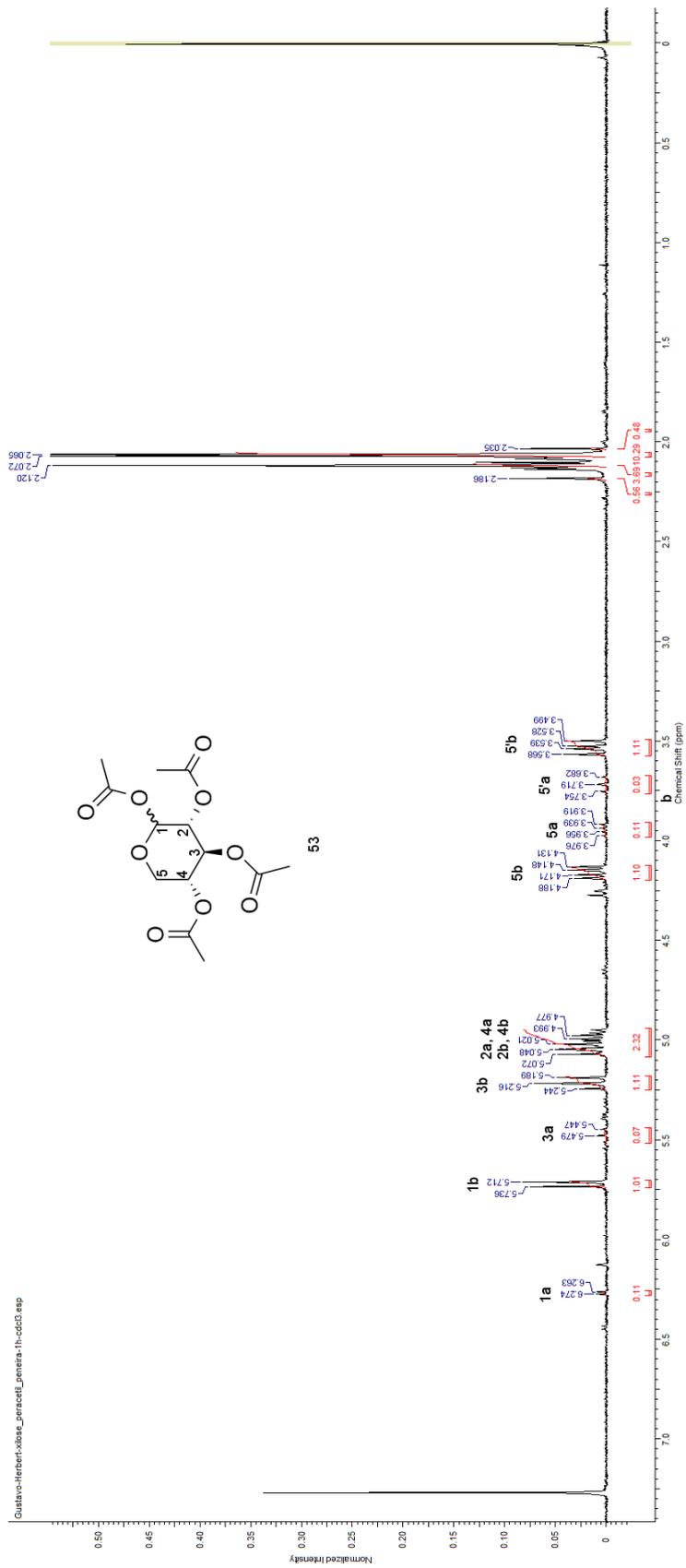


Figura 26. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- α/β -D-xilopiranosose (**53**) (CDCl_3 , 400MHz).

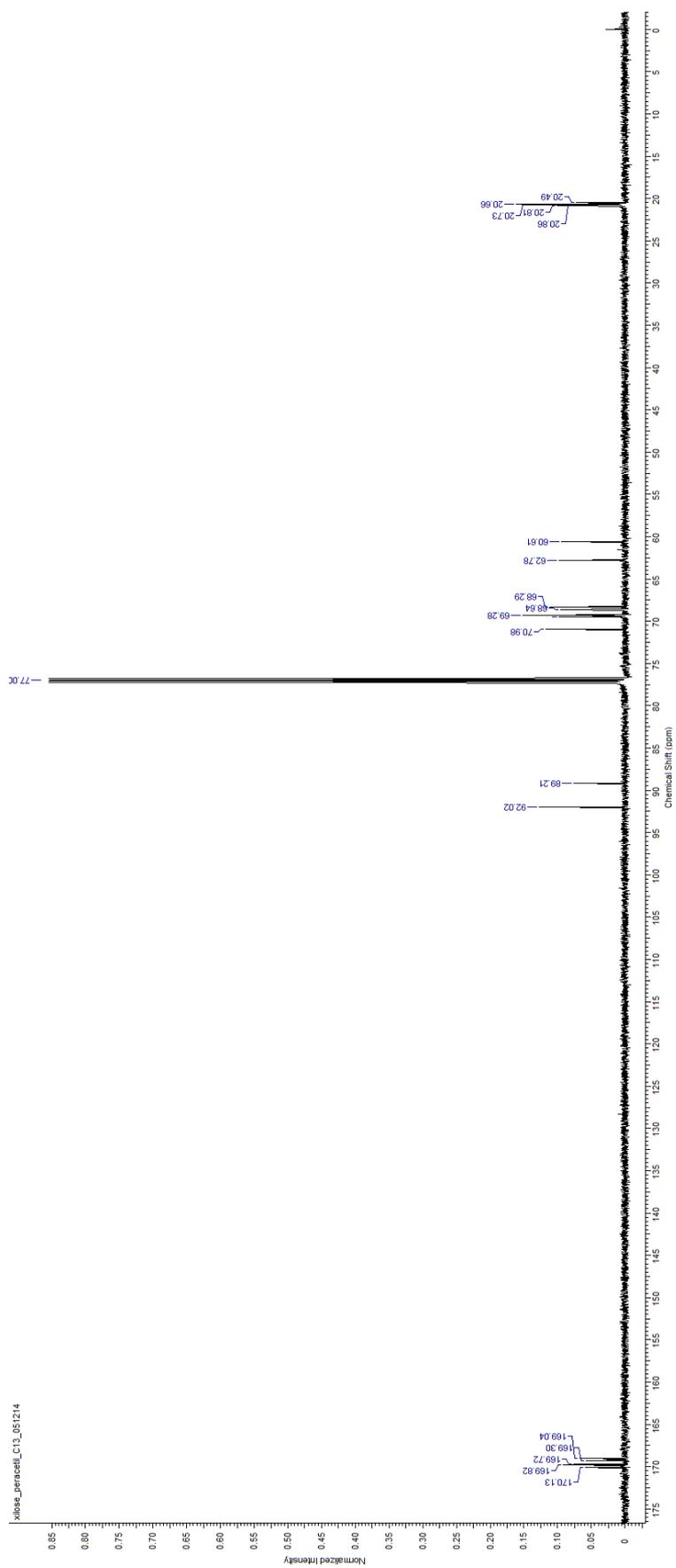


Figura 27. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- α/β -D-xilopiranoze (**53**) (CDCl_3 , 100MHz).

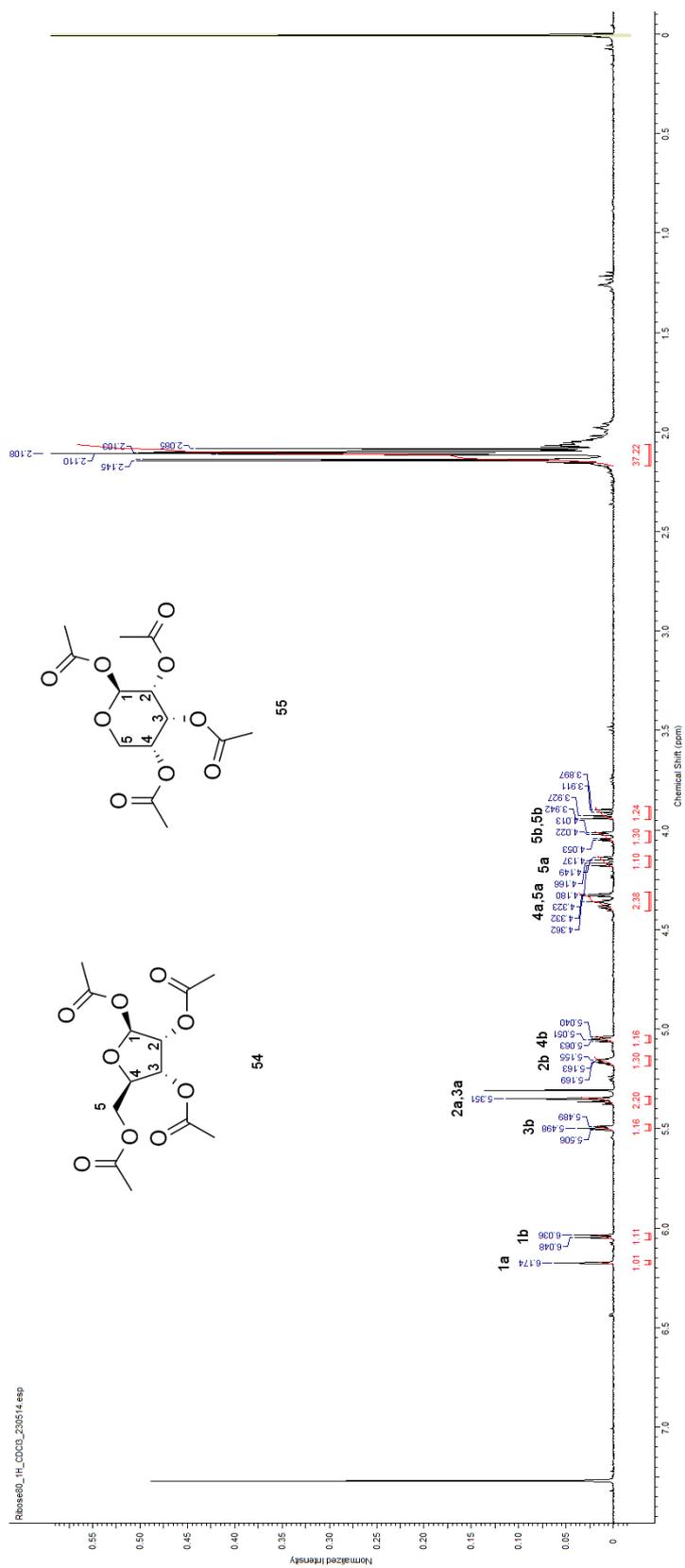


Figura 28. Espectro de RMN ^1H da per-*O*-acetil- β -D-ribofuranose (**54**) e da per-*O*-acetil- β -D-ribofuranose (**55**) (CDCl_3 , 400 MHz).

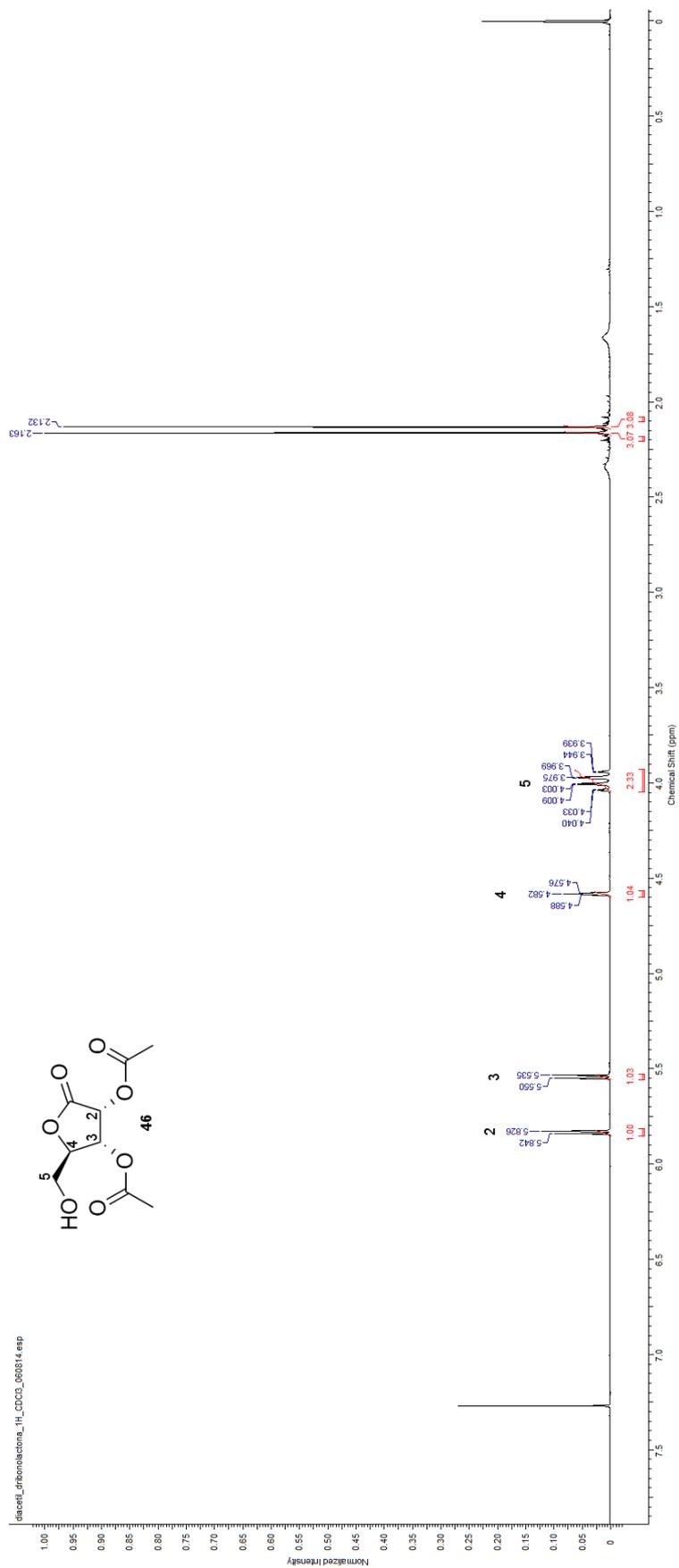


Figura 29. Espectro de RMN ¹H da 2,3-O-diacetil-D-ribonolactona (**46**) (CDCl₃, 400 MHz).

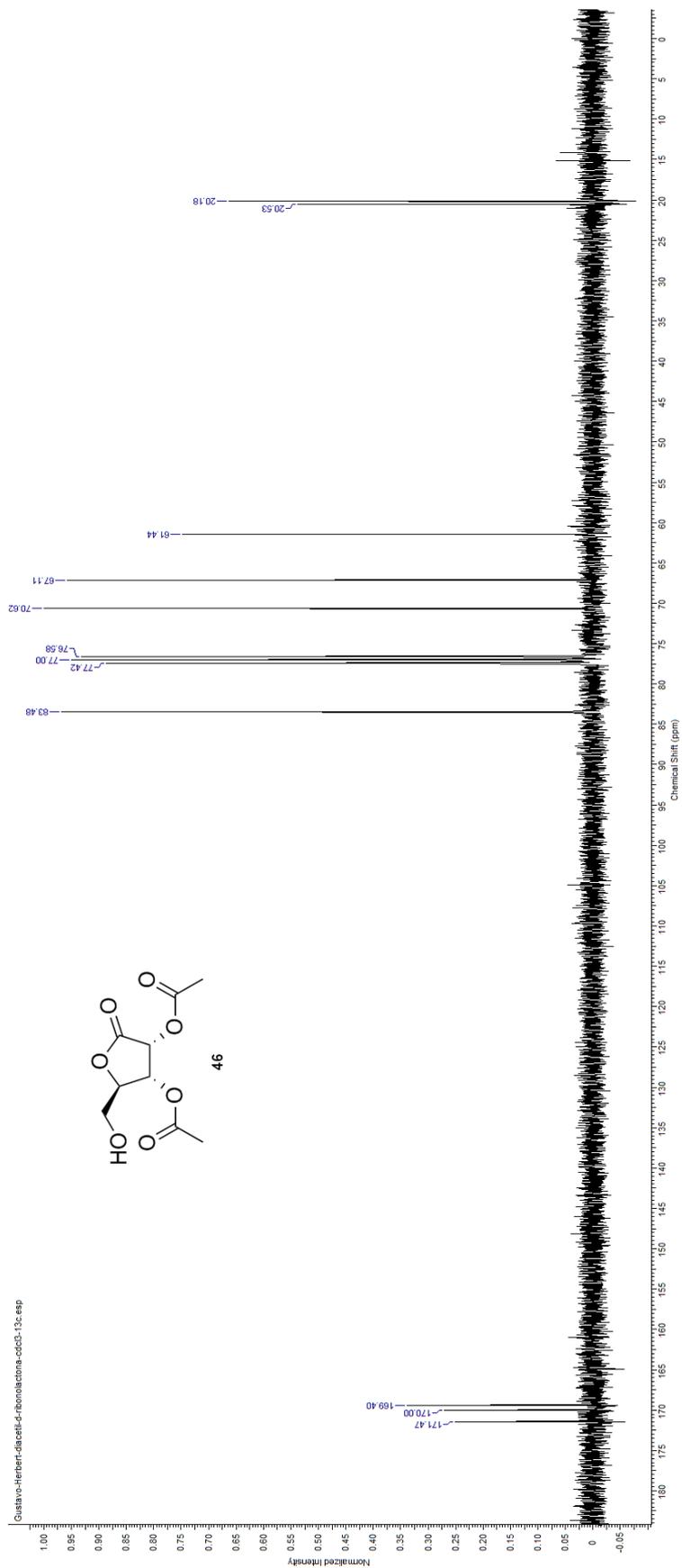


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C da 2,3-O-diacetil-D-ribofuranose (**46**) (CDCl_3 , 100 MHz).