

Sofia Ferreira da Rosa Gonçalves

Contribuição à síntese de poli-hidroximetil-
N-triazolilmetilpirrolidinas



**FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO**

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO
DEZEMBRO/2008

Sofia Ferreira da Rosa Gonçalves

Contribuição à síntese de poli-hidroximetil- *N*-triazolilmetilpirrolidinas

U. PORTO

FC

**FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO**

UNIVERSIDADE DO PORTO
BIBLIOTECA
Sala <u>IMUP-183</u>
Coloc. _____
N.º <u>10335</u>
Depart. Química

Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a obtenção do
grau de Mestre em Química

*De acordo com o
e aprovado pelo júri.
D.º das D.ºs Ribeiro de Sá
17/Nov/2009*

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO

DEZEMBRO/2008

Agradecimentos

Esta tese de Mestrado representa o culminar de um objectivo académico a que me propus e que não seria possível sem a colaboração de algumas pessoas.

Estou especialmente agradecida ao Professor Doutor Enrique Borges, pela sua perspicácia, conhecimento, disponibilidade, apoio e sugestões transmitidas durante a elaboração deste projecto e à Professora Doutora Luísa do Vale, pelos seus sábios conselhos, recomendações, dedicação e apoio na superação dos diversos obstáculos. Obrigada aos dois pela enorme compreensão perante as dificuldades que me foram surgindo.

Estou também agradecida aos meus pais e aos meus queridos avós, não só pela paciência e carinho demonstrado ao longo da minha vida pessoal e académica mas também por compreenderem o meu gosto pela investigação;

À minha mana, pelas sugestões e esclarecimentos na área da medicina;

Ao Filipe, pela tolerância, compreensão e carinho mesmo quando o mau humor prevalecia;

À “Xaninha”, colega de Licenciatura e amiga para a vida, que apesar da distância se mostrou sempre disponível para me ajudar;

Aos colegas de laboratório, “Litos” e “Té”, pelo vosso constante incentivo, ajuda e boa disposição. Foram muitos os bons momentos que passamos.

“A todos aqueles que acreditam que a ousadia e o erro são caminhos para as grandes realizações.”

Resumo

A investigação no campo da terapêutica antivírica e antineoplásica ainda não proporcionou a obtenção de fármacos suficientemente eficazes, quer a impedir a evolução da célula maligna/infectada como também a evitar processos de quimiorresistência. Após várias décadas de investigação, os análogos de nucleósidos ainda são considerados potenciais agentes bioactivos na acção antivírica, antineoplásica, antimicrobiana e antiproliferativa.¹

As doenças neurodegenerativas, dada à sua elevada frequência, têm também despertado cada vez mais preocupações, tornando-se crucial o desenvolvimento de novos fármacos de acção preventiva.

Neste contexto, o presente trabalho de mestrado apresenta-se como um contributo para a síntese de novos derivados pirrolidínicos: *N*-propargil-pirrolidinas e homoisozanucleósidos possuindo bases heterocíclicas derivadas do triazol.

Numa primeira fase, mediante uma reacção de aza-Diels-Alder entre a *N*-propargilimina do glioxilato de metilo e o ciclopentadieno, obtiveram-se os cicloaductos ($\pm$)-(3-*exo*)- e o ($\pm$)-(3-*endo*)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo.

Numa segunda fase, foram efectuados os estudos de duas vias sintéticas para a obtenção de *N*-propargil-pirrolidinas (3,5-bis- ou 2,3,5-tris-hidroximetiladas). A sequência sintética que deu melhor resultado consistiu na di-hidroxilação dos cicloaductos com OsO₄ e NOMM, para obter os correspondentes dióis, os quais foram submetidos à cisão oxidativa da ligação C₅-C₆ com NaIO₄, seguido de redução do dialdeído intermediário e do grupo éster metílico. A aplicação desta metodologia permitiu a obtenção das correspondentes 3,5-bis(hidroximetil)pirrolidinas e da 2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina procedente do cicloaducto *exo*.

Numa última fase deste projecto também foram estudadas as reacções de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar, entre os derivados *N*-propargilados e azidoacetato de etilo concernentes a quatro vias sintéticas, no intuito de preparar poli-hidroximetil-*N*-triazolilmetilpirrolidinas pretendidas. É de salientar que todas estas tentativas foram infrutíferas, não tendo sido conseguida a obtenção dos derivados triazólicos desejados.

Abstract

Nucleoside analogues have been widely studied as potential antineoplastic, antiviral, antimicrobial and antiproliferative agents. Although promising new drugs have been discovered, they are not effective enough in preventing the development of the malignant / infected cell; besides, their long-term usefulness is somewhat limited by their toxicities and the development of resistance on prolonged clinical use. Therefore, the search for new drugs for antineoplastic and antiviral therapy is still the subject of intense research.¹

Also in the field of neurodegenerative diseases, which have attracted growing attention in the last years, the development of new drugs with preventive action is of the utmost importance.

In this context, the work of this Master is a contribution to the synthesis of novel pyrrolidine derivatives: *N*-propargyl-pyrrolidines and homoisoazanucleosides possessing heterocyclic bases derived from triazole.

Initially, cycloadducts ($\pm$)-(3-*exo*)- and ($\pm$)-(3-*endo*) methyl-2-propargyl-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-ene-3-carboxylates have been obtained through an aza-Diels-Alder reaction between the *N*-propargylimine of methyl glyoxylate and cyclopentadiene.

Subsequently, two synthetic routes for the obtention of *N*-propargyl-pyrrolidines (3,5-bis-or 2,3,5-tris-hydroxymethyl derivatives) were tested. The synthetic sequence that led to the best results consisted in the dihydroxylation of the cycloadducts with OsO₄ and *N*-methylmorpholine *N*-oxide (NOMM), yielding the corresponding diols, which were then submitted to oxidative cleavage of the C5-C6 bond with NaIO₄, followed by in situ reduction of the intermediate dialdehyde (NaBH₄) and then of the methyl ester group (LiAlH₄). This methodology allowed us to obtain the 3,5-bis(hydroxymethyl)-*N*-propargyl-pyrrolidines and the 2,3,5-tris(hydroxymethyl)-*N*-propargyl-pyrrolidine starting from the *exo*-cycloadduct.

In the final stage of this project different synthetic methodologies for the 1,3-dipolar Huisgen cycloaddition reaction between the various *N*-propargyl derivatives and ethyl azidoacetate were studied, aiming at the preparation of the polyhydroxylated *N*-triazolylmethylpyrrolidines required. Nevertheless, all the attempts were unsuccessful and it has not been possible to obtain the desired triazolic derivatives.

Résumé

La recherche dans le domaine des anticancéreux et antiviraux n'a pas obtenu suffisamment de drogues efficace pour prévenir le développement de la cellule maligne/infectées, mais aussi pour prévenir les cas de quimiorrésistance. Après plusieurs décennies de recherche, les analogues nucléosidiques sont encore considérés comme des agents antiviraux bioactives dans l'action, antinéoplasiques, les antimicrobiens et antiproliférative.

Les maladies neurodégénératives en raison de leur haute fréquence, ont provoqué de plus en plus de préoccupations, ce qui a permis un développement crucial de nouveaux médicaments pour l'action préventive. Dans ce contexte, les travaux de cette maîtrise est une contribution à la synthèse de nouveaux dérivés pyrrolidino: N-propargyl-pyrrolidine et homoisozanucleosides avoir des bases hétérocycliques dérivés de la triazole.

Initialement, par le biais d'une réaction d'aza-Diels-Alder entre la N-méthyl propargilimine glyoxylate et de cyclopentadiène, on obtient les cycloadducts ($\pm$)-(3-exo) - et ($\pm$)-(3-endo) -2-propargyl-2-azabicyclo [2.2.1] hept-5-ene-3-carboxylate.

Dans une deuxième phase, les études ont été menées dans deux voies de synthèse pour obtenir le N-propargyl-pyrrolidine (3,5-bis-ou 2,3,5-tris-hydroxyméthyl). La séquence synthétique qui a eu le meilleur résultat a été la dihydroxylation de cycloadducts avec OsO₄ et NOMM, pour la même diols, qui ont été soumis à la division de connexion oxydatif C5-C6 avec NaIO₄, suivie par la réduction de la dialdéhyde groupe intermédiaire et de l'ester méthylique. L'application de cette méthodologie a permis d'obtenir les 3,5-bis (hydroxyméthyl) pyrrolidine et de 2,3,5-tris (hydroxyméthyl) pyrrolidine cycloadducte fondé l'exo. Dans la dernière étape de ce projet ont été également étudiées les réactions de cycloaddition de Huisgen 1,3-dipolaire, entre les dérivés N-propargyl azidoacetate d'éthyle et de préoccupation à quatre voies de synthèse afin de préparer la N-triazolilmetilpyrrolidines-poliidroxilé nécessaire. Il convient de noter que toutes ces tentatives ont été infructueuses et l'obtention des triazoliques nécessaire n'ont pas été autorisé.

ÍNDICE GERAL

Índice de Figuras.....	xiii
Índice de Esquemas.....	xiv
Índice de Tabelas.....	xvi
Glossário.....	xvii

Capítulo 1 – ÂMBITO, OBJECTIVO E PLANO DO TRABALHO.....1

1.1. Âmbito do Trabalho.....	2
1.2. Objectivo do Trabalho.....	3
1.3. Plano de trabalho.	5

Capítulo 2 – INTRODUÇÃO TEÓRICA.....8

2.1. Análogos de Nucleósidos.	9
2.1.1. AN como agentes anti-neoplásicos.....	9
2.1.2. AN como agentes anti-HIV	10
2.1.3. AN com bases azotadas de triazol	11
2.2. Aza-açúcares.....	12
2.3. Doença de Parkinson.	13
2.4. Doença de Alzheimer.	14
2.5. Organização Funcional do SNC.	15
2.5.1. Transmissão Neuronal e os Mensageiros Químicos.....	16
2.6. Noção de receptor.	19
2.7. Sistema Purinérgico.....	20
2.7.1. Adenosina como substância homeostática.....	20
2.7.2. Adenosina e os seus receptores.....	21
2.7.3. Mecanismo de acoplamento.....	23

2.8. Heterociclos 1,2,3-triazólicos	24
2.8.1. Nomenclatura.....	24
2.8.2. Outras aplicações	25
2.8.3. Metodologias sintéticas de preparação de 1,2,3-triazóis	26
2.9. “Click Chemistry” e Cicloadição de Huisgen.....	27
 <u>Capítulo 3 – DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....</u>	30
3.1. Reacção de aza-Diels-Alder.....	31
3.1.1. Aspectos gerais	31
3.1.2. Síntese do (±)-(3- <i>exo</i>)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-2a] e do (±)-(3- <i>endo</i>)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-2b].	33
3.2. Síntese dos derivados <i>N</i>-propargil-pirrolidínicos	34
3.2.1. Método 1.....	34
3.2.1.1. Oxidação por OsO ₄ : Síntese do (±)-(3- <i>exo</i>)-5,6-diidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-3a] e do (±)-(3- <i>endo</i>)-5,6-diidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-3b].....	34
3.2.1.2. Clivagem oxidativa e redução dos dióis (±)-3a e (±)-3b.....	35
3.2.1.2.1. Síntese do (±)-(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, [(±)-4a].....	37
3.2.1.2.2. Tentativa de síntese do (±)-(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, [(±)-4b]. Síntese do (±)-(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5b].....	37
3.2.1.3. Redução do derivado pirrolidínico (±)-4a com LiAlH ₄ . Síntese da (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5a].....	40
3.2.2. Método 2.....	42

3.2.2.1. Síntese do (±)-(3- <i>exo</i>)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6a], e do (±)-(3- <i>endo</i>)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6b].....	42
3.2.2.2. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-3-hidroximetil-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-5,6-diol, [(±)-7a].....	43
3.2.2.3. Síntese da (±)-(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina, [(±)-5a].....	44
3.3. Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.....	45
3.3.1. Aspectos gerais da reacção.....	45
3.3.2. Síntese do (3 <i>exo</i>)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8a] e do (3 <i>endo</i>)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8b].....	45
3.4. Síntese das poli-hidroximetil-<i>N</i>-triazolilmetilpirrolidinas.....	47
3.4.1. Método 3: Tentativa de síntese do (±)-(3 <i>exo</i>)-2-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]etanol, [(±)-9a].....	47
3.4.2. Método 4.....	48
3.4.2.1. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-2-(((1-etoxicarbonilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-dihidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12a] e do (3 <i>endo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-2-(((1-etoxicarbonilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-diidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12b].....	48
3.4.2.2. Tentativa de síntese do (±)-(2' <i>R</i> ,3' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)-{4-[3,5-bis(hidroximetil)-2-metoxicarbonil-pirrolidin-1-ilmetil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}acetato de etilo, [(±)-13a].....	49
3.4.3. Método 5.....	51
3.4.3.1. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i>)-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [(±)-14a], a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.....	51

3.4.3.2. Tentativa de síntese do $(\pm)$ -(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-[4-(5,6-dihidroxi-3-hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, $[(\pm)$ -15a].....	52
3.4.4. Método 6: Tentativa de síntese do $(\pm)$ -{4-[(2' <i>R</i> ,3' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)-2,3,5-tris(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo $[(\pm)$ -16a] e do $(\pm)$ -{4-[(2' <i>S</i> ,3' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)-2,3,5-tris(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo $[(\pm)$ -16b].....	53

Capítulo 4 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS 54

Capítulo 5 – PARTE EXPERIMENTAL.....58

5.1. Aspectos Gerais.	59
5.2. Reacção de aza-Diels-Alder: Síntese do $(\pm)$ -(3 <i>exo</i>)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -2a], e do $(\pm)$ -(3 <i>endo</i>)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -2b]....	61
5.3. Síntese dos derivados <i>N</i> -propargil-pirrolidínicos.....	63
5.3.1. Método 1.....	63
5.3.1.1. Síntese do $(\pm)$ -(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-5,6-dihidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -3a] e do $(\pm)$ -(3 <i>endo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-5,6-dihidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -3b].....	63
5.3.1.2. Síntese do $(\pm)$ -(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-3,5-bis(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -4a].....	66
5.3.1.3. Tentativa de síntese do $(\pm)$ -(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-3,5-bis(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -4b]. Síntese do $(\pm)$ -(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)pirrolidina $[(\pm)$ -5b].....	68
5.3.1.4. Síntese da (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)pirrolidina $[(\pm)$ -5a].....	69
5.3.2. Método 2.....	72

5.3.2.1. Síntese do (±)-(3- <i>exo</i>)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6a], e do (±)-(3- <i>endo</i>)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6b].....	72
5.3.2.2. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-3-hidroximetil-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-5,6-diol, [(±)-7a].....	74
5.3.2.3. Síntese da (±)-(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)- <i>N</i> -propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina, [(±)-5a].....	76
5.4. Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar: Síntese do (3<i>exo</i>)-2-[(1'-etoxicarbonilmetil)triazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8a] e do (3<i>endo</i>)-2-[(1'-etoxicarbonilmetil)triazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8b].....	77
5.5. Síntese das poli-hidroximetil-<i>N</i>-triazolilmetilpirrolidinas.....	79
5.5.1. Método 3: Tentativa de síntese do (±)-(3 <i>exo</i>)-2-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]etanol, [(±)-9a].....	79
5.5.2. Método 4.....	80
5.5.2.1. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-2-[(1-etoxicarbonilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-dihidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12a] e do (3 <i>endo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-2-[(1-etoxicarbonilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-diidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12b].....	80
5.5.2.2. Tentativa de síntese do (±)-(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-{4-[3,5-bis(hidroximetil)-2-metoxicarbonil-pirrolidin-1-ilmetil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}acetato de etilo, [(±)-13a].....	82
5.5.3. Método 5.....	84
5.5.3.1. Síntese do (±)-(3 <i>exo</i>)-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [(±)-14a], a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.....	84
5.5.3.2. Tentativa de síntese do (±)-(3 <i>exo</i> ,5 <i>exo</i> ,6 <i>exo</i>)-[4-(5,6-dihidroxi-3-hidroximetil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [(±)-15a].....	85

5.5.4. Método 6: Tentativa de síntese do (±)-{4-[(2'R,3'R,5'R)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)} acetato de etilo [(±)-16a] e do (±)-{4-[(2'S,3'R,5'R)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)} acetato de etilo [(±)-16b].....86

Capítulo 6 – REFERÊNCIAS 88

Anexos.....91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Análogos de nucleósidos utilizados na terapia anti-neoplásica.....	9
Figura 2.2 Análogos de nucleósidos utilizados na terapia anti-VIH.....	11
Figura 2.3 Derivados 1,2,3-triazólicos com actividade biológica antivírica, antimicrobiana e antiproliferativa.....	12
Figura 2.4 Aza-açúcares com acção inibitória na replicação do VIH.....	13
Figura 2.5 Fármacos utilizados na terapia anti-Parkinsoniana.....	14
Figura 2.6 Fármacos utilizados na terapia anti-Alzheimer.....	15
Figura 2.7 Diagrama da transmissão neuronal.....	17
Figura 2.8 Formação e propagação do impulso nervoso.....	17
Figura 2.9 Estrutura química da adenosina.....	23
Figura 2.10 Acoplamento de um receptor de adenosina.....	24
Figura 2.11 Diversos heterociclos aromáticos azólicos.....	25
Figura 2.12 Exemplos de heterociclos azotados farmacologicamente activos.....	25
Figura 3.1 Espectro de ¹ H-RMN do composto 13c	50
Figura 3.2 Espectro de ¹ H-RMN do composto (±)- 14a ainda impuro.....	51

ÍNDICE ESQUEMAS

Esquema 1.1	Análise retrossintética dos derivados pirrolidínicos propostos.....	4
Esquema 1.2	Síntese dos cicloaductos (±)- 2a e (±)- 2b	5
Esquema 1.3	Síntese dos derivados pirrolidínicos propargilados (±)- 5a e (±)- 5b	6
Esquema 1.4	Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos.....	7
Esquema 2.1	Mecanismo de uma cicloadição 1,3-dipolar.....	26
Esquema 2.2	Exemplos de dipolos.....	26
Esquema 2.3	Produtos da Ciclização de Huisgen.....	27
Esquema 2.4	Mecanismo proposto para a cicloadição de Huisgen catalisada pelo Cu (I).....	29
Esquema 3.1	Mecanismo de formação do dienófilo.....	32
Esquema 3.2	Ataque do dieno pela face <i>Re</i> e <i>Si</i> do dienófilo.....	32
Esquema 3.3	Reacção de aza-Diels-Alder para a obtenção dos aductos (±)- 2a e (±)- 2b	33
Esquema 3.4	Diidroxilação dos aductos (±)- 2a e (±)- 2b na presença de OsO ₄ e NOMM.....	34
Esquema 3.5	Mecanismo de diidroxilação dos aductos (±)- 2a e (±)- 2b com OsO ₄ /NOMM.....	34
Esquema 3.6	Cisão oxidativa seguida de redução dos dióis (±)- 3a e (±)- 3b	36
Esquema 3.7	Mecanismo da cisão oxidativa (a) seguida de redução (b) dos dióis.....	36
Esquema 3.8	Cisão oxidativa seguida de redução do diol (±)- 3b	38
Esquema 3.9	Mecanismo proposto para a formação do derivado pirrolidínico (±)- 5b	39
Esquema 3.10	Redução do derivado pirrolidínico 4a na presença de LiAlH ₄	40

Esquema 3.11 Mecanismo de redução do derivado pirrolidínico (±) 4a na presença de LiAlH ₄	40
Esquema 3.12 Redução do derivado pirrolidínico (±)- 2a e (±)- 2b na presença de LiAlH ₄	42
Esquema 3.13 Diidroxilação do aducto (±)- 6a na presença de OsO ₄ e NOMM.....	43
Esquema 3.14 Cisão oxidativa seguida de redução do diol (±)- 7a	44
Esquema 3.15 Mecanismo proposto para a reacção de cicloadição de Huisgen entre azidas e alcinos.....	45
Esquema 3.16 Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre a azidoacetato de etilo e os aductos (±)- 2a e (±)- 2b	46
Esquema 3.17 Redução do derivado triazólico (±)- 8a com LiAlH ₄	47
Esquema 3.18 Diidroxilação dos aductos (±)- 8a e (±)- 8b na presença de OsO ₄ e NOMM.....	48
Esquema 3.19 Cisão oxidativa seguida de redução do diol (±)- 12a	49
Esquema 3.20 Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre a azidoacetato de etilo e o aducto (±)- 6a	51
Esquema 3.21 Diidroxilação do aducto (±)- 14a na presença de OsO ₄ e NOMM.....	52
Esquema 3.22 Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre a azidoacetato de etilo e as <i>N</i> -propargil-pirrolidinas tris-hidroximetiladas (±)- 5a e (±)- 5b	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1	Resultados obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)- 4a	37
Tabela 3.2	Resultados obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)- 5b	39
Tabela 5.1	Sumário das reacções de síntese do diol (±)- 3a	64
Tabela 5.2	Sumário das reacções de síntese do diol (±)- 3b	65
Tabela 5.3	Sumário das reacções de síntese do diol (±)- 4a	67
Tabela 5.4	Sumário das reacções de síntese do triol (±)- 5b	68
Tabela 5.5	Sumário das reacções de síntese do diol (±)- 5a	70
Tabela 5.6	Sumário das reacções de síntese do aducto (±)- 6a/b	72
Tabela 5.7	Sumário das reacções de síntese do composto (±)- 7a	75
Tabela 5.8	Sumário das reacções de síntese do composto (±)- 5a	76
Tabela 5.9	Sumário da reacção de síntese do composto (±)- 8a/b	78
Tabela 5.10	Sumário da reacção de síntese do composto (±)- 12a/b	80
Tabela 5.11	Sumário da reacção de síntese do composto (±)- 13c	83
Tabela 5.12	Sumário da reacção de síntese do derivado triazólico (±)- 16a/b	87

GLOSSÁRIO

AcOEt	Acetato de Etilo
ATA	Ácido trifluoroacético
Cp	Ciclopentadieno
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
Exc.	Exchange (Permuta)
Exp.	Experiência
h	Hora(s)
Hex	Hexano
HMQC	Espectro de correlação bidimensional ^1H - ^{13}C
ESI-MS	Espectrometria de massa com ionização por electrospray
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
IV	Infra-vermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
Me	Grupo metilo
MeOH	Metanol
NOMM	<i>N</i> -óxido de metilmorfolina
R_f	Factor de retenção
SNC	Sistema Nervoso Central
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência adquirida
TFBE	Eterato de trifluoreto de boro
THF	Tetraidrofurano
TLC	Cromatografia em camada fina
UV	Ultra-violeta
δ_{C}	Desvio químico (ppm) em ^{13}C -RMN
δ_{H}	Desvio químico (ppm) em ^1H -RMN
η	Rendimento
^{13}C -RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
^1H -RMN	Ressonância magnética nuclear de próton
COSY	^1H - ^1H -COSY ("Correlation Spectroscopy"): Espectroscopia de RMN bidimensional de correlação H-H.

ÂMBITO, OBJECTIVO E PLANO
DO TRABALHO

1.1. Âmbito do Trabalho.

Este trabalho foi realizado no âmbito do curso de Mestrado em Química sob a orientação do Doutor José Enrique Borges e da Doutora Maria Luísa do Vale da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

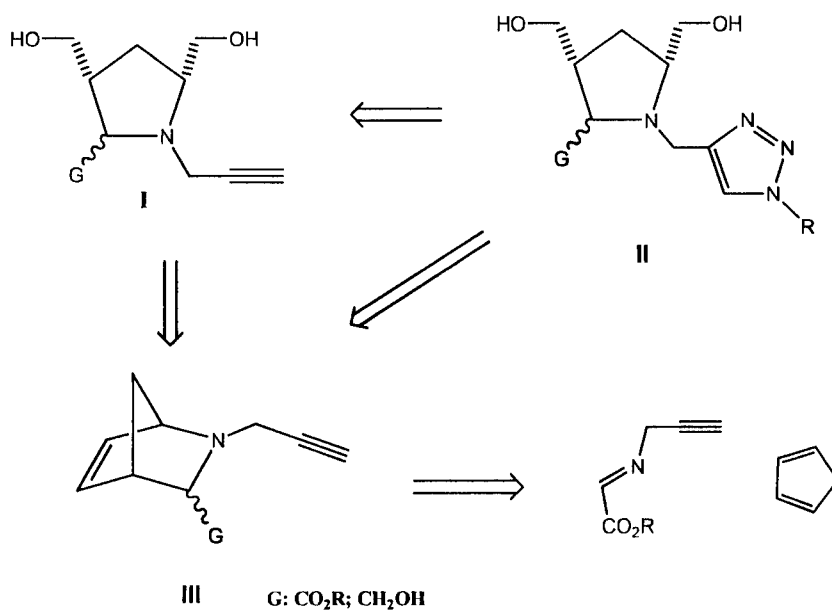
O trabalho foi levado a cabo na linha de Síntese Orgânica de Compostos Bioactivos, do Centro de Investigação em Química (CIQ) da Universidade do Porto, estando inserido num projecto de síntese de heterociclos pirrolidínicos com potencial actividade anti-vírica, anti-neoplásica e anti-neurodegenerativa.

1.2. Objectivo do Trabalho.

Actualmente, grande parte das investigações em síntese de novos compostos orgânicos está focada na obtenção de agentes químicos que possam ser utilizados como potenciais fármacos no tratamento de determinadas doenças. Neste sentido, existe uma constante preocupação pelo desenvolvimento de fármacos cada vez mais eficientes, mais selectivos e que causem o menor número possível de efeitos adversos.

A obtenção de compostos aza-heterocíclicos (pirrolidinas e triazóis) presume-se interessante, uma vez que este tipo de compostos corresponde a estruturas químicas habituais em formulações farmacológicas. Para além das potenciais actividades antivíricas e antineoplásicas dos análogos de nucleósidos, em particular os azanucleósidos pirrolidínicos contendo bases azotas derivadas do triazol², muitos compostos heterocíclicos azotados são objecto de estudo como potenciais fármacos em diversos campos de acção, como por exemplo: a) análogos de nucleósidos têm sido estudados como agonistas e/ou antagonistas dos receptores de adenosina³; b) alguns derivados triazólicos têm sido utilizados como ligandos do receptor D2 da dopamina³; c) compostos *N*-propargilados derivados do indano e da fenetilamina demonstraram possuir acção anti-neurodegenerativa (anti-Parkinson e anti-Alzheimer)⁴; d) derivados pirrolidínicos e piperidínicos polihidroxilados (aza-açúcares) são estudados como potenciais inibidores de glicosidades⁵, entre muitos outros exemplos.

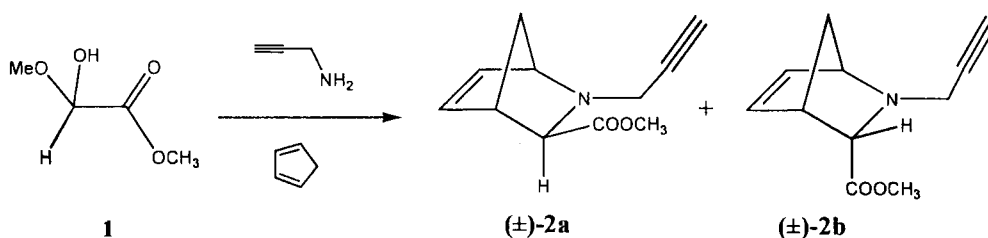
Neste contexto, planeou-se a síntese de *N*-propargilpirrolidinas hidroximetiladas (**I**) como análogos de aza-açúcares e/ou como precursores de isoazahomonucleósidos (**II**), compostos estruturalmente semelhantes aos nucleósidos (presença de um átomo de N no lugar do O do anel furânico), mas em que o átomo de azoto se encontra noutra posição do anel furânico e *homo* pelo facto de possuírem um grupo metileno entre a base azotada e o anel pirrolidínico. Assim, a estratégia de síntese contempla a preparação dos derivados pirrolidínicos (**I** e **II**) a partir dos *N*-propargilbiciclos (**III**), os quais podem ser obtidos a partir dos aductos da reacção de aza-Diels-Alder entre *N*-propargiliminas de glioxilatos e o ciclopentadieno (Esquema 1.1). A construção do ciclo triazólico é possível através da reacção de cicloadição de Huisgen entre os derivados propargilados e azidas orgânicas.



Esquema 1.1| Análise retróssintética dos derivados pirrolidínicos propostos.

1.3. Plano de Trabalho.

Numa fase inicial do trabalho, fez-se reagir o hemiacetal metílico do glioxilato de metilo comercial, **1**, com a propargilamina em meio ácido para formar *in situ* a correspondente imina protonada, a qual, reage com o ciclopentadieno, mediante uma reacção de aza-Diels-Alder, para formar os correspondentes cicloaductos *exo/endo* [(±)-**2a**/(±)-**2b**]. (Esquema 1.2). Os cicloaductos foram separados e purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica.⁶

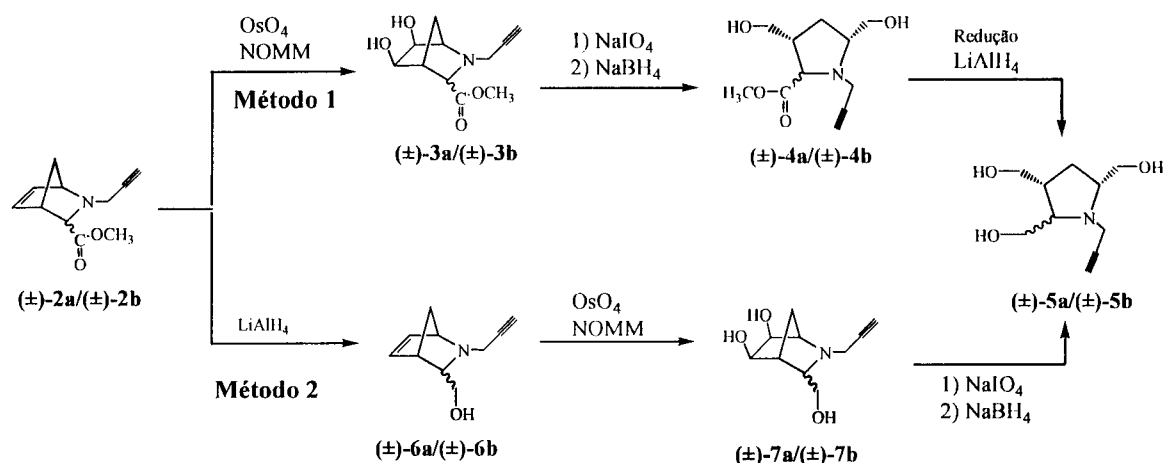


Esquema 1.2| Síntese dos cicloaductos (±)-**2a** e (±)-**2b**.

Na segunda parte do trabalho, para a obtenção dos derivados pirrolidínicos *N*-propargilados (Esquema 1.3), foram exploradas duas metodologias sequenciais de síntese:

1ª) Método 1: a) Diidroxilação dos aductos **2**; b) Cisão oxidativa dos dióis **3** seguido de redução dos dialdeídos intermediários (com NaBH₄) para obter os dióis **4**; d) Redução dos dióis **4** (com LiAlH₄) para obter os trióis **5**.

2ª) Método 2: a) Redução dos aductos **2** (com LiAlH₄) para obter os aminoálcoois **6**; b) Diidroxilação dos aminoálcoois **6**, para obter os trióis **7** (biciclos); c) Cisão oxidativa dos trióis **7** seguido de redução dos dialdeídos intermediários (com NaBH₄) para obter os trióis **5**.



Esquema 1.3| Síntese dos derivados pirrolidínicos propargilados (±)-5a e (±)-5b.

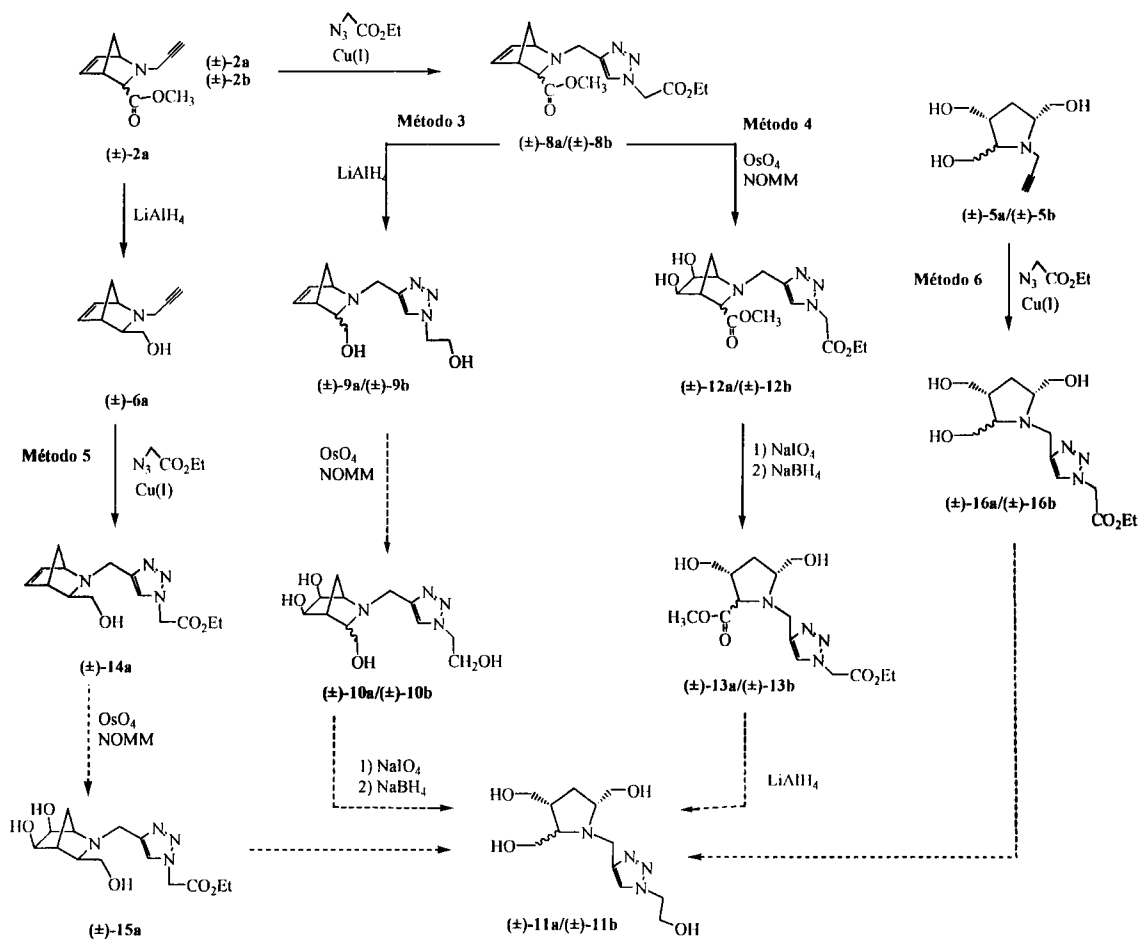
Relativamente à introdução dos anéis de triazol, foram testadas quatro vias de síntese (Esquema 1.4):

1ª) **Método 3:** a) Reacção de Huisgen entre os aductos **2** com azidoacetato de etilo para obter os correspondentes derivados triazólicos **8**; b) Redução com LiAlH_4 dos triazóis **8** para obter os aminoálcoois **9**; c) Diidroxilação dos aminoálcoois **9** para obter os correspondentes “tetra-álcoois” **10**; d) Cisão oxidativa seguida de redução dos compostos **10** para a obtenção das pirrolidinas poliidroxialquiladas **11**.

2ª) **Método 4:** a) Diidroxilação dos triazóis **8** para obter os correspondentes dióis **12**; b) Cisão oxidativa seguida de redução dos compostos **12** para a obtenção das pirrolidinas **13** e/ou das pirrolidinas **11**.

3ª) **Método 5:** a) Reacção de Huisgen entre os aminoálcoois propargílicos **6** e azidoacetato de etilo para obter os correspondentes triazóis **14**; b) Diidroxilação dos aminoálcoois **14** para obter os dióis **15**; c) Cisão oxidativa seguida de redução para obter os correspondentes derivados pirrolidínicos **11**. Este método foi apenas testado utilizando o aducto *exo* (**2a**) como material de partida.

5ª) **Método 6:** O quinto método alternativo caracterizou-se pela formação da base triazólica no aminotriol **5**, também através da reacção de Huisgen com azidoacetato de etilo, para obter os derivados pirrolidínicos **16**, a partir dos quais, por redução, também é possível a preparação dos derivados pirrolidínicos **11**.



Esquema 1.4| Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos.

Capítulo 2.

INTRODUÇÃO TEÓRICA

2.1. Análogos de Nucleósidos

A síntese de análogos de nucleósidos (AN) tem vindo a ser um importante objecto de estudo na expectativa de conseguir obter fármacos cada vez mais eficazes e selectivos, utilizando as diferenças enzimáticas existentes entre o vírus ou as células malignas e as células do hospedeiro, com o objectivo de evitar o aparecimento de efeitos secundários.

2.1.1. AN como agentes anti-neoplásicos.⁷

Um dos principais problemas que se enfrenta na quimioterapia anti-neoplásica é a quimiorresistência adquirida após vários ciclos de tratamento. Esta resistência pode ser superada, em parte, pela combinação de vários tipos de agentes citotóxicos que interferem em processos de replicação/síntese do ADN.

Dos diversos AN utilizados na terapia anti-neoplásica destacam: a citarabina (IV), a fludarabina (V), a cladribina (VI), a gemcitabina (VII). Dos 15 novos fármacos anti-neoplásicos aprovados pela FDA nos últimos três anos, três deles são AN (clofarabina (VIII), nelarabina (IX) e decitabina (X)) e a 4'-tia-ara-C foi seleccionada e está em fase de estudos clínicos (figura 2.1).

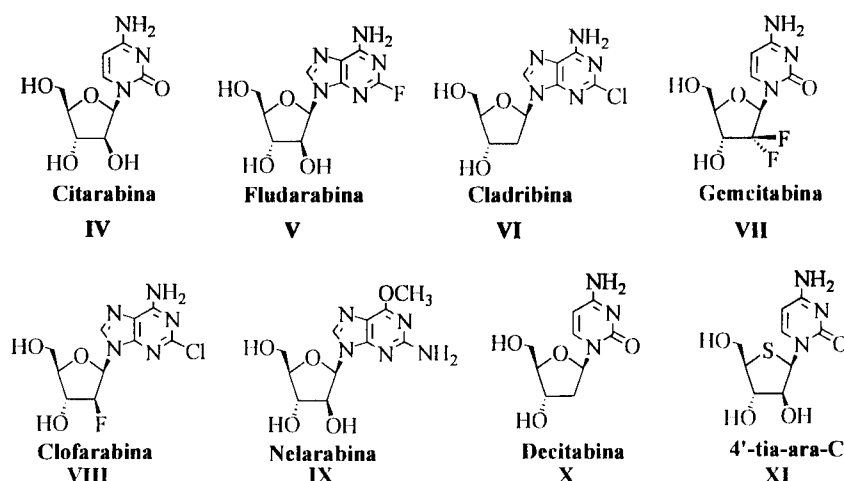


Figura 2.1| Análogos de nucleósidos utilizados na terapia anti-neoplásica.

2.1.2. AN como agentes anti-VIH.⁸

A infecção produzida pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) cria uma imunodeficiência progressiva como resultado da persistente replicação viral e consequente destruição dos linfócitos CD4. Felizmente, tem-se demonstrado que uma terapia anti-retrovírica prolonga a vida do paciente e diminui a frequência das doenças infecciosas a si associadas, dado que reduz a concentração do vírus no sistema sanguíneo e aumenta o número de células CD4.

Existem 11 classes de agentes anti-VIH (nucleosídicos e não nucleosídicos) classificados em função da etapa do ciclo vital do vírus no qual intervém o fármaco. No entanto, apenas 4 destas etapas (transcrição reversa do ARN pró-viral, proteólise das proteínas funcionais do vírus, a entrada do vírus na célula e o processo de integração do ADN viral com o ADN celular) são alvos para os quais incide a terapia anti-VIH actual.

Dos AN utilizados na terapia do VIH destacam-se a ribavirina (XII), o AZT (XIII), a didesoxiinosina (XIV), didesoxicitidina (XV), a estavudina (XVI), a lamivudina (XVII), a emtricitabina (XVIII), o amdoxovir (XIX), o AVX754 (XX), o reverset (XXI), a elvucitabina (XXII), a alovudina (XXIII), o DOT (XXIV), o FLG (XXV), o KP1212 (XXVI), a aristeromicina (XXVII), a neplanocina-A (XXVIII) e o 5-I-C-desoxiuridina (XXIX), entre outros (esquema 2.2).

Até à data, poucos são os azanucleósidos descritos como agentes biológicos utilizados na terapia anti-VIH. São de referir os trabalhos de Pandit⁹ (1965), que preparou derivados púricos e pirimidínicos da L-prolina que mostraram actividade anti-neoplásica na inibição do crescimento das células BHK, de Orgel¹⁰ (1989), que sintetizou diferentes D-análogos azanucleosídicos da 3'-deoxitimidina que mostraram possuir também actividade anti-neoplásica em cultivos de linhas celulares de tumores humanos (seio, pulmão e cólon) e, por último, os trabalhos de Vince¹¹ (1991), que preparou derivados purínicos da pirrolidina, os quais apresentaram também actividade anti-neoplásica ao inibirem o crescimento de células P388 do rato.

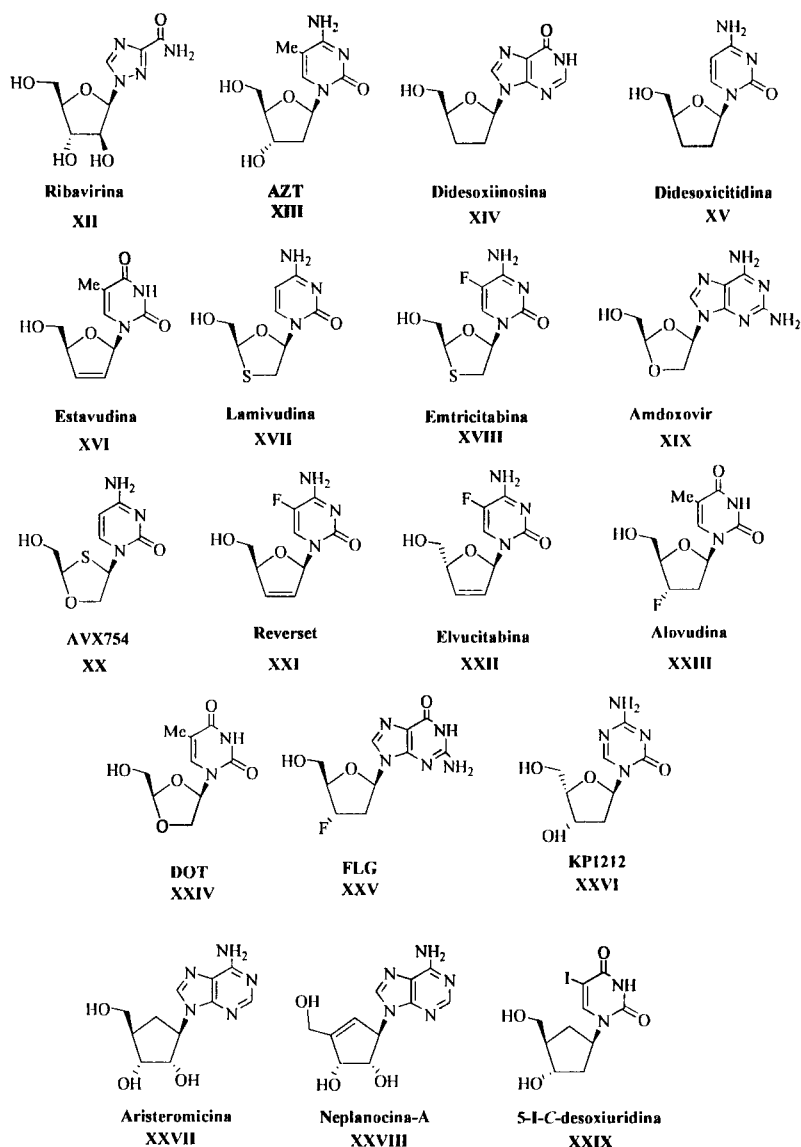


Figura 2.2| Análogos de nucleósidos utilizados na terapia anti-VIH.

2.1.3. AN com bases azotadas de triazol.

Os compostos aza-heterocíclicos (pirrolidinas e triazóis) são bastante interessantes, uma vez que são frequentemente utilizados em aplicações farmacológicas e medicinais. Um bom número de derivados 1,2,3-triazólicos tem sido apresentado como potenciais agentes antivíricos, antimicrobianos e antiproliferativos e no campo dos carbanucleósidos a síntese de compostos contendo um anel triazólico como base têm demonstrado actividade biológica contra o HIV-1, o vírus *vaccinia*, entre outros.²

Estes compostos têm sido também usados como agonistas e/ou antagonistas dos receptores de adenosina e alguns derivados triazólicos têm sido utilizados como ligandos do receptor D2 da dopamina.³

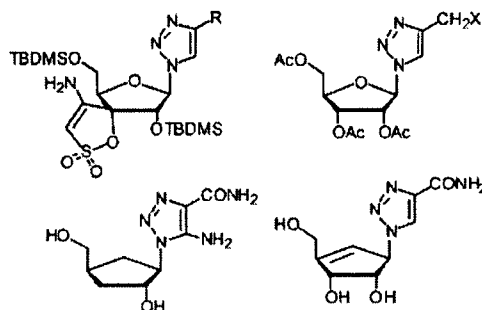


Figura 2.3| Derivados 1,2,3-triazólicos com actividade biológica antivírica, antimicrobiana e antiproliferativa.

2.2. Aza-açúcares.¹²

Os aza-açúcares (piperidinas e pirrolidinas polihidroxiladas) constituem uma classe interessante de compostos, pois inibem selectivamente um número importante de processos biológicos, incluindo a inibição de glicosidases, que faz com que, estes compostos sejam potenciais fármacos a serem utilizados no tratamento da diabetes, de infecções microbianas, de metástases e de doenças víricas, em particular a SIDA, etc. Observou-se que a actividade anti-VIH de alguns inibidores das glicotransferases é melhorada pela presença de grupos lipofílicos ligados ao átomo de azoto dos aza-açúcares.

Como exemplos de aza-açúcares com acção inibitória da replicação do VIH destacam-se a deoxinojirimicina (XXX) e os seus derivados sintéticos (a *N*-metil-deoxinojirimicina (XXXI), a *N*-etil-deoxinojirimicina (XXXII) e a *N*-butil-deoxinojirimicina (XXXIII), a fagomina (XXXIV) e o DAB1 (XXXV) (figura 2.4). É de destacar, também, que diversas aminas lipofílicas, por exemplo aminoadamantanos, aminocubanos, fulereno-prolinas (Fpr) e aminoindanos, apresentam actividade anti-viral, anti-bacteriana e anti-parkinsoniana.

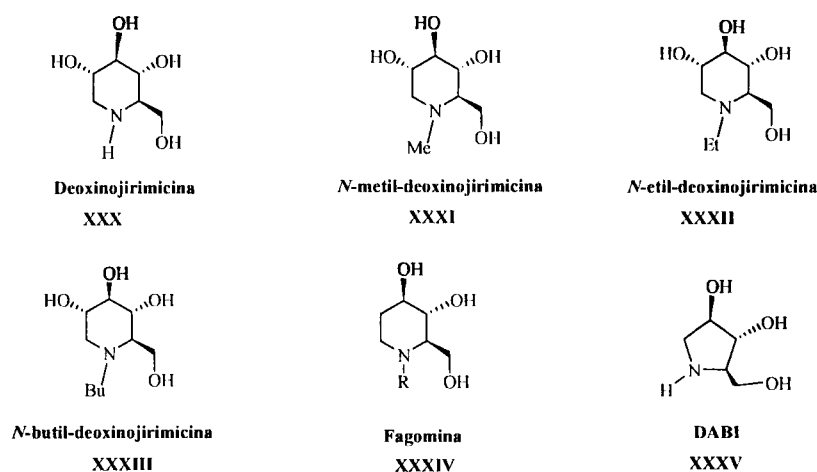


Figura 2.4| Aza-açúcares com acção inibitória na replicação do VIH.

2.3. Doença de Parkinson.¹³

A doença de Parkinson é uma doença degenerativa do sistema nervoso central, lentamente progressiva e idiopática (sem causa conhecida) caracterizada por rigidez muscular, tremor de repouso, hipocinesia (diminuição da mobilidade) e instabilidade postural. A principal anomalia consiste numa perda de neurónios de uma área específica do cérebro que produzirá a diminuição de uma substância chamada dopamina, alterando os movimentos chamados extrapiramidais (não voluntários).

Existem já tratamentos bastante efectivos para reduzir os sintomas da doença de Parkinson, mas recentes estudos comprovam que a primeira escolha de tratamento pode recair significativamente na evolução da doença e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes, possibilitando dessa forma uma vida mais independente e produtiva. É uma doença que afecta mais de 6.000.000 de pessoas no mundo e cada ano surgem 250 novos casos por cada 100.000 habitantes.

Em 2006 foi publicado pela Lundbeck, uma companhia farmacêutica, um novo fármaco para a doença de Parkinson, a rasagilina (XXXVI), que se apresenta dez a vinte vezes mais potente que a selegilina (XXXVII), como inibidora da MAO-B e como droga anti-Parkinsoniana. Este fármaco, comercializado como Azilect, isómero *R* do racémico AGN 1135 é um inibidor potente, selectivo e irreversível da enzima monoamino oxidase-B (MAO-B) no cérebro, que é responsável pela eliminação da dopamina, um neurotransmissor, precursor natural da adrenalina e noradrenalina

essencial na regulação e coordenação do movimento. Destacam-se para além da rasagilina e da selegilina os seguintes fármacos: a levodopa (XXXVIII), a carbidopa (XXXIX), o ropinirol (XL), a benserazida (XLI), o entacapone e o tolcapone (figura 2.5).

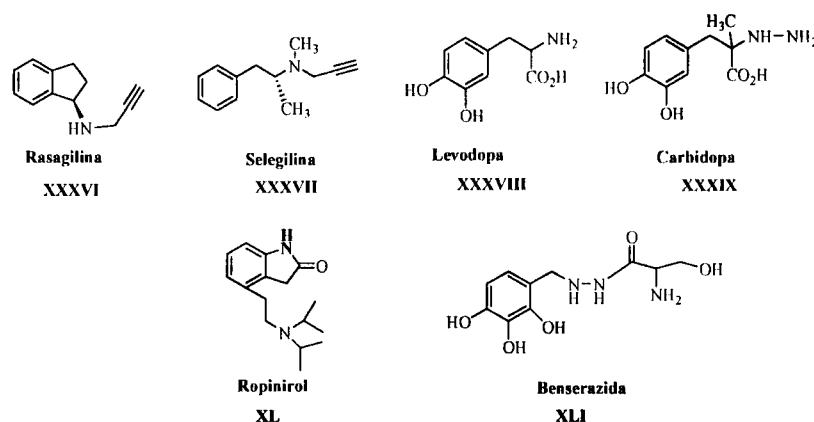


Figura 2.5| Fármacos utilizados na terapia anti-Parkinsoniana.

A terapia combinada com base na acção conjunta da levodopa (substância que se transforma em dopamina no cérebro) e da carbidopa ou da benserazida (inibidores específicos da dopadescarboxilase, que evitam a degradação periférica da levodopa) corrige o défice da dopamina no cérebro dos pacientes com Parkinson. Outras estratégias terapêuticas alternativas são: a) Inibidores da *catecol-O-metiltransferase* (entacapone ou tolcapone); b) Agonistas de dopamina (ropinirol); c) Inibidores da *monoaminoxidase tipo B (MAO-B)* (selegilina e rasagilina).

2.4. Doença de Alzheimer.¹⁴

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa lenta e progressiva, clinicamente caracterizado pela deterioração das funções cognitivas e intelectuais. Actualmente, a única terapia viável para a DA baseia-se no uso de agentes anticolinesterásicos destacando-se a tacrina (XLII), a galantamina (XLIII), o donepezilo (XLIV) e a rivastigmina (XLV) (figura 2.6). No entanto, estes fármacos não corrigem nem impedem a progressiva degeneração neuronal. Alguns estudos recentes

revelam, também, que alguns compostos derivados do aminoindano e da feniletilamina apresentam actividade anti-Alzheimer e anti-Parkinson.

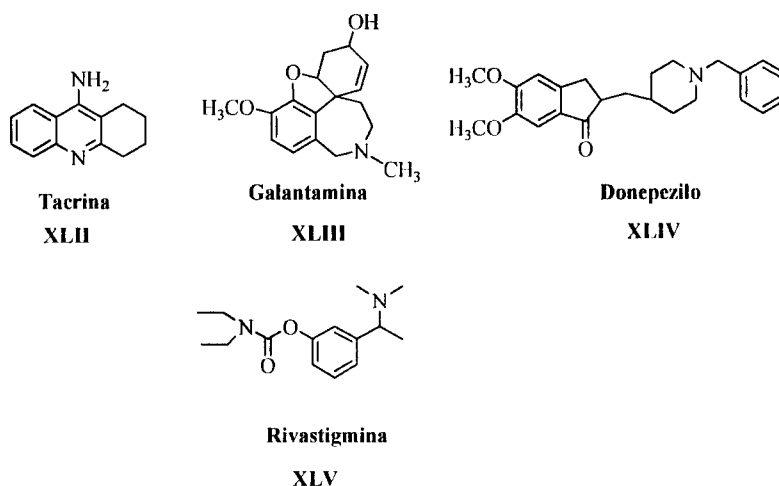


Figura 2.6| Fármacos utilizados na terapia anti-Alzheimer.

2.5. Organização Funcional do SNC

O sistema nervoso é um conjunto de elementos que está envolvido com a recepção dos estímulos, a transmissão dos impulsos nervosos e a activação dos mecanismos dos músculos. As diversas funções cerebrais têm lugar em áreas mais ou menos restritas.

O córtex cerebral que corresponde aos dois hemisférios cerebrais é a área mais vasta e é nele que ocorre o processamento da informação somatossensorial, visual, auditiva, olfactiva e gustativa e ainda o supervisionamento das actividades como o SNV. É também no córtex cerebral que a informação sensorial primária é utilizada para a realização de tarefas mais complexas, como o pensamento abstracto, a consciência e memória.

O sistema límbico é composto pelo hipocampo, o complexo amigdalóide, os glândlios da base, o hipotálamo e alguns núcleos talâmicos. É o no sistema límbico que se forma a memória essencial ao processo de aprendizagem, enquanto nos glândlios da base (estriado e globo pálido) ocorrem as funções responsáveis pelo controlo da motricidade e da postura corporal. Os núcleos talâmicos têm como função principal estabelecer conexões com as diversas áreas cerebrais, no tratamento da informação

sensorial primária e o hipotálamo é uma região do cérebro dos mamíferos, localizada sob o tálamo que controla muitas das actividades vitais. O hipotálamo liga o sistema nervoso ao sistema endócrino regulando a libertação de hormonas hipofisárias, responsáveis pela regulação de determinados processos metabólicos, do comportamento alimentar, pressão arterial e ciclos hormonais circadianos.

O mesencéfalo e a protuberância ligam o córtex cerebral e as estruturas límbicas com o cérebro e a medula espinal. É nesta área que se encontra localizado o sistema reticular ascendente, responsável pelos ciclos de sono-vigília, o repouso e a activação. Estão também localizados nesta área, os núcleos dos nervos cranianos e os sistemas responsáveis pela regulação de muitos actos reflexos, tais como os da deglutição, do vómito e os que estão relacionados com os sistemas cardio-respiratórios.

O cerebelo encontra-se na parte posterior do crânio, debaixo dos hemisférios cerebrais. É uma área responsável pela coordenação do posicionamento corporal e manutenção do equilíbrio. Recebe informações importantes do córtex motor, gânglios da base e núcleos vestibulares mesencefálicos.

A medula espinal corresponde a um conjunto de vias nervosas que conduzem informação ascendente, predominantemente sensorial, e descendente de natureza motora.

2.5.1. Transmissão Neuronal e os Mensageiros Químicos.¹⁵

As conexões entre os neurónios no SNC fazem-se mediante contactos próximos por meio de processos especializados, as sinapses.

Os potenciais de acção são transmitidos ao longo dos axónios até às sinapses, onde os axónios contactam com as dendrites de outros neurónios. As sinapses são constituídas por um terminal pré-sináptico, separado por uma fenda, da componente pós-sináptica. Normalmente, as correntes eléctricas responsáveis pela propagação do potencial de acção ao longo do axónio não conseguem atravessar o espaço entre as componentes pré-sináptica e pós-sináptica, necessitando da acção de mensageiros químicos designados de neurotransmissores.

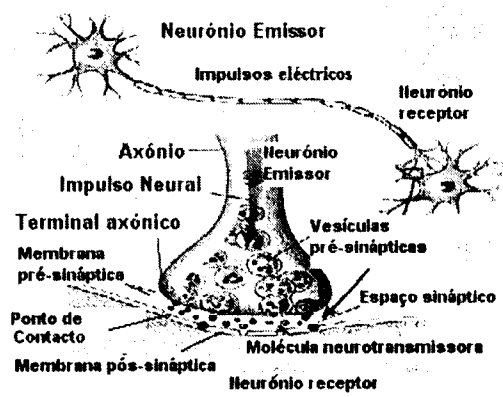


Figura 2.7| Diagrama da transmissão neuronal.

Os neurotransmissores devem cumprir determinados critérios, tais como:

- Encontrar-se nos terminais neuronais pré-sinápticos e nos neurónios de onde emergem os referidos terminais sinápticos.
- Poder ser libertado do terminal pré-sináptico em simultâneo com a activação neuronal respectiva.
- Os efeitos da aplicação directa da substancia devem ser os mesmos conseguidos durante a activação nervosa.

A interacção entre os neurotransmissores e os receptores ocorre por um processo do tipo “chave e fechadura”. A ligação do transmissor (a chave) com os receptores (a fechadura) causa geralmente a abertura de um canal iónico; estes receptores denominam-se receptores ionotrópicos. Se o canal iónico permite a entrada de iões positivos (Na^+ ou Ca^{2+}) o influxo de corrente positiva leva à excitação.

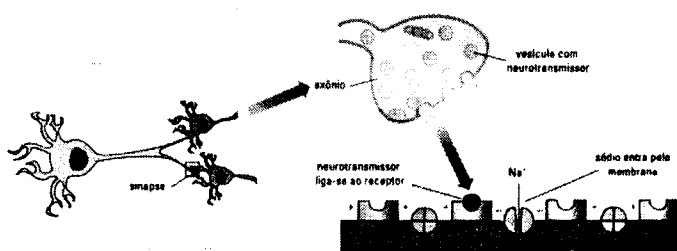


Figura 2.8| Formação e propagação do impulso nervoso.

Isto produz uma oscilação no potencial da membrana designado potencial pós-sináptico excitatório. Para que haja um controlo eficiente da actividade nervosa é

indispensável que a actividade excitatória de alguns neurónios seja acompanhada pela supressão da actividade noutros neurónios. Esta acção depende da inibição.

Nas sinapses inibitórias, a activação de receptores leva á cobertura de canais iónicos que permitem o influxo de iões carregados negativamente e consequentemente alteração do potencial de membrana, designado potencial pós-sináptico inibitório.

Abaixo estão citadas as funções específicas de alguns neurotransmissores:

- Endorfinas e Enkefalinas que bloqueiam a dor, agindo naturalmente no corpo como analgésicos.

- Dopamina é um neurotransmissor inibitório derivado da tirosina. Produz sensações de satisfação e prazer. Os neurónios dopaminérgicos podem ser divididos em três subgrupos com diferentes funções. O primeiro grupo regula os movimentos: uma deficiência de dopamina neste sistema provoca a doença de Parkinson, caracterizada por tremuras, inflexibilidade, e outras desordens motoras. O segundo grupo, o mesolímbico, funciona na regulação do comportamento emocional e o terceiro grupo, o mesocortical, projecta-se apenas para o córtex pré-frontal. Esta área do córtex integra várias funções cognitivas, tais como a memória e o pensamento abstrato, assim como em aspectos emocionais, especialmente relacionados com o stress. Distúrbios nos dois últimos grupos estão associados à esquizofrenia.

- Serotonina é um neurotransmissor derivado do triptofano que regula o humor, o sono, as funções neuroendócrinas, a temperatura corporal, a sensibilidade à dor, as funções cognitivas, entre outras. A maioria dos medicamentos designados antidepressivos age produzindo um aumento da disponibilidade desta substância no espaço entre um neurónio e o outro. É um neurotransmissor inibitório e é um modulador geral da actividade psíquica. Intervém em quase todas as funções cerebrais, inibindo-a de forma directa ou estimulando o sistema GABA.

- GABA (ácido gama-aminobutírico) é o principal neurotransmissor inibitório do SNC. Está presente em quase todas as regiões do cérebro, embora a sua concentração varie conforme a região. Está envolvido em processos de ansiedade e o seu efeito ansiolítico seria devido a alterações provocadas em diversas estruturas do sistema límbico. A inibição da síntese do GABA ou o bloqueio dos seus neurotransmissores no SNC resultariam na estimulação intensa, manifestada através de convulsões generalizadas.

- Ácido glutâmico ou glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC. A sua activação aumenta a sensibilidade aos estímulos dos outros neurotransmissores.

Existem, no entanto, outras substâncias que são susceptíveis de influenciar a transmissão neuronal, sem contudo, cumprirem os critérios acima descritos. Tratam-se de substâncias que influenciam mecanismos neuronais através da sua interacção com proteínas localizadas nas membranas dos neurónios – receptores metabotrópicos. Estes receptores não possuem canais iónicos, não estão exclusivamente localizados na região da sinapse e, ainda de modo mais distinto, não geram potenciais de acção. São agentes químicos designados de neuromoduladores e são exemplos a adenosina e outras purinas.

As substâncias que somente interferem nos mecanismos executados na estrutura pós-sináptica, são denominados de neuromediadores. Estes são formados no processo subsequente à activação do receptor pós-sináptico e são exemplo, os monofosfatos cíclicos de adenodina e guanosina (AMP cíclico e GMP cíclico).

2.6. Noção de receptor ¹⁶

“...os fármacos exercem as suas acções porque interactivam com receptores celulares existentes no organismo. Desta interacção resulta uma modificação desses receptores que dispara um processo bioquímico que vai culminar na resposta.”

Durante muitos anos, pouco se soube acerca da verdadeira natureza dos receptores, estes eram identificados pelos efeitos que mediavam e não eram fáceis de reconhecer quando isolados do sistema em que anatómica e funcionalmente se integravam. Foi a partir da descoberta de radioligandos que foi possível evoluir, não só no conhecimento das suas estruturas e biologia, mas também no dos elos da cadeia reaccional que se interpõe entre o receptor e a resposta farmacológica.

Os receptores são macromoléculas proteicas, na maioria dos casos constituintes das membranas celulares, que unem especificamente outras substâncias químicas como as hormonas e os neurotransmissores. São estruturas com as quais os fármacos interactivam para produzir efeitos num sistema biológico.

2.7. Sistema purinérgico^{16,17}

Os nucleótidos da adenina, ATP, ADP e AMP, bem como o respectivo nucleósido, a adenosina, estão presentes em todas as células, e são essenciais quer para o seu funcionamento energético, quer como constituintes dos ácidos nucleicos. A célula mantém as concentrações baixas de adenosina, quer através de processos enzimáticos no interior da célula, quer por transporte de difusão facilitada do nucleósido para o espaço extracelular e o ATP, em determinadas situações, é também libertado pelas células. No espaço extracelular, o ATP e a adenosina activam receptores específicos localizados na membrana plasmática. Os efeitos do ATP são claramente distintos dos da adenosina e por vezes opostos. Também os receptores que medeiam as acções destas substâncias são claramente diferentes.

Ao longo deste capítulo procurar-se-á caracterizar apenas a adenosina como agente com acção farmacológica.

2.7.1. Adenosina como substância homeostática

As investigações farmacológicas sobre a adenosina, consideravelmente estudada a partir do início dos anos 60 do século XX, em relação à sua actividade cardiovascular, receberam novo impacto com a descoberta, no princípio dos anos 70, dos seus efeitos no SNC e periférico. A adenosina está amplamente distribuída no sistema nervoso central, mais concretamente no hipocampo, estriado e neocórtex. Actua como neuromodulador, potenciando a inibição da acção da dopamina, GABA, glutamato e acetilcolina e da libertação da noradrenalina. Modula a excitabilidade neuronal causada pela hiperpolarização dos mecanismos pós-sinápticos.

As actividades homeostáticas da adenosina são exercidas quer a nível celular quer a nível de órgãos e sistemas.

A nível celular, a acção fisiológica da adenosina reside na sua capacidade de proteger as células, os tecidos e os órgãos dos efeitos do funcionamento das próprias células, e em particular dos estímulos agressivos resultantes de situações de isquemia e/ou hipoxia. Nestas situações existe um aumento acentuado na concentração de adenosina no lado externo da membrana plasmática. A adenosina, ao activar os seus receptores localizados na membrana plasmática, vai proteger a célula possibilitando a sua recuperação. Pode-se, portanto, supor que a adenosina ajusta o nível de

funcionamento das células às suas necessidades imediatas. Em situações de redução de afluxo de nutrientes ou oxigénio torna-se necessário reduzir ao mínimo o funcionamento neuronal; noutras situações, como em processos de degenerescência celular, poderá ser mais vantajoso facilitar a actividade celular.

A nível de órgãos e sistemas, uma das acções da adenosina é a activação da respiração mediada por quimiossensores arteriais e periféricos, em particular os localizados no corpo carotídeo. Trata-se de sensores que têm como principal função proteger o sistema nervoso central de reduções de quantidade de oxigénio no sangue arterial (PaO_2). A concentração de adenosina no sangue aumenta quando diminui a PaO_2 , contribuindo com a sua acção excitatória nos quimiossensores do corpo carotídeo para estimular os reflexos respiratórios que têm origem nestes sensores, e deste modo, proteger o SNC da redução de fornecimento de O_2 .

Este nucleósido tem sido considerado um dos tranquilizantes endógenos de maior relevância devido à sua acção inibitória (por activação de receptores específicos) na libertação de neurotransmissores excitatórios no SNC. As metilxantinas, cafeína e teofilina são antagonistas dos receptores da adenosina e, por isso, actuam como estimulantes do SNC.

2.7.2. Adenosina e os seus receptores

As múltiplas acções biológicas específicas da adenosina são exercidas através da activação de receptores.

Burnstock, em 1978, classificou os purinoceptores localizados na membrana celular em dois grupos distintos: P_1 e P_2 . Os receptores P_1 são activáveis pela adenosina e antagonizáveis pelas xantinas (p. ex.: teofilina e cafeína) e os P_2 activáveis pelo ATP e não antagonizáveis pelas xantinas. Actualmente distinguem-se quatro tipos de receptores para a adenosina (P_1): A_1 , $\text{A}_{2\text{A}}$, $\text{A}_{2\text{B}}$ e A_3 . São receptores metabotrópicos, isto é, estão acoplados a segundos mensageiros (p. ex.: adenilciclase, fosfolípase C) através de proteínas G.

O receptor de adenosina mais amplamente distribuído nos neurónios do sistema nervoso central e periférico é o receptor A_1 , de cuja activação resulta o efeito inibidor da actividade neuronal e cardíaca. A redução da frequência cardíaca resulta da activação dos receptores A_1 que inibem a actividade da adenilciclase e activam os canais de

potássio por processos dependentes de proteínas G, mas independentes da formação de segundos mensageiros (p. ex.: AMP cíclico).

Derivados da adenosina com substituições na posição N^6 (figura 2.9), como a N^6 -ciclopentiladenosina são agonistas potentes e selectivos dos receptores A_1 da adenosina. Um antagonista selectivo e com elevada afinidade para estes receptores é um derivado da xantina, 1,3-dipropil-8-ciclopentilxantina.

Os receptores do tipo A_2 estão, usualmente, acoplados à adenilciclase, interactuando com uma proteína G excitatória. Os receptores A_{2A} , tal como os receptores A_1 , têm elevada afinidade para a adenosina. Estes receptores são abundantes nos gânglios da base e a sua activação aumenta os níveis de AMP cíclico dentro da célula e facilita a activação dos receptores D_2 para a dopamina, sugerindo que uma das funções dos receptores A_{2A} seja a de moduladores de outros moduladores. A activação destes receptores em terminações nervosas facilita a libertação de neurotransmissores (dopamina, GABA, e glutamato), tendo neste aspecto, uma acção oposta à exercida pelos receptores A_1 . Nas artérias, a acção vasodilatadora da adenosina é, na maioria dos casos, exercida através de receptores A_{2A} . A inibição da agregação plaquetária é também mediada por estes receptores. Esta propriedade confere à adenosina características de um agente antitrombótico endógeno. Assim, durante o processo de agregação, libertam-se nucleótidos de adenina que são hidrolisados rapidamente originando adenosina.

Derivados da adenosina com substituições na posição $5'$ (figura 2.9), como é o caso da $5'$ - N -etil-carboxamida adenosina (*NECA*), conferem alguma selectividade para receptores A_2 e são agonistas selectivos e de elevada afinidade para os receptores A_{2A} . Os derivados da cafeína, como a cloroestirilcafeína e a 3,7-dimetil-1-propargilxantina, são antagonistas com alguma selectividade para receptores A_2 , não distinguindo, contudo, entre receptores A_{2A} e A_{2B} . Os antagonistas mais selectivos e com maior afinidade para os receptores A_{2A} são as moléculas não-xantínicas SCH 58261 e ZM 241385.

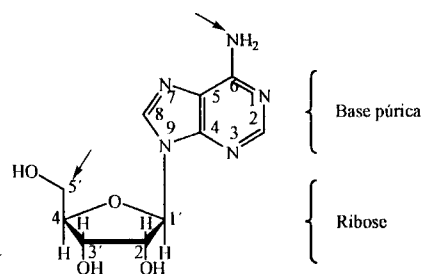


Figura 2.9| Estrutura química da adenosina.

Os receptores A_{2B} são similares aos A_{2A} e estão amplamente distribuídos no cérebro. Estimulam a produção do AMP cíclico, tendo, assim, uma acção excitatória global. Estes receptores estão também presentes em mastócitos, donde o seu possível papel em processos alérgicos e inflamatórios. Têm baixa afinidade para a adenosina e tem sido proposto que desempenham apenas um papel relevante em situações de um grande aumento dos níveis extracelulares da adenosina. Ainda não são conhecidos agonistas selectivos para estes receptores e a emprofilina tem-se mostrado um antagonista com alguma selectividade.

Ao contrário dos receptores já descritos, os receptores de adenosina A_3 foram recentemente identificados. No ser humano, estes receptores estão distribuídos no fígado, cérebro, rins e coração e a sua activação inibe a actividade da adenililciclase e estimula a mobilização dos iões de Ca^{2+} . A estimulação do receptor A_3 induz a cardioprotecção através da activação dos canais de K^+ e está também envolvido na neuroprotecção, sugerindo a possibilidade do uso de agonistas dos receptores A_3 no tratamento de isquemias cardíacas e cerebrais. Alguns antagonistas selectivos destes receptores têm vindo a mostrar-se úteis na regulação do crescimento celular e no tratamento do glaucoma. Apesar de terem diversas estruturas, estes antagonistas partilham determinadas características estruturais. Podem ser planares, ou ricos em electrões π ou compostos que contêm heterociclos nitrogenados, tais como, as piridinas, adeninas e derivados triazólicos.³

2.7.3. Mecanismo de acoplamento

O receptor metabotrópico ao ser estimulado pela adenosina activa uma proteína G específica localizada na face citoplasmática da membrana plasmática. Esta proteína pode estimular (G_s) ou inibir (G_i) a produção da enzima adenilciclase de forma a gerar

ou a prevenir a formação de um segundo mensageiro, o monofosfato de adenosina cíclico (AMPc).

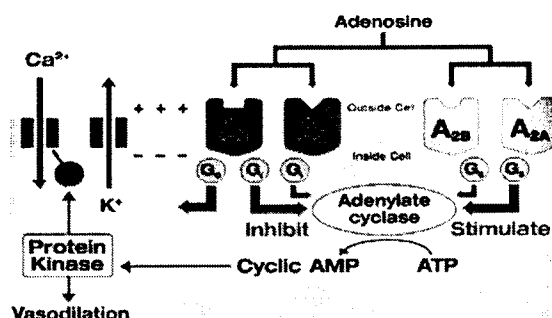


Figura 2.10| Acoplamento de um receptor de adenosina.

2.8. Heterociclos 1,2,3-triazólicos.

Os 1,2,3-triazóis (XLVI), conhecidos desde os finais do século XIX, são um sistema de heterociclos azotados com cinco membros presentes em diversas substâncias sintéticas. Estes compostos triazólicos demonstraram ter várias aplicações em muitas áreas, especialmente na área da medicina, onde são aplicados no tratamento de diversas neoplasias, de SIDA e de doenças como a Parkinson e a Alzheimer.¹⁸

2.8.1. Nomenclatura.

Os triazóis são substâncias hetero-aromáticas que apresentam seis electrões π . São heterociclos aromáticos azotados de cinco membros, que contêm um ou mais átomos de azoto e pertencem à classe de substâncias denominadas genericamente de azol, sendo o pirrol o mais simples (XLVII). Os que contêm átomos de enxofre ou oxigénio também recebem a denominação de azol, sendo designados, respectivamente de tiazol (XLVIII) e oxazol (XLIX). Na figura 2.11, estão apresentados os membros mais simples desta classe de heterociclos: pirazol (L), imidazol (LI), 1,2,3-triazol ou triazol vicinal (XLVI), 1,2,4-triazol ou triazol simétrico (LII), tetrazol (LIII) e pentazol (LIV).¹⁸

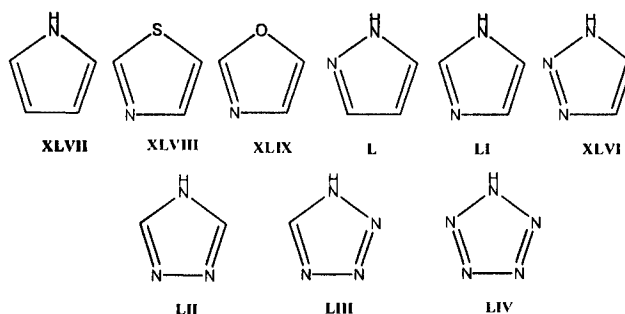


Figura 2.11 | Diversos heterociclos aromáticos azólicos.

2.8.2. Outras aplicações.

A importância dos compostos heterocíclicos é incontestável, particularmente no que se refere ao seu uso como medicamentos, sendo muitos destes compostos heterocíclicos fármacos mundialmente consumidos e que apresentam actividades farmacológicas diversificadas (figura 2.12).¹⁸

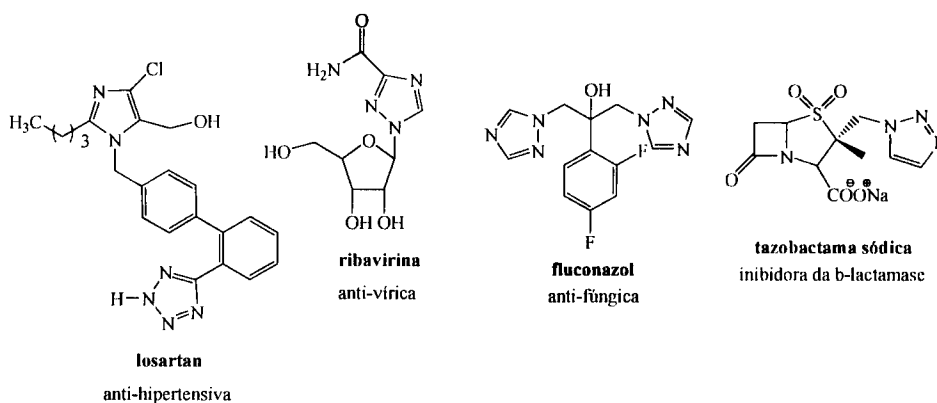
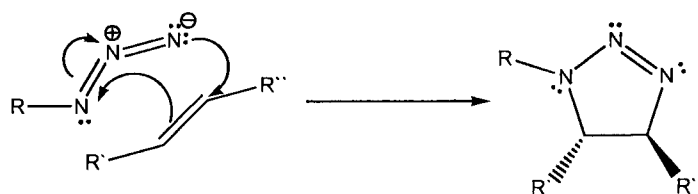


Figura 2.12 | Exemplos de heterociclos azotados farmacologicamente activos.

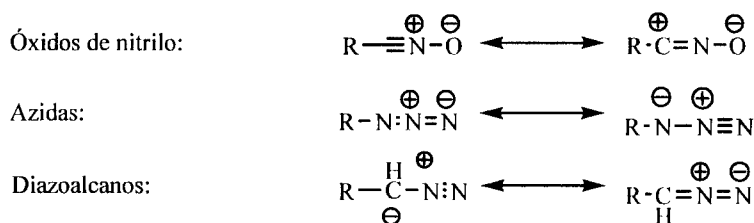
2.8.3. Metodologias sintéticas de preparação de 1,2,3-triazóis.

Devido ao grande interesse pela obtenção de triazóis, foram desenvolvidos vários métodos para a sua síntese. As reacções de cicloadição 1,3-dipolares entre azidas e substâncias contendo ligações duplas ou triplas, tornaram-se num dos métodos mais úteis para a síntese de triazóis *N*-substituídos. Nestas reacções, as substâncias classificadas como 1,3-dipolares (dipolo) reagem com um sistema π (dipolarófilo) para formar um heterociclo de cinco membros (esquema 2.1). Trata-se de uma reacção de cicloadição $[2s+4s]$ onde os dois electrões π do dipolarófilo e os 4 electrões do composto dipolar participam num mecanismo concertado.



Esquema 2.1| Mecanismo de uma cicloadição 1,3-dipolar.

Como exemplos de dipolarófilos temos os alcenos e os alcinos e moléculas que possuam como grupos funcionais heteroátomos (tais como nitrilos e carbonilos). Outros compostos 1,3-dipolares contêm um ou mais heteroátomos e podem ser descritos como tendo pelo menos uma estrutura mesomérica que representa um dipolo carregado (esquema 2.14).



Esquema 2.2| Exemplos de dipolos. ¹⁸

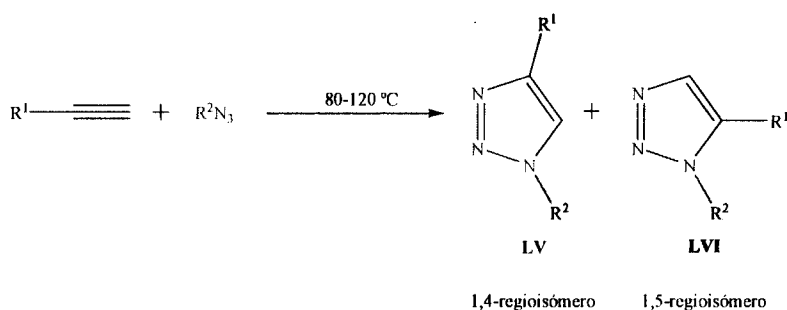
Deste mecanismo de cicloadição, conhecem-se vários dados experimentais: a adição é reversível, a velocidade da reacção depende da concentração de ambos componentes; a reacção é de segunda ordem com pequena influência do tipo de solvente e a variação da entropia da reacção é fortemente negativa. De um modo geral, as

cicloadições entre azidas e acetilenos ocorrem rapidamente, sendo um dos métodos mais versáteis para a preparação de 1,2,3-triazóis.

2.9. “Click Chemistry” e Cicloadição de Huisgen

A “*click*” chemistry refere-se a uma série de reacções químicas que obedecem a determinados critérios, como o de ser facilmente modulada em termos de acompanhamento e alterações das condições reaccionais, atingir elevados resultados estereoespecíficos, fornecer elevados rendimentos químicos, envolver procedimentos experimentais simples e tempos reaccionais reduzidos.¹⁹ Deve também, dentro do possível, usar materiais de partida prontamente disponíveis, poder aplicar metodologias biocompatíveis com o ambiente (ausência de solventes ou o uso de água como solvente) e permitir a purificação dos compostos por cristalização ou destilação evitando recorrer à cromatografia.²⁰

A “*click*” chemistry foi especialmente bem sucedida na preparação de 1,2,3-triazóis via cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos (internos ou terminais). A reacção original, conhecida como ciclização de Huisgen, envolveu um tratamento térmico de ambos os reagentes fornecendo os correspondentes triazóis com uma completa falta de regioselectividade, obtendo-se uma mistura de 1:1 de regioisómeros 1,4- e 1,5- dissubstituídos (LV e LVI esquema 2.3).¹⁹



Esquema 2.3| Produtos da Ciclização de Huisgen.

Tal ausência de selectividade nas cicloadições de Huisgen fez com que estas se tornassem inadequadas em “*click chemistry*”. Assim, a descoberta por Sharpless de que estas reacções podem ser eficientemente catalisadas por sais de Cobre (I) para dar exclusivamente o regioisómero 1,4- disubstituído (LV, esquema 2.3), fez com que este se tornasse num excelente método de preparação destes heterociclos.

Os sais de cobre (I) induzem eficazmente a regiosselectividade da reacção e promovem um aumento da velocidade da reacção até 10^7 vezes, suprimindo a necessidade do uso de temperaturas elevadas.¹⁹ Embora o cobre (I) possa ser introduzido directamente na reacção sob a forma de sais de cobre, a presença de uma base assim como a prévia exclusão do oxigénio da reacção, são geralmente requeridos de forma a minimizar a formação de produtos indesejados, tais como diacetilenos. Alternativamente, as espécies catalíticas de Cu (I) podem ser geradas *in situ* a partir da redução de um sal de cobre (II) na presença do ascorbato de sódio (agente redutor e base), eliminando assim o problema da formação de produtos indesejados sem uma prévia exclusão do oxigénio.²¹ A utilidade desta reacção deve-se também em parte, à facilidade com que as azidas orgânicas e alcinos podem ser transformados (ciclização) em moléculas com uma estabilidade química e momento dipolar elevado em diferentes condições reaccionais. A reacção não é afectada pela presença de água nem pela maioria dos grupos funcionais orgânicos e inorgânicos.

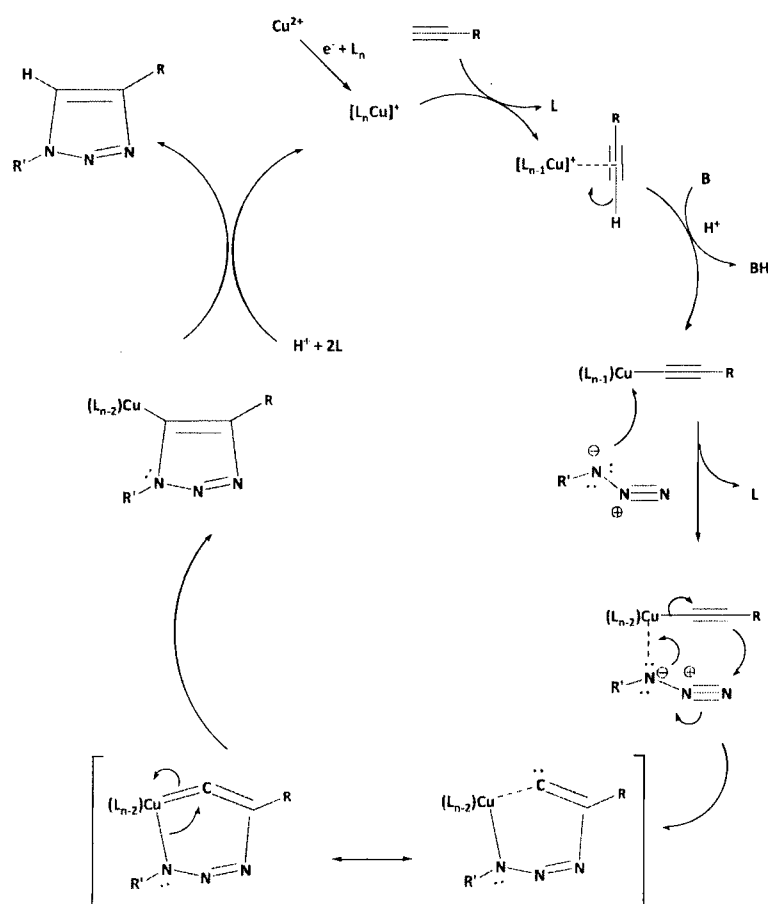
A cicloadição de Huisgen catalisada por Cu (I) tornou-se um dos métodos mais eficazes para a obtenção de novas moléculas.

O mecanismo proposto para a cicloadição de Huisgen trata-se de um ciclo catalítico, no qual intervêm várias etapas:^{22, 23}

- A: sendo o reagente de partida um derivado de Cu (II), é necessária a prévia redução para gerar *in situ* o correspondente derivado de Cu (I) [complexo de Cu (I)], o qual actua no ciclo catalítico.
- B: o complexo de Cu (I) reage com o alcino terminal formando-se um complexo de inserção, com a remoção de um ligando neutro (L).
- C: a presença de uma base no meio reaccional remove o protão do alcino terminal ocorrendo a formação do complexo organo-cuproso.
- D: a azida no meio reaccional actua como ligando, coordenando-se ao ião Cu (I) para formar outro complexo organo-cuproso e remoção de outro ligando (L).
- E: no complexo formado na etapa D, produz-se um rearranjo intramolecular originando dois possíveis mesómeros (carbeno e pseudo-aleno) que correspondem a estados de transição elevados.

- F: nesta etapa dá-se um novo rearranjo no qual se forma a ligação azoto-carbono para dar origem a um complexo organo-cuproso, no qual o Cu está ligado ao ciclo do triazol na posição 4.
- G: ocorre a protonação do complexo organo-cuproso e a inserção de dois ligandos para originar o triazol pretendido e a regeneração do complexo de Cu (I), respectivamente.

É de referir que neste ciclo catalítico também é possível que todos os complexos de cobre possam estar sob a forma de complexos binucleares, dependendo da estabilidade desses intermediários.



Esquema 2.4| Mecanismo proposto para a cicloadição de Huisgen catalisada pelo Cu (I).

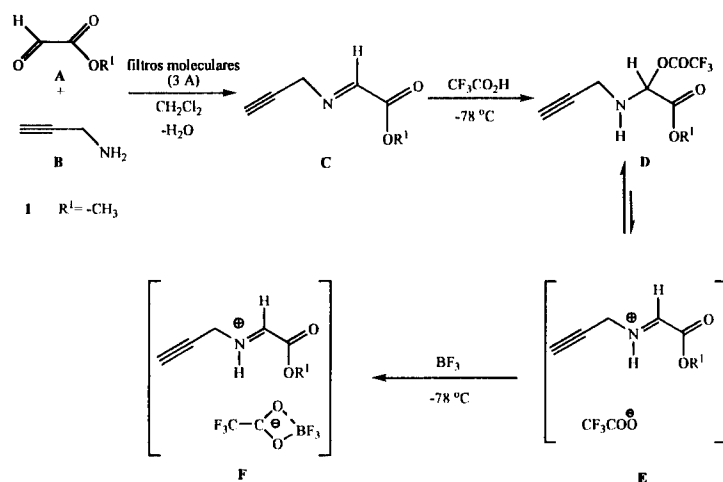
DISCUSSÃO DOS
RESULTADOS

3.1. Reacção de aza-Diels-Alder.

3.1.1. Aspectos gerais.

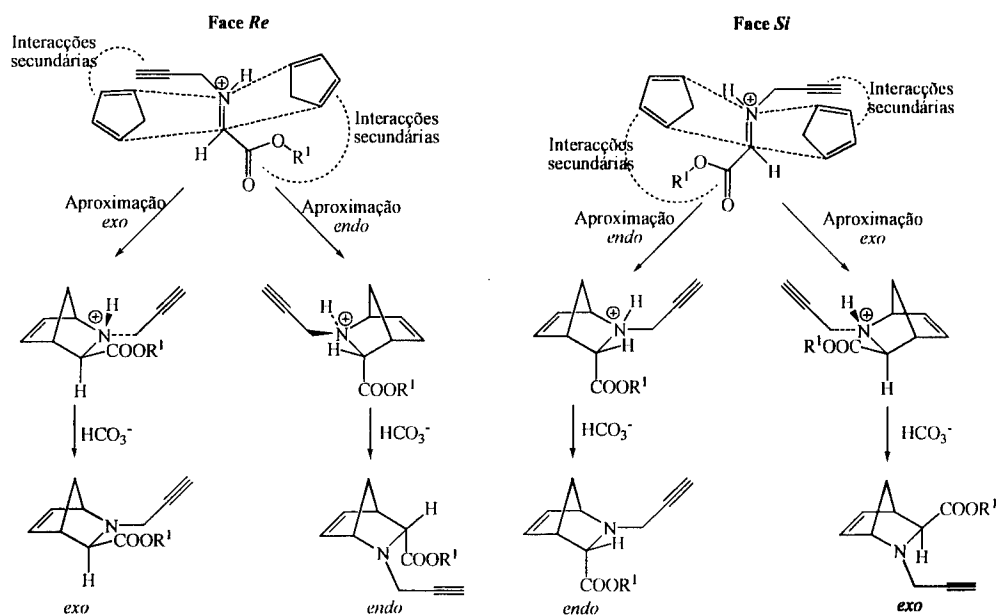
As reacções de aza-Diels-Alder constituem um dos métodos mais importantes para a síntese de estruturas bicíclicas contendo azoto, particularmente na formação de piperidinas e derivados de tetrahydroquinolidinas.²⁴ Estas reacções são um caso especial de uma classe generalizada de reacções de cicloadição entre sistemas π , as quais ocorrem entre um dieno conjugado (um sistema com quatro átomos conjugados contendo quatro electrões π) e um composto contendo uma ligação dupla (sistema com dois electrões π) designado por dienófilo, e constituem um método muito importante e versátil em síntese orgânica.²⁵

No mecanismo proposto para este tipo de reacção, entre iminas de glioxilatos e ciclopentadieno (esquema 3.1), observa-se que a reacção do glioxilato **A** com quantidades equimolares de propargilamina (**B**), origina uma imina **C**, que com a posterior adição do ATA (ácido de Brönsted) sofre protonação e produz o trifluoroacetato correspondente (**D**), o qual está em equilíbrio com a forma de catião imínio **E**. No sentido de deslocar o equilíbrio, estabilizando essa espécie catiónica reactiva, é adicionado o TFBE (ácido de Lewis), formando-se o intermediário **F**. É de salientar que o facto da reacção se realizar a baixas temperaturas (-78 °C) e na presença de ATA e TFBE, permite obter uma elevada diastereoselectividade e evita processos secundários (ex: polimerização do dieno e a hidrólise do grupo éster). Com a formação do ião imínio **F**, uma espécie muito reactiva, a reacção de dienos torna-se bastante mais favorável.



Esquema 3.1| Mecanismo de formação do dienófilo.

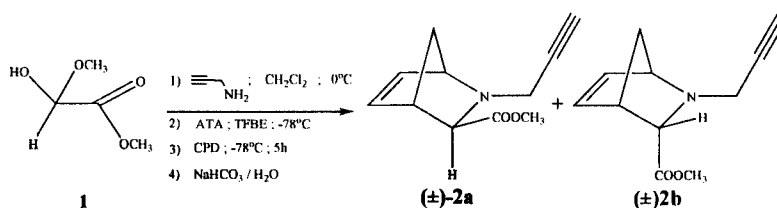
O uso de glicolatos aquirais proporciona a obtenção de uma mistura racêmica dos aductos ($\pm$)-*exo* e dos aductos ($\pm$)-*endo*, uma vez que o dieno tem a mesma probabilidade de se aproximar por ambas as faces do dienófilo. O ataque do ciclopentadieno pode então dar-se pela face *Re* ou pela face *Si* do dienófilo, para além da aproximação do dieno se poder dar de maneira *exo* e *endo*, originando os quatro estereoisómeros possíveis: um par de enantiómeros *exo* e um par de enantiómeros *endo* (esquema 3.2).



Esquema 3.2| Ataque do dieno pela face *Re* e *Si* do dienófilo

3.1.2. Síntese do $(\pm)$ -(3-*exo*)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -2a], e do $(\pm)$ -(3-*endo*)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -2b].

Para a obtenção dos aductos pretendidos, efectuou-se uma reacção de aza-Diels-Alder seguindo o procedimento descrito na bibliografia⁶. A reacção pode ser representada pela seguinte equação química:



Esquema 3.3| Reacção de aza-Diels-Alder para a obtenção dos aductos $(\pm)$ -2a e $(\pm)$ -2b.

Os diastereoisómeros *exo* e *endo* foram separados através de purificação cromatográfica em coluna de gel de sílica usando como eluente Hex:AcOEt (3:1).

Após a separação cromatográfica obteve-se um composto maioritário com um rendimento de 48% e um minoritário com 21 %. A obtenção do aducto *exo* em maior quantidade, será resultado da aproximação *exo* como consequência de uma orientação co-planar dieno-dienófilo. A ponte metilénica do Cp estaria assim mais afastada do grupo propargílico da imina e seria uma aproximação favorecida pelas interacções secundárias entre as orbitais π do dieno e o grupo propargilo electrodéficiente (orbitais *sp*), sobrepondo-se ao efeito das interacções secundárias entre as orbitais π do dieno e o grupo éster electrodéficiente do dienófilo, que originaria maioritariamente o produto *endo* (*regra endo*).

Os produtos foram identificados por TLC utilizando padrões anteriormente sintetizados e devidamente identificados por ^1H -RMN, COSY H-H, ^{13}C -RMN e IV.⁶

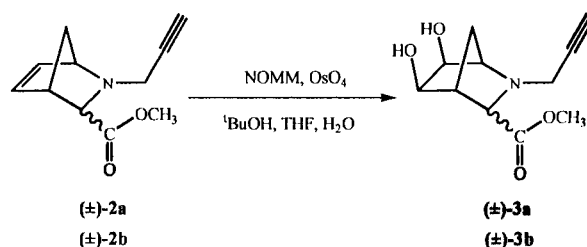
3.2. Síntese dos derivados *N*-propargil-pirrolidínicos.

Conforme já foi referido no plano de trabalho, a síntese dos derivados *N*-propargil-pirrolidínicos vai ser efectuada por dois métodos distintos.

3.2.1. Método 1.

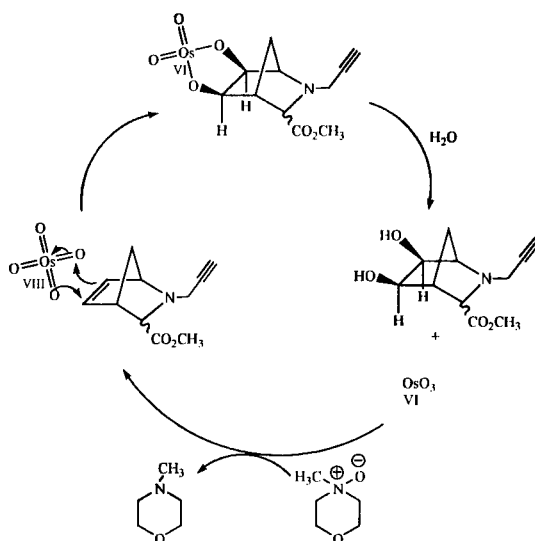
3.2.1.1. Oxidação por OsO₄: Síntese do (±)-(3-*exo*)-5,6-diidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-3a] e do (±)-(3-*endo*)-5,6-diidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-3b].

A diidroxição dos aductos (±)-2a e (±)-2b pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.4| Diidroxição dos aductos (±)-2a e (±)-2b na presença de OsO₄ e NOMM.

O mecanismo proposto para a oxidação de alcenos na presença de OsO₄ e NOMM é o seguinte:



Esquema 3.5| Mecanismo de diidroxição dos aductos (±)-2a e (±)-2b com OsO₄/NOMM.

Nesta reacção dá-se inicialmente uma adição concertada redutiva do OsO₄ à ligação dupla pela face *exo* do alceno (estereoquimicamente menos impedida), caracterizada pelo deslocamento simultâneo de três pares de electrões para originar um intermediário cíclico contendo Os (VI). Trata-se de uma reacção estereosselectiva pois este intermediário resulta de uma adição *syn*: os dois átomos de oxigénio são introduzidos na mesma face da ligação dupla. O OsO₄, um reagente dispendioso e altamente tóxico, é utilizado apenas em quantidades catalíticas utilizando-se uma quantidade estequiométrica de outro agente co-oxidante, o NOMM, para proporcionar a re-oxidação do ósmio reduzido (Os^{VI} a Os^{VIII}). O OsO₄ regenerado entra novamente no ciclo catalítico oxidando mais alceno.

O diol (±)-**3a**, após purificação por coluna de gel de sílica, foi obtido puro, com rendimentos elevados (94%-96%) e foi identificado por espectroscopia de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (anexos 1 e 2, respectivamente).

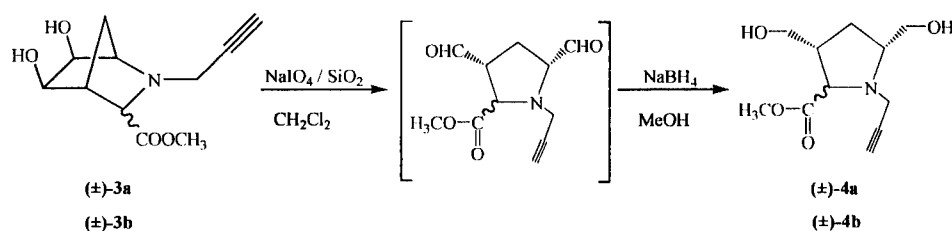
(±)-**3a**: R_f = 0,40 em Hexano:AcOEt (1:5); P.f. = 65-67 °C.

Também o diol (±)-**3b**, após purificação por coluna de gel de sílica, foi obtido puro e identificado por espectroscopia de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (anexos 3 e 4). Os rendimentos obtidos foram aceitáveis (53%-55%) mas inferiores aos obtidos para o diol (±)-**3a**, provavelmente devido à maior instabilidade do precursor **2b**, que se decompõe num óleo castanho escuro.

(±)-**3b**: R_f = 0,32 em Hex:AcOEt (1:5); P.f. = 75-77 °C.

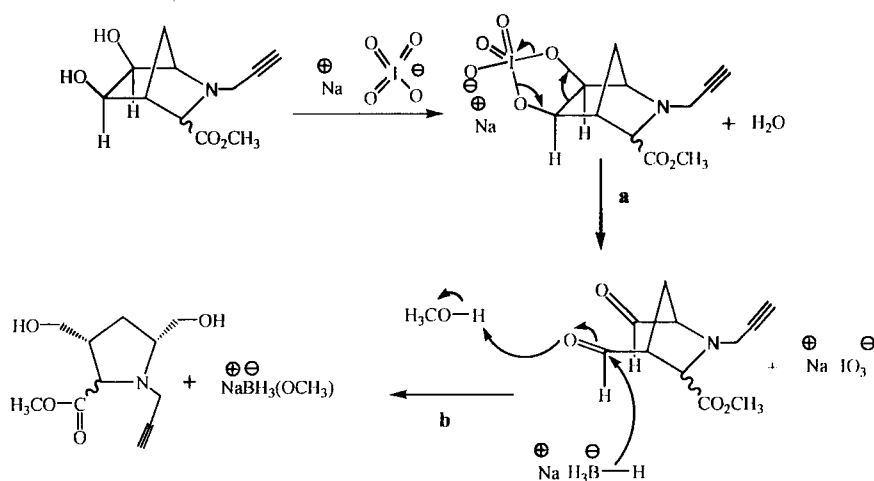
3.2.1.2. Clivagem oxidativa e redução dos dióis (±)-**3a** e (±)-**3b**.

Com o objectivo de obter os derivados pirrolidínicos, efectuou-se uma cisão oxidativa com NaIO₄ seguida de redução do dialdeído resultante com NaBH₄ de acordo com a seguinte equação química:



Esquema 3.6 | Cisão oxidativa seguida de redução dos dióis $(\pm)\text{-}3a$ e $(\pm)\text{-}3b$.

O reagente que quebra a ligação simples $C_5\text{-}C_6$ é o NaIO_4 . Ocorre a formação de um intermediário cíclico “periodato *syn*” o qual sofre um rearranjo com cisão da ligação $C\text{-}C$ (a) para formar o correspondente dialdeído e o anião iodato, segundo o esquema apresentado:



Esquema 3.7 | Mecanismo da cisão oxidativa (a) seguida de redução (b) dos dióis.

O processo de cisão oxidativa realizado na presença de sílica (SiO_2) ocorre com maior eficiência devido às suas características de material suporte (matriz) que permite a homogeneização da mistura reaccional e o melhor contacto entre o reagente iónico, da fase aquosa, e o substrato orgânico (diol), que se encontra dissolvido no diclorometano.

O dialdeído formado no passo (a) é um composto presumivelmente sensível à luz e ao calor e como tal, não foi isolado mas reduzido *in situ* por reacção com NaBH_4 em MeOH (b) originando o correspondente diol. Quando um dialdeído é exposto ao NaBH_4 , o redutor doa um hidreto ao carbono do grupo carbonilo, ocorrendo a protonação simultânea do oxigénio pelo metanol (solvente). O reagente de boro pode reagir com mais três grupos carbonilo até que todos os iões hidreto do reagente sejam consumidos. Como resultado, um equivalente de NaBH_4 é capaz de reduzir quatro equivalentes de aldeído a álcool.²⁶

3.2.1.2.1. Síntese do (±)-(2*R*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, [(±)-4a].

Os rendimentos obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)-4a encontram-se sumariados na seguinte tabela:

Experiência	η /%
1	27
2	61
3	46
4	62

Tabela 3.1| Resultados obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)-4a.

Os baixos rendimentos obtidos na experiência 1 e 3, podem-se dever à elevada polaridade do composto obtido, tendo ficado parcialmente retido na fase aquosa durante as extracções e na cromatografia preparativa quando foi efectuada a sua purificação. Nas restantes experiências, para garantir a sua total remoção foi necessário efectuar várias extracções consecutivas (> 4) da fase aquosa com AcOEt, podendo ser o motivo do aumento dos rendimentos neste processo. A caracterização estrutural do composto obtido foi feita através da análise dos espectros de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (anexos 5 e 6).

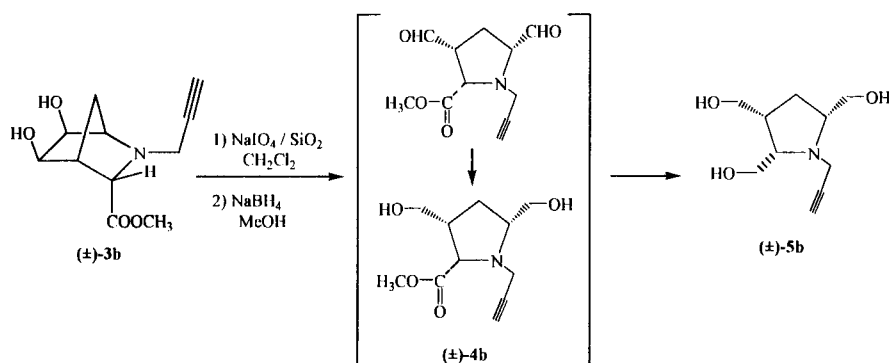
(±)-4a: R_f = 0,30 em Hexano:AcOEt (1:5); P.f. = 66-68 °C.

3.2.1.2.2. Tentativa de síntese do (±)-(2*S*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, [(±)-4b]. Síntese do (±)-(2*S*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5b].

A fim de obter o derivado pirrolidínico (±)-4b, efectuou-se uma cisão oxidativa do composto (±)-3b com NaIO₄ seguida de redução do dialdeído resultante com NaBH₄. Após a purificação, por cromatografia preparativa, do resíduo obtido nesta reacção, reuniram-se as fracções homogéneas em TLC e analisaram-se os espectros de ESI-MS,

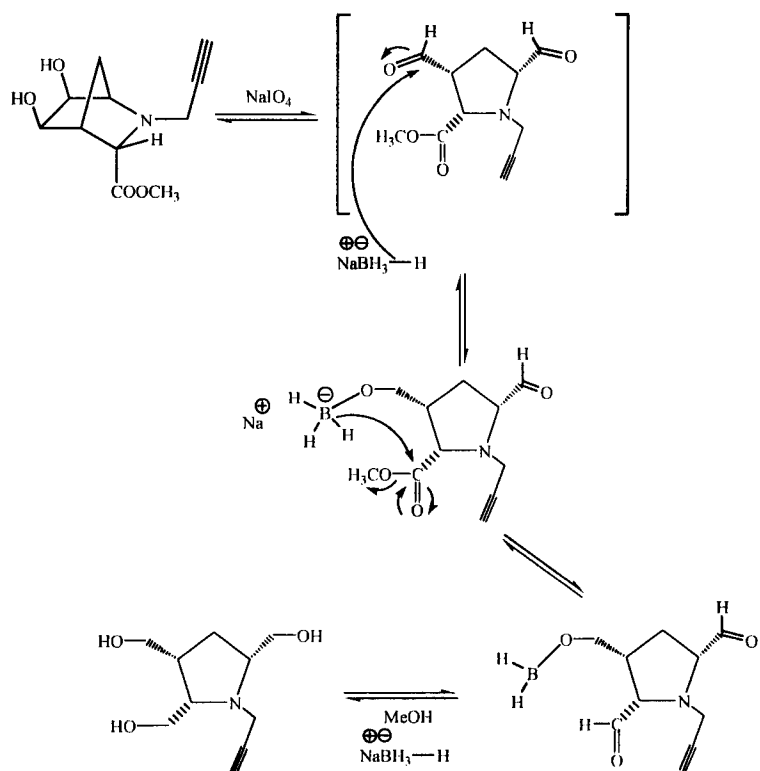
^1H -RMN e ^{13}C -RMN. Através da análise espectral efectuada, verificou-se que não se tratava do éster pretendido $[(\pm)\text{-}4\text{b}]$ mas sim do triol $(2S,3R,5R)\text{-}N$ -propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina, $[(\pm)\text{-}5\text{b}]$.

A síntese do composto $(\pm)\text{-}5\text{b}$ encontra-se descrita na seguinte equação química:



Esquema 3.8 | Cisão oxidativa seguida de redução do diol $(\pm)\text{-}3\text{b}$.

Normalmente o NaBH_4 em metanol não tem a capacidade de reduzir ésteres a aldeídos (ou a álcoois). O facto de o derivado pirrolidínico $(\pm)\text{-}4\text{b}$ (éster) não ter sido isolado neste processo, pode ser explicado por um mecanismo através do qual ocorre uma redução intra-molecular pela mesma face, produzido pelo ataque de um hidreto do grupo alcóxido-hidreto borato do próprio substrato formado *in situ*, este intermediário redutor seria capaz de reduzir ésteres a aldeídos e aldeídos a álcoois. Este ataque intramolecular não seria favorável se o grupo éster se encontra em posição *anti*, o que justifica a obtenção do éster **4a**. (Esquema 3.9)



Esquema 3.9| Mecanismo proposto para a formação do derivado pirrolidínico (±)-5b.

Os rendimentos obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)-5b encontram-se sumariados na tabela seguinte:

Experiência	η /%
1	33
2	27
3	25
4	29

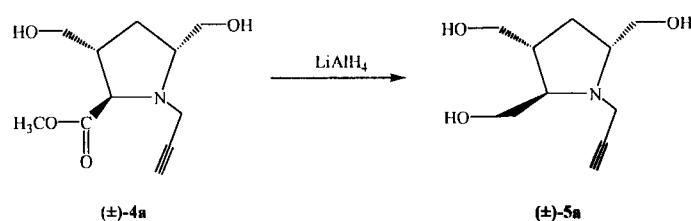
Tabela 3.2| Resultados obtidos para a síntese do derivado pirrolidínico (±)-5b.

Tal como foi referido para o caso do composto (±)-4a, os baixos rendimentos obtidos na síntese do derivado (±)-5b podem ser devidos à grande dificuldade de extrair o triol da fase aquosa e da cromatografia preparativa utilizada como método de purificação do resíduo obtido. A caracterização estrutural do composto obtido foi feita através da análise dos espectros de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (anexos 7 e 8).

($\pm$)-**5b**: $R_f = 0,40$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1).

3.2.1.3. Redução do derivado pirrolidínico ($\pm$)-**4a** com LiAlH_4 . Síntese da (*2R,3R,5R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [($\pm$)-**5a**].

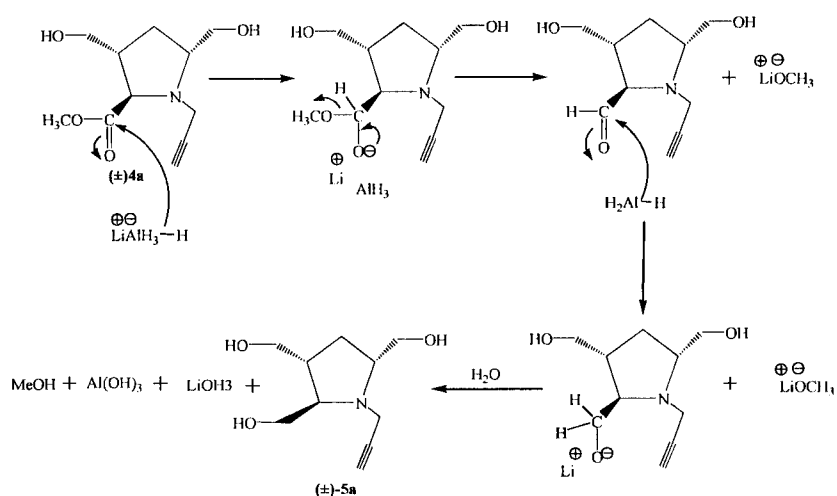
A redução do aducto ($\pm$)-**4a** pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.10| Redução do derivado pirrolidínico **4a** na presença de LiAlH_4 .

O LiAlH_4 é um hidreto bastante reactivo sendo largamente utilizado nas reduções de grupos carbonilo (aldeídos, cetonas e ésteres) a baixas temperaturas. O reagente de Lítio pode reduzir até quatro moléculas do derivado pirrolidínico ($\pm$)-**4a**, altura em que todos os hidretos foram utilizados na redução.

A adição de MeOH e H_2O após o término da reacção garante a libertação do composto pretendido, por protonação dos alcóxidos de lítio, bem como a destruição do excesso de LiAlH_4 do meio reaccional (esquema 3.10).



Esquema 3.11| Mecanismo de redução do derivado pirrolidínico ($\pm$)-**4a** na presença de LiAlH_4 .

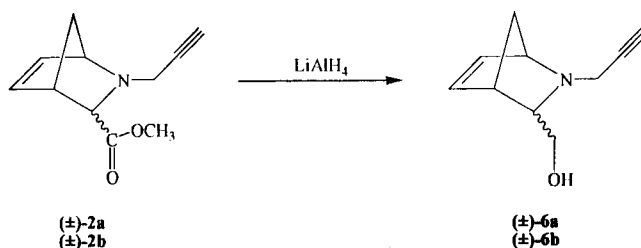
Os rendimentos obtidos nas duas experiências realizadas para a síntese do composto ($\pm$)-**5a** apresentam algumas discrepâncias. Na primeira experiência foi obtido um rendimento bastante aceitável (77%) enquanto que na segunda reacção o rendimento

obtido foi de 20%. Uma vez que se trata de um composto bastante polar, este baixo rendimento pode-se dever a uma insuficiente e difícil extracção da fase aquosa ou a uma possível perda do composto na cromatografia preparativa usada como método de purificação. Obteve-se um óleo amarelo ténue com $R_f = 0,14$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ 9:1 que foi caracterizado estruturalmente através da análise dos espectros de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN (anexos 9 e 10).

3.2.2. Método 2.

3.2.2.1. Síntese do $(\pm)$ -(3-*exo*)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, $[(\pm)$ -6a], e do $(\pm)$ -(3-*endo*)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, $[(\pm)$ -6b].

A redução dos aductos $(\pm)$ -2a e $(\pm)$ -2b para obter os aminoálcoois $(\pm)$ -6a e $(\pm)$ -6b, respectivamente, pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.12 | Redução do derivado pirrolidínico $(\pm)$ -2a e $(\pm)$ -2b na presença de LiAlH_4 .

A redução dos ésteres **2** com o LiAlH_4 foi realizada utilizando a metodologia já descrita na secção 3.2.1.3.

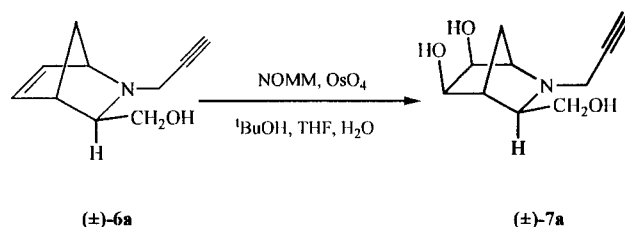
Após o tratamento das misturas reaccionais obteve-se para cada um dos casos um óleo acastanhado que foi submetido a separação cromatográfica em coluna usando-se como eluente uma mistura de CH_2Cl_2 :MeOH (19:1).

Os rendimentos obtidos para a síntese dos compostos $(\pm)$ 6a e $(\pm)$ 6b foram aceitáveis, sendo em média de 60% para o aminoálcool *exo* e de 40% para o *endo*. Os rendimentos para as reacções de síntese destes compostos poderiam ser mais elevados se a extracção do composto da fase aquosa não fosse tão difícil. A elevada polaridade dos aminoálcoois juntamente com a facilidade destes compostos para formar complexos de lítio e de alumínio (afinidade dos heteroátomos para com os iões de lítio e de alumínio), fazem com que a extracção do composto da fase aquosa, seja muito difícil.

Depois de purificados, os compostos apresentavam-se como sólidos de cor branca que foram caracterizados através da análise dos espectros de ESI-MS, ^1H -RMN e ^{13}C -RMN como sendo os aminoálcoois $(\pm)$ -6a [P.f.= 30-35°C; R_f = 0,27 em CH_2Cl_2 :MeOH (23:2)] e $(\pm)$ -6b [P.f.= 65-70 °C; R_f = 0,20 em CH_2Cl_2 :MeOH (23:2)] (anexos 11, 12, 13 e 14).

3.2.2.2. Síntese do $(\pm)$ -(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-3-hidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-5,6-diol, $[(\pm)$ -7a].

A diidroxilação do aducto $(\pm)$ -6a pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.13 Diidroxilação do aducto $(\pm)$ -6a na presença de OsO₄ e NOMM.

O mecanismo para a oxidação de alcenos na presença de OsO₄ e NOMM encontra-se descrito na secção 3.2.1.1.

Após purificação por coluna de gel de sílica, obteve-se um sólido branco com rendimentos elevados (72%-80%) que foi identificado por espectroscopia de ESI-MS, ¹H-RMN, ¹³C-RMN (e DEPT) e HMQC como sendo o triol $(\pm)$ -7a (anexo 15 e 16).

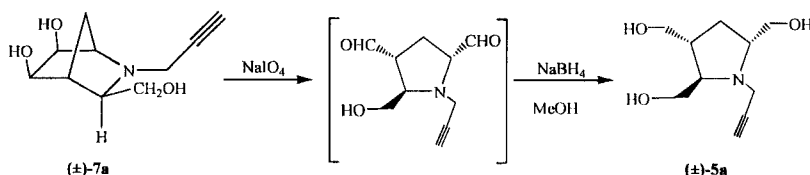
$(\pm)$ -7a: [P.f. = 136-140°C, R_f = 0,17 em CH₂Cl₂:MeOH (23:2)].

Os rendimentos obtidos para esta reacção de diidroxilação, foram inferiores ao obtidos para o composto diidroxilado $(\pm)$ -3a. Sendo o triol $(\pm)$ -7a um composto mais polar que o diol $(\pm)$ -3a, é possível que tenham ocorrido perdas maiores do composto durante as extracções da fase aquosa ou até mesmo durante o processo de purificação.

A síntese do triol *endo* $(\pm)$ -7b não foi efectuada, visto que por um lado o precursor 6b foi isolado em menor quantidade e por outro lado verificou-se que a reacção subsequente de 7a (síntese do composto 5a) deu origem a rendimentos muito baixos (< 10%) inviabilizando este método.

3.2.2.3. Síntese da $(\pm)$ -(2*R*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina, [($\pm$)-5a].

A síntese do composto $(\pm)$ -5a encontra-se descrita na seguinte equação química:



Esquema 3.14| Cisão oxidativa seguida de redução do diol $(\pm)$ -7a.

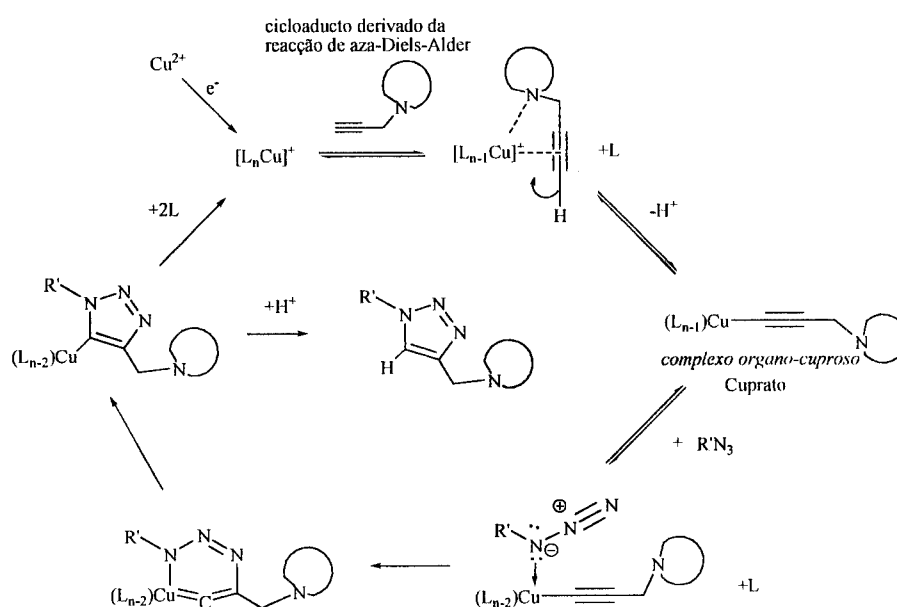
O mecanismo da clivagem oxidativa seguida de redução de aldeídos na presença de NaIO_4 e NaBH_4 encontra-se descrito na secção 3.2.1.2.

Para a síntese do triol $(\pm)$ -5a, foram testadas duas metodologias. Uma, onde a síntese foi realizada numa suspensão de sílica, CH_2Cl_2 e NaIO_4 e outra que consistiu na solubilização do composto e do NaIO_4 em dioxano: H_2O . Verificou-se que a reacção realizada em dioxano: H_2O foi a que conduziu a melhores resultados, dado que a reacção efectuada numa suspensão de sílica, CH_2Cl_2 e NaIO_4 não permitiu a obtenção do composto pretendido. Os rendimentos obtidos foram, no entanto, muito baixos ($<10\%$), sendo que na primeira experiência realizada não foi possível purificar o composto dado à pequena quantidade de mistura reaccional isolada. Isto pode-se dever à grande dificuldade de extracção do composto pretendido (que apresenta uma elevada polaridade) da fase aquosa, sendo necessário lavá-la várias vezes com AcOEt .

3.3. Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.

3.3.1. Aspectos gerais da reacção.

Esta reacção foi realizada a partir da azidoacetato de etilo e dos cicloaductos resultantes da reacção de aza-Diels-Alder e o mecanismo proposto encontra-se esquematizado na seguinte figura do Esquema 3.15.

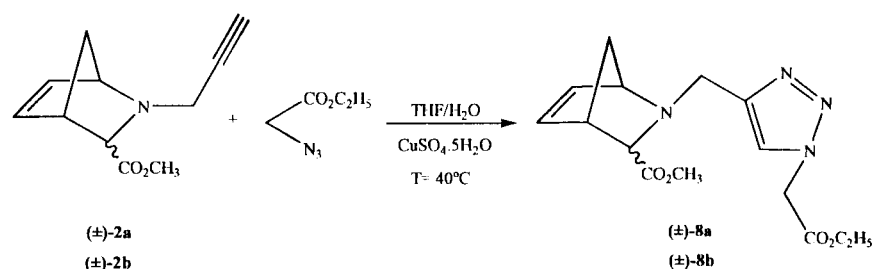


Esquema 3.15|Mecanismo proposto para a reacção de cicloadição de Huisgen entre azidas e alcinos.

Este mecanismo já se apresenta descrito na secção 2.9.

3.3.2. Síntese do (3*exo*)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8a] e do (3*endo*)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8b].

Para a obtenção dos derivados triazólicos pretendidos, efectuou-se uma reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre a azidoacetato de etilo e os aductos (±)-2a e (±)-2b seguindo o procedimento descrito na bibliografia.⁶ A reacção pode ser representada pela seguinte equação química:



Esquema 3.16 Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre a azidoacetato de etilo e os aductos **(±)-2a** e **(±)-2b**.

Os derivados triazólicos **(±)-8a** e **(±)-8b**, após purificação cromatográfica, foram obtidos puros e sob a forma de um óleo com tonalidade amarela. Os rendimentos das reacções foram elevados (88% e 89%, respectivamente) e os compostos foram identificados mediante TLC, através de padrões conhecidos e através dos dados espectroscópicos (^1H -RMN e ^{13}C -RMN) coincidentes com os descritos na literatura.⁶

(±)-8a: [$R_f = 0,48$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (19:1)].

(±)-8b: [$R_f = 0,20$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (19:1)].

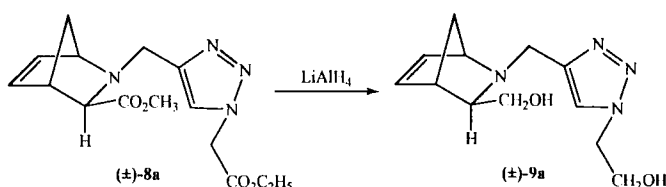
Ao contrário do que é característico numa reacção “click” (purificação do composto por cristalização ou destilação), foi necessária a purificação dos compostos por cromatografia preparativa nas duas experiências realizadas, uma vez que se tornou difícil a cristalização dos compostos. Por outro lado, estas reacções proporcionaram tempos de reacção baixos, tratamentos da mistura reaccional simples e rendimentos químicos bastante aceitáveis, satisfazendo em grande parte os requisitos essenciais de uma reacção “click”.

3.4. Síntese das poli-hidroximetil-*N*-triazolilmetilpirrolidinas.

Conforme já foi referido no plano de trabalho a síntese das poli-hidroximetil *N*-triazolilmetilpirrolidinas vai ser efectuada por quatro métodos distintos.

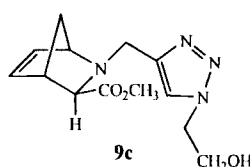
3.4.1. Método 3: Tentativa de síntese do (±)-(3*exo*)-2-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]etanol, [(±)-9a].

A redução do aducto (±)-8a com LiAlH₄ pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.17| Redução do derivado triazólico (±)-8a com LiAlH₄.

O processo de redução entre o LiAlH₄ e o éster ocorre segundo o descrito na secção 3.2.1.3. Após o tratamento da mistura reaccional e purificação por cromatografia preparativa, obteve-se um óleo amarelo que se pensou corresponder ao composto (±)-9a, mas que pela análise de ESI-MS verificou-se não se tratar do composto pretendido mas provavelmente do éster (±)-9c.

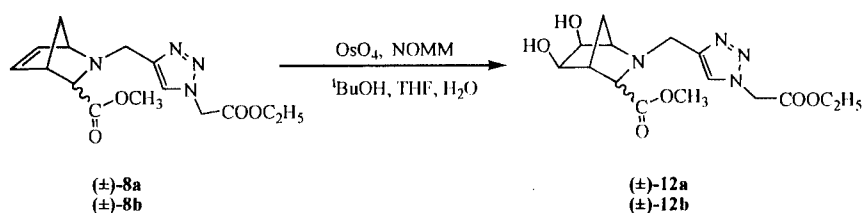


O derivado triazólico pretendido [(±)-9a] não foi isolado neste processo, provavelmente devido à sua elevada polaridade. Tratando-se de um composto bastante polar, a sua elevada afinidade para a fase aquosa e para a sílica utilizada na etapa de purificação, poderá ter levado à perda do composto desejado. Pela dificuldade que representou este método, e por falta de tempo, não se repetiu a reacção de síntese do composto pretendido [(±)-9a] e não se pôde saber com certeza se poderá ter ocorrido a formação do composto desejado ou existido algum problema com a reacção.

3.4.2. Método 4.

3.4.4.1. Síntese do $(\pm)$ -(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-2-[[[(1-etoxicarbonilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-dihidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [($\pm$)-12a] e do (3*endo*,5*exo*,6*exo*)-2-[[[(1-etoxicarbonilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-diidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [($\pm$)-12b].

A diidroxiilação dos aductos $(\pm)$ -8a e $(\pm)$ -8b pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.18| Diidroxiilação dos aductos $(\pm)$ -8a e $(\pm)$ -8b na presença de OsO₄ e NOMM.

O mecanismo para a oxidação de alenos na presença de OsO₄ e NOMM encontra-se descrito na secção 3.2.1.1.

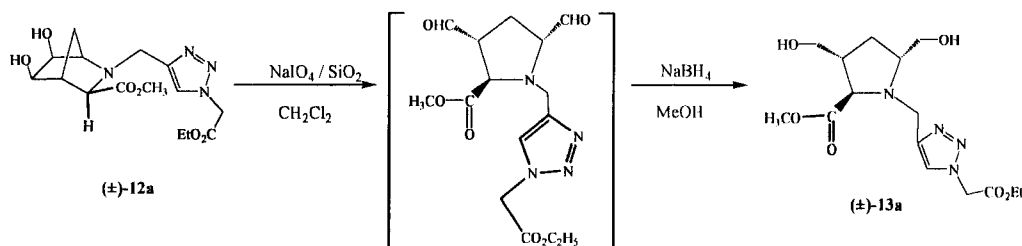
Após purificação por coluna de gel de sílica, ambos os compostos foram obtidos sólidos e com uma tonalidade branca. Os rendimentos obtidos para ambas as reacções de diidroxiilação foram bastante aceitáveis (($\pm$)-12a: 58% e 84%; ($\pm$)-12b: 55%) e os compostos resultantes foram caracterizados estruturalmente por espectroscopia de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (e DEPT) e identificados como sendo os compostos ($\pm$)-12a e ($\pm$)-12b (anexo 17, 18, 19 e 20).

($\pm$)-12a: Sólido branco; R_f = 0,62 em CH₂Cl₂:MeOH (19:1); P.f.=140-143°C

($\pm$)-12b: Sólido branco; R_f = 0,36 em CH₂Cl₂:MeOH (19:1).

3.4.4.2. Tentativa de síntese do $(\pm)$ -(2'*R*,3'*R*,5'*R*)-{4-[3,5-bis(hidroximetil)-2-metoxicarbonil-pirrolidin-1-ilmetil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}acetato de etilo, [($\pm$)-13a].

A síntese do composto $(\pm)$ -13a encontra-se descrita na seguinte equação química:

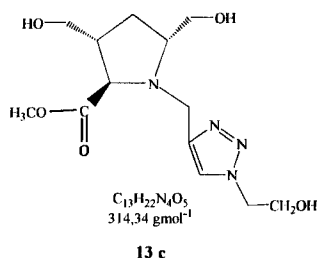


Esquema 3.19 | Cisão oxidativa seguida de redução do diol $(\pm)$ -12a.

O mecanismo da clivagem oxidativa seguida de redução de aldeídos na presença de NaIO_4 e NaBH_4 encontra-se descrito na secção 3.2.2.

O resíduo orgânico obtido na reacção foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando como eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1). Após purificação, obteve-se um sólido amarelo ténue que se pensou corresponder ao composto $(\pm)$ -13a, mas que pela análise dos espectros de ESI-MS e ^1H -RMN se verificou não ser o composto pretendido.

As análises espectroscópicas de ESI-MS e ^1H -RMN sugerem que o composto obtido seja o composto **13c**. A sua formação pode ser explicada com base no mecanismo reaccional já avançado para uma reacção análoga que ocorreu no composto **3b** (secção 3.2.1.2.2.)



O derivado triazólico pretendido [($\pm$)-13a] não se formou neste processo.

Os rendimentos obtidos para este composto foram baixos (20% e 52%), provavelmente devido a perdas do composto durante a etapa de extração e purificação, dificultadas pela elevada polaridade do composto.

Apresenta-se de seguida o espectro de ^1H -RMN do composto **13c** ainda impuro.

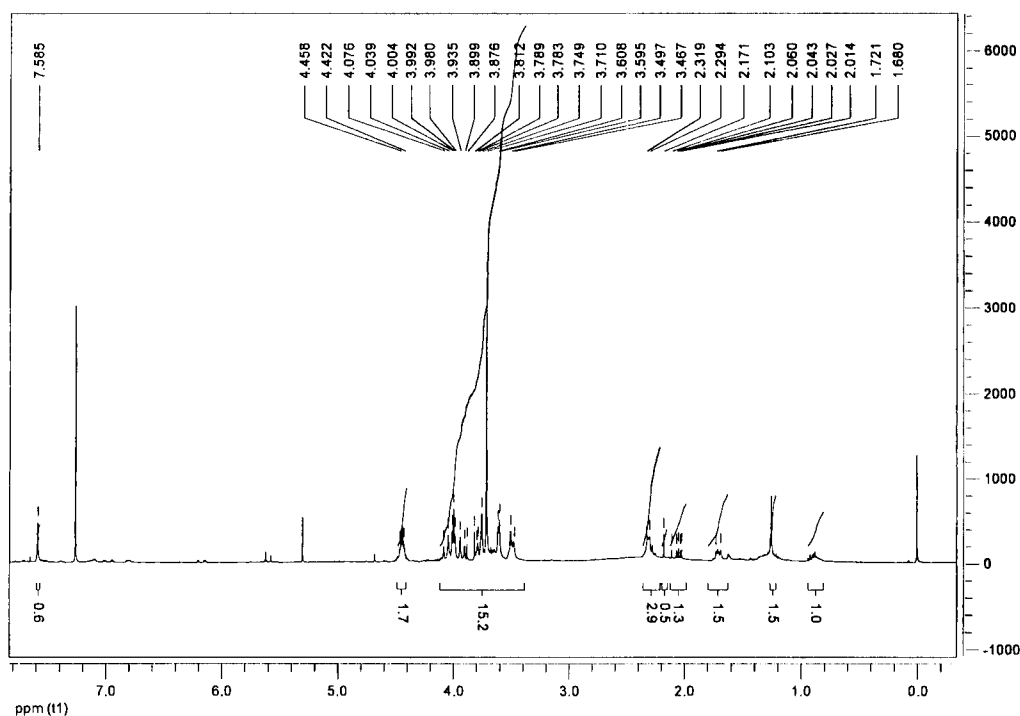


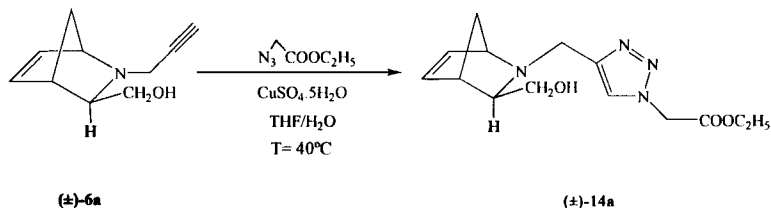
Figura 3.1 | Espectro de ^1H -RMN do composto **13c**.

Através da análise do espectro de ^1H -RMN é possível verificar a ausência do tripleto e do quarteto do grupo éster contrariando a presença do composto **13a**. Por outro lado, apresenta picos característicos do composto **13c**, nomeadamente o singlete dos três prótons do grupo metilo (~3,7 ppm) e o singlete do próton do grupo triazólico (~7,6 ppm).

3.4.3. Método 5.

3.4.3.1. Síntese do $(\pm)$ -(3*exo*)-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [($\pm$)-14a], a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.

A referida reacção pode ser representada pela seguinte equação química:



Esquema 3.20 | Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre o azidoacetato de etilo e o aducto $(\pm)$ -6a.

O mecanismo proposto para a reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar encontra-se representado na secção 3.3.1.

Após o tratamento reaccional, obteve-se um óleo amarelo acastanhado que foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, não se tendo conseguido isolar nenhuma fracção homogénea (TLC) do produto maioritário obtido [$R_f = 0,44$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1)]. No entanto, a análise de ESI-MS mostrou ser possível tratar-se do composto pretendido e o espectro de ^1H -RMN da fracção impura isolada também aponta para a formação do composto [($\pm$)-14a]. (figura 3.2)

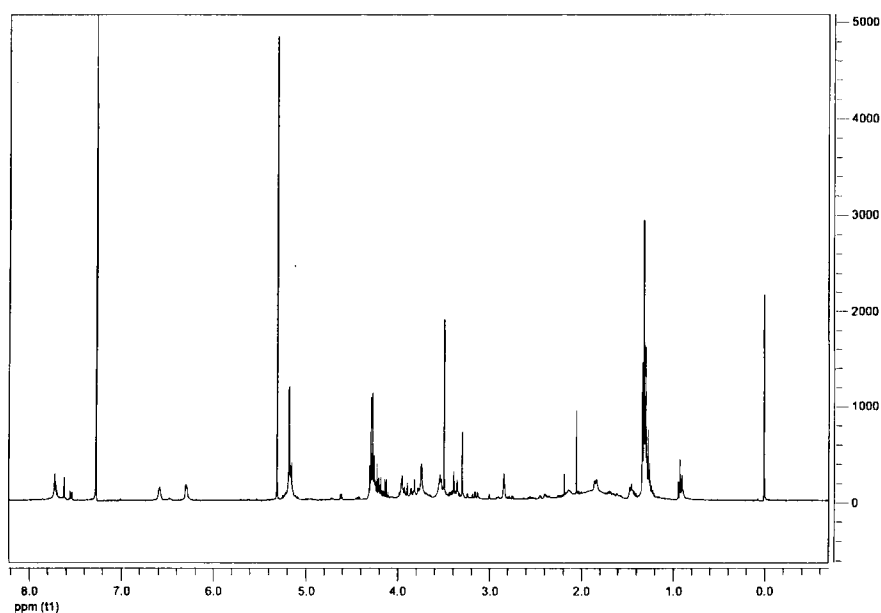
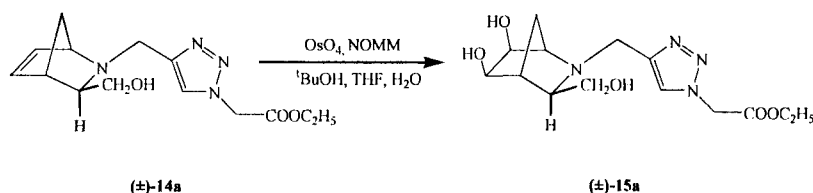


Figura 3.2 | Espectro de ^1H -RMN do composto $(\pm)$ -14a ainda impuro

O rendimento obtido não pôde ser calculado com exactidão, visto o composto se encontrar contaminado, sabendo-se que será inferior a 73% (valor calculado a partir da mistura impura recuperada na etapa de purificação). Foram feitas várias tentativas de purificação do composto 14a com diferentes eluentes, mas estas foram infrutíferas, dado à presença de um outro composto com um R_f muito próximo ao do composto 14a.

3.4.3.2. Tentativa de síntese do $(\pm)$ -(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-[4-(5,6-dihidroxi-3-hidroximetil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [($\pm$)-15a].

A diidroxilação do aducto $(\pm)$ -14a pode ser traduzida pela seguinte equação química:



Esquema 3.21 | Diidroxilação do aducto $(\pm)$ -14a na presença de OsO_4 e NOMM.

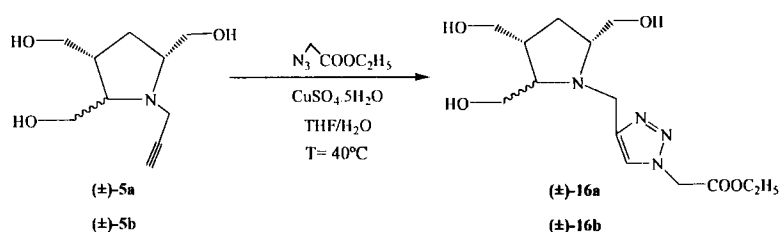
O mecanismo para a oxidação de alcenos na presença de OsO_4 e NOMM encontra-se descrito na secção 3.2.1.

Após o tratamento da mistura reaccional, obteve-se um óleo amarelo que foi purificado por coluna de gel de sílica. Tratando-se de uma reacção com bastantes produtos secundários, a purificação do composto desejado não foi realizada com sucesso. A fracção maioritária obtida não pôde ser caracterizada *via* espectroscopia de RMN, tendo sido no entanto analisada por espectrometria de massa, onde se detectou a presença de um composto com a massa do produto [($\pm$)-15a].

O rendimento obtido não pôde ser calculado com exactidão, visto o composto se encontrar bastante impuro, sabendo-se que será inferior a 35% (valor calculado a partir da mistura impura recuperada na etapa de purificação). [($\pm$)-15a].

3.4.4. Método 6: Tentativa de síntese do $(\pm)$ -{4-[(2'*R*,3'*R*,5'*R*)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo [($\pm$)-16a] e do $(\pm)$ -{4-[(2'*S*,3'*R*,5'*R*)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo [($\pm$)-16b].

A reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar utilizada na síntese dos biciclos desejados pode ser representada pela seguinte equação química:



Esquema 3.22 | Cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar entre o azidoacetato de etilo e as *N*-propargil-pirrolidinas tris-hidroximetiladas ($\pm$)-5a e ($\pm$)-5b.

O mecanismo proposto para a reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar encontra-se representado na secção 3.3.1.

Em ambas as experiências, após o tratamento da mistura reaccional e purificação por cromatografia preparativa, obteve-se sólidos amarelos que se pensou corresponderem aos compostos ($\pm$)-16a e ($\pm$)-16b, mas que pela análise de ^1H -RMN se verificou não se tratarem dos compostos pretendidos.

Os derivados triazólicos pretendidos não foram isolados neste processo. Uma possível explicação para este facto reside no mecanismo proposto para a cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar, onde a formação de um intermediário carbaniónico (cuprato) básico torna susceptível a remoção dos protões lábeis da molécula. Isto pode levar à impossibilidade de ocorrência da reacção sendo aconselhável uma prévia protecção (acetilação por ex.) dos grupos hidroxilo.

Capítulo 4.

CONCLUSÕES E
PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho experimental teve como objectivos principais a síntese das *N*-propargil bis- e tris(hidroximetil)pirrolidinas e das poli-hidroximetil-*N*-triazolilmetilpirrolidinas.

A obtenção dos derivados *N*-propargílicos bis e tris poli-hidroximetilados, foi atingida com sucesso e com rendimentos razoáveis e, apesar de a síntese das poli-hidroximetil *N*-triazolilmetilpirrolidinas não ter sido alcançada, as etapas sintéticas estudadas trouxeram contribuições importantes para futuros trabalhos relacionados com este projecto.

Os rendimentos dos aductos obtidos na reacção de aza-Diels-Alder foram razoáveis obtendo-se os aductos *exo* em maior proporção que os aductos *endo* (48% e 21%, respectivamente).

Na segunda parte deste trabalho, os vários modos/hipóteses de síntese dos compostos pretendidos foram organizados em diferentes métodos.

Relativamente ao método 1, as reacções de diidroxilação seguida de cisão oxidativa e redução, foram bastante satisfatórias, isto porque apesar de não se ter conseguido obter o derivado ($\pm$)-**4b**, os rendimentos obtidos para os compostos sintetizados foram bastante aceitáveis. No método 2, os resultados já não foram tão positivos, dado à dificuldade em obter o derivado pirrolidínico tris-hidroximetilado ($\pm$)-**5a** pretendido. Por outro lado, os rendimentos obtidos para os compostos resultantes das reacções de redução (rendimento médio para o aducto *exo* de 63% e para o aducto *endo* de 41%) e diidroxilação (rendimento médio para o aducto *exo* de 76%) foram bastante aceitáveis.

Numa última fase deste projecto foram estudadas as reacções de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolares, entre os derivados *N*-propargilados e o azidoacetato de etilo, no intuito de preparar os derivados triazólicos pretendidos. Na síntese dos derivados triazólicos, utilizando o azidoacetato de etilo e os aductos resultantes da reacção de aza-Diels-Alder, os rendimentos obtidos foram bastante aceitáveis, sendo o rendimento para o triazol ($\pm$)-**8a** de 88% e para o triazol ($\pm$)-**8b** de 89%.

Também nesta fase do trabalho, as várias maneiras de obter as poli-hidroximetil *N*-triazolilmetilpirrolidinas foram organizadas em diferentes métodos.

No que diz respeito ao método 3, este não foi muito eficaz não tendo sido possível isolar o composto pretendido ($\pm$)-**9a**, talvez devido a um erro experimental. De futuro, seria viável a repetição desta reacção tendo maior cuidado na fase de purificação cromatográfica. Relativamente ao método 4, os resultados obtidos para a reacção de diidroxilação foram bastante positivos, sendo os rendimentos na ordem dos 70% para o composto ($\pm$)-**12a** e 60% para o composto ($\pm$)-**12b**. A reacção de cisão oxidativa seguida de redução dos derivados diidroxilados já não proporcionou resultados positivos, visto não se ter conseguido sintetizar o composto pretendido. No método 5, a síntese do derivado triazólico a partir do aminoálcool ($\pm$)-**6a** foi conseguida com sucesso, apesar da difícil purificação do mesmo. No entanto, o composto obtido [($\pm$)-**14a**] foi submetido a uma reacção de diidroxilação, não tendo sido possível isolar o composto pretendido puro dado a difícil purificação do mesmo, tendo sido no entanto analisada a mistura obtida por espectrometria de massas que evidenciou a presença de um composto com a massa do produto pretendido. Tal como nos outros métodos (2,3 e 4), também este não é muito viável, dado que o rendimento obtido para o composto resultante da diidroxilação é muito baixo (< 35%). Por último, tentou-se obter os derivados *N*-triazolilmetilpirrolidinas polihidroximetiladas a partir da reacção de cicloadição de Huisgen entre os derivados *N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidinas (obtidos no método 1) e o azidoacetato de etilo (método 6), a qual não permitiu a obtenção dos derivados triazólicos.

Após o estudo de todas estas etapas sintéticas, pôde-se concluir que no que diz respeito à síntese dos derivados *N*-propargil-pirrolidínicos, o método que conduziu a resultados mais satisfatórios foi o método 1, uma vez que proporcionou a obtenção dos derivados pirrolidínicos pretendidos.

Na obtenção das poli-hidroximetil-*N*-triazolilmetilpirrolidinas, nenhum dos métodos proporcionou a obtenção dos compostos supracitados. No entanto, os métodos 4 e 5 são os que aparentam ser mais viáveis para a síntese destes compostos, sendo de todo o interesse para a conclusão deste trabalho, a repetição das reacções noutras condições experimentais, principalmente no que diz respeito à reacção de cicloadição de Huisgen entre azidas orgânicas e derivados propargilados possuindo protões lábeis. A utilização de aminoálcoois protegidos poderia melhorar significativamente os rendimentos destas reacções.

Os derivados *N*-propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidinas e *N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidinas obtidos, serão enviados para testes biológicos e avaliados como potenciais inibidores da MAO-B.

PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Aspectos Gerais.

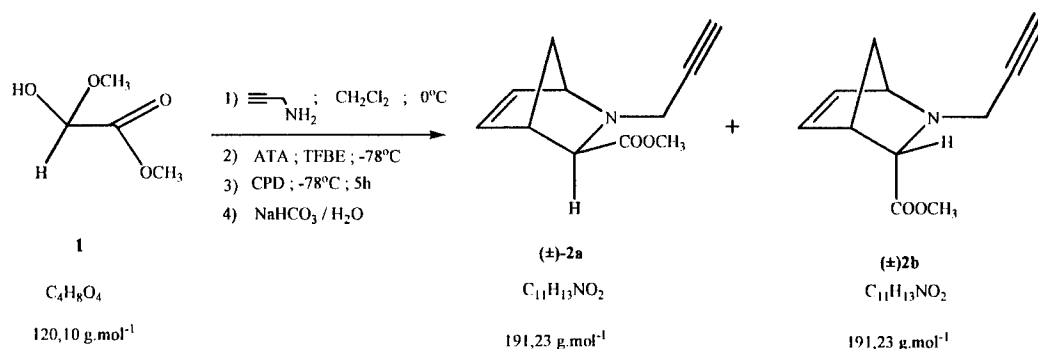
- Os solventes usados nas reacções foram purificados segundo os procedimentos descritos em *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry 5th Edition* e secos por destilação sobre um agente secante adequado, sob atmosfera inerte de árgon antes de serem utilizados. Os agentes secantes utilizados foram o potássio com benzofenona para o THF e éter etílico, pentóxido de fósforo para o diclorometano e carbonato de potássio para a acetona. O ciclopentadieno (Cp) usado na reacção de aza-Diels-Alder foi previamente bidestilado imediatamente antes da sua utilização.
- A eliminação dos solventes foi efectuada sob pressão reduzida num evaporador rotativo modelo Büchi Heating Bath B-490.
- A separação/purificação dos compostos realizou-se por cromatografia líquida em coluna de vidro e por cromatografia preparativa. Para a realização da cromatografia líquida utilizou-se como fase estacionária gel de sílica chromagel 60A da SDS (granulometria 35-70 μm , pH=7, superfície mássica 550m²/g) e para a cromatografia preparativa utilizou-se como fase estacionária gel de sílica MERCK tipo GF₂₅₄ em placas de vidro 20 x 20 cm. Os eluentes utilizados estão indicados na descrição do procedimento.
- Para acompanhar a evolução das reacções e confirmar a pureza dos compostos sintetizados recorreu-se à técnica de cromatografia de camada fina (TLC), utilizando-se placas de alumínio recobertas com gel de sílica Merck tipo 60 F₂₅₄ sensíveis à luz UV (λ =264 e 360nm). Os cromatogramas foram revelados por irradiação com luz UV de λ =254 nm e por vapores de iodo.
- Nas reacções de cicloadição de Huisgen a azida utilizada, tratou-se de uma solução de azidoacetato de etilo a 34% em CH₂Cl₂.
- Os espectros de massa realizaram-se num espectrómetro FINNIGAN modelo LCQ Deca XP Max da unidade de espectrometria da Faculdade de Ciências da UP solubilizando os compostos (0.01%) em MeOH p.a. com uma velocidade de injeção de 3 $\mu\text{L}/\text{min}$ e temperatura do capilar de 275°C. Os dados espectroscópicos (ESI-MS) foram calculados especificando a razão massa/carga (m/z) calculada e obtida para o ião molecular ($M+H$)⁺.

- Os pontos de fusão foram determinados num aparelho STUART Scientific, modelo SMP1 e não foram corrigidos.
- A identificação dos compostos que já tinham sido sintetizados em trabalhos anteriores foi efectuada através de TLC por comparação com padrões dessas sínteses que se encontram devidamente analisados por ^1H -RMN, ^{13}C -RMN e IV.
- Os espectros de RMN de protão (300 MHz) e de Carbono 13 (75 MHz) foram realizados em espectrómetros *Brucker* AMX300 e *Brucker* DRX500, pertencentes à secção de Ressonância Magnética Nuclear da RIAIDT (Universidade de Santiago de Compostela) e *Brucker* Ultrashield TM Plus 400 (400 MHz) pertencente ao CEMUP (Faculdade de Ciências da Universidade do Porto).
- Os espectros foram realizados à temperatura ambiente, em clorofórmio deuterado e usando o sinal do tetrametilsilano (TMS) como referência. A representação esquemática da análise dos espectros encontra-se especificada do seguinte modo:

^1H -RMN (solvente utilizado) – δ_{H} (desvio químico em ppm), multiplicidade do sinal (s – singleto, sl – singleto largo, d – duplete, dl – duplete largo, dd – duplo duplete, dt–duplo tripleto, t – tripleto, q – quarteto, m – multiplete), área relativa do sinal (nH ou número de protões), constante de acoplamento (J , em Hz), localização do protão na molécula e protão lábil (desvio químico variável conforme a temperatura e concentração da amostra), protão que permuta com deutério (exc. com D_2O).

^{13}C -RMN (solvente utilizado) – δ_{C} (desvio químico em ppm), localização do átomo de carbono na molécula.

5.2. Reacção de aza-Diels-Alder: Síntese do (±)-(3*exo*)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-2a], e do (±)-(3*endo*)-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-2b].



A uma suspensão em agitação formada por filtros moleculares de 3 Å (35 g) e 2-hidroxi-2-metoxietanoato de metilo comercial **1** (21,05 g; 175,3 mmol) em CH_2Cl_2 anidro (350 mL), protegida sob atmosfera de árgon e arrefecida num banho de gelo, adicionou-se lentamente propargilamina (12,0 mL; 9,63 g; 175 mmol). Finalizada a adição, deixou-se a mistura reagir durante cerca de 1h. Após este período de tempo, arrefeceu-se a mistura a -78°C , utilizando um banho de acetona/azoto líquido, e adicionou-se consecutivamente: ATA (13,0 mL; 19,95 g; 175 mmol), TFBE (22,0 mL; 24,84 g; 175 mmol) e Cp (30,0 mL; 23,17 g; 351 mmol). Deixou-se a mistura em agitação, sob temperatura controlada (-78°C) e após 3h adicionou-se mais 30,0 mL de Cp.

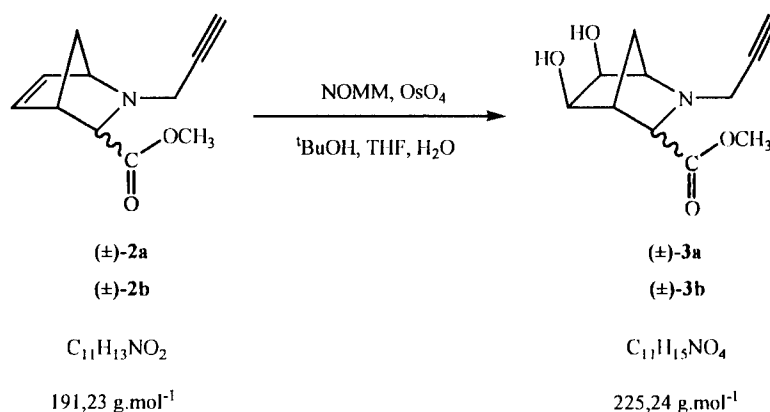
Ao fim de 5h de reacção, adicionou-se lentamente NaHCO_3 (300,0 mL de solução saturada e 44 g de sólido) e deixou-se a mistura em agitação durante toda a noite atingindo a temperatura ambiente. Adicionou-se água (100 mL) à mistura, filtrou-se por uma placa filtrante com celite prensada. Transferiu-se o filtrado ($\text{pH} > 7$) para um funil de separação, separaram-se as duas fases e extraiu-se a fase aquosa com CH_2Cl_2 (2×100 mL). As três fases orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaHCO_3 (2×150 mL) e secas com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida, obtendo-se um resíduo oleoso amarelado que se purificou por cromatografia em coluna de gel de sílica, usando-se como eluente Hex:AcOEt 3:1. As primeiras fracções ($R_f = 0,27$) originaram um óleo amarelo límpido que foi identificado (mediante TLC através de um padrão conhecido) como sendo o aducto *exo* (±)-**2a** (16,08 g; $\eta = 48\%$). As

fracções seguintes ($R_f = 0,12$) originaram um óleo amarelo turvo que se identificou, também por comparação mediante TLC com um padrão conhecido, como sendo o aducto *endo* ($\pm$)-**2b** (7,13 g; $\eta = 21\%$). Os dados espectroscópicos (^1H -RMN) dos aductos purificados foram coincidentes com os descritos na literatura.⁶

5.3. Síntese dos derivados *N*-propargil-pirrolidínicos

5.3.1. Método 1.

5.3.1.1. Síntese do $(\pm)$ -(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-5,6-dihidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [($\pm$)-3a] e do $(\pm)$ -(3*endo*,5*exo*,6*exo*)-5,6-dihidroxi-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [($\pm$)-3b].

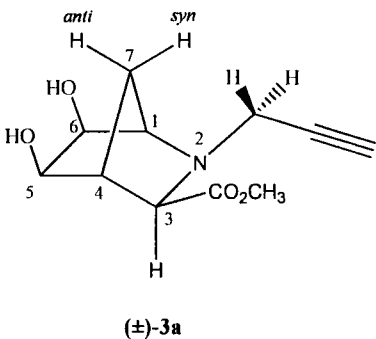


Num balão de fundo redondo, preparou-se uma solução de $(\pm)$ -2a, $t\text{BuOH}$, H_2O e THF. De seguida adicionou-se em pequenas porções a NOMM e uma solução de OsO_4 ($9,8 \times 10^{-3} \text{ M}$) em dioxano: H_2O (3:1). Deixou-se a mistura em agitação à temperatura ambiente, sob atmosfera de árgon. Após 24 horas, a mistura reaccional foi filtrada através de uma placa porosa contendo celite prensada e sílica, lavando várias vezes com THF. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida obtendo-se um óleo amarelo o qual foi purificado por cromatografia em coluna, usando como eluente uma mistura de Hexano/ AcOEt 1:5. Isolaram-se as fracções homogéneas em TLC ($R_f = 0,40$) que, depois de evaporado o solvente originaram um sólido amarelo ténue (P.f. = $65\text{--}67^\circ\text{C}$) identificado como sendo o diol $(\pm)$ -3a a partir da análise dos espectros de ESI-MS, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT e HMQC.

Ao todo realizaram-se duas experiências e os dados quantitativos encontram-se descritos na tabela 5.1.

Tabela 5.1| Sumário das reacções de síntese do diol (±)-3a.

Exp.	(±)-2a m/g (n/ mmol)	NOMM m/mg (n/ mmol)	OsO ₄ V/mL (n/ mmol)	¹ BuOH V/mL	THF V/mL	H ₂ O V/mL	(±)-3a m/g	η /%
1	0,73 (3,8)	0,45 (3,8)	2,0 (1,9x10 ⁻²)	8,0	11,0	0,8	0,810	94
2	5,05 (26,4)	3,11 (26,5)	15,0 (0,132)	20,0	25,0	5,4	5,70	96



• Espectro de ¹H-RMN e ¹³C-RMN de (±)-3a (anexo 1 e 2)

¹H-RMN (CDCl₃): 1.61 (dt, 1H, *J_d* = 10.7 Hz, *J_t* = 1.8 Hz, 7_{syn}-H), 1.74 (d, 1H, *J_d* = 10.7 Hz, 7_{anti}-H), 2.27 (t, 1H, *J_d* = 2.3 Hz, C≡CH), 2.52 (sl, 1H, 4-H), 2.88 (sl, 1H, 1-H), 3.30 (sl, 1H, 3_{endo}-H), 3.53-3.55 (m, 2H, NCH₂H_b-C≡CH), 3.66 (sl, 1H, exc. D₂O, OH), 3.69 (s, 3H, MeO), 3.79 (sl, 1H, exc. D₂O, OH), 3.86 (dd, 1H, *J* = 5.7 Hz, *J* = 1.3 Hz*, 6-H), 4.40 (dd, 1H, *J* = 5.7 Hz, *J* = 1.4 Hz, 5-H).

(*): valor calculado interpretando o espectro de ¹H-RMN na presença de D₂O.

¹³C-RMN (CDCl₃): 30.64 (C7), 38.96 (NCH₂), 48.23 (C4), 52.22 (OMe), 62.83 (C1), 65.35 (C3), 67.90 (C≡CH), 72.71 (C5), 73.41 (C≡CH), 79.93 (C6), 173.16 (COO).

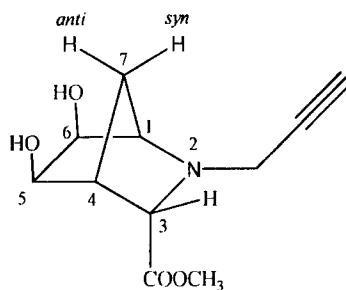
ESI-MS: C₁₁H₁₅NO₄ + H⁺: 226,13

O procedimento de síntese do aducto (±)-3b foi o mesmo que o descrito para a síntese do composto (±)-3a. Depois de purificado, obteve-se um sólido amarelo ténue (P.f. = 75-77 °C, R_f = 0,32 em Hex:AcOEt 1:5) que foi identificado como sendo o diol (±)-3b a partir da análise dos espectros de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN.

Ao todo realizaram-se três experiências e os dados quantitativos encontram-se descritos na tabela 5.2.

Tabela 5.2| Sumário das reacções de síntese do diol (±)-3b.

Exp.	(±)-2b	NOMM	OsO ₄	^t BuOH	THF	H ₂ O	(±)-3b	η /%
	m/g (n/ mmol)	m/g (n/ mmol)	V/mL (n/mmol)	V/mL	V/mL	V/mL	m/g	
1	1,30 (6,80)	0,80 (6,8)	3,5 (0,034)	14,0	20,0	1,4	0,82	54
2	0,70 (3,7)	0,45 (3,8)	2,0 (0,020)	8,0	11,0	0,8	0,45	55
3	0,71 (3,7)	0,50 (4,3)	2,5 (0,024)	10,0	12,0	1,0	0,44	53



(±)-3b

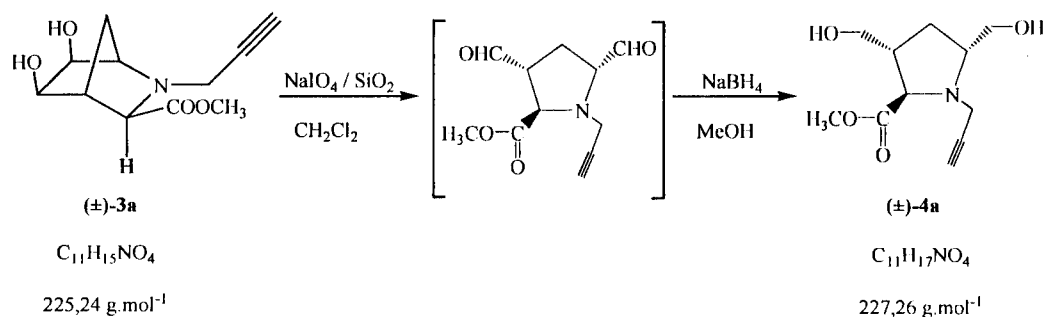
• Espectro de ¹H-RMN e ¹³C-RMN de (±)-3b (anexo 3 e 4)

¹H-RMN (CDCl₃): 1.81 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, 7_{syn}-H), 1.89 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, 7_{anti}-H), 2.21 (t, 1H, *J* = 2.4 Hz, C≡CH), 2.62-2.64 (m, 1H, 4-H), 3.12 (sl, 1H, 1-H), 3.43 (dd, 1H, *J* = 17.3 Hz, *J* = 2.4 Hz, NCH_aH_b), 3.49-3.55 (m, 2H, 3_{exo}-H, NCH_aH_b), 3.59 (sl, 2H, prótons lábeis, 2xOH), 3.71 (s, 3H, MeO), 3.84 (dd, 1H, *J* = 6.0 Hz, *J* = 1.2 Hz, 5-H), 3.92 (d, 1H, *J* = 6.0 Hz, 6-H).

¹³C-RMN (CDCl₃): 30.11 (C7), 43.61 (NCH₂), 47.32 (C4), 52.10 (CH₃O), 65.56 (C3), 66.73 (C1), 69.42 (C5), 73.04 (C6), 73.09 (C≡CH, desaparece no DEPT), 79.80 (C≡CH), 172.80 (COO).

ESI-MS: C₁₁H₁₅NO₄ + H⁺: 226,21

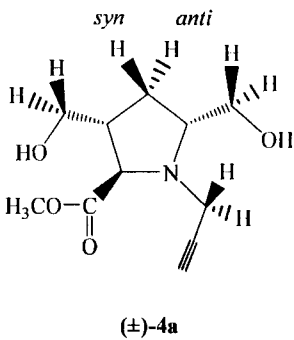
5.3.1.2. Síntese do $(\pm)$ -(2*R*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, $[(\pm)$ -4a].



Preparou-se uma suspensão de sílica (3,50 g) em CH_2Cl_2 (10 mL) e a seguir adicionou-se uma solução aquosa de $NaIO_4$ 0,650 M (3,5 mL; 2,3 mmol), agitando-se vigorosamente o matraz. Protegeu-se a reacção da luz envolvendo o matraz em papel de alumínio e adicionou-se, de seguida, uma solução de $(\pm)$ -3a (0,40 g; 1,8 mmol) em CH_2Cl_2 (10 mL). O sistema reaccional permaneceu em agitação magnética e a reacção foi seguida por TLC usando como eluente Hex:AcOEt 1:5. Após 1 hora, verificou-se que todo o reagente de partida tinha sido consumido e adicionou-se Na_2SO_4 anidro à mistura reaccional. Filtrou-se através de um funil de Hirsch (placa filtrante) a mistura reaccional, lavando-a com CH_2Cl_2 (30 mL) e AcOEt (30 mL) sucessivamente e evaporou-se o solvente a frio sob pressão reduzida, sempre ao abrigo da luz. À mistura seca, protegida da luz, adicionou-se MeOH (14 mL) e de seguida $NaBH_4$ (0,34 g; 8,9 mmol) em pequenas porções. A reacção foi acompanhada por TLC. Quando se verificou a formação do diol, evaporou-se o solvente, adicionou-se AcOEt (50 mL) e solução saturada de NaCl (50 mL). Separaram-se as fases. Extraíu-se a fase aquosa com AcOEt (50 mL), lavaram-se os extractos orgânicos com solução saturada de NaCl (50 mL) e secaram-se com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida, obtendo-se um óleo castanho, que foi purificado por cromatografia preparativa, usando como eluente uma mistura de Hex:AcOEt 1:5. Reuniram-se as fracções homogéneas em TLC ($R_f = 0.30$) das quais obteve-se um sólido amarelo ténue (P.f.= 66-68 °C) identificado como o composto pretendido $[(\pm)$ -4a], a partir dos espectros de ESI-MS, ^1H -RMN e ^{13}C -RMN. Os dados quantitativos relativos às 4 experiências realizadas estão sumariados na tabela 5.3.

Tabela 5.3| Sumário das reacções de síntese do diol (±)-4a.

Exp.	(±)-3a m/g (n/ mmol)	SiO ₂ m/g	NaIO ₄ V/mL (n/mmol)	CH ₂ Cl ₂ V/mL	MeOH V/mL	NaBH ₄ m/g (n/mmol)	(±)-4a m/g	η /%
1	0,40 (1,8)	3,5	3,5 (2,3)	10,0	14,0	0,34 (8,9)	0,109	27
2	0,13 (0,58)	2,00	3,4 (2,2)	15	5	0,11 (2,9)	0,0800	61
3	1,85 (8,21)	10,00	16,0 (10,4)	20	10	1,55 (41,0)	0,8500	46
4	4,00 (17,8)	27,30	13,6 (8,84)	50	20	3,35 (88,6)	2,50	62



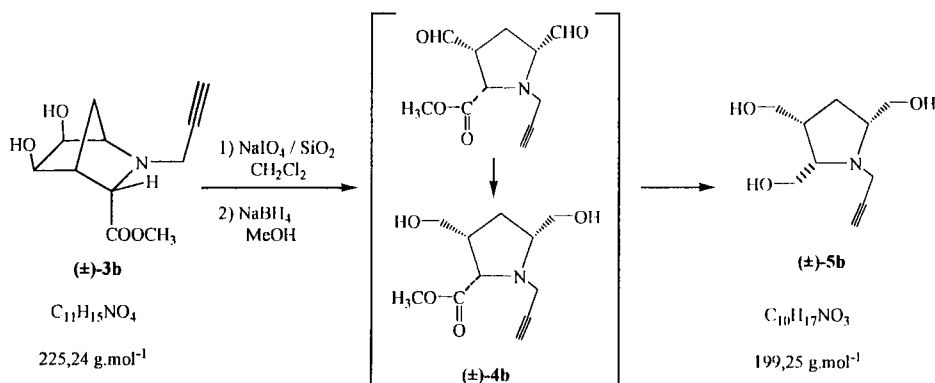
• Espectro de ¹H-RMN e ¹³C-RMN de (±)-4a (anexo 5 e 6)

¹H-RMN (CDCl₃): 1.62-1.68 (m, 1H, 4_{syn}-H), 2.24 (t, 1H, *J* = 3.0 Hz, C≡CH), 2.28-2.41 [m, 3H, 4_{anti}-H, 3-H, 5-H], 3.36-3.43 (m, 1H, 2-H), 3.51 (dd, 1H, *J* = 11.7 Hz, *J* = 2.1 Hz, C3-CH_aH_bOH), 3.58-3.60 (m, 2H, NCH_aH_b-C≡CH), 3.65-3.68 (m, 2H, C3-CH_aH_bOH, C5-CH_aH_bOH), 3.71 (s, 3H, CH₃O), 3.80 (dd, 1H, *J* = 11.7 Hz, *J* = 1.5 Hz, C5-CH_aH_bOH), 3.96 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz, *J* = 1.8 Hz).

¹³C-RMN (CDCl₃): 29.41 (C4), 37.28 (NCH₂), 42.75 (C3), 51.59 (MeO), 61.48 (C3-CH₂OH), 61.67 (C2), 65.53 (C5-CH₂OH), 66.77 (C5), 72.44 (C≡CH), 79.90 (C≡CH), 173.38 (COO).

ESI-MS: C₁₁H₁₇NO₄: 228,19

5.3.1.3. Tentativa de síntese do (±)-(2*S*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-3,5-bis(hidroximetil)pirrolidin-2-il-carboxilato de metilo, [(±)-4b]. Síntese do (±)-(2*S*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5b].

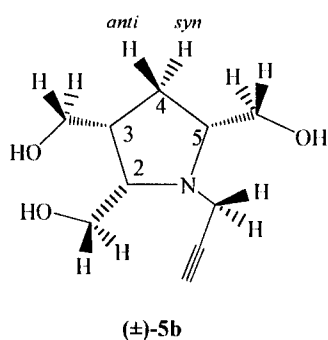


A reacção de cisão oxidativa e redução do diol (±)-3b foi efectuada utilizando o mesmo procedimento descrito para a reacção de síntese do composto (±)-4a. Nesta experiência, após a evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se um óleo amarelo, que foi purificado por cromatografia preparativa, usando como eluente uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH 9:1. Reuniu-se as fracções homogéneas em TLC (R_f = 0,40) e analisou-se os espectros de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN onde se pôde concluir que não se tratava do composto pretendido [(±)-4b] mas sim de um outro, identificado como sendo o (2*S*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5b].

Os dados quantitativos das quatro experiências realizadas encontram-se indicados na tabela 5.4.

Tabela 5.4| Sumário das reacções de síntese do triol (±)-5b.

Exp.	(±)-3b m/g (n/ mmol)	SiO ₂ m/g	NaIO ₄ V/mL (n/mmol)	CH ₂ Cl ₂ V/mL	MeOH V/mL	NaBH ₄ m/g (n/mmol)	(±)-5b m/g	η /%
1	0,52 (2,3)	4,50	4,5 (2,9)	24	15	0,44 (12)	0,15	33
2	0,21 (0,93)	2,00	1,8 (1,2)	15	7	0,18 (4,7)	0,05	27
3	0,45 (2,0)	3,00	1,5 (0,98)	15	10	0,38 (10)	0,10	25
4	0,44 (1,9)	3,00	1,5 (0,98)	15	10	0,38 (10)	0,11	29



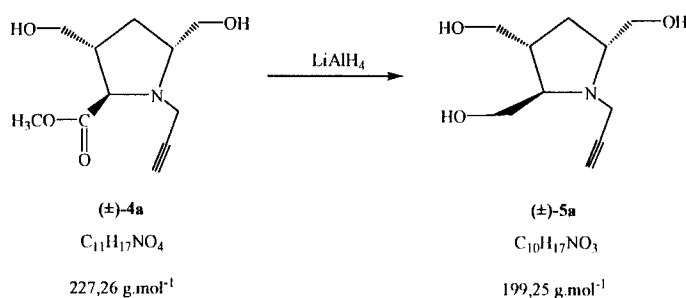
• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de (±)-5b (anexo 7 e 8)

^1H -RMN (CDCl_3): 1.68-1.79 (m, 1H, 4_{anti} -H), 1.82-1.91 (m, 1H, 4_{syn} -H), 2.18 (t, 1H, $J = 2.3$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.36-2.49 (m, 1H, 3-H), 2.82-4.19 (sl, 3H, 3xOH), 3.06-3.12 (m, 1H, 5-H), 3.15-3.21 (m, 1H, 2-H), 3.48-3.77 (m, 8H, NCH_2 , 3 x CH_2OH).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 29.14 (C4), 38.90 (NCH_2), 41.43 (C3), 60.81 ($\text{C2-CH}_2\text{OH}$), 60.90 ($\text{C3-CH}_2\text{OH}$), 60.96 (C2), 62.30 (C5), 64.07 ($\text{C5-CH}_2\text{OH}$), 72.96 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 78.63 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).

ESI-MS: $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_3 + \text{H}^+$: 200,22

5.3.1.4. Síntese da (2*R*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina [(±)-5a].



A uma solução de (±)-4a (129,0 mg; 0,5680 mmol) em THF anidro (10 mL), em agitação, arrefecida em banho de gelo e em atmosfera de argon, adicionou-se lentamente porções de LiAlH_4 (0,0323 g; 0,852 mmol). A mistura permaneceu em agitação, à temperatura ambiente, durante 2 horas.

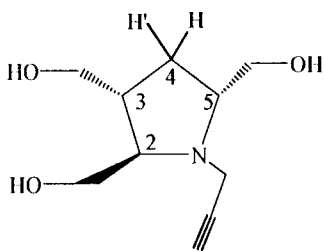
Arrefeceu-se o sistema em banho de gelo e adicionou-se lentamente MeOH (20 mL) e seguidamente H₂O (20 mL). Efectuou-se a extracção da mistura reaccional com AcOEt (50 mL). Os extractos orgânicos foram lavados com solução saturada de NaCl (50 mL), e secos com Na₂SO₄ anidro. De seguida filtrou-se e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida.

Obteve-se um óleo amarelo, que foi purificado por cromatografia preparativa, usando como eluente uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH 9:1. Reuniram-se as fracções com R_f coincidentes (R_f = 0,14) e após eliminação do solvente obteve-se um óleo amarelo ténue identificado como o composto pretendido [(±)-5a] ainda impuro, a partir dos espectros de ¹H-RMN e ¹³C-RMN.

As quantidades dos reagentes utilizados e dos rendimentos nas duas experiências realizadas encontram-se sumariadas na tabela 5.5.

Tabela 5.5] Sumário das reacções de síntese do diol (±)-5a.

Exp.	(±)-4a m/mg (n/ mmol)	LiAlH ₄ m/g (n/ mmol)	THF anidro v/mL	(±)-5a m/g	η /%
1	129,0 (0,5680)	0,0323 (0,852)	10,0	0,0870	77
2	720,0 (3,170)	0,301 (7,930)	15,0	0,1204	20



(±)-5a

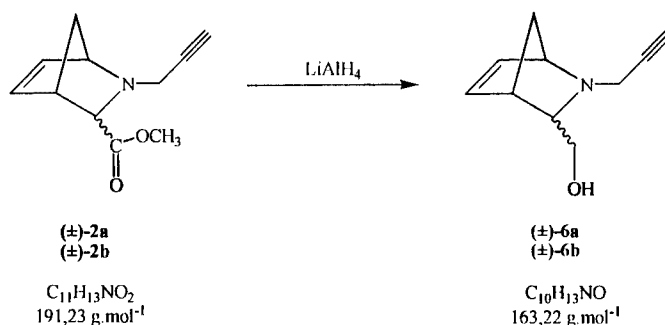
• Espectro de ¹H-RMN e ¹³C-RMN de (±)-5a (anexo 9 e 10)

¹H-RMN (CDCl₃): 1.54-1.63 (m, 1H, 4_{anti}-H), 2.04-2.30 (m, 5H, 4_{syn}-H, 3-H, 3 x OH), 2.32 (t, 1H, J = 2.3 Hz, C≡CH), 3.20-3.24 (m, 1H, 5-H), 3.35-3.42 (m, 1H, 2-H), 3.58 (dd, 1H, J = 12.0 Hz, J = 3.2 Hz, C3-CH_aH_bOH), 3.64-3.75 (m, 6H, C5-CH_aH_bOH, N-CH_aH_bOH, C2-CH_aH_bOH), 3.83 (dd, 1H, J = 12.0 Hz, J = 3.2 Hz, C3-CH_aH_bOH).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 29,72 (C4), 38,72 (NCH_2), 42,04 (C3), 61.61 ($\text{C2-CH}_2\text{OH}$), 61.91 ($\text{C3-CH}_2\text{OH}$), 62.50 (C2), 65.36 (C5), 66.02 ($\text{C5-CH}_2\text{OH}$), 73.06 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 80.61 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).

5.3.2. Método 2.

5.3.2.1. Síntese do (±)-(3-*exo*)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6a], e do (±)-(3-*endo*)-(2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-il)metanol, [(±)-6b].

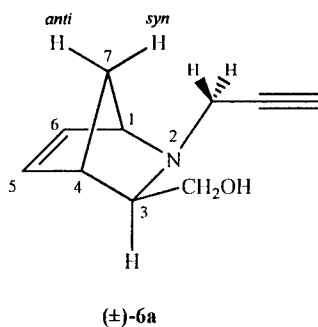


Para a síntese do composto (±)-6a e (±)-6b preparou-se uma suspensão de LiAlH₄ em Et₂O anidro (ou THF anidro) em agitação, arrefecida em banho de gelo e em atmosfera de árgon. Adicionou-se lentamente uma solução do aducto (±)-2a e (±)-2b em Et₂O anidro e deixou-se, cada uma das reacções, em agitação durante 3 horas. Após o tratamento de ambas as misturas reaccionais (como descrito na secção 5.3.4.), obteve-se para cada um dos casos um óleo acastanhado que foi submetido a separação cromatográfica em coluna usando-se como eluente uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH (19:1). Depois de purificados, os compostos apresentavam-se sólidos de cor branca que foram identificados por ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN (e DEPT) como sendo os aminoálcoois (±)-6a [P.f.= 30-35°C; R_f = 0,27 em CH₂Cl₂:MeOH (23:2)] e (±)-6b [P.f.= 65-70 °C; R_f = 0,20 em CH₂Cl₂:MeOH (23:2)].

As quantidades dos reagentes utilizados encontram-se sumariadas na tabela 5.6.

Tabela 5.6| Sumário das reacções de síntese do aducto (±)-6a/b.

Exp.	(±)-2a/b m/g (n/ mmol)	LiAlH ₄ m/g (n/ mmol)	Et ₂ O anidro V/mL	THF anidro V/mL	(±)-6a/b m/g	η /%
1a	1,19 (6,22)	1,42 (37,3)	60,0	---	0,50	49
2b	3,05 (15,9)	0,30 (8,0)	---	30,0	1,97	76
1b	1,41 (7,37)	1,68 (44,2)	60,0	---	0,49	41

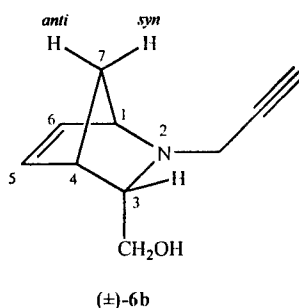


• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de (±)-6a (anexo 11 e 12)

^1H -RMN (CDCl_3): 1.36 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, 7_{anti}-H), 1.72-1.78 (m, 2H, 7_{syn}-H , OH), 2.20 (t, 1H, $J = 2.4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.76 (sl, 1H, 3-H), 3.03 (dd, 1H, $J = 16.2$ Hz, $J = 2.4$ Hz, NCH_aH_b), 3.14 (dd, 1H, $J = 16.2$ Hz, $J = 2.4$ Hz, NCH_aH_b), 3.43 (sl, 1H, 4-H), 3.61 (dd, 1H, $J = 11.1$ Hz, $J = 6.3$ Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.70 (dd, 1H, $J = 11.1$ Hz, $J = 2.4$ Hz, NCH_aH_b), 4.01 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, 1-H), 6.09 (dd, 1H, $J = 5.7$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 6-H), 6.42-6.45 (m, 1H, 5-H).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 43.00 (NCH_2), 45.68 (C7), 45.94 (C4), 64.55 (C1), 64.73 (C3), 65.66 (CH_2OH), 71.48 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 81.21 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 131.40 (C6), 138.38 (C5).

ESI-MS: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO} + \text{H}^+$: 164,01



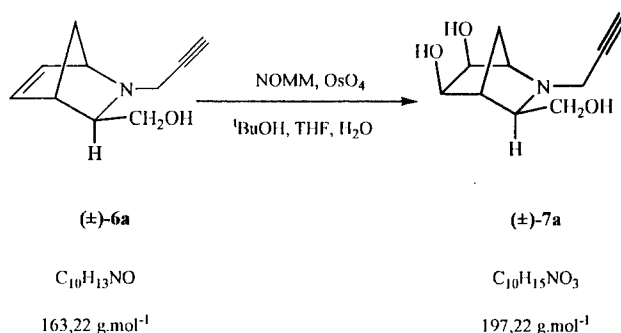
• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de (±)-6b (anexo 13 e 14)

^1H -RMN (CDCl_3): 1.54 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, 7_{anti}-H), 1.93 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, 7_{syn}-H), 2.26 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.55 (sl, 1H, exc. D_2O , OH), 2.81 (dt, 1H, $J = 6.4$ Hz, $J = 2.6$ Hz, 3_{exo}-H), 3.08 (sl, 1H, 4-H), 3.29-3.52 (m, 3H, NCH_2 , $\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.56 (dd, 1H, $J = 16.5$ Hz, $J = 2.4$ Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.79 (sl, 1H, 1-H), 6.20 (dd, 1H, $J = 5.6$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 5-H), 6.41 (dd, 1H, $J = 5.6$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 6-H).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 44.99 (NCH_2), 45.17 (C7), 46.10 (C4), 64.74 (CH_2OH), 64.87 (C1), 66.64 (C3), 72.75 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 80.82 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 136.19 (C6), 137.38 (C5).

ESI-MS: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO} + \text{H}^+$: 164,00.

5.3.2.2. Síntese do (±)-(3 $_{\text{exo}}$,5 $_{\text{exo}}$,6 $_{\text{exo}}$)-3-hidroximetil-2-propargil-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-5,6-diol, [(±)-7a].



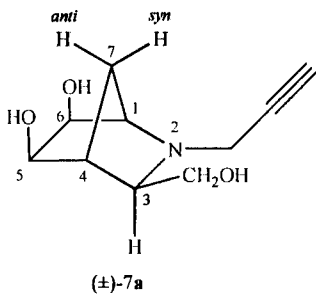
O procedimento de síntese do diol (±)-7a a partir do aminoálcool (±)-6a foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.1.1. Depois de purificado o produto da reacção por cromatografia em coluna de gel de sílica, obteve-se um sólido branco [P.f. = 136-140°C,

$R_f = 0,17$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:MeOH}$ (23:2)] que foi identificado como sendo o composto ($\pm$)-7a a partir da análise dos espectros de ESI-MS, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN (e DEPT) e HMQC.

Os dados quantitativos das duas experiências realizadas encontram-se descritos na tabela 5.7.

Tabela 5.7| Sumário das reacções de síntese do composto ($\pm$)-7a.

Exp.	($\pm$)-6a m/g (n/ mmol)	NOMM m/mg (n/mmol)	OsO ₄ V/mL (n/ mmol)	^t BuOH V/mL	THF V/mL	H ₂ O V/mL	($\pm$)-7a m/g	η /%
1	1,00 (6,13)	0,72 (6,1)	3,0 (0,031)	14,0	20,0	2,0	0,87	72
2	0,25 (1,5)	0,20 (1,7)	0,80 (8,3x10 ⁻³)	3,5	4,8	0,4	0,20	80



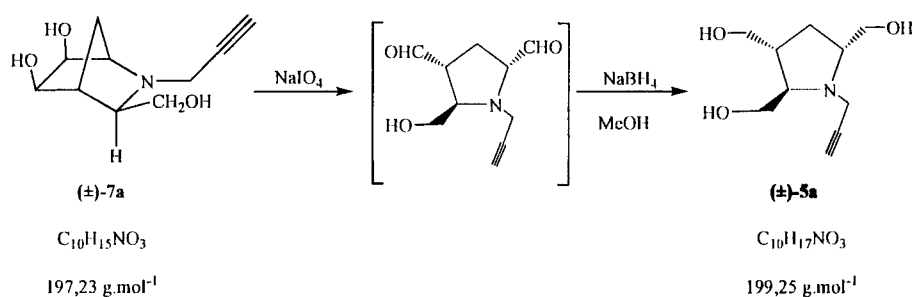
• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de ($\pm$)-7a (anexo 15 e 16)

^1H -RMN (CD_3OD): 1.47 (dt, 1H, $J = 10.5\text{ Hz}$, $J = 1.7\text{ Hz}$, 7_{syn}-H), 1.73 (d, 1H, $J = 10.5\text{ Hz}$, 7_{anti}-H), 2.11 (dd, 1H, $J = 8.1\text{ Hz}$, $J = 5.1\text{ Hz}$, 4-H), 2.19 (sl, 1H, 3_{endo}-H), 2.63 (t, 1H, $J = 2.6\text{ Hz}$, $\text{C}\equiv\text{CH}$, exc. com CD_3OD), 3.18 (sl, 1H, 1-H), 3.24-3.33 (m, 1H, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$ e sinal residual do CD_3OD), 3.40 (dd, 1H, $J = 16.8\text{ Hz}$, $J = 2.4\text{ Hz}$, NH_aH_b), 3.44-3.54 (m, 2H, NH_aH_b , $\text{CH}_a\text{H}_b\text{OH}$), 3.70-3.74 (m, 1H, 5-H), 4.22 (dd, 1H, 1H, $J = 6.1\text{ Hz}$, $J = 1.8\text{ Hz}$, 6-H).

^{13}C -RMN (CD_3OD): 30.17 (C7), 39.78 (NCH_2), 47.50 (C3), 64.86 (CH_2OH), 65.77 (C4), 66.24 (C1), 68.50 (C5), 73.75 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 74.25 (C6), 81.68 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).

ESI-MS: $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_3 + \text{H}^+$: 198,22

5.3.2.3. Síntese da (±)-(2*R*,3*R*,5*R*)-*N*-propargil-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidina, [(±)-5a].



O procedimento de síntese do aducto (±)-5a a partir do triol (±)-7a foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.2, salvo algumas excepções relativamente aos solventes utilizados. Depois de purificado por cromatografia preparativa utilizando uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH 9:1 como eluente, obteve-se um sólido amarelo ténue [*R*_f = 0,44 em CH₂Cl₂:MeOH (4:1)] que foi identificado como sendo o composto (±)-5a a partir da análise do espectro de ESI-MS e por comparação mediante TLC através de um padrão anteriormente sintetizado.

Os dados quantitativos relativos às três experiências realizadas encontram-se descritos na tabela 5.8.

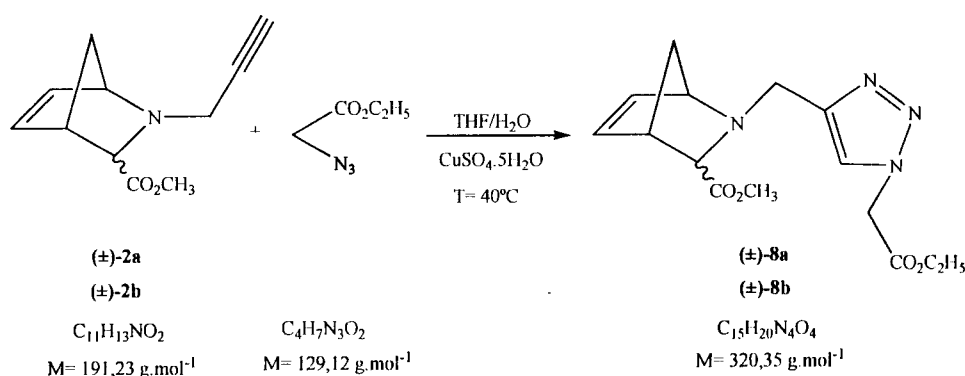
Tabela 5.8| Sumário das reacções de síntese do composto (±)-5a.

Exp.	(±)-7a m/g (n/mmol)	SiO ₂ m/g	NaIO ₄ V/mL (n/mmol)	CH ₂ Cl ₂ V/mL	MeOH V/mL	NaBH ₄ m/g (n/mmol)	Dioxano:H ₂ O (1:1) v/mL	(±)-5a m/g	η/ %
1	0,25 (1,3)	3,00	3,0 (2,0)	25	7	0,24 (6,4)	---	s/r	s/r
2	0,24 (1,2)	---	0,78 (3,7)	---	10	0,18 (4,8)	6,0	i/i	< 10
3	0,28 (1,4)	---	2,8 (1,8)	---	10	0,27 (7,1)	1,5	15	5

Nota: s/r: sem resultado; i/i: impossível isolar o composto devido à massa obtida ser muito pequena.

ESI-MS: C₁₀H₁₇NO₃ + H⁺: 200,3

5.4. Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar: Síntese do (3*exo*)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8a] e do (3*endo*)-2-[(1'-etoxicarbonilmetiltriazol-4'-il)metil]-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-eno-3-carboxilato de metilo, [(±)-8b].



Num balão de 100 mL, preparou-se uma solução do aducto (±)-2a (3,08 g; 16.1 mmol), azidoacetato de etilo (7,35 g; 56,9 mmol), (+)-L-ascorbato de sódio (670 mg; 3,20 mmol) e $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (400 mg; 1,20 mmol) em THF (43 mL) e H_2O (20 mL). Deixou-se a mistura reaccional em agitação mecânica à temperatura de $40^\circ C$ durante 1 hora. Após este período, verificou-se o desaparecimento (TLC) do aducto de partida e diluiu-se a mistura reaccional com THF (30 mL). Filtrou-se a solução por placa filtrante contendo celite prensada e lavou-se várias vezes com CH_2Cl_2 (50 mL) THF (50 mL) e AcOEt (50 mL). Evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo acastanhado que foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando-se como eluente $CH_2Cl_2:MeOH$ (19:1). Das fracções com $R_f = 0,48$, obteve-se um óleo amarelo (4,55 g; $\eta = 88\%$) que foi identificado como sendo o triazol (±)-8a.

O procedimento de síntese do derivado triazólico (±)-8b, a partir do cicloaducto (±)-2b, foi o mesmo que o descrito para a síntese do composto (±)-8a, com a única diferença que o composto (±)-8b ($R_f = 0,20$) foi purificado por cromatografia preparativa usando como eluente o $CH_2Cl_2:MeOH$ (19:1) (tabela 5.9).

Depois de purificados, ambos os compostos apresentavam-se sob a forma de óleos com tonalidade amarela, que foram identificados como sendo os triazóis (±)-8a e

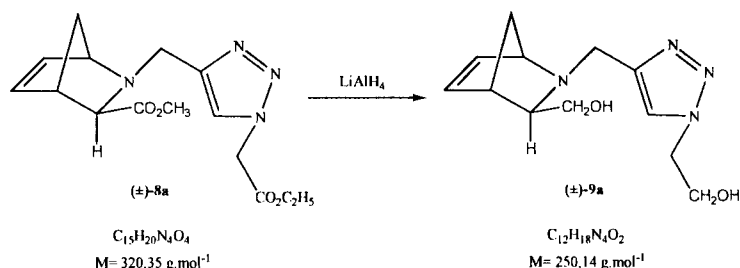
(±)-**8b** mediante TLC, através de padrões conhecidos e através dos dados espectroscópicos (¹H-RMN e ¹³C-RMN) coincidentes com os descritos na literatura.⁶

Tabela 5.9| Sumário da reacção de síntese do composto (±)-**8a/b**.

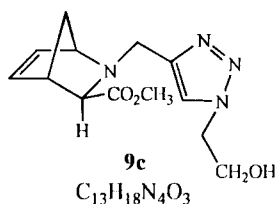
Exp	(±)- 2a/b m/g (n/mmol)	azidoacetato de etilo m/g (n/mmol)	(+)-L- ascorbato de sódio m/g (n/mmol)	CuSO ₄ .5H ₂ O m/g (n/mmol)	THF V/mL	H ₂ O V/mL	(±)- 8a/b m/g (n/mmol)	η /%
1a	3,08 (16,1)	7,35 (56,9)	0,670 (3,20)	0,400 (1,20)	43,0	20,0	4,55 (14,2)	88
1b	1,10 (5,75)	2,62 (1,910)	0,23 (1,2)	0,14 (0,57)	15,0	8,0	1,63 (5,09)	89

5.5. Síntese das poli-hidroximetil-*N*-triazolilmetilpirrolidinas.

5.5.1. Método 3: Tentativa de síntese do (±)-(3*exo*)-2-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]etanol, [(±)-9a]



O procedimento de síntese do composto (±)-9a foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.1.4. Utilizou-se 140 mg (0,437 mmol) do composto (±)-8a e 20 mg (0,66 mmol) de LiAlH_4 em THF anidro (2 mL). Após o desaparecimento de todo o reagente de partida (aproximadamente 24h), evaporou-se o solvente no evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se um óleo amarelo escuro que foi purificado por cromatografia preparativa usando como eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1). As primeiras fracções foram rejeitadas, visto que apresentavam um R_f muito elevado para corresponderem ao composto pretendido. A fracção com $R_f = 0,38$ originou um óleo amarelo (50,0 mg) que se pensou corresponder ao composto (±)-9a, mas que pela análise de ESI-MS verificou-se não se tratar do composto pretendido mas provavelmente do éster (±)-9c.

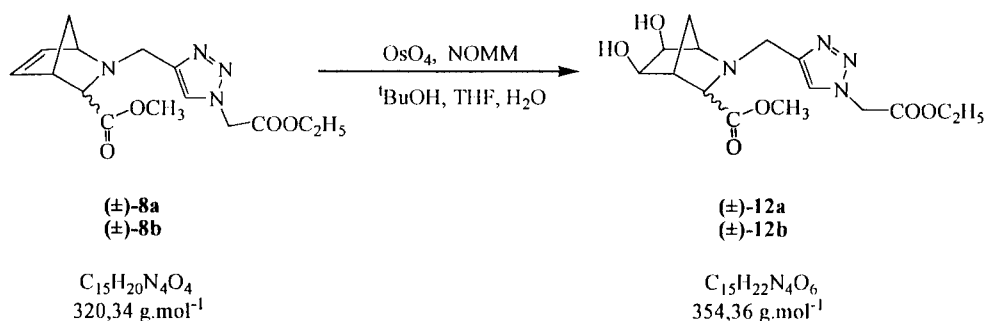


O derivado triazólico pretendido [(±)-9a] não foi isolado neste processo.

ESI-MS: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3 + \text{H}^+$: 279,0

5.5.2. Método 4.

5.5.2.1. Síntese do (±)-(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-2-(((1-etoxicarbonilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-dihidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12a] e do (3*endo*,5*exo*,6*exo*)-2-(((1-etoxicarbonilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]-5,6-diidroxi-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxilato de metilo, [(±)-12b].



O procedimento de síntese dos derivados triazólicos (±)-12a e (±)-12b, a partir dos respectivos biciclos 8, foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.1.1. Ambos os dióis foram purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica usando como eluente CH₂Cl₂:MeOH (19:1) e identificados a partir da análise dos espectros de ESI-MS, ¹H-RMN e ¹³C-RMN como sendo os compostos (±)-12a e (±)-12b, respectivamente.

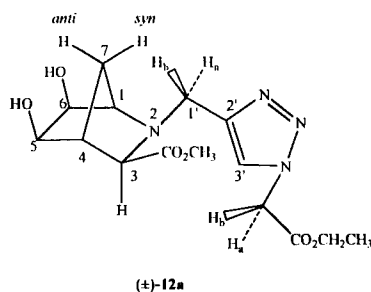
(±)-12a: Sólido branco; R_f = 0,62 em CH₂Cl₂:MeOH (19:1); P.f.=140-143°C

(±)-12b: Sólido branco; R_f = 0,36 em CH₂Cl₂:MeOH (19:1)

Os dados quantitativos estão sumariados na tabela 5.10.

Tabela 5.10| Sumário da reacção de síntese do composto (±)-12a/b.

Exp.	(±)-8a/b m/g (n/mmol)	NOMM m/g (n/ mmol)	OsO ₄ V/mL (n/ mmol)	^t BuOH V/mL	THF V/mL	H ₂ O V/mL	(±)-12a m/g	η /%
1a	1,10 (3,43)	0,41 (3,43)	1,7 (0,017)	7	10	0,7	0,70	58
2a	1,50 (4,70)	0,60 (4,70)	2,3 (0,024)	10	5	1	1,40	84
1b	1,63 (5,1)	0,60 (5,1)	2,6 (0,025)	12	16	1	0,98	55



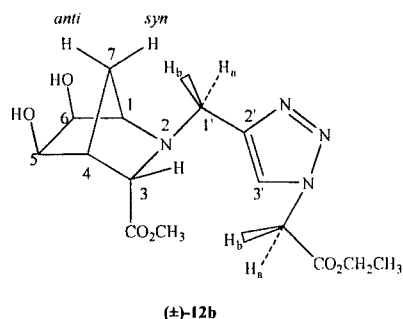
• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de (±)-12a (anexo 17 e 18)

^1H -RMN (CDCl_3): 1.30 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1.67 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, 7_{syn}-H), 1.78 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, 7_{anti}-H), 2.01 (sl, 1H, OH, próton lábil), 2.50 (s, 1H, 4-H), 2.76 (s, 1H, 1-H), 3.21 (s, 1H, 3_{endo}-H), 3.63 (s, 3H, MeO), 3.80 (sl, 1H, OH, próton lábil), 3.89-3.90 (m, 1H, 6-H^*), 3.92 (d, 1H, $J = 13.8$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C1}'$), 4.00 (d, 1H, $J = 13.8$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C1}'$), 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 4.36 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, 5-H^*), 5.08 (d, 1H, $J = 17.4$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C-CO}_2\text{Et}$), 5.14 (d, 1H, $J = 17.4$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C-CO}_2\text{Et}$), 7.71 (s, 1H, $3'\text{-H}$).

(*): atribuição com base na análise (RMN) do composto **3a** (secção 5.3.1.1.).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 14.04 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 30.13 (C7), 45.50 (C1'), 48.46 (C4), 50.88 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), 52.05 (MeO), 62.44 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 63.89 (C3), 65.15 (C1), 67.38 (C5), 73.04 (C6), 124.55 (C3'), 145.69 (C2'), 166.16 (CO_2Et), 173.42 (CO_2Me).

ESI-MS: $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}^+$: 355,17



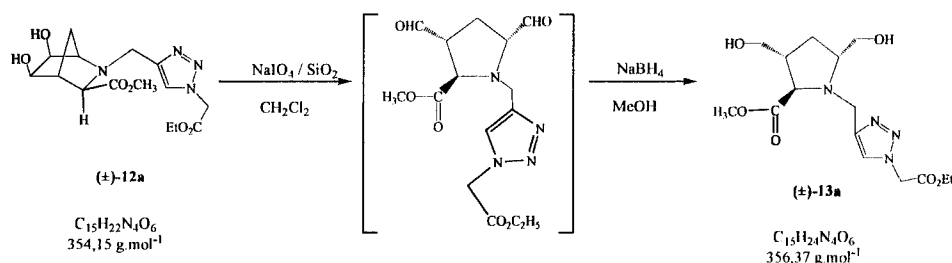
• Espectro de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN de (±)-12b (anexo 19 e 20)

^1H -RMN (CDCl_3): 1.28 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1.50 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz, 7_{syn}-H), 1.83 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz, 7_{anti}-H), 2.60 (sl, 1H, 4-H), 3.12 (s, 1H, 1-H), 3.41 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz, 3_{endo}-H), 3.63 (s, 3H, MeO), 3.20-3.80 (sl, 2H, 2xOH), 3.79 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C1}'$), 3.92 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, $\text{H}_a\text{H}_b\text{C1}'$), 3.78-3.99 (m, 2H, 6-H, 5-H), 4.23 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 5.12 (sl, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), 7.71 (s, 1H, $3'\text{-H}$).

^{13}C -RMN (CDCl_3): 13.94 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 29.69 (C7), 47.29 (C4), 50.40 (C1'), 50.74 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), 51.89 (MeO), 62.29 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 66.19 (C3), 66.83 (C1), 69.23 (C5), 72.68 (C6), 124.60 (C3'), 145.21 (C2'), 166.21 (CO_2Et), 172.84 (CO_2Me).

ESI-MS: $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}^+$: 355,12

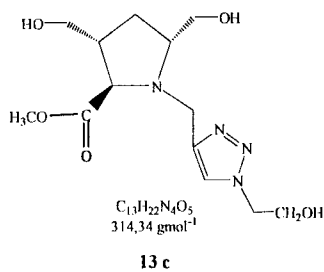
5.5.2.2. Tentativa de síntese do (±)-(2*R*,3*R*,5*R*)-{4-[3,5-bis(hidroxi)metil]-2-metoxycarbonil-pirrolidin-1-ilmetil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}acetato de etilo, [(±)-13a].



O procedimento de síntese do aducto (±)-13a foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.1.2. Depois de purificado por coluna de gel de sílica usando como eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1), obteve-se um sólido amarelo ténue (0,15 g) [$R_f = 0,20$ em

CH₂Cl₂:MeOH (9:1)] que se pensou corresponder ao composto (±)-**13a**, mas que pela análise dos espectros de ESI-MS e ¹H-RMN verificou-se não se tratar do composto pretendido. O derivado triazólico pretendido [(±)-**13a**] não foi isolado neste processo.

As análises espectroscópicas de ESI-MS e ¹H-RMN sugerem que o composto obtido se trata do composto **13c**.



Não foi possível sintetizar o derivado triazólico (±)-**13a** neste processo.

Os dados quantitativos encontram-se descritos na tabela 5.11.

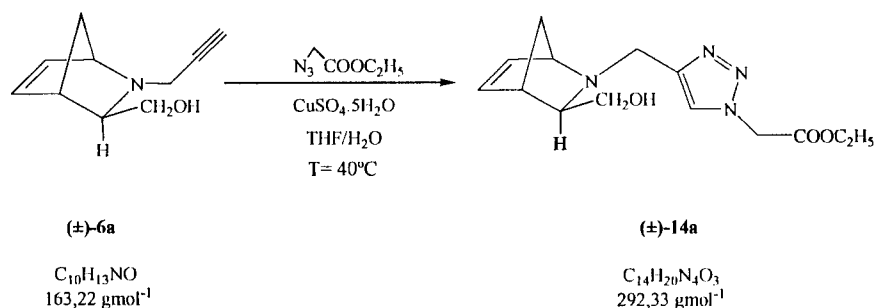
Tabela 5.11| Sumário das reacções de tentativa de síntese do composto (±)-**13a**.

Exp.	(±)- 12a m/g (n/mmol)	SiO ₂ m/g	NaIO ₄ V/mL (n/mmol)	CH ₂ Cl ₂ V/mL	MeOH V/mL	NaBH ₄ m/g (n/mmol)	(±)- 13c m/mg	η /%
1	0,59 (1,7)	3,22	3,3 (2,1)	30	15	0,32 (8,3)	0,31	52
2	0,19 (0,56)	2,00	1,2 (0,78)	10	5	0,11 (2,8)	0,04	20

ESI-MS: C₁₅H₂₄N₄O₆ + H⁺: 315,33

5.5.3. Método 5.

5.5.3.1. Síntese do $(\pm)$ -(3*exo*)-[4-((3-hidroximetil)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [($\pm$)-14a], a partir da reacção de cicloadição de Huisgen 1,3-dipolar.

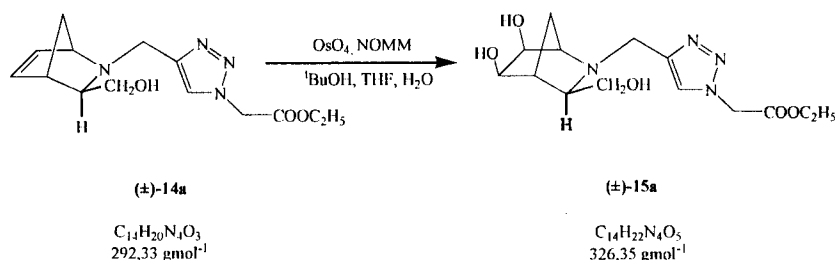


O procedimento de síntese do derivado triazólico $(\pm)$ -14a foi o mesmo que o descrito na secção 5.4. Partiu-se de 0,44g (2,7 mmol) de $(\pm)$ -6a, que se fez reagir com 1,25g (3,24 mmol) de azidoacetato de etilo na presença de ascorbato de sódio (0,11 g; 0,54 mmol) e $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,07 g; 0,3 mmol) em THF (3,0 mL) e H_2O (1,5 mL).

Terminada a reacção, obteve-se um óleo amarelo acastanhado que foi purificado por cromatografia de gel de sílica usando como eluente $CH_2Cl_2:MeOH$ (19:1). As fracções com $R_f = 0,44$ em $CH_2Cl_2:MeOH$ (9:1) originaram um óleo amarelo ténue (0,58 g) que foi identificado por ESI-MS e por ^1H -RMN como sendo o composto [($\pm$)-14a], ainda impuro.

ESI-MS: $C_{14}H_{20}N_4O_3 + H^+$: 293,20

5.5.3.2. Tentativa de síntese do $(\pm)$ -(3*exo*,5*exo*,6*exo*)-[4-(5,6-dihidroxi-3-hidroximetil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)metil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetato de etilo, [($\pm$)-15a].

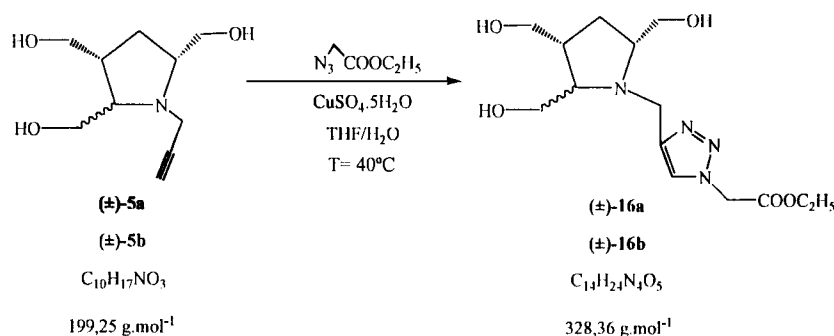


O procedimento para a síntese do composto **15a** foi o mesmo que o descrito na secção 5.3.1.1. Fez-se reagir uma solução de $(\pm)$ -**14a** (0,25 mg; 0,87 mmol), t BuOH (2,0 mL), H_2O (0,5 mL) e THF (1,0 mL) com NOMM (0,10 g; 0,87 mmol) e OsO_4 (0,40 g; 0,0044 mmol).

A mistura reaccional foi deixada em agitação durante aproximadamente 48h, seguindo-a por TLC, usando como eluente CH_2Cl_2 :MeOH (19:1). Após este período deu-se como terminada a reacção. Filtrou-se a mistura reaccional através de uma placa porosa contendo celite prensada, sílica e algodão e lavou-se com THF várias vezes. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida obtendo-se um óleo amarelo que foi purificado por cromatografia em coluna, usando como eluente uma mistura de CH_2Cl_2 :MeOH (19:1). Foram isoladas fracções que não estavam homogéneas por TLC, tendo sido, no entanto, analisadas por espectrometria de massa. A análise sugere a presença de um composto com a massa do produto pretendido.

ESI-MS: $C_{14}H_{22}N_4O_5 + H^+$: 327,14

5.5.4. Método 6: Tentativa de síntese do $(\pm)$ -{4-[(2*R*,3*R*,5*R*)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo [($\pm$)-16a] e do $(\pm)$ -{4-[(2*S*,3*R*,5*R*)-2,3,5-tris(hidroximetil)pirrolidin-1-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)}acetato de etilo [($\pm$)-16b].



O procedimento de síntese do derivado triazólico $(\pm)$ -16a foi o mesmo que o descrito na secção 5.4. Após o período de 1h, verificou-se o desaparecimento (TLC) do aducto de partida e diluiu-se a mistura reaccional com THF (3 mL). Fez-se passar a solução por celite prensada e lavou-se a celite várias vezes com CH_2Cl_2 , THF e AcOEt. Evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo acastanhado que foi purificado por cromatografia preparativa usando-se como eluente CH_2Cl_2 :MeOH (19:1). As fracções com $R_f = 0,24$ foram isoladas e após eliminação do solvente obteve-se um sólido amarelo (84,0 mg) que se pensou corresponder ao composto $(\pm)$ -16a, mas que pela análise de ^1H -RMN verificou-se não se tratar do composto pretendido.

O procedimento de síntese do derivado triazólico $(\pm)$ -16b foi o mesmo que o descrito para a síntese do composto $(\pm)$ -16a. Depois de purificado, obteve-se um sólido amarelo ténue ($R_f = 0,32$ em Hex:AcOEt 1:5) que se pensou corresponder ao composto $(\pm)$ -16b, mas que pela análise de ^1H -RMN verificou-se não se tratar do composto pretendido.

Os derivados triazólicos pretendidos [($\pm$)-16a] e [($\pm$)-16b] não foram formados neste processo.

Os dados quantitativos encontram-se descritos na tabela 5.12.

Tabela 5.12| Sumário da reacção de tentativa de síntese do derivado triazólico (±)-16a/b.

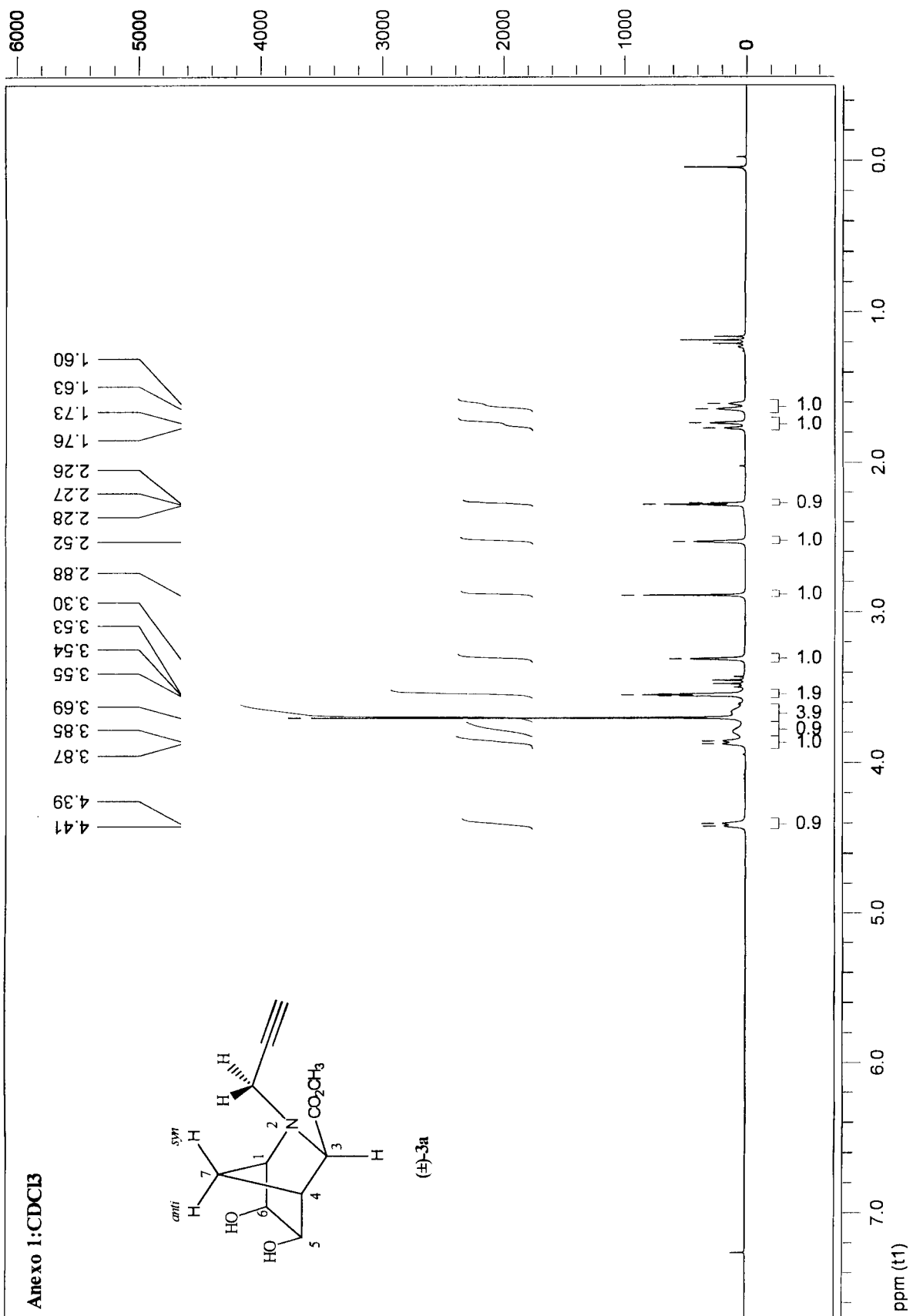
Exp.	(±)-5a/b m/mg (n/mmol)	Azidoacetato de etilo m/mg (n/mmol)	(+)-L-ascorbato de sódio V/mL (n/mmol)	CuSO ₄ .5H ₂ O V/mL	THF V/mL	H ₂ O V/mL
1a	73,40 (0,3684)	169,0 (1,309)	15,00 (0,07640)	10,00 (0,04000)	1	0,5
1b	80,00 (0,4015)	63,40 (0,4910)	16,00 (0,08030)	10,30 (0,04125)	1	0,5

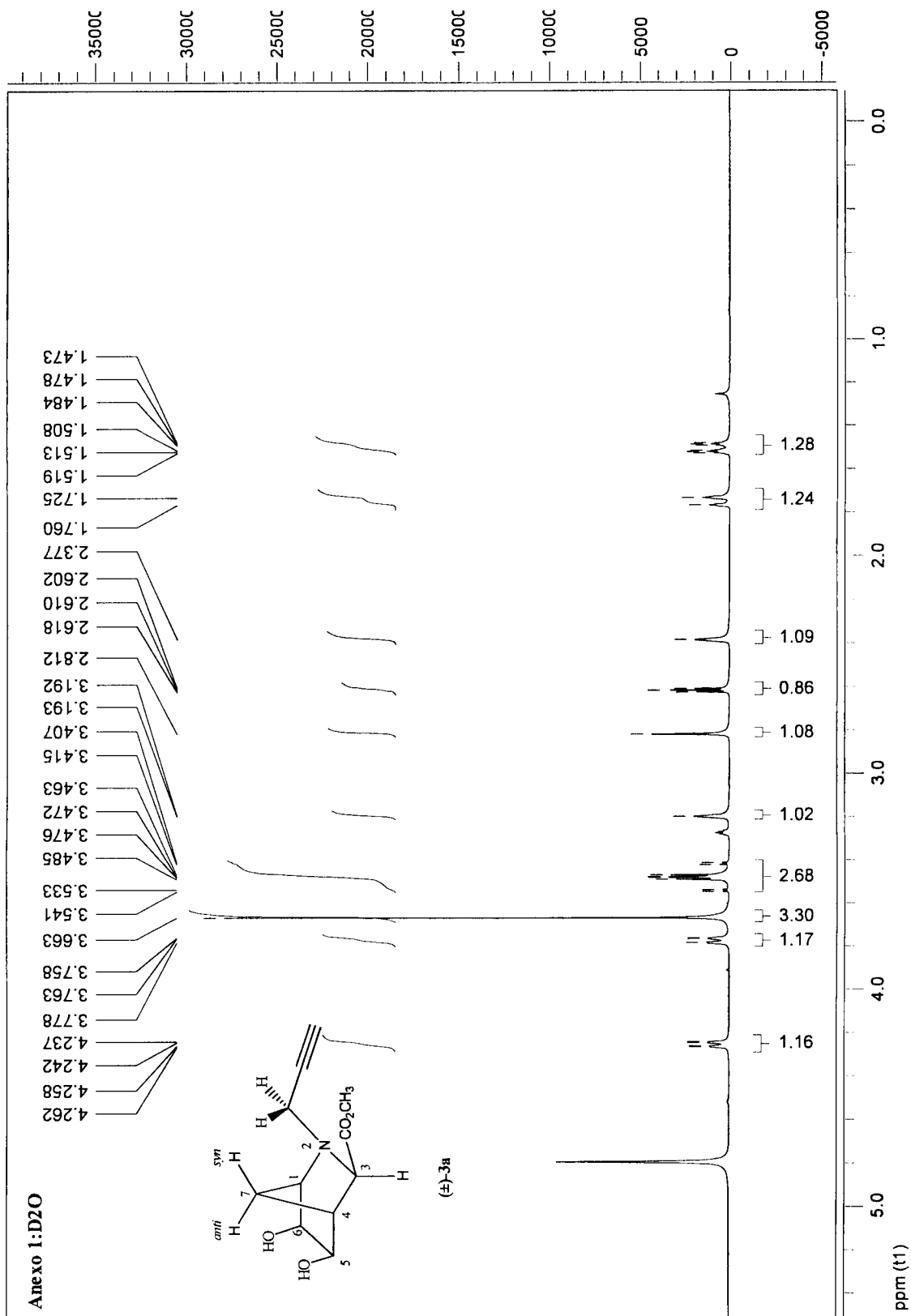
REFERÊNCIAS

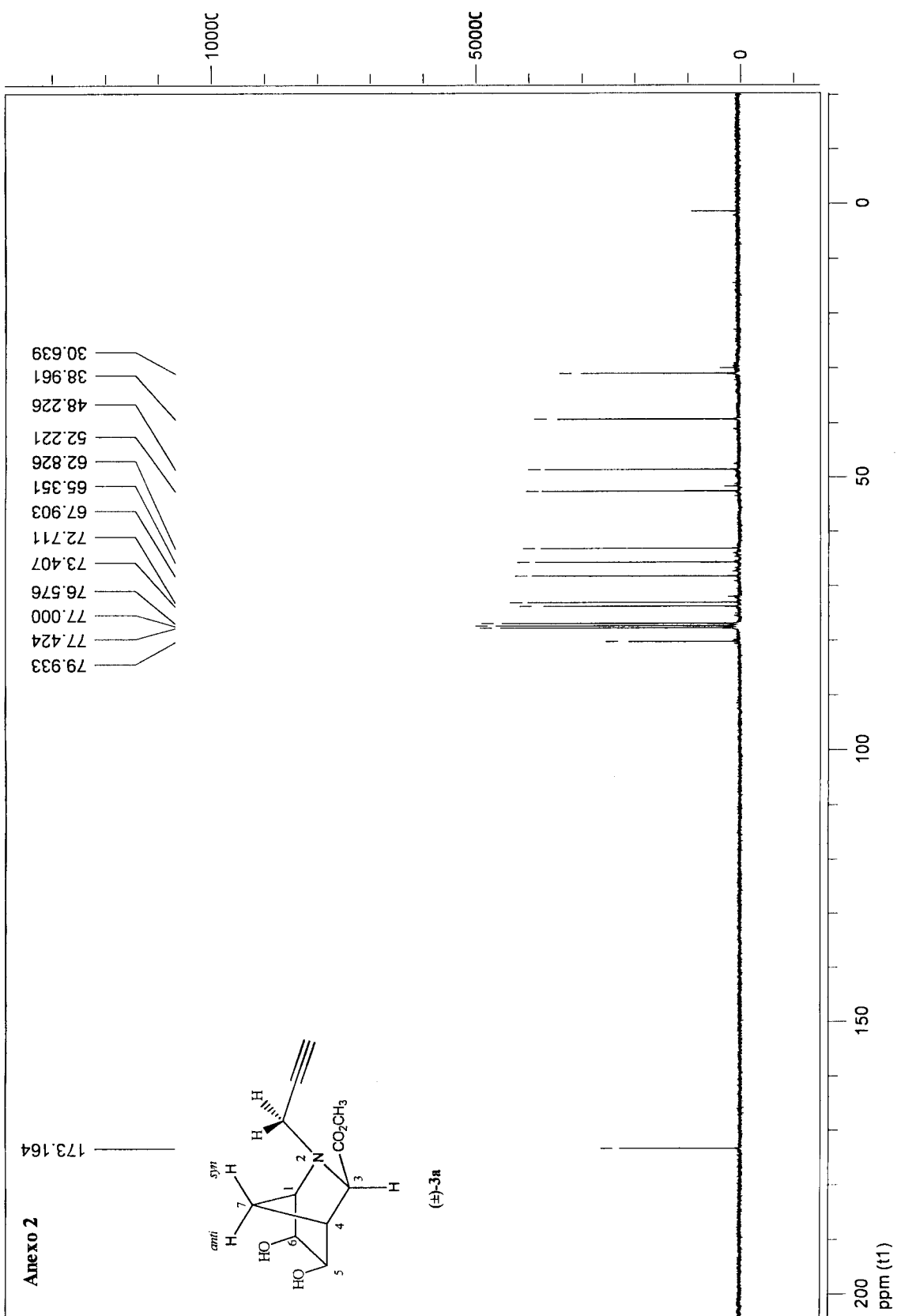
1. Yokoyama, M.; Momotake, A., *Synthesis* **1999**, 9, 1541.
2. Pérez-Castro, I.; Caamaño, O.; Fernández, F.; García, Marcos D.; López, C.; De Clercq, E., *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 1
3. Cosyn, L.; Palaniappan, K. K.; Kim, S.; Duong, H. T.; Gao, Z.; Jacobson, K. A.; Calenbergh, S. V., *J. Med. Chem.* **2007**, 49, 7373-7374
4. Sterling, J.; Herzig, J. et al., *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 5260-5279.
5. Rodriguez-Borges, J. E.; Vale, M. L. C.; Aguiar F. R.; Alves, M. J.; García-Mera, X., *Synthesis* **2008**, 971-977
6. Rodriguez-Borges, J. E.; Gonçalves, S.; Vale, M. L.; García-Mera, X.; Coelho, A.; Sotelo, E., *J. Comb. Chem.* **2008**, 10, 372-375
7. Cheson, B.D.; Keating, M. J.; Plunkett, W., eds. *Nucleosides Analogs in Cancer Therapy*, Marcel Decker, New York, **1997**.
8. a) Ena, J.; Pasquau, F.; *Clin. Infect. Dis.* **2003**, 36, 1186; b) Cho, J.H.; Bernard, D.L.; Sidwell, R.W.; Kern, E.R.; Chu, C.K.; *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 1140; c) Rodriguez, J.B.; Comin, M.J.; *Mini Rev. Med. Chem.* **2003**, 3, 95; d) De Clercq, E.; New Developments in Anti-HIV Chemotherapy, *Il Farmaco*, **2001**, 56, 3; e) Condra, J.H.; Miller, M.D.; Hazuda, D. J.; Emini, E. A.; Potential New Therapies for the Treatment of HIV-1 Infection, *Annu. Rev. Med.* **2001**, 53, 541.
9. a) Kaspersen, F. M. and Pandit, U. K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1975**, 1617-1622. b) Kaspersen, F. M. and Pandit, U. K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1975**, 1798-1802.
10. Eva, N. K. and Orgel, L. E. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1754-1757.
11. Peterson, M. L. and Vince, R. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2787-2797.
12. a) B. A. Johns, Y. T. Pan, A. D. Elbein, C. R. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 4856; b) Asano, N., Nash, R. J., Molyneux, R. J., Fleet, G.W.J., *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 1645; c) W. Maison, D. C. Grohs and A. H. G. P. Prenzel, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1527-1543.
13. a) Perl, D. P., *Mov. Disord.* **1994**, 9 (suppl. 1): Abs M44; b) Samii, A.; Nutt J., *Lancet* **2004**, 363, 1783-1789; c) Youdim, M. B., Riederer, P. F., *Neurology* **2004**, 63, S32-S35; d) Am O.B.; Amit, T.; Youdim, M. B., *Neurosci. Lett.* **2004**, 355, 169-172; e) Finberg, J. P.; Lamensdorf, I.; Weinstock, M. et al., *Adv.*

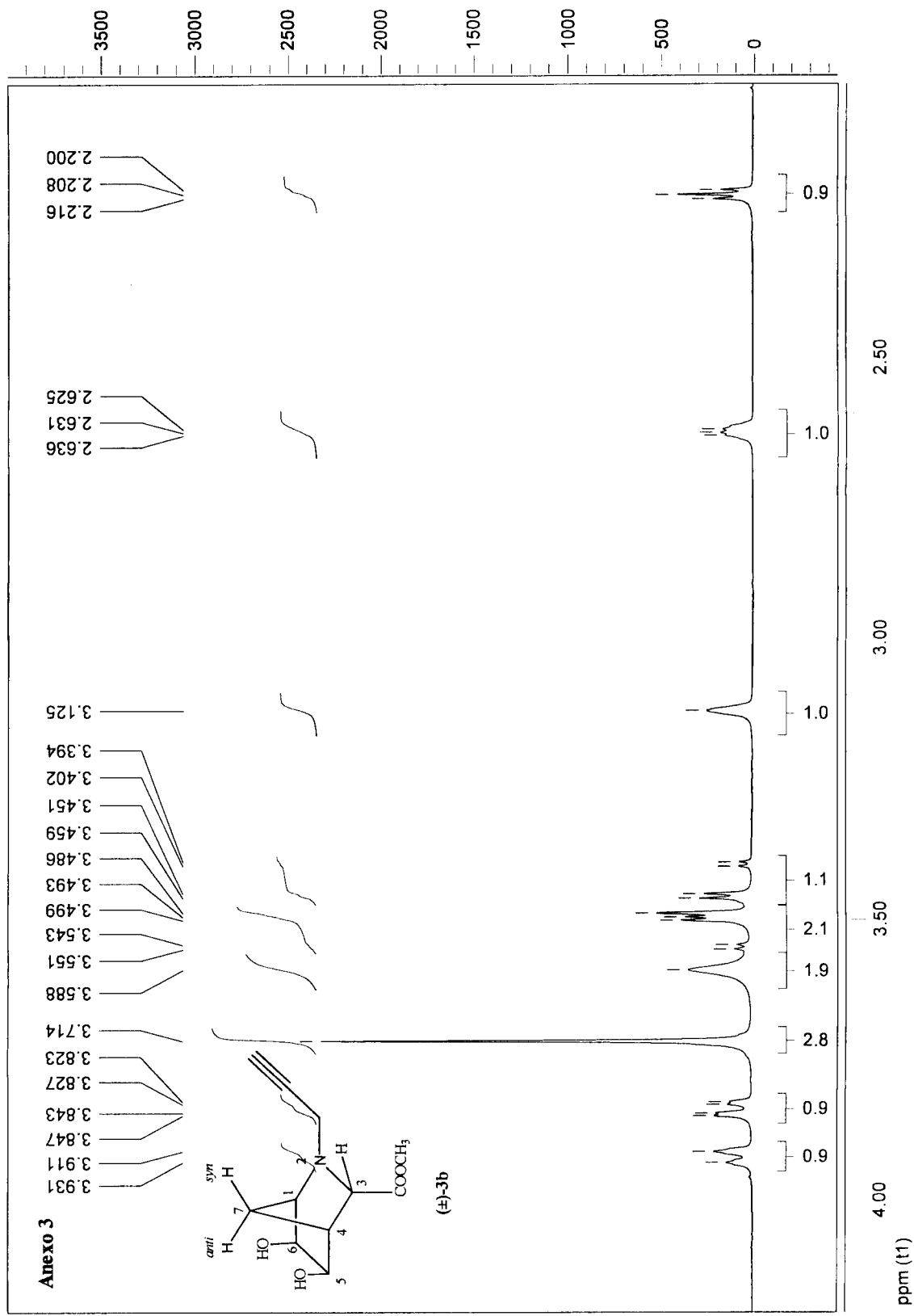
- Neurol.* **1999**, *80*, 495-499; f) Waibel, S.; Reuter, A.; Malessa, S. et al., *J. Neurol.* **2004**, *251*, 1080-1084; g) Cummings, J. L.; Askin-Edgar, S., *CNS Drugs* **2000**, *13*, 385-393.
14. a) Coyle, J. T.; Price, D. L.; DeLong, M. R., *Science* **1983**, *219*, 1184-1190; b) Newman, S. C., *J. Affect. Disord.* **1999**, *52*, 169-176; c) Boyd, B., *Drugs News Perspect.* **2000**, *13*, 425-438; d) Weinstok, M., *CNS Drugs* **1999**, *12*, 307-323; e) Sterling, J.; Herzig, J. et al., *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5260-5279.
15. <http://synapses.mcg.edu/index.asp>
16. a) Guimarães, S.; Moura, D.; Silva, P., *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas*, 5ª ed.; Porto Editora, **2006**. b) Plein, H.; Ferreira, D.; Jersky, B., *European Neuropsychopharmacology* **2001**, *11*, 183;
17. <http://www.nottingham.ac.uk/~mqzwww/adenosine.html>
18. Melo, F.O. et al. *Química Nova* **2006**, *59*, 569
19. Bock, V.; Henk, H. e al. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51
20. Coelho, A.; Sotelo, E. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 388
21. Peng, W.; Fokin, V. V. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 1, 7
22. Gil V. M.; Arévalo J. M. e al. *Synthesis* **2007**, *11*, 1589
23. Binder W. H.; Kluger C.; *Current Org. Chem.* **2006**, *10*, 1791
24. Yao S.; Saaby S.; Hazell R. G.; Jorgensen K. A.; *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2435
25. Robiette R. ; Cheboub-Benchaba et al. ; *J. Org. Chem.* **2003**
26. Volhardt, K. Peter C ; Schore, Neil E. ; Hidroxy Functional Group : Alcohols. *Organic Chemistry : Structure and Function*, 4ª ed. ; W. H Freeman and Company : New York, **2002**, 290.

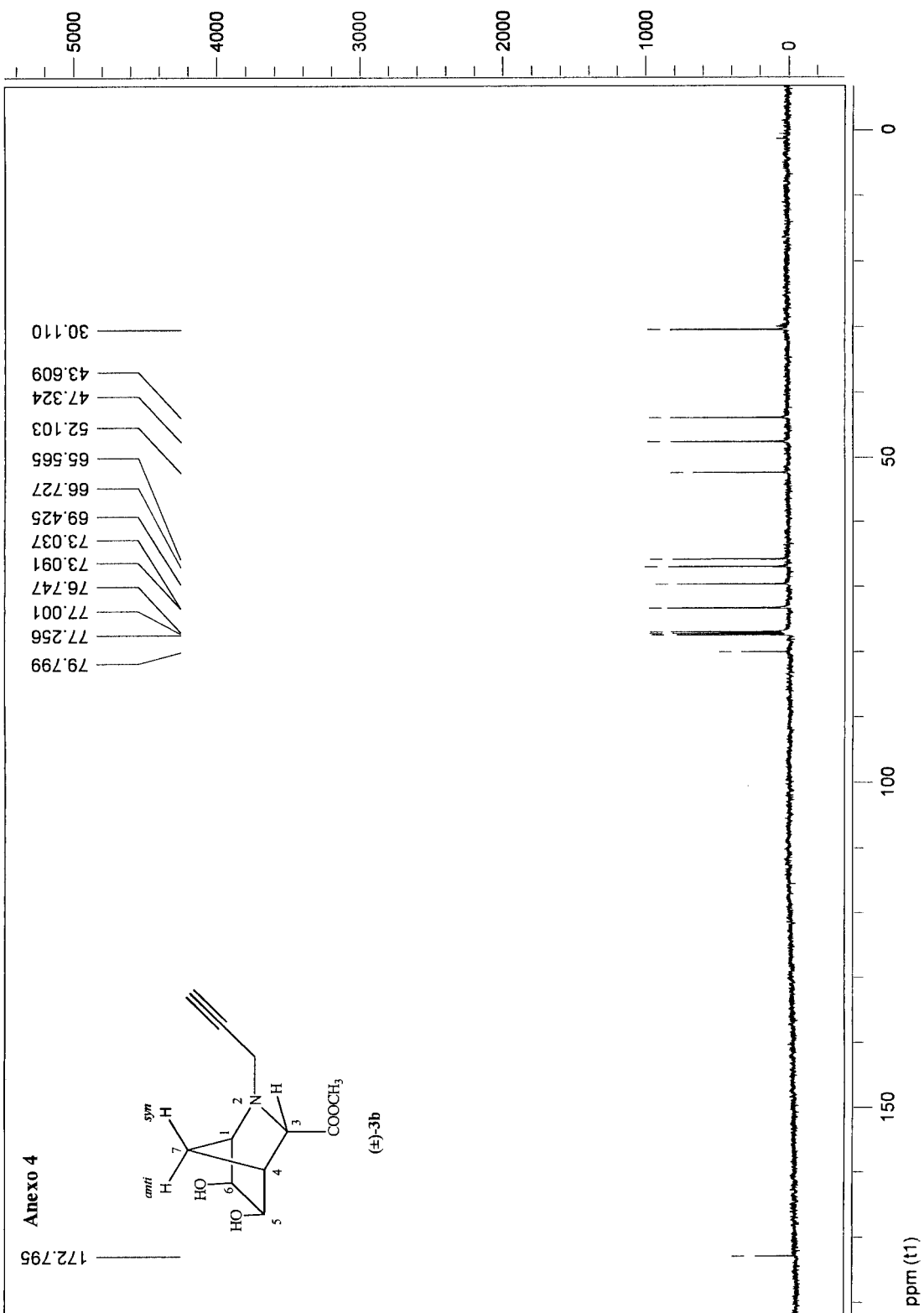
ANEXOS

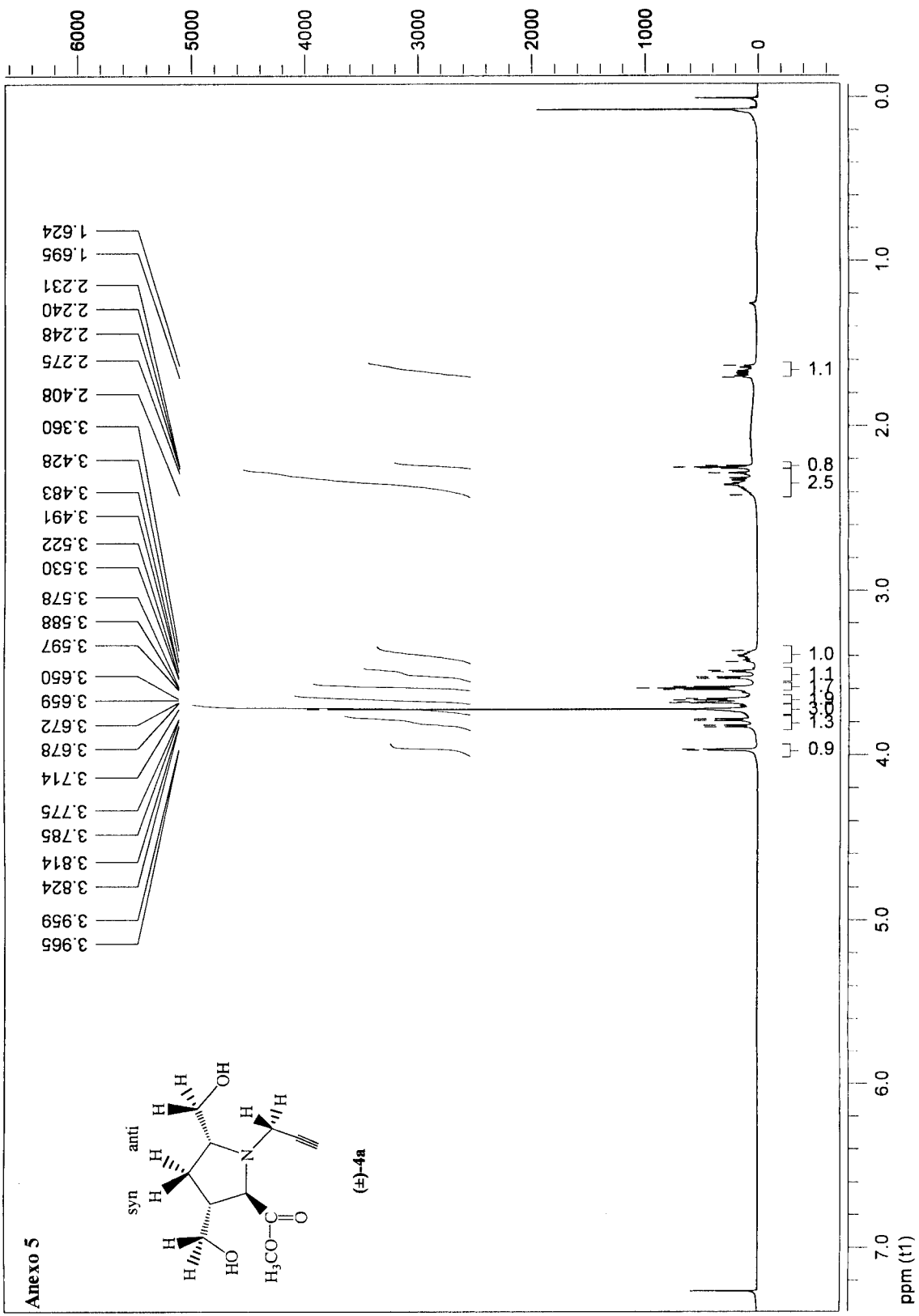




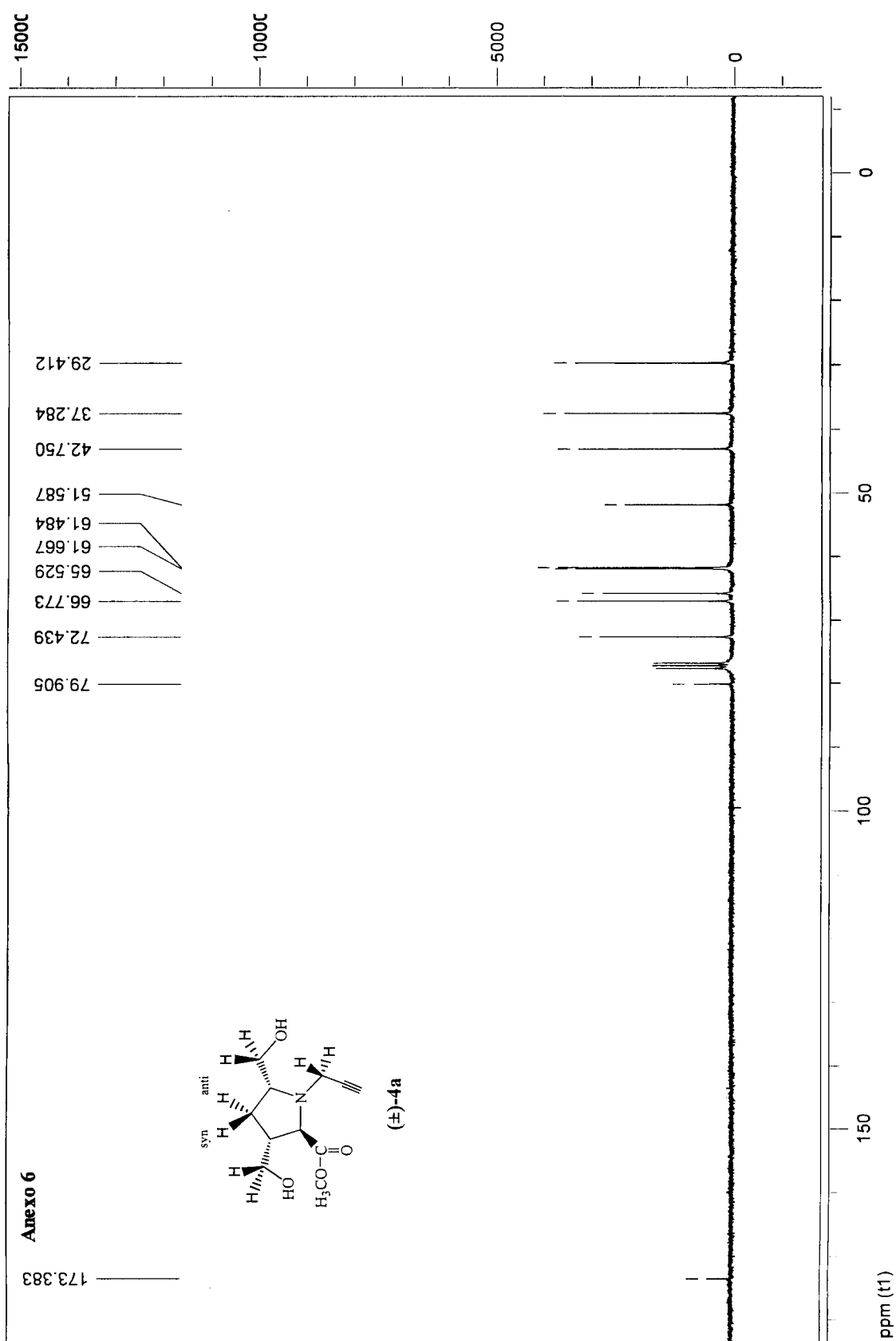


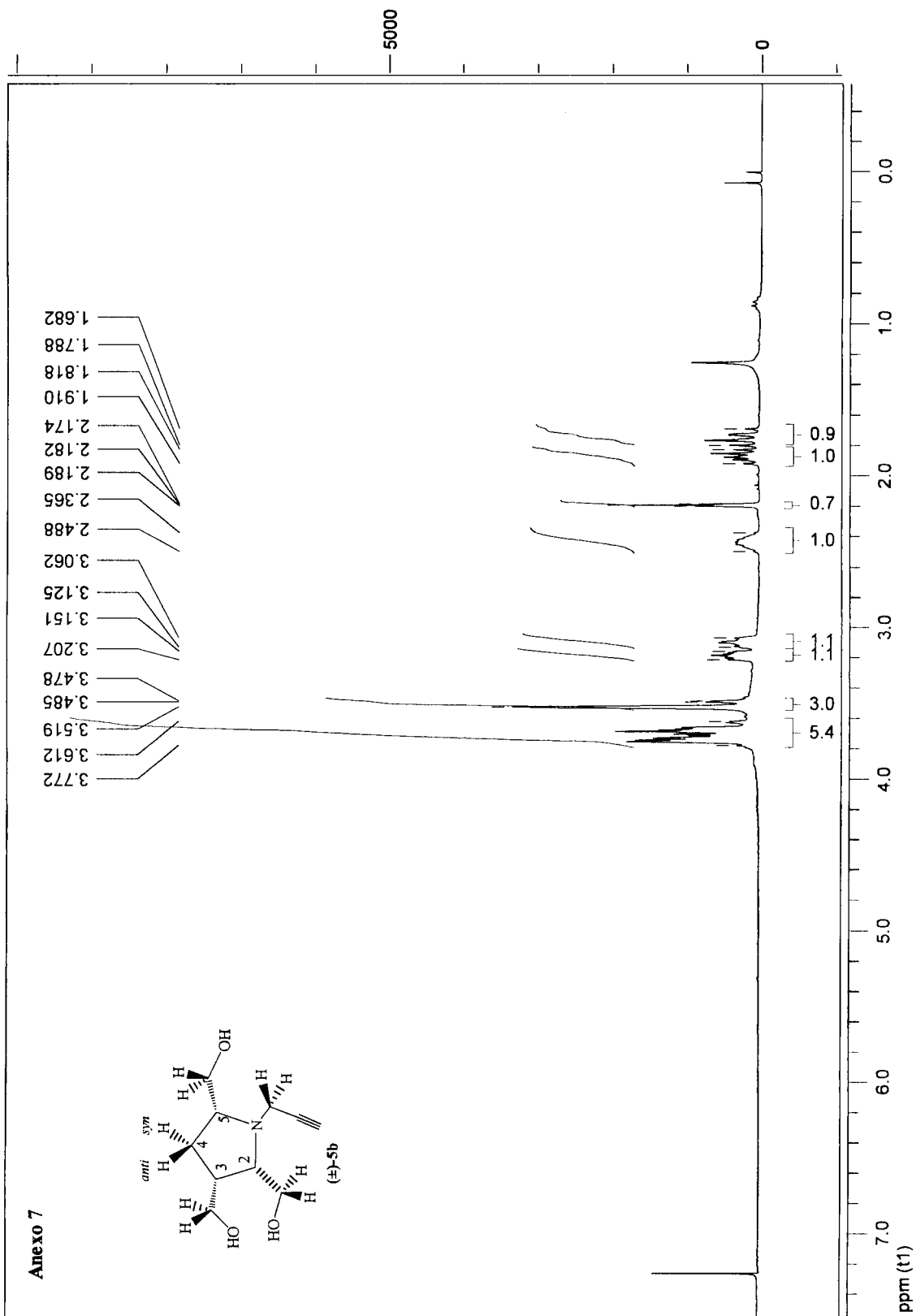


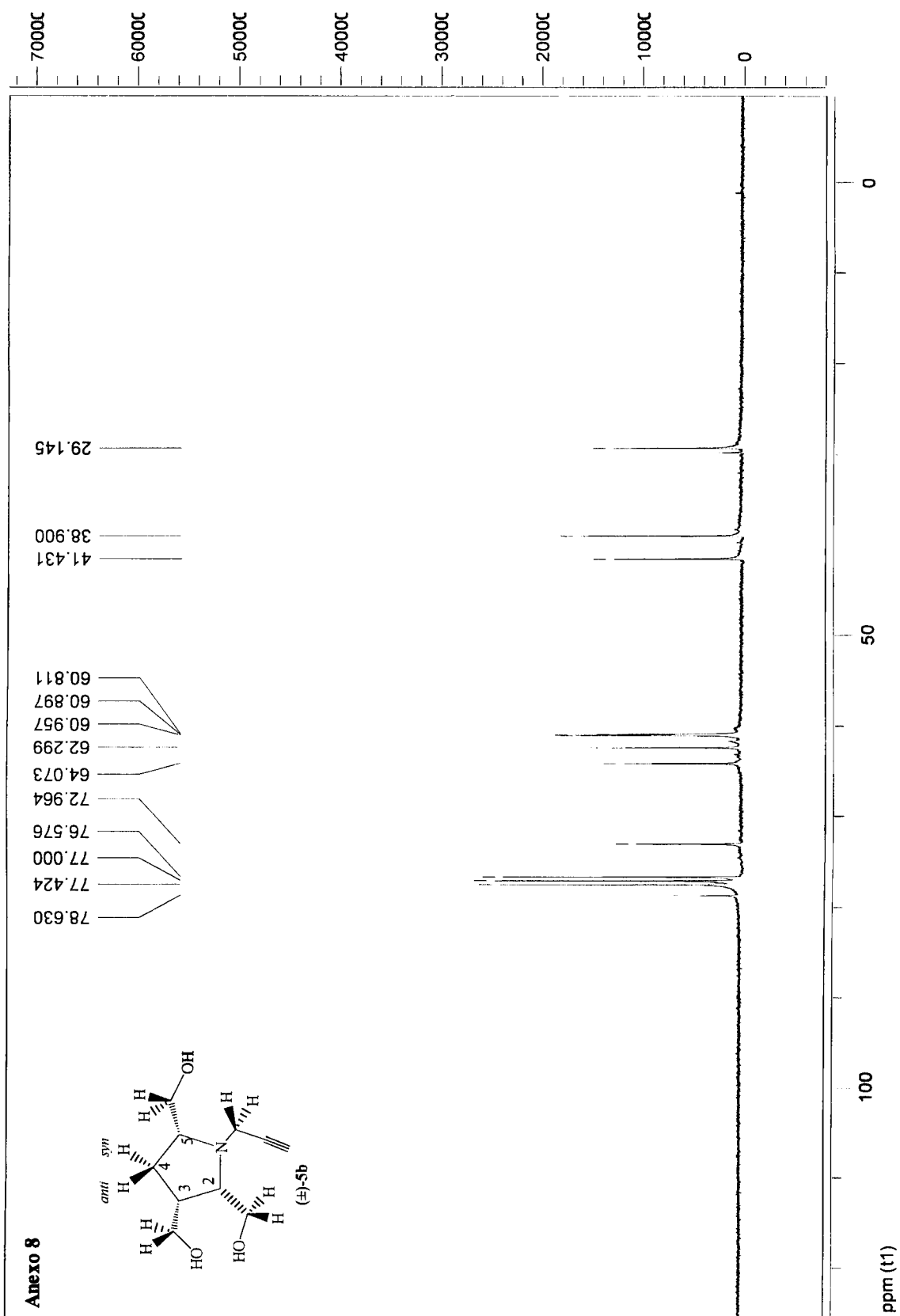


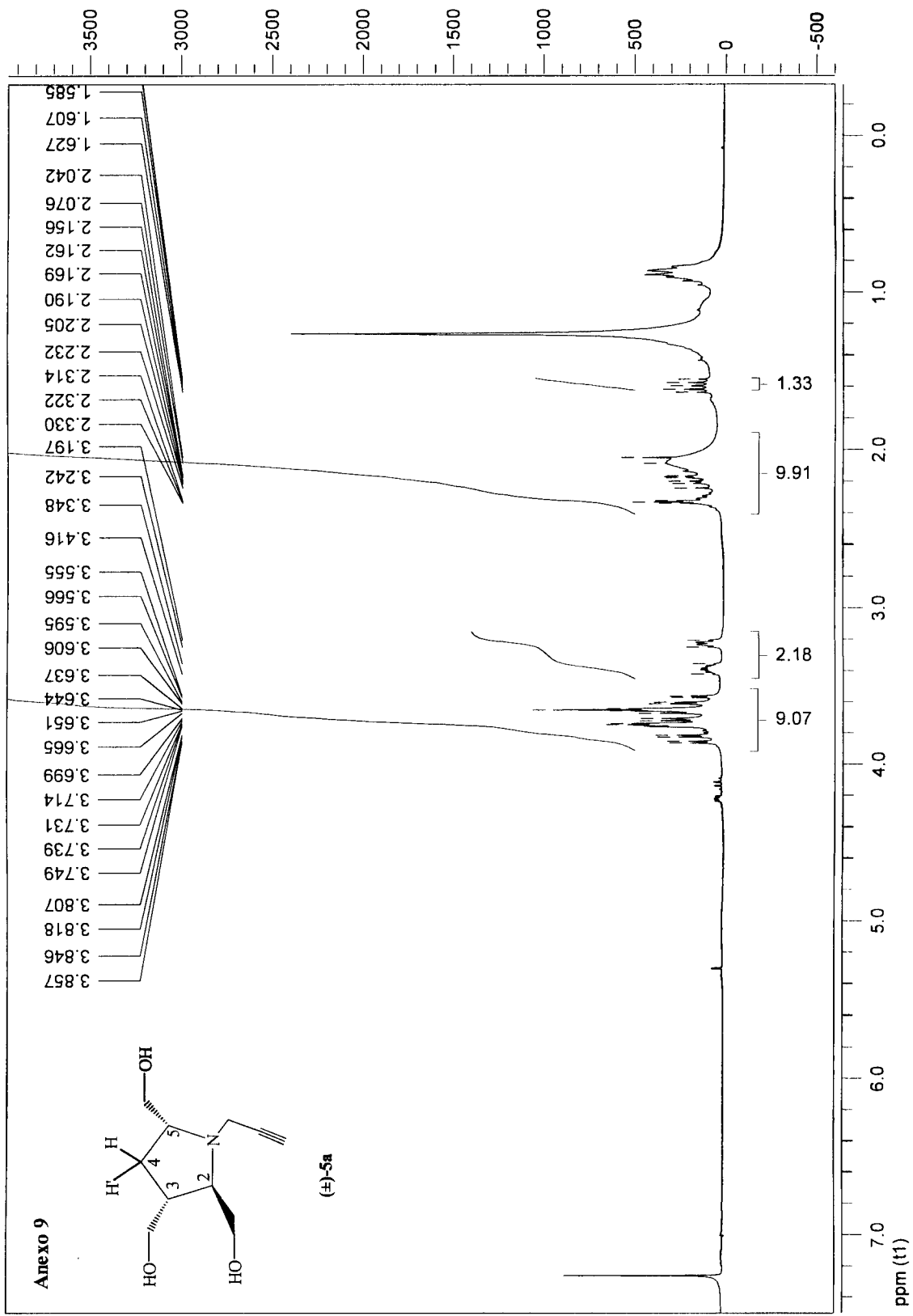


Anexo 5

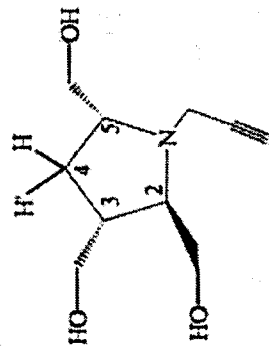








Anexo 9



(4S)

80.614

73.062

68.172

66.017

65.358

62.496

61.909

61.605

42.037

38.721

36.233

31.951

30.357

29.723

22.720

14.158

100
ppm (t1)

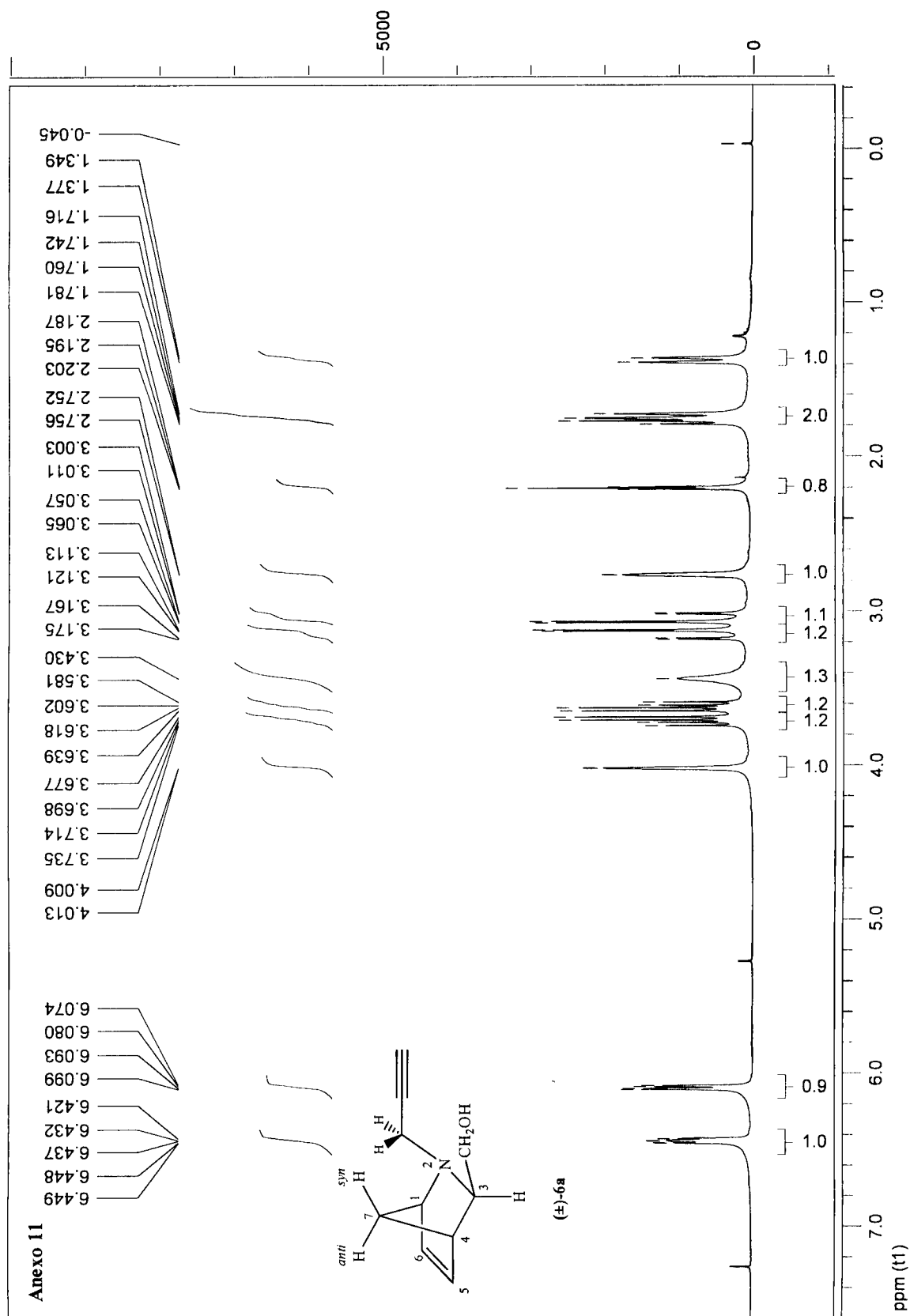
50

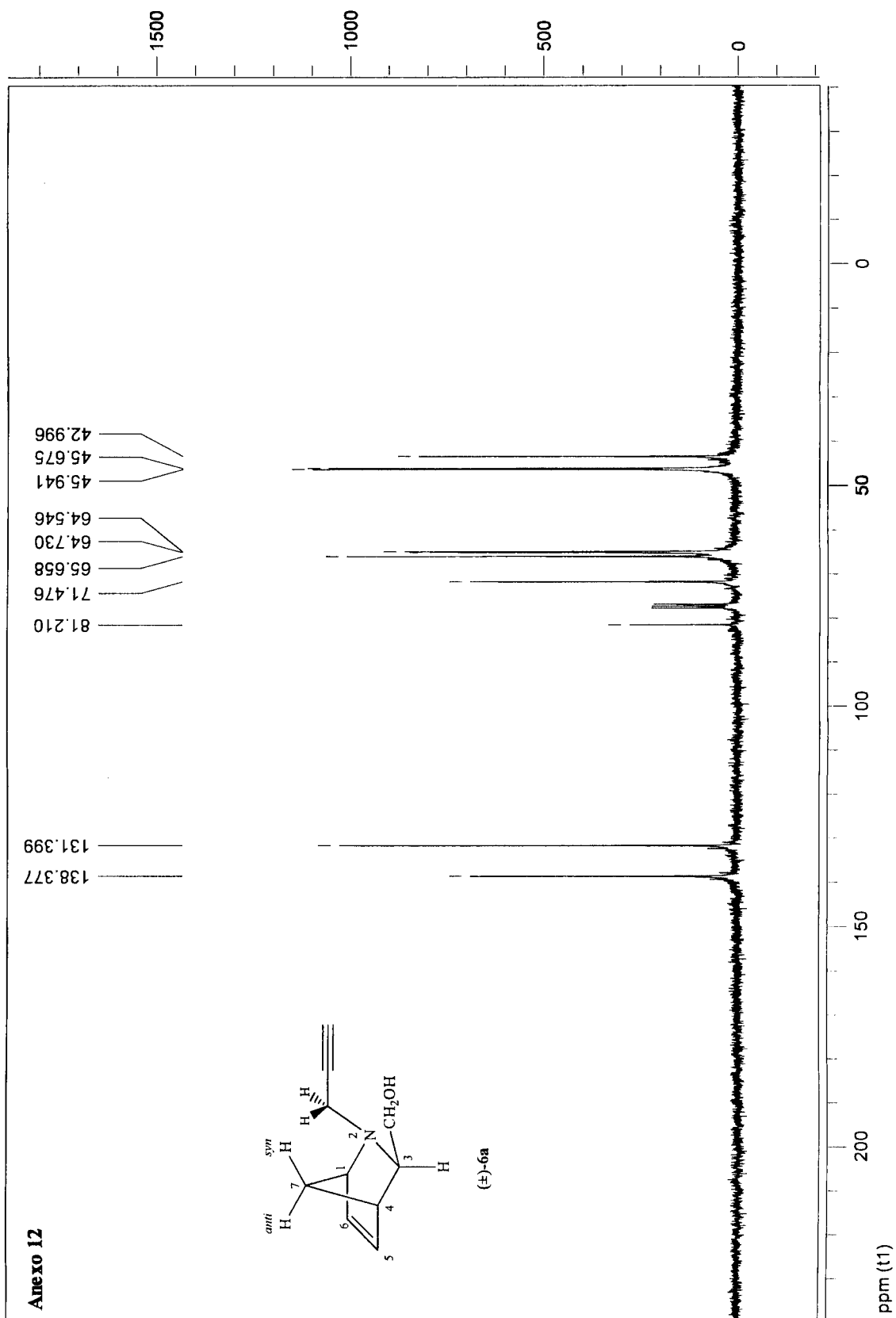
0

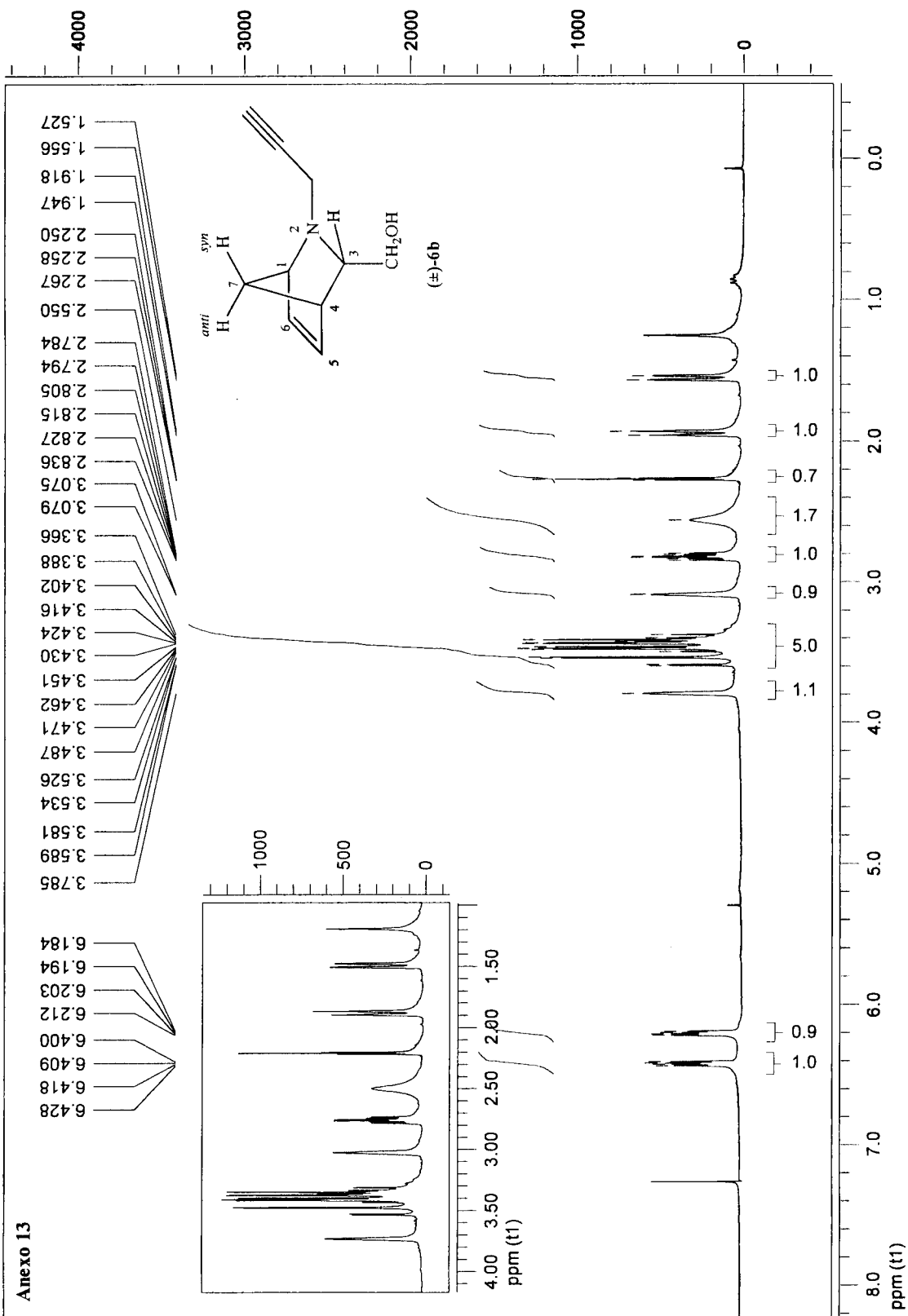
0

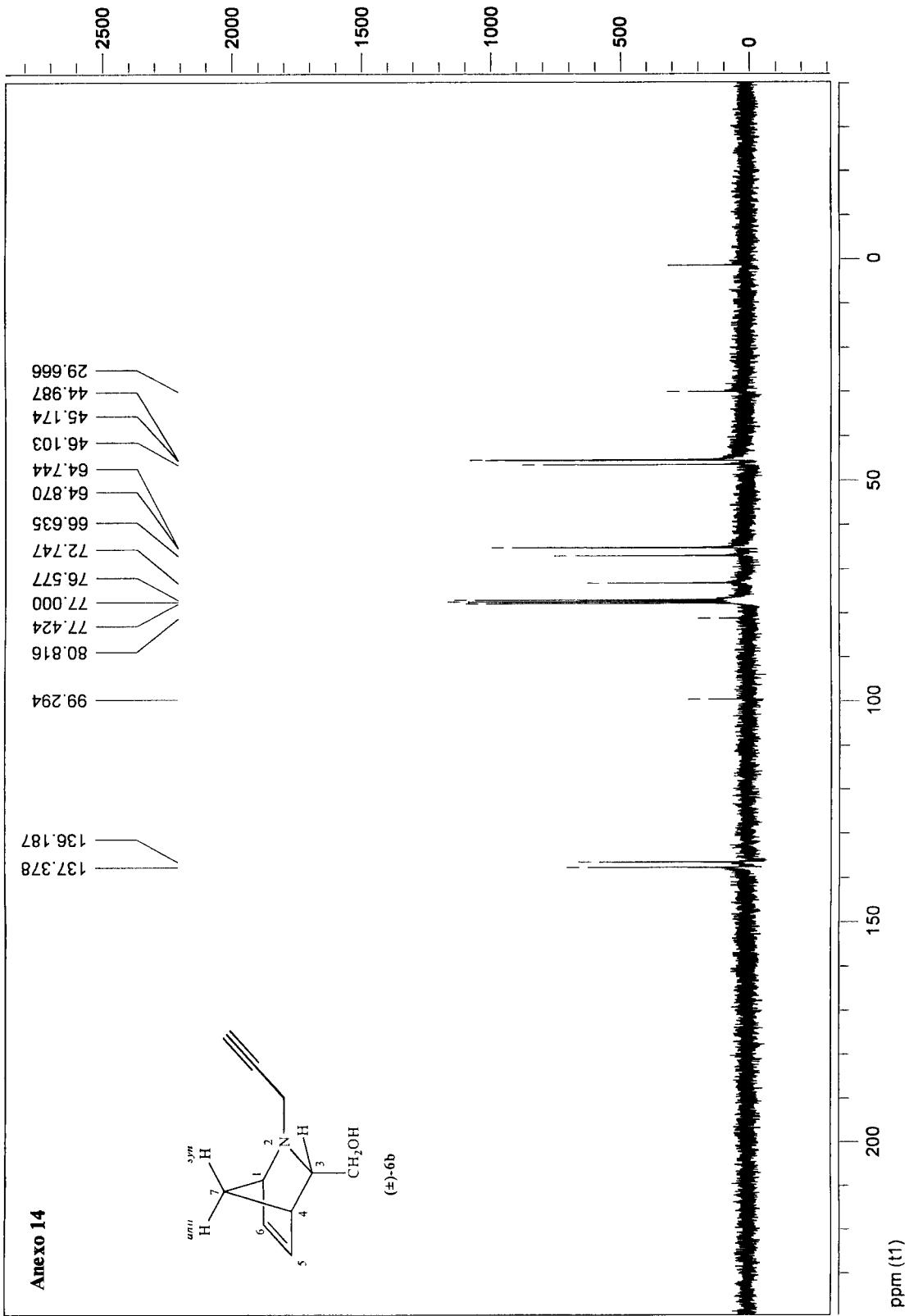
500

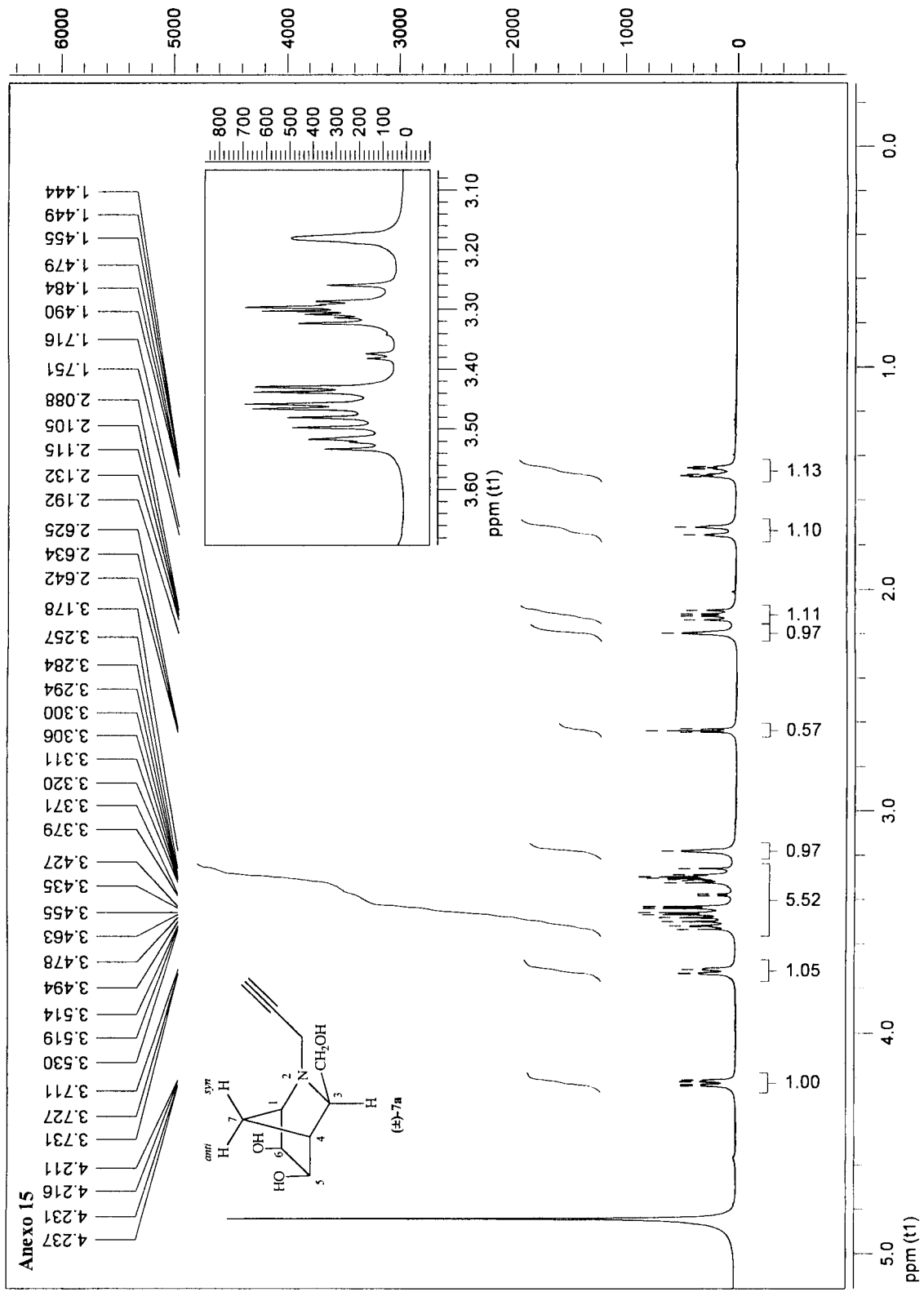
1000

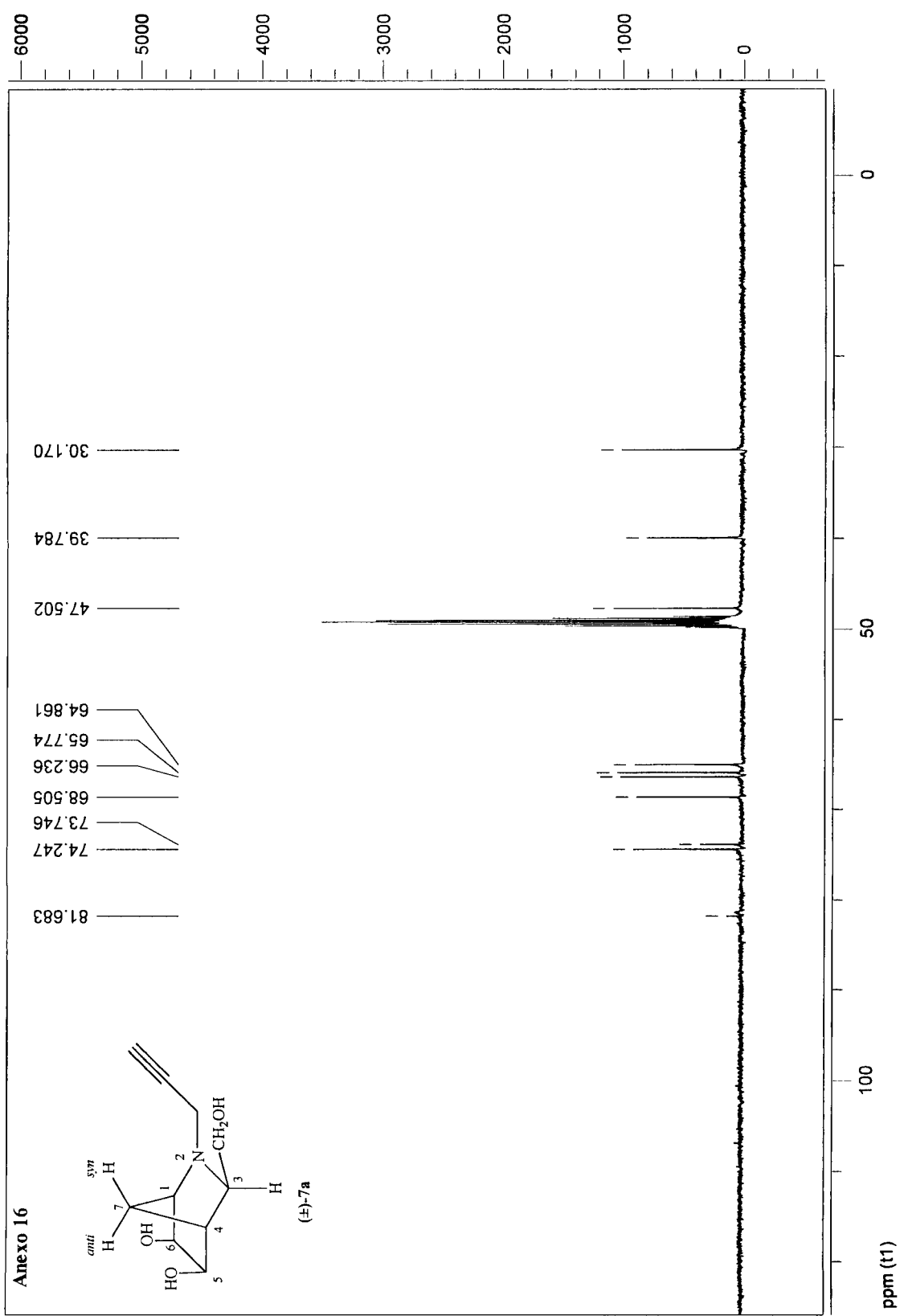


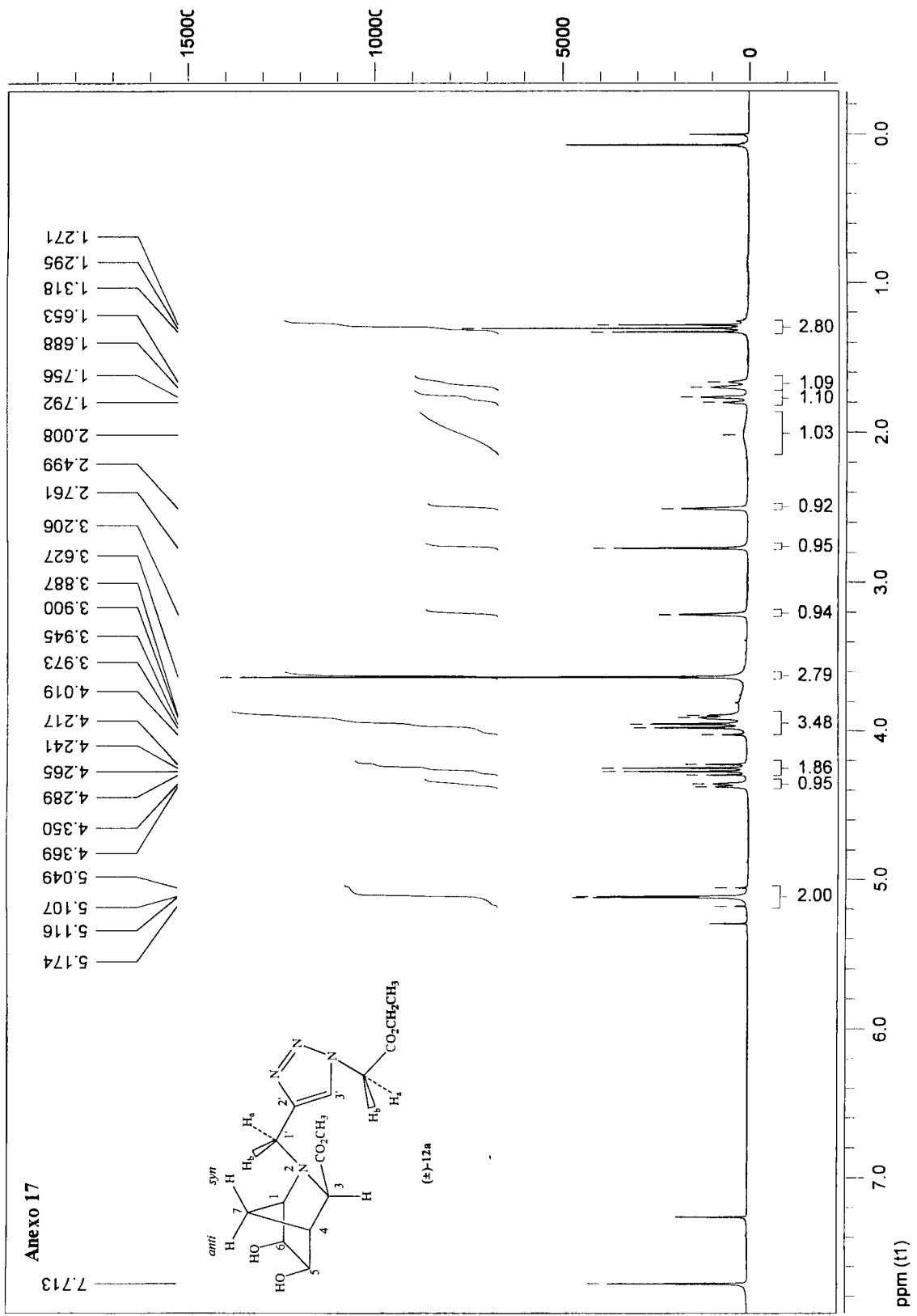


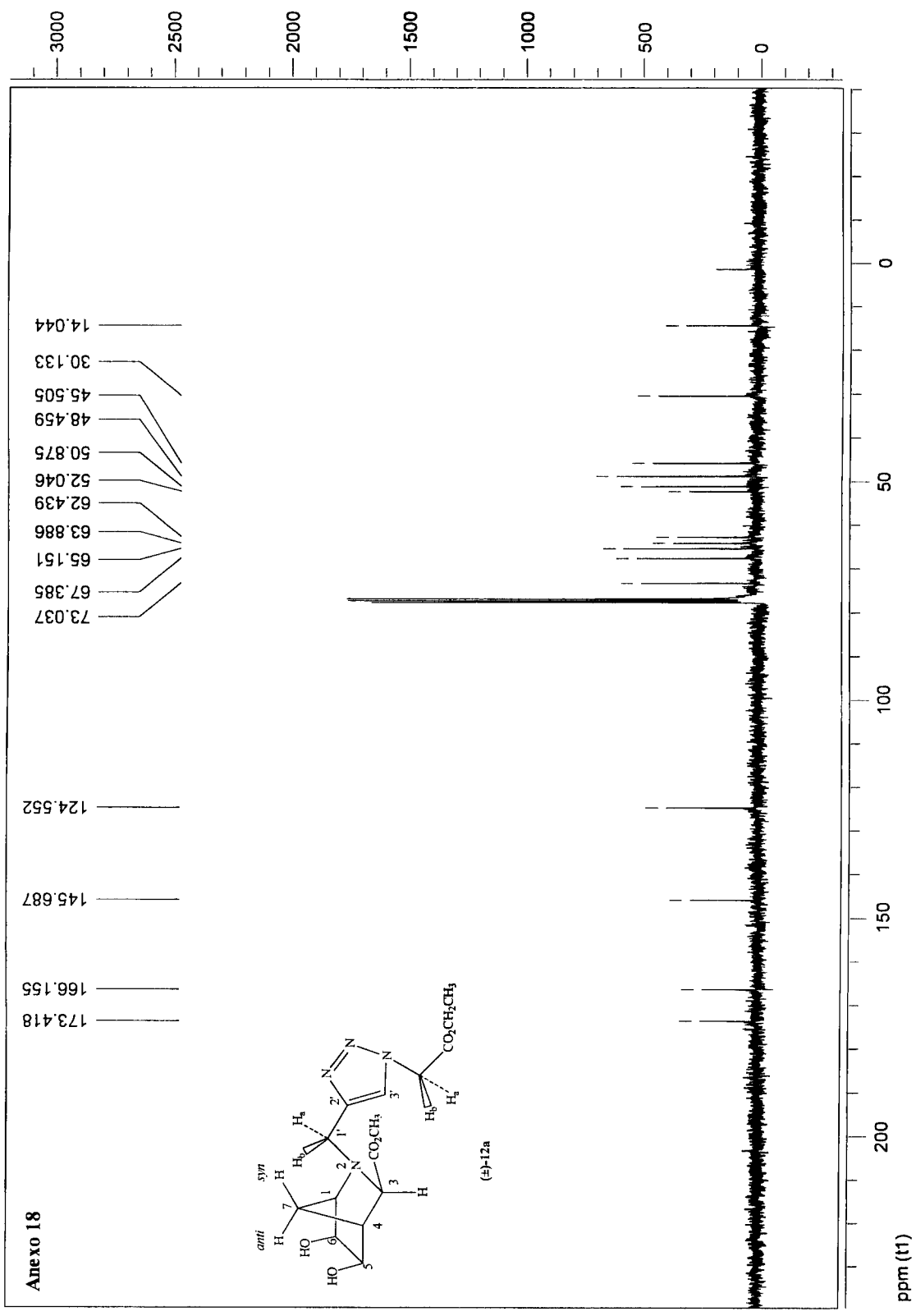


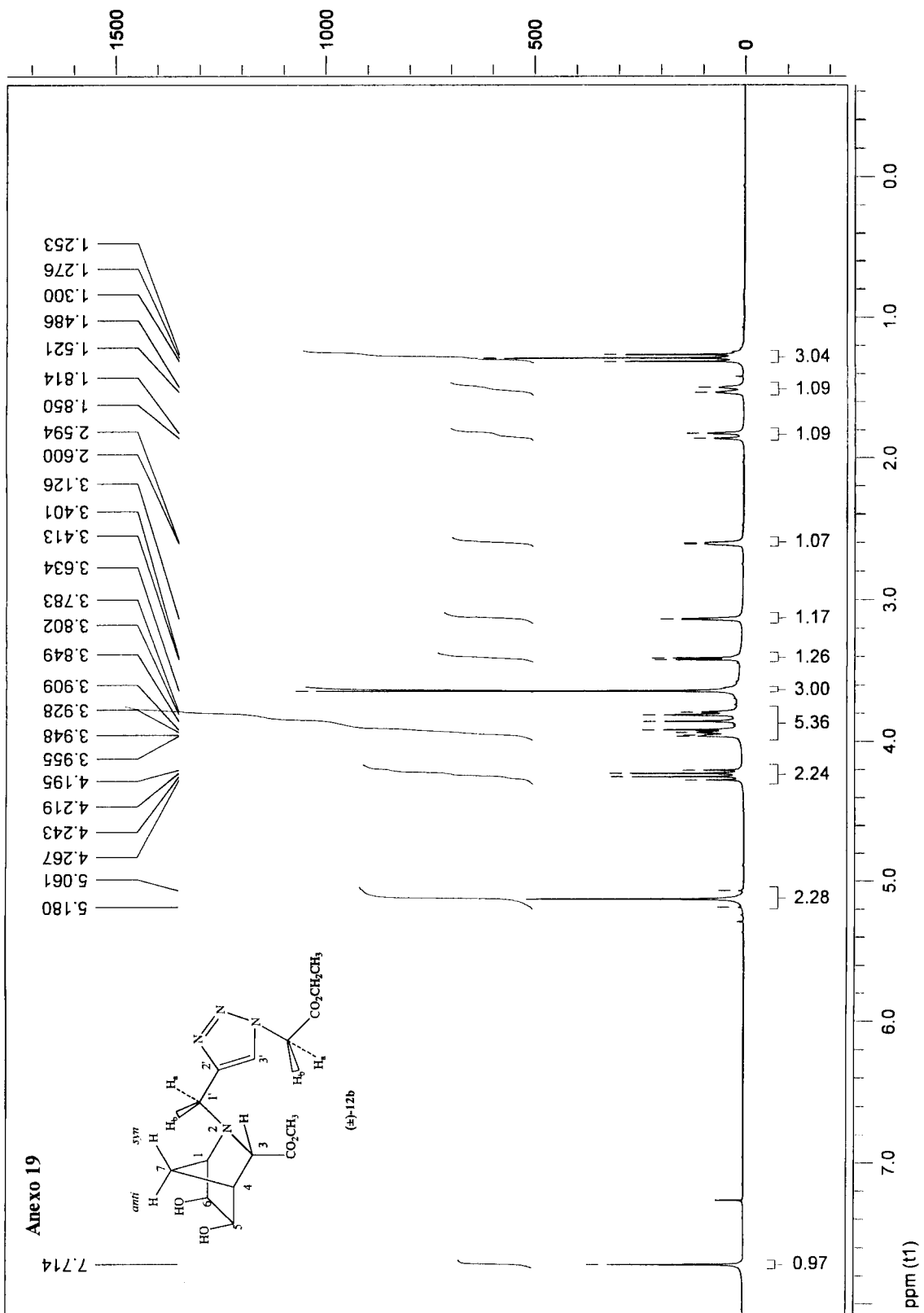


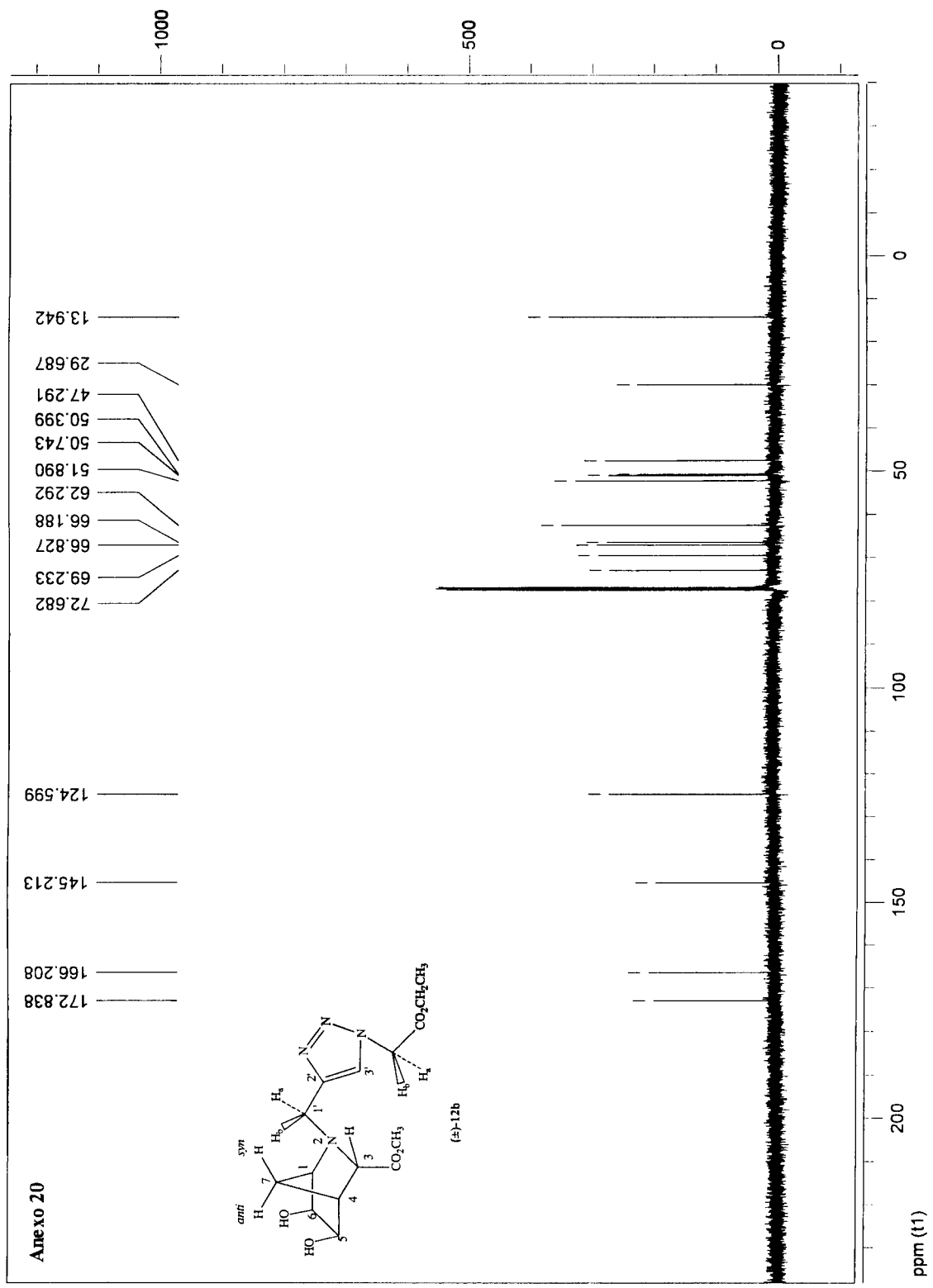












Archive directory: /export/home/crg/vnmrsws/data
 Sample directory: rai0748b_16Apr2003
 File: HMBC

Pulse Sequence: gmsoc

Solvent: CDCl₃
 Temp. 25.0 C / 298.1 K
 INOVA-400 "SMT1400"

Relax. delay 1.500 sec
 Acq. time 0.127 sec
 Width 4799.9 Hz
 2D Width 28001.4 Hz
 8 repetitions
 400 increments

OBSERVE H1, 399.9695239 MHz
 DECOUPLE C13, 100.5830099 MHz

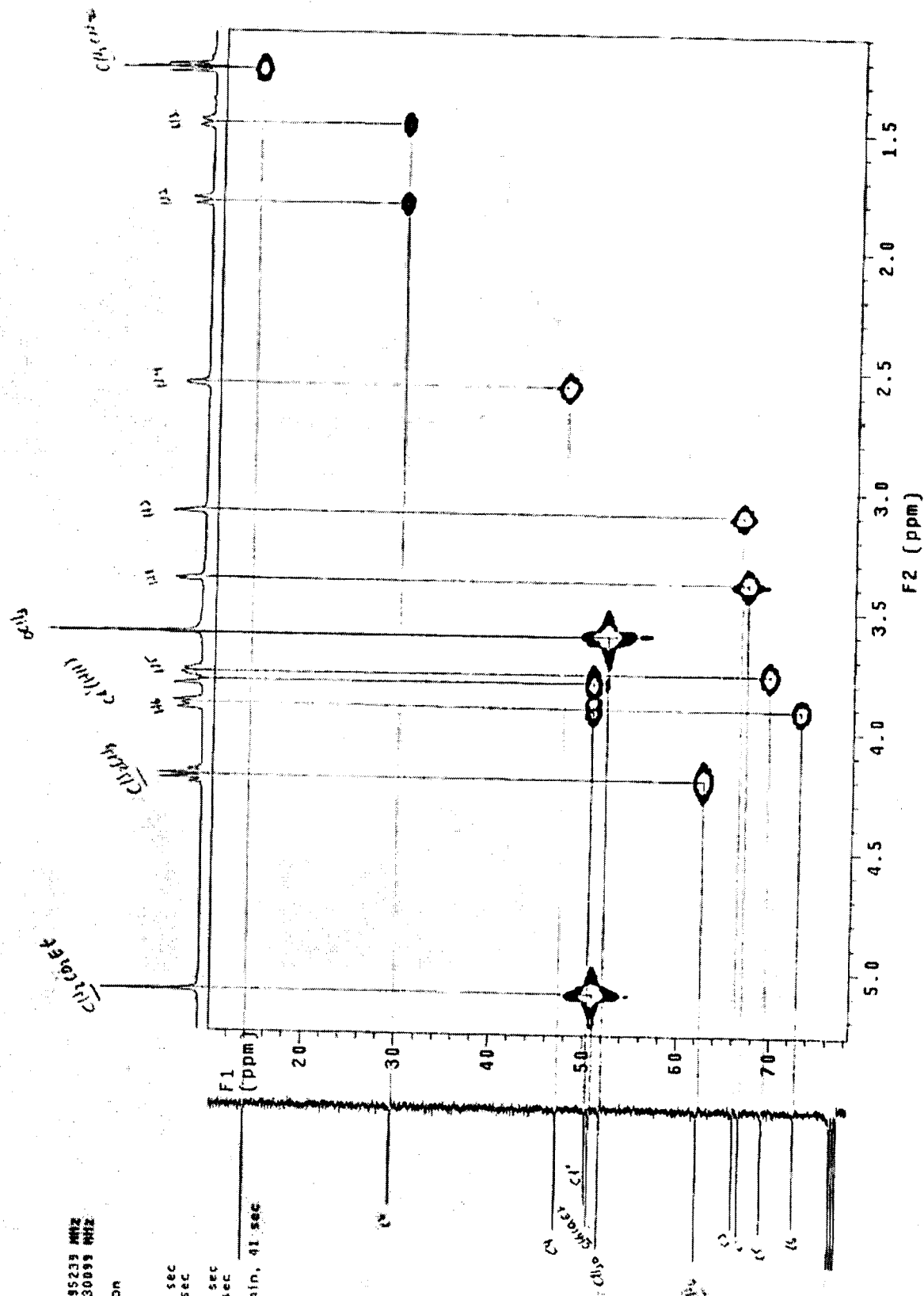
Power 45 dB
 On during acquisition
 Off during delay
 GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.106 sec
 Shifted by -0.084 sec
 F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.012 sec
 Shifted by -0.010 sec

FT size 1024 x 2048
 Total time 1 hr, 31 min, 41 sec



Archive directory: /export/home/rgr/vnmrsws/data
 Sample directory: ralo748p_16Apr2003
 File: HNHC

Pulse Sequence: ghsoc

Solvent: CDCl₃
 Temp: 25.0 C / 298.1 K
 INOVA-400 "RMH400"

Relax. delay 1.500 sec
 Acq. time 0.127 sec
 Width 4759.9 Hz
 2D Width 28001.4 Hz
 8 repetitions
 400 increments

DSSFVE H1, 393.365233 MHz
 DECOUPLE C13, 100.553095 MHz
 Power 45 dB

On during acquisition
 Off during delay
 GARP-1 modulated
 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.106 sec
 Shifted by -0.084 sec
 F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.012 sec
 Shifted by -0.010 sec
 F1 size 1024 x 2048

Total time 1 hr, 31 min, 41 sec

