

Universidade do Minho
Escola de Ciências

Sandra Cristina Gomes Oliveira **Aminoácidos não-proteinogénicos como antioxidantes**

Sandra Cristina Gomes Oliveira

**Aminoácidos não-proteinogénicos como
antioxidantes**



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Sandra Cristina Gomes Oliveira

Aminoácidos não-proteinogénicos como antioxidantes

Tese de Mestrado
Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação de
Doutor Luís Miguel Oliveira Sieuve Monteiro
e de
**Doutora Maria de Fátima Azevedo Brandão Amaral
Paiva Martins**

Outubro de 2016

Agradecimentos

O projeto que desenvolvi ao longo do segundo ano de mestrado, só foi possível graças à colaboração de diversas pessoas que, ajudaram na sua realização, às quais aproveito desde já para agradecer.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Doutor Luís Monteiro e à Doutora Paula Ferreira, pelo enorme e incansável apoio, pelos seus ensinamentos, paciência e disponibilidade.

À Doutora Fátima Paiva-Martins da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, agradeço por me ter proporcionado a oportunidade de desenvolver uma parte deste trabalho na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, pela sua orientação, ensinamento, disponibilidade e apoio.

Gostaria também de agradecer aos meus amigos de mestrado pelo companheirismo e os momentos agradáveis. Aos meus colegas que estiveram comigo no laboratório da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto por toda a ajuda que deram a integrar-me no laboratório nos primeiros tempos de trabalho. Agradeço também aos restantes amigos.

Quero agradecer de uma forma muito especial à minha família que sempre se mostrou presente, disponível e compreensiva, principalmente aos meus pais por fazerem de mim aquilo que sou hoje.

Agradeço também ao meu namorado pelo apoio, compreensão e dedicação ao longo deste percurso.

À Dra. Elisa, Dra. Vânia da Universidade do Minho e Dra. Mariana da Universidade do Porto pela disponibilidade e profissionalismo na realização dos espetros de RMN.

À Universidade do Minho, em especial ao Departamento de Química, pelas condições de acolhimento proporcionadas para a realização deste trabalho.

Resumo

O stress oxidativo está correlacionado com mais de 100 doenças, quer como causa ou como consequência, como por exemplo doenças cardiovasculares.^{1,2} O stress oxidativo foi definido como um desequilíbrio entre a formação e a remoção de espécies reativas de oxigénio (ROS) pelos sistemas de defesa antioxidantes.¹ A produção de ROS tem de ser controlada, para manter o funcionamento normal das células, utilizando antioxidantes.³

Os desidroaminoácidos representam uma classe importante de compostos que são encontrados em vários antibióticos naturais. Desempenham um papel importante no centro ativo de algumas enzimas e demonstram atividade antioxidante. Os derivados da desidroalanina mostraram-se úteis na proteção da pele, mucosas e cabelo contra o stress oxidativo.⁴

Neste trabalho descreve-se a síntese de vários derivados fenólicos de alanina e desidroalanina com potencial atividade antioxidante. Inicialmente tentou-se sintetizar ésteres metílicos de desidroaminoácidos com grupos fenólicos na função amina com atividade antioxidante conhecida. Para tal adicionaram-se grupos do tipo acilo com estruturas contendo grupos fenol ao éster metílico de serina, seguindo-se a sua desidratação. No entanto, não foi possível obter os ésteres metílicos dos desidroaminoácidos pretendidos. Optou-se assim, por iniciar a sequência reacional, com a proteção dos hidroxilos dos grupos fenólicos com um grupo alilo, seguindo posteriormente a sequência reacional anterior. Foi assim possível obter ésteres metílicos de desidroaminoácidos contendo anéis fenólicos. Com o objetivo de comparar a sua atividade antioxidante com os correspondentes derivados de desidroalanina sintetizou-se ésteres metílicos da alanina por reação de acoplamento de ácidos fenólicos com o éster metílico da alanina.

Tentou-se ainda sintetizar α,β -desidroaminoácidos β -substituídos, por reações de Boc- Δ Ala(β -triazol-1-il)-OMe e Boc₂- Δ Ala-OMe com aminas fenólicas. No entanto, não se obteve os α,β -desidroaminoácidos β -substituídos. Assim, voltou-se a iniciar a sequência reacional com a proteção dos grupos hidroxilo dos fenóis com um grupo alilo e seguiram-se as condições reacionais anteriores. Nestas condições foi possível obter os α,β -desidroaminoácidos β -substituídos por reação com o Boc- Δ Ala(β -triazole)-OMe.

Abstract

Oxidative stress is correlated, either as a source or an outcome, with over 100 diseases, such as cardiovascular diseases.^{1,2} Oxidative stress has been defined as an imbalance between formation and removal of reactive oxygen species (ROS) by antioxidant defense systems.¹ In this case to maintain the normal functioning of cells, ROS have to be controlled using antioxidants.³

Dehydroamino acids represent an important class of compounds found in many natural antibiotics. They play an important role in the active site of some enzymes, and some exhibit antioxidant activity. Derivatives of dehydroalanine proved useful in protection against oxidative stress of skin, mucous membranes and hair.⁴

In this work, the synthesis of several alanine and dehydroalanine derivatives with potential antioxidant activity is described. Initially, the synthesis of the methyl esters of dehydroalanine with phenolic acyl groups with known antioxidant activity on the amine function was attempted. Thus, acyl-type protecting groups with phenol functions were coupled with the methyl ester of serine, followed by dehydration. However, it was not possible to obtain the intended dehydroalanines derivatives. An alternative reaction sequence was proposed, consisting of protection of the hydroxides with an allyl group prior to the above reaction sequence. Thus, it was possible to obtain the methyl esters of *N*-protected dehydroalanines. Subsequently, in order to compare their antioxidant activity with the corresponding dehydroalanine derivatives the corresponding phenolic acyl derivatives of alanine were prepared.

The synthesise of β -substituted α,β -dehydroamino acids, by reaction of Boc- Δ Ala(β -triazol-1-il)-OMe or Boc₂- Δ Ala-OMe with phenolic amines was also attempted. However the β -substituted α,β -dehydroamino acids could not be obtained. Again an alternative reaction sequence, in with prior protection of the hydroxyl groups as allyl ethers was followed.

Publicação

O trabalho aqui descrito foi apresentado num encontro científico sob a forma de comunicação em painel.

S. Oliveira, F. Paiva-Martins, P. M. T. Ferreira, L. S. Monteiro “SYNTHESIS OF DEHYDROAMINO ACID DERIVATIVES WITH POTENTIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY”, Terceiro Simpósio Ibero-americano de Química Orgânica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 23 a 26 setembro de 2016.

Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo	V
Abstract.....	VI
Publicação	VIII
Índice	XI
Índice de figuras.....	XVII
Índice de esquemas	XIX
Índice de tabelas	XXI
Abreviaturas e símbolos	XXIII
1 Introdução	1
1.1 Stress oxidativo.....	3
1.2 Antioxidantes.....	4
1.3 Avaliação da atividade antiradicalar	6
1.3.1 Método do DPPH	6
1.4 Aminoácidos	7
1.5 Aminoácidos não proteinogénicos	10
1.6 Desidroaminoácidos	11
1.7 Síntese de desidroaminoácidos	13
1.8 Síntese de desidroaminoácidos por reação de eliminação	14
1.9 Alaninas β -substituídas.....	18
1.10 Síntese de alaninas β -substituídas.....	18
1.11 Objetivo	22
2 Resultados e Discussão	25
2.1 Avaliação da atividade antiradicalar	27
2.1.1 Método do DPPH	27
2.2 Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos	28
2.2.1 Síntese do éster metílico da serina.....	29
2.2.2 Síntese dos ésteres metílicos da serina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos.....	29
2.2.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos.....	31
2.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos.....	31
2.3.1 Síntese dos ésteres alílicos dos ácidos fenólicos.....	32

2.3.2	Síntese dos ésteres metílicos da serina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos.....	35
2.3.3	Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos.....	36
2.3.4	Síntese dos ésteres metílicos da alanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos.....	37
2.4	Síntese de ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas.....	38
2.4.1	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(4-toluenosulfonil)-serina.....	39
2.4.2	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(4-toluenossulfonil), <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina.....	40
2.4.3	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil),(β -triazol-1-il) desidroalanina.....	40
2.4.4	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas.....	41
2.4.5	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N,N</i> -bis(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas.....	43
2.5	Síntese de ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas.....	44
2.5.1	Síntese de éteres alílicos de hidroxifenilaminas.....	45
2.6	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas.....	47
3	Conclusões e perspectivas futuras.....	49
4	Parte experimental.....	53
4.1	Procedimentos gerais.....	55
4.2	Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos.....	56
4.2.1	Síntese do cloridrato do éster metílico da serina [HCl.H-Ser-OMe (1)].....	56
4.2.2	Síntese de ésteres metílicos da serina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos (2).....	56
4.2.2.1	Síntese de Bz(4-OH)-Ser-OMe (2a).....	57
4.2.2.2	Síntese de Bz(2-OH)-Ser-OMe (2b).....	57
4.2.2.3	Síntese de Prop(3,4-OH)-Ser-OMe (2c).....	58
4.2.3	Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos (3).....	58
4.2.3.1	Síntese de Bz(4-OH)- Δ Ala-OMe (3a).....	58
4.3	Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados utilizando ácidos fenólicos protegidos.....	59

4.3.1	Síntese dos éteres alílicos dos ácidos fenólicos.....	59
4.3.1.1	Proteção com o grupo alilo (4)	59
4.3.1.1.1	Síntese de Bz(4-OAl)-COOAl (4a)	59
4.3.1.1.2	Síntese de Bz(3,4-OAl)-COOAl (4d)	60
4.3.1.1.3	Síntese de Phet(4-OAl)-COOAl (4e)	60
4.3.1.1.4	Síntese de Phet(3,4-OAl)-COOAl (4f)	61
4.3.1.1.5	Síntese de Phac(4-OAl)-COOAl (4g)	61
4.3.1.1.6	Síntese de Phac(3,4-OAl)-COOAl (4h)	62
4.3.1.2	Hidrólise do ester alílico (5)	62
4.3.1.2.1	Síntese de Bz(4-OAl)-COOH (5a)	63
4.3.1.2.2	Síntese de Bz(3,4-OAl)-COOH (5d)	63
4.3.1.2.3	Síntese de Phet(4-OAl)-COOH (5e)	64
4.3.1.2.4	Síntese de Phet(3,4-OAl)-COOH (5f)	64
4.3.1.2.5	Síntese de Phac(4-OAl)-COOH (5g)	65
4.3.1.2.6	Síntese de Phac(3,4-OAl)-COOH (5h)	65
4.3.2	Síntese de éster metílicos da serina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos (6).....	66
4.3.2.1	Síntese de Bz(4-OAl)-Ser-OMe (6a).....	66
4.3.2.2	Síntese de Bz(3,4-OAl)-Ser-OMe (6d)	67
4.3.2.3	Síntese de Phet(4-OAl)-Ser-OMe (6e).....	68
4.3.2.4	Síntese de Phet(3,4-OAl)-Ser-OMe (6f)	68
4.3.2.5	Síntese de Phac(4-OAl)-Ser-OMe (6g).....	69
4.3.2.6	Síntese de Phac(3,4-OAl)-Ser-OMe (6h)	69
4.3.3	Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos (7).....	70
4.3.3.1	Síntese de Bz(4-OAl)- Δ Ala-OMe (7a)	70
4.3.3.2	Síntese de Bz(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (7d)	71
4.3.3.3	Síntese de Phet(4-OAl)- Δ Ala-OMe (7e).....	72
4.3.3.4	Síntese de Phet(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (7f)	72
4.3.3.5	Síntese de Phac(4-OAl)- Δ Ala-OMe (7g)	73
4.3.3.6	Síntese de Phac(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (7h)	73
4.3.4	Síntese dos ésteres metílicos da alanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos (9).....	74
4.3.4.1	Síntese de Bz(4-OH)-Ala-OMe (9a)	74
4.3.4.2	Síntese de Bz(3,4-OH)-Ala-OMe (9d)	75
4.3.4.3	Síntese de Phet(4-OH)-Ala-OMe (9e).....	75

4.3.4.4	Síntese de Phet(3,4-OH)-Ala-OMe (9f)	76
4.3.4.5	Síntese de Phac(4-OH)-Ala-OMe (9g)	76
4.3.4.6	Síntese de Phac(3,4-OH)-Ala-OMe (9h)	77
4.4	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas	78
4.4.1	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(4-toluenosulfonilo)-serina [Tos-Ser-OMe (10)]... 78	
4.4.2	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(4-toluenossulfonil), <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina [Tos- <i>N</i> (Boc)- Δ Ala-OMe (11)]	78
4.4.3	Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il)desidroalanina [Boc- Δ Ala(β - triazol-1-il)-OMe (12)]	79
4.4.4	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas (14).....	79
4.4.4.1	Síntese de Boc- Δ Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (14i)	80
4.4.4.2	Síntese de Boc- Δ Ala[β -Bzl(3,4-OH)-NH]-OMe (14j)	80
4.4.4.3	Síntese de Boc- Δ Ala[β - Dopa(3,4-OH)-NH]-OMe (14k)	81
4.4.5	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N,N</i> -bis(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas (16).....	81
4.4.5.1	Síntese de Boc ₂ -Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (16i)	81
4.4.5.2	Síntese de Boc ₂ -Ala[β - Bzl(3,4-OH)-NH]-OMe (16j)	82
4.5	Síntese de ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas	82
4.5.1	Síntese de substituintes fenólicos	82
4.5.1.1	Síntese de derivados <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil) de hidroxifenilaminas (17)	82
4.5.1.1.1	Síntese de Bzl(4-OH)-NH-Boc (17i)	83
4.5.1.1.2	Síntese de Bzl(3,4-OH)-NH-Boc (17j)	83
4.5.1.1.3	Síntese de Dopa(3,4-OH)-NH-Boc (17k).....	83
4.5.1.2	Proteção com grupo alilo (18)	84
4.5.1.2.1	Síntese de Bzl(4-OAl)-NH-Boc (18i).....	84
4.5.1.2.2	Síntese de Bzl(3,4-OAl)-NH-Boc (18j).....	85
4.5.1.2.3	Síntese de Dopa(3,4-OAl)-NH-Boc (18k).....	85
4.5.1.3	Desproteção do grupo amina (19)	86
4.5.1.3.1	Síntese de Bzl(4-OAl)-NH ₂ (19i).....	86
4.5.1.3.2	Síntese de Bzl(3,4-OAl)-NH ₂ (19j)	86
4.5.1.3.3	Síntese de Dopa(3,4-OAl)-NH ₂ (19k).....	87

4.5.2	Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas [Boc- Δ Ala(β -substituído)-OMe (20)].....	87
4.5.2.1	Síntese de Boc- Δ Ala[Bzl(4-OAl)-NH]-OMe (20i).....	88
4.5.2.2	Síntese de Boc- Δ Ala[Bzl(3,4-OAl)-NH]-OMe (20j).....	88
4.5.2.3	Síntese de Boc- Δ Ala[Dopa(3,4-OAl)-NH]-OMe (20k).....	89
5	Bibliografia.....	91

Índice de figuras

Figura 1: Equilíbrio entre a produção e remoção das ROS pelo sistema antioxidante.	3
Figura 2: Estrutura química do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH•)	6
Figura 3: Estrutura de aminoácidos.....	7
Figura 4: Estruturas de alguns aminoácidos com atividade antioxidante.....	8
Figura 5: Estrutura dos α,β -desidroaminoácidos mais comuns	11
Figura 6: Derivados da desidroalanina com atividade antioxidante	12
Figura 7: Estrutura do baretin	12
Figura 8: Estrutura de alaninas β -substituídas	18
Figura 9: Ésteres metílicos de desidroaminoácidos <i>N</i> -protegidos	27

Índice de esquemas

Esquema 1: Causas, alvos e consequências do stress oxidativo	4
Esquema 2: Tipos de antioxidantes	5
Esquema 3: Reação do radical DPPH com um antioxidante (AH)	6
Esquema 4: Formação da ligação peptídica	8
Esquema 5: Síntese de derivados de <i>N,N</i> -diacildesidroaminoácidos.....	15
Esquema 6: Síntese de derivados de <i>N</i> -acildesidroaminoácidos	17
Esquema 7: Síntese de derivados β -substituídos da <i>N,N</i> -diacilalanina.....	19
Esquema 8: Síntese de derivados de desidroaminoácidos β -substituídos	21
Esquema 9: Síntese de β -aminodesidroaminoácidos.....	22
Esquema 10: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos.....	29
Esquema 11: Síntese do éster metílico da serina.....	29
Esquema 12: Síntese dos ésteres metílicos da serina <i>N</i> -acilados	30
Esquema 13: Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -protegidos.....	31
Esquema 14: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados com ácidos fenólicos protegidos	32
Esquema 15: Síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos	33
Esquema 16: Síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos	34
Esquema 17: Síntese dos ésteres metílicos da serina <i>N</i> -protegidos.....	35
Esquema 18: Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -acilados	36
Esquema 19: Síntese dos ésteres metílicos da alanina <i>N</i> -protegidos	37
Esquema 20: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas.....	39
Esquema 21: Síntese do éster metílico da <i>N</i> -(4-toluenosulfonilo)-serina.....	39
Esquema 22: Síntese do éster metílico de <i>N</i> -(4-toluenossulfonil), <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina	40
Esquema 23: Síntese do éster metílico de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il) desidroalanina	41
Esquema 24: Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos.....	41
Esquema 25: Síntese dos ésteres metílicos da <i>N,N</i> -bis(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos	43

Esquema 26: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas.....	44
Esquema 27: Síntese de éteres alílicos de hidroxifenilaminas.....	45
Esquema 28: Síntese dos ésteres metílicos da <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos.....	47

Índice de tabelas

Tabela 1: Derivados da cisteína, metionina e tirosina com atividade antiradicalar/antioxidante..	9
Tabela 2: Derivados da valina, leucina, tirosina e fenilalanina com atividade antioxidante	10
Tabela 3: Ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -substituídos, de desidrodipeptidos <i>N</i> -substituídos, de <i>N</i> -acil-desidroalanina β -substituídos e do ácido <i>N,N</i> -(<i>tert</i> -butiloxicarbonil)desidroaminobutírico	13
Tabela 4: Rendimentos obtidos na síntese de esteres metílicos de <i>N,N</i> -diacildesidroaminoácidos	16
Tabela 5: Rendimentos obtidos na síntese de derivados de <i>N</i> -acildesidroaminoácidos	17
Tabela 6: Rendimentos obtidos na síntese dos derivados β -substituídos da <i>N,N</i> -diacilalanina ...	20
Tabela 7: Rendimentos obtidos na síntese de derivados de β -aminodesidroaminoácidos.....	22
Tabela 8: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos da serina <i>N</i> -acilados e respectiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos).	30
Tabela 9: Rendimentos obtidos na síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos	34
Tabela 10: Rendimentos obtidos na síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos	34
Tabela 11: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos da serina <i>N</i> -protegidos (compostos 6) e a respectiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos dos prótons metílicos e dos prótons dos carbonos α e β).....	35
Tabela 12: Estrutura e rendimentos obtidos na sínteses dos ésteres metílicos da desidroalanina <i>N</i> -protegidos	36
Tabela 13: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da alanina <i>N</i> -protegidos e respectiva interpretação do espectro de RMN (desvio químico de alguns prótons representativos).....	38
Tabela 14: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da <i>N-tert</i> -butiloxicarbonildesidroalaninas β -substituídos.....	42
Tabela 15: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres da <i>N,N</i> -bis(<i>tert</i> -butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos, respectiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos dos seus prótons).....	44
Tabela 16: Rendimentos obtidos na síntese de <i>N</i> -(<i>tert</i> -butiloxicarbonil)hidroxifenilaminas.....	45
Tabela 17: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres alílicos de <i>N</i> -(<i>tert</i> -butiloxicarbonil)hidroxifenilaminas e respectiva interpretação dos espectros de RMN (desvios químicos dos seus prótons).	46
Tabela 18: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres alílicos de hidroxifenilaminas.....	46

Tabela 19: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos e respectiva interpretação dos espectros de RMN (desvios químicos dos seus prótons). 48

Abreviaturas e símbolos

AH	Antioxidante
ArH	Aromático
Boc	Grupo <i>tert</i> -butiloxicarbonilo
Boc ₂ O	Piromcarbonato de <i>tert</i> -butilo
Bz	Grupo benzoílo
Bz(NO ₂)	Grupo 4-nitrobenzoílo
CAT	Enzima catálase
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
d largo	Dupleto largo
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazilo
Et ₃ N	Trietilamina
FA	Ácido ferúlico
GPx	Enzima glutationa peroxidase
GR	Enzima glutationa redutase
HOBt	1-Hidroxibenzotriazole
HBTU	Hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
m	Multiplete
Naf	Grupo naftaloílo
p.f.	Ponto de fusão
Phe	Fenilalanina
ppm	Partes por milhão

q	Quarteto
Qnx	Grupo quinoloílo
R	Cadeia lateral
R•	Espécie radicalar
RNS	Espécies reativas de nitrogênio
ROS	Espécies reativas de oxigênio
s	Singleto
SA	Ácido sinápico
s largo	Singleto largo
Ser	Serina
SOD	Superóxido dismutase
t	Tripleto
TFA	Ácido trifluoroacético
TGSO	Triglicerídeos de óleo de girassol
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês " <i>Thin Layer Chromatography</i> ")
TMG	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametilguanidina
Tos, Tosilo	Grupo 4-toluenosulfonilo
Z	Grupo benziloxicarbonilo
Z(NO ₂)	Grupo 4-nitrobenziloxicarbonilo
Δaa	Desidroaminoácidos α,β-insaturados ou α,β-desidroaminoácidos
ΔAbu	Ácido desidroaminobutírico
ΔAla	Desidroalanina
ΔLeu	Desidroleucina
ΔPhe	Desidrofenilalanina
ΔTrp	Desidrotriptofano
ΔVal	Desidrovalina

1 Introdução

1.1 Stress oxidativo

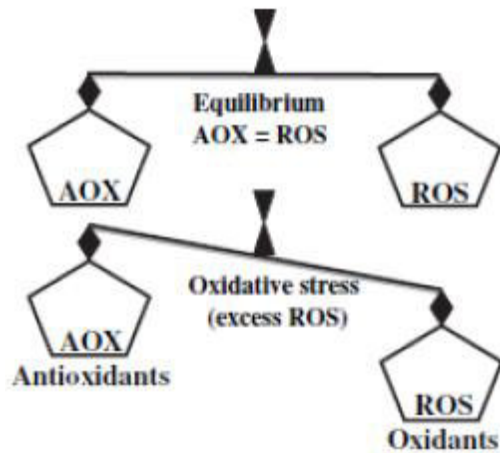


Figura 1: Equilíbrio entre a produção e remoção das ROS pelo sistema antioxidante.⁶

O stress oxidativo é um desequilíbrio entre a formação e a remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) pelos sistemas de defesa antioxidantes (Figura 1).¹

Radicais livres são espécies químicas contendo um elétron desemparelhado, altamente instáveis, com tempo de semi-vida extremamente curta e muito reativas. Estes compostos multiplicam-se rapidamente em cascata pelo sequestro de elétrons de outras moléculas, que também se

transformam por sua vez em radicais livres. Estas espécies são produzidas durante o funcionamento normal das células sob forma de ROS e RNS.⁵ Em determinadas concentrações são necessárias para a célula, estando envolvidas em vários processos fisiológicos de sinalização e de regulação.² Quando ocorre stress oxidativo, ou seja quando há produção exagerada de ROS/RNS ou quando os mecanismos de defesas antioxidantes estão diminuídos, há um excesso de ROS que podem causar dano oxidativo em moléculas orgânicas (DNA, proteínas, hidratos de carbono e lípidos, Esquema 1), levando à sua modificação e frequentemente à sua inutilização, inibindo a sua função normal e podendo mesmo causar a morte celular.

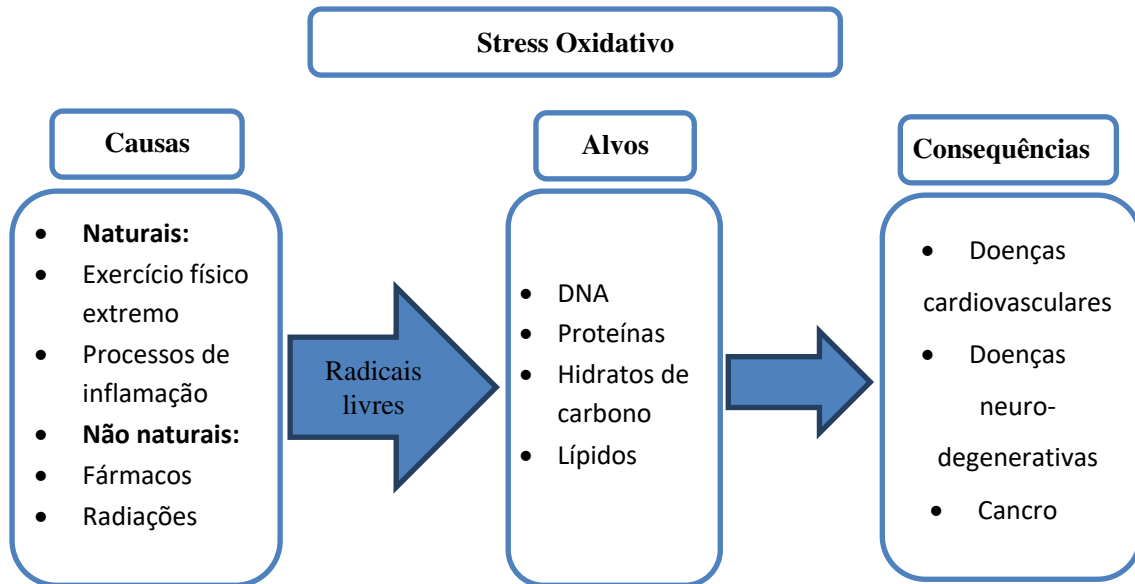
Os danos causados por stress oxidativo estão correlacionados com mais de 100 doenças, quer como causa, quer como consequência, como por exemplo doenças cardiovasculares, doenças neuro-degenerativas (Parkinson, Alzheimer), diversos tipos de cancro e processo de envelhecimento (Esquema 1).^{1,2}

A produção de ROS/RNS tem de ser controlada de modo a manter a função celular normal. Qualquer excesso de ROS deve ser continuamente inativado por enzimas antioxidantes ou utilizando antioxidantes sintéticos.³

O stress oxidativo pode ter causas naturais ou causas não naturais. Causas naturais ocorrem em situações de exercício físico extremo, ou em processos de inflamação.

Causas não naturais resultam por exemplo da presença de xenobióticos no organismo ou de ambientes radioativos (Esquema 1).²

As principais espécies reativas de oxigénio são: o oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$), o radical superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$).⁶



Esquema 1: Causas, alvos e consequências do stress oxidativo

1.2 Antioxidantes

A exposição do organismo a radicais livres provenientes de diversas fontes, levou o organismo a desenvolver uma série de mecanismos de defesa para eliminar esses radicais livres. Essas defesas são chamadas de antioxidantes e podem ser divididos em antioxidantes endógenos e antioxidantes exógenos.²

O conceito biológico de antioxidante refere-se a qualquer composto capaz de inibir ou atrasar a oxidação de um substrato oxidável. Os antioxidantes diminuem o stress oxidativo e as doenças a que está associado.¹

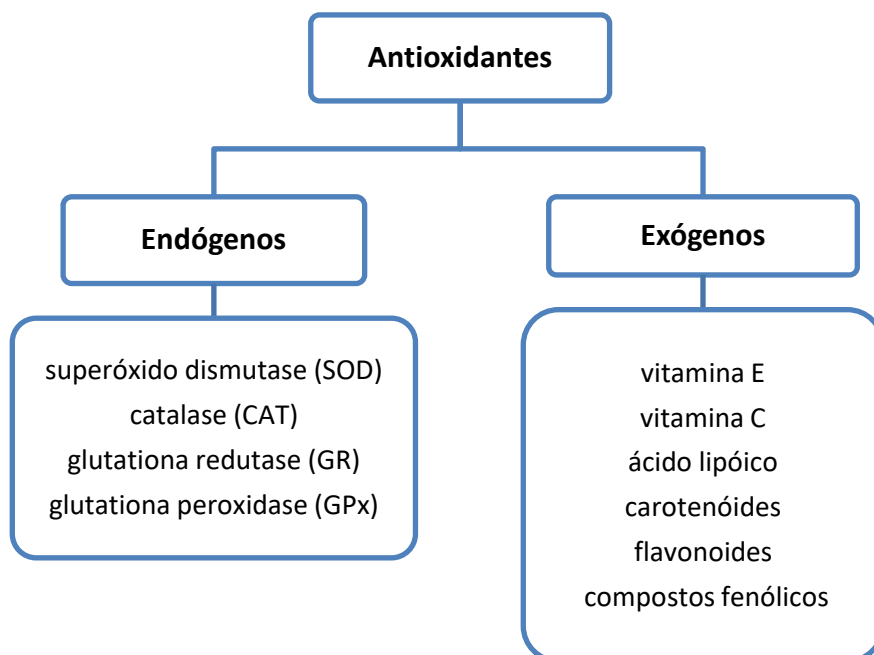
Um composto pode ter atividade antioxidante de várias formas. Pode inibir a formação de espécies reativas de oxigénio, pode neutralizar os radicais livres formados, e também pode aumentar as defesas antioxidantes endógenas. No entanto, um

antioxidante que neutraliza radicais livres normalmente tornar-se numa espécie radicalar, podendo ser também prejudicial.

Os antioxidantes que atuam sobre as espécies reativas de oxigênio podem ser enzimáticos ou não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos, são como o nome indica, constituídos por enzimas e são antioxidantes endógenos. As principais enzimas são: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione redutase (GR) e a glutathione peroxidase (GPx, Esquema 2).

Os antioxidantes não enzimáticos na sua maioria são antioxidantes exógenos constituídos por moléculas naturais ou sintéticas. Este tipo de antioxidantes são obtidos através dos alimentos, caso do α -tocoferol (vitamina E), do ácido ascórbico (vitamina C), do ácido lipóico, dos carotenoides, dos flavonoides e de muitos compostos fenólicos (Esquema 2).^{2,7}

O grupo catecol confere normalmente atividade antiradicalar às moléculas, estando presente em vários antioxidantes, como é o caso das catecolaminas e dos flavonoides. Estes antioxidantes são capazes de neutralizar espécies reativas.⁸



Esquema 2: Tipos de antioxidantes

1.3 Avaliação da atividade antiradicalar

1.3.1 Método do DPPH

O método de DPPH é um método simples e o mais utilizado para avaliar a capacidade antiradicalar de compostos. O método avalia a capacidade antiradicalar através da capacidade dos compostos em reagir com um radical livre estável, o 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH[•], Figura 2).⁹

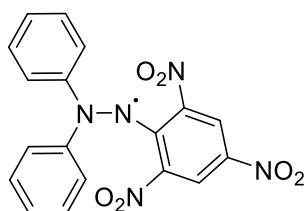
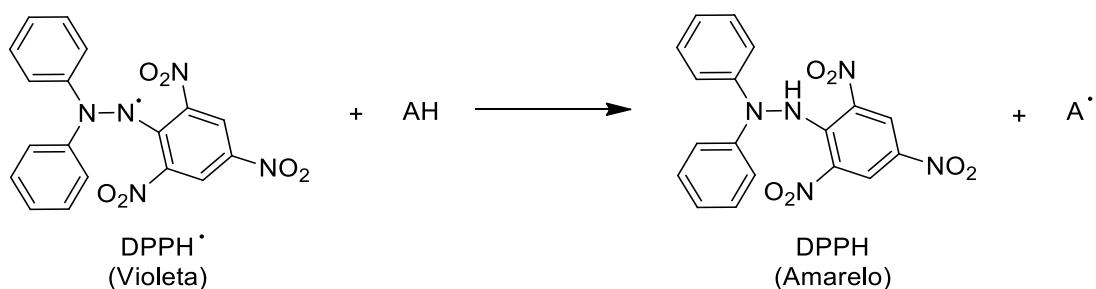


Figura 2: Estrutura química do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH[•])

O radical DPPH[•] possui uma cor violeta forte em soluções metanólicas, e apresenta um máximo de absorção a 515 nm. Quando está em contacto com um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R[•]) o radical DPPH[•] é reduzido. O eletrão desemparelhado do átomo de azoto do DPPH[•] recebe um átomo de hidrogénio, proveniente do composto antioxidante havendo uma mudança de cor, passando de violeta a amarelo, com uma diminuição da absorvância ao comprimento de onda máximo (Esquema 3). Assim, o método de DPPH baseia se na diminuição da absorvância a 515 nm do radical DPPH, devido à reação com o antioxidante.⁹



Esquema 3: Reação do radical DPPH com um antioxidante (AH)

A diminuição da absorvância do radical DPPH em função do tempo dá origem a uma curva para cada concentração de antioxidante. Essas curvas são caracterizadas por um rápido desaparecimento da absorção do radical DPPH, seguido de um lento desaparecimento deste radical. O abaixamento inicial é atribuído a reações que levam à transferência do hidrogénio do antioxidante para o radical.

A atividade antioxidante define-se a partir do parâmetro EC_{50} , que representa a concentração necessária de antioxidante para captar 50% dos radicais iniciais do DPPH. O parâmetro EC_{50} determina-se a partir da representação gráfica da variação da concentração do radical DPPH com a relação mol AO/ mol DPPH, para um determinado tempo.

Os antioxidantes que tenham um valor de EC_{50} menor serão os que representam maior atividade antiradicalar.

1.4 Aminoácidos

Aminoácidos são compostos que apresentam na sua estrutura um grupo funcional carboxilo (-COOH) e um grupo funcional amina (-NH₂), ligados ou mesmo átomo de carbono, designado por carbono α (Figura 3). Ao átomo de carbono α também se liga um hidrogénio e um grupo químico que varia conforme o aminoácido e que se designa por cadeia lateral (R). Embora atualmente se conheçam inúmeros aminoácidos, apenas 20 são codificados pelo DNA e constituem as proteínas dos seres vivos superiores.

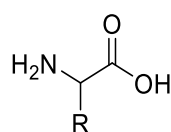
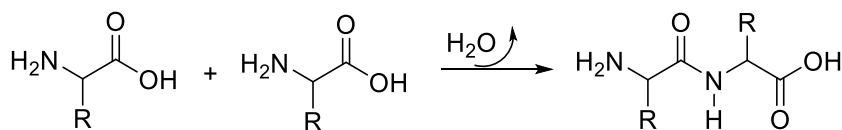


Figura 3: Estrutura de aminoácidos

Os aminoácidos ligam-se por reações de condensação entre o grupo amina de um aminoácido e o grupo carboxilo de outro, formando uma amida, designadas por ligação peptídica (Esquema 4). Este tipo de reações pode originar cadeias polipeptídicas curtas (péptidos), ou ainda originar cadeias polipeptídicas longas (proteínas). As diferentes

Introdução

cadeias laterais dos aminoácidos permitem obter péptidos e proteínas com estruturas e propriedades distintas.¹⁰



Esquema 4: Formação da ligação peptídica

Alguns aminoácidos, como a cisteína, a metionina e a tirosina, apresentam atividade antioxidante (Figura 4).¹¹

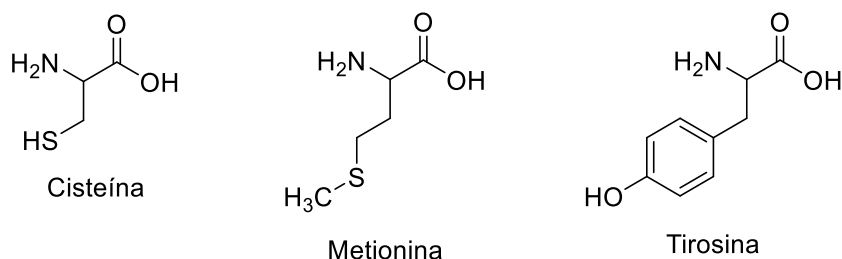
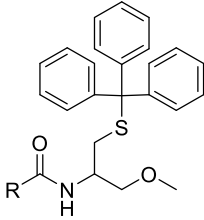
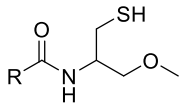
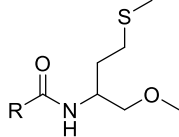
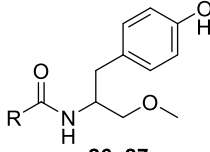
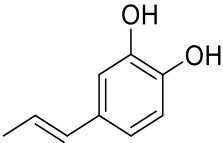
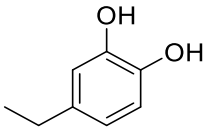
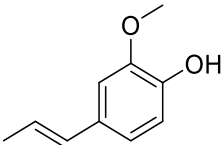
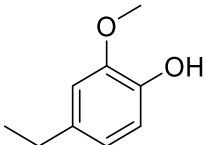
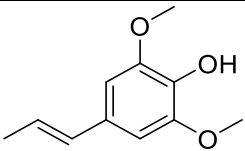
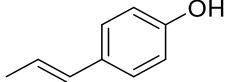
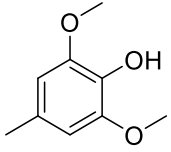
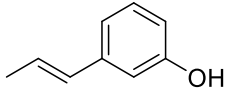
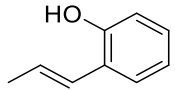


Figura 4: Estruturas de alguns aminoácidos com atividade antioxidante

V. Silvia *et al.* testaram a atividade antioxidante de derivados da cisteína, metionina e tirosina (Tabela 1). A atividade antiradicalar de derivados destes aminoácidos foi determinada pelo método do DPPH. O cloridrato do éster metílico da cisteína, da metionina, da tirosina, e os compostos **13**, **19**, **21**, **23** têm baixa atividade antiradicalar frente ao DPPH. Os compostos **7**, **15**, **24**, **26** e o ácido dihidroxifenilacético apresentam boa atividade antiradicalar frente ao DPPH.¹¹

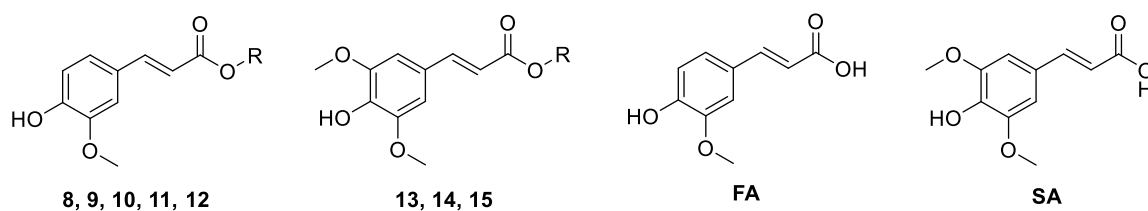
Tabela 1: Derivados da cisteína, metionina e tirosina com atividade antiradicalar/antioxidante (Adaptada¹¹)

Composto	R	Composto	R
6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22		7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23	
		24, 25	
		26, 27	
6, 7, 24, 26		14, 15, 25, 27	
8, 9		16, 17	
10, 11		18, 19	
12, 13		20, 21	
		22, 23	

A atividade antioxidante de vários derivados de aminoácidos foi determinada em triglicerídeos de óleo de girassol (TGSO), e comparada com a do ácido sinápico (SA), e do ácido ferúlico (FA) (Tabela 2). Os compostos **11** e **15** mostram ser os compostos com maior atividade antioxidante. Os compostos **13** a **15** exibiram atividade antioxidante maior que os compostos **8** a **12**. Os compostos **8** a **12** mostraram atividade antioxidante maior que o FA. Os compostos **9**, **11**, **12** e **15** apresentaram duas vezes maior poder antioxidante que o SA.¹²

Introdução

Tabela 2: Derivados da valina, leucina, tirosina e fenilalanina com atividade antioxidante (Adaptada¹²)



Composto	R	Composto	R
8		11, 15	
9		12, 14	
10, 13			

1.5 Aminoácidos não proteínogénicos

Os aminoácidos não codificados pelo DNA são denominados aminoácidos não proteínogénicos, sendo também designados por aminoácidos não naturais.

Aminoácidos não proteínogénicos podem ter atividade biológica intrínseca e/ou serem encontrados em péptidos com atividade antiviral, anti-inflamatória e imunossupressora. A incorporação destes aminoácidos em péptidos e proteínas é uma ótima via para a obtenção de compostos com novas propriedades químicas, estruturais, e farmacológicas.¹³

1.6 Desidroaminoácidos

Os desidroaminoácidos α,β -insaturados ou α,β -desidroaminoácidos (Δ aa) são aminoácidos não proteínogénicos que contêm uma ligação dupla entre carbono α e o carbono β (Figura 5). Os α,β -desidroaminoácidos fazem parte de muitos péptidos naturais e sintéticos.¹⁴

Os α,β -desidroaminoácidos mais comuns são a desidroalanina (Δ Ala), o ácido desidroaminobutírico (Δ Abu), a desidrofénilalanina (Δ Phe), a desidrovalina (Δ Val), a desidroleucina (Δ Leu) e o desidrotriptofano (Δ Trp).

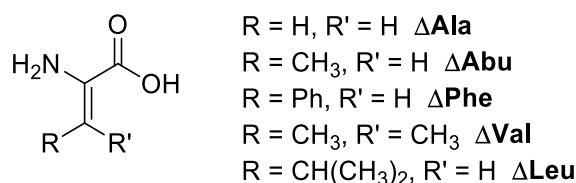


Figura 5: Estrutura dos α,β -desidroaminoácidos mais comuns

Devido à existência da dupla ligação que lhes confere uma geometria planar e possibilita a existência de isomerismo *E/Z*, os desidroaminoácidos têm propriedades diferentes dos aminoácidos naturais.¹⁴

Os desidroaminoácidos não se encontram livres na natureza pois são bastante instáveis e podem sofrer hidrólise. Surgem em algumas bactérias, leveduras e antibióticos naturais.

A introdução de desidroaminoácidos em péptidos provoca alterações nas propriedades químicas e biológicas, uma vez que a ligação dupla do desidroaminoácido está conjugada com a ligação peptídica formando uma estrutura planar rígida. Isto afeta a reatividade química e a conformação dos péptidos.^{15,16}

Os desidroaminoácidos representam uma classe importante de compostos, uma vez que são intermediários chave na síntese de novos aminoácidos e péptidos sendo também encontrados em vários antibióticos naturais.^{17,18} Desempenham também um papel importante no centro ativo de algumas enzimas. Para além destas propriedades, os desidroaminoácidos mostram atividade antioxidante.

Introdução

Os derivados da desidroalanina mostraram-se úteis na proteção da pele, mucosas e cabelo contra o stress oxidativo (Figura 6).⁴

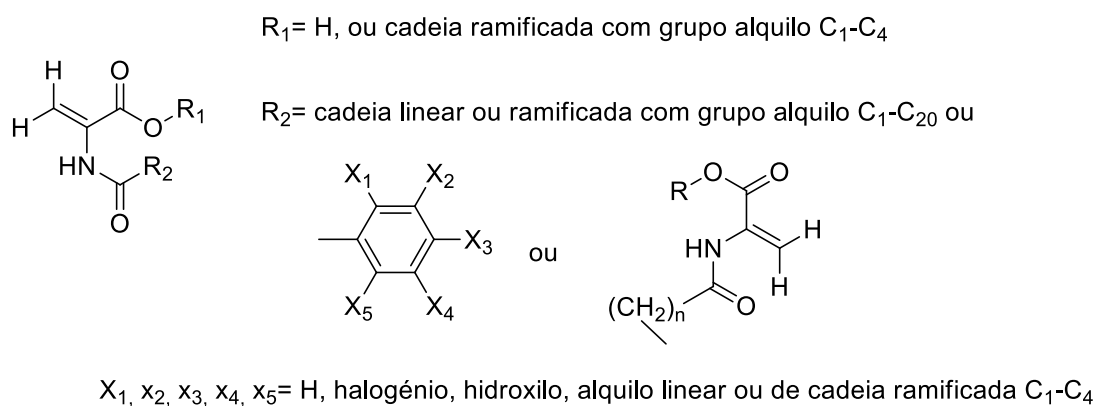


Figura 6: Derivados da desidroalanina com atividade antioxidante (Adaptada⁴)

O baretin é um péptido natural derivado do ΔTrp que exibe atividade antioxidante e anti-inflamatória (Figura 7).¹⁴

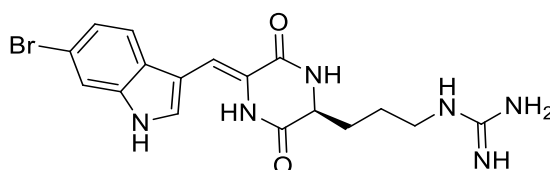
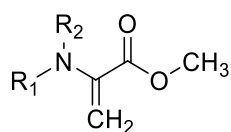
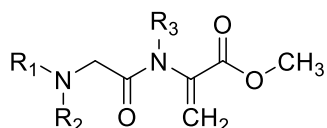


Figura 7: Estrutura do baretin

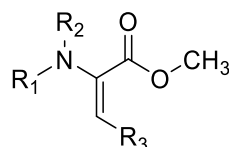
Ferreira *et al.* testaram a atividade antioxidante de catorze derivados da desidroalanina, comparando-a com a atividade do α -tocoferol (Tabela 3).³ Alguns derivados da desidroalanina mostraram atividade sobre a inibição da peroxidação lipídica mais alta que a atividade do α -tocoferol. Os compostos **1**, **2** e **9** apresentaram atividade mais elevada do que α -tocoferol. Os compostos **3**, **7**, **8**, **13** e **14** apresentaram atividade de inibição moderada e, os compostos **6**, **10** e **11** apresentaram baixa atividade de inibição.

Tabela 3: Ésteres metílicos da desidroalanina *N*-substituídos, de desidrodipéptidos *N*-substituídos, de *N*-acil-desidroalanina β -substituídos e do ácido *N,N*-(bis-*tert*-butiloxicarbonil)desidroaminobutírico (Adaptada³)

Composto	R ₁	R ₂
1	Boc	Boc
2		Boc
3		Boc
4		Boc
5	Boc	H
6		H
7		H



Composto	R ₁	R ₂	R ₃
8	Boc	Boc	Boc
9	Boc	H	H



Composto	R ₁	R ₂	R ₃
10	Boc	H	
11	Boc	H	
12	Boc	H	
13	Boc	H	
14	Boc	Boc	

1.7 Síntese de desidroaminoácidos

Os desidroaminoácidos não se encontram livres na natureza, têm sido sintetizados como derivados de aminas, ésteres carboxílicos ou derivados *N*-acilados. A via biossintética principal para a síntese de desidroaminoácidos é a via que envolve reações de eliminação.

Pode-se efetuar a síntese química de α,β -desidroaminoácidos utilizando diferentes métodos, nomeadamente por condensação de α -cetoácidos com amidas ou nitrilos; por degradação de Hofmann de resíduos de α,β -diaminopropionilo; por redução de α -azidoacrilatos e α -azidocarboxilatos e por hidrólise de oxazolinonas insaturadas.^{19,20}

Apesar dos processos referidos anteriormente, os métodos de síntese mais importante de α,β -desidroaminoácidos são métodos relacionados com a via biossintética. Existem várias vias possíveis, como a desidratação de *N*-hidroxiaminoácidos; a desidratação de α -hidroxiaminoácidos, a oxidação direta de aminoácidos ou reações de eliminação em β -hidroxiaminoácidos ou β -mercaptoaminoácidos.^{21,22}

1.8 Síntese de desidroaminoácidos por reação de eliminação

O método mais simples para a síntese de desidroaminoácidos é por reações de β -eliminação, usando como precursores β -hidroxiaminoácidos [serina (Ser) e treonina (Thr)] para se obter o desidroaminoácido correspondente [desidroalanina (Δ Ala) e ácido desidroaminobutírico (Δ Abu)].^{21,22} Para realizar as reações de β -eliminação têm sido utilizados vários reagentes de desidratação. O dietilazodicarboxilato e a trifenilfosfina foram usados como reagentes para a desidratação de derivados de ésteres metílicos de *N*-acilserina e treonina, obtendo-se os compostos desidratados com rendimentos moderados. Contudo, no caso dos derivados do ácido desidroaminobutírico, obteve-se uma mistura 1:1 de isómeros *E/Z*.²³

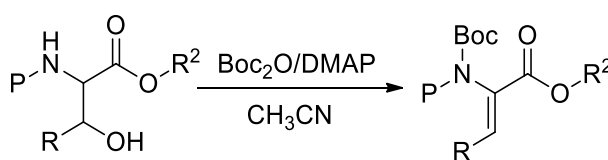
Um aumento dos rendimentos da síntese foi possível quando foi realizado o tratamento dos ésteres metílicos do *N*-benziloxycarbonilserina e *N*-benziloxycarboniltreonina com carbonato de di-succinimida e trietilamina (Et_3N) em acetonitrilo. Para o derivado de Δ Ala o rendimento foi de 90% e para o derivado de Δ Abu para além do rendimento ter aumentado em relação ao método descrito em cima (70%), a reação foi estereosseletiva originando apenas o isómero *Z*.²⁴

Utilizando dietilclorofostato e hidreto de sódio em THF para o tratamento dos ésteres metílicos da *N*-benziloxycarboniltreonina e da *N*-benziloxycarbonilserina, obtém-se os respetivos desidroaminoácidos com bons rendimentos. Neste caso a reação também foi estereosseletiva para o Δ Abu originando apenas o isómero *Z*.²⁵

Goodall e Parson sintetizaram desidroaminoácidos por reação de diversos cloretos de haloacetilo e Et_3N com derivados da Ser e da Thr, obtendo rendimentos entre 39% e 89%. Porém a reação não foi estereosseletiva para os derivados de treonina.²⁶

Berkowitz e Pederson desenvolveram um método de proteção simultânea, que protegia as funções amina e carboxilo de aminoácidos com cloroformiato de benzilo na presença de DMAP e Et₃N.²⁷ Usando estas condições Ferreira *et al.* verificaram que a Ser sofre eliminação e origina o éster benzílico da *N*-benziloxicarbonilo-desidroalanina com rendimento de 51%. Utilizando o mesmo método com derivados da Ser *N*-protegidos com os grupos protetores Boc, Z, Z(NO₂) e Tos ou protegidos no *N*- e *C*-terminal, obteve-se derivados da desidroalanina com rendimentos entre 56-76%. Para a treonina a reação foi completa, porém não foi possível obter o produto puro, mas uma mistura dos dois estereoisômeros do ácido desidroaminobutírico.

O método descrito por Nugent para a síntese de desidroaminoácidos a partir de β-hidroxi aminoácidos demonstra que a introdução de um segundo grupo volumoso no átomo de azoto pode facilitar a reação de eliminação e, conseqüentemente aumentar os rendimentos. Ragnarsson *et al.* desenvolveram um método de introdução dos grupos volumosos em *N*-acilaminoácidos. Neste caso o grupo utilizado foi o grupo *tert*-butiloxicarbonilo que foi introduzido no átomo de azoto de aminas *N*-aciladas por reação destas com pirocarbonato de *tert*-butilo na presença de dimetilaminopiridina (DMAP).²⁸ Utilizando este método Ferreira *et al.* fizeram reagir os esteres metílicos de serina, treonina e β-hidroxifenilalanina protegidos com vários grupos protetores com 2 equivalentes de Boc₂O, na presença de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco. Verificaram que para além de conseguirem introduzir o grupo Boc como segundo grupo acilante formavam o derivado carbonato de *tert*-butilo do β-hidroxi aminoácido. O derivado carbonato de *tert*-butilo obtido sofre eliminação com formação do correspondente derivado do desidroaminoácido com excelente rendimento. Esta reação é estereosseletiva, dando origem ao isômero *Z* dos derivados do ácido desidroaminobutírico e da desidrofenilalanina (Esquema 5, Tabela 4).^{29,30}



R: H, Me, Ph

P: Boc, Z, Z(NO₂), Dpp, Tos, Bz

R²: H, Me, Bn

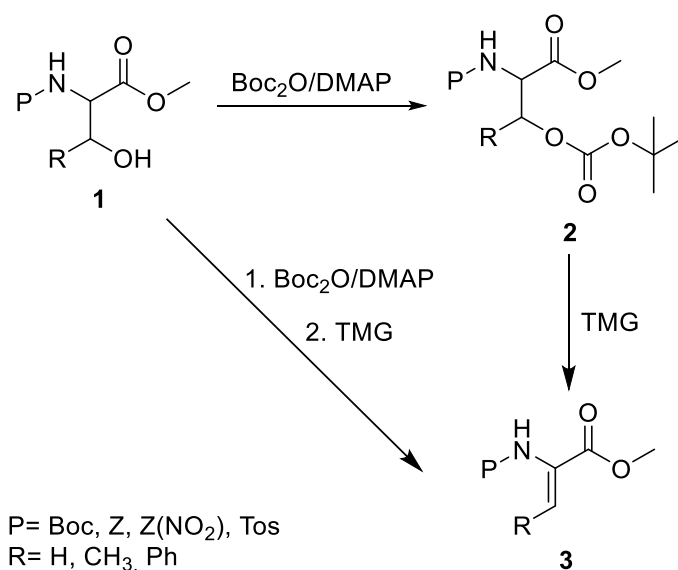
Esquema 5: Síntese de derivados de *N,N*-diacildesidroaminoácidos (Adaptado^{29,30})

Tabela 4: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N,N*-diacildesidroaminoácidos (Adaptada^{29,30})

Reagente	Produto	Rendimento (%)
Boc-Ser-OMe	Boc- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	92
Z-Ser-OMe	Z- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	85
Z(NO ₂)-Ser-OMe	Z(NO ₂)- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	93
Z(NO ₂)-Ser-OBn	Z(NO ₂)- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OBn	91
Tos-Ser-OMe	Tos- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	99
Tos-Ser-OBn	Tos- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OBn	97
Bz-Ser-OMe	Bz- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	92
Bz-Ser-OBn	Bz- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OBn	92
Boc-Thr-OMe	Boc-Z- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-OMe	87
Z-Thr-OMe	Z-Z- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-OMe	94
Z(NO ₂)-Thr-OMe	Z(NO ₂)-Z- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-OMe	92
Tos-Thr-OMe	Tos-Z- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-OMe	87
Z(NO ₂)-Phe(β -OH)-OMe	Z(NO ₂)-Z- Δ Phe(<i>N</i> -Boc)-OMe	93
Boc-Ser-OH	Boc- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-O ^t Bu	73
Boc-Thr-OH	Boc- Δ Abu(<i>N</i> -Boc)-O ^t Bu	73
H-Ser-OMe	Boc- Δ Ala(<i>N</i> -Boc)-OMe	82

Este método também foi aplicado na preparação de desidrodipéptidos, fazendo reagir dipéptidos contendo serina, treonina ou β -hidroxifenilserina com 3 eq. de pirocarbonato de *tert*-butilo, obtendo-se desidrodipéptidos com elevados rendimentos (74-96%). No caso dos dipéptidos contendo treonina ou β -hidroxifenilalanina a reação foi estereosseletiva.³¹

Ferreira *et al.* realizaram uma alteração no método da síntese de desidroaminoácidos, com o objetivo de obter desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos. Estes desidroaminoácidos foram sintetizados pela reação dos desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos com apenas um equivalente de Boc₂O para formação do carbonato e o uso de *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (TMG) para induzir a eliminação deste com subsequente formação da dupla ligação entre o carbono α e o carbono β (Esquema 6).

Esquema 6: Síntese de derivados de *N*-acildesidroaminoácidos (Apaptado³¹)

Os desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos foram obtidos com rendimentos compreendidos entre 65 e 95% (Tabela 5).³¹

Tabela 5: Rendimentos obtidos na síntese de derivados de *N*-acildesidroaminoácidos (Apaptada³¹)

Reagente	2	η (%)	3	η (%)
Boc-Ser-OMe (1a)	Boc-Ser(<i>O</i> -Boc)-OMe (2a)	80	Boc-ΔAla-OMe (3a)	87
Boc-Ser-OMe (1a)	-	-	Boc-ΔAla-OMe (3a)	82
Z-Ser-OMe (1b)	Z-Ser(<i>O</i> -Boc)-OMe (2b)	86	Z-ΔAla-OMe (3b)	82
Z-Ser-OMe (1b)	-	-	Z-ΔAla-OMe (3b)	90
Z(NO ₂)-Ser-OMe (1c)	Z(NO ₂)-Ser(<i>O</i> -Boc)-OMe (2c)	83	Z(NO ₂)-ΔAla-OMe (3c)	85
Z(NO ₂)-Ser-OMe (1c)	-	-	Z(NO ₂)-ΔAla-OMe (3c)	90
Tos-Ser-OMe (1d)	Tos-Ser(<i>O</i> -Boc)-OMe (2d)	81	Tos-ΔAla-OMe (3d)	-
Tos-Ser-OMe (1d)	-	-	Tos-ΔAla-OMe (3d)	65
Boc-Thr-OMe (1e)	Boc-Thr(<i>O</i> -Boc)-OMe (2e)	87	Boc-ΔAbu-OMe (3e)	98
Boc-Thr-OMe (1e)	-	-	Boc-ΔAbu-OMe (3e)	82
Z-Thr-OMe (1f)	Z-Thr(<i>O</i> -Boc)-OMe (2f)	86	Z-ΔAbu-OMe (3f)	84
Z-Thr-OMe (1f)	-	-	Z-ΔAbu-OMe (3f)	83
Z(NO ₂)-Thr-OMe (1g)	Z(NO ₂)-Thr(<i>O</i> -Boc)-OMe (2g)	89	Z(NO ₂)-ΔAbu-OMe (3g)	95
Z(NO ₂)-Thr-OMe (1g)	-	-	Z(NO ₂)-ΔAbu-OMe (3g)	91
Tos-Thr-OMe (1h)	Tos-Thr(<i>O</i> -Boc)-OMe (2h)	90	Tos-ΔAbu-OMe (3h)	91
Tos-Thr-OMe (1h)	-	-	Tos-ΔAbu-OMe (3h)	86

Reagente	2	η (%)	3	η (%)
Boc-Phe(β -OH)-OMe (1i)	Boc-Phe(O-Boc)-OMe (2i)	82	Boc- Δ Phe-OMe (3i)	88
Boc-Phe(β -OH)-OMe (1i)	-	-	Boc- Δ Phe-OMe (3i)	81
Tos-Phe(β -OH)-OMe (1j)	Tos-Phe(O-Boc)-OMe (2j)	73	Tos- Δ Phe-OMe (3j)	-
Tos-Phe(β -OH)-OMe (1j)	-	-	Tos- Δ Phe-OMe (3j)	81

1.9 Alaninas β -substituídas

Alaninas β -substituídas são aminoácidos com um substituinte ligado ao carbono β (Figura 8) sendo esse substituinte diferente dos existentes nos aminoácidos proteinogénicos. Algumas alaninas β -substituídas apresentam atividade biológica, como por exemplo β -(pirazol-1-il)-alanina que tem propriedades hipoglicémicas. Também fazem parte de péptidos que possuem atividade antibiótica ou anti tumoral, podendo, ainda, atuar como inibidores enzimáticos.^{32,33}

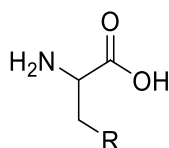


Figura 8: Estrutura de alaninas β -substituídas

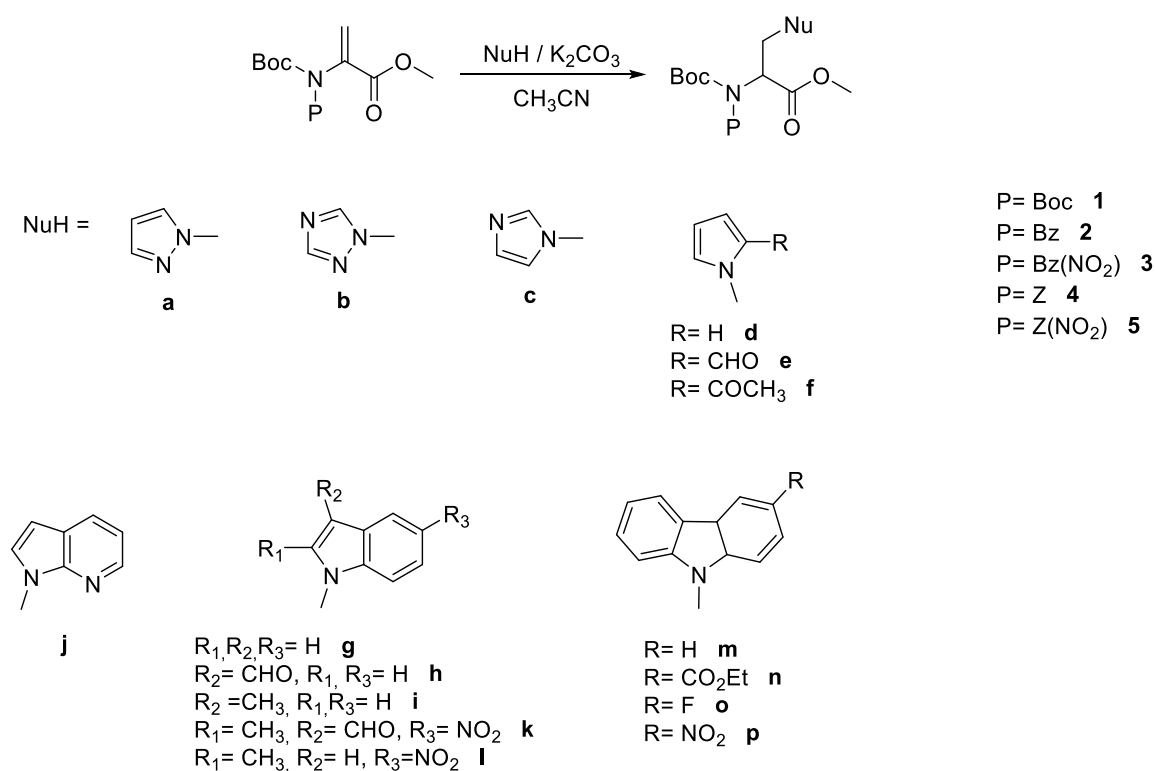
As alaninas β -substituídas foram isoladas de fontes vegetais e bacterianas, caso do β -(pirazol-1-il)-alanina que é isolada a partir do sumo da melancia. Devido à sua atividade biológica têm sido desenvolvidos vários métodos para a sua síntese.³³

1.10 Síntese de alaninas β -substituídas

Zahn, em 1965, sintetizou uma alanina β -substituída, a N^ϵ -(2-amino-2-carboxi-etil)-L-lisina, com rendimento de 96,5% pela adição de N^α -acetil-L-lisina ao éster etílico de N -acetildesidroalanina na presença de hidróxido de sódio. Posteriormente a benzilamina foi feita reagir por adição de Michael a Boc- Δ Ala-OMe na ausência de uma base inorgânica tendo-se obtido o éster metílico do N^α -(*tert*-butiloxicarbonil)- N^β -benzildiaminopropiónico com um rendimento de 64%.³³

As alaninas β -substituídas também foram obtidas por adição de Michael catalisadas por FeCl_3 de nucleófilos de azoto a derivados de alaninas. Os rendimentos obtidos variavam entre 13 e 98%. Reações na presença de uma base inorgânica, em vez de FeCl_3 , permitiu obter β -(pirazol-1-il) alanina e β -(1,2,4-triazol-1-il) alanina com rendimentos de 54 e 78%, respectivamente. Esta síntese apresenta algumas dificuldades na purificação dos compostos obtidos devido à solubilidade semelhante dos produtos e dos reagentes de partida. Para contornar essas dificuldades utilizou-se síntese em fase sólida. *N*-Acetildesidroalanina foi ancorada a uma resina Wang e tratado com nucleófilos, na presença de carbonato de potássio em várias condições (utilizando 6 a 15 equivalentes de nucleófilo; reações de 2 dias; e com temperaturas entre 50-60 $^{\circ}\text{C}$).³³

Ferreira *et al.* sintetizaram vários derivados de alaninas β -substituídas, por reação de Michael entre desidroaminoácidos *N,N*-dissubstituídos e vários nucleófilos. Fizeram reagir os derivados de desidroaminoácidos *N,N*-dissubstituídos com 1 equivalente de vários nucleófilos em acetonitrilo na presença de 6 equivalentes de carbonato de potássio tendo obtido vários derivados β -substituídos da *N,N*-diacilalanina com rendimentos compreendidos entre 37-99% (Esquema 7, Tabela 6).^{33,34}



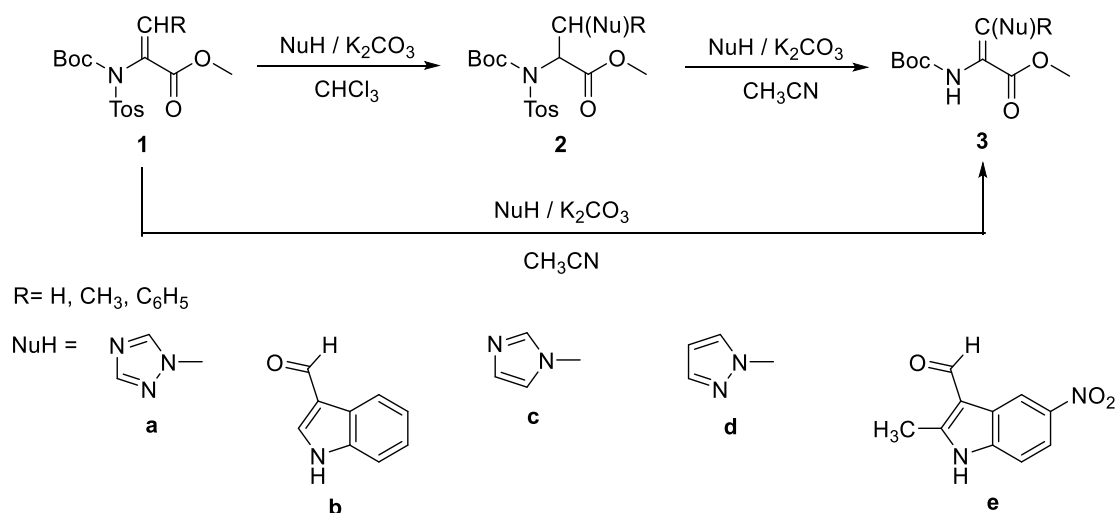
Esquema 7: Síntese de derivados β -substituídos da *N,N*-diacilalanina (Adaptado^{33,34})

Tabela 6: Rendimentos obtidos na síntese dos derivados β -substituídos da *N,N*-diacilalanina (Adaptada^{33,34})

P	NuH	Produto	η (%)
1	a	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirazol-1-il)]-OMe (1a)	98
1	b	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(1,2,4-triazol-1-il)]-OMe (1b)	99
1	c	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(imidazol-1-il)]-OMe (1c)	98
1	d	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirrol)]-OMe (1d)	-
1	e	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(2-formilpirrol)]-OMe (1e)	99
1	f	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(2-acetilpirrol)]-OMe (1f)	82
1	g	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(indole)]-OMe (1g)	49
1	h	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(3-formilindole)]-OMe (1h)	99
1	i	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(3-metilindole)]-OMe (1i)	-
1	j	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(7-azaindol)]-OMe (1j)	93
1	k	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(3-formil-2-metil-5-nitroindol)]-OMe (1k)	87
1	l	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(2-metil-5-nitroindol)]-OMe (1l)	93
1	m	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(carbazol-9-il)]-OMe (1m)	53
1	n	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -[3-(ethoxycarbonil)carbazol-9-il]]-OMe (1n)	93
1	o	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(3-fluorocarbazol-9-il)]-OMe (1o)	80
1	p	Boc-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(3-nitrocarbazol-9-il)]-OMe (1p)	93
2	a	Bz-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirazol)]-OMe (2a)	53
2	b	Bz-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(1,2,4-triazol)]-OMe (2b)	98
2	j	Bz-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(7-azaindol)]-OMe (2j)	92
3	a	Bz(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirazol)]-OMe (3a)	^a
3	b	Bz(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(1,2,4-triazol)]-OMe (3b)	67
3	j	Bz(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(7-azaindol)]-OMe (3j)	54
4	a	Z-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirazol)]-OMe (4a)	48
4	b	Z-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(1,2,4-triazol)]-OMe (4b)	98
4	j	Z-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(7-azaindol)]-OMe (4j)	99
5	a	Z(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(pirazol)]-OMe (5a)	37
5	b	Z(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(1,2,4-triazol)]-OMe (5b)	98
5	g	Z(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(índole)]-OMe (5g)	46
5	j	Z(NO ₂)-Ala[<i>N</i> -Boc- β -(7-azaindol)]-OMe (5j)	87

^a Isolou-se apenas Boc- Δ Ala-OMe, com um rendimento de 82%.

Ferreira *et al.* também sintetizaram vários derivados de desidroaminoácidos β -substituídos, por reação de Michael, a partir de derivados de *N*-(4-toluenosulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroaminoácidos.³⁵ Os derivados de *N*-(4-toluenosulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroaminoácidos reagiram com 1 equivalente de vários nucleófilos em acetonitrilo na presença de um excesso de carbonato de potássio (6 equivalentes). Após reagir 16 horas, obtiveram vários derivados de desidroaminoácidos β -substituídos (compostos **3**) com rendimentos compreendidos entre 83-95% (Esquema 8). Quando a reação é efetuada em clorofórmio obtém-se o composto **2** com rendimento quantitativo. O composto **2** pode ser convertido no composto **3** se for tratado com carbonato de potássio em acetonitrilo.

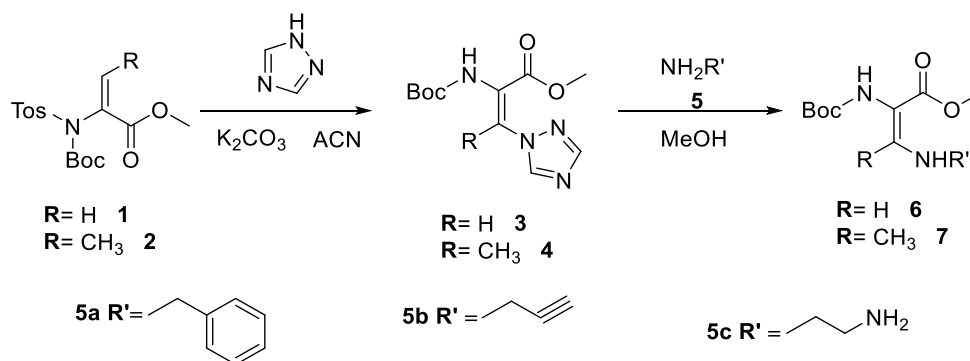


Esquema 8: Síntese de derivados de desidroaminoácidos β -substituídos (Adaptado³⁵)

Verifica-se assim que os *N*-(4-toluenosulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroaminoácidos comportam-se de forma diferente dos restantes *N*-acil, *N*-Boc desidroaminoácidos, pois ocorre a eliminação do grupo Tos e a regeneração da ligação dupla.³⁵

A síntese de vários derivados de β -amino- α,β -desidroalanina, obtidos da reação de Boc- Δ Ala[β -(1,2,4-triazol-1-il)]-OMe com 2.2 equivalentes de várias aminas em metanol foi descrita por Ferreira *et al.* (Esquema 9).

Introdução



Esquema 9: Síntese de β -aminodesidroaminoácidos (Adaptado³⁶)

Os derivados de β -amino- α,β -desidroalanina foram obtidos com rendimentos compreendidos entre 49 e 95% (Tabela 7).³⁶

Tabela 7: Rendimentos obtidos na síntese de derivados de β -aminodesidroaminoácidos (Adaptada³⁶)

Reagente	NH ₂ R'	Produto	η (%)
3	5a	(<i>E</i>)-Boc- Δ Ala(β -benzilamina)-OMe (6a)	87
3	5b	(<i>E</i>)-Boc- Δ Ala(β -propargilamina)-OMe (6b)	82
3	5c	(<i>E</i>)-Boc- Δ Ala(β -[<i>N</i> -(2-aminoetil)amina])-OMe (6c)	90
4	5a	(<i>E</i>)-Boc- Δ Abu(β -benzilamina)-OMe (7a)	95
4	5b	(<i>E</i>)-Boc- Δ Abu(β -propargilamina)-OMe (7b)	92
4	5c	(<i>E</i>)-Boc- Δ Abu(β -[<i>N</i> -(2-aminoetil)amina])-OMe (7c)	49

1.11 Objetivo

A necessidade de controlar as espécies reativas de oxigênio tem levado a utilização de antioxidantes. Os antioxidantes utilizados podem ser sintéticos. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi a síntese a partir de β -hidroxiaminoácidos de vários desidroaminoácidos conjugados com compostos fenólicos. Os compostos fenólicos utilizados são compostos com atividade antioxidante estabelecida. Desta forma, pretende-se aumentar as propriedades antioxidantes dos desidroaminoácidos.

A sequência de reação proposta teria início com a síntese do cloridrato do éster metílico da serina, seguindo-se a reação de proteção com o grupo acilante adequado contendo a estrutura fenólica e posterior desidratação, obtendo-se ésteres metílicos de desidroalaninas *N*-acilados. Foram igualmente sintetizados ésteres metílicos da alanina

N-acilados com os mesmos derivados fenólicos de modo a comparar a sua atividade antioxidante com os correspondentes derivados de desidroalanina.

Propôs se igualmente sintetizar ésteres metílicos de *N*-Boc desidroalaninas β -substituídas com compostos fenólicos. A sequência reacional utilizada começou com a síntese do éster metílico de *N*-(4-toluenosulfonilo)-serina, seguindo-se a síntese do éster metílico de *N*-(4-toluenossulfonil), *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina. Este por reação com o 1,2,4-triazole dá origem ao éster metílico de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il)desidroalanina. Finalmente seria efetuada a substituição do triazole por substituintes fenólicos com potencial atividade antioxidante, obtendo-se os ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos.

Após a síntese dos ésteres metílicos de desidroalaninas *N*-protegidos e dos ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos pretende-se testar a sua atividade antioxidante.

2 Resultados e Discussão

Os testes foram efetuados numa placa BD Falcon de 96 poços (8×12) de poliestireno, onde se colocaram 250 µL da solução etanólica de DPPH (0,0001349 mol.dm⁻³) e adicionaram-se 50 µL de uma solução etanólica de cada antioxidante (1.186-0.2372 mol AO/ mol DPPH, concentração em cada poço).

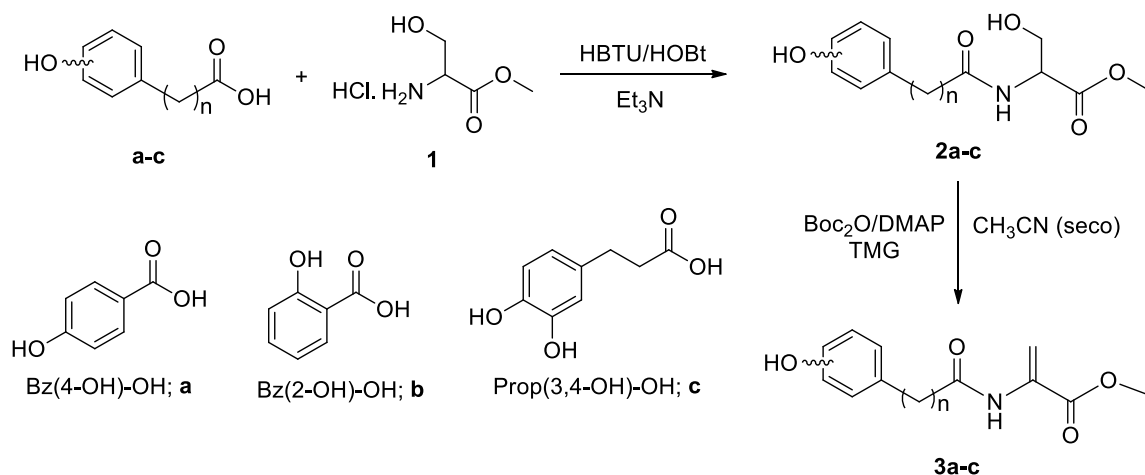
Determinou-se a absorvância a 515 nm por um período de 20 minutos, com intervalos de 5 minutos à temperatura ambiente. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

Os resultados obtidos mostram que em solução etanólica, e ao longo dos 20 minutos de reação, os derivados de ésteres metílicos de desidroaminoácidos *N*-protegidos testados não apresentaram atividade antiradicalar frente ao radical DPPH.

2.2 Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos

Em face dos resultados anteriormente obtidos e com o objetivo de se obter compostos com atividade antioxidante, decidiu-se sintetizar novos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com grupos contendo estruturas fenólicas com atividade antioxidante conhecida.

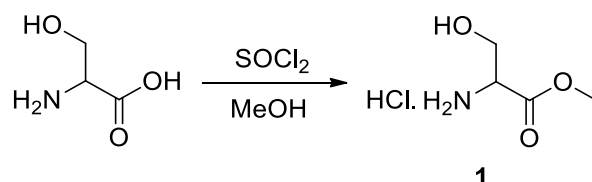
A síntese dos ésteres metílicos de desidroalaninas *N*-acilados foi planeada em 3 etapas. Inicialmente sintetizou-se o cloridrato do éster metílico da serina, seguindo-se a reação de acilação com o ácido fenólico adequado e posterior desidratação (Esquema 10). Os grupos utilizados foram o ácido 4-hidroxibenzoico, o ácido 2-hidroxibenzoico e ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)propanoico.



Esquema 10: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos

2.2.1 Síntese do éster metílico da serina

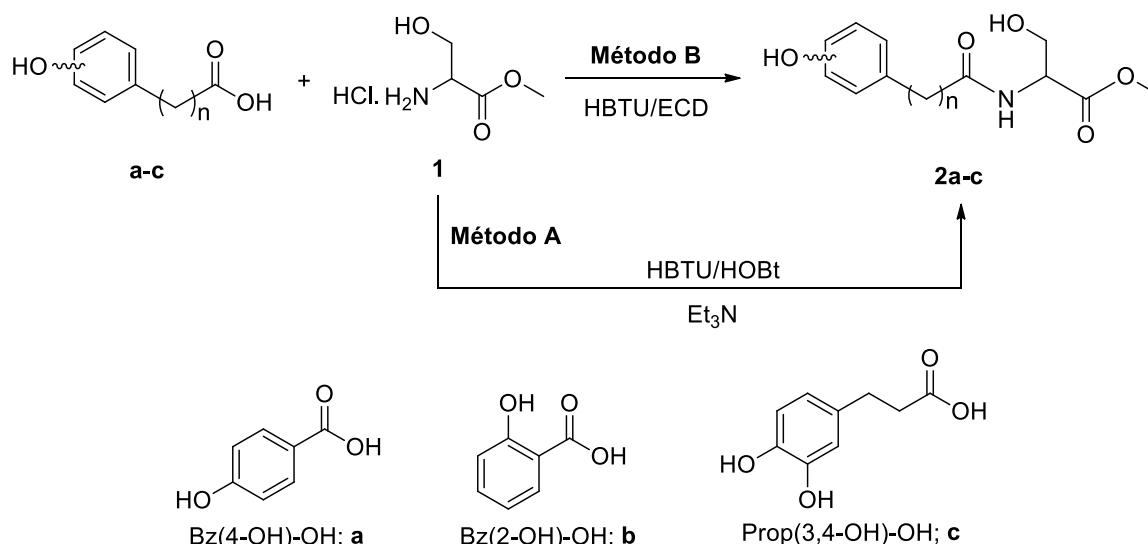
O éster metílico da serina [HCl-Ser-OMe (composto **1**)] foi obtido como um sólido branco com rendimento de 68% através da reação entre uma solução de cloreto de tionilo e metanol na qual se adicionou lentamente em banho de gelo o cloridrato do aminoácido L-serina aquecendo depois a solução a 40°C (Esquema 11).



Esquema 11: Síntese do éster metílico da serina

2.2.2 Síntese dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados com ácidos fenólicos

Em seguida adicionou-se o grupo acilo pretendido ao éster metílico da serina. Para esta reação foram utilizados 2 métodos diferentes. No método **A** os ácidos fenólicos 4-hidroxibenzoico (composto **a**) e 2-hidroxibenzoico (composto **b**) reagiram com 1 equivalente de éster metílico da L-serina (**1**), em acetonitrilo, na presença de 1 equivalente de 1-hidroxibenzotriazole (HOBt), 1 equivalente de hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il) -1,1,3,3-tetrametilurônio (HBTU), e 2.2 equivalentes de Et₃N. Obteve-se os ésteres metílicos da serina *N*-acilados (**2a** e **2b**, Esquema 12).



Esquema 12: Síntese dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados

Os compostos **2a** e **2b** foram submetidos a análise por espectroscopia de ^1H RMN permitindo assim confirmar a estrutura do composto. No espectro de RMN de ^1H evidenciou-se o aparecimento de um singlete com $\delta \approx 3.8$ ppm correspondente aos prótons OCH_3 , um multipletto com $\delta \approx 4\text{-}4.1$ ppm correspondente aos prótons βCH_2 , um multipletto a $\delta \approx 4.8\text{-}4.9$ correspondente aos prótons αCH e a $\delta \approx 6\text{-}8$ ppm aos prótons aromáticos (Tabela 8).

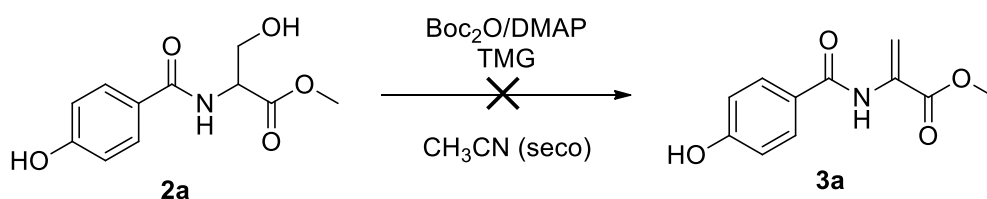
Tabela 8: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos da serina *N*-acilados e respectiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos).

Composto	Bz(4-OH)-Ser-OMe (2a)	Bz(2-OH)-Ser-OMe (2b)	
Estrutura			
Rendimento (%)	99	92	
Desvio químico (ppm)	OCH_3	3.84 (s)	3.86 (s)
	βCH_2	4.09-4.10 (m)	4.05-4.10 (m)
	αCH	4.86-4.88 (m)	4.85-4.87 (m)
	Bz(2-OH)		6.88-6.92 (m), 6.99-7.01 (m) 7.41-7.46 (m) e 7.52-7.54 (m)
	Bz(4-OH)	7.47-7.49 (m) e 7.80-7.84 (m)	

No método **B** o composto **a** e o ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)propanoico (composto **c**) reagiram com 1 equivalente de HOBT e 1 equivalente de ECD em DMF e posteriormente adicionou-se à mistura reacional 1 equivalente de éster metílico da serina (composto **1**) em diclorometano. Após obtenção do espectro de RMN de ^1H da mistura reacional, apenas se observaram os sinais do reagente de partida.

2.2.3 Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos

Efetuuou-se a desidratação dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados (compostos **2**). Para tal, fez-se reagir o composto **2a** com Boc_2O usando 0,1 equivalentes de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco, e adicionando-se posteriormente o TMG. No entanto não foi possível obter o composto pretendido (composto **3a**, Esquema 13).



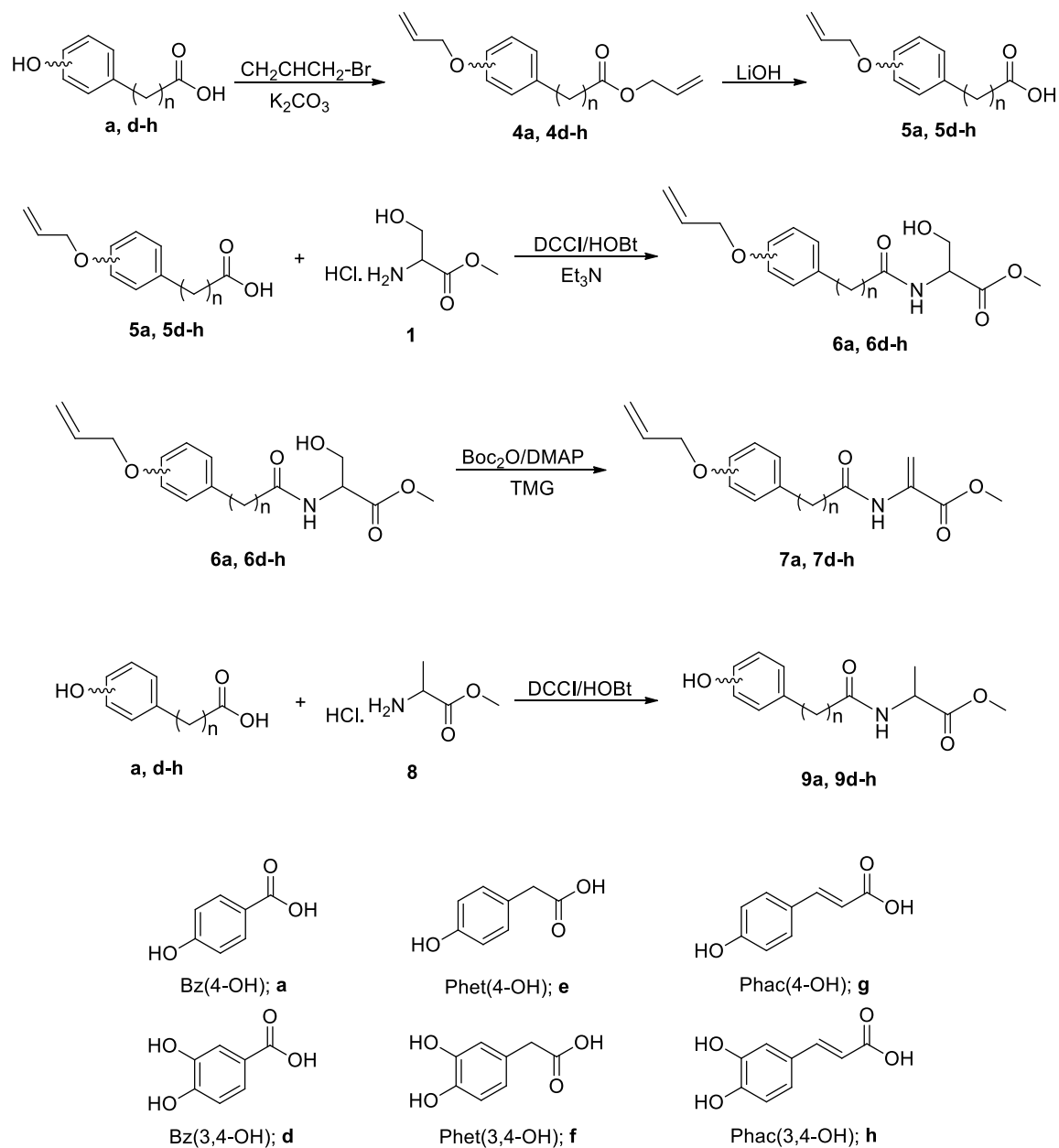
Esquema 13: Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-protegidos

Os espectros de próton obtidos após tratamento da reação apresentavam uma mistura complexa de picos. Julga-se que a não obtenção do composto pretendido se deveu à existência de um grupo hidroxilo no anel aromático do grupo acilante, uma vez que o grupo Boc se deverá ligar ao grupo OH da serina e também ao do grupo fenólico não se obtendo a desidroalanina pretendida.

2.3 Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos

Para ultrapassar as dificuldades encontradas na obtenção dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados e na sua desidratação, alterou-se a sequência reacional. Assim, antes de efetuar os acoplamentos do grupo acilo ao éster metílico da serina, os hidroxilos do grupo acilo foram protegidos com um grupo alilo (compostos **5**). Após a reação de

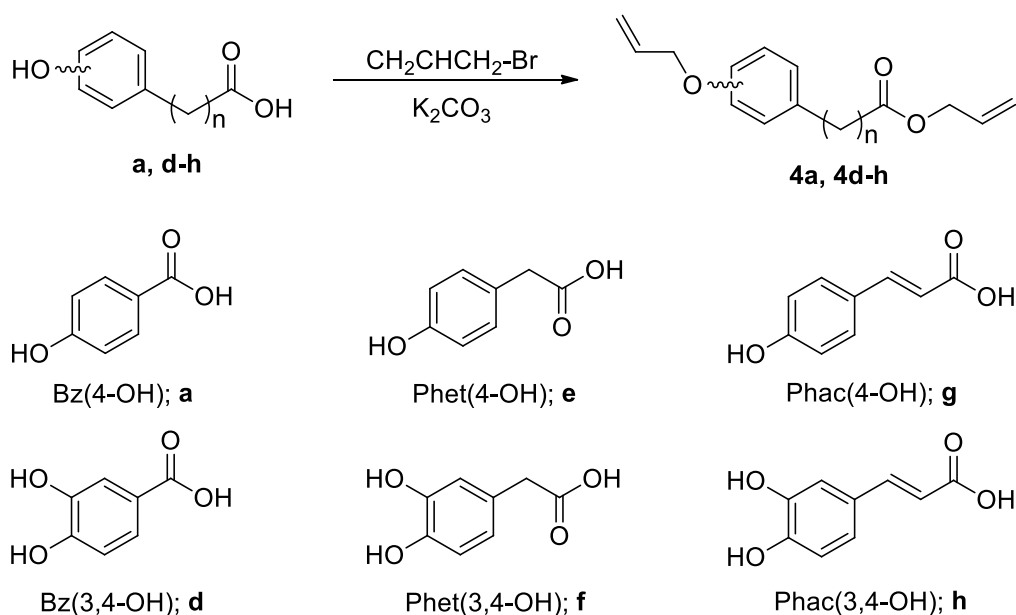
acilação do éster metílico da serina, submetem-se estes ésteres metílicos da serina *N*-acilados (compostos **6**), à desidratação de modo a serem obtidos os ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados pretendidos (compostos **7**, Esquema 14).



Esquema 14: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos

2.3.1 Síntese dos éteres alílicos dos ácidos fenólicos

Inicialmente protegeu-se simultaneamente os grupos hidroxilo e carboxilo de vários ácidos carboxílicos fenólicos com grupos alilo obtendo-se os compostos **4**. Para tal, fizeram-se reagir o composto **a** e os compostos **d-h** [ácido 4-hidroxibenzoico (composto **a**), ácido 3,4-dihidroxibenzoico (composto **d**), ácido 4-hidroxifenilacético (composto **e**), ácido 3,4-dihidroxifenilacético (composto **f**), ácido 4-hidroxifenilacrílico (composto **g**), ácido 3,4-dihidroxifenilacrílico (composto **h**)] com 3.1 equivalentes de K_2CO_3 em DMF, sob atmosfera de azoto. À mistura preparada anteriormente adicionaram-se 3.1 equivalentes de brometo de alilo (Esquema 15).



Esquema 15: Síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos

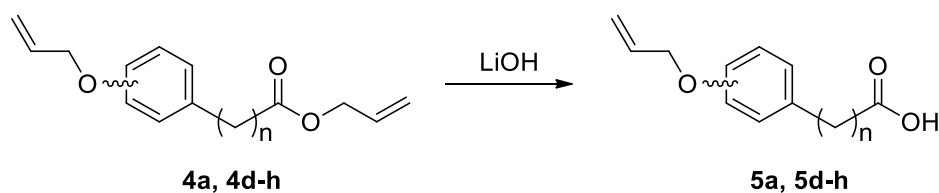
Obtiveram-se os compostos pretendidos (compostos **4**), com rendimentos compreendidos entre 58 a 98% (Tabela 9).

As estruturas dos compostos **4** foram confirmadas recorrendo a espectroscopia de ^1H e ^{13}C RMN. Para todos os compostos os seus espectros de protão exibem dupletos ou multipletos a $\delta \cong 4$ ppm que correspondem aos protões de $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$, um multipletos a $\delta \cong 5$ ppm que corresponde aos protões de $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ e um multipletos a $\delta \cong 6$ ppm que corresponde ao protão $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$.

Tabela 9: Rendimentos obtidos na síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos

Reagente	Produto	Rendimento (%)
Bz(4-OH)-COOH (a)	Bz(4-OAl)-COOAl (4a)	98
Bz(3,4-OH)-COOH (d)	Bz(3,4-OAl)-COOAl (4d)	67
Phet(4-OH)-COOH (e)	Phet(4-OAl)-COOAl (4e)	95
Phet(3,4-OH)-COOH (f)	Phet(3,4-OAl)-COOAl (4f)	58
Phac(4-OH)-COOH (g)	Phac(4-OAl)-COOAl (4g)	90
Phac(3,4-OH)-COOH (h)	Phac(3,4-OAl)-COOAl (4h)	87

Em seguida efetuou-se a hidrólise do grupo alilo ligado ao grupo carboxílico para se obter os compostos **5**. Para tal adicionou-se uma mistura de LiOH em água desionizada (2.1 equivalentes, 2.5 mol.dm⁻³) aos compostos **4** em THF num banho de óleo a 66°C (Esquema 16).

**Esquema 16:** Síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos

Os compostos **5** foram obtidos com rendimentos entre 67-99% (Tabela 10).

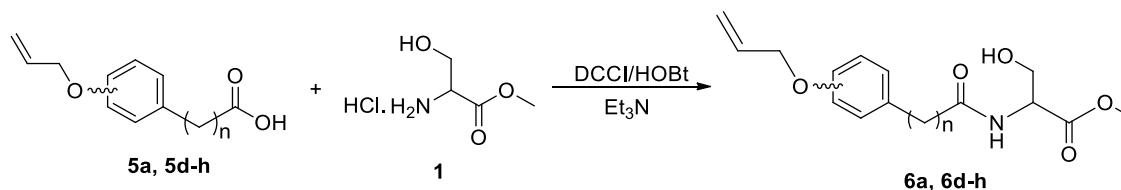
A hidrólise do grupo alilo ligado ao grupo ácido carboxilo foi confirmada recorrendo à técnica de espectroscopia de ¹H e ¹³C RMN. No espectro de RMN de ¹H observou-se a ausência dos sinais dos prótons de CO₂CH₂CHCH₂.

Tabela 10: Rendimentos obtidos na síntese de derivados alílicos de ácidos fenólicos

Reagente	Produto	Rendimento (%)
Bz(4-OAl)-COOAl (4a)	Bz(4-OAl)-COOH (5a)	99
Bz(3,4-OAl)-COOAl (4d)	Bz(3,4-OAl)-COOH (5d)	88
Phet(4-OAl)-COOAl (4e)	Phet(4-OAl)-COOH (5e)	97
Phet(3,4-OAl)-COOAl (4f)	Phet(3,4-OAl)-COOH (5f)	67
Phac(4-OAl)-COOAl (4g)	Phac(4-OAl)-COOH (5g)	93
Phac(3,4-OAl)-COOAl (4h)	Phac(3,4-OAl)-COOH (5h)	87

2.3.2 Síntese dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos

Sintetizaram-se vários ésteres metílicos da serina *N*-protegidos (compostos **6**), a partir da reação dos compostos **5** com o éster metílico da serina, em acetonitrilo, na presença de HOBt, DCC e Et₃N (Esquema 17).



Esquema 17: Síntese dos ésteres metílicos da serina *N*-protegidos

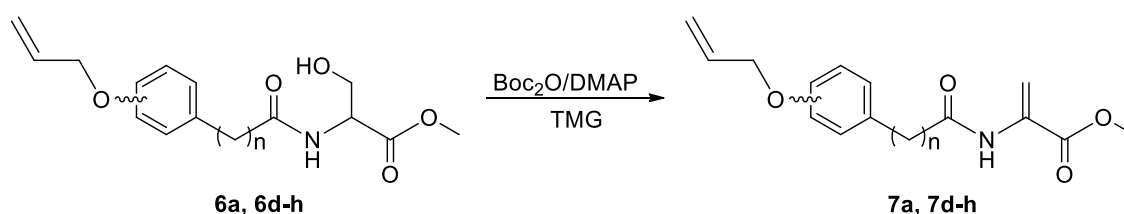
Os compostos **6** foram caracterizados recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ¹H e ¹³C que permitiu confirmar as suas estruturas. Nos espetros de RMN de ¹H dos compostos **6** evidenciou-se um singlete a $\delta \cong 3.8$ ppm correspondente aos protões COOCH₃, um multiplete ou tripleto a $\delta \cong 4$ ppm correspondente aos protões β CH₂, um multiplete a $\delta \cong 4.6$ ppm correspondente aos protões OCH₂CHCH₂, um multiplete a $\delta \cong 4.8$ ppm correspondente ao protão α CH, um multiplete a $\delta \cong 5.3$ ppm correspondente aos protões OCH₂CHCH₂, um multiplete a $\delta \cong 6$ ppm correspondente ao protão OCH₂CHCH₂, e dupletos ou multipletos a $\delta \cong 6-8$ ppm correspondentes aos protões aromáticos (Tabela 11).

Tabela 11: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos da serina *N*-protegidos (compostos **6**) e a respetiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos dos protões metílicos e dos protões dos carbonos α e β).

Composto	η (%)	Desvio químico (ppm)		
		COOCH ₃	β CH ₂	α CH
Bz(4-OAl)-Ser-OMe (6a)	86	3.83 (s)	4.04-4.10 (m)	4.85-4.89 (m)
Bz(3,4-OAl)-Ser-OMe (6d)	74	3.84 (s)	4.06-4.07 (m)	4.85-4.87 (m)
Phet(4-OAl)-Ser-OMe (6e)	87	3.76 (s)	3.87-3.96 (m)	4.63-4-4.66 (m)
Phet(3,4-OAl)-Ser-OMe (6f)	87	3.76 (s)	3.87-3.96 (m)	4.59-4.67 (m)
Phac(4-OAl)-Ser-OMe (6g)	90	3.83 (s)	4.07 (m)	4.81-4.85 (m)
Phac(3,4-OAl)-Ser-OMe (6h)	79	3.81 (s)	4.03 (t)	4.81-4.84 (m)

2.3.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos

Efetuiu-se a desidratação dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados pela reação dos compostos **6** com 1 equivalente de Boc_2O usando 0,1 equivalentes de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco e adicionando-se posteriormente o TMG para dar os compostos pretendidos (compostos **7**, Esquema 18, Tabela 12).



Esquema 18: Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados

Os compostos **7** foram obtidos com bons rendimentos (63-87%) e foram caracterizados recorrendo a técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H e de ^{13}C). Pela análise dos espectros de RMN de ^1H observou-se a formação da ligação dupla entre o carbono α e o carbono β , uma vez que os compostos apresentam dois singletos para os prótons βCH_2 ($\delta \cong 5-6$ ppm) da desidroalanina. A formação da ligação dupla entre o carbono α e o carbono β , torna os dois prótons do carbono β não equivalentes, e assim estes apresentam dois sinais com diferentes desvios químicos.

Tabela 12: Estrutura e rendimentos obtidos na sínteses dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-protegidos

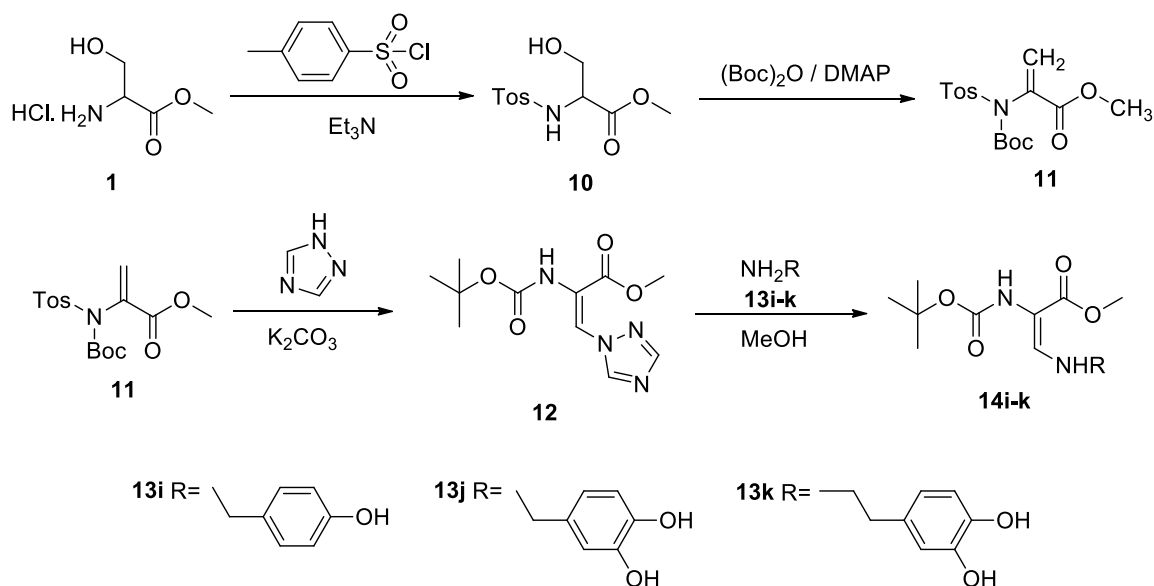
Composto	Estrutura	Rendimento (%)
Bz(4-OAl)- Δ Ala-OMe (7a)		64
Bz(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (7d)		72
Phet(4-OAl)- Δ Ala-OMe (7e)		87

Tabela 13: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da alanina *N*-protegidos e respetiva interpretação do espectro de RMN (desvio químico de alguns prótons representativos).

Composto	η (%)	Desvio químico (ppm)		
		βCH_3	OCH ₃	αCH
Bz(4-OH)-Ala-OMe (9a)	74	1.48 (d)	3.71 (s)	4.62-4.69 (m)
Bz(3,4-OH)-Ala-OMe (9d)	35	1.48 (d)	3.71 (s)	4.62-4.66 (m)
Phet(4-OH)-Ala-OMe (9e)	70	1.36 (d)	3.73 (s)	4.57-4.61 (m)
Phet(3,4-OH)-Ala-OMe (9f)	52	1.34 (d)	3.67 (s)	4.43-4.46 (m)
Phac(4-OH)-Ala-OMe (9g)	78	1.42 (d)	3.71 (s)	4.56-4.64 (m)
Phac(3,4-OH)-Ala-OMe (9h)	73	1.42 (d)	3.71 (s)	4.56-4.63 (m)

2.4 Síntese de ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas

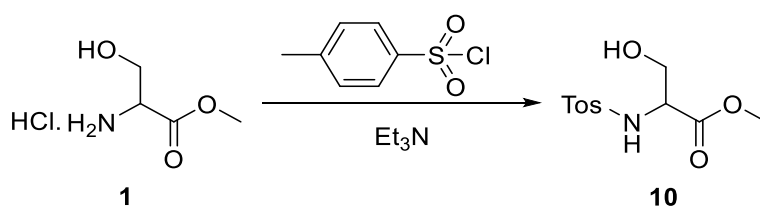
Com o objetivo de testar a atividade antioxidante de aminoácidos e desidroalaninas β -substituídos realizou-se a síntese de ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina com substituintes fenólicos ligados ao carbono β . Os aminoácidos β -substituídos têm sido sintetizados por reações de adição de Michael de nucleófilos de nitrogénio a derivados de Boc₂- Δ Ala-OMe.³⁴ Ferreira et al. sintetizaram, igualmente, derivados da desidroalanina β -substituídos fazendo reagir o Boc- Δ Ala(β -triazol-1-il)-OMe com diversas aminas.³⁶ Assim tentou-se sintetizar alaninas e α,β -desidroalaninas β -substituídos com grupos com potencial atividade antioxidante a partir de Boc₂- Δ Ala-OMe e de Boc- Δ Ala(β -triazol-1-il)-OMe, respetivamente (Esquema 20).



Esquema 20: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas

2.4.1 Síntese do éster metílico da *N*-(4-toluenosulfonilo)-serina

Adicionou-se lentamente em banho de gelo ao éster metílico da serina (composto **1**) 2.2 equivalentes de Et_3N em diclorometano e 1.1 equivalentes de cloreto de 4-toluenosulfonilo obtendo-se o composto **10** como um sólido branco com 72% de rendimento (Esquema 21).



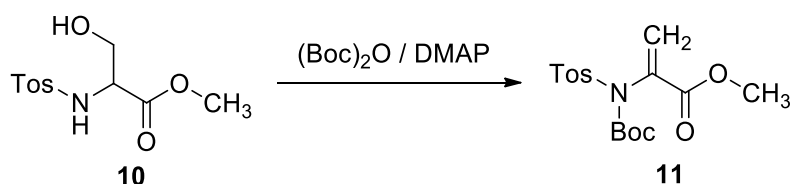
Esquema 21: Síntese do éster metílico da *N*-(4-toluenosulfonilo)-serina

Através da técnica espectroscópica RMN de ^1H , confirmou-se a estrutura do composto **10**. Pela análise do espectro de RMN de ^1H comprovou-se o aparecimento de um singlete $\delta=2.44$ ppm correspondente aos prótons CH_3 do grupo tosilo; um singlete correspondente aos prótons CH_3 do éster metílico ($\delta=3.63$ ppm); um duplete a $\delta=3.90$ ppm correspondente aos prótons βCH_2 ; um multiplete a $\delta=3.97-4.01$ ppm correspondente ao próton αCH ; um singlete largo a $\delta=5.59$ ppm correspondente ao

protão NH; e dois dupletos a $\delta=7.32$ ppm e a $\delta=7.75$ ppm correspondentes aos prótons aromáticos. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura.²⁹

2.4.2 Síntese do éster metílico da *N*-(4-toluenossulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina

O Tos-*N*(Boc)- Δ Ala-OMe (composto **11**) foi obtido como um sólido amarelo, com rendimento de 75%, pela reação do composto **10** com 2.2 equivalentes de Boc₂O na presença de DMAP como catalisador (Esquema 22).

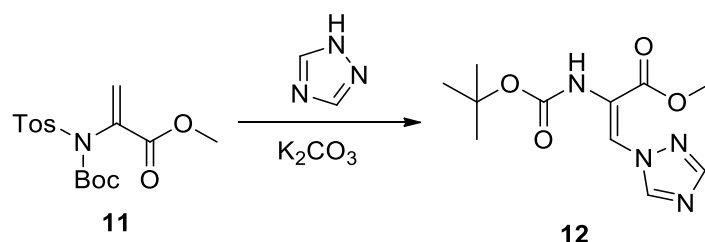


Esquema 22: Síntese do éster metílico de *N*-(4-toluenossulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina

O composto foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica RMN de ¹H, que permitiu confirmar a sua estrutura. Pela análise do espectro de RMN de ¹H observou-se um singlete a $\delta=1.34$ ppm correspondente aos prótons do grupo Boc, e a formação da ligação dupla entre o carbono α e o carbono β , uma vez que o composto **11** apresenta dois singletos a $\delta=6.03$ e a $\delta=6,58$ ppm que correspondem aos prótons βCH_2 da desidroalanina, estando de acordo com resultados previamente descritos.³⁰

2.4.3 Síntese do éster metílico da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil),(β -triazol-1-il)desidroalanina

Sintetizou-se o Boc- Δ Ala(β -triazol-1-il)-OMe (composto **12**) fazendo reagir o composto **11** com 1,2,4-triazole, em acetonitrilo na presença de K₂CO₃. O composto **12** foi obtido como um sólido amarelo com rendimento quantitativo (Esquema 23).

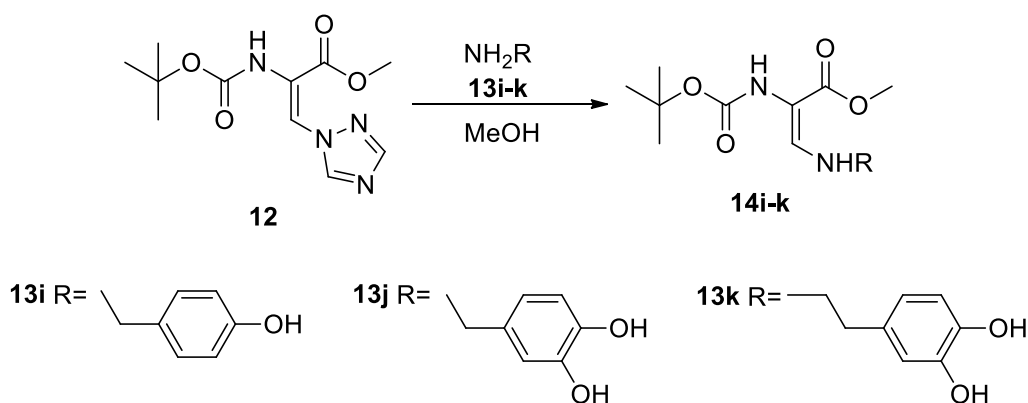


Esquema 23: Síntese do éster metílico de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil), (β-triazol-1-il) desidroalanina

Confirmou-se a estrutura do composto **12** recorrendo à análise espectroscópica RMN de ^1H no qual se evidenciou dois singletos a $\delta=8.12$ e a $\delta=8.47$ ppm correspondentes aos prótons do 1,2,4-triazole, observou-se a ausência de um dos prótons βCH_2 da desidroalanina e dos prótons do grupo tosilo, de acordo com resultados previamente descritos.³⁵

2.4.4 Síntese de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β-substituídos com aminas fenólicas

Em seguida tentou-se a substituição do grupo 1,2,4-triazole por um grupo amina, de modo a se obter ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)desidroalanina com substituintes com potencial atividade antioxidante ligados ao carbono β (compostos **14**). Para esta substituição fez-se reagir o composto **12** com 2.5 equivalentes das aminas 4-hidroxilamina (composto **13i**), bromidrato de 3,4-dihidroxi benzilamina (composto **13j**) e cloridrato de dopamina (composto **13k**) em metanol (Esquema 24).



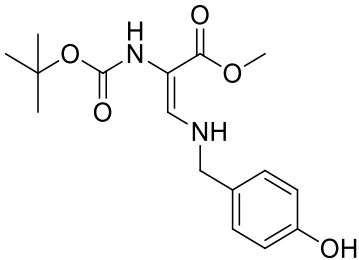
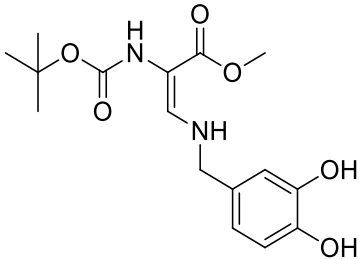
Esquema 24: Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β-substituídos

Analisou-se os compostos obtidos através da técnica espectroscópica de RMN de ^1H . No composto **14i** evidenciaram-se dois singletos a $\delta=3.70$ ppm e $\delta=3.81$ ppm que sugere serem os prótons O-CH_3 , dois singletos a $\delta=4.31$ ppm e a $\delta=4.79$ ppm que podem corresponder aos prótons CH_2 , e dois multipletos $\delta=6.78-6.82$ ppm e a $\delta=7.12-7.15$ ppm que podem corresponder aos prótons aromáticos. A existência de dois sinais para os prótons O-CH_3 , prótons CH_2 e aromáticos leva-nos a supor que se obteve o composto pretendido como uma mistura de isómeros E e Z numa razão de 1/1.4. Na tentativa de separar os isómeros realizou-se cromatografia em coluna, mas esta mostrou-se ineficaz.

No espectro do composto **14j** observaram-se dois singletos $\delta=3.69$ ppm e a $\delta=3.90$ ppm que podem corresponder aos prótons O-CH_3 , dois singletos a $\delta=4.26$ ppm e $\delta=4.67$ ppm que sugere serem os prótons do CH_2 , e dois dupletos a $\delta=7.34-7.36$ ppm e a $\delta=7.90-7.62$ ppm que podem corresponder aos prótons ArH . Novamente os dados espectroscópicos sugerem que se obteve o composto pretendido, mas como uma mistura de isómeros E e Z com uma razão de 1/1.9. A tentativa de separar os isómeros por cromatografia em coluna não alcançou o objetivo pretendido.

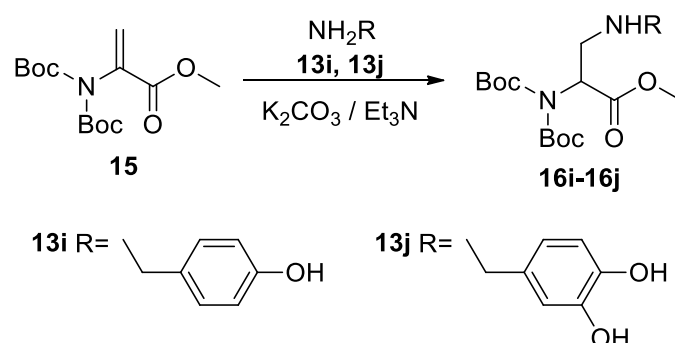
No espectro de RMN de ^1H do composto **14k**, observou-se que o composto **14k** está impuro. Tentou-se purificar este composto por cromatografia em coluna, mas não se obteve o composto puro.

Tabela 14: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da *N-terc*-butiloxicarbonildesidroalanina β -substituídos

Composto	Estrutura	η (%)
Boc- Δ Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (14i)		30
Boc- Δ Ala[β -Bzl(3,4-OH)-NH]-OMe (14j)		35

2.4.5 Síntese dos ésteres metílicos da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas

Obtiveram-se os compostos **16** pela reação do éster metílico da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina [$\text{Boc}_2\text{-}\Delta\text{Ala-OMe}$ (composto **15**)], com 1 equivalente de nucleófilo [amina (**13**)] e com 6 equivalentes de K_2CO_3 , em acetonitrilo à temperatura ambiente. Na síntese do composto **16j** para além do K_2CO_3 também se adicionou Et_3N à mistura reacional (Esquema 25).



Esquema 25: Síntese dos ésteres metílicos da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos

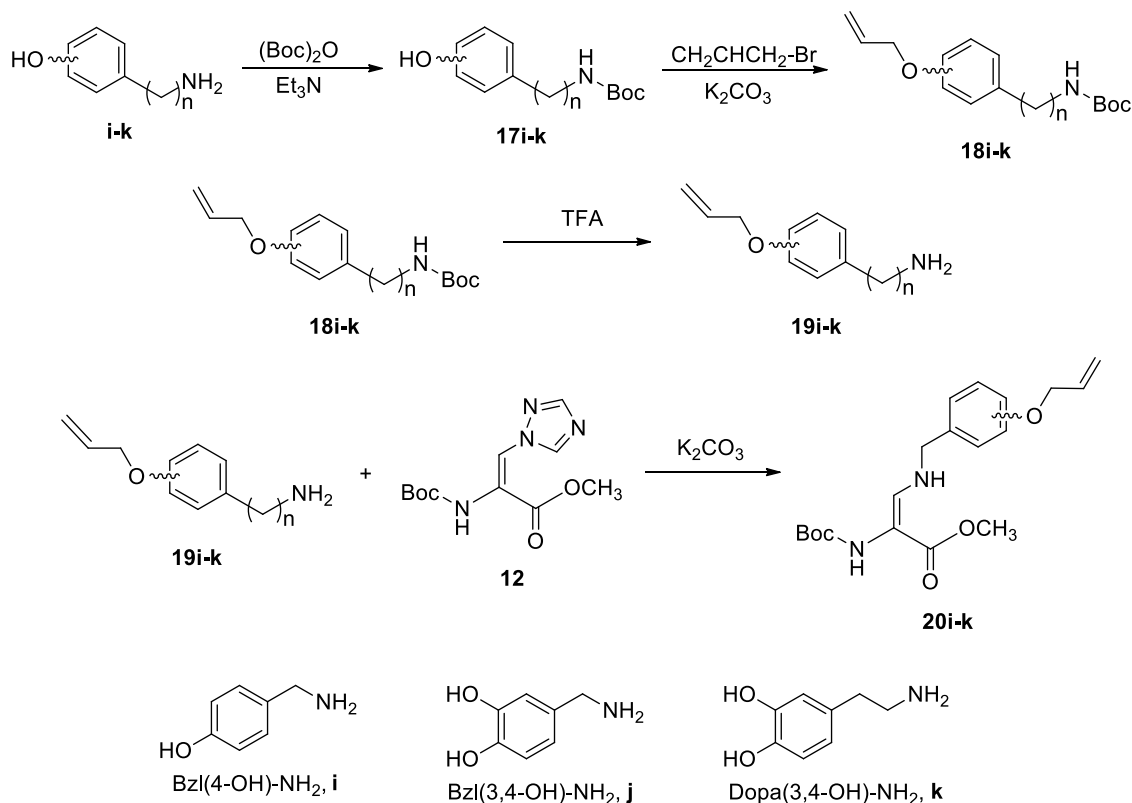
Obtiveram-se as alaninas β -substituídas **16i** e **16j** com rendimentos de 53% e 25% respetivamente. Os rendimentos foram baixos pois estes compostos foram purificados por cromatografia em coluna. Os compostos obtidos foram submetidos a espectroscopia de RMN de ^1H . Nos espetros de RMN de ^1H observou-se a ausência de dois sinais correspondentes aos prótons βCH_2 da desidroalanina. Obteve-se um multiplete a $\delta \cong 4.2\text{-}4.4$ ppm correspondente aos sinais dos prótons βCH_2 e do próton αCH . Com o desaparecimento da ligação dupla os prótons βCH_2 são equivalentes obtendo-se apenas um sinal. Pode ainda observar-se o sinal dos prótons aromáticos ($\delta \cong 6.77\text{-}7.44$ ppm). Estes dados sugerem a formação dos compostos **16** (Tabela 15).

Tabela 15: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos, respectiva interpretação do espectro de RMN (desvios químicos dos seus prótons).

Composto		Boc ₂ -Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (16i)	Boc ₂ -Ala[β -Bzl(3,4-OH)-NH]-OMe (16j)
Rendimento		53	25
Desvio químico (ppm)	CH ₃ Boc	1.45 (s)	1.45 (s)
	CH ₂	3.37-3.42 (m)	3.40 (s largo)
	CH ₃ COOMe	3.72 (s)	3.71 (s)
	β CH ₂ / α CH	4.26-4.45 (m)	4.33-4.36 (m)
	ArH	6.77-6.79 (d) e	7.01-7.03 (d), 7.37-7.40 (dd), e 7.43-7.44 (d)

2.5 Síntese de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas

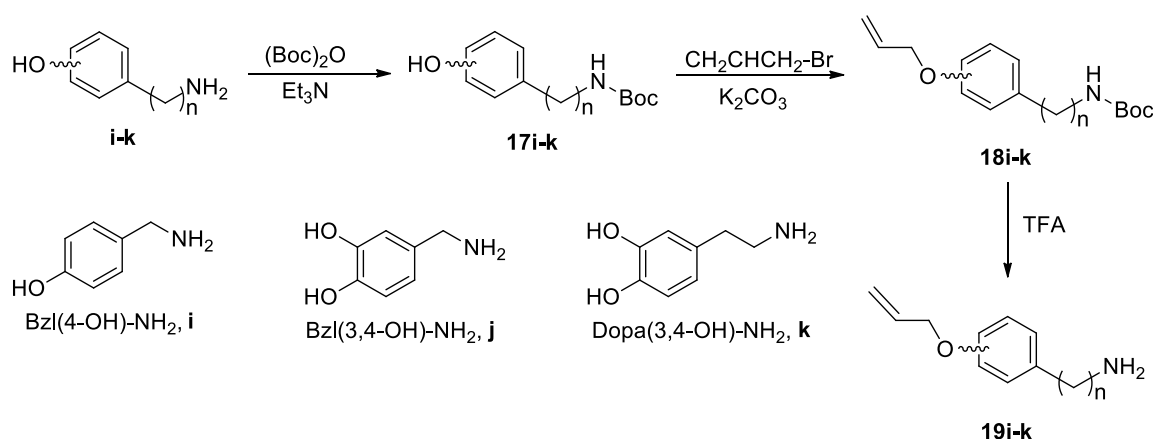
Em face dos resultados insatisfatórios obtidos na síntese dos compostos **14** e **16**, optou-se por alterar a sequência reacional. Nesta sequência optou-se igualmente por proteger previamente os grupos OH dos fenóis (**17**) que substituem o 1,2,4-triazole (Esquema 26).



Esquema 26: Esquema geral da síntese de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas

2.5.1 Síntese de éteres alílicos de hidroxifenilaminas

Inicialmente protegeu-se o grupo amina com um grupo Boc fazendo reagir os compostos **i-k** com 1 equivalente de Boc_2O e 1.1 equivalentes de Et_3N em diclorometano, originando os compostos **17** (Esquema 27).



Esquema 27: Síntese de éteres alílicos de hidroxifenilaminas

Os compostos **17** foram obtidos com bons rendimentos (Tabela 16) e foram submetidos a espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C que permitiu confirmar as suas estruturas. Na análise do espectro de RMN de ^1H observou-se um singlete a $\delta \cong 1.5$ ppm correspondente ao sinal dos prótons CH_3 do grupo Boc e um singlete largo a $\delta \cong 4.6\text{-}4.9$ ppm correspondente ao sinal do próton NH.

Tabela 16: Rendimentos obtidos na síntese de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)hidroxifenilaminas

Reagente	Produto	Rendimento (%)
$\text{Bzl}(4\text{-OH})\text{-NH}_2$ (i)	$\text{Bzl}(4\text{-OH})\text{-NH-Boc}$ (17i)	97
$\text{Bzl}(3,4\text{-OH})\text{-NH}_2$ (j)	$\text{Bzl}(3,4\text{-OH})\text{-NH-Boc}$ (17j)	93
$\text{Dopa}(3,4\text{OH})\text{-NH}_2$ (k)	$\text{Dopa}(3,4\text{OH})\text{-NH-Boc}$ (17k)	85

Em seguida protegeu-se os grupos OH dos compostos **17** sob a forma de éteres alílicos através da reação dos compostos **17** com 3.1 equivalentes de K_2CO_3 em DMF, sob atmosfera de azoto. Adicionaram-se 3.1 equivalentes de brometo de alilo e deixou-se a agitar à temperatura ambiente. Os compostos **18** foram obtidos com bons rendimentos (78-88%, Tabela 17).

Confirmou-se a formação dos compostos **18** pelos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Nestes observou-se um multipeto a $\delta \approx 4.5$ ppm correspondente aos prótons $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ dos grupos alilo, dois multipletos a $\delta \approx 5.2$ e 5.4 ppm que correspondentes aos prótons de $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ dos grupos alilo e um multipeto a $\delta \approx 6$ ppm correspondente ao próton $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ (Tabela 17).

Tabela 17: Rendimentos obtidos na síntese de éteres alílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)hidroxifenilaminas e respetiva interpretação dos espectros de RMN (desvios químicos dos seus prótons).

Composto		Bzl(4-OAl)-NH-Boc (18i)	Bzl(3,4-OAl)-NH-Boc (18j)	Dopa(3,4OAl)-NH-Boc (18k)
Estrutura				
Rendimento		78 %	81 %	88 %
Desvio químico (ppm)	CH ₃ Boc	1.48 (s)	1.47 (s)	1.47 (s)
	CH ₂	4.26 (d)	4.22 (s)	2.64 (t)
	CH ₂			3.27 (d largo)
	NH	4.79 (s largo)	4.61 (s largo)	4.45 (s largo)
	OCH ₂ CHCH ₂	4.54-4.56 (m)	4.53-4.66 (m)	4.48-4.54 (m)
	OCH ₂ CHCH ₂	5.28-5.32 (m)	5.21-5.34 (m), e 5.35-5.47 (m)	5.18-5.23 (m), e 5.31-5.37 (m)
	OCH ₂ CHCH ₂	5.40-5.45 (m)	5.96-6.15 (m)	5.96-6.04 (m)
	ArH	6.90 (d), e 7.21 (d)	6.76-6.88 (m)	5.96-6.04 (m), e 6.62-6.77 (m)

O grupo Boc dos compostos **18** foi facilmente removido por tratamento com TFA (Esquema 23). Obteve-se os compostos **19** *N*-desprotegidos com rendimentos de 89-93% (Tabela 18). A caracterização espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C confirmou as estruturas dos compostos **19**. Pela análise do espectro de RMN de ^1H foi possível verificar a ausência do sinal característico dos prótons do grupo Boc, confirmando a desproteção do grupo amina.

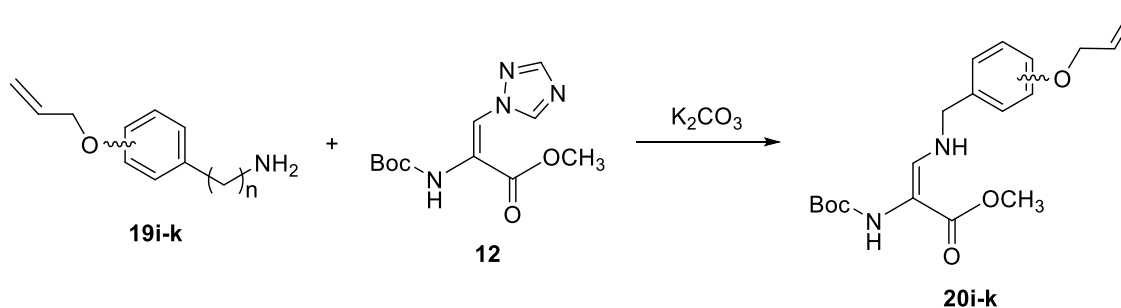
Tabela 18: Rendimentos obtidos na síntese de éteres alílicos de hidroxifenilaminas

Reagente	Produto	Rendimento (%)
Bzl(4-OAla)-NH-Boc (18i)	Bzl(4-OAla)-NH ₂ (19i)	93
Bzl(3,4-OAla)-NH-Boc (18j)	Bzl(3,4-OAla)-NH ₂ (19j)	89
Dopa(3,4OAla)-NH-Boc (18k)	Dopa(3,4OAla)-NH ₂ (19k)	- ^a

^a Rendimento quantitativo

2.6 Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas

A síntese de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos tem sido efetuada fazendo reagir o Boc- Δ Ala(β - triazol-1-il)-OMe com 2.5 equivalentes de uma amina. A síntese dos ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos com hidroxifenilaminas (compostos **20**) seguiu o mesmo método com uma alteração, em vez da utilização de 2.5 equivalentes da amina utilizou-se apenas 1 equivalente e Et₃N (Esquema 28).



Esquema 28: Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos

Obtiveram-se compostos **20** com rendimentos de 42 a 43%. Os rendimentos apresentados foram baixos pois estes compostos foram purificados por cromatografia em coluna.

A substituição do 1,2,4-triazole pelos compostos **19** foi confirmada pelas técnicas espectroscopias RMN ¹H e ¹³C. Pelos espectros de RMN de ¹H verificou-se o desaparecimento dos singletos correspondentes aos prótons do 1,2,4-triazole, um duplete a $\delta=4.3$ ppm que corresponde aos prótons CH₂, um multiplete a $\delta\cong 4.5-4.6$ ppm que corresponde aos prótons OCH₂CHCH₂ dos grupos alilo, dois multipletos a $\delta\cong 5.3$ e a $\delta\cong 5.4$ ppm que correspondem aos prótons de OCH₂CHCH₂ dos grupos alilo e um multiplete a $\delta\cong 6-6.1$ ppm que corresponde ao próton OCH₂CHCH₂ (Tabela 19).

Resultados e Discussão

Tabela 19: Rendimentos obtidos na síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos e respectiva interpretação dos espectros de RMN (desvios químicos dos seus prótons).

Composto		Boc- Δ Ala[Bzl(4-OAl)-NH]- OMe (20i)	Boc- Δ Ala[Bzl(3,4-OAl)- NH]-OMe (20j)	Boc- Δ Ala[Dopa(3,4-OAl)- NH]-OMe (20k)
Rendimento		43	42	36
Desvio químico (ppm)	Boc	1.46 (s)	1.46 (s)	1.45 (s)
	O-CH ₃	3.70 (s)	3.70 (s)	3.69 (s)
	CH ₂	4.33 (d)	4.32 (d)	2.74-2.78 (m)
	CH ₂			3.37-3.53 (m)
	OCH ₂ CH CH ₂	4.52-4.55 (m)	4.60-4.62 (m)	4.57-4.60 (m)
	OCH ₂ CH CH ₂	5.28-5.31 (m) e 5.39-5.44 (m)	5.26-5.29 (m) e 5.40-5.44 (m)	5.25-5.28 (m) e 5.38-5.44 (m)
	OCH ₂ CH CH ₂	6.02-6.06 (m)	6.04-6.09 (m)	6.02-6.12 (m)
	ArH + β CH	6.88-6.92 (m) e 7.21 (d)	6.81-6.88 (m)	6.70-6.74 (m) e 6.82-6.85 (m)

3 Conclusões e perspectivas futuras

Neste trabalho descreve-se a síntese de derivados de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos, de derivados de ésteres metílicos da alanina *N*-acilados com ácidos fenólicos e de derivados de ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas com o objetivo de conferir atividade antioxidante a estes aminoácidos.

Obtiveram-se os ésteres metílicos da serina *N*-acilados com ácidos fenólicos com rendimentos de 92 e 99%, pela reação do cloridrato do éster metílico da serina com diferentes ácidos fenólicos, nomeadamente, o ácido 4-hidroxibenzoico, o ácido 2-hidroxibenzoico e o ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propanoico. Estes grupos foram utilizados atendendo às suas propriedades antioxidantes bem estabelecidas. No entanto, tentou-se desidratar os ésteres metílicos da serina *N*-protegidos sintetizados anteriormente, mas não se obteve os ésteres metílicos da desidroalanina pretendidos. Atribuiu-se a dificuldade na desidratação à existência de um grupo hidroxilo no grupo fenólico. Pensa-se que se formam os carbonatos resultantes ligação do grupo *terc*-butiloxicarbonilo aos grupos hidroxilo da serina e do grupo fenólico obtendo-se uma mistura reacional complexa que não permitiu o isolamento do produto pretendido. Para ultrapassar esta dificuldade, decidiu-se proteger previamente os hidroxilos dos grupos fenólicos sobre a forma de éteres alílicos. Assim, após a obtenção dos derivados alílicos dos ácidos fenólicos fez-se novamente o acoplamento destes ao éster metílico da serina obtendo-se os ésteres metílicos da serina *N*-acilados com bons rendimentos. Em seguida efetuou-se a sua desidratação obtendo-se os compostos pretendidos, designadamente os derivados de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com os ácidos fenólicos com atividade antioxidante reconhecida. Sintetizaram-se também os ésteres metílicos da alanina *N*-protegidos com bons rendimentos pelo acoplamento do éster metílico da alanina com ácidos fenólicos. A atividade antioxidante que venha a ser encontrada para estes compostos servirá como padrão de comparação com a atividade antioxidante dos correspondentes derivados da desidroalanina, podendo deste modo atribuir um eventual incremento desta atividade à presença do desidroaminoácido.

Após a realização das sequências reacionais descritas tentou-se sintetizar ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonilo) desidroalanina e da *N,N*-bis(*terc*-butiloxicarbonilo) alanina β -substituídos com aminas fenólicas com potencial atividade antioxidante. Pretende-se também testar a atividade antioxidante destes compostos.

Inicialmente sintetizou-se o éster metílico da *N*-(4-toluenossulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroalanina pela reação do éster metílico da *N*-(4-toluenossulfonil) serina com pirocarbonato de *tert*-butilo. Em seguida sintetizou-se o éster metílico da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il) desidroalanina por adição de Michael de 1,2,4-triazole ao composto anteriormente sintetizado. Posteriormente tentou-se sintetizar ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroalanina β -substituídos fazendo a substituição do 1,2,4-triazole por um grupo substituinte 4-hidroxifenilamina, bromidrato de 3,4-dihidroxibenzilamina ou cloridrato de dopamina. Pensa-se que se obteve os isómeros E e Z dos derivados da desidroalanina β -substituídos, mas não foi possível o isolamento destes de modo a poder confirmar a estrutura proposta. Os ésteres metílicos da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil) alanina β -substituídos foram obtidos com baixos rendimentos. A sua síntese foi efetuada por adição de Michael de hidroxifenilaminas ao éster metílico da *N,N*-bis(*tert*-butiloxicarbonil) desidroalanina. Nestes dois casos não foram obtidos resultados satisfatórios, pelo que foi proposta uma alteração na síntese. Assim, antes da substituição do 1,2,4-triazole do éster metílico da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il) desidroalanina, os grupos hidroxilo das aminas fenólicas substituintes foram protegidos com um grupo alilo. Usando esta metodologia já foi possível obter a alanina com substituintes fenólicos no carbono β com bons rendimentos.

Terminadas estas reações é necessário efetuar a desproteção do grupo hidroxilo, para poder testar a atividade antioxidante dos compostos. Devido a limitações de tempo não foi possível realizar a reação de desproteção. Assim, como perspectivas futuras propõe-se a reação de desproteção do grupo hidroxilo e o teste de atividade antioxidante/antiradicalar dos compostos obtidos.

Em suma, apesar das dificuldades encontradas, foram sintetizados com bons rendimentos vários derivados de ésteres metílicos da desidroalanina e da alanina *N*-acilados com grupos fenólicos e de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas.

4 Parte experimental

4.1 Procedimentos gerais

Para cromatografia em camada fina (TLC) utilizou-se placas de alumínio com gel de sílica 60 F254 com 0,25 mm de espessura (Merck). A revelação das placas foi efetuada, por exposição a radiação U.V. de 254 nm e, por vezes, usada a revelação com iodo.

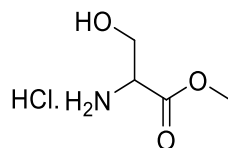
Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Gallenkamp e não foram corrigidos.

Os espectros de ressonância magnética nuclear ^1H foram registados num espectrómetro Bruker Avance III de 400 MHz. Os espectros de ^{13}C RMN foram registados no mesmo espectrofotómetro a 100,6 MHz. Na descrição de cada espectro de RMN, os dados são indicados pela seguinte ordem: desvio químico (δ) em partes por milhão (ppm), multiplicidade de sinal [s (singuleto), d (duplete), q (quarteto), m (multiplete)], constante de acoplamento (J) em Hertz (Hz), número de prótons (nH), identificação do próton. Os desvios químicos indicados para cada composto foram registados relativamente ao padrão interno que é constituído pelo solvente usado para aquisição do espectro. Foram usadas as técnicas de HSQC para identificação de carbonos diretamente ligados a átomos de hidrogénio ou/e de HMBC para a identificação de átomos de carbonos a três ou mais ligações de um determinado átomo de hidrogénio. O solvente deuterado utilizado foi o clorofórmio (CDCl_3-d_1).

A maior parte dos solventes utilizados apresentava grau de pureza p.a., por isso foram utilizados sem purificação prévia. A exceção foi o acetonitrilo que foi seco por agitação com sílica à temperatura ambiente durante a noite, refluxado com hidreto de cálcio e destilado para um frasco com agentes secantes. O éter de petróleo utilizado refere-se à fração com ponto de ebulição entre 40-60 °C. As fases orgânicas foram secas usando sulfato de magnésio anidro ou sulfato de sódio anidro.

4.2 Síntese de ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos

4.2.1 Síntese do cloridrato do éster metílico da serina [HCl.H-Ser-OMe (1)]



Adicionou-se cloreto de tionilo (3.6 ml, 50.000 mmol), gota a gota a metanol (50 ml), num banho de gelo. Juntou-se lentamente o cloridrato do aminoácido L-serina (5.254 g, 50.000 mmol) e deixou-se a agitar em banho termostatado a 40 °C durante 5 horas e à temperatura ambiente durante 16 horas e 50 minutos. Terminada a reação levou-se a mistura à secura em vácuo. Adicionou-se em seguida metanol e éter etílico. Colocou-se no congelador e após 4 horas filtrou-se em vácuo. Obteve-se, um sólido branco (5.295 g, 34.050 mmol, 68%).

4.2.2 Síntese de ésteres metílicos da serina *N*-acilados com ácidos fenólicos (2)

Método A

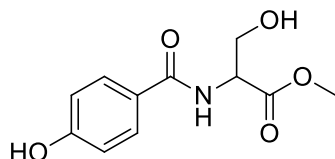
Dissolveu-se o ácido carboxílico em acetonitrilo e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se 1 equivalente de HOBt hidratado, de HBTU, do éster metílico da L-serina (1), e 2.2 equivalentes de Et₃N esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Deixou-se em agitação à temperatura ambiente. Terminada a reação evaporou-se o solvente a pressão reduzida, dissolveu-se o composto obtido em acetato de etilo (100 ml), lavou-se com uma solução de KHSO₄ (20 ml, 1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (3x20 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e lavada à secura a pressão reduzida. Obtendo-se o composto 2.

Método B

Adicionou-se ao ácido carboxílico 1 equivalente de HOBt, e de ECD em DMF, arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Posteriormente adicionou-se, à mistura

reacional, 1 equivalente de éster metílico da L-serina (**1**) em diclorometano. Deixou-se a mistura a agitar à temperatura ambiente. Terminada a reação adicionou-se NaHCO₃ (20 ml; 0.6 mol.dm⁻³) e extraiu-se com diclorometano (5x10 ml). Lavou-se a fase orgânica com uma solução saturada de NaCl (20 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida.

4.2.2.1 Síntese de Bz(4-OH)-Ser-OMe (**2a**)

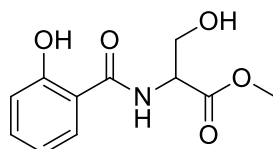


Método A: O composto **a** (0.276 g, 2.000 mmol) reagiu com HOBt hidratado (0.272 g, 2.000 mmol), HBTU (0.258 g; 2.000 mmol), éster metílico de L-serina (0.311 g, 2.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 4.400 mmol) em acetonitrilo (20 ml), à temperatura ambiente durante 16 horas. Obteve-se o composto **2a** (0.476 g, 1.990 mmol, 99%) como um óleo amarelo.

Método B: Adicionou-se ao composto **a** (0.276 g, 2.000 mmol) dissolvido em DMF (2 ml) HOBt (0.270 g, 2.000 mmol), e ECD (0.383 g, 2.000 mmol). Passados 20 minutos adicionou-se éster metílico da L-serina (0.310 g, 2.000 mmol) em diclorometano (1.5 ml). A mistura reacional reagiu durante 16 horas à temperatura ambiente. Tentou-se purificar o composto por TLC preparativo para retirar o DMF, não se obtendo o composto pretendido.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.09-4.10 (m, 2H, βCH₂), 4.86-4.88 (m, 1H, αCH), 7.47-7.49 (m, 2H, ArH), 7.80-7.84 (m, 2H, ArH) ppm.

4.2.2.2 Síntese de Bz(2-OH)-Ser-OMe (**2b**)



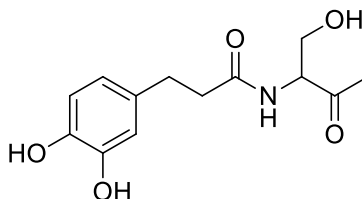
Método A: O composto **b** (0.691 g, 5.000 mmol) reagiu com HOBt hidratado (0.676 g, 5.000 mmol) HBTU (1.896 g, 5.000 mmol), éster metílico da L-serina (0.775 g, 5.000 mmol) e Et₃N (1.8 ml, 25.00 mmol) em acetonitrilo (20 ml), à temperatura ambiente

Parte experimental

durante 16 horas e 40 minutos. Obteve-se o composto **2b** (1.103 g, 4.615 mmol, 92%) como um óleo amarelo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.86 (s, 3H, OCH_3), 4.05-4.10 (m, 2H, βCH_2), 4.85-4.87 (m, 1H, αCH), 6.88-6.92 (m, 1H, ArH), 6.99-7.01 (m, 1H, ArH), 7.41-7.46 (m, 1H, ArH), 7.52-7.54 (m, 1H, ArH) ppm.

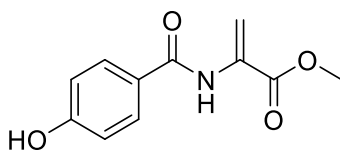
4.2.2.3 Síntese de Prop(3,4-OH)-Ser-OMe (2c)



Método B: Adicionou-se ao composto **c** (0.182 g, 1.000 mmol) dissolvido em DMF (2 ml) HOBt (0.135 g, 1.000 mmol), e ECD (0.192 g, 1.000 mmol). Passados 20 minutos adicionou-se éster metílico da L-serina (0.155 g, 1.000 mmol) em diclorometano (1.5 ml). A mistura reacional reagiu durante 16 horas à temperatura ambiente. Tentou-se purificar o composto por TLC preparativo para retirar o DMF.

4.2.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos (3)

4.2.3.1 Síntese de Bz(4-OH)- Δ Ala-OMe (3a)



A uma solução do éster metílico do β -hidroxiaminoácido *N*-protegido [**2a** (0.239 g, 1.000 mmol)] em acetonitrilo seco (10 ml) adicionou-se Boc_2O (0.218 g, 1.000 mmol) e DMAP (0.012 g, 0.100 mmol). Deixou-se reagir à temperatura ambiente. A reação foi controlada por RMN ^1H , ao fim de 4 horas todo o composto **2a** ainda não se tinha consumido, pelo que se adicionou mais 1 equivalente de Boc_2O . Ao fim de mais 24 horas todo o composto **2a** ainda não se tinha consumido, pelo que se adicionando ainda mais 20% de Boc_2O . Quando todo o composto **2a** tinha sido consumido adicionou-se à mistura TMG (2%). A mistura reacional reagiu à temperatura ambiente durante 48 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo

(100 mL), a fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com uma solução de KHSO_4 (20 ml, 1 mol.dm⁻³), uma solução de NaHCO_3 (20 ml, 1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (3x20 ml). Secou-se a fase orgânica com sulfato de magnésio anidro, filtrou-se e evaporou-se o acetato de etilo. Obteve-se um sólido branco, não sendo o composto pretendido.

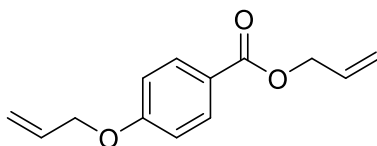
4.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados utilizando ácidos fenólicos protegidos

4.3.1 Síntese dos éteres alílicos dos ácidos fenólicos

4.3.1.1 Proteção com o grupo alilo (4)

Adicionou-se aos compostos **a**, **d-f**, 3.1 equivalentes de K_2CO_3 e DMF (5 ml), sob atmosfera de azoto. Posteriormente adicionou-se 3.1 equivalentes de brometo de alilo e deixou-se a agitar à temperatura ambiente. A reação foi controlada por TLC. Quando todo o composto de partida tinha sido consumido, adicionou-se acetato de etilo (20 ml) e HCl (2 mol.dm⁻³) até a suspensão passar para a solução (pH ácido). Lavou-se a fase aquosa com acetato de etilo (2x20 ml). Lavou-se a fase orgânica com $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (4x20ml, 5%), LiCl (4x20 ml, 5%) e com uma solução saturada de NaCl (4x20ml). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente obtendo-se os compostos **4a**, **4d-f**.

4.3.1.1.1 Síntese de Bz(4-OAl)-COOAl (4a)



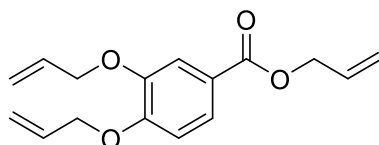
A reação do composto **a** (0.500 g, 3.620 mmol) com K_2CO_3 (1.551 g, 11.230 mmol) e brometo de alilo (0.971 ml, 11.230 mmol) em DMF (5 ml) sob atmosfera de azoto deu origem ao composto **4a** (0.773 g, 3.545 mmol, 98%) como um óleo amarelo, passadas 18 horas.

Parte experimental

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.62 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 5.29-5.47 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.01-6.12 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 8.04 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 66.17 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 69.76 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 115.23 (2CH), 118.87 (CHCH_2), 119.03 (CHCH_2), 123.60 (C), 132.54 (2CH), 133.37 (CHCH_2), 133.45 (CHCH_2), 157.75 (C), 163.29 (C=O) ppm.

4.3.1.1.2 Síntese de Bz(3,4-OAI)-COOAI (4d)

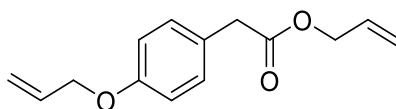


Adicionou-se a uma solução do composto **d** (0.500 g, 3.244 mmol) em DMF (5 ml), K_2CO_3 (1.390 g, 10.060 mmol), e brometo de alilo (1.398 ml, 10.060 mmol). No fim de 18 horas obteve-se o composto **4d** (0.597 g, 2.175 mmol, 67%) como um sólido amarelo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.66-4.70 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.81-4.83 (m, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 5.28-5.49 (m, 6H, $3\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.02-6.15 (m, 3H, $3\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.61 (d, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.71 (dd, J = 8.4 Hz, J = 2.0 Hz, 1H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 65.39 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 69.67 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.93 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 111.11 (CH), 112.46 (CH), 114.71 (CH), 115.85 (CH), 118.00 (CHCH_2), 118.08 (CHCH_2), 118.95 (CHCH_2), 122.76 (CH), 123.80 (CH), 132.38 (CHCH_2), 132.43 (CHCH_2), 145.42 (C), 147.94 (C), 152.58 (C), 166.00 (C=O) ppm.

4.3.1.1.3 Síntese de Phet(4-OAI)-COOAI (4e)



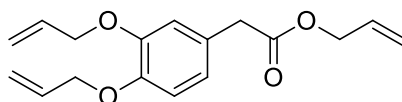
O composto **4e** (0.725 g, 3.119 mmol, 95%) foi obtido como um óleo amarelo a partir da reação do composto **e** (0.500 g, 3.286 mmol) com K_2CO_3 (1.408 g, 10.190 mmol) e brometo de alilo (0.882 ml, 10.190 mmol) em DMF (5ml) após 4 horas.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.61 (s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 4.55 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.62 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 5.22-5.45 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$),

5.88-5.97 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.03-6.12 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.90 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 40.43 (C₆H₅CH₂), 65.40 (CO₂CH₂CHCH₂), 68.85 (OCH₂CHCH₂), 114.86 (2CH), 117.63 (CHCH₂), 118.18 (CHCH₂), 126.20 (C), 130.28 (2CH), 132.08 (CHCH₂), 133.29 (CHCH₂), 157.75 (C), 171.52 (C=O) ppm.

4.3.1.1.4 Síntese de Phet(3,4-OAI)-COOAI (4f)

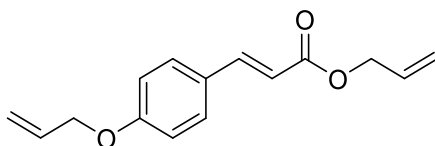


O composto **f** (0.500 g, 2.974 mmol) reagiu com K₂CO₃ (1.066 g, 7.715 mmol) e brometo de alilo (0.668 ml, 7.715 mmol) em DMF (5 ml). Passadas 19 horas o composto de partida ainda não tinha sido todo consumido, adicionando-se mais 0.1 equivalentes de brometo de alilo. Após 6 horas adicionou-se mais 0.2 equivalentes de brometo de alilo, no fim de 17 horas adicionou-se mais 0.4 equivalentes de brometo de alilo. O composto **4f** (0.495 g, 1.717 mmol, 58%) foi obtido como um sólido castanho depois de 65 horas de reação.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.58 (s, 2H, C₆H₅CH₂), 4.60-4.63 (m, 6H, 3OCH₂CHCH₂), 5.22-5.32 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.40-5.46 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.87-5.96 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.04-6.14 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.81-6.88 (m, 3H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 40.83 (C₆H₅CH₂), 65.41 (CO₂CH₂CHCH₂), 69.99 (OCH₂CHCH₂), 70.07 (OCH₂CHCH₂), 114.31 (CH), 115.35 (CH), 117.53 (CHCH₂), 117.59 (CHCH₂), 118.21 (CHCH₂), 121.91 (CH), 126.85 (C), 132.05 (CH), 133.40 (CH), 133.53 (CH), 147.75 (C), 148.75 (C), 171.38 (C=O) ppm.

4.3.1.1.5 Síntese de Phac(4-OAI)-COOAI (4g)



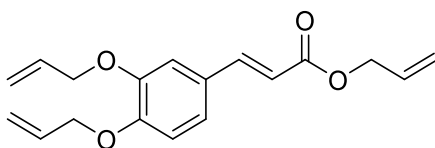
Uma solução do composto **g** (0.500 g, 3.046 mmol) em DMF (5 ml) reagiu com K₂CO₃ (1.305 g, 9.443 mmol) e brometo de alilo (0.817 ml, 9.443 mmol) durante 5 horas originando o composto **4g** (0.671 g, 2.748 mmol, 90%) como um óleo amarelo.

Parte experimental

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.60 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.73 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 5.28-5.46 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.97-6.12 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.36 (d, J = 15.9 Hz, 1H, CHCHCO), 6.94 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.69 (d, J = 15.9 Hz, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}$) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 65.06 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 68.89 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 115.09 (2CH), 115.41 (CH), 118.01 (CHCH_2), 118.11 (CHCH_2), 127.29 (C), 129.73 (2CH), 132.44 (CH), 132.77 (CH), 144.68 (CH), 160.43 (C), 166.93 (C=O) ppm.

4.3.1.1.6 Síntese de Phac(3,4-OAI)-COOAI (4h)



Adicionou-se ao composto **h** (0.500 g; 2.775 mmol), Cs_2CO_3 (2.713 g, 8.326 mmol), brometo de alilo (0.721 ml, 8.326 mmol) e DMF (5 ml). Depois de 3 horas e 45 minutos o composto de partida ainda não tinha sido todo consumido adicionando-se 0.1 equivalentes de brometo de alilo. Ao fim de 4 horas e 30 minutos obteve-se o composto **4h** (0.728 g, 2.425 mmol, 87%) como um sólido amarelo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.65-4.67 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.74 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2$) 5.25-5.51 (m, 6H, $3\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 5.97-6.15 (m, 3H, $3\text{CH}_2\text{CHCH}_2$), 6.32 (d, J = 15.9 Hz, 1H, CHCHCO_2), 6.90 (d, J = 12.0 Hz, 1H, ArH), 7.10-7.12 (m, 2H, ArH), 7.65 (d, J = 15.9 Hz, 1H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}$) ppm.

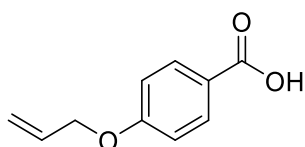
^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 65.09 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.76 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.99 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 112.74 (CH), 113.47 (CH), 115.62 (CH), 117.91 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 117.97 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 118.18 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 122.72 (CH), 127.45 (C), 132.41 (CH), 132.90 (CH), 133.09 (CH), 144.92 (CH), 148.58 (C), 150.70 (C), 166.83 (C=O) ppm.

4.3.1.2 Hidrólise do éster alílico (5)

Adicionou-se aos compostos **4** THF num banho de óleo a 66°C . Quando a mistura reacional entrou em refluxo adicionou-se 2.1 equivalentes de LiOH ($2,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$). A reação foi controlada por TLC, quando o TLC mostrou que não havia composto de partida, evaporou-se o solvente. Adicionou-se acetato de etilo (20 ml) e HCl ($1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)

até a suspensão passar para a solução (pH ácido). Lavou-se a fase aquosa com acetato de etilo (3x20 ml). As fases orgânicas foram lavadas com uma solução saturada de NaCl (4x20ml). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente obtendo-se os compostos **5**.

4.3.1.2.1 Síntese de Bz(4-OAl)-COOH (**5a**)



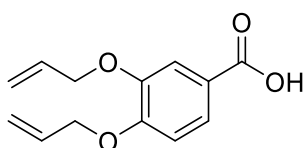
Dissolveu-se o composto **4a** (0.719 g, 3.296 mmol) em THF (5.5 ml) e adicionou-se LiOH (2.80 ml, 6.920 mmol), originando o composto **5a** após 21 horas de reação. O composto **5a** (0.578 g, 3.246 mmol, 99%) como um sólido branco e foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 156.0-157.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.63-4.64 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.33-5.37 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.43-5.49 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.03-6.13 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH), 8.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 68.92 (OCH₂CHCH₂), 114.46 (2CH), 118.21 (CHCH₂), 121.74 (C), 132.32 (2CH), 132.47 (CHCH₂), 163.02 (C), 170.98 (C=O) ppm.

4.3.1.2.2 Síntese de Bz(3,4-OAl)-COOH (**5d**)



Adicionou-se a uma solução do composto **4d** (0.597 g, 2.175 mmol) em THF (5.5 ml), LiOH (1.82 ml, 4.568 mmol). Depois de 24 horas o composto de partida ainda não tinha sido consumido, assim adicionou-se mais 1 equivalente de LiOH. O composto **5d** (0.450 g, 1.922 mmol, 88%) foi obtido ao fim de 31 horas como um sólido castanho claro e foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f.= 133.0-134.0 °C

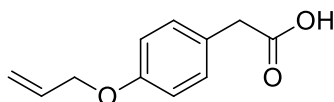
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.59-4.63 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.22-5.27 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.35-5.41 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.96-6.07 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.85 (d, *J*

Parte experimental

= 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.54 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): $\delta = 69.68$ ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.90 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 112.42 (CH), 114.95 (CH), 118.09 (CHCH_2), 118.19 (CHCH_2), 121.70 (CH), 124.65 (C), 132.57 (CH), 132.88 (CH), 147.95 (C), 153.25 (C), 171.36 (C=O) ppm.

4.3.1.2.3 Síntese de Phet(4-OAl)-COOH (5e)



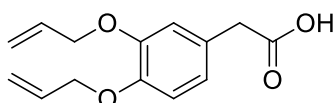
O composto **4e** (0.718 g, 3.090 mmol), dissolvido em THF (5.5 ml), reagiu durante 18 horas e 40 minutos com LiOH (2.60 ml, 6.489 mmol), obtendo-se o composto **5e** (0.576 g, 2.997 mmol, 97%) como um sólido branco que foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 71.0-72.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.60$ (s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 4.53-4.55 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.28-5.31 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.39-5.45 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.01-6.11 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.89 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): $\delta = 40.09$ ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 68.82 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.88 (CH), 117.66 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 125.45 (C), 130.37 (CH), 133.20 (CH), 157.87 (C), 177.90 (C=O) ppm.

4.3.1.2.4 Síntese de Phet(3,4-OAl)-COOH (5f)

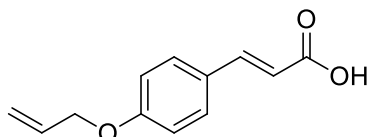


A uma solução do composto **4f** (0.495 g, 1.717 mmol) em THF (5.5 ml) e adicionou-se LiOH (1.44 ml, 3.606 mmol). Ao fim de 17 horas o material de partida ainda não tinha sido todo consumido, por isso adicionou-se mais 0.5 equivalentes de LiOH. Adicionou-se, novamente, 0.5 equivalentes de LiOH após 4 horas. Após 24 horas de reação o composto **5f** (0.283 g, 1.139 mmol, 66%) foi obtido como um óleo amarelo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.59$ (s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 4.57-4.63 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.27-5.32 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.40-5.46 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.04-6.14 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.80-6.88 (m, 3H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 40.44 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 70.03 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 70.05 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.29 (CH), 11.44 (CH), 117.56 (CHCH_2), 117.67 (CHCH_2), 122.01 (CH), 126.14 (C), 133.35 (CH), 133.48 (CH), 147.94 (C), 148.58 (C), 176.98 (C=O) ppm.

4.3.1.2.5 Síntese de Phac(4-OAl)-COOH (5g)



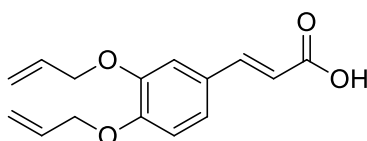
A reação do composto **4g** (0.648 g, 2.651 mmol) em THF (5.5 ml) com LiOH (2.2 ml, 5.567 mmol) durante 19 horas e 40 minutos originou o composto **5g** (0.501 g, 2.452 mmol, 93%) como um sólido branco, que foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 150.0-151.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.61 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.33-5.36 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.43-5.48 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.03-6.13 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.35 (d, J = 15.9 Hz, 1H, CHCHCO_2H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.52 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.77 (d, J = 15.9 Hz, 1H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}$) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 68.89 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.47 (2CH), 115.16 (CH), 118.07 (CHCH_2), 126.96 (C), 130.07 (CH), 132.70 (2CH), 146.66 (CH), 160.76 (C), 172.08 (C=O) ppm.

4.3.1.2.6 Síntese de Phac(3,4-OAl)-COOH (5h)



Dissolveu-se o composto **4h** (0.728 g, 2.425 mmol) em THF (5.5 ml) e adicionou-se LiOH (2.30 ml, 5.828 mmol), originando o composto **5h** após 22 horas de reação. O composto **5h** (0.549 g, 2.110 mmol, 87%) foi obtido como um sólido amarelo e foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 146.0-147.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 4.66-4.68 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.33 (d, J = 10.5 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.43-5.49 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.05-6.16 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.31

Parte experimental

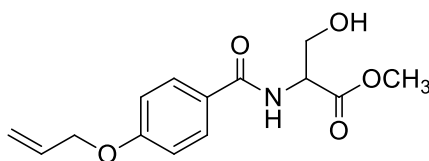
(d, $J = 15.8$ Hz, 1H, CHCHCO₂H), 6.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.13 (m, 2H, ArH), 7.73 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H, C₆H₅CHCH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): $\delta = 69.71$ (OCH₂CHCH₂), 69.96 (OCH₂CHCH₂), 112.80 (CH), 113.35 (CH), 114.88 (CH), 117.96 (OCH₂CHCH₂), 118.03 (OCH₂CHCH₂), 123.14 (CH), 127.15 (C), 132.78 (CH), 133.01 (CH), 146.93 (CH), 148.56 (C), 151.01 (C), 172.40 (C=O) ppm.

4.3.2 Síntese dos ésteres metílicos da serina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos (6)

A soluções dos ácidos fenólicos protegidos **5** em acetonitrilo adicionou-se 1 equivalente de HOBt hidratado; 1.1 equivalentes de DCC, 1 equivalente do éster metílico da serina e 2 equivalentes de trietilamina sob agitação num banho de gelo. Deixou-se a agitar à temperatura ambiente. Terminada a reação evaporou-se o solvente a pressão reduzida, dissolveu-se o composto obtido em acetato de etilo (60 ml), lavou-se com uma solução de KHSO₄ (3x15 ml; 1 mol.dm⁻³), com uma solução de NaHCO₃ (3x15 ml; 1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (3x15 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se o correspondente éster metílico do β -hidroxiaminoácido *N*-protegido.

4.3.2.1 Síntese de Bz(4-OAl)-Ser-OMe (6a)



O composto **5a** (0.178 g, 1.000 mmol) reagiu com HOBt hidratado (0.135 g, 1.000 mmol), DCC (0.227 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 2.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml) durante 16 horas. Obteve-se o composto **6a** (0.240 g, 0.860 mmol, 86%) como um cristal banco (recristalizado de acetato de etilo/éter etílico).

p.f. = 73.0-74.0 °C.

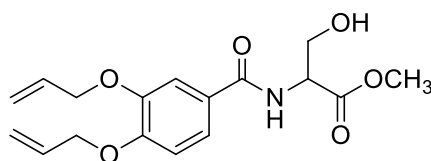
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.83$ (s, 3H, COOCH₃), 4.04-4.10 (m, 2H, β CH₂), 4.58-4.61 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 4.85-4.89 (m, 1H, α CH), 5.31-5.34 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.41-

5.46 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.01-6.11 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.95 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.03 (d largo, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH), 7.80 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 52.85 (CO₂CH₃), 55.19 (αC), 63.71 (βC), 68.86 (OCH₂CHCH₂), 114.55 (CH), 118.11 (OCH₂CHCH₂), 125.76 (C), 129.04 (CH), 132.54 (CH), 161.57 (C), 167.16 (C=O), 171.16 (C=O) ppm.

Análise elementar calculada para C₁₄H₁₇NO₅ (279.29): C 60.21; H 6.14; N 5.02; valores obtidos: C 60.08; H 6.22 N 5.22.

4.3.2.2 Síntese de Bz(3,4-OAI)-Ser-OMe (6d)



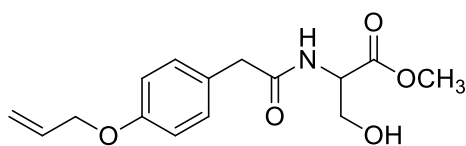
O composto **6d** (0.247 g, 0.736 mmol, 74%) foi obtido como sólido laranja claro (recristalizado de acetato de etilo/éter etílico) pela reação do composto **5d** (0.234 g, 1.000 mmol) com HOBt hidratado (0.135 g, 1.000 mmol), DCC (0.227 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 2.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml) durante 16 horas.

p.f. = 122.0-123.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.84 (s, 3H, COOCH₃), 4.06-4.07 (m, 2H, βCH₂), 4.65-4.67 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 4.85-4.87 (m, 1H, αCH), 5.29-5.34 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.41-5.48 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 6.05-6.13 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.89-6.91 (m, 1H, ArH), 7.02 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, NH), 7.35-7.38 (m, 1H, ArH), 7.45-7.46 (m, 1H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 52.89 (CO₂CH₃), 55.27 (αC), 63.77 (βC), 69.72 (OCH₂CHCH₂), 69.95 (OCH₂CHCH₂), 112.66 (CH), 113.18 (CH), 118.06 (2OCH₂CHCH₂), 120.16 (CH), 126.10 (C), 132.70 (CH), 132.92 (CH), 148.35 (C), 151.70 (C), 167.15 (C=O), 171.11 (C=O) ppm.

4.3.2.3 Síntese de Phet(4-OAl)-Ser-OMe (6e)



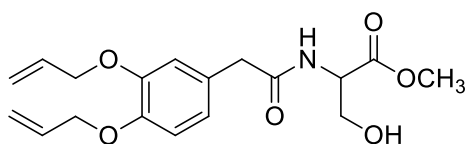
Uma solução do composto **5e** (0.192 g, 1.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml) reagiu durante 16 horas com HOBt hidratado (0.135 g, 1.000 mmol), DCC (0.227 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 2.000 mmol) originando o composto **6e** (0.255 g, 0.868 mmol, 87%). Este composto foi obtido como um sólido branco recristalizado de acetato de etilo/éter etílico.

p.f. = 75.0-76.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.58 (s, 2H, C₆H₅CH₂), 3.76 (s, 3H, COOCH₃), 3.87-3.96 (m, 2H, βCH₂), 4.53-4.55 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 4.63-4-4.66 (m, 1H, αCH), 5.28-5.32 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.39-5.45 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.01-6.11 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.44 (d largo, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.20 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 42.60 (C₆H₅CH₂), 52.74 (CO₂CH₃), 54.92 (αC), 63.44 (βC), 68.82 (OCH₂CHCH₂), 115.24 (CH), 117.73 (OCH₂CHCH₂), 126.43 (C), 130.42 (CH), 133.15 (CH), 157.95 (C), 170.73 (C=O), 171.94 (C=O) ppm.

4.3.2.4 Síntese de Phet(3,4-OAl)-Ser-OMe (6f)



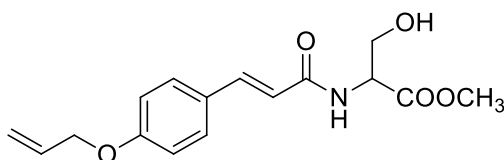
A reação de uma solução do composto **5f** (0.248 g, 1.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml) com HOBt hidratado (0.135 g, 1.000 mmol), DCC (0.2266 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 2.000 mmol) durante 16 horas, originou o composto **6f** (0.303 g, 0.868 mmol, 87%) como um sólido cor de laranja claro que foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 86.0-87.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.56 (s, 2H, C₆H₅CH₂), 3.76 (s, 3H, COOCH₃), 3.87-3.96 (m, 2H, βCH₂), 4.59-4.67 (m, 5H, 2OCH₂CHCH₂ + αCH), 5.26-5.30 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.39-5.45 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.04-6.13 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.41 (d largo, *J* = 7.2 Hz, 1H, NH), 6.80-6.89 (m, 3H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 43.05 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 52.76 (CO_2CH_3), 54.89 (αC), 63.41 (βC), 69.94 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.98 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.46 (CH), 115.20 (CH), 117.66 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 117.67 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 122.00 (CH), 127.09 (C), 133.29 (CH), 133.38 (CH), 147.94 (C), 148.82 (C), 170.67 (C=O), 171.82 (C=O) ppm.

4.3.2.5 Síntese de Phac(4-OAl)-Ser-OMe (6g)

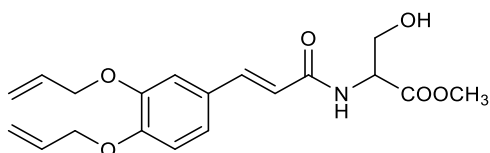


A uma solução de **5g** (0.204 g, 1.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml), adicionou-se HOBt hidratado (0.135 g, 1.000 mmol), DCC (0.2266 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et_3N (0.6 ml, 2.000 mmol), obtendo-se após 16 horas de reação, o composto **6g** (0.276 g, 0.903 mmol, 90%) como um sólido branco que foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.83 (s, 3H, COOCH_3), 4.07 (m, 2H, βCH_2), 4.56-4.58 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.81-4.85 (m, 1H, αCH), 5.32 (d, J = 10.4 Hz, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.43 (d, J = 15.6 Hz, H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.02-6.07 (m, H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.38 (d, J = 15.6 Hz, 1H, CHCHCO_2H), 6.60 (d largo, J = 6.8 Hz, 1H, NH), 6.91 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.62 (d, J = 15.6 Hz, 1H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHCH}$) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 52.86 (CO_2CH_3), 55.04 (βC), 63.78 (αC), 68.83 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 115.04 (CH), 117.28 (CH), 117.99 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 127.34 (C), 129.53 (CH), 132.80 (CH), 141.89 (CH), 160.14 (C), 166.55 (C=O), 171.05 (C=O) ppm.

4.3.2.6 Síntese de Phac(3,4-OAl)-Ser-OMe (6h)



O composto **6h** (0.285 g, 0.788 mmol, 79%) foi obtido como um sólido branco (recristalizado de acetato de etilo) ao fim de 16 horas de reação de uma solução do composto **6h** (0.260 g, 1.000 mmol) em acetonitrilo (10 ml) com HOBt hidratado (0.135

Parte experimental

g, 1.000 mmol), DCC (0.2266 g, 1.100 mmol), HCl.H-L-Ser-OMe (0.155 g, 1.000 mmol) e Et₃N (0.6 ml, 2.000 mmol).

p.f. = 123.0-124.0 °C.

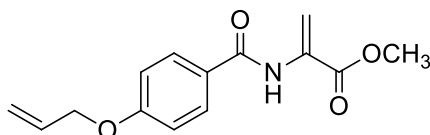
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 4.03 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H, βCH₂), 4.63-4.65 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 4.81-4.84 (m, 1H, αCH), 5.31 (d, *J* = 10.5 Hz, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.41-5.46 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.04-6.13 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.35 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, CHCHCO₂H), 6.63 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, NH), 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.06-7.08 (m, 2H, ArH), 7.57 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, C₆H₅CHCH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 52.85 (CO₂CH₃), 55.01 (αC), 63.69 (βC), 69.73 (OCH₂CHCH₂), 69.97 (OCH₂CHCH₂), 112.79 (CH), 113.49 (CH), 117.87 (CH), 117.93 (2CH₂), 122.35 (CH), 127.65 (C), 132.93 (CH), 133.11 (CH), 142.08 (CH), 148.50 (C), 150.36 (C), 166.48 (C=O), 171.04 (C=O) ppm.

4.3.3 Síntese dos ésteres metílicos da desidroalanina *N*-acilados com ácidos fenólicos protegidos (7)

O éster metílico da serina *N*-protegido (6) reagiu com 0.1 equivalentes de DMAP e 1 equivalente de Boc₂O em acetonitrilo seco, à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC. Após todo o reagente ter sido consumido, adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (60 mL), lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol.dm⁻³), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol.dm⁻³) e com uma solução saturada de NaCl (3×15 mL cada). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o éster metílico da desidroalanina *N*-protegido (7).

4.3.3.1 Síntese de Bz(4-OAl)-ΔAla-OMe (7a)

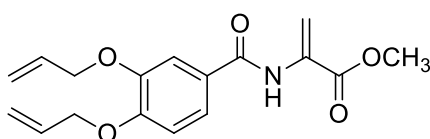


O composto **7a** (0.083 g, 0.032 mmol, 64%) foi obtido como um óleo incolor através da reação do composto **6a** (0.140 g, 0.500 mmol) com DMAP (0.0061 g, 0.050 mmol) e Boc₂O (0.109 g, 0.500 mol) em acetonitrilo seco (10 ml).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.90 (s, 3H, COOCH_3), 4.60-4.62 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.31-5.35 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.41-5.47 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.97 (s, 1H, βCH_2), 6.02-6.11 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.77 (s, 1H, βCH_2), 6.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 8.46 (s largo, 1H, NH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 53.06 (CO_2CH_3), 68.90 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 108.46 (βCH_2), 114.72 (2CH), 118.15 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 126.64 (C), 128.84 (2CH), 131.07 (C), 132.53 (CH), 161.64 (C), 164.92 (C=O), 165.27 (C=O) ppm.

4.3.3.2 Síntese de Bz(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (7d)



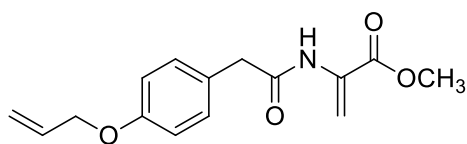
Adicionou-se a uma solução do composto **6d** (0.1677 g, 0.500 mmol) em acetonitrilo seco (10 ml) DMAP (0.0061 g, 0.050 mmol) e Boc_2O (0.109 g, 0.500 mol) obtendo-se o composto **7d** (0.115 g, 0.362 mmol, 72%) como um óleo incolor que solidificou em repouso.

p.f. = 56.0-57.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.90 (s, 3H, COOCH_3), 4.67-4.70 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.30-5.34 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.42-5.49 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.97 (d, J = 1.3 Hz, 1H, βCH_2), 6.04-6.13 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.76 (s, 1H, βCH_2), 6.93 (d, J = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.36 (dd, J = 8.4 Hz, J = 2.2 Hz, 1H, ArH) 7.47 (d, J = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.47 (s largo, 1H, NH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 53.07 (CO_2CH_3), 69.74 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.91 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 108.45 (βCH_2), 112.69 (CH), 112.97 (CH), 118.12 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 118.14 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 119.81 (CH), 126.95 (C), 131.05 (C), 132.68 (CH), 132.88 (CH), 148.46 (C), 151.74 (C), 164.90 (C=O), 165.26 (C=O) ppm.

4.3.3.3 Síntese de Phet(4-OAl)- Δ Ala-OMe (**7e**)



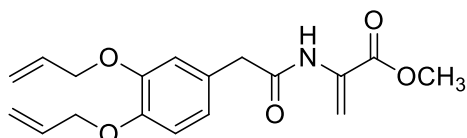
A reação do composto **6e** (0.145 g, 0.500 mmol) em acetonitrilo seco (10 ml) com DMAP (0.006 g, 0.050 mmol) e Boc₂O (0.109 g, 0.500 mmol) originou o composto **7e** (0.119 g, 0.433 mmol, 87%) como um sólido branco recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 76.0-77.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.62 (s, 2H, C₆H₅CH₂), 3.79 (s, 3H, COOCH₃), 4.53-4.55 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.28-5.32 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.39-5.46 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.86 (d, J = 1.5 Hz, 1H, β CH₂), 6.01-6.11 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.61 (s, 1H, β CH₂), 6.93 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.76 (s largo, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 43.99 (C₆H₅CH₂), 52.88 (CO₂CH₃), 68.80 (OCH₂CHCH₂), 108.67 (β CH₂), 115.34 (CH), 117.70 (OCH₂CHCH₂), 126.10 (C), 130.46 (CH), 130.77 (C), 133.13 (CH), 158.07 (C), 164.41 (C=O), 170.03 (C=O) ppm.

4.3.3.4 Síntese de Phet(3,4-OAl)- Δ Ala-OMe (**7f**)



O composto **7f** (0.104 g, 0.315 mmol, 63%) foi obtido como um óleo incolor que solidificou em repouso pela reação do composto **6f** (0.175 g, 0.500 mmol) com DMAP (0.006 g, 0.050 mmol) e Boc₂O (0.109 g, 0.500 mol).

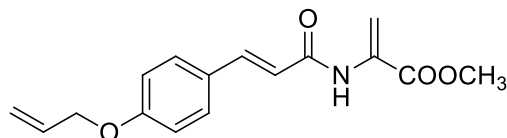
p.f. = 48.0-49.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.59 (s, 2H, C₆H₅CH₂), 3.79 (s, 3H, COOCH₃), 4.60-4.62 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.25-5.30 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.40-5.45 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.86 (d, J = 1.4 Hz, 1H, β CH₂), 6.03-6.13 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.61 (s, 1H, β CH₂), 6.80-6.83 (m, 2H, ArH), 6.89-6.92 (m, 1H, ArH), 7.79 (s largo, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 44.45 (C₆H₅CH₂), 52.87 (CO₂CH₃), 65.83 (OCH₂CHCH₂), 69.94 (OCH₂CHCH₂), 108.66 (β CH₂), 114.51 (CH), 115.16 (CH), 117.62

(OCH₂CHCH₂), 117.68 (OCH₂CHCH₂), 122.00 (CH), 126.76 (C), 130.78 (C), 133.22 (CH), 133.34 (CH), 148.05 (C), 148.93 (C), 164.33 (C=O), 169.88 (C=O) ppm.

4.3.3.5 Síntese de Phac(4-OAl)-ΔAla-OMe (7g)



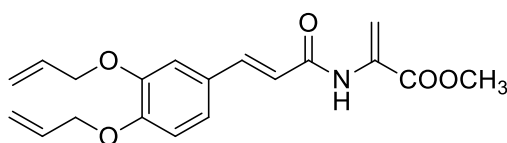
Adicionou-se ao composto **6g** (0.153 g, 0.500 mmol) em acetonitrilo seco (10 ml), DMAP (0.006 g, 0.050 mmol) e Boc₂O (0.109 g, 0.500 mol), obtendo-se o composto **7g** (0.107 g, 0.372 mmol, 75%) como um óleo incolor que solidificou em repouso.

p.f. = 79.0-80.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.89 (s, 3H, COOCH₃), 4.58 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.31-5.33 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.41-5.46 (m, H, OCH₂CHCH₂), 5.94 (s, 1H, βCH₂), 6.03-6.07 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.37 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, CHCHCO₂H), 6.75 (s, 1H, βCH₂), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, ArH), 7.49 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, ArH), 7.65 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, C₆H₅CHCH), 7.86 (s largo, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 53.03 (CO₂CH₃), 68.84 (OCH₂CHCH₂), 108.88 (βCH₂), 115.08 (CH), 118.00 (OCH₂CHCH₂), 118.09 (C), 127.30 (C), 129.61 (CH), 131.07 (C), 132.78 (CH), 142.25 (CH), 160.24 (C=O), 164.73 (C=O) ppm.

4.3.3.6 Síntese de Phac(3,4-OAl)-ΔAla-OMe (7h)



A uma solução do composto **6h** (0.181, 0.500 mmol) em acetonitrilo seco (10 ml) adicionou-se DMAP (0.006 g, 0.050 mmol) e Boc₂O (0.109 g, 0.500 mol) originando composto **7h** (0.108 g, 0.315 mmol, 63%). Este composto foi obtido como um óleo incolor que solidificou em repouso para dar um sólido branco.

p.f. = 58.0-59.0 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.89 (s, 3H, COOCH₃), 4.63-4.67 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.29-5.34 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.41-5.48 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.94 (s, 1H, βCH₂), 6.03-6.14 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.34 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, CHCHCO₂H), 6.75 (s, 1H, βCH₂), 6.89

Parte experimental

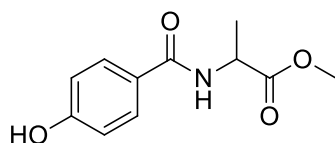
(d, $J = 8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.07-7.11 (m, 2H, ArH), 7.60 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, C_6H_5CHCH), 7.87 (s largo, 1H, NH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 53.04$ (CO_2CH_3), 69.74 (OCH_2CHCH_2), 69.98 (OCH_2CHCH_2), 108.90 (βCH_2), 112.71 (CH), 113.50 (CH), 117.88 (OCH_2CHCH_2), 117.95 (OCH_2CHCH_2), 118.34 (CH), 122.51 (CH), 127.60 (C), 131.04 (C), 132.91 (CH), 133.08 (CH), 142.44 (CH), 148.56 (C), 150.48 (C), 164.61 (C=O), 164.75 (C=O) ppm.

4.3.4 Síntese dos ésteres metílicos da alanina *N*-acilados com ácidos fenólicos (9)

Adicionou-se aos compostos **a**, **d-h** dissolvidos em acetonitrilo 1 equivalente de HOBt hidratado; 1.1 equivalentes de DCC, 1 equivalente do éster metílico da alanina e 1 equivalente de trietilamina sob agitação num banho de gelo. Deixou-se a agitar à temperatura ambiente. Terminada a reação, a solução foi filtrada e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em acetona e deixado em repouso no frio durante a noite. A solução foi novamente filtrada e o solvente evaporado a pressão reduzida. O resíduo obtido foi dissolvido em acetato de etilo (60 ml), lavou-se com uma solução de $KHSO_4$ (3x15 ml; 1 mol. dm^{-3}), com uma solução de $NaHCO_3$ (3x15 ml; 1 mol. dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl (3x15 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se o correspondente éster metílico da alanina *N*-protegido.

4.3.4.1 Síntese de Bz(4-OH)-Ala-OMe (9a)



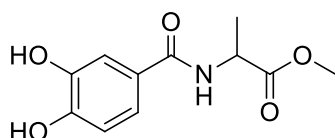
A uma solução do composto **a** (0.345 g, 2.500 mmol) em acetonitrilo (10 ml) adicionou-se HOBt hidratado (0.330 g, 2.500 mmol), DCC (0.567 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.50 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol) obtendo-se o composto **9a** (0.412 g, 1.847 mmol, 74%), após 16 horas de reação. Este composto foi obtido como um sólido branco recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

p.f. = 168.0-169.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.51 (d, J = 7.1 Hz, βCH_3), 3.79 (s, 3H, COOCH_3), 4.57-4.60 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.76-4.83 (m, 1H, αCH), 5.30-5.33 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.40-5.45 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.00-6.10 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.67 (d largo, J = 7.2 Hz, 1H, NH), 6.94 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 18.69 (βCH_3), 48.38 (αCH), 52.51 (CO_2CH_3), 68.82 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.47 (CH), 118.04 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 126.27 (C), 128.83 (CH), 132.60 (CH), 161.33 (C), 166.26 (C=O), 173.82 (C=O) ppm.

4.3.4.2 Síntese de Bz(3,4-OH)-Ala-OMe (9d)

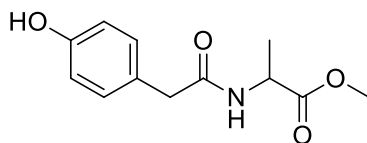


Adicionou-se ao composto **d** (0.385 g, 2.500 mmol) acetonitrilo (10 ml), HOBt hidratado (0.330 g, 2.500 mmol), DCC (0.5665 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.500 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol) obtendo-se, após 16 horas de reação, o composto **9d** (0.207 g, 0.864 mmol, 35%) como um óleo amarelo claro.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OCD_3): δ = 1.48 (d, J = 7.2 Hz, 3H, βCH_3), 3.71 (s, 3H, COOCH_3), 4.62-4.66 (m, 1H, αCH), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.35-7.37 (m, 1H, ArH), 7.47 (d, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.67 (s largo, 1H, NH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 17.63 (βCH_3), 49.22 (αCH), 52.18 (CO_2CH_3), 115.46 (CH), 115.67 (CH), 120.47 (CH), 127.04 (C), 145.59 (C), 149.19 (C), 166.99 (C=O), 174.15 (C=O) ppm.

4.3.4.3 Síntese de Phet(4-OH)-Ala-OMe (9e)



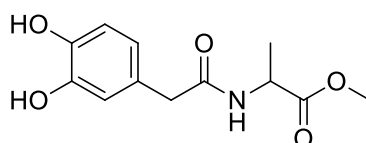
O composto **9e** (0.415 g, 1.748 mmol, 70%) foi obtido como um óleo cor de laranja claro ao fim de 16 horas reação do composto **e** (0.380 g, 2.500 mmol) com HOBt hidratado (0.330 g, 2.500 mmol), DCC (0.567 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.500 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol) em acetonitrilo (10 ml).

Parte experimental

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.36$ (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, βCH_3), 3.53 (s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 3.73 (s, 3H, COOCH_3), 4.57-4.61 (m, 1H, αCH), 6.01 (s largo, 1H, NH), 6.81 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.13 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CD_3OCD_3): $\delta = 17.84$ (βCH_3), 42.46 (CH_2), 48.75 (αCH), 52.18 (CO_2CH_3), 115.92 (CH), 127.52 (C), 130.99 (CH), 157.02 (C), 171.33 (C=O), 173.88 (C=O) ppm.

4.3.4.4 Síntese de Phet(3,4-OH)-Ala-OMe (9f)

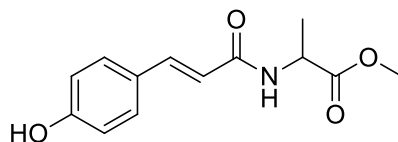


O composto **f** (0.420 g, 2.500 mmol) reagiu com HOBt hidratado (0.330 g, 2.500 mmol), DCC (0.563 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.500 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol) em acetonitrilo (10 ml), originando o composto **9f** (0.327 g, 1.291 mmol, 52%), após 16 horas de reação. Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OCD_3): $\delta = 1.34$ (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, βCH_3), 3.40 (s, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 3.67 (s, 3H, COOCH_3), 4.43-4.46 (m, 1H, αCH), 6.65 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 2.0$ Hz 1H, ArH), 6.76 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.84 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.37 (s largo, 1H, NH), 7.90 (s largo, 2H, 2OH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CD_3OCD_3): $\delta = 17.82$ (βCH_3), 42.75 (CH_2), 48.78 (αCH), 52.20 (CO_2CH_3), 115.89 (CH), 117.10 (CH), 121.36 (CH), 128.19 (C), 144.72 (C), 145.76 (C), 171.45 (C=O), 173.87 (C=O) ppm.

4.3.4.5 Síntese de Phac(4-OH)-Ala-OMe (9g)



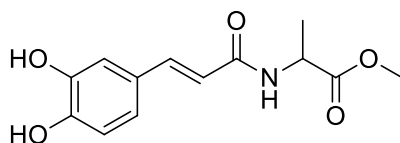
A reação do composto **g** (0.204 g, 2.500 mmol) em acetonitrilo (10 ml) com HOBt hidratado (0.33 g, 2.500 mmol), DCC (0.567 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.500 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol) originou o composto **9g** (0.485 g, 1.945 mmol, 79%) após de 16 horas de reação.

p.f. = 123.0-125.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OCD_3): δ = 1.42 (d, J = 7.2 Hz, 3H, βCH_3), 3.71 (s, 3H, COOCH_3), 4.56-4.64 (m, 1H, αCH), 6.59 (d, J = 16.0 Hz, 1H, CHCHCONH), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 2H, ArH), 7.46-7.53 (m, 3H, ArH + NH + $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHCH}$), 8.89 (s largo, 1H, OH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CD_3OCD_3): δ = 17.99 (βCH_3), 48.80 (αCH), 52.22 (CO_2CH_3), 116.56 (CH), 118.88 (CH), 127.60 (C), 130.21 (CH), 140.91 (CH), 159.85 (C), 166.18 (C=O), 174.01 (C=O) ppm.

4.3.4.6 Síntese de Phac(3,4-OH)-Ala-OMe (9h)



Adicionou-se ao composto **h** (0.450 g, 2.500 mmol) acetonitrilo (10 ml), HOBT hidratado (0.33 g, 2.500 mmol), DCC (0.5665 g, 2.750 mmol), HCl.H-L-Ala-OMe (0.313 g, 2.500 mmol) e Et_3N (0.35 ml, 2.500 mmol). Passadas 16 horas obteve-se o composto **9h** (0.486 g, 1.831 mmol, 74%) como um sólido branco que foi recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo.

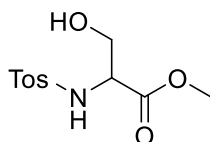
p.f. = 151.0-152.0 °C.

^1H RMN (400 MHz, CD_3COCD_3): δ 1.42 (d, J = 7.2 Hz, 3H, βCH_3), 3.71 (s, 3H, COOCH_3), 4.56-4.63 (m, 1H, αCH), 6.54 (d, J = 15.6 Hz, 1H, CHCHCONH), 6.87 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 6.96-6.99 (m, 1H, ArH), 7.11 (d, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 7.45 (d, J = 15.6 Hz, 1H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHCH}$), 7.52 (d largo, J = 7.2 Hz, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, OH), 8.38 (s, 1H, OH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CD_3OCD_3): δ = 17.95 (βCH_3), 48.80 (αCH), 52.22 (CO_2CH_3), 114.84 (CH), 116.29 (CH), 118.95 (CH), 121.67 (CH), 128.30 (C), 141.27 (CH), 146.22 (C), 147.92 (C), 166.19 (C=O), 174.01 (C=O) ppm.

4.4 Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) alanina e desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas

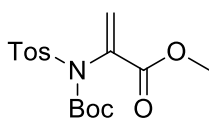
4.4.1 Síntese do éster metílico da *N*-(4-toluenosulfonilo)-serina [Tos-Ser-OMe (10)]



Ao composto **1** (2.792 g; 20.000 mmol) foi adicionado com Et₃N (6.12 ml, 44.000 mmol) em diclorometano (50 ml), e a mistura arrefecida em banho de gelo. Em seguida adicionou-se lentamente cloreto de tosilo (4.194 g, 22.000 mmol). Deixou-se a reagir à temperatura ambiente controlando a reação por TLC. Após 23 horas e 20 minutos todo o composto **1** tinha sido consumido. Evaporou-se o solvente a pressão reduzida, dissolveu-se o composto obtido em acetato de etilo (150 ml), lavou-se com uma solução de KHSO₄ (30 ml, 1 mol.dm⁻³), uma solução de NaHCO₃ (30 ml, 1 mol.dm⁻³) e uma solução saturada de NaCl (3x30 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e levada à secura a pressão reduzida, obtendo-se o composto **9** (3.947 g, 14.140 mmol, 72 %) como um sólido branco, cujo espectro de ¹H RMN estava de acordo com o descrito.²⁹

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.44 (s, 3H, CH₃ Tos), 3.63 (s, 3H, CH₃ COOMe), 3.90 (d, J = 4 Hz, 2H, β CH₂), 3.97-4.01 (m, 2H, α CH₂), 5.59 (s largo, 1H, NH), 7.32 (d, J = 8 Hz, 2H, ArH), 7.75 (d, J = 8 Hz, 2H, ArH) ppm.

4.4.2 Síntese do éster metílico da *N*-(4-toluenossulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)- α,β -desidroalanina [Tos-*N*(Boc)- Δ Ala-OMe (11)]

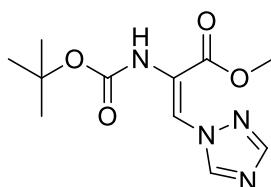


A uma mistura de Tos-Ser-OMe (1.366 g, 5.000 mmol) em acetonitrilo seco (5 ml) adicionou-se DMAP (0.061 g, 0.500 mmol) e Boc₂O (2.401 g, 11.000 mmol). Deixou-se a mistura a agitar à temperatura ambiente seguindo-se a reação por TLC. Terminada a reação (depois de 37 horas e 30 minutos) o solvente foi evaporado sob vácuo, o sólido obtido foi dissolvido em acetato de etilo (100 ml). Lavou-se, a fase orgânica, com uma

solução de KHSO_4 (20 ml, $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), com uma solução de NaHCO_3 (20 ml; $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) e uma solução saturada de NaCl (3x20 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida, para dar o composto **11** (1.222 g, 3.740 mmol, 75%) como um sólido branco, cujo espectro de ^1H RMN estava de acordo com o descrito.³⁰

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.34$ (s, 9H, CH_3 Boc), 2.43 (s, 3H, CH_3 Tos), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 6.03 (s, 1H, βCH_2), 6.58 (s, 1H, βCH_2), 7.31 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.93 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, 2H, ArH) ppm.

4.4.3 Síntese do éster metílico da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil), (β -triazol-1-il)desidroalanina [Boc- Δ Ala(β - triazol-1-il)-OMe (**12**)]



A uma solução de Tos-*N*(Boc)- Δ Ala-OMe (0,485 g; 1,367 mmol) em acetonitrilo (10 ml) adicionou-se K_2CO_3 (1,134 g; 8,202 mmol) e 1,2,4-triazole (0,094 g; 1,367 mmol). Deixou-se a agitar à temperatura ambiente durante 18 horas. Filtrou-se a suspensão obtida e evaporou-se o sobrenadante. Obteve-se o composto **12** (0.397 g; 1.300 mmol) como um óleo amarelo com rendimento quantitativo, cujo espectro de ^1H RMN estava de acordo com o descrito.³⁵

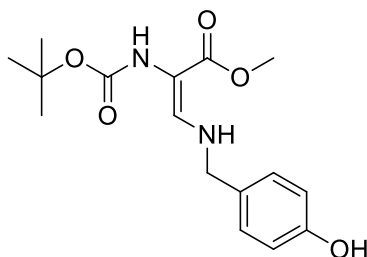
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.46$ (s, 9H, CH_3 Boc), 3.88 (s, 3H, CH_3 OMe), 7.34 (s, 1H, βCH), 8.06 (s, 1H, NH), 8.12 (s, 1H, 3-H ou 5-H triazole), 8.47 (s, 1H, 3-H ou 5-H triazole) ppm.

4.4.4 Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas (**14**)

Adicionou-se ao composto **12**, metanol (10 ml) e 2.5 equivalentes de uma amina (**13**), deixou-se a reagir à temperatura ambiente. A reação foi seguida por RMN ^1H . Quando este mostrou que não havia material de partida evaporou-se o solvente. Adicionou-se ao composto obtido acetato de etilo (100 ml) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (20

ml, 1 mol.dm³), e com uma solução saturada de NaCl (3x20 ml). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida.

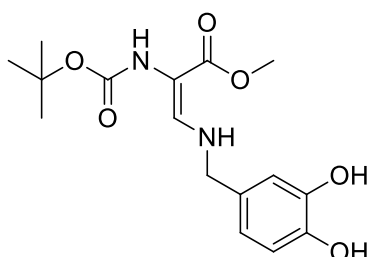
4.4.4.1 Síntese de Boc- Δ Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (14i)



Ao composto **12i** (0.183 g, 0.680 mmol) em metanol (10 ml) foi adicionado Et₃N (0.206 ml, 1.483 mmol) e a amina **13i** (0.091 g, 0.741 mmol). Ao fim de 23 horas, devido à reação ainda não estar completa, adicionou-se mais 1 equivalente de Et₃N. A reação terminou após de 71 horas. Obteve-se um óleo amarelo que correspondia a uma mistura de isômeros. Realizou-se cromatografia em coluna [usando como eluente éter etílico/éter de petróleo (1/1)] para tentar separar os isômeros, o que não foi possível. Obteve-se assim uma mistura de isômeros do composto **14i** (0.066 g, 0.204 mmol, 30%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, CH₃ Boc), 3.70 (s, 3H, CH₃ COOMe), 3.81 (s, 3H, CH₃ COOMe), 4.31 (s, 2H, CH₂), 4.79 (s, 2H, CH₂), 6.29 (s, 1H, CH), 6.78-6.82 (m, 2H, ArH), 7.12-7.15 (m, 2H, ArH) ppm.

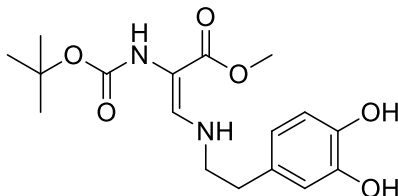
4.4.4.2 Síntese de Boc- Δ Ala[β -Bzl(3,4-OH)-NH]-OMe (14j)



O composto **12** (0.183 g, 0.680 mmol) foi feito reagir com Et₃N (0.309 ml, 2.224 mmol) e com a amina **13j** (0.163 g, 0.741 mmol) em metanol (10 ml). Passadas 22 horas a reação ainda não tinha terminado, por isso adicionou-se 0.2 equivalentes de Et₃N. Após 70 horas a reação terminou. Obteve-se um óleo amarelo que correspondia a uma mistura de isômeros. Realizou-se cromatografia em coluna [usando como eluente éter etílico/éter de petróleo (1/1)] para separar os isômeros, o que não foi possível. Obteve-

se assim um sólido amarelo correspondente aos dois isômeros do composto **14j** (0.081 g, 0.238 mmol, 35%).

4.4.4.3 Síntese de Boc- Δ Ala[β -Dopa(3,4OH)-NH]-OMe (**14k**)

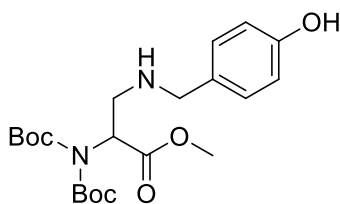


Adicionou-se a amina **13k** (0.212 g, 1.118 mmol) e Et₃N (0.31 ml, 2.237 mmol) a uma solução do composto **12** (0.150 g, 0.559 mmol) em metanol (10 ml). Passadas 18 horas a reação terminou, obteve-se um óleo amarelo que correspondia a uma mistura de compostos. Realizou-se cromatografia em coluna [usando como eluente éter etílico/éter de petróleo (1/1)] para se obter o composto **14k**, o que não foi possível.

4.4.5 Síntese dos ésteres metílicos da *N,N*-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas (**16**)

O composto Boc₂- Δ Ala-OMe (**15**) foi feito reagir com 1 equivalente do composto **13** em acetonitrilo, na presença de 6 equivalentes de K₂CO₃ à temperatura ambiente seguindo a reação por RMN ¹H. Após o reagente ter sido consumido, filtrou-se a suspensão e evaporou-se o solvente a pressão reduzida para dar o composto **16**.

4.4.5.1 Síntese de Boc₂-Ala[β -Bzl(4-OH)-NH]-OMe (**16i**)

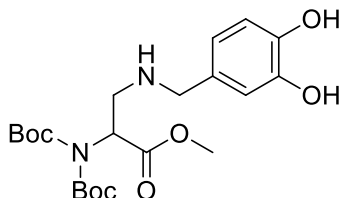


A reação do composto **15** (0.151 g, 0.500 mmol) com K₂CO₃ (0.415 g, 3.000 mmol) e a amina **13i** (0.062 g, 0.500 mmol) em acetonitrilo (10 ml) originou o composto **16i** impuro. Realizou-se cromatografia em coluna [usando como eluente éter etílico/éter de petróleo (1/2)] para purificar o composto. Obteve-se o composto pretendido (0.112 g, 0.026 mmol, 53%).

Parte experimental

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.45 (s, 18H, CH_3 Boc), 3.37-3.42 (m, 2H, CH_2), 3.72 (s, 3H, CH_3 COOMe), 4.26-4.45 (m, 3H, βCH_2 e αCH), 6.78 (d, J = 8 Hz, 2H, ArH), 7.08 (s largo, 2H, ArH) ppm.

4.4.5.2 Síntese de $\text{Boc}_2\text{-Ala}[\beta\text{-Bzl(3,4-OH)-NH}]\text{-OMe}$ (**16j**)



O composto **15** (0.214 g, 0.712 mmol) foi feito reagir com K_2CO_3 (0.590 g, 4.272 mmol) e a amina **13j** (0.157 g, 0.712 mmol) em acetonitrilo (10 ml). Após 68 horas o composto **14** ainda não tinha sido completamente consumido, por isso adicionou-se mais 1 equivalente da amina **13j** e 2 equivalentes de Et_3N . Ao fim de 91 horas a reação ainda não estava completa, interrompendo-se a reação. Realizou-se cromatografia em coluna [usando como eluente éter etílico/éter de petróleo (1/2)] para separar os compostos obtidos. Obteve-se o composto **16j** (0.079 g, 0.180 mmol, 25%).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.45 (s, 3H, CH_3 Boc), 3.40 (s largo, 2H, CH_2), 3.71 (s, 3H, CH_3 COOMe), 4.33-4.36 (m, 3H, βCH_2 e αCH), 7.02 (d, J = 8 Hz, 1H, ArH), 7.37-7.40 (d, 1H, J = 8 Hz, ArH), 7.44 (d, J = 4 Hz, 1H, ArH) ppm.

4.5 Síntese de ésteres metílicos da *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas

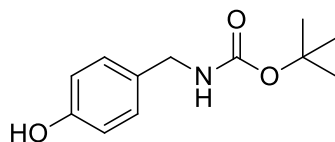
4.5.1 Síntese de substituintes fenólicos

4.5.1.1 Síntese de derivados *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) de hidroxifenilaminas (**17**)

Dissolveram-se os compostos **i-k** em diclorometano (20 ml) e adicionou-se 1 equivalente de Boc_2O e 1.1 ou 2.2 equivalentes de Et_3N num banho de gelo. A mistura reacional reagiu à temperatura ambiente. Terminada a reação evaporou-se o solvente, adicionou-se acetato de etilo (100 ml) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol. dm^{-3}) e uma solução saturada de NaCl (3x25 ml cada). A fase orgânica foi seca

com sulfato de magnésio anidro, filtrada e lavada à secura a pressão reduzida. Obtendo-se os respectivos compostos **17**.

4.5.1.1.1 Síntese de Bzl(4-OH)-NH-Boc (**17i**)

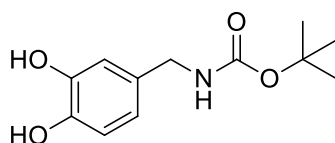


A reação do composto **i** (0.615 g, 5.00 mmol) com Boc₂O (1.09 g, 5.00 mmol) e Et₃N (0.77 ml, 5.500 mmol) após 5 horas de reação originou o composto **17i** (1.083 g, 4.852 mmol, 97%) como um óleo cor de laranja.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, CH₃ Boc), 4.27 (s, 2H, CH₂), 4.80 (s largo, 1H, NH), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 28.41 [C(CH₃)₃], 44.19 (CH₂), 79.69 [C(CH₃)₃], 115.46 (CH), 128.89 (CH), 130.50 (C), 155.29 (C), 156.06 (C=O) ppm.

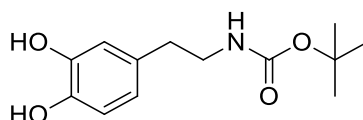
4.5.1.1.2 Síntese de Bzl(3,4-OH)-NH-Boc (**17j**)



O composto **17j** (0.971 g, 4.059 mmol, 93%) foi obtido como um óleo cor de laranja claro após 5 horas de reação do composto **j** (0.964 g, 4.380 mmol) com Boc₂O (0.955 g, 4.380 mmol) e Et₃N (1.35 ml, 9.640 mmol).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, CH₃ Boc), 4.2 (d, 2H, CH₂), 4.88 (s largo, 1H, NH), 6.64-6.66 (m, 1H, ArH), 6.77-6.81 (m, 2H, ArH) ppm.

4.5.1.1.3 Síntese de Dopa(3,4-OH)-NH-Boc (**17k**)



A uma solução do composto **k** (0.948 g, 5.000 mmol) adicionou-se Boc₂O (1.090 g, 5.000 mmol) e Et₃N (1.54 ml, 11.000 mmol). Ao fim 5 horas de reação obteve-se o composto **17k** (1.080 g, 4.264 mmol, 85%) como um sólido creme claro (a partir de diclorometano/éter de petróleo).

Parte experimental

p.f. = 130.0-131.0 °C.

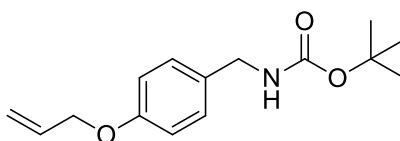
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.45 (s, 9H, CH_3 Boc), 2.65 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.32 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 4.64 (s largo, 1H, NH), 6.58 (dd, J = 8.0 Hz, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 6.71 (d, J = 2.1 Hz, 2H, ArH), 6.80 (d, J = 8.0 Hz, 1H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 28.39 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 35.47 (CH_2), 41.93 (CH_2), 79.85 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 115.31 (CH), 115.61 (CH), 120.88 (CH), 131.23 (C), 142.56 (C), 143.92 (C), 156.39 (C=O) ppm.

4.5.1.2 Proteção com grupo alilo (18)

Adicionou-se aos compostos **17**, 3.1 equivalentes de K_2CO_3 em DMF (5 ml), sob atmosfera de azoto. Posteriormente adicionou-se 3.1 equivalentes de brometo de alilo e deixou-se agitar à temperatura ambiente. A reação foi seguida por TLC. Quando todo o composto de partida havia sido consumido adicionou-se acetato de etilo (20 ml) e HCl (2 mol. dm^{-3}) até a suspensão passar a solução (pH ácido). Lavou-se a fase aquosa com acetato de etilo (2x20 ml). Lavou-se a fase orgânica com $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (4x20ml, 5%), LiCl (4x20 ml, 5%) e com uma solução saturada de NaCl (4x20ml). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente obtendo-se os compostos **18**.

4.5.1.2.1 Síntese de Bzl(4-OAl)-NH-Boc (18i)

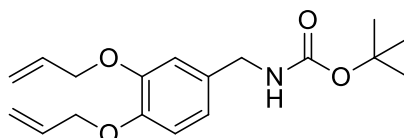


O composto **17i** (0.500 g, 2.239 mmol) foi feito reagir com K_2CO_3 (0.960 g, 6.942 mmol) e brometo de alilo (0.601 ml, 6.942 mmol) durante 4 horas. Obteve-se o composto **18i** (0.462 g, 1.756 mmol, 78.5%) como um óleo amarelo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.48 (s, 9H, CH_3 Boc), 4.26 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH_2), 4.54-4.56 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.79 (s largo, 1H, NH), 5.28-5.32 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.40-5.45 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.02-6.12 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 28.42 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 44.19 (CH_2), 68.86 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 79.34 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 114.85 (2CH), 117.65 (CHCH_2), 128.81 (2CH), 131.20 (C), 133.26 (CHCH_2), 155.83 (C), 157.93 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

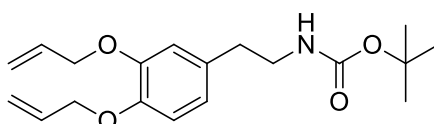
4.5.1.2.2 Síntese de Bzl(3,4-OAl)-NH-Boc (18j)



Adicionou-se K_2CO_3 (0.895 g, 6.478 mmol) e brometo de aliilo (0.561 ml, 6.478 mmol) a uma solução do composto **17j** (0.500 g, 2.090 mmol). Após 3 horas de reação obteve-se o composto **18j** (0.539 g, 1.686 mmol, 81%) como um sólido branco.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.47 (s, 9H, CH_3 Boc), 4.22 (d largo, J = 4.5 Hz, 2H, CH_2), 4.53-4.66 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.61 (s largo, 1H, NH), 5.21-5.34 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.35-5.47 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.96-6.15 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.76-6.88 (m, H, ArH) ppm.

4.5.1.2.3 Síntese de Dopa(3,4-OAl)-NH-Boc (18k)



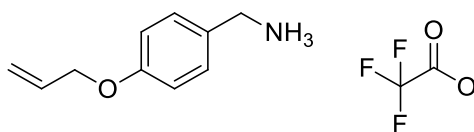
O composto **18k** (0.582 g; 1.746 mmol; 88%) foi obtido como um óleo amarelo após 3 horas de reação do composto **17k** (0.500 g; 1.974 mmol) com K_2CO_3 (0.846 g, 6.119 mmol) e brometo de aliilo (0.530 ml, 6.119 mmol).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.37 (s, 9H, CH_3 Boc), 2.64 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 3.26 (br s, 2H, CH_2), 4.47-4.53 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.17-5.22 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.30-5.37 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.95-6.05 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.62-6.66 (m, 2H, ArH), 6.75-6.78 (m, 1H, ArH) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 28.35 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 35.64 (CH_2), 41.77 (CH_2), 69.91 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 70.06 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 83.23 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 114.44 (CH), 114.91 (CH), 117.42 (CH_2), 117.51 (CH_2), 121.16 (CH), 131.93 (C), 132.75 (C), 133.43 (CH), 133.57 (CH), 148.48 (C), 155.81 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

4.5.1.3 Desproteção do grupo amina (19)

4.5.1.3.1 Síntese de Bzl(4-OAl)-NH₂ (19i)

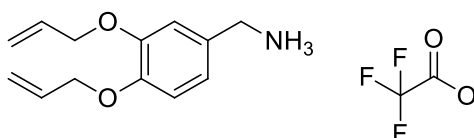


Adicionou-se ácido trifluoroacético (5 ml) ao composto **18i** (0.421 g, 1.597 mmol). A solução foi deixada em repouso durante 30 minutos, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. Obteve-se um sólido amarelo claro que foi triturado com uma mistura de éter etílico/éter de petróleo, dando origem ao composto **19i** (0.411 g, 1.481 mmol, 93%) como um sólido branco (recristalizado de acetato de etilo/éter de petróleo).

¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 3.94 (s, 2H, CH₂), 4.57 (d, J = 4.8 Hz, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.24-5.26 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.35-5.39 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.97-6.07 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.98 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH), 7.35 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH), 8.02 (s largo, 3H, NH₃) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, DMSO): δ = 41.76 (CH₂), 68.14 (OCH₂CHCH₂), 114.71 (2CH), 117.47 (CHCH₂), 126.02 (C), 130.41 (2CH), 133.54 (CH), 158.27 (C) ppm.

4.5.1.3.2 Síntese de Bzl(3,4-OAl)-NH₂ (19j)

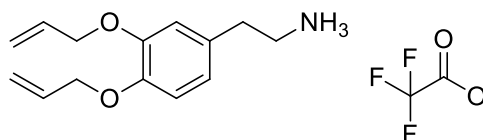


Adicionou-se ao composto **18j** (0.508 g, 1.525 mmol) ácido trifluoroacético (5 ml). A solução obtida foi deixada em repouso durante 30 minutos, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. Obteve-se um óleo castanho que foi triturado com uma mistura de éter etílico/éter de petróleo, dando origem ao composto **19j** (0.451 g, 1.353 mmol, 89%) como um sólido creme claro (a partir de acetato de etilo/éter de petróleo).

¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 3.93 (s, 2H, CH₂), 4.52-4.57 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.22-5.28 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.35-5.44 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.97-6.11 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.92-7.04 (m, 2H, ArH), 7.11 (d, J = 2.0 Hz, 1H, ArH), 8.07 (s largo, 3H, NH₃) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, DMSO): δ = 42.12 (CH_2), 68.88 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 69.07 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 113.82 (CH), 114.78 (CH), 117.33 (CHCH_2), 117.49 (CHCH_2), 121.71 (CH), 126.54 (C), 133.61 (CH), 133.71 (CH), 147.81 (C), 148.09 (C) ppm.

4.5.1.3.3 Síntese de Dopa(3,4-OAI)- NH_2 (**19k**)



O composto **19k** (0.570 g, 1.688 mmol) foi dissolvido em ácido trifluoroacético (5 ml). Obtendo-se uma solução que foi deixada em repouso à temperatura ambiente. Após 30 minutos o solvente foi evaporado a pressão reduzida, obtendo-se o composto **19k** como um óleo castanho escuro, com rendimento quantitativo.

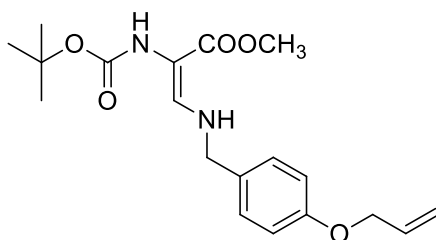
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 2.89 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH_2), 3.20 (s largo, 2H, CH_2), 4.53-4.57 (m, 4H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.25-5.31 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.35-5.42 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.99-6.09 (m, 2H, $2\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 6.69-6.77 (m, 2H, ArH), 6.84-6.84 (d, J = 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.49 (s largo, 3H, NH_3) ppm.

^{13}C RMN (100.6 MHz, CDCl_3): δ = 32.85 (CH_2), 41.37 (CH_2), 69.982 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 70.04 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 114.69 (CH), 115.07 (CH), 117.98 (CH_2), 118.02 (CH_2), 121.54 (CH), 127.15 (C), 128.39 (C), 133.02 (CH), 133.10 (CH), 147.85 (C) ppm.

4.5.2 Síntese dos ésteres metílicos da *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)desidroalanina β -substituídos com aminas fenólicas protegidas [Boc- $\Delta\text{Ala}(\beta$ -substituído)-OMe (**20**)]

Adicionou-se ao composto **12** metanol, 1 equivalente dos compostos **19**, e 3 equivalentes de Et_3N . Deixou-se a reagir à temperatura ambiente. Seguiu-se a reação por TLC, quando este mostrou que não havia material de partida evaporou-se o solvente. Adicionou-se ao resíduo obtido acetato de etilo (100 ml) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 ($1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$), e com uma solução saturada de NaCl (2x30 ml, cada). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida obtendo-se os compostos **20**.

4.5.2.1 Síntese de Boc- Δ Ala[Bzl(4-OAl)-NH]-OMe (20i)

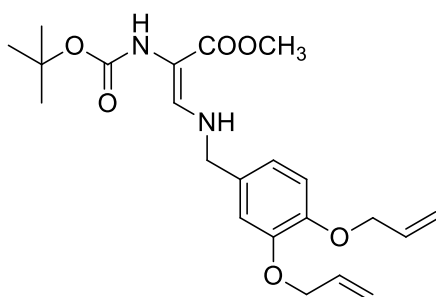


Fez-se reagir o composto **12** (0.089 g, 0.333 mmol) com o composto **19i** (0.092 g, 0.333 mmol), na presença de Et₃N (0.14 ml, 1.000 mmol) em metanol (10 ml). Após uma noite de reação adicionou-se mais 3 equivalentes de Et₃N, dando origem ao composto **20i** (0.520 g, 1.434 mmol, 43%) como um óleo incolor.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, CH₃ Boc), 3.70 (s, 3H, COOCH₃), 4.33 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 4.52-4.55 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.28-5.31 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.39-5.44 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.58 (s largo, 1H, NH), 5.89 (s largo, 1H, NH), 6.02-6.09 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 6.88-6.92 (m, 3H, ArH + β CH), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H, ArH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 28.25 [C(CH₃)₃], 51.52 (CO₂CH₃), 51.52 (CH₂), 68.85 (OCH₂CHCH₂), 80.23 [C(CH₃)₃], 98.16 (C), 114.98 (2CH), 117.71 (CHCH₂), 128.41 (2CH), 128.54 (CH), 130.33 (C), 130.69 (C), 133.15 (CHCH₂), 158.11 (C=O), 166.67 (C=O) ppm.

4.5.2.2 Síntese de Boc- Δ Ala[Bzl(3,4-OAl)-NH]-OMe (20j)



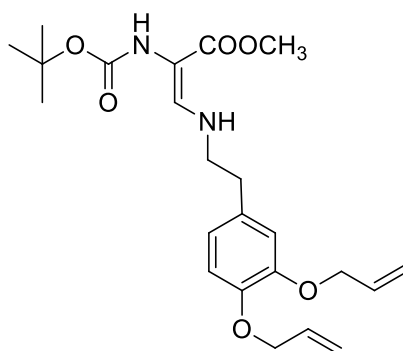
O composto **12** (0.891 g, 0.333 mmol) foi feito reagir com o composto **19j** (0.111 g, 0.333 mmol) e Et₃N (0.14 ml, 1.000 mmol) em metanol (10 ml). Ao fim de uma noite TLC ainda mostrava a presença de material de partida, assim adicionou-se mais 3 equivalentes de Et₃N. Passadas algumas horas obteve-se o composto **20j** (0.058 g, 0.139 mmol, 42%) como um óleo incolor.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, CH₃ Boc), 3.70 (s, 3H, COOCH₃), 4.32 (d, J = 5.6 Hz, 2H, CH₂), 4.60-4.63 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.25-5.29 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.28-

5.44 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.91 (s largo, 1H, NH), 6.04-6.11 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.79-6.89 (m, 4H, ArH + βCH) ppm.

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): δ = 28.24 [C(CH₃)₃], 51.27 (CO₂CH₃), 51.76 (CH₂), 69.95 (OCH₂CHCH₂), 70.04 (OCH₂CHCH₂), 80.22 [C(CH₃)₃], 98.25 (C), 112.98 (CH), 113.30 (CH), 113.97 (C), 114.27 (CH), 117.60 (CHCH₂), 117.68 (CHCH₂), 119.54 (CH), 131.08 (C), 131.54 (C), 133.32 (CHCH₂), 133.41 (CHCH₂), 148.81 (C=O), 166.68 (C=O) ppm.

4.5.2.3 Síntese de Boc-ΔAla[Dopa(3,4-OAI)-NH]-OMe (20k)



O composto **12** (0.089 g, 0.333 mmol) foi feito reagir com o composto **19K** (0.116 g, 0.333 mmol) em metanol (10 ml) na presença de Et₃N (0.14 ml, 1.000 mmol). Após uma noite, TLC ainda mostrava a presença de material de partida, assim adicionou-se mais 3 equivalentes de Et₃N. Depois de algumas horas obteve-se o composto **20k** (0.052 g, 0.120 mmol, 36%) como um óleo amarelo claro.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, CH₃ Boc), 2.74-2.78 (m, 2H, CH₂), 3.37-3.53 (m, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, COOCH₃), 4.57-4.60 (m, 4H, 2OCH₂CHCH₂), 5.25-5.28 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.38-5.44 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 5.85 (s largo, 1H, NH), 6.02-6.12 (m, 2H, 2OCH₂CHCH₂), 6.70-6.74 (m, 3H, ArH + βCH), 6.82-6.85 (m, 1H, ArH), 7.19 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H, NH) ppm.

5 Bibliografia

1. A. M. Pisoschi, A. Pop, *The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review*, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 55–74.
2. I. Ferreira, R. Abreu, *Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos*, *Soc. Port. Bioanalistas da Saúde* **2007**, *2*, 32–39.
3. P. M. T. Ferreira, L. S. Monteiro, T. Coban, S. Suzen, *Comparative effect of N-substituted dehydroamino acids and α -tocopherol on rat liver lipid peroxidation activities*, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 967–71.
4. S. Genard, J. B. Galey, M. Hocquaux, *Dehydroalanine derivatives for protecting the skin, the mucous membranes and/or the hair from oxidative stress, cosmetic or dermatological compositions containing them*, *United States Patent* **1999**, 17.
5. B. Housset, *Role of free radicals in inflammation*. *Rhinology. Supplement* **1988**, 5.
6. S. S. Gill, N. Tuteja, *Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants*. *Plant Physiol, Biochem.* **2010**, *48*, 909–30.
7. B. B. Buchanan, W. Gruissem, R. L. Jones, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Insect Biochemistry and Molecular Biology* **2000**, 40.
8. M. Miliovsky, I. Svinjarov, Y. Mitrev, Y. Evstatieva, D. Nikolova, M. Chochkova, M. G. Bogdanov, *A novel one-pot synthesis and preliminary biological activity evaluation of cis-restricted polyhydroxy stilbenes incorporating protocatechuic acid and cinnamic acid fragments*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 185–192.
9. B. Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*, *Food Sci. Technol.* **1995**, *28*, 25–30.
10. G. Kreil, *Peptides containing a D-amino acid from frogs and molluscs*, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 10967–10970.
11. V. Silvia, A. Baldisserotto, E. Scalambra, G. Malisardi, E. Durini, S. Manfredini, *Novel molecular combination deriving from natural amino acids and polyphenols: Design, synthesis and free-radical scavenging activities*, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 383–392.
12. M. Spasova, V. Kortenska-Kancheva, I. Totseva, G. Ivanova, L. Georgiev, T. Milkova *Synthesis of cinnamoyl and hydroxycinnamoyl amino acid conjugates and evaluation of their antioxidant activity*, *J. Pept. Sci.* **2006**, *12*, 369–375.
13. D. B. Berkowitz, M. L. Pedersen, *Free α -Oxiranyl amino acids*, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5368–5369.

Bibliografia

14. J. Jiang, Z. Ma, S. L. Castle, *Bulky α,β -dehydroamino acids: their occurrence in nature, synthesis and applications*, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 5431–5451.
15. R. Jain, V. S. Chauhan, *Conformational characteristics of peptides containing α,β -dehydroamino acid residues*, *Biopolymers - Peptide Science Section* **1996**, *40*, 105–119.
16. Y. Inai, Y. Kurokawa, T. Hirabayashi, *Terminal effect of chiral residue on helical screw sense in achiral peptides*, *Biopolymers* **1999**, *49*, 551–564.
17. A. S. Khokhlov, G. B. Lokshin, *The structure of albonoursin*, *Tetrahedron Lett.* **1963**, *4*, 1881–1885.
18. S. Kauffman, *Homeostasis and differentiation in random genetic control networks*, *Nature* **1969**, *224*, 177–178.
19. T. L. Sommerfeld, D. Seebach, *Dehydroalanine-containing peptides by AcOH-elimination from O-acetylserine residues with DBU/LiClO₄ in tetrahydrofuran*. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 1702–1714.
20. M. J. Miller, *Isourea-mediated preparation of dehydro amino acids*, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3131–3132.
21. S. Nomoto, A. Sano, T. Shiba, *A new synthetic method for dehydroalanine peptides through hofmann degradation of α,β -diaminopropionyl residue*, *Tetrahedron Lett.* **1970**, *20*, 521–522.
22. U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Didehydroamino acids (DDAA) and didehydropeptides (DDP)*, *Synthesis* **1988**, *1*, 159–172.
23. H. Wojciechowska, R. Pawłowicz, R. Andruszkiewicz, J. Grzybowska, *Conversion of protected serine and threonine to corresponding dehydroamino acids under mild conditions*, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 4063–4064.
24. H. Ogura, O. Sato, K. Takeda, *β -Elimination of β -hydroxyamino acids with disuccinimido carbonate*, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4817–4818.
25. F. Berti, C. Ebert, L. Gardossi, *One-step stereospecific synthesis of α,β -dehydroamino acids and dehydropeptides*, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 8145–8148.
26. K. Goodall, A. F. Parsons, *A new and efficient preparation of α,β -dehydroamino acids*, *Tetrahedron* **1995**, *36*, 3259–3260.
27. D. B. Berkowitz, M. L. Pedersen, *Simultaneous amino and carboxyl group*

- protection for α -branched amino acids*, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5476–5478.
28. L. Grehn, K. Gunnarsson, U. Ragnarsson, T. Anthonsen, R. Kivekäs, *A simple method for tert-Butoxycarbonylation of amides*, *Acta Chem. Scand.* **1986**, *40b*, 745–750.
29. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, J. Sacramento, *High yielding synthesis of dehydroamino acid and dehydropeptide derivatives*, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3697–3703.
30. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, *Efficient synthesis of dehydroamino acid derivatives*, **1998**, *39*, 9575–9578.
31. P. M. T. Ferreira, L. S. Monteiro, G. Pereira, L. Riveiro, J. Sacramento, L. Silva, *Reactivity of dehydroamino acids and dehydrodipeptides towards N-bromosuccinimide: Synthesis of β -bromo- and β,β -dibromodehydroamino acid derivatives and of substituted 4-imidazolidinones*, *European J. Org. Chem.* **2007**, 5934–5949.
32. F. Ikegami, I. Murakoshi, *Enzymic synthesis of non-protein β -substituted alanines and some higher homologues in plants*, *Phytochemistry* **1994**, *35*, 1089–1104.
33. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, J. Sacramento, J. Sebastião, *Synthesis of β -substituted alanines via Michael addition of nucleophiles to dehydroalanine derivatives*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **200**, 3317–3324.
34. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, *High yielding synthesis of heterocyclic β -substituted alanine derivatives*, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4099–4102.
35. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S., Monteiro, J. Sacramento, *Synthesis of novel β -substituted α,β -dehydroamino acid derivatives*, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7437–7441.
36. P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, *Synthesis of non-natural amino acids from n -(p -tolylsulfonyl)- α,β -didehydroamino acid derivatives*, *European J. Org. Chem.* **2003**, 2635–2644.