



INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO
Universidade Técnica de Lisboa

Novas metodologias sintéticas de compostos farmacologicamente activos

Maria Carolina Maia Devesa Inácio Carias

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química

Júri

Presidente: Prof^a Maria Matilde Soares Duarte Marques

Orientador: Prof. Carlos Alberto Mateus Afonso

Vogal: Doutor Pedro Miguel Pimenta Góis

Dezembro de 2010

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Carlos Afonso, por todo o apoio e dedicação, pelas conversas, algumas curtas, outras longas... No seu conjunto, desde que foi meu professor na primeira cadeira de laboratórios de química orgânica até à escrita desta tese de mestrado, proporcionou uma aprendizagem química que conduziu ao meu crescimento, não só enquanto química como a nível pessoal. A perseverança e as doses de optimismo demonstradas sempre que as coisas não correram como esperado foram cruciais para manter o meu entusiasmo no desenvolvimento do trabalho.

Agradeço ao Alexandre Trindade pela disponibilidade absoluta na transmissão de conhecimentos em todas as pequenas grandes coisas que constituem o dia-a-dia em investigação. Agradeço a paciência, a grande contribuição para o meu desenvolvimento enquanto química e todo o acompanhamento desta tese. Agradeço ainda o inculcar de um espírito crítico em relação ao trabalho.

Aos meus colegas de laboratório agradeço a forma como me acolheram neste grupo, a boa vontade com que sempre me ensinaram as práticas do laboratório e todos os bons momentos passados. O meu muito obrigada Andreia Rosatella, Carlos Monteiro, Catarina Rodrigues, Jaime Coelho, Krassimira Guerra, Luís Gomes, Luís Frija, Nuno Lourenço, Raquel Frade, Ângelo Rocha, Sofia Martins e Svillen Simeonov. Ao Svillen agradeço a ajuda na resolução de inúmeros problemas no HPLC e os conhecimentos analíticos que me proporcionou.

Agradeço ao Professor Frederico Ferreira pela disponibilidade e ensinamento da técnica de nanofiltração, uma técnica que, até então, me era desconhecida.

À D. Lucinda e ao Nuno Simões agradeço a simpatia e a disponibilidade que facilitaram o meu dia-a-dia a nível pessoal e também profissional.

Aos meus colegas de curso, Bruno Gonçalo, Filipe Madeira, Filipe Menezes, Jaime Coelho e Rita Jorge agradeço o companheirismo, amizade e ajuda mútua.

Agradeço à minha família, à minha Mãe, pelo apoio incondicional e por acreditar sempre em mim, ao meu Pai por me inculcar novas perspectivas, à minha irmã Zizi, ao meu irmão João e à minha sobrinha Maria pelo suporte familiar que me dão.

Os laços de amizade assumem especial importância quando a família está distante. Às minhas amigas agradeço todos os momentos e os que não-de vir, agradeço a paciência, o apoio e a compreensão. Obrigada Ana Gomes, Filipa Quaresma, Mafalda Ferreira Santos, Mariana Roque, Rita Jorge, Rita Ralha e Sofia Silva.

A escrita desta tese de mestrado representa a conclusão de cinco anos de formação no Técnico. Por isso, agradeço a todas as pessoas, professores e colegas com quem

contactei durante estes anos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a minha formação pessoal e profissional.

Agradeço à Fundação para a Ciência e a Tecnologia pelo apoio financeiro, projecto PTDC/QUI/66695/2006.

Resumo

Neste trabalho estudaram-se metodologias sintéticas de unidades estruturais com potencial actividade farmacológica, seguindo-se duas vias distintas.

Na primeira via estudou-se a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído, tendo sido realizado, pela primeira vez, um rastreio de catalisadores com o objectivo de aumentar a selectividade desta reacção. Neste estudo foi descoberto que a reacção catalisada por LaCl_3 origina novos produtos Prins **70** e **71a** ou **71b**. O isolamento destes novos produtos não foi possível recorrendo a técnicas de isolamento típicas nem a derivatizações dos produtos, tendo sido necessário recorrer à combinação das técnicas nanofiltração e cromatografia para a obtenção da mistura dos produtos em grau de pureza satisfatório. Os produtos Prins provenientes desta reacção são unidades carbocíclicas que serão acopladas com bases de ácido desoxirribonucleico para sintetizar nucleósidos carbocíclicos (antivirais).

A segunda via de trabalho baseou-se na reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e (*L*)-PhAla em água a 80°C , originando $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$, cujas actividades catalíticas e biológicas são conhecidas. Demonstrou-se a influência de diversos factores: temperatura, radiação microondas, presença de uma base inorgânica e presença de um grupo doador electrónico no anel aromático da (*L*)-PhAla. Verificou-se ainda que esta reacção origina vários produtos, destacando-se dois maioritários, possivelmente isómeros geométricos, que serão isolados por HPLC semi-preparativo e aplicados em reacções de catálise de decomposição de compostos diazo e em estudos de actividade biológica. Neste trabalho desenvolveu-se uma metodologia de análise de compostos de di-ródio(II) por HPLC que permite o desenvolvimento de estudos cinéticos de reacções de permuta de ligandos.

Palavras-chave: Reacção de Prins, LaCl_3 , nanofiltração, nucleósidos carbocíclicos, ródio, HPLC, actividade farmacológica.

Abstract

In this work were studied two synthetic methodologies of building blocks with potential pharmacological activity.

The first method was the study of Prins reaction between cyclopentadiene and para-formaldehyde. For the first time, a catalyst screening was done in order to improve the reaction selectivity. Thus, the reaction catalyzed by LaCl_3 yields the new Prins products **70** and **71a** or **71b**. These products were not easily isolated by usual techniques and products' derivatizations did not allowed the purification as well. The combination of nanofiltration followed by chromatography allowed the isolation of the products mixture in satisfactory purity grade. The Prins products are carbocyclic moieties which will be coupled with bases of deoxyribonucleic acid in order to obtain carbocyclic nucleosides (antivirals).

The second method was based on the reaction between $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ and (*L*)-PhAla in water at 80°C, which yields $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$, a known complex by its catalytic and anticancer activity. The influence of several factors was studied, such as the temperature, microwave radiation, the presence of an inorganic base and the presence of an electron donating group in the aromatic ring of phenylalanine. This reaction yields many products, from which the two major are proposed to be geometric isomers. These products will be isolated by semi-preparative HPLC and applied in catalysis of diazo compounds decomposition and biological activity studies. In this work, a methodology for the analysis of dirhodium compounds by HPLC was developed, which allows kinetic studies of ligand exchange reactions.

Keywords: Prins reaction, LaCl_3 , nanofiltration, carbocyclic nucleosides, rhodium, HPLC, pharmacological activity.

Índice

1. PREFÁCIO	1
2. CAPÍTULO I - REACÇÃO DE PRINS ENTRE O CICLOPENTADIENO E O PARA-FORMALDEÍDO	2
2.1. Introdução.....	2
2.1.1. Objectivos	2
2.1.1. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído.....	2
2.1.2. Optimização e alternativas à reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído	4
2.1.3. Actividade biológica	13
2.1.4. Nanofiltração.....	19
2.2. Resultados e Discussão.....	21
2.2.1. Identificação dos produtos da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído	21
2.2.2. <i>Screening</i> de diversos catalisadores na reacção de Prins	23
2.2.3. Isolamento e identificação dos novos produtos Prins obtidos na reacção de Prins catalisada por LaCl ₃	33
2.2.4. Tentativa de optimização adicional da reacção de Prins catalisada por LaCl ₃	35
2.2.5. Isolamento dos novos produtos Prins com recurso da nanofiltração.	36
2.2.6. Considerações Mecanísticas.....	40
2.3. Conclusões.....	43
3. CAPÍTULO II - DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS DE Rh(II) COM POTENCIAL ACTIVIDADE ANTICANCERÍGENA	45
3.1. Introdução.....	45
3.1.1. Objectivos	45
3.1.2. Complexos de di-ródio(II).....	45
3.1.3. Métodos de síntese dos complexos de di-ródio(II)	47
3.1.4. Catálise mediada pelos complexos de di-ródio(II).....	52
3.1.5. Actividade anticancerígena dos complexos de di-ródio(II).....	55
3.2. Resultados e discussão	58
3.3. Conclusões.....	91
4. SECÇÃO EXPERIMENTAL	93
4.1. Secção Experimental do Capítulo I	93
4.1.1. Procedimentos Gerais.....	93

4.1.2. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	94
4.1.2.1. <i>Cracking</i> do dicitopentadieno.....	94
4.1.2.2. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	94
4.1.2.3. Repetição da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico	95
4.1.3. <i>Screening</i> de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico	97
4.1.3.1. Ensaio A-I de <i>screening</i> de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico	97
4.1.3.2. Ensaio J-R de <i>screening</i> de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico	98
4.1.4. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico catalisada por LaCl ₃	99
4.1.5. Isolamento e identificação dos novos produtos Prins obtidos na reacção de Prins catalisada pelo LaCl ₃	100
4.1.5.1. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 73.....	100
4.1.5.2. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 74 via hidrólise com NaOH.....	101
4.1.5.3. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 74 via aminólise	102
4.1.5.4. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 75.....	103
4.1.6. Tentativa de optimização adicional da reacção de Prins catalisada por LaCl ₃	103
4.1.7. Isolamento dos novos produtos Prins com recurso à nanofiltração.	104
4.2. Secção Experimental do Capítulo II.....	107
4.2.1. Procedimentos Gerais.....	107
4.2.2. Reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e a (L)-PhAla	107
4.2.3. Reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e a (L)-Me-O-Tyr.....	108
5. ANEXOS.....	109
5.1. Anexos capítulo I.....	109
5.1.1. Dados dos cromatogramas do <i>screening</i> de catalisadores na reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído	109
5.1.2. Espectros ¹ H RMN e ¹³ C RMN	114
5.1.3. Espectros de massa da fracção IIIb	134
5.2. Anexos Capítulo II	135
5.2.1. Dados dos cromatogramas das reacções entre Rh ₂ (OAc) ₄ e aminoácido (L)-PhAla (sempre que não está indicado) e (L)-Me-O-Tyr (quando indicado)	135
6. REFERÊNCIAS	141

Índice de Esquemas

Esquema 1 - Esquema genérico da reacção de Prins.....	2
Esquema 2 - Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído catalisada pelo ácido fórmico.....	3
Esquema 3 - Estrutura dos isómeros dióis 3, 4, 5 e 6 obtidos pela optimização da reacção de Prins por Paulsen e Maaß.....	4
Esquema 4 - Síntese dos isómeros 3 e 5 através da hidroxilação alílica do álcool 7.....	5
Esquema 5 - Síntese dos isómeros 4 e 6 através da hidroxilação alílica do álcool 9.....	5
Esquema 6 - Síntese dos isómeros 4 e 6 a partir de 11.....	5
Esquema 7 - Estrutura dos acetatos 13, 14, 15 e 16 - produtos da reacção de Prins.....	6
Esquema 8 - Estratégia de síntese de nucleósidos carbocíclicos.....	6
Esquema 9 - Interconversão entre os produtos principais 22 e 23 postulada por Saville-Stones..	7
Esquema 10 - Mecanismo de formação da espécie 22 proposto por Saville-Stones <i>et al.</i>	7
Esquema 11 - Estrutura resultante do acoplamento dos acetatos 22 e 23 ao complexo de Paládio.....	7
Esquema 12 - Estrutura das unidades estruturais estudadas via enzimática por Roberts <i>et al.</i>	8
Esquema 13 - Estratégia de síntese racémica de nucleósidos carbocíclicos.....	9
Esquema 14 - Abordagem enantiomérica para a síntese de 36 e 37.....	9
Esquema 15 - Abordagem sintética de compostos do tipo 38.....	10
Esquema 16 - Estrutura dos derivados do ciclopenteno 41, 42 e 43 obtidos via resolução enzimática do triacetato 38.....	10
Esquema 17 - Síntese de 47 via metátese de fecho de anel.....	11
Esquema 18 - Metodologia de síntese dos isómeros 53 e 54 recorrendo à metátese de fecho do anel.....	11
Esquema 19 - Reacção de Prins optimizada por Hudon <i>et al.</i>	12
Esquema 20 - Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	21
Esquema 21 - Esquema reaccional do <i>screening</i> de catalisadores da reacção de Prins.....	31
Esquema 22 - Esquema reaccional de hidrólise do novo produto de Prins 70.....	34
Esquema 23 - Esquema reaccional de derivatização do triol 72.....	34
Esquema 24 - Esquema reaccional de derivatização do novo produto de Prins 70.....	34
Esquema 25 - Esquema reaccional da aminólise do produto Prins 70 e derivados 74 e 75.....	35
Esquema 26 - Síntese de complexos do tipo $Rh_2(O_2CR)_4L_2$	48
Esquema 27 - Síntese do complexo $Rh_2(OAc)_4$	48
Esquema 28 - Síntese do complexo $Rh_2(S\text{-mandelato})_4(EtOH)_2$	49
Esquema 29 - Síntese de complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos ou carboxamidatos.....	49

Esquema 30 - Síntese de complexos de di-ródio com ligandos carboxílicos $Rh_2(O_2CR)_4$	50
Esquema 31 - Síntese de complexos 92 $[Rh_2(leu)_4(H_2O)_2](ClO_4)_4$ e 93 $[Rh_2(pro)_4(H_2O)_2](ClO_4)_4$	50
Esquema 32 - Classes de reacções catalisadas por complexos de Rh(II) com ligandos carboxílicos e carboxamidatos	52
Esquema 33 - Síntese do complexo $Rh_2(OAc)_2((L)-PhAla)_2$ 109	58
Esquema 34 - Catálise de inserção C-H intramolecular em compostos α -diazó mediada pelo complexo $Rh_2(OAc)_2((L)-PhAla)_2$	58
Esquema 35 - <i>Screening</i> de síntese de complexos de Rh(II) com diversos aminoácidos (aa)	60
Esquema 36 - Esquema da reacção entre $Rh_2(OAc)_4$ e (L)-PhAla em água.....	62
Esquema 37 - Esquema elucidativo dos equilíbrios cinéticos entre as espécies $Rh_2(OAc)_3((L)-PhAla)$ e $Rh_2(OAc)_2((L)-PhAla)_2$	71
Esquema 38 - Síntese do complexo $Rh_2(OAc)_2((L)-Me-O-Tyr)_2$	85
Esquema 39 – Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído	94
Esquema 40 - <i>Screening</i> de catalisadores na reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	97
Esquema 41 - Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico catalisada por $LaCl_3$	99
Esquema 42 - Esquema da reacção de derivatização de 70 com o objectivo de obter 73	100
Esquema 43 - Esquema da reacção de derivatização de 70 com o objectivo de obter 74	101
Esquema 44 – Esquema da reacção de derivatização de 70 com o objectivo de obter 74	102
Esquema 45 - Esquema da reacção de derivatização de 70 com o objectivo de obter 75	103

Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura numerada do 4-(hidroximetil)ciclopenten-2-ol	3
Figura 2 - Estruturas de alguns nucleósidos carbocíclicos.....	14
Figura 3 - Estrutura das bases de ADN: purinas adenina 62 e guanina 63 e pirimidinas citosina 64, uracilo 65 e timina 66.....	15
Figura 4 - Estrutura dos nucleósidos carbocíclicos 67a-67f e do nucleósido 68.....	15
Figura 5 - Representação esquemática da técnica nanofiltração	19
Figura 6 - Cromatograma da amostra A – reacção sem adição de catalisador - branco 1.....	23
Figura 7 - Cromatograma da amostra B – reacção com 0,2 eq. de catalisador <i>p</i> -TsOH	24
Figura 8 - Cromatograma da amostra C – reacção com 0,2 eq. de catalisador ZnCl ₂	24
Figura 9 - Cromatograma da amostra D - reacção com 0,2 eq. de catalisador FeCl ₃	24
Figura 10 - Cromatograma da amostra E - reacção com 0,2 eq. de catalisador BF ₃ OEt ₂	25
Figura 11 - Cromatograma da amostra F - reacção com 0,2 eq. de catalisador CaCl ₂ ·2H ₂ O	25
Figura 12 - Cromatograma da amostra G - reacção com 0,2 eq. de catalisador MgO	25
Figura 13 - Cromatograma da amostra H - reacção com 0,2 eq. de catalisador CuCl ₂ ·2H ₂ O	26
Figura 14 - Cromatograma da amostra I - reacção com 0,2 eq. de catalisador LaCl ₃	26
Figura 15 - Cromatograma da amostra J - reacção sem catalisador – Branco 2.....	26
Figura 16 - Cromatograma da amostra K - reacção com 0,2 eq. de catalisador <i>Amberlyst</i>	27
Figura 17 - Cromatograma da amostra L - reacção com 0,2 eq. de catalisador Molecular Sieves	27
Figura 18 - Cromatograma da amostra M - reacção com 0,2 eq. de catalisador CoCl ₂ ·6H ₂ O.....	27
Figura 19 - Cromatograma da amostra N - reacção com 0,02 eq. de catalisador AuClPPh ₃	28
Figura 20 - Cromatograma da amostra O - reacção com 0,2 eq. de catalisador PdCl ₂	28
Figura 21 - Cromatograma da amostra P - reacção com 0,2 eq. de catalisador RuCl ₃ ·xH ₂ O	28
Figura 22 - Cromatograma da amostra Q - reacção com 0,2 eq. de catalisador SnCl ₂ ·2H ₂ O.....	29
Figura 23 - Cromatograma da amostra R - reacção com 0,2 eq. de catalisador AlCl ₃	29
Figura 24 -Estruturas dos novos produtos identificados posteriormente 70 e 71a ou 71b.....	32
Figura 25 - Espectro ¹³ C RMN dos produtos Prins obtido após nanofiltração e cromatografia .	38
Figura 26 - Espectro ¹³ C RMN dos produtos Prins obtido após nanofiltração e duas sessões de cromatografia	39
Figura 27- Espectro DEPT 135 dos produtos Prins obtido após nanofiltração e duas sessões de cromatografia	39
Figura 28 - Esquema mecanístico da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	40
Figura 29 - Esquema reaccional de formação de oligómeros de para-formaldeído	41
Figura 30 - Esquema reaccional de formação de produtos secundários de ciclopentadieno.....	41
Figura 31 – Proposta mecanística para a formação dos novos produtos Prins 70, 71a e 71b	42

Figura 32 - Estrutura tipo de complexos de di-ródio com quatro ligandos carboxílicos RCO ₂ nas posições equatoriais e com dois ligandos L nas posições axiais	46
Figura 33 - Exemplos de ligandos equatoriais típicos de complexos de di-ródio(II).....	47
Figura 34 - Complexos quirais Rh ₂ (5S-MEPY) ₄ 94, Rh ₂ (4S-MEOX) ₄ 95, Rh ₂ (4S-MPPIM) ₄ 96 e Rh ₂ (4S-MEAZ) ₄ 97 do grupo de Doyle	53
Figura 35 - Complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos quirais sintetizados pelo grupo de Hashimoto	54
Figura 36 - Complexo quiral Rh ₂ (S-DOSP) ₄ 101 do grupo de Davies.....	54
Figura 37 - Estrutura da <i>cisplatina</i> 102, <i>carboplatina</i> 103 e <i>oxaplatina</i> 104.....	55
Figura 38 - Estruturas dos dímeros de di-Re (105), di-Ru (106) e di-Rh (107) com actividade anticancerígena.....	56
Figura 39 - Estrutura dos complexos de di-ródio(II) 109, 110 e 111 submetidos a estudos de actividade biológica <i>in vitro</i>	59
Figura 40 - Cromatograma do sistema de análise dos compostos Rh ₂ (OAc) ₄ , (L)-Me-O-Tyr e Rh ₂ (OAc) ₂ ((L)-Me-O-Tyr) ₂	61
Figura 41 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C - 0 horas de reacção.....	63
Figura 42 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C - 16,5 horas de reacção	63
Figura 43 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C - 28 horas de reacção	64
Figura 44 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C - 52 horas de reacção	64
Figura 45 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água em microondas - 0 horas de reacção	67
Figura 46 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água em microondas - 9,75 horas de reacção	68
Figura 47 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água em microondas - 21,75 horas de reacção	68
Figura 48 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água em microondas - 52,75 horas de reacção	69
Figura 49 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na ₂ CO ₃ - 0 horas de reacção	72
Figura 50 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na ₂ CO ₃ - 8 horas de reacção	73
Figura 51 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na ₂ CO ₃ - 23 horas de reacção	73
Figura 52 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na ₂ CO ₃ - 52 horas de reacção	74
Figura 53 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 100°C - 0 horas de reacção.....	76

Figura 54 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 100°C - 7,5 horas de reacção.....	76
Figura 55 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 100°C – 22,5 horas de reacção	77
Figura 56 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 100°C - 52 horas de reacção.....	77
Figura 57 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 120°C – 0 horas de reacção	80
Figura 58 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 120°C – 8 horas de reacção	80
Figura 59 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 120°C – 23 horas de reacção	81
Figura 60 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-PhAla em água a 120°C – 52 horas de reacção	81
Figura 61 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr em água a 80°C – 0 horas de reacção	85
Figura 62 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr em água a 80°C – 8 horas de reacção	86
Figura 63 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr em água a 80°C – 23 horas de reacção	86
Figura 64 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr em água a 80°C – 52 horas de reacção	87
Figura 65 - Imagem do cromatograma obtido nas condições de HPLC semi-preparativo, detecção UV com λ=220 nm, coluna Phenomenex Luna 10μ C18(2), eluente 75:25 de H ₂ O:CH ₃ CN (ambos com 0,01% TFA)	90
Figura 66 - Estrutura dos produtos Prins 1 e 69 numerada para análise ¹ H RMN	96
Figura 67 - Estrutura dos produtos Prins 1 e 69 numerada para análise ¹³ C RMN	96
Figura 68 - Estrutura dos novos produtos Prins 70 e 71a ou 71b numerada para análise ¹³ C RMN	106
Figura 69 - Espectro ¹ H RMN da fracção Ia, obtida após cromatografia em coluna dos produtos Prins.....	114
Figura 70 - Espectro ¹ H RMN da fracção IIa, obtida após destilação dos produtos Prins	114
Figura 71 - Espectro ¹³ C RMN da fracção IIa, obtida após destilação dos produtos Prins	115
Figura 72 - Espectro ¹ H RMN da fracção IIb, obtida após destilação dos produtos Prins.....	115
Figura 73 - Espectro ¹³ C RMN da fracção IIb, obtida após destilação dos produtos Prins.....	116
Figura 74 - Espectro ¹ H RMN da fracção IIa1, obtida após destilação dos produtos Prins	116
Figura 75 - Espectro ¹³ C RMN da fracção IIa1, obtida após destilação dos produtos Prins	117
Figura 76 - Espectro ¹ H RMN da fracção IIIa, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl ₃ (espectro com resíduos de AcOEt)	117

Figura 77 - Espectro ^{13}C RMN da fracção IIIa, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)	118
Figura 78 - Espectro ^1H RMN da fracção IIIb, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)	118
Figura 79 - Espectro ^{13}C RMN da fracção IIIb, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)	119
Figura 80 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto 73 (secção 5.5.1).....	119
Figura 81 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto 74 (secção 5.5.3).....	120
Figura 82 - Espectro ^{13}C RMN da tentativa de isolamento do produto 74 (secção 5.5.3)	120
Figura 83 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto 75 (secção 5.5.4).....	121
Figura 84 - Espectro ^{13}C RMN da tentativa de isolamento do produto 75 (secção 5.5.4)	121
Figura 85 - Espectro ^1H RMN da reacção 1 (secção 5.6).....	122
Figura 86 - Espectro ^1H RMN da reacção 2 (secção 5.6).....	122
Figura 87 - Espectro ^1H RMN do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 antes de cromatografia	123
Figura 88 - Espectro ^{13}C RMN do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 antes de cromatografia	123
Figura 89 - Espectro ^1H RMN do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após cromatografia	124
Figura 90 - Espectro ^1H RMN da amostra de retentado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 300 Da (ensaio 1)	124
Figura 91 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 300 Da (ensaio 1)	125
Figura 92 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 300 Da (ensaio 1)	125
Figura 93 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado após da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 300 Da (ensaio 1), seguida de cromatografia.....	126
Figura 94 - Espectro ^1H RMN da amostra de retentado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 220 Da (ensaio 2)	126
Figura 95 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 220 Da (ensaio 2)	127
Figura 96 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 220 Da (ensaio 2)	127
Figura 97 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado após da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 220 Da (ensaio 2), seguida de cromatografia.....	128
Figura 98 - Espectro ^1H RMN da amostra de retentado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 200 Da (ensaio 3)	128
Figura 99 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 200 Da (ensaio 3)	129

Figura 100 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de permeado da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 200 Da (ensaio 3).....	129
Figura 101 - Espectro ^1H RMN da amostra de permeado após da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com membrana 200 Da (ensaio 3), seguida de cromatografia.....	130
Figura 102 - Espectro ^1H RMN da amostra VIIa – proveniente da cromatografia do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	130
Figura 103 - Espectro ^{13}C RMN da amostra VIIa – proveniente da cromatografia do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	131
Figura 104 - Espectro ^1H RMN da amostra VIIb – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	131
Figura 105 - Espectro ^{13}C RMN da amostra VIIb – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	132
Figura 106 – Espectro DEPT 135 da amostra VIIb – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	132
Figura 107 - Espectro COSY da amostra VIIb – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3	133
Figura 108 - Espectro de massa da amostra IIIb obtido por aplicação de diferentes radiações.	134

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Gráfico que mostra o número de pessoas que vivem com VIH, o número de pessoas que são infectadas com o VIH e o número de mortes devido à SIDA nos anos 1990-2008	17
Gráfico 2 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção	66
Gráfico 3 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção	70
Gráfico 4 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmica (T) e por microondas (M) em função do tempo de reacção	71
Gráfico 5 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção	75
Gráfico 6 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados a 100°C em função do tempo de reacção	79
Gráfico 7 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção	83
Gráfico 8 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmicas a 80, 100 e 120°C em função do tempo de reacção	84
Gráfico 9 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção	88
Gráfico 10 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmicas a 80°C com os aminoácidos (<i>L</i>)-PhAla (1) e (<i>L</i>)-Me- <i>O</i> -Tyr (2).....	89

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Percentagem dos diversos produtos obtidos em cada teste A-R	31
Tabela 2 - <i>Screening</i> de fonte ácida e de formaldeído na reacção de Prins catalisada por LaCl_3	36
Tabela 3 - Condições experimentais para os melhores ensaios de catálise obtidos	59
Tabela 4 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , 80°C	65
Tabela 5 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , microondas (80°C gerados por 1 W).....	69
Tabela 6 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), Na_2CO_3 (31,2 mg; 5,2 eq.) H_2O , 80°C.....	74
Tabela 7 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , 100°C.....	78
Tabela 8 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , 120°C.....	82
Tabela 9 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (L)-Me-O-Tyr (11,0 mg; 5 eq.), H_2O , 80°C	87
Tabela 10 - Observações experimentais - cor da reacção e R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) - dos ensaios A-I de <i>screening</i> de catalisador para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico	98
Tabela 11 - Observações experimentais - cor da reacção e R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) - dos ensaios J-R de <i>screening</i> de catalisador para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico.....	99
Tabela 12 - Condições experimentais, observações e R_f e massas obtidos após <i>work-up</i> das reacções 1-4.....	104
Tabela 13 - Condições dos 3 ensaios de nanofiltração (pressão, agitação e massas).....	104
Tabela 14 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 5.8 mg dos produtos Prins (padrão) em éter etílico	109
Tabela 15 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra A + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	109
Tabela 16 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra B + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	109
Tabela 17 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra C + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	109
Tabela 18 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra D + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	109
Tabela 19 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra E + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110
Tabela 20 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra F + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110

Tabela 21 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra G + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110
Tabela 22 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra H + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110
Tabela 23 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra I + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110
Tabela 24 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra J + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	110
Tabela 25 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra K + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	111
Tabela 26 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra L + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	111
Tabela 27 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra M + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	111
Tabela 28 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra N + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	111
Tabela 29 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra O + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	112
Tabela 30 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra P + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	112
Tabela 31 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra Q + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	112
Tabela 32 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra R + 5.0 mg de dodecano em éter etílico.....	112
Tabela 33 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 5 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico.....	112
Tabela 34 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 10 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico.....	113
Tabela 35 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 30 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico.....	113
Tabela 36 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 0 horas.....	135
Tabela 37 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 16,5 horas.....	135
Tabela 38 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 28 horas.....	135
Tabela 39 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 39 horas.....	135
Tabela 40 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 52 horas.....	135
Tabela 41 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0 horas.....	135

Tabela 42 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,25 horas	135
Tabela 43 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,5 horas	136
Tabela 44 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,75 horas	136
Tabela 45 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 1,75 horas	136
Tabela 46 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 3,75 horas	136
Tabela 47 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 9,75 horas	136
Tabela 48 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 21,75 horas	136
Tabela 49 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 35,75 horas	136
Tabela 50 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 52,75 horas	137
Tabela 51 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na ₂ CO ₃ a 80°C às 0 horas	137
Tabela 52 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na ₂ CO ₃ a 80°C às 8 horas	137
Tabela 53 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na ₂ CO ₃ a 80°C às 23 horas	137
Tabela 54 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na ₂ CO ₃ a 80°C às 46 horas	137
Tabela 55 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na ₂ CO ₃ a 80°C às 52 horas	137
Tabela 56 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 0 horas	137
Tabela 57 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 2 horas	138
Tabela 58 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 4,5 horas	138
Tabela 59 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 7,5 horas	138
Tabela 60 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 22,5 horas	138
Tabela 61 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 27,5 horas	138
Tabela 62 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 32 horas	138

Tabela 63 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 47,5 horas	138
Tabela 64 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 52 horas	139
Tabela 65 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 0 horas	139
Tabela 66 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 8 horas	139
Tabela 67 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 23 horas	139
Tabela 68 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 46,5 horas	139
Tabela 69 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 52 horas	139
Tabela 70 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 0 horas	139
Tabela 71 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 8 horas	139
Tabela 72 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 23 horas	140
Tabela 73 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 46 horas	140
Tabela 74 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh ₂ (OAc) ₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 52 horas	140

Abreviaturas

Ac	Acetilo
Acac	Acetil acetato
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Bn	Benzilo
Bu	Butilo
cat.	Catalítico
CCF	Cromatografia em Camada Fina
Cf.	Conferir
CG	Cromatografia Gasosa
COSY	Espectroscopia de correlação
<i>m</i> -CPBA	Ácido meta-clorobenzóico
Cy	Ciclohexilo
DEAD	Dietil azodicarboxilato
DEPT	Intensificação sem distorções através de transferência de polarização
DMAP	4,4-dimetilamino piridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
e.e.	Excesso enantiomérico
Et	Etilo
eq.	Equivalentes
Hex	Hexano
HMPA	Hexametilfosforamida
HMQC	Coerência heteronuclear de quanta múltiplos
HOMO	Orbital molecular ocupada de maior energia
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
LDA	Di-isopropilamina de lítio
Leu	Leucina
LUMO	Orbital molecular não ocupada de menor energia
Me	Metilo
MS	Espectroscopia de Massa
MOM	Éter metoximetílico
MWCO	Peso molecular <i>cut-off</i>
PCCF	Placa preparativa de cromatografia em camada fina
PEG	Polietilenoglicol
PFL	Lipase <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Pip	Piperidina
Ph	Fenilo
PhAla	Fenilalanina
Pro	Prolina
Prop	Propilo
PS	Poliestireno
Py	Piridina
RDL	Lipase <i>Phizopus delemar</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
R _f	Factor de retenção

SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
t. amb.	Temperatura ambiente
TBS	<i>tert</i> -butilo éter
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoracético
THF	Tetra-hidrofurano
TMS	Trimetilsilano
tr	Tempo de retenção
Ts	Tosilo
Tyr	Tirosina
UV	Ultra-violeta
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

1. Prefácio

A presente tese de mestrado visa a obtenção de novas metodologias de síntese de unidades estruturais com potencial actividade farmacológica. Para tal, seguiram-se duas direcções, com temas distintos, sendo o primeiro intitulado “**Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído**” (capítulo I) e o segundo “**Síntese de complexos de di-Ródio (II) com potencial actividade anticancerígena**” (capítulo II). Estas temáticas foram desenvolvidas paralelamente e, pelo facto de requererem abordagens químicas distintas, proporcionaram a obtenção de uma formação complementar em química sintética. A potencial actividade antiviral e anticancerígena dos compostos em estudo justifica o esforço desenvolvido para a obtenção de vias sintéticas mais eficientes.

A reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído constitui uma metodologia vantajosa para a obtenção de unidades derivadas do ciclopenteno, com substituintes hidroxilo ou hidroximetilenos, ou os respectivos formatos, em posições chave. Estas moléculas são blocos construtores na síntese de nucleósidos carbocíclicos. Desta forma, esta reacção reúne requisitos económicos interessantes, não só pelo facto dos reagentes serem pouco dispendiosos como também pela economia atómica desta transformação.

A síntese de complexos de di-ródio(II) com potencial actividade anticancerígena tem merecido especial atenção desde a descoberta da elevada actividade da *cisplatina* na inibição de células de *Escherichia coli* (1960, Rosenber).

Por outro lado, complexos com o centro metálico Rh(II) têm demonstrado ser catalisadores de diversas transformações químicas a um nível de excelência, cujos resultados justificam a sua utilização face à de outros catalisadores menos dispendiosos.

No grupo de trabalho no qual esta tese se insere foi descoberto um novo catalisador $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ que demonstrou elevada actividade catalítica na inserção C-H de compostos diazo, obtendo-se bom rendimento e elevada enantioselectividade; por outro lado, este complexo demonstrou actividade biológica, tendo-se observado a redução da proliferação de linhas celulares do cólon do útero (*HT-29*) de forma mais eficiente do que a *cisplatina*. Desta forma, o trabalho prévio do grupo impulsionou a continuação deste trabalho com vista à obtenção de uma metodologia de síntese e isolamento de complexos de Rh(II) com diferentes aminoácidos, por troca de ligandos do $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ em água.

2. Capítulo I - Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído

2.1. Introdução

2.1.1. Objectivos

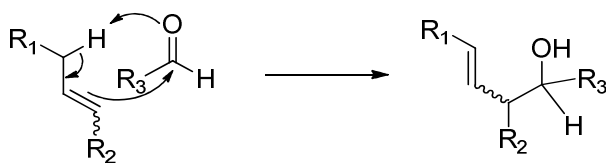
Os principais objectivos deste trabalho foram:

- O estudo da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído;
- O estudo da actividade catalítica de diversos ácidos de Lewis nesta reacção (*screening*);
- A obtenção de uma metodologia sintética mais eficiente para a síntese de unidades carbocíclicas, utilizando como catalisador o ácido de Lewis que apresentou melhor selectividade na etapa anterior;
- O desenvolvimento de um método de purificação dos produtos formados para a respectiva identificação.

As unidades carbocíclicas provenientes da reacção de Prins catalisada pelo ácido de Lewis serão, no futuro, acopladas com diversas bases de ADN, nomeadamente guanina e adenina e a actividade antiviral dos nucleósidos carbocíclicos obtidos será testada em linhas de células portadoras do vírus da SIDA.

2.1.1. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído

A condensação de aldeídos com alcenos catalisada por ácido é conhecida como reacção de Prins¹ - **Esquema 1** - e constitui uma via importante para a formação de ligações C-C, sendo utilizada como estratégia chave em sínteses totais de diversos produtos naturais.



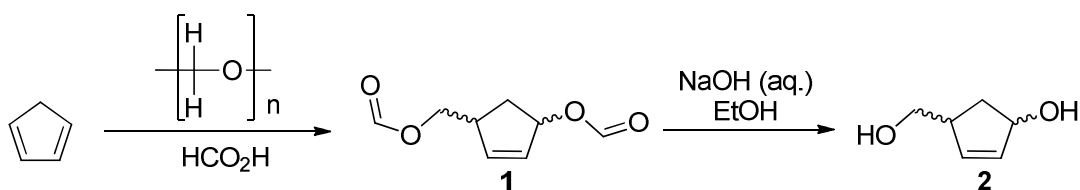
Esquema 1 - Esquema genérico da reacção de Prins¹

A estrutura dos reagentes e as condições reaccionais, como a concentração dos reagentes, temperatura reaccional e natureza e concentração do ácido de Brønsted² assumem um papel fulcral no desenvolvimento da reacção, influenciando o tipo de produtos formados (1,3-dióis, 1,3-dioxanos ou álcoois insaturados), rendimentos, selectividade e estereoquímica¹.

Apesar de não ser uma metodologia satisfatória sob o ponto de vista da selectividade, a reacção de Prins foi utilizada para a funcionalização de olefinas³. A variedade de produtos secundários formados, nomeadamente acetais e éteres, deve-se à extrema reactividade do grupo hidroximetileno introduzido.

A reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído - **Esquema 2** - foi descrita pela primeira vez em 1974 por Bajorek *et al.*³ e, desde então, tem assumido especial relevo na síntese da unidade 4-(formilóxido)ciclopent-2-en-1-il-metilo formato **1**.

Os autores³ estudaram a reactividade de 3 dienos (butadieno, isopreno e ciclopentadieno) com formaldeído em ácido fórmico, com vista à formação de diformatos. A olefina que proporcionou melhores resultados foi o ciclopentadieno, cujos formatos foram obtidos com um rendimento de 65%¹ de uma mistura 50:50 dos isómeros *cis* e *trans* isolados (**1**) que, após hidrólise originaram a respectiva mistura de diois **2**.



Esquema 2 - Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído catalisada pelo ácido fórmico³

Esta mistura de diois foi analisada por ¹H RMN, tendo sido possível identificar os isómeros *cis* e *trans* - **Figura 1**. A elevada diferença de desvio químico entre os protões H_α e H_β do C₃ ²J_{3α,3β}=13 Hz e as constantes de acoplamento ³J_{2,3β} e ³J_{4,3β} (ambas 2,5 Hz) assim como ³J_{2,3α} e ³J_{4,3α} (ambas 7 Hz) permitiram a identificação do isómero *cis*. Estas constantes de acoplamento também permitem confirmar o produto 1,4-diol em detrimento do 1,2-diol. A obtenção deste racemato foi ainda confirmada através da hidrogenação da mistura, seguida de oxidação³.

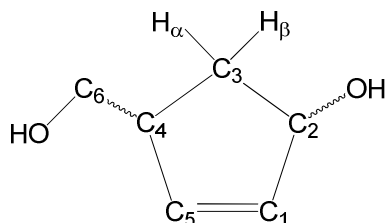


Figura 1 - Estrutura numerada do 4-(hidroximetil)ciclopent-2-en-1-il-metilo formato

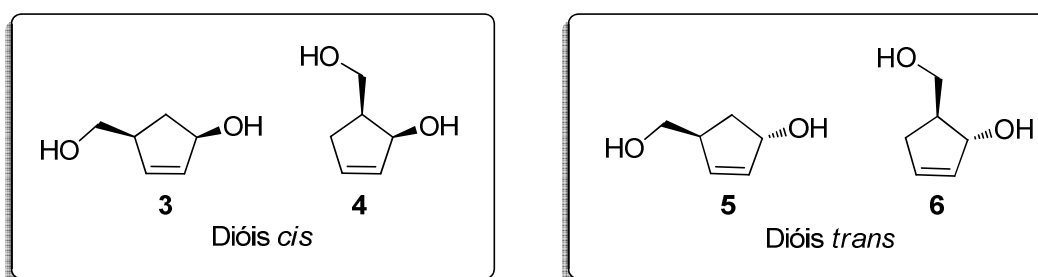
¹ Valor de rendimento apresentado pelos autores; quando calculado pelos dados da parte experimental obteve-se o valor de $\eta=47\%$.

Este grupo³ postulou acerca do papel do ácido fórmico enquanto solvente da reacção, sendo este um ácido de Brønsted suficientemente forte para activar o formaldeído e para formar o catião hidroximetileno em quantidade cineticamente activa. Ao mesmo tempo, este ácido não é suficientemente forte para a protonação do sistema dieno. Este ácido assume ainda especial importância dada a sua capacidade de acilar o grupo hidroximetileno introduzido e, por fim, pela sua capacidade de actuar como nucleófilo e neutralizar o carbocátion intermediário.

2.1.2. Optimização e alternativas à reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído

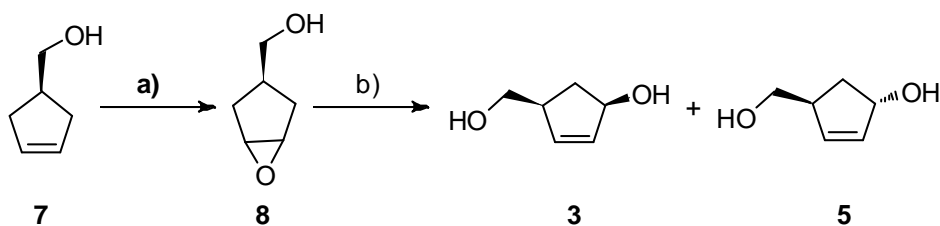
Em 1981, Hans Paulsen e Uwe Maaß⁴ descreveram a síntese dos isómeros **3:4:5:6** - **Esquema 3** - tendo como objectivo a síntese de carbocíclicos análogos de furanose. Assim sendo, o grupo apostou na optimização da reacção de Prins em ácido acético, assim como no desenvolvimento de novas vias sintéticas para a obtenção dos régio-isómeros em questão.

No processo de optimização da reacção de Prins, após conversão dos acetatos nos respectivos dióis, os isómeros **3:4:5:6** foram obtidos numa proporção de 38:37:13:12 (análise por cromatografia gasosa). A separação dos dióis *cis* **3** e **4** dos dióis *trans* **5** e **6** foi possível recorrendo à cromatografia.



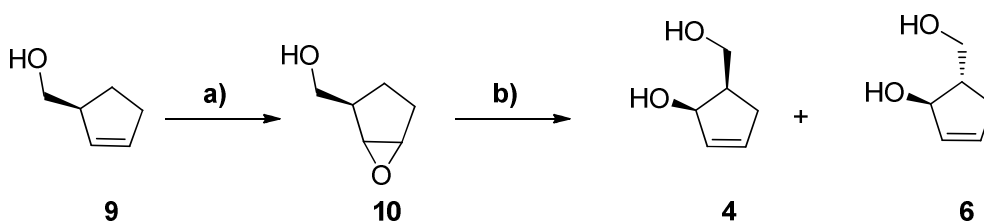
Esquema 3 - Estrutura dos isómeros dióis **3**, **4**, **5** e **6** obtidos pela optimização da reacção de Prins por Paulsen e Maaß⁴

Os quatro isómeros **3**, **4**, **5** e **6** foram sintetizados a partir da hidroxilação alílica via epóxidos **8** e **10** com fenilseleneto - **Esquemas 4 e 5**. De forma alternativa, os isómeros **4** e **6** foram sintetizados a partir do composto **11**, que permite uma fácil introdução dos grupos funcionais hidroxilo e hidroximetileno à unidade ciclopenteno - **Esquema 6**.



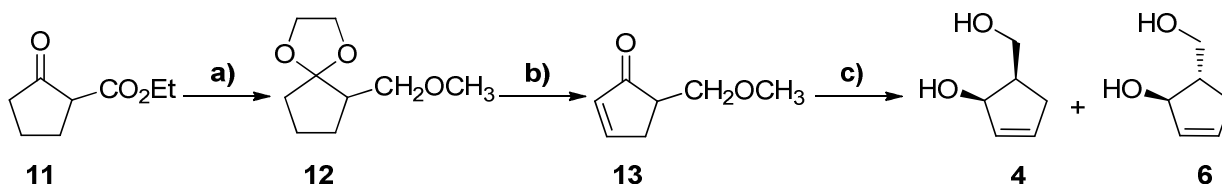
Esquema 4 - Síntese dos isómeros **3** e **5** através da hidroxilação alílica do álcool **7**⁴

- a) $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CO}_3\text{H}$
 b) 1) PhSe^- (obtido via redução do $(\text{PhSe})_2$ com NaBH_4); 2) oxidação com H_2O_2



Esquema 5 - Síntese dos isómeros **4** e **6** através da hidroxilação alílica do álcool **9**⁴

- a) $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CO}_3\text{H}$
 b) 1) PhSe^- (obtido via redução do $(\text{PhSe})_2$ com NaBH_4); 2) oxidação com H_2O_2

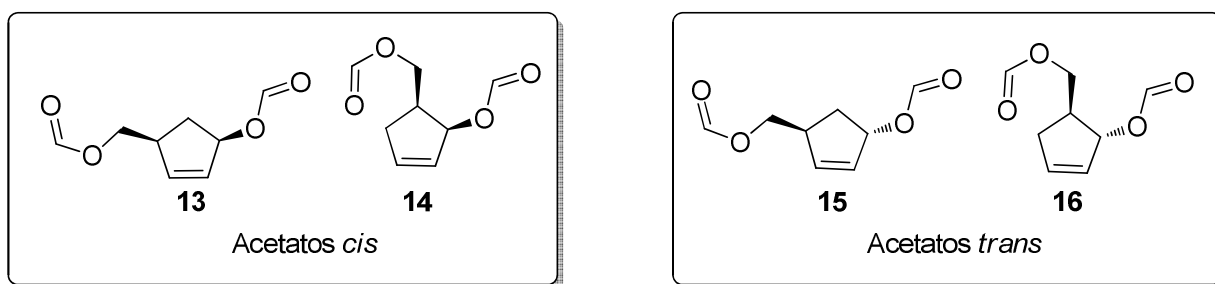


Esquema 6 - Síntese dos isómeros **4** e **6** a partir de **11**⁴

- a) 1) $(\text{CH}_2\text{OH})_2$, H^+ ; 2) LiAlH_4 ; 3) metilação
 b) 1) Desprotecção do cetal (H_2O , H^+); 2) Br_2 , $(\text{CH}_2\text{OH})_2$; 2) MeONa , DMSO
 c) 1) Me_3SiI ; 2) LiAlH_4

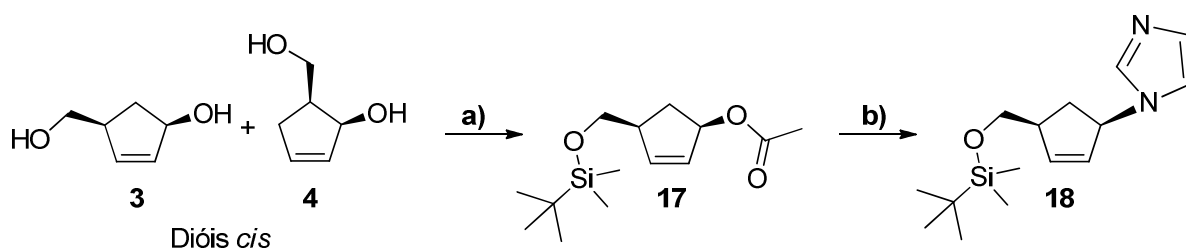
Em 1991 a Glaxo patenteou⁵ o produto **3** *cis*-4-hidroximetil-2-ciclopenten-1-ol, utilizando um procedimento muito similar ao de Bajorek *et al.*³. A optimização do procedimento experimental indica não só uma tentativa de *scale-up*, como também uma optimização do processo de purificação.

Também em 1991, Saville-Stones *et al.*² sintetizaram os diacetatos **13**, **14**, **15** e **16** recorrendo à metodologia da reacção de Prins - **Esquema 7**.



Esquema 7 - Estrutura dos acetatos **13**, **14**, **15** e **16** - produtos da reacção de Prins²

Dada a dificuldade na separação destes isómeros, o grupo apostou na derivatização da mistura *cis*-diol **3** e **4** (separada da mistura *trans*-diol por cromatografia em coluna, de acordo com Paulsen e Maaß⁴) através da monossililação e acetilação, dando origem ao acetato alílico **17** (Esquema 8). De forma a testarem uma futura estratégia de síntese de nucleósidos carbocíclicos, procederam ao acoplamento de **17** com imidazole, catalisado por Pd(0), obtendo-se **18** com rendimento de 51%.

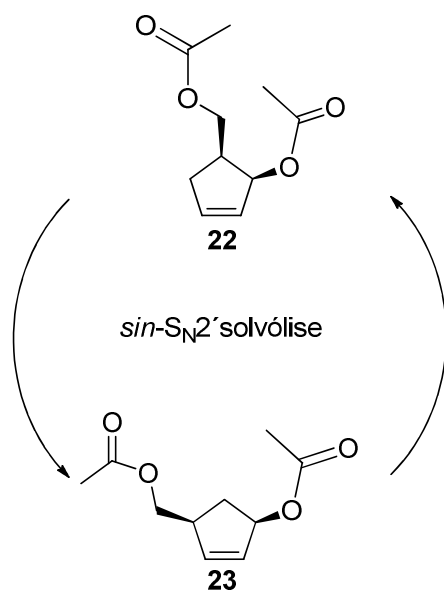


Esquema 8 - Estratégia de síntese de nucleósidos carbocíclicos²

- a) 1) Bu^tMe₂SiCl (1 eq.), imidazole, THF; 2) acetilação
 b) Pd(PPh₃)₄ (0,15 eq.), NEt₃, (1,5 eq.), THF, refluxo, 21 h, η=51%

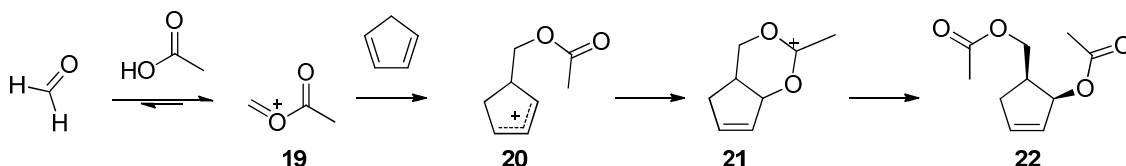
A maior dificuldade nesta estratégia reside no método de preparação dos *cis*-diacetatos **13** e **14**, devido à necessidade de separação cromatográfica dos respectivos *trans*-diacetatos, o que impede um *scale-up* desta síntese. Atendendo à facilidade com que a reacção de Prins fornece a unidade carbocíclica, o grupo estudou esta reacção em maior detalhe. Ao conduzirem a reacção sob condições mais suaves (1 M ciclopentadieno, 3 M para-formaldeído, 0,4 mM ácido *p*-tolueno sulfónico em ácido acético, 10°C, 23 horas) e, após acetilação dos produtos **3:5:4:6**, obtiveram proporções respectivas de 31:13:47:9 (análise por CG). Após destilação numa coluna de Vigreux, os autores obtiveram os isómeros acetilados numa proporção 26:10:56:8, com rendimento total de 10%.

Saville-Stones *et al.*² postularam que o produto maioritário desta reacção de Prins modificada **22** (**14** acetilado) é um produto cinético que, via solvólise *sin*-S_N2' origina o segundo produto maioritário **23** (**13** acetilado) - Esquema 9.



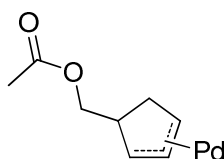
Esquema 9 - Interconversão entre os produtos principais postulada por Saville-Stones²

O mecanismo postulado de formação do *cis*-diacetato **22** - **Esquema 10** - contempla a reacção electrófila entre o ciclopentadieno e a espécie **19**, gerada entre o ácido acético e o para-formaldeído, sob condições de catálise ácida. Este ataque origina o carbocatião **20**, estabilizado por ressonância que, sob ciclização intramolecular dá origem ao carbocatião **21** (espécie estabilizada). A abertura do anel mediada pelo ataque de água, seguida de acetilação origina o *cis*-acetato **22**.



Esquema 10 - Mecanismo de formação da espécie **22** proposto por Saville-Stones *et al.*²

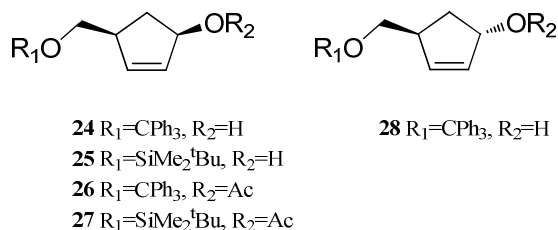
A selectividade obtida nesta reacção de Prins modificada torna-se de extrema importância atendendo ao facto que ambos os isómeros *cis* originam o mesmo complexo de Paládio - **Esquema 11**. Desta forma, aumenta-se a eficiência atómica da reacção e os 2 isómeros *cis* (82 % dos produtos formados) são incorporados nos nucleósidos carbocíclicos, através do acoplamento mediado por Pd(0).



Esquema 11 - Estrutura resultante do acoplamento dos acetatos **22** e **23** ao complexo de Paládio

O grupo procedeu aos acoplamentos da mistura *cis*-diacetato **22** e **23** com imidazole e com adenina, mediados por Pd(0), com rendimentos satisfatórios.

No mesmo ano, Roberts e Shoberu⁶ desenvolveram um método de resolução enzimática das unidades derivadas do ciclopentadieno. Os compostos **24-28** - **Esquema 12** - são unidades estruturais extremamente úteis na preparação de nucleósidos carbocíclicos racémicos ou quirais⁶. A hidrólise do acetato **27** catalisada pela lipase *Pseudomonas fluorescens* originou o álcool (1*R*,4*S*)-**25** ($\eta=43\%$, e.e.=95%) e permitiu a recuperação do acetato (1*S*,4*R*)-**27** ($\eta=42\%$, e.e.=95%). Recorrendo a uma estratégia alternativa, as unidades **26** e **28** foram alvo de acetilação catalisada pela lipase *Pseudomonas fluorescens*, originando os respectivos álcoois e acetatos em elevado grau de pureza enantiomérica e rendimento.

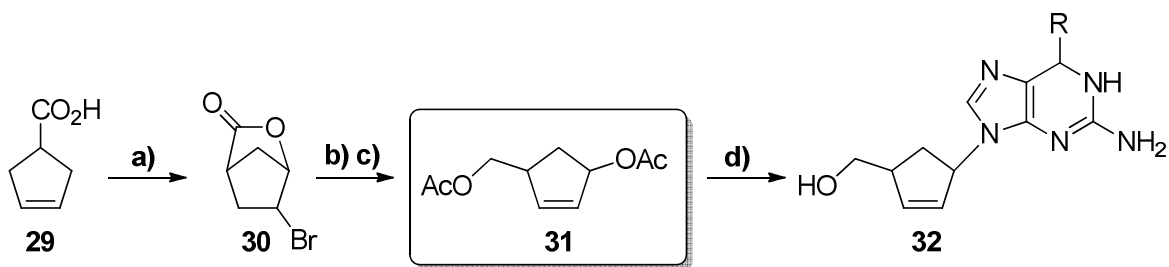


Esquema 12 - Estrutura das unidades estruturais estudadas via enzimática por Roberts *et al.*⁶

Após resolução destas unidades, os autores⁶ procederam ao acoplamento das unidades (+)-**26** e (+)-**28** com bases de ADN e derivados, via reacção de Mitsunobu e obtiveram nucleósidos carbocíclicos enantiomericamente puros.

Em 1994, Hodgson *et al.*⁷ exploraram uma síntese mais viável para a construção da unidade **31** sob a forma de racemato (**Esquema 13**) e estudaram em maior detalhe o acoplamento mediado por Paládio desta unidade **31** com purinas. Os autores estudaram ainda a obtenção de uma síntese enantioselectiva do *cis*-**31**, tendo como principal objectivo a síntese do *carbovir*.

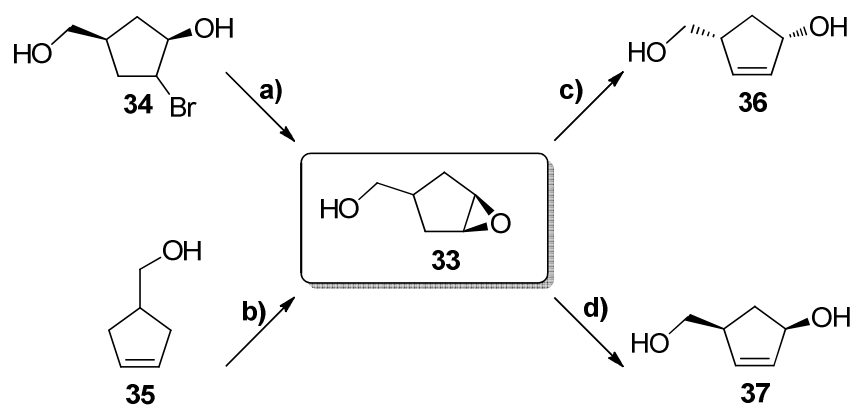
Para a síntese racémica mais viável, os autores⁷ escolheram como reagente de partida o ácido ciclopent-3-enecarbocíclico **29**, atendendo ao facto deste composto já contemplar o grupo hidroximetileno enquanto substituinte da unidade ciclopenteno. As transformações efectuadas encontram-se representadas no **Esquema 13**, tendo sido possível obter a unidade **31** a partir da bromo-lactona **30** com um rendimento de 78%.



Esquema 13 - Estratégia de síntese racêmica de nucleósidos carbocíclicos⁷

- a) TMSBr, DMSO, Prⁱ₂EtN, CHCl₃, refluxo, 12 h, η=70-95%
 b) [(MeOCH₂CH₂O)₂AlH₂]Na, THF, -25°C, 2 min
 c) 1) Ac₂O, *sparteine*, cat. DMAP, DMF, 25°C, 12 h; 2) AgOAc, refluxo, 6 h (η_{b-c}=78%)
 d) R=Cl: 1) NaH, 2-amino-6-cloropurina, cat. Pd(PPh₃)₄, DMF, 60°C, 2 h; 2) MeOH
 R=NH₂: 1) Cs₂CO₃, 2,6-diaminopurina, cat. Pd(PPh₃)₄, DMSO, 60°C, 2 h; 2) MeOH, K₂CO₃

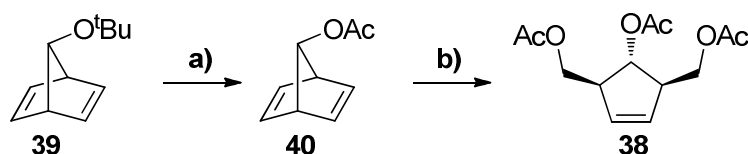
A abordagem enantiomérica⁷ - **Esquema 14** - baseou-se no rearranjo enantio-selectivo do epóxido *meso* **33** aos álcoois **36** e **37**, induzido por bases quirais, como por exemplo sais de di-Lítio (1*R*,2*S*)-norefedrina. Por sua vez, o epóxido **33** pode ser obtido por duas vias distintas: a partir do bromodiol **34** ou a partir do ácido **4**, que é o precursor o álcool **35**.



Esquema 14 - Abordagem enantiomérica⁷ para a síntese de **36** e **37**

- a) K₂CO₃, MeOH, 25°C, 12 h
 b) Bu^tO^tOH, cat. VO(acac)₂, CH₂Cl₂, 25°C, 24 h
 c) BuLi, (1*R*,2*S*)-norefedrina, C₆H₆-THF, 0-25°C, 12 h, η=65%, e.e.=95%
 d) BuLi, (1*S*,2*R*)-norefedrina, C₆H₆-THF, 0-25°C, 12 h, η=57%, e.e.=95%

Em 1996, Tanaka *et al.*^{8,9} descreveram a síntese de compostos derivados do ciclopenteno, nomeadamente o triacetato **38**, obtidos a partir de norbornadieno substituído na posição C₇ - **Esquema 15**.

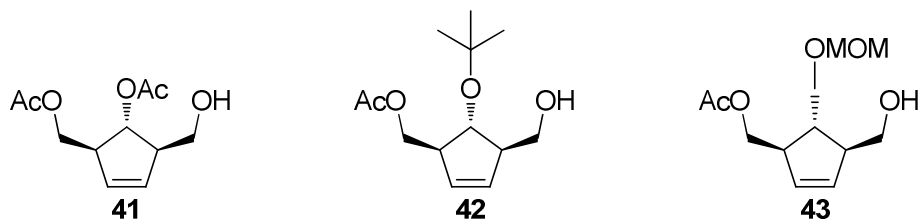


Esquema 15 - Abordagem sintética de compostos do tipo **38**⁸

- a) HClO_4 , AcOH , $\eta=73\%$
 b) 1) O_3 ; 2) NaBH_4 ; 3) Ac_2O /piridina; $\eta_{1-3}=40\%$

Estes autores mostraram ainda que é possível obter o monoálcool **41** - **Esquema 16** - através da hidrólise enantioselectiva do triacetato **38** catalisada pela lipase *Phizopus delemar* (RDL, 72 horas, $\eta=86\%$, e.e.=95%) e pela lipase *Pseudomonas fluorescens* (PFL, 64 horas, $\eta=73\%$, e.e.=33%).

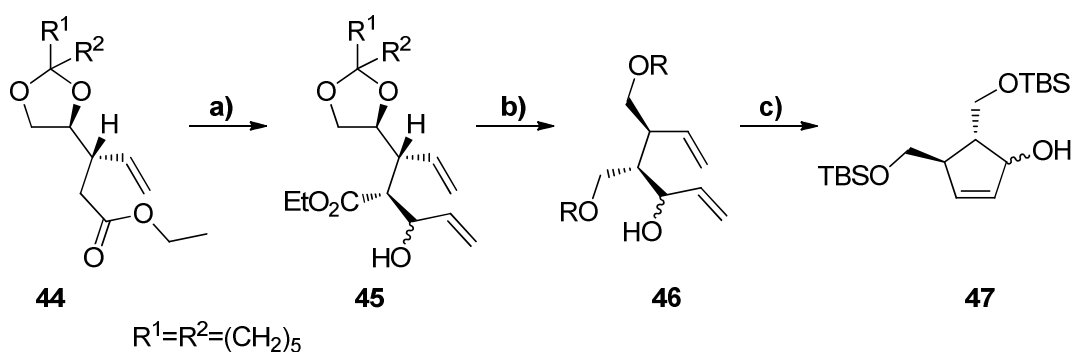
De forma análoga, partindo do mesmo triacetato **38**, os autores obtiveram outros derivados do ciclopenteno - **Esquema 16** - em elevado grau de pureza enantiomérica, em particular **42** (RDL, 184 h, $\eta=95\%$, e.e.>99%) e **43** (RDL, 72 h, $\eta=95\%$, e.e.=95%), que serviram como elementos construtivos da unidade açúcar nas sínteses dos nucleósidos carbocíclicos (-)-*carbovir* ($\eta<18\%$) e do (-)-*BCA* ($\eta=17\%$) (cf. **Figura 2**).



Esquema 16 - Estrutura dos derivados do ciclopenteno **41**, **42** e **43** obtidos via resolução enzimática do triacetato **38**⁸

Esta metodologia foi utilizada por Jame La Clair em 2006¹⁰ para a obtenção da unidade **38** - um precursor de fármacos anti-malária.

Atendendo à importância da síntese enantiomérica de ciclopentanóis, o grupo de Ghosh¹¹ aplicou a metátese de fecho de anel - *ring closing metathesis* - para a obtenção deste tipo de unidades. O **Esquema 17** representa a estratégia sintética adoptada para a obtenção da unidade **47** enantiomericamente pura, utilizando o catalisador de Grubbs $\text{PhCH}=\text{Ru}(\text{PCy}_3)_2\text{Cl}_2$.

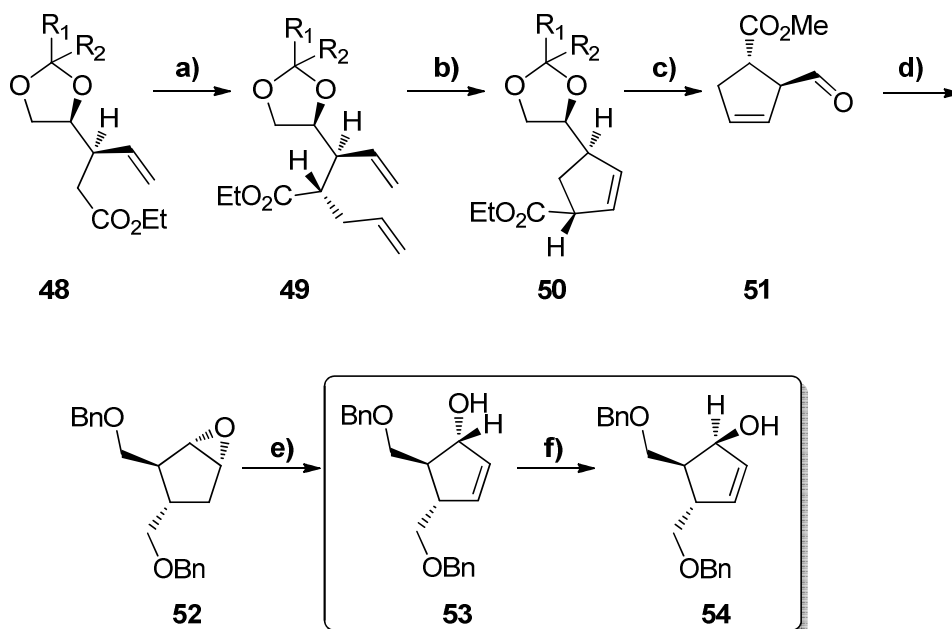


Esquema 17 - Síntese de **47** via metátese de fecho de anel¹¹

- a) LDA, *acrolein*, $\eta=83\%$
 b) 1) AcOH/H₂O (4:1); LiAlH₄, Et₂O $\eta=64\%$; 2) NaO₄, MeOH/H₂O (3:1), 1 h, $\eta=89\%$; 3) LiAlH₄, Et₂O, 69% (**46**, R=H)
 c) 1) TBSCl, DMAP, imidazole, Et₃N, DCM, rt, 4 h, $\eta=68\%$ (**46**, R=TBS); 2) (PCy₃)₂Cl₂RuCHPh, C₆H₆, t. amb., 4 h, $\eta=79\%$

Utilizando a metátese como metodologia de fecho do anel ciclopenteno, o rendimento de síntese da unidade **47** é de 18%, sendo este um possível precursor do fármaco **BCA 60** (cf. **Figura 2**).

Um ano depois, o mesmo grupo¹² descreveu uma síntese semelhante (**Esquema 18**), na qual é possível obter ambos os enantiómeros **53** e **54** com rendimentos de 21% e 15% respectivamente.

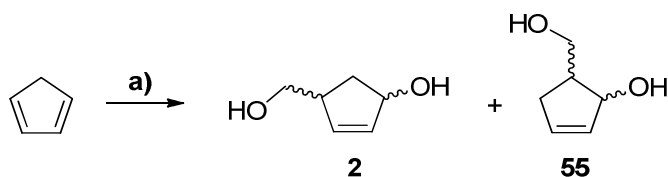


Esquema 18 - Metodologia de síntese dos isómeros **53** e **54** recorrendo à metátese de fecho do anel¹²

- a) LDA, THF, CH₂=CHCH₂Br, HMPA, -78°C - t. amb., $\eta=84\%$
 b) (PCy₃)₂Cl₂RuCHPh, C₆H₆, 60°C, 20 h, $\eta=96\%$

- c) 1) NaOEt-EtOH, refluxo, 10 h; CH₂N₂, Et₂O, η=84%; 2) AcOH, 18h; NaIO₄, MeOH-H₂O, t. amb., 1 h, η=71%
- d) 1) LiAlH₄, Et₂O, 0°C-t. amb., 1 h, η=68%; 2) NaH, PhCH₂Br, THF, HMPA, refluxo, 6 h, η=75%; 3) *m*-CPBA, CH₂ClCH₂Cl, 0°C- t. amb., 5 h, η=85%
- e) 1) PhSeSePh/NaBH₄; 2) 30% H₂O₂, η=40%
- f) 1) *p*-NO₂C₆H₄COOH, DEAD, PPh₃, C₆H₆, η=78%; 2) KOH, EtOH-H₂O, refluxo, 30 min, η=91%

Em 2008 Hudon *et al.*¹³ descreveram a síntese dos isómeros **2** e **55** - **Esquema 19** - utilizando uma metodologia derivada da reacção de Prins descrita por Bajorek *et al.*³ em 1974.



Esquema 19 - Reacção de Prins otimizada por Hudon *et al.*¹³

- a) 1) HCHO, HCO₂H, TsOH; 2) NaOH aq., η=43%

O grupo obteve um rendimento de 43% numa proporção de 55:45 dos régio-isómeros **2** e **55**. Este resultado representa uma melhoria substancial face ao obtido por Bajorek *et al.*³ e, através da descrição da síntese, é possível identificar os factores determinantes para o maior sucesso deste resultado: a estequiometria dos reagentes, o uso do ácido *p*-toluenosulfónico monohidratado em quantidade catalítica, o menor tempo de reacção e a minúcia do *work-up* atendendo à formação de uma *sludge* preta.

Dois anos mais tarde, o mesmo grupo¹⁴ apresenta esta metodologia na síntese total do CP-225,917 - um metabolito de um fungo com potencial actividade biológica.

2.1.3. Actividade biológica

A denominação ‘nucleósidos carbocíclicos’ é utilizada para a descrição de um grupo de compostos estruturalmente análogos aos nucleósidos naturais e sintéticos, nos quais o oxigénio do anel furanose foi substituído por um grupo metileno¹⁵.

Estes compostos são biologicamente relevantes visto que podem desempenhar actividades antivirais e antitumorais. Contudo, o mecanismo de acção ainda não é completamente conhecido. A estratégia base de acção baseia-se no facto destes compostos serem pró-fármacos, que são fosforilados sequencialmente aos correspondentes trifosfatos pelas cinases celulares. A espécie trifosfatada (nucleótido) é incorporada na cadeia replicante de ADN viral pela transcriptase reversa do vírus e, dada a ausência do hidroxilo 3´ terminal, a replicação da cadeia não prossegue. Para além disso, o trifosfato 5´ ou o oligonucleótido podem actuar como inibidor competitivo da transcriptase reversa¹⁶.

Portanto, para se obter uma inibição eficiente é necessário que os nucleósidos carbocíclicos sejam reconhecidos como substratos naturais e sejam convertidos aos respectivos nucleótidos. O facto de alguns nucleósidos carbocíclicos¹⁷ não demonstrarem actividade antiviral pode estar relacionado com a falta de capacidade das cinases fosforilarem esses nucleósidos carbocíclicos, provavelmente por excesso de modificações estruturais nos locais chave para o reconhecimento molecular.

Os nucleósidos carbocíclicos são química e enzimaticamente mais estáveis do que os análogos naturais. O facto de terem uma estrutura muito semelhante à dos análogos naturais faz com que estes sejam reconhecidos pelas enzimas intervenientes no metabolismo dos nucleósidos naturais, como as cinases celulares. Por outro lado, atendendo à ausência da ligação glicosídica lábil, estes tornam-se resistentes a enzimas que quebram as ligações glicosídeas nos nucleósidos biológicos, como as fosforilases^{16,17,18,19}.

Verificou-se que a introdução de uma insaturação no anel do açúcar pode conduzir ao aumento das propriedades biológicas e até mesmo da selectividade (fármaco/alvo) do nucleósido carbocíclico, em comparação com o análogo saturado¹⁶.

Em 1966, Shealy descreveu o carbocíclico análogo da adenosina e, mais tarde, conheceram-se as actividades antibióticas e antitumorais dos carbocíclicos nucleósidos *Aristeromycin* (1968) e *Neplanocin A* (1981) - estruturas **56** e **57** da **Figura 2**¹⁶. Inicialmente, a *Neplanocin A* foi isolada a partir da cultura de fungos do solo *Ampullariella regularis* e é um nucleósido carbocíclico com elevada actividade antiviral e antitumoral - inibidor da hidrolase *S*-adenosilhomocisteína¹⁷. Em 1983 verificou-se que a substituição do oxigénio na unidade do açúcar por um grupo metileno resultou numa maior resistência dos análogos dos nucleósidos às fosforilases e hidrolases, o que proporciona um aumento do tempo de vida do fármaco no organismo. Para além disso,

esta modificação estrutural também aumenta o carácter lipofílico do fármaco, o que favorece a absorção e penetração da membrana celular^{16,20}. A utilização do grupo metileno no carbociclo como bioisótero do oxigénio impulsionou a procura de outros nucleósidos carbocíclicos análogos com actividade biológica¹⁸. Na **Figura 2** encontram-se representadas as estruturas de alguns nucleósidos carbocíclicos com propriedades terapêuticas¹⁶ - *aristeromycin* **56**, *neplanocin A* **57**, *carbovir* **58**, *abacavir* **59**, (-)-*BCA* **60** e *cyclobut A* **61**.

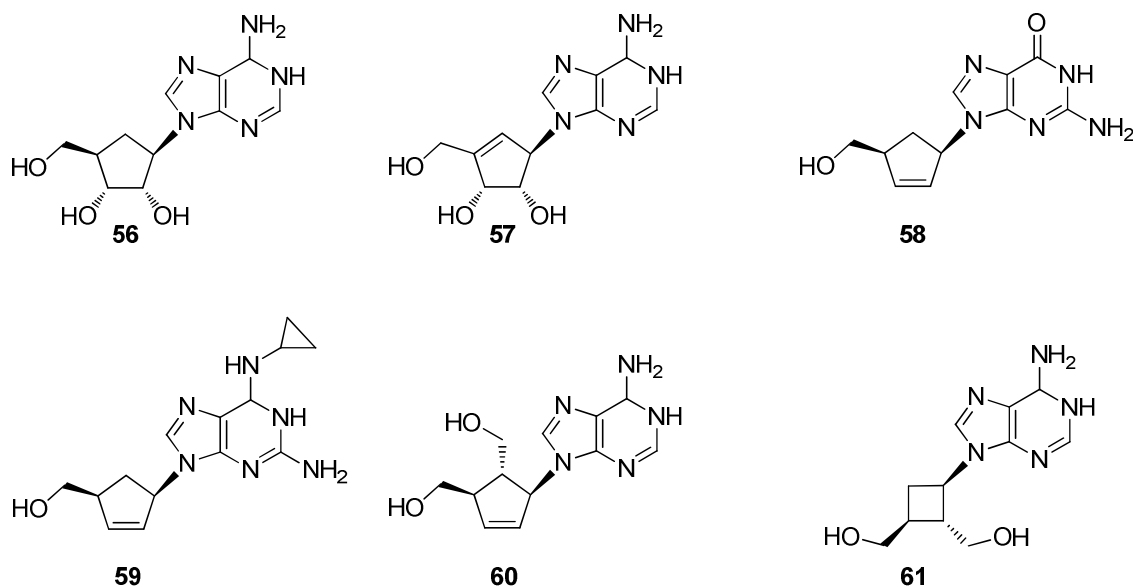


Figura 2 - Estruturas de alguns nucleósidos carbocíclicos¹⁶

A procura de uma síntese mais eficiente e, em particular, de uma síntese enantio-selectiva desta classe de compostos continua a ser necessária, atendendo não só às elevadas doses de fármacos requeridas como também à procura constante de antivirais mais selectivos e eficientes¹⁶.

De forma geral, existem duas vias para a síntese de nucleósidos carbocíclicos: o acoplamento da base heterocíclica com um anel carbocíclico apropriadamente funcionalizado e a construção linear do heterocíclico a partir do substituinte amina do carbocíclico¹⁶.

O acoplamento directo de uma base com o *pseudo* açúcar carbocíclico pode ser efectuado por diversos métodos¹⁶:

- 1) Substituição de um éster alílico ou carbonato catalisada por Paládio, que ocorre com retenção da configuração.
- 2) Acoplamento de Mitsunobu com um ciclo-alcanol, tomando partido na inversão de configuração do centro quiral.

- 3) Substituição nucleofílica de um ião halogeneto ou grupo hidroxilo activado (ex. triflato), ocorrendo também inversão de configuração.
- 4) Abertura de anel de um epóxido.
- 5) Adição de Michael a uma olefina activada por um grupo atractor electrónico (ex. carbonilo).

O principal problema desta via de acoplamento é a régio-selectividade no ataque da base (nas purinas é possível através dos azotos N₃, N₇ e N₉ - cf. **Figura 3**, estruturas **62** e **63**) e a necessidade de efectuar protecções de determinados grupos funcionais¹⁶.

Por sua vez, na construção da base heterocíclica a partir de um aminocicloalcano, o grupo amino passa a ser o N₉ de uma purina ou o N₁ de uma pirimidina (**Figura 3**)¹⁶.

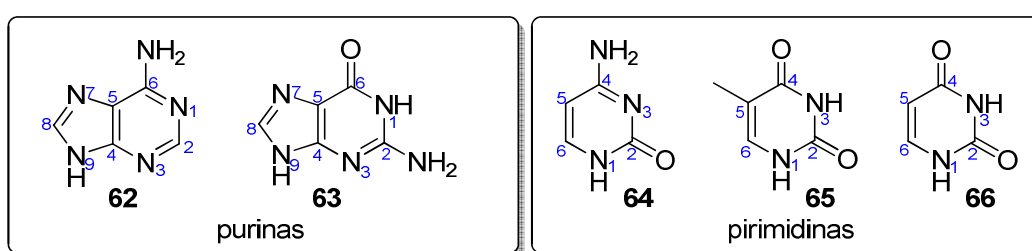


Figura 3 - Estrutura das bases de ADN: purinas adenina **62** e guanina **63** e pirimidinas citosina **64**, uracilo **65** e timina **66**.

Em 2002, Santana *et al.*²¹ sintetizaram os nucleósidos carbocíclicos análogos de purinas **67a-67f** (**Figura 4**) e compararam as suas estruturas com o 2',3'-dideoxiadenosina **68** recorrendo a cálculos computacionais com o método AM1 e a ensaios farmacológicos em diversas linhas celulares, de forma a avaliar as actividades antiviral e antitumoral destes compostos.

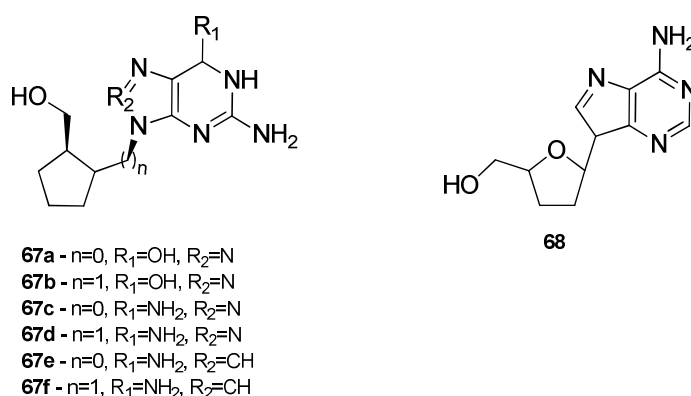


Figura 4 - Estrutura dos nucleósidos carbocíclicos **67a-67f** e do nucleósido **68**²¹

A comparação das estruturas²¹ **67a-67f** com o nucleósido **68** resultante dos cálculos computacionais mostrou que todos os nucleósidos carbocíclicos têm conformações estáveis e semelhantes a **68** a nível dos parâmetros de distâncias e ângulos de ligação

avaliados. Contudo, nenhum dos compostos **67a-67f** mostrou actividade antiviral nas diversas linhas celulares utilizadas²¹. Por outro lado, os compostos que contêm um grupo metileno na junção da unidade carbocíclica e da base **67b**, **67d** e **67f** (n=1) demonstraram uma actividade antitumoral significativa²¹, muito semelhante à de **68**.

Este estudo é indicativo não só da potencialidade desta classe de compostos como também da versatilidade de aplicações que se pode obter com a simples introdução de um grupo metileno.

Pequenas infecções virais podem ser fatais em doentes imuno-deficientes, pelo que a procura de nucleósidos carbocíclicos mais eficientes e selectivos é de extrema importância¹⁶. Dentro desta classe, são especialmente necessários inibidores do vírus da imunodeficiência humana (VIH), citomegalovírus (CMV), vírus do herpes dos tipos I (HSV-1) e II (HSV-2), vírus varicella-zoster (VZV), vírus Epstein-Barr (EBV) e vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV)¹⁶.

Normalmente, o vírus da hepatite C não apresenta sintomas mas, em cerca de 80% dos pacientes, pode provocar hepatite crónica e, até mesmo, cirrose hepática e cancro hepato-celular¹⁷. Neste contexto, torna-se de extrema importância a existência de terapias de tratamento eficientes e selectivas, sendo que alguns nucleósidos carbocíclicos demonstraram ser potentes inibidores da replicação do vírus hepatite C, com níveis de toxicidade aceitáveis¹⁷.

A SIDA é, sem dúvida, a doença viral que mais atenção tem merecido desde a década de 80. Existem diversas hipóteses acerca da origem do VIH e da SIDA, sendo a mais aceite que a origem deste vírus tenha sido em África. Em 1980 o VIH estava presente em locais distintos no mundo: América do Norte e Sul, Europa, África e Austrália.

O Relatório das Nações Unidas concretizado em 2010 - *The Millenium Devlopment Goals Report* - apresenta oito objectivos, sendo o Objectivo VI o do combate ao VIH/SIDA, malária e outras doenças. Neste relatório são estabelecidos dois objectivos principais:

- 1) Até 2015 parar e começar a reverter a propagação do VIH/SIDA
- 2) Alcançar, até 2010, acesso universal ao tratamento do VIH /SIDA a todos os que necessitam.

O **Gráfico 1** representa o número de pessoas que vive com o VIH, o número de pessoas que são infectadas com o VIH e ainda o número de mortes causadas pela SIDA, desde 1990 a 2008, no mundo inteiro.

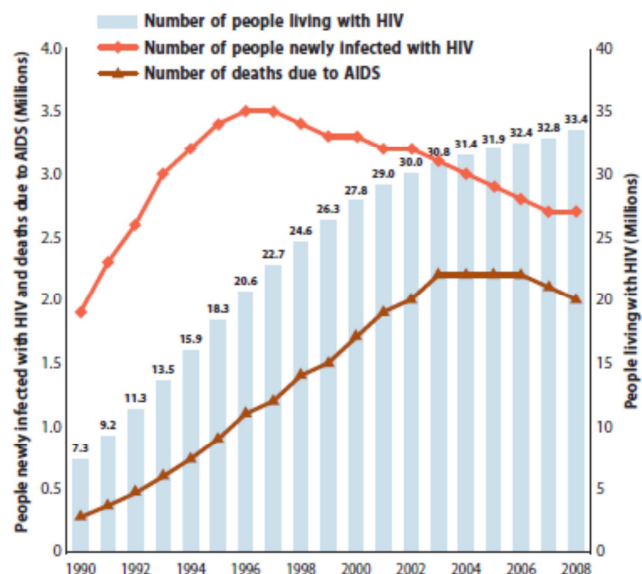


Gráfico 1 - Gráfico que mostra o número de pessoas que vive com VIH, o número de pessoas que são infectadas com o VIH e o número de mortes devido à SIDA nos anos 1990-2008²²

As estatísticas^{22,23} indicam que, em 2008, existiam 33,4 milhões de pessoas portadoras do VIH, dos quais 22,4 milhões residem na África sub-Sariana (67%). Não há dúvida que para evitar a propagação da infecção é necessário apostar no conhecimento, nomeadamente a nível das vias de transmissão da doença. Mais de 90% dos 2,1 milhões de crianças portadores do VIH foram infectados por transmissão vertical (útero/nascimento/amamentação). Este número realça a necessidade de introdução de terapias anti-retrovirais a mulheres grávidas portadoras deste vírus.

Entre 2003 e 2008 o número de pessoas que receberam terapia anti-retroviral aumentou dez vezes²³ (de 400 000 para 4 milhões) o que corresponde a 42% dos 8,8 milhões de pessoas que necessitam de tratamento. Nos países em vias de desenvolvimento, 9,5 milhões de pessoas necessitam de terapia anti-VIH, dos quais apenas 42 % tem acesso. Os valores desta estatística são soberanos e convergem na necessidade de terapias anti-retrovirais acessíveis sob o ponto de vista económico.

Os fármacos que interferem com os passos chave da replicação viral podem terminar com a propagação viral, destacando-se²⁴:

- I) Inibidores de fusão de membrana - inibem a entrada do vírus na célula hospedeira, através do bloqueio da proteína que medeia a fusão membranar;
- II) Inibidores da transcriptase reversa não nucleósidos;
- III) Inibidores da transcriptase reversa nucleósidos (os com maior relevo para o trabalho apresentado);
- IV) Inibidores da integrase;
- V) Inibidores da protease.

O tratamento *standard* (combinações de dose fixa) é composto por dois nucleósidos inibidores da transcriptase reversa e por um não nucleósido inibidor da transcriptase reversa ou protease²⁴.

O principal impedimento para o tratamento desta doença é o custo, sendo que aproximadamente 65-90% do custo dos fármacos anti-retrovirais deriva dos ingredientes farmacologicamente activos. Atendendo ao facto da maior parte dos portadores serem residentes em países não desenvolvidos e sem poder económico nem organização do sistema de saúde, torna-se de extrema importância inovar na síntese destes fármacos de forma a reduzir o custo. Por exemplo, a combinação de dose fixa “triomuneTM”, composta por AZT, 3TC e *nevirapina*, da Cipla, representa um custo de 95-140\$ (68-100€) por paciente por ano e é aplicada em países desenvolvidos²⁴.

Em 2008, Pinheiro *et al.*²⁴ compararam os processos de produção de diversos fármacos antivirais. O nucleósido carbocíclico escolhido para este estudo foi *abacavir* **59** (cf. **Figura 2**) e os autores concluíram que o maior problema sintético para a produção do (-)-*abacavir* reside na produção das unidades carbocíclicas. Ainda não se encontram suficientemente desenvolvidas sínteses enantio-selectivas e economicamente viáveis deste tipo de unidades estruturais. Idealmente pretendem-se processos com maiores rendimentos, menos passos sintéticos e com cinéticas mais selectivas, tanto a nível régio- como enantio-selectivo.

2.1.4. Nanofiltração

As técnicas de separação mais frequentes em química orgânica, como a destilação e a cromatografia, demonstraram ser insuficientes para o isolamento dos produtos obtidos. Por este motivo, surgiu necessidade de recorrer a uma técnica de isolamento que permitisse uma melhor separação entre os produtos pretendidos e os laterais.

A nanofiltração²⁵ é uma técnica de separação cujo conceito base reside na separação de misturas reaccionais orgânicas ao nível molecular pela aplicação de uma pressão gradiente sobre a membrana - **Figura 5**. A denominação desta técnica surgiu em 1984, por Filmteche e, desde então, a técnica tem-se demonstrado promissora, visto que se desenvolveram membranas resistentes a solventes orgânicos.

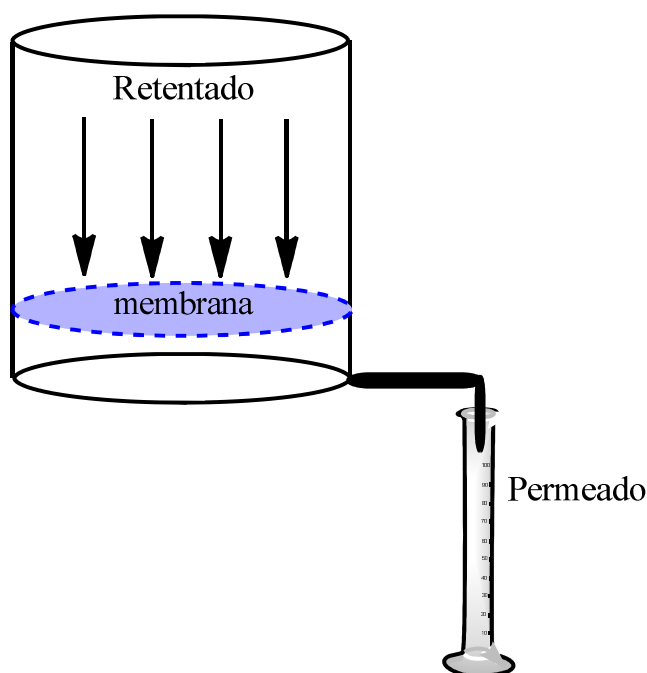


Figura 5 - Representação esquemática da técnica nanofiltração

A eficiência da separação²⁵ é determinada essencialmente por duas características da membrana: a selectividade e o caudal. Existem dois parâmetros essenciais na definição da eficiência de separação de uma membrana: a Rejeição (%) R - equação (1) - e o *molecular weightcut-off* MWCO, o peso molecular de um composto referenciado que fica retido a 90%. Para cada membrana existem curvas de distribuição de rejeição R em função do peso molecular, de forma a determinar o MWCO. É evidente que os compostos utilizados são compostos de referência, por exemplo o polietilenoglicol (PEG) ou o poliestireno (PS), cujos comportamentos serão manifestamente diferentes dos compostos noutros estudos.

$$R = \frac{C_p - C_r}{C_p} \quad (1),$$

Sendo C_p a concentração do permeado e C_r a concentração do retentado na solução em análise.

As características das membranas²⁵ são determinantes para a sua eficiência de filtração, nomeadamente o material constituinte (ex: poliimida, polisulfona, acetato de celulose) que determinará as interações entre os grupos funcionais da amostra e da membrana, valores de Pressão e Temperatura máximos, estabilidade nos solventes orgânicos e o MWCO.

Esta técnica²⁵ pode ser substancialmente vantajosa enquanto alternativa à clássica destilação, podendo-se tirar partido da escala molecular a que se processa e, dependendo do sistema em análise, pode-se escolher o tamanho do poro membranar (MWCO) em função da estratégia a adoptar, i.e., pode-se proceder ao isolamento da molécula pretendida no retentado, deixando passar as impurezas ou vice-versa, consoante esta seja maior/menor do que as impurezas/produtos laterais.

Atendendo à maior eficiência energética e ao aproveitamento de resíduos, esta técnica preenche os requisitos da *green chemistry* em relação à eficiência no isolamento de compostos. As aplicações deste método de separação são vastas²⁵ e o potencial desta técnica faz-se sentir tanto a nível laboratorial como industrial.

2.2. Resultados e Discussão

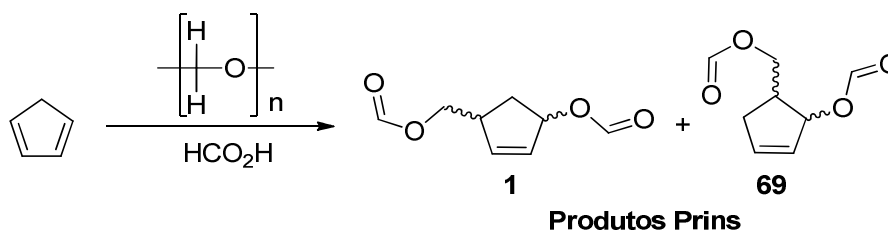
As vias sintéticas descritas para a obtenção de unidades carbocíclicas são variadas, verificando-se a existência de abordagens racémicas e enantio-selectivas. De entre os métodos apresentados na introdução deste trabalho, verifica-se que ainda não existe um método de síntese destas unidades com elevada eficiência. A reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído constitui uma metodologia muito eficiente para a síntese deste tipo de unidades.

Por outro lado, a aplicação de sistemas catalíticos em reacções químicas constitui um dos princípios da *green chemistry* e tem demonstrado resultados extraordinários na selectividade de determinadas reacções²⁶. Desta forma, a procura de um sistema catalítico que torne a reacção de Prins numa transformação mais selectiva constitui um desafio com grande potencialidade.

2.2.1. Identificação dos produtos da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído

A reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído descrita por Bajorek *et al.*³ foi a reacção base deste estudo. Portanto, o primeiro objectivo do trabalho foi a reprodução dos resultados obtidos por este grupo em 1974.

Numa primeira abordagem repetiu-se a experiência numa escala 1/10 da descrita³ e obteve-se uma solução preta após as 60 horas de reacção à temperatura ambiente. Após *work-up*, obteve-se um óleo laranja como descrito - **Esquema 20**.



Esquema 20 - Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

O isolamento por cromatografia em coluna do óleo mostrou-se insuficiente, tendo-se recolhido 6 fracções que foram analisadas por ¹H RMN. Duas destas fracções (30 mg no total) indicam a presença dos produtos Prins **1** e **69**, assim como produtos estruturalmente semelhantes, estando a segunda fracção em menor grau de pureza. Por

sua vez, as restantes fracções demonstram produtos Prins e impurezas estruturalmente semelhantes em minoria e elevada quantidade de material polimérico (proporções diferentes em cada fracção).

Para além disso, as quantidades isoladas nas 6 fracções não correspondem a um balanço de massas plausível, pelo que se infere que os produtos ficaram retidos na coluna, possivelmente alvo de degradação.

Atendendo à estrutura do produto é possível que este tenha sofrido hidrólise (contém a funcionalidade éster) ou outro tipo de decomposição (derivada da olefina) activada pela Sílica. Para além disso, a presença de material polimérico em todas as fracções recolhidas dificulta não só o isolamento das espécies como também a análise por RMN.

Atendendo a que a amostra mais pura não se encontrava em grau de pureza suficientemente elevado para uma correcta identificação estrutural, a reacção foi repetida em maior escala (1/2 da escala utilizada na reacção de referência³).

A estratégia de isolamento desta segunda reacção passou pela destilação do óleo laranja obtido após *work-up* com a finalidade de separar os produtos Prins do material polimérico, seguida de cromatografia em coluna.

Na destilação com pressão reduzida recolheram-se duas fracções, a primeira recolhida a 110°C (3 g) e a segunda à temperatura de 140°C (0,5 g), com aparência viscosa. Estas duas fracções foram analisadas por ¹H RMN e ¹³C RMN, sendo que a segunda mostrou a existência de picos poliméricos, facto que conjugou com a sua elevada viscosidade. Por sua vez, a primeira fracção destilada evidenciou estruturas dos produtos Prins, contudo com elevado grau de impurezas estruturalmente semelhantes e material polimérico que provoca um alargamento dos picos com a consequente diminuição de resolução espectral.

A uma amostra desta primeira fracção destilada foi realizada uma cromatografia em coluna, tendo-se recolhido 3 fracções. Por análise de RMN, a primeira fracção demonstrou corresponder a uma mistura dos produtos Prins **1** e **69**, a segunda fracção a esta mistura em grau de pureza inferior e a terceira fracção corresponde a material polimérico.

Assim, foi possível observar a formação dos produtos Prins **1** e **69** tal como descrito e, sobretudo, ter amostras autênticas para eventual identificação estrutural no rastreio de catalisadores pretendido.

2.2.2. Screening de diversos catalisadores na reacção de Prins

Após identificação dos produtos Prins, realizou-se um *screening* da actividade catalítica de diversos catalisadores nesta reacção. Para tal, seleccionaram-se ácidos de Lewis elementares, com ligandos típicos, assim como outras espécies químicas disponíveis no laboratório, tendo em consideração a afinidade ao oxigénio (centro que se pretende activar). Conjugando estes factores, escolheram-se dezasseis catalisadores: *p*-TsOH (B), ZnCl₂ (C), FeCl₃ (D), BF₃OEt₂ (E), CaCl₂·2H₂O (F), MgO (G), CuCl₂·2H₂O (H), LaCl₃ (I), Amberlyst (K), Molecular Sieves (L), CoCl₂·6H₂O (M), AuClPPh₃ (N), PdCl₂ (O), RuCl₃·xH₂O (P), SnCl₂·2H₂O (Q) e AlCl₃ (R).

Os ensaios foram realizados em duas sessões de nove ensaios catalíticos, incluindo o branco, utilizando 0,2 equivalentes do catalisador (em relação ao ciclopentadieno), à excepção de AuClPPh₃ (0,02 equivalentes). O carácter exotérmico da reacção, a cor que esta adquiriu e o R_f de alguns ensaios indicaram reactividades distintas impostas por esses catalisadores.

Para obter uma análise quantitativa, as amostras dos dezoito ensaios foram analisadas por cromatografia gasosa (CG), com recurso ao método do padrão interno. Para tal, escolheu-se o dodecano como padrão interno, que verificou ser inerte e com tempo de retenção distinto dos outros produtos ($t_{r_{\text{dodecano}}}=12,35$ min). Tendo em consideração que o *work-up* destas amostras foi realizado de forma qualitativa, esta análise está afectada de um erro superior aos do operador, material e equipamentos utilizados.

Os cromatogramas obtidos em cada ensaio encontram-se representados nas **Figuras 6-23**.

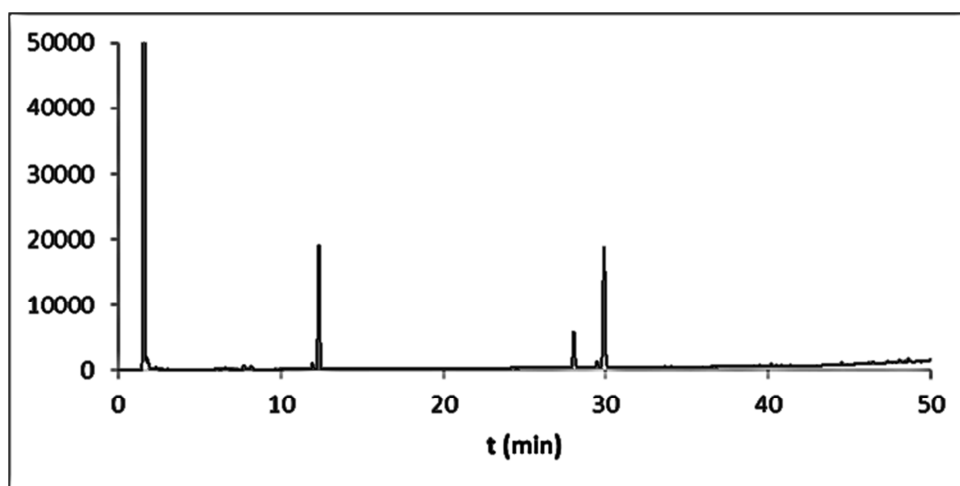


Figura 6 - Cromatograma da amostra A - reacção sem adição de catalisador - branco 1

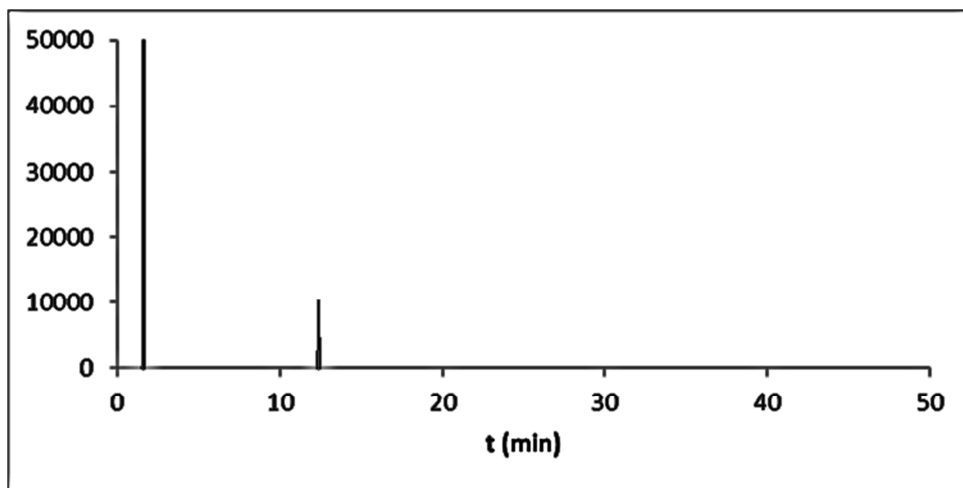


Figura 7 - Cromatograma da amostra B - reacção com 0,2 eq. de catalisador *p*-TsOH

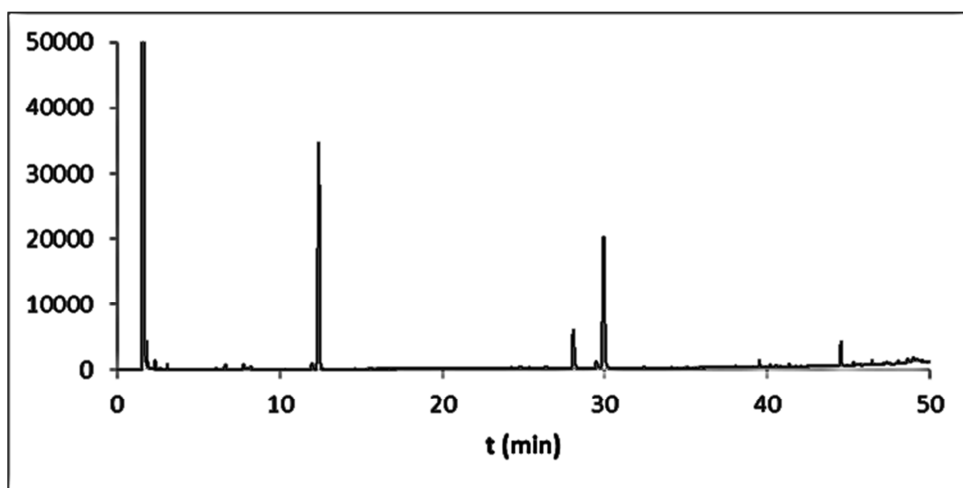


Figura 8 - Cromatograma da amostra C - reacção com 0,2 eq. de catalisador $ZnCl_2$

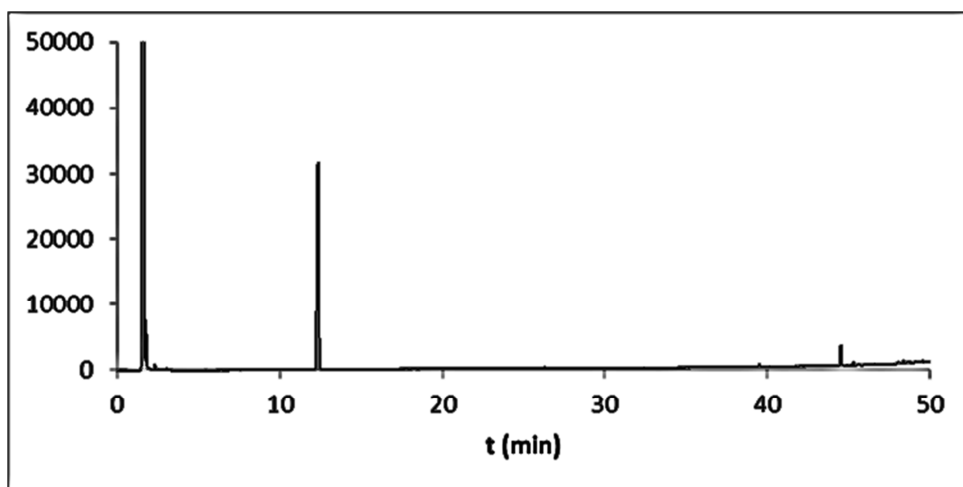


Figura 9 - Cromatograma da amostra D - reacção com 0,2 eq. de catalisador $FeCl_3$

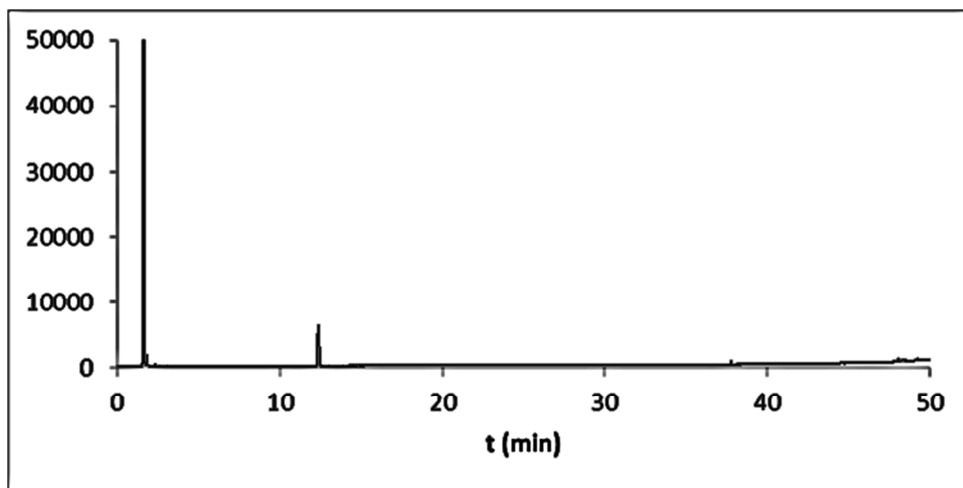


Figura 10 - Cromatograma da amostra E - reacção com 0,2 eq. de catalisador BF_3OEt_2

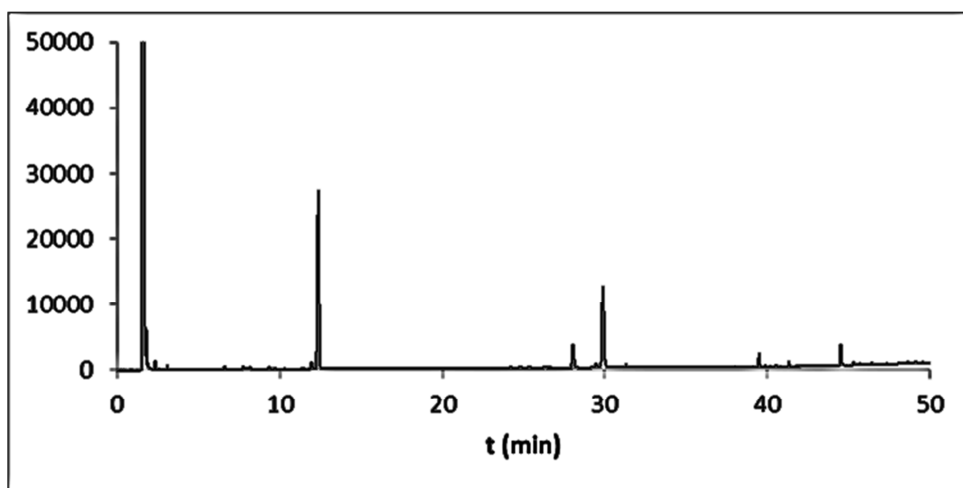


Figura 11 - Cromatograma da amostra F - reacção com 0,2 eq. de catalisador $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

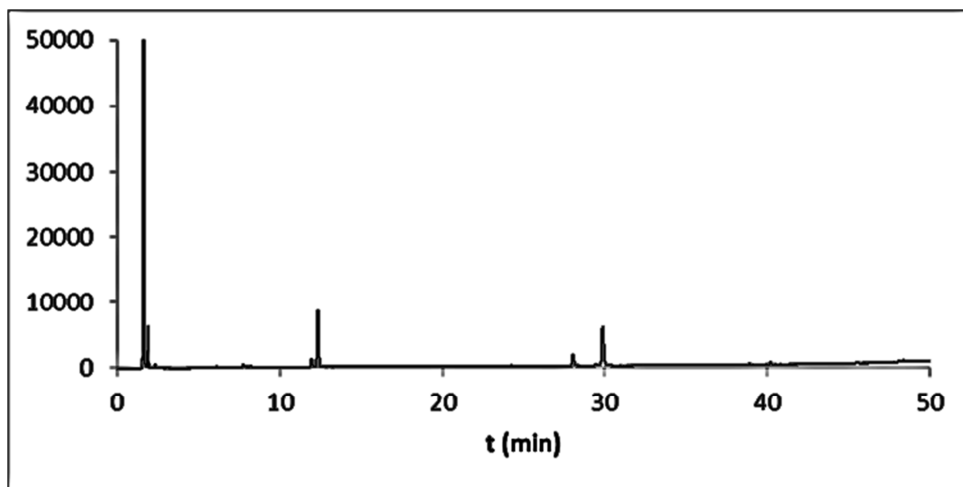


Figura 12 - Cromatograma da amostra G - reacção com 0,2 eq. de catalisador MgO

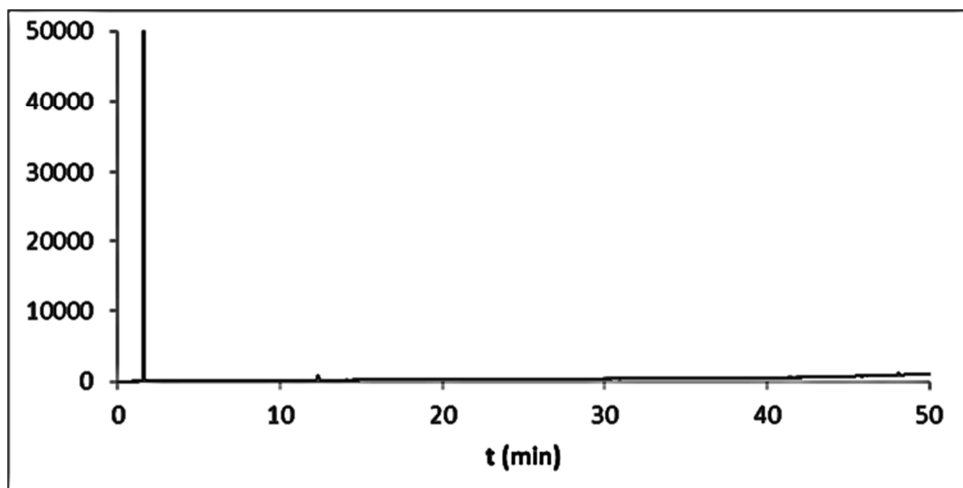


Figura 13 - Cromatograma da amostra H - reacção com 0,2 eq. de catalisador $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

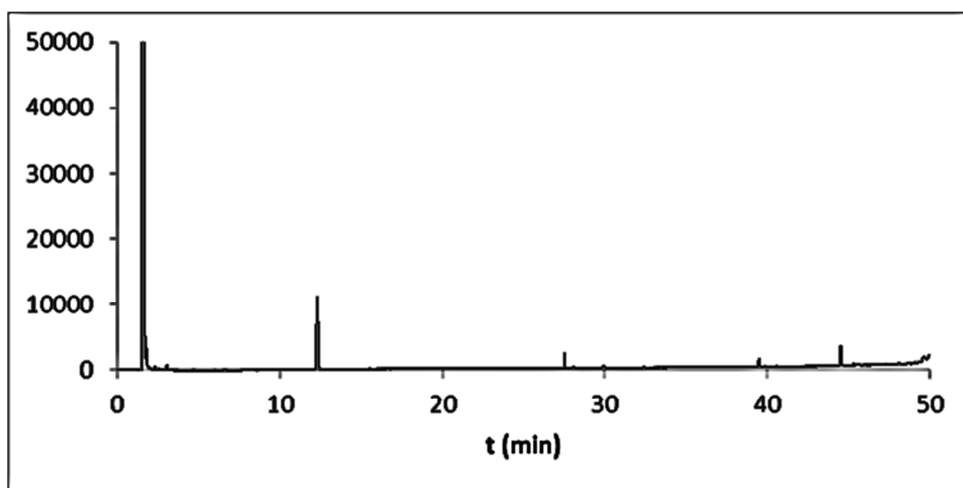


Figura 14 - Cromatograma da amostra I - reacção com 0,2 eq. de catalisador LaCl_3

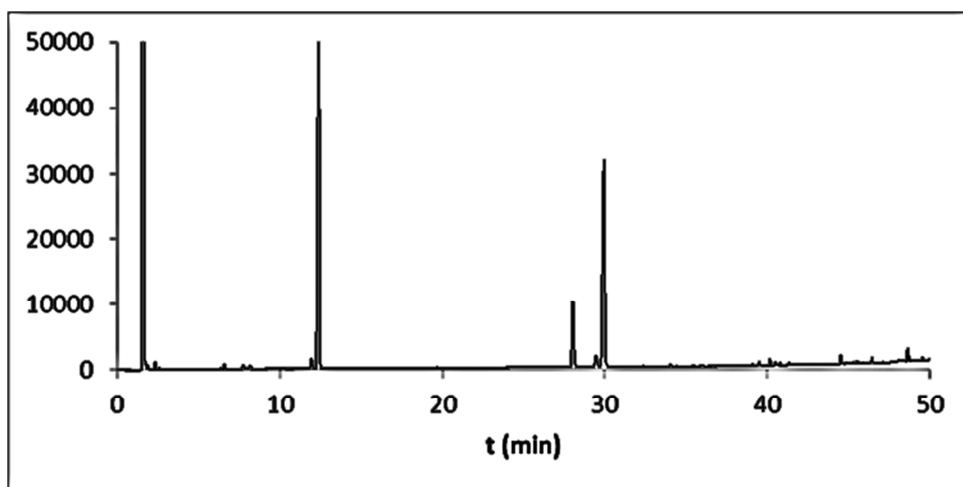


Figura 15 - Cromatograma da amostra J - reacção sem catalisador - Branco 2

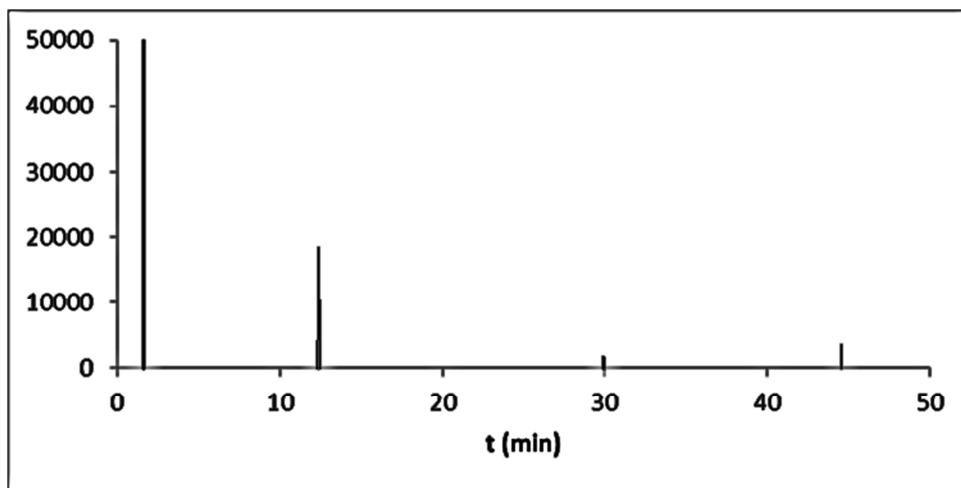


Figura 16 - Cromatograma da amostra K - reacção com 0,2 eq. de catalisador *Amberlyst*

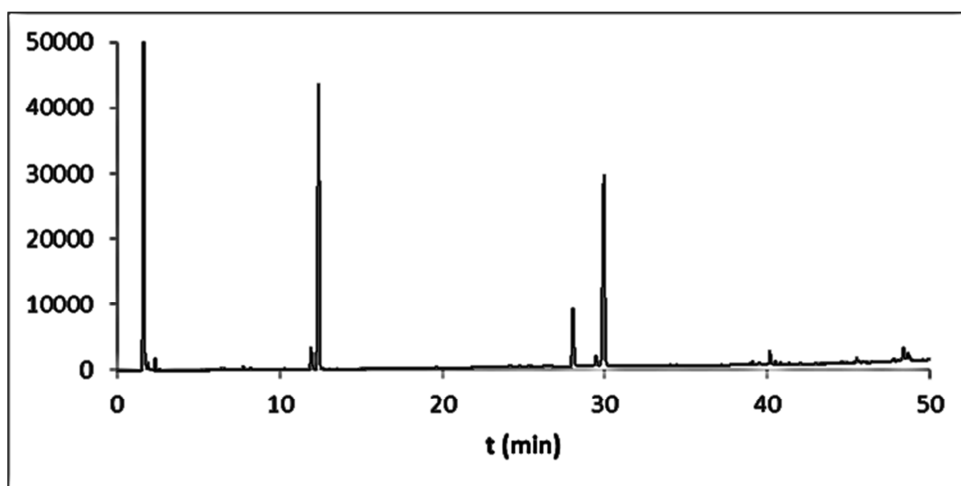


Figura 17 - Cromatograma da amostra L - reacção com 0,2 eq. de catalisador *Molecular Sieves*

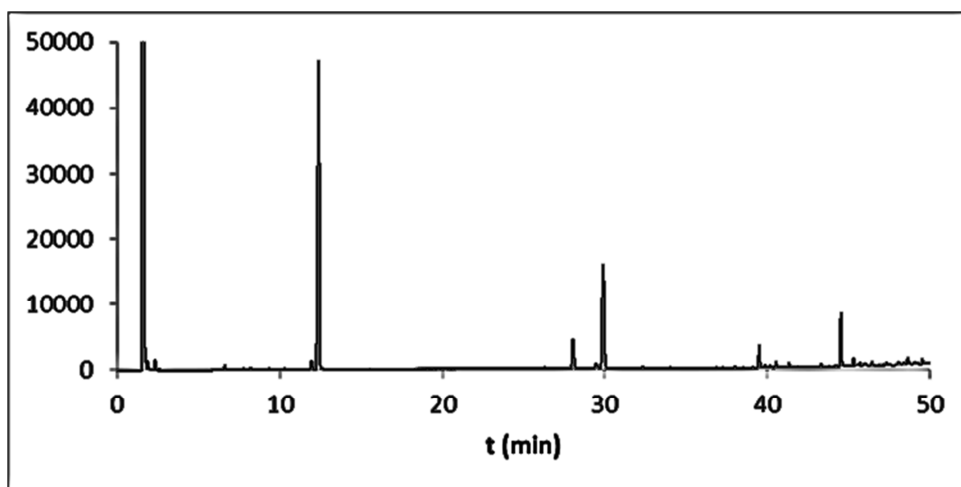


Figura 18 - Cromatograma da amostra M - reacção com 0,2 eq. de catalisador $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

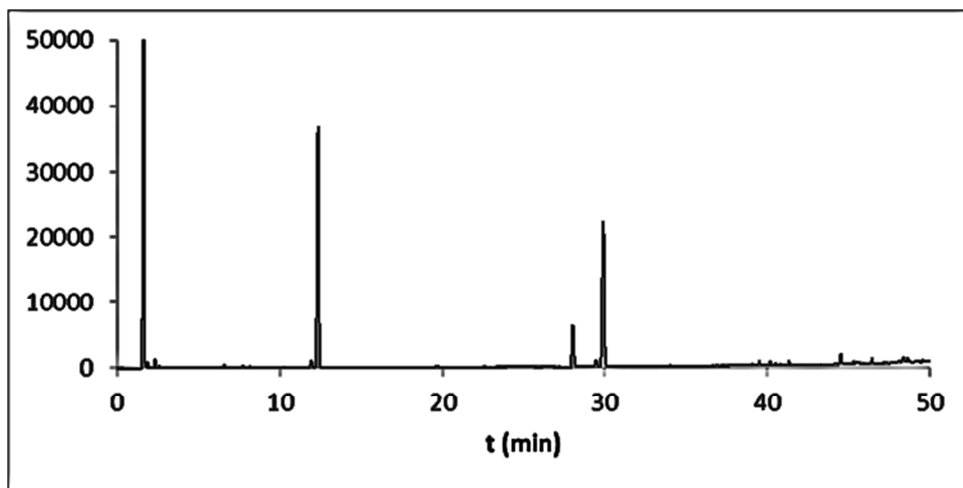


Figura 19 - Cromatograma da amostra N - reação com 0,02 eq. de catalisador AuClPPh₃

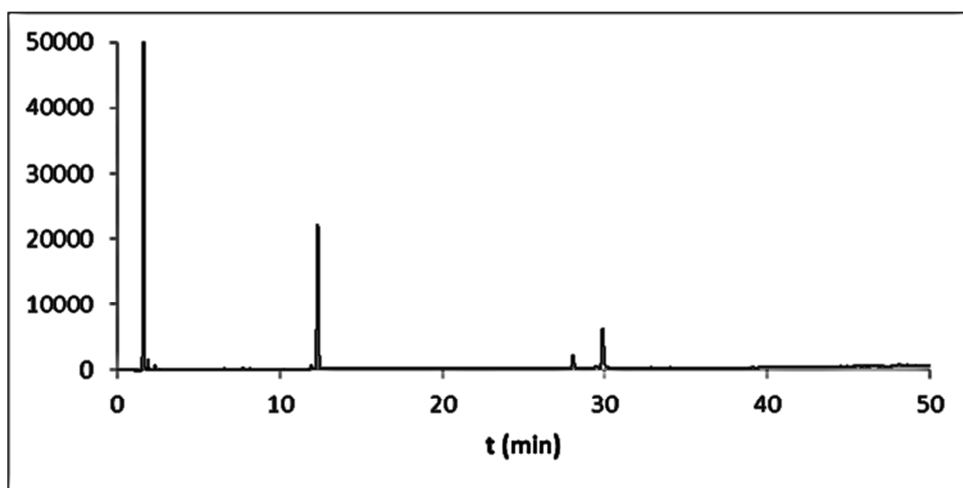


Figura 20 - Cromatograma da amostra O - reação com 0,2 eq. de catalisador PdCl₂

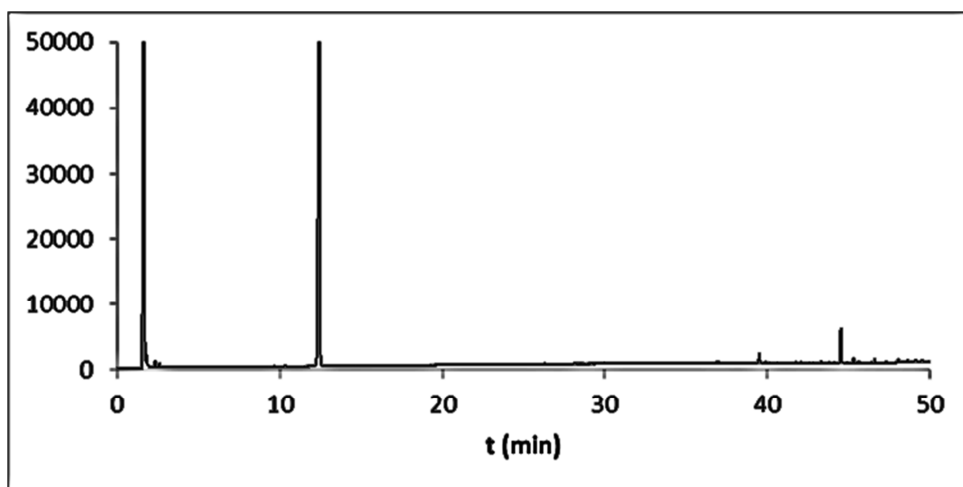


Figura 21 - Cromatograma da amostra P - reação com 0,2 eq. de catalisador RuCl₃·xH₂O

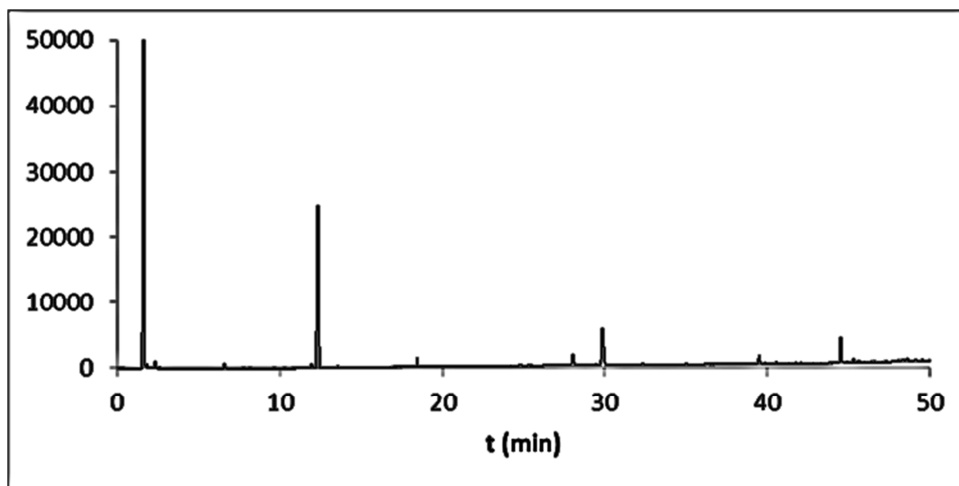


Figura 22 - Cromatograma da amostra Q - reacção com 0,2 eq. de catalisador $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

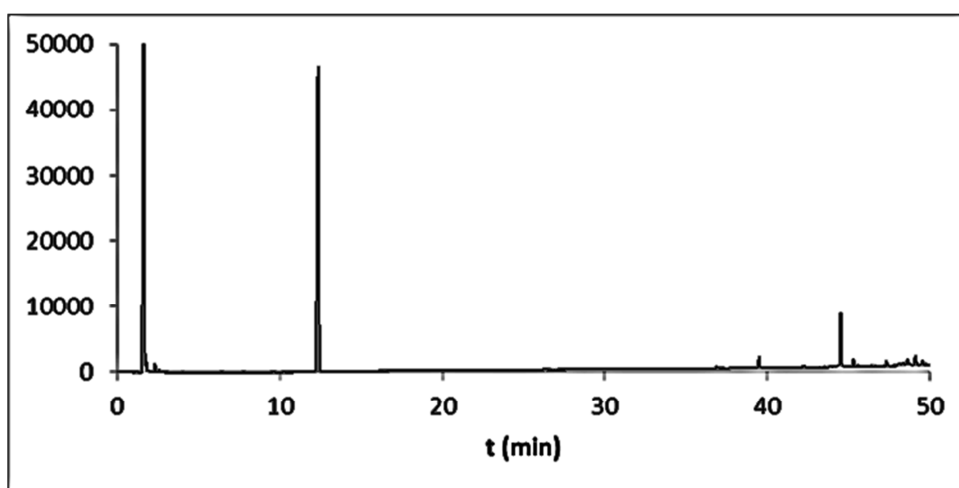


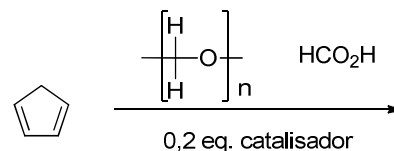
Figura 23 - Cromatograma da amostra R - reacção com 0,2 eq. de catalisador AlCl_3

Para a análise dos cromatogramas consideraram-se os três picos correspondentes aos produtos Prins (**1** e **69** previamente identificados e um terceiro produto minoritário) assim como quatro picos considerados novos produtos com algum relevo. Os três picos identificados como ‘produtos Prins’ (PP) correspondem aos tempos de retenção 28,0, 29,5 e 29,9 minutos, denominados de **PP1**, **PP2** e **PP3** respectivamente. A análise destes picos foi realizada com amostra autêntica da mistura dos produtos Prins obtida na reprodução da reacção base deste estudo. Por sua vez, os quatro picos adicionais correspondentes aos ‘novos produtos Prins’ (NPP) que foram contemplados na análise são identificados pelos tempos de retenção de 11,9, 39,5, 40,2 e 44,6 minutos, denominados de **NPP1**, **NPP2**, **NPP3** e **NPP4** respectivamente.

A recta de calibração obtida foi $\frac{A_{PP}}{A_{dod}} = 0,3447 \frac{m_{PP}}{m_{dod}} - 0,2572$ (coeficiente de correlação 0,985), na qual A_{PP} e m_{PP} representam a área e a massa dos picos dos

produtos Prins, respectivamente e A_{dod} e m_{dod} representam a área e a massa do pico do dodecano (**anexo 5.1.1**).

O **Esquema 21** representa o *screening* de catalisadores da reacção de Prins. A análise quantitativa dos picos seleccionados efectuada encontra-se sumariada na **Tabela 1**. Esta análise pressupõe que o *work-up* das amostras foi igual e que os diversos produtos seleccionados têm respostas idênticas no detector de chama do CG e, portanto, o tratamento quantitativo realizado foi idêntico nos produtos Prins e nos novos produtos Prins.



Esquema 21 - Esquema reaccional do *screening* de catalisadores da reacção de Prins

Tabela 1 - Percentagem dos diversos produtos obtidos em cada teste A-R ^{a)}

Entrada tr (min)	Catalisador	% NPP1	% NPP2	% NPP3	% NPP4	% PP1 e)	% PP2 e)	% PP3 e)
A	Branco 1 ^{b)}	11,9	39,5	40,2	44,6	28,0	29,5	29,9
B	<i>p</i> -TsOH	0,0	0,0	0,00	0,0	12,4	2,6	45,5
C	ZnCl ₂	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
D	ZnCl ₂	1,4	0,9	0,0	2,9	9,4	2,0	35,2
E	FeCl ₃	0,0	0,0	0,0	4,9	0,0	0,0	0,0
F	BF ₃ OEt ₂	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G	CaCl ₂ ·2H ₂ O	2,2	2,4	0,0	3,3	7,9	1,6	29,9
H	MgO	6,8	0,0	2,3	0,0	10,2	2,0	37,6
I	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
J	LaCl₃·7H₂O	0,0	6,5	0,0	11,9	0,0	0,0	3,2
K	Branco 2 ^{b)}	0,0	0,0	0,0	0,0	9,6	1,9	36,8
L	<i>Amberlyst</i>	0,0	0,0	0,0	16,8	7,0	1,9	29,2
M	Molecular Sieves	3,5	0,0	1,4	0,0	10,0	2,0	39,1
N	CoCl ₂ ·6H ₂ O	1,7	2,7	0,0	2,7	6,3	1,3	24,7
O	AuCIPh ₃	1,6	0,7	0,5	1,2	9,4	1,8	36,5
P	PdCl ₂	2,0	0,0	0,0	0,0	6,8	1,4	23,7
Q	RuCl ₃ ·xH ₂ O	0,0	1,7	0,0	5,1	0,0	0,0	0,4
R	SnCl ₂ ·2H ₂ O	1,7	2,6	0,0	5,7	4,9	1,0	18,7
R	AlCl ₃	0,0	1,9	0,0	8,2	0,0	0,0	0,0

- a) Ensaios A–I: ciclopentadieno (264µL), HCHO (0,48 g), HCO₂H (2 mL), 0,2 eq. de catalisador, 60 h, -10°C-t. amb.
 Ensaios J–R: ciclopentadieno (132µL), HCHO (0,24 g), HCO₂H (1 mL), 0,2 eq. de catalisador, excepto entrada N (0,02 eq.), 60 h, -00010°C-t. amb.
- b) O ensaio Branco 1 corresponde ao conjunto de ensaios A-I e o ensaio Branco 2 corresponde ao conjunto de ensaios J-R
- c) Os produtos Prins PP1, PP2 e PP3 foram identificados por comparação com amostra autêntica isolada da mistura dos produtos

A **Tabela 1** evidencia a selectividade com que cada centro metálico influencia a cinética desta reacção.

Os ácidos *p*-TsOH, BF₃OEt₂ e CuCl₂·2H₂O - entradas B, E e H da **Tabela 1** - inibiram o decorrer da reacção, não se tendo detectado a formação de nenhum tipo de produto. Desta classe, o ácido *p*-TsOH merece especial atenção tendo em conta que Saville-Stones *et al.* descreveram² uma modificação da reacção de Prins em condições mais amenas (utilizando 0,4 mM de *p*-TsOH em AcOH), na qual obtiveram os produtos Prins **1** e **67** numa proporção relativa que se verificou ser sensível à concentração do ácido *p*-TsOH. Este resultado dá ênfase às diferentes vias cinéticas com que a reacção de Prins ocorre, consoante o tipo e a concentração de ácido de Brönsted que influenciarão, não só os produtos obtidos, como a sua proporção.

Por sua vez, os ácidos FeCl₃ e AlCl₃ - entradas D e R da **Tabela 1** - inibiram completamente a formação dos produtos Prins e forneceram um novo tipo de produtos, embora em baixa proporção (5% e 10% respectivamente). O catalisador FeCl₃ promoveu exclusivamente a formação do novo produto NPP4 (tr=44,6 min) em 5% e a catálise via AlCl₃ forneceu o mesmo produto em 8% e o produto NPP2 (tr=39,5 min) em 2%. No prosseguimento deste trabalho surgiram evidências que apontam para a correspondência entre os produtos **70** e **71a** ou **71b** - **Figura 24** - com os compostos com tempos de retenção de 39,5 (NPP2) e 44,6 minutos (NPP4).

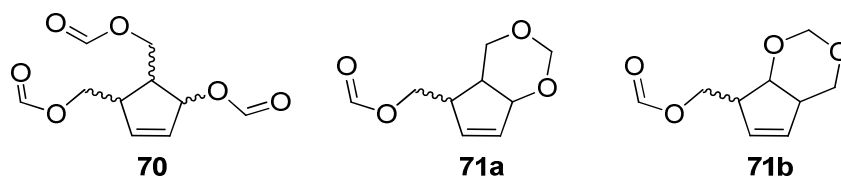


Figura 24 - Estruturas dos novos produtos identificados posteriormente **70** e **71a** ou **71b**

Os catalisadores ZnCl₂, CaCl₂·2H₂O, MgO, *Amberlyst*, Molecular Sieves, CoCl₂·6H₂O e SnCl₂·2H₂O - entradas C, F, G, K, L, M e Q da **Tabela 1** - conduziram à formação dos produtos Prins e dos produtos secundários sem conversão ou selectividade que justificasse o seguimento do seu estudo. De entre esta classe, a catálise mediada pelo *Amberlyst* proporcionou a formação dos PP e dos NPP em elevada percentagem, contudo esta reacção apresenta baixa selectividade atendendo à formação substancial de diversas espécies.

As reacções catalisadas pelas espécies AuClPPH₃ e PdCl₂ - entradas N e O da **Tabela 1** - demonstraram uma forte selectividade na formação dos produtos Prins - 47,7% e 31,9% (respectivamente) - em relação aos produtos secundários, contudo originaram os produtos Prins numa proporção inferior à reacção *standard* (branco 2, 48,3 %).

Por fim, a catálise mediada pelas espécies LaCl₃ e RuCl₃·xH₂O - entradas I e P da **Tabela 1** - conduziu à formação maioritária dos novos produtos NPP2 e NPP4 (tr=39,5

e $t_r=44,6$ minutos). Deste grupo, o LaCl_3 parece ser o catalisador cuja reacção deu maior rendimento e, portanto, foi objecto de estudo mais detalhado.

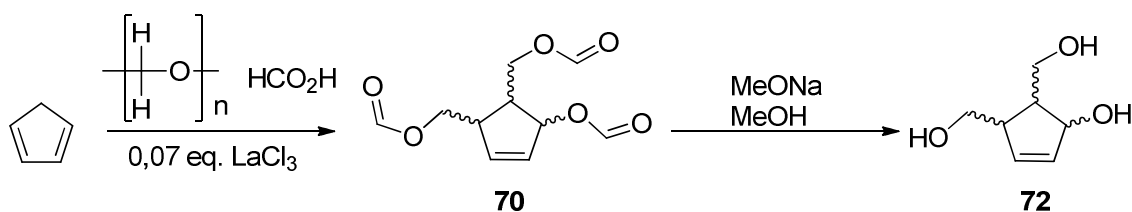
2.2.3. Isolamento e identificação dos novos produtos Prins obtidos na reacção de Prins catalisada por LaCl_3

No estudo da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 , realizou-se o procedimento como anteriormente, contudo utilizando 0,07 equivalentes deste ácido de Lewis. No *work-up* verificou-se uma maior dificuldade na extracção dos novos produtos Prins, tendo sido necessário recorrer a solventes orgânicos mais polares para a obtenção de um óleo laranja. A maior dificuldade de extracção pode dever-se à maior polaridade dos novos produtos Prins (face aos PP *standard*) ou à coordenação destes produtos ao centro de La do catalisador.

Numa primeira abordagem, o produto foi submetido a purificação por cromatografia em coluna seguida de cromatografia em placa preparativa, obtendo-se duas fracções - uma com uma mistura de dois compostos e outra com um composto cuja identificação estrutural indicou a estrutura **70**. O facto de ainda existir algum material polimérico e pequenas impurezas fez com que não fosse possível uma identificação do segundo novo produto Prins. Numa tentativa de obter uma confirmação estrutural, a amostra mais pura foi submetida a análise de espectroscopia de massa, tendo-se obtido um ião molecular com massa molar correspondente à molécula **70** associado ao Na^+ da matriz ($m/z = 251$), contudo a existência de elevada quantidade de polímero na amostra provocou uma linha de base espectral com muito ruído, dificultando a análise espectral; verifica-se ainda a existência de outros iões moleculares, contudo não foi possível estabelecer uma associação que permitisse a pretendida confirmação estrutural.

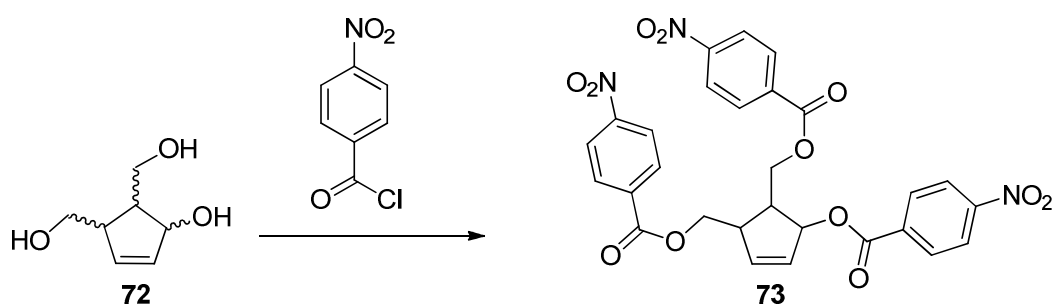
Numa segunda abordagem, uma amostra do óleo obtido foi destilada com pressão reduzida e aquecimento banho até 160°C , tendo sido apenas possível recolher um resíduo de amostra que condensou na zona do termómetro. Desta forma, a destilação com pressão reduzida demonstrou não ser uma técnica de isolamento satisfatória para os produtos obtidos na reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3 .

Assim sendo, apostou-se na derivatização dos produtos obtidos. Para tal, procedeu-se à hidrólise da mistura reaccional com MeONa - **Esquema 22**.



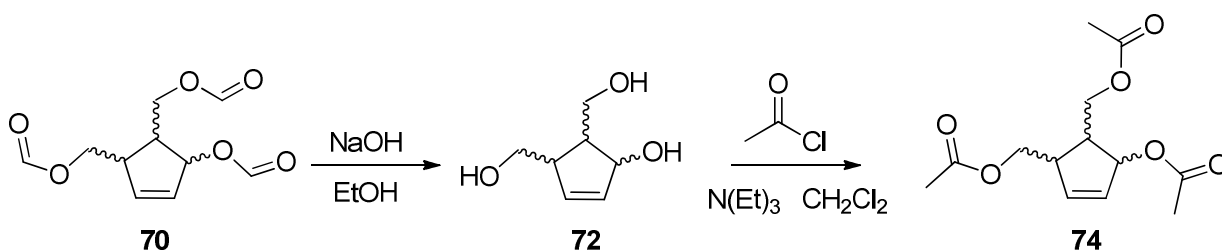
Esquema 22 - Esquema reaccional de hidrólise do novo produto de Prins **70**

O triol **72** reagiu com o cloreto de 4-nitro-benzoílo - **Esquema 23** - para dar a espécie **73**, que foi purificada por placa cromatográfica, contudo a análise por ^1H RMN e ^{13}C RMN demonstrou degradação do produto **73**, dado que não existiam sinais olefínicos.



Esquema 23 - Esquema reaccional de derivatização do triol **72**

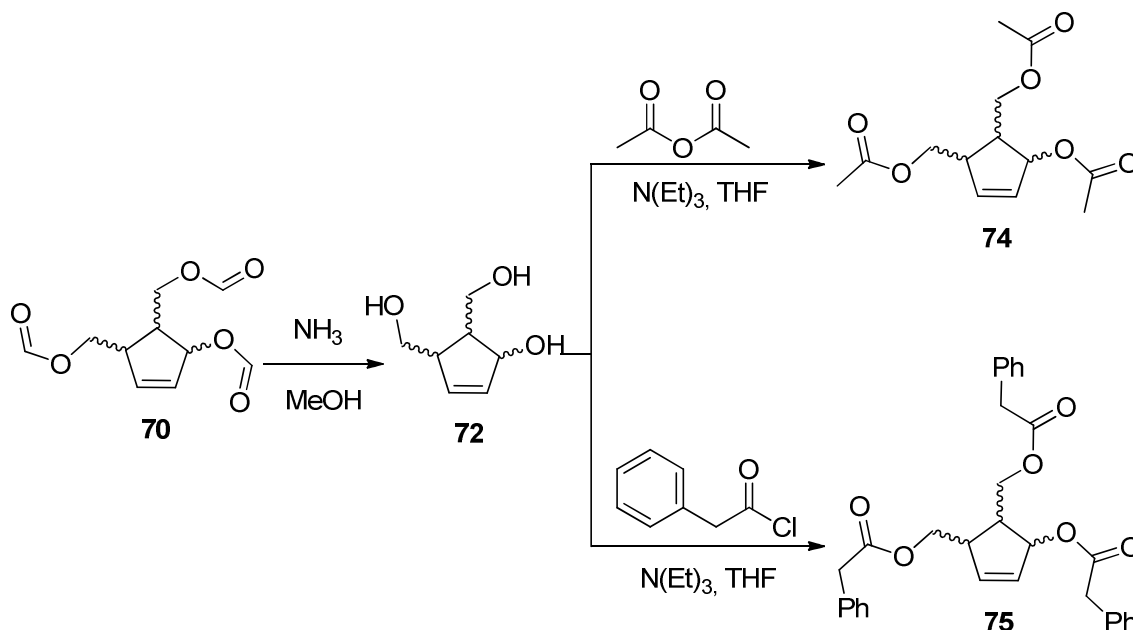
A reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3 foi repetida e procedeu-se à hidrólise do triéster **70** com NaOH , obtendo-se o triol **72**, que posteriormente reagiu com o cloreto de acetilo para originar o produto **74** - **Esquema 24**, cuja análise por CCF mostrou a formação de produto de forma pouco limpa, pelo que não se prosseguiu com o seu isolamento.



Esquema 24 - Esquema reaccional de derivatização do novo produto de Prins **70**

Uma amostra da repetição da reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3 foi desprotegida via aminólise do triéster **70** com NH_3 , obtendo-se o triol **72**. A amostra deste triol foi dividida em duas fracções, de forma a obter dois produtos de derivatização distintos -

Esquema 25 - **74** por acetilação com o anidrido acético e **75** por reacção com o cloreto de fenilacetilo.



Esquema 25 - Esquema reaccional da aminólise do produto Prins **70** e derivados **74** e **75**

A purificação por cromatografia em coluna do produto **74** demonstrou uma mistura de compostos estruturalmente semelhantes cuja identificação foi difícil de concretizar.

Por sua vez, na purificação por placa cromatográfica do derivado **75** isolaram-se 4 fracções, tendo sido possível identificar a existência do ataque do MeOH (resíduos da aminólise) ao cloreto de ácido e uma fracção com picos característicos do produto mas cujo isolamento posterior por uma segunda placa cromatográfica demonstrou degradação do produto, visto que os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN não apresentavam prótons olefínicos.

As técnicas de isolamento mais frequentes em química orgânica - destilação e cromatografia - demonstraram ser ineficientes para o isolamento dos derivados **73**, **74** e **75**.

2.2.4. Tentativa de optimização adicional da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

Procedeu-se ao estudo da fonte de ácido prótico, testando-se o efeito do ácido acético em substituição do ácido fórmico. Para além disso, utilizou-se formaldeído aquoso 37% como fonte de formaldeído. Procedeu-se ainda ao estudo da reacção na ausência de ácido de Brönsted com formaldeído aquoso 37% (formol) para verificar se a reacção

ocorria em água, apenas via catálise mediada pelo ácido de Lewis. Estes testes - **Tabela 2** - demonstraram resultados negativos, contudo foram elucidativos para a compreensão mecanística da reacção.

Tabela 2 - *Screening* de fonte ácida e de formaldeído na reacção de Prins catalisada por LaCl_3

Entrada	Ácido de Brönsted	Formaldeído	Observações
1	Ácido fórmico	Formaldeído aquoso 37%	Solução acastanhada
2	Ácido acético	Formaldeído aquoso 37%	Solução creme
3	Ácido acético	Para-formaldeído	Solução castanho escuro
4	-	Formaldeído aquoso 37%	Solução Incolor

A análise por cromatografia em camada fina (CCF) das reacções **1-3** demonstrou a formação de produtos Prins, ao contrário da reacção **4** cuja análise por CCF não demonstrou a formação de qualquer tipo de produto. Após *work-up* verificou-se que a reacção **3** apresentava um rendimento substancialmente inferior pelo que apenas as reacções **1** e **2** foram isoladas por cromatografia em placa. A análise por ^1H RMN e ^{13}C RMN indica elevada contaminação de polímero que torna difícil as respectivas identificações estruturais. Desta forma, as condições reaccionais **1** e **2** não demonstram ser uma mais-valia para a selectividade da reacção nem facilidade de isolamento dos novos produtos Prins.

2.2.5. Isolamento dos novos produtos Prins com recurso da nanofiltração.

Atendendo ao insucesso no isolamento dos compostos **73**, **74** e **75**, utilizou-se a nanofiltração como técnica de recurso para a purificação dos novos produtos Prins.

O acetato de etilo foi o solvente escolhido para esta técnica atendendo a que este preenche os requisitos necessários de solubilização dos compostos e estabilidade face às membranas utilizadas.

As principais impurezas que dificultam o isolamento dos produtos da reacção de Prins são os polímeros das várias espécies presentes - ciclopentadieno e formaldeído - que podem polimerizar de formas distintas entre monómeros das várias espécies (diciclopentadieno, polímero resultante da ciclo-adição [2+2] de monómeros ciclopentadieno; para-formaldeído ou trioxano) ou ainda formar polímeros mistos. Assim sendo, consoante a cinética das diversas reacções de polimerização, existirão polímeros de natureza distinta e de tamanho de cadeia variado, consoante a razão das constantes cinéticas de iniciação e de propagação. Desta forma, torna-se evidente que algumas espécies poliméricas formadas terão comportamentos de adsorção/desorção com a Sílica semelhantes aos dos produtos Prins (os *standard* e os novos), o que justifica a ineficiência da cromatografia enquanto técnica de isolamento. Por seu turno,

a nanofiltração baseia-se na diferença de peso molecular dos compostos a separar. Atendendo à probabilidade de existirem oligómeros com massa molar e comportamento similar aos dos produtos Prins, a escolha do tamanho da membrana a adoptar não foi imediata. Para além disso, a composição da membrana torna-se de extrema importância na definição do comportamento do poro membranar.

O produto **70** (C₁₀H₁₂O₆) apresenta uma massa molar de 228,20 g/mol, pelo que se escolheram 3 membranas de diferentes MWCO para um teste preliminar: 300, 220 e 200 Dalton.

O procedimento foi análogo nos três ensaios e todos demonstraram um maior enriquecimento dos produtos Prins no permeado, embora a análise de ¹H RMN e ¹³C RMN continuasse a indicar a presença de polímero, pelo que se tornou evidente a necessidade de recorrer à cromatografia como técnica de purificação complementar.

Assim sendo, foram realizadas quatro placas cromatográficas: 1) *crude* da reacção de Prins, 2) permeado após nanofiltração com a membrana 300 Da, 3) permeado após nanofiltração com a membrana 220 Da e 4) permeado após nanofiltração com a membrana 200 Da.

Após isolamento procedeu-se à análise comparativa destas quatro amostras por ¹H RMN e ¹³C RMN, que sugere um maior grau de pureza das amostras que sofreram nanofiltração em relação ao *crude* da reacção. De entre estas, a purificação via membrana 300 Da pareceu ser a amostra em maior grau de pureza, não só em relação às outras amostras que sofreram nanofiltração, como também ao *crude*.

Desta forma, utilizou-se a abordagem nanofiltração com membrana 300 Da seguida de placa cromatográfica como forma de purificação dos novos produtos Prins.

No seguimento desta nova abordagem, realizou-se uma sessão de nanofiltração com perfil de *scale-up*, numa célula de maior volume e fizeram-se sucessivas recolhas de permeados que, após análise de ¹H RMN e ¹³C RMN foram alvo de selecção em função do seu grau de pureza.

A amostra correspondente aos 5 permeados seleccionados nesta etapa foi alvo de cromatografia em 23 placas cromatográficas, tendo-se obtido os produtos em maior grau de pureza com rendimentos² de nanofiltração de 88,7% e de cromatografia de 10,7%. A análise por ¹H RMN e ¹³C RMN (**Figura 25**) demonstra a existência dos dois produtos estruturalmente semelhantes, com integrações similares, contudo a sua identificação completa ainda não foi possível.

² Os valores apresentados não correspondem a rendimentos face ao reagente limitante da reacção, mas sim rendimentos mássicos das operações de isolamento utilizadas.

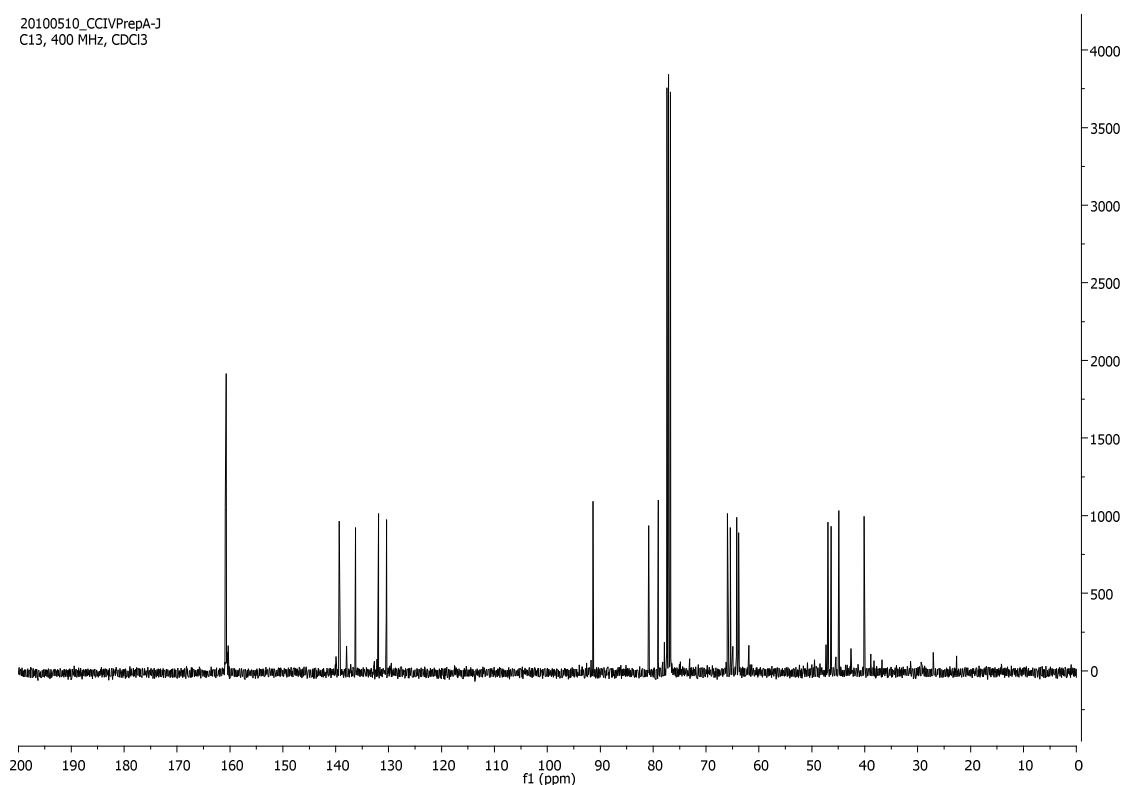


Figura 25 - Espectro ¹³C RMN dos produtos Prins obtido após nanofiltração e cromatografia

Uma fracção desta amostra obtida foi submetida a uma nova placa cromatográfica, obtendo-se uma amostra rica nos 2 produtos em proporção distinta, cerca de 77:23 dos produtos **70:71a** ou **71b** ($\eta=65\%$). Esta análise é apenas possível fazer pelo espectro de ¹³C RMN (**Figura 26**), sendo que o espectro ¹H RMN ainda não permite uma correcta atribuição de sinais. O DEPT 135 - **Figura 27** - confirma a existência do composto **71a** ou **71b** através da identificação do CH₂ α aos 2 átomos de oxigénio destas estruturas. As correlações de COSY (homonuclear de protão) e HMQC deveriam ser úteis no esclarecimento dos isómeros **71a** ou **71b**, contudo estas análises não se verificaram elucidativas.

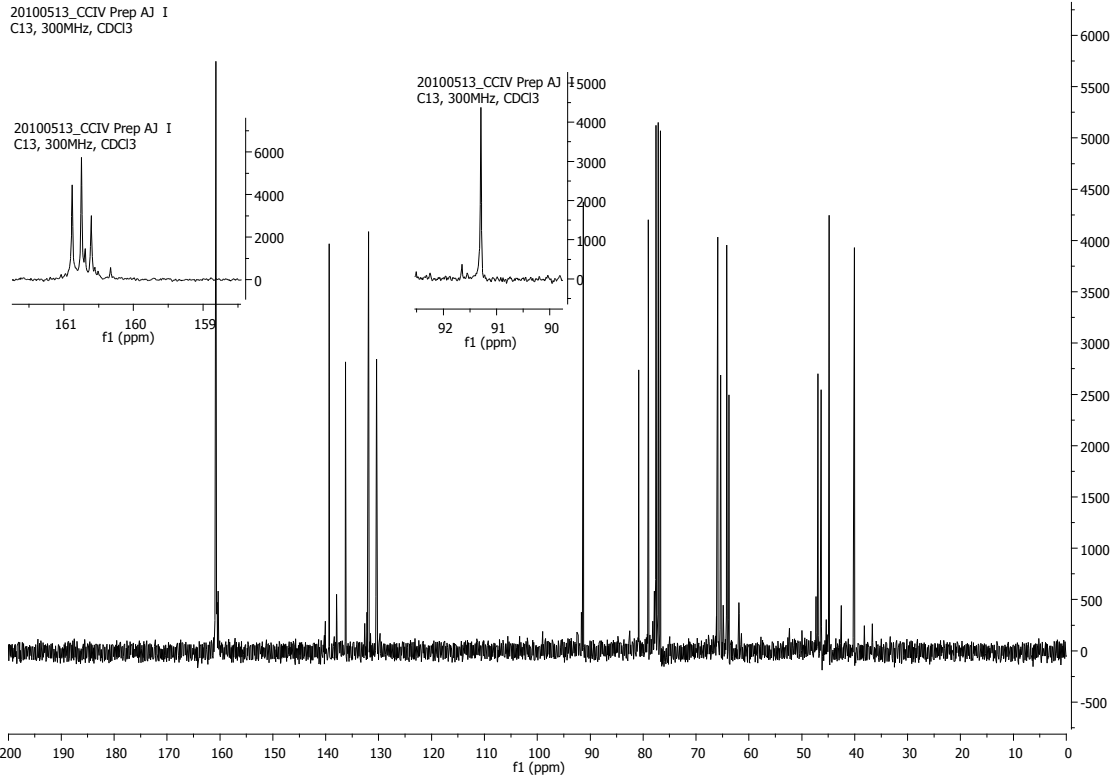


Figura 26 - Espectro ^{13}C RMN dos produtos Prins obtido após nanofiltração e duas sessões de cromatografia

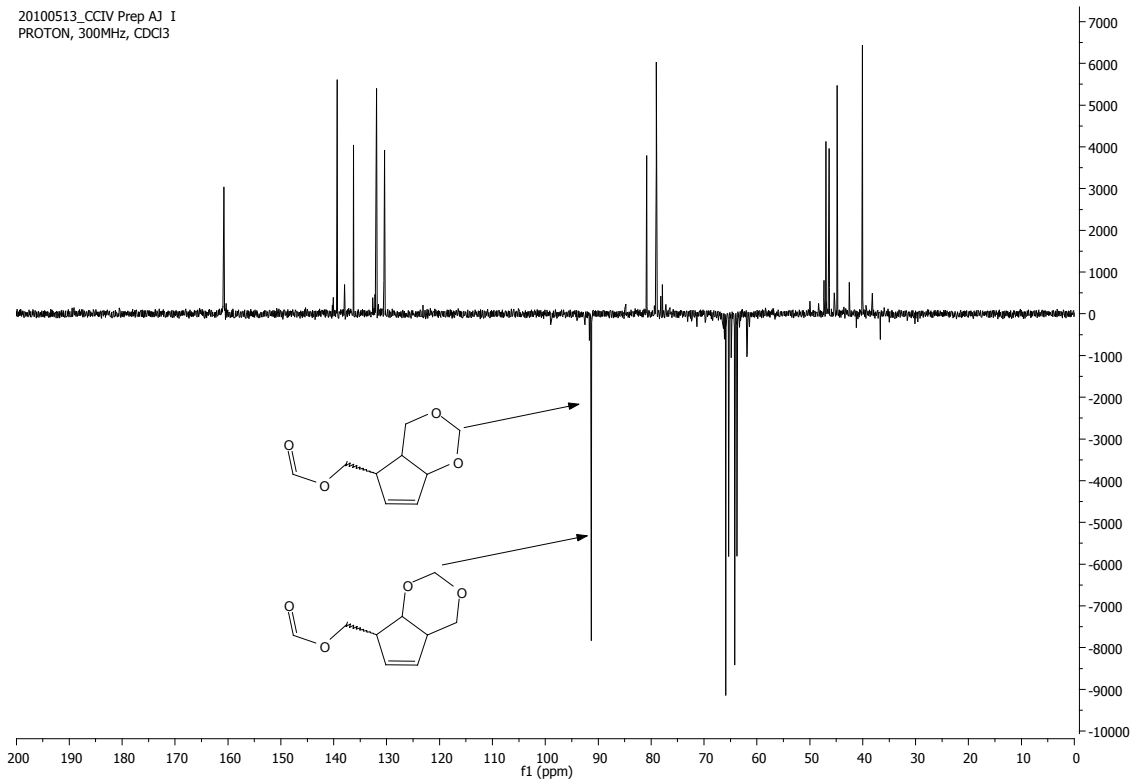


Figura 27 - Espectro DEPT 135 dos produtos Prins obtido após nanofiltração e duas sessões de cromatografia

2.2.6. Considerações Mecanísticas

O mecanismo reaccional da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o formaldeído em ácido fórmico encontra-se representado na **Figura 28**. Em meio ácido, o ciclopentadieno reage com o formaldeído activado **76** (ião oxónio) gerando o catião intermediário **77**, espécie estabilizada por ressonância que será responsável pela variedade de produtos formados. Esta espécie pode reagir com a água, originando os produtos **78** e **79** ou então a água pode actuar como base e eliminar um protão, dando origem às espécies **80** e **81**. Em condições de elevada concentração de formaldeído, o intermediário **77** pode reagir com o formaldeído, seguido de uma reacção *6-endo-trig* (favorável de acordo com as regras de Baldwin²⁷), produzindo o dioxano **82**. Os produtos **78-80** encontram-se na forma de formatos pois o ácido fórmico encontra-se em estequiometria elevada, sendo utilizado como solvente, levando à formação destes produtos.

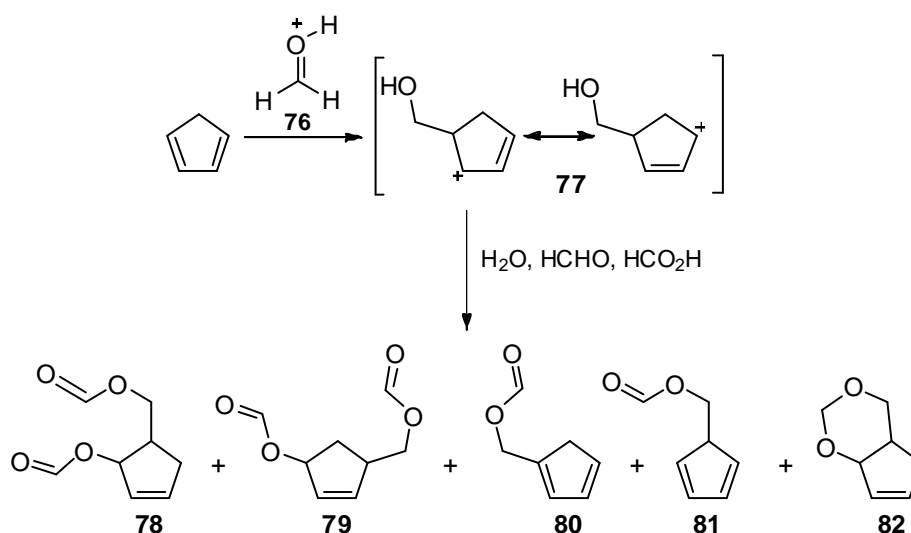


Figura 28 - Esquema mecanístico da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

Atendendo à presença do polímero de para-formaldeído em meio fortemente ácido, o tratamento experimental efectuado para produzir a espécie monomérica estará sempre em equilíbrio com a formação de oligómeros com diferentes tamanhos de cadeia **83**, que constituem produtos secundários da reacção. Para além disso, o formaldeído pode formar um oligómero cíclico com três monómeros formando o trioxano **84** - **Figura 29**.

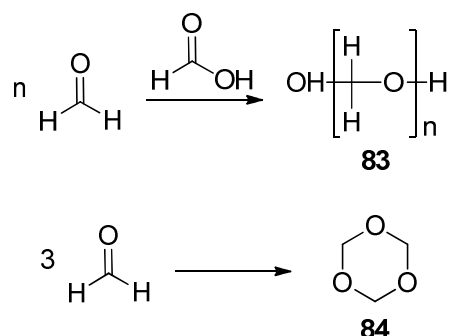


Figura 29 - Esquema reaccional de formação de oligómeros de para-formaldeído

O ciclopentadieno pode reagir com outra molécula e, via reacção Diels-Alder, originar o produto **85** - **Figura 30**. Por outro lado, atendendo à natureza das orbitais fronteira do ciclopentadieno, esta espécie pode ser alvo de sucessivas ciclo-adições [2+2], conduzindo à formação do polímero **86** - **Figura 30**. A formação desta espécie é promovida pela luz, e não termicamente, ocorrendo uma interacção suprafacial-suprafacial entre a orbital HOMO* de um monómero com a LUMO de outro.

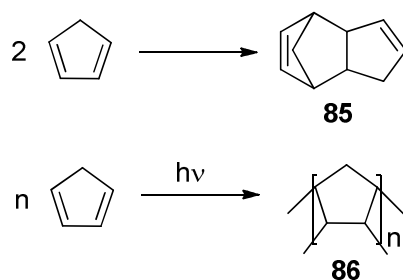


Figura 30 - Esquema reaccional de formação de produtos secundários de ciclopentadieno

O papel do ácido de Lewis em reacções que utilizem para-formaldeído deverá ser, não só de catalisador na reacção de Prins, como também na formação do formaldeído monomérico. Na **Figura 31** encontra-se esquematizada uma proposta de mecanismo para a formação do novo produto Prins **70** e **71a** ou **71b**, a partir do carbocátion **77**. Neste mecanismo, propõe-se que o produto **70** derive de duas adições de Prins consecutivas, seguida de hidrólise e eliminação do segundo grupo formato introduzido. O intermediário que explica a formação dos 2 produtos distintos é a espécie **90**, cuja adição de uma unidade de formaldeído, seguida de eliminação de água e incorporação do grupo formato no grupo hidroxilo livre originará um dos isómeros **71a** ou **71b**. Assim sendo, o intermediário **90** será a espécie responsável pela formação dos 2 produtos desta reacção de Prins catalisada por LaCl_3 .

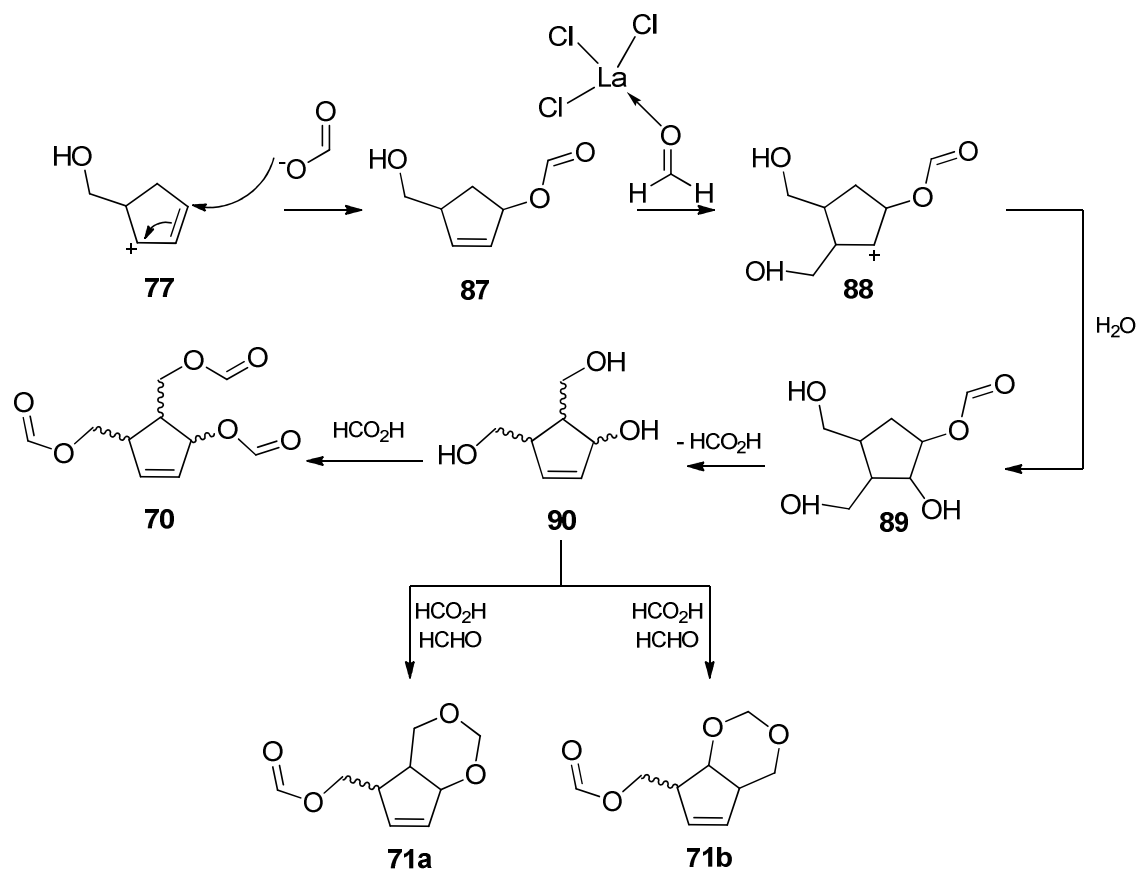


Figura 31 - Proposta mecânica para a formação dos novos produtos Prins **70**, **71a** e **71b**

2.3. Conclusões

A **reação de Prins** constitui uma metodologia vantajosa da condensação de aldeídos a olefinas. O sistema olefínico e o aldeído utilizados neste trabalho - ciclopentadieno e para-formaldeído - são reagentes de custo reduzido e de fácil acesso.

A reação de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído apresenta uma cinética fortemente influenciada por diversos factores. Neste trabalho testou-se, pela primeira vez, a influência da presença de diversos catalisadores no decurso da reação, de onde se seleccionou o **LaCl₃** como ácido de Lewis que proporciona a formação de **novos produtos Prins**. O facto de esta reação não ocorrer na ausência de um ácido de Brønsted pode indicar um mecanismo cooperativo entre o ácido fórmico e o LaCl₃. Mecanicamente é necessária não só a activação do para-formaldeído para a formação de monómeros desta espécie, como também a activação do formaldeído gerado com vista à formação do ião oxónio. As condições reaccionais como o tipo de ácido - Brønsted *vs* Lewis - e a fonte do formaldeído demonstraram ser determinantes no desenvolvimento desta reação.

O núcleo deste trabalho foi a identificação dos produtos obtidos pela reação de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico catalisada pelo LaCl₃. Os métodos tradicionais de destilação e cromatografia demonstraram-se insuficientes para obter uma correcta identificação estrutural. Numa segunda abordagem, a derivatização dos produtos também se mostrou insuficiente para o isolamento dos novos produtos Prins. Desta forma, as técnicas tradicionais de isolamento em química orgânica mostraram ser, quando utilizadas sozinhas, insuficientes para a purificação dos novos produtos Prins. Contudo, a combinação da nanofiltração seguida de cromatografia permitiu obter os compostos em grau de pureza satisfatório. A nanofiltração, por si só, não constitui uma via de isolamento dos produtos, mas permite um enriquecimento da amostra nos produtos, sem o qual a purificação não seria possível. Embora não auto-suficiente, esta técnica moderna aparece como um recurso eficiente, não só a nível de pureza como também de rendimentos e de recursos requeridos, sendo uma metodologia dentro dos parâmetros ambientais exigidos actualmente.

Assim sendo, o *crude* resultante desta reação de Prins catalisada pelo LaCl₃ foi alvo de nanofiltração seguido de cromatografia em placa. Um dos produtos desta reação de Prins modificada **70** foi identificado por ¹H RMN, ¹³C RMN e MS. Quanto ao segundo produto, existem duas estruturas plausíveis, não tendo sido possível a sua elucidação estrutural face aos isómeros **71a** e **71b**.

Neste trabalho foi postulado um mecanismo de formação destes produtos Prins, tendo-se proposto a espécie **90** como o intermediário responsável pela formação dos dois produtos Prins. Este intermediário pode ser originado de duas adições de Prins consecutivas, seguida de hidrólise e eliminação do segundo grupo formato introduzido.

De futuro será necessário obter uma confirmação das estruturas propostas, que poderá ser feita através da separação dos novos produtos Prins por HPLC preparativo seguido, de análise por ^1H RMN ^{13}C RMN e HPLC-MS de cada produto.

Relativamente à reacção existem aspectos que merecem ser optimizados, nomeadamente a optimização do processo de *work-up*, visto que é um processo limitante no rendimento da reacção atendendo à formação de uma *sludge* preta que dificulta a extracção do produto para a fase orgânica.

O outro grande passo limitante desta reacção é a formação de material polimérico. As diferentes espécies em reacção podem produzir oligómeros de diferentes tamanhos que se tornam indissociáveis dos produtos obtidos. Enquanto existir formaldeído em meio fortemente ácido não será possível obter uma espécie de formaldeído activada sem ter, simultaneamente, oligómeros de formaldeído. Assim sendo, torna-se de extrema importância a optimização do processo de activação do para-formaldeído em monómero, por exemplo com recurso à activação por microondas. Alternativamente pode-se apostar na utilização de formaldeído gasoso como fonte deste aldeído.

Os produtos obtidos na reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3 apresentam centros quirais, pelo que a aposta na catálise assimétrica utilizando um catalisador de La com ligandos quirais será de extrema utilidade para a obtenção de uma síntese enantioselectiva.

Estas unidades carbocíclicas são bastante úteis sob o ponto de vista sintético atendendo à possibilidade de serem acopladas com bases de ADN, constituindo nucleósidos carbocíclicos - moléculas com potencial actividade biológica.

3. Capítulo II - Desenvolvimento de Novos Complexos de Rh(II) com potencial actividade anticancerígena

3.1. Introdução

3.1.1. Objectivos

O grande objectivo deste trabalho foi o de efectuar um estudo de rastreio de preparação de diversos complexos de Rh(II) com diferentes aminoácidos pela troca de ligandos do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ em água, que serão utilizados posteriormente em estudos de actividade anti-cancerígena em diversas linhas celulares.

3.1.2. Complexos de di-ródio(II)

O ródio é dos metais de transição mais utilizado em catálise e, dentro desta classe, é o de maior valor económico. A sua emergente utilização decorre da eficiência das suas aplicações químicas, não só em catálise como também a nível de actividade biológica, cujos resultados superam a desvantagem económica em relação aos outros metais de transição.

O reconhecimento de uma ligação múltipla na espécie $[\text{Re}_2\text{Cl}_8]_2$ por F. A. Cotton em 1960 constituiu um marco no desenvolvimento da química inorgânica dos metais de transição²⁸. Esta descoberta abriu as portas à química de ligações múltiplas entre centros metálicos.

A existência de ligações entre dois centros metálicos constitui uma secção da química de metais de transição que merece especial atenção²⁸, ocorrendo em elementos do grupo V (compostos de di-vanádio, di-niobio e di-tântalo), do grupo VI (compostos de di-crómio, di-molibdénio e di-tungsténio e também dímeros de molibdénio-tungsténio), do grupo VII (compostos de di-tecnécio e de di-rénio), do grupo VIII (compostos de di-ferro, di-ruténio e de di-ósmio), do grupo IX (compostos de di-cobalto, di-irídio e de **di-ródio**), assim como em compostos do grupo X (di-níquel, di-paládio e di-platina). O presente trabalho centra-se no estudo de espécies diméricas de ródio(II).

Os complexos bimetálicos de di-ródio(II) possuem uma ligação simples Rh-Rh característica, quatro ligandos equatoriais em ponte e dois ligandos axiais. A geometria adoptada pela esfera de coordenação de cada catião de ródio é octaédrica, que confere a estrutura tipo lanterna característica desta classe de compostos²⁸.

De entre estes complexos, os com ligandos equatoriais carboxílicos do tipo $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4\text{L}_2$ - **Figura 32** - compreendem a maior classe de compostos $\text{Rh}_2(\text{II})$ devido

à variedade de grupos R e também de ligandos L que podem coordenar as posições axiais²⁸.

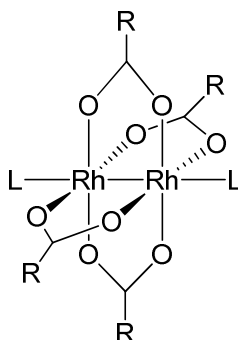


Figura 32 - Estrutura tipo de complexos de di-ródio com quatro ligandos carboxílicos RCO₂ nas posições equatoriais e com dois ligandos L nas posições axiais²⁸

Normalmente, as duas posições axiais são ocupadas por ligandos lábeis, como moléculas de solvente ou grupos funcionais coordenantes dos ligandos em posição equatorial. Quando comparadas com as ligações em ponte, as ligações axiais são mais fracas dado o carácter lábil dos ligandos, que são facilmente substituídos pelos substratos ou por outras moléculas de solvente aquando de reacções de catálise. Contudo, se os ligandos das posições axiais se coordenarem fortemente ao centro metálico, dificilmente permitirão a coordenação dos substratos de catálise, inibindo o decurso das reacções de catálise. Geralmente, as reacções de coordenação de ligandos em posição axial são simples, através da mistura do complexo com o ligando pretendido em solução, podendo requerer, ou não, aquecimento²⁸.

A estabilidade térmica destes compostos depende da estrutura química, sendo que a maioria se decompõe a temperaturas superiores a 200°C, com contaminação de ródio metálico²⁸.

Os complexos tetra-carboxílicos de di-ródio(II) são, por norma, estáveis ao ar e têm elevada facilidade em formar aductos com ligandos doadores electrónicos que coordenem as posições axiais²⁸.

A energia da LUMO (σ^*) de compostos do tipo Rh₂(O₂CR)₄L₂ é fortemente determinada pela energia de ligação dos ligandos RCO₂ axiais, pelo que é possível estabelecer uma correlação entre a cor destes complexos e os átomos doadores destes ligandos: ligandos doadores pelo O originam complexos azuis ou verdes, ligandos doadores pelo N originam complexos vermelhos ou violeta e ligandos doadores pelo S ou P originam complexos de cor *bordeaux* ou laranja²⁸.

3.1.3. Métodos de síntese dos complexos de di-ródio(II)

De uma forma geral, os compostos de di-ródio são classificados de acordo com os ligandos que coordenam as posições equatoriais²⁸. Geralmente estes ligandos são mononegativos, com possibilidade geométrica de se dobrarem para efectuar a coordenação em ponte. A **Figura 33** esquematiza as famílias de ligandos equatoriais mais comuns, nomeadamente aniões trinucleares **91.1** com distâncias X-Z semelhantes à distância Rh-Rh, ligandos carboxílicos **91.2** e tiocarboxílicos **91.3**, ligandos coordenantes pelos átomos (N,O) **91.4** (6-X-oxopiridinato), **91.5** (carboxamidato) e **91.6**, ligandos coordenantes (N,N) **91.7** (amidinato), **91.8** (triazenidas), **91.9** (pirazolatos), **91.10** (anilopiridinato) e também ligandos coordenantes pelos átomos (S,N), (S,O) e (S,S), grupos fosfina, assim como ligandos dianiónicos, embora menos frequentes²⁸. De uma forma geral, as reacções de permuta de ligandos são efectuadas com ligandos bidentados.

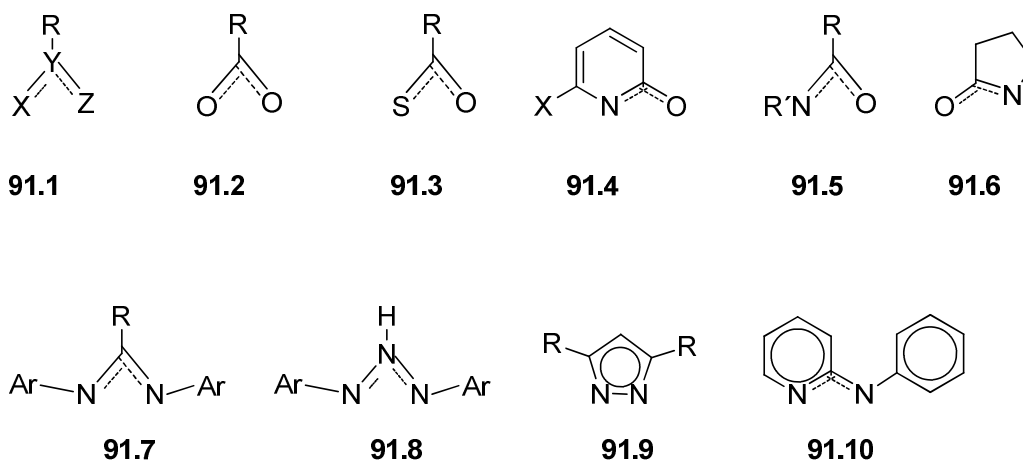


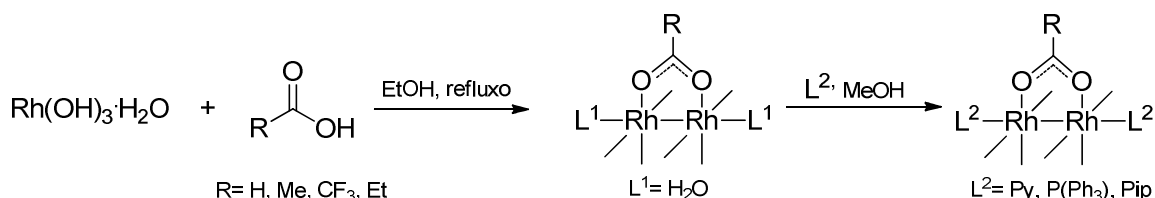
Figura 33 - Exemplos de ligandos equatoriais típicos de complexos de di-ródio(II)²⁸

Tipicamente, os complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos podem ser obtidos através da redução de compostos de Rh(III) em álcoois. Embora o mecanismo da reacção não seja conhecido, prevê-se que o solvente (álcool) actue como agente redutor²⁸.

Os compostos do tipo $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4\text{L}_n$, $n=1,2$ foram primeiramente sintetizados através do refluxo de sais de $[\text{RhCl}_6]^{3-}$ numa solução aquosa de ácido fórmico, obtendo-se o produto $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CH})_4(\text{H}_2\text{O})_n$ de cor verde-escuro.

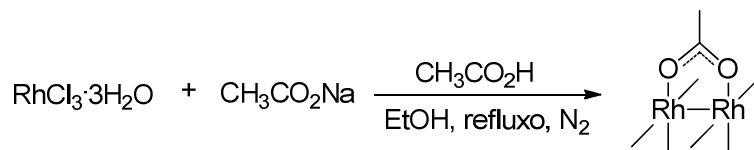
Outro método preparativo desta classe de compostos baseia-se no refluxo de $\text{Rh}(\text{OH})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ com o respectivo ácido carbocíclico. Contudo este método origina a formação de quantidades consideráveis de ródio metálico, originando o complexo pretendido em baixos rendimentos.

Em 1965, Stephenson *et al.* sintetizaram diversos complexos de di-ródio com ligandos carboxílicos utilizando esta metodologia²⁸. Posteriormente fizeram reagir esses complexos com ligandos doadores electrónicos, nomeadamente piridina (Py), trifenilfosfina (P(Ph₃)) e piperidina (Pip), que substituíram as duas moléculas de água nas posições axiais do dímero - **Esquema 26**.



Esquema 26 - Síntese de complexos do tipo $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4\text{L}_2$

O método sintético²⁸ mais eficiente para a síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ - **Esquema 27** - envolve o refluxo de $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ numa mistura de acetato de sódio, ácido acético e etanol, sob atmosfera de N_2 .

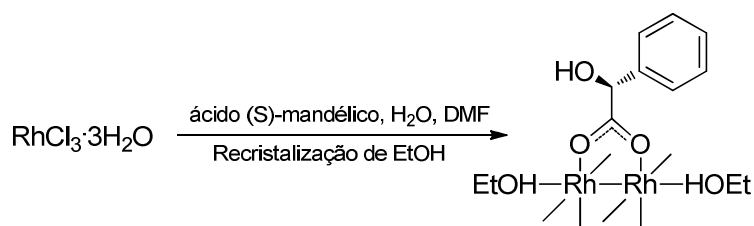


Esquema 27 - Síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$

Após cerca de uma hora de refluxo verifica-se a mudança da solução do vermelho característico do Rh(III) para verde escuro, ocorrendo a precipitação do produto $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ como um sólido verde²⁸. Este complexo é o precursor mais frequente para a maioria das estratégias que envolvem a troca de ligandos equatoriais. O prolongamento do refluxo provoca a decomposição a ródio metálico, mas com condições experimentais optimizadas pode-se obter a maioria destes compostos com rendimentos apreciáveis 80-95%.

Por sua vez, os compostos de Rh(II) com ligandos halocarboxílicos²⁸ - $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4\text{L}_n$, $\text{R} = \text{CF}_3, \text{CCl}_3, \text{CHCl}_2$ - e com ligandos aciltioureas²⁹ são preparados de forma semelhante, contudo em menores rendimentos.

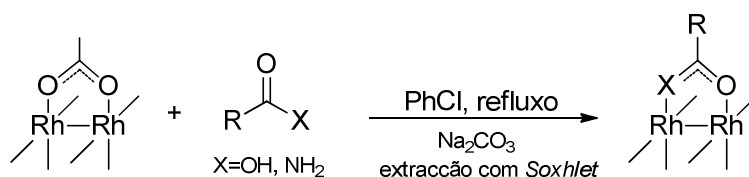
Em 1986, o grupo de Cotton³⁰ procedeu à síntese de dois complexos de di-ródio(II) quirais utilizando uma variante desta metodologia. Os autores sintetizaram o complexo $\text{Rh}_2(\text{S-mandelato})_4(\text{EtOH})_2$ em água, utilizando dimetilformamida como agente redutor - **Esquema 28**. Por sua vez, o complexo $\text{Rh}_2(\text{R-}\alpha\text{-metoxi-}\alpha\text{-fenilacetato})_4(\text{THF})_2$ foi sintetizado numa mistura de água/etanol, na qual o álcool assume, provavelmente, o papel de redutor.



Esquema 28 - Síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{S-mandelato})_4(\text{EtOH})_2$

Um método alternativo de síntese de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ com rendimentos comparáveis é a redução de RhCl_3 pela dimetilformamida na presença de acetato de dimetilamónio²⁸.

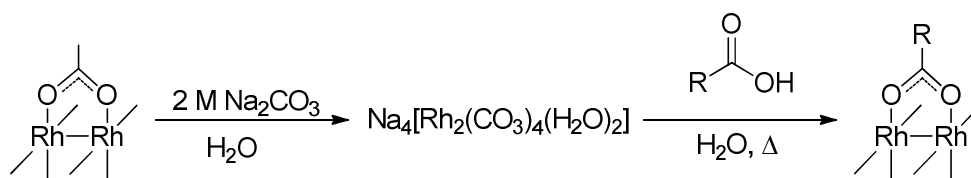
A troca de ligandos acetato por outros ligandos carboxílicos ou carboxamidados pode ser realizada através do refluxo do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ em clorobenzeno com os respectivos ácidos carbocíclicos ou amidas - **Esquema 29**³¹. Usualmente, para tornar a reacção mais eficiente e rentável utiliza-se uma extracção de *Soxhlet* com carbonato de sódio para aprisionar o ácido acético libertado aquando da permuta de ligandos.



Esquema 29 - Síntese de complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos ou carboxamidados

Neste método utiliza-se tipicamente o precursor do ligando em excesso estequiométrico, sendo usual atingir a tetra-substituição de forma completa e ter as posições axiais ocupadas pelos mesmos ligandos. O procedimento de recristalização permitirá a substituição destes ligandos axiais por moléculas de solvente que, por sua vez, poderão ser removidas através do aquecimento suave do complexo em vácuo³².

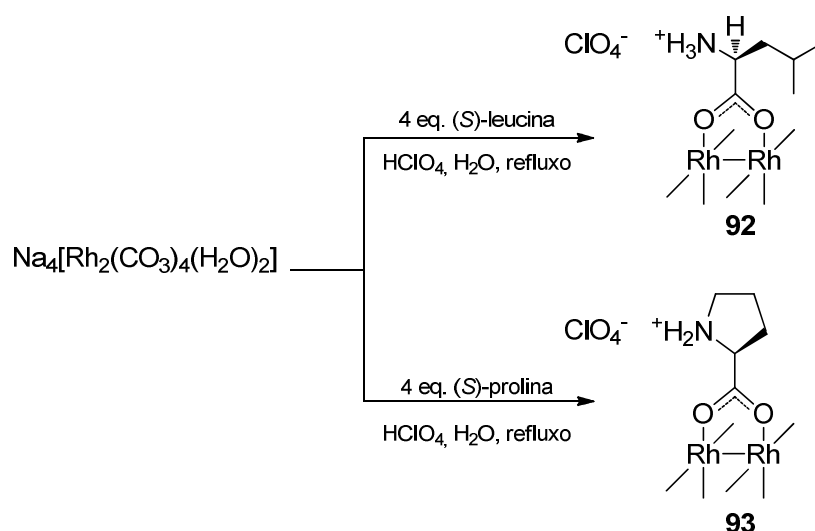
De forma alternativa, a partir de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ pode-se preparar o sal tetra-carbonato de di-ródio de sódio^{33,34,35} que, na presença de um ácido carboxílico ou aminoácido protegido (no grupo amina) em água origina o complexo carboxílico $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4$ (**Esquema 30**). Este método sintético origina os complexos em rendimentos que variam entre os 50 e os 90%²⁸.



Esquema 30 - Síntese de complexos de di-ródio com ligandos carboxílicos $\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4$

Por sua vez, a síntese de complexos carboxílicos, com ligandos aminoácidos não protegidos requer a utilização do ácido HClO_4 , fornecendo o complexo pretendido $[\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CR})_4](\text{ClO}_4)_4$. Neste método, os aniões perclorato também permanecem coordenados nas posições axiais, sendo a sua substituição mais difícil do que a considerada no método de refluxo em clorobenzeno.

Este método foi utilizado por Pruchnik *et al.*³⁶ para a síntese de complexos contendo como ligandos axiais os aminoácidos (*S*)-leucina (leu) **92** $[\text{Rh}_2(\text{leu})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ e (*S*)-prolina (pro) **93** $[\text{Rh}_2(\text{pro})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ (**Esquema 31**).



Esquema 31 - Síntese de complexos **92** $[\text{Rh}_2(\text{leu})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ e **93** $[\text{Rh}_2(\text{pro})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$

Dada a variedade de isómeros possíveis de obter, o HPLC preparativo surge como um método eficiente para o isolamento de isómeros de di-ródio(II) formados aquando de reacções de permuta de ligandos.

De facto, em 1987 o grupo de Kadish e Bear³⁷ estudou a reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e a *N*-fenilacetamida durante 96 horas, observando a formação de diferentes produtos de substituição ao longo da reacção do tipo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_n(\text{HNOCR})_{4-n}$, sendo $\text{R}=\text{CH}_3$, CF_3 e $n=0-3$. Pelo ligando de permuta ser da classe carboxamidato, existem doze isómeros geométricos possíveis enquanto produtos de substituição desta reacção, dos quais os autores verificaram a formação de sete, que foram isolados por HPLC preparativo e

caracterizados por espectroscopia de massa, ^{13}C RMN e espectroscopia de absorção electrónica.

O grupo de Doyle também recorreu a esta técnica para analisar o decurso de reacções de permuta de ligandos em refluxo de clorobenzeno. Utilizando diferentes condições, os autores conseguiram isolar diversos produtos obtidos em grau de pureza e rendimentos satisfatórios^{38,39}. Em 2006, o mesmo grupo procedeu ao estudo do processo de permuta de ligandos na síntese do complexo $\text{Rh}_2(5S\text{-MEPY})_4$, com recurso às técnicas de *Inductively Coupled Plasma* (ICP) e espectroscopia de massa (MS) acopladas ao HPLC, tendo detectado a formação de doze espécies de Ródio intermediárias⁴⁰.

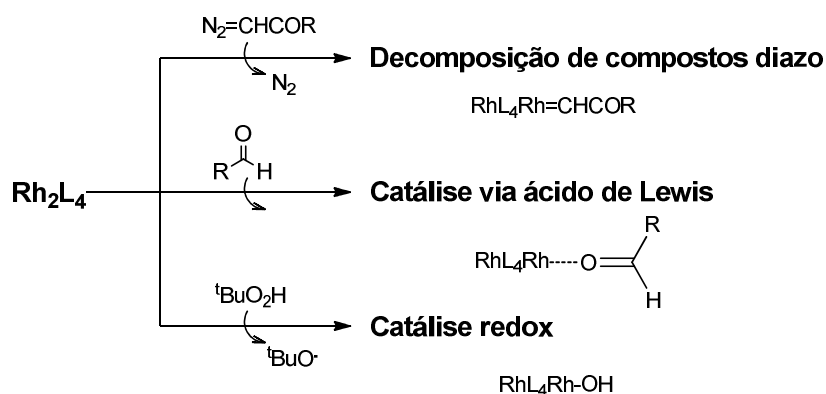
Quando os ligandos a introduzir são de carácter biológico, como derivados de aminoácidos ou péptidos, o isolamento dos compostos formados torna-se, muitas vezes, de difícil execução. Em 2008 SzilvÁgyi *et al.*⁴¹ sintetizaram complexos de di-ródio(II) com ligandos derivados de aminoácidos e, após isolamento via HPLC preparativo, caracterizaram as espécies obtidas por espectroscopia de dicroísmo circular. Por sua vez, em 2009, Ball *et al.*⁴² sintetizaram aductos de péptidos com $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2$ procedendo à análise da reacção e ao isolamento da espécie formada via HPLC preparativo.

3.1.4. Catálise mediada pelos complexos de di-ródio(II)

Em 2005, 85% da massa total de ródio produzida foi utilizada em aplicações catalíticas, sendo a maioria desta matéria-prima produzida na África do Sul. De entre os metais preciosos em catálise, o ródio é o menos abundante e o mais dispendioso, pelo que a sua utilização enquanto catalisador tem de ser mais vantajosa, aos níveis de *turnover number* (TON), cinética, rendimentos e selectividades obtidas (régio e estéreo), para que a sua utilização compense face à de outros metais utilizados em catálise, como a platina ou paládio³².

Os complexos de di-ródio(II) com ligandos tetra-carboxílicos e tetra-carboxamidatos constituem duas famílias importantes e têm sido aplicados em diversas reacções de catálise.

No **Esquema 32** encontram-se representadas as três grandes classes de reacções catalisadas pelos referidos complexos - reacções de decomposição de compostos diazo, catálise enquanto ácidos de Lewis e catálise redox³².



Esquema 32 - Classes de reacções catalisadas por complexos de Rh(II) com ligandos carboxílicos e carboxamidatos³²

De entre as reacções de decomposição de compostos diazo salientam-se reacções de inserção C-H^{43,44,45,46,47} ciclopropanação^{38,44,45,48} ciclopropanação^{44,49} e transformações de iletos.

De entre as reacções de catálise via ácido de Lewis, salienta-se a arilação de aldeídos⁵⁰ e reacções de ciclo-adição, nomeadamente Diels-Alder.

Enquanto catalisadores de oxidação-redução, devido ao seu baixo potencial de oxidação, estes complexos catalisam oxidações alílica, benzílica e de Mannich.

As características chave para a diversidade de aplicações destes complexos são a estrutura rígida do tipo lanterna, a facilidade de permuta de ligandos, a possibilidade de serem coordenados por bases de Lewis nas posições axiais e o referido baixo potencial de oxidação³².

Com vista à aplicação de complexos de Rh₂(II) em catálise assimétrica, existe uma enorme variedade de ligandos em ponte estudados por diversos grupos, destacando-se os grupos de **Doyle**, **Hashimoto** e **Davies**. Para além destes grupos principais, os grupos de **Corey**^{44,49} e **McKervey**⁵¹ também são fortes contributores na preparação de novos catalisadores. Como é evidente, a natureza dos ligandos está directamente relacionada com a actividade destes complexos enquanto catalisadores de cada reacção.

O grupo de **Doyle**³² sintetizou uma família de complexos quirais com ligandos carboxamidatos Rh₂(5*S*-MEPY)₄ **94**, Rh₂(4*S*-MEOX)₄ **95**, Rh₂(4*S*-MPPIM)₄ **96** e Rh₂(4*S*-MEAZ)₄ **97** (**Figura 34**).

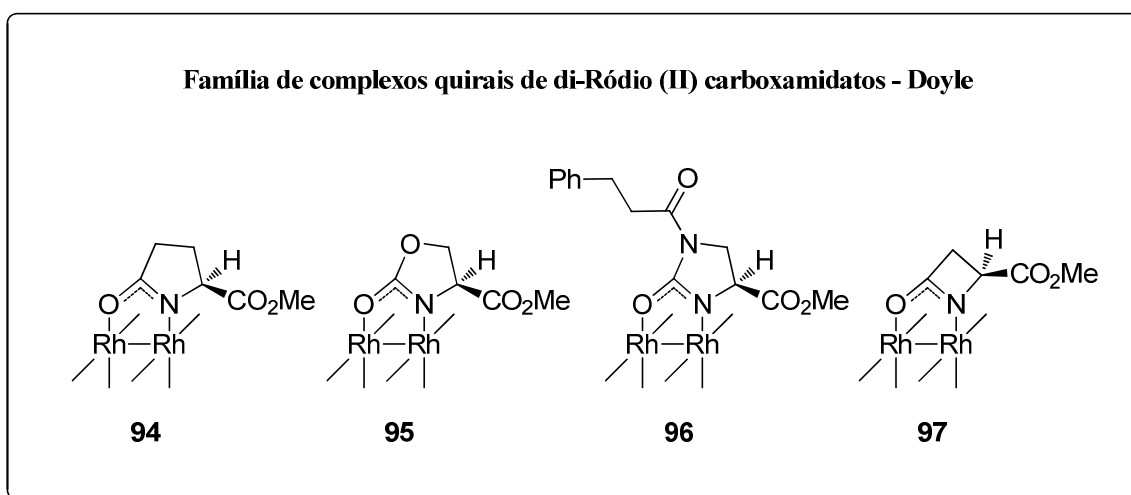


Figura 34 - Complexos quirais Rh₂(5*S*-MEPY)₄ **94**, Rh₂(4*S*-MEOX)₄ **95**, Rh₂(4*S*-MPPIM)₄ **96** e Rh₂(4*S*-MEAZ)₄ **97** do grupo de Doyle

O grupo de **Hashimoto** sintetizou os complexos Rh₂(*S*-PTA)₄ **98a**, Rh₂(*S*-PTPA)₄ **98b**, Rh₂(*S*-PTV)₄ **98c** e Rh₂(*S*-PTTL)₄ **98d**, Rh₂(*S*-BPTV)₄ **99a**, Rh₂(*S*-BPTTL)₄ **99b**, Rh₂(*S*⁻-TFPTTL)₄ **100a** e Rh₂(*S*⁻-TCPTTL)₄ **100b** - **Figura 35**. Os complexos de di-ródio(II) com estes ligandos carboxílicos quirais foram obtidos com bons rendimentos e aplicados em diversas reacções de catálise^{52,53}.

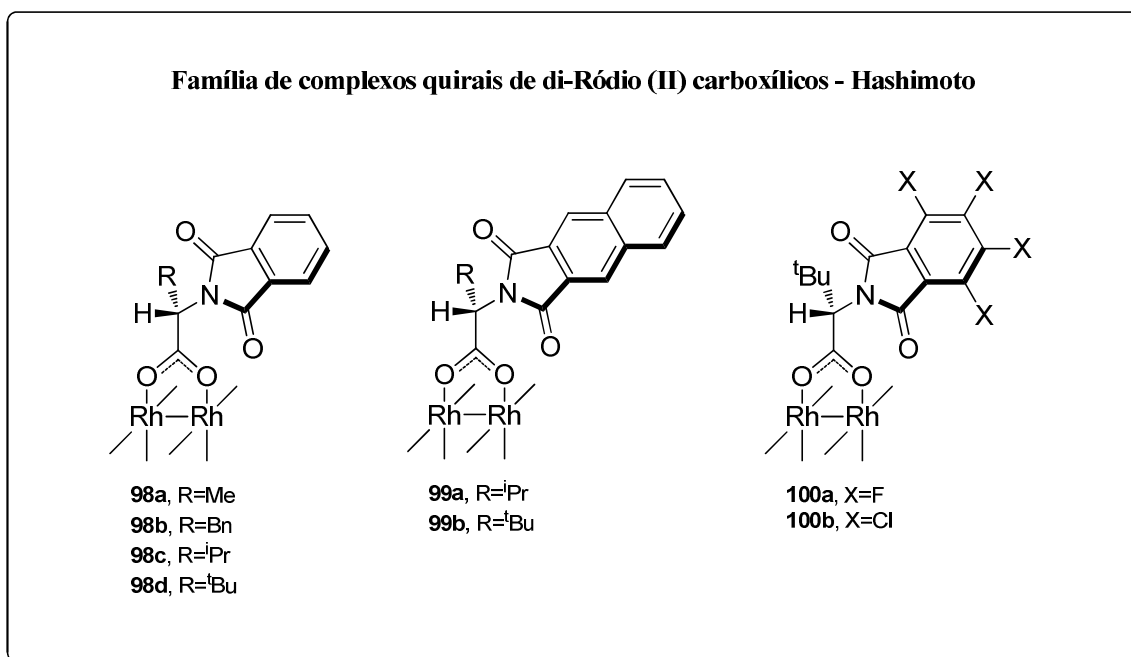


Figura 35 - Complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos quirais sintetizados pelo grupo de Hashimoto^{52,53}

O grupo de **Davies** sintetizou o complexo quiral com ligandos *N*-benzenosulfonamida derivado da (*S*)-prolina $\text{Rh}_2(\text{S-DOSP})_4$ **101** (**Figura 36**).

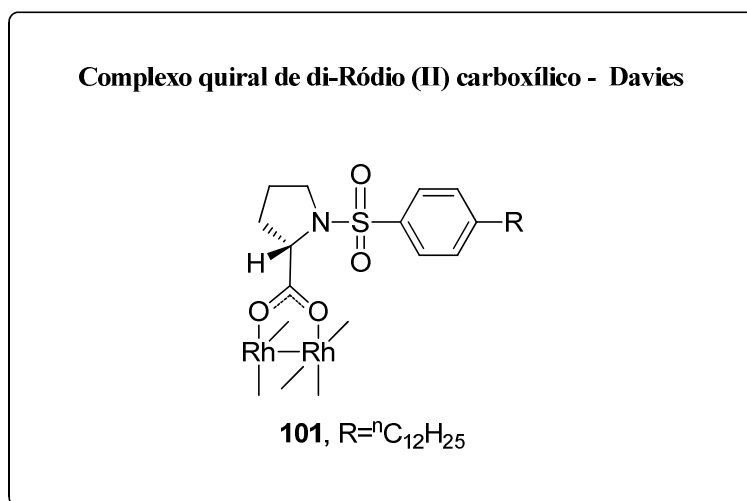


Figura 36 - Complexo quiral $\text{Rh}_2(\text{S-DOSP})_4$ **101** do grupo de Davies

Estes três grandes grupos de catalisadores de di-ródio(II) principais são sintetizados pelo método do refluxo em clorobenzeno - **Esquema 29**. As suas aplicações em catálise são vastas, havendo correlações estabelecidas entre famílias de catalisadores e eficiência em cada reacção de catálise referida.

3.1.5. Actividade anticancerígena dos complexos de di-ródio(II)

O interesse por fármacos contendo metais foi impulsionado pela descoberta da actividade da *cisplatina* na inibição de células de *Escherichia Coli* em 1960⁵⁴. Os testes biológicos e de toxicidade foram realizados durante a década de 70 e, em 1978, a entidade Food and Drug Administration (FDA) aprovou a utilização deste fármaco como agente anticancerígeno de cancros na bexiga, cervical, ovários e testículos. O mecanismo de acção da *cisplatina* ainda não é completamente conhecido, sabendo-se que o centro de Pt(II) forma interacções *cis* com as posições N7 das guaninas, proporcionando alterações conformacionais destas bases⁵⁵. A formação destas *cross-links*, que se formam em cada cadeia e entre as duas cadeias da hélice do ADN, promove a inibição da transcrição e da replicação do ADN, originando a interrupção da cadeia com a consequente morte celular⁵⁶.

Actualmente existem no mercado três fármacos que contêm a platina, a referida *cisplatina* **102**, a *carboplatina* **103** e a *oxaplatina* **104** - **Figura 37**.

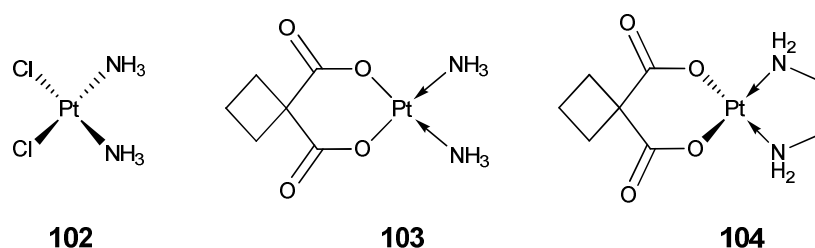


Figura 37 - Estrutura da *cisplatina* **102**, *carboplatina* **103** e *oxaplatina* **104**

Enquanto fármaco, a *cisplatina* apresenta limitações devido à resistência apresentada de algumas células tumorais, tanto natural como adquirida após determinada frequência de dosagens, assim como pelos efeitos secundários que este fármaco origina, visto que se coordena às proteínas do plasma, conduzindo a toxicidade dos tecidos dos rins e do sistema nervoso, dificuldades em audição, náuseas e vômitos^{57,58}.

Com o aumento da esperança média de vida vem, por acréscimo, o aumento de mortes devidas a doenças infecciosas e cancerígenas. Desta forma, verifica-se o aumento do mercado de fármacos anticancerígenos, de entre os quais, os baseados em metais de transição. Por outro lado, a procura constante por fármacos mais eficientes e, sobretudo, mais selectivos, impulsionou a procura de fármacos cujos princípios activos são complexos de metais de transição, não só de platina como também de ruténio (actualmente já existem alguns em fase III de testes clínicos) e de ródio.

Na década de 70, o grupo de Bear e Kimball^{59,60} estudou o metabolismo de complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos, incluindo o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$, em ratos com

tumores do tipo *Ehrlich ascites*, *P388*, *Sarcoma 180* e *leucemia L1210* e o mecanismo de acção deste composto em células *L1210*. Os estudos efectuados indicaram que a actividade antitumoral desta classe de compostos se baseia maioritariamente na morte das células cancerígenas e, de forma menor, na inibição do crescimento tumoral. Por outro lado, os autores defenderam que o complexo se decompunha em ródio e nos ligandos carboxílicos, estando o metal fortemente ligado às células tumorais. Os estudos citotóxicos comparativos entre quatro complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos efectuados em culturas de células *L1210* corroboraram os resultados obtidos *in vivo* nos ratos, observando-se actividade decrescente das espécies diméricas de Rh(II) contendo ligandos butirato, propionato, acetato e metoxiacetato. Os autores estudaram ainda a capacidade desta classe de compostos formar aductos termodinamicamente estáveis com bases dos nucleótidos e aminoácidos, tendo concluído que apenas as espécies adenosina, histidina, metionina e cisteína tinham capacidade de formar os referidos aductos.

O grupo de Dunbar^{55,56,57,61,62} tem dedicado particular atenção à compreensão do mecanismo de actuação de complexos com metais enquanto agentes anticancerígenos, em particular dímeros de rénio (**105**), ruténio (**106**) e ródio (**107**) - **Figura 38**.

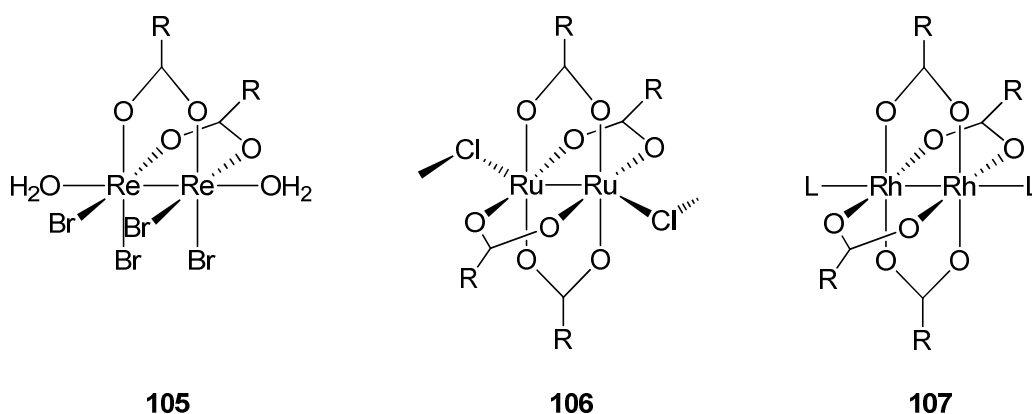


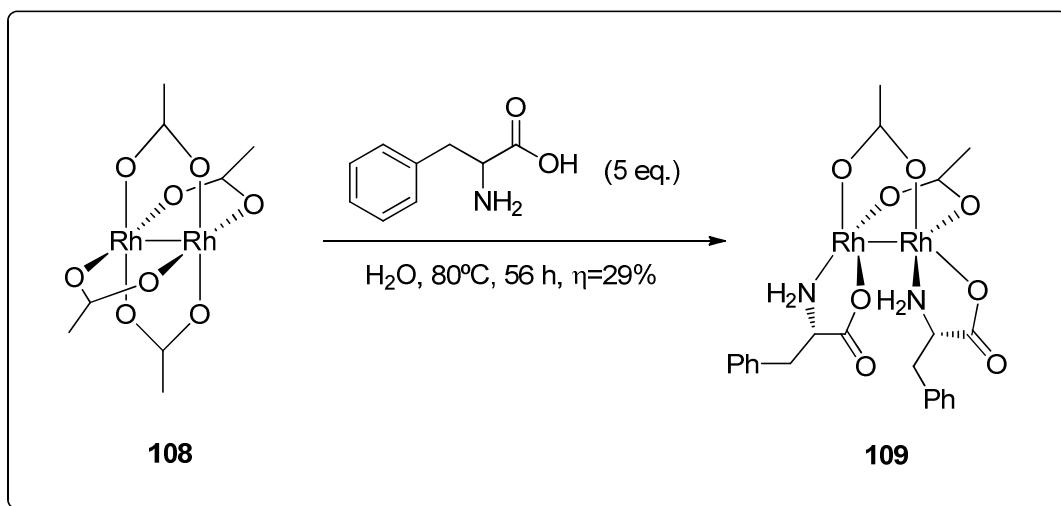
Figura 38 - Estruturas dos dímeros de di-Re (**105**), di-Ru (**106**) e di-Rh (**107**) com actividade anticancerígena

De entre estes, os mais estudados são os compostos de di-ródio(II) do tipo $Rh_2(O_2CR)_4L_2$, com R=Me, Et, Prop e L=solvente. Os autores demonstraram que estes complexos se ligam a bases de nucleótidos, tendo caracterizado os respectivos aductos. Através de ensaios *in vitro*, os autores explicam a evidência de inibição da replicação do ADN por estes complexos de forma análoga ao mecanismo da *cisplatina*, por ligação directa à polimerase T7-RNA. Estes autores^{55,56,57,61,62} demonstraram a formação de compostos estáveis entre $Rh_2(OAc)_4$ e adenina e também com guanina, que envolvem coordenação destas purinas, não só nas posições axiais, como também em duas das posições equatoriais, permanecendo as outras duas com ligandos acetato coordenados. Os estudos de RMN a duas dimensões com oligonucleótidos demonstraram a formação

de um aducto *intra-strand* com a unidade di-ródio(II) ligada de forma a destabilizar a estrutura da dupla hélice, verificando-se um enfraquecimento de determinadas ligações por pontes de hidrogénio por comparação com os valores obtidos por Watson-Crick. Este estudo permitiu verificar que a espécie de ródio mantém três grupos acetatos - um monodentado e dois em ponte, provavelmente devido a questões de conformação estereoquímica; verificaram ainda diversas alterações nas ligações e conformações adoptadas devido à formação de cross-links entre as moléculas do $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e o ADN, que serão, no seu conjunto, factores que contribuem para a actividade anticancerígena de compostos de di-ródio(II).

3.2. Resultados e discussão

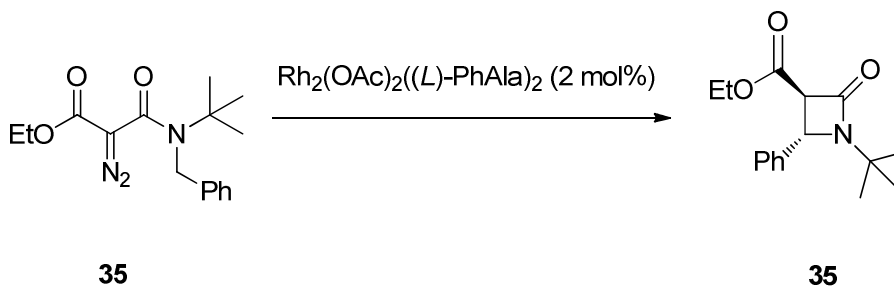
O ponto de partida para a realização deste trabalho foi o estudo previamente desenvolvido neste grupo de síntese de complexos de di-ródio(II) através da permuta de ligandos acetato do $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ por aminoácidos em água⁶³. Neste estudo foi descoberto um novo complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ **109** com uma estrutura peculiar representada no **Esquema 33**.



Esquema 33 - Síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ **109**

Este complexo **109** não apresenta a típica estrutura em lanterna, mas sim uma estrutura parcialmente aberta, na qual houve permuta de dois ligandos acetato por duas moléculas de (*L*)-fenilalanina, estando cada aminoácido exclusivamente ligado a um dos centros metálicos de Rh(II).

Este complexo foi utilizado como catalisador em reacções de inserção C-H de compostos diazo - **Esquema 34**. Os melhores resultados encontram-se sumariados na **Tabela 3**.



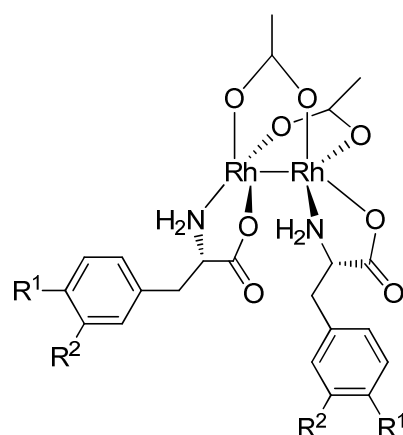
Esquema 34 - Catálise de inserção C-H intramolecular em compostos α -diazó mediada pelo complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$

Tabela 3 - Condições experimentais para os melhores ensaios de catálise obtidos⁶³

Entrada	Solvente	Temperatura (°C)	tempo (h)	η (%)	ee (%) ^a	Configuração Absoluta
1	H ₂ O	60	6	85	66	(3R,4S)
2	CH ₂ Cl ₂	20	27	72	73	(3R,4S)

^a - Determinado por HPLC quiral, após epimerização ao diastereómero *trans*

Atendendo à actividade anticancerígena apresentada por complexos de di-ródio(II) com ligandos carboxílicos, os complexos **109-111** (**Figura 39**) foram submetidos a testes de actividade biológica⁵⁸.



109, R¹=R²=H

110, R¹=R²=OMe

111, R¹=OMe, R²=H

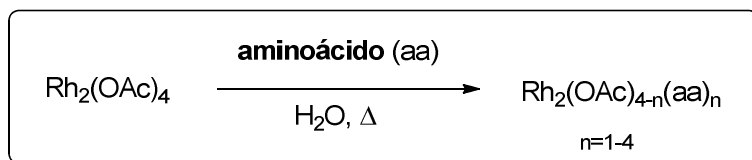
Figura 39 - Estrutura dos complexos de di-ródio(II) **109**, **110** e **111** submetidos a estudos de actividade biológica *in vitro*

O estudo efectuado concluiu que o complexo **35** reduz a proliferação de linhas celulares cancerígenas do cólon do útero (*HT-29*) de forma mais eficiente do que a *cisplatina*, contrariamente aos complexos **36** e **37** que não apresentam actividade. Desta forma, torna-se evidente a importância da estrutura molecular na actividade biológica desempenhada pelos complexos, visto que a simples introdução de grupo/s metoxi no anel aromático mudou por completo os resultados obtidos. Efectuaram-se ainda testes para determinar se a actividade induzida pelo complexo **109** envolve a libertação de espécies radiculares de oxigénio, cujos resultados foram negativos, contrariamente ao resultado apresentado pela *cisplatina*. A actividade da caspase-3 foi estudada de forma a aferir se o mecanismo de morte celular passa, ou não, pela apoptose, tendo-se concluído que a *cisplatina* actua dessa forma, ao contrário do complexo **109**. Este resultado da *cisplatina* corrobora com a verificação de formação de espécies reactivas de oxigénio, visto que se verifica que situações de *stress* oxidativo tipicamente precedem a apoptose celular. O mecanismo de morte celular deste complexo pode passar pela necrose

(envolverá a destruição da membrana celular), que será causada pela perturbação do equilíbrio osmótico ou deficiência de energia nas células. Estes resultados permitem concluir que o complexo **109** apresenta um mecanismo de acção biológica distinto da *cisplatina*.

Os ensaios biológicos demonstraram-se difíceis de realizar sob o ponto de vista experimental, o que levou a suspeitar que o composto **109** não se encontrava em elevado grau de pureza, provavelmente apresentando-se numa mistura de isómeros, apesar da estrutura obtida por difracção de raios-X indicar exclusivamente a estrutura do isómero **109**.

O objectivo deste trabalho é a síntese de complexos de di-ródio(II) por troca de ligandos acetato da espécie de partida $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ por novos ligandos, em particular aminoácidos, em água - **Esquema 35** - estudando as cinéticas de permuta. Para além da análise, pretende-se obter os respectivos produtos/isómeros em elevado grau de pureza.



Esquema 35 - *Screening* de síntese de complexos de Rh(II) com diversos aminoácidos (aa)

Desta forma, surge a necessidade de obter um método que permita, não só identificar, como também isolar os diferentes isómeros que se podem formar aquando de reacções de permuta de ligandos. Para atingir estes objectivos foi necessário recorrer ao HPLC como método de análise - HPLC analítico - e também como método de isolamento - HPLC semi-preparativo.

Inicialmente, pretendeu-se estudar a reacção de síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ - **Esquema 33**. Para tal, foi necessário encontrar condições cromatográficas para os compostos $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$, $(L)\text{-PhAla}$ e $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$. Contudo, atendendo ao carácter estrutural distinto das espécies constituintes do sistema em estudo, a obtenção de condições cromatográficas não foi imediata, nem fácil de encontrar. Procedeu-se a um rastreio de colunas de HPLC, em particular Hichrom RP18-5-3798, VARIAN Microsorb-MV 100-5 C8, VARIAN Microsorb-Mv 100-5 C18, VARIAN Microsorb-Mv 100-5 CN e KROMASIL 100 C18 02671, procurando-se encontrar os referidos compostos, com condições distintas de fase móvel ($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$), contudo nenhuma das fases estacionárias experimentadas se mostrou eficiente na obtenção de condições cromatográficas para o complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$. Como o investimento no *screening* de condições da fase estacionária se mostrou não produtivo, apostou-se num *screening* de condições da fase móvel, através da utilização de aditivos no eluente que permitissem encontrar os três

compostos pretendidos, num sistema analítico reproduzível e com elevada resolução dos compostos em estudo. Neste seguimento, encontrou-se um método cromatográfico de análise do sistema em estudo na coluna de HPLC de fase reversa KROMASIL 100 C18 02671, com detecção UV ($\lambda=220$ nm) através de um programa de gradiente, que permitiu obter os picos referentes aos reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=15,1$ min) e $(L)\text{-PhAla}$ ($t_r=6,4$ min) num eluente de 90:10 de $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ (ambos contendo 0,01% TFA) seguidos do produto $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ **109** ($t_r=41,0$ min) num eluente distinto, composto por 78:22 de $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ (ambos contendo 0,01% TFA). Na análise deste complexo **109** (amostra autêntica) verificou-se a existência de um outro composto, com maior tempo de retenção (t_r), em muito menor proporção, o que veio a confirmar as suspeitas anteriores acerca do grau de pureza deste complexo. Por sua vez, também foram encontradas condições para o complexo **111** utilizando o programa gradiente que permitiu obter os picos referentes aos reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=15,1$) e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ ($t_r=9,6$ min) num eluente de 90:10 de $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ (ambos contendo 0,01% TFA) seguidos do produto $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$ ($t_r=46,4$ min) num eluente distinto, composto por 74:26 de $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ (ambos contendo 0,01% TFA). A título exemplificativo, apresenta-se na **Figura 40** o cromatograma correspondente ao sistema de análise dos compostos $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=15,1$ min) e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ ($t_r=9,6$ min) e $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$ ($t_r=46,4$ min).

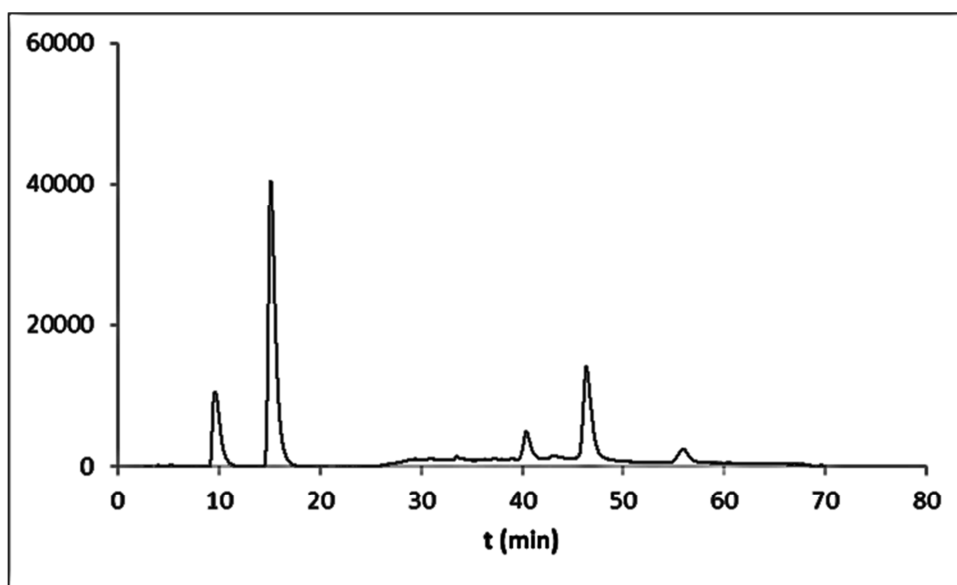
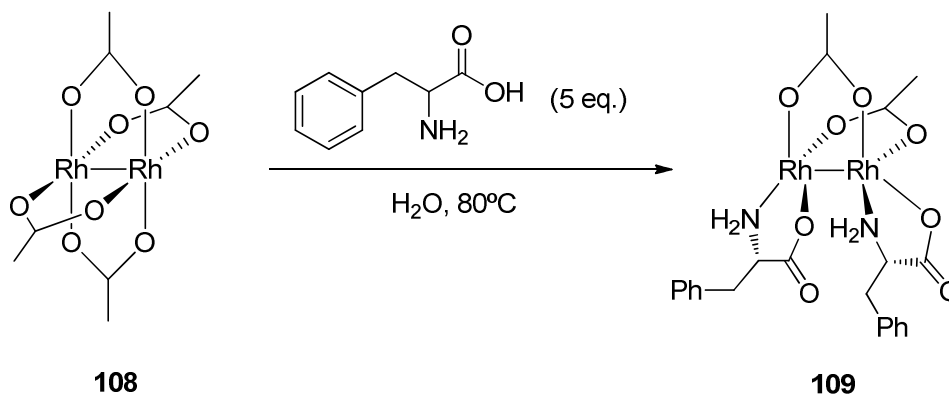


Figura 40 - Cromatograma do sistema de análise dos compostos $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$, $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ e $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$ ^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}20$ min); 74:26 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=25\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ ($t_r=9,6$ min), $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=15,1$ min) e $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$ ($t_r=46,4$ min)

Após obtenção do sistema analítico que permite a análise da reacção de síntese do complexo **109** - **Esquema 36** - procedeu-se à repetição desta reacção térmica, estudando-se a sua cinética a 80°C. Os cromatogramas representados nas **Figuras 41-44** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 16,5, 28 e 52 horas, respectivamente.



Esquema 36 - Esquema da reacção entre Rh₂(OAc)₄ e (L)-PhAla em água

De forma a tornar mais clara a interpretação dos cromatogramas apresentados no decorrer deste trabalho e, conseqüentemente proporcionar a análise das reacções de forma simples, não foram realizadas sobreposições dos cromatogramas obtidos ao longo do tempo, tendo sido seleccionados, para cada reacção, quatro cromatogramas que melhor demonstram o decurso de cada uma. Para além disso, a escala do eixo da resposta do detector não é sempre a mesma, de forma a tornar mais perceptível as diferenças de cada pico no decorrer da reacção. O tempo experimental de 0 horas de reacção foi sempre obtido a partir de uma amostra da mistura reaccional após 80 minutos de agitação à temperatura ambiente, de forma a garantir a solubilidade completa dos reagentes. Desta forma, as áreas correspondentes aos tempos '0 horas' serão consideradas equivalentes ao número de moles totais de cada reagente.

No tratamento dos dados cromatográficos efectuado, seleccionaram-se os picos correspondentes aos reagentes Rh₂(OAc)₄ e (L)-PhAla e às novas espécies formadas.

É importante ter em consideração que o tempo de retenção obtido para cada espécie depende de pequenos factores como a solubilidade e concentração de cada espécie na amostra injectada, a temperatura e também da integração realizada.

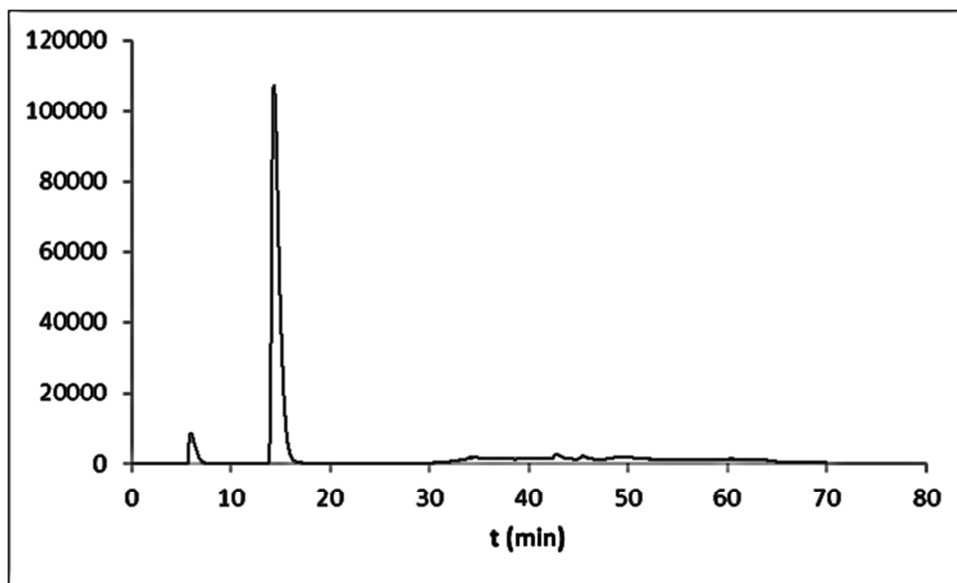


Figura 41 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e (L) -PhAla em água a 80°C - 0 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0$ -25 min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30$ -60 min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 5,9 e 14,3 min

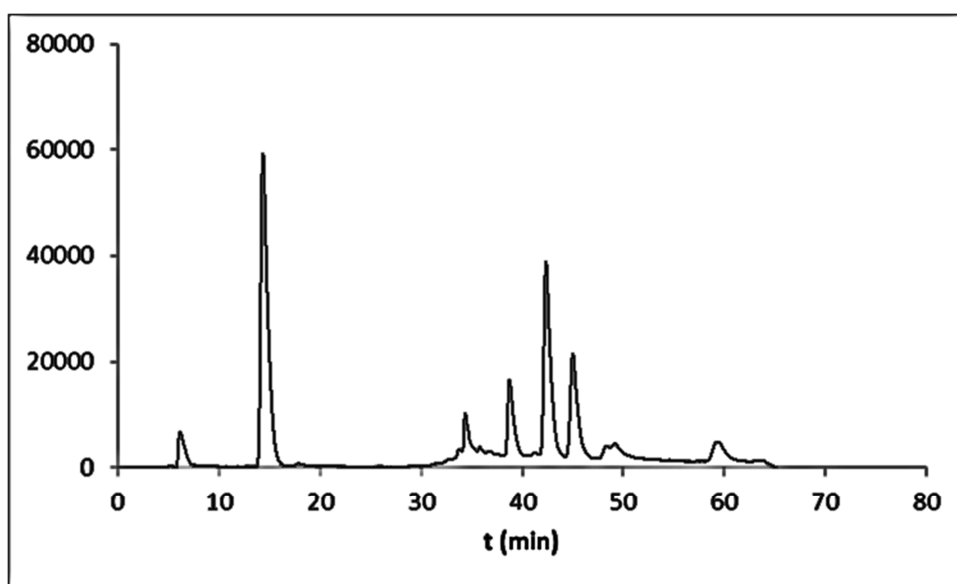


Figura 42 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e (L) -PhAla em água a 80°C - 16,5 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0$ -25 min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30$ -60 min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,1, 14,3, 34,4, 35,8, 38,7, 42,4 e 45 min

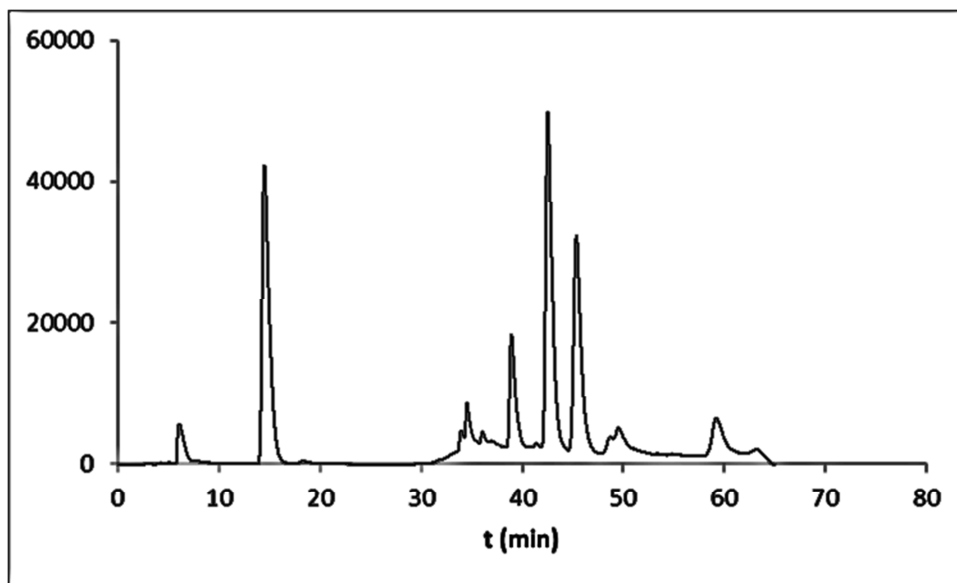


Figura 43 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C – 28 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm
^b - Tempos de retenção: 6,0, 14,5, 34,5, 36,0, 38,9, 42,5 e 45,4 min

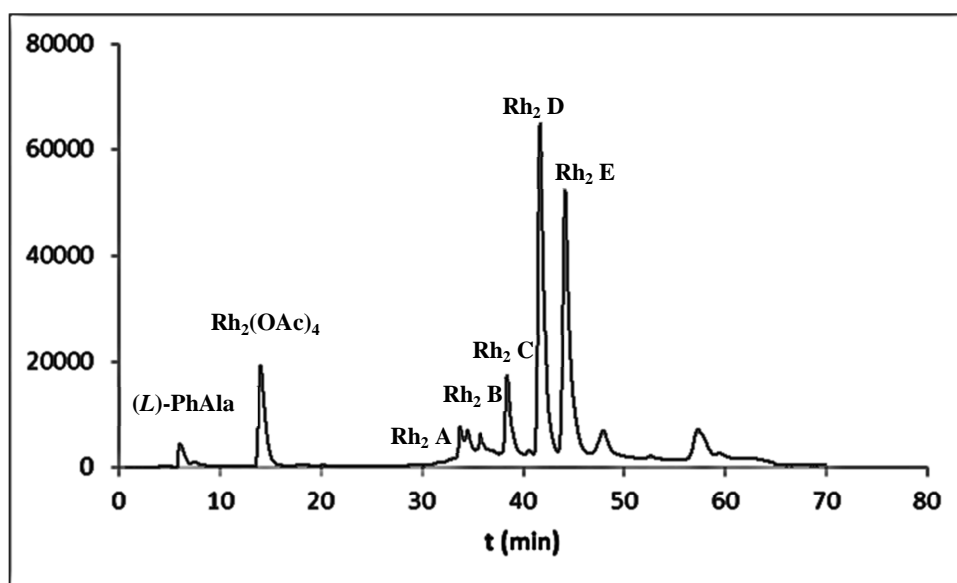


Figura 44 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C – 52 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm
^b - Tempos de retenção: 6,0, 14,0, 33,7, 35,7, 38,4, 41,7 e 44,1 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=14,0-14,5$ min) e $(L)\text{-PhAla}$ ($t_r=5,9-6,1$ min), assim como cinco produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=33,7-34,5$ min), **Rh₂ B** ($t_r=35,7-36,0$ min), **Rh₂ C** ($t_r=38,4-38,9$ min), **Rh₂ D** ($t_r=41,7-42,8$ min) e **Rh₂ E** ($t_r=44,1-45,4$ min). O produto **Rh₂ D** ($t_r=41,7-42,8$ min) corresponde ao complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ previamente conhecido **109**. Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 44** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 4** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 4 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), $(L)\text{-PhAla}$ (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , $80^\circ\text{C}^{\text{a,b,c}}$

t (h)	% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E
0	100,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,7
16,5	49,6	3,7	0,2	9,8	28,5	16,6
28	36,2	4,5	0,6	10,8	36,8	26,8
39	21,0	1,4	0,9	10,4	41,8	34,0
52	14,6	4,9	1,2	9,3	44,4	39,5

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 2** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

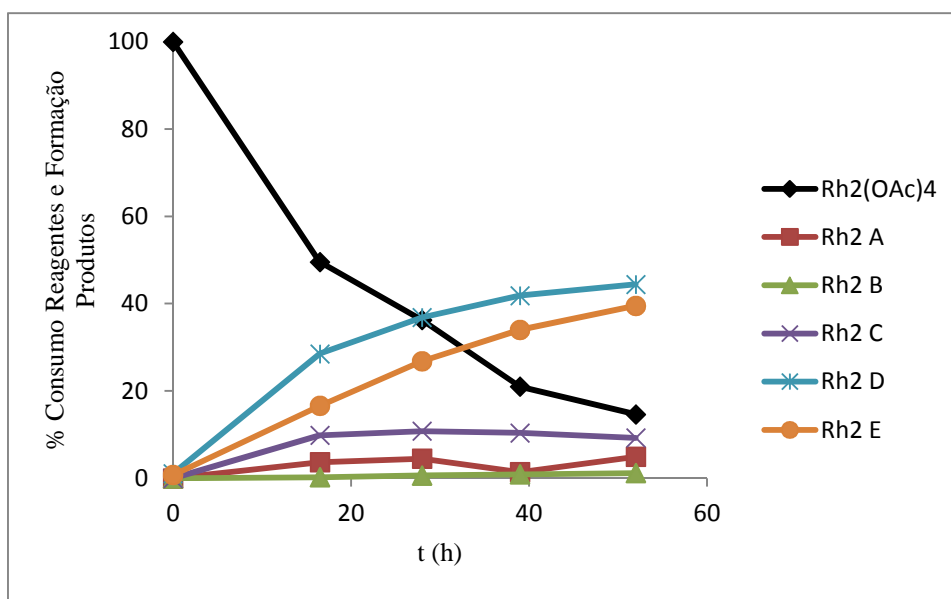


Gráfico 2 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H₂O, 80°C

O estudo desta reacção permite identificar a formação de dois produtos principais - **Rh₂ D** e **Rh₂ E** - que, muito provavelmente corresponderão a dois isómeros geométricos distintos, sendo o maioritário o complexo Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂ (**Rh₂ D**) e o segundo **Rh₂ E** correspondente ao segundo produto previamente referido presente na amostra autêntica do complexo **109** aquando da sua análise para a obtenção de condições cromatográficas.

Os cromatogramas obtidos permitem ainda comentar o baixo rendimento obtido na síntese do complexo **109** ($\eta=29\%$), que é justificado pela formação de um segundo complexo **Rh₂ E** ($t_r=44,1-45,4$ min). Tendo em consideração que estes dois complexos serão, possivelmente, isómeros geométricos, pode-se inferir que as suas respostas ao detector UV serão semelhante (i. e., terão ϵ similares), pelo que a proximidade dos valores das áreas dos seus picos permitem concluir que os dois complexos serão formados com rendimentos semelhantes. Verifica-se ainda a formação de outros produtos minoritários.

Atendendo à já comprovada actividade catalítica e biológica do complexo **109**, seria muito vantajoso obter uma síntese mais selectiva e com maior rendimento.

A aplicação de radiação microondas a reacções químicas tem demonstrado resultar, em alguns casos, em reacções mais limpas, rápidas, com maiores rendimentos e mais selectivas^{64,65}. Ainda existe uma grande controvérsia acerca do efeito da irradiação de microondas, sendo postulado uma combinação de efeitos térmicos e não térmicos de radiação com elevada polarização⁶⁴. O solvente da reacção é a água, um solvente de

elevada polaridade, pelo que seria de esperar a ocorrência dos tais efeitos da radiação microondas.

Desta forma, procedeu-se à mesma reacção do **Esquema 70**, aplicando radiação microondas de forma a ter a temperatura constante igual a 80°C, utilizando uma potência de 1 W. Os cromatogramas representados nas **Figuras 45-48** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 9,75, 21,75 e 52,75 horas.

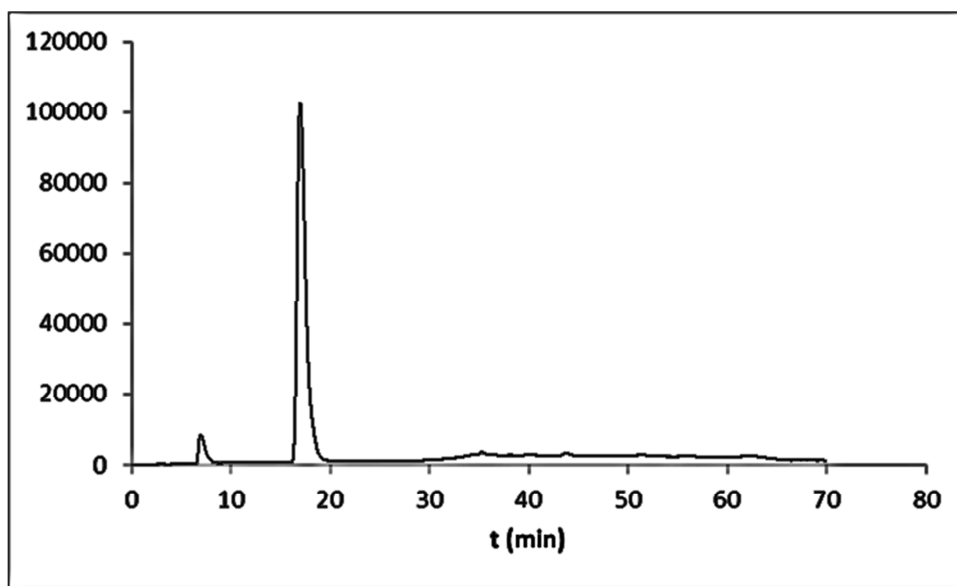


Figura 45 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água em microondas – 0 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,9, 17,0 min

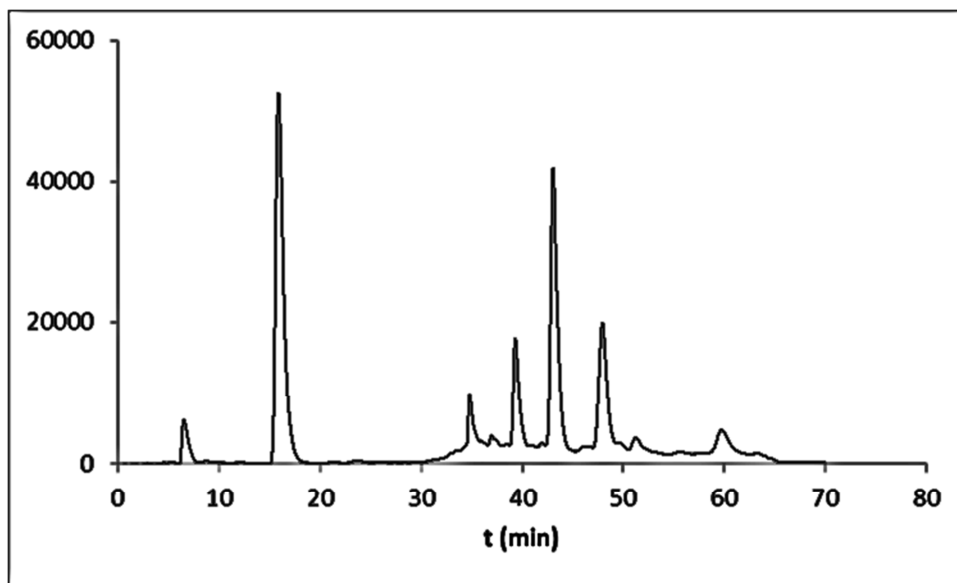


Figura 46 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água em microondas – 9,75 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,5, 15,9, 34,8, 36,9, 39,3 43,1, 47,9, 59,7 min

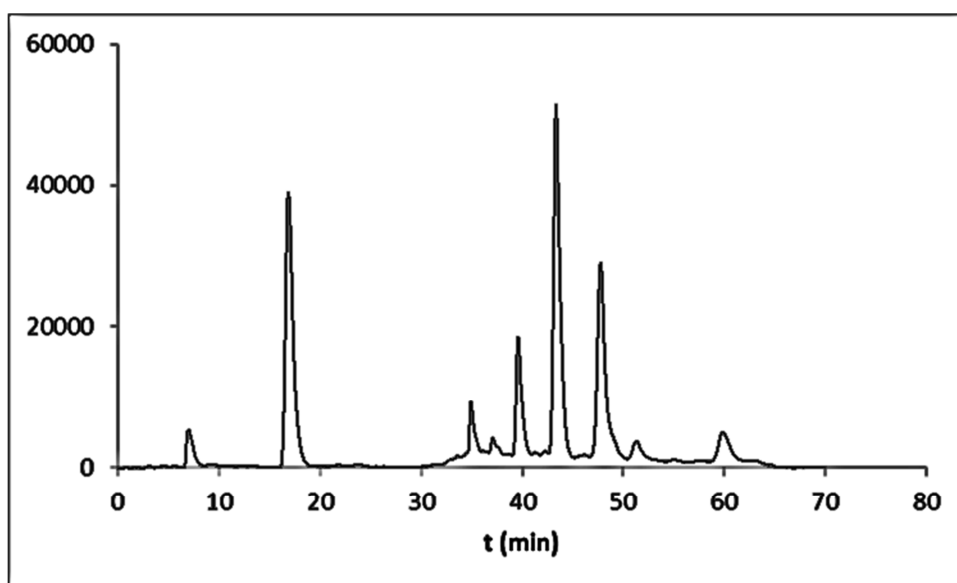


Figura 47 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água em microondas – 21,75 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,9, 16,8, 34,9, 37,1, 39,6 43,3, 47,8, 59,8 min

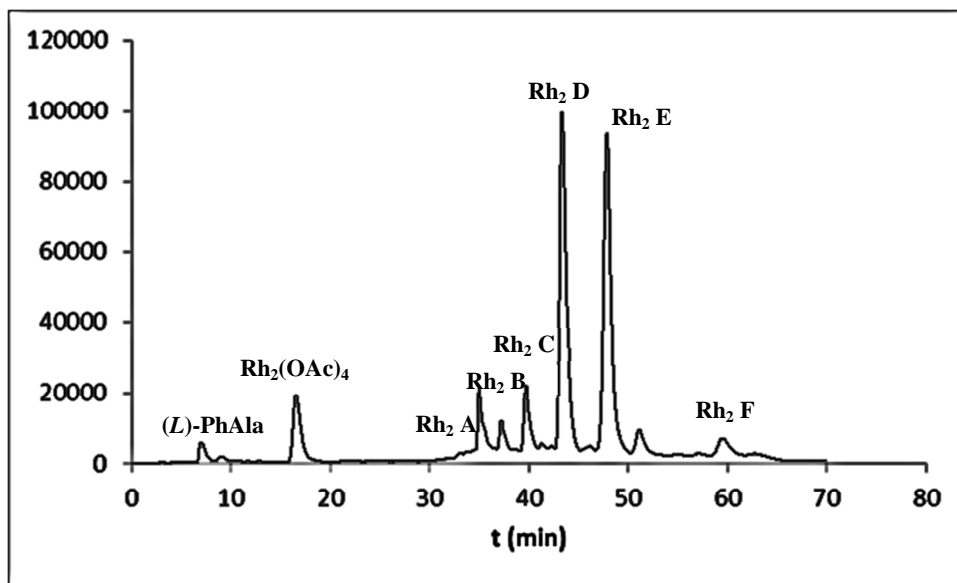


Figura 48 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água em microondas – 52,75 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 7,0, 16,5, 35,0, 37,2, 39,7 43,3, 47,9, 59,5 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=15,3\text{-}17,2$ min) e $(L)\text{-PhAla}$ ($t_r=6,5\text{-}7,2$ min), assim como seis produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=34,7\text{-}35,3$ min), **Rh₂ B** ($t_r=36,9\text{-}38,2$ min), **Rh₂ C** ($t_r=39,3\text{-}40,1$ min), **Rh₂ D** ($t_r=43,0\text{-}44,0$ min), **Rh₂ E** ($t_r=47,4\text{-}49,6$ min) e **Rh₂ F** ($t_r=59,1\text{-}60,7$ min). O produto **Rh₂ D** ($t_r=43,0\text{-}44,0$ min) corresponde ao complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ previamente conhecido **109**. Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 48** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 5** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 5 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), $(L)\text{-PhAla}$ (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , microondas (80°C gerados por 1 W)^{a,b,c}

t (h)	% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E	% Rh₂ F
0	100,0	0,3	0,0	0,2	0,5	0,2	0,0
0,25	98,6	1,8	0,1	0,7	1,2	0,3	0,0
0,5	92,7	2,9	0,1	1,7	4,7	1,3	0,3
0,75	90,2	3,4	0,1	1,8	4,7	1,0	0,3
1,75	81,0	3,6	0,2	3,7	9,5	2,6	0,0
3,75	55,7	2,6	0,4	6,0	16,5	6,9	2,6
9,75	46,8	3,7	0,9	9,5	29,0	14,9	4,3
21,75	33,4	3,9	1,2	10,4	35,5	24,8	5,1
35,75	25,3	4,9	2,5	11,7	52,7	44,7	5,9
52,75	17,4	9,2	4,7	11,2	73,3	77,6	6,0

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 3** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

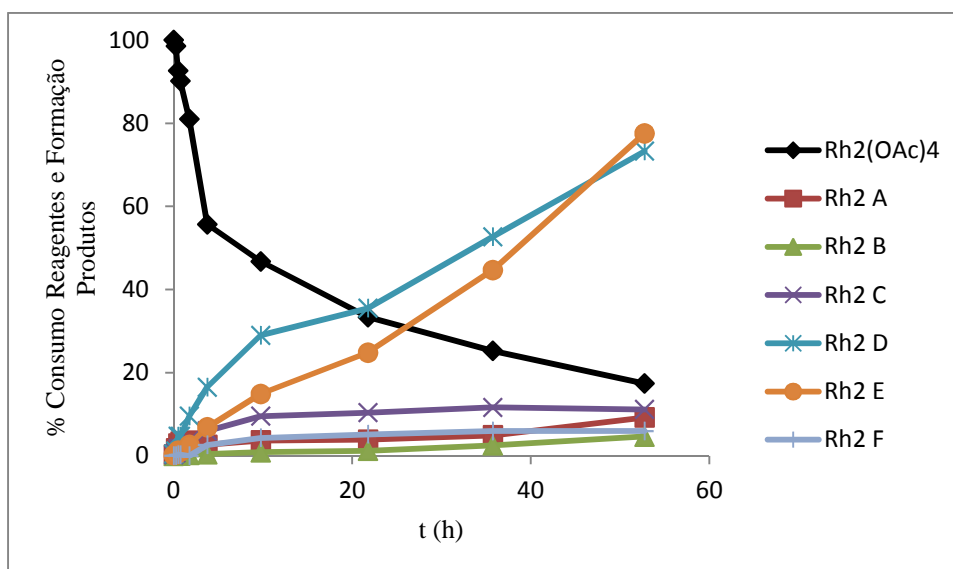


Gráfico 3 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (*L*)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , microondas (80°C gerados por 1 W)

O **Gráfico 4** demonstra o consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e de (*L*)-PhAla nas reacções térmica (T) e por microondas (M), ambas a 80°C.

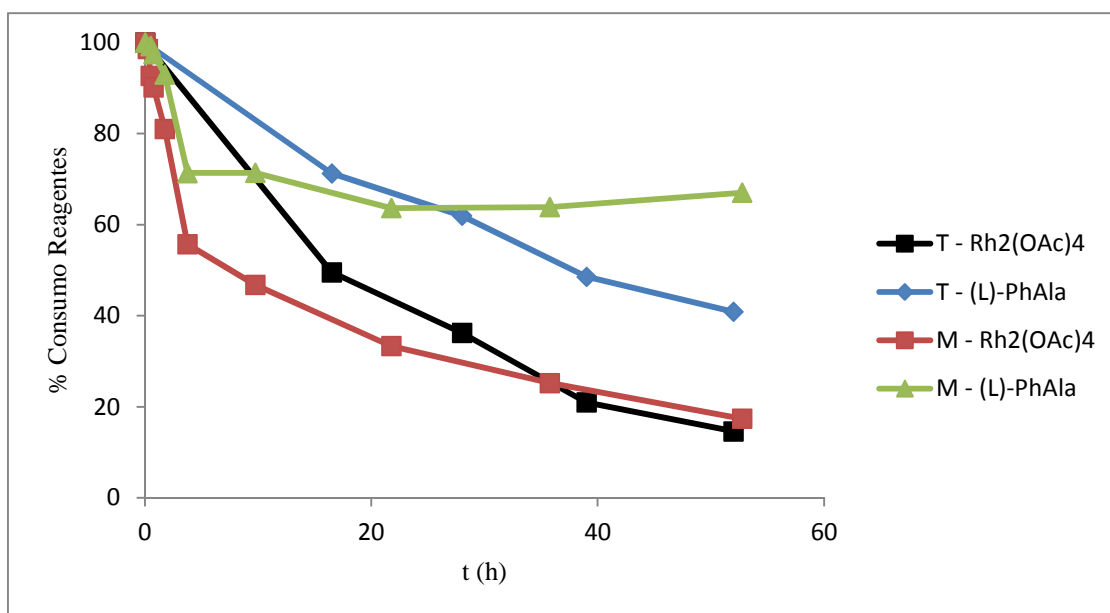
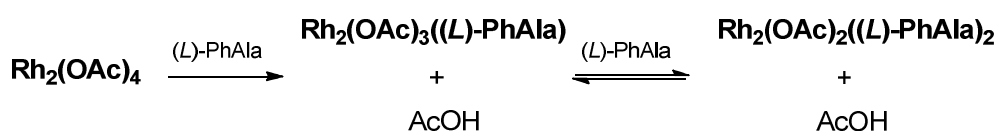


Gráfico 4 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmica (T) e por microondas (M) em função do tempo de reacção

Do início (0 horas) até às 3,75 horas de reacção, verifica-se, na reacção por microondas, um consumo de Rh₂(OAc)₄ e formação do Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂ com uma cinética mais rápida do que a reacção térmica também a 80°C. Contudo, para tempos de reacção superiores a 3,75 horas, verifica-se uma cinética muito semelhante à da reacção térmica análoga. Este facto sugere uma competição entre as cinéticas de descoordenação do acetato e de coordenação da (L)-PhAla - **Esquema 37**.



Esquema 37 - Esquema elucidativo dos equilíbrios cinéticos entre as espécies Rh₂(OAc)₃((L)-PhAla) e Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂

Se houver efectivamente este equilíbrio entre as espécies Rh₂(OAc)₃((L)-PhAla) e Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂, a neutralização do AcOH formado durante a reacção será uma *driving force* para o deslocamento do equilíbrio no sentido da espécie Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂.

O típico método de síntese de complexos de di-ródio(II) em refluxo em clorobenzeno - **Esquema 29** - recorre a extracções de Soxhlet com Na₂CO₃, ocorrendo a destilação do AcOH que será neutralizado com a base inorgânica. O sal formado não é solúvel no solvente orgânico, pelo que não constitui um problema no decorrer da reacção. No

entanto, este método de neutralização do ácido acético formado no decorrer da reacção não praticável na reacção em água, na perspectiva da técnica de *Soxhlet*.

Em 1975 Wilson e Taube³³ compararam os ligandos acetato e carbonato, referindo que a remoção dos ligandos CO_3^{2-} da esfera de coordenação de compostos de di-ródio(II) deverá ser muito mais rápida do que os ligandos AcO^- . Desta forma, a neutralização do acetato poderá, teoricamente, ser efectuada através da formação do sal NaOAc , visto que se suspeita de uma ordem de carácter doador/coordenante $\text{CO}_3^{2-} \ll \text{OAc}^- < (L)\text{-PhAla}$. Assim sendo, procedeu-se à realização da reacção - **Esquema 70** - na presença de 5,2 equivalentes de Na_2CO_3 . Os cromatogramas representados nas **Figuras 49-52** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 8, 23 e 52 horas.

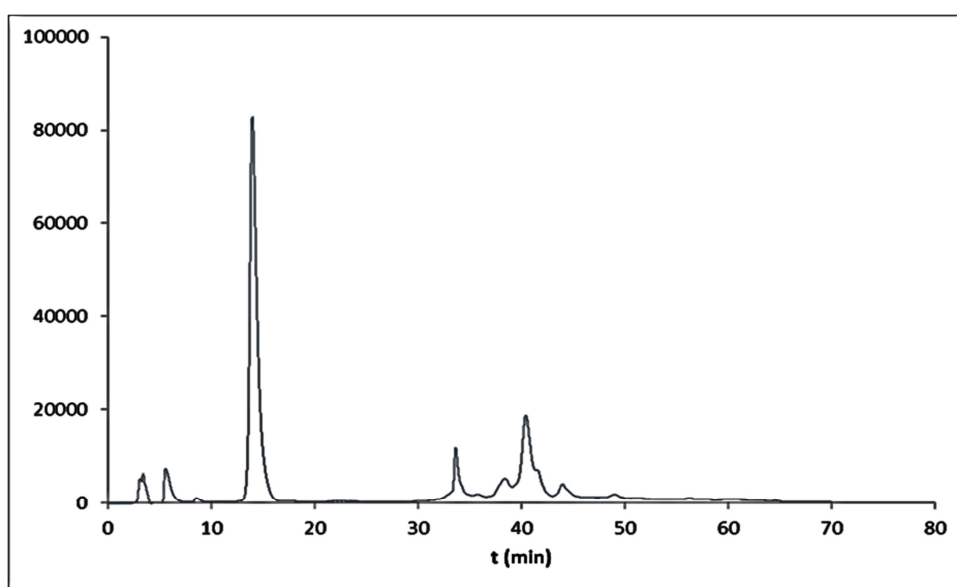


Figura 49 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na_2CO_3 - 0 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 3,42, 5,6, 14,0, 33,7, 38,5 40,5, 44,0 min

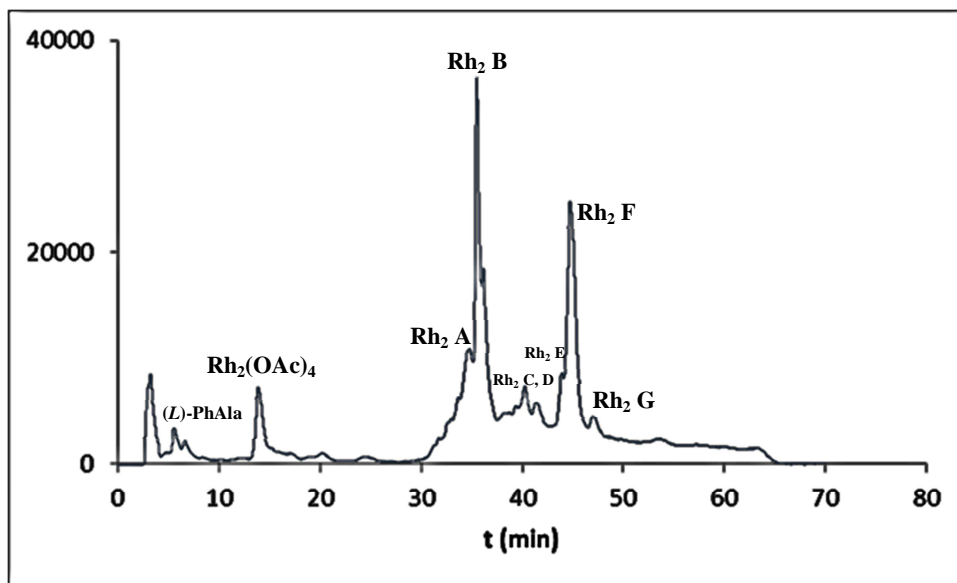


Figura 50 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na_2CO_3 – 8 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 3,2, 6,1, 13,9, 34,7, 35,5, 39,8, 41,4, 43,9, 44,8, 47,0 min

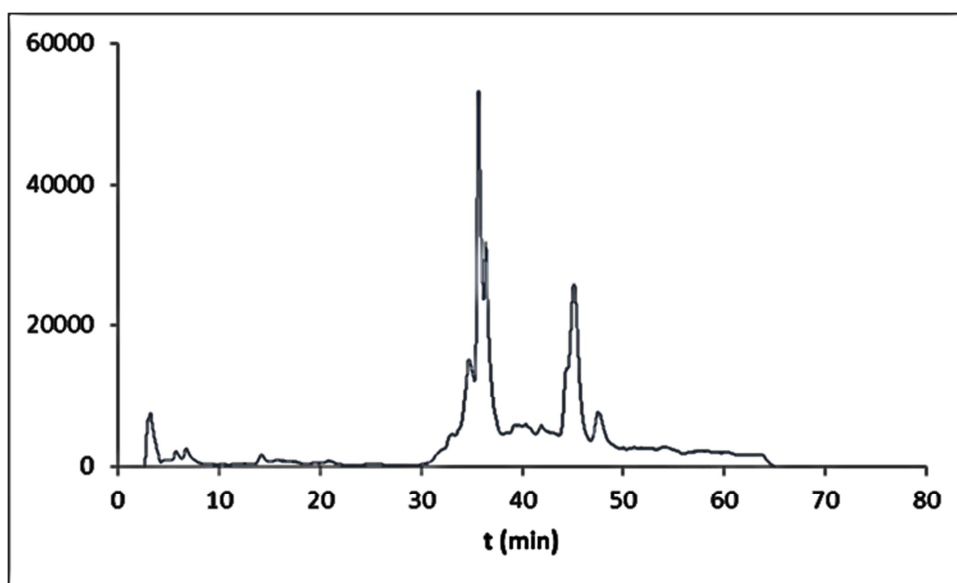


Figura 51 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na_2CO_3 – 23 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 3,2, 6,2, 14,2, 34,7, 36,0, 40,3, 41,9, 44,6, 45,1, 47,5 min

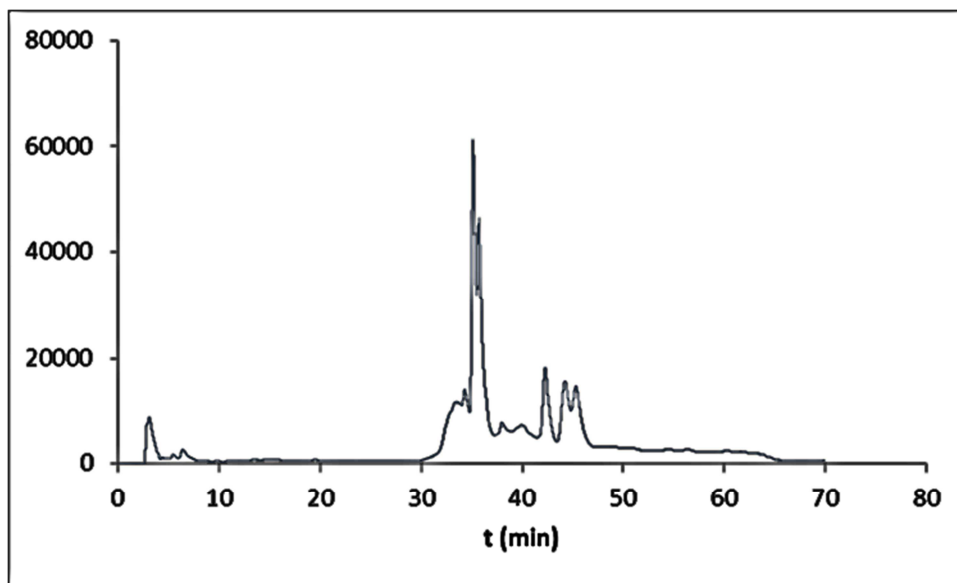


Figura 52 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 80°C na presença de 5,2 equivalentes de Na_2CO_3 – 52 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 3,1, 5,9, 34,3, 35,4, 39,0, 42,3, 44,2, 45,3 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=13,9\text{-}14,2$ min) e $(L)\text{-PhAla}$ ($t_r=5,6\text{-}9,4$ min), assim como sete produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=33,7\text{-}40,4$ min), **Rh₂ B** ($t_r=35,4\text{-}43,1$ min), **Rh₂ C** ($t_r=38,5\text{-}46,5$ min), **Rh₂ D** ($t_r=40,5\text{-}48,8$ min), **Rh₂ E** ($t_r=43,9\text{-}53,2$ min), **Rh₂ F** ($t_r=44,8\text{-}54,7$ min) e **Rh₂ G** ($t_r=47,0\text{-}58,2$ min). O pico com $t_r=3,1\text{-}3,4$ deverá corresponder à espécie Na_2CO_3 . Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 50** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 6** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 6 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), $(L)\text{-PhAla}$ (9,4 mg; 5 eq.), Na_2CO_3 (31,2 mg; 5,2 eq.) H_2O , 80°C ^{a,b,c}

t (h)	% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E	% Rh₂ F	% Rh₂ G
0	100,0	7,1	0,0	6,1	32,0	3,5	0,0	0,8
8	6,6	10,0	34,2	2,8	1,4	3,2	28,7	1,5
23	1,0	13,3	58,8	2,6	0,8	7,0	28,3	5,0
46	0,0	2,9	57,3	0,5	18,9	19,3	15,0	10,7
52	0,0	1,9	57,4	3,4	12,5	13,2	14,3	0,0

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 5** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

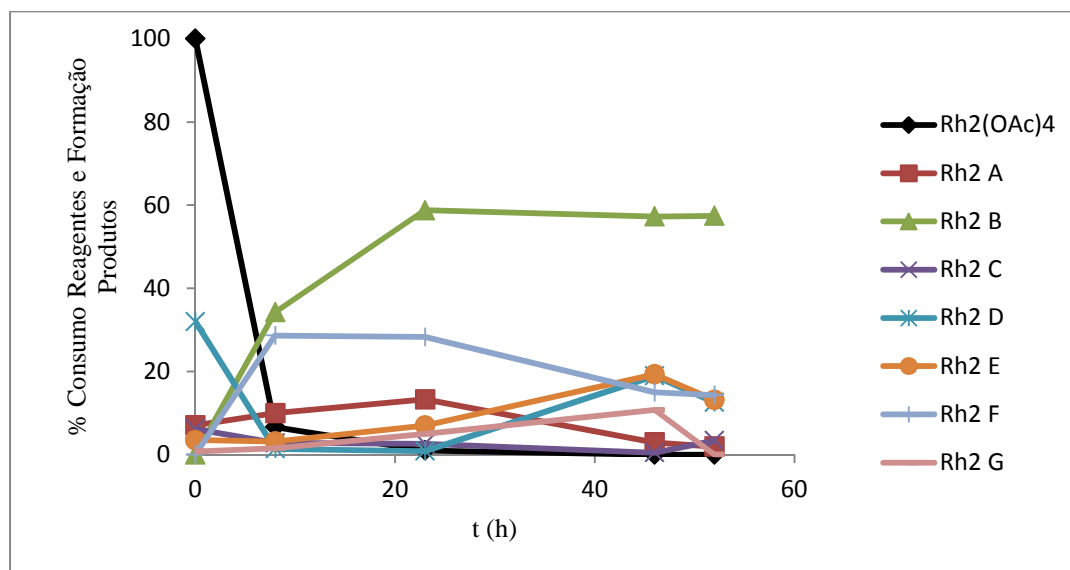


Gráfico 5 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), Na₂CO₃ (31,2 mg; 5,2 eq.) H₂O, 80°C

Esta reacção demonstrou a formação de novos compostos de di-ródio(II), cujo isolamento e análise ainda não foram efectuados. Muito provavelmente serão compostos do tipo Rh₂(OAc)_{4-n-m}((L)-PhAla)_n(CO₃)_m, com $m+n \leq 4$, indicando a coordenação de grupos carbonatos. O produto **Rh₂ F** com tr=44,8-54,7 minutos poderá corresponder ao composto **Rh₂ E** (2º isómero maioritário) obtido nas duas reacções anteriores, contudo será necessário analisar por espectroscopia de massa as duas amostras para confirmar.

De forma a tirar partido da neutralização do ácido, no futuro, poder-se-á experimentar sintetizar o complexo Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂ em clorobenzeno e verificar se este método conduz à formação do produto **109** e se o aprisionamento do ácido acético conduz a uma cinética de permuta de ligandos mais rápida e/ou mais selectiva.

Posteriormente procedeu-se ao estudo do efeito da temperatura na cinética desta reacção. Para tal, realizou-se a reacção (**Esquema 70**) à temperatura de 100°C. Os cromatogramas representados nas **Figuras 53-56** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 7,5, 22,5, e 52 horas.

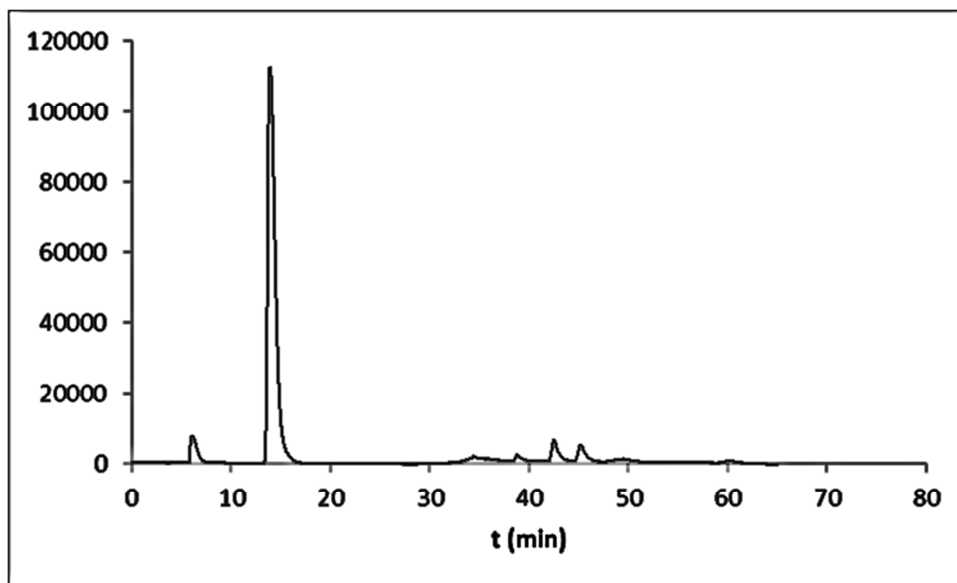


Figura 53 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 100°C - 0 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,1, 13,9, 34,4, 38,8, 42,5, 45,2 min

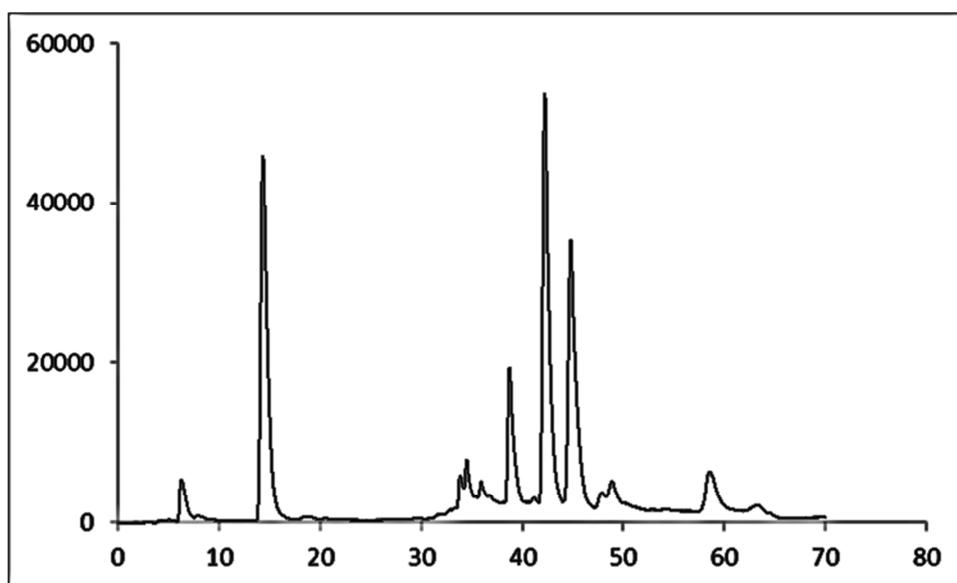


Figura 54 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 100°C - 7,5 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,3, 14,3, 34,5, 35,9, 38,7, 42,2, 44,8 min

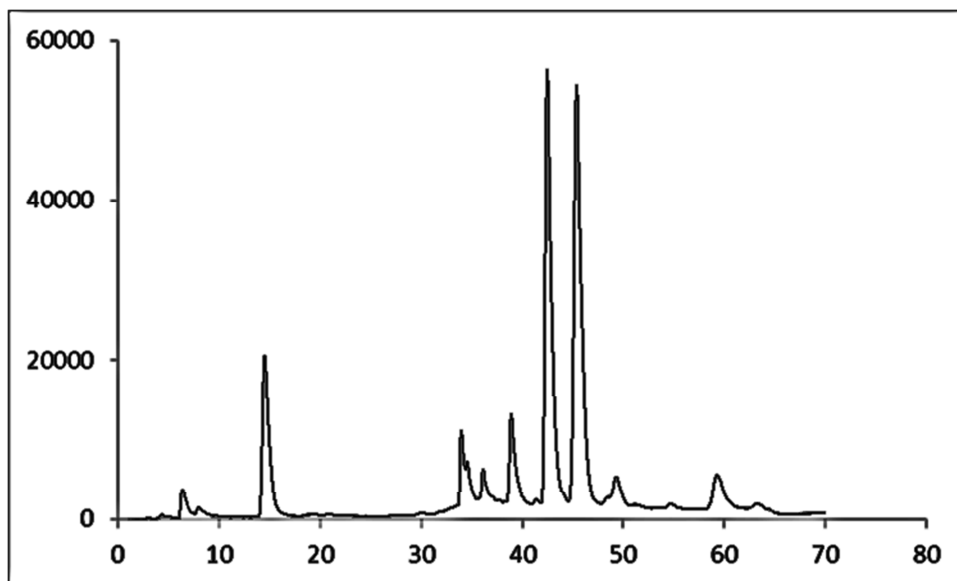


Figura 55 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 100°C - 22,5 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,4, 14,5, 34,0, 36,1, 38,9, 42,5, 45,4 min

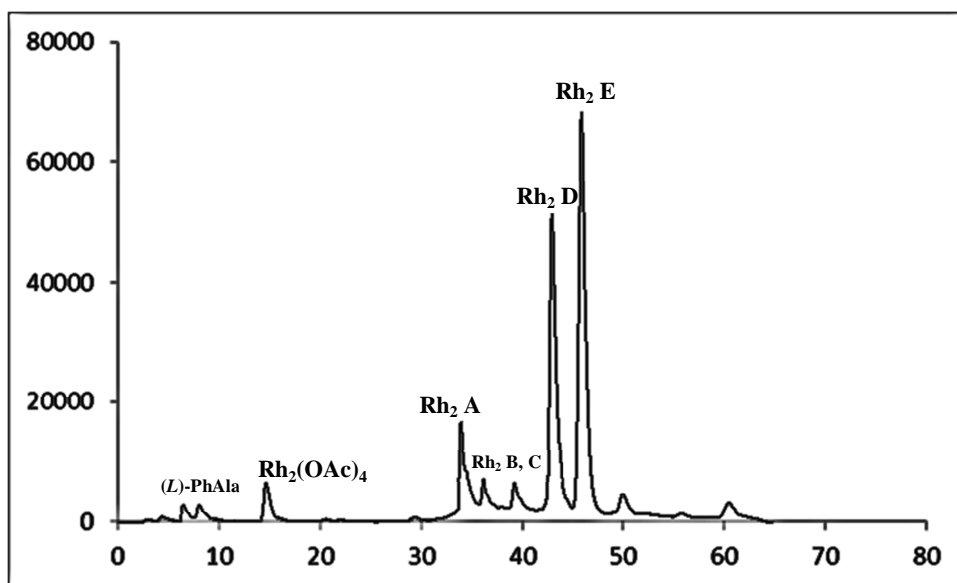


Figura 56 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 100°C - 52 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,5, 14,6, 33,9, 36,2, 39,2, 42,9, 45,9 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=13,9-15,0$ min) e (*L*)-PhAla ($t_r=6,1-6,5$ min), assim como seis produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=33,8-34,9$ min), **Rh₂ B** ($t_r=35,9-36,2$ min), **Rh₂ C** ($t_r=38,7-39,2$ min), **Rh₂ D** ($t_r=42,2-42,9$ min), **Rh₂ E** ($t_r=44,8-45,9$ min) e **Rh₂ F** ($t_r=61,6-61,8$ min). O produto **Rh₂ D** ($t_r=42,2-42,9$ min) corresponde ao complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ previamente conhecido **109**. Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 56** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 7** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 7 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (*L*)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , 100°C ^{a,b,c}

t (h)	% Rh₂(OAc)₄	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E	% Rh₂ F
0	100,0	0,7	0,0	1,0	4,2	3,5	0,0
2	63,2	2,0	0,2	6,8	16,6	7,0	3,2
4,5	52,4	2,0	0,6	10,7	28,6	17,2	6,0
7,5	35,7	3,2	0,7	10,6	36,6	28,3	0,0
22,5	15,2	6,5	1,6	7,1	39,9	44,6	0,0
27,5	15,6	8,6	2,8	6,1	45,7	56,1	0,0
32	9,2	9,5	2,9	5,3	45,0	58,3	0,0
47,5	6,3	12,0	3,4	4,5	49,6	70,7	0,0
52	4,3	9,8	2,3	3,1	37,8	52,3	0,0

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 6** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

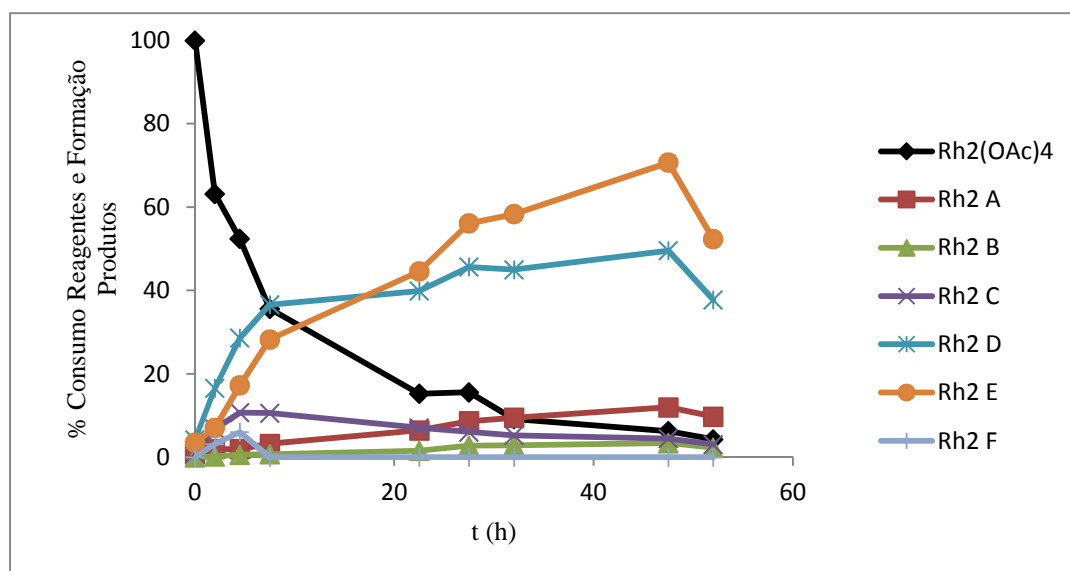


Gráfico 6 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados a 100°C em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H₂O, 100°C

Pelo cromatograma obtido às 52 horas de reacção (**Figura 56**), verifica-se uma inversão de proporção dos isómeros dominantes, sendo que **Rh₂ D** apresenta uma menor integração do que **Rh₂ E** (2º isómero maioritário), contrariamente ao observado na reacção a 80°C (**Figura 44**). Esta reacção não conduziu a uma conversão do Rh₂(OAc)₄ de forma substancialmente mais rápida nem à formação dos dois isómeros principais de forma mais selectiva.

Ainda assim, atendendo à inversão de proporção, decidiu-se estudar um pouco mais o efeito cinético da temperatura na selectividade da reacção, mesmo tendo como solvente a água. Para tal, procedeu-se à mesma reacção - **Esquema 70** - a 120°C num reactor de alta pressão da Aldrich. Os cromatogramas representados nas **Figuras 57-60** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 8, 23 e 52 horas.

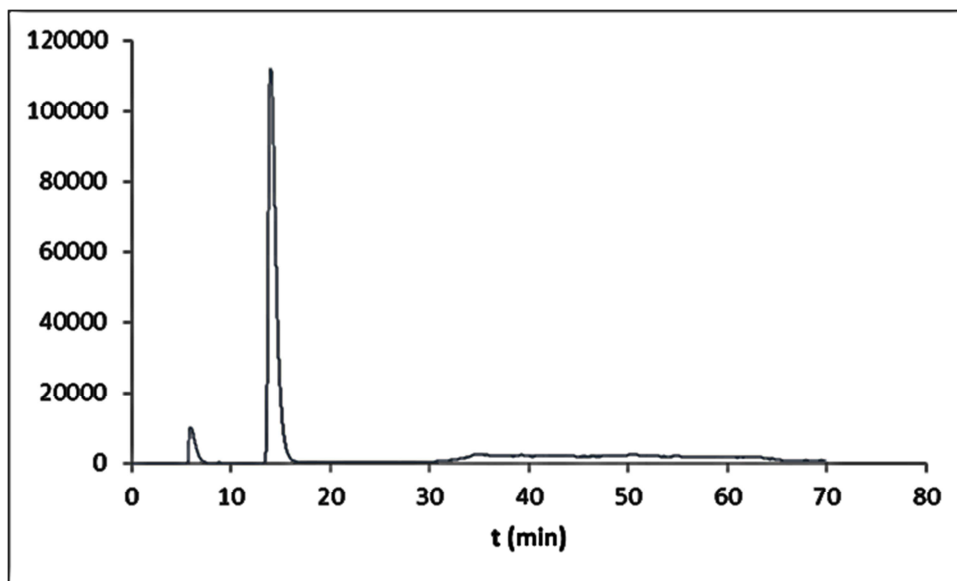


Figura 57 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e (*L*)-PhAla em água a 120°C – 0 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0-25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30-60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 5,9, 14,0 min

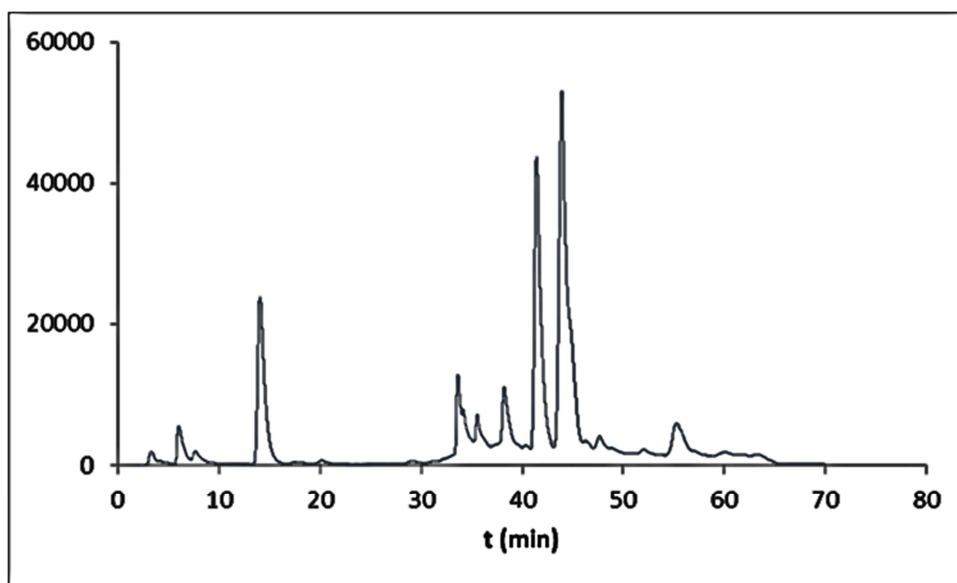


Figura 58 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e (*L*)-PhAla em água a 120°C – 8 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0-25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30-60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,0, 14,0, 33,6, 35,5, 38,2, 41,4, 43,9, 47,7, 55,2 min

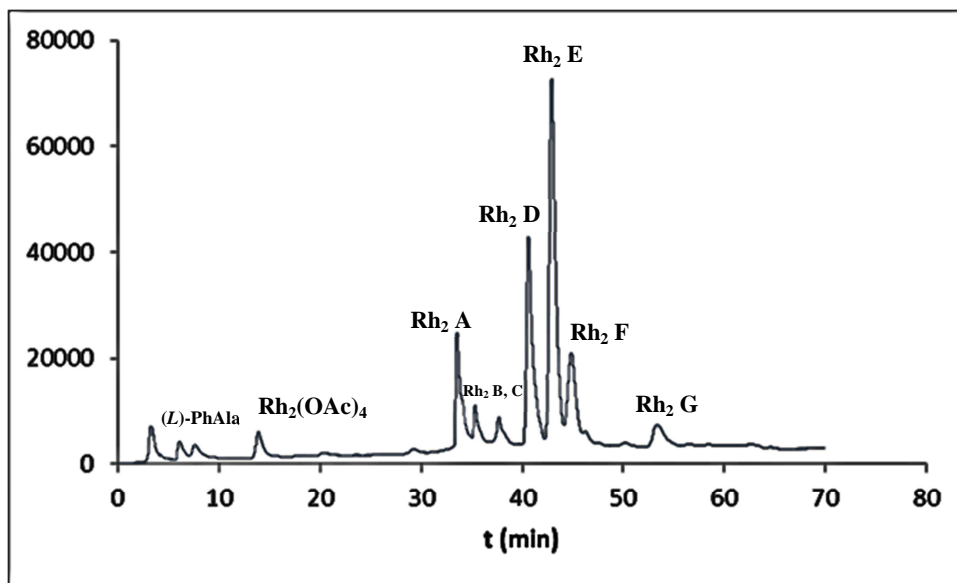


Figura 59 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 120°C – 23 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 6,0, 13,8, 33,5, 35,3, 37,7, 40,6, 42,9, 44,9, 53,3 min

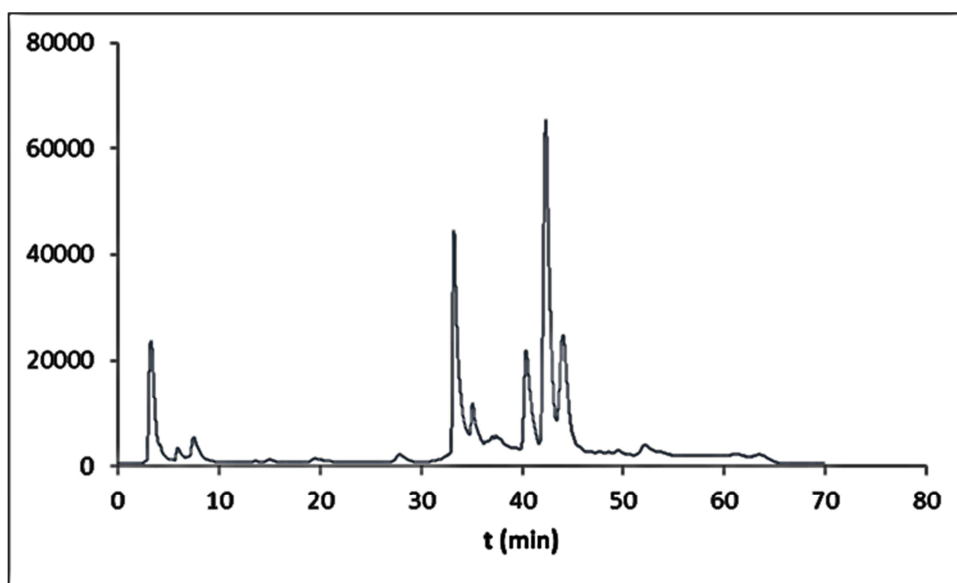


Figura 60 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-PhAla}$ em água a 120°C – 52 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}25$ min); 78:22 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=30\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 5,9, 15,0, 33,2, 35,1, 40,4, 42,3, 44,0, 52,1 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=13,7-15,0$ min) e (*L*)-PhAla ($t_r=5,9-6,0$ min), assim como sete produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=33,2-33,6$ min), **Rh₂ B** ($t_r=35,1-35,5$ min), **Rh₂ C** ($t_r=37,7-38,2$ min), **Rh₂ D** ($t_r=40,4-41,4$ min), **Rh₂ E** ($t_r=42,3-43,9$ min), **Rh₂ F** ($t_r=44,0-47,7$ min) e **Rh₂ G** ($t_r=52,1-55,2$ min). O produto **Rh₂ D** ($t_r=40,4-41,4$ min) corresponde ao complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-PhAla})_2$ previamente conhecido **109**. Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 59** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 8** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 8 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), (*L*)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H_2O , $120^\circ\text{C}^{\text{a,b,c}}$

t (h)	% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E	% Rh₂ F	% Rh₂ G
0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	18,3	7,4	2,0	5,3	29,3	47,5	1,1	5,6
23	3,4	12,1	2,9	3,0	26,8	46,7	12,8	5,3
46,5	0,7	24,6	5,0	0,0	16,0	43,8	20,3	2,1
52	0,3	25,7	5,0	0,0	13,0	42,1	20,6	1,8

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 7** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

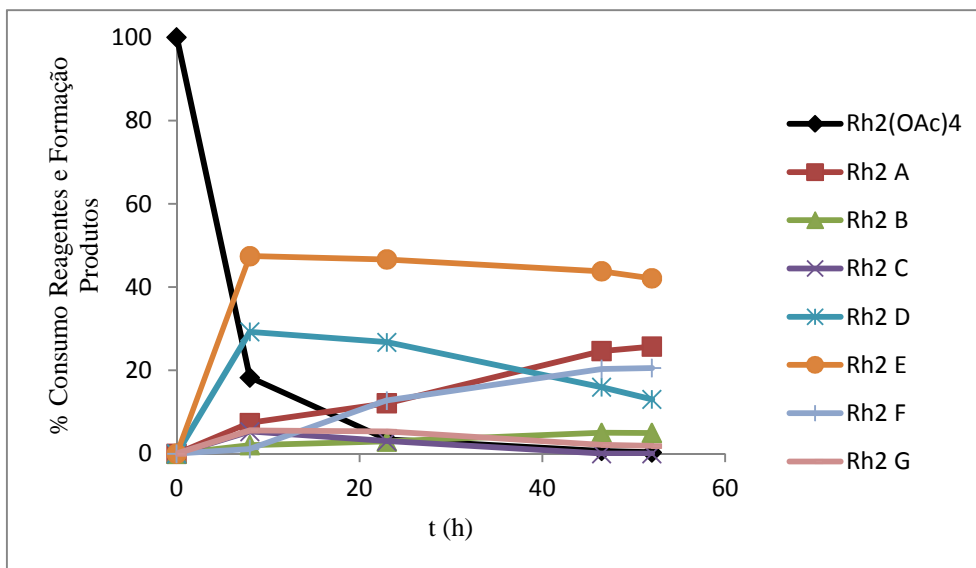


Gráfico 7 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg), (L)-PhAla (9,4 mg; 5 eq.), H₂O, 120°C

Ao fim de 8 horas de reacção a 120°C (**Figura 58**) verifica-se um avanço de consumo de Rh₂(OAc)₄ comparável às 22,5 horas de reacção a 100°C (**Figura 55**) e às 52 horas de reacção a 80°C (**Figura 44**). Após 8 horas de reacção a 120°C verifica-se uma inversão da proporção dos dois isómeros principais (**Rh₂ D** e **Rh₂ E**), também verificada após 52 horas de reacção a 100°C, sendo menos dispare a proporção entre estes isómeros obtidos em 8 horas a 120°C. Após 23 horas de reacção a 120°C (**Figura 59**) verifica-se uma maior discrepância nas áreas dos picos dos isómeros **Rh₂ D** e **Rh₂ E** do que a observada em 52 horas de reacção a 100°C (**Figura 56**). Ao prolongar o tempo de reacção até 52 horas (**Figura 60**), mesmo já não havendo Rh₂(OAc)₄ por reagir, verificou-se que o isómero **Rh₂ E** manteve a sua área, ao contrário do isómero **Rh₂ D**, cujo pico sofreu um decréscimo substancial; paralelamente, o pico referente ao isómero **Rh₂ A** verificou um aumento substancial de área, facto que indicia uma conversão entre a espécie **Rh₂ D** para a espécie **Rh₂ A**, entre as 23 e 52 horas de reacção a 120°C. Este resultado demonstra uma forte influência da temperatura na selectividade da reacção e, principalmente, na selectividade de formação dos diferentes isómeros, consoante o tempo de reacção.

O **Gráfico 8** demonstra o consumo de Rh₂(OAc)₄ e de (L)-PhAla nas reacções térmicas a 80, 100 e 120°C.

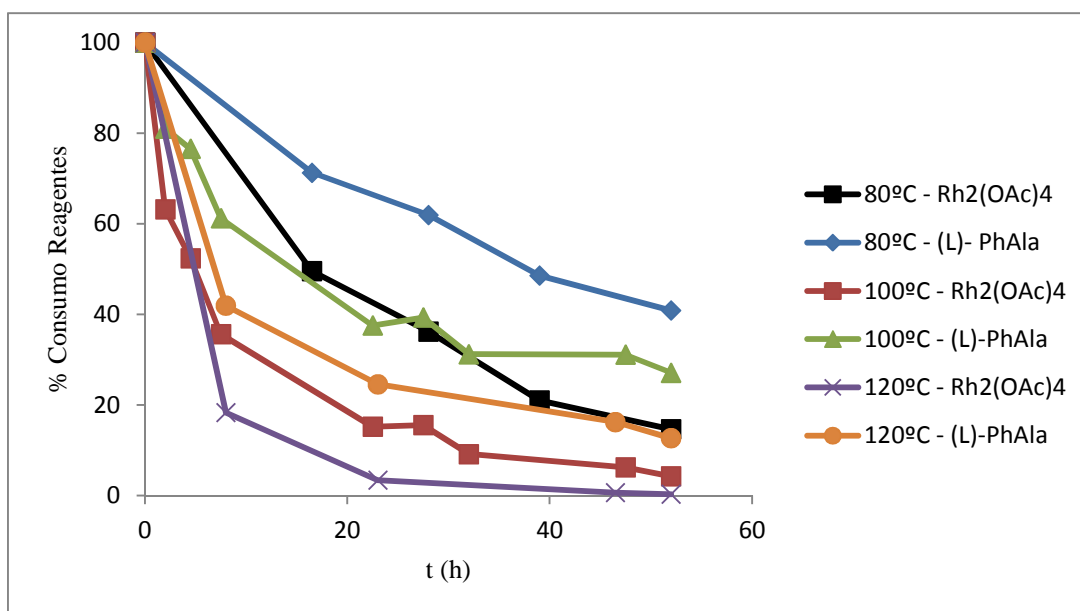
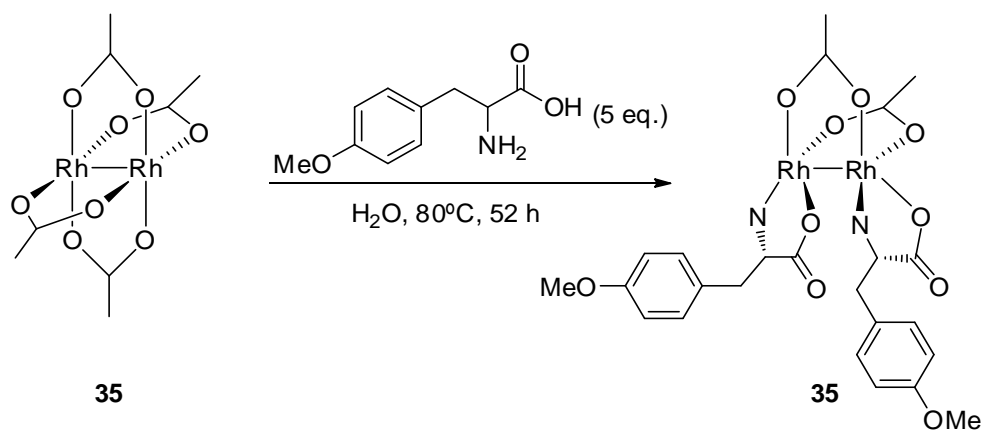


Gráfico 8 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmicas a 80, 100 e 120°C em função do tempo de reacção

Este gráfico permite confirmar o maior consumo de reagentes com o aumento da temperatura, o que está de acordo com as observações previamente referidas. Nas 52 horas de reacção que foram estudadas, apenas a cinética a 120°C permite o consumo total do Rh₂(OAc)₄. Por outro lado, o consumo de (L)-PhAla é inferior a 50% nas reacções térmicas a 100 e 120°C, o que sugere, especialmente para a reacção a 120°C, que serão incorporadas mais do que duas moléculas de aminoácido em algumas das espécie formadas, visto que se utiliza uma estequiometria de 5 equivalentes do aminoácido.

Por fim, procedeu-se ao estudo da cinética da reacção de decomposição de Rh₂(OAc)₄ com (L)-Me-O-Tyr em água a 80°C - **Esquema 38**. Este complexo também foi sintetizado pelo grupo anteriormente, pelo que a sua identificação por HPLC também teve como padrão uma amostra autêntica, utilizando-se o programa de gradiente que permitiu obter os picos referentes aos reagentes Rh₂(OAc)₄ e (L)-Me-O-Tyr num eluente de 90:10 de H₂O:CH₃CN (ambos contendo 0,01% TFA) seguidos do produto Rh₂(OAc)₂((L)-PhAla)₂ num eluente distinto, composto por 74:26 de H₂O:CH₃CN (ambos contendo 0,01% TFA). Os cromatogramas representados nas **Figuras 61-64** foram obtidos aos tempos de reacção de 0, 8, 23 e 52 horas.



Esquema 38 - Síntese do complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$

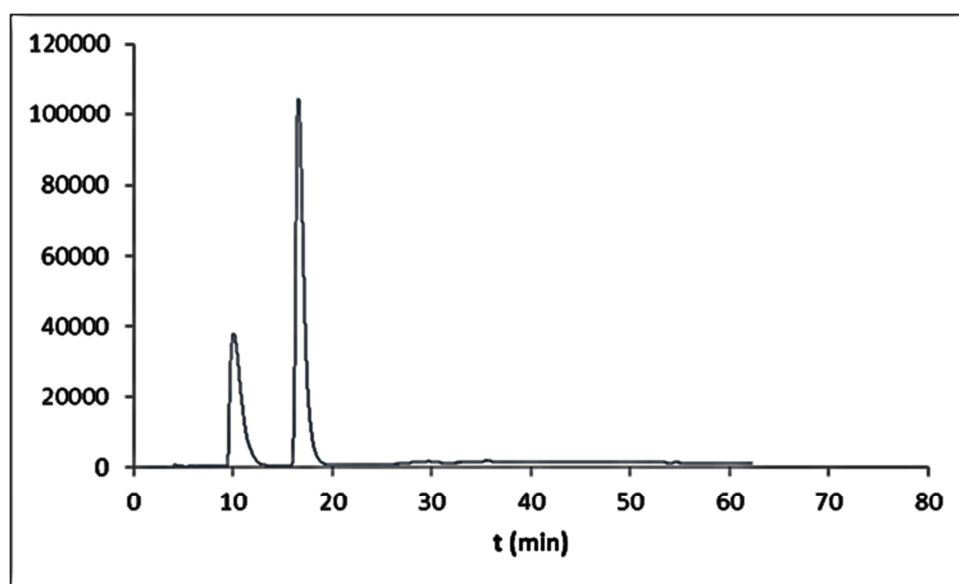


Figura 61 - Imagem do cromatograma obtido para a reação entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ em água a 80°C – 0 horas de reação^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}20$ min); 74:26 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=25\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 10,1, 16,6 min

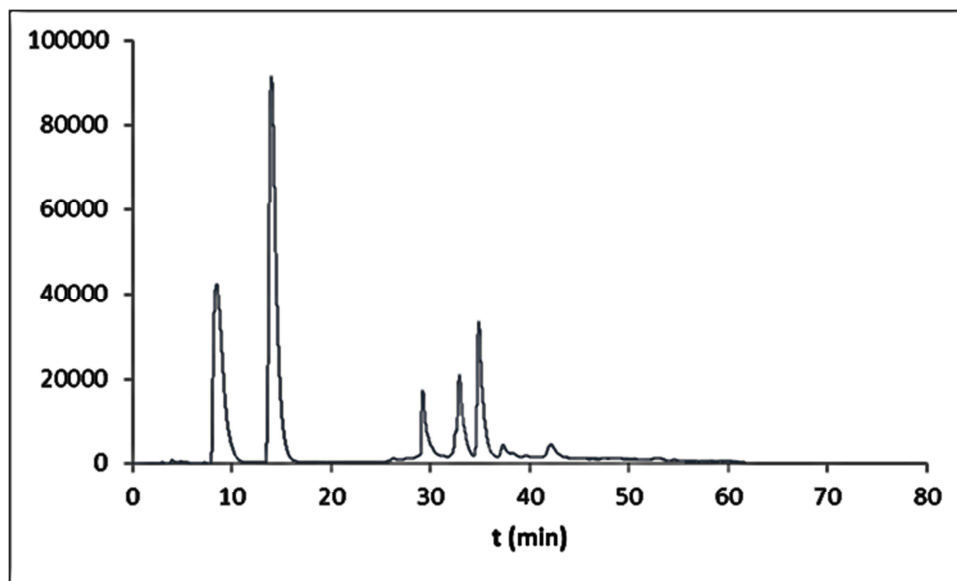


Figura 62 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ em água a 80°C – 8 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}20$ min); 74:26 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=25\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 8,5, 14,0, 29,2, 32,9, 34,9, 37,3, 42,1 min

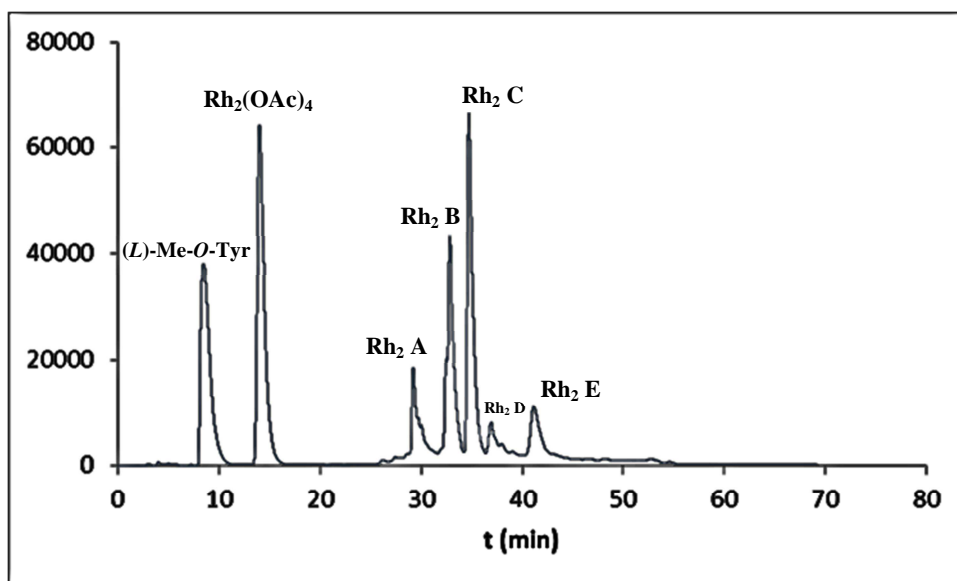


Figura 63 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ em água a 80°C – 23 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}20$ min); 74:26 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=25\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 8,4, 14,0, 29,2, 32,8, 34,7, 36,9, 41,1 min

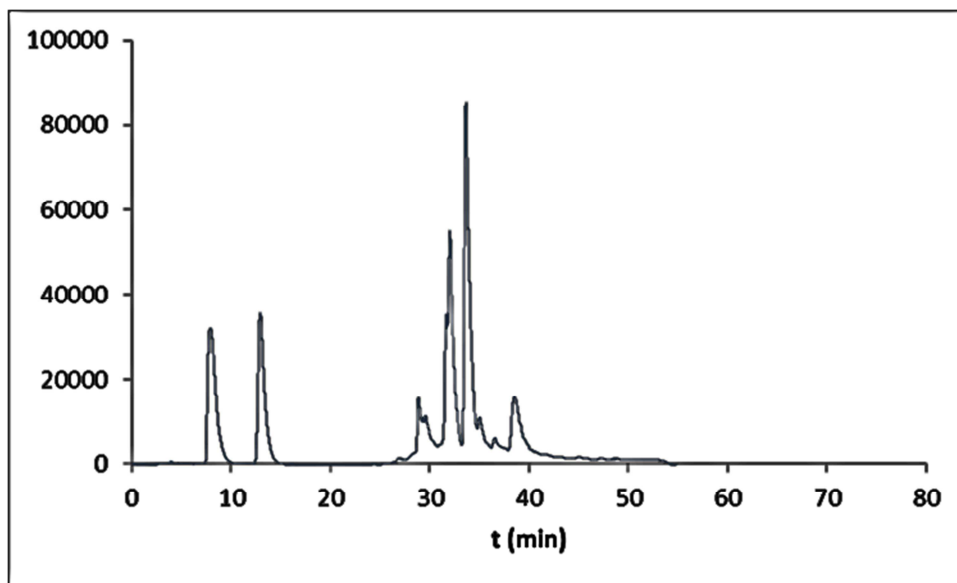


Figura 64 - Imagem do cromatograma obtido para a reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ em água a 80°C – 52 horas de reacção^{a,b}

^a - Condições cromatográficas: programa de gradiente: 90:10 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=0\text{-}20$ min); 74:26 $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ ($t=25\text{-}60$ min) (ambos os solventes com 0,01% TFA); 1 mL/min; $\lambda=220$ nm

^b - Tempos de retenção: 7,9, 12,9, 28,9, 32,0, 33,7, 35,8, 38,6 min

Na análise destes cromatogramas foram identificados os reagentes $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ ($t_r=12,9\text{-}16,6$ min) e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ ($t_r=7,9\text{-}10,1$ min), assim como cinco produtos identificados como **Rh₂ A** ($t_r=28,9\text{-}29,2$ min), **Rh₂ B** ($t_r=32,0\text{-}32,9$ min), **Rh₂ C** ($t_r=33,7\text{-}34,9$ min), **Rh₂ D** ($t_r=35,8\text{-}37,3$ min) e **Rh₂ E** ($t_r=38,6\text{-}42,1$ min). O produto **Rh₂ C** ($t_r=33,7\text{-}34,9$ min) corresponde ao complexo $\text{Rh}_2(\text{OAc})_2((L)\text{-Me-O-Tyr})_2$ previamente conhecido **111**. Os reagentes e produtos identificados estão associados no cromatograma da **Figura 63** e as áreas dos seus picos permitiram o estudo cinético desta reacção.

A **Tabela 9** contempla as percentagens de cada composto identificado nos tempos de reacção analisados.

Tabela 9 - Percentagem dos reagentes e produtos identificados para diversos tempos de reacção utilizando: $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg), $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ (11,0 mg; 5 eq.), H_2O , 80°C ^{a,b,c}

t (h)	% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$	% Rh₂ A	% Rh₂ B	% Rh₂ C	% Rh₂ D	% Rh₂ E
0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	77,2	8,8	13,7	19,4	2,2	2,8
23	51,7	10,8	28,6	39,4	4,9	9,2
46	35,8	14,1	42,9	53,3	7,5	14,7
52	27,3	11,0	37,6	47,6	5,8	12,6

^a - Para cada tempo de reacção foi retirado uma amostra de 0,5 mL que foi analisada por HPLC utilizando o programa de gradiente previamente referido com detecção UV ($\lambda=220$ nm);

^b - O consumo de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ foi calculado com base nas áreas dos cromatogramas em relação à área do pico correspondente às 0 horas de reacção;

^c - A formação de cada produto foi calculada com base na área de cada pico em relação à área de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ correspondente às 0 horas de reacção, considerando que todas as espécies têm o mesmo ϵ .

O **Gráfico 9** representa a percentagem de consumo e formação dos reagentes em função do tempo de reacção.

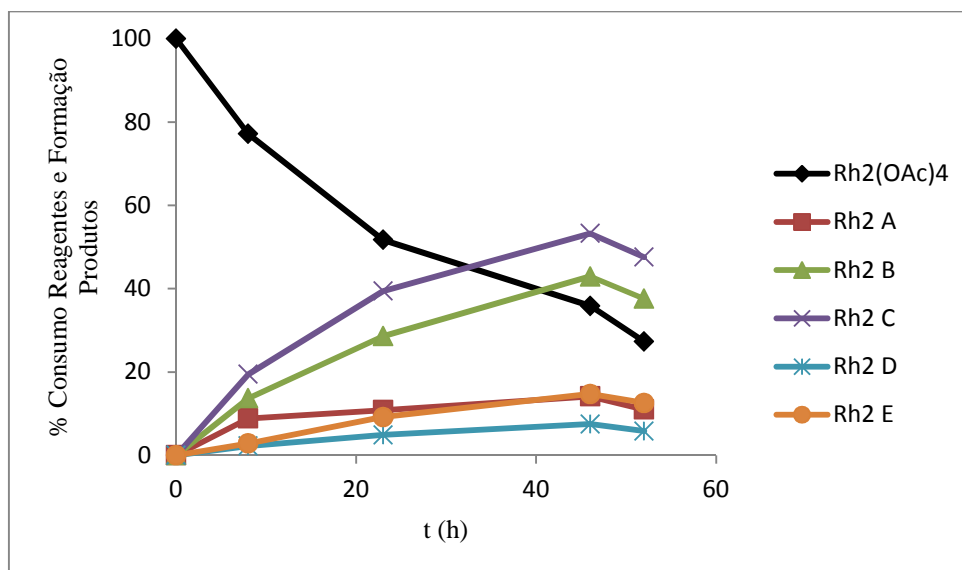


Gráfico 9 - Percentagem de consumo dos reagentes e formação dos produtos identificados em função do tempo de reacção^a

^a - Condições experimentais: Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg), (L)-Me-O-Tyr (11,0 mg; 5 eq.), H₂O, 80°C

A reacção com este aminoácido apresenta uma selectividade semelhante à da reacção com o aminoácido (L)-PhAla, ambas a 80°C.

O **Gráfico 10** demonstra o consumo de Rh₂(OAc)₄, (L)-PhAla e (L)-Me-O-Tyr nas reacções térmicas com os aminoácidos (L)-Phla e (L)-Me-O-Tyr, respectivamente. O consumo de Rh₂(OAc)₄ apresenta o índice (1) na reacção com a (L)-Phla e o índice (2) com a (L)-Me-O-Tyr.

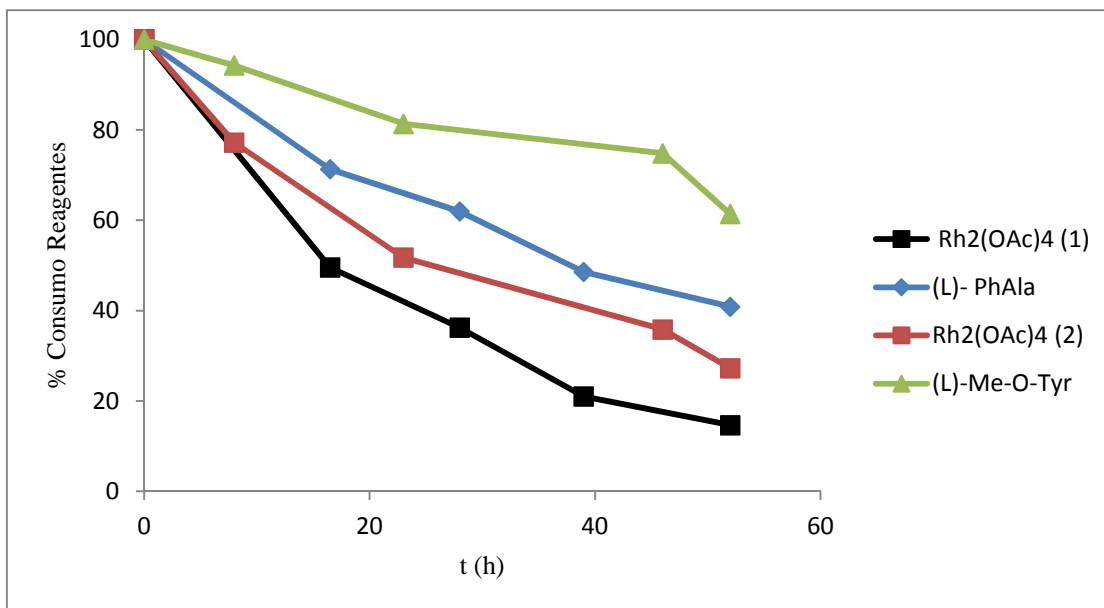


Gráfico 10 - Percentagem de consumo dos reagentes nas reacções térmicas a 80°C com os aminoácidos (L)-PhAla (1) e (L)-Me-O-Tyr (2)

O consumo do reagente comum - Rh₂(OAc)₄ - ocorre de forma mais lenta na reacção com o aminoácido (L)-Me-O-Tyr. Por sua vez, o consumo dos aminoácidos acompanha esta tendência, indicando a formação de espécies com a mesma estequiometria de ligandos permutados. Contrariamente ao esperado, a presença de um grupo doador electrónico em posição para- no anel aromático da (L)-PhAla contribuiu para uma diminuição do carácter coordenante/doador do aminoácido, contudo este facto pode ser devido a questões de impedimento estereoquímico. A utilização de diversos substituintes no anel aromático, com diferentes propriedades electrónicas, permitirá o estabelecimento de uma correlação.

O próximo passo no desenvolvimento deste trabalho será o isolamento dos respectivos isómeros *via* HPLC semi-preparativo. Esta técnica proporcionará obter os diversos isómeros em elevado grau de pureza, que serão analisados por espectroscopia de massa para elucidação parcial da estrutura de cada isómero, nomeadamente o tipo e o número de ligandos presentes. A elucidação posterior das estruturas será efectuada por raios-X.

Os compostos já identificados como os produtos principais da reacção base deste estudo - **Rh₂ D** e **Rh₂ E** - serão isolados e aplicados na reacção de catálise e nos estudos de actividade biológica previamente estabelecidos. Os resultados obtidos serão comparados, não só com os previamente obtidos pelo complexo **109**, visto que este não se encontrava em elevado grau de pureza, como também comparados entre si. A elucidação estrutural de cada composto (possivelmente isómeros geométricos) permitirá estabelecer uma relação entre estrutura e actividades catalítica e biológica.

O isolamento dos isômeros está em decurso, tendo-se conseguido encontrar condições experimentais de resolução dos isômeros no HPLC semi-preparativo. Na **Figura 65** encontra-se o cromatograma obtido na coluna semi-preparativa Phenomenex Luna 10 μ C18, com um eluente isocrático de 75:25 de H₂O:CH₃CN (ambos 0,01% TFA) assim como a correspondência entre picos e compostos. Este cromatograma corresponde a um ensaio preliminar de obtenção de um método de isolamento dos isômeros **Rh₂ D** e **Rh₂ E**.

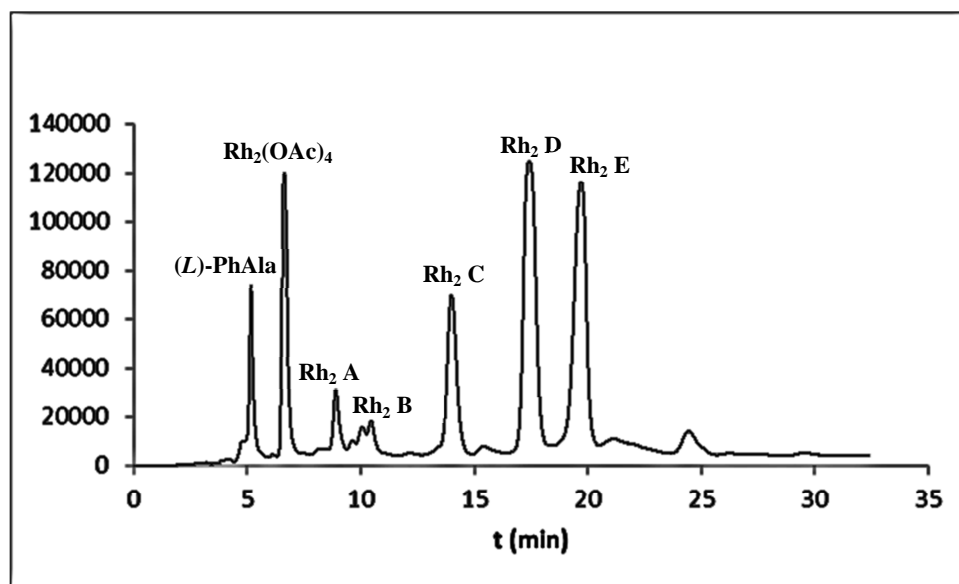


Figura 65 - Imagem do cromatograma obtido nas condições de HPLC semi-preparativo, detecção UV com $\lambda=220$ nm, coluna Phenomenex Luna 10 μ C18(2), eluente 75:25 de H₂O:CH₃CN (ambos com 0,01% TFA)

3.3. Conclusões

A catálise e, mais especificamente, a catálise assimétrica, assume um grande impacto no quotidiano da química, não só a nível de laboratorial como também a nível industrial. Os compostos di-ródio(II) são catalisadores de diversas transformações químicas, apresentando óptimos resultados a níveis de rendimento, selectividade (régio e estéreo), *turnover number* e reutilização. Por outro lado, nas últimas décadas tem-se verificado um interesse crescente na aplicação de compostos baseados em metais de transição, em especial Pt, Re, Rh e Ru como agentes de quimioterapia. Esta grande ambivalência demonstra a enorme potencialidade na descoberta de novos complexos de di-ródio(II) - o principal objectivo deste trabalho.

Neste trabalho desenvolveu-se uma metodologia de análise de compostos de di-ródio(II) por HPLC que permite o desenvolvimento de estudos cinéticos das reacções de permuta de ligandos.

Os produtos principais da reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e a (*L*)-PhAla - **Rh₂ D** e **Rh₂ E** - correspondem, possivelmente, a isómeros geométricos. Estes produtos serão isolados, identificados e aplicados na reacção de catálise de decomposição de compostos diazo e nos estudos de actividade biológica.

A reacção base para o presente estudo demonstrou ser fortemente influenciada por pequenos parâmetros como a temperatura da reacção, a radiação microondas, a presença de uma base inorgânica e a presença de um grupo doador electrónico no anel aromático da (*L*)-PhAla ((*L*)-Me-*O*-Tyr).

A reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e a (*L*)-PhAla em água foi realizada a três temperaturas diferentes 80, 100 e 120°C, observando-se um consumo de reagentes mais rápido quanto maior a temperatura. Por outro lado, a reacção a 80°C fornece o isómero **Rh₂ D** (**109**) em maior proporção do que o isómero **Rh₂ E**, contrariamente ao que se observa nas reacções a 100 e 120°C, nas quais se observa uma inversão de proporção entre estes isómeros. Por fim, apenas a cinética a 120°C permite o consumo total de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ durante as 52 horas de reacção estudadas, observando-se o consumo praticamente total deste reagente às 23 horas (3%); o prolongamento desta reacção conduziu à conversão do produto **Rh₂ D** em **Rh₂ A**.

A mesma reacção conduzida por microondas (80°C criados pela potência de 1 W) demonstrou ser, até às 3 horas e 45 minutos de reacção, notoriamente mais rápida do que a análoga térmica, o que sugere um equilíbrio entre as cinéticas de coordenação da (*L*)-PhAla e re-coordenação do AcOH livre em solução.

Por esta razão, realizou-se a mesma reacção na presença de uma base inorgânica (Na_2CO_3) numa tentativa de aprisionamento no AcOH libertado na reacção. Esta reacção demonstrou a formação de novos produtos, apresentando um deles um

comportamento cromatográfico semelhante ao isómero **Rh₂ E** obtido nas restantes reacções.

Por fim, o estudo da reacção entre o Rh₂(OAc)₄ e a (*L*)-Me-*O*-Tyr em água foi realizado a 80°C, permitindo comparar as cinéticas de coordenação dos dois aminoácidos. A reacção com (*L*)-Me-*O*-Tyr apresentou menores consumos de reagentes e, atendendo ao facto de que estes aminoácidos apenas diferirem num substituinte do anel aromático, pode-se concluir que a presença de grupos substituintes no anel aromático da (*L*)-PhAla afecta a cinética de coordenação de ligandos. Contrariamente ao esperado, a presença do grupo metoxi em posição para- no anel aromático contribuiu para uma diminuição do carácter coordenante/doador do aminoácido, contudo a cinética de coordenação mais lenta pode dever-se à ponderação dos factores electrónico e estereoquímico.

4. Secção Experimental

4.1. Secção Experimental do Capítulo I

4.1.1. Procedimentos Gerais

Todos os solventes usados nas reacções foram destilados e secos sob atmosfera de Árgon, de acordo com os procedimentos gerais⁶⁶, nomeadamente: diclorometano destilado sob CaH₂, tetra-hidrofurano destilado sob CaH₂, trietilamina destilada sob CaH₂.

Os restantes solventes usados nas extracções, purificações por cromatografia e nanofiltração foram apenas destilados, nomeadamente: acetato de etilo, acetona, diclorometano, etanol, éter etílico, hexano, metanol, tolueno.

Todos os reagentes foram adquiridos comercialmente à Merck, Sigma-Aldrich e Fluka.

As cromatografias *flash* foram realizadas em sílica da Merck (Ref. 109385) ou da Sharlau (230-400 mesh ASTM).

As purificações por placa preparativa de cromatografia em camada fina (PCCF) foram realizadas em sílica com revelador 60 G F254 da Merck (Ref. 107730).

As misturas reaccionais foram analisadas por cromatografia em camada fina (CCF) em sílica com revelador 60 F254 da Merck (Ref. 105554) ou em alumina neutra com revelador 60 F254 da Merck (Ref. 105550). A detecção da CCF foi efectuada com luz UV a 254 nm, com ácido fosfomolibdénico ou com KMnO₄. Os eluentes são descritos em cada procedimento experimental.

Os espectros de RMN foram recolhidos num Ultrashield Bruker Avance II 300 ou Bruker Avance II 400 com CDCl₃ como solvente. Todos os desvios químicos de ¹H e ¹³C estão em *ppm* relativamente ao TMS usado como padrão externo. Todas as constantes de acoplamento estão expressas em Hz.

A maioria dos espectros não se encontra identificada atendendo à existência de elevada quantidade de material polimérico ou de degradação dos produtos. Apenas se procedeu à identificação correcta dos espectros que permitiram realmente identificar os produtos obtidos. Todos os outros espectros contribuíram para o desenvolvimento do trabalho e permitiram tirar conclusões acerca do rumo deste, estando descritas as principais conclusões que cada espectro permitiu retirar.

O aparelho de CG usado é da marca SHIMADZU (GC-2014), com uma coluna TRB-50, TR-500233, com comprimento de 30,0 m e diâmetro interno 0,32 mm. A temperatura máxima é de 250°C, utilizando-se uma espessura (*film thickness*) de 0,25 µm; o fluxo utiliza como gás de arrastamento He; velocidade linear: 35,0 cm/s, fluxo total: 106,7 mL/min; fluxo coluna: 2,03 mL/min, razão *split*: 50,0; a temperatura do

injector foi de 280°C, do detector SFID1 de 300°C e da coluna de: 70°C (10 min), 100°C (taxa de aumento=2, 5 min), 200°C (taxa de aumento=5).

As membranas de nanofiltração DURAMEM e STARMEM foram fornecidas pela Membrane Extraction Technology Ltd, UK (MET); DURAMEM™ é uma marca da MET; STARMEM™ é uma marca da W.R. Grace & Co., USA.

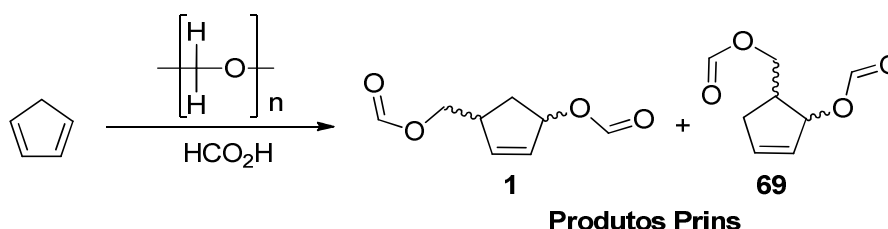
4.1.2. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

4.1.2.1. *Cracking* do dicitopentadieno

O procedimento de *cracking* do dicitopentadieno foi seguido de acordo com a referência⁶⁷.

O ciclopentadieno existe na forma dimérica, uma vez que sofre reacção de Diels-Alder. A cisão do dicitopentadieno ocorre por via térmica (cerca de 200°C), sendo que o ciclopentadieno destila à temperatura de 41°C. Este monómero é recolhido num balão em banho de gelo, de forma a evitar a dimerização. O sistema de *cracking* foi purgado com Árgon, de forma a tornar o meio inerte.

4.1.2.2. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico



Esquema 39 – Esquema da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído

O procedimento desta reacção foi realizado de acordo com Bajorek *et al.*³.

Uma solução de ácido fórmico (10 mL; 265 mmol) foi refluxada com para-formaldeído (1,4 g; 46,6 mmol) até se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida até cerca de -10°C, com agitação, num banho de água, gelo e NaCl. Adicionou-se para-formaldeído (1,0 g; 33,3 mmol) e, posteriormente, numa adição lenta gota-a-gota o ciclopentadieno recentemente destilado (1,29 g; 1,32 mL; 19,5 mmol). Manteve-se a solução à temperatura de -10°C por 2 horas e depois manteve-se à temperatura ambiente, tendo esta passado de incolor com partículas de para-formaldeído insolúveis

para preta gradualmente. A reacção foi seguida por CCF e reagiu durante cerca de 60 horas, obtendo-se uma solução preta como esperado, R_f (sílica, Hexano/AcOEt 8:2): 0,61.

Para o *work-up* desta reacção, diluiu-se a mistura reaccional com água e neutralizou-se com NaHCO_3 . Depois, filtrou-se a solução para a remoção da emulsão preta formada e procedeu-se à extracção com éter etílico, utilizando como fase aquosa uma solução aquosa saturada em NaCl . A fase orgânica - solução amarelada - foi seca utilizando-se como agente excicante Na_2SO_3 anidro e, após nova filtração, evaporou-se o solvente a pressão reduzida, obtendo-se um óleo laranja **I** (1,249 g), R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2): 0,61.

Este óleo laranja **I** foi purificado por cromatografia em coluna, com Hex/AcOEt num gradiente de 100% Hex a 20% AcOEt, tendo-se recolhido 6 fracções - **Ia** (3 mg), **Ib** (28 mg), **Ic** (11 mg), **Id** (22 mg), **Ie** (250 mg) e **If** (254 mg), que foram analisadas por ^1H RMN.

As fracções **Ia** (**Anexo 5.1.2, Figura 69**) e **Ib** indicam a presença dos produtos Prins assim como produtos estruturalmente semelhantes, estando a segunda fracção em menor grau de pureza. Por sua vez, a fracção **Ic** demonstra produtos Prins em proporção minoritária, com elevada quantidade de impurezas estruturalmente semelhantes assim como material polimérico. Por fim, as fracções **Id-If** são constituídas maioritariamente por material polimérico e contêm resíduos dos produtos Prins assim como das impurezas estruturalmente semelhantes.

Para os diversos espectros obtidos, a contaminação de polímero em todas as amostras não permite uma identificação espectral com significado físico, onde se associem valores de desvios químicos com protões.

4.1.2.3. Repetição da reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

A reacção foi realizada como referido anteriormente (secção **4.1.2.2**), numa escala 5 vezes superior.

O *work-up* desta reacção também seguiu a mesma metodologia, com excepção do uso de Na_2CO_3 para a neutralização da mistura reaccional. No fim deste procedimento obtiveram-se 7,625 g do óleo laranja **I**.

A destilação do óleo laranja **I** (7,625 g) foi realizada a pressão reduzida, tendo-se recolhido duas fracções distintas: a primeira **Ia** recolhida a 110°C (3,3673 g; R_f (sílica, Tolueno/Acetona 9:1): 0,68) e a segunda **Ib** à temperatura de 140°C (0,5183 g; R_f

(sílica, Tolueno/Acetona 9:1): 0,43, banda com arrastamento), com aparência viscosa. A análise por ^1H RMN e ^{13}C RMN da fracção **IIb** (Anexo 5.1.2, Figuras 72 e 73) mostrou a existência de picos poliméricos, facto que conjugou com a sua elevada viscosidade e banda de arrastamento na CCF. Por sua vez, a fracção **IIa** (Anexo 5.1.2, Figuras 70 e 71) evidenciou estruturas dos produtos Prins, contudo com elevado grau de impureza. Também nesta amostra, a contaminação de polímero não permite uma identificação espectral correcta, na qual se associem valores de desvios químicos com prótons/Carbonos.

Uma amostra da fracção **IIa** (0,2016 g) proveniente da destilação a pressão reduzida foi purificada por cromatografia em coluna, com Tol/Acetona num gradiente de 100% Tol a 20% Acetona, tendo-se recolhido 3 fracções **IIa1**, **IIa2** e **IIa3**, que foram analisadas por ^1H RMN e ^{13}C RMN. A fracção **IIa1** (Anexo 5.1.2, Figuras 74 e 75) demonstrou corresponder a uma mistura dos produtos Prins **1** e **69** - Figura 66 - em grau de pureza satisfatório. Por sua vez, a fracção **IIa2** corresponde a esta mistura em grau de pureza inferior e a fracção **IIa3** corresponde a material polimérico.

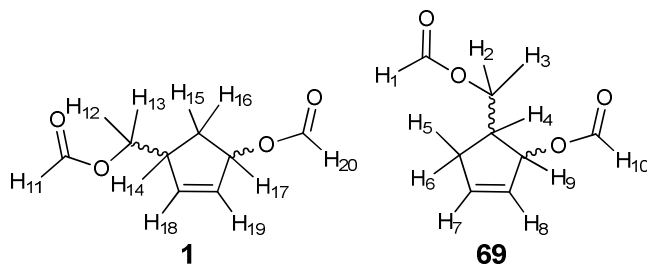


Figura 66 - Estrutura dos produtos Prins **1** e **69** numerada para análise ^1H RMN

IIa1 - ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 25°C , TMS): δ 1,96-2,0 (2H, m, H_6 , H_{16}), 2,41-2,51 (1H, m, H_5), 2,92-3,2 (3H, m, H_4 , H_{14} , H_{15}), 3,97-4,17 (4H, m, H_2 , H_3 , H_{12} e H_{13}), 5,59-5,85 (2H, m, H_9 , H_{17}), 5,85-6,0 (4H, m, H_7 , H_8 , H_{18} , H_{19}), 7,95-8,0 (4H, s, H_1 , H_{10} , H_{11} e H_{20}). É de salientar que as integrações obtidas nos espectros não correspondem exactamente ao número de prótons indicados, uma vez que os produtos **1** e **69** não se encontram presentes na amostra em proporções idênticas.

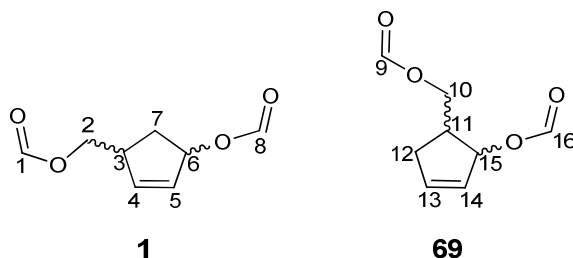
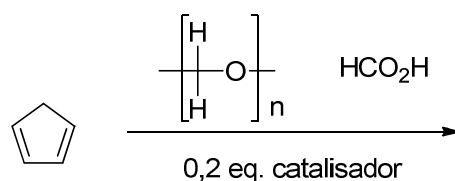


Figura 67 - Estrutura dos produtos Prins **1** e **69** numerada para análise ^{13}C RMN

IIa1 - ^{13}C RMN (300 MHz, CDCl_3 , 25°C , TMS): δ 33,1-34,4 (C_7 , C_{12}), 42,7-43,8 (C_3 , C_{11}), 64,7-66,4 (C_2 , C_{10}), 76,8-81,8 (C_6 , C_{15}), 128,2-131,1 (C_{13} , C_{14}), 136,7-138,2 (C_4 , C_5), 160,71-160,86 (C_1 , C_8 , C_9 e C_{16}).

4.1.3. *Screening* de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

O *screening* foi realizado pela adição de 0,2 equivalentes do catalisador em relação ao ciclopentadieno à reacção descrita na secção 4.1.2.2, com excepção do ensaio N cujo catalisador AuClPPh_3 que foi utilizado em 0,02 eq. Foram realizadas duas sessões experimentais, com 9 ensaios cada, sendo os ensaios A-I numa escala 1/5 da descrita e os ensaios J-R numa escala 1/10 da descrita.



Esquema 40 - *Screening* de catalisadores na reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

4.1.3.1. Ensaio A-I de *screening* de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

Uma solução de ácido fórmico (20 mL; 530 mmol) foi refluxada com para-formaldeído (2,8 g; 93,2 mmol) até se obter uma solução límpida. Transferiu-se 2 mL desta solução para cada *vial* A-I contendo a devida quantidade de catalisador (0,78 mmol, cf. **Tabela 10**) e as misturas reaccionais foram arrefecidas até cerca de -10°C , com agitação, num banho de água, gelo e NaCl. Em cada ensaio adicionou-se para-formaldeído (0,2 g; 6,6 mmol) e, posteriormente, numa adição lenta o ciclopentadieno recentemente destilado (0,258 g; 264 μL ; 3,9 mmol). As adições de ciclopentadieno referentes aos ensaios D e E demonstraram elevado carácter exotérmico com a consequente formação de precipitado preto. As misturas reaccionais mantiveram-se à temperatura de cerca de -10°C por 2 horas e depois à temperatura ambiente. As reacções foram seguidas por CCF e reagiram durante cerca de 60 horas, obtendo-se soluções com diferentes cores e R_f (sílica, Hexano/AcOEt 8:2) - **Tabela 10**.

O *work-up* foi realizado a 0,25 mL de cada mistura reaccional, adicionando-se lentamente 0,5 mL de água, seguido de solução saturada de NaHCO_3 até a solução estar neutra (análise por papel revelador de pH). A extracção foi realizada com éter etílico,

seguida de secagem da fase orgânica com agente excicante Na₂SO₄ anidro, filtração e evaporação do solvente.

A **Tabela 10** sumariza as observações experimentais consideradas relevantes para cada amostra, como a cor da mistura reaccional após cerca de 60 horas e o R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) após *work-up* das reacções.

Tabela 10 - Observações experimentais - cor da reacção e R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) - dos ensaios A-I de *screening* de catalisador para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

Entrada	Catalisador	Massa (mg)	Cor da reacção	R _f
A	Branco 1	-	Preto	0,45
B	<i>p</i> -TsOH	156	Preto	0,21
C	ZnCl ₂	109	Preto	0,21; 0,45
D	FeCl ₃	129	Preto	0,21
E	BF ₃ OEt ₂	96,2 μL	Preto	0,21
F	CaCl ₂ ·2H ₂ O	114	Preto	0,21; 0,44
G	MgO	32	Cinzento	0,21; 0,56
H	CuCl ₂ ·2H ₂ O	133	Preto	0,21
I	LaCl ₃	192	Preto	0,21

4.1.3.2. Ensaios J-R de *screening* de catalisadores para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

Uma solução de ácido fórmico (10 mL; 265 mmol) foi refluxada com para-formaldeído (1,41 g; 46,6 mmol) até se obter uma solução límpida. Transferiu-se 1 mL desta solução para cada *vial* A-I contendo a devida quantidade de catalisador (0,39 mmol, cf. **Tabela 11**) e as misturas reaccionais foram arrefecidas até cerca de -10°C, com agitação, num banho de água, gelo e NaCl. Em cada ensaio adicionou-se para-formaldeído (0,1 g; 3,3 mmol) e, posteriormente, numa adição lenta o ciclopentadieno recentemente destilado (0,129 g; 132 μL; 1,95 mmol). As misturas reaccionais mantiveram-se à temperatura de cerca de -10°C por 2 horas e depois manteve-se à temperatura ambiente. As reacções foram seguidas por CCF e reagiram durante cerca de 60 horas, obtendo-se soluções com diferentes cores e R_f (sílica, Hexano/AcOEt 8:2) - **Tabela 11**.

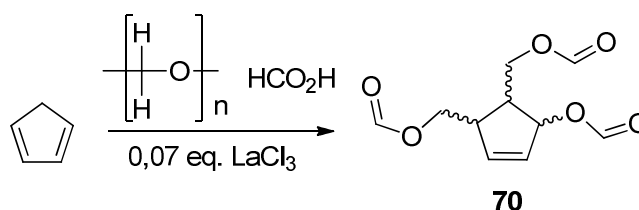
O *work-up* foi realizado a 0,25 mL de cada mistura reaccional, adicionando-se lentamente 0,5 mL de água, seguido de solução saturada de NaHCO₃ até a solução estar neutra (análise por papel revelador de pH). A extracção foi realizada com éter etílico, seguida de secagem da fase orgânica com agente excicante Na₂SO₄ anidro, filtração e evaporação do solvente.

A **Tabela 11** sumariza as observações experimentais consideradas relevantes para cada amostra, como a cor da mistura reaccional após cerca de 60 horas e o R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) após *work-up* das reacções.

Tabela 11 - Observações experimentais - cor da reacção e R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2) - dos ensaios J-R de *screening* de catalisador para a reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico

Entrada	Catalisador	Massa (mg)	Cor da reacção	R_f
J	Branco 2	-	Preto	0,42
K	Amberlyst	17	Preto	0,42
L	Molecular Sieves	16	Cinzento	0,42; 0,69
M	CoCl ₂ ·6H ₂ O	94	Preto	0,42
N	AuClPPh ₃	20	Preto	0,41
O	PdCl ₂	70	Castanho	0,41
P	RuCl ₃ ·xH ₂ O	80	Verde escuro	-
Q	SnCl ₂ ·2H ₂ O	88	Preto	0,14; 0,41
R	AlCl ₃	52	Preto	0,14

4.1.4. Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico catalisada por LaCl₃



Esquema 41 - Reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído em ácido fórmico catalisada por LaCl₃

Uma solução de ácido fórmico (50 mL; 1,3 mol) foi refluxada com para-formaldeído (7,008 g; 233 mmol) até se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida até cerca de -7°C, com agitação, num banho de água, gelo e NaCl. Adicionou-se para-formaldeído (5,008 g; 167 mmol), LaCl₃ (2,508 g; 0,07 eq.) e, posteriormente, adicionou-se gota-a-gota o ciclopentadieno recentemente destilado (6,45 g; 6,59 mL; 98 mmol). Manteve-se a solução à temperatura de -7°C por 2 horas e depois manteve-se à temperatura ambiente, tendo esta passado de incolor com partículas de para-formaldeído insolúveis para preta gradualmente. A reacção foi seguida por CCF e reagiu durante cerca de 60 horas, obtendo-se uma solução preta como esperado.

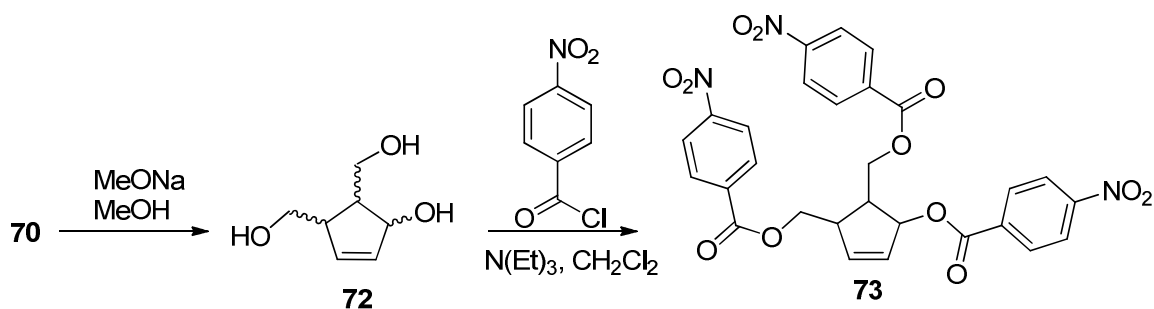
Para o *work-up* desta reacção, diluiu-se a mistura reaccional com água e neutralizou-se com Na₂CO₃. Depois, filtrou-se a solução para a remoção da emulsão preta formada e procedeu-se à extracção (éter etílico, CH₂Cl₂ e 2 x AcOEt), utilizando como fase aquosa uma solução aquosa saturada em NaCl. A fase orgânica - solução amarelada - foi seca utilizando-se como agente excicante Na₂SO₃ anidro e evaporou-se o solvente a pressão reduzida, obtendo-se um óleo laranja (5,042 g), R_f (sílica, Hex/AcOEt 8:2): 0,09 e 0,30.

Uma amostra deste óleo foi submetida a cromatografia em coluna, com Hex/AcOEt 80:20, seguida de cromatografia em placa preparativa, com Hex/AcOEt 50:50, obtendo-se duas fracções que foram analisadas por ^1H RMN e ^{13}C RMN (**Anexo 5.1.2, Figuras 76-79**) - uma **IIIa** com uma mistura de 2 compostos e outra **IIIb** com um composto cuja identificação estrutural indicou o composto **70**. Esta amostra foi submetida a análise de massa (**Anexo 5.1.3, Figura 108**) e, embora o espectro obtido suporte a estrutura **70**, não lhe confere validade absoluta. O espectro obtido apresenta uma linha de base com muito ruído, atendendo a diversas cisões moleculares dos oligómeros presentes da amostra e os picos de maior intensidade relativa correspondem a iões moleculares possíveis, embora não absolutos na elucidação da estrutura **70**. Para além disso, verifica-se a presença de um ião molecular com massa molar correspondente à molécula **70** associado ao Na^+ da matriz ($m/z = 251$).

Uma nova amostra deste óleo (2,755 g) foi destilada a pressão reduzida, contudo esta operação apenas forneceu uma gota de destilado após aquecimento do banho a 160°C .

4.1.5. Isolamento e identificação dos novos produtos Prins obtidos na reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3

4.1.5.1. Derivatização de **70** com vista à obtenção de **73**

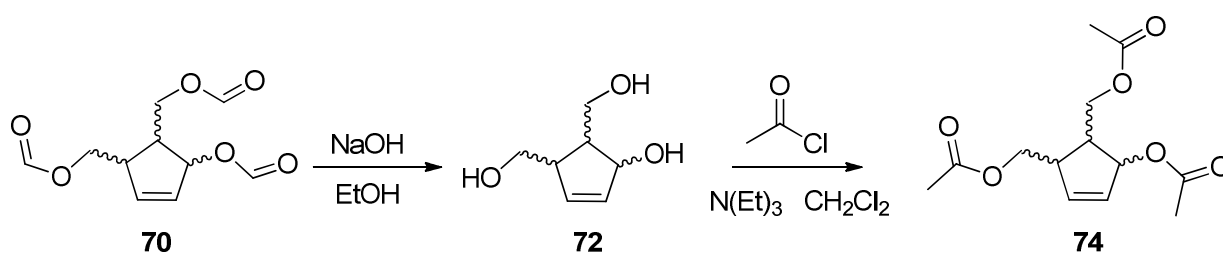


Esquema 42 - Esquema da reacção de derivatização de **70** com o objectivo de obter **73**

A uma solução do triéster **70** (2,287 g; amostra da experiência **4.1.4**), em 10 mL de MeOH adicionou-se MeONa (0,5925 g) à temperatura ambiente e em atmosfera de Árgon e seguiu-se a reacção por CCF. Após 6 horas à temperatura ambiente, colocou-se a mistura reaccional num banho a 45°C e deixou-se reagir mais 24 horas. O solvente foi removido a pressão reduzida e o triol **72** foi apenas identificado por CCF R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,11.

A uma solução do triol **72** e TEA (4 eq.; 5,56 mL) em CH₂Cl₂ sob atmosfera de Árgon em banho de gelo adicionou-se uma solução de cloreto de 4-nitro-benzoílo (3,3 eq.; 6,14 g) em CH₂Cl₂ para dar a espécie **73**. Dada a baixa solubilidade do cloreto de ácido no solvente, a adição não foi lenta, verificando-se um elevado carácter exotérmico da reacção. A reacção foi seguida por CCF e prosseguiu à temperatura ambiente durante 21 horas e por mais 27 horas num banho a 40°C, tendo-se obtido uma solução acastanhada. Após evaporação do solvente adicionou-se EtOH para assegurar consumo completo do cloreto de ácido e deixou-se a reagir durante cerca de uma hora. A análise por CCF indicou a formação de 2 produtos mais apolares: R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,73 e R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,83. A mistura reaccional foi cromatografada por PCCF de sílica com Hex/AcOEt 7:3, de onde foram isoladas 5 fracções **IVa-e**. A análise por ¹H RMN e ¹³C RMN da amostra mais pura (**IVa**, Anexo 5.1.2, Figura 80) demonstrou degradação do produto **73**, dado que as integrações das zonas aromática e olefínica não correspondem.

4.1.5.2. Derivatização de **70** com vista à obtenção de **74** via hidrólise com NaOH

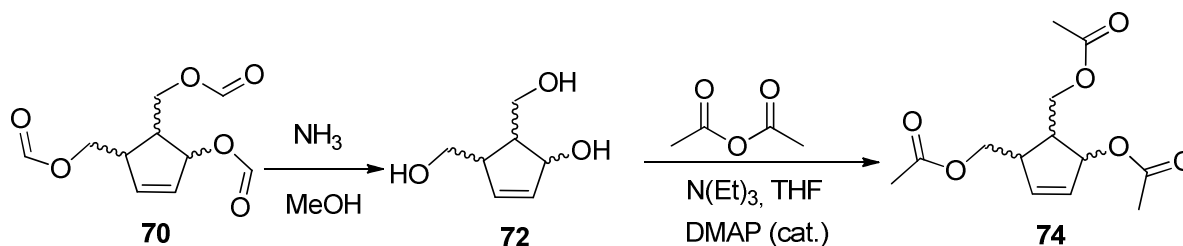


Esquema 43 - Esquema da reacção de derivatização de **70** com o objectivo de obter **74**

A uma solução do triéster **70** (1,07 g; amostra da experiência 4.1.4) em 10 mL de EtOH num banho de gelo adicionou-se NaOH (3 eq.; 0,58 g), que permaneceu maioritariamente insolúvel. Seguiu-se a reacção por CCF e ao fim de 20 horas de reacção à temperatura ambiente detectou-se a formação quantitativa da espécie **72** por CCF - R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,11. A mistura reaccional foi filtrada para remoção das partículas de NaOH insolúveis e o solvente foi evaporado a pressão reduzida.

A uma solução do triol **72** (~1 g) e TEA (10 mL) em CH₂Cl₂ (25 mL) sob atmosfera de Árgon em banho de gelo adicionou-se lentamente o cloreto de acetilo (5 eq.; 3,2 mL) em CH₂Cl₂ para dar a espécie **74**. A análise por CCF desta reacção não pareceu promissora, pelo que não se procedeu ao isolamento deste produto.

4.1.5.3. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 74 via aminólise

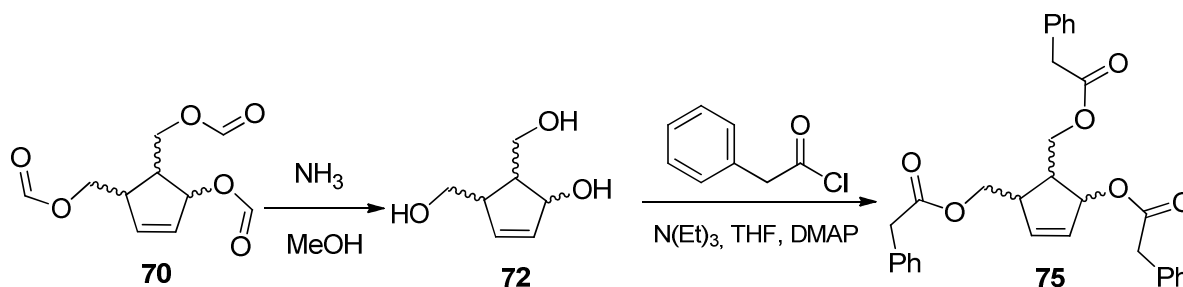


Esquema 44 – Esquema da reacção de derivatização de **70** com o objectivo de obter **74**

A uma solução do triéster **70** (2,064 g; amostra da experiência 4.1.4) em de MeOH (altura da solução no reactor: 4 cm) num reactor de alta pressão, num banho *sluch* a -40°C, fez-se borbulhar NH_3 . Quando a altura da solução no reactor atingiu os 5,5 cm, o reactor foi selado e deixou-se a reacção prosseguir à temperatura ambiente durante cerca de 24 horas. Após remoção do excesso de NH_3 , evaporou-se o solvente a pressão reduzida e dividiu-se a amostra do triol **72** (R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,11) em duas fracções distintas.

A uma solução do triol **72** (~1 g) em THF (22 mL) sob atmosfera de Árgon em banho de gelo e TEA (4 eq; 4 mL) adicionou-se lentamente o anidrido acético (3 eq.; 2 mL) e seguiu-se a reacção por CCF durante 26 horas. Atendendo ao baixo desenvolvimento da reacção, após esse tempo adicionou-se uma quantidade catalítica de DMAP e deixou-se a mistura reaccional a reagir durante 3 dias. Após evaporação do solvente a pressão reduzida obteve-se um óleo laranja escuro (R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3):0,34) que foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como fase móvel um gradiente de 100% hexano a 30% acetato de etilo, tendo-se recolhido 2 fracções **Va-b**, com aspecto de óleo amarelo. A primeira fracção (**Va**, Anexo 5.1.2, Figuras 81 e 82) parece corresponder a uma mistura de dois produtos com semelhanças estruturais, difícil de identificar e a segunda (**Vb**) material polimérico.

4.1.5.4. Derivatização de 70 com vista à obtenção de 75



Esquema 45 - Esquema da reacção de derivatização de **70** com o objectivo de obter **75**

A uma solução da segunda fracção do triol **72** (0,7627 g) em THF (10 mL) e TEA (4 mL) sob atmosfera de Árgon em banho de gelo adicionou-se lentamente uma solução do cloreto de fenilacetilo (4,33 g; 3,7 mL; 4,0 eq) em THF (10 mL) também em atmosfera de Árgon. Dada a formação de espuma e precipitado, adicionou-se mais 5 mL de THF e deixou-se a mistura reaccional - solução creme - à temperatura ambiente. Seguiu-se a reacção por CCF e após 6 horas adicionou-se uma quantidade catalítica de DMAP. Após cerca de 24 horas a análise por CCF mostrou um consumo completo do triol **70**. Procedeu-se à extracção com THF e CH_2Cl_2 , secou-se a fase orgânica com Mg_2SO_3 anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. Este *crude* foi purificado por PCCF usando como eluente Hex/AcOH 7:3, tendo-se obtido 4 fracções de aparência óleos amarelados. A análise por ^1H e ^{13}C RMN demonstrou que apenas uma das fracções continha sinais olefínicos, contudo o espectro não foi suficiente para a sua identificação. Foi ainda possível identificar a existência do ataque do MeOH (resíduos da aminólise) ao cloreto de ácido. A amostra que continha sinais olefínicos (31 mg) foi novamente purificada por cromatografia, obtendo-se 21 mg de um óleo amarelo pálido cujos espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN (Via, Anexo 5.1.2, Figuras 83 e 84) demonstram degradação do produto, visto que não apresentam protões olefínicos.

4.1.6. Tentativa de optimização adicional da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

Realizaram-se 4 reacções (1-4) similares à descrita na secção 4.1.4, numa escala $\frac{1}{2}$ da referida na secção 4.1.2.2 As alterações consistem nas fontes de ácido de Brönsted utilizadas: ácidos fórmico e acético e fórmico (5 mL para ambos) e de formaldeído: para-formaldeído (0,7 + 0,5 g) e formaldeído aquoso 37% (3,2 mL). Na reacção **4** não foi utilizado ácido de Brönsted pelo que se utilizou um solvente aprótico - THF (5 mL).

As reacções foram seguidas por CCF, sendo que as reacções **1-3** demonstraram a formação de produtos Prins, ao contrário da reacção **4** que não demonstrava a formação de qualquer tipo de produto.

Após *work-up* verificou-se que a reacção **3** apresentava um rendimento substancialmente inferior pelo que apenas as reacções **1** e **2** foram isoladas por cromatografia em placa. A análise por ^1H RMN (**Anexo 5.1.2, Figuras 85 e 86**) indica a presença de elevada quantidade de material polimérico que não permite uma correcta identificação estrutural.

A **Tabela 12** sumariza as condições reaccionais alteradas face à reacção descrita na secção **4.1.2.2**, as observações experimentais e o R_f (sílica, Hex/AcOEt 7:3) e massa obtidos após *work-up*.

Tabela 12 - Condições experimentais, observações e R_f e massas obtidos após *work-up* das reacções **1-4**

Entrada	Ácido de Brönsted	Formaldeído	Observações	R_f	Massa (mg)
1	Ácido fórmico	Formaldeído aquoso 37%	Solução acastanhada	0,16; 0,54	790,7
2	Ácido acético	Formaldeído aquoso 37%	Solução creme	0,16; 0,54	866,2
3	Ácido acético	Para-formaldeído	Solução castanho escuro	0,16; 0,54	310
4	-	Formaldeído aquoso 37%	Solução Incolor	-	-

4.1.7. Isolamento dos novos produtos Prins com recurso à nanofiltração.

Após lavagem do PEG da membrana, foi introduzida a amostra na célula dissolvida em 8 mL de AcOEt. Foi aplicada uma pressão no extremo superior da célula com N_2 e recolheu-se 4 mL de permeado. Ambas as fracções - permeado (fracção que atravessa a membrana) e retentado (fracção que permanece na célula) foram recolhidas, o solvente evaporado a pressão reduzida e analisados por CCF.

Realizaram-se 3 ensaios de nanofiltração utilizando 3 membranas distintas. A **Tabela 13** sumariza as condições de cada ensaio.

Tabela 13 - Condições dos 3 ensaios de nanofiltração (pressão, agitação e massas)

Entrada	Membrana	Pressão (bar)	Agitação (rpm)	m_{amostra} (mg)	$m_{\text{retentado}}$ (mg)	m_{permeado} (mg)
1	MET DURAMEM TM 300	30	500	509,7	375,2	89,3
2	MET STARMEM TM 122	22	300	502,0	293,1	45,7
3	MET DURAMEM TM 200	22	300	371,5	190,3	109,3

As amostras de retentado e permeado de cada ensaio foram analisadas por ^1H RMN e ^{13}C RMN, tendo-se concluído que ocorre uma concentração dos novos produtos Prins

no permeado, verificando-se que uma conseqüente maior acumulação de polímero no retentado.

Realizaram-se 4 cromatografias em placa preparativa aos permeados dos 3 ensaios que sofreram purificação por nanofiltração e uma quarta ao produto obtido após *work-up* da reacção (*crude*). As fracções isoladas foram analisadas por ^1H RMN, tendo-se verificado uma maior purificação da amostra da entrada **1**, não só em relação às entradas **2** e **3**, como também ao *crude*. Os espectros referentes às amostras **1-3** após nanofiltração - retentado (^1H RMN) e permeato (^1H RMN e ^{13}C RMN) - e após cromatografia do permeato (^1H RMN), assim como os espectros do *crude* antes (^1H RMN e ^{13}C RMN) e depois de cromatografia (^1H RMN) são apresentados no **Anexo 5.1.2, Figuras 77-101**.

Realizou-se uma sessão de nanofiltração com perfil de *scale-up* (ensaio **4**) numa célula de maior volume, utilizando-se a membrana MET DURAMEMTM 300. A pressão aplicada foi cerca de 20 bar com uma agitação de 300 rpm.

Dissolveu-se a amostra proveniente da reacção de Prins catalisada pelo LaCl_3 (4,3267 g de amostra em 30 mL AcOEt) e introduziu-se nesta célula, aplicou-se a pressão alvo e fez-se sucessivas recolhas de permeado (12x15 mL) e reposição de solvente.

As soluções dos 12 permeados e do retentado foram evaporadas a pressão reduzida e foram analisadas por CCF, ^1H RMN e ^{13}C RMN. A análise espectral relevou que os permeados 1-5 estavam em grau de pureza superior aos restantes e, portanto, estes permeados foram seleccionados para cromatografia ($\eta_{\text{nanofiltração}} = 88,7\%$).

Realizaram-se 23 cromatografias em placas preparativas à amostra dos permeados 1-5 (3,836 g), obtendo-se 394,2 mg de amostra **VIIa** ($\eta_{\text{cromatografia}} = 10,7\%$), em maior grau de pureza verificada por ^1H RMN e ^{13}C RMN (**Anexo 5.1.2, Figuras 102 e 103**).

Uma amostra do produto obtido foi submetida a uma nova placa cromatográfica, obtendo-se uma amostra **VIIb** ($\eta_{\text{cromatografia}} = 65\%$) que foi analisada por ^1H RMN, ^{13}C RMN, DEPT 135, HMQS e COSY (homonuclear de protão) (**Anexo 5.1.2, Figuras 104-107**). O espectro de ^{13}C RMN indica uma amostra rica nos 2 produtos em diferentes proporções, tendo sido efectuada uma correspondência entre os sinais do ^{13}C RMN e os Carbonos dos produtos **70** e **71a** ou **71b** - **Figura 68**. O espectro ^1H RMN apresenta os picos característicos, com integrações compatíveis, contudo a baixa resolução não permite uma análise correcta.

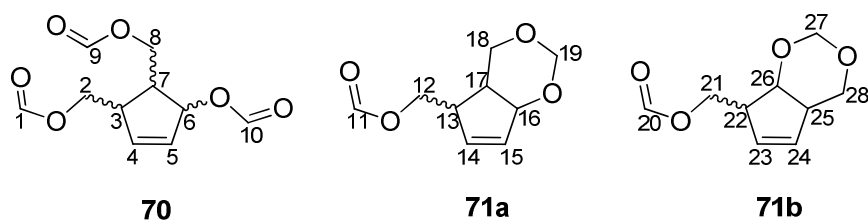


Figura 68 - Estrutura dos novos produtos Prins **70** e **71a** ou **71b** numerada para análise ^{13}C RMN

^{13}C RMN (300 MHz, CDCl_3 , 25°C , TMS): δ 40,0 (C_{17} ou C_{25}), 44,8 (C_{13} ou C_{22}), 46,3 (C_3), 46,9 (C_7), 63,8 (C_8), 64,2 (C_{18} ou C_{21}), 65,4 (C_2), 65,9 (C_{12} ou C_{28}), 79,0 (C_{16} ou C_{26}), 80,8 (C_6), 91,3 (C_{19} ou C_{27}), 130,4 (C_4), 131,9 (C_{14} ou C_{24}), 136,2 (C_2), 139,3 (C_{15} ou C_{23}), 160,6 (C_{10}), 160,7 (C_1 , C_9), 160,9 (C_{11} ou C_{20}).

4.2. Secção Experimental do Capítulo II

4.2.1. Procedimentos Gerais

Todos os reagentes foram adquiridos comercialmente.

O HPLC utilizado é constituído por uma bomba LC-20AT da Shimadzu, um detector UV-Vis Gilson 118 da Merck com $\lambda=220$ nm. A coluna utilizada na obtenção dos cromatogramas apresentados é KROMASIL 100 C18 02671 (250 x 4,6 mm).

O microondas utilizado é da CEM, modelo Discover.

Os solventes utilizados no HPLC foram a água milipore, que foi filtrada numa membrana de acetato de celulose (0,45 μ m, 47 MM) e o CH₃CN, que foi adquirido à Sigma-Aldrich e à Panreac. Na preparação dos eluentes foi adicionado 0,01% de ácido trifluoroacético (TFA) filtrado e, posteriormente, os eluentes foram desgaseificados em banho de ultra-sons durante 30 minutos.

Para a análise das reacções entre o Rh₂(OAc)₄ e a (*L*)-PhAla foi utilizado um programa de gradiente de 90:10 de H₂O:CH₃CN (ambos 0,01% TFA), t=25 min; 78:22 de H₂O:CH₃CN (ambos 0,01% TFA), t=60 min (período de transição dos eluentes entre os 25 e os 30 minutos da corrida cromatográfica), com caudal de 1,0 mL/min. Por sua vez, para a análise da reacção entre o Rh₂(OAc)₄ e a (*L*)-Me-*O*-Tyr foi utilizado um programa de gradiente de 90:10 de H₂O:CH₃CN (ambos 0,01% TFA), t=20 min; 74:26 de H₂O:CH₃CN (ambos 0,01% TFA), t=60 min (período de transição dos eluentes entre os 20 e os 25 minutos da corrida cromatográfica), com caudal de 1,0 mL/min.

4.2.2. Reacção entre Rh₂(OAc)₄ e a (*L*)-PhAla

A uma solução de Rh₂(OAc)₄ (5,0 mg) em água (5,75 mL) adicionou-se (*L*)-PhAla (9,4 mg) e deixou-se a mistura reaccional a agitar à temperatura ambiente durante 80 minutos, tempo ao qual se retirou a primeira amostra (0 horas de reacção).

Colocou-se a mistura reaccional num banho a 80°C e seguiu-se a reacção por HPLC até às 52 horas de reacção.

Verificou-se a mudança da solução do azul típico de Rh₂(OAc)₄ em água para o verde típico do complexo **109**.

A reacção por microondas seguiu o mesmo procedimento, com a variante da temperatura de 80°C ser proveniente da aplicação de radiação constante de 1 W. Os tempos de análise desta reacção estão afectados de um atraso devido ao tempo de arrefecimento do aparelho, necessário para a remoção das amostras.

A reacção na presença de base inorgânica foi realizada de forma análoga, adicionando-se também à mistura reaccional Na_2CO_3 (5,2 eq.; 31,2 mg). Após adição da base, a mistura reaccional ficou azul/arroxeadada e, após introdução do balão no banho a 80°C , verificou-se a mudança de cor para azul petróleo. Após uma hora de reacção, a solução adoptou a cor esverdeada, tornando-se sucessivamente mais amarelada no decorrer das horas.

A reacção térmica a 100°C foi realizada da mesma forma.

A reacção térmica a 120°C requereu a utilização de um reactor de alta pressão da Aldrich, observando-se a precipitação de um sólido verde.

4.2.3. Reacção entre $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e a (*L*)-Me-*O*-Tyr

A uma solução de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ (5,0 mg) em água (5,75 mL) adicionou-se (*L*)-Me-*O*-Tyr (11,0 mg) e deixou-se a mistura reaccional a agitar à temperatura ambiente durante 80 minutos, tempo ao qual se retirou a primeira amostra (0 horas de reacção).

Colocou-se a mistura reaccional num banho a 80°C e seguiu-se a reacção por HPLC até às 52 horas de reacção.

Verificou-se a mudança da solução do azul típico de $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ em água para o verde típico do complexo **111**, mais claro que o **109**.

5. Anexos

5.1. Anexos capítulo I

5.1.1. Dados dos cromatogramas do *screening* de catalisadores na reacção de Prins entre o ciclopentadieno e o para-formaldeído

Tabela 14 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 5.8 mg dos produtos Prins (padrão) em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	19458553	12388515	2,12	4625	1314	3,71	1582	361
1,62	14353161	8439652	2,21	3444	683	4,03	1119	390
1,79	1007	582	2,31	1467	545	48,73	19605	1719
1,99	9299	4522	2,41	1117	293	49,22	18257	1787
2,06	1876	941	2,61	40872603	13526891	49,64	1126	144

Tabela 15 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra A + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura
12,34	130421	18878
28,04	41040	5443
29,47	8440	1046
29,91	150015	18307

Tabela 16 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra B + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	58646091	35227288	3,06	8550	3367	44,56	4944	1444
1,79	4512	2632	12,39	114371	18084	48,12	2118	381
2,32	2098	960	39,56	1743	433	49,15	2838	748

Tabela 17 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra C + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
7,75	3539	664	39,54	4371	1057	48,11	2383,7	387
8,20	2516	485	40,19	1693	406	48,453	1037,2	167,9
11,97	6731	1025	40,57	1580	318	48,672	4565,6	776,3
12,39	223793	34547	41,37	1673	452	48,781	1339,4	326,8
28,07	43454	5770	45	13659,5	3696,2	49,006	8100,2	864,7
29,50	9085	1068	45	1767,7	553,2	49,249	6266,8	502,6
29,94	163347	19944	46,47	3030,8	912	49,462	1465,5	219,1
32,38	1303	198	47,384	1703,2	300,8	49,572	1634,5	420,6
38,04	1330	317						

Tabela 18 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra D + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,52	50902237	23421452	3,02	1372	315	45,33	1532	470
1,57	23371412	16834034	12,34	214134	31590	48,12	2012	326
1,74	22054	6568	39,53	2366	595	48,41	2082	317
2,27	3200	896	44,55	10974	3130	49,58	1332	274

Tabela 19 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra E + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,58	17427266	13475246	48,39	1278	172
1,80	2883	1746	49,28	2389	246
12,37	38415	6134	49,48	1697	177
48,09	2468	375			

Tabela 20 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra F + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	61460202	37878705	9,32	1912	334	41,355	2943	800,5
1,79	7695	4638	11,94	7360	1118	44,544	11205,5	3088,6
1,88	1694	558	12,37	176378	27292	45,324	1789,2	551,4
2,31	2819	1309	28,05	26423	3529	46,462	1357,8	383,7
3,06	2139	786	29,47	5511	680	48,118	1431	256,7
6,60	2251	522	30	100310,3	12395,2	48,66	1239,6	315,4
7,73	2153	422	40	8188,7	2053	49,149	1273,1	201,1
8,19	1639	314	40,562	1603,9	376,6			

Tabela 21 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra G + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,50	3189	1728	8,19	1977	395	29,88	48453	5857
1,57	21304415	15664889	11,93	8771	1340	38,91	1196	270
1,79	4952	2563	12,34	53104	8557	40	2905,5	479,3
1,89	11819	6375	28,05	13099	1707	48	1621,5	263,8
2,31	1058	600	29,48	2621	339	48,386	2291,7	281,6
7,73	2259	494						

Tabela 22 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra H + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura
1,57	1304450	833740
12,34	4405	697
48,11	1614	306

Tabela 23 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra I + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,56	60659306	39259576	27,54	2321	2205	45,32	1361	420
1,78	3178	2105	29,92	2875	325	48,12	1254	240
2,30	1244	621	39,51	5756	1425	49,14	1156	309
3,03	2272	914	44,54	10633	2975	49,69	7086	624
12,30	69907	11124						

Tabela 24 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra J + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura
12,39	392886	57162
28,04	73036	9846
29,46	14239	1762
29,96	279377	31505

Tabela 25 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra K + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,04	1977	265	36,937	1093,1	244,3	43,866	3438	678,4	46,125	5783,3	1062,1
1,58	46031470	27190905	38,032	2273,6	578,6	43,956	3552,6	681,3	46,241	9173,1	959,3
2,32	3346	1567	39,528	16262,2	3800,6	44,172	16022,6	1867,8	46,47	11630,6	2766,4
6,63	3894	878	39,915	2298,1	561,3	44,317	46761,9	3133,7	46,649	4845,5	747,4
7,77	1660	314	40,195	2053,4	517,8	44,567	79140,9	18179,1	47,126	1446,2	457,9
8,23	1190	228	40,571	6359,2	1449,9	44,934	5289	602,1	48,077	1700	493,3
12,01	4651	712	41,373	3185,7	890,1	45,043	2821,3	573,4	48,126	2178,1	513,9
12,39	212935	32982	41,797	3359,6	359,7	45,095	2492,6	618,8	48,217	2041,8	503,3
16,73	2191	2154	41,912	1706,2	316,3	45,202	4042,9	546,8	48,389	1060,5	269
26,35	1386	190	42,116	5774,7	579,9	45,334	12465,6	2801,2	48,463	2074,7	496,6
28,07	33105	4346	42,272	6375,8	705,2	45,533	4156,3	660,4	48,671	12497,4	2902,1
29,51	8750	850	42,39	4280,6	752,6	45,644	3226,1	648,2	48,784	3914,7	1056,3
29,93	137858	16572	42,458	4498,8	658,7	45,747	8864,6	1825,1	49,098	3986	660,5
34	1348,1	208,8	42,607	2360,5	367,5	46,033	17099,8	1603,7	49,58	6450,4	1744,9
36	1246,2	209,5	43,727	2791,2	292,1						

Tabela 26 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra L + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	53025621	35286482	12,39	284354	43566	39,52	1629	410	47,83	1958	547
1,90	2345	1219	19,64	1290	212	40,18	9313	2105	48,06	1172	325
2,32	3485	1802	24,18	2320	224	40,53	2131	551	48,12	2205	375
6,37	1658	402	28,05	64510	8666	40,82	1671	458	48,42	14340	2168
6,61	1428	312	29,47	12711	1551	44,91	1195	228	48,54	1999	566
7,74	2385	477	29,96	252349	29126	45,53	3657	961	48,67	7119	1417
8,19	1685	336	34,05	1464	245	45,64	1455	361	48,77	5414	981
11,91	22432	3419	39,12	2450	628	47,75	1546	330	48,95	1759	339

Tabela 27 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra M + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	60674181	35772509	28,05	32901	4355	41,36	2732	747	46,47	3068	832
1,90	2162	1228	29,48	6661	797	43,34	1701	476	47,38	1832	415
2,31	3486	1600	29,91	129111	15824	44,13	1027	200	48,12	3476	488
6,60	3451	773	32,34	1868	267	44,56	13906	8148	48,46	1705	351
7,74	1498	275	34,04	1007	168	45,33	4100	1253	48,67	4388	1118
8,20	1090	199	39,52	13906	3422	45,53	1676	308	48,78	1928	584
9,32	1290	224	39,90	1898	466	45,64	1151	238	49,10	3461	374
11,93	9017	1362	40,19	1711	436	45,74	2043	603	49,57	2952,9	853,3
12,39	316843	46999	40,56	4341	969	46,03	1419	361			

Tabela 28 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra N + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,58	50813994	26944783	11,91	7887	1203	40,53	1827	351	48,13	1989	318
1,80	1356	672	12,35	239742	36710	41,36	2539	712	48,41	6502	897
1,90	1957	940	28,04	46476	6262	44,55	5880	1666	48,58	1143	209
2,31	3199	1360	29,46	9141	1120	45,33	1101	323	48,67	3329	834
6,58	1991	443	29,92	181030	22026	45,53	1980	369	48,78	1319	375
7,72	1751	330	39,53	3385	829	45,64	1163	270	49,58	1278	384
8,17	1129	222	40,18	2690	693	46,47	3008	896			

Tabela 29 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra O + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,58	20304593	13575982	7,73	1614	313	28,05	14256	1867
1,90	3191	1801	8,18	1215	240	29,48	2825	355
2,31	1488	790	11,93	4099	633	29,88	49487	6014
6,59	1449	340	12,33	137846	21950	48,13	1614	302

Tabela 30 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra P + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	60775811	41121343	36,92	1011	228	46,64	2293	695
1,79	2048	1405	39,52	6067	1476	48,11	3397	487
2,31	1779	1005	43,34	1387	443	48,67	2094	373
2,57	1760	891	44,55	18579	5376	49,15	3223	446
12,41	337520	51625	45,33	2540	786	49,58	1042	286
29,96	1507	182	45,56	1357	249			

Tabela 31 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra Q + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	33276498	20732779	28,04	11788	1563	45,33	1947	588
1,79	1120	629	29,47	2350	286	45,55	1176	202
2,31	2186	1075	29,87	45170	5551	48,12	1835	317
6,59	3125	738	32,33	1049	155	48,41	2742	312
11,93	4155	644	39,52	6241	1468	48,66	2116	486
12,34	157593	24757	40,56	1913	460	49,15	1248	189
18,47	1398	1337	44,55	13653	3841	49,57	1394	359

Tabela 32 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma da amostra R + 5.0 mg de dodecano em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	59324963	38241145	43,83	1259	218	48,21	1187	236
1,79	1468	983	44,42	1130	202	48,39	3470	491
2,31	2651	1318	44,55	27973	8067	48,66	4899	970
12,35	306918	46568	45,32	4147	1227	48,77	1370	407
26,26	1016	177	45,60	1422	208	49,14	6228	1618
36,90	1173	271	47,36	3175	873	49,22	1836	558
39,51	6629	1709	48,12	2030	329	49,58	2623	722
42,27	1256	344						

Tabela 33 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 5 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	60111333	40296387	9,60	1916	291	29,52	7901	977
1,90	4217	2024	12,42	246017	37699	29,97	152052	18502
7,77	4165	840	28,09	37223	4975	48,12	2389	335
8,23	3161	647						

Tabela 34 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 10 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	60741635	39299588	9,59	1531	237	29,51	6828	831
1,90	5478	2686	12,43	427819	63245	29,94	125898	15314
7,76	4273	849	28,08	31089	4155	48,14	1150	241
8,21	3228	639						

Tabela 35 - Tempos de retenção, área e altura dos picos do cromatograma de 30 mg de dodecano + 10 mg de produto Prins em éter etílico

tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura	tr (min)	Área	Altura
1,57	60086637	37850854	9,67	1229	212	28,07	18131	2380
1,90	5182	2471	10,30	1943	303	29,50	4031	502
7,73	2850	573	12,46	845800	107406	29,91	72672	9043
8,18	2262	442						

5.1.2. Espectros ^1H RMN e ^{13}C RMN

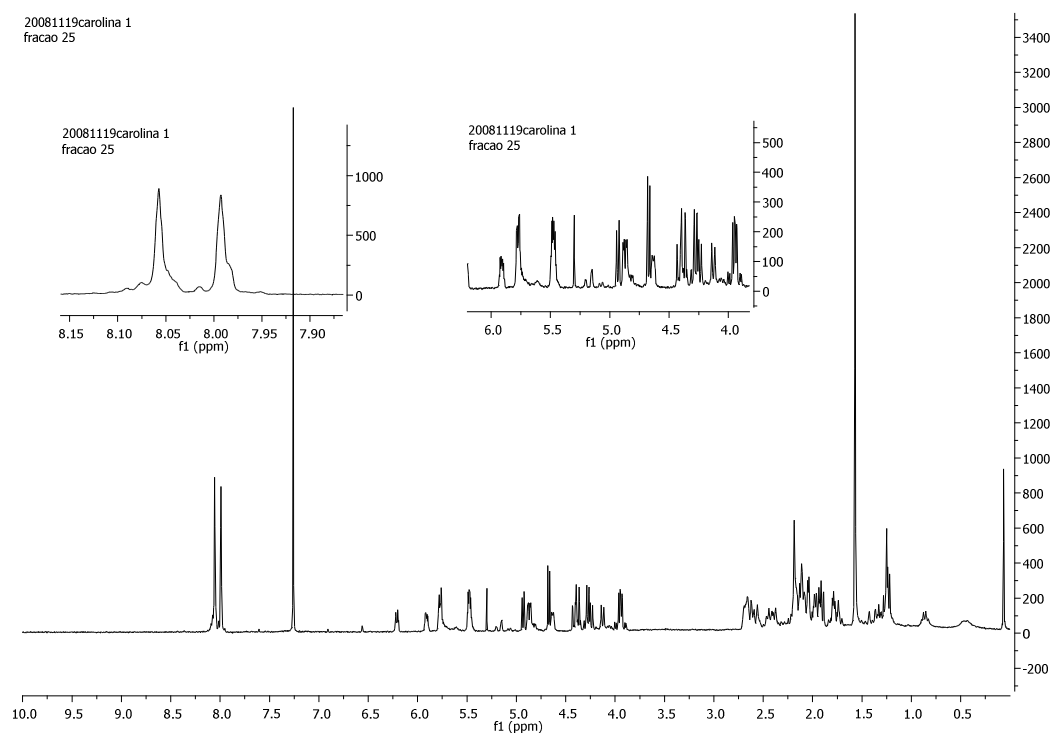


Figura 69 - Espectro ^1H RMN da fração Ia, obtida após cromatografia em coluna dos produtos Prins

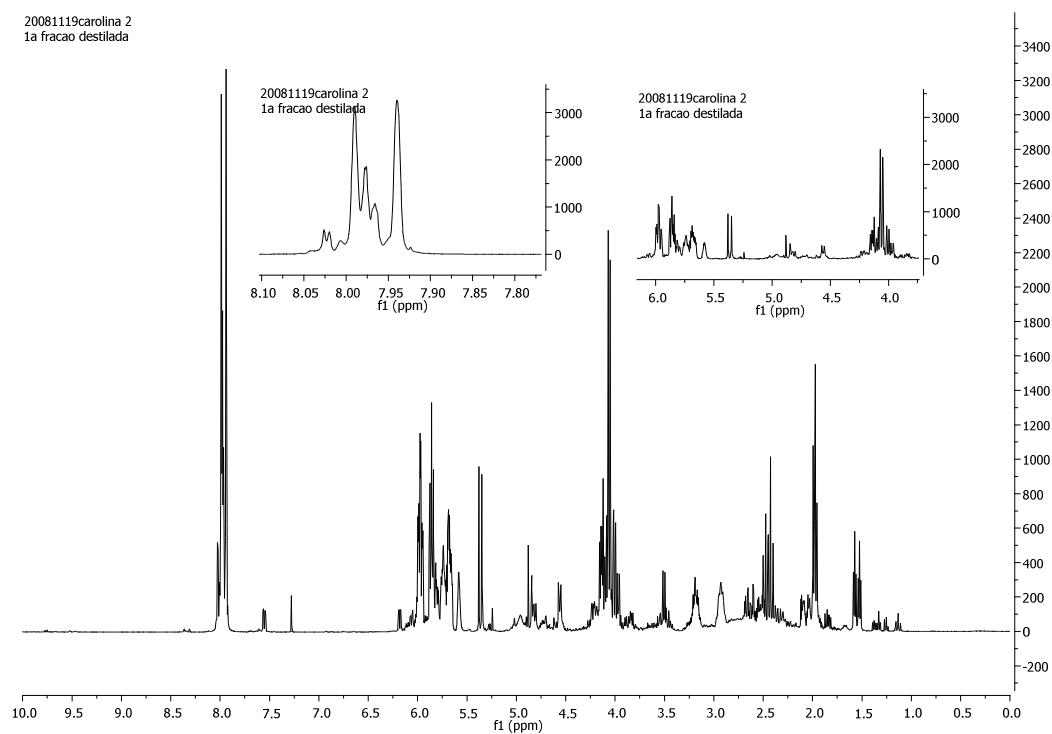


Figura 70 - Espectro ^1H RMN da fração IIa, obtida após destilação dos produtos Prins

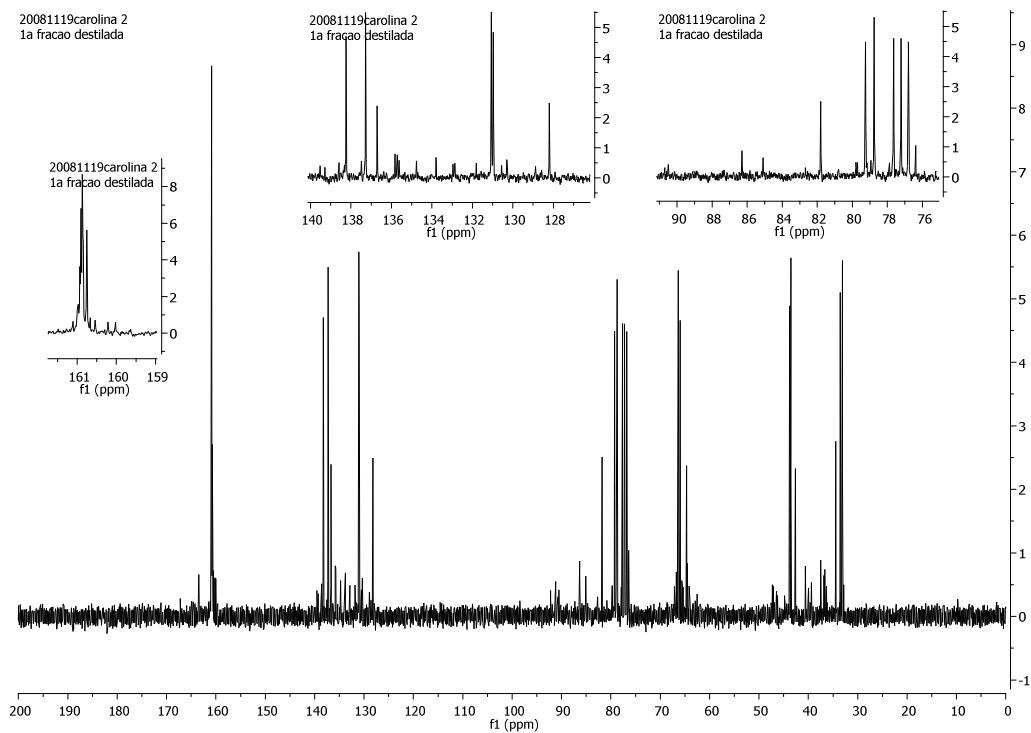


Figura 71 - Espectro ^{13}C RMN da fração **IIa**, obtida após destilação dos produtos Prins

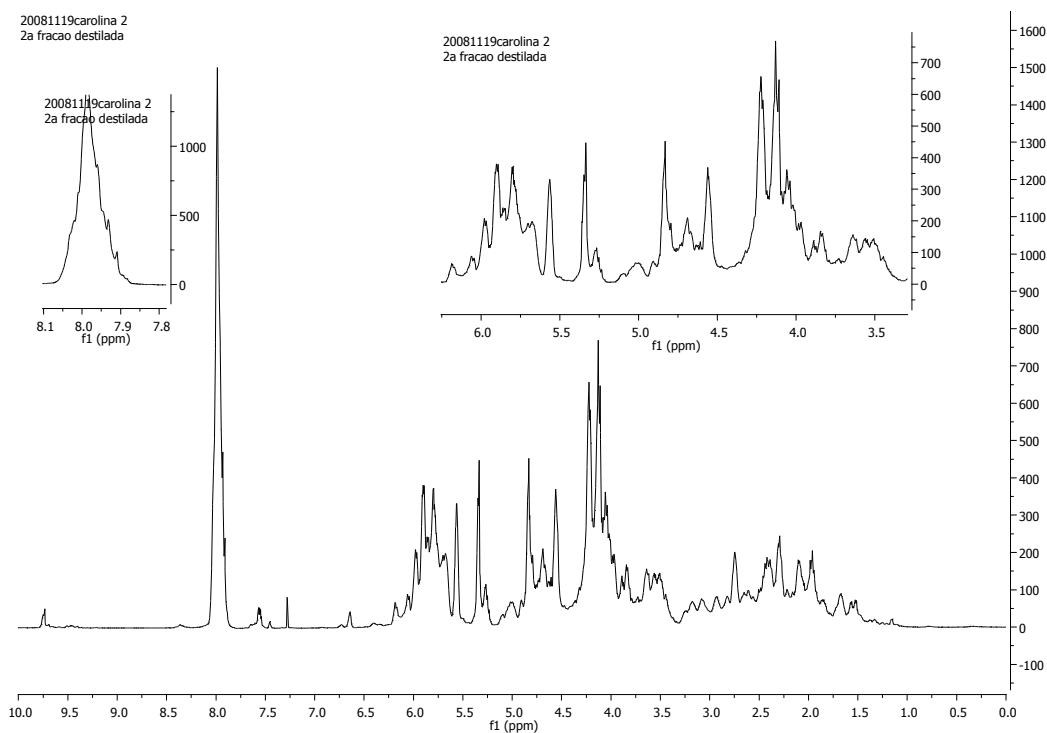


Figura 72 - Espectro ^1H RMN da fração **IIb**, obtida após destilação dos produtos Prins

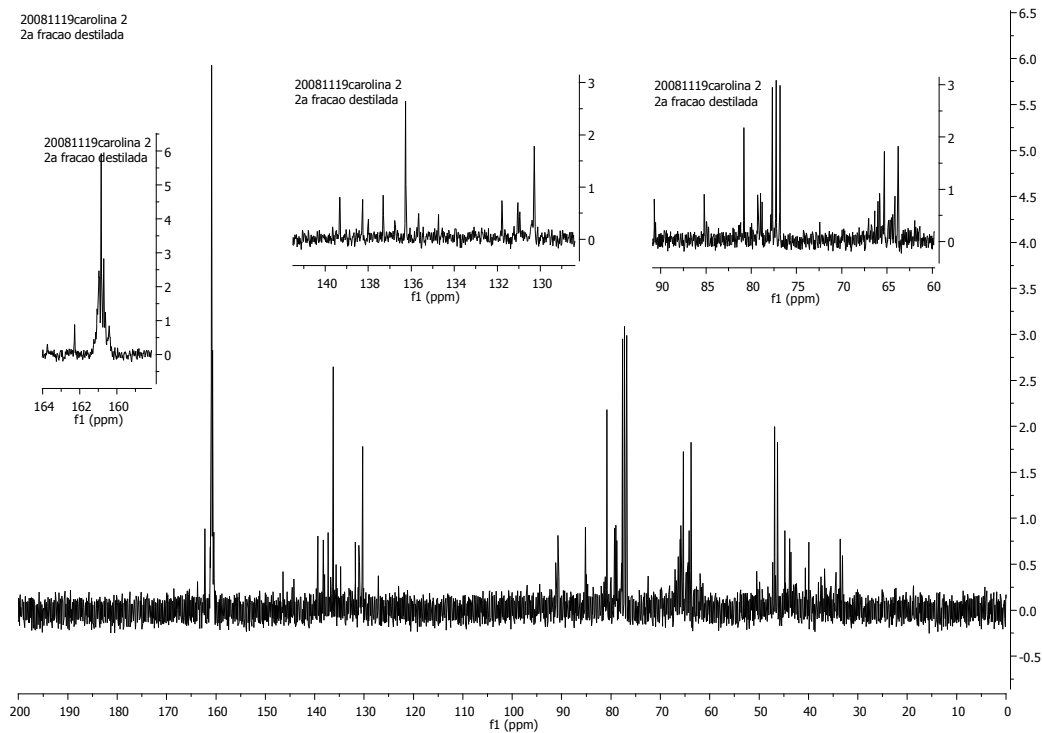


Figura 73 - Espectro ^{13}C RMN da fracção **IIb**, obtida após destilação dos produtos Prins

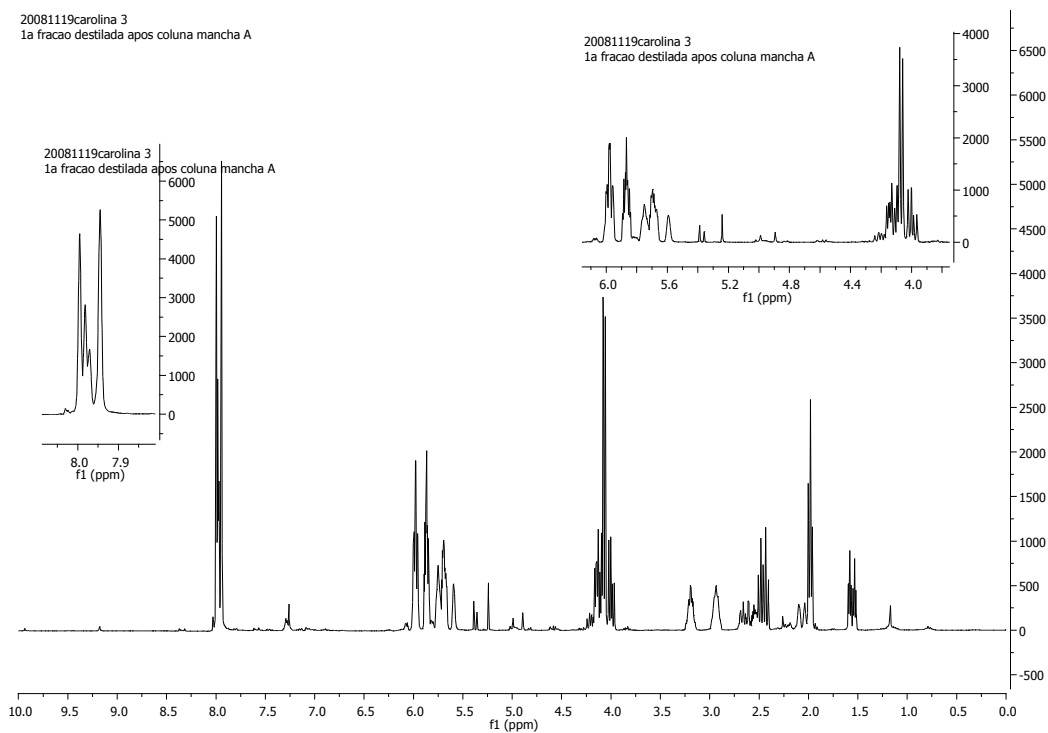


Figura 74 - Espectro ^1H RMN da fracção **IIa1**, obtida após destilação dos produtos Prins

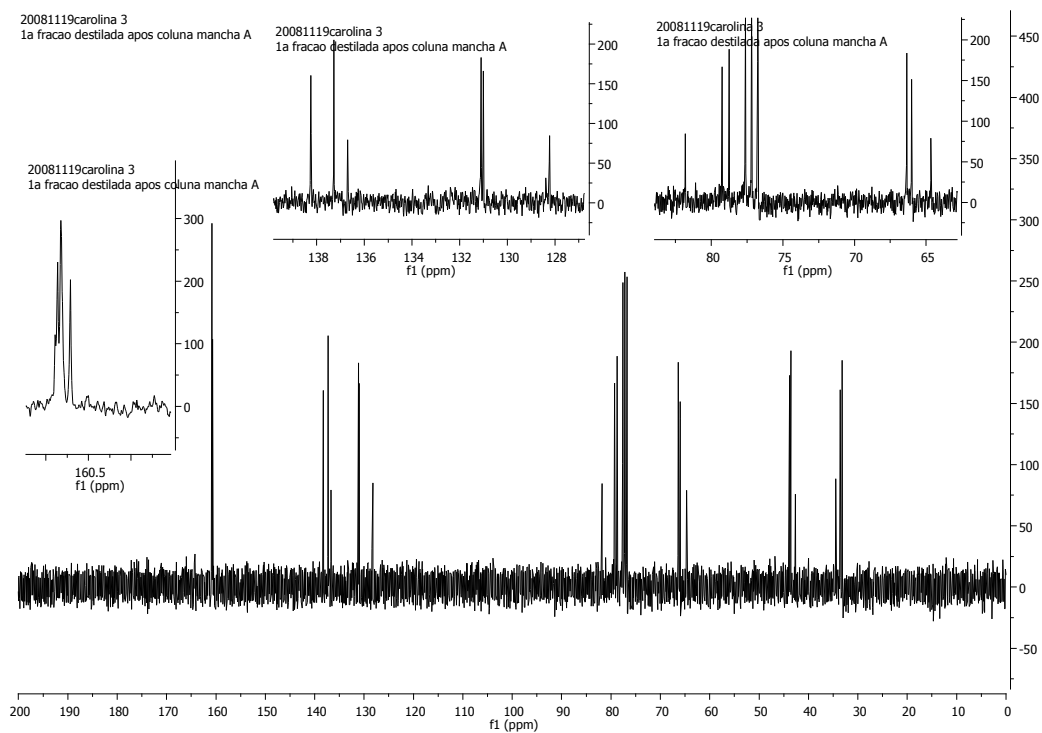


Figura 75 - Espectro ^{13}C RMN da fracção **IIa1**, obtida após destilação dos produtos Prins

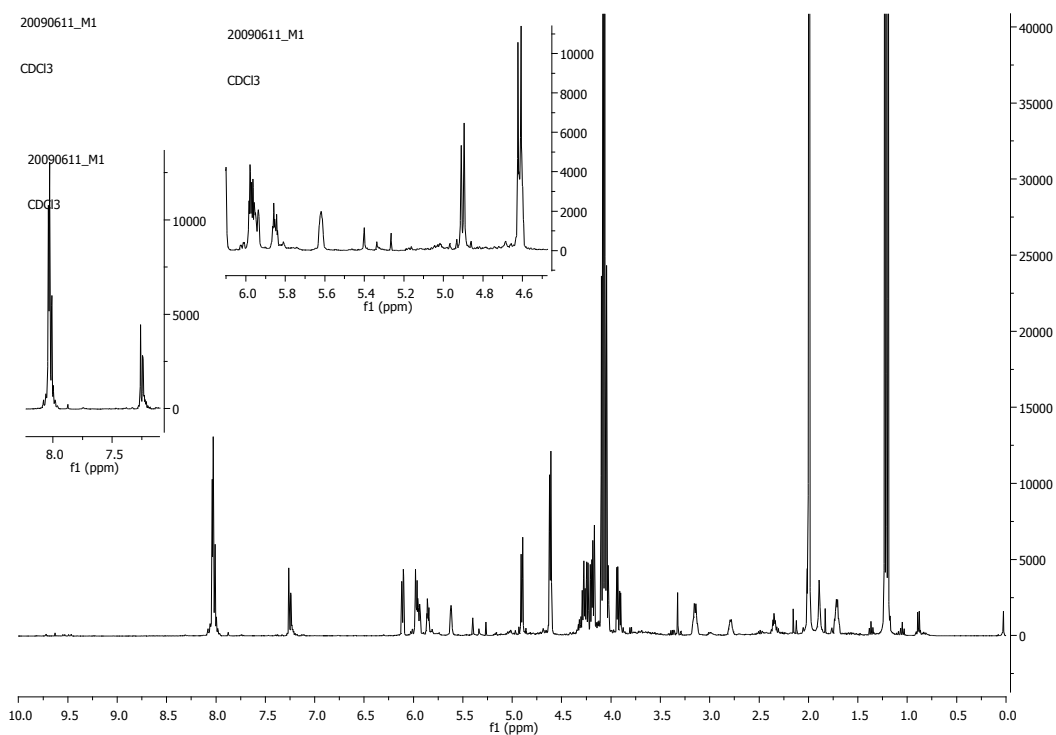


Figura 76 - Espectro ^1H RMN da fracção **IIIa**, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)

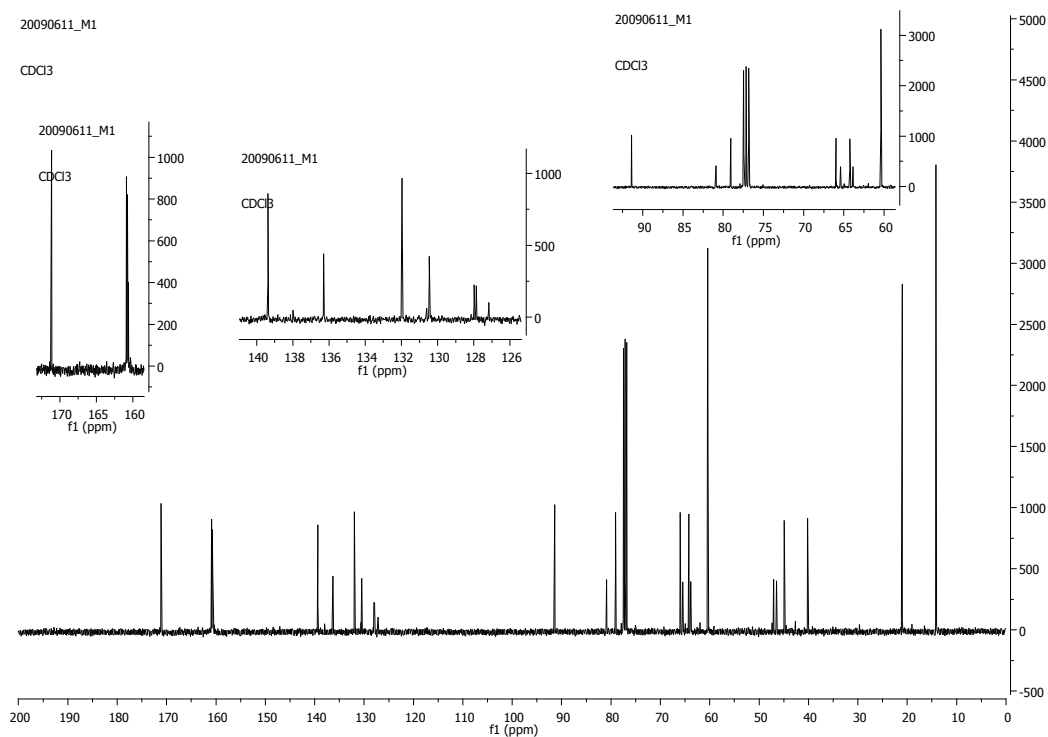


Figura 77 - Espectro ^{13}C RMN da fracção **IIIa**, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)

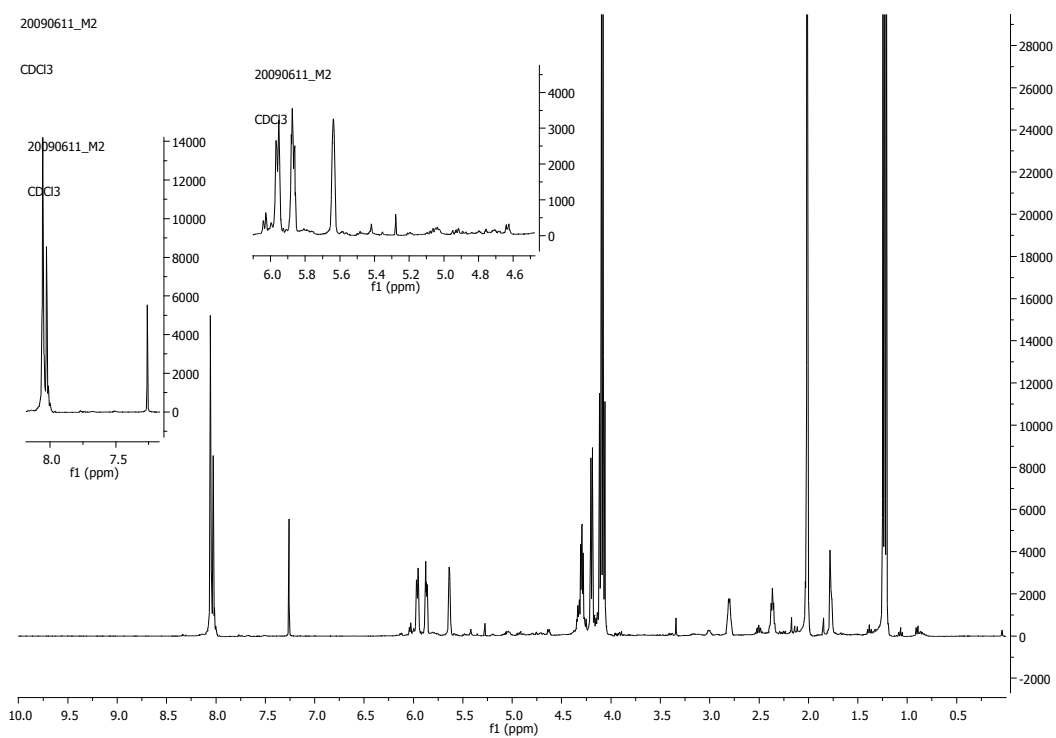


Figura 78 - Espectro ^1H RMN da fracção **IIIb**, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)

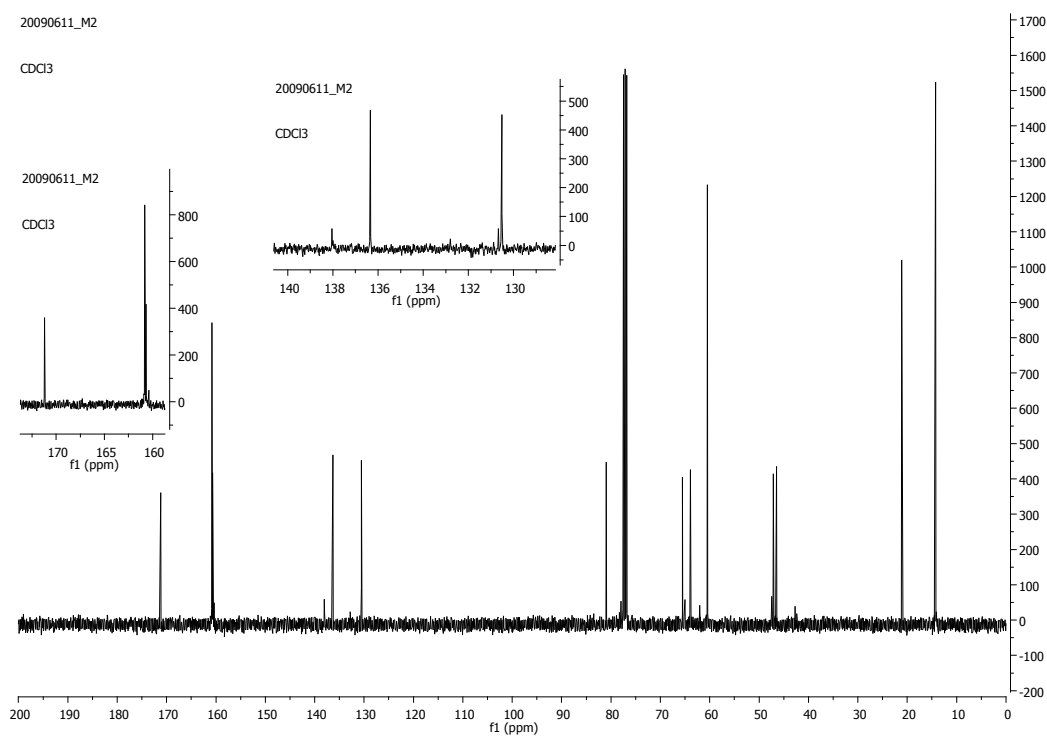


Figura 79 - Espectro ^{13}C RMN da fracção **IIIb**, obtida após duas sessões cromatográficas dos novos produtos Prins, obtidos na reacção catalisada por LaCl_3 (espectro com resíduos de AcOEt)

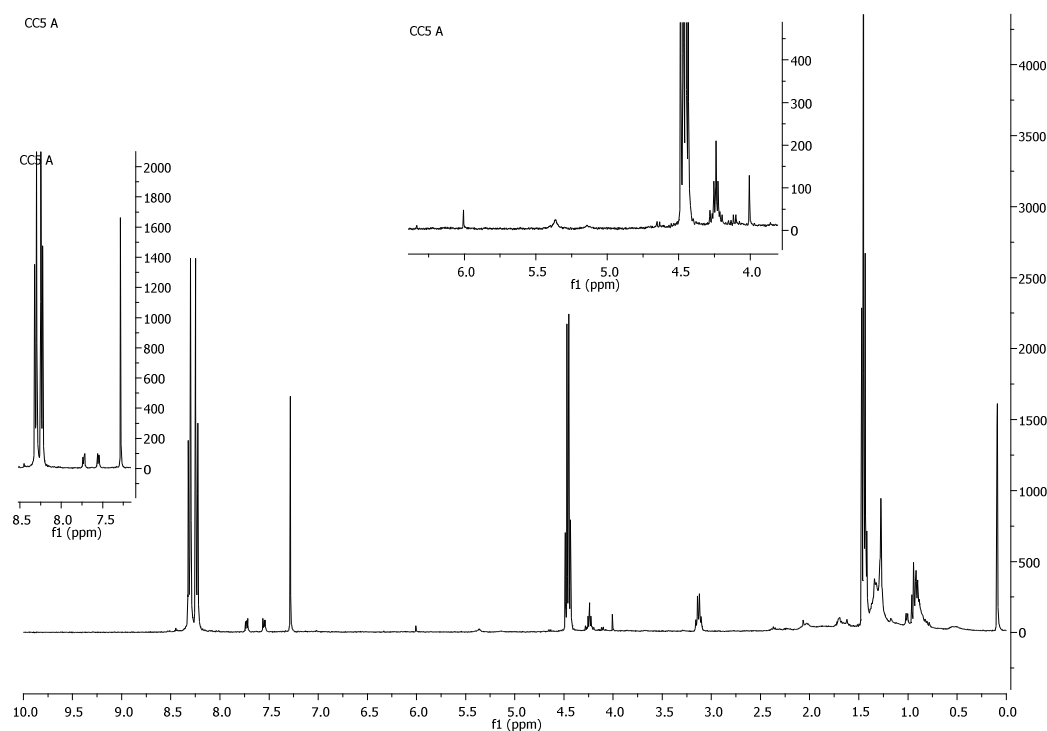


Figura 80 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto **73** (fracção **IVa**, secção 4.1.5.1)

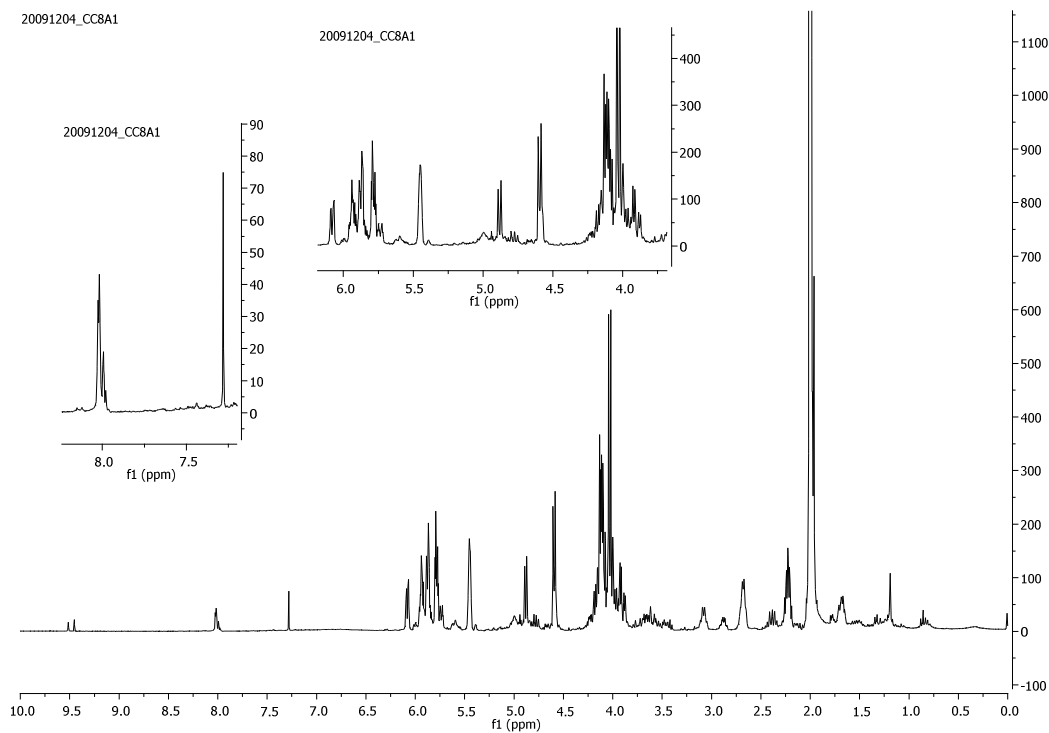


Figura 81 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto **74** (fracção **Va**, secção 4.1.5.3)

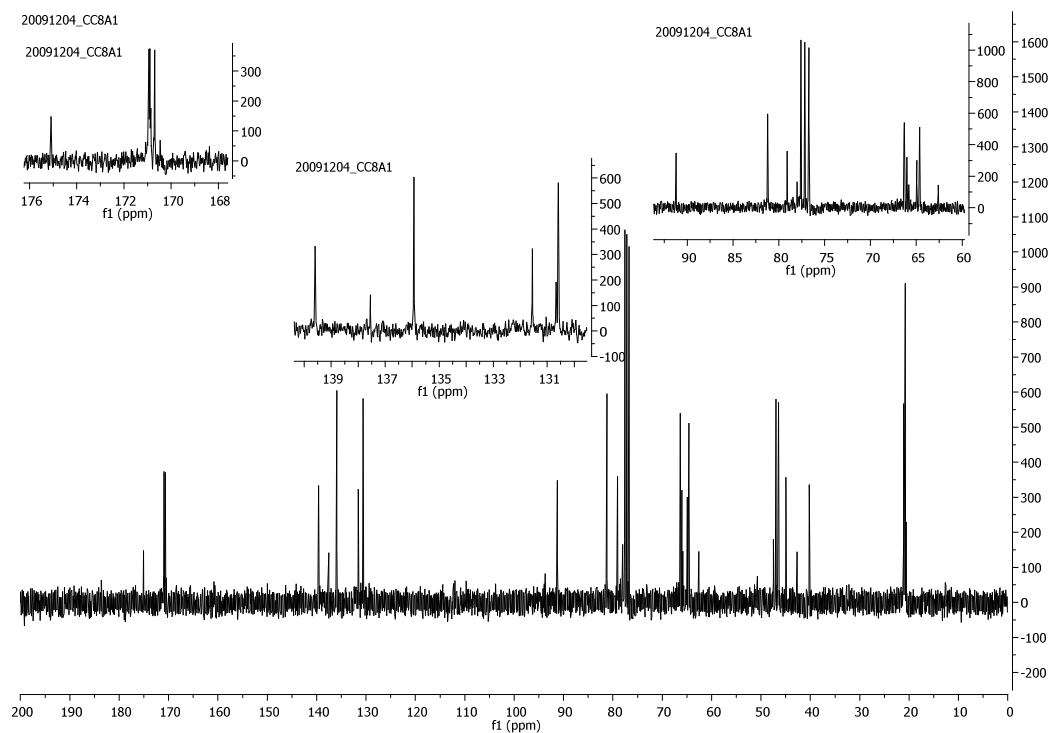


Figura 82 - Espectro ^{13}C RMN da tentativa de isolamento do produto **74** (fracção **Va**, secção 4.1.5.3)

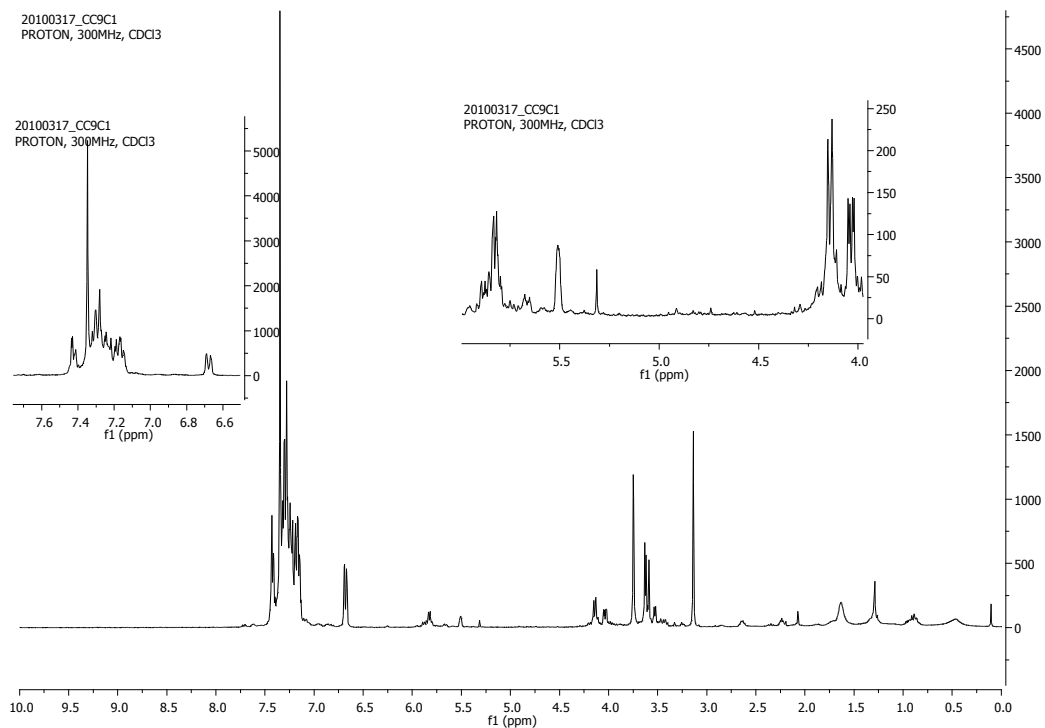


Figura 83 - Espectro ^1H RMN da tentativa de isolamento do produto **75** (fracção **VIa**, secção **4.1.5.4**)

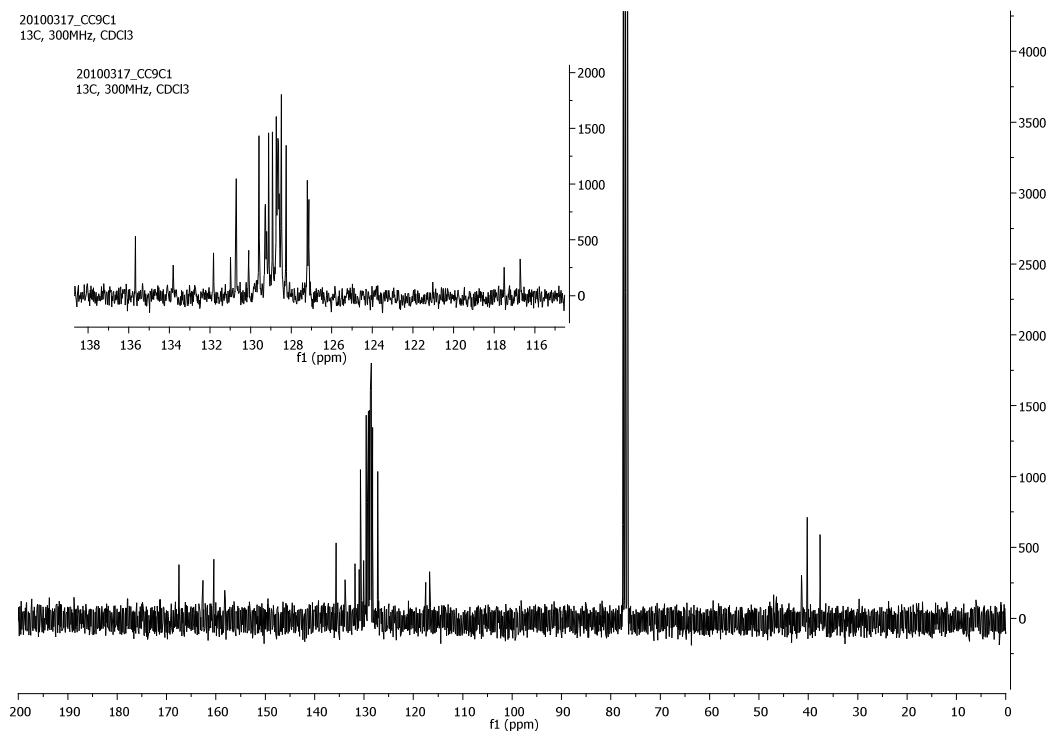


Figura 84 - Espectro ^{13}C RMN da tentativa de isolamento do produto **75** (fracção **VIa**, secção **4.1.5.4**)

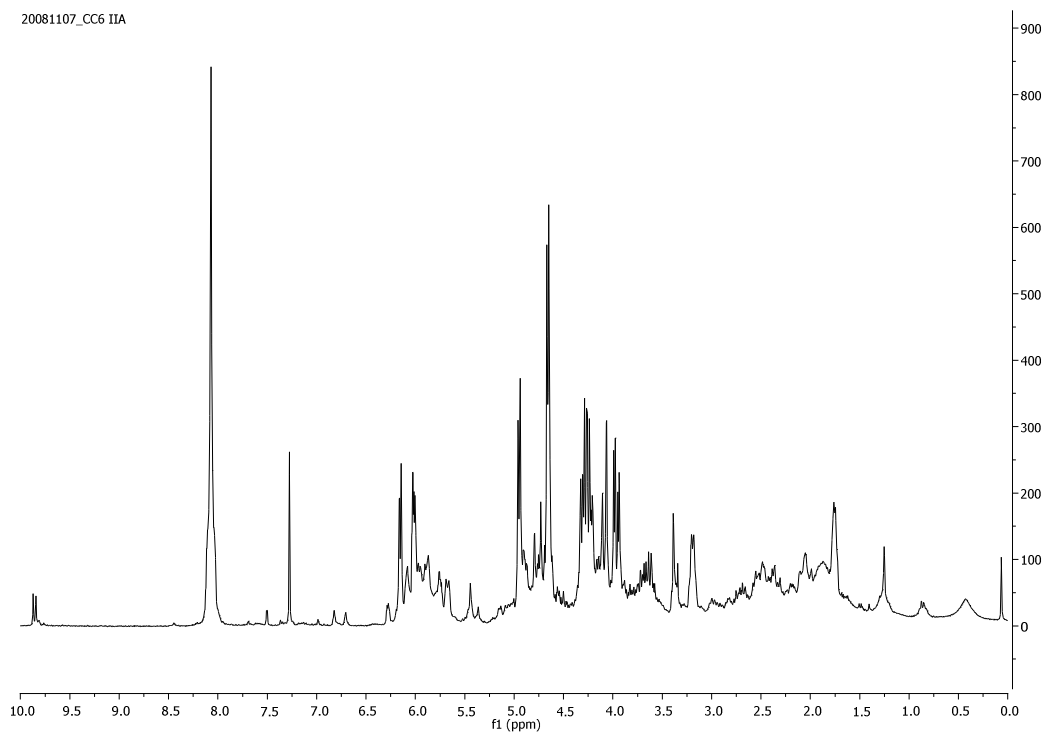


Figura 85 - Espectro ^1H RMN da reacção 1 (secção 4.1.6)

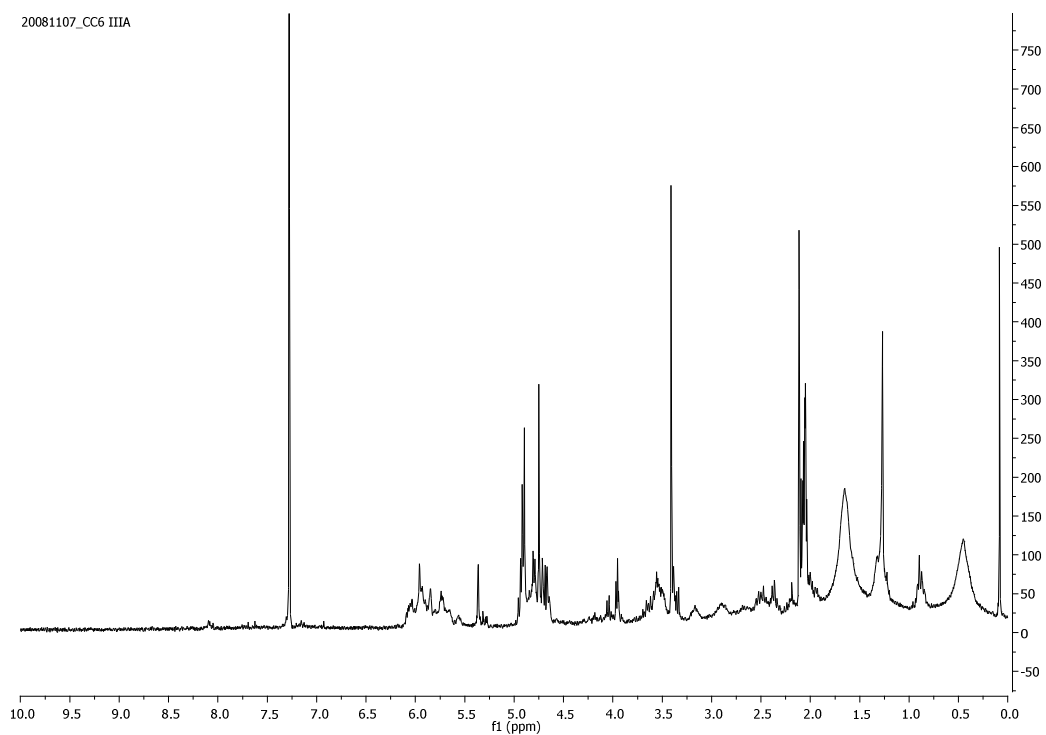


Figura 86 - Espectro ^1H RMN da reacção 2 (secção 4.1.6)

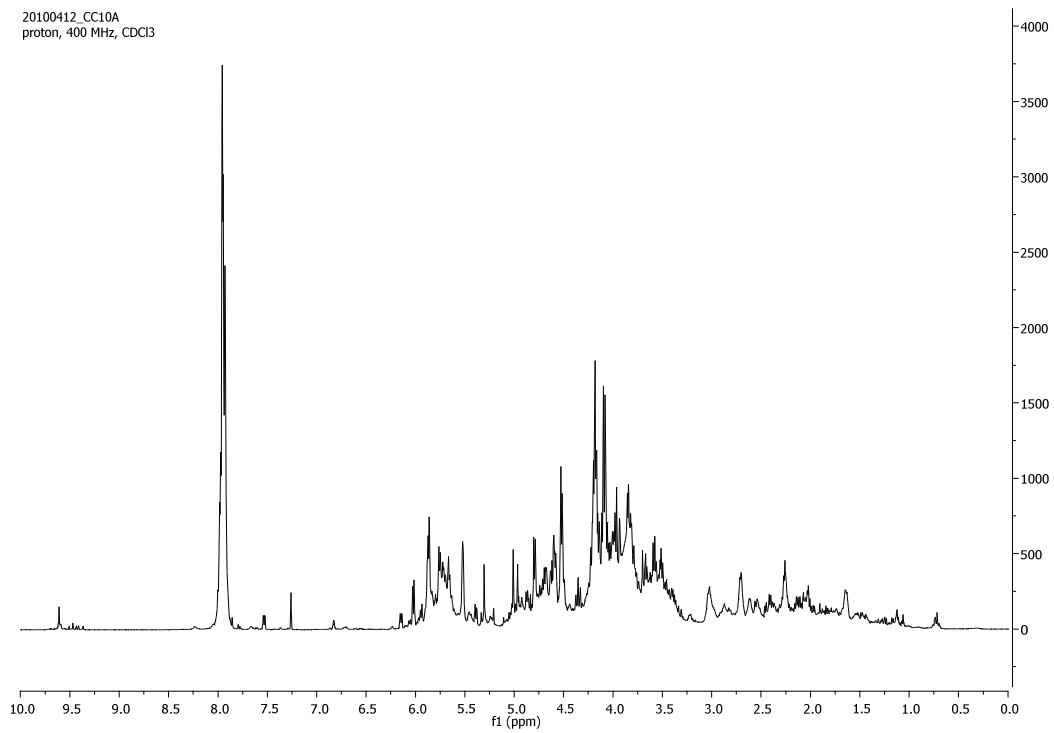


Figura 87 - Espectro ¹H RMN do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl₃ antes de cromatografia

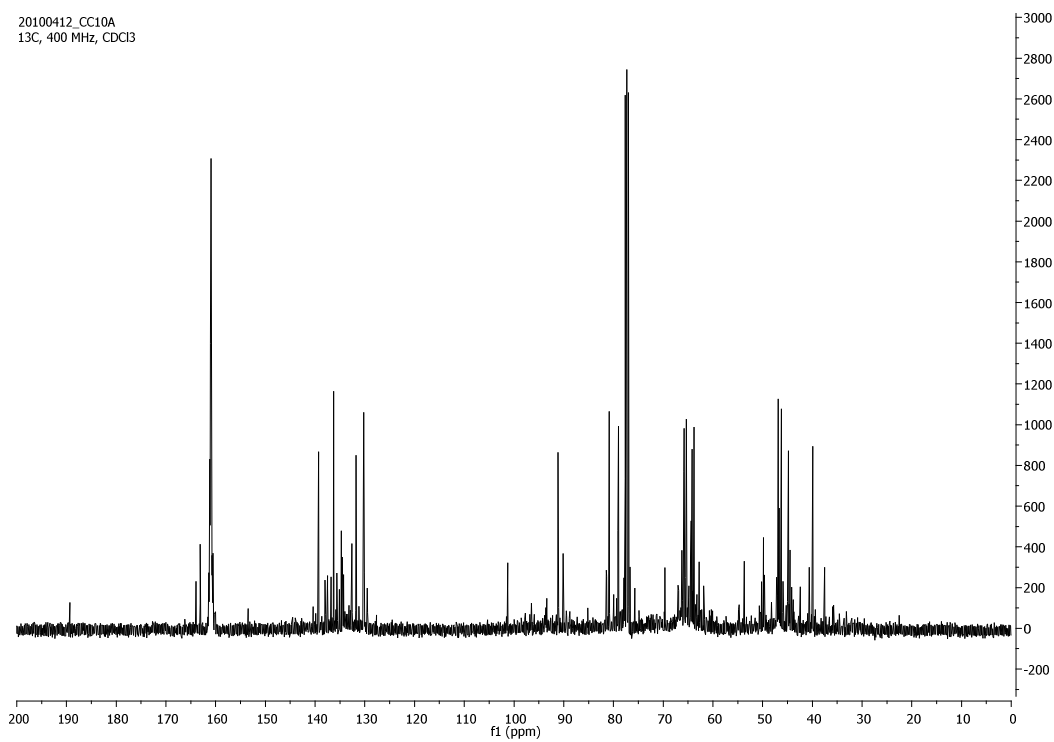


Figura 88 - Espectro ¹³C RMN do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl₃ antes de cromatografia

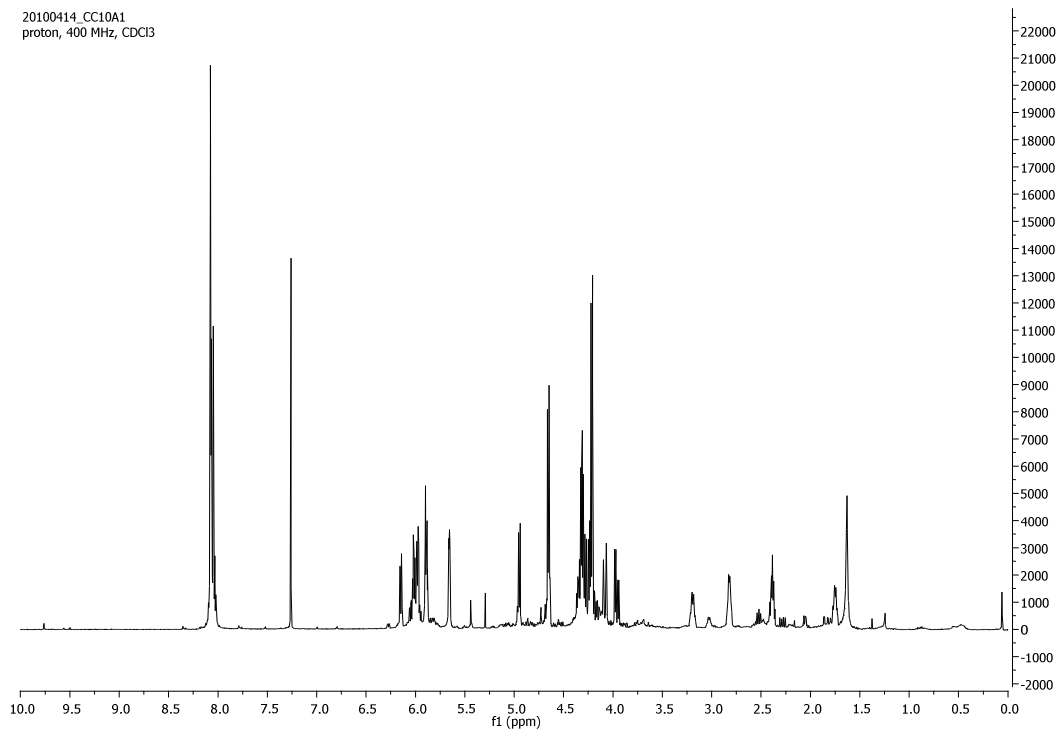


Figura 89 - Espectro ^1H RMN do crude da reação de Prins catalisada por LaCl_3 após cromatografia

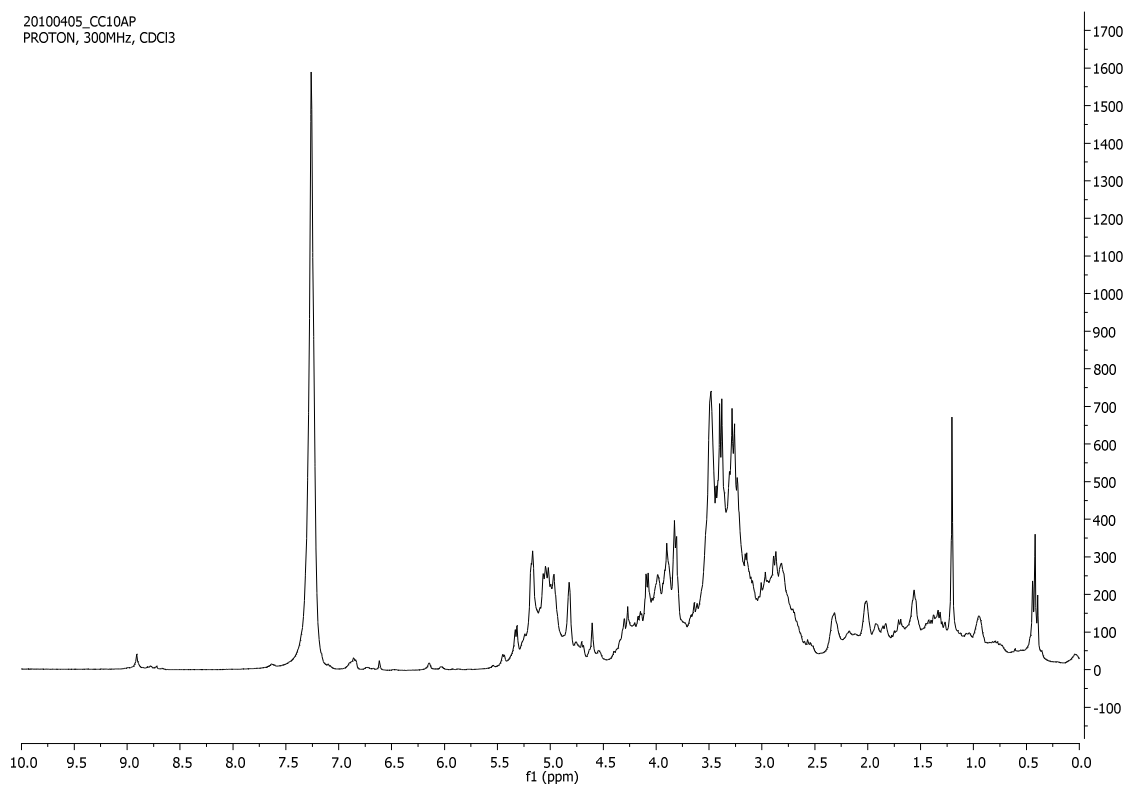


Figura 90 - Espectro ^1H RMN da amostra de **retentado** da reação de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 300 Da** (ensaio 1)

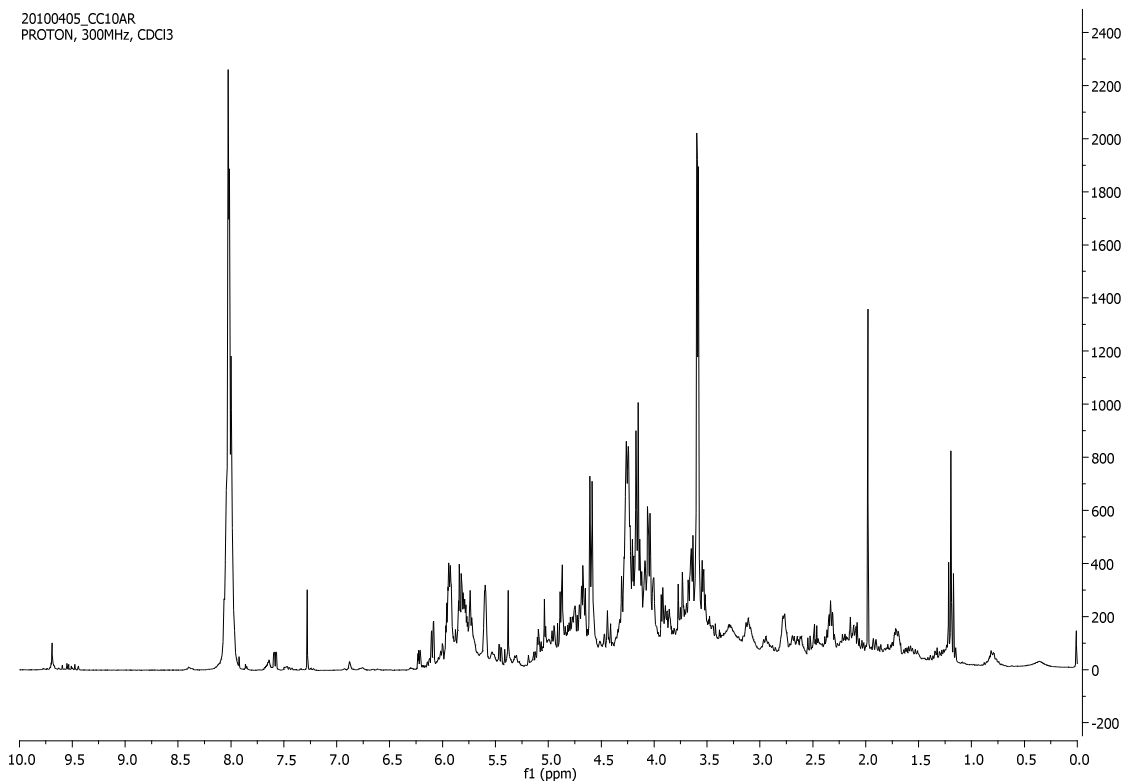


Figura 91 - Espectro ^1H RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 300 Da** (ensaio 1)

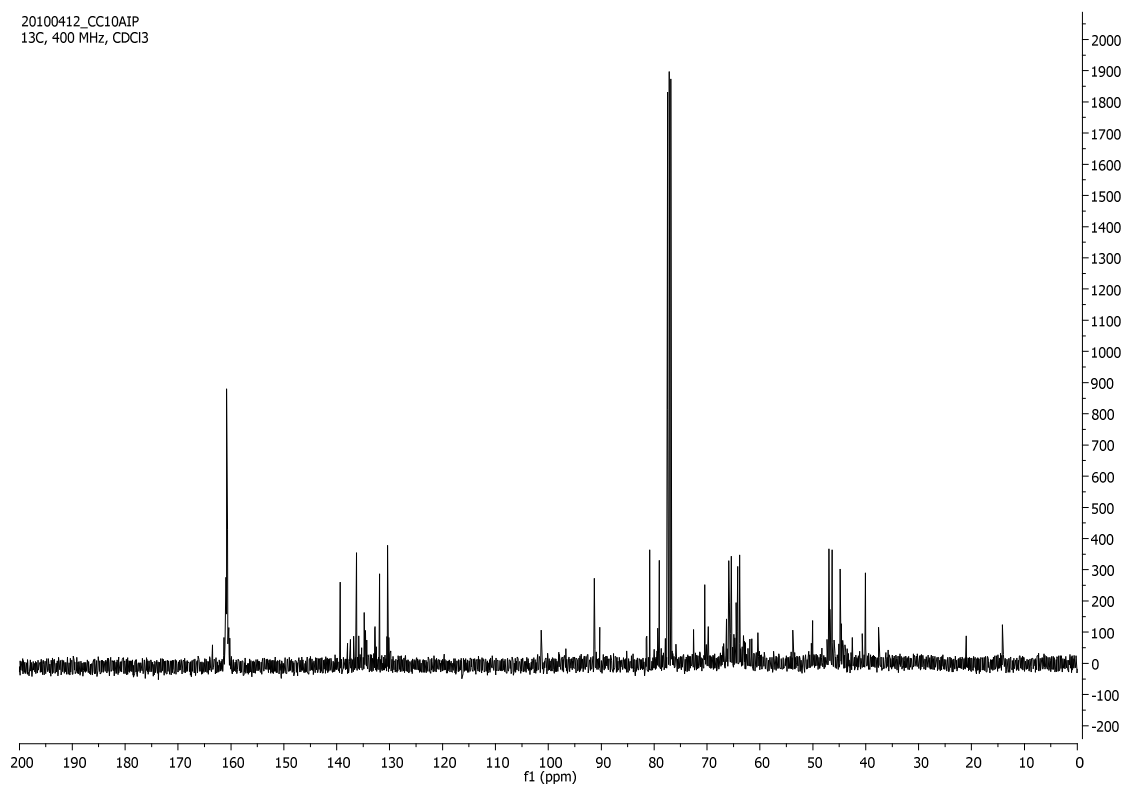


Figura 92 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 300 Da** (ensaio 1)

20100414_CC10AIP2
proton, 400 MHz, CDCl3

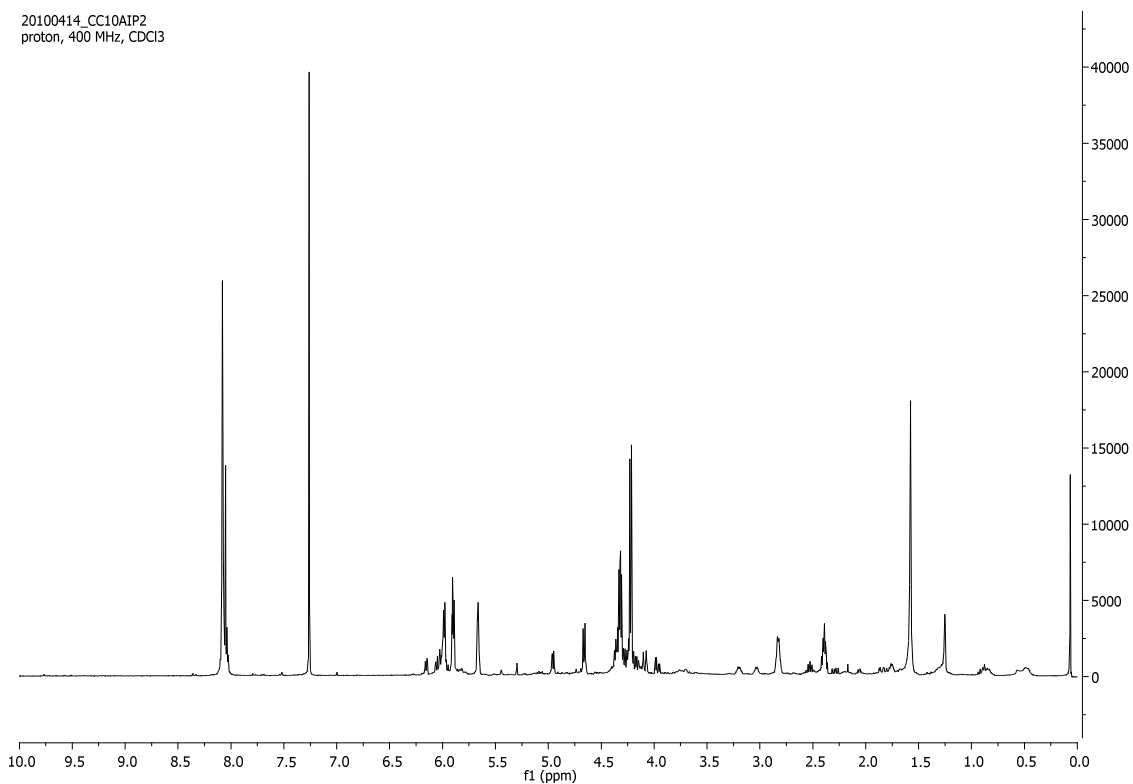


Figura 93 - Espectro ^1H RMN da amostra de **permeado** após da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 300 Da** (ensaio 1), seguida de cromatografia

20100408_CC10AIIIR
PROTON, 300MHz, CDCl3

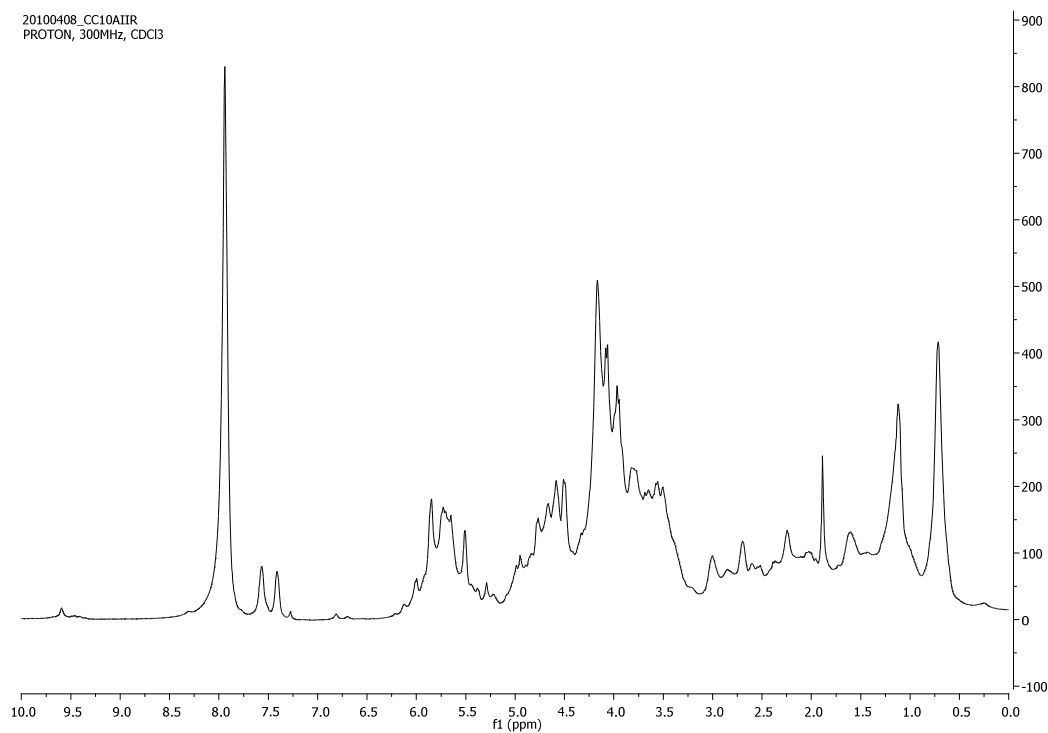


Figura 94 - Espectro ^1H RMN da amostra de **retentado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 220 Da** (ensaio 2)

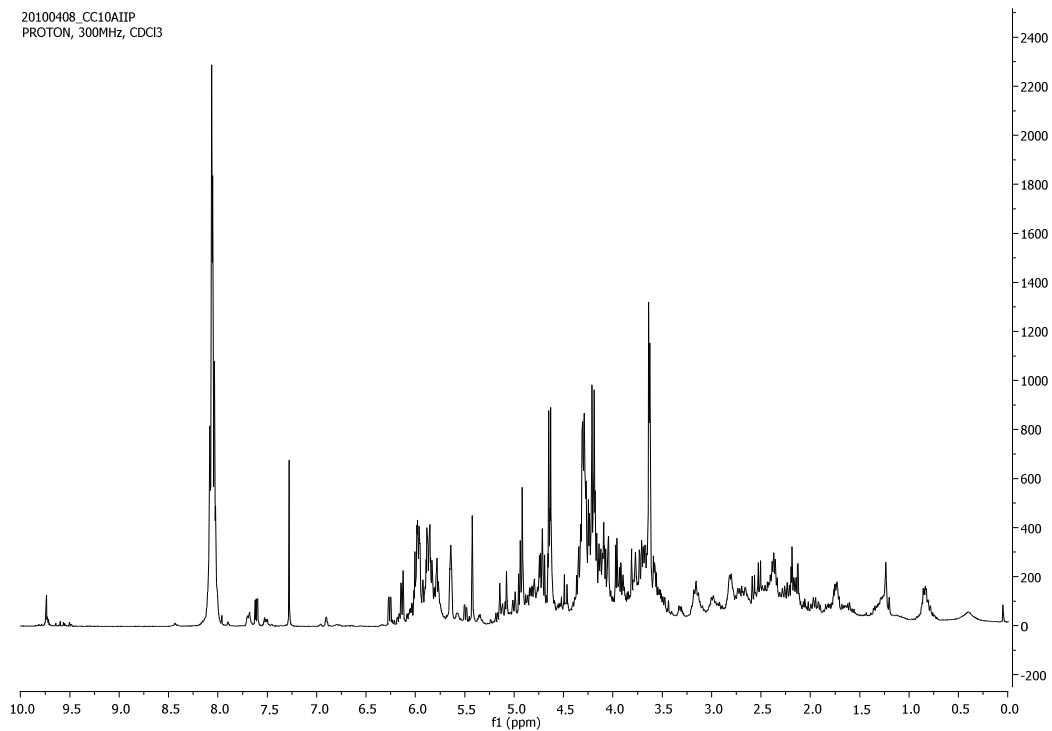


Figura 95 - Espectro ^1H RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 220 Da** (ensaio 2)

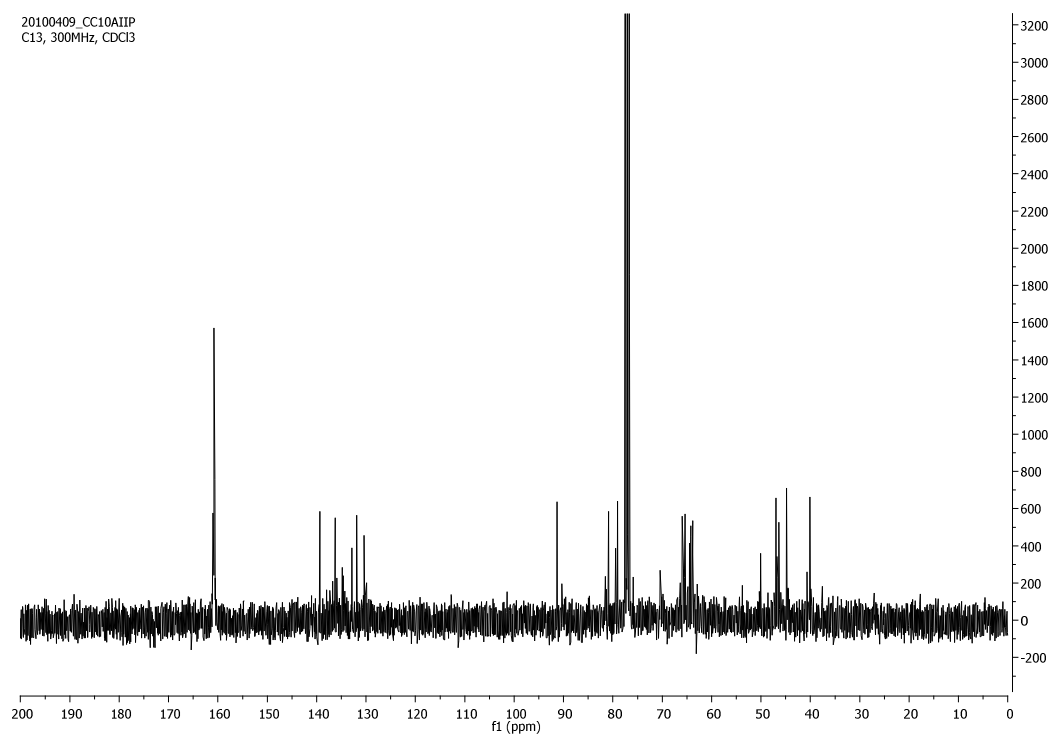


Figura 96 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 220 Da** (ensaio 2)

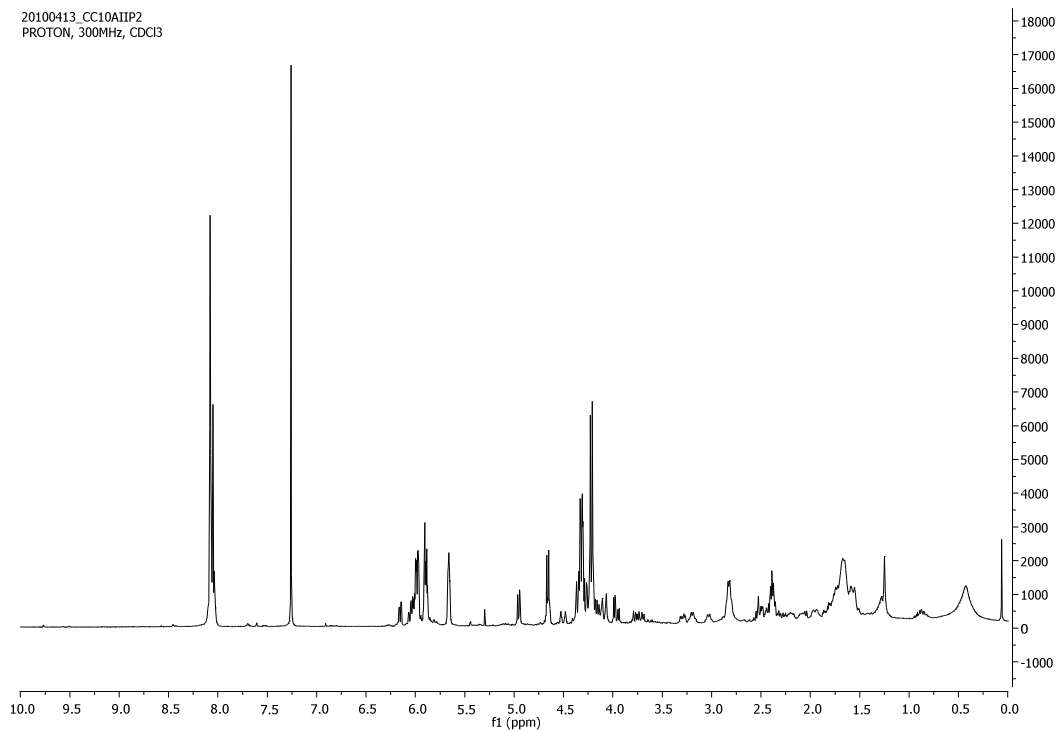


Figura 97 - Espectro ^1H RMN da amostra de **permeado** após da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 220 Da** (ensaio 2), seguida de cromatografia

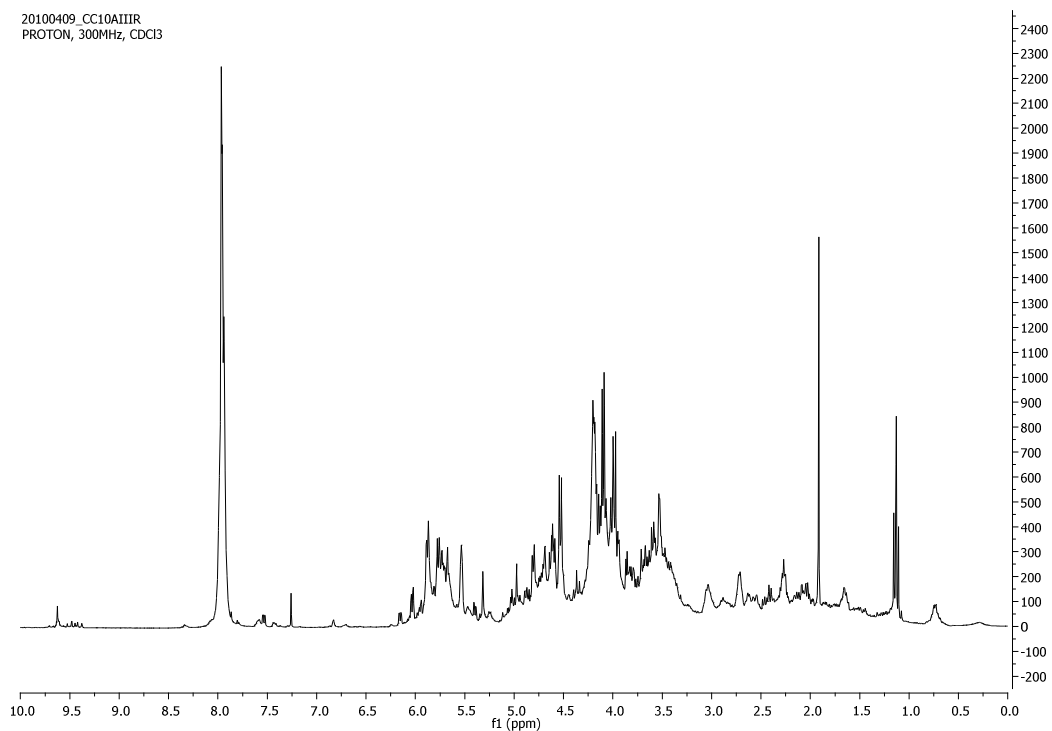


Figura 98 - Espectro ^1H RMN da amostra de **retentado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 200 Da** (ensaio 3)

20100409_CC10AIIIP
PROTON, 300MHz, CDCl3

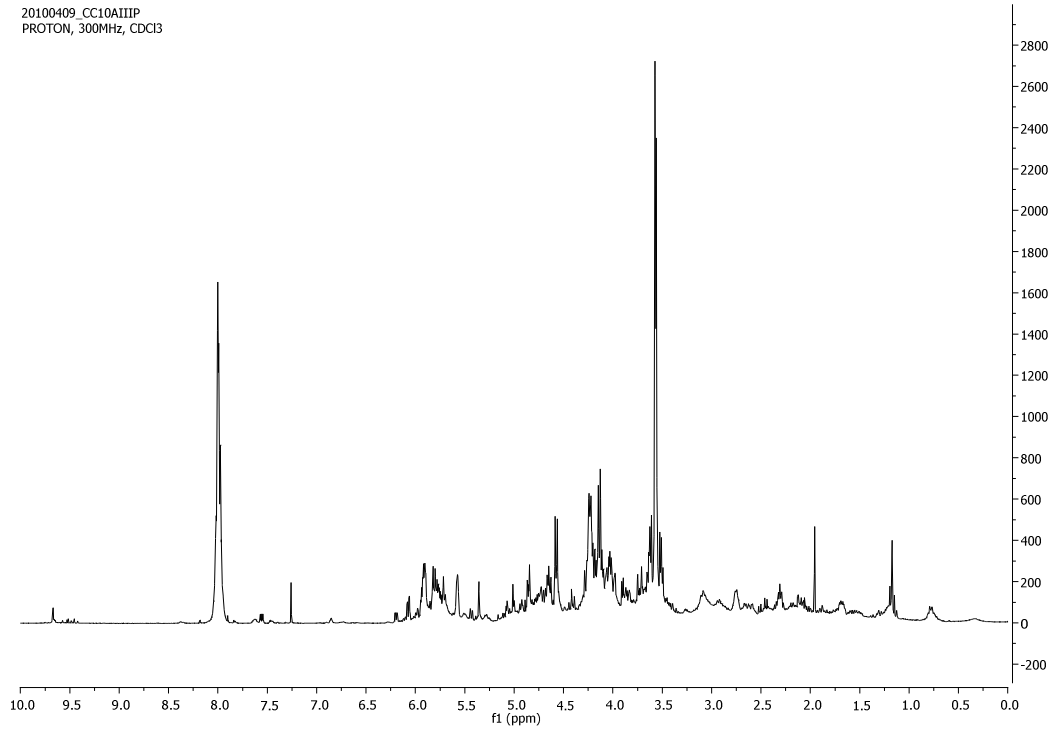


Figura 99 - Espectro ^1H RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 200 Da** (ensaio 3)

20100409_CC10AIIIP
C13, 300MHz, CDCl3

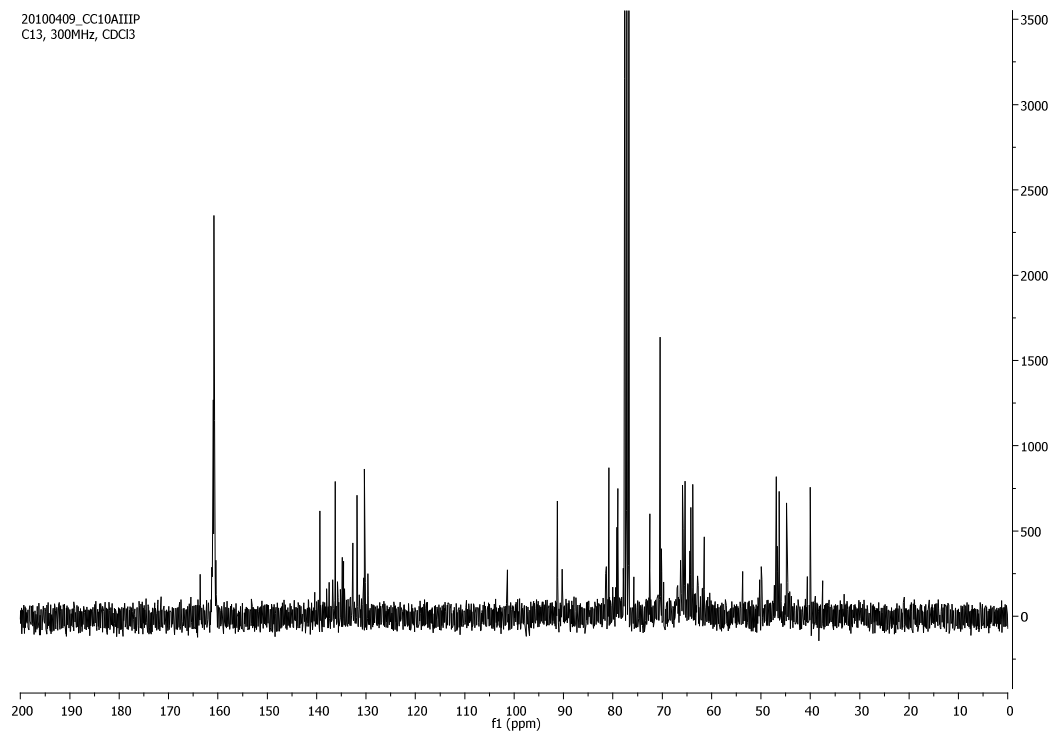


Figura 100 - Espectro ^{13}C RMN da amostra de **permeado** da reacção de Prins catalisada por LaCl_3 após nanofiltração com **membrana 200 Da** (ensaio 3)

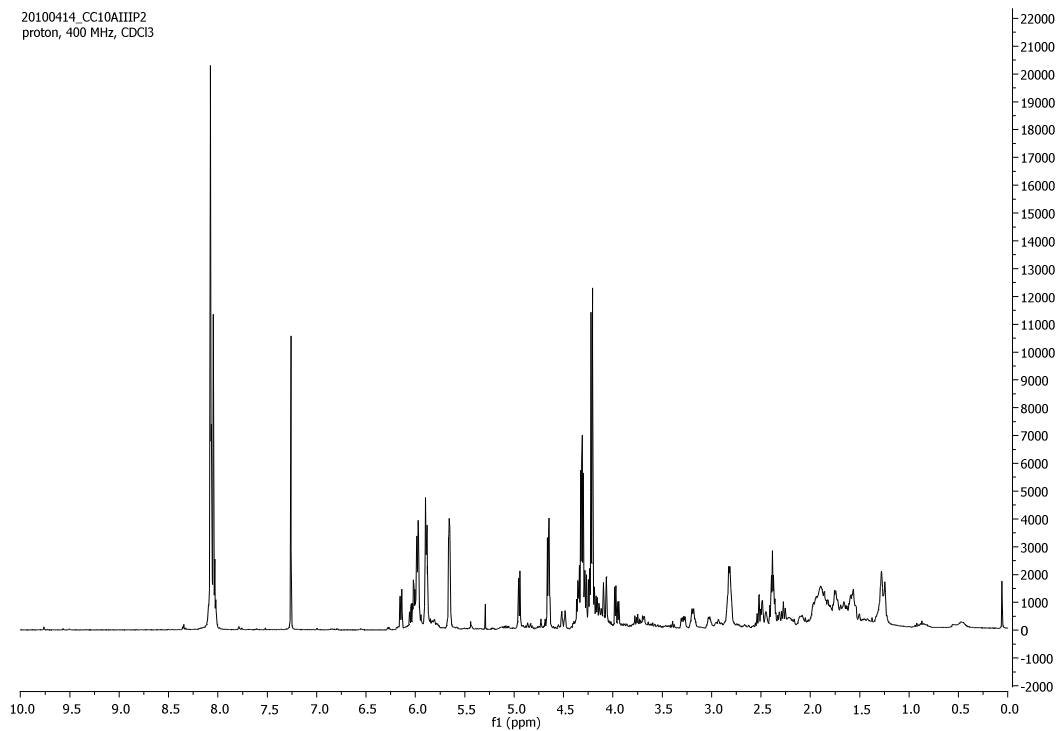


Figura 101 - Espectro ¹H RMN da amostra de **permeado** após da reacção de Prins catalisada por LaCl₃ após nanofiltração com membrana 200 Da (ensaio **3**), seguida de cromatografia

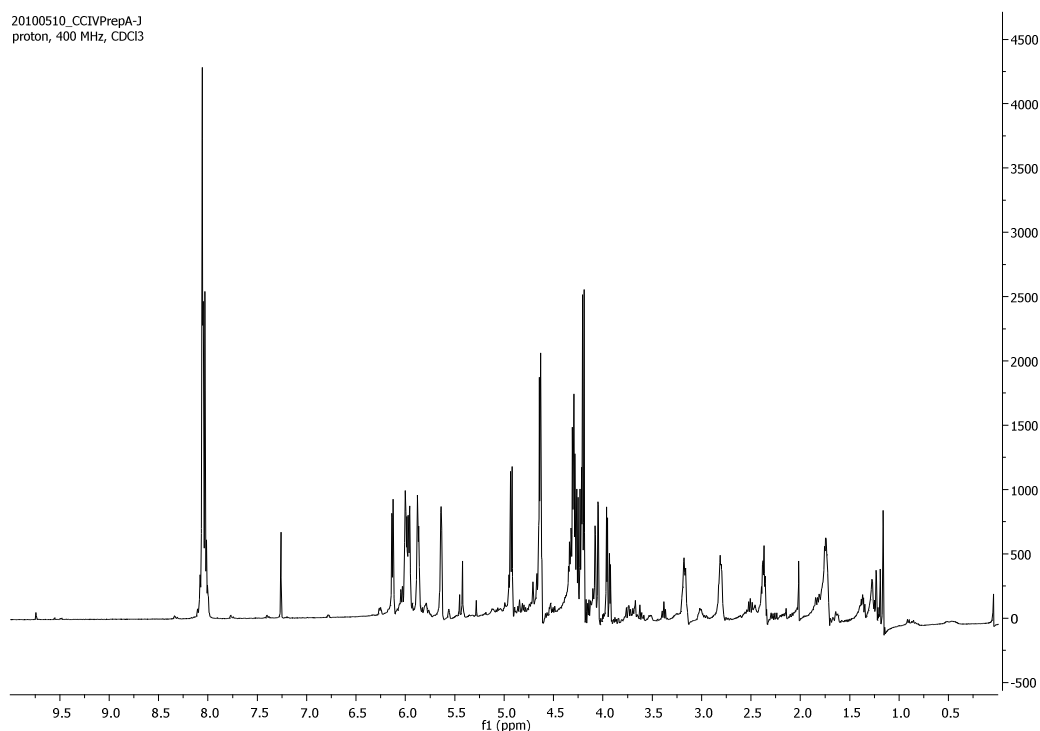


Figura 102 - Espectro ¹H RMN da amostra **VIIa** – proveniente da cromatografia do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio **4**) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl₃

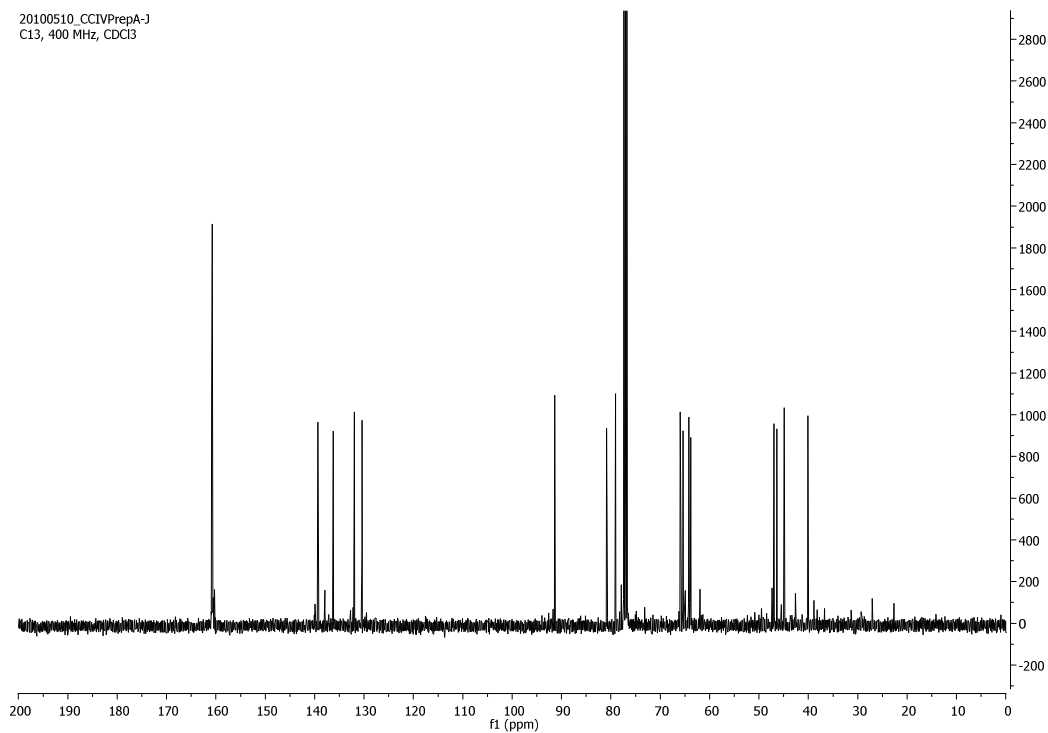


Figura 103 - Espectro ^{13}C RMN da amostra **VIIa** – proveniente da cromatografia do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio **4**) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

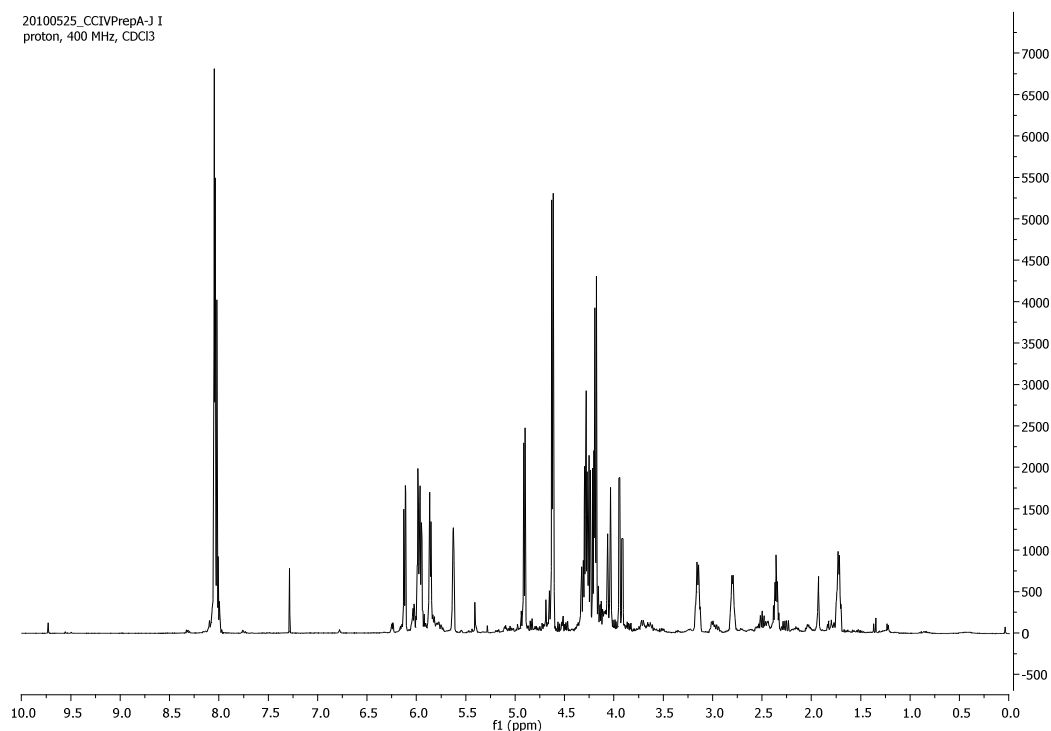


Figura 104 - Espectro ^1H RMN da amostra **VIIb** – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio **4**) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

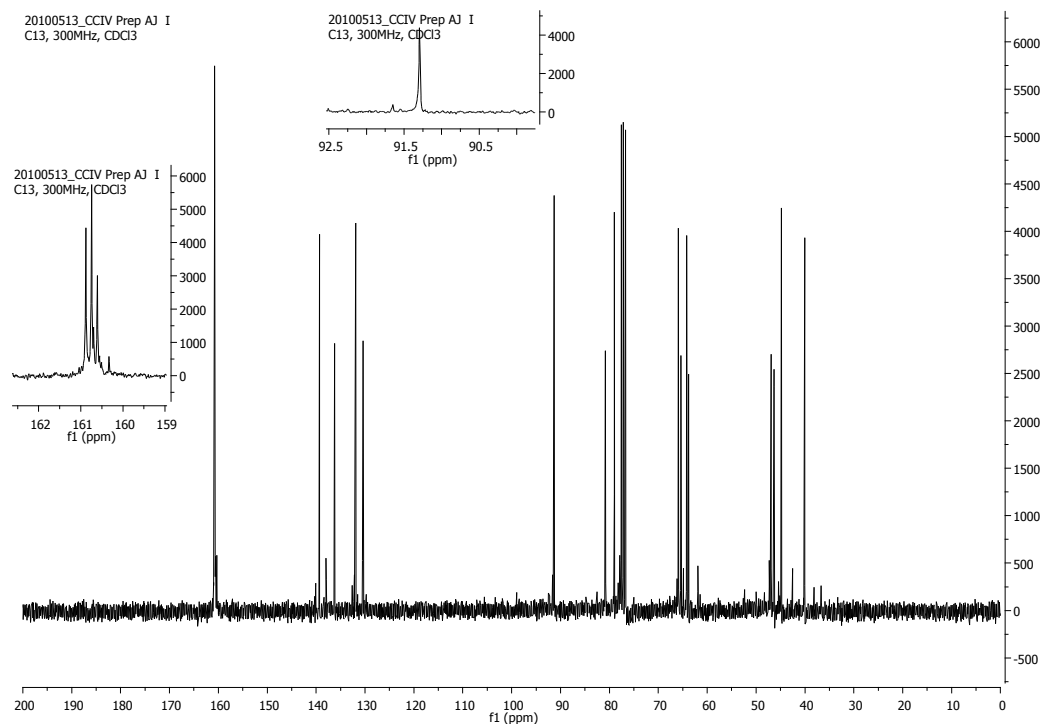


Figura 105 - Espectro ^{13}C RMN da amostra **VIIb** – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

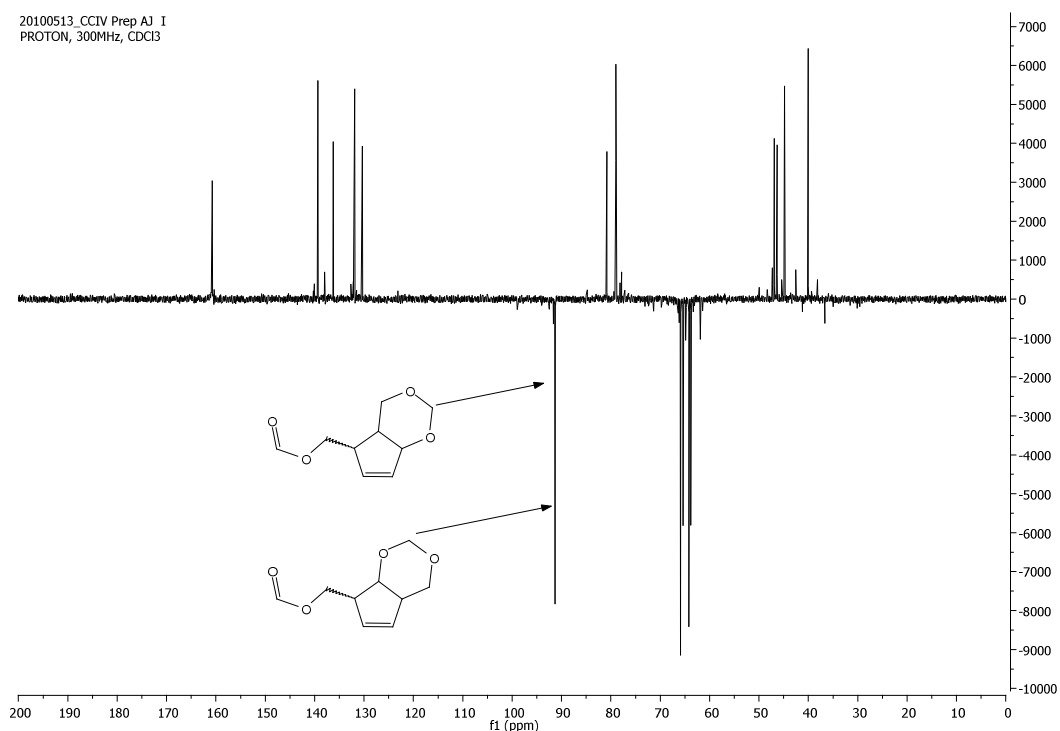


Figura 106 – Espectro DEPT 135 da amostra **VIIb** – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio 4) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl_3

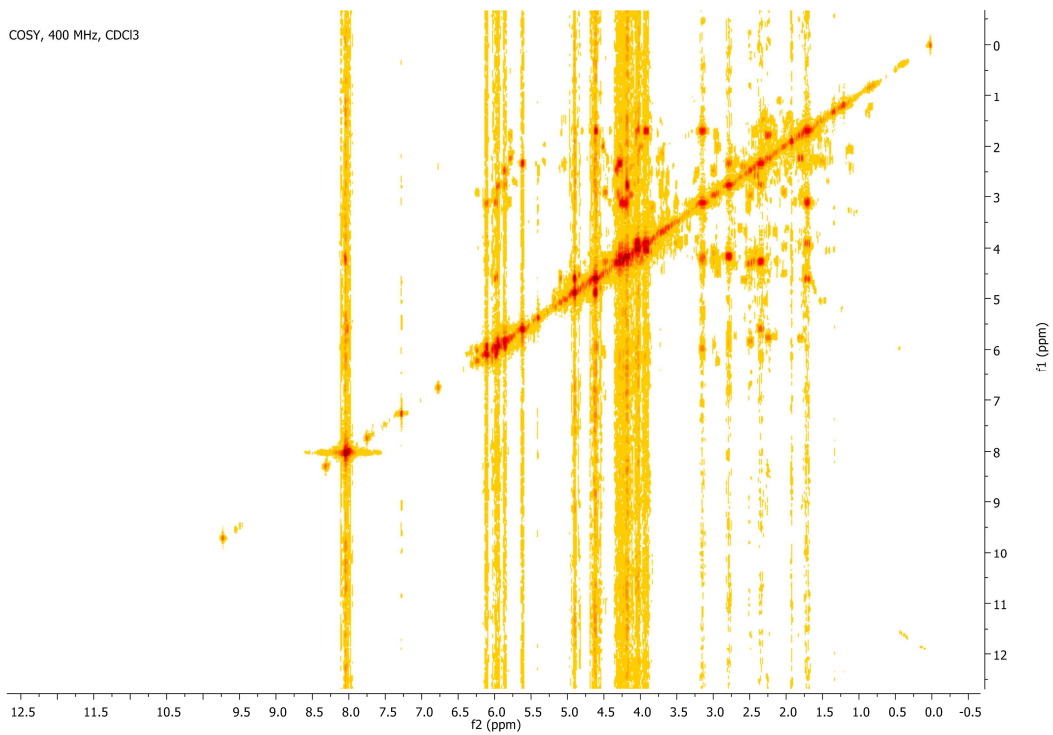


Figura 107 - Espectro COSY (homonuclear de próton) da amostra **VIIb** – proveniente de duas sessões cromatográficas do permeado da nanofiltração com membrana de 300 Da (ensaio **4**) do crude da reacção de Prins catalisada por LaCl₃

5.1.3. Espectros de massa da fracção IIIb

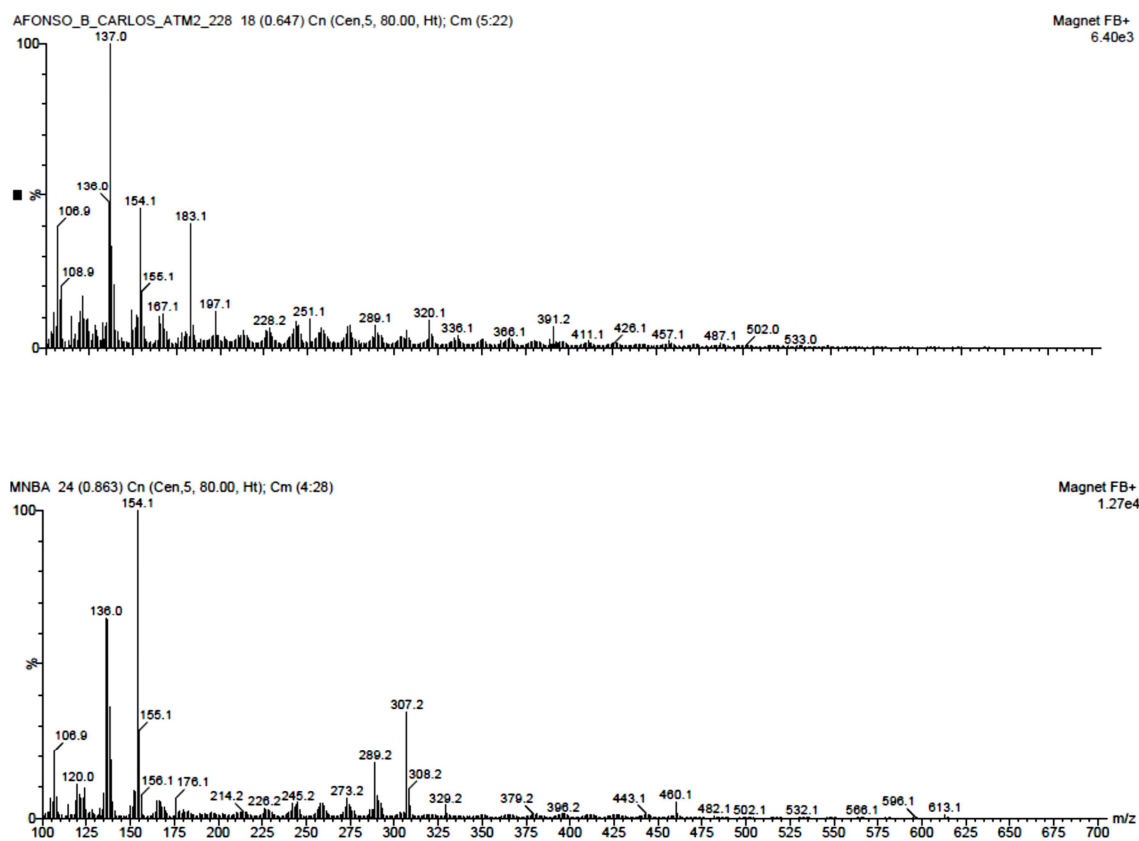


Figura 108 - Espectro de massa da amostra IIIb obtido por aplicação de diferentes radiações.

5.2. Anexos Capítulo II

5.2.1. Dados dos cromatogramas das reacções entre $Rh_2(OAc)_4$ e aminoácido (*L*)-PhAla (sempre que não está indicado) e (*L*)-Me-*O*-Tyr (quando indicado)

Tabela 36 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 0 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
5,94	378731
14,33	5722885
42,81	62267
45,42	42771

Tabela 37 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 16,5 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
6,13	269950	35,78	13191	45,01	949504
14,33	2835897	38,74	562738	49,16	249411
34,35	211799	42,35	1631620	59,30	291638

Tabela 38 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 28 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
6,04	234616	36,05	37186	45,36	1535427
14,47	2073995	38,93	618382	49,52	273708
34,53	257151	42,53	2108125	59,22	378110

Tabela 39 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 39 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
6,10	183928	35,10	51329	45,21	1944987
14,45	1202124	38,88	594512	49,19	298996
34,51	81774	42,41	2393929	58,27	404029

Tabela 40 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 80°C às 52 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
6,02	154804	35,70	67973	44,14	2260492
14,01	838121	38,38	530787	47,95	253318
33,68	282233	41,67	2541810	57,28	385487

Tabela 41 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
6,93	369529	43,65	31685
16,97	6143387	48,71	9635
35,21	20072	51,30	31938
39,82	14207		

Tabela 42 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,25 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
7,06	373616	40,06	41950
16,79	6056302	44,03	73595

35,21	107558	49,25	18371
38,22	8999	51,74	43663

Tabela 43 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,46	366726	37,61	6798	47,83	76989
15,33	5692343	39,50	106316	51,18	14809
34,80	180548	43,42	288937	60,20	17003

Tabela 44 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 0,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,52	360083	39,31	107842
15,55	5539011	43,01	288905
34,70	210887	47,37	62860
37,49	4498	59,63	15679

Tabela 45 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 1,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área
7,19	343516	40,04	225764
18,00	4977805	44,00	586444
35,30	222458	49,60	162549
38,18	13632	52,42	57152

Tabela 46 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 3,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
7,03	263683	37,41	25466	48,65	421085
17,23	3422461	39,82	368799	51,84	25208
35,11	162491	43,66	1014861	60,67	161169

Tabela 47 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 9,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,51	263809	39,31	585480	51,22	84346
15,87	2873190	43,06	1781189	55,62	15955
34,81	227742	47,94	915572	59,70	264720
36,94	54690				

Tabela 48 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 21,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,94	235267	51,28	128905	51,28	128905
16,84	2049906	55,02	17523	55,02	17523
34,92	237852	59,85	315685	59,85	315685
37,07	76492				

Tabela 49 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 35,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,86	235932	36,93	155104	47,42	2746329
15,81	1551657	39,37	716499	50,76	216537
34,80	302253	43,03	3236099	59,13	365203

Tabela 50 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção por microondas a 80°C às 52,75 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,98	247671	34,59	5525	39,66	723530	46,10	59958
16,52	1042685	34,97	599874	41,27	46594	47,86	4798399
33,64	2325	37,18	288895	42,24	18093	51,09	381150
34,22	2458	38,79	2324	43,32	4506246	59,51	372867

Tabela 51 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na₂CO₃ a 80°C às 0 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,42	260996	14,00	4207189	40,46	1346115
5,61	306894	33,66	296730	43,98	147284
8,57	34789	38,46	258644	49,00	31938

Tabela 52 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na₂CO₃ a 80°C às 8 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,19	403043	13,88	278630	39,37	23140	43,90	133083
5,54	77729	34,68	418969	40,25	95107	44,83	1205543
6,57	58529	35,49	1440689	41,45	57359	47,03	64300

Tabela 53 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na₂CO₃ a 80°C às 23 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,16	357225	14,17	42447	36,39	979847	44,61	294912
5,69	31566	34,72	557915	40,32	109499	45,11	1189700
6,72	52905	35,67	1493124	41,88	34837	47,51	210071

Tabela 54 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na₂CO₃ a 80°C às 46 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,04	167383	29,00	111627	43,86	838337	53,23	812846
3,57	84556	40,36	122579	46,50	20021	54,67	629663
9,40	95973	42,34	1570538	48,82	797009	58,20	451362

Tabela 55 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção com Na₂CO₃ a 80°C às 52 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,10	402882	35,12	1208218	42,27	527732
5,45	18207	35,72	1208075	44,23	553500
6,41	69460	38,01	61840	45,29	602202
34,30	81015	39,96	80582		

Tabela 56 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 0 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,09	336863	42,52	251609
13,93	5972705	45,19	208435
34,44	43017	49,49	73903
38,82	60150		

Tabela 57 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 2 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,61	272908	36,07	12144	45,13	420638
14,95	3775776	39,01	407207	49,96	123440
34,94	117731	42,61	988737	61,84	189279

Tabela 58 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 4,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,35	257836	35,91	37260	44,91	1028983
13,94	3130093	38,77	639563	49,53	223742
34,73	116943	42,34	1707522	61,60	360985

Tabela 59 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 7,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,27	206243	38,75	633541	44,81	1687506
14,34	2129385	41,16	15491	48,90	207844
34,49	192481	42,23	2185614	58,52	362753
35,93	42790				

Tabela 60 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 22,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,35	126457	38,91	423202	45,38	2661536
14,50	909658	41,4	14841	49,31	200726
33,96	385931	42,47	2383107	59,27	280250
36,11	93327				

Tabela 61 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 27,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,54	132424	36,14	168754	45,54	3350854
8,17	52013	39,06	363392	49,51	222877
15,03	930429	41,48	9910	55,00	32456
34,07	516551	42,62	2726862	59,64	329757

Tabela 62 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 32 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,36	105174	38,82	314543	49,26	208710
14,53	549218	41,35	5670	54,95	35516
33,82	567012	42,44	2687325	60,03	295737
35,97	172195	45,28	3483474		

Tabela 63 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 47,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,41	104840	36,03	201855	45,53	4222472
14,71	373402	38,99	267488	49,62	197528
33,94	715449	42,62	2959643	55,22	46669

Tabela 64 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 100°C às 52 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
6,45	91377	36,16	138755	45,87	3125064
14,62	256539	39,23	182687	49,94	166848
33,93	583154	42,95	2256408	60,49	131545

Tabela 65 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 0 horas

tr (min)	Área
5,94	457591
13,99	6031147

Tabela 66 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 8 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,25	51890	33,62	444615	43,92	2862245
6,00	191906	35,53	123402	47,68	68063
7,64	41638	38,21	319687	55,21	337020
14,04	1104960	41,42	1765713		

Tabela 67 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 23 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,26	262989	33,53	731074	42,91	2814035
6,04	112527	35,33	177304	44,85	770829
7,61	102182	37,68	182293	53,34	319577
13,85	205874	40,62	1613528		

Tabela 68 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 46,5 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,22	822989	33,33	1486115	42,46	2642032
5,92	74428	35,18	302680	44,21	1226501
13,68	40872	40,49	963558	52,37	128559

Tabela 69 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção térmica a 120°C às 52 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área	tr (min)	Área
3,25	949408	19,67	1048	42,33	2538566
5,88	58089	33,24	1552432	44,03	1240743
7,49	166050	35,09	300700	49,50	1803
14,95	19953	40,39	786008	52,10	110827
19,42	12726				

Tabela 70 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh₂(OAc)₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 0 horas

tr (min)	Área
10,07	2996541
16,59	5939275

Tabela 71 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o Rh₂(OAc)₄ e (L)-Me-O-Tyr a 80°C às 8 horas

tr (min)	Área	tr (min)	Área
8,46	2823966	34,86	1154440

13,97	4584003	37,29	132997
29,21	525196	42,15	169227
32,92	811380		

Tabela 72 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ a 80°C às 23 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
8,45	2437112	34,71	2341838
14,00	3072288	36,91	288826
29,20	642481	41,14	544310
32,84	1697920		

Tabela 73 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ a 80°C às 46 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
8,15	2241016	33,83	3164546
13,51	2128995	35,30	343791
28,96	838842	36,88	101062
32,20	2550807	39,03	873154

Tabela 74 - Tempos de retenção e dos picos do cromatograma da reacção entre o $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ e $(L)\text{-Me-O-Tyr}$ a 80°C às 52 horas

<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>	<u>tr (min)</u>	<u>Área</u>
7,91	1838751	33,65	2826363
12,94	1620420	35,01	257794
28,88	652515	36,55	86928
32,04	2233327	38,58	745818

6. Referências

- (1) Pastor, I. M.; Yus, M., *Curr. Org. Chem.*, **2007**, *11*, 925.
- (2) Savillestones, E. A.; Lindell, S. D.; Jennings, N. S.; Head, J. C.; Ford, M. J., *J. Chem. Soc. Perk. T. 1*, **1991**, 2603.
- (3) Bajorek, J. J. S.; Battagli.R; Pratt, G.; Sutherla.Jk, *J. Chem. Soc. Perk. T. 1*, **1974**, 1243.
- (4) Paulsen, H.; Maass, U., *Chemische Berichte-Recueil*, **1981**, *114*, 346.
- (5) Lackey, J. W.; Mook, R. A.; Partridge, J. J.; Glaxo Group Ltd (Glax) Glaxo Inc (Glax).
- (6) Roberts, S. M.; Shoberu, K. A., *J. Chem. Soc. Perk. T. 1*, **1991**, 2605.
- (7) Hodgson, D. M.; Witherington, J.; Moloney, B. A., *J. Chem. Soc. Perk. T. 1*, **1994**, 3373.
- (8) Tanaka, M.; Norimine, Y.; Fujita, T.; Suemune, H.; Sakai, K., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6952.
- (9) Story, P. R., *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 287.
- (10) La Clair, J. F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 2769.
- (11) Nayek, A.; Banerjee, S.; Sinha, S.; Ghosh, S., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 6457.
- (12) Banerjee, S.; Ghosh, S.; Sinha, S.; Ghosh, S., *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 4199.
- (13) Hudon, J.; Cernak, T. A.; Ashenhurst, J. A.; Gleason, J. L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 8885.
- (14) Ashenhurst, J. A.; Isakovic, L.; Gleason, J. L., *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 368.
- (15) Marquez, V. E.; Lim, M. I., *Med. Res. Rev.*, **1986**, *6*, 1.
- (16) Crimmins, M. T., *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 9229.
- (17) Liao, X. B.; Butora, G.; Olsen, D. B.; Carroll, S. S.; McMasters, D. R.; Leone, J. F.; Stahlhut, M.; Doss, G. A.; Yang, L. H.; MacCoss, M., *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 4149.
- (18) Kurteva, V. B.; Afonso, C. A. M., *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 6809.
- (19) Daluge, S.; Vince, R., *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 2311.
- (20) Teran, C.; Santana, L.; Teijeira, M.; Uriarte, E.; De Clercq, E., *Chem. Pharm. Bull.*, **2000**, *48*, 293.
- (21) Santana, L.; Teijeira, M.; Uriate, E.; Balzarini, J.; De Clercq, E., *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, *37*, 755.
- (22) "The Millennium Development Goals Report", United Nations, **2010**.
- (23) <http://www.avert.org/>, 2/11/2010
- (24) Pinheiro, E. D.; Antunes, O. A. C.; Fortunak, J. M. D., *Antiviral Res.*, **2008**, *79*, 143.
- (25) Vandezande, P.; Gevers, L. E. M.; Vankelecom, I. F. J., *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 365.
- (26) Ojima, I., *Catalytic Asymmetric Synthesis*; 2nd ed.: New York, **2000**.
- (27) (a) Baldwin, J. E.; Thomas, R. C.; Kruse, L. I.; Silberman, L., *J. Org. Chem.*, **1977**, *42*, 3846; (b) Baldwin, J. E., *J Chem Soc Chem Comm*, **1976**, 734.
- (28) Chifotides, H. T.; Dunbar, K. R.; Cotton, F. A.; Murillo, C. A.; Walton, R. A., *Multiple Bonds between Metal Atoms*; 3rd ed., **2005**.
- (29) Mautjana, A. N.; Miller, J. D. S.; Gie, A.; Bourne, S. A.; Koch, K. R., *Dalton Trans.*, **2003**, 1952.
- (30) Agaskar, P. A.; Cotton, F. A.; Falvello, L. R.; Han, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 1214.

- (31) Doyle, M. P.; Bagheri, V.; Wandless, T. J.; Harn, N. K.; Brinker, D. A.; Eagle, C. T.; Loh, K. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 1906.
- (32) Doyle, M. P., *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 9253.
- (33) Wilson, C. R.; Taube, H., *Inorg. Chem.*, **1975**, *14*, 405.
- (34) Yaman, S. O.; Onal, A. M.; Isci, H., *Z Naturforsch B*, **2003**, *58*, 563.
- (35) Roosa, G. H. P.; McKervey, M. A., *Synth. Commun.*, **1992**, *22*, 1751.
- (36) Koralewicz, M.; Pruchnik, F. P.; Szymaszek, A.; Wajda-Hermanowicz, K.; Wrona-Grzegorek, K., *Transition Met. Chem. (London)*, **1998**, *23*, 523.
- (37) Lifsey, R. S.; Lin, X. Q.; Chavan, M. Y.; Ahsan, M. Q.; Kadish, K. M.; Bear, J. L., *Inorg. Chem.*, **1987**, *26*, 830.
- (38) Doyle, M. P.; Austin, R. E.; Bailey, A. S.; Dwyer, M. P.; Dyatkin, A. B.; Kalinin, A. V.; Kwan, M. M. Y.; Liras, S.; Oalman, C. J.; Pieters, R. J.; Protopopova, M. N.; Raab, C. E.; Roos, G. H. P.; Zhou, Q. L.; Martin, S. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5763.
- (39) Doyle, M. P.; Zhou, Q. L.; Raab, C. E.; Roos, G. H. P.; Simonsen, S. H.; Lynch, V., *Inorg. Chem.*, **1996**, *35*, 6064.
- (40) Welch, C. J.; Tu, Q.; Wang, T. B.; Raab, C.; Wang, P.; Jia, X. J.; Bu, X. D.; Bykowski, D.; Hohenstaufen, B.; Doyle, M. P., *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, *348*, 821.
- (41) Szilvagy, G.; Hollosi, M.; Tolgyesi, L.; Frelek, J.; Majer, Z., *Tetrahedron-Asymmetry*, **2008**, *19*, 2594.
- (42) Zaykov, A. N.; MacKenzie, K. R.; Ball, Z. T., *Chem-Eur J*, **2009**, *15*, 8961.
- (43) Davies, H. M. L.; Hansen, T.; Churchill, M. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3063.
- (44) Lou, Y.; Horikawa, M.; Kloster, R. A.; Hawryluk, N. A.; Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 8916.
- (45) Doyle, M. P.; Morgan, J. P.; Fetting, J. C.; Zavalij, P. Y.; Colyer, J. T.; Timmons, D. J.; Carducci, M. D., *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 5291.
- (46) Candeias, N. R.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M., *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 5489.
- (47) Gomes, L. F. R.; Trindade, A. F.; Candeias, N. R.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M., *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, 7372.
- (48) Doyle, M. P.; Pieters, R. J.; Martin, S. F.; Austin, R. E.; Oalman, C. J.; Muller, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 1423.
- (49) Lou, Y.; Remarchuk, T. P.; Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 14223.
- (50) Gois, P. M. P.; Trindade, A. F.; Veiros, L. F.; Andre, V.; Duarte, M. T.; Afonso, C. A. M.; Caddick, S.; Cloke, F. G. N., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 5750.
- (51) (a) Mckervey, M. A.; Ye, T., *J Chem Soc Chem Comm*, **1992**, 823; (b) Ye, T.; Garcia, C. F.; Mckervey, M. A., *J. Chem. Soc. Perk. T. 1*, **1995**, 1373.
- (52) Tsutsui, H.; Abe, T.; Nakamura, S.; Anada, M.; Hashimoto, S., *Chem. Pharm. Bull.*, **2005**, *53*, 1366.
- (53) Tsutsui, H.; Yamaguchi, Y.; Kitagaki, S.; Nakamura, S.; Anada, M.; Hashimoto, S., *Tetrahedron-Asymmetry*, **2003**, *14*, 817.
- (54) (a) Rosenber.B; Vancamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H., *Nature*, **1969**, *222*, 385; (b) Rosenber.B; Vancamp, L., *Cancer Res.*, **1970**, *30*, 1799.
- (55) Asara, J. M.; Hess, J. S.; Lozada, E.; Dunbar, K. R.; Allison, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 8.
- (56) Dunham, S. U.; Chifotides, H. T.; Mikulski, S.; Burr, A. E.; Dunbar, K. R., *Biochemistry*, **2005**, *44*, 996.
- (57) Kang, M.; Chifotides, H. T.; Dunbar, K. R., *Biochemistry*, **2008**, *47*, 2265.

- (58) Frade, R. F. M.; Candeias, N. R.; Duarte, C. M. M.; Andre, V.; Duarte, M. T.; Gois, P. M. P.; Afonso, C. A. M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 3413.
- (59) Erck, A.; Sherwood, E.; Bear, J. L.; Kimball, A. P., *Cancer Res.*, **1976**, *36*, 2204.
- (60) Howard, R. A.; Kimball, A. P.; Bear, J. L., *Cancer Res.*, **1979**, *39*, 2568.
- (61) Dunbar, K. R.; Matonic, J. H.; Saharan, V. P.; Crawford, C. A.; Christou, G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 2201.
- (62) Chifotides, H. T.; Koshlap, K. M.; Perez, L. M.; Dunbar, K. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 10714.
- (63) Candeias, N. R., Ph. D. Thesis, *Intramolecular C-H Insertion of α -Diazoacetamides in Water*, Ph. D. Thesis, Universidade Técnica de Lisboa, **2008**.
- (64) de la Hoz, A.; Diaz-Ortiz, A.; Moreno, A., *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, *34*, 164.
- (65) Strauss, C. R.; Rooney, D. W., *Green Chem.*, **2010**, *12*, 1340.
- (66) Armarego, W. L. F.; Perrin, D. D., *Butterworth Heinemann*; 4th ed., **1996**.
- (67) Vogel, A., *Vogel's text book of practical organic synthesis including qualitative organic analysis*; 4th ed., **1978**.