

Universidade do Minho

Escola de Ciências

Joana Rita da Silva Lopes

Síntese de péptidos contendo resíduos de aminoácidos não proteinogénicos

Tese de Mestrado
Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação de
Doutor Luís Miguel Oliveira Sieuve Monteiro
e de
Doutora Sílvia Manuela Monteiro Alves Pereira Lima

Outubro de 2015

Declaração

Nome: Joana Rita da Silva Lopes

Endereço eletrónico: joana.rita.lopes@hotmail.com

Telefone: (+351) 914836921

Número do cartão do cidadão: 14173345

Título dissertação: Síntese de péptidos contendo resíduos de aminoácidos não proteínogénicos

Orientadores:

Doutor Luís Miguel Oliveira Sieuve Monteiro

Doutora Sílvia Manuela Monteiro Alves Pereira Lima

Ano de conclusão: 2015

Designação do Mestrado: Mestrado em Química Medicinal

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE

Universidade do Minho, 30 de Outubro de 2015

Assinatura: _____

Agradecimentos

O projeto que desenvolvi ao longo do segundo ano de mestrado, que foi um muito importante para eu crescer a nível académico, não só me envolveu a mim como a outras pessoas às quais aproveito desde já para agradecer.

O meu enorme agradecimento ao Doutor Luís Monteiro e à Doutora Sílvia Pereira-Lima pela oportunidade de realizar este trabalho, pela sua orientação, ensinamentos, disponibilidade e imenso apoio.

Gostaria também de agradecer aos meus amigos de mestrado pelo companheirismo e os momentos agradáveis e em especial aos que estiveram comigo no laboratório. Agradeço também aos restantes amigos.

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

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

À Dra. Elisa e Dra. Vânia pela disponibilidade e profissionalismo na realização dos espetros de RMN e MS (ESI).

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

Resumo

A indústria farmacêutica tem vindo a aumentar o interesse em fármacos à base de péptidos, dando por isso uma grande importância à investigação dos mesmos. A utilização de péptidos com aminoácidos naturais como fármacos tem alguns problemas farmacológicos. Nomeadamente, a elevada flexibilidade conformacional que pode levar à perda de especificidade e/ou à ativação de processos biológicos não desejáveis, e a baixa estabilidade metabólica, devido às enzimas do trato gastrointestinal, pode baixar a sua biodisponibilidade. Existe assim um especial interesse pela síntese de novos péptidos contendo aminoácidos não naturais que permitam a resolução destes problemas.

Neste trabalho descreve-se a síntese de novos derivados de dipéptidos contendo aminoácidos não naturais com elevada restrição conformacional. Inicialmente, foram sintetizados derivados de *N*-acildipéptidos com fenilalanina ou com $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina protegidos com os grupos protetores *tert*-butiloxicarbonilo ou benziloxicarbonilo no terminal amina e ésteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos no terminal carboxilo. Posteriormente, sintetizou-se os correspondentes derivados *N*-acildesidrodipéptidos por reação de desidratação com pirocarbonato de *tert*-butilo, 4-dimetilaminopiridina e *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina. Os derivados de *N*-acildesidrodipéptido obtidos foram transformados nos respetivos análogos β -bromados, *N*-acil- β,β -dibromo desidrodipéptidos ou *N*-acil- β -bromodesidrodipéptidos β -substituídos, por ação da *N*-bromosuccinimida e trietilamina. Por fim, os derivados anteriores foram utilizados em reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura, reagindo com o ácido fenilborónico, na presença de cloreto de paládio, como catalisador, e o carbonato de céσιο.

De seguida, realizou-se uma sequência de reações tendo em vista a obtenção de derivados de dipéptidos semelhantes aos anteriores, mas com a ordem dos aminoácidos trocada, isto é, com β -hidroxiaminoácidos no terminal amina e a $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina no terminal carboxilo. Obtiveram-se os derivados de *N*-acildipéptidos que foram sujeitos às mesmas condições de desidratação mas não originaram os correspondentes desidrodipéptidos. Seguiu-se uma estratégia de síntese alternativa realizando a desidratação e bromação do *N*-acil- β -hidroxiaminoácido, tentando-se em seguida desproteger para se acoplar com o éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina.

Abstract

The pharmaceutical industry has had an increased interest in drugs based on peptides, amplifying the importance of research in this area. The use as pharmacological agents of natural amino acids in peptide drugs has some problems associated. The high conformational flexibility can lead to loss of specificity and/or unwanted activation of biological processes and low metabolic stability, due to the enzymes of the gastrointestinal tract, which can lower their bioavailability. Thus, there is a special interest in the synthesis of new peptides containing non-proteinogenic amino acids that can circumvent these problems.

In this work, is described the synthesis of new derivatives of dipeptides containing non-proteinogenic amino acids with high conformational restraints. Initially, derivatives of *N*-acylpeptides with phenylalanine or $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine with the protecting groups *tert*-butyloxycarbonyl or benzyloxycarbonyl as amine terminal residue, and the methyl ester of a β -hydroxyamino acids as carboxyl residue were synthesized. Subsequently, by a dehydration reaction with *tert*-butylpyrocarbonate, 4-dimethylaminopyridine and *N,N,N',N'*-tetramethylguanidine the corresponding *N*-acyldehydrodipeptides derivatives were prepared. By reaction with *N*-bromosuccinimide and triethylamine, the *N*-acyldehydrodipeptides derivatives were converted into the respective brominated analogues: *N*-acyl- β,β -dibromo dehydrodipeptide or β -substituted *N*-acyl- β -bromodehydrodipeptide. Finally, the derivatives above were used in Suzuki-Miyaura coupling reactions with phenylboronic acid in the presence of palladium chloride as catalyst and cesium carbonate.

Subsequently, a sequence of reactions were carried out in order to obtain dipeptide derivatives similar to the preceding, but with the amino acids order inverted, i.e. with the β -brominated dehydroalanine as amine terminal residue and $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine as carboxyl residue. However, when the *N*-acyldipeptide derivatives were subject to the same dehydration conditions they failed to yield the corresponding dehydrodipeptides. An alternative synthetic strategy was then followed. Dehydration and bromination reactions were carried out on the methyl ester of the *N*-acyl- β -hydroxyamino acid. Subsequently, deprotection of the methyl ester of was attempted.

Publicações

O trabalho aqui descrito foi apresentado em vários encontros científicos sob a forma de comunicação em painel, que se indicam a seguir:

Comunicações em painel:

J. Lopes, L.S. Monteiro, S. P. Lima " Synthesis of dehydrodipeptides derivatives with a $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine residue", *XXIV Encontro Nacional Da Sociedade Portuguesa de Química*, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 1 a 3 de Julho de 2015.

J. Lopes, L.S. Monteiro, S. P. Lima " Synthesis of dehydrodipeptides derivatives with a $C^{\alpha,\alpha}$ -dimethylglycine residue", *2nd Symposium of Medicinal Chemistry of University of Minho*, Universidade do Minho, Braga, Portugal, 9 de Maio de 2015.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Publicações	ix
Índice	xi
Índice de Figuras	xiii
Índice de Esquemas	xv
Índice de Tabelas	xvii
Abreviaturas e símbolos	xix
Capítulo 1. Introdução	1
1.1 Péptidos terapêuticos	3
1.2 Aminoácidos, péptidos e proteínas	3
1.3 Aminoácidos não proteínogénicos	4
1.3.1 D-Aminoácidos	5
1.3.2 β -Aminoácidos	6
1.3.3 Alaninas β -substituídas	7
1.3.4 $C^{\alpha,\alpha}$ -Dialquilglicinas	8
1.3.5 Desidroaminoácidos	9
1.3.5.1 Síntese de desidroaminoácidos	11
1.3.5.2 Síntese de desidroaminoácidos por reação de eliminação	12
1.3.5.3 Halogenação de desidroaminoácidos	15
1.3.5.4 Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura	17
1.3.6 <i>N</i> -Alquilaminoácidos	18
Capítulo 2. Resultados e Discussão	25
2.1 Objetivos do trabalho proposto	27
2.2 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe	29
2.2.1 Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe	29
2.2.2 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe	30
2.2.3 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe	31
2.3 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe	32
2.3.1 Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildipéptidos	32
2.3.2 Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos	35
2.3.3 Síntese de derivados β -bromados	37
2.3.4 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe	42
2.4 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-Aib-OMe	44
2.4.1 Síntese do Boc-L-Ser-Aib-OMe e do Boc-L-Thr-Aib-OMe	44
2.4.2 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala-Aib-OMe e de Boc- Δ Abu-Aib-OMe	45
2.4.3 Síntese de Boc-L-Ser-OMe	47
2.4.4 Síntese de Boc- Δ Ala-OMe	47
2.4.5 Síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe	48
2.4.6 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH	49

Capítulo 3. Conclusões e perspectivas futuras	51
Capítulo 4. Parte Experimental	57
4.1 Procedimentos gerais	59
4.2 Síntese de ésteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos	60
4.2.1 Síntese do éster metílico da L-serina	60
4.2.2 Síntese do éster metílico da L-treonina	60
4.2.3 Síntese do éster metílico da D,L- β -hidroxifenilalanina	61
4.2.4 Síntese do éster metílico da C ^{α} -dimetilglicina	61
4.3 Síntese de ésteres metílicos de N-acildipéptidos	62
4.3.1 Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe 1a	62
4.3.2 Síntese de Boc-Aib-L-Ser-OMe 1b	62
4.3.3 Síntese de Boc-Aib-L-Thr-OMe 1c	63
4.3.4 Síntese de Boc-Aib-D,L-Phe(β -OH)-OMe 1d	64
4.3.5 Síntese de Z-Aib-L-Thr-OMe 1e	65
4.3.6 Síntese de Boc-L-Ser-Aib-OMe 1f	66
4.3.7 Síntese de Boc-L-Thr-Aib-OMe 1g	66
4.4 Síntese dos ésteres metílicos de N-acildesidrodipéptidos	67
4.4.1 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe 2a	67
4.4.2 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala-OMe 2b	68
4.4.3 Síntese de Boc-Aib- Δ Abu-OMe 2c	69
4.4.4 Síntese de Boc-Aib- Δ Phe-OMe 2d	70
4.4.5 Síntese de Z-Aib- Δ Abu-OMe 2e	71
4.5 Síntese de derivados β -bromados	71
4.5.1 Síntese de Boc-Phe- Δ Ala(β , β -Br)-OMe 3a	71
4.5.2 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Br)-OMe 3b	72
4.5.3 Síntese de Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe 3c	73
4.5.4 Síntese de Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe 3d	74
4.5.5 Síntese de Z-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe 3e	75
4.6 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe	76
4.6.1 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe 4b	76
4.6.1.1 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe a partir de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Br)-OMe	76
4.6.1.2 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe a partir de Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe	76
4.6.2 Síntese de Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe 4c	77
4.7 Síntese de ésteres metílicos de N-(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-aminoácido	78
4.7.1 Síntese de Boc-L-Ser-OMe 5h	78
4.7.2 Síntese de Boc- Δ Ala-OMe 6h	79
4.7.3 Síntese de Boc- Δ Ala(β , β -Br)-OMe 7h	79
4.8 Tentativa de síntese de ésteres metílicos de N-(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-dipéptidos	80
4.8.1 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala-Aib-OMe 2f	80
4.8.2 Tentativa de síntese do Boc- Δ Abu-Aib-OMe 2g	81
4.8.3 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β , β -Br)-OH 8h	81
Capítulo 5. Bibliografia	83
Anexos	89

Índice de Figuras

Figura 1: Enantiómeros D e L de α -aminoácidos _____	5
Figura 2: Estrutura da gramicidina S _____	6
Figura 3: Estrutura de β -aminoácidos _____	6
Figura 4: Estrutura do taxol _____	6
Figura 5: Estrutura de alaninas β -substituídas _____	7
Figura 6: Estrutura da tiroxina _____	7
Figura 7: Estrutura de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas _____	8
Figura 8: Estrutura de α,β -desidroaminoácidos _____	10
Figura 9: Estrutura da nisina _____	11
Figura 10: Estrutura de <i>N</i> -alquilaminoácidos _____	18
Figura 11: Estrutura da ciclosporina _____	19
Figura 12: Espetro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto 1b _____	34
Figura 13: Espetro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto 2b _____	37
Figura 14: Espetro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto 3b _____	40
Figura 15: Espetro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto 3e _____	41
Figura 16: Espetro de NOE com irradiação no sinal do próton NH do $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})$, do composto 3e _____	41
Figura 17: Espetro de RMN de ^1H , 400 MHz em DMSO-d_6 , do composto 4b _____	44

Índice de Esquemas

Esquema 1: Formação da ligação peptídica _____	4
Esquema 2: Síntese dos derivados de <i>N,N</i> -diacildesidroaminoácidos _____	14
Esquema 3: Síntese dos derivados de <i>N</i> -acildesidroaminoácidos _____	14
Esquema 4: Síntese de compostos bifenilo _____	17
Esquema 5: Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura _____	18
Esquema 6: Síntese de derivados de <i>N</i> -etil- α,β -desidroaminoácidos _____	20
Esquema 7: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β,β -dibromodesidroalanina e de <i>N</i> -acil, <i>N</i> -etil- β -bromodesidroaminoácidos β -substituídos _____	20
Esquema 8: Síntese de derivados de <i>N</i> -etildesidroaminoácidos _____	21
Esquema 9: Síntese de derivados de <i>N</i> -etil ou <i>N</i> -metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina _____	22
Esquema 10: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -etil, <i>N</i> -(4-nitrofenilsulfonil)desidrodipéptidos _____	23
Esquema 11: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acil- β,β -difenildesidrodipéptidos e de <i>N</i> -acil- β -metil- β -fenildesidrodipéptidos _____	27
Esquema 12: Síntese de Boc-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe _____	28
Esquema 13: Tentativa de síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidrodipéptidos _____	29
Esquema 14: Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH _____	29
Esquema 15: Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe _____	30
Esquema 16: Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe _____	30
Esquema 17: Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe _____	31
Esquema 18: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildipéptidos _____	32
Esquema 19: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos _____	35
Esquema 20: Síntese de ésteres metílicos β -bromados de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos _____	37
Esquema 21: Síntese de ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura _____	42
Esquema 22: Síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-dipéptidos _____	45
Esquema 23: Tentativa de síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-desidrodipéptidos _____	46
Esquema 24: Síntese de Boc-L-Ser-OMe _____	47
Esquema 25: Síntese de Boc- Δ Ala-OMe _____	47
Esquema 26: Síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe _____	48
Esquema 27: Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH _____	49

Índice de Tabelas

Tabela 1: Reações de halogenação de derivados de desidroaminoácidos _____	16
Tabela 2: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-dipéptidos e os seus desvios químicos _____	32
Tabela 3: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildipéptidos _____	33
Tabela 4: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de <i>N</i> -acildipéptidos _____	34
Tabela 5: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos _	35
Tabela 6: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos __	36
Tabela 7: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos β -bromados de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos _____	38
Tabela 8: Desvios químicos observados para ésteres metílicos β -bromados de <i>N</i> -acildesidrodipéptidos _____	40
Tabela 9: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura _____	42
Tabela 10: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura _____	43
Tabela 11: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-dipéptidos _____	45
Tabela 12: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-dipéptidos _____	45
Tabela 13: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de <i>N</i> -(<i>terc</i> -butiloxicarbonil)-aminoácidos e seus desvios químicos _____	48

Abreviaturas e símbolos

a.a	Aminoácido
Ac	Acetilo
ACN	Acetonitrilo
Aib	Ácido α -aminoisobutírico ou $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina
Ar	Aromático
Boc	Grupo <i>tert</i> -butiloxicarbonilo
Boc ₂ O	Piromcarbonato de <i>tert</i> -butilo
Bz	Grupo benzoílo
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
d	Dupleto
Dabco	1,4-Diazodieciclo[2,2,2]octano
DBU	1,8-Diazadieciclo[5,4,0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropilcarbodiimida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic acid</i>)
Dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
ESI	Ionização por eletrospray (do inglês <i>Electrospray Ionization</i>)
Et ₃ N	Trietilamina
FDA	<i>Food and drug administration</i>
HMBC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional a longa distância (do inglês <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HSQC	Correlação espectroscópica heteronuclear bidimensional (do inglês <i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>)
HOBt	1-hidroxibenzotriazole
MS	Espetroscopia de massa (do inglês <i>Mass Spectrometry</i>)
Hz	Hertz

<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
Leu	Leucina
m	Multiplete
Naf	Grupo naftaloílo
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NOE	Efeito ouverhauser nuclear (do inglês <i>Nuclear overhauser effect</i>)
Nosil	Grupo 4-nitrofenilsulfonilo
Orn	Ornitina
p.f.	Ponto de fusão
Phe	Fenilalanina
Phe(β -OH)	β -Hidroxifenilalanina ou fenilserina
ppm	Partes por milhão
Pro	Prolina
q	Quarteto
RMN de ^{13}C / ^{13}C RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H / ^1H RMN	Ressonância magnética nuclear de protão
s	Singleto
s largo	Singleto largo
Ser	Serina
t	Triplete
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês " <i>Thin Layer Chromatography</i> ")
TMG	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametilguanidina
Tos	Grupo 4-toluenosulfonilo
Trt	Grupo Tritilo
Val	Valina
Z	Grupo benziloxicarbonilo

Z(NO ₂)	Grupo 4-nitrobenziloxycarbonilo
ΔAbu	Ácido desidroaminobutírico
ΔAla	Desidroalanina
ΔLeu	Desidroleucina
ΔPhe	Desidrofenilalanina
ΔVal	Desidrovalina

Capítulo 1. **Introdução**

1.1 Péptidos terapêuticos

A Indústria farmacêutica é um dos setores mais importante na indústria atual, dado que se dedica a uma vertente essencial para o bem-estar da humanidade, a saúde e é um dos poucos setores em crescimento no meio económico atual. Apesar disso, a cada ano que passa, está a lançar cada vez menos fármacos no mercado, uma vez que existe uma necessidade de reduzir os custos associados e também porque as autoridades reguladoras são cada vez mais exigentes no que diz respeito a eficácia, a qualidade e a segurança dos fármacos. Por outro lado, tem-se verificado um aumento de fármacos à base péptidos no total de novos fármacos aprovados.¹

O grande interesse na investigação e desenvolvimento de péptidos pela indústria farmacêutica está relacionado com o facto de os péptidos serem muito seletivos e eficazes.² Apresentam uma elevada atividade biológica, assim como uma elevada especificidade e baixa toxicidade, embora possam apresentar baixa biodisponibilidade. Para contornar alguns dos problemas que os péptidos apresentam recorre-se à síntese de análogos, que consigam manter a sua atividade biológica e que possuam elementos que permitam ser mais resistentes à atividade das enzimas hidrolíticas. Uma das formas de contornar alguns dos problemas é recorrer à incorporação de aminoácidos não proteínogénicos em péptidos bioativos.^{1,3,4}

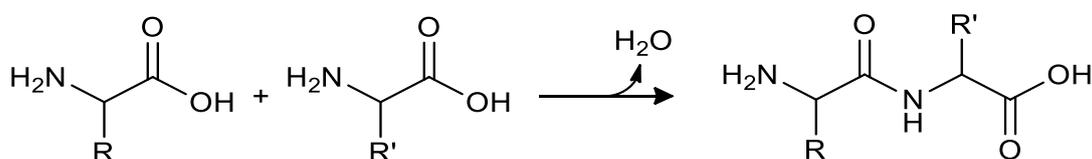
Durante a última década, os péptidos têm tido inúmeras aplicações nas áreas da medicina, da biotecnologia e da investigação. Por exemplo, na medicina utiliza-se o Lupron™ (Acetato de leuprorrelina) da Abbott Laboratories para tratar o cancro da próstata e o Lantus™ (Insulina glargina) da Sanofi para controlar a diabetes. Existem no mercado mais de 60 fármacos à base de péptidos aprovados pela *Food and drug administration* (FDA). Existem ainda cerca de 140 fármacos derivados de péptidos em ensaios clínicos e mais de 500 em desenvolvimento pré-clínico.²

1.2 Aminoácidos, péptidos e proteínas

Aminoácidos são compostos orgânicos que possuem na sua estrutura um grupo ácido carboxílico (-COOH) e um grupo amina (-NH₂) ligados ao mesmo átomo de carbono. A este átomo de carbono liga-se geralmente um átomo de hidrogénio e um grupo químico que varia conforme o aminoácido e que se designa por cadeia lateral (R).

Capítulo 1. Introdução

Embora atualmente se conheçam inúmeros aminoácidos, apenas 20 são codificados pelo DNA. Os aminoácidos ligam-se entre si através de uma ligação covalente entre o grupo carboxílico de um aminoácido e o grupo amina de outro aminoácido, formada por reação de condensação com eliminação de uma molécula de água (**Esquema 1**). Obtêm-se assim uma ligação amida que se designa por ligação peptídica. Com a formação de várias ligações peptídicas obtêm-se péptidos, se as cadeias poliméricas forem curtas, ou proteínas, se as cadeias poliméricas forem mais longas (com pelo menos mais de cerca de 40 resíduos de aminoácidos).



Esquema 1: Formação da ligação peptídica

1.3 Aminoácidos não proteínogénicos

Os aminoácidos não proteínogénicos, também designados por não naturais, são uma classe de compostos orgânicos muito relevantes, quer por apresentarem uma atividade biológica intrínseca, quer por fazerem parte de péptidos com atividade antiviral, anti-tumoral, anti-inflamatória ou imunossupressora. Pode-se alterar as propriedades estruturais, químicas e farmacológicas de péptidos e proteínas ao introduzir-se na sua cadeia aminoácidos não naturais.⁵

Os aminoácidos não proteínogénicos quando introduzidos em péptidos podem ser usados para restringir a sua liberdade conformacional e/ou para integrar novos grupos funcionais, podendo assim modificar a sua atividade, a estabilidade e a especificidade de ligação a moléculas receptoras.^{6,7}

Existem diferentes tipos de aminoácidos não proteínogénicos como por exemplo os D-aminoácidos, os β -aminoácidos, as alaninas β -substituídas, as $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas, os desidroaminoácidos e os *N*-alquilaminoácidos.

1.3.1 D-Aminoácidos

Todos os aminoácidos proteínogénicos, com a exceção da glicina, têm o carbono α quiral, o que lhes confere atividade ótica. Deste modo, para cada aminoácido existem dois enantiómeros, que se convencionou designar por D e L, sendo a atribuição definida pela posição dos substituintes em torno do carbono α (**Figura 1**).

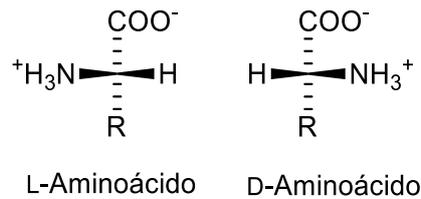


Figura 1: Enantiómeros D e L de α -aminoácidos

Os D-aminoácidos podem ser encontrados em alguns péptidos mas geralmente não se encontram nas proteínas embora existam livres na natureza. Encontram-se principalmente nas paredes celulares de microrganismos, onde podem existir também enzimas capazes de hidrolisar péptidos contendo D-aminoácidos. Estas enzimas parecem estar envolvidas em processos de construção e modificação da parede da célula bacteriana e estão associadas à resistência contra os antibióticos peptídicos e β -lactamas. Em outros casos, a sua função *in vivo* é desconhecida.⁸

A gramicidina S é um exemplo de um péptido contendo um D-aminoácido na sua estrutura. É um antibiótico contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e alguns fungos e é isolado a partir das bactérias Gram-positivas, *Bacillus brevis*. A sua estrutura é um ciclo-decapéptido que apresenta na sua estrutura a D-fenilalanina [ciclo(Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro)₂] (**Figura 2**).

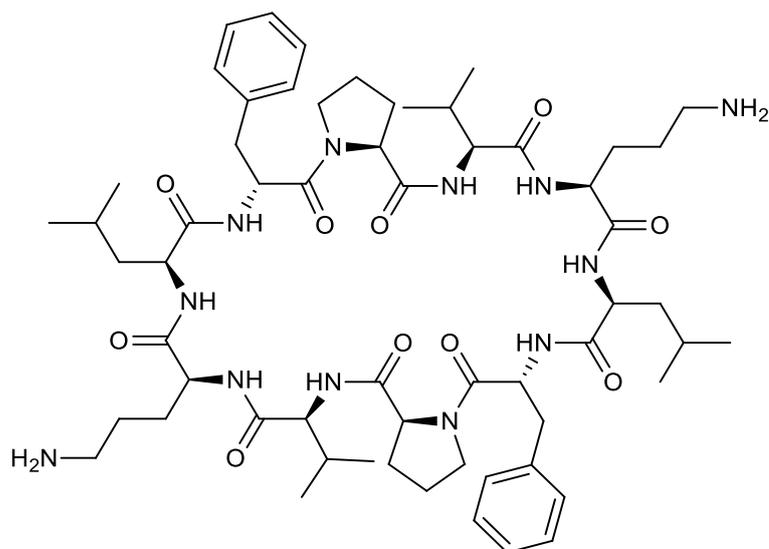


Figura 2: Estrutura da gramicidina S

1.3.2 β -Aminoácidos

Os β -aminoácidos possuem o grupo amina ligado ao átomo de carbono β (Figura 3).⁹

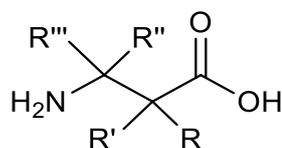


Figura 3: Estrutura de β -aminoácidos

São menos abundantes que os α -aminoácidos, mas podem ser encontrados em alguns péptidos e noutros produtos naturais. Os β -aminoácidos fazem parte da estrutura do taxol (Figura 4), um agente anticancerígeno. São também precursores das β -lactamas, compostos que apresentam potencialidades como antibióticos.¹⁰

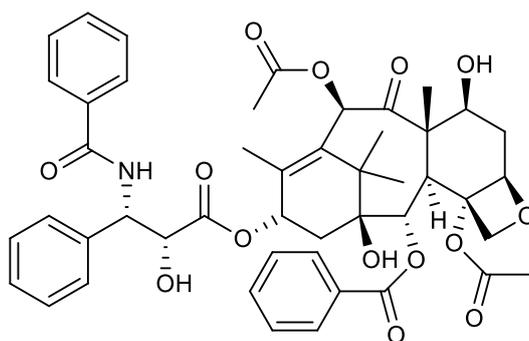


Figura 4: Estrutura do taxol

1.3.3 Alaninas β -substituídas

As alaninas β -substituídas são aminoácidos que têm ligado ao carbono β da alanina substituintes diferentes dos existentes nos aminoácidos proteínogénicos (**Figura 5**). Estes aminoácidos foram isolados a partir de fontes vegetais e bacterianas e fazem parte de péptidos que possuem atividade antibiótica e anti-tumoral, podendo atuar como inibidores enzimáticos.^{11,12}

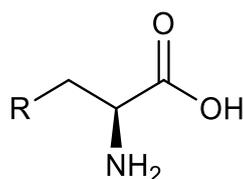


Figura 5: Estrutura de alaninas β -substituídas

Algumas alaninas β -substituídas possuem uma importante atividade biológica *per si*. É o caso da β -(pirazol-1-il)-alanina que é isolada a partir do sumo da melancia *Citrullus vulgaris* e que apresenta propriedades hipoglicémicas,¹³ da β -(1,2,4-triazol-1-il)-alanina que é conhecida como um metabolito importante do fungicida miclobutanilo em plantas.¹⁴ De referir ainda, o ácido quisquálico que é isolado a partir da fonte vegetal *Quisqualis indica* e que possui uma atividade neuroexcitatória potente¹⁵ e a tiroxina que é um derivado da tirosina, hormona da tiroide que tem como função estimular o metabolismo nos vertebrados (**Figura 6**).¹⁶

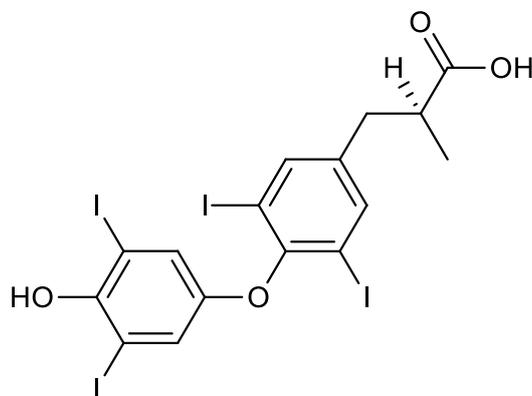


Figura 6: Estrutura da tiroxina

Diversos sistemas enzimáticos de plantas têm vindo a ser descritos como sendo capazes de catalisar a síntese de alaninas β -substituídas heterocíclicas a partir da *O*-acetilserina. Esta síntese ocorre por condensação da *O*-acetilserina com os precursores apropriados^{17,18} promovendo assim a formação da ligação entre o heteroátomo do sistema heterocíclico e o átomo de carbono β .¹⁹

Ferreira *et al.* obtiveram derivados de alaninas β -substituídas, por reação de Michael entre desidroaminoácidos *N,N*-dissubstituídos e vários nucleófilos, mostrando que este tipo de derivados de desidroaminoácidos são bons substratos para ataque nucleófilo. Fizeram reagir os derivados de desidroaminoácidos *N,N*-dissubstituídos com os nucleófilos em acetonitrilo na presença de carbonato de potássio, para originar derivados da alanina *N,N*-dissubstituídos.²⁰ Obtiveram também desidroaminoácidos β -substituídos quando os substratos eram derivados de *N*-(4-toluenosulfonil), *N*-(*tert*-butiloxicarbonil) desidroaminoácidos.²¹

1.3.4 $C^{\alpha,\alpha}$ -Dialquilglicinas

As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas são aminoácidos não proteínogénicos que possuem dois grupos alquilo (R) ligados ao átomo de carbono α (**Figura 7**). As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas são α -aminoácidos quaternários, uma vez que o átomo de carbono em posição α tem quatro substituintes diferentes do hidrogénio. As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas podem ser simétricas (grupos R iguais) ou assimétricas (grupos R diferentes).²²

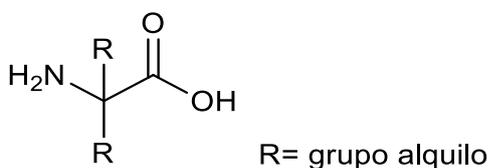


Figura 7: Estrutura de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas

As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas são os principais constituintes de vários antibióticos peptídicos isolados de várias estirpes de fungos.²³

Estes aminoácidos não proteínogénicos têm sido usados como blocos construtores na criação de novos péptidos.²⁴⁻²⁶ A presença de um segundo grupo alquilo no carbono α das $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas produz um impedimento estereoquímico em torno

do átomo de carbono central. A introdução de $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas em péptidos provoca restrições conformacionais, favorecendo assim uma determinada conformação. As $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas não são reconhecidas pelas enzimas proteolíticas, aumentando a resistência dos péptidos em que estão inseridos em relação à biodegradação fisiológica.²⁷

No entanto, devido ao impedimento estereoquímico que possuem, a maioria destes aminoácidos são difíceis de sintetizar e usar na síntese de péptidos por meio de métodos convencionais. De facto, as mesmas características estruturais que tornam estes aminoácidos interessantes e únicos para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos de origem péptídica, são também responsáveis pelo desafio associado com a sua síntese e aplicação. Existe assim um interesse no desenvolvimento de metodologias simples para a preparação e incorporação destes aminoácidos em péptidos.²⁸

O ácido α -aminoisobutírico (Aib) é um aminoácido não proteínogénico pertencente à classe das $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas possuindo dois grupos metilo no carbono α . É o aminoácido mais pequeno desta classe de aminoácidos não naturais, sendo aquiral e hidrofóbico.²⁹ O Aib encontra-se em péptidos constituintes dos canais de transporte de membranas celulares de microrganismos. A presença de dois grupos metilo no átomo de carbono α restringe drasticamente o espaço conformacional do Aib e a cadeia peptídica é obrigada a ter uma conformação helicoidal.³⁰

Por volta de 1959 em alternativa aos métodos clássicos de síntese de aminoácidos, Ugi propôs uma reação de condensação de quatro elementos, por reação de uma amina, um composto carbonilo, um ácido carboxílico e um isocianeto.³¹⁻³³ Pinto *et al.* aplicaram este método para a síntese das $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas incorporadas em pentapéptidos. Uma vez que a ligação amida C-terminal apresenta uma labilidade ácida invulgar, foi possível superar os inconvenientes que impediam uma ampla aplicação desta reação na síntese de péptidos contendo $C^{\alpha,\alpha}$ -dialquilglicinas.³⁴

1.3.5 Desidroaminoácidos

Os α,β -desidroaminoácidos são aminoácidos, com uma ligação dupla entre o carbono α e o carbono β (**Figura 8**).

Capítulo 1. Introdução

Os desidroaminoácidos não possuem a quiralidade característica dos aminoácidos naturais, obtendo-se no entanto, com exceção da desidroalanina (Δ Ala), compostos com a possibilidade de isomerismo *E/Z*. O Ácido desidroaminobutírico (Δ Abu) é o desidroaminoácido mais simples que possui isómeros *E/Z*, sendo o isómero mais estável o *Z*.³⁵

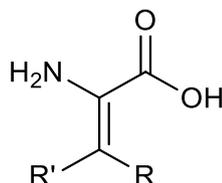


Figura 8: Estrutura de α,β -desidroaminoácidos

Os desidroaminoácidos podem ser encontrados em várias leveduras e bactérias. Desidroaminoácidos como a desidrovalina (Δ Val), a desidroleucina (Δ Leu), e a desidrofenilalanina (Δ Phe), fazem parte da constituição de antibióticos.^{36,37} O primeiro relato sobre a existência de um resíduo da Δ Val num composto natural foi na lasiodine A, que é um tetrapéptido linear isolado a partir das folhas de *Lasiodiscus Marmoratus*, uma pequena planta da família da *Ramnaceae*. A sua atividade biológica ainda permanece desconhecida.³⁸

Os desidroaminoácidos não são encontrados livres na natureza, uma vez que são bastante instáveis ou podem sofrer hidrólise, pelo que têm sido sintetizados como derivados de amidas, ésteres carboxílicos ou derivados *N*-acilados.

Os desidroaminoácidos quando inseridos em péptidos afetam a sua reatividade química e conformação. O facto da ligação dupla do aminoácido estar conjugada com a ligação peptídica faz com que o arranjo dos átomos da ligação peptídica e da ligação dupla forme uma estrutura planar rígida. Assim, a existência destes aminoácidos em cadeias peptídicas provoca alterações nas propriedades químicas e biológicas destes péptidos.

Péptidos que possuem desidroaminoácidos são principalmente produzidos por bactérias e fungos. Estes péptidos revelam ter várias atividades biológicas, como atividade antibiótica ou anti-tumoral.³⁹ Estes podem ser encontrados em várias leveduras e bactérias, contribuindo para o papel catalítico no centro ativo de algumas enzimas, bem como numa variedade de antibióticos peptídicos de origem bacteriana,

incluindo os lantibióticos.⁴⁰ Os lantibióticos são péptidos com 20 a 40 aminoácidos que contêm o desidroaminoácido lantionina. A nisina é um lantibiótico e é o desidropéptido mais antigo que se conhece. É produzido por bactérias *Lactococcus lactis* e ainda hoje é usado como conservante em alimentos (**Figura 9**).⁴¹

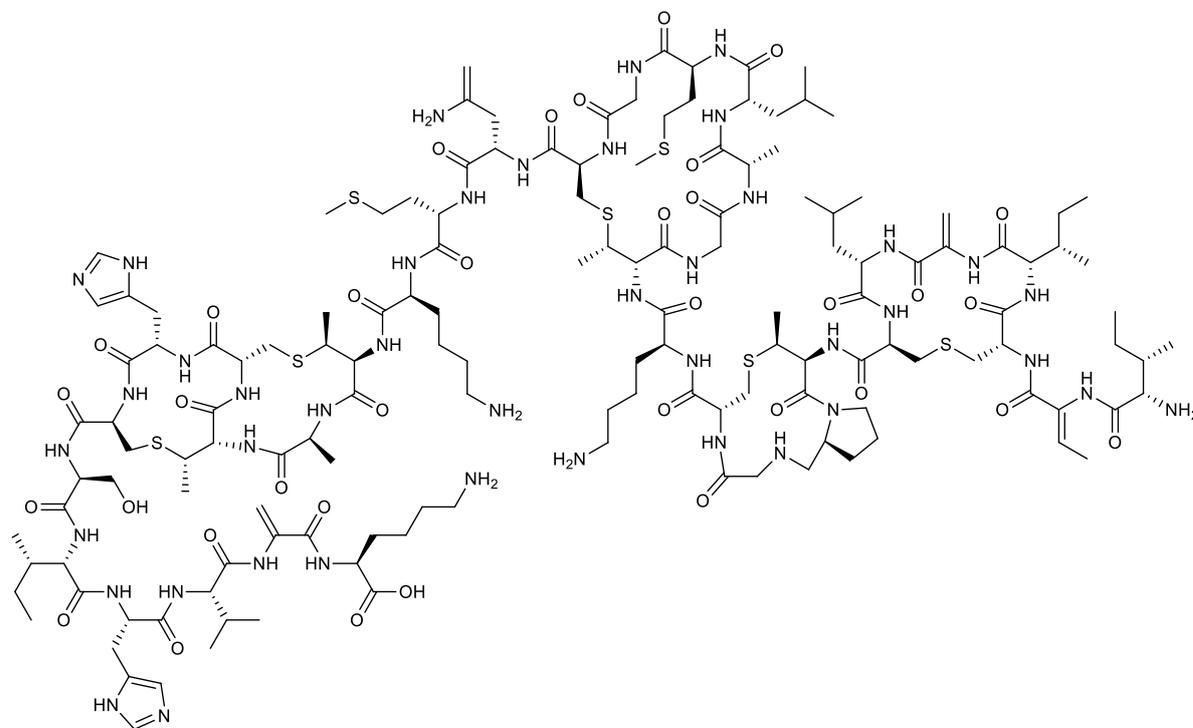


Figura 9: Estrutura da nisina

Os desidroaminoácidos têm sido um alvo importante em estudos conformacionais.⁴² Podem, ainda, ser usados como substratos em reações de adição nucleofílica, originando novos aminoácidos não proteínogênicos.

1.3.5.1 Síntese de desidroaminoácidos

A principal via biossintética descrita para os derivados dos desidroaminoácidos é a β -eliminação usando como precursores a serina (Ser), a cisteína ou a treonina (Thr) para se obter o desidroaminoácido correspondente, a Δ Ala ou o Δ Abu.^{40,43} Existem outras vias biossintéticas possíveis, como a desidratação de *N*-hidroxiaminoácidos, obtidos por *N*-hidroxilação de aminoácidos ou péptidos, a desidratação de

α -hidroxiaminoácidos, obtidos por condensação de α -cetoácidos ou amidas, ou ainda por oxidação direta de aminoácidos.^{40,43}

Pode-se efetuar a síntese química de desidroaminoácidos e dos seus derivados utilizando diferentes métodos. O método de síntese mais importante é o método que está relacionado com a via biossintética, e que envolve reações de eliminação em β -hidroxiaminoácidos, β -mercaptoaminoácidos e *N*-hidroxiaminoácidos. Contudo, podem ser usados outros métodos, tais como a reação de condensação de α -cetoácidos com amidas ou nitrilos,^{44,45} a degradação de Hofmann de resíduos de α,β -diaminopropionilo,⁴⁴ a redução de α -azidoacrilatos e α -azidocarboxilatos ou a hidrólise de oxazolinonas insaturadas.⁴⁶

1.3.5.2 Síntese de desidroaminoácidos por reação de eliminação

O método mais simples e mais usado para a obtenção de desidroaminoácidos é a reação de eliminação a partir de β -hidroxiaminoácidos. Este método é frequentemente usado para a obtenção da Δ Ala e do Δ Abu, a partir da Ser e da Thr, respetivamente.

Vários reagentes têm sido usados para a execução de reações de eliminação de β -hidroxiaminoácidos. A trifenilfosfina em conjunto com o dietilazodicarboxilato foram usados para desidratar os ésteres metílicos da *N*-acilserina e *N*-aciltreonina, mas os rendimentos obtidos mostraram-se moderados e no caso dos derivados do Δ Abu obteve-se uma mistura de 1/1 de isómero *E* e *Z*.⁴⁷ Quando o éster metílico da *N*-benziloxycarbonilserina ou treonina é tratado com o carbonato de disuccinimida e Et₃N, obtém-se rendimentos em derivados da Δ Ala e do Δ Abu de 90% e 70%, respetivamente.⁴⁸ No caso do Δ Abu a reação mostrou-se estereosseletiva, originando apenas o isómero *Z*.

O tratamento de ésteres da *N*-benziloxycarbonilserina ou treonina com dietilclorofosfato e com hidreto de sódio permitiu obter o correspondente éster *N*-benziloxycarbonilo do desidroaminoácido com bons rendimentos.⁴⁹ Esta reação mostrou-se igualmente estereosseletiva com o derivado da *N*-benziloxycarbonilo-treonina, originando apenas o isómero *Z* do derivado do Δ Abu.

Goodall e Parson usaram diversos cloretos de haloacetilo com Et₃N para reagir com derivados da Ser e da Thr originando os respectivos desidroaminoácidos com rendimentos entre 39% e 89%. Contudo a reação não se mostrou estereosseletiva para os derivados da Thr.⁵⁰

A reação de eliminação de *O*-arilssulfonatos formados a partir de β-hidroxi-aminoácidos em presença de base, tem sido usada com sucesso para a obtenção de desidroaminoácidos e desidropéptidos.^{40,43} Contudo, com este método podem ocorrer reações secundárias como, a formação de oxazolinonas por substituição nucleofílica intramolecular do grupo sulfônico pelo átomo de oxigênio de um grupo *N*-acilo, a formação de aziridinas por ciclização de derivados com os grupos 4-toluenosulfonilo (Tos) e tritilo (Trt) em presença de bases fortes, a formação de hidantoínas quando a função amina está protegida pelo grupo benziloxycarbonilo (Z) e a substituição nucleofílica do grupo sulfonato.

Têm sido usados derivados de aminoácidos β-halogenados como precursores de desidroaminoácidos. Contudo, a reação de eliminação em derivados de β-cloroaminoácidos apenas ocorre em condições reacionais drásticas e envolve a libertação de cloreto de hidrogênio.^{40,43}

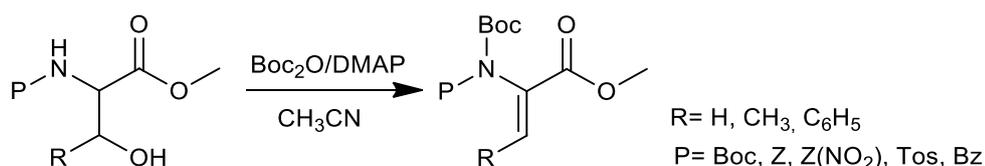
Alguns dos métodos referidos implicam vários passos e podem necessitar de processos de purificação complexos para remover os produtos secundários, resultando em rendimentos baixos. Para os derivados de desidroaminoácidos β-substituídos o processo pode ainda ser complicado pela formação de estereoisómeros.

Berkowitz e Pederson desenvolveram um método onde protegiam simultaneamente a função amina e a função carboxilo dos aminoácidos com cloroformiato de benzilo, na presença de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e trietilamina (Et₃N).⁵¹ A partir deste método Ferreira *et al.* verificaram que usando essas condições com o aminoácido Ser, este sofre eliminação e origina o éster benzílico da *N*-benziloxycarbonilo-desidroalanina com um rendimento de 51%.⁵²

Ferreira *et al.* desenvolveram um método onde, fazendo reagir derivados de *N*-acil-β-hidroxi-aminoácidos com 2 equivalentes de pirocarbonato de *terc*-butilo (Boc₂O) em presença de DMAP, se introduz simultaneamente o grupo *terc*-butiloxycarbonilo (Boc), como segundo grupo acilante, e forma-se o carbonato de *terc*-butilo no carbono β. Posteriormente o carbonato sofre eliminação formando o derivado do

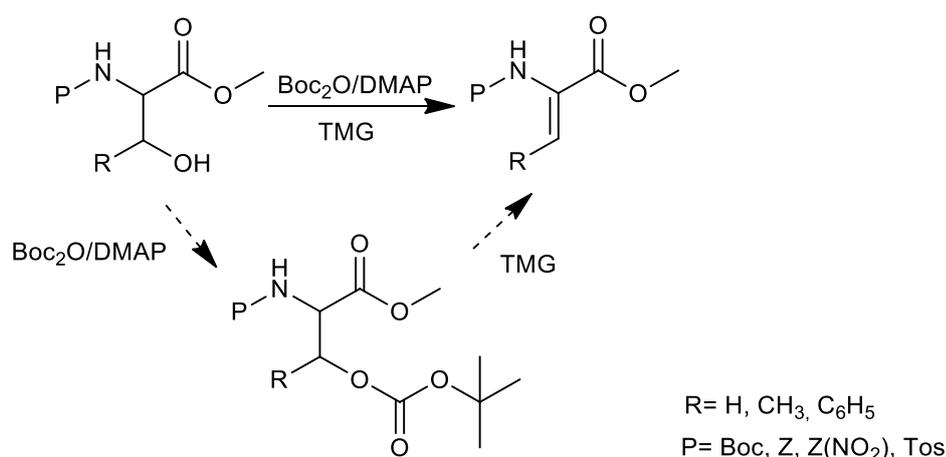
Capítulo 1. Introdução

desidroaminoácido *N,N*-diacilado (**Esquema 2**). Estes autores fizeram reagir os ésteres metílicos da Ser, da Thr e da β -hidroxifenilalanina [Phe(β -OH)] protegidos com os grupos como Boc, Z, 4-nitrobenziloxycarbonilo [Z(NO₂)], Tos e benzoílo (Bz) com 2 equivalentes de Boc₂O e com DMAP como catalisador em acetonitrilo seco. Obtiveram os ésteres metílicos dos *N,N*-diacildesidroaminoácidos correspondentes com excelentes rendimentos.^{53,54} Esta metodologia foi também usada na preparação de desidrodipéptidos.



Esquema 2: Síntese dos derivados de *N,N*-diacildesidroaminoácidos (Adaptado^{53,54})

Esta metodologia foi também usada na preparação de desidrodipéptidos. Por uma modificação do método inicialmente descrito, Ferreira *et al.* puderam obter derivados de desidroaminoácidos monoacilados. Isto foi possível fazendo reagir derivados de desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos com apenas 1 equivalente de Boc₂O para formar o carbonato, recorrendo ao *N,N,N',N'*-tetrametilguanidina (TMG) para induzir a eliminação deste e assim formar a ligação dupla α,β .⁵⁵ Os rendimentos em derivados de desidroaminoácido variam entre 65 e 90% (**Esquema 3**).



Esquema 3: Síntese dos derivados de *N*-acildesidroaminoácidos (Adaptado⁵⁵)

1.3.5.3 Halogenação de desidroaminoácidos

Os derivados de desidroaminoácidos β -halogenados são muito utilizados como precursores para a síntese de novos aminoácidos.

Kolar e Olsen desenvolveram um método de cloração de derivados de *N*-acetil-desidroalanina, tratando estes derivados com CCl_4 e 1,4-Diazodicyclo[2,2,2]octano (Dabco) e com CCl_4 e 1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU) ou com *tert*-butóxido de potássio. Obtiveram razões de isómeros *E/Z* de *N*-acetil- β -clorodesidrolanina de 2/8 e de 1/9, respetivamente.⁵⁶

Danion-Bougot *et al.* fizeram reagir a *N*-acetil-desidrofénilalanina com a *N*-bromosuccinimida (NBS) para obter a imina bromada correspondente, que posteriormente foi transformada em β -bromodesidrofénilalanina através do tratamento com Et_3N .⁵⁷

Yamada *et al.* realizaram um estudo onde observaram a elevada estereosseletividade da reação dos isómeros *E* ou *Z* dos ésteres metílicos de *N*-formil- α,β -desidroaminoácidos na bromação com NBS para a formação do isómero *Z* dos ésteres metílicos de β -bromo-*N*-formil- α,β -desidroaminoácidos.⁵⁸

Hoerner *et al.* preparam derivados de *N*-acetil- β -bromodesidroaminoácidos por tratamento de *N*-acetil-desidroaminoácidos com NBS e posteriormente com Et_3N . O composto foi obtido como uma mistura de 1/1 de isómeros *E/Z*. No entanto, ao usar o grupo Bz, observou-se um aumento na estereosseletividade para o isómero *Z*.⁵⁹

Roff *et al.* obtiveram derivados de β -iodo desidroaminoácidos como misturas 1/1 de isómeros *E/Z* pelo tratamento de *Z*-2-(*N*-acetilamino)but-2-enoato de metilo com *N*-iodosuccinimida e posteriormente com Et_3N . Sendo que, com a adição de 2% de ácido trifluoroacético (TFA), a seletividade para o isómero *Z* aumenta, passando a ter uma mistura de 1/5 de isómeros *E/Z*.⁶⁰

Silva *et al.* obtiveram derivados de β -bromodesidroaminoácidos usando ésteres metílicos de *N,N*-diacildesidroaminoácidos, por tratamento sequencial com TFA e NBS em dois passos ou num passo só. Obtiveram para ambos os métodos, elevados rendimentos para derivados β -bromados da desidroalanina e do ácido desidroaminobutírico.⁶¹

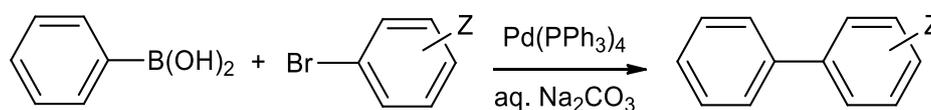
Tabela 1: Reações de halogenação de derivados de desidroaminoácidos

Referência	Reação
Kolar e Olsen ⁵⁶	<p>a) CCl₄/ Dabco ou b) CCl₄/ DBU ou c) Terc-butóxido de potássio</p> <p>a) 2/8 de E/Z b) e c) 1/9 de E/Z</p>
Danion-Bougot <i>et al.</i> ⁵⁷	<p>NBS/ Et₃N</p>
Yamada <i>et al.</i> ⁵⁸	<p>NBS</p>
Hoerner <i>et al.</i> ⁵⁹	<p>NBS Et₃N</p> <p>1/1 de E/Z</p> <p>NBS Et₃N</p> <p>1/6 de E/Z</p>
Roff <i>et al.</i> ⁶⁰	<p>1) NBS 2) Et₃N</p> <p>1/1 de E/Z</p> <p>TFA</p> <p>1/5 de E/Z</p>
Silva <i>et al.</i> ⁶¹	<p>1) TFA, NBS 2) Et₃N</p> <p>TFA</p> <p>1) NBS 2) Et₃N</p>

1.3.5.4 Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura

Suzuki e Miyaura descreveram o uso de ácidos borônicos em reações de acoplamento cruzado com haletos de carbono catalisadas por paládio, sendo que esta reação ficou conhecida como a reação Suzuki-Miyaura.⁶²

Esta reação foi descrita em 1981 como sendo a reação entre um haleto de arilo e um composto de organoboro. Usa-se para estas reações brometo ou iodeto de arilo, ácidos aril borônicos e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ como catalisador, originando compostos do tipo bifenilo com rendimentos elevados (**Esquema 4**).^{63,64}



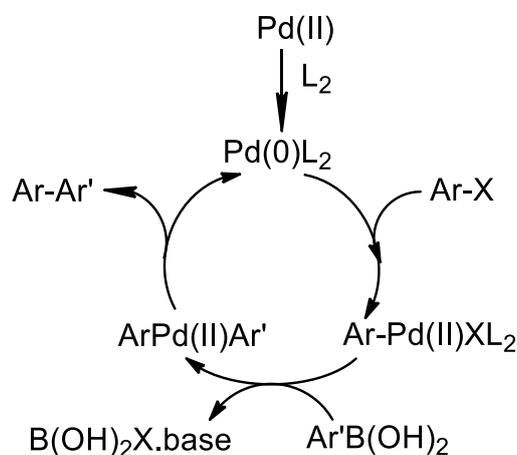
Esquema 4: Síntese de compostos bifenilo (Adaptado^{63,64})

Ácidos borônicos são compostos trivalentes, o boro encontra-se ligado a um substituinte alquilo ou arilo e a dois grupos hidroxilo. Estes são os produtos da segunda oxidação dos boranos.⁶⁵ O principal precursor dos derivados de ácidos borônicos, o éster borônico, é sintetizado por desidratação do ácido borônico com álcool. A reatividade e as propriedades dos ácidos borônicos dependem da natureza dos seus substituintes, mais especificamente, do tipo de grupo ligado ao boro. Deste modo, os ácidos borônicos são classificados em subtipos, como, ácidos alquil-, alquenil-, alquinil- e aril borônicos.

O uso deste tipo de reações tem aumentado uma vez que usa condições suaves de reação.

O primeiro ciclo catalítico descrito por Suzuki-Miyaura apresenta três etapas.^{63,64} Na primeira etapa ocorre a adição oxidativa do haleto de arilo ao catalisador metálico, formando o intermediário divalente $[\text{ArPd}(\text{II})\text{X}]$ que sofre transmetalização. A base usada, ativa o complexo de paládio $\text{ArPd}(\text{II})\text{XL}_2$ e forma o intermediário $\text{ArPd}(\text{II})\text{Ar}'$. Inicialmente a transmetalização entre o composto organometálico e a espécie de haleto de organopaládio(II) é dificultada devido à base nucleofílica do grupo adjacente ao átomo de boro. A reação dos ácidos organoborônicos $[\text{Ar}'\text{B}(\text{OH})_2]$ com o intermediário de paládio $\text{ArPd}(\text{II})\text{X}$ apresenta dificuldades. No entanto, a formação de hidroxiboratos $[\text{ArB}(\text{OH})_3^-]$ em solução básica torna a reação mais fácil. Em seguida, ocorre a eliminação redutiva,

obtendo-se assim o bifenilo e regenerando o metal para a valência zero, fazendo com que se reinicie novamente o ciclo catalítico (**Esquema 5**).



Esquema 5: Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura (Adaptado⁶⁶)

A reação de Suzuki-Miyaura usa frequentemente o Pd como metal catalítico sendo introduzido como Pd(II), uma vez que a espécie catalítica Pd(0) é formada *in situ* pela redução da espécie Pd(II)L₂ com os redutores do tipo fosfina em presença de água.⁶⁷ Usa-se muito frequentemente o par Pd(OAc)₂/PPh₃.

Os reagentes eletrófilos mais frequentes nas reações de acoplamento cruzado são os haletos, e a ordem de reatividade decresce desde o iodo até ao cloro. Os cloretos de arilo mostraram-se interessantes uma vez que possuem uma alta disponibilidade e apresentam um baixo custo, mas têm uma baixa reatividade.⁶⁸

1.3.6 N-Alquilaminoácidos

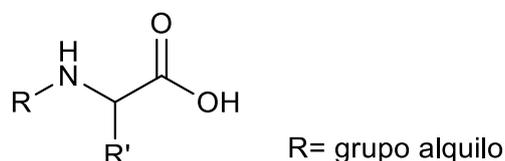


Figura 10: Estrutura de N-alkilaminoácidos

N-alkilaminoácidos existem em péptidos e proteínas de ocorrência natural (**Figura 10**). O grupo alquilo ligado à função amina causa variações no volume e na conformação dos péptidos, resultando numa redução da flexibilidade. Produz também

um aumento da permeabilidade às membranas, resultante de um aumento da lipofilicidade. A *N*-alquilação pode ainda evitar a clivagem de péptidos por enzimas proteolíticas.⁶⁹

Os *N*-alquilaminoácidos fazem parte da constituição de alguns péptidos naturais, tais como a ciclosporina (**Figura 11**), a dolastatina e a didemnina, que são isolados a partir de espécies marinhas e microrganismos.⁷⁰

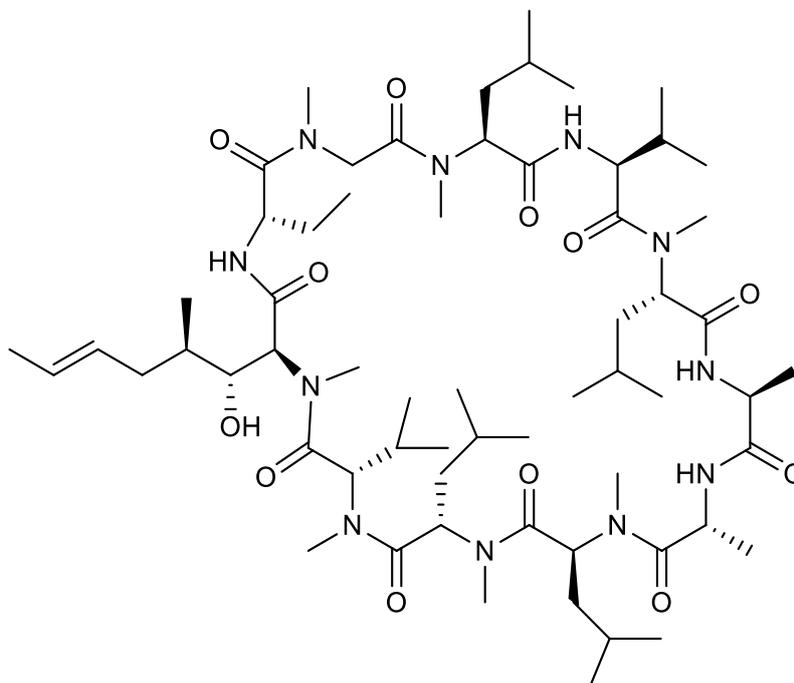
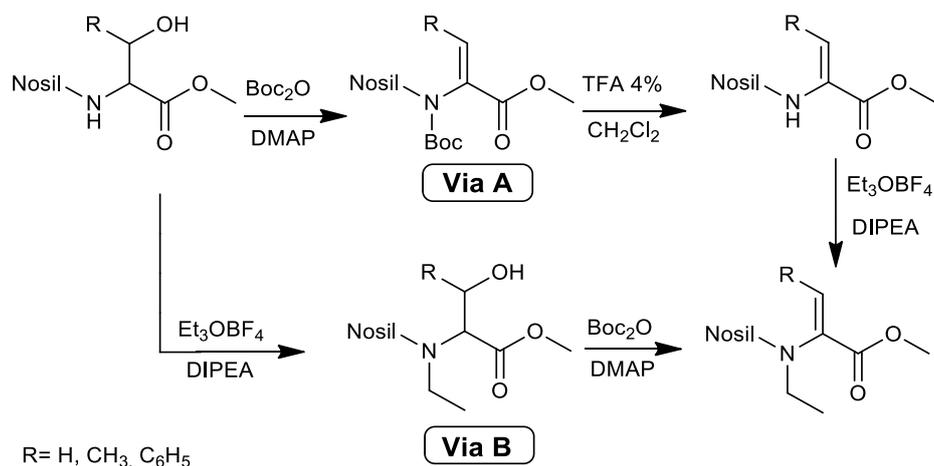


Figura 11: Estrutura da ciclosporina

Têm sido desenvolvidos muitos métodos de síntese de *N*-alquilaminoácidos. Belsito *et al.* propuseram a etilação de diversos aminoácidos protegidos com o grupo 4-nitrofenilsulfonilo usando tetrafluoroborato de trietiloxônio como agente alquilante e *N,N*-diisopropiletilamina como base, obtendo assim derivados de *N*-etilaminoácidos com bons rendimentos. Posteriormente, os mesmos autores propuseram o uso de tetrafluoroborato de trimetiloxônio para obter os correspondentes derivados de *N*-metilados.^{71,72}

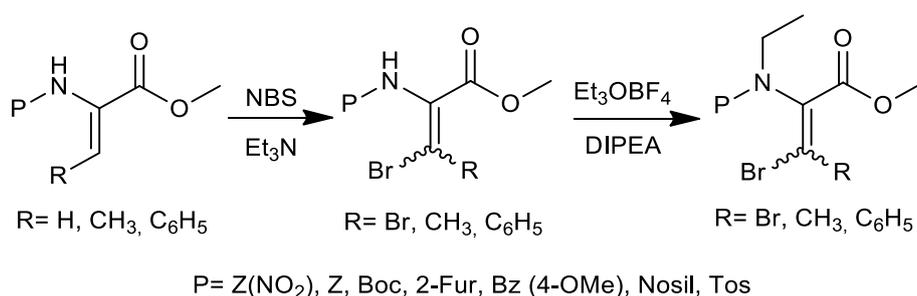
Monteiro *et al.* partir de derivados de *N*-(4-nitrofenilsulfonil)- β -hidroxiaminoácidos por uma reação de desidratação, seguida de *N*-etilação (**Esquema 6** - Via A) ou por uma reação de *N*-etilação, seguida de desidratação (**Esquema 6** - Via B) obtiveram ésteres metílicos de *N*-(4-nitrofenilsulfonilo), *N*-etildesidroaminoácidos.⁷³

Capítulo 1. Introdução



Esquema 6: Síntese de derivados de *N*-etil- α,β -desidroaminoácidos (Adaptado⁷³)

Posteriormente, Monteiro *et al.* obtiveram *N*-etildesidroaminoácidos β -halogenados com diferentes grupos protetores da função amina. Inicialmente procederam à reação de desidratação de derivados de β -hidroxiaminoácidos *N*-protegidos com grupos uretano, acilo e sulfonilo. Em seguida, fizeram reagir estes derivados de *N*-acildesidroaminoácidos com NBS e Et₃N originando assim os correspondentes derivados da β,β -dibromodesidroalanina e de β -bromodesidroaminoácidos β -substituídos. Em seguida procederam à reação de *N*-etilação dos derivados obtidos anteriormente, sob as condições descritas acima. Obtiveram derivados de *N*-etildesidroaminoácidos β -halogenados com rendimentos de moderados a bons conforme a natureza do grupo protetor (**Esquema 7**).⁵

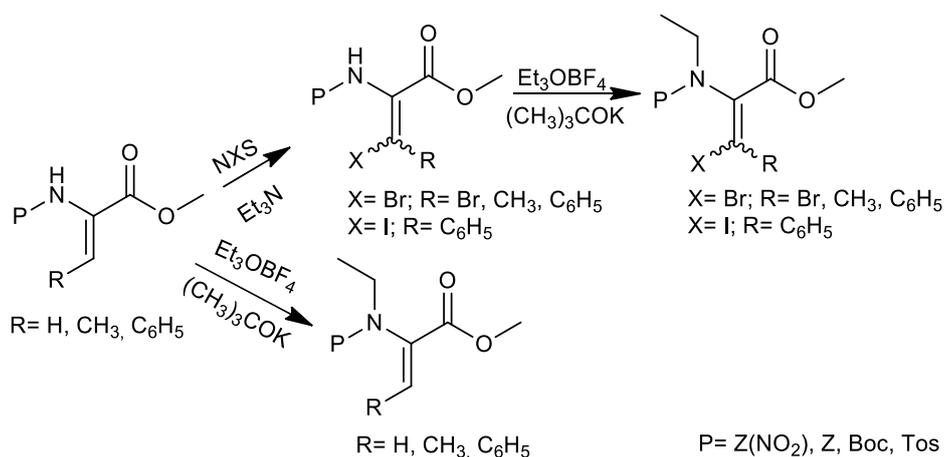


Esquema 7: Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil, *N*-etil- β,β -dibromodesidroalanina e de *N*-acil, *N*-etil- β -bromodesidroaminoácidos β -substituídos (Adaptado⁵)

Posteriormente, foi desenvolvido um método para evitar a necessidade de recorrer ao uso de grupos protetores fortemente eletrorretiradores para tornar o próton NH mais ácido. Uma vez que a questão da racemização não se põem para

desidroaminoácidos foi possível recorrer ao uso de uma base forte como o *terc*-butóxido de potássio. Nestas condições a reação foi completa para todos os derivados de *N*-acil- β -halodesidroaminoácidos, e os produtos *N*-alquilados foram obtidos com bons rendimentos (**Esquema 8**).

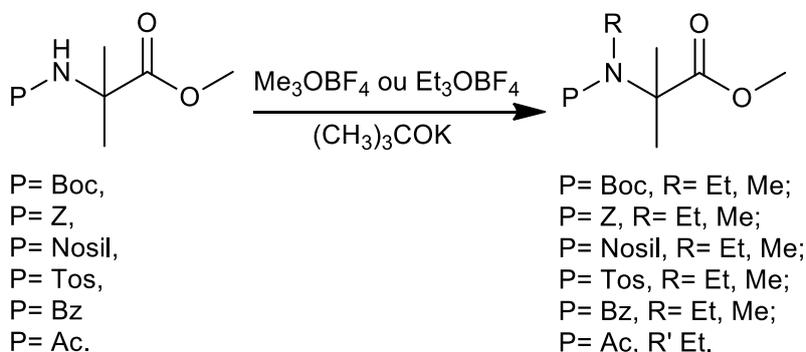
Este método foi igualmente aplicado para a *N*-etilação de desidroaminoácidos não halogenados com grupos protetores uretano e com o grupo 4-toluenosulfonilo, e foram obtidos derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos com elevados rendimentos. Alguns dos ésteres metílicos de *N*-etil-desidroaminoácidos sofreram clivagem do éster e foram acoplados com um éster metílico de um aminoácido, originando assim *N*-etil-desidrodipéptidos com bons rendimentos, permitindo demonstrar a aplicabilidade destes compostos em síntese peptídica (**Esquema 8**).⁷⁴



Esquema 8: Síntese de derivados de *N*-etil-desidroaminoácidos (Adaptado⁷⁴)

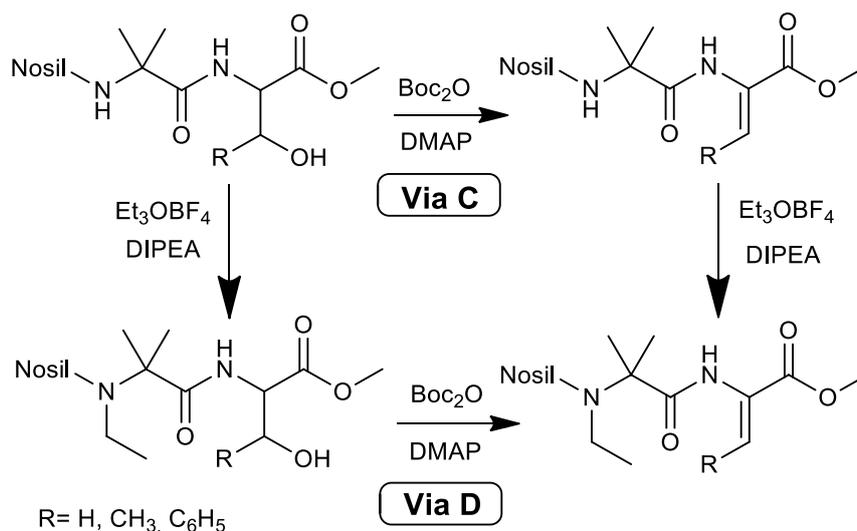
Ainda na síntese de desidroaminoácidos não naturais *N*-alquilados, Monteiro *et al.* prepararam derivados *N*-alquilados da $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina. O éster metílico da $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina foi protegido com o grupo Boc e tratado com 2,5 equivalentes de tetrafluoroborato de trietiloxónio e 3,5 equivalentes de *terc*-butóxido de potássio. Foi obtido o derivado da *N*-etil- $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com um excelente rendimento. Assim, ésteres metílicos da $\text{C}^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina com outros grupos protetores da função amina, nomeadamente, o grupo Z, o grupo 4-nitrofenilsulfonilo (Nosil), o grupo Tos, o grupo Bz e o grupo acetilo (Ac) foram preparados e sujeitos a reações de *N*-alquilação com

tetrafluoroborato de trietiloxónio ou tetrafluoroborato de trimetiloxónio nas mesmas condições (**Esquema 9**).⁷⁵



Esquema 9: Síntese de derivados de *N*-etil ou *N*-metil- $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina (Adaptado⁷⁵)

Recentemente, Monteiro *et al.* prepararam dipéptidos por reação de acoplamento do Aib protegido com o grupo 4-nitrofenilsulfonilo com ésteres metílicos da Ser, da Thr e da Phe(β -OH). Os ésteres metílicos de *N*-(4-nitrofenilsulfonilo)-dipéptidos que foram sujeitos a reação de desidratação e posteriormente a *N*-etilação (**Esquema 10** - Via C). Os ésteres metílicos de *N*-etil, *N*-(4-nitrobenzenesulfonil)-desidrodipéptidos foram obtidos com bons rendimentos. Em alternativa foi efetuada a reação de *N*-etilação seguida da reação de desidratação (**Esquema 10** - Via D) sendo igualmente os derivados de desidrodipéptidos *N*-alquilados obtidos com bons rendimentos. Assim, ambas as vias propostas permitem a obtenção de desidrodipéptidos *N*-alquilados com rendimentos de moderado a bom.⁶⁹



Esquema 10: Síntese de ésteres metílicos de *N*-etil, *N*-(4-nitrofenilsulfonyl)desidrodiptéidos (Adaptado⁶⁹)

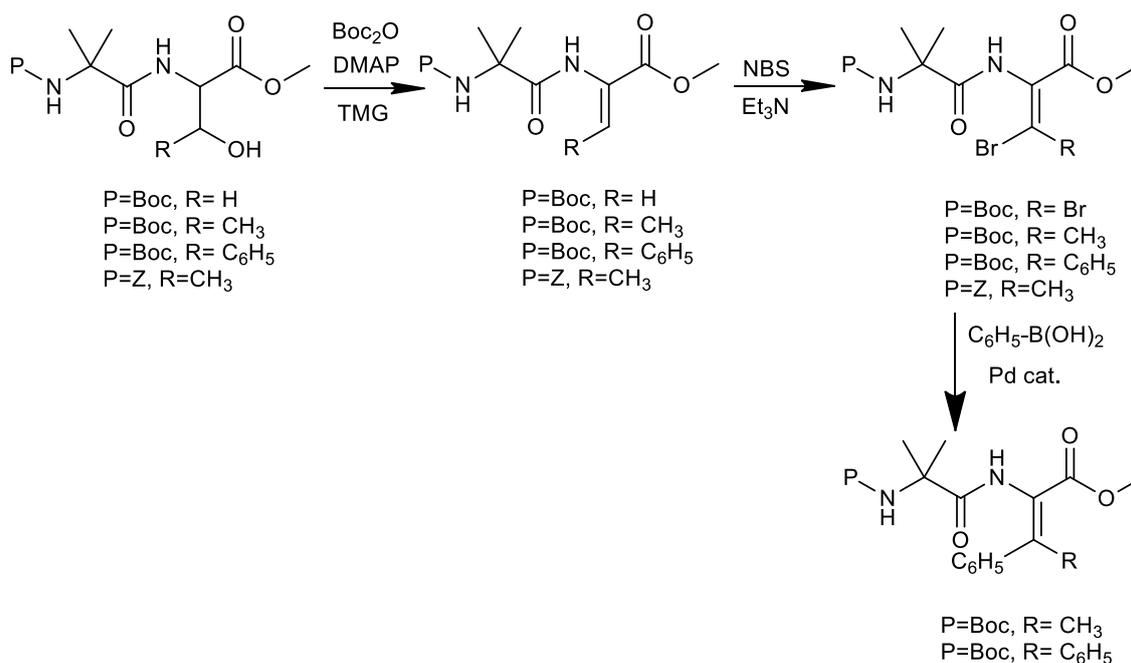
O trabalho descrito nesta tese representa a continuação no desenvolvimento e na procura de novos derivados de dipéptidos contendo aminoácidos não proteínogénicos. Para tal, recorreu-se às reações já descritas, como a reação de desidratação de β -hidroxiaminoácidos, de halogenação de desidroaminoácidos e o acoplamento de Suzuki-Miyaura entre β -halodesidroaminoácidos e ácidos fenilborónicos, para se obter derivados de dipéptidos com novas potencialidades. Assim, propôs-se uma sequência de reações aplicadas a derivados de dipéptidos contendo diferentes aminoácidos, como $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e β -hidroxiaminoácidos.

Capítulo 2. Resultados e Discussão

2.1 Objetivos do trabalho proposto

O objetivo inicial deste trabalho foi a preparação de derivados de *N*-acil- β,β -difenildesidrodipéptidos e de *N*-acil- β -metil- β -fenildesidrodipéptidos, a partir de *N*-acildipéptidos com resíduos de Aib e de β -hidroxiaminoácidos.

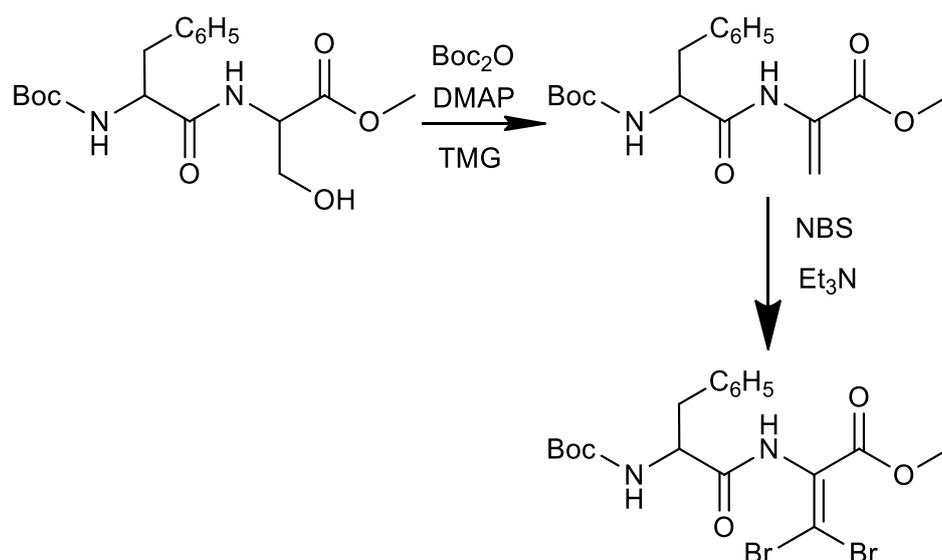
A sequência de reações proposta para a obtenção dos compostos pretendidos encontra-se no **Esquema 11**. O trabalho teria início com a preparação de derivados de *N*-acildipéptidos com Aib e um β -hidroxiaminoácido. Estes compostos foram posteriormente desidratados para obter os respectivos derivados de *N*-acildesidrodipéptidos. Após tratamento com o NBS e Et₃N foram obtidos os derivados de *N*-acil- β,β -dibromodesidrodipéptido e de *N*-acil- β -bromodesidrodipéptidos β -substituídos. Os derivados bromados foram usados como substratos em reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura com o ácido fenilborônico.



Esquema 11: Síntese de ésteres metílicos de *N*-acil- β,β -difenildesidrodipéptidos e de *N*-acil- β -metil- β -fenildesidrodipéptidos

Uma vez que os derivados de dipéptidos que nos propusemos sintetizar possuíam dois aminoácidos com elevadas restrições conformacionais, o Aib e os desidroaminoácidos ou desidroaminoácidos β -substituídos, a síntese destes derivados

mostrava ser um grande desafio sintético. Assim decidiu-se ensaiar previamente a metodologia a adotar com um derivado de dipéptido contendo a fenilalanina (Phe) em vez do Aib como terminal amina e a Ser como terminal carboxilo. Deste modo, qualquer dificuldade que posteriormente se viesse a encontrar na implementação da estratégia proposta poderia ser atribuída à presença do Aib, cuja restrição conformacional lhe confere uma baixa reatividade (**Esquema 12**).



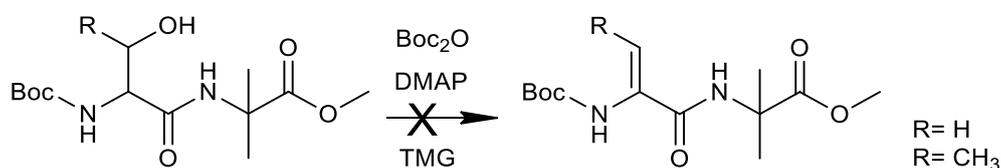
Esquema 12: Síntese de Boc-Phe-ΔAla(β,β-Br)-OMe

Como estes derivados não apresentaram qualquer problema ao longo da sua síntese partimos para a síntese dos compostos apresentados no **Esquema 11**.

Os ésteres metílicos de *N*-acildipéptidos foram desidratados, bromados e, por fim, foram usados em acoplamentos de Suzuki-Miyaura conseguindo-se obter os ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-β,β-difenildesidrodipéptido [Boc-Aib-ΔAla(β,β-Ph)-OMe] e de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-β-metil-β-fenildesidrodipéptido [Boc-Aib-ΔAbu(β-Ph)-OMe] pretendidos.

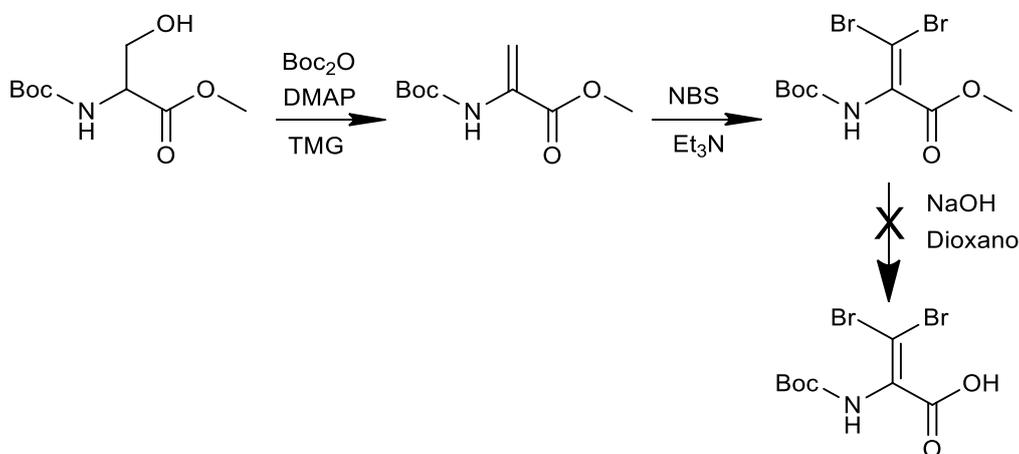
Em seguida, tentou-se a sequência de reações anterior mas invertendo a ordem dos aminoácidos. Os β-hidroxi aminoácidos ficariam no terminal amina e o Aib no terminal carboxilo. Prepararam-se os derivados de Boc-dipéptidos para se tentar obter os respectivos derivados de Boc-desidrodipéptidos mas, possivelmente devido às

restrições conformacionais apresentadas pelos derivados de Boc-dipéptidos, não foi possível obter os derivados desidratados pretendidos (**Esquema 13**).



Esquema 13: Tentativa de síntese de ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-desidrodipéptidos

Assim, estabeleceu-se uma sequência reacional alternativa para se chegar aos derivados pretendidos (**Esquema 14**). Começou-se por obter o derivado de Boc-Ser-OMe, que posteriormente foi sujeito a desidratação para dar o derivado de Boc- Δ Ala-OMe. Este foi feito reagir com NBS e Et₃N para dar Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe. De seguida tentou-se desproteger o éster metílico para se acoplar com o éster metílico do Aib. Para se obter o derivado de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-Aib-OMe pretendido.



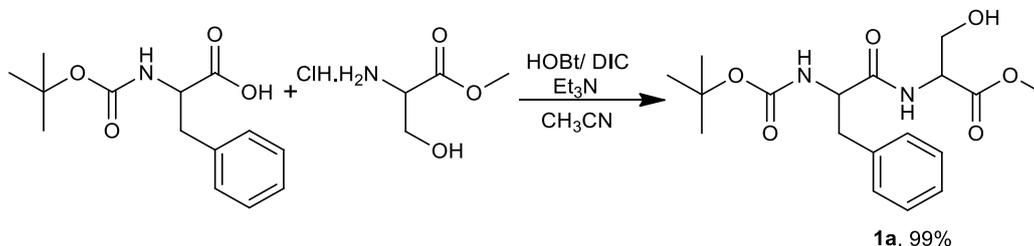
Esquema 14: Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH

2.2 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

2.2.1 Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe

Inicialmente preparou-se o dipéptido *N*-protegido, fazendo-se reagir a *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-fenilalanina (Boc-L-Phe-OH) com o éster metílico da serina

(H-L-Ser-OMe), na presença de *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC), 1-hidroxibenzotriazole (HOBT) e Et₃N, originando o derivado de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe com um rendimento de 99% (Esquema 15).

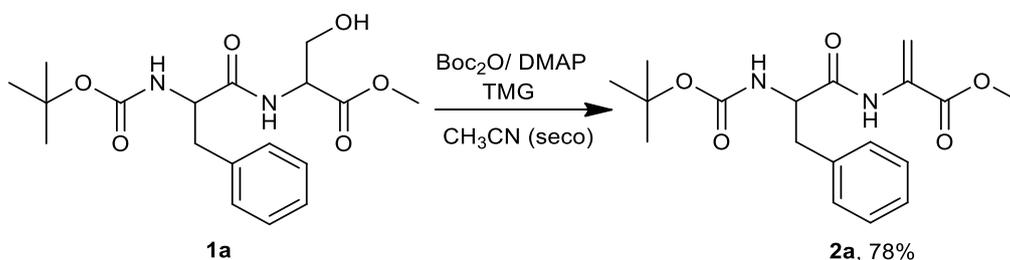


Esquema 15: Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe

O composto foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ¹H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁷⁶ Pela análise do espetro do composto confirmou-se a formação do dipéptido **1a** uma vez que é evidente o sinal dos prótons βCH₂ (multiplete, δ 3,05-3,15 ppm) e αCH (quarteto, δ 4,59 ppm) do aminoácido Ser e o sinal dos prótons do grupo protetor Boc (singlete, δ 1,42 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (Tabela 2).

2.2.2 Síntese de Boc-L-Phe-ΔAla-OMe

Em seguida procedeu-se à desidratação do dipéptido. Fez-se reagir o composto **1a** com Boc₂O usando 0,1 equivalentes de DMAP, como catalisador, em acetonitrilo seco, adicionando-se posteriormente o TMG. Obteve-se o composto de **2a** com um rendimento de 78% (Esquema 16).



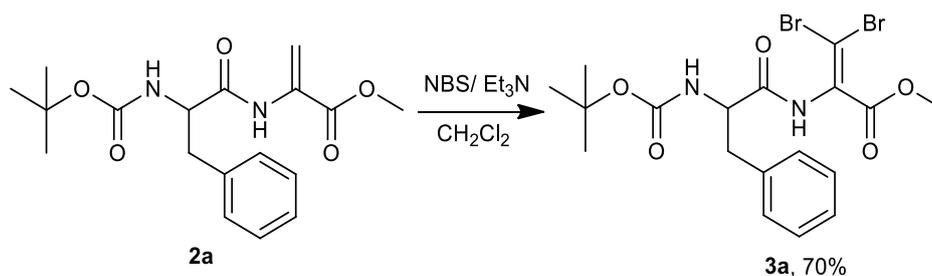
Esquema 16: Síntese de Boc-L-Phe-ΔAla-OMe

O composto foi caracterizado recorrendo a técnicas espectroscópicas (RMN de ¹H e de ¹³C). Pela análise do espetro de RMN de ¹H observou-se a formação da ligação dupla

entre o carbono α e o carbono β , uma vez que o composto **2a** apresenta dois singletos para os prótons βCH_2 (δ 5,90 e 6,60 ppm) da desidroalanina. Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 2**). Os espectros de RMN de ^{13}C associado às técnicas bidimensionais HSQC e HMBC permitiram fazer a atribuição dos sinais a todos os átomos de carbono.

2.2.3 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

Derivados de desidroaminoácidos β -halogenados têm sido sintetizado por reação de desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos com *N*-halosuccinimida. Assim, o Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (**3a**) foi obtido fazendo reagir o éster metílico de Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe com 2,4 equivalentes de NBS e com Et_3N . Conseguiu-se obter o composto **3a** com um rendimento de 70% (**Esquema 17**).



Esquema 17: Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

O composto **3a** foi caracterizado por RMN de ^1H e de ^{13}C . Pela análise do espectro de RMN de ^1H é possível verificar a ausência dos sinais característicos dos prótons βCH_2 confirmando que ocorreu a introdução de 2 átomos de bromo no carbono β . Observa-se ainda que os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 2**,

Anexo 2). A atribuição dos sinais de todos os átomos de carbono no espectro de RMN de ^{13}C foi possível associando as técnicas bidimensionais HSQC e HMBC.

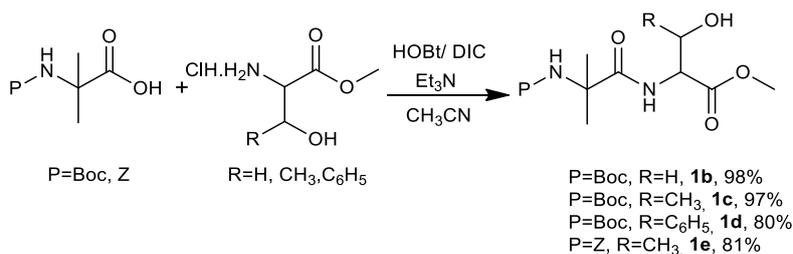
Tabela 2: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-dipéptidos e os seus desvios químicos

Composto	Boc-L-Phe-L-Ser-OMe 1a	Boc-L-Phe-ΔAla-OMe 2a	Boc-L-Phe-ΔAla(β,β-Br)-OMe 3a	
Estrutura				
Rendimento (%)	99	78	70	
Desvio químico (ppm)	Boc	1,42 (s)	1,40 (s)	1,43 (s)
	γPh-Phe	7,21-7,32 (m)	7,18-7,30 (m)	7,21-7,36 (m)
	βCH ₂ -Phe	3,05-3,15 (m)	2,97-3,07 (m)	3,07-3,17 (m)
	αCH-Phe	4,59 (q)	4,95-5,06 (m)	4,44 (d)
	OCH ₃	3,77 (s)	3,88 (s)	3,87 (s)
	αCH	4,32 (q)		
	βCH ₂	3,83-3,91 (m)	5,90 (s) e 6,60 (s)	
	NH-Phe	5,01 (s largo)	5,09 (s)	4,89 (s)
	NH	6,78 (d)	8,75 (s)	8,05 (s)

2.3 Síntese de Boc-Aib-ΔAla(β,β-Ph)-OMe e Boc-Aib-Z-ΔAbu(β-Ph)-OMe

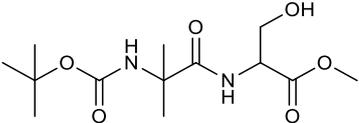
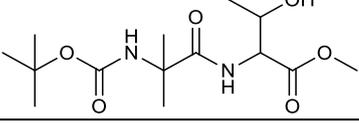
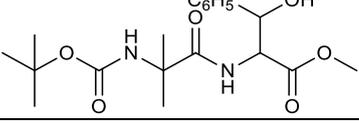
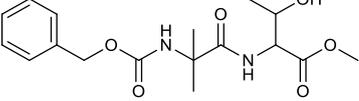
2.3.1 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acildipéptidos

Preparam-se os ésteres metílicos de dipéptidos *N*-protegidos fazendo reagir a *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-*C*^{α,α}-dimetilglicina (Boc-Aib-OH) com os ésteres metílicos de L-Ser, L-Thr ou D,L-Phe(β-OH), ou a *N*-benziloxicarbonilo-*C*^{α,α}-dimetilglicina (Z-Aib-OH) com o éster metílico de L-Thr. As reações foram efetuadas na presença de DIC, HOBt e Et₃N, originando derivados de *N*-acildipéptidos com rendimentos entre 80% e 98% (Esquema 18, Tabela 3).



Esquema 18: Síntese de ésteres metílicos de *N*-acildipéptidos

Tabela 3: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-acildipéptidos

Nome	Composto	Rendimento (%)
Boc-Aib-L-Ser-OMe 1b		98
Boc-Aib-L-Thr-OMe 1c		97
Boc-Aib-D,L-Phe(β-OH)-OMe 1d		80
Z-Aib-L-Thr-OMe 1e		81

Os compostos **1b**, **1c** e **1d** foram caracterizados por RMN de ^1H e de ^{13}C . O composto **1e** foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ^1H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁷⁷ Pela análise do espectro de RMN de ^1H obteve-se a confirmação da formação do dipéptido **1b** uma vez que são evidentes os sinais para os prótons βCH_2 (multiplete, δ 3,80-3,87 ppm) e αCH (multiplete, δ 4,10-4,17 ppm) do aminoácido Ser e dos prótons do grupo Boc (singlete, δ 1,42 ppm) (**Tabela 4, Figura 12**). Confirmou-se também a formação do dipéptido **1c** e **1e** pela presença dos sinais dos prótons γCH_3 (duplete, δ 1,24 e 1,38 ppm, respetivamente) do aminoácido Thr e dos prótons do grupo protetor Boc (singlete, δ 1,48 ppm) para **1c** e dos prótons aromáticos do grupo protetor Z (multiplete, δ 7,27-7,37 ppm) para **1e**, e a formação do dipéptido **1d** pelo sinal dos prótons aromáticos da Phe(β -OH) (multiplete, δ 7,27-7,39 ppm) e dos prótons do grupo protetor Boc (singlete, δ 1,45 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 4**). Os espectros de RMN de ^{13}C associado às técnicas bidimensionais HSQC e HMBC permitiram fazer a atribuição dos sinais a todos os átomos de carbono.

Tabela 4: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de *N*-acildipeptídeos

Composto	Boc-Aib-L-Ser-OMe 1b	Boc-Aib-L-Thr-OMe 1c	Boc-Aib-D,L-Phe (β -OH)-OMe 1d	Z-Aib-L-Thr-OMe 1e	
Estrutura					
Desvio químico (ppm)	Boc	1,42 (s)	1,48 (s)	1,45 (s)	
	Z			7,27-7,37 (m) e 5,22 (s)	
	Aib	1,50 (s)	1,53 (s)	1,42 (s)	1,54 (s)
	OCH ₃	3,79 (s)	3,75 (s)	3,64 (s)	3,76 (s)
	α CH	4,10-4,17 (m)	4,57 (dd)	4,90 (s largo)	4,57 (dd)
	β CH/CH ₂	3,80-3,87 (m)	4,22-4,25 (m)	5,00 (s largo)	4,25 (dd)
	γ CH ₃		1,24 (d)		1,38 (d)
	γ Ph			7,27-7,39 (m)	
	NH-Aib	5,08 (s)	5,08 (s)	5,08 (s)	5,43 (s)
	NH	7,07 (d)	7,05 (d)	7,11 (d)	6,91 (d)

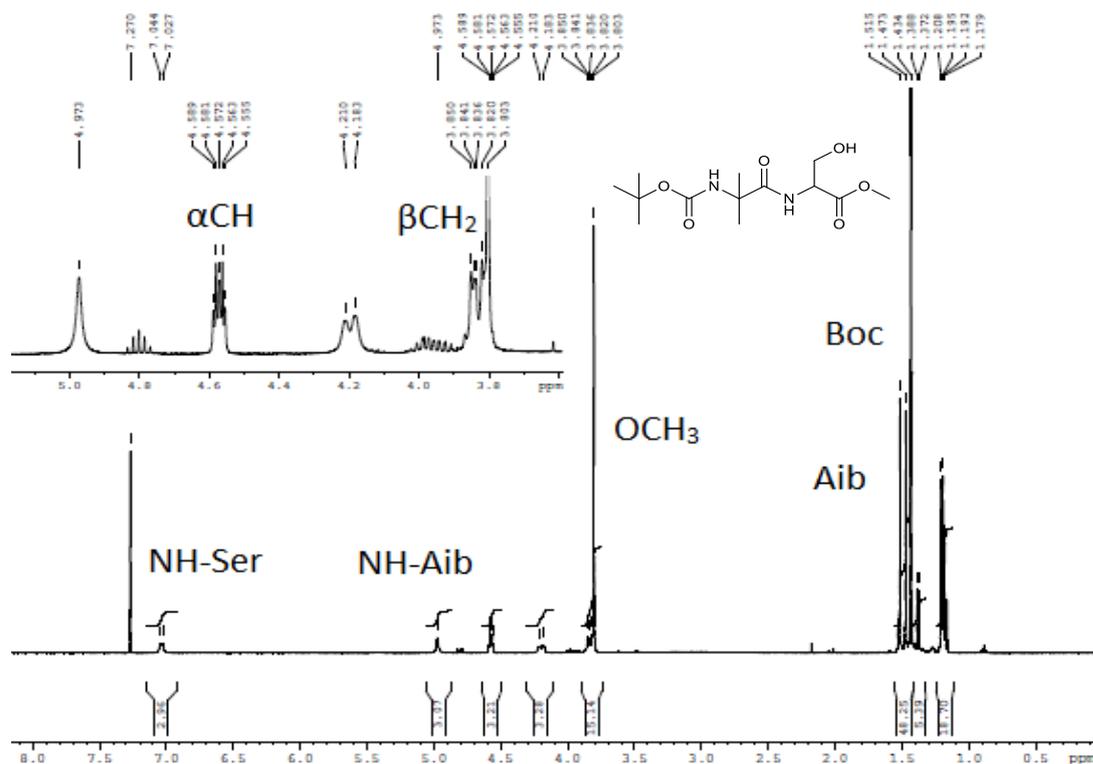
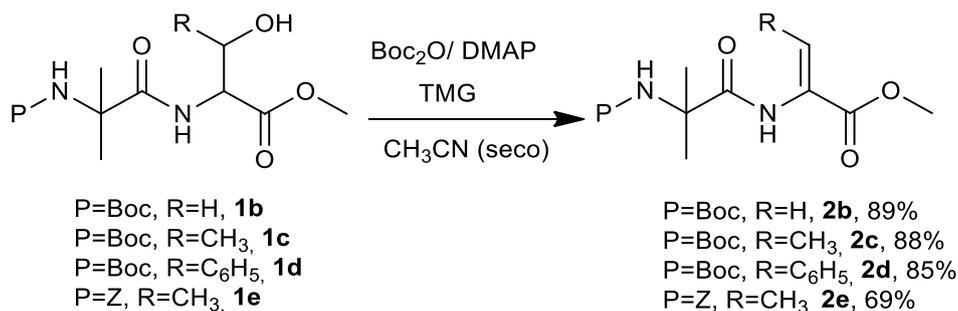


Figura 12: Espectro de RMN de ¹H, 400 MHz em CDCl₃, do composto **1b**

2.3.2 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acildesidrodipéptidos

Em seguida procedeu-se à desidratação dos dipéptidos **1b** – **1e**. Fez-se reagir os compostos **1b** – **1e** com o Boc_2O usando 0,1 equivalentes de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco com posterior adição de TMG. Obteve-se os compostos **2b** – **2e** com rendimentos entre 69% e 89% (**Esquema 19, Tabela 5**).



Esquema 19: Síntese de ésteres metílicos de *N*-acildesidrodipéptidos

Tabela 5: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-acildesidrodipéptidos

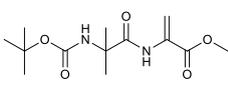
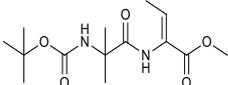
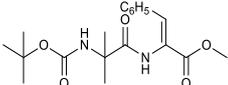
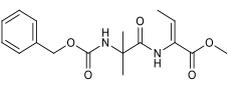
Nome	Composto	Rendimento (%)
Boc-Aib- Δ Ala-OMe 2b		89
Boc-Aib- Δ Abu-OMe 2c		88
Boc-Aib- Δ Phe-OMe 2d		85
Z-Aib- Δ Abu-OMe 2e		69

Os compostos **2b**, **2c** e **2d** foram caracterizados por RMN de ^1H e de ^{13}C . O composto **2e** foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ^1H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁷⁷ Pela análise do espectro de RMN de ^1H observou-se a formação da ligação dupla entre o carbono α e o carbono β . Assim, o composto **2b** apresenta um duplete e um singlete para os prótons βCH_2 (δ 5,89 e 6,60 ppm, respetivamente) (**Tabela 6, Figura 13**). A formação da ligação dupla

Capítulo 2. Resultados e Discussão

entre o carbono α e o carbono β , torna os dois prótons do carbono β não equivalente, e assim estes apresentam dois sinais com diferentes desvios químicos. Já o fato de um dos dois sinais dos prótons do βCH_2 ser um duplete, tanto para o composto **2b** como já tinha sido observado para o composto **2a**, deve-se a um dos prótons do βCH_2 estar a acoplar a longa distância com o próton da ligação amida, tal como já tinha sido descrito na literatura.⁷⁸ Os compostos **2c** e **2e** apresentam um quarteto correspondente ao próton βCH (δ 6,79 e 6,81 ppm, respetivamente) enquanto que o composto **2d** apresenta um singleto correspondente ao próton βCH (δ 7,53 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 6**). Os espetros de RMN de ^{13}C associado às técnicas bidimensionais HSQC e HMBC permitiram fazer a atribuição dos sinais a todos os átomos de carbono.

Tabela 6: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de *N*-acildesidrodipéptidos

Composto	Boc-Aib- Δ Ala-OMe 2b	Boc-Aib- Δ Abu-OMe 2c	Boc-Aib- Δ Phe-OMe 2d	Z-Aib- Δ Abu-OMe 2e	
Estrutura					
Desvio químico (ppm)	Boc	1,43 (s)	1,45 (s)	1,47 (s)	
	Z			7,27-7,36 (m) e 5,10 (s)	
	Aib	1,51 (s)	1,55 (s)	1,56 (s)	1,54 (s)
	β CH/ CH ₂	5,89 (d) e 6,60 (s)	6,79 (q)	7,53 (s)	6,81 (q)
	OCH ₃	3,83 (s)	3,75 (s)	3,83 (s)	3,76 (s)
	γ CH ₃		1,79 (d)		1,60 (d)
	γ Ph			7,30-7,54 (m)	
	NH-Aib	4,92 (s)	4,94 (s)	4,97 (s)	5,27 (s)
	NH	8,67 (s)	7,86 (s)	8,20 (s)	7,70 (s)

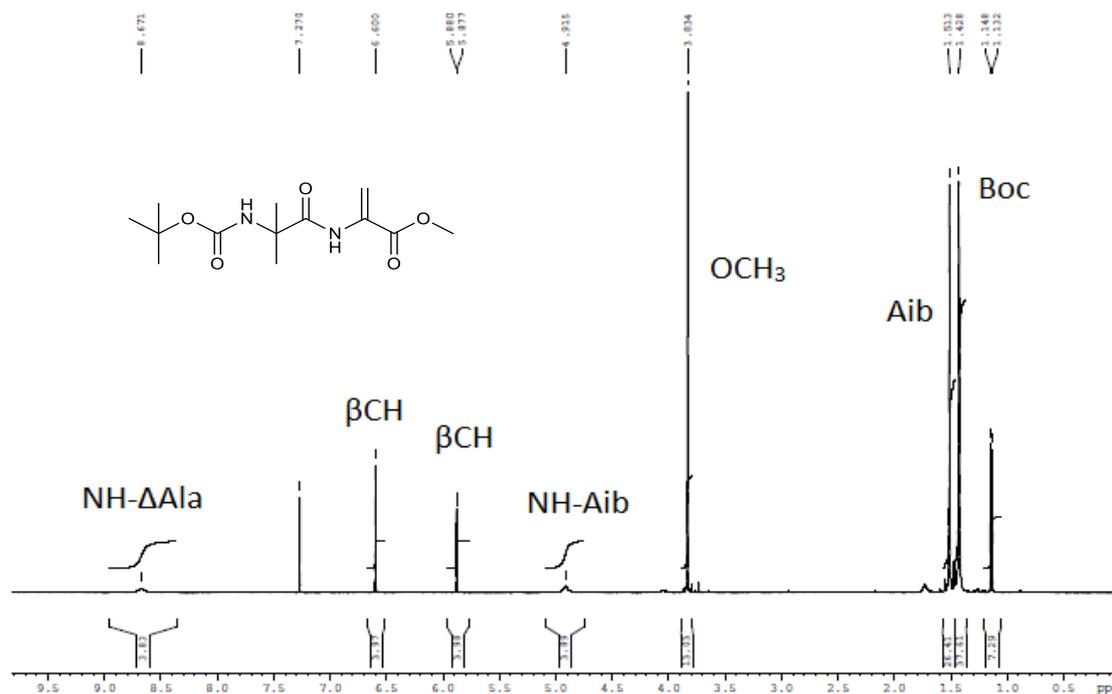
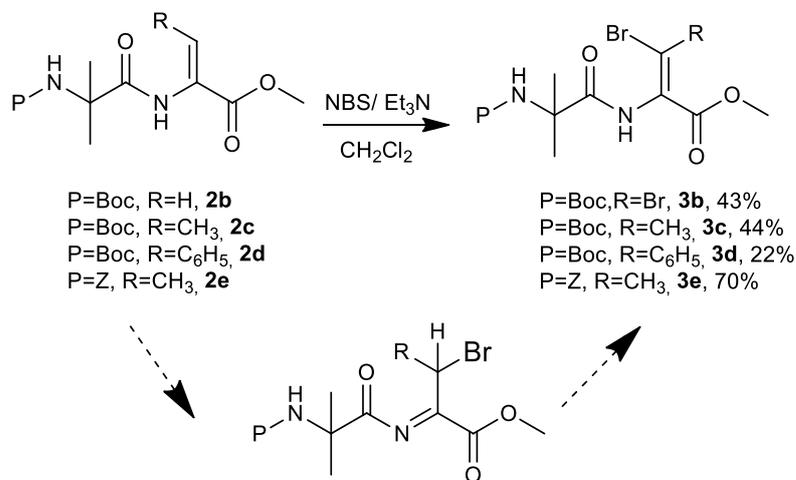


Figura 13: Espectro de RMN de ¹H, 400 MHz em CDCl₃, do composto **2b**

2.3.3 Síntese de derivados β-bromados

Têm sido sintetizados derivados de desidroaminoácidos β-halogenados por reação de desidroaminoácidos *N*-monoprotetidos com *N*-halosuccinimidas para originar a imina halogenada correspondente, que é convertida em derivados de β-halodesidroaminoácidos por adição de base (Et₃N).⁵⁹ Em alguns dos casos, obtém-se uma mistura de isômeros *E* e *Z*, que podem ser separados por cromatografia em coluna.



Esquema 20: Síntese de ésteres metílicos β-bromados de *N*-acildesidropeptídeos

O Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **3b** foi obtido fazendo reagir o Boc-Aib- Δ Ala-OMe **2b** com 2,4 equivalentes de NBS e com Et₃N, obtendo-se um rendimento de 43%. Os restantes derivados de *N*-acil- β -bromodesidrodipéptidos β -substituídos (**3c – 3e**) foram obtidos de forma igual mas fazendo reagir o respetivo éster metílico de *N*-acildesidrodipéptido com 1,2 equivalentes de *N*-bromosuccinimida e Et₃N, obtendo-se rendimentos de 44%, 22% e 70% para **3c**, **3d** e **3e**, respetivamente (Erro! A origem da referência não foi encontrada., **Tabela 7**). Os rendimentos apresentados mostram ser mais baixos relativamente as restantes reações, pois estes compostos foram purificados por cromatografia em coluna, e em alguns casos apenas se conseguiu isolar o isómero em maior proporção. Os compostos **3c** e **3e** apresentavam-se, antes da cromatografia em coluna, com uma mistura de isómeros *E/Z* com uma razão de 1/3,4 para o composto **3c** e de 1/1,7 para o composto **3e**. No caso do composto **3d** apenas se obteve o isómero *Z*. Nos compostos **3c** e **3e** conseguiu-se isolar o isómero *Z* após cromatografia em coluna. Atendendo a que, as reações de bromação com Δ Phe, já são conhecidas por apresentarem uma maior percentagem de formação do isómero *Z*,⁷⁹ podemos considerar que a diastereosseletividade completa observada se deve às restrições conformacionais adicionais imposta pelo aminoácido Aib e Δ Phe(β -Br). No caso dos derivados do Δ Abu, a bromação em condições reacionais equivalentes origina uma mistura de isómeros *E/Z* com uma razão de 1/1.⁶¹ Assim as restrições conformacionais impostas pelo aminoácido Aib no caso dos dipéptidos com Δ Abu também favorecem a formação do isómero *Z*.

Tabela 7: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos β -bromados de *N*-acildesidrodipéptidos

Nome	Composto	Rendimento (%)
Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe 2b		89
Boc-Aib- Δ Abu(β -Br)-OMe 2c		88
Boc-Aib- Δ Phe(β -Br)-OMe 2d		85
Z-Aib- Δ Abu(β -Br)-OMe 2e		69

Os compostos foram caracterizados recorrendo a técnicas espectroscópicas habituais (RMN de ^1H e de ^{13}C). Pela análise do espectro de RMN de ^1H do composto **3b**, que é derivado do ΔAla , foi possível verificar a ausência dos sinais característicos dos prótons βCH_2 confirmando que ocorreu a introdução de 2 átomos de bromo no carbono β . (**Figura 14**). Os compostos **3c** e **3e** que são derivados do ΔAbu apresentam os sinais esperados para os prótons γCH_3 que passam de dupletos a singletos (singlete, δ 2,53 ppm, **3c**) e (singlete, δ 2,54 ppm, **3e**), o que prova a substituição do hidrogénio do carbono β por bromo (**Anexo 3, Figura 15**). O composto **3d** que é um derivado da ΔPhe apresenta os sinais esperados para os prótons γPh (multiplete, δ 7,32-7,37 ppm) e a ausência do sinal para o próton βCH (**Anexo 4**). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 8**).

No caso dos derivados de *N*-acil- β -bromodesidrodipéptidos β -substituídos, após cromatografia em coluna, apenas se isolou o isómero em maior proporção. A sua estereoquímica foi determinada por NOE, irradiando o próton NH do $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})$ para os compostos **3c** e **3e** e o próton NH e os prótons OCH_3 do $\Delta\text{Phe}(\beta\text{-Br})$ para o composto **3d**. Não foi observado qualquer efeito nos prótons β -metil e β -fenil, respetivamente quando foi irradiado o próton NH (**Figura 16**). No caso do composto **3d** em que foram irradiados os prótons OCH_3 observou-se um efeito NOE nos prótons aromáticos da $\Delta\text{Phe}(\beta\text{-Br})$. Assim, pode concluir-se que o isómero maioritário obtido para os compostos **3c** e **3e** e o obtido em exclusivo para o composto **3d** foi o isómero *Z*. Tal seria de esperar para o composto **3d**, uma vez que já se observou a tendência para a obtenção em maior proporção do isómero *Z* para outros derivados bromados da ΔPhe já sintetizados e descritos na literatura.⁷⁹ Já para os derivados bromados do ΔAbu os resultados já descritos mostram uma proporção de 1/1 dos isómeros *E* e *Z*.⁶¹ Mas neste caso, obteve-se o isómero *Z* em maior proporção possivelmente devido às restrições conformacionais impostas pelo aminoácido Aib.

Tabela 8: Desvios químicos observados para ésteres metílicos β -bromados de *N*-acildesidrodipéptidos

Composto	Boc-Aib- Δ Ala (β,β -Br)-OMe 3b	Boc-Aib-Z- Δ Abu (β -Br)-OMe 3c	Boc-Aib-Z- Δ Phe (β -Br)-OMe 3d	Z-Aib-Z- Δ Abu (β -Br)-OMe 3e	
Estrutura					
Desvio químico (ppm)	Boc	1,46 (s)	1,46 (s)	1,57 (s)	
	Z	7,31-7,35 (m) e 5,11 (d)			
	Aib	1,51 (s)	1,52 (s)	1,60 (s)	1,56 (s)
	OCH ₃	3,87 (s)	3,80 (s)	3,52 (s)	3,78 (s)
	γ CH ₃	2,53 (s)			2,54 (s)
	γ Ph	7,32-7,37 (m)			
	NH-Aib	4,87 (s)	4,88 (s)	4,86 (s)	5,33 (s)
	NH	8,95 (s)	8,59 (s)	8,74 (s)	8,16 (s)

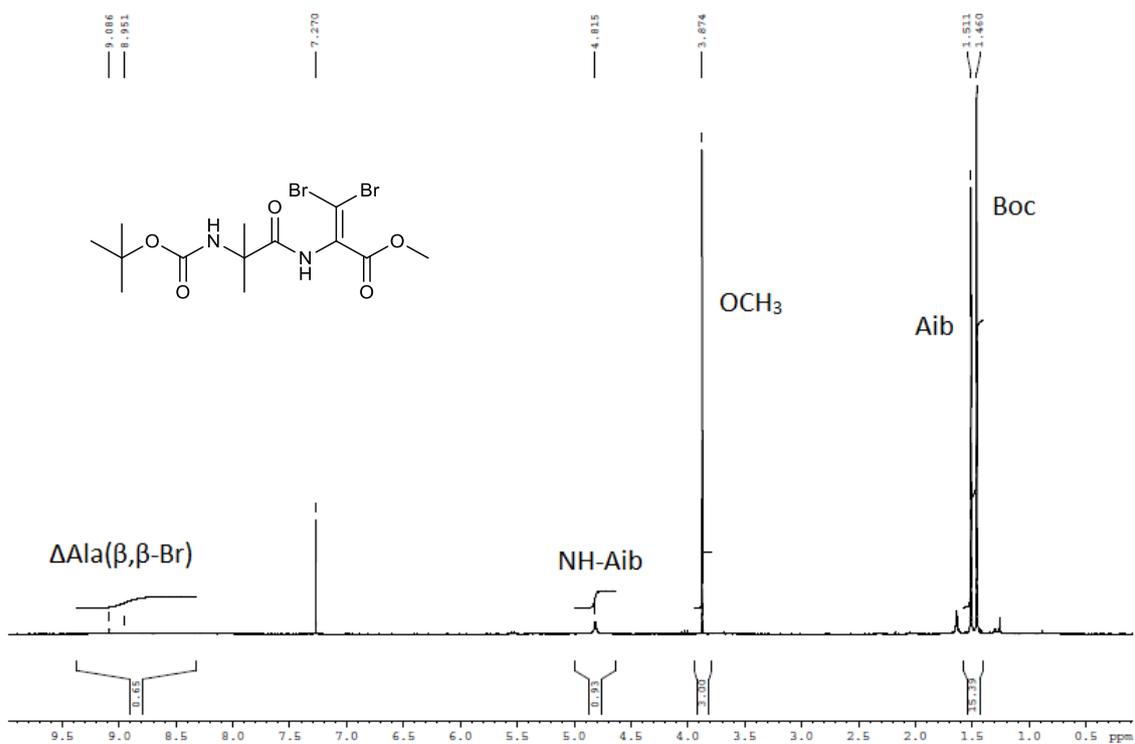


Figura 14: Espectro de RMN de ¹H, 400 MHz em CDCl₃, do composto **3b**

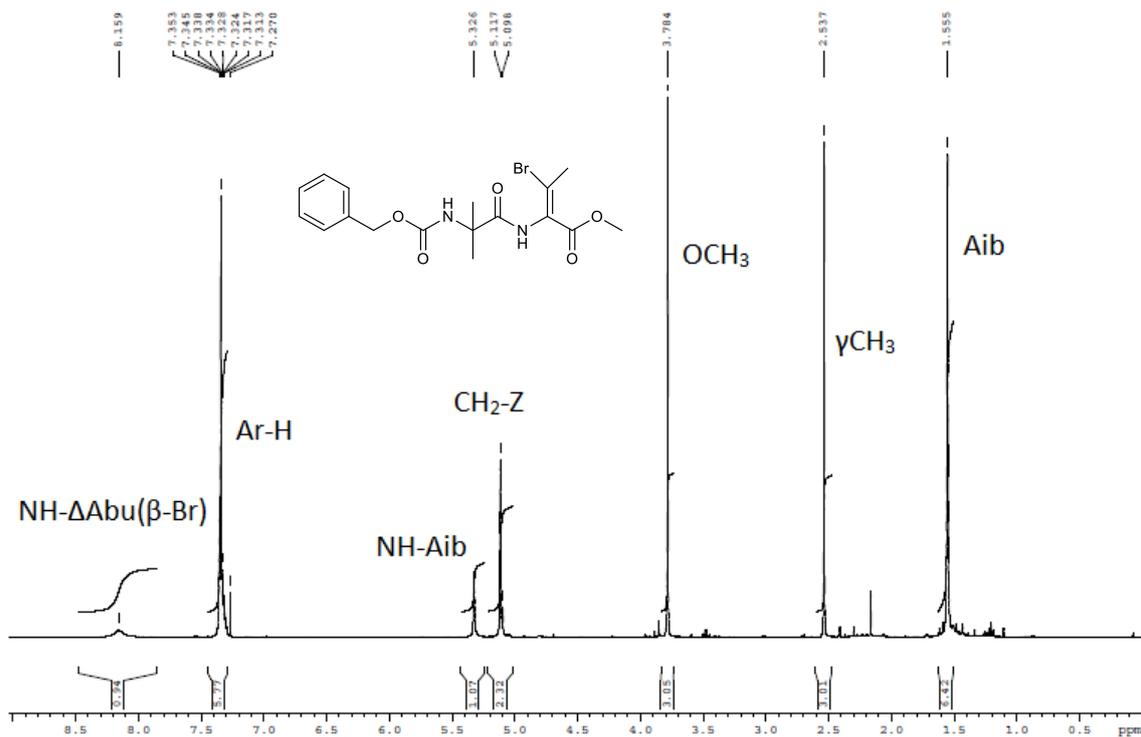


Figura 15: Espectro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto **3e**

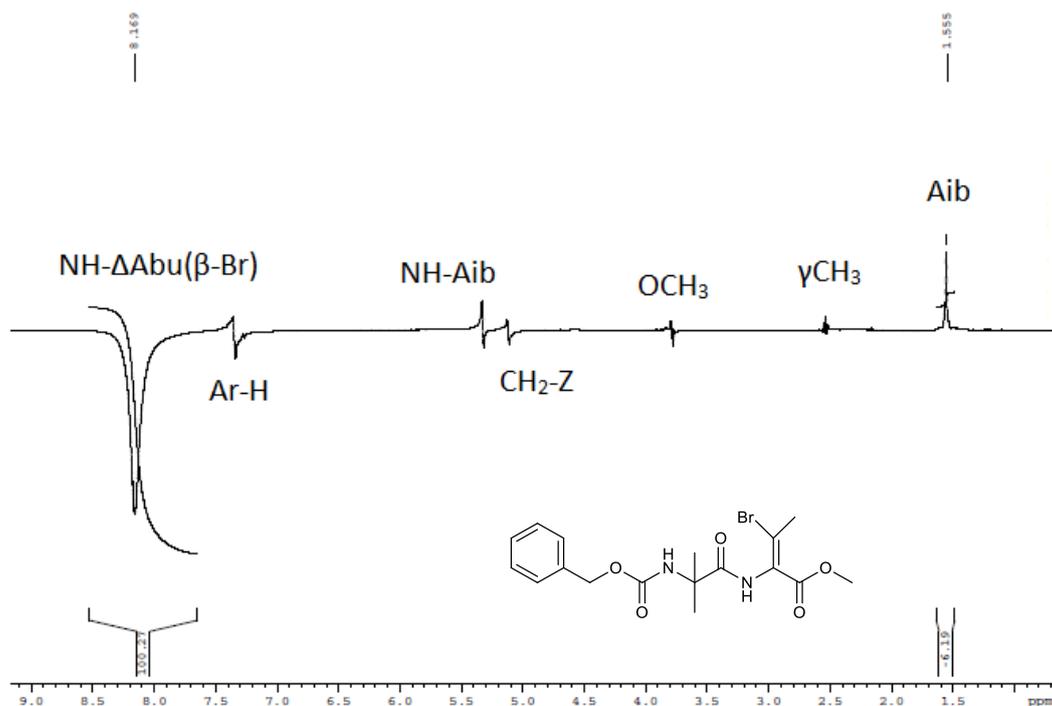
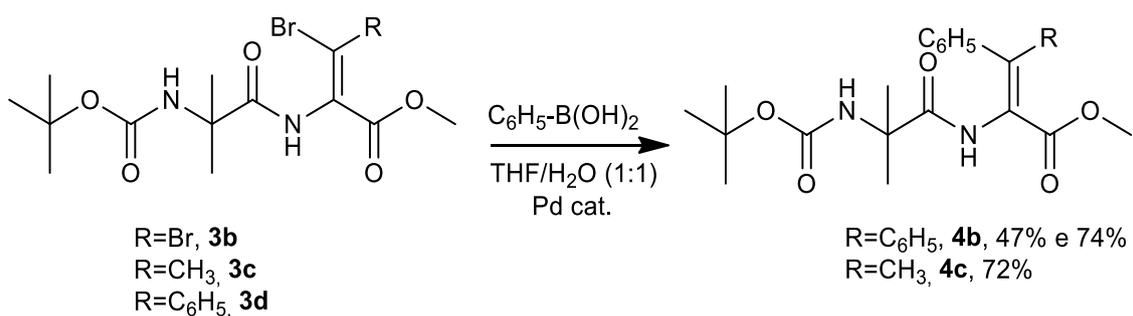


Figura 16: Espectro de NOE com irradiação no sinal do próton NH do $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})$, do composto **3e**

2.3.4 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe

Pretendeu-se demonstrar a aplicabilidade de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe, Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe como substratos para acoplamento de Suzuki-Miyaura. Para tal fez-se reagir os compostos **3b-3d** com o ácido fenilborónico usando o cloreto de paládio [PdCl₂dppf·CH₂Cl₂ (1:1)] como catalisador e o carbonato de céσιο (**Esquema 21**).



Esquema 21: Síntese de ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura

Tabela 9: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura

Nome	Composto	Composto de partida	Rendimento (%)
Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe 4b		Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe 3b	47
		Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe 3d	74
Boc-Aib- Δ Abu(β -Ph)-OMe 4c		Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe 3c	72

As reações de acoplamento permitiram obter o Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe (composto **4b**) e o Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe (composto **4c**), com rendimentos de 47% e 74% para o composto **4b** a partir dos compostos **3b** e **3d**, respetivamente e de 72% para o **4c** (**Tabela 9**).

O composto **4b** foi obtido a partir do Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **3b** e a partir do Boc-Aib- Δ Phe(β -Br)-OMe **3d**. Para se obter o composto **4b** a partir do **3b** foi necessário

o uso de 3,0 equivalentes do ácido fenilborónico e de 2,8 equivalentes de carbonato de céso, para ocorrer a substituição dos dois bromos existentes no aminoácido desidroalanina. Para se obter o composto **4b** a partir do **3d** apenas foi necessário o uso de 1,5 equivalentes do ácido fenilborónico e de 1,4 equivalentes de carbonato de céso, uma vez que apenas ocorre a substituição de um bromo existente no aminoácido desidrofenilalanina. Apesar de se observar um maior rendimento na síntese do composto **4b** quando este foi obtido a partir do composto **3d** (74%, **Tabela 10**, **Figura 17**), verifica-se que, depois de determinados os rendimentos globais do processo, as duas vias sintéticas são equivalentes uma vez que apresentam rendimentos globais semelhantes, 17 e 11% a partir de **1b** e **1d**, respetivamente (**Anexo 1**).

Tabela 10: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de desidrodipéptidos β,β -dissubstituídos por reação de Suzuki-Miyaura

Composto	Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe 4b	Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe 4c	
Estrutura			
Desvio químico (ppm)	Boc	1,28 (s)	1,49 (s)
	Aib	1,37 (s)	1,58 (s)
	OCH ₃	3,80 (s)	3,43 (s)
	γ CH ₃		2,29 (s)
	Ar-H	6,98-7,90 (m)	7,19-8,27 (m)
	NH-Aib	6,73 (s)	4,92 (s)
	NH	8,98 (s)	8,50 (s)

Os compostos foram caracterizados recorrendo a técnicas espectroscópicas. Pela análise do espectro de RMN de ^1H , do composto **4c**, é possível verificar o sinal esperado para os prótons γCH_3 (singlete, δ 2,29 ppm), assim como o sinal dos prótons do β -fenil (multiplete, δ 7,19-8,27 ppm) (**Anexo 5**). Para o composto **4b**, é possível verificar os sinais esperados para os prótons β,β -difeníl (multiplete, δ 6,98-7,90 ppm) (**Figura 17**). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 10**). Os espectros de RMN de ^{13}C associado às técnicas bidimensionais HSQC e HMBC permitiram fazer a atribuição dos sinais a todos os átomos de carbono.

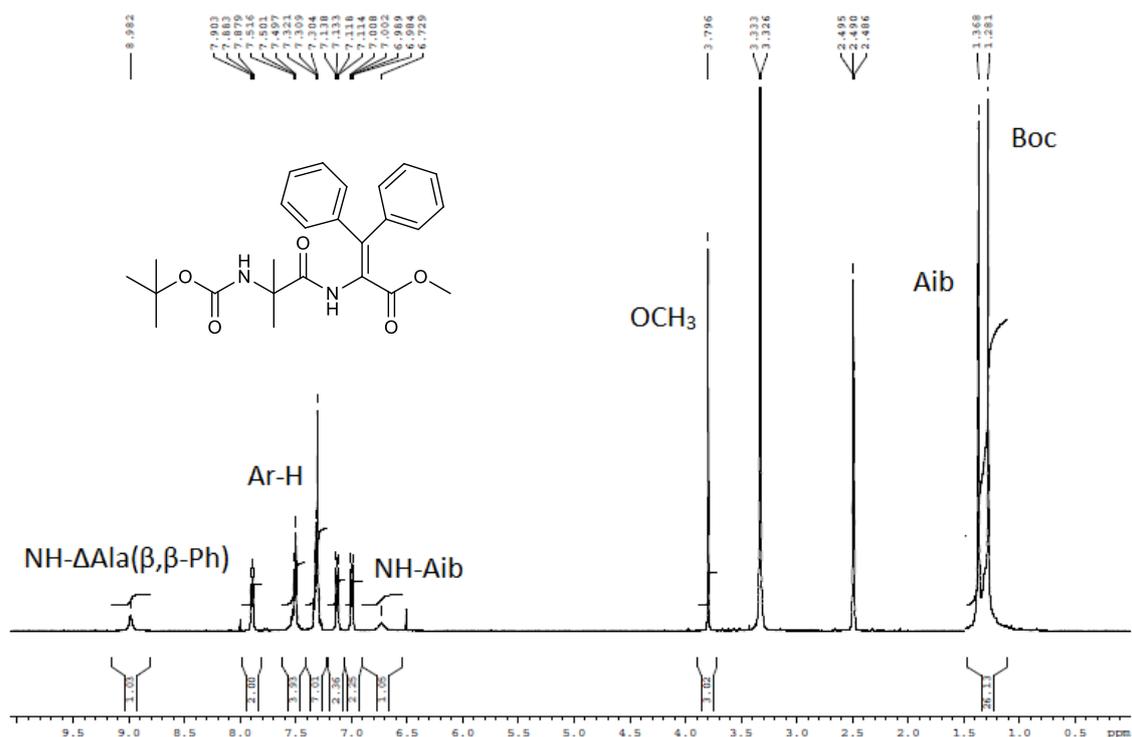


Figura 17: Espectro de RMN de ¹H, 400 MHz em DMSO-d₆, do composto 4b

2.4 Tentativa de síntese de Boc-ΔAla(β,β-Br)-Aib-OMe

Após terem sido obtidos os derivados de β,β-dibromodesidrodipéptido e de β-bromodesidrodipéptidos β-substituídos e usados com sucesso em acoplamentos de Suzuki-Miyaura, foi proposto uma sequência de reações semelhantes às anteriores, mas invertendo a ordem dos aminoácidos. Assim, os β-hidroxi aminoácidos ficariam no terminal amina e o Aib no terminal carboxilo.

2.4.1 Síntese do Boc-L-Ser-Aib-OMe e do Boc-L-Thr-Aib-OMe

Preparam-se dipéptidos *N*-protegidos, fazendo-se reagir Boc-L-Ser-OH e Boc-L-Thr-OH com o H-Aib-OMe, na presença de DIC, HOBt e Et₃N. Obtiveram-se os derivados de Boc-dipéptidos 1f e 1g com rendimentos de 89% e 69%, respectivamente (Esquema 22, Tabela 11).

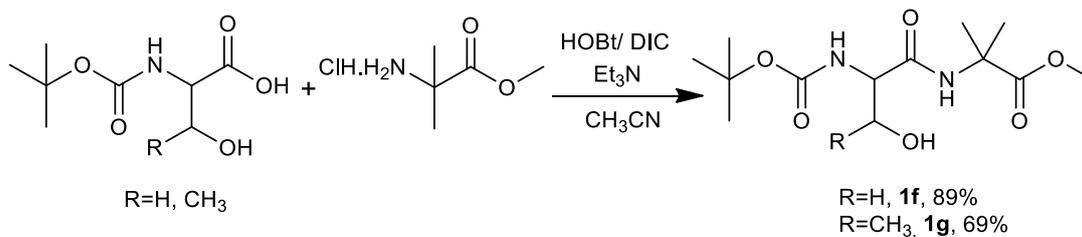

Esquema 22: Síntese de ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxycarbonil)-dipéptidos

Tabela 11: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxycarbonil)-dipéptidos

Nome	Composto	Rendimento (%)
Boc-L-Ser-Aib-OMe 1f		89
Boc-L-Thr-Aib-OMe 1g		69

Tabela 12: Desvios químicos observados para ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxycarbonil)-dipéptidos

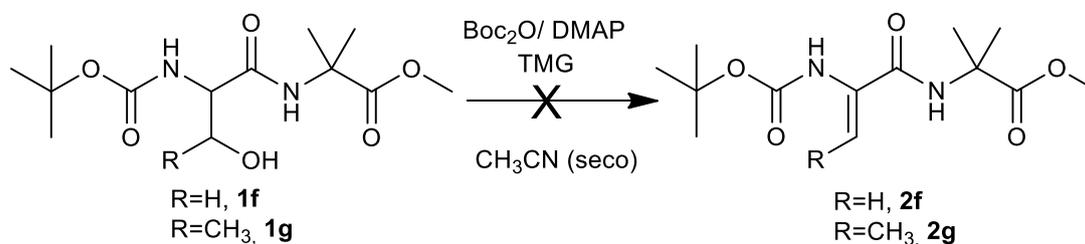
Composto		Boc-L-Ser-Aib-OMe 1f	Boc-L-Thr-Aib-OMe 1g
Estrutura			
Desvio químico (ppm)	Boc	1,45 (s)	1,45 (s)
	Aib	1,53 (s)	1,54 (s)
	OCH ₃	3,74 (s)	3,73 (s)
	αCH	4,04-4,07 (m)	4,30-4,35 (m)
	β CH/CH ₂	3,77-3,84 (m)	4,02-4,04 (m)
	γCH ₃		1,18 (d)
	NH-Aib	7,13 (s)	7,15 (s)
	NH	5,58 (d)	5,55 (d)

Pela análise do espectro de RMN de ¹H dos compostos confirmou-se a formação do dipéptido **1f** uma vez que é evidente o sinal dos prótons βCH₂ (multiplete, δ 3,77-3,84 ppm), αCH (multiplete, δ 4,04-4,07 ppm) e OCH₃ (singlete, δ 3,74 ppm). Confirmou-se

também a formação do dipéptido **1g** uma vez que é evidente o sinal dos prótons do γCH_3 (duplete, δ 1,18 ppm) e OCH_3 (singleto, δ 3,73 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 12**).

2.4.2 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala-Aib-OMe e de Boc- Δ Abu-Aib-OMe

Em seguida procedeu-se à desidratação dos dipéptidos **1f** e **1g**. Fez-se reagir os compostos **1f** e **1g** com o Boc_2O usando 0,1 equivalentes de DMAP como catalisador em acetonitrilo seco tendo sido posteriormente adicionado TMG. No entanto não foi possível obter os compostos pretendidos (compostos **2f** e **2g**). (**Esquema 23**).



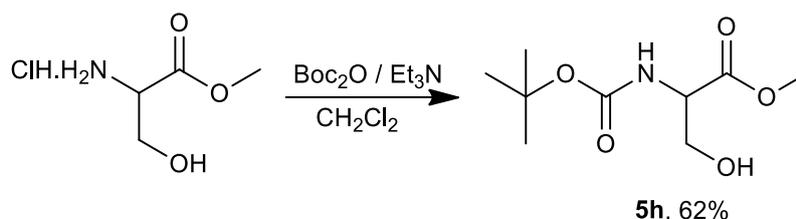
Esquema 23: Tentativa de síntese de ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-desidrodipéptidos

Possivelmente, não se obteve os compostos pretendidos pelo facto da presença do resíduo de Aib no terminal carboxilo fomentar uma conformação no dipéptido que dificulte a formação do carbonato no β -hidroxiaminoácido, impedindo que a desidratação ocorra (**Esquema 3**).

Para ultrapassar a dificuldade encontrada na obtenção do Boc- Δ Ala(β,β -Br)-Aib-OMe estabeleceu-se uma sequência reacional alternativa. Inicialmente começou-se por obter o derivado de Boc-L-Ser-OMe, que posteriormente foi desidratado e sujeito a reação de β -halogenação. Por fim desprotegia-se o éster metílico para se poder efetuar o acoplamento com o éster metílico do Aib, permitindo obter o derivado de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-Aib-OMe pretendido.

2.4.3 Síntese de Boc-L-Ser-OMe

Procedeu-se a proteção do H-L-Ser-OMe com o grupo protetor Boc para se obter o composto **5h**. Fez-se reagir o H-L-Ser-OMe com o 1,1 equivalentes de Boc₂O e 2,2 equivalentes de Et₃N em diclorometano, obtendo-se o **5h** com um rendimento de 62% (**Esquema 24**).⁵⁴

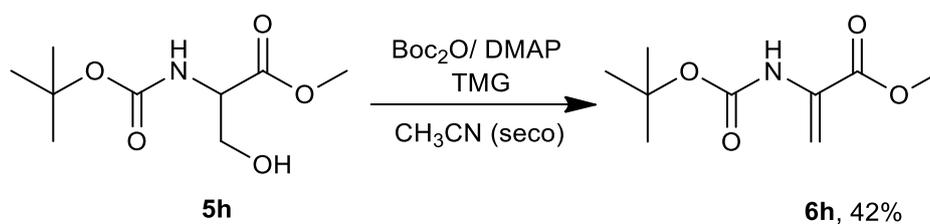


Esquema 24: Síntese de Boc-L-Ser-OMe

O composto **5h** foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ¹H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁵⁴ Pela análise do espectro de RMN de ¹H do composto confirmou-se a formação do derivado do aminoácido **5h** uma vez que é evidente o sinal dos prótons do grupo protetor Boc (singlete, δ 1,53 ppm) e os sinais dos prótons βCH₂ e αCH (multiplete, δ 3,90-4,00 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 13**).

2.4.4 Síntese de Boc-ΔAla-OMe

Procedeu-se à reação de desidratação do composto **5h** fazendo-o reagir com Boc₂O, usando 0,1 equivalentes de DMAP como catalisador e tratando posteriormente a reação com TMG. Obteve-se o composto **6h** com 42% de rendimento (**Esquema 25**).⁸⁰

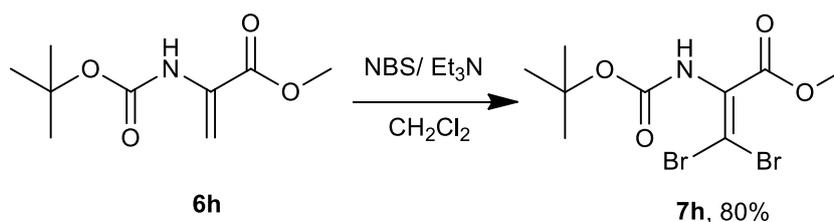


Esquema 25: Síntese de Boc-ΔAla-OMe

O composto **6h** foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ^1H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁸⁰ Pela análise do espectro de RMN de ^1H observou-se a formação da ligação dupla entre o carbono α e o carbono β , uma vez que o composto **6h** apresenta dois singletos correspondentes aos prótons βCH_2 (2 singletos, δ 5,73 e 6,16 ppm). Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 13**).

2.4.5 Síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

O derivado de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe **7h** foi obtido fazendo reagir o Boc- Δ Ala-OMe com 2,4 equivalentes de *N*-bromosuccinimida e com Et_3N . Obteve-se um rendimento em composto dibromado de 80% (**Esquema 26**).⁸¹



Esquema 26: Síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

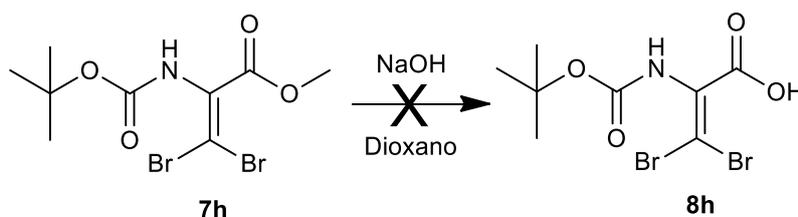
Tabela 13: Rendimentos obtidos na síntese de ésteres metílicos de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-aminoácidos e seus desvios químicos

Composto	Boc-L-Ser-OMe 5h	Boc- Δ Ala-OMe 6h	Boc- Δ Ala (β,β -Br)-OMe 7h
Estrutura			
Rendimento (%)	62	42	80
Desvio químico (ppm)	Boc	1,53 (s)	1,47 (s)
	OCH ₃	3,80 (s)	3,84 (s)
	αCH	3,90-4,00 (m)	δ 5,73 (s) e 6,16 (s)
	βCH_2		
	NH	4,37 (s largo)	7,01 (s)

O composto **7h** foi caracterizado recorrendo à técnica espectroscópica de RMN de ^1H e provou estar de acordo com resultados previamente descritos.⁸¹ Pela análise do espectro de RMN de ^1H do composto **7h** foi possível verificar a ausência dos sinais característicos dos prótons βCH_2 confirmando que ocorreu a introdução de 2 átomos de bromo no carbono β . Os restantes sinais apresentam-se de acordo com o esperado (**Tabela 13**).

2.4.6 Tentativa de síntese de Boc- $\Delta\text{Ala}(\beta,\beta\text{-Br})\text{-OH}$

Procedeu-se à desproteção de Boc- $\Delta\text{Ala}(\beta,\beta\text{-Br})\text{-OMe}$ por tratamento do composto **7h** com mistura bifásica de hidróxido de sódio 1 mol/L e dioxano, com o objectivo e se obter o Boc- $\Delta\text{Ala}(\beta,\beta\text{-Br})\text{-OH}$ **8h** (**Esquema 27**).



Esquema 27: Tentativa de síntese de Boc- $\Delta\text{Ala}(\beta,\beta\text{-Br})\text{-OH}$

Pela análise do espectro de RMN de ^1H do produto de reação foi possível concluir que não se obteve o composto pretendido, mostrando-se inconclusivo sobre o produto obtido. No entanto, atendendo ao descrito na literatura,⁸² pensa-se que poderá ter ocorrido a entrada de um grupo hidroxilo no carbono α . Esta possibilidade advém da presença de dois átomos de bromo no carbono β que torna o carbono α particularmente suscetível a ataque nucleófilo. Devido a limitações de tempo não foi possível repetir a sequência de reações, mas desprotegendo a função éster e acoplando o éster metílico do Aib antes de realizar a reação de bromação.

Capítulo 3. **Conclusões e perspectivas futuras**

Neste trabalho foram sintetizados novos derivados de dipéptidos contendo aminoácidos não proteínogénicos ($C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina, desidroaminoácidos e desidroalaninas β -substituídas), recorrendo a reações de desidratação, halogenação e acoplamento de Suzuki-Miyaura. Estes aminoácidos apresentam restrições conformacionais elevadas, pelo que a preparação de dipéptidos combinando este tipo de aminoácidos se apresentava à partida como um grande desafio sintético. Inicialmente sintetizou-se diferentes derivados de dipéptidos, com grupos protetores Boc e Z, com o aminoácido $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina no terminal amina e com diferentes β -hidroxiaminoácidos [Ser, Thr e Phe(β -OH)] no terminal carboxilo. Estes derivados de dipéptidos foram obtidos com rendimentos elevados e posteriormente procedeu-se à sua desidratação. Os derivados de desidrodipéptidos foram também obtidos com rendimentos elevados e em seguida transformados nos respetivos análogos β -bromados, com rendimentos de moderados a bons. Para os derivados de N -acil- β -bromo, β -metil-desidrodipéptidos obteve-se uma mistura de isómeros E/Z com maior percentagem do isómero Z . Estes foram separados por cromatografia em coluna. No caso do derivado de Δ Phe apenas se obteve o isómero Z . Em ambos os casos verifica-se uma maior tendência para formação do isómero Z quando comparado com a bromação de outros derivados destes desidroaminoácidos já descritos na literatura.^{61,79} Podemos assim concluir que a obtenção do isómero Z em maior quantidade se pode dever às restrições conformacionais impostas pelo aminoácido Aib. Como última reação desta sequência, foi efetuado o acoplamento de Suzuki-Miyaura, dos derivados bromados com ácido fenilborónico. Os respetivos derivados foram obtidos com rendimentos entre bons e elevados.

Após a realização da sequência de reações acima descritas, com a $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina como terminal amina e com diferentes β -hidroxiaminoácidos como terminal carboxilo, tentou-se a mesma sequência de reações mas invertendo a ordem dos aminoácidos. Os β -hidroxiaminoácidos ficariam no terminal amina e o Aib no terminal carboxilo. Prepararam-se os derivados de dipéptidos, que foram obtidos com rendimentos elevados. De seguida procedeu-se à tentativa de desidratação destes dipéptidos. No entanto, não foi possível obter os derivados dos desidrodipéptidos, possivelmente devido às restrições conformacionais apresentadas pelos dipéptidos, que

provavelmente impedem a formação do carbonato no carbono β do β -hidroxiaminoácido.

Para ultrapassar esta dificuldade, tentou-se uma sequência de reações alternativa, sendo sintetizados os derivados de desidroaminoácido β -bromados na forma de aminoácido protegido e só depois se tentou o acoplamento com o éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina para obter os respetivos dipéptidos. Inicialmente obteve-se o derivado *N*-acilado do éster metílico da serina que foi posteriormente desidratado, obtendo-se o derivado de desidroalanina com um bom rendimento. De seguida sintetizou-se o correspondente derivado de β,β -dibromodesidroalanina. Por fim tentou-se desproteger o éster metílico do derivado do β,β -dibromodesidroalanina para se acoplar a *N*-acil- β,β -dibromodesidroalanina com o éster metílico da $C^{\alpha,\alpha}$ -dimetilglicina e assim se obter o derivado de β,β -dibromodesidrodipéptido pretendido. No entanto, não foi possível obter o Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH, porque a reação de desproteção do éster metílico não ocorreu, possivelmente por ocorrer a entrada do grupo hidroxilo no carbono α . Devido a limitações de tempo não foi possível repetir a sequência de reações de modo a obter-se o Boc- Δ Ala(β,β -Br)-Aib-OMe. Mas como perspetivas futuras podemos propor uma nova sequência de reações onde após obter o Boc- Δ Ala-OMe se desprotege o desidroaminoácido para efetuar o acoplamento com o Aib e só no final se procede à reação de bromação.

As reações com o acoplamento dos dipéptidos, a desidratação, a bromação e o acoplamento de Suzuki-Miyaura, quando foram realizadas com derivados de dipéptidos onde o aminoácido Aib em posição *N*-terminal e diferentes β -hidroxiaminoácidos em posição *C*-terminal não apresentaram problemas significativos e mostraram-se mais eficientes quando usamos o aminoácido Thr, obtendo-se o melhor rendimento global de 27%. Para os derivados em que se partiu do aminoácido serina e do aminoácido fenilserina os rendimentos globais foram de 17% e 11%, respetivamente.

Pelo contrário, a mesma sequência de reações mas em que os derivados de dipéptidos que possuíam o aminoácido Aib em posição *C*-terminal não permitiu obter os derivados desidratados. Isto pode se possivelmente é devido ao impedimento estéreo provocado pelo resíduo de Aib que pode impedir a formação do carbonato no resíduo de β -hidroxiaminoácido.

No que diz respeito aos tipos de reações realizadas pode concluir-se, como seria de esperar, que a reação que se mostrou mais eficiente foi a reação de acoplamento dos dipéptidos, apresentando no geral os rendimentos mais elevados. A reação que se mostrou menos eficiente foi a reação de bromação, mostrando ter os rendimentos mais baixos, possivelmente pela necessidade de purificação dos compostos obtidos, por cromatografia em coluna. Sendo que no geral as sequências utilizadas mostram ser eficazes para a obtenção de novos derivados de dipéptidos, quando o Aib é o resíduo no terminal amina.

Os dipéptidos preparados podem ser utilizados como precursores para a síntese de novos péptidos com potencial atividade biológica. Estes dipéptidos apresentam dois aminoácidos não naturais com elevada restrição conformacional, pelo que uma vez inseridos em péptidos podem provocar modificações estruturais que potenciam a sua atividade biológica.

Capítulo 4. **Parte Experimental**

4.1 Procedimentos gerais

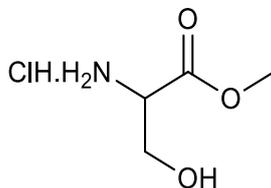
Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram determinados num aparelho Bruker Avance III a 400 e 100,6 MHz, respetivamente, usando o pico de solvente residual como referência interna. A constante de acoplamento (J) foi obtida em Hertz (Hz) e o deslocamento químico (δ) em partes por milhão (ppm). A atribuição completa dos sinais de protão e carbono foi feita recorrendo a técnicas de correlação heteronuclear bidimensional, nomeadamente HSQC e HMBC. Os solventes deuterados utilizados foram dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) e clorofórmio (CDCl_3). Os espectros de massa foram obtidos no aparelho LC-MS Finnigan LXQ spectrometer. Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Gallenkamp e não foram corrigidos.

Cromatografia em coluna foi realizada em sílica MN Kieselgel 60M (230 a 400 mesh). As análises de TLC foram efetuadas em placas de sílica gel Merck-Kieselgel 60 F254. As placas de TLC foram reveladas no ultravioleta ($\nu = 50 \text{ Hz}$) numa câmara CN-6 de luz ultravioleta e, por vezes, usada a revelação com iodo.

Os reagentes utilizados foram produtos “pro analysis” ou para síntese das marcas Sigma Aldrich, Acros Organics e Panreac. Os solventes foram usados sem purificação exceto o diclorometano (DCM) e o acetonitrilo (ACN). O DCM foi seco com cloreto de cálcio e hidreto de cálcio e posteriormente destilado e armazenado em crivos moleculares. O acetonitrilo foi tratado com sílica e hidreto de cálcio, destilado e armazenado em crivos moleculares. O éter de petróleo utilizado refere-se à fração com ponto de ebulição entre 40-60°C. As fases orgânicas foram secas usando sulfato de magnésio anidro.

4.2 Síntese de ésteres metílicos de β -hidroxiaminoácidos

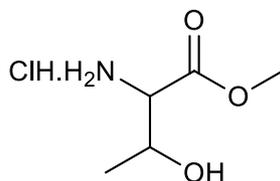
4.2.1 Síntese do éster metílico da L-serina



Adicionou-se cloreto de tionilo (50 mmol, 3,63 mL) gota a gota, ao metanol (50 mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Juntou-se lentamente o cloridrato do aminoácido L-serina (50 mmol, 5,25 g) e deixou-se em agitação a 40°C durante 4 horas. Terminada a reação levou-se a mistura reacional à secura em vácuo. A recristalização foi efetuada com metanol e éter etílico. Obteve-se um sólido branco com um rendimento de 89%, cujo espectro de $^1\text{HRMN}$ estava de acordo com o descrito.⁷⁷

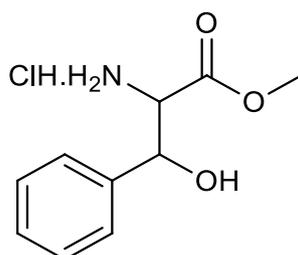
$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,75-3,85 (m, 2H, βCH_2), 4,11 (s, 1H, αCH), 5,58 (s largo, 1H, βOH), 8,47 (s, 3H, αNH_3^+) ppm.

4.2.2 Síntese do éster metílico da L-treonina



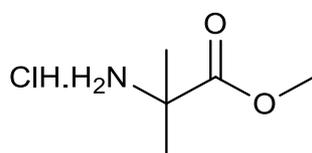
Adicionou-se cloreto de tionilo (50 mmol, 3,63 mL) gota a gota, ao metanol (50 mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Juntou-se lentamente o cloridrato do aminoácido L-treonina (50 mmol, 5,96 g) e deixou-se em agitação a 40°C durante 4 horas. Terminada a reação levou-se a mistura reacional à secura em vácuo. Obteve-se um óleo que resistiu a recristalização com um rendimento de 71%.

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,19 (t, 3H, J = 2,4 Hz, γCH_3), 3,13 (s, 3H, OCH₃), 3,87 (s, 1H, αCH), 4,07-4,12 (m, 1H, βCH), 4,39 (s largo, 1H, βOH), 8,52 (s, 3H, αNH_3^+) ppm.

4.2.3 Síntese do éster metílico da D,L-β-hidroxifenilalanina

Adicionou-se cloreto de tionilo (33 mmol, 2,39 mL) gota a gota, ao metanol (33 mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Juntou-se lentamente o cloridrato do aminoácido D,L-β-hidroxifenilalanina (33 mmol, 5,98 g) e deixou-se em agitação a 40°C durante 4 horas. Terminada a reação levou-se a mistura reacional à secura em vácuo e dissolveu-se na quantidade mínima de metanol e éter etílico. Obteve-se um sólido branco com um rendimento de 96%.

¹HRMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3,32 (s, 3H, OCH₃), 4,16 (d, 1H, *J* = 5,6 Hz, αCH), 5,02 (dd, 1H, *J* = 4,4 Hz e *J* = 9,6 Hz, βCH), 6,54 (d, 1H, *J* = 4,4 Hz, βOH), 7,32-7,39 (m, 5H, Ar-H), 8,41 (s, 3H, αNH₃⁺) ppm.

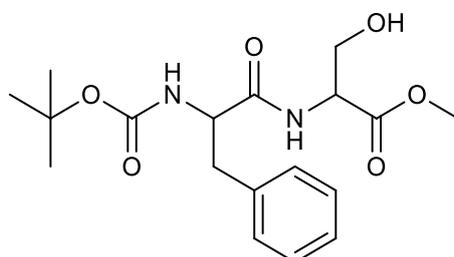
4.2.4 Síntese do éster metílico da C^{α,α}-dimetilglicina

Adicionou-se cloreto de tionilo (50 mmol, 3,63 mL) gota a gota, ao metanol (50 mL) num banho de gelo e sal durante 20-30 minutos. Juntou-se lentamente o cloridrato do aminoácido C^{α,α}-dimetilglicina (50 mmol, 5,16 g) e deixou-se em agitação a 40°C durante 4 horas. Terminada a reação levou-se a mistura reacional à secura em vácuo. A recristalização foi efetuada com metanol e éter etílico. Obteve-se um sólido branco com um rendimento de 92%, cujo espectro de ¹HRMN estava de acordo com o descrito.⁷⁷

¹HRMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1,47 [s, 6H, (CH₃)₂], 3,74 (s, 3H, OCH₃), 8,73 (s, 3H, αNH₃⁺) ppm.

4.3 Síntese de ésteres metílicos de *N*-acidipéptidos

4.3.1 Síntese de Boc-L-Phe-L-Ser-OMe **1a**

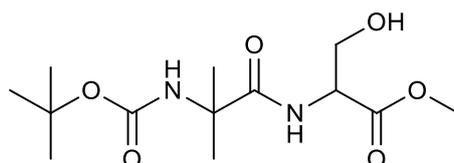


Dissolveu-se Boc-L-Phe-OH (10 mmol, 2,65 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (10 mmol, 1,35 g), DIC (10 mmol, 1,55 mL), éster metílico da L-serina (10 mmol, 1,55 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se Et₃N (10 mmol, 1,39 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se um sólido branco com um rendimento de 99%, cujo espectro de ¹HRMN estava de acordo com o descrito.⁷⁶

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,42 [s, 9H, (CH₃)₃], 3,05-3,15 (m, 2H, βCH₂-Phe), 3,77 (s, 3H, OCH₃), 3,83-3,91 (m, 2H, βCH₂-Ser), 4,32 (q, 1H, *J* = 7,2 Hz e *J* = 13,6 Hz, αCH-Ser), 4,59 (q, 1H, *J* = 3,2 Hz e *J* = 7,2 Hz, αCH-Phe), 5,01 (s largo, 1H, NH-Phe), 6,78 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz, NH-Ser), 7,21-7,32 (m, 5H, Ar-H) ppm.

4.3.2 Síntese de Boc-Aib-L-Ser-OMe **1b**



Dissolveu-se Boc-Aib-OH (10 mmol, 2,03 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (10 mmol, 1,35 g), DIC (10 mmol, 1,55 mL), éster metílico da L-serina (10 mmol, 1,55 g) esperando cerca de 15

minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se a Et₃N (10 mmol, 1,39 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 98%. Por recristalização com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 71%.

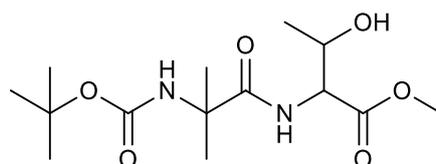
p.f. = 120-122°C

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,42 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1,50 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3,37 (s, 1H, βOH), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,80-3,87 (m, 2H, βCH₂), 4,10-4,17 (m, 1H, αCH), 5,08 (s, 1H, NH-Aib), 7,07 (d, 1H, *J* = 6,4 Hz, NH-Ser) ppm.

¹³C RMN (100,6 MHz, CDCl₃): δ = 24,43 [C(CH₃)₂], 26,44 [C(CH₃)₃], 52,62 (OCH₃), 55,24 (αCH), 56,73 [C(CH₃)₂], 61,94 (βCH₂), 80,93 [C(CH₃)₃], 155,41 (C=O), 171,01 (C=O), 173,98 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para C₁₃H₂₄N₂O₆Na 327,34; Obtido 327,18.

4.3.3 Síntese de Boc-Aib-L-Thr-OMe **1c**



Dissolveu-se Boc-Aib-OH (3 mmol, 0,61 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (3 mmol, 0,41 g), DIC (3 mmol, 0,46 mL), éster metílico da L-treonina (3 mmol, 0,33 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se Et₃N (3 mmol, 0,42 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

Capítulo 4. Parte experimental

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por recristalização com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 97%.

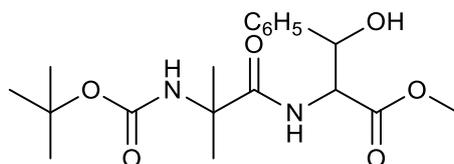
p.f. = 110-112°C

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,24 (d, 3H, *J* = 6,4 Hz, γCH₃), 1,48 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1,53 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3,75 (s, 3H, OCH₃), 4,22-4,25 (m, 1H, βCH), 4,57 (dd, 1H, *J* = 3,2 Hz e *J* = 8,8 Hz, αCH), 5,08 (s, 1H, NH-Aib), 7,05 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, NH-Thr) ppm.

¹³CRMN (100,6 MHz, CDCl₃): δ = 20,04 (γCH₃), 24,90 [C(CH₃)₂], 26,25 [C(CH₃)₃], 52,41 (OCH₃), 56,87 [C(CH₃)₂], 57,52 (αCH), 68,68 (βCH), 80,46 [C(CH₃)₃], 154,77 (C=O), 171,48 (C=O), 174,68 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para C₁₄H₂₆N₂O₆Na 341,37; Obtido 341,20.

4.3.4 Síntese de Boc-Aib-D,L-Phe(β-OH)-OMe **1d**



Dissolveu-se Boc-Aib-OH (10 mmol, 2,03 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (10 mmol, 1,36 g), DIC (10 mmol, 1,55 mL), éster metílico da D,L-β-hidroxifenilalanina (10 mmol, 2,31 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se Et₃N (10 mmol, 1,39 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por recristalização com éter etílico obteve-se um sólido branco com um rendimento de 80%.

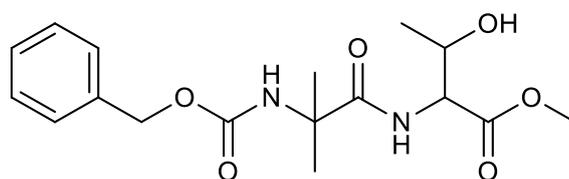
p.f. = 100-102°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,45$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,42 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,64 (s, 3H, OCH_3), 4,90 (s largo, 1H, αCH), 5,00 (s largo, 1H, βCH), 5,08 (s, 1H, NH-Aib), 7,11 [d, 1H, $J = 4,8$ Hz, NH-Phe($\beta\text{-OH}$)], 7,27-7,39 (m, 5H, Ar-H) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 22,36$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 25,60 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 52,34 (OCH_3), 56,85 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 58,64 (αCH), 74,77 (βCH), 80,69 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 128,04 (CH-Ar), 128,27 (CH-Ar), 128,61 (CH-Ar), 139,40 (C-Ar), 155,09 (C=O), 171,02 (C=O), 174,42 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ 403,44; Obtido 403,24.

4.3.5 Síntese de Z-Aib-L-Thr-OMe **1e**

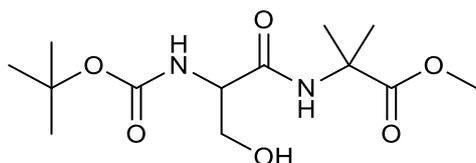


Dissolveu-se Z-Aib-OH (4,7 mmol, 1,12 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (4,7 mmol, 0,63 g), DIC (4,8 mmol, 0,73 mL), éster metílico da L-treonina (4,7 mmol, 0,51 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se Et_3N (4,7 mmol, 0,65 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secua a pressão reduzida. Obteve-se um óleo com um rendimento de 81%, cujo espectro de $^1\text{HRMN}$ estava de acordo com o descrito.⁷⁷

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,38$ (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, γCH_3), 1,54 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,76 (s, 3H, OCH_3), 4,25 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz e $J = 6,4$ Hz, βCH), 4,57 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz e $J = 9,2$ Hz, αCH), 5,22 (s, 2H, CH_2), 5,43 (s, 1H, NH-Aib), 6,91 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, NH-Thr), 7,27-7,37 (m, 5H, Ar-H) ppm.

4.3.6 Síntese de Boc-L-Ser-Aib-OMe 1f



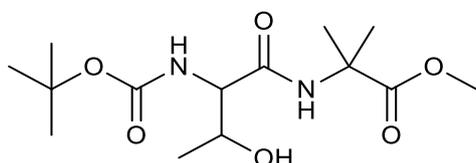
Dissolveu-se Boc-L-Ser-OH (10 mmol, 2,05 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (10 mmol, 1,35 g), DIC (10 mmol, 1,55 mL), éster metílico da C^{α,α}-dimetilglicina (10 mmol, 1,55 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se a Et₃N (10 mmol, 1,39 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se um óleo que resistiu a cristalização com um rendimento de 89%.

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,45 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1,53 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,77-3,84 (m, 2H, βCH₂), 4,04-4,07 (m, 1H, αCH), 5,58 (d, 1H, J = 5,2 Hz, NH-Ser), 7,13 (s, 1H, NH-Aib) ppm.

¹³CRMN (100,6 MHz, CDCl₃): 24,86 [C(CH₃)₂], 28,20 [C(CH₃)₃], 42,32 (αCH), 52,69 (OCH₃), 56,59 [C(CH₃)₂], 62,88 (βCH₂), 80,45 [C(CH₃)₃], 157,11 (C=O), 170,95 (C=O), 1734,79 (C=O) ppm.

4.3.7 Síntese de Boc-L-Thr-Aib-OMe 1g



Dissolveu-se Boc-L-Thr-OH (10 mmol, 2,19 g) em ACN (30 mL) e arrefeceu-se a mistura num banho de gelo. Adicionou-se HOBt hidratado (10 mmol, 1,35 g), DIC (10 mmol, 1,55 mL), éster metílico da treonina (10 mmol, 1,55 g) esperando cerca de 15 minutos entre cada adição. Ao fim de 1 hora adicionou-se a Et₃N (10 mmol, 1,39 mL) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 12 horas. Terminada

a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

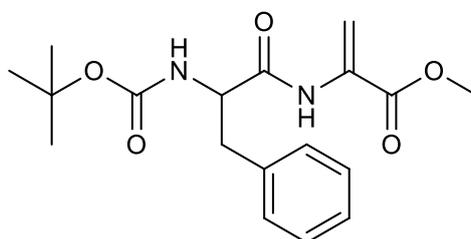
A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se um óleo que resistiu a cristalização com um rendimento de 69%.

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,18 (d, 3H, J = 6,4 Hz, γCH_3), 1,45 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,54 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,73 (s, 3H, OCH_3), 4,02-4,04 (m, 1H, βCH), 4,30-4,35 (m, 1H, αCH), 5,55 (d, 1H, J = 7,6 Hz, NH-Thr), 7,15 (s, 1H, NH-Aib) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): 17,91 (γCH_3), 24,85 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,25 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 52,64 (OCH_3), 56,48 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 57,94 (αCH), 66,83 (βCH), 80,43 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 156,60 (C=O), 171,01 (C=O), 174,65 (C=O) ppm.

4.4 Síntese dos ésteres metílicos de *N*-acildesidrodipéptidos

4.4.1 Síntese de Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe 2a



Dissolveu-se Boc-L-Phe-L-Ser-OMe (9,88 mmol, 3,62 g) em ACN seco (10 ml) e adicionou-se Boc_2O (9,88 mmol, 2,15 g), DMAP (0,99 mmol, 0,12 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por recristalização

Capítulo 4. Parte experimental

com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 78%.

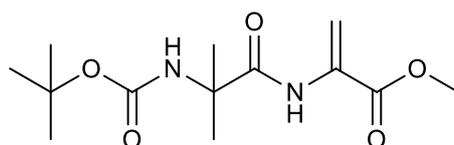
p.f. = 162-164°C

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,40 [s, 9H, C(CH₃)₃], 2,97-3,07 (m, 2H, βCH₂-Phe), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 4,95-5,06 (m, 1H, αCH-Phe), 5,09 (s, 1H, NH-Phe), 5,90 (s, 1H, βCH₂-ΔAla), 6,60 (s, 1H, βCH₂-ΔAla), 7,18-7,30 (m, 5H, Ar-H), 8,75 (s, 1H, NH-ΔAla) ppm.

¹³CRMN (100,6 MHz, CDCl₃): δ = 28,16 [C(CH₃)₃], 38,14 (βCH₂-Phe), 52,87 (OCH₃), 55,81 (αCH-Phe), 79,53 [C(CH₃)₃], 109,33 (βCH₂-ΔAla), 127,06 (CH-Ar), 128,75 (CH-Ar), 129,15 (CH-Ar), 130,54 (C-Ar), 136,18 (αC-ΔAla), 155,36 (C=O), 163,97 (C=O), 170,19 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para C₁₈H₂₄N₂O₅Na 371,17; Obtido 371,18.

4.4.2 Síntese de Boc-Aib-ΔAla-OMe **2b**



Dissolveu-se Boc-Aib-L-Ser-OMe (3,0 mmol, 0,91 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc₂O (3,0 mmol, 0,65 g), DMAP (0,3 mmol, 0,04 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido, adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 89%. Por recristalização com éter etílico e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 60%.

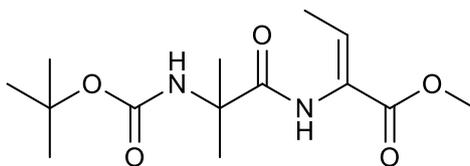
p.f. = 75-76°C

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,43 [s, 9H, C(CH₃)₃], 1,51 [s, 6H, C(CH₃)₂], 3,83 (s, 3H, OCH₃), 4,92 (s, 1H, NH-Aib), 5,89 (d, 1H, *J* = 1,2 Hz, βCH₂), 6,60 (s, 1H, βCH₂), 8,67 (s, 1H, NH-ΔAla) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 25,55$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], $28,18$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], $52,84$ (OCH_3), $57,52$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], $80,58$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], $108,45$ (βCH_2), $130,99$ (αC), $154,39$ ($\text{C}=\text{O}$), $164,50$ ($\text{C}=\text{O}$), $173,42$ ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 371,17; Obtido 371,18.

4.4.3 Síntese de Boc-Aib- Δ Abu-OMe **2c**



Dissolveu-se Boc-Aib-L-Thr-OMe (3,0 mmol, 0,95 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc_2O (3,0 mmol, 0,65 g), DMAP (0,3 mmol, 0,04 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 88%. Por recristalização com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 35%.

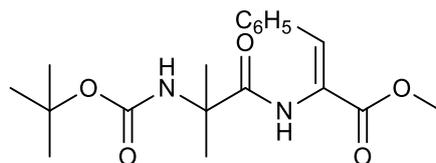
p.f. = 120-122°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,45$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], $1,55$ [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], $1,79$ (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, γCH_3), $3,75$ (s, 3H, OCH_3), $4,94$ (s, 1H, NH-Aib), $6,79$ (q, 1H, $J = 6,8$ Hz e $J = 7,2$ Hz, βCH), $7,86$ (s, 1H, NH- Δ Abu) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 14,44$ (γCH_3), $24,93$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], $25,60$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], $49,11$ (βCH), $52,20$ (OCH_3), $57,11$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], $80,34$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], $126,14$ (αC), $154,68$ ($\text{C}=\text{O}$), $164,90$ ($\text{C}=\text{O}$), $172,78$ ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 323,17; Obtido 323,16.

4.4.4 Síntese de Boc-Aib- Δ Phe-OMe 2d



Dissolveu-se Boc-Aib-D,L-Phe(β -OH)-OMe (3,69 mmol, 1,27 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc_2O (3,69 mmol, 0,80 g), DMAP (0,369 mmol, 0,045 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se o TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

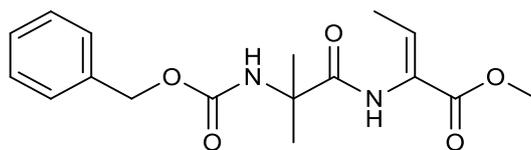
A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 85%. Por recristalização com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 62%.

p.f. = 158-160°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,47 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,56 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,83 (s, 3H, OCH_3), 4,97 (s, 1H, NH-Aib), 6,15 (s, 1H, βCH), 7,30-7,54 (m, 5H, Ar-H), 8,20 (s, 1H, NH- Δ Phe) ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 22,58 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 25,30 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 44,11 (βCH), 52,54 (OCH_3), 57,22 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 80,51 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 124,15 (αC), 128,45 (CH-Ar), 129,28 (CH-Ar), 129,83 (CH-Ar), 133,78 (C-Ar), 154,87 (C=O), 165,73 (C=O), 173,11 (C=O) ppm.

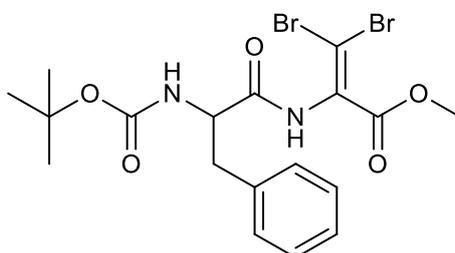
MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 385,42; Obtido 385,22.

4.4.5 Síntese de Z-Aib- Δ Abu-OMe 2e

Dissolveu-se Z-Aib-L-Thr-OMe (3,8 mmol, 1,35 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc_2O (3,8 mmol, 0,83 g), DMAP (0,38 mmol, 0,05 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se um óleo com um rendimento de 69%, cujo espectro de $^1\text{HRMN}$ estava de acordo com o descrito.⁷⁷

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,54$ [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 1,60 (d, 3H, γCH_3), 3,76 (s, 3H, OCH_3), 5,10 (s, 2H, CH_2), 5,27 (s, 1H, NH-Aib), 6,81 (q, 1H, $J = 7,2$ Hz e $J = 14,4$ Hz, βCH), 7,27-7,36 (m, 5H, Ar-H), 7,70 (s, 1H, $\text{NH-}\Delta\text{Abu}$) ppm.

4.5 **Síntese de derivados β -bromados**4.5.1 Síntese de Boc-Phe- Δ Ala(β,β -Br)-OMe 3a

Dissolveu-se Boc-Phe- Δ Ala-OMe (2,50 mmol, 0,87 g) em DCM (50 mL) e adicionou-se NBS (6,00 mmol, 1,11 g, 2,4 equivalentes) deixou-se em forte agitação e protegido da luz, à temperatura ambiente durante 16 horas seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 67%. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (1:1)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 43%.

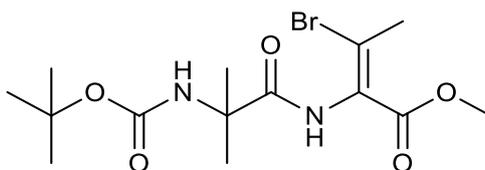
p.f. = 138-140°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,46 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,51 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,87 (s, 3H, OCH₃), 4,87 (s, 1H, NH-Aib), 8,95 [s, 1H, NH- Δ Ala(β,β -Br)] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 25,34 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,27 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 52,97 (OCH₃), 57,00 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 81,30 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 132,79 (αC), 155,04 (C=O), 162,67 (C=O), 171,84 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 467,12; Obtido 466,99.

4.5.3 Síntese de Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe **3c**



Dissolveu-se Boc-Aib- Δ Abu-OMe (0,82 mmol, 0,26 g) em DCM (25 mL) e adicionou-se NBS (0,98 mmol, 0,17 g, 1,2 equivalentes) deixou-se em forte agitação e protegido da luz, à temperatura ambiente durante 16 horas seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se Et_3N (1,23 mmol, 0,17 mL, 1,5 equivalentes) e deixou-se em forte agitação durante 1 hora seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação adicionou-se mais 50 mL de DCM e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 82%. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (1:1)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 44%.

p.f. = 105-107°C

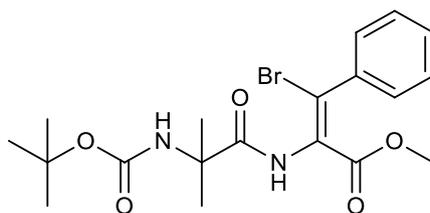
Capítulo 4. Parte experimental

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,46$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,52 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2,53 (s, 3H, γCH_3), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,88 (s, 1H, NH-Aib), 8,59 [s, 1H, NH- $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})$] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 24,50$ (γCH_3), 27,87 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,31 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 35,52 (βC), 52,51 (OCH_3), 56,87 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 84,67 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 127,34 (αC), 154,80 ($\text{C}=\text{O}$), 163,06 ($\text{C}=\text{O}$), 172,73 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{Na}$ 402,25; Obtido 401,09.

4.5.4 Síntese de Boc-Aib-Z- $\Delta\text{Phe}(\beta\text{-Br})\text{-OMe}$ **3d**



Dissolveu-se Boc-Aib- $\Delta\text{Phe-OMe}$ (1,10 mmol, 0,40 g) em DCM (50 mL) e adicionou-se NBS (1,32 mmol, 0,23 g, 1,2 equivalentes) deixou-se em forte agitação e protegido da luz, à temperatura ambiente durante 16 horas seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se Et_3N (1,65 mmol, 0,23 mL, 1,5 equivalentes) e deixou-se em forte agitação durante 1 hora seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação adicionou-se mais 50 mL de DCM e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 80%. Obteve-se com um rendimento de 50%, após purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (2:1)] e em seguida recristalizou-se o composto obtido com acetato de etilo e *n*-hexano obteve-se um sólido branco com um rendimento de 22%.

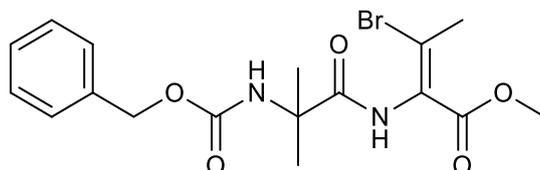
p.f. = 167-169°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,57$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,60 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,52 (s, 3H, OCH_3), 4,86 (s, 1H, NH-Aib), 7,32-7,37 (m, 5H, Ar-H), 8,74 [s, 1H, NH- $\Delta\text{Phe}(\beta\text{-Br})$] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 25,46$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,34 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 52,44 (OCH_3), 57,04 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 81,01 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 116,60 (αC), 128,22 (CH-Ar), 128,95 (CH-Ar), 129,23 (CH-Ar), 137,24 (C-Ar), 154,84 (C=O), 163,46 (C=O), 172,73 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{Na}$ 464,32; Obtido 463,15.

4.5.5 Síntese de Z-Aib-Z- $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})\text{-OMe}$ **3e**



Dissolveu-se Z-Aib- $\Delta\text{Abu-OMe}$ (1,2 mmol, 0,40 g) em DCM (25 mL) e adicionou-se NBS (1,2 mmol, 0,25 g, 1,2 equivalentes) deixou-se em forte agitação e protegido da luz, à temperatura ambiente durante 16 horas seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se Et_3N (1,2 mmol, 0,25 mL, 1,5 equivalentes) e deixou-se em forte agitação durante 1 hora seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação adicionou-se mais 50 mL de DCM e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com um rendimento de 92%. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (1:1)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 70%.

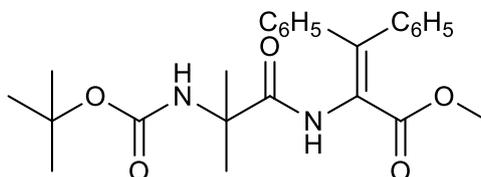
p.f. = 105-107°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,56$ [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2,54 [s, 3H, γCH_3], 3,78 (s, 3H, OCH_3), 5,11 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, CH_2), 5,33 (s, 1H, NH-Aib), 7,31-7,35 (m, 5H, Ar-H), 8,16 [s, 1H, $\text{NH-}\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})$] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 24,54$ [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 25,20 (γCH_3), 52,48 (OCH_3), 56,99 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 81,30 (CH_2), 124,26 (αC ou βC), 126,96 (αC ou βC), 128,03 (CH-Ar), 128,17 (CH-Ar), 128,24 (CH-Ar), 128,51 (CH-Ar), 135,90 (C-Ar), 155,16 (C=O), 162,85 (C=O), 172,43 (C=O) ppm.

4.6 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe e Boc-Aib-Z- Δ Abu(β,β -Ph)-OMe

4.6.1 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe 4b



4.6.1.1 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe a partir de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe

Dissolveu-se Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (0,26 mmol, 0,12 g) em THF/H₂O (1:1) e adicionou-se ácido fenilborónico (0,79 mmol, 0,10 g, 3,0 equivalentes), PdCl₂dppf·CH₂Cl₂ (1:1) (0,026 mmol, 0,02 g, 10 mol%), Cs₂CO₃ (0,73 mmol, 0,24 g, 2,8 equivalentes) e deixou-se em agitação a 90°C durante 3 horas, seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com água e com uma solução saturada de NaCl (2×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (1:2)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 47%.

4.6.1.2 Síntese de Boc-Aib- Δ Ala(β,β -Ph)-OMe a partir de Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe

Dissolveu-se Boc-Aib- Δ Phe(β -Br)-OMe (0,23 mmol, 0,10 g) em THF/H₂O (1:1) e adicionou-se ácido fenilborónico (0,35 mmol, 0,04 g, 1,5 equivalentes), PdCl₂dppf·CH₂Cl₂ (1:1) (0,023 mmol, 0,02 g, 10 mol%), Cs₂CO₃ (0,32 mmol, 0,10 g, 1,4 equivalentes) e deixou-se em agitação a 90°C durante 3 horas, seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com água e com uma solução saturada de NaCl (2×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por purificação

por cromatografia em coluna [éter etílico- éter de petróleo (1:2)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 74%.

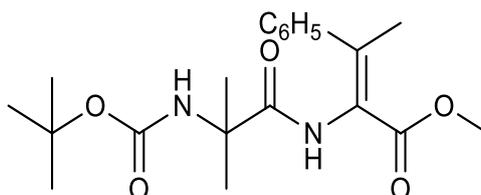
p.f. = 109-111°C

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,28 [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,37 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 3,80 (s, 3H, OCH_3), 6,73 (s, 1H, NH-Aib), 6,98-7,90 (m, 10H, Ar-H), 8,98 [s, 1H, NH- $\Delta\text{Ala}(\beta,\beta\text{-Ph})$] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, DMSO- d_6): δ = 24,61 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,27 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 51,79 (OCH_3), 55,66 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 78,24 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 125,98 (αC), 126,02 (βC), 126,75 (CH-Ar), 127,73 (CH-Ar), 127,86 (CH-Ar), 128,03 (CH-Ar), 128,10 (CH-Ar), 128,24 (CH-Ar), 128,53 (CH-Ar), 128,93 (CH-Ar), 129,77 (CH-Ar), 130,23 (CH-Ar), 138,77 (C-Ar), 140,11 (C-Ar), 154,41 (C=O), 162,15 (C=O), 165,92 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 461,52; Obtido 461,25.

4.6.2 Síntese de Boc-Aib-Z- $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Ph})\text{-OMe}$ 4c



Dissolveu-se Boc-Aib-Z- $\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Br})\text{-OMe}$ (0,5 mmol, 0,19 g) em THF/ H_2O (1:1) e adicionou-se ácido fenilborónico (0,75 mmol, 0,09 g, 1,5 equivalentes), $\text{PdCl}_2\text{dppf}\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:1) (0,05 mmol, 0,04 g, 10 mol%), Cs_2CO_3 (0,7 mmol, 0,23 g, 1,4 equivalentes) e deixou-se em agitação a 90°C durante 3 horas, seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) A fase orgânica foi, sucessivamente, lavada com água e com uma solução saturada de NaCl (2×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida para dar o composto com rendimento quantitativo. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico- éter de petróleo (1:1)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 72%.

p.f. = 140-142°C

Capítulo 4. Parte experimental

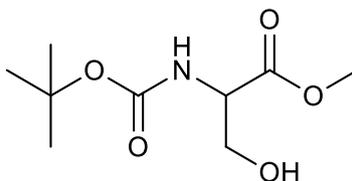
$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,49$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,58 [s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 2,29 (s, 3H, γCH_3), 3,43 (s, 3H, OCH_3), 4,92 (s, 1H, NH-Aib), 7,19-8,27 (m, 5H, Ar-H), 8,50 [s, 1H, $\text{NH-}\Delta\text{Abu}(\beta\text{-Ph})$] ppm.

$^{13}\text{CRMN}$ (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 21,25$ (γCH_3), 25,49 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 28,29 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 51,66 (OCH_3), 56,54 [$\text{C}(\text{CH}_3)_2$], 57,03 [$\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 123,40 (αC ou βC), 124,10 (αC ou βC), 128,03 (CH-Ar), 130,94 (CH-Ar), 133,74 (CH-Ar), 140,96 (C-Ar), 155,22 (C=O), 165,77 (C=O), 173,09 (C=O) ppm.

MS (ESI) Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ 399,20; Obtido 399,23.

4.7 Síntese de ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-aminoácido

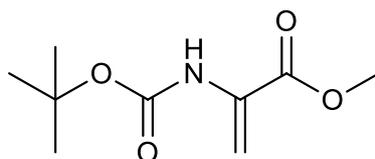
4.7.1 Síntese de Boc-L-Ser-OMe 5h



Dissolveu-se éster metílico da L-serina (10 mmol, 1,55g) em DCM (50 mL) e adicionou-se Et_3N (22 mmol, 3,06 mL, 2,2 equivalentes). Arrefeceu-se a mistura num banho de gelo e sal e adicionou-se lentamente Boc_2O (11 mmol, 2,10 g, 1,1 equivalentes). Deixou-se a mistura em agitação à temperatura ambiente durante cerca de 24 horas. Terminada a reação a mistura foi filtrada e evaporou-se o solvente. Em seguida dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à *secura* a pressão reduzida. Obteve-se um óleo com um rendimento de 62%, cujo espectro de $^1\text{HRMN}$ estava de acordo com o descrito.⁵⁴

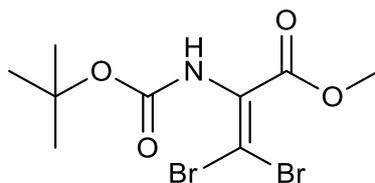
$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 1,53$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 3,80 (s, 3H, OCH_3), 3,90-4,00 (m, 3H, $\beta\text{CH}_2 + \alpha\text{CH}$), 4,37 (s largo, 1H, NH) ppm.

4.7.2 Síntese de Boc- Δ Ala-OMe 6h

Dissolveu-se Boc-L-Ser-OMe (8,88 mmol, 1,95 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc₂O (8,88 mmol, 1,94 g), DMAP (0,89 mmol, 0,11 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido, adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO₄ (1 mol/L), com uma solução de NaHCO₃ (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Obteve-se um óleo com um rendimento de 42%, cujo espectro de ¹HRMN estava de acordo com o descrito.⁸⁰

¹HRMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1,48 [s, 9H, C(CH₃)₃], 3,84 (s, 3H, OCH₃), 5,73 (s, 1H, βCH₂), 6,16 (s, 1H, βCH₂), 7,01 (s, 1H, NH) ppm.

4.7.3 Síntese de Boc- Δ Ala(β,β-Br)-OMe 7h

Dissolveu-se Boc- Δ Ala-OMe (3,71 mmol, 0,75 g) em DCM (50 mL) e adicionou-se NBS (8,90 mmol, 1,58 g, 2,4 equivalentes) deixou-se em forte agitação e protegido da luz, à temperatura ambiente durante 16 horas seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido adicionou-se Et₃N (11,13 mmol, 1,55 mL, 3,0 equivalentes) e deixou-se em forte agitação durante 1 hora seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em DCM (100 mL) e lavou-se com uma solução

Capítulo 4. Parte experimental

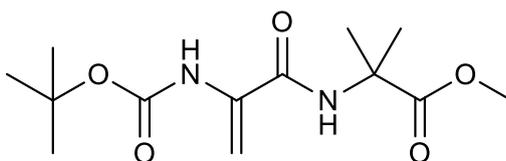
de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida. Por purificação por cromatografia em coluna [éter etílico-éter de petróleo (1:1)] obteve-se um sólido branco com um rendimento de 80%, cujo espectro de $^1\text{HRMN}$ estava de acordo com o descrito.⁸¹

$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1,47$ [s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 3,89 (s, 3H, OCH_3), 6,37 (s, 1H, NH) ppm.

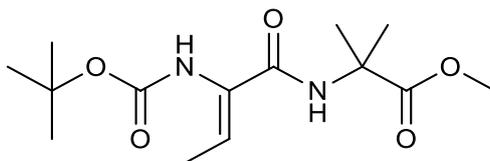
4.8 Tentativa de síntese de ésteres metílicos de *N*-(*terc*-butiloxicarbonil)-dipéptidos

4.8.1 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala-Aib-OMe 2f



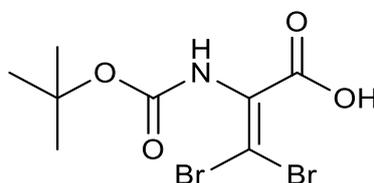
Dissolveu-se Boc-L-Ser-Aib-OMe (5,0 mmol, 1,46 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc_2O (5,0 mmol, 1,09 g), DMAP (0,5 mmol, 0,06 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido, adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida e obteve-se um óleo transparente.

4.8.2 Tentativa de síntese do Boc- Δ Abu-Aib-OMe **2g**

Dissolveu-se Boc-L-Thr-Aib-OMe (5,0 mmol, 1,59 g) em ACN seco (10 mL) e adicionou-se Boc_2O (5,0 mmol, 1,09 g), DMAP (0,5 mmol, 0,06 g, 0,1 equivalentes) e deixou-se em agitação à temperatura ambiente seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Após todo o reagente ter sido consumido, adicionou-se TMG (2%) e deixou-se em agitação seguindo a reação por TLC [acetato de etilo-éter de petróleo (1:1)]. Terminada a reação evaporou-se o solvente e dissolveu-se em acetato de etilo (100 mL) e lavou-se com uma solução de KHSO_4 (1 mol/L), com uma solução de NaHCO_3 (1 mol/L) e com uma solução saturada de NaCl (3×30 mL cada).

A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e levada à secura a pressão reduzida e obteve-se um óleo transparente.

4.8.3 Tentativa de síntese de Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OH **8h**

Dissolveu-se Boc- Δ Ala(β,β -Br)-OMe (2,64 mmol, 0,95 g) em dioxano (13,2 mL) e adicionou-se NaOH (1 mol/L) (8 mL). Deixou-se a mistura em agitação à temperatura ambiente, seguindo a reação por TLC [éter etílico-éter de petróleo (1:1)].

Terminada a reação acidificou-se com KHSO_4 (1 mol/L) para um pH entre 2 e 3 e extraiu-se com acetato de etilo (3×10 mL). Recolheu-se as fases orgânicas e foram secas com sulfato de magnésio anidro e levadas à secura a pressão reduzida. Obteve-se um sólido branco.

Capítulo 5. **Bibliografía**

- (1) Albericio, F.; Kruger, H. G. *Futur. Med. Chem.* **2012**, *4*, 1527–1531.
- (2) Fosgerau, K.; Hoffmann, T. *Drug Discov. Today* **2015**, *20*, 122–128.
- (3) Vlieghe, P.; Lisowski, V.; Martinez, J.; Khrestchatisky, M. *Drug Discov. Today* **2010**, *15*, 40–56.
- (4) Aurelio, L.; Brownlee, R. T. C.; Hughes, A. B. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5823–5846.
- (5) Monteiro, L. S.; Andrade, J. J.; Suárez, A. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 6764–6772.
- (6) Ishida, H.; Kyakuno, M.; Oishi, S. *Biopolymers* **2004**, *76*, 69–82.
- (7) Perdih, A.; Dolenc, S. M. *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11*, 801–832.
- (8) Asano, Y.; Lübbehüsen, T. L. *J. Biosci. Bioeng.* **2000**, *89*, 295–306.
- (9) Seebach, D.; Matthews, J. L. *Chem. Comm.* **1997**, *1*, 2015–2022.
- (10) Juaristi, E.; Soloshonok, V. A. *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids*; 2^a ed.; 2005; pp. 1–17.
- (11) Ikegami, F.; Murakoshi, I. *Phytochemistry* **1994**, *35*, 1089–1104.
- (12) Arnold, L. D.; Kalantar, T. H.; Veredas, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7105–7109.
- (13) Dunnell, P. M.; Fowden, L. *Phytochemistry* **1965**, *4*, 933–944.
- (14) Ikegami, F.; Komada, Y.; Kobori, M.; Hawkins, D. R.; Murakoshi, I. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2507–2508.
- (15) Shinozaki, H.; Shibuya, I. *Neuropharmacology* **1974**, *13*, 665–672.
- (16) Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W. L. *Fundamentals of biochemistry*; 2^a ed; 1999; pp. 77–81.
- (17) Pereira, G.; Castanheira, E. M. S.; Ferreira, P. M. T.; Queiroz, M. J. R. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 464–475.
- (18) Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sebastião, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1967–1970.
- (19) Murakoshi, I.; Ikegami, F.; Kaneko, M. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1907–1911.
- (20) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J.; Sebastião, J. *J. Chem. Soci., Perkin Trans. 1* **2000**, 3317–3324.
- (21) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7437–7441.
- (22) Oba, M.; Tanaka, M.; Takano, Y.; Suemune, H. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 593–598.
- (23) Duclohier, H. *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 1023–1026.
- (24) Maekawa, H.; Ballano, G.; Toniolo, C.; Ge, N.-H. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 5168–5182.
- (25) Tanaka, M. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 349–358.
- (26) Toniolo, C.; Crisma, M.; Formaggio, F.; Peggion, C. *Biopolymers* **2001**, *60*, 396–419.
- (27) Frauer, A.; Mehlführer, M.; Thirring, K.; Berner, H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4215–4222.
- (28) Aguiam, N. R.; Castro, V. I.; Ribeiro, A. I. F.; Fernandes, R. D. V.; Carvalho, C. M.; Costa, S. P. G.; Pereira-lima, S. M. M. A. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 9161–9165.
- (29) Wada, S.-I.; Hitora, Y.; Tanaka, R.; Urata, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3999–4001.

Capítulo 5. Bibliografía

- (30) Santagada, V.; Fiorino, F.; Perissutti, E.; Severino, B.; Filippis, V. De; Vivencio, B.; Caliendo, G. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5171–5173.
- (31) Domling, A. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 17–89.
- (32) Hoffmann, P.; Gokel, G.; Marquarding, D.; Ugi, I. *Isonitrile Chemistry; 1971*; pp. 9–11.
- (33) Costa, S. P. G.; Maia, H. L. S.; Pereira-lima, S. M. M. A. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1475–1479.
- (34) Pinto, F. C. S. C.; Pereira-Lima, S. M. M. A.; Maia, H. L. S. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 9165–9179.
- (35) Dugave, C.; Demange, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2475–2532.
- (36) Khokhlov, A. S.; Lokshin, G. B. *Tetrahedron Lett.* **1963**, *4*, 1881–1885.
- (37) Kauffman, S. *Nature* **1969**, *224*, 595–597.
- (38) Marchand, J.; Pais, M.; Monseur, X.; Jarreau, F.-X. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 937–954.
- (39) Siodłak, D. *Amino Acids* **2015**, *47*, 1–17.
- (40) Nomoto, S.; Sano, A.; Shiba, T. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 521–522.
- (41) Gross, E.; Morell, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *2919*, 4634–4635.
- (42) Jain, R.; Chauhan, V. S. *Biopolymers* **1996**, *40*, 105–119.
- (43) Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Wild, J. *Synthesis* **1988**, 159–172.
- (44) Wieland, T.; Ohnacker, G.; Ziegler, W. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1972**, *76*, 194–201.
- (45) Sommerfeld, T.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 1702–1714.
- (46) Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3131–3132.
- (47) Wojciechwska, H.; Pawlowioz, R.; Andruszkiewicz, R.; Grzybowska, J. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *42*, 4063–4064.
- (48) Ogura, H.; Sato, O.; Takeda, K. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4817–4818.
- (49) Berti, F.; Ebert, C.; Gardossi, L. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 8145–8148.
- (50) Goodall, K.; Parsons, A. F. *Tetrahedron* **1995**, *36*, 3259–3260.
- (51) Berkowitz, D. B.; Pedersen, M. L. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5476–5478.
- (52) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Rodrigues, L. M. In *PEPTIDES-EUROPEAN SYMPOSIUM*; 1996; pp. 377–378.
- (53) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9575–9578.
- (54) Ferreira, P. M. T.; Maia, H. L. S.; Monteiro, L. S.; Sacramento, J. *J. Chem. Soci. Perkin Trans. 1* **1999**, 3697–3703.
- (55) Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S.; Pereira, G.; Ribeiro, L.; Sacramento, J.; Silva, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 5934–5949.
- (56) Olsen, R. K.; Kolar, A. J. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3246–3249.
- (57) Danion-Bougot, R.; Danion, D.; Francis, G. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3739–3742.
- (58) Yamada, M.; Nakao, K.; Fukui, T.; Nunami, K. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5751–5764.
- (59) Hoerrner, R. S.; Askin, D.; Volante, R. P.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3455–3458.

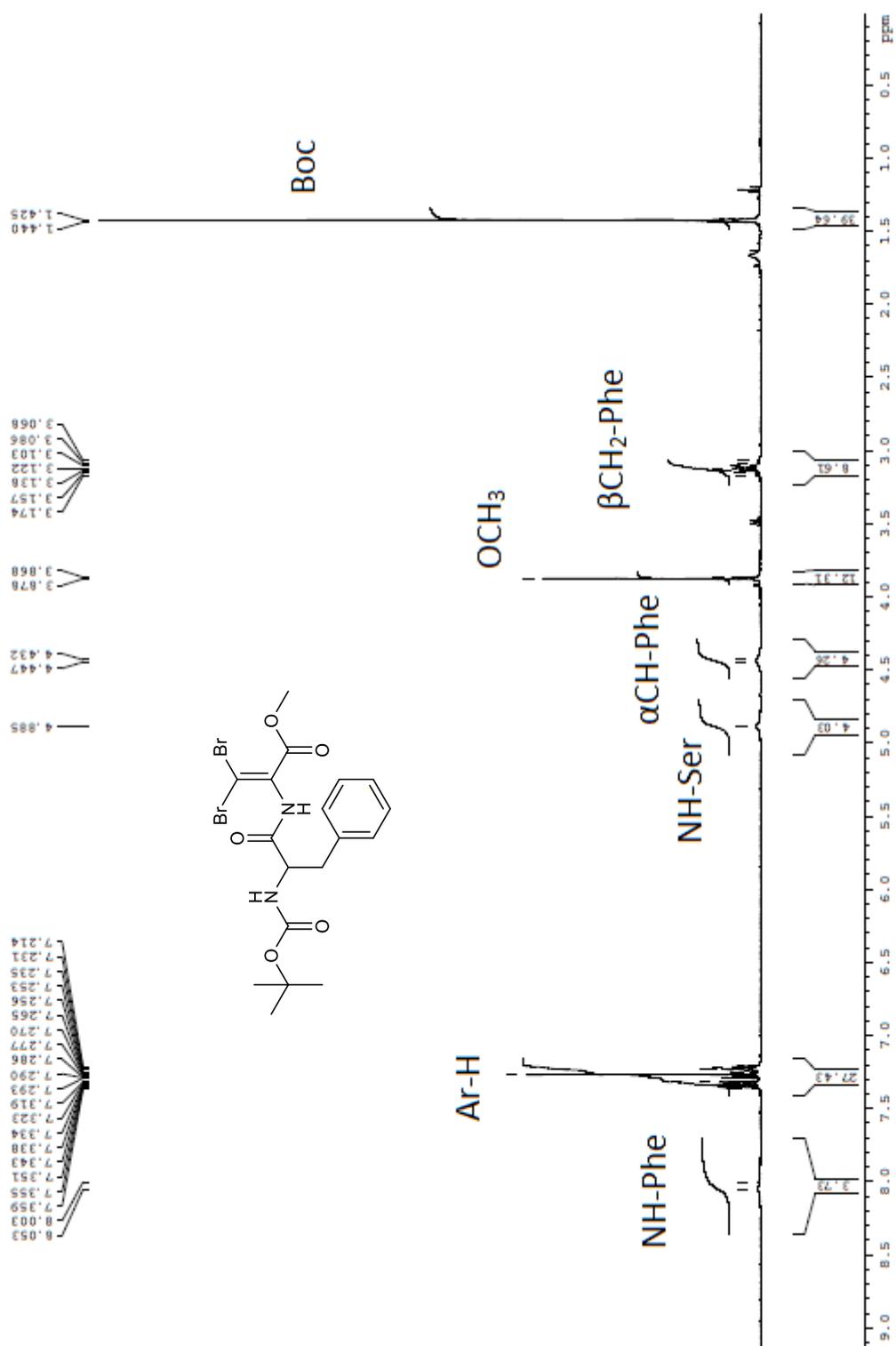
- (60) Roff, G. J.; Lloyd, R. C.; Turner, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4098–4099.
- (61) Silva, N. O.; Abreu, A. S.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S.; Queiroz, M.-J. R. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2524–2528.
- (62) Miyaura, N.; Suzuki, A. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, 866–867.
- (63) Miyaura, N.; Yanagi, T.; Suzuki, A. *Synth. Commun.* **1981**, *11*, 513–519.
- (64) Miyaura, N. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 54–57.
- (65) Frankland, E.; Duppa, B. *Proc. R. Soc. Lond.* **1860**, *10*, 568–570.
- (66) Nolan, S. P.; Navarro, O. In *Comprehensive Organometallic Chemistry III*; 2007; pp. 1–37.
- (67) Ozawa, F.; Kubo, A.; Hayashi, T. *Chem. Lett.* **1992**, *21*, 2177–2180.
- (68) Littke, A. F.; Fu, G. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4176–4211.
- (69) Monteiro, L. S.; Pereira-lima, S. M. M. A.; Pereira, S. *Curr. Org. Chem.* **2014**, *8*, 109–113.
- (70) Humphrey, J. M.; Chamberlin, A. R. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243–2266.
- (71) Belsito, E. L.; De Marco, R.; Di Gioia, M. L.; Liguori, A.; Perri, F.; Viscomi, M. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4245–4252.
- (72) De Marco, R.; Di Gioia, M. L.; Liguori, A.; Perri, F.; Siciliano, C.; Spinella, M. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9708–9714.
- (73) Monteiro, L. S.; Kolomanska, J.; Suarez, A. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 6731–6735.
- (74) Monteiro, L. S.; Suárez, A. S. *Amino Acids* **2012**, *43*, 1643–1652.
- (75) Monteiro, L. S.; Pereira-lima, S. M. M. A.; Pereira, S.; Machado, J. N. *ARKIVOC* **2014**, 170–180.
- (76) Chattopadhyay, S. K.; Pal, B. K.; Biswas, S. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1167–1175.
- (77) Pereira, S. Síntese de Péptidos Contendo Resíduos de Aminoácidos Não-Proteinogénicos N-Alquilados, Dissertação de Mestrado, Universidade do Minho; 2013; pp. 57–75.
- (78) Ferreira, P. M. T. Síntese Peptídica: Aplicações de Métodos Electroquímicos, Tese de Doutoramento, Universidade do Minho; 1996; pp. 155–158.
- (79) Abreu, A. S.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S.; Queiroz, M.-J. R. P.; Ferreira, I. C. F. R.; Calheta, R. C.; Estevinho, L. M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11821–11828.
- (80) Labia, R.; Morin, C. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 249–251.
- (81) Abreu, A. S.; Silva, O.; Ferreira, P. M. T.; Queiroz, R. P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3377–3379.
- (82) Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 3226–3234.

Anexos

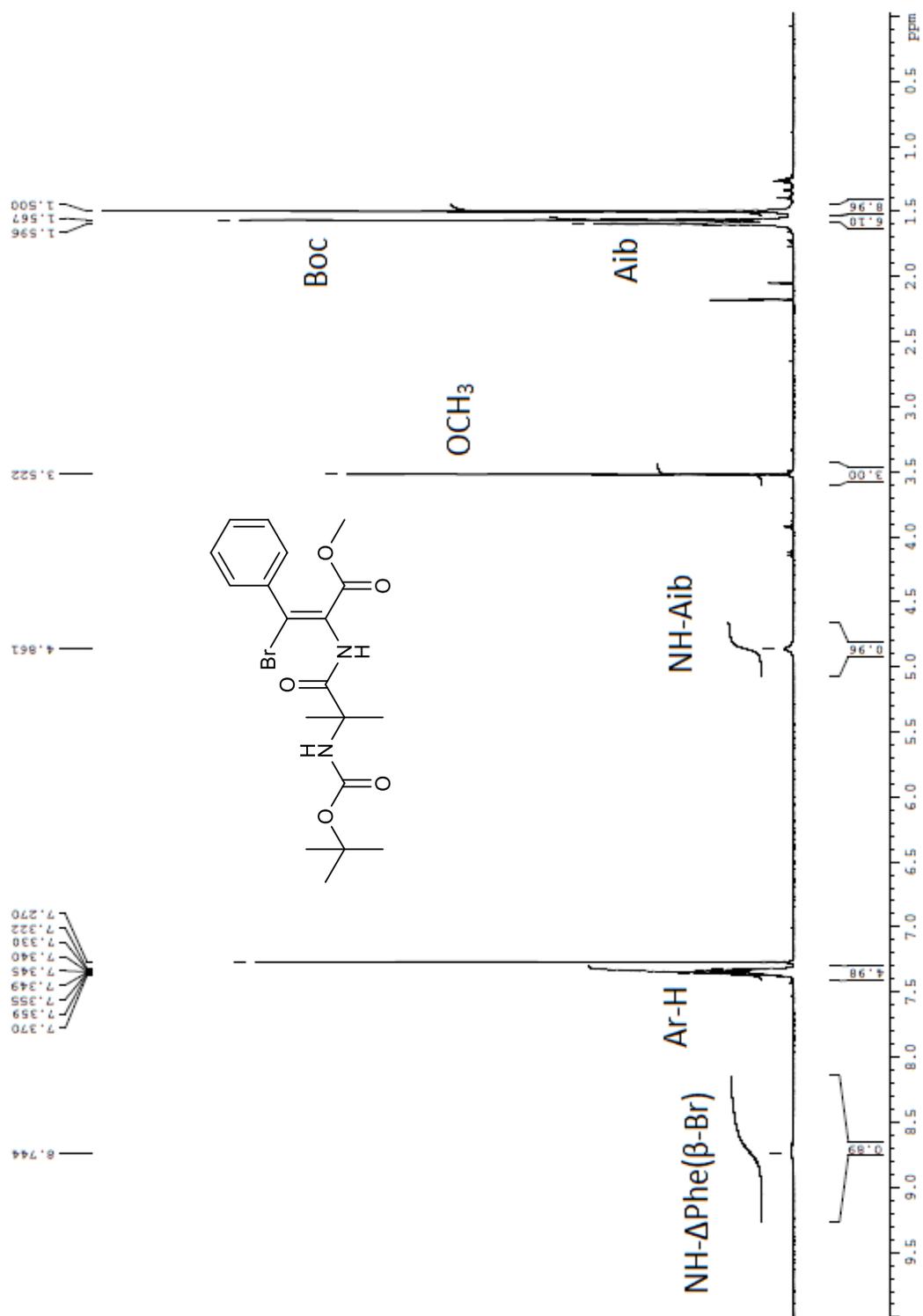
Anexo 1: Tabela de Rendimentos dos derivados de dipéptidos com Aib no *N*-terminal

	a	b	c	d	e
Derivado do a.a <i>N</i> -terminal	Boc-L-Phe-OH	Boc-Aib-OH	Boc-Aib-OH	Boc-Aib-OH	Z-Aib-OH
Derivado do a.a <i>C</i> -terminal	H-L-Ser-OMe	H-L-Ser-OMe	H-L-Thr-OMe	H-D,L-Phe(β -OH)-OMe	H-L-Thr-OMe
Acoplamento do dipéptido 1	Boc-L-Phe-L-Ser-OMe	Boc-Aib-L-Ser-OMe	Boc-Aib-L-Thr-OMe	Boc-Aib-D,L-Phe(β -OH)-OMe	Z-Aib-L-Thr-OMe
	Rendimento (%)	98	97	80	81
Desidratação 2	Boc-L-Phe- Δ Ala-OMe	Boc-Aib- Δ Ala-OMe	Boc-Aib- Δ Abu-OMe	Boc-Aib- Δ Phe-OMe	Z-Aib- Δ Abu-OMe
	Rendimento (%)	78	89	88	85
Bromação 3	Boc-L-Phe- Δ Ala(β , β -Br)-OMe	Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Br)-OMe	Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe	Boc-Aib-Z- Δ Phe(β -Br)-OMe	Z-Aib-Z- Δ Abu(β -Br)-OMe
	Rendimento (%)	70	43	44	22
Rendimento global após bromação (%)	54	37	38	15	39
Acoplamento de Suzuki-Miyaura 4	Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe	Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe	Boc-Aib-Z- Δ Abu(β -Ph)-OMe	Boc-Aib- Δ Ala(β , β -Ph)-OMe	
	Rendimento (%)	47	72	74	
Rendimento global (%)		17	27	11	

Anexo 2: Espectro de RMN de ^1H , 400 MHz em CDCl_3 , do composto **3a**



Anexo 4: Espectro de RMN de ^1H , 400MHz em CDCl_3 , do composto **3d**



Anexo 5: Espectro de RMN de ^1H , 400MHz em CDCl_3 , do composto **4c**

