

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE DERIVADOS DE
CARBOIDRATOS E NUCLEOSÍDEOS**

CHRISTIANE MAPHEU NOGUEIRA*

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS,
área de concentração: QUÍMICA ORGÂNICA

Orientadora: Profa. Dra. Arlene G. Corrêa

*Bolsista FAPESP

SÃO CARLOS - SP

2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

N778sa

Nogueira, Christiane Mapheu.

Síntese e avaliação biológica de derivados de carboidratos e nucleosídeos / Christiane Mapheu Nogueira. - São Carlos : UFSCar, 2008.
162 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Síntese orgânica. 2. Carboidratos. 3. Nucleosídeos. I. Título.

CDD: 547.2 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou o exame de tese de doutorado da candidata **Christiane Mapheu Nogueira** realizado em 25 de fevereiro de 2005:*



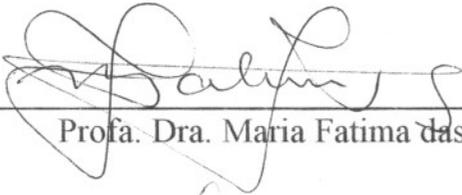
Profa. Dra. Arlene Gonçalves Corrêa



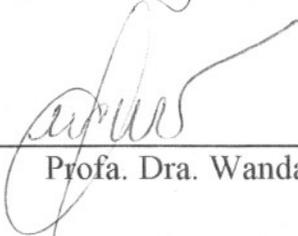
Profa. Dra. Nubia Boechat



Prof. Dr. Francisco Carlos Biaggio



Profa. Dra. Maria Fatima das G. F. da Silva



Profa. Dra. Wanda Pereira Almeida

Ao Rodrigo pelo amor, companheirismo e cumplicidade.

Aos meus pais, Vera e Francisco pelo amor e carinho.

Aos meus familiares pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Arlene G. Corrêa pela orientação, ensinamento e apoio, fundamentais para o desenvolvimento do meu conhecimento e deste trabalho.
- Ao Prof Dr. Glaucius Oliva e Dra. Dulce H. F. Souza do grupo de Cristalografia do IFSC-USP pelo suporte para a realização dos ensaios de inibição enzimática.
- Ao Prof. Dr. Odair C. Bueno e Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca do Centro de Estudos de Insetos Sociais.
- Aos amigos do laboratório de Síntese de Produtos Naturais pelo incentivo e amizade.
- Aos alunos e professores do laboratório de Produtos Naturais da UFSCar pelas contribuições oferecidas.
- Aos docentes do grupo de Orgânica.
- Aos técnicos Valdir Vaz, Ademir A. Sertóri (DQ-UFSCar), Eli (IFSC-USP) e Roberta (CEIS-UNESP).
- À FAPESP pela bolsa concedida.
- Ao CBME.
- A todos os amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

Sumário

1 - Introdução	1
1.1 - Carboidratos	1
1.1.1 - Ocorrência e função dos carboidratos na natureza	1
1.1.2 - Uso industrial dos carboidratos	3
1.1.3 - Classificação de carboidratos	4
1.1.3.1 - Carboidratos simples	4
1.1.3.1.1 - Monossacarídeos e derivados de monossacarídeos	4
1.1.3.1.2 - Oligossacarídeos	13
1.1.3.1.3 - Polissacarídeos	15
1.1.3.2 - Carboidratos complexos	16
1.1.3.2.1 - Glicosídeos complexos	16
1.1.3.2.2 - Carboidratos como antibióticos	17
1.1.3.2.3 - Ácidos nucléicos	18
1.1.3.3 - Outros	18
1.2 - Pesquisa Básica	20
1.3 - Recentes Estudos na Química de Carboidratos	21
2 - Objetivos	31
3 - Resultados e Discussão	33
3.1 - Síntese dos ésteres de açúcares e ácidos graxos	33
3.2 - Tentativa de síntese da β -L-manofuranosil(6 \rightarrow 2)-frutosil (2 \rightarrow 6)- β -L-galactofuranose (53)	45
3.2.1 - Brometos e cloretos de glicosila	45
3.2.2 - Tricloroacetimidato de glicosila	48
3.2.3 - Tioglicosídeos	48
3.2.4 - Glicosídeos de <i>n</i> -pentenila	49
3.2.5 - Proposta sintética para o trissacarídeo 53	50
3.2.5.1 - Obtenção da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -tritol-L-manose- γ -lactona (83)	51
3.2.5.2 - Obtenção da metil 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -tritol-galactofuranose (85)	53
3.2.5.3 - Obtenção da 1,3,4,5,6-penta- <i>O</i> -acetilfrutose (89)	55
3.2.5.4 - Obtenção do 1,3,4,5,6-penta- <i>O</i> -acetil-2,2-bis(etiltio)-D-frutose (82)	57
3.2.5.5 - Tentativa de acoplamento dos monossacarídeos	59
3.3 - Síntese de uma série de nucleosídeos e análogos	66
3.3.1 - Reação de Mitsunobu	66
3.3.2 - Obtenção dos nucleosídeos e análogos	67
3.3.3 - Tentativa de obtenção do 4-(6-amino-9 <i>H</i> -purin-9-il)-2-[(tritoloxi)metil]ciclopentanol (68)	81
3.3.3.1 - Proposta sintética para o nucleosídeo 68	83
3.3.3.1.1 - Obtenção do 6-oxa-biciclo[3.1.0]hex-2-eno (123)	84
3.3.3.1.2 - Obtenção do ciclopent-3-en-1-ol (129)	85
3.3.3.1.3 - Obtenção da 6-cloro-9-ciclopent-3-en-1-il-9 <i>H</i> -purina (124)	86
3.3.3.1.4 - Obtenção da 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9 <i>H</i> -purina (125)	89

3.3.3.1.5 - Tentativa de obtenção da 4-(6-cloro-9 <i>H</i> -9-purinil)-2-hidroxi-1-ciclopentanocarbonitrila (126)	94
3.4 - Avaliação da atividade biológica	102
3.4.1 - Atividade inibitória das enzimas gGAPDH de <i>T. cruzi</i> e APRT de <i>L. tarentolae</i>	102
3.4.1.1 - Doença de Chagas	102
3.4.1.2 - Leishmaniose	104
3.4.1.3 - Avaliação dos carboidratos sintéticos e comerciais	107
3.4.1.4 - Avaliação dos nucleosídeos e análogos	113
3.4.2 - Controle da formiga <i>Atta sexdens</i>	117
3.4.3 - Atividade sobre o crescimento do fungo simbiote da formiga <i>Atta sexdens L.</i> e outros microrganismos	119
4 - Conclusões e Perspectivas	125
5 - Experimental	129
5.1 - Aspectos gerais	129
5.1.1 - Ensaio de inibição enzimática	130
5.1.1.1 - Ensaio de inibição da enzima GAPDH de <i>T. cruzi</i>	130
5.1.1.2 - Ensaio de inibição da enzima APRT de <i>L. tarentolae</i>	131
5.1.2 - Controle das formigas	131
5.1.3 - Avaliação do crescimento do fungo simbiote	132
5.1.4 - Avaliação da atividade antimicrobiana	133
5.2 - Procedimento experimental	134
5.2.1 - Síntese dos ésteres de açúcares derivados de ácidos graxos	134
5.2.2 - Tentativa de síntese β -L-manofuranosil(6 \rightarrow 2)-frutossil (2 \rightarrow 6)- β -L-galactofuranose (53)	137
5.2.2.1 - Preparação da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -tritol-L-manose- γ -lactona (83)	137
5.2.2.2 - Preparação da metil 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -tritol-galactofuranose (85)	138
5.2.2.3 - Preparação da 1,3,4,5,6-penta- <i>O</i> -acetil-D-frutose (89)	139
5.2.2.4 - Preparação do 1,3,4,5,6-penta- <i>O</i> -acetil-2,2-bis(etiltio)-D-frutose (82)	140
5.2.2.5 - Preparação da 2,3,5-tri- <i>O</i> -acetil-6-L-manose- γ -lactona (93)	140
5.2.2.6 - Testes de acoplamento dos monossacarídeos 82 e 83	141
5.2.2.7 - Testes de acoplamento dos monossacarídeos 82 e 93	142
5.2.3 - Síntese dos nucleosídeos e análogos	143
5.2.3.1 - Síntese da 6-cloro-9-(2,3:5,6-di- <i>O</i> -isopropilideno- α -D-alofuranose)-9 <i>H</i> -purina (96)	143
5.2.3.2 - Síntese da 6-cloro-9-(1,2:5,6-di- <i>O</i> -isopropilideno- β -D-manofuranose)-9 <i>H</i> -purina (98)	143
5.2.3.3 - Síntese dos nucleosídeos 103 , 104 , 105 e 106	144
5.2.3.4 - Síntese da 2-metil- <i>N</i> -9 <i>H</i> -purin-6-ilpropanamida (108)	146
5.2.3.5 - Síntese da 3-benzoilpirimidina-2,4-(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i>)-diona (110)	146
5.2.3.6 - Síntese da 2-metil- <i>N</i> -6-propanamida-9-((1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2-isopropil-5-metilciclohexil)-9 <i>H</i> -purina (111)	147

5.2.3.7 - Síntese da 6-amino-9-((1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2-isopropil-5-metil ciclohexil)-9 <i>H</i> -purina (112)	147
5.2.3.8 - Tentativa de síntese do 4-(6-amino-9 <i>H</i> -purin-9-il)-2-[(tritoloxi)metil]ciclopentanol (68).....	148
5.2.3.8.1 - Preparação do Ácido Peracético	148
5.2.3.8.2 - Preparação do 6-oxa-biciclo[3.1.0]hex-2-eno (123).....	148
5.2.3.8.3 - Preparação do ciclopent-3-en-1-ol (129).....	149
5.2.3.8.4 - Preparação da 6-cloro-9-ciclopent-3-en-1-il-9 <i>H</i> -purina (124)	149
5.2.3.8.5 - Preparação da 9-ciclopent-3-en-1-il-6-metoxi-9 <i>H</i> -purina (130)	150
5.2.3.8.6 - Preparação da 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9 <i>H</i> -purina (125)	150
5.2.3.8.7 - Tentativa de obtenção de 4-(6-cloro-9 <i>H</i> -9-purinil)-2-hidroxi-1-ciclopentanocarbonitrila (126)	151
5.2.3.8.8 - Preparação da 4-(6-cloro-9 <i>H</i> -purin-9-il) ciclopentano-1,2-diol (132)	153
6 - Referências Bibliográficas	155
7 - Apêndice	

LISTA DE ABREVIATURAS

Lista de Abreviaturas

- δ : deslocamento químico
- AAH: adenina deaminase
- ADP: adenosina 5'-difosfato
- AMP: adenosina monofosfato
- APRT: adenina-fosforribosil-transferase
- ATP: adenosina 5'-trifosfato
- CG: cromatografia gasosa
- DEAD: azodicarboxilato de dietila
- DNA: ácido deoxiribonucleico
- DMAP: 4-dimetilaminopiridina
- DMF: *N,N*-Dimetilformamida
- DMSO: dimetilsulfóxido
- EM: espectrometria de massas
- gGAPDH: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase glicosomal
- GPI: glicosilfosfatidilinositol
- HGPR: hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase
- HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
- IDCP: perclorato de dicolidina e iodo
- I.V.: infravermelho
- LPG: lipofosfoglicanas
- *m/z*: relação massa carga
- NAD⁺: nicotinamida-adenina-dinucleotídeo
- NBS: *N*-bromo succinimida
- NIS: *N*-iodo succinimida
- PF: ponto de fusão
- PRPP: 5'-fosforribosil-1-pirofosfato
- RMN ¹³C: ressonância magnética nuclear de carbono 13
- RMN ¹H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio
- RNA: ácido ribonucleico
- TfOH: ácido trifluorometano sulfônico
- THF: tetraidrofurano
- TMSCN: cianeto de trimetilsilano
- TMSOTf: trimetilsililtrifluorometano sulfonato
- XPRT: xantina-guanina-fosforribosil-transferase

LISTA DE ESQUEMAS

Lista de Esquemas

ESQUEMA 3.1 - Reação de transesterificação enzimática.	34
ESQUEMA 3.2 - Preparação de haletos de glicosila.	47
ESQUEMA 3.3 - Reação de acoplamento com haleto de glicosila.	47
ESQUEMA 3.4 - Preparação do tricloroacetimidato de glicosila.	48
ESQUEMA 3.5 - Reação de acoplamento com tricloroacetimidato de glicosila.	48
ESQUEMA 3.6 - Preparação de tioglicosídeos.	49
ESQUEMA 3.7 - Reação de acoplamento com tioglicosídeo.	49
ESQUEMA 3.8 - Preparação de glicosídeos de <i>n</i> -pentenila.	50
ESQUEMA 3.9 - Reação de acoplamento com glicosídeos de <i>n</i> -pentenila.	50
ESQUEMA 3.10 - Proposta sintética para obtenção do trissacarídeo 53	51
ESQUEMA 3.11 - Proteção seletiva da lactona 87	51
ESQUEMA 3.12 - Reação para obtenção da galactofuranose protegida.	53
ESQUEMA 3.13 - Reação de acetilação da frutose (73).	55
ESQUEMA 3.14 - Reação de obtenção do ditioacetal da frutose 82	58
ESQUEMA 3.15 - Reação de desproteção da lactona 83	62
ESQUEMA 3.16 - Reação de obtenção dos nucleosídeos 96 e 98	68
ESQUEMA 3.17 - Reação de proteção da adenina (107) e uracila (109).	76
ESQUEMA 3.18 - Obtenção dos derivados de mentol 111 e 112	79
ESQUEMA 3.19 - Obtenção de análogos nucleosídicos por BORTHWICK.	82
ESQUEMA 3.20 - Obtenção de análogos nucleosídicos por MOSHER e LANG.	83
ESQUEMA 3.21 - Proposta sintética do nucleosídeo carbocíclico 68	84
ESQUEMA 3.22 - Reação de epoxidação do ciclopentadieno.	85
ESQUEMA 3.23 - Reação de redução do 3,4-epoxiciclopenteno.	85
ESQUEMA 3.24 - Reação de Mitsunobu para obtenção de 124	86
ESQUEMA 3.25 - Formação do produto metoxilado 130	87
ESQUEMA 3.26 - Reação de epoxidação com <i>m</i> -CPBA.	90
ESQUEMA 3.27 - Obtenção do diol 132	98

LISTA DE FIGURAS

Lista de Figuras

FIGURA 1.1 - Estreptomicina (1), p ⁿ micina (2), ATP (3) e ADP (4).....	3
FIGURA 1.2 - Monossacarídeos acíclicos.....	5
FIGURA 1.3 - Par de enantiômeros da glicose (D e L).....	6
FIGURA 1.4 - Fórmulas de Fischer (A), Haworth (B) e Mills (C) para a α -D-glicopiranosose (7) e α -D-glicofuranose (8).....	7
FIGURA 1.5 - Fórmulas da D-glicopiranosose α (A) e β (B), D-glicofuranose α (C) e β (D).....	8
FIGURA 1.6 - Isômeros conformacionais majoritários da β -D-xilopiranosose. ...	8
FIGURA 1.7 - Conformações mais comuns das furanoses.	9
FIGURA 1.8 - D-Glucono-1,4-lactona (15), D-glucofurano-6,3-lactona (16) e D-glucano-1,4:6,3-dilactona (17).....	10
FIGURA 1.9 - Manitol (18) e <i>cis</i> -inositol (19).....	10
FIGURA 1.10 - 2-Acetamido-2-deoxi-D-galactose (20) e deoxiadenosina (21).	11
FIGURA 1.11 - L-Ramnose (22), singrina (23) e acetobromoglicose (24).	12
FIGURA 1.12 - Citosinina (25), D-apiose (26) e metil α -D-glicopiranosídeo (27).....	12
FIGURA 1.13 - Sacarose (28) e lactose (29).....	14
FIGURA 1.14 - Rafinose (30) e panose (31).....	14
FIGURA 1.15 - Ciclodextrina (32).	15
FIGURA 1.16 - Fraxina (33), frangulina (34) e hesperidina (35).	17
FIGURA 1.17 - Puromicina (2) e daunomicina (36).	18
FIGURA 1.18 - Glicosídeos com atividade imunoestimuladora.	22
FIGURA 1.19 - 6-O-Lauroil-sacarose (40), 6'-O-lauroil-maltose (41), 6''-O-lauroil-maltotriose (42).	23
FIGURA 1.20 - Ésteres graxos da sacarose com ação inseticida.	23
FIGURA 1.21 - Triclorin-A (45) e triclorin-F (46).	24
FIGURA 1.22 - <i>Leishmania</i> LPG (47) e vacina semisintética (48).	25
FIGURA 1.23 - Primeira vacina comercial de carboidrato sintético (49).....	25
FIGURA 1.24 - Mistura de 4 trissacarídeos.	26
FIGURA 1.25 - NAD ⁺	26
FIGURA 1.26 - Nucleosídeos 54-58 com atividade tripanossomicida.	27
FIGURA 1.27 - Nucleosídeos com atividade antitumoral.....	28
FIGURA 1.28 - Nucleosídeos 61-64 inativos que após <i>O</i> -acetilação apresentaram atividade tripanossomicida.	28
FIGURA 1.29 - Nucleosídeos 65-67 com atividade antiviral.	29
FIGURA 1.30 - Nucleosídeo carbocíclico 68.....	29
FIGURA 3.1 - Cloretos de estearoíla (69) e palmoíla (70), glicose (7), manose (71), galactose (72) e frutose (73).	36
FIGURA 3.3 - Mecanismo de transferência de hidreto.	86
FIGURA 3.4 - Epóxidos <i>syn</i> e <i>anti</i>	93
FIGURA 3.5 - Epóxidos <i>syn</i> e <i>anti</i>	99

FIGURA 3.6 - Representação do tetrâmero da enzima gGAPDH de <i>T. cruzi</i>	103
FIGURA 3.7 - Via de recuperação e interconversão, em células de mamíferos. APRT- adenina-fosforribosil-transferase; HGPRT- hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase; PRPP- 5'-fosforribosil-1-pirofosfato.	105
FIGURA 3.8 - Via de recuperação e interconversão, em células de Kinetoplastida. APRT- adenina-fosforribosil-transferase; HGPRT- hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase; PRPP- 5'-fosforribosil-1-pirofosfato. XPRT- xantina-guanina-fosforribosil-transferase; AAH- adenina deaminase.	106
FIGURA 3.9 - Representação da estrutura de um monômero da APRT de <i>L. tarentolae</i> .	106
FIGURA 3.10 - Carboidratos sintéticos avaliados.	107
FIGURA 3.11 - Carboidratos comerciais avaliados.	109
FIGURA 3.12 - Carboidratos com atividade moderada frente à enzima GAPDH de <i>T. cruzi</i> .	112
FIGURA 3.13 - Carboidratos com atividade frente à enzima APRT de <i>L. tarentolae</i> .	113
FIGURA 3.14 - Nucleosídeos e análogos avaliados frente as enzimas GAPDH e APRT.	114
FIGURA 3.15 - Compostos com baixa atividade frente à enzima GAPDH de <i>T. cruzi</i> .	115
FIGURA 3.16 - Compostos com atividade moderada frente à enzima APRT de <i>L. tarentolae</i> .	116
FIGURA 3.17 - Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao tratamento com monoestearato da D-frutose (MEF- 81), monoestearato da D-galactose (MEG- 80) e monoestearato da D-manose (MEM- 79), na concentração de 1mg/mL.	118
FIGURA 3.18 - Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao tratamento com ésteres de açúcar: GLUP- 74 e MP- 75 , nas respectivas concentrações de 0,3 mg/mL e 0,1 mg/mL.	119
FIGURA 3.19 - Foto ilustrativa mostrando o efeito de um inibidor no crescimento do fungo simbionte.	120
FIGURA 3.20 - Compostos com atividade fungicida.	122
FIGURA 3.21 - Figura ilustrando o efeito de um composto teste em dois microrganismos.	123
FIGURA 3.22 - Compostos com atividade antimicrobiana.	123

LISTA DE TABELAS

Lista de Tabelas

TABELA 3.1 - Tentativa de obtenção dos ésteres	34
TABELA 3.2 - Reação de esterificação com cloreto de ácido.	36
TABELA 3.3 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da glicopirranose 74 (DMSO-D ₆).....	38
TABELA 3.4 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da manopirranose 75 (DMSO-D ₆).....	39
TABELA 3.5 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da galactopirranose 76 (DMSO-D ₆).....	40
TABELA 3.6 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da frutopirranose 77 (CDCl ₃).....	41
TABELA 3.7 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da glicopirranose 78 (DMSO-D ₆).....	42
TABELA 3.8 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da manopirranose 79 (DMSO-D ₆).....	43
TABELA 3.9 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da galactopirranose 80 (DMSO-D ₆).....	44
TABELA 3.10 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da frutopirranose 81 (DMSO-D ₆).....	45
TABELA 3.11 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da lactona 83 (CDCl ₃).....	52
TABELA 3.12 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da galactopirranose protegida 85 (CDCl ₃).....	54
TABELA 3.13 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da frutose cíclica 90 (CDCl ₃).....	56
TABELA 3.14 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da frutose acíclica 89 (CDCl ₃).....	57
TABELA 3.15 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) ditioacetal da frutose 82 (CDCl ₃).....	59
TABELA 3.16 - Estudo das condições reacionais de acoplamento de 82 e 83	60
TABELA 3.17 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) do produto 91 (CDCl ₃).....	61
TABELA 3.18 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) do produto 92 (CDCl ₃).....	62
TABELA 3.19 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) da lactona 93 (CDCl ₃).....	63
TABELA 3.20 - Estudo das condições reacionais de acoplamento de 82 e 93 ..	64
TABELA 3.21 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) do nucleosídeo 96 (CDCl ₃).....	69
TABELA 3.22 - Dados de RMN ¹ H (200MHz) e ¹³ C (50MHz) do nucleosídeo 98 (CDCl ₃).....	70
TABELA 3.23 - Preparação dos derivados da purina 94	71

TABELA 3.24 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol 103 (CDCl_3)	72
TABELA 3.25 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do dodecanol 104 (CDCl_3)	73
TABELA 3.26 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do álcool benzílico 105 (CDCl_3)	74
TABELA 3.27 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do álcool oléico 106 (CDCl_3)	75
TABELA 3.28 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da adenina 108 (CDCl_3).....	77
TABELA 3.29 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da uracila 110 (CDCl_3)	78
TABELA 3.30 - Dados da benzoiluracila	78
TABELA 3.31 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol 111 (CDCl_3)	80
TABELA 3.32 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol 112 (CDCl_3)	81
TABELA 3.33 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do produto metoxilado 130 (CDCl_3)	88
TABELA 3.34 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado da purina 124 (CDCl_3)	89
TABELA 3.35 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido 125a (CDCl_3)	91
TABELA 3.36 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido 125b (CDCl_3)	92
TABELA 3.37 - Constantes de acoplamento calculadas e observadas	93
TABELA 3.38 - Estudo das condições reacionais para obtenção do composto 126	95
TABELA 3.39 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido 131 (CDCl_3)	97
TABELA 3.40 - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do diol 132 (CDCl_3)	98
TABELA 3.41 - Efeito de açúcares sintéticos na atividade da enzima gGAPDH	108
TABELA 3.42 - Efeito de açúcares sintéticos na atividade da enzima APRT	108
TABELA 3.43 - Efeito de açúcares comerciais na atividade da enzima gGAPDH	110
TABELA 3.44 - Efeito de açúcares comerciais na atividade da enzima APRT	111
TABELA 3.45 - Efeito dos nucleosídeos e análogos na atividade da enzima gGAPDH	115
TABELA 3.46 - Efeito dos nucleosídeos e análogos na atividade da enzima APRT	116

TABELA 3.47 - Efeito de açúcares no desenvolvimento do fungo simbiote <i>L. gongylophorus</i>	121
TABELA 3.48 - Efeito de nucleosídeos no desenvolvimento do fungo simbiote <i>L. gongylophorus</i>	121
TABELA 5.1 - Condições reacionais de acoplamento de 82 e 83	141
TABELA 5.2 - Condições reacionais de acoplamento de 82 e 93	143
TABELA 5.3 - Tentativa de abertura do epóxido 125a com 2-hidroxi-2-metil propanonitrila.	152
TABELA 5.4 - Tentativa de abertura do epóxido 125a com KCN e KI.	152
TABELA 5.5 - Tentativa de abertura do epóxido com NaCN.	152
TABELA 5.6 - Tentativa de abertura do epóxido 125b com KCN e LiClO ₄ ...	153

RESUMO/ABSTRACT

Resumo

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE DERIVADOS DE CARBOIDRATOS E NUCLEOSÍDEOS

Nos últimos anos, o estudo da química dos carboidratos tem crescido de forma surpreendente, principalmente com relação à diversidade de aplicações biológicas desses compostos. O presente trabalho teve como objetivo sintetizar e avaliar uma série de carboidratos e nucleosídeos, para contribuir com o estudo da relação estrutura-atividade destas classes de compostos. Uma série de ésteres de açúcares derivados da glicose, manose, galactose e frutose com os ácidos esteárico e palmítico foi sintetizada a partir do respectivo cloreto de ácido em meio básico aquoso na presença de DMAP com rendimentos de 30 - 40%. Foram preparados derivados da manofuranose, galactofuranose e frutose com o objetivo de sintetizar a β -L-manofuranosil(6 \rightarrow 2)-frutosil(2 \rightarrow 6)- β -L-galactofuranose, mas as reações de acoplamento desses monossacarídeos não tiveram sucesso e a sua síntese foi interrompida. Nucleosídeos purínicos e análogos foram sintetizados utilizando as condições de Mitsunobu para a purina desejada e os respectivos álcoois, como o mentol, dodecanol, álcool benzílico, álcool oléico e derivados da glicose e manose, com rendimentos de 37 - 86%. A síntese do nucleosídeo carbocíclico alvo, 4-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-2-[(tritoloxi)metil]ciclopentanol, foi realizada até o intermediário avançado 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9*H*-purina. Várias metodologias foram empregadas na tentativa de abertura deste epóxido com cianetos, mas nenhuma foi eficiente. Todos os compostos sintetizados e uma série de 22 carboidratos comerciais foram avaliados biologicamente com relação à atividade inibitória das enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e APRT de *L. tarentolae*, atividade antimicrobiana e avaliação frente à formiga *Atta sexdens*. Os carboidratos avaliados foram inativos ou apenas inibiram moderadamente a enzima gGAPDH à 200 μ M. Com relação à inibição da enzima APRT o ácido D-isoascórbico teve

uma inibição de 67% (100 μ M). Os nucleosídeos e análogos avaliados com relação à enzima gGAPDH à 200 μ M foram inativos ou tiveram uma inibição baixa. Com relação à inibição da enzima APRT, a 6-cloro-9-dodecil-9H-purina apresentou uma inibição de 63% (100 μ M). Os ésteres de açúcares derivados de ácidos graxos não apresentaram efeitos tóxicos às formigas. No caso dos ésteres, 6-O-estearoil-D-glicopirranose, 6-O-palmitoil-D-manopirranose e 6-O-palmitoil-D-galactopirranose, ocorreu um pequeno aumento da sobrevivência das operárias em relação aos respectivos controles. Com relação ao crescimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* a maioria dos compostos não apresentou atividade e alguns inibiram no máximo a 20%. Dentre os compostos avaliados com relação ao potencial antimicrobiano a 6-cloro-9-dodecil-9H-purina, mesmo não sendo tão expressivo como o controle, a *Escherichia coli* se mostrou sensível ao composto em questão. Os compostos analisados serão utilizados no planejamento e síntese de compostos mais ativos.

Abstract

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF CARBOHYDRATE AND NUCLEOSIDE DERIVATIVES

In the last few years, the carbohydrate chemistry has been growing surprisingly, especially because of the diversity of biological applications of this class of compounds. This present work aimed to synthesize and evaluate a series of carbohydrates and nucleosides, in order to contribute for the study of their structure-activity relationship. A series of sugar esters from glucose, mannose, galactose and fructose with stearic and palmitic acids was synthesized with the respective acid chlorides in aqueous basic medium in the presence of DMAP with 30 - 40% yield. Mannofuranose, galactofuranose and fructose derivatives were prepared for the synthesis of β -L-mannofuranosyl(6 \rightarrow 2)-fructosyl(2 \rightarrow 6)- β -L-galactofuranose, however the coupling reactions were not successful and the synthesis was interrupted. Purinic nucleosides and analogs were synthesized under Mitsunobu conditions, using the appropriated purine and the respective alcohols, as for example, menthol, dodecanol, benzyl alcohol, oleic alcohol and glucose and mannose derivatives, with 37 - 86% yield. Synthesis of the carbocyclic nucleoside, 4-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-2-[(trityloxy)methyl]cyclopentanol, was carried out until intermediate 6-chloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-yl)-9*H*-purine. After several attempts in order to open the epoxide with cyanides, the synthesis was discontinued. All synthetic compounds and a series of 22 commercial carbohydrates were biologically evaluated against *T. cruzi* gGAPDH and *L. tarentolae* APRT enzymes, several microorganisms and the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. The evaluated carbohydrates were inactive or showed moderate inhibition against gGAPDH enzyme at 200 μ M. D-isoascorbic acid showed an inhibition of 67% (100 μ M) against the APRT enzyme. The evaluated nucleosides and analogs were inactive

or showed low inhibition against the gGAPDH enzyme at 200 μM . 6-Chloro-9-dodecyl-9*H*-purine showed an inhibition of 63% (100 μM) against the APRT enzyme. The sugar esters of fatty acids presented no toxic effect to the ants. In the case of 6-*O*-estearoyl-D-glucopiranosose, 6-*O*-palmitoyl-D-mannopiranosose e 6-*O*-palmitoyl-D-galactopiranosose, it was observed a small growth of the survival of the worker ants. They showed no inhibition or low inhibition (20%) of the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. 6-Chloro-9-dodecyl-9*H*-purine showed a moderate inhibition against *Escherichia coli*. The compounds analyzed will be employed as models for the design and synthesis of more active compounds.

INTRODUÇÃO

1 - Introdução

1.1 - Carboidratos

A palavra carboidrato apareceu durante o século XIX para descrever uma família de compostos com fórmula geral $C_n(H_2O)_n$ (hidratos de carbono). Com a descoberta de novos compostos que não obedeciam esta fórmula, mas apresentavam as mesmas propriedades químicas, o termo carboidrato foi modificado e ampliado. Agora inclui compostos poli-hidroxilados de aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos e seus derivados simples, bem como seus polímeros que tenham ligações poliméricas do tipo acetal. Com esta nova definição, mesmo as moléculas que não se ajustam à fórmula geral $C_n(H_2O)_n$ são consideradas carboidratos (HECHT, 1999).

1.1.1 - Ocorrência e função dos carboidratos na natureza

Os carboidratos pertencem ao grupo mais abundante de compostos encontrados em fontes naturais; eles estão presentes tanto em plantas como em animais e realizam uma grande variedade de funções, como:

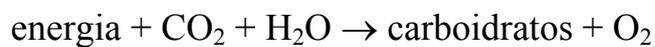
1. Energética: são os principais produtores de energia sob a forma de ATP, cujas ligações ricas em energia (± 10 Kcal) são quebradas, sempre que as células precisam de energia para as reações bioquímicas. É a principal função dos carboidratos, com todos os seres vivos (com exceção dos vírus, que não tem metabolismo próprio) possuindo metabolismo adaptado ao consumo de glicose como substrato energético. Algumas bactérias consomem dissacarídeos (ex. lactose) na ausência de glicose, porém a maioria dos seres vivos a utiliza como principal fonte de energia.

2. Estrutural: a parede celular dos vegetais é constituída por um carboidrato polimerizado – a celulose; a carapaça dos insetos contém quitina, um polímero que dá resistência extrema ao exo-esqueleto; as células animais

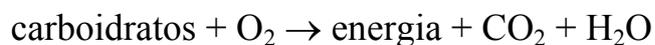
possuem uma série de carboidratos circundando a membrana plasmática que dão especificidade celular, estimulando a permanência agregada das células de um tecido.

3. Reserva energética: nos vegetais, há o amido, polímero de glicose; nos animais, há o glicogênio, também polímero de glicose, porém com uma estrutura mais compacta e ramificada.

As principais fontes de carboidratos são as plantas, nas quais esses compostos são biossintetizados a partir da água e dióxido de carbono no processo denominado fotossíntese:



Animais que consomem carboidratos transformam essas moléculas na presença de oxigênio em dióxido de carbono, água e a energia requerida para o trabalho mecânico. Este processo é o reverso da fotossíntese:



Embora os carboidratos sejam um grupo muito importante de moléculas por si só, eles também estão presentes em diversos produtos naturais como: antibióticos como estreptomicina (1) e puromicina (2) que contêm aminoaçúcares como seu principal constituinte; ácidos nucleicos que são polímeros que controlam a biossíntese de proteínas, sendo responsáveis pela transferência da informação genética; adenosina 5'-trifosfato (ATP) (3) e adenosina 5'-difosfato (ADP) (4); etc (Figura 1.1) (HECHT, 1999).

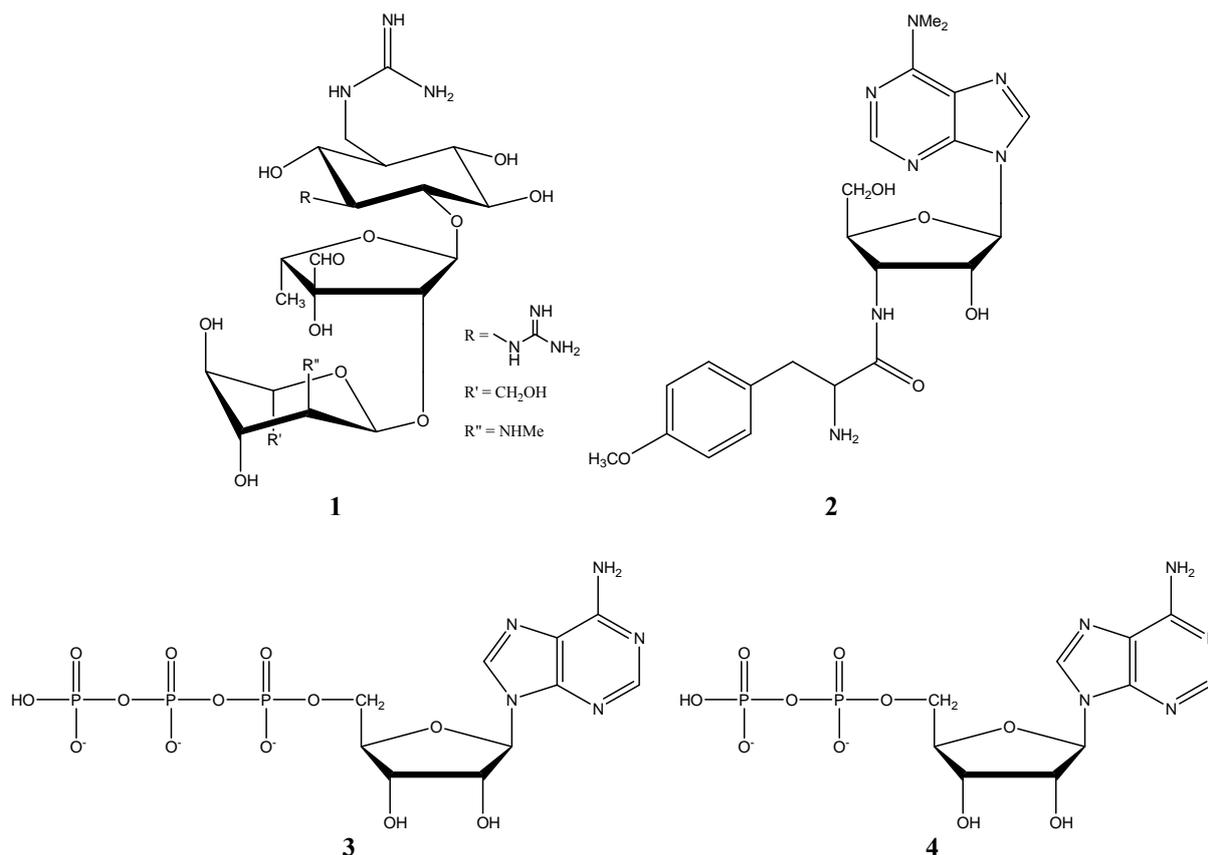


FIGURA 1.1. Estreptomicina (1), puromicina (2), ATP (3) e ADP (4).

1.1.2 - Uso industrial dos carboidratos

Os carboidratos são as bases de várias indústrias, isto inclui:

1. Alimentícia: a sacarose, um dissacarídeo da D-glicose e D-frutose obtido a partir do açúcar da cana, é usado como agente adoçante, como preservativo para alimentos e como material para a indústria de fermentação. A manufatura de assados usa grande quantidade de amido. Gomas também são usadas no processamento de alimentos.
2. Têxtil: excluindo os materiais sintéticos, o algodão (uma das formas do polissacarídeo celulose) ainda é usado extensivamente como material na produção de tecidos.
3. Plásticos: derivados da celulose (ex., acetato-butirato, propionato, e acetato-ftalato) são usados na preparação de folhas, filmes, e materiais de cobertura.

4. Embalagem: a manufatura do papel é uma das mais importantes da indústria. Outros derivados da celulose (ésteres e éteres) são usados para a produção de invólucro transparente e filme.
5. Farmacêutica e de cosméticos: antibióticos, soluções intravenosas, vitamina C, e o uso de carboidratos como material de partida quiral para a síntese estereosseletiva de agentes farmacêuticos.

1.1.3 - Classificação de carboidratos

Os carboidratos podem ser classificados em dois grupos principais: carboidratos simples, que são moléculas que contêm apenas carboidratos na sua estrutura, e carboidratos complexos, que são moléculas que apresentam carboidratos ligados covalentemente a lipídeos, proteínas, etc (HECHT, 1999).

1.1.3.1 - Carboidratos simples

O termo sacarídeo significa açúcar. Açúcar em sânscrito significa terra doce, e ainda é usado para incluir membros menores de carboidratos como monossacarídeos e oligossacarídeos, que são geralmente doces e solúveis em água. Baseado no tamanho molecular, os carboidratos simples podem ser divididos em três grupos principais:

1.1.3.1.1 - Monossacarídeos e derivados de monossacarídeos

Monossacarídeos são poliidroxi aldeídos e poliidroxi cetonas que possuem a fórmula geral $C_n(H_2O)_n$. Devido à polifuncionalidade, eles existem normalmente em várias formas isoméricas, tanto acíclica e cíclica. A maioria dos isômeros cíclicos pode ser isolada na forma pura. Por outro lado, os isômeros acíclicos foram detectados apenas em solução como componentes minoritários, onde eles coexistem em equilíbrio com as formas cíclicas.

a) Constituição e configuração: Formas acíclicas

De acordo com o grupo funcional, os monossacarídeos podem ser divididos em dois grupos principais: aldoses (grupo aldeído) e cetoses (grupo ceto). De acordo com o número de carbonos, os monossacarídeos também podem ser classificados como: trioses (3 carbonos), tetroses (4 carbonos), pentoses (5 carbonos), e hexoses (6 carbonos). Esses dois tipos de classificação dão origem a vários subgrupos que descrevem a constituição e a família configuracional dos isômeros. Por exemplo: o subgrupo aldopentose inclui todos os isômeros configuracionais das aldoses com 5 átomos de carbono (STODDART, 1971) (Figura 1.2).

Nº de carbonos	3	4	5	6
Nome geral	trioses	tetroses	pentoses	hexoses
Fórmula molecular	$C_3H_6O_3$	$C_4H_8O_4$	$C_5H_{10}O_5$	$C_6H_{12}O_6$
Aldoses				
Constituição geral	$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
Nome geral	aldotrioses	aldotetroses	aldopentoses	aldohexoses
Cetoses				
Constituição geral	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ * \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
Nome geral	trioses	tetroses	pentoses	hexoses

FIGURA 1.2. Monossacarídeos acíclicos.

A convenção que tem sido adotada para representar as estruturas dos monossacarídeos acíclicos é a Fórmula da Projeção de Fischer (HECHT,

1999 e HUDSON, 1948). Nesta convenção, a cadeia de carbono é arranjada verticalmente com o grupo carbonila no topo (aldoses), ou o mais próximo do topo (cetoses).

Os nomes dos monossacarídeos acíclicos começam com a letra maiúscula (D ou L) seguida pelo prefixo configuracional (ex., eritro-, treo-, ribo-, glico-, mano-, etc.) e do sufixo -se. O prefixo indica o número de centros quirais e sua configuração relativa. Por exemplo, o prefixo glico indica que existem 4 centros estereogênicos, e que na fórmula da projeção de Fisher os grupos hidroxila dos carbonos 2, 4 e 5 estão no mesmo lado e opostos ao grupo hidroxila do carbono 3. O par de enantiômeros com configuração relativa glico pode ser distinguido pela convenção das letras D e L (HUDSON, 1948 e ROSANOFF, 1906) (Figura 1.3) no início do nome indicando a configuração absoluta do carbono quiral mais distante da carbonila (C-5 nas hexoses, C-4 nas pentoses, C-3 nas tetroses e C-2 nas trioses). Compostos da série D possuem o grupo hidroxila à direita na fórmula da projeção de Fisher e da série L à esquerda. A configuração absoluta de qualquer monossacarídeo é completamente determinada pela combinação dos prefixos com D ou L apropriadamente.

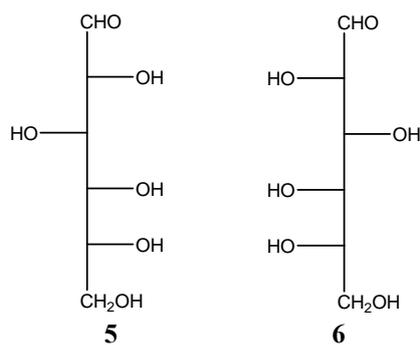


FIGURA 1.3. Par de enantiômeros da glicose (D e L).

b) Constituição e configuração: Formas cíclicas

Qualquer aldeído ou cetona pode reagir com um álcool para formar um hemiacetal. Se esses grupos funcionais estão presentes na mesma molécula, então um equilíbrio é estabelecido entre a cadeia aberta e a forma cíclica. A

posição do equilíbrio depende da estabilidade termodinâmica das formas acíclicas e cíclicas. As pentoses e hexoses existem predominantemente nas formas cíclicas.

As representações das formas cíclicas dos monossacarídeos podem ser feitas de 3 maneiras: projeção de Fischer (A), perspectiva de Haworth (B) e perspectiva de Mills (C) (Figura 1.4) (HECHT, 1999).

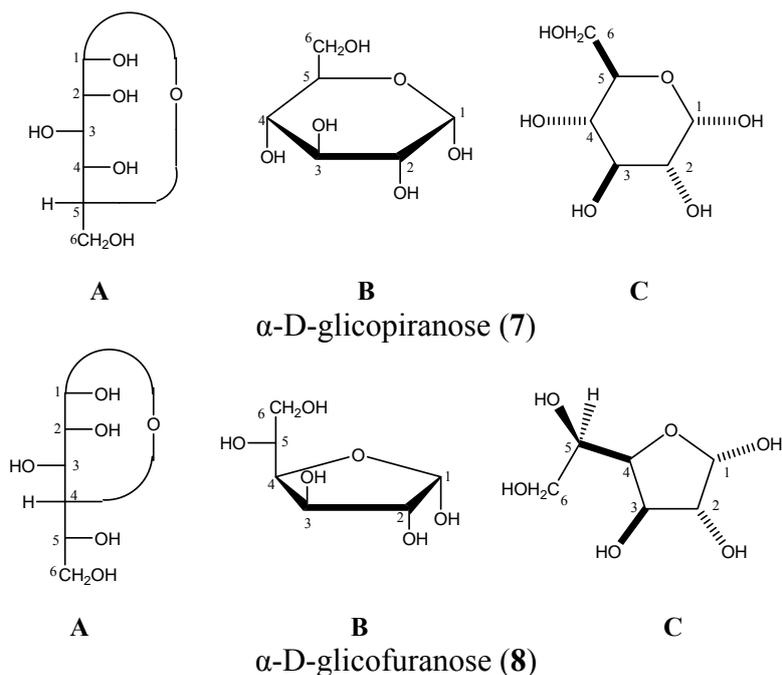


FIGURA 1.4. Fórmulas de Fischer (A), Haworth (B) e Mills (C) para a α -D-glicopirranose (7) e α -D-glicofuranose (8).

Os anéis monossacarídicos de 5 membros podem ser relacionados ao tetraidrofurano, sendo então chamados de furanoses; os de 6 membros são relacionados ao tetraidropirano, e são chamados assim de piranoses.

Quando um anel é formado, dois isômeros configuracionais podem ser obtidos devido à criação de um novo centro quiral, que é denominado de centro anomérico. Os dois isômeros são chamados de anômeros. Em outras palavras, anômeros são epímeros que diferem na configuração apenas no centro anomérico. A configuração do centro anomérico é indicada pelos prefixos α e β . O isômero α é aquele que possui o grupo hidroxila anomérico (OH-1) voltado para a face oposta do grupo hidroxila em C-6, configuração trans. No isômero β ,

estas hidroxilas direcionam-se para a mesma face, como pode ser observado na figura 1.5 no caso da D-glicose, configuração cis. Alguns estudos das estruturas das formas cíclicas da D-glicose, usando análise por raios X, demonstraram que as conformações reais dos anéis são as formas em cadeira, como pode ser observado na figura 1.5 nas glicopiranoses A e B.

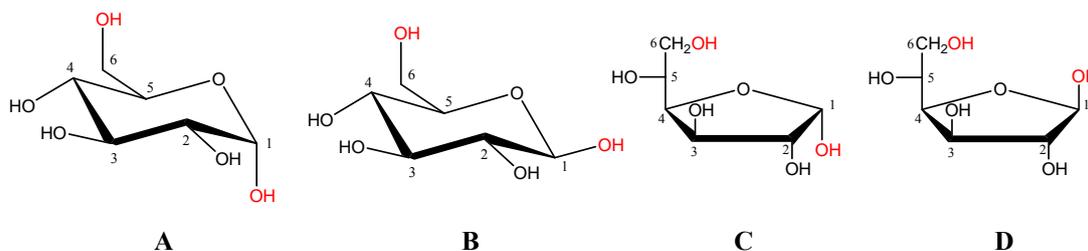


FIGURA 1.5. Fórmulas da D-glicopiranosose α (A) e β (B), D-glicofuranose α (C) e β (D).

1- Conformação: Piranoses

Os anéis piranóides podem adotar diferentes conformações similares às observadas no cicloexano, como cadeira, barco, torcida e meia-cadeira. As duas conformações cadeira são muito mais estáveis do que as outras conformações da piranose, confôrmeros **9** e **10** (Figura 1.6).

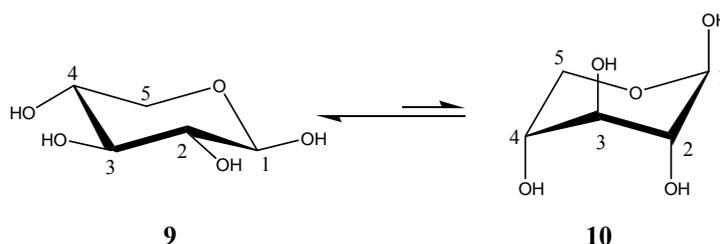


FIGURA 1.6. Isômeros conformacionais majoritários da β -D-xilopiranosose.

2- Conformação: Furanoses

A análise conformacional das furanoses é menos desenvolvida do que das piranoses. A razão principal é que a diferença de energia dos confôrmeros da furanose é tão baixa que existem muitas formas presentes no equilíbrio da mistura, diferente das piranoses onde um confôrmero é predominante, além do anel de 5 membros ser menos favorável do que o de 6

membros. A conformação mais comum que as furanoses adotam é a forma *envelope* **11** e **12** ou *twist* **13** e **14** (Figura 1.7).

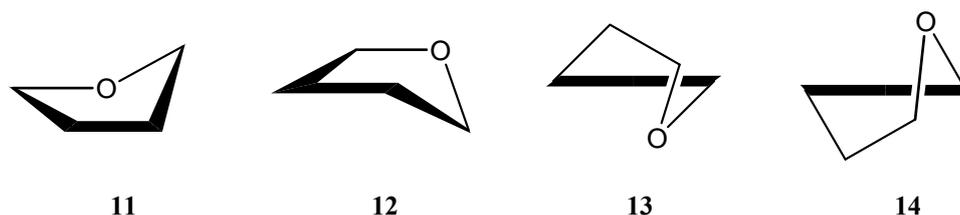


FIGURA 1.7. Conformações mais comuns das furanoses.

c) Monossacarídeos naturais e sintéticos e derivados de monossacarídeos

A maioria dos monossacarídeos ocorre na natureza como parte de moléculas maiores como oligossacarídeos simples ou complexos ou polissacarídeos (SCHAFFER, 1970).

A D-glicose ocorre livre no sangue, em frutas, mel, etc, e é o principal componente de vários oligossacarídeos e polissacarídeos (incluindo celulose e amido). A D-manose está presente em vários polissacarídeos, incluindo a hemicelulose. Traços de açúcar livre existem em maçãs e pêras. A D-frutose é um constituinte do dissacarídeo sacarose. A D-ribose é um constituinte dos ácidos nucléicos. A D-galactose é constituinte de vários oligossacarídeos: lactose, melobiose e rafinose.

Todos os monossacarídeos que não se ajustam à fórmula $C_n(H_2O)_n$ devido à presença de grupos funcionais diferentes (ex., amino, halogênio, ácidos, tio, etc.) e os podem ser considerados derivados de monossacarídeos (HORTON e PIGMAN, 1970 e FERRIER e COLLINS, 1972).

Principais grupos de derivados de monossacarídeos:

1- Ácidos aldônicos (**15**) - são monossacarídeos em que o grupo aldeído foi substituído por um grupo carboxílico, normalmente existem na forma de lactona (Figura 1.8).

2- Ácidos urônicos (**16**) - são monossacarídeos em que o álcool primário é substituído por um ácido carboxílico, normalmente existem na forma de lactona (Figura 1.8).

3- Ácidos aldáricos (**17**) - são monossacarídeos em que o grupo aldeído e o álcool primário são substituídos pelo grupo carboxila. Existem normalmente na forma de dilactonas (Figura 1.8).

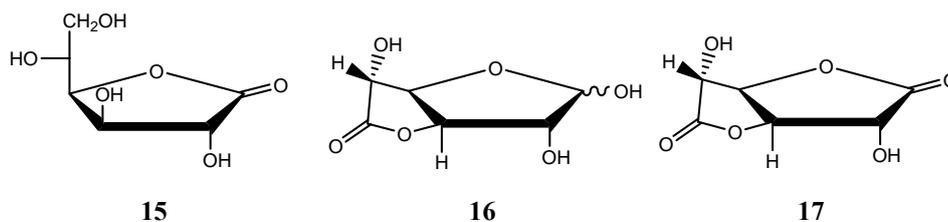


FIGURA 1.8. D-Glucono-1,4-lactona (**15**), D-glucofuran-6,3-lactona (**16**) e D-glucano-1,4:6,3-dilactona (**17**).

4- Alditóis (**18**) - são derivados de monossacarídeos em que o grupo aldeído ou o grupo ceto são substituídos por hidroxilas. Eles ocorrem extensivamente na natureza (Figura 1.9).

5- Ciclitóis (**19**) - são polihidroxiciclohexanos (mesmo possuindo a fórmula $C_n(H_2O)_n$ não são poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas para serem considerados monossacarídeos) e polihidroxiciclohexenos, e seus derivados (Figura 1.9).

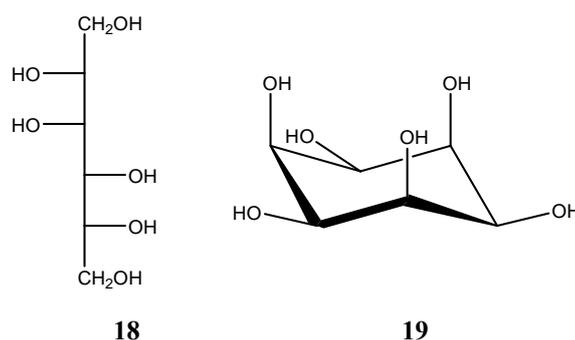


FIGURA 1.9. Manitol (**18**) e *cis*-inositol (**19**).

6- Aminoaçúcares - são derivados de monossacarídeos em que um ou mais dos grupos hidroxila, exceto o anomérico, foi substituído por uma função amino (**20**). Quando a hidroxila da posição anomérica é a que se

apresenta substituída têm-se as glicosilaminas ou *N*-glicosídeos. As glicosilaminas de grande interesse bioquímico são os nucleosídeos (**21**), que são constituintes dos ácidos nucléicos (DNA e RNA) (Figura 1.10). Nucleosídeos são glicosilaminas em que a aglicona é uma base purínica ou pirimidínica. O açúcar componente é normalmente a *D*-ribofuranose ou 2-deoxi-*D*-ribofuranose com uma configuração anomérica β . Nucleotídeos são éteres fosfatos dos nucleosídeos e representam as unidades monoméricas dos ácidos nucléicos.

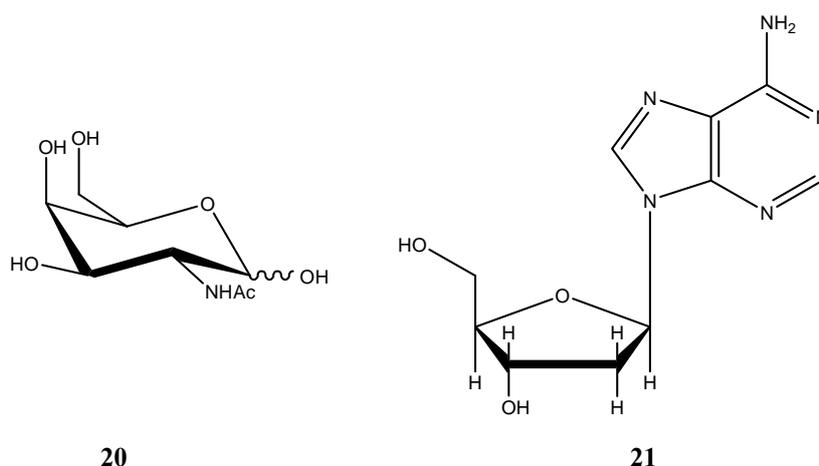


FIGURA 1.10. 2-Acetamido-2-deoxi-*D*-galactose (**20**) e deoxyadenosina (**21**).

7- Deoxiaçúcares (**22**) - são derivados de monossacarídeos em que um ou mais grupos hidroxila, exceto a anomérica, foi substituída por hidrogênio. Os mais comuns encontrados na natureza são as 6-deoxiexoses (Figura 1.11).

8- Tioaçúcares (**23**) - são derivados de monossacarídeos em que um ou mais grupos hidroxila são substituídos por um grupo tio. Os mais comuns na natureza são aqueles em que a hidroxila anomérica foi substituída; são chamados de 1-tioglicosídeos ou *S*-glicosídeos. Eles ocorrem em sementes de várias plantas; como a singrina (um derivado da 1-tio-*D*-glucose) isolada das sementes da mostarda preta (Figura 1.11).

9- Haloaçúcar (**24**) - são monossacarídeos em que um dos grupos hidroxila é substituído por um átomo de halogênio. Poucos haloaçúcares são encontrados em fontes naturais (Figura 1.11).

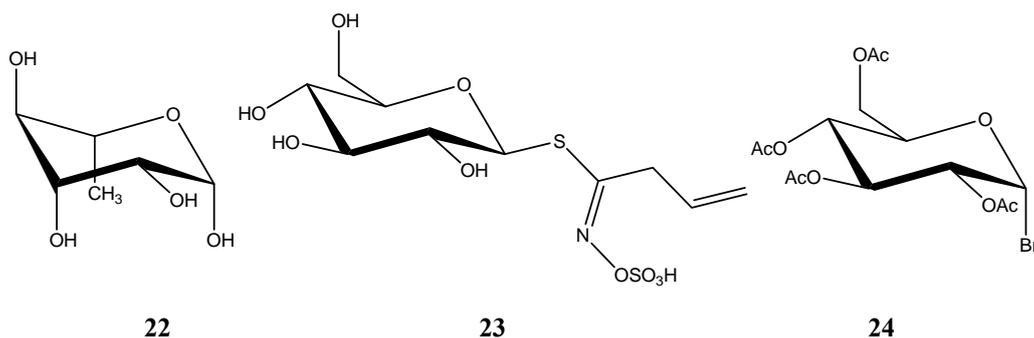


FIGURA 1.11. L-Ramnose (22), singrina (23) e acetobromoglicose (24).

10- Açúcares insaturados - são monossacarídeos com uma dupla ligação. Exemplos de produtos naturais incluem antibióticos nucleosídicos como a citosinina (25) (Figura 1.12).

11- Açúcares com cadeia ramificada - são monossacarídeos em que tanto um hidrogênio ou um grupo hidroxila do anel é trocado por um substituinte alquila. Um exemplo natural é a D-apiose (26) (Figura 1.12).

12- O-glicosídeos - conhecidos simplesmente como glicosídeos, são derivados monossacarídeos em que o grupo hidroxila anomérico é substituído por um grupo alcóxido. A porção alquílica do grupo alcóxido é denominada como grupo aglicona e o álcool correspondente é chamado glicona. O resíduo carboidrato é denominado como grupo glicosil. Por exemplo, metil α -D-glicopiranosídeo (27) é um glicosídeo em que o grupo metila é o grupo aglicona e a D-glicose é o grupo glicosil. A ligação entre o açúcar e a aglicona é uma ligação acetal, e é denominada ligação glicosídica (Figura 1.12).

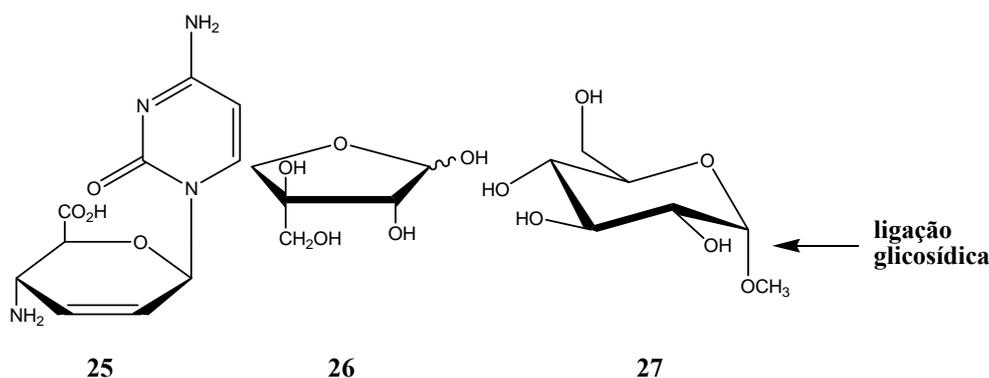


FIGURA 1.12. Citosinina (25), D-apiose (26) e metil α -D-glicopiranosídeo (27).

13- Acetais, ésteres e éteres possuem um papel importante como grupos protetores na química de carboidratos. Através de reações de proteção e desproteção seletivas de determinadas hidroxilas, obtêm-se carboidratos complexos.

1.1.3.1.2 - Oligossacarídeos

Oligossacarídeos são polímeros compostos de 2 à 10 monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas (KENNEDY e WHITE, 1983). Moléculas com mais de 10 unidades são chamadas de polissacarídeos. Os oligossacarídeos representam uma classe única de glicosídeos, em que a “aglicona” é também um resíduo de carboidrato ao invés de um simples álcool. Devido ao seu sabor doce, monossacarídeos e oligossacarídeos menores são chamados de açúcares. A doçura diminui com o aumento do grau de polimerização. Em geral, oligossacarídeos que tenham mais de quatro constituintes monossacarídicos são sem sabor.

De acordo com o número de unidades de monossacarídeos, oligossacarídeos podem ser classificados como di-, tri- e tetrassacarídeos, que podem ser subdivididos em homo-oligossacarídeos, constituído de apenas um tipo de monossacarídeo, ou hetero-oligossacarídeos, constituído de mais de um tipo de monossacarídeo. Açúcares redutores são carboidratos doadores de elétrons (reduzem agentes oxidantes) por possuírem grupos aldeídicos ou cetônicos livres ou potencialmente livres. Oxidam-se em meio alcalino. Esta propriedade é empregada para análise e quantificação dos carboidratos.

a) Dissacarídeos

A sacarose (**28**) (hetero-oligossacarídeo não-redutor) é um dos carboidratos mais comuns, sendo obtida comercialmente da cana-de-açúcar ou beterraba. É a principal reserva de carboidrato solúvel e fonte de energia e um importante componente da dieta humana. A lactose (**29**) é um hetero-

oligossacarídeo redutor, também conhecida como açúcar do leite, e ocorre principalmente no leite de mamíferos aproximadamente na concentração de 5% (HECHT, 1999) (Figura 1.13).

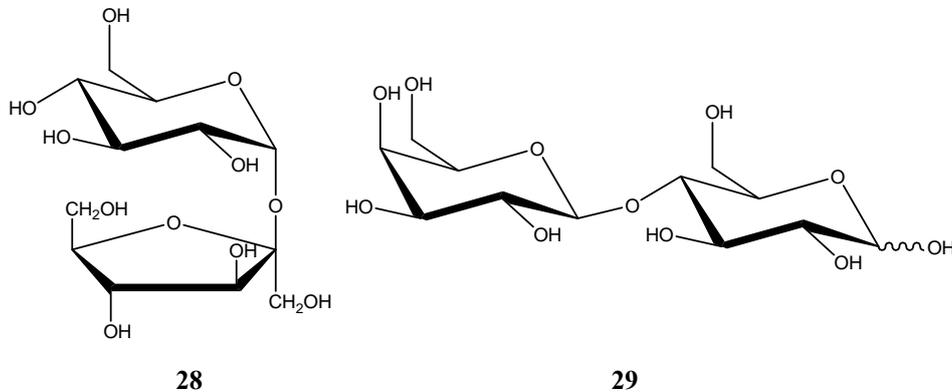


FIGURA 1.13. Sacarose (28) e lactose (29).

Outros dissacarídeos ocorrem como elementos estruturais de glicosídeos, polissacarídeos, ou outros oligossacarídeos.

b) Trissacarídeos

A rafinose (30) (hetero-oligossacarídeo não-redutor) é o trissacarídeo mais abundante encontrado na natureza. É amplamente distribuído em plantas, mas em menor concentração do que a sacarose. A panose (31) (homo-oligossacarídeo redutor) é um elemento estrutural do polissacarídeo amilopectina (Figura 1.14).

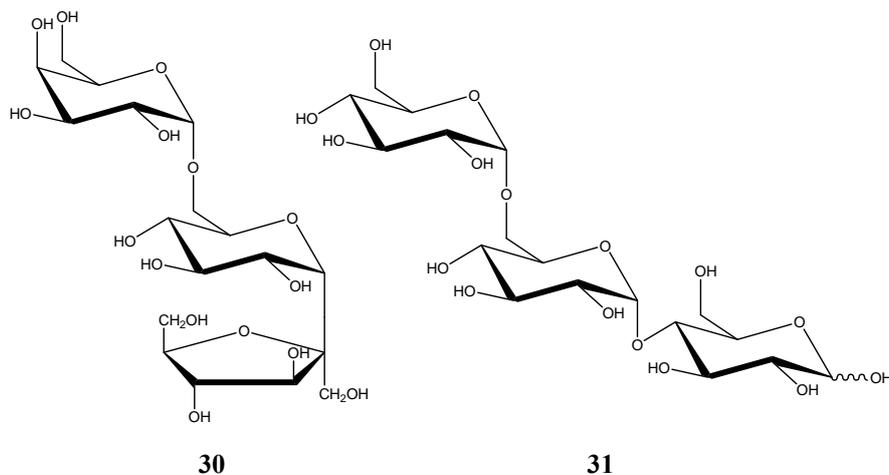
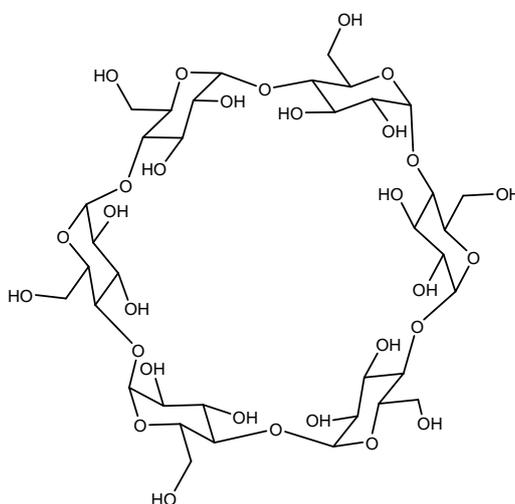


FIGURA 1.14. Rafinose (30) e panose (31).

c) Oligossacarídeos maiores

Oligossacarídeos contendo entre 2 e 10 unidades de monossacarídeos são isolados a partir de polissacarídeos. Uma exceção é a dextrina de Schardinger (**32**) (CLARKE et al., 1988) conhecida como cicloamiloses ou ciclodextrinas (Figura 1.15). São oligossacarídeos cíclicos da glicose que são produzidos a partir do amido pela ação de uma enzima hidrolítica do *Bacillus macerans*. São sólidos cristalinos que contêm entre 6 e 10 unidades de α -D-glicopiranosose por molécula. Esses compostos se ligam a moléculas pequenas formando compostos de inclusão. São usados na produção de agentes farmacêuticos, pesticidas, estabilizantes de emulsão, etc.



32

FIGURA 1.15. Ciclodextrina (**32**).

1.1.3.1.3 - Polissacarídeos

Os polissacarídeos são polímeros naturais compostos por mais de 10 monossacarídeos ligados glicosidicamente (ASPINALL, 1982). Poucos polissacarídeos naturais contêm 25 à 75 resíduos de monossacarídeos, enquanto a grande maioria têm 80 à 100 resíduos. Outros como a celulose têm em média 3000 resíduos de D-glicose.

Os polissacarídeos ocorrem na maioria dos organismos vivos. Eles servem como estruturas materiais (ex., celulose), compostos de armazenamento de alimento (ex., glicogênio), etc.

Os polissacarídeos podem ser hidrolisados aos seus constituintes oligo- e monossacarídeos. Quanto maior o grau de polimerização, menor a solubilidade em água e maior a viscosidade.

Os polissacarídeos podem ser classificados em duas classes principais: homopolissacarídeos, que são constituídos por um tipo de monossacarídeo e heteropolissacarídeos, que são constituídos por mais de um tipo de monossacarídeo. Podem ainda ser subdivididos em linear ou ramificado. De acordo com a sua origem podem ser classificados como polissacarídeos de plantas, animais, bactérias, fungos ou algas.

1.1.3.2 - Carboidratos complexos

As moléculas que contenham carboidratos como constituinte minoritário ou majoritário, são chamadas de carboidratos complexos (SHARON, 1975). Nesta categoria estão glicosídeos complexos, antibióticos de carboidratos, ácidos nucleicos, glicoproteínas, proteoglicanas, peptideoglicanas, lipopolissacarídeos e glicolipídeos.

1.1.3.2.1 - Glicosídeos complexos

Ao contrário dos glicosídeos simples, em que o grupo aglicona é um grupo alquila simples ou um substituinte fenila, os glicosídeos complexos têm agliconas mais elaboradas como, antraceno, fenantreno, carotenos e flavonas (HECHT, 1999). Temos como exemplo, a fraxina (**33**) constituinte da castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum L.*) que é utilizada no tratamento de afecções cardíacas e circulatórias; a frangulina (**34**) é encontrada na casca da

Rhamnus frangula e possui atividade digestiva e a hesperidina (**35**), encontrada na casca de frutas cítricas, tem capacidade antioxidante e atividade reguladora sobre a permeabilidade capilar (Figura 1.16).

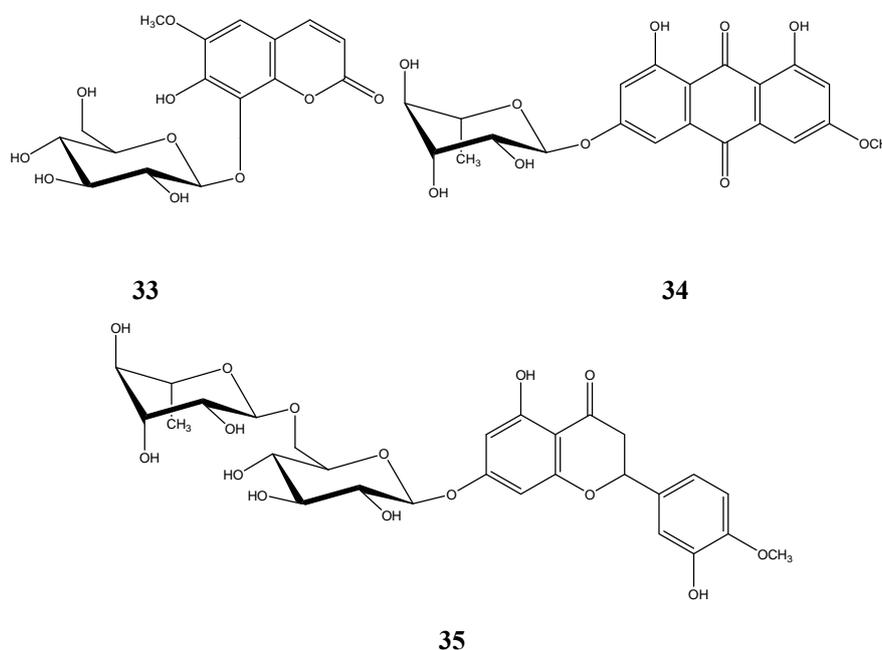


FIGURA 1.16. Fraxina (**33**), frangulina (**34**) e hesperidina (**35**).

1.1.3.2.2 - Carboidratos como antibióticos

Antibióticos são compostos elaborados por microrganismos, que inibem o crescimento de outros microrganismos. O mecanismo de ação envolve a interferência na síntese do DNA, RNA ou proteínas. Embora agrupados devido a sua atividade biológica similar, estruturalmente eles podem ser classificados em diversas categorias diferentes. Por exemplo, puromicina (**2**) pode ser considerada uma glicosilamina, e nesta categoria um nucleosídeo. Daunomicina (**36**) pode ser considerada um glicosídeo complexo (Figura 1.17). Por esta razão, antibióticos são também classificados de acordo com as suas características estruturais, por exemplo, nucleosídicos, aqueles que contêm grupos aromáticos, aminoglicosídicos, etc.

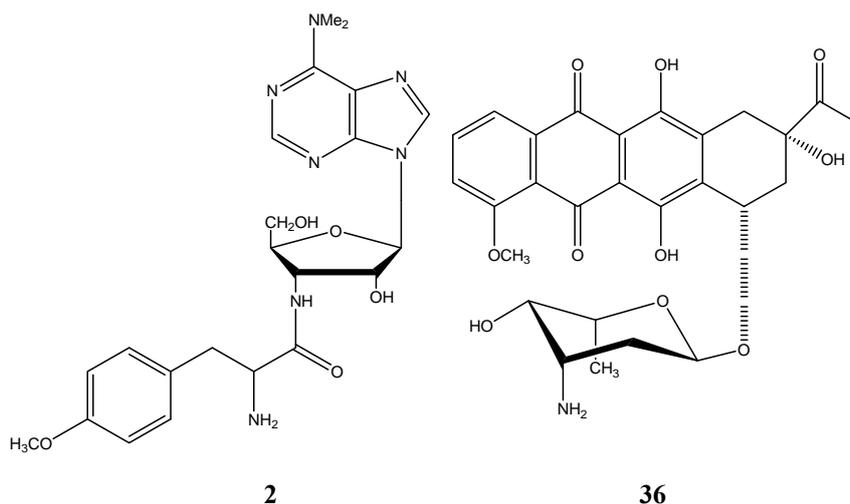


FIGURA 1.17. Puromicina (2) e daunomicina (36).

1.1.3.2.3 - Ácidos nucleicos

O ácido ribonucleico (RNA) é um polímero de ribonucleotídeos ligados por pontes de fosfodiésteres entre as posições 3' e 5'. O ácido deoxiribonucleico (DNA) é um polímero de deoxiribonucleotídeos ligados por pontes de fosfodiésteres entre as posições 3' e 5'. Ambos ocupam uma posição central na biologia molecular. O DNA é a molécula responsável para armazenar a informação genética e o RNA, entre suas funções, é responsável para a transferência de informação genética em estrutura de proteína.

1.1.3.3 - Outros

Glicoproteínas - existem proteínas ligadas a carboidratos por ligações N- e O-glicosídicas (MONTREUIL, 1982 e SHARON e LIS, 1982). Elas são constituídas de um esqueleto central de proteína em que as cadeias laterais dos carboidratos estão ligadas. Essas cadeias de carboidratos são normalmente hetero-oligossacarídeos ramificados com 15-20 unidades de monossacarídeos. A função da cadeia lateral de carboidrato é a estabilização conformacional da proteína, proteção contra a proteólise, e classificação do tipo sanguíneo

humano. Também estão envolvidas na adesão, comunicação, reconhecimento, regulamentação do crescimento celular.

Proteoglicanas - como as glicoproteínas, as proteoglicanas contêm um esqueleto central de proteína onde os carboidratos são ligados glicosidicamente (GARG e LYON, 1991; KUETTNER e KIMURA, 1985). Só que neste caso o carboidrato é linear e possui em torno de 100 unidades de monossacarídeos, geralmente unidades de dissacarídeos que se repetem. No dissacarídeo, uma unidade de açúcar é sempre uma hexosamina (glucosamina ou galactosamina), normalmente na forma *N*-acetilada e a outra é um ácido hexurônico (ácido glucurônico ou ácido L-idurônico). Podem estar presentes ainda grupos sulfato ligados ao grupo hidroxila ou amino. Ocorrem em vários tecidos animais e fluídos, são importantes em tecidos conectivos como, pele, ossos, cartilagens e ligamentos.

Peptideoglicanas - são macromoléculas complexas altamente ramificadas que existem na parede celular das bactérias. Elas consistem de linhas de polissacarídeo linear cruzadas com unidades de oligopeptídeos. Os principais constituintes são 2-acetamido-2-deoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-deoxi-3-*O*-(1-carboximetil)-D-glicose, e os aminoácidos D- e L-alanina, o ácido D-glutâmico e L-lisina. São responsáveis pela rigidez da parede celular.

Lipopolissacarídeos - são moléculas muito complexas que são o principal constituinte do envelope externo celular das bactérias gram-negativas. As cadeias de ácido graxo estão ligadas ao resíduo de carboidrato através de ligações amídicas. São imunologicamente ativos e servem como receptores para os bacteriófagos.

Glicolípídeos - os lipídeos normalmente existem combinados com proteínas ou carboidratos, e fazem parte da superfície celular. Os glicolípídeos são essencialmente lipídeos que contêm carboidratos como componente minoritário. A exata função dos glicolípídeos ainda é objeto de muita especulação. Eles podem transportar carboidratos através das membranas. Eles

são conhecidos por estarem envolvidos na biossíntese de glicoproteínas e proteoglicanas, e na inibição da atividade biológica de toxinas e agentes antivirais.

1.2 - Pesquisa Básica

O distanciamento entre universidades e empresas como entre a ciência e a tecnologia no Brasil é um desafio. O país necessita ao mesmo tempo melhorar a qualidade da educação básica, da educação profissional e o acesso à educação superior. O governo tem um papel importante a cumprir induzindo ações concretas para que as Universidades e Empresas passem a interagir beneficiando-se mutuamente e ao Brasil.

A interação universidade – empresa é um assunto muito comentado e pouco resolvido no Brasil. Ciência e pesquisa são feitas nas universidades e em alguns institutos isolados. A universidade mais antiga do Brasil ainda não fez 100 anos. Tanto em universidades quanto em institutos a pesquisa acontece majoritariamente por conta das instituições públicas com financiamentos insuficientes. As empresas se acostumaram a buscar tecnologia nos países do primeiro mundo, ignorando o desenvolvimento científico nacional. Apenas bem recentemente, 2001, o governo federal passou a demonstrar alguma preocupação com estes fatos, através dos Fundos de Infraestrutura (Schreiner, 2001).

O desenvolvimento de fármacos é um processo multidisciplinar e, as equipes de diferentes áreas devem trabalhar em sintonia, para alcançar as metas de forma objetiva. A prioridade no desenvolvimento de fármacos depende de uma política industrial forte e de grandes investimentos em pesquisa básica e aplicada e reconhecer que países que negligenciam a produção própria de medicamentos amargam uma condição de dependência tecnológica.

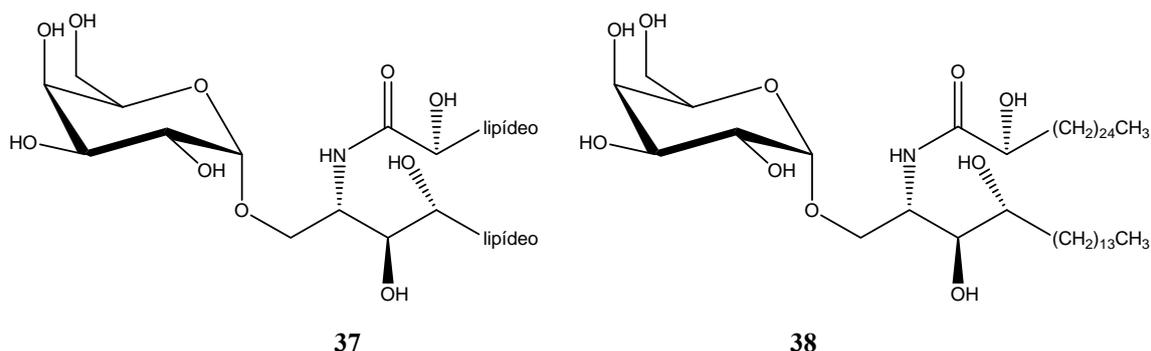
A inovação de um medicamento é um excelente negócio para a indústria. No entanto, o processo de descoberta de um novo fármaco é lento e depende de grandes investimentos em pesquisa.

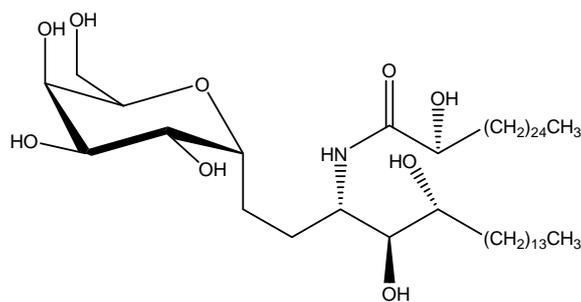
O impasse em relação aos fármacos no país é um forte entrave para o desenvolvimento da economia nacional. À medida que ambos os setores, universidade e indústria, perceberem o quão vantajoso pode ser para o Brasil que ambas caminhem lado a lado no desenvolvimento de novos remédios, certamente o país ganhará posição vantajosa no setor.

1.3 - Recentes Estudos na Química de Carboidratos

Nos últimos anos, o estudo da química dos carboidratos tem crescido de forma surpreendente, principalmente com relação à diversidade de aplicações biológicas desses compostos.

Um grupo da Kirin Pharmaceutical (YANG et al, 2004) estudou a ação de vários extratos da esponja *Agelas mauritanus* em cobaias. Foi observada uma potente atividade antitumoral, que está relacionada aos glicolípidos chamados *agelasphins* (**37**). Estudos de relação estrutura-atividade mostraram que um análogo mais simples destes glicopeptídeos como a substância **38** apresenta atividade imunoestimuladora frente ao câncer, malária, diabetes, tuberculose, tripanossomíases e outras doenças. Outros estudos foram realizados e foi observado que o derivado C-glicosídeo **39** possui excelente potencial como agente farmacêutico. Ele se mostrou ativo a 1ng contra a malária, sendo 1000 vezes mais ativo do que O-glicosídeo. Foi estudada a atividade frente a células de melanoma B16 que ataca os pulmões e se mostrou 100 vezes mais ativo a 10 ng do que o O-glicosídeo **38** (Figura 1.18).





39

FIGURA 1.18. Glicosídeos com atividade imunestimuladora.

A sacarose é uma matéria-prima de fonte renovável e de baixo-custo que vem despertando interesse como reagente na síntese de surfactantes não-iônicos, polímeros, adoçantes, emulsificantes, entre outros. No final da última década foi divulgado que menos de 2% da produção de açúcar dos Estados Unidos foram destinados a usos não alimentícios. Assim como os álcoois, a partir da sacarose pode-se obter ésteres, éteres, uretanas, além da possibilidade dos grupos hidroxila serem substituídos por hidrogênio, haletos, tióis, tiocianatos, tioacetatos, azidas e outros grupos monovalentes, implicando em modificações nas suas propriedades químicas, e podendo resultar em compostos de interesse tecnológico (BOSCOLO, 2003).

As bactérias orais estreptococci mutantes possuem um papel importante na iniciação da cárie dentária, porque suas glicosiltransferases sintetizam polissacarídeos a partir da sacarose permitindo a colonização na superfície do dente. Foram testados alguns ésteres graxos da sacarose (40), maltose (41) e maltotriose (42) (Figura 1.19) preparados por processos enzimáticos, que apresentaram capacidade inibitória de 100% (100 µg/mL) frente à bactéria *Streptococcus sobrinus*. Conseqüentemente esses derivados de carboidratos não tóxicos são muito promissores quanto a sua inclusão como produtos de higiene oral para o combate da placa bacteriana e prevenção das cáries (DEVULAPALLE et al., 2004).

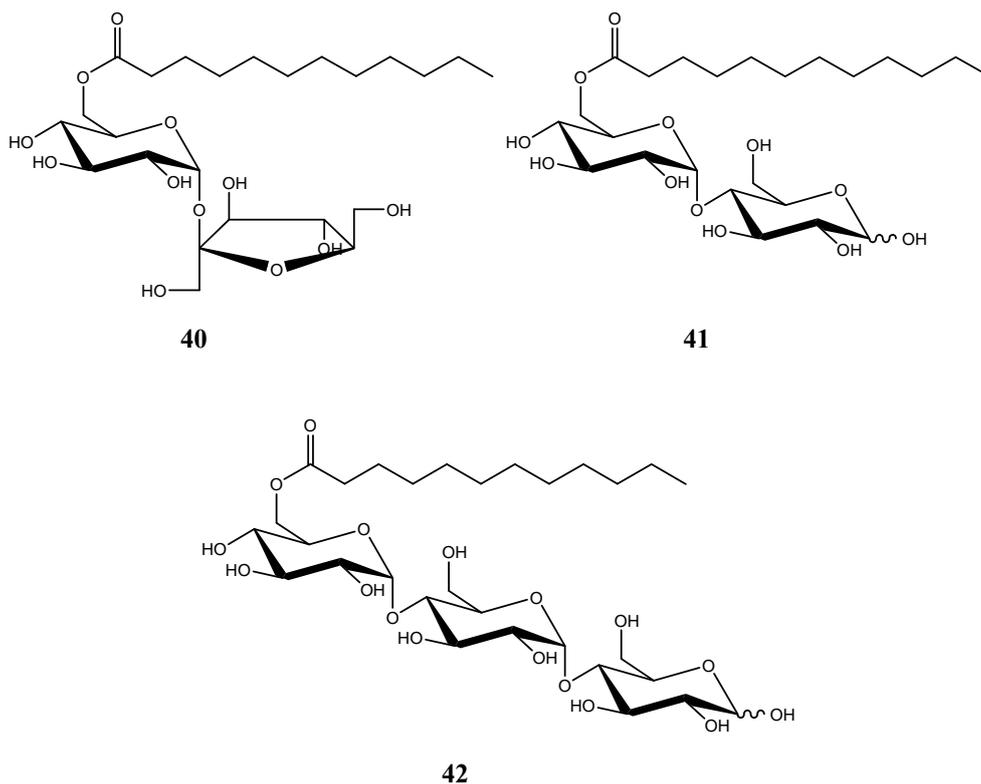


FIGURA 1.19. 6-O-Lauroil-sacarose (40), 6'-O-lauroil-maltose (41), 6''-O-lauroil-maltotriose (42).

Estudos recentes também apresentaram derivados da sacarose com ação inseticida como é o caso do palmitato da sacarose (43) que foi eficiente com relação à praga da mosca-branca (ALVES et al., 2003) e o octanoato da sacarose (44) efetivo contra algumas pragas como *Cacopsylla pyricola* da pêra, *Myzusnicotianae* sp. do tabaco e *Tetranychus urticae* da maçã (PUTERKA et al., 2003) (Figura 1.20).

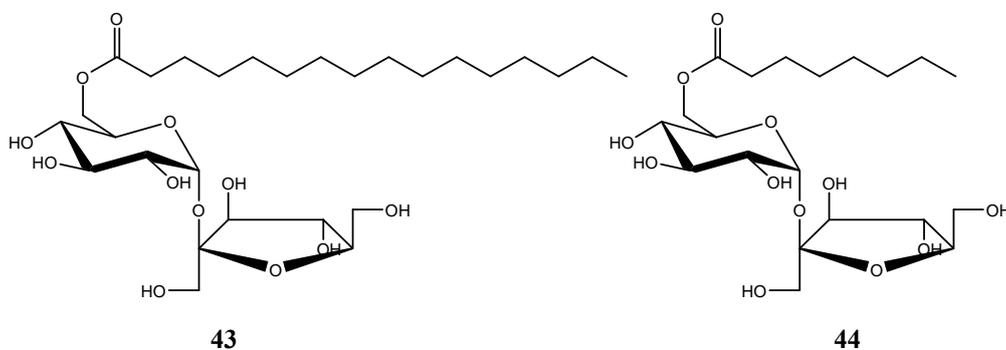


FIGURA 1.20. Ésteres graxos da sacarose com ação inseticida.

Alguns produtos naturais como os tetra- e trissacarídeos triclórin-A (45) e triclórin-F (46) possuem atividade antimicrobiana, citotóxica e herbicida (Figura 1.21) (BRITO-ARIAS et al., 2004).

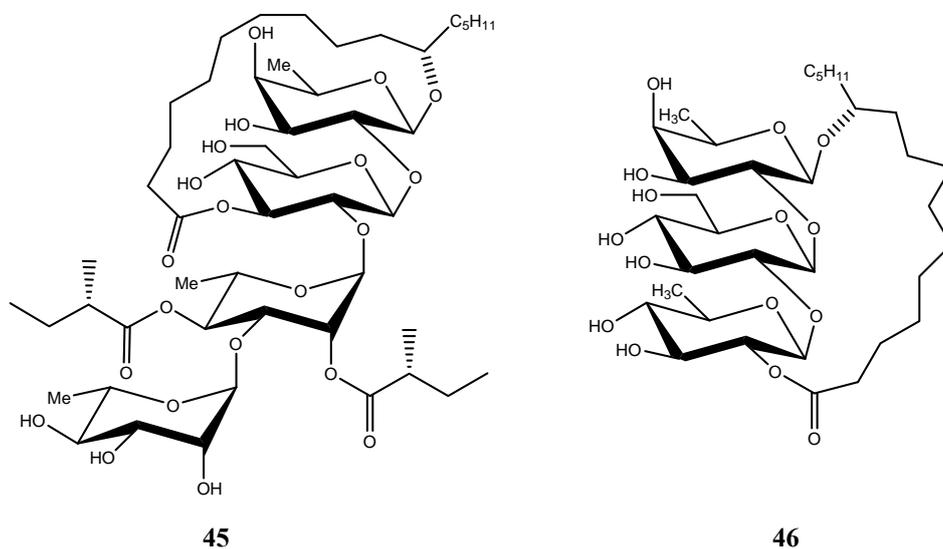


FIGURA 1.21. Triclórin-A (45) e triclórin-F (46).

O agente causador da leishmaniose, o parasita do gênero *Leishmania*, possui em sua superfície celular lipofosfoglicanas (LPG), que são constituídas de glicosilfosfatidilinositol (GPI), um dissacarídeo fosforilado que se repete, e diferentes oligossacarídeos (47). O tetrassacarídeo terminal ramificado no final da LPG constitui um alvo atraente para uma vacina. Este sacarídeo foi sintetizado e ligado covalentemente a uma proteína de transporte, *keyhole limpet hemocyanin* (KLH), para obtenção de uma vacina semissintética (48) que está em teste e tem mostrado bons resultados iniciais (Figura 1.22) (HEWITT et al., 2001).

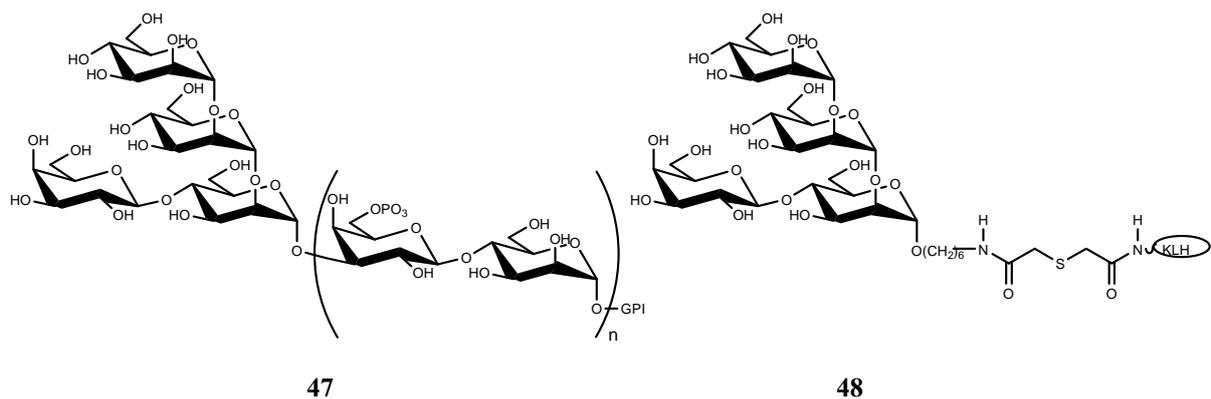


FIGURA 1.22. *Leishmania* LPG (47) e vacina semisintética (48).

A primeira vacina comercial de carboidrato sintético (49) foi aprovada em Cuba para uma bactéria que causa pneumonia e meningite principalmente em crianças (VERES-BENCOMO et al., 2004) (Figura 1.23).

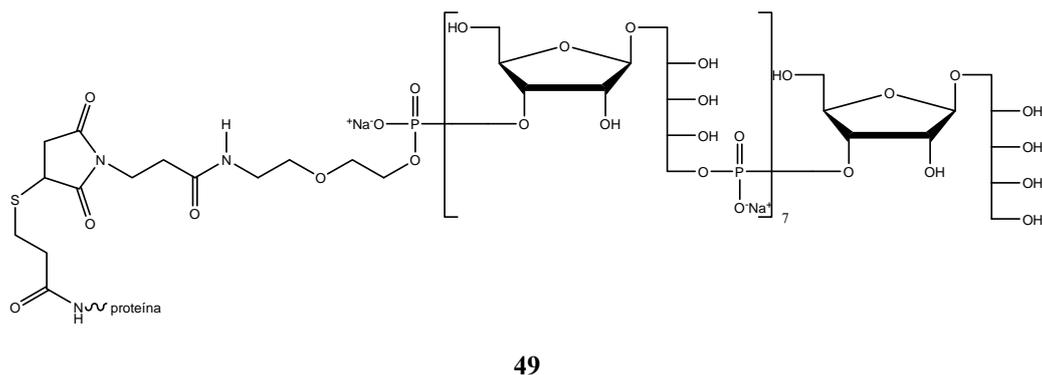


FIGURA 1.23. Primeira vacina comercial de carboidrato sintético (49).

A doença de Chagas é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, que é altamente dependente da glicólise para a produção de energia. A inibição de enzimas desse caminho metabólico pode privar o parasita da energia necessária para sua sobrevivência. A enzima glicossomal gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (gGAPDH) é um alvo atraente para o desenvolvimento de novos agentes tripanossomicidas. O Laboratório de Produtos Naturais do DQ-UFSCar vem realizando o isolamento de produtos naturais, monitorado pelos ensaios de inibição da enzima gGAPDH do *T. cruzi*. Dentre as substâncias que apresentaram atividade destacou-se uma fração *n*-

butanólica do extrato metanólico dos galhos da *Rapanea umbellata* que apresentou uma inibição da gGAPDH de 95-100% à 100 µg/mL. Esta fração foi testada na forma de uma mistura de 4 trissacarídeos (Figura 1.24).

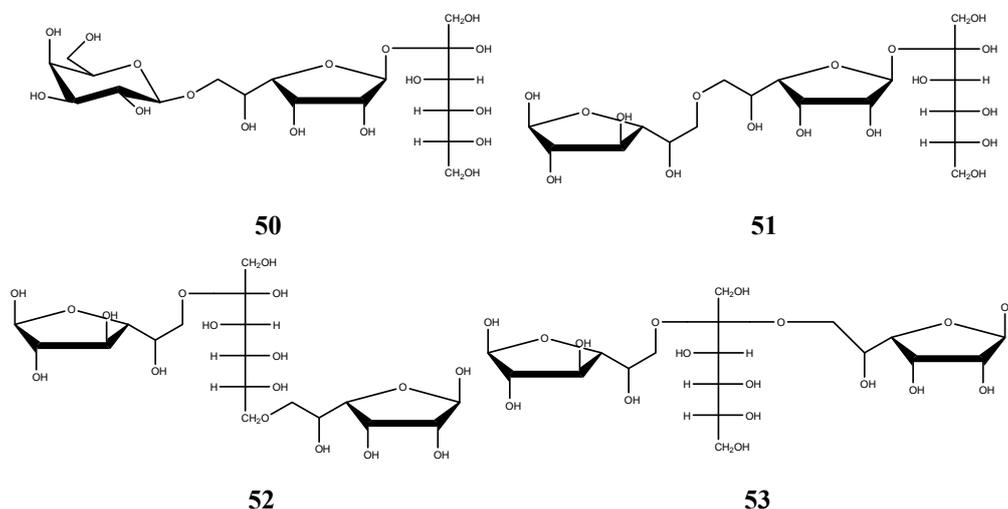


FIGURA 1.24. Mistura de 4 trissacarídeos.

O trissacarídeo **53** foi modelado por DOCK 3.5 e apresentou analogia estrutural com o NAD⁺ (Figura 1.25), acreditando-se então que este seria o composto ativo (PLACERES NETO, 2000).

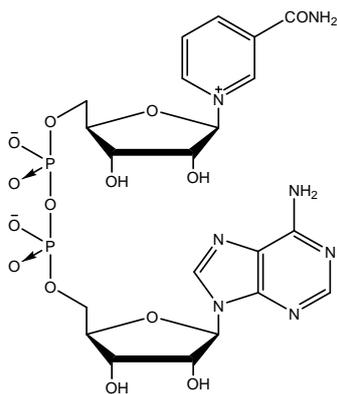


FIGURA 1.25. NAD⁺.

Estudos de derivados nucleosídicos (Figura 1.26) também levaram a bons resultados de inibição enzimática da gGAPDH de *T. cruzi* (LEITÃO et al., 2004).

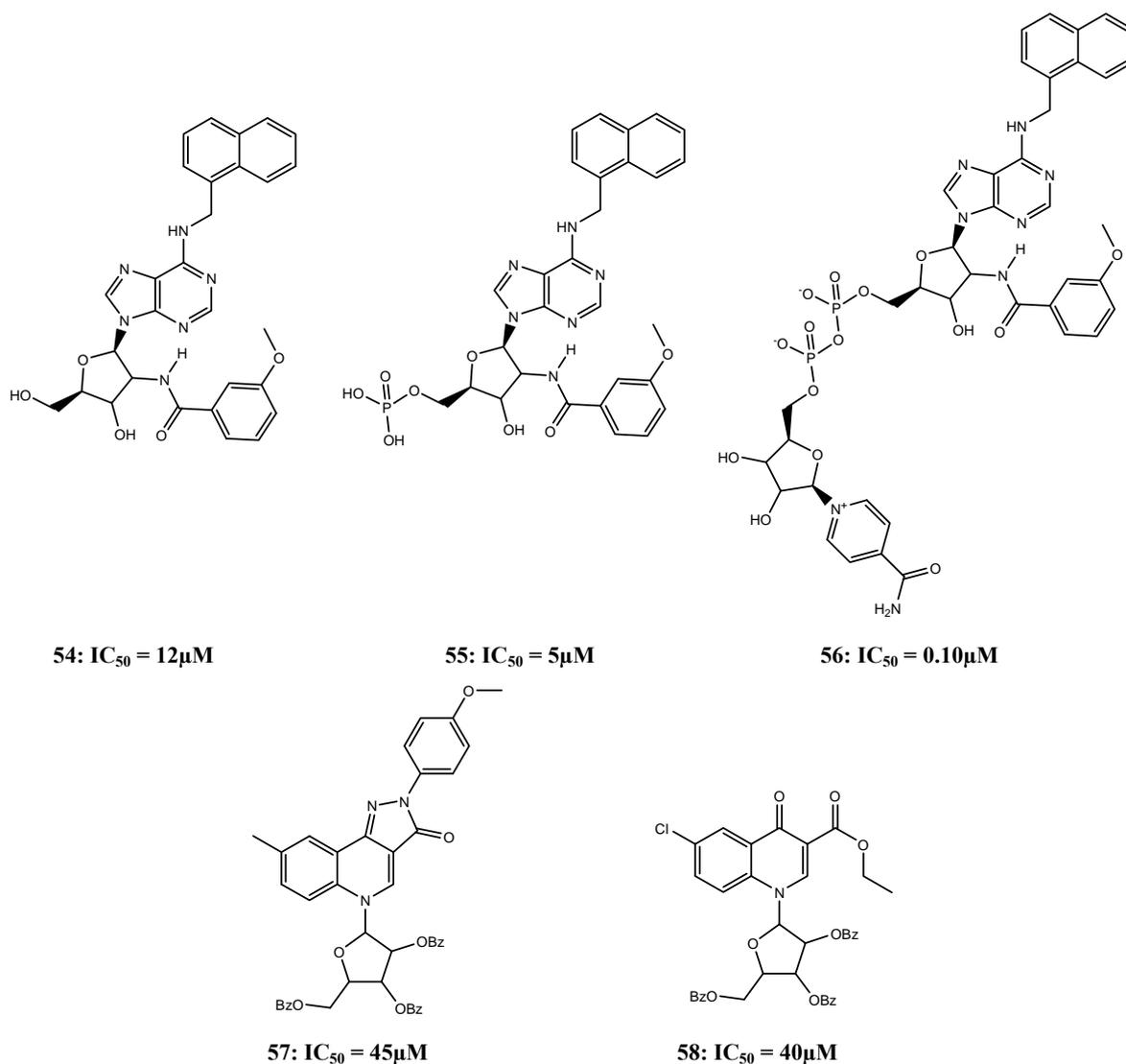


FIGURA 1.26. Nucleosídeos **54-58** com atividade tripanossomicida.

Em estudos com nucleosídeos derivados do pirazol observou-se boa atividade antitumoral, sendo que o produto **59** apresentou melhor atividade *in vitro* com IC₅₀ = 16.4μM com relação à leucemia humana (HL 60) (ABDOU et al., 2004). Encontra-se em realização estudos da atividade antiproliferativa e do mecanismo de ação de derivados de ácidos graxos da arabinofuranosilcitosina frente à leucemia e em células tumorais sólidas, podendo-se destacar o derivado do ácido eláidico (**60**). Os ácidos graxos auxiliariam no transporte celular (BERGMAN et al., 2004) (Figura 1.27).

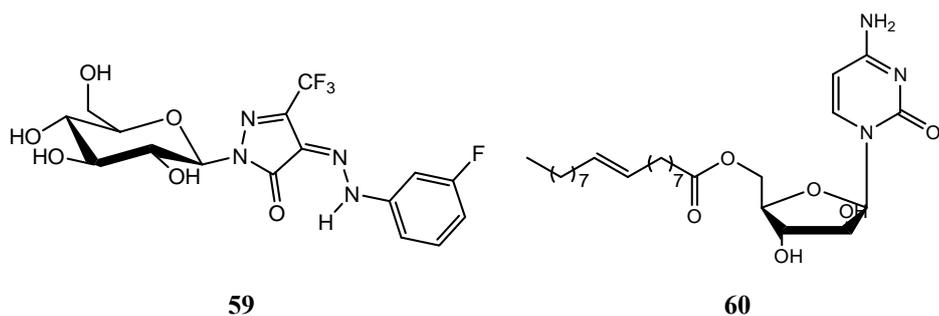


FIGURA 1.27. Nucleosídeos com atividade antitumoral.

Quinze nucleosídeos purínicos e seus ésteres derivados *O*-acetilados foram avaliados com relação à atividade tripanossomicida (*Trypanosoma brucei brucei* e *T. brucei rhodesiense*). Foi observado que a *O*-acetilação aumentou a atividade tripanossomicida *in vitro*. Em vários exemplos, a *O*-acetilação transformou nucleosídeos aparentemente inativos em compostos com significativa atividade, $IC_{50} \leq 25 \mu\text{M}$ (Figura 1.28) (SUFRIN et al., 1996).

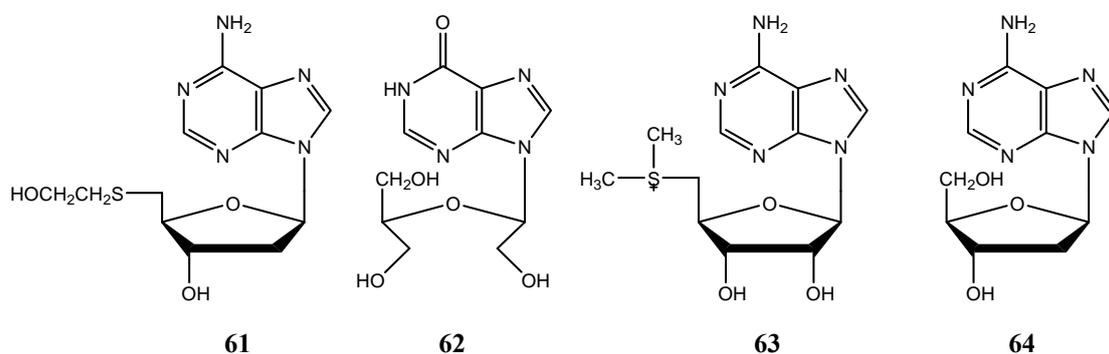


FIGURA 1.28. Nucleosídeos **61-64** inativos que após *O*-acetilação apresentaram atividade tripanossomicida.

Estudos preliminares frente ao vírus ortopox mostraram que análogos nucleosídicos do tipo ciclopentenil, particularmente derivados da adenina (**65**), citosina (**66**) e 5-F-citosina (**67**), possuem potente atividade antiviral (Figura 1.29) (CHU et al., 2003).

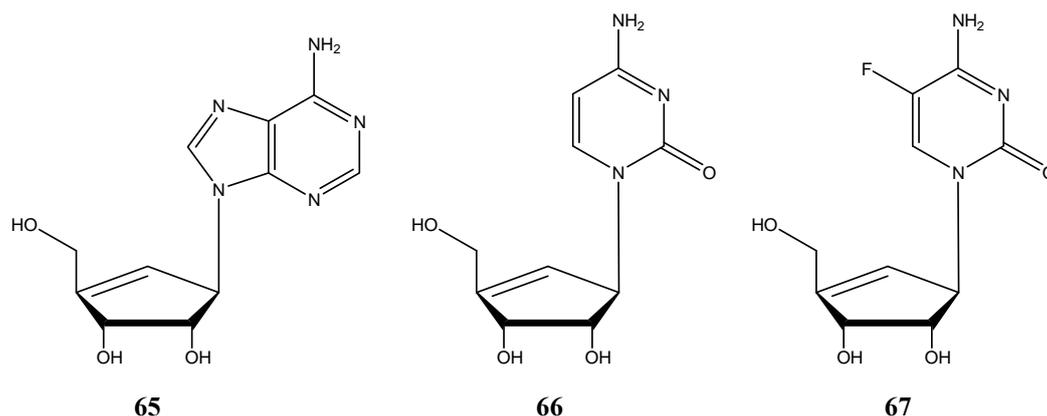


FIGURA 1.29. Nucleosídeos **65-67** com atividade antiviral.

O laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos (IFSC/USP) com o auxílio de técnicas computacionais, DOCK 3.5 encontrou possíveis inibidores da enzima gGAPDH de *T. cruzi* (PAVÃO, 1996). Dentre as substâncias apontadas pelos cálculos computacionais, encontra-se o nucleosídeo carbocíclico **68**. Este composto é formado pelo anel adenina ligado a um ciclopentano à semelhança da adenosina (Figura 1.30).

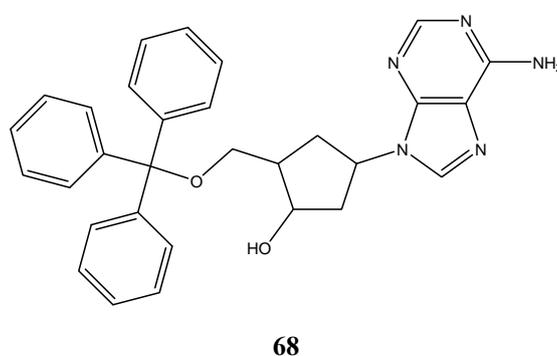


FIGURA 1.30. Nucleosídeo carbocíclico **68**.

OBJETIVOS

2 - Objetivos

Tendo em vista a importância dos carboidratos e nucleosídeos devido às suas inúmeras propriedades biológicas e/ou farmacológicas, esse trabalho teve como objetivo contribuir para o estudo da relação estrutura-atividade destas classes de compostos. Mais especificamente, os objetivos deste trabalho foram:

- Preparação de uma série de ésteres de açúcares derivados de ácidos graxos.
- Síntese do trissacarídeo **53** extraído dos galhos de *Rapanea umbellata*.
- Preparação de uma série de derivados de nucleosídeos e análogos.
- Síntese do nucleosídeo carbocíclico **68** proposto por DOCK 3.5.
- Avaliação das atividades biológicas dos compostos sintetizados através dos bioensaios disponíveis: atividade inibitória com relação às enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e APRT de *L. tarentolae*, atividade antimicrobiana.
- Avaliação da atividade inseticida frente à formiga *Atta sexdens*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3 - Resultados e Discussão

3.1 - Síntese dos ésteres de açúcares e ácidos graxos

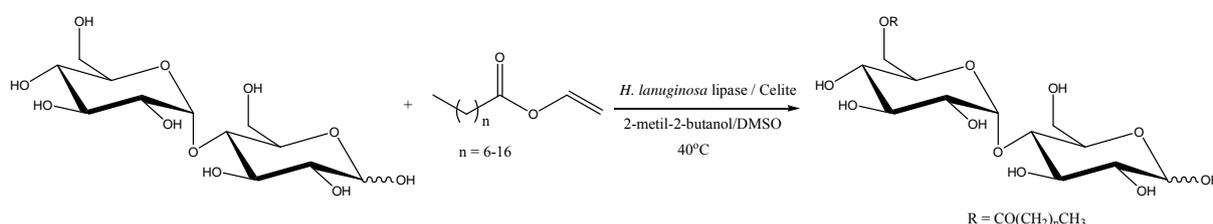
Na literatura, a maioria dos relatos com relação a esterificação de açúcares com ácidos graxos é referente à sacarose, principalmente por seus derivados serem empregados na indústria. Dois pontos são importantes nos casos das reações envolvendo a sacarose como poliálcool, o primeiro é o controle do grau de substituição. Esta seletividade é crítica, desde que o grau de substituição é intimamente relacionado à natureza da aplicação industrial dos compostos. Por exemplo, diferentes tipos de emulsão são obtidos dependendo da distribuição da substituição dos ésteres de ácidos graxos da sacarose. A regioseletividade é o segundo ponto importante. Mesmo com propriedades físico-químicas similares, regioisômeros podem ser diferentes em sua toxicidade, cheiro, sabor ou biodegradabilidade.

Existem vários processos para a preparação desses ésteres, como por exemplo, a reação de transesterificação da sacarose com estearato de metila em dimetil formamida (DMF) na presença de catalisador como carbonato de potássio, obtendo-se o produto com 60-75% de rendimento. O problema básico é a purificação da mistura reacional. Os produtos da reação são extremamente viscosos contendo açúcares parcialmente decompostos e solventes. Uma alternativa é o uso de dimetilsulfóxido e H_2SO_4 como catalisador (FARONE et al, 1998).

Na tentativa de eliminar o uso de solventes orgânicos, a sacarose foi misturada com estearato de metila e estearato de sódio, usando como catalisador carbonato de potássio e água como solvente. Os rendimentos foram baixos 30-35%, tendo maior perda e produtos de decomposição.

O estudo da síntese do octanoato do xilitol e do sorbitol, sem solvente na presença de H_2SO_4 ou H_3PO_4 como catalisador, levou a obtenção dos ésteres com rendimento de 80-90% (FARONE et al., 2002).

Uma alternativa é a reação enzimática que é bastante seletiva. Como exemplo temos a transesterificação de di- e trissacarídeos com ésteres vinílicos, usando a lipase da *Humicola lanuginosa* (imobilizada em Celite), obtendo-se a acilação na hidroxila primária da porção glicose com rendimentos de 21-90% (Esquema 3.1) (FERRER et al, 2000).



ESQUEMA 3.1. Reação de transesterificação enzimática.

Para a preparação dos ésteres desejados foram realizados vários testes usando diferentes metodologias, resumidas na Tabela 3.1.



TABELA 3.1. - Tentativa de obtenção dos ésteres

Teste	Ácido graxo	açúcar	Condições	Temp. (°C)
1	Esteárico	Manose	H_3PO_4	150
2	Esteárico	Galactose	H_3PO_4	150
3	Estearato de metila	Manose	K_2CO_3 / DMSO	95
4	Cl. de estearoíla	Manose	CH_2Cl_2 /Benzeno/Pir.	t.a.
5	Cl. de estearoíla	Manose	Et_3N / DMF	t.a.
6	Cl. de estearoíla	Glicose	Et_3N / DMF	t.a.

Os testes 1 e 2 envolveram a reação de esterificação do ácido esteárico com a manose e a galactose em presença de ácido fosfórico (FARONE et

al., 2002), o meio reacional foi mantido à 150°C por 28 horas, não ocorrendo nenhuma reação, recuperando-se os materiais de partida.

No teste 3, primeiramente foi realizada a esterificação do ácido esteárico com metanol em meio ácido (FARONE et al., 1998 e 2002) para a obtenção do respectivo éster metílico. Em seguida foi feita a reação de transesterificação do estearato de metila com a manose em DMSO na presença de K₂CO₃. O meio reacional foi mantido à 95°C por 24 horas, não ocorrendo nenhuma reação, sendo apenas observados os materiais de partida (FARONE et al., 1998 e 2002).

Uma alternativa, teste 4, foi a preparação do éster a partir do respectivo cloreto de ácido (EFREMOVA et al, 2000). O cloreto de estearoíla foi reagido com a manose em CH₂Cl₂ e benzeno, na presença de piridina sob atmosfera de nitrogênio (EFREMOVA et al., 2000), recuperando-se os materiais de partida.

Nos testes 5 e 6, fez-se a reação de esterificação do cloreto de estearoíla com a manose e a glicose em DMF na presença de trietilamina, sob atmosfera de nitrogênio (ZHAI et al, 2003), sendo observados apenas os materiais de partida.

No trabalho realizado por THÉVENET et al (1999) com a esterificação da sacarose com cloreto de octanoíla foi estudado a monoacilação em meio aquoso com reagentes sensíveis a água como cloreto de ácidos e cloroformatos de alquila. Levando a possibilidade do uso de água como um solvente alternativo para a esterificação da sacarose ao invés de solventes orgânicos como DMF, DMSO ou piridina. Por fim, a reação do cloreto de estearoíla (**69**) e cloreto de palmoíla (**70**) com os açúcares desejados foi feita em meio aquoso na presença de DMAP em meio básico. As reações foram realizadas com a glicose (**7**), manose (**71**), galactose (**72**) e frutose (**73**) (Figura 3.1).

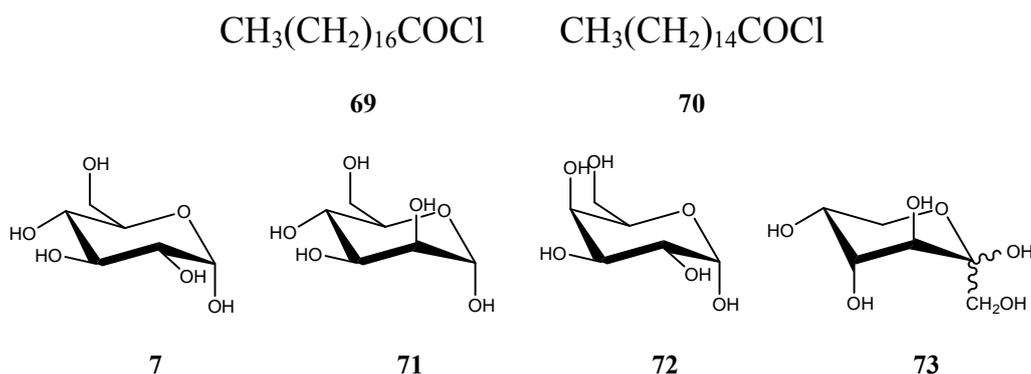


FIGURA 3.1. Cloretos de estearoíla (**69**) e palmoíla (**70**), glicose (**7**), manose (**71**), galactose (**72**) e frutose (**73**).

Após 30 minutos as reações haviam terminado. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia rápida (70-230 mesh), usando como eluente uma mistura de CH_2Cl_2 :MeOH (9:1) (Tabela 3.2).

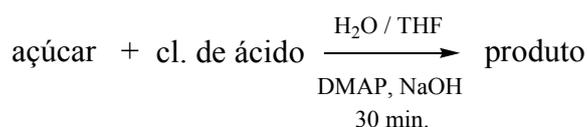


TABELA 3.2. - Reação de esterificação com cloreto de ácido.

Açúcar	Cl. de ácido	Produto	Rend. (%)
Glicose	Estearoíla	Monoestearato da glicose	30
Manose	Estearoíla	Monoestearato da manose	35
Galactose	Estearoíla	Monoestearato da galactose	30
Frutose	Estearoíla	Monoestearato da frutose	32
Glicose	Palmoíla	Monopalmitato da glicose	45
Manose	Palmoíla	Monopalmitato da manose	40
Galactose	Palmoíla	Monopalmitato da galactose	42
Frutose	Palmoíla	Monopalmitato da frutose	33

Nessa reação podemos observar alguns pontos importantes: a utilização da mistura água:THF (1:1) diminui o efeito hidrofóbico com relação ao ácido graxo. A reação é realizada com uma alta concentração do açúcar na solução (60% p/p) e o cloreto de ácido é adicionado lentamente, favorecendo a

formação do produto de esterificação monossustituído. O uso de DMAP diminui a tendência de polissustituição, a formação de espécies acilpiridina aumenta a razão de acilação, mas não a razão de saponificação. Os rendimentos de 30-45% são moderados, pois a reação tem como subproduto o açúcar polissustituído (15-20%) e como é realizada em meio aquoso ocorre uma reação competitiva de hidrólise do cloreto de ácido.

Os produtos de esterificação foram caracterizados por métodos espectroscópicos:

- 6-*O*-Estearoil-D-glicopiranosose (**74**): no espectro de RMN ^1H foi observado um dubleto em 5.32 ppm ($J = 8$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um tripleto em 0.84 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 171.8 e 94.1 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.3). O espectro bidimensional de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}}$] (HSQC) permitiu o assinalamento dos deslocamentos entre 4.54-5.22 ppm como os sinais referentes aos hidrogênios das hidroxilas, pois estes não apresentavam correlação com nenhum carbono. Nos álcoois o deslocamento do próton depende da concentração, temperatura e solvente. O uso de DMSO ou acetona reduz a velocidade de troca, deslocando o próton da hidroxila para campo mais baixo mesmo em solução diluída pela formação de ponte de hidrogênio entre soluto e solvente. Nestas condições o próton hidroxílico pode observar os prótons do carbono α (SILVERSTEIN et al, 1994).

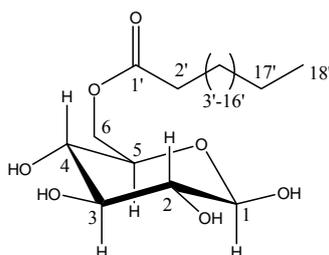


TABELA 3.3. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da glicopirranose **74** (DMSO- D_6).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	5.34 (d, 8)	94.1
2	3.07-3.24 (m)	72.4
3	3.07-3.24 (m)	76.4
4	3.07-3.24 (m)	69.5
5	3.07-3.24 (m)	77.8
6	3.64 (dd, 10, 5)	60.5
1'	-	171.8
2'	2.33 (t, 7)	33.6
3'-16'	1.24 (sl)	24.1, 28.4, 28.6, 28.7, 28.8, 29.0 (8), 31.2
17'	1.49-1.54 (m)	22.0
18'	0.85 (t, 7)	13.9
OH (1-4)	4.54 (t, 5), 4.99 (d, 5), 5.08 (d, 5), 5.22 (d, 5)	-

- 6-*O*-Estearoil-D-manopirranose (**75**): no espectro de RMN ^1H foi observado um dubleto em 5.84 ppm ($J = 2$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um tripleto em 0.85 ppm ($J = 6$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 171.4 e 93.8 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente. No espectro de I.V. foi observada a absorção em 1739 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ da carbonila do grupo éster (Tabela 3.4).

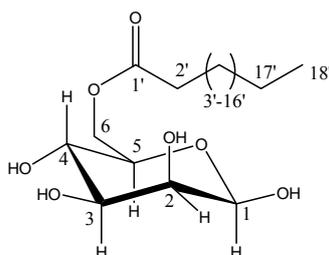


TABELA 3.4. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da manopiranosose **75** (DMSO- D_6).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	5.84 (d, 2)	93.8
2	3.25-3.35 (m)*	69.3
3	3.25-3.35 (m)*	70.6
4	3.25-3.35 (m)*	66.2
5	3.25-3.35 (m)*	76.4
6	3.57-3.62 (m)	60.8
1'	-	171.4
2'	2.32 (t, 7)	33.7
3'-16'	1.24 (sl)	24.4, 28.4, 28.7 (2), 28.9, 29.1 (8), 31.3
17'	1.49-1.55 (m)	22.1
18'	0.85 (t, 6)	14.0
OH (1-4)	4.52 (t, 6), 4.74 (d, 5), 4.88 (d, 5), 5.11 (d, 4)	-

* sinais junto com a água do DMSO- D_6 .

- 6-*O*-Estearoil-*D*-galactopiranosose (**76**): no espectro de RMN ^1H foi observado um duplete em 5.30 ppm ($J = 7$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um tripleto em 0.85 ppm ($J = 6$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 171.9 e 94.7 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.5).

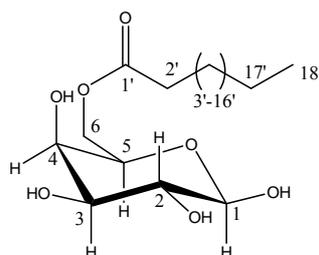


TABELA 3.5. -Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da galactopiranosose **76** (DMSO- D_6).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	5.30 (d, 7)	94.7
2	3.25-3.47 (m)*	69.4
3	3.25-3.47 (m)*	73.1
4	3.25-3.47 (m)*	67.9
5	3.25-3.47 (m)*	76.1
6	3.65-3.70 (m)	60.1
1'	-	171.9
2'	2.33 (t, 7)	33.4
3'-16'	1.24 (sl)	24.1, 28.4, 28.7 (2), 28.9, 29.0 (8), 31.3
17'	1.49-1.62 (m)	22.1
18'	0.85 (t, 7)	13.9
OH (1-4)	4.49-4.52 (m), 4.55-4.64 (m), 4.82- 4.85 (m), 5.04-5.06 (m)	-

* sinais junto com a água do DMSO- D_6 .

- 6-*O*-Estearoil-D-frutopiranosose (**77**): no espectro de RMN ^1H foi observado um tripleto em 0.88 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 174.7 e 96.9 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.6).

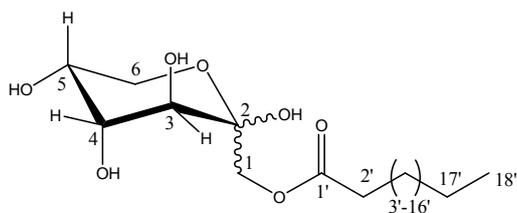


TABELA 3.6. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da frutopiranosose **77** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	3.70-4.26 (m)	66.5
2	-	96.9
3	3.70-4.26 (m)	69.3
4	3.70-4.26 (m)	70.5
5	3.70-4.26 (m)	69.7
6	3.70-4.26 (m)	63.5
1'	-	174.7
2'	2.29-2.42 (m)	34.1
3'-16'	1.26 (sl)	24.8, 29.4 (2), 29.7 (10), 31.9
17'	1.55-1.68 (m)	22.7
18'	0.88 (t, 7)	14.1

- 6-*O*-Palmitoil-D-glicopiranosose (**78**): no espectro de RMN ^1H foi observado um dubleto em 4.90 ppm ($J = 3$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um tripleto em 0.85 ppm ($J = 6$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 172.9 e 92.3 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.7).

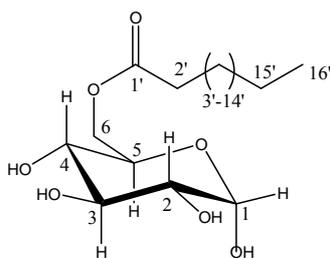


TABELA 3.7. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da glicopirranose **78** (DMSO- D_6).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	4.90 (d, 3)	92.3
2	2.99-3.15 (m)	70.5
3	2.99-3.15 (m)	72.2
4	2.99-3.15 (m)	69.1
5	2.99-3.15 (m)	72.8
6	3.43 (dd, 9, 2)	63.9
1'	-	172.9
2'	2.14-2.31 (m)	33.9
3'-14'	1.24 (sl)	24.5, 28.4, 28.5, 28.6, 28.7, 28.9, 29.0 (4), 31.3, 33.4
15'	1.48-1.51 (m)	22.1
16'	0.85 (t, 6)	13.9
OH (1-4)	3.74 (d, 5), 3.79 (d,5), 4.0 (t, 5), 4.26 (d, 11)	-

- 6-*O*-Palmitoil-D-manopirranose (**79**): no espectro de RMN ^1H foi observado um dubleto em 5.84 ppm ($J = 2$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um triplete em 0.85 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 171.4 e 93.8 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.8).

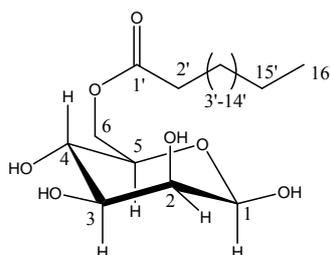


TABELA 3.8. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da manopiranosose **79** (DMSO- D_6).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	5.84 (d, 2)	93.8
2	3.25-3.50 (m)*	69.2
3	3.25-3.50 (m)*	70.6
4	3.25-3.50 (m)*	66.2
5	3.25-3.50 (m)*	76.3
6	3.54-3.60 (m)	60.8
1'	-	171.3
2'	2.32 (t, 7)	33.6
3'-14'	1.24 (sl)	24.3, 28.3, 28.6 (3), 28.8, 29.0 (5), 31.2
15'	1.49-1.52 (m)	22.0
16'	0.85 (t, 6)	13.9
OH (1-4)	4.45-4.59 (m), 4.82-4.91 (m), 5.06-5.18 (m)	-

* sinais junto com a água do DMSO- D_6 .

- 6-*O*-Palmitoil-D-galactopiranosose (**80**): no espectro de RMN ^1H foi observado um dubleto em 4.94 ppm ($J = 4$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e um tripleto em 0.85 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 172.9 e 92.6 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.9).

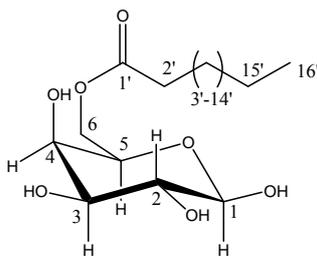


TABELA 3.9. -Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da galactopiranosose **80** (DMSO- D_6).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	4.93 (d, 4)	92.6
2	3.25-3.55 (m)*	68.5
3	3.25-3.55 (m)*	69.0
4	3.25-3.55 (m)*	69.3
5	3.25-3.55 (m)*	76.1
6	3.63-3.69 (m)	64.0
1'	-	173.0
2'	2.27 (t, 6)	33.4
3'-14'	1.24 (sl)	24.5, 28.5, 28.7 (3), 28.9, 29.1 (5), 31.3
15'	1.43-1.59 (m)	22.1
16'	0.85 (t, 6)	14.0
OH (1-4)	3.99 (d, 4), 4.06 (d, 4), 4.35 (d, 4), 4.55 (d, 4)	-

* sinais junto com a água do DMSO- D_6 .

- 6-*O*-Palmitoil-D-frutopiranosose (**81**): no espectro de RMN ^1H foi observado um tripleto em 0.87 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou os deslocamentos em 174.7 e 96.9 ppm referente à carbonila do grupo éster e ao carbono anomérico, respectivamente (Tabela 3.10).

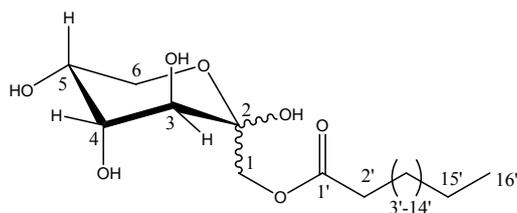


TABELA 3.10. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da frutopiranosose **81** (DMSO- D_6).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	3.70-4.25 (m)	66.5
2	-	96.9
3	3.70-4.25 (m)	68.7
4	3.70-4.25 (m)	70.4
5	3.70-4.25 (m)	69.2
6	3.70-4.25 (m)	64.6
1'	-	174.7
2'	2.33 (t, 7)	34.1
3'-14'	1.25 (sl)	24.7, 24.8, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4 (2), 29.7 (4), 31.9
15'	1.59-1.62 (m)	22.7
16'	0.87 (t, 7)	14.1

3.2 - Tentativa de síntese da β -L-manofuranosil(6 \rightarrow 2)-frutossil (2 \rightarrow 6)- β -L-galactofuranose (**53**)

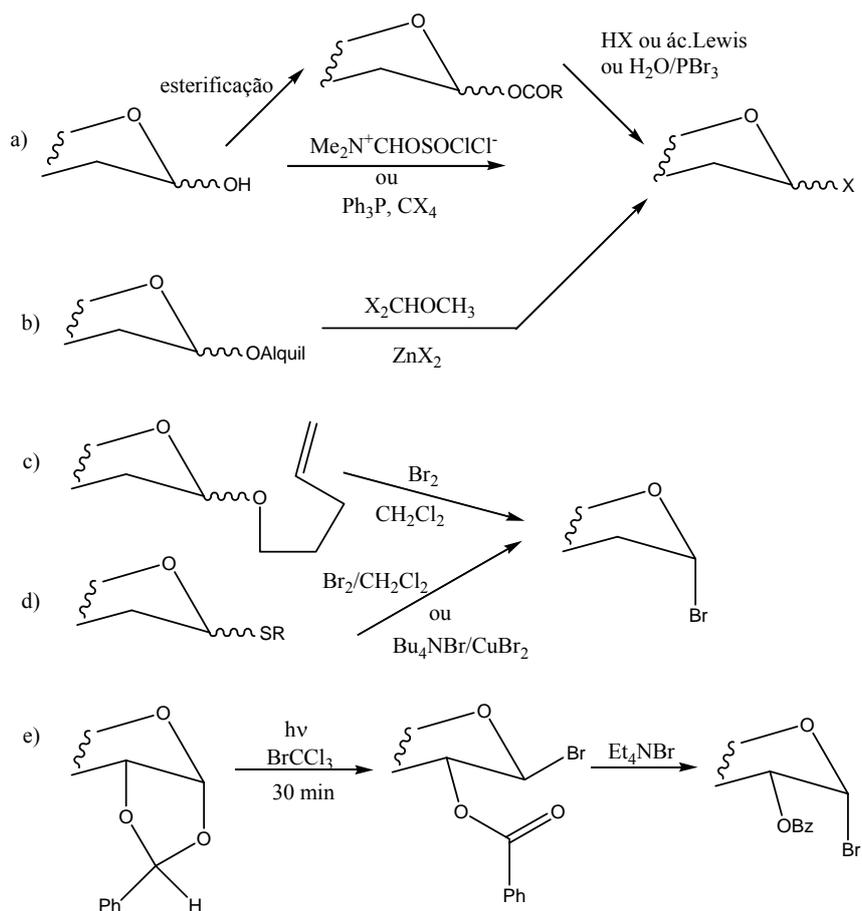
O grande interesse que a química dos carboidratos despertou na última década ajudou a focalizar a atenção nas dificuldades associadas com a síntese química dos oligossacarídeos. Muito esforço tem sido empregado para o desenvolvimento de novos doadores glicosila. Podemos destacar quatro doadores glicosila onde os grupos de saída anoméricos são haleto, tricloroacetimidato, alquila e 4-penteniloxi.

3.2.1 - Brometos e cloretos de glicosila

Na literatura, uma variedade de haleto de glicosila tem sido preparada e suas reatividades foram como esperadas: iodo > bromo > cloro >

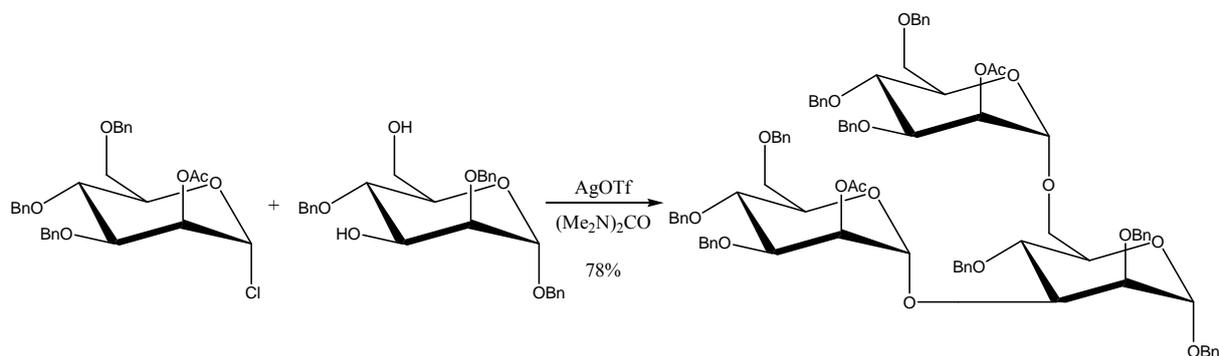
flúor. Os iodetos de glicosila são tão reativos que o isolamento é problemático; por isso, são raramente utilizados. Por outro lado, os fluoretos são muito estáveis e requerem uma ativação especial. Embora os brometos, e particularmente os cloretos, são às vezes estáveis o suficiente para sobreviver por uma purificação cromatográfica, é usual prepará-los e usá-los diretamente.

A conversão direta do carbono anomérico no haleto pode ser realizada pelo uso de ácido de Lewis (STANEK et al., 1963). O uso de reagentes do tipo Vilsmeier, gerado *in situ* a partir de DMF e cloreto de oxalila ou cloreto de tionila, é muito popular para a cloração direta (NUKADA et al., 1992 e PAULSEN e HÖFFGEN, 1993). Reações de halogenação com trifenilfosfina também foram estudadas (Esquema 3.2.a). A conversão de alquil glicosila em haletos com o uso de X_2CHOCH_3/ZnX_2 foi desenvolvida por GROSS et al. (1978). Essa metodologia tem sido aplicada com grande sucesso para oligossacarídeos complexos (Esquema 3.2.b) (IVERSEN e BUNDLE, 1981, 1982). O uso de *n*-pentenil derivados ou alquil tioglicosídeos como material de partida também é empregado (Esquema 3.2.c) (FÜGEDI et al., 1987). Uma nova metodologia é o uso de fotobromação de 1,2-*O*-benzilideno derivados (Esquema 3.2.d) (COLLINS e ALI, 1990).



ESQUEMA 3.2. Preparação de haletos de glicosila.

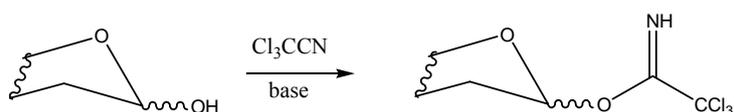
As reações de acoplamento podem ser realizadas na presença de sais de prata devido à homogeneidade do meio reacional, para a obtenção do trissacarídeo (Esquema 3.3) (NUKADA et al., 1992).



ESQUEMA 3.3. Reação de acoplamento com haleto de glicosila.

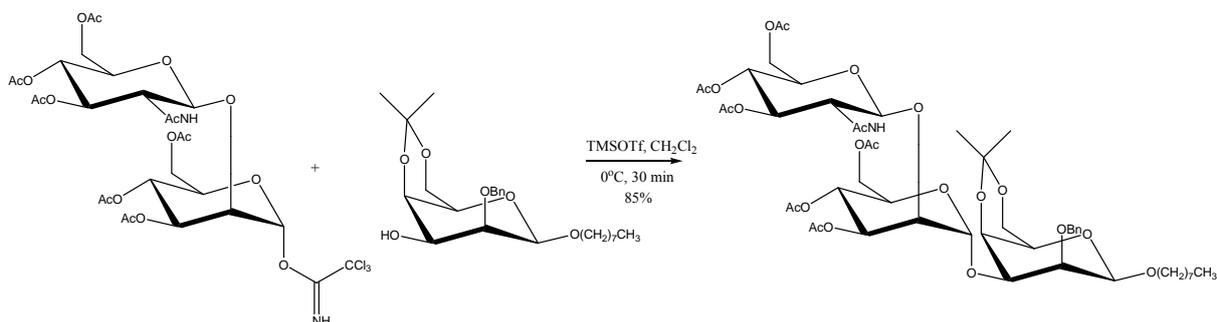
3.2.2 - Tricloroacetimidato de glicosila

Imidatos de glicosila foram introduzidos em 1978. Os tricloroacetimidatos são normalmente preparados a partir do hemiacetal correspondente pela reação catalisada com tricloroacetnitrila e diclorometano como solvente (Esquema 3.4).



ESQUEMA 3.4. Preparação do tricloroacetimidato de glicosila.

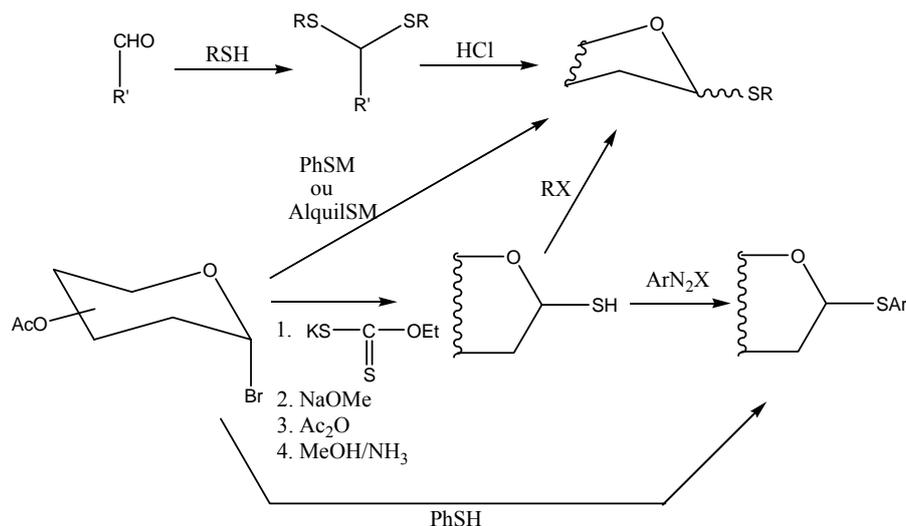
A reação de acoplamento de tricloroacetimidatos é realizada normalmente na presença de ácidos de Lewis, usualmente o trimetilsilil trifluormetanossulfonato (TMSOTf) e o trifluoreto de boro eterato (Esquema 3.5.) (PAULSEN et al, 1990 e 1993).



ESQUEMA 3.5. Reação de acoplamento com tricloroacetimidato de glicosila.

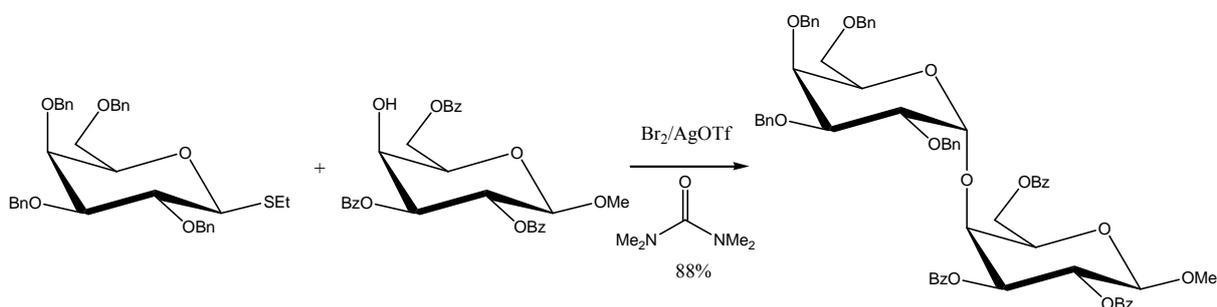
3.2.3 - Tioglicosídeos

Os tioglicosídeos são os primeiros a serem estudados em que a aglicona atua tanto como proteção anomérica como ativador. FISHER e DELBRÜCK (1909) relataram pela primeira vez a síntese de um tioglicosídeo (Esquema 3.6). Pode-se notar que a reação de uma aldose sob condições normalmente usadas com álcoois para a glicosilação de Fisher resulta no ditioacetal. Esta reação é um dos procedimentos mais confiáveis para a preparação de derivados acíclicos das aldoses.



ESQUEMA 3.6. Preparação de tioglicosídeos.

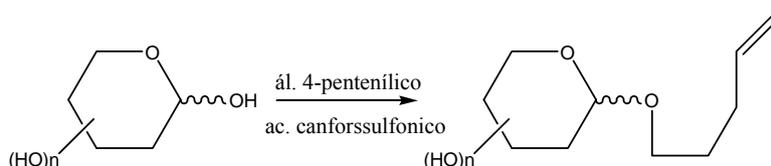
Uma das metodologias de maior sucesso para a ativação do tioglicosídeo é através da utilização de triflatos (BOCK et al, 1992) (Esquema 3.7).



ESQUEMA 3.7. Reação de acoplamento com tioglicosídeo.

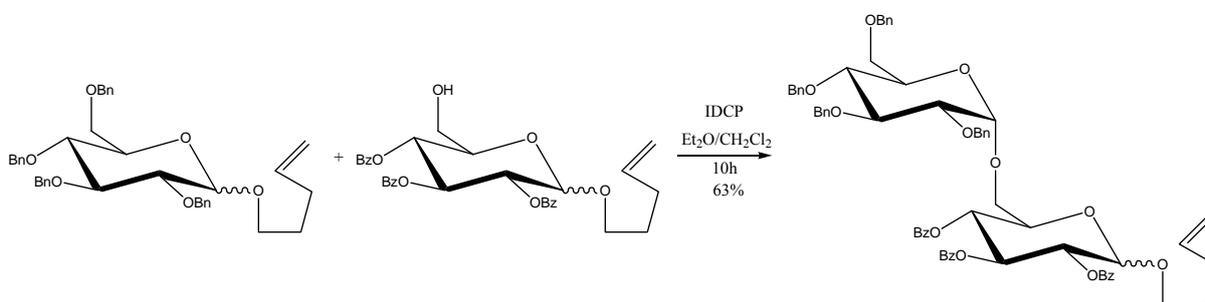
3.2.4 - Glicosídeos de *n*-pentenila

O grupo *n*-pentenila protege o centro anomérico durante as várias transformações químicas, sendo um bom grupo de saída quando necessário. A preparação envolve o tratamento da aldose com álcool 4-pentenílico e ácido canforssulfônico como catalisador (Esquema 3.8) (FRASER-REID et al., 1992 e KONRADSON et al., 1991).



ESQUEMA 3.8. Preparação de glicosídeos de *n*-pentenila.

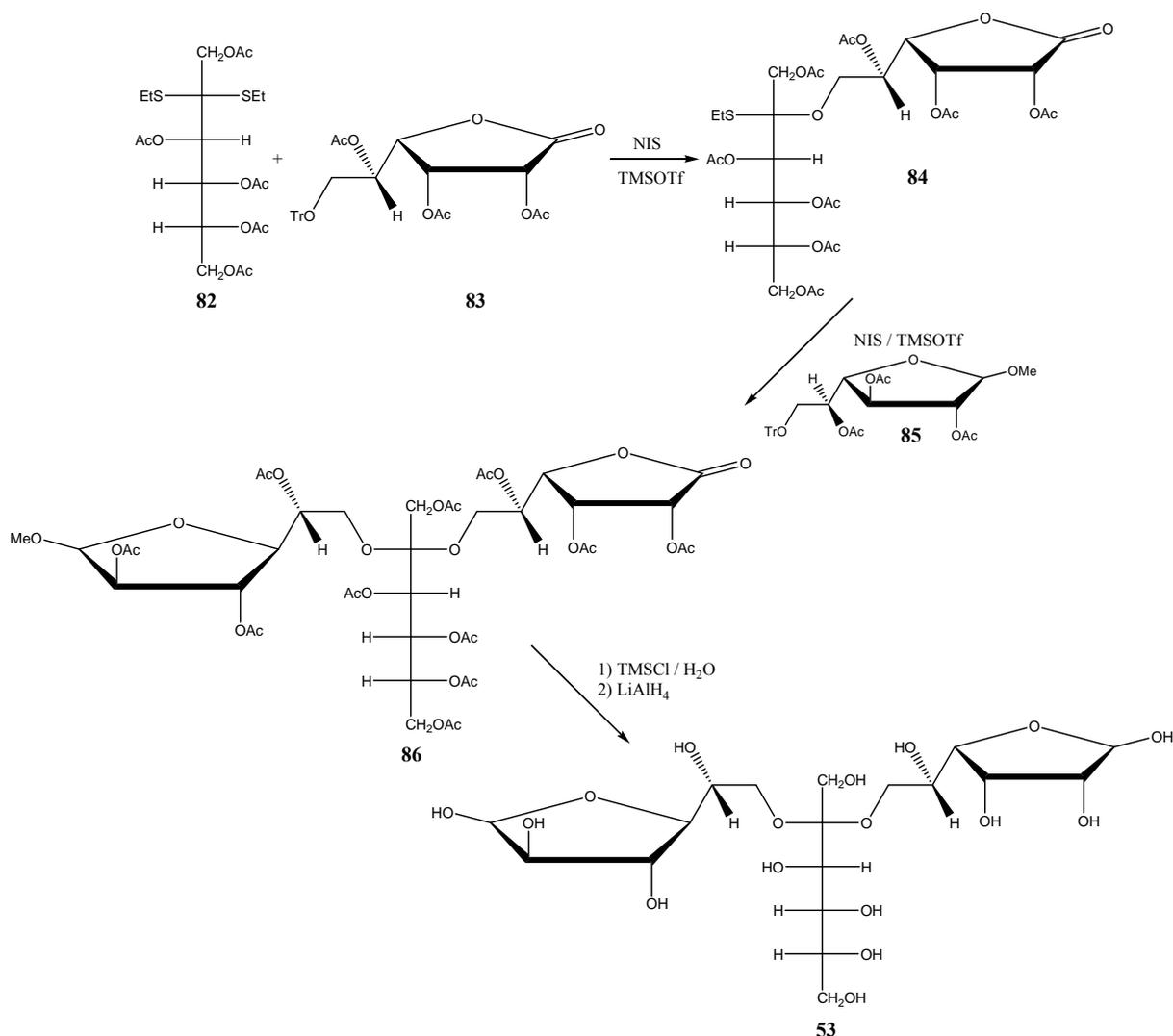
A reação de glicosídeos de *n*-pentenila é normalmente lenta levando horas ou dias para se completar. A adição de ácidos de Lewis aumenta a velocidade reacional, podendo ser utilizado o IDCP (Esquema 3.9) (RATCLIFFE et al., 1990, 1991).



ESQUEMA 3.9. Reação de acoplamento com glicosídeos de *n*-pentenila.

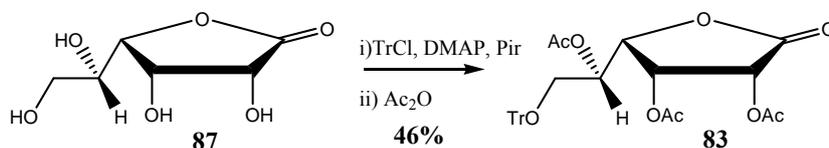
3.2.5 - Proposta sintética para o trissacarídeo 53

A nossa proposta sintética para a obtenção do trissacarídeo **53** foi baseada na metodologia que utiliza os tioglicosídeos para a preparação de derivados acíclicos das aldoses. A primeira etapa é a proteção seletiva dos monossacarídeos correspondentes para posteriores reações de acoplamento. A etapa-chave é o acoplamento dos sacarídeos **82**, **83** e **85**, em presença de N-iodosuccinimida e trimetilsilil triflato, levando a obtenção primeiramente do dissacarídeo e em seguida o trissacarídeo desejado (Esquema 3.10).



3.2.5.1 - Obtenção da 2,3,5-tri-*O*-acetil-6-*O*-tritol-L-manose- γ -lactona (**83**)

A estratégia para a proteção seletiva da lactona **87** envolveu primeiramente a reação do álcool primário protegido e cloreto de tritila, com quantidade catalítica de DMAP em piridina e em seguida as demais hidroxilas foram acetiladas com anidrido acético (KHAN et al, 1996 e DU et al., 2000) (Esquema 3.11).



O produto obtido foi caracterizado pelo espectro de RMN ^1H e ^{13}C , e I.V.. O espectro de RMN ^1H apresentou deslocamentos na região aromática entre 7.43-7.23 ppm referentes aos hidrogênios do grupo tritila e três singletos em 2.14, 2.06 e 2.05 ppm referentes às três metilas do grupo acetila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos referentes às metilas do grupo acetila em 20.6, 20.2 e 20.1 ppm, em 169.2 ppm referente às carboxilas dos grupos acetilas e sinais referentes aos carbonos aromáticos em 143.4, 128.6, 127.9 e 127.2 ppm (Tabela 3.11).

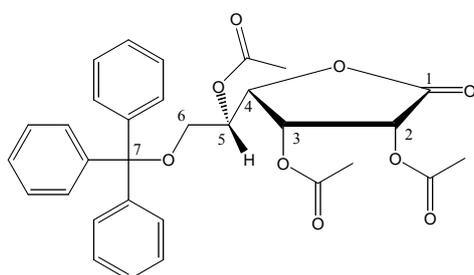


TABELA 3.11. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da lactona **83** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	169.2
2	5.71 (d, 4)	68.1 ou 68.2 ou 68.5
3	5.78 (dd, 4, 2)	67.1
4	4.49 (dd, 10, 4)	68.1 ou 68.2 ou 68.5
5	5.23-5.30 (m)	68.1 ou 68.2 ou 68.5
6	a - 3.49 (dd, 10, 2) b - 3.33 (dd, 12, 4)	61.9
7	-	74.8
(CO)CH ₃	2.15 (s), 2.06 (s), 2.05 (s)	20.1, 20.3, 20.7
(C=O)CH ₃	-	169.0, 169.3, 169.4
Aromático	7.24-7.44 (m)	1° - 143.4 (3) 2° - 128.6 (6) 3° - 127.9 (6) 4° - 127.3 (3)

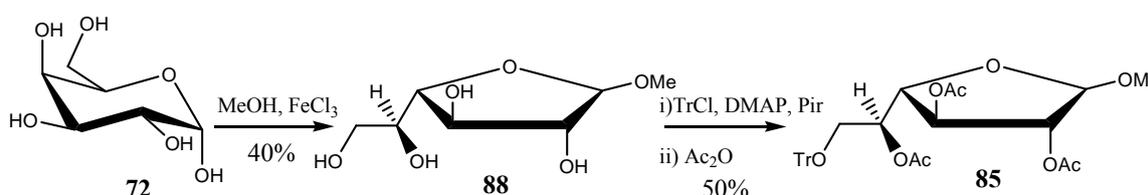
No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1812 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O da lactona e 1757 cm^{-1} referente aos estiramentos C=C do grupo tritila e C=O das carbonilas dos grupos acetila.

3.2.5.2 - Obtenção da metil 2,3,5-tri-*O*-acetil-6-*O*-tritol-galactofuranose (85)

A estratégia utilizada para a obtenção da galactofuranose desejada teve como etapa inicial a glicosilação de Fisher com a D-galactose (72) usando metanol anidro e cloreto férrico como catalisador, obtendo-se o furanosídeo 88 com 40% de rendimento (LUBINEAU et al., 1991).

Os furanosídeos são produtos controlados cineticamente através da alcoolize catalisada por ácido de monossacarídeos e a expansão do anel para os piranosídeos que são termodinamicamente mais estáveis. Os íons férrico previnem a expansão do anel na mistura reacional.

A segunda etapa envolveu a proteção seletiva das hidroxilas livres utilizando a mesma metodologia utilizada para a lactona 83. Primeiramente o álcool primário foi protegido com cloreto de tritila, com quantidade catalítica de DMAP em piridina e em seguida as demais hidroxilas foram acetiladas com anidrido acético com 50% de rendimento (KHAN et al, 1996 e DU et al., 2000) (Esquema 3.12). O produto obtido foi caracterizado por RMN ^1H e ^{13}C , I.V..



ESQUEMA 3.12. Reação para obtenção da galactofuranose protegida.

O espectro de RMN ^1H apresentou sinais referentes a uma mistura dos galactofuranosídeos α e β . Foram observados os deslocamentos referentes a 6 metilas do grupo acetila em 2.12, 2.07, 2.06, 2.05, 1.97 e 1.91 ppm, em 3.39 e 3.33 ppm deslocamentos referentes às metoxilas α e β , na região aromática entre 7.45 e 7.30 ppm sinais referentes ao grupo tritila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos em 20.5, 20.7 e 20.9 ppm referentes as metilas do grupo acetil, 54.9 e 55.3 ppm referentes as metoxilas α e β , em 97.1 e 106.4

ppm referentes ao carbono anomérico, 86.9 ppm referente ao carbono quaternário do grupo tritila e em 169.6, 169.7 e 170 ppm referentes às carbonilas do grupo acetila (Tabela 3.12).

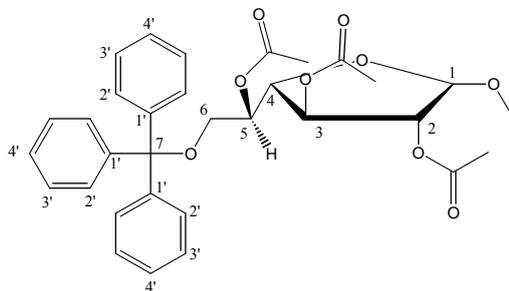


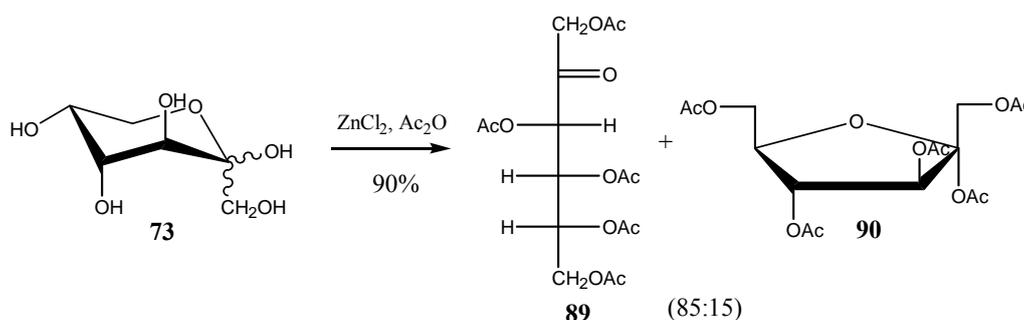
TABELA 3.12. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da galactopiranosose protegida **85** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	α - 5.39 (d, 4)	α - 97.1
	β - 5.54 (d, 2)	β - 106.4
2	5.27-5.34 (m)	81.6
		79.7
3	4.85 - 5.01(m)	67.7
	4.42 (dd, 6, 4)	67.4
4	5.11 (d, 4)	68.5
	5.05 (d, 4)	68.4
5	4.12 (t, 6)	76.6
	4.05 (7)	70.8
6	3.27 (dd, 10, 6)	62.1
	3.06 (dd, 9, 7)	61.5
7	-	86.9
		86.8
OCH_3	α - 3.39 (s)	α - 55.3
	β - 3.33 (s)	β - 54.9
$(\text{CO})\underline{\text{C}}\text{H}_3$	2.12 (s), 2.07 (s), 2.06 (s), 2.05 (s), 1.97 (s), 1.91 (s)	20.5, 20.7, 20.9
$(\underline{\text{C}}\text{O})\text{CH}_3$	-	170.0, 169.9, 169.6
Aromático	7.22-7.45 (m)	1 $^\circ$ - 143.6 (3)
		2 $^\circ$ - 128.6 (6)
		3 $^\circ$ - 127.8 (6)
		4 $^\circ$ - 127.1 (3)

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1747 cm^{-1} referente aos estiramentos $\text{C}=\text{C}$ do grupo tritila e $\text{C}=\text{O}$ das carbonilas dos grupos acetila.

3.2.5.3 - Obtenção da 1,3,4,5,6-penta-*O*-acetilfrutose (**89**)

A pentacetil-ceto-frutose **89** foi obtida pela acetilação direta da frutose (**73**) (CRAMER e PACSU, 1937). A acetilação da frutose foi realizada com cloreto de zinco em anidrido acético com rendimento de 90% (Esquema 3.13).



ESQUEMA 3.13. Reação de acetilação da frutose (**73**)

Foi observada a formação de 2 produtos, a frutose pentacetilada acíclica **89** e cíclica **90** na proporção de 85:15. Os produtos foram separados por cromatografia flash e caracterizados pelos espectros de RMN ¹H e ¹³C, I.V..

O espectro de RMN ¹H da forma cíclica **90** apresentou deslocamento de 2.10 ppm referente aos hidrogênios dos grupos metila (com integração para 15H). O espectro de RMN ¹³C apresentou deslocamentos referentes às metilas do grupo acetila em 21.6, 20.7(2), 20.6 e 20.5 ppm, em 107.9 ppm referente ao carbono anomérico. No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1749 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação C=O das carbonilas dos grupos acetila (D'ANTONA et al, 2005) (Tabela 3.13).

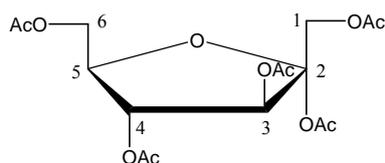


TABELA 3.13. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da frutose cíclica **90** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	a - 4.62 (d, 12) b - 4.34 (d, 12)	61.8
2	-	107.9
3	5.85 (d, 4)	78.4
4	5.14 (dd, 6, 4)	80.6
5	4.52 (ddd, 6, 6, 4)	76.1
6	a - 4.46 (d, 10, 4) b - 4.17 (d, 12, 6)	62.9
$(\text{CO})\underline{\text{C}}\text{H}_3$	2.10 (s)	21.6, 20.7(2), 20.6, 20.5
$(\underline{\text{C}}\text{O})\text{CH}_3$	-	170.5, 169.8(2), 169.0 (2)

O espectro de RMN ^1H da forma acíclica **89** apresentou deslocamentos de 2.20, 2.16, 2.10, 2.08 e 2.07 ppm referentes aos hidrogênios das metilas do grupo acetila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos referentes às metilas do grupo acetila em 20.7, 20.6, 20.4, 20.3(2) ppm, em 197.8 ppm referente à carbonila da frutose da forma acíclica (Tabela 3.14).

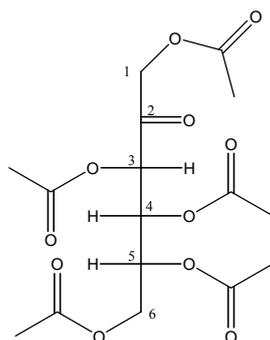


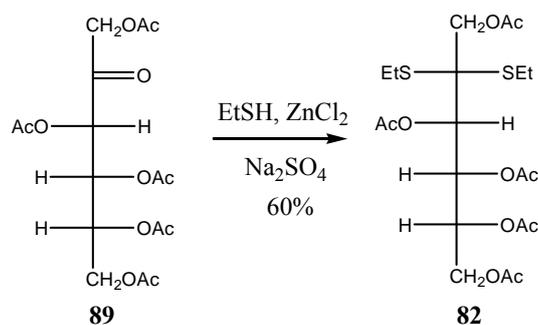
TABELA 3.14. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da frutose acíclica **89** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	a - 4.92 (d, 17) b - 4.68 (d, 17)	66.6
2	-	197.8
3	5.50 (d, 2)	74.2
4	5.69 (dd, 9, 2)	68.0
5	5.22 (ddd, 9, 5, 3)	68.3
6	a - 4.29 (d, 12, 3) b - 4.12 (d, 12, 5)	61.5
(CO) <u>CH</u> ₃	2.20 (s), 2.16 (s), 2.10 (s), 2.08 (s), 2.07 (s)	20.7, 20.6, 20.4, 20.3 (2)
(<u>CO</u>)CH ₃	-	170.4, 169.9, 169.6, 169.5, 169.4

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1751 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ das carbonilas dos grupos acetila e 1715 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ da carbonila da cetona.

3.2.5.4 - Obtenção do 1,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-2,2-bis(etiltio)-*D*-frutose (**82**)

A estratégia para a obtenção do ditioacetal da frutose **82** envolveu a reação da frutose pentacetilada acíclica **89** com etanotiol na presença de cloreto de zinco e sulfato de sódio que levou ao produto desejado com 60% de rendimento (WOLFROM e THOMPSON, 1934) (Esquema 3.14).



ESQUEMA 3.14. Reação de obtenção do ditioacetal da frutose **82**.

O produto foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V..

O espectro de RMN ^1H apresentou deslocamentos químicos referentes ao grupo ditioacetal da frutose, dois tripletos em 1.21 e 1.23 ppm dos hidrogênios das metilas e dois quartetos em 2.72 e 2.75 ppm dos grupos metileno. espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos químicos referentes ao grupo ditioacetal da frutose, em 63.8 ppm do carbono ligado ao enxofre, em 23.9 e 23.4 ppm dos metilenos e em 13.8 e 13.7 ppm das metilas (Tabela 3.15).

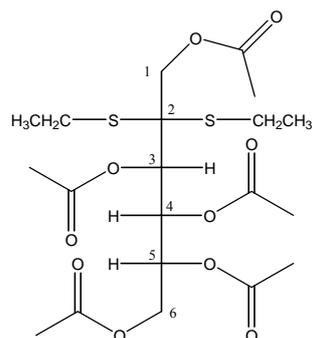


TABELA 3.15. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) ditioacetal da frutose **82** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	a - 4.55 (d, 12) b - 4.26 (d, 12)	66.1
2	-	63.8
3	5.54 (d, 1)	69.7
4	5.79 (dd, 7.5, 1)	68.1
5	4.99 (ddd, 7, 5, 3)	71.4
6	a - 4.28 (dd, 12, 3) b - 4.07 (dd, 12, 5)	61.7
SCH_2CH_3	2.75 (q, 7), 2.72 (q, 7)	23.8, 23.4
SCH_2CH_3	1.23 (t, 7), 1.21 (t, 7)	13.8, 13.7
$(\text{CO})\text{CH}_3$	2.14 (s), 2.11 (s), 2.10 (s), 2.08 (s), 2.06 (s)	21.3, 20.8, 20.7(2), 20.6
$(\text{CO})\text{CH}_3$	-	170.6, 170.1, 169.7, 169.2 (2)

No espectro de I.V. foi observada a absorção em 1753 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ das carbonilas dos grupos acetila.

3.2.5.5 - Tentativa de acoplamento dos monossacarídeos

Para a reação de acoplamento dos sacarídeos foram testadas várias condições reacionais, inicialmente com os monossacarídeos da frutose **82** e da lactona **83**, resumidas na Tabela 3.16.

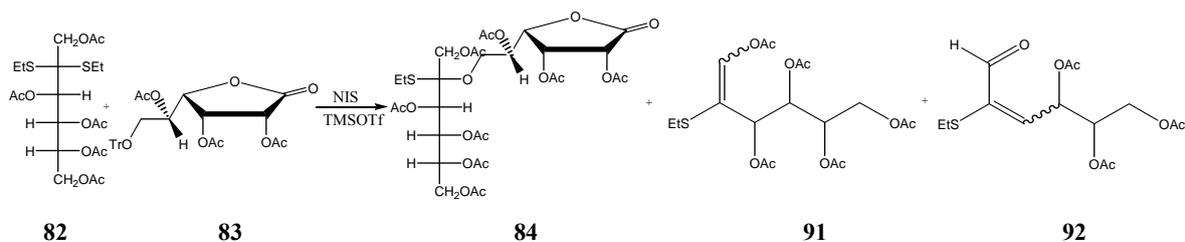


TABELA 3.16. - Estudo das condições reacionais de acoplamento de **82** e **83**.

Teste	Eq. de 83	solvente	84 (%)	91 (%)	92 (%)
1	1.2	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O	-	30	30
2	2.0	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O	-	35	35
3	1.2	CH ₂ Cl ₂	-	35	30

Nos testes iniciais optou-se pela utilização de N-iodossuccinimida (NIS) e triflato de trimetilsilano (TMSOTf). A escolha da condição de acoplamento usada na glicolização com tritil éter, requer uma quantidade estequiométrica do TMSOTf para ativar a NIS (BOONS et al., 1997). O primeiro teste foi realizado utilizando-se um equivalente da frutose e um pequeno excesso da lactona tritilada (1.2 eq.) e o segundo com um equivalente da frutose e 2 equivalentes da lactona tritilada para se observar se haveria uma dissustituição e no terceiro foi realizada uma mudança no solvente (KONRADSSON et al., 1990). As três condições apresentaram as mesmas características, foi observada a formação de dois produtos principais, sendo eles produtos de eliminação do ditioacetal **82**. Os exemplos da literatura são normalmente com carboidratos cíclicos, não sendo observado nenhum exemplo com o derivado ditioacetal da frutose **82**.

O produto 1,3,4,5-tetra-*O*-acetil-2-etil-2-tiohexen-1-enetiol (**91**) foi caracterizado pelos espectros de RMN ¹H e ¹³C, I.V.. O espectro de RMN ¹H apresentou deslocamento químico referente ao hidrogênio da dupla ligação em 7.39 ppm, um quarteto em 2.69 ppm e um tripleto em 1.23 ppm referentes aos hidrogênios de um grupo tioéter além de deslocamentos em 2.23, 2.09, 2.07, 2.06 e 2.04 ppm referentes aos hidrogênios das 5 metilas dos acetatos. O espectro de RMN ¹³C apresentou deslocamentos químicos referentes a um grupo

tioéter em 28.2 ppm do metileno e 14.0 ppm da metila, em 138.5 ppm referente ao carbono hidrogenado da dupla ligação e em 115.2 ppm referente ao outro carbono da dupla (Tabela 3.17).

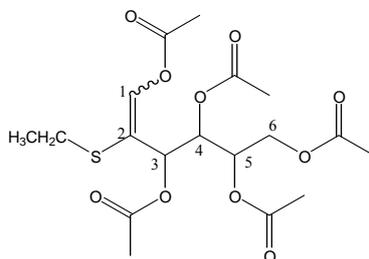


TABELA 3.17. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do produto **91** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	7.39 (s)	138.5
2	-	115.2
3	6.02 (dd, 6, 1)	69.1 ou 69.2
4	5.67 (t, 6)	70.5
5	5.19 (ddd, 7, 6, 2)	69.1 ou 69.2
6	a - 4.35 (dd, 12, 2) b - 4.15 (dd, 12, 7)	61.9
SCH_2CH_3	2.69 (q, 4)	28.2
SCH_2CH_3	1.23 (t, 6)	14.0
$(\text{CO})\text{CH}_3$	2.23 (s), 2.09 (s), 2.07 (s), 2.06 (s), 2.04 (s)	20.8, 20.7, 20.6 (2), 20.5
$(\text{CO})\text{CH}_3$	-	170.5, 170.2, 169.7, 169.5 (2)

No espectro de I.V. foi observada a absorção em 1749 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ das carbonilas dos grupos acetila.

O produto 3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-etil-tiohex-2-enose (**92**) foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. O espectro de RMN ^1H apresentou deslocamento químico referente ao hidrogênio do aldeído em 9.49 ppm, um dubleto da dupla ligação em 6.20 ppm, um quarteto em 2.91 ppm e um triplete em 1.21 ppm referente aos hidrogênios de um grupo tioéter, além de deslocamentos em 2.11, 2.08 e 2.06 ppm referente aos hidrogênios de 3 grupos metila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos químicos referentes a carbonila do aldeído em 189.5 ppm, um grupo tioéter em 26.2 ppm do metileno e 15.17 ppm da metila, em 148.1 ppm referente ao carbono hidrogenado da

dupla ligação e em 141.8 ppm referente ao outro carbono da dupla (Tabela 3.18).

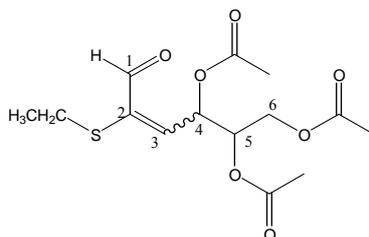
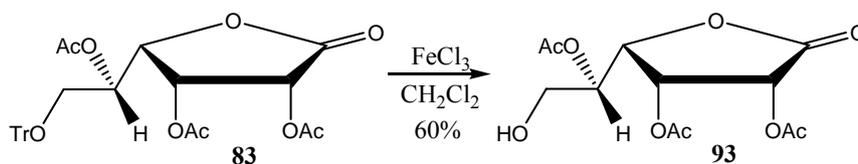


TABELA 3.18. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do produto **92** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	9.49 (s)	189.5
2	-	141.8
3	6.70 (d, 8)	148.1
4	6.17 (dd, 8, 5)	69.9
5	5.35 (ddd, 6, 5, 4)	70.8
6	a - 4.28 (dd, 12, 4) b - 4.17 (dd, 12, 6)	61.8
SCH_2CH_3	2.91 (q, 7)	26.2
SCH_2CH_3	1.21 (t, 7)	15.2
$(\text{CO})\text{CH}_3$	2.11 (s), 2.08 (s), 2.06 (s)	20.7, 20.6, 20.5
$(\text{CO})\text{CH}_3$	-	170.4, 169.8, 169.3

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1749 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ das carbonilas dos grupos acetila e em 1699 cm^{-1} referente ao estiramento da carbonila do aldeído α - β insaturada.

Para utilizar uma quantidade catalítica do TMSOTf e tentar evitar a reação de eliminação, optou-se por fazer primeiro a desproteção do grupo tritila da lactona **83** (Esquema 3.15), utilizando cloreto férrico em diclorometano (DU et al., 2000).



ESQUEMA 3.15. Reação de desproteção da lactona **83**.

O produto de desproteção **93** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foi observado o desaparecimento dos sinais em 7.43-7.23 ppm referentes aos hidrogênios do grupo tritila e foram observados três singletos em 2.14, 2.15 e 2.17 ppm referentes as três metilas do grupo acetila. O espectro de RMN ^{13}C apresentou deslocamentos referentes às metilas do grupo acetila em 20.1, 20.4 e 20.7 ppm. No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1807 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O da lactona e 1753 cm^{-1} referente aos C=O das carbonilas dos grupos acetila (Tabela 3.19).

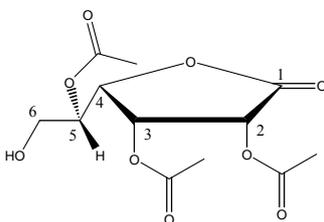


TABELA 3.19. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da lactona **93** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	169.0
2	5.71 (dd, 5, 2)	76.3
3	5.80 (dd, 5, 3)	66.6
4	4.53 (dd, 7, 2) ou 4.48 (dd, 4, 2)	69.5
5	4.53 (dd, 7, 2) ou 4.48 (dd, 4, 2)	68.3
6	a - 4.23 (dd, 7, 5) b - 4.10 (t, 7)	65.3
OH	2.90 (sl)	-
(CO)CH ₃	2.17 (s), 2.15 (s), 2.14 (s)	20.7, 20.4, 20.1
(CO)CH ₃	-	169.0 (3)

A lactona desprotegida **93** foi submetida a várias condições de acoplamento que são apresentadas na Tabela 3.20.

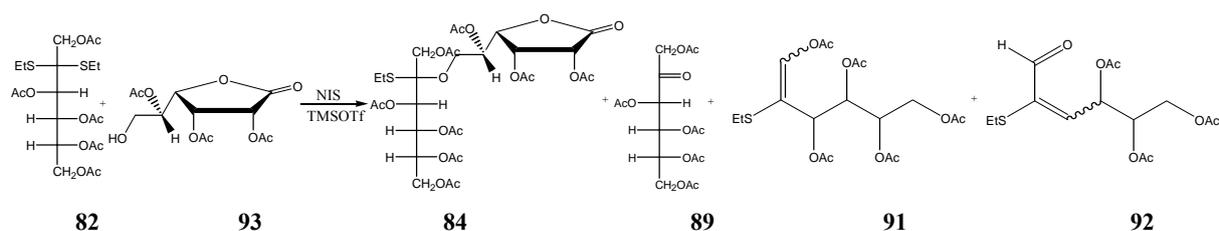


TABELA 3.20. - Estudo das condições reacionais de acoplamento de **82** e **93**.

Teste	Reagentes	Solvente	T (°C)	84 (%)	89 (%)	91 (%)	92 (%)
1	NIS/TMSOTf	CH ₂ Cl ₂	t.a.	-	-	33	36
2	NIS/TMSOTf	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	0	-	-	30	30
3	NIS/TMSOTf	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	-35	-	-	-	-
4	NIS/TMSOTf	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	-50	-	70	-	-
5	NIS/TfOH	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	0	-	-	-	-
6	NIS	CH ₃ CN	-35	-	55	-	-
7	IDCP	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	-20	-	-	35	28
8	IDCP	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	-20	-	-	30	33
9	NBS-LiClO ₄	Et ₂ O	-20	-	-	30	35

Nos testes realizados o produto desejado não foi obtido. Nos primeiros foram mantidos os mesmos reagentes de acoplamento usados anteriormente (NIS/TMSOTf) e foram modificados o solvente e as temperaturas reacionais. Nos testes 1 (KONRADSSON et al., 1990) e 2 (BOONS et al., 1997) foi observada novamente a formação dos produtos de eliminação do ditioacetal **82**. Nos testes 3 e 4 (KROG-JENSEN e OSCARSON, 1996) em que as temperaturas reacionais foram -35 e -50°C, os materiais de partida não reagiram. No teste 5 empregou-se uma nova condição de acoplamento utilizando-se o sistema NIS/TfOH à 0°C (VEENEMAN et al., 1990), sendo observado novamente a formação dos produtos de eliminação. Nos testes 6 e 9 em que foram usadas novas condições de acoplamento NIS em acetonitrila (KROG-JENSEN e OSCARSON, 1996) e NBS-LiClO₄ em éter etílico (FUKASE et al., 1995), respectivamente, foi observada a reação de hidrólise do ditioacetal da frutose **82**. Nos testes 7 e 8 foi utilizado o IDCP (LEMIEUX e MORGAN, 1965) como reagente de acoplamento (LI e WU, 1996), mas nenhuma reação foi observada.

Em paralelo ao trabalho de síntese, o grupo de Produtos Naturais continuou o estudo para tentar separar e identificar os trissacarídeos extraídos dos galhos da *Rapanea umbellata*. Durante este processo, surgiram muitas dúvidas sobre a atribuição estrutural feita inicialmente. A estrutura proposta em que as porções dos monossacarídeos seriam a galactose, manose e frutose, poderia não estar correta. Em tentativas de purificação em coluna de BioGel e análise por HPLC, foi constatada a presença dos seguintes monossacarídeos: galactose, glucose e frutose. Nesta purificação ainda foram isolados cristais em que análises iniciais de RMN ^{13}C mostraram a presença de 24 carbonos, podendo se tratar de um tetrassacarídeo (PLACERES-NETO, 2003).

Além disso, a mistura dos 4 trissacarídeos foi modelada com o programa DOCK 3.5 e através desse estudo foi constatado que o trissacarídeo **53** apresentava analogia estrutural com o NAD^+ (Figura 3.2), levando a acreditar que este seria o composto ativo. Um trabalho recente (WILSON, 2004) relata que apesar das proteínas serem um desafio para a modelagem molecular, elas não se comparam em grau de dificuldade aos carboidratos.

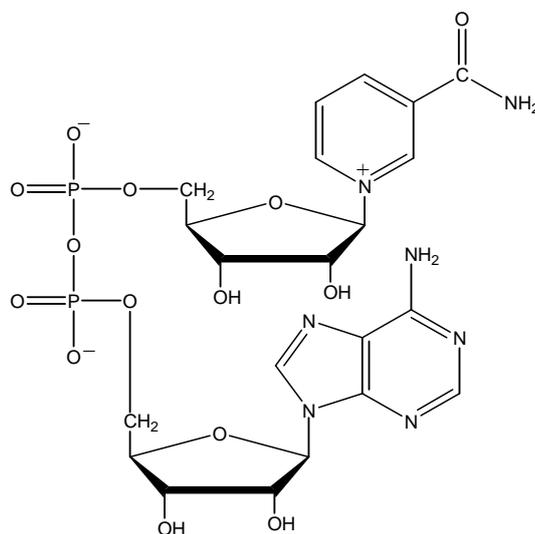


FIGURA 3.2. NAD^+

A modelagem molecular de carboidratos possui inúmeras barreiras. Por exemplo, os sítios ativos das proteínas e seus ligantes tendem a se encaixar

como chave e fechadura, o que não ocorre com os carboidratos, pois devido a sua grande flexibilidade, o fenômeno de reconhecimento não é tão simples.

A flexibilidade também dificulta a cristalização dos carboidratos, então sua estrutura é normalmente melhor elucidada por RMN do que por cristalografia de Raio-X, tradicionalmente utilizada para proteínas.

Os oxigênios glicosídicos que fazem a ligação entre os monossacarídeos são o centro da grande flexibilidade dos carboidratos. Esses movimentos são descritos pelas mudanças nos ângulos torsionais internos. Os carboidratos não se movem livremente, mas alternam entre várias conformações preferenciais. O que torna a descrição do comportamento com simulações computacionais um desafio a ser superado.

Devido aos problemas para realização de modelagem molecular e a incerteza com relação à elucidação estrutural dos carboidratos isolados, o estudo da síntese do trissacarídeo **53** foi interrompido.

3.3 - Síntese de uma série de nucleosídeos e análogos

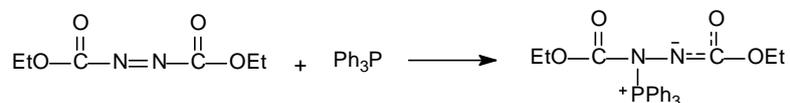
Tendo em vista o interesse farmacológico dos nucleosídeos, uma série foi preparada com a finalidade de se contribuir para o estudo da relação estrutura-atividade biológica. A diversidade na parte carbocíclica pode nos fornecer novos dados para o estudo, onde se tem compostos como açúcares, derivado cíclico de 6 membros, aromático, cadeia alquílica saturada e insaturada. A metodologia utilizada envolveu a reação de Mitsunobu.

3.3.1 - Reação de Mitsunobu

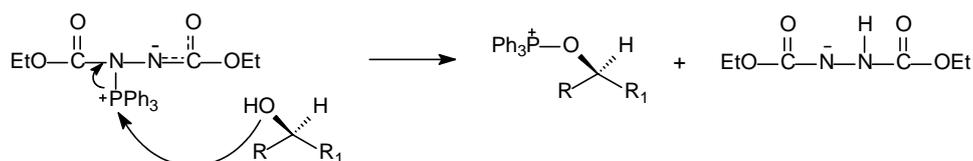
A reação de Mitsunobu tem se mostrado como uma importante ferramenta para uma variedade de aplicações sintéticas envolvendo álcoois. Como a reação em geral ocorre em condições suaves e neutras com completa inversão de configuração, o sistema tem sido utilizado na síntese e

transformação de várias classes de produtos naturais. O mecanismo proposto para a reação envolve 3 etapas (MITSUNOBU, 1981 e HUGHES et al., 1988):

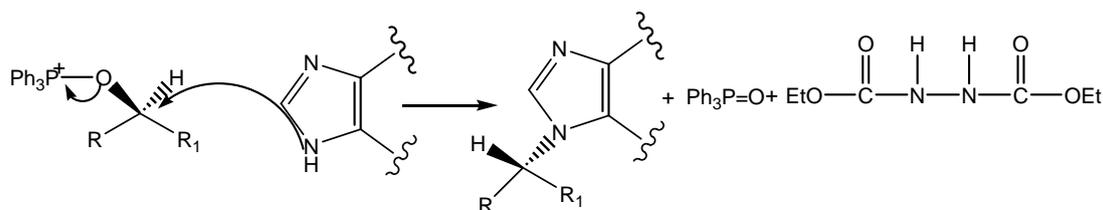
a) Formação do sal quaternário de fosfônio



b) Formação do sal de alcóxido fosfônio

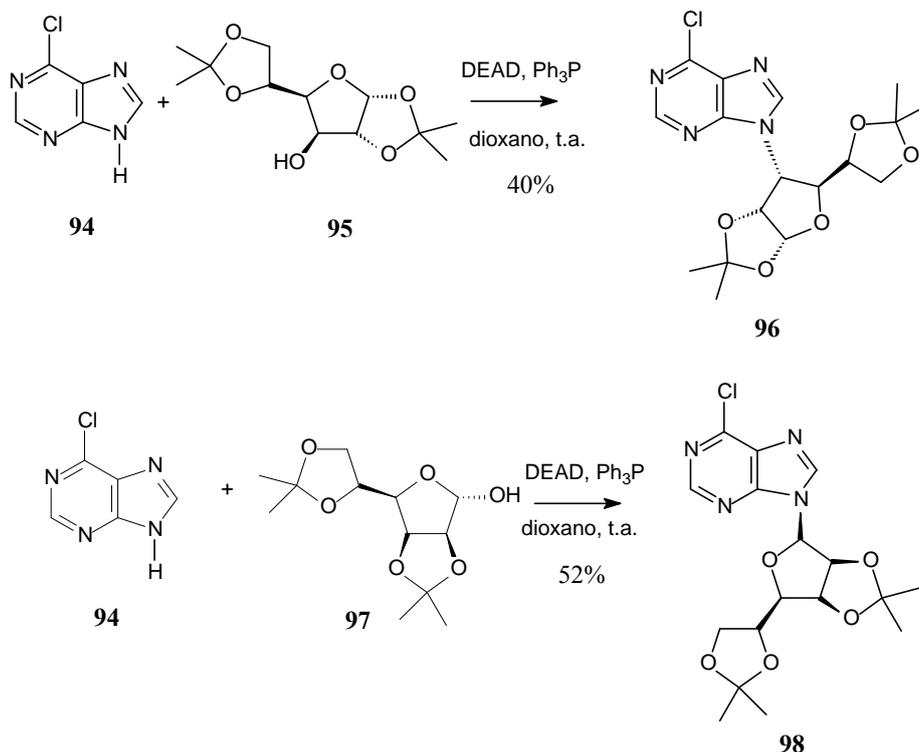


c) Reação S_N2



3.3.2 - Obtenção dos nucleosídeos e análogos

Os nucleosídeos preparados através das condições de Mitsunobu (ZHOU e SHEVLIN, 1998 e JENNY et al., 1991), utilizando a cloropurina (**94**) e açúcares derivados da glicose (**95**) e manofuranose (**97**) são mostrados no Esquema 3.16.



ESQUEMA 3.16. Reação de obtenção dos nucleosídeos **96** e **98**.

O produto **96** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C . No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.74 e 8.26 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um dubleto em 5.98 ppm ($J = 4$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e dois singletos em 1.45 e 1.32 ppm referentes aos hidrogênios das metilas do grupo acetal. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 151.7 e 146.5 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 105.4 ppm referente ao carbono anomérico e em 26.0 e 24.4 ppm referente as metilas do grupo acetal (Tabela 3.21).

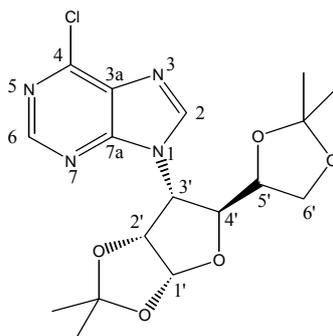


TABELA 3.21. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do nucleosídeo **96** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
2	8.26 (s)	146.5
3a	-	-
4	-	-
6	8.74 (s)	151.7
7a	-	-
1'	5.98 (d, 4)	105.4
2'	4.02 (dd, 8, 4)	85.2
3'	4.78 (d, 12)	48.7
4'	4.12 (d, 4)	74.8
5'	4.57 (d, 4)	80.4
6'	3.98-4.10 (m)	48.7
$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	1.45 (s) e 1.32 (s)	26.9 (2) e 26.2 (2)
$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	-	112.1 e 111.1

O produto **98** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.74 e 8.42 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um dubleto em 6.19 ppm ($J = 4$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono anomérico e quatro singletos em 1.58, 1.47, 1.41 e 1.34 ppm referente os hidrogênios das metilas dos grupos acetal. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 152.0 e 145.1 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 83.8 ppm referente ao carbono anomérico e em 27.0, 25.5, 25.1 e 24.0 ppm referente as metilas dos grupos acetal (Tabela 3.22).

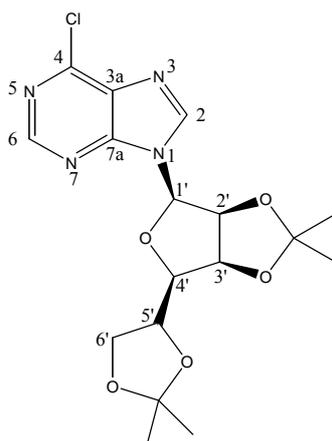


TABELA 3.22. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do nucleosídeo **98** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
2	8.42 (s)	145.1
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.74 (s)	152.0
7a	-	n.o.
1'	6.19 (d, 4)	83.8
2'	3.83 (dd, 8, 4)	79.8 ou 79.4
3'	4.88 (dd, 6, 2)	78.8
4'	4,99 (dd, 6, 4)	72.6
5'	4.54 (dt, 6, 2)	79.8 ou 79.4
6'	4.04-4.26 (m)	66.7
$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	1.58 (s), 1.47 (s), 1.41 (s), 1.34 (s)	27.0, 25.5, 25.1, 24.0
$\text{C}(\text{CH}_3)_2$	-	113.9, 109.6

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1592 e 1567 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos.

Foram preparados derivados do (-) mentol (**99**), dodecanol (**100**), álcool benzílico (**101**) e álcool oléico (**102**) com a cloropurina **94** usando as condições de Mitsunobu (Tabela 3.23).

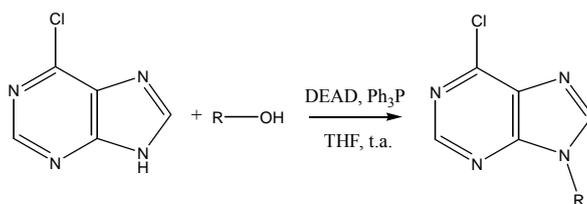


TABELA 3.23. - Preparação dos derivados da purina **94**.

Álcool	R=	Produto	Rend. (%)
99		103	52
100	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2$ —	104	43
101		105	86
102	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2$ —	106	37

O produto derivado do mentol **103** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.76 e 8.46 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um dubleto em 5.4 ppm ($J = 3$ Hz) referente ao hidrogênio do carbono ligado ao nitrogênio e três dubletos em 0.90 ppm ($J = 6$ Hz), 0.85 ppm ($J = 7$ Hz) e 0.75 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios das metilas do mentol. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 151.8 e 145.2 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 52.7 ppm referente ao carbono ligado ao nitrogênio e em 22.1, 21.0 e 20.7 ppm referente as metilas do mentol (Tabela 3.24). Os assinalamentos foram realizados por correlação com o composto **111**.

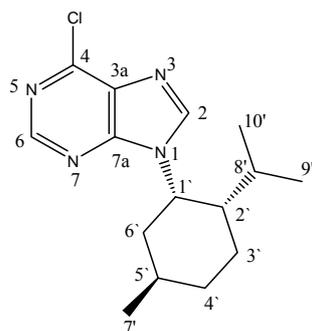


TABELA 3.24. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol **103** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
2	8.46 (s)	145.2
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.76 (s)	151.8
7a	-	n.o.
1'	5.41 (d, 3)	52.7
2'	1.51-1.53 (m)	45.9
3'	2.10-2.17 (m)	26.7
4'	1.98-2.08 (m)	34.2
5'	1.57-1.65 (m)	26.4
6'	1.86-1.90 (m)	40.4
7'	0.90 (d, 6)	22.1
8'	1.02-1.17 (m)	29.5
9'	0.75 (d, 7)	20.7
10'	0.85 (d, 7)	21.0

n.o. – não observado.

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1587 e 1558 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de heteroaromáticos.

O espectro de massa apresentou o pico do íon molecular (M^+ 292) também confirmando a obtenção do produto **103**.

O produto derivado do dodecanol **104** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.76 e 8.11 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um tripleto em 4.29 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios do metileno ligado ao nitrogênio e um tripleto em 0.88 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios da metila do dodecanol. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 151.8 e 145.1 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do

anel purínico, em 44.5 ppm referente ao carbono metilênico ligado ao nitrogênio e em 14.0 ppm referente a metila do dodecanol (Tabela 3.25).

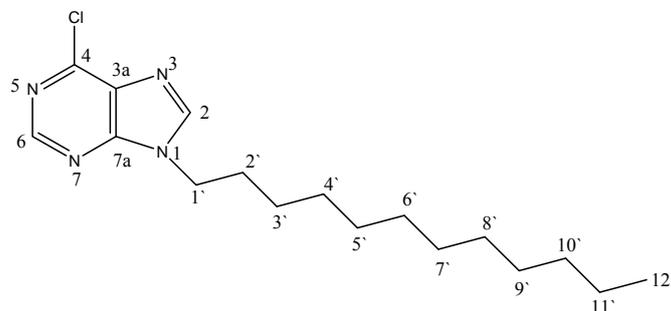


TABELA 3.25. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do dodecanol **104** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
2	8.11 (s)	145.1
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.76 (s)	151.8
7a	-	n.o.
1'	4.29 (t, 7)	44.5
2'	1.93 (quint., 7)	31.8
3'-11'	1.24 (sl)	22.6, 26.6, 28.9, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5(3), 29.8
12'	0.87 (t, 7)	14.1

n.o. – não observado.

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1592 e 1560 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos.

O espectro de massa apresentou o pico do íon molecular (M^+ 322) também confirmando a obtenção do produto **104**.

O produto derivado do álcool benzílico **105** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.79 e 8.10 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um singlete em 5.46 ppm referente aos hidrogênios do metileno ligado ao nitrogênio. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 152.0 e 145.0 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 47.8 ppm referente ao metileno (Tabela 3.26).

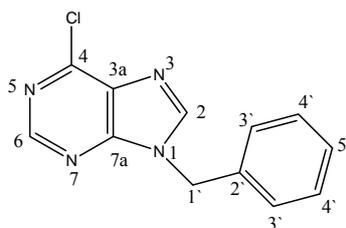


TABELA 3.26. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do álcool benzílico **105** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
2	8.10 (s)	144.9
3a	-	131.1
4	-	151.7
6	8.79 (s)	152.0
7a	-	150.9
1'	5.46 (s)	47.8
2'	7.32-7.37 (m)	134.4
3'	7.32-7.37 (m)	129.1
4'	7.32-7.37 (m)	127.8
5'	7.32-7.37 (m)	126.8

n.o. – não observado.

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1594 e 1558 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de heteroaromáticos.

O espectro de massa apresentou o pico do íon molecular (M^+ 244) também confirmando a obtenção do produto **105**.

O produto derivado do álcool oléico **106** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.76 e 8.12 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, um multipletto entre 5.37 e 5.31 ppm referente aos hidrogênios da dupla ligação, um tripleto em 4.30 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios do metileno ligado ao nitrogênio. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 151.9 e 145.0 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 44.5 ppm referente ao carbono metilênico ligado ao nitrogênio e em 14.1 ppm referente a metila (Tabela 3.27).

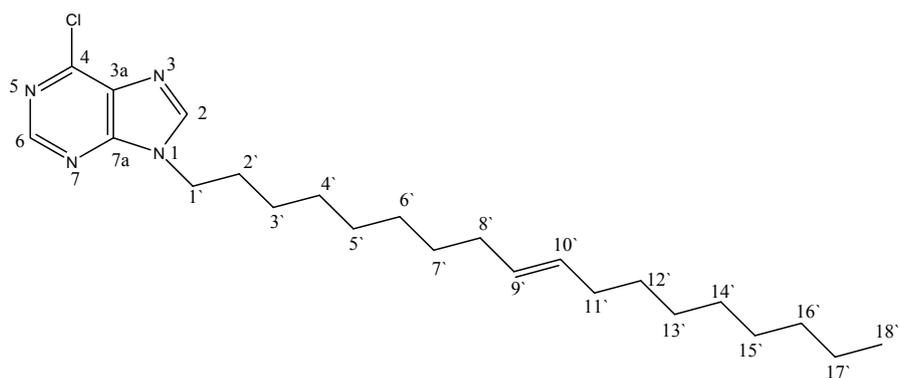


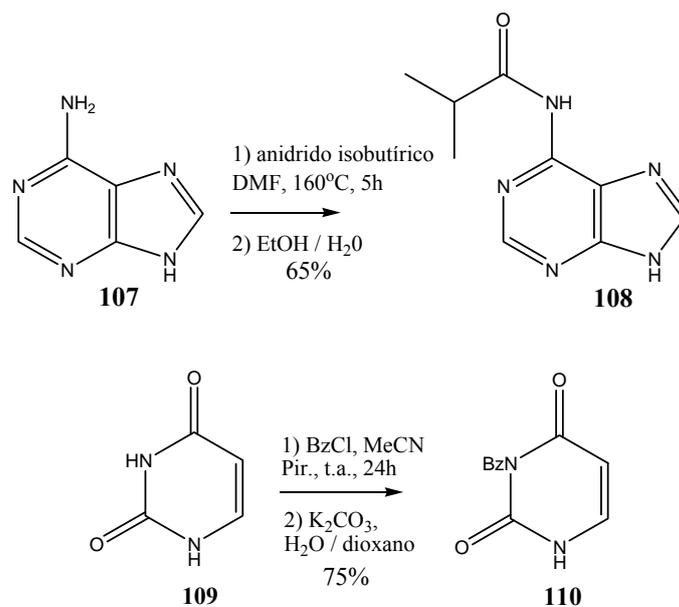
TABELA 3.27. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do álcool oléico **106** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
2	8.12 (s)	145.1
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.76 (s)	151.9
7a	-	n.o.
1'	4.30 (t, 7)	44.5
2'-7' e 12'-17'	1.26 (s)	22.6, 26.6, 27.1, 27.2, 28.9, 29.1, 29.3 (2), 29.5, 29.6, 29.7, 29.8
8' e 11'	1.94-2.01 (m)	31.8 (2)
9' e 10'	5.31-5.37	129.6 e 130.0
18'	0.87 (t, 7)	14.1

n.o. – não observado.

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1592 e 1560 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de heteroaromáticos.

Para a síntese dos derivados da adenina e uracila foi necessária a reação de proteção da adenina (ZHOU et al., 1997) e uracila (CRUICKSHANK et al., 1984) (Esquema 3.17).



ESQUEMA 3.17. Reação de proteção da adenina (**107**) e uracila (**109**).

A adenina protegida **108** foi caracterizada pelos espectros de RMN ¹H e ¹³C. No espectro de RMN ¹H foram observados os singletos largos em 12.22 e 11.18 ppm referentes aos dois NH, em 8.65 e 8.42 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico e um dubleto em 1.18 ppm ($J = 7$ Hz) referente aos hidrogênios das metilas do grupo isobutila. No espectro de RMN ¹³C foram observados os deslocamentos em 177.3 ppm referente à carbonila da amida, em 151.3 e 145.7 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 19.4 ppm referente aos carbonos das metilas do grupo isobutila (Tabela 3.28).

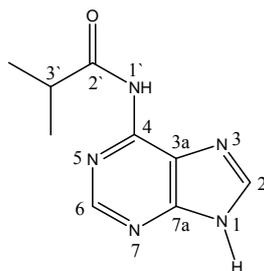


TABELA 3.28. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da adenina **108** (CDCl_3).

	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	11.19 (sl) ou 12.23 (sl)	-
2	8.42 (s)	151.3
3a	-	144.3 ou 145.8 ou 146.0
4	-	144.3 ou 145.8 ou 146.0
6	8.65 (s)	151.3
7a	-	144.3 ou 145.8 ou 146.0
1'	11.19 (sl) ou 12.23 (sl)	-
2'	-	177.3
3'	2.94 (sep, 7)	34.3
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	1.18 (d, 7)	19.4 (2)

A uracila protegida **110** foi a caracterizada pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C . No espectro de RMN ^1H foram observados um singlete largo em 11.60 ppm referente ao NH livre, um dubleto em 5.75 ppm ($J = 8$ Hz) referente ao hidrogênio da dupla ligação do anel uracila e os hidrogênios aromáticos entre 7.98 e 7.47 ppm. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 162.9 ppm referente à carbonila do grupo benzoíla e em 143.2 e 100.1 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel uracila (Tabela 3.29).

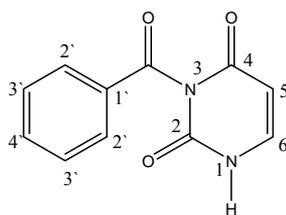


TABELA 3.29. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) da uracila **110** (CDCl_3).

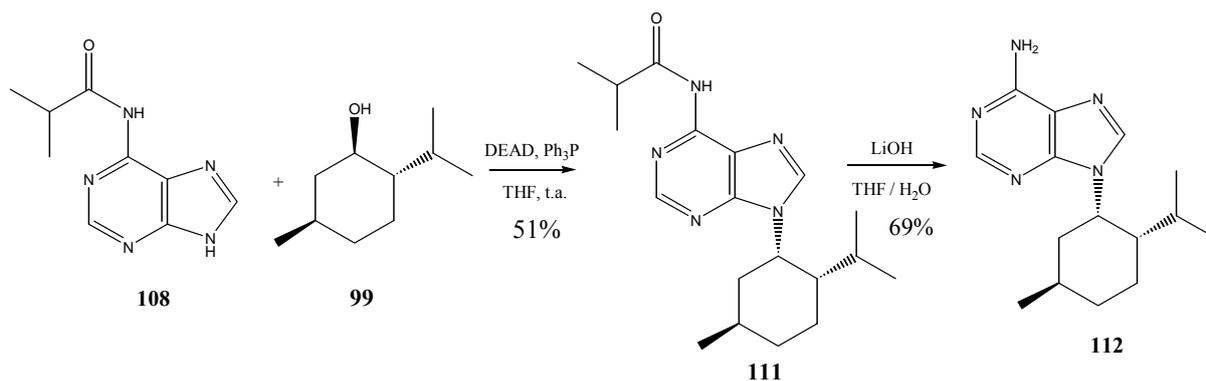
	^1H - δ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	^{13}C - δ (ppm)
1	11.60 (sl)	-
2	-	150.1
3	-	-
4	-	163.0
5	5.75 (d, 8)	100.2
6	7.67 (d, 8)	143.4
1'	-	131.4
2'	7.96 (d, 8)	130.3 (2)
3'	7.60 (t, 8)	129.6 (2)
4'	7.78 (d, 8)	136.5
<u>COBz</u>	1.18 (d, 7)	170.1

Comparando os resultados obtidos com os dados da literatura referente ao deslocamento químico de C(5) no espectro de RMN ^{13}C e ponto de fusão do composto (CRUICKSHANK et al., 1984), concluímos que a uracila obtida foi a 3-*N*-benzoiluracila (Tabela 3.30).

TABELA 3.30. - Dados da benzoiluracila

Composto	C(5)	P.F. ($^{\circ}\text{C}$)
1- <i>N</i> -Benzoiluracila	103.65	148-149
3- <i>N</i> -Benzoiluracila	100.08	167-168.5
Uracila 110	100.2	172-174

A partir da adenina protegida **108** foram preparados os derivados do mentol **111** e **112** (Esquema 3.18).



ESQUEMA 3.18. Obtenção dos derivados de mentol **111** e **112**.

O derivado do mentol **111** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , I.V.. No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 9.16 ppm referente ao hidrogênio do grupo amida, 8.75 e 8.41 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico e cinco dubletos em 1.33 ppm ($J = 1$ Hz), 1.30 ppm ($J = 1$ Hz), 0.89 ppm ($J = 6$ Hz), 0.84 ppm ($J = 6$ Hz) e 0.76 ppm ($J = 6$ Hz) referentes aos hidrogênios das metilas do grupo isobutila e do mentol. No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 176.5 ppm referente à carbonila do grupo amida, 152.2 e 142.9 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico e em 22.1, 21.0, 20.7 e 19.2 (2C) ppm referente as metilas do mentol e do grupo isobutila (Tabela 3.31). Os espectros bidimensionais de correlação heteronuclear [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}}$ (HSQC) e $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 2$ e 3 (HMBC)], associados aos espectros de RMN ^1H e ^{13}C permitiram realizar os assinalamentos de todos os carbonos e hidrogênios. Com relação à configuração de C1'', pelo espectro de EON-diferencial observou-se o efeito Overhauser nuclear sobre H2'' (1.53 ppm), quando o hidrogênio H1'' (5.38 ppm) foi irradiado, comprovando-se assim a inversão de configuração, pois os dois hidrogênios encontram-se voltados para o mesmo lado. Os derivados do mentol **103** e **112** tiveram os carbonos e hidrogênios assinalados por correlação com composto **111**.

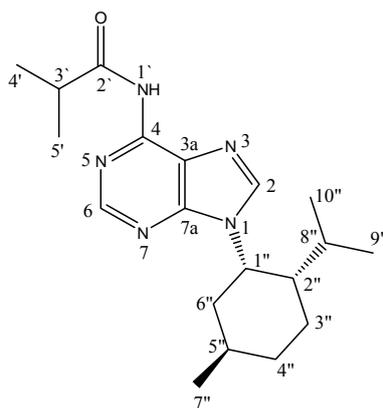


TABELA 3.31. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol **111** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	-	-	-	-
2	8.41 (s)	142.9	-	H1''
3a	-	121.2	-	H2
4	-	152.1	-	-
6	8.75 (s)	152.3	-	-
7a	-	149.4	-	H6, H2
1'	9.16 (sl)	-	-	-
2'	-	176.5	-	H4', H5'
3'	3.30 (sept, 7)	35.9	H4', H5'	-
4'	1.30 (d, 1)	19.2	-	-
5'	1.33 (d, 1)	19.2	-	-
1''	5.38 (d, 3)	51.9	-	-
2''	1.49-1.53 (m)	45.9	-	H9'', H10''
3''	2.08-2.15 (m)	26.7	-	H1''
4''	1.98-2.06 (m)	34.3	-	H7''
5''	1.56-1.58 (m)	26.4	-	H7''
6''	1.85-1.93 (m)	40.4	-	H7''
7''	0.89 (d, 6)	22.1	-	-
8''	1.12-1.27 (m)	29.5	H9'', H10''	-
9''	0.76 (d, 6)	20.6	-	-
10''	0.84 (d, 6)	21.0	-	-

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1685 cm^{-1} referente a carbonila da amida, 1608 e 1583 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos.

O derivado do mentol **112** foi caracterizado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C . No espectro de RMN ^1H foi observado o desaparecimento do sinal em 9.16 ppm referente ao hidrogênio do grupo amida e dos dubletos em

1.33 ppm ($J = 1$ Hz) e 1.30 ppm ($J = 1$ Hz) referentes aos hidrogênios das metilas do grupo isobutila. Foi observado o aparecimento de um singlete largo em 5.88 ppm referente ao grupo amina. No espectro de RMN ^{13}C foi observado o desaparecimento do sinal em 19.2 ppm referente às metilas do grupo isobutila (Tabela 3.32). Os assinalamentos foram realizados por correlação com o composto **111**.

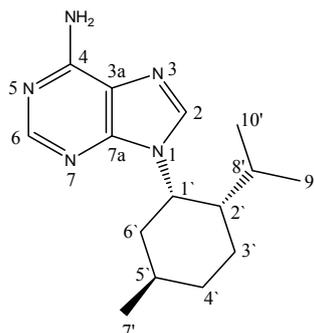


TABELA 3.32. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado do mentol **112** (CDCl_3).

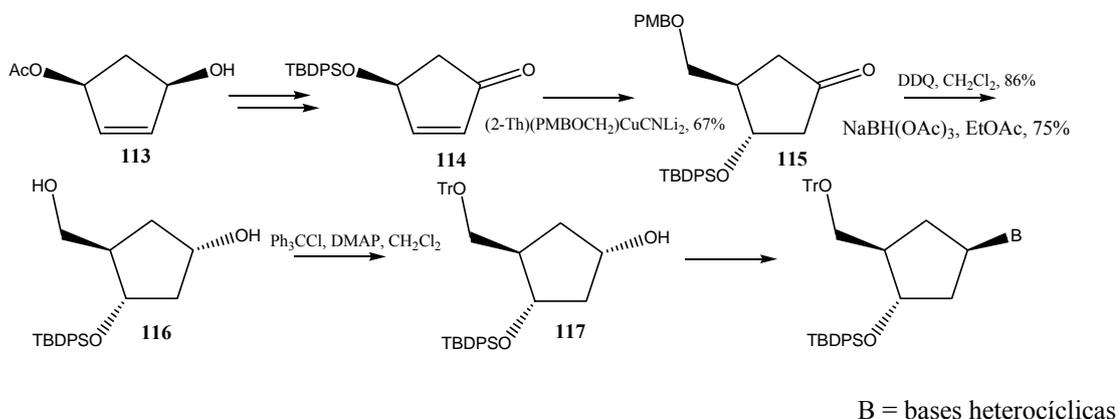
	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.16 (s)	149.5
3a	-	119.5
4	-	157.6
6	8.38 (s)	155.5
7a	-	152.8
1'	5.30 (d, 3)	51.7
2'	1.51-1.57 (m)	46.0
3'	2.10-2.17 (m)	26.7
4'	1.98-2.08 (m)	34.3
5'	1.60-1.64 (m)	26.5
6'	1.85-1.90 (m)	40.5
7'	0.89 (d, 6)	22.2
8'	1.01-1.18 (m)	29.5
9'CH(CH ₃) ₂	0.77 (d, 6)	20.7
10'	0.84 (d, 6)	21.0
NH ₂	5.88 (sl)	-

3.3.3 - Tentativa de obtenção do 4-(6-amino-9H-purin-9-il)-2-[(trifiloxi)metil]ciclopentanol (68)

Os nucleosídeos são importantes no sistema biológico, pois são fosforilados por kinases em mono-, di e trifosfatos. Os nucleotídeos resultantes são processados em ácidos nucleicos por polimerases. O desenvolvimento de

análogos nucleosídicos que funcionam como inibidores seletivos de kinases e polimerases para o controle de doenças virais e câncer tem sido objeto de grandes estudos. Na literatura existem metodologias para a obtenção de nucleosídeos carbocíclicos ciclopentila, principalmente no desenvolvimento de síntese enantiosseletivas.

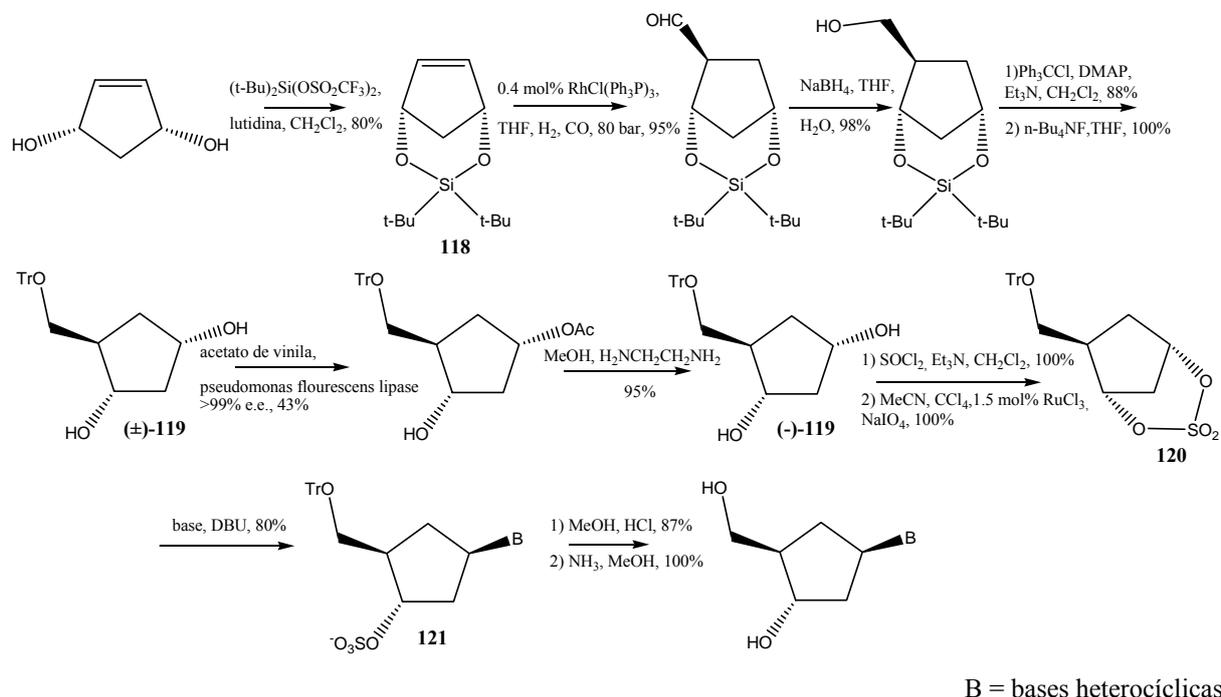
BORTHWICK (1994) utilizou o monoacetato resolvido **113** para preparar a sililoxi enona **114**. A adição conjugada de cuprato de α -alcóxi de alta ordem ocorre seletivamente obtendo-se **115**. O grupo *p*-metóxi benzil éter foi removido e seguido da reação de redução da cetona levando ao diol **116**. A proteção seletiva do álcool primário com tritil éter levou a obtenção de **117** com alta seletividade. O álcool **117** pode ser prontamente convertido a uma variedade de 2'-deoxi análogos pelo acoplamento direto sob as condições de Mitsunobu com bases heterocíclicas (Esquema 3.19).



ESQUEMA 3.19. Obtenção de análogos nucleosídicos por BORTHWICK.

MOSHER e LANG (1996) utilizaram o 2-ciclopenten-1,4-diol protegido com siloxano cíclico **118**, seguido de hidroformilação com ródio (I) do alceno obtendo-se o aldeído que foi reduzido ao respectivo álcool. Tritilação do álcool primário e hidrólise do siloxano produz o diol **119** que foi resolvido enzimaticamente. O acetato foi então hidrolisado ao diol enantiomericamente puro **119** que foi transformado no sulfato cíclico **120** para acoplamento com uma

variedade de bases heterocíclicas. O intermediário sulfato **121** foi hidrolisado com ácido aquoso (Esquema 3.20).



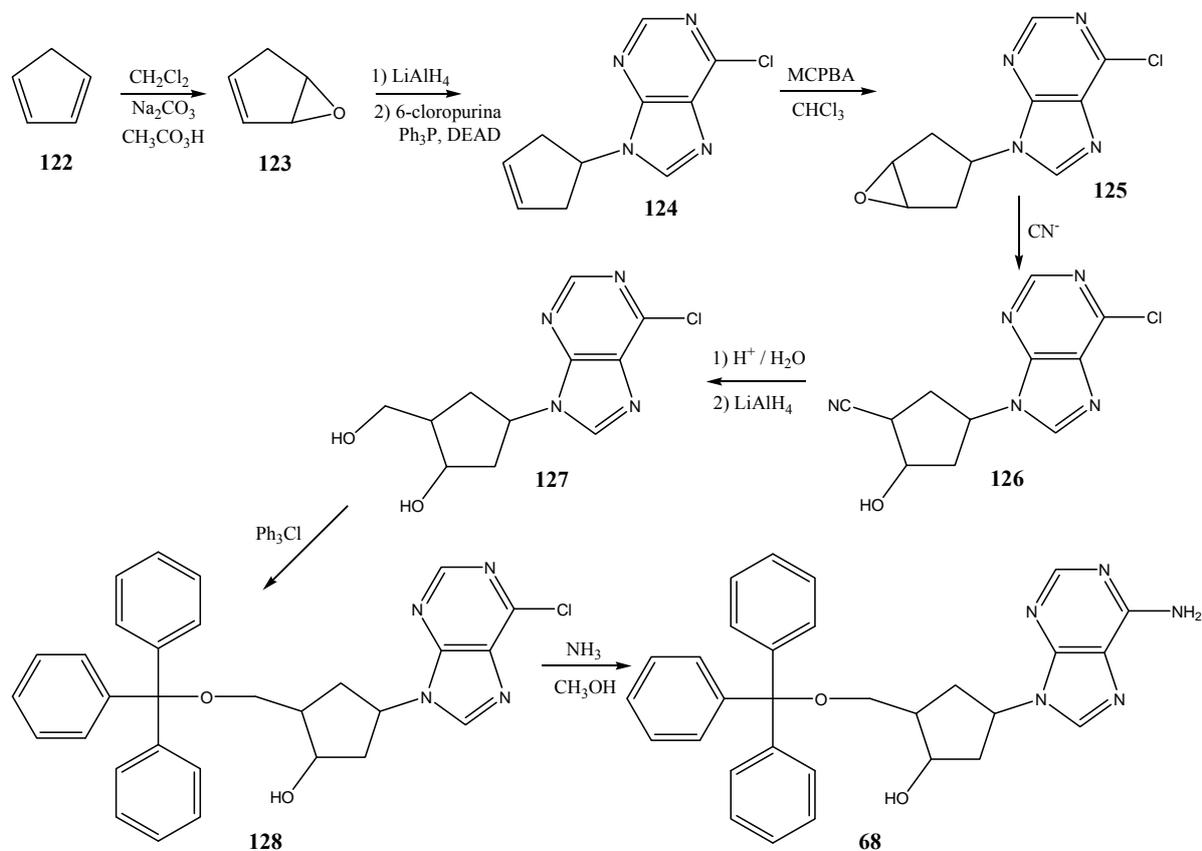
ESQUEMA 3.20. Obtenção de análogos nucleosídicos por MOSHER e LANG.

3.3.3.1 - Proposta sintética para o nucleosídeo **68**

O laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos (IFSC/USP) com o auxílio do programa DOCK 3.5 encontrou possíveis inibidores da enzima gGAPDH. Dentre as substâncias apontadas, apresentava-se o nucleosídeo carbocíclico **68** (PAVÃO, 1996).

Devido à ausência de uma ligação glicosídica nos nucleosídeos carbocíclicos, é possível que os mesmos sejam quimicamente mais estáveis, isto é, não são alvos da clivagem que sofrem os nucleosídeos convencionais, causada pela ação de enzimas (MARQUEZ et al., 1988). A proposta sintética é apresentada no Esquema 3.21. Como nos estudos de docking não se levou em consideração a estereoquímica, a proposta visava a preparação de todos os isômeros possíveis, o que tornaria possível a avaliação da relação estrutura-atividade biológica dos

mesmos. Caso a atividade fosse realmente comprovada, seria então necessária posteriormente a síntese assimétrica do nucleosídeo.



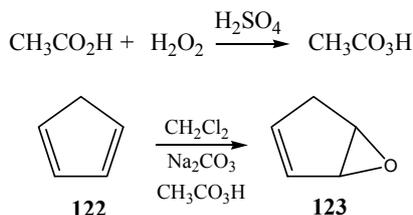
ESQUEMA 3.21. Proposta sintética do nucleosídeo carbocíclico **68**.

3.3.3.1.1 - Obtenção do 6-oxa-biciclo[3.1.0]hex-2-eno (**123**)

A primeira etapa para a obtenção do nucleosídeo carbocíclico **68** foi a epoxidação do ciclopentadieno **122** com ácido peracético. O ácido peracético foi preparado com anidrido acético e peróxido de hidrogênio a 31% catalisado por ácido sulfúrico. A determinação da concentração do ácido peracético obtido foi feita através de titulação com solução 0.1M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

A reação de epoxidação foi feita em solvente inerte, no caso CH_2Cl_2 , em presença de Na_2CO_3 anidrido. Essa reação depende de condições relativamente anidras e da neutralização rápida do ácido acético pelo carbonato de sódio. A etapa rápida da reação é a epoxidação e ocorre também uma reação

lenta do ácido peracético com o Na_2CO_3 (KORACH et al., 1960 e CRANDALL et al., 1968) (Esquema 3.22).



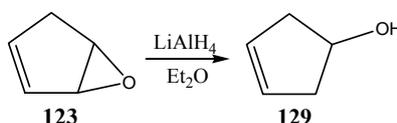
ESQUEMA 3.22. Reação de epoxidação do ciclopentadieno.

O produto de epoxidação **123** foi caracterizado pelo espectro de RMN ^1H . Devido à instabilidade do epóxido formado, ele foi utilizado no mesmo dia sem purificação na etapa seguinte.

No espectro de RMN ^1H foram observados os deslocamentos em 6.14 e 5.99 ppm referentes aos hidrogênios da dupla ligação, em 3.91 e 3.82 ppm que são sinais característicos dos hidrogênios do grupo epóxido e dois dubletos em 2.63 ppm ($J=12$ Hz) e 2.38 ppm ($J=10$ Hz) referentes aos hidrogênios metilênicos. O rendimento do produto bruto foi de 40%.

3.3.3.1.2 - Obtenção do ciclopent-3-en-1-ol (129)

A segunda etapa foi a redução do epóxido com hidreto de lítio em éter seco (CRANDALL et al., 1968) (Esquema 3.23).



ESQUEMA 3.23. Reação de redução do 3,4-epoxíciclopenteno.

A redução com hidreto de lítio e alumínio é bem seletiva e promove o ataque do hidreto no carbono alílico. A redução envolve a complexação inicial do íon metálico Al^{+3} com a dupla ligação. A formação apenas do 3-ciclopentenol ocorre devido a geometria rígida imposta para a transferência do H^- por causa da

formação do complexo, que limita o ataque ao C₃ (HEALY et al., 1994) (Figura 3.3).

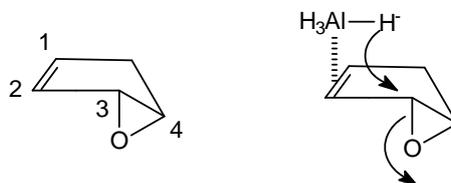


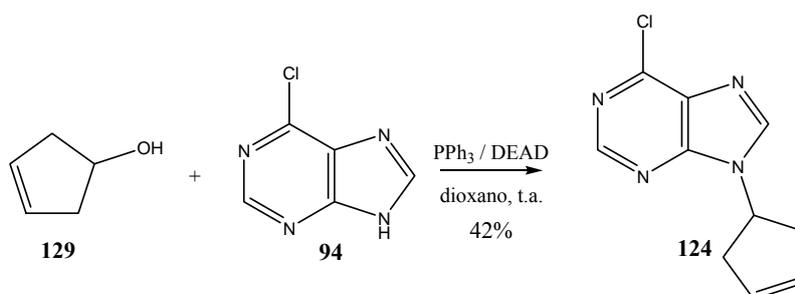
FIGURA 3.3. Mecanismo de transferência de hidreto.

O composto **129** obtido foi caracterizado pelo espectro de RMN ¹H e ¹³C. Foi feita uma tentativa de purificação por coluna flash, mas houve decomposição do produto, que foi então utilizado na próxima etapa sem prévia purificação.

No espectro de RMN ¹H foi observado o desaparecimento dos sinais em 3.91 e 3.82 ppm do epóxido e o aparecimento de um sinal em 4.51 ppm (multiplete) referente ao hidrogênio carbinólico. No espectro de RMN ¹³C foi observado o deslocamento em 71.6 ppm referente ao carbono carbinólico. O rendimento do produto de 56% foi obtido após destilação.

3.3.3.1.3 - Obtenção da 6-cloro-9-ciclopent-3-en-1-il-9H-purina (**124**)

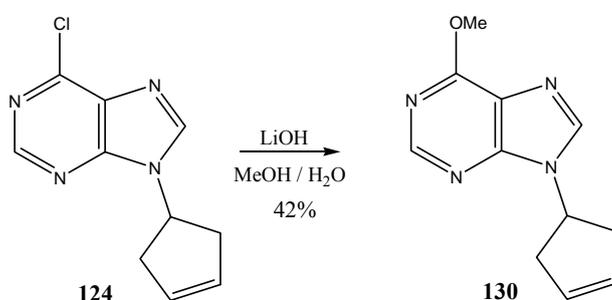
A etapa seguinte foi a reação de acoplamento do 3-ciclopentenol (**129**) com a 6-cloropurina (**94**) usando as condições de Mitsunobu, em dioxano na presença de trifetilfosfina e azodicarboxilato de dietila (DEAD) à temperatura ambiente (ZHOU et al., 1998 e JENNY et al., 1991) (Esquema 3.24).



ESQUEMA 3.24. Reação de Mitsunobu para obtenção de **124**.

O subproduto da reação a 1,2-dicarbeto-hidrazina foi de difícil separação do produto desejado. Ela foi caracterizada pelo ponto de fusão (132-134°C) e pelo espectro de RMN ^1H , onde foi observado um quarteto em (4.25 ppm) referente aos CH_2 e um tripleto em (1.25 ppm) referente às metilas.

Na tentativa de hidrolisar o subproduto, a mistura foi mantida sob agitação em solução de hidróxido de lítio em metanol e água (3:1). No entanto, foi somente observada a formação de um produto de substituição nucleofílica no carbono ligado ao cloro no anel purínico. Pelo espectro de RMN ^1H foi observada uma mudança de deslocamento químico dos hidrogênios da purina para 8.55 e 7.95 ppm e um singleto em 3.77 ppm referente à metila do grupo metoxila. No espectro de RMN ^{13}C foi observado o aparecimento de um sinal em 54.1 ppm referente ao carbono da metoxila (Tabela 3.33). No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1598 e 1573 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos, e em 1232 e 1060 cm^{-1} referentes aos estiramentos $\text{C}-\text{O}$ do éter. (Esquema 3.25).



ESQUEMA 3.25. Formação do produto metoxilado **130**.

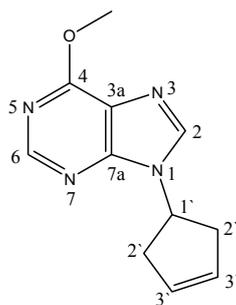


TABELA 3.33. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do produto metoxilado **130** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	7.96 (s)	140.1
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.55 (s)	151.8
7a	-	n.o.
1'	5.40 (sept, 4)	52.9
2a' e 2b'	2.68 (dd, 16, 4) e 3.07 (dd, 16, 8)	40.4 (2)
3'	5.94 (s)	129.0 (2)
OCH_3	4.19 (s)	54.1

n.o. – não observado.

A utilização de uma mistura de 3 solventes para purificação do produto **124** por cromatografia flash, se mostrou muito eficiente: hexano, acetato de etila e metanol (3:1:0.5). O produto desejado foi obtido com 42% de rendimento após a purificação e foi caracterizado por RMN ^1H e ^{13}C , I.V..

No espectro de RMN ^1H foram observados os singletos em 8.76 e 8.14 ppm referentes aos hidrogênios do anel purínico, em 5.97 ppm um singlete referente aos hidrogênios da dupla ligação do ciclopenteno e um septeto em 5.44 ppm ($J = 4$ Hz) referente ao CH do ciclopenteno, este sinal pode ser atribuído a “conformação W” das quatro ligações σ entre H1' e H3', permitindo o acoplamento também entre esses hidrogênios à longa distância, o mesmo efeito pode ser observado no composto **130** (SILVERSTEIN et al, 1994). Com relação aos hidrogênios metilênicos foram observados um duplo dubleto em 3.11 ppm ($J = 16$ e 8 Hz) e outro duplo dubleto em 2.7 ppm ($J = 16$ e 4 Hz). As constantes de acoplamento geminais puderam ser observadas por eles serem diastereotópicos.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados os deslocamentos em 151.78 e 143.19 ppm referentes aos carbonos hidrogenados do anel purínico, em 129.07 ppm referente aos carbonos da dupla ligação do ciclopenteno, em 53.51 ppm referente ao carbono CH do ciclopenteno e 40.36 ppm referente aos CH_2 do ciclopenteno (Tabela 3.34).

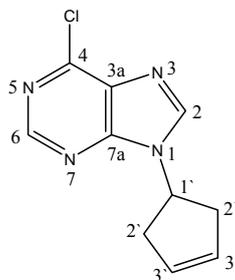


TABELA 3.34. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do derivado da purina **124** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.14 (s)	143.2
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.76 (s)	151.8
7a	-	n.o.
1'	5.44 (sept, 4)	53.5
2a' e 2b'	2.70 (dd, 16, 4) e 3.11 (dd, 16, 8)	40.4 (2)
3'	5.97 (s)	129.1 (2)

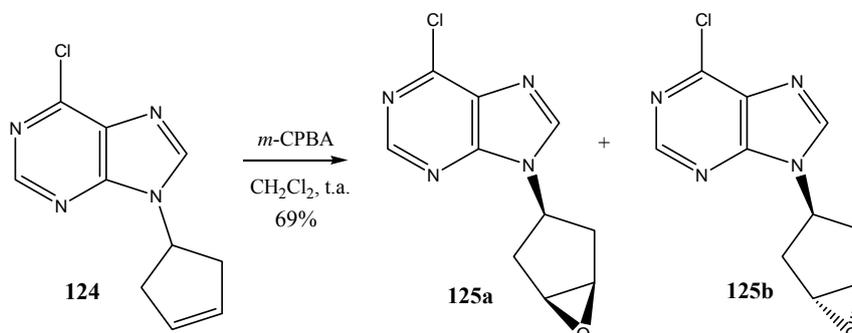
n.o. – não observado.

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1593 e 1552 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos.

3.3.3.1.4 - Obtenção da 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9H-purina (125)

O produto **124** foi oxidado com ácido *m*-cloroperbenzóico em CH_2Cl_2 , obtendo-se uma mistura dos epóxidos *syn* e *anti* com 69% de rendimento, na proporção de 1:1 por cromatografia gasosa (ROSENQUIST et al., 1996) (Esquema 3.26). Estes foram separados por coluna cromatográfica flash

utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (2:2:1) e caracterizados por RMN ^1H e ^{13}C , I.V..



ESQUEMA 3.26. Reação de epoxidação com *m*-CPBA.

No espectro de RMN ^1H do epóxido **125a** (r.f. 0.40 em TLC – hexano : acetato de etila : metanol (2:2:1)) foi observado o desaparecimento do deslocamento em 5.97 ppm referente aos hidrogênios da dupla ligação e o aparecimento de um singlete em 3.75 ppm referente aos hidrogênios do epóxido formado. No espectro de RMN ^{13}C foi observado o desaparecimento do deslocamento em 129.1 ppm dos carbonos da dupla ligação do ciclopenteno e o aparecimento do sinal em 55.2 ppm referentes aos carbonos do epóxido (Tabela 3.35). No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1593 e 1564 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de heteroaromáticos; e em 1259, 943 e 831 cm^{-1} , referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos do anel epóxido.

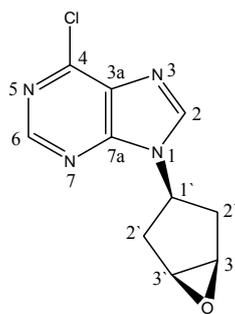


TABELA 3.35. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido **125a** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.09 (s)	144.6
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.73 (s)	151.6
7a	-	n.o.
1'	4.77 (quint, 8)	52.0
2a' e 2b'	2.52 (dd, 14, 10) e 2.70 (dd, 14, 8)	32.8 (2)
3'	3.75 (s)	55.2 (2)

n.o. – não observado.

No espectro de RMN ^1H do epóxido **125b** (r.f. 0.34 em TLC – hexano : acetato de etila : metanol (2:2:1)) foi observado um singleto em 3.76 ppm referente aos hidrogênios do epóxido formado. No espectro de RMN ^{13}C foi observado o aparecimento do sinal em 57.3 ppm referentes aos carbonos do epóxido (Tabela 3.36). No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1593 e 1556 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de heteroaromáticos e em 1238, 948 e 842 cm^{-1} , referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos do anel epóxido.

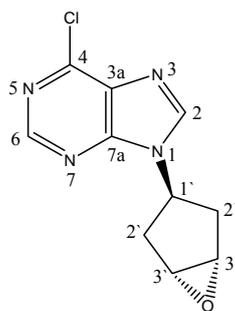


TABELA 3.36. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido **125b** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.62 (s)	145.4
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.71 (s)	151.6
7a	-	n.o.
1'	5.44 (t, 10)	50.7
2a' e 2b'	2.33 (d, 16) e 2.61 (dd, 16, 10)	35.9 (2)
3'	3.76 (s)	57.3 (2)

n.o. – não observado.

O espectro de RMN ^1H apresenta várias informações relacionadas às constantes de acoplamento, onde na região dos metilenos pode-se observar dois duplos dubletos em **125a** em 2.52ppm ($J = 14$ e 10Hz) e 2.70ppm ($J = 14$ e 8 Hz) e um dubleto e um duplo dubleto em **125b** em 2.33ppm ($J = 16$ Hz) e 2.61ppm ($J = 16$ e 10Hz). O acoplamento de hidrogênios heterotópicos entre átomos de carbono vizinhos, em sistemas rígidos, depende do ângulo diedro ϕ . A correlação de Karplus relaciona o ângulo diedro ϕ e as constantes de acoplamento de hidrogênios vicinais. Quando duas ligações σ C-H são ortogonais ($\phi = 90^\circ$, perpendicular) haverá uma sobreposição de orbitais mínima, com interação entre os spins pequena ou nula entre os elétrons desses orbitais. Como resultado a informação dos spins não será transmitida e a constante de acoplamento será aproximadamente nula (PAVIA et al., 1979). Na tentativa de se atribuir a estereoquímica relativa dos produtos **125a** e **125b** (Figura 3.4) foram calculados os ângulos diedros utilizando o ChemDraw 4.0 e

através da equação de Karplus-Conroy (Equação 1.1) foram calculadas as constantes de acoplamento teóricas (Tabela 3.37).

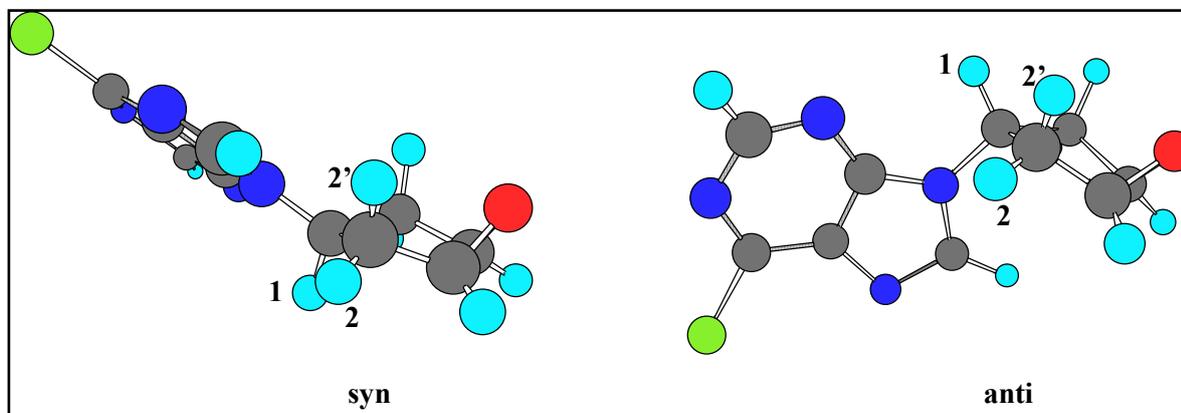


FIGURA 3.4. Epóxidos *syn* e *anti*.

$$J = a \cos^2 \phi - 0.28 \quad (\phi \text{ acima de } 90^\circ, a = 8.5; \phi \text{ abaixo de } 90^\circ, a = 9.5)$$

EQUAÇÃO 1.1 - Equação de Karplus-Conroy

TABELA 3.37. - Constantes de acoplamento calculadas e observadas

Composto	$\phi_{H1-C1-C2-H2'}$	J_{calc}	J_{obs}	$\phi_{H1-C1-C2-H2}$	J_{calc}	J_{obs}
125a (<i>syn</i>)	-159.3	7.15	10	-37.4	5.72	8
125b (<i>anti</i>)	-27.5	7.19	10	93.2	0.12	^a

^a não observado

Com esses resultados pode-se inferir que o composto **125a** deva ser o epóxido *syn*, já que foi possível se observar as constantes de acoplamento vicinais dos hidrogênios metilênicos com H1 de 10 e 8 Hz que junto com os acoplamentos geminais apresentaram dois sinais na forma de duplos dubletos. Já o composto **125b** deve ser o epóxido *anti*, sendo possível se observar uma constante de acoplamento vicinal de 10 Hz que junto com o acoplamento geminal apresenta um sinal na forma de duplo dubleto e como não foi possível observar o acoplamento vicinal entre o hidrogênio metilênico H2 e H1, o sinal

apresenta a forma de um dubleto com constante de acoplamento de 16 Hz, referente ao acoplamento geminal.

Deduções de ângulos diedros a partir de constantes de acoplamento são feitas com segurança apenas por comparação com compostos próximos relatados. A correlação é muito útil em ciclopentanos, cicloexanos, carboidratos e sistemas policíclicos rígidos. Nos ciclopentanos, os valores observados são de aproximadamente 8 Hz para hidrogênios vicinais cis e aproximadamente 0 Hz para os trans e estão de acordo com os ângulos correspondentes de aproximadamente 0° e 90°. Em anéis cicloexano substituídos ou fundidos, seguem a seguinte correlação: axial-axial, 8-14 Hz; axial-equatorial, 1-7 Hz; equatorial-equatorial, 1-7 Hz. Para os derivados ciclopentano, por causa da grande flexibilidade, os ângulos diedros são menos definidos e um assinalamento equivocado pode ocorrer (SILVERSTEIN et al, 1994).

3.3.3.1.5 - Tentativa de obtenção da 4-(6-cloro-9H-9-purinil)-2-hidroxi-1-ciclopentanocarbonitrila (126)

Para a reação de abertura do epóxido **125** foram testadas várias condições reacionais resumidas na Tabela 3.38.

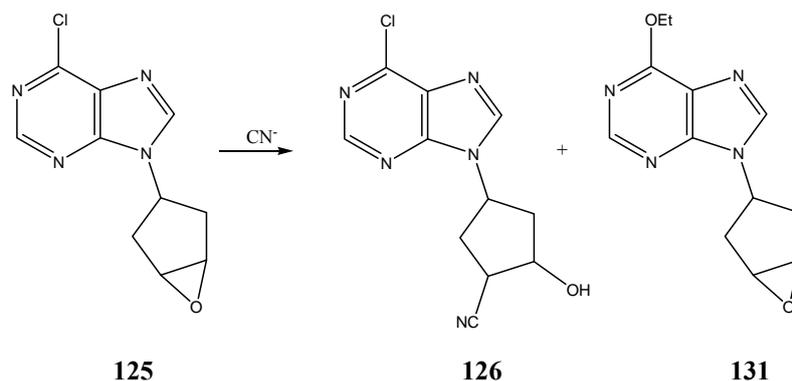


TABELA 3.38. - Estudo das condições reacionais para obtenção do composto **126**.

Teste	Reagentes	Solvente	T (°C)	T. R. (h)	126 (%)	131 (%)
1 ^a	c.a. ^c (1.2 eq.), NEt ₃ (1.2 eq.)	THF	refl.	24	-	-
2 ^a	c.a. ^c (2.4 eq.), NEt ₃ (2.4 eq.)	THF	refl.	48	-	-
3 ^a	KCN (1 eq.), KI (0.1 eq.)	DMSO	t.a.	24	-	-
4 ^a	KCN (1 eq.), KI (0.1 eq.)	DMSO	100	24	-	-
5 ^a	KCN (1 eq.), KI (0.1 eq.)	DMSO	150	24	-	-
6 ^a	NaCN (1.3 eq.)	EtOH/H ₂ O (3/7)	t.a.	10	-	-
7 ^a	NaCN (1.3 eq.)	EtOH/H ₂ O (3/7)	80	20	-	-
8 ^b	NaCN (1.3 eq.)	EtOH/H ₂ O (3/7)	t.a.	10	-	-
9 ^b	NaCN (1.3 eq.)	EtOH/H ₂ O (3/7)	80	15	-	38
10 ^b	KCN (1 eq.), LiClO ₄ (1 eq.)	CH ₃ CN	70	15	-	-
11 ^b	KCN (4 eq.), LiClO ₄ (4 eq.)	CH ₃ CN	70	72	-	-
12 ^b	Ce(OTf) ₄ (0.1 eq.), NaCN (3 eq.)	CH ₃ CN	70	24	-	-

^a epóxido **125a** (*syn*)

^b epóxido **125b** (*anti*)

^c cianidrina da acetona

Na literatura, a abertura de epóxidos com cianetos tem sido bastante estudada. Alguns reagentes utilizados são: HCN, que é volátil e tóxico; cianetos de alcali não voláteis na presença de sais; cianoidrina da acetona em presença de base ou alcóxidos de lantanídeos; cianetos de alquil alumínio e Ce(OTf)₄, etc. Na maioria dos métodos, as condições reacionais são normalmente severas, alguns reagentes não são disponíveis e têm que ser preparados a partir de cianetos de alcali. Cianeto de trimetilsilano (TMSCN) é usado, mas existe um problema quando a isonitrila é formada como produto principal (KAMAL e KHANNA, 2001).

Nos primeiros testes (1 e 2) optou-se pela utilização de condições mais brandas com a cianidrina da acetona em meio básico com THF como solvente sob refluxo (CASTEJÓN et al., 1996). Esta foi a escolha inicial para se evitar uma possível reação de substituição do cloro na posição 6 da purina.

Nos testes 3-5 foram utilizadas condições mais enérgicas com cianeto de potássio e iodeto de potássio, usando-se um solvente polar aprótico (DMSO) para se evitar a substituição do cloro. A temperatura da reação também foi modificada: temperatura ambiente, 100°C e 150°C (HAYES et al., 2001).

Os testes de 6-9 foram realizados usando NaCN como fonte de cianeto e uma solução de etanol/água como solvente (KAMAL e KHANNA, 2001). No teste 9 com o epóxido **125b** (*anti*) e temperatura de 80°C, foi observada a formação de um produto de substituição nucleofílica no carbono ligado ao cloro no anel purínico.

O produto **131** foi caracterizado pelo espectro de RMN ¹H foram observados os deslocamentos químicos dos hidrogênios da purina em 8.49 e 8.39 ppm e deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do grupo etoxila, um quarteto em 4.66 ppm referente ao metileno e um tripleto em 1.51 ppm referente à metila. No espectro de RMN ¹³C foi observado o aparecimento dos sinais referentes ao grupo etoxila em 63.1 ppm metileno e 14.6 ppm da metila (Tabela 3.39).

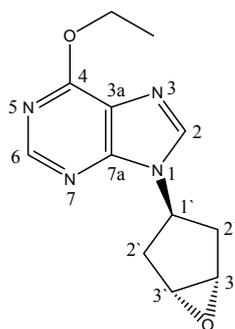


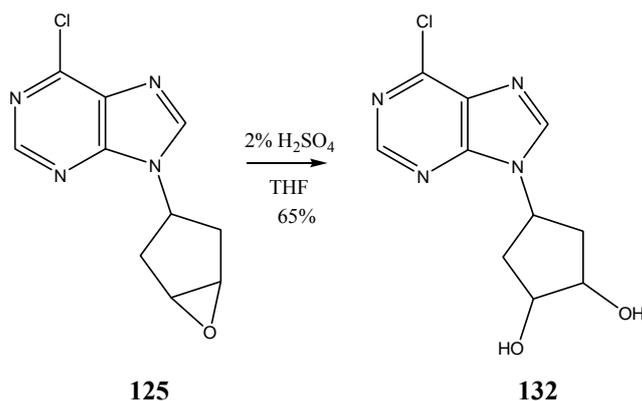
TABELA 3.39. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do epóxido **131** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.39 (s)	142.0
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.49 (s)	151.7
7a	-	n.o.
1'	5.40 (t, 9)	50.3
2a' e 2b'	2.31 (d, 15) e 2.58 (dd, 15, 9)	36.1 (2)
3'	3.72 (s)	57.5 (2)
OCH_2CH_3	4.66 (q, 7)	63.1
OCH_2CH_3	1.51 (t, 7)	14.6

n.o. – não observado.

Nos testes 10-11 foram utilizados KCN, LiClO_4 e acetonitrila como solvente (EZZITOUNI e MARQUEZ, 1997). No teste 12 foi usado NaCN, acetonitrila como solvente e trifluormetanossulfonato de cério (IV) como catalisador (10 mol%) (IRANPOOR e SHEKARRIZ, 1999 e IMAMOTO, 1990), mas em nenhum dos casos foi obtido o produto desejado.

Para um estudo da reação de abertura do epóxido, foi realizada uma reação de hidrólise (sem a separação dos epóxidos **125a** e **125b**) em meio ácido (ZHOU e SHEVLIN, 1998), obtendo-se o diol **132** com 65% de rendimento (Esquema 3.27).



ESQUEMA 3.27. Obtenção do diol **132**.

No espectro de RMN ^1H foi observado o desaparecimento do deslocamento químico em 3.75 ppm referente aos hidrogênios do epóxido e o aparecimento de um multipeto entre 4.10 e 3.95 ppm referente aos hidrogênios dos carbonos das hidroxilas. No espectro de RMN ^{13}C foi observado o aparecimento dos sinais referentes aos carbonos das hidroxilas em 75.5 e 76.7 ppm (Tabela 3.40).

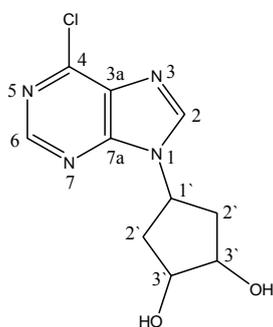


TABELA 3.40. - Dados de RMN ^1H (200MHz) e ^{13}C (50MHz) do diol **132** (CDCl_3).

	$^1\text{H} - \delta$ (ppm); [multiplicidade, J (Hz)]	$^{13}\text{C} - \delta$ (ppm)
1	-	-
2	8.77 (s) ou 8.78 (s)	146.4
3a	-	n.o.
4	-	n.o.
6	8.77 (s) ou 8.78 (s)	151.4
7a	-	n.o.
1'	5.02-5.35 (m)	52.2
2a' e 2b'	2.19-2.40 (m) e 2.57-2.68 (m)	39.1, 39.4
3'	3.95-4.10 (m)	76.5, 76.7

No espectro de I.V. foram observadas as absorções em 1593 e 1560 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de heteroaromáticos; e

em 1063 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação C-O e em 3361 cm^{-1} foi observado o estiramento referente a ligação O-H intermolecularar.

Um ponto interessante a ser considerado é a diferença de reatividade dos compostos *syn* e *anti*. Quando a reação de abertura do epóxido foi feita em meio ácido para a obtenção do diol **132** foi possível observar a diferença de reatividade de ambos, já que a reação foi feita com a mistura **125a:125b** (*syn:anti* - 46:54) e acompanhada por cromatografia gasosa. Os tempos de retenção dos epóxidos **125a** e **125b** (*syn* e *anti*) são 11.5 min. e 12.4 min., respectivamente. Após 30 minutos de reação havia 34% do epóxido *syn* e 54% do *anti*, após 1 hora 26% do *syn* e 54% do *anti* e ao final de 15 horas não havia indícios dos dois epóxidos e a formação de um produto principal com tempo de retenção de 15.5 min.

A diferença de reatividade pode ser analisada pela Figura 3.5 em que embora a protonação seja fácil para os dois epóxidos, durante o ataque nucleofílico o produto *syn* não possui impedimento estérico, já o *anti* possui o grupo purina em uma posição desfavorável (do mesmo lado onde ocorreria o ataque do Nu⁻).

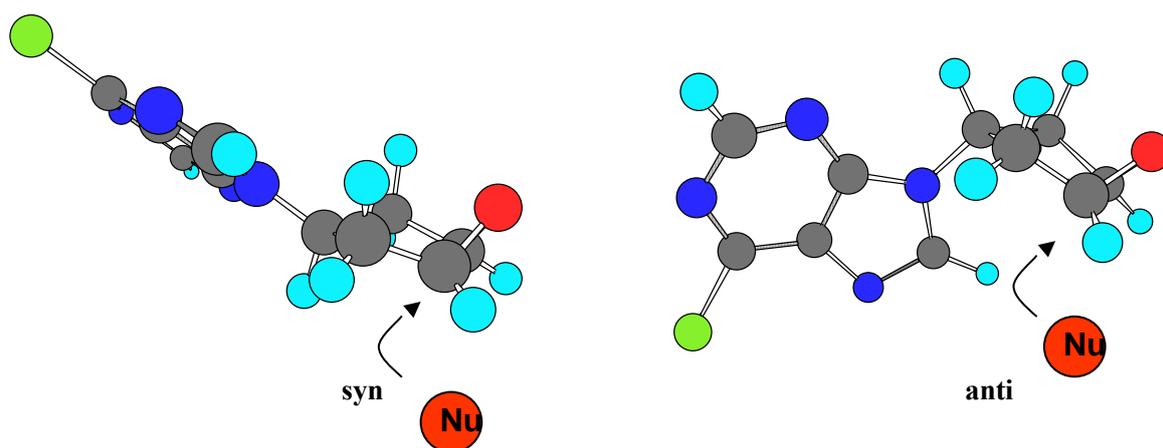


FIGURA 3.5. Epóxidos *syn* e *anti*.

Outra observação que pode ser feita é que os testes 1-7 foram realizados com o epóxido **125a** (*syn*), que embora seja o mais reativo, não foi

testado em presença de um catalisador como LiClO_4 e $\text{Ce}(\text{OTf})_4$ que poderiam ativá-lo.

Devido aos insucessos obtidos nesta etapa do trabalho, o que praticamente inviabilizaram a rota sintética inicialmente proposta, começamos a reconsiderar a real importância da preparação do nucleosídeo **68**. Ele foi proposto por DOCK 3.5 em 1996, que é uma versão bastante antiga do programa. A docagem molecular consiste em um procedimento de amostragem conformacional no qual vários confôrmeros estruturais são docados em um determinado alvo biológico na tentativa de se identificar àquele que apresente a conformação bioativa. Nos programas de docagem atuais vários métodos de amostragem podem ser utilizados, geralmente esses métodos baseiam-se em algoritmo genético, *simulated annealing*, distância geométrica, etc. Esses métodos devem ser associados às funções de pontuação (ou funções de energia) que são utilizadas para avaliar a complementaridade entre os ligantes e o sítio de ligação. A conformação final é então avaliada de acordo com a energia associada. Assim, a eficiência das funções de pontuação exerce papel fundamental na qualidade dos resultados da docagem molecular (WANG et al., 2003).

Um fator importante que não tem sido adequadamente implementado na maioria das estratégias de docagem molecular, consiste na influência da massa molecular dos compostos selecionados pelas funções de pontuação. Um dos termos levados em conta nessas funções consiste na energia de interação proveniente dos contatos do tipo Van der Waals. Tal propriedade leva em consideração a soma de todos os contatos entre o ligante e a proteína dentro de um determinado raio de corte.

Dessa forma, funções de pontuação que consideram esse tipo de interação favorecem a seleção de compostos que possuem um maior número de átomos para interagir com a molécula alvo. Assim, haverá uma tendência maior para a seleção de compostos com maior massa molecular, apesar dessas

moléculas não necessariamente apresentarem complementaridade estrutural com o sítio de ligação (PAN et al., 2003).

Na docagem molecular realizada com o composto **68** foi utilizada a função de pontuação *contact-score* (implementada no programa DOCK 3.5) que leva em consideração os contatos que a molécula do ligante faz com os resíduos de aminoácido da proteína alvo. Esse tipo de função de pontuação favorece compostos que apresentem maior massa molecular, conforme descrito acima.

Além disso, estratégias mais recentes no processo de desenvolvimento de fármacos levam em consideração as características físico-químicas conhecidas. As propriedades das moléculas obedecem a orientação da “regra dos 5”. Baseado nesta regra, um composto deve possuir massa molecular menor que 500, logP menor que 5, menos de 5 doadores de ligação de hidrogênio e a soma de todos os átomos de nitrogênio e oxigênio deve ser menor que 10. Essas propriedades são bastante difundidas e aceitas, sendo definidas como as propriedades limites para absorção passiva da maioria dos fármacos administrados por via oral (TEAGUE et al., 1999).

O composto **68** apresenta duas das propriedades físico-químicas citadas acima próximas dos valores considerados limites (clogP 3,5 e MM 491). Essas características são importantes, pois durante o processo de desenvolvimento de um fármaco (ex. otimização das propriedades farmacocinéticas e potência) ocorre um aumento da massa molecular (1-200) e da lipofilicidade (clogP 0,5-4,0) (TEAGUE et al., 1999).

De acordo com as recentes estratégias empregadas no processo de desenvolvimento de fármacos, a possibilidade de sucesso do nucleosídeo carbocíclico **68** como composto líder para um futuro fármaco contra a Doença de Chagas é restrita. Dessa maneira, os esforços para a sua síntese foram interrompidos.

3.4 - Avaliação da atividade biológica

Todos os compostos sintetizados neste trabalho tiveram suas atividades biológicas avaliadas com os ensaios disponíveis, como a atividade inibitória com relação às enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e APRT de *L. tarentolae*, atividade antimicrobiana e avaliação frente à formiga *Atta sexdens*. Uma coleção de carboidratos comerciais também foi avaliada.

3.4.1 - Atividade inibitória das enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e APRT de *L. tarentolae*

A abordagem moderna de desenvolvimento racional de fármacos se baseia na identificação de vias metabólicas indispensáveis à sobrevivência do parasita. Após seleção dos alvos biológicos, o objetivo passa a ser a caracterização detalhada dos componentes da via enzimática envolvida. Enzimas chave podem ser exploradas para o desenvolvimento de inibidores da reação enzimática, sem afetar o hospedeiro.

3.4.1.1 - Doença de Chagas

A doença de Chagas é causada pela infecção com o protozoário *Trypanosoma cruzi*, o qual é transmitido, principalmente, pelo inseto-vetor hematófago conhecido como “barbeiro” ou “chupão”. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) existem entre 16 e 18 milhões de pessoas infectadas nas Américas, desde o México, ao norte, até Argentina e Chile, ao sul, onde cerca de 10% dos casos são fatais, geralmente como resultado de falha cardíaca e inflamações severas do trato gastrointestinal (BRENER et al., 2000 e MENGEL e ROSSI, 1992).

O *Trypanosoma cruzi* foi descoberto e descrito pelo médico Carlos Chagas em 1909. Este protozoário pertence à classe Mastigophora, ordem

Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. A forma sangüínea, tripomastigota, do *T. cruzi* é extremamente dependente da via glicolítica para obtenção de energia, pois possui um mitocôndrio inativo, sem um ciclo de Krebs funcional. O *T. cruzi* tem uma organela especializada chamada glicossomo, característica da família tripanosomatida, que contém nove enzimas envolvidas nas reações de glicólise e do metabolismo do glicerol (OPPERDOES et al., 1977 e OPPERDOES, 1987). Esta compartimentalização faz com que a razão de glicólise nos tripanosomatídeos seja 50 vezes maior do que a que acontece no eritrócito humano (WANG, 1984). Foi mostrado em ensaios *in vitro* e *in vivo* que a inibição da glicólise causa o desaparecimento dos tripanossomos da corrente sangüínea do hospedeiro mamífero (OPPERDOES et al., 1977; CLARKSON e BROHN, 1976 e FAIRLAMB et al, 1977).

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase glicossomal (gGAPDH) é uma enzima tetramérica, que participa da via glicolítica, tanto no hospedeiro humano como no tripanossomo, catalisando a conversão do gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase em 1,3-difosfoglicerato, na presença do cofator NAD^+ e fosfato inorgânico (Figura 3.6).

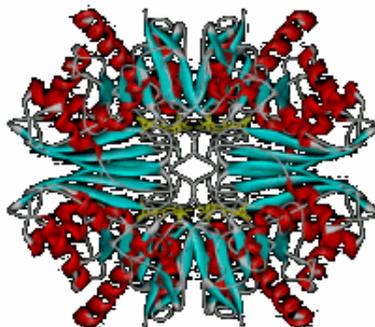


FIGURA 3.6. Representação do tetrâmero da enzima gGAPDH de *T. cruzi*

Observou-se que a enzima glicossomal GAPDH tem também um papel importante no controle do fluxo de metabólitos na interface glicossomo-citosol (CLARKSON e BROHN, 1976).

A enzima GAPDH catalisa a seguinte reação:



Os ensaios de inibição enzimática foram realizados no IFSC-USP através da medida espectrofométrica de NADH formado em 30 segundos a 340 nm.

3.4.1.2 - Leishmaniose

A Leishmaniose é uma enfermidade polimorfa da pele e das membranas mucosas causada por vários protozoários pertencentes à espécie do gênero *Leishmania*. A doença começa com uma pápula que se agrava e tipicamente se transforma em úlcera indolor. As lesões podem ser únicas ou múltiplas, e ocasionalmente não ulceradas e difusas. Podem cicatrizar espontaneamente no término de semanas ou meses ou persistir durante meses ou anos. Em algumas pessoas, algumas espécies de parasitas, se disseminam e produzem lesões de mucosas, inclusive anos depois de se ter curado a lesão cutânea primária. A recorrência das lesões cutâneas depois da cura aparente pode ocorrer em forma de úlceras, pápulas ou nódulos na úlcera original cicatrizada ou muito próxima dela (BENENSON, 1997).

Cerca de 350 milhões de pessoas fazem parte da população de risco (MAYRINK, 2000). A estimativa da OMS (Organização Mundial da Saúde) é de que 12 milhões de pessoas sejam contaminadas no mundo por ano. No Brasil, são cerca de 35 mil novos casos/ano. A medicação utilizada algumas vezes pode ter efeitos colaterais e aliado a isto o aparecimento de formas resistentes de

Leishmania sp.. A partir desses fatores exacerbou-se a necessidade do estudo de vias alternativas que possam permitir o desenvolvimento futuro de inibidores.

A mais marcante diferença metabólica entre vários protozoários parasitas e o hospedeiro mamífero talvez esteja na cadeia de síntese de purino-nucleotídeos. Em células de mamíferos os purino-nucleotídeos podem ser sintetizados a partir de duas vias. Uma via, envolvendo dez reações enzimáticas seqüenciais leva a síntese "de novo" dos purino-nucleotídeos a partir de precursores não nucleotídeos. Uma segunda cadeia metabólica, denominada "vias de recuperação" (Figura 3.7), utiliza os purino-nucleotídeos pré-formados (adenina, guanina, xantina e/ou hipoxantina) derivados da degradação de ácidos nucleicos ou nucleotídeos livres.

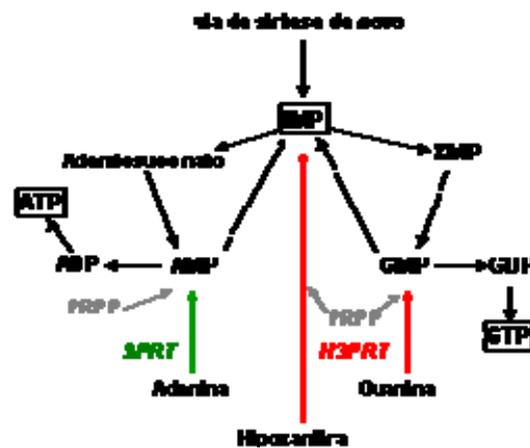


FIGURA 3.7. Via de recuperação e interconversão, em células de mamíferos. APRT- adenina-fosforribosil-transferase; HGPRT- hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase; PRPP- 5'-fosforribosil-1-pirofosfato.

Os protozoários parasitas dependem exclusivamente da via de recuperação para obter as purinas usadas na síntese de DNA e RNA. Em consequência disso, cada gênero de parasita desenvolveu um conjunto específico de enzimas da via de recuperação que permite ao organismo utilizar as purinas pré-formadas adquiridas do hospedeiro. As diversas espécies do gênero *Leishmania* utilizam três fosforribosil-transferases (PRTases) na reciclagem dos purino-nucleotídeos (Figura 3.8), em distinção dos hospedeiros mamíferos que

não possuem a XPRTase. A via de recuperação tem estimulado considerável interesse terapêutico nas enzimas envolvidas nessa via.

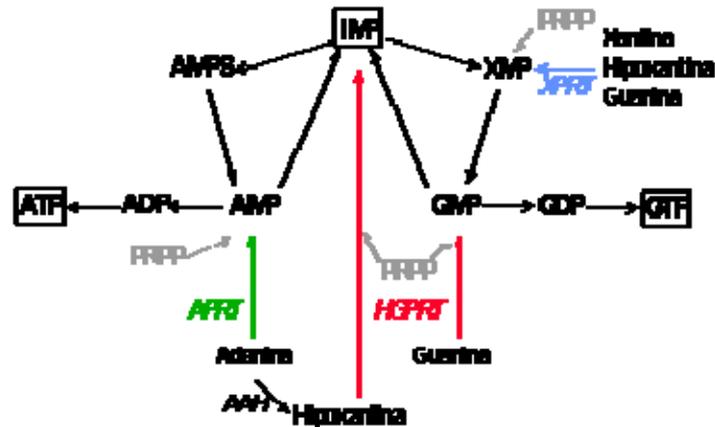


FIGURA 3.8. Via de recuperação e interconversão, em células de Kinetoplastida. APRT- adenina-fosforribosil-transferase; HGPRT- hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase; PRPP- 5'-fosforribosil-1-pirofosfato. XPRT- xantina-guanina-fosforribosil-transferase; AAH- adenina deaminase.

A Figura 3.9 apresenta a estrutura da APRT de *L. tarentolae*. Em verde observa-se uma molécula de adenosina monofosfato (AMP) que está ligada ao sítio ativo. Em amarelo os aminoácidos aos quais o AMP está ligado.

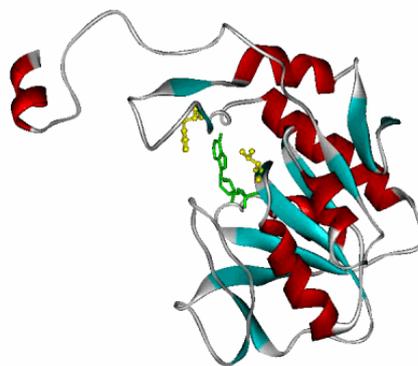


FIGURA 3.9. Representação da estrutura de um monômero da APRT de *L. tarentolae*.

Os ensaios de inibição enzimática foram realizados no IFSC-USP através da medida espectrofométrica de AMP formado em 60 segundos a 259 nm.

3.4.1.3 - Avaliação dos carboidratos sintéticos e comerciais

Os 16 carboidratos sintéticos (Figura 3.10) foram avaliados nos ensaios de inibição enzimática da gGAPDH de *T. cruzi* (Tabela 3.41) e APRT de *L. tarentolae* (Tabela 3.42).

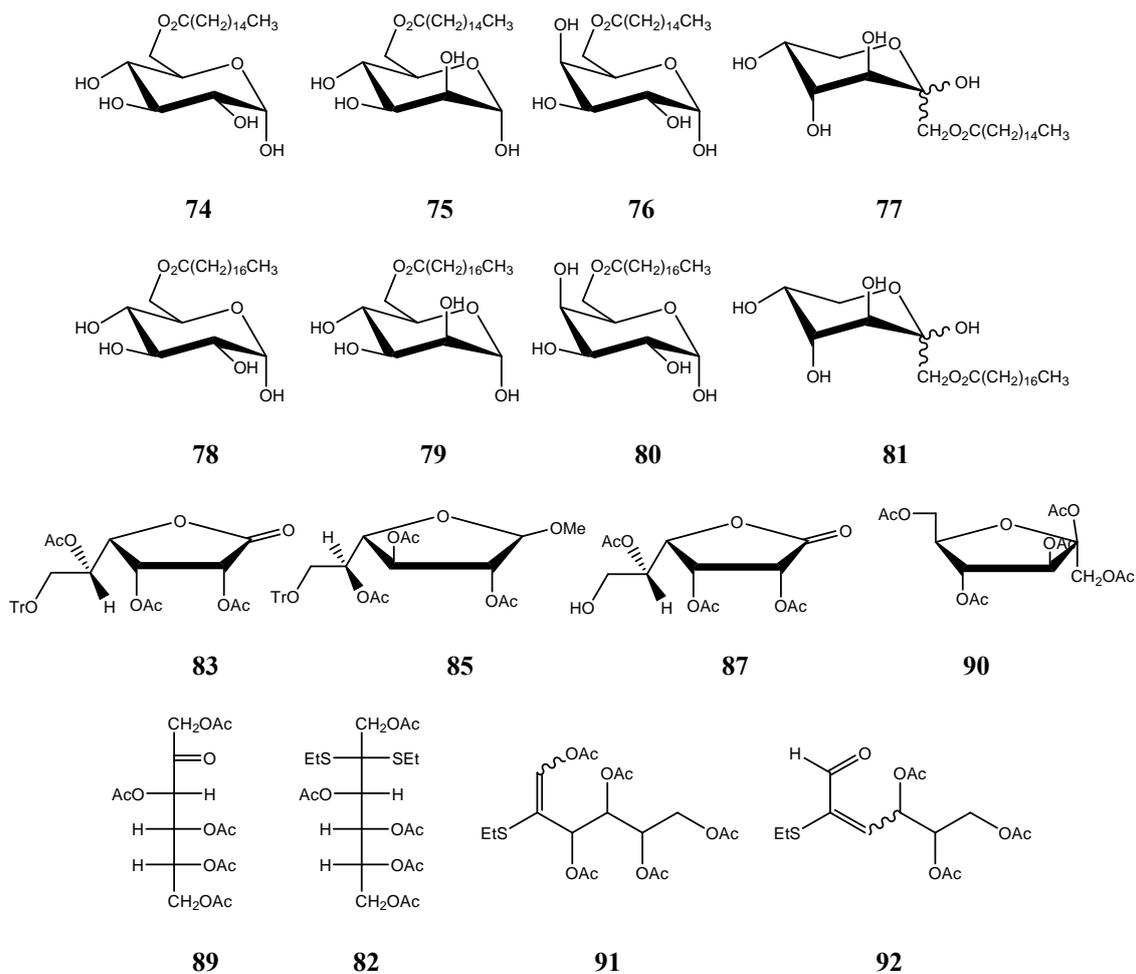


FIGURA 3.10. Carboidratos sintéticos avaliados.

TABELA 3.41. - Efeito de açúcares sintéticos na atividade da enzima gGAPDH.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg ⁻¹)	% Atividade inibitória
74	0.295	31.60	-21
75	0.287	30.79	-5
76	0.246	26.40	9
77	0.325	34.81	-23
78	0.286	30.79	-5
79	0.468	50.20	-72 ^a
80	0.341	36.53	-25 ^a
81	0.410	43.97	-51
Controle	0.271	29.11	-
82	0.295	63.25	-3
83	0.272	58.32	6
85	0.300	64.40	-3
87	0.292	63.68	-3
89	0.290	62.25	0
90	0.310	66.54	-3
91	-	-	-
92	-	-	-
Controle	0.290	62.25	-

^a turvou nas condições do experimento.

TABELA 3.42. - Efeito de açúcares sintéticos na atividade da enzima APRT.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg ⁻¹)	% Atividade inibitória
74	0.045	13.57	0
75	0.045	13.57	0
76	0.051	15.27	-12
77	0.051	15.27	-12
78	0.052	15.27	-12
79	0.058	16.97	-25
80	0.061	18.66	-37
81	0.052	15.27	-12
Controle	0.046	13.57	-
82	0.048	51.61	0
83	0.030	32.16	38
85	0.029	32.08	38
87	0.033	36.03	31
89	0.044	48.08	7
90	0.030	32.27	38
91	0.039	42.13	19
92	0.050	53.69	-3
Controle	0.048	51.70	-

Com o objetivo de colaborar com o estudo de relação estrutura-atividade e avaliação biológica de carboidratos frente as enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e

APRT de *L. tarentolae*, uma coleção de 22 açúcares comerciais (Figura 3.11) foi avaliada. Os resultados estão resumidos nas Tabela 3.43 e 3.44.

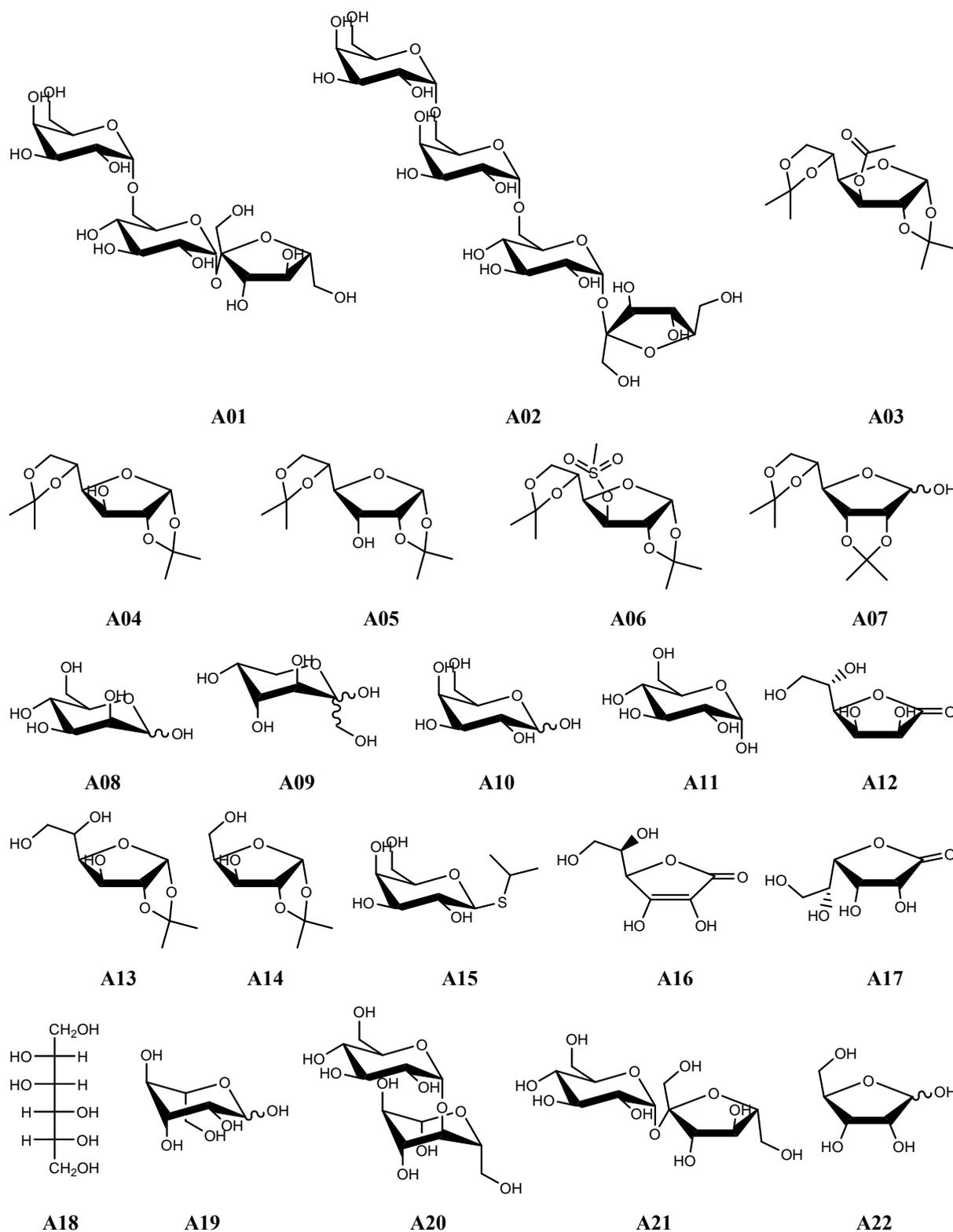


FIGURA 3.11. Carboidratos comerciais avaliados.

TABELA 3.43. - Efeito de açúcares comerciais na atividade da enzima gGAPDH.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg⁻¹)	% Atividade inibitória
A01	0.377	40.48	-39
A02	0.382	40.94	-40
A03	0.346	37.13	-27
A04	0.292	31.34	-7
A05	0.322	34.53	-18
A06	0.192	20.64	29
A07	0.303	32.54	-11
A08	0.273	29.30	-1
A09	0.290	31.17	-7
Controle	0.271	29.11	-
A10	0.342	36.75	-7
A11	0.399	42.80	-25
A12	0.372	39.95	-17
A13	0.146	15.67	56
A14	0.111	11.99	65
A15	0.300	32.25	5
A16	0.359	38.50	-13
A17	0.155	16.71	50
A18	0.184	19.74	42
A19	0.276	29.66	13
A20	0.283	30.38	11
A21	0.231	24.84	27
A22	0.247	26.57	22
Controle	0.317	34.03	-

TABELA 3.44. - Efeito de açúcares comerciais na atividade da enzima APRT.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg ⁻¹)	% Atividade inibitória
A01	0.047	13.57	0
Controle	0.046	13.57	-
A02	0.054	15.27	0
A03	0.056	16.97	-11
A04	0.058	16.97	-11
A05	0.056	16.97	-11
A06	0.058	16.97	-11
A07	0.052	15.27	0
A08	0.049	15.27	0
A09	0.052	15.27	0
A10	0.053	15.27	0
A11	0.054	15.27	0
A12	0.050	15.27	0
A13	0.051	15.27	0
A14	0.048	13.57	11
A15	0.054	15.27	0
A16	0.014	5.09	67
A17	0.048	13.57	11
A18	0.043	11.87	22
Controle	0.055	15.27	-
A19	0.072	20.36	0
A20	0.075	22.06	-8
A21	0.077	22.06	-8
A22	0.075	22.06	-8
Controle	0.069	20.36	-

Os resultados negativos observados indicam que a atividade da enzima com o inibidor é maior do que com o controle, essas substâncias não inibem a enzima. Nas tabelas 3.41 e 3.43 podemos observar os resultados de inibição enzimática para GAPDH dos carboidratos sintéticos e comerciais, a maioria dos compostos se mostrou inativo, mas alguns apresentaram uma atividade moderada de 50-65% de inibição na concentração de 200 µM, podemos destacar que eles se encontram sob a forma de furanosídeos (Figura 3.12).

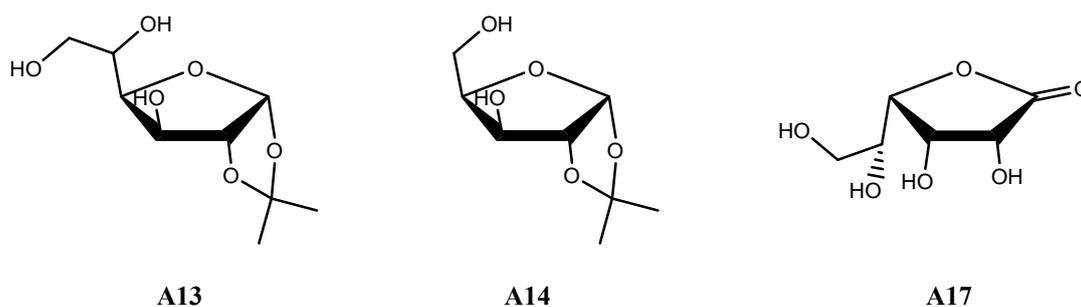


FIGURA 3.12.: Carboidratos com atividade moderada frente à enzima GAPDH de *T. cruzi*.

Como as medidas de atividade inibitória foram realizadas apenas com uma concentração, pois se tratava de um primeiro *screening*, um estudo de QSAR não é possível, pois os valores de IC_{50} não foram calculados. No entanto, algumas observações podem ser feitas ao se analisar aqueles compostos que mostraram atividade, embora moderada. Uma primeira observação relevante é que os carboidratos **A13** e **A14** diferem por serem uma hexose (glicofuranose) e uma pentose (xilofuranose), respectivamente, mas é interessante ressaltar que a configuração do anel furanosídico é a mesma e possuem o mesmo grupo isopropilideno nas posições 1 e 2. Podemos observar também que as glucofuranoses **A03**, **A04** e **A06** com todas as hidroxilas protegidas ou apenas uma livre são inativas ou com atividade menor. No caso da lactona da manose (**A17**) comparando-se com **A12** e **A16**, a conformação das hidroxilas do anel é importante e uma dupla ligação não favorece a atividade frente à enzima gGAPDH.

Nas tabelas 3.42 e 3.44 podemos observar os resultados de inibição enzimática para APRT de *L. tarentolae*, a maioria dos compostos se mostrou inativo, mas alguns apresentaram uma atividade moderada de 38-67% de inibição na concentração de 100 μ M, podemos destacar que eles se encontram sob a forma de furanosídeos (Figura 3.13).

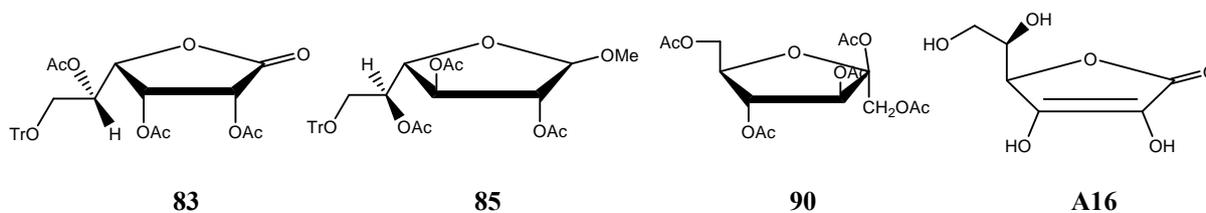


FIGURA 3.13. Carboidratos com atividade frente à enzima APRT de *L. tarentolae*.

Uma primeira observação com relação aos carboidratos sintéticos **83**, **85** e **90** é que os que apresentaram atividades possuem hidroxilas acetiladas, os respectivos compostos não acetilados se mostraram inativos. O ácido D-isoascórbico (**A16**) com 67% de atividade sugere que o anel furanosídico com uma insaturação pode ser importante, pois entre todos os compostos avaliados é o único com essa característica. Um ponto importante que poderá ser estudado é a acetilação do ácido isoascórbico para posterior avaliação.

De qualquer forma, estes resultados sugerem que provavelmente os sacarídeos não devam ser realmente bons compostos de partida para a busca de inibidores específicos para as enzimas gGAPDH e APRT, uma vez que uma diversidade relativamente grande de estruturas foi avaliada. Este fato foi também levado em consideração quando optamos pela descontinuidade do estudo da síntese do trissacarídeo **53**.

3.4.1.4 - Avaliação dos nucleosídeos e análogos

Os 17 nucleosídeos e análogos preparados neste trabalho (Figura 3.14) foram avaliados nos ensaios de inibição enzimática da gGAPDH de *T. cruzi* (Tabela 3.45) e APRT de *L. tarentolae* (Tabela 3.46).

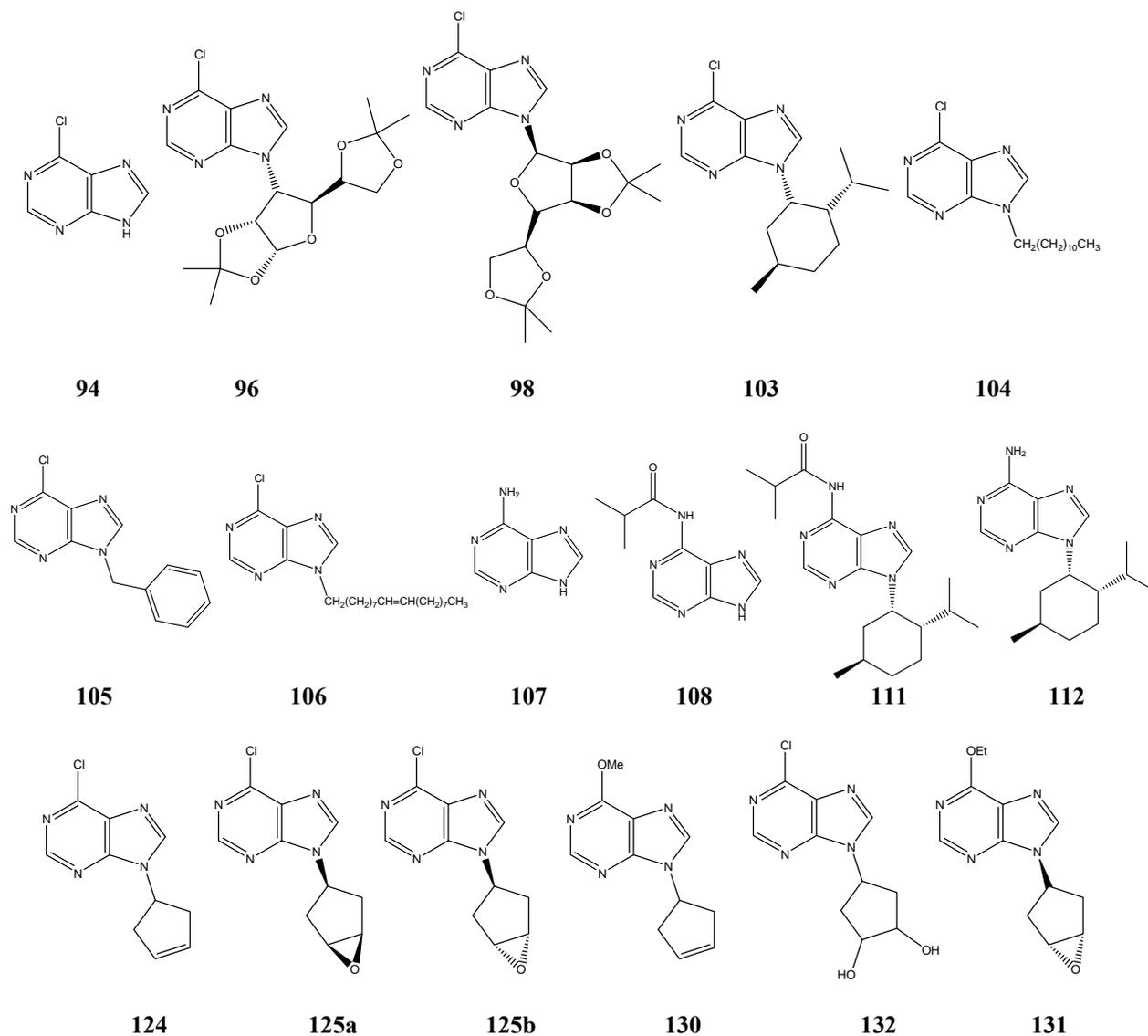


FIGURA 3.14. Nucleosídeos e análogos avaliados frente as enzimas GAPDH e APRT.

TABELA 3.45. - Efeito dos nucleosídeos e análogos na atividade da enzima gGAPDH.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg ⁻¹)	% Atividade inibitória
94	0.266	28.59	-9
98	0.345	37.05	-3
103	0.258	27.75	22
104	0.363	38.99	-8
105	0.279	29.94	16
107	0.215	23.11	11
108	0.206	22.11	15
111	0.247	26.49	-1
112	0.251	27.00	-3
Controle	0.334	35.89	0
124	0.359	77.06	-13
125a	0.345	73.99	-8
125b	0.338	72.60	-6
130	0.351	75.36	-10
131	-	-	-
132	-	-	-
Controle	0.317	68.02	0

Na tabela 3.45 podemos observar os resultados de inibição enzimática para GAPDH dos nucleosídeos e análogos, além das bases nitrogenadas, a maioria dos compostos se mostrou inativo e alguns apresentaram uma baixa atividade 11-22% de inibição na concentração de 200 µM (Figura 3.15).

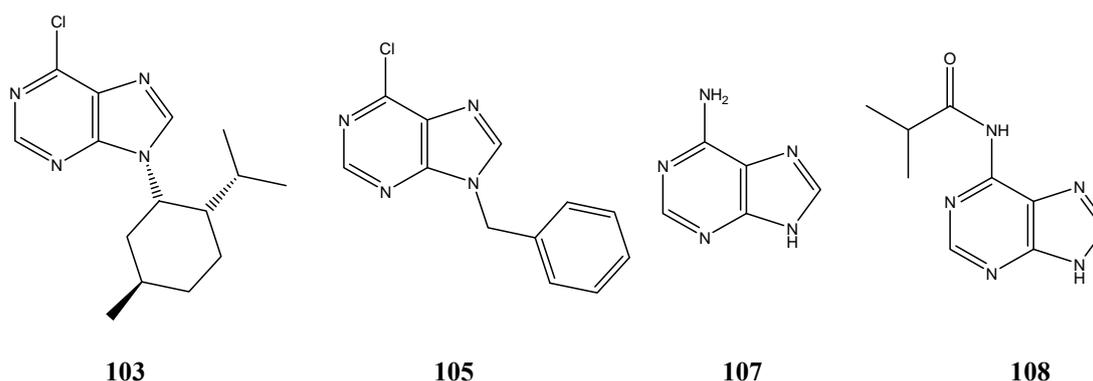


FIGURA 3.15. Compostos com baixa atividade frente à enzima GAPDH de *T.cruzi*.

O composto com atividade um pouco melhor é o derivado da cloro purina com o anel carbocíclico derivado do mentol (**103**).

TABELA 3.46. - Efeito dos nucleosídeos e análogos na atividade da enzima APRT.

Composto	Absorbância	Atividade específica (Umg ⁻¹)	% Atividade inibitória
98	0.051	11.87	36
103	0.023	10.18	45
104	0.027	6.78	64
105	0.039	11.87	36
Controle	0.065	18.66	0
94	0.052	13.57	33
107	0.033	10.18	50*
108	0.039	8.48	58
111	0.058	10.18	50
112	0.044	13.57	33*
Controle	0.073	20.36	0
124	0.045	48.80	5^b
125a	0.043	47.09	9^b
125b	0.044	47.81	7^b
130	0.033	35.64	31
131	0.036	38.75	25^b
132	0.040	43.02	17
Controle	0.048	51.70	0

^b absorve no mesmo comprimento de onda.

* 50 μM, porque turvou à 100 μM.

Com relação à enzima APRT de *L. tarentolae* a maioria dos compostos apresentou baixa atividade, mas podemos destacar alguns compostos (Figura 3.16) que apresentaram uma atividade moderada de 50-64% de inibição na concentração de 100 μM (**107** - 50 μM).

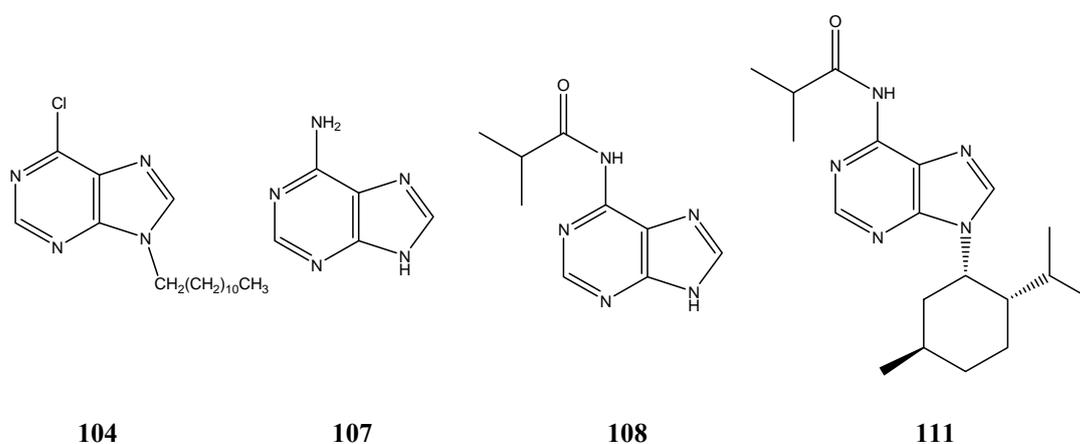


FIGURA 3.16. Compostos com atividade moderada frente à enzima APRT de *L. tarentolae*.

Uma primeira observação com relação às bases nitrogenadas é que o cloro na posição 6 (**94**) leva a uma diminuição da atividade (33%), com o grupo amino (**107**) observamos uma inibição de 50%, ressaltando que foi avaliado na concentração de 50 μ M, e com o grupo amida na posição 6 (**108**) temos uma inibição moderada de 58%. Com relação aos derivados do mentol podemos observar que derivado com amina na posição 6 da purina (**112**) tem uma inibição de 33%, com cloro 45% (**103**) e com o grupo amida 50%, constatando que este grupo pode ter importância na inibição. O derivado do dodecanol (**104**) com inibição de 64% proporciona um interesse no estudo de seu análogo com o grupo amida.

3.4.2 - Controle da formiga *Atta sexdens*

O Centro de Estudo de Insetos Sociais, Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro, vem realizando um trabalho relacionado ao controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta*. Elas cortam o material das plantas e utilizam como principal substrato para o desenvolvimento do fungo simbiote, *Leucoagaricus gongylophorus*, que é a única fonte alimentar da larva (VITOR et al, 2001).

Ésteres derivados da sacarose são compostos surfactantes não iônicos, biodegradáveis e de baixo impacto ambiental, alguns deles são tóxicos para insetos, como o octanoato da sacarose (PUTERKA et al., 2003). Existem açúcares tóxicos para as abelhas, como a galactose e manose. Assim, despertou-nos o interesse de testar uma série de ésteres de açúcares frente às formigas *Atta sexdens*.

Os produtos obtidos foram encaminhados para o Centro de Estudo de Insetos Sociais, Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro, onde foram realizados os ensaios de toxicidade para as formigas operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae).

O monoestearato da D-frutose (MEF-81), monoestearato da D-galactose (MEG-80), monoestearato da D-manose (MEM-79), monopalmitato da glucose (GLUP-74) e monopalmitato da manose (MP2-75) foram avaliados. O tratamento com monoestearato da D-frutose (MEF-81) e monopalmitato da manose (MP2-75) não apresentaram efeito tóxico às operárias de saúvas, já que não houve diferenças significativas na taxa de sobrevivência em relação ao controle. Os tratamentos com monoestearato da D-galactose (MEG-80), monoestearato da D-manose (MEM-79) e monopalmitato da glicose (GLUP-74) não apresentaram efeitos tóxicos sobre as formigas. As sobrevivências médias dos três tratamentos mostraram-se elevadas em relação ao controle (Figura 3.17 e Figura 3.18).

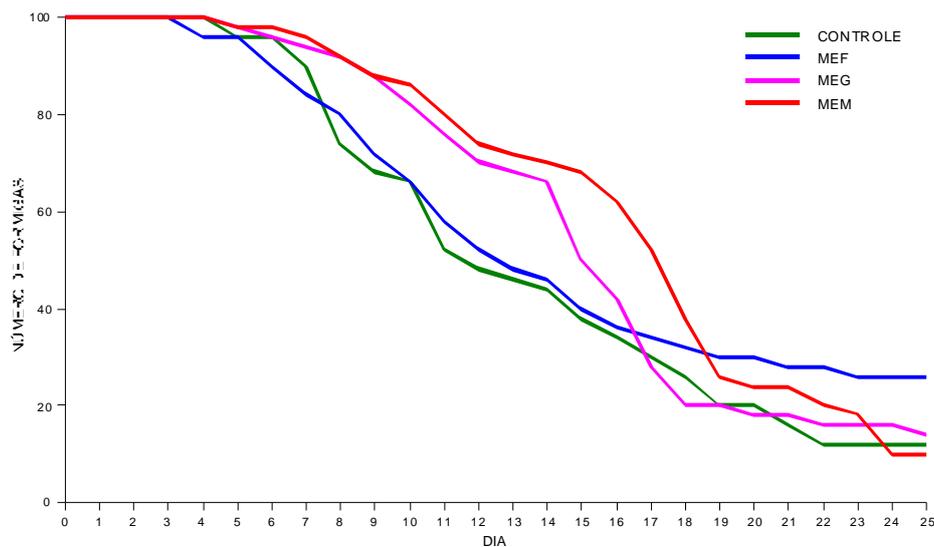


FIGURA 3.17. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento com monoestearato da D-frutose (MEF-81), monoestearato da D-galactose (MEG-80) e monoestearato da D-manose (MEM-79), na concentração de 1mg/mL.

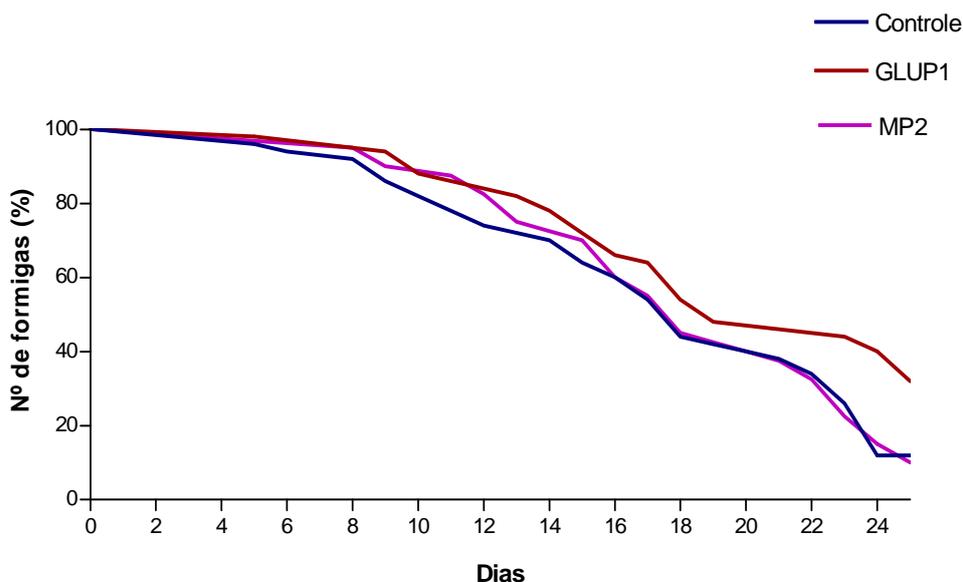


FIGURA 3.18. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao tratamento com ésteres de açúcar: GLUP-74 e MP-75, nas respectivas concentrações de 0,3 mg/mL e 0,1 mg/mL.

Os ésteres de açúcar não apresentaram efeitos tóxicos às formigas. No caso dos ésteres 74, 79 e 80 houve um pequeno aumento da sobrevivência das operárias em relação aos respectivos controles, como pode ser observado através das curvas de sobrevivência. Esses compostos podem estar sendo usados como alimento, a porção açúcar como fonte de energia e o ácido graxo na biossíntese de feromônio de trilha, por exemplo.

3.4.3 - Atividade sobre o crescimento do fungo simbiote da formiga *Atta sexdens* L. e outros microrganismos

Somente as formigas do gênero *Acromyrmex* e *Atta* são conhecidas como cortadoras de folhas, pois cultivam seu fungo predominantemente sobre fragmentos frescos de origem vegetal (folhas e flores, principalmente) (WEBER, 1972; HÖLLDOBLER, WILSON, 1990). Segundo Wilson (1980), *Acromyrmex* e *Atta* são também os gêneros mais evoluídos, apresentando polimorfismo e ninhos complexos. Vilela et al. (1987) relataram ainda a presença de castas distintas, na qual a rainha desempenha a função exclusiva de reprodução, os

soldados protegem o formigueiro, as operárias são responsáveis pelo forrageamento e as jardineiras cuidam dos jardins de fungo.

A associação formiga-fungo é muito antiga, datando de 45-60 milhões de anos atrás (MULLER et al.; 2001), mas até hoje não está totalmente desvendada. Para alguns autores, o fungo serve como principal fonte de alimento das operárias adultas bem como as larvas (WEBER, 1966; ANGELI-PAPA, 1984). Silva (2000), utilizando análises enzimáticas, concluiu que as formigas servem de “reservatório” de pectinases para o fungo e este contribui com fonte nutricional e enzimas necessárias para a manutenção das mesmas. Tal associação se justifica também pela capacidade metabólica do fungo de converter celulose e outros polímeros vegetais que poderiam ser metabolizados pelas formigas (SIQUEIRA et al., 1998). Exemplo da análise: efeito do ácido vanílico que inibiu 80% do fungo simbiote. Os dois tubos da esquerda são o controle e os dois da direita o ácido vanílico (Figura 3.19).



FIGURA 3.19. Foto ilustrativa mostrando o efeito de um inibidor no crescimento do fungo simbiote.

Os produtos sintéticos foram avaliados frente ao fungo simbiote de *Leucoagaricus gongylophorus*. Na Tabela 3.47 estão os resultados com relação aos açúcares sintéticos e na Tabela 3.48 dos nucleosídeos e análogos.

TABELA 3.47. - Efeito de açúcares no desenvolvimento do fungo simbiote *L. gongylophorus*

Açúcares	% de Inibição do fungo	Açúcares	% de Inibição do fungo
74	0	82	0
75	0	83	0
76	0	85	20
77	0	87	-
78	0	89	20
79	0	90	-
80	0	91	-
81	0	92	-

Concentração: 100 µg.mL⁻¹

Controle: = 0 % de inibição

Peso seco do inoculo: média 11.8 mg.mL⁻¹

TABELA 3.48. - Efeito de nucleosídeos no desenvolvimento do fungo simbiote *L. gongylophorus*

Produto	% de Inibição do fungo	Produto	% de Inibição do fungo
94	0	112	0
98	0	124	20
103	0	125a	-
104	0	125b	-
105	0	130	0
107	0	131	-
108	0	132	-
111	0		

Concentração: 100 µg.mL⁻¹

Controle: = 0 % de inibição

Peso seco do inoculo: média 11.8 mg.mL⁻¹

Nas tabelas 3.47 e 3.48 podemos observar os resultados dos compostos sobre o crescimento do fungo simbiote. A maioria dos compostos não apresentou atividade e alguns inibiram no máximo a 20% o desenvolvimento do fungo, como os compostos **85**, **89** e **124** (Figura 3.20).

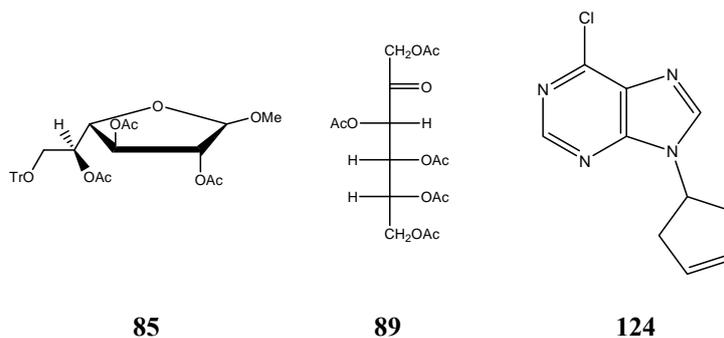


FIGURA 3.20. Compostos com atividade fungicida.

Além do fungo simbiote das formigas, outros microrganismos foram testados quanto ao potencial antimicrobiano dos compostos sintetizados:

1. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)
2. *Micrococcus roseus* (CCT 1469)
3. *Bacillus cereus* (CCT 1436)
4. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442)
5. *Escherichia coli* (CCT 1457)
6. *Candida albicans* (RJ/50008)
7. *Cryptococcus laurentii* (RJ/50359)
8. *Saccharomyces cerevisiae* (CCT 0758)
9. *Trichosporon cutaneum* (UCD 121)

Os produtos foram dissolvidos na concentração desejada e aplicados em discos de papel de filtro. Em placas de Petri contendo o meio foram espalhados os microrganismos e os discos de papel de filtro com os compostos foram adicionados em seguida. Os microrganismos cujo diâmetro dos halos de inibição formados foram iguais ou superiores a 8 mm foram considerados sensíveis. Discos controle foram preparados da mesma maneira. Os compostos foram avaliados na concentração de 100 µg/disco. Podemos observar nesse exemplo de extratos brutos de *Trichilia sp.*, o halo maior é o

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

4 - Conclusões e Perspectivas

O presente trabalho envolveu a preparação de uma série de derivados de carboidratos e nucleosídeos para contribuir para o estudo de estrutura-atividade destas classes de compostos.

Mais especificamente com relação aos carboidratos, foi preparada uma série de 8 ésteres de açúcares derivados do ácido esteárico e palmítico, além de 8 derivados da manose, galactose e frutose. Podemos destacar como inéditos os compostos 6-*O*-estearoil-D-manopiranosose (**75**), 6-*O*-estearoil-D-frutopiranosose (**77**), 6-*O*-palmitoil-D-manopiranosose (**79**), 6-*O*-palmitoil-D-frutopiranosose (**81**), 1,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-2-etil-2-tio-1-hexeno (**91**) e 3,4,5,6-tetra-*O*-acetil-2-etil-tiohex-2-enose (**92**).

Com relação aos derivados de nucleosídeos foram preparados 14 derivados purínicos. Podemos destacar como inéditos os compostos 6-cloro-9-(2,3:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose)-9*H*-purina (**96**), 6-cloro-9-[(1*S*,2*R*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexil]-9*H*-purina (**103**), 6-cloro-9-(octadec-9-enil)-9*H*-purina (**106**), 2-metil-*N*-6-propanamida-9-((1*S*,2*R*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexil)-9*H*-purina (**111**), 6-amino-9-((1*S*,2*R*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexil)-9*H*-purina (**112**), 6-cloro-9-ciclopent-3-en-1-il-9*H*-purina (**124**), 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9*H*-purina (**125a** - *syn* e **125b** - *anti*), 9-ciclopent-3-en-1-il-6-metoxi-9*H*-purina (**130**), 6-etoxi-9-[6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il]-9*H*-purina (**131**), 4-(6-cloro-9*H*-purin-9-il)ciclopentano-1,2-diol (**132**).

Com relação à síntese do trissacarídeo **53**, conforme planejado os monômeros foram eficientemente preparados, no entanto o acoplamento dos mesmos se mostrou bastante complicado. Dessa maneira, a síntese foi interrompida levando-se em consideração também os problemas para a realização da modelagem molecular e a incerteza com relação à atribuição estrutural feita inicialmente.

A síntese do nucleosídeo carbocíclico **68** também foi realizada com sucesso até o intermediário **125**, porém a abertura do mesmo empregando cianetos não foi possível apesar um número bastante grande de tentativas, empregando-se metodologias variadas. A síntese foi então interrompida devido também à possibilidade de sucesso de **68** como composto líder para um futuro fármaco contra a Doença de Chagas ser restrita.

Os compostos sintetizados e uma série de 22 carboidratos comerciais foram avaliados biologicamente com relação às enzimas gGAPDH de *T. cruzi* e APRT de *L. tarentolae*, atividade antimicrobiana e avaliação frente à formiga *Atta sexdens*.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se observar que os carboidratos derivados da glicose (**A13**), xilose (**A14**) e manose (**A17**) inibem moderadamente a enzima gGAPDH de *T. cruzi* à 200µM (50-63%). Com relação à inibição da enzima APRT de *L. tarentolae* (100µM) pode ser observado que carboidratos acetilados aumentam a atividade inibitória, então o ácido isoascórbico (**A16**) que apresentou uma inibição de 67% poderá ser acetilado para avaliação do derivado.

Os nucleosídeos e análogos avaliados com relação à enzima gGAPDH de *T. cruzi* à 200µM foram inativos ou tiveram uma inibição baixa (11-22%). Com relação à inibição da enzima APRT de *L. tarentolae* (100µM) pode ser observado que o grupo amida na posição 6 da purina pode aumentar a atividade inibitória, como no caso dos nucleosídeos derivados do mentol. O derivado do dodecanol (**104**) com inibição de 63%, possui o cloro na posição 6, sendo de interesse o estudo de seu análogo com o grupo amida.

Os ésteres de açúcares derivados de ácidos graxos não apresentaram efeitos tóxicos às formigas. No caso dos ésteres **74**, **79** e **80** ocorreu um pequeno aumento da sobrevivência das operárias em relação aos respectivos controles.

Os carboidratos e nucleosídeos foram avaliados com relação ao crescimento do fungo simbionte *L. gongylophorus*. A maioria dos compostos

não apresentou atividade e alguns inibiram no máximo a 20% o desenvolvimento do fungo, como os compostos dos carboidratos **85** e **89** e o nucleosídeo carbocíclico **124**.

Dentre os compostos avaliados com relação ao potencial antimicrobiano podemos destacar o análogo nucleosídico da cloropurina com o dodecanol (**104**), mesmo não sendo tão expressivo como o controle, a *Escherichia coli* se mostrou sensível ao composto em questão.

A série de ésteres de açúcares de ácidos graxos será ainda avaliada com relação a atividade inseticida frente a lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, no Laboratório de Bioensaios do Departamento de Química da UFSCar e com relação a atividade frente a α -glicosidase (Km e Ki) na Faculdade de Farmácia da USP-Ribeirão Preto.

EXPERIMENTAL

5 - Experimental

5.1 - Aspectos gerais

Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados em um espectrômetro Bomem modelo M 102. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de KBr ou em filme líquido sobre pastilha de KBr e as absorções estão expressas em número de onda (cm^{-1}).

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram registrados no espectrômetro Bruker ARX-200. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Para indicar a multiplicidade dos sinais foram realizadas as seguintes abreviações: s (singleto), d (dubleto), t (triplete), q (quadruplete), sep (septuplete), m (multiplete) e dd (duplo dubleto).

As análises feitas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu modelo GC17A equipado com um detector modelo GCMS-QP5000 e coluna HP5-MS, operando como uma fonte de impacto eletrônico (70 eV).

Os pontos de fusão foram medidos em um aparelho Microquímica modelo MQAPF-301.

Nas separações feitas por cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 60 70-230 mesh ASTM Merck. Nas placas de vidro de 2 cm x 5 cm para CCD utilizou-se sílica gel 60 G Merck Darmstadt e revelou-se sobre luz ultravioleta, iodo molecular, utilizando-se um borrifador contendo uma solução de 1g de vanilina, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado e 100 mL de ácido acético ou ou solução etanólica de H_2SO_4 5%.

Os solventes utilizados foram todos de grau técnico e foram destilados antes de serem utilizados. Os solventes anidros foram obtidos por

tratamento convencional (PERRIN e ARMAREGO, 1988). Os demais reagentes foram obtidos da Aldrich Co. e utilizados sem purificação prévia.

5.1.1 - Ensaio de inibição enzimática

5.1.1.1 - Ensaio de inibição da enzima GAPDH de *T. cruzi*

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da USP de São Carlos.

Em uma solução com as seguintes concentrações finais: 0.003 mol L⁻¹ de nicotinamida adenina dinucleotídeo (β -NAD⁺), 0.040 mol L⁻¹ de tampão tris pH 8.6 com 0.001 mol L⁻¹ de etilenodiaminotetraacético (EDTA), 0.001 mol L⁻¹ de β -mercaptoetanol, 0.03 mol L⁻¹ de arseniato de sódio e 900 μ mol L⁻¹ do substrato gliceraldeído trifosfato (G-3-P), foram adicionados 5 μ L de GAPDH para iniciar a reação. Assim, a enzima cuja concentração final na reação é 9 nmol L⁻¹, catalisa a formação de NADH.

Os testes foram feitos no aparelho SPECTRAMax® PLUS³⁸⁴, Microplate Spectrofotometer.

Para a realização dos ensaios utilizou-se placas de acrílico contendo 96 poços com capacidade de 300 μ L de volume cada poço. Os poços foram dispostos na placa em 12 colunas com 8 poços cada uma.

Cada amostra (inibidor ou padrão de atividade da enzima) utiliza quatro poços distribuídos na mesma coluna, pois o aparelho faz, simultaneamente, leituras de coluna em coluna. No primeiro poço de cada amostra não há reação, ou seja, não são adicionados enzima e o substrato, nos outros três poços restantes há reação, e estes são conhecidos como a triplicata de cada amostra testada.

Cada placa possuía duas amostras padrão da enzima, a inibição foi observada a partir de uma comparação da atividade específica da enzima com a atividade da enzima frente a cada inibidor.

A cinética da reação foi monitorada em 340 nm (formação de NADH) em um tempo de 60 segundos. Os compostos foram testados inicialmente na concentração de 200 μM (VIEIRA et al., 2001).

5.1.1.2 - Ensaio de inibição da enzima APRT de *L. tarentolae*

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da USP de São Carlos.

Em uma solução com as seguintes concentrações finais: 560 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ adenina, 0.2 mol L^{-1} tampão tris HCl pH 7.4 e 0.01 mol L^{-1} de cloreto de magnésio, foram adicionados 3.8 μL de APRT para iniciar a reação.

Assim, a enzima cuja concentração final na reação é 130 nmol L^{-1} , catalisa a formação de AMP. Os experimentos foram realizados em cubetas de quartzo de 500 μL e monitorados a 259 nm durante 60 segundos a 25°C.

Para calcular a atividade inibitória, foram realizados ensaios em triplicada. A porcentagem de inibição foi obtida pela diferença entre a atividade específica da enzima na presença 5% de DMSO (considerada atividade máxima = 100%) e a atividade específica obtida na presença do possível inibidor (solubilizado em DMSO). Os compostos foram testados inicialmente na concentração final de 100 μM .

5.1.2 - Controle das formigas

Os bioensaios foram realizados no Centro de Estudo de Insetos Sociais do Instituto de Biociências da UNESP. Durante o ensaio as formigas do gênero *Atta* foram mantidas com uma dieta artificial. As dietas com a adição dos compostos sintetizados (experimental) ou sem (controle) são oferecidas diariamente. O controle foi preparado com a dieta mais o solvente. Os compostos sintéticos foram analisados nas seguintes concentrações 100, 50, 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Durante os ensaios o material foi mantido numa incubadora a

temperatura de $25(\pm 1)$ °C e a umidade relativa entre 70-80%. O maior período de observação foi de 25 dias e o número de formigas mortas foi registrado diariamente (VITOR et al, 2001).

5.1.3 - Avaliação do crescimento do fungo simbiote

Os bioensaios foram realizados no Centro de Estudo de Insetos Sociais do Instituto de Biociências da UNESP.

Preparo do meio para ensaio com o fungo *L. gongylophorus*:

As substâncias foram incorporadas ao meio de cultura nas concentrações desejadas através da dissolução prévia em solvente. O volume correspondente a 1.0 mL foi adicionado em tubos de ensaio contendo 9.0 mL de meio A (PAGNOCCA et al., 1990). Para os controles dos ensaios, aos 9.0 mL de meio A foram acrescentados 1.0 mL dos solventes usados na preparação da solução dos compostos avaliados.

Os materiais foram autoclavados a 120°C / 15 minutos e homogeneizados com o auxílio de um agitador tipo Vortex para propiciar uma boa distribuição e incorporação dos compostos no meio de cultura. Em seguida, os tubos foram inclinados para resfriamento.

Preparo do inóculo:

Para obtenção do inóculo utilizou-se culturas em 30 dias de desenvolvimento. O micélio presente em três ou quatro tubos foi transferido assepticamente para um homogeneizador de Potter contendo cerca de 3,0 mL de água peptonada 0.1% (p/v) e triturado de modo brando, visando a obtenção de uma suspensão micelial homogênea. Em seguida, a suspensão micelial foi transferida para um frasco tipo Erlenmeyer contendo 100 mL de água peptonada 0.1% estéril e 1.0 mL foi utilizado como inóculo. Ao final da preparação e antes da utilização, uma amostra da suspensão micelial foi observada ao microscópio para constatação de que o material desagregado sofreu um mínimo de danos e também para a checagem da pureza da cultura.

Determinação do peso seco:

Alíquotas de 5.0 mL de inóculo foram empregadas para determinação do peso seco em cada série de experimentos. Os materiais, colocados em vidro de relógio, foram secos em estufa de esterilização a uma temperatura de 70 °C por 24 horas ou até peso constante.

Avaliação do crescimento do fungo simbiote:

Após receber o inóculo, os tubos foram cuidadosamente manuseados visando uma distribuição uniforme dos fragmentos de micélio na superfície do ágar e foram mantidos inclinados em sala climatizada à temperatura de 25 °C. Após 30 dias de incubação foi realizada a leitura com base na quantidade e densidade do micélio.

5.1.4 - Avaliação da atividade antimicrobiana

Microorganismos testados quanto ao potencial antimicrobiano dos compostos sintetizados no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS):

1. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)
2. *Micrococcus roseus* (CCT 1469)
3. *Bacillus cereus* (CCT 1436)
4. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442)
5. *Escherichia coli* (CCT 1457)
6. *Candida albicans* (RJ/50008)
7. *Cryptococcus laurentii* (RJ/50359)
8. *Saccharomyces cerevisiae* (CCT 0758)
9. *Trichosporon cutaneum* (UCD 121)

Método de difusão em ágar utilizando discos de papel de filtro (BAUER et al., 1966).

1. Aplicação das substâncias nos discos de papel de filtro:

As substâncias foram dissolvidas conforme a concentração desejada em solventes de melhor compatibilidade. Alíquotas (não superiores a 10 µL) deste material foram aplicadas aos discos aguardando a evaporação do solvente entre as aplicações. Os discos foram colocados em estufa a 45 °C durante uma noite para secagem final.

2. Procedimento do ensaio:

Em placas de Petri contendo 15 mL de meio (Ágar Mueller-Hinton para bactérias e Ágar Sabouraud para fungos) foram espalhados por meio de um “swab” estéril uma suspensão de microrganismos recentemente preparados (24 horas para bactérias e 48 horas para fungos) e diluídos em solução salina 0,9% correspondente à escala McFarland 0,5. Aguardou-se um período de 10 a 15 minutos, e então os discos (até 12 discos/placa) foram regularmente distribuídos na superfície das placas com pinça e pressionados levemente sobre o ágar. Foi mantida uma distância de 1,5 cm entre os discos e de 1 cm da borda para evitar interferência entre os halos de inibição. Quinze minutos após a semeadura, as placas foram invertidas e incubadas.

Após 24 horas de incubação foi realizada uma leitura dos resultados das bactérias, enquanto que para os fungos foram realizadas leituras após 48 horas.

Os microrganismos cujo diâmetro dos halos de inibição formados foram iguais ou superiores a 8 mm foram considerados sensíveis. Cada ensaio foi realizado em duplicata.

Discos controle foram preparados da mesma maneira contendo quantidades conhecidas de antibióticos, inclusive antifúngicos e o solvente de uso.

5.2 - Procedimento experimental

5.2.1 - Síntese dos ésteres de açúcares derivados de ácidos graxos

PROCEDIMENTO GERAL: Em um balão de 25 mL foi colocado o açúcar desejado (4 mmol), DMAP (49 mg, 0.4 mmol) em uma solução THF/H₂O (1:1) (6.5 mL), o pH foi ajustado em 10 com uma solução 10M de NaOH. Foi adicionado lentamente o cloreto de ácido (1 mmol). O meio reacional foi mantido sob agitação por 30 minutos, em seguida foi neutralizado com uma solução de HCl 0.5M (0.5 mL) e diluído com H₂O (100 mL). O éster bruto foi extraído com 1-butanol (3 x 100 mL), após evaporação do solvente, o produto desejado foi separado por cromatografia flash usando como eluente CH₂Cl₂/MeOH (9:1).

6-*O*-Estearoil-D-glicopirranose (74)

Rendimento: 0.134g (30%)

P.F.: 101-103 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 32 H), 1.49-1.54 (m, 2 H), 2.33 (t, J = 7 Hz, 2 H), 3.07-3.24 (m, 4 H), 3.64 (dd, J = 10 e 5 Hz, 2 H), 4.54 (t, J = 5 Hz, 1 H), 4.99 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5.08 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5.22 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5.34 (d, J = 8 Hz, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 13.9, 22.0, 24.1, 28.4, 28.6, 28.7, 28.8, 29.0 (8 C), 31.2, 33.6, 60.5, 69.5, 72.4, 76.4, 77.8, 94.1, 171.8.

I.V. (v_{max}, filme): 1029, 1056, 1085, 1463, 1731, 2848, 2919, 3388 cm⁻¹.

6-*O*-Estearoil-D-manopirranose (75)

Rendimento: 0.156 g (35%)

P.F.: 108-109 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 6 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 32 H), 1.49-1.55 (m, 2 H), 2.32 (t, J = 7 Hz, 2 H), 3.25-3.35 (m, 4), 3.57-3.62 (m, 2H), 4.45 (t, J = 6 Hz, 1 H), 4.74 (d, J = 5 Hz, 1 H), 4.88 (d, J = 5 Hz, 1 H), 5.11 (d, J = 4 Hz, 1H), 5.84 (d, J = 2 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 14.0, 22.1, 24.4, 28.4, 28.7 (2 C), 28.9, 29.1 (8 C), 31.3, 33.7, 60.8, 66.2, 69.3, 70.6, 76.4, 93.8, 171.4.

I.V. (v_{max}, filme): 721, 1172, 1467, 1740, 2850, 2918, 2956, 3431, 3439 cm⁻¹.

6-*O*-Estearoil-D-galactopirranose (76)

Rendimento: 0.134 g (30 %)

P.F.: 97-98 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 32 H), 1.44-1.62 (m, 2 H), 2.33 (t, J = 7 Hz, 2 H), 3.65-3.70 (m, 1 H), 4.49-4.52 (m, 1 H), 4.55-4.64 (m, 1 H), 4.82-4.85 (m, 1 H), 5.04-5.06 (m, 1 H), 5.30 (d, J = 7 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 13.9, 22.1, 24.1, 28.4, 28.7 (2 C), 28.9, 29.0 (8 C), 31.3, 33.4, 60.1, 67.9, 69.4, 73.1, 76.1, 94.7, 171.9.

I.V. (ν_{max}, filme): 1089, 1467, 1635, 1736, 2850, 2917, 2954, 3421, 3430 cm⁻¹.

6-O-Estearoil-D-frutopiranoze (77)

Rendimento: 0.133g (32%)

P.F.: 45-47 °C.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.26 (sl, 32 H), 1.55-1.68 (m, 2 H), 2.29-2.42 (m, 2 H), 3.70-4.26 (m, 7H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.1, 22.7, 24.8, 29.4 (2 C), 29.7 (10 C), 31.9, 34.1, 63.5, 66.5, 69.3, 69.7, 70.5, 96.9, 174.7.

I.V. (ν_{max}, filme): 740, 1265, 1728, 2852, 2921, 2954, 3425 cm⁻¹.

6-O-Palmitoil-D-glicopiranoze (78)

Rendimento: 0.188g (45%)

P.F.: 110-111 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 6 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 28 H), 1.51-1.48 (m, 2 H), 2.31-2.14 (m, 2H), 2.99-3.15 (m, 4 H), 3.43 (dd, J = 9 e 2 Hz, 1 H), 3.74 (d, J = 5 Hz, 1 H), 3.79 (d, J = 5 Hz, 1 H), 4.0 (t, J = 5 Hz, 1 H), 4.26 (d, J = 11 Hz, 1 H), 4.90 (d, J = 3 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 13.9, 22.1, 24.5, 28.4, 28.5, 28.6, 28.7, 28.9, 29.0 (4 C), 31.3, 33.4, 33.7, 63.9, 69.1, 70.5, 72.2, 72.8, 92.3, 172.9.

I.V. (ν_{max}, filme): 1052, 1155, 1172, 1265, 1469, 1729, 2850, 2869, 2919, 2954, 3326 cm⁻¹.

6-O-Palmitoil-D-manopiranoze (79)

Rendimento: 0.167g (40%)

P.F.: 58-60 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 6 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 28 H), 1.49-1.52 (m, 2 H), 2.32 (t, J = 7 Hz, 2 H), 3.25-3.50 (m, 4 H), 3.54-3.60 (m, 1

H), 4.45-4.59 (m, 2 H), 4.82-4.91 (m, 2 H), 5.06-5.18 (m, 1 H), 5.84 (d, J = 2 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 13.9, 22.0, 24.3, 28.3, 28.6 (3 C), 28.8, 29.0 (5 C), 31.2, 33.6, 60.8, 66.2, 69.2, 70.6, 76.3, 93.8, 171.3.

I.V. (ν_{max}, filme): 1068, 1467, 1735, 2850, 2917, 3380 cm⁻¹.

6-O-Palmitoil-D-galactopiranosose (80)

Rendimento: 0.175g (42%)

P.F.: 50-51 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 0.85 (t, J = 6 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 28 H), 1.43-1.59 (m, 2 H), 2.27 (t, J = 6 Hz, 2 H), 3.25-3.55 (m, 4 H), 3.63-3.69 (m, 2 H), 3.99 (d, J = 4 Hz, 1 H), 4.06 (d, J = 4 Hz, 1 H), 4.35 (d, J = 4 Hz, 1 H), 4.55 (d, J = 4 Hz, 1 H), 4.93 (d, J = 4 Hz, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 14.0, 22.1, 24.5, 28.5, 28.7 (3 C), 28.9, 29.1 (5 C), 31.3, 33.4, 64.0, 67.6, 68.5, 69.0, 69.3, 92.6, 173.0.

I.V. (ν_{max}, filme): 742, 1162, 1178, 1265, 1467, 1739, 2852, 2923, 2954, 3440 cm⁻¹.

6-O-Palmitoil-D-frutopiranosose (81)

Rendimento: 0.137g (33%)

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.87 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.25 (sl, 28 H), 1.59-1.62 (m, 2 H), 2.33 (t, J = 7, 2 H), 3.70-4.25 (m, 7 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.1, 22.7, 24.7, 24.8, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4 (2 C), 29.7 (4 C), 31.9, 34.1, 64.6, 66.5, 68.7, 69.2, 70.4, 96.9, 174.7.

I.V. (ν_{max}, filme): 742, 1066, 1081, 1265, 1467, 1631, 1728, 2852, 2921, 3417, 3425 cm⁻¹.

5.2.2 - Tentativa de síntese β-L-manofuranosil(6→2)-frutosil (2→6)-β-L-galactofuranose (53)

5.2.2.1 - Preparação da 2,3,5-tri-O-acetil-6-O-tritil-L-manose-γ-lactona (83)

Uma solução da lactona **87** (0.200 g, 1.12 mmol) em piridina (4 mL) foi tratada com cloreto de tritila (0.375 g, 1.34 mmol) na presença de DMAP (7.20 mg) com agitação a 80 °C por 20 horas. Em seguida o meio

reacional foi resfriado à temperatura ambiente para a adição de anidrido acético (2.5 mL) e foi mantido sob agitação por 24 horas. Foram adicionados água e gelo ao meio reacional, o precipitado formado foi filtrado e purificado por cromatografia flash com diclorometano como eluente. O produto (0.284 g, 0.52 mmol) foi obtido com rendimento de 46%.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.05 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 3.33 (dd, J = 12 e 4 Hz, 1H), 3.49 (dd, J = 10 e 2Hz, 1H), 4.49 (dd, J = 10 e 4 Hz, 1H), 5.23-5.30- (m, 1H), 5.71 (d, J = 4Hz, 1H), 5.78 (dd, J = 4 e 2Hz, 1H), 7.24-7.44 (m, 15H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.1, 20.3, 20.7, 61.9, 67.1, 68.1, 68.2, 68.5, 74.8, 127.3 (3 C), 127.9 (6 C), 128.6 (6 C), 143.4 (3 C), 169.0, 169.2, 169.3, 169.4.

I.V. (v_{max}, filme): 702, 1031, 1110, 1240, 1372, 1448, 1490, 1757, 1812, 2937, 2982, 3024, 3059.

5.2.2.2 - Preparação da metil 2,3,5-tri-*O*-acetil-6-*O*-tritol-galactofuranose (85)

Uma suspensão de D-galactose **72** (0.500 g, 2.78 mmol) em metanol anidro (15 mL) contendo FeCl₃ (0.449 g, 2.78 mmol) foi aquecida à 60 °C por 24 horas e depois mantida sob refluxo por 4 horas. Após resfriar o meio reacional à temperatura ambiente foram adicionados celite e uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (10 mL). A mistura reacional foi agitada por mais uma hora a temperatura ambiente. O precipitado obtido foi filtrado sobre uma camada de celite, lavado com metanol (30 mL) e o filtrado foi evaporado, rendimento de 40% (0.269g, 1.38 mmol). Ao filtrado foram adicionados piridina (4 mL), cloreto de tritila (0.580 g, 2.08 mmol) e DMAP (10 mg) com agitação a 80 °C por 20 horas. Em seguida o meio reacional foi resfriado à temperatura ambiente para a adição de anidrido acético (2.5 mL) e foi mantido sob agitação por 24 horas. Foram adicionados água e gelo ao meio reacional, o precipitado formado foi filtrado e purificado por cromatografia flash com diclorometano como eluente. O produto desejado foi obtido na forma de mistura dos α- e β-galactofuranosídeos protegidos **85** (0.389g, 0.69 mmol) com rendimento de 50%.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.91, 1.97, 2.05, 2.06, 2.07, 2.12 (6s, α e β-O₂CCH₃), 3.06 (dd, J = 9 e 7 Hz), 3.27 (dd, J = 10 e 6 Hz), 3.33 (s, β-OCH₃), 3.39 (α-OCH₃), 4.05 (t, J = 6 Hz), 4.12 (d, J = 7 Hz), 4.42 (dd, J = 6 e 4), 4.85-5.01 (m), 5.05 (d, J = 4), 5.11 (d, J = 4), 5.27-5.34 (m), 5.39 (d, J = 4 Hz, α-H-1), 5.54 (d, J = 2 Hz, β-H-1), 7.22-7.45 (OCPh₃).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.5, 20.7, 20.9, 54.9 (β-OCH₃), 55.3 (α-OCH₃), 61.5, 62.1, 67.4, 67.7, 68.5, 70.8, 76.6, 79.7, 81.6, 86.8, 86.9, 97.1(α-C-1), 106.4 (β-C-1), 127.1 (3 C), 127.8 (6 C), 128.6 (6 C), 143.6 (3 C), 169.6, 169.9, 170.0.

I.V. (ν_{max}, filme): 707, 1047, 1070, 1228, 1371, 1448, 1492, 1747, 2935, 3012, 3060 cm⁻¹

5.2.2.3 - Preparação da 1,3,4,5,6-penta-*O*-acetil-*D*-frutose (89)

A uma solução de cloreto de zinco previamente fundido (0.30 g, 0.022 mol) em anidrido acético destilado (30 mL), sob banho de gelo, foi adicionado frutose **73** (3.00 g, 0.017 mol). A mistura foi agitada por 4 horas a 0 °C. A temperatura foi então mantida à 20-25 °C por 1 hora e depois a 50 °C por 2 horas. A solução foi resfriada e agitada com volume igual de água por 1.5 hora, depois diluída e neutralizada com excesso de bicarbonato de sódio (30 mL), lavada com água (30 mL), e depois seca com sulfato de sódio, filtrada e evaporada. O rendimento global foi de 90% (5.97g), com mistura da forma cíclica e acíclica (15:85) que foram separadas por cromatografia flash (eluente: hexano/acetato de etila – 3/2).

1,3,4,5,6-Penta-*O*-acetil-*D*-frutose (89):

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.07 (s, 3 H), 2.08 (s, 3 H), 2.10 (s, 3 H), 2.16 (s, 3 H), 2.20 (s, 3 H), 4.12 (dd, J = 12 e 5 Hz, 1 H), 4.29 (dd, J = 12 e 3 Hz, 1 H), 4.68 (d, J = 17 Hz, 1 H), 4.92 (d, J = 17 Hz, 1 H), 5.22 (ddd, J = 9, 5 e 3 Hz, 1H), 5.50 (d, J = 2 Hz, 1 H), 5.69 (dd, J = 9 e 2 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.3(2), 20.4, 20.6, 20.7, 61.5, 66.6, 68.0, 68.3, 74.2, 169.4, 169.5, 169.6, 169.9, 170.4, 197.8.

I.V. (ν_{max}, filme): 979, 1016, 1049, 1226, 1373, 1751 cm⁻¹

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetil-*α*-*D*-frutofuranose (90) (D'Antona et al., 2005):

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.10 (s, 15 H), 4.17 (dd, J = 12 e 6 Hz, 1 H), 4.34 (d, J = 12 Hz, 1 H), 4.46 (dd, J = 10 e 4 Hz, 1H), 4.52 (ddd, J = 6, 6 e 4 Hz,

1 H), 4.62 (d, J = 12 Hz, 1 H), 5.14 (dd, J = 6 e 4 Hz, 1 H), 5.85 (d, J = 4 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.5, 20.6, 20.7(2), 21.6, 61.8, 62.9, 78.4, 76.1, 80.6, 107.9, 169.0(2), 169.8(2), 170.5.

I.V. (ν_{max}, filme): 979, 1016, 1049, 1226, 1373, 1751 cm⁻¹.

5.2.2.4 - Preparação do 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-2,2-bis(etiltio)-D-frutose (82)

A uma solução de cloreto de zinco (2.00 g, 0.015 mol) em etanotiol (15 mL) sob banho de gelo e sal foram adicionados sulfato de sódio anidro (3.75 g, 0.026 mol) e frutose pentaacetilada **89** (5.0 g, 0.013 mol). O meio reacional foi mantido gelado sob agitação por 4 horas, em seguida foi vertido em uma solução saturada de bicarbonato de sódio (40 mL). O precipitado formado foi filtrado e transferido para um becker para extração com clorofórmio morno (50 mL). O filtrado também foi extraído com clorofórmio e os extratos secos e concentrados. Após purificação por cromatografia flash (eluente: hexano/acetato de etila – 4/1) foi obtido 3.89 g de um sólido branco (60% de rendimento).

P.F.: 75-76 °C (literatura: P.F.: 76-78 °C) (WOLFROM e THOMPSON, 1934).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.21 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.23 (t, J = 7 Hz, 3 H), 2.06 (s, 3 H), 2.08 (s, 3 H), 2.10 (s, 3 H), 2.11 (s, 3 H), 2.14 (s, 3 H), 2.72 (q, J = 7 Hz, 2 H), 2.75 (q, J = 7 Hz, 2 H), 4.07 (dd, J = 12 e 5 Hz, 1 H), 4.26 (d, J = 12 Hz, 1 H), 4.28 (dd, J = 12 e 3 Hz, 1 H), 4.55 (d, J = 12 Hz, 1H), 4.99 (ddd, J = 8, 5 e 3 Hz, 1 H), 5.54 (d, J = 1 Hz, 1 H), 5.79 (dd, J = 8 e 1 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 13.7, 13.8, 20.6, 20.7, 20.8, 21.3, 23.4, 23.9, 61.7, 63.8, 66.1, 68.1, 69.7, 71.4, 169.6 (2 C), 169.7, 170.1, 170.6.

I.V. (ν_{max}, KBr): 1039, 1220, 1365, 1753 cm⁻¹.

5.2.2.5 - Preparação da 2,3,5-tri-O-acetil-6-L-manose-γ-lactona (93)

Em um balão de 100 mL foram adicionados a lactona **83** (1.20 g, 2.20 mmol), cloreto férrico (0.713 g, 4.40 mmol) e diclorometano (35 mL). O meio reacional foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 3 horas, em

seguida foi diluído com diclorometano (30 mL), lavado com água (3 x 30 mL) e a fase orgânica foi concentrada obtendo-se um óleo que foi purificado por cromatografia flash (eluente: hexano/acetato de etila – 3/2).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.14 (s, 3 H), 2.16 (s, 3 H), 2.17 (s, 3 H), 2.9 (sl, 1 H), 4.10 (t, J = 7 Hz, 1H), 4.23 (dd, J = 7 e 5 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 4 e 2 Hz, 1H), 4.53 (dd, J = 7 e 2 Hz, 1H), 5.71 (dd, J = 5 e 2 Hz, 1 H), 5.80 (dd, J = 5 e 3 Hz, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.1, 20.4, 20.7, 65.3, 66.6, 68.3, 69.5, 76.3, 169.0.

I.V. (v_{max}, filme): 1236, 1375, 1753, 1807, 2854, 2925 cm⁻¹.

5.2.2.6 - Testes de acoplamento dos monosacarídeos **82** e **83**

PROCEDIMENTO GERAL: A um balão de fundo redondo contendo os monosacarídeos **82** (0.12 mmol) e **83** (Tabela 5.1), peneira molecular (0.340 g) e solvente (5 mL), sob atmosfera de N₂, foi adicionada uma solução de N-iodossuccinimida (40 mg, 0.18 mmol), TMSOTf (4.2 μL, 0.023 mmol) em solvente (4 mL) e em seguida TMSOTf (25 μL, 0.14 mmol). Após 15 minutos de agitação foram adicionados trietilamina (1 mL) e diclorometano (5 mL) ao meio reacional, que foi lavado com solução aquosa de Na₂S₂O₃ (20%) (3 x 10 mL) e solução aquosa de NaHCO₃ (10%) (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e concentrada sob pressão reduzida. O óleo residual foi purificado por cromatografia flash (eluente: diclorometano/metanol – 9.5/0.5), obtendo-se os produtos de eliminação **91** e **92**.

TABELA 5.1. - Condições reacionais de acoplamento de **82** e **83**.

Teste	83 (mmol)	Solvente
1	0.10	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O (1/1)
2	0.05	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O (1/1)
3	0.10	CH ₂ Cl ₂

1,3,4,5,6-Penta-O-acetil-2-etil-2-tio-1-hexeno (91):

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.23 (t, J = 6 Hz, 3 H), 2.04 (s, 3 H), 2.06 (s, 3 H), 2.07 (s, 3 H), 2.09 (s, 3 H), 2.23 (s, 3 H), 2.69 (q, J = 4 Hz, 2 H), 4.15 (dd, J

= 12 e 7 Hz, 1 H), 4.35 (dd, J = 12 e 2 Hz, 1 H), 5.19 (ddd, J = 7, 6 e 2 Hz, 1 H), 5.67 (t, J = 6 Hz, 1 H), 6.02 (dd, J = 6 e 1 Hz, 1 H), 7.39 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.0, 20.5, 20.6 (2 C), 20.7, 20.8, 28.2, 61.9, 69.1, 69.2, 70.5, 115.2, 138.5, 169.5 (2 C), 169.7, 170.2, 170.5.

I.V. (ν_{max}, filme): 1047, 1218, 1373, 1749 cm⁻¹

3,4,5,6-Tetra-O-acetil-2-etil-tiohex-2-enose (92):

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.21 (t, J = 7 Hz, 3 H), 2.91 (q, J = 7 Hz, 2 H), 2.06 (s, 3 H), 2.08 (s, 3 H), 2.11 (s, 3 H), 4.17 (dd, J = 12 e 6 Hz, 1 H), 4.28 (dd, J = 12 e 4 Hz, 1 H), 5.35 (ddd, J = 6, 5 e 4 Hz, 1 H), 6.17 (dd, J = 8 e 5 Hz, 1 H), 6.07 (d, J = 8 Hz, 1 H), 9.49 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 15.1, 20.5, 20.6, 20.7, 61.8, 69.9, 70.8, 141.8, 148.1, 169.3, 169.8, 170.4, 189.7.

I.V. (ν_{max}, filme): 1049, 1218, 1371, 1699, 1749 cm⁻¹

5.2.2.7 - Testes de acoplamento dos monossacarídeos 82 e 93

PROCEDIMENTO GERAL: A um balão de fundo redondo contendo os monossacarídeos **82** (Tabela 5.2) e **93** (50 mg, 0.16 mmol), peneira molecular (0.340 g) e solvente (5 mL), sob atmosfera de N₂, foi adicionado o reagente de acoplamento. Após o tempo reacional foram adicionados trietilamina e diclorometano (5 mL) ao meio reacional, que foi lavado com solução aquosa de Na₂S₂O₃ (20%) (3 x 10 mL) e solução aquosa de NaHCO₃ (10%) (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e concentrada sob pressão reduzida. O óleo residual foi purificado por cromatografia flash (eluente: diclorometano/metanol – 9.5/0.5).

TABELA 5.2. - Condições reacionais de acoplamento de **82** e **93**.

Teste	82 (mmol)	Solvente	Reagente (mmol)	Et ₃ N (mL)	T (°C)	T. reacional	Produto
1	0.12	CH ₂ Cl ₂	NIS/TMSOTf	1	25	15 min	91 e 92
2	0.12	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	NIS/TMSOTf	1	0	15 min	91 e 92
3	0.12	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	NIS/TMSOTf	1	-35	12 h	-
4	0.12	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	NIS/TMSOTf	1	-50	12 h	-
5	0.12	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	NIS/TfOH	1	0	15 min	91 e 92
6 ^a	0.12	CH ₃ CN	NIS	-	-35	1 h	89
7	0.16	CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O	IDCP	-	-20	2 h	-
8	0.16	Cl(CH ₂) ₂ Cl/Et ₂ O	IDCP	-	-20	1 h	-
9	0.20	Et ₂ O	NBS-LiClO ₄	-	-20	1 h	19

^a após o tempo reacional, o meio reacional foi diluído e filtrado em Celite.

5.2.3 - Síntese dos nucleosídeos e análogos

5.2.3.1 - Síntese da 6-cloro-9-(2,3:5,6-di-*O*-isopropilideno- α -D-alofuranose)-9*H*-purina (**96**)

A uma suspensão do derivado da D-glicose **95** (0.35 g, 0.13 mmol), 6-cloropurina (**94**) (0.25 g, 0.16 mmol) e trifetilfosfina (0.42 g, 0.16 mol) em 1,4-dioxano (1 mL) foi adicionada lentamente uma solução de azodicarboxilato de dietila (0.28 g, 0.16 mol) em THF (0.5 mL). A reação foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. Os solventes foram evaporados e o produto desejado **96** foi purificado por cromatografia flash utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (3:1:0.5) obtendo-se o produto desejado (20 mg) com 40% de rendimento.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 1.32 (s, 6 H), 1.45 (s, 6 H), 4.02 (dd, J = 8 e 4 Hz, 1 H), 4.12 (d, J = 4 Hz, 1 H), 4.36-4.44 (m, 2 H), 4.57 (d, J=4 Hz, 1 H), 4.78 (d, J = 12 Hz, 1 H), 5.98 (d, J = 4 Hz, 1H), 8.26 (s, 1 H), 8.74 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 26.2 (2 C), 26.9 (2 C), 48.7, 68.5, 74.8, 80.4, 85.2, 105.2, 112.1, 112.5, 146.5, 151.7.

5.2.3.2 - Síntese da 6-cloro-9-(1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- β -D-manofuranose)-9*H*-purina (**98**)

A uma suspensão do derivado da manose **97** (70 mg, 0.27 mmol), 6-cloropurina (**94**) (50 mg, 0.32 mmol) e trifenilfosfina (85 mg, 0.32 mol) em 1,4-dioxano (1 mL) foi adicionada lentamente uma solução de azodicarboxilato de dietila (56 mg, 0.32 mol) em THF (0.5 mL). A reação foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. Os solventes foram evaporados e o produto desejado **98** foi purificado por cromatografia flash utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (3:1:0.5) obtendo-se o produto desejado (56 mg) com 52% de rendimento.

P.F.: 130-132 °C.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.34 (s, 3 H), 1.41 (s, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 1.58 (s, 3 H), 3.83 (dd, J = 8 e 4 Hz, 1 H), 4.04-4.26 (m, 2 H), 4.50-4.57 (dt, J = 6 e 2, 1 H), 4.88 (dd, J = 6 e 4 Hz, 1 H), 4.99 (dd, J = 6 e 4 Hz, 1 H), 6.19 (d, J = 4 Hz, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 8.74 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 24.0, 25.1, 25.5, 27.0, 66.7, 72.6, 78.8, 79.4, 79.8, 83.8, 109.6, 113.9, 145.1, 152.0.

I.V. (v_{max}, filme): 736, 844, 863, 1070, 1108, 1162, 1216, 1263, 1342, 1375, 1380, 1490, 1567, 1592, 1720, 1749, 2937, 2987 cm⁻¹.

5.2.3.3 - Síntese dos nucleosídeos **103**, **104**, **105** e **106**

PROCEDIMENTO GERAL: A uma suspensão do álcool apropriado (0.52 mmol), 6-cloropurina (**94**) (40 mg, 0.26 mmol), DEAD (90 mg, 0.52 mmol) em THF (2 mL) foi adicionada trifenilfosfina (136 mg, 0.52 mmol) por 5 minutos. A reação foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. O solvente foi evaporado e o produto desejado purificado por cromatografia flash utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (2:1:0.2).

6-Cloro-9-[(1S,2R,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexil]-9H-purina (103)

Rendimento: 0.040 g (52%)

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.75 (d, J = 7 Hz, 3 H), 0.85 (d, J = 7 Hz, 3 H), 0.90 (d, J = 6 Hz, 3 H), 1.51-1.65 (m, 4 H), 1.86-2.17 (m, 5 H), 5.41 (d, J = 3 Hz, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.76 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.7, 21.0, 22.1, 26.4, 26.7, 29.5, 34.2, 40.4, 45.9, 52.7, 145.2, 151.8.

I.V. (ν_{max}, filme): 937, 1193, 1230, 1338, 1390, 1456, 1479, 1558, 1587, 2871, 2925, 2952 cm⁻¹.

E.M. m/z (intensidade relativa %): 53 (35), 54 (15), 55 (84), 57 (7), 65 (13), 66 (6), 67 (46), 68 (16), 69 (21), 77 (16), 78 (3), 79 (19), 80 (7), 81 (45), 82 (8), 83 (11), 95 (52), 96 (8), 119 (15), 123 (5), 138 (2), 155 (100), 157 (32), 168 (10), 181 (22), 194 (2), 209 (4), 230 (11), 235 (4), 257 (6), 277 (2), 292 (15), 293 (5), 294 (4).

6-Cloro-9-dodecil-9H-purina (104)

Rendimento: 0.035 g (43%)

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.87 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.24 (sl, 18 H), 1.93 (quint, J = 7 Hz, 2 H), 4.29 (t, J = 7 Hz, 2 H), 8.11 (s, 1 H), 8.76 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.1, 22.6, 26.6, 28.9, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5 (3 C), 29.8, 31.8, 44.5, 145.1, 151.8.

I.V. (ν_{max}, filme): 941, 1147, 1214, 1334, 1402, 1436, 1560, 1592, 2854, 2925 cm⁻¹.

E.M. m/z (intensidade relativa %): 53 (16), 55 (100), 56 (6), 57 (13), 67 (12), 69 (18), 73 (43), 74 (8), 75 (4), 79 (6), 96 (8), 104 (4), 119 (23), 133 (9), 134 (5), 147 (7), 148 (5), 154 (21), 155 (57), 156 (4), 157 (15), 166 (35), 168 (48), 169 (12), 169 (13), 181 (19), 182 (8), 183 (4), 195 (13), 207 (23), 209 (25), 211 (6), 223 (10), 251 (4), 281 (11), 287 (10), 321 (5), 322 (4), 323 (6), 324 (3).

9-Benzil-6-cloro-9H-purina (105)

Rendimento: 0.055 g (86%)

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 5.46 (s, 2 H), 7.32-7.37 (m, 5 H), 8.10 (s, 1 H), 8.79 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 47.8, 126.8, 127.8, 129.1, 131.1, 134.4, 144.9, 150.9, 151.7, 152.0.

I.V. (ν_{max}, filme): 727, 1180, 1216, 1253, 1338, 1403, 1436, 1456, 1498, 1506, 1558, 1594, 1701, 1716, 1733 cm⁻¹.

E.M. m/z (intensidade relativa %): 51 (18), 65 (44), 91 (100), 92 (7), 167 (3), 182 (4), 209 (2), 243 (20), 244 (7), 245 (6), 246 (3).

6-Cloro-9-(octadec-9-enil)-9H-purina (106)

Rendimento: 0.037 g (37%)

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.87 (t, J = 7 Hz, 3 H), 1.26 (s, 21 H), 1.94-2.01 (m, 4 H), 4.30 (t, J = 7 Hz, 2 H), 5.31-5.37 (m, 2 H), 8.12 (s, 1 H), 8.76 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.1, 22.6, 26.6, 27.1, 27.2, 28.9, 29.1, 29.3 (2), 29.5, 29.6, 29.7, 29.8, 31.8 (2), 44.5, 129.6, 130.0, 145.1, 151.9.

I.V. (ν_{max}, filme): 941, 1147, 1213, 1334, 1402, 1438, 1465, 1498, 1560, 1592, 2854, 2925 cm⁻¹.

5.2.3.4 - Síntese da 2-metil-N-9H-purin-6-ilpropanamida (108)

Em um balão de 50 mL foram adicionados adenina (1 g, 74 mmol), anidrido isobutírico (3.5 g, 22 mmol) e DMF (10 mL). A mistura reacional foi mantida à 160 °C por 5 horas. O solvente foi evaporado e ao resíduo adicionado etanol/água (1/1, 30 mL). O meio reacional foi mantido sob refluxo por 30 minutos, em seguida o solvente foi evaporado e o sólido obtido recristalizado em etanol/água (1/1). Obtendo-se o produto **108** com 85% de rendimento.

P.F.: 226-227 °C.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 1.18 (d, J = 7 Hz, 6 H), 2.94 (sep, J = 7 Hz, 1 H), 8.42 (s, 1 H), 8.65 (s, 1 H), 11.19 (s, 1 H), 12.23 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 19.4 (2 C), 34.3, 144.3, 145.8, 146.0, 151.3 (2 C), 177.3.

5.2.3.5 - Síntese da 3-benzoilpirimidina-2,4-(1H, 3H)-diona (110)

Em um balão de 50 mL foram adicionados uracila (1.12 g, 10 mmol), cloreto de benzoíla (3.1 g, 22.4 mmol), acetonitrila seca (10 mL) e piridina seca (4 mL). O meio reacional foi mantido sob agitação por 24 horas, em seguida o produto foi concentrado e então foram adicionados diclorometano (50 mL) e água (50 mL). A fase orgânica foi separada e evaporada a pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em uma mistura aquosa de carbonato de potássio 0.25 mol/L (10 mL) e dioxano (20 mL) a temperatura ambiente. Após 30 minutos, foi adicionado ácido acético glacial até pH 5. O produto foi

concentrado sob pressão reduzida e o resíduo foi agitado com solução saturada de bicarbonato de sódio (50 mL) a temperatura ambiente. Após 1 hora, o produto foi filtrado e o resíduo lavado com água gelada (3 x 5 mL). O produto obtido foi recristalizado em acetona (1.54 g, 70%).

P.F.: 172-174 °C

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 5.75 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 8 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.78 (t, J = 8, 1H), 7.96 (d, J = 8 Hz, 2H), 11.60 (sl, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 100.2, 129.6 (2 C), 130.3 (2 C), 131.4, 136.5, 143.4, 150.1, 163.0, 170.1.

5.2.3.6 - Síntese da 2-metil-N-6-propanamida-9-((1S,2R,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexil)-9H-purina (111)

A uma suspensão do mentol (78 mg, 0.50 mmol), adenina **108** (200 mg, 1 mmol), DEAD (86 mg, 0.50 mmol) em THF (2 mL) foi adicionado trifetilfosfina (130 mg, 0.50 mmol) por 5 minutos. A reação foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. O solvente foi evaporado e o produto (**111**) purificado por cromatografia flash utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (2:1:0.2) (87 mg, 51%).

P.F.: 178-179 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.76 (d, J = 6 Hz, 3H), 0.84 (d, J = 6 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 6 Hz, 3H), 1.30 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.33 (d, J = 1 Hz, 3H), 1.50-1.60 (m, 5H), 1.85-2.15 (m, 4H), 3.30 (sep, J = 7 Hz, 1H), 5.38 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 9.16 (s, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 19.2 (2 C), 20.6, 21.0, 22.1, 26.4, 26.7, 29.5, 34.3, 35.9, 40.4, 45.9, 51.9, 121.2, 142.9, 149.4, 152.1, 152.3, 176.5.

I.V. (ν_{max}, filme): 1236, 1392, 1457, 1583, 1608, 1685, 1726, 2929, 2960, 3270, 3440 cm⁻¹.

5.2.3.7 - Síntese da 6-amino-9-((1S,2R,5R)-2-isopropil-5-metilciclohexil)-9H-purina (112)

A uma solução de LiOH em uma mistura de 10% de THF em água (5 mL) foi adicionado o nucleosídeo **111** (50 mg, 0.15 mmol). O meio reacional foi mantido sob agitação por 15 horas, em seguida foi realizada uma partição em água (10 mL) e diclorometano (10 mL). A fase orgânica foi evaporada e o produto obtido com rendimento de 69% (27 mg).

P.F.: 262-264 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0.77 (d, J = 6 Hz, 3H), 0.84 (d, J = 6 Hz, 3H), 0.89 (d, J = 6 Hz, 3H), 1.48-2.23 (m, 8H), 3.65 (t, J = 6 Hz, 1H), 5.30 (sl, 1H), 5.88 (sl, 2H), 8.16 (s, 1H), 8.38 (s, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 20.7, 21.0, 22.2, 26.5, 26.7, 29.5, 34.3, 40.5, 46.0, 51.7, 119.5, 149.5, 152.8, 155.5, 157.6.

I.V. (v_{max}, filme): 1238, 1307, 1328, 1409, 1565, 1606, 1652, 1673, 2341, 2360 cm⁻¹.

5.2.3.8 - Tentativa de síntese do 4-(6-amino-9H-purin-9-il)-2-[(tritoloxi)metil]ciclopentanol (68)

5.2.3.8.1 - Preparação do Ácido Peracético

Em um balão de 250 mL foram colocados ácido acético glacial (60 mL) e H₂SO₄ conc. (4 gotas). A solução foi resfriada à 0°C e foi adicionado lentamente H₂O₂ 30% (20 mL). Após a adição o meio foi mantido sob agitação à 0 °C por 15 minutos.

Determinação da concentração do ácido peracético: o perácido preparado (1 mL) foi adicionado a um erlenmeyer contendo ácido acético (60 mL) e solução aquosa saturada de KI (5 mL). Foi feita então a titulação com solução 0.1M de Na₂S₂O₃, obtendo-se uma solução com 31% de ácido peracético.

5.2.3.8.2 - Preparação do 6-oxa-biciclo[3.1.0]hex-2-eno (123)

A uma suspensão de Na₂CO₃ anidro (10.2 g, 0.096 mol), ciclopentadieno previamente obtido a partir do dicitlopentadieno (1.5 g, 0.024

mol), em CH₂Cl₂ (26 mL) sob banho de gelo, foi adicionado lentamente ácido peracético 31% (1.67 g, 0.022 mol) (previamente tratado com 0.2 g de acetato de sódio para neutralizar o ácido sulfúrico). A mistura foi agitada mecanicamente à temperatura ambiente até ser obtido um teste negativo com papel iodado. Os sais sólidos foram removidos com filtração a vácuo e lavado com solvente adicional. O solvente foi removido por destilação fracionada e o resíduo foi destilado sob vácuo e recolhido em um recipiente gelado, levando a obtenção do 3,4-epoxiciclopenteno (0.80 g) com rendimento de 40%.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.38 (d, J = 10 Hz, 1H), 2.63 (d, J = 12 Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 3.91 (s, 1H), 5.99 (sl, 1H), 6.14 (sl, 1H).

5.2.3.8.3 - Preparação do ciclopent-3-en-1-ol (129)

A uma suspensão de hidreto de lítio e alumínio (0.203 g, 5.3 mmol) em éter etílico seco (20 mL) foi adicionado lentamente 3,4-epoxiciclopenteno (0.796 g, 9.7 mmol) sob banho de gelo. Após 3 horas de reação foi adicionada água (1 mL) lentamente. A solução foi seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido do filtrado por destilação fracionada e o resíduo destilado sob vácuo, obtendo-se o 3-ciclopentenol (0.459 g) com 56% de rendimento bruto.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.31 (dd, J = 18 e 2 Hz, 2 H), 2.66 (dd, J = 16 e 6 Hz, 2 H), 4.49-4.53 (m, 1 H), 5.72 (s, 2 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 42.7 (2 C), 71.6, 128.2 (2 C).

5.2.3.8.4 - Preparação da 6-cloro-9-ciclopent-3-en-1-il-9H-purina (124)

A uma suspensão de 3-ciclopentenol (0.126 g, 1.5 mmol), 6-cloropurina (0.232 g, 1.5 mmol) e trifetilfosfina (0.393 g, 1.5 mmol) em 1,4-dioxano (5 mL) foi adicionada lentamente uma solução de azodicarboxilato de dietila (0.261 g, 1.5 mmol) em THF (2 mL). A reação foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura ambiente. Os solventes foram evaporados e o produto desejado foi purificado por cromatografia flash utilizando como eluente:

hexano:acetato de etila:metanol (3:1:0.5) obtendo-se o produto desejado (0.140 g) com 42% de rendimento.

P.F.: 67-69 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.70 (dd, J = 16 e 4 Hz, 2 H), 3.11 (dd, J = 16 e 8 Hz, 2 H), 5.44 (sept, J = 4 Hz, 1 H), 5.97 (sl, 2 H), 8.14 (s, 1 H) e 8.76 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 40.4 (2 C), 53.5, 129.1 (2 C), 143.2, 151.8.

I.V. (ν_{max}, KBr): 1593, 1552, 1396, 1334, 1222, 945, 854 cm⁻¹

E.M. m/z (intensidade relativa %): 220 (5), 155 (95), 127 (5), 119 (20), 100 (3), 85 (4), 66 (100).

5.2.3.8.5 - Preparação da 9-ciclopent-3-en-1-il-6-metoxi-9H-purina (130)

A uma solução de LiOH (0.100 g, 4.17 mmol) em metanol (3 mL) e água (1 mL) foi adicionado o composto **124** (0.038 g, 0.017 mmol) e foi mantida sob agitação por 3 horas. O meio reacional foi extraído com acetato de etila (2 x 10 mL), a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada, obtendo-se o produto metoxilado **130** (0.018 g) sob a forma de óleo com rendimento de 49%.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.68 (dd, J = 16 e 4 Hz, 2 H), 3.07 (dd, J = 16 e 8 Hz, 2 H), 4.19 (s, 3H), 5.40 (sept, J = 4 Hz, 1 H), 5.94 (s, 2 H), 7.96 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 40.4 (2 C), 52.9, 54.1, 129.0 (2 C), 140.1, 151.8.

I.V. (ν_{max}, filme): 3000, 1598, 1573, 1477, 1346, 1309, 1232, 1060, 800, 648 cm⁻¹.

5.2.3.8.6 - Preparação da 6-cloro-9-(6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il)-9H-purina (125)

A uma solução do composto **124** (0.080 g, 0.36 mmol) em diclorometano seco (3 mL) foi adicionado ácido *m*-cloroperbenzóico 50% (0.163 g, 0.47 mmol) à temperatura ambiente. O meio reacional foi mantido sob agitação por 4 horas. A mistura reacional foi diluída com diclorometano (5 mL), lavada com solução saturada de sulfito de sódio (2 x 10 mL) e solução aquosa de bicarbonato de sódio (2 x 10 mL), seca com sulfato de sódio anidro e evaporada.

Foi obtida uma mistura dos epóxidos *syn* e *anti* na proporção de 1:1 (0.060 g) com rendimento de 69%. Os produtos formados foram separados por cromatografia flash utilizando como eluente: hexano:acetato de etila:metanol (2:2:1).

Epóxido 125a (*syn*)

P.F.: 124-128 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.52 (dd, J = 14 e 10 Hz, 2 H), 2.70 (dd, J = 14 e 8 Hz, 2 H), 3.75 (s, 2 H), 4.77 (quint, J = 8 Hz, 1 H), 8.09 (s, 1 H), 8.73 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 32.8 (2 C), 52.0, 55.2 (2 C), 144.6, 151.6.

I.V. (ν_{max}, KBr): 1593, 1564, 1492, 1390, 1336, 1315, 1259, 1195, 1143, 943, 831, 636 cm⁻¹.

E.M. m/z (intensidade relativa %): 236 (10), 218 (3), 207 (45), 193 (20), 181 (23), 168 (4), 155 (100), 146 (8), 127 (10), 119 (34), 92 (20), 81 (50), 66 (43), 54 (50).

Epóxido 125b (*anti*)

P.F.: 165-167 °C

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 2.33 (d, J = 16 Hz, 2 H), 2.61 (dd, J = 16 e 10 Hz, 2 H), 3.76 (s, 2 H), 5.44 (t, J = 10 Hz, 1 H), 8.62 (s, 1 H), 8.71 (s, 1 H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 35.9 (2 C), 50.7, 57.3 (2 C), 145.4, 151.6.

I.V. (ν_{max}, KBr): 1593, 1556, 1487, 1392, 1238, 1178, 1128, 948, 842, 661 cm⁻¹.

E.M. m/z (intensidade relativa %): 236 (10), 218 (3), 207 (45), 193 (20), 181 (23), 167 (18), 155 (100), 146 (10), 127 (10), 119 (34), 92 (20), 81 (50), 66 (40), 54 (50).

5.2.3.8.7 - Tentativa de obtenção de 4-(6-cloro-9H-9-purinil)-2-hidroxi-1-ciclopentanocarbonitrila (126)

As reações foram acompanhadas por cromatografia gasosa (coluna DB5, rampa: 150-1-7-250-20), o epóxido **125a** (*syn*) tem tempo de retenção de 11.5 min e o **125b** (*anti*) 12.5 min.

PROCEDIMENTO GERAL 1: Em um balão de 10 mL foram adicionados o epóxido **125a** (50 mg, 0.21 mmol), 2-hidroxi-2-metil propanonitrila (**133**), trietilamina e THF anidro (1 mL). O meio reacional foi mantido sob refluxo, vertido em gelo e extraído com éter (3 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com

solução saturada de NaCl (3 x 5 mL) e depois com água (3 x 5 mL), seca sob Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado (Tabela 5.3).

TABELA 5.3. - Tentativa de abertura do epóxido **125a** com 2-hidroxi-2-metil propanonitrila.

Teste	133 (mmol)	NEt ₃ (mmol)	T. R. (h)
1	0.25	0.25	24
2	0.50	0.50	48

PROCEDIMENTO GERAL 2: Em um balão de 10 mL foi adicionado o epóxido **125a** (50 mg, 0.21 mmol), cianeto de potássio (14 mg, 0.21 mmol), iodeto de potássio (3 mg, 0.021 mmol) e DMSO (1 mL), foram mantidos sob agitação por 24 horas. O meio reacional foi vertido em água (5 mL), extraído com éter, lavado com solução saturada de NaCl (3 x 5 mL), seco sob Na₂SO₄ e o solvente evaporado (Tabela 5.4).

TABELA 5.4. - Tentativa de abertura do epóxido **125a** com KCN e KI.

Teste	T (°C)
3	t.a.
4	100
5	150

PROCEDIMENTO GERAL 3: Em um balão de 10 mL foi adicionado o epóxido **125** (50 mg, 0.21 mmol), cianeto de sódio (13 mg, 0.28 mmol) e uma mistura de etanol/água 3/7 (1 mL). A mistura reacional foi concentrada e o resíduo extraído com acetato de etila, lavado com solução saturada de NaCl (3 x 5 mL), seco sob Na₂SO₄ e o solvente evaporado (Tabela 5.5).

TABELA 5.5. - Tentativa de abertura do epóxido com NaCN.

Teste	125 (mmol)	T (°C)	T. R. (h)
6	<i>syn</i>	t.a.	10
7	<i>syn</i>	80	20
8	<i>anti</i>	t.a.	10
9*	<i>anti</i>	80	15

* 6-etoxi-9-[6-oxabicyclo[3.1.0]hex-3-il]-9H-purina (**131**) (20 mg, 38% de rendimento):

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 1.51 (t, J = 7Hz, 3H), 2.31 (d, J = 15Hz, 2H), 2.58 (dd, J = 15 e 9Hz, 2H), 3.72 (s, 2H), 4.66 (q, J = 7 Hz, 2H), 5.40 (t, J = 9 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.49 (s, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 14.6, 36.1 (2 C), 50.3, 57.5 (2 C), 63.1, 142.0, 151.7.

PROCEDIMENTO GERAL 4: Em um balão de 10 mL foi adicionado o epóxido **125b** (30 mg, 0.13 mmol), cianeto de potássio, perclorato de lítio e acetonitrila seca (1 mL) (Tabela 5.6). O meio reacional foi mantido à 70°C sob atmosfera de nitrogênio. Após alcançar a temperatura ambiente, foi adicionada água (2 mL) e o meio reacional foi extraído com éter (3 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (2 x 5 mL) e seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado.

TABELA 5.6. - Tentativa de abertura do epóxido **125b** com KCN e LiClO₄.

Teste	KCN (mmol)	LiClO ₄ (mmol)	T. R. (h)
10	0.13	0.13	15
11	0.52	0.52	72

TESTE 12: Em um balão de 10 mL foi adicionado o epóxido **125b** (25 mg, 0.1 mmol), cianeto de sódio (15 mg, 0.3 mmol), triflato cérico (8 mg, 0.01 mmol) e acetonitrila seca (1 mL). O meio reacional foi mantido à 70°C sob atmosfera de nitrogênio por 24 horas, foi diluído com éter (5 mL), lavado com água (3 x 5mL), seco com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado.

5.2.3.8.8 - Preparação da 4-(6-cloro-9H-purin-9-il) ciclopentano-1,2-diol (**132**)

Em um balão de 25 mL foi colocada a mistura de epóxidos **125a** e **125b** (54 mg, 0.24 mmol), ácido sulfúrico (2.5 μL) e THF (5 mL). O meio reacional foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 15 horas. O solvente foi evaporado e o óleo obtido purificado por cromatografia flash (eluente: diclorometano/metanol – 9.5/0.5), obtendo-se 40 mg do produto **132** (65% de rendimento).

RMN ¹H (200 MHz, DMSO-D₆) δ: 2.19-2.40 (m, 2H), 2.57-2.68 (m, 2H), 3.95-4.10 (m, 2H), 5.02-5.35 (m, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.78 (s, 1H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-D₆) δ: 39.1, 39.4, 52.2, 76.5, 76.7, 146.4, 151.4.

I.V. (ν_{max}, filme): 1224, 1336, 1560, 1593, 1718, 3361 cm⁻¹

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 - Referências Bibliográficas

- ABDOU, I. M.; SALEH, A. M.; ZOHDY, H. F. "Synthesis and antitumor activity of 5-trifluoromethyl-2,4-dihydropyrazol-3-one nucleosides". *Molecules*, **9**, 109-116, 2004.
- ALVES, M.; BOSCOLO, M.; GENEROSA, A. R.; FERNÁNDEZ, O. P. "Eficiência de derivados de sacarose na mortalidade da mosca-branca (*Bemisia sp*)". *Livro de Resumos da 26ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Poços de Caldas - MG, 2003.
- ANGELLI-PAPA, J. "La cultura dun champignon par les fourmis Attines". *Cryptogamie Mycologie*, **5**, 147-154, 1984.
- ASPINALL, G. O. *The Polysaccharides*. Academic Press, New York, 1982.
- BENENSON, A. S. "The tomorrow of malaria". *J. Pub. Health Policy*, **18**, 242-244, 1997.
- BERGMAN, A. M.; KUIPER, C. M.; VOORN, D. A.; COMIJN, E. M.; MYHERN, F.; SANDVOLD, M. L.; HENDRIKS, H. R.; PETERS, G. J. "Antiproliferative activity and mechanism of action of fatty acid derivatives of arabinosylcytosine in leukemia and solid tumor cells". *Biochem. Pharmacol.*, **67**, 503-511, 2004.
- BOCK, K.; THOGERSEN H. "Nuclear magnetic resonance spectroscopy in the study of mono- and oligosaccharides". *Annu. Rep. NMR Spectrosc.*, **13**, 1-57, 1982.
- BOONS, G. J.; BOWERS, S.; COE, D. M. "Trityl ethers in oligosaccharide synthesis: A novel strategy for the convergent assembly of oligosaccharides". *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3773-3776, 1997.
- BORTHWICK, A. D.; CRAME, A. J.; EXALL, A. M.; WEINGARTEN, G. G. "An efficient synthesis of a quiral carbocyclic 2'-deoxyribonucleoside synthon by direct reduction". *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7677-7680, 1994.
- BOSCOLO, M. "Sucroquímica: síntese e potencialidades de aplicações de alguns derivados químicos da sacarose". *Quim. Nova*, **26**, 906-912, 2003.
- BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETO, M. *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Guanabara Koogan, 2 ed., 2000.
- BRITO-ARIAS, M.; PEREDA-MIRANDA, R.; HEATHCOCK, C. H. "Synthesis of trichlorin F". *J. Org. Chem.*, **69**, 4567-4570, 2004.
- CASTEJÓN, P.; MOYANO, A.; PERICÁS, M. A.; RIERA, A. "Ready access to stereodefined β -hydroxy- γ -amino acids. Enantioselective synthesis of fully protected cyclohexylstatine". *Tetrahedron*, **52**, 7063-7086, 1996.

- CHU, C. K.; JIN, Y. H.; BAKER, R. O.; HUGGINS, J. "Antiviral activity of cyclopentenyl nucleosides against orthopox viruses (smallpox, monkeypox and cowpox)". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 9-12, 2003.
- CLARKE, R. J.; COATES, J. M.; LINCOLN, S. F. "Inclusion complexes of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins)" *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **46**, 205-249, 1988.
- CLARKSON, A. B.; BROHN, F. H. "Trypanosomiasis: An approach by chemotherapy by the inhibition of carbohydrate catabolism". *Science*, **194**, 204-206, 1976.
- COLLINS, P. M.; ALI, M. H. "A new cycloglucohexanose derivative – the chemical synthesis of cyclo(1→3-beta-D-GLCP-(1→3)-D-GLCP)". *Tetrahedron Lett.*, **31**, 4517-4520, 1990.
- CRAMER, F. B.; PACSU, E. "Improved preparation of pentaacetyl-keto-fructose". *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1148-1148, 1937.
- CRANDALL, J. K.; BANKS, D. B.; COLYER, R. A.; WATKINS, R. J.; ARRINGTON, J. P. "A synthesis of homoallylic alcohols". *J. Org. Chem.*, **33**, 423-425, 1968.
- CRUICKSHANK, K. A.; JIRICNY, J.; REESE, C. B. "The benzylation of uracil and thimina". *Tetrahedron Lett.*, **25**, 681-684, 1984.
- D'ANTONA, N.; EL-IDRISSI, M.; ITTOBANE, N.; NICOLOSI, G. "Enzymatic procedures in the preparation of regioprotected D-fructose derivatives". *Carbohydr. Res.*, **340**, 319-323, 2005.
- DEVULAPALLE, K. S.; SEGURA, A. G.; FERRER, M.; ALCALDE, G. M.; PLOU, F. J. "Effect of carbohydrate fatty acid esters on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase activity". *Carbohydr. Res.*, **339**, 1029-1034, 2004.
- DU, Y.G., ZHANG, M.M.; KONG, F.Z. "Highly efficient and practical synthesis of 3,6-branched oligosaccharides". *Org. Lett.*, **2**, 3797-3800, 2000.
- EFREMOVA, N. V.; BONDURANT, B.; O'BRIEN, D. F.; LECKBAND, D. E. "Measurements of interbilayer forces and protein adsorption on uncharged lipid bilayers displaying poly(ethylene glycol) chains". *Biochemistry*, **39**, 3441-3451, 2000.
- EZZITOUNI, A.; MARQUEZ, V. E. "Conformationally locked carbocyclic nucleosides built a bicyclo[3.1.0]hexane template with a fixed southern conformation. Synthesis and antiviral activity". *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **7**, 1073-1078, 1997.
- FAIRLAMB, A. H.; OPPERDOES, F. R.; BORST, P. "New approach to screening drugs for activity against African trypanosomoses". *Nature*, **265**, 270-271, 1997.
- FARONE, W. A.; SERFASS, R. W. "Sugar-ester manufacturing process". *United States Patent 5,756,716*, 1998.

- FARONE, W. A.; PALMER, T.; PUTERKA, G. J. "Polyol ester insecticides and method of synthesis". *United States Patent* 6,419,941, 2002.
- FERRER, M.; CRUCES, M. A.; PLOU, F. J.; BERNABÉ, M.; BALLESTEROS, A. "A simple procedure for the regioselective synthesis of fatty acid esters of maltose, leucrose, maltotriose and *n*-dodecyl maltosides". *Tetrahedron*, **56**, 4053-4061, 2000.
- FERRIER, R. J. e COLLINS, P. M. *Monosaccharide Chemistry*. Penguin Books, Harmondsworth, Middlesex, England, 1972.
- FRASER-REID, B.; UDODONG, U. E.; WU, Z.; OTTOSSON, H.; MERRITT, J. R.; RAO, C. S.; ROBERTS, C.; MADSEN, R. "*N*-Pentenyl glycosides in organic-chemistry – A contemporary example of serendipity". *Synlett*, 927-942, 1992.
- FÜGEDI, P.; GAREGG, P. J.; LÖNN, H.; NORBERG, T. "Thioglycosides as glycosylating agents in oligosaccharide synthesis". *Glyconjugate J.*, **4**, 97-108, 1987.
- FUKASE, K.; HASUOKA, A.; KINOSHITA, I.; AOKI, Y.; KUSUMOTO, S. "A stereoselective glycosilation using thioglycosides, activation by combination of *N*-bromosuccinimide and strong acid salts". *Tetrahedron*, **51**, 4923-4932, 1995.
- GARG, H. G.; LYON, N. B. "Structure of collagen fibril-associated, small proteoglycans of mammalian origin" *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **49**, 239-261, 1991.
- GROSS, H.; FARKAS, I.; BOGNÁR, R. "Dichloromethyl methylether as a reagent for organic-synthesis and carbohydrate-chemistry". *Z. Chem.*, **18**, 201-210, 1978.
- HAYES, M. P.; HATALA, P. J.; SHERER, B. A.; TONG, X.; ZANATA, N.; BORER, P. N.; KALLMERTEN, J. "Regioselective synthesis of ¹³C₁-labeled 2-deoxyribonolactones". *Tetrahedron*, **57**, 1515-1524, 2001.
- HEALY, E. F.; LEWIS, J. D.; MINNIEAR, A. B. "A study of the aluminum hydride reduction of unsaturated cyclic epoxides". *Tetrahedron Lett.*, **35**, 6647-6648, 1994.
- HECHT, S. M. *Bioorganic Chemistry - Carbohydrates*. Oxford University Press, 1999. p. 1-55.
- HEWITT, M. C; SEEBERER, P. H. "Automated solid-phase synthesis of a branched Leishmani cap tetrasaccharide". *Org. Lett.*, **3**, 3699-3702, 2001.
- KHAN, R.; BOSCO, M.; KONOWICZ, P.A.; STUCCHI, L.; RIZZO, R. "Synthesis of 6-deoxy-6-halolaminarans and conversion of 6-chloro-6-deoxylaminaran into the 6-amino-6-deoxy derivative". *Carbohydrate Res.*, **292**, 39-46, 1996.
- HOLLDOBLE, B.; WILSON, E. O. *The ants*. Cambridge: Beknap, 1990.

HORTON, D. e PIGMAN, W. *The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry*. Academic Press, New York, 217-1099, 1970.

HUDSON, C. S. "Historical aspects of Emil Fischer's fundamental conventions for writing stereo-formulas in a plane". *Adv. Carbohydr. Chem.*, **3**, 1-22, 1948.

HUGHES, D. L.; REAMER, R. A.; BERGAN, J. J.; GRABOWISK, E. J. J. "A mechanistic study of the Mitsunobu esterification reaction". *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6487-6491, 1988.

IMAMOTO, T.; KOIDE, Y.; HIYAMA, S. "Cerium (IV) trifluoromethanesulfonate as a strong oxidizing agent". *Chem. Lett.*, **8**, 1445-1446, 1990.

IRANPOOR, N.; SHEKARRIZ, M. "Ring opening of epoxides with sodium cyanide catalyzed with Ce(OTf)₄". *Synth. Commun.*, **29**, 2249-2254, 1999.

IVERSEN, T.; BUNDLE, D. R. "Direct and efficient synthesis of beta-L-rhamnopyranoside". *J. Org. Chem.*, **46**, 5389-5393, 1981.

IVERSEN, T.; BUNDLE, D. R. "Synthesis of the colitose determinant of *Escherichia coli* 0111 and 3,6-di-O-(alpha-D-galactopyranosyl)-alpha-D-glucopyranoside". *Can. J. Chem.*, **60**, 299-303, 1982.

JENNY, T. F.; PREVISANI, N.; BENNER, S. A. "Carbocyclic analogs of nucleosides via modified Mitsunobu reactions". *Tetrahedron Lett.*, **32**, 7029-7032, 1991.

KAMAL, A.; KHANA, G. B. R. "A facile preparation of (±)-β-hydroxy nitriles and their enzymatic resolution with lipases". *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 405-410, 2001.

KENNEDY, J. F. e WHITE, C. A. *Bioactive Carbohydrates: In Chemistry, Biochemistry and Biology*. John Wiley & Sons, 132-142, 1983.

KONRADSSON, P.; ROBERTS, C.; FRASER-REID, B. "Conditions for modified fischer glycosidations with n-pentenol and other alcohols". *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **110**, 23-24, 1991.

KONRADSSON, P.; UDODONG, U. E.; FRASER-REID, B. "Iodonium promoted reactions of disarmed thioglycosides". *Tetrahedron Lett.*, **31**, 4313-4316, 1990.

KORACH, M.; NIELSEN, D. R.; RIDEOUT, W. H. "Synthesis and reactions of 3,4-epoxycyclopentene". *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 4328-4330, 1960.

KROG-JENSEN, C.; OSCARSON, S. "Synthesis of D-fructofuranosides using thioglycosides as glycosyl donors". *J. Org. Chem.*, **61**, 1234-1238, 1996.

KUETTNER, K. E.; KIMURA, J. H. "Protoglycans – An overview " *J. Cell. Biochem.*, **27**, 327-336, 1985.

LANG, H.; MOSHER, H. E.; "An Efficient Total Synthesis of Carbocyclic 2'-Deoxyribonucleosides". *Helv. Chim. Acta*, **77**, 1527-1540, 1994.

- LEITÃO, A.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G., PUPO, M. T., MARCHI, A. A.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; SÁ, M. M., MORAES, V. R. S.; MONTANARI, C. A. "Structure-activity relationship of novel inhibitors of glyeraldehyde-3-phosphate dehydrogenase". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 2199-2204, 2004.
- LEMIEUX, R. U.; MORGAN, A. R. "The synthesis of β -D-glucopyranosyl 2-deoxy- α -D-arabino-hexopyranoside". *Can. J. Chem.*, **43**, 2190-2198, 1965.
- LI, Y.; WU, Y. "Synthesis and glycosylation of thio-D-fructofuranoside donors". *Tetrahedron Letters*, **37**, 7413-7416, 1996.
- MARQUEZ, V. E.; LIM, M.; TSENG, C.K.; MARKOVAC, A.; P.PRIEST M. A.; KHAN M. S.; KASKAR, B. "Total synthesis of (-)-Neplanocin-A". *J. Org. Chem.*, **53**, 5709-5714, 1988.
- MAYRINK W., "Leishmaniose - Ministério da Saúde Autoriza a Produção da Vacina Pioneira no Mundo", *Minas Faz Ciência*, **9**, pp 12-13. Publicação FAPEMIG.
- MENGEL, J. O.; ROSSI, M. A. "Chronic chagasic myocarditis pathogenesis: dependence on autoimmune and microvascular factors". *Amm. Heart. J.*, **124**, 1052-1057, 1992.
- MITSUNOBU, O. "The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural products". *Synthesis*, 1-28, 1981.
- MONTREUIL, J. *Comprehensive Biochemistry*. 19B, Parte II, Elsevier, Amsterdam, 1-188, 1982.
- MUELLER, U. G.; SCHULTZ, T. R.; CURRIE, C. R. "The origin of the anti-fungus mutualism". *Quart. Rev.*, **76**, 169-197, 2001.
- NUKADA, T., KITAJIMA, T., NAKAHARA, Y., OGAWA, T. "Synthetic studies on cell-surface glycans. 81. Synthesis of an octasaccharide fragment of high-mannose-type glycans of glycoproteins". *Carbohydr. Res.*, **228**, 157-170, 1992.
- OPPERDOES, F. R.; BORST, P. "Localization of nine glycolytic enzymes in a microbodylike organelle in *Trypanosoma brucei*: The glycosome". *FEBS Lett.*, **80**, 360-364, 1977.
- OPPERDOES, F. R. "Compartmentation of carbohydrate metabolism in trypanosomes". *Ann. Rev. Microbiol.*, **41**, 127-151, 1987.
- PAGNOCCA, F. C. "Toxicity of sesame extracts to the symbiotic fungus of leaf-cutting ants". *Bull. Entomol. Res.*, **80**, 349-352, 1990.
- PAN, Y.; HUANG, N.; CHO, S.; MACKERELL, A. D. "Consideration of molecular weight during compound selection in virtual target-based database screening". *J. Chem. Inf. Comput. Sci*, **43**, 267-272, 2003.

- PAULSEN, H.; HEUME, M.; NÜRNBERGER, H. "Building-blocks of oligosaccharides.93. Synthesis of branched nonasaccharide sequence of bisected structure of N-glycoproteins". *Carbohydr. Res.*, **200**, 127-166, 1990.
- PAULSEN, H.; HÖFFGEN, E. C. "Building units of oligosaccharides. 105. Synthesis of the pentasaccharide L-alpha-D-hep-(1→3)-L-alpha-D-hep-(1→5)-alpha-KDO-(2→6)-beta-D-GLCNHM-(1→6)-D-GLCNHM of the linear core and lipoid a structure of lipopolysaccharides". *Liebigs Ann. Chem.*, **5**, 531-541, 1993.
- PAVÃO, F. *Desenho racional de inibidores da enzima gliceraldeído-3-fosfatodesidrogenase glicosomal (gGAPDH) de Trypanosoma cruzi - agente causador da doença de Chagas*. São Carlos, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1996. Dissertação de mestrado, 93 p.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. *Introduction to Spectroscopy*. Saunders College Publishing, 2ed, 192-194, 1979.
- PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*. 3rd ed. New York, Pergamon Press, 1988.
- PLACERES-NETO, A. *Busca de compostos de partida para novas drogas antichagásicas: estudo fitoquímico de Rapanea umbellata monitorado por ensaios bioquímicos na busca de inibidores da enzima glicolítica Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase de Trypanosoma cruzi e ensaios biológicos na busca de atividade tripanomicida*. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química – UFSCar, 2001. Dissertação de mestrado, 134 p.
- PLACERES-NETO, A. *Comunicação pessoal*, 2003.
- PUTERKA, G. J.; FARONE, W.; PALMER, T.; BARRINGTON, A. "Structure-function relationships affecting the insecticidal and mitocidal activity of sugar esters". *J. Econ. Entomol.*, **96**, 636-644, 2003.
- RATCLIFFE, A. J.; FRASER-REID, B. "Generation of alpha-D-glucopyranosylacetoniurium ions - concerning the reverse anomeric effect". *J. Chem. Soc., Perkins Trans.*, **1**, 747-750, 1990.
- RATCLIFFE, A. J.; KONRADSSON, P.; FRASER-REID, B. "Application of normal-pentenyl glycosides in the region-controlled and stereo-controlled synthesis of alpha-linked N-glycopeptides". *Carbohydr. Res.*, **216**, 323-335, 1991.
- ROSANOFF, M. A. "On Fischer's classification of stereoisomers". *J. Am. Chem. Soc.*, **28**, 114-121, 1906.
- ROSENQUIST, A.; KVARNSTRÖM, I. "Synthesis of enantiomerically pure bis(hydroxymethyl)-branched cyclohexenyl and cyclohexyl purines as potential inhibitors of HIV". *J. Org. Chem.*, **61**(18): 6282-6288, 1996.
- SCHAFFER, R. *The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry*. Academia Press, New York, 69-111, 1970.

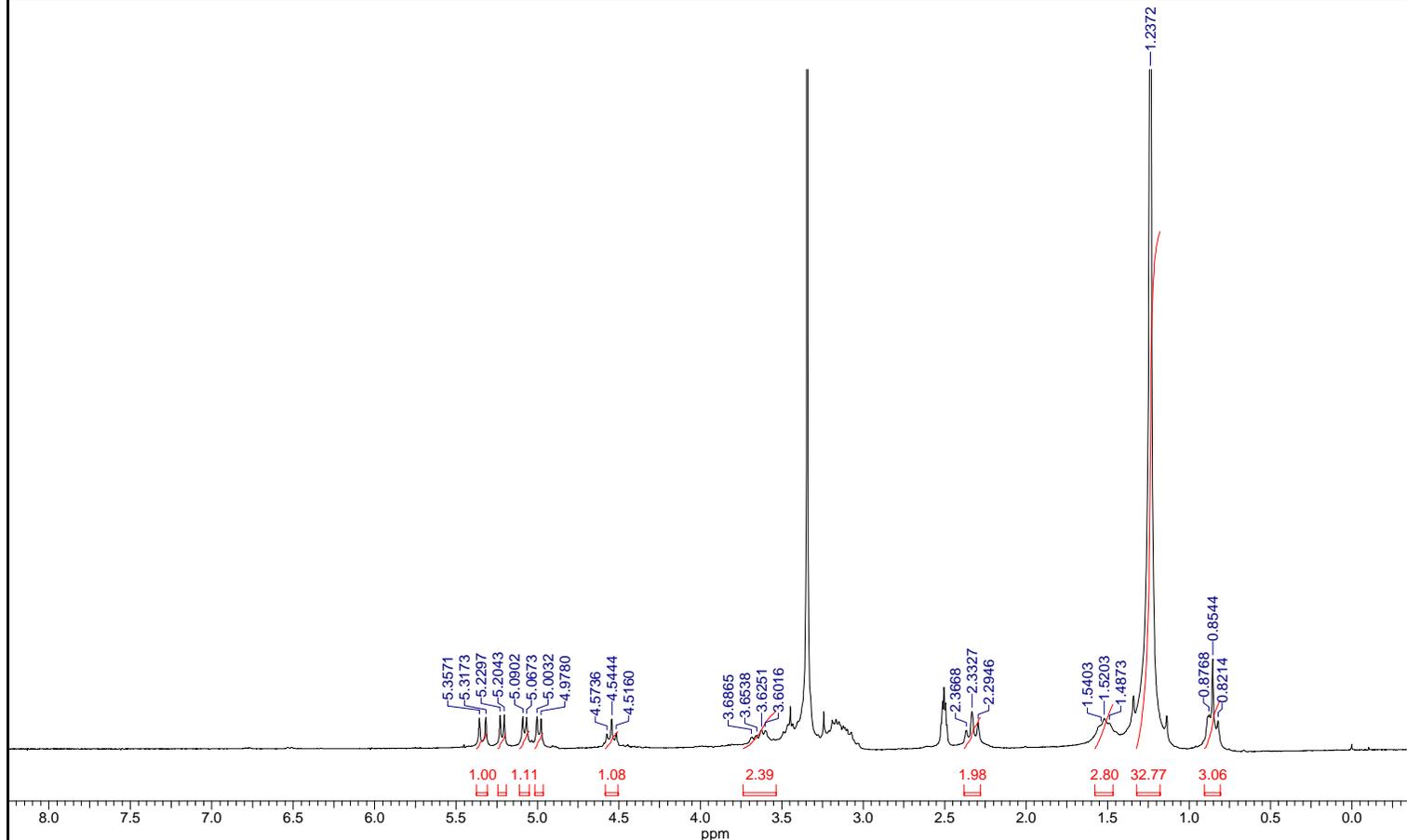
- SHARON, N.; LIS, H. *The Proteins*. Academic Press, New York, 3 ed., **5**, 69-111, 1982.
- SCHREINER, W. D. “Desafios para a interacao Universidade-Empresa”. *Rev. Educ. Tecnol.*, 112-132, 2001.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. “Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos”. ed. Guanabara Koogan, 5^a ed., 1994.
- SIQUEIRA, C. G. “Metabolism of plant polysaccharides by *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L”. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 4820-4822, 1998.
- STANEK, J.; CERNY, M.; KOCOUREK, J.; PACÁK, J. *The Monosaccharides*, capítulo 5, Academic Press, New York.
- STODDART, J. F. *Stereochemistry of Carbohydrates*. Wiley-Interscience New York, 1971.
- SUFRIN, J. R.; RATTENDI, D.; SPIESS, A. J.; LANE, S.; MARASCO, C. J.; BACCHI, C. J. “Antitrypanosomal activity of purine nucleosides can be enhanced by their conversion to *O*-acetylated derivatives”. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **40**, 2567-2572, 1996.
- TEAGUE, S. J.; DAVIS, A. M.; LEESON, P. D.; OPREA, T. “The design of leadlike combinatorial libraries”. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **38**, 3743-3748, 1999.
- THÉVENET, S.; WERNICKE, A.; BELNIAK, S.; DESCOTES, G.; BOUCH, A.; QUENEAU, Y. “Esterification of unprotected sucrose with acid chlorides in aqueous medium: kinetic reactivity versus acyl- or alkyloxycarbonyl-group migrations”. *Carbohydr. Res.*, **318**, 52-66, 1999.
- VEENEMAN, G. H.; VAN LEEUWEN, S. H.; VAN BOOM, J. H. “Iodonium ion promoted reactions at the anomeric centre. II¹. An efficient thioglycoside mediated approach toward the formation of 1,2-trans linked glycosides and glycosidic esters”. *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1331-1334, 1990.
- VICTOR, S. R.; CRISÓSTOMO, F. R.; BUENO, F. C., PAGNOCCA, F. C., FERNANDES, J. B.; CORRÊA, A. G.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; BACCI, M.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. “Toxicity of synthetic piperonyl compounds to leaf-cutting ants and their symbiotic fungus”. *Pest Manag. Sci.*, **57**, 603-608, 2001.
- VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; PUPO, M. T.; FERNANDES J. B.; SILVA, M. F. D. F.; ALBUQUERQUE, S.; OLIVA, G.; PAVÃO, F. “Strategies for the isolation and identification of trypanocidal compounds from Rutales”. *Pure Appl. Chem.*, **73**, 617-622, 2001.
- VILELA, E. F.; DELLA-LUCIA, T.; JAFFE, K. “Formigas cortadeiras: a linguagem dos odores”. *Ciencia Hoje*, **16**, 26-31, 1987.

- WANG, R.; LU, Y.; WANG, S. "Comparative evaluation of 11 scoring functions for molecular docking". *J. Med Chem.*, **46**, 2287-2303, 2003.
- WEBER, N. A. "Gardening ants. *The Attines*". *Mem. Am. Phylosoph. Soc.*, **17**, 1-146, 1972.
- WEBER, N. A. "Fungus-growing ants". *Science*, **153**, 587-604, 1966.
- VERES-BENCOMO, V.; FERNANDEZ-SANTANA, V.; HARDY, E.; TOLEDO, M. E.; RODRIGUEZ, M. C.; HEYNNNGNEZZ, L., RODRIGUES, A.; BALY, A., HERRERA, L.; IZQUIERDO, W.; VILLAR, A.; VALDES, Y.; COSME, V.; DELER, M. L.; MONTANE, M.; GARCIA, E.; RAMOS, A.; AGUILAR, A.; MEDINA, E.; TORANO, G.; SOSA, I.; HERNANDEZ, I.; MARTINEZ, R.; MUZACHIO, A.; COSTA, L.; CARDOSO, F.; CAMPA, C.; DIAZ, M.; RAY, R. "A synthetic conjugate polysaccharide vaccine against *Haemophilus influenza* type b". *Science*, **305**, 522-525, 2004.
- WILSON, E.K. "Calculating carbohydrates". *Chem. Eng. News*, **82**, 36-39, 2004.
- WILSON, E. O. "Caste and division of labor in leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*. I. The overall pattern in a *Atta sexdens*." *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **7**, 143-156, 1980.
- WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. "Keto-fructose pentaacetate". *J. Am. Chem. Soc.*, **56**, 880-882, 1934.
- YANG, G.; SCHEMING, J.; TSUJI, M.; FRANCK, R.W. "The C-glycoside analogue of the immunostimulant α -galactosylceramide (KRN7000): synthesis and striking enhancement of activity". *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 3818-3822, 2004.
- ZHAI, X.; PELESHANKO, S.; KLIMENKO, N. S.; GENSO, K. L.; VAKIN, D.; VORTMAN, M. Y.; SCHEVCHENKO, V. V.; TSUKRUK, V. V. "Amphiphilic dendritic molecules: hyperbranched polyesters with alkyl-terminated branches". *Macromolecules*, **36**, 3101-3110, 2003.
- ZHOU, J.; SHEVLIN, P. B. "A convenient synthesis of racemic 2'-deoxy carbocyclic thymidines lacking the 5'-methylene group". *Tetrahedron Lett.*, **39**, 8373-8376, 1998.
- ZHOU, J. L.; KAMAL, B.; THOMAS, R. W.; SHEVLIN, P. B. "6-Isobutyrylamino-purine: A convenient building block for the synthesis of carbocyclic adenosine analogs". *Tetrahedron Lett.*, **38**, 4037-4038, 1997.

APÊNDICE

estearato da glicose
A042A1EGU

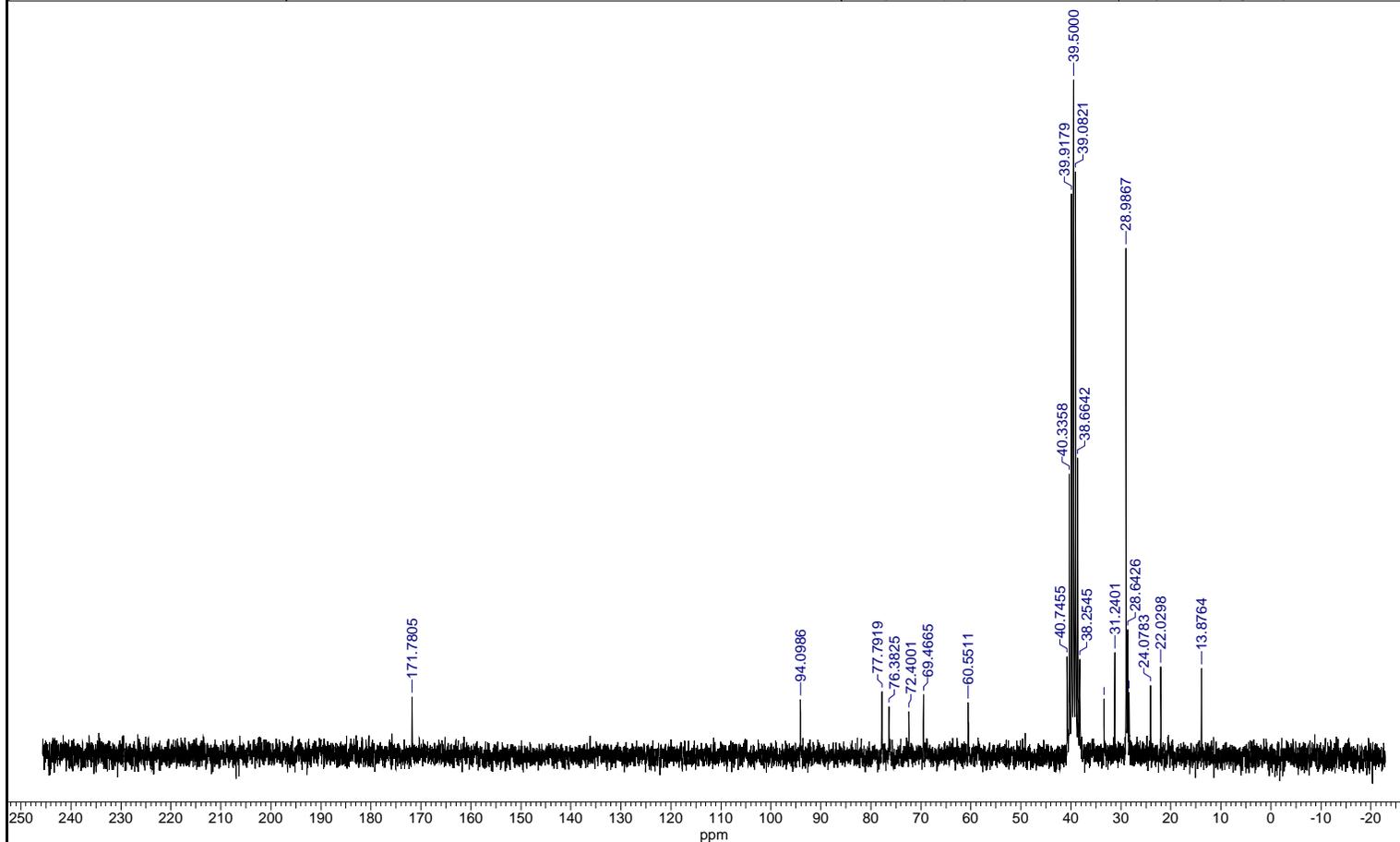
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A042A1EGU	Date	13 Jan 1972 11:33:21	Frequency (MHz)	200.13
Date Stamp	13 Jan 1972 11:33:21	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2005\A042A1EGU\1\A042A1EGU.dx		Owner	mapheu	
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



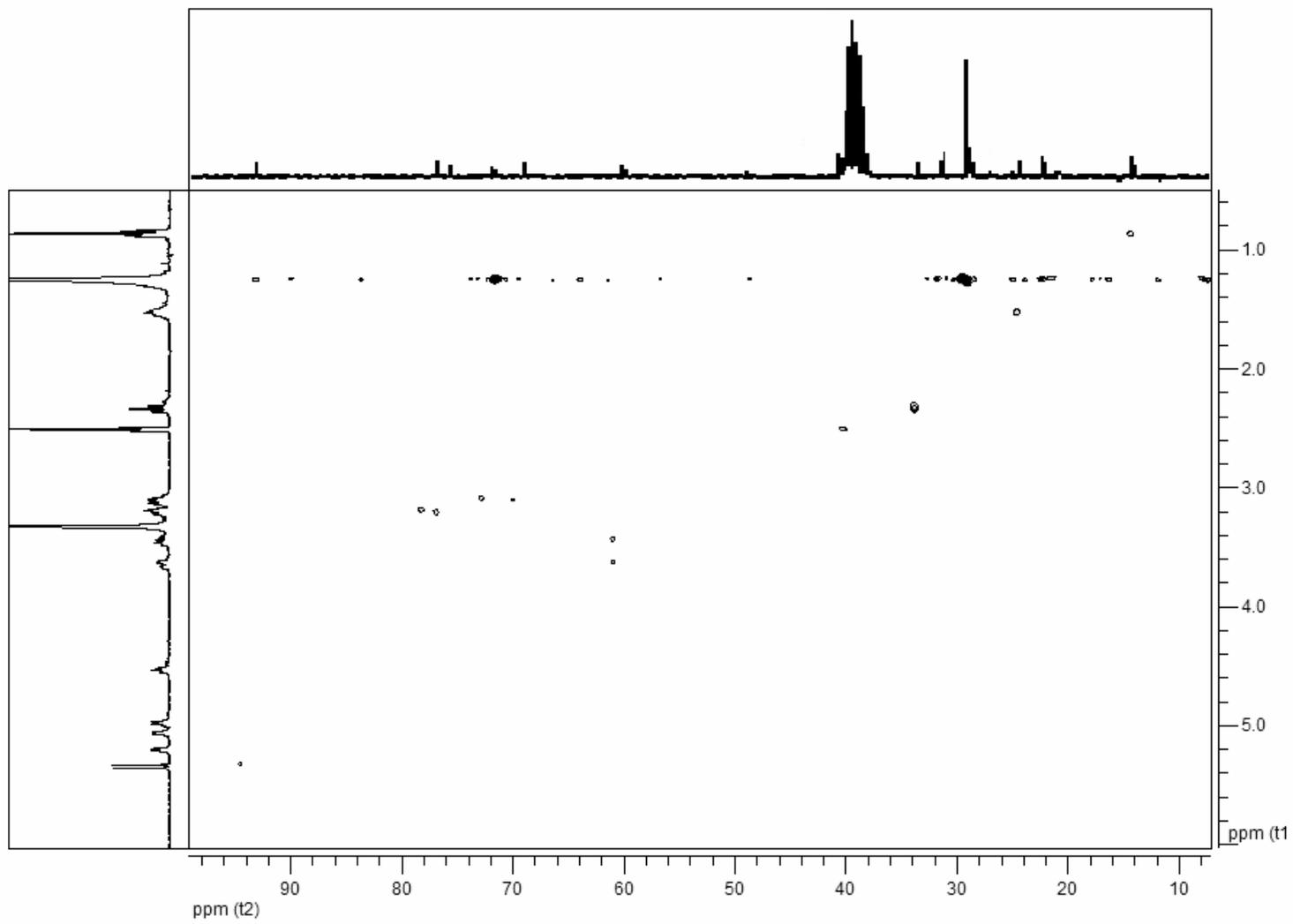
Espectro de RMN ¹H do éster 74

estearato da glicose
A042A1EGU

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A042A1EGU	Date	13 Jan 1972 11:36:01	Frequency (MHz)	50.33
Date Stamp	13 Jan 1972 11:36:01	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2005\A042A1EGU\2\A042A1EGU.dx			Owner	mapheu
Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



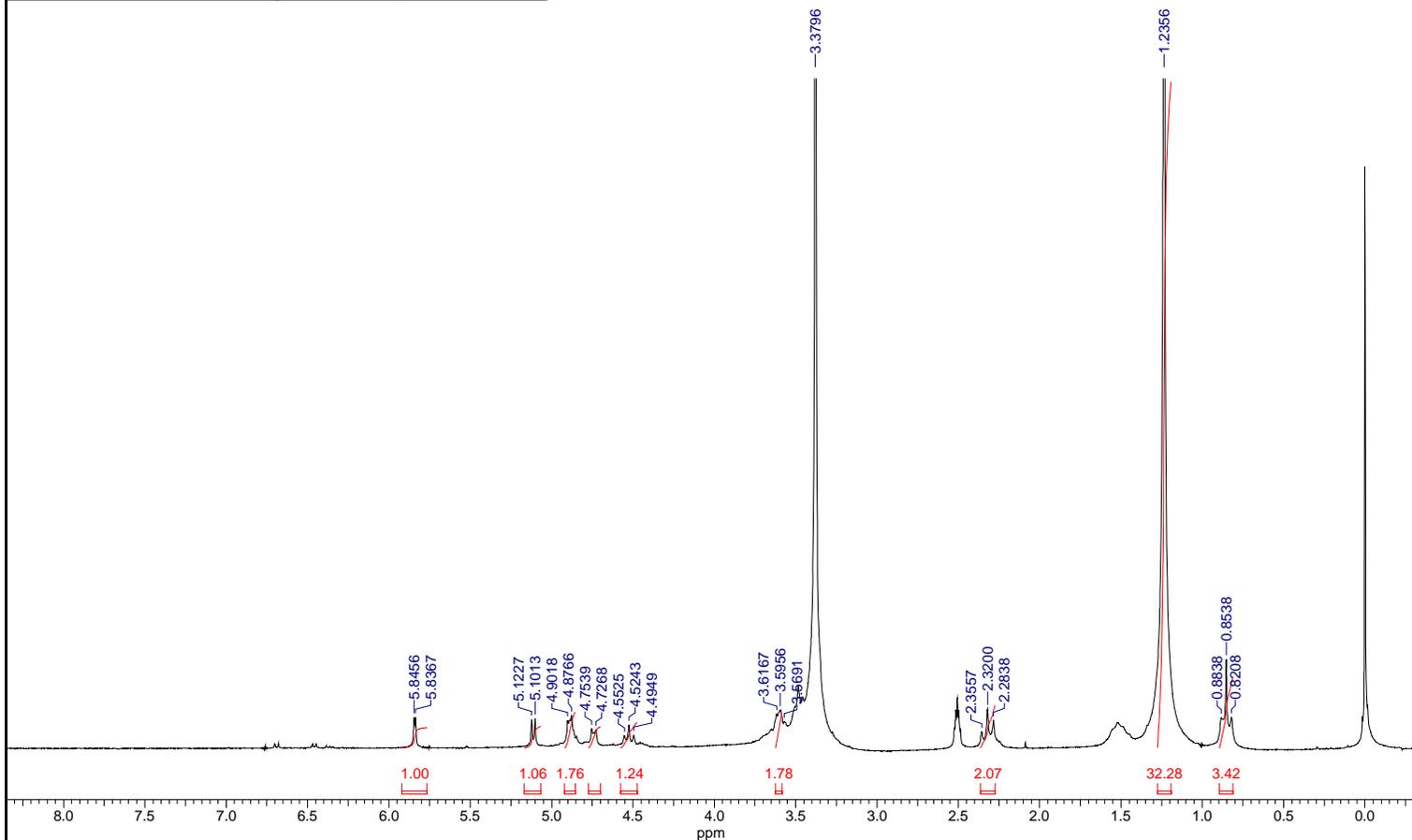
Espectro de RMN ¹³C do éster 74



Espectro de HSQC [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}}$] do éster **74**

estearato da manose
A062A1EP1

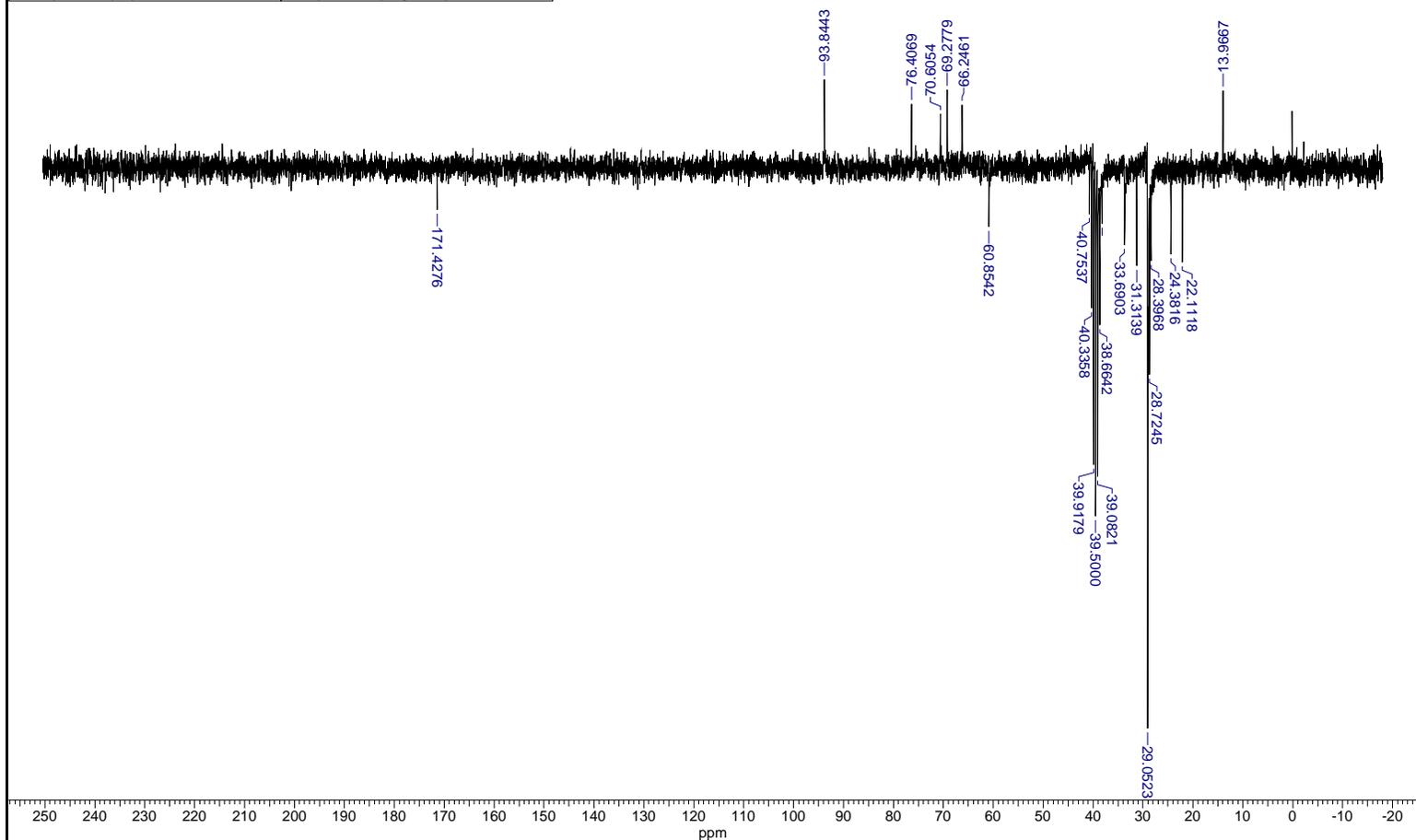
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A062A1EP1	Date	05 Feb 1971 07:46:06	Date Stamp	05 Feb 1971 07:46:06		
File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A062A1EP1\1\A062A1EP1.dx			Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	DMSO-D6
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000						



Espectro de RMN ^1H do éster 75

estearato da manose
A062A1EP1

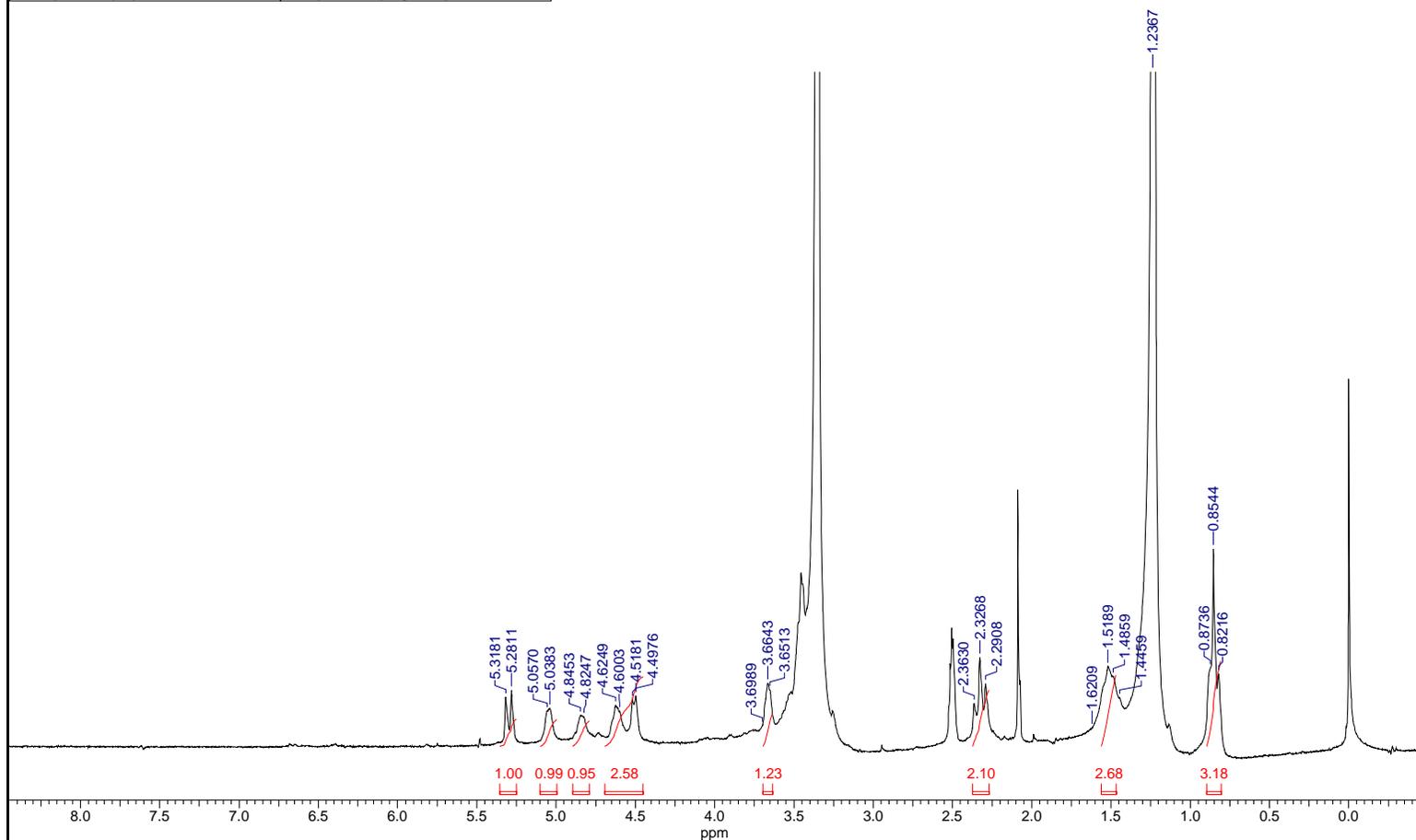
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A062A1EP1	Date	05 Feb 1971 07:48:51	Date Stamp	05 Feb 1971 07:48:51		
File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A062A1EP1\4A062A1EP1.dx		Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	
Origin	mapheu	Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	DMSO-D6
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000						



Espectro de RMN ¹³C do éster 75

estearato da galactose
A072A1EG5

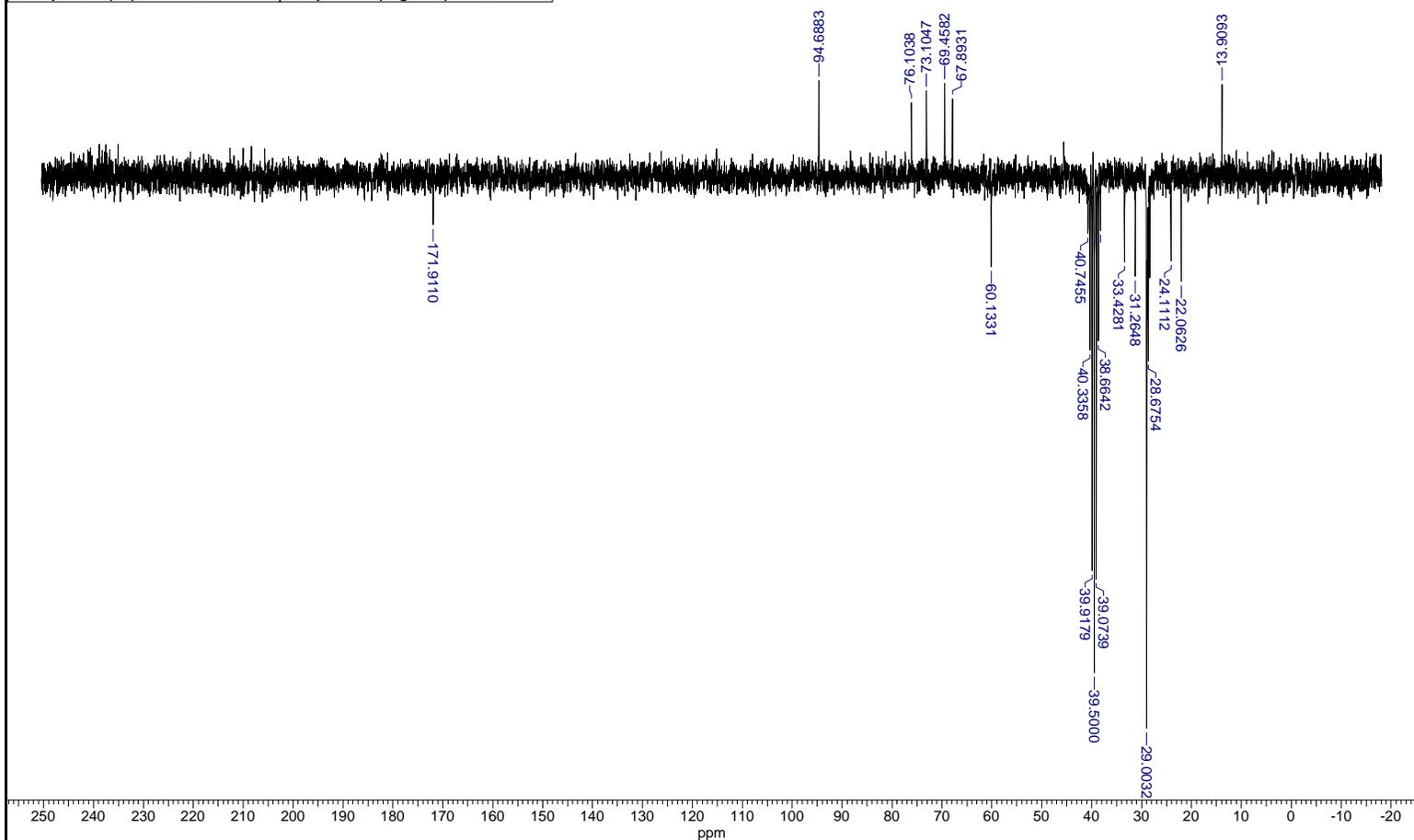
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A072A1EG5	Date	22 Feb 1971 05:31:16	Date Stamp	22 Feb 1971 05:31:16
File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A072A1EG5\1\A072A1EG5.dx	Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	DMSO-D6		



Espectro de RMN ^1H do éster 76

estearato da galactose
A072A1EG5

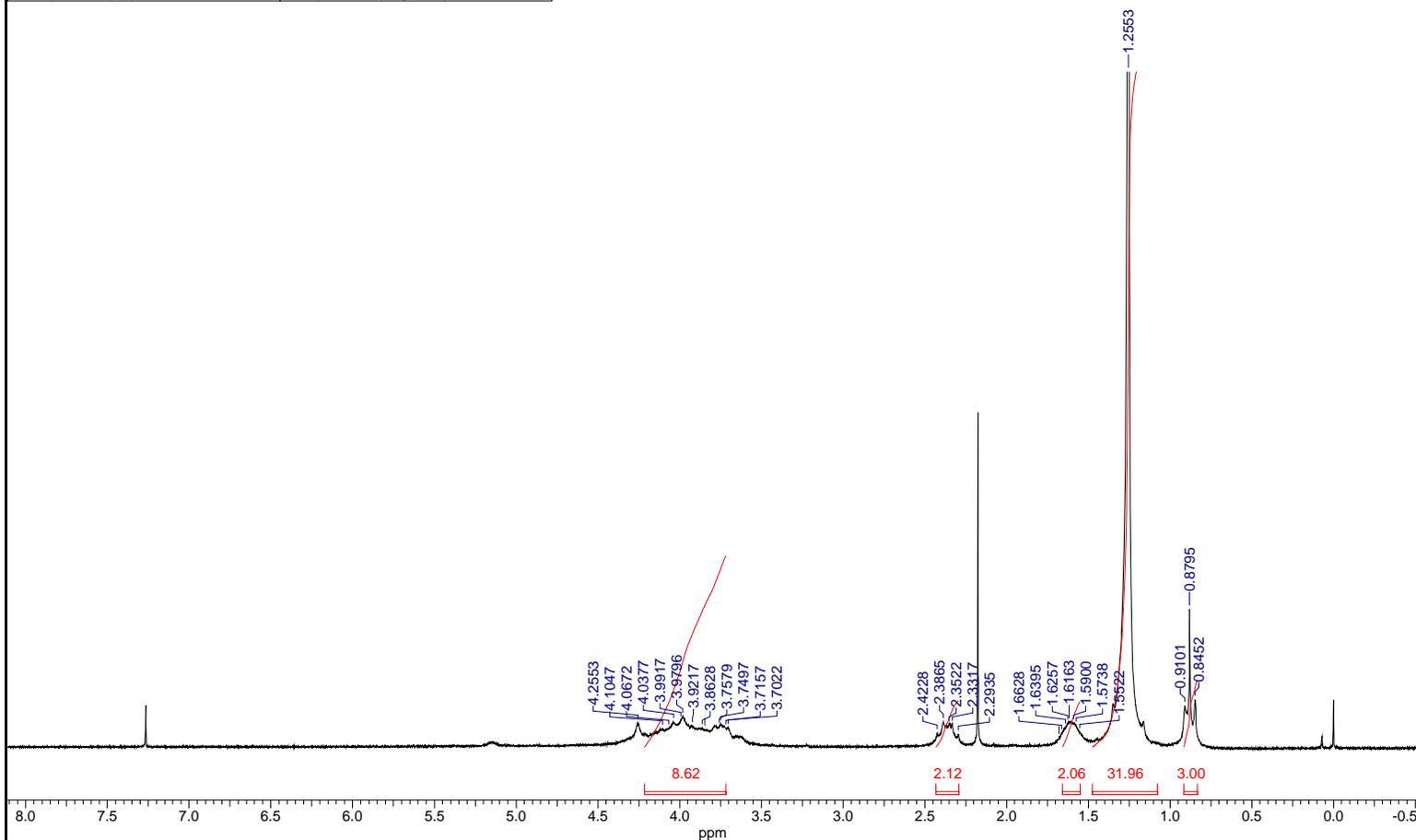
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A072A1EG5	Date	22 Feb 1971 05:34:32	Date Stamp	22 Feb 1971 05:34:32
File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A072A1EG5\A072A1EG5.dx	Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024
Origin	mapheu	Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	DMSO-D6		



Espectro de RMN ¹³C do éster 76

estearato da frutose
A112A1EFP

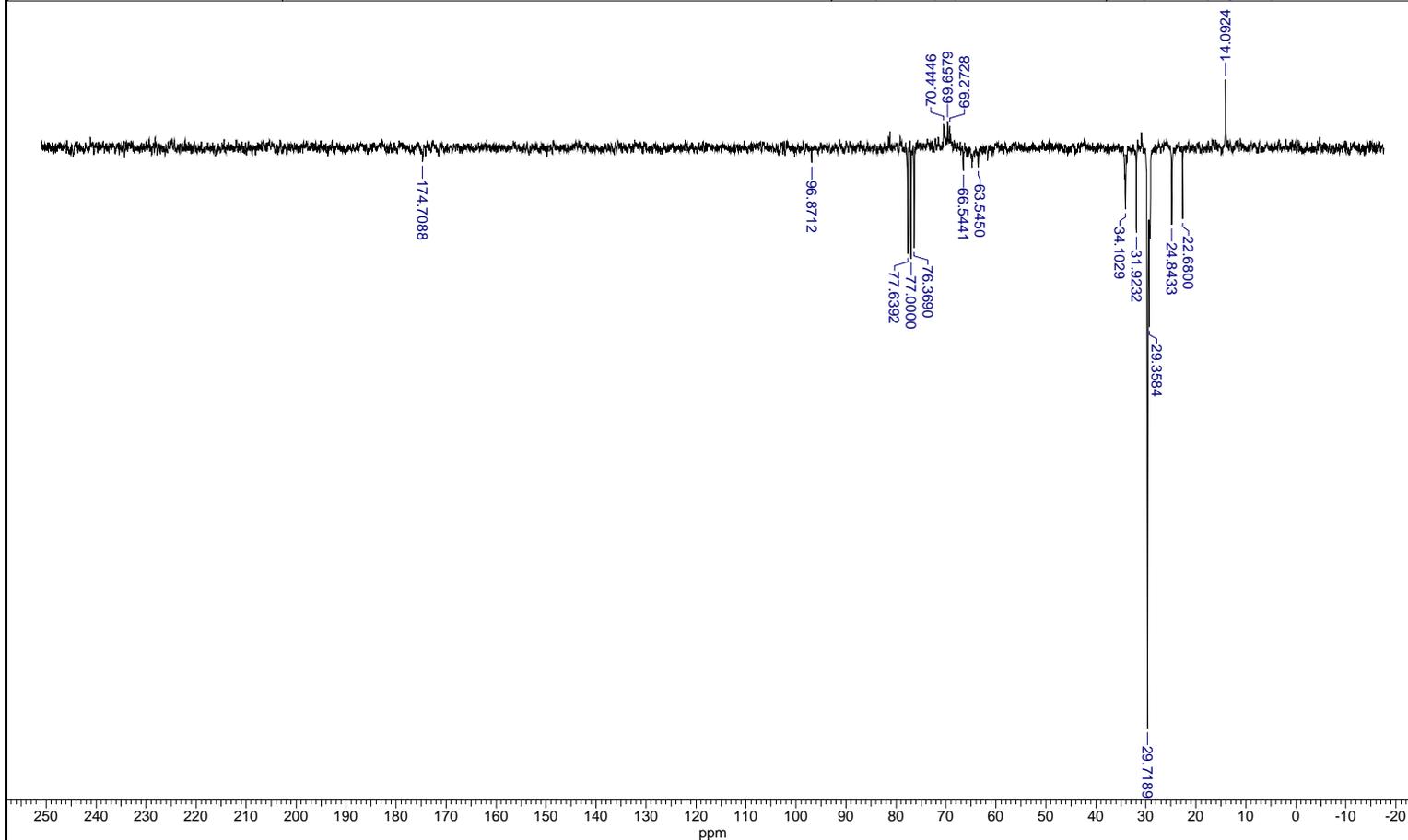
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A112A1EFP	Date	07 Mar 1971 19:10:48	Date Stamp	07 Mar 1971 19:10:48
File Name	C:\Chris\chrisRMN\A112A1EFP\1\A112A1EFP.dx	Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D		



Espectro de RMN ^1H do éster 77

estearato da frutose
A112A1EFP

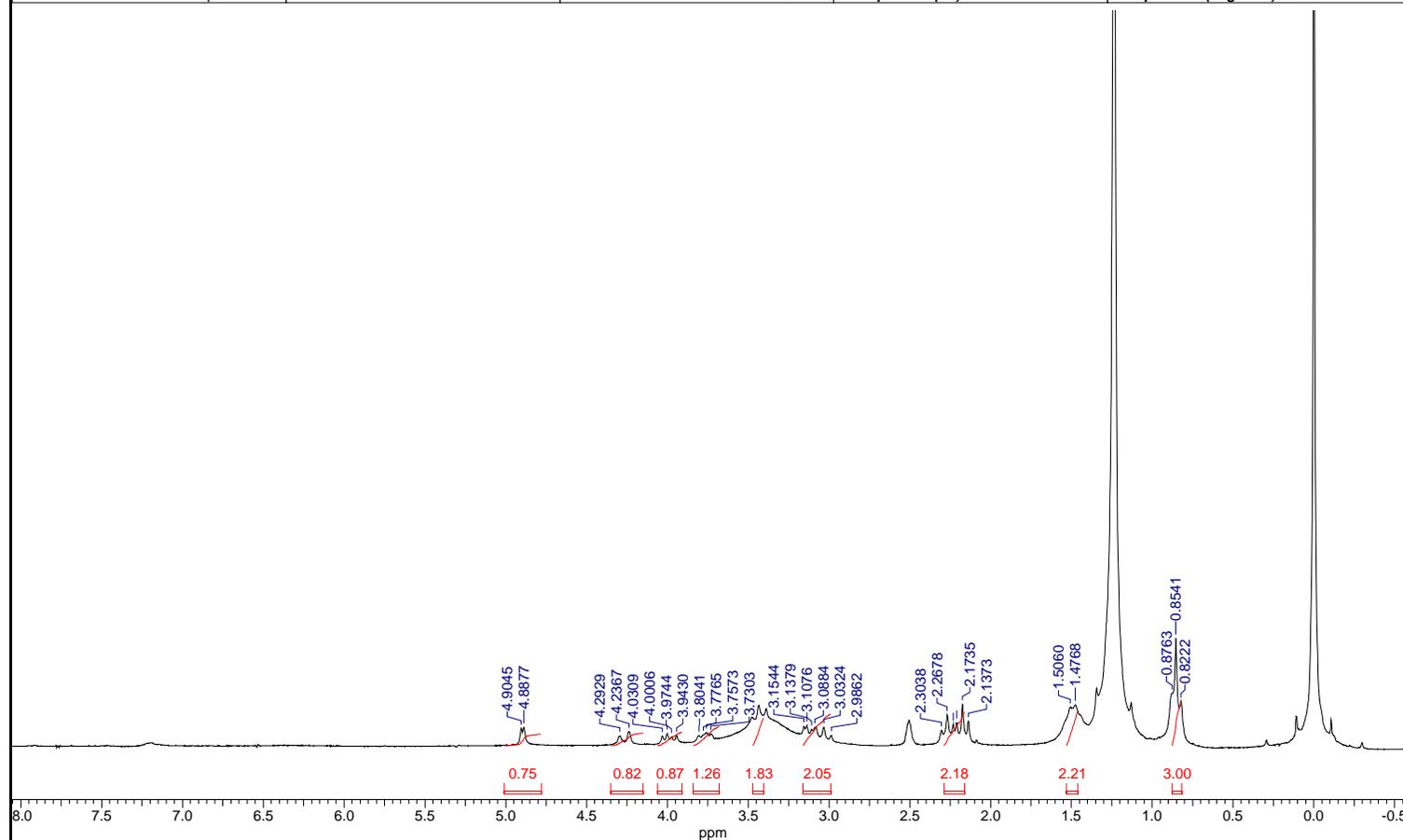
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A112A1EFP	Date	07 Mar 1971 20:43:43	Frequency (MHz)	50.33
Date Stamp	07 Mar 1971 20:43:43	File Name	C:\Chris\chrisRMN\A112A1EFP\40\A112A1EFP.dx			Owner	mapheu
Nucleus	13C	Number of Transients	2416	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹³C do éster 77

palmitato da glicose
A202A1GLP1

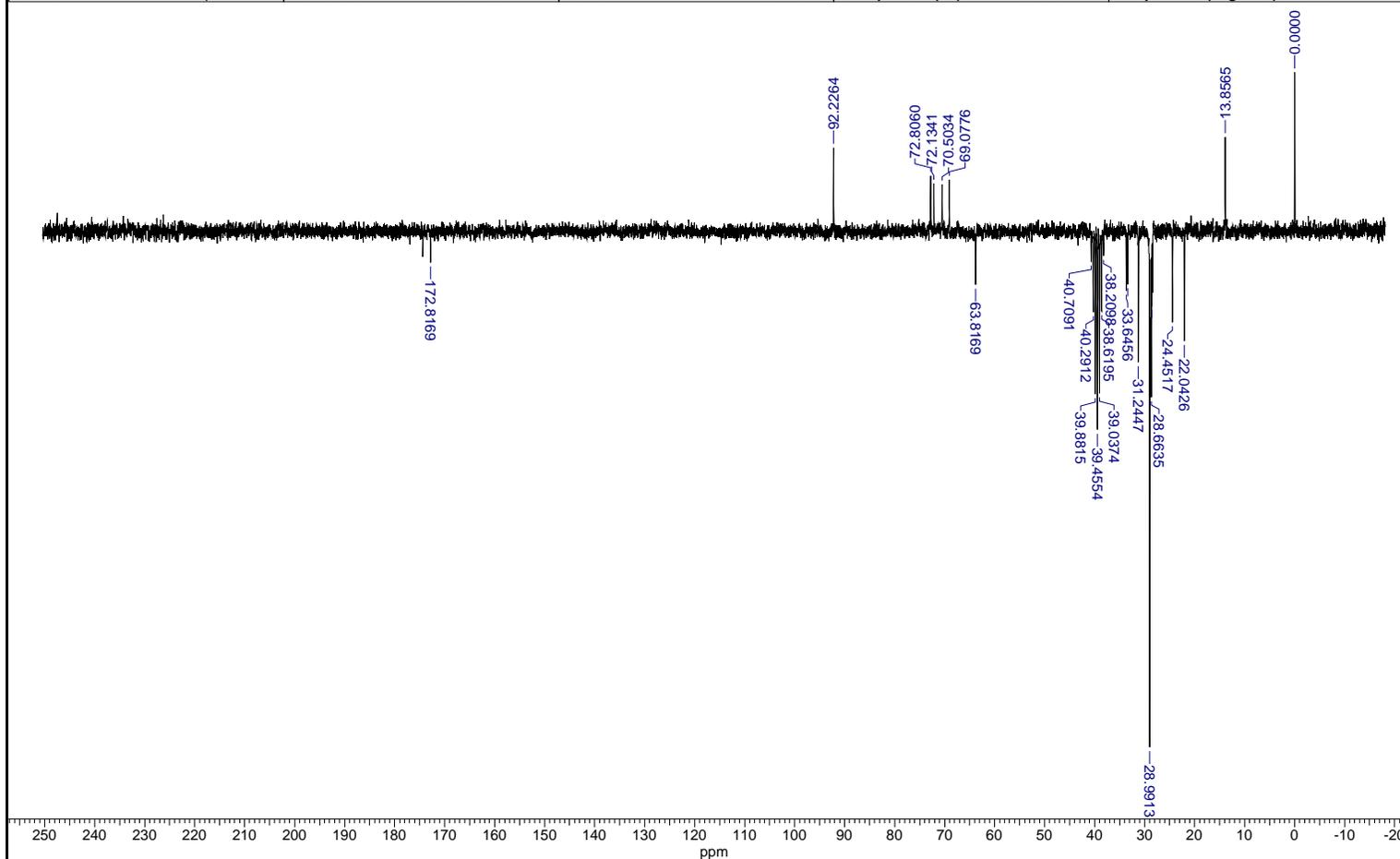
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A202A1GLP1	Date	08 May 1971 20:04:25				
Date Stamp	08 May 1971 20:04:25			File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A202A1GLP1\1\A202A1GLP1.DX				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H do éster 78

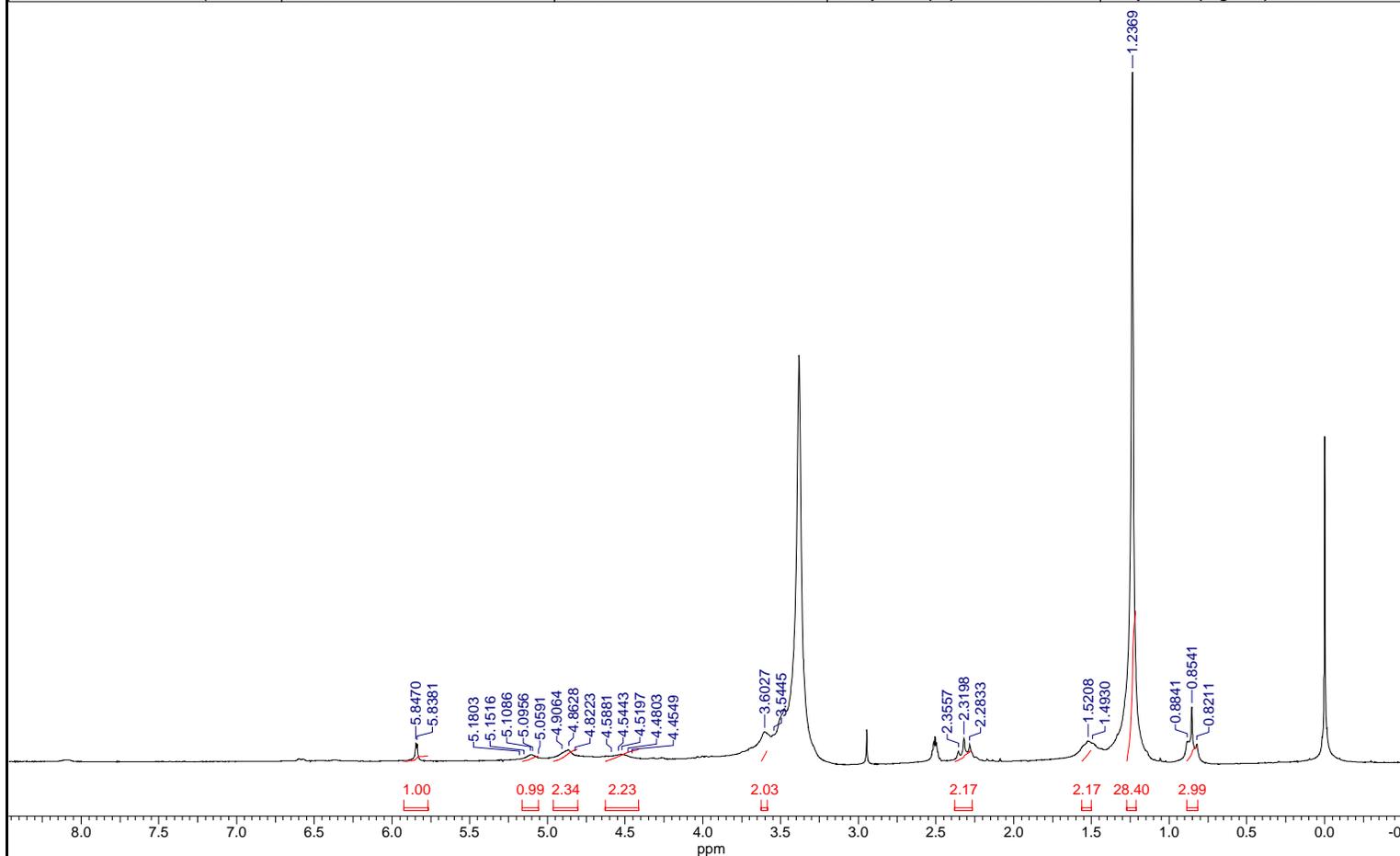
palmitato da glicose

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A202A1GLP1	Date	08 May 1971 20:08:15				
Date Stamp	08 May 1971 20:08:15		File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A202A1GLP1\4\A202A1GLP1.dx					
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000

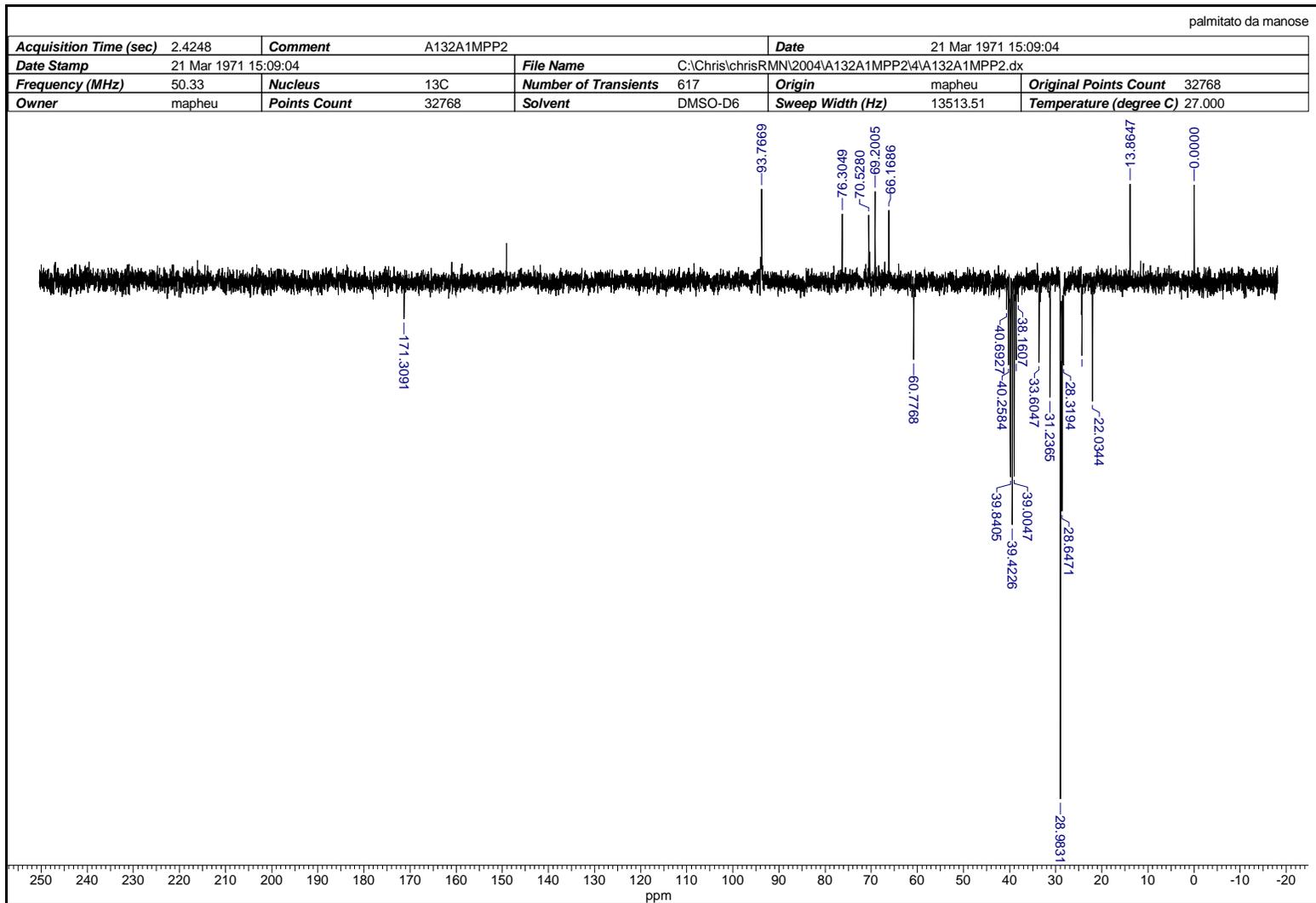


Espectro de RMN ¹³C do éster 78

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A132A1MPP2	Date	21 Mar 1971 15:01:32		
Date Stamp	21 Mar 1971 15:01:32		File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A132A1MPP2\1A132A1MPP2.dx			
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	32	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10
						Temperature (degree C)	27.000



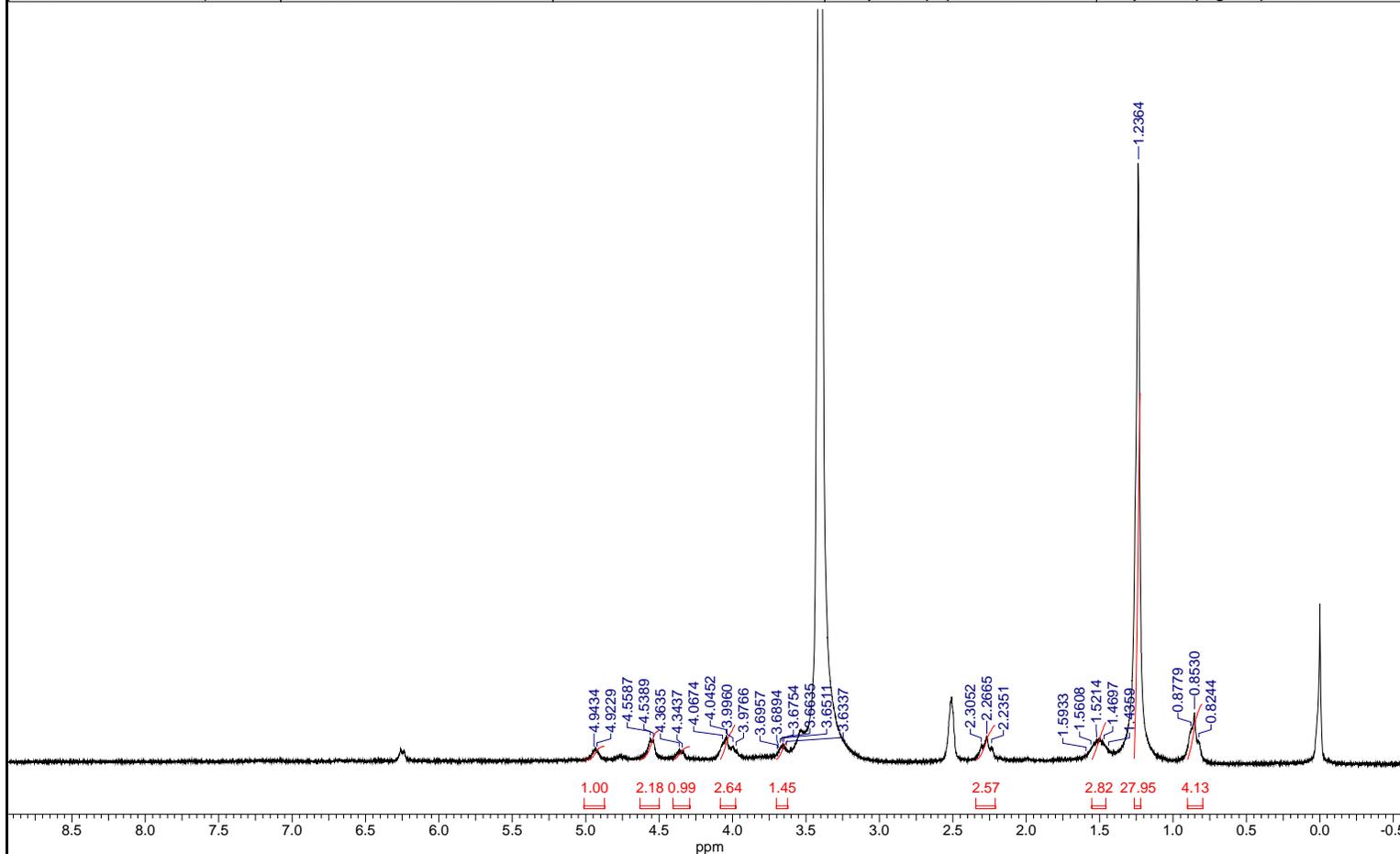
Espectro de RMN ¹H do éster 79



Espectro de RMN ^{13}C do éster 79

palmitato da galactose

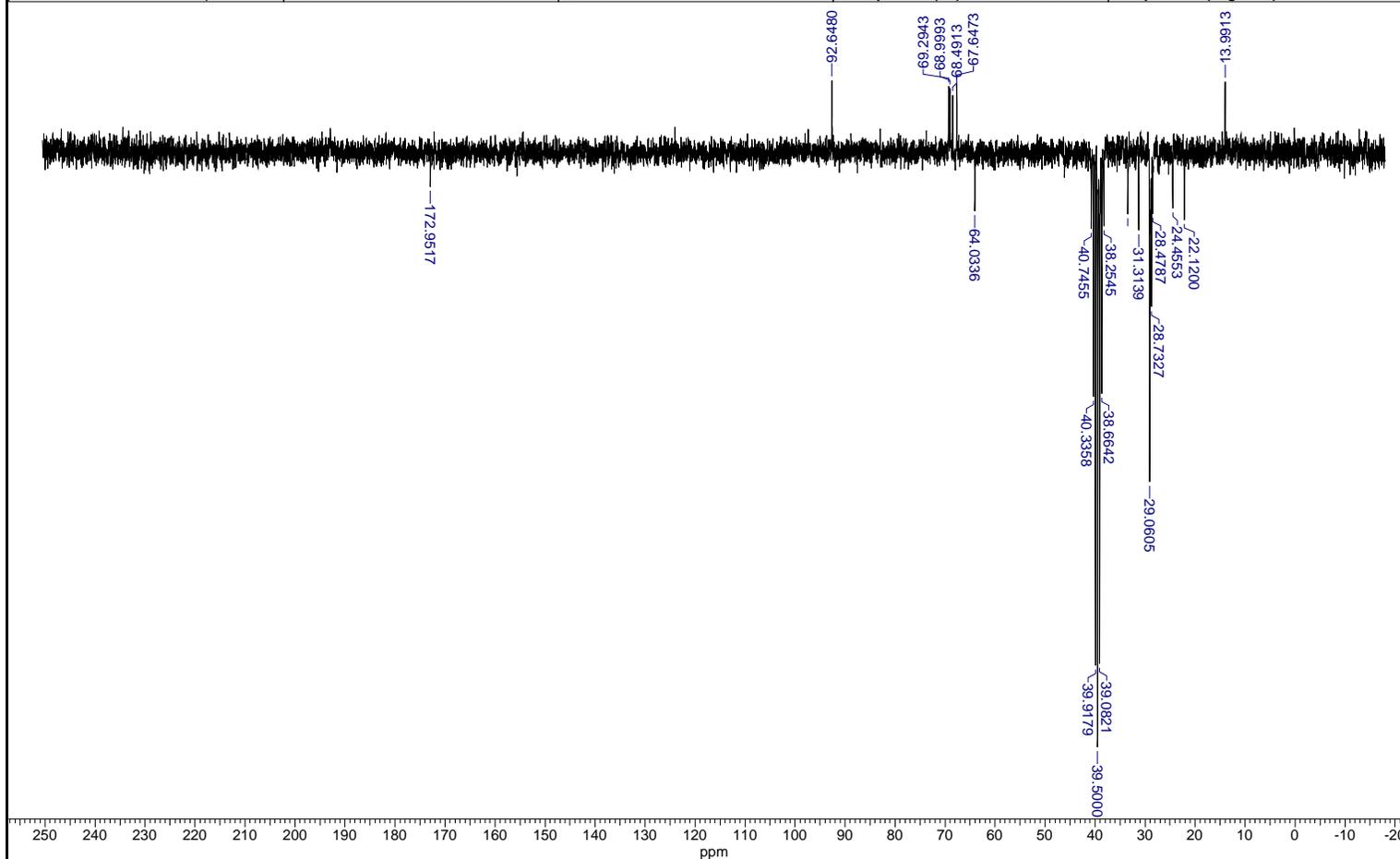
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A162A1GPP1	Date	17 Apr 1971 08:04:16				
Date Stamp	17 Apr 1971 08:04:16	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A162A1GPP1\1\A162A1GPP1.dx						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H do éster 80

palmitato da galactose

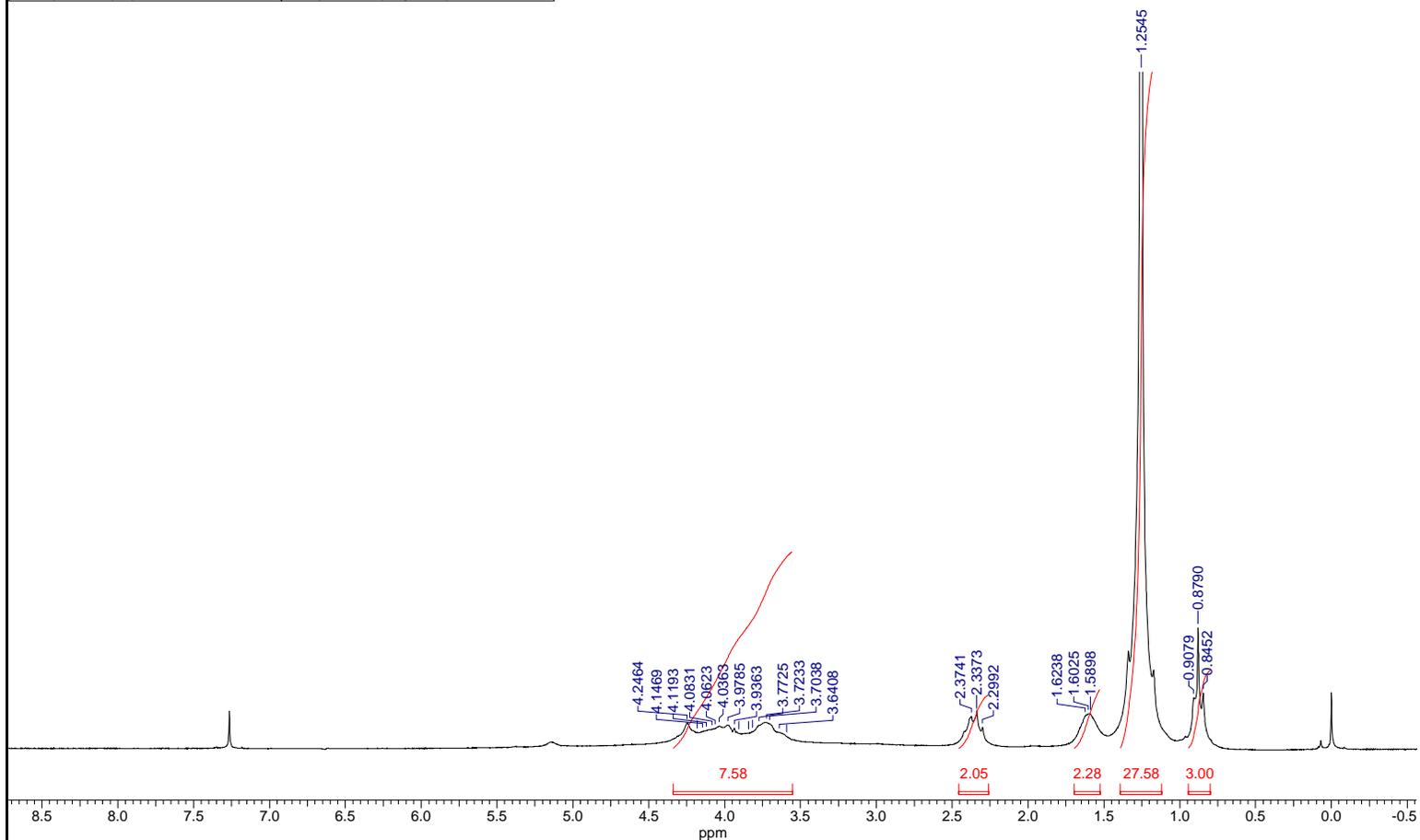
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A162A1GPP1	Date	17 Apr 1971 08:07:23				
Date Stamp	17 Apr 1971 08:07:23	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A162A1GPP1\4\A162A1GPP1.dx						
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	2761	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ^{13}C do éster 80

palmitato da frutose
A042A1PF

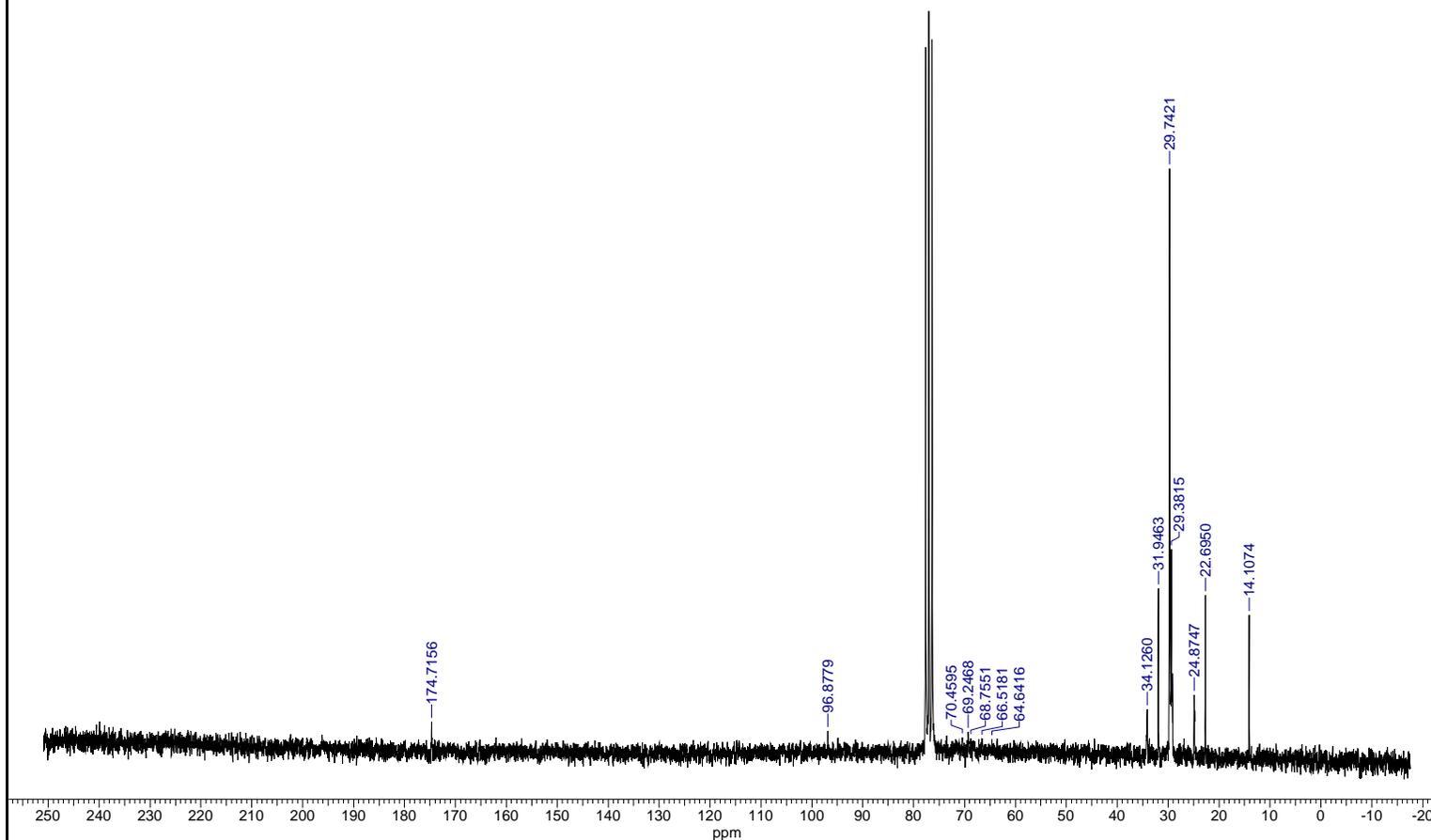
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A042A1PF	Date	13 Jan 1972 09:07:46	Date Stamp	13 Jan 1972 09:07:46		
File Name	C:\Chris\chrisRMN\2005\A042A1PF\1\A042A1PF.dx		Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	32	
Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000						



Espectro de RMN ^1H do éster **81**

palmitato da frutose
A042A1PF

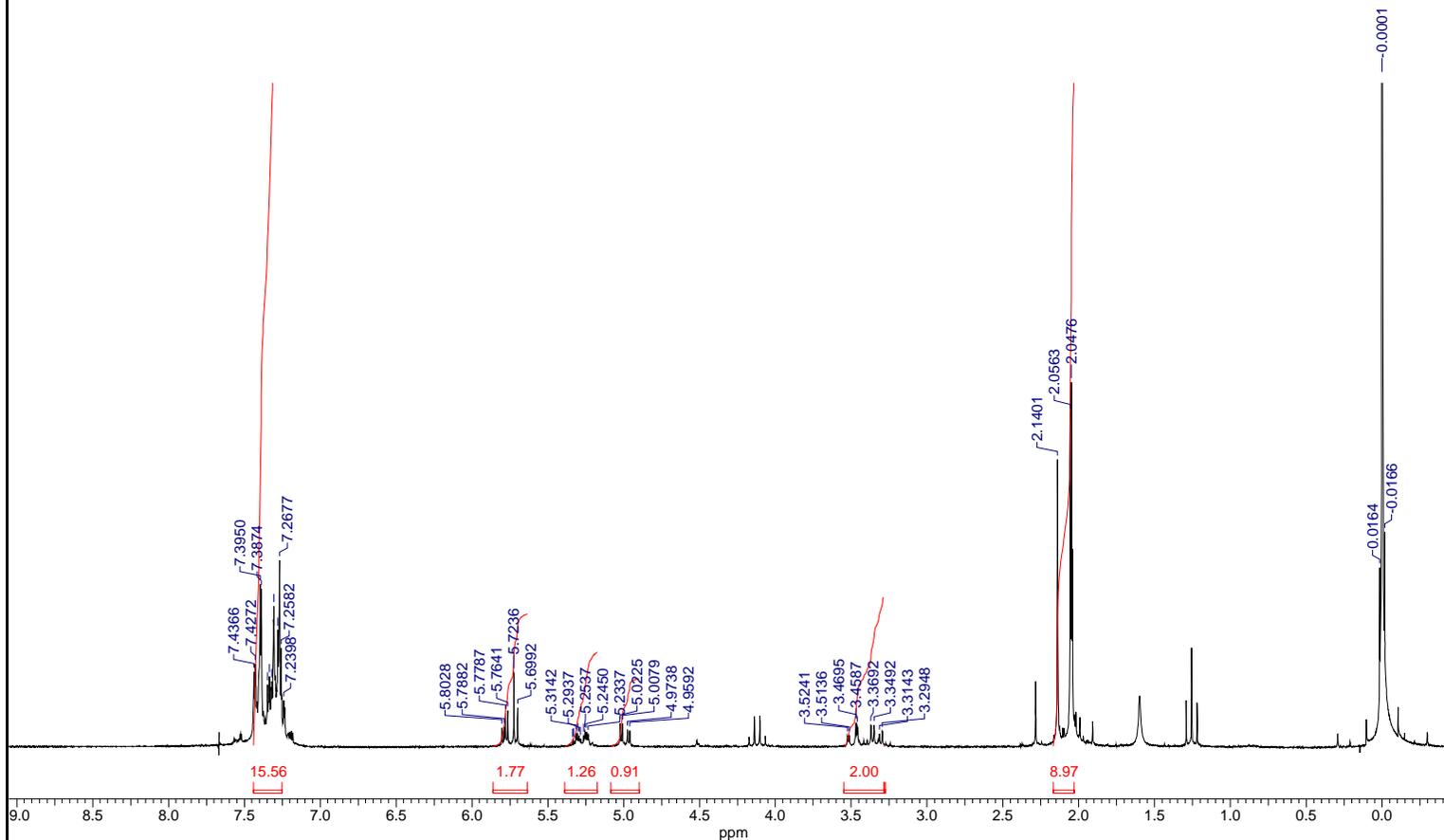
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A042A1PF	Date	13 Jan 1972 09:10:51	Frequency (MHz)	50.33
Date Stamp	13 Jan 1972 09:10:51	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2005\A042A1PF\2\A042A1PF.dx			Owner	mapheu
Nucleus	13C	Number of Transients	5846	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹³C do éster 81

lactona prot manose
A042A1LA1

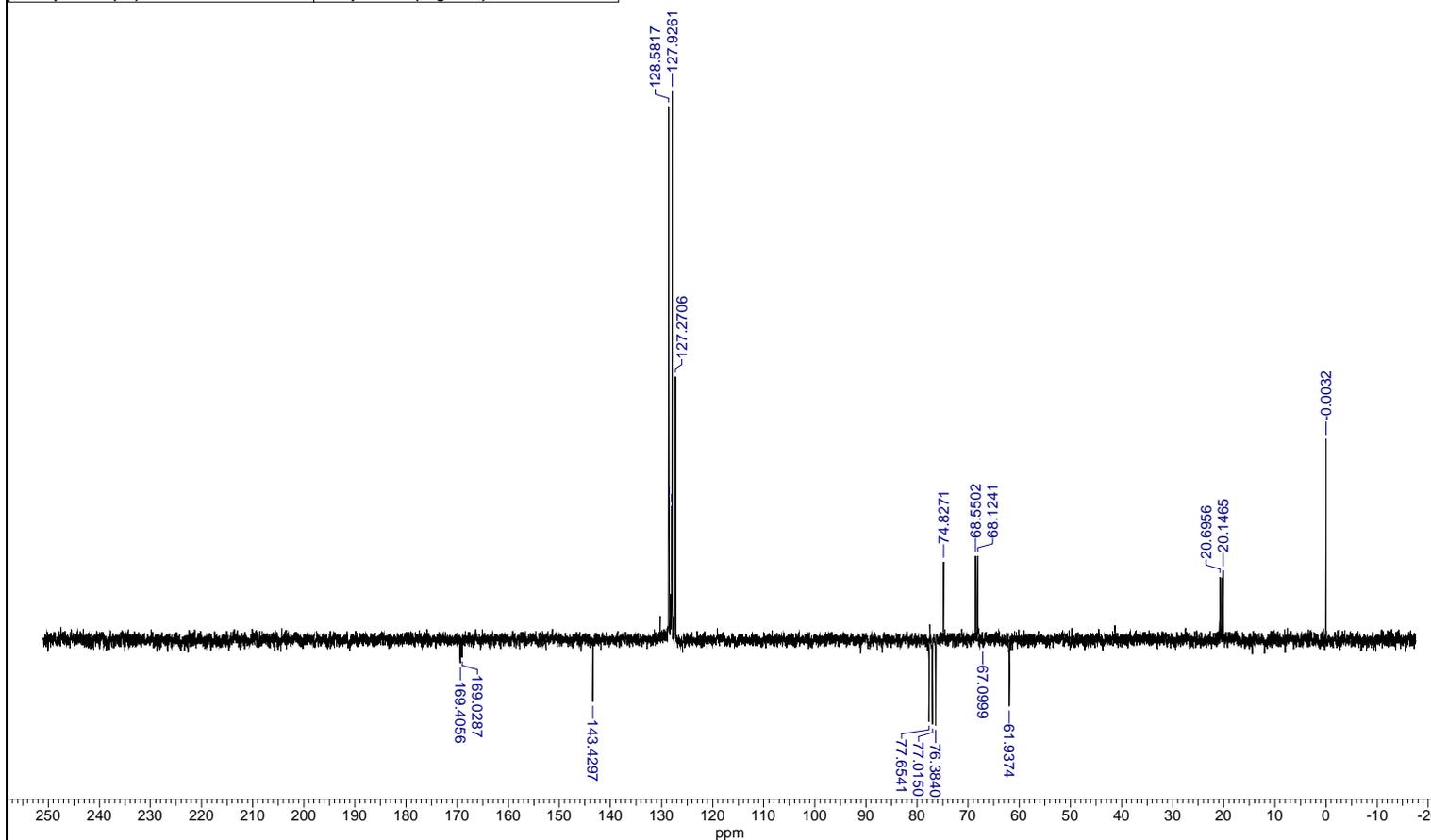
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A042A1LA1	Date	10 Dec 1999 10:41:22		
Date Stamp	10 Dec 1999 10:41:22	File Name	E:\CHRIS\AMB1\ESPECTROS\ESPECTROS2003\A042A1LA1\1\A042A1LA1.DX				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	32	Origin	mapheu
Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ^1H da lactona da manose **83**

lactona prot manose
A042A1LA1

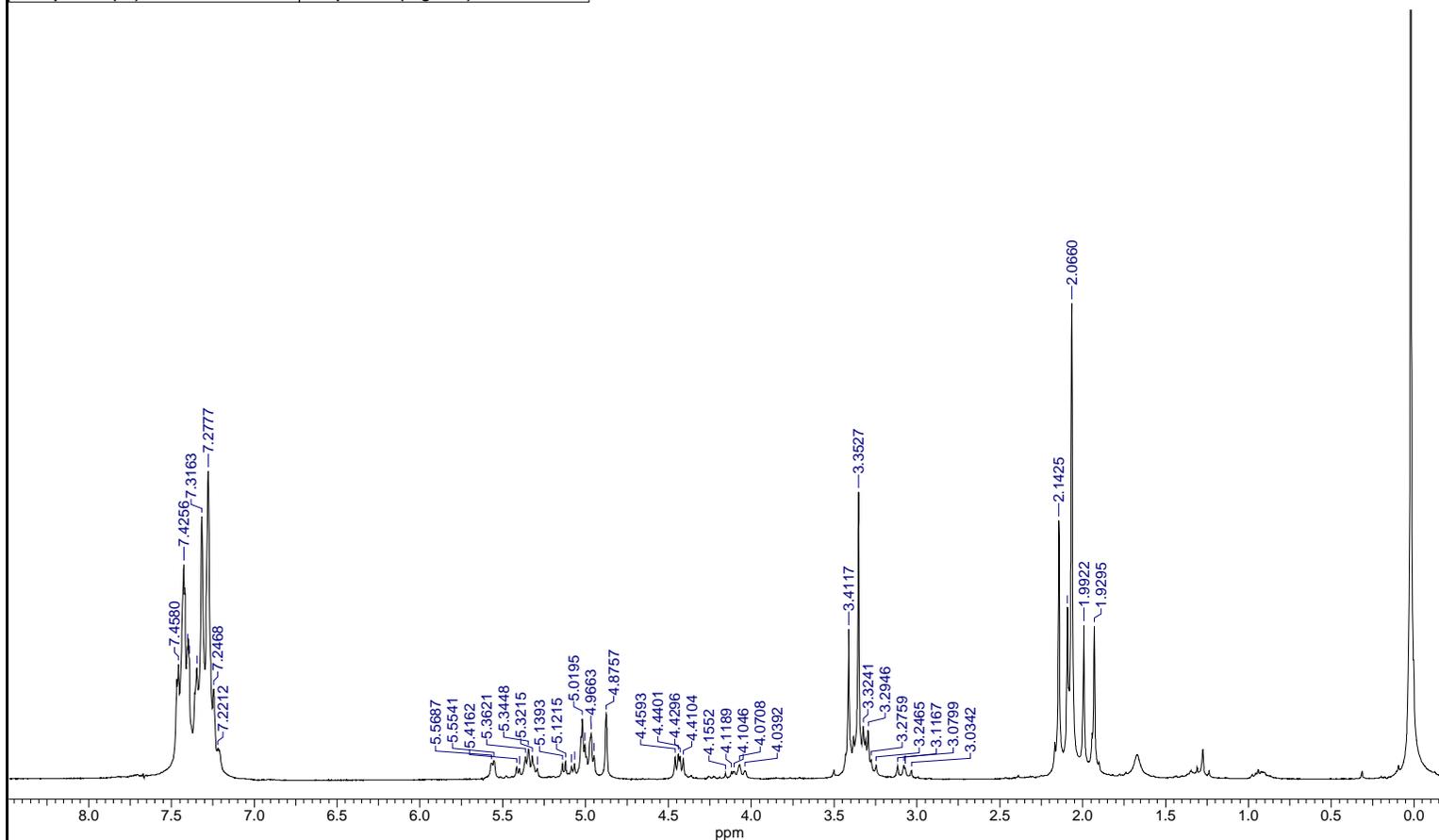
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A042A1LA1	Date	10 Dec 1999 10:48:20		
Date Stamp	10 Dec 1999 10:48:20	File Name	E:\CHRIS\AMB1\ESPECTROS\ESPECTROS2003\A042A1LA1\A042A1LA1.DX				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ^{13}C da lactona da manose 83

galactose protegida mist
A132B7GPM

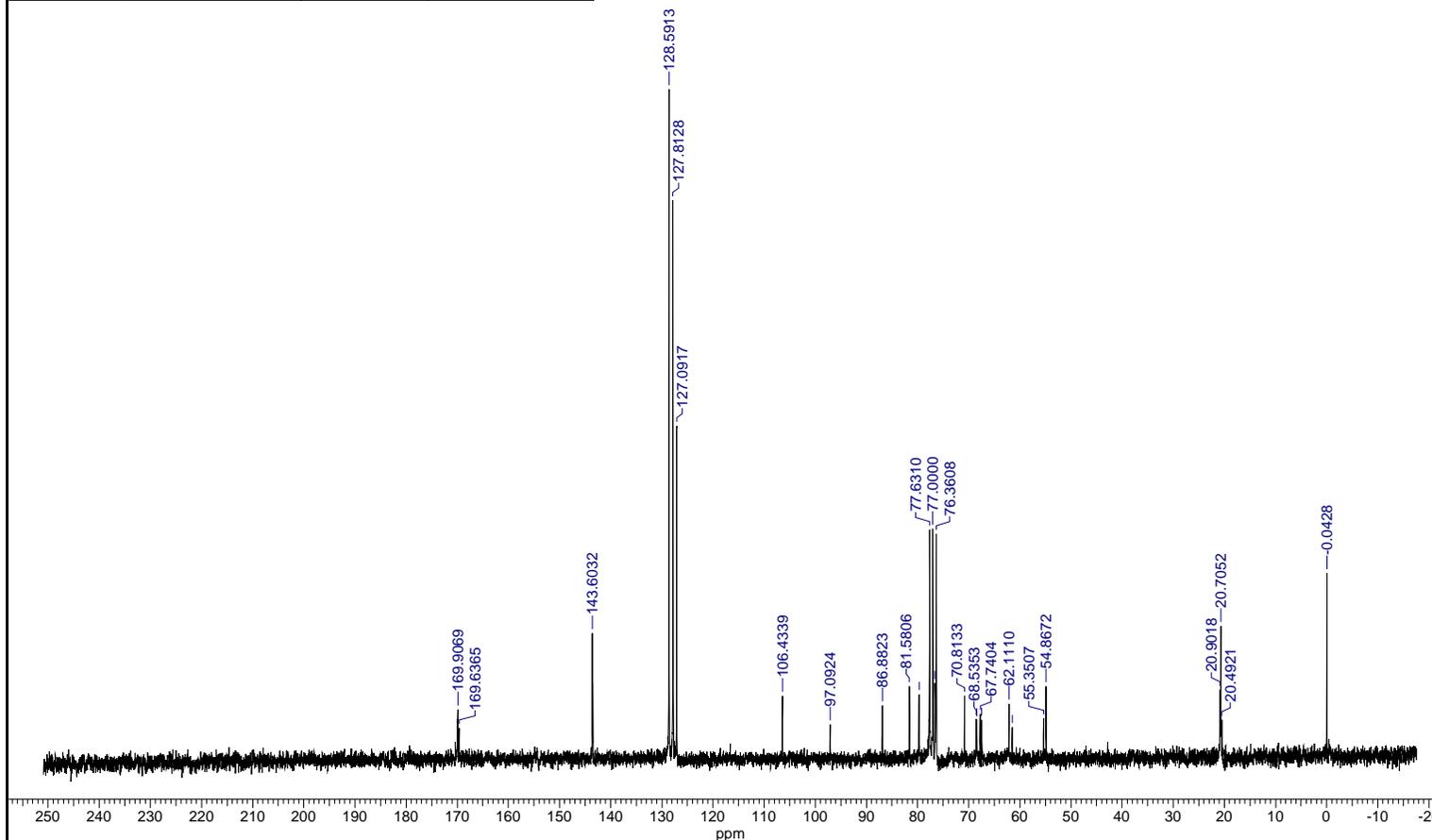
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A132B7GPM	Date	23 Feb 1999 03:46:44		
Date Stamp	23 Feb 1999 03:46:44	File Name	E:\CHRIS\AMB1\CRIS1\ESPECTROS\A132B7GPM\1\A132B7GPM.DX				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu
Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹H do derivado da galactose **85**

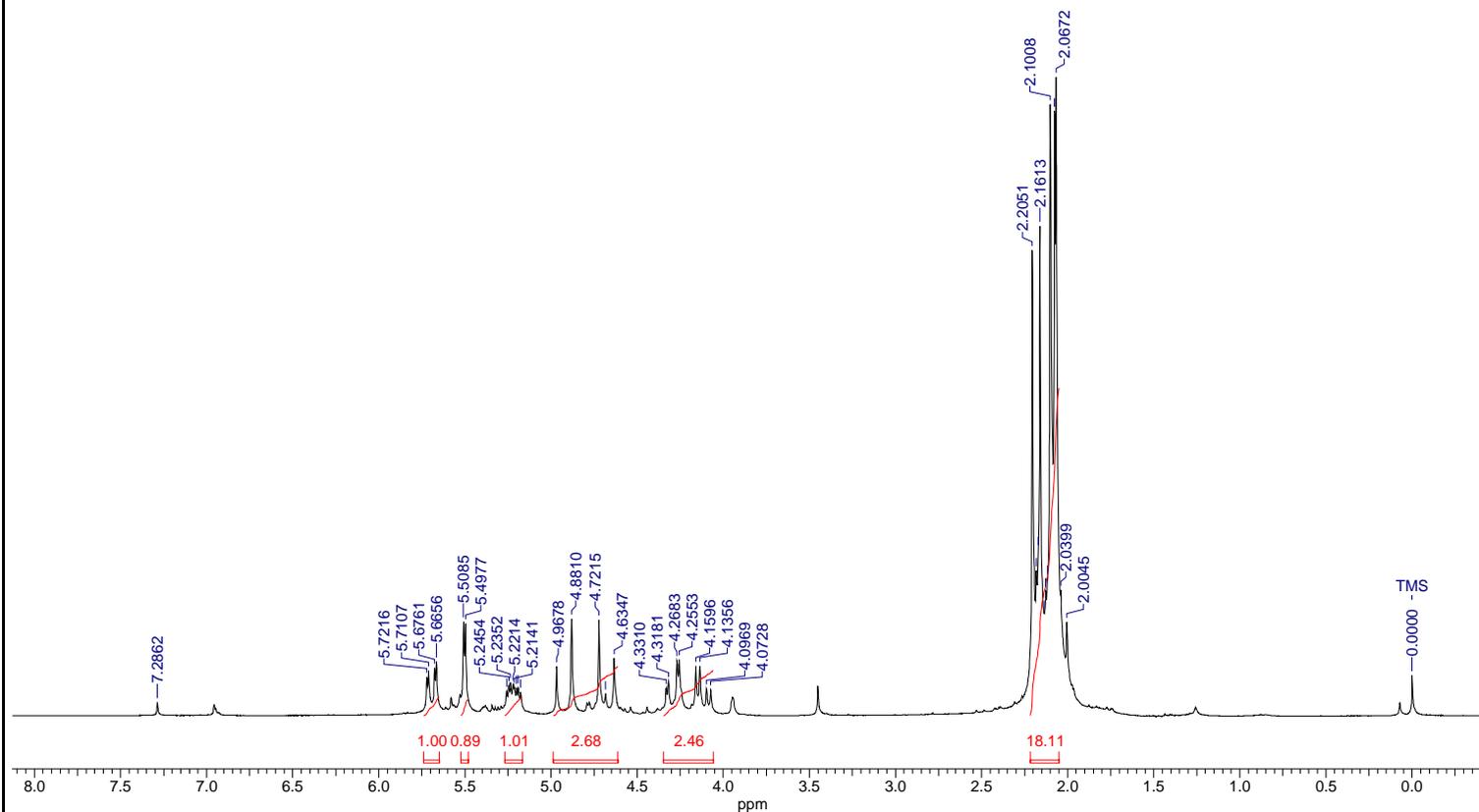
galactose protegida mist
A132B7GPM

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A132B7GPM	Date	23 Feb 1999 04:13:01		
Date Stamp	23 Feb 1999 04:13:01	File Name	E:\CHRIS\AMB1\CRIS1\ESPECTROSA\A132B7GPM\2\A132B7GPM.DX				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ^{13}C do derivado da galactose **85**

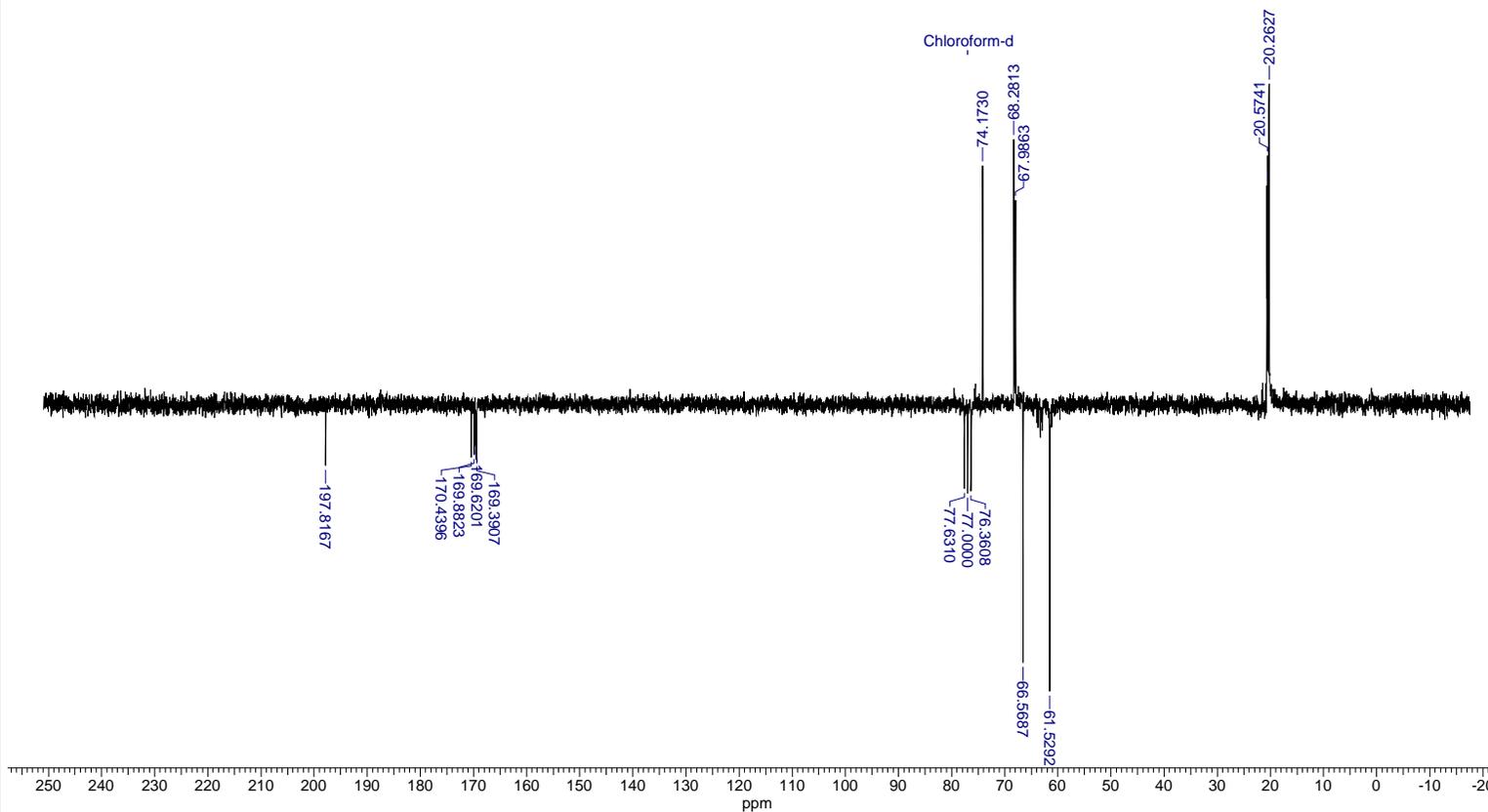
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A422B7FC2	Date	10 Sep 1999 23:57:32
Date Stamp	10 Sep 1999 23:57:32	File Name	D:\Documents and Settings\usuaris\Chris\A422B7FC2\1\A422B7FC2.dx		
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	32
Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D



D:\Documents and Settings\usuaris\Chris\A422B7FC2\1\A422B7FC2.dx

Espectro de RMN ¹H da frutose acetilada 89

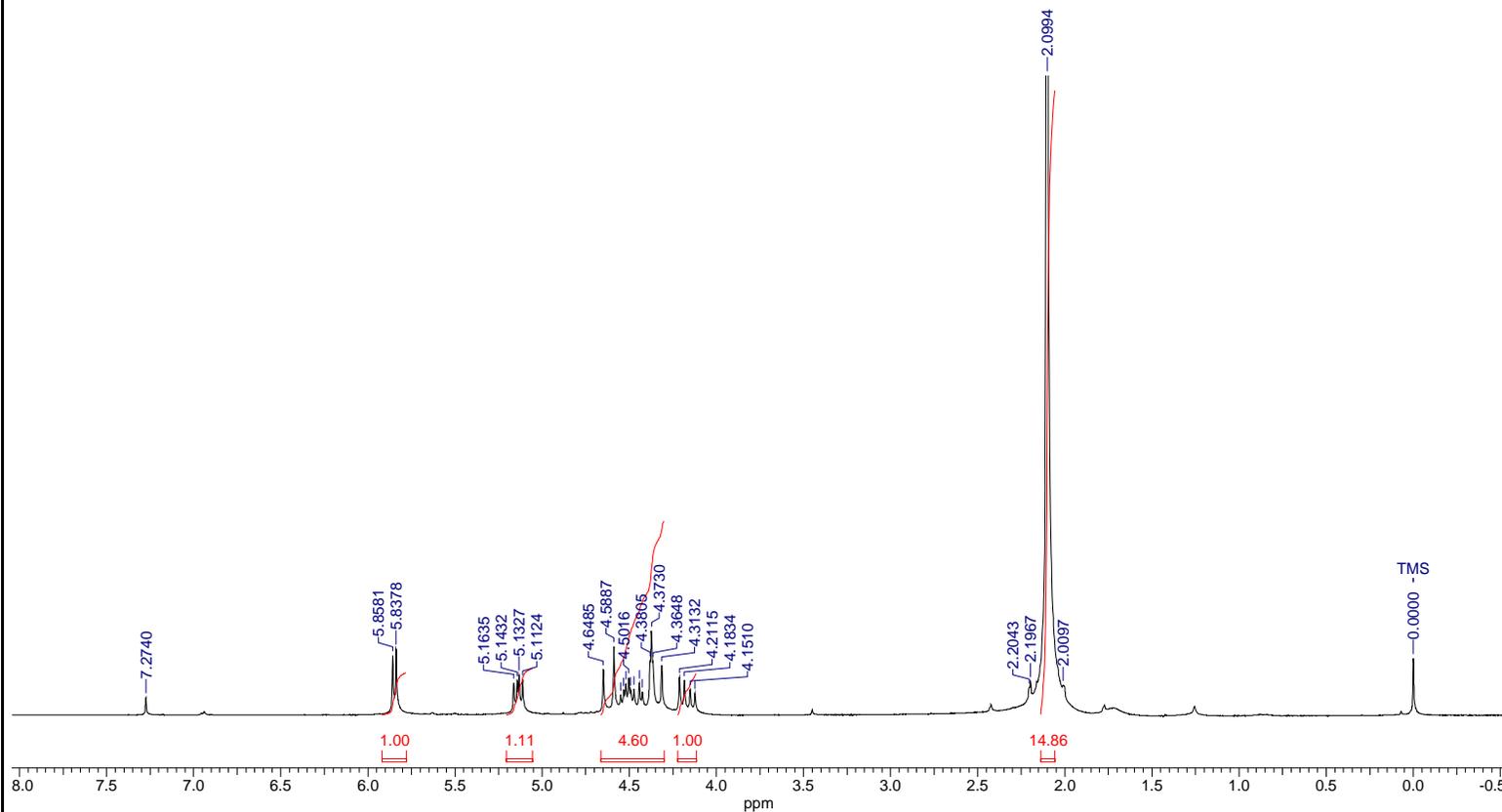
Acquisition Time (sec) 2.4248	Comment A422B7FC2	Date 11 Sep 1999 00:01:23	
Date Stamp 11 Sep 1999 00:01:23		File Name D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A422B7FC2\4\A422B7FC2.dx	
Frequency (MHz) 50.33	Nucleus 13C	Number of Transients 1024	Origin mapheu
Original Points Count 32768	Owner mapheu	Points Count 32768	Solvent CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz) 13513.51	Temperature (degree C) 27.000		



D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A422B7FC2\4\A422B7FC2.dx

Espectro de RMN ¹³C da frutose acetilada 89

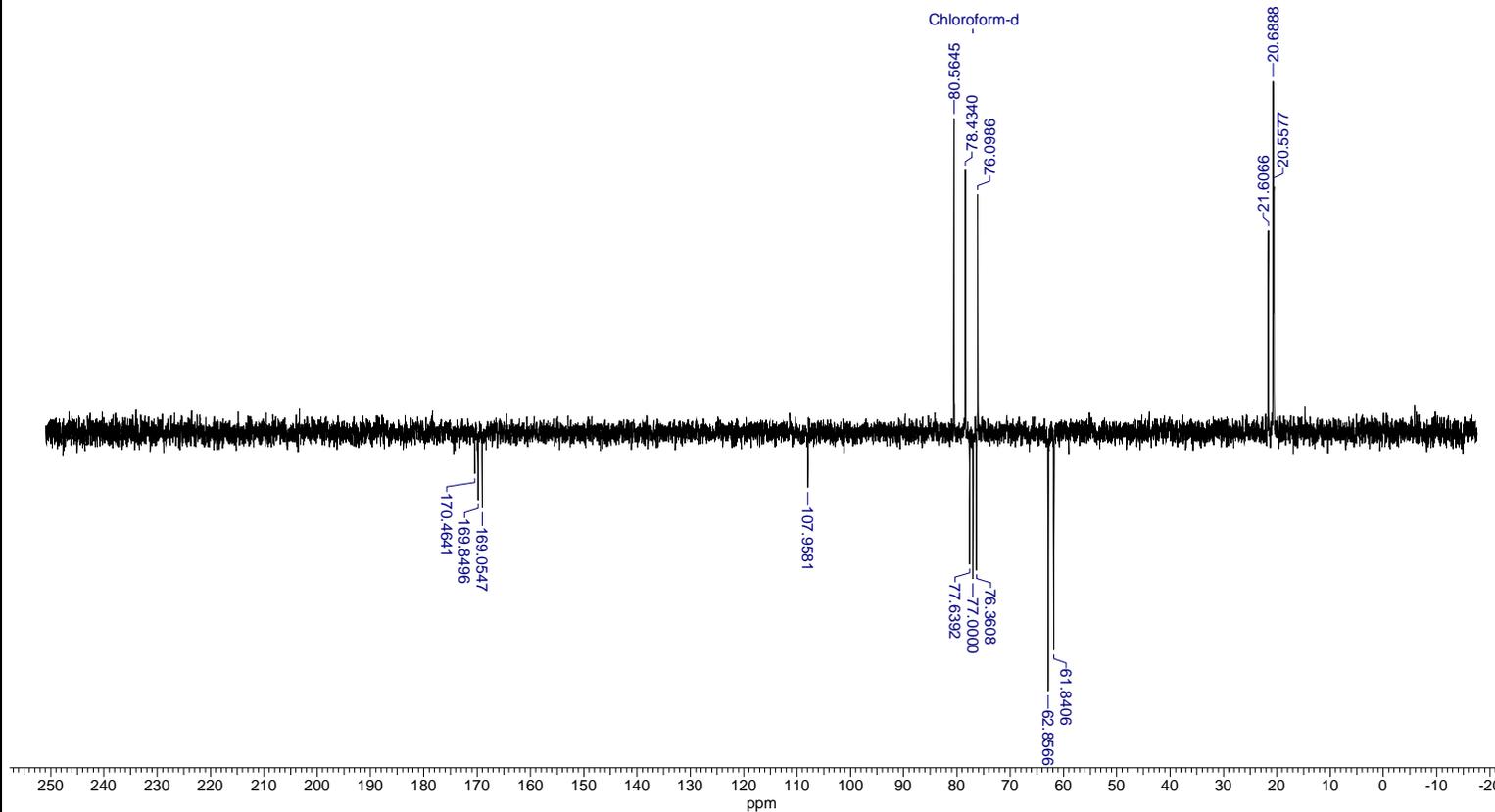
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A422B7FB1C	Date	10 Sep 1999 22:51:21		
Date Stamp	10 Sep 1999 22:51:21	File Name	D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A422B7FB1C\1\A422B7FB1C.dx				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	mapheu
Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000				



D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A422B7FB1C\1\A422B7FB1C.dx

Espectro de RMN ¹H da frutofuranose 90

Acquisition Time (sec) 2.4248	Comment A422B7FB1C	Date 10 Sep 1999 22:56:57	
Date Stamp 10 Sep 1999 22:56:57		File Name D:\Documents and Settings\usuarios\ChrisVA422B7FB1C\4VA422B7FB1C.dx	
Frequency (MHz) 50.33	Nucleus 13C	Number of Transients 1024	Origin mapheu
Original Points Count 32768	Owner mapheu	Points Count 32768	Solvent CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz) 13513.51	Temperature (degree C) 27.000		

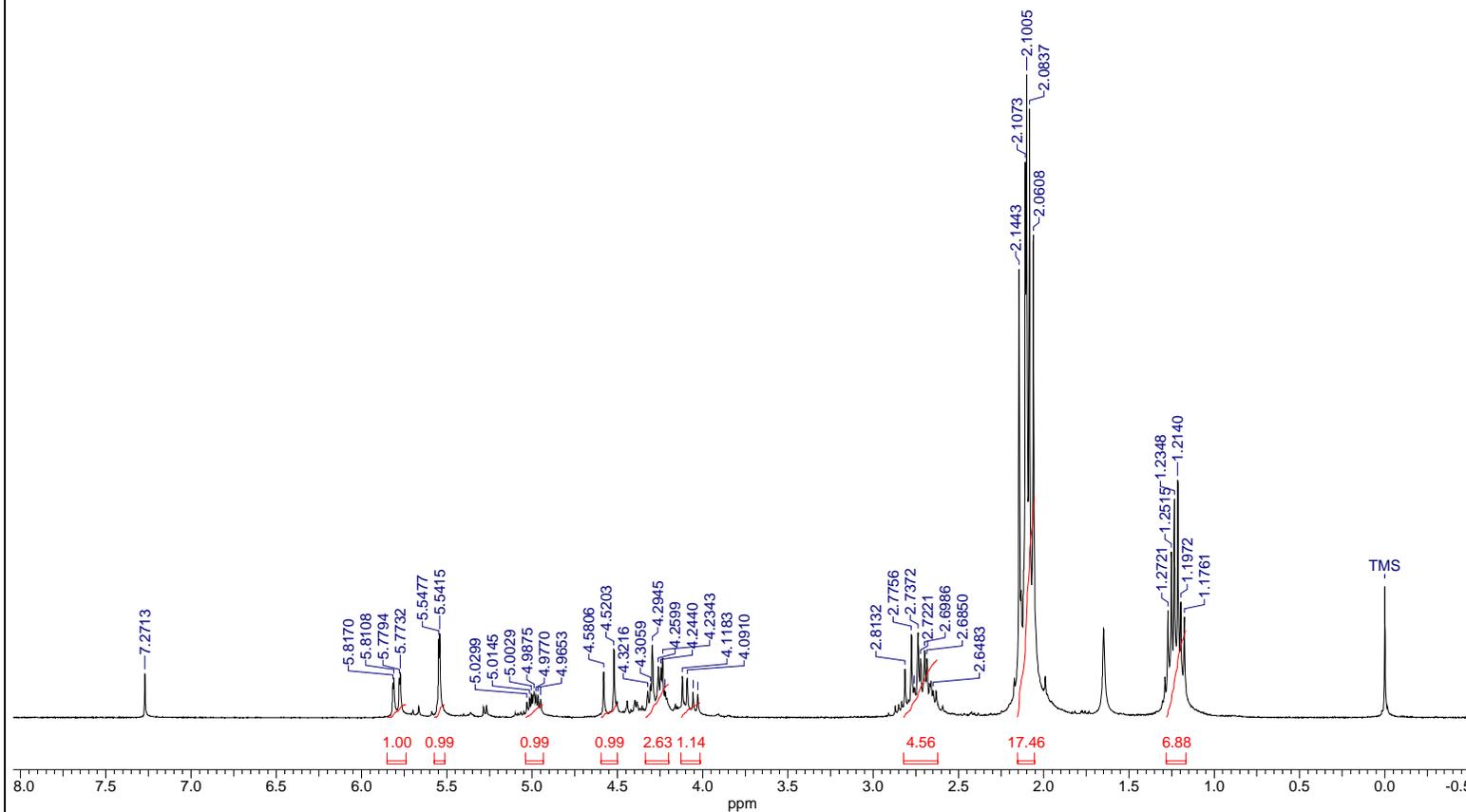


D:\Documents and Settings\usuarios\ChrisVA422B7FB1C\4VA422B7FB1C.dx

Espectro de RMN ¹³C da frutofuranose 90

12 Dec 2000
A502B7FE2

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A502B7FE2	Date	05 Nov 1999 03:37:52	Date Stamp	05 Nov 1999 03:37:52
File Name	C:\Chris\A502B7FE2\1\A502B7FE2.dx			Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H
Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D		

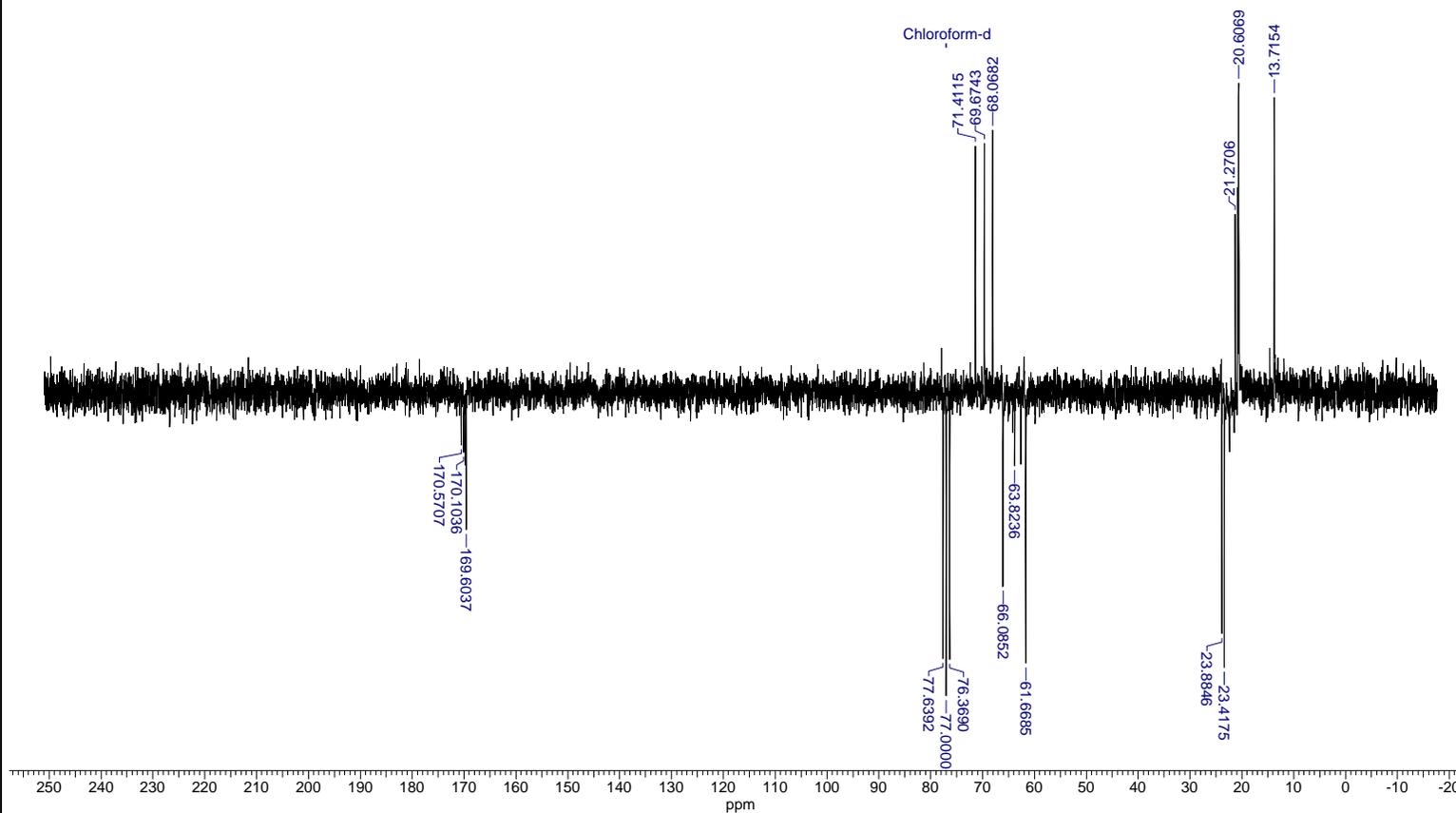


C:\Chris\A502B7FE2\1\A502B7FE2.dx

Espectro de RMN ¹H do ditioacetal da frutose 82

12 Dec 2000
A502B7FE2

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A502B7FE2	Date	05 Nov 1999 04:47:10	Date Stamp	05 Nov 1999 04:47:10
File Name	C:\Chris\A502B7FE2\4\A502B7FE2.dx	Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1660
Origin	mapheu	Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D		

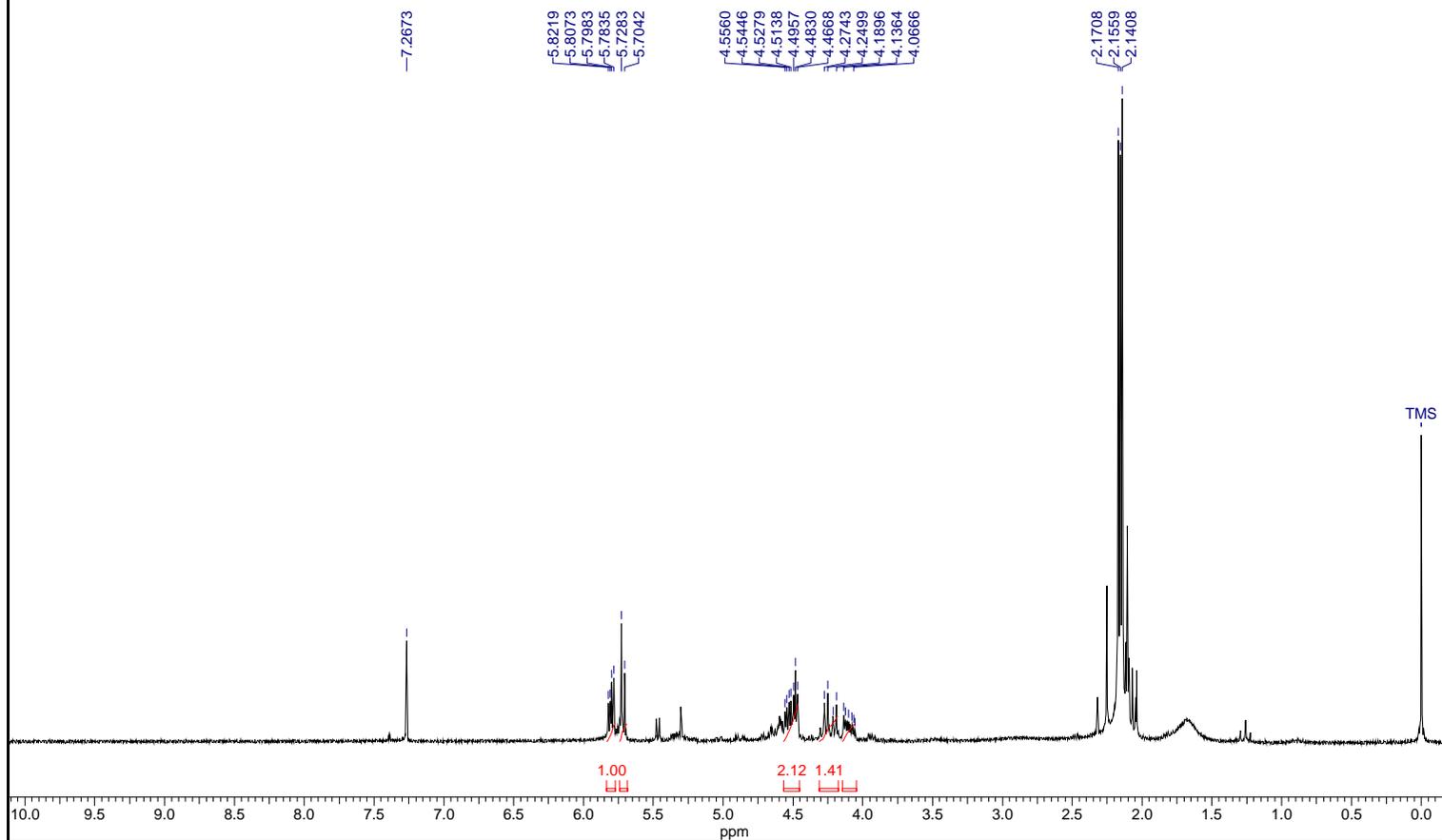


C:\Chris\A502B7FE2\4\A502B7FE2.dx

Espectro de RMN ^{13}C do ditioacetal da frutose 82

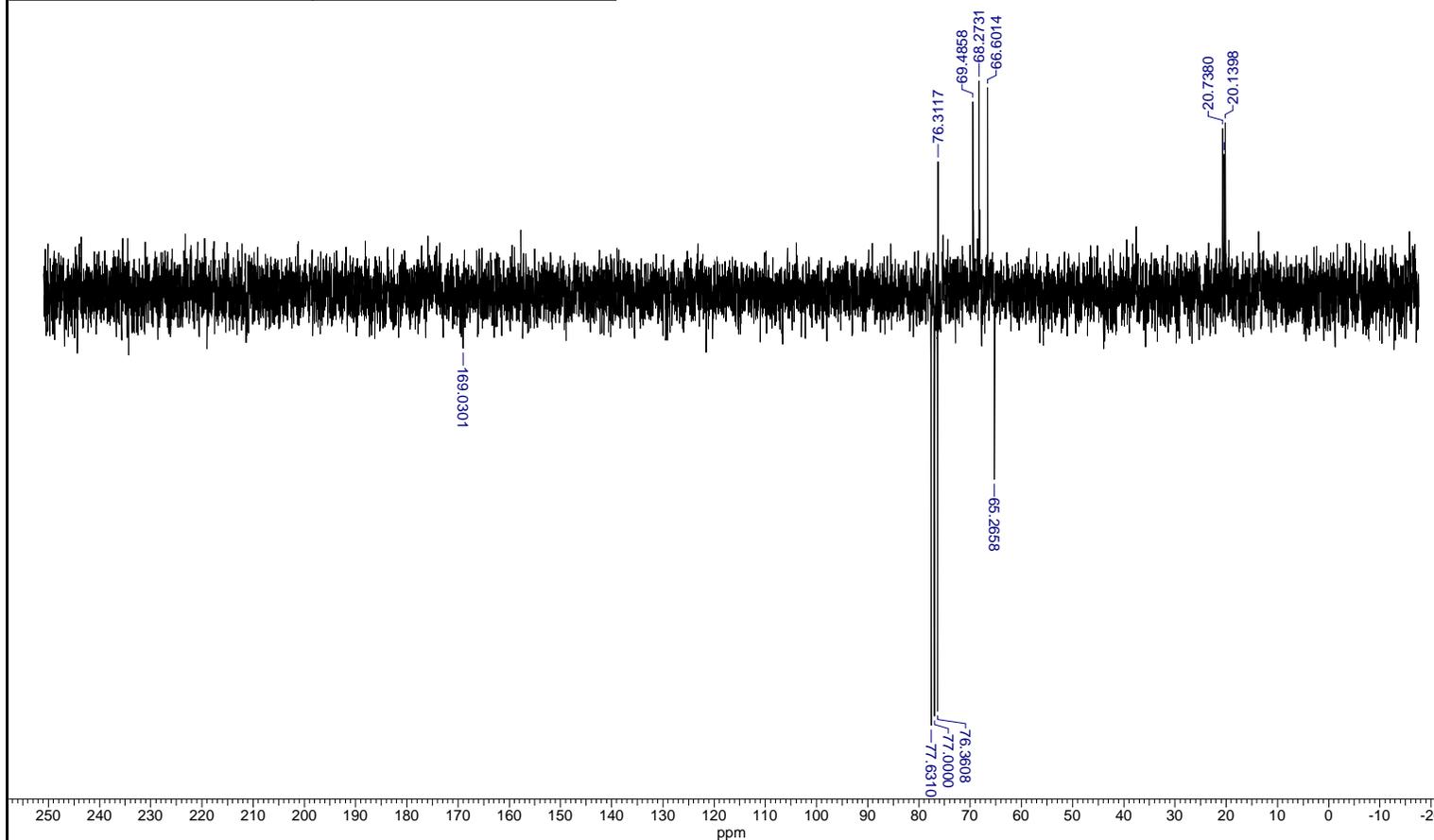
A102A1LD2

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A102A1LD2	Date	17 Jan 2000 00:55:41				
Date Stamp	17 Jan 2000 00:55:41	File Name	C:\Chris\espectros\espectros2003\A102A1LD2\1A102A1LD2.dx						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								

Espectro de RMN ^1H da lactona **93**

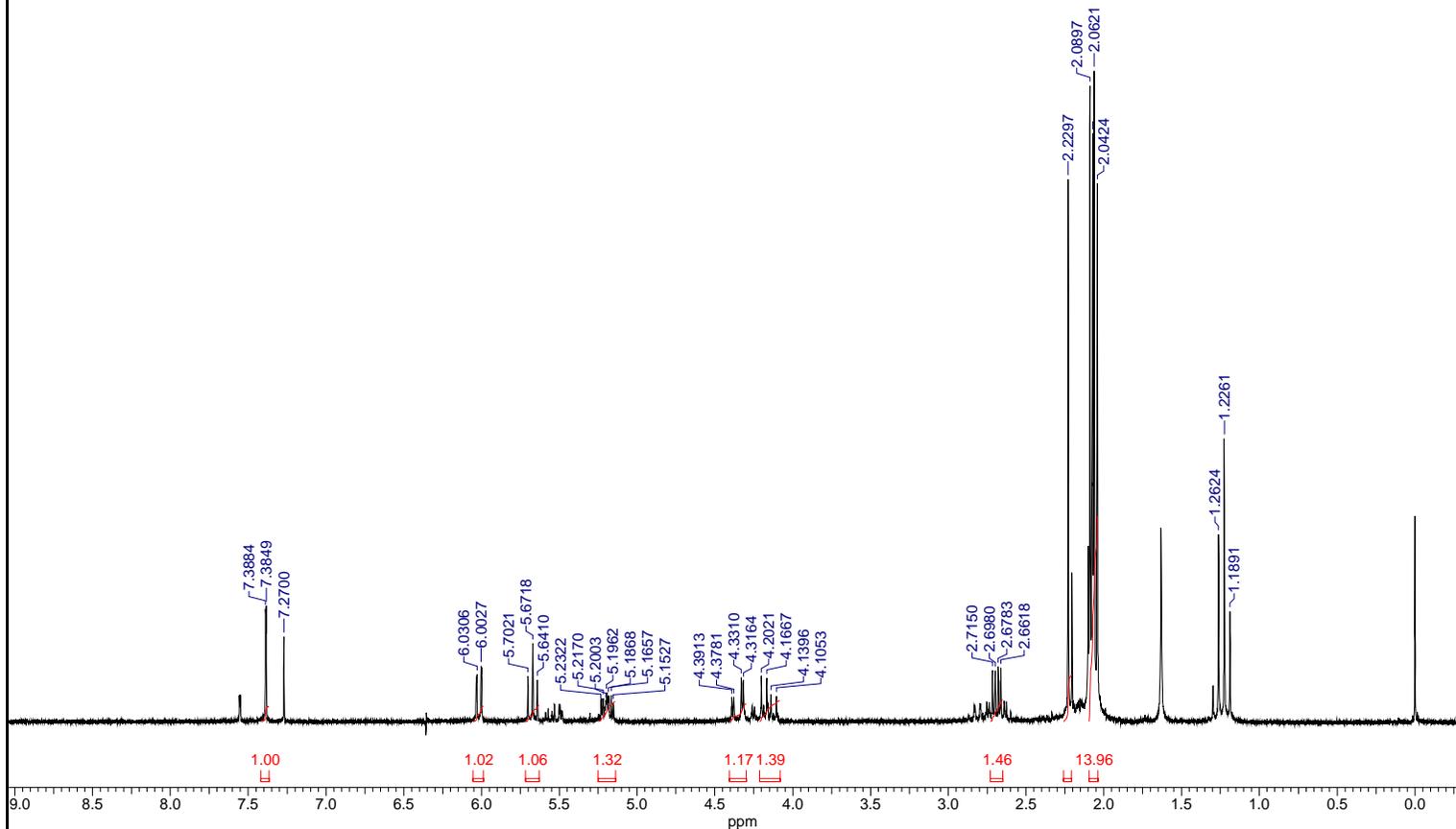
lactona manose desp.
A062A1LD

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A062A1LD	Date	16 Dec 1999 21:11:59
Date Stamp	16 Dec 1999 21:11:59	File Name	E:\CHRIS\AMB1\ESPECTROS\ESPECTROS\ESPECTROS2003\A062A1LD4\A062A1LD.DX		
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D



Espectro de RMN ^{13}C da lactona **93**

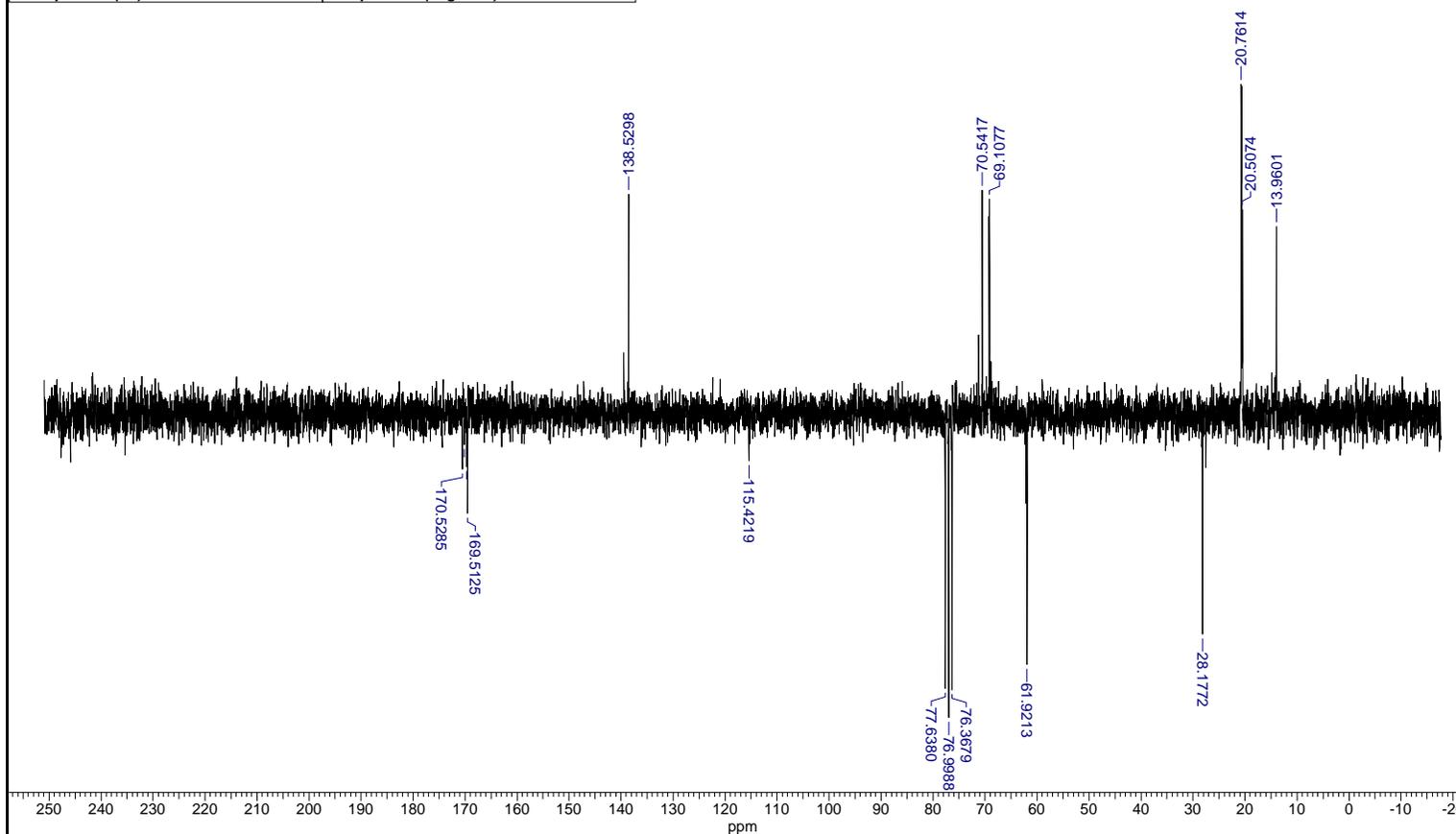
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A072A1ACo5	Date	30 Dec 1999 03:24:26
Date Stamp	30 Dec 1999 03:24:26				
File Name	E:\CHRIS\AMB1\ESPECTROS\ESPECTROS\ESPECTROS2003\A072A1ACO5\1\A072A1ACO5.DX			Frequency (MHz)	200.13
Nucleus	1H	Number of Transients	1	Origin	mapheu
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000		



Espectro de RMN ¹H do produto **91**

el.1
A072A1ACo5

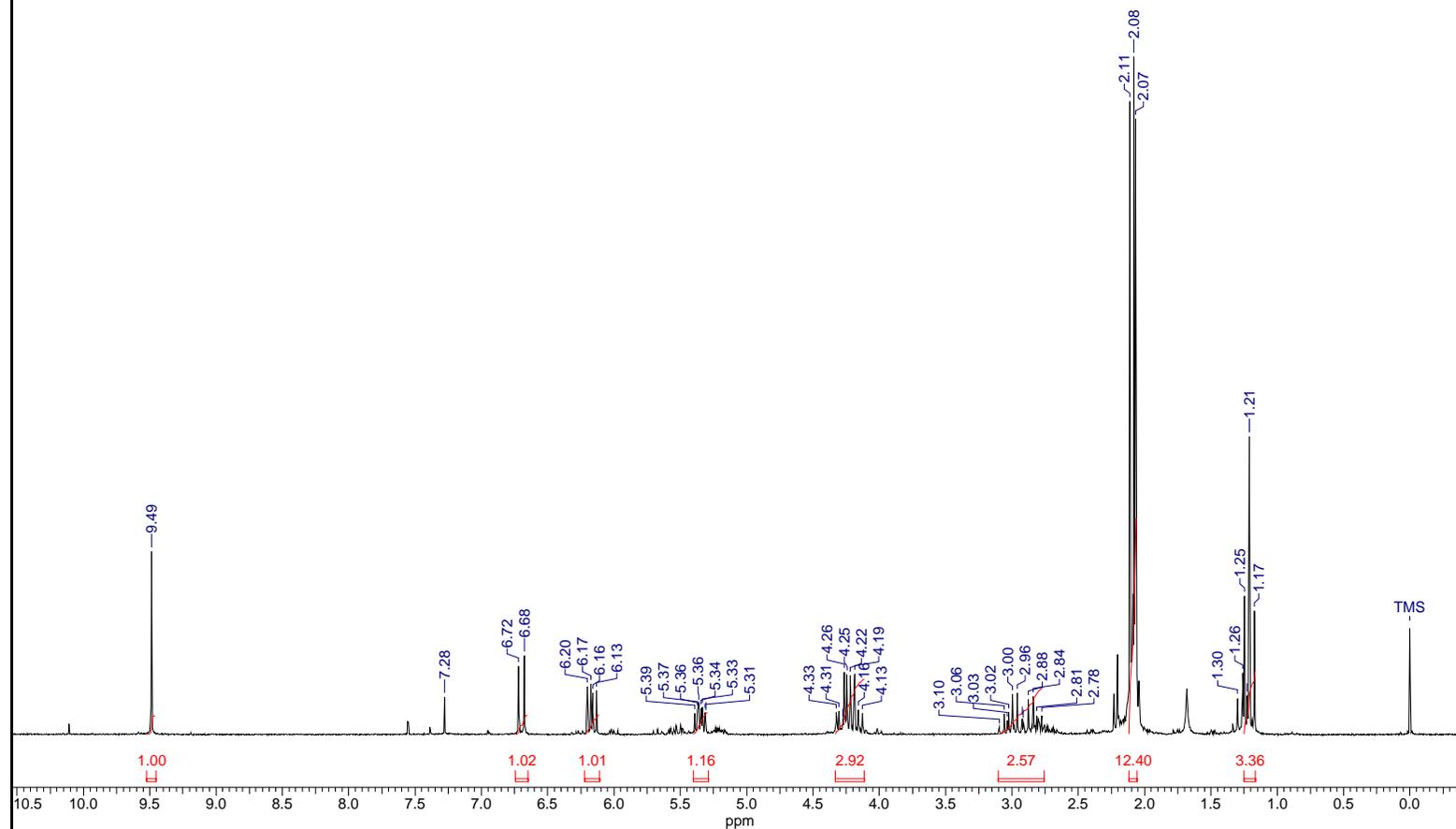
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A072A1ACo5	Date	30 Dec 1999 03:28:29		
Date Stamp	30 Dec 1999 03:28:29						
File Name	E:\CHRIS\AMB1\ESPECTROS\ESPECTROS\ESPECTROS2003\A072A1ACO5\A072A1ACO5.DX			Frequency (MHz)	50.33		
Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D		
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹³C do produto **91**

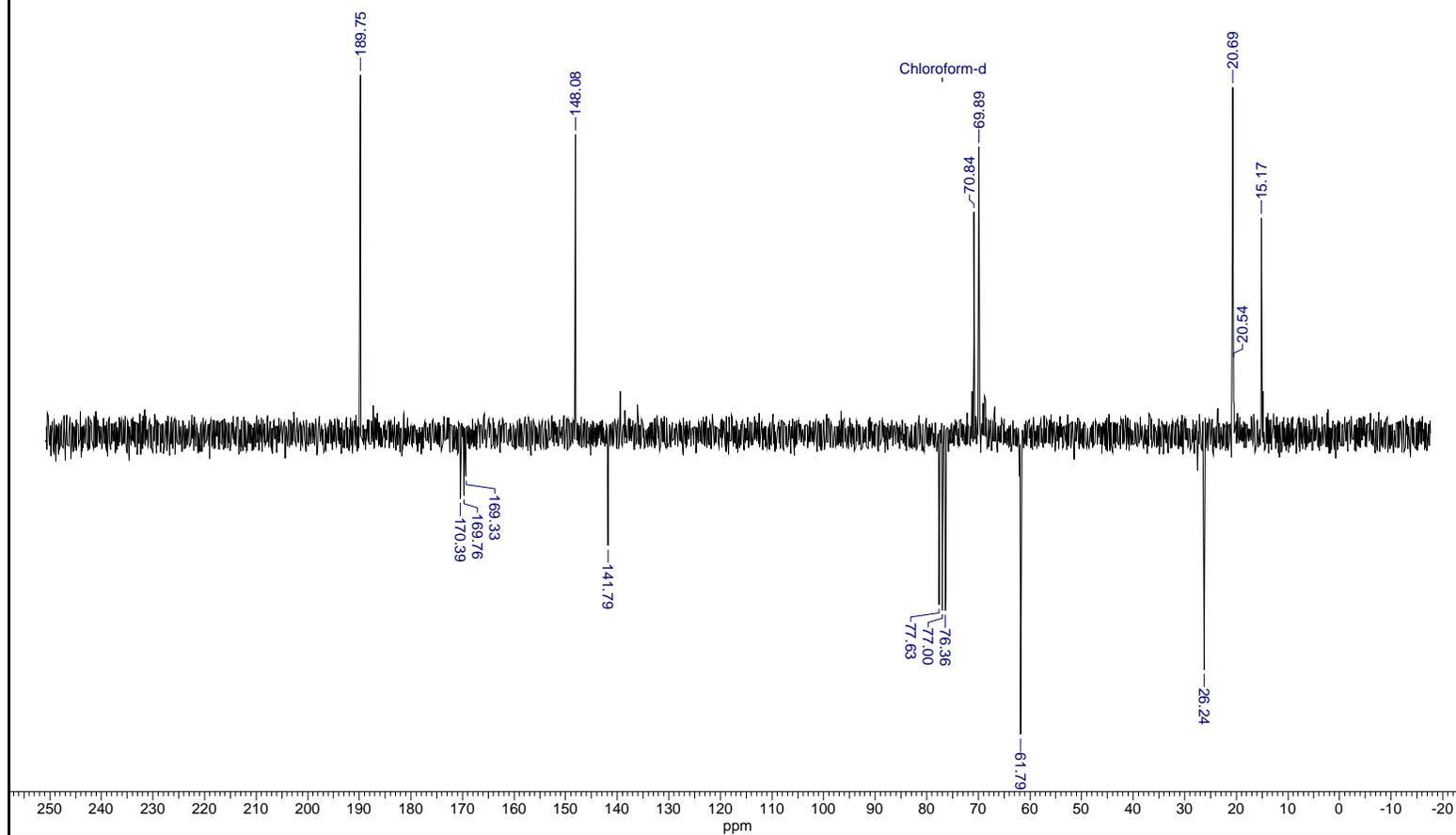
14 Feb 2003

Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A072A1ACo3	Date	30 Dec 1999 02:14:28				
Date Stamp	30 Dec 1999 02:14:28			File Name	C:\Chris\espectros\espectros2003\A072A1ACo3\1\A072A1ACo3.dx				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D		Sweep Width (Hz)	3546.10	
Temperature (degree C)	27.000								

Espectro de RMN ^1H do produto 92

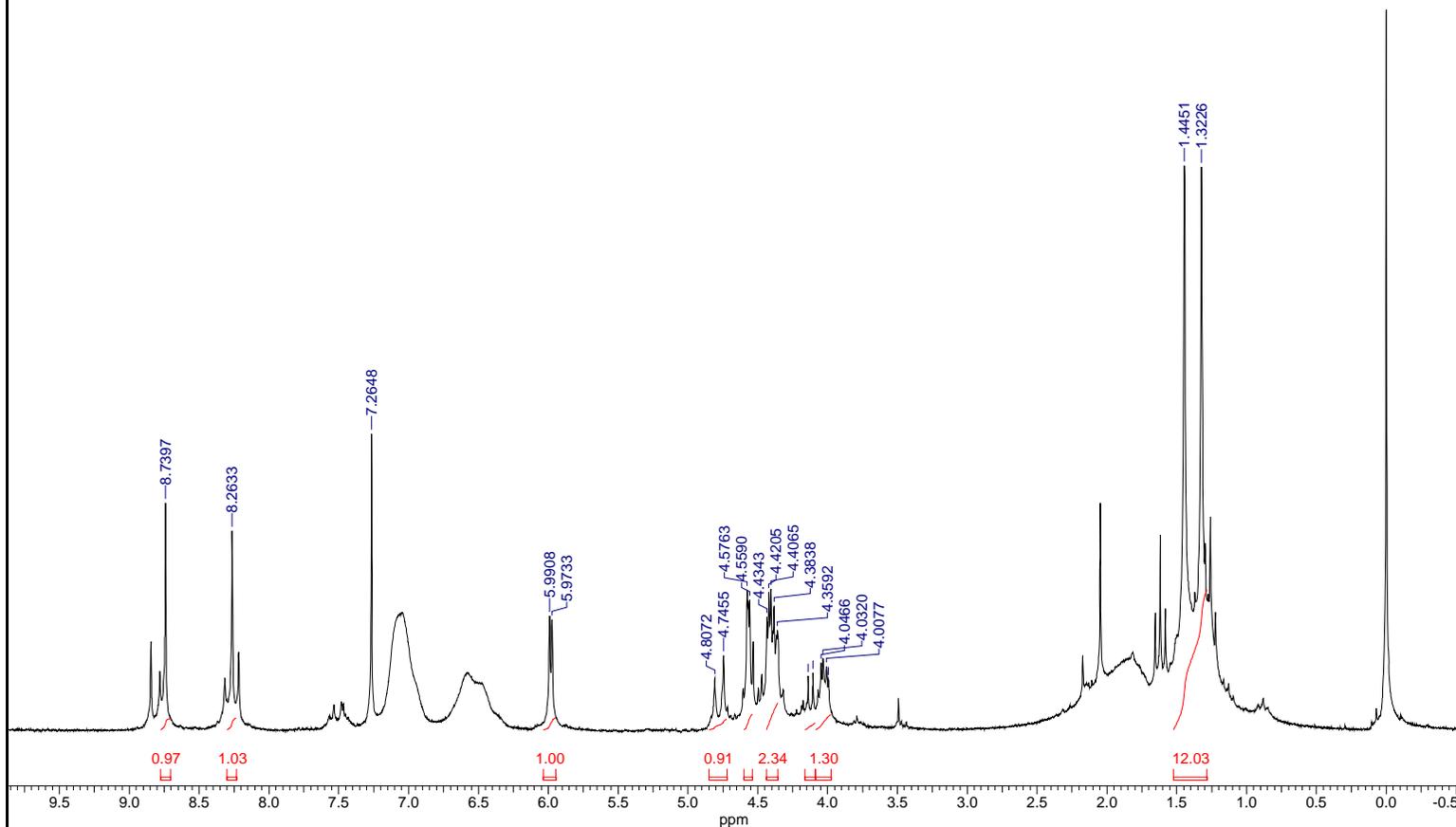
14 Feb 2003

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A072A1ACo3	Date	30 Dec 1999 02:19:39		
Date Stamp	30 Dec 1999 02:19:39	File Name	C:\Chris\espectros\espectros2003\A072A1ACo3\4\A072A1ACo3.dx				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				

Espectro de RMN ^{13}C do produto **92**

mit cl. pur der glucose
A482A1GP2

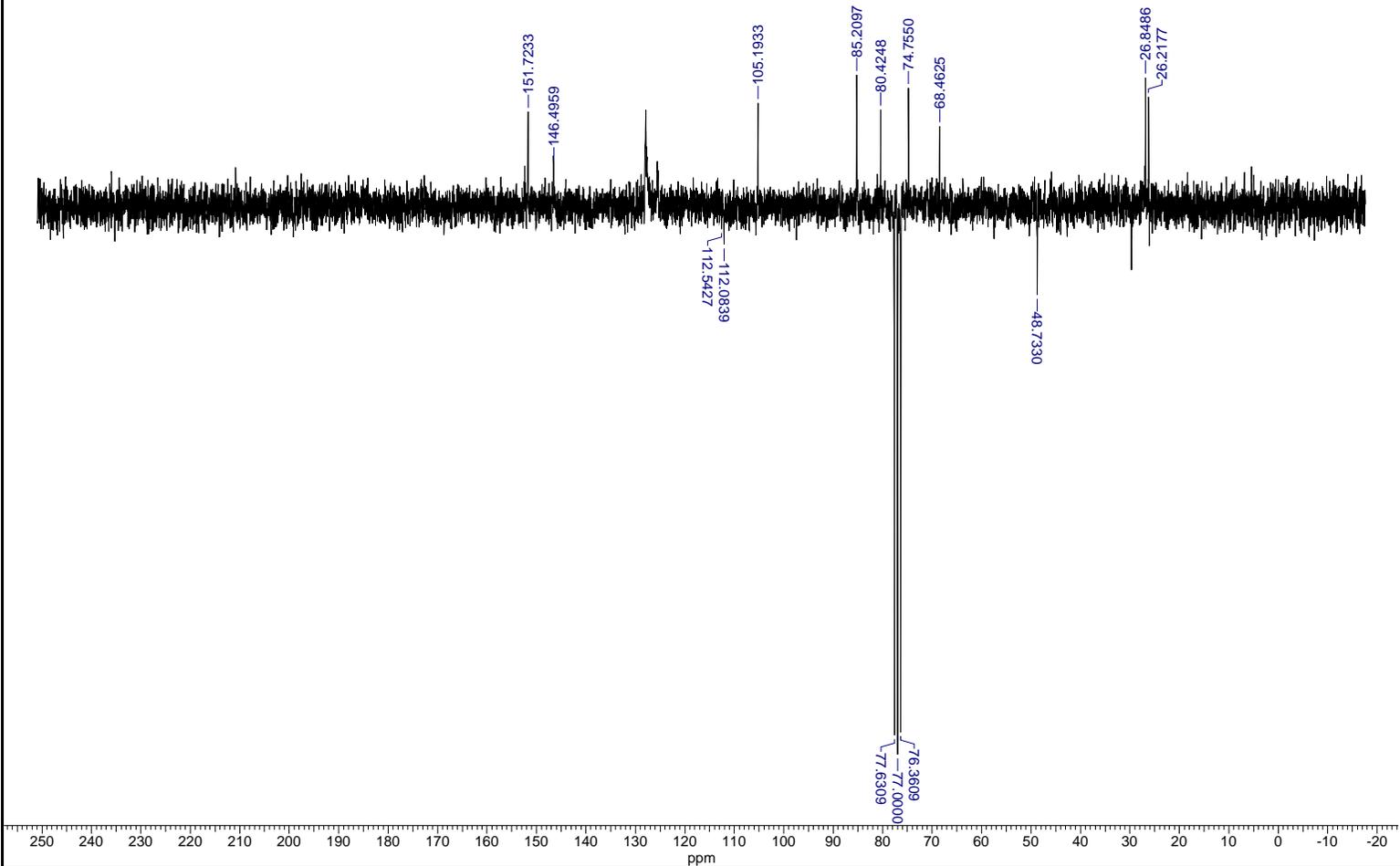
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A482A1GP2	Date	23 Nov 1970 05:23:18				
Date Stamp	23 Nov 1970 05:23:18	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2003\A482A1GP2\1\A482A1GP2.DX						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	64	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								



Espectro de RMN ¹H da purina 96

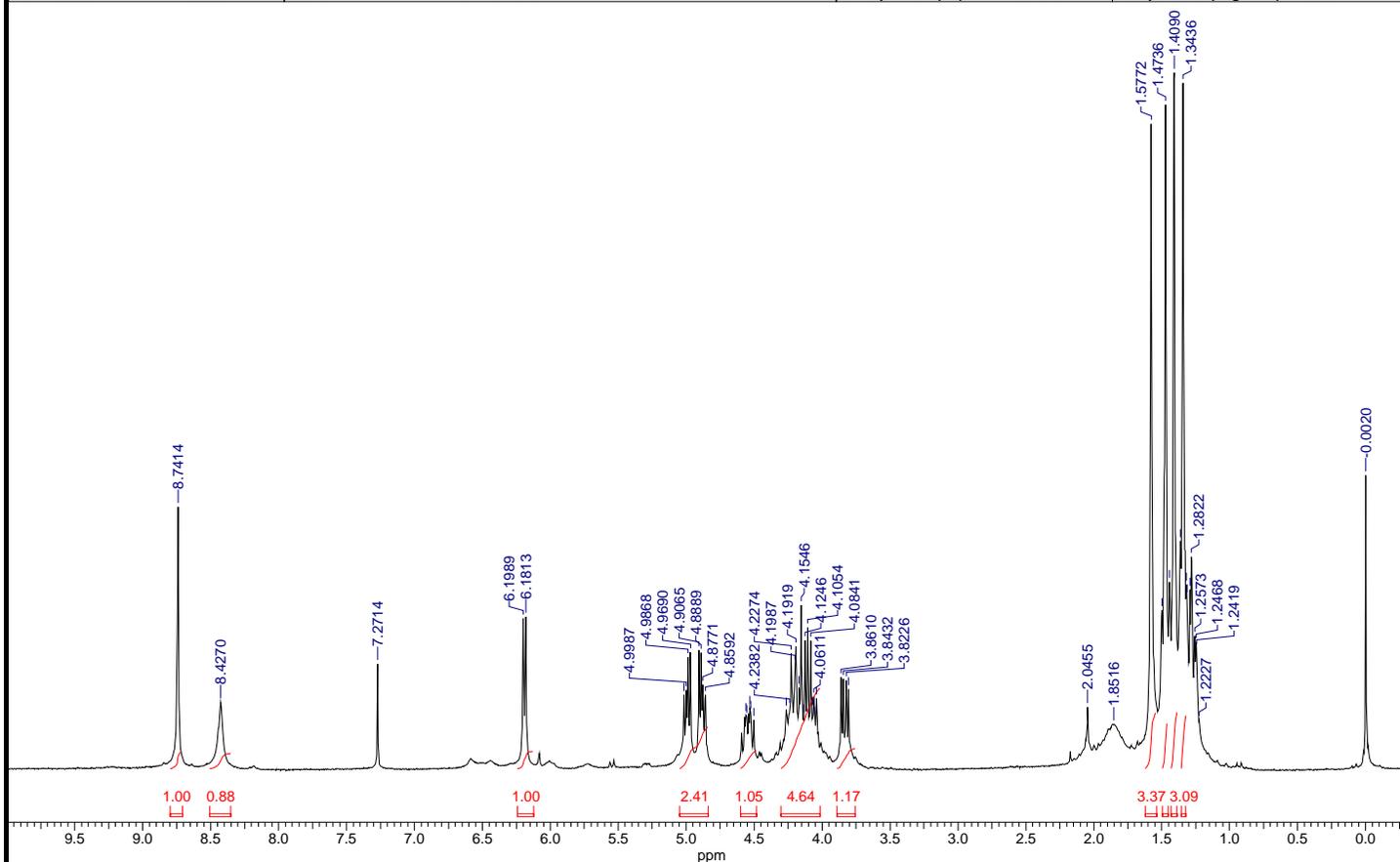
mit cl. pur der glicose

Acquisition Time (sec) 2.4251	Date	File Name C:\CHRIS\CHRISRMN\2003\A482A1AC2\AC2.DX	Frequency (MHz) 50.33
Nucleus 13C	Origin SpinWorks 1.3, Kirk Marat, U of Manitoba	Original Points Count 32768	Owner undefined
Points Count 32768	Sweep Width (Hz) 13511.94		



Espectro de RMN ¹³C da purina 96

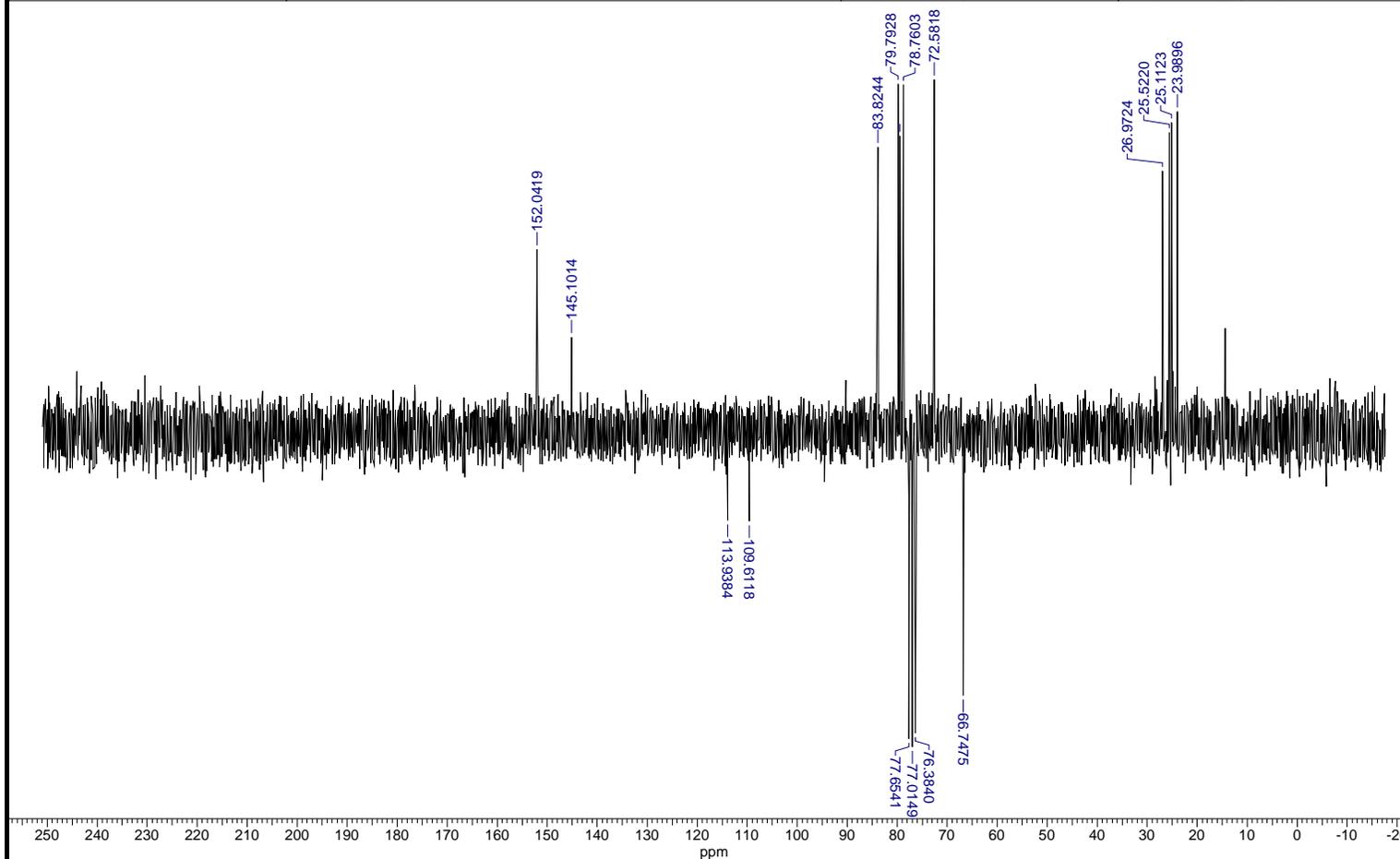
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A252A1MMA	Date	16 Jun 1971 06:57:31		
Date Stamp	16 Jun 1971 06:57:31	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A252A1MMA\1\A252A1MMA.dx			Frequency (MHz)	200.13
Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10	Owner	mapheu
						Temperature (degree C)	27.000



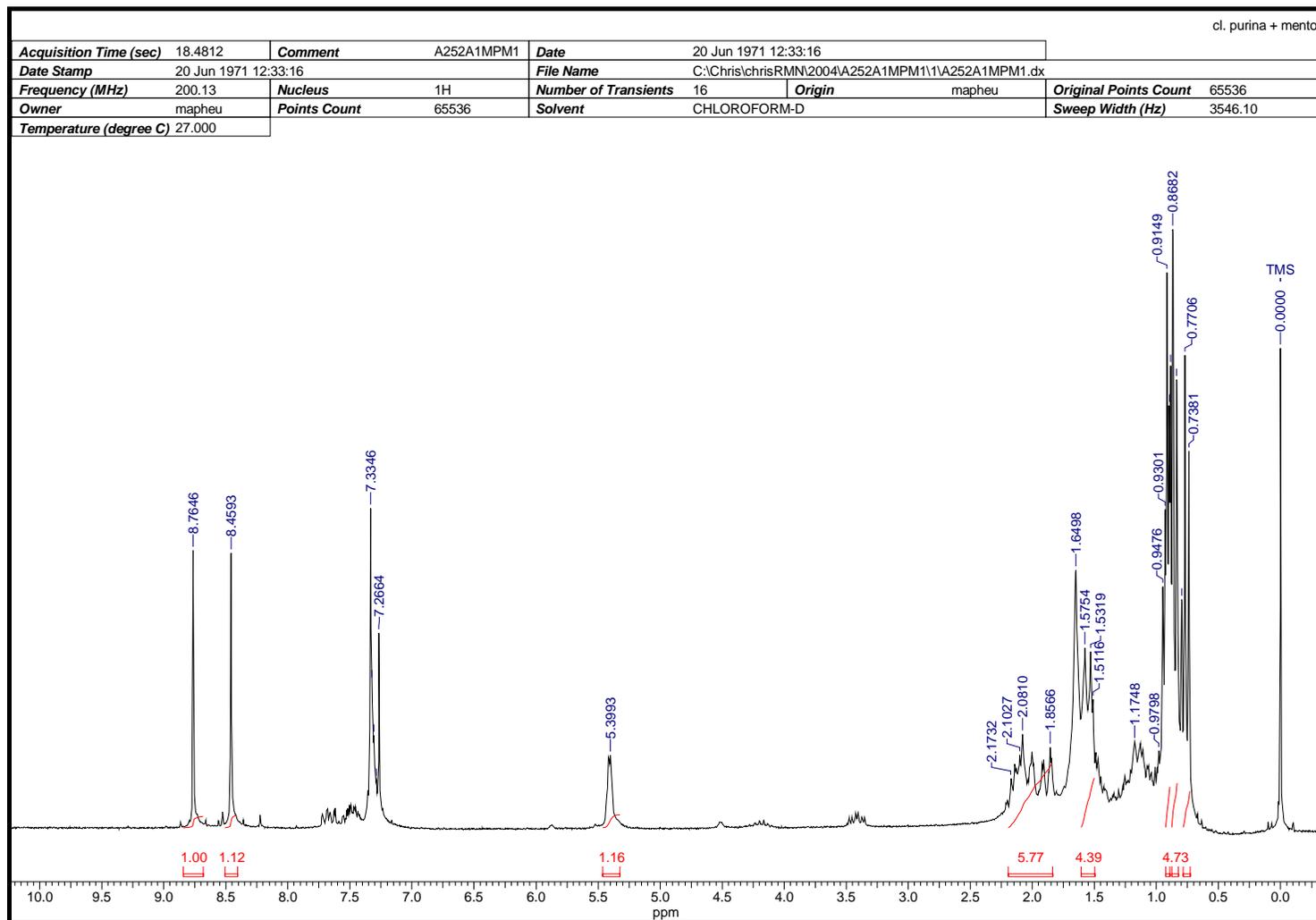
Espectro de RMN ¹H da purina 98

manose + cl. purina

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A252A1MMA	Date	16 Jun 1971 07:01:08			
Date Stamp	16 Jun 1971 07:01:08			File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A252A1MMA\4A252A1MMA.dx	Frequency (MHz)	50.33	
Nucleus	13C	Number of Transients	800	Origin	mapheu	Original Points Count	32768	
Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D		Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



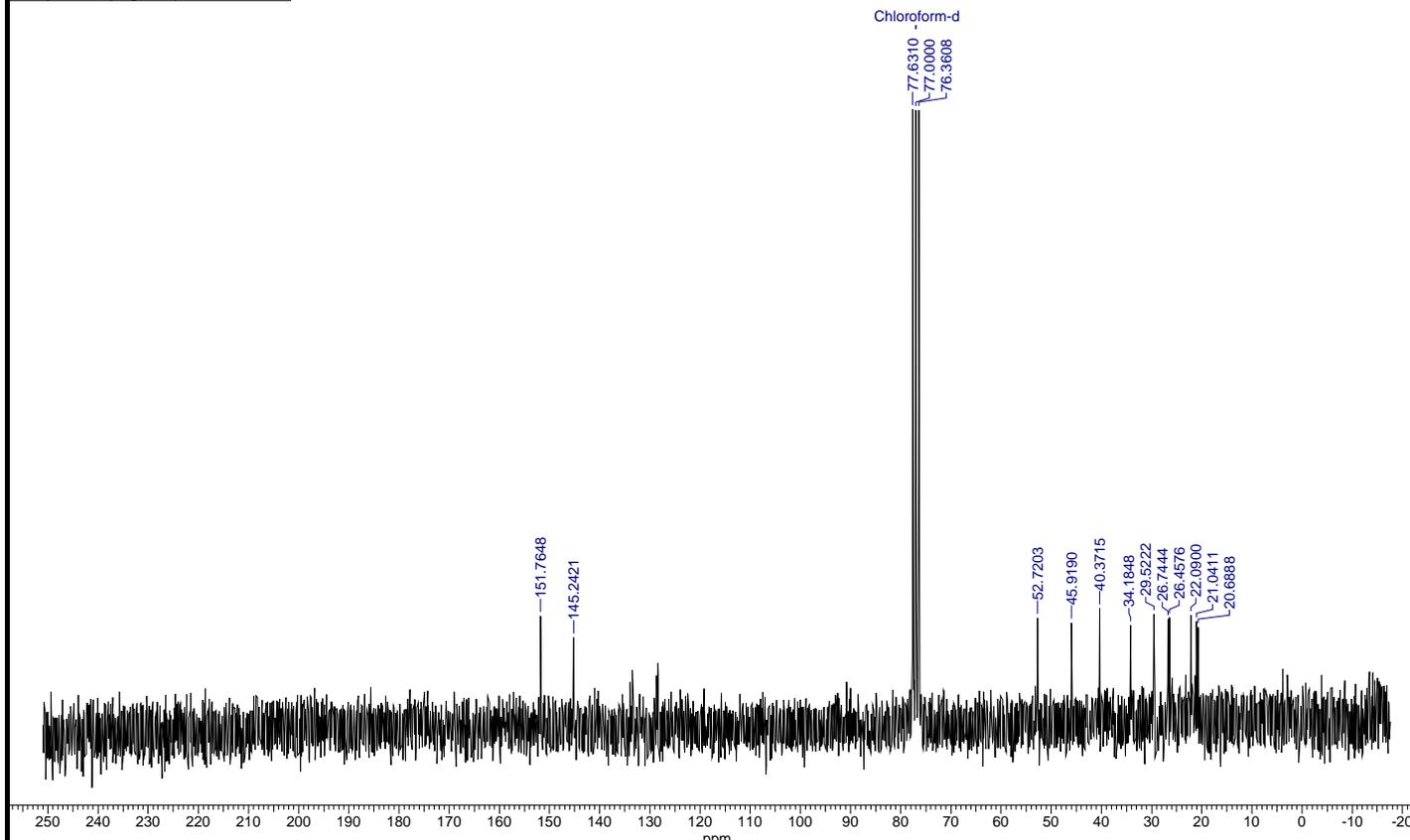
Espectro de RMN ¹³C da purina 98



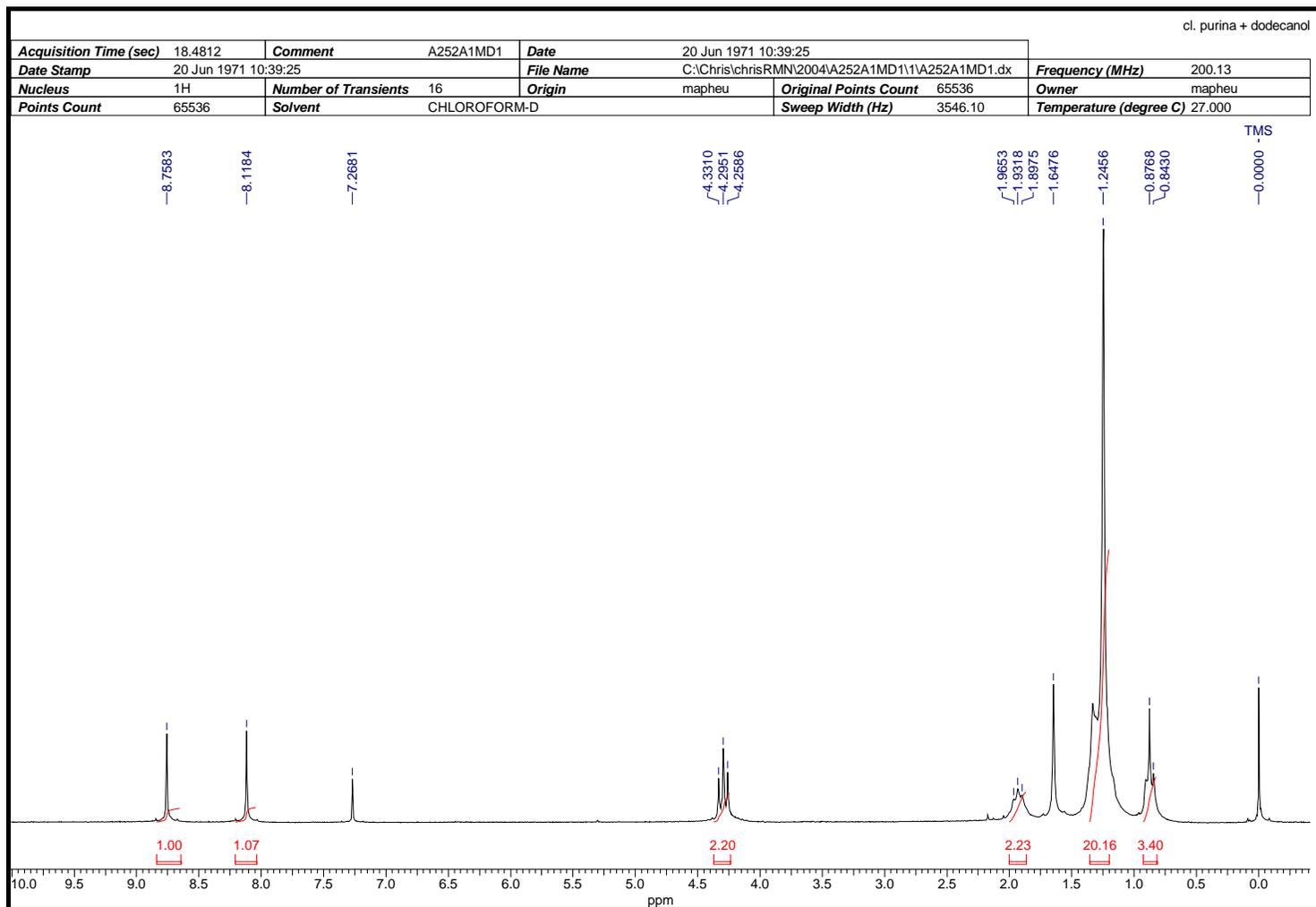
Espectro de RMN ¹H da purina 103

cl. purina + mentol

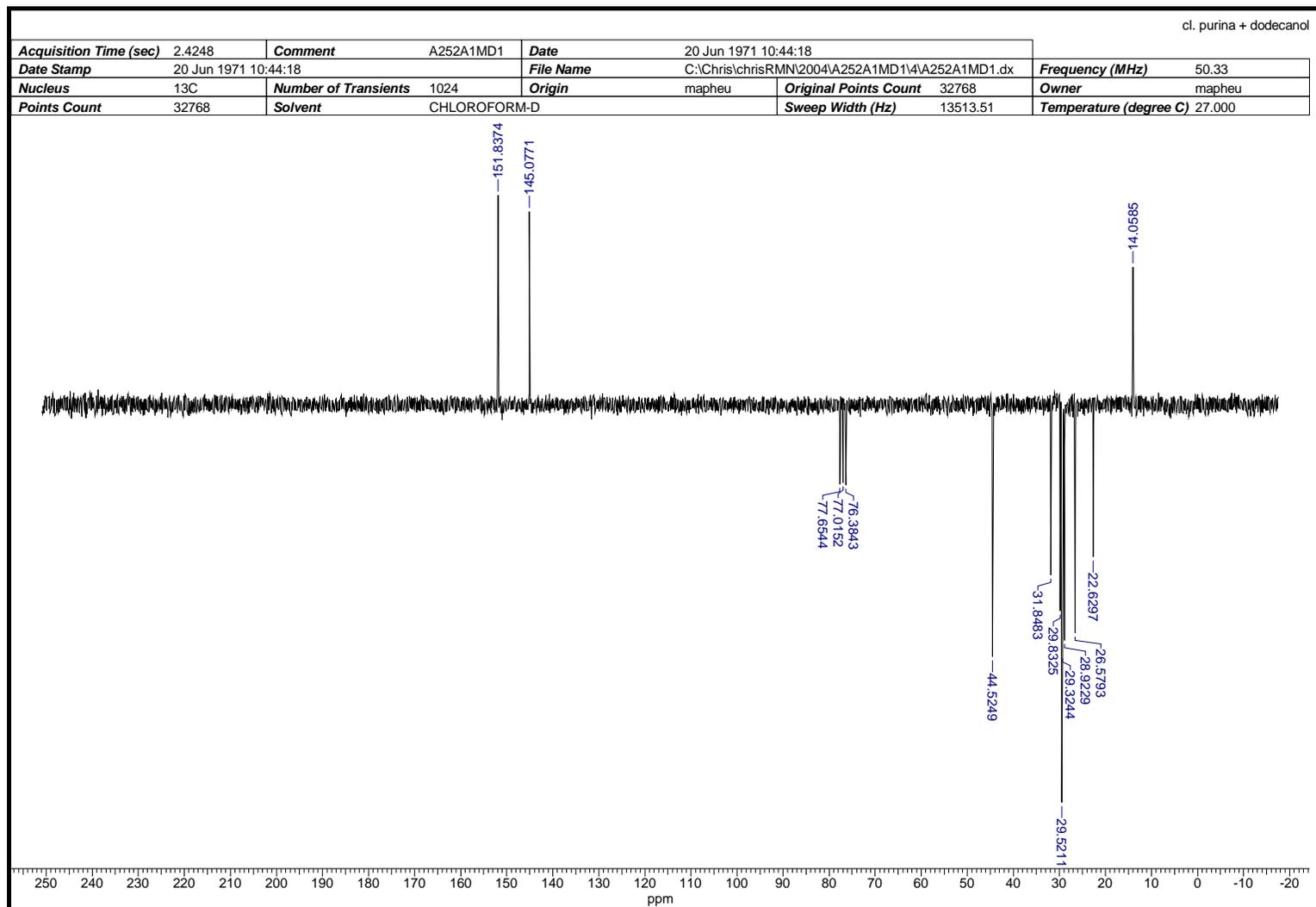
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A252A1MPM1	Date	20 Jun 1971 12:36:09				
Date Stamp	20 Jun 1971 12:36:09	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A252A1MPM1\2\A252A1MPM1.dx						
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	13513.51		
Temperature (degree C)	27.000								



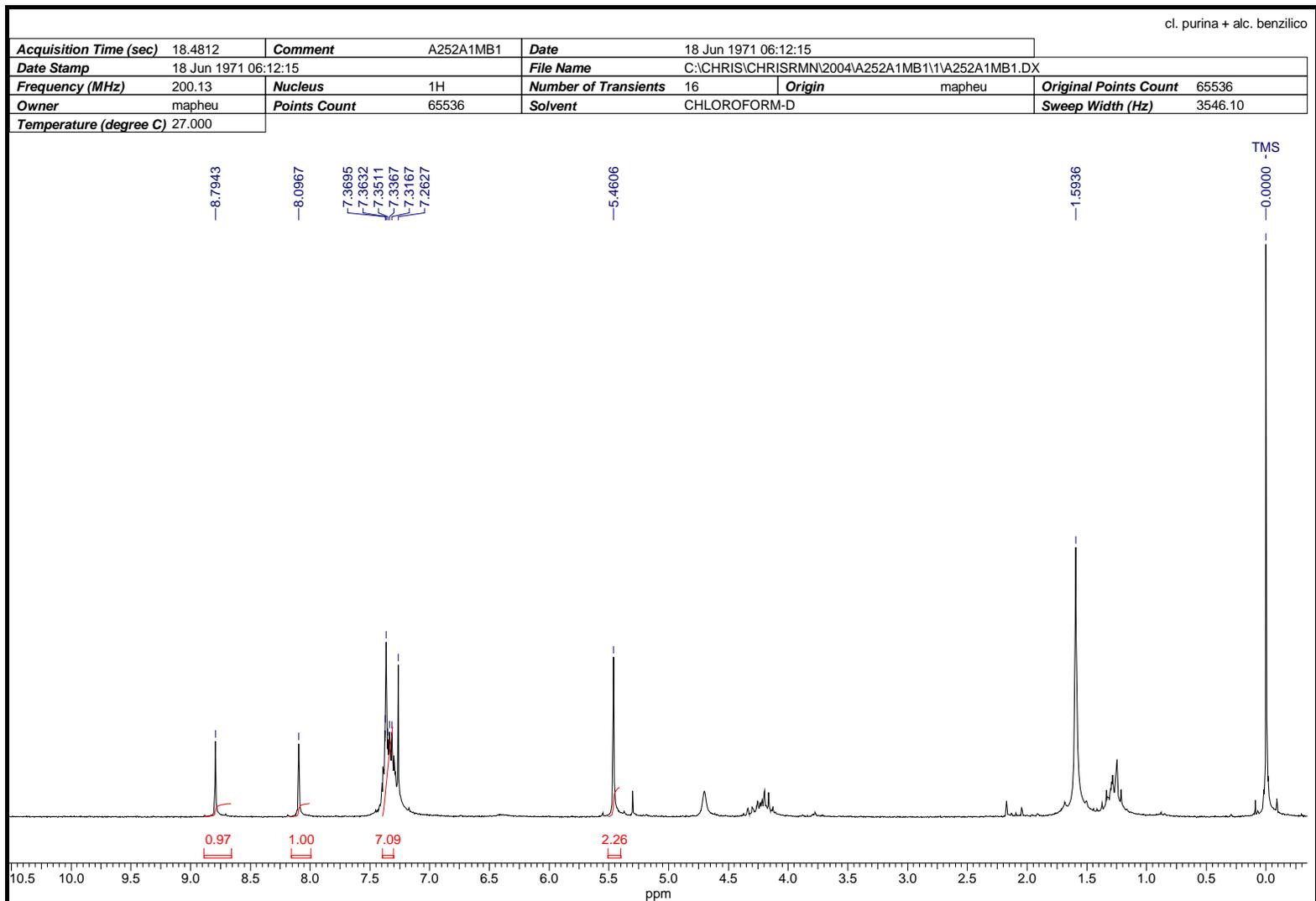
Espectro de RMN ¹³C da purina 103



Espectro de RMN ¹H da purina 104

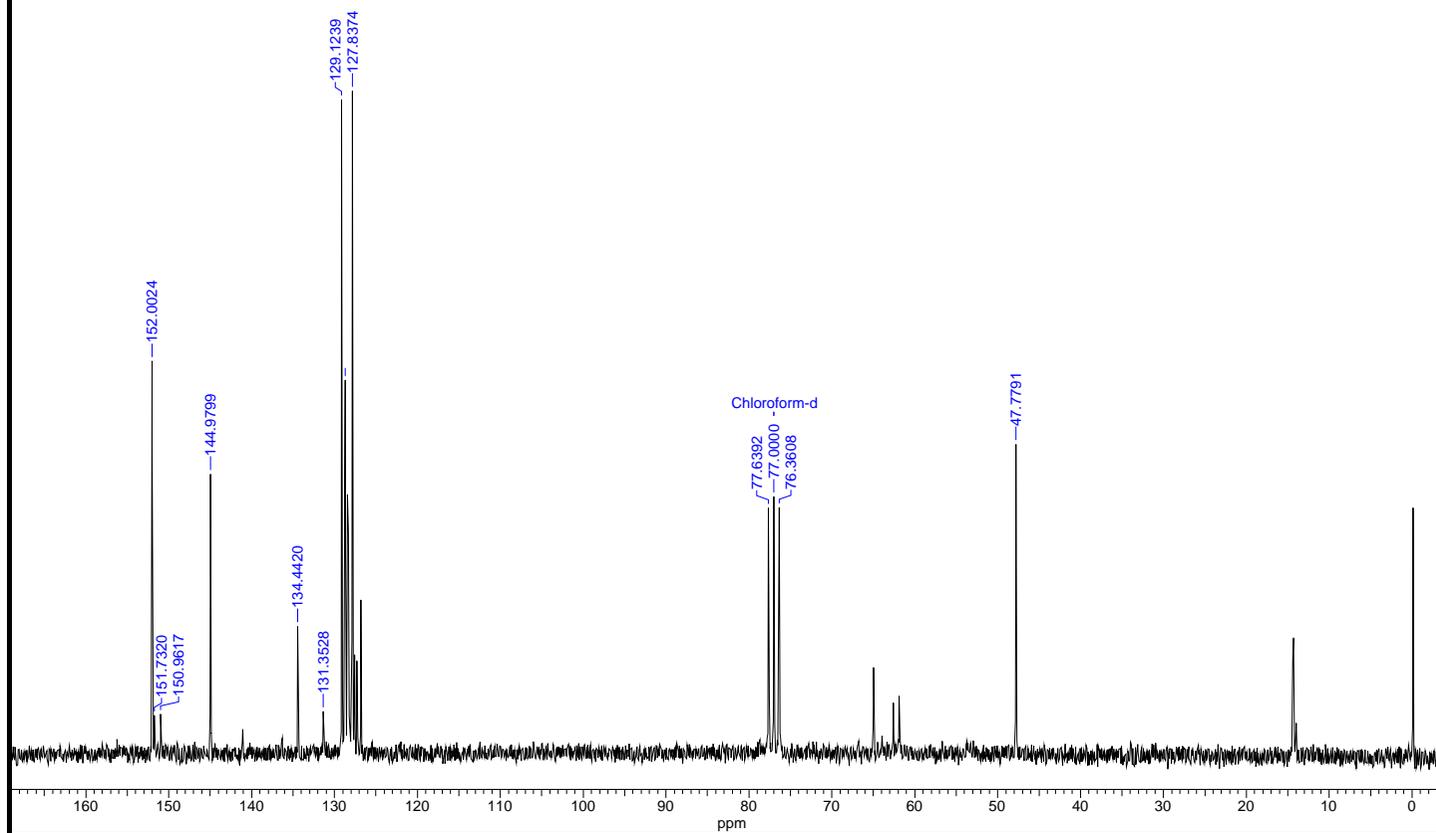


Espectro de RMN ¹³C da purina **104**



4 Jan 1980
cl purina + al benz

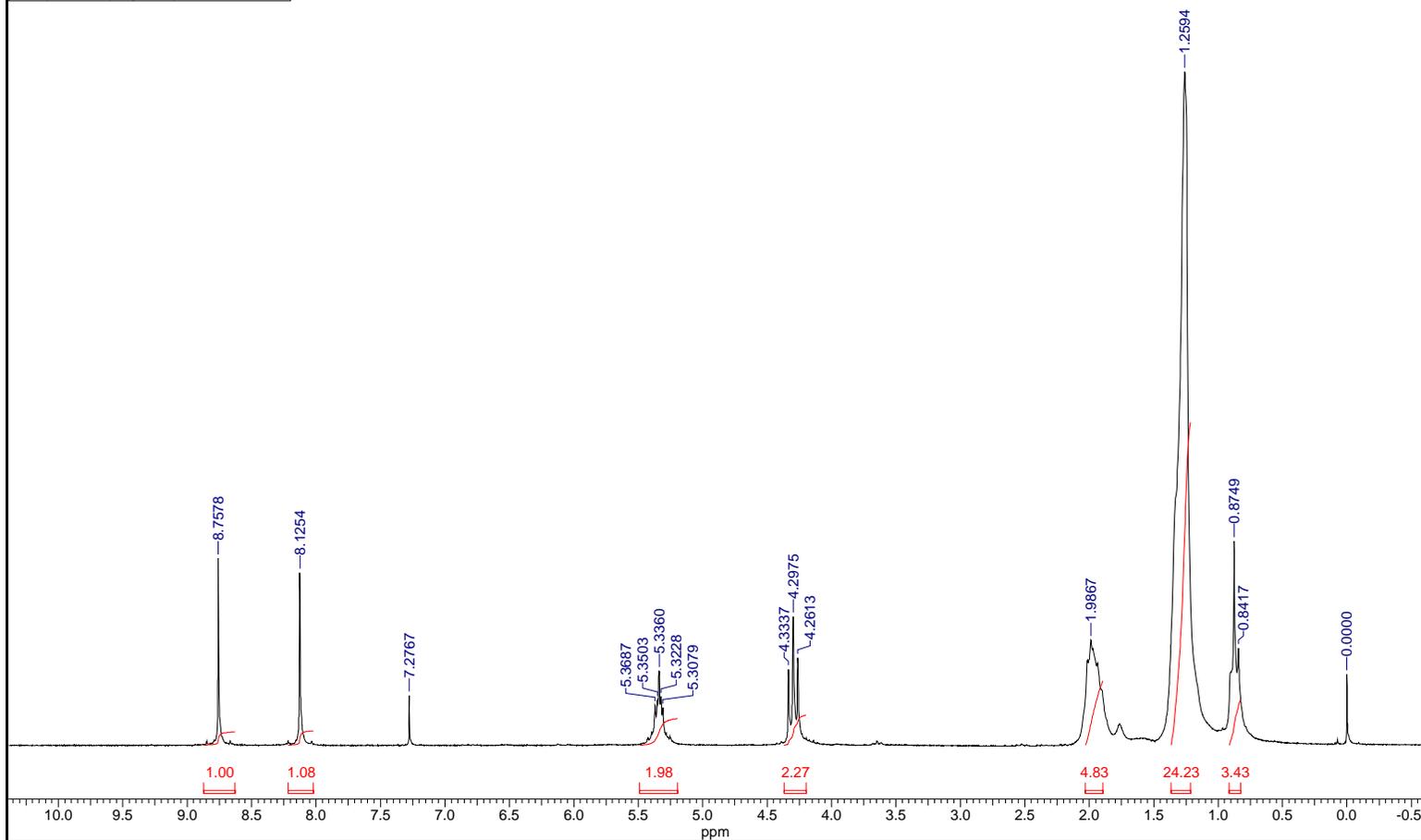
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A262A1MB2	Date	25 Jun 1971 01:01:52	Date Stamp	25 Jun 1971 01:01:52
File Name	C:\Christiane\spectros\A262A1MB2.dx	Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1332
Origin	mapheu	Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000	Solvent	CHLOROFORM-D		



Espectro de RMN ¹³C da purina 105

cl. purina + al. oleico

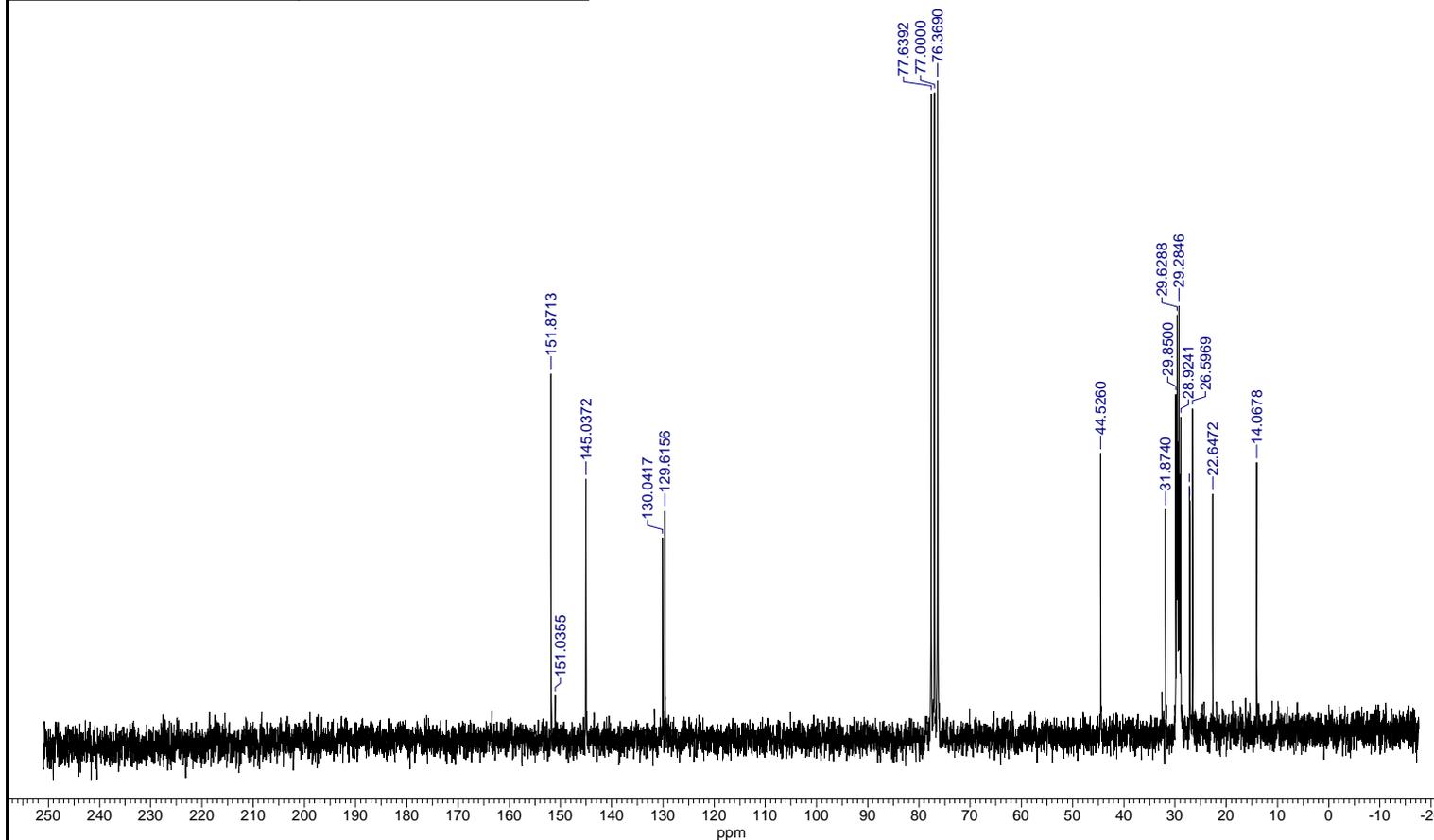
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A042A1MPOC	Date	17 Jan 1972 12:23:41				
Date Stamp	17 Jan 1972 12:23:41	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2005\A042A1MPOC\1\A042A1MPOC.DX						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D		Sweep Width (Hz)	3546.10	
Temperature (degree C)	27.000								



Espectro de RMN ¹H da purina 106

cl. pur. al oleico
A042A1MPOC

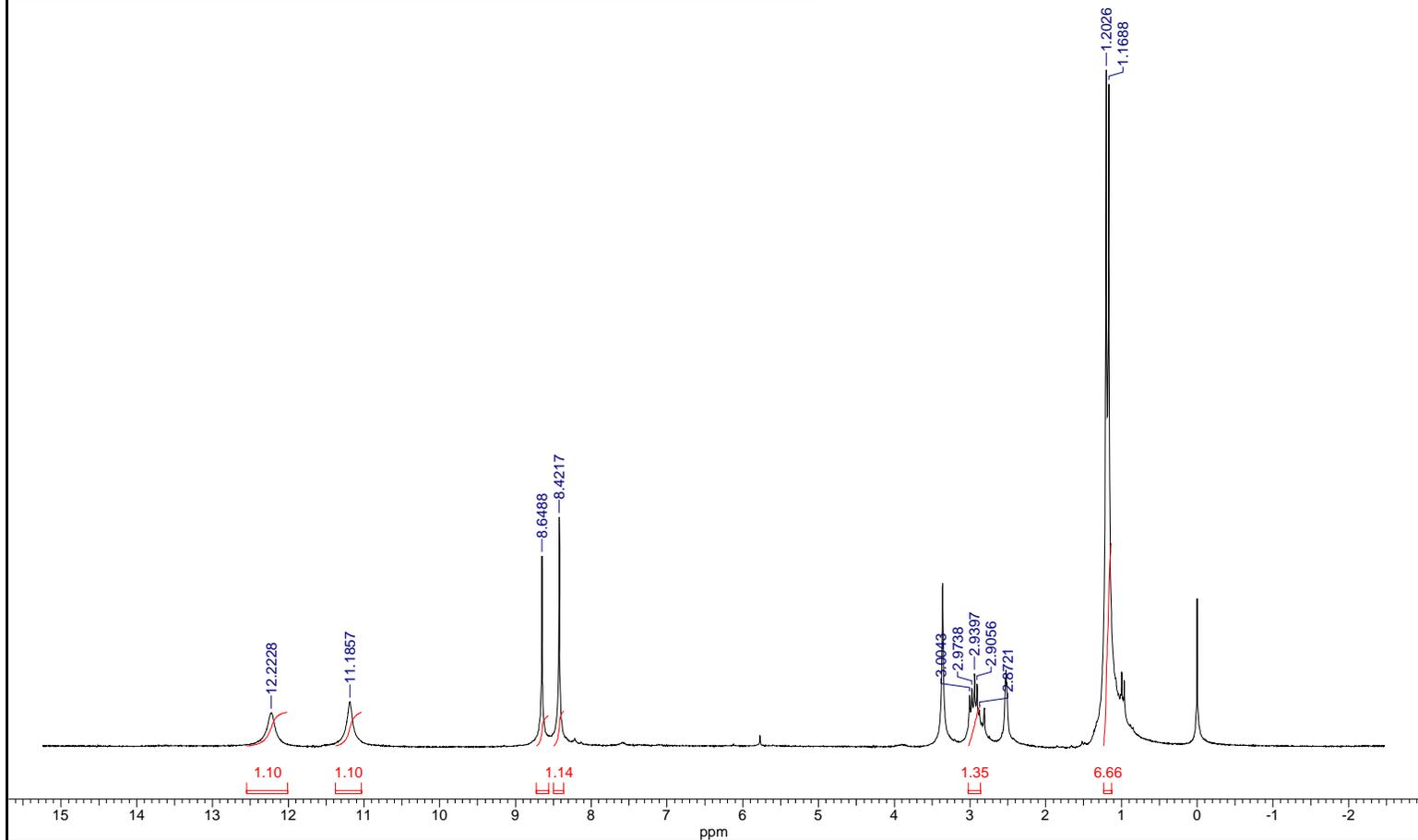
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A042A1MPOC	Date	17 Jan 1972 12:26:40		
Date Stamp	17 Jan 1972 12:26:40	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2005\A042A1MPOC\2\A042A1MPOC.DX				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1825	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹³C da purina 106

adenina prot.
A342A1AP

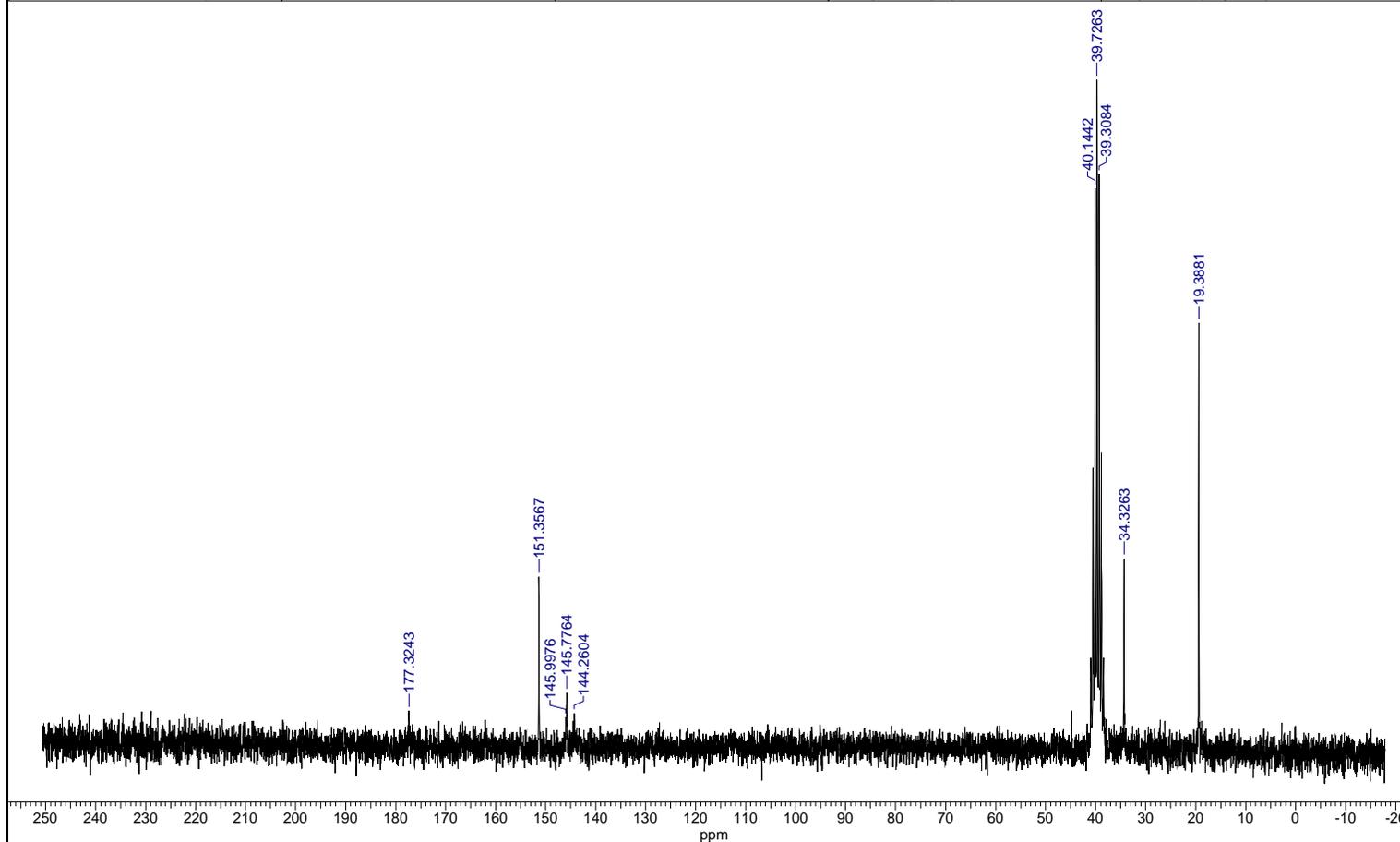
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A342A1AP	Date	10 Aug 1971 09:10:46	Date Stamp	10 Aug 1971 09:10:46
File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A342A1AP\1\A342A1AP.DX			Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H
Number of Transients	32	Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu
Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Points Count	65536



Espectro de RMN ¹H da adenina 108

adenina prot.
A342A1AP

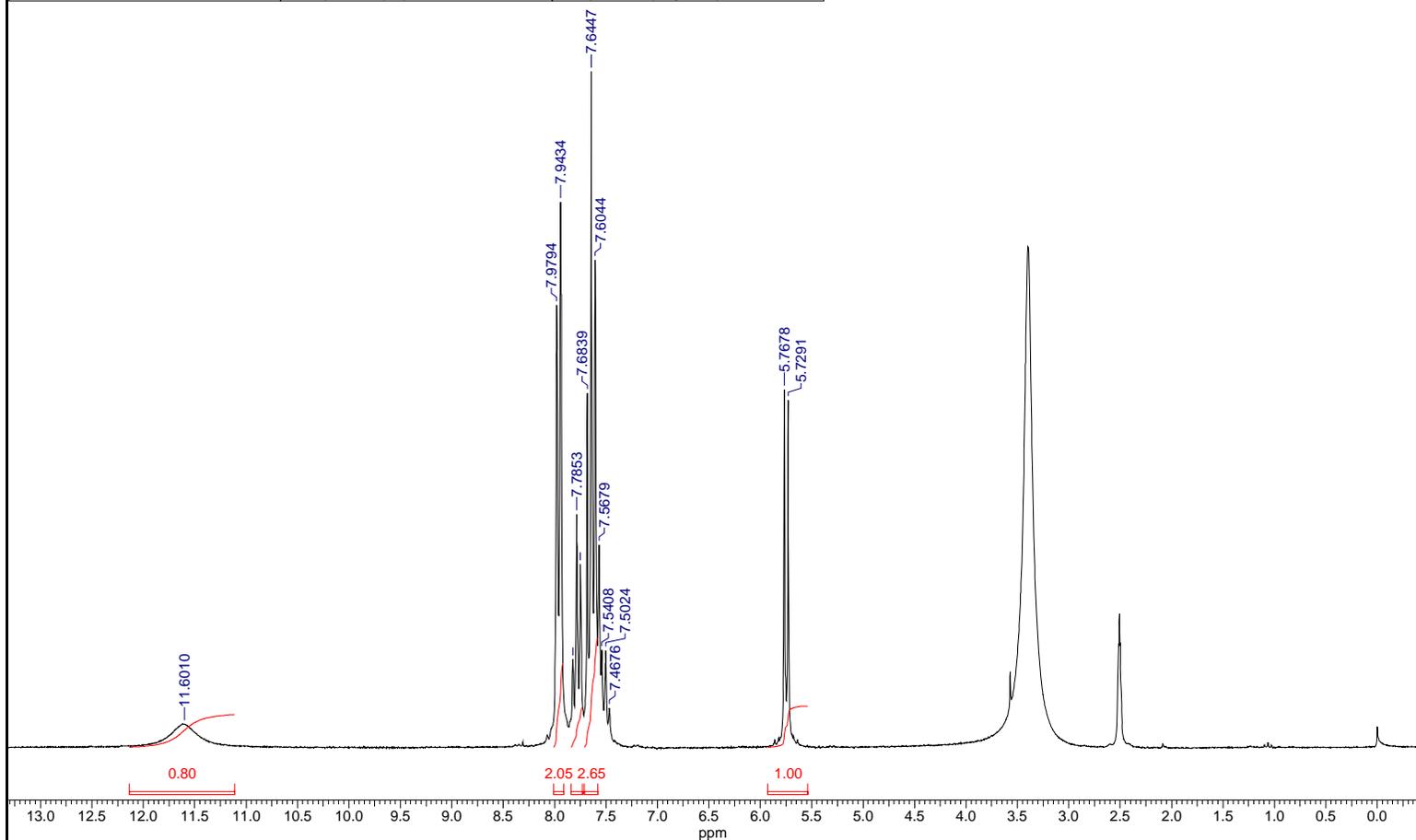
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A342A1AP	Date	10 Aug 1971 09:17:04				
Date Stamp	10 Aug 1971 09:17:04			File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A342A1AP\2\A342A1AP.DX				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹³H da adenina 108

uracila prot.
A342A1UP

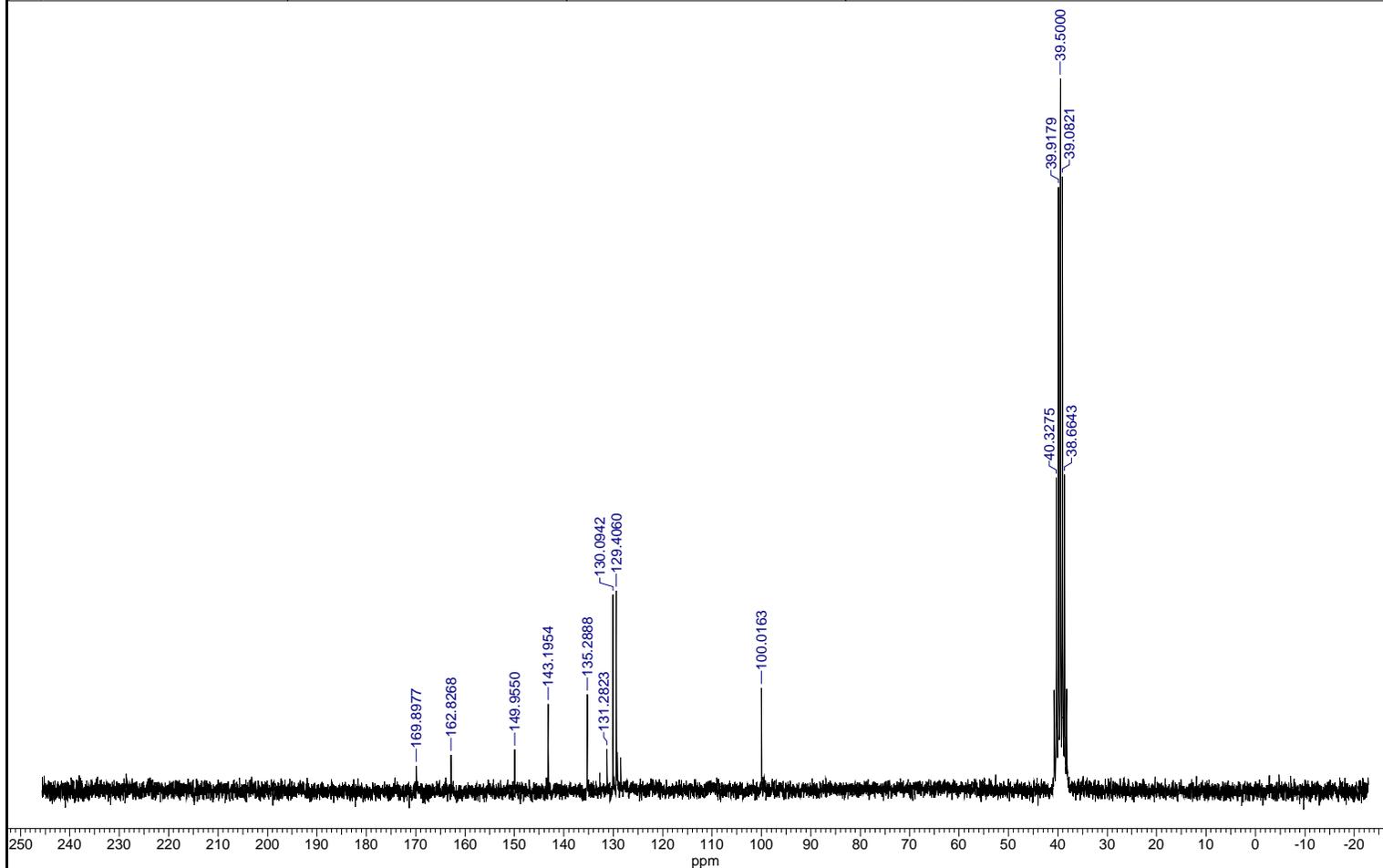
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A342A1UP	Date	10 Aug 1971 09:25:03	Date Stamp	10 Aug 1971 09:25:03
File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A342A1UP\1\A342A1UP.DX			Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H
Number of Transients	32	Origin	mapheu	Original Points Count	65536	Owner	mapheu
Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000	Points Count	65536



Espectro de RMN ¹H da uracila **110**

uracila prot.

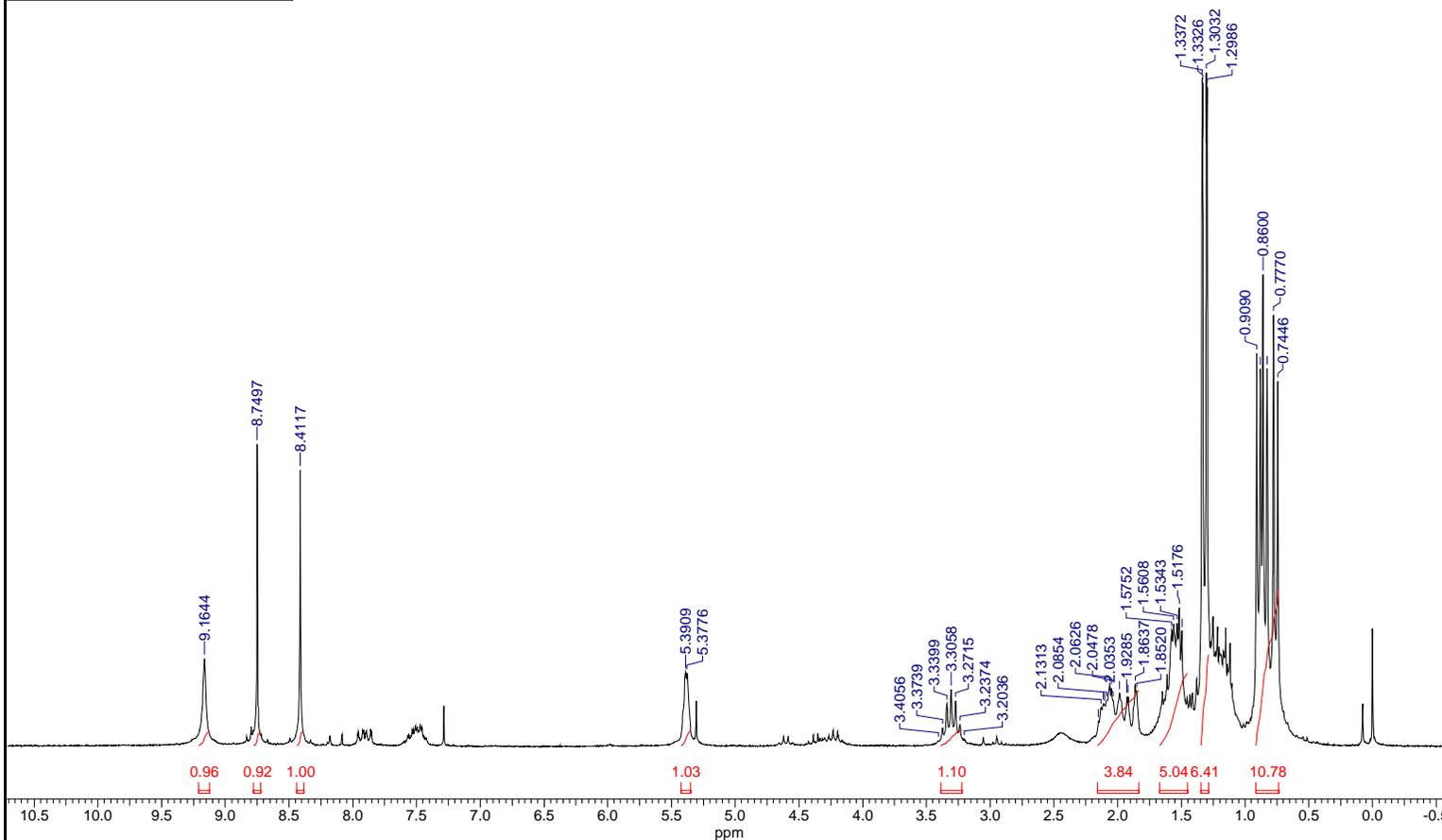
Acquisition Time (sec) 2.4251	Date	File Name C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A362A1UP1\2\ESPECTRO.DX	
Frequency (MHz) 50.33	Nucleus 13C	Origin SpinWorks 1.3, Kirk Marat, U of Manitoba	
Original Points Count 32768	Owner undefined	Points Count 32768	Sweep Width (Hz) 13512.00



Espectro de RMN ^{13}C da uracila 110

MAPME
A352A1MAM

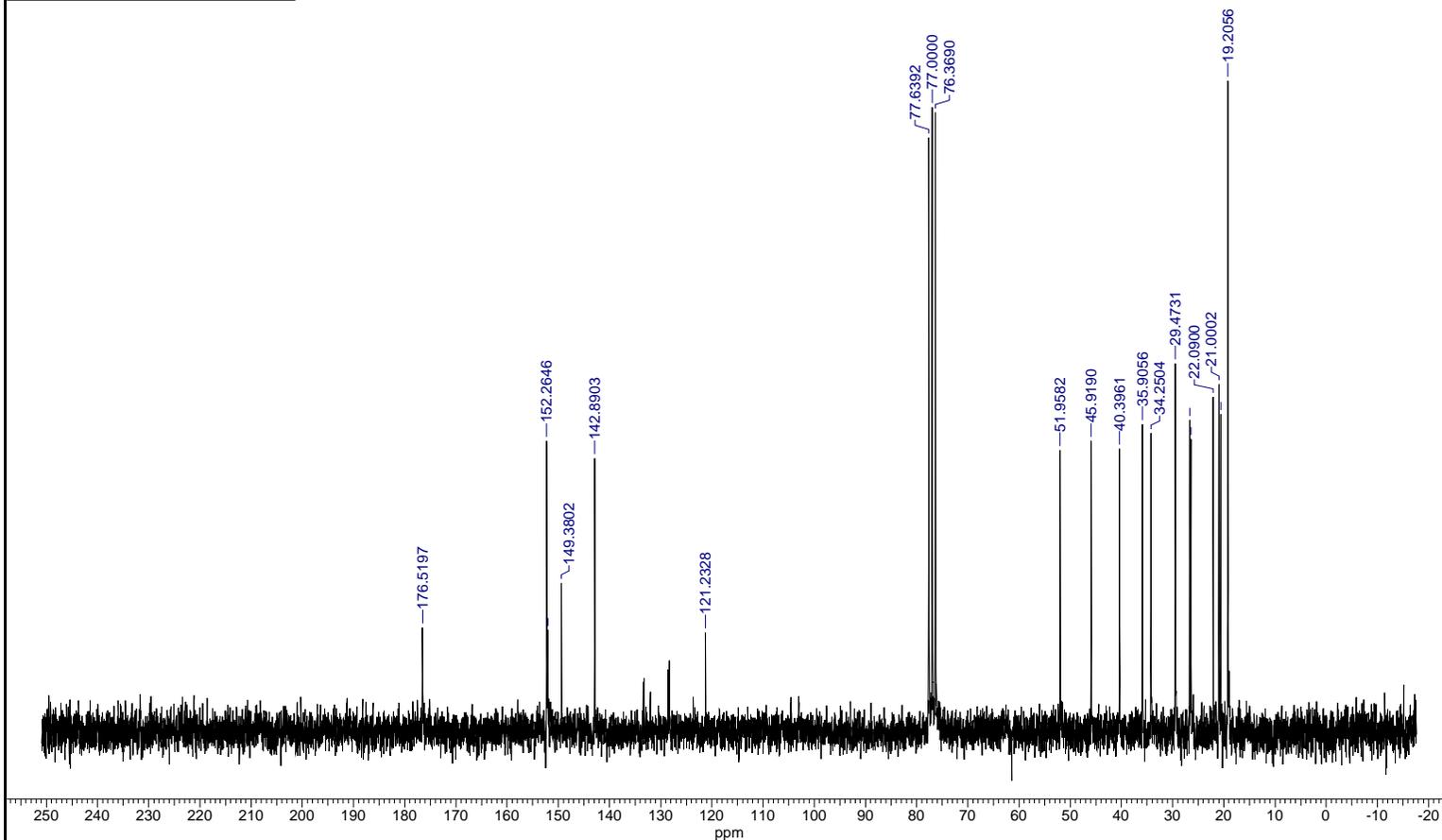
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A352A1MAM	Date	17 Aug 1971 11:54:23				
Date Stamp	17 Aug 1971 11:54:23	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A352A1MAM\1\A352A1MAM.DX						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								



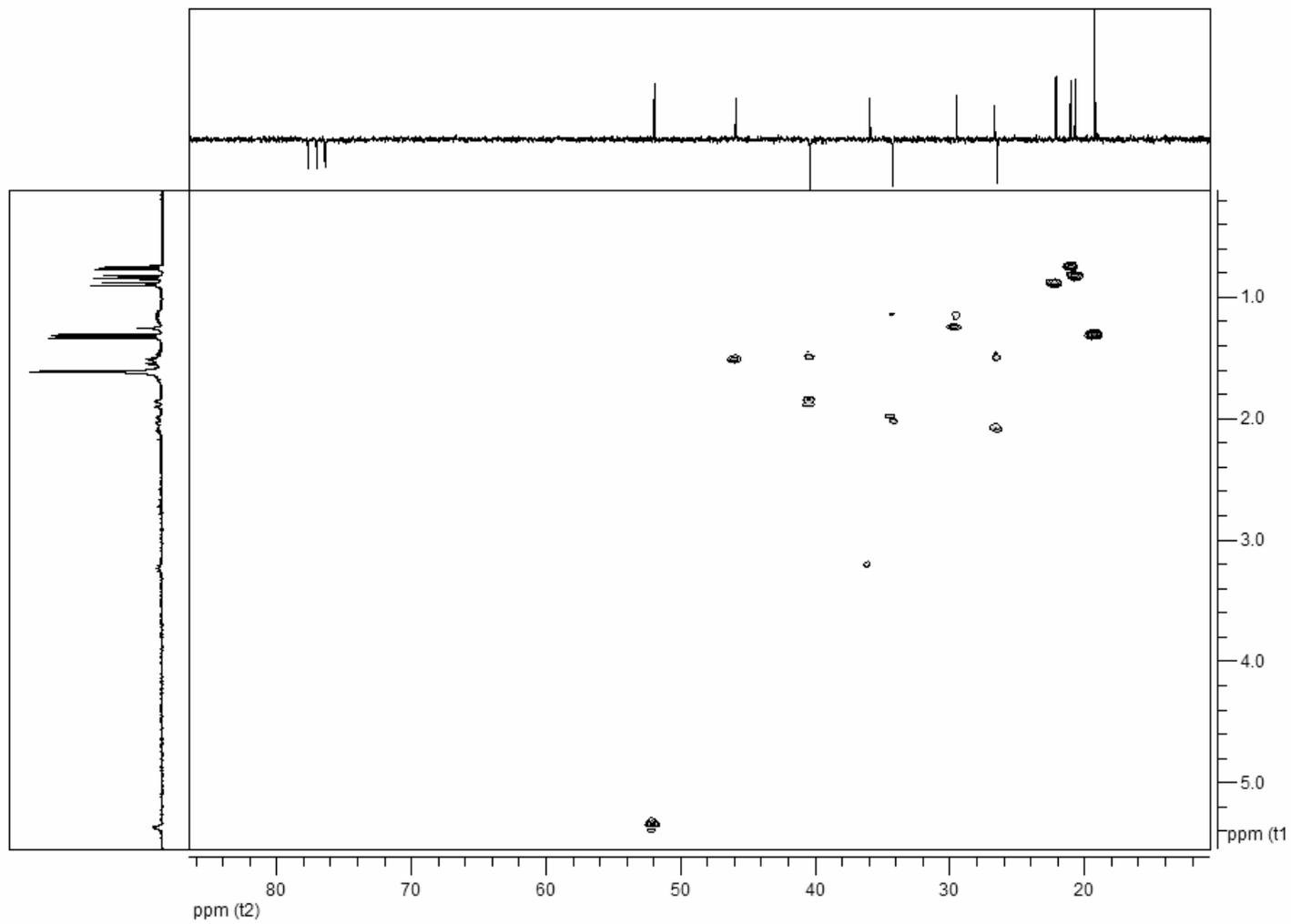
Espectro de RMN ¹H da purina 111

MAPME
A352A1MAM

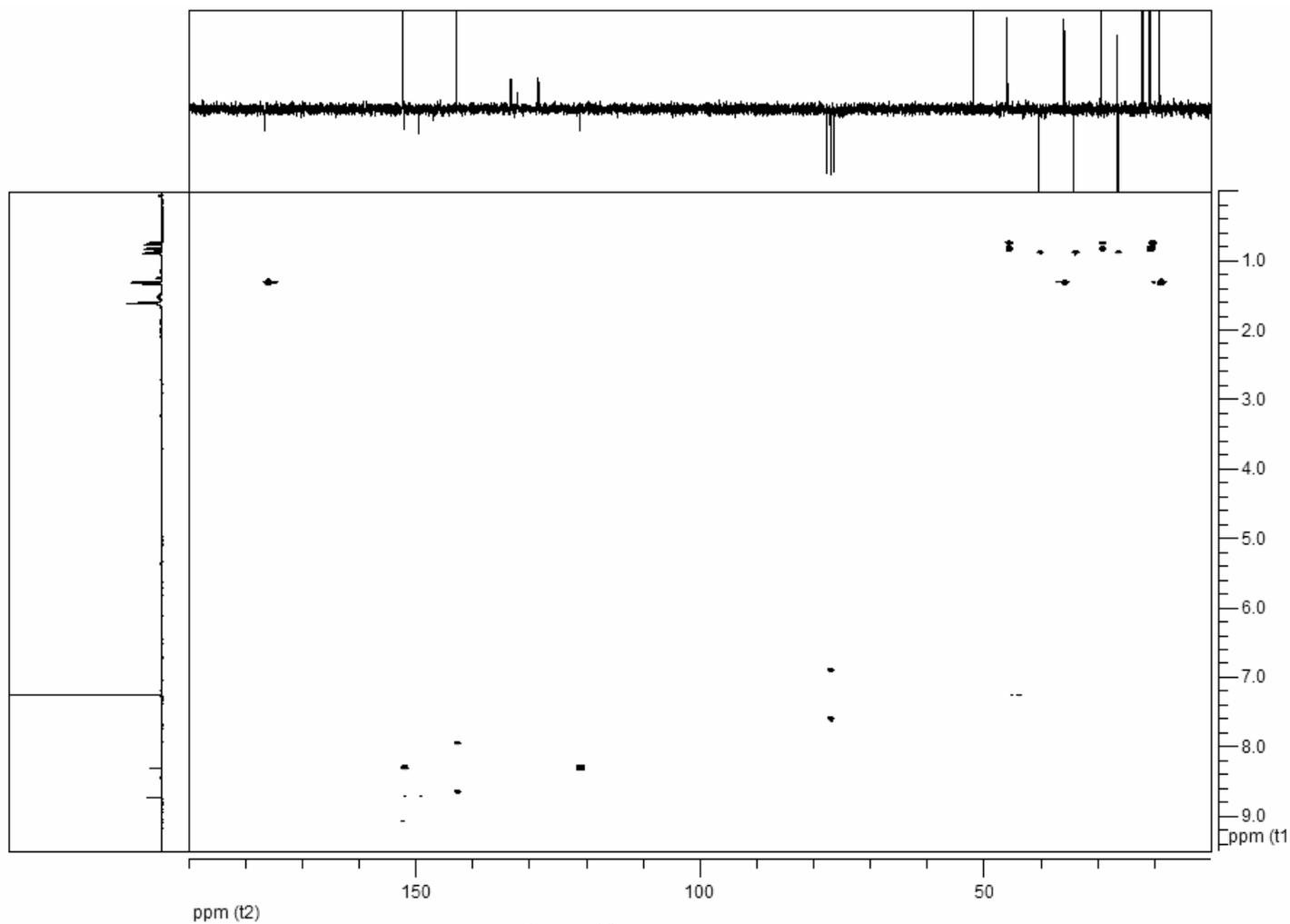
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A352A1MAM	Date	17 Aug 1971 11:57:22				
Date Stamp	17 Aug 1971 11:57:22	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A352A1MAM\2\A352A1MAM.DX						
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	13513.51		
Temperature (degree C)	27.000								



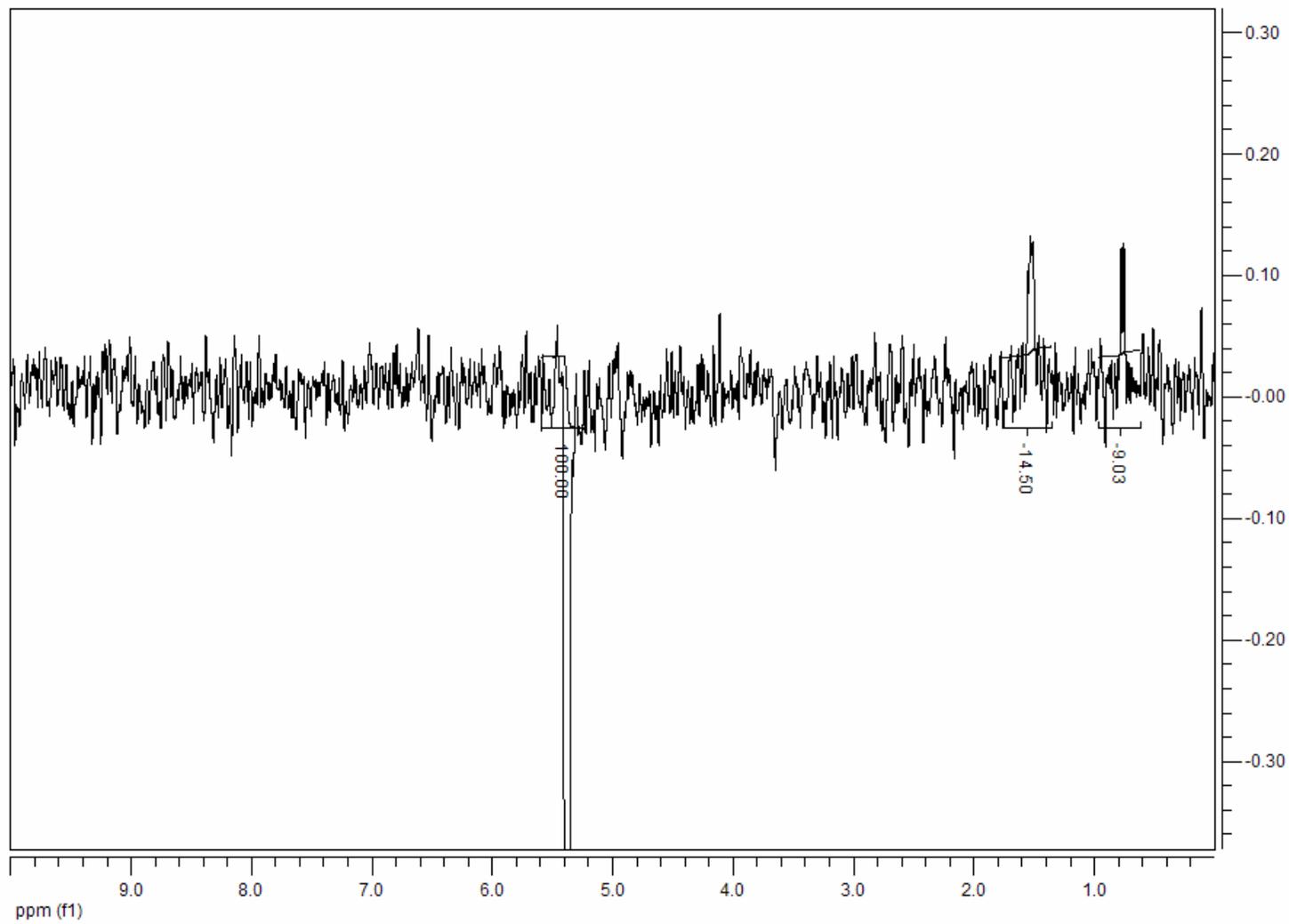
Espectro de RMN ¹³C da purina 111



Espectro de HSQC [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}}$] da purina **111**



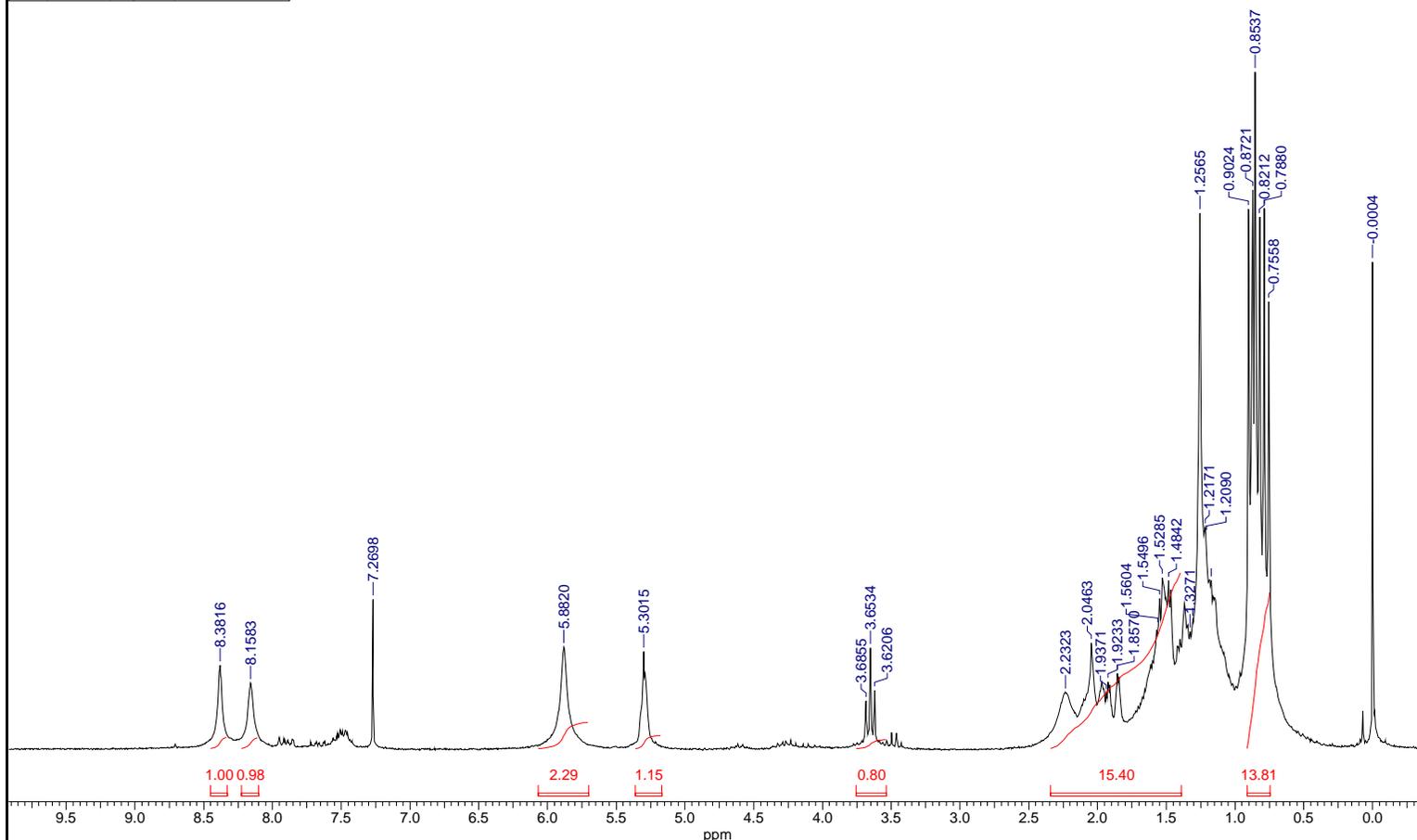
Espectro de HMBC [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}} n = 2 \text{ e } 3$] da purina **111**



Espectro de EON-diferencial da purina **111**

adenina desp. + mentol

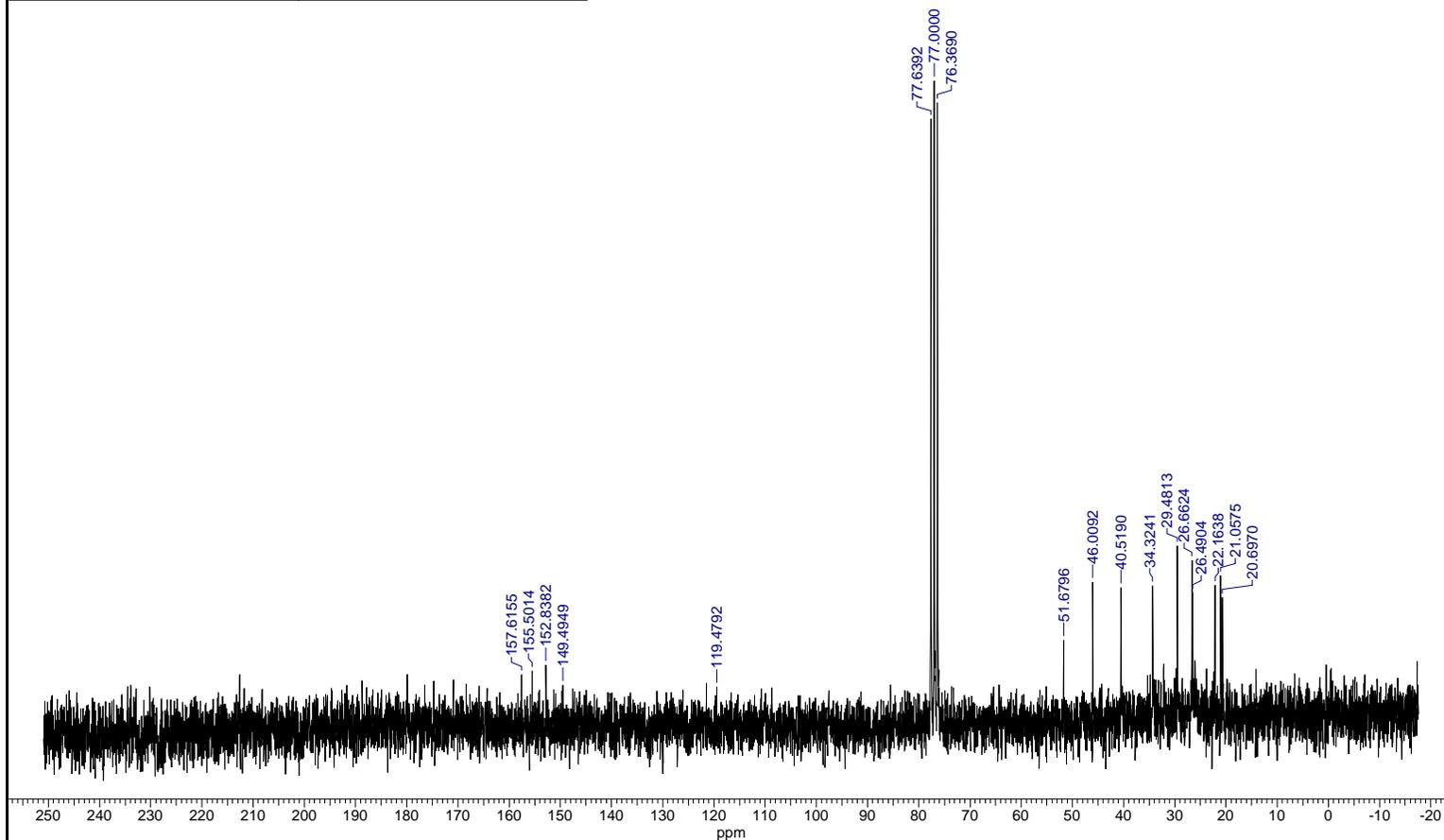
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A392A1ADME	Date	12 Sep 1971 10:22:44				
Date Stamp	12 Sep 1971 10:22:44	File Name	C:\Chris\chrisRMN\2004\A392A1ADME\1\A392A1ADME.dx						
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10		
Temperature (degree C)	27.000								



Espectro de RMN ¹H da purina 112

MADME
A392A1ADME

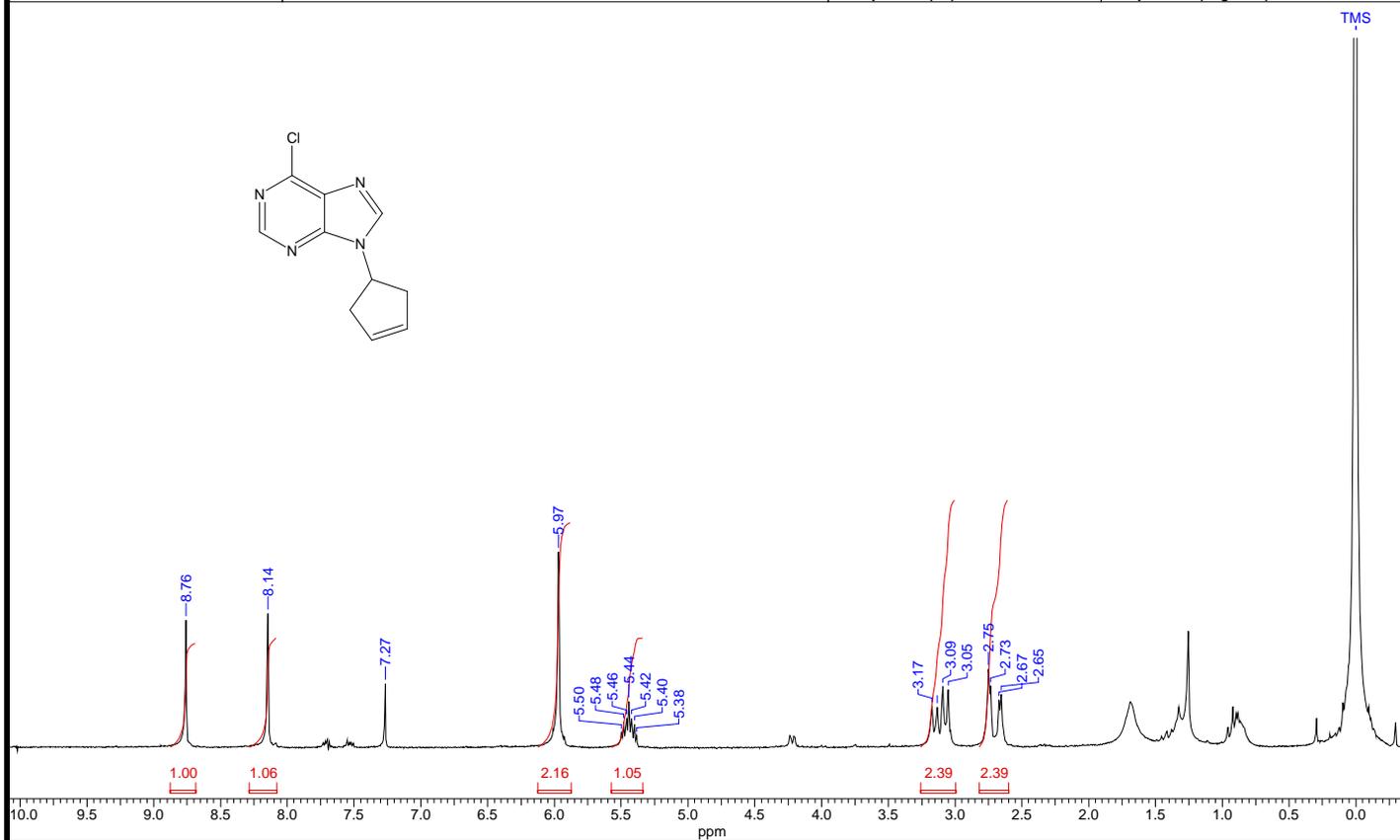
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A392A1ADME	Date	12 Sep 1971 10:25:27		
Date Stamp	12 Sep 1971 10:25:27	File Name	C:\CHRIS\CHRISRMN\2004\A392A1ADME\2\A392A1ADME.DX				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	829	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹³C da purina 112

4 Jan 1980
acopl. de Mit. coluna

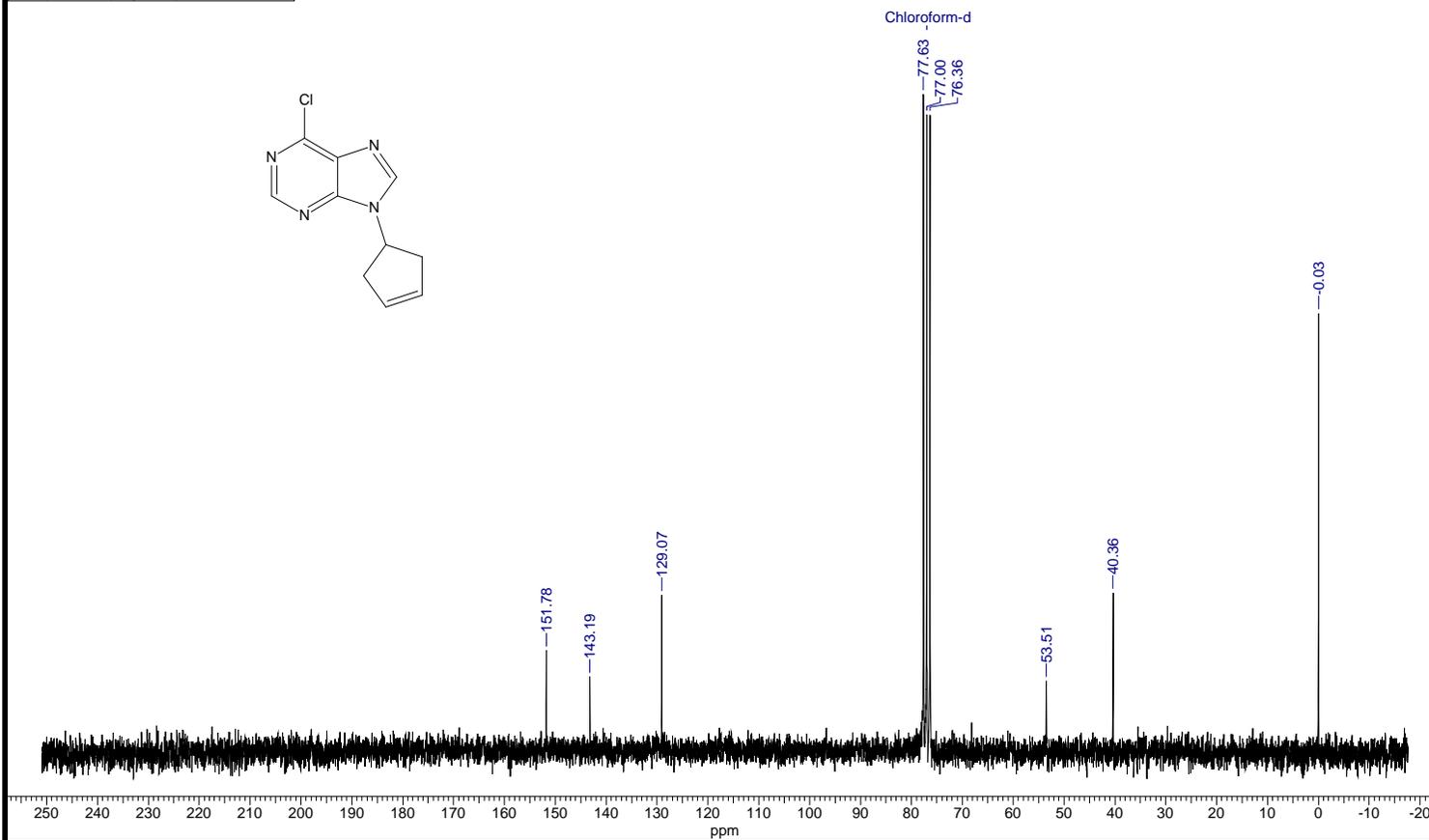
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A112B7MIC	Date	11 Feb 1999 04:22:18		
Date Stamp	11 Feb 1999 04:22:18			File Name	C:\Christiane\espectros\A112B7MIC\1A112B7MIC.dx	Frequency (MHz)	200.13
Nucleus	¹ H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D			Sweep Width (Hz)	3546.10
						Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H da purina 124

11 Apr 2001
Acopl. de Mit. coluna

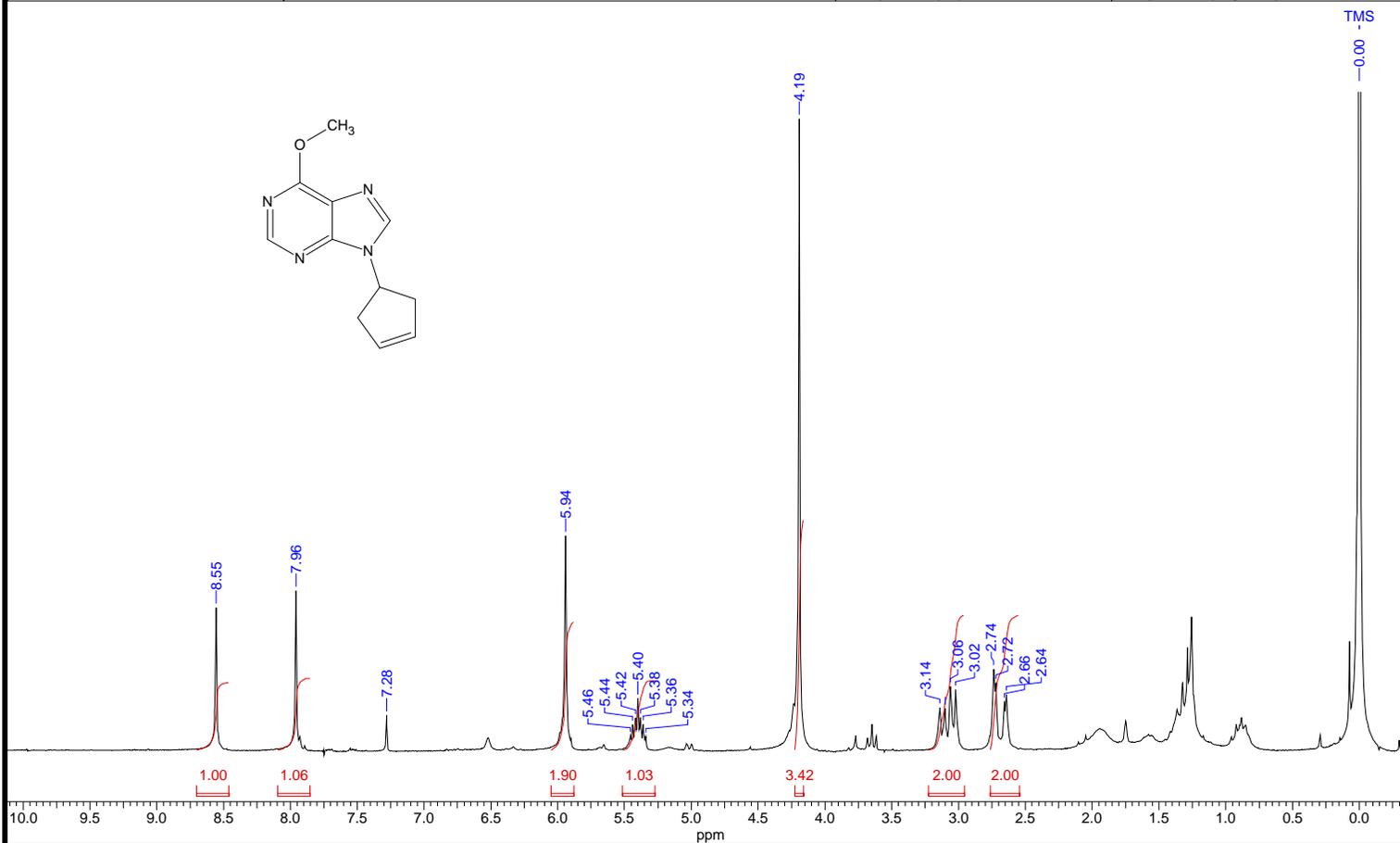
Acquisition Time (sec) 2.4248	Comment A112B7MIC	Date 11 Feb 1999 05:29:21			
Date Stamp 11 Feb 1999 05:29:21	File Name C:\Christiane\Christiane1\espectros\A112B7MIC\2\A112B7MIC.dx				
Frequency (MHz) 50.33	Nucleus 13C	Number of Transients 1024	Origin mapheu	Original Points Count 32768	
Owner mapheu	Points Count 32768	Solvent CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz) 13513.51		
Temperature (degree C) 27.000					



Espectro de RMN ^{13}C da purina 124

25 Mar 2002
acopl. mit. metoxila

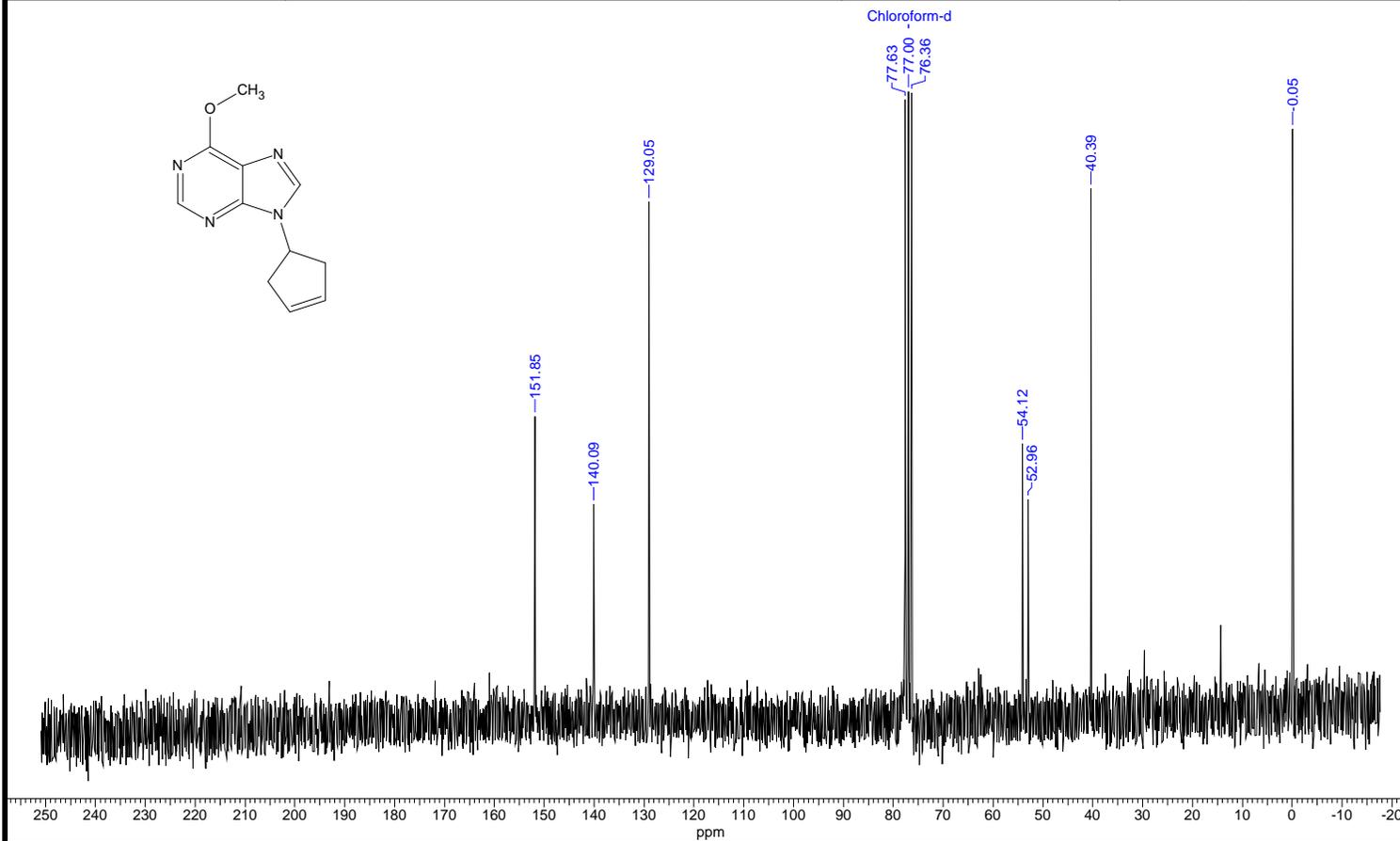
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A132B7MET2	Date	23 Feb 1999 02:38:05	Frequency (MHz)	200.13
Date Stamp	23 Feb 1999 02:38:05	File Name	C:\Christiane\espectros\A132B7MET2\1\A132B7MET2.dx			Owner	mapheu
Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H da purina 130

25 Mar 2002
acopl. mit. metoxila

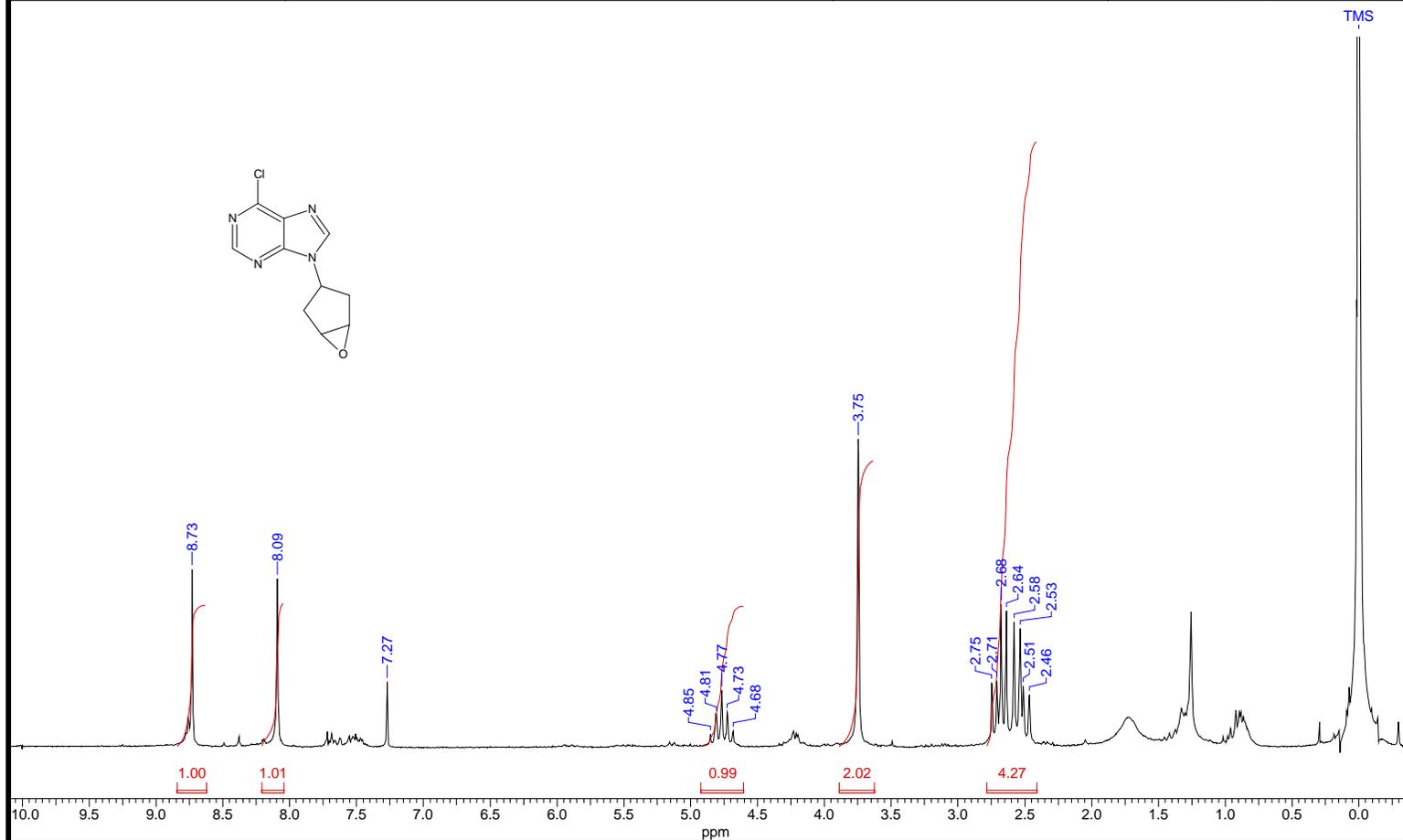
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A132B7MET2	Date	23 Feb 1999 03:06:04		
Date Stamp	23 Feb 1999 03:06:04			File Name	C:\Christian\espectros\A132B7MET2\2\A132B7MET2.dx	Frequency (MHz)	50.33
Nucleus	13C	Number of Transients	1024	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D			Sweep Width (Hz)	13513.51
						Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹³C da purina **130**

4 Jan 1980
epoxidacao MCPBA

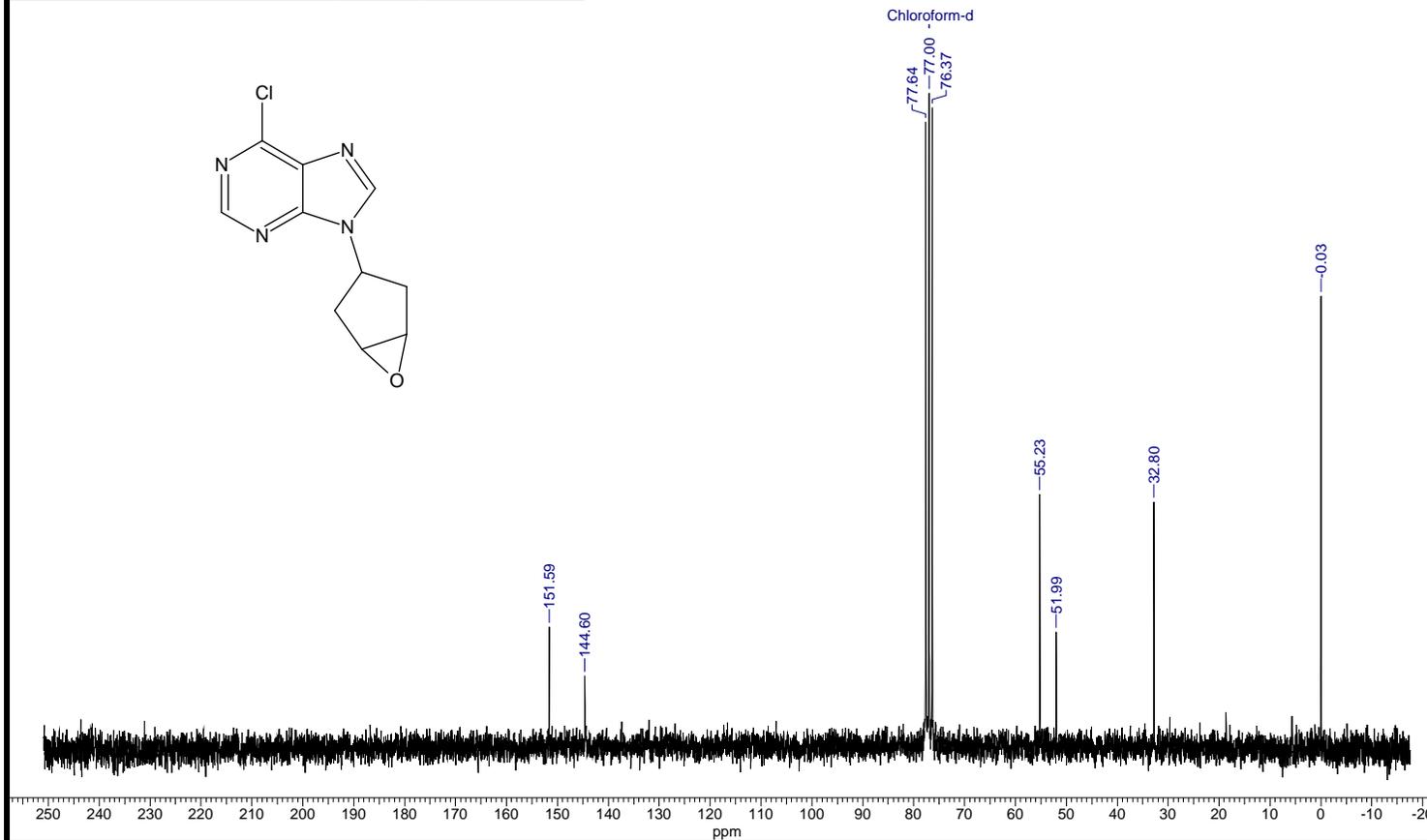
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A102B7EC1	Date	05 Feb 1999 05:03:08		
Date Stamp	05 Feb 1999 05:03:08	File Name	C:\Christiane\spectros\A102B7EC1\1\A102B7EC1.dx		Frequency (MHz)	200.13	
Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10	Owner	mapheu
						Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H da purina 125a

5 Sep 2001
Epo. MCPBA

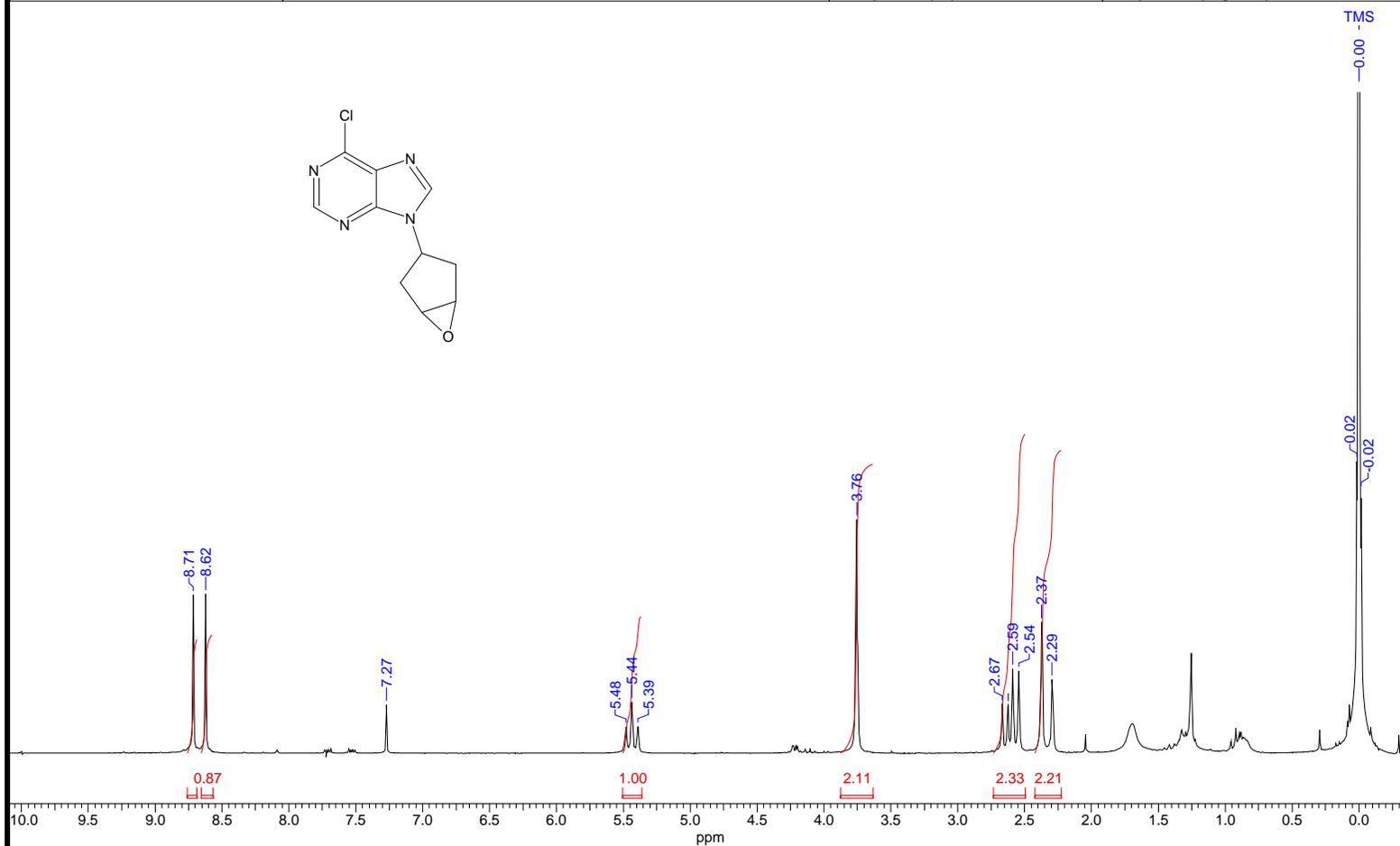
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A102B7EC1	Date	05 Feb 1999 05:49:49		
Date Stamp	05 Feb 1999 05:49:49	File Name	C:\Christiane\Christiane1\espectros\A102B7EC1\2\A102B7EC1.dx				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	1812	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹³C da purina 125a

4 Jan 1980
epoxidacao MCPBA

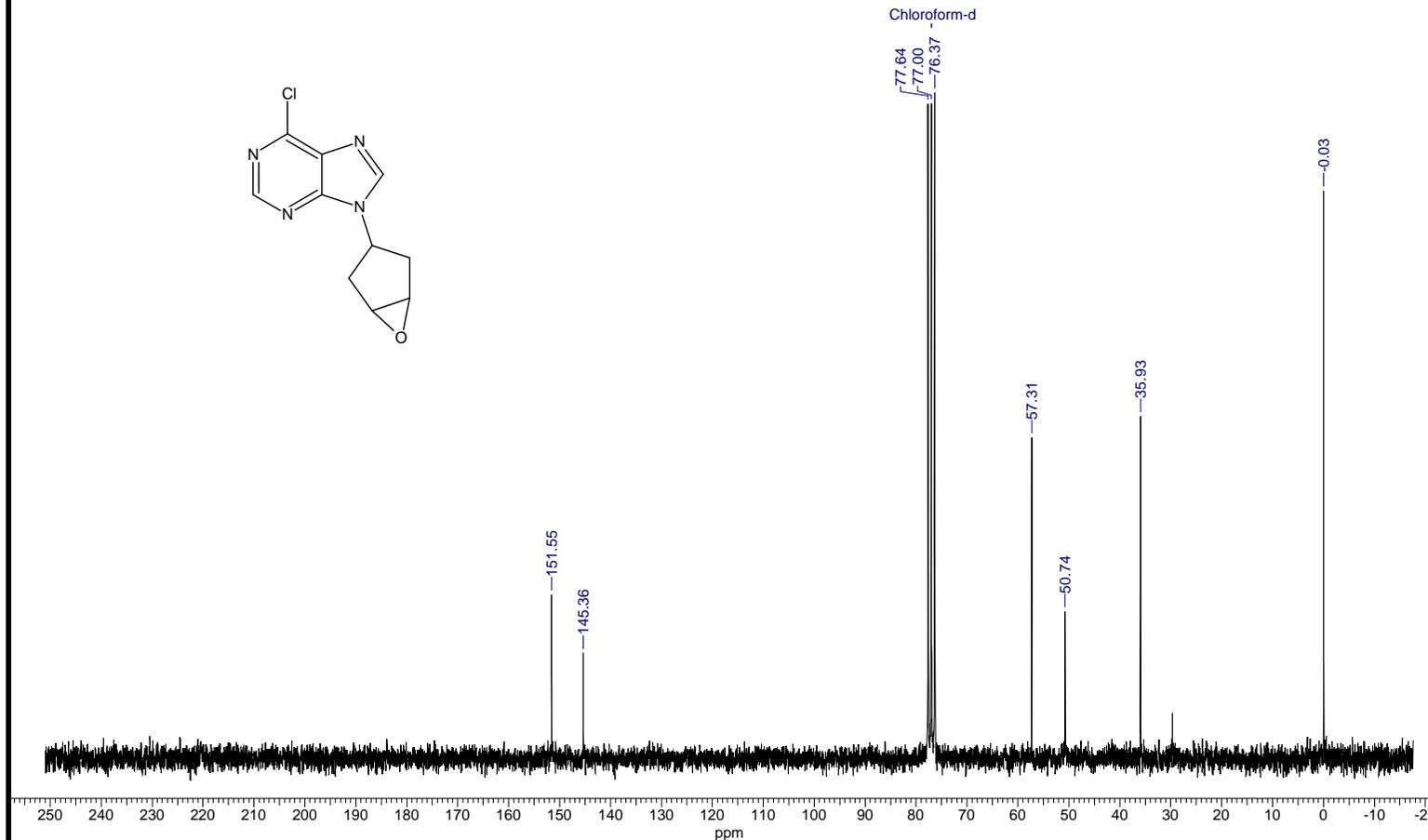
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A112B7EC2	Date	09 Feb 1999 04:09:33	Frequency (MHz)	200.13
Date Stamp	09 Feb 1999 04:09:33	File Name	C:\Christiane\espectros\A112B7EC2\1A112B7EC2.dx			Owner	mapheu
Nucleus	1H	Number of Transients	40	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H da purina **125b**

9 Sep 2001
Epox. MCPBA

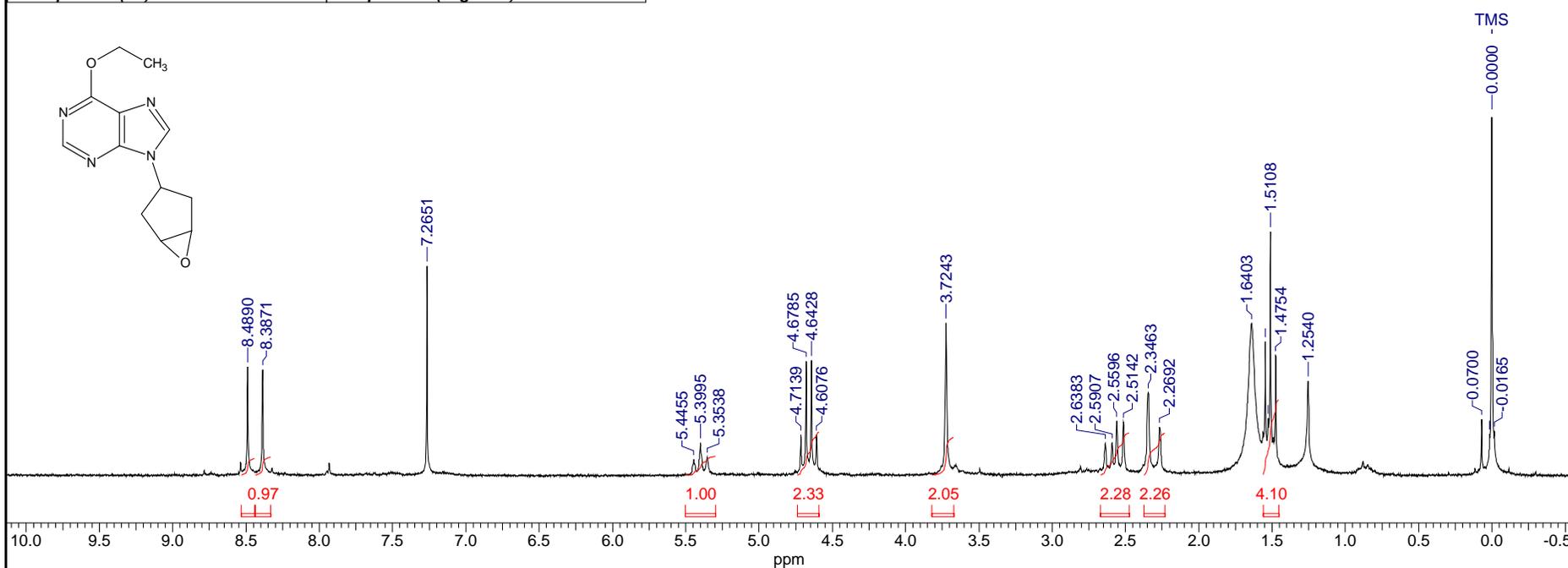
Acquisition Time (sec) 2.4248	Comment A112B7EC2	Date 09 Feb 1999 05:24:34	
Date Stamp 09 Feb 1999 05:24:34	File Name C:\Christiane\Christiane1\espectros\A112B7EC2\A112B7EC2.dx		
Frequency (MHz) 50.33	Nucleus 13C	Number of Transients 2919	Origin mapheu
Original Points Count 32768	Owner mapheu	Points Count 32768	Solvent CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz) 13513.51	Temperature (degree C) 27.000		



Espectro de RMN ^{13}C da purina 125b

22 Aug 2002
substituição do cloro do EC2 por etóxido
A342B7CNF2-1

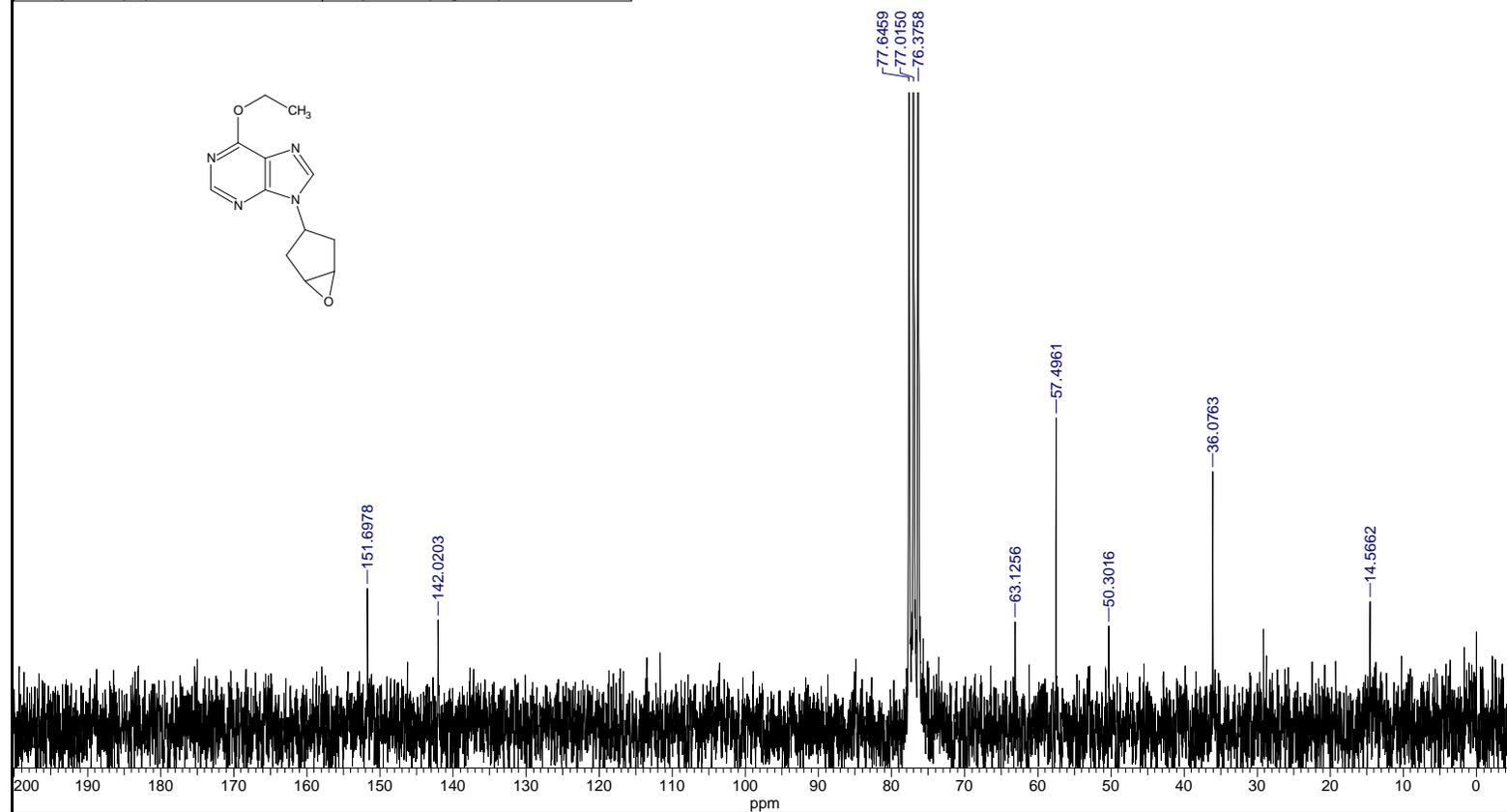
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A342B7CNF2-1	Date	18 Jul 1999 11:59:39		
Date Stamp	18 Jul 1999 11:59:39	File Name	D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A342B7CNF2-1\1\A342B7CNF2-1.d				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8	Origin	mapheu
Original Points Count	65536	Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹H da purina **131**

22 Aug 2002
substituição do cloro do EC2 por etóxido
A342B7CNF2-1

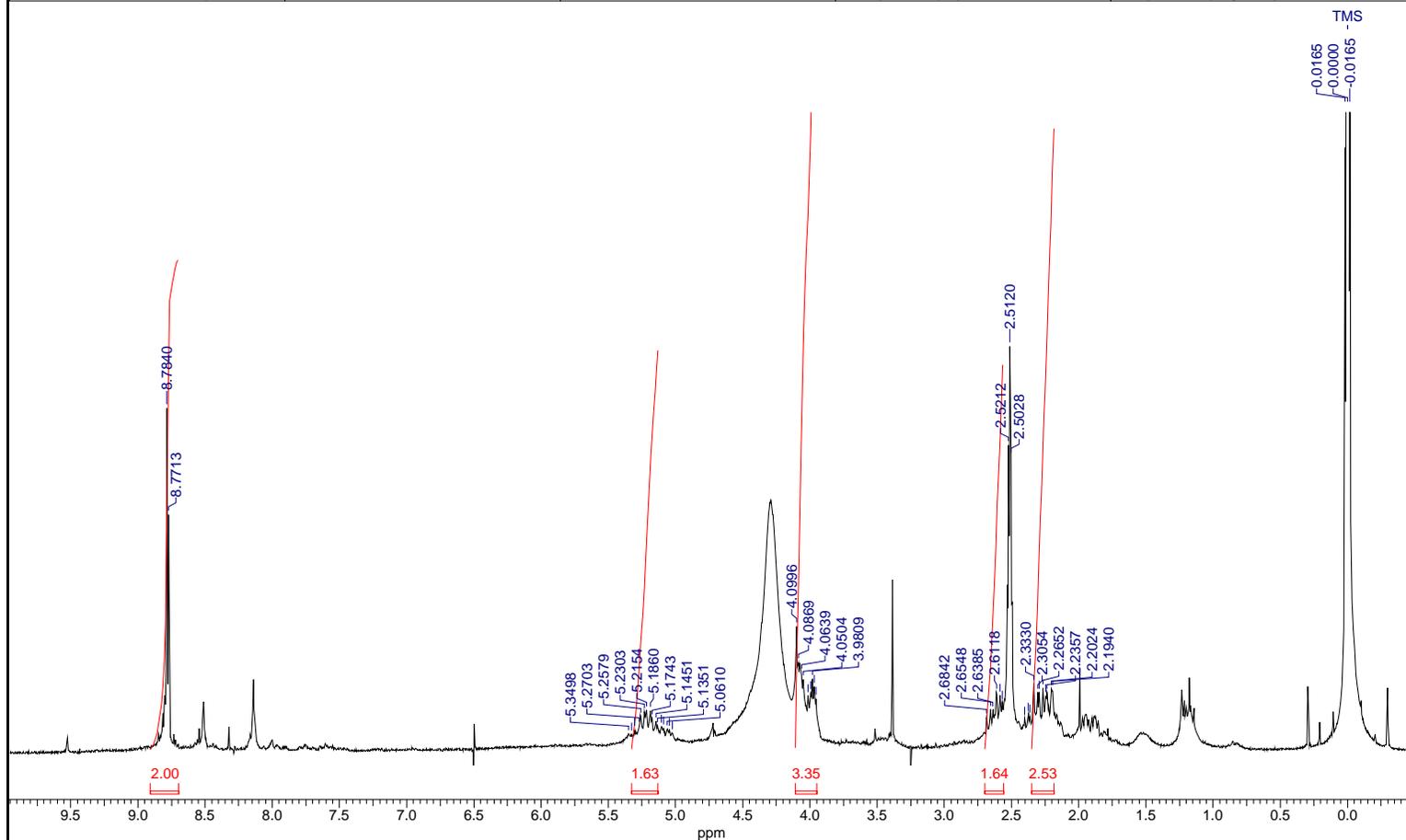
Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A342B7CNF2-1	Date	18 Jul 1999 12:07:52		
Date Stamp	18 Jul 1999 12:07:52	File Name	D:\Documents and Settings\usuarios\Chris\A342B7CNF2-1\2\A342B7CNF2-1.d				
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	4071	Origin	mapheu
Original Points Count	32768	Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000				



Espectro de RMN ¹³C da purina 131

hidrolise epoxido
A122A1HE1

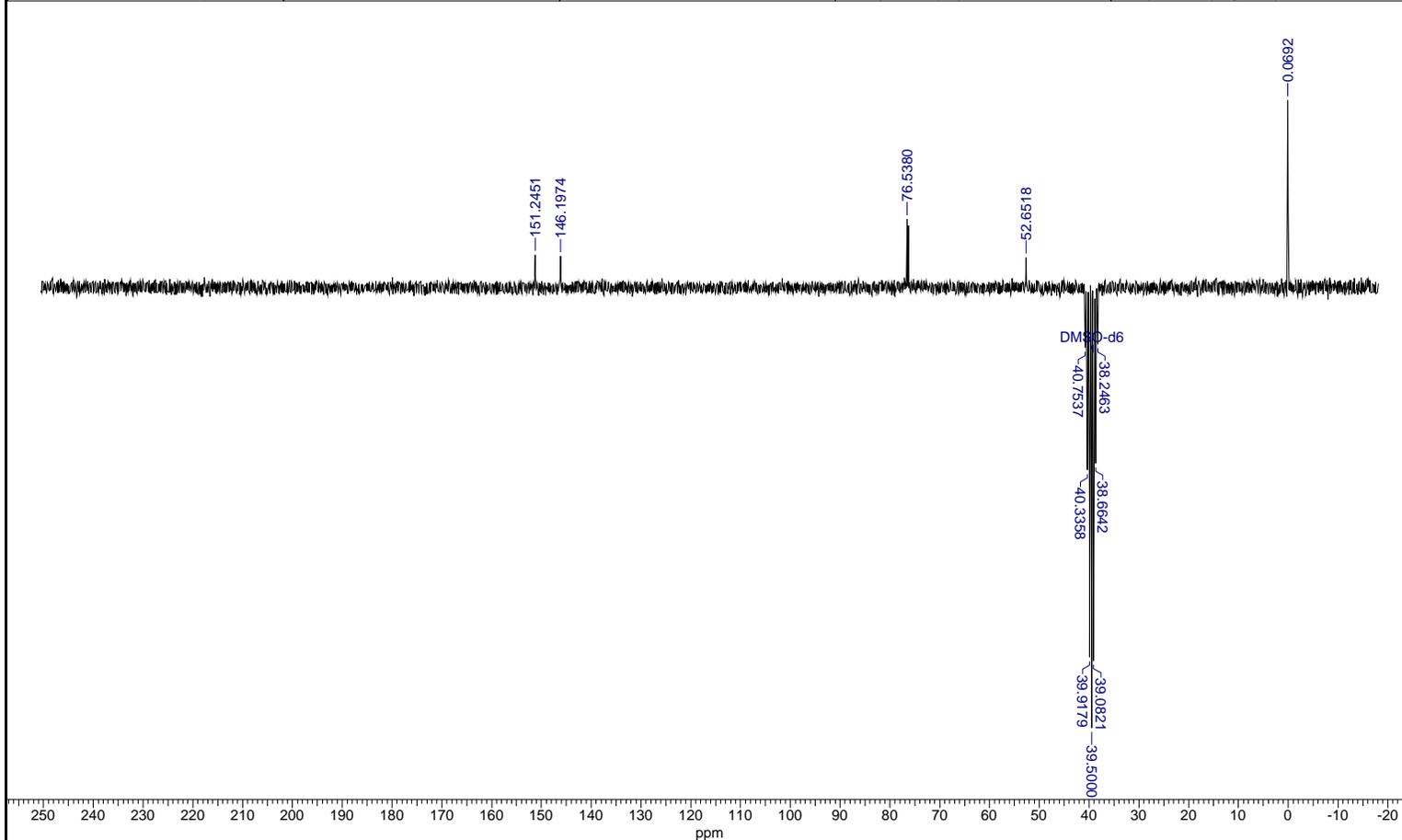
Acquisition Time (sec)	18.4812	Comment	A122A1HE1	Date	31 Jan 2000 17:15:01				
Date Stamp	31 Jan 2000 17:15:01			File Name	C:\Chris\spectros\espectros2003\A122A1HE1\1\A122A1HE1.dx				
Frequency (MHz)	200.13	Nucleus	1H	Number of Transients	128	Origin	mapheu	Original Points Count	65536
Owner	mapheu	Points Count	65536	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	3546.10	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹H da purina 132

hidrolise epoxido
A122A1HE1

Acquisition Time (sec)	2.4248	Comment	A122A1HE1	Date	31 Jan 2000 17:21:51				
Date Stamp	31 Jan 2000 17:21:51		File Name	C:\Chris\espectros\espectros2003\A122A1HE1\4\A122A1HE1.d					
Frequency (MHz)	50.33	Nucleus	13C	Number of Transients	2413	Origin	mapheu	Original Points Count	32768
Owner	mapheu	Points Count	32768	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	13513.51	Temperature (degree C)	27.000



Espectro de RMN ¹³C da purina 132