



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**O-GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS E
AZIDOGlicosÍDEO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO
ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Anderson José Firmino Santos da Silva

Recife
Outubro/2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**O-GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS E AZIDOGlicosÍDEO:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

Anderson José Firmino Santos da Silva

Recife
Outubro/2014

Anderson José Firmino Santos da Silva

**O-GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS E AZIDOGlicosÍDEO:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química pela
Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho

Bolsista Capes

Recife
Outubro/2014

Anderson José Firmino Santos da Silva

**O-GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS E AZIDOGlicosÍDEO:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

DISSERTAÇÃO AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

_____/_____/_____

Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho (DCM-UFRPE)
(Orientador)

Prof. Juliano Carlos Rufino de Freitas (CES-UFCG)
1º Examinador

Prof. Dr. Clécio de Souza Ramos (DCM-UFRPE)
2º Examinador

Prof. Dr. Sebastião José de Melo (DCF-UFPE)
3º Examinador

Prof. Dr Mônica Freire Belian (DCM-UFRPE)
SUPLENTE

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me iluminado nessa difícil jornada, a minha querida e graciosa esposa Jéssika Mariana e a minha mãe Renice, a meu padastro Roberto Horácio pela cooperação e a minha irmã Iracema Fabrini, esses estiveram presentes em todos os momentos da minha caminhada.

Ao meu orientador professor Dr. João Rufino pela transmissão de conhecimentos pela cooperação e paciência durante todo esse curso.

A todos os amigos do LEQSO: Mauricélia, Macílio, Juliana Moenda e em especial aos meus amigos de todos os momentos, Juliana Lira, Queila Rufino, Jucleiton Rufino a Josi da Paz e Wagner Valença e ao meu amigo e irmão Renato Luiz.

A todos os professores da pós-graduação em Química.

A Professora Dr. Gardênia Carmem Gadelha Militão pelos testes de atividade biológica.

A Central Analítica da UFPE.

A CAPES pela bolsa concedida.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao grande **JESUS**, O SENHOR DE TODA A TERRA E PAI DA ETERNIDADE, O ÚNICO CAMINHO QUE LEVA AO ENCONTRO DE DEUS, que mudou a minha história, transformando minhas trevas em luz, e me concedeu a graça de viver uma vida de paz, mesmo diante de tantas dificuldades encontradas na minha trajetória de vida, me abençoando com grande bondade e fidelidade.

Resumo

O-glicosídeos são precursores quirais para serem utilizados na síntese de compostos biologicamente ativos, tais como blocos de construção de glicopeptídeo, oligossacarídeos, e carboidratos modificados. Este trabalho descreve a síntese, a caracterização e a atividade citotóxica in vitro de O-glicosídeos 2,3-insaturados e azidoglicosídeos. A reação de alcoóis **2a-i** com 3,4,6-tri-O-acetilglicol **1**, foi realizada na presença de uma quantidade catalítica de ácido *p*-toluol sulfônico, mediada por irradiação de ultrassom e forneceu os correspondentes O-glicosídeos 2,3-insaturados **3a-i**. Em todos os casos, os compostos foram obtidos como uma mistura de α - e β -anômeros, onde houve predominância do anômero alfa. Por outro lado, usamos a metodologia convencional para obtenção dos O-glicosídeos 2,3-insaturados **4a-e**. Os O-glicosídeos foram submetidos à reação de hidrólise básica e de oxidação alílica. A adição de azida de sódio, a alquil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (**6a-e**) forneceu os compostos **7a-e** que após redução com borohidreto de sódio forneceu os azido-glicosídeos **8a-e**, em bons rendimentos. As estruturas dos compostos obtidos foram elucidadas através de técnicas espectroscópicas convencionais: Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Os compostos **6b**, **6c**, **6d** e **8a**, **8b**, **8c** e **8e**. Foram testadas suas atividades antiproliferativa contra as células NCL-H292 e os compostos que tiveram taxa de inibição com valores maiores que 80% também tiveram seus IC_{50} testados. Esses compostos apresentaram muita atividade antiproliferativa. Devido a degradação de algumas amostras 8c e 8e, passaram pelo teste de IC_{50} Frente a células cancerosas MCF-7 e HL-60 e apresentaram excelentes atividades, e apresentaram IC_{50} dentro do intervalo de confiança.

Palavras-chave: Hex-2-enopiranosid-4-ulose; azidoglicosídeo, atividade citotóxica

Abstract

O-glycosides are easily available chiral intermediates in the synthesis of biologically active compounds such as glycopeptide building blocks, oligosaccharides, and modified carbohydrates. This work describes the syntheses, characterization and cytotoxic activity *in vitro* of 2,3-unsaturated O-glycosides and azide glycosides. The reaction of alcohols **2a-i** with 3,4,6-tri-O-acetylglucal **1**, carried out in presence of catalytic amount of *p*-tolylsulfonic acid mediated by ultrasound irradiation, afforded the corresponding 2,3-unsaturated glucopyranosides **3a-i**. In all cases the compounds were obtained as a mixture of α - β -anomers, where there was a predominance of anomer α . Moreover, the conventional methodology used to obtain the 2,3-unsaturated O-glycosides **4a-e**. The O-glycosides were subjected to reactions of basic hydrolysis and allylic oxidation. Addition of azide ion to alkyl 2,3-dideoxy-2-enopyranosid-4-ulose (**6a-e**) provided compound **7a-e**, which upon reduction with sodium borohydrate furnished azide glycosides **8a-e** in good yields. The structures of the compounds obtained were elucidated by conventional spectroscopic techniques: Infrared and Magnetic Nuclear Resonance ^1H and ^{13}C . The compounds **5a-e** and **8a-e** were tested against three human cell lines where only of compounds **5a**, **5c**, **3d**, **8b** e **8c** exhibited good antiproliferative activity against HL-60, MCF-7 e **NCI-H292** cancer cell lines with excellent inhibition values.

Keywords: Hex-2-enopyranosid-4-ulose; azideglycoside, cytotoxic activity

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.1	Fatores que influenciam na síntese de glicosídeos 2,3-insaturados	22
2.1.1	Efeito anomérico	23
2.1.2	Tipos de nucleófilos.....	25
2.1.3	Assistência do grupo vizinho	26
2.1.3	Impedimento estérico do carbono C-6.....	28
2.2	Reação de Fischer	28
2.3	Utilização da irradiação do ultrassom na síntese orgânica	30
2.3.1	Síntese de carboidratos utilizando energia de ultrassom.....	32
2.4	Azido-glicosídeos	32
2.5	AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	38
3	OBJETIVOS	39
3.1	OBJETIVO GERAL	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1	Materiais empregados.....	40
4.2	Materiais empregados no teste de atividades biológicas	40
4.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	41
4.3.1	Síntese do tri-O-acetil-D-glucal	41
4.3.2	Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados.....	42
4.3.3	Alquil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo (5a-e).....	44

4.3.4	Alquil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (6a-e)	46
4.3.5	Síntese de Alquil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ltreo-hexopiranosíd-4-ulose (7a-e)	48
4.3.6	Síntese de Alquil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-lixo-hexopiranosídeo (8-e)	48
4.4	Determinação da atividade antiproliferativa	50
4.4.1	Metodologia usada	50
4.4.2	Método de análise dos resultados	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1	Síntese e elucidação do Tri-O-acetil-D-glicial	51
5.2	Uma nova metodologia para a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados.....	54
6	CONCLUSÃO	71
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Mecanismo para a reação de glicosidação	17
Esquema 2 – Aperfeiçoamento da reação Ferrier em favor do anômero α	18
Esquema 3 – Síntese de O-glicosídeos utilizando micro-ondas doméstico.	19
Esquema 4 - Síntese de O-glicosídeo catalisada por álcoois fluorados.....	19
Esquema 5 – Rearranjo de Ferrier do 4,6-di-O-benzil-D-glucal catalisado por InCl_3	20
Esquema 6 – Reação de glicosidação usando os reagentes de Mitsunobu.	20
Esquema 7 – Rearranjo de Ferrier catalisado por $\text{NaHSO}_4\text{-SiO}_2$	21
Esquema 8 – Síntese de 2,3-dideoxy glicopiranosídeos usando NbCl_5 como ácido de Lewis.	21
Esquema 9 – Rearranjo de Ferrier catalisado por $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H-SiO}_2$	22
Esquema 10 – Síntese de pseudoglicais utilizando TeCl_4	22
Esquema 11 – Ataque no nucleófilos no cátion formando os glicosídeos 1,2- e 2,3-insaturado.....	25
Esquema 12 – Formação da ligação 1,2-Trans-glicosidação pela participação do grupo vizinho.	26
Esquema 13 - Participação do grupo vizinho proposta por Shotakovski para explicar a não formação do anômero β	26
Esquema 14 - Participação do grupo vizinho proposta por Ferrier e Prasad para justificar a não formação do anômero β	27
Esquema 15 - Participação do grupo vizinho proposta pelo grupo de Srivastava para também justificar a não formação do anômero β	27
Esquema 16 - Energia de formação dos prováveis intermediários da reação de glicosidação.....	27

Esquema 17 - Impedimento estérico causado pelo grupo ligado ao carbono C-6 do anel piranosídico.	28
Esquema 18 - Composto que podem ser obtidos a partir dos glicosídeos 2,3-insaturados.....	29
Esquema 19 - Reação de reação do indol mediada por ultrassom.....	30
Esquema 20 - Síntese de 1,2,4-oxadoazóis mediada por ultrassom.	31
Esquema 21 - Reação de hidrólise de éster utilizando irradiação de ultrassom.	31
Esquema 22 - Produção de quinona dimetídeo utilizando irradiação de ultrassom.	31
Esquema 23 - Uso de ultrassom em reações de proteção em carboidratos.	32
Esquema 24 - Uma série de compostos que apresentaram atividade anti-inflamatória.	34
Esquema 25 - Preparação de 1,2,3-triazóis a partir de glicosídeos que contém alcinos terminais e azidas de açúcar.	35
Esquema 26 - Síntese de novos triazóis obtidos a partir da D-glicose, realizada em um mesmo recipiente.	35
Esquema 27 - Síntese de 1,2,3-triazóis derivados da sacarose promovida por energia de micro-ondas industrial.....	36
Esquema 28 - Síntese one-pote de uma nova série de Triazóis a partir de glicosídeos de alcinos terminais.....	36
Esquema 29 - Síntese de glico-conjugados pela química click seguido por hidrólise alcalina.	37
Esquema 30 - Proposta sintética do tri- <i>O</i> -acetil- <i>D</i> -glucal.....	51
Esquema 31 - síntese do glicosídeo 2,3-insaturado 3a sob agitação.	55
Esquema 32 - Reação de glicosidação realizada em ultrassom utilizando ácido <i>p</i> -toluenossulfônico catalisador da reação.....	56
Esquema 33 - Mecanismo proposto para a síntese de <i>O</i> -glicosídeos via ultrassom.	60
Esquema 34 - Reação de glicosidação utilizando K-10 como catalisador.	61

Esquema 35 – Reação de hidrólise básica.	62
Esquema 36 - Reação de oxidação alílica.	63
Esquema 37 - Reação de adição 1,4 de Michael de azida.	64
Esquema 38 - Reação de Redução.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Possíveis catalisadores para a promoção do Rearranjo de Ferrier	54
Tabela 2 - Influência quantidade do TsOH na síntese do O-glicosídeo 2,3-insaturado 3a	55
Tabela 3 - Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados 2 a-n promovida por TsOH.....	57
Tabela 4 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.	67
Tabela 5 - Concentração inibitória em 50% (CI ₅₀ %) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/ml.....	69
Tabela 6 - Concentração inibitória em 50% (CI ₅₀ %) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/mL.	69
Tabela 7 - Concentração inibitória em 50% (CI ₅₀ %) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/mL.	70
Tabela 8 – Concentração inibitória em 50% (CI ₅₀ %) de duas amostras frente a três linhagens tumorais com dose única de 25 µg/ml.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alguns carboidratos com atividades biológicas.....	16
Figura 2 – Representação de alguns fatores que podem influenciar na síntese de glicosídeos.....	23
Figura 3 – Representação das interações 1,3-diaxiais.	24
Figura 4 – Representação dos orbitais anti-ligantes da alglicona na axial e na equatorial.	24
Figura 5 – Orbitais envolvidos no efeito exo- e endo-anomérico em anéis piranosídeos.	24
Figura 6 – Interação de elétrons não ligante (A) e influencia do momento dipolar (B e C) no anômero α e β	25
Figura 7 - Primeira síntese de O-glicosídeos proposta por Fischer.....	29
Figura 8 - O-glicosídeos que apresenta atividade biológica contra diabetes tipo 2.	33
Figura 9 - Espectro de IV do tri-O-acetil-D-glicol em pastilha de KBr.....	52
Figura 10 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do tri-O-acetil-D-glicol.....	53
Figura 11 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do tri-O-acetil-D-glucal.	53
Figura 12 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 3a, o ciclopentil 4,6-di-O-acetil-2,3dideoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo.....	59
Figura 14 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 8a	65
Figura 16 – Estrutura química dos compostos enviados para teste de atividade citotóxica.	66
Figura 17 - Ordem crescente de taxa de inibição presentes nos azidos-glicosídeos frente a células <i>NCL-H292</i>	67
Figura 18 – Estruturas químicas de compostos isolados de plantas e organismos marinhos que apresentam atividade biológica.	68

1. INTRODUÇÃO

Novas moléculas derivadas de carboidratos têm sido investigadas e utilizadas extensivamente, pelo fato de serem precursoras de diversas drogas biologicamente ativas¹. Algumas estruturas de compostos que apresentam essa atividade estão representadas na figura 1. O composto (I) apresenta atividade imunoestimuladora², o composto (II) apresenta atividade antitumoral *in vitro* em relação à leucemia humana (HL 60)³, a estrutura (III) tem atividade antibacteriana frente à bactéria *Streptococcus sobrinus*⁴.

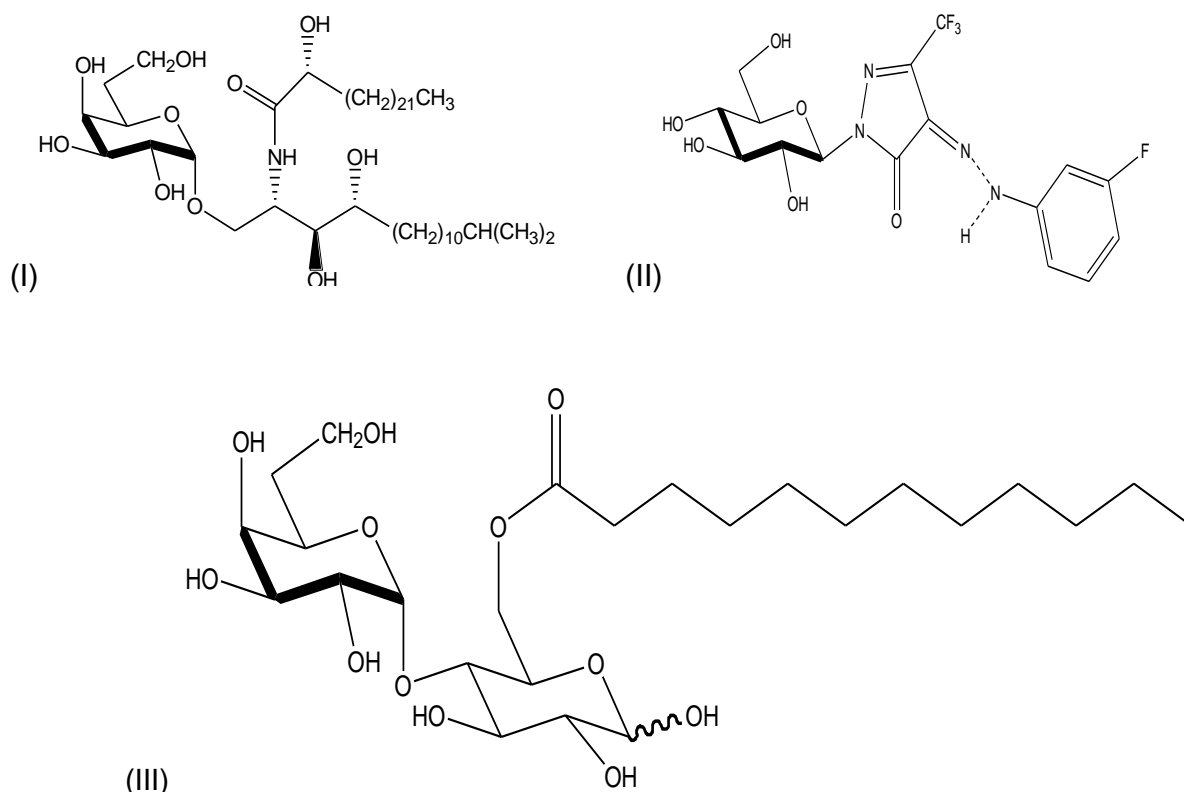


Figura 1 – Alguns carboidratos com atividades biológicas

¹ Nogueira, C.M.; Parmanhan, B. R.; Farias, P. P.; Corrêa, A. G.; *Revista Virtual de Química*(2009), 1 (2), 149-159.

²Yang, G.; Scheming, J. ; Tsuji, M.; Frank, R. W.; *Angew. Chem. Int. Ed.* (2004) , 43, 3818.

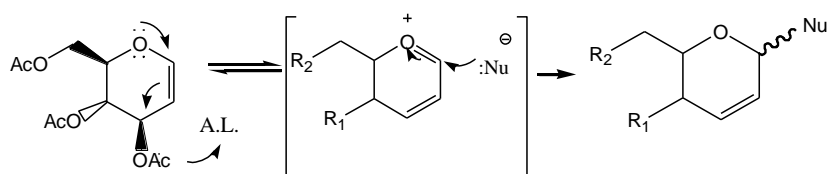
³Bergman, A.M.; Kuiper, C. M.; Voorn, D. A.; Comijin, E. M.; Myhern, F.; Sandvold, M.L.; Hendriks, H. R.; Peters, G. J. *Biochem . Pharmacol.* (2004), 67,503.

⁴Devulapalle, K. S.; Segura, A. G.; Ferrer, M.; Alcalde, G. M.; Plou, F. J. *Carbohyd. Res.* (2004), 339, 1029.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os carboidratos sintéticos insaturados constituem uma das categorias mais versáteis e importantes do grupo dos hidratos de carbono disponíveis para uso na síntese de novos carboidratos⁵.

Os glicosídeos 2,3 insaturados são obtidos pela reação de glicosidação de açúcares 1,2-insaturados com diversos nucleófilos como álcoois, tióis, aminas e etc., na presença de um catalisador ácido. A utilização de um ácido de Lewis é indispensável para que ocorra esta reação, porque ele atua complexando ao par eletrônico do bom grupo de saída, o grupo acetil ligado ao carbono C-3 do tri-O-acetil-D-glucal promovendo a migração da dupla ligação do carbono C-1 do carboidrato para o carbono C-2 formando assim os glicosídeos 2,3-insaturados. Esse rearranjo da dupla ligação é conhecido como rearranjo alílico ou rearranjo de Ferrier.



A.L.= ácido de Lewis

Esquema 1– Mecanismo para a reação de glicosidação

Uma ampla gama de catalisadores e de métodos tem sido utilizados na síntese de glicosídeos visando reduzir o tempo reacional, aumentar a estereosseletividade de formação do anômero α , diminuir a utilização de solventes, promovendo reações que atendam aos princípios da química verde, e também aumentar o rendimento da reação.

Diversos ácidos de Lewis relatados na literatura são $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ⁶, FeCl_3 ⁷, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ⁸, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ⁹, InCl_3 ¹⁰, BiCl_3 ¹¹, CeCl_3 ¹², ZnCl_2 ¹³, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ ¹⁴, ZrCl_4 ¹⁵, $\text{K}_5\text{CoW}_{12}\text{O}_{40} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ¹⁶, $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ ¹⁷, $\text{Er}(\text{OTf})_3$ ¹⁸, $\text{Yb}(\text{Oft})_3$ ¹⁹, TiCl_4 ²⁰, AuCl_3 ²¹, $\text{HBF}_4 \cdot \text{SO}_2$ ²².

⁵ Xavier, M. N.; Rauter, P. A.; *Carbohydrate Research* (2008)

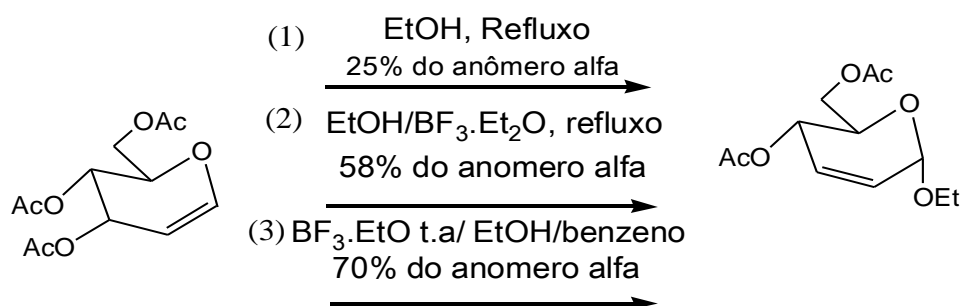
⁶Ferrier, R. J.; Prasad, N. J.; *J. Chem. Soc.*(1969)

⁷Tilver, R. D.; Alexandre, M. V.; Khandekar, A. C.; Samant, S. D.; Kanetkar, V. R. *J. Mol. Cat.; A. Chem.*(2004)

⁸Zhang, G.; Liu, Q.; Shi, L.; Wang, J. *Tetrahedron* (2008)

⁹Swamy, N. R.; Venkateswarlu, Y.; *Synthesis* (2002)

Ferrier et al.²³ em 1969, observaram que a reação catalisada por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ entre o tri-*O*-acetil-D-glucal com diversos alcoóis levava a formação de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados. Nesse mesmo estudo eles verificaram sistematicamente uma série de parâmetros visando aumentar a velocidade, o rendimento e a estereosseletividade da reação, no intuito de aumentar a formação do anomero α . Os parâmetros observados foram o efeito de solvente, o efeito da temperatura e do catalisador. Com isso verificaram a estereosseletividade envolvida na formação dos anomeros α e β , a variação no rendimento e na formação dos anomeros α e β podem ser visto no esquema 2.



Esquema 2 – Aperfeiçoamento da reação Ferrier em favor do anomero α .

¹⁰Babu, B. S.; Balasubramanian, K. K. *Tetrahedron Lett.* (2000)

¹¹Bettadaiah, B. K.; Srinivas, P. *Tetrahedron Lett.* (2003).

¹²Kim, H.; Men, H.; Lee, C.; *J. Am. Chem. Soc.* (2004).

¹³Swamy, N. R.; Srinivasulu, M.; Reddy, T. S.; Goud, T. V.; Venkateswarlu, Y.; *J. Carbohydr. Chem.* (2004).

¹⁴Rafiee, E.; Tangestaninejad, S.; Habibi, M. H.; Mirkhani, V.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2004).

¹⁵Babu, J. L.; Khare, A.; Vankar, Y. D. *Molecules* (2005); (k) Naik, P. U.; Nara, J. S.; Harjani, J. R.; Salunkhe, M. M.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* (2005).

¹⁶Naik, P. U.; Nara, J. S.; Harjani, J. R.; Salunkhe, M. M.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* (2005).

¹⁷Procopio, A.; Dalposso, R.; De Nino, A.; Nardi, M.; Oliverio, M.; Russo, B.; *Synthesis* (2006).

¹⁸Procopio, A.; Dalposso, R.; Nino, A. D.; Maiuolo, L.; Nardi, M.; Oliverio, M.; Russo, B.; *Carbohydr. Res.* (2007).

¹⁹Zhang, G.; Shi, L.; Liu, Q.; Wang, J.; Li, L.; Liu, X.; *Tetrahedron* (2007).

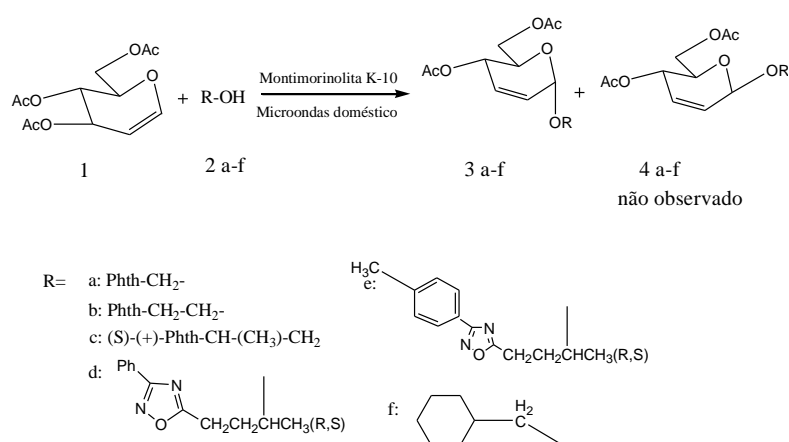
²⁰Tayama, E.; Otoyama, S.; Isaka, W.; *Chem. Commun.* (2008).

²¹Baramulugan, R.; Kopollu, S. R.; *Tetrahedron* (2009).

²²Rodriguez, O. M.; Colinas, P. A.; Bravo, R. D.; *Synlett* (2009).

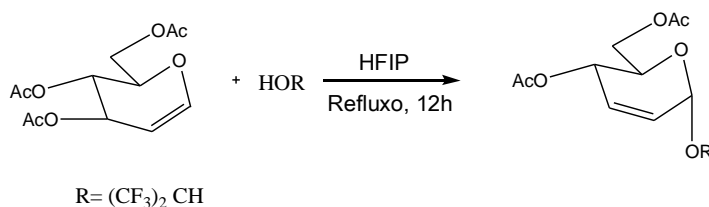
²³

Oliveira et al (2002) realizaram a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados a partir do tri-*O*-acetil-*D*-glucal (1), via rearranjo de Ferrier com diferentes álcoois como por exemplo 1,2,4-oxadiazol-5-ilo e alguns outros álcoois como aglicona, Neste procedimento eles utilizaram a irradiação do micro-ondas doméstico em condições livre de solvente, utilizando Montmorilolita K-10 como catalisador da reação. O K-10 é uma argila ácida que atua como ácido de Lewis na reação de glicosidação. De modo geral esta reação em micro-ondas é limpa porque não utiliza solvente, obtendo produto da síntese com rendimentos de 71 a 87%, em um curto tempo reacional²⁴.



Esquema 3– Síntese de *O*-glicosídeos utilizando micro-ondas doméstico.

Em 2008 Legros e Delpon conseguiram obter *O*-glicosídeos pelo rearranjo de Ferrier do 2,3,6-tri-*O*-acetil-*D*-glucal, a promoção dessa reação pela utilização de solventes fluorados como 1,1,1,3,3,3-hexafluor-2-propanol (HFIP) que atuou Também como catalisador na síntese de diferentes *O*-glicosídeos 2,3 insaturados com álcoois com rendimento que variam de bons a excelentes²⁵.

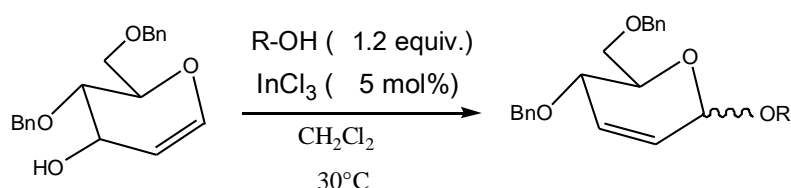


Esquema 4 - Síntese de *O*-glicosídeo catalisada por álcoois fluorados.

²⁴Oliveira, N. R.; Filho, J. R. F.; Srivastava, R. M.; *Tetrahedron Letters* (2002).

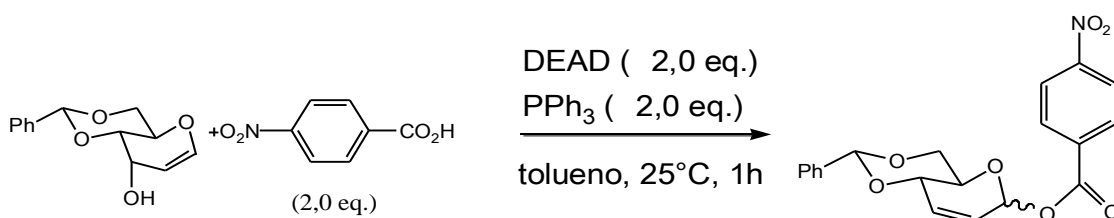
²⁵De, K.; Legros, J.; Crousse, B.; Delpont, D. B.; *Tetrahedron* (2008).

Nagaraj e Ramesh (2009) realizaram a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados de modo eficiente, com rendimentos de bons a excelentes com percentuais variando de 62 a 98%. As reações foram realizadas à temperatura ambiente, os glicosídeos 2,3-insaturados foram obtidos de modo estereo-seletivo em favor do anômero α a partir do 4,6-di-*O*-benzil-*D*-glucal e do 4,6-di-*O*-benzil-*D*-galactal via rearranjo de Ferrier, utilizando como promotor dessa reação o InCl_3 anidro. Essa reação se mostrou eficiente mesmo não existindo um bom grupo de saída no C-3 do açúcar, e eficiente na reação de glicosidação de diversos álcoois, fenóis e vários nucleófilos de açúcar²⁶.



Esquema 5 – Rearranjo de Ferrier do 4,6-di-*O*-benzil-*D*-glucal catalisado por InCl_3 .

Em 2011 foi divulgado por Michigami e Hayashi (2011) a síntese de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados utilizando as condições de Mitsunobu, eles utilizam o 4,6-benzilideno-*D*-alal como substrato e o ácido *p*-nitrobenzóico na presença de di-2-metoxiexil azodicarboxilato (DMEAD) em PPh_3 . Também foram testados a influência de dois solventes no rendimento da reação o tetrahydrofurano (THF) e tolueno, nessas condições os produtos foram obtidos com rendimentos elevados e com moderada estereosseletividade em favor do anômero α e tiveram tempo de reação de 1 a 24h. Sob estas condições o rearranjo alílico da dupla do carbono C-1 para o carbono C-2 ocorreu mesmo não existindo um bom grupo de saída no carbono C-3 do açúcar 1,2-insaturado²⁷.



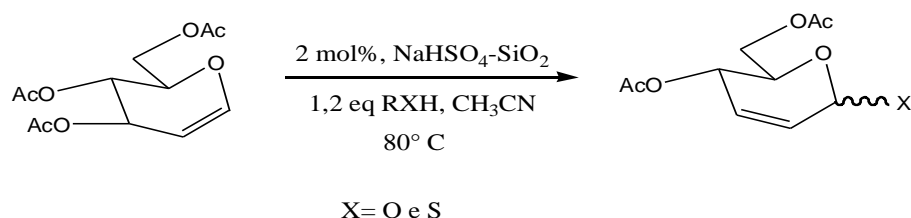
Esquema 6– Reação de glicosidação usando os reagentes de Mitsunobu.

²⁶ Nagaraj, P.; Ramesh, N.; *Tetrahedron Letters* (2009).

²⁷ Michigami, K.; Hayashi, M.; *Tetrahedron* (2011).

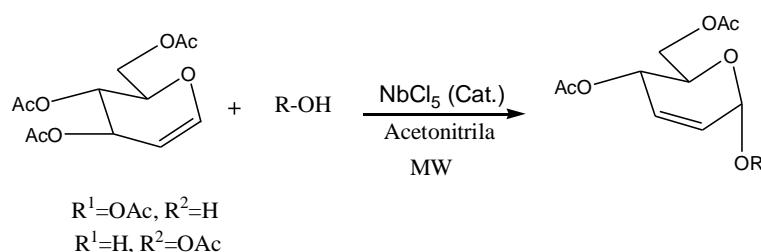
Também em 2011, Kinfe et al (2011) realizaram a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados a partir do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glicol com diversos álcoois impedidos e não impedidos estericamente utilizando NaHSO₄ suportada em sílica gel como catalisador da reação, a reação apresentou alta seletividade anomérica em favor do anômero α, com rendimentos de bons a excelentes em curto intervalo de tempo, na faixa de minutos.

A utilização NaHSO₄ suportada em sílica gel foi estudada porque tanto o NaHSO₄ e SiO₂ apresentar a capacidade de atuar como promotores do rearranjo de Ferrier de modo isolado esse grupo de pesquisa resolveu desenvolver uma nova metodologia na síntese de glicais utilizando os dois promotores em conjunto visando melhorar os rendimento e diminuir o tempo de reação.²⁸.



Esquema 7– Rearranjo de Ferrier catalisado por NaHSO₄-SiO₂.

Recentemente, Hotha e Tripathi (2012) realizaram a síntese de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados a partir do tri-*O*-acetil-D-glucal utilizando porcentagens catalíticas de NbCl₅, com curtos tempos de reação, sob irradiação de micro-ondas, com rendimentos de bons a excelentes. Nessas sínteses foram utilizados álcoois primários, alílico, benzílicos e álcoois de monossacarídeos²⁹.

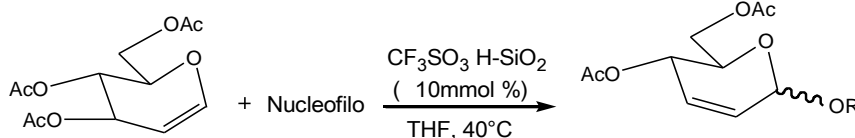


Esquema 8– Síntese de 2,3-dideoxy glicopiranosídeos usando NbCl₅ como ácido de Lewis.

²⁸Kinf, H. H.; Mebrathu, M. F.; Sithole, K. *Carbohydrate Research* (2011).

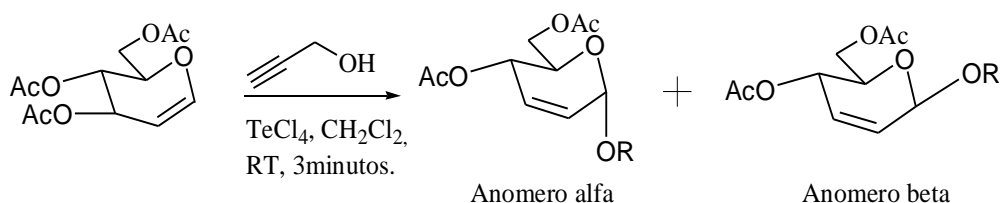
²⁹Hotha, S.; Tripathi, A.; *Tetrahedron Letters* (2005).

Recentemente Chen e Wang (2012) relataram um novo método eficiente no qual utilizaram o ácido trifílico suportada em sílica gel para transformar o 2,4,6-tri-O-acetil-D-glucal em glicosídeos 2,3-insaturados com bons rendimentos que variam de 67 a 90%, e baixo tempo de reação para diversos alcoóis, e elevada estereoseletividade anomérica sob condições livres de metal de transição³⁰.



Esquema 9– Rearranjo de Ferrier catalisado por $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H-SiO}_2$.

Também em 2012, Menezes et al realizaram a glicosidação do 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal com diversos álcoois simples como alílicos, homoalílicos e benzílicos para obter glicosídeos 2,3-insaturados, utilizando como promotor dessa reação o tetracloreto de telúrio (IV) que atuou como ácido de Lewis. Os compostos foram obtidos com bons rendimentos e com boa seletividade anomérica para o anômero α tanto para álcoois impedidos estericamente como para não impedidos e com um tempo de reação curto utilizando 2 mmol% do catalisador³¹.



Esquema 10 – Síntese de pseudoglicais utilizando TeCl_4 .

2.1 Fatores que influenciam na síntese de glicosídeos 2,3-insaturados

Em primeiro lugar, na síntese de carboidratos é muito difícil realizar reações regioseletivas, em uma posição particular do açúcar. Outro grande problema também está relacionado com relação as reações de glicosidação, porque essa reação pode produzir dois anômeros, o anômero α e o anômero β . Logo, conseguir obter o composto desejado em bons rendimentos e com boa estereosseletividade continua sendo um dos desafios mais importantes na química dos carboidratos.

³⁰ Chen, P.; Wang, S.; *Tetrahedron* (2012).

³¹ Freitas, J. C. R. F.; Tulio, R. C.; Antônio, A. S. P.; Filho, J. R. F.; Ivani, M.; Roberta, A. O.; Paulo, H. M.; *Tetrahedron*, (2012).

No entanto, na última década, a síntese de carboidratos tem alcançado um grande progresso no número de publicações que visam obter compostos biologicamente ativos, com o menor número de etapas sintéticas possíveis. O conhecimento sobre reações regioseletivas e reações proteção de grupos, têm sido desenvolvidos para diferenciar um grupo hidroxílico de todos os outros da unidade do açúcar³².

Diversos são os fatores que podem influenciar, a região e estereosseletividade, na reação do rearranjo de Ferrier, dentre os quais iremos destacar alguns como os que podem ser observados na figura 2 : I) tipos de nucleófilos, II) assistência do grupo vizinho, III) efeito anomérico, IV) e impedimento estérico do carbono C-6³³.

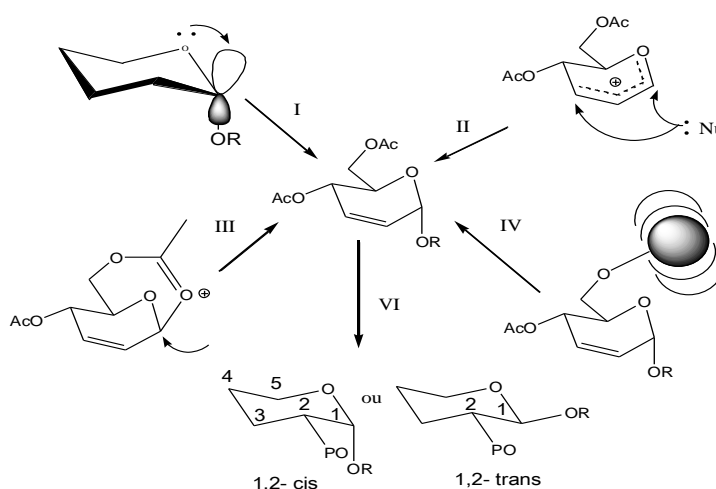


Figura 2– Representação de alguns fatores que podem influenciar na síntese de glicosídeos.

2.1.1 Efeito anomérico

Há relatos na literatura que salientam que a substituição de um hidrogênio do ciclo-hexano por um grupo volumoso, é termodinamicamente favorecida, quando esses substituintes estão na posição equatorial. Esse efeito pode ser explicado devido as interações 1,3-di-axiais, que causam um grande impedimento estérico aos substituintes na posição axial do ciclo-hexano, isso é o principal fator que leva à menor formação desses compostos³⁴.

³²Zhongwu, G.; *Carbohydrate Chemistry Biology and Medicinal Applications* (2008).

³³Demchemko V. A.; *Department of Chemistry Missouri USA* (2003).

³⁴ Da Silva, O. C.; *Revista Virtual de Química* (2011).

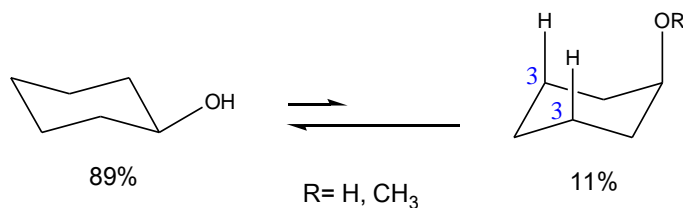


Figura 3 – Representação das interações 1,3-diaxiais.

Históricamente o efeito anomérico foi considerado inicialmente como o efeito eletrostático que desestabiliza a orientação do anômero presente na posição equatorial que contém substituintes eletronegativos no átomo de carbono C-1 e se apresentam ligados à posição axial em maior abundância que aquela esperada, se for utilizado uma analogia com derivados do ciclo-hexano³⁵.

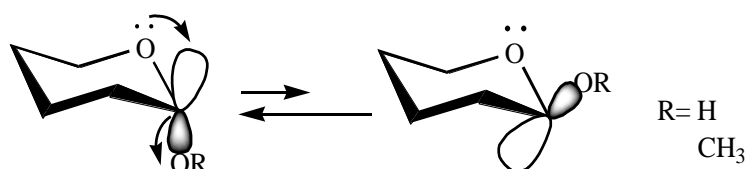


Figura 4 – Representação dos orbitais anti-ligantes da alglicona na axial e na equatorial.

Mais recentemente, também foi relatado por Mayato et al. (2012) que existem dois tipos de efeito anomérico: o endo- e o exo-anomérico, como observado na figura 5. O anômero alfa é favorecido devido a maior interação entre a nuvem eletrônica do oxigênio do anel e também o oxigênio da aglicona, além de apresentar contribuições simultâneas do efeito endo e exo quando comparado com confôrmero β ³⁶.

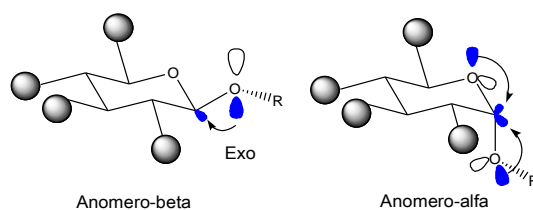


Figura 5 – Orbitais envolvidos no efeito exo- e endo-anomérico em anéis piranosídeos.

Além disso quando a aglicona está na posição β , ocorre um impedimento esteroeletônico entre os pares de elétrons do oxigênio do anel piranosídeo com os pares de elétrons dos átomos da aglicona como mostrado na figura 6.

³⁵ Lemieux, R. U., *PureAppl.Chem.*(1971).

³⁶Mayato, C.; Rosa, L. D.; José, M.P.; Jésus, T. V.; *Carbohydrates Research* (2012).

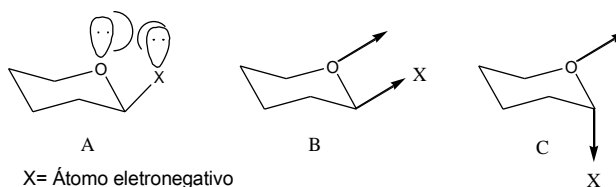
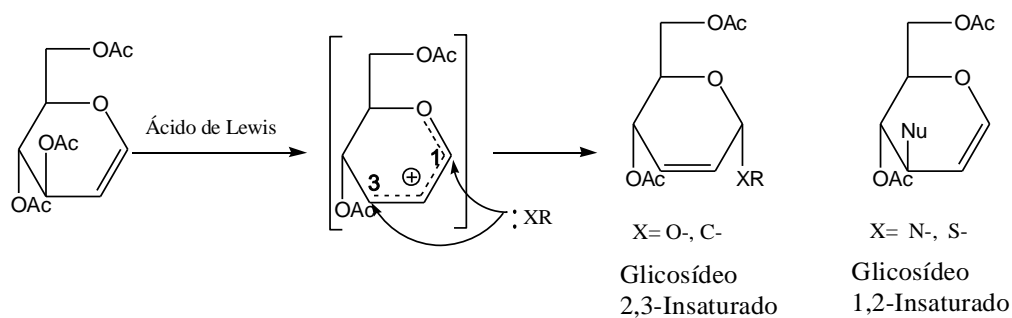


Figura 6– Interação de elétrons não ligante (A) e influencia do momento dipolar (B e C) no anômero α e β .

2.1.2 Tipos de nucleófilos

Segundo Freitas³⁷, os aspectos regioquímicos acerca do rearranjo alílico, têm suas bases teóricas apoiadas nos princípios de ácido-base duro-mole de Pearson. Neste sentido Oliveria³⁸, verificou através de cálculos teóricos que as cargas atômicas dos carbonos C-1, C-2 e C-3 são respectivamente 0,7, 0,0 e 0,29 indicando que o carbono C-1, como esperado, é mais duro que o C-3. Isso explica o fato que na presença de nucleófilos duro de Pearson, como os de ROH, que ocorre a formação de glicosídeos 2,3-insaturados, devido a maior interação eletrostática entre espécies dura-dura, do que dura-mole como seria no caso do ataque do ROH ao C-3 do açúcar³⁹.



Esquema 11 – Ataque no nucleófilos no cátion formando os glicosídeos 1,2- e 2,3-insaturado.

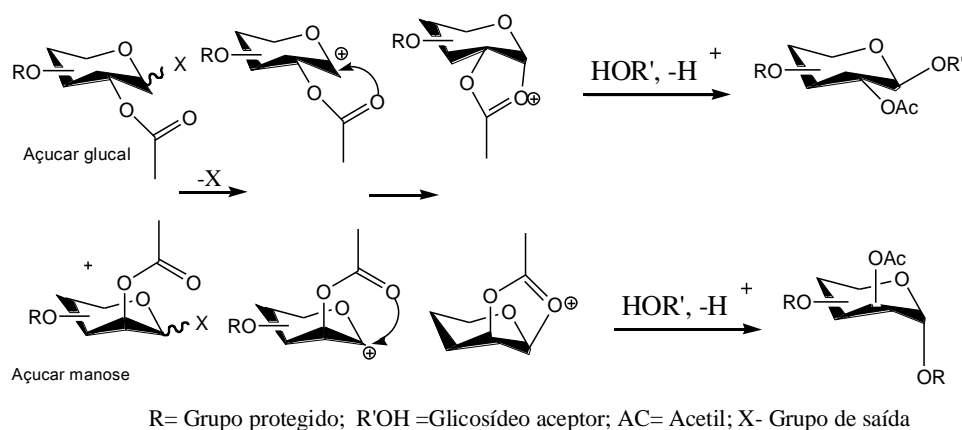
³⁷Freitas, J. C. R.; Dissertação de mestrado, UFPE (2010).

³⁸de Oliveira, N., R.; Tese de doutorado UFPE(2006).

³⁹Mukherjee, A.; Jayaraman, N.; *Carbohydrates Research* (2011).

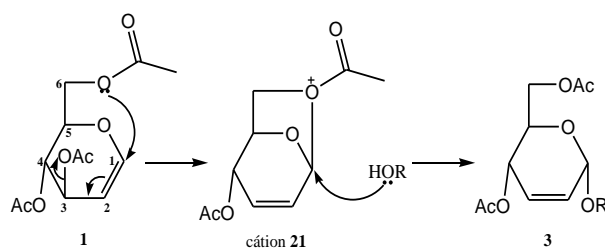
2.1.3 Assistência do grupo vizinho

Sob certas condições, a reação de glicosidação pode ser altamente estéreo-seletiva, formando apenas um anômero do glicosídeo. É relativamente fácil conseguir compostos com a ligação 1,2-trans glicosídica para os açúcares glicopiranosídeo e manopiranosídeo, Como está exibido no esquema 12. A presença de um grupo acilo, tal como o acetilo ou um benzoilo no carbono 2, pode garantir a estereosseletividade da ligação 1,2-trans-glicosídica. Isso deve-se a participação destes grupos acetilo vizinho nestas reações de glicosidação, que forma um intermediário, o cátion dioxolanilium, que só permite o ataque do nucleófilo a partir do lado oposto do anel dioxolanilium, formando exclusivamente 1,2-trans-glicosídeo.

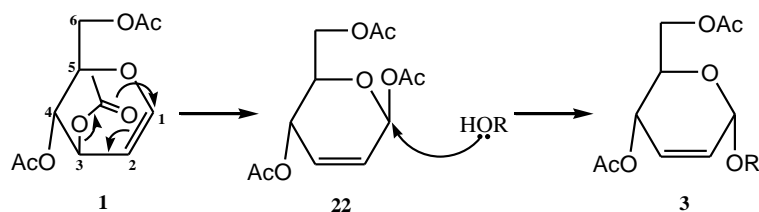


Esquema 12 – Formação da ligação 1,2-Trans-glicosidação pela participação do grupo vizinho.

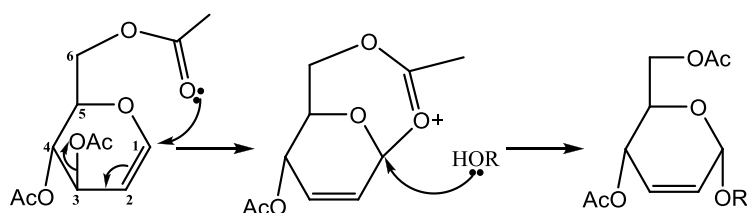
Em contraste a reação 1,2-cis-glicosidação é muito mais difícil de ocorrer. Sob certas condições, a estereosseletividade da reação de glicosidação é geralmente dominada pelo efeito anomérico, formando o produto 1,2-trans glicosídeo com alta estereosseletividade. Existem diversos relatos na literatura da participação do grupo vizinho na síntese de glicosídeos 2,3 insaturados, e há também uma discussão a respeito do tamanho de um novo anel que é formado pela assistência do grupo vizinho.



Esquema 13 - Participação do grupo vizinho proposta por Shotkovski para explicar a não formação do anômero β .



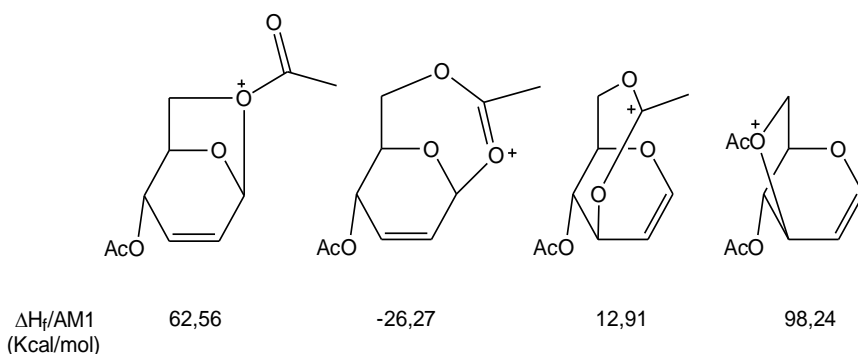
Esquema 14 - Participação do grupo vizinho proposta por Ferrier e Prasad para justificar a não formação do anômero β .



Esquema 15 - Participação do grupo vizinho proposta pelo grupo de Srivastava para também justificar a não formação do anômero β .

Para esclarecer a formação exclusiva do anômero α , Oliveira³⁸ assumiu que o ataque do álcool no íon oxocarbânio ocorre pela face inferior da molécula obtendo o anômero α , e esse anômero formado é estabilizado pelo efeito anomérico.

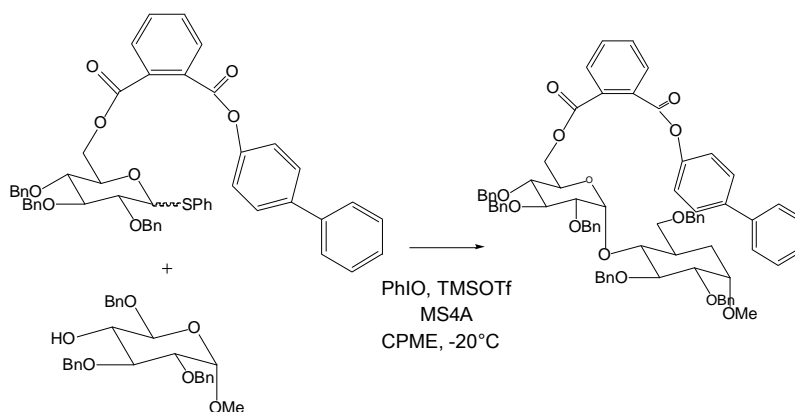
Este grupo de pesquisa considerou as várias possibilidades de anéis formados pela assistência do grupo vizinho mostradas no esquema 16, utilizando cálculos teóricos de orbitais AM1. Assim, ficou constatado que o intermediário que formado com um anel de 7 membros com carga positiva no oxigênio da carbonila do grupo acetoxi, forneceu o menor valor energético para a entalpia de formação do intermediário (-26,27), mostrando que este, é relativamente mais estável.



Esquema 16- Energia de formação dos prováveis intermediários da reação de glicosidação.

2.1.3 Impedimento estérico do carbono C-6

A formação estereosseletividade 1,2 cis-glicosídeos é geralmente uma questão bem complicada, pois vários fatores influenciam nesta seletividade. Nesse sentido, em 2004 Tokimoto e colaboradores constataram que grupos de proteção volumosos na síntese de 1,2 cis- α -D-glicosídeos⁴⁰ proporcionam um estereo-controle da reação. Nesse trabalho diversos grupos de proteção foram utilizados, e o que apresentou melhor seletividade na formação de α -glicosídeos foi utilizado um novo éster derivado de bifenilmetanol, por esse grupo ser muito volumoso protege a face superior do anel piranosídeo, favorece o ataque da aglicona pela frente formando exclusivamente o anômero α . Os glicosídeos foram obtidos com rendimento satisfatórios e com alta seletividade em favor do anômero α .



Esquema 17 - Impedimento estérico causado pelo grupo ligado ao carbono C-6 do anel piranosídico.

2.2 Reação de Fischer

Uma das etapas mais empregadas para modificações estruturais nos carboidratos é a reação de glicosidação. O método pioneiro foi desenvolvido por Fischer em 1969. A D-glicose foi utilizada como composto de partida para a síntese dos primeiros glicosídeos sintéticos, ele demonstrou as propriedades únicas da função hemiacetal pela reação de condensação catalisada por ácido clorídrico, com metanol, para fornecer o correspondente metil glicosídeo.

⁴⁰Tokimoto, H.; Fujimoto, Y.; Fukase, K.; Kusumoto, S.; *Tetrahedron Asymmetry* (2004).

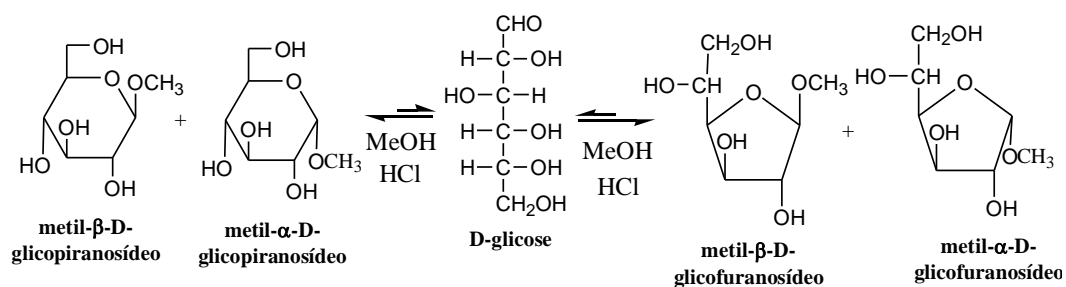
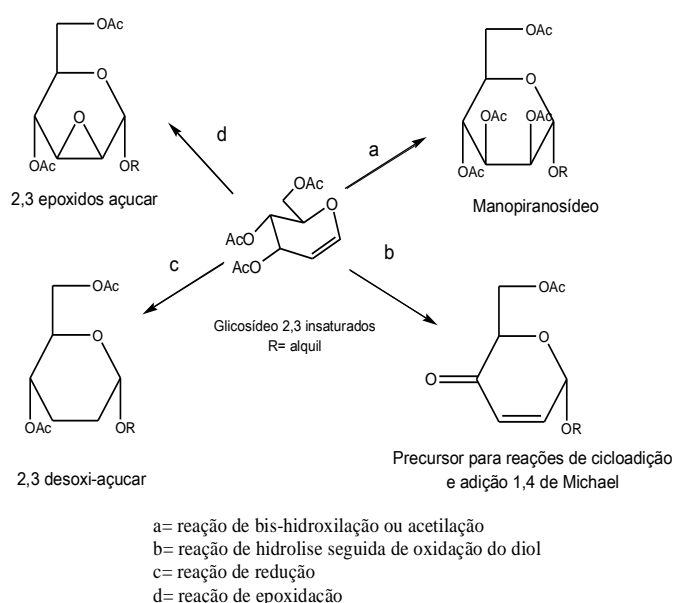


Figura 7 - Primeira síntese de O-glicosídeos proposta por Fischer.

Novos métodos surgiram ao longo dos anos, procurando-se obter melhores rendimentos e um controle estereoquímico dessa reação. Dentre eles, destacam-se o rearranjo alílico de glicais, catalisada por ácido de Lewis, na presença de diferentes nucleófilos para obtenção de glicosídeos 2,3 insaturados. Esse método que é conhecido como rearranjo de Ferrier^{6,41}. Esses compostos são extremamente importantes na síntese de carboidratos, pois são intermediários versáteis porque a partir deles podemos obter diversos derivados de açúcares, alguns compostos obtidos pela modificação estrutural desses composto por meio das reações de epoxidação, oxidação, redução e *bis*-hidroxilação como pode ser visto no esquema18³⁸.



Esquema 18 - Composto que podem ser obtidos a partir dos glicosídeos 2,3-insaturados.

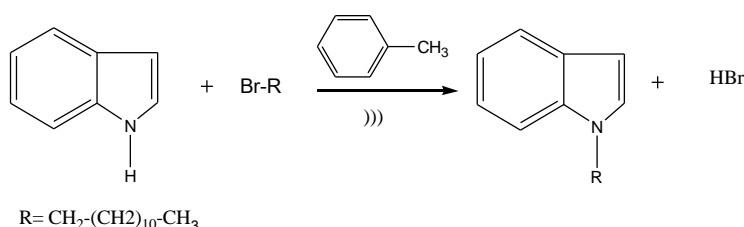
⁴¹Barros, C. J. P. *Dissertação de Mestrado*, UFRPE; (2012).

2.3 Utilização da irradiação do ultrassom na síntese orgânica

A descoberta da ultrassom ocorreu em 1880 devido aos estudos de Currie quando ele estudava o efeito Piezoelétrico. Desde a sua descoberta ocorreu um grande avanço no seu estudo e na sua utilização, hoje diversas indústrias a utilizam em vários processos químicos na produção de plásticos, de materias de limpeza, na desgaeseficação de solventes e na identificação de defeitos em materias como fraturas em aglomerados⁴².

Na propagação de ondas ultrassônicas é realizado um movimento periódico que cria ciclos de contração e expansão. Na compressão a pressão é positiva, já durante o processo de expansão a pressão é negativa. Este ciclo é característico do fenômeno de cavitação. A bolha da cavitação cresce em ciclos periódicos de compressão e expansão até atingir um tamanho crítico promovendo uma implosão, liberando grandes quantidades de pressão e calor em pontos localizados no líquido e em curto período de tempo. Estima-se que a temperatura alcançada no interior da cavidade durante a implosão seja de cerca de 5000 °C e a pressão em torno de 500 atm. Algumas vantagens conhecidas do ultrassom em reações químicas é a redução do tempo de reação, aumento do rendimento e a diminuição da utilização de reagentes²².

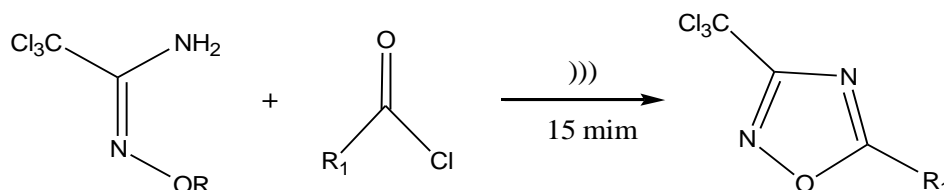
A utilização do ultrassom tem se mostrado bastante eficiente em reações na química orgânica, na reação de substituição do indol que é mostrada no esquema 20 que favorece a interação entre as diferentes fases e a migração do nucleófilo para a fase orgânica, tornando o seu ataque mais fácil. Nesta reação o ultrassom aumentou o rendimento de 19% para 90 %, diminuindo o tempo de reação de 3 horas para 1,3 horas.



Esquema 19 - Reação de reação do indol mediada por ultrassom.

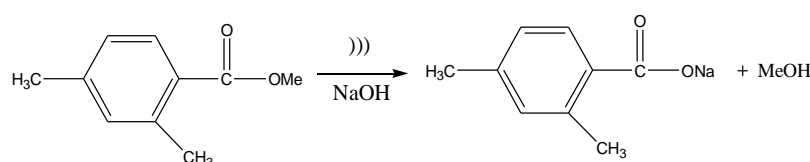
⁴² Martines, U. A. M.; Davolos, R. M.; Júnior, J. M.; *Química Nova* (1999).

Recentemente, Freitag e colaboradores relataram a síntese de 1,2,4-oxadiazóis sob radiação de ultrassom. Neste trabalho, os autores descrevem a síntese de 1,2,4-oxadiazóis e observaram a influência do solvente utilizados para a obtenção desses heterociclos, foram utilizados diversos solventes dentre os quais o que se mostrou mais eficiente para a reação foi o acetato de etila, o composto sintetizado foi obtido com bons rendimentos em um curto intervalo de tempo a partir da tricloroacetamidoxima e cloretos de acila, esquema 20⁴³.



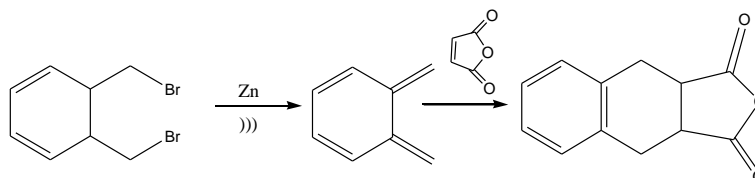
Esquema 20 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis mediada por ultrassom.

A reação de hidrólise de éster mostrada no esquema 21 foi feita sob refluxo, a equação desta reação química, tem rendimento de cerca de 15% depois de 90 minutos, quando o ultrassom foi utilizado, a mesma reação passou a ter um rendimento de 94% em 60 minutos⁴⁴.



Esquema 21 - Reação de hidrólise de éster utilizando irradiação de ultrassom.

Na reação de da produção de quinona dimetildeo o zinco metálico atua como catalisador e ela é favorecida pela utilização de ultrassom que limpa a superfície do zinco, facilitando o transporte dos reagentes na superfície, e provavelmente, a erosão do zinco pode gerar partículas pequenas, esquema 22⁴⁴.



Esquema 22 - Produção de quinona dimetildeo utilizando irradiação de ultrassom.

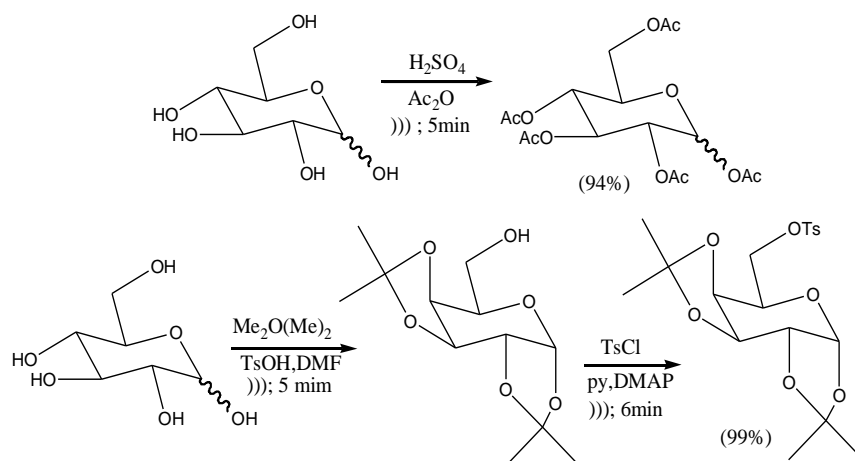
⁴³Bretanha, L. C.; Teixeira, V. E.; Ritter, M.; Siqueira, G. M.; Cunico, W.; Pereira, C. M. P.; Freitag, R. A.; *Ultrason. Sonochem* (2011).

⁴⁴ Davidson, R. S.; *The Royal Society Chemistry; Cambridge*, (1990).

2.3.1 Síntese de carboidratos utilizando energia de ultrassom

A busca por metodologias alternativas e eficientes tem mobilizado a comunidade científica e a utilização de ultrassom tem sido uma poderosa ferramenta na síntese orgânica. Existem diversos relatos na literatura, sobre a utilização de ultrassom na síntese das mais diversas classes de compostos, oxadiazóis, ésteres, em reações de alquilações.

O uso de ultrassom na síntese de carboidratos tem sido pouco relatado na literatura, em partes devido a reações de polimerização e degradação. Recentemente, algumas reações têm se mostrado viáveis, tais como a acetilação, como pode ser observado no esquema 23⁴⁵.



Esquema 23 - Uso de ultrassom em reações de proteção em carboidratos.

2.4 Azido-glicosídeos

Os açúcares são os compostos naturais mais abundantes, que governam uma grande faixa de processos biológicos devido a sua diversidade estrutural e sua biocompatibilidade. Graças a essa sua versatilidade, eles têm sido empregados para a criação de diversos compostos glicoconjugados funcionalizados⁴⁷. Por causa dessas características diversas, os químicos de toda parte do mundo, sintetizam moléculas que contêm glicosídeos em suas estruturas.

⁴⁵ Da Silva, B. G.; *Dissertação de Mestrado*, UFRPE (2011).

Recentemente, Chen et al (2011) relataram a síntese de O-glicosídeos di-substituído por triazóis, esses compostos foram obtidos pela proteção de dois grupos do açúcar, Possibilitando assim a formação de dois compostos, os compostos 2,6 e o 3,4 di-substituídos, pela reação click 1,3 dipolar entre o açúcar que com alcinos terminais e uma azida-cetoéster que também foi sintetizado pelo seu grupo de pesquisa. Esses compostos apresentaram atividade biológica inibidora da proteína PTP1B que atua na produção de insulina, esses compostos sintetizados podem ser visto na figura 8⁴⁶.

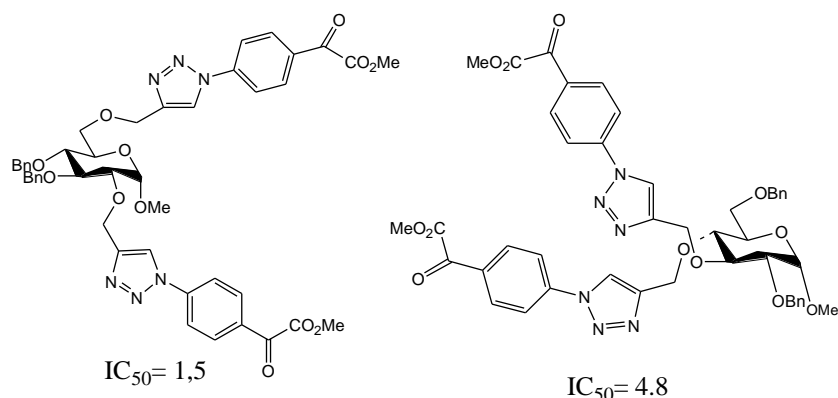
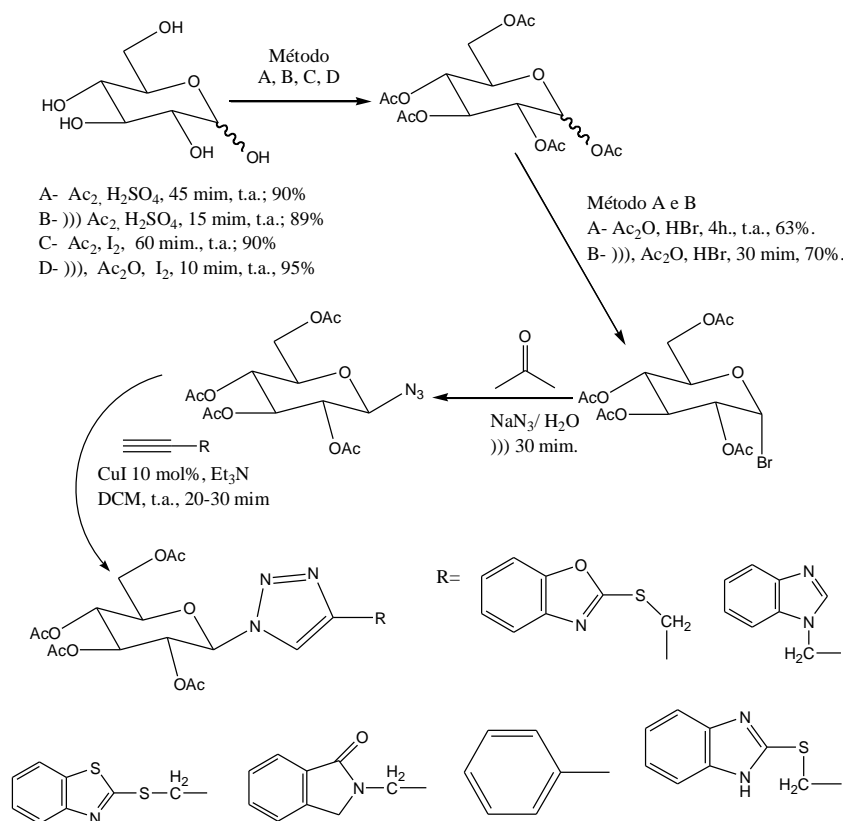


Figura 8 - O-glicosídeos que apresenta atividade biológica contra diabetes tipo 2.

Também em 2011, Silva relatou em sua dissertação de Mestrado, a síntese de uma nova série de β -glicosilpiranose ligadas ao heterociclo 1,2,3 triazólico sob irradiação de ultrassom pela reação. Os compostos dessa série foram obtidos com bons rendimentos, pela reação 1,3 dipolar entre β -glicopiranosil azidas e vários alcinos terminais catalisada por cobre I. O esquema 24 podemos visualizar as etapas dessa síntese bem como os compostos obtidos que apresentaram característica de um potencial fármaco⁴⁵.

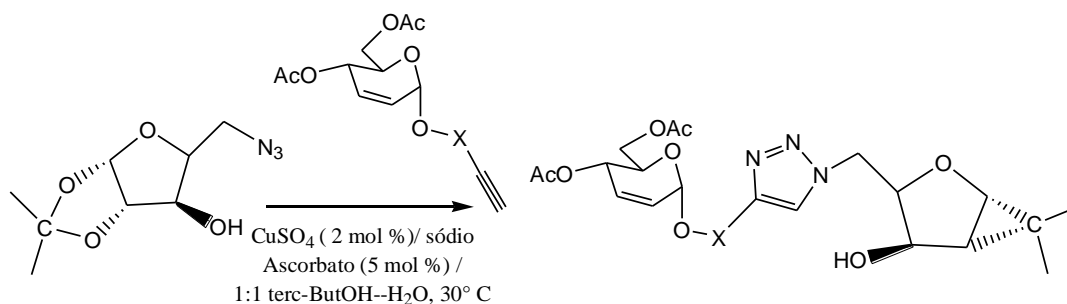
⁴⁶ Song, Z.; He, P.; Jin, P. X.; Gao, X. L.; Sheng, L.; Zhou, Y.; Lia, J.; Chen, R. G.; *Tetrahedron Letters* (2011).



Esquema 24 - Uma série de compostos que apresentaram atividade anti-inflamatória.

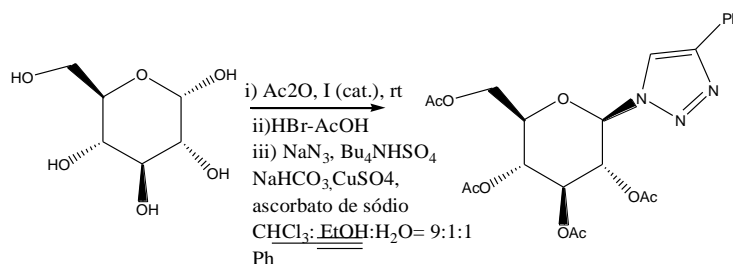
Tripathi et al (2011), realizaram a síntese de uma nova série de glico-híbridos de triazóis a partir de glicosídeos 2,3-insaturados com alcinos terminais na posição C-1 do anel piranosídico, obtidos pelo rearranjo de Ferrier pela metodologia de Toshima, e diferentes azidas de açúcar. Nessas reações de ciclo-adição 1,3-dipolar foi utilizado apenas o anomero α , puro que foi isolado por coluna cromatográfica. Os compostos sintetizados pelo grupo foram testados frente às enzimas α -glicosidase, glicogênio fosforilase e glicose 6-fosfato, a taxa de inibição para a enzima α -glicosidase, do composto mostrado a baixo, foi de 25,9% de inibição para uma concentração de 100 μ mol, e a droga padrão o ascorbato, apresentou 60%. Este é um dado bem relevante, pois a atividade dessas enzimas está relacionada com o desenvolvimento da diabetes, o esquema reacional nos mostra as condições reacionais para a obtenção desses compostos ⁴⁷.

⁴⁷Tripathi, P. R.; Srivastava, K. A.; Pandey, K. S.; Jaiswal, N.; Anand, N.; *Carbohydrate Research* (2001).



Esquema 25 - Preparação de 1,2,3-triazóis a partir de glicosídeos que contém alcinos terminais e azidas de açúcar.

Em 2005, Wang e Chittaboina realizaram a síntese em um único recipiente, de uma série de novos glicoconjugados ligados a 1,2,3-triazóis catalisada por Cu (I) tendo como reação chave a adição 1,3-dipolar. Nessas sínteses a D-glicose desprotegida foi acetilada com anidrido acético com quantidade catalítica de Iodo, em seguida foi feita uma reação de bromação do carbono anomérico, após a reação dos voláteis, foi realizada com azida de sódio, obtendo azido-glicosídeos que posteriormente foram acopladas à diversos alcinos terminais, obtendo esses compostos com bons rendimentos⁴⁸.

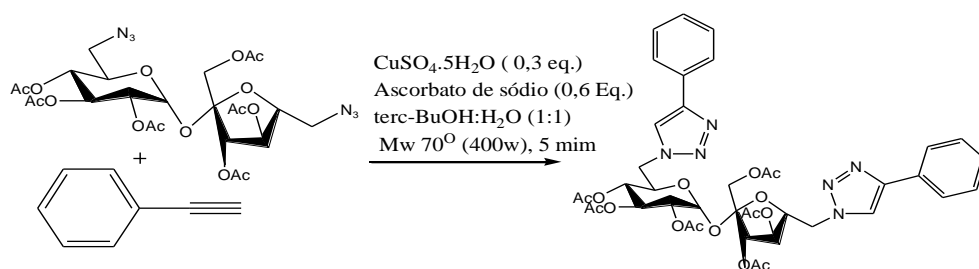


Esquema 26 - Síntese de novos triazóis obtidos a partir da D-glicose, realizada em um mesmo recipiente.

Barros et al (2013) descreveram a síntese de uma série de novos 1,2,3-triazóis, a partir de azidas da sacarose com alcinos terminais pela reação 1,3-dipolar por Cu (I) usando micro-ondas industrial, esses compostos foram obtidos com bons rendimentos, em curto tempo de reação. Um dos compostos obtidos e as condições reacionais, podem ser vistos no esquema 27⁴⁹.

⁴⁸ Wang, Q.; Xie, F.; Chittaboina, S.; *Tetrahedron Letters* (2005).

⁴⁹ Barros, T. M.; Petrova, T. K.; Potewar, M. T.; *Carbohydrate Research* (2013).

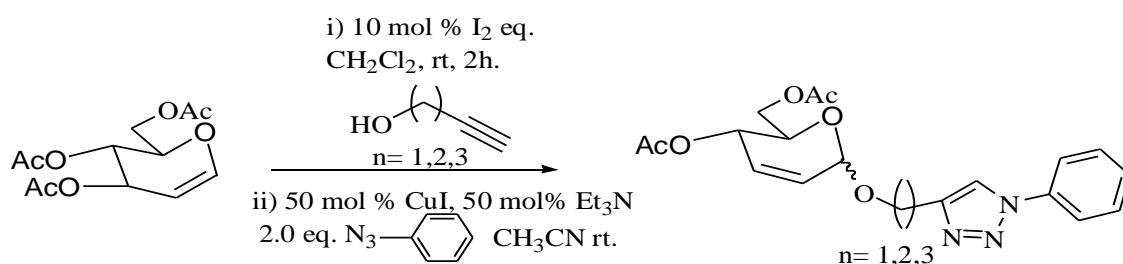


Esquema 27 - Síntese de 1,2,3-triazóis derivados da sacarose promovida por energia de micro-ondas industrial.

Várias tentativas têm sido feitas com a ideia de utilizar a química click para produzir glicosídeos-triazóis biologicamente ativos, esses compostos são preparados geralmente a partir de azido-glicosídeos e alcinos terminais⁵¹.

Recentemente, Saeeng et al (2013) realizaram a síntese one-pote de um série de 30 glicosídeos 2,3-insaturados-triazóis. Os glicosídeos 2,3-insaturados foram obtidos com bons rendimentos e boa seletividade em favor do anômero α , a partir da reação do tri-*O*-acetil-D-glucal que foi dissolvido em CH_2Cl_2 seco. Em seguida, foram adicionados diversos tipos de alcinos terminais. Essa reação foi catalisada por I_2 em pó.

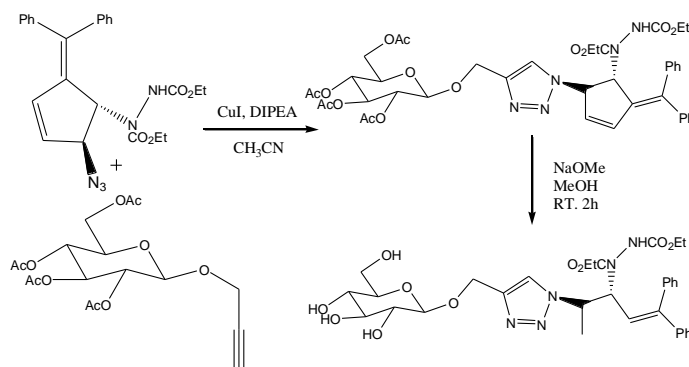
Quando todo o composto de partida foi totalmente consumido, após 2h, os voláteis foram removidos, e o resíduo foi dissolvido em MeCN, Depois seguiu-se a adição de iodeto de cobre (I), Et_3N e diversas azidas, obtendo após duas horas os triazóis acoplados a glicosídeos 2,3-insaturados.⁵⁰



Esquema 28 - Síntese one-pote de uma nova série de Triazóis a partir de glicosídeos de alcinos terminais.

⁵⁰Shaeeng, R.; Sirion, U.; Mangsang, W.; *Carbohydrate Research* (2013).

Radhakrishnan et al (2013) realizaram a síntese de seis novos triazóis que foram obtidos por azidas ciclopenteno com diversos epímeros glicosídeo. O O-glicosídeo foi formado pela reação do 1-azido 2,3,4,6-O-acetil-piranosídico com álcool propargílico catalisada por I_2 , após a obtenção desse composto, foi realizada a reação de 1,3-dipolar obtendo com os bons rendimentos os triazóis acoplados ao carboidrato, após a obtenção desses compostos foi feito uma hidrólise básica, visando obter um composto com presente uma função dupla de aumentar solubilidade no meio celular, e reduzir a toxicidade da molécula. Após a síntese, dessas moléculas, foi feito o teste de inibição contra a enzima α -glicosidase e a α -amilase, e esses compostos apresentaram moderadas taxas de inibição. O esquema reacional para síntese dessas moléculas, e o compostos que apresentou maior taxa de inibição contra a enzima α -glicosidase pode ser visto no esquema 29.⁵¹



Esquema 29 - Síntese de glico-conjugados pela química click seguido por hidrólise alcalina.

⁵¹Radhakrishnan, V. K.; Vineetha, P. V.; Raghu, G. K.; Rani, P. M.; Joseph, N.; Ajish, R. K.; *Tetrahedron Letters* (2013).

2.5 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

O câncer continua sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo, tendo sido a causa de 7,6 milhões de mortes em 2008, o que representa 13% de todas as mortes. As estimativas para o Brasil, válidas para o ano de 2013, apontam para a ocorrência de aproximadamente 518.510 novos casos de câncer. Os tipos mais incidentes são os cânceres de pele não melanoma, próstata, pulmão, mama, colo do útero, cólon e reto, estômago e glândula tireoide. Mesmo com grandes esforços por parte de órgãos públicos e privados, o caráter generalizado, severo e muitas vezes letal do câncer persiste, com apenas melhorias elementares no tratamento⁵². A química medicinal tem contribuído desde a criação dos primeiros medicamentos desenvolvidos para o câncer, e continua trazendo novas alternativas e potenciais candidatos a fármacos antitumorais. Dentro dessa perspectiva, diversos grupamentos químicos tem chamado a atenção pelo amplo espectro de atividades biológicas associadas. Essas moléculas são compostos base para a criação de novas moléculas biologicamente ativas, mesmo que suas atividades biológicas incluam efeitos favoráveis e desfavoráveis⁵³.

A utilização de testes *in vitro*, por meio de ensaios de viabilidade celular, constitui o primeiro passo para a avaliação da compatibilidade biológica de uma substância e pode fornecer elementos importantes para a análise da biocompatibilidade dos diferentes materiais⁵⁴. Para ser aprovado no teste de citotoxicidade *in vitro*, um produto não deve ocasionar a morte das células nem afetar suas funções celulares. Assim sendo, com o uso de técnicas de cultura de células, os testes podem detectar a ocorrência de lise das células, de inibição do crescimento celular e de outros efeitos que possam ser desencadeados nas mesmas⁵⁵.

⁵²Kamb, A.; Wee, S.; Lengauer, C.; Nature Reviews Drug Discovery, v. 6, n. February, p. 115–120, (2007).

⁵³Hashimoto; *Archiv der pharmazie. Weinheim*, (2008).

⁵⁴Rogero, S. O.; Lugão, A. B.; Ikeba, T. I.; Cruz, A. S. ; Material Research, (2003).

⁵⁵Daguano, J. K. M. F.; Santos, C.; Rogero, S. O.; *Matéria*, (2007).

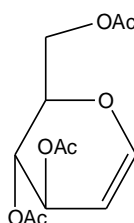
3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

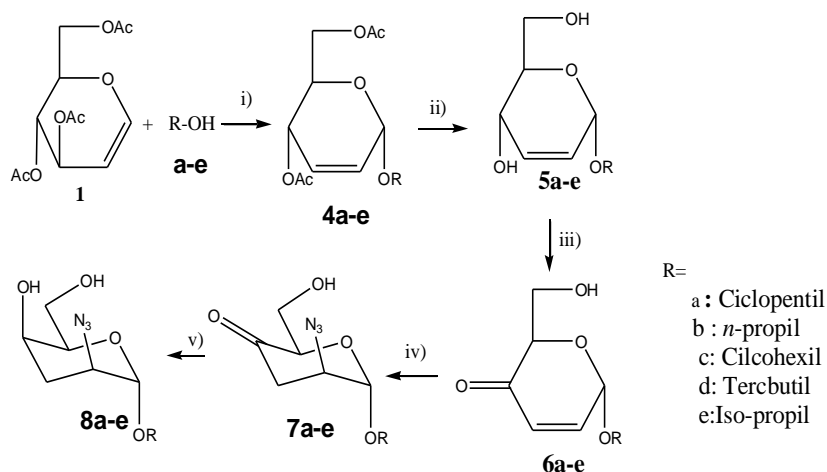
Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antitumoral de O-glicosídeos 2,3-insaturados e azido-glicosídeo contendo diferentes agliconas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Sintetizar o composto de partida, tri-O-acetil-D-glucal.



- 2- Sintetizar os O-glicosídeos 2,3-insaturados a partir do tri-O-acetil-D-glucal utilizando diversos álcoois como aglicona, utilizando o ácido *p*-toluenosulfônico como catalisador da reação utilizando radiação de *ultrassom*.
- 3- Sintetizar azido-glicosídeos a partir de diferentes enonas.



- 4- Determinar a configuração e conformação dos compostos sintetizados pelos métodos usuais (IV, RMN ^1H e ^{13}C).
- 5- Testar a atividade biológica dos compostos sintetizados frente a células tumorais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 *Materiais empregados*

Os reagentes e solventes foram obtidos dos fornecedores Merck, Aldrich e Vetec. O Hexano e o acetato de etila foram destilados previamente em coluna Vigreuz.

O acompanhamento das reações foi feito através de cromatografia em camada delgada (TLC), onde utilizamos cromatofolhas de sílica-gel, contendo indicador F_{254} , da Macherey/Nagel (Düren, Alemanha). Para revelação dos compostos foi utilizada luz ultravioleta, cuba contendo sistema de $H_2SO_4/EtOH$. Para cromatografia em coluna foi utilizada sílica gel 60 (Merck, 70-230 mesh).

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier foram obtidos com equipamento Varian Modelo 640 FTIR. Os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C nos equipamentos Varian Modelo Unity Plus (300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono).

O ultrassom da marca ultracleaner 1400A que apresenta frequência ultrassônica 40 kHz com potência ultrassônica 135 watts com aquecimento fixo de 60°C com temporizador de 0 a 30 minutos.

4.2 *Materiais empregados no teste de atividades biológicas*

Células: As linhagens tumorais utilizadas, MCF-7 (carcinoma de cólon - humano), HL60 (leucemia promielocítica) e NCI H-292 (câncer de pulmão- humano) foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO_2 .

Amostras: As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 25 $\mu g/mL$ para substâncias puras.

Todos os testes foram realizados sob orientação da professora Dr. Gardênia Militão no departamento de fisiologia e farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco.

4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Síntese do tri-O-acetil-D-glucal

Em um balão de 500 ml, foi preparada uma suspensão de D-glicose (10,0 g , 55,5 mmol) em anidrido acético (36,0 g, 353,0 mmol) adicionando 10,0 g de 31% de HBr/ AcOH à 0° C, sob agitação por 1h. Essa solução foi preparada adicionando vagarosamente ácido bromídrico 48% (5,0 ml) em anidrido acético (20,0 ml).

À mistura reacional foi adicionada 60,0 g de 31% de HBr/ AcOH (total de 5,3 mol de equivalente de HBr) sob agitação a vigorosa a 0° C, o sistema foi deixado em agitação por uma noite. Em seguida, o excesso de HBr foi neutralizado acrescentando acetato de sódio anidro (20,0 g 243,8 mmol) ao meio reacional.

Separadamente foi preparada uma solução de sulfato de cobre pentahidratado (3,15 g, 12,62 mmol) e zinco em pó (126,0 g, 1,927mol) em solução aquosa (100,0 ml) de ácido acético (150,0 ml) contendo acetato de sódio triidratado (94,5 g, 694,7 mmol). Essa suspensão foi então adicionada à mistura resultante da neutralização e deixada sob agitação por 6h.

O sólido foi removido através de filtração a vácuo, lavado primeiro com acetato de etila (1000 mL) e depois com água (1000 mL), na fase orgânica do filtrado foi adicionado uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ (1000 mL) e realizada a extração. Em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução aquosa de cloreto de sódio (500 mL), e seca com Na₂SO₄.

Por fim, o solvente foi removido sob pressão reduzida para fornecer o tri-O-acetil-D-glucal. O composto foi purificado através de coluna cromatográfica com sistema hexano/ acetato de etila (9:1). Foi obtido um óleo incolor⁵⁶.

⁵⁶Shull K. B., Wu, Z.;Koreeda, M.; Journal of Carbohydrate Chemistry 15(1996) 955-964.

4.3.2 Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados

Método A

Em um vidro de penicilina pesou-se 20% mmol (0,03676 mmol) do ácido *p*-toluilssulfônico (TsOH) solubilizando-o imediatamente, em 3 mL da acetonitrila (MeCN). Em seguida, adicionou-se 0,1838 mmol (50 mg) do tri-*O*-acetil-D-glucal e 0,2532 mmol do álcool. Após a solubilização de todos os reagentes levou-se a mistura ao ultrassom em 25°C (temperatura ambiente) de 5 a 16 minutos. Após a verificação do término da reação através de cromatografia em camada delgada (CCD), o ácido foi extraído, a fase orgânica seca e filtrada. Em seguida procedeu-se à purificação através de Cromatografia em coluna por Adsorção. O procedimento foi o mesmo para os todos os álcoois usados, mudando-se apenas as massas de reagentes de acordo com a massa molar.

Método B

Os compostos de **4a-e** foram preparados em um balão de 125 ml adicionou-se 1,5g de tri-*O*-acetil-D-glucal dissolvidos em 50 ml de diclorometano (CH₂Cl₂) seco, em seguida adicionou-se um volume de álcool, depois foi adicionada a mistura reacional a 0°C o K-10, em seguida colocou-se a reação em refluxo a temperatura de 40-60°C por aproximadamente 3 h. O término da reação foi acompanhada por placa de TLC em sistema de 9:1 diclorometano/ acetato de etila. Ao término da reação, filtramos sistema reacional para separar o produto obtido do catalisador, o solvente foi removido sobre pressão reduzida e o produto foi purificado em coluna de sílica gel, eluída com um sistema hexano: acetato na proporção 80 mL de hexano para 20mL de acetato de etila. Os dados dos O-glicosídeos podem ser visto a seguir:

Composto **4a**: Ciclo-pentil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo. Isolado na forma de óleo incolor, 0,26 g (87%); $[\alpha]_D^{25} +99,0$ (*c* 0,98, CHCl₃); IV (KBr) 2940, 2861, 2673, 2137, 1746, 1456, 1373, 1234, 1039 cm⁻¹; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,81 (br d, *J*=10,5 Hz, 1H, H-3), 5,74 (dt, *J*₂₋₃=10,5 Hz, *J*₂₋₁=*J*₂₋₄=2,4 Hz, 1H, H-2), 5,23 (dd, *J*₄₋₅=9,6 Hz, *J*₄₋₃=1,2 Hz, 1H, H-4), 5,04 (br s, 1H, H-1), 4,20 (dd, *J*_{6-6'}=12,0 Hz, *J*₆₋₅=5,4 Hz, 1H, H-6), 4,12 (dd, *J*_{6'-6}=12,0 Hz, *J*_{6'-5}=2,4 Hz, 1H, H-6'), 4,06 (ddd, *J*₅₋₄=9,6 Hz, *J*₅₋₆=5,4 Hz, *J*_{5-6'}=2,4 Hz, 1H, H-5), 2,04 (s, 3H,

OAc), 2,02 (s, 3H, OAc), 1,76–1,47 (m, 9H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_4$ e $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_4$); RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 170,6; 170,2; 128,5; 128,3; 93,5; 80,5; 66,6; 65,2; 62,9; 33,4; 32,2; 23,4; 23,0; 20,8; 20,7.

Composto **4b**: n-propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo incolor, 0.24g (88%); $[\alpha]_{\text{D}}^{31.7} +118.2$ (c 1.00, CHCl₃); IV (KBr) 2964; 2881; 1747; 1450; 1371; 1234; 1182; 1105 cm⁻¹; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,92–5,78 (m, 2H, H-2 and H-3), 5,29–5,25 (m, 1H, H-4), 4,99 (br s, 1H, H-1), 4,21 (dd, $J_{6-6'}=12,0$ Hz, $J_{6-5}=5,4$ Hz, 1H, H-6), 4,14 (dd, $J_{6-6'}=12,0$ Hz, $J_{6-5}=2,1$ Hz, 1H, H-6'), 4,08 (ddd, $J_{5-4}=9,6$ Hz, $J_{5-6}=5,1$ Hz, $J_{5-6'}=2,1$ Hz, 1H, H-5), 3,68 (dt, $J=9,6, 7,5$ Hz, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,45 (dt, $J=9,6, 7,5$ Hz, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,07 (s, 3H, OAc), 2,05 (s, 3H, OAc), 1,61 (q, $J=7,5$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,91 (t, $J=7,5$ Hz, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 170,7; 170,2; 128,9; 127,8; 94,2; 70,5; 66,7; 65,2; 62,9; 22,9; 20,9; 20,7; 10,6.

Composto **4c**: *Ciclo-hexil* 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo incolor, 0.28 g (90%); $[\alpha]_{\text{D}}^{31.7} +110.7$ (c 1.00, CHCl₃); IV (KBr) 2933; 2858; 2659; 2134; 1747; 1450; 1370; 1233; 1187; 1036 cm⁻¹; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,82 (br d, $J=10,5$ Hz, 1H, H-3), 5,76 (dt, $J_{2-3}=10,5$ Hz, $J_{2-1}=J_{2-4}=1,5$ Hz, 1H, H-2), 5,24 (dd, $J_{4-5}=9,3$ Hz, $J_{4-3}=1,2$ Hz, 1H, H-4), 5,12 (br s, 1H, H-1), 4,20 (m, 3H, H-5, H-6 and H-6'), 3,64–3,55 (m, 1H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_5$), 2,04 (s, 3H, OAc), 2,03 (s, 3H, OAc), 1,92–1,82 (m, 2H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_5$), 1,71–1,68 (m, 2H, $\text{OCH}(\text{CH}_2)_5$), 1,52–1,48 (m, 1H, $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_5$), 1,37–1,15 (m, 5H, $\text{OCH}(\text{CH}_2)_5$); RMN ¹H (75 MHz, CDCl₃) δ 170,6; 170,2; 128,6; 128,4; 92,6; 76,6; 66,5; 65,3; 63,0; 33,6; 32,0; 25,4; 24,3; 24,0; 20,9; 20,6.

Composto **4d**: *terc*-butil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo incolor, 0,25 g (87%); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +100,0$ (c 1.00, CHCl₃); IV (KBr) 2958, 2904, 2129, 1747, 1463, 1371, 1333, 1234, 1186, 1104 cm⁻¹; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,82 (br d, $J=10,2$ Hz, 1H, H-3), 5,72 (dt, $J_{2-3}=10,2$ Hz, $J_{2-1}=J_{2-4}=2,7$ Hz, 1H, H-2), 5,31 (br s, 1H, H-1), 5,25 (br d, $J_{4-5}=9,6$ Hz, 1H, H-4), 4,26–4,10 (m, 3H, H-5, H-6 and H-6'), 2,07 (s, 3H, OAc), 2,05 (s, 3H, OAc), 1,27 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$);¹ RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 170,8; 170,3; 129,5; 128,1; 88,9; 75,3; 66,4; 65,2; 63,2; 28,7; 20,9; 20,8.

Composto **4e**: *iso*-propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo incolor, 0.24 g (90%); $[\alpha]_D^{20} +97.0$ (c 0.70, MeOH); IV (KBr) 2971, 2902, 1745, 1450, 1372, 1317, 1233, 1184, 1127 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,76 (br d, $J=11,7$ Hz, 1H, H-3), 5,69 (dt, $J_{2,3}=11,7$ Hz, $J_{2,1}=J_{2,4}=1,8$ Hz, 1H, H-2), 5,19-5,15 (m, 1H, H-4), 5,02 (br s, 1H, H-1), 4,17-4,01 (m, 3H, H-5, H-6 e H6'), 3,98-3,84 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,98 (s, 3H, OAc), 1,97 (s, 3H, OAc), 1,14 (d, $J=6.3$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,07 (d, $J+6.0$ Hz, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,4; 169,9; 128,5; 128,2; 92,5; 70,4; 66,5; 65,1; 62,8; 23,2; 21,7; 20,7; 20,5.

4.3.3 Alquil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo (**5a-e**)

Aos compostos **5a-e** foi adicionado, separadamente, uma mistura de metanol:água:triethylamina (9:6:1) e deixada sob agitação por 3 horas. O término da reação foi acompanhada por placa de TLC eluida em sistema de 9:1 diclorometano/acetato de etila, e os produtos foram concentrados sob pressão reduzida e purificados por cromatografia em coluna de sílica gel num sistema com o primeiro sistema de 20% de acetato em hexano e os próximos sistemas foram de 50% de acetato em hexano. Os dados dos O-glicosídeos 2,3- insaturados hidrolisados podem ser visto a seguir:

Composto **5a**: ciclo-pentil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo, 1.74 g (93%); R_f 0.16 (9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{EtOAc}$); $[\alpha]_D^{25} + 54^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); IV (KBr): 3404 cm^{-1} (ν OH); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 5,95 (d, 1 H, $J_{3,2} 10.2$ Hz, H-3), 5,70 (dd, 1 H, $J_{2,3} 10,2$, $J_{2,4} 2.4$ Hz, H-2), 5,04 (bs, 1 H, H-1), 4,23 (m, 1 H, OCH), 4,21 (bd, $J 4,5 9.3$ Hz, 1 H, H-4), 3,87 (bd, 2 H, $J_{6,5} 3.7$ Hz, H-6, H-6'), 3,70 (dt, $J_{5,4} 9.4$, $J_{6,5} 3.7$ Hz, 1 H, H-5), 2,33 e 2,22 (muda para 2 H, 2 OH), 1,83–1,51 (m, 8 H, 4 CH_2). Analitamente calculado para for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (214.12): C, 61,70; H, 8,47. encontrado: C, 61,28; H, 8,37.

Composto **5b**: *n*-propil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo, 1.74 g (94%); R_f 0.20 (9:1 CH_2Cl_2 – EtOAc); IR (KBr): 3384 cm^{-1} (ν OH); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5,96 (d, 1 H, $J_{3,2}$ 10 Hz, H-3), 5,76 (d, 1 H, $J_{2,3}$ 10 Hz, H-2), 4,97 (bs, 1 H, H-1), 4,20 (bd, 1 H, J 8.4 Hz, H-4), 3,86 (bs, 2 H, H-6, H-6'), 3,73-3,70 (m, 2H, H-5 and O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,73-3,70 (m, 1H, O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), muda de 2,68 1H, 1OH), 2,42 (para, 1 H, 1OH), 1,65–1,58 (m, 2 H, O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,94 (t, 3 H, J 7.2Hz, O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 133,28; 126,34; 94,29; 71,39; 70,50; 64,22; 62,70; 22,94; 20,61; (MeOH:H₂O) analiticamente calculado para $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_4\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺, 211,2180, encontrado 211,1024.

Composto **5c**: *Ciclo-hexil* 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo, 1.62 g (87%); R_f 0.20 (9:1 CH_2Cl_2 – EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 46^\circ$ (c 3.4, CHCl_3); IV (KBr): 3100 – 3600 cm^{-1} (ν OH); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 5,95 (ddd, 1 H, $J_{3,2}$ 10,2, $J_{3,1}$ 1.3, $J_{3,4}$ 1.3 Hz, H-3), 5,73 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5, $J_{2,4}$ 2.4, $J_{2,1}$ 2.7 Hz, H-2), 5,13 (m, 1 H, H-1), 4,20 (bd, $J_{4,5}$ 9.0 Hz, H-4), 3,85 (d, 2 H, $J_{6,5}$ 3.9 Hz, H-6, H-6'), 3,75 (dt, 1 H, $J_{5,4}$ 9.0, $J_{5,6}$ 3.9 Hz, H-5), 3,62 (m, 1 H, OCH), 2,63 and 2,37 (bs, exchangeable, 2 H, 2 OH), 2,04 – 1,10 (m, 10 H, 5 CH₂). Analiticamente calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (228.29): C, 63,13; H, 8,83. encontrado: C, 63,25; H, 9,10.

Composto **5d**: *terc*-butil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo, 1.74 g (93%); R_f 0.16 (9:1 CH_2Cl_2 – EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 64^\circ$ (c 0.96, CHCl_3); IV (KBr): 3405 cm^{-1} (ν OH); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 5,91 (d, 1 H, $J_{3,2}$ 9,9 Hz, H-3), 5,60 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 9.9, $J_{1,2}$ 2.4 Hz, H-2), 5,28 (d, 1 H, J 1.2 Hz, H-1), 4,15 (bd, $J_{4,5}$ 9,3 Hz, 1 H, H-4), 3,81 (d, 2 H, $J_{5,6}$ 4.2Hz, H-6, H-6'), 3,76 (dd, $J_{4,5}$ 9.3 Hz, $J_{5,6}$ 4.2 Hz, 1 H, H-5), 2,37 (mudou para, 2 H, 2OH), 1,28 (s, 9 H, 3 CH₃). Analiticamente Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_4 \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$ (206,75): C, 58.09; H, 9.01. encontrado: C, 57,73; H, 9,00.

Composto **5e**: *iso*-propil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-piranosídeo, Isolado na forma de óleo, 1.74 g (90%); R_f 0.18 (9:1 CH_2Cl_2 – EtOAc); IV (KBr): 3391 cm^{-1} (ν OH); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5,94 (d, 1 H, $J_{3,2}$ 10 Hz, H-3), 5,70(dt, 1 H, $J_{2,3}$ 10 and $J_{2,1}$ 2,4 Hz, H-2), 5,07(bs, 1 H, H-1), 4,19 (d, 1 H, J 8.4 Hz, H-4), 3,96 (q, 1H, J = 6,0 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,85-3,83 (m, 2H, H-6 and H-6'), 3,75-3,70 (m, 1H, H-5), 2,71 (bs, 1H, 1OH), 2,42 (bs, 1 H, 1OH), 1,23 (d, 3 H, J = 6Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,17 (d, 3 H, J =

6Hz, CH(CH₃)₂). RMN ¹³C (100MHz, CDCl₃) δ 133,17; 126,78; 92,55; 71,26; 70,43; 64,24; 62,68; 23,64; 21,84; (MeOH:H₂O) calculado para C₉H₁₅O₄Na [M + Na]⁺, 211,2180; encontrado 211,1147.

4.3.4 Alquil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (6a-e)

Os compostos **6a-e** foi adicionado, separadamente em um balão de 250 mL, 120 mL de DCM seco, e em seguida foi adicionado 6 g de MnO₂, a reação foi deixada sob agitação, por 20 horas e monitorado CCD, em sistema de 9:1 diclorometano/acetato de etila. Em seguida, o material foi filtrado e solvente foi evaporado sob pressão reduzida para fornecer os compostos desejados. Os dados desses compostos podem ser visto a seguir:

Composto **6a**: ciclo-pentil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose, Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, (1,0 g, 4.67 mmol); 0.79 (76%); mp 76,4–77.0 °C; R_f 0,39 (9:1 CH₂Cl₂–EtOAc); [α]_D²⁵ -30° (c 0,92, CHCl₃); IV (KBr): 3457 (ν OH), 1692 cm⁻¹ (ν C=O); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,85 (dd, 1 H, J_{2,3} 10,2, J_{2,1} 3,6 Hz, H-2), 6,09 (d, 1 H, J_{3,2} 10.2 Hz, H-3), 5,32 (d, 1 H, J 1,2 3,6 Hz, H-1), 4,49 (dd, 1 H, J_{5,6} 4,5, J_{5,6'} 4,5 Hz, H-5), 4,34 (m, 1 H, OCH), 4,01 (dd, J_{6,6'} 11,7, J_{6,5} 4,5 Hz, H-6), 3,91 (dd, J_{6,6'} 11,7, J_{6,5} 4,5 Hz, H-6'), 2,27 (mudou para 1 H, OH), 1,87–1,55 (m, 8 H, 4 CH₂). Analiticamente calculado para C₁₁H₁₈O₄ (212,24): C, 62,25; H, 7,59. encontrado: C, 62,15; H, 7,39.

Composto **6b**: *n*-propil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose, Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, [α]_D²⁵ -16.6 (c=1,0 CHCl₃); IV (KBr): 3370 (ν OH), 1701 cm⁻¹ (ν C=O); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,91 (dd, 1H, J_{2,1}= 3,6 Hz, J_{2,3}=10,2 Hz, H-2); 6,14 (d, 1H, J_{3,2}=10.2Hz, H-3); 5,27 (d, 1H, J_{2,1}= 3,6Hz, H-1); 4,49 (t, 1H, J= 4,5 Hz, H-5); 4,05-3,76 (m, 2H, H-6 and H-6'); 3,54 (dd, 2H, J=2,7Hz and J=9,3Hz, CH₂); 2,02 (mudou para, 1H, OH); 1,64 (q, 2H, CH₂); 0,96 (t, 3H, J=7.2Hz, CH₃). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 195,9; 144,0; 127,6; 93,1; 74,1; 71,2; 61,6; 22,8; 10,5; Analiticamente calculado para C₉H₁₄O₄ (186,08): C, 58,05; H, 7,58., encontrado C, 58,97; H, 7,83.

Composto **6c**: *Ciclo-hexil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose*, Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, 1,06 g, 4,67 mmol); 0,73 g (69%); mp 99,0 – 100 °C; R_f 0,42 (9:1 CH₂Cl₂– EtOAc); IV (KBr): 3100 – 3600 (ν OH), 1690 cm⁻¹ (ν C=O); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,87 (dd, 1 H, J_{2,3} 10,2, J_{2,1} 3,6 Hz, H-2), 6,11 (d, 1 H, J_{3,2} 10,2 Hz, H-3), 5,17 (d, 1 H, J_{1,2} 3,6 Hz, H-1), 4,53 (dd, 1 H, J_{5,6} 4,2, J_{5,6'} 4,2 Hz, H-5), 4,02 (dd, J_{6',6} 11,8, J_{6',5} 4,2 Hz, H-6'), 3,92 (dd, 2 H, J_{6,6'} 11,8, J_{6,5} 4,2 Hz, H-6), 3,80–3,62 (m, 1 H, OCH), 2,22 (mudou para, 1 H, OH), 2,20–0,80 (m, 10 H, 5 CH₂). Analiticamente Calculado para C₁₂H₁₈O₄ (226,26): C, 63,72; H, 7,96. encontrado: C, 63,42; H, 8,07.

Composto **6d**: *terc-butil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose*, Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, $[\alpha]_D^{25} -7^0 \pm 2^0$ (c=1,7 CH₂Cl₃); IV (KBr): 3409 (ν OH), 1722 cm⁻¹ (ν C=O); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,81 (dd, 1H, J_{2,1}= 3,9 Hz, J_{2,3}=10,2 Hz, H-2); 6,10 (d, 1H, J_{3,2}=10,2Hz, H-3); 5,55 (d, 1H, J_{2,1}= 3,9Hz, H-1); 4,58 (t, 1H, J= 4,5 Hz, H-5); 3,98 (dd, 1H, J_{6,6'}= 12,3 Hz, J_{6,5}=4,5Hz, H-6); 3,89 (dd, 1H, J_{6',6}= 12,3 Hz, J_{6,5}=4,5Hz, H-6'); 2,20 (mudou para, 1H, OH); 1,30 (s, 9H, 3CH₃); 0,96 (t, 3H, J=7,2Hz, CH₃). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 195,9; 144,0; 127,6; 93,1; 74,1; 71,2; 61,6; 22,8; 10,5; Analiticamente Calculado for C₁₀H₁₆O₆.1/2H₂O (209,24): C, 57,40; H, 8,18. encontrado: C, 57,31; H, 7,13.

Composto **6e**: *iso-propil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose*, Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, $[\alpha]_D = +128$ (c 0,87, CHCl₃), IV (KBr): 3390 (ν OH), 1711 cm⁻¹ (ν C=O); RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,91 (dd, 1H, J_{2,1}= 3,6 Hz, J_{2,3}=10,2 Hz, H-2); 6,14 (d, 1H, J_{3,2}=10,2Hz, H-3); 5,27 (d, 1H, J_{2,1}= 3,6Hz, H-1); 4,49 (t, 1H, J= 4,5 Hz, H-5); 4,05-3,76 (m, 2H, H-6 and H-6'); 3,99 (sept. 1H, OCH(CH₃)₂, J = 6,1 Hz), 2,02 (mudou para, 1H, OH); 1,22 (d, 3H, OCH(CH₃)₂, J = 6,2 Hz), 1,18 (d, 3H, OCH(CH₃)₂, J = 6,1 Hz); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 194,1; 144,0; 126,3; 93,1; 70,8; 69,9; 64,8; 22,8; 20,8; Analiticamente calculado para C₉H₁₆O₄: C, 57,41; H, 8,57. encontrado: C, 57,30; H, 8,74

4.3.5 Síntese de Alquil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-Itreo-hexopiranosíd-4-ulose (**7a-e**)

Em um balão de 125 mL foi adicionado, separadamente, 300 mg dos compostos **7a-e** e em seguida adicionado 3mL de ácido acético glacial. Em um béquer de 10 mL foi adicionado 0,38g de azida de sódio na qual foi dissolvido com 2 mL de água destilada. Posteriormente essa solução foi adicionada no balão reacional sob agitação por 3 horas. O término da reação foi acompanhada por placa de TLC eluida em sistema de 9:1 de diclorometano/acetato de etila, fois colocado no sistema reacional 80 g de gelo picado. O produto foi solubilizado em 20 mL de acetato de etila e foi transferido para um funil de separação, a fase orgânica foi extraída por 3x20 mL de acetato de etila seca com sulfato de sódio anidro, em seguida foi feito uma filtração simples e solvente foi evaporado reduzido sob baixa pressão fornecendo assim os compostos desejados. Devido a sua instabilidade não podemos carcterizar esses compostos, ele foram submetidos a próxima reação.

4.3.6 Síntese de Alquil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-lixo-hexopiranosídeo (**8-e**)

(0,212g, 0,8 mmol) dos compostos de **8a-e**, separadamente, foi dissolvido em 15 mL de metanol, em seguida adicionamos (0,15 g, 0,26 mmol) de borohidreto de sódio a 0 °C. Mantivemos a reação so agitação a temperatura de 0 °C por 40 minutos até completa redução da carbonila que foi comprovada po CCD. A seguir evaporamos o solvente e diluímos o resíduo com solução saturada de cloreto de sódio. Extraímos a fase orgânica com acetato de etila (3x20 mL). Lavamos o extraído com solução saturada de cloreto de sódio e após filtração secamos com sulfato de sódio anidro. Em seguida evaporamos o solvente e o produto foi purificado por cromatografia em coluna, eluindo inicialmente com hexano passando depois para um mistura de hexano com 30% de acetato de etila, onde obtece-se os produtos puros desejados.

Composto **8a**: Ciclo-pentil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ribo-hexopiranosídeo, obtido como óleo amarelo, (0,200 g, 0,78 mmol); rendimento de 78%; R_f 0,16 (8:2 CHCl_3 - EtOAc); IV (KBr): 3402 (ν OH), 2100 cm^{-1} (ν N_3); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,90 (s, 1 H, H-1), 4,28 (d, 1 H, $J_{4,5} = 4,8$ Hz, H-4), 3,92-3,75 (m, 4H, H-5, H-6, H-6' e CH-O), 3,62 (dt, 1 H, $J_{2,3\text{eq}} = 3,6$ Hz e $J_{2,3\text{ax}} = 6,9$ Hz, H-2), 2,46 (mudou para, 2 H, OH), 2,19-1,98 (m, 1H, $J_{3,2\text{eq}} = 3,6$ Hz e $J_{3,2\text{ax}} = 6,9$ Hz H-3), 1,82-1,54 (m, 8H, 5 CH_2).

Composto **8b**: *n*-propil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ribo-hexopiranosídeo, obtido como óleo amarelo, (0,200 g, 0,97 mmol); rendimento de 68%; R_f 0,16 (8:2 CHCl_3 - EtOAc); IV (KBr): 3399 (ν OH), 2102 cm^{-1} (ν N_3); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,80 (s, 1 H, H-1), 3,83 (d, 1 H, $J = 7,1$ Hz, H-4), 3,59-3,39 (m, 4H, H-5, H-6, H-6' and CH_2 -O), 2,50 (s, 1 H, H-2), 2,05 (mudou para, 2 H, OH), 1,29 (s, 1H, H-3), 1,25-1,08 (m, 2H, CH_2), 0,87 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H, CH_3).

Composto **8c**: Ciclo-hexil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ribo-hexopiranosídeo, obtido como óleo amarelo, (0,200 g, 0,74 mmol); rendimento de 75%; R_f 0,15 (8:2 CHCl_3 - EtOAc); IV (KBr): 3429 (ν OH), 2103 cm^{-1} (ν N_3); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,95 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 4,22 (d, 1 H, $J = 7,1$ Hz, H-4), 3,88-3,11 (m, 4H, H-5, H-6, H-6' e CH-O), 3,65 (dt, 1 H, $J_{2,3\text{eq}} = 3,5$ Hz and $J_{2,3\text{ax}} = 7,1$ Hz, H-2), 2,47 (mudou para, 2 H, OH), 2,24-2,02 (dt, 1H, $J_{3,2\text{eq}} = 3,5$ Hz and $J_{3,2\text{ax}} = 7,1$ Hz H-3), 1,82-1,34 (m, 10H, 5 CH_2).

Composto **8d**: *terc*-butil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ribo-hexopiranosídeo, obtido como óleo amarelo, (0,200 g, 0,81 mmol); rendimento de 65%; R_f 0,16 (8:2 CHCl_3 - EtOAc); IV (KBr): 3390 (ν OH), 2103 cm^{-1} (ν N_3); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 5,08 (s, 1 H, H-1), 3,90-3,60 3,92-3,75 (m, 4H, H-4, H-5, H-6, and H-6'), 2,20-2,10 (m, 2 H, H-2 e H-3), 2,46 (mudou para), 2 H, OH), 1,31 (s, 9H, 3 CH_3).

Composto **8e**: *iso*-propil 2-azido-2,3-didesoxi- α -D-ribo-hexopiranosídeo, obtido como óleo amarelo, (0,200 g, 0,97 mmol); rendimento de 70%; R_f 0,16 (8:2 CHCl_3 - EtOAc); IV (KBr): 3342 (ν OH), 2104 cm^{-1} (ν N_3); RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,73 (s, 1 H, H-1), 4,16 (t, 1 H, $J_{4,5} = 4,0$ Hz, H-4), 3,77-3,40 (m, 4H, H-5, H-6, H-6' e CH-O), 2,11

(dt, 1 H, $J_{2,3eq}=4,0$ Hz and $J_{2,3ax} = 7,4$ Hz, H-2), 2,09 (mudou para, 2 H, OH), 1,61 ($J_{3,2eq}=4,0$ Hz and $J_{3,2ax} = 7,4$ Hz, H-3), 1,26-0,83 (m, 6H, CH₃).

4.4 Determinação da atividade antiproliferativa

4.4.1 Metodologia usada

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e de baixo custo. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As células foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100µL/ poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

4.4.2 Método de análise dos resultados

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

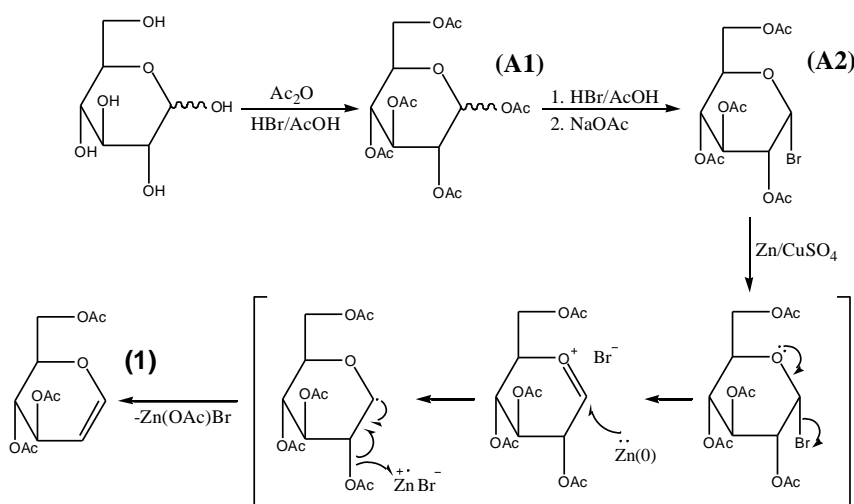
Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvio no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente discutiremos a síntese e caracterização do açúcar insaturado tri-*O*-acetil-*D*-glucal (**1**), composto de partida para a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados, através de uma nova metodologia onde utilizamos o TsOH como catalisador e a irradiação do ultrassom. O compostos (**1**), também foi utilizado como composto de partida para a síntese dos compostos **6a-e** (enonas), que com mais duas reações química em sequência, obtemos os compostos **8a-e** (azido-glicosídeos). No final, discutimos atividade antitumoral dos compostos sintetizados frente a quatro linhagens de células tumorais.

5.1 Síntese e elucidação do Tri-*O*-acetil-*D*-glucal

Na síntese do tri-*O*-acetil-*D*-glucal, inicialmente os grupos hidroxilas presentes na *D*-glicose foram acetilados em meio ácido levando ao composto A1, seguido da bromação com AcOH/HBr do carbono anomérico para fornecer o acetobromo α -*D*-glicose A2. Por fim, um complexo de Zn/CuSO₄.5H₂O foi adicionado para fornecer o composto (**1**) com rendimento de 94% (Esquema 30).



Esquema 30- Proposta sintética do tri-*O*-acetil-*D*-glucal.

A estrutura do composto (**1**) foi configurada através dos espectros de infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C .

O espectro de infravermelho forneceu informações acerca dos grupos funcionais presentes na estrutura do tri-*O*-acetil D-glicial (Figura 9). O estiramento da ligação O-H na região de 3350 cm^{-1} desapareceu e por outro lado aparece no espectro a banda referente ao estiramento do grupo carbonila em 1738 cm^{-1} , concluindo-se que a D-glicose teve todos os seus grupos hidroxilas acetilados. Na região de 1649 cm^{-1} foi possível observar o estiramento axial da ligação C=C.

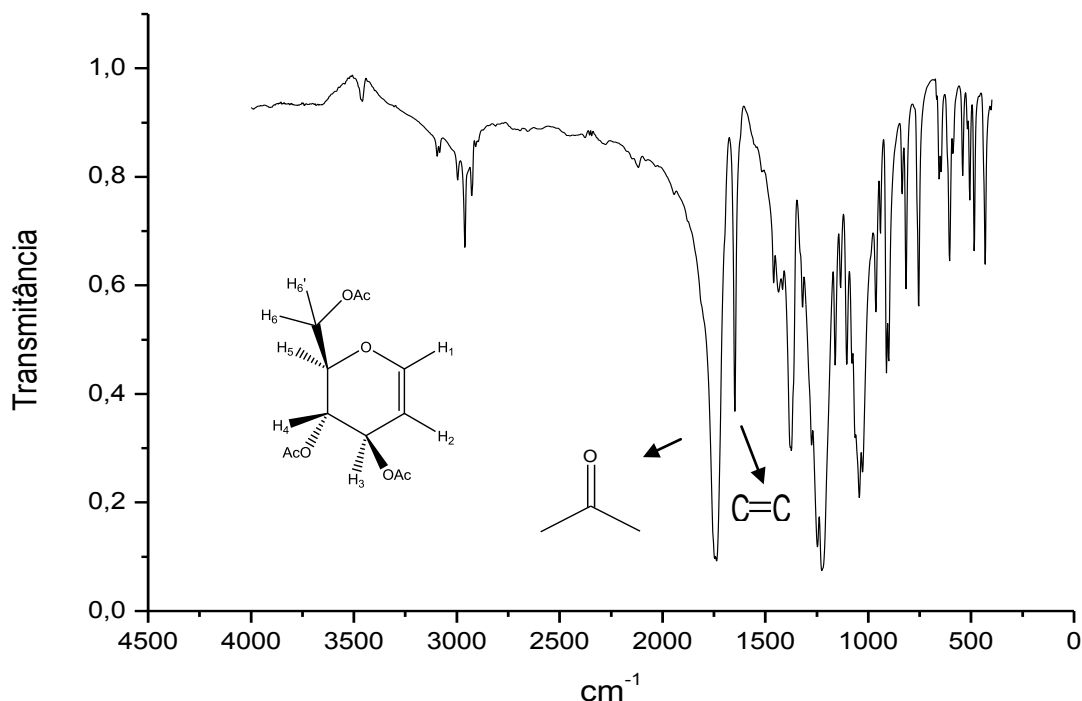


Figura 9 - Espectro de IV do tri-*O*-acetil-D-glicial em pastilha de KBr.

No espectro de RMN ^1H , observa-se na região de δ 2,02-2,07 ppm três simpletos correspondentes aos hidrogênios dos três grupos $-\text{OAc}$. Os hidrogênios olefínicos H-1 e H-2 apresentaram sinais, respectivamente, na região de δ 6,45 ppm e δ 5,35 ppm. De acordo com figura 10, observa-se a atribuição dos demais hidrogênios do tri-*O*-acetil-D-glicial.

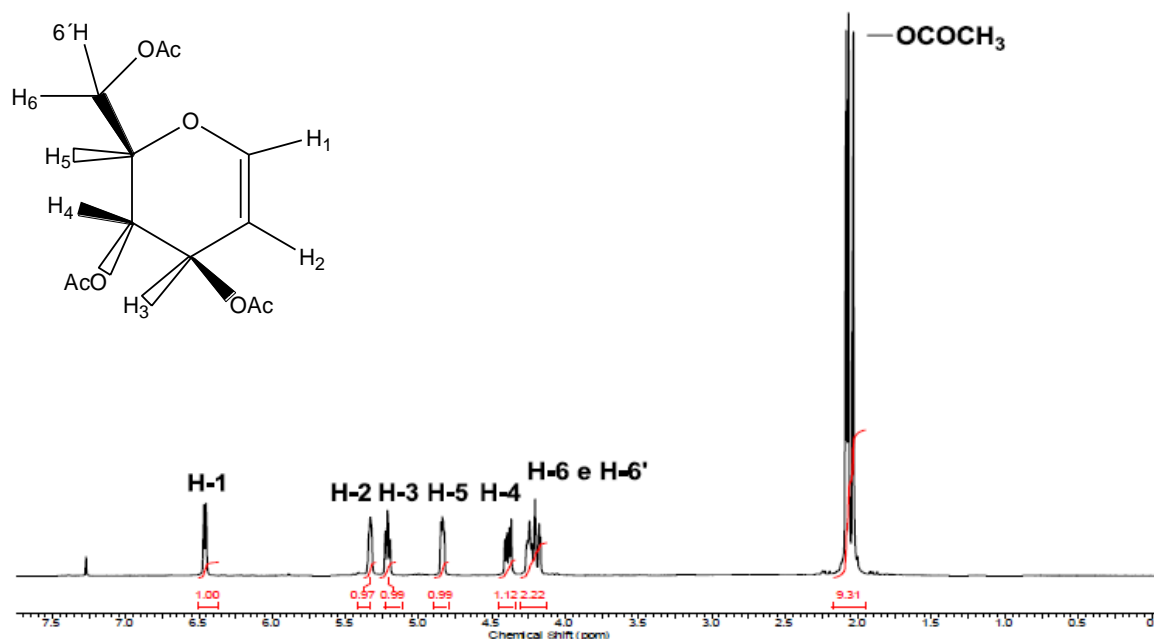


Figura 10 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do tri-*O*-acetil-D-glicial.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto (1) observa-se que há 11 carbonos com deslocamentos químicos diferentes. Na região situada entre 171-169 ppm nota-se três sinais referentes aos carbonos carbonílicos, o que enfatiza a conversão dos hidroxilas do compostos de partida (D-glicose) ao acetato correspondente. Em 145 e 98 ppm verifica-se o sinal dos carbonos olefínicos, o sinal em campo mais baixo faz menção ao carbono anomérico (C-1) que sofre o efeito de desblindagem do oxigênio Figura 11.

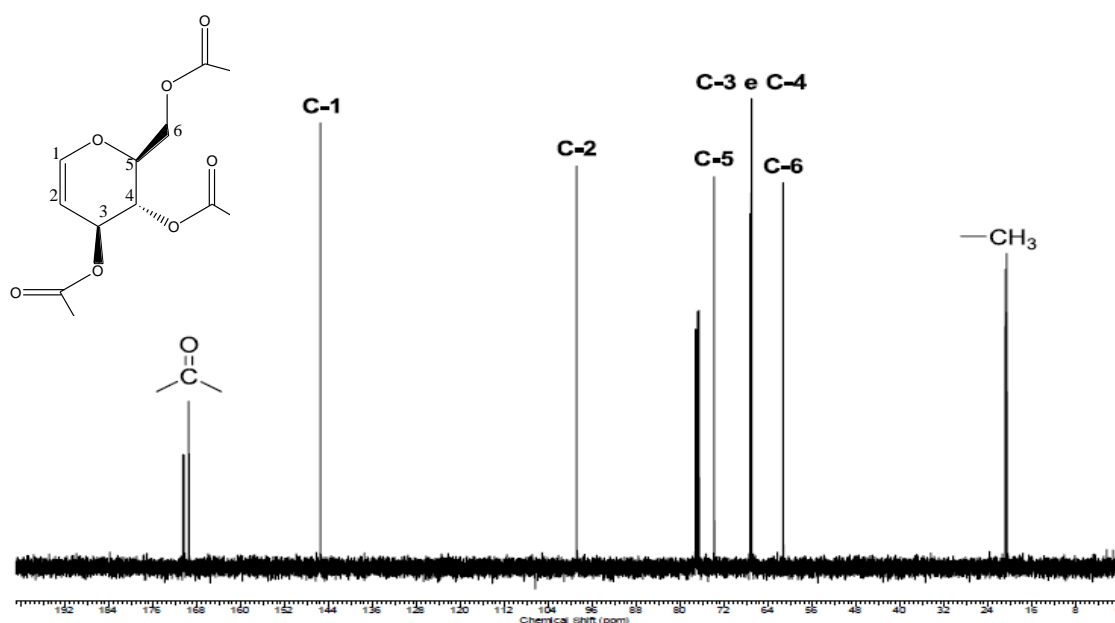


Figura 11- Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do tri-*O*-acetil-D-glucal.

5.2 Uma nova metodologia para a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados

Como já foi citado, diversos ácidos de Lewis podem ser usado para promover o Rearranjo alílico conhecido como Rearranjo de Ferrier. No entanto, nesta metodologia foram testados a ação diversos catalisadores, tentando encontrar uma substância inédita que pudesse ser usado na síntese de glicosídeos 2,3-insaturados.

Tabela 1 – Possíveis catalisadores para a promoção do Rearranjo de Ferrier

Catalisador	Ocorrência da Reação
SiO ₂	Não ocorreu
Montmorillonita KSF	Não ocorreu
Montmorillonita K-10	Não ocorreu
Amberlyst 26	Não ocorreu
Amberlist 15	Não ocorreu
TsOH	Ocorreu

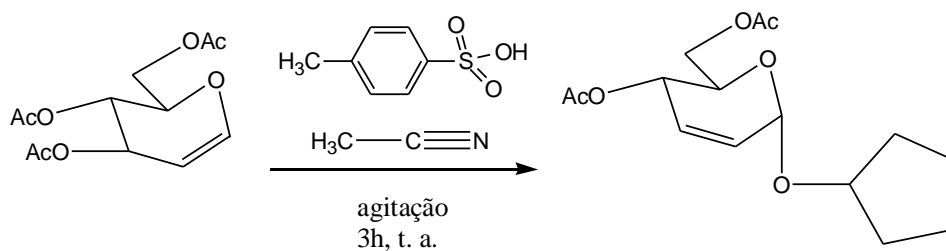
Como nenhum dos catalisadores testados acima não conseguiram promover o rearranjo de Ferrier utilizando energia de ultrassom, além desses compostos testamos para isso o ácido-*p*-toluol-sulfônico, o qual conseguiu promover a formação do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado desejado. Após a escolha do catalisador passamos a otimização da reação. Para isso, testamos diferentes quantidades de catalisador e em seguida observar qual seria a quantidade necessária para que a reação se processasse com eficiência, esses resultados estão sumarizados na tabela 2. Utilizamos para esses testes indicados na tabela 2 o álcool ciclo-pentanol que levou a formação do glicosídeo **3a**.

Tabela 2- Influência quantidade do TsOH na síntese do O-glicosídeo 2,3-insaturado **3a**.

Experimento	Quantidade de TsOH	Rendimento
1	5 mmol	67%
2	10 mmol	72%
3	20 mmol	92%
4	30 mmol	92%

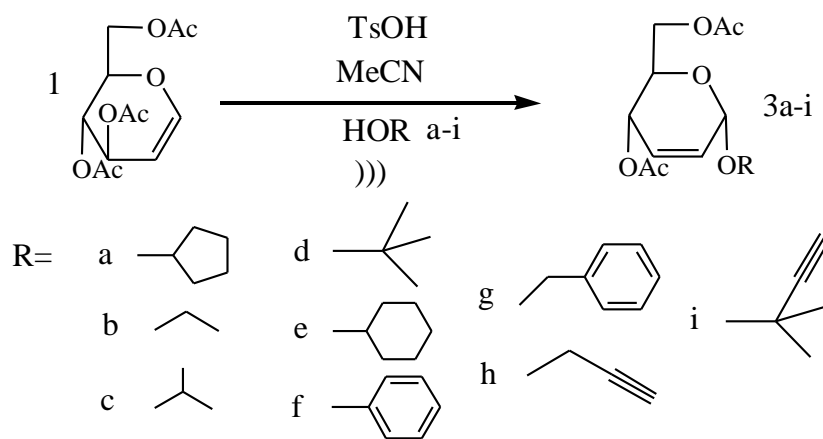
De acordo com a tabela 1, observamos que nos experimentos **1** e **2** houve um pequeno aumento de rendimento sem consumo total do composto de partida, o que ainda não era suficiente para validar a nossa metodologia. Os experimentos **1-4** a reação de glicosidação foram submetidas as irradiação de ultrassom durante 5 mim, e observamos que houve o mesmo rendimento da reação nos experimentos 3 e 4, e com isso concluímos que o percentual de 20% do catalisador foi a quantidade ideal para essa reação. A partir desse momento em todas as reações utilizamos esse percentual do catalisador.

Também foi realizada uma reação teste, na qual utilizamos o ácido-*p*-toluil-sulfônico sem a utilização da energia de ultrassom, para justificar a utilização do desta forma de energia, a síntese nas mesmas condições reacionais utilizando um sistema de refluxo, e observamos através de placas de CCD que a reação só terminou após três horas de reação.

**Esquema 31** - síntese do glicosídeo 2,3-insaturado **3a** sob agitação.

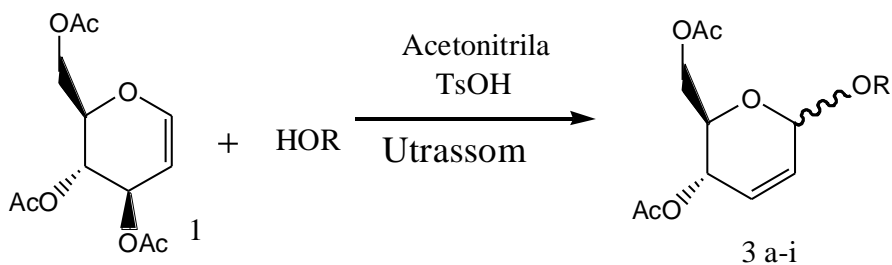
Nesta metodologia, foram utilizados diversos tipos de nucleófilos como agliconas, tais como: álcool alílicos, ramificados, e um fenol com a ideia de produzir os respectivos O-glicosídeos.

A reação de glicosidação entre o tri-O-acetil-D-glucal (**1**) e o respectivo álcool (**a-i**) foi realizada em MeCN, na presença de ácido-*p*-toluol-sulfônico como catalisador, sob irradiação de ultrassom (Esquema 32). Os compostos **3a-i** foram obtidos em um tempo reacional de 15 minutos, com rendimentos variando de 50-92%.



Esquema 32- Reação de glicosidação realizada em ultrassom utilizando ácido *p*-toluenossulfônico catalisador da reação.

Os resultados da síntese dos glicosídeos 2,3-insaturados obtidos estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3- Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados **2 a-n** promovida por TsOH.

Reação	Produto	tempo(min.)	Razão ($\alpha:\beta$)	Rendimento (%)	
1		3a	5	89:11	92
2		3b	5	86:14	98
3		3c	5	88:12	80
4		3d	15	88:12	71
5		3e	5	89:11	72
6		3f	15	88:12	50
7		3g	15	88:12	85
8		3h	15	87:13	91
9		3i	15	91 : 9	79

Quando comparamos os tempos reacionais verificamos que a reação que mais demorou a consumir totalmente o composto **(1)** foi a reação envolvendo o álcool as que *t*-butanol **3d**, possivelmente por ser mais impedido estericamente. O álcool *t*-butílico é muito impedido quando comparado com o isopropil **3c**, o que dificulta a sua aproximação ao tri-*O*-acetil-D-glicol **(1)**, e conseqüentemente necessitando de um maior tempo reacional e acarretando em um menor rendimento. Convém destacar que o tempo reacional variou de 5 a 15 minutos. Os *O*-glicosídeos foram obtidos com rendimentos de bons a ótimos e apresentaram elevadas seletividades em favor do anômero α . Os valores de excesso anomérico foram obtidos pela análise dos compostos espectro obtido por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massa.

Após essas etapas, o estudo da reação de glicosidação com diversos álcoois, assim é possível observar que as reações de glicosidação para obtenção dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados ocorreram com um tempo de reação, que variam de 5 a 15 min. Os produtos **3a-i** foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho e RMN ^1H e ^{13}C .

No espectro de infravermelho do composto **3a** foram observadas na região de 3101 cm^{-1} os picos de absorção referentes aos estiramentos das ligações C—H do anel heteroaromático. Na região de $2926 - 2870\text{ cm}^{-1}$ foram observados os estiramentos simétricos e assimétricos de C-H alifático. Os estiramentos referente às carbonilas dos grupos OAc do anel piranosídico apareceram na região de 1744 cm^{-1} .

Analisando o espectro do composto **3a**, constatamos que os deslocamentos, multiplicidades e constantes de acoplamento estão concordância com os dados descritos na literatura³⁰. Em relação ao composto **3a** (Figura 12) observa-se no espectro de ^{13}C , os carbonos acetoxi em δ 170-179 ppm, os carbonos vinílicos do anel piranosídeo em 128-127 ppm, o carbono anomérico 93 ppm e o carbo metina da aglicona em 80 ppm. No espectro de ^{13}C foram observados 15 carbonos quimicamente diferentes.

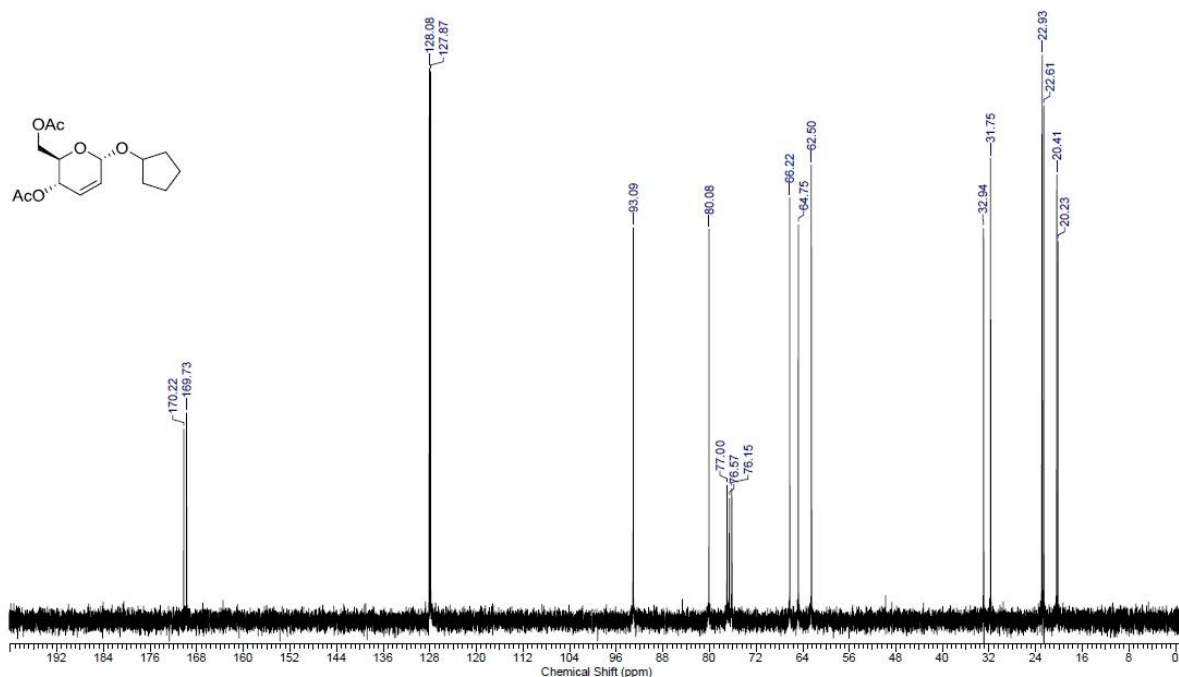
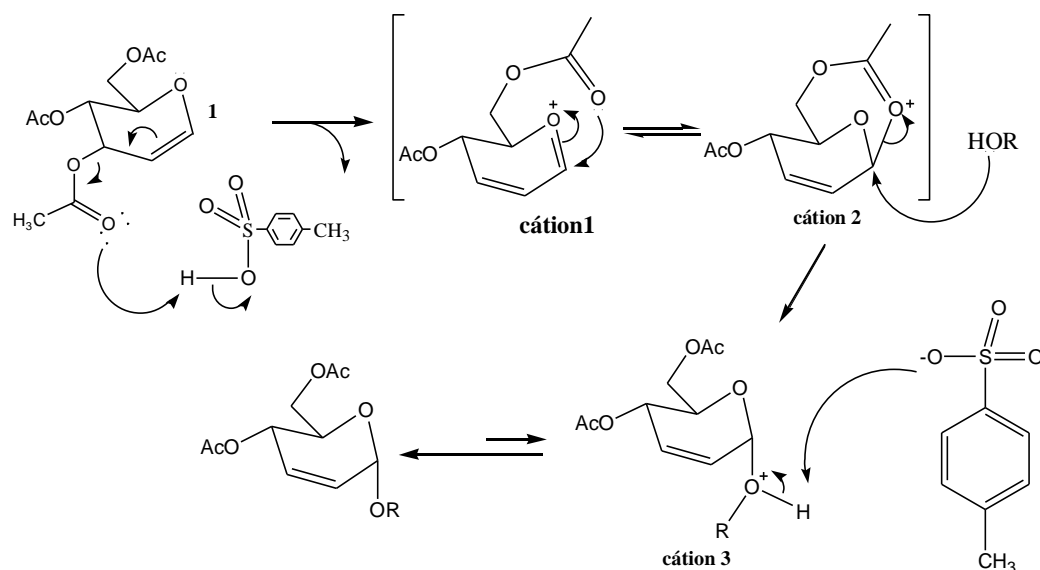


Figura 12 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 3a, o ciclopentil 4,6-di-O-acetil-2,3dideoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo.

O espectro de RMN ^1H do composto 3a mostrou um simpleto em δ 5,10 ppm referente ao hidrogênio anomérico (Figura 12). Em δ 5,70 ppm aparece um duplete referente ao acoplamento do hidrogênio H-3 com o H-2, em δ 5,60 ppm aparece outro duplete, referente ao acoplamento de H-2 com o H-3. Os hidrogênios referentes às metilas dos grupos OAc do anel piranosídeo aparecem como dois simpletos na região de δ 2,20 e 2,10 ppm. Com relação à parte aglicônica, os sinais em δ 4,10 ppm correspondem ao H metina, os demais H aparecem em δ 1,60-1,70 ppm.

O mecanismo proposto para a reação de glicosidação com a formação exclusiva do anômero α pode ser visto no esquema 27. Primeiramente do ácido-*p*-toluil-sulfônico atuará como ácido de Brönsted doando o próton a carbonila do grupo acetoxi ligado ao carbono C-3, através do rearranjo alílico se dá a saída do grupo do carbono C-3 do açúcar na forma de complexo $\text{H-O}_3\text{SHC}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ gerando o cátion oxônio alílico 1.

O grupo acetoxi ligado ao carbono C-6 pela assistência do grupo vizinho ao carbono anomérico formando um novo anel de 7 membros gerando o cátion 2 que bloqueia parcialmente o ataque do nucleófilo pela fase superior, impedindo a formação do anômero β em quantidades significativas. O cátion 2 sofre o ataque do nucleófilos, formando o cátion 3. O complexo abstrai um próton do cátion 3 formando o O-glicosídeo esperado (Esquema 33).



Esquema 33 - Mecanismo proposto para a síntese de O-glicosídeos via ultrassom.

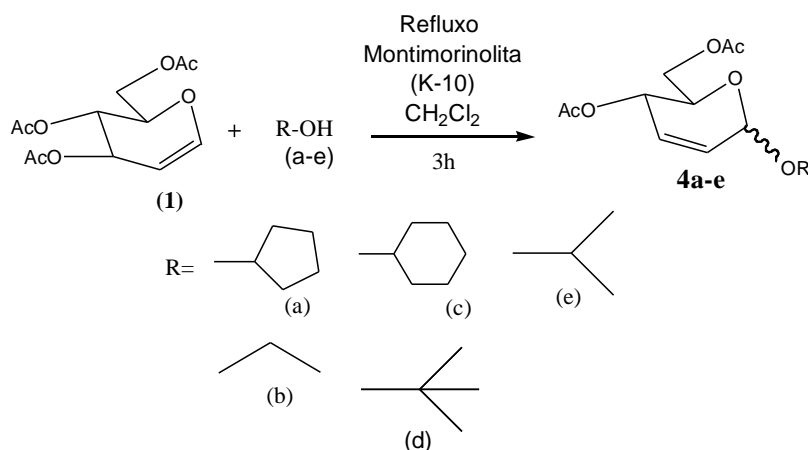
5.3 - AZIDO-GLICOSÍDEOS

5.3.1 Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados

Inicialmente, a reação de glicosidação foi realizada com os álcoois, ciclo-pentílico, ciclo-hexílico, propílico *isopropílico* e *terc*-butílico, fornecendo os compostos **4a-e** com rendimentos entre 75-78% (Esquema 34). Suas estruturas foram verificadas através dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e infravermelho, onde os dados estão de acordo com os da literatura. A metodologia usada foi descrita por Toshima et al.⁵⁷ Neste método, o α -anômero ocorreu com uma seletividade maior que 80%.

⁵⁷Ferrier, R. J. e Prasad, N. *J. Chem. Soc. (C)* (1969), 570.

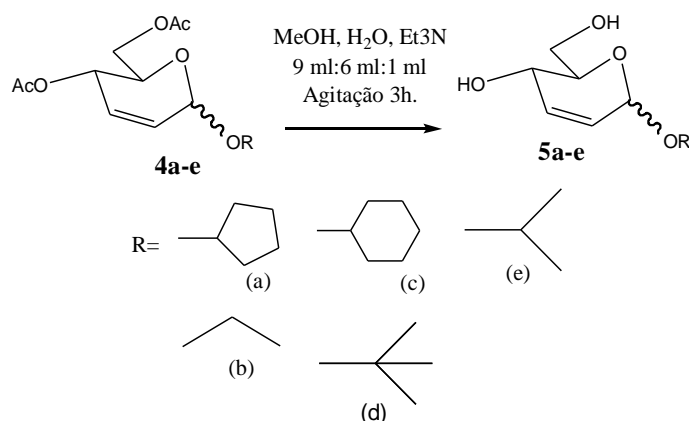
A seletividade para formar α -anômero foi explicada por Shostakovskii et al (1967), quando examinaram as reações do tri-O-acetil-D-glucal (**1**) com álcoois em presença de catalisador ácido e propuseram que o mecanismo desse tipo de reação envolve o ataque do oxigênio do C-6 ao C-1 do composto **1**, causando o deslocamento do grupo acetoxi do C-3 dando um intermediário, seguido pelo ataque do álcool em C-1 na face inferior com abertura do anel de cinco membros (1,6-anidro) fornecendo o **4a-e**.



Esquema 34- Reação de glicosidação utilizando K-10 como catalisador.

A hidrólise básica dos compostos **4a-e** forneceu os compostos **5a-e** com excelentes rendimentos entre 95-97%. Tal reação de hidrólise básica de glicosídeos 2,3-insaturados são estratégias utilizadas na química dos carboidratos, comprovada pelo trabalho desacetilação do metil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo com excelente rendimento de Ferrier e Prasad. Vale ressaltar que na década de 70, Fraser-Reid⁵⁸, demonstrou a desacetilação do etil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo com rendimento quantitativo em um sistema de metanol: água: trietilamina (5:4:1), no nosso caso, usamos o sistema de 9:6:1 (metanol: água: trietilamina) respectivamente (Esquema 35). A hidrólise destes compostos com MeOH:H₂O:Et₃N (9:6:1) usando o procedimento Fraser-Reid forneceu os compostos **5a-e** em rendimento quantitativo (acima de 90%).

⁵⁸Holder, N. L. e Fraser-Reid, B. *Can. J. Chem.*, (1973), 51, 3357.

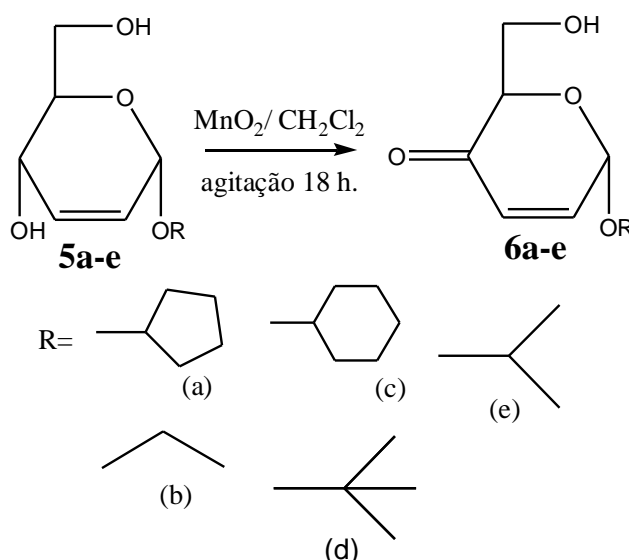


Esquema 35 – Reação de hidrólise básica.

A obtenção dos compostos **5a-e** foi confirmada através das análises de IV, RMN ¹H e ¹³C. No espectro de IV foi observado o desaparecimento da banda em 1744 cm⁻¹, referente aos estiramentos das carbonilas dos grupos OAc do anel piranosídico, e o surgimento de uma banda forte e larga na região de 3450 cm⁻¹, comprovando a substituição dos grupos OAc pelos grupos hidroxila (OH)..

O espectro de RMN ¹H do composto **5a** mostrou um simpleto largo em δ 5,04 ppm referente ao hidrogênio anomérico. Em δ 5,95 ppm aparece um duplete referente ao acoplamento do hidrogênio H-3 com o H-2, em δ 5,70 ppm aparece outro duplete referente ao acoplamento de H-2 com o H-3. A metina da parte aglicônica aparece na região de δ 3,70 ppm e os demais H da aglicona aparecem em δ 1,83-1,51 ppm.

Em seguida os compostos **5a-e** foram então submetidos a uma oxidação alílica resultando nas enonas **6a-e** com bons rendimentos entre 71-87% (Esquema 36). A síntese de alquil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose usadas nos dias atuais foram propostas por Fraser-Reid et al, utilizando dióxido de manganês. A síntese de açúcares 2,3-insaturados é importante, pois sabe-se que as hexenopiranosuloses podem ser utilizadas como excelentes intermediários na síntese de aminoaçúcares e outros açúcares.



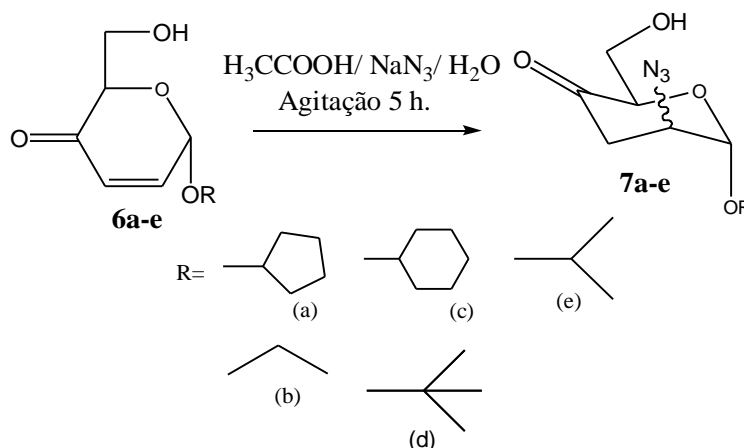
Esquema 36- Reação de oxidação alílica.

As estruturas dos compostos **6a-e** foram analisadas pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN ^1H e ^{13}C . Com relação aos espectros de IV na região de $2948\text{-}2838\text{ cm}^{-1}$. Foram observados os estiramentos simétricos e assimétricos de C-H alifático, a presença de uma banda na região de 1692 cm^{-1} é devido ao estiramento da carbonila α,β -insaturada. A região de 3477 cm^{-1} apresenta uma banda forte e larga, característica dos estiramentos da ligação O-H.

O espectro de RMN ^1H do composto **6a** mostrou um duplete em δ 5,55 ppm, com constante de acoplamento $J=3,9\text{ Hz}$, referente ao hidrogênio anomérico. Em δ 6,81 ppm aparece um duplete de duplete referente ao hidrogênio H-2, $J_{2,3}=10,2\text{ Hz}$ e $J_{2,1}=3,9\text{ Hz}$. Na faixa de δ 6,10 ppm aparece um duplete referente ao H-3 com constante de acoplamento $J_{2,3}=10,2\text{ Hz}$. Os demais prótons aparecem na região esperada.

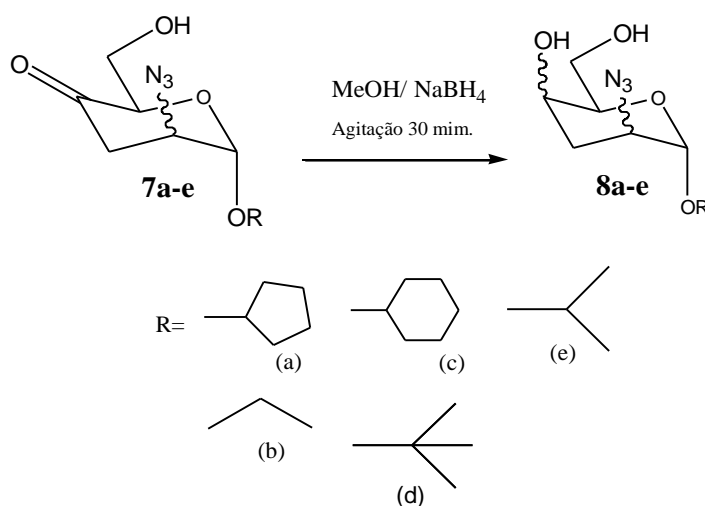
5.3.2. Síntese dos azido-glicosídeos

Como tentativa para obtenção de aminoacúcares, e baseando-se no método proposto por Gero et al.,⁵⁹ realizou-se inicialmente a adição de azida de sódio aos compostos **6a-e** para obtenção dos compostos **7a-e** (Esquema 37). Não conseguimos isolar os compostos **7a-e** devido ao fato dos mesmos serem instáveis.



Esquema 37 - Reação de adição 1,4 de Michael de azida.

Diante desta dificuldade, após adição da azida e sem purificação, a mistura reacional foi submetida a uma reação de redução com boro-hidreto de sódio em metanol para fornecer os compostos **8a-e**. Estes compostos foram obtidos com rendimentos moderados.



Esquema 38 - Reação de Redução.

⁵⁹ J. Leboul, J. Cleophax, S.D.Gero, A. Rolland, A. Forchioni. *Tetrahedron*.1977, 33, 956.

As estruturas dos compostos **8a-e** foram analisadas pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN ^1H e ^{13}C . A análise de IV dos compostos apresentou absorção de (OH) em aproximadamente 3403, (N_3) em 2108 e (-C-O-) em 1027 cm^{-1} (Figura 14).

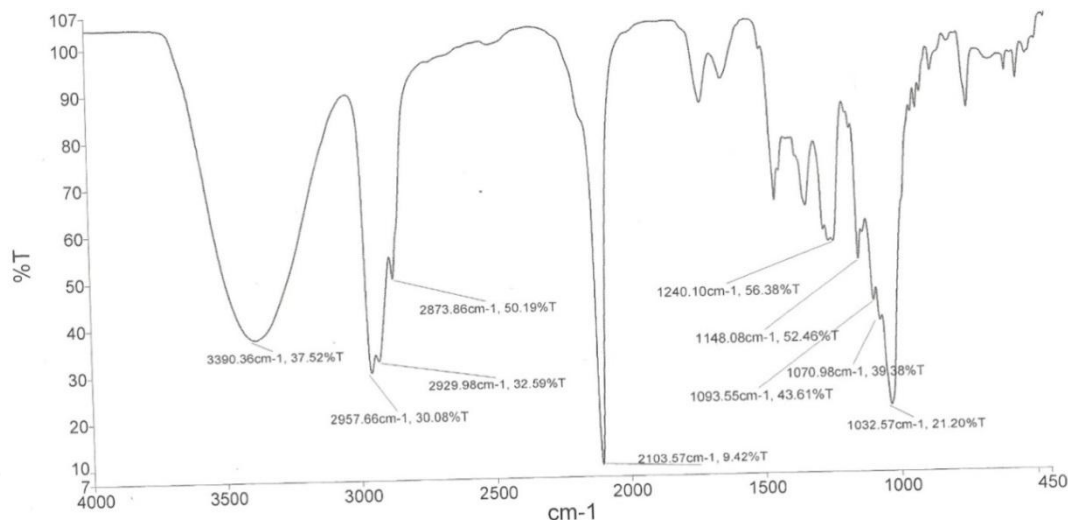


Figura 14 - Espectro de infravermelho do composto **8a**.

Os dados de RMN ^1H do composto **7a** mostraram um sinal na região de δ 4,90 ppm como um simpleto referente ao próton anomérico H-1. O multipeto largo em δ 4,28 ppm foi designado para o H-4. O próton H-2 foi atribuído ao simpleto largo em δ 3,82 ppm. Os H-3ax e H-3eq tiveram deslocamento na faixa de δ 1,98-2,19, apresentando como um multipeto.

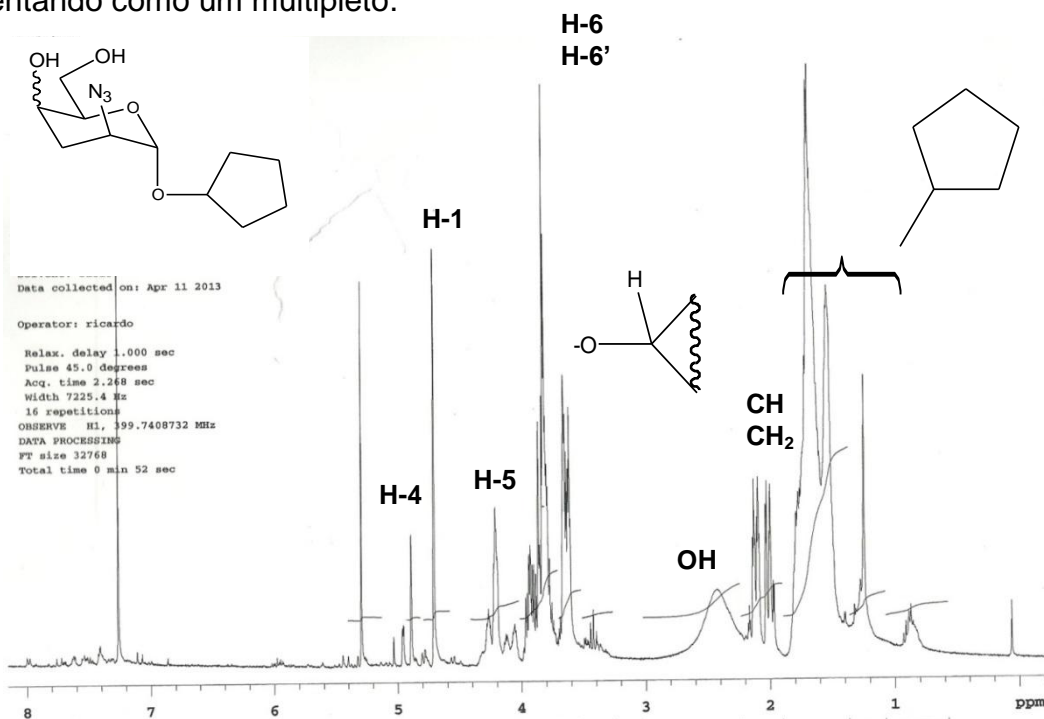


Figura 13- Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **8a**.

5.4 - Atividade biológica dos O-glicosídeos 2,3-insaturados e dos azido-glicosídeos

Após a síntese e caracterização estrutural, os compostos foram enviados ao departamento de fisiologia e farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para testar as suas atividades antiproliferativas frente à quatro linhagens de células tumorais humanas: Células **NCL-H292** (carcinoma de pulmão), **HEP** (Carcinoma laringeo), **MCF-7** (câncer de mama), e também células **HL60** (leucemia promielocítica).

No total foram enviados dez compostos, cinco de cada uma das séries de síntese. Uma série com substâncias que apresenta em sua estrutura um sistema α,β -insaturado, e estes compostos são os **6a-e**. As outras cinco amostras são de azido-glicosídeos, que são numeradas **8a-e**. Essas atividades citotóxicas foram testadas e avaliadas utilizando o método MTT assay⁶⁰. Como os primeiros testes de atividade antiproliferativos ocorreram dois meses após o envio das amostras ao departamento de farmacologia da UFPE, três amostras não chegaram a ser testadas, pois degradaram. Essas moléculas são as dos códigos **6a**, **6d** e **8d**.

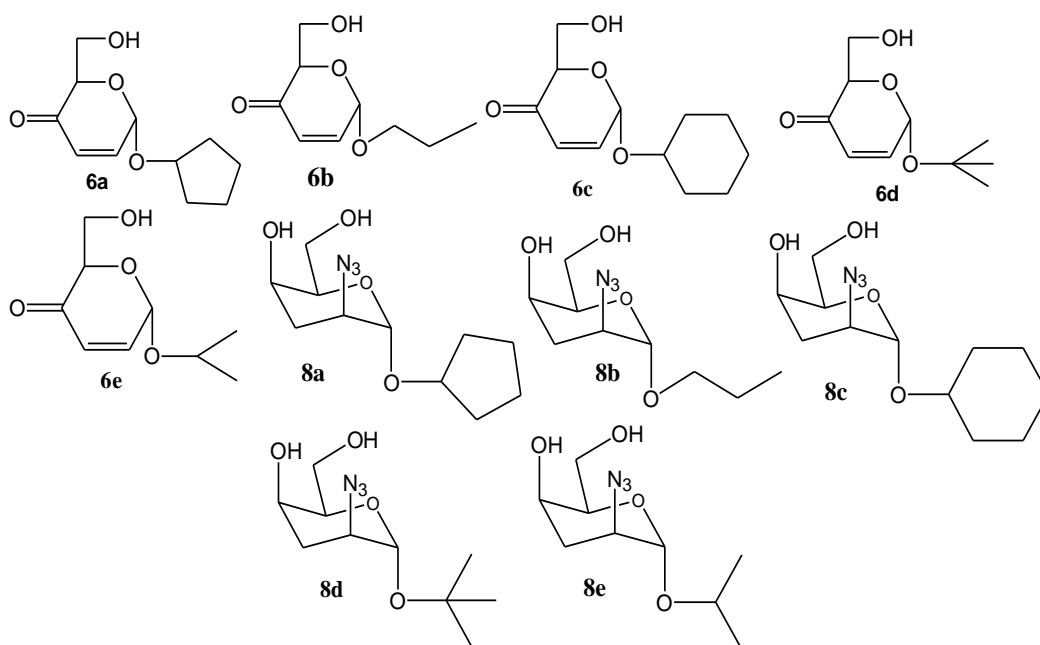


Figura 14 – Estrutura química dos compostos enviados para teste de atividade citotóxica.

⁶⁰Berridge, M. V., Tan, A. S., Mccoy, K. D., Wang, R.; *Biochemica* (1996).

O primeiro teste de atividade biológica foi feito, com oito moléculas, frente às duas linhagens tumorais, a **NCL-H292** e **HEP**, e os resultados podem ser vistos na tabela 4.

Tabela 4- Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.

Compostos	Inibição NCL-H292 (%)	DESVIO da NCL-H292	Inibição HEP	DESVIO da HEP
8c	98,4	3,1	88,3	8,1
8a	59,6	26,8	61,8	19,4
6b	97,5	7,3	84,9	16,6
8b	81,9	9,3	88,1	0,1
6e	96,6	1,0	86,7	18,0
6c	96,9	3,3	101,4	2,1
8e	37,2	3,8	14,3	2,1

Em relação ao azido-glicosídeos (os composto de **8a**, **8b**, **8c**, **8e**), pode-se observar pelos dados sumarizados na tabela 4, que ocorreu uma grande variação no percentual da taxa de inibição celular. Em termos estruturais, esses compostos fazem parte da mesma série, e a única diferença é com relação à aglicona dos glicosídeos. Na figura 20 os compostos estão em ordem crescente de taxa de inibição frente à linhagens de células **NCL-H292**.

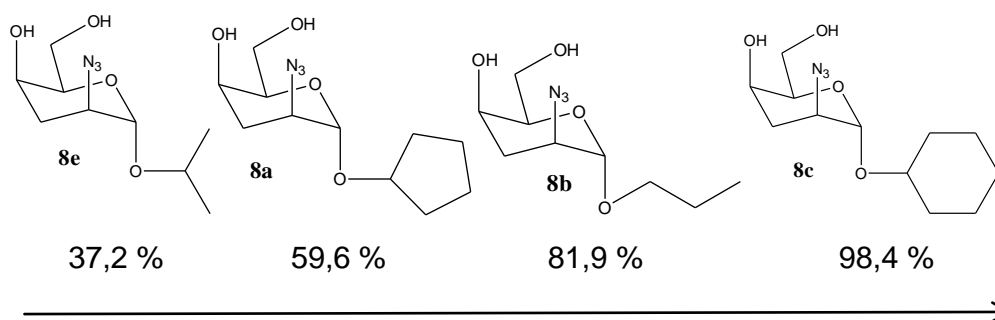


Figura 15- Ordem crescente de taxa de inibição presentes nos azidos-glicosídeos frente a células **NCL-H292**.

De acordo com dados da Tabela 4, nota-se os compostos **6b**, **6c** e **6e** exibiram muita atividade citotóxica contra a linhagem de células cancerosas *NCI H-292*. Os compostos **6b**, **6c** e **6e** apresentaram atividade citotóxica excelente frente à linhagem celular *NCI-H292* com ~ 97% de inibição do crescimento tumoral na concentração de 25 µg/mL; e frente à linhagem tumoral HEP com 101% de inibição para o composto **6c**.

Esses resultados já eram esperados, pois nossas moléculas apresentam um sistema α,β -insaturado. Há diversos relatos na literatura sobre moléculas que apresentam os sistemas α,β -insaturados-gama-lactona. Essas moléculas são responsáveis pela atividade biológica dos compostos que a contém.

Menezes *et al* (2014), relatam que esse grupo funcional está presente em diversas moléculas que vem sendo isoladas de plantas e organismos marinhos, essas substâncias apresentam uma ampla gama de atividades biológicas⁶¹.

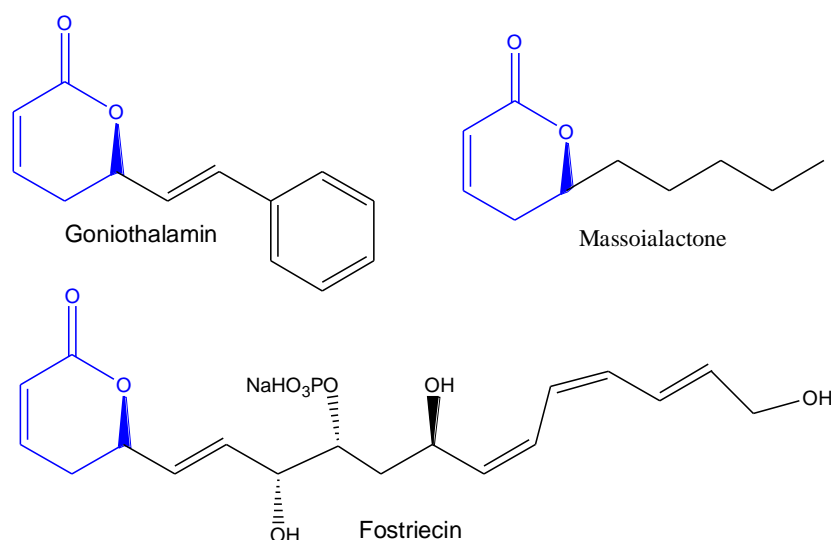


Figura 16 – Estruturas químicas de compostos isolados de plantas e organismos marinhos que apresentam atividade biológica.

Após a avaliação de atividade antiproliferativa, os compostos que apresentaram percentual de inibição maior que 90% passaram por um novo teste para determinar os valores de concentração de IC_{50} , e os resultados podem ser vistos na Tabela 5.

Tabela 5- Concentração inibitória em 50% (CI₅₀%) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/ml.

Compostos	NCI-H292 IC ₅₀
	(Intervalo de Confiança)
6c	1,1 (0,8 – 1,6)
8c	9,9 (6,0 – 16,3)
6e	Boa atividade
8b	23,7 (7,4 – 75,7)
6b	7,9 (5,3 – 11,7)

Os compostos **6c** e **6e** foram os únicos compostos de síntese que podemos checar suas atividades citotóxicas frente às quatro linhagens de células, porque os outros compostos degradaram antes do teste. No entanto, este estudo demonstra o potencial inicial desta classe de compostos.

Nos ensaios com a linhagem tumoral **MCF-7** também foi observada variações quanto à atividade dos compostos. Os valores de CI₅₀ variaram entre 2,5 e 5,1 (Tabela 6).

Tabela 6 - Concentração inibitória em 50% (CI₅₀%) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/mL.

Compostos	MCF-7 IC ₅₀
	(Intervalo de Confiança)
6c	2,5 (1,5 – 4,2)
6e	5,1 (4,1 – 6,5)

Por fim, os compostos mais ativos tiveram suas atividades testadas frente às células HL60 e os resultados estão na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentração inibitória em 50% (CI₅₀) e intervalo de confiança (IC) das amostras em uma linhagem tumoral e seu intervalo de confiança com dose única de 25 µg/mL.

Compostos	HL60IC₅₀ (Intervalo de Confiança)
6c	1,0 (0,8 – 1,2)
6e	1,6 (1,1 – 2,4)

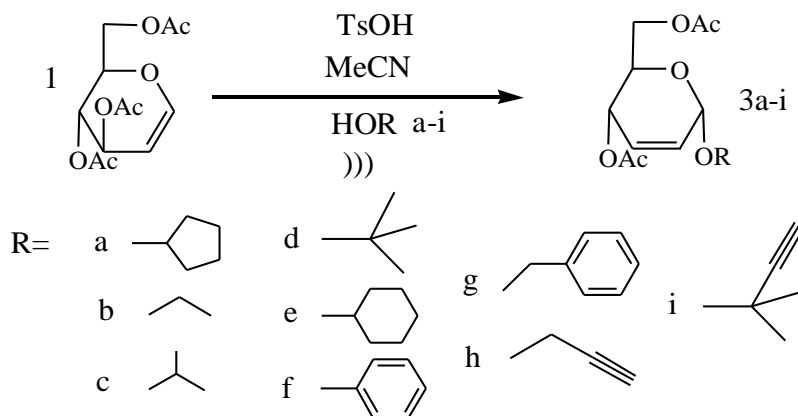
Os dados referentes ao CI₅₀ das moléculas frente à três linhagens de células tumorais humanas. Esses resultados estão sumarizados na tabela 8.

Tabela 8 – Concentração inibitória em 50% (CI₅₀%) de duas amostras frente a três linhagens tumorais com dose única de 25 µg/ml.

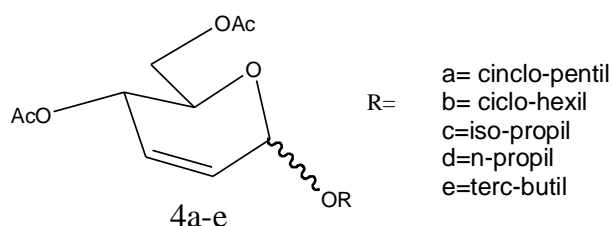
Compostos	Células NCL-H292	Células MCF-7	Células HL-60
6a	1,1	2,5	1,0
6e	Boa atividade	5,1	1,6

6 CONCLUSÃO

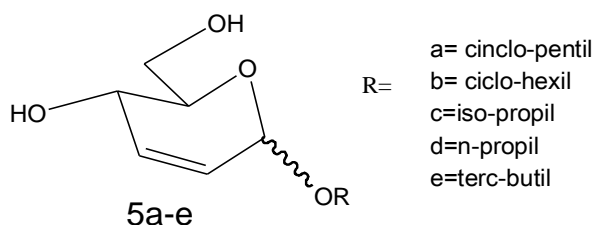
Neste trabalho, foi desenvolvida uma nova metodologia para a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados, utilizando como catalisador o ácido-*p*-toluol-sulfônico mediante a utilização de ondas de ultrassom. Os compostos foram obtidos em curto tempo reacional, com bons rendimentos (50-92%) e elevada estereosseletividade em favor do anômero α .



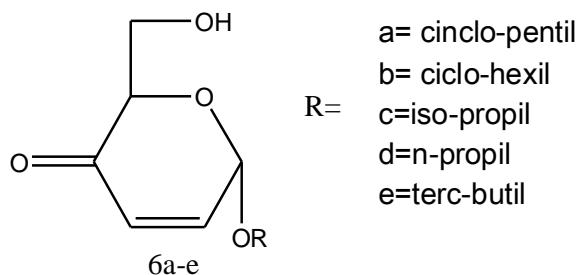
Obtivemos cinco glicosídeos 2,3-insaturados **4a-e**, pelo método convencional, em bons rendimentos (75-78%).



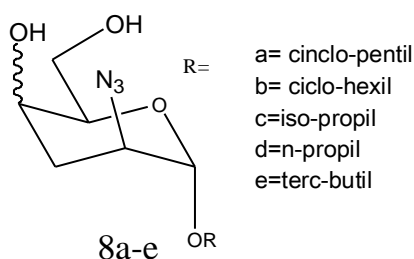
Após a obtenção desses compostos, realizamos uma reação de hidrólise básica, utilizando um sistema MeOH, H₂O e Et₃N, na proporção (9:6:1), e obtivemos os compostos **5a-e** em rendimentos quantitativos (95-97%).



Os compostos **5a-e** foram submetidos a uma oxidação alílica, resultando nos alquil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose **6a-e** com bons rendimentos entre (71-81%).



Cinco azidos-glicosideos reduzidos (**8a-e**), foram obtidos em rendimentos que variaram de (50 a 61 %).



Por fim, realizamos testes de atividade biológica de dez moléculas, das quais quatro são inéditas. Esses compostos foram testados frente à células tumorais humanas, e esses testes ocorreram em parceria com a professora Gardênia Militão do departamento de fisiologia e farmacologia da UFPE. Essas moléculas apresentaram de pouca atividade citotóxica a muita atividade antiproliferativa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] NOUGUEIRA, C.M.; PARMANHAN, B. R.; FARIAS, P. P.; CORRÊA, A. G.; A importância Crescente dos Carboidratos em Química Medicinal, *Revista Virtual de Química* (2009), 149-159.
- [2] YANG, G.; SCHEMING, J.; TSUJI, M.; FRANK, R. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2004), 3818.
- [3] BERGMAN, A.M.; KUIPER, C. M.; VOORN, D. A.; COMIJIN, E. M.; MYHERN, F.; SANDVOLD, M.L.; HENDRIKS, H. R.; PETERS, G. J. *Biochem.Pharmacol.* (2004), 503.
- [4] DEVULAPLE, K. S.; SEGURA, A. G.; FERRER, M.; ALCALDE, G. M.; PLOU, F. *J. Carbohyd. Res.* (2004), 1029.
- [5] XAVIER, M.N.; RAUTER, P. A. *Carbohydrate Reseach* (2008), 1523-1539.
- [6] FERRIER, R. J.; PRASAD, N.; *University London* (1969).
- [7] TILVER, R. D.; ALEXANDRE, M. V.; KHANDEKAR, A. C.; SAMANT, S. D.; KANETKAR, V. R. *J. Mol. Cat.; A. Chem.*(2004) 237-240.
- [8] ZHANG, G.; LIU, Q.; SHI, L.; WANG; J. *Tetrahedron* (2008) 339-344.
- [9] SWAMY, N. R.; VENKATESWARLU, Y.; *Synthesis* (2002), 598.
- [10] BABU, B. S.; BALASUBRAMANIAN, K. K.; *Tetrahedron lett.* (2000) 1271-1274.
- [11] BETTADIAIAH, B. K.; SRINIVAS, P.; *Tetrahedron Lett.* (2003), 7257.
- [12] KIM, H.; MEN, H.; LEE, C.; *J. Am. Chem. Soc.* (2004), 1336.

- [13] SWAMY, N. R.; SRINIVASULU, M.; REDDY, T. S.; GOUD, T. V.; VENKATESWARLU, Y.; *J. Carbohydr. Chem.* **(2004)**, 435.
- [14] RAFIEE, E.; TANGESTANINNEJAD, S.; HABIBI, M. H.; MIRKHANI, V.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **(2004)**, 3611.
- [15] BABU, J. L.; KHARE, A.; VANKAR, Y. D.; *Molecules* **(2005)**, 884;
- [16] NAIK, P. U.; NARA, J. S.; HARJANI, J. R.; SALUNKHE, M. M.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* **(2005)**, 35
- [17] PROCOPIO, A.; DALPOSSO, R.; De NINO, A.; NARDI, M.; OLIVERIO, M.; RUSSO, B.; *Synthesis* **(2006)**, 2608.
- [18] PROCOPIO, A.; DALPOZZO, R.; NINO, A. D.; MAIUOLO, L.; NARDI, M.; OLIVERI, M.; Russo, B.; *Carbohydr. Res.* **(2007)**, 2125
- [19] ZHANG, G.; SHI, L.; LIU, Q.; WANG, J.; LI, L.; LIU, X.; *Tetrahedron* **(2007)** 9705
- [20] TAYAMA, E.; OTOYAMA, S.; ISAKA, W.; *Chem. Commun.* **(2008)**, 4216.
- [21] BARAMULUGAN, R.; KOPPOLU, S. R.; *Tetrahedron* **(2009)**, 8139.
- [22] RODRIGUEZ, O. M.; COLLINAS, P. A.; BRAVO, R. D.; **(2009)**, 1154.
- [23] NAGARAJ, P.; RAMESH, N; **(2009)** 3970-3973.
- [24] OLIVEIRA, N. R.; FILHO, F. R. J ; SRIVASTAVA, R. M.; **(2002)** 432141-2143.
- [25] DE, K.; LEGROS, J.; CROUSSE, B.; DELPONT, D.B.; **(2008)** 10497-10500.
- [26] HORTHA, S.; TRIPHATI, A.; *Tetrahedron Letters* **(2005)** 4555-4558.

- [27] MICHIGAMI, K.; HAYASHI, M.; **(2011)** 1092-1096.
- [28] KINFE, H. H.; MEBRATHU, M. F.; SITHOLE, K.; *Carbohydrate Research* **(2011)** 2528-2532.
- [29] CHEN, P.; WANG, S.; *Tetrahedron* **(2012)** 583-588.
- [30] FREITAS, J. C. R. F.; TÚLIO, R. C.; ANTÔNIO, A. S. P.; FILHO, J. R. F.; IVANI, M.; ROBERTA, A. O.; PAULO, H. M.; *Tetrahedron*, **(2012)** 8645-8654.
- [31] ZHONGWU, G.; *Carbohydrate Chemistry Biology and Medicinal Applications* **(2008)**..
- [32] DEMCHEMKO, V. A.; *Department of Chemistry Missouri USA* **(2003)**.
- [33] DA SILVA, O. C.; *Revista Virtual de Química* **(2011)**.
- [34] LEMIEUX, R. U.; **(1971)** 527-548.
- [35] MAYATO, C.; ROSA, L. D.; JOSÉ, M. P.; JESÚS, T. V.; **(2012)** 101-108.
- [36] MUKHERJEE, A.; JAYARAMAN, N.; *Carbohydrates Research* **(2011)** 1569-1575.
- [37] FREITAS, J. C. R.; *Dissertação de mestrado UFPE* **(2010)**.
- [38] OLIVEIRA, N. R.; *Tese de Doutorado UFPE* **(2006)**.
- [39] TOKIMOTO, H.; FUJIMOTO, Y.; FUKASE, K.; KUSUMOTO, S.; **(2004)** 441-447.
- [40] BARROS, C. J. P.; *Dissertação de mestrado UFRPE* **(2012)**.

- [41] MARTINES, U. A. M.; DAVOLOS, R. M.; JÚNIOR, J. M.; *Química Nova* (1999).
- [42] BRETANHA, L. C.; TEXEIRA, V. E.; RITTER, M.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W.; PEREIRA, C. M. P.; FREITAG, R. A.; *Ultrason. Sonochem.* **2011**, 704.
- [43] DAVIDSON, R. S.; *The Royal Society ChemistryCambridg*, (1990); Cap 6.p.69.
- [44] DA SILVA, B. G.; Dissertação de Mestrado UFRPE (2011).
- [45] SONG, Z.; HE, P.; JIN, P. X.; GAO, X. L.; SHENG, L.; ZHOU, Y.; LIA, J.; CHEN, R. G.; *Tetrahedron Letters* (2011) 894-898.
- [46] TRIPATHI, P. R.; SRIVASTAVA, K. A.; PANDEY, K. S.; JAISWAL, N.; ANAND, N.; (2001) 16-25.
- [47] WANG, Q.; XIE, F.; CHITABOINA, S.; *Tetrahedron Letters* (2005) 2331-2336
- [48] BARROS, T. M.; PETROVA, T. K.; POTEWAR, M. T.; *Carbohydrate Research* (2013) 60-67.
- [49] SHAEENG, R.; SIRION, U.; MANGSANG, W.; *Carbohydrate Research* (2013) 78-89.
- [50] RADHAKRISHNAN, V. K.; VINEETHA, P. V.; RAGHU, G. K.; RANI, P. M.; JOSEPH, N.; AJISH, R. K.; *Tetrahedron Letters* (2013) 5682-5685.
- [51] KAMB, A.; WEE, S.; LENGAUER, C.; *Nature Reviews Drug Discovery.* (2007). 115–120,
- [52] HASHIMOTO Y.; *Archiv der Pharmazie. Weinheim*, (2008), 536-547.
- [53] ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S.; *Material Research*, (2003) 317-320,

-
- [54] DAGUANO, J. K. M. F.; SANTOS, C.; ROGERO, S. O.; *Matéria*, **(2007)** 134-139.
- [55] SULL, K. B., WU, Z.; KOREEDA, M.; *Journal of Carbohydrate Chemistry*, **(1996)** 955-964.
- [56] FERRIER, R. J. e PRASAD, N. *J. Chem. Soc. (C)* **(1969)**, 570
- [57] HOLDER, N. L. e FRASER-REID, B. *Can. J. Chem.*, **(1973)**, 3357
- [58] LEBOUL, J.; CLEOPHAX, J.; GERO, S. D.; ROLLAND, A.; *Tetrahedron* **(1977)** 965-968.
- [59] BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R.; *Biochemica*, **(1996)**.14-19,

ESPECTROS SELECIONADOS

