

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

ANA CAROLINA OLIVEIRA BRETAS

**SÍNTESE DE INIBIDORES POTENCIAIS DE GLICOSAMINA-6-FOSFATO
SINTASE E DE (1,3)- β -D-GLICANA SINTASE E DE ANÁLOGOS DA NEAMINA**

**Belo Horizonte
2013**

ANA CAROLINA OLIVEIRA BRETAS

**SÍNTESE DE INIBIDORES POTENCIAIS DE GLICOSAMINA-6-FOSFATO
SINTASE E DE (1,3)- β -D-GLICANA SINTASE E DE ANÁLOGOS DA NEAMINA**

Tese, como requisito parcial para obter o grau de doutor em Ciências Farmacêuticas, submetido ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Minas Gerais.
Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Alves

PREFÁCIO

A presente tese é composta por três capítulos.

No Capítulo 1, “Síntese de Inibidores Potenciais de Glicosamina-6-Fosfato Sintase”, são descritas as atividades relacionadas ao planejamento, à síntese e à avaliação da atividade biológica de uma série de novos análogos da L-glutamina.

A síntese de um análogo da Papulacandina D, obtido por simplificação molecular, inibidor potencial da enzima (1,3)- β -D-glicana sintase está relatada no Capítulo 2.

No Capítulo 3, “Planejamento e síntese de novos análogos da Neamina”, estão descritos o planejamento, por simplificação molecular, de novos potenciais agentes antimicrobianos, derivados da N-acetil-D-glicosamina, bem como a síntese e as tentativas de síntese realizadas.

Os Capítulos 1 e 2 foram desenvolvidos no Laboratório de Química Farmacêutica e Medicinal da Faculdade de Farmácia da UFMG, sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo José Alves.

O Capítulo 3 foi desenvolvido no Laboratoire de Pharmacochimie Moléculaire (DPM) na Université Joseph Fourier, em Grenoble (França) durante estágio sanduíche, realizado no período de Abril/2012-Outubro/2012, sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo José Alves e a co-orientação do Prof. Dr. Jean-Luc Decout.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, a todos os meus professores que de diferentes formas contribuíram para a minha formação. A participação de cada um, ao longo de toda a minha vida acadêmica, me impulsionou até o dia de hoje. E foi graças aos belos exemplos que decidi, pessoalmente, seguir seus passos e me tornar também uma professora. Agradeço em especial aos meus professores de Química, que ainda no ensino médio, fizeram despertar em mim a paixão por essa ciência. Obrigado, especialmente, aos professores de Química Farmacêutica, Ricardo, Dôra, Thaís e Basílio.

Quero expressar também os meus agradecimentos ao meu orientador, Ricardo José Alves, que vem me guiando ao longo de vários anos, da iniciação científica, passando pelo mestrado, até o doutorado.

Obrigada ao meu co-orientador, Prof. Jean-Luc Decout, que tão bem me acolheu durante meu estágio.

Aos colegas de laboratório os meus sinceros agradecimentos pelos anos de convivência e pelos vários bons momentos. Durante o meu caminho tive o prazer de compartilhar da amizade de pessoas muito especiais, que me marcaram, e vão continuar fazendo parte da minha vida, espero, para sempre.

Obrigada à equipe de funcionárias do Laboratório de Química Farmacêutica, Lavínea, Raquel, Ayeska e Kênia, ao Eduardo, secretário do Colegiado de Pós-Graduação e aos técnicos do RMN, Ivana e Ricardo.

Dedico uma agradecimento especial ao Coordenador e ao Subcoordenador do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Prof. Armando Silva Cunha Júnior e Prof. Márcio Matos Coelho.

O meu maior agradecimento ao meu marido, Otávio, que de diferentes formas me dá apoio, suporte e força. Agradeço também à minha família, em especial à minha mãe, pela confiança e entusiasmo.

Agradeço o suporte financeiro da CAPES e FAPEMIG.

RESUMO

A disseminação de infecções causadas por fungos patogênicos permanece como um grave problema para a medicina contemporânea e a necessidade do desenvolvimento de novos agentes antifúngicos é evidente diante das limitações dos fármacos que constituem o atual arsenal terapêutico. A exploração de alvos moleculares seletivos tem-se mostrado uma estratégia eficaz na identificação de novas substâncias potentes e com baixa toxicidade.

Com base nisso planejou-se no presente trabalho a síntese e a avaliação antimicrobiana de análogos lipofílicos da L-glutamina, potenciais inibidores da GlcN-6-P sintase, uma enzima que catalisa a síntese de glicosamina-6-fosfato, precursor da quitina, importante componente da parede celular fúngica. Foram sintetizados com sucesso onze análogos da L-glutamina.

Outra enzima que vem sendo explorada como alvo para o desenvolvimento de novos antifúngicos é a 1,3- β -D-glicana sintase, responsável por catalisar a síntese das 1,3- β -D-glicanas. As papulacandinas são substâncias de origem natural, que inibem a ação dessa enzima. Um novo análogo da papulacandina D planejado por simplificação molecular foi obtido com sucesso.

Também foi planejada no presente trabalho a síntese de novos análogos da neamina, preparados por reação de metátese. Planejou-se, inicialmente a obtenção de três novos análogos, sendo que a síntese de um deles é descrita no presente trabalho. Além disso, foram feitos importantes avanços nas rotas de síntese para os outros dois análogos, incluindo uma bem sucedida reação de metátese cruzada, que levou à obtenção de intermediários-chave da síntese.

ABSTRACT

The spread of infections caused by pathogenic fungi remains a serious problem for contemporary medicine and the need to develop new antifungal agents is evident in view of the limitations of the drugs of the currently available therapeutic arsenal. The exploitation of selective molecular targets has proved to be an effective strategy in identifying new potent compounds.

Thus, in the present work the synthesis and antimicrobial evaluation of lipophilic analogs of L-glutamine, potential inhibitors of GlcN-6-P synthase, enzyme that catalyzes the synthesis of glucosamine-6-phosphate, precursor of chitin, important structural constituent of the fungal cell wall is proposed. Eleven analogs of L-glutamine were successfully synthesized.

Another enzyme which has been investigated as a target for the development of new antifungal agents is 1,3- β -D-glucan synthase responsible for catalyzing the synthesis of 1,3- β -D-glucans. The papulacandins are naturally occurring substances that inhibit the action of this enzyme. A new analogue of papulacandin D planned by simplification molecular was achieved successfully.

Finally, the synthesis of three new neamine analogues, prepared by metathesis reaction was also proposed. In the present work the synthesis of one of these compounds was accomplished. Besides, there were important advances in the synthetic route to the two other compounds, including a successful preparation of the key intermediate prepared by cross methathesis.

LISTA DE FIGURAS - CAPÍTULO 1

Figura 1.1 – Exemplos de fármacos antifúngicos usados clinicamente	22
Figura 1.2 – Reação catalisada pela GlcN-6-P sintase	23
Figura 1.3 – Estrutura da GlcN-6-P	24
Figura 1.4 – Mecanismo catalítico do domínio glutaminase	25
Figura 1.5 – Mecanismo catalítico do domínio isomerase	26
Figura 1.6 – A) Visão global da cavidade intramolecular que liga os dois sítios ativos em um monômero da Glc-6-P; B) Formação do canal de amônia, na conformação fechado, após a ligação da Fru-6-P ao domínio isomerase; C) Abertura do canal de amônia após a ligação do inibidor DON, promovido pela mudança no posicionamento do grupo indol do resíduo de Trp74	27
Figura 1.7 – Inativação da GlcN-6-P sintase pelo FMDP	30
Figura 1.8 – Estruturas de quatro novos inibidores da GlcN-6-P sintase	33
Figura 1.9 – Inativação da GlcN-6-P sintase pelo análogo XLVII	34
Figura 1.10 – Inativação da GlcN-6-P sintase pelo análogo XLIX	35
Figura 2.1 – Estruturas químicas dos análogos do FMDP	36
Figura 2.2 – Estrutura da L-glutamina em comparação com seus análogos	37
Figura 3.1 – Esquema para a síntese de 1	38
Figura 3.2 – Esquema para a síntese de 2 - 9	39
Figura 3.3 – Esquema para a síntese de 27 - 34	40
Figura 3.4 – Esquema para a síntese de 10 - 12	40
Figura 5.1 – Esquema para a síntese de 1.	68
Figura 5.2 – Representação esquemática do mecanismo de formação do derivado ciano.	69
Figura 5.3 – Mecanismo alternativo proposto para a obtenção do derivado ciano.	70
Figura 5.4 – Síntese de tetrazol monossustituído.	71
Figura 5.5 – Mecanismo proposto para a formação do derivado A.	73
Figura 5.6 – Esquema para a síntese de 2 - 9	74
Figura 5.7 – Esquema para a síntese de 2	75
Figura 5.8 – Esquema para a síntese de 2.1	85

LISTA DE FIGURAS APÊNDICE A - CAPÍTULO 1

Figura A.1– Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 16	105
Figura A.2 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 16	106
Figura A.3 – Espectro no IV de 16	106
Figura A.4 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 2	107
Figura A.5 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) de 2	108
Figura A.6 – Espectro de Massas de 2	108
Figura A.7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 3	109
Figura A.8 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 3	110
Figura A.9 – Espectro de Massas de 3	110
Figura A.10 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 4	111
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, , $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 4	112
Figura A.12 – Espectro de Massas de 4	112
Figura A.13 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 5	113
Figura A.14 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) de 5	114
Figura A.15 – Espectro de Massas de 5	114
Figura A.16 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 6	115
Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, , $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 6	116
Figura A.18 – Espectro de Massas de 6	116
Figura A.19 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 7	117
Figura A.20 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 7	118
Figura A.21 – Espectro de Massas de 7	118
Figura A.22 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 8	119

Figura A.23 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 8	120
Figura A.24 – Espectro de Massas de 8	120
Figura A.25 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 9	121
Figura A.26 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 9	122
Figura A.27 – Espectro de Massas de 9	122
Figura A.28 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO/TFA) de 10	123
Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO/TFA) de 10	124
Figura A.30 – Espectro de Massas de 10	124
Figura A.31 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 11	124
Figura A.32 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 11	126
Figura A.33 – Espectro de Massas de 11	126
Figura A.34 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 12	127
Figura A.35 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 12	128
Figura A.36 – Espectro de Massas 12	128

LISTA DE FIGURAS - CAPÍTULO 2

Figura 1.1 – Representação esquemática da inibição da (1,3)- β -D-glicana sintase	130
Figura 1.2 – Estrutura química de derivados da equinocandina em uso clínico como antifúngicos	131
Figura 1.3 – Estrutura química das papulacandinas A, B, C e D	132
Figura 1.4 – Estrutura química da catecandina	134
Figura 1.5 – – Análogos da papulacandina D	134
Figura 1.6 – Estrutura química dos intermediários com atividade antifúngica	135
Figura 2.1 – Estruturas químicas da Papulacandina D e do análogo 1	136
Figura 2.2 – Estrutura química de análogos da Papulacandina D obtidos por Souza e colaboradores	137
Figura 3.1– Esquema para a síntese do análogo 1	138

Figura 3.2 – Esquema para a síntese de 12	139
Figura 5.1 – Esquema para a síntese do análogo 1	151
Figura 5.2 – Esquema para a síntese de 12	154
Figura 5.3 – Representação esquemática da ativação do ácido carboxílico por carbodiimida	156
Figura 5.4 – Mecanismo proposto para a reação de esterificação com DMAP	157
Figura 5.5 – Estrutura química de EDAC.HCl e DCC	158

LISTA DE FIGURAS APÊNDICE B - CAPÍTULO 2

Figura A.1– Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 7	172
Figura A.2 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 7	173
Figura A.3 – Espectro no IV de 7	173
Figura A.4 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8	174
Figura A.5 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8	175
Figura A.6 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8	176
Figura A.7 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8	176
Figura A.8 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8	177
Figura A.9 – Espectro no IV de 8	177
Figura A.10 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1	178
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1	179
Figura A.12 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1	180
Figura A.13 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1	180
Figura A.14 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1	181
Figura A.15 – Espectro no IV de 8.1	181
Figura A.16 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2	182
Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2	183
Figura A.18 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2	184
Figura A.19 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2	184
Figura A.20 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2	185
Figura A.21 – Espectro no IV de 8.2	

Figura A.22 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1	185
Figura A.23 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1	186
Figura A.24 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1	187
Figura A.25 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1	188
Figura A.26 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1	188
Figura A.27 – Espectro no IV de 1	
Figura A.28 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 12	189
Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 12	189
Figura A.30 – Espectro no IV de 12	190

LISTA DE FIGURAS - CAPÍTULO 3

Figura 1.1 – Exemplos de antibióticos aminoglicosídeos	193
Figura 1.2 – A) Estrutura parcial do rRNA 70S complexado com três moléculas de tRNA. A região da cavidade A está representada em branco. O sítio de ligação da paramomicina está indicado pela seta. B) Representação da estrutura da cavidade A do RNA ligada a paramomicina	194
Figura 1.3 – Estrutura química dos principais aminoglicosídeos	195
Figura 1.4 – Estrutura química de novos derivados da neamina	196
Figura 1.5 – Mecanismo Geral da Metatase de Olefinas	199
Figura 1.6 – Esquema Geral de Metatase de Olefinas	199
Figura 2.1 – Estrutura da neamina	202
Figura 2.2 – Estrutura química dos análogos da neamina 1-3	203
Figura 3.1 – Esquema para a síntese de 10 e 11	204
Figura 3.2 – Esquema para a síntese de 1	205
Figura 3.3 – Esquema para a síntese de 2	206
Figura 3.4 – Esquema para a síntese de 18 e 19	207
Figura 3.5 – Esquema para a síntese de 3	208
Figura 5.1 – Esquema para a síntese de 10 e 11	229
Figura 5.2 – Espectro de RMN de ^1H e subespectro DEPT 135 de 26.1 (D_2O , 400 MHz)	236

Figura 5.3 – Tentativas de reação de metátese	238
Figura 5.4 – Esquema para a síntese de 1	240
Figura 5.5 – Esquema para a síntese de 2	243
Figura 5.6 – Esquema para a síntese de 29 e 30	246
Figura 5.7 – Esquema para a síntese de 3	247
Figura 5.8 – Esquema para a síntese de 18 e 19	252
Figura 5.9 – Esquema para a síntese de 3	252

LISTA DE FIGURAS APÊNDICE C - CAPÍTULO 3

Figura A.1– Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 5	265
Figura A.2 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 5	266
Figura A.3 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 5	267
Figura A.4 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CD_3OD) de 5	267
Figura A.5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 6	268
Figura A.6 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 6	269
Figura A.7 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 6	269
Figura A.8 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 7	270
Figura A.9 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 7	271
Figura A.10 – Espectro no IV de 7	271
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 8	272
Figura A.12 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 8	273
Figura A.13 – Espectro de Massas de 8	273
Figura A.14 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 9	274
Figura A.15 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) 9	275
Figura A.16 – Espectro no Infravermelho de 9	275
Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 9	276
Figura A.18 – Espectro de Massas de 9	276
Figura A.19 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 10	277
Figura A.20 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 10	278

Figura A.21 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 10	278
Figura A.22 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 10	279
Figura A.23 – Espectro de Massas de 10	279
Figura A.24 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 13.1	280
Figura A.25 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 13.1	281
Figura A.26 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 13.1	281
Figura A.27 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 13.2	282
Figura A.28 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 13.2	283
Figura A.29 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 13.2	283
Figura A.30 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 11	284
Figura A.31 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 11	285
Figura A.32 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 11	285
Figura A.33 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 11	286
Figura A.34 – Espectro de Massas de 11	286
Figura A.35 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 14	287
Figura A.36 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) 14	288
Figura A.37 - Espectro de Massas de 14	288
Figura A.38 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 2	289
Figura A.39 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, D_2O) de 2	290
Figura A. 40 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) 2	290
Figura A. 41 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 15	291
Figura A.42 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 15	292
Figura A.43 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 15	293
Figura A.44 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 15	293
Figura A.45 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 16	294
Figura A.46 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 16	295
Figura A.47 - Espectro de Massas de 16	295
Figura A.48 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 17	296
Figura A.49 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 17	297
Figura A.50 - Espectro de Massas de 17	297

Figura A.51 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 18	298
Figura A.52 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 18	299
Figura A.53 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 18	299
Figura A.54 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 18	300
Figura A.55 - Espectro de Massas de 18	300
Figura A.56 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 19	301
Figura A.57 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 19	302
Figura A.58 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 19	302
Figura A.59 - Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 19	303
Figura A.60 - Espectro de Massas de 19	303

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Boc	<i>Terc</i> -butoxicarbonil
Cbz	Benziloxicarbonila
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCS	Cromatografia em coluna de sílica
δ	Deslocamento químico
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
ddd	Duplo dupleto duplo
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
DCU	Diclohexilureia
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetisulfóxido
ESI	Ionização por eletrospray
EDAC (EDC)	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
FF	Faixa de fusão
FM	Fórmula molecular
FMDP	Ácido <i>N</i> ³ -(4-metoxifumaroil)-L-2,3-aminopropanóico
Fru-6-P	Frutose-6-fosfato
GIC-6-P	Glicosamina-6-fosfato
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
HRMS	Espectro de massas de alta resolução
m	Multipeto
MIC	Concentração inibitória mínima
MM	Massa molecular
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PIDA	Diacetoxi iodobenzeno
PIFA	Bis(trifluoroacetoxi)iodobenzeno
$\bar{\nu}$	Número de onda
v	Deformação axial
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
TFA	Ácido trifluoracético
TsCl	Cloreto de tosila

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	20
1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	36
3 PLANO DE SÍNTESE	38
4 PARTE EXPERIMENTAL	42
4.1 Materiais e Métodos	42
4.1.1 <u>Síntese</u>	42
4.1.2 <u>Cálculo dos valores de cLogP</u>	43
4.2 Síntese	43
4.2.1 <u>Síntese de N-benziloxycarbonil-L-asparagina (14)</u>	43
4.2.2 <u>Síntese de N-benziloxycarbonil -β-ciano-L-alanina (15)</u>	44
4.2.3 <u>Síntese de N-benziloxycarbonil-β-(tetrazol-5-il)-L-alanina (16)</u>	45
4.2.4 <u>Tentativa de síntese de N-benziloxycarbonil-β-(oxadiazol-5-il)-L-alanina (17)</u>	46
4.2.5 <u>Síntese de Nα-benziloxycarbonil-β-amino-L-alanina (18)</u>	46
4.2.6 <u>Síntese dos ácidos cinâmicos (27) – (34)</u>	47
4.2.7 <u>Síntese das amidas (19) – (26)</u>	50
4.2.8 <u>Síntese das amidas (2) – (9)</u>	57
4.2.9 <u>Síntese dos derivados ftalimídicos (35) e (36) – Método Geral</u>	62
4.2.9.1 <u>Síntese do derivado ftalimídico (35)</u>	63
4.2.9.2 <u>Síntese do derivado ftalimídico (36)</u>	63
4.2.10 <u>Síntese do derivado (10)</u>	64
4.2.11 <u>Síntese do derivado (11)</u>	65
4.2.12 <u>Síntese do derivado (12)</u>	66
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1 Tentativa de síntese de β -(oxadiazol-5-il)-L-alanina (1)	68
5.2 Síntese (2) – (9)	74
5.3 Síntese de 2 utilizando Boc como grupo protetor	85

5.4 Síntese (10) – (12)	87
5.5 Valores de cLogP	92
5.6 Testes de atividade biológica	94
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
APÊNDICE – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E DE ^{13}C ; ESPECTROS NO INFRAVERMELHO E ESPECTRO DE MASSAS HRMS DE ALTA RESOLUÇÃO	107
 CAPÍTULO 2	 129
1 INTRODUÇÃO	130
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	136
3 PLANO DE SÍNTESE	138
4 PARTE EXPERIMENTAL	140
4.1 Materiais e Métodos	140
4.2 Síntese	140
4.2.1 <u>Síntese de 2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (5)</u>	140
4.2.2 <u>Síntese de β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (6)</u>	141
4.2.3 <u>Síntese de 4,6-<i>O</i>-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (7)</u>	142
4.2.4 <u>Síntese de 4-aliloxibenzaldeído (10)</u>	143
4.2.5 <u>Síntese do ácido <i>trans</i>-4-aliloxicinâmico (11)</u>	144
4.2.6 <u>Síntese do ácido <i>trans</i>-3-[(4-aliloxicinamoil)amino]benzoico (12)</u>	145
4.2.7 <u>Síntese de 3-<i>O</i>-[3-[(<i>trans</i>-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-<i>O</i>-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8); 2-<i>O</i>-[3-[(<i>trans</i>-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-<i>O</i>-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8.1) e 2,3-<i>O</i>-[3-[(<i>trans</i>-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-<i>O</i>-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8.2)</u>	146
4.2.8 <u>Síntese de 3-<i>O</i>-[4-[(<i>trans</i>-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (1)</u>	149
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	151

5.1 Síntese do análogo da Papulacandina D (1) a partir do glicosídeo 4-formil-2-metoxifenila	151
5.2 Teste de atividade biológica	164
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	165
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166
APÊNDICE – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E DE ^{13}C E ESPECTROS NO INFRAVERMELHO	171

CAPÍTULO 3	192
1 INTRODUÇÃO	193
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	202
3 PLANO DE SÍNTESE	204
4 PARTE EXPERIMENTAL	209
4.1 Materiais e Métodos	209
4.2 Síntese	210
4.2.1 Síntese de 2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (5)	210
4.2.2 Síntese de 2-acetamido-2-desoxi-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de alila (6)	211
4.2.3 Síntese de 2-acetamido-6-azido-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (7)	212
4.2.4 Síntese de 2-acetamido-6-amino-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (8)	213
4.2.5 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (9)	214
4.2.6 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de 4[(terc-butoxicarbonil)amino]-2- <i>trans</i> -butenila (10)	215
4.2.7 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de 4[(terc-butoxicarbonil)amino]-2,3-epoxibutila (12)	216
4.2.8 Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de 4[(terc-butoxicarbonil)amino]d,l-eritro-2,3-dihidroxibutila (13.1) e 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo 4-amino-d,l-eritro-2,3-dihidroxibutila (13.2)	217
4.2.9 Síntese de (E/Z)-1,4-bis-[2,6-diacetamido-3,4-di-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]-2-buteno (11)	218

4.2.10	Síntese de 1,4-bis-[2,6-diacetamido-3,4-di- <i>O</i> -acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]butano (14)	219
4.2.11	Síntese de 1,4-bis-[2,6-amino-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]butano (2)	220
4.2.12	Síntese de 2-acetamido-6-azido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila- α -D-glicopiranosídeo de alila (15)	221
4.2.13	Síntese de 2-acetamido-6-amino-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila- α -D-glicopiranosídeo de alila (16)	222
4.2.14	Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila-- α -D-glicopiranosídeo de alila (17)	223
4.2.15	Síntese de (E/Z)-1,4-bis-[2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonil- α -D-glicopiranosiloxi]-2-buteno (18)	224
4.2.16	Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila- α -D-glicopiranosídeo de 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-2- <i>trans</i> -butenila (19)	225
4.2.17	Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila- α -D-glicopiranosídeo de 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-2,3-epoxibutila (20)	226
4.2.18	Tentativa de síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4- <i>O</i> -nonila- α -D-glicopiranosídeo de 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-d,l-eritro-2,3-di-hidroxibutila (21)	227
4.2.19	Síntese da 1,1-dimetiletil- <i>N</i> -(prop-2-enil)carbamato (24)	227
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	229
5.1	Síntese dos análogos da neamina (1) e (2) a partir da <i>N</i> -acetil-D-glicosamina	229
5.2	Síntese do análogo da neamina (3) a partir da <i>N</i> -acetil-D-glicosamina	246
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	256
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	259
	APÊNDICE – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E DE ^{13}C ; ESPECTROS NO INFRAVERMELHO E ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO HRMS	264

CAPÍTULO 1 – SÍNTESE DE INIBIDORES POTENCIAIS DE GLICOSAMINA-6-FOSFATO SINTASE

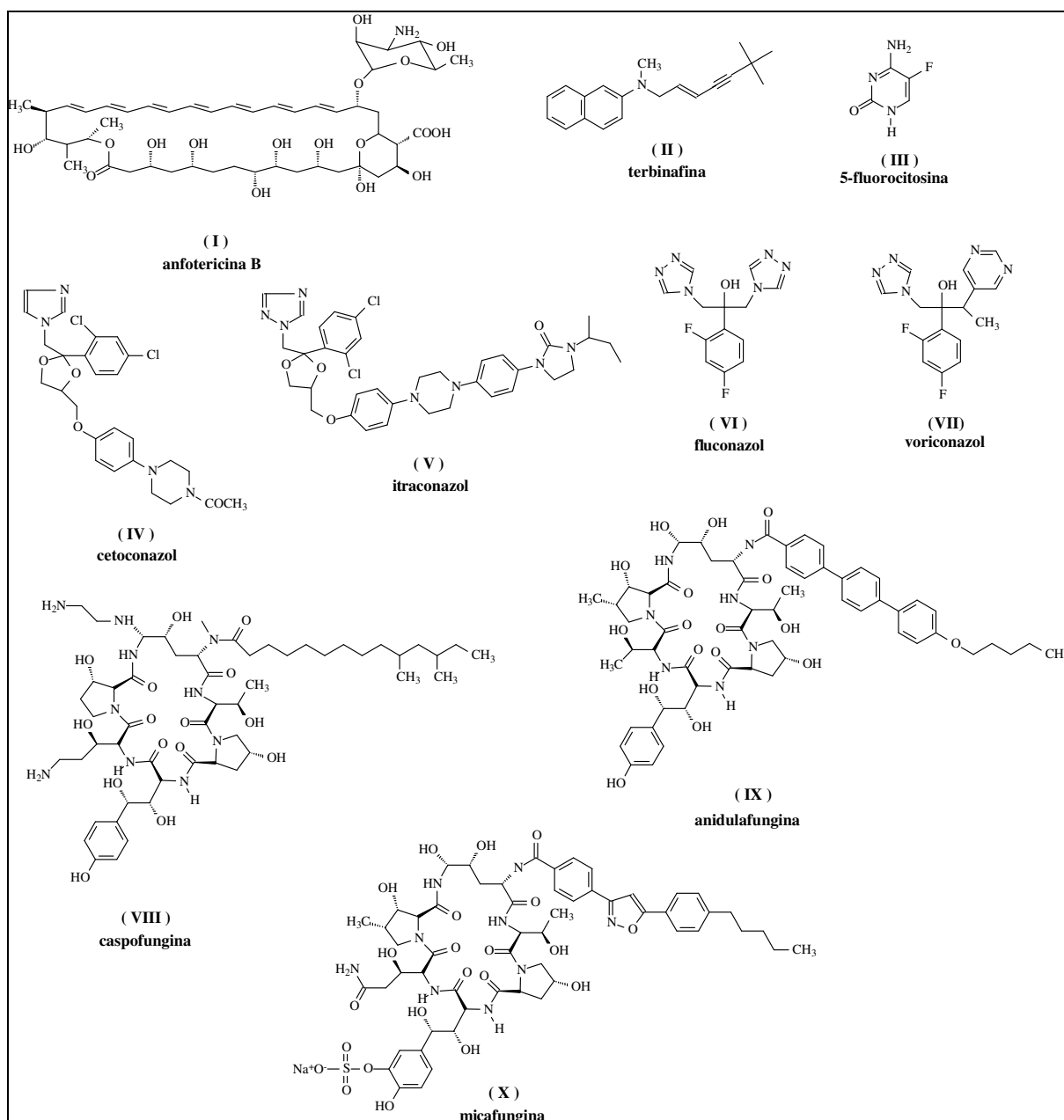
1 INTRODUÇÃO

A disseminação de infecções causadas por fungos patogênicos permanece como um grave problema para a medicina contemporânea. Existem poucas opções de agentes antifúngicos em uso clínico capazes de combater infecções fúngicas sistêmicas. Candidíase, aspergilose, histoplasrose e criptococose sistêmica constituem um problema sério e de crescente importância, que tem sido aprofundado durante as últimas décadas pelo aumento do número de pacientes imunocomprometidos. Outra ameaça é o surgimento de fungos com resistência multifármaco (XU *et al.*; 2010; JANIÁK *et al.*; 2003; BOROWSKI; 2000).

Alguns dos principais agentes antifúngicos em uso clínico são a anfotericina B, a terbinafina, os azóis (cetoconazol, fluconazol, itraconazol), a 5-fluorocitosina e as equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina) (Figura 1.1, pág. 22). Os fármacos representantes das três primeiras classes atuam sobre o ergosterol presente na membrana celular dos fungos, a 5-fluorocitosina atua inibindo a síntese de ácidos nucleicos e a síntese protéica e as equinocandinas têm como alvo de ação a enzima (1,3)- β -D-glicana sintase, responsável pela síntese de constituintes importantes da parede celular fúngica (RUIZ-HERRERA *et al.*; 2003; BEHR; 2003; LETSCHER & HERBRECHT; 2003; DISMUKES; 2000; GEORGOPAPADAKOU; 1998; HORSCH *et al.*; 1997).

Embora a anfotericina B I seja um fármaco com amplo espectro de ação e eficaz no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, sua elevada toxicidade associada ao surgimento de lesão renal grave e irreversível, é um fator restritivo ao seu uso. Por terem um índice terapêutico maior os azóis têm sido mais amplamente usados. Os triazóis, considerados fármacos de segunda geração, são mais eficazes e seguros e por isso são indicados no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas. As limitações à sua aplicação clínica são o desenvolvimento de resistência (os azóis são antifúngicos fungistáticos) e as interações medicamentosas com outros fármacos. A 5-fluorocitosina III também é susceptível ao desenvolvimento de resistência quando administrada isoladamente (XU *et al.*; 2010; PAUL; 2000).

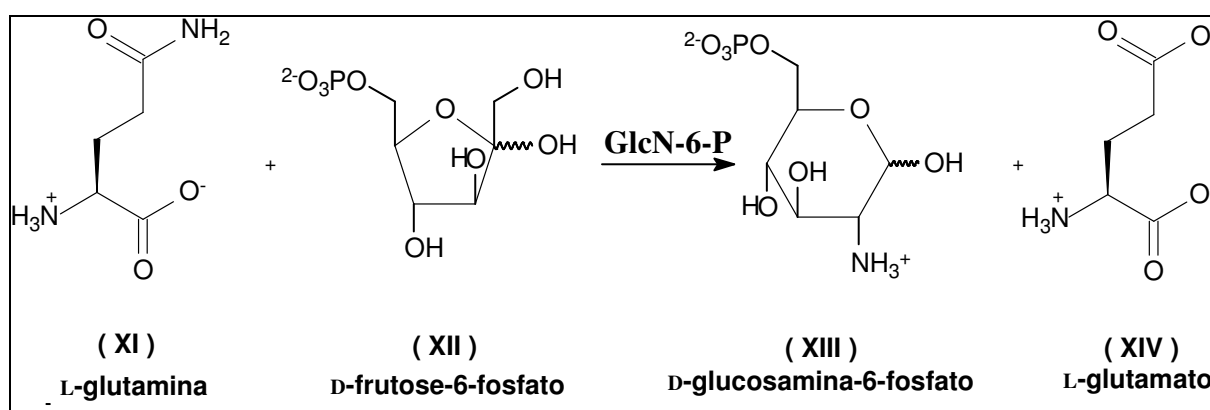
O agente antifúngico ideal deveria apresentar elevada atividade antifúngica, amplo espectro de ação, ser fungicida, ter baixa indução à resistência, ser ativo contra microrganismos resistentes aos outros fármacos, possuir baixa toxicidade e baixo custo. Nenhum dos agentes antifúngicos em uso clínico atualmente preenche todos esses requisitos (BOROWKI; 2000).

Figura 1.1 – Exemplos de fármacos antifúngicos usados clinicamente

Uma das soluções para os atuais problemas da quimioterapia antifúngica é a busca por novos alvos para a ação dos fármacos. O desenvolvimento de fármacos seletivos e pouco tóxicos baseia-se na exploração das diferenças existentes entre as células do hospedeiro e do microrganismo invasor. No caso de agentes antifúngicos uma importante diferença qualitativa é a presença da parede celular nas células dos fungos. Logo, enzimas que atuam em vias biossintéticas para a formação da parede celular são alvos potenciais para novos fármacos.

A glicosamina-6-fosfato sintase (GlcN-6-P sintase) é a enzima que catalisa a primeira etapa da via bioquímica de formação da uridina-5'-difosfo-*N*-acetilglicosamina, um aminoaçúcar essencial à biossíntese dos peptidoglicanos bacterianos e da quitina, constituinte estrutural da parede celular de fungos. A GlcN-6-P sintase converte a frutose-6-fosfato (Fru-6P) em glicosamina-6-fosfato (GlcN-6-P), utilizando glutamina como fonte de amônia (Figura 1.2) (TEPLYAKOV *et al.*; 2002; MILEWSKI *et al.*; 2006; MOUILLERON *et al.*; 2006).

Figura 1.2 – Reação catalisada pela GlcN-6-P sintase



A inibição dessa enzima é letal para fungos e bactérias, mas em mamíferos a depleção temporária da atividade enzimática é aceitável e não provoca danos ao organismo. Diante da importância dessa enzima no metabolismo dos fungos e da possibilidade do planejamento de fármacos seletivos a GlcN-6-P sintase vem sendo explorada como um novo alvo para o desenvolvimento de agentes antifúngicos potentes e com baixa toxicidade (ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1987; ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1990a; ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1990b; LE CAMUS *et al.*; 1998a; LE CAMUS *et al.*; 1998b; WALKER *et al.*; 2000; ZGODKA *et al.*; 2001a; ZGODKA *et al.*; 2001b; TEPLYAKOV *et al.*; 2001; MILEWSKI *et al.*; 2002; CHITTUR *et al.*; 2002; JANIÁK *et al.*; 2003; MARSHALL *et al.*; 2003; WOJCIECHOWSKI *et al.*; 2005; MILEWSKI *et al.*; 2006; MELCER *et al.*; 2007).

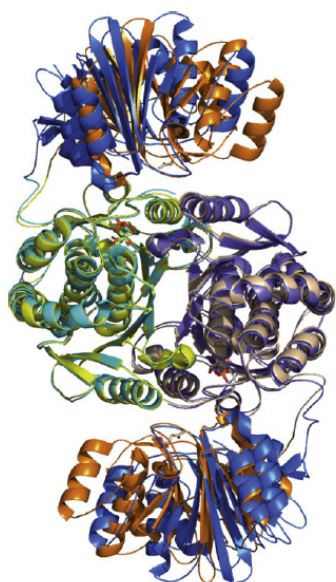
Diante do interesse pela GlcN-6-P sintase como um potencial alvo molecular para o desenvolvimento de novos fármacos diversos trabalhos têm sido conduzidos e as propriedades moleculares dessa enzima extensivamente estudadas, incluindo a determinação da estrutura cristalográfica da enzima bacteriana (VALERIO-LEPINIEC *et al.*; 2010; MOUILLERON *et al.*; 2011).

A GlcN-6-P sintase de *E. coli* é uma enzima homodimérica que, ao contrário de outras amidotransferases, não usa amônia exógena como fonte de nitrogênio. Cada monômero da

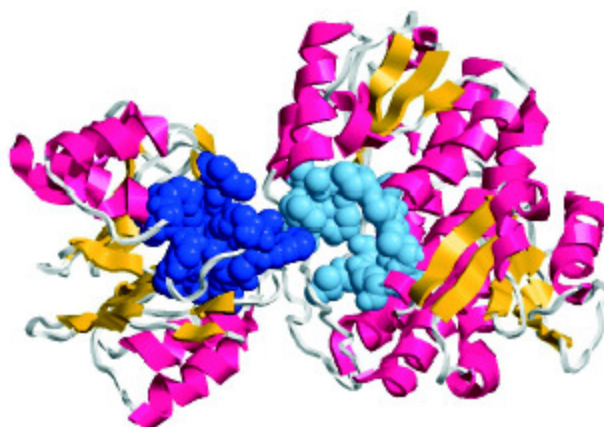
enzima é composto por dois domínios estrutural e funcionalmente distintos, situados na mesma cadeia polipeptídica (Figura 1.3). O domínio glutaminase é responsável pela hidrólise da L-glutamina em L-glutamato e amônia e o domínio isomerase utiliza a amônia para a conversão da frutose-6-fosfato (Fru-6P) em glicosamina-6-fosfato (GlcN-6-P) (TEPLYAKOV *et al.*; 2001). Na Figura 1.3 **A** estão representados os dois monômeros que constituem a estrutura homodimérica da GlcN-6-P sintase (MOUILLERON *et al.*; 2011). Em **B** pode ser visto um dos monômeros da enzima, em detalhe, no qual os resíduos que constituem o sítio glutaminase estão destacados em azul escuro e em azul claro estão representados os resíduos do sítio isomerase (WOJCIECHOWSKI *et al.*; 2005)

Figura 1.3 – Estrutura da GlcN-6-P (WOJCIECHOWSKI *et al.*; 2005; MOUILLERON *et al.*; 2011)

A

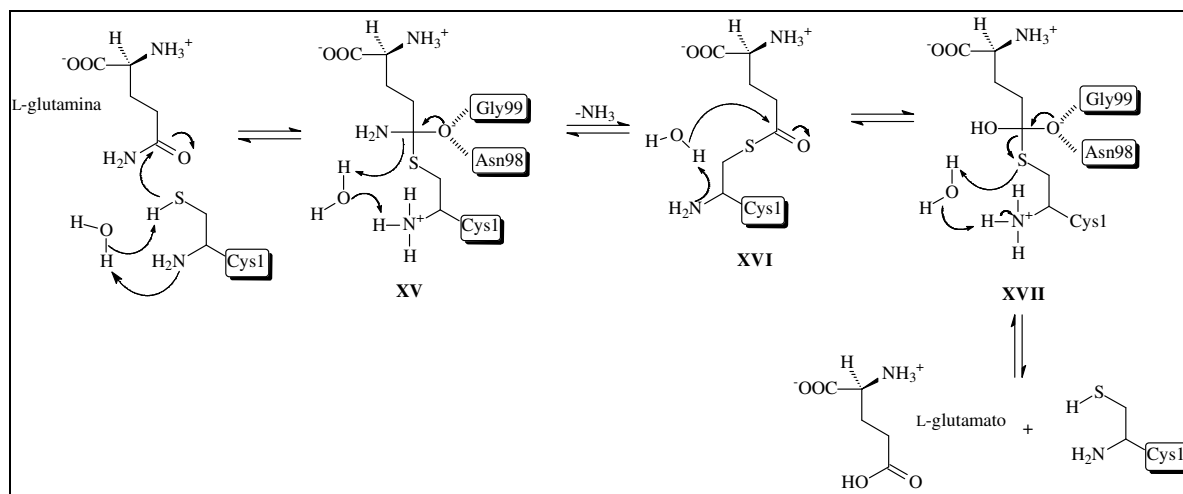


B



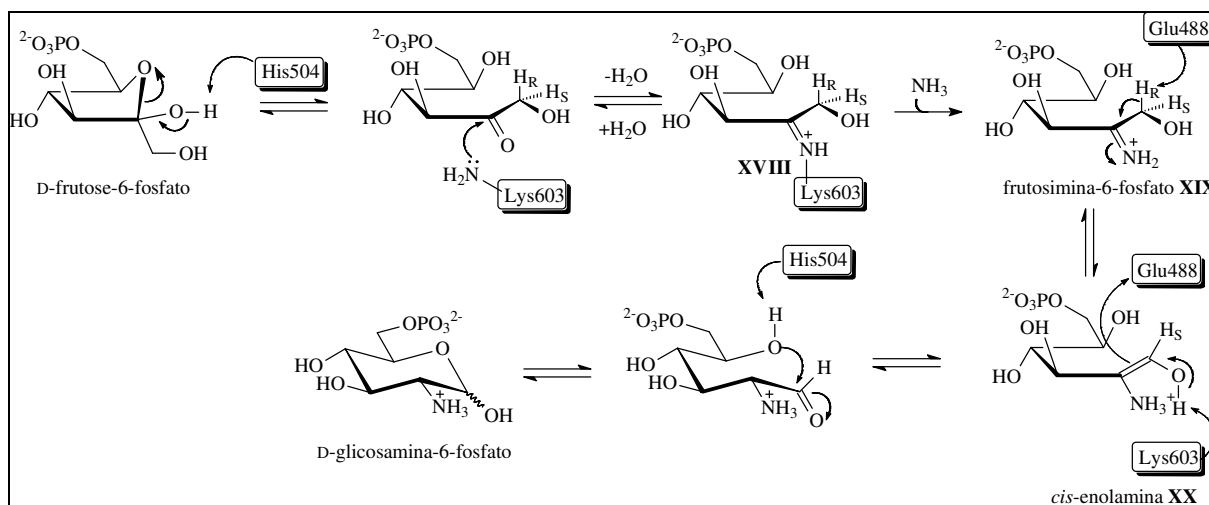
Muito menos dados estruturais são disponíveis para a versão eucariótica da GlcN-6-P sintase, mas não restam muitas dúvidas de que os mecanismos de catálise enzimática em células eucarióticas e procarióticas é exatamente o mesmo (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012).

A reação catalítica realizada pela GlcN-6-P sintase é complexa e envolve três etapas: a hidrólise da glutamina, a transferência da amônia para a frutose-6-fosfato e a isomerização e formação da frutosimina-6-fosfato (MILEWSKI *et al.*; 2002). O mecanismo proposto para a hidrólise da glutamina está representado na Figura 1.4 (pág.25).

Figura 1.4 - Mecanismo catalítico do domínio glutaminase (MOUILLERON *et al.*; 2006)

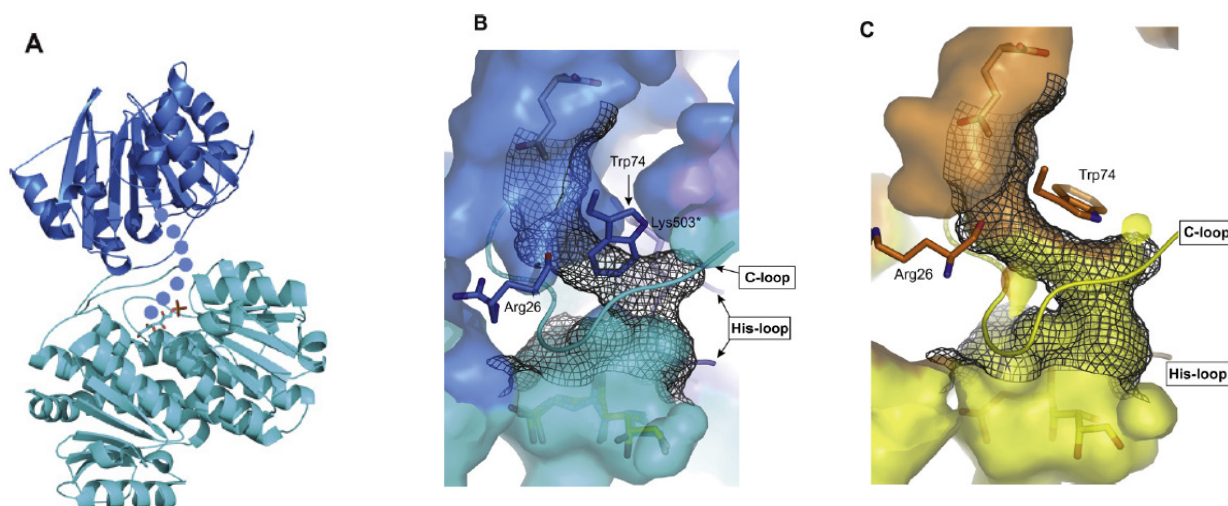
O grupo N-terminal do sítio catalítico ativa o tiol da Cys1 para o ataque nucleofílico à carboxamida da glutamina, levando a formação do intermediário tetraédrico **XV**, que é estabilizado por interações com os resíduos de Asn-98 e Gly-99 da fenda oxianion, e a liberação de amônia. O γ -glutamiltioéster **XVI** é hidrolisado ao final da catálise, via intermediário **XVII**, liberando glutamato e a enzima regenerada (MILEWSKI *et al.*; 2002; MOUILLERON *et al.*; 2006)..

No domínio isomerase da enzima foram identificados três resíduos catalíticos: Glu488, His504, e Lys603 (Figura 1.5, pág. 26). A abertura do anel da Fru-6P pelo resíduo de His504 desencadeia a reação catalítica. O grupo carbonila do açúcar reage como resíduo de Lys603 e ocorre a formação da base de Schiff **XVIII**. A transaminação com a amônia liberada do sítio glutaminase leva a frutosimina-6-fosfato **XIX**. O resíduo de Glu488 abstrai estereoespecificamente o próton pró-R de **XIX** e com isso forma-se a *cis*-enolamina **XX**. Finalmente a adição de um próton à dupla ligação da *cis*-enolamina e a ciclização da glicosamina-6-fosfato pelo resíduo de His504 levam a obtenção do produto final da catálise, a D-glicosamina-6-fosfato.

Figura 1.5 – Mecanismo catalítico do domínio isomerase (MOUILLERON *et al.*; 2006)

Os domínios glutaminase e isomerase da GlcN-6-P sintase ligam-se por um canal constituído por resíduos hidrofóbicos. A amônia liberada no domínio glutaminase difunde-se por esse canal até atingir a Fru-6P, no domínio isomerase (TEPLYAKOV *et al.*; 2002; TEPLYAKOV *et al.*; 2001; MOUILLERON *et al.*; 2006). O acoplamento entre os dois sítios ativos é especialmente eficiente porque amônia exógena não pode ser utilizada como fonte de nitrogênio. Outra importante característica bioquímica da GlcN-6-P sintase é que a hidrólise da glutamina só ocorre quando a Fru-6P está ligada no domínio isomerase. Essas observações e a obtenção de estruturas cristalográficas da enzima levam à conclusão de que a GlcN-6-P sintase é capaz de adotar ao menos três estágios conformacionais diferentes: i) os dois sítios ativos estão vazios, a função glutaminase está inativa e o canal de amônia não está formado. Nessa conformação os sítios catalíticos encontram-se “abertos” para a entrada de seus respectivos substratos; ii) a ligação do açúcar ao sítio isomerase promove a mudança conformacional da enzima e leva ao fechamento do sítio isomerase e a orientação do grupo tiol da Cys1 do domínio glutaminase para a sua conformação ativa. Forma-se o canal de amônia, porém ele está bloqueado pelo resíduo de Trp74; iii) Finalmente, com a ligação da glutamina ao seu sítio ativo ocorre a abertura do canal de amônia e a sua transferência ao domínio isomerase (MOUILLERON *et al.*; 2006).

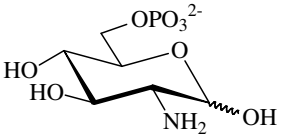
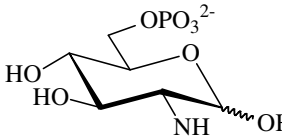
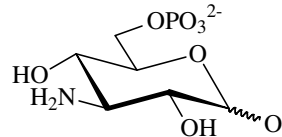
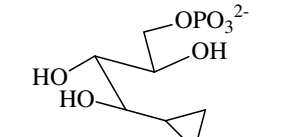
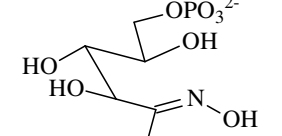
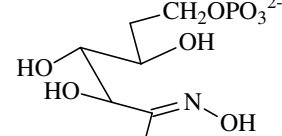
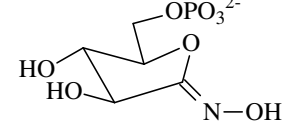
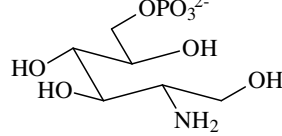
Figura 1.6 – A) Visão global da cavidade intramolecular que liga os dois sítios ativos em um monômero da Glc-6-P; B) Formação do canal de amônia, na conformação fechado, após a ligação da Fru-6-P ao domínio isomerase; C) Abertura do canal de amônia após a ligação do inibidor DON, promovido pela mudança no posicionamento do grupo indol do resíduo de Trp74 (MOUILLERON *et al.*; 2011)



É descrita a síntese de diversas substâncias, inibidores de GlcN-6-P sintase, com atividade antifúngica. Esses inibidores são em sua maioria análogos da L-glutamina, que interagem com o domínio glutaminase ou miméticos dos intermediários de transição formados no domínio isomerase, durante a reação com a Fru-6P (MILEWSKI *et al.*; 2002).

A oxima de D-arabinose-5-fosfato (APO) e o 2-amino-2-deoxi-D-glucitol-6-fosfato (ADGP) são considerados miméticos da *cis*-enolamina, e a 5-metilfosfono-D-arabino hidroximolactona (MPAH) é um análogo do intermediário frutosimina-6-fosfato (LE CAMUS *et al.*; 1998a; LE CAMUS *et al.*; 1998b; MILEWSKI *et al.*; 2006). Embora esses compostos sejam potentes inibidores da GlcN-6-P sintase eles possuem pouca ou nenhuma atividade antifúngica, devido a sua incapacidade de atravessarem a membrana por difusão passiva ou ativa. Na Tabela 1.1 (pág. 28) estão representadas as estruturas de alguns inibidores do domínio isomerase da GlcN-6-P sintase e suas respectivas constantes de inibição.

Tabela 1.1 – Inibidores da GlcN-6-P que interagem com o domínio isomerase (MILEWSKI *et al.*; 2002)

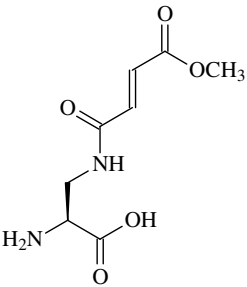
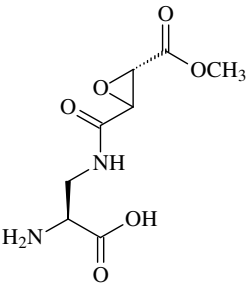
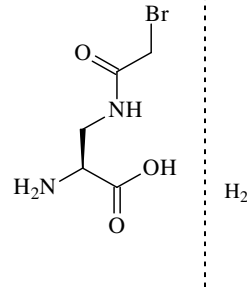
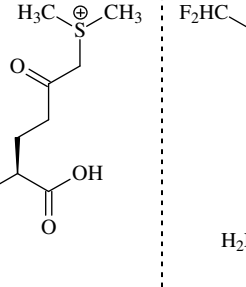
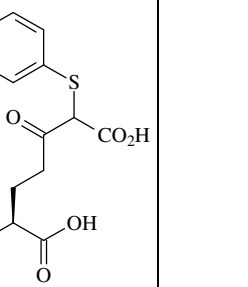
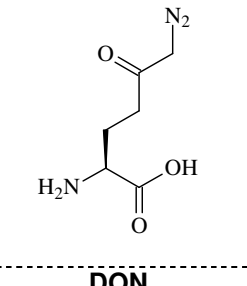
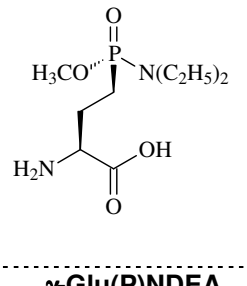
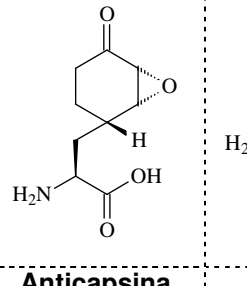
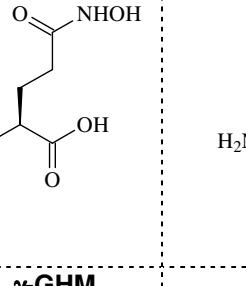
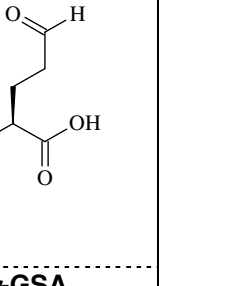
			
GlcN-6-P Ki = 0,35 mM	IAGN Kirr = 0,22 mM	K6P Ki = 5,9 mM	AHP Kirr = 1,4 mM
			
APO Ki = 14,3 µM	AMPO Ki = 0,36 mM	MPAH Ki = 0,4 mM	ADGP Ki = 25 µM

Ki = constante de inibição; Kirr = constante de inibição irreversível.

Na tentativa de melhorar a atividade antifúngica desses inibidores derivados mais lipofílicos vêm sendo sintetizados e alguns resultados apontam para a obtenção de compostos ativos, capazes de penetrar na célula fúngica e inibir o crescimento do microrganismo (JANIÁK *et al.*; 2003).

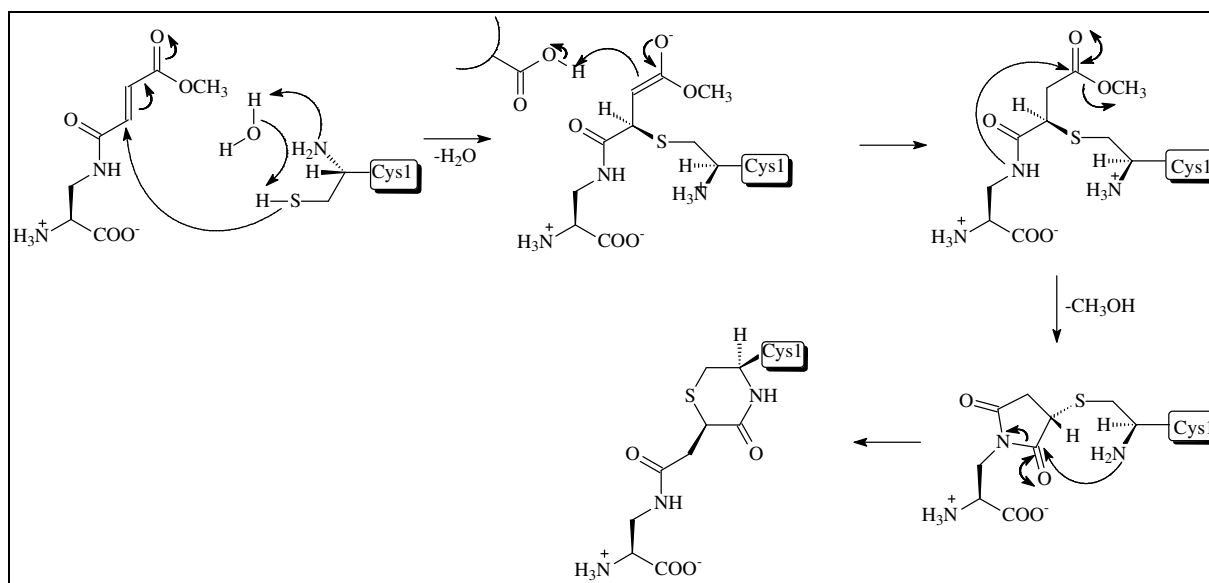
A tetaína foi o primeiro análogo da L-glutamina reconhecido como um inibidor seletivo de GlcN-6-P sintase (WOJCIECHOWSKI *et al.*; 2005). O 6-diazo-5-oxo-L-leucina e a anticapsina são substâncias que inibem a enzima GlcN-6-P sintase inespecificamente, o que pode resultar na atividade indesejável sobre outras amidotransferases. O planejamento racional de novos análogos da L-glutamina levou à identificação do ácido N³-(4-metoxifumaroil)-L-2,3-diaminopropanóico (FMDP), um inibidor do domínio glutaminase da GlcN-6-P sintase. Na tabela 1.2 (pág. 29) estão representados alguns análogos de L-glutamina e as respectivas constantes de inibição para a GlcN-6-P.

Tabela 1.2 – Inibidores da GlcN-6-P que interagem com o domínio glutaminase (MILEWSKI *et al.*; 2002)

				
FMDP K _{irr} = 5,1 μM	EADP K _{irr} = 14,3 μM	BDAP K _{irr} = 15 μM	DSON K _{irr} = 0,37 μM	γ-GDFTG K _i = 36 mM
				
DON K _{irr} = 2,8 μM	γ-Glu(P)NDEA K _i = 235 μM	Anticapsina K _{irr} = 9 μM	γ-GHM K _i = 160 μM	γ-GSA K _i = 0,03 μM

K_i = constante de inibição; K_{irr} = constante de inibição irreversível.

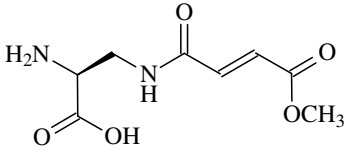
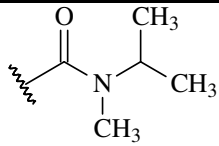
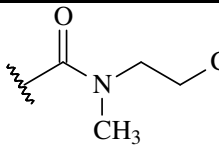
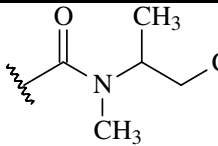
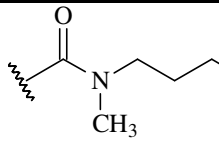
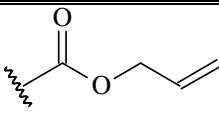
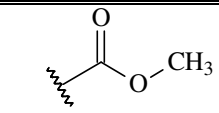
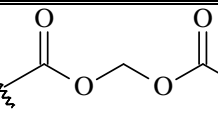
O FMDP inativa a enzima devido à formação de uma ligação covalente com o grupo sulfidril do resíduo catalítico Cys1. O grupo N-terminal do sítio catalítico glutaminase ativa o grupo tiol para adição nucleofílica à ligação dupla conjugada do FMDP. A seguir o nitrogênio do grupo amido ataca a carbonila do éster metílico, levando ao produto de ciclização. O derivado succinimida formado sofre um rearranjo e o resultado é a inibição irreversível da GlcN-6-P sintase. Na Figura 1.7 (pág. 30) está representado o mecanismo proposto para a inativação da enzima pelo FMDP.

Figura 1.7 – Inativação da GlcN-6-P sintase pelo FMDP (MILEWSKI *et al.*; 2002)

Infelizmente, o FMDP mostrou-se inativo *in vivo* devido à sua incapacidade de transpor membranas e atingir o alvo molecular no interior da célula. Como uma estratégia para melhorar o perfil de absorção do FMDP, foram preparados conjugados do inibidor com di e tri-peptídeos. Existem na superfície das membranas celulares proteínas (transportadores) capazes de carrear para o interior das células moléculas de interesse biológico, como os peptídeos. A exploração desse transporte ativo para a interiorização de fármacos polares tem-se mostrado eficaz. No interior celular o pró-fármaco é clivado por peptidases e o FMDP é liberado na sua forma ativa (MARSHALL *et al.*; 2003). Os conjugados FMDP-oligopeptídeo apresentam excelente atividade antifúngica e não são tóxicos para células de mamíferos (ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1987; ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1990a; ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1987b). Todavia, as limitações impostas pelo perfil farmacocinético desses compostos e a relativa facilidade com que os microrganismos podem desenvolver resistência a esse tipo de conjugado restringem a sua aplicação. Uma solução para esse problema é o planejamento de análogos lipofílicos do FMDP, capazes de penetrar na célula por difusão passiva.

Zgodka e colaboradores relataram a síntese de uma série de derivados ésteres e amidas do FMDP. Esses compostos foram avaliados com relação a sua atividade inibitória da GlcN-6-P sintase e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.3 (pág. 31) (ZGODKA *et al.*; 2001a).

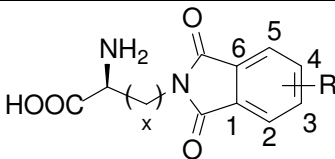
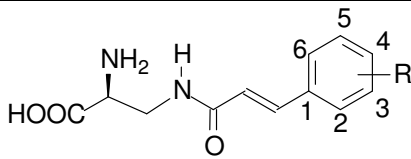
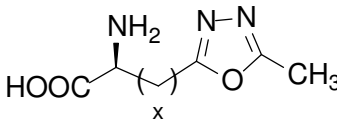
Tabela 1.3 – Inibidores da GlcN-6-P, análogos lipofílicos do FMDP (ZGODKA *et al.*; 2001a)

 FMDP IC₅₀(μM) = 4$\pm$0,5			
 XXI IC₅₀(μM) 970$\pm$80	 XXII IC₅₀(μM) 1400$\pm$120	 XXIII IC₅₀(μM) 2910$\pm$95	 XXIV IC₅₀(μM) 500$\pm$35
 XXV IC₅₀(μM) 520$\pm$48	 XXVI IC₅₀(μM) 300$\pm$22	 XXVII IC₅₀(μM) 11,5$\pm$1,5	 XXVIII IC₅₀(μM) 15,6$\pm$2,1

Os bons resultados referentes à inibição enzimática promovida pelo éster acetoximetílico **XXVII** incentivaram a realização de testes em culturas de células de microrganismos. Foi avaliado o efeito na inibição do crescimento de *Candida albicans* pelo FMDP e pelo éster **XXVII**. A observação dos resultados levou à conclusão de que o éster **XXVII** penetra na célula por difusão passiva e é hidrolisado enzimaticamente liberando a substância ativa. Como consequência ocorre a inibição do crescimento do fungo. A concentração inibitória mínima (MIC) observada para o FMDP é de 200 μ M e para o análogo **XXVII** o MIC registrado foi de apenas 10 μ M (ZGODKA *et al.*; 2001b).

Silva e colaboradores relataram um estudo de *docking* molecular entre a enzima GlcN-6-P sintase (entrada PDB 1XFF) e uma série de análogos lipofílicos do FMDP e da L-glutamina (SILVA *et al.*; 2010). Na Tabela 1.4 (pág. 32) estão representadas as estruturas desses novos análogos e os valores de pKi encontrados no experimento teórico.

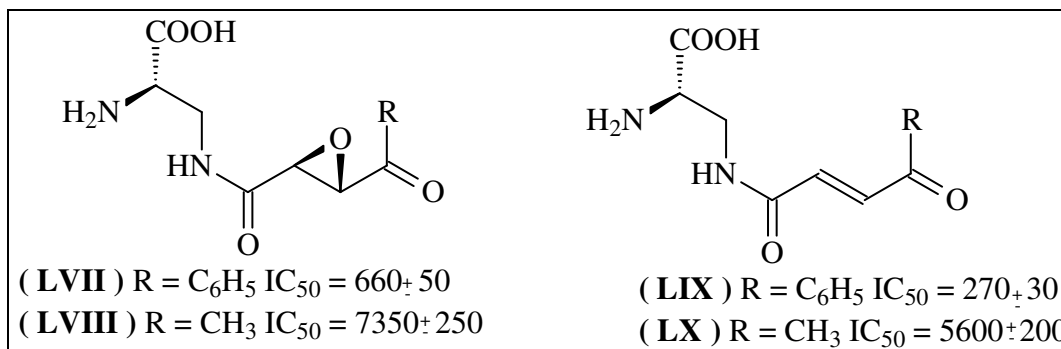
Tabela 1.4 – Análogos lipofílicos da L-glutamina e do FMDP e seus respectivos valores de pKi (SILVA *et al.*; 2010)

					
<i>Composto</i>			<i>Composto</i>		
<i>pKi</i>			<i>pKi</i>		
XXIX	x=1 R=H	9,11	XLVI	R=H	9,08
XXX	x=2 R=H	9,21	XLVII	R=4-CN	9,31
XXXI	x=1 R=2-NO ₂	8,04	XLVIII	R=4-NO ₂	8,77
XXXII	x=1 R=2-Cl	9,16	XLIX	R=4-Cl	9,30
XXXIII	x=1 R=2-Br	9,22	L	R=4-Br	9,38
XXXIV	x=1 R=2-CN	9,22	LI	R=2-CN	9,49
XXXV	x=1 R=2-COOCH ₃	8,65	LII	R=2-NO ₂	9,00
XXXVI	x=1 R=2-OCH ₃	8,80	LIII	R=2-Cl	9,44
XXXVII	x=1 R=2- <i>i</i> -propil	9,18	LIV	R=2-Br	9,50
XXXVIII	x=1 R=2-vinil	9,18			
XXXIX	x=1 R=2-COOH	9,23			
XL	x=1 R=2,3-benzo	9,26			
XLI	x=1 R=2-ciclopentil	9,53			
XLII	x=1 R=2-fenil	9,47			
XLIII	x=1 R=2-N(CH ₃) ₂	9,10			
XLIV	x=1 R=2-CH ₂ SO ₂ NH ₂	9,44			
XLV	x=1 R=2,3-d- <i>i</i> -propil	9,73			

Os resultados obtidos mostraram que dezoito análogos propostos apresentaram um valor de pKi calculado maior do que o da anticapsina (pKi 9,12). Nas simulações de *docking* observou-se que, a despeito dos diferentes grupos funcionais presentes em suas estruturas, os análogos, em sua maioria, posicionaram-se de maneira similar no sítio ativo da enzima apresentando apenas pequenas variações nas interações intermoleculares. A introdução da cadeia lateral hidrofóbica parece melhorar a afinidade dos ligantes pela GlcN-6-P sintase e pode ser uma boa estratégia para otimizar as propriedades farmacocinéticas dos análogos da L-glutamina, uma vez que o clog P desses compostos foi maior do que o calculado para o FMDP. Todos os ligantes mostraram boa interação com o sítio glutaminase da GlcN-6-P sintase nos estudos de *docking* realizados. (SILVA *et al.*; 2010).

Recentemente, Jedrzejczak e colaboradores relataram a síntese de quatro novos análogos da L-glutamina, inibidores do domínio glutaminase da GlcN-6-P sintase (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012). As estruturas dos novos derivados do ácido L-2,3-diaminopropanóico, assim como os valores de IC_{50} , estão descritos na Figura 1.8.

Figura 1.8 – Estruturas de quatro novos inibidores da GlcN-6-P sintase (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012)

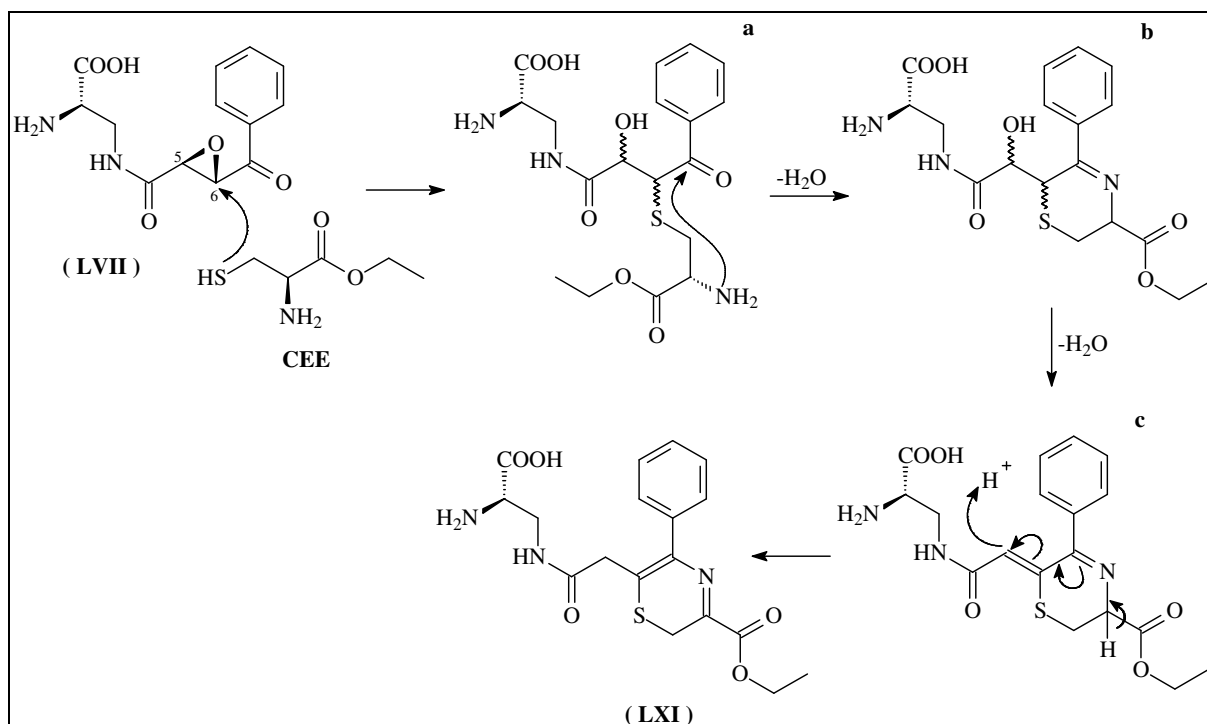


Embora todos os compostos sejam inibidores da GlcN-6-P sintase eles diferem em relação a sua afinidade pelo sítio ativo da enzima. Derivados que possuem na sua estrutura um grupo fenilcetona terminal (**LVII** e **LIX**) ligam-se mais fortemente à enzima. A maior afinidade pelos inibidores que possuem um grupo fenila na sua estrutura pode ser explicada pela análise dos resultados de um estudo de modelagem molecular, no qual foi possível observar interações do tipo π -*stacking* entre o inibidor e resíduos aromáticos do sítio ativo enzimático (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012).

A comparação entre a estrutura química dos análogos e a atividade enzimática apresentada também mostrou que os derivados que contem na sua estrutura uma ligação dupla (**LIX** e **LX**) foram inibidores ligeiramente mais fortes do que aqueles epoxidados (**LVII** e **LVIII**).

A partir dos resultados iniciais da atividade enzimática novos estudos foram conduzidos com o objetivo de se compreender os mecanismos pelos quais a GlcN-6-P sintase era inibida por esses análogos.

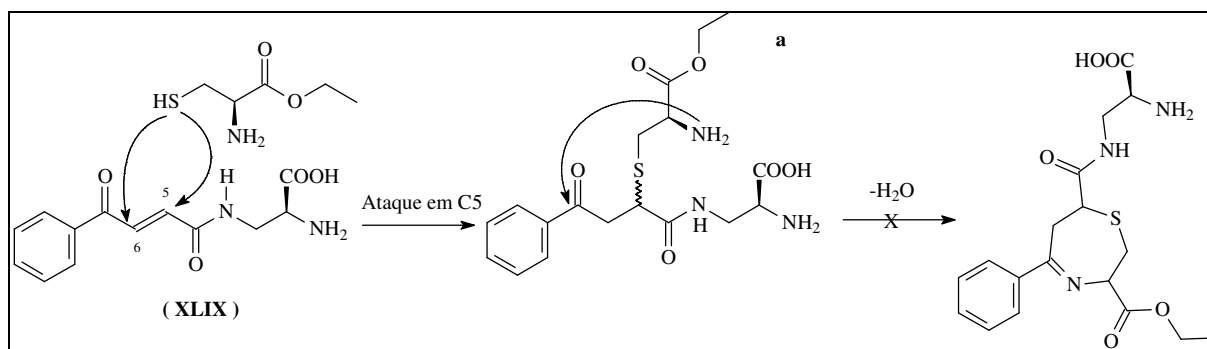
Na Figura 1.9 (pág. 34) está representado a mecanismo hipotético proposto para a reação do epóxido **LVII** com o CEE, um substrato de baixo peso molecular utilizado no estudo de modelos de reações.

Figura 1.9 – Inativação da GlcN-6-P sintase pelo análogo LVII (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012)

Os inibidores do tipo epóxido possuem na sua estrutura dois possíveis pontos de adição nucleofílica pelo átomo de enxofre, em C-5 e C-6.

A adição ao carbono C-6 de **LVII** pode desencadear uma sequência de reações que levarão a inibição irreversível da enzima e a liberação de **LXI**, como um produto da catálise enzimática. Esse composto foi devidamente isolado e caracterizado, na reação estudada, indicando que a inibição enzimática começa por um ataque do inibidor a C-6 de derivados do tipo epóxido (Figura 1.9).

Por outro lado, quando a reação foi estudada com o análogo **LIX** não foi observada a formação de nenhum produto cíclico. Essa observação é indicativa de que o ataque ao substrato começa pelo carbono C-5. E como não há indícios de ciclização espera-se que a reação seja interrompida no intermediário **a** (Figura 1.10, pág. 35).

Figura 1.10- Inativação da GlcN-6-P sintase pelo análogo LIX (JEDRZEJCZAK *et al.*; 2012)

O conhecimento da atividade desses novos análogos recém-descobertos e de seus respectivos mecanismos de ação é uma inspiração para o planejamento de novos potenciais inibidores da GlcN-6-P sintase, derivados do ácido L-2,3-diaminopropanóico.

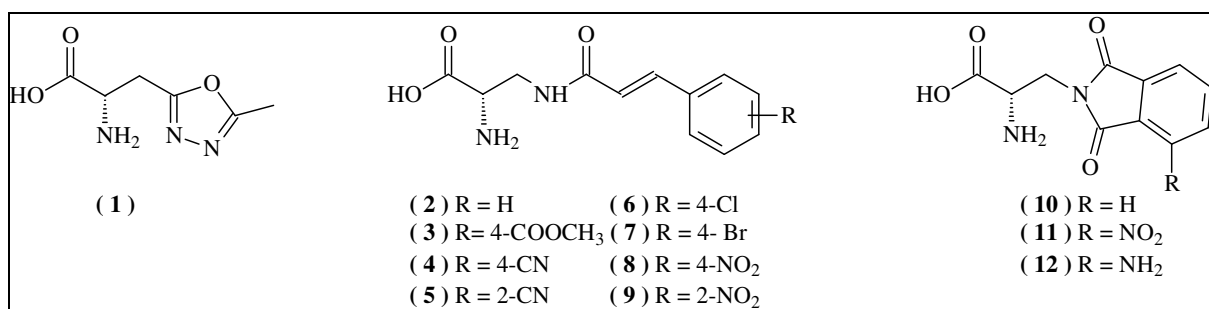
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

A necessidade do desenvolvimento de novos agentes antifúngicos é evidente diante das limitações dos fármacos que constituem o atual arsenal terapêutico. O aumento do número de pacientes imunocomprometidos e o surgimento de resistência à ação de alguns antifúngicos torna o quadro ainda mais preocupante. A exploração de alvos moleculares seletivos tem-se mostrado uma estratégia eficaz na identificação de novas substâncias potentes e com baixa toxicidade.

O planejamento de análogos mais lipofílicos da L-glutamina, capazes de penetrar na célula fúngica por difusão passiva, é uma estratégia promissora para a obtenção de novos agentes antifúngicos. Os resultados positivos do experimento teórico realizado por Silva e colaboradores permitem-nos concluir que os análogos propostos nesse trabalho deveriam ser sintetizados e avaliados com relação a sua atividade antifúngica.

Sendo assim, foi objetivo do presente trabalho a síntese e a avaliação antimicrobiana de análogos lipofílicos da L-glutamina, potenciais inibidores da GlcN-6-P sintase. Foram planejados, inicialmente, o oxadiazol **1**, as amidas **2-9** e os derivados ftalimídicos **10-12** (Figura 2.1).

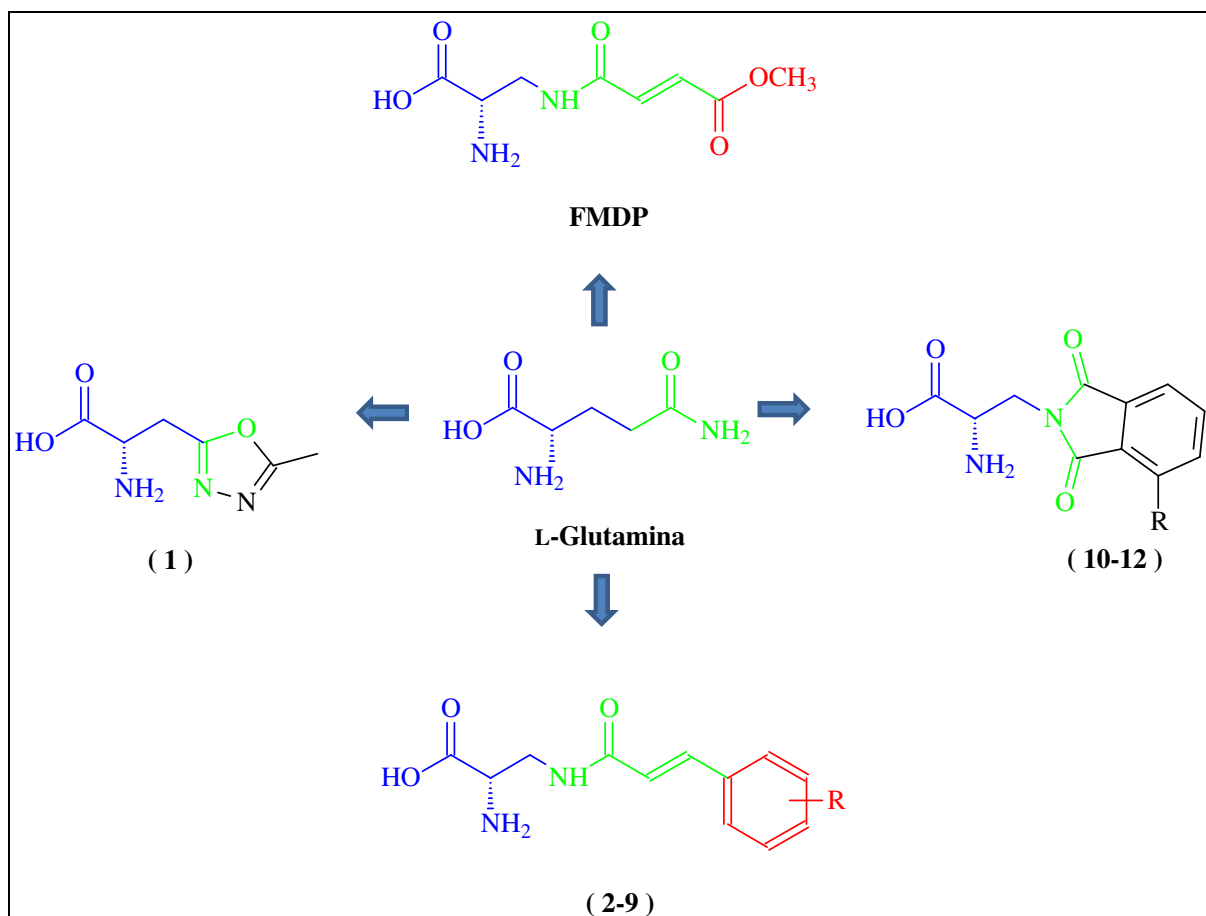
Figura 2.1 – Estruturas químicas dos análogos do FMDP



Na estrutura de **1** o grupo amido da L-glutamina foi substituído pelo anel oxadiazol (Figura 2.2, pág.37). As similaridades estruturais e eletrônicas entre os dois grupos poderão proporcionar o reconhecimento do ligante pela enzima levando à inibição enzimática e conseqüente atividade antifúngica.

Os derivados ftalimídicos foram planejados para se comportarem como retroisósteros da L-glutamina, inibindo o sítio ativo glutaminase. Na Figura 2.2 (pág. 37) estão representadas as estruturas dos análogos **10-12** em comparação com o protótipo.

Figura 2.2 – Estrutura da L-glutamina em comparação com seus análogos



Os derivados amídicos **2-9** foram planejados para mimetizarem as interações do FMDP com a enzima GlcN-6-P sintase (Figura 2.2). Nesses análogos o grupo fumaroil do FMDP foi substituído pelo anel aromático. A introdução desse núcleo na estrutura do composto aumenta seu caráter hidrofóbico, além de conferir restrição conformacional ao ligante, o que pode favorecer as interações com o alvo biológico. A presença de substituintes no anel aromático pode auxiliar não somente na obtenção de novos pontos de interação com a enzima, mas também na modulação de propriedades físico-químicas. O FMDP inibe a GlcN-6-P sintase por ligar-se covalentemente a enzima, através de um ataque nucleofílico do grupo tiol da Cys1 a ligação dupla conjugada. Os grupos CN e NO₂ na posição *orto* ou *para* do anel aromático estendem a conjugação, aumentando o caráter eletrofílico do carbono olefínico α -carbonílico, o que pode favorecer a reação com a enzima e consequentemente levar a sua inibição.

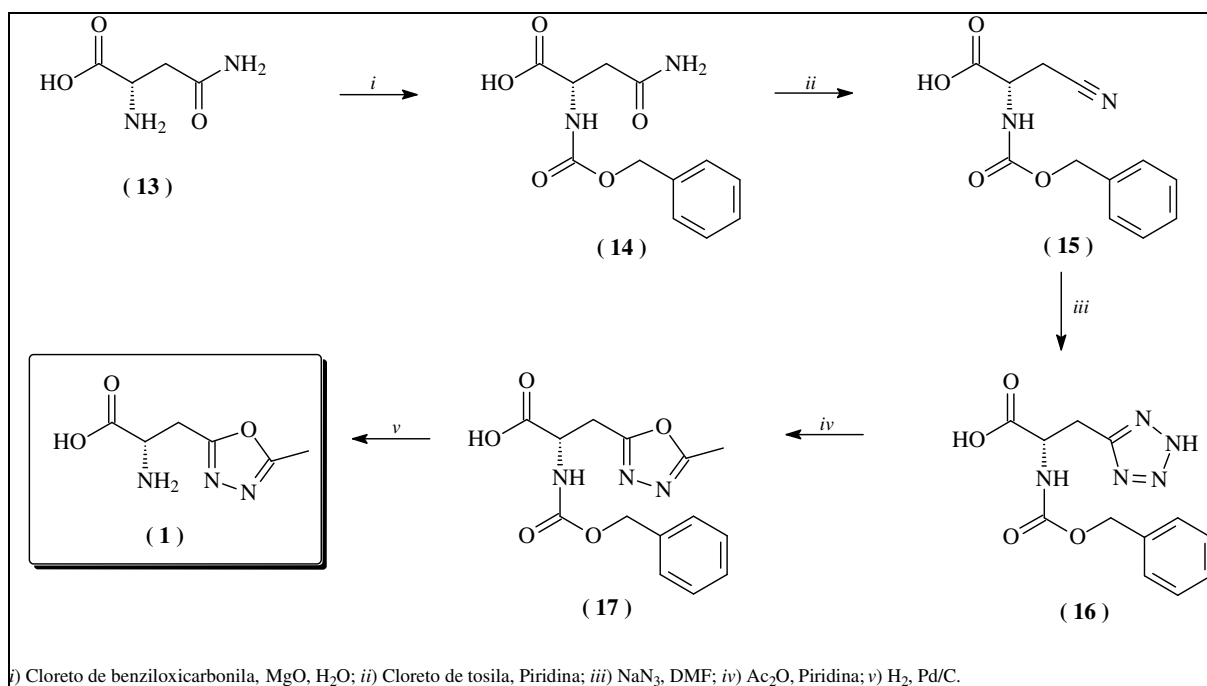
Todos os compostos planejados nesse trabalho seriam análogos mais lipofílicos que o FMDP, o que favoreceria sua penetração através da parede celular de fungos por transporte passivo.

3 PLANO DE SÍNTESE

Para a obtenção de **1**, **2-9** e **10-12**, foram propostas rotas de síntese a partir da L-asparagina **13** (Figuras 3.1-3.4, pág. 38-40). Os análogos planejados seriam obtidos puros opticamente, uma vez que a L-asparagina **13**, que é o material de partida proposto, seria utilizada na forma enantiomericamente pura (disponível comercialmente).

Para a obtenção de **1** foi planejada uma rota de síntese em cinco etapas (Figura 3.1). A primeira etapa seria proteção do grupo amino de **13** com cloroformato de benzila, na presença de base (KERESZTESY *et al.*; 1971). O derivado protegido **14** seria submetido a conversão do grupo amido a ciano, por reação com cloreto de tosila em piridina (KASHELIKAR & RESSLER; 1964). As etapas seguintes seriam a reação entre o grupo ciano de **15** e azida de sódio, na presença de cloreto de amônio e DMF (BUTLER; 1984) seguida da conversão do tetrazol **16** em oxadiazol, por reação com anidrido acético em piridina (FARACO *et al.*; 1999). A remoção do grupo benziloxycarbonila seria efetuada por hidrogenação catalítica para obtenção do produto final, o oxadiazol **1** (MOUFFOUK *et al.*; 2004).

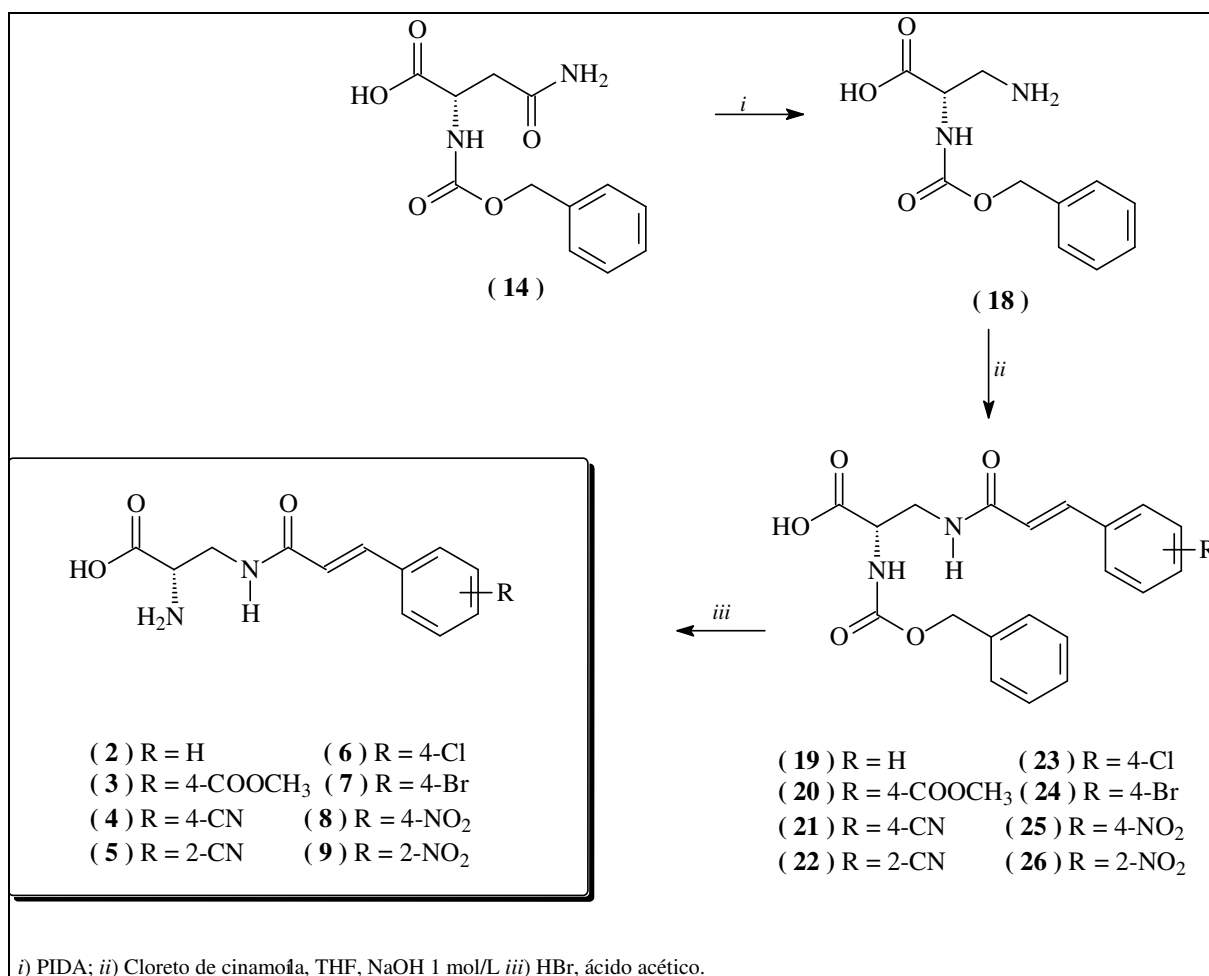
Figura 3.1 - Esquema para a síntese de 1



Para a obtenção das amidas **2-9** foi planejada uma rota de síntese em quatro etapas (Figura 3.2, pág.39). O intermediário comum N-benziloxycarbonil-L-asparagina **14** seria submetido a

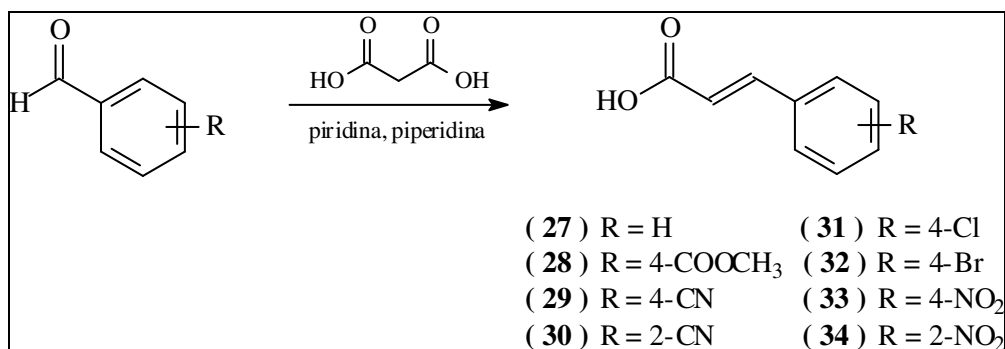
reação com diacetoxi iodobenzeno (PIDA) (ZHANG *et al.*; 1997). As amidas **19-26** seriam obtidas por reação do derivado β -amino-L-alanina **18** com o respectivo cloreto de cinamoíla (YANG *et al.*; 2010). A remoção do grupo benziloxycarbonila com HBr levaria à obtenção das amidas **2-9** (MOUFFOUK *et al.*; 2004).

Figura 3.2 - Esquema para a síntese de 2 - 9



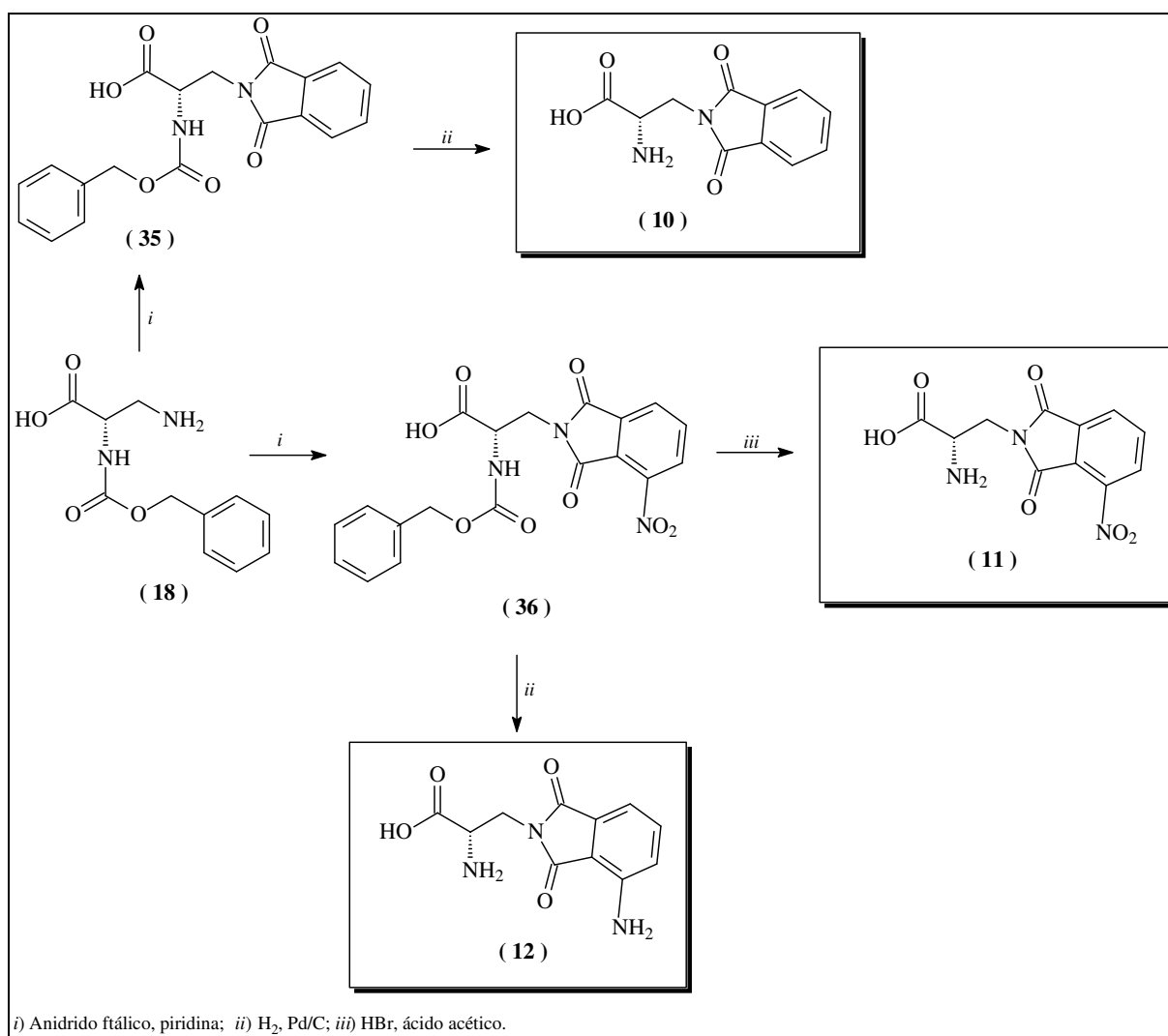
Os ácidos cinâmicos **27-34** planejados seriam obtidos por reação do aldeído aromático devidamente substituído com ácido malônico, na presença de base (Figura 3.3, pág. 40) (KOK *et al.*; 2010). A seguir, eles seriam convertidos em haleto de acila, por reação com cloreto de oxalila em clorofórmio, sob aquecimento a refluxo.

Figura 3.3 - Esquema para a síntese de 27 - 34



Para a obtenção dos derivados ftalimídicos **10-12** foi planejada uma rota de síntese, em 2 etapas, partindo do derivado comum β-amino-L-alanina **18** (Figura 3.4).

Figura 3.4 - Esquema para a síntese de 10-12



A amina **18** seria submetida a reação com o anidrido ftálico ou com o anidrido 2-nitroftálico para obtenção de **35** e **36**, respectivamente (JURSIC & PATEK; 1974). A remoção do grupo benziloxycarbonila de **35** por hidrogenação catalítica e de **36** por reação com HBr em ácido acético levaria a obtenção dos produtos finais **10** e **11**, respectivamente (MOUFFOUK *et al.*; 2004). A redução do grupo nitro à amino do intermediário **36**, com concomitante remoção do grupo benziloxycarbonila, por hidrogenação catalítica, levaria a obtenção do produto final desprotegido **12**.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais e Métodos

4.1.1 Síntese

Os solventes utilizados foram previamente tratados seguindo procedimentos específicos:

- piridina – acondicionada previamente com pastilhas de hidróxido de potássio e destilada. No texto é referida como piridina anidra (ARMAREGO & PERRIN, 1996);

Os demais solventes foram utilizados sem prévia purificação e/ou destilação.

Para cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica-gel 60 G MERCK®, sobre lâmina de vidro ou sílica em Kieselgel em folha/suporte de alumínio Merck 60 F254. Os reveladores utilizados foram: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% ou 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina a 0,3% p/v.

Para cromatografia em coluna utilizou-se sílica-gel 60, 0,063 a 0,200 mm da MERCK®.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de 1D e 2D foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE DPX 200 no Departamento de Química, ICEX, UFMG e espectrômetro BRUKER AVANCE DRX 400, no Département de Pharmacochimie Moléculaire, Université Joseph Fourier, utilizando-se como padrão interno tetrametilsilano ou sinal residual do solvente ou ainda, sinal de resíduo de água.

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro por eletrospray positivo (ESI) do Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans.

Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro com transformada de Fourier – Perkin-Elmer, modelo Spectrum One, do Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG.

Os poderes rotatórios específicos $[\alpha]_D$ foram medidos em polarímetro ADP 220 Bellingham + Stanley Ltda, caminho ótico de 2,0 dm, no Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG.

As faixas de fusão foram medidas em aparelho Microquímica MQAPF 301 Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG e não foram corrigidas. Para todas as substâncias obtidas foram determinados os pontos de fusão e foram obtidos os espectros no IV e de RMN de ^1H e de ^{13}C . Quando se fez necessário para a atribuição dos sinais de RMN foram obtidos espectros de RMN bidimensionais (COSY e HMQC).

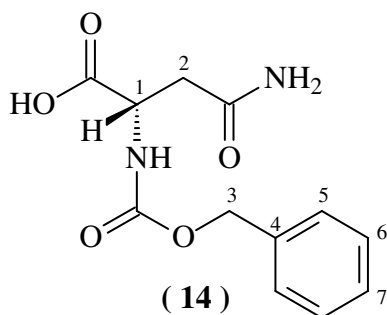
4.1.2 Cálculo dos valores de cLogP

Os valores de cLog P dos compostos planejados no presente trabalho, o oxadiazol **1**, as amidas **2-9** e os derivados ftalimídicos **10-12** foram estimados utilizando-se o programa Osiris Property Explorer.

4.2 Síntese

4.2.1 Síntese de *N*-benziloxycarbonil-L-asparagina (**14**) (KERESZTESY *et al.*; 1971)

Em balão de fundo redondo de 50 mL foram dissolvidos 3,0 g (0,02 mol) de L-asparagina em 20 mL de água destilada. A essa solução adicionou-se 1,8 g (0,04 mol) de MgO. A seguir, sob banho de gelo e agitação magnética, 4,2 mL (0,03 mol) de cloreto de benziloxycarbonila foram adicionados, gota à gota, a mistura reagente. Após quinze minutos o sistema foi retirado do resfriamento e mantido à temperatura ambiente, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de etila 2:8; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) por quatro horas. Foram adicionados gelo pilado e HCl 1mol/L ao balão, em banho de gelo, até pH 1. Observou-se a formação de um sólido branco. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por mais 30 minutos e o sólido foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água destilada. Foram obtidos 5,85 g de um sólido branco, correspondentes a 94% de rendimento. O produto obtido nessa reação foi utilizado na etapa seguinte, sem prévia purificação.



FM: C₁₂H₁₄O₅N₂

MM: 263 g/mol

FF: 161,3- 164,2°C (Lit.: 164-166°C)
(KERESZTESY *et al.*; 1971)

[α]_D²¹ +2,07 (c 0,24, AcOH) (Lit. +6,05 (c 0,46, AcOH) (BERLINGOZZI *et al.*; 1958)

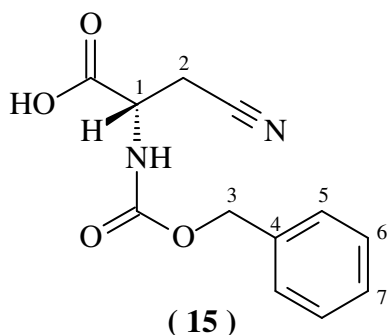
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3410, 3337 (ν N-H); 1695 (ν C=O); 1644 (ν C=O amida); 1585, 1537 (ν C=C); 1268, 1230 (ν C-O); 736, 695 (def.ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ 12,65 (sl; 1H; COOH); 7,48 – 7,34 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,94 (s; 1H; NH); 5,02 (s; 2H; H-3); 4,36 – 4,33 (m; 1H; H-1); 2,59 – 2,37 (m; 2H; H-2).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ 173,3, 171,3 (CO); 155,9 (COOR); 137,0 (C-4); 128,4; 127,8; 127,7 (C aromáticos do Cbz); 65,5 (C-3); 50,6 (C-1); 36,7 (C-2).

4.2.2 Síntese de *N*-benziloxycarbonil-β-ciano-L-alanina (15) (KASHELIKAR & RESSLER.; 1964)

Sob banho de gelo e agitação magnética foram dissolvidos 2,0 g (7,52 mmol) de **14** em 3,0 mL de piridina anidra. A essa mistura foi adicionada, gota a gota, uma solução previamente preparada de 1,6 g (7,74 mmol) de cloreto de tosila em 2,0 mL de piridina anidra. O balão foi adaptado ao condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio, e sob agitação magnética, aquecido a 50° C. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de etila 6:4; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). Após seis horas o sistema foi resfriado em banho de gelo e foram adicionados ao balão gelo pilado e HCl 3 mol/L, até pH 1,0. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e extraída com 3 x 40 mL de acetato de etila e 1 x 40 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Obteve-se um sólido branco que foi submetido à purificação por CCS (hexano/acetato de etila 4:6, saturado com solução de HCl 3 mol/L). Foram obtidos 950 mg de um sólido branco, que correspondem a 51% de rendimento.

**FM:** C₁₂H₁₂O₄N₂**MM:** 248 g/mol**FF:** 132,7-134,6 °C (Lit.: 132,5-133,5 °C)
(KASHELIKAR & RESSLER.; 1964)**[α]_D²²** -40 (c 1, DMF) (Lit. -44,2 (c 0,93, DMF)) (RESSLER & RATZKIN.; 1961)

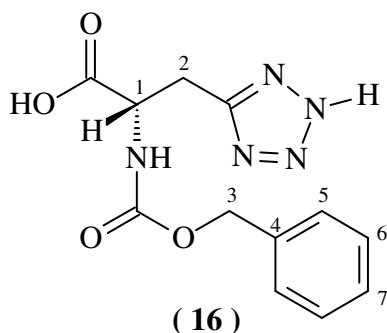
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3319 (ν N-H); 2272 (ν C≡N); 1695 (ν C=O); 1537 (ν C=C); 1261 (ν C-O); 737, 695 (def. ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ 8,00 (d; *J*_{NH,1} 8,0 Hz; 1H; NH); 7,35 (s; 5H; H aromáticos do Cbz); 5,07 (s; 2H; H-3); 4,39 – 4,32 (m; 1H; H-1); 3,05 – 2,79 (m; 2H; H-2).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ 170,9 (C=O); 155,9 (C=O); 136,8 (C-4); 128,4; 127,9; 127,8 (C aromáticos do Cbz); 118,1 (C≡N); 65,8 (C-3); 50,1 (C-1); 20,0 (C-2).

4.2.3 Síntese de *N*-benziloxycarbonil-β-(tetrazol-5-il)-L-alanina (16) (BUTLER; 1984)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio foram adicionados 100 mg (0,4 mmol) de **15** e 3 mL de DMF. A essa solução acrescentaram-se 370 mg (5,7 mmol) de NaN₃. O sistema foi submetido à agitação magnética e aquecimento a 80 °C. Após duas horas adicionaram-se à mistura reagente 300 mg (5,7 mmol) de NH₄Cl. A reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de etila 2:8; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) até o consumo de todo o material de partida. Após 48 horas a DMF foi removida em evaporador rotatório. Ao resíduo obtido foram adicionados gelo pilado e HCl 3 mol/L, até pH 1, em banho de gelo. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e extraída com 3 x 20 mL de acetato de etila e 2 x 20 mL de éter etílico. A fase orgânica foi extraída com 2 x 20 mL de água destilada e secada com sulfato de sódio anidro. Filtrou-se. O solvente foi eliminado em evaporador rotatório. Obteve-se um óleo amarelo que foi submetido a purificação por CCS (hexano/acetato de etila 1:1, saturado com solução de HCl 3 mol/L). Foram obtidos 40 mg de um sólido branco, que correspondem a 34% de rendimento.

**FM:** C₁₂H₁₃O₄N₅**MM:** 291 g/mol

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3321 (ν N-H); 1688 (ν C=O); 1537 (ν C=C); 1267, 1215 (ν C-O); 737, 696 (def.ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ 7,76 (d; *J*_{NH,1} 8,4 Hz; 1H; NH); 7,32 (sl; 5H; H aromáticos do Cbz); 5,01 (s; 2H; H-3); 4,56 – 4,45 (m; 1H; H-1); 3,40 (dd; *J*_{2,1} 6,0; *J*_{2,2} 15,3; 1H; H-2); 3,25 (dd; *J*_{2,1} 8,8; *J*_{2,2} 15,3; 1H; H-2').

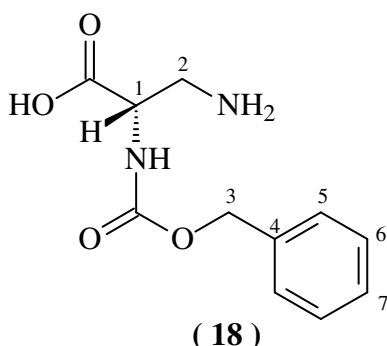
RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ 172,0 (COOH); 155,9 (COOR); 153,5 (C tetrazol); 136,9 (C-4); 128,4; 127,9; 127,7 (C aromáticos do Cbz); 65,6 (C-3); 52,3 (C-1); 25,5 (C-2).

4.2.4 Tentativa de síntese de *N*-benziloxicarbonil-β-(2-metiloxadiazol-5-il)-L-alanina (17) (FARACO *et al.*; 1999)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 90 mg (0,31 mmol) de derivado tetrazólico **16**, 1 mL de piridina anidra e 3 mL de anidrido acético. O sistema foi adaptado a um condensador de refluxo contendo um tubo de cloreto de cálcio e submetido a agitação magnética e refluxo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de etila 3:7; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) até o consumo de todo o material de partida. Em seguida, foram adicionados à mistura reagente gelo pilado e solução HCl 3 mol/L, até pH 1,0. A mistura reagente foi transferida para um funil de extração e extraída com 3x25 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Em seguida, o resíduo bruto obtido foi submetido às análises por espectrometria no infravermelho e RMN.

4.2.5 Síntese de *N*α-benziloxicarbonil-β-amino-L-alanina (18) (ZHANG *et al.*; 1997)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 1,0 g (3,76 mmol) de **14**, 5 mL de acetato de etila, 5 mL de acetonitrila, 2,5 mL de água destilada e 1,50 g (4,66 mmol) de diacetoxiidobenzeno (PIDA), sob e agitação magnética e resfriamento a 10 °C. A mistura reagente foi mantida sob essas condições por aproximadamente trinta minutos. Após esse tempo a temperatura do sistema foi elevada para 20 °C. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) até o consumo de todo o material de partida. Observou-se a formação de um sólido branco que foi filtrado a vácuo e lavado com 10 mL de acetato de etila. Foram obtidos 570 mg de um sólido branco, que correspondem a 63% de rendimento.



FM: C₁₁H₁₄N₂O₄

MM: 238 g/mol

FF: 224,6-228,1 °C (Lit.: 228-230 °C) (ZHANG *et al.*; 1997)

[α]_D²⁴ -5,07 (*c* 0,24, NaOH 1M) (Lit. -7,70 (*c* 1,56, NaOH 1M)) (CHHABRA *et al.*; 2002)

EM (ESI⁺, m/z) para C₁₁H₁₅N₂O₄ calculado: 239,1032. Encontrado: 239,1029 [M+H]⁺; 195,1129 [M+H-CO₂]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3302 (ν N-H); 1693 (ν C=O); 1591, 1538 (ν C=C); 1267 (ν C-O); 739, 695 (def.ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆/TFA, 200 MHz) δ 10,7 (sl; 1H; COOH); 8,02 (s; 3H; NH₃); 7,74 (d; *J*_{NH,1} 8,6; 1H; NH); 7,35 (s; 5H; H aromáticos do Cbz); 5,06 (s; 2H; H-3); 4,32 – 4,30 (m; 1H; H-1); 3,23 – 3,04 (m; 2H; H-2).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆/TFA, 50 MHz) δ 171,0 (COOH); 156,4 (COOR); 136,8 (C-4); 128,5; 128,0; 127,9 (C aromáticos do Cbz); 66,0 (C-3); 52,0 (C-1); 39,5 (C-2).

4.2.6 Síntese dos ácidos cinâmicos (27) – (34)

Método Geral (KOK *et al.*; 2010)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados, na seqüência, o respectivo aldeído benzóico, 3,5 mL de piridina, 0,2 mL de piperidina e o ácido malônico. O balão foi adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio e o sistema foi

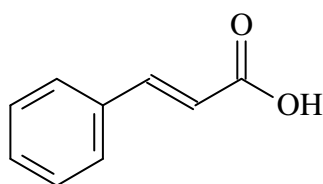
submetido à agitação magnética e aquecimento a 90°C. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2; reveladores: iodo; solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v) até o consumo de todo o material de partida. Foram adicionados gelo pilado e HCl concentrado, até pH 1, ao balão. Observou-se a formação de um sólido que foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água destilada.

Na tabela 4.1 (pág. 48) estão descritas as quantidades de reagente utilizadas, o tempo de reação e o rendimento para cada um dos derivados cinâmicos obtidos.

Tabela 4.1 – Condições empregadas na síntese dos derivados cinâmicos

Produto	Quantidade de benzaldeído (mmol)	Quantidade de ácido malônico (mmol)	Tempo de reação (h)	Rendimento
(27)	Ácido disponível no Laboratório de Química Farmacêutica			
(28)	3,0 mmol	12,2 mmol	1 ½	90%
(29)	3,8 mmol	15,4 mmol	2	51%♣
(30)	3,8 mmol	15,4 mmol	2	64%
(31)	3,6 mmol	14,4 mmol	3	46%♣
(32)	2,7 mmol	10,6 mmol	2 ½	55%♣
(33)	Ácido adquirido comercialmente			
(34)	3,3 mmol	13,5 mmol	2	45%♣

♣ produto purificado por recristalização com álcool etílico.



(27)

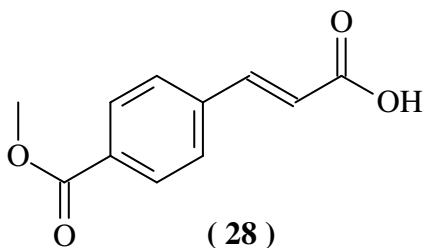
FM: C₉H₈O₂

MM: 148 g/mol

FF: 131,8-134,2 °C (Lit.: 132-134 °C)

(WU *et al.*; 2009)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1672 (ν C=O); 1627 (ν C=C alceno); 1577, 1495, 1448 (ν C=C) ; 766, 708 (def. ang. C-H aromático monossustituído).

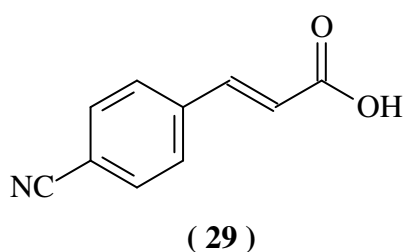


FM: C₁₁H₁₀O₄

MM: 206 g/mol

FF: 238,3-240-9 °C (Lit.: 240-241 °C)
(SHENG *et al.*; 2006)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1713 (ν C=O éster); 1680 (ν C=O); 1632 (ν C=C alceno); 1568, 1511, 1430 (ν C=C); 854 (def. ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

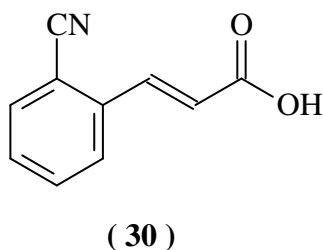


FM: C₁₀ H₇NO₂

MM: 173 g/mol

FF: 252,0-254,8 °C (Lit.: 254-256 °C)
(RAPOPORT *et al.*; 1952)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 2225 (ν C≡N); 1683 (ν C=O); 1624 (ν C=C alceno); 1562, 1510, 1423 (ν C=C); 823 (def. ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

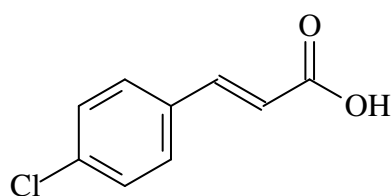


FM: C₁₀ H₇NO₂

MM: 173 g/mol

FF: 245,9-248,2 °C (Lit.: 253-254 °C)
(STEWART *et al.*; 1960)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 2226 (ν C≡N); 1685 (ν C=O); 1626 (ν C=C alceno); 1592, 1485, 1451 (ν C=C); 765 (def. ang. C-H aromático *orto*-disubstituído).

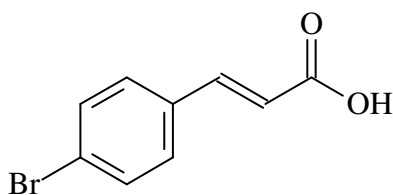


FM: C₉ H₇ClO₂

MM: 183 g/mol

FF: 239,2-241,4 °C (Lit.: 241 °C)
(BRAUN & NELLES.; 1933)

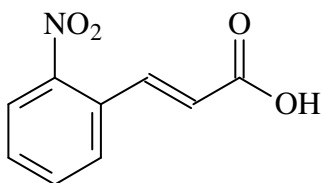
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1677 (ν C=O); 1625 (ν C=C alceno); 1591, 1488, 1426 (ν C=C); 818 (def. ang. C-H aromático *para*-disubstituído).



(32)

FM: C₉H₇BrO₂**MM:** 228 g/mol**FF:** 254,7-257,3 °C (Lit.: 255-256 °C)(SUGIYAMA *et al.*; 2003)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1681 (ν C=O); 1626 (ν C=C alceno); 1585, 1487, 1424 (ν C=C); 817 (def. ang. C-H aromático *para*-dissubstituído)



(34)

FM: C₉H₇NO₄**MM:** 193 g/mol**FF:** 247,9-250 °C (Lit.: 245-246 °C)(SUGIYAMA *et al.*; 2003)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1693 (ν C=O); 1629 (ν C=C alceno); 1571, 1441 (ν C=C); 1520, 1343 (ν NO₂), 754 (def. ang. C-H aromático *orto*-dissubstituído)

4.2.7 Síntese das amidas (19) - (26)

Método geral A (RAJPUT & GORE; 2011)

Para a síntese do cloreto de ácido foram adicionados a um balão de fundo redondo adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio o respectivo ácido cinâmico, clorofórmio e cloreto de oxalila (17 equivalentes). A mistura reagente foi aquecida a refluxo, e mantida sob agitação magnética, durante cerca de quatro horas. Ao término do tempo estabelecido a mistura reagente foi concentrada em evaporador rotatório, até secar. O produto bruto obtido nessa reação foi utilizado na etapa seguinte, sem prévia purificação.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL o derivado *N*α-benziloxycarbonil-β-amino-L-alanina **18** (1,34 mmol) foi suspenso em 15 mL de piridina. O sistema foi mantido sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por cerca de vinte minutos. A seguir, o cloreto de cinamoíla (0,68 mmol) previamente preparado foi solubilizado em 10 mL de piridina e essa solução foi adicionada, gota a gota. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato

de etila/hexano 7:3 em cuba saturada com vapor de HCl; reveladores: iodo; solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v). Após cerca de vinte horas a reação foi interrompida e foram realizadas as etapas de elaboração e purificação. Foram adicionados a mistura reagente, sob banho de gelo, gelo pilado e solução HCl 3 mol/L, até pH 1,0. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e extraída com 3x30 mL de acetato de etila e 3x30 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo bruto obtido foi submetido a purificação por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 1:1; hexano/acetato de etila 3:7). O eluente utilizado foi previamente saturado com solução de HCl 1 mol/L.

Método Geral B (GEORG *et al.*; 1994)

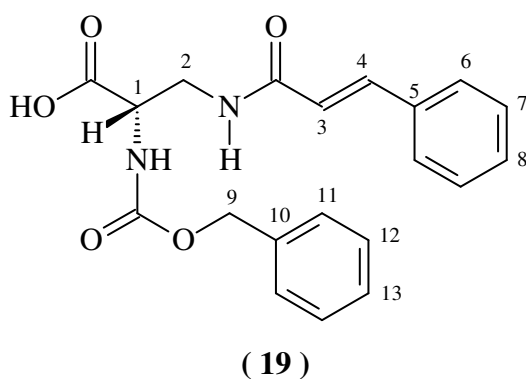
Para o preparo das amidas **19-26** inicialmente o derivado **18** (0,84 mmol) foi suspenso em 10 mL de THF. Uma solução de NaOH 1mol/L (2mL) foi então adicionada, gota a gota, à mistura reagente. Após a adição da base foi observada a completa solubilização de **18**. O sistema foi submetido a resfriamento em banho de gelo e mantido sob agitação magnética. O cloreto de cinamoíla apropriado (0,68 mmol), previamente preparado pelo método descrito anteriormente, foi solubilizado em THF e adicionado, gota a gota, ao balão. O pH da mistura reagente foi acompanhado durante todo o processo de adição da solução de cloreto de ácido. Ao se observar que o valor do pH havia abaixado, novas adições de solução NaOH 1mol/L eram realizadas, restabelecendo as condições básicas do meio. Ao término da adição da solução do cloreto de cinamoíla o pH da mistura reagente encontrava-se em torno de 12,0. A reação foi acompanhada por CCD (acetato de etila/hexano 7:3, em cuba saturada com vapor de HCl; reveladores: iodo; solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v). Após cerca de quinze horas a reação foi interrompida e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo aquoso obtido foi diluído com água destilada e sob banho de gelo foram adicionados gelo e solução HCl 1 mol/L, até pH 1,0. A mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com 3x30 mL de acetato de etila e 3x30 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo bruto obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: hexano/acetato de etila 1:1; hexano/acetato de etila 3:7). O eluente utilizado foi previamente saturado com solução de HCl 1 mol/L.

Na Tabela 4.2 (pág. 52) estão descritos os rendimentos obtidos na síntese de **19-26** pelo Método A e pelo Método B.

Tabela 4.2 – Rendimentos obtidos na síntese das amidas 19 - 26.

<i>Produto</i>	<i>Rendimento</i>	
	<i>Método A</i>	<i>Método B</i>
(19)	65%	80%
(20)	35%	77%
(21)	45%	87%
(22)	31%	93%
(23)	46%	88%
(24)	36%	86%
(25)	31%	61%
(26)•	-----	78%

• O derivado **26** não foi sintetizado pelo Método A



FM: C₂₀H₂₀N₂O₅

MM: 368 g/mol

FF: 124,8-129,6 °C

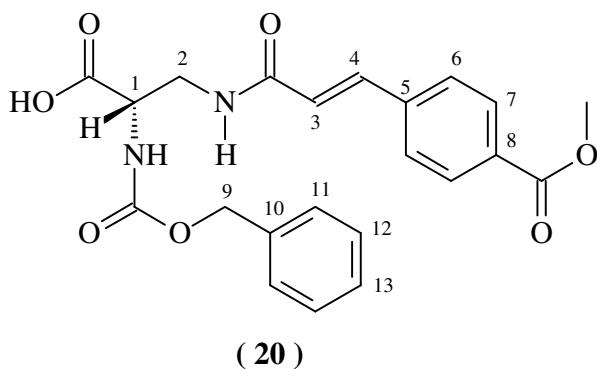
[α]_D²² -3,0 (c 0,5, Acetona)

EM (ESI⁺, m/z) para C₂₀H₂₁N₂O₅
 calculado: 369,1450. Encontrado:
 369,1446 [M+H]⁺; 325,1548 [M+H-CO₂]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3317 (ν N-H); 1704 (ν C=O); 1656 (ν C=O amida); 1520, (def.ang. N-H); 1213 (ν C-O); 735, 694 (def.ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 7,60 (d; *J*_{4,3} 15,6; 1H; H-4); 7,57-7,55 (m; 2H; NH); 7,40 – 7,25 (m; 10H; H aromáticos); 6,73 (d; *J*_{3,4} 15,6; 1H; H-3); 5,10 (s; 2H; H-9); 4,50 (dd; *J*_{1,2} 4,0; *J*_{1,2} 7,2; 1H; H-1); 3,90 (dd; *J*_{2,1} 4,0; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2); 3,75 (dd; *J*_{2,1} 7,2; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 100 MHz) δ 172,3 (C=O); 167,7 (C=O); 157,1 (C=O); 141,4 (C-4); 138,0 (C-10); 136,0 (C-5); 130,4; 129,7; 129,2; 128,7; 128,6 (C aromáticos); 121,9 (C-3); 66,9 (C-9); 55,7 (C-1); 41,6 (C-2).



FM: C₂₂H₂₂N₂O₇

MM: 426 g/mol

FF: 167,2-171,4 °C

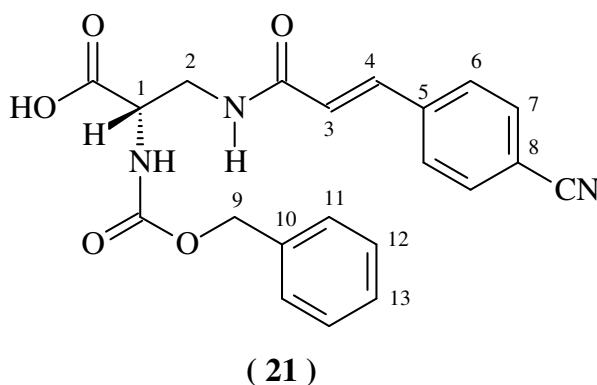
[α]_D²⁴ -1,0 (c 0,5, Acetona)

EM (ESI+, m/z) para C₂₂H₂₃N₂O₇
 calculado: 427,1505. Encontrado:
 427,1500 [M+H]⁺; 383,1600 [M+H-CO₂]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3289 (ν N-H); 1713 (ν C=O éster); 1698 (ν C=O); 1655 (ν C=O amida); 1627 (ν C=C alceno); 1550, (def.ang. N-H); 1274 (ν C-O); 857 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 8,00 (d; *J*_{7,6} 8,4; 2H; H-7); 7,70 (d; *J*_{6,7} 8,4; 2H; H-6); 7,60 (d; *J*_{4,3} 16,0; 1H; H-4); 7,40-7,26 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,83 (d; *J*_{3,4} 16,0; 1H; H-3); 5,08 (s; 2H; H-9); 4,45 (dd; *J*_{1,2} 4,4; *J*_{1,2} 7,2; 1H; H-1); 3,89 (s; 3H; COOCH₃); 3,86 (dl; *J*_{2,1} 4,4; 1H; H-2); 3,54 (dd; *J*_{2,1} 7,2; *J*_{2,2} 12,0; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 100 MHz) δ 172,2 (C=O OH); 167,0 (C=O NH); 166,8 (C=O OCH₃); 157,1 (C=O OR); 140,6 (C-5); 139,8 (C-4); 138,2 (C-10); 131,7; 130,8; 129,3; 128,8; 128,7 (C aromáticos); 124,7 (C-3); 66,9 (C-9); 55,7 (C-1); 52,5 (COOCH₃); 41,6 (C-2).



FM: C₂₁H₁₉N₃O₅

MM: 393 g/mol

FF: 97,5-102,1 °C

[α]_D²³ -2,67 (c 0,75, Acetona)

EM (ESI+, m/z) para C₂₁H₂₀N₃O₅
 calculado: 394,1403. Encontrado:
 394,1399 [M+H]⁺; 350,1500 [M+H-CO₂]⁺.

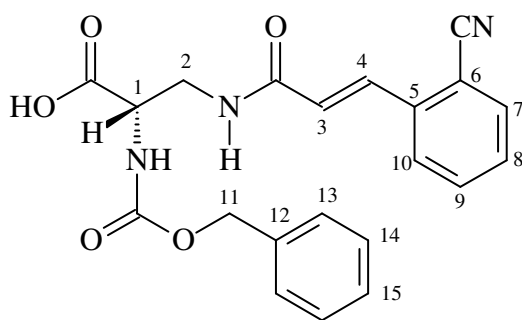
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3319 (ν N-H); 2229 (ν C≡N); 1697 (ν C=O); 1659 (ν C=O amida); 1525, (def.ang. N-H); 1211 (ν C-O); 828 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 7,77 (d; *J*_{7,6} 8,8; 2H; H-7)*; 7,74 (d; *J*_{6,7} 8,8; 2H; H-6)*; 7,60 (d; *J*_{4,3} 16,0; 1H; H-4); 7,37-7,25 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,85 (d; *J*_{3,4} 16,0; 1H;

H-3); 5,08 (s; 2H; H-9); 4,48 (dd; $J_{1,2}$ 3,6; $J_{1,2}$ 7,6; 1H; H-1); 3,89 (dd; $J_{2,1}$ 3,6; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,73 (dd; $J_{2,1}$ 7,6; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

*Intercambiáveis

RMN de ^{13}C (Acetona- d_6 , 100 MHz) δ 172,2 (C=O); 167,0 (C=O); 157,2 (C=O); 140,5 (C-4); 139,3 (C-5); 138,0 (C-10); 133,5; 129,3; 129,2; 128,7 (C aromáticos); 125,5 (C-3); 119,2 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 113,4 (C-8); 67,00 (C-9); 55,5 (C-1); 41,6 (C-2).



(22)

FM: $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$

MM: 393 g/mol

FF: óleo/cera

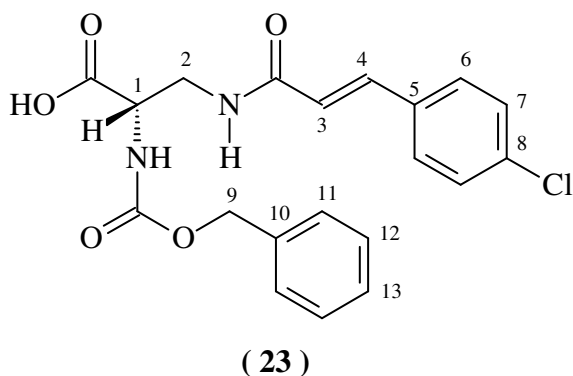
$[\alpha]_D^{23}$ -2,67 (c 0,38, Acetona)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5$
calculado: 394,1403. Encontrado:
394,1499 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 350,1500 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3314 (ν N-H); 2226 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1697 (ν C=O); 1660 (ν C=O amida); 1520, (def.ang. N-H); 1214 (ν C-O); 758 (def.ang. C-H aromático *orto*-disubstituído).

RMN de ^1H (Acetona- d_6 , 400 MHz) δ 7,90-7,80 (m; 3H; H-7, H-9 e H-10); 7,71 (t; $J_{8,7=8,9}$ 7,6; 1H; H-8); 7,56 (d; $J_{4,3}$ 15,2; 1H; H-4); 7,38-7,25 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,94 (d; $J_{3,4}$ 15,2; 1H; H-3); 5,09 (s; 2H; H-11); 4,47 (dd; $J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 7,2; 1H; H-1); 3,91 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 12,0; 1H; H-2); 3,74 (dd; $J_{2,1}$ 7,2; $J_{2,2}$ 12,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C (Acetona- d_6 , 100 MHz) δ 172,1 (C=O); 166,5 (C=O); 157,1 (C=O); 138,8 (C-4); 136,2 (C-5); 134,4 (C-12); 130,8; 129,7; 129,3; 128,8; 127,9, (C aromáticos); 127,0 (C-3); 118,0 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 113,1 (C-6); 67,00 (C-11); 55,6 (C-1); 41,7 (C-2).



FM: C₂₀H₁₉ClN₂O₅

MM: 402 g/mol

FF: 100,4-105,5 °C

[α]_D²³ -1,83 (c 0,8, Acetona)

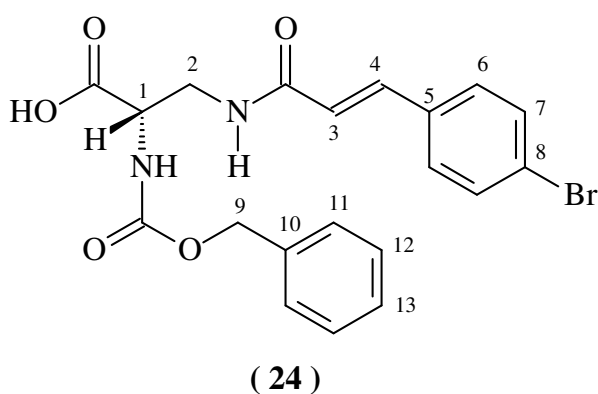
EM (ESI+, m/z) para C₂₀H₂₀ClN₂O₅
calculado: 403,1061. Encontrado:
403,1057 [M+H]⁺; 359,1158 [M+H-CO₂]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3316 (ν N-H); 1699 (ν C=O); 1657 (ν C=O amida); 1521, (def.ang. N-H); 1213 (ν C-O); 819 (def.ang. C-H aromático *para*-substituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 7,54 (d; *J*_{4,3} 15,6; 1H; H-4); 7,40-7,25 (m; 9H; H aromáticos); 6,72 (d; *J*_{3,4} 15,6; 1H; H-3); 5,09 (s; 2H; H-9); 4,46 (dd; *J*_{1,2} 3,2; *J*_{1,2} 6,8; 1H; H-1); 3,88 (dd; *J*_{2,1} 3,2; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2); 3,74 (dd; *J*_{2,1} 6,8; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 100 MHz) δ 172,4 (C=O); 167,4 (C=O); 157,1 (C=O); 139,8 (C-4); 138,1 (C-10); 135,6 (C-5)*; 134,9 (C-8)*; 130,2; 129,8; 129,2; 129,0; 128,7, (C aromáticos); 122,9 (C-3); 66,9 (C-9); 55,8 (C-1); 41,6 (C-2).

*Intercambiáveis



FM: C₂₀H₁₉BrN₂O₅

MM: 446 g/mol

FF: 66,9-68,6 °C

[α]_D²³ -0,98 (c 1, Acetona)

EM (ESI+, m/z) para C₂₀H₂₀BrN₂O₅
calculado: 447,0556. Encontrado:
449,0533 [M+2H]⁺; 403,0652 [M+H-CO₂]⁺.

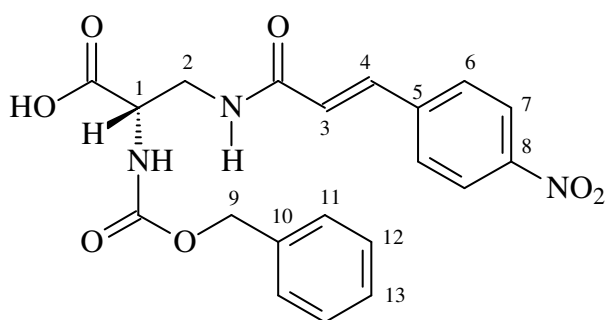
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3312 (ν N-H); 1699 (ν C=O); 1653 (ν C=O amida); 1520, (def.ang. N-H); 1213 (ν C-O); 815 (def.ang. C-H aromático *para*-dissubstituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 7,55 (d; *J*_{7,6} 8,0; 2H; H-7); 7,50 (d; *J*_{6,7} 8,0; 2H; H-6); 7,37-7,25 (m; 6H; H-4 e H aromáticos do Cbz); 6,73 (d; *J*_{3,4} 15,6; 1H; H-3); 5,09 (s; 2H;

H-9); 4,46 (dd; $J_{1,2}$ 3,2; $J_{1,2}$ 6,8; 1H; H-1); 3,88 (dd; $J_{2,1}$ 3,2; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,72 (dd; $J_{2,1}$ 6,8; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C (Acetona- d_6 , 100 MHz) δ 172,3 (C=O); 167,3 (C=O); 157,1 (C=O); 139,9 (C-4); 135,0 (C-10); 132,9 (C-5); 130,5; 129,2; 128,7, (C aromáticos); 123,9 (C-3)*; 123,0 (C-8)*; 66,9 (C-9); 55,7 (C-1); 41,6 (C-2).

*Intercambiáveis



(25)

FM: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$

MM: 413 g/mol

FF: óleo/cera

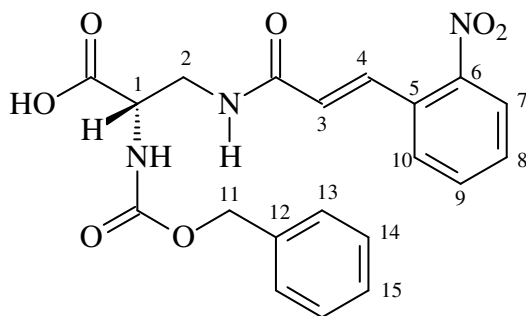
$[\alpha]_D^{22}$ -2,94 (c 0,17 Acetona)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_7$
calculado: 414,1301. Encontrado:
414,1295 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 370,1397 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3315 (ν N-H); 1699 (ν C=O); 1660 (ν C=O amida); 1514, (def.ang. N-H); 1341 (ν NO_2); 1214 (ν C-O); 844 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ^1H (Acetona- d_6 , 400 MHz) δ 8,24 (d; $J_{7,6}$ 8,8; 2H; H-7); 7,83 (d; $J_{6,7}$ 8,8; 2H; H-6); 7,64 (d; $J_{4,3}$ 16,0; 1H; H-4); 7,38-7,26 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,90 (d; $J_{3,4}$ 16,0; 1H; H-3); 5,09 (s; 2H; H-9); 4,50 – 4,45 (m; 1H; H-1); 3,93-3,87 (m; 1H; H-2); 3,76-3,69 (m; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C (Acetona- d_6 , 100 MHz) δ 172,2 (C=O); 166,7 (C=O); 157,2 (C=O); 149,1 (C-8); 142,6 (C-4); 138,7 (C-5 e C-10); 129,7; 129,6, 129,2, 128,7 (C aromáticos); 124,9 (C-3); 67,0 (C-9); 55,7 (C-1); 39,7 (C-2).



(26)

FM: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_7$

MM: 413 g/mol

FF: óleo/cera

$[\alpha]_D^{22}$ -2,13 (c 0,24 Acetona)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_7$
calculado: 414,1301. Encontrado:
414,1297 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 370,1398 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3316 (ν N-H); 1700 (ν C=O); 1659 (ν C=O amida); 1519, (def.ang. N-H); 1341 (ν NO₂); 1213 (ν C-O); 737 (def.ang. C-H aromático *orto*-dissubstituído).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 8,08 (d; $J_{7,8}$ 8,8; 1H; H-7); 7,91 (d; $J_{4,3}$ 15,6; 1H; H-4); 7,81-7,72 (m; 2H; H-9 e H-10); 7,66-7,61 (m; 1H; H-8); 7,39 – 7,26 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,70 (d; $J_{3,4}$ 15,6; 1H; H-3); 5,09 (s; 2H; H-11); 4,48 – 4,43 (m; 1H; H-1); 3,92-3,85 (m; 1H; H-2); 3,76-3,69 (m; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 100 MHz) δ 172,1 (COOH); 166,5 (CONH); 157,1 (COO); 149,9 (C-6); 136,0 (C-4); 134,4 (C-12); 131,1 (C-5); 129,8; 129,3, 128,8, 128,7 , 127,00 (C aromáticos); 125,5 (C-3 e C-7); 67,0 (C-11); 55,8 (C-1); 41,8 (C-2).

4.2.8 Síntese das amidas (2) – (9) (MOUFFOUK *et al.*; 2004)

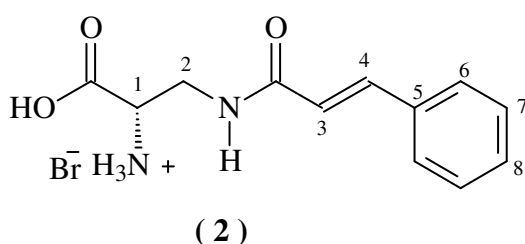
Método Geral

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados o respectivo derivado amida **19-26** e 5 mL de ácido acético. Sob banho de gelo e agitação magnética adicionou-se à mistura reagente 1 mL de solução de HBr 33% em ácido acético (0,57 mmol). A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 7:3 em cuba saturada com vapor de HCl; reveladores: iodo; solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) até o consumo de todo o material de partida. Os solventes foram evaporados e o resíduo bruto obtido foi solubilizado em água destilada e transferido para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com 3x25 mL de éter etílico. As fases aquosas foram reunidas e a água eliminada em evaporador rotatório. Os respectivos produtos finais foram obtidos na sua forma sólida e lavados com acetona.

Na Tabela 4.3 (pág. 58) estão descritas as quantidades utilizadas do derivado amida **19-26** para a síntese dos respectivos produtos finais, assim como os rendimentos obtidos em cada reação.

Tabela 4.3 – Rendimentos obtidos na síntese dos derivados 2 - 9

<i>Produto</i>	<i>Quantidade de material de partida (mmol)</i>	<i>Rendimento</i>
(2)	0,52	75%
(3)	0,55	78%
(4)	0,53	68%
(5)	0,56	90%
(6)	0,57	56%
(7)	0,50	55%
(8)	0,41	40%
(9)	0,52	61%

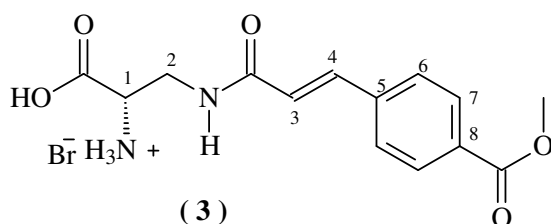
**FM:** C₁₂H₁₅BrN₂O₃**MM:** 314 g/mol**FF:** 55,4-59,1 °C**[α]_D²⁴** -6,0 (c 0,25 TFA/H₂O 5%)

EM (ESI+, m/z) para C₁₂H₁₅N₂O₃
 calculado: 235,1082. Encontrado:
 235,1080 M⁺; 218,0814 [M-NH₃]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3382 (ν O-H); 3237 (ν N-H); 1732 (ν C=O); 1655 (ν C=O amida); 1225 (ν C-O); 765 (def.ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (D₂O/TFA, 400 MHz) δ 7,41-7,38 (m; 2H; H-6); 7,30 (d; J_{4,3} 16,0; 1H; H-4); 7,27-7,25 (m; 3H; H-7 e H-8); 6,38 (d; J_{3,4} 16,0; 1H; H-3); 4,22 (dd; J_{1,2} 4,0; J_{1,2} 6,0; 1H; H-1); 3,77 (dd; J_{2,1} 4,0; J_{2,2} 16,0; 1H; H-2); 3,66 (dd; J_{2,1} 6,0; J_{2,2} 16,0; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (D₂O/TFA, 100 MHz) δ 172,2, 172,1 ($\underline{\text{C=O}}$); 144,6 (C-4); 136,5 (C-5); 132,8 131,5; 130,6; (C aromáticos); 121,6 (C-3); 55,7 (C-1); 41,6 (C-2).



FM: C₁₄H₁₇BrN₂O₅

MM: 372 g/mol

FF: 220,8-223,9 °C

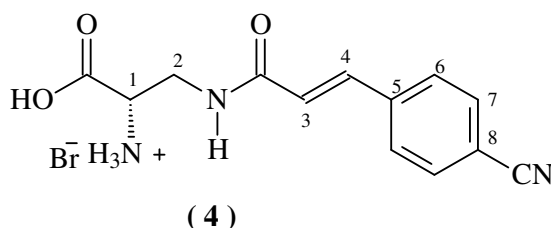
[α]_D²⁴ -1,67(c 0,3 TFA/H₂O 5%)

EM (ESI+, m/z) para C₁₄H₁₇N₂O₅
calculado: 293,1137. Encontrado:
293,1137 M⁺; 276,0870 [M-NH₃]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3341 (ν N-H); 1727 (ν C=O éster); 1705 (ν C=O); 1655 (ν C=O amida); 1605, 1485, 1420 (C=C); 1223 (ν C-O); 843 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ¹H (D₂O/TFA, 400 MHz) δ 6,32 (d; *J*_{7,6} 8,4; 2H; H-7); 5,94 (d; *J*_{4,3} 16,0; 1H; H-4); 5,92 (d; *J*_{6,7} 8,4; 2H; H-6); 5,03 (d; *J*_{3,4} 16,0; 1H; H-3); 2,76 (dd; *J*_{1,2} 4,0; *J*_{1,2} 6,0; 1H; H-1); 2,43 (dd; *J*_{2,1} 4,0; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2); 2,30 (dd; *J*_{2,1} 6,0; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2'); 2,26 (s; 3H; COOCH₃).

RMN de ¹³C (D₂O/TFA, 100 MHz) δ 173,8, 173,0, 172,5 (C=O); 145,5 (C-5); 142,4 (C-4); 134,3 (C-8); 133,4 (C-7); 131,5 (C-6); 124,5 (C-3); 57,4 (C-1); 55,8 (COOCH₃); 43,2 (C-2).



FM: C₁₃H₁₄BrN₃O₃

MM: 339 g/mol

FF: 192,7-197,5 °C

[α]_D²⁴ -1,97(c 0,25 TFA/H₂O 5%)

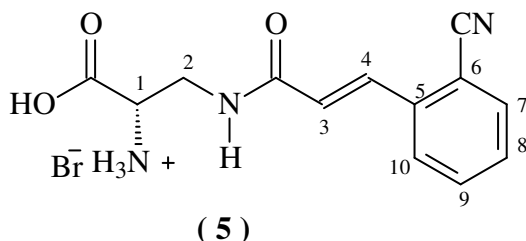
EM (ESI+, m/z) para C₁₃H₁₄N₃O₃
calculado: 260,1035. Encontrado:
260,1035 M⁺; 243,0767 [M-NH₃]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3345 (ν N-H); 2237 (ν C≡N); 1730 (ν C=O); 1664 (ν C=O amida); 1628 (C=C alceno); 1584, 1528, 1432 (C=C); 1231 (ν C-O); 831 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ¹H (D₂O/TFA, 400 MHz) δ 7,44 (d; *J*_{7,6} 8,4; 2H; H-7)*; 7,34 (d; *J*_{6,7} 8,4; 2H; H-6)*; 7,15 (d; *J*_{4,3} 16,0; 1H; H-4); 6,37 (d; *J*_{3,4} 16,0; 1H; H-3); 4,18 (dd; *J*_{1,2} 4,4; *J*_{1,2} 6,0; 1H; H-1); 3,80 (dd; *J*_{2,1} 4,4; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2); 3,68 (dd; *J*_{2,1} 6,0; *J*_{2,2} 16,0; 1H; H-2').

* Intercambiáveis

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 171,7, 171,1 ($\underline{\text{CO}}$); 142,1 (C-4); 140,8 (C-5); 134,8 (C-7); 130,4 (C-6); 124,5 (C-3); 121,4 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 113,7 (C-8); 55,2 (C-1); 41,2 (C-2).



FM: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_3$

MM: 339 g/mol

FF: 185,8-189,1 $^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_D^{24}$ -3,34 (c 0,15 $\text{TFA}/\text{H}_2\text{O}$ 5%)

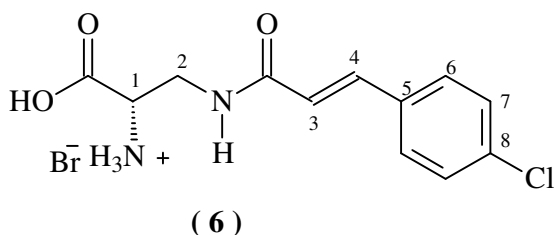
EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3$
calculado: 260,1035. Encontrado:
260,1034 M^+ ; 243,0767 $[\text{M}-\text{NH}_3]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3278 (ν N-H); 2232 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1752, 1709 (ν C=O); 1654 (ν C=O amida); 1589, 1501, 1481 (C=C); 1255 (ν C-O); 759 (def.ang. C-H aromático *orto*-substituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 7,24 - 7,19 (m; 3H; H-7, H-9 e H-10); 7,07 (da; $J_{7,6}$ 7,6; 1H; H-8); 7,02 (d; $J_{4,3}$ 15,6; 1H; H-4); 6,26 (d; $J_{3,4}$ 15,6; 1H; H-3); 4,13 (dd; $J_{1,2}$ 4,4; $J_{1,2}$ 6,0; 1H; H-1); 3,68 (dd; $J_{2,1}$ 4,4; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,58 (dd; $J_{2,1}$ 6,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 169,7, 168,4 ($\underline{\text{CO}}$); 136,6 (C-4)*; 136,5 (C-5)*; 133,8, 133,6, 130,4, 127,0 (C aromáticos); 123,4 (C-3); 117,9 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 111,0 (C-6); 53,2 (C-1); 39,4 (C-2).

*Intercambiáveis.



FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrClN}_2\text{O}_3$

MM: 348 g/mol

FF: 230,3-233,8 $^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_D^{23}$ -7,0 (c 0,21 $\text{TFA}/\text{H}_2\text{O}$ 5%)

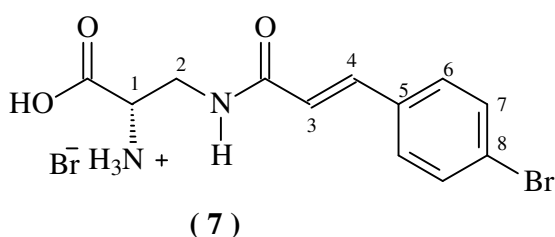
EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}_3$
calculado: 269,0692. Encontrado:
269,0692 M^+ ; 252,0425 $[\text{M}-\text{NH}_3]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3214 (ν N-H); 1725, 1708 (ν C=O); 1651 (ν C=O amida); 1587, 1537, 1467 (C=C); 1228 (ν C-O); 821 (def.ang. C-H aromático *para*-dissubstituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 6,69 (d; $J_{4,3}$ 15,6; 1H; H-4); 6,67 (d; $J_{6,7}$ 8,4; 2H; H-6)*; 6,55 (d; $J_{7,6}$ 8,4; 2H; H-7)*; 5,77 (d; $J_{3,4}$ 15,6; 1H; H-3); 3,68 (dd; $J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0; 1H; H-1); 3,29 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,18 (dd; $J_{2,1}$ 6,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

*Intercambiáveis

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 172,6, 172,4 (C=O); 144,0 (C-4); 138,3 (C-5); 135,6 (C-8); 132,1, 131,7 (C-6 e C-7); 122,3 (C-3); 56,1 (C-1); 42,1 (C-2).



FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3$

MM: 392 g/mol

FF: 246,4-248,5 °C

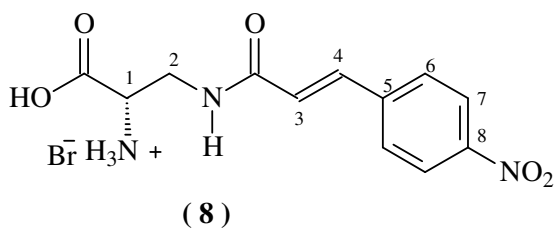
$[\alpha]_D^{23}$ -4,9 (c 0,2 TFA/ H_2O 5%)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrN}_2\text{O}_3$
calculado: 313,0188. Encontrado:
313,0186 M^+ ; 295,9917 $[\text{M}-\text{NH}_3]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3302 (ν N-H); 1713 (ν C=O); 1654 (ν C=O amida); 1587, 1485, 1445 (C=C); 1204 (ν C-O); 815 (def.ang. C-H aromático *para*-substituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 6,23 (d; $J_{4,3}$ 16,0; 1H; H-4); 6,21 (d; $J_{7,6}$ 8,4; 2H; H-7); 6,12 (d; $J_{6,7}$ 8,4; 2H; H-6); 5,33 (d; $J_{3,4}$ 16,0; 1H; H-3); 3,20 (dd; $J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,4; 1H; H-1); 2,84 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 2,72 (dd; $J_{2,1}$ 6,4; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 173,4, 172,8 (C=O); 145,0 (C-4); 136,4 (C-5); 135,1 (C-7); 132,7, (C-6); 127,2 (C-8); 122,5 (C-3); 55,8 (C-1); 42,7 (C-2).



FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_5$

MM: 359 g/mol

FF: 206,5-210,8 °C

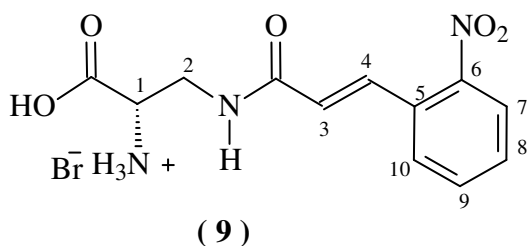
$[\alpha]_D^{23}$ -5,0 (c 0,2 TFA/ H_2O 5%)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_5$
calculado: 280,0933. Encontrado:
280,0932 M^+ ; 263,0665 $[\text{M}-\text{NH}_3]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3237 (ν N-H); 1732 (ν C=O); 1660 (ν C=O amida); 1629 (C=C alceno); 1525, 1339 (NO_2); 848 (def.ang. C-H aromático *para*-disubstituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 7,57 (d; $J_{7,6}$ 8,8; 2H; H-7); 7,08 (d; $J_{6,7}$ 8,8; 2H; H-6); 6,91 (d; $J_{4,3}$ 16,0; 1H; H-4); 6,09 (d; $J_{3,4}$ 16,0; 1H; H-3); 3,74 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0; 1H; H-1); 3,38 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,26 (dd; $J_{2,1}$ 6,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 172,4, 172,0 (C=O); 150,8 (C-8); 143,7 (C-5); 142,6 (C-4); 131,6 (C-6); 126,8, (C-7); 126,1 (C-3); 56,0 (C-1); 42,0 (C-2).



FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_5$

MM: 359 g/mol

FF: 184,6-189,5 °C

$[\alpha]_D^{23}$ -4,2 (c 0,12 TFA/ H_2O 5%)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$
calculado: 280,0933. Encontrado:
280,0932 M^+ ; 263,0665 $[\text{M}-\text{NH}_3]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3242 (ν N-H); 1722 (ν C=O); 1648 (ν C=O amida); 1567, 1348 (NO_2); 1234 (ν C-O); 754 (def.ang. C-H aromático *orto*-substituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 7,14 (d; $J_{7,6}$ 8,0; 1H; H-7); 7,04 (d; $J_{4,3}$ 16,0; 1H; H-4); 6,81 – 6,76 (m; 2H; H-9 e H-10); 6,68 – 6,66 (m; 1H; H-8); 5,67 (d; $J_{3,4}$ 16,0; 1H; H-3); 3,54 (dd; $J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0; 1H; H-1); 3,18 (dd; $J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2); 3,06 (dd; $J_{2,1}$ 6,0; $J_{2,2}$ 16,0; 1H; H-2').

RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 172,6, 172,1 (C=O); 150,7 (C-6); 141,0 (C-4); 137,3 (C-9); 133,5, 132,2 (C-8 e C-10); 133,2, (C-5); 127,8 (C-7); 126,8 (C-3); 56,4 (C-1); 42,3 (C-2).

4.2.9 Síntese de derivado ftalimídico (35) e (36) (JURSIC & PATEL; 2006)

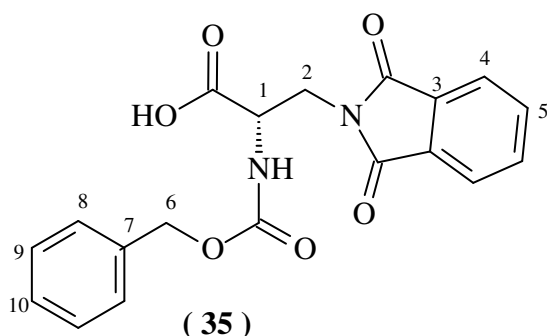
Método Geral

A um balão de fundo redondo de 50 mL adaptado a um condensador de refluxo contendo um tubo de cloreto de cálcio foram adicionados o anidrido ftálico correspondente e a piridina anidra. Em seguida, foi adicionado à mistura reagente o derivado $N\alpha$ -benziloxycarbonil- β -amino-L-alanina **18**. O sistema foi submetido a agitação magnética e refluxo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 8:2 em cuba saturada com vapor

de HCl; reveladores: iodo; solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v).

4.2.9.1 Derivado ftalimido 35

Para a síntese de **35** partiu-se de 190 mg (1,28 mmol) do anidrido ftálico, 300 mg (1,26 mmol) de **18** e 5 mL de piridina anidra. O sistema foi mantido sob aquecimento e agitação magnética por cerca de quinze horas. Uma vez observado o consumo de todo o material de partida o balão contendo a mistura reagente foi transferido para banho de gelo. Adicionaram-se gelo pilado e solução HCl 3 mol/L, até pH 1. Observou-se a formação de um precipitado, que foi filtrado a vácuo. Foram obtidos 390 mg do produto puro, na forma de um sólido branco, que correspondem a 84% de rendimento.



FM: C₁₈H₁₆N₂O₆

MM: 368 g/mol

FF: 141,9-142,2 °C (Lit.: 81-83 °C
(CHCl₃/Et₂O) (ROSOWSKY *et al.*, 1997)

[α]_D²¹ - 9,0 (c 1,0; Acetona)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3315 (ν N-H); 1722 (ν C=O ácido); 1681 (ν N-C=O).

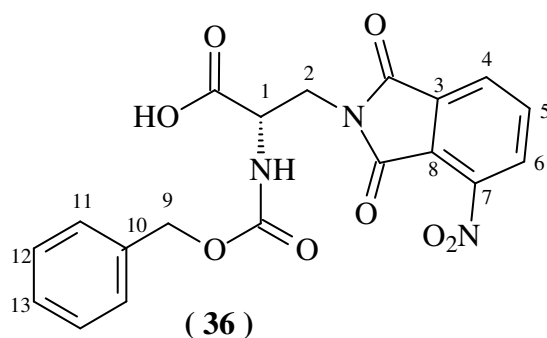
RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 200 MHz) δ 7,86 (s; 4H; H-4 e H-5); 7,30 – 7,25 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 6,75 (d; *J*_{NH,1} 8,6; 1H; NH); 5,01 (s; 2H; H-6); 4,74 – 4,63 (m; 1H; H-1); 4,20 – 4,12 (m; 2H; H-2).

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 50 MHz) δ 171,4 (COOH); 168,8 (CONR); 157,0 (COOR); 138,0 (C-7); 135,2, 133,0, 129,2, 128,6, 128,5, 124,0 (C aromáticos); 66,9 (C-6); 53,5 (C-1); 39,8 (C-2).

4.2.9.2 Derivado ftalimido 36

240 mg (1,24 mmol) de anidrido 3-nitroftálico foram suspensos em 5 mL de piridina anidra. A seguir, 300 mg (1,26 mmol) de **18** foram adicionados a mistura reagente. O sistema foi mantido sob agitação magnética e aquecimento por cerca de 24 horas. Em seguida, o

solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo bruto obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila/hexano 7:3 saturado com solução de HCl 1 mol/L). Foram obtidos 200 mg de **36**, na forma de um sólido de cor amarela, correspondentes a 39% de rendimento.



FM: C₁₉H₁₅N₃O₈

MM: 413 g/mol

FF: 151,9-154,7 °C

[α]_D²³ - 6,1 (c 0,16; Acetona)

EM (ESI+, m/z) para C₁₉H₁₆N₃O₈
 calculado: 414,0937. Encontrado:
 414,0930 [M+H]⁺; 436,0748 [M+Na]⁺;
 370,1034 [M+H-CO₂]⁺.

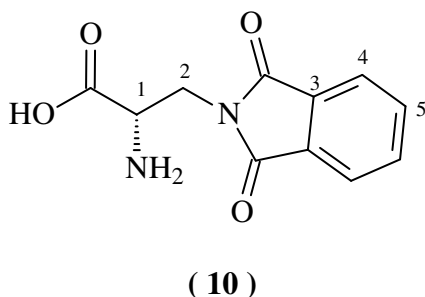
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3386 (ν N-H); 1739 (ν C=O ácido); 1715 (ν N-C=O); 1526, 1350 (NO₂).

RMN de ¹H (Acetona-*d*₆, 400 MHz) δ 8,25 (dd; *J*_{6,5} 8,0; ⁴*J*_{6,4} 1,2; 1H; H-6); 8,17 (d; *J*_{4,5} 8,0; 1H; H-4); 8,12 (t; *J*_{5,4=5,6} 8,0; 1H; H-5); 7,31 – 7,28 (m; 5H; H aromáticos do Cbz); 5,01 (s; 2H; H-9); 4,67 (dd; *J*_{1,2} 5,6; *J*_{1,2} 8,0; 1H; H-1); 4,22 – 4,11 (m; 2H; H-2).

RMN de ¹³C (Acetona-*d*₆, 100 MHz) δ 171,1 (C=O_{OH}); 166,8, 164,1 (C=O_{NR}); 157,0 (C=O_{OR'}); 146,0 (C-7); 138,0 (C-10); 137,1, 135,0, 129,3, 129,2, 128,7, 128,6 (C aromáticos); 127,6 (C-8); 124,3 (C-6); 67,0 (C-9); 53,2 (C-1); 40,4 (C-2).

4.2.10 Síntese de **10** (MOUFFOUK *et al.*; 2004).

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, 100 mg (0,27 mmol) de **35** foram solubilizados em 5 mL de metanol. A essa solução adicionaram-se 20 mg de paládio/carvão e vedou-se o balão com um septo de borracha. A mistura foi mantida sob um fluxo de N₂ (g), por cerca de 20 minutos. Em seguida, a atmosfera de nitrogênio foi substituída por atmosfera de hidrogênio, utilizando-se um balão de borracha contendo hidrogênio. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 8:2 em cuba saturada com vapor de HCl; reveladores: iodo e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v). Após cerca de sete horas de reação foi observado o consumo de todo o material de partida. A suspensão foi filtrada para remoção do catalisador e o solvente eliminado em evaporador rotatório. O produto foi obtido na forma de um sólido branco, que foi lavado com acetona. Foram obtidos 47 mg de **10**, que correspondem a 75% de rendimento.

**FM:** C₁₁H₁₀N₂O₄**MM:** 234 g/mol**FF:** 238,3-240,9 °C**[α]_D²³** -20,8 (c 0,02 TFA/H₂O 5%)

EM (ESI+, m/z) para C₁₁H₁₁N₂O₄
 calculado: 235,0719. Encontrado:
 235,0718 [M+H]⁺; 189,0663 [M+H-HCOOH]⁺.

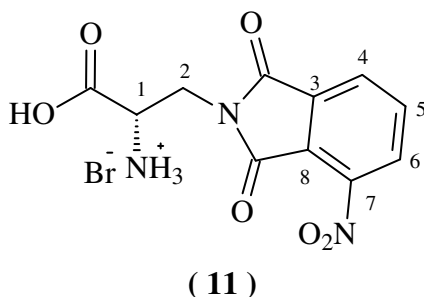
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3249 (ν N-H); 1772 (ν C=O ácido); 1715 (ν N-C=O); 714 (def.ang. C-H aromático *orto*-substituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆/TFA, 200 MHz) δ 8,54 (sl; 3H; NH₃⁺); 7,92 – 7,82 (m; 4H; H-4 e H-5); 4,16 – 4,03 (m; 3H; H-1 e H-2).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆/TFA, 50 MHz) δ 168,9, 167,9 (C=O); 134,7 (C-5); 132,0 (C3); 123,4 (C-4); 50,9 (C-1); 37,4 (C-2).

4.2.11 Síntese de 11 (MOUFFOUK *et al.*; 2004).

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 85 mg (0,21 mmol) do derivado **36** e 5 mL de ácido acético. Sob banho de gelo e agitação magnética adicionou-se à mistura reagente 1 mL de solução HBr 33% em ácido acético (0,57 mmol). A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 8:2 em cuba saturada com vapor de HCl; reveladores: iodo e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v) até o consumo de todo o material de partida. Os solventes foram evaporados e o resíduo bruto obtido foi solubilizado em água destilada e transferido para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com 3 x 25 mL de éter etílico. As fases aquosas foram reunidas e a água eliminada em evaporador rotatório. O produto **11** foi obtido na forma de um sólido de cor amarela, que foi em seguida, lavado com acetona. Foram obtidos 55 mg, que correspondem a 74% de rendimento.



FM: C₁₁H₁₀BrN₃O₆

MM: 359 g/mol

FF: 226,9-230,3 °C

[α]_D²³ - 7,3 (c 0,2; TFA/H₂O 5%)

EM (ESI+, m/z) para C₁₁H₁₀N₃O₆
 calculado: 280,0570. Encontrado:
 280,0567 M⁺; 559,1058 [2M-H]⁺; 234,0511
 [M-HCOOH]⁺.

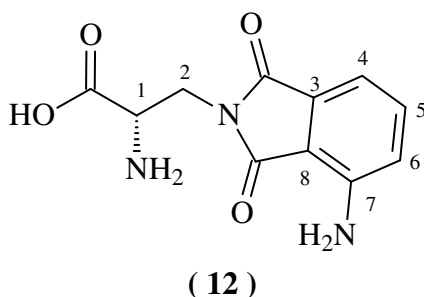
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 1758 (ν C=O ácido); 1712 (ν N-C=O); 1539, 1349 (NO₂); 1201 (ν C-O); 756, 720 (def.ang. C-H aromático 1,2,3-trissubstituído).

RMN de ¹H (D₂O/TFA, 400 MHz) δ 7,64 (dd; *J*_{6,5} 8,2; ⁴*J*_{6,4} 0,8; 1H; H-6); 7,54 (dd; *J*_{4,5} 7,6; ⁴*J*_{4,6} 0,8; 1H; H-4); 7,38 (dd; *J*_{5,6} 8,2; *J*_{5,4} 7,6; 1H; H-5); 3,81 (dd; *J*_{1,2} 4,8; *J*_{1,2} 6,4; 1H; H-1); 3,70 (dd; *J*_{2,1} 4,8; *J*_{2,2} 15,2; 1H; H-2); 3,65 (dd; *J*_{2,1} 6,4; *J*_{2,2} 15,2; 1H; H-2').

RMN de ¹³C (D₂O/TFA, 100 MHz) δ 171,8, 170,1, 167,3 (C=O); 147,4 (C-7); 139,7, 136,1, 132,7, 131,2 (C aromáticos); 126,2 (C-6); 54,6 (C-1); 40,6 (C-2).

4.2.12 Síntese de 12 (MOUFFOUK *et al.*; 2004)

Para a síntese de **12** 85 mg (0,21 mmol) do derivado **36** foram solubilizados em 5 mL de THF. 25 mg de paládio/carvão foram adicionados a mistura reagente e o balão foi vedado com um septo de borracha. O sistema foi submetido a fluxo de nitrogênio, seguido por fluxo de hidrogênio. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente, por cerca de 24 horas. Em seguida, a suspensão foi filtrada em sílica Celite, para remoção do catalisador. O solvente foi evaporado e o sólido obtido foi lavado com acetona. O produto **12** foi obtido na forma de um sólido na cor amarelo, com rendimento quantitativo.



FM: C₁₁H₁₁N₃O₄

MM: 249 g/mol

FF: > 360 °C

[α]_D²³ - 1,5 (c 0,2; TFA/H₂O 5%)

EM (ESI+, m/z) para C₁₁H₁₂N₃O₄
 calculado: 250,0828. Encontrado:
 250,0828 [M+H]⁺; 204,0771 [M+H-
 HCOOH]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3342 (ν N-H); 1753 (ν C=O ácido); 1693 (ν N-C=O); 749, 681 (def.ang. C-H aromático 1,2,3-trissubstituído).

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 400 MHz) δ 6,41 (dd; $J_{5,6}$ 8,4, $J_{5,4}$ 7,6; 1H; H-5); 6,34 (dd; $J_{4,5}$ 7,6, $^4J_{4,6}$ 0,8; 1H; H-4); 6,20 (dd; $J_{6,5}$ 8,4, $^4J_{6,4}$ 0,8; 1H; H-6); 3,09 (dd; $J_{1,2}$ 4,8, $J_{1,2}$ 6,8; 1H; H-1); 2,95 (dd; $J_{2,1}$ 4,8, $J_{2,2}$ 15,6; 1H; H-2); 2,91 (dd; $J_{2,1}$ 6,8, $J_{2,2}$ 15,6; 1H; H-2').

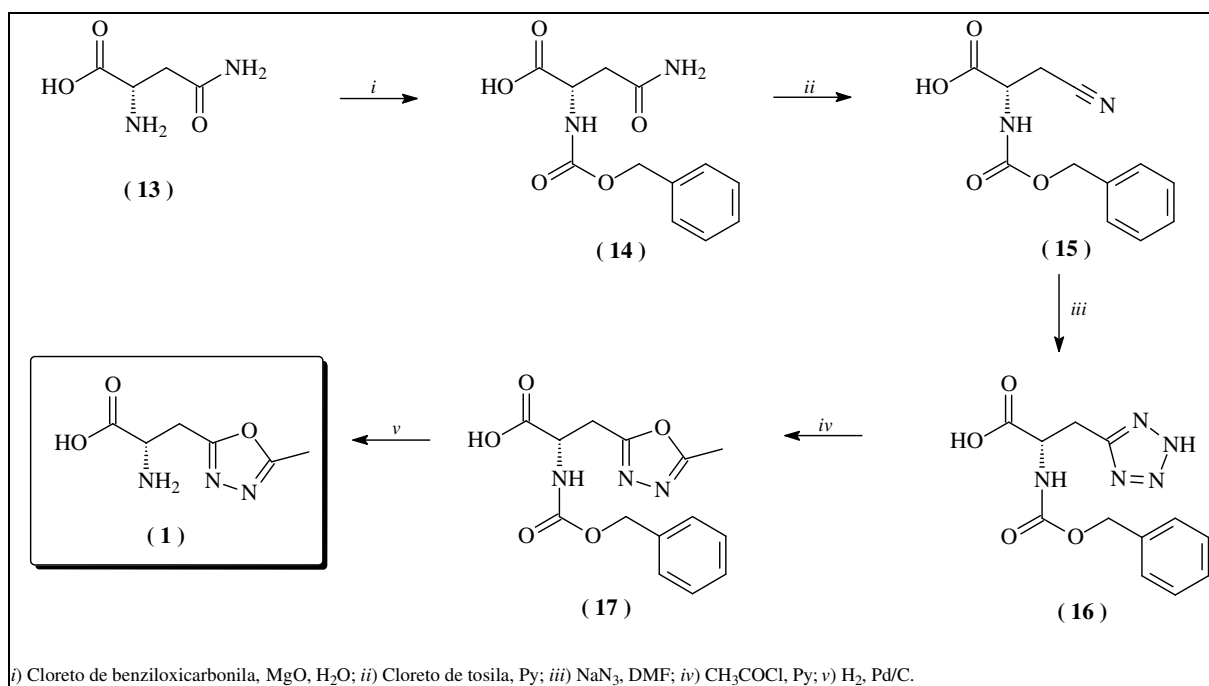
RMN de ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$, 100 MHz) δ 172,4 (CO); 140,3 (C-7 e C-3); 135,6 (C-5); 55,6 (C-1); 40,7 (C-2).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TENTATIVA DE SÍNTESE DE β -(2-METILOXADIAZOL-5-IL)-L-ALANINA (1)

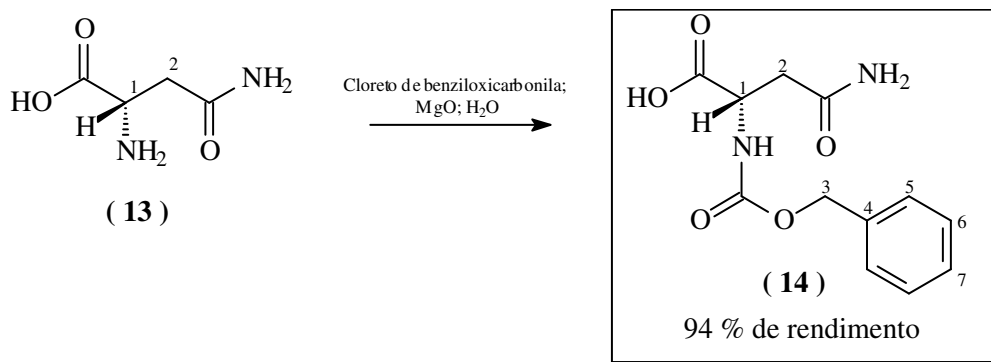
Para a síntese de **1** foi planejada uma rota sintética em cinco etapas a partir da L-asparagina **13** (Figura 5.1).

Figura 5.1 – Esquema para a síntese de **1**



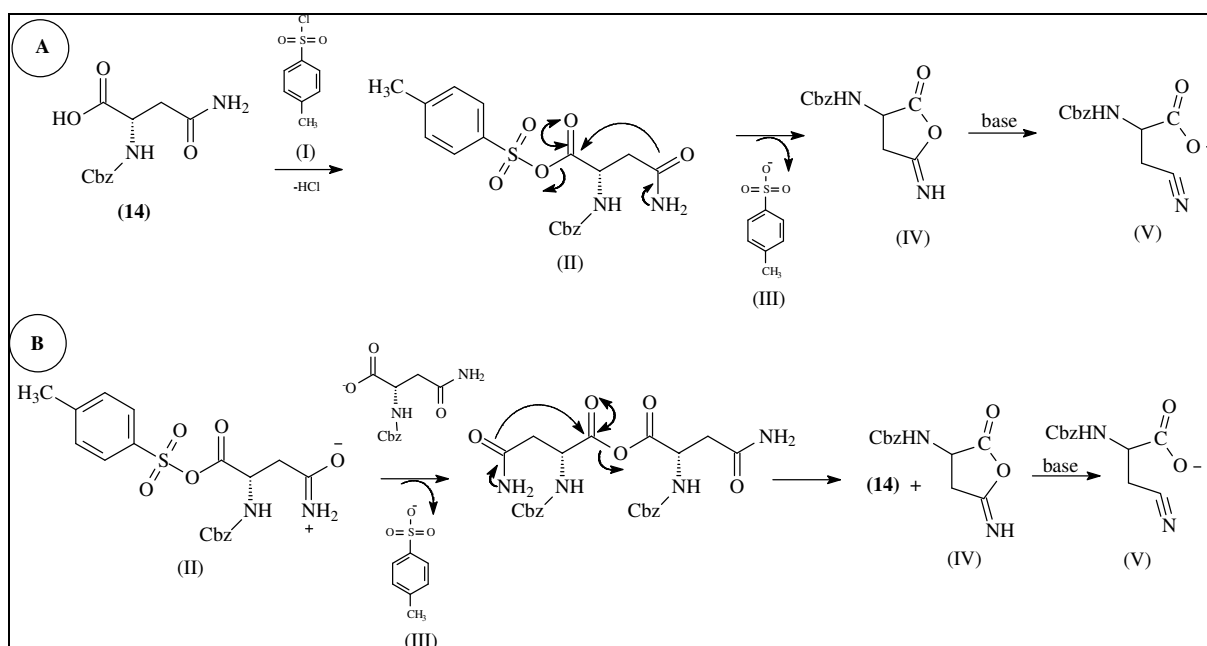
A primeira etapa dessa rota de síntese consistiu na proteção do grupo amino da L-asparagina. Para isso podem-se utilizar diversos tipos de proteção, como por exemplo, na forma de amidas, sulfonamidas e carbamatos. Dentre os carbamatos um grupo muito utilizado é o Boc, que é introduzido utilizando-se o reagente Boc_2O . A proteção do grupo amino de aminoácidos com cloroformato de benzila também é usual e o produto é obtido de modo eficiente com rendimentos elevados (RESSLER & RATZKIN; 1961; ZHANG *et al.*; 1997; KHAYER *et al.*; 2000). Outras vantagens no uso do grupo benziloxycarbonila são o seu baixo custo e resistência a condições de reação em meio alcalino.

Para a obtenção de **14** foi escolhida técnica descrita por Keresztesy (KERESZTESY *et al.*; 1971). A L-asparagina foi submetida à reação com o cloroformato de benzila, em meio aquoso, na presença de óxido de magnésio. Sob essas condições o produto **14** foi obtido com rendimento de 94%.



A etapa seguinte foi a preparação de **15**. Haletos de arilssulfonila e diciclocarbodiimida (DCC) são reagentes capazes de converter uma variedade de carboxamidas primárias a nitrilas, sob condições suaves (RESSLER & RATZKIN; 1961; KASHELIKAR & RESSLER; 1964; PAUL & KENDE; 1964). Para a obtenção do derivado **15** a amida **14** foi submetida a reação com cloreto de tosilato em piridina, sob aquecimento a 50° C. Kashelikar e Ressler estudaram essa reação e propuseram o mecanismo representado na Figura 5.2.

Figura 5.2 - Representação esquemática do mecanismo de formação do derivado ciano

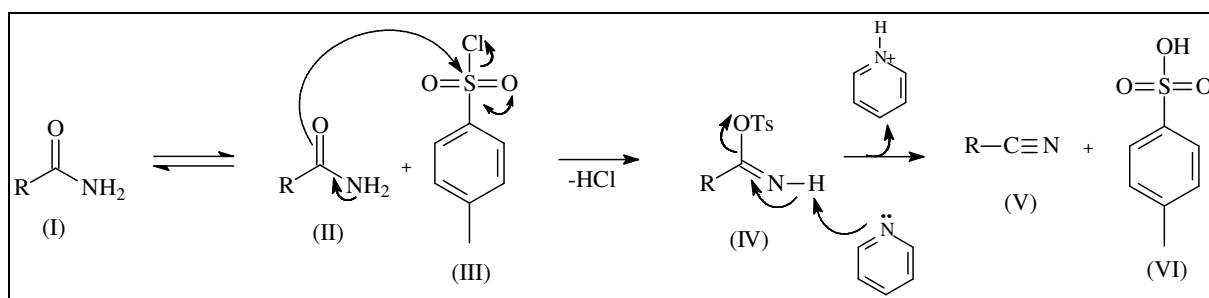


A primeira etapa do mecanismo proposto para a conversão da carboxamida a nitrila é a formação do intermediário (II) por reação de **14** com cloreto de tosilato (I). A substituição intramolecular do ânion *p*-toluenossulfônico pelo oxigênio da carboxamida (II) leva à isoimida (IV), a qual pode ser convertida com base no derivado β-cianoalanina (V). O intermediário (II) também pode reagir com uma molécula de **14** formando um anidrido simétrico, que também conduzirá à obtenção do derivado ciano desejado, segundo o

esquema B, da Figura 5.2 (pág. 69). Um mecanismo análogo ocorre quando DCC é utilizado no lugar de TsCl.

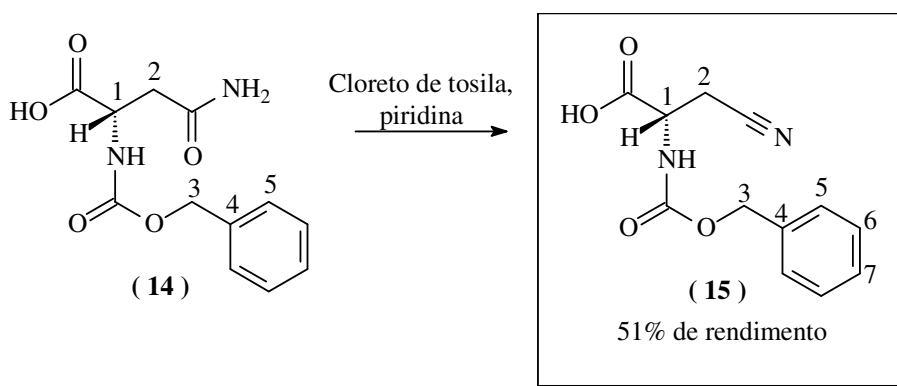
Segundo Kashelikar e Ressler, quando o éster metílico de **14** foi submetido a essa reação utilizando DCC não foi observada a formação do derivado ciano. Em contraste o uso de TsCl e piridina levaram ao produto desejado. Essa observação sugere a ocorrência de um mecanismo alternativo para essa reação, representado na Figura 5.3.

Figura 5.3 – Mecanismo alternativo proposto para obtenção do derivado ciano

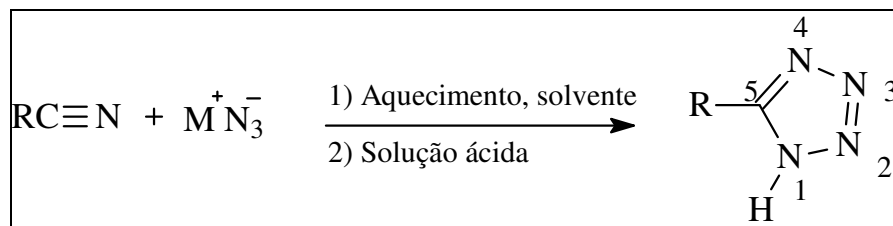


Em condições básicas e sob aquecimento (II) sofre reação de tosilção, levando à obtenção do intermediário tosilado (IV) e à liberação de HCl. Em seguida, a base capta o próton do grupo NH e o par de elétrons da ligação é doado para formar uma ligação tripla entre o átomo de carbono e o átomo de nitrogênio levando ao produto desejado (V).

Para a obtenção de **15** adicionou-se uma solução de cloreto de tosilato em piridina a **14**, sob banho de gelo. A mistura reagente foi aquecida e após purificação por CCS o produto **15** foi obtido com rendimento de 51%.

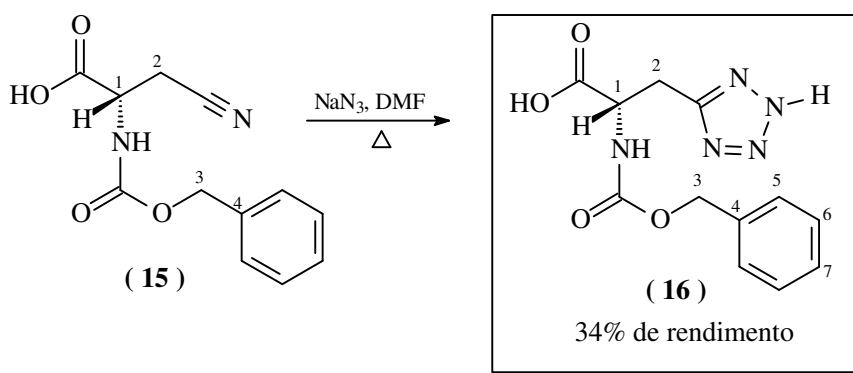


Dando continuidade à rota de síntese efetuou-se a conversão de **15** no análogo tetrazólico **16**. Para isso foi escolhido o método descrito por Butler, no qual um cianeto orgânico reage com azida para formar tetrazóis substituídos na posição 5 (BUTLER; 1984). (Figura 5.4)

Figura 5.4 – Síntese de tetrazol monossustituído

A melhor condição encontrada para a obtenção de tetrazóis por esse método emprega azida de sódio, como fonte de íons azida e um solvente polar aprótico, como a dimetilformamida.

O derivado β-ciano **15** foi submetido a reação com azida de sódio, na presença de cloreto de amônio e dimetilformamida. O sistema foi aquecido a 80 °C por 48 horas. Após as etapas de elaboração e purificação por CCS o produto **16** foi obtido com 34% de rendimento.

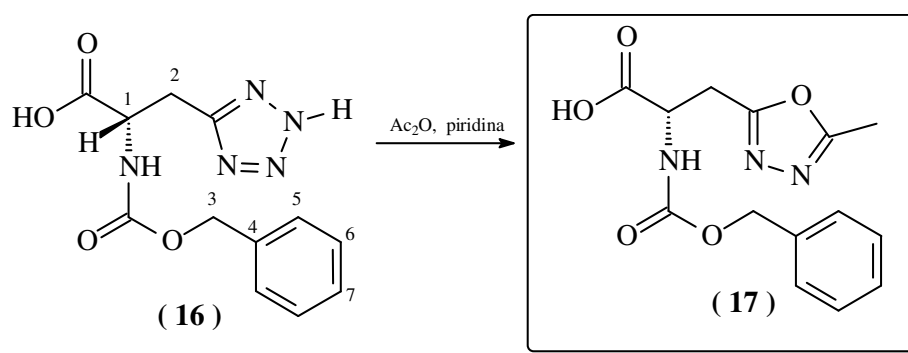


No espectro de RMN de ^1H de **16** (Figura A.1, pág. 105) são observados os sinais de cinco hidrogênios aromáticos sob a forma de um simpleto largo em δ 7,32. Os sinais dos hidrogênios alifáticos podem ser observados em: δ 5,01, simpleto referente a H-3; em δ 4,56-4,45, multipeto referente a H-1; e em δ 3,40 e δ 3,25 dois dupletos duplos atribuídos aos hidrogênios metilênicos de H-2.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A.2, pág. 106) não foi observado o sinal de carbono *ipso* do grupo ciano. Além de outros sinais, foi observado sinal de ressonância em δ 153,5, atribuído ao carbono tetrazólico. O sinal do carbono C-2 encontra-se em δ 25,5 e seu deslocamento é compatível com o esperado para carbono ligado a tetrazol.

No espectro no infravermelho de **16** (Figura A.3, pág. 106) a ausência de banda de estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$, próximo à 2270 cm^{-1} , é indicativa da ocorrência da reação de acoplamento.

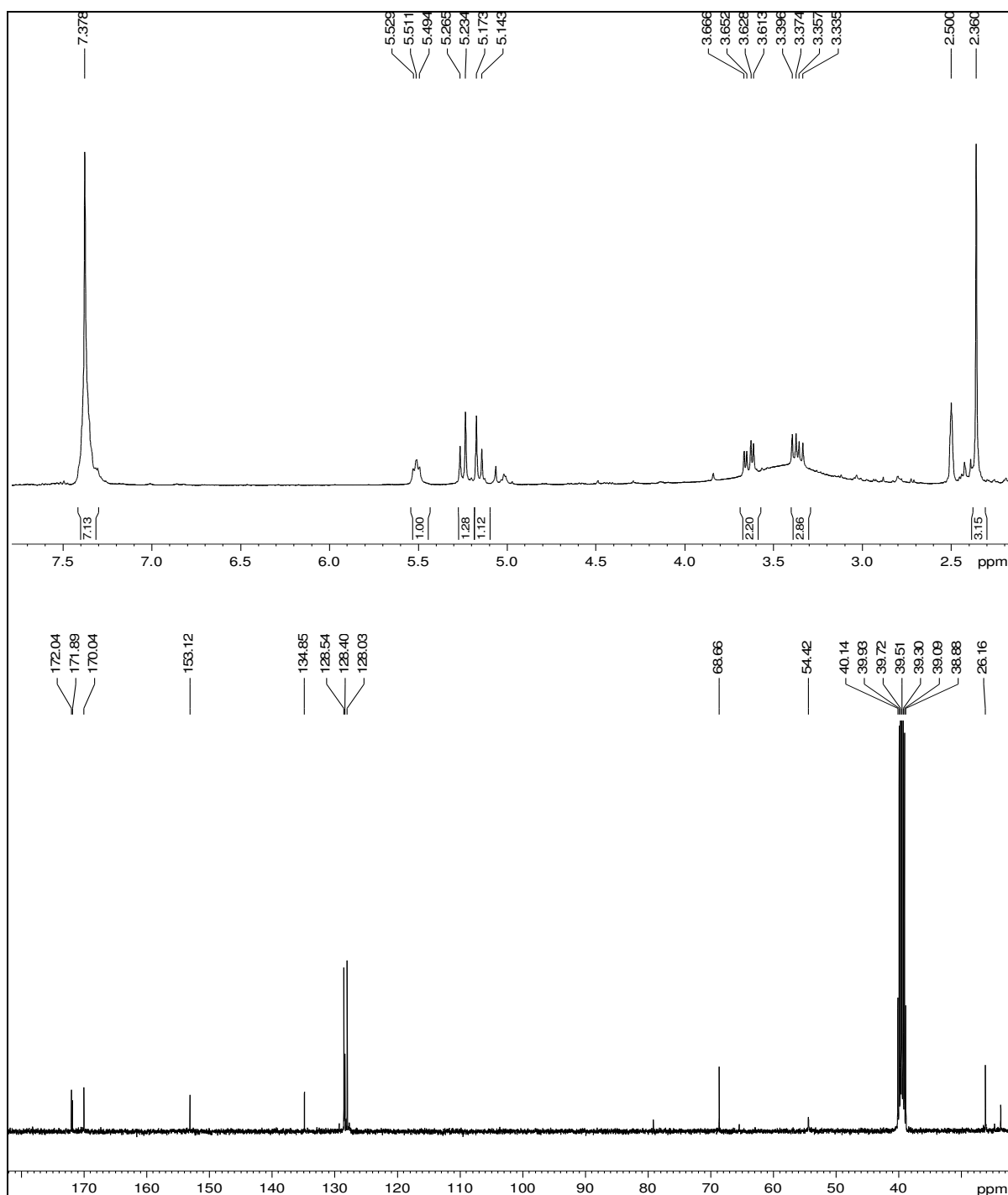
Na etapa seguinte o derivado **16** foi transferido para um balão de fundo redondo ao qual foram adicionados piridina e anidrido acético. O sistema foi mantido sob aquecimento e agitação magnética, até o consumo de todo o material de partida. Em seguida foram realizadas diversas tentativas de purificação por CCS, variando-se o sistema de solventes utilizado, o diâmetro e a altura da coluna e o tipo de sílica. Contudo, apesar dos nossos esforços não foi possível isolar na sua forma pura o produto dessa etapa de síntese.



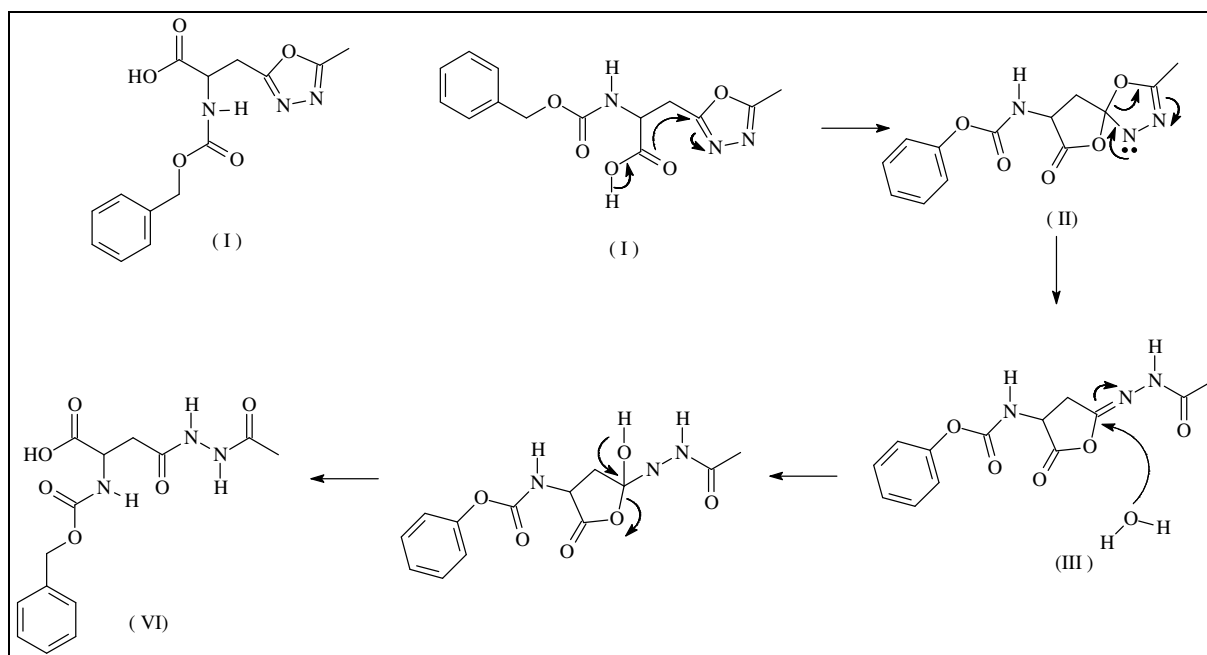
Apesar disso, o produto obtido nessa reação foi submetido à análise de RMN de ^1H e ^{13}C e foi possível observar a obtenção de um produto majoritário A.

A análise do espectro de RMN de ^1H de A (Figura 5.5, pág. 73) permitiu observar em $\delta 7,38$ um sinal largo com integral de sete hidrogênios, atribuídos aos hidrogênios aromáticos do grupo benziloxycarbonila. O sinal referente ao hidrogênio H-1 é visto na forma de um tripleto centrado em $\delta 5,51$. Um duplete duplo centrado em $\delta 5,20$, com integral de dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios metilênicos do grupo benziloxycarbonila. Os hidrogênios de H-2 encontram-se na forma de dois dupletos duplos e o sinal dos hidrogênios do grupo CH_3 , na forma de um simpleto em $\delta 2,36$.

No espectro de RMN de ^{13}C de A (Figura 5.5, pág. 73) observam-se os sinais referentes a três carbonos carbonílicos em $\delta 172,04$, $\delta 171,9$ e $\delta 170,0$. O sinal em $\delta 153,1$ foi atribuído ao carbono carbonílico do grupo benziloxycarbonila. Em $\delta 134,8$ está o sinal de carbono *ipso* do anel aromático e em $\delta 128,5$, $\delta 128,4$ e $\delta 128,0$ os sinais dos carbonos aromáticos ligados a hidrogênio. O sinal em $\delta 68,7$ é referente ao carbono metilênico do grupo benziloxycarbonila, o sinal em $\delta 54,4$ é referente a C-1 e em $\delta 26,2$ encontra-se o sinal de carbono do grupo metílico. Em $\delta 23,7$ foi observado um sinal que não possui um deslocamento químico compatível ao esperado para C-2 do composto **17**. Essas observações são indicativas de que o produto A isolado nessa etapa de síntese não corresponde ao produto desejado.

Figura 5.5 – Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de A

Sabe-se que o anel oxadiazólico é susceptível a um ataque intramolecular pelo grupo carboxila do ácido carboxílico livre (EL KHADEM *et al.*; 1970). Na Figura 5.6 está representada uma proposta para o mecanismo desse ataque, assim como a estrutura química do produto formado a partir dessa reação.

Figura 5.6 – Mecanismo proposto para a formação do derivado A (EL KHADEM *et al.*; 1970)

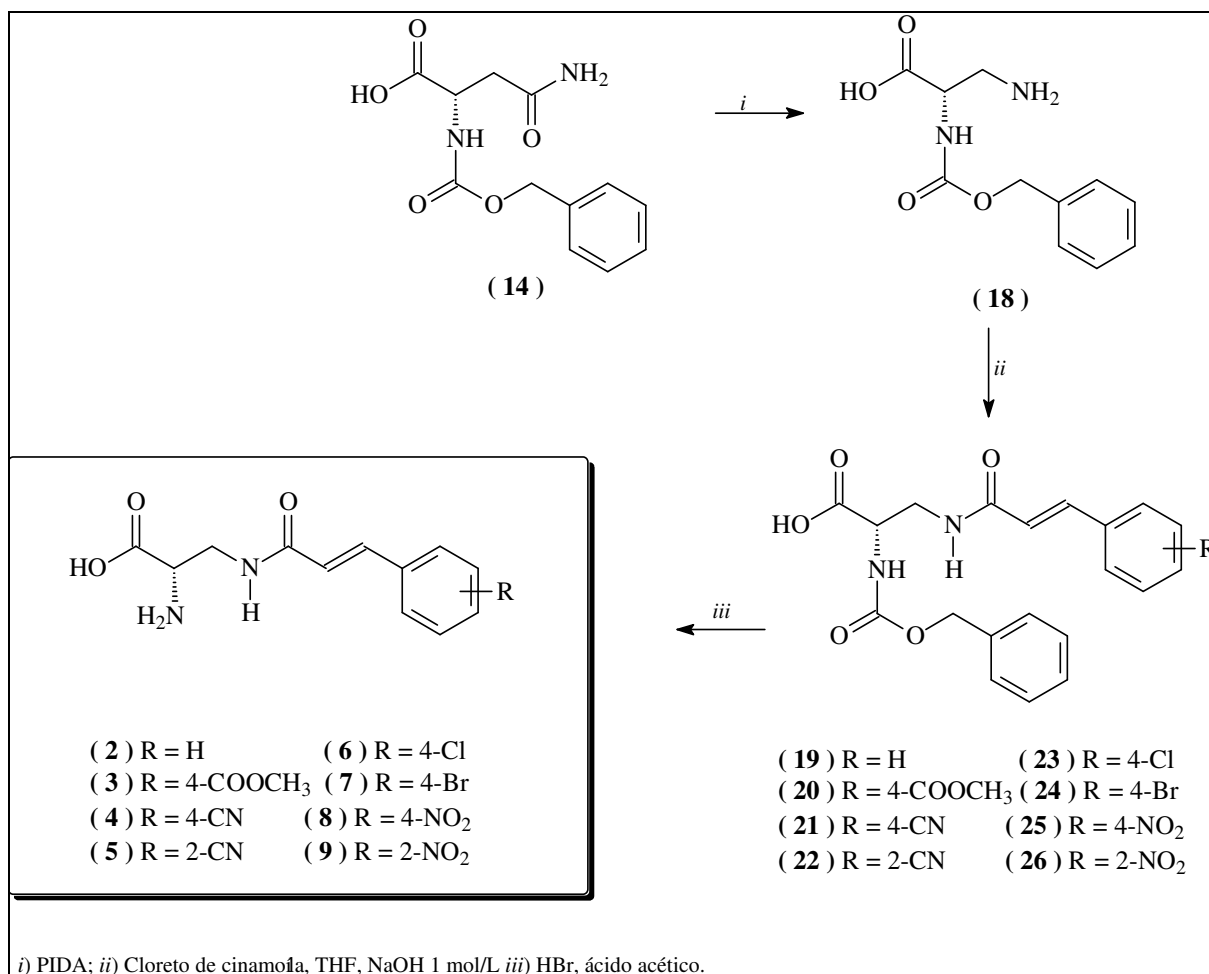
O deslocamento químico dos sinais de ^{13}C encontrados no espectro de A são compatíveis aos esperados para o composto **VI** (Figura 5.6).

Alternativamente, uma rota de síntese na qual o grupo carboxilato seja protegido na forma de um éster poderá evitar a ocorrência do ataque intramolecular e conduzir a obtenção do análogo desejado. Contudo durante a posterior reação de hidrólise do éster, para obtenção de **1**, o anel oxadiazólico poderá sofrer novo ataque. Assim, essa rota de síntese foi interrompida.

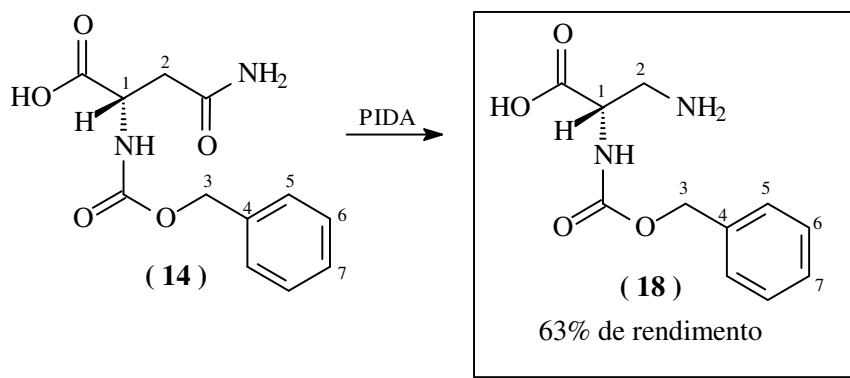
5.2 SÍNTESE DE 2 – 9

Paralelamente foram realizadas as etapas de síntese para a obtenção dos derivados da L-asparagina **2-9** (Figura 5.7, pág. 75).

Figura 5.7 – Esquema para a síntese de 2 - 9



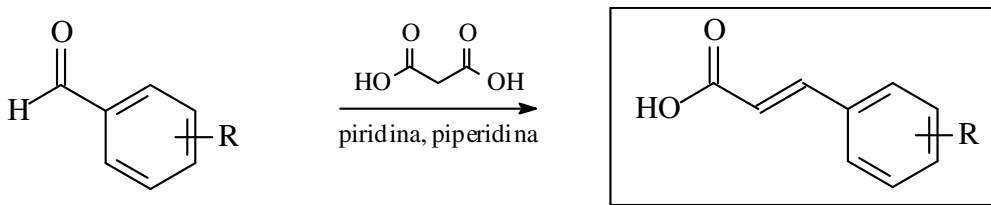
Existem diversos métodos para a síntese de derivados β -amino-L-alanina. Em uma das técnicas mais utilizadas a $N\alpha$ -*t*-Boc- β -amino-L-alanina é preparada por rearranjo da $N\alpha$ -Boc-L-asparagina com bis(trifluoroacetoxi)iodobenzeno (PIFA) na presença de piridina (BOUTIN & LOUDON; 1984). Outro reagente iodoorgânico empregado nessas reações é o diacetoxiiodobenzeno (PIDA). O PIDA tem-se mostrado um excelente indutor de rearranjo de Hofmann nas reações de obtenção de derivados β -amino-L-alanina a partir da L-asparagina. As reações com o PIDA ocorrem sob condições menos ácidas, a reação é rápida e o produto é isolado puro (ZHANG *et al.*; 1997). Sendo assim, o derivado **14** foi submetido a reação com PIDA, na presença de uma mistura de acetonitrila/acetato de etila/água 1:1:0,5 (ZHANG *et al.*; 1997). Foi observada a formação de um sólido branco, que corresponde a **18**, obtido com 63% de rendimento.



A etapa seguinte foi a preparação dos derivados ácidos cinâmicos **27-34**. Os ácidos α - β -insaturados foram obtidos por condensação de Knoevenagel-Doebner (KOK *et al.*; 2010). O método escolhido promove a condensação de um aldeído ou cetona com substâncias que possuam grupos metilênicos ácidos, como ácido ou éster malônico, levando a formação de carboxilatos α , β -insaturados. O ácido carboxílico *trans*- α , β -insaturado forma-se como produto de descarboxilação do ácido malônico, aquecido em piridina, seguido de desidratação.

O benzaldeído correspondente foi submetido à reação com ácido malônico, na presença de piperidina e piridina, sob aquecimento a 95°C. Os derivados **28** e **30** foram obtidos na sua forma pura, após precipitação em gelo e solução HCl 1 mol/L, com rendimentos de 90% e 64%, respectivamente. Para os demais ácidos cinâmicos foi realizada uma etapa de purificação por recristalização em etanol a quente.

O ácido *trans*-4-nitrocínâmico **33** foi adquirido comercialmente e o ácido *trans*-cínâmico **27** já se encontrava disponível em nosso laboratório.



- (27) R = H
 (28) R = 4-COOCH₃ (90% rend.)
 (29) R = 4-CN (51% rend.)
 (30) R = 2-CN (64% rend.)
 (31) R = 4-Cl (46% rend.)
 (32) R = 4-Br (55 % rend.)
 (33) R = 4-NO₂
 (34) R = 2-NO₂ (45% rend.)

A próxima etapa consistiu no acoplamento da β -amino-L-alanina **18** com o respectivo derivado de ácido cinâmico, para a obtenção das amidas **19-26**.

Existe na literatura a descrição de diversas metodologias para a síntese de amidas a partir da condensação de ácidos carboxílicos com aminas. A primeira etapa nesse processo de síntese é a conversão do ácido carboxílico em um grupo funcional mais reativo. Um dos métodos mais amplamente utilizados é a conversão do ácido carboxílico em cloreto de acila na presença de cloreto de tionila (SOCl_2), cloreto de oxalila (COCl_2), tricloreto de fósforo (PCl_3), oxicloreto de fósforo (POCl_3) ou pentacloreto de fósforo (PCl_5). Após a formação do cloreto de acila, a síntese da amida ocorre pela adição da amina ao meio reacional. Condições básicas são usualmente empregadas (RAJPUT & GORE; 2011).

Para a síntese das amidas **19-26**, os ácidos cinâmicos **27-34** foram submetidos à reação com cloreto de oxalila, na presença de clorofórmio e mantidos sob agitação magnética e refluxo, durante cerca de quatro horas. O produto obtido foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação.

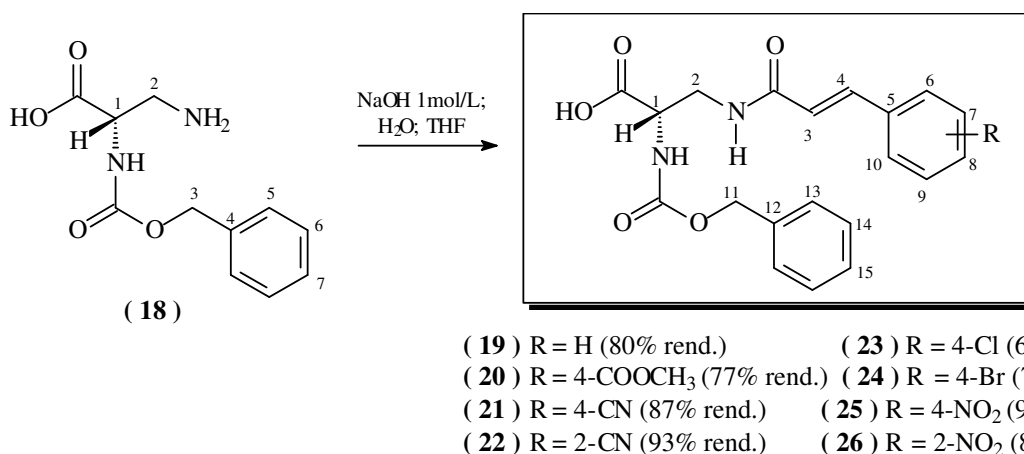
Uma vez preparado o cloreto de cinamoíla apropriado, o derivado **18** foi transferido para um balão de fundo redondo e suspenso em piridina. Uma solução do cloreto de ácido em piridina, previamente preparada, foi adicionada, gota a gota, a mistura reagente. Por esse método, as amidas **19-26** foram obtidas com rendimentos entre 31%-65%.

O derivado β -amino-L-alanina **18** é pouco solúvel em solventes orgânicos, em meio neutro. A escolha da piridina como solvente nessa etapa foi feita com a intenção de melhorar a solubilidade desse composto e consequentemente, favorecer a reação de acoplamento da amina com o cloreto de ácido. Contudo, apesar das condições empregadas, uma parte da β -amino-L-alanina permaneceu parcialmente insolúvel o que pode ter contribuído para afetar direta e negativamente os rendimentos obtidos por esse método.

Uma alternativa encontrada para contornar esse problema e otimizar os rendimentos dessa etapa de síntese foi o emprego da reação de Schotten-Baumann. Essa reação foi descrita inicialmente em 1883, pelos químicos alemães Carl Schotten e Eugen Baumann e consiste no uso de uma base para direcionar o equilíbrio na síntese de amidas a partir de aminas e cloretos de ácido. A acilação de aminas com cloretos de ácido leva a produção de um equivalente de ácido clorídrico, que pode formar um sal com uma molécula de amina, que ainda não reagiu, e consequentemente diminuir o rendimento da reação. A adição de uma base ao meio reacional neutralizará esse ácido e poderá levar a otimização da reação, sob

essas condições. A adição da base deve ser feita lentamente, para que ela reaja preferencialmente com o ácido clorídrico formado, e não com o cloreto de ácido cinâmico. Outra característica da reação de Schotten-Baumann é o uso de um sistema de solventes bifásico, formado pela água e um solvente orgânico (RAJPUT & GORE; 2011; GEORG *et al.*; 1994).

Para a obtenção das amidas **19-26**, por esse método, o derivado **18** foi transferido para um balão de fundo redondo e suspenso em THF. A essa suspensão adicionou-se uma solução de NaOH 1 mol/L. O sistema foi mantido sob agitação magnética e foi observada a completa solubilização de **18**. A seguir, uma solução do cloreto de cinamoíla em THF foi adicionada lentamente à mistura reagente. O pH do meio reacional foi acompanhado durante essa etapa e mantido acima de 8, por novas adições de solução de NaOH. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e após se observar que ela não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação. As amidas **19-26** foram obtidas com rendimentos entre 61%-93%.

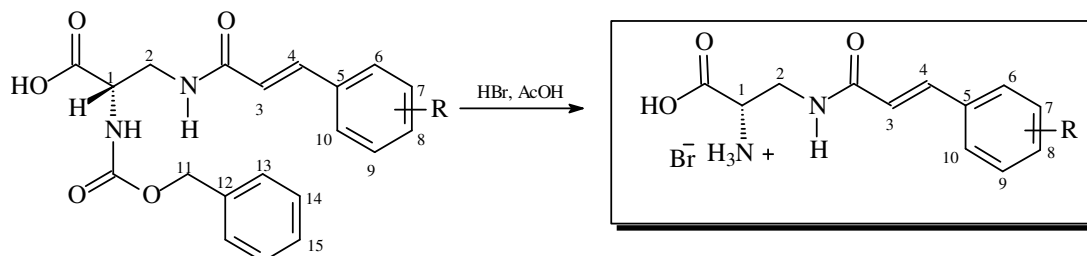


Dando continuidade à rota de síntese, as amidas **19-26** foram submetidas à reação com HBr, em ácido acético, para remoção do grupo protetor benziloxycarbonila e obtenção dos produtos finais **2-9**.

Carbamatos benzílicos são eficientemente desprotegidos por hidrogenólise catalítica, contudo, a presença de uma ligação dupla na estrutura química de **19-26** impede o uso desse método na etapa de desproteção. Alternativamente, o ácido bromídrico pode ser empregado para remover o grupo protetor, sem promover alterações secundárias na estrutura química desses compostos (MOUFFOUK *et al.*; 2004).

Para a obtenção dos produtos finais **2-9**, as amidas **19-26**, foram previamente solubilizadas em ácido acético. Sob banho de gelo e agitação magnética adicionou-se, gota a gota,

solução HBr 33% em ácido acético a mistura reacional. A reação foi acompanhada por CCD e uma vez observado o consumo de todo material de partida a reação foi elaborada e o produto obtido purificado por lavagem com acetona. As amidas desprotegidas **2-9** foram obtidas com rendimentos entre 40%-90%.



(19) R = H (23) R = 4-Cl
 (20) R = 4-COOCH₃ (24) R = 4-Br
 (21) R = 4-CN (25) R = 4-NO₂
 (22) R = 2-CN (26) R = 2-NO₂

(2) R = H (75% rend.) (6) R = 4-Cl (56% rend.)
 (3) R = 4-COOCH₃ (78% rend.) (7) R = 4-Br (55% rend.)
 (4) R = 4-CN (68% rend.) (8) R = 4-NO₂ (40% rend.)
 (5) R = 2-CN (90% rend.) (9) R = 2-NO₂ (61% rend.)

No espectro no infravermelho dos produtos **2-9** é possível observar, dentre outras bandas, a banda de estiramento da ligação C=O de ácido carboxílico entre 1700-1750 cm⁻¹ e a banda de estiramento da ligação C=O de amida, em torno de 1650 cm⁻¹. A ausência de banda de estiramento de ligação C=O do grupo benziloxycarbonila é indicativa da ocorrência da reação de desproteção.

No espectro de RMN de ¹H de **2-9** são observados os sinais de ressonância dos hidrogênios α,β-carbônicos H-3 e H-4 em região mais distante do TMS (Tabela 5.1, pág. 80). A atribuição do sinal de H-4 ao duplete mais distante do TMS justifica-se pela desproteção do hidrogênio β de um composto carbonílico α-β insaturado por efeito de ressonância. Os valores das constantes de acoplamento observados para H-3 e H-4 são compatíveis com a obtenção dos isômeros *trans*.

Tabela 5.1 – Dados dos espectros de RMN de ¹H de 2 - 9 na região de δ5,03-7,30

(2)	(3) R = COOCH₃	(7) R = 4-Br
	(4) R = 4-CN	(8) R = 4-NO₂
	(6) R = 4-Cl	(5) R = 2-CN
		(9) R = 2-NO₂

Tabela 5.1 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 2 - 9 na região de $\delta 5,03\text{-}7,30$ (continuação)

Produto	$\delta(\text{ppm})$		Multiplicidade		J (Hz)	
	H-4	H-3	H-4	H-3	H-4	H-3
2 •	7,30	6,38	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0
3 ♣	5,94	5,03	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0
4 ▲	7,15	6,37	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0
5 ○	7,02	6,26	d	d	$J_{4,3}$ 15,6	$J_{3,4}$ 15,6
6 ♫	6,69	5,77	d	d	$J_{4,3}$ 15,6	$J_{3,4}$ 15,6
7 ♦	6,23	5,33	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0
8 ♥	6,90	6,00	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0
9 ♠	7,04	5,67	d	d	$J_{4,3}$ 16,0	$J_{3,4}$ 16,0

• (Figura A.4, pág.107); ♣ (Figura A.7, pág. 109); ▲ (Figura A.10, pág. 111); ○ (Figura A.13, pág.113); ♫ (Figura A.16, pág. 115); ♦ (Figura A.19, pág. 117), ♥ (Figura A.22, pág. 119); ♠ (Figura A.25, pág.121).

É possível observar no espectro de RMN de ^1H de **2** um multipeto entre $\delta 7,41\text{-}7,38$, com integral de cinco hidrogênios, referentes aos hidrogênios do anel monossustituído (Tabela 5.2, pág. 81).

No espectro de RMN de ^1H de **3**, **4**, **6**, **7** e **8** pode-se observar na região de aromáticos dois dupletos, com constante de acoplamento de 8,4 – 8,8 Hz, atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-7 do anel *para*-dissustituído (Tabela 5.2, pág.81).

Finalmente, as amidas **5** e **9** possuem um anel *orto*-dissustituído na sua estrutura química e apresentam na região de aromáticos do espectro de RMN de ^1H um conjunto de sinais compatíveis com o esperado para esse padrão de substituição (Tabela 5.2, pág. 81).

Tabela 5.2 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 2 - 9 na região de $\delta 5,92\text{-}7,57$

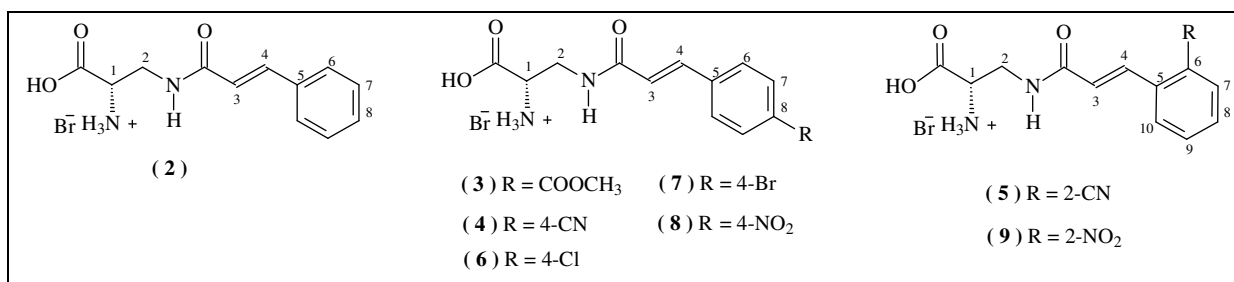


Tabela 5.2 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 2 - 9 na região de $\delta 5,92\text{-}7,57$ (continuação)

Produto	$\delta(\text{ppm})$		Multiplicidade		J (Hz)				
	H-6	H-7 e H-8	H-6	H-7 e H-8	H-6	H-7	H-8		
2•	7,41-7,38	7,27-7,25	m	M	-	-	-		
Produto	$\delta(\text{ppm})$		Multiplicidade		J (Hz)				
	H-6	H-7	H-6	H-7	H-6	H-7			
3♣	5,92	6,32	d	D	$J_{6,7}$ 8,4	$J_{7,6}$ 8,4			
4▲	7,34	7,44	d	D	$J_{6,7}$ 8,4	$J_{7,6}$ 8,4			
6♠	6,55	6,67	d	D	$J_{6,7}$ 8,4	$J_{7,6}$ 8,4			
7♦	6,12	6,21	d	D	$J_{6,7}$ 8,4	$J_{7,6}$ 8,4			
8♥	7,08	7,57	d	D	$J_{6,7}$ 8,8	$J_{7,6}$ 8,8			
Produto	$\delta(\text{ppm})$			Multiplicidade			J (Hz)		
	H-7	H-8	H-9 e H-10	H-7	H-8	H-9 e H-10	H-7	H-8	H-9 e H-10
5○	7,24 - 7,19	7,07	7,24 - 7,19	m	da	m	-	$J_{7,8}$ 7,6	-
9♠	7,14	6,68 - 6,66	6,81 - 6,76	d	m	m	$J_{7,8}$ 8,0	-	-

• (Figura A.4, pág.107); ♣ (Figura A.7, pág. 109); ▲ (Figura A.10, pág. 111); ○ (Figura A.13, pág.113); ♯ (Figura A.16, pág. 115); ♦ (Figura A.19, pág 117), ♥ (Figura A.22, pág. 119); ♠ (Figura A.25, pág.121).

A análise dos espectros de RMN de ^1H dos produtos finais **2-9** permite observar ainda a presença de um duplete duplo, com integral de um hidrogênio, na região entre $\delta 4,30 - 2,76$ atribuído a H-1 (Tabela 5.3, pág. 82). Os hidrogênios metilênicos H-2 e H-2' são observados na forma de dupletos duplos, entre $\delta 3,80 - 2,30$ (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 2 - 9 na região de $\delta 2,30\text{-}4,23$

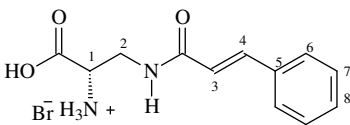
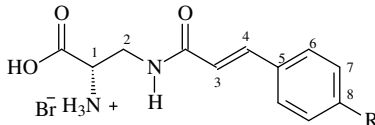
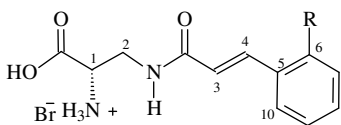
 (2)	 (3) R = COOCH₃	 (7) R = 4-Br	
	(4) R = 4-CN	(8) R = 4-NO₂	
	(6) R = 4-Cl		
		(5) R = 2-CN	
		(9) R = 2-NO₂	

Tabela 5.3 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 2 - 9 na região de δ 2,30-4,23 (continuação)

Produto	$\delta(\text{ppm})$			Multiplicidade			J (Hz)		
	H-1	H-2	H-2'	H-1	H-2	H-2'	H-1	H-2	H-2'
2•	4,22	3,77	3,66	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
3♣	2,76	2,43	2,30	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
4▲	4,18	3,80	3,68	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,4; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,4; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
5○	4,13	3,68	3,58	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,4; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,4; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
6♫	3,68	3,29	3,18	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
7♦	3,20	2,84	2,72	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,4	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,4; $J_{2',2}$ 16,0
8♥	3,74	3,38	3,26	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2'}$ 16,0	$J_{2',1}$ 6,0; $J_{2',2}$ 16,0
9♠	3,54	3,18	3,06	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,0; $J_{1,2}$ 6,0	$J_{2,1}$ 4,0; $J_{2,2}$ 16,0	$J_{2,1}$ 6,0; $J_{2,2}$ 16,0

• (Figura A.4, pág.107); ♣ (Figura A.7, pág. 109); ▲ (Figura A.10, pág. 111); ○ (Figura A.13, pág.113); ♫ (Figura A.16, pág. 115); ♦ (Figura A.19, pág 117), ♥ (Figura A.22, pág. 119); ♠ (Figura A.25, pág.121).

As atribuições dos sinais de carbono de **2-9** foram feitas com base na análise detalhada dos espectros de RMN de ^{13}C e dos subespectros DEPT 135 e com base nos valores de deslocamentos químicos previstos em tabela (SILVERSTEIN *et al.*; 2007) (Tabela 5.4, pág.83).

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C de **2-9** permite observar os sinais referentes aos carbonos carbonílicos do ácido carboxílico e da amida em torno de δ 172,0. No espectro de RMN de ^{13}C de **3** é possível observar, ainda, sinal referente à carbonila do grupo éster metílico.

A amida **2** apresenta na região de carbonos aromáticos um sinal referente ao carbono *ipso* C-5 e três outros sinais atribuídos aos carbonos hidrogenados do anel aromático. Os

produtos **3**, **4**, **6**, **7** e **8** possuem na sua estrutura química um anel aromático *para*-dissubstituído, por isso é possível observar no seu espectro de RMN de ^{13}C , além dos sinais de carbono *ipso* C-5 e C-8, dois outros sinais intensos correspondentes aos carbonos aromáticos hidrogenados C-6 e C-7. Já **5** e **9** apresentam na região de carbonos aromáticos seis sinais de carbono, com deslocamentos químicos diferentes e compatíveis com o anel aromático *orto*-dissubstituído. Também pode-se observar na região de aromáticos os sinais referentes aos carbonos α - β -carbonílicos C-3 e C-4, sendo que C-4 é mais desblindado.

Finalmente, o sinal referente ao carbono C-1 pode ser observado em torno de $\delta 55,0$ e o sinal do carbono metilênico C-2 próximo à $\delta 40,0$.

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos produtos para os quais o solvente empregado foi TFA/D $_2$ O existem dois quartetos centrados em $\delta 163,0$ e $\delta 115,0$, referentes ao acoplamento carbono-flúor do ácido trifluoracético.

Tabela 5.4 – Dados dos espectros de RMN de ^{13}C de 2 - 9

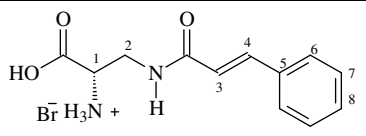
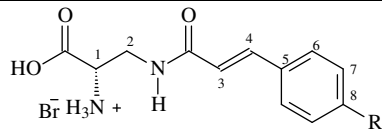
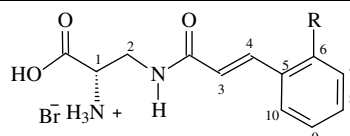
 (2)  (3) R = COOCH₃ (7) R = 4-Br (4) R = 4-CN (8) R = 4-NO₂ (6) R = 4-Cl  (5) R = 2-CN (9) R = 2-NO₂					
$\delta(\text{ppm})$					Atribuição
3♣	4▲	6♠	7♦	8♥	
57,4	55,2	56,1	55,8	56,0	C-1
43,2	41,2	42,1	42,7	42,0	C-2
124,5	124,5	122,3	122,5	126,1	C-3
142,4	142,1	144,0	145,0	143,7	C-4
145,5	140,8	138,3	136,4	142,6	C-5
131,5	130,4	131,7	132,7	131,6	C-6
133,4	134,8	132,1	135,1	126,8	C-7
134,3	113,7	135,6	127,2	150,8	C-8
173,8, 173,0, 172,5	171,7, 171,1	172,6, 172,4	173,4, 172,8	172,4, 172,0	C=O

Tabela 5.4 – Dados dos espectros de RMN de ^{13}C de 2 – 9 (continuação)

$\delta(\text{ppm})$			Atribuição
2•	5○	9♠	
55,7	53,2	56,4	C-1
41,6	39,4	42,3	C-2
121,6	123,4	126,8	C-3
144,6	136,6	141,0	C-4
136,5	136,5	132,2	C-5
-	111,0	150,7	C-6
132,8, 131,5; 130,6	133,8, 133,6, 130,4, 127,0	137,3, 133,5, 133,2, 127,8	C aromáticos hidrogenados
172,2, 172,1	169,7, 168,4	172,6, 172,1	CO

• (Figura A.5, pág. 108); ♠ (Figura A.8, pág. 110); ▲ (Figura A.11, pág. 112); ○ (Figura A.14, pág. 114); ♪ (Figura A.17, pág. 116); ♦ (Figura A.20, pág. 118); ♥ (Figura A.23, pág. 120); ♠ (Figura A.26, pág. 122).

Os produtos finais **2-9** foram submetidos à análise por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) (Tabela 5.5, pág. 85).

Os valores de m/z observados para as amidas **2-9** são compatíveis com os valores esperados para ionização dos compostos no modo eletrospray.

Além do pico do íon molecular, é possível observar nos espectros de massas de **2-9** um pico referente à perda de NH_3 .

Tabela 5.5 – Dados dos espectros de massas HRMS de 2 - 9

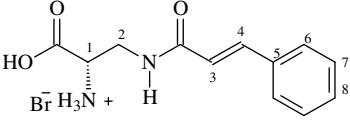
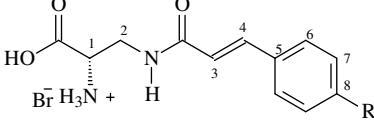
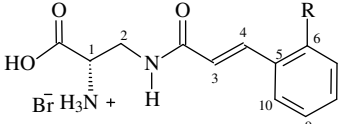
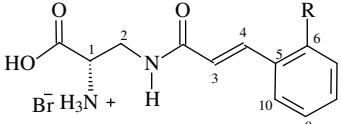
 (2)	 (3) R = COOCH_3 (4) R = 4-CN (6) R = 4-Cl	 (7) R = 4-Br (8) R = 4-NO_2	 (5) R = 2-CN (9) R = 2-NO_2

Tabela 5.5 – Dados dos espectros de massas HRMS de 2 – 9 (continuação)

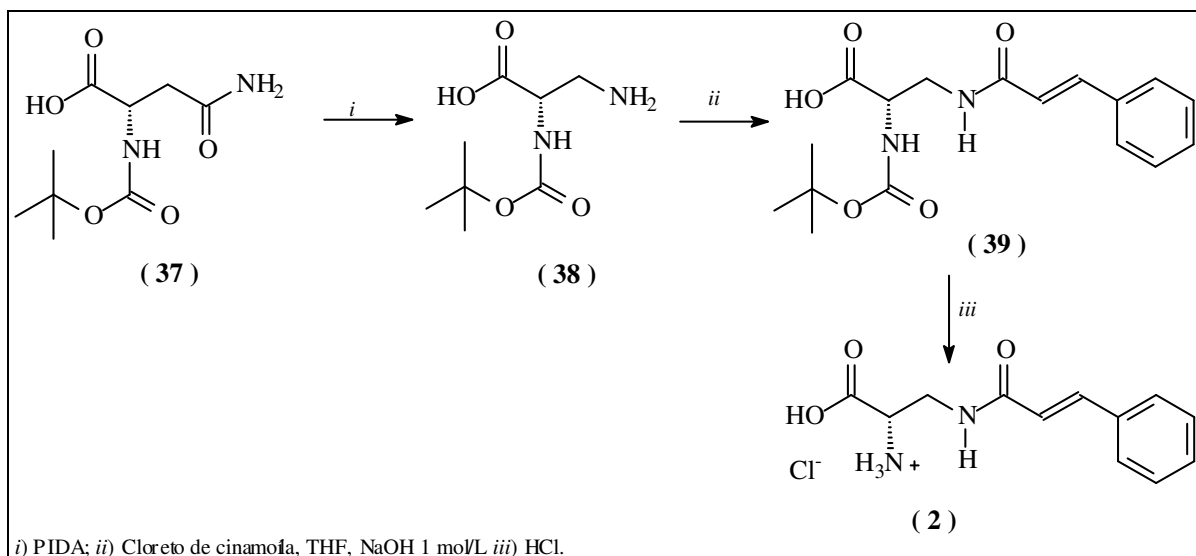
Produto	m/z (esperado)	m/z (encontrado)	Fragmentação [M-NH ₃] ⁺
2 •	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ : 235,1082	235,1080	218,0814
3 ♣	C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₅ : 293,1137	293,1137	276,0870
4 ▲	C ₁₃ H ₁₄ N ₃ O ₃ : 260,1035	260,1035	243,0767
5 ○	C ₁₃ H ₁₄ N ₃ O ₃ : 260,1035	260,1034	243,0767
6 ♠	C ₁₂ H ₁₄ ClN ₂ O ₃ : 269,0692	269,0692	252,0425
7 ♦	C ₁₂ H ₁₄ BrN ₂ O ₃ : 313,0188	313,0186	295,9917
8 ♥	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₅ : 280,0933	280,0932	263,0665
9 ♠	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₅ : 280,0933	280,0932	263,0665

• (Figura A.5, pág. 108); ♣ (Figura A.8, pág. 110); ▲ (Figura A.11, pág. 112); ○ (Figura A.14, pág. 114); ♠ (Figura A.17, pág. 116); ♦ (Figura A.20, pág. 118); ♥ (Figura A.23, pág. 120); ♠ (Figura A.26, pág. 122).

5.3 SÍNTESE DE 2 UTILIZANDO BOC COMO GRUPO PROTETOR

Paralelamente, foi planejada uma rota de síntese para a obtenção de **2** utilizando como grupo protetor o *tert*-butilcarboxicarbonila (Boc) (Figura 5.8).

Figura 5.8 – Esquema para a síntese de 2



O dicarbonato de *tert*-butila é um reagente amplamente usado em síntese orgânica. Sua reação com aminas leva a obtenção de derivados do tipo *N-tert*-butilcarboxicarbonil (*t*-Boc) obtidos normalmente, com bons rendimentos. A remoção do grupo Boc pode ser realizada

utilizando-se o ácido trifluoracético (TFA) (LIN *et al.*; 2012)) ou ácido clorídrico (HCl) (ANDRUSZKIEWICZ *et al.*; 1993).

Uma vez que o grupo Boc pode ser facilmente removido na presença de TFA ou HCl considerou-se pertinente a realização de uma rota de síntese empregando esse grupo protetor. Ao final das etapas propostas seria possível saber qual o melhor método para a síntese das amidas **2-9**.

Para a obtenção de **37** foi empregado método descrito por Li e colaboradores (LI *et al.*; 2006). A L-asparagina foi transferida para um balão de fundo redondo, ao qual foram adicionados uma solução de dioxano/água 1:1, Boc₂O e DMF. Em seguida o NaHCO₃ foi adicionado a mistura reagente e o sistema foi mantido sob agitação magnética a temperatura ambiente. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, até o consumo de todo o material de partida. Após as etapas de elaboração e purificação por recristalização em metanol a quente o derivado **37** foi obtido com 45% de rendimento.

Na etapa seguinte o derivado **37** foi submetido à reação com diacetoxiidobenzeno (PIDA) (ZHANG *et al.*; 1997). Em um balão de fundo redondo foram adicionados **37** e uma mistura de solventes constituída por acetato de etila, acetonitrila e água na proporção de 2:2:1. Em seguida o PIDA foi adicionado à mistura reagente e o sistema mantido sob agitação e resfriamento a -10 °C. A reação foi acompanhada por CCD, até o consumo de todo material de partida. Observou-se a formação de um sólido branco, que foi filtrado a vácuo e lavado com acetato de etila. O derivado **38** foi obtido com 54% de rendimento.

A amida **39** foi obtida por reação de **38** com o cloreto de cinamoíla, empregando-se as condições da reação de Schotten-Baumann (GEORG *et al.*; 1994). A um balão de fundo redondo foram adicionados a amina **38**, THF e a solução de NaOH 1 mol/L. A solução de cloreto de cinamoíla em THF foi adicionada, gota a gota, a mistura reagente e o pH da reação foi acompanhado durante esse processo. A reação foi acompanhada por CCD e as etapas de elaboração e purificação por CCS foram realizadas em seguida. A amida **39** foi obtida com 72% de rendimento.

Finalmente, para a remoção do grupo protetor Boc a amida **39** foi transferida para um balão de fundo redondo. Sob banho de gelo e agitação magnética adicionou-se uma solução de HCl 4mol/L em dioxano. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e após de se observar o consumo de todo o material de partida o solvente foi evaporado. Foram realizadas tentativas de purificação do produto obtido, mas após análise do espectro de

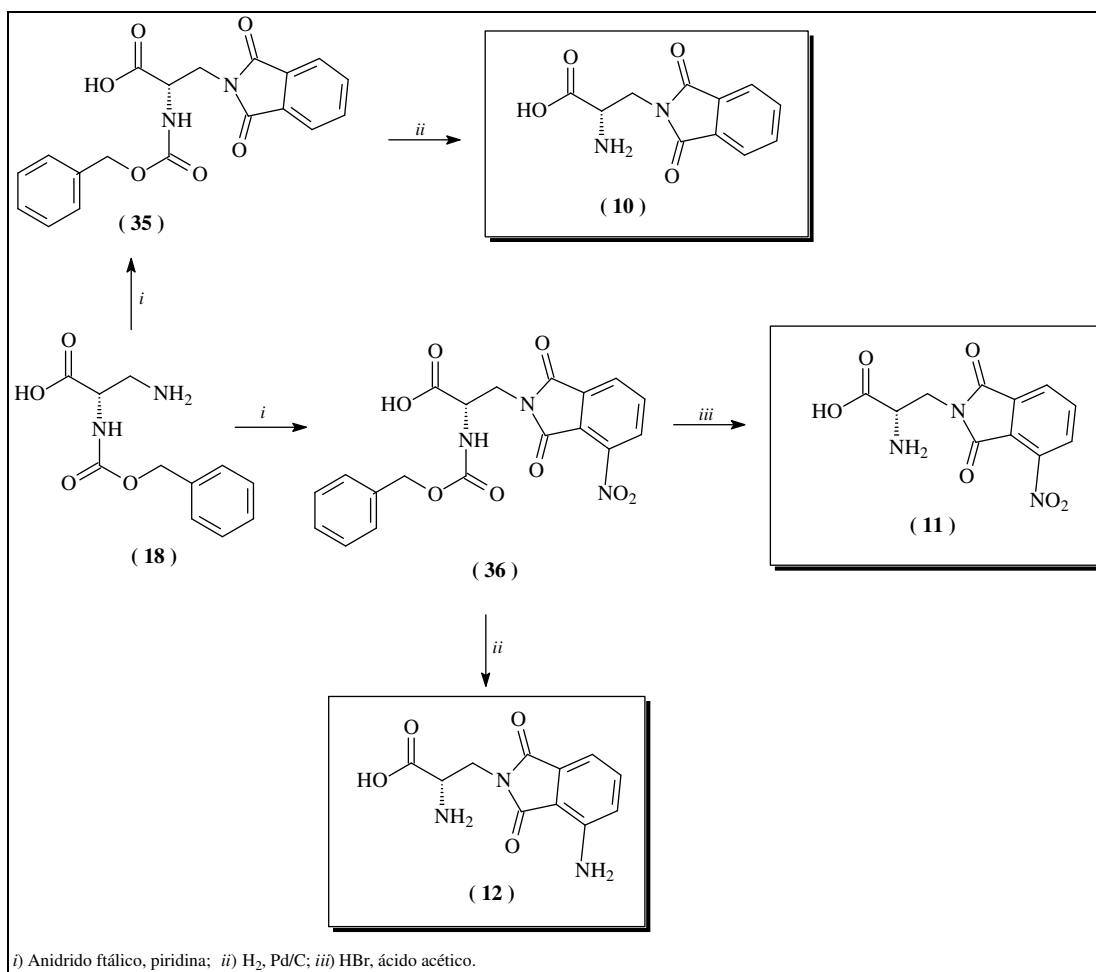
RMN de ^1H foi observado que o mesmo estava contaminado. O sólido obtido ao fim da etapa de desproteção é extremamente higroscópico, o que dificulta a purificação desse produto por recristalização. Além disso, a natureza polar dessa substância inviabiliza a sua purificação por CCS, utilizando-se sílica convencional.

Uma vez que os rendimentos descritos na síntese dos intermediários são menores quando se utiliza o Boc, do que quando o grupo protetor é o Cbz, e dada a dificuldade de purificação do produto final optou-se pela escolha do grupo protetor Cbz para a obtenção de **2-9**.

5.4 SÍNTESE DE 10 - 12

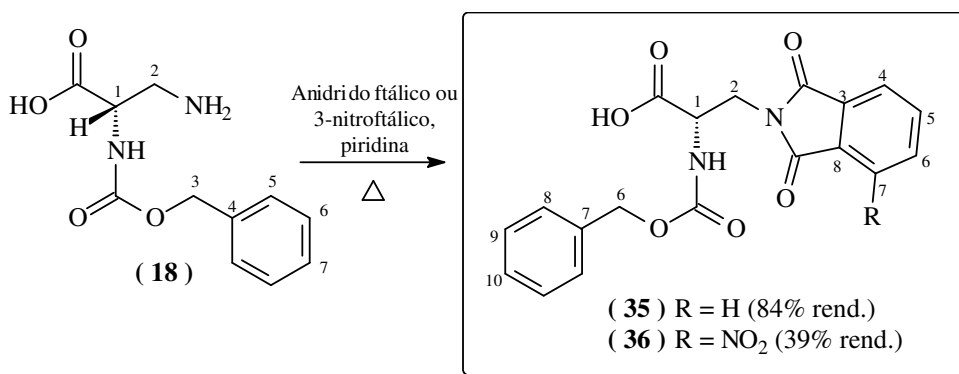
Para a obtenção dos análogos ftalimídicos **10-12** foi proposta a rota de síntese descrita na Figura 5.9. Por essa rota, os produtos finais desejados seriam obtidos a partir do intermediário comum **18** em duas etapas.

Figura 5.9 - Esquema para a síntese de 10 – 12



Os intermediários **35** e **36** foram preparados por reação da β -amino-L-alanina **18** com os anidridos ftálico e 3-nitroftálico, respectivamente (JURSIC & PATEL.; 2006). Os reagentes foram solubilizados em piridina e o sistema mantido sob agitação e refluxo. As reações foram acompanhadas por CCD. Durante a etapa de elaboração da reação para obtenção de **35** observou-se a formação de um precipitado, após a adição de gelo pilado e solução HCl 1 mol/L. O sólido foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água e foi caracterizado como sendo o derivado **35**, obtido na sua forma pura, com 84% de rendimento.

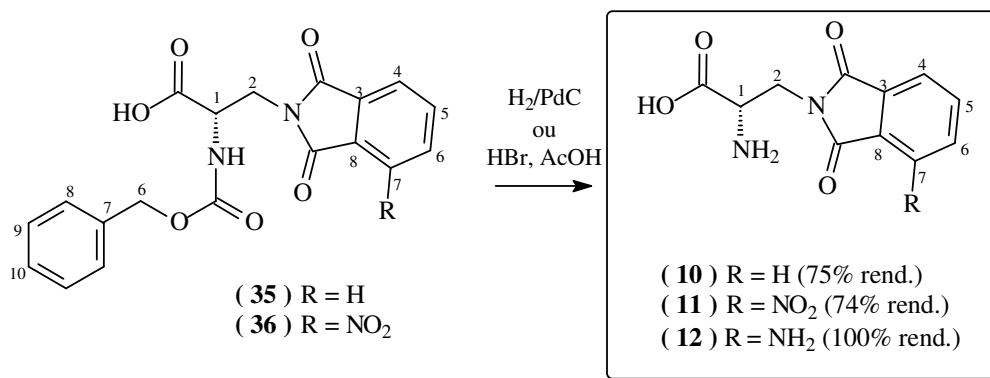
Para a obtenção do derivado **36**, após a etapa de elaboração, o resíduo bruto foi purificado por CCS, sendo **36** obtido com 39% de rendimento.



Dando continuidade à rota de síntese, foram realizadas as etapas para remoção do grupo protetor benziloxycarbonila.

Para a obtenção de **10** e **12** os respectivos derivados protegidos foram submetidos à reação de hidrogenólise, utilizando-se paládio/carvão como catalisador. A evolução da reação foi acompanhada por CCD a após o consumo de todo o material de partida a suspensão foi filtrada para remoção do catalisador. Foi observado que a filtração em Celite, além de ser um método mais seguro, promove a melhor separação do catalisador e evita a retenção de produto, otimizando o rendimento. Após evaporação do solvente, os produtos finais **10** e **12** foram obtidos com rendimentos de 75% e quantitativo, respectivamente.

A remoção do grupo protetor de **36** utilizando solução HBr 33% em ácido acético conduziu a obtenção de **11**, com rendimento de 74%.

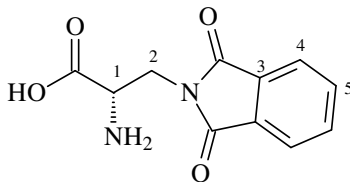
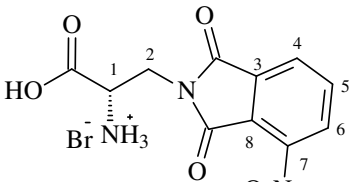
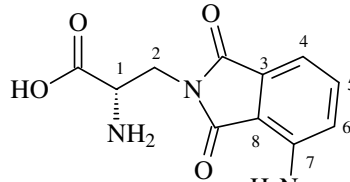


No espectro no infravermelho dos produtos finais **10-12** é possível observar uma banda entre 1770-1750 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação C=O do ácido carboxílico e em torno de 1700 cm⁻¹ a banda de estiramento da ligação C=O do grupo ftalimido.

No espectro de RMN de ¹H de **10** (Figura A.28, pág. 123) é possível observar na região entre δ 7,92-7,82 um multipeto com integral de quatro hidrogênios, correspondente aos hidrogênios do anel aromático (Tabela 5.6).

Os produtos finais **11** e **12** possuem um substituinte na posição 7 do anel aromático. Com isso é possível observar na região de aromáticos do espectro de RMN de ¹H três conjuntos diferentes de sinais. Os sinais referentes aos hidrogênios H-4, H-5 e H-6 apresentam-se sob a forma de dupletos duplos, de acordo com os dados descritos na Tabela 5.6.

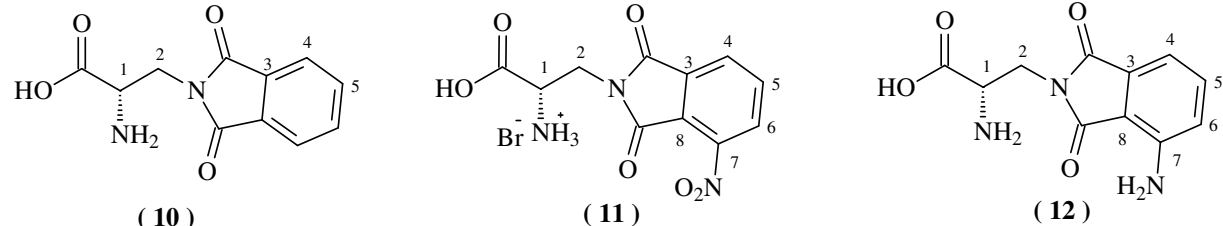
Tabela 5.6 – Dados dos espectros de RMN de ¹H de 10 - 12 na região de δ 7,92-6,20

 (10)	 (11)	 (12)							
Produto	δ (ppm)			Multiplicidade			J (Hz)		
	H-4	H-5	H-6	H-4	H-5	H-6	H-4	H-5	H-6
10•	7,92 – 7,82	-	-	m			-		
11♣	7,54	7,38	7,64	Dd	dd	dd	$J_{4,5}$ 7,6; $^4J_{4,6}$ 0,8	$J_{5,6}$ 8,2; $J_{5,4}$ 7,6	$J_{6,5}$ 8,2; $J_{6,4}$ 0,8
12▲	6,34	6,40	6,20	Dd	dd	dd	$J_{4,5}$ 7,6; $^4J_{4,6}$ 0,8	$J_{5,6}$ 8,4; $J_{5,4}$ 7,6	$J_{6,5}$ 8,4; $J_{6,4}$ 0,8

• (Figura A.28, pág. 123); ♣ (Figura A.31, pág. 125); ▲ (Figura A.34, pág. 127).

O sinal referente ao hidrogênio H-1 de **10** pode ser observado sob a forma de um multipeto, com integral de um hidrogênio, entre δ 4,16-4,03. Nos espectros de RMN de ^1H de **11** e **12** o sinal de H-1 apresenta-se na forma de um dupeto duplo, de acordo os dados descritos na Tabela 5.7. Os hidrogênios metilênicos H-2 também se encontram sob a forma de um dupeto duplo, nos espectros de RMN de ^1H de **11** e **12** e na forma de um multipeto no espectro de **10** (Tabela 5.7).

Tabela 5.7 – Dados dos espectros de RMN de ^1H de 10 - 12 na região de δ 4,16-2,91

									
Produto	$\delta(\text{ppm})$			Multiplicidade			J (Hz)		
	H-1	H-2	H-2'	H-1	H-2	H-2'	H-1	H-2	H-2'
10 •	4,16 – 4,03			m			-		
11 ♣	3,81	3,70	3,65	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,8; $J_{1,2}$ 6,4	$J_{2,1}$ 4,8; $J_{2,2}$ 15,2	$J_{2,1}$ 6,4; $J_{2,2}$ 15,2
12 ▲	3,09	2,95	2,91	dd	dd	dd	$J_{1,2}$ 4,8; $J_{1,2}$ 6,8	$J_{2,1}$ 4,8; $J_{2,2}$ 15,6	$J_{2,1}$ 6,8; $J_{2,2}$ 15,6

• (Figura A.28, pág. 123); ♣ (Figura A.31, pág. 125); ▲ (Figura A.34, pág. 127).

As atribuições dos sinais de carbono de **10-12** foram feitas com base na análise detalhada dos espectros de RMN de ^{13}C e dos subespectros DEPT 135 e com base nos valores de deslocamentos químicos previstos em tabela (SILVERSTEIN *et al.*; 2009) (Tabela 5.8, pág. 91).

No espectro de RMN de ^{13}C de **10-12** se observa na região em torno de δ 170,0 os sinais referentes aos carbonos carbonílicos do ácido carboxílico e da ftalimida.

Na região de aromáticos do espectro de ^{13}C de **10** (Figura A.29, pág. 124) os sinais referentes aos carbonos C-5 e C-3 encontram-se em δ 134,7 e em δ 132,0, respectivamente, e o sinal referente a C-4 em δ 123,4. No espectro de RMN de ^{13}C de **11** (Figura A.32, pág. 126) são observados os sinais referentes aos seis carbonos do anel aromático, com deslocamento químico apresentado na Tabela 5.8. Destaca-se o sinal do carbono *ipso* C-7 desprotegido pela presença do grupo nitro retirador de elétrons, nessa

posição. No espectro de RMN de ^{13}C de **12** (Figura A.35, pág. 128) os sinais atribuídos aos carbonos C-3 e C-7 encontram-se sobrepostos em δ 140,3 e o sinal referente ao carbono C-5 localiza-se em δ 135,6. Os sinais referentes a C-4, C-6 e C-8 estão sobrepostos pelo quarteto correspondente ao sinal do ácido trifluoroacético.

Finalmente, o sinal de C-1 de **10-12** se encontra em torno de δ 56,0-50,0 e o sinal do carbono metilênico C-2 entre δ 41,0-37,0.

Tabela 5.8 – Dados dos espectros de RMN de ^{13}C de 10 - 12

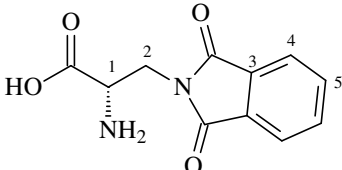
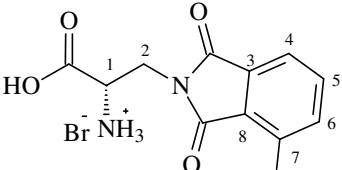
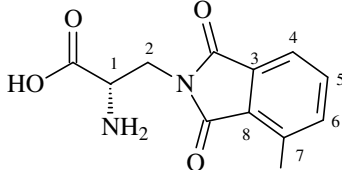
$\delta(\text{ppm})$			Atribuição
10 •	11 ♣	12 ▲	
50,9	54,6	55,6	C-1
37,4	40,6	40,7	C-2
132,0		140,3*	C-3
123,4		Não observado	C-4
134,7		135,6	C-5
-	126,2	Não observado	C-6
-	147,4	140,3*	C-7
168,9, 167,9	171,8, 170,1 , 167,3	172,4	CO

*Sobrepostos

• (Figura A.29, pág. 124); ♣ (Figura A.32, pág. 126); ▲ (Figura A.35, pág. 128).

Os produtos finais **10-12** foram submetidos a análise por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) e os resultados estão detalhados na Tabela 5.9 (pág. 92).

Tabela 5.9 – Dados dos espectros de massas HRMS de 10 - 12.

 (10)  (11)  (12)			
Produto	m/z (esperado)	m/z (encontrado)	Fragmentação [M-HCO ₂ H] ⁺
10•	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₄ : 235,0719	235,0718	189,0663
11♣	C ₁₁ H ₁₀ N ₃ O ₆ : 280,0570	280,0567	234,0511
12▲	C ₁₁ H ₁₂ N ₃ O ₄ : 250,0828	250,0828	204,0771

• (Figura A.30, pág. 124); ♣ (Figura A.33, pág. 126); ▲ (Figura A.36, pág. 128).

Para **10** e **12** foi observado a ionização sob a forma de [M+H]⁺. O composto **11** foi observado sob a forma catiônica M⁺. Também foram observados os picos atribuídos à perda de -HCO₂H. Todos os compostos apresentam valores de m/z compatíveis com o esperado.

5.5 VALORES DE cLOG P

As propriedades físico-químicas dos fármacos influenciam diretamente sua ação biológica. Para produzir uma resposta biológica o fármaco precisa atravessar a membrana celular, formada pela bicamada lipídica. O coeficiente de partição de um fármaco mede sua distribuição em um sistema de fase lipo/hidrofílica e indica sua capacidade de penetrar sistemas biológicos multifásicos (BARREIRO & FRAGA; 2008).

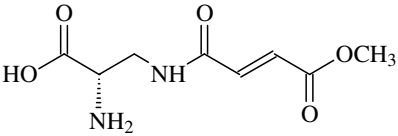
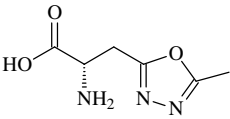
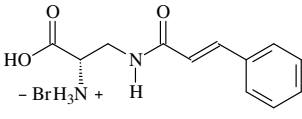
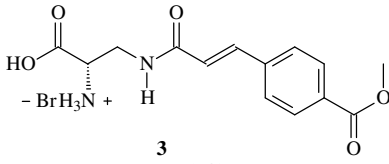
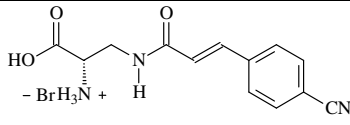
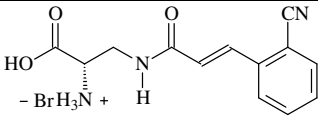
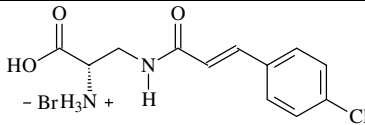
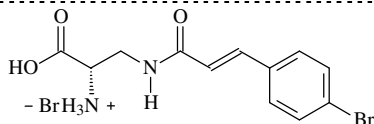
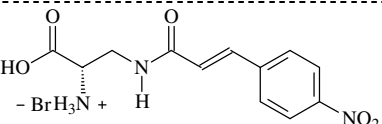
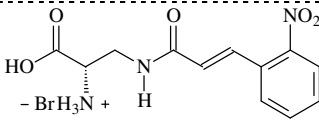
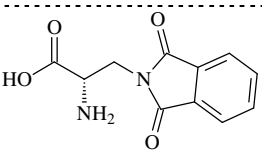
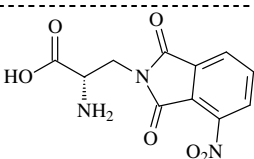
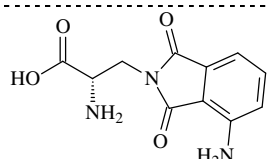
$$P = [\text{fase orgânica}] / [\text{fase aquosa}]$$

O inibidor da glicosamina-6-fosfato sintase FMDP inibe a enzima em ensaios *in vitro*, mas perde sua atividade quando testado *in vivo*, devido a sua incapacidade de atravessar a membrana celular. Tendo isso em vista considerou-se pertinente a medida dos coeficientes de partição dos análogos cuja síntese é proposta no presente trabalho.

Os valores de coeficiente de partição de uma substância podem ser estimados utilizando-se programas teóricos.

No presente trabalho os valores de coeficiente de partição de **1**, **2-9** e **10-12** foram calculados empregando-se o programa Osiris Property Explorer. Os valores estimados de cLog P estão descritos na Tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Valores de cLog P

 FMDP cLog P = -2,33		
 1 cLog P = -1,61	 2 cLog P = -0,39	 3 cLog P = -0,42
 4 cLog P = -0,58	 5 cLog P = -0,58	 6 cLog P = 0,22
 7 cLog P = 0,30	 8 cLog P = -0,52	 9 cLog P = -0,52
 10 cLog P = -0,71	 11 cLog P = -0,84	 12 cLog P = -1,43

Todos os compostos planejados em nosso trabalho apresentaram um valor de cLog P maior do que o calculado para o inibidor FMDP e os compostos **6** e **7** apresentaram um valor positivo de cLog P.

5.6 TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os compostos **2-12** foram submetidos a teste para a avaliação de sua atividade antifúngica. Esses compostos foram avaliados contra *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis* e *Paracoccidioides brasiliensis* pelo método de diluição seriada, no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pela equipe da professora Suzana Johan.

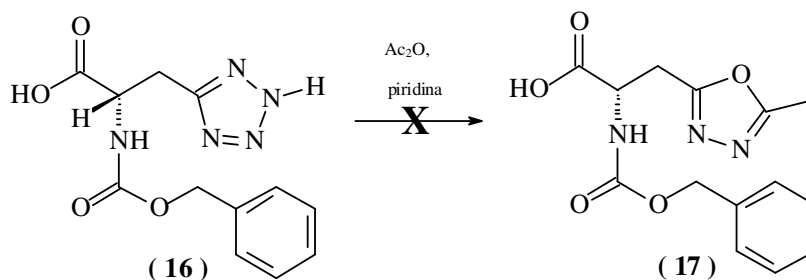
Os intermediários de síntese **19-26** e **35-36** também foram avaliados, contra os microrganismos descritos anteriormente.

Nenhum composto foi ativo até a concentração de 500 µg/mL.

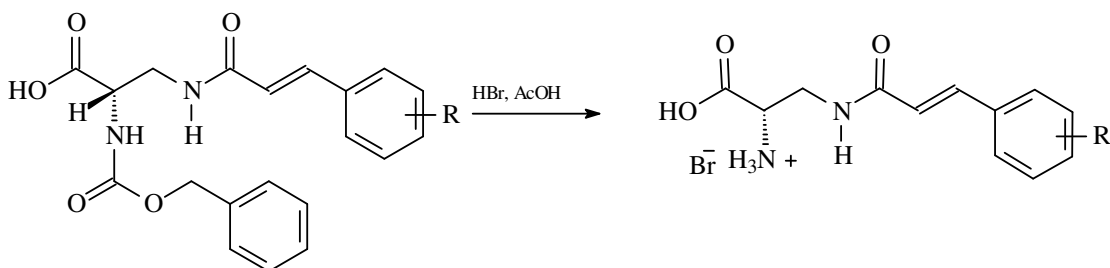
6 CONCLUSÃO

Nesta parte do presente trabalho teve-se como objetivos a síntese de onze análogos da L-glutamina, inibidores potenciais da GlcN-6-P sintase.

Para a obtenção do análogo **1** planejou-se uma rota de síntese em cinco etapas, a partir da L-asparagina, disponível comercialmente. A realização das etapas sintéticas previstas conduziu à obtenção do derivado tetrazol **16**. Apesar dos nossos esforços, a tentativa de conversão de **16** no oxadiazol **17** resultou na formação de um produto secundário, pelo ataque intramolecular do grupo carboxila do ácido carboxílico ao grupo anel oxadiazólico. O mecanismo proposto para essa reação está descrito na pág. 74. Com isso, a rota sintética para a obtenção de **1** foi abandonada.



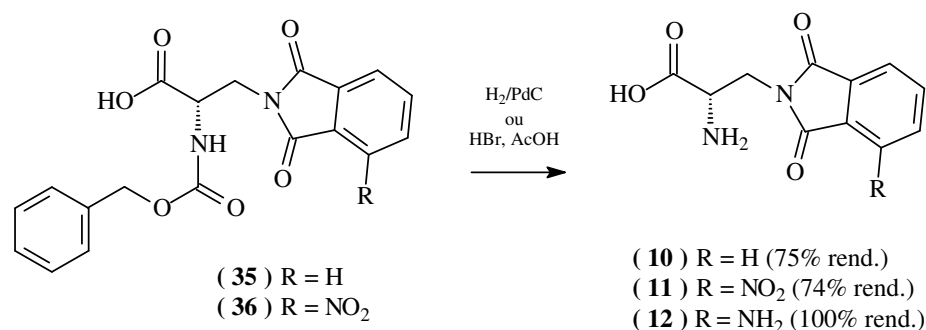
Para a obtenção dos compostos **2-9** foi planejada uma rota sintética em três etapas, a partir de **14**. As amidas **19-26** foram obtidas com sucesso, empregando-se a reação de Schotten-Baumann, com rendimentos que variam de 61-93%. A etapa posterior prevista foi a remoção do grupo benziloxycarbonila com HBr em ácido acético. As aminas **9-12** foram obtidas na forma de um sal, com rendimentos entre 40-90%.



(19) R = H (23) R = 4-Cl
 (20) R = 4-COOCH₃ (24) R = 4-Br
 (21) R = 4-CN (25) R = 4-NO₂
 (22) R = 2-CN (26) R = 2-NO₂

(2) R = H (75% rend.) (6) R = 4-Cl (56% rend.)
 (3) R = 4-COOCH₃ (78% rend.) (7) R = 4-Br (55% rend.)
 (4) R = 4-CN (68% rend.) (8) R = 4-NO₂ (40% rend.)
 (5) R = 2-CN (90% rend.) (9) R = 2-NO₂ (61% rend.)

Planejou-se também a síntese dos derivados ftalimidos **10-12**. Para isso o derivado comum β -amino-L-alanina **18** foi submetido a reação com os anidridos ftálico e 3-nitroftálico, conduzindo a obtenção de **35** e **36** com rendimento de 84% e 39%, respectivamente. Esses intermediários foram submetidos a reação para remoção do grupo protetor benziloxicarbonila na presença de H_2 e Pd/C. Os compostos **10** e **12** foram obtidos por esse método, com rendimentos de 75% e 100%, respectivamente. O composto **11** foi obtido, com rendimento de 74%, após remoção do grupo protetor de **36** utilizando-se HBr em ácido acético.



Todos os compostos obtidos foram submetidos à avaliação de sua atividade antifúngica, no entanto nenhum se mostrou ativo até a concentração de 500 μ g/mL. Apesar disso, o desenvolvimento das rotas de síntese apresentadas nessa parte do trabalho conduziu a obtenção de uma série de novos análogos inéditos da L-glutamina. A exploração de novas modificações moleculares nas estruturas desses análogos poderá conduzir à obtenção de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. Synthesis and Biological Properties of N³-(4-Methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic Acid Dipeptides, a Novel Group of Antimicrobial Agents. **J. Med. Chem.** 1987, 30, 1715-1719.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; ZIENIAWA, T.; BOROWSKI, E. Antimicrobial Properties of N³-(Iodoacetyl)-L-2,3-diaminopropanoic Acid-Peptide Conjugates. **J. Med. Chem.** 1990,33, 2755-2759.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; MILEWSKI, S.; ZIENIAWA, T.; BOROWSKI, E. Anticandidal Properties of N³-(4-Methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic Acid Oligopeptides. **J. Med. Chem.** 1990, 33, 132-135.

ANDRUSZKIEWICZ, R.; CHMARA, H.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E.; KASPRZAK, L. Structural Determinants of Inhibitory Activity of N³-(4-Methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic Acid Towards Glucosamine-6-Phosphate Synthase. **Polish J. Chem.** 1993, 67, 673-683.

ARMAREGO, W.L.F.; PERRIN, D.D. **Purification of Laboratory Chemicals**. 4. ed. Boston: Butterworth Heinemann. 1996, 529p.

BEHR, J. B. Chitin synthase as an antifungal target: recent advances. **Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents**. 2003, 2 (2), 173-189.

BERLINGOZZI, S.; ADEMBRI, G.; GHELARDONI, M. Optically active amino acids. Resolution of DL-asparagine. **Gazzetta Chimica Italiana**. 1958, 88, 9-12.

BOROWSKI, E. Novel approaches in the rational design of antifungal agents of low toxicity. **Farmaco**. 2000, 55 206–208.

BOUTIN, R.H.; LOUDON, G.M. Conversion of Aliphatic Amides into Amines with [I,I-Bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene. 2. Kinetics and Mechanism. **J. Org. Chem.** 1984, 49, 4277-4284.

BRAUN, J.; NELLES, J.; Synthesis of cinnamic acids. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**. 1933, 66, 1464-1470.

BUTLER, R.N. Tetrazoles. In: KATRITZKY, A.R., REES, C.W. (Eds.). *Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The structure, reactions, synthesis and uses of heterocyclic compounds*. Oxford: Imprenta Pergamon Press. 1984, v. 5, cap. 4.13, p.791-838.

CHHABRA, S.R.; MAHAJAN, A.; CHAN, W.C. Homochiral 4-Azalysine Building Blocks: Syntheses and Applications in Solid-Phase Chemistry. *Journal of Organic Chemistry*. 2002, 67, 4017-4029.

CHITTUR, S.V.; GRIFFITH, R.K. Multisubstrate Analogue Inhibitors of Glucosamine-6-phosphate Synthase from *Candida albicans*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2002, 12, 2639–2642.

DISMUKES, W.E. Introduction to Antifungal Drugs. *Clin. Infect. Dis.* 2000, 30, 653-657.

EL KHADEM, H., SHARAM, NASSR, M.,. Saccharide oxadiazoles. *Carbohydrate Research*. 1970, 13, 470-471.

FARACO, A.A.G.; PRADO, M.A.F.; D'ACCORSO, N.B.; ALVES, R.J.; SOUZA FILHO, J.D.; PRADO, R.F. Synthesis and characterization of some nitrogen heterocycles from D-galactose derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1999, 36, 1129-1133.

GEORG, G.I.; BOGE, T.C.; CHERUVALLATH, Z.S.; HARRIMAN, G.C.B.; HEPPELLE, M.; PARK, H. Schotten-Baumann Acylation of *N*-Debenzoyltaxol; An Efficient Route to *N*-Acyl Taxol Analogues and Their Biological Evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 1994, 4 (2), 335-338.

GEORGOPAPADAKOU, N.H. Antifungals: mechanism of action and resistance, established and novel drugs. *Current Opinion in Microbiology*. 1998, 1, 547-557.

GREENE, T.W.; WULFS, P.G.M. *Protective Groups in Organic Chemistry*. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 2007. 1082p.

JANIAK, A.M.; HOFFMANN, M.; MILEWSKAB, M.J.; MILEWSKI, S. Hydrophobic Derivatives of 2-Amino-2-deoxy-D-glucitol-6-phosphate: A New Type of D-Glucosamine-6-phosphate Synthase Inhibitors with Antifungal Action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2003, 11, 1653–1662.

JEDRZEJCZAK, R.; WOJCIECHOWSKI, M.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; SOWINSKI, P.; KOT-WASIK, A.; MILEWSKI, S. Inactivation of Glucosamine-6-Phosphate Synthase by N^3 -Oxoacyl Derivatives of L-2,3-Diaminopropanoic Acid. **ChemBioChem**. 2012, 13, 85-96.

JURSIC, B.S.; PATEL, P.K. Cyclomaltooligosaccharide-assisted spectroscopic discrimination of phthalimido-derived amino acids through the formation of molecular aggregates. **Carbohydrate Research**. 2006, 341, 2858-2866.

HORSCH, M.; MAYER, C.; SENNHAUSER, U.; RAST, D. M. β -N-acetylhexosaminidase: a target for the design of antifungal agents. **Pharmacology Therapeutics**. 1997, 76, 187-218.

KASHELIKAR, D.V.; RESSLER, C. An Oxygen-18 Study of the Dehydration of Asparagine Amide with N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide and *p*-Toluenesulfonyl Chloride. **Journal of the American Chemical Society**. 1964, 86, 2467-2473.

KERESZTESY, J.; ZAMBITO, A.J.; BABSON, R.D. 3-amino-4-hydroxy-L-(-)-butyramide hydrochloride. **J. Med. Chem**. 1971, 14 (11), 1142-1143.

KHAYER, K.; JENN, T.; AKHTAR, M.; JOHN, R.; GANI, D. Synthesis of (*R*)- and (*S*)-2,3-diaminopropyl sulfate: mechanism based inhibition of glutamate 1-semialdehyde aminomutase. **Tetrahedron Letters**. 2000, 41, 1637–1641.

KÖK, G.; KARAYILDIRIM, T.; AY, H.; AY, E. The Knoevenagel-Doebner Reaction on 1,2-O-(2,2,2-Trichloroethylidene) Derivatives of D-Glucos- and D-Mannos- furanose. **Molecules**. 2010, 15, 7724-7731.

LE CAMUS, C.; CHASSAGNE, A.; BADET-DENISOT, M.A.; BADET, B. Stereoselective Synthesis of 5-Methylphosphono-D-Arabinose Hydroximolactone, Inhibitor of Glucosamine-6-Phosphate Synthase and Phosphoglucose Isomerase. **Tetrahedron Letters**. 1998, 39, 287-288.

LE CAMUS, C.; BADET-DENISOT, M.A.; BADET, B. Arabinose-5-Phosphate Oxime vs its Methylene phosphonate Mimetic as High Energy Intermediate of the Glucosamine-6P Synthase Catalyzed Reaction. **Tetrahedron Letters**. 1998, 39, 2571-2572.

LETSCHER-BRU, V.; HERBRECHT, R. Caspofungin: the first representative of a new antifungal class. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 2003, 51, 513–521.

LI, H.Y.; MORISSEAU, C.; HAMMOCK, B.D.; LOMG, Y.D. The 5-substituted piperazine as a novel secondary pharmacophore greatly improving the physical properties of urea-based inhibitors of soluble epoxide hydrolase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2006, 14, 6586-6592.

LIN, H.; YANG, X.X.; WANG, DE.X. An expedient synthesis of peptidyl *N*-alkylamides by "HOPE" strategy. *Chinese Chemical Letters*. 2012, 23, 565-568.

MARSHALL, N.J.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; GUPTA, S.; MILEWSKI, S.; PAYNE, J.W. Structure–activity relationships for a series of peptidomimetic antimicrobial prodrugs containing glutamine analogues. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, 51, 821–831.

MELCER, A.; LACKA, I.; GABRIEL, I.; WOJCIECHOWSKI, M.; LIBEREK, B.; WISNIEWSKI, A.; MILEWSKI, S. Rational design of *N*-alkyl derivatives of 2-amino-2-deoxy-D-glucitol-6P as antifungal agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007, 17, 6602–6606.

MILEWSKI, S.; HOFFMANN, M.; ANDRUSZKIEWICZ, R.; BOROWSKI, E. Investigation of Mechanism of Nitrogen Transfer in Glucosamine 6-Phosphate Synthase with the Use of Transition State Analogs. *Biorganic Chemistry*. 1997, 25, 283–296.

MILEWSKI, S. Glucosamine-6-phosphate synthase—the multi-facets enzyme. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002, 1597, 173–192.

MILEWSKI, S.; JANIĄK, A.; WOJCIECHOWSKI, M. Structural analogues of reactive intermediates as inhibitors of glucosamine-6-phosphate synthase and phosphoglucose isomerase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2006, 450, 39–49.

MOUFFOUK, F.; MORERE, A.; VIDAL, S.; LEYDET, A.; MONTERO, J.L. Selective Removal of Benzyl Carbonate Used as a Protecting Group in Carbohydrate Chemistry. *Synthetic Communications*. 2004, 34 (2), 303-307.

MOUILLERON, S.; BADET-DENISOT, M.A.; GOLINELLI-PIMPANEAU, B. Glutamine Binding Opens the Ammonia Channel and Activates Glucosamine-6P Synthase. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006, 281 (7), 4404–4412.

- MOUILLERON, S.; BADET-DENISOT, M.A.; BADET, B.; GOLINELLI-PIMPANEAU, B. Dynamics of glucosamine-6-phosphate synthase catalysis. ***Archives of Biochemistry and Biophysics***. 2011, 505, 1-12.
- RAPOPORT, H.; WILLIAMS, A.R.; LOWE, O.G.; SPOONCER, W.W. The Hydrolysis of Some Cyanocinnamic Acids. ***Journal of the American Chemical Society***. 1953, 25, 1125-1128..
- RESSLER, C.; RATZKIN, H. Synthesis of β -Cyano-L-alanine and γ -Cyano- α -L-aminobutyric Acid, Dehydration Products of L-Asparagine and L-Glutamine; a New Synthesis of Amino Acid Nitriles. ***Journal of Organic Chemistry***. 1961, 36, 3356-3360.
- RUIZ-HERRERA, J.; SAN-BLAS, G. Chitin synthesis as a target for antifungal drugs. ***Current Drug Targets – Infectious Disorders***. 2003, 3, 77-91.
- PAUL, R.; KENDE, A. S. A Mechanism for the N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide-Caused Dehydration of Asparagine and Maleamic Acid Derivatives. ***Journal of the American Chemical Society***. 1964, 86, 4162-4166.
- PAUL, B.E. New antifungal agents and preparations. ***International Journal of Antimicrobial Agents***. 2000, 16, 147–150.
- RAJPUT, A.P.; GORE, R. N-Acylation in non-aqueous and aqueous medium- method of amide synthesis in non-peptide compounds. ***Der Pharma Chemica***. 2011, 3(3),409-421.
- ROSOWSKY, A.; VAIDYA, C.M.; BADER, H.; WRIGHT, J.E.; TEICHER, B.A. Analogues of N^α -(4-amino-4-deoxypteroyl)- N^δ -hemiphthaloyl-L-ornithine (pt523) Modified in the side chain: synthesis and biological evaluation. ***J. Med. Chem.*** 1997, 40, 286-299.
- SHENG, S.R.; LUO, Q.Y.; HUANG, P.G.; GUO, L.; WANG, Q.Y.; PEI, X.L. Palladium-catalyzed arylation of poly(ethylene glycol) bound acrylate with aryl iodides in water: a liquid-phase syntheses of trans-cinnamic acids. ***Journal of chemical research***. 2006, 1, 24-26.
- SILVA, T. H. A.; SILVA, M.; ALVARENGA, J. M.; BUTERA, A. P.; LAVORATO, E. N.; ALVES, R. J. Estudos de Modelagem Molecular de Novos Análogos de Glutamina Inibidores Potenciais de Glicosamina-6-fosfato Sintase. In: 33ª Reunião anual da SBQ, 2010, Águas de Lindóia. Livro de Resumos. São Paulo : SBQ, 2010. v. 1. p. MD25.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2007. 490p.

STEWART, J.M.; KLUNDT, I.; PEACOCK, K.; Addition of Nucleophilic Reagents to *o*- and *p*-Cyanostyrene. **Journal of Organic Chemistry**. 1960, 25, 913-917.

SUGIYAMA, K.; TAKAYANAGI, H.; NOGUCHI, E. Substituent effect on the solid-state photochemistry of cinnamic acid derivatives. **Nihon Daigaku Seisankogakubu Kenkyu Hokoku**, A: Rikokei, 2003, 36(1), 49-60.

TEPLYAKOV, A.; LERICHE, C.; OBMOLOVA, G.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M.A. From Lobry de Bruyn to enzyme-catalyzed ammonia channelling: molecular studies of D-glucosamine-6P synthase. **Nat. Prod. Rep.** 2002, 19, 60–69.

TEPLYAKOV, A.; LERICHE, C.; OBMOLOVA, G.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M.A. Channeling of Ammonia in Glucosamine-6-phosphate Synthase. **J. Mol. Biol.** 2001, 313, 1093-1102.

VALERIO-LEPINIEC, M.; AUMONT-NICAISE, M.; ROUX, C.; RAYNAL, B.; ENGLAND, P.; BADET, B.; BADET-DENISOT, M.A.; DESMADRILL, M. Analysis of the Escherichia coli glucosamine-6-phosphate synthase activity by isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 2010, 498, 95-104.

WALKER, B.; BROWN, M.F.; LYNAS, J.F.; MARTIN, S.L.; MCDOWELL, A.; BADET, B.; HILLA, A.J. Inhibition of Escherichia coli Glucosamine Synthetase by Novel Electrophilic Analogues of Glutamine-Comparison with 6-Diazo-5-oxo-norleucine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2000, 10, 2795-2798.

WOJCIECHOWSKI, M.; MILEWSKI, S.; MAZERSKI, J.; BOROWSKI, E. Glucosamine-6-phosphate synthase, a novel target for antifungal agents. Molecular modelling studies in drug design. **Acta Biochimica Polonica**. 2005, 52 (3), 647–653.

WU, X.A.; YING, P.; LIU, J.Y.; SHEN, H.S.; CHEN, Y.; HE, L. Lithium Chloride-Assisted Selective Hydrolysis of Methyl Esters Under Microwave Irradiation. **Synthetic Communications**. 2009, 39, 3459-3470.

XU, Y.; SHENG, C.; WANG, W.; CHE, X.; CAO, Y.; DONG, G.; WANG, S.; JI, H.; MIAO, Z.; YAO, J.; ZHANG, W. Structure-based rational design, synthesis and antifungal activity of oxime-containing azole derivatives. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters***. 2010, 20, 2942–2945.

YANG, L.; XU, X.; HUANG, Y.; ZHANG, B.; ZENG, C.; HE, H.; WANG, C.; HU, L. Synthesis of polyhydroxylated aromatics having amidation of piperazine nitrogen as HIV-1 integrase inhibitor. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters***. 2010, 20, 5469–5471.

ZHANG, L.; KAUFFMAN, G.S.; PESTI, J.A.; YIN, J. Rearrangement of N α -Protected L-Asparagines with Iodosobenzene Diacetate. A Practical Route to β -Amino-L-alanine Derivatives. ***Journal of Organic Chemistry***. 1997, 62, 6918–6920.

ZGÓDKA, D.; JEDERZEJCZAK, R.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. Amide and Ester Derivatives of N³-(4-Methoxyfumaroyl)-(S)-2,3-diaminopropanoic Acid: The Selective Inhibitor of Glucosamine-6-phosphate Synthase. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry***. 2001, 9, 931–938.

ZGÓDKA, D.; MILEWSKI, S.; BOROWSKI, E. A diffusible analogue of N³-(4-methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic acid with antifungal activity. ***Microbiology***. 2001, 147, 1955–1959.

APÊNDICE A
ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C
ESPECTROS DE MASSAS

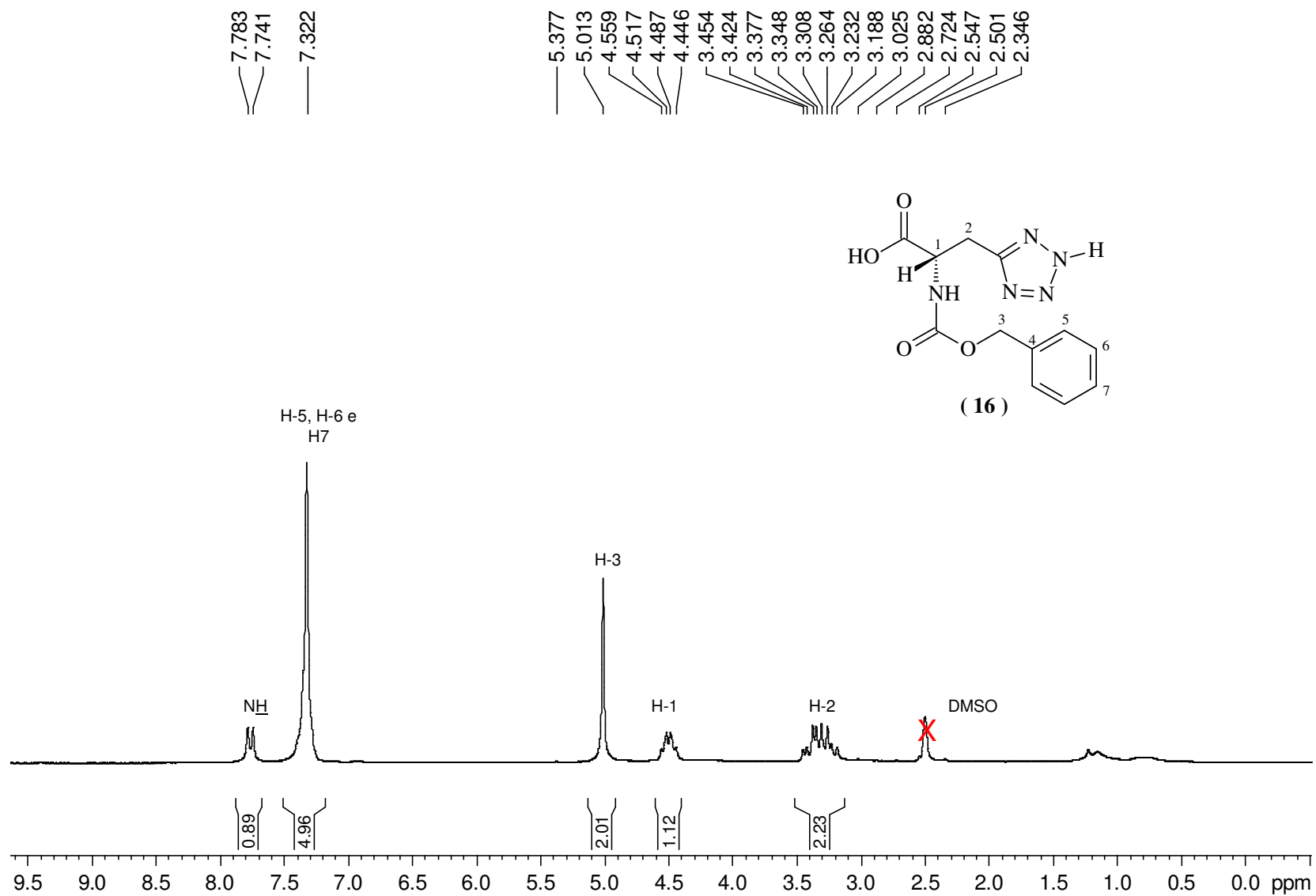
Figura A.1– Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 16.

Figura A.2 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 16.

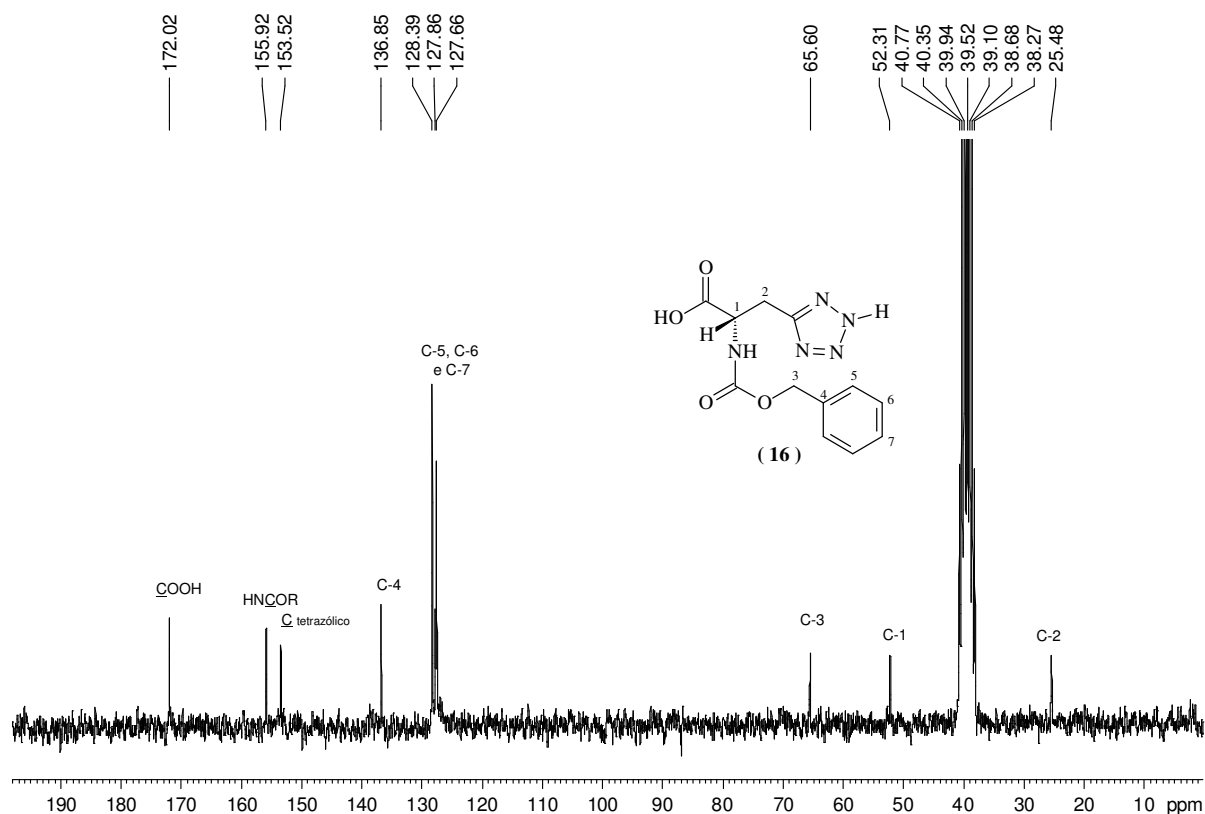


Figura A.3 – Espectro no IV de 16.

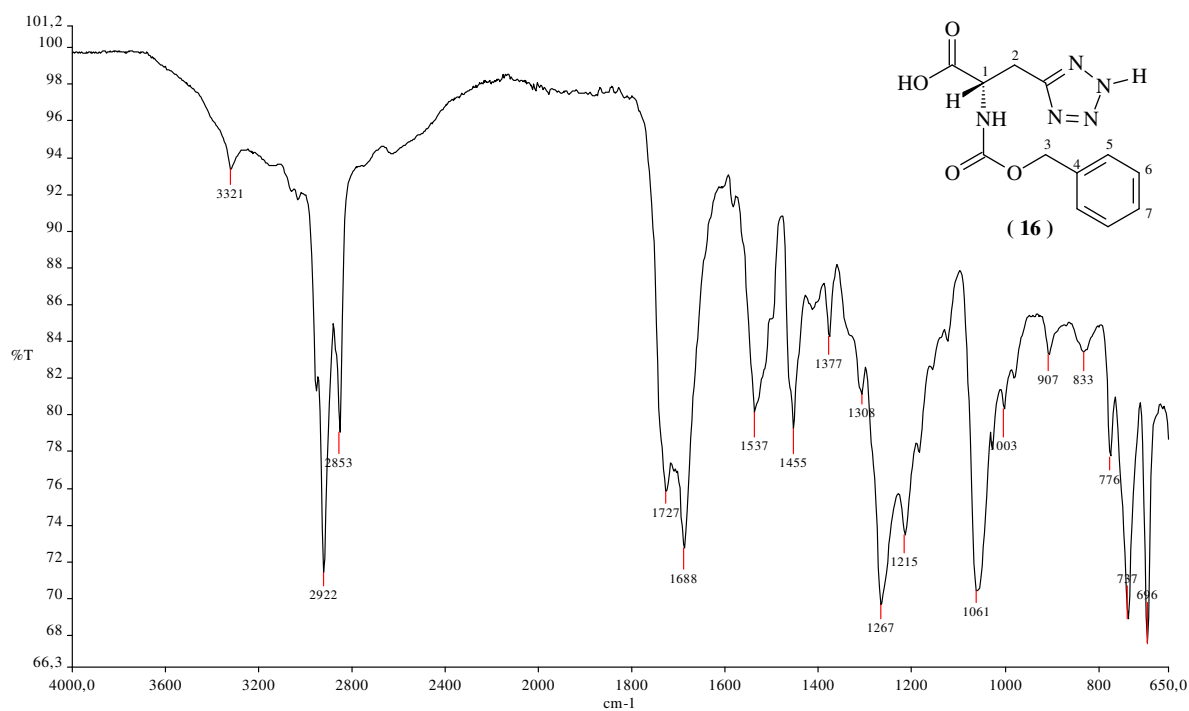


Figura A.4 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 2.

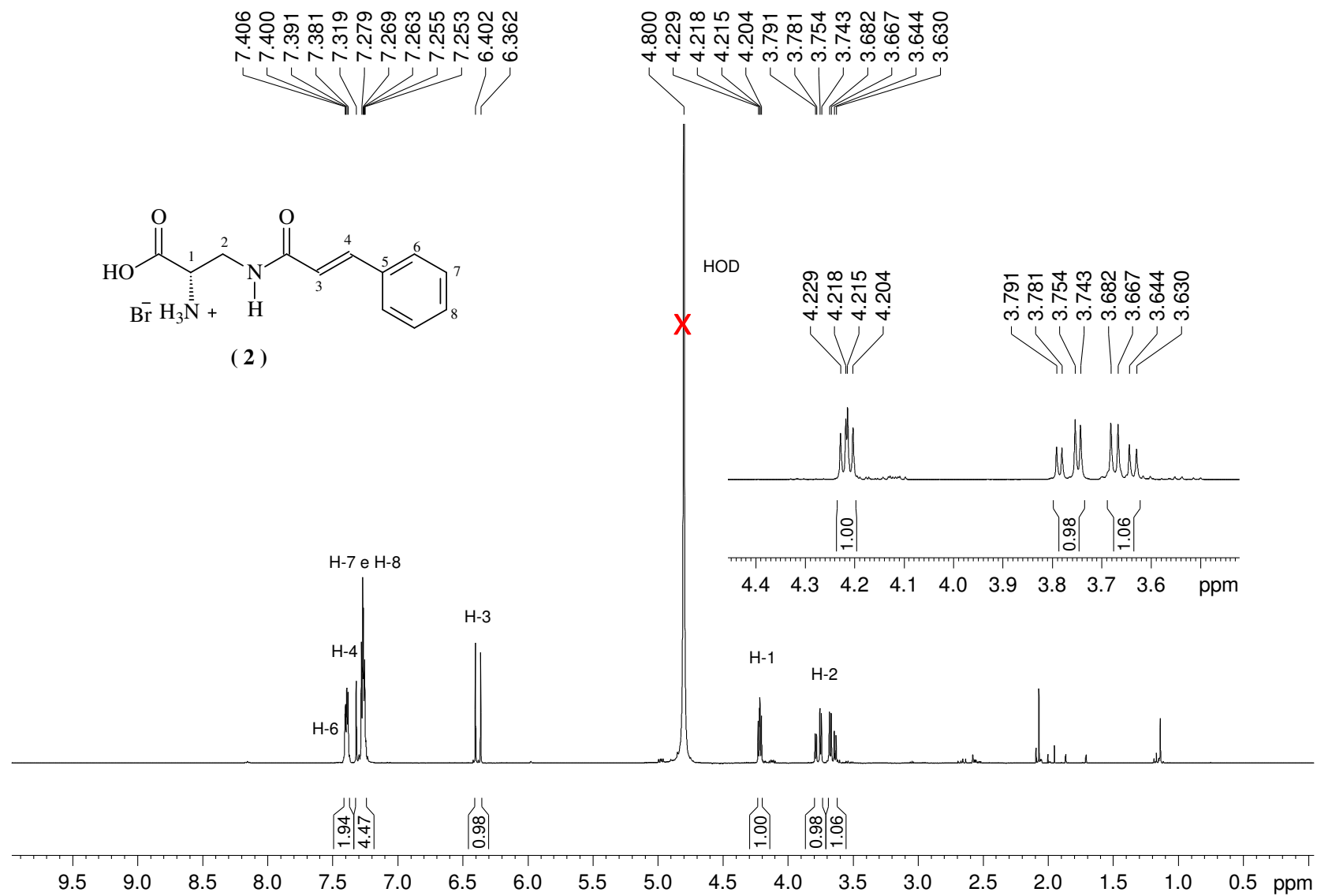


Figura A.5 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) de 2.

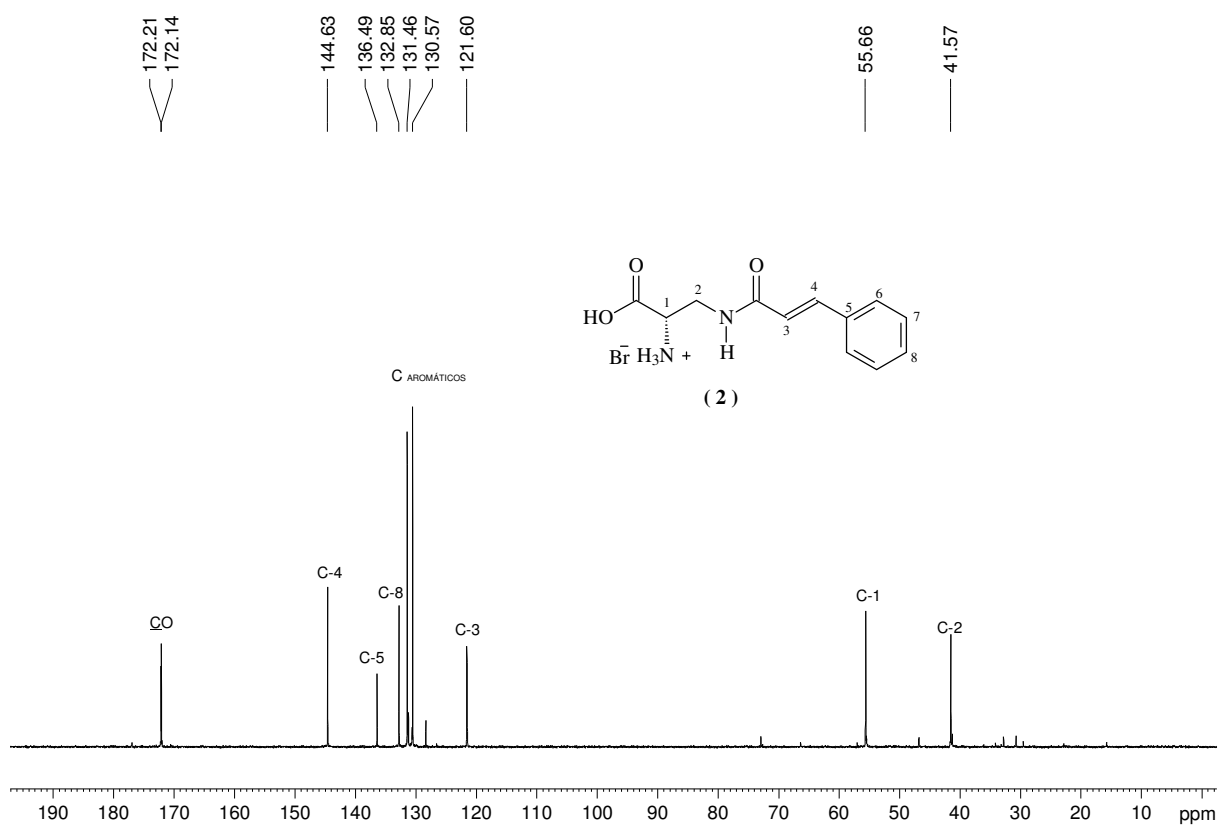


Figura A.6 – Espectro de Massas de 2.

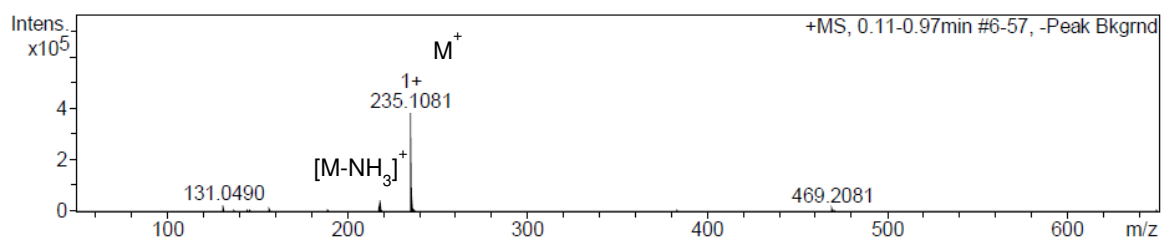


Figura A.7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 3.

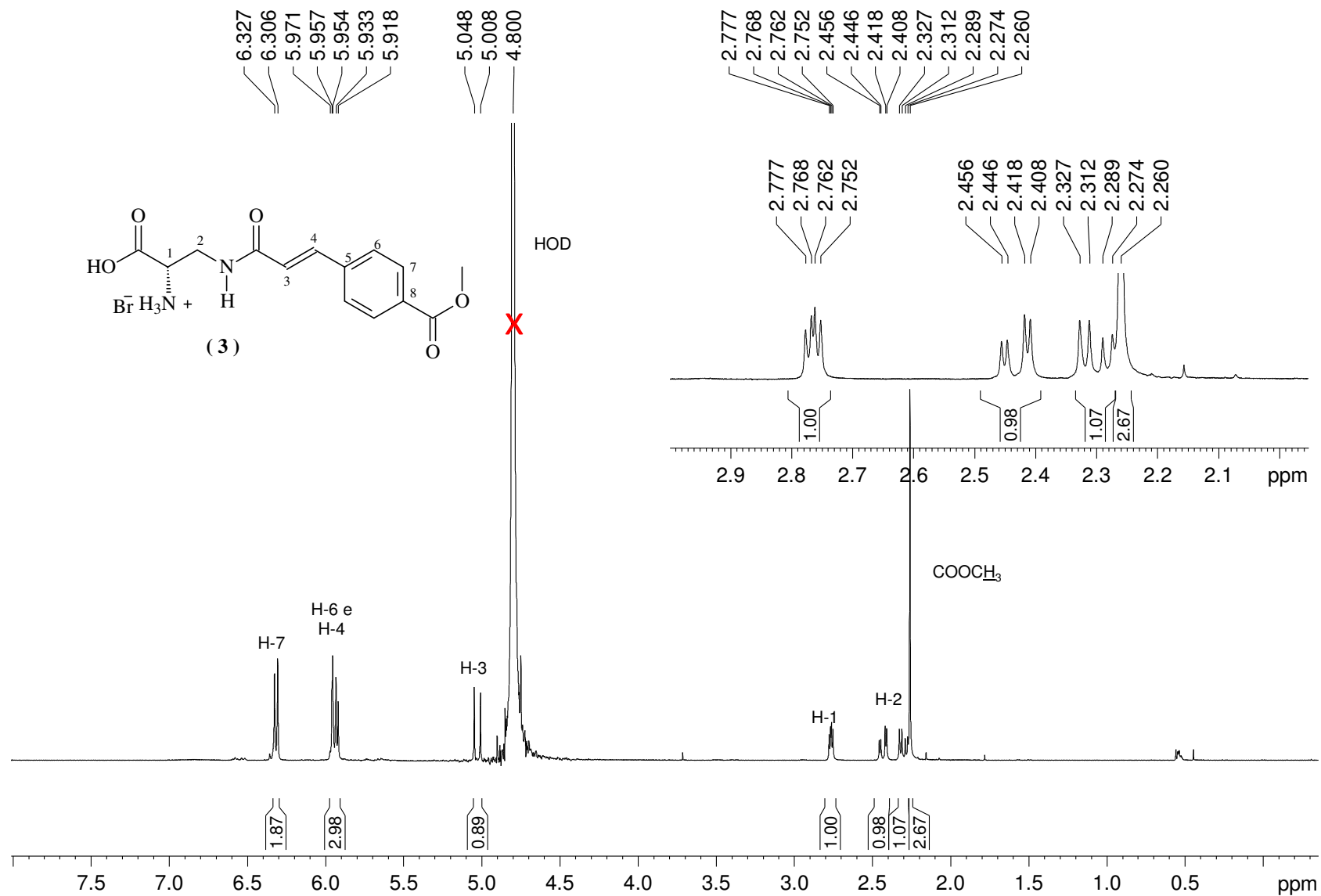


Figura A.8 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 3.

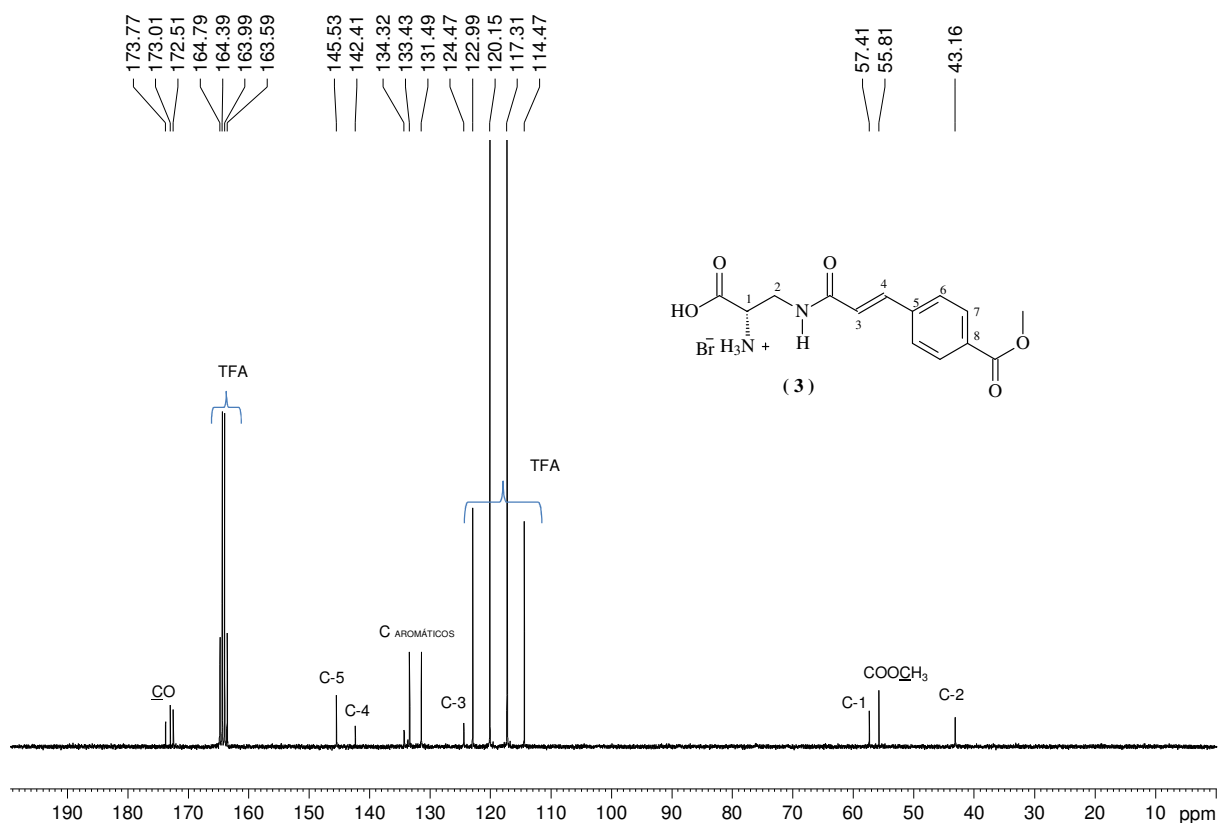


Figura A.9 – Espectro de Massas de 3.

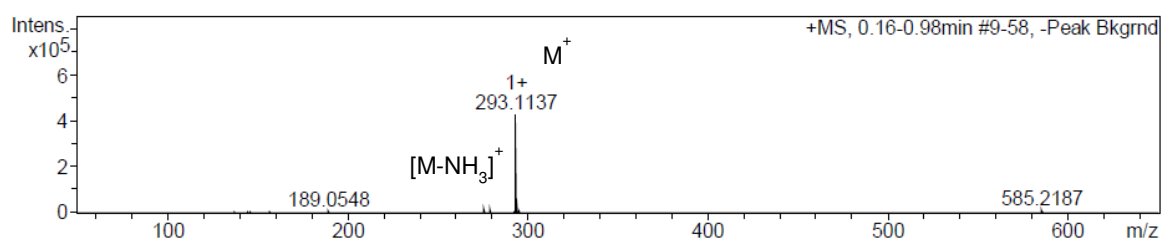


Figura A.10 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 4.

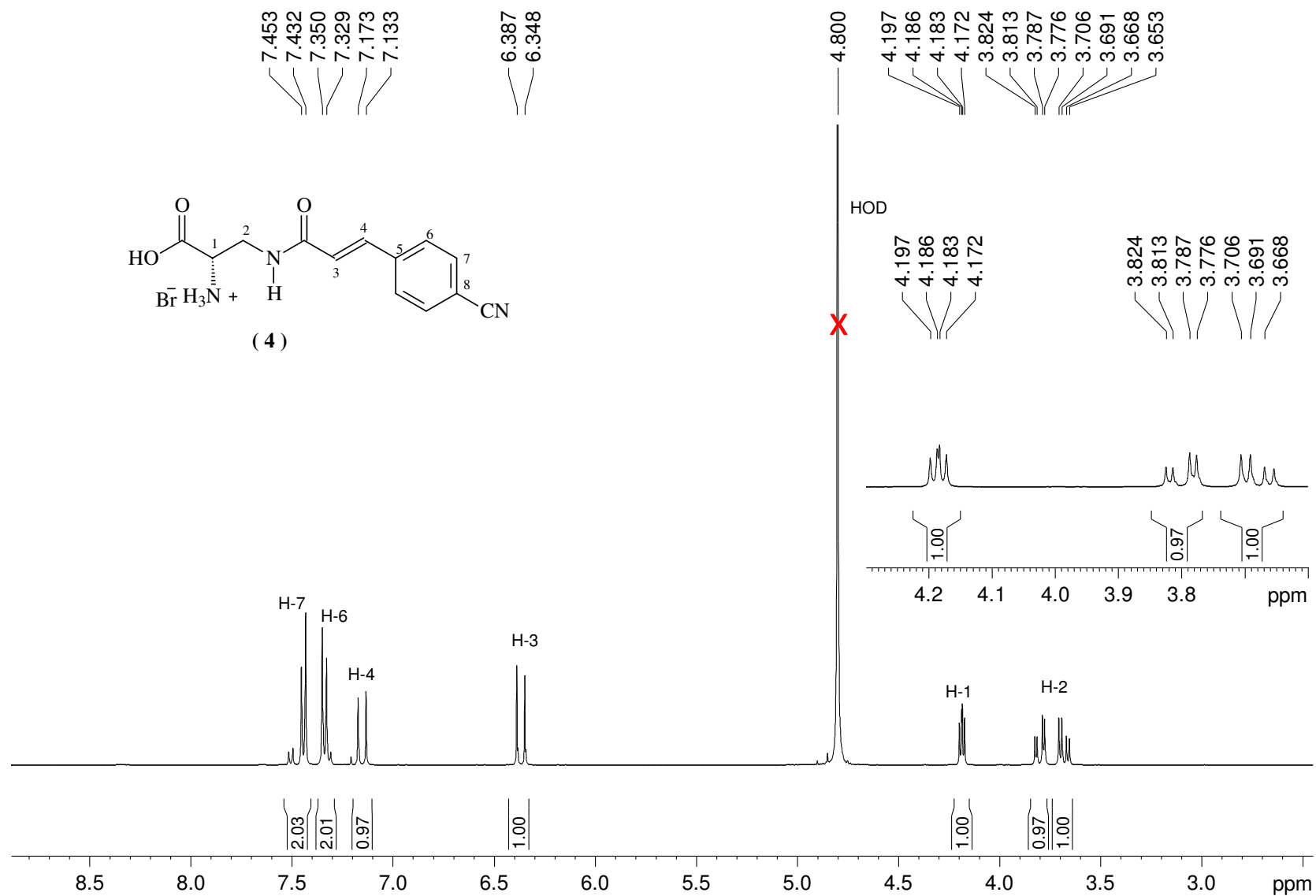


Figura A.11 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 4.

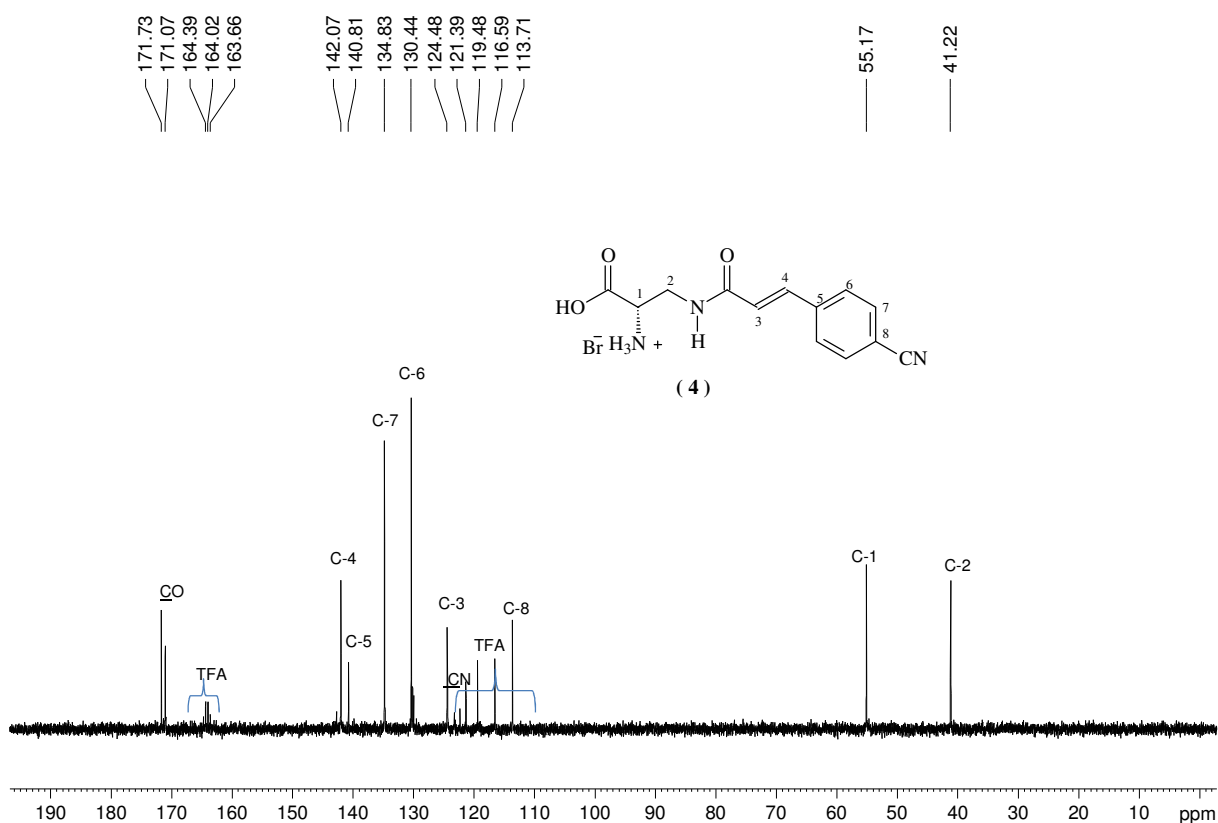


Figura A.12 – Espectro de Massas de 4.

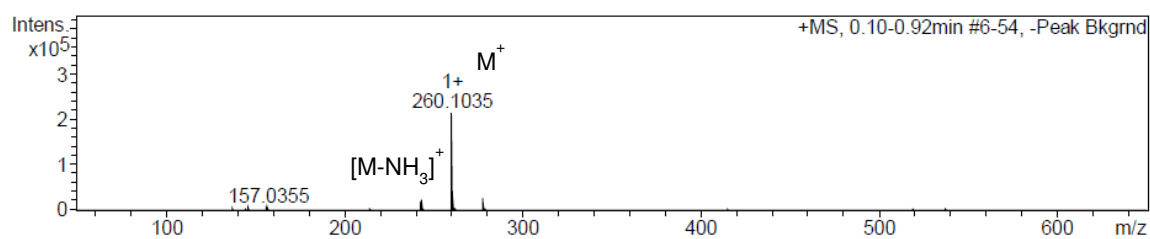


Figura A.13 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 5.

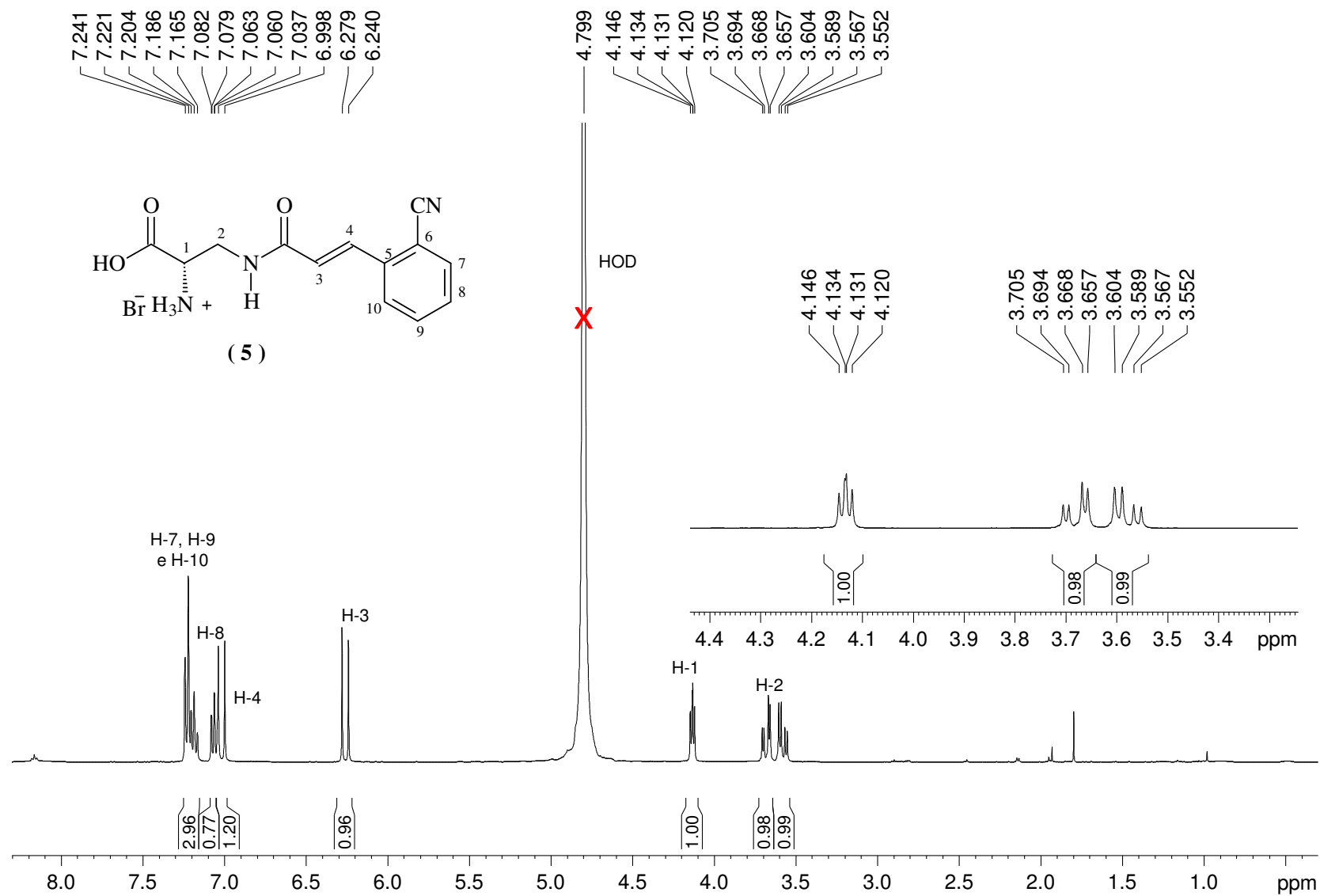


Figura A.14 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) de 5.

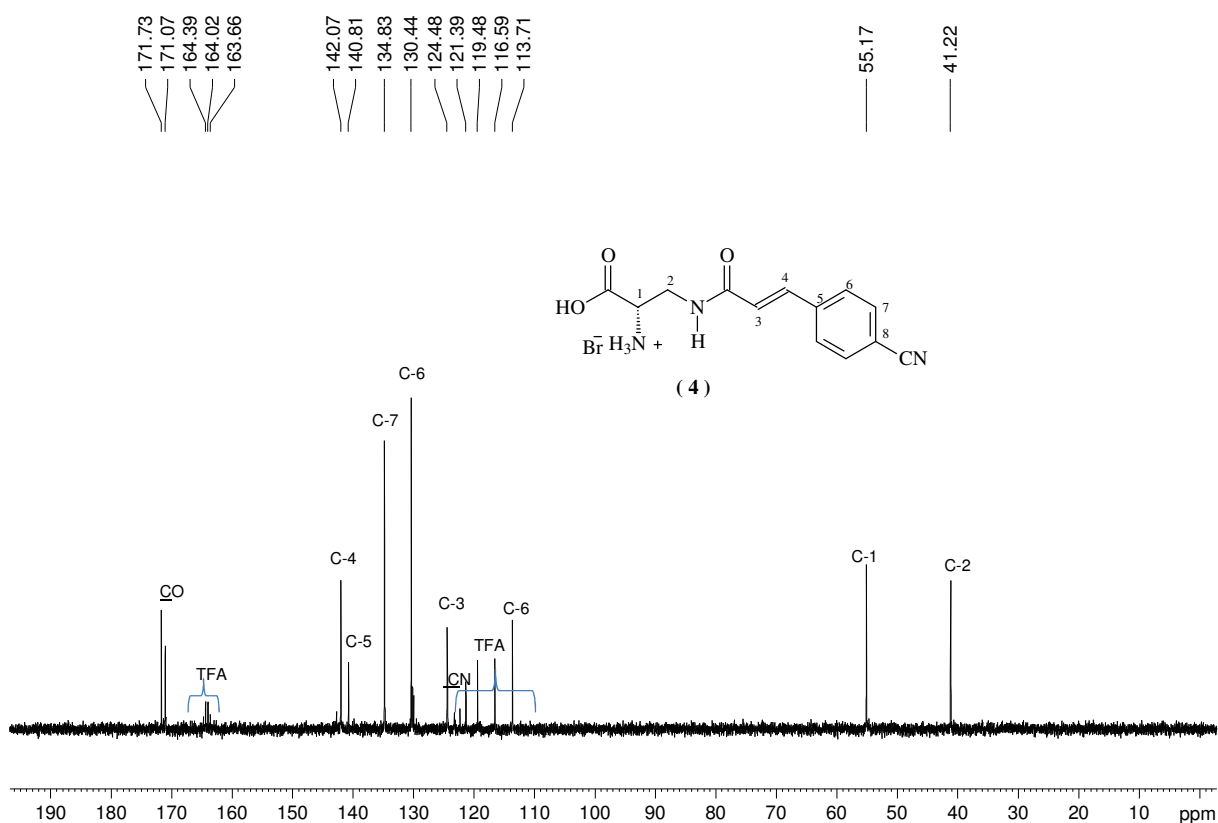


Figura A.15 – Espectro de Massas de 5.

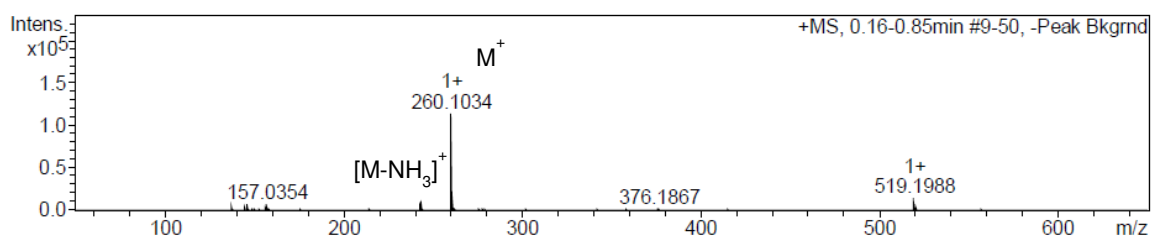


Figura A.16 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 6.

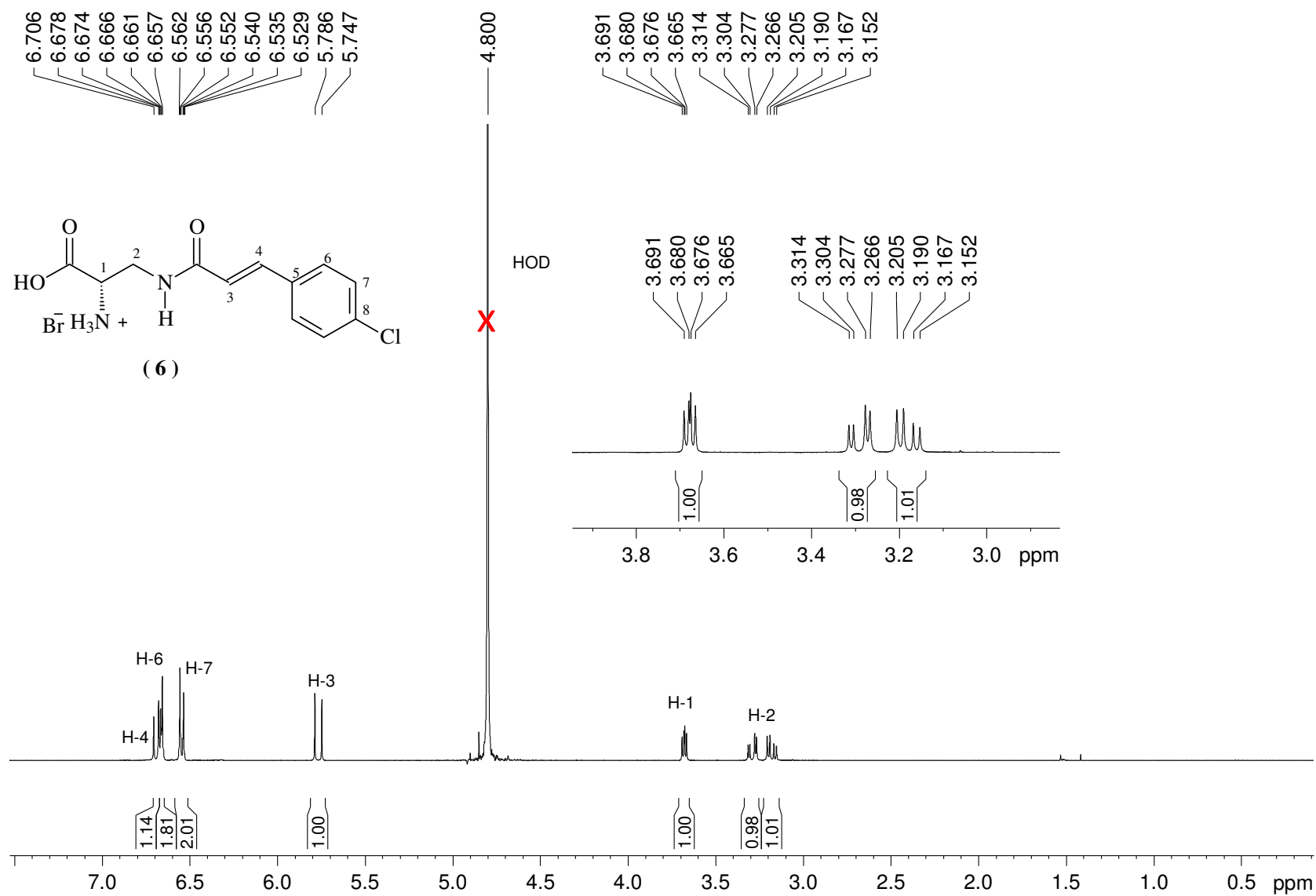


Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 6.

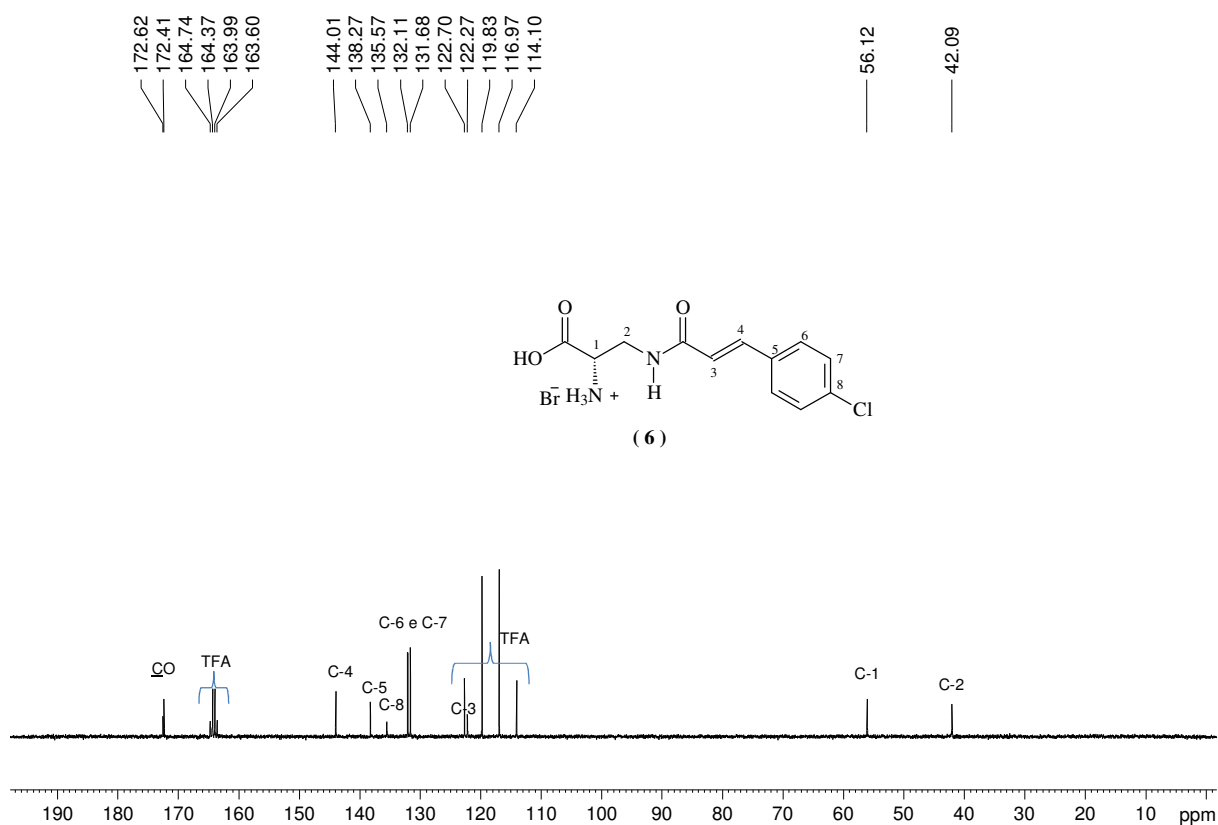


Figura A.18 – Espectro de Massas de 6.

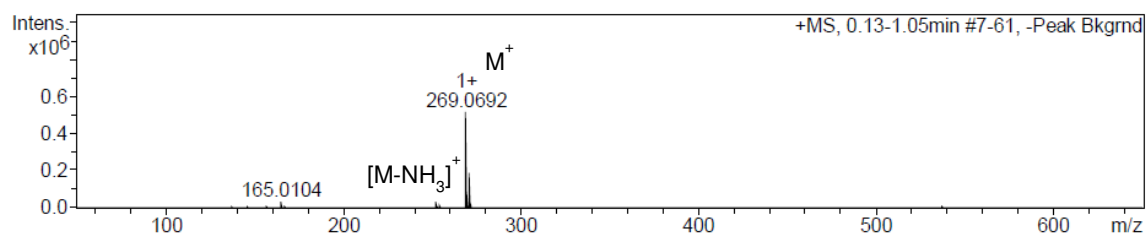


Figura A.19 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 7.

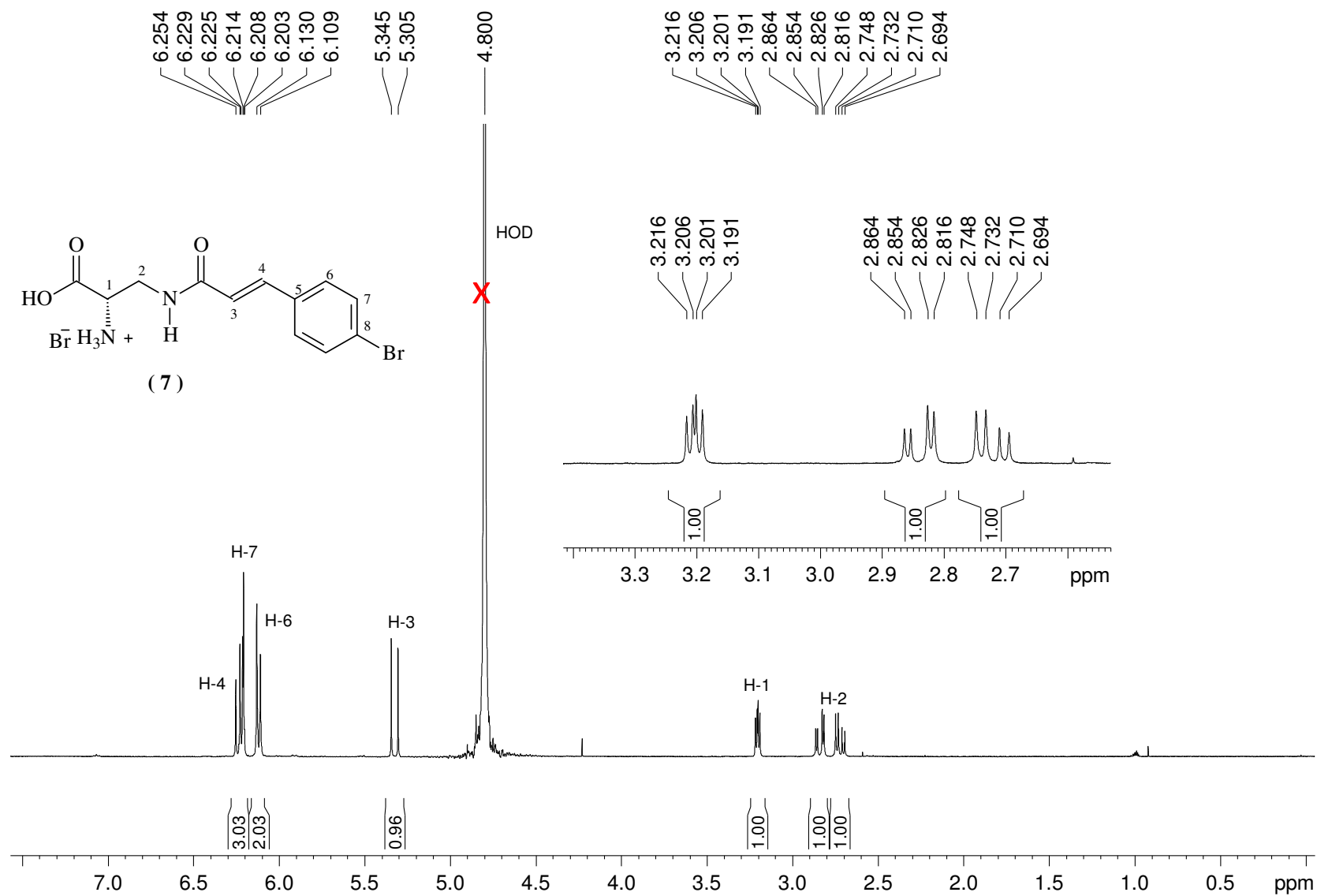


Figura A.20 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 7.

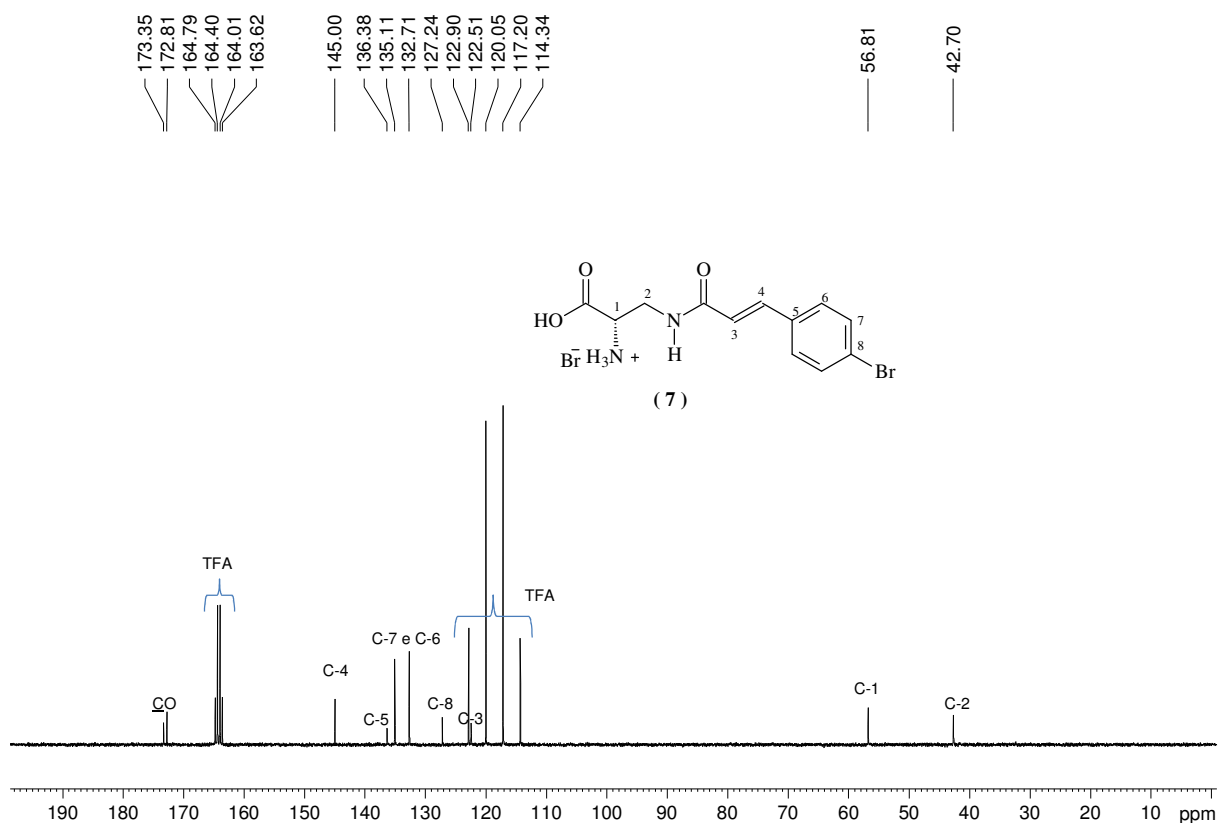


Figura A.21 – Espectro de Massas de 7.

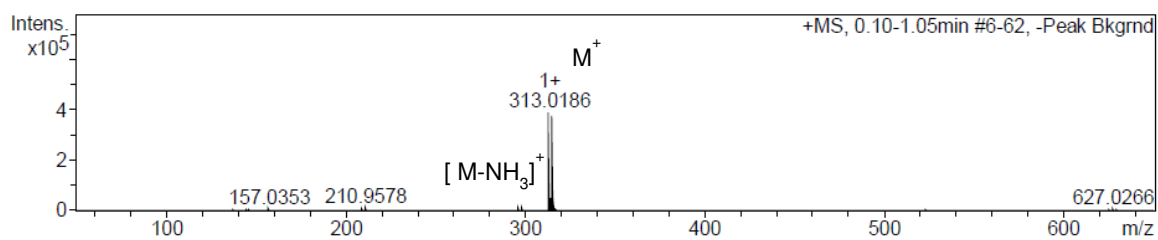


Figura A.22 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 8.

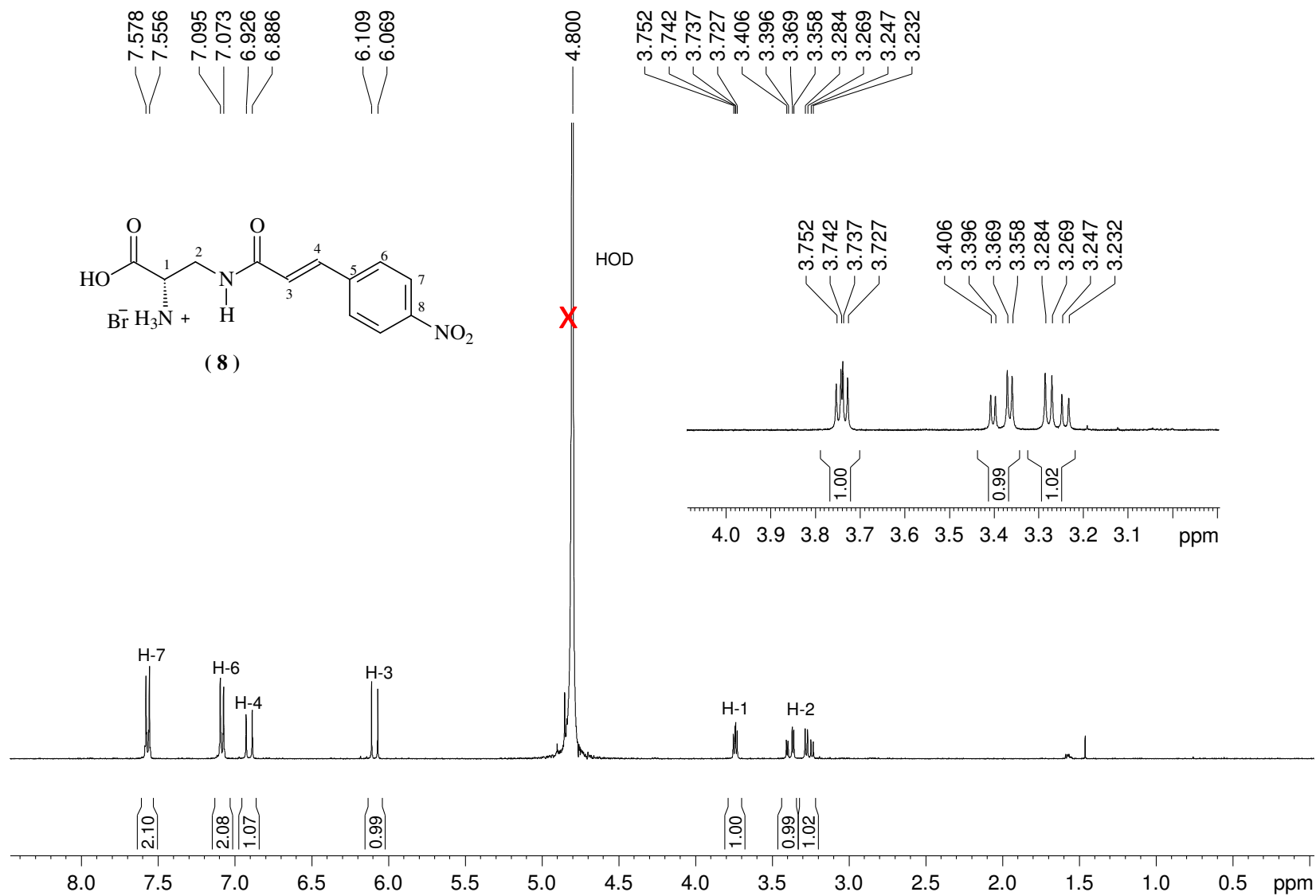


Figura A.23 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 8.

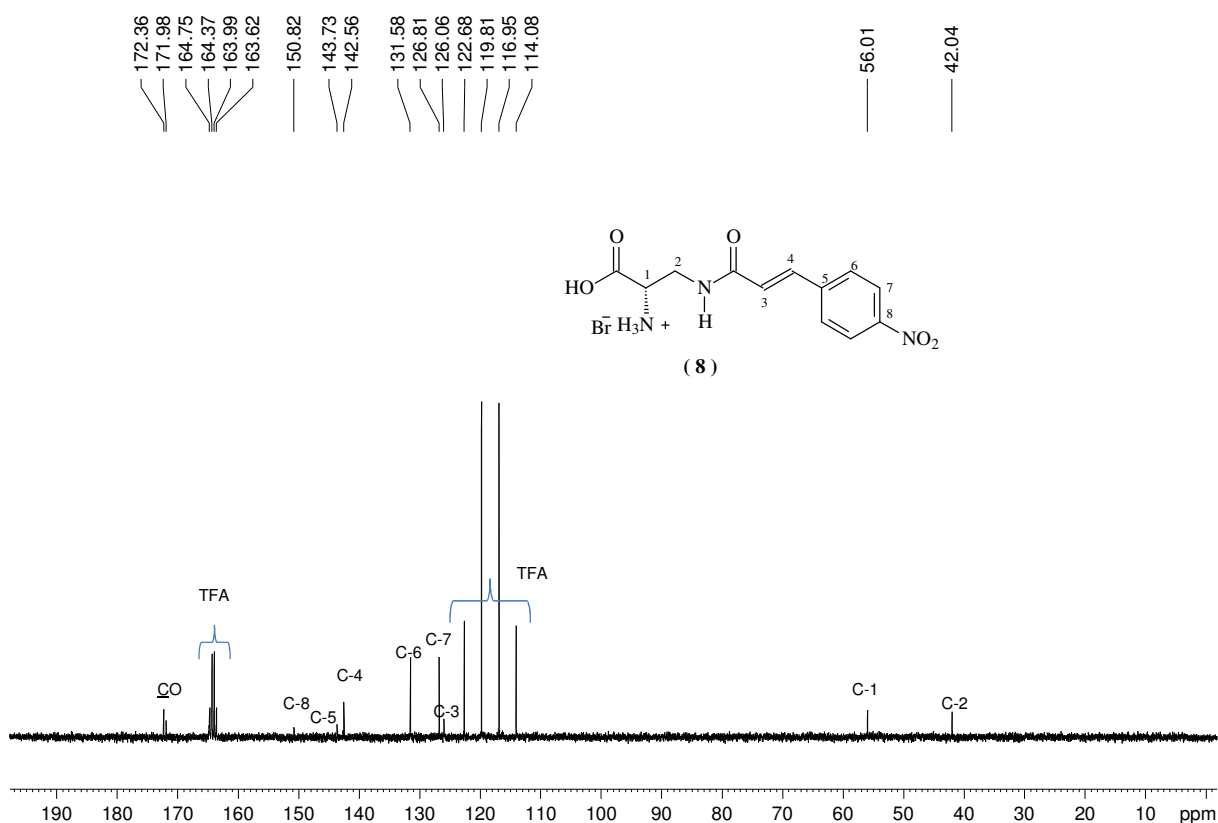


Figura A.24 – Espectro de Massas de 8.

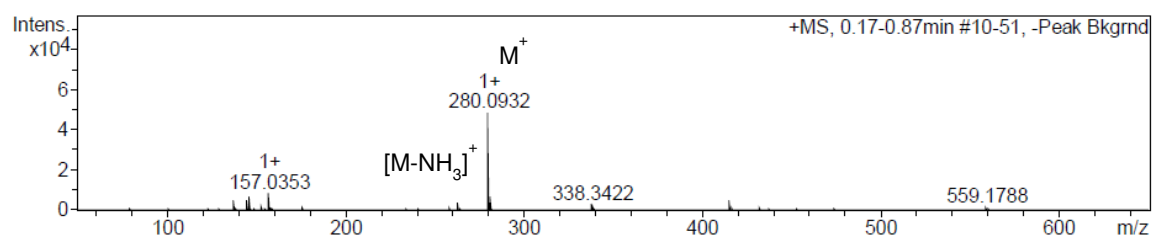


Figura A.25 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 9.

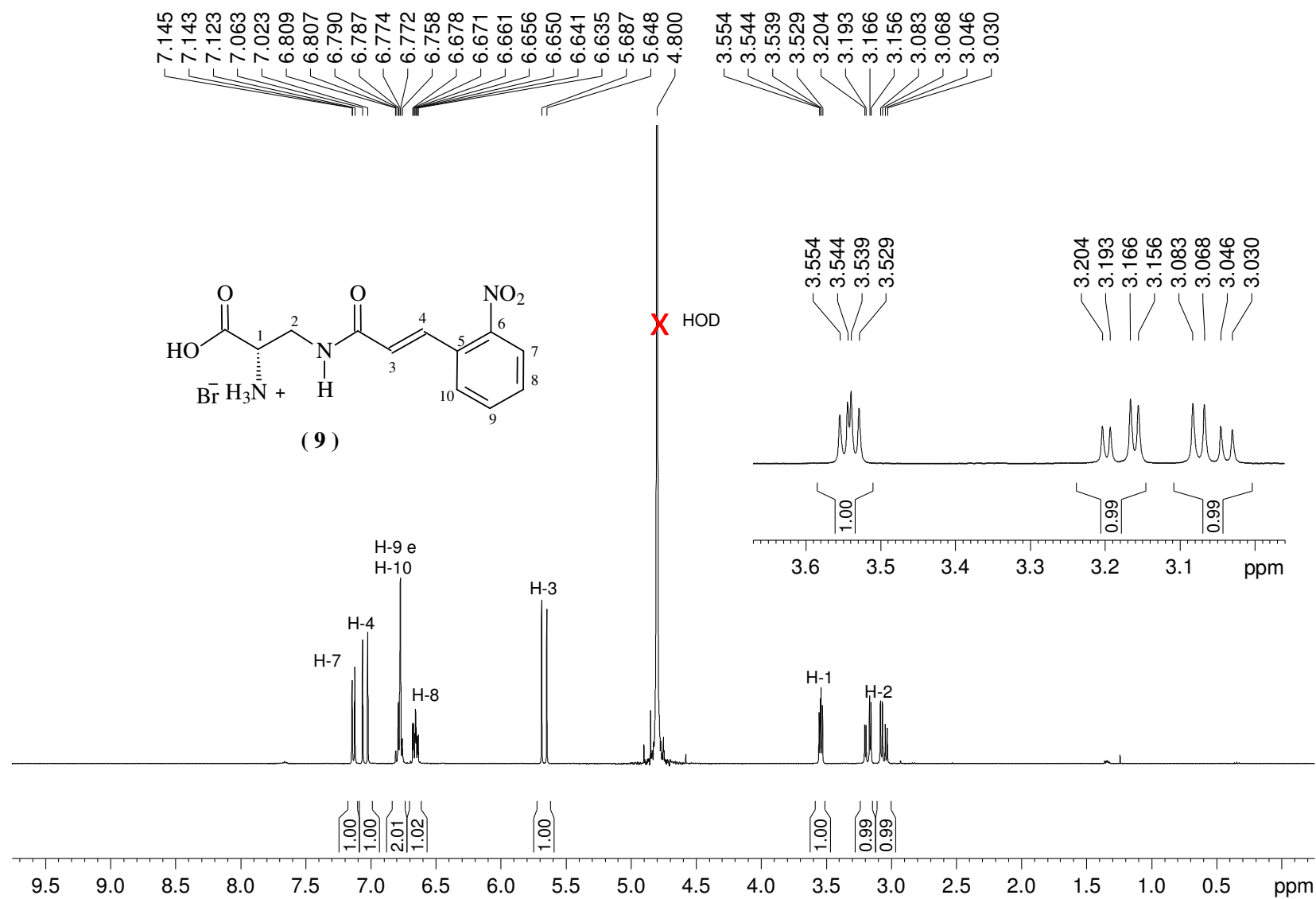


Figura A.26 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 9.

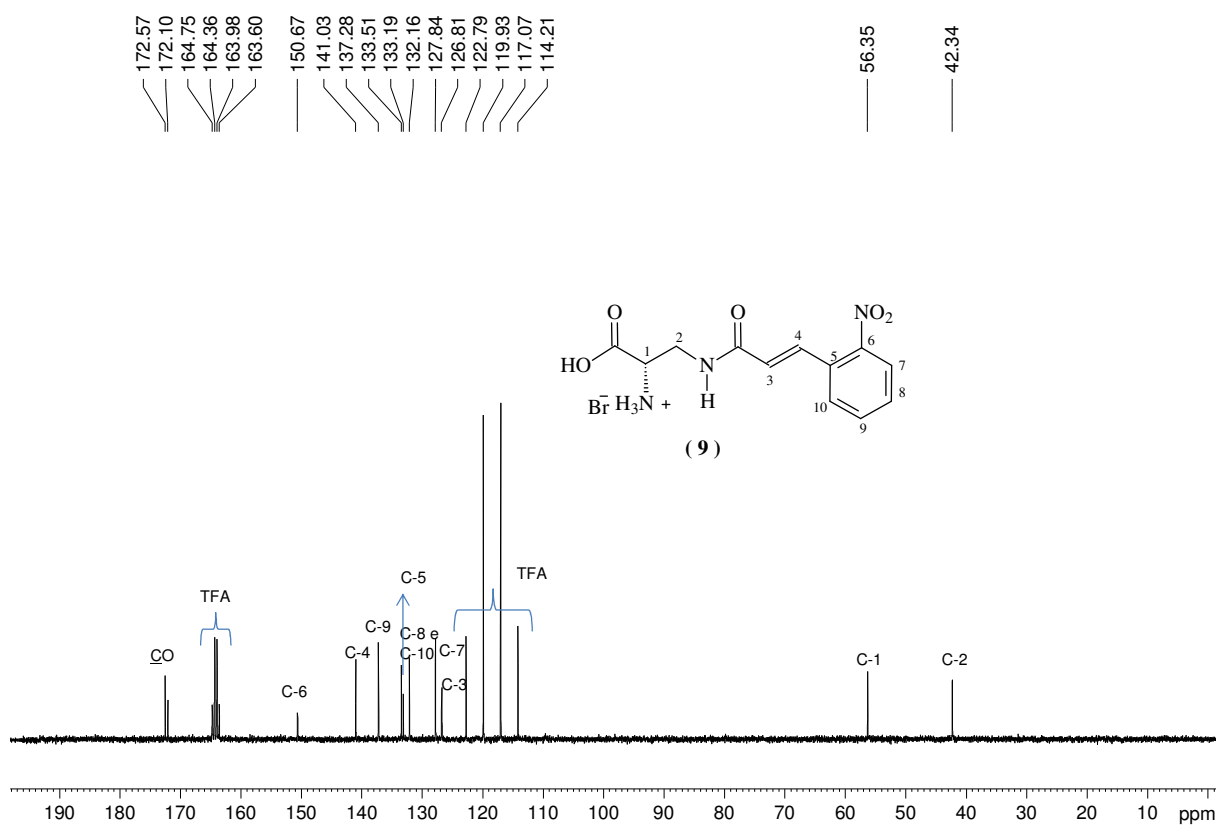


Figura A.27 – Espectro de Massas de 9.

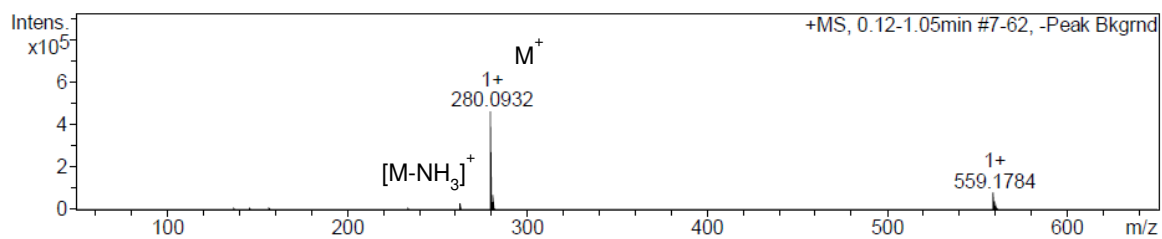


Figura A.28 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO/TFA) de 10.

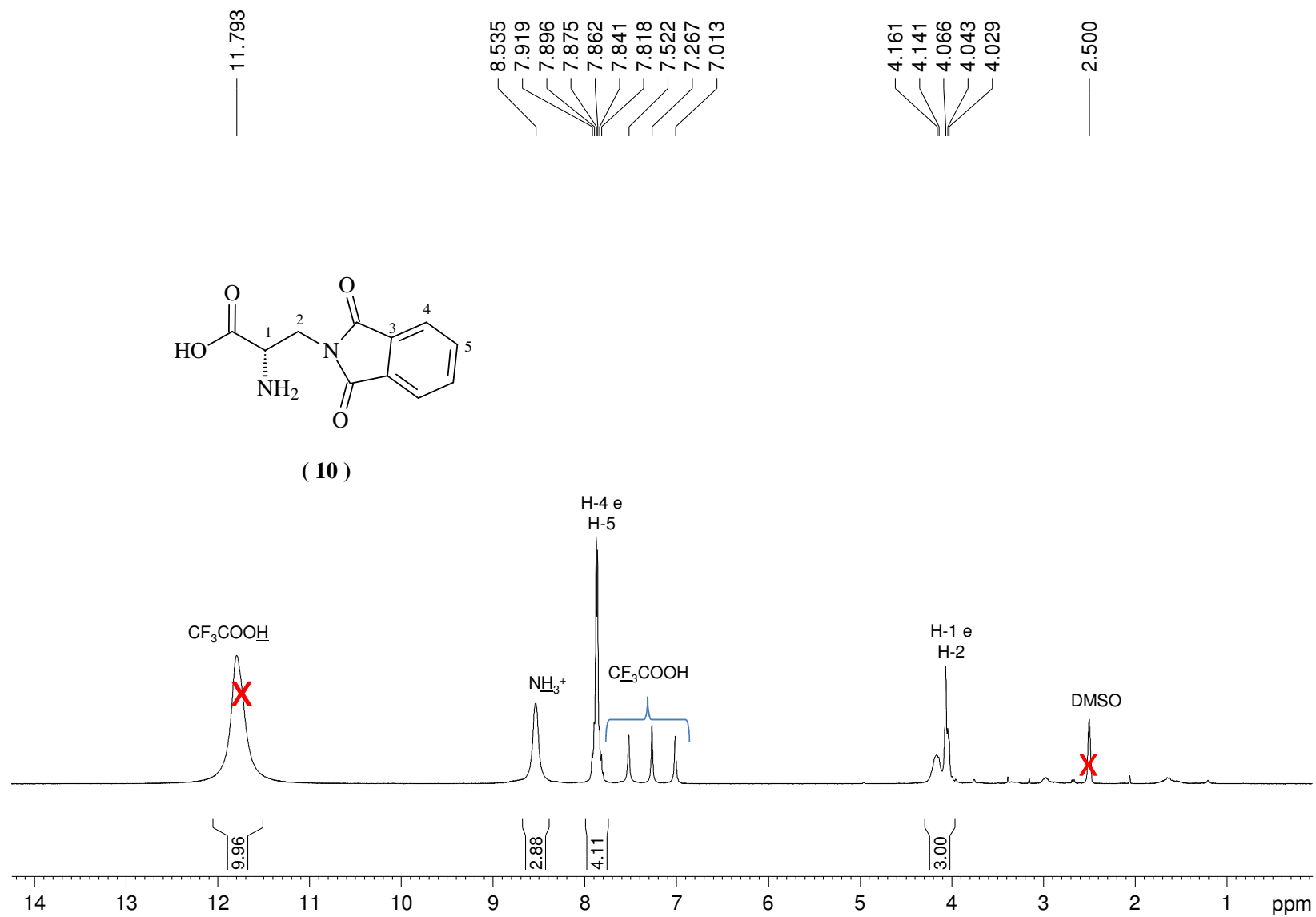


Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO/TFA) de 10.

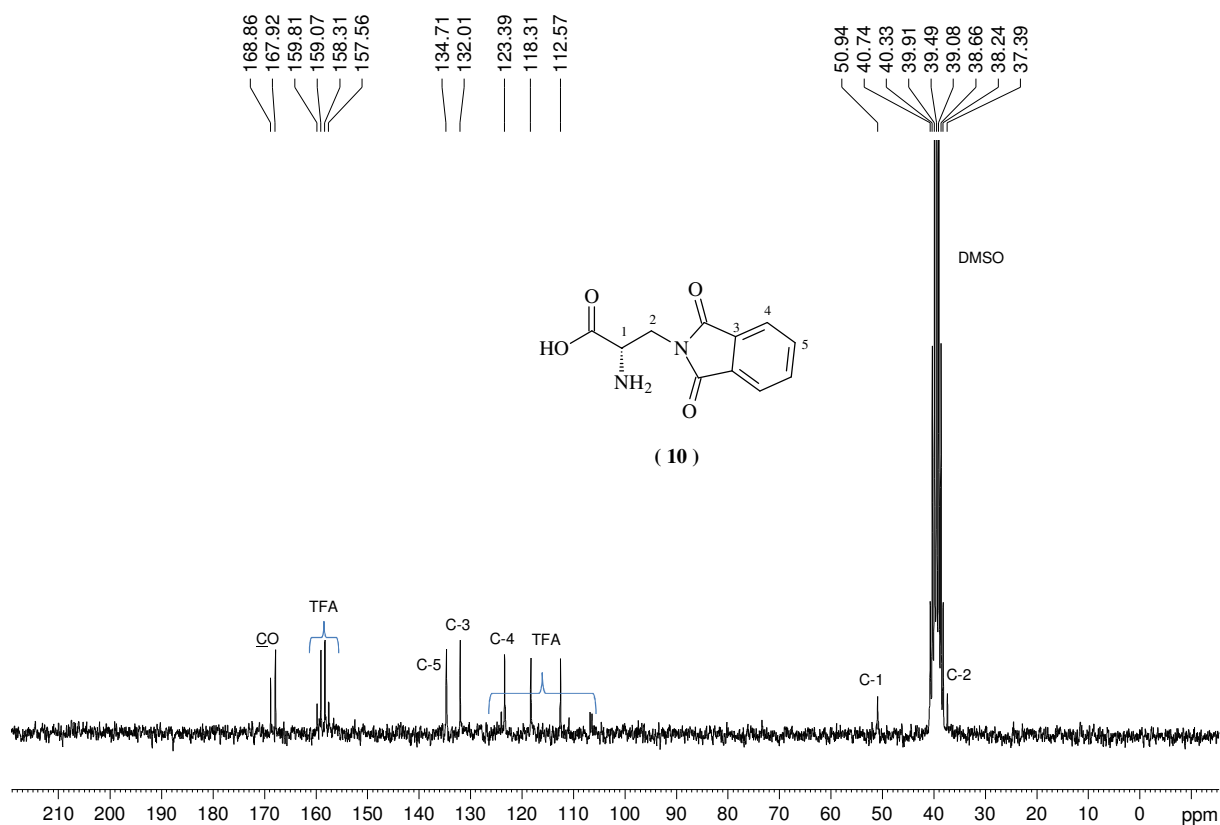


Figura A.30 – Espectro de Massas de 10.

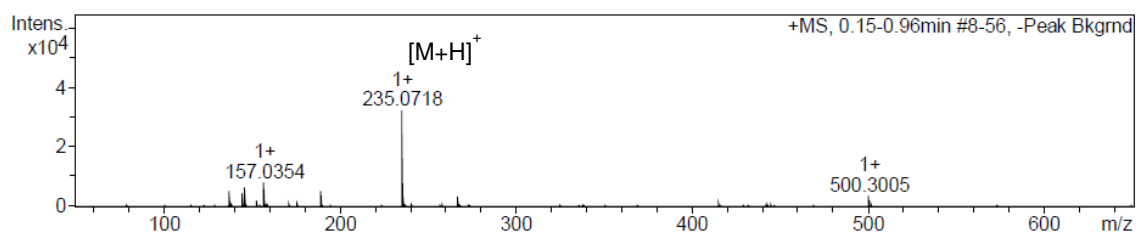


Figura A.31 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 11.

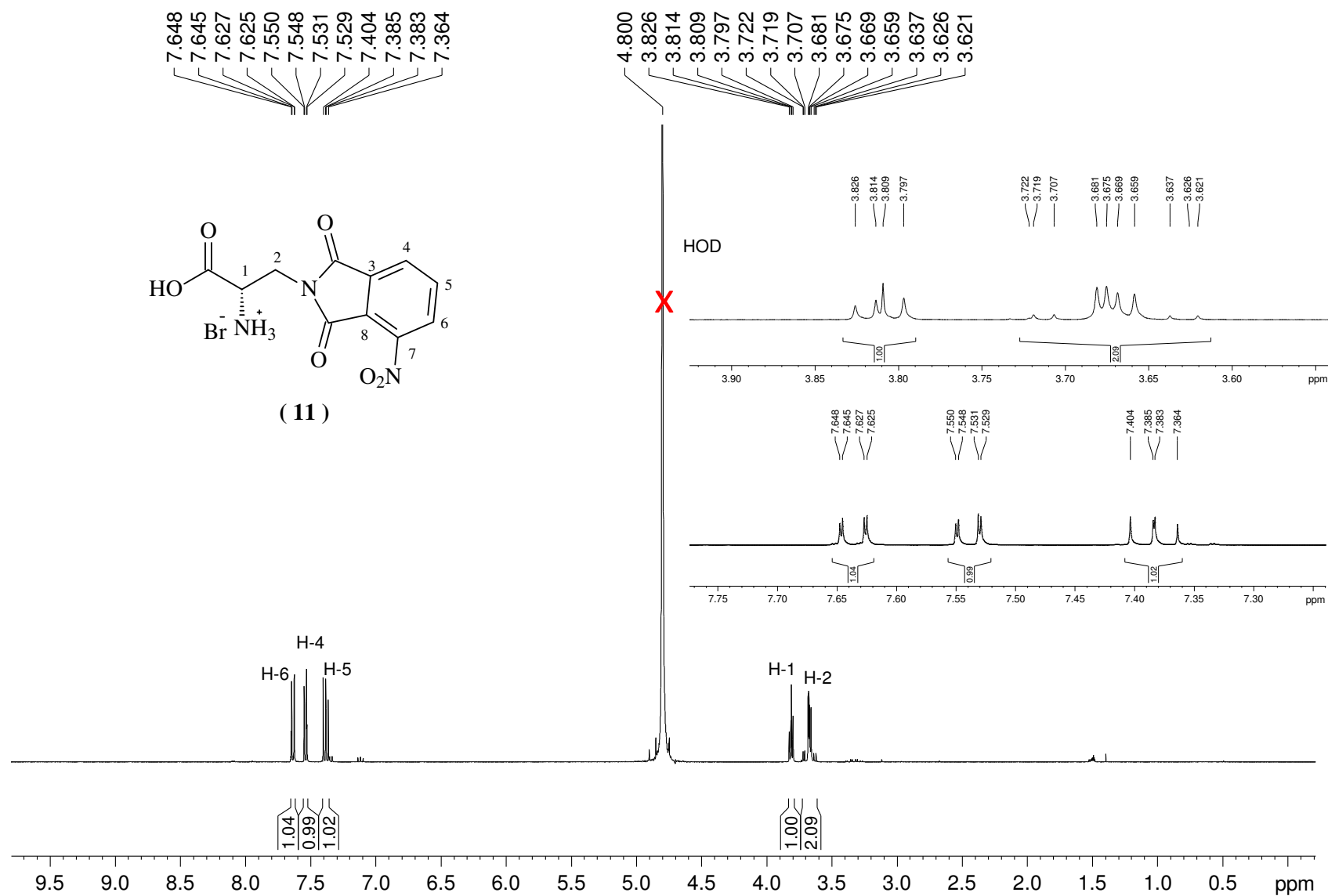


Figura A.32 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 11.

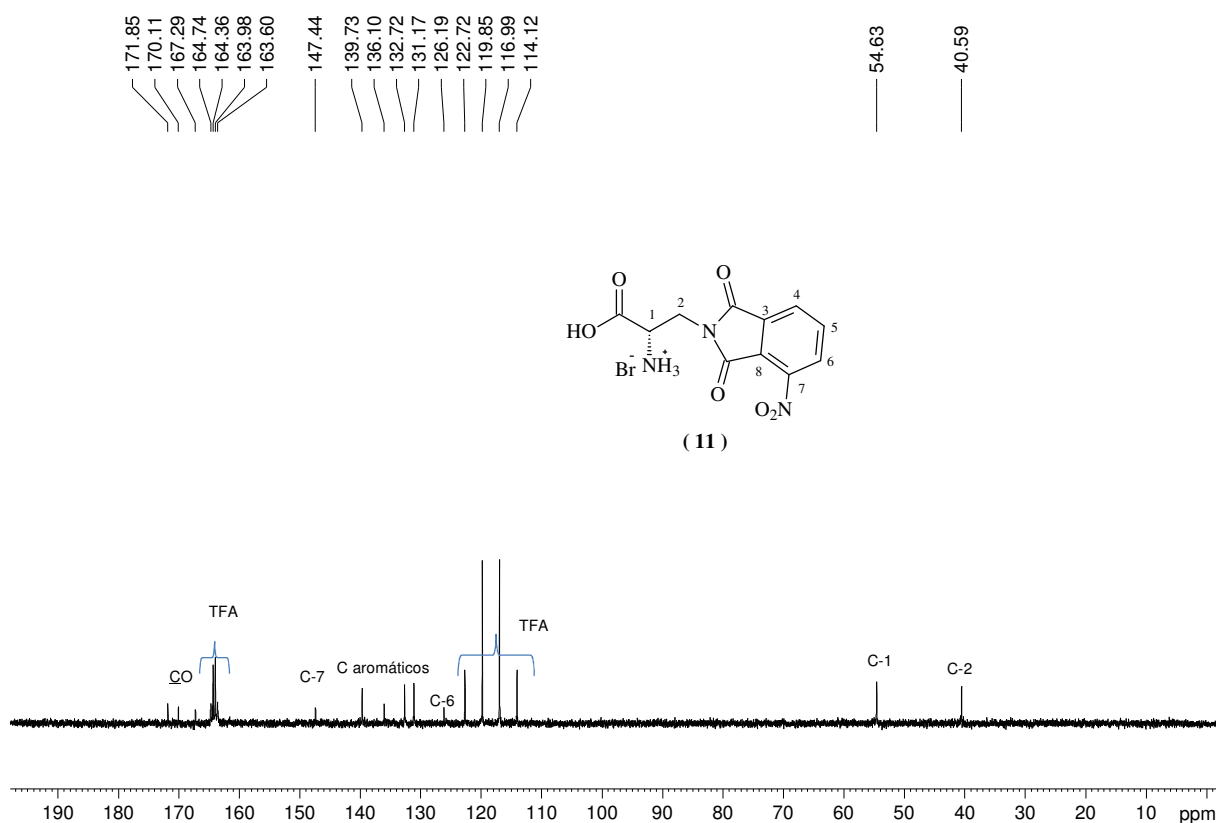


Figura A.33 – Espectro de Massas de 11.

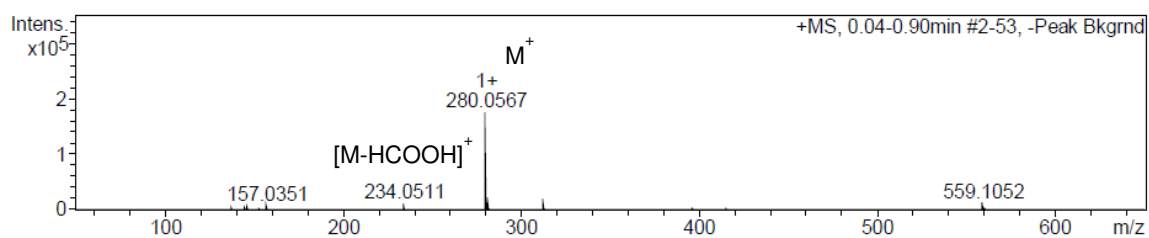


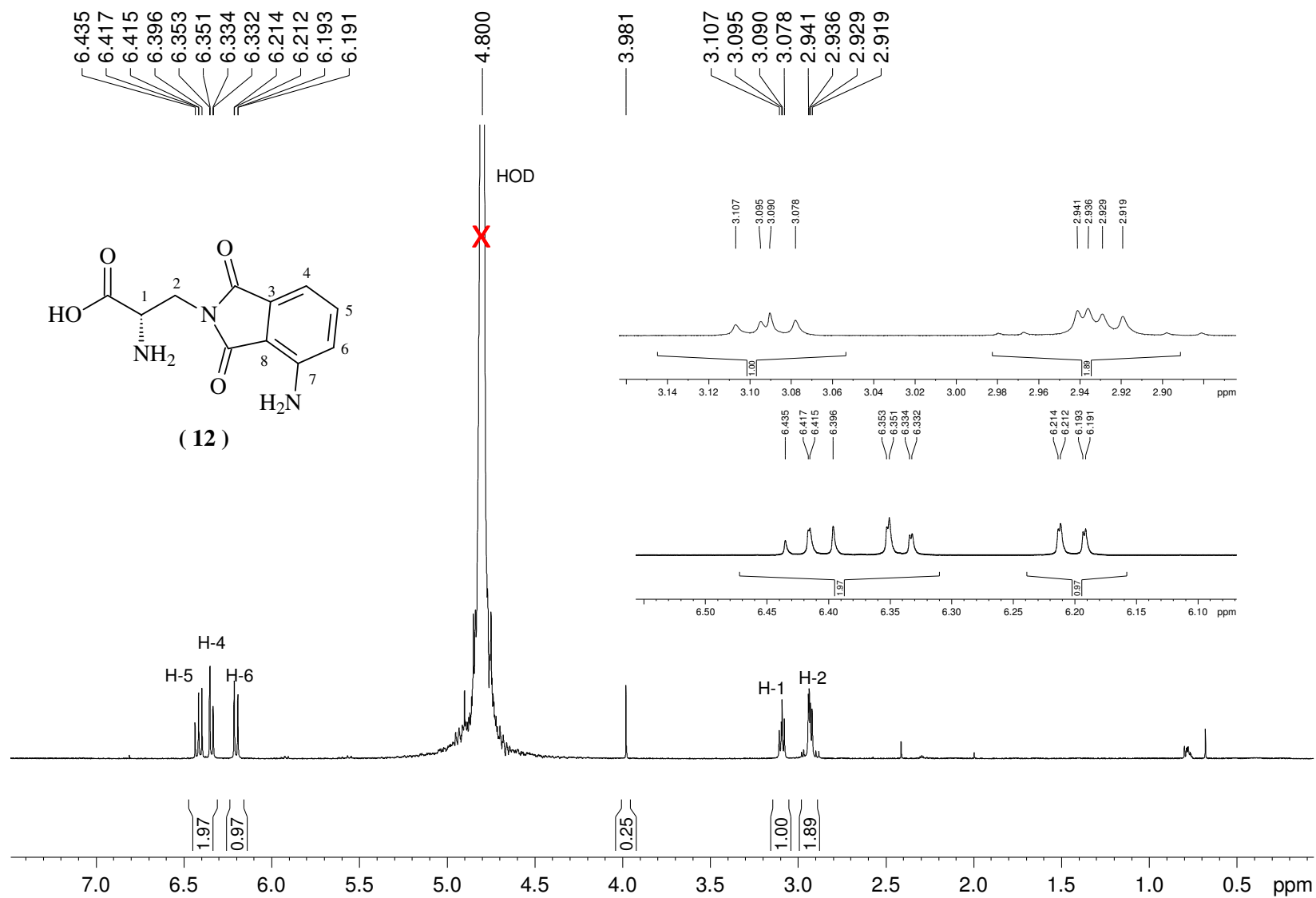
Figura A.34 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 12.

Figura A.35 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{TFA}$) de 12.

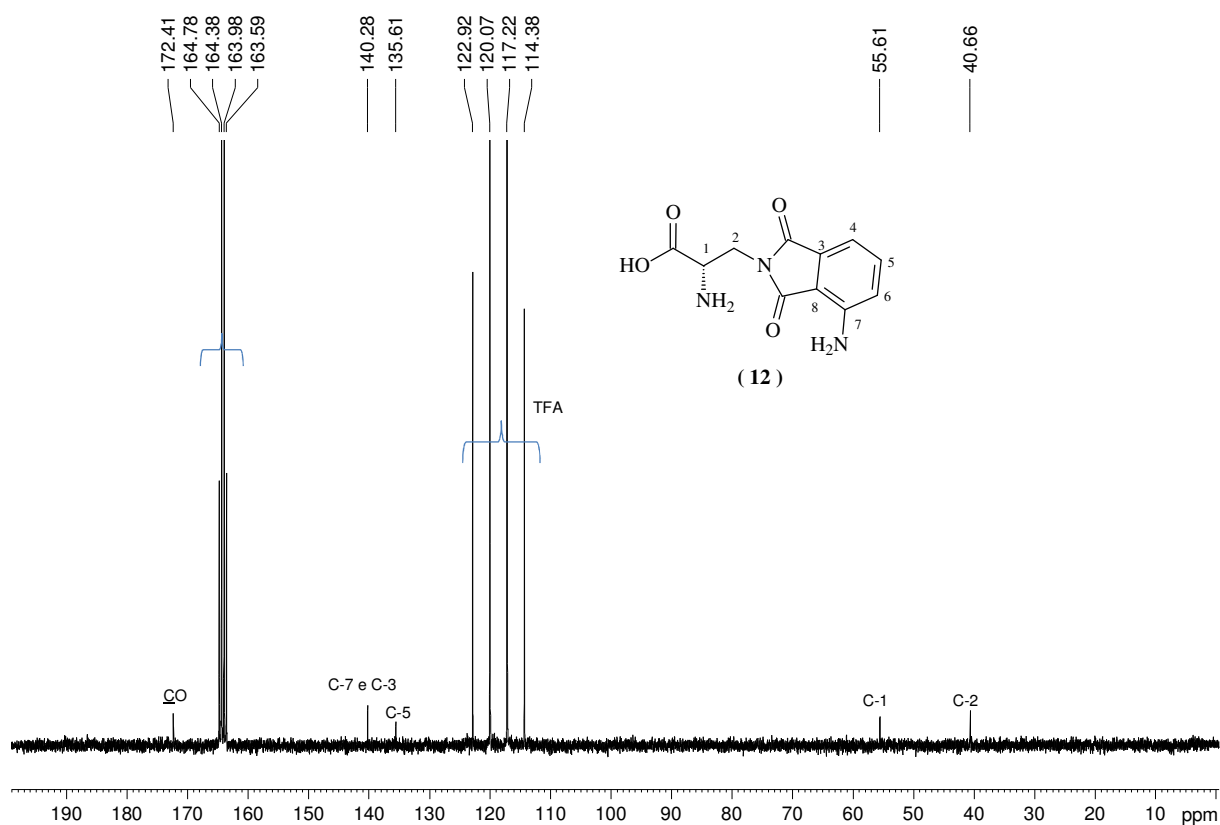
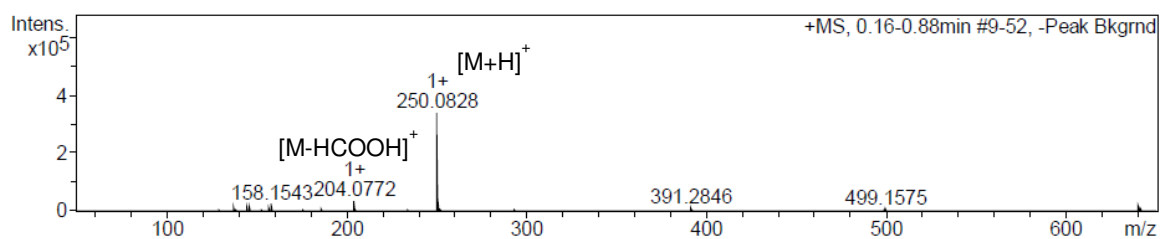


Figura A.36 – Espectro de Massas 12.

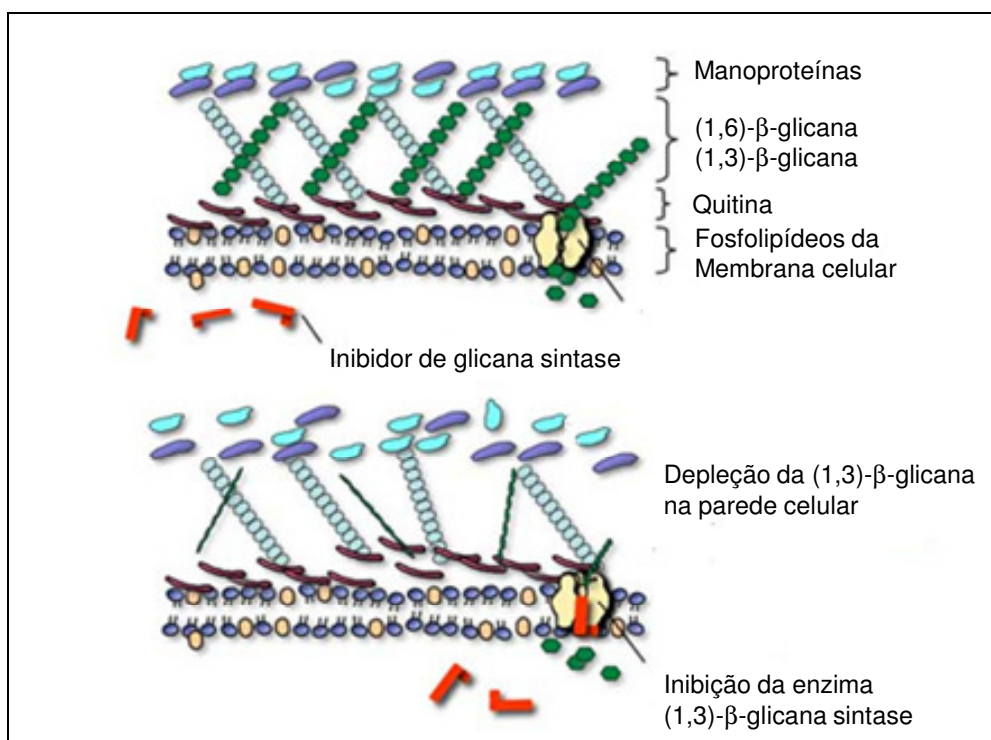


CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE UM INIBIDOR POTENCIAL DE (1,3)- β -D-GLICANA SINTASE

1 INTRODUÇÃO

A enzima (1,3)- β -D-glicana sintase tem sido explorada como um alvo molecular na busca por novos fármacos. Essa enzima catalisa a síntese de (1,3)- β -D-glicanas, importantes constituintes estruturais da parede celular de fungos. Quando a síntese deste polímero é inibida, ocorre o extravasamento de componentes da célula, como resposta à alta pressão osmótica exercida sobre a membrana enfraquecida (Figura 1.1) (AOKI *et al.*; 1993; TAFT *et al.*; 1994; SELVAKUMAR *et al.*; 2006; DENMARK *et al.*; 2010; MARTINS *et al.*; 2011; KAADEN *et al.*; 2012). A (1,3)- β -D-glicana sintase está ausente em mamíferos, e isso a torna um excelente alvo para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos (KAADEN *et al.*; 2012; DENMARK *et al.*; 2010; TOMISHIMA *et al.*; 2008; TAFT *et al.*; 1994)

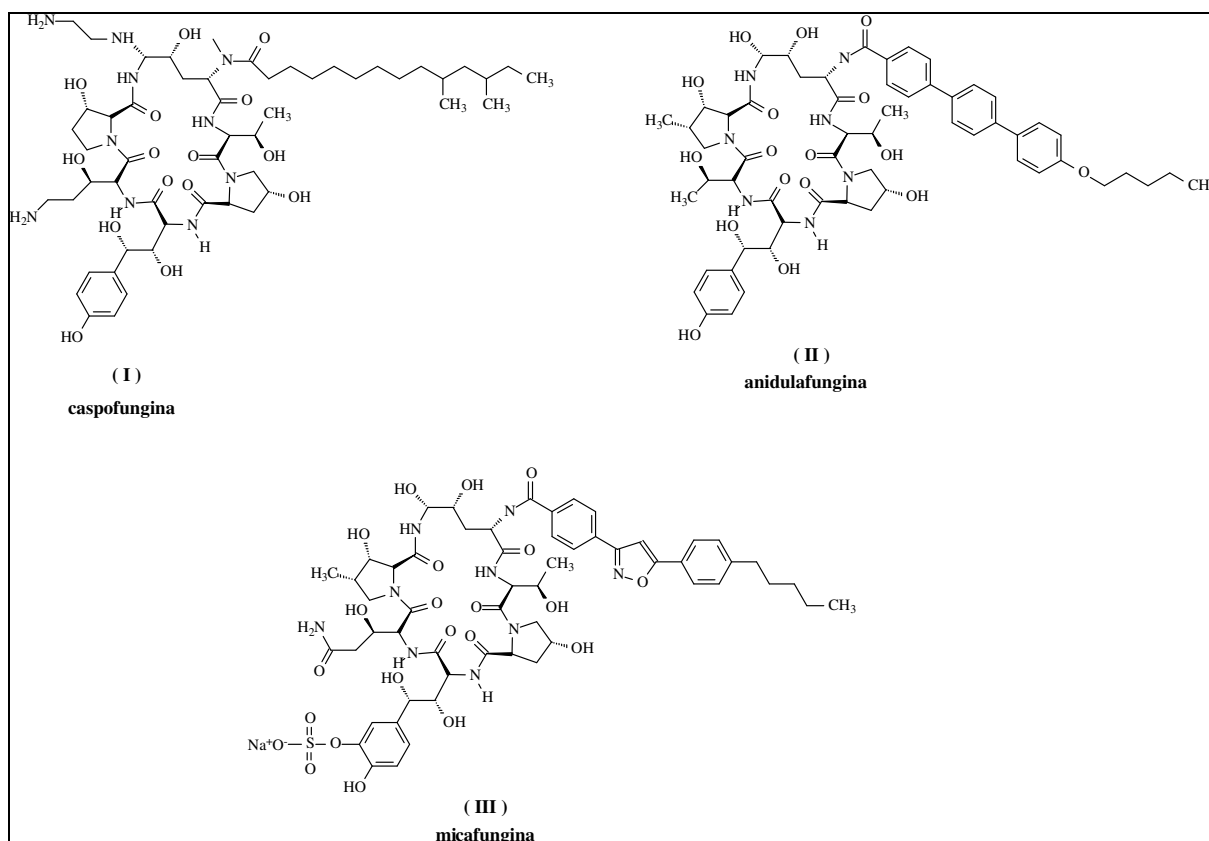
Figura 1.1 – Representação esquemática da inibição da (1,3)- β -D-glicana sintase



As equinocandinas são antifúngicos de origem semi-sintética que atuam inibindo de maneira não-competitiva a enzima (1,3)- β -D-glicana sintase. O primeiro representante dessa classe a receber aprovação comercial foi a caspofungina I (Cancidas®) (Figura 1.2, página 131), um derivado semi-sintético da Pneumocandina B₀, uma substância isolada do caldo de fermentação de fungos *Glarea lozoyensis* (LETSCHER & HERBRECHT.; 2003; ABRUZZO *et al.*; 2000). As modificações moleculares feitas na estrutura química da Pneumocandina B₀ levaram a um composto mais ativo, com maior espectro de ação e mais hidrossolúvel que o

antibiótico natural (BOUFFARD *et al.*; 1994). A anidulafungina II (Ecalta®) e a micafungina III (Mycamine®) também são equinocandinas com ação antifúngica (Figura 1.2). Esses inibidores foram obtidos a partir de modificações na estrutura química da cadeia lateral do protótipo natural, a Equinocandina B. A modificação estrutural deu ao composto semi-sintético aumento na atividade antifúngica e diminuição do potencial hemolítico (QUINDÓS *et al.*; 2009; GONZÁLES & GONZÁLES.; 2008; TOMISHIMA *et al.*; 2008; BERGOLD & GEORGIADIS.; 2004). As equinocandinas exibem atividade contra uma variedade de leveduras e fungos filamentosos clinicamente importantes, sobretudo *Candida sp.* e *Aspergillus sp.* (VAZQUEZ *et al.*, 1997).

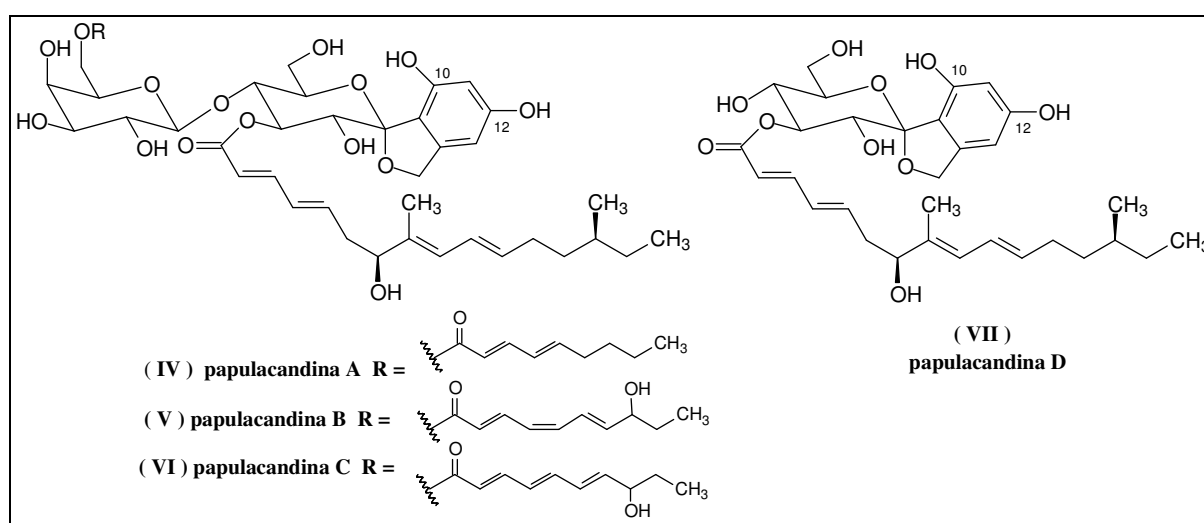
Figura 1.2 – Estrutura química de derivados da equinocandina em uso clínico como antifúngicos



Outra classe de substâncias com propriedades antifúngicas capazes de inibir a (1,3)- β -D-glicana sintase é a das papulacandinas. Elas foram isoladas em 1977, do caldo de fermentação de fungos *Papularia sphaerosperma* (ROMMELE *et al.*; 1983; TRAXLER *et al.*; 1977). Foram identificados quatro tipos diferentes de compostos nomeados papulacandina A, B, C e D (HAMDOUCHI *et al.*; 2002; TRAXLER *et al.*; 1987; TRAXLER *et al.*; 1977). As papulacandinas A, B e C são espiroglicosídeos derivados do dissacarídeo lactose [D-

galacto-(1,4)- β -D-glicopirranose], esterificado nas posições C-3 e C-6' com resíduos de ácidos graxos contendo diversas insaturações, além de centros quirais. O resíduo de ácido graxo de C-3 contém dezesseis átomos de carbono, ao passo que aquele de C-6' contém dez átomos de carbono. A papulacandina D é um espiroglicosídeo monossacarídico derivado de D-glicose, esterificado em C-3 com o mesmo resíduo de ácido graxo presente em C-3 das papulacandinas A, B e C (Figura 1.3) (ABMED & O'DOHERTY; 2005; TRAXLER *et al.*; 1987).

Figura 1.3 – Estrutura química das papulacandinas A, B, C e D

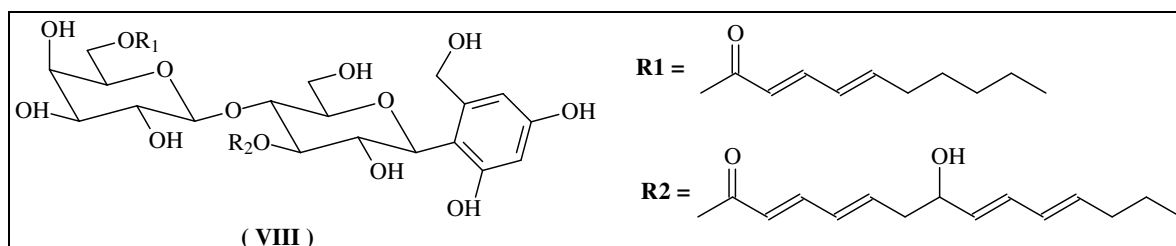


As papulacandinas apresentam atividade contra fungos como *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Microsporium canis* entre outros (BARRET *et al.*; 1996). Também foi relatada a eficácia dessas substâncias no tratamento de micoses causadas por *Pneumocystis carinii*, um fungo que acomete pacientes imunocomprometidos, com elevado grau de mortalidade (SCHMATZ *et al.*; 1990). Todavia, as papulacandinas são inativas contra fungos filamentosos, bactérias e protozoários (DENMARK *et al.*; 2010).

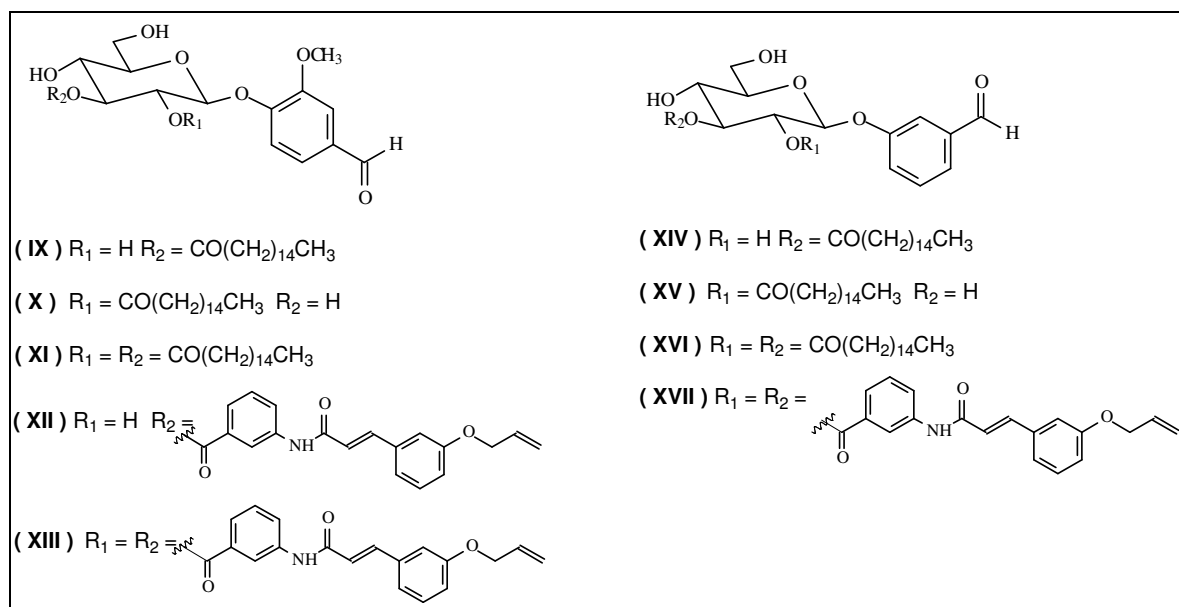
A papulacandina B apresenta a maior atividade entre os compostos desse grupo. Em experimentos contra *Candida albicans* foi observado um MIC (concentração inibitória mínima) menor em relação à anfotericina B, ao clotrimazol e à nistatina (TRAXLER *et al.*; 1977). Estudos de relação estrutura-atividade foram realizados a partir da preparação de derivados e análogos da papulacandina B. Esses estudos levaram à obtenção de alguns compostos com melhor atividade *in vivo*, porém o espectro de ação não foi ampliado (ROMMELE *et al.*; 1983; TRAXLER *et al.*; 1987). Outra dificuldade encontrada foi a limitada quantidade de substância produzida por fermentação, o que dificulta a preparação de um número maior de derivados para estudo.

A papulacandina D é um dos produtos minoritários obtidos do caldo de cultura (TRAXLER *et al.*; 1977). Além disso, é menos ativa do que as papulacandinas A, B e C. Entretanto, em função de sua estrutura monossacarídica mais simples, sua síntese tem atraído o interesse de pesquisadores, tanto pelo desafio sintético em si, como pelo fato de considerar a possibilidade de se obter quantidades suficientes dessa substância para estudos de relação estrutura-atividade, podendo resultar daí análogos mais potentes. Há na literatura diversos relatos de síntese total da papulacandina D (DENMARK *et al.*; 2010; CARRETERO *et al.*; 1999; BARRET *et al.*; 1996). Entretanto, existem poucos relatos sobre os resultados de estudos de atividade antifúngica de análogos e derivados dessa substância. Assim, o potencial antifúngico da papulacandina D ainda está por ser estabelecido.

Novos compostos estruturalmente relacionados às papulacandinas foram isolados (CHEN *et al.*; 1996; HOCHLOWSKI *et al.*; 1995; AOKI *et al.*; 1993; KANETO *et al.*; 1993). Um exemplo interessante é a catecandina **VIII** (Figura 1.4, pág. 134) (KOMORI & ITOH.; 1985). Na estrutura da catecandina o anel espirocíclico está ausente e, no entanto, essa substância apresenta um espectro de ação similar ao da papulacandina B. Essa observação é indício de que o anel espirocíclico não é indispensável para a atividade biológica desses antifúngicos. As papulacandinas congêneres variam entre si em relação ao grau de oxidação e saturação da cadeia curta de ácido graxo e configuração das ligações duplas (Figura 1.3, pág.132), todavia alguns novos análogos apresentam outros tipos de modificações na sua estrutura química. Apesar disso, esses compostos preservam o efeito inibitório da (1,3)- β -D-glicana sintase. Esse comportamento é indicativo de que determinadas modificações estruturais podem não alterar significativamente a atividade biológica dos análogos de papulacandinas. Entretanto, derivados com modificações mais drásticas na sua estrutura têm sua atividade reduzida. A saricandina é um análogo de papulacandina que possui um éster cinamoil no lugar da cadeia acil de C6' e que apresenta reduzida atividade antifúngica (CHEN *et al.*; 1996). Por sua vez, análogos de papulacandinas que não possuem a(s) cadeia(s) graxa(s) são desprovidos de atividade inibitória da (1,3)- β -D-glicana sintase. Cabe ainda ressaltar que as insaturações da cadeia lateral de ácidos graxos são indispensáveis a atividade biológica das papulacandinas, contudo o grau de insaturação (e alquilação e/ou hidroxilação) necessário para a manutenção dessa atividade ainda permanece desconhecido (KAADEN *et al.*; 2012).

Figura 1.4 – Estrutura química da catecandina

A síntese e a avaliação da atividade antifúngica de nove glicosídeos de arila, análogos da papulacandina D, foi descrita por Souza (SOUZA; 2010). Os compostos foram sintetizados a partir da D-glicose e suas estruturas estão representadas na Figura 1.5.

Figura 1.5 – Análogos da papulacandina D (SOUZA; 2010)

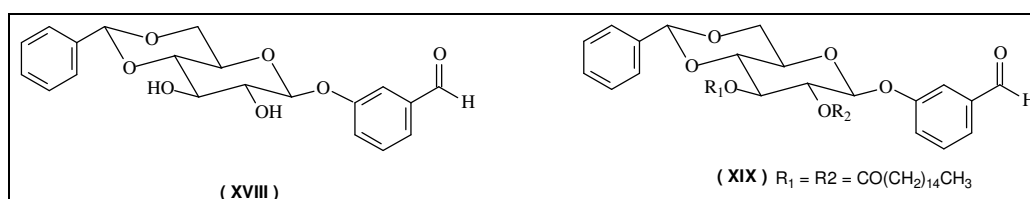
As substâncias descritas por Souza foram planejadas pelo método da simplificação molecular, utilizando a papulacandina D como protótipo. Os análogos da papulacandina D e os intermediários de síntese obtidos foram avaliados com relação a sua atividade antifúngica em relação a cepas de *Candida sp* e os resultados encontrados estão descritos na Tabela 1.1 (pág. 135).

Tabela 1.1 – Resultado dos testes para determinação da concentração inibitória mínima (µg/mL) (SOUZA; 2010)

<i>Composto</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
IX	>200	>200	>200	>200
X	>200	>200	>200	>200
XI	>200	>200	>200	>200
XII	>200	>200	>200	<u>200</u>
XIII	>200	>200	>200	>200
XIV	>200	>200	>200	>200
XV	>200	>200	>200	>200
XVI	<u>200</u>	>200	>200	>200
XVII	>200	>200	>200	>200

Os compostos foram avaliados para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) empregando-se quatro concentrações diferentes do inibidor (25, 50, 100 e 200 µg/mL). Somente as substâncias **XII** e **XVI** foram capazes de inibir o crescimento de cepas de *Candida tropicalis* e *Candida albicans*, respectivamente, na concentração máxima do inibidor. Dentre os intermediários de síntese, submetidos a testes de avaliação antifúngica, os compostos **XVIII** e **XIX** mostraram-se ativos contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, respectivamente, na concentração de 200 µg/mL do inibidor (SOUZA; 2010). Na Figura 1.6 estão representadas as estruturas desses compostos.

Figura 1.6 – Estrutura química dos intermediários com atividade antifúngica



Com base no exposto pode-se afirmar que o planejamento e a síntese de novos agentes antifúngicos que explorem a (1,3)-β-D-glicana sintase como alvo de ação é pertinente e poderá levar ao desenvolvimento de novos fármacos mais potentes e menos tóxicos. A atividade antifúngica intrínseca das papulacandinas e a estrutura química menos complexa da papulacandina D torna essa substância um ótimo protótipo para o planejamento de novos inibidores.

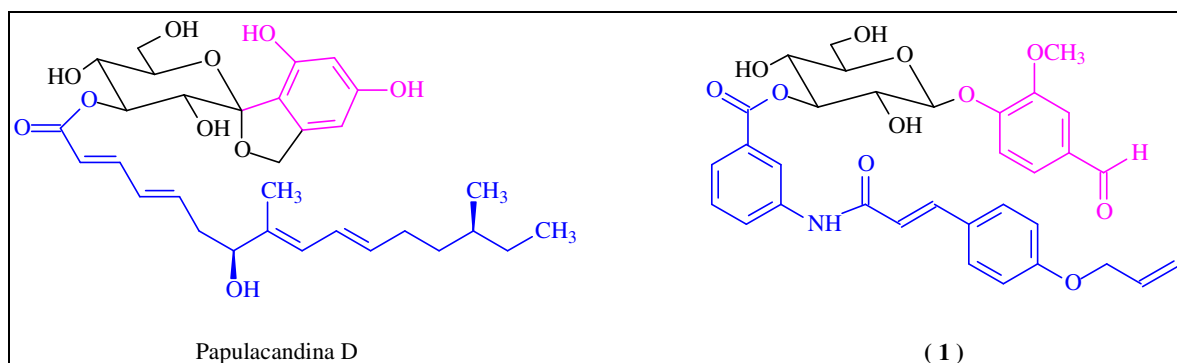
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

Teve-se como objetivo na segunda parte deste trabalho a síntese, pela estratégia da simplificação molecular, de um análogo da Papulacandina D, a partir de D-glicose e a avaliação de sua atividade antifúngica.

O alto grau de toxicidade seletiva e a fascinante estrutura molecular das papulacandinas é um estímulo ao desenvolvimento de derivados e análogos desses compostos.

Considerando-se a menor complexidade estrutural da Papulacandina D pareceu-nos oportuno o planejamento e a síntese de análogos dessa substância pela estratégia da simplificação molecular. O estabelecimento de uma rota de síntese relativamente curta e eficiente poderia levar a obtenção de uma variedade de novos análogos. Assim, foi planejado inicialmente o análogo **1** (Figura 2.1).

Figura 2.1 – Estruturas químicas da Papulacandina D e do análogo 1



A substância cuja síntese foi proposta nesse projeto é um glicosídeo aromático clássico. A sua obtenção em lugar do espiroglicosídeo do produto natural tem como objetivo avaliar a real importância do anel espiro para a atividade antifúngica desses compostos. Além disso, os glicosídeos aromáticos são sintetizados mais facilmente e não há relatos desse tipo de modificação na estrutura das papulacandinas.

Também foram propostas modificações na estrutura molecular da cadeia de ácido graxo em relação ao protótipo natural. A introdução de núcleos aromáticos na cadeia lateral irá conferir maior restrição conformacional a essa parte da molécula, podendo levar ao aumento da atividade biológica desses compostos. Outros aspectos das modificações propostas são a redução de problemas relacionados à estereoisomeria geométrica e a possibilidade da introdução de substituintes no anel aromático, de modo a modular propriedades físico-

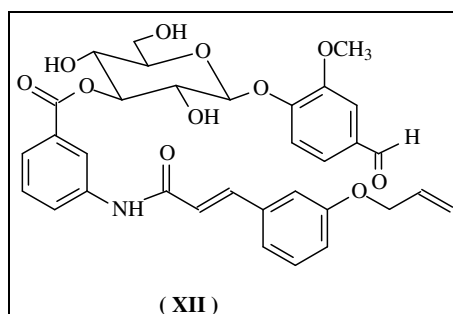
químicas. Finalmente, a remoção dos centros quirais da cadeia de ácido graxo eliminaria as dificuldades encontradas na síntese estereocontrolada de substâncias quirais.

A síntese do análogo **XII** (Figura 2.2) também planejado pelo método de simplificação molecular, a partir da estrutura da Papulacandina D, é descrita por Souza (SOUZA; 2010). Embora o análogo **1** apresente grande semelhança estrutural com esse composto considerou-se oportuna a realização da rota de síntese para sua obtenção. A modificação molecular introduzida no análogo **1** confere um grau de ineditismo estrutural a esse composto, além de, possivelmente contribuir para a modulação de propriedades físico-químicas, alterando o perfil de solubilidade, dentre outros, e/ou farmacodinâmicas, levando a uma maior afinidade do análogo pelo seu alvo molecular.

Além disso, a obtenção do análogo **1** visa à otimização das etapas de síntese propostas para esse tipo de derivado. A reação de esterificação do açúcar com a cadeia lateral parece ser um passo limitante, devido aos baixos rendimentos e a mistura de produtos acilados obtidos. Souza descreve a obtenção de **XII** (Figura 2.2) com apenas 19% de rendimento. Além do produto desejado foi isolado nessa etapa um produto de acilação com a cadeia lateral nas posições C-2 e C-3 do açúcar. Novas condições de reação de esterificação deverão ser testadas para contornar as dificuldades encontradas inicialmente.

O estudo detalhado dessa rota sintética poderá levar a obtenção de novos análogos da Papulacandina D, com melhores rendimentos, e a determinação de condições de reação para a síntese regioseletiva dos derivados éster.

Figura 2.2 – Estrutura química do análogo da Papulacandina D XII (SOUZA; 2010)

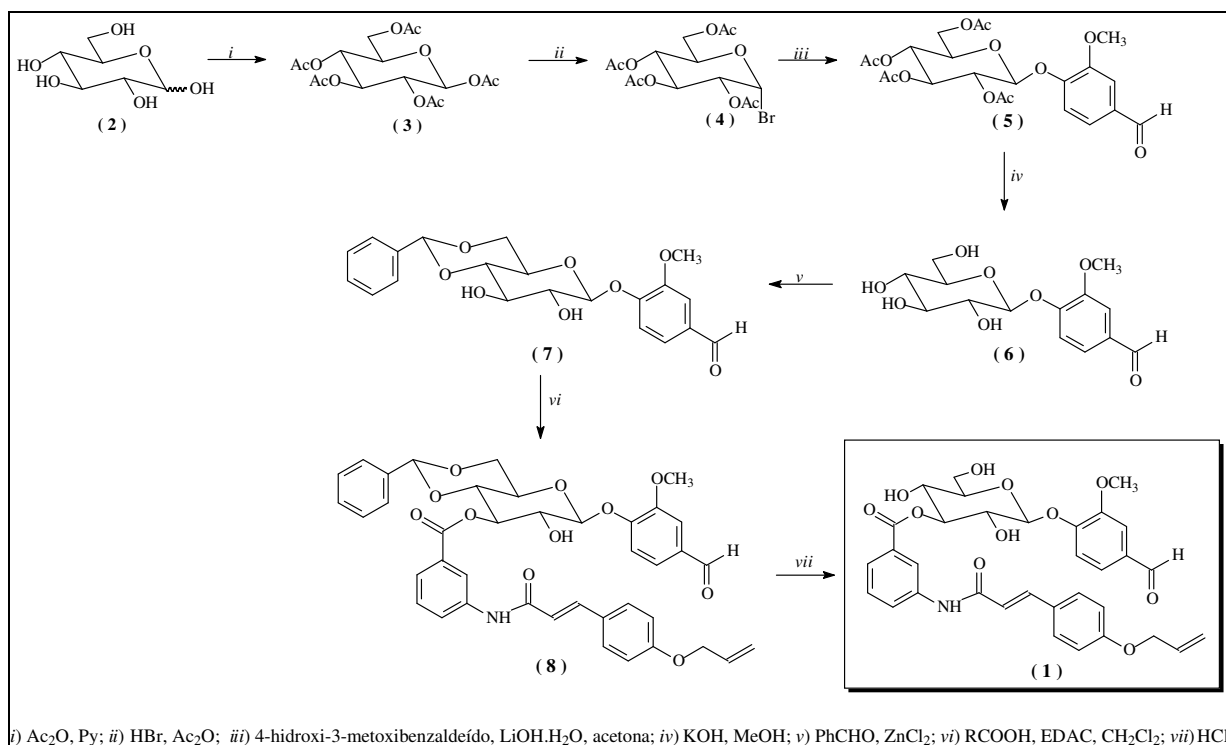


Planeja-se ainda a avaliação da atividade antifúngica de **1** e de seus intermediários de síntese.

3 PLANO DE SÍNTESE

Para a obtenção do análogo da Papulacandina D **1** planejou-se uma rota sintética, a partir da D-glicose, em sete etapas (Figura 3.1).

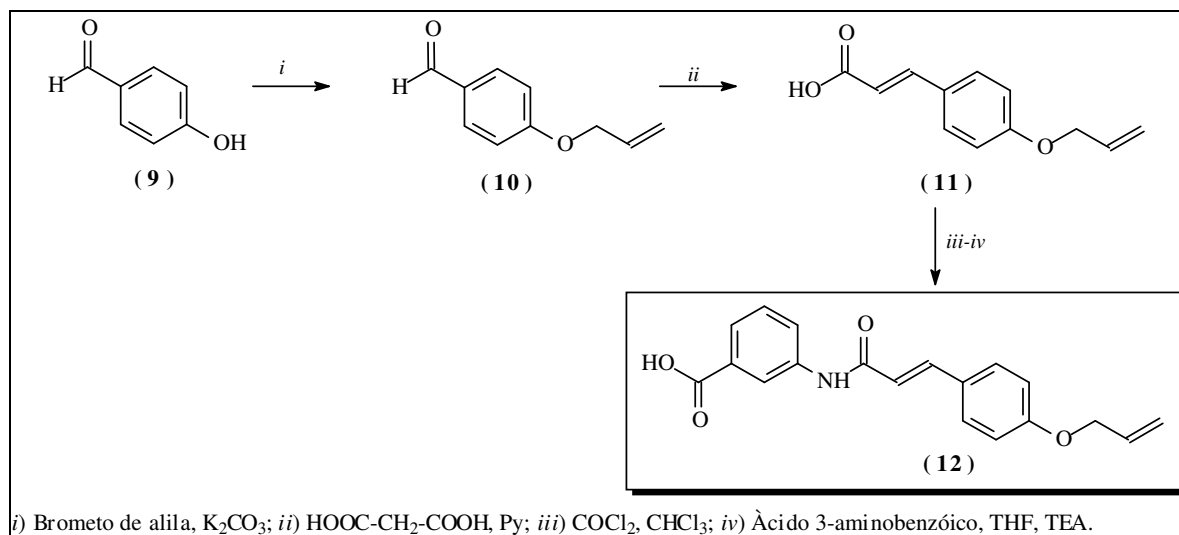
Figura 3.1 – Esquema para a síntese do análogo 1



A primeira etapa dessa síntese seria a proteção das hidroxilas da D-glicose na forma de acetato, por reação com anidrido acético em piridina (CONCHIE *et al.*; 1957). O derivado peracetilado **3** seria submetido a reação com ácido bromídrico em anidrido acético para obtenção do brometo de glicopiranosila **4** (FISHER; 1916). As próximas etapas seriam a conversão da acetobromoglucose **4** em glicosídeo de arila β anomérico, por reação de glicosilação com o respectivo fenol (FISHER; 1916; ROY & TROPPER.;1990), seguida da remoção dos grupos acetila por reação de transesterificação na presença de KOH/metanol (ROY *et al.*; 1999; AGOSTON *et al.*; 2001). Para a obtenção de **7** as hidroxilas de C-4 e C-6 seriam protegidas na forma de acetal benzilidênico, por reação com benzaldeído, na presença de cloreto de zinco (ROTH & PIGMAN.; 1960). A hidroxila de C-3 seria convertida no éster por reação de acilação, na presença de EDAC e DMAP, com a cadeia lateral **12** (HAN *et al.*; 2011; SOTO-CASTRO *et al.*; 2010). Finalmente a remoção do acetal 4,6-benzilidênico sob condições ácidas levaria ao produto final **1**.

Para a obtenção do ácido carboxílico correspondente à cadeia lateral **12** foi planejada uma rota de síntese em quatro etapas (Figura 3.2).

Figura 3.2 – Esquema para a síntese de 12



O aldeído aromático **9** seria submetido à reação com brometo de alila em presença de carbonato de potássio para obtenção do derivado aliloxibenzaldeído (TSENG *et al.*; 2011). Em seguida **10** seria convertido em um ácido α,β -insaturado por condensação de Knoevenagel-Doebner (KOK *et al.*; 2010). A próxima etapa seria a conversão do ácido cinâmico no cloreto de cinamoíla, por reação com cloreto de oxalila. O produto final **12** seria obtido por reação do ácido 3-aminobenzóico com o cloreto de ácido, na presença de base (YANG *et al.*; 2010)

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais e Métodos

Os materiais e métodos utilizados foram previamente descritos no Capítulo 1 – Parte Experimental (pág. 42).

4.2 Síntese

4.2.1 Síntese de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (5)

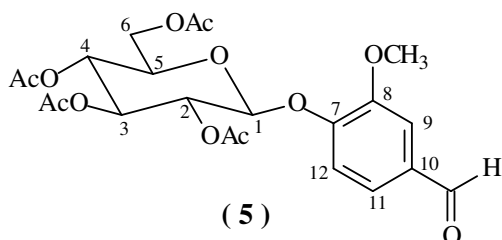
Método A (FISHER; 1916)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL 1,30 g (0,030 mol) de LiOH.H₂O foram dissolvidos em 40 mL de água destilada. A essa solução adicionaram-se 4,60 g (0,030 mol) de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído. O balão foi fechado com um septo de borracha e a mistura foi mantida sob agitação magnética por quinze minutos. A seguir adicionou-se, gota a gota, uma solução previamente preparada de 3,40 g (0,010 mol) de brometo de glicopiranosila em 20 mL de acetona e a mistura reagente foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por duas horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de etila 6:4; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). Foi observada a formação de um sólido branco, correspondente ao derivado **5**, que foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água destilada. Foram obtidos 6,0 g de um sólido branco que correspondem a 54 % de rendimento.

Método B (ROY & TROPPER.;1990)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio foram adicionados 320 mg (1,0 mmol) de brometo de tetrabutilamônio e 10 mL de uma mistura de CHCl₃/H₂O 1:1. A mistura foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 45° C por cerca de trinta minutos. A seguir 800 mg (5,0 mmol) de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído foram dissolvidos em 10 mL de uma solução de NaOH 0,5 mol/L e adicionado, gota a gota, à mistura reagente. 1,90 g (5,0 mmol) de brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila foram solubilizados em 10 mL de CHCl₃ e a solução obtida foi vertida no balão. A mistura foi mantida sob agitação magnética e aquecimento por cerca de vinte horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente:hexano/acetato de

etila 6:4; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e extraída com 4 X 25 mL de CHCl_3 . Em seguida, a fase orgânica foi extraída com 2 x 25 mL de solução NaOH 1 mol/L e 2 x 25 mL de água destilada e secada com sulfato de sódio anidro. Filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Obteve-se um óleo marrom que após purificação por CCS forneceu 520 mg de um sólido branco, correspondentes a 21% de rendimento.



FM: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$

MM: 482 g/mol

FF: 134,3 – 137,8°C (Lit.: 135-137°C)
(MOHRI *et al.*, 2003)

$[\alpha]_D^{24}$ -40 (c 0,8, CHCl_3) (Lit. -41,01 (c 0,63, CHCl_3)) (SULTANA *et al.*; 2006)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 1737 (ν C=O éster); 1694 (ν C=O aldeído aromático); 1591, 1510 (ν C=C aromático); 1377 (def.ang.C-H aldeído); 1209 (ν C-O); 838, 781 (def. ang. C-H aromático 1,2,4-trissubstituído).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ 9,90 (s; 1H; CHO); 7,42 (d; $J_{11,12}$ 8,6 Hz; 2H; H-9 e H-11); 7,24 (d; $J_{12,11}$ 8,6 Hz; 1H; H-12); 5,34 – 5,09 (m; 4H; H-1, H-2, H-3 e H-4); 4,33 – 4,25 (m; 2H; H-6 e H-6'); 3,90- 3,82 (m; 4H; H-5 e OCH_3); 2,08, 2,05 (s; 12H; COOCH_3).

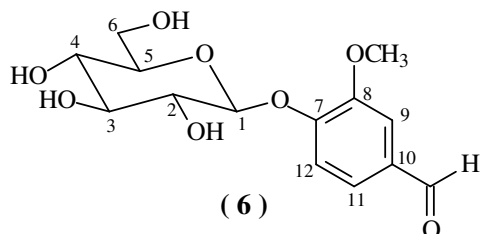
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ 190,9 (CHO); 170,5; 170,2; 169,3; 169,2 (COOCH_3); 151,0 (C-7)*; 150,9 (C-8)*; 132,8 (C-10); 125,3 (C-11); 118,1 (C-12); 110,7 (C-9); 99,7 (C-1); 72,3 (C-4)*; 72,2 (C-3)*; 70,9 (C-2); 68,2 (C-5); 61,8 (C-6); 56,0 (OCH_3); 20,6; 20,5 (COOCH_3).

*, Intercambiáveis.

4.2.2 Síntese de β -D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (6) (ROY *et al.*; 1999)

Para a síntese do glicosídeo **6** solubilizou-se 200 mg de KOH (3,57 mmol) em 50 mL de metanol anidro. A essa solução foi adicionado 1,0 g (2,1 mmol) do glicosídeo acetilado **5**. O balão foi vedado com um septo de borracha e a mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente por uma hora. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila 100%; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v) até o consumo de todo o material de partida. Adicionou-se à mistura reagente resina Amberlite

IR-120, até pH 7,0. Filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Foram obtidos 640 mg de um sólido branco, que correspondem a 98% de rendimento.



FM: C₁₄H₁₈O₈

MM: 314 g/mol

FF: 180,3 – 185,7°C (Lit.: 185-187°C)
(REICHEL & SCHICKLE.; 1943)

[α]_D²⁴ -14,7 (c 0,2, H₂O) (Lit. -89,9 (H₂O))
(HELFERICH *et al.*; 1948)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3294 (ν O-H); 1688 (ν C=O aldeído); 1588, 1509 (ν C=C aromático); 1265 (def.ang.plano O-H); 1232 (ν C-O); 815, 736 (def. ang. C-H aromático 1,2,4-trissubstituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ 9,87 (s; 1H; CHO); 7,52 (dd; *J*_{11,12} 8,4 Hz; ⁴*J*_{11,9} 1,6 Hz; 1H; H-11); 7,44 (d; *J*_{9,11} 1,6 Hz; 1H; H-9); 7,28 (d; *J*_{12,11} 8,4 Hz; 1H; H-12); 5,33 (s; 1H; OH); 5,10 – 5,05 (m; 3H; H-1 e 2xOH); 4,54 (s; 1H; OH); 3,89 (s; 3H; OCH₃); 3,67 (d; *J*_{6,6'} 11,6 Hz; 1H; H-6); 3,48 – 3,18 (m; 5H; H-2, H-3, H-4, H-5 e H-6').

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ 191,5 (CHO); 151,7 (C-7)*; 149,3 (C-8)*; 130,5 (C-10); 125,3 (C-11); 114,5 (C-12); 110,5 (C-9); 99,4 (C-1); 77,1 (C-4); 76,8 (C-3); 73,1 (C-2); 69,5 (C-5); 60,6 (C-6); 55,6 (OCH₃).

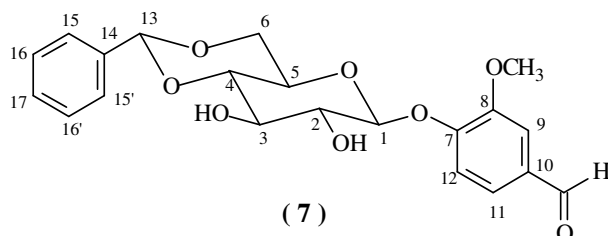
*Intercambiáveis.

4.2.3 Síntese de 4,6-O-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (7) (ROTH & PIGMAN.; 1960)

Método Geral

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 500 mg (3,7 mmol) de ZnCl₂ e 5,0 mL de benzaldeído. O balão foi vedado com um tubo de cloreto de cálcio e a mistura foi submetida à agitação magnética, por cerca de quinze minutos. A seguir 575 mg (1,8 mmol) do derivado glicosídeo desprotegido foi adicionado ao balão e a mistura reagente foi mantida sob agitação magnética, a temperatura ambiente, por seis horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila 100%; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). A mistura reagente foi vertida em um erlenmeyer

contendo gelo e éter de petróleo e o sistema foi agitado vigorosamente, até a formação de um sólido branco. Esse sólido foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água gelada e éter de petróleo. Foram obtidos 530 mg de um sólido branco, que correspondem a 72% de rendimento.



FM: C₂₁H₂₂O₈

MM: 402 g/mol

FF: 176,6 – 179,2 °C (Lit.: 191,4-194 °C)
(SOUZA ; 2010)

[α]_D²⁴ -48 (c 1, CHCl₃) (Lit. -62,0 (c 0,60, CHCl₃)) (SOUZA ; 2010)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3376 (ν O-H); 1682 (ν C=O aldeído); 1590, 1506 (ν C=C); 1266 (def.ang.plano O-H); 738 e 696 (def. ang. C-H aromático monossustituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) δ 9,87 (s; 1H; CHO); 7,56 – 7,39 (m; 8H; H aromáticos); 5,70 (d; *J*_{OH,2} 4,8 Hz; 1H; OH); 5,61 (s; 1H; H-13); 5,52 (sl; 1H; OH); 5,35 (d; *J*_{1,2} 7,2 Hz; 1H; H-1); 4,22 (sl, 1H; H-6); 3,85 (s; 3H; OCH₃); 3,69 – 3,38 (m; 5H; H-2, H-3, H-4, H-5 e H-6').

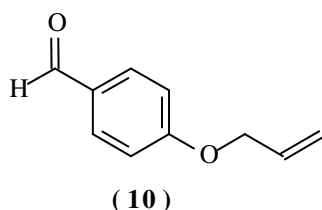
RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 50MHz) δ 191,6 (CHO); 151,3 (C-7)*; 149,4 (C-8)*; 137,7 (C-14); 130,8 (C-10); 128,9, 128,0, 126,4 (C-15 e C-15', C-16 e C-16', C-17); 125,2 (C-11); 114,7 (C-12); 110,7 (C-9); 100,7 (C-13); 99,5 (C-1); 80,1 (C-4); 73,9 (C-3)*; 73,0 (C-2)*; 67,7 (C-6); 65,9 (C-5); 55,6 (OCH₃).

*,•Intercambiáveis.

4.2.4 Síntese de 4-aliloxibenzaldeído (10) (TSENG *et al.*; 2011)

Em um balão de fundo redondo adaptado a um condensador, contendo um tubo de cloreto de cálcio, 3,0 g (0,025 mol) de 4-hidroxibenzaldeído foram solubilizados em 30 mL de etanol. A essa solução foram adicionados 2,1 mL (0,025 mol) de brometo de alila e 6,8 g (0,049 mol) de K₂CO₃. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 90 °C. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v) até o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi vertida em um erlenmeyer contendo 100 mL de água destilada e transferida para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com 4 x 50 mL de éter etílico. A fase orgânica etérea foi extraída com 3 x 30 mL de solução KOH 2%

e 4 x 30 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foram obtidos 3,50 g de **10** na forma de um líquido de cor amarelada, que correspondem a 89% de rendimento. O produto obtido nessa reação foi utilizado na etapa seguinte, sem prévia purificação.

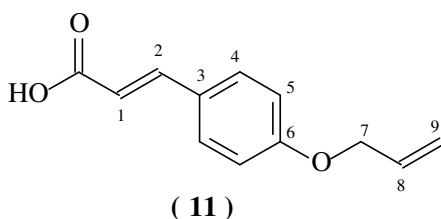


FM: C₁₀H₁₀O₂

MM: 162 g/mol

4.2.5 Síntese do ácido *trans*-4-aliloxicinâmico (**11**) (KOK *et al.*; 2010)

Para a síntese do derivado cinâmico **11** foram adicionados a um balão de fundo redondo adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio, 3,30 g (0,02 mol) de aliloxibenzaldeído, 8,50 g (0,08 mol) de ácido malônico, 2,2 mL de piperidina e 40 mL de piridina. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 95° C. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v) até o consumo de todo o material de partida. Ao término da reação adicionaram-se ao balão gelo pilado e HCl concentrado, até pH 1,0, sob banho de gelo. Observou-se a formação de um sólido branco, que foi filtrado a vácuo e lavado exaustivamente com água destilada. Foram obtidos 3,60 g de produto, correspondentes a 86% de rendimento.



FM: C₁₂H₁₂O₃

MM: 204 g/mol

FF: 154,2 – 156,9°C

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3200-2500 (ν O-H); 1678 (ν C=O); 1623 (ν C=C alqueno); 1598, 1507 (ν C=C); 826 (C-H aromático *p*-dissubstituído).

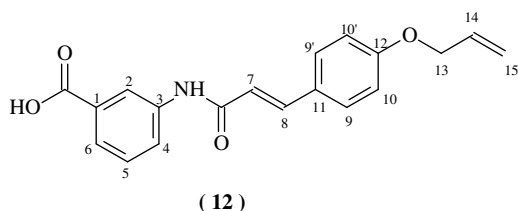
RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ 7,73 (d; *J*_{2,1} 15,8 Hz; 1H; H-2); 7,49 (d; *J*_{4,5=4',5'} 8,4 Hz; 2H; H-4 e H-4'); 6,93 (d; *J*_{5,4=5',4'} 8,4 Hz; 2H; H-5 e H-5'); 6,31 (d; *J*_{1,2} 15,8 Hz; 1H; H-1); 6,14 – 5,95 (m; 1H; H-8); 5,42 (d; *J*_{9,8} 17,4 Hz; 1H; H-9); 5,35 (d; *J*_{9',8} 10,2 Hz; 1H; H-9'); 4,57 (d; *J*_{7,8} 4,8 Hz; 2H; H-7).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) δ 172,3 (COOH); 160,6 (C-6); 146,4 (C-2); 132,6 (C-8); 130,0 (C-3, C-4 e C-4'); 118,0 (C-9); 115,0 (C-5 e C-5'); 114,8 (C-1); 68,8 (C-7).

4.2.6 Síntese do ácido *trans*-3-[(4-aliloxicinamoil)amino]benzóico (**12**) (YANG *et al.*; 2010)

Para a síntese do cloreto de ácido foram adicionados a um balão de fundo redondo adaptado a um condensador contendo um tubo de cloreto de cálcio o ácido aliloxicinâmico **11**, clorofórmio e cloreto de oxalila (30 equivalentes). A mistura reagente foi aquecida a refluxo, e mantida sob agitação magnética, durante quatro horas. Ao término do tempo estabelecido a mistura reagente foi concentrada em evaporador rotatório, até *secura*. O produto bruto obtido nessa reação foi utilizado na etapa seguinte, sem prévia purificação.

Uma vez obtido o cloreto de ácido adicionaram-se a um balão de fundo redondo 1,25 g (9,1 mmol) do derivado 3-aminobenzóico e 20 mL de piridina. Sob banho de gelo foram adicionados, na sequência, 1,50 mL (10,5 mmol) de trietilamina e uma solução de 1,7 g (7,6 mmol) do cloreto de ácido em 10 mL de piridina. O balão foi fechado com um tubo de cloreto de cálcio e a mistura reagente foi submetida a agitação magnética, a temperatura ambiente. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). O solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi dissolvido em acetato de etila e transferido para um funil de separação. A fase orgânica foi extraída com 3 x 30 mL de solução HCl 1 mol/L e 3 x 50 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi submetido à purificação por recristalização, utilizando-se DMSO/ H_2O . Foram obtidos 1,8 g de **12**, que correspondem a 73% de rendimento.



FM: $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$

MM: 323 g/mol

FF: 238,9 – 240,1 °C

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3285 (ν N-H); 3200-2500 (ν O-H); 1686 (ν C=O ácido carboxílico); 1654 (ν C=O amida); 1615 (C=C alqueno); 823 (C-H aromático *p*-dissubstituído); 754 e 738 (C-H aromático *m*-dissubstituído).

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 12,95 (sl; 1H; COOH); 10,30 (s; 1H; NH); 8,31 (s; 1H; H-2); 7,95 (d; $J_{4,5}$ 8,0 Hz; 1H; H-4); 7,64 (d; $J_{6,5}$ 7,6 Hz; 1H; H-6); 7,59 – 7,54 (m; 3H; H-8, H-9 e H-9'); 7,45 (t; $J_{5,4=5,6}$ 8,0 Hz; 1H; H-5); 7,02 (d; $J_{10,9=10',9'}$ 8,4 Hz; 2H; H-10 e H-10'); 6,68 (d; $J_{7,8}$ 15,6 Hz; 1H; H-7); 6,07 – 6,02 (m; 1H; H-14); 5,41 (dd; $J_{15,14}$ 17,2 Hz; $J_{15,15'}$ 1,6 Hz; 1H; H-15); 5,28 (dd; $J_{15',14}$ 10,6 Hz; $J_{15',15}$ 1,6 Hz; 1H; H-15'); 4,63 (d; $J_{13,14}$ 5,2 Hz; 2H; H-13).

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 167,2 (COOH); 164,0 (NHCO); 159,6 (C-12); 140,2 (C-8); 139,6 (C-3); 133,4 (C-14); 131,4 (C-1); 129,3 (C-9); 129,0 (C-5); 127,3 (C-11); 123,9 (C-4)*; 123,2 (C-6)*; 119,9 (C-2)*; 119,5 (C-7)*; 117,6 (C-15); 115,1 (C-10 e C10'); 68,2 (C-13).

*, * Intercambiáveis.

4.2.7 Síntese de 3-O-[3-[(*trans*-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-O-benzilideno- β -D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8), 2-O-[3-[(*trans*-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-O-benzilideno- β -D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8.1) e 2,3-di-O-[3-[(*trans*-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-4,6-O-benzilideno- β -D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (8.2)

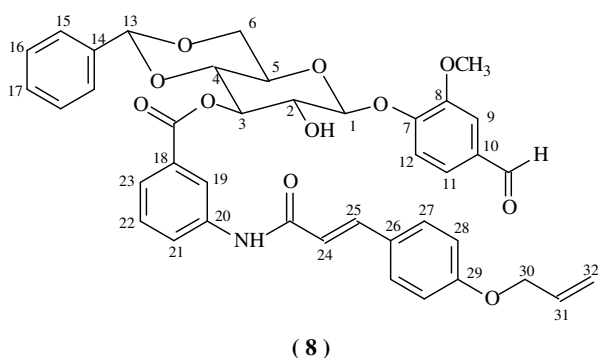
Método A (HAN *et al.*; 2011)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 160 mg (0,51 mmol) do ácido carboxílico **12**, 120 mg (0,58 mmol) de DCC e 10 mL de CH_2Cl_2 . O sistema foi vedado com um septo de borracha e mantido sob agitação magnética, a temperatura ambiente, por trinta minutos. A seguir foram adicionados ao balão 200 mg (0,50 mmol) de **7** e 20 mg de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A mistura reagente foi submetida à agitação magnética e a evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 1:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). Após 24 horas a suspensão foi filtrada, para remoção da *N,N*-diciclo-hexilureia (DCU) e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Obteve-se um sólido branco que foi submetido à purificação por CCS ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99,5:0,5). Foram obtidos 50 mg de **8**, correspondentes a 14% de rendimento e 60 mg de **8.1**, que correspondem a 17% de rendimento.

Método B (SOTO-CASTRO *et al.*; 2010)

200 mg (0,50 mmol) de **7** foram solubilizados em 50 mL de diclorometano, em um balão de fundo redondo de 100 mL. A essa solução foram adicionados 200 mg (0,6 mmol) de **12**, 214

mg (1,4 mmol) de EDAC e 30 mg de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A mistura reagente foi submetida à agitação magnética e a evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 1:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). Após cerca de vinte e quatro horas a reação foi interrompida e foram realizadas as etapas de elaboração e purificação. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação, diluída com cerca de 50 mL de diclorometano e extraída com 3x20 mL de solução HCl 1mol/L. As fases orgânicas reunidas foram extraídas com 3x20 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro. Filtrou-se e evaporou-se o solvente em evaporador rotatório. O bruto obtido foi submetido à purificação por CCS ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99:1). Foram obtidos 80 mg de **8** que correspondem a 23% de rendimento e 93 mg de **8.2**, correspondentes a 20% de rendimento.



FM: $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{O}_{11}\text{N}$

MM: 707 g/mol

FF: 166,0 – 174,2 °C

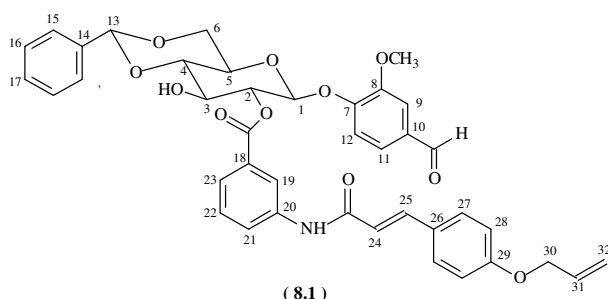
$[\alpha]_D^{25}$ +20,7 (c 0,58, DMSO)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3332 (ν O-H); 2920, 2850 (ν C-H); 1730 (ν C=O); 1682 (ν C=O aldeído); 1592, 1507 (ν C=C); 1266 (ν C-O); 809 (C-H aromático *p*-substituído); 750 e 698 (def. ang. C-H aromático *m*-substituído).

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 10,36 (s; 1H; NH); 9,90 (s; 1H; CHO); 8,38 (s; 1H; H-19); 7,98 (d; $J_{21,22}$ 8,4 Hz; 1H; H-21); 7,73 (d; $J_{23,22}$ 7,6 Hz; 1H; H-23); 7,59 – 7,34 (m; 13H; H-9, H-11, H-15/H-15', H-16/H-16', H-17, H-22, H-25, H-27/H-27', H-28/H-28'); 7,04 (d; $J_{12,11}$ 8,4 Hz; 1H; H-12); 6,70 (d; $J_{24,25}$ 15,6 Hz; 1H; H-24); 6,10 – 6,03 (m; 2H; H-31 e OH); 5,65 (s; 1H; H-13); 5,62 (d; $J_{1,2}$ 7,6 Hz; 1H; H-1); 5,50 – 5,39 (m; 2H; H-3 e H-32); 5,29 (d; $J_{32',31}$ 10,4 Hz; 1H; H-32'); 4,63 (d; $J_{30,31}$ 5,2 Hz; 2H; H-30); 4,30 – 4,28 (m; 1H; H-6); 3,98- 3,80 (m; 7H; H-2, H-4, H-5, H-6' e OCH_3).

RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 195,0 (CHO); 165,0 (COOR); 164,0 (NHCO); 159,6 (C-29); 151,0 (C-7); 149,3 (C-8); 140,3 (C-25); 139,6 (C-20); 137,2 (C-14); 133,4 (C-31); 130,1 (C-10); 129,4, 129,1 (C-21, C-22 e C-23); 128,8, 128,0 (C-15 e C-15', C-16 e C-16', C-17); 127,2 (C-26); 125,9 (C-27 e C-27'); 125,0 (C-11); 119,9 (C-19); 119,3

(C-24); 117,6 (C-32); 115,1 (C-28 e C-28'); 114,8 (C-12); 110,8 (C-9); 100,3 (C-13); 99,2 (C-1); 77,6 (C-4); 74,6 (C-3); 71,6 (C-2); 68,2 (C-30); 67,6 (C-6); 65,6 (C-5); 55,7 (OCH₃).



FM: C₄₀H₃₂O₁₁N

MM: 707 g/mol

FF: 117,3 – 122,4 °C

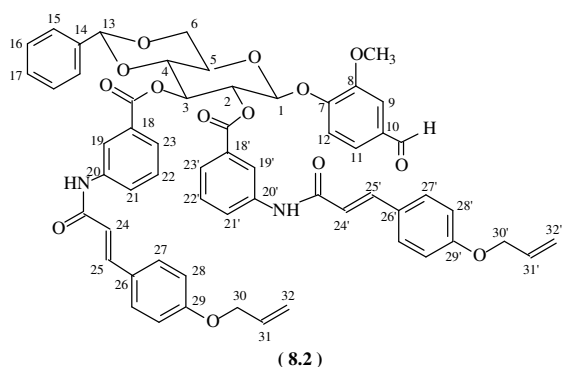
[α]_D²⁵ -2,5 (c 2, DMSO)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3324 (ν N-H); 2927, 2851 (ν C-H); 1728 (ν C=O éster); 1682 (ν C=O aldeído); 1625 (ν C=C alqueno); 1574, 1509 (ν C=C); 1269, 1227 (ν C-O); 825 (C-H aromático *p*-substituído); 749 e 697 (C-H aromático *m*-substituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,35 (s; 1H; NH); 9,85 (s; 1H; CHO); 8,34 (s; 1H; H-19); 7,95 (d; *J*_{21,22} 8,4 Hz; 1H; H-21); 7,67 (d; *J*_{23,22} 7,6 Hz; 1H; H-23); 7,57 – 7,33 (m; 13H; H-9, H-11; H-15/H-15', H-16/H-16', H-17, H-22, H-25, H-27/H-27'; H-28/H-28'); 7,03 (d; *J*_{12,11} 8,8 Hz; 2H; H-12); 6,67 (d; *J*_{24,25} 15,6 Hz; 1H; H-24); 6,06 – 6,03 (m; 1H; H-31); 5,83 (d; *J*_{OH,3} 5,6 Hz; 1H; OH); 5,75 (s; 1H; H-13); 5,57 (d; *J*_{1,2} 8,0 Hz; 1H; H-1); 5,40 (d; *J*_{32,31} 17,2 Hz; 1H; H-32); 5,29 – 5,21 (m; 2H; H-32' e H-2); 4,61 (d; *J*_{30,31} 5,2 Hz; 2H; H-30); 4,32 (d; *J*_{6,5} 5,6 Hz; 1H; H-6); 4,02 – 3,96 (m; 1H; H-3); 3,89 – 3,80 (m; 2H; H-5 e H-6'); 3,73 (t; *J*_{4,5=4,3} 8,4 Hz; 1H; H-4); 3,32 (s; 3H; OCH₃).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 191,6 (CHO); 164,5 (COOR); 164,1 (NHCO); 159,6 (C-29); 150,9 (C-7); 150,0 (C-8); 140,3 (C-25); 139,6 (C-20); 137,5 (C-14); 133,5 (C-31); 132,0 (C-10); 130,2 (C-18); 129,4 (C-22); 128,9; 128,0; 127,6 (C-15 e C-15', C-16 e C-16', C-17 e C-27 e C-27'); 124,6 (C-11); 124,0 (C-21)*; 123,7 (C-23)*; 119,9 (C-19); 119,4 (C-24); 117,6 (C-32); 115,2 (C-28 e C-28'); 114,1 (C-12); 111,4 (C-9); 100,8 (C-13); 99,7 (C-1); 80,1 (C-4); 74,5 (C-2); 70,5 (C-3); 68,1 (C-30); 67,6 (C-6); 66,1 (C-5); 55,2 (OCH₃).

*Intercambiáveis.



FM: C₅₉H₄₇O₁₄N

MM: 1012 g/mol

FF: 140,6-145,7 °C

[α]_D²³ +15,5 (c 0,26, DMSO)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 2862 (ν C-H); 1729 (ν C=O); 1680 (ν C=O aldeído); 1598, 1543, 1508 (ν C=C); 1267 (ν C-O); 823 (C-H aromático *p*-substituído); 748 e 697 (def. ang. C-H aromático *m*-substituído).

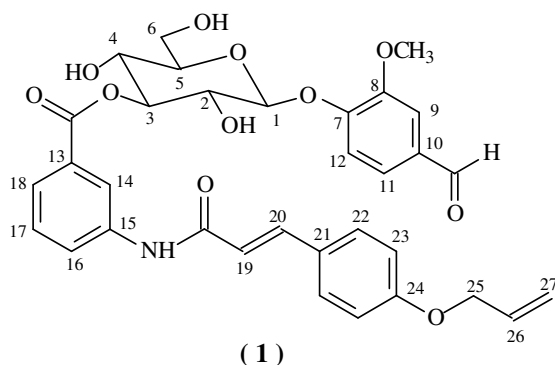
RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,32 (s; 1H; NH); 10,30 (s; 1H; NH); 9,88 (s; 1H; CHO); 8,26 (s; 1H; H-19); 8,24 (s; 1H; H-19'); 7,96 (d; *J*_{21,22} 8,0 Hz; 1H; H-21); 7,91 (d; *J*_{21',22'} 8,0 Hz; 1H; H-21'); 7,62 – 7,36 (m; 21H; H-9, H-11; H-15/H-15', H-16/H-16', H-17, H-22/H-22', H-23/H-23'; H-25/H-25', H-27/H-27'); 7,01 (d; *J*_{12,11} 7,6 Hz; 3H; H-12 e H-28/H-28'); 6,65 (d; *J*_{24,25} 15,6 Hz; 1H; H-24); 6,63 (d; *J*_{24',25'} 15,6 Hz; 1H; H-24'); 6,09 – 6,00 (m; 2H; H-31/H-31'); 5,92 – 5,87 (m; 2H; H-1 e H-3); 5,75 (s; 1H; H-13); 5,61 (t; *J*_{2,1=2,3} 8,8 Hz; 1H; H-2); 5,40 (d; *J*_{32,31=32'',31'} 17,2 Hz; 2H; H-32/H-32''); 5,27 (d; *J*_{32',31=32''',31''} 10,4 Hz; 2H; H-32'/H-32'''); 4,61 (d; *J*_{30,31} 4,4 Hz; 4H; H-30/H-30'); 4,43 – 4,41 (m; 1H; H-6); 4,26 – 4,13 (m; 2H; H-4 e H-5); 3,97 – 3,87 (m; 1H; H-6'); 3,56 (s; 3H; OCH₃).

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 191,6 (CHO); 164,9 (COOR); 164,4 (COOR); 164,0 (NHCO); 159,6 (C-29); 150,6 (C-7); 150,0 (C-8); 140,3 (C-25); 139,8 (C-20); 137,0 (C-14); 133,4 (C-31); 132,2 (C-10); 129,4; 129,2 (C-15 e C-15', C-16 e C-16', C-17); 128,1 (C-27 e C-27'); 127,2 (C-26); 126,00 (C-22); 124,6 (C-11); 124,0 (C-21)*; 123,8 (C-23)*; 119,7 (C-19); 119,3 (C-24); 117,6 (C-32); 115,1 (C-28 e C-28'); 111,5 (C-9); 100,5 (C-13); 99,0 (C-1); 77,4 (C-4); 72,2 (C-2); 72,0 (C-3); 68,2 (C-6 e C-30); 65,9 (C-5); 55,6 (OCH₃).

4.2.8 Síntese de 3-O-[3-[(*trans*-4-aliloxicinamoil)amino]benzoil]-β-D-glicopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (1)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 100 mg (0,14 mmol) de **8**, 30 mL de acetona e 0,5 mL de HCl concentrado, sob banho de gelo. A reação foi mantida sob

resfriamento e agitação magnética e acompanhada por CCD (eluente: diclorometano/metanol 95:5; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v). Após cerca de duas horas foi observado o consumo de todo o material de partida. O solvente foi evaporado e o resíduo bruto obtido submetido à purificação em placa cromatográfica do tipo preparativa (eluente: CH₂Cl₂/CH₃OH 95:5, revelador: UV). Foram obtidos 61 mg de **1**, correspondentes a 70% de rendimento.



FM: C₃₃H₃₃O₁₁N

MM: 619 g/mol

FF: 127,6-131,3°C

[α]_D²³ +9,87 (c 0,15 DMSO)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3317 (ν O-H); 2928 (ν C-H); 1717 (ν C=O); 1672 (ν C=O aldeído); 1593, 1542, 1508 (ν C=C); 1266 (ν C-O); 824 (C-H aromático *p*-substituído); 750 e 680 (def. ang. C-H aromático *m*-substituído).

RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,36 (s; 1H; NH); 9,89 (s; 1H; CHO); 8,37 (s; 1H; H-14); 8,01 (d; *J*_{16,17} 8,0 Hz; 1H; H-16); 7,73 (d; *J*_{18,17} 7,2 Hz; 1H; H-18); 7,61 – 7,46 (m; 8H; H-9, H-11; H-17, H-20, H-22/H-22'; H-23/H-23'); 7,04 (d; *J*_{12,11} 8,8 Hz; 1H; H-12); 6,70 (d; *J*_{19,20} 15,6 Hz; 1H; H-19); 6,12 – 6,01 (m; 1H; H-26); 5,74 (d; *J*_{OH,2} 6,0 Hz; 1H; OH); 5,42 (d; *J*_{27,27'} 5,6 Hz; 1H; H-27); 5,38 (d; *J*_{1,2} 7,6 Hz; 1H; H-1); 5,28 (d; *J*_{27',26} 10,8 Hz; 1H; H-27'); 5,21 (t; *J*_{3,2=3,4} 8,8 Hz; 1H; H-3); 4,63 (d; *J*_{25,26} 5,2 Hz; 2H; H-25); 3,85 (s; 3H; OCH₃); 3,73 – 3,53 (m; 5H; H-2, H-4, H-5, H6 e H6').

RMN de ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 191,4 (CHO); 165,1 (COOR); 164,0 (NHCO); 159,5 (C-24); 151,3 (C-7); 149,2 (C-8); 140,3 (C-20); 139,6 (C-15); 133,3 (C-26); 130,6 (C-10); 129,3; 128,9 (C-17, C-22 e C-22'); 125,2 (C-11); 123,9 (C-16)*; 123,2 (C-18)*; 119,8 (C-14); 119,2 (C-19); 117,5 (C-27); 115,0 (C-23 e C-23'); 114,5 (C-12); 110,5 (C-9); 98,8 (C-1); 78,6 (C-4); 76,6 (C-3); 71,1 (C-2); 68,2 (C-25); 67,2 (C-5); 60,00 (C-6); 55,5 (OCH₃).

*Intercambiáveis.

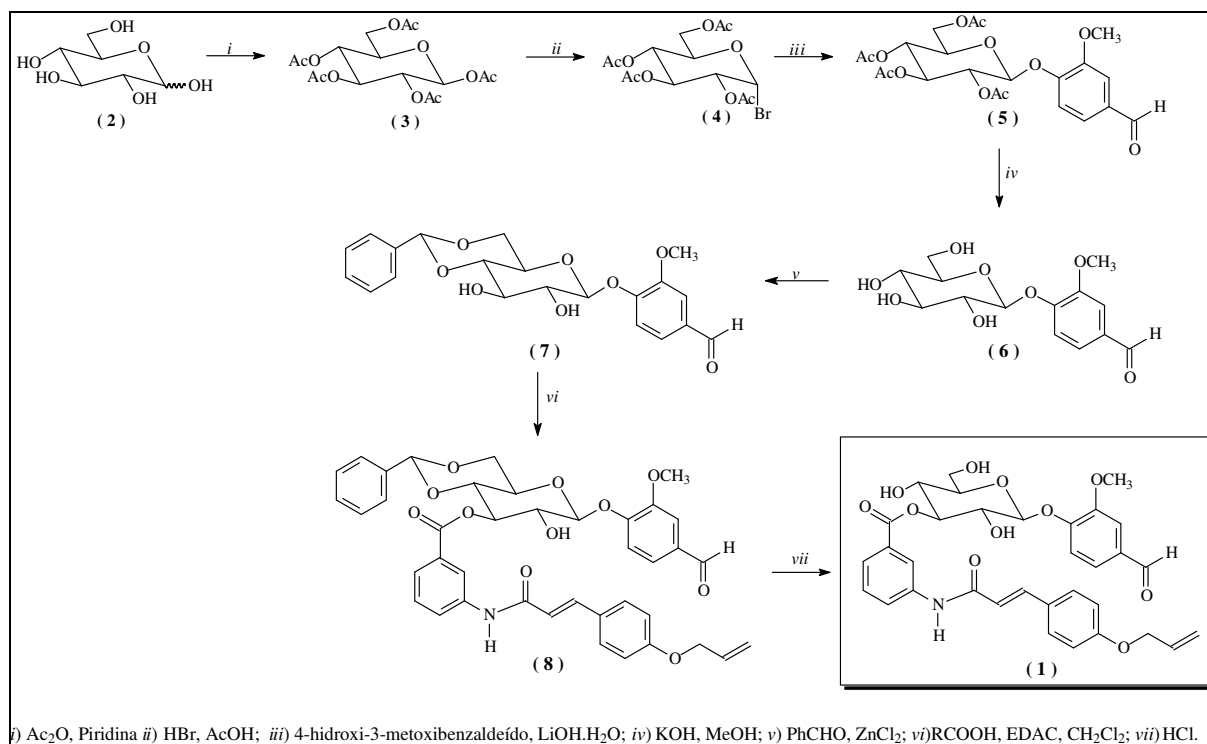
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo é descrita a síntese de um análogo da Papulacandina D **1**, à partir de D-glicose **2**, proposto como um inibidor potencial da enzima (1,3)- β -glicana sintase.

5.1 SÍNTESE DO ANÁLOGO DA PAPULACANDINA D **1** A PARTIR DO GLICOSÍDEO 4-FORMIL-2-METOXIFENILA

Para a síntese do derivado **1** foi planejada uma rota sintética a partir da D-glicose (Figura 5.1).

Figura 5.1- Esquema para a síntese do análogo **1**



A primeira etapa dessa rota de síntese foi a reação da D-glicose com anidrido acético, em piridina, para obtenção do derivado peracetilado **3** (CONCHIE *et al.*; 1957). O açúcar protegido foi submetido à reação com ácido bromídrico em anidrido acético, levando à obtenção da acetobromoglicose **4** (FISHER; 1916).

Para conversão da acetobromoglicose no glicosídeo de arila **5** duas metodologias foram comparadas. Inicialmente, o derivado **4** foi submetido a reação de glicosilação com $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ em acetona (FISHER, M.; 1916). Observou-se durante a evolução da reação

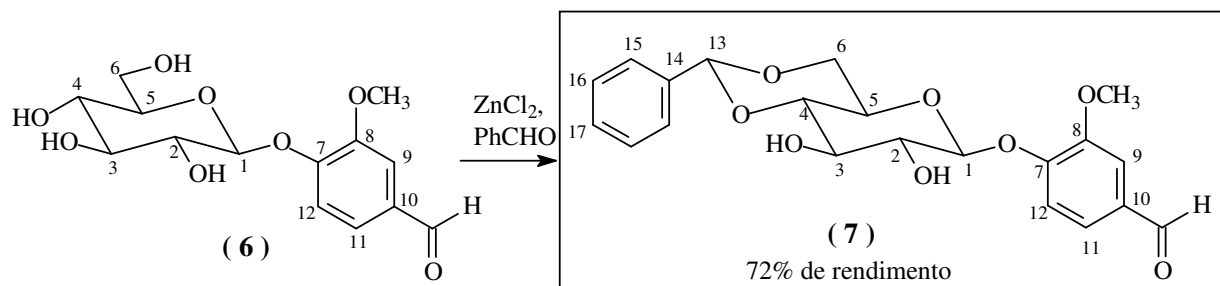
formação de um sólido branco, correspondente ao glicosídeo de 4-formil-3-metoxifenila **5**. Obteve-se o composto **5** com rendimento de 54%.

Também foi realizada uma tentativa de síntese de **5** utilizando-se o método de glicosilação por transferência de fase (ROY & TROPPER.;1990). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada e após verificar que ela não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação por cromatografia em coluna de sílica (CCS). O produto **5** foi obtido com 21% de rendimento.

O baixo rendimento obtido na reação de glicosilação por transferência de fase nos levou a optar pelo Método A para síntese de quantidades adicionais de **5**.

Dando continuidade à rota proposta, o glicosídeo **5** foi submetido a reação de desacetilação, para remoção dos grupos protetores. O método de escolha foi a transesterificação utilizando quantidades catalíticas de hidróxido de potássio em metanol (ROY *et al.*; 1999). A reação de desproteção foi completa em aproximadamente uma hora e o produto **6** foi isolado com rendimento de cerca de 95%.

A etapa seguinte foi a proteção regiosseletiva das hidroxilas de C-4 e C-6 do derivado **6**, realizada segundo metodologia descrita por Roth e Pigman (ROTH & PIGMAN., 1960) e que utiliza benzaldeído e cloreto de zinco. Primeiramente, o cloreto de zinco foi adicionado ao benzaldeído e o sistema vedado foi mantido sob agitação, por alguns minutos, até a formação de uma pasta esbranquiçada. O cloreto de zinco atua como catalisador da reação, complexando-se com a carbonila do benzaldeído e facilitando o ataque da hidroxila de C-6 do açúcar ao carbono carbonílico do benzaldeído. A seguir, o glicosídeo **6** foi adicionado à mistura reagente, que foi submetida a vigorosa agitação até obtenção de um sistema homogêneo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e após verificar-se que ela não mais evoluía foi realizada a elaboração, embora ainda fosse observada a presença de quantidades residuais de **6**. A mistura reagente foi vertida em gelo e éter de petróleo. Observou-se a formação de um sólido que foi lavado exaustivamente com água gelada e éter de petróleo, para conduzir à **7** puro, com 72% de rendimento.

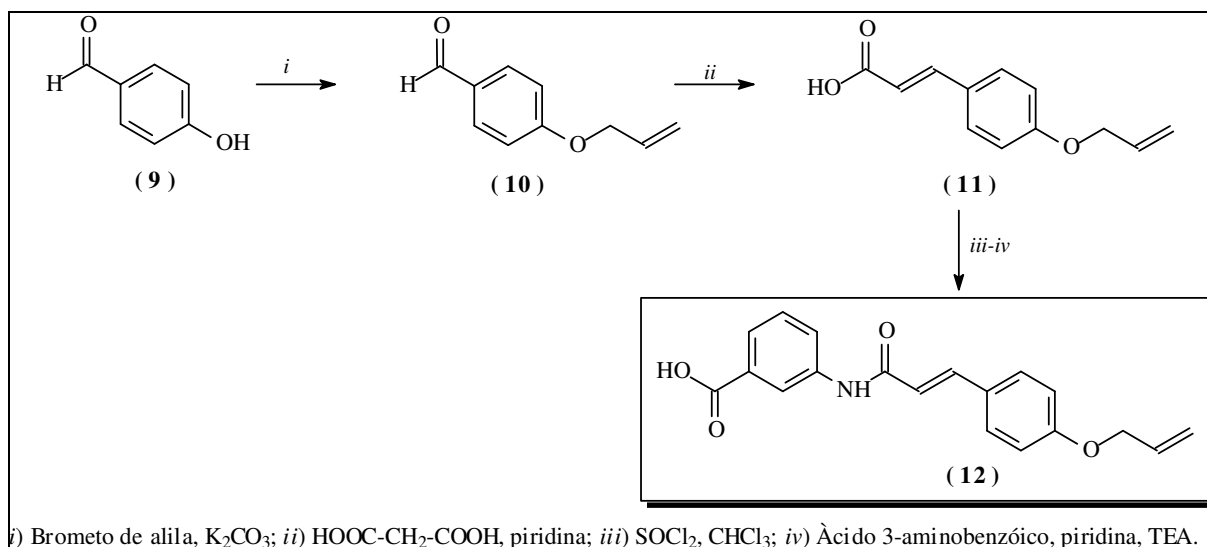


A obtenção do derivado **7** foi confirmada pela análise de seu espectro de RMN de ^1H (Figura A.1, pág. 172). Em $\delta 9,88$ observa-se sinal de hidrogênio do grupo CHO . O multiplete localizado entre $\delta 7,56 - 7,39$, com integral de oito hidrogênios, é correspondente aos hidrogênios aromáticos de **7**. O duplete centrado em $5,70$ corresponde ao hidrogênio do grupo OH . O sinal de hidrogênio benzílico H-13 pode ser visto, na forma de um simpleto em $\delta 5,61$. H-1 encontra-se na forma de um duplete centrado em $\delta 5,35$ e com constante de acoplamento $7,2 \text{ Hz}$, coerente com a configuração β do hidrogênio anomérico. Os demais sinais do açúcar encontram-se sobrepostos ao sinal do hidrogênio metílico entre $\delta 4,22 - 3,38$.

No espectro de RMN de ^{13}C de **7** (Figura A.2, pág. 173) destacam-se os sinais de ressonância em $\delta 128,9$; $128,0$ e $126,4$ que foram atribuídos aos carbonos hidrogenados do anel aromático do acetal benzilidênico, confirmando a introdução desse grupo na estrutura de **7**. Em $\delta 137,7$ foi observado sinal de carbono *ipso* atribuído a C-14 e em $\delta 100,7$ sinal referente a C-13.

Paralelamente, foram realizadas as etapas para a obtenção do ácido correspondente a **12**, de acordo com a rota de síntese representada na Figura 5.2, pág. 154.

Figura 5.2 - Esquema para a síntese de 12



A primeira etapa para a síntese de **12** foi a obtenção do derivado alílico **10**, por reação com brometo de alila, na presença de carbonato de potássio. A reação de alquilação do fenol sob essas condições é rápida e eficaz (TSENG *et al.*; 2011) e permite a introdução na molécula de um grupo com extensão e saturação similares ao encontrado na cadeia lateral do protótipo natural.

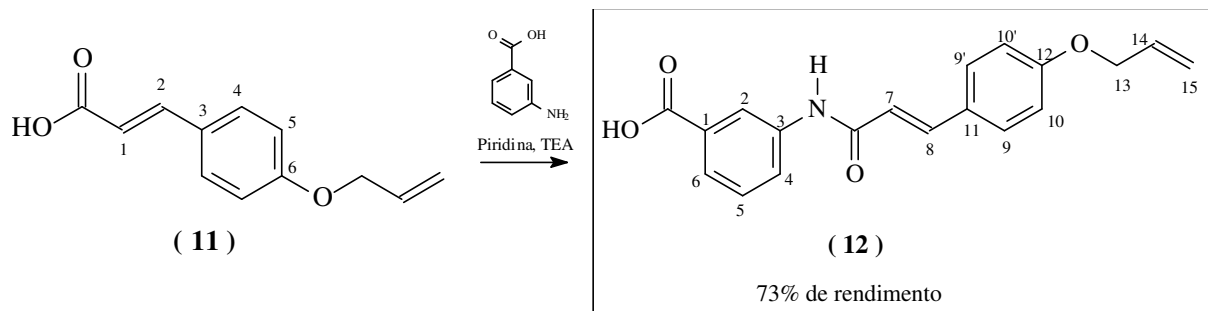
Para obtenção de **10** partiu-se do 4-hidroxibenzaldeído. A solução do fenol em etanol adicionaram-se o brometo de alila e o carbonato de potássio. A mistura reagente foi submetida ao refluxo e a reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), até o consumo de todo o material de partida. Após a etapa de elaboração, **10** foi obtido na forma de um líquido de cor amarelada e utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação.

A próxima etapa da rota de síntese prevê a conversão do grupo formila de **10** em um derivado ácido α,β -insaturado por condensação de Knoevenagel-Doebner (ácido malônico e piperidina em piridina a $95^\circ C$) (KOK *et al.*; 2010.). Por esse método o ácido **11** foi obtido puro, após precipitação sob condições ácidas, com rendimento de 86%.

Para a síntese da cadeia lateral **12** o cloreto de *trans*-4-aliloxicinamoíla foi previamente preparado por reação do ácido aliloxicinâmico **11** com cloreto de oxalila, na presença de clorofórmio. O rendimento obtido nessa etapa é quantitativo e o produto é utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação. O espectro no infravermelho do haleto de acila caracteriza-se pela ausência de bandas de estiramento da ligação O-H de ácido carboxílico (3300-2500

cm^{-1}), e pela presença da banda referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ da carbonila de cloreto de ácido.

Uma vez preparado o cloreto de *trans*-4-aliloxicinamoíla, o ácido 3-aminobenzóico foi adicionado a um balão de fundo redondo, juntamente com piridina e trietilamina. Em seguida, uma solução do cloreto de ácido em piridina foi adicionada, gota a gota, à mistura reagente (YANG *et al.*; 2010). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) e após ser observado que ela não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação por cromatografia em coluna de sílica (CCS). Sob essas condições o ácido carboxílico **12** foi obtido com 46% de rendimento. Tentativas de purificação por recristalização foram então realizadas. O derivado **12** foi obtido puro através de recristalização, utilizando-se um sistema de $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$, com 73% de rendimento.



No espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura A.28, pág. 190) foi observado o sinal do hidrogênio do grupo carboxila sob a forma de um simpleto, em $\delta 12,95$ e o simpleto referente ao hidrogênio do grupo NH , em $\delta 10,30$. Na região de aromáticos observam-se os sinais referentes aos hidrogênios do anel *m*-substituído em: $\delta 8,31$, simpleto referente a H-2; em $\delta 7,95$, duplete referente a H-4; em $\delta 7,64$, duplete atribuído a H-6; e em $\delta 7,45$, tripleto referente a H-5. Os sinais dos hidrogênios aromáticos H-9 encontram-se sobrespostos ao sinal de H-8, sob a forma de um multipeto em $\delta 7,59\text{--}7,54$. H-8 é mais desprotegido que H-7 porque o hidrogênio β de um composto carbonílico $\alpha\text{--}\beta$ insaturado é desblindado por efeito de ressonância. Os hidrogênios H-10 encontram-se mais protegidos, devido à blindagem exercida sobre a posição *orto* à $-\text{OR}$, em $\delta 7,02$. Observam-se ainda os sinais referentes a H-7, sob a forma de um duplete centrado em $\delta 6,68$ e os sinais da cadeia alílica em: $\delta 6,07\text{--}6,02$, multipeto atribuído a H-14; em $\delta 5,43\text{--}5,26$, dois dupletos centrados em $\delta 5,41$ e em $\delta 5,28$ atribuídos a H-15 e H-15', respectivamente; e em $\delta 4,63$, duplete atribuído as hidrogênios de H-13.

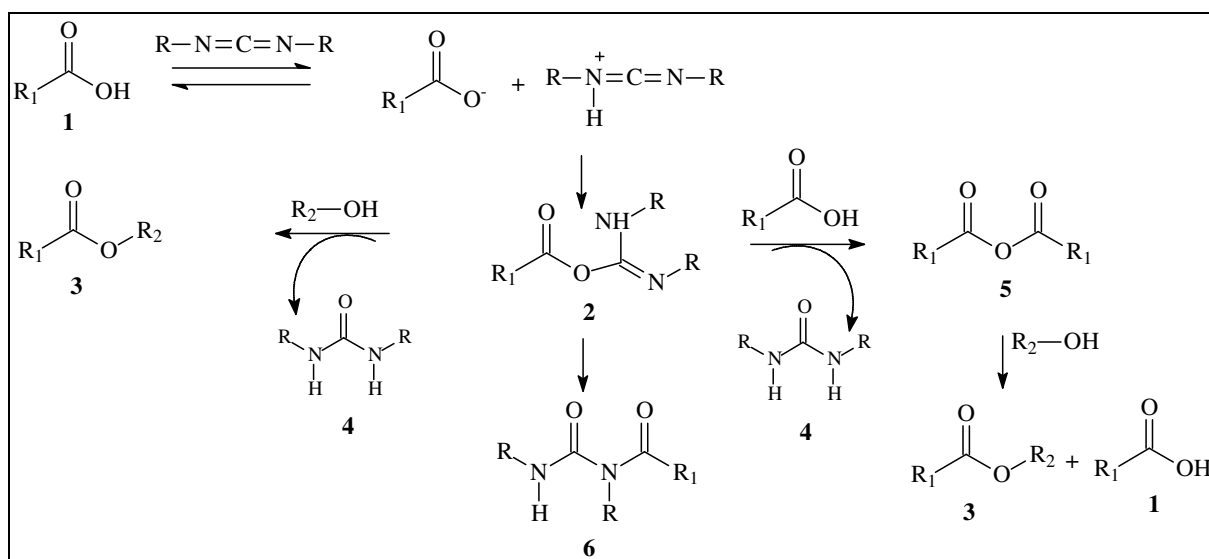
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A.29, pág. 191) de **12** observa-se, dentre outros sinais, o sinal de carbono carbonílico de amida ($\delta 164,0$), confirmando a obtenção do produto esperado. A presença de sinal de carbono carbonílico de ácido carboxílico ($\delta 167,2$) e dos sinais de carbono de anel aromático 1,3-dissubstituído também é indicativa da obtenção da amida **12**.

No espectro no infravermelho de **12** (Figura A.30, pág. 191) puderam ser observadas as bandas de estiramento da ligação N-H (3285 cm^{-1}) e C=O, de amida (1654 cm^{-1}), indicando a formação de uma ligação amídica.

Uma vez obtidos os compostos **7** e **12** realizou-se a etapa de acoplamento desses intermediários. Para tanto, o método inicialmente escolhido foi a reação de esterificação utilizando diciclo hexilcarbodiimida (DCC), como agente acilante e quantidades catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A DCC é um agente acilante de uso amplo e eficaz na síntese de ésteres e amidas. Reações de acilação que utilizam DCC são realizadas em condições amenas, levemente básicas, a temperatura ambiente, e empregando CH_2Cl_2 como solvente.

Na Figura 5.3 está representado o esquema proposto para reações de esterificação, utilizando carbodiimidas como agente de acoplamento.

Figura 5.3 - Representação esquemática da ativação do ácido carboxílico por carbodiimida (NAHMANY & MELMAN; 2007)



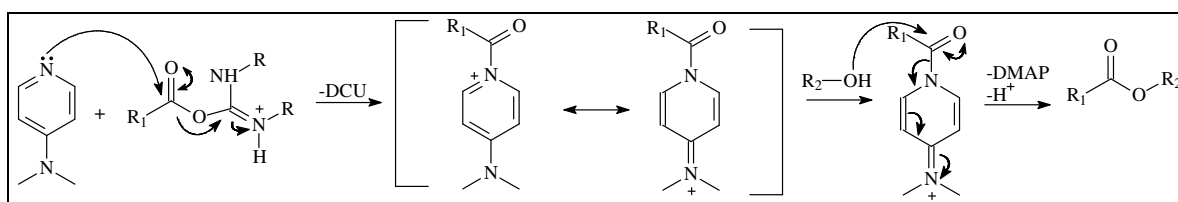
O ácido carboxílico reage com DCC para formar a *O*-isoacilureia **2**, que é mais reativa que o ácido livre. Em seguida, o álcool ataca este intermediário levando à obtenção do éster correspondente e da diciclo-hexilureia **4** (DCU) (NAHMANY & MELMAN; 2007). A formação da DCU é um inconveniente relacionado ao uso da DCC. Embora esse subproduto possa ser separado por filtração, quantidades residuais difíceis de serem removidas podem permanecer contaminando o produto final.

A *O*-isoacilureia intermediária também pode reagir com outra molécula do ácido carboxílico, formando um anidrido simétrico **5**. Este anidrido é igualmente reativo como agente acilante, e pode levar a formação do éster desejado.

O intermediário *O*-isoacilureia pode ainda sofrer uma reação indesejada de forma a produzir, por rearranjo, a *N*-acilureia **6**, bastante estável e pouco reativa. Em geral, esse rearranjo é lento e não costuma ser um problema na síntese de amidas. No entanto, em reações de esterificação, que ocorrem lentamente, isto pode comprometer o rendimento da reação ou dificultar a purificação do produto final.

A adição de DMAP à mistura reagente pode evitar essas reações secundárias. O DMAP atua como um nucleófilo auxiliar e reage ou com a *O*-isoacilureia ou com o anidrido simétrico formando um agente acilante que apresenta menor tendência em participar de processos secundários indesejados, mas que mantém a reatividade necessária para que ocorra a reação de esterificação (Figura 5.4).

Figura 5.4 – Mecanismo proposto para a reação de esterificação com DMAP

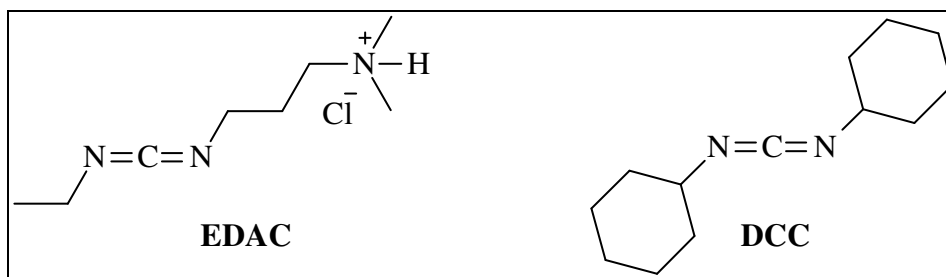


Para obtenção de **8**, o derivado **12** foi suspenso em CH_2Cl_2 , juntamente com DCC. O sistema vedado foi mantido sob agitação, por cerca de trinta minutos e após esse tempo o glicosídeo **7** e o DMAP foram adicionados à mistura reagente. Observou-se por cromatografia em camada delgada (CCD) a formação de dois produtos menos polares que o material de partida e com R_f 's muito próximos. Após se observar que a reação não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação, por cromatografia em coluna de sílica (CCS), e dois produtos sólidos foram isolados, (A) e (B). Cerca de 60% da

massa do glicosídeo **7** foi recuperada. No espectro de absorção na região do infravermelho de (A) foi observada uma banda em 1730 cm^{-1} e em 1728 cm^{-1} no espectro de (B), referente ao estiramento da ligação C=O de éster. O éster (A), caracterizado como **8**, foi obtido com 14% de rendimento. O éster (B), correspondente a **8.1** foi isolado com 17% de rendimento. Tentativas de otimização da reação foram realizadas substituindo-se o DCC por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC), como agente acilante. O EDAC é uma carbodiimida solúvel em água e usualmente comercializado na forma de cloridrato. O EDAC.HCl é superior ao DCC no que diz respeito a sua elevada solubilidade em água e em solventes orgânicos como CH_2Cl_2 , THF e DMF e pode ser mais facilmente manipulado, pois é menos irritante que o DCC.

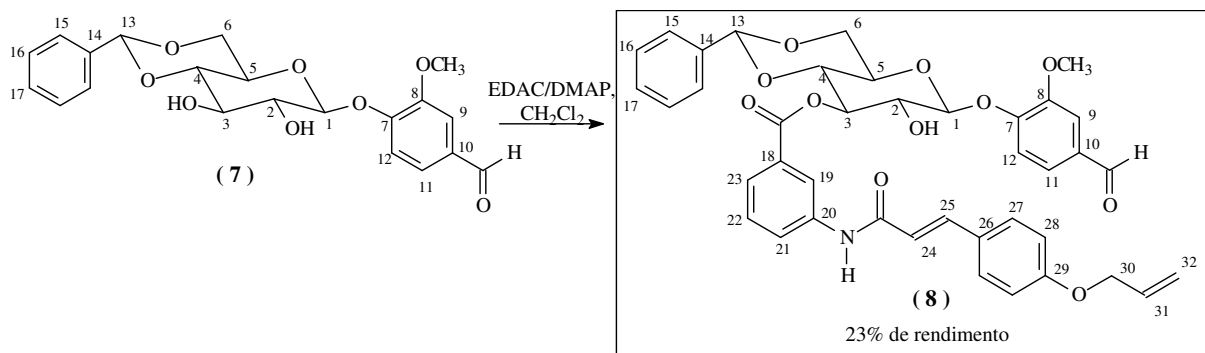
A ativação do grupo carboxila pelo EDAC.HCl ocorre de maneira semelhante à de outras carbodiimidas usadas como agente de acoplamento. Como descrito anteriormente para o DCC, a *O*-isoacilureia intermediária é formada por reação do ácido carboxílico com o EDAC.HCl. Durante a reação o EDAC.HCl é transformado em ureia. Diferentemente da reação com DCC na qual ocorre a formação da DCU, um produto secundário difícil de ser eliminado, a ureia formada pelo EDAC.HCl pode ser facilmente removida da mistura reagente por uma simples extração.

Figura 5.5 – Estrutura química de EDAC.HCl e DCC



Para a obtenção de **8**, ao balão contendo uma suspensão do derivado **7** em CH_2Cl_2 , foram adicionados o ácido carboxílico **12**, o EDAC e o DMAP. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) e foi observada a formação de dois produtos menos polares que o material de partida, contudo com RF's significativamente diferentes entre si. Uma vez observado que a reação não mais evoluía foram realizadas as etapas de elaboração e purificação, por cromatografia em coluna de sílica (CCS). Foram obtidos ao final do processo o derivado **8**, com 23% de rendimento e o derivado **8.2**, com 20% de rendimento, e caracterizado como sendo o glicosídeo di-esterificado com a cadeia lateral nas posições C-2 e C-3 do açúcar.

Para o acúmulo de quantidades adicionais de **8** optou-se pelo uso do EDAC como agente acilante. Além de fornecer o derivado desejado com melhor rendimento, o uso desse reagente elimina os problemas relacionados ao emprego do DCC, como por exemplo, a contaminação dos produtos por DCU.



No espectro de RMN de ^1H de **8** (Figura A.4, pág. 174) foram observados os sinais de ressonância referentes ao hidrogênio do grupo NH em δ 10,36 e do grupo CHO em δ 9,90.

O simpleto localizado em δ 8,38 foi atribuído ao sinal de H-19. Três dupletos centrados em δ 7,98; 7,73 e 7,04 foram atribuídos respectivamente a H-21, H-23 e H-12. A atribuição desses sinais foi feita com base nas correlações observadas no mapa de contorno homonuclear HMQC. O duplete centrado em δ 6,70, com constante de acoplamento calculada de 15,6 Hz foi atribuído ao sinal de H-24. Os demais sinais de hidrogênio aromático encontram-se sobrepostos em δ 7,59-7,30.

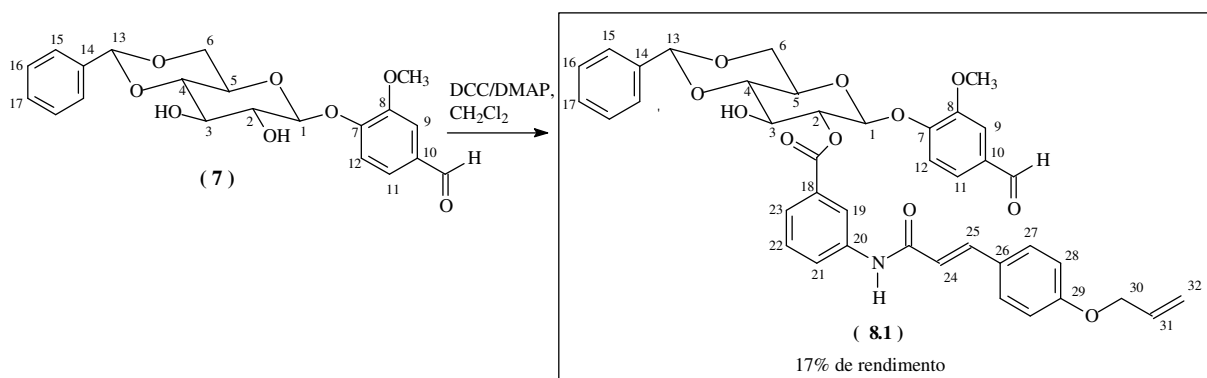
O ponto de partida para a atribuição dos sinais do açúcar foi o duplete, centrado em δ 5,62, com constante de acoplamento calculada de 7,6 Hz, referente à H-1. Essa atribuição é compatível com a observação de correlação entre o referido duplete e o carbono localizado em δ 99,2, no mapa de contorno heteronuclear HMQC. A observação direta de correlação, no mapa de contorno homonuclear COSY, entre o sinal de H-1 e H-2 permitiu atribuir esse sinal ao multiplete localizado entre δ 3,98-3,80. O sinal de H-2 correlaciona-se também com o sinal de H-3, atribuído a um multiplete localizado entre δ 5,50-5,39 e com o hidrogênio do grupo hidroxila em C-2, localizado na forma de um multiplete, entre δ 6,10-6,03. A observação do sinal de H-3 em região mais longe do TMS do espectro e de uma correlação entre H-2 e o hidrogênio de OH confirmam a acilação da posição C3 do açúcar. Os sinais dos hidrogênios H-6 e H-6' foram atribuídos respectivamente a dois multipletos localizados entre δ 4,30-4,28 e δ 3,98-3,80. Essas atribuições foram feitas com base na observação de uma correlação entre esses sinais de hidrogênio e o carbono metilênico localizado em

$\delta 67,6$, no HMQC. Finalmente os sinais de H-4 e H-5 encontram-se sobrepostos aos sinais de H-2, H-6' e de OCH_3 .

A observação de uma correlação no HMQC entre o carbono localizado em $\delta 100,3$ e o simpleto visto em $\delta 5,65$ permitiu atribuir esse sinal ao hidrogênio benzílico H-13.

Os sinais de hidrogênio da cadeia lateral alílica foram atribuídos com base na observação dos mapas de contorno COSY e HMQC. Esses sinais são observados da seguinte forma: entre $\delta 6,10$ - $6,03$ encontra-se H-31 sobreposto ao sinal de OH; entre $\delta 5,50$ - $5,39$ observa-se um multipeto referente a H-32 e centrado em $\delta 5,29$ está o dupeto atribuído a H-32', cuja constante de acoplamento *cis* é de 10,4 Hz; finalmente o dupeto centrado em $\delta 4,63$ foi atribuído ao sinal dos hidrogênios metilênicos H-30.

Os sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C de **8** (Figura A.5, pág. 175) foram atribuídos com base na observação direta das correlações presentes no mapa de contorno HMQC e no deslocamento químico previsto em tabelas (SILVERSTEIN *et al.*; 2007). Destaca-se, dentre outros, o sinal em $\delta 165,0$ atribuído ao carbono carbonílico do éster em C-3.

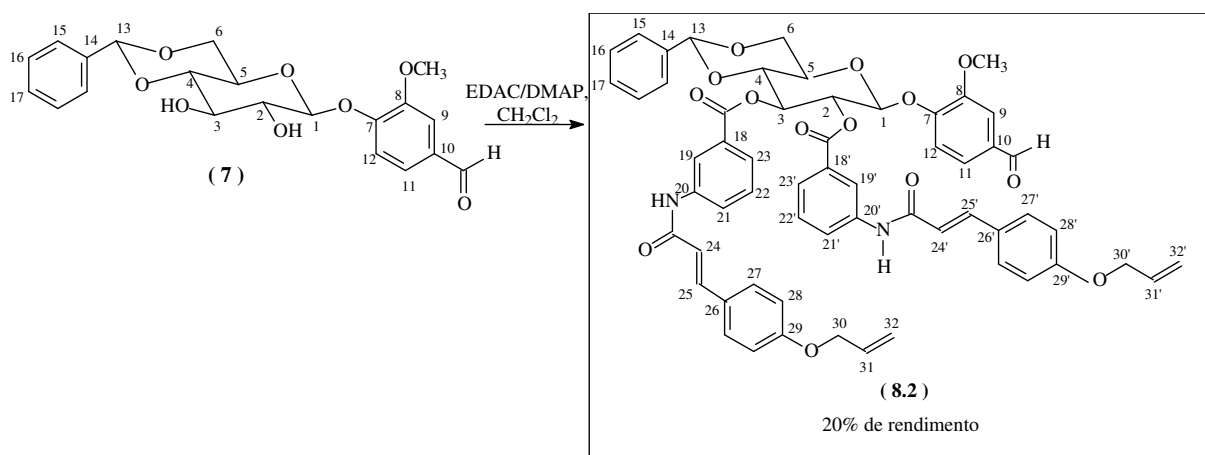


O derivado **8.1** foi devidamente purificado e a análise de seu espectro de RMN de ^1H (Figura A.10, pág. 178) permitiu observar os sinais de ressonância dos hidrogênios dos grupos NH e CHO em $\delta 10,35$ e $9,85$, respectivamente. Foram observados, também, os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos atribuídos da seguinte forma: em $\delta 8,34$, simpleto referente a H-19; em $\delta 7,95$, dupeto atribuído a H-21; em $\delta 7,67$, dupeto referente a H-23; e em $\delta 7,03$, dupeto referente a H-12. Os demais sinais de hidrogênio aromático encontram-se sobrepostos em $\delta 7,57$ - $7,33$. A atribuição desses sinais foi feita com base na análise do espectro de RMN de ^1H e dos mapas de correlação COSY e HMQC.

O sinal referente a H-1 localiza-se em δ 5,57, sob a forma de um duplete. Através da correlação entre H-1 x H-2, observada no mapa de contorno homonuclear COSY, foi possível atribuir o sinal de H-2 ao multiplete em δ 5,29-5,21, sobreposto a H-32'. O deslocamento químico desse sinal para uma região mais distante do TMS, em relação ao observado no precursor **7** é indício da ocorrência de esterificação nessa posição. Essa hipótese foi confirmada pela observação direta da correlação no mapa de contornos heteronuclear HMBC entre H-2 e o sinal de carbono carbonílico do éster. Com isso, é possível afirmar que o produto **8.1** corresponde ao éster na posição C-2. A obtenção de um análogo da Papulacandina D com o grupo éster em C-2 já era prevista, uma vez que na rota de síntese planejada não foi proposta a proteção seletiva da hidroxila de C-2.

As atribuições dos demais sinais do açúcar e dos hidrogênios da cadeia alílica foram feitas com base nas correlações observadas no mapa de contornos homonuclear COSY.

O sinal de ressonância de carbono *ipso*, observado no espectro de RMN de ^{13}C de **8.1** (Figura A.11, pág. 179), em δ 164,1 confirma a obtenção de um derivado éster. A atribuição dos demais sinais de ^{13}C de **8.1** foi feita com base na análise do HMQC e nos valores de deslocamento químico previsto em tabelas (SILVERSTEIN *et al.*; 2007).



No espectro de RMN de ^1H de **8.2** (Figura A.16, pág. 182) observa-se a presença de dois simplesos em δ 10,32 e δ 10,30 atribuídos aos hidrogênios do grupo NH . O simpleso em δ 9,88 foi atribuído ao hidrogênio do grupo CHO . Os sinais dos hidrogênios H-19 e H-19' podem ser vistos respectivamente em δ 8,26 e δ 8,24, na forma de dois simplesos. Observa-se ainda na região de aromáticos dois dupletos, centrados em δ 7,96 e δ 7,91, e atribuídos a H-21 e H-21' e um duplete centrado em δ 7,01 referente a H-12. Essas atribuições e os

valores das integrais observados confirmam a obtenção do produto di-éster, **8.2**. Os demais sinais de hidrogênios aromáticos encontram-se sobrepostos entre δ 7,62-7,36.

O sinal do hidrogênio anomérico H-1 foi atribuído com base na observação direta de uma correlação no mapa de contornos heteronuclear HMQC entre o multiplete localizado entre δ 5,92-5,87 e o sinal de carbono visto em δ 99,0. O sinal de H-2 foi atribuído ao tripleto centrado em δ 5,61 e o sinal de H-3 encontra-se sobreposto a H-1. Essas atribuições foram baseadas na análise detalhada do mapa de correlação homonuclear COSY. O deslocamento químico dos sinais de H-2 e H-3 para uma região mais afastada do TMS é coerente com a esterificação dessas posições. A observação de correlação no HMBC entre a carbonila do grupo éster e os sinais de hidrogênio H-2 e H-3 confirma a obtenção do produto di-éster.

Os demais sinais de hidrogênio do açúcar e os sinais da cadeia alílica foram atribuídos com base nas correlações observadas nos mapas COSY e HMQC.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A.17, pág.183) observam-se os sinais em δ 164,9 e δ 164,4 referentes aos dois grupos éster presentes na estrutura de **8.2**. Todos os demais sinais foram atribuídos graças a análise do HMQC e com base nos valores de deslocamento químico previstos em tabelas (SILVERSTEIN *et al.*; 2007).

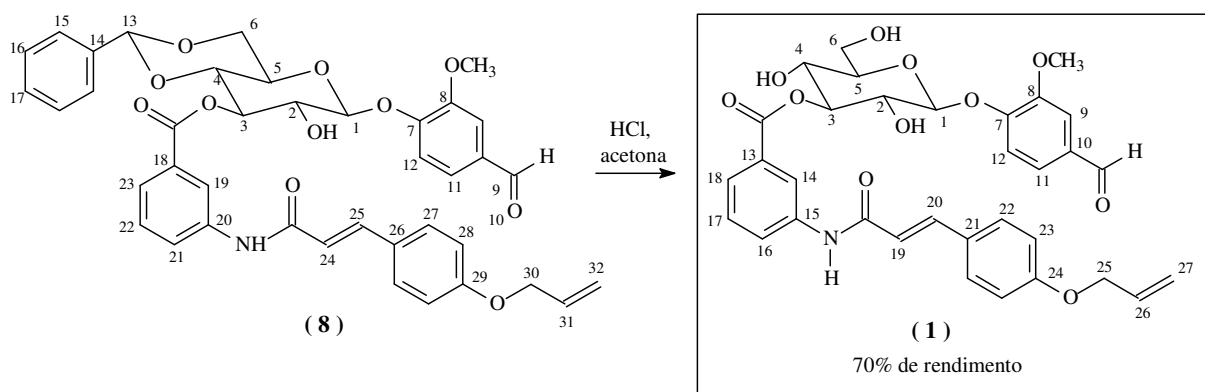
No espectro no infravermelho de **8.2** (Figura A.21, pág. 186) não se observa banda de estiramento da ligação O-H.

Na Tabela 5.1 estão descritos os valores de deslocamento químico observados para os hidrogênios H-2 e H-3 para os derivados esterificados na posição C-3 (**8**), C-2 (**8.1**) e C-2 e C-3 (**8.2**).

Tabela 5.1 – Dados dos espectros de RMN de ^1H relacionados às modificações de **8, **8.1** e **8.2****

$\delta(\text{ppm})$			Multiplicidade			J (Hz)			Atribuição
8	8.1	8.2	8	8.1	8.2	8	8.1	8.2	8, 8.1 e 8.2
3,98- 3,80	5,29- 5,21	5,61	m	M	t	-	-	8,8	H-2
5,50- 5,39	4,02 – 3,96	5,92- 5,87	m	M	m	-	-	-	H-3

A última etapa da rota de síntese prevê a remoção do grupo protetor acetal benzilidênico sob condições ácidas. Para isso o derivado **8** foi previamente solubilizado em acetona. Após resfriamento sob banho de gelo, foi adicionado à mistura HCl concentrado. A evolução da reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) e após ser observado o consumo de todo o material de partida, foram realizadas as etapas de elaboração e purificação. O produto final **1** foi obtido com 70% de rendimento.



A obtenção do produto desprotegido **1** é confirmada pela análise de seu espectro de RMN de ^1H (Figura A.22, pág.186). Na região de aromáticos observa-se o sinal de H-14, na forma de um simpleto largo em δ 8,37 e os sinais de H-16, H-18 e H-12, na forma de duplete, centrados respectivamente em δ 8,01, δ 7,73 e δ 7,04. Os demais sinais de hidrogênio aromáticos estão sobrepostos entre δ 7,61-7,46, com integral de oito hidrogênios. Além dos sinais de hidrogênio aromático do grupo benzila não se observa no espectro de RMN de ^1H sinal, na região entre 6,00-5,50 ppm, referente ao hidrogênio benzílico. Essa observação confirma que o derivado **1** foi obtido com sucesso.

No espectro de RMN de ^{13}C de **1** (Figura A.23, pág. 187) não se observa, próximo a 100,0, sinal de carbono benzílico.

5.2 TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

O análogo **1** foi submetido a teste para a avaliação de sua atividade antifúngica. Esse composto foi avaliado contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis* e *Paracoccidioides brasiliensis* pelo método de diluição seriada, no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pela equipe da professora Suzana Johan.

Além do análogo **1** os intermediários de síntese **5-8**, o éster em C-2 **8.1** e o di-éster **8.2** também foram avaliados, contra os microrganismos descritos anteriormente.

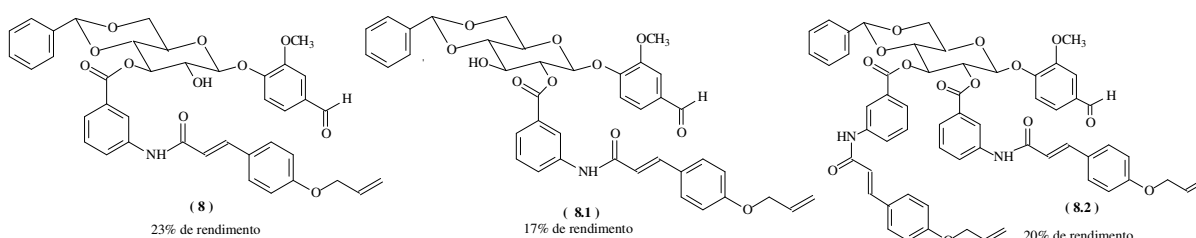
Nenhum composto foi ativo até a concentração de 500 µg/mL.

6 CONCLUSÃO

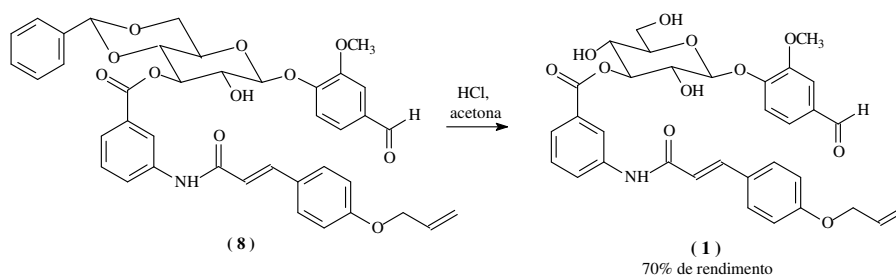
Na segunda parte deste trabalho planejou-se a síntese de um análogo da papulacandina D, pelo método de simplificação molecular. Para isso, foi realizada uma rota sintética, a partir da D-glicose, que em seis etapas conduziu a obtenção de **1**.

O intermediário **7** foi submetido a reação de esterificação com o ácido carboxílico **12**. Como não foi planejada a síntese regiosseletiva, durante as reações de acoplamento foram isolados, além do éster desejado com a cadeia lateral em C-3, o derivado éster C-2 **8.1** e di-éster **8.2**. Todos os compostos obtidos foram devidamente caracterizados por métodos espectroscópicos.

Apesar dos nossos esforços não foi possível otimizar o rendimento durante a etapa de esterificação. Contudo, a separação dos ésteres formados, por cromatografia em coluna de sílica, viabilizou a continuação da rota de síntese.



O produto **1** foi obtido com 70% de rendimento.



Todos os compostos obtidos foram submetidos à avaliação de sua atividade antifúngica, no entanto nenhum se mostrou ativo até a concentração de 500 µg/mL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUZZO, G.K.; GILL, C.J.; FLATTERY, A.M.; KONG, L.; LEIGHTON, C.; SMITH, J.G.; PIKOUNIS, V.B.; BARTIZAL, K.; ROSEN, H. Efficacy of the Echinocandin Caspofungin against Disseminated Aspergillosis and Candidiasis in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppressed Mice. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***. 2000, 44 (9), 2310-23818.
- ÁGOSTON, K.; DOBÓ, A.; RÁKÓ, J.; KERÉKGYÁRTÓ, J.; SZURMAI, Z. Anomalous Zemplén deacylation reactions of α - and β -D-mannopyranoside derivatives. ***Carbohydrate Research***. 2001, 330, 183-190.
- AHMED, M.M.; O'DOHERTY, G.A. De novo synthesis of a galacto-papulacandin moiety via an iterative dihydroxylation strategy. ***Tetrahedron Letters***. 2005, 46, 4151–4155.
- AOKI, M.; ANDOH, T.; UEKI, T.; MASUYOSHI, S.; SUGAWARA, K.; OKI, T. BU-4794F, A New β -1,3-Glucan Synthase Inhibitor. ***The Journal of Antibiotics***. 1993, 46 (6), 952-960.
- BARRETT, A. G. M.; PENA, M.; WILLARSEN, J. A. Total synthesis and Structure elucidation of the Antifungal Agent Papulacandin D. ***The Journal of Organic Chemistry***. 1996, 61 (3), 1082-1100.
- BERGOLD, A. M.; GEORGIADIS, S. Novidades Em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão. ***Visão Acadêmica***. 2004, 5 (2)
- BOUFFARD, F.A.; ZAMBIAS, R.A.; DROPINSKI, J.F.; BALKOVEC, J.M.; HAMMOND, M.L.; ABRUZZO, G.K.; BARTIZAL, K.F.; MARRINAN, J.A.; KURTZ, M.B.; MCFADDEN, D.C.; NOLLSTADT, K.H.; POWLES, M.A.; SCHMATZ, D.M. Synthesis and Antifungal Activity of Novel Cationic Pneumocandin Bo Derivatives. ***J. Med. Chem.*** 1994,37, 222-225.
- CARRETERO, J.C.; DIEGO, J.E.; HAMDOUCHI, C. New Approach to the Stereoselective Synthesis of the Spiroketal Moiety of Papulacandins. ***Tetrahedron***. 1999,55 (15), 15159-15166.
- CHEN, R.H.; TENNANT, S.; FROST, D.; O'BEIRNE, M.J.; KARWOWSKI, J.P. ; HUMPHREY, P.E.; MALMBERG, L.H.; CHOI, W.; BRANDT, K.D.; WEST, P.; KADAM, S.K.;

CLEMENT, J.J.; MEALPINE, J.B. Discovery of Saricandin, a Novel Papulacandin, a *Fusarium Species*. ***The Journal of Antibiotics***. 1996, 49 (6), 596-598.

CONCHIE, J.; LEVVY, G. A.; MARSH, C. A. Methyl and phenyl glycosides of the common sugars. ***Advances in Carbohydrate Chemistry***. 1957, 12, 157-179.

DENMARK, S.E.; KOBAYASHI, T.; REGENS, C.S. Total synthesis of (+)-papulacandin D. ***Tetrahedron***. 2010, 66, 4745-4759.

FISCHER, E.; MECHEL, L. Zur synthese der phenol-glucoside. ***Berichte der Deutschen***. 1916, 49 (2), 2813-2813.

GONZÁLEZ, M.C.; GONZÁLEZ, J.C.M. Nueva aportación en terapia antifúngica: Anidulafungina. Aspectos farmacológicos de la anidulafungina. ***Rev Iberoam Micol***. 2008; 25, 92-100.

HAMDOUCHI, C.; JARAMILLO, C.; LOPEZ-PRADOS, J.; RUBIO, A. A novel approach to the regioselective acylation of spirocyclic C-glucoside of papulacandins. ***Tetrahedron Letters***. 2002, 43, 3875–3878.

HAN, J.; WANG, J.; DONG, H.; LEI, J.; WANG, M.; FANG, J. Synthesis and Herbicidal Activity of 5-(4-Hydroxybenzyl)-2-Thioxoimidazolidin-4-one Esters. ***Molecules***. 2011, 16, 2833-2845.

HELFERICH, B.; DEMANT, S.; GOERDELER, J.; BOSSE, R. The carbohydrates of barley malt, "malt emulsin". ***Hoppe Seyler's Zeitschrift fuer Physiologische Chemie***. 1948, 283, 179-186.

KAADEN, M.; BREUKINK, E.; PIETERS, R.J. Synthesis and antifungal properties of papulacandin derivatives. ***Beilstein J. Org. Chem***. 2012, 8, 732-737.

KANETO, R.; CHIBA, H.; AGEMATU, H.; SHIBAMOTO, N.; YOSHIOKA, T.; NISHIDA, H.; OKAMOTO, R. Mer-WF3010, a new member of the papulacandin family. ***The Journal of Antibiotics***. 1993, 46 (2), 247-250.

KOMORI, T.; ITOH, Y. Chaetiacandin, A Novel Papulacandin. II Structure Determination. ***The Journal of Antibiotics***. 1985, 38 (4), 544-546.

KÖK, G.; KARAYILDIRIM, T.; AY, H.; AY, E. The Knoevenagel-Doebner Reaction on 1,2-O-(2,2,2-Trichloroethylidene) Derivatives of D-glucose and D-mannofuranose. **Molecules**. 2010, 15, 7724-7731.

LETSCHER-BRU, V.; HERBRECHT, R. Caspofungin: the first representative of a new antifungal class. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 2003, 51, 513-521.

MARTINS, I.M.; CORTE, J.C.G.; MUÑOZ, J.; MORENO, M.B.; RAMOS, M.; CLEMENTE-RAMOS, J.A.; DURAN, A.; RIBAS, J.C. Differential Activities of Three Families of Specific β -(1,3)Glucan Synthase Inhibitors in Wild-type and Resistant Strains of Fission Yeast. **The Journal of Biological Chemistry**. 2011, 286 (5), 3484-3496.

MOHRI, K.; WATANABE, Y.; YUKI, Y.; MITSURI, S.; ISOBE, K.; SUGIMOTO, M.; TSUDA, I. Synthesis of glycosylcurcuminoids. **Chem. Pharm. Bull.** 2003, 51, 1268-1272.

NAHMANY, M.; MELMAN, A. Facile Acylation of Sterically Hindered Alcohols through Ketene Intermediates. **Organic Letters**. 2001, 3 (23), 3733-3735.

QUINDÓS, G.; ERASO, E.; CARRILLO-MUÑOZ, A.J.; CANTÓN, E.; PEMÁN, J. Actividad antifúngica in vitro de la micafungina. **Rev Iberoam Micol.** 2009; 26(1), 35-41.

RAJPUT, A.P.; GORE, R.P. N-Acylation in non-aqueous and aqueous medium- method of amide synthesis in non-peptide compounds. **Der Pharma Chemica**. 2011, 3(3), 409-421.

REICHEL, L.; SCHICKLE, R. Chemistry and biochemistry of plant substances. XII. Syntheses of new methoxylated chalcone-flavonone glucosides under physiological conditions. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft [Abteilung] B: Abhandlungen**, 1943.

RÖMMELE, G.; TRAXLER, P.; WEHRLI, W. Papulacandins – the relationship between chemical structure and effect on glucan synthesis in yeast. **The Journal of Antibiotics**. 1983, 36 (11), 1539-1542.

ROTH, W.; PIGMAN, W. Glycosides of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucosamine and benzyldene derivatives. **Journal of American Chemical Society**. 1960, 82, 4608-4611.

ROY, R. & TROPPER, F. Stereospecific synthesis of aryl β -D-N-acetylglucopyranosides by phase transfer catalysis. ***Synthetic communications*** 1990, 20 (14), 2097-2102.

ROY, R.; DAS, S. K.; DOMINIQUE, R.; TRONO, M. C.; HERNANDEZ-MATEO, F.; SANTOYO-GONZÁLEZ, F. Transition metal catalyzed neoglycoconjugate syntheses. ***Pure and Applied Chemistry***. 1999, 71, 565-571.

SELVAKUMAR, D.; KARIM, N.; MIYAMOTO, M.; FURUICHI, Y.; KOMIYAMA, T. Recombinant Single-Chain Anti-idiotypic Antibody: An Effective Fungal β -1,3-Glucan Synthase Inhibitor. ***Biol. Pharm. Bull.*** 2006, 29(9), 1848-1853.

SCHMATZ, D. M.; ROMANCHEK, M. A.; PITTARELLI, L. A.; SCHWARTZ, R. E.; FROMTLING, R. A.; NOLLSTADT, K. H.; VANMIDDELESWORTH, F. L.; WILSON, K. E.; TURNER, M. J. Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia with 1,3- β -glucan synthesis inhibitors. ***Proceedings of the National Academy of Science***. 1990, 87, 5950-5954.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C. ***Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos***. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2007. 490p.

SOTO-CASTRO, D.; CRUZ-MORALES, J.A.; APAN, M.T.R.; GUADARRAMA, P. Synthesis of Non-Cytotoxic Poly(Ester-Amine) Dendrimers as Potential Solubility Enhancers for Drugs: Methotrexate as a Case Study. ***Molecules***. 2010, 15, 8082-8097.

SOUZA, T.B. Síntese de Análogos da Papulacandina D por Simplificação Molecular e Avaliação de sua Atividade Antifúngica, 2010. 247f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SULTANA, I.; SHIMAMOTO, M.; OBATA, R.; NISHIYAMA, S.; SUGAI, T. Na expeditious chemo-enzymatic synthesis of dihydronorcapsaicin β -D-glucopyranoside. ***Science and Technology of Advanced Materials***. 2006, 7(2), 197-201.

TAFT, C.S.; ENDERLIN, C.S.; SELITRENNIKOFF, C.P. A High Throughput In Vitro Assay For Fungal (1,3) β -Glucan Synthase Inhibitors. ***The Journal of Antibiotics***. 1994, 47 (9), 1001-1009.

TOMISHIMA, M.; OHKI, H.; YAMADA, A.; MAKIB, K.; IKEDAB, F. Novel echinocandin antifungals. Part 2: Optimization of the side chain of the natural product FR901379. Discovery of micafungin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2008, 18, 2886–2890.

TRAXLER, P.; GRUNER, J.; AUDEN, J. A. L. Papulacandins, a new family of antibiotics with antifungal activity. **The Journal of Antibiotics**. 1977, 30 (4), 289-296.

TRAXLER, P.; TOSCH, W.; ZAK, O. Papulacandins – synthesis and biological activity of papulacandin B derivatives. **The Journal of Antibiotics**. 1987, 40 (8), 1146-1164.

TSENG, C.H.; LIN, R.W.; CHEN, Y.L.; WANG, G.J. HO, M.L.; TZENG, C.C. Discovery of Indeno[1,2-c]quinoline Derivatives as Inhibitors of Osteoclastogenesis Induced by Receptor Activator of NF-KB Ligand (RANKL). **J. Med. Chem.** 2011, 54, 3103–3107.

VAZQUEZ, J.A.; LYNCH, M.; BOIKOV, D.; SOBEL, J.D. In Vitro Activity of a New Pneumocandin Antifungal, L-743,872, against Azole-Susceptible and -Resistant *Candida* Species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 1997, 41 (7), 1612-1614.

YANG, L.; XU, X.; HUANG, Y.; ZHANG, B.; ZENG, C.; HE, H.; WANG, C.; HU, L. Synthesis of polyhydroxylated aromatics having amidation of piperazine nitrogen as HIV-1 integrase inhibitor. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2010, 20, 5469–5471.

APÊNDICE B
ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C
ESPECTROS NO IV

Figura A.1– Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 7.

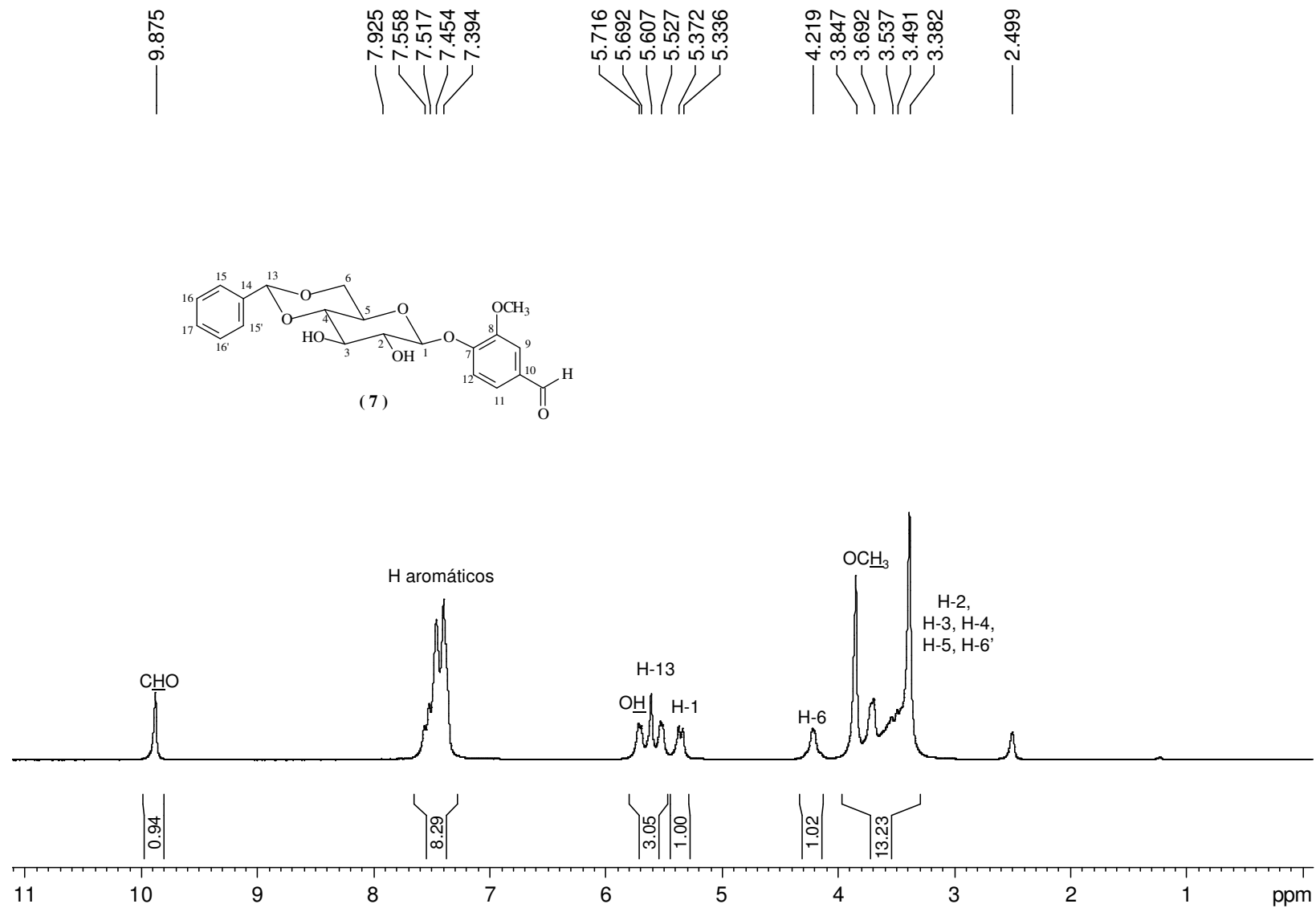


Figura A.2 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 7.

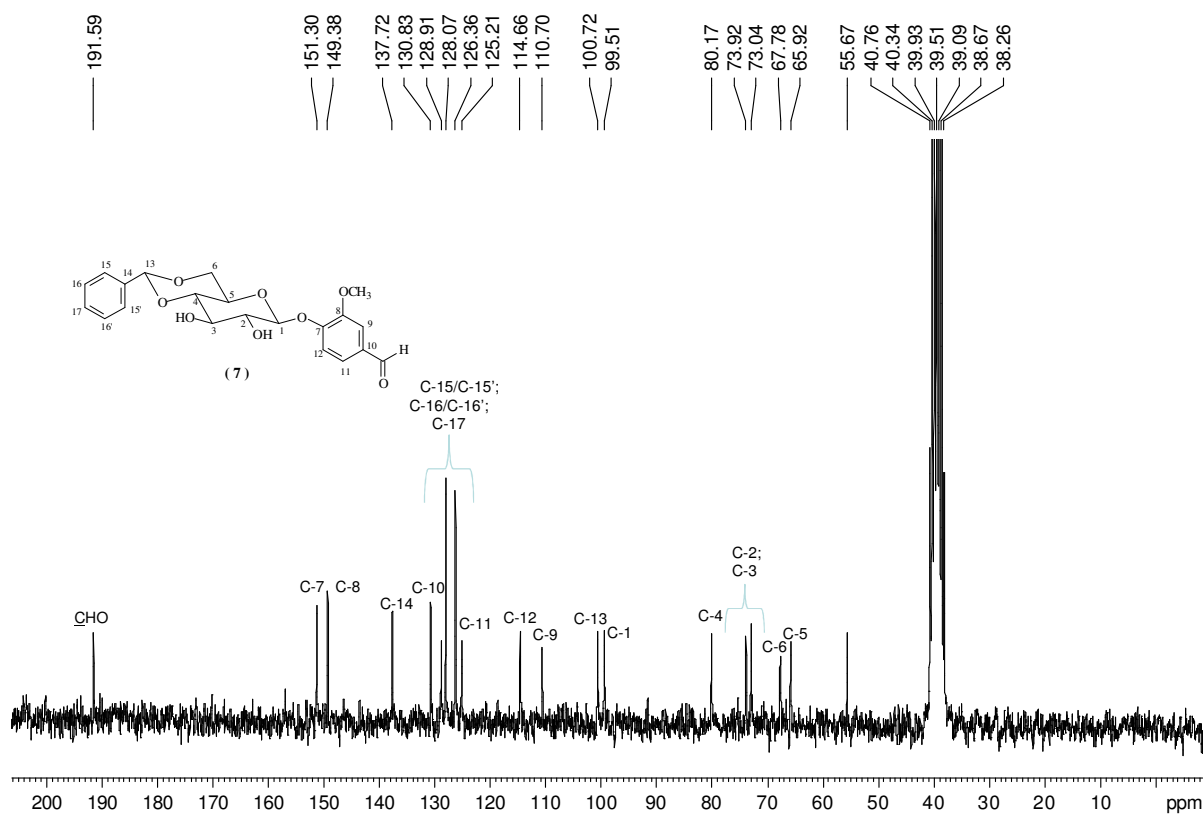


Figura A.3 – Espectro no IV de 7.

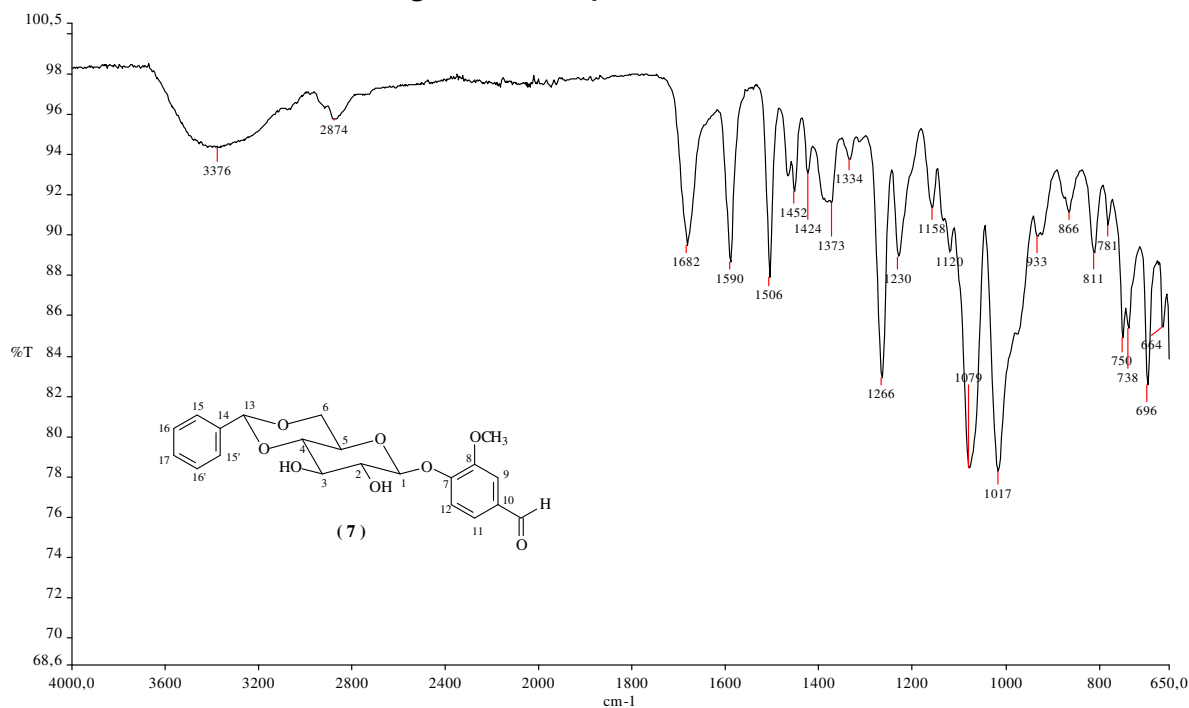


Figura A.4 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.

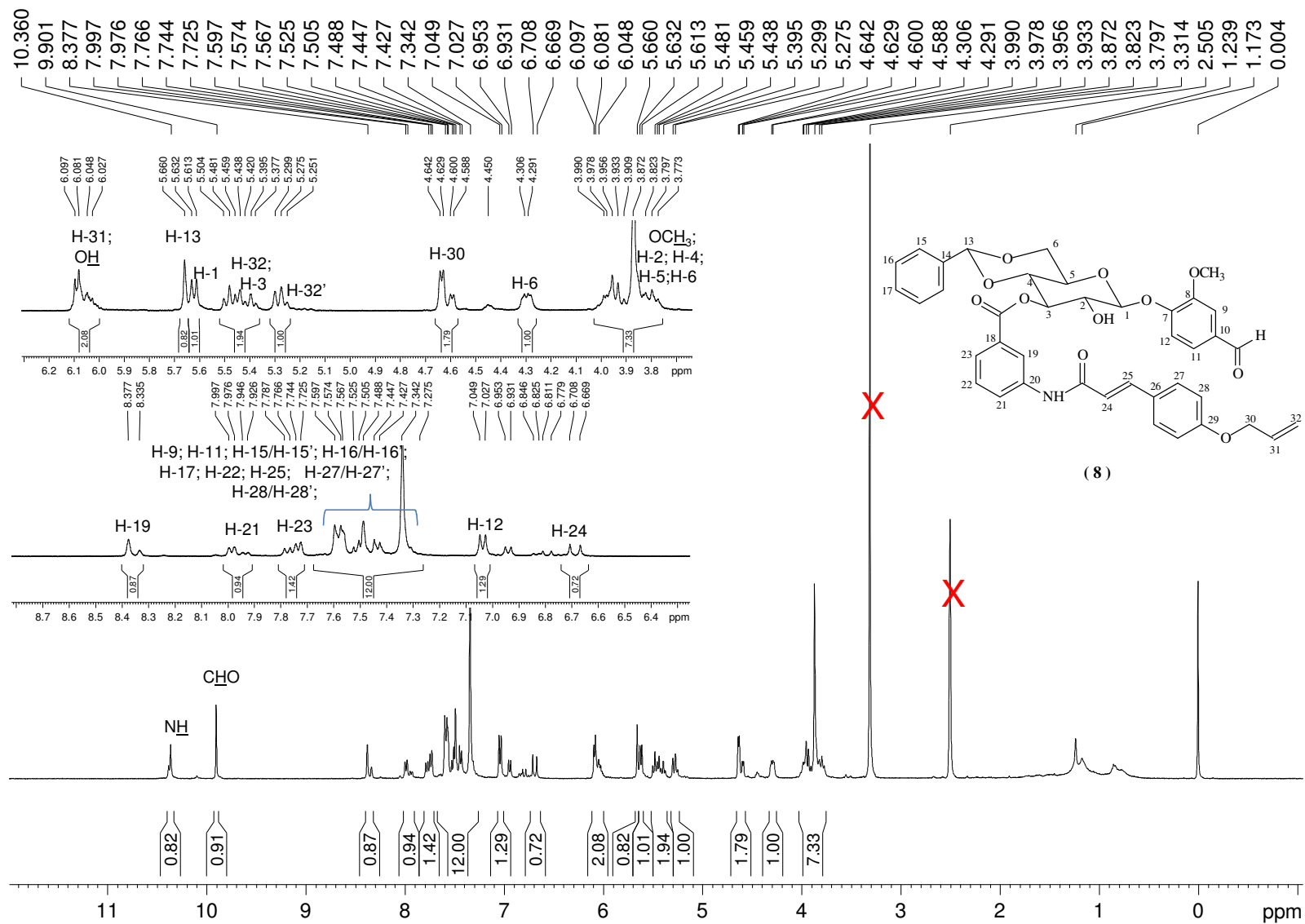


Figura A.5 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.

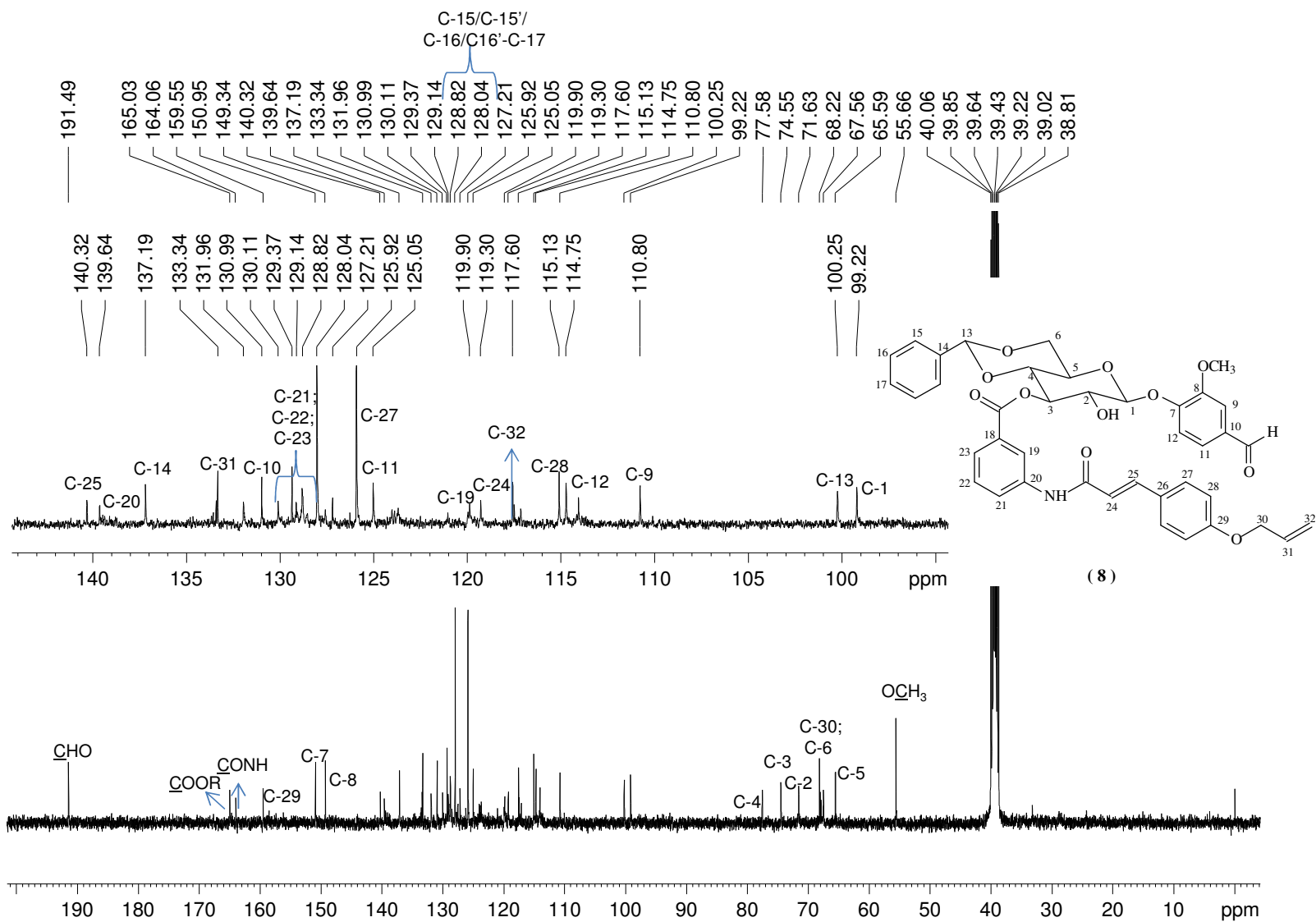


Figura A.6 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.

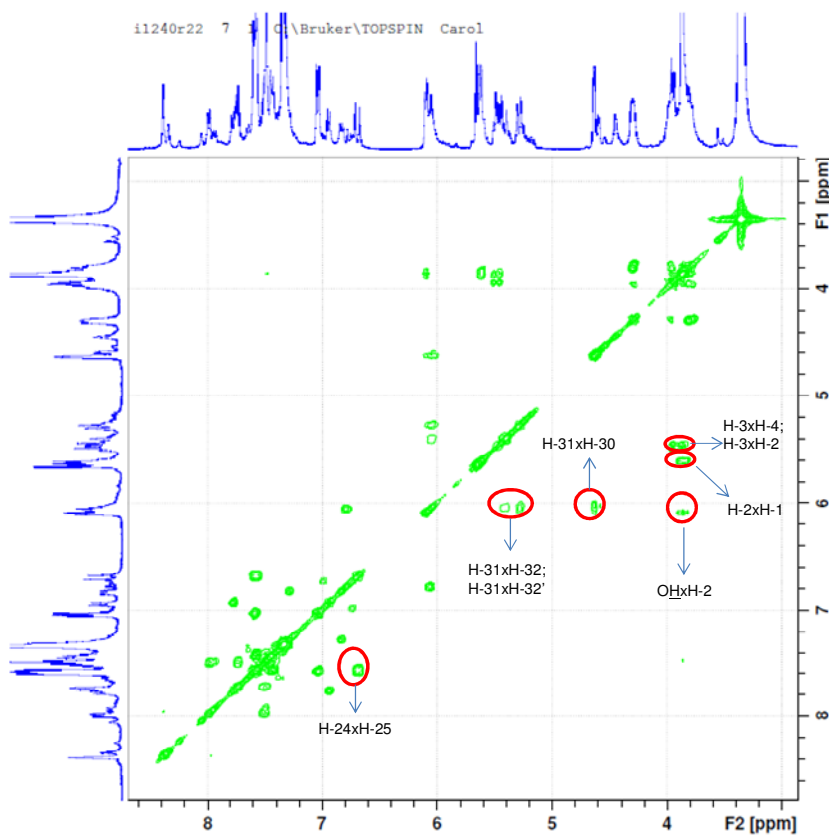


Figura A.7 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.

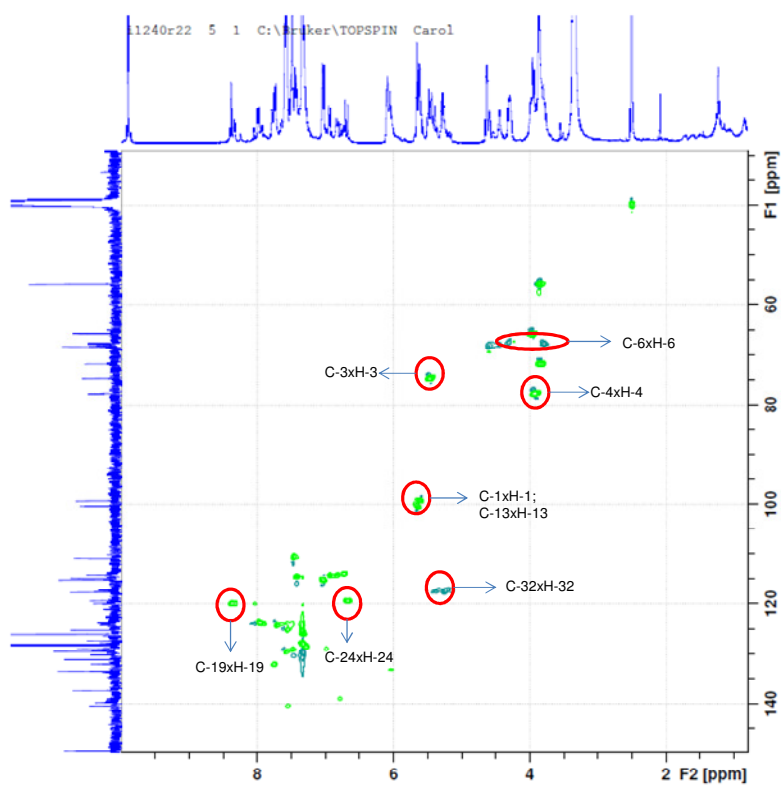


Figura A.8 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.

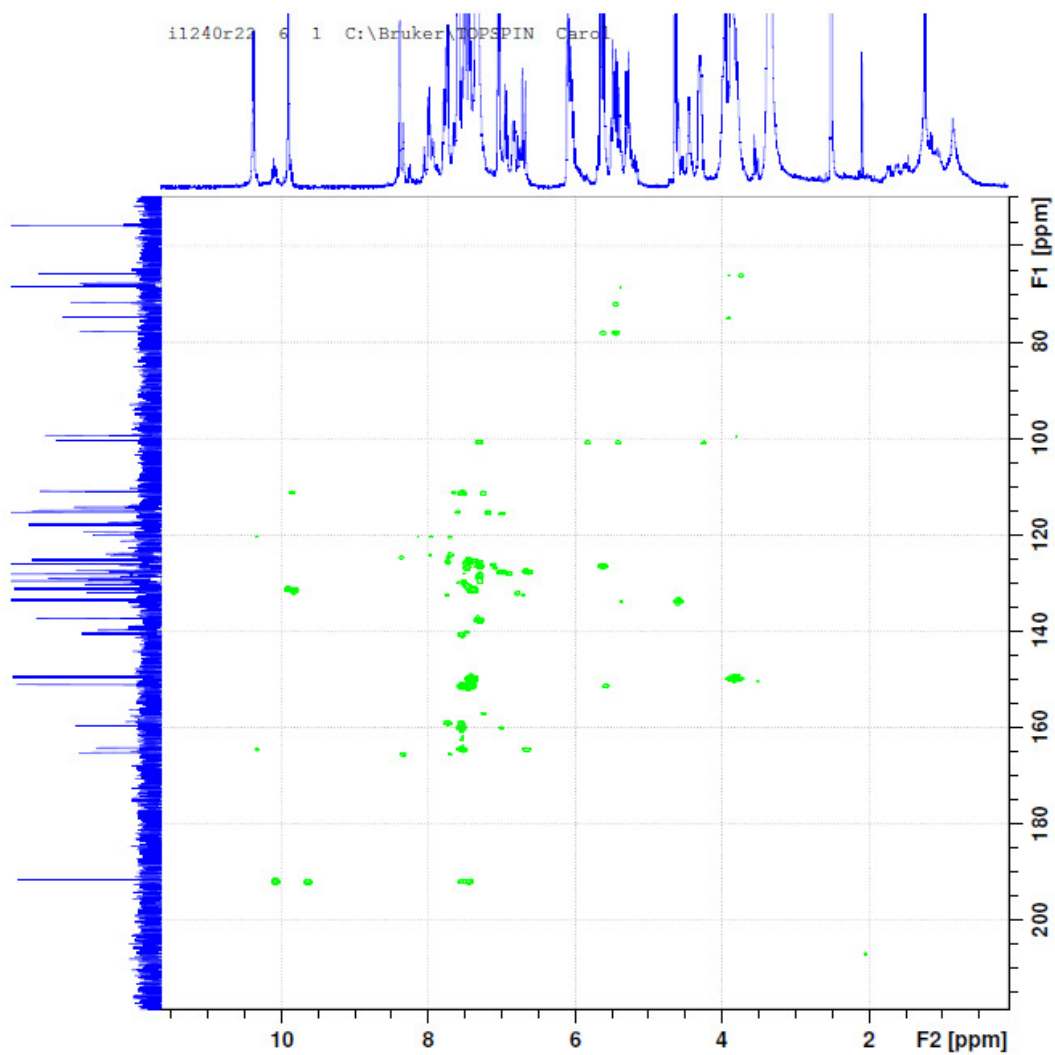


Figura A.9 – Espectro no IV de 8.

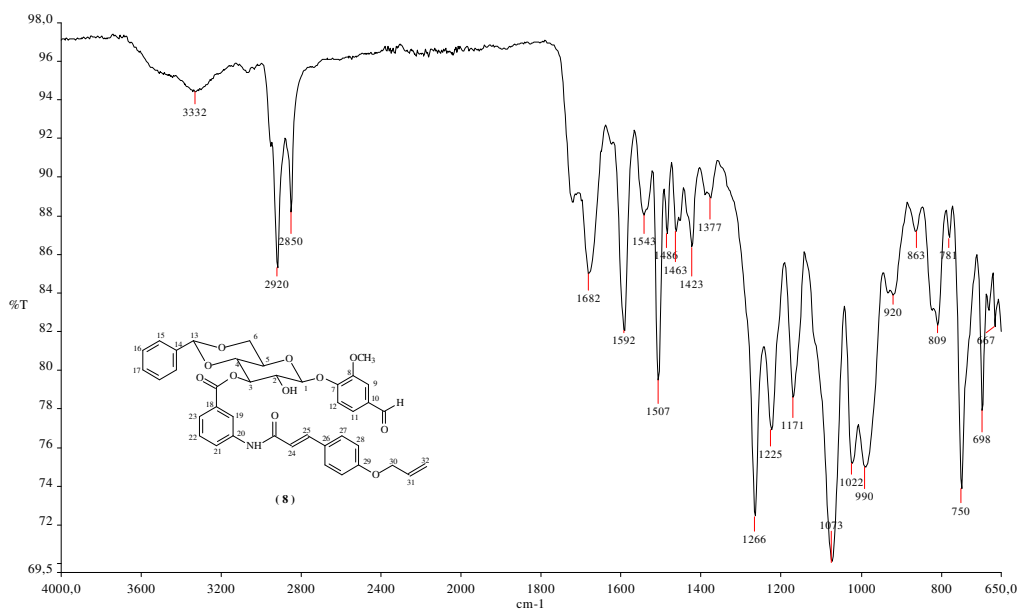


Figura A.10 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1.

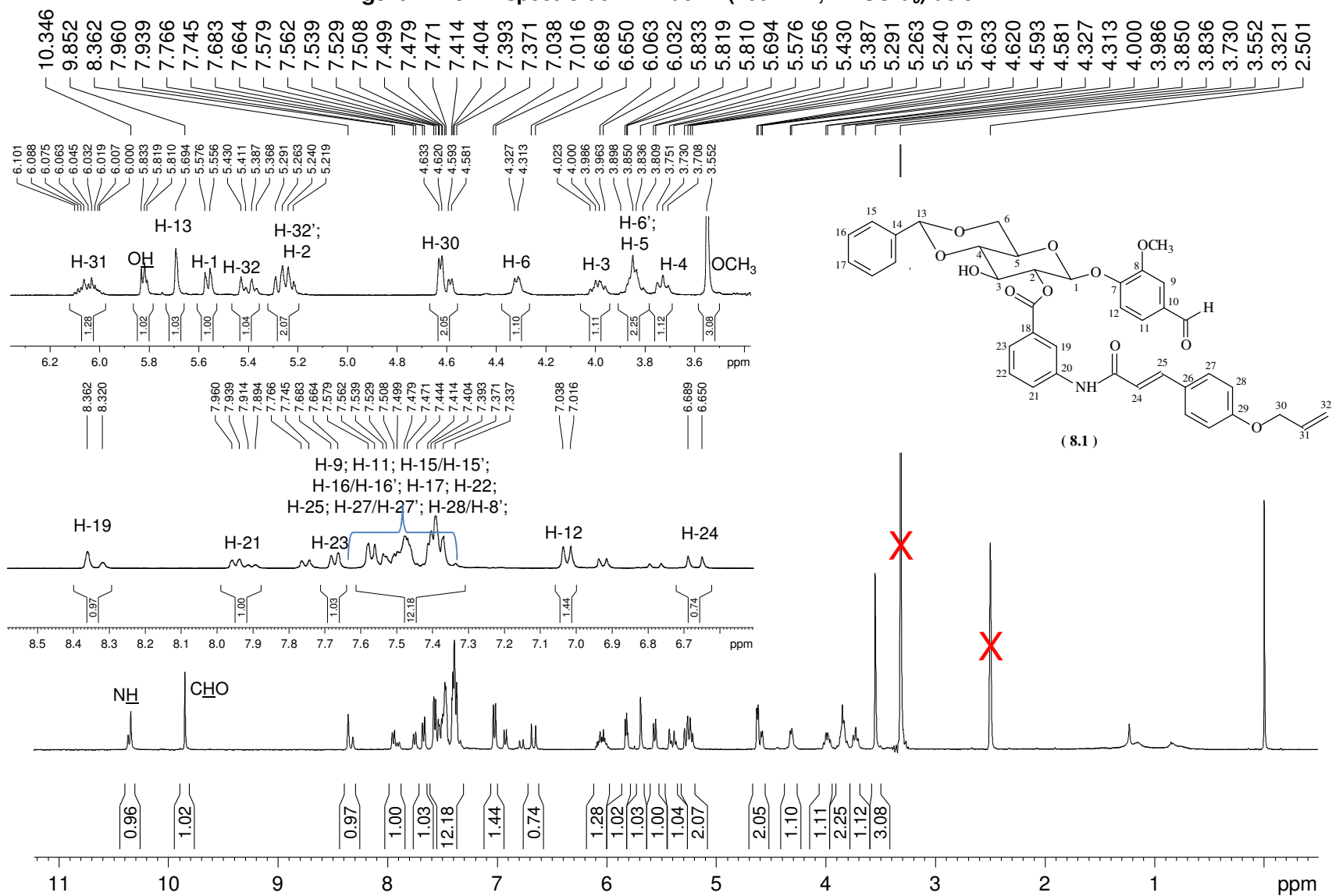


Figura A.11 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.1.

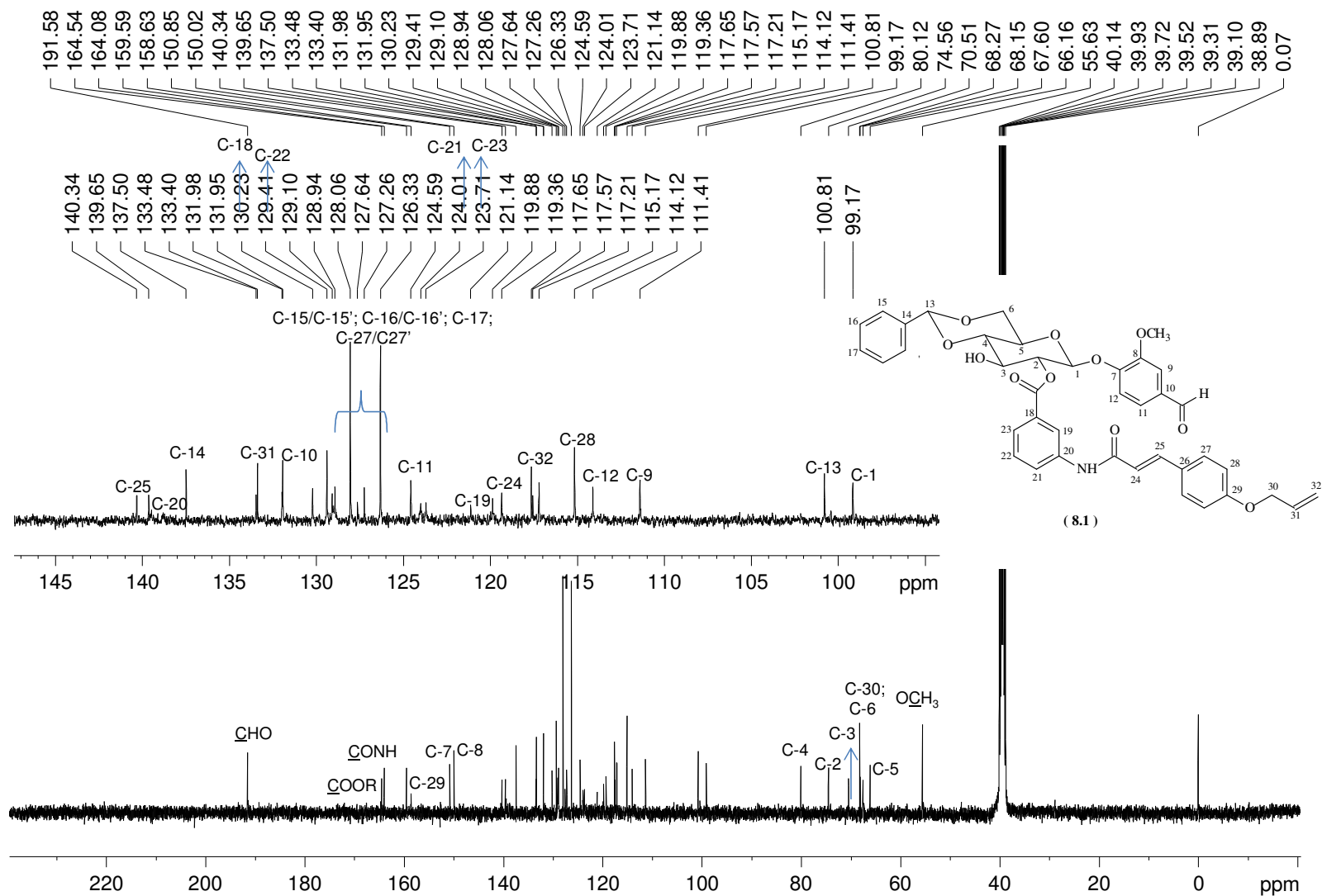


Figura A.12 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.1.

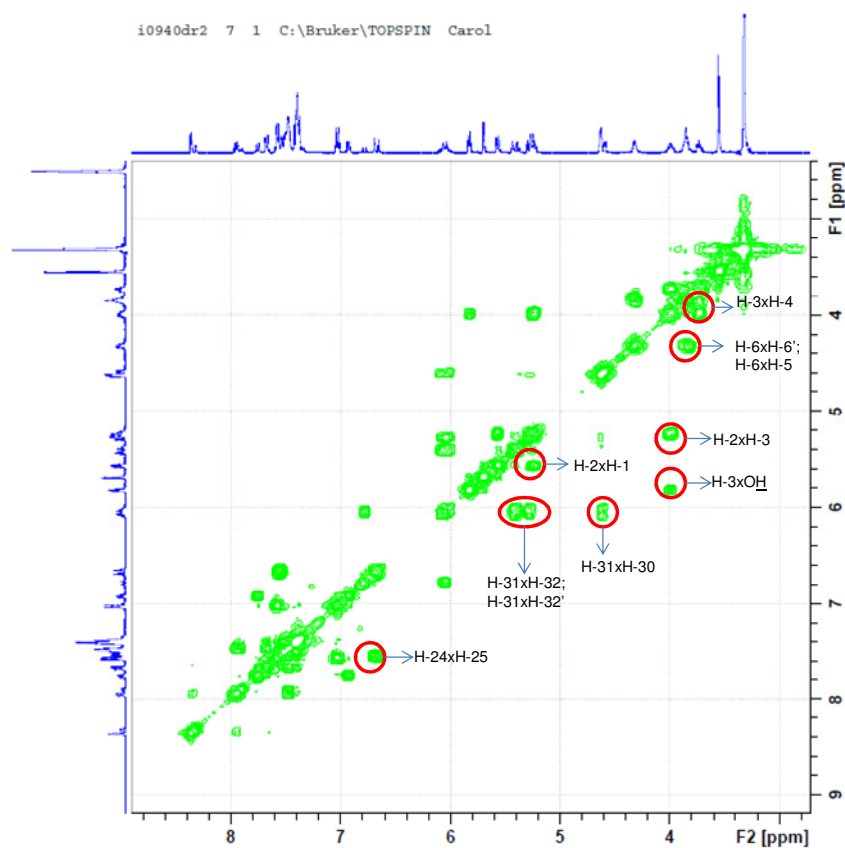


Figura A.13 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.1.

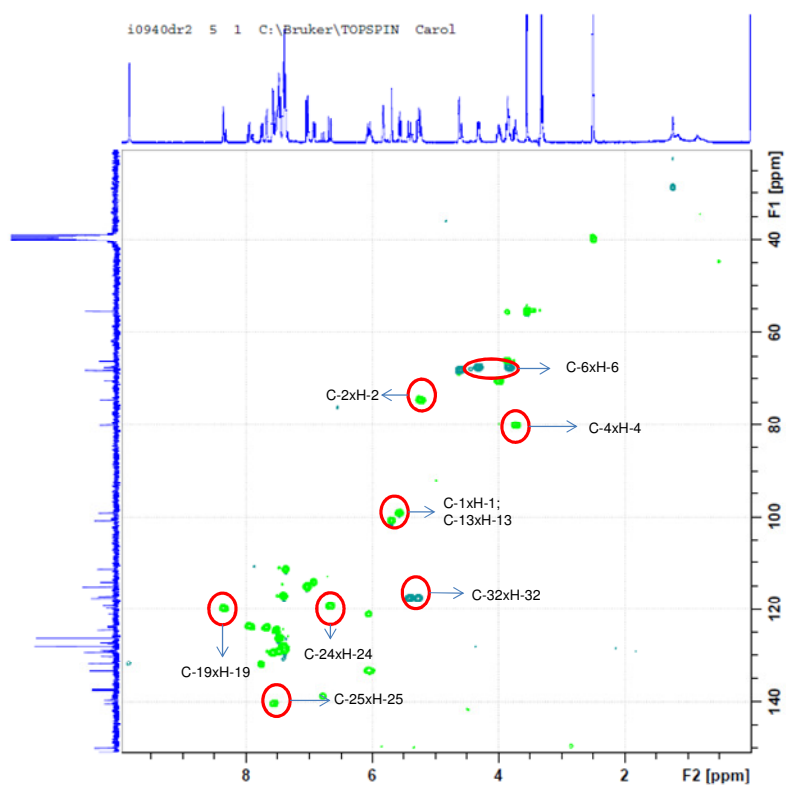


Figura A.14 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.1.

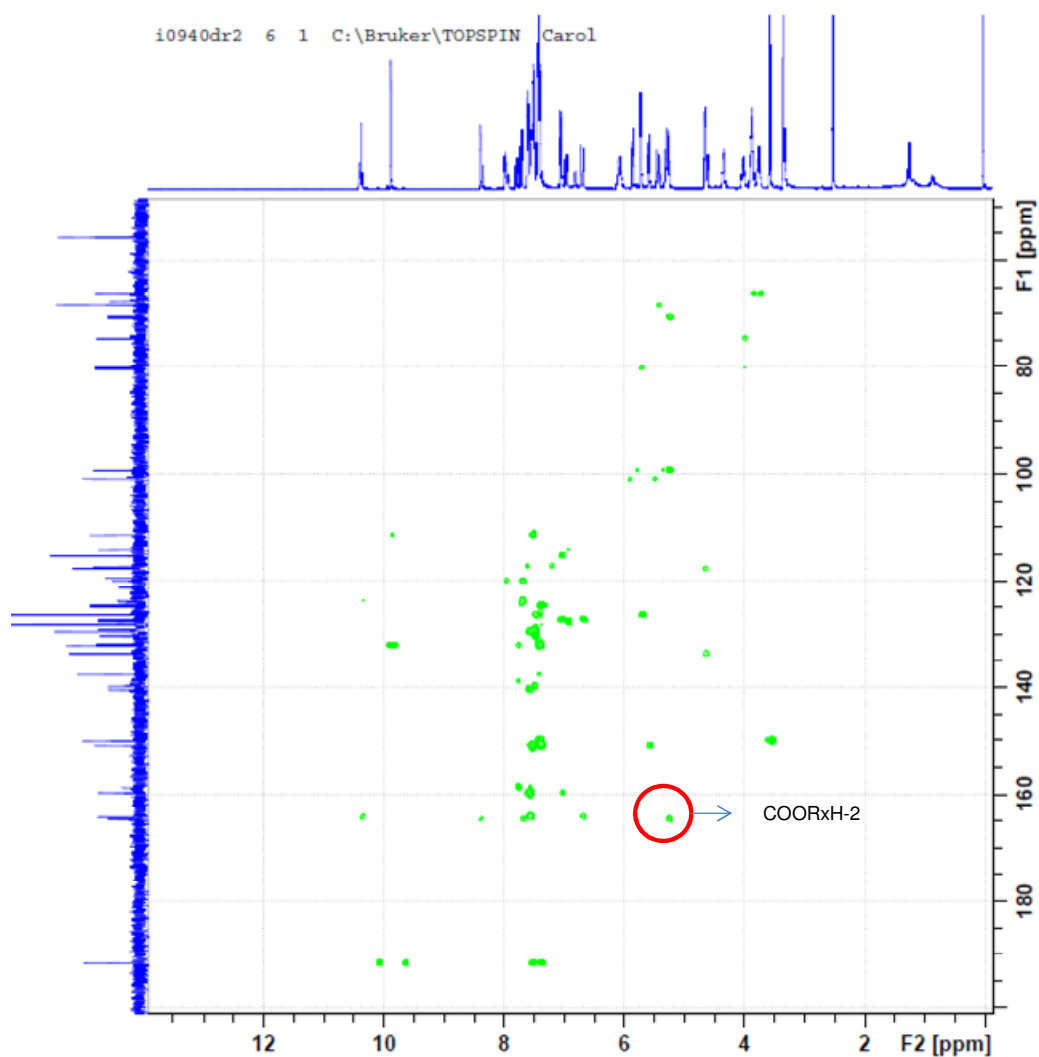


Figura A.15 – Espectro no IV de 8.1.

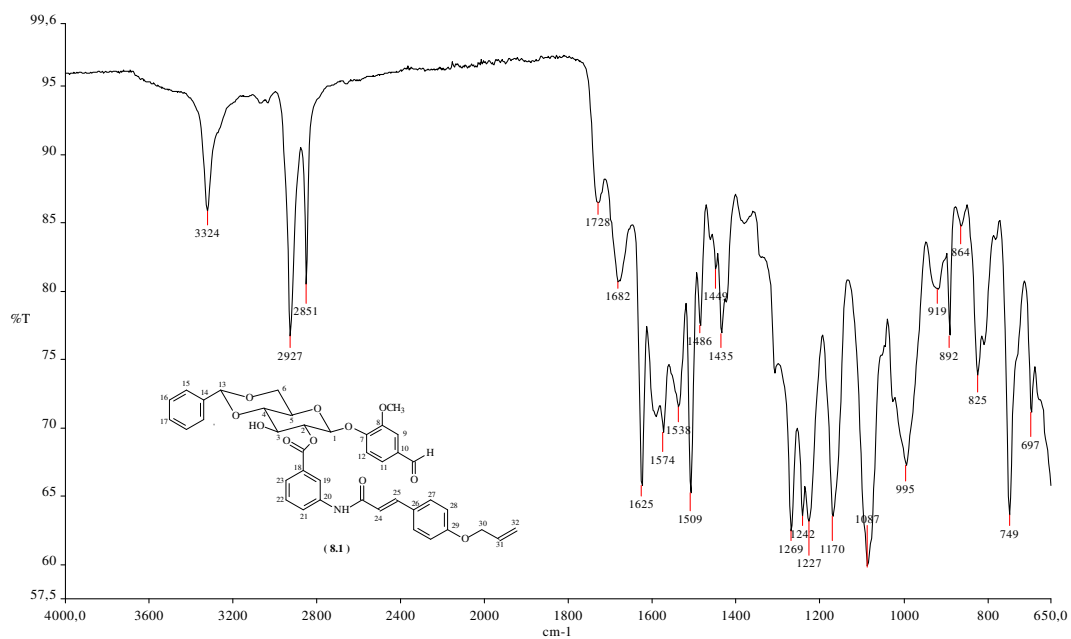


Figura A.16 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2.

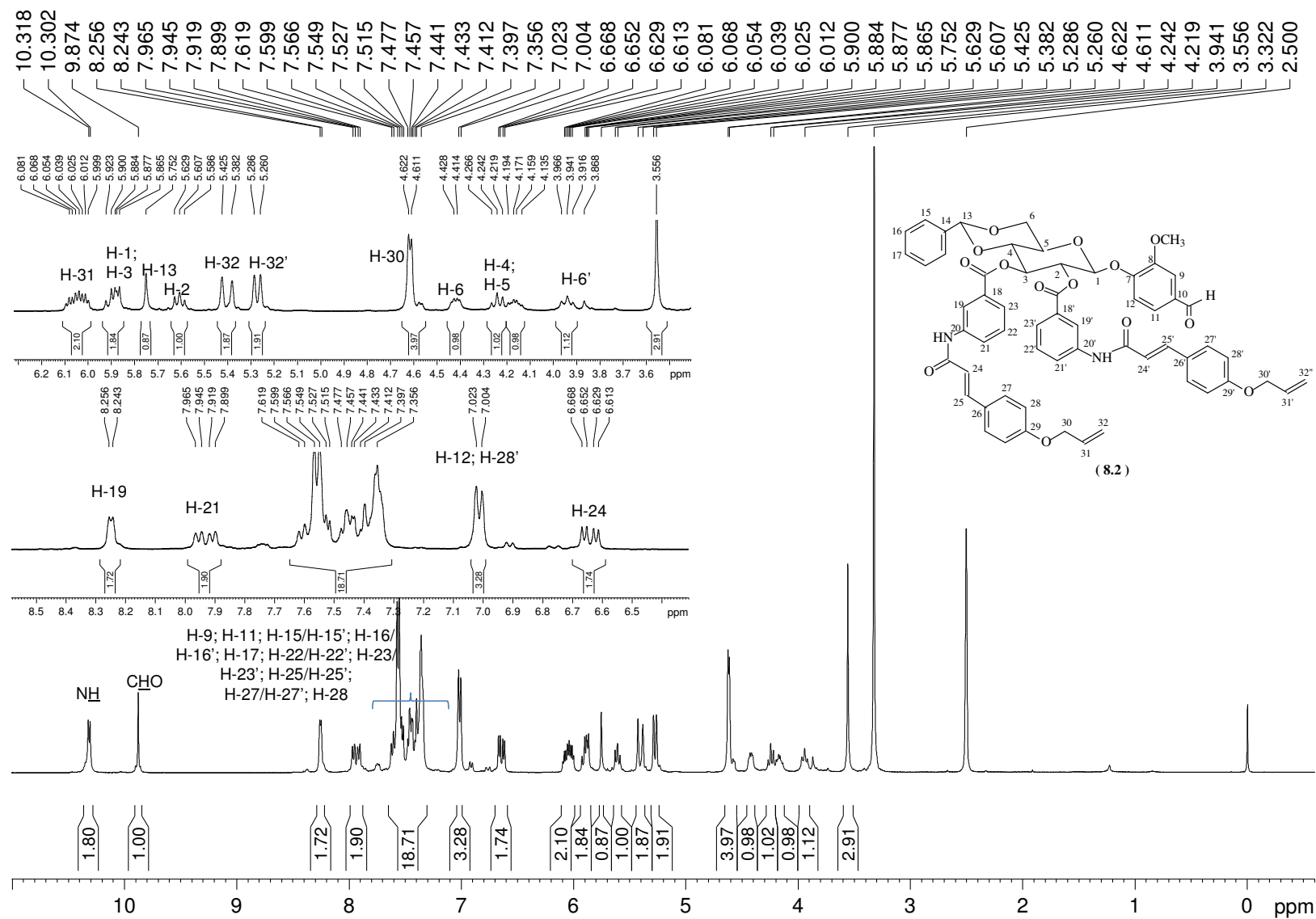


Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 8.2.

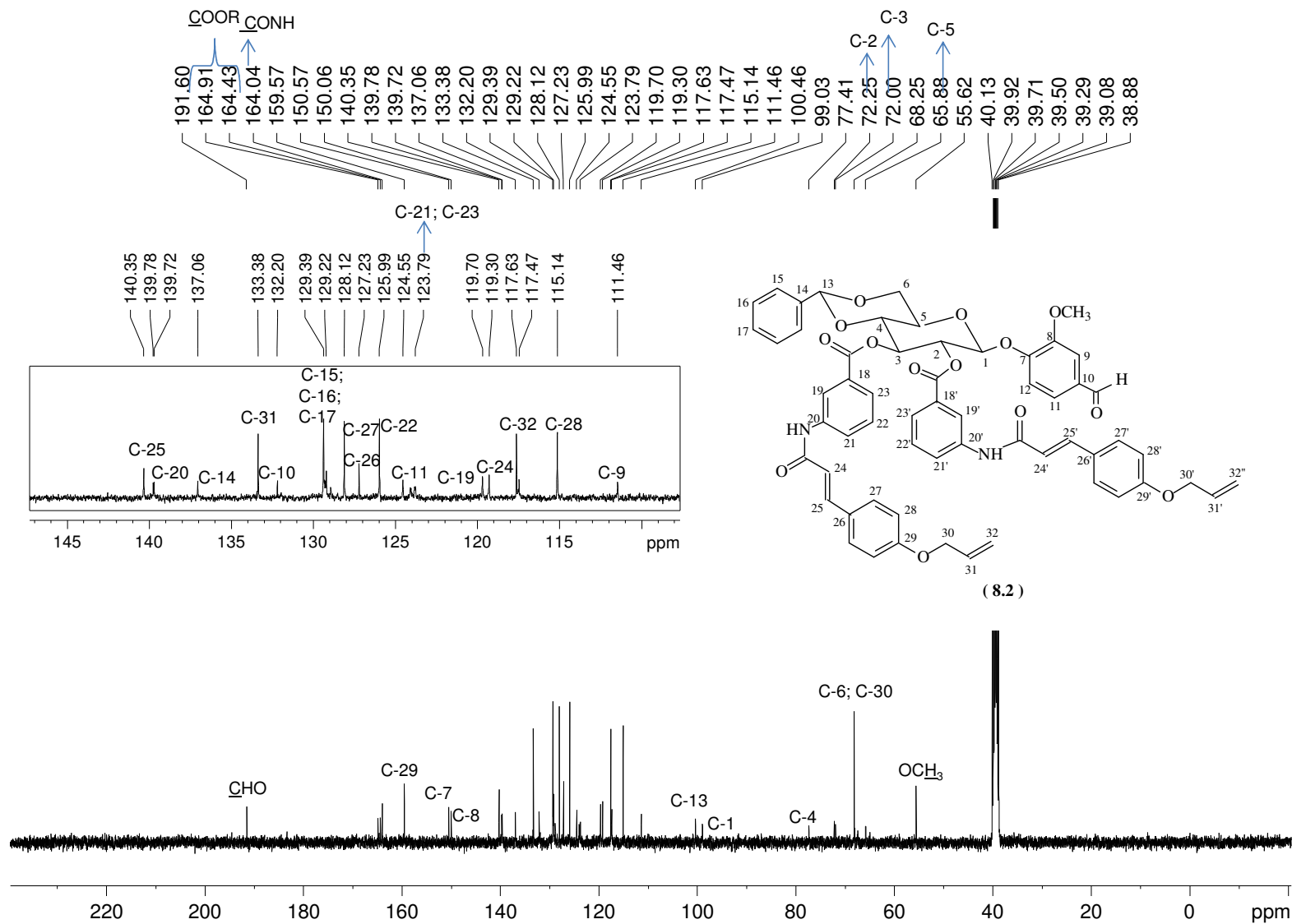


Figura A.18 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.2.

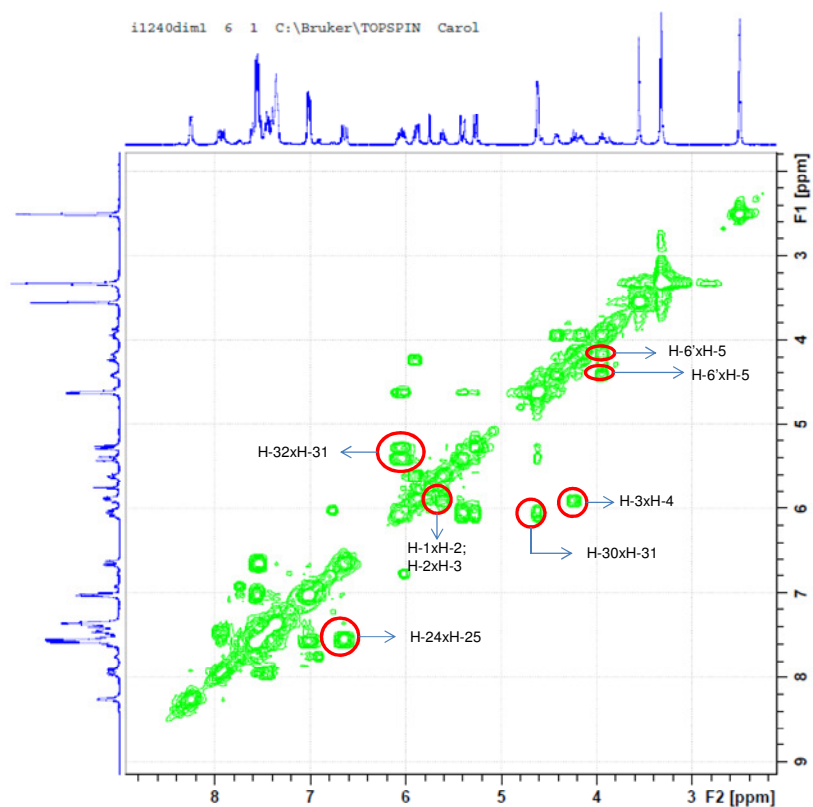


Figura A.19 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.2.

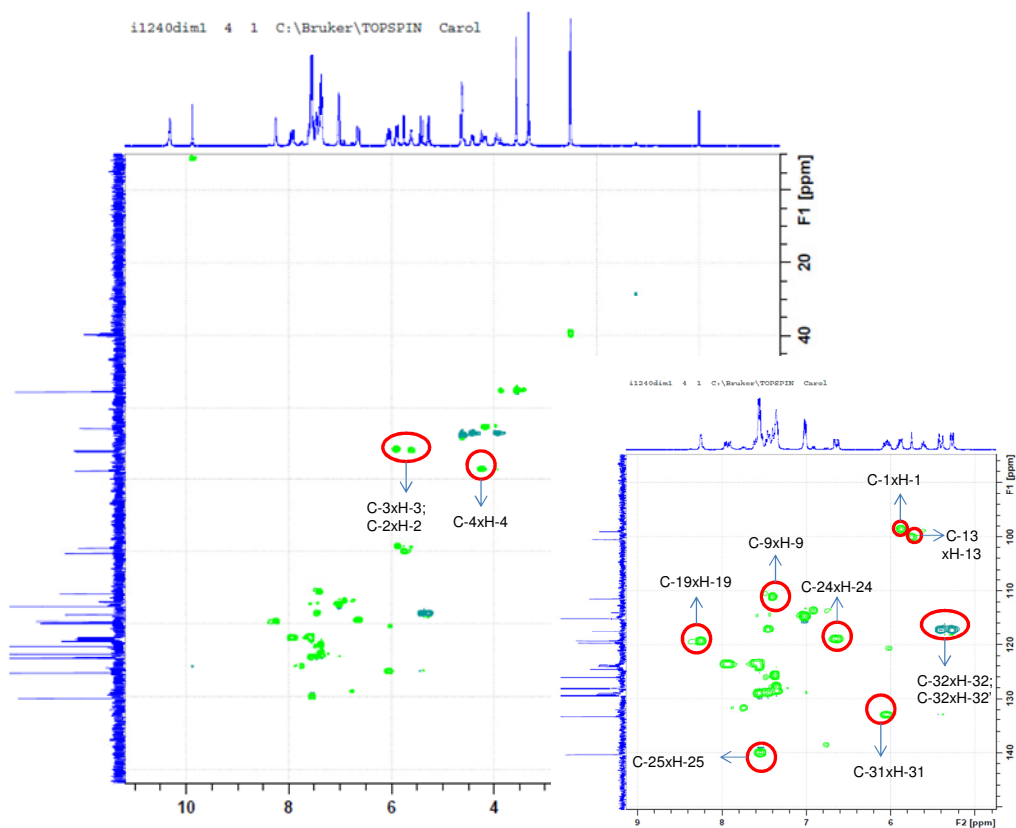


Figura A.20 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) de 8.2.

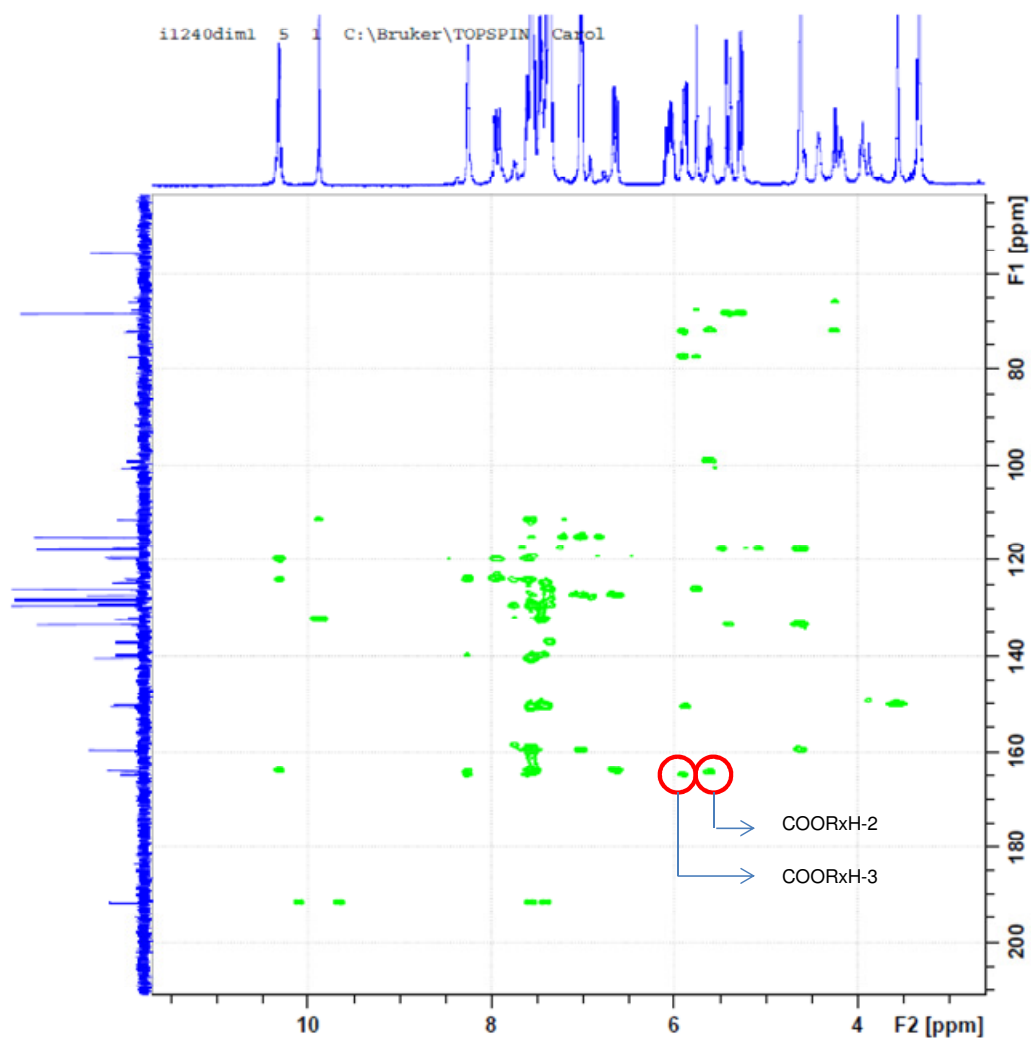


Figura A.21 – Espectro no IV de 8.2.

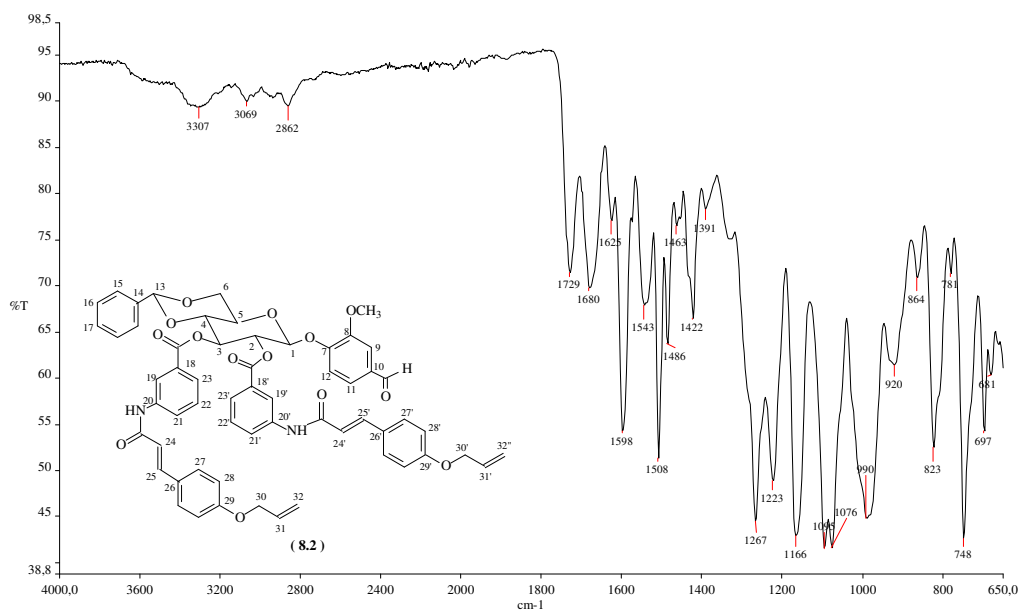


Figura A.22 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1.

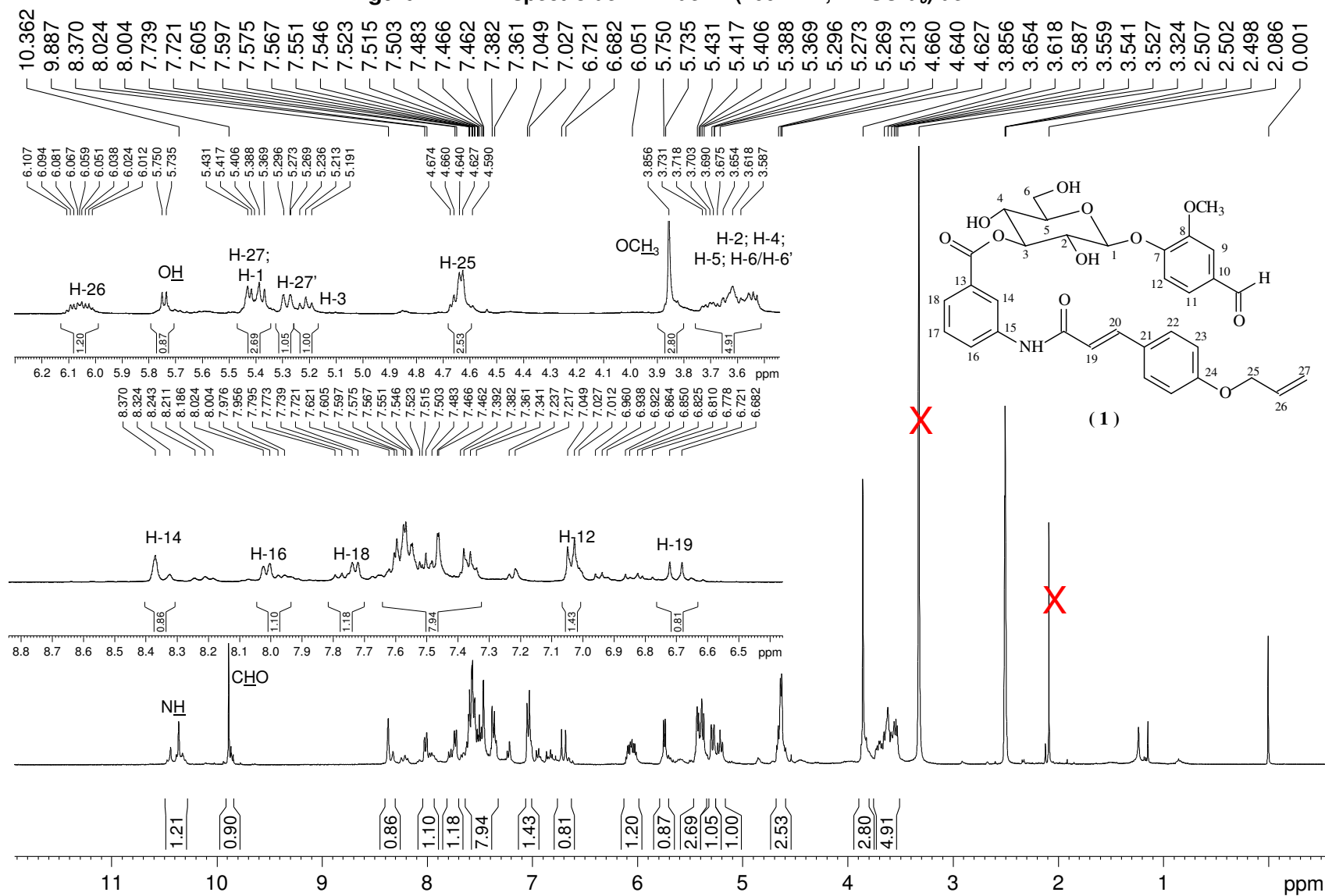


Figura A.23 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 1.

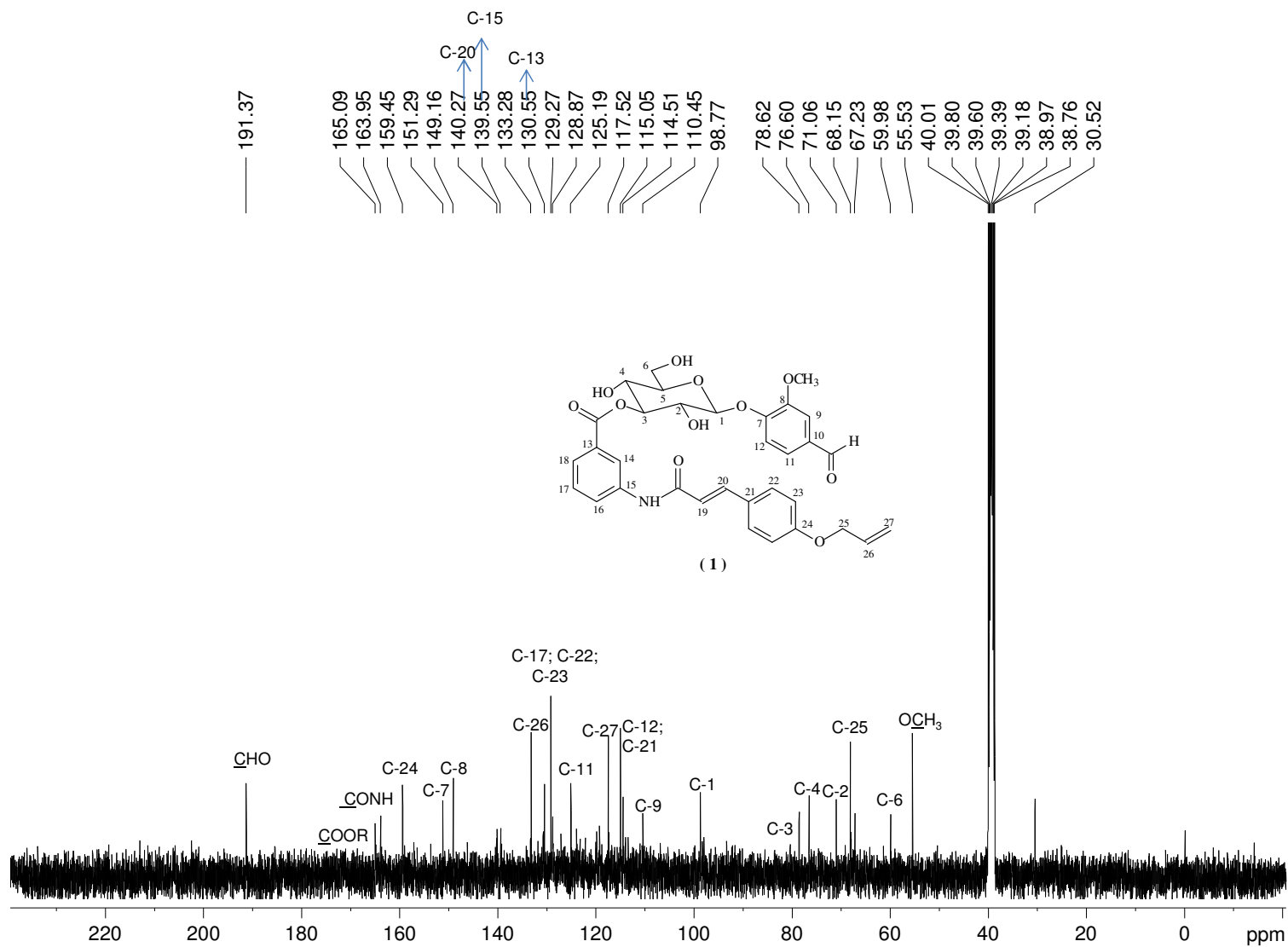


Figura A.24 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO- d_6) de 1.

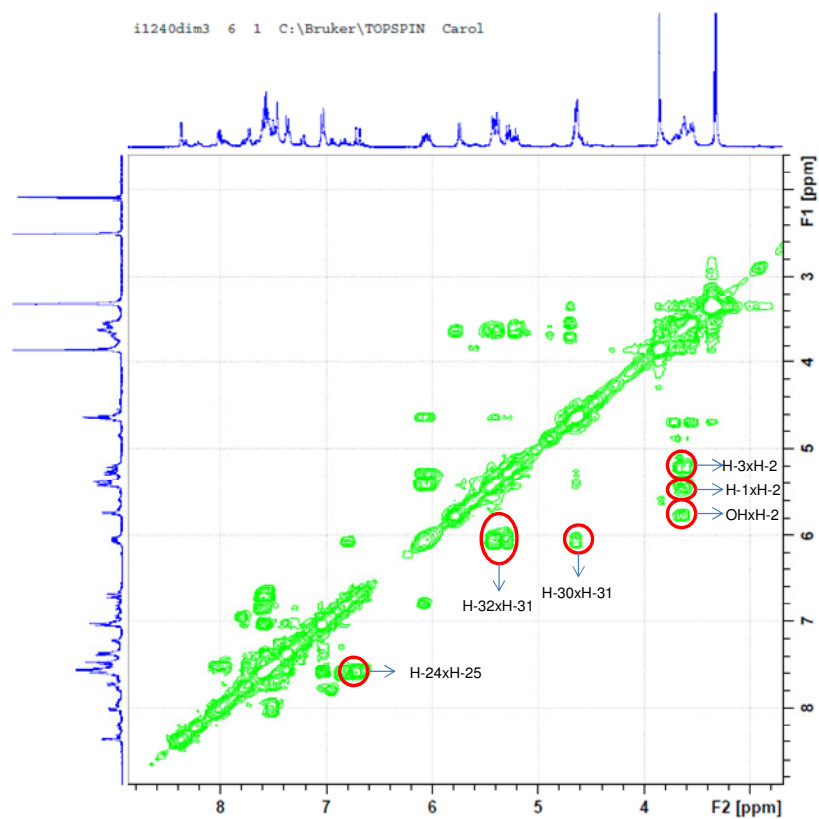


Figura A.25 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, DMSO- d_6) de 1.

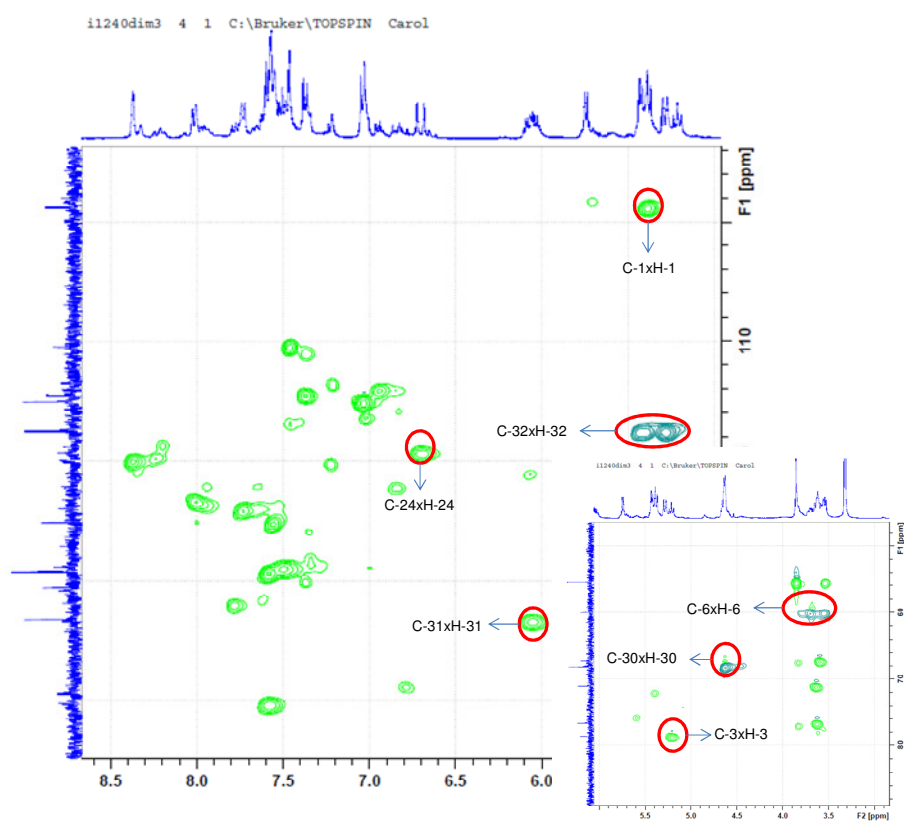


Figura A.26 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) de 1.

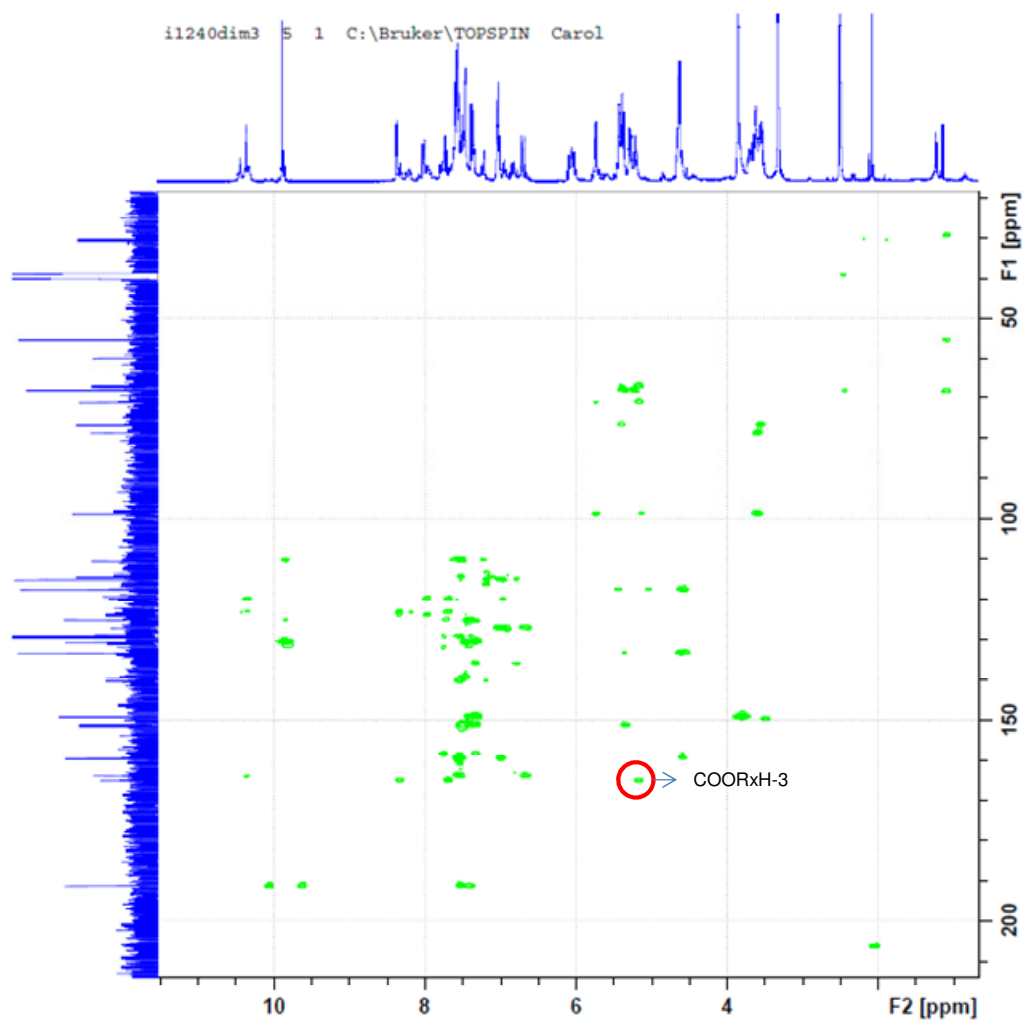


Figura A.27 – Espectro no IV de 1.

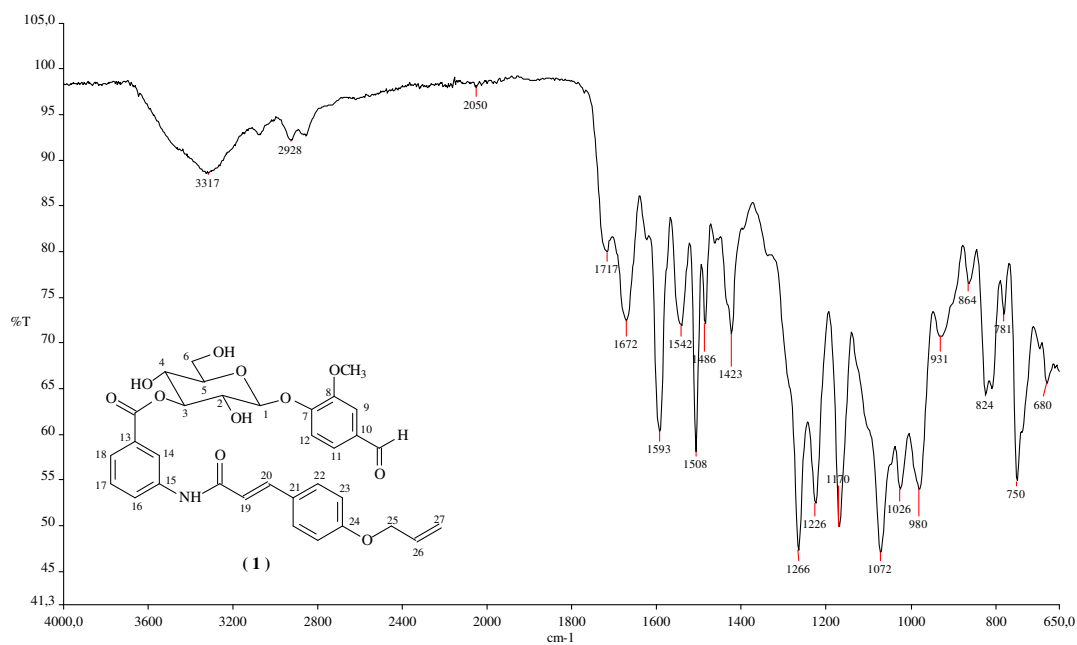


Figura A.28 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 12.

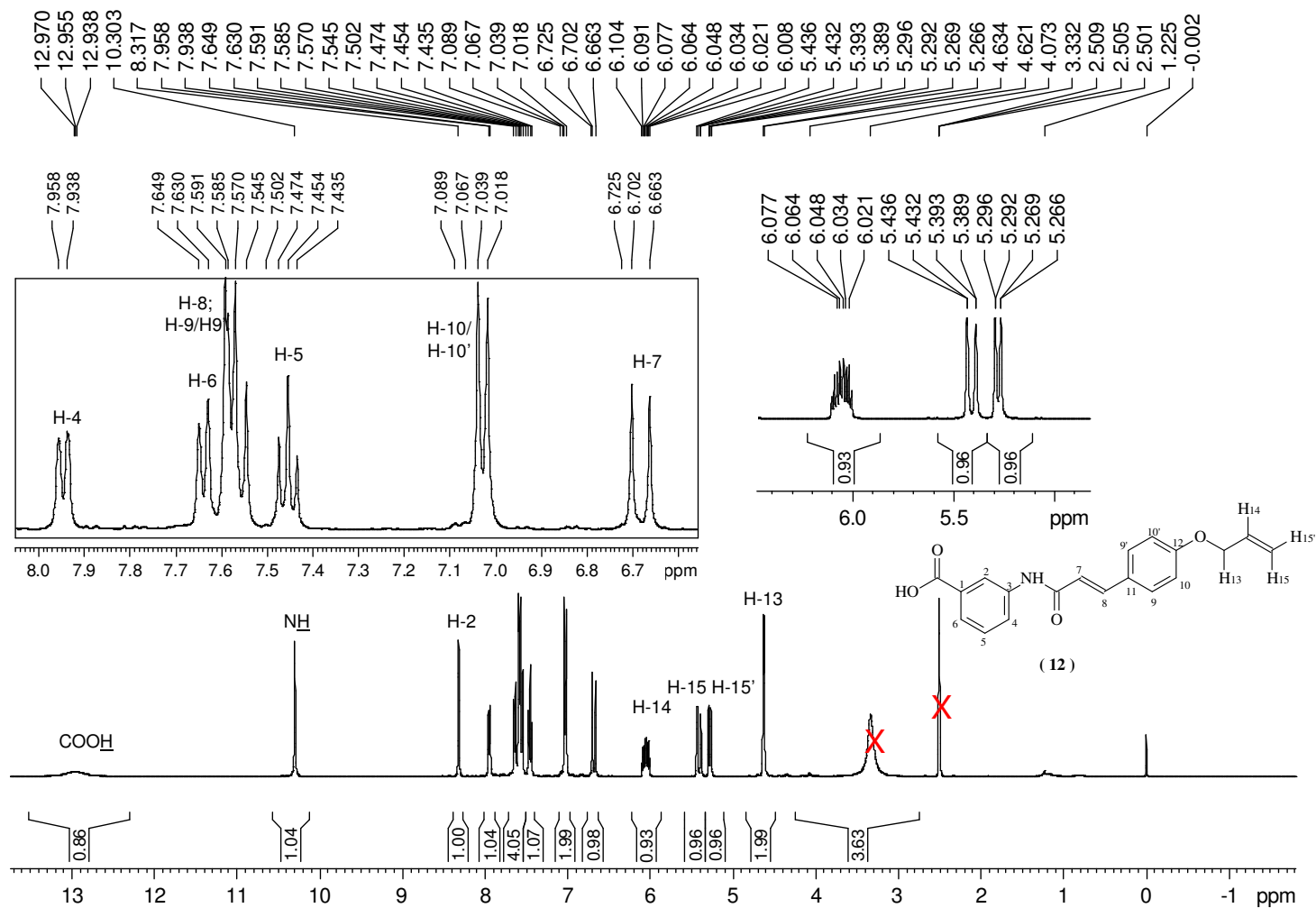


Figura A.29 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 12.

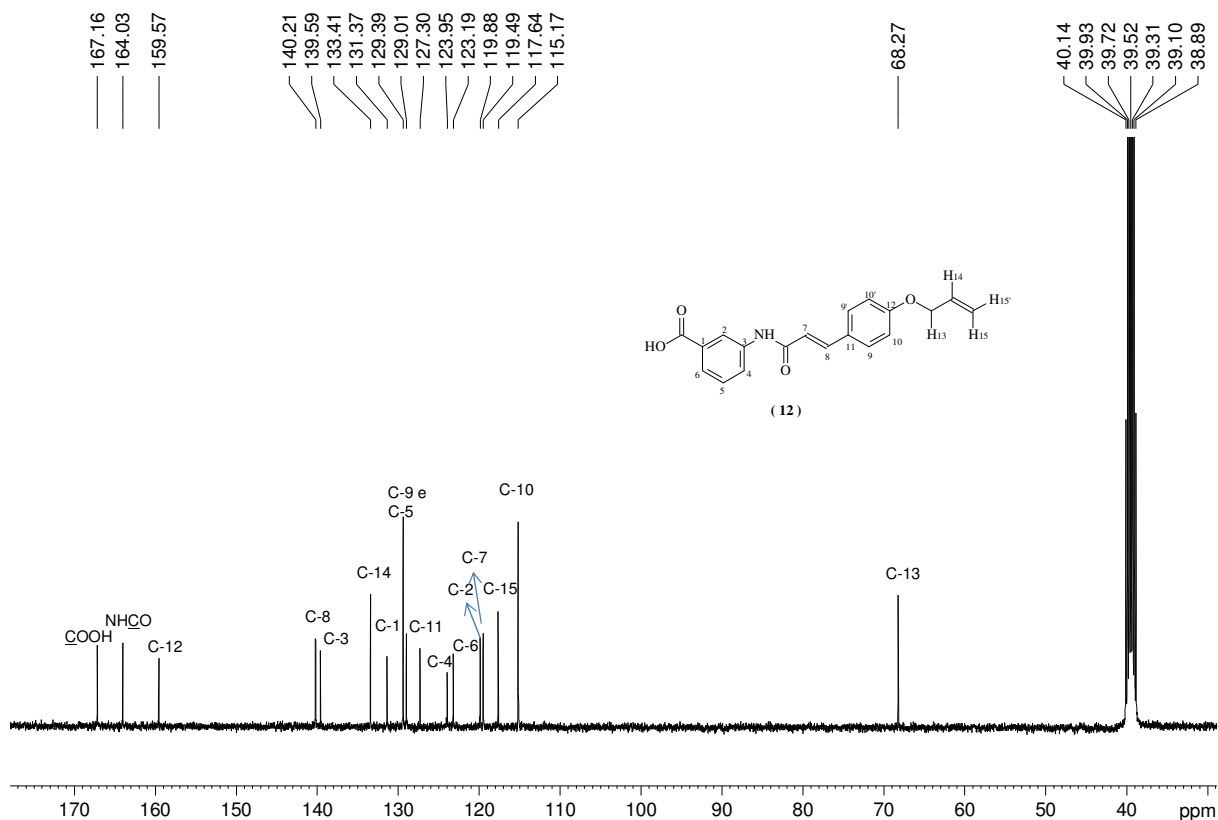
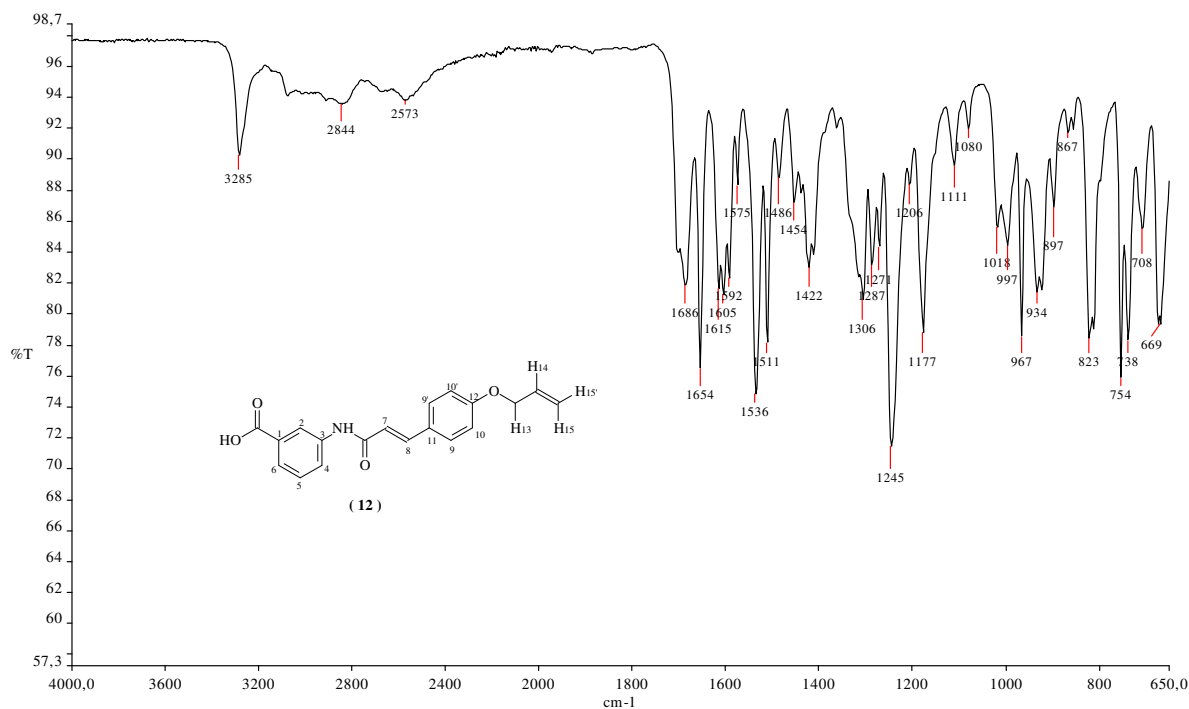


Figura A.30 – Espectro no IV de 12.

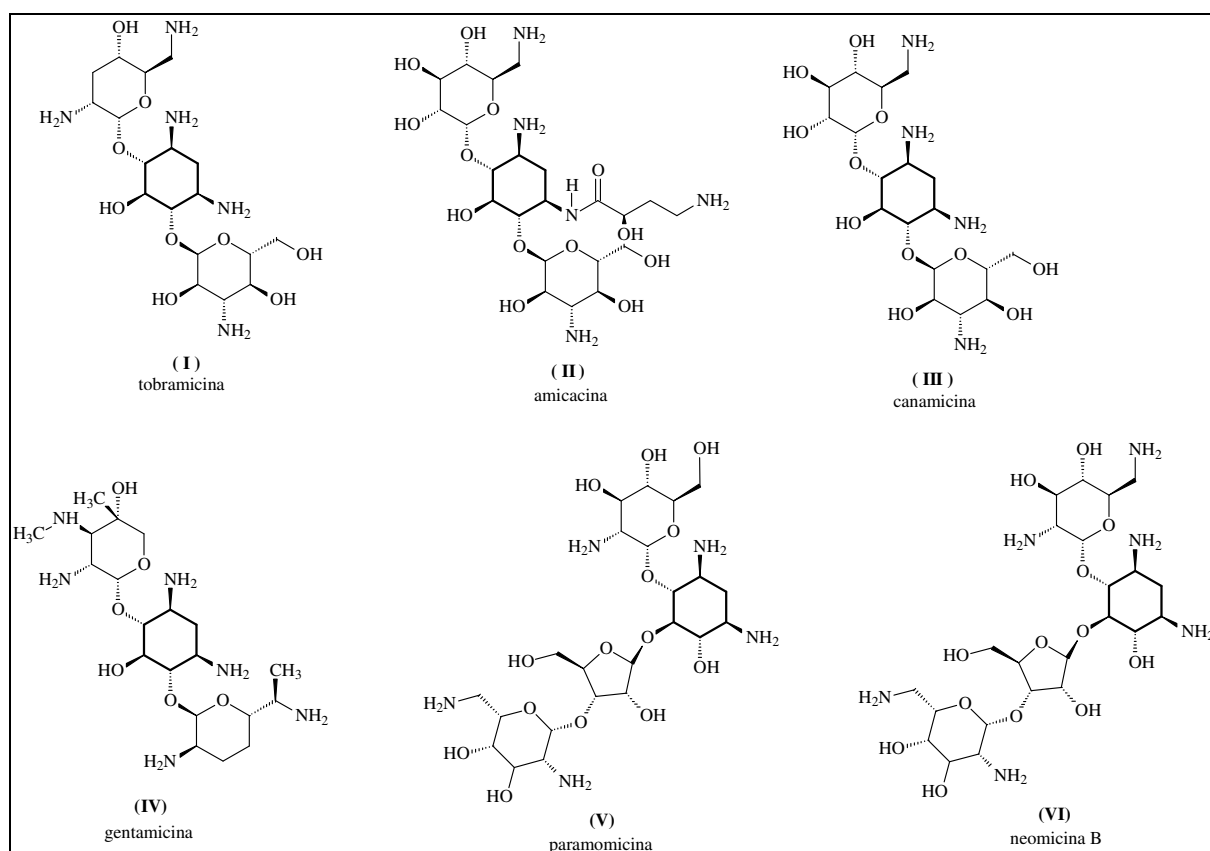


**CAPÍTULO 3 – NOVOS DERIVADOS DA GLICOSAMINA
PREPARADOS POR REAÇÃO DE METÁTESE**

1 INTRODUÇÃO

Os aminoglicosídeos constituem uma família de substâncias, de origem natural ou semi-sintética, eficazes contra uma ampla variedade de microrganismos. São antibióticos bactericidas, cujo espectro de ação envolve bactérias Gram (+) e Gram (-), como a *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, apresentam efeito sinérgico com outros antibióticos. Suas características os tornam fármacos valiosos para o arsenal terapêutico antimicrobiano (JACKOWSKI *et al.*; 2012; OUBERAL *et al.*; 2011; GALL *et al.*; 2009; RIGUET *et al.*; 2005). No entanto, os aminoglicosídeos são inativos contra bactérias anaeróbicas e micoplasma. Os efeitos adversos severos, como nefro e ototoxicidade e a resistência bacteriana são algumas das limitações dessa classe de fármacos (SUCHECK *et al.*; 2000; MINGEOT-LECLERC *et al.*; 1999). Alguns representantes de fármacos da classe dos aminoglicosídeos são amicacina, neomicina B, canamicina, gentamicina, paramomicina e tobramicina (Figura 1.1) (KOTRA *et al.*; 2000; MINGEOT-LECLERC *et al.*; 1999).

Figura 1.1 – Exemplos de antibióticos aminoglicosídeos

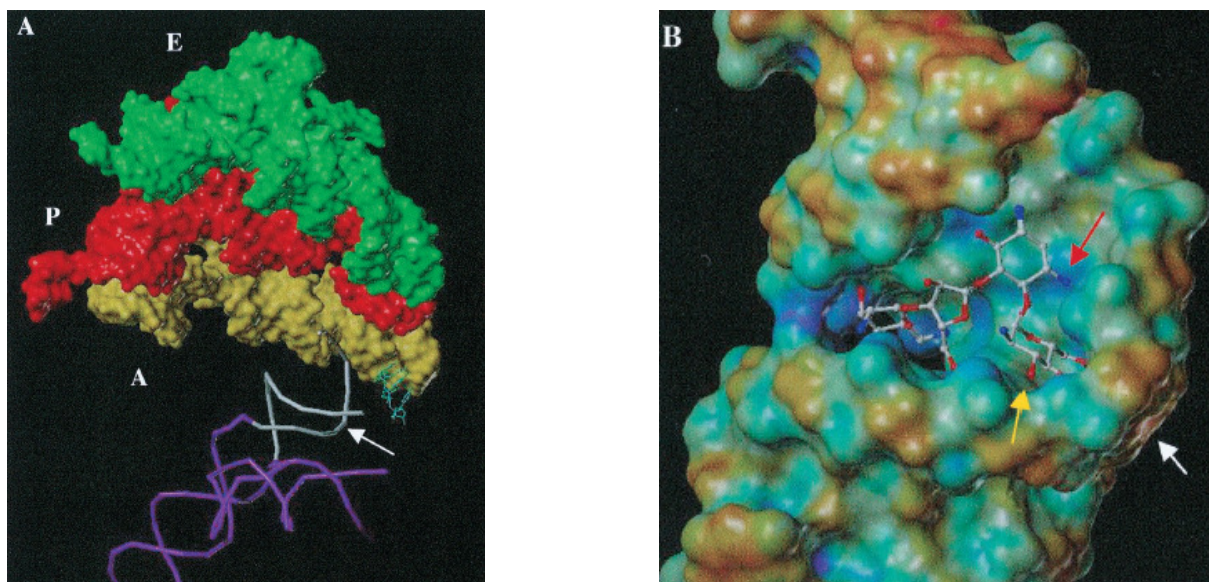


Em pH fisiológico, os aminoglicosídeos ligam-se especificamente à subunidade 16S dos ribossomos bacterianos, interferindo com a síntese protéica. Aminoglicosídeos, como a neomicina B, também se ligam fortemente ao RNA do vírus HIV, *in vitro*, e por isso são

considerados promissores agentes antivirais (JACKOWSKI *et al.*; 2012; RIGUET *et al.*; 2005; PARK *et al.*; 1996).

Em aminoglicosídeos, como a neomicina ou paramomicina, o núcleo neamina adota uma posição virtualmente idêntica no sítio de ligação à cavidade A, na subunidade 30S do RNA ribossomal (rRNA) (Figura 1.2). O ciclo I insere-se em uma hélice e liga-se a adenina A1408. Os grupos amino do ciclo II formam ligações de hidrogênio com os pares de bases U1406 e U1495, com a guanina G1494 e com um grupo fosfato da adenina A1493. Em seguida o núcleo neamina promove a estabilização de duas bases adenina (A1492 e A1493) da subunidade 16S do rRNA, aumentando a sua interação favorável com o RNA transportador (tRNA). Como resultado, a habilidade dos ribossomos em diferenciar entre um tRNA cognato e não-cognato é reduzida. Ocorre diminuição da fidelidade e da eficiência do processo de translação, o que leva à morte da célula bacteriana (OUBERAI *et al.*; 2011; KOTRA *et al.*; 2000).

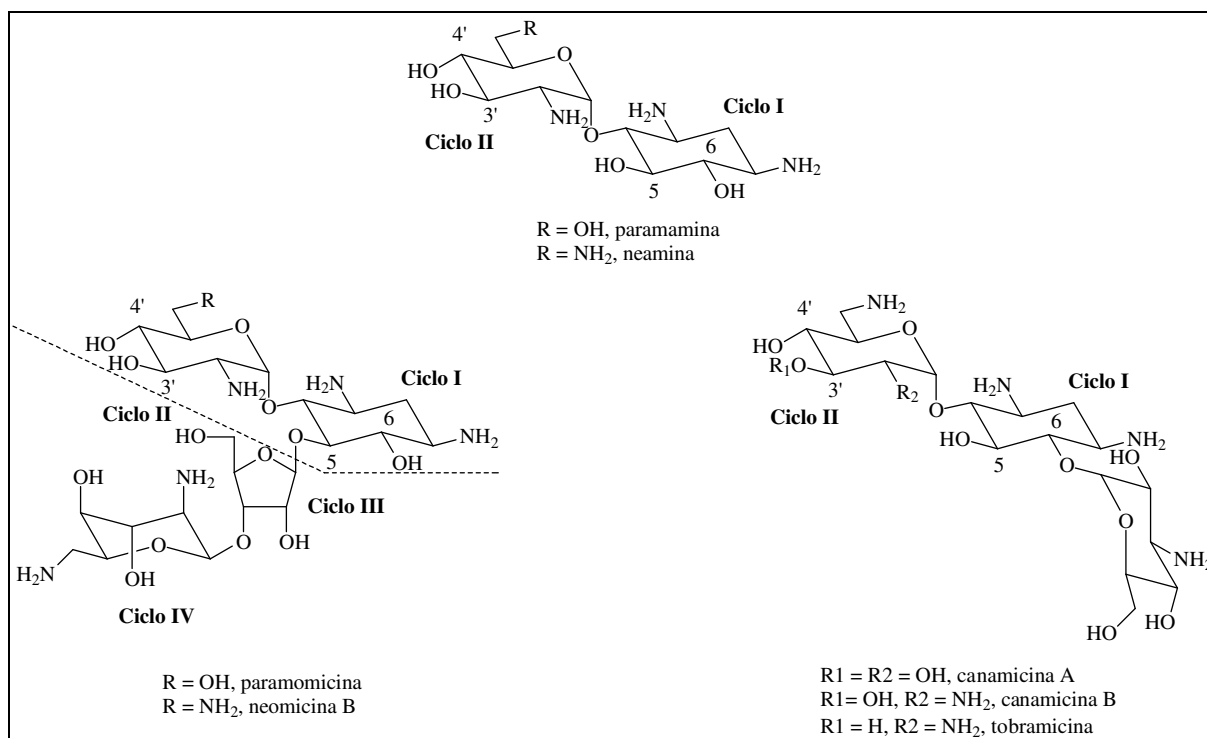
Figura 1.2 – A) Estrutura parcial do rRNA 70S complexado com três moléculas de tRNA. A região da cavidade A está representada em branco. O sítio de ligação da paramomicina está indicado pela seta. B) Representação da estrutura da cavidade A do RNA ligada a paramomicina (KOTRA *et al.*; 2000)



A maioria dos aminoglicosídeos tem por elemento estrutural comum o aminociclitol 2-desoxiestreptamina unido, por ligação glicosídica, a uma ou duas unidades mono ou dissacarídicas (DECOUT *et al.*; 2012; JACKOWSKI *et al.*; 2012). As duas principais classes de aminoglicosídeos podem ser definidas em relação à posição que o ciclo III liga-se ao

ciclo I. Na paramomicina o ciclo III liga-se a posição 5 do ciclo I, assim como na neomicina B. Ambos são aminoglicosídeos pertencentes a classe da Neomicina. Na estrutura da tobramicina e da canamicina o ciclo III liga-se a posição 6 do ciclo I. Essas substâncias são incluídas na classe da Canamicina (Figura 1.3) (DECOUT *et al.*; 2012; JACKOWSKI *et al.*; 2012; CHITTAPRAGADA *et al.*; 2009).

Figura 1.3 – Estrutura química dos aminoglicosídeos



A toxicidade associada ao uso dessa classe de fármacos e o surgimento crescente de resistência bacteriana despertaram o interesse na busca por novos agentes antibacterianos através de modificações na estrutura química dos aminoglicosídeos (FAIR *et al.*; 2012; JACKOWSKI *et al.*; 2012; OUBERAI *et al.*; 2011; BAUSSANNE *et al.*; 2010; Li *et al.*; 2007; RIGUET *et al.*; 2005; RIGUET *et al.*; 2004).

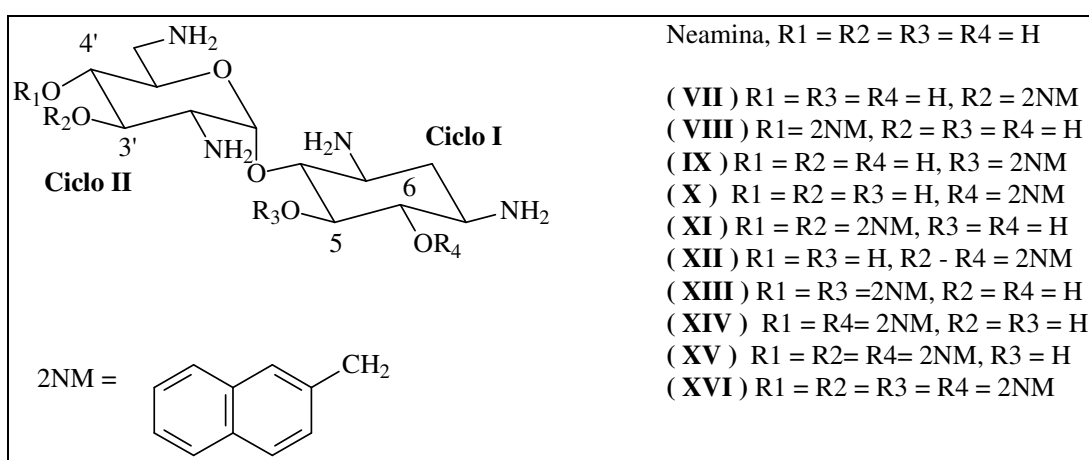
A neamina representa o principal conjunto estrutural necessário à ligação do aminoglicosídeo ao rRNA. Seu fácil acesso sintético, por metanólise da neomicina B, e sua estrutura química mais simples tornam a neamina um atrativo bloco construtor na síntese de novas moléculas, com potencial antimicrobiano (JACKOWSKI *et al.*; 2012; OUBERAI *et al.*; 2011; BAUSSANNE *et al.*; 2010).

Nos últimos anos, foram preparados derivados de neamina por modificações nas hidroxilas das posições 3', 5 e 6. O objetivo dessas modificações era aumentar a afinidade pelo alvo

molecular, o rRNA, ou diminuir a resistência bacteriana induzida por enzimas capazes de alterar a estrutura química dos aminoglicosídeos (RIGUET *et al.*; 2005; HADDAD *et al.*; 2001; GREENBERG *et al.*; 1999).

Com o objetivo de se estabelecer uma base racional de relação estrutura-atividade, Baussanne e colaboradores realizaram a síntese de novos derivados da neamina e a determinação de sua atividade biológica contra bactérias Gram (+) e Gram (-) sensíveis e resistentes à ação de antibióticos (BAUSSANNE *et al.*; 2010) (Figura 1.4).

Figura 1.4 – Estrutura química de novos derivados da neamina



Para melhorar a atividade dos novos derivados e protegê-los de modificações enzimáticas, foram introduzidos anéis aromáticos nas hidroxilas livres da neamina, através de reações com brometo de arilmetileno. Essas modificações levariam a compostos mais lipofílicos que a neamina, com maior afinidade e especificidade pelo RNA bacteriano.

Entre os compostos sintetizados, os derivados **XI**, **XII** e **XV** mostraram-se fortemente ativos contra cepas de *S.aureus* sensível e resistente, incluindo MRSA e VRSA, contra os quais a neomicina B é totalmente inativa. Quando testados contra organismos Gram (-) sensíveis ou resistentes, somente **XV** pareceu ser um agente promissor. Os valores de MIC para esses compostos variaram de 4 a 16 µg/mL (Tabela 1.1, pág. 197).

Tabela 1.1 – Valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC (µg/mL) contra diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* para derivados da neamina, neomicina B e neamina

MIC (µg/mL)								
Aminoglicosídeo	ATCC 25923	Pump NorA	Pump MsrA	Enzima APH2''-AAC6'	Enzima APH3'	Enzima ANT4'	ATCC 33592 HA-MRSA	VRSA-VRS-2
Neomicina B	2	1	2	1	>128	32	>128	128
Neamina	32	32	16	16	>128	>128	>128	>128
XI	4	8	8	8	4	8	8	4
XII	8	8	8	8	4	8	16	16
XIII	64	128	128	128	32	128	64	64
XIV	32	32	32	32	16	16	64	32
XV	4	4	4	4	2	4	2	4
XVI	32	64	64	64	32	64	32	64

A ação antibacteriana dos aminoglicosídeos é resultado de sua capacidade de penetrar a célula bacteriana e de sua afinidade pelo seu alvo molecular, o rRNA. A introdução na estrutura química da neamina de um grupo hidrofóbico leva à obtenção de compostos mais lipofílicos, o que deve aumentar a penetração do derivado através da bicamada lipídica da célula bacteriana, resultando no aumento de sua concentração no interior celular ou na desestabilização da membrana celular. A presença dos grupos 2NM na estrutura dos compostos ativos deve modificar a afinidade do núcleo neamina pelo rRNA, seja através de interação com bolsos hidrofóbicos e/ou por interações do tipo π -stacking (BAUSSANNE *et al.*; 2010).

Analisando as relações entre a estrutura química dos compostos avaliados e os resultados de atividade biológica os autores chegaram as seguintes correlações:

- ✓ Os derivados mono-alquilados **VII-X** não apresentaram atividade antibacteriana, até a concentração de 128 µg/mL e o derivado tetra-alquilado **XVI** possui fraca atividade antibacteriana. Em contraste, os compostos di ou tri-alquilados **XI**, **XII** e **XV** foram ativos;
- ✓ Entre os derivados di-alquilados, o **XI** e o **XII** foram os mais ativos contra *S.aureus*. Os valores de MIC (concentração inibitória mínima) apresentados para esses

compostos foram muitos menores do que aqueles observados para seus isômeros **XIII** e **XIV**;

- ✓ A substituição do grupo 2NM, na estrutura de **XII**, pelos grupos benzil, 2-piridilmetileno (2PM) e 2-quinolilmetileno (2QM) levou à perda da atividade antimicrobiana;
- ✓ Somente o derivado **XV** é ativo contra bactérias Gram (+) e Gram (-). Logo, a presença de três grupos 2NM parece ser necessária à atividade antimicrobiana contra Gram (-). A substituição do grupo 2NM pelo benzil, 2PM ou 2QM também levou a perda total da sua ação antibiótica.

De acordo com esses dados pode-se inferir que a estrutura química e o número de substituintes são parâmetros críticos para a atividade biológica dessa classe de compostos.

A perda da atividade nos compostos em que o grupo 2NM foi substituído por outro grupo hidrofóbico ou nos compostos em que houve modificação da posição da alquilação sugere que a ação desses novos derivados da neamina se dá por interação com um alvo molecular no interior da célula bacteriana e não por desestabilização da membrana celular do microrganismo.

Os excelentes resultados obtidos por Baussanne e colaboradores estimulam a síntese de novos derivados da neamina, na busca por novos agentes antimicrobianos mais potentes, menos tóxicos e menos susceptíveis ao desenvolvimento de resistência bacteriana.

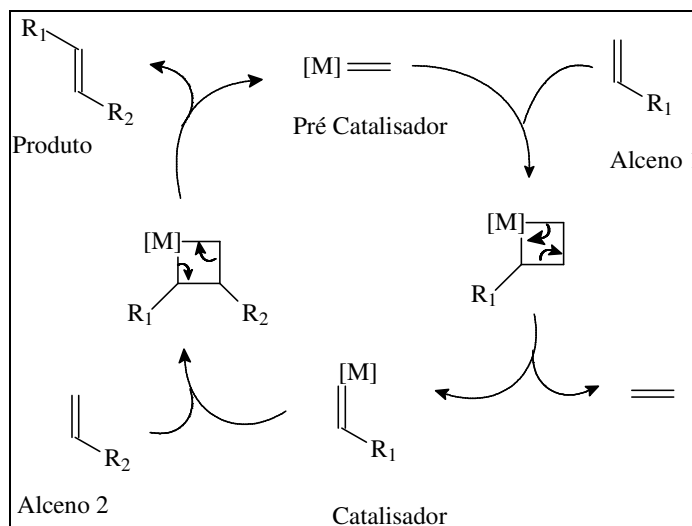
1.2 A Reação de Metátese de Olefinas

A reação de metátese é um processo de síntese, no qual ocorre redistribuição do esqueleto carbônico, através do rearranjo das ligações duplas carbono-carbono, na presença de um complexo metal-carbeno (LIN *et al.*; 2010; FREDERICO *et al.*; 2005; DOMINIQUE *et al.*; 2003; GRUBBS *et al.*; 1998).

A metátese de olefinas têm se mostrado uma ferramenta útil em síntese orgânica e uma estratégia poderosa na formação de ligações carbono-carbono, permitindo a criação de uma diversidade de novos compostos (THIEL *et al.*; 2012; . LIN *et al.*; 2010; TOSTE *et al.*; 2002).

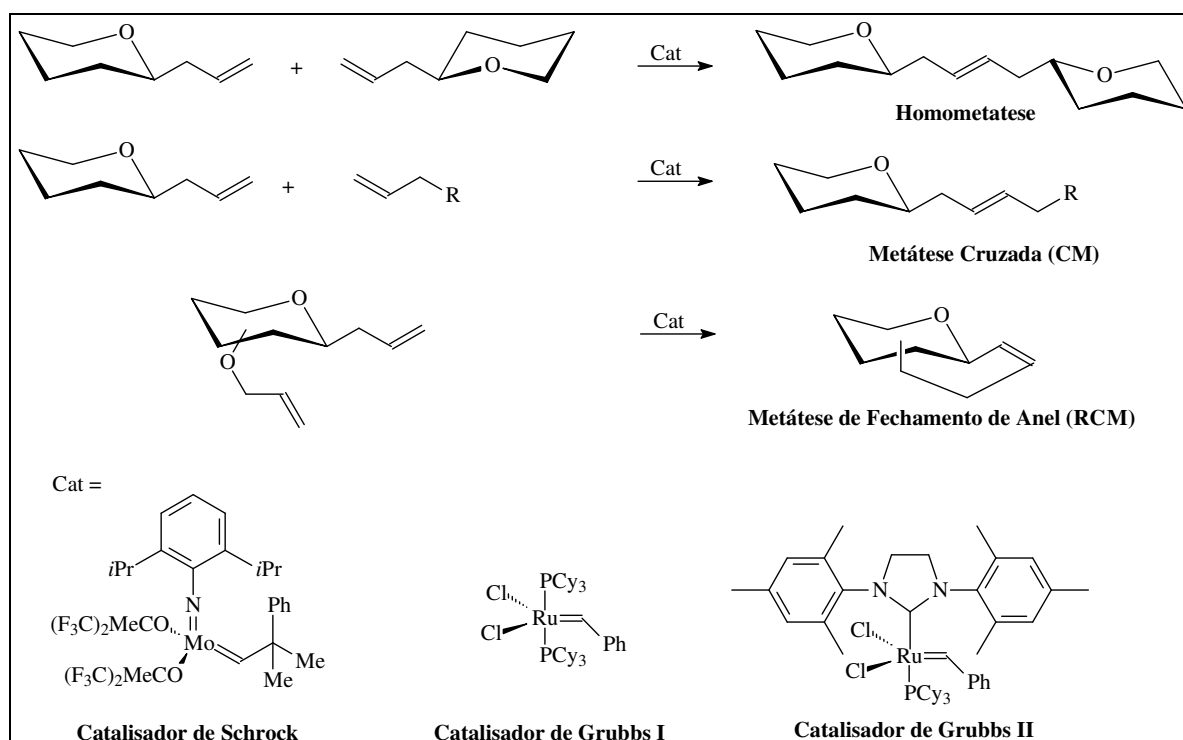
A proposta mecanística atualmente aceita para a metátese de olefinas envolve a reação entre uma olefina e um metal-carbeno. O processo ocorre via um intermediário metalociclobutano (TRNKA & GRUBBS, 2001) (Figura 1.5).

Figura 1.5 – Mecanismo Geral da Metátese de Olefinas



Na Figura 1.6 estão representadas as principais reações que podem ocorrer através da metátese de olefinas e os catalisadores mais amplamente utilizados.

Figura 1.6 – Esquema Geral de Metátese de Olefinas



A homometátese é a reação entre duas moléculas de uma mesma olefina e conduz a formação de um homodímero. A reação de metátese cruzada (CM do inglês “cross-metathesis”) ocorre entre duas olefinas diferentes. A metátese de fechamento de anel (RCM do inglês “ring-closing metathesis”) é a versão intramolecular da CM, na qual duas ligações duplas na mesma molécula reagem entre si. A formação de dienos não conjugados a partir de olefinas cíclicas é conhecida por abertura de anel por metátese (ROM do inglês “ring-opening metathesis”) sendo portanto a reação inversa da RCM (DOMINIQUE *et al.*; 2003).

A reação de metátese cruzada é particularmente interessante para a obtenção de novos compostos com diversidade molecular, uma vez que através dessa metodologia pode se obter novos alcenos contendo diferentes grupos funcionais (TOSTE *et al.*; 2002).

No entanto existem duas questões que devem ser examinadas durante a metátese cruzada e que podem ser limitantes ao sucesso da reação. São elas:

- ✓ A formação do produto indesejado de homometátese, que pode afetar drasticamente a obtenção do alceno desejado e seu rendimento;
- ✓ A estereoquímica da ligação dupla que será formada. Normalmente, as reações de CM ocorrem sem estereosseletividade e conduzem à obtenção de isômeros *cis/trans* em diferentes proporções.

Para contornar o problema da formação do homodímero duas estratégias têm se mostrado bem sucedidas. A metodologia mais simples trata do uso em excesso de uma das olefinas que participam da síntese. Essa alternativa é mais viável se um dos alcenos é disponível comercialmente ou de fácil acesso sintético. Uma abordagem alternativa é o ancoramento de uma das olefinas em um sistema de fase sólida, prevenindo assim a homometátese do composto imobilizado (DOMINIQUE *et al.*; 2003).

Grubbs e colaboradores desenvolveram um modelo empírico para prever a seletividade de uma olefina em relação à CM (CHATTERJEE *et al.*; 2003). O modelo se baseia em um *ranking* geral de reatividade de olefinas frente à homodimerização e permite classificá-las em quatro categorias, fornecendo algumas regras para a seletividade da CM. Assim, olefinas do Tipo I e Tipo II são aquelas que homodimerizam de forma rápida e lenta, respectivamente. Olefinas do Tipo III não homodimerizam, embora possam participar de reação de CM e olefinas do Tipo IV são inertes a CM. Existe ainda, a parte dessas categorias, olefinas que desativam o catalisador. De acordo com esse modelo, a reação

entre duas olefinas de classes diferentes e reativas podem levar ao produto de CM com boa seletividade; reações entre olefinas do Tipo I poderá levar ao produto de CM, obtido por probabilidade estatística e de acordo com as proporções de reagente empregadas e reações entre duas olefinas do mesmo tipo (não Tipo I) levará a CM não seletiva.

Em relação à mistura de isômeros geométricos obtidas durante as reações de metátese sabe-se que fatores como a temperatura da reação, o solvente e o catalisador utilizados e os substituintes presentes na estrutura dos substratos podem influenciar a seletividade com que o alceno é formado (FREDERICO *et al.*; 2005; GRUBBS *et al.*; 1998). No entanto, ainda não é possível correlacionar diretamente, através de um modelo teórico, esses parâmetros à estereosseletividade de uma reação.

Apesar dessas limitações a metátese de olefinas, em suas várias formas, é um processo químico valioso para o planejamento de novos compostos. Especificamente, na química de carboidratos, se trata de um método estratégico na obtenção de dímeros de carboidratos, glicomiméticos, oligossacarídeos com restrição conformacional e de agliconas funcionalizadas com grupos substituintes estratégicos (DOMINIQUE *et al.*; 2003).

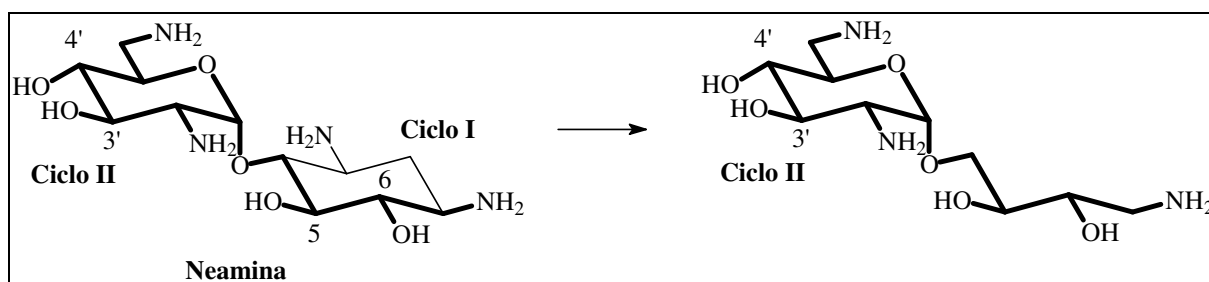
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

O potente efeito antimicrobiano dos aminoglicosídeos tem ao longo dos anos despertado o interesse de pesquisadores pela síntese de novos compostos dessa classe. A resistência bacteriana e a toxicidade associada ao uso desses fármacos torna maior o desafio na busca por novos derivados de aminoglicosídeos.

A estrutura mais simples da neamina e os relatos da obtenção de derivados dessa substância com elevada atividade antibacteriana são um estímulo ao desenvolvimento de novos compostos.

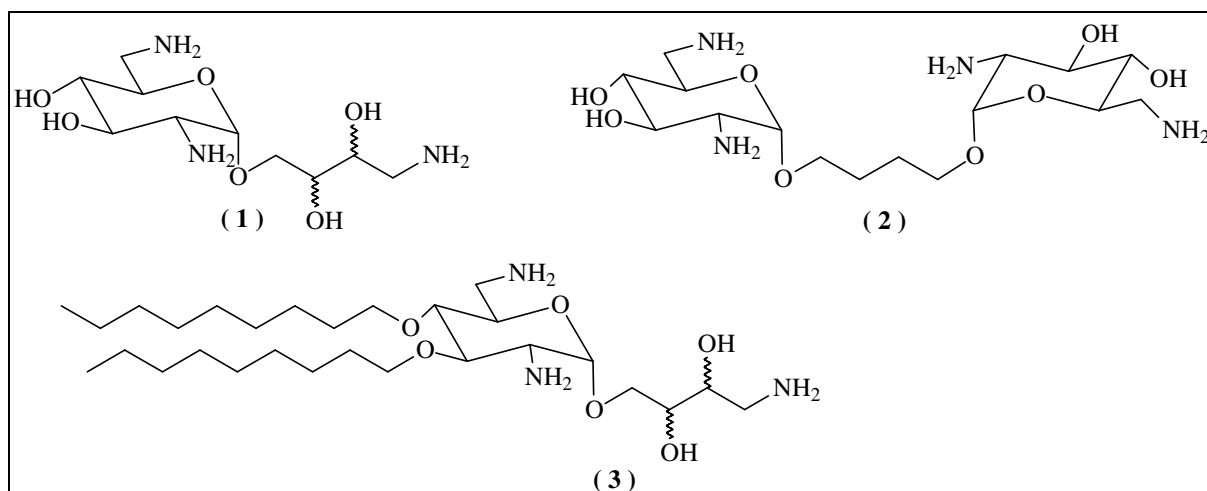
Assim, nesta parte do trabalho teve-se como objetivo o planejamento, pela estratégia de simplificação molecular, e a síntese de novos análogos da neamina, a partir da *N*-acetil-D-glicosamina e a avaliação de sua atividade antifúngica. A simplificação molecular proposta está representada na Figura 2.1.

Figura 2.1 – Estrutura da neamina



O material de partida proposto para as rotas de síntese planejadas, a *N*-acetil-D-glicosamina, possui uma estrutura química mais simples e é um reagente de baixo custo, ao contrário da neamina e da paramomicina.

No presente projeto foi planejada a obtenção, não diastereosseletiva, de três novos derivados da neamina sintetizados a partir da *N*-acetil-D-glicosamina: os derivados não alquilados **1** e **2** e o derivado **3**, alquilado nas posições 3 e 4 do açúcar, com uma cadeia alquílica de nove átomos de carbono (Figura 2.2, pág. 203).

Figura 2.2 – Estrutura química dos análogos da neamina 1-3

A obtenção de **1** justifica-se pelo interesse em se avaliar a atividade de um novo análogo da neamina não alquilado em comparação ao derivado alquilado **3**. Além disso, a rota de síntese planejada para **1** permitiria o estudo das reações propostas em cada etapa, a partir de derivados quimicamente mais simples e menos nobres.

A rota sintética proposta para a obtenção de **1** também levaria, em poucas etapas, ao derivado **2**. Considerou-se pertinente, diante da estrutura química dissacarídica desse composto, a avaliação de sua atividade biológica.

A introdução na estrutura do derivado **3** de duas cadeias hidrofóbicas, contendo nove átomos de carbono cada, baseou-se nos bons resultados do trabalho de Baussanne e colaboradores, em que a alquilação da neamina com dois ou três grupos hidrofóbicos levou à obtenção de compostos mais ativos. Foi planejado, no presente trabalho a alquilação das hidroxilas livres de C-3 e C-4 do açúcar com 1-bromononano, disponível comercialmente.

Nas rotas de síntese planejadas, há a possibilidade da formação de isômeros geométricos, durante a etapa de metátese e de diastereoisômeros, nas etapas de epoxidação e de abertura do epóxido. Inicialmente, não se objetivou no presente trabalho a separação dos isômeros formados ou o estudo preciso da estereoquímica das reações. Uma vez obtidos os produtos desejados **1**, **2** e **3** e após uma avaliação prévia de seu real potencial antimicrobiano, poderá ser realizado um estudo detalhado e a separação dos isômeros obtidos.

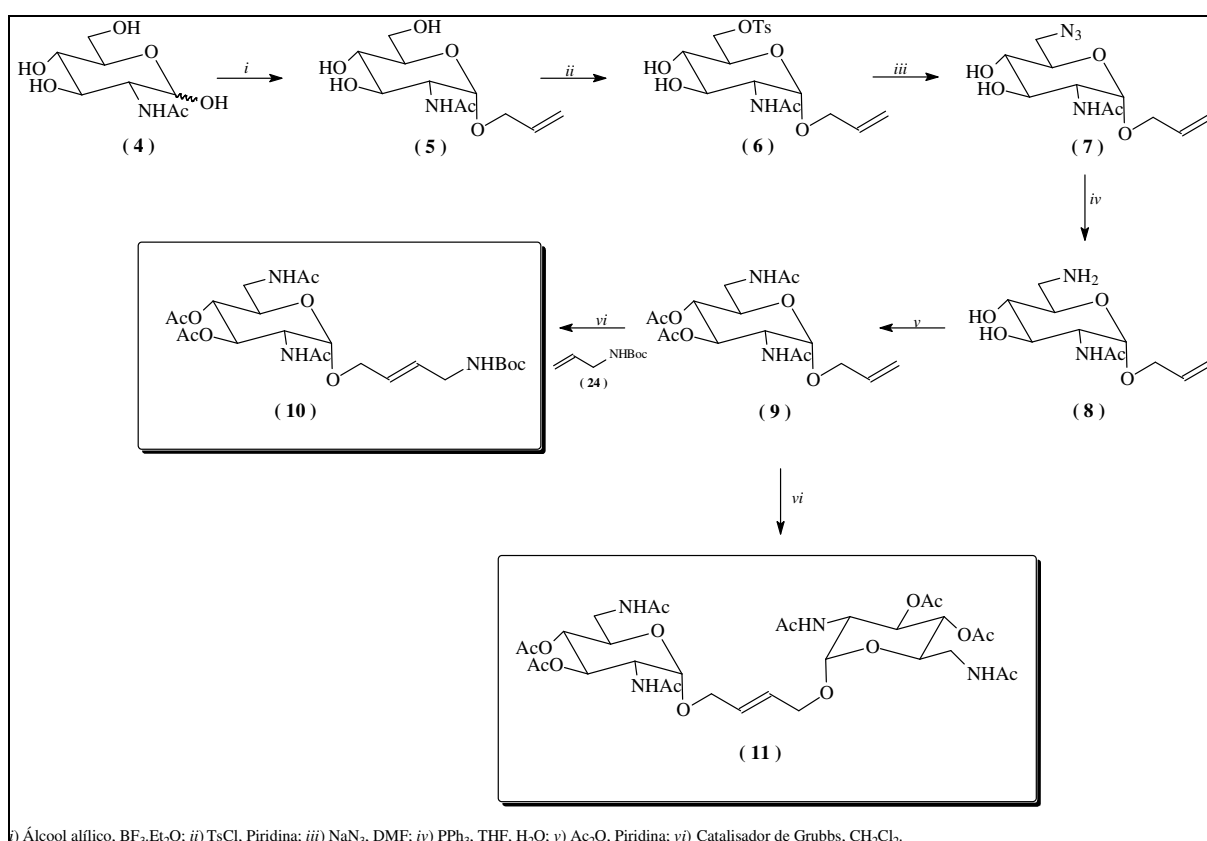
Todas as substâncias sintetizadas serão avaliadas contra bactérias Gram (+) e Gram (-) sensíveis e resistentes à ação de antibióticos.

3 PLANO DE SÍNTESE

Para a obtenção de **1**, **2** e **3** foram propostas rotas de síntese a partir da *N*-acetil-D-glicosamina **4**.

Planejou-se, inicialmente, uma rota sintética em seis etapas para a obtenção dos intermediários **10** e **11** (Figura 3.1). Uma vez obtidos, esses derivados seriam submetidos às etapas posteriores de síntese para a obtenção dos produtos finais **1** e **2** (Figura 3.2, pág. 205 e 3.3, pág 206).

Figura 3.1 – Esquema para a síntese de 10 e 11

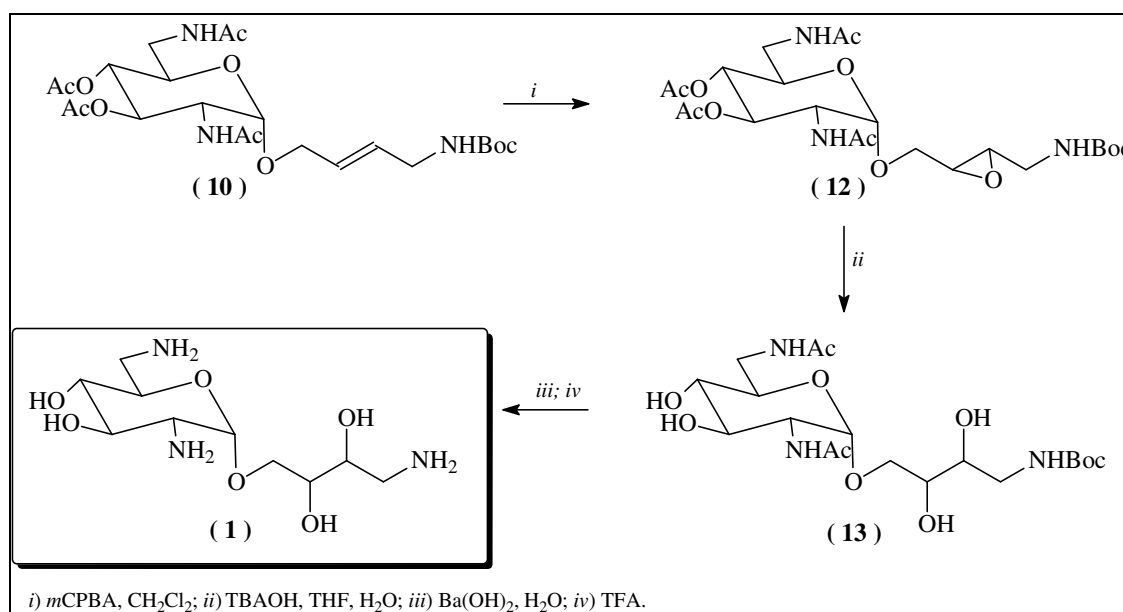


A primeira etapa prevista na rota de síntese seria a glicosilação da *N*-acetilglicosamina **4** com álcool alílico, na presença de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (WU *et al.*; 2003; WONG *et al.*; 1998; LEE & LEE; 1974). O glicosídeo **5** seria submetido a reação com cloreto de tosila em piridina para a obtenção de **6** (WU *et al.*; 2003; WONG *et al.*; 1998). Reação de substituição nucleofílica do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$ de **6** com azida de sódio conduziria ao derivado **7** (NEUMANN & THIEN.; 2010; WU *et al.*; 2003; WONG *et al.*; 1998;). As etapas seguintes seriam a redução do grupo azido de **7** a amino, na presença de trifenilfosfina (FERNÁNDEZ *et al.*; 2007; RIGUET *et al.*; 2004) e

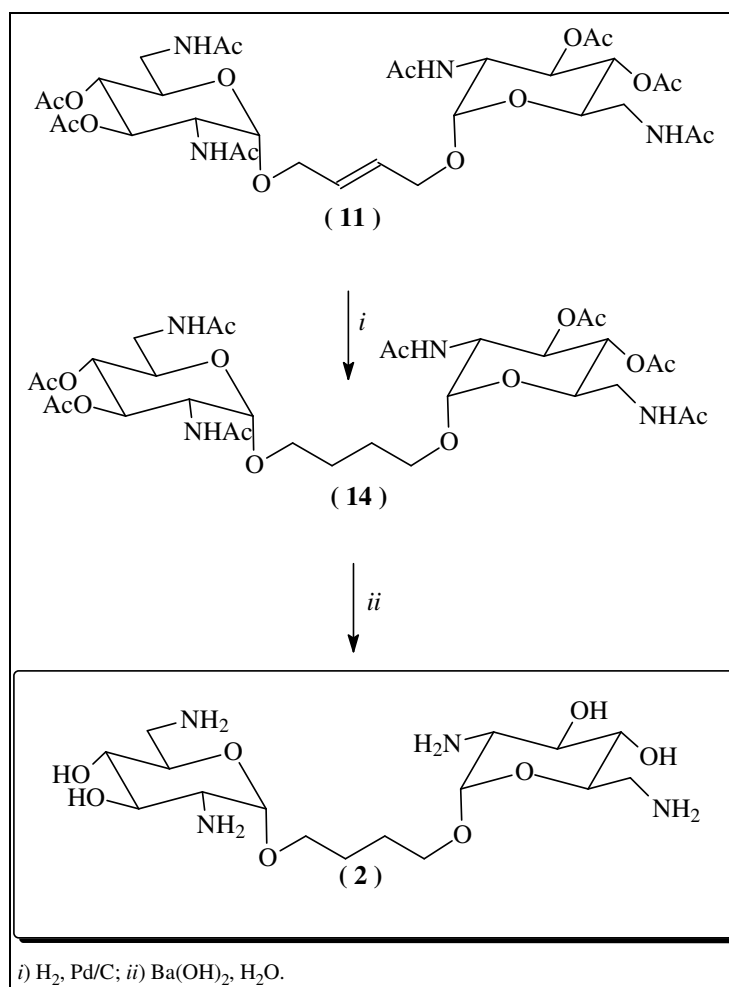
a acetilação das posições livres do açúcar, por reação com anidrido acético em piridina (RATNASEKHAR *et al.*; 2011; HORTON, D.; 1964). Uma vez obtido o intermediário comum **9** a próxima etapa seria a reação de metátese, utilizando o catalisador de Grubbs I. O derivado **10** seria obtido por reação de **9** com a alilamina **24** e o derivado **11** seria obtido por reação de homometátese de **9** (BINI *et al.*; 2011; NOLEN *et al.*; 2005; DOMINIQUE *et al.*; 2003).

Para a obtenção do produto final **1** o intermediário **10** seria submetido a reação de epoxidação, utilizando-se o ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*CPBA) como agente oxidante (WU *et al.*; 2003). A seguir, a abertura do epóxido na presença de TBAOH conduziria ao derivado **13**. Finalmente, a remoção dos grupos protetores acetila com Ba(OH)₂ (WONG *et al.*; 1998) e do grupo Boc com TFA (LIN *et al.*; 2012) levaria ao produto desejado **1** (Figura 3.2.).

Figura 3.2 – Esquema para a síntese de 1



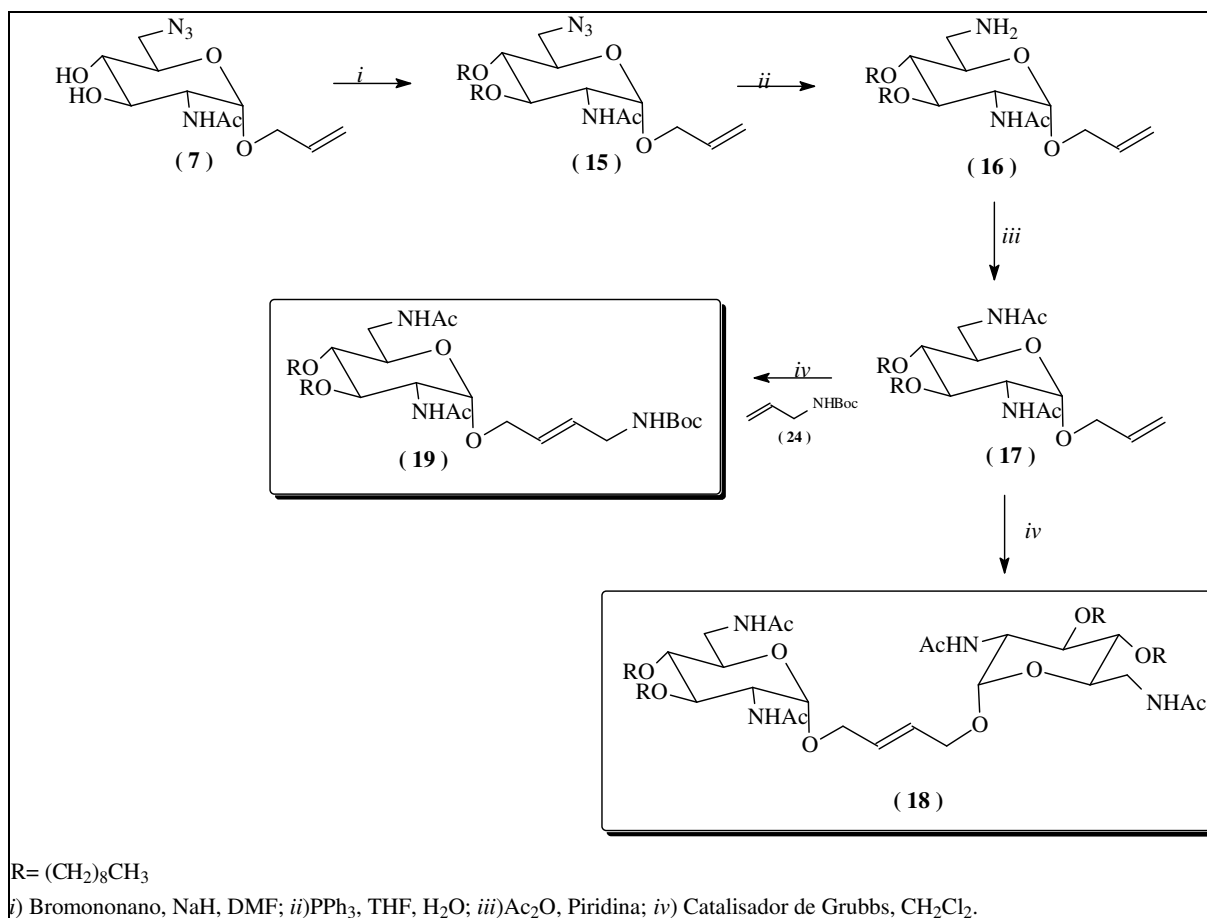
Planejou-se também uma rota de síntese a partir do intermediário **11** para obtenção do produto final **2**. O derivado **11** seria submetido à reação de redução da dupla ligação, na presença de Pd/C e H₂ (BINI *et al.*; 2011). Em seguida a remoção dos grupos protetores acetila conduziria a obtenção de **2** (WONG *et al.*; 1998) (Figura 3.3. pág. 206).

Figura 3.3 – Esquema para a síntese de 2

Paralelamente, foi planejada uma rota de síntese para a obtenção do análogo **3** (Figuras 3.4, pág. 207 e 3.5, pág. 208).

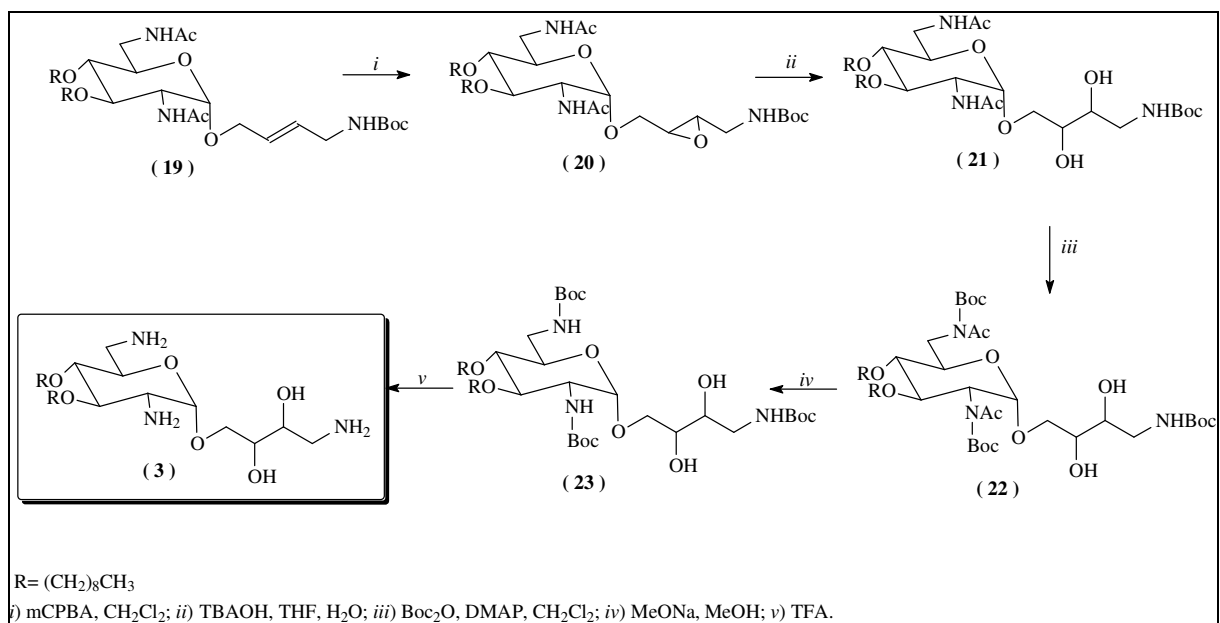
O intermediário comum **7**, cujo planejamento está descrito na Figura 3.1 (pág. 204), seria submetido a reação de alquilação das posições C-3 e C-4 do açúcar, na presença da 1-bromononano e hidreto de sódio (BAUSSANNE *et al.*; 2010). Em seguida o derivado **15** seria submetido a reação de redução do grupo azido (FERNÁNDEZ *et al.*; 2007; RIGUET *et al.*; 2004). Reação de **16** com anidrido acético em piridina conduziria a obtenção **17** (RATNASEKHAR *et al.*; 2011; HORTON, D.; 1964). O derivado **17** seria submetido a reação de metátese com a alilamina **24**, na presença de catalisador de Grubbs I, para a obtenção do intermediário **19** (BINI *et al.*; 2011; NOLEN *et al.*; 2005; DOMINIQUE *et al.*; 2003). Também foi planejada a síntese do produto da reação de homometátese de **17**, o derivado **18** (BINI *et al.*; 2011; NOLEN *et al.*; 2005; DOMINIQUE *et al.*; 2003) (Figura 3.4, pág. 207).

Figura 3.4 – Esquema para a síntese de 18 e 19



Para a obtenção de **3**, o intermediário **19** seria submetido a reação de epoxidação, na presença de *m*CPBA (WU *et al.*; 2003) seguida da abertura do epóxido com TBAOH. A etapa seguinte prevista na rota sintética seria a introdução do grupo Boc sobre os grupos amino de C-2 e C-6 (MENG *et al.*; 2011; BENAKLI *et al.*; 2001; HENRY *et al.*; 1999). Essa estratégia tem por fim viabilizar a remoção dos grupos acetila dessas posições, em condição mais amena. Sendo assim, a próxima etapa seria a reação de desacetilação, utilizando-se metóxido de sódio em metanol (ROY *et al.*; 1999). Finalmente, a remoção do grupo Boc por reação com o TFA levaria a obtenção de **3** (LIN *et al.*; 2012) (Figura 3.5, pág. 208).

Figura 3.5 – Esquema para a síntese de 3



Conforme discutido em sessão anterior não se objetivou, inicialmente, a separação dos isômeros formados durante as etapas de síntese e nem o estudo da estereoquímica das reações.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais e Métodos

O diclorometano utilizado foi previamente tratado seguindo procedimento específico:

- diclorometano – tratado com cloreto de cálcio sob refluxo e destilado. No texto é referido como diclorometano destilado anidro (ARMAREGO & PERRIN, 1996);

Os demais solventes referidos no texto como anidros foram adquiridos comercialmente. Todos os outros solventes foram utilizados sem prévia purificação e/ou destilação.

Para cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica em Kieselgel em folha/suporte de alumínio Merck 60 F254. Os reveladores utilizados foram: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v e solução etanólica de ninhidrina a 0,3% p/v.

Para cromatografia em coluna utilizou-se sílica-gel 60, 0,063 a 0,200 mm da MERCK®.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de 1D e 2D foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX 400, no Département de Pharmacochimie Moléculaire, Université Joseph Fourier, utilizando-se como padrão interno tetrametilsilano.

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro por eletrospray positivo (ESI) do Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans.

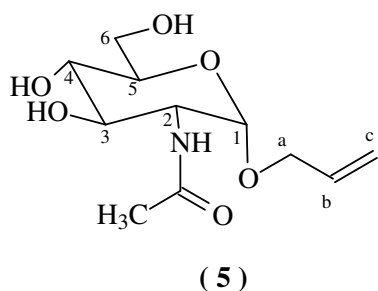
Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro com transformada de Fourier – Perkin-Elmer, modelo Spectrum One, do Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG.

As faixas de fusão foram medidas em aparelho Microquímica MQAPF 301 Laboratório de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, UFMG e não foram corrigidas. Para todas as substâncias obtidas foram determinados os pontos de fusão e foram obtidos os espectros no IV e de RMN de ^1H e de ^{13}C . Quando se fez necessário para a atribuição dos sinais de RMN foram obtidos espectros de RMN bidimensionais (COSY e HMQC).

4.2 Síntese

4.2.1 Síntese de 2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (5) (WONG *et al.*; 1998)

Em um balão de fundo redondo de 1L foram adicionados 30,0 g (0,14 mol) de *N*-acetil-D-glicosamina **4**, 4,8 mL (0,015 mol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e 300 mL (4,4 mol) de álcool alílico. A mistura reagente foi submetida a fluxo de argônio e refluxo, sob agitação magnética. Após cerca de vinte horas observou-se que a mistura reagente estava límpida e com uma coloração alaranjada. Observou-se por CCD o consumo de todo o material de partida (eluente: acetato de etila/metanol 8:2; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). O solvente foi removido, ao máximo, em evaporador rotatório, e o bruto obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila/metanol 8:2). Foram obtidos 19,0 g de um sólido branco, que correspondem a 48% de rendimento.



FM: $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_6$

MM: 261 g/mol

FF: 150,7-155,1 °C (Lit.: 169-171 °C (EtOH)) (FENG *et al.*; 2004)

$[\alpha]_D^{21} +35$ (c 0,1, MeOH) (Lit. +175,8 (c 0,1, MeOH)) (FENG *et al.*; 2004)

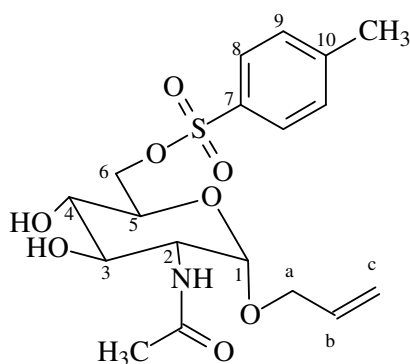
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3293 (v N-H); 1645 (v C=O amida); 1022 (v C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 5,94 – 5,84 (m; 1H; H-b); 5,27 (ddd; $J_{\text{Hc}', \text{Hb}}$ 17,3, $J_{\text{Hc}', \text{Hc}}$ 3,4, $^4J_{\text{Hc}', \text{Ha}}$ 1,6; 1H; H-c'); 5,13 (ddd; $J_{\text{Hc}, \text{Hb}}$ 12,0, $J_{\text{Hc}, \text{Hc}'}$ 3,4, $^4J_{\text{Hc}, \text{Ha}}$ 1,2; 1H; H-c); 4,79 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1); 4,15 (ddd; $J_{\text{Ha}, \text{Ha}'}$ 13,2, $J_{\text{Ha}, \text{Hb}}$ 5,2, $^4J_{\text{Ha}, \text{Hc}}$ 1,6; $^4J_{\text{Ha}, \text{Hc}'}$ 1,6; 1H; H-a); 3,94 (ddd; $J_{\text{Ha}', \text{Ha}}$ 13,2, $J_{\text{Ha}', \text{Hb}}$ 6,0, $^4J_{\text{Ha}', \text{Hc}}$ 1,2; $^4J_{\text{Ha}', \text{Hc}'}$ 1,6; 1H; H-a'); 3,86 (dd; $J_{2,3}$ 10,8, $J_{2,1}$ 3,6, 1H; H-2); 3,77 (dd; $J_{6,6'}$ 11,8, $J_{6,5}$ 2,0, 1H; H-6); 3,67 – 3,62 (m; 2H; H-3 e H-6'); 3,57 – 3,53 (m; 1H; H-5); 3,32 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,4, 1H; H-4); 1,93 (s; 3H; CH_3).

RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) δ 173,6 (CONH); 135,5 (C-b); 117,5 (C-c); 97,6 (C-1); 74,0 (C-5); 72,7 (C-3); 72,3 (C-4); 69,9 (C-a); 62,7 (C-6); 55,3 (C-2); 22,6 (CH_3).

4.2.2 Síntese de 2-acetamido-2-desoxi-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de alila (6) (WONG *et al.*; 1998)

Em um balão de fundo redondo de 500 mL foram adicionados 18,4 g (0,064 mol) do derivado precursor **5** e 120 mL de piridina anidra. A mistura reagente foi submetida a fluxo de argônio e mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por cerca de uma hora. A seguir, uma solução de 14,4 g (0,075 mol) de cloreto de tosilato em 40 mL de piridina anidra foi adicionada ao balão contendo a mistura reagente. O sistema foi mantido sob agitação, a temperatura ambiente, por cerca de quinze horas. Após esse tempo observou-se por CCD o consumo de todo o material de partida (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). O solvente foi removido em evaporador rotatório e o bruto obtido submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila/metanol 9:1). Foram obtidos 18,5 g de um sólido branco, que correspondem a 66% de rendimento.



(6)

FM: C₁₈H₂₅NO₈S**MM:** 415 g/mol**FF:** 139,1-141,5 °C**[α]_D²²** +26,8 (c 0,21, MeOH)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3360 (ν N-H); 1643 (ν C=O amida); 830, 813 (def. ang. C-H aromático *para-dis3*,substituído).

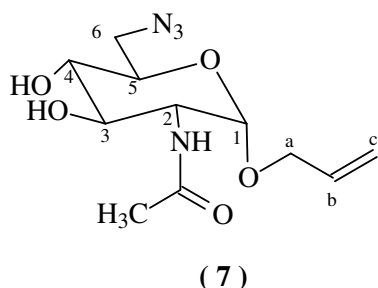
RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 7,76 (d; *J*_{9,8} 8,4, 2H; H-8); 7,40 (d; *J*_{8,9} 8,4, 2H; H-9); 5,90 – 5,80 (m; 1H; H-b); 5,24 (ddd; *J*_{Hc', Hb} 17,2, *J*_{Hc', Hc} 3,2, ⁴*J*_{Hc', Ha} 1,6; 1H; H-c'); 5,13 (ddd; *J*_{Hc, Hb} 10,4, *J*_{Hc, Hc'} 3,2, ⁴*J*_{Hc, Ha} 1,2; 1H; H-c); 4,67 (d; *J*_{1,2} 3,6; 1H; H-1); 4,30 (dd; *J*_{6,6'} 10,8, *J*_{6,5} 2,0, 1H; H-6); 4,17 (dd; *J*_{6',6} 10,8, *J*_{6',5} 6,0, 1H; H-6'); 4,04 (ddd; *J*_{Ha, Ha'} 13,0, *J*_{Ha, Hb} 5,2, ⁴*J*_{Ha, Hc'} 1,6; ⁴*J*_{Ha, Hc} 1,6; 1H; H-a); 3,86 (ddd; *J*_{Ha', Ha} 13,0, *J*_{Ha', Hb} 6,4, ⁴*J*_{Ha', Hc} 1,2; ⁴*J*_{Ha', Hc'} 1,6; 1H; H-a'); 3,80 (dd; *J*_{2,3} 10,8, *J*_{2,1} 3,6, 1H; H-2); 3,69 (ddd; *J*_{5,4} 9,8, *J*_{5,6'} 6,0, *J*_{5,6} 2,0; 1H; H-5); 3,59 (dd; *J*_{3,2} 10,8, *J*_{3,4} 8,8, 1H; H-3); 3,24 (dd; *J*_{4,5} 9,8, *J*_{4,3} 8,8, 1H; H-4); 2,42 (s; 3H; CH₃); 1,94 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ 173,6 (CONH); 146,5 (C-7); 135,2 (C-b); 134,4 (C-10); 131,1 (C-8); 129,0 (C-9); 117,8 (C-c); 97,6 (C-1); 72,6 (C-3); 72,0 (C-4); 71,4 (C-5); 71,0 (C-6); 69,3 (C-a); 55,0 (C-2); 22,5 (CH₃); 21,6 (CH₃).

4.2.3 Síntese de 2-acetamido-6-azido-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (7)

(WONG *et al.*; 1998)

Em um balão de fundo redondo de 500 mL foram adicionados 18,0 g (0,043 mol) do derivado **6**, 28,6 g (0,43 mol) de azida de sódio e 150 mL de DMF. A mistura reagente foi submetida a aquecimento a 85° C e agitação magnética, por cerca de quinze horas. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v e lâmpada UV) até o consumo de todo o material de partida. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o bruto obtido submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; acetato de etila/metanol 8:2). Foram obtidos 7,2 g de um sólido alaranjado, que correspondem a 57% de rendimento.



FM: C₁₁H₁₈N₄O₅

MM: 286 g/mol

FF: 113,7-116,4 °C (Lit.: 117,4°C)
(NEUMANN & THIEN.; 2010)

[α]_D²² +38 (c 0,19, MeOH) (Lit. +97,9 (c 0,19, MeOH)) (NEUMANN & THIEN.; 2010)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3304 (ν N-H); 2089 (ν -N=N=N); 1644 (ν C=O amida); 1016 (ν C-O).

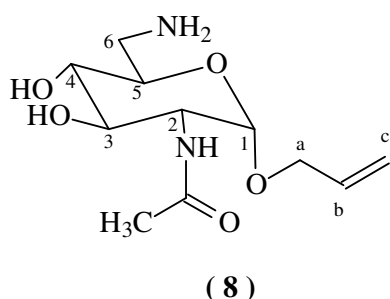
RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 5,94 – 5,87 (m; 1H; H-b); 5,29 (d; $J_{\text{Hc'}, \text{Hb}}$ 17,2; 1H; H-c'); 5,15 (d; $J_{\text{Hc}, \text{Hb}}$ 10,4; 1H; H-c); 4,17 (dd; $J_{\text{Ha}, \text{Ha'}}$ 13,0, $J_{\text{Ha}, \text{Hb}}$ 4,4; 1H; H-a); 3,98 (dd; $J_{\text{Ha'}, \text{Ha}}$ 13,0, $J_{\text{Ha'}, \text{Hb}}$ 6,0; 1H; H-a'); 3,88 (dd; $J_{2,3}$ 9,6, $J_{2,1}$ 3,2; 1H; H-2); 3,70 (tripletóide; $J_{5,4}$ 7,6, $J_{5,6'}$ 6,4; 1H; H-5); 3,62 (t; $J_{3,2=3,4}$ 9,6; 1H; H-3); 3,46 (d; $J_{6,6'}$ 13,2; H-6); 3,37 (dd; $J_{6',6}$ 13,2, $J_{6',5}$ 6,4; 1H; H-6'); 3,31 – 3,26 (m; 1H; H-4); 1,94 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ 173,7 (CONH); 135,2 (C-b); 117,8 (C-c); 97,7 (C-1); 73,2 (C-5); 73,1 (C-4); 72,5 (C-3); 69,4 (C-a); 55,3 (C-2); 52,8 (C-6); 22,5 (CH₃).

4.2.4 Síntese de 2-acetamido-6-amino-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de alila (8)

(RIGUET *et al.*; 2004)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 2,0 g (7,0 mmol) de **7**, 5,5 g (21,0 mmol) de trifetilfosfina, 60 mL de THF e 20 mL de água destilada. A mistura reagente foi submetida à agitação magnética, a temperatura ambiente, por cerca de 12 horas. O consumo de todo o material de partida foi observado em CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v). Os solventes foram removidos em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi solubilizado em uma mistura de ciclo hexano e água destilada e transferido para um funil de separação. A fase aquosa foi lavada com 3x30 mL de ciclo hexano e a água foi removida em evaporador rotatório. O produto foi obtido na forma de um sólido branco com rendimento quantitativo.



FM: C₁₁H₂₀N₆O₅

MM: 260 g/mol

FF: 142,7-146,2 °C

[α]_D²³ +33 (c 0,24, MeOH)

EM (ESI+, m/z) para C₁₁H₂₁N₆O₅
 calculado: 261,1450. Encontrado:
 261,1447 [M+H]⁺; 521,2814 [2M+H]⁺;
 203,1027 [M+H-C₃H₅OH]⁺ -> 185,0923 ->
 167,0816.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3298 (ν N-H); 1644 (ν C=O amida); 1021 (ν C-O).

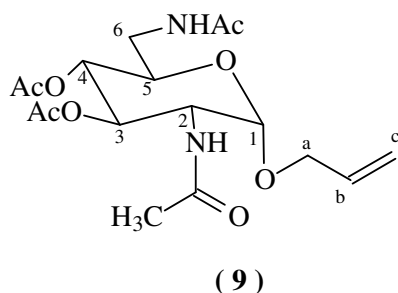
RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 5,95 – 5,85 (m; 1H; H-b); 5,29 (d; *J*_{Hc', Hb} 17,2; 1H; H-c'); 5,14 (d; *J*_{Hc, Hb} 10,4; 1H; H-c); 4,17 (dd; *J*_{Ha, Ha'} 13,2, *J*_{Ha, Hb} 4,4; 1H; H-a); 3,96 (dd; *J*_{Ha', Ha} 13,2, *J*_{Ha', Hb} 6,0; 1H; H-a'); 3,86 (dd; *J*_{2,3} 10,6, *J*_{2,1} 3,2; 1H; H-2); 3,64 (t; *J*_{3,4=3,2} 9,2; 1H; H-3); 3,54 (tripletóide; *J*_{5,4} 9,2, *J*_{5,6'} 7,2, *J*_{5,6} 4,4; 1H; H-5); 3,20 (t; *J*_{4,3=4,5} 9,2; 1H; H-4); 2,96 (dd; *J*_{6,6'} 13,2, *J*_{6,5} 4,4; 1H; H-6); 2,74 (dd; *J*_{6',6} 13,2, *J*_{6',5} 7,2; 1H; H-6'); 1,95 (s; 3H; CH₃).

RMN de ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ 173,7 (C=NH); 135,4 (C-b); 117,6 (C-c); 97,7 (C-1); 74,0 (C-4); 73,3 (C-5); 72,5 (C-3); 69,3 (C-a); 55,4 (C-2); 43,7 (C-6); 22,6 (CH₃).

4.2.5 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-dideoxi-α-D-glicopiranosídeo de alila (**9**) (RATNASEKHAR *et al.*; 2011)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 550 mg (2,1 mmol) de **8**, 0,7 mL (7,7 mmol) de anidrido acético e 5 mL de piridina anidra. A mistura reagente foi aquecida a 50 °C e mantida sob agitação magnética por cerca de doze horas. A reação foi

acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) até o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e extraída com 3x30 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi extraída com 3x30 mL de água destilada e secada com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi filtrado e removido em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila/tolueno 95:0,5; acetato de etila/metanol 9:1). Foram obtidos 260 mg de um sólido branco, que correspondem a 40% de rendimento.



FM: C₁₇H₂₆N₂O₈

MM: 386 g/mol

FF: 150,3-152,4 °C

[α]_D²³ +24,4 (c 0,21, MeOH)

EM (ESI+, m/z) para C₁₇H₂₇N₂O₈
 calculado: 387,1767. Encontrado:
 387,1763 [M+H]⁺; 409,1580 [M+Na]⁺;
 329,1346 [M+H-C₃H₅OH]⁺ -> 209,0923 ->
 167,0815.

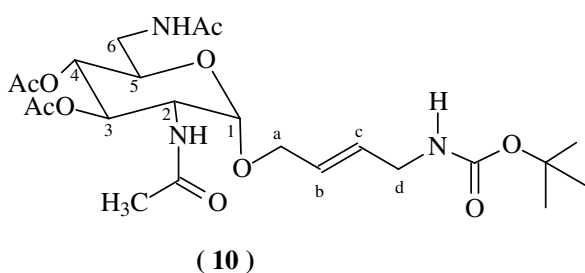
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3319 (ν N-H); 1742 (ν C=O éster); 1651 (ν C=O amida); 1253; 1021 (ν C-O).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,90 – 5,67 (m; 2H; H-b e NH-6); 5,68 (d; *J*_{NH,2} 9,2; 1H; NH-2); 5,29 – 5,17 (m; 3H; H-3, H-c e H-c'); 4,91 (t; *J*_{4,3=4,5} 10,0; 1H; H-4); 4,82 (d; *J*_{1,2} 3,6; 1H; H-1); 4,26 (ddd; *J*_{2,3} 11,9, *J*_{2,NH} 9,2, *J*_{2,1} 3,6; 1H; H-2); 4,12 (ddd; *J*_{Ha, Ha'} 12,8, *J*_{Ha,Hb} 5,6, *J*_{Ha,Hc} 1,2; *J*_{Ha,Hc'} 1,2; 1H; H-a); 3,96 (dtd; *J*_{Ha', Ha} 12,8, *J*_{Ha',Hb} 6,4, *J*_{Ha',Hc} 1,2; *J*_{Ha',Hc'} 1,2; 1H; H-a'); 3,83 (ddd; *J*_{5,4} 10,0, *J*_{5,6'} 6,4, *J*_{5,6} 5,6; 1H; H-5); 3,55 (ddd; *J*_{6',6} 14,5, *J*_{6',5} 6,4; ⁴*J*_{6',4} 2,8; 1H; H-6'); 3,28 (ddd; *J*_{6,6'} 14,5, *J*_{6,5} 5,6; ⁴*J*_{6,4} 2,8; 1H; H-6); 2,02; 1,98; 1,97; 1,92 (s; 12H; CH₃).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,2; 170,1; 170,0; 169,7 (CONH); 133,1 (C-b); 118,3 (C-c); 96,3 (C-1); 71,0 (C-3); 68,9 (C-4); 68,7 (C-a); 68,3 (C-5); 52,0 (C-2); 38,9 (C-6); 23,1; 20,6 (CH₃).

4.2.6 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-didesoxi-α-D-glicopiranosídeo de 4[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2-*trans*-butenila (10) (DOMINIQUE *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, 300 mg (0,78 mmol) de **9** foram solubilizados em 5 mL de diclorometano destilado. Em seguida foram adicionados 250 mg (1,6 mmol) da alilamina protegida **24**. O sistema foi adaptado a um condensador de refluxo, vedado com uma rolha de borracha, e submetido a fluxo de argônio, sob agitação magnética, por cerca de vinte minutos. 160 mg (0,20 mmol) de catalisador de Grubbs I foram adicionados a mistura reagente e o sistema foi aquecido a refluxo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) e após cerca de vinte horas se observou que a reação não mais evoluía. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo bruto obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila 100%; acetato de etila/metanol 9,5:0,5). Foram recuperados ao fim da etapa de purificação 42 mg de material de partida **9** e foram isolados dois produtos A e B. O produto A foi caracterizado como sendo o derivado **10** e B foi caracterizado como o produto de homometátese **11**. Foram obtidos 145 mg de **10**, que correspondem a 36% de rendimento e 87 mg de **11**, correspondentes a 30% de rendimento.



FM: C₂₃H₃₇N₃O₁₀

MM: 515 g/mol

[α]_D²³ +20 (c 0,05, MeOH)

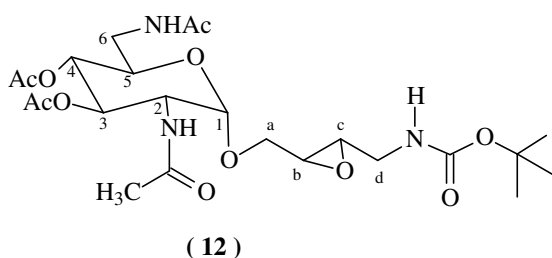
EM (ESI⁺, m/z) para C₂₃H₃₈N₃O₁₀
 calculado: 516,2557. Encontrado:
 516,2550 [M+H]⁺; 538,2368 [M+Na]⁺;
 460,1925 [M+H-C₄H₈]⁺ -> 416,2028 (-CO₂)
 -> 387,1761 -> 329,1345.

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,71 – 5,56 (m; 2H; H-b e H-c); 5,14 (dd; J_{3,4} 9,6, J_{3,2} 10,8; 1H; H-3); 4,87 (t; J_{4,5=4,5} 9,6; 1H; H-4); 4,62 (d; J_{1,2} 3,6; 1H; H-1); 4,20 (dd; J_{2,3} 10,8, J_{2,1} 3,6; 1H; H-2); 4,06 (dd; J_{Ha, Ha'} 12,8, J_{Ha, Hb} 4,8; 1H; H-a); 3,91 (dd; J_{Ha', Ha} 12,8, J_{Ha', Hb} 6,0; 1H; H-a'); 3,79 (ddd; J_{5,4} 10,0, J_{5,6'} 5,6, J_{5,6} 3,2; 1H; H-5); 3,69 (d; J_{Hd, Hc} 4,4; 2H; H-d e H-d'); 3,49 (dd; J_{6,6'} 14,6, J_{6,5} 3,2, 1H; H-6); 3,23 (dd; J_{6',6} 14,6, J_{6',5} 5,6, 1H; H-6'); 2,02; 1,98; 1,97; 1,92 (s; 12H; CH₃); 1,39 (s; 9H; C(CH3)₃)..

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,3; 170,2; 170,0; 169,9 (C=O); 155,8 (COC(CH₃)₃); 133,5 (C-b); 126,2 (C-c); 96,3 (C-1); 79,6 (C(CH₃)₃); 71,0 (C-3); 69,0 (C-4); 68,3 (C-5); 68,0 (C-a); 52,0 (C-2); 41,7 (C-d); 38,9 (C-6); 28,3 (C(CH₃)₃); 23,1; 23,0; 20,7 20,6 (CH₃).

4.2.7 Síntese de 2,6-diacetamido-3,4-O-acetil-2,6-dideoxi-α-D-glicopiranosídeo de 4[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2,3-epoxibutíla (**12**) (WU *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL 100 mg (0,19 mmol) de **10** foram solubilizados em 10 mL de diclorometano anidro. A essa solução foram adicionados 100 mg (0,58 mmol) de ácido meta-cloroperbenzóico (*m*CPBA). O sistema foi vedado com uma rolha de borracha e submetido à agitação magnética, a temperatura ambiente. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) e foram adicionados mais 100 mg de *m*CPBA após quatro e seis horas, do início da reação. Após se observar o consumo de todo o material de partida a mistura reagente foi transferida para um funil de separação, diluída com mais 20 mL de diclorometano e extraída com 3 x 15 mL de solução Na₂CO₃ 5% e 3 x 20 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação.



FM: C₂₃H₃₇N₃O₁₁

MM: 531 g/mol

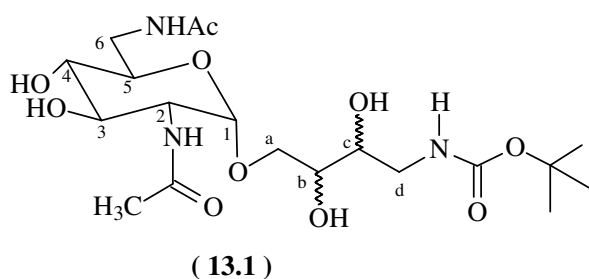
RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 6,40 (t; *J*_{NH,6=NH,6'} 6,0; 1H; NH-6); 6,17 (d; *J*_{NH,2} 9,2; 1H; NH-2); 5,13 (dd; *J*_{3,4} 9,6, *J*_{3,2} 10,8; 1H; H-3); 5,04 – 5,03 (m; 1H; NHBoc); 4,87 (dd; *J*_{4,3} 9,6, *J*_{4,5} 11,8; 1H; H-4); 4,76 (d; *J*_{1,2} 3,6; 1H; H-1); 4,27 – 4,20 (m; 1H; H-2); 3,92 – 3,82 (m; 2H; H-a e H-5); 3,49 – 3,17 (m; 5H; H-a', H-d/H-d', H-6/H-6'); 3,01 – 2,99 (m; 2H; H-b e H-c); 1,99 (s; 12H; CH₃); 1,36 (s; 9H; C(CH₃)₃).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 171,4; 171,0; 170,8; 170,0 (CONH); 156,3 (COOH); 97,9 (C-1); 71,0 (C-3); 69,2 (C-4); 68,7 (C-5); 68,2 (C-a); 54,9 (C-b e C-c); 52,2 (C-2); 41,2 (C-d); 39,6 (C-6); 28,5 (C(CH₃)₃); 23,1; 23,0; 20,8 20,7 (CH₃).

4.2.8 Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-α-D-glicopiranosídeo de 4[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-D,L-eritro-2,3-dihidroxibutla (13.1) e 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-α-D-glicopiranosídeo de 4-amino-D,L-eritro-2,3-dihidroxibutla (13.2)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, 80 mg de **12** foram solubilizados em 5 mL de THF. Em seguida preparou-se uma solução de 1 mL de hidróxido de tetrabutilamônio 40% (TBAOH) em 4 mL de água destilada. Essa solução foi adicionada, gota a gota, a mistura

reagente. O sistema foi submetido à agitação magnética a temperatura ambiente e a evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após cerca de uma hora foi observado o consumo de todo o material de partida. O THF foi evaporado e o resíduo aquoso obtido foi transferido para um funil de separação e extraído com 3 x 30 mL de acetato de etila e 2 x 30 mL de água destilada. O produto formado estava na fase aquosa. A água foi evaporada e resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; acetato de etila/metanol 8:2). Obtiveram-se dois produtos, A e B, que foram caracterizados como sendo respectivamente **13.1** e **13.2**. Foram obtidos 20 mg de **13.1** e 60 mg de **13.2**.



FM: C₁₉H₃₅N₃O₁₀

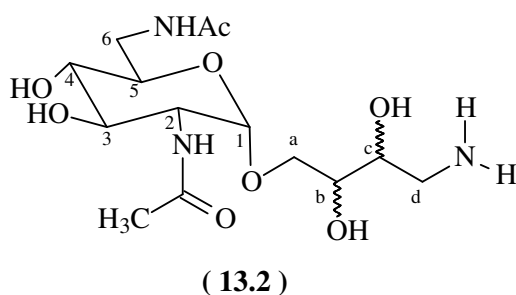
MM: 465 g/mol

RMN de ¹H (D₂O, 400 MHz) δ 4,90 (d; $J_{H-b, H-c}$ 3,6; 1H; H-b)*; 4,87 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1)*; 4,05 – 3,93 (m; 2H; H-2 e H-c); 3,80 – 3,70 (m; 2H; H-d e H-5); 3,64 – 3,60 (m; 1H; H-d'); 3,53 – 3,36 (m; 4H; H-a/H-a'; H-3 e H-6); 3,31 – 3,24 (m; 2H; H-4 e H-6'); 2,04; 2,03 (s; 6H; CH₃); 1,46 (s; 9H; C(CH₃)₃).

*Intercambiáveis.

RMN de ¹³C (D₂O, 100 MHz) δ 174,6; 174,5; (CONH); 97,3; 97,2 (C-1)*; 71,5; 71,4; 70,8; 70,4 (C-3; C-4; C-5; C-b; C-c); 67,5 (C-a); 53,7 (C-2); 40,0 (C-6); 29,7; 27,7 (C(CH₃)₃); 22,0; 21,9 (CH₃).

*Mistura de isômeros



FM: C₁₄H₂₇N₃O₈

MM: 365 g/mol

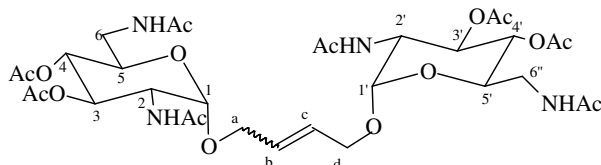
RMN de ^1H (D_2O , 400 MHz) δ 4,91 – 4,87 (m; 2H; H-1 e H-b); 4,11 (dd; $J_{9,0}$, $J_{4,8}$; 1H; H-c); 3,97 (dd; $J_{2,3}$ 10,1, $J_{2,1}$ 3,6; 2H; H-2); 3,85 – 3,54 (m; 7H; H-a/H-a', H-d/H-d', H-3, H-5 e H-6); 3,50 – 3,37 (m; 2H; H-4 e H-6'); 2,06; 2,05 (s; 6H; CH_3).

RMN de ^{13}C (D_2O , 100 MHz) δ 174,6; 174,5; (CONH); 97,6; 97,3 (C-1)*; 71,5; 71,0; 70,6; 70,5; 70,1; 69,8 (C-3; C-4; C-5; C-b; C-c); 67,6 (C-a); 53,6 (C-2); 41,80 (C-d); 40,0 (C-6); 23,4; 21,9 (CH_3).

*Mistura de isômeros

4.2.9 Síntese de (E/Z)-1,4-bis-[2,6-diacetamido-3,4-di-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]-2-buteno (11) (DOMINIQUE *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 195 mg (0,50 mmol) de **9** e 5 mL de diclorometano destilado anidro. O balão foi adaptado a um condensador, vedado com uma rolha de borracha, e o sistema foi submetido a fluxo de argônio. Após cerca de vinte minutos, foram adicionados 40 mg (0,050 mmol) do catalisador de Grubbs I. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a refluxo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após cerca de vinte horas foi observado o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e diluída com 20 mL de diclorometano. A fase orgânica foi extraída com 3 x 30 mL de água destilada. Nessa etapa observou-se que o produto desejado estava na fase aquosa. A água foi removida em evaporador rotatório e foram obtidos 140 mg de **11**, o que corresponde a 75% de rendimento.



(11)

FM: $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{16}$

MM: 744 g/mol

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{N}_4\text{O}_{16}$
calculado: 745,3138. Encontrado:
745,3137 $[\text{M}+\text{H}]^+$

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 6,19 – 6,14 (m; 4H; NH); 5,78 – 5,73 (m; 2H; H-b e H-c); 5,19 (dd; $J_{3,4}$ 10,0, $J_{3,2}$ 9,6; 2H; H-3 e H-3'); 4,89 (t; $J_{4,3=4,5}$ 10,0; 2H; H-4 e H-4'); 4,85 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 2H; H-1 e H-1'); 4,29 – 4,22 (m; 2H; H-2 e H-2'); 4,13 – 4,05 (m; 2H; H-a e H-d);

4,00 – 3,95 (m; 2H; H-a' e H-d'); 3,86 – 3,81 (m; 2H; H-5 e H-5'); 3,65 – 3,56 (m; 2H; H-6' e H-6''); 3,28 (td; $J_{6,6'}$ 14,4, $J_{6,5}$ 5,6, 2H; H-6 e H-6''); 2,03 - 1,92 (s; 24H; CH_3).

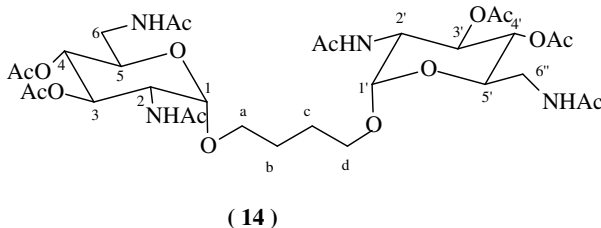
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171,2; 170,4; 170,3; 170,0 (CONH); 129,2*; 129,4• (C-b e C-c); 96,6*; 95,8• (C-1); 70,8*; 70,6• (C-3); 69,2*; 69,8• (C-4); 68,3*; 68,5• (C-5); 67,8*; 61,8• (C-a e C-d); 52,1*; 52,4• (C-2); 38,9*; 39,8• (C-6); 23,2; 23,1; 20,08; 20,07; 20,6 (CH_3).

*Dados de RMN de ^{13}C para o isômero majoritário *trans*.

• Dados de RMN de ^{13}C para o isômero *cis*.

4.2.10 Síntese de 1,4-bis-[2,6-diacetamido-3,4-di-O-acetil-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]butano (**14**) (BINI *et al.*; 2011)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 70 mg (0,09 mmol) de **11**, 20 mg de paládio/carvão e 5 mL de THF. O balão foi vedado com uma rolha de borracha e a mistura reagente foi submetida a fluxo de N_2 (g) seguido de fluxo de H_2 (g). O sistema foi mantido sob agitação magnética, a temperatura ambiente por cerca de dezoito horas. Após esse tempo observou-se por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 8:2; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) o consumo de todo o material de partida. A suspensão foi filtrada em sílica Celite, para remoção do paládio/carvão, e o solvente eliminado em evaporador rotatório. O derivado **14** foi obtido com rendimento quantitativo.



FM: $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{16}$

MM: 746 g/mol

$[\alpha]_D^{23}$ -26,7 (c 0,08, MeOH)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_{16}$
 calculado: 747,3300. Encontrado:
 747,3291 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 769,3107 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3318 (v N-H); 1744 (v C=O éster); 1653 (v C=O amida); 1221; 1034 (v C-O).

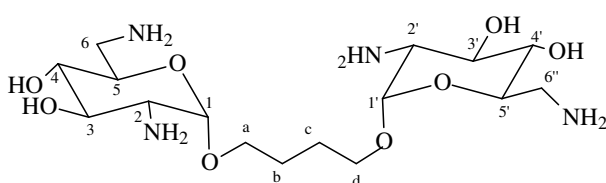
RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5,24 (t; $J_{3,4=3,2}$ 9,6; 2H; H-3 e H-3'); 4,91 (d; $J_{1,2}$ 4,0; 2H; H-1 e H-1'); 4,88 (triplete; $J_{4,3=4,5}$ 9,6; 2H; H-4 e H-4'); 4,31 – 4,24 (m; 2H; H-2 e H-2'); 3,98 – 3,97 (m; 2H; H-5 e H-5'); 3,75 – 3,66 (m; 2H; H-a e H-d); 3,58 – 3,48 (m; 4H; H-6 e H-6''),

H-a' e H-d'); 3,35 (d; $J_{6',6''',6''}$ 16,4; 2H; H-6' e H-6'''); 2,08 – 2,00 (s; 24H; $\underline{\text{CH}}_3$); 1,84 – 1,73 (m; 4H; H-b/H-b' e H-c/H-c').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 175,2; 175,0; 174,3; 173,7 ($\underline{\text{CONH}}$); 97,6 (C-1); 72,7 (C-3); 70,8 (C-4); 69,0 (C-5); 68,7 (C-a e C-d); 52,4 (C-2); 39,8 (C-6); 26,4 (C-b e C-c); 22,7; 21,1; 21,0 ($\underline{\text{CH}}_3$).

4.2.11 Síntese de 1,4-bis-[2,6-amino-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosiloxi]butano (2) (WONG *et al.*; 1998)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 30 mg (0,04 mmol) de **14**, 5 mL de água destilada e 200 mg (0,63 mmol) de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ octa hidratado. O balão foi adaptado a um condensador de refluxo e o sistema foi aquecido a 120 °C, sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 8:2; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) até o consumo de todo o material de partida. Em seguida, uma solução H_2SO_4 1 mol/l foi adicionada gota a gota a mistura reagente, até pH 4-5. Foi observada a formação de um sólido branco, correspondente ao BaSO_4 , que foi filtrado a vácuo. A fase aquosa foi concentrada em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (coluna de fase reversa, sílica C_{18}). O produto **2** foi obtido com rendimento quantitativo.



MM: 746 g/mol

(2)

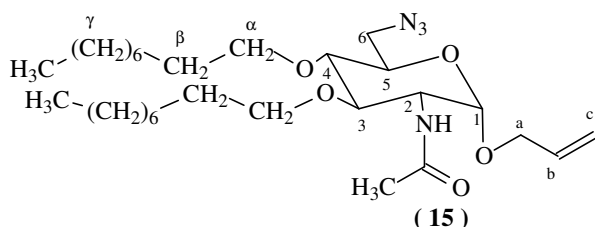
FM: $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{16}$

RMN de ^1H (D_2O , 400 MHz) δ 5,16 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 2H; H-1 e H-1'); 3,91 – 3,82 (m; 4H; H-3 e H-3', H-5 e H-5'); 3,79 – 3,76 (m; 2H; H-a e H-d); 3,56 – 3,52 (m; 2H; H-a' e H-d'); 3,45 – 3,35 (m; 6H; H-2 e H-2', H-4 e H-4', H-6 e H-6''); 3,17 (dd; $J_{6',6''',6''}$ 13,6, $J_{6',5=6''',5'}$ 8,4; 2H; H-6' e H-6'''); 1,70 (sl; 4H; H-b/H-b' e H-c/H-c').

RMN de ^{13}C (D_2O , 100 MHz) δ 95,2 (C-1); 71,2 (C-3); 69,7 (C-4); 68,4 (C-5); 68,0 (C-a e C-d); 53,9 (C-2); 40,4 (C-6); 25,5 (C-b e C-c).

4.2.12 Síntese de 2-acetamido-6-azido-2,6-didesoxi-3,4-O-nonil- α -D-glicopiranosídeo de alila (15) (BAUSSANNE *et al.*; 2010)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL, 2,80 g (9,8 mmol) do derivado **7** foram solubilizados 50 mL de DMF anidro. A seguir foram adicionados 3,8 mL (19,9 mmol) de 1-bromononano e 390 mg (9,8 mmol) de NaH 60%. O sistema foi submetido a fluxo de argônio e mantido sob agitação magnética, a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Para garantir o consumo de todo o material de partida e a formação do produto di-alquilado novas adições de NaH 60% (1eq.) e 1-bromononano (2eq.) foram realizadas, a cada uma hora. Ao fim da reação foram adicionados, no total, 6 eq. de NaH 60% e 12 eq. de 1-bromononano. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação, ao qual foram adicionados acetato de etila e água destilada. A fase aquosa foi extraída com 3 x 40 mL de acetato de etila e a fase orgânica obtida foi extraída com 3 x 40 mL de água destilada e secada com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi filtrado e removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: ciclo hexano/acetato de etila 8:2). Foram obtidos 3,0 g de um sólido branco, que correspondem a 60% de rendimento.



FM: C₂₉H₅₄N₄O₅

MM: 538 g/mol

FF: 77,9-85,3 °C

[α]_D²³ +21,0 (c 0,22, MeOH)

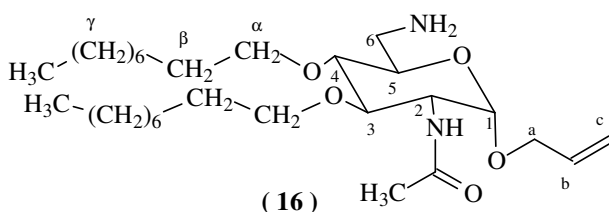
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3288 (ν N-H); 2953; 2918; 2850 (ν C-H alifático); 2092 (ν -N=N=N); 1650 (ν C=O amida); 1018 (ν C-O).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,88 – 5,78 (m; 1H; H-b); 5,56 (d; $J_{\text{NH},2}$ 10,0; 1H; NH-2); 5,24 (ddd; $J_{\text{Hc}', \text{Hb}}$ 17,4, $J_{\text{Hc}', \text{Hc}}$ 3,0, $J_{\text{Hc}', \text{Ha}}$ 1,2; 1H; H-c'); 5,17 (dd; $J_{\text{Hc}, \text{Hb}}$ 10,4, $J_{\text{Hc}', \text{Hc}}$ 3,0; 1H; H-c); 4,74 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1); 4,15 (dt; $J_{2,\text{NH}}$ 10,0, $J_{2,3}$ 9,8, $J_{2,1}$ 3,6, 1H; H-2); 4,10 (ddd; $J_{\text{Ha}, \text{Ha}'}$ 12,2, $J_{\text{Ha}, \text{Hb}}$ 5,4, $J_{\text{Ha}, \text{Hc}}$ 1,6, $J_{\text{Ha}, \text{Hc}'}$ 1,6; 1H; H-a); 3,93 (dd; $J_{\text{Ha}', \text{Ha}}$ 12,2, $J_{\text{Ha}', \text{Hb}}$ 6,0; 1H; H-a'); 3,70 – 3,62 (m; 3H; H-5 e -OCH₂-); 3,48 – 3,29 (m; 5H; H-3, H-6/H-6' e -OCH₂-); 3,20 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,2; 1H; H-4); 2,04 (s; 3H; CH₃); 1,48 – 1,46 (m; 4H; CH₂(β)); 1,21 (sl; 24H; CH₂(γ)); 0,84 – 0,80 (m; 6H; -O-(CH₂)₈CH₃).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 169,5 (CONH); 133,4 (C-b); 118,0 (C-c); 96,7 (C-1); 80,7 (C-3); 78,9 (C-4); 73,2; 73,1 ($-\text{OCH}_2-$); 71,1 (C-5); 68,3 (C-a); 52,4 (C-2); 51,3 (C-6); 31,8; 30,4; 30,3; 29,5; 29,4; 29,2; 26,1 ($-\text{CH}_2-$); 23,4; 22,5; 14,0 (CH_3).

4.2.13 Síntese de 2-acetamido-6-amino-3,4-O-nonil- α -D-glicopiranosídeo de alila (16) (RIGUET *et al.*; 2004)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 2,60 g (4,8 mmol) de **15**, 4,70 g (18,0 mmol) de trifenilfosfina, 50 mL de THF e 20 mL de água destilada. A mistura reagente foi submetida à agitação magnética, a temperatura ambiente, por cerca de doze horas. O consumo de todo o material de partida foi observado em CCD (eluente: ciclo hexano/acetato de etila 6:4; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v e solução etanólica de ninhidrina 0,3% p/v). Os solventes foram removidos em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila; acetato de etila/metanol/ NH_4OH 8:1:1). Foram obtidos 1,70 g de **16**, na forma de um sólido branco, correspondentes a 69% de rendimento.



FM: $\text{C}_{29}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_5$

MM: 512 g/mol

FF: 74,6-77,9°C

$[\alpha]_D^{23}$ +17,1 (c 0,21, MeOH)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_5$
calculado: 513,4267. Encontrado:
513,4263 $[\text{M}+\text{H}]^+$; . 455,3843 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}]^+ \rightarrow 311,2332$
($-\text{OC}_9\text{H}_{19}$).

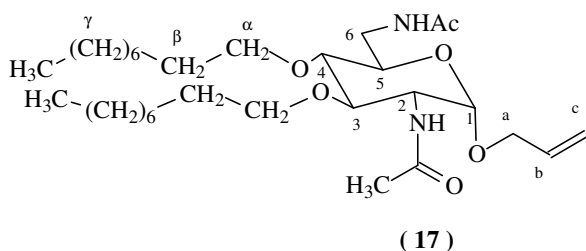
IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3285 (ν N-H); 2953; 2919; 2850 (ν C-H alifático); 1649 (ν C=O amida); 1093 (ν C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 6,11 – 5,91 (m; 1H; H-b); 5,35 (ddd; $J_{\text{Hc}', \text{Hb}}$ 17,2, $J_{\text{Hc}', \text{Hc}}$ 3,2, $J_{\text{Hc}', \text{Ha}}$ 1,6; 1H; H-c'); 5,20 (dd; $J_{\text{Hc}, \text{Hb}}$ 10,4, $J_{\text{Hc}, \text{Hc}}$ 3,2; 1H; H-c); 4,75 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1); 4,22 (dd; $J_{\text{Ha}, \text{Ha'}}$ 13,2, $J_{\text{Ha}, \text{Hb}}$ 5,2; 1H; H-a); 4,05 – 3,99 (m; 2H; H-a' e H-2); 3,82 – 3,72 (m; 2H; $-\text{OCH}_2-$); 3,70 – 3,51 (m; 4H; H-3, H-5 e $-\text{OCH}_2-$); 3,09 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,4; 1H; H-4); 3,00 (dd; $J_{6,6'}$ 13,2, $J_{6,5}$ 2,4; 1H; H-6); 2,77 (dd; $J_{6',6}$ 13,2, $J_{6',5}$ 7,6; 1H; H-6'); 2,00 (s; 3H; CH_3); 1,60 – 1,55 (m; 4H; $\text{CH}_2(\beta)$); 1,31 (sl; 24H; $\text{CH}_2(\gamma)$); 0,93 – 0,90 (m; 6H; $-\text{O}(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$).

RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) δ 173,0 (CONH); 135,4 (C-b); 117,8 (C-c); 97,8 (C-1); 81,8 (C-4); 81,3 (C-3); 74,2; 74,0 ($-\text{OCH}_2-$); 73,0 (C-5); 69,3 (C-a); 54,6 (C-2); 43,6 (C-6); 33,1; 33,0; 31,7; 31,6; 31,5; 30,8; 30,7; 30,5; 30,4; 27,4; 27,3; 22,7 ($-\text{CH}_2-$); 23,7; 14,6 (CH_3).

4.2.14 Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4-O-nonil- α -D-glicopiranosídeo de alila (17) (RATNASEKHAR *et al.*; 2011)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 1,20 g (2,34 mmol) de **16**, 0,35 mL (3,7 mmol) de anidrido acético e 10 mL de piridina anidra. O sistema foi acoplado a um condensador de refluxo e aquecido a 50 °C por cerca de sete horas. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/ciclo hexano 7:3; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v) até o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação ao qual foram adicionados água destilada e acetato de etila. A fase aquosa foi extraída com 3 x 40 mL de acetato de etila e as fases orgânicas reunidas com 3 x 40 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e o solvente foi filtrado e removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi submetido a purificação por CCS (eluentes: ciclo hexano/acetato de etila 1:1; ciclo hexano/acetato de etila 3:7; acetato de etila 100%). Foram obtidos 970 mg de **17**, na forma de um sólido branco, com rendimento correspondente a 70%.



FM: $\text{C}_{31}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_6$

MM: 554 g/mol

FF: 179,4-182,1 °C

$[\alpha]_D^{23}$ +16,3 (c 0,21, MeOH)

EM (ESI+, m/z) para $\text{C}_{31}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_6$
 calculado: 555,4373. Encontrado:
 555,4367 $[\text{M}+\text{H}]^+$; . 497,3945 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}]^+$

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3287 (ν N-H); 2954; 2919; 2850 (ν C-H alifático); 1651 (ν C=O amida); 1027 (ν C-O).

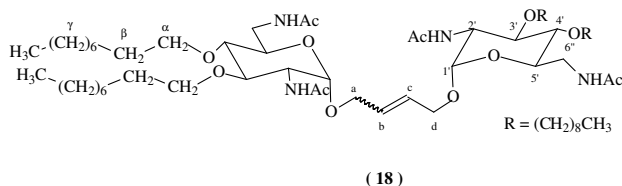
RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5,85 – 5,73 (m; 2H; H-b e NH -6); 5,52 (d; $J_{\text{NH},2}$ 9,6; 1H; NH -2); 5,20 (dd; $J_{\text{Hc}', \text{Hb}}$ 17,2, $^4J_{\text{Hc}', \text{Ha}}$ 1,2; 1H; H-c'); 5,15 (dd; $J_{\text{Hc}, \text{Hb}}$ 10,0, $^4J_{\text{Hc}, \text{Ha}}$ 1,2; 1H; H-c); 4,69 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1); 4,10 – 4,02 (m; 2H; H-a e H-2); 3,88 (dd; $J_{\text{Ha}, \text{Ha}'}$ 12,8, $J_{\text{Ha}', \text{Hb}}$

6,0; 1H; H-a'); 3,69 – 3,55 (m; 4H; H-5, H-6 e -OCH₂-); 3,53 – 3,42 (m; 2H; -OCH₂-); 3,40 – 3,32 (m; 2H; H-3 e H-6'); 3,06 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,2; 1H; H-4); 1,95 – 1,94 (s; 6H; CH₃); 1,51 – 1,44 (m; 4H; CH₂(β)); 1,23 (sl; 24H; CH₂(γ)); 0,82 – 0,79 (m; 6H; -O-(CH₂)₈CH₃).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 169,9; 169,8 (C=O NH); 133,5 (C-b); 118,0 (C-c); 96,9 (C-1); 80,5 (C-3); 79,1 (C-4); 73,5; 73,3 (-OCH₂-); 69,9 (C-5); 68,5 (C-a); 52,6 (C-2); 39,6 (C-6); 31,9; 30,5; 29,6; 29,5; 29,3; 26,2; 26,1; 22,6 (-CH₂-); 23,4; 23,3; 14,1 (CH₃).

4.2.15 Síntese de (E/Z)-1,4-bis-[2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4-O-nonil-α-D-glicopiranosiloxi]-2-buteno (18) (DOMINIQUE *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 10 mL foram adicionados 110 mg (0,20 mmol) de **17** e 3 mL de diclorometano destilado anidro. A mistura reagente foi submetida a fluxo de argônio e mantida sob agitação magnética, a temperatura ambiente, por cerca de vinte minutos. Em seguida, foram adicionados 30 mg (0,036 mmol) do catalisador de Grubbs I. O sistema foi adaptado a um condensador, vedado com uma rolha de borracha, e aquecido a refluxo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: diclorometano/metanol 96:4; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após cerca de doze horas a reação foi interrompida e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (eluentes: acetato de etila 100%; acetato de etila/metanol 9:1). Ao final da etapa de purificação foram obtidos 78 mg do derivado **18**, correspondentes a 72% de rendimento.



FM: C₆₀H₁₁₃N₄O₁₂

MM: 1.081 g/mol

EM (ESI+, m/z) para C₆₀H₁₁₄N₄O₁₂
calculado: 1.081,8355. Encontrado:
1.081,8345 [M+H]⁺.

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3294 (ν N-H); 2921; 2852 (ν C-H alifático); 1650 (ν C=O amida); 1124 (ν C-O).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,70 – 5,67 (m; 2H; H-b e H-c); 4,76 (d; $J_{1,2}$ 4,0; 1H; H-1); 4,70 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1)*; 4,10 – 4,82 (m; 6H; H-a/H-a', H-d/H-d' e H-2/H-2'); 3,70 – 3,47 (m; 12H; H-6/H-6'', H-5/H-5' e -OCH₂-); 3,55 – 3,47 (m; 3H; H-3/H-3' e H-6'); 3,88 (dd; $J_{6''',6''}$ 12,8, $J_{6''',5'}$ 6,0; 1H; H-6'''); 3,06 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,2; 1H; H-4); 2,98 (t; $J_{4,3=4,5}$ 9,2; 1H; H-4)*; 1,97 –

1,94 (s; 12H; $\underline{\text{CH}}_3$); 1,49 – 1,47 (m; 8H; $\underline{\text{CH}}_2(\beta)$); 1,22 (sl; 48H; $\underline{\text{CH}}_2(\gamma)$); 0,82 – 0,79 (m; 12H; $-\text{O}-(\text{CH}_2)_8\underline{\text{CH}}_3$).

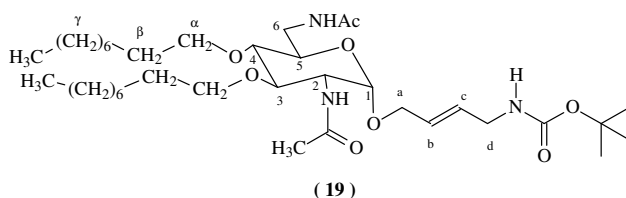
*Mistura de isômeros *cis/trans*

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 170,3; 170,1; 169,9 ($\underline{\text{C}}\text{ONH}$); 129,4; 129,0 (C-b e C-c)*; 97,3; 96,8 (C-1)*; 80,3; 80,2 (C-3)*; 79,8; 79,5 (C-4)*; 73,5; 73,0 ($-\text{O}\underline{\text{CH}}_2-$)*; 70,3; 69,8 (C-5)*; 66,9; 62,5 (C-a e C-d)*; 52,9; 52,7 (C-2)*; 40,2; 39,6 (C-6)*; 35,6; 34,9; 31,9; 30,5; 30,4; 29,7; 29,6; 29,5; 29,3; 26,9; 26,8; 26,3 ($-\underline{\text{CH}}_2-$); 23,2; 22,6; 14,1 ($\underline{\text{CH}}_3$).

*Mistura de isômeros *cis/trans*

4.2.16 Síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4-O-nonila- α -D-glicopiranosídeo de 4[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-2-*trans*-butenila (19) (DOMINIQUE *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, 200 mg (0,36 mmol) de **17** foram solubilizados em 5 mL de diclorometano destilado anidro. Em seguida foram adicionados 115 mg (0,72 mmol) da alilamina protegida **24**. A mistura reagente foi submetida a fluxo de argônio, por cerca de vinte minutos, e em seguida foram adicionados 150 mg (0,18 mmol) de catalisador de Grubbs I. O sistema foi adaptado a um condensador de refluxo, vedado com uma rolha de borracha, e aquecido a refluxo. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/ciclo hexano 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após cerca de vinte horas a reação foi interrompida e o solvente removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi purificado por CCS (eluentes: acetato de etila/ciclo hexano 8:2; acetato de etila/ciclo hexano 9:1). Foram recuperados, ao final da etapa de purificação, 48 mg de material de partida, **17**. Foram obtidos 95 mg do produto de metátese **19**, o que corresponde a 39% de rendimento.



FM: $\text{C}_{37}\text{H}_{69}\text{N}_3\text{O}_8$

MM: 683 g/mol

$[\alpha]_D^{23}$ +30 (*c* 0,05, MeOH)

EM (ESI+, *m/z*) para $\text{C}_{37}\text{H}_{70}\text{N}_3\text{O}_8$
 calculado: 684,5163. Encontrado:
 684,5153 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 706,4968 $[\text{M}+\text{Na}]^+$;
 628,4525 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3308 (ν N-H); 2922; 2853 (ν C-H alifático); 1683 (ν $\underline{\text{C}}\text{OOt-But}$); 1649 (ν C=O amida); 1051 (ν C-O).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5,64 – 5,48 (m; 2H; H-b e H-c); 4,67 (d; $J_{1,2}$ 3,6; 1H; H-1); 4,12 – 4,05 (m; 2H; H-a e H-2); 3,84 (dd; $J_{\text{Ha,Ha'}}$ 12,2, $J_{\text{Ha,Hb}}$ 6,0; 1H; H-a/H-a'); 3,68 – 3,60 (m; 4H; H-d/H-d' e $-\text{OCH}_2-$); 3,59 – 3,53 (m; 2H; H-5 e H-6); 3,51 – 3,40 (m; 2H; $-\text{OCH}_2-$); 3,38 – 3,30 (m; 2H; H-3 e H-6'); 3,07 – 3,00 (m; 1H; H-4); 1,95 – 1,93 (s; 6H; CH_3); 1,51 – 1,44 (m; 4H; $\text{CH}_2(\beta)$); 1,39 – 1,36 (m; 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1,19 (sl; 24H; $\text{CH}_2(\gamma)$); 0,82 – 0,79 (m; 6H; $-\text{O}-(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 169,9; 169,8 (CONH); 155,7 (COOt-Bu); 131,0 (C-b); 126,6 (C-c); 96,8 (C-1); 80,4 (C-3); 79,3 (C-4); 73,4; 73,3 ($-\text{OCH}_2-$); 69,9 (C-5); 67,4 (C-a); 52,6 (C-2); 41,9 (C-d); 39,6 (C-6); 31,8; 30,4; 30,1; 29,6; 29,5; 29,2; 28,3; 26,8; 26,1; 22,6 ($-\text{CH}_2-$); 23,4; 23,2; 14,1 (CH_3).

4.2.17 Síntese de 2,6-diacetamido-2,3-didesoxi-3,4-O-nonila- α -D-glicopiranosídeo de 4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-2,3-epoxibutíla (20) (WU *et al.*; 2003)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 120 mg (0,18 mmol) de **19**, 100 mg (0,58 mmol) de *m*CPBA e 10 mL de diclorometano anidro. O balão foi vedado com uma rolha de borracha e o sistema foi mantido sob agitação magnética, a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/ciclo hexano 9:1; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após cerca de quinze horas observou-se o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e diluída com mais 20 mL de diclorometano. A fase orgânica foi extraída com 3 x 15 mL de solução Na_2CO_3 5% e 3 x 20 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação.

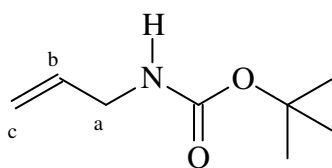
4.2.18 Tentativa de síntese de 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-3,4-O-nonila- α -D-glicopiranosídeo 4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-d,l-eritro-2,3-di-hidroxibutíla (21)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 100 mg de **20** e 5 mL de THF. Em seguida foram adicionados, gota a gota, uma solução previamente preparada de 1 mL de TBAOH 40% em 4 mL de água destilada. A mistura reagente foi submetida à agitação magnética, a temperatura ambiente. Adicionou-se mais 1 mL de TBAOH 40% após duas horas e após quatro horas de reação. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v). Após 24

horas o THF foi removido em evaporador rotatório e o resíduo aquoso obtido foi transferido para um funil de separação e extraído com 3 x 30 mL de diclorometano e 3 x 30 mL de água destilada. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro. Filtrou-se. O solvente foi removido e o resíduo bruto obtido foi submetido à purificação por CCS (eluentes: acetato de etila 100%; acetato de etila/metanol 9,7: 0,3; acetato de etila/metanol 9,5:0,5). Observou-se em CCD uma mancha com o mesmo Rf do material de partida e a formação de três produtos com Rf's diferentes. Infelizmente, através do método de purificação empregado, não foi possível realizar a separação e purificação desses materiais.

4.2.19 Síntese de carbamato de *N*-prop-2-enil-1,1-dimetilalila (24) (DHAMI *et al.*; 2009)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 1 mL (13 mmol) de alilamina, 4,3 g (20 mmol) de di-*terc*-butilcarbamato e 10 mL de THF. O balão foi vedado com uma rolha de borracha e a mistura reagente foi submetida à agitação magnética, a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila 100%; revelador: solução etanólica de ácido sulfúrico 5% v/v; iodo) e após cerca de quatro horas observou-se o consumo de todo o material de partida. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo obtido foi solubilizado em acetato de etila e água destilada e transferido para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com 3 x 30 mL de acetato de etila e as fases orgânicas reunidas foram extraídas com 3 x 30 mL de NaHCO₃ e 3 x 30 mL de água destilada. A fase orgânica obtida foi secada com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi filtrado e removido em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi submetido à purificação por CCS (eluente: acetato de etila 100%; acetato de etila/metanol 9:1). Foram obtidos 1,1 g de um produto sólido, correspondentes a 53% de rendimento.



(24)

FM: C₈H₁₅NO₂

MM: 157 g/mol

FF: 34,8-35,2°C (Lit.: 33-35°C)

(DHAMI *et al.*; 2009)

IV ($\bar{\nu}_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3340 (ν N-H); 1678 (ν C=O-Ot-But).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,85 – 5,42 (m; 1H; H-b); 5,13 (ddd; *J*_{Hc',Hb} 17,1, *J*_{Hc',Hc} 3,0, *J*_{Hc',Ha} 1,6; 1H; H-c'); 5,06 (ddd; *J*_{Hc,Hb} 10,3, *J*_{Hc,Hc'} 3,0, *J*_{Hc,Ha} 1,2; 1H; H-c); 4,59 (sl; 1H; NH); 3,71 (sl; 2H; H-a); 1,41 (s; 9H; C(CH₃)₃)

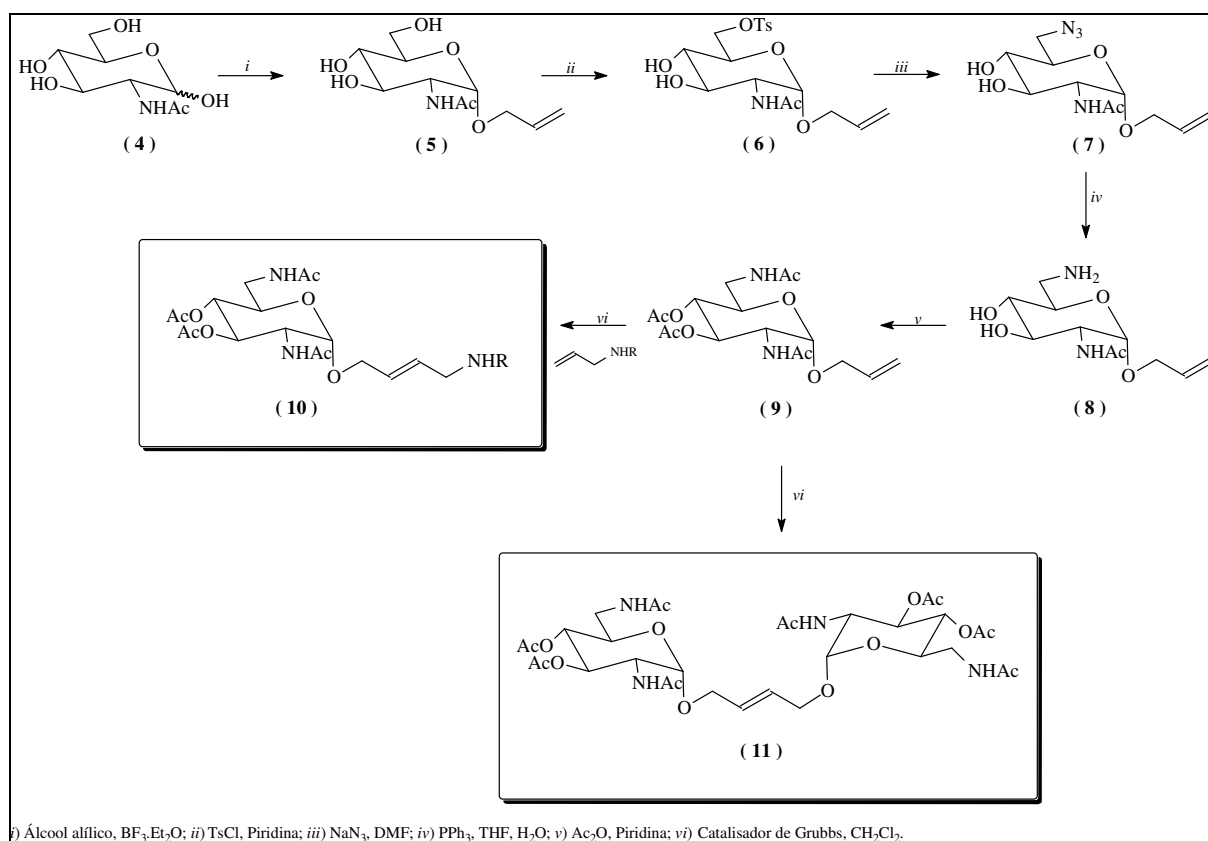
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 155,8 (COOt-Bu); 134,9 (C-b); 115,6 (C-c); 79,4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 43,2 (C-a); 28,4 (CH_3).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

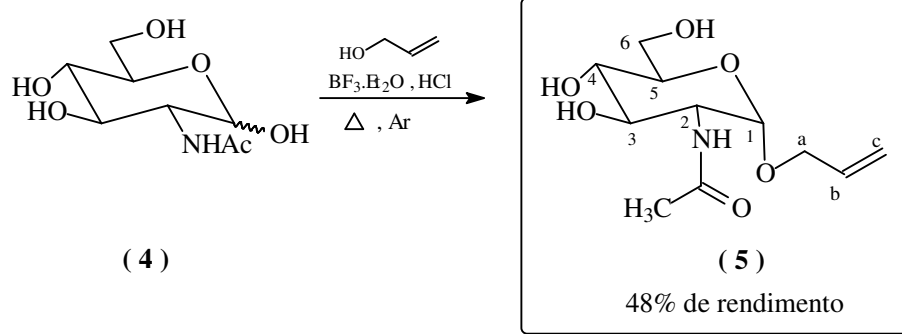
5.1 SÍNTESE DOS ANÁLOGOS DA NEAMINA (1) E (2) A PARTIR DA *N*-ACETIL-D-GLICOSAMINA

Inicialmente foi planejada uma rota sintética em seis etapas, a partir da *N*-acetil-D-glicosamina, para a obtenção dos intermediários **10** e **11** (Figura 5.1). Uma vez obtidos, esses intermediários seriam submetidos às etapas posteriores de síntese, conduzindo a obtenção de **1** e **2**.

Figura 5.1 – Esquema para a síntese de **10** e **11**



A primeira etapa dessa rota de síntese consistiu na reação da *N*-acetil-D-glicosamina com álcool alílico e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ para produzir o glicosídeo **5** (WONG *et al.*; 1998). Purificação do resíduo bruto obtido por cromatografia em camada de sílica permitiu a obtenção do anômero α puro, com 48% de rendimento.



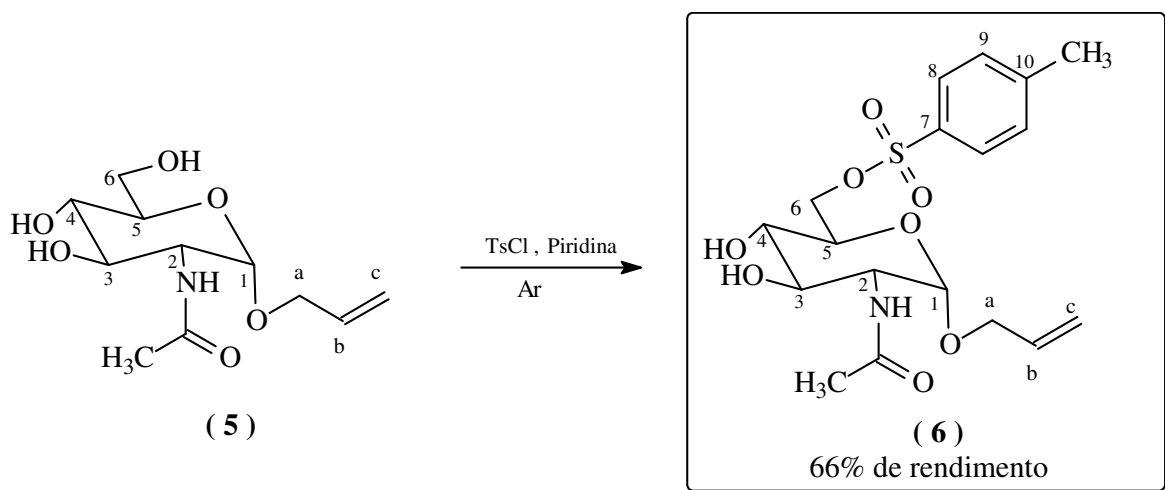
Para a atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H de **5** o ponto de partida foi o duplete centrado em $\delta 4,79$ com integral de um hidrogênio, atribuído a H-1. A atribuição desse sinal ao hidrogênio anomérico é compatível com o deslocamento químico esperado e com a constante de acoplamento de glicosídeo alfa de H-1 com H-2, no valor de 3,6 Hz. Além disso, a observação de uma correlação no mapa de correlação heteronuclear HMQC entre o duplete e o carbono localizado em $\delta 97,6$ confirma essa atribuição. A análise do mapa de correlação homonuclear COSY permitiu a atribuição dos demais sinais de hidrogênio do resíduo de *N*-acetilglicosamina. O sinal de H-2 foi atribuído ao duplete duplo centrado em $\delta 3,86$; em $\delta 3,77$ pode ser observado um duplete duplo, referente a um dos sinais de hidrogênio metilênico H-6; o sinal de H-3 encontra-se sobreposto ao sinal H-6', na forma de um multipeto, com integral de dois hidrogênios; entre $\delta 3,57$ - $3,53$ observa-se um multipeto atribuído a C-5; finalmente o sinal de H-4 pode ser atribuído a um tripeto, localizado em $\delta 3,32$ (Figura A.1, pág. 265).

Os sinais dos hidrogênios da cadeia alílica foram atribuídos de acordo com a análise do deslocamento químico, da integral e da multiplicidade observada. Um multipeto, com integral de um hidrogênio, localizado em região mais afastada do TMS, em $\delta 5,94$ - $5,84$, foi atribuído a H-b. Os sinais dos hidrogênios H-c' e H-c foram atribuídos aos duplos dupletos duplos centrados em $\delta 5,27$ e $\delta 5,13$, respectivamente. Foi observada para esses sinais uma constante de acoplamento no valor de 3,4 Hz referente ao acoplamento de H-c'/H-c; o sinal do duplo duplo duplo mais afastado do TMS H-c' possui uma constante de acoplamento *trans* calculada no valor de 17,3 Hz; já o hidrogênio H-c apresenta uma constante de acoplamento *cis* no valor de 12,0 Hz; também foi possível observar uma constante de acoplamento ^4J , nos valores de 1,6 Hz e 1,2 Hz referentes ao acoplamento a longa distância de H-c' e H-c com o sinal de H-a. Os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos H-a e H-a' encontram-se na forma de duplos dupletos duplos centrados em $\delta 4,15$ e $\delta 3,94$. A análise do espectro de COSY permitiu a confirmação dessas atribuições.

Finalmente, em δ 1,93 foi observado o sinal dos hidrogênios metílicos, na forma de um simpleto, com integral para três hidrogênios.

A atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^{13}C de **5** (Figura A.3, pág.267) baseou-se na análise do mapa de correção heteronuclear HMQC. O sinal da carbonila do grupo acetila foi atribuído em δ 173,6. Os sinais dos carbonos da cadeia alílica foram atribuídos da seguinte forma: em δ 135,6 sinal de C-b; em δ 117,5 sinal de C-c; e em δ 69,0 sinal dos carbonos metilênicos C-a. O sinal do carbono anomérico pode ser visto em δ 97,6. Os sinais de C-5, C-3 e C-4 foram atribuídos respectivamente em δ 74,0, 72,7 e 72,3. Em δ 62,7 pode-se observar sinal do carbono metilênico C-6. C-2 localiza-se em região mais protegida do espectro, em δ 55,3. Por fim o sinal do carbono metílico encontra-se em δ 22,6.

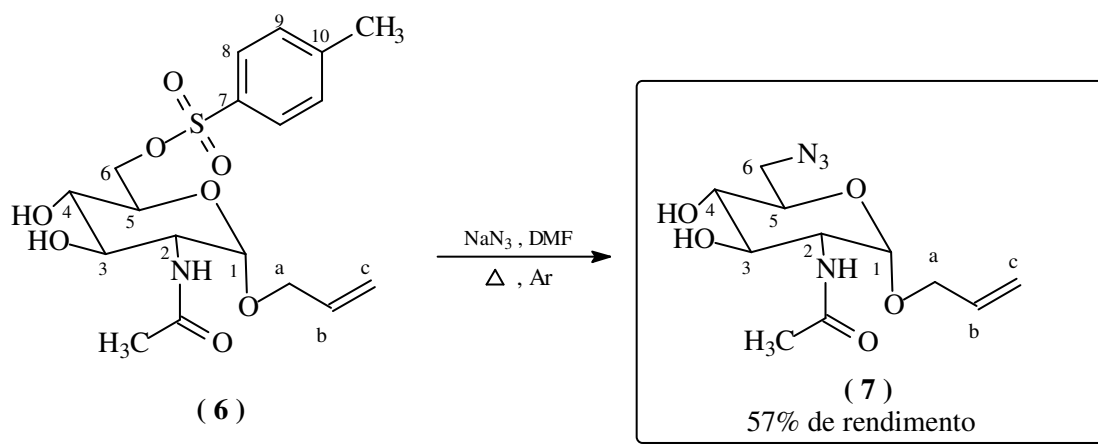
A etapa seguinte foi a tosilção seletiva da hidroxila primária de **5** com cloreto de tosila em piridina anidra (WONG *et al.*; 1998). A introdução do grupo tosila na posição C-6 do açúcar tem como objetivo a ativação da hidroxila, para posterior substituição (via $\text{S}_{\text{N}}2$) pelo grupo azido. A reação foi completa após quinze horas e o resíduo obtido foi purificado por CCS. Sob essas condições o derivado **6** foi obtido com 66% de rendimento.



A presença do grupo tosila na estrutura de **6** pode ser confirmada pela observação no espectro de RMN de ^1H de dois dupletos, com integral para dois hidrogênio cada, centrados em δ 7,76 e δ 7,40, e atribuídos respectivamente a H-8 e H-9. Observa-se também a presença de um simpleto em δ 2,42, com integral para três hidrogênios, atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo tosila (Figura A.5, pág. 268).

No espectro de RMN de ^{13}C de **6** (Figura A.7, pág. 269) observa-se a presença de quatro sinais a mais na região de aromáticos em comparação ao precursor **5**. Esses sinais foram atribuídos aos carbonos *ipso* C7 e C10, em δ 146,5 e δ 134,4, respectivamente e aos carbonos ligados a hidrogênio C-8 em δ 131,1 e C-9, em δ 129,10.

O derivado **6** foi submetido a reação com azida de sódio em DMF, sob aquecimento, para substituição do grupo tosila pelo azido (WONG *et al.*; 1998). A reação foi acompanhada por CCD e embora o composto **6** e o produto desejado possuam o mesmo Rf o consumo de todo o material de partida pode ser observado, uma vez que somente o derivado tosilado é visível em lâmpada UV. Após purificação por CCS **7** foi obtido com 57% de rendimento.



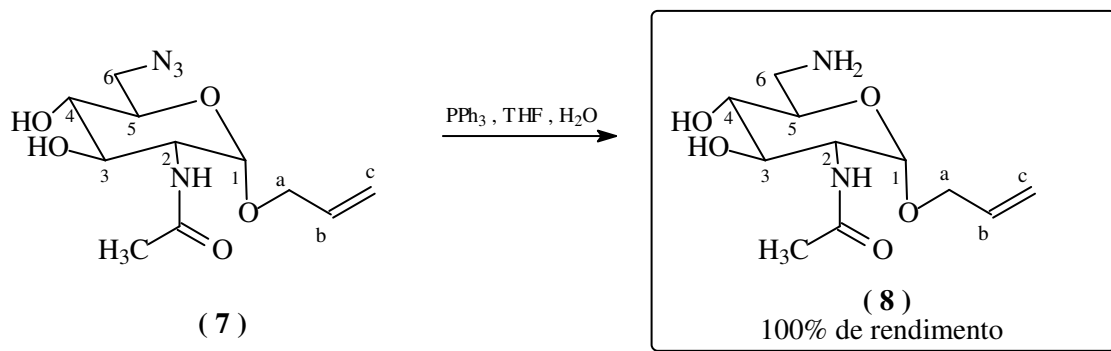
No espectro de RMN de ^1H de **7** (Figura A.8, pág. 270) não se observam os sinais de hidrogênio de anel aromático *para*-disubstituído e sinal de hidrogênios metílicos, correspondentes ao grupo tosila. Essa observação confirma que o produto **7** foi obtido.

No espectro de RMN de ^{13}C de **7** (Figura A.9, pág. 271) não são observados os sinais de carbono do grupo tosila.

A observação no espectro no infravermelho de **7** de uma banda intensa em 2089 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{N}=\text{N}=\text{N}$ -, é indicativa da formação de **7** (Figura A.10, pág. 271).

A etapa posterior foi a redução do grupo azido de **7** a amino, utilizando-se a trifenilfosfina como agente redutor (RIGUET *et al.*; 2004). O grupo azido poderia ser facilmente reduzido à amina primária por hidrogenação catalítica, contudo sob essa condição ocorreria também a redução indesejada da ligação dupla do grupo alila de **7**. A metodologia escolhida permite a

redução seletiva do grupo azido e a obtenção, com bons rendimentos, do produto desejado. A reação foi completa após doze horas e o resíduo obtido foi purificado através de extração com ciclo hexano/água. O derivado **8** é completamente solúvel em água e durante o processo de extração migra para a fase aquosa, enquanto todos os demais contaminantes migram para a fase orgânica. Lavagem exaustiva da fase aquosa com ciclo hexano permitiu a obtenção do produto desejado, com rendimento quantitativo.



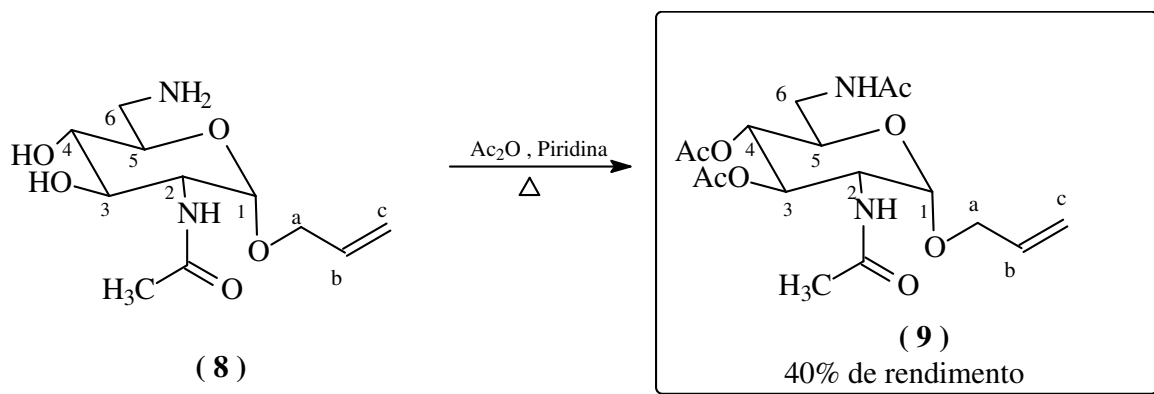
A análise do espectro de RMN de ^1H de **8** (Figura A.11, pág. 272) permitiu observar que os sinais referentes aos hidrogênios H-6 e H-6' encontram-se em região mais próxima do TMS, do que em relação ao seu precursor.

No espectro de RMN de ^{13}C de **8** (Figura A.12, pág. 273) também foi possível observar que o carbono atribuído a C-6 encontra-se em região mais próxima do TMS.

No espectro de massas de alta resolução de **8** (Figura A.13, pág. 273) observa-se um pico com $m/z = 261,1447$ referente a $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Não se observa no espectro no infravermelho de **8** a banda referente ao estiramento da ligação $\text{N}=\text{N}=\text{N}-$, o que é indicativo da completa reação de redução.

Dando continuidade a rota de síntese foi realizada a reação de acetilação. A escolha dos grupos protetores acetila baseou-se no fato de que essa é uma metodologia amplamente empregada na química de carboidratos, com baixo custo e bons rendimentos (RATNASEKHAR *et al.*; 2011; HORTON, D.; 1964). O derivado **8** foi submetido a reação com anidrido acético em piridina anidra e aquecimento a $50\text{ }^\circ\text{C}$ (RATNASEKHAR *et al.*; 2011). A reação foi acompanhada por CCD até o consumo de todo o material de partida e após as etapas de elaboração e purificação por CCS o produto **9** foi obtido com 40% de rendimento.



A análise detalhada do espectro de RMN de ^1H de **9** (Figura A.14, pág. 274) e do mapa de correlação homonuclear COSY permitiu confirmar a obtenção do derivado desejado. Os hidrogênios referentes à H-3 e H-4 se encontram em região mais distante do TMS do que em relação ao seu precursor. Essa observação é compatível com a desblindagem promovida pela introdução do grupo acetila. Também podem ser observados quatro simples, com integral de três hidrogênios cada, entre δ 2,02-1,92, atribuídos aos hidrogênios metílicos do grupo acetila.

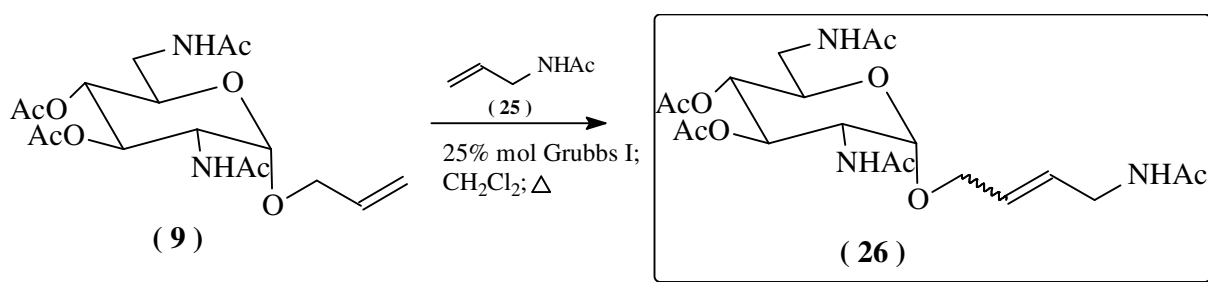
No espectro de RMN de ^{13}C de **9** (Figura A.17, pág. 276) observam-se quatro sinais de carbono carbonílico entre δ 171,2-169,7 e os sinais de carbono metílico entre δ 23,1-20,6, referentes aos carbonos do grupo acetila.

No espectro no infravermelho de **9** (figura A.16, pág. 275) há um banda intensa em 1742 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O de éster. Essa observação é indicativa da ocorrência da acetilação das hidroxilas de C-3 e C-4.

Pode-se observar no espectro de massas de alta resolução de **9** (Figura A.18, pág. 276) um pico com $m/z = 387,1763$ atribuído a $[\text{M}+\text{H}]^+$. O pico base observado em m/z 329,1346 corresponde à perda de álcool alílico à partir de $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A próxima etapa prevista na rota de síntese é a reação de metátese cruzada de **9** com o derivado alilamina **25**. O emprego do mesmo grupo protetor em ambas as olefinas eliminaria uma etapa da rota de síntese, uma vez que a desproteção total seria efetuada em uma única reação. Para a reação de metátese foi escolhido método descrito por Dominique e colaboradores (DOMINIQUE *et al.*; 2003). O derivado **9** foi submetido a reação com 2eq. de **25**, em diclorometano destilado anidro, utilizando-se o catalisador de Grubbs I. O uso em excesso de uma das olefinas é uma estratégia para se evitar ou diminuir a ocorrência da reação de homometátese e a formação de subprodutos indesejados. O sistema foi mantido

sob atmosfera de argônio, durante toda a reação, e aquecido a refluxo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e observou-se a formação de um produto menos polar que **9**. Como a reação não mais evoluía após cerca de 24 horas foi realizada a etapa de purificação por CCS. Foram recuperados após essa etapa o material de partida, que não reagiu, e o produto de menor Rf.

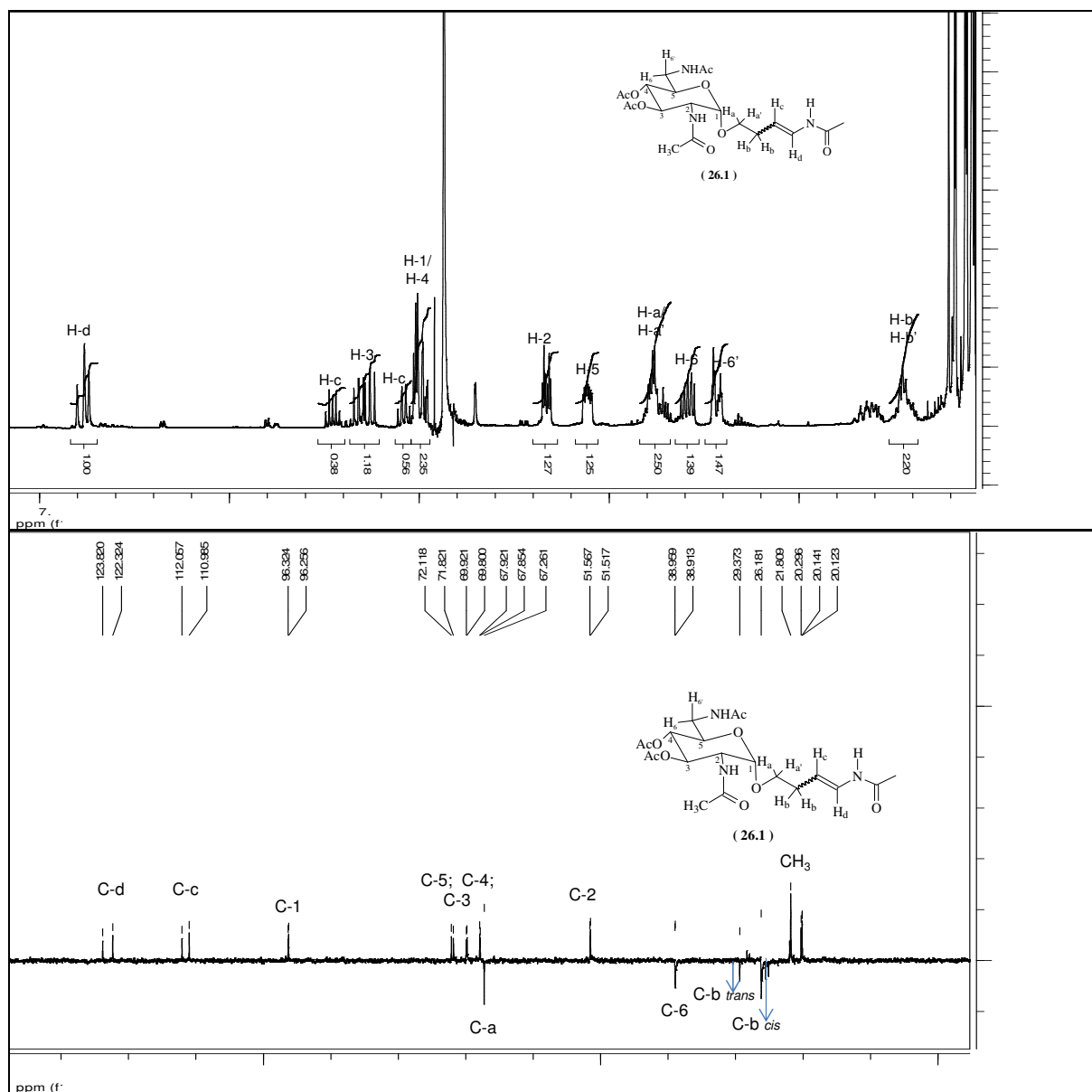


No espectro de massas de alta resolução do produto obtido pode-se observar um pico com $m/z = 458$ compatível com a massa molecular do produto desejado.

Contudo, através da análise detalhada dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , pode-se observar que a ocorrência da isomerização da ligação dupla da cadeia lateral levou à formação de um produto caracterizado como **26.1** (Figura 5.2, pág. 236).

No espectro de RMN de ^1H de **26.1** (Figura 5.2, pág. 236) estão indicados os sinais atribuídos aos hidrogênios da cadeia lateral. Pode-se observar que os deslocamentos químicos desses sinais de hidrogênios são compatíveis aos esperados para o produto de migração da ligação dupla. As atribuições foram feitas com base na análise do mapa de correlação homonuclear COSY.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C e de DEPT 135 de **26.1** (Figura 5.2, pág. 236) é indicativa da obtenção do produto de isomerização da ligação dupla na forma de uma mistura *cis/trans*. Em $\delta 123,8$; $\delta 122,3$ e em $\delta 112,0$; $\delta 110,9$ observam-se os sinais referentes aos carbonos C-d e C-c, respectivamente. O sinal em $\delta 67,3$ foi atribuído a C-a. Finalmente, a presença de um sinal em $\delta 29,4$ refere-se ao carbono C-b, do isômero *trans* e o sinal em $\delta 26,2$ corresponde a C-b do isômero *cis*. A atribuição desses sinais baseou-se nos valores de deslocamento químico calculados em tabelas (SILVERSTEIN *et al.*; 2007).

Figura 5.2 – Espectro de RMN de ^1H e subespectro DEPT 135 de 26.1 (D_2O , 400 MHz)

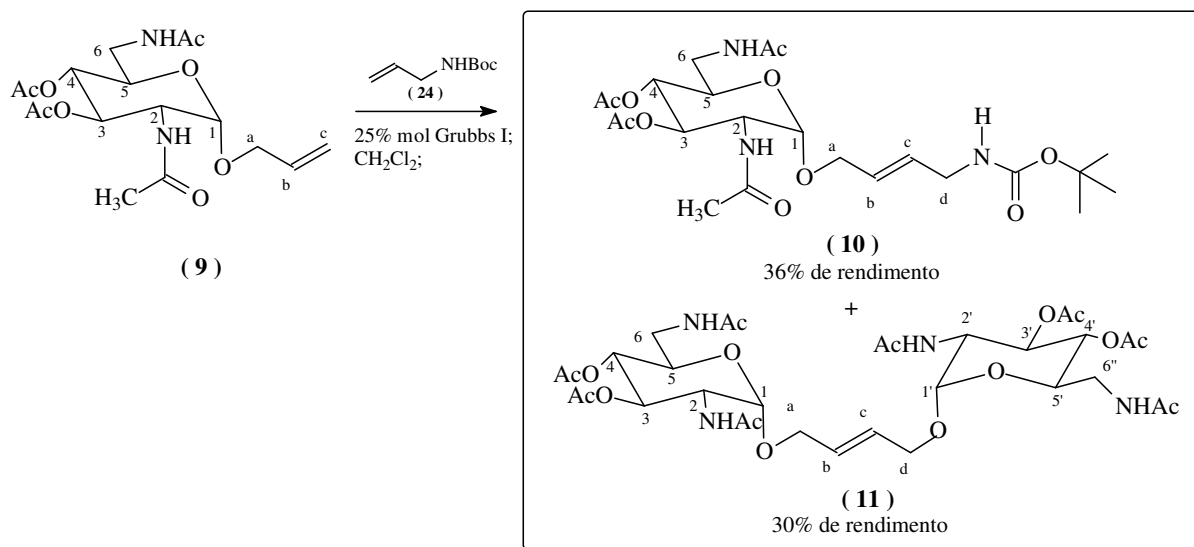
A isomerização da olefina é uma das reações secundárias que pode ocorrer durante a metátese. A migração da ligação dupla pode alterar significativamente a formação e a proporção dos produtos, levando a obtenção de misturas difíceis de serem purificadas. Com isso o produto desejado pode ter seu rendimento diminuído ou não ser isolado (BILEL *et al.*; 2012; HONG *et al.*; 2005). São encontrados relatos da isomerização de olefinas quando os catalisadores são submetidos a condições mais drásticas como alta temperatura, alta diluição e grau de reuso do catalisador. Embora o mecanismo exato responsável pela isomerização seja desconhecido alguns resultados indicam que os produtos da decomposição do catalisador possam viabilizar a migração da ligação dupla, durante a reação de metátese (HONG *et al.*; 2005).

Hong e colaboradores estudaram o efeito de alguns aditivos em evitar a migração da ligação dupla. Foi estabelecido que a 1,4-benzoquinona é capaz de prevenir a ocorrência indesejável de isomerização durante reações de metátese (BILEL *et al.*; 2012; HONG *et al.*; 2005).

Com base nisso, uma nova tentativa de síntese **26** foi realizada. O derivado **9** foi submetido a reação com a alilamina **25**, em diclorometano, na presença do catalisador de Grubbs I e da 1,4-benzoquinona. A mistura reagente foi aquecida e a reação foi acompanhada por CCD. Após cerca de 24 horas não se observava, por CCD, a evolução da reação. A reação foi interrompida e o resíduo obtido foi caracterizado como sendo o material de partida **9**.

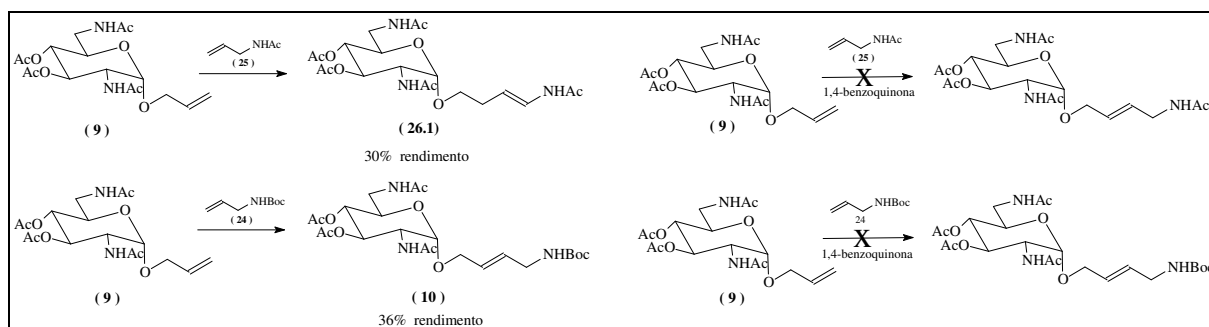
Alternativamente, planejou-se a reação entre **9** e a alilamina **24**, protegida com o grupo Boc. Os compostos **9** e **24** foram então, submetidos a tentativa de reação de metátese, na presença de catalisador de Grubbs I e da 1,4-benzoquinona. Infelizmente, também não se observou sob essas condições a formação do produto desejado e ao término da reação recuperou-se apenas o material de partida **9**.

Uma vez que as reações realizadas na presença da 1,4-benzoquinona resultaram apenas na recuperação do material de partida optou-se por uma nova tentativa de reação de metátese na ausência do aditivo e utilizando a alilamina **24**, protegida com o grupo Boc. O derivado **9** foi submetido a reação com **24**, em diclorometano, utilizando Grubbs I como catalisador. O sistema aquecido foi mantido sob fluxo de argônio. A reação foi acompanhada por CCD e foi observada a formação de dois produtos menos polares que o material de partida. Após cerca de vinte horas a reação foi interrompida e submetida à etapa de purificação por CCS. Além do material de partida foram recuperados dois produtos, caracterizados como o produto da metátese cruzada **10**, obtido com 36% de rendimento e o produto da homometátese **11**, obtido com 30% de rendimento.



Na Figura 5.3 estão resumidas as tentativas de reação de metátese realizadas.

Figura 5.3 – Tentativas de reação de metátese



No espectro de RMN de ^1H de **10** (Figura A.19, pág. 277) pode se observar um multipeto, com integral de dois hidrogênios, entre δ 5,71-5,56 atribuído a Hb e Hc. Os hidrogênios metilênicos Ha e Ha' foram atribuídos aos dupletos duplos centrados em δ 4,06 e 3,91, respectivamente, e o dupeto mais próximo do TMS localizado em δ 3,69 é referente à H-d e H-d'. Essas atribuições foram feitas com base na observação das correlações presentes nos mapas de contornos homonuclear COSY e heteronuclear HMQC. A presença dos sinais da cadeia lateral é compatível com a formação do produto desejado e com a ocorrência da reação de metátese cruzada. A análise detalhada do perfil dos sinais de hidrogênio da cadeia lateral, incluindo deslocamento químico, multiplicidade e integral permite afirmar que não ocorreu isomerização da ligação dupla e que o padrão de sinais do espectro de RMN de ^1H é coerente com o esperado.

Os sinais dos hidrogênios metílicos do grupo Boc, estão localizados sob a forma de um simpleto, com integral de nove hidrogênios, em δ 1,39. A presença desses sinais no RMN de ^1H de **10** reforça a afirmação de que a reação de metátese cruzada foi bem sucedida.

No espectro de RMN de ^{13}C de **10** (Figura A.21, pág. 278) os sinais referentes aos carbonos da cadeia lateral podem ser vistos em: δ 131,5, sinal de C-c; em δ 126,2, C-b; em δ 68,0, sinal referente a C-a e em δ 41,7, sinal de C-d. Os deslocamentos químicos observados para os carbonos da cadeia lateral são compatíveis com a obtenção do produto desejado **10**.

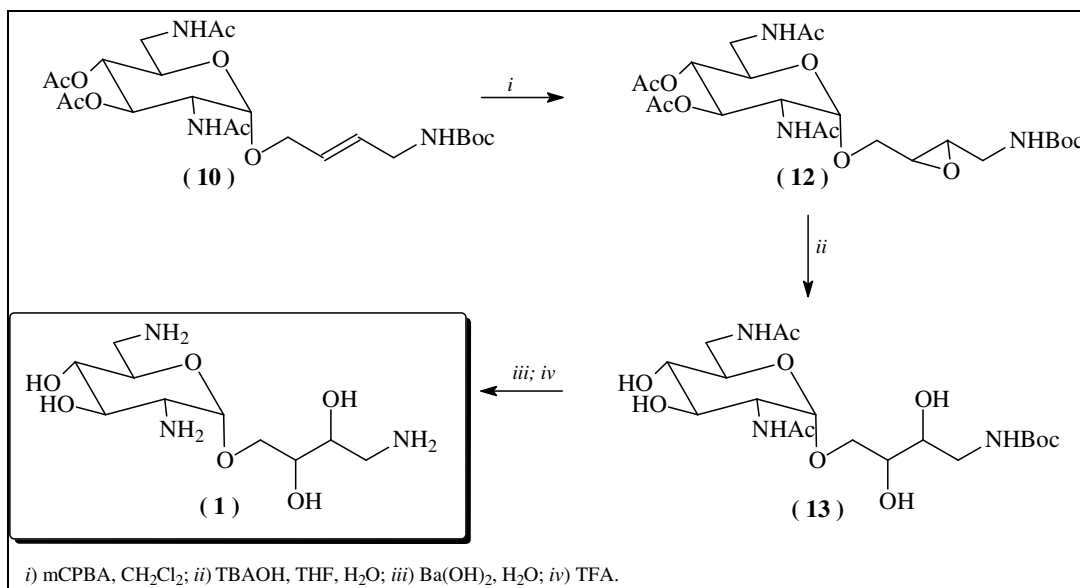
Os sinais do grupo protetor Boc são observados em: δ 155,8, sinal de carbono carbonílico de carbamato; em δ 79,81, sinal do carbono terciário do grupo *tert*-butil; em δ 28,3 sinal de carbono metílico.

O espectro de massas de alta resolução obtido para **10** (Figura A.23, pág. 279) apresenta um perfil compatível com a obtenção do produto desejado: o pico do íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ com $m/z = 516,2550$; $m/z = 460,1925$ atribuído à fragmentação do grupo *tert*-butil; $m/z = 416$ referente à fragmentação do grupo Boc, com transferência de hidrogênio e $m/z = 329,1345$ referente à perda da cadeia lateral.

A análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C indica a obtenção de um único isômero, o *trans*, após a reação de metátese cruzada.

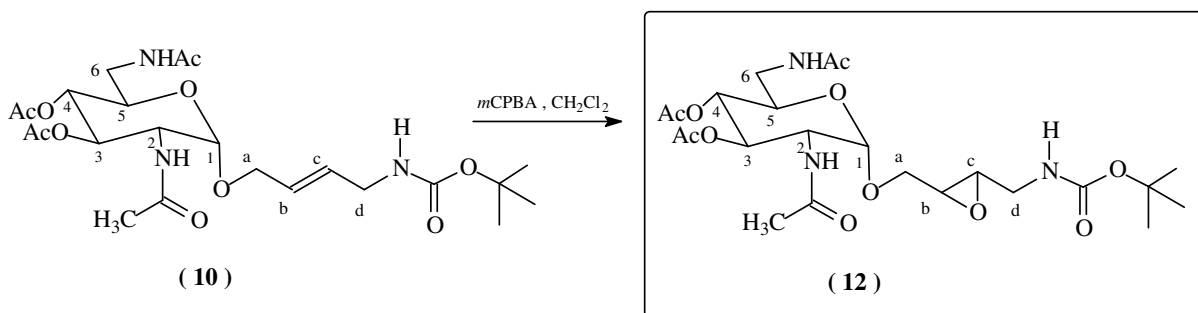
A obtenção do produto de homometátese **11**, nessa etapa de síntese, é esperada. A descrição completa da caracterização desse derivado por RMN será feita em sessão posterior.

Uma vez obtido o produto de metátese **9** deu-se início à rota de síntese descrita na Figura 5.4 (pág. 240).

Figura 5.4 – Esquema para a síntese de **1**

A primeira etapa prevista nessa rota é a obtenção do epóxido **12**. Os epóxidos são considerados versáteis intermediários em síntese orgânica, que podem ser preparados através de uma ampla variedade de materiais de partida e gerar produtos com até dois centros quirais. A tensão do anel de três membros e a polaridade torna os epóxidos compostos altamente reativos. Dentre as diversas possibilidades de reação está a adição de nucleófilos a epóxidos, gerando derivados 1,2-dissubstituídos. Os perácidos orgânicos são os reagentes clássicos para a epoxidação de olefinas e dentre eles o ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*CPBA) é o mais utilizado (VON HOLLOBEN *et al.*; 1997).

O derivado **10** foi submetido à reação de epoxidação, com *m*CPBA, em diclorometano (WU *et al.*; 2003). A reação foi acompanhada por CCD e novas adições de *m*CPBA foram feitas, até que se observou o consumo de todo o material de partida. A mistura reagente foi então transferida para um funil de separação e extraída com solução NaHCO₃ 5%, para remoção do excesso de *m*CPBA, e com água destilada. Optou-se por utilizar o resíduo obtido na etapa seguinte, sem prévia purificação.



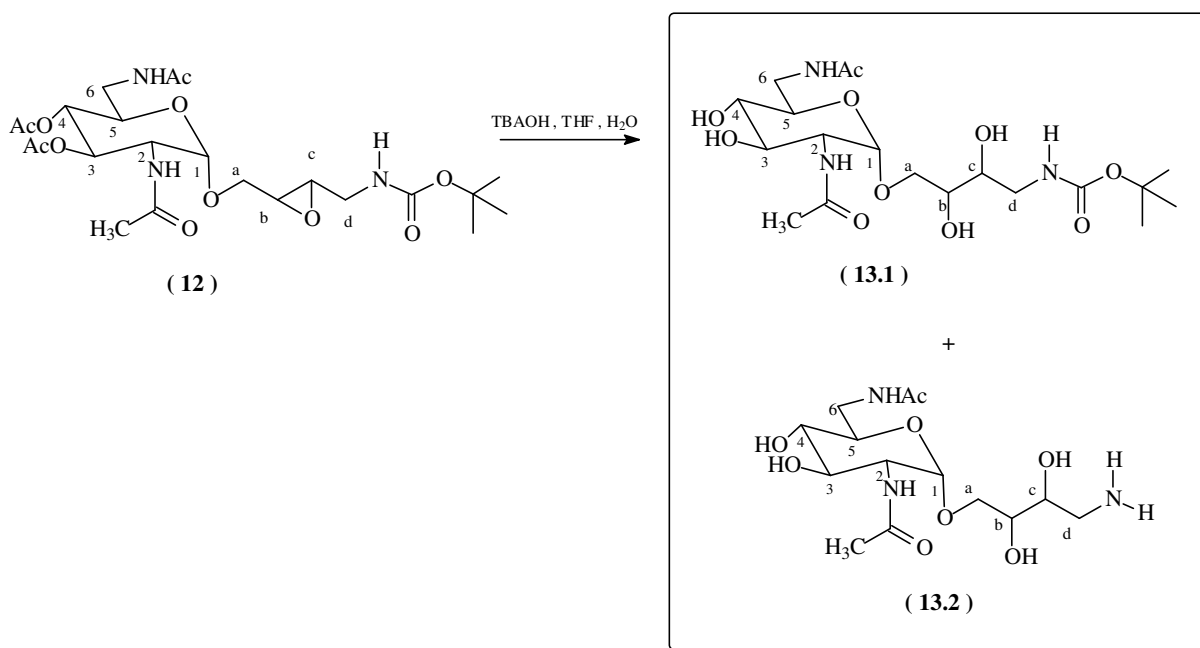
Embora o resíduo obtido não tenha sido submetido à purificação, a análise do RMN de ^1H de **12** permitiu confirmar a obtenção de um produto majoritário, cujo espectro é compatível com a estrutura do epóxido desejado. No espectro de RMN de ^1H de **12** não se observa um multiplete entre de 6,00-5,50 ppm, referente ao hidrogênios H-b e H-c, presente no precursor, o derivado **10**. A epoxidação da ligação dupla promoveu o deslocamento químico dos hidrogênios correspondentes à H-b e H-c para uma região mais próxima do TMS, entre δ 3,01-2,99. O sinal do hidrogênio correspondente a H-a encontra-se sobreposto a H-5, em δ 3,92-3,82. O sinal de H-a' e H-d/H-d' está entre δ 3,49-3,17, na forma de um multiplete, juntamente com o H-6 e H-6'. Essas atribuições foram feitas com base na análise dos mapas de correlação homonuclear COSY e heteronuclear HMQC.

No espectro de RMN de ^{13}C de **12** pode-se observar, dentre outros sinais, o sinal de C-b e C-c sobrepostos em δ 54,9. Os carbonos metilênicos C-a e C-d encontram-se em δ 68,5 e δ 41,2, respectivamente.

Como esperado a análise dos espectros aponta para a obtenção de uma mistura de isômeros. A descrição dos dados de RMN foi feita para o isômero predominante.

A etapa seguinte consistiu na abertura do epóxido, com hidróxido de tetrabutilamônio (TBAOH), em água e THF. O ataque nucleofílico de íons OH^- levaria a formação de um produto 1,2-dissubstituído **13**.

O derivado **12** foi submetido à reação com TBAOH 40%. A reação foi acompanhada por CCD e após cerca de uma hora observou-se o consumo de todo o material de partida. O THF foi evaporado e o resíduo aquoso foi extraído com água e acetato de etila. Nessa etapa pode ser constatado que o produto obtido migrou para a fase aquosa da extração. A água foi eliminada, em evaporador rotatório, e o resíduo obtido foi submetido a purificação por CCS. Inicialmente, utilizou-se uma mistura de acetato de etila/metanol 10% como eluente. Foram recuperados 20 mg de um produto caracterizado como **13.1**. Como a massa de material recuperado estava abaixo daquela esperada, decidiu-se substituir o eluente inicialmente utilizado por uma mistura mais polar de acetato de etila /metanol 20%. Assim, foram obtidos 60 mg de um produto caracterizado como **13.2**, resultante da remoção do Boc.



A análise detalhada dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , e do mapa de correlação homonuclear COSY, permitiu atribuir a estrutura de **13.1** ao primeiro composto isolado na coluna (Figuras A.24-A.26, pág. 280 e pág.281). A condição de reação fortemente básica utilizada levou a remoção dos grupos acetila das hidroxilas de C-3 e C-4. Essa observação é confirmada pelo deslocamento dos sinais de H-3 e H-4 para uma região mais protegida do espectro de RMN, do que aquela observada no derivado precursor, **12**. A observação de uma correlação, no mapa de contornos homonuclear COSY, entre o sinal de H-2 e um multiplete localizado entre $\delta 3,80$ - $3,70$ permitiu a atribuição desse sinal a H-3, sobreposto a H-5. O sinal de H-4 foi atribuído a um multiplete, localizado entre $\delta 3,53$ - $3,36$, sobreposto aos hidrogênios da cadeia lateral H-a' e H-d/H-d'. Outro indício da ocorrência da desacetilação é o sinal localizado em $\delta 2,04$, referente aos hidrogênios metílicos do grupo acetila, cuja integral é de apenas seis hidrogênios. A abertura do anel do epóxido é confirmada pela observação dos sinais de H-b e H-c, localizados em $\delta 4,90$ e $\delta 4,05 - 3,93$, respectivamente. A desblindagem observada é exercida pela introdução dos grupos hidroxila livres sobre essas posições.

No espectro de RMN de ^{13}C de **13.1** (Figura A.25, pág. 281) destaca-se a presença de apenas dois sinais de carbono carbonílico, referentes ao grupo acetila, em $\delta 174,6$ e $174,5$.

O composto mais polar obtido foi caracterizado como **13.2**. No espectro de RMN de ^1H desse derivado (Figura A.27, pág. 282) não se observa o sinal referente aos hidrogênios metílicos do grupo Boc. Acredita-se que as condições empregadas na reação tenham

favorecido a desproteção do grupo amino da cadeia lateral. Assim como observado para **13.1** os grupos acetila de C-3 e C-4 também foram removidos. O uso de um eluente fortemente polar durante a etapa de purificação por CCS levou a obtenção de um produto contaminado com $\text{CH}_3\text{COO}^-\text{X}^+$. A remoção desse contaminante deve ser feita em etapa posterior.

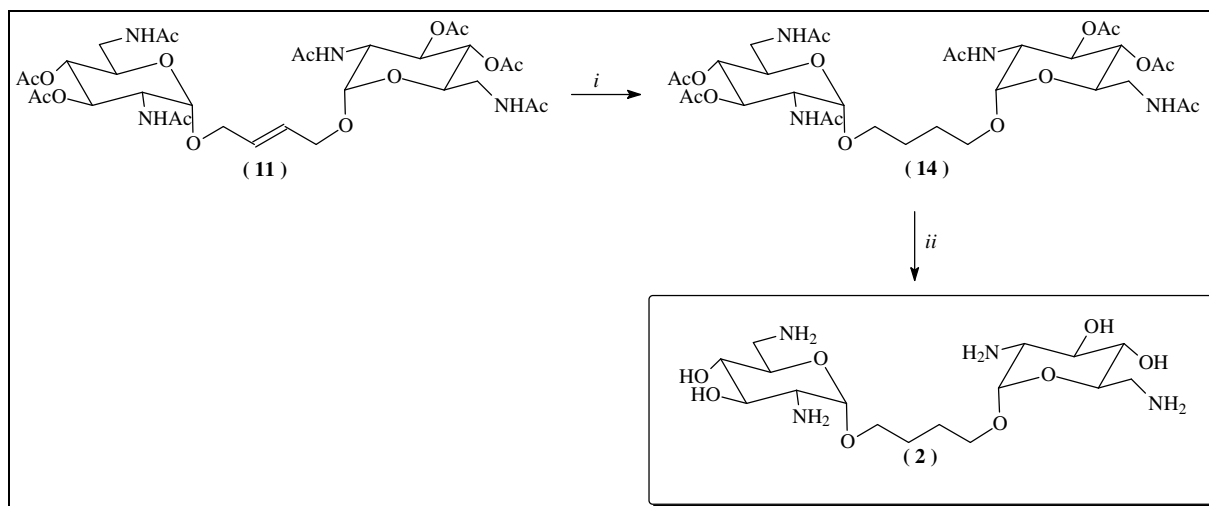
No espectro de RMN de ^{13}C de **13.2** (Figura A.28, pág. 283) não se observam os sinais referentes ao grupo Boc, o que confirma a ocorrência da reação de desproteção.

A condição proposta para a abertura do epóxido, utilizando-se TBAOH, como fonte do nucleófilo mostrou-se eficaz e a remoção, ainda que não intencional, do grupo Boc favoreceu a rota de síntese proposta e eliminou uma etapa de reação.

A desacetilação dos grupos amino do açúcar, em $\text{Ba}(\text{OH})_2$ conduzirá ao produto final **1** e deverá ser realizada oportunamente.

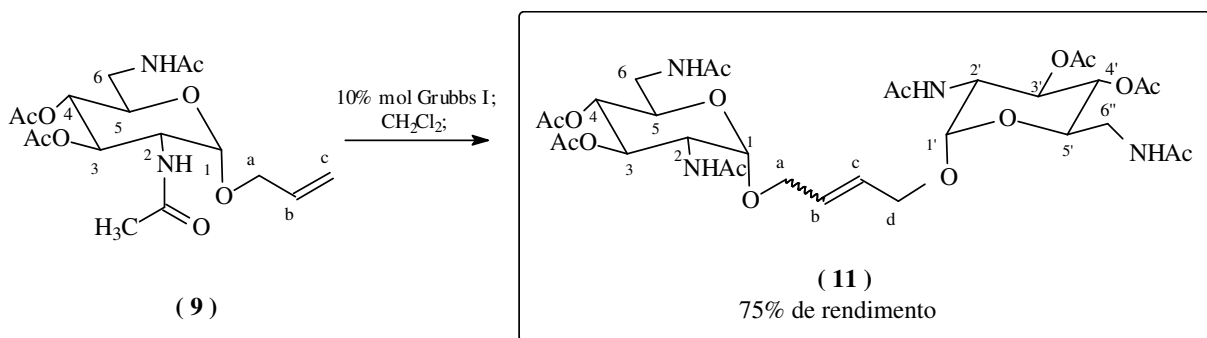
O derivado **11**, obtido por reação de homometátese de **9**, foi o material de partida para a obtenção do produto final **2**. A rota sintética proposta está detalhada na Figura 5.5.

Figura 5.5 – Esquema para a síntese de 2



Para a obtenção de **11**, o derivado **9** foi submetido a reação na presença de catalisador de Grubbs I (DOMINIQUE *et al.*; 2003). O sistema foi mantido vedado sob atmosfera de argônio e refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e após cerca de vinte horas observou-se o consumo de todo o material de partida. O resíduo obtido foi submetido à extração em diclorometano/água. O produto formado durante a reação migrou para a fase aquosa da

extração. A água foi então removida em evaporador rotatório. O derivado **11** foi obtido na forma de um sólido branco, com 75% de rendimento.



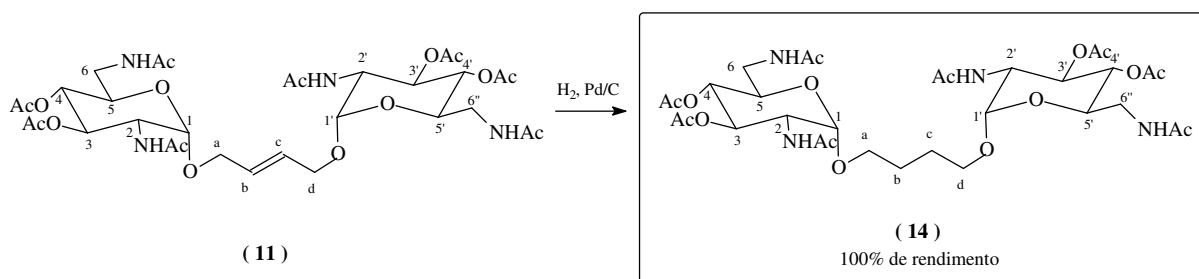
No espectro de RMN de ^1H de **11** (Figura A.30, pág. 284) é possível observar que todos os sinais correspondentes aos hidrogênios do açúcar possuem uma integral de dois hidrogênios. Essa observação é indicativa de que dois resíduos de *N*-acetilglicosamina estão presentes na estrutura química de **11**. Também é possível observar o sinal referente aos hidrogênios H-b e H-c, sob a forma de um multipeto, com integral de dois hidrogênios em δ 5,78-5,73. Os hidrogênios metilênicos H-a e H-d encontram-se entre δ 4,13-4,05 e 4,00-3,95. A presença dos hidrogênios da cadeia lateral e suas respectivas integrais reforçam a afirmação de que **11** é um produto da reação de homometatése de **9**.

Uma vez que a reação de homometatése pode levar a formação tanto do isômero *cis* quanto do isômero *trans*, são observados no espectro de RMN de ^1H de **11** os sinais referentes aos dois isômeros geométricos. A análise dos valores das integrais permite afirmar que há uma predominância do isômero *trans* em relação ao *cis*, na proporção de 3:1.

No espectro de RMN de ^{13}C de **11** (Figura A.32, pág. 285) é possível observar todos os sinais referentes aos carbonos do isômero *trans*. Os sinais do isômero *cis* são observados próximos aos do *trans*, mas com menor intensidade.

O espectro de massas de alta resolução obtido para **11** (Figura A.34, pág. 286) possui um pico com $m/z = 745,3137$, referente ao íon $[\text{M}+\text{H}]^+$, e compatível com o valor esperado para o produto de homometatése.

Dando continuidade a rota de síntese o derivado **11** foi submetido a reação de hidrogenação catalítica, na presença de Pd/C, como agente catalisador. A reação foi acompanhada por CCD até o consumo de todo o material de partida. Após a filtração para remoção do catalisador o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o derivado **14** foi obtido com rendimento quantitativo.

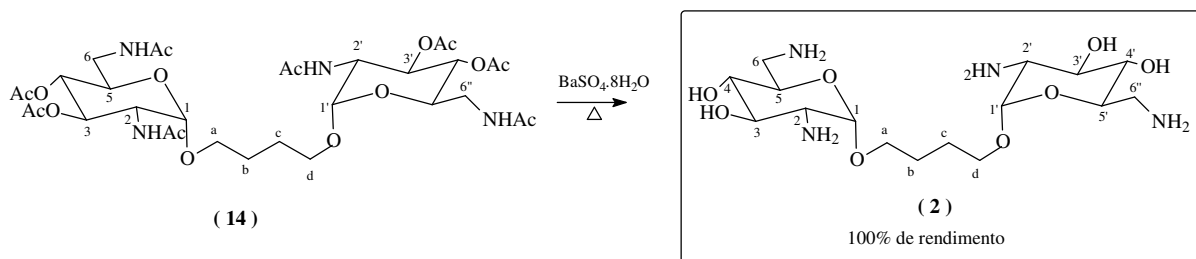


No espectro de RMN de ^1H de **14** (Figura A.35, pág. 287) não se observa o multiplete na região entre 6,00-5,70 ppm, referente aos hidrogênios Hb e Hc da cadeia alílica, o que indica a ocorrência da reação de redução da ligação dupla. No mapa de contornos homonuclear COSY há uma correlação entre os hidrogênios metilênicos correspondentes a Ha/Hd e um multiplete, com integral de quatro hidrogênios, localizado entre δ 1,84-1,73. Com base nesses dados atribuiu-se esse sinal aos hidrogênios Hb e Hc.

A redução da ligação dupla eliminou o problema relacionado à mistura de isômeros *cis/trans*, com isso no espectro de RMN de ^{13}C de **14** (Figura A.36, pág. 288) só são observados sinais de carbono referentes a uma única substância. Não se observa sinal próximo a 130 ppm referente aos carbonos Cb e Cc da cadeia alílica. Em contrapartida, sinal em δ 26,4 é atribuído aos carbonos metilênicos Cb e Cc de **14**.

O espectro de massas de alta resolução obtido para **14** (Figura A.37, pág. 288) apresenta um pico $[\text{M}+\text{H}]^+$ com $m/z = 747$. O pico correspondente ao íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ de **11** é $m/z = 745$, logo o valor observado para **14** é compatível com a ocorrência da hidrogenação da ligação dupla.

Finalmente, a última etapa prevista na rota de síntese foi a remoção dos grupos acetila. Para isso foi utilizada técnica descrita por WONG e colaboradores (WONG *et al.*; 1998). O derivado **14** foi submetido à reação, em água, com excesso de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ octa hidratado. A mistura reagente foi submetida a aquecimento a 120 °C. A reação foi acompanhada por CCD até o consumo de todo o material de partida. Um solução de H_2SO_4 1 mol/L foi adicionada, gota a gota, e ocorreu a formação de BaSO_4 , um sal inorgânico, insolúvel em água. O sólido precipitado foi removido por filtração. A fase aquosa foi evaporada e o resíduo obtido foi submetido a purificação em coluna de fase reversa C18. O produto final **2** foi obtido com rendimento quantitativo.

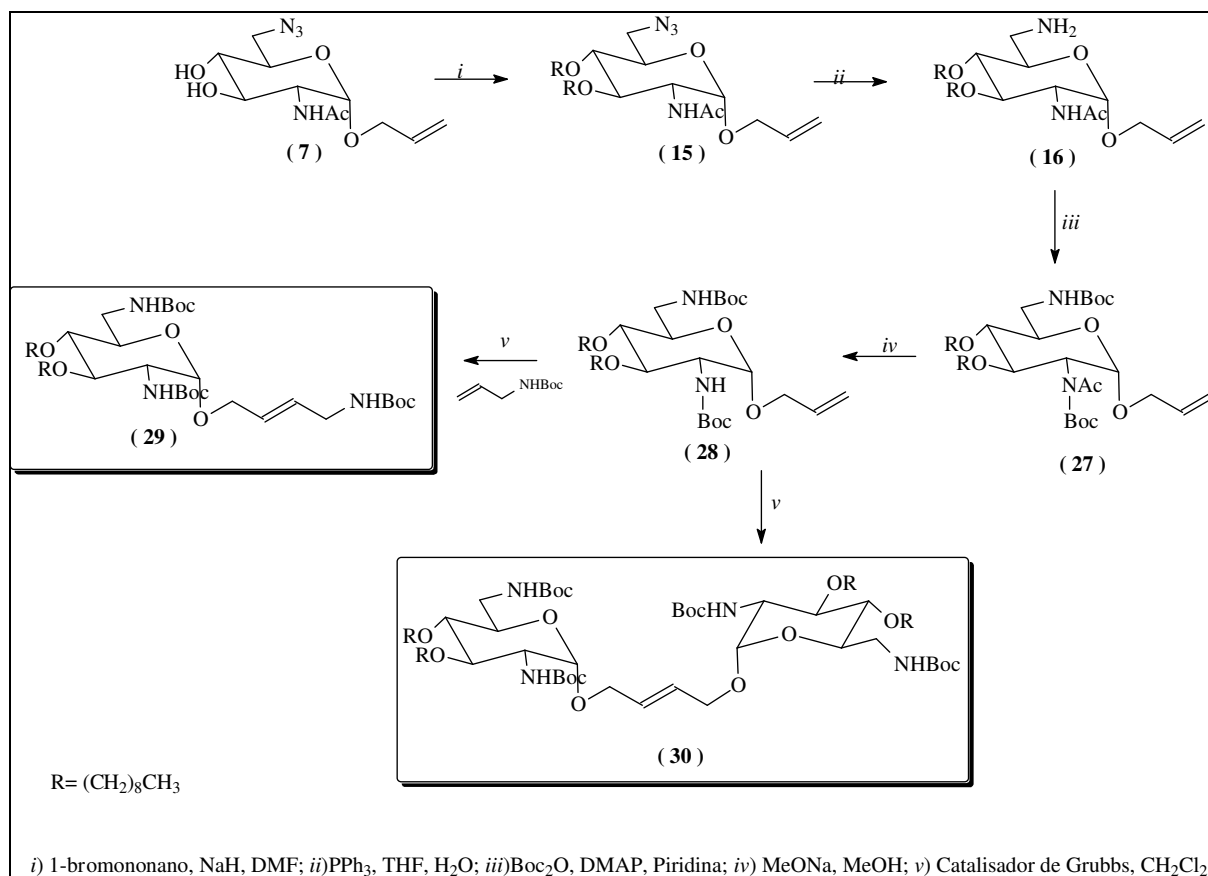


Nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **2** (Figuras A.38 e A.40, pág. 289 e pág. 290) não se observam os sinais referentes aos hidrogênios e carbonos metílicos do grupo acetila. Com isso pode se afirmar que a reação de desproteção foi completa.

5.2 SÍNTESE DO ANÁLOGO DA NEAMINA (3) A PARTIR DA *N*-ACETIL-D-GLICOSAMINA

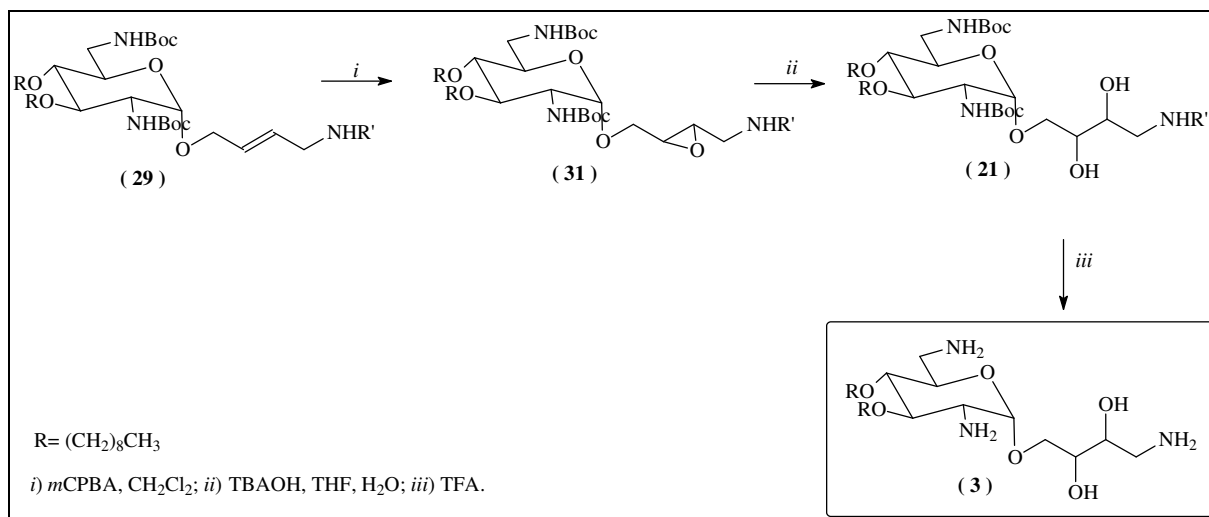
Paralelamente, planejou-se uma rota de síntese para a obtenção dos derivados **29** e **30** (Figura 5.6).

Figura 5.6 – Esquema para a síntese de 29 e 30

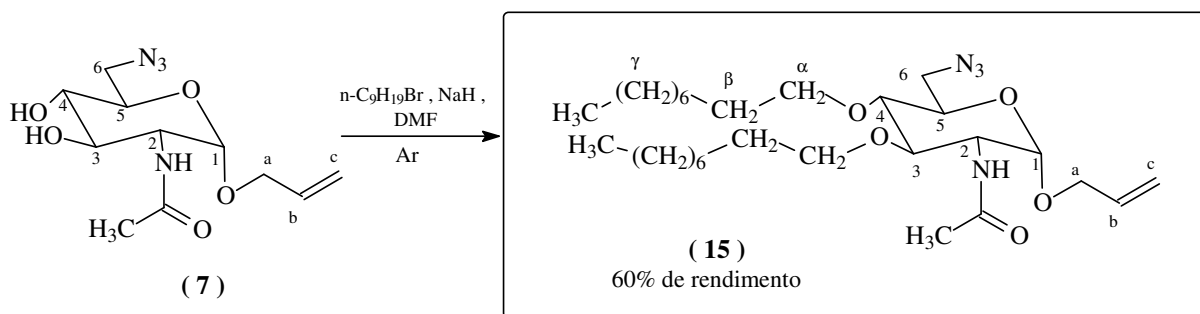


Uma vez obtido, o intermediário **29** poderia ser submetido à reação de epoxidação, com *m*CPBA, seguida da abertura do epóxido com TBAOH. A remoção do grupo protetor Boc, com TFA, conduziria ao análogo da neamina **3** (Figura 5.7).

Figura 5.7– Esquema para a síntese de 3



A primeira etapa realizada foi a alquilação das hidroxilas livres de C-3 e C-4 de **7**. Para isso foi escolhida metodologia descrita por Baussanne e colaboradores (BAUSSANNE *et al.*; 2010). O derivado **7** foi submetido a reação, na presença de 1 eq. de NaH 60% e 2 eq. de 1-bromononano. DMF foi usada como solvente. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética, a temperatura ambiente e sob fluxo de argônio. A reação foi acompanhada por CCD. É possível observar, por CCD, a formação inicial dos produtos monoalquilados, em C-3 ou C-4. Para garantir a obtenção do produto desejado di-alquilado novas adições de NaH 60% e do agente alquilante foram realizadas. A reação foi interrompida após se observar, em CCD, a presença de apenas uma mancha, correspondente a **15**. O resíduo bruto foi purificado por CCS e **15** foi obtido com 60% de rendimento.



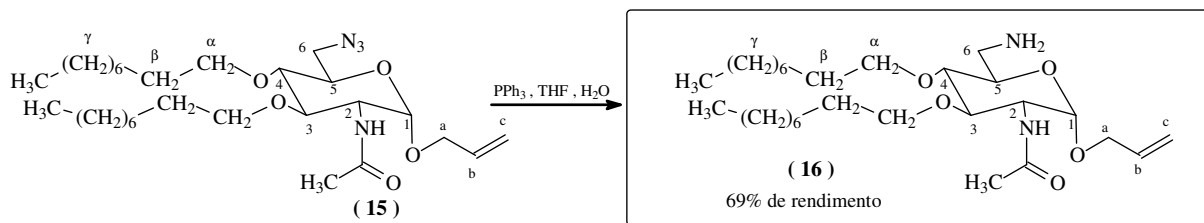
A introdução de duas cadeias alquila na estrutura de **7**, contendo nove átomos de carbono cada, pode ser confirmada pela análise do espectro de RMN de ^1H de **15** (Figura A.41, pág. 291).

Dentre outros sinais é possível observar entre δ 1,48-1,46, um multipeto com integral de quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo $\text{CH}_2(\beta)$. Próximo a esse sinal, em δ 1,21, observa-se um simpleto largo, com integral de 24 hidrogênios, correspondente aos hidrogênios do grupo $\text{CH}_2(\gamma)$. O sinal dos hidrogênios metílicos da cadeia alquila encontra-se entre δ 0,84-0,80, na forma de um multipeto, com integral de seis hidrogênios. Os hidrogênios metilênicos $\text{CH}_2(\alpha)$ localizam-se em região mais distante do TMS de RMN, em relação aos demais hidrogênios da cadeia alquila. Um multipeto em δ 3,76-3,62 foi atribuído ao sinal de H-5, sobreposto aos dois hidrogênios do grupo $\text{CH}_2(\alpha)$, de uma cadeia alquila. Entre δ 3,48-3,29 pode-se observar um multipeto, com integral de cinco hidrogênios, atribuído a H-3, H-6/H-6' e ao grupo $\text{CH}_2(\alpha)$ da outra cadeia alquila.

A análise do mapa de correlação heteronuclear HMQC permitiu a atribuição dos sinais de carbono de C-3 e C-4 em δ 80,7 e δ 78,9, respectivamente. O deslocamento desses sinais para uma região mais distante do TMS, em relação ao seu precursor, é indicativa da introdução dos grupos alquila sobre essas posições.

No espectro de RMN de ^{13}C de **15** (Figura A.43, pág. 293) é possível observar, além de outros sinais, aqueles referentes aos carbonos metilênicos e metílico da cadeia alquila.

Dando continuidade à rota de síntese o derivado **15** foi submetido à reação de redução do grupo azido a amino, na presença de trifetilfosfina (RIGUET *et al.*; 2004). A reação foi acompanhada por CCD e após cerca de doze horas observou-se o consumo de todo o material de partida. O resíduo bruto foi submetido à purificação por CCS e **16** foi obtido com 69% de rendimento.



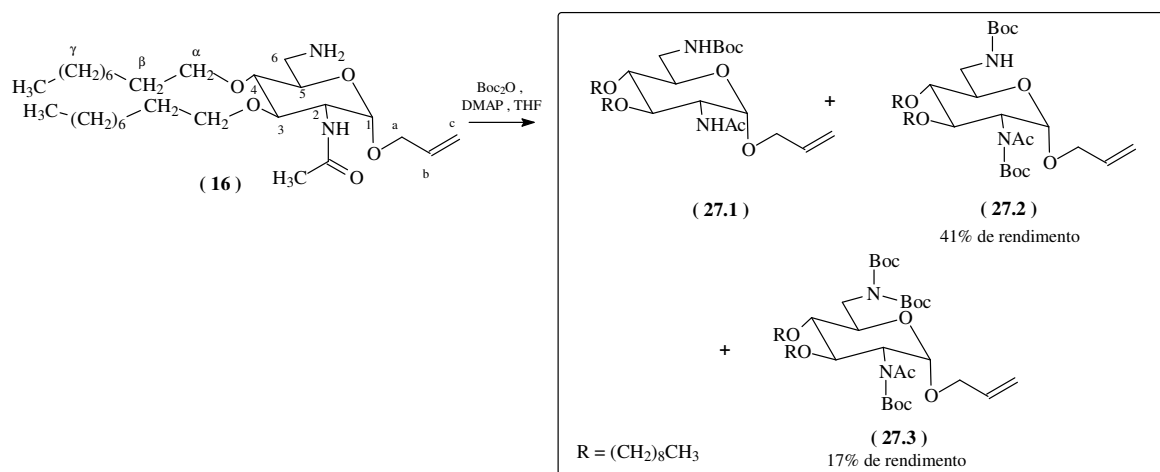
A análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **16** (Figura A.45 e A.46, pág. 294 e pág. 295) confirma a obtenção do produto de redução.

No espectro de massas de alta resolução obtido para **16** (Figura A.47, pág. 295) pode-se observar um pico com $m/z = 513,4263$ atribuído ao íon $[\text{M}+\text{H}]^+$. O valor observado é compatível com o esperado para **16**. Também são observados os picos referentes à perda de álcool alílico, $m/z = 455$, e a fragmentação de uma cadeia alquila (perda de n-nonanol), $m/z = 311$.

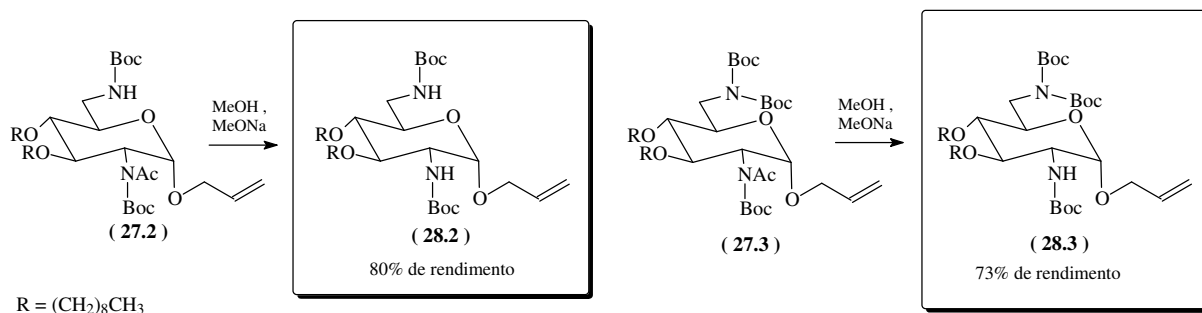
No espectro no infravermelho de **16** a ausência de banda de estiramento da ligação $\text{N}=\text{N}^+=\text{N}$ é indicativa da ocorrência da reação de redução.

A próxima etapa prevista na rota de síntese é a proteção do grupo amino de C-6 e do grupo acetamido de C-2 com o Boc. Sabe-se que para que ocorra a desacetilação dos grupos amino é necessária utilização de uma condição fortemente básica, com altas temperaturas e um longo tempo de reação. Nesse sentido a estratégia do uso do grupo Boc permite a remoção dos grupos acetila em condições mais amenas. O grupo Boc pode ser facilmente removido após tratamento com ácido trifluoroacético (MENG *et al.*; 2011; BENAKLI *et al.*; 2001).

Para a obtenção de **27**, o derivado **16** foi submetido à reação com Boc_2O e DMAP, em THF. A evolução da reação foi acompanhada por CCD. Foram observadas, por CCD, três manchas menos polares que o material de partida e que foram atribuídas a **27.1**, **27.2** e **27.3**. Novas adições de reagentes foram feitas. Após 24 horas um total de 20 eq. de Boc_2O e 4 eq. de DMAP haviam sido adicionados. Contudo, duas manchas ainda eram observadas, em CCD. Optou-se por interromper a reação e foram realizadas as etapas de elaboração e purificação por CCS. As análises de RMN de ^1H e de ^{13}C confirmaram a formação dos derivados **27.2** e **27.3**, que foram obtidos com 41 e 17% de rendimento, respectivamente.



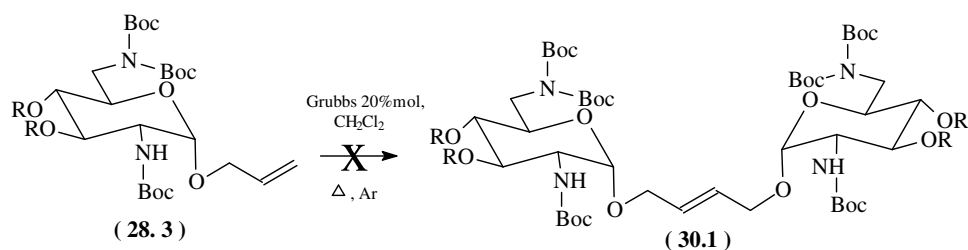
A etapa seguinte foi a reação de desacetilação utilizando-se metóxido de sódio, em metanol (ROY *et al.*; 1999). Após as etapas de elaboração e purificação **28.2** e **28.3** foram obtidos com 80 e 73% de rendimento, respectivamente.



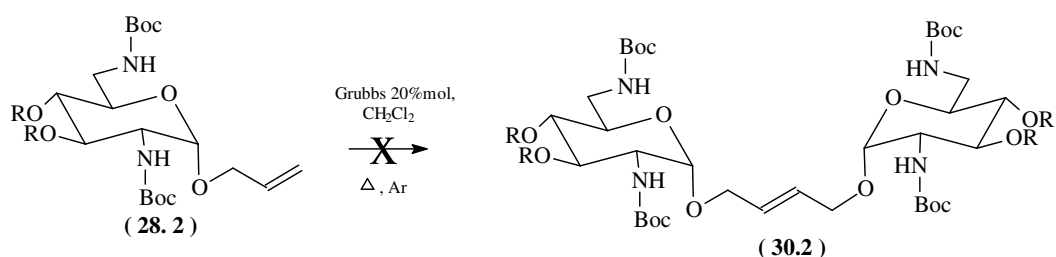
Nos espectros de RMN de ¹H e de ¹³C de **28.2** e **28.3** não se observam os sinais referentes ao grupo acetila. Com isso pode-se afirmar que a reação de desacetilação foi completa o que os derivados **28.2** e **28.3** foram obtidos com sucesso.

A próxima etapa prevista na rota de síntese é a reação de metátese de **28** com a alilamina **24**.

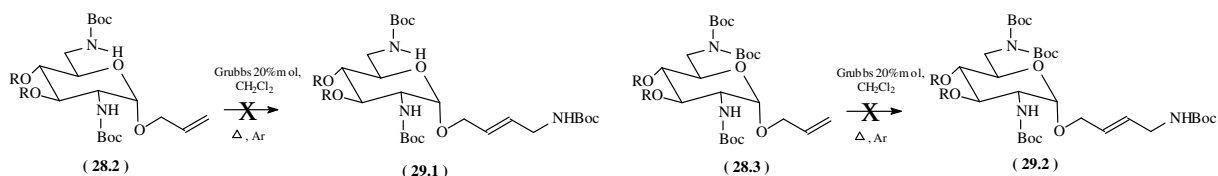
Contudo, antes da realização da metátese cruzada optou-se por submeter o derivado **28.3** à reação de homometátese na presença do catalisador de Grubbs I, utilizando-se diclorometano destilado anidro, como solvente. O sistema foi submetido a aquecimento a refluxo e mantido sob fluxo de argônio. A reação foi acompanhada por CCD e após 24 horas não se observava a formação de qualquer composto. A reação foi interrompida e após as etapas de elaboração e purificação constatou-se que somente o material de partida **28.3** foi recuperado.



O derivado **28.2** também foi submetido à tentativa de reação de homometátese, segundo metodologia descrita no parágrafo anterior. Como observado para **28.3**, somente material de partida foi recuperado ao fim das etapas de reação.



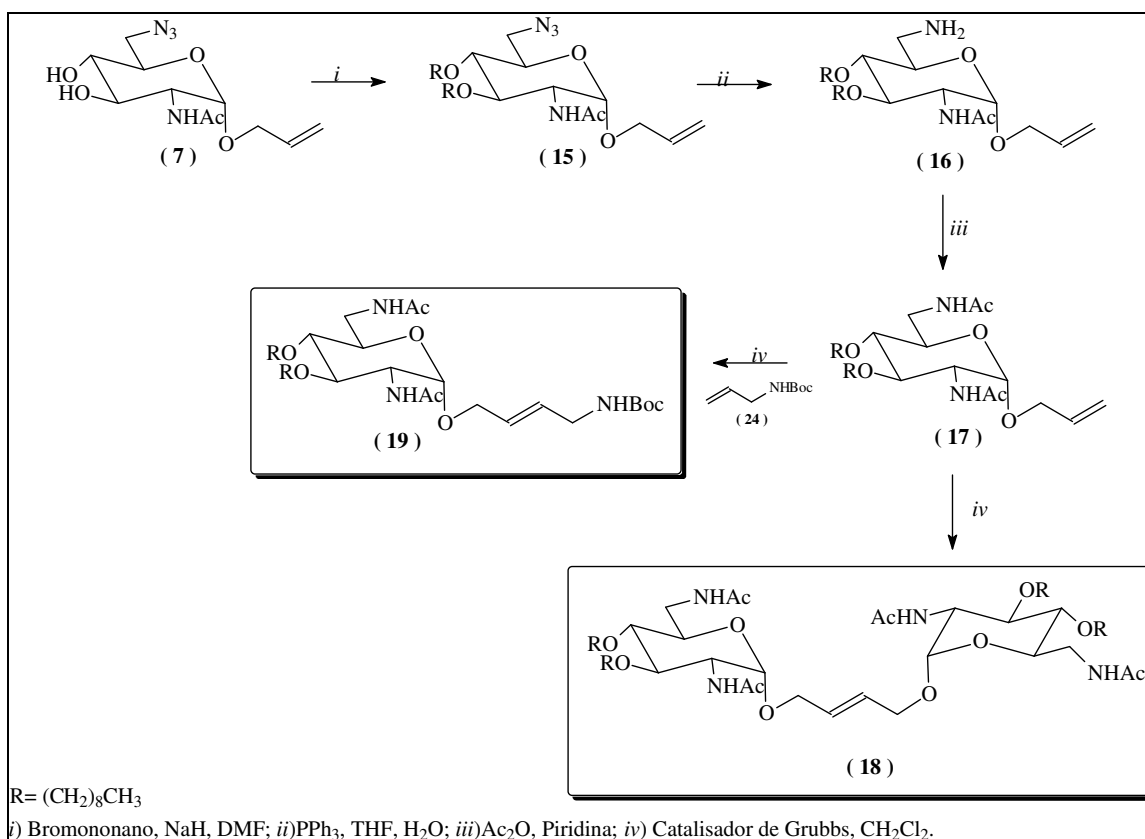
Os derivados **28.2** e **28.3** foram então submetidos à reação de metátese com a alilamina **24**. Infelizmente, nos dois casos, também não houve reação e somente material de partida foi recuperado.



A presença do grupo Boc volumoso pode dificultar a ocorrência da reação de metátese. O impedimento estérico promovido pela presença desse substituinte pode tornar a olefina pouco ou completamente inativa à ação do catalisador de Grubbs (DOMINIQUE *et al.*; 2003). Essa observação justificaria a recuperação do material de partida ao fim das tentativas de reação de metátese realizadas com **28.2** e **28.3**.

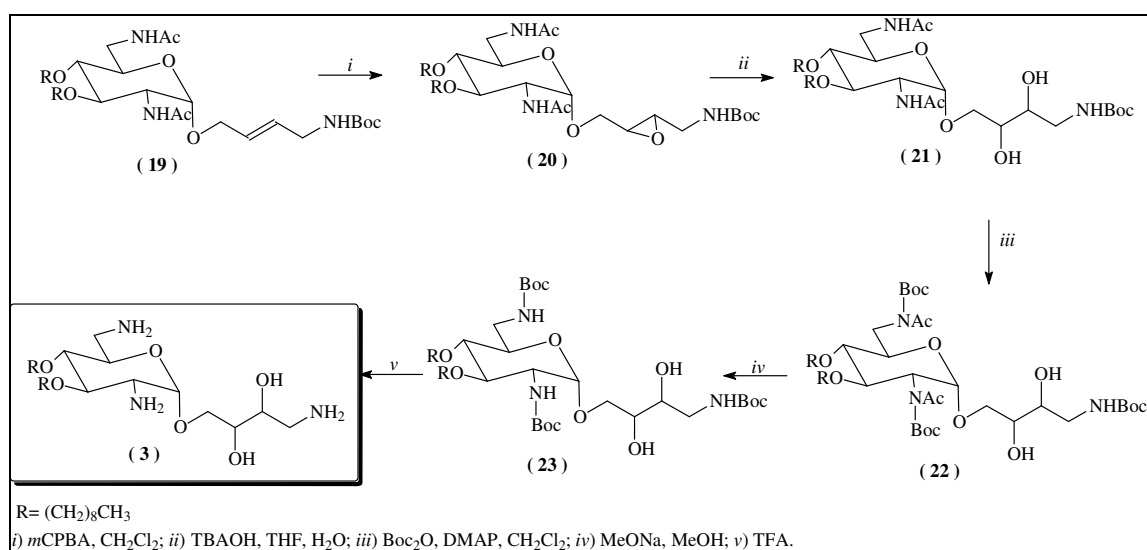
Diante dos insucessos nas reações de metátese uma nova rota de síntese foi planejada, substituindo-se o grupo Boc pelo grupo acetila (Figura 5.8, pág. 252).

Figura 5.8 – Esquema para a síntese de 18 e 19

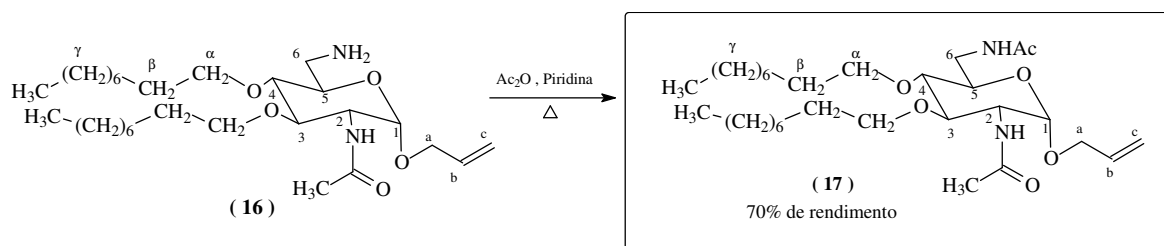


A partir do derivado **19** uma nova rota sintética foi proposta para a obtenção do análogo da neamina **3** (Figura 5.9).

Figura 5.9 – Esquema para a síntese de 3



Para a obtenção do derivado **17**, **16** foi solubilizado em piridina anidra e a essa solução foi adicionado o anidrido acético. A mistura reagente foi aquecida a 50°C e a reação foi acompanhada por CCD até o consumo de todo o material de partida. Após as etapas de elaboração e purificação por CCS o derivado **17** foi obtido na forma de um sólido branco com 70% de rendimento.

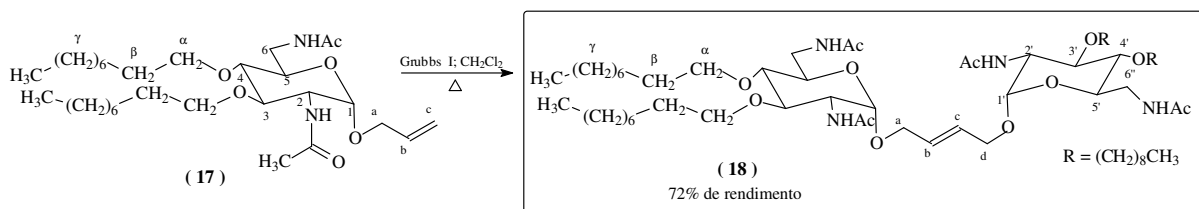


A obtenção de **17** é confirmada pela análise de seu espectro de RMN de ^1H (Figura A.48, pág. 296). Dentre outros sinais destaca-se o simpleto localizado em δ 1,95, com integral de seis hidrogênios, referente aos hidrogênios metílicos do grupo acetila.

No espectro de RMN de ^{13}C de **17** (Figura A.49, pág. 297) é possível observar os sinais referentes aos carbonos carbonílicos do grupo metila em δ 170,0 e δ 169,8.

No espectro de massas de alta resolução obtido para **17** (Figura A.50, pág. 297) observa-se um pico com $m/z = 555$, compatível com a massa molecular esperada para o derivado acetilado. Há ainda um pico com $m/z = 479$, referente à fragmentação da cadeia alílica.

Dando continuidade à rota de síntese o derivado **17** serviu de precursor para a obtenção do homodímero **18**. A reação foi realizada na presença de catalisador de Grubbs I e diclorometano e após purificação por CCS o derivado **18** foi obtido com 72% de rendimento.



No espectro de RMN de ^1H de **18** (Figura A.51, pág. 298) é possível observar que os sinais referentes aos hidrogênios da cadeia alquila apresentam integral correspondente ao produto tetra-alquilado. Os sinais referentes aos hidrogênios do açúcar apresentam integral de dois hidrogênios, compatível com o dissacarídeo obtido. Outro indício da obtenção de **18** é o

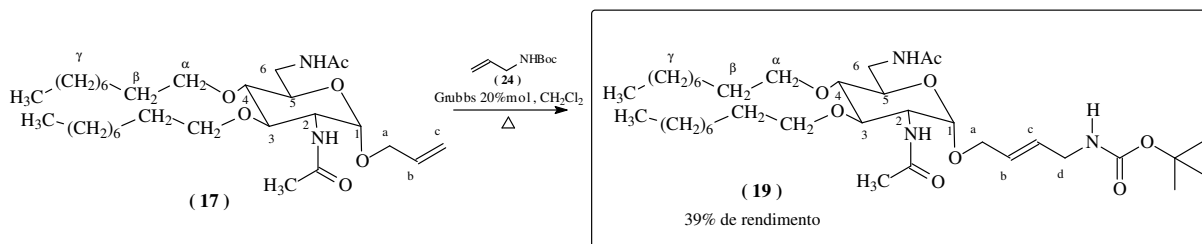
multiplete localizado entre δ 5,70 – 5,67, atribuído aos hidrogênios H-b e H-c. É importante destacar a presença no espectro de RMN de ^1H de **18** de dois dupletos centrados em δ 4,76 e 4,70 e que foram atribuídos aos hidrogênios anoméricos H-1. A observação desses sinais e o valor da integral correspondente comprova a obtenção de **18**, na forma de uma mistura de isômeros *cis/trans*, na proporção de 1:1.

No espectro de RMN de ^{13}C de **18** (Figura A.53, pág. 299) observa-se, dentre outros, um sinal em δ 129,4 atribuído a C-b e C-c. O deslocamento químico desse sinal de carbono é compatível com o valor esperado para o produto de homometátese **18**.

No espectro de massas de alta resolução (Figura A.55, pág. 300) um pico com $m/z = 1081,8345$, compatível com a massa molecular esperada para **18**, é indicativo da ocorrência da reação de homometátese.

Através da síntese de **18** pode-se comprovar que a substituição do grupo Boc pelo grupo acetila mostrou ser uma estratégia eficaz para a obtenção dos produtos de metátese planejados. Por possuir na sua estrutura quatro grupo alquila hidrofóbicos, **18** não é um intermediário interessante para a síntese de novos análogos da neamina e sua síntese foi feita apenas com o objetivo de se estabelecer novas condições para a realização das reações de metátese. Com isso, não foi dada continuidade a essa rota de síntese.

Para a obtenção de **19**, o derivado **17** foi submetido à reação de metátese cruzada com a alilamina **24**, na presença de Catalisador de Grubbs I e diclorometano. A reação foi acompanhada por CCD e pode-se observar a formação de um produto menos polar que o material de partida. Após cerca de 20 horas verificou-se que a reação não mais evoluía e o resíduo obtido após a evaporação do solvente foi submetido à purificação por CCS. O derivado **19** foi obtido com 39% de rendimento. Além do produto desejado também foi isolado parte do material de partida que não reagiu.



No espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura A.56, pág. 301) os sinais de H-b e H-c podem ser observados na forma de um multipeto, com integral de dois hidrogênios, entre δ 5,64 – 5,48. O multipeto visto entre δ 4,12 – 4,05, cuja integral é de dois hidrogênios, refere-se aos sinais de H-2 e H-a. O dupeto duplo centrado em δ 3,84 foi atribuído a um dos hidrogênios metilênicos de H-a. Os sinais de H-d e H-d' encontram-se sob a forma de um multipeto, entre δ 3,68 – 3,60. Essas atribuições puderam ser feitas com base nas análises dos mapas de correlação homonuclear COSY e heteronuclear HMQC.

No espectro de RMN de ^{13}C de **19** (Figura A.58, pág. 302) observam-se os sinais de C-c em δ 131,0 e de C-b em δ 126,6. O deslocamento químico observado para esses sinais comprova a obtenção do produto da reação de metátese **19**.

No espectro de massas de alta resolução (Figura A.60, pág. 303) obtido para **19** observa-se o pico com $m/z = 684$, compatível com a massa molecular esperada para o produto da metátese cruzada.

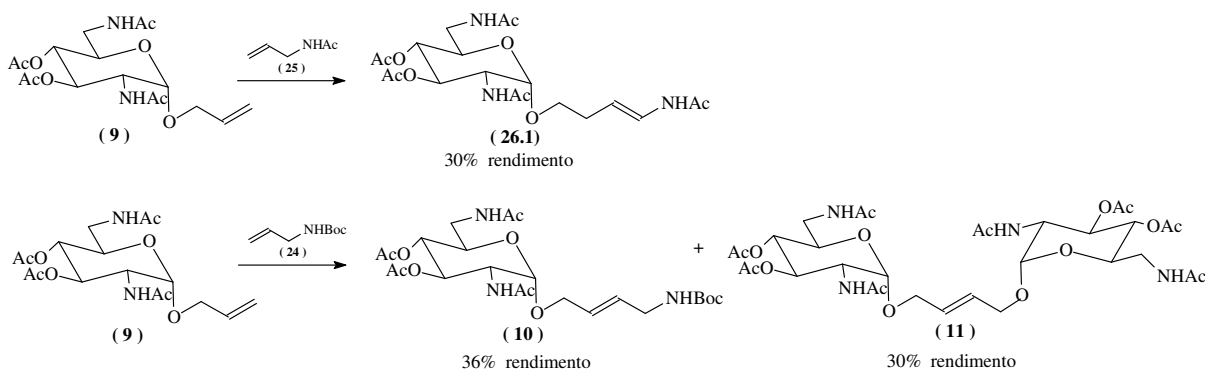
No espectro no infravermelho de **19** destaca-se uma banda referente ao estiramento da ligação C=O de carbamato (1683 cm^{-1}) o que é indicativo da reação de **17** com a alilamina protegida com Boc.

Para a obtenção de **20**, o produto da reação de metátese **19** foi submetido à reação com *m*CPBA, em diclorometano. A reação foi acompanhada por CCD até o consumo de todo o material de partida. Após a elaboração da reação o produto obtido foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação. Na etapa seguinte **20** foi submetido à reação com TBAOH, em THF e água, para abertura do epóxido e obtenção do produto 1,2-dissubstituído **21**. A evolução da reação foi acompanhada por CCD e observou-se a presença de três manchas, mais polares que o material de partida. Após a etapa de elaboração o resíduo obtido foi submetido à tentativa de purificação por CCS. Infelizmente, ao término dessa etapa observou-se por CCD e RMN que os produtos isolados permaneciam contaminados. Os compostos formados nessa reação possuem R_f 's diferentes, mas muito próximos, o que dificulta sua purificação pelos métodos clássicos. Novas tentativas de purificação deverão ser realizadas em breve. As próximas etapas previstas na rota de síntese são a introdução do Boc sobre os grupos acetamido de C-2 e C-6, seguida da reação de desacetilação em metóxido de sódio e metanol e finalmente, a desproteção com TFA e obtenção do análogo **3**. Essas reações deverão ser realizadas oportunamente

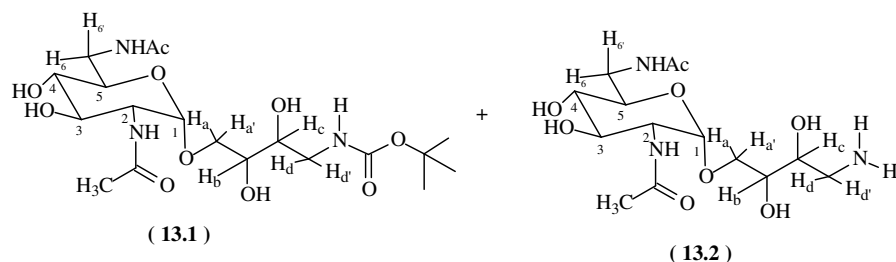
6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

No presente trabalho objetivou-se a síntese de três novos análogos da neamina, **1**, **2** e **3**, preparados por reação de metátese de olefinas.

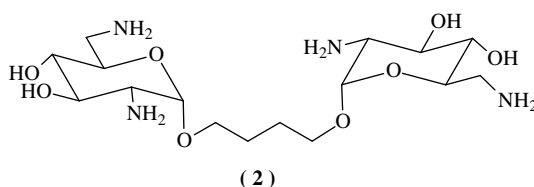
Para a obtenção do análogo **1** foi proposta inicialmente uma rota de síntese em seis etapas que conduziria ao intermediário **10**. Essa primeira etapa foi realizada com sucesso, embora tenha sido observada a ocorrência indesejada de isomerização da ligação dupla, quando **9** foi submetido a reação de metátese com **25**. A substituição do grupo protetor da alilamina de acetila por Boc forneceu um derivado capaz de reagir adequadamente com a olefina **9**, sem que ocorresse migração da ligação dupla. O produto da metátese cruzada **10** foi obtido com 36% de rendimento. Também foi isolado nessa etapa de síntese o produto de homodimerização **11**, com 30% de rendimento. A homometátese é uma reação secundária que pode ocorrer durante a metátese cruzada. Algumas estratégias, como o uso em excesso de uma das olefinas, mostram-se bem sucedidas em contornar esse problema. No entanto, durante a síntese de **10** apesar do uso em excesso de **24** foi observada a formação do homodímero. A facilidade com que os produtos formados nessa etapa puderam ser separados por cromatografia em coluna de sílica (CCS) permitiu a continuação da rota de síntese.



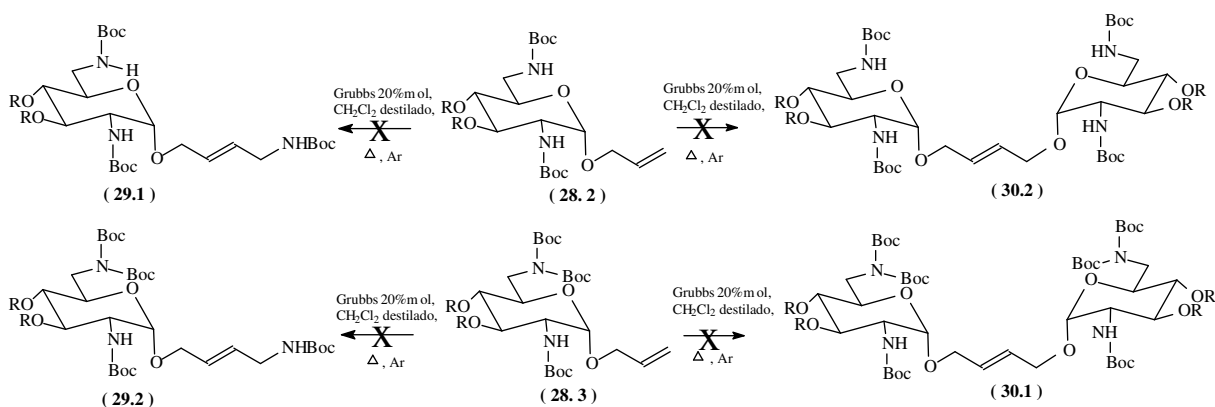
As etapas posteriores, de epoxidação da ligação dupla e abertura do epóxido foram realizadas com sucesso, e foram obtidos ao fim das reações os derivados parcialmente desprotegidos **13.1** e **13.2**. A remoção completa dos grupos protetores conduzirá ao produto final **1**. Essa etapa deverá ser realizada oportunamente.



O derivado **9** foi submetido a reação de homometátese e a hidrogenação da ligação dupla, seguida da remoção dos grupos protetores conduziu ao produto final **2**, com rendimento quantitativo. O análogo **2** deverá ser submetido a avaliação de sua atividade biológica em breve.

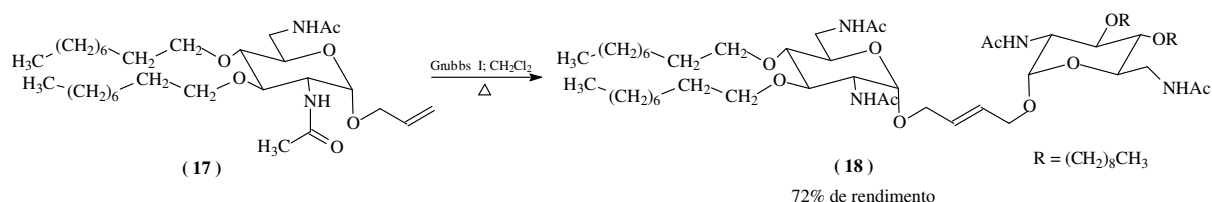


Para a obtenção de **3** planejou-se uma rota de síntese a partir do intermediário **7** em cinco etapas, que conduziria à obtenção dos produtos da metátese **29** e **30**, devidamente protegidos com o grupo Boc. No entanto, apesar dos nossos esforços todas as tentativas de metátese realizadas levaram apenas a recuperação do material de partida empregado na síntese. Essa observação é indicativa de que as olefinas planejadas no presente trabalho protegidas com o grupo Boc são inertes à reação de metátese, o que pode ser explicado pelo tamanho do substituinte utilizado, que por impedimento estérico bloqueia a ocorrência da reação.

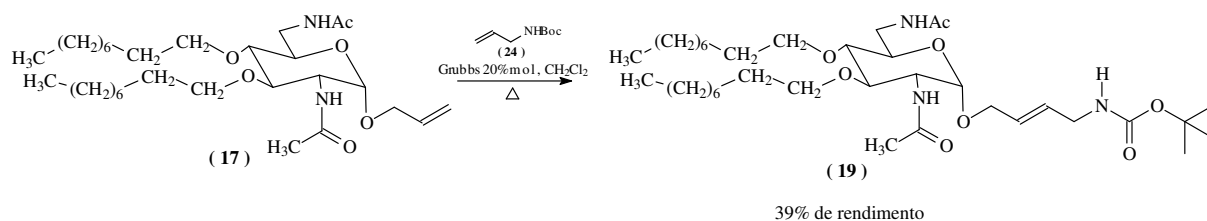


Alternativamente foi planejada uma rota sintética a partir do derivado da *N*-acetil-D-glicosamina protegido com o grupo acetila. A síntese de **18**, o produto da homodimerização,

foi realizada inicialmente com o objetivo de se estudar essa etapa de síntese e de avaliar a reatividade da olefina **17** frente à reação de metátese. O produto **18** foi obtido com sucesso, com 72% de rendimento.



Em seguida a reação de metátese, entre **17** e **24**, foi realizada com sucesso conduzindo a obtenção de **19** com 39% de rendimento. Durante essa etapa não foi observada a formação do homodímero **18**.



O derivado **19** foi ainda submetido a reação de epoxidação. A reação de abertura do epóxido, planejada na etapa subsequente, levou à obtenção de uma mistura de isômeros que não puderam ser separados, no primeiro momento, pelos métodos clássicos. A purificação do resíduo obtido nessa etapa e a continuação da rota sintética deverão ser realizadas oportunamente.

Durante a realização do presente trabalho obtiveram-se com sucesso os produtos da reação de metátese planejados **10**, **11**, **18** e **19**.

Apesar de os produtos finais **1** e **3** ainda não terem sido obtidos foram feitos importantes avanços nas rotas de síntese propostas.

O produto final **2** foi obtido com sucesso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUSSANNE, I.; BUSSIERE, A.; HALDER, S.; GANEM-ELBAZ, C.; OUBERAI, M.; RIOU, M.; PARIS, J.M.; ENNIFAR, E.; MINGEOT-LECLERCQ, M.P.; DECOUT, J.L. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Amphiphilic Neamine Derivatives. **J. Med. Chem.** 2010, 53, 119–127.

BENAKLI, K.; ZHA, C.; KERNS, R.J. Oxazolidinone Protected 2-Amino-2-deoxy-D-glucose Derivatives as Versatile Intermediates in Stereoselective Oligosaccharide Synthesis and the Formation of α -Linked Glycosides. **Journal of the American Chemical Society**. 2001, 123, 9461-9462

BILEL, H.; HAMDI, N.; ZAGROUBA, F.; FISCHMEISTER, C.; BRUNEAU, C. Eugenol as a renewable feedstock for the production of polyfunctional alkenes *via* olefin cross-metathesis. **RSC Advances**. 2012, 2, 9584-9589.

BINI, D.; FORCELLA, M.; CIPOLLA, L.; FUSI, P.; MATASSINI, C.; CARDONA, F. Synthesis of Novel Iminosugar-Based Trehalase Inhibitors by Cross-Methatesis Reactions. **European Journal of Organic Chemistry**. 2011, 20-21, 3995-4000.

CHATTERJEE, A.K.; CHOI, T.L.; SANDERS, D.P.; GRUBBS, R.H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. **Journal of the American Chemical Society**. 2003, 125, 11360-11370.

CHITTAPRAGADA, M.; ROBERTS, S.; HAM, Y.W. Aminoglycosides: Molecular Insights on the Recognition of RNA and Aminoglycoside Mimics. **Perspectives in Medicinal Chemistry**. 2009, 3, 21–37.

DHAMI, A.; MAHON, M.F.; LLOYD, M.D.; THREADGILL, M.D. 4-Substituted 5-nitroisoquinolin-1-ones from intramolecular Pd-catalysed reaction of *N*-(2-alkenyl)-2-halo-3-nitrobenzamides. **Tetrahedron**. 2009, 65, 4751-4765.

DECOUT, J.L.; BAUSSANNE, I.; DESIRE, J.; DAS, I.; MINGEOT-LECLERCQ, M. P. 6-amino-6-deoxyglucosamine derivatives and their use as antibacterial agents. **PCT Int. Appl.** 2012.

DOMINIQUE, R.; DAS, S.K.; LIU, B.; NAHRA, J.; SCHMOR, B.; GAN, Z.; ROY, R. Ruthenium Carbenoids as Catalysts for Olefin Metathesis of ω -Alkenyl Glycosides. **Methods in enzymology**. 2003, 362, 17-28.

FAIR, R.J.; HENSLER, M.E.; THIENPHRAPA, W.; DAM, Q.N.; NIZET, V.; TOR, Y. Selectively Guanidinylated Aminoglycosides as Antibiotics. **ChemMedChem**. 2012; 7(7), 1237–1244.

FENG, F.; OKUYAMA, K.; NIIKURA, K.; OHTA, T.; SADAMOTO, R.; MONDE, K.; NOGUCHI, T.; NISHIMURA, S.I. Chemo-enzymatic synthesis of fluorinated 2-*N*-acetamidoglycoside nucleotides using UDP-GlcNAc pyrophosphorylase. **Org. Biomol.Chem**. 2004, 2, 1617-1623.

FERNANDEZ, R.; ROS, A.; MAGRIZ, A.; DIETRICH, H.; LASSALET, J.M. Enantioselective synthesis of cis- α -substituted cycloalkanols and trans-cycloalkyl amines thereof. **Tetrahedron**. 2007, 63, 6755-6763.

GALL, T.L.; BAUSSANNE, I.; HALDER, S.; CARMOY, N.; MONTIER, T.; LEHN, P.; DECOUT, J.L. Synthesis and Transfection Properties of a Series of Lipidic Neamine Derivatives. **Bioconjugate Chem**. 2009, 20, 2032–2046.

GREENBERG, W.A.; PRIESTLEY, E.S.; SEARS, P.S.; ALPER, P.B.; ROSENBOHM, C.; HENDRIX, M.; HUNG, S.C.; WONG, C.H. Design and Synthesis of New Aminoglycoside Antibiotics Containing Neamine as an Optimal Core Structure: Correlation of Antibiotic Activity with in Vitro Inhibition of Translation. **Journal of the American Chemical Society**. 1999, 121, 6527-6541.

HADDAD, J.; KOTRA, L.P.; LLANO-SOTELO, B.; KIM, C.; AZUCENA JR, E.F.; LIU, M.; VAKULENKO, S.; CHOW, C.S.; MOBASHERY, S. Design of Novel Antibiotics that Bind to the Ribosomal Acyltransfer Site. **Journal of the American Chemical Society**. 2002, 124, 3229-3237.

HENRY, C.; JOLY, J.P.; CHAPLEUR, Y. Efficient syntheses of methyl 2-amino-2-deoxy-3,4,6-tri-*O*-Benzyl- α -D-glucopyranoside and its 2-*tert*-butoxycarbonylamino- and 2-methylamino derivatives from *N*-acetyl-D-glucosamine. **J. Carbohydrate chemistry**. 1999, 18(6), 689-695.

HONG, S.H.; SANDERS, D.P.; LEE, C.W.; GRUBBS, R.H. Prevention of Underisable Isomerization during Olefin Methatesis. ***Journal of the American Chemical Society***. 2005, 127, 17160-17161.

HORTON, D. The Anomeric 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-deoxy-2-(2,4-dinitroanilino)-D-glucopyranoses. ***Journal of Organic Chemistry***. 1964, 29, 1776-1782.

JACKOWSKI, O.; BUSSIÈRE, A.; VANHAVERBEKE, C.; BAUSSANNE, I.; PEYRIN, E.; MINGEOT-LECLERCQ, M.p.; DECOUT, J.L. Major increases of the reactivity and selectivity in aminoglycoside O-alkylation due to the presence of fluoride ions. ***Tetrahedron***. 2012, 68, 737-746.

KOTRA, L.P.; HADDAD, J.; MOBASHERY, S. Aminoglycosides: Perspectives on Mechanisms of Action and Resistance and Strategies to Counter Resistance. ***Antimicrobial agents and chemotherapy***. 2000, 44 (12), 3249-3256.

LEE, R.T.; LEE, Y.C. Synthesis of 3-(2-aminoethylthio)propyl Glycosides. ***Carbohydrate research***. 1974, 37, 193-201.

LI, J.; CHIANG, F.I.; CHEN, H.N.; CHANG, C.W.T. Investigation of the Regioselectivity for Staudinger Reaction and Its Application for the Synthesis of Aminoglycosides with N-1 Modification. ***Journal of Organic Chemistry***. 2007, 72 (11), 4055–4066.

LIN, H.; YANG, X.X.; WANG, DE.X. An expedient synthesis of peptidyl *N*-alkylamides by “HOPE” strategy. ***Chinese Chemical Letters***. 2012, 23, 565-568.

MENG, F.C.; CHEN, K.T.; HUANG, L.Y.; SHIH, H.W.; CHANG, H.H.; NIEN, F,Y,. LIANG, P.H.; CHENG T.J.R.; WONG, C.H.; CHENG, W.C. Total Synthesis of Polyprenyl *N*-Glycolyl Lipid II as a Mycobacterial Transglycosylase Substrate. ***Organic Letters***. 2011, 13 (19), 5306-5309.

MINGEOT-LECLERCQ, M.P.; GLUPCZYNSKI, Y.; TULKENS, P.M. Aminoglycosides: Activity and Resistance. ***Antimicrobial agents and chemotherapy***. 1999, 43 (4), 727–737.

NEUMANN, J.; THIEM, J. Synthesis of Amino-Bridged Oligosaccharide Mimetics. . ***European Journal of Organic Chemistry***. 2010, 900-908.

NOLEN, E.G.; KURISH, A.J.; POTTER, J.M.; DONAHUE, L.A.; ORLANDO, M.D. Stereoselective Synthesis of α -C-Glucosyl Serine and Alanine via a Cross-Methatesis/Cyclization Strategy. **Organic Letters**. 2005, 7 (15), 3383-3386.

OUBERAI, M.; GARCH, F.E.; BUSSIERE, A.; RIOU, M.; ALSTEENS, D.; LINS, L.; BAUSSANNE, I.; DUFRÊNE, Y.F.; BRASSEUR, R.; DECOUT, J.L.; MINGEOT-LECLERCQ, M.P. The *Pseudomonas aeruginosa* membranes: A target for a new amphiphilic aminoglycoside derivative? **Biochimica et Biophysica Acta**. 2011, 1808, 1716–1727.

PARK, W.K.C.; AUER, M.; JAKSCHE, H.; WONG, C.H. Rapid Combinatorial Synthesis of Aminoglycoside Antibiotic Mimetics: Use of a Polyethylene Glycol-Linked Amine and a Neamine-Derived Aldehyde in Multiple Component Condensation as a Strategy for the Discovery of New Inhibitors of the HIV RNA Rev Responsive Element. **Journal of the American Chemical Society**. 1996, 118, 10150-10155.

RATNASEKHAR C.; TYAGI, M.; RAMRAO, P.; KARTHA, K.P.R. DABCO: an efficient promoter for the acetylation of carbohydrates and other substances under solvent-free conditions. **Tetrahedron Letters**. 2011, 52, 5841-5846.

RIGUET, E.; DÉSIÉ, J.; BAILLY, C.; DECOUT, J.L. A route for preparing new neamine derivatives targeting HIV-1 TAR RNA. **Tetrahedron**. 2004, 60, 8053-8064.

RIGUET, E.; DÉSIÉ, J.; BODEN, O.; LUDWIG, V.; GOBEL, M.; BAILLY, C.; DECOUT, J.L. Neamine dimers targeting the HIV-1 TAR RNA. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2005, 15, 4651–4655.

ROY, R.; DAS, S. K.; DOMINIQUE, R.; TRONO, M. C.; HERNANDEZ-MATEO, F.; SANTOYO-GONZÁLEZ, F. Transition metal catalyzed neoglycoconjugate syntheses. **Pure and Applied Chemistry**. 1999, 71, 565-571.

SUCHECK, S.J.; WONG, A.L.; KOELLER, K.M.; BOEHR, D.D.; DRAKER, K.A.; SEARS, P.; WRIGHT, G.D.; WONG, C.H. Design of Bifunctional Antibiotics that Target Bacterial rRNA and Inhibit Resistance-Causing Enzymes. **Journal of the American Chemical Society**. 2000, 122, 5230-5231.

THIEL, V.; HENDANN, M.; WANNOWIUS, K.J.; PLENIO, H. On the Mechanism of the Initiation Reaction in Grubbs-Hoyeda Complexes. ***Journal of the American Chemical Society***. 2012, 134, 1104-1114.

TOSTE, F.D.; CHATTERJEE, A.K.; GRUBBS, R.H. Functional group diversity by ruthenium-catalyzed olefin cross-metathesis. ***Pure Appl. Chem.*** 2002, 74 (1), 7-10.

TRNKA, T.M.; GRUBBS, R.H. The Development of L₂X₂Ru=CHR Olefin Metathesis Catalysts: Na Organometallic Success Story. ***Acc. Chem. Res.*** 2001, 34, 18-39.

VON HOLLEBEN, M.L.A.; SCHUCH, C.M. Ativação do Peróxido de Hidrogênio para a Epoxidação de Olefinas Não-Funcionalizadas. ***Química Nova***. 1997, 20 (1), 58-71.

WONG, C.H.; HENDRIX, M.; MANNING, D.D.; ROSENBOHM, C.; GREENBERG, W.A. A Library Approach to the Discovery of Small Molecules That Recognize RNA: Use of a 1,3-Hydroxyamine Motif as Core. ***Journal of the American Chemical Society***. 1998, 120, 8319-8327.

WU, B.; YANG, J.; ROBINSON, D.; HOFSTADLER, S.; GRIFFEY, R.; SWAYZE, E.E. Synthesis os Linked Carbohydrates and Evaluation of Their Binding for 16S RNA by Mass Spectrometry. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters***. 2003, 13, 3915-3918.

APÊNDICE C
ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C
ESPECTROS NO IV
ESPECTROS DE MASSAS

Figura A.1 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 5.

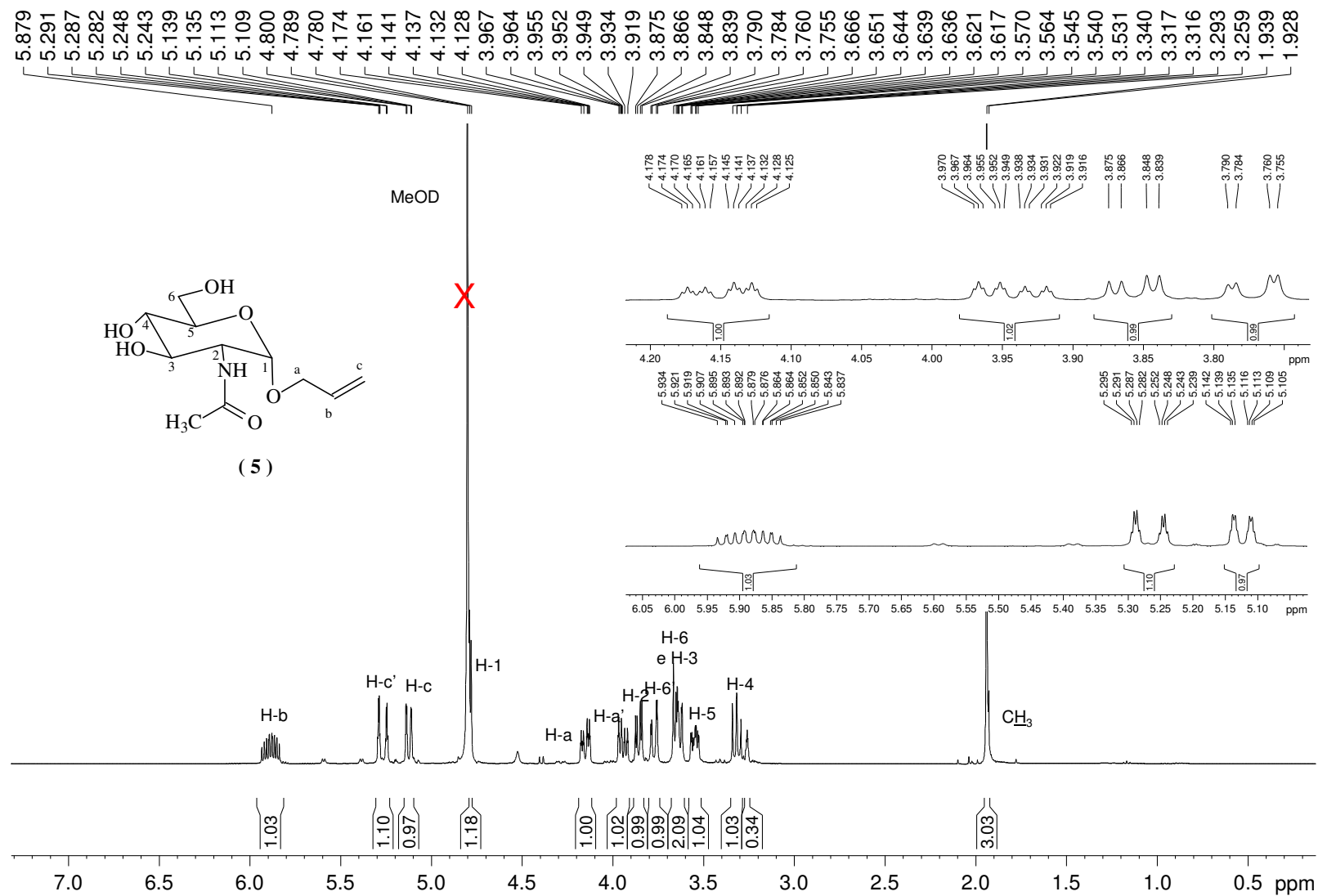


Figura A.2 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD₃OD) de 5.

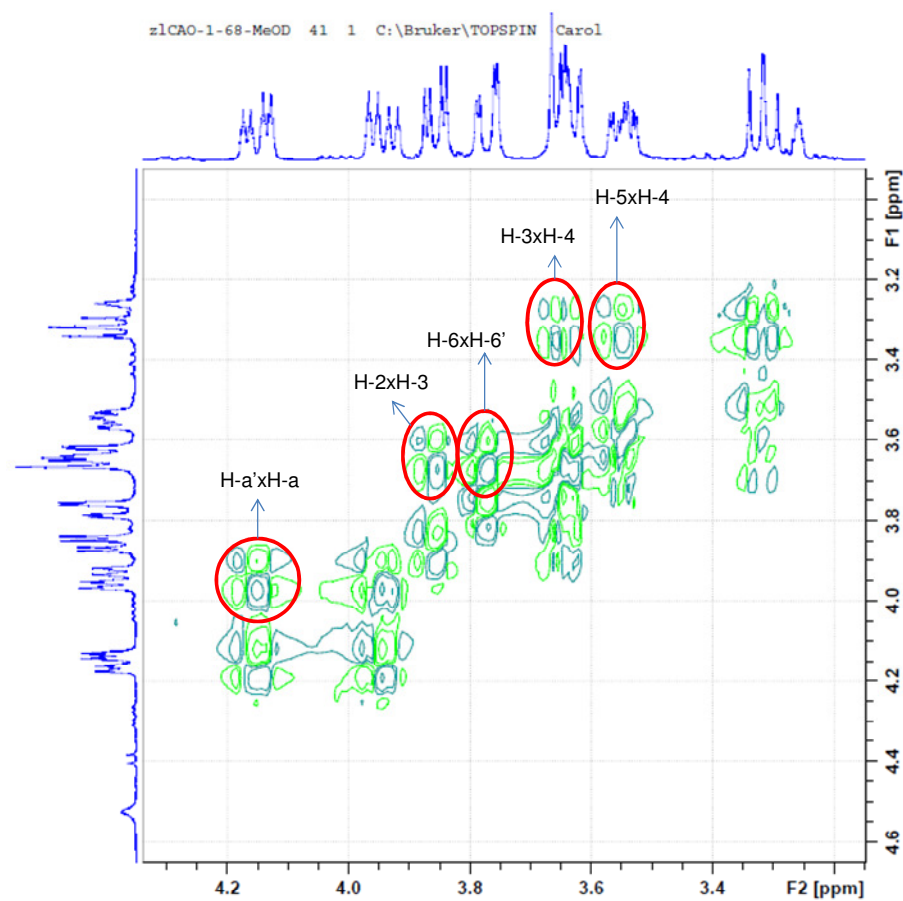
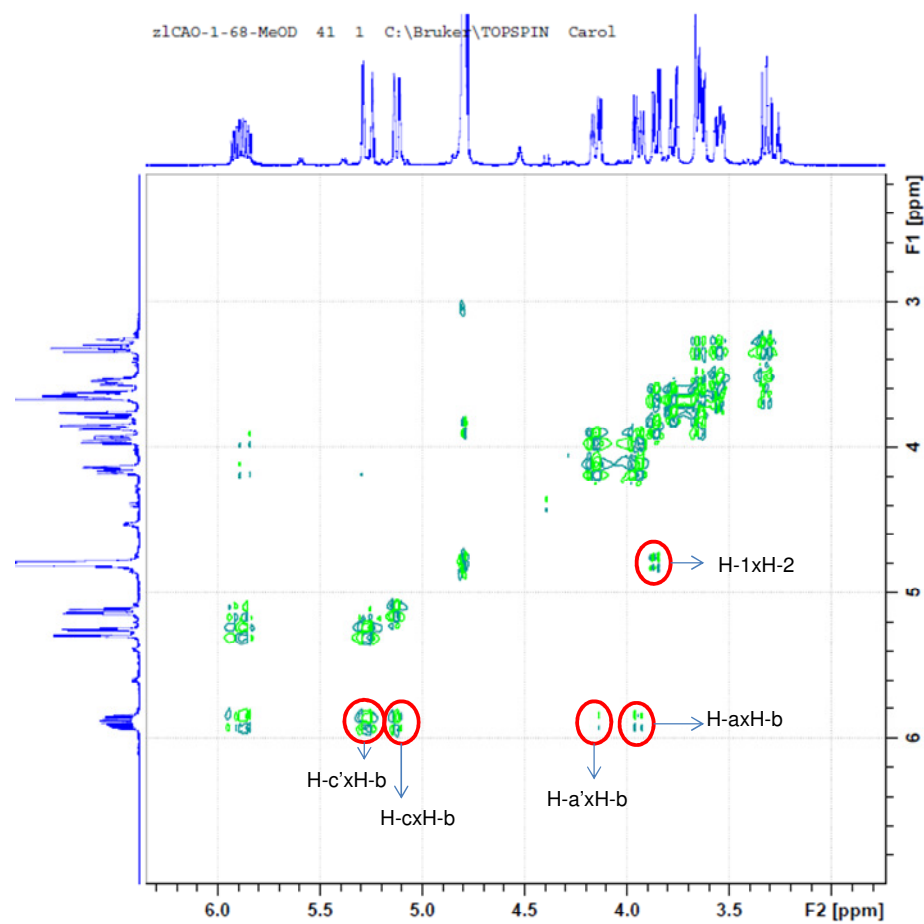


Figura A.3 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 5.

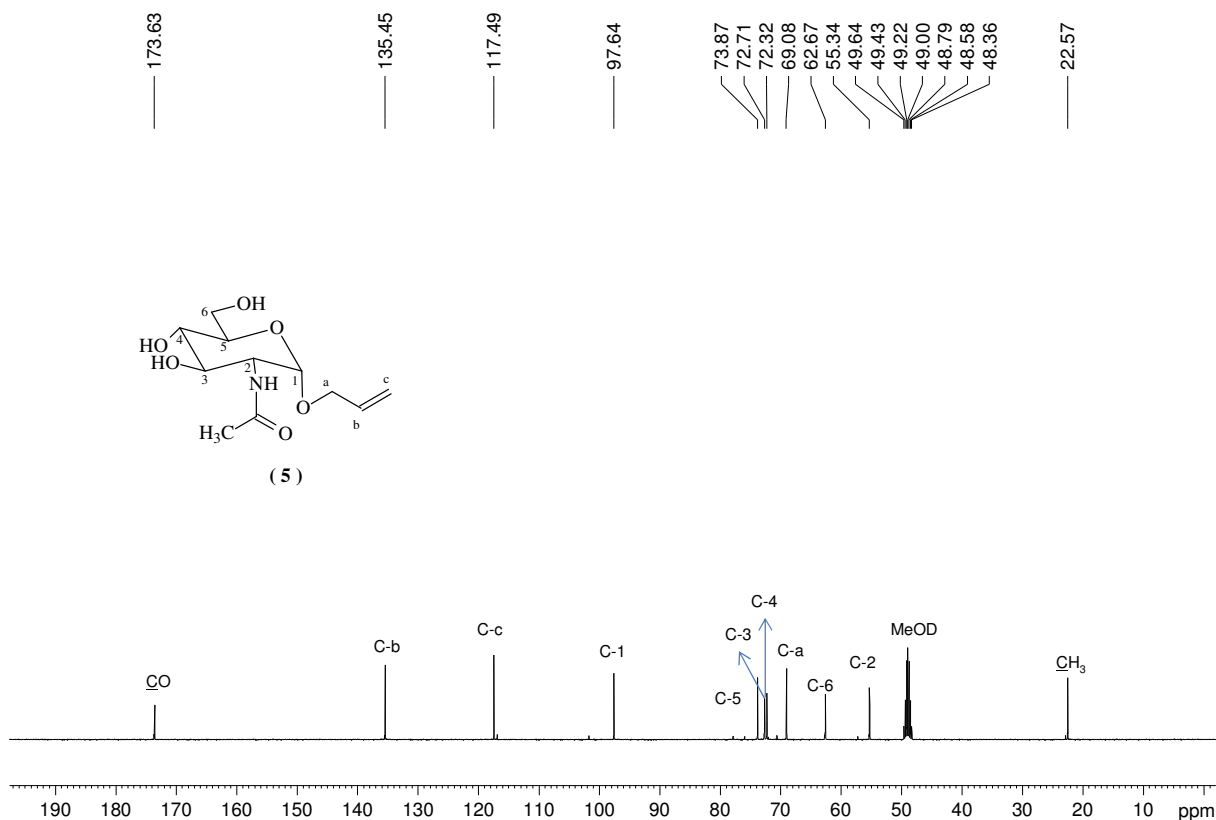


Figura A.4 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CD_3OD) de 5.

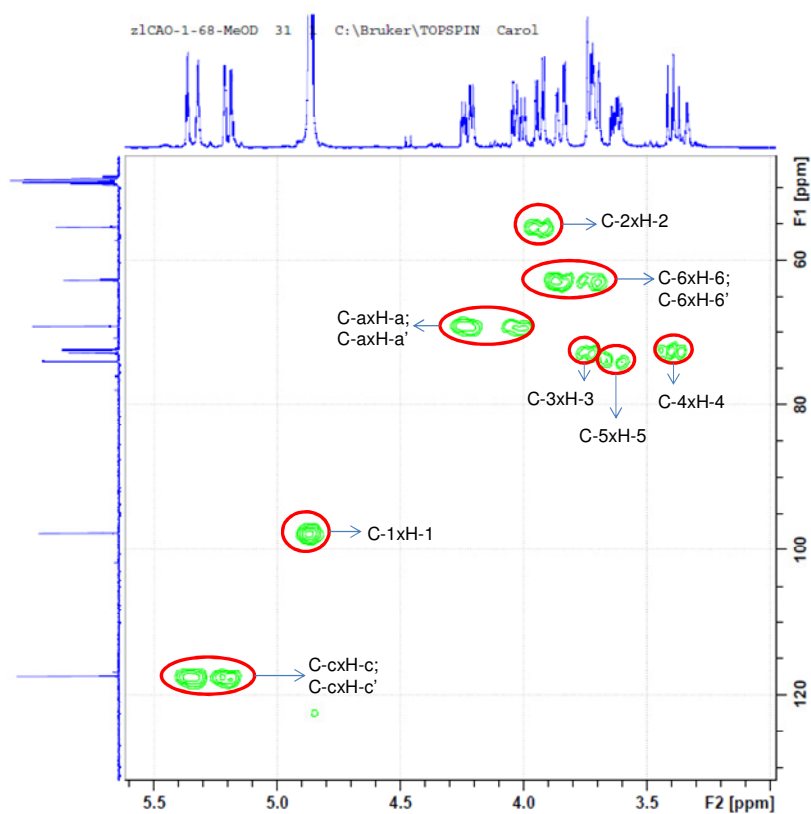


Figura A.5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 6.

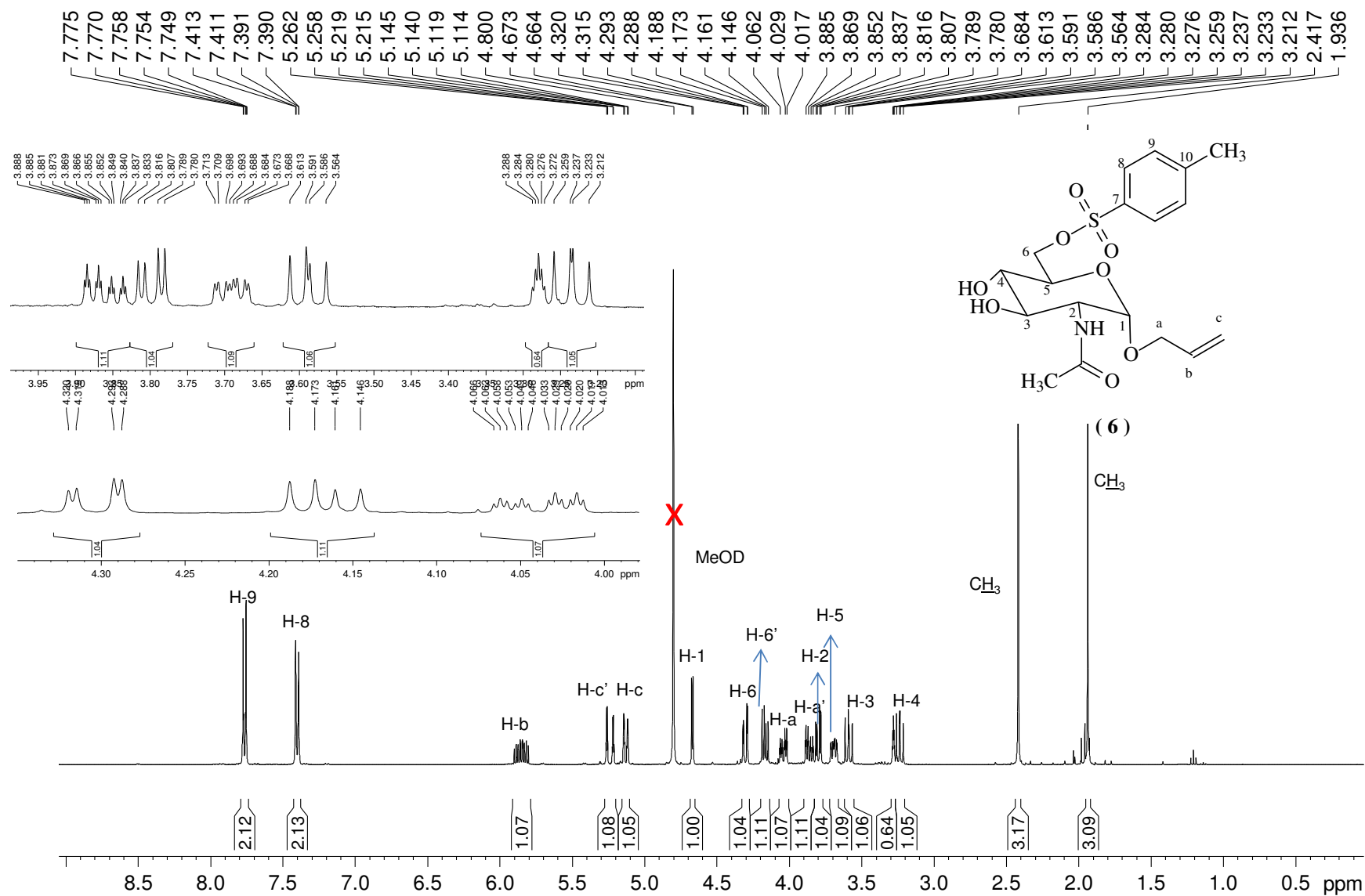


Figura A.6 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD₃OD) de 6.

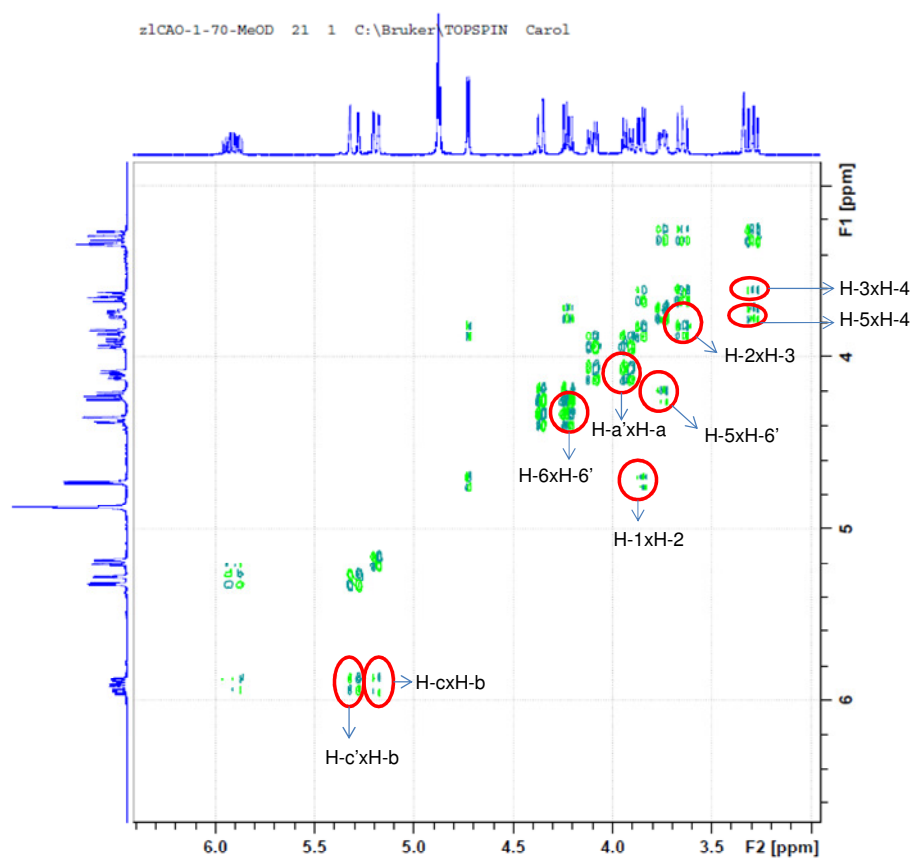


Figura A.7 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de 6.

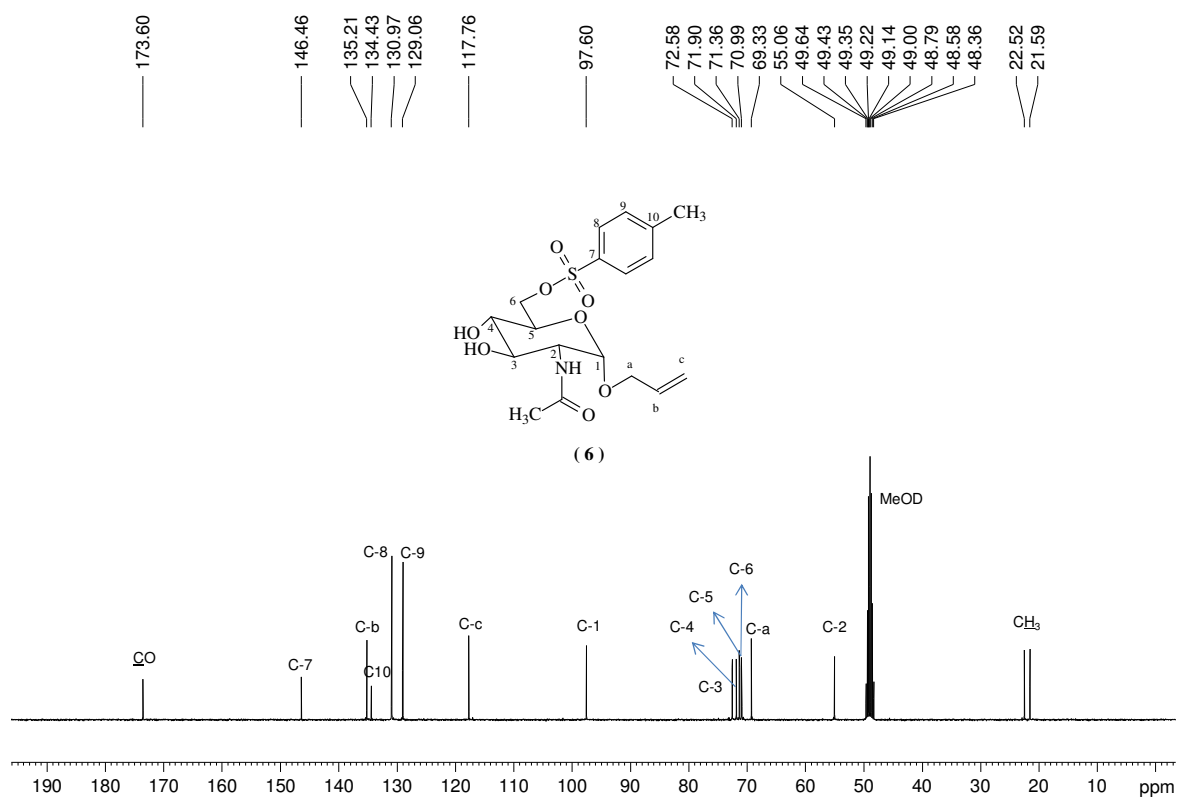


Figura A.8 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 7.

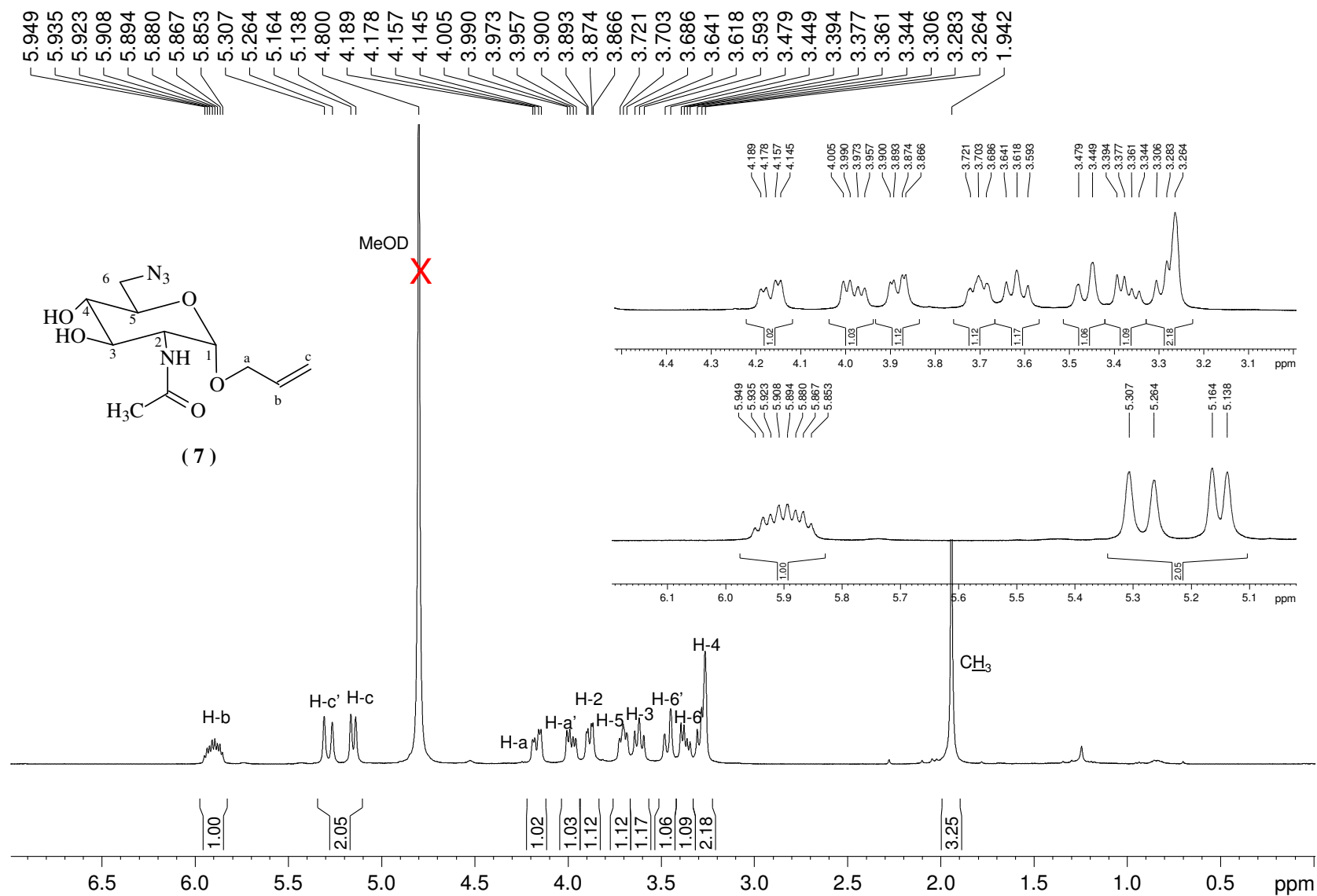


Figura A.9 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 7.

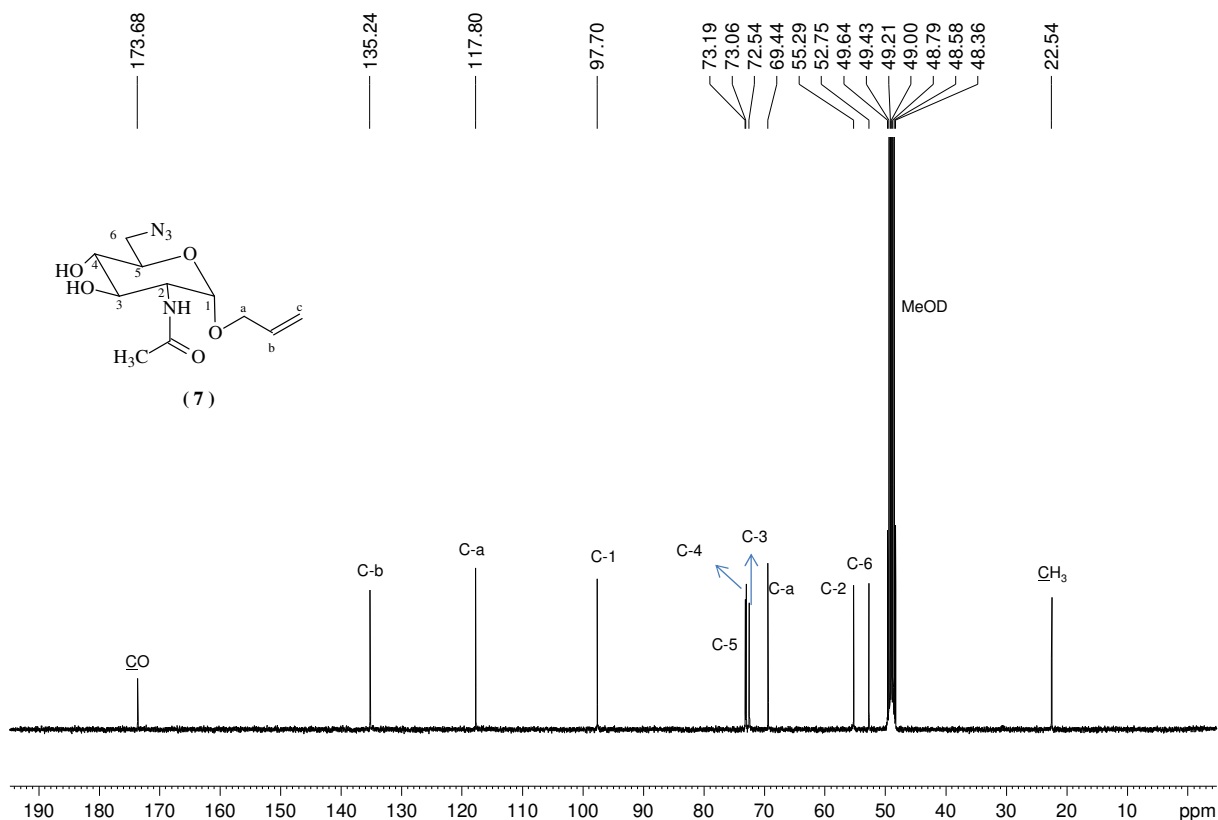


Figura A.10 – Espectro no IV de 7.

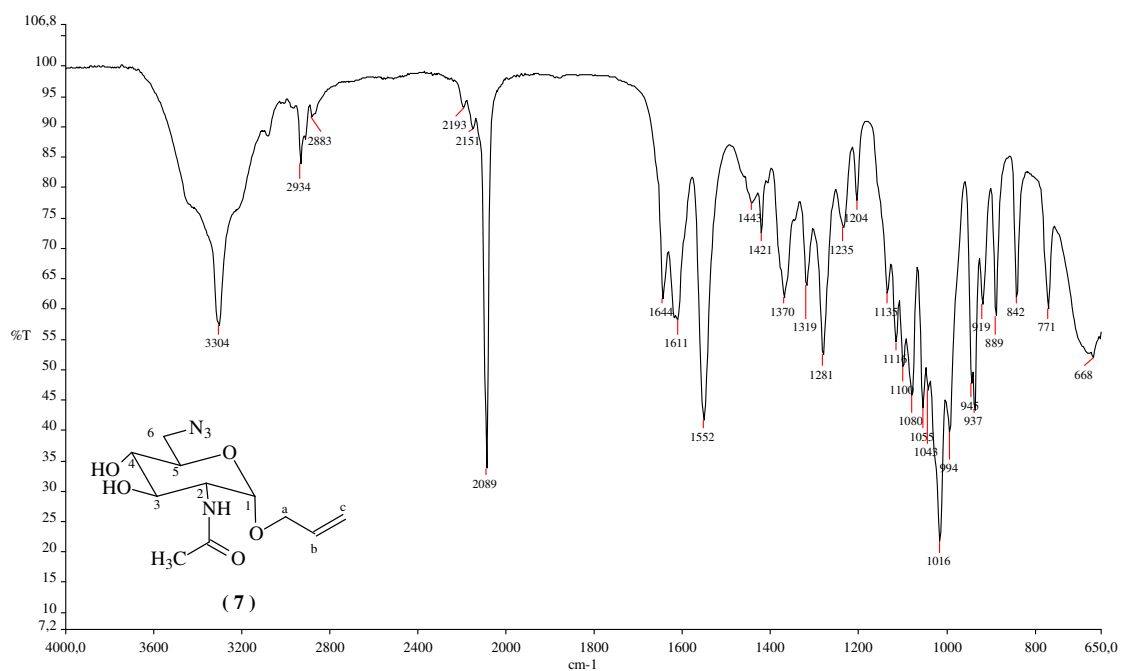


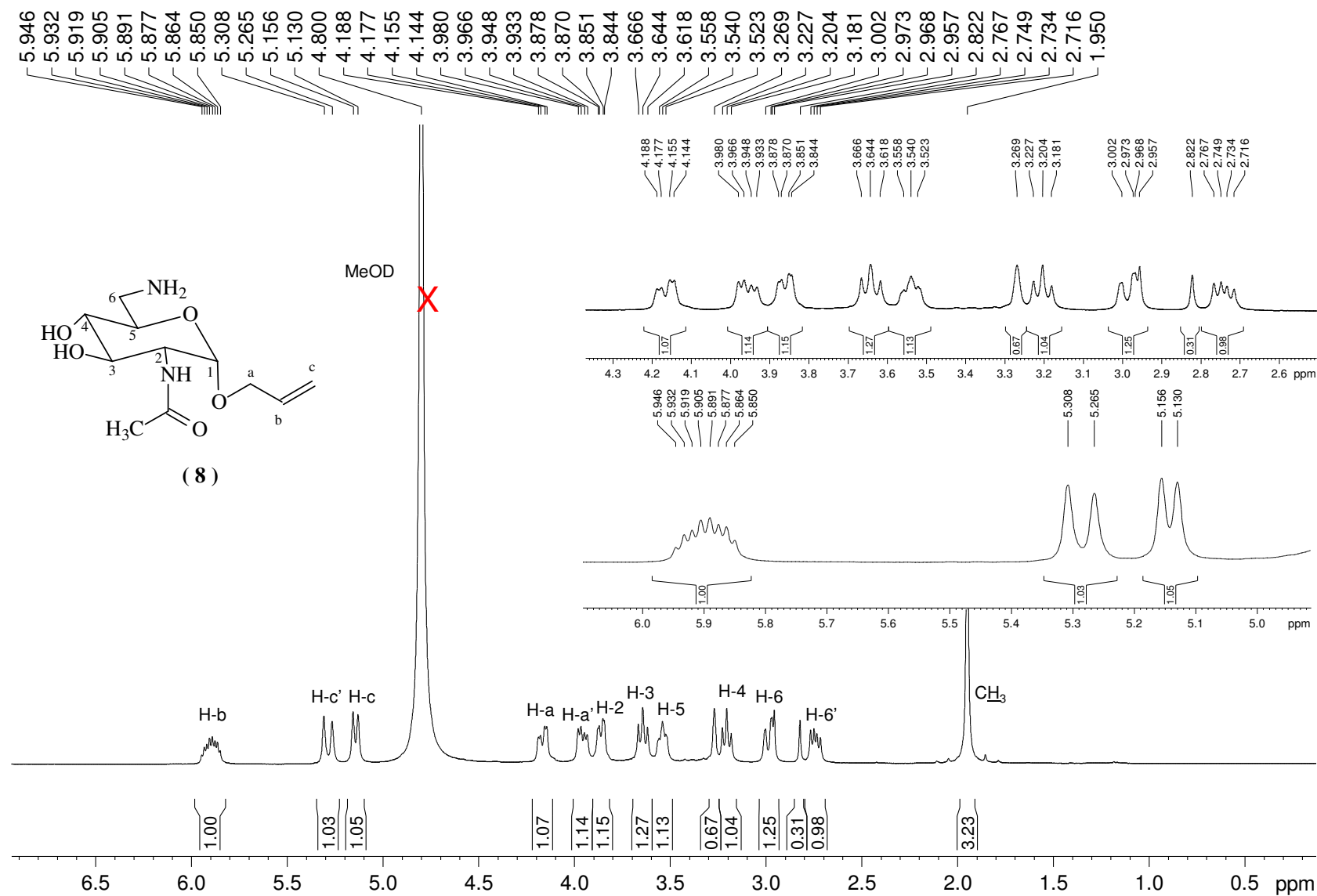
Figura A.11 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 8.

Figura A.12 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 8.

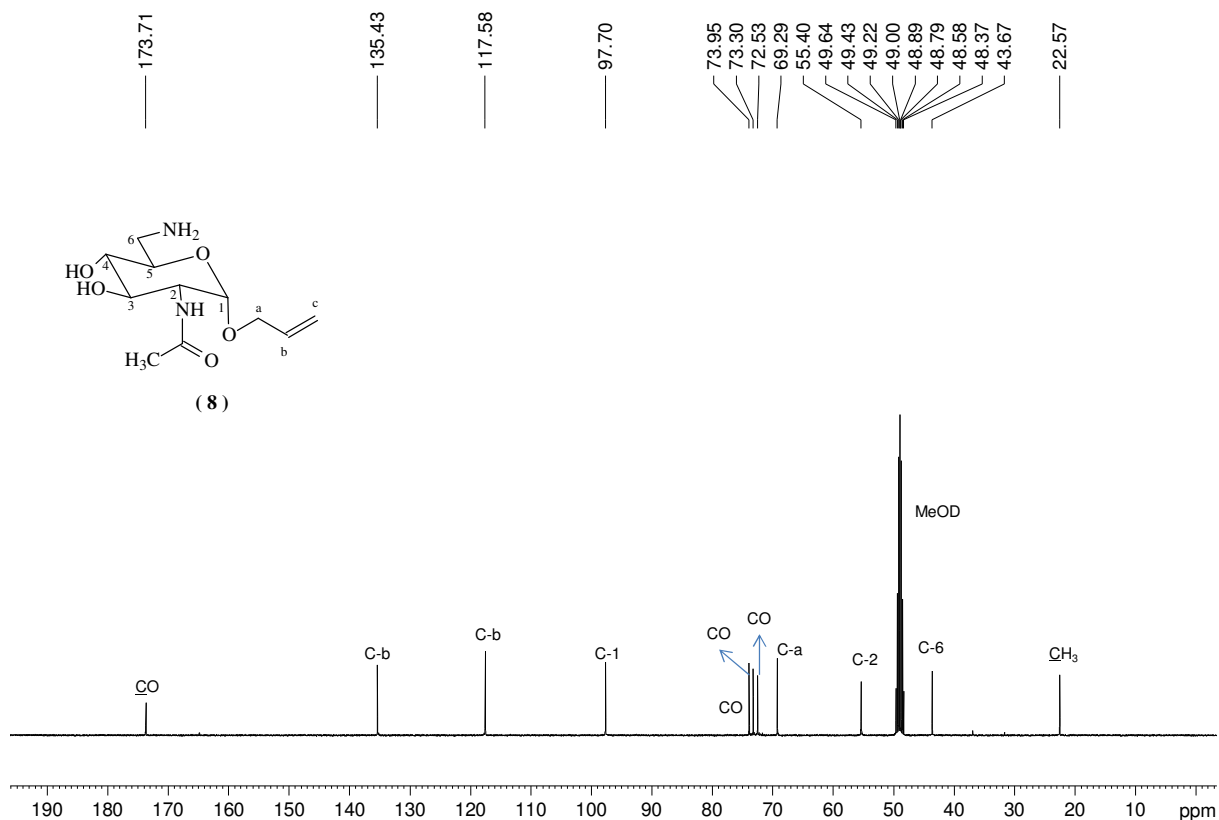


Figura A.13 – Espectro de Massas de 8.

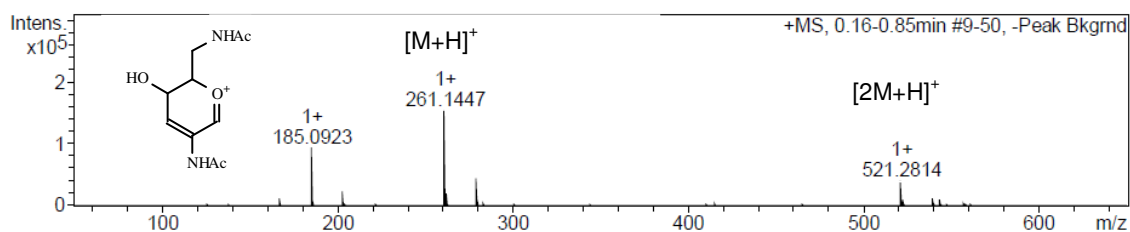


Figura A.14 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 9.

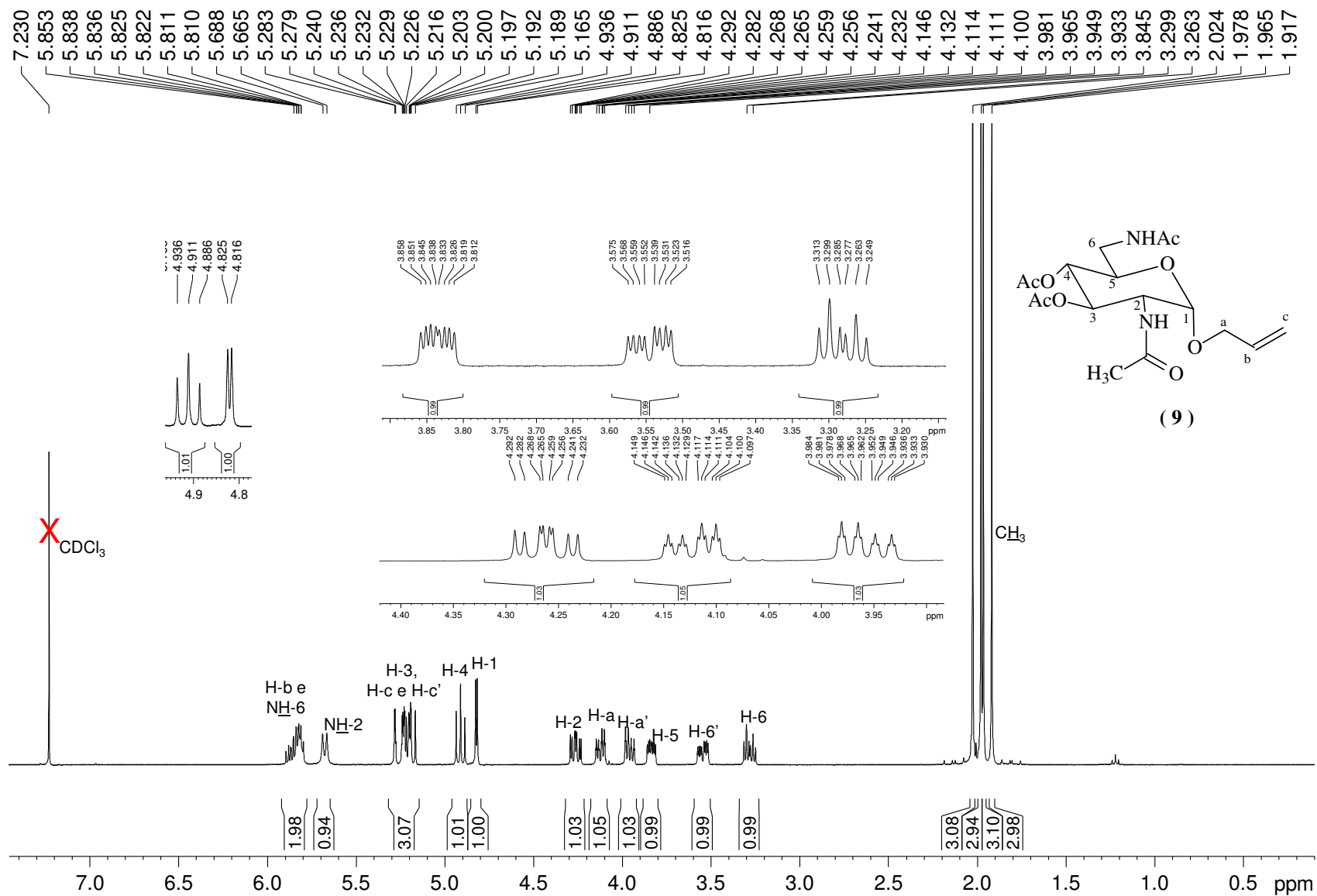


Figura A.15 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) 9.

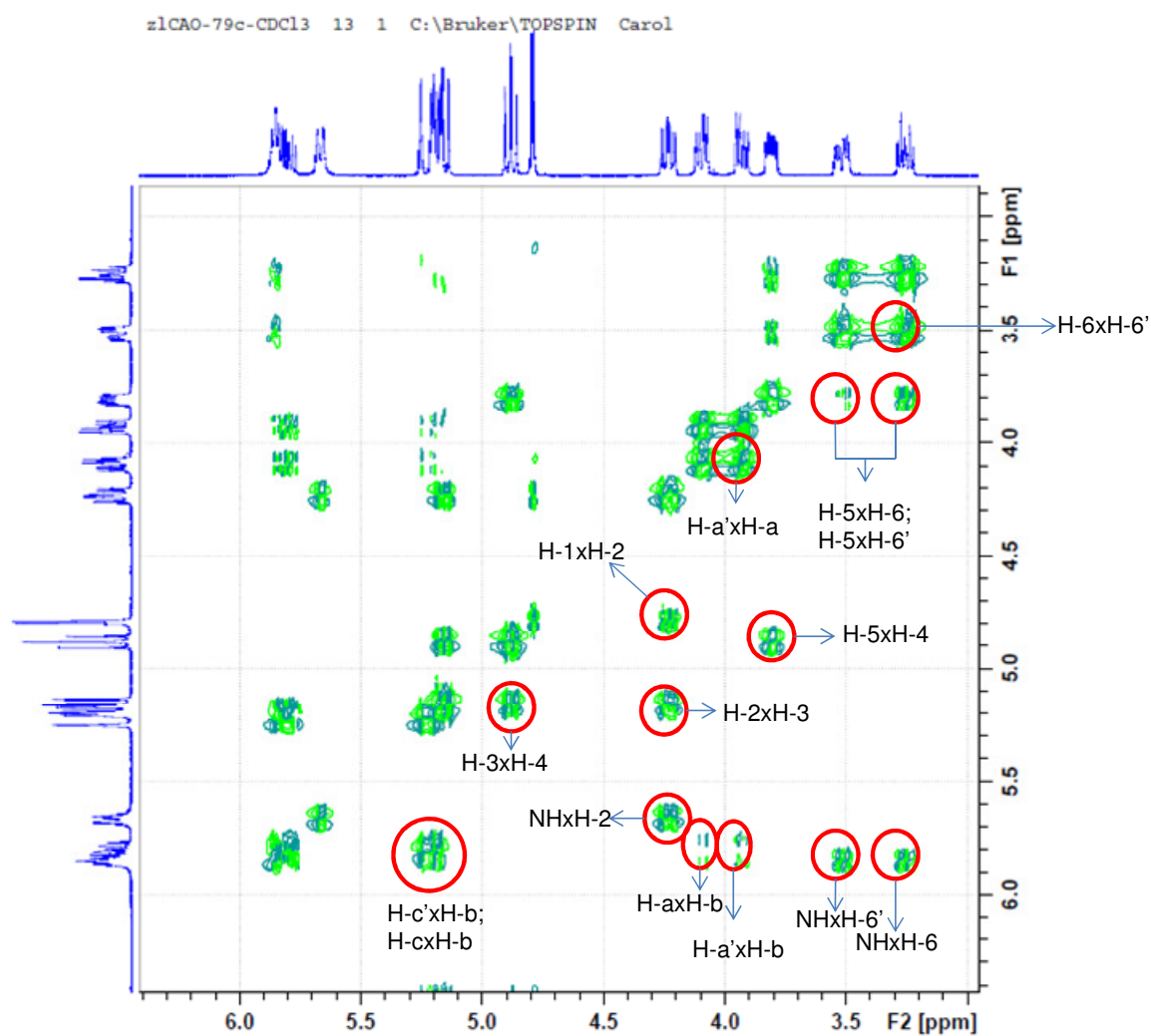


Figura A.16 – Espectro no Infravermelho de 9

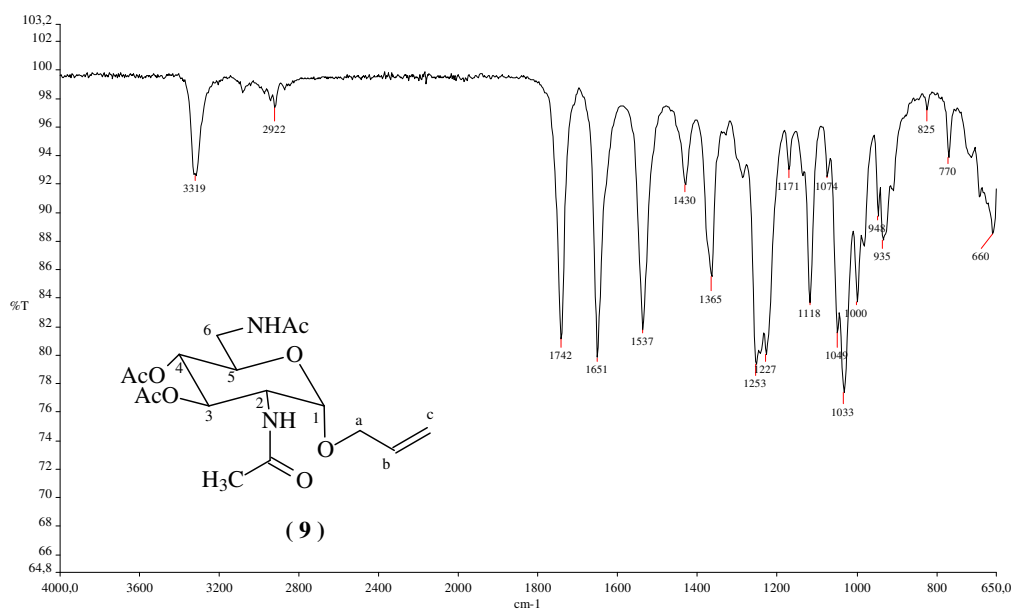


Figura A.17 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) 9.

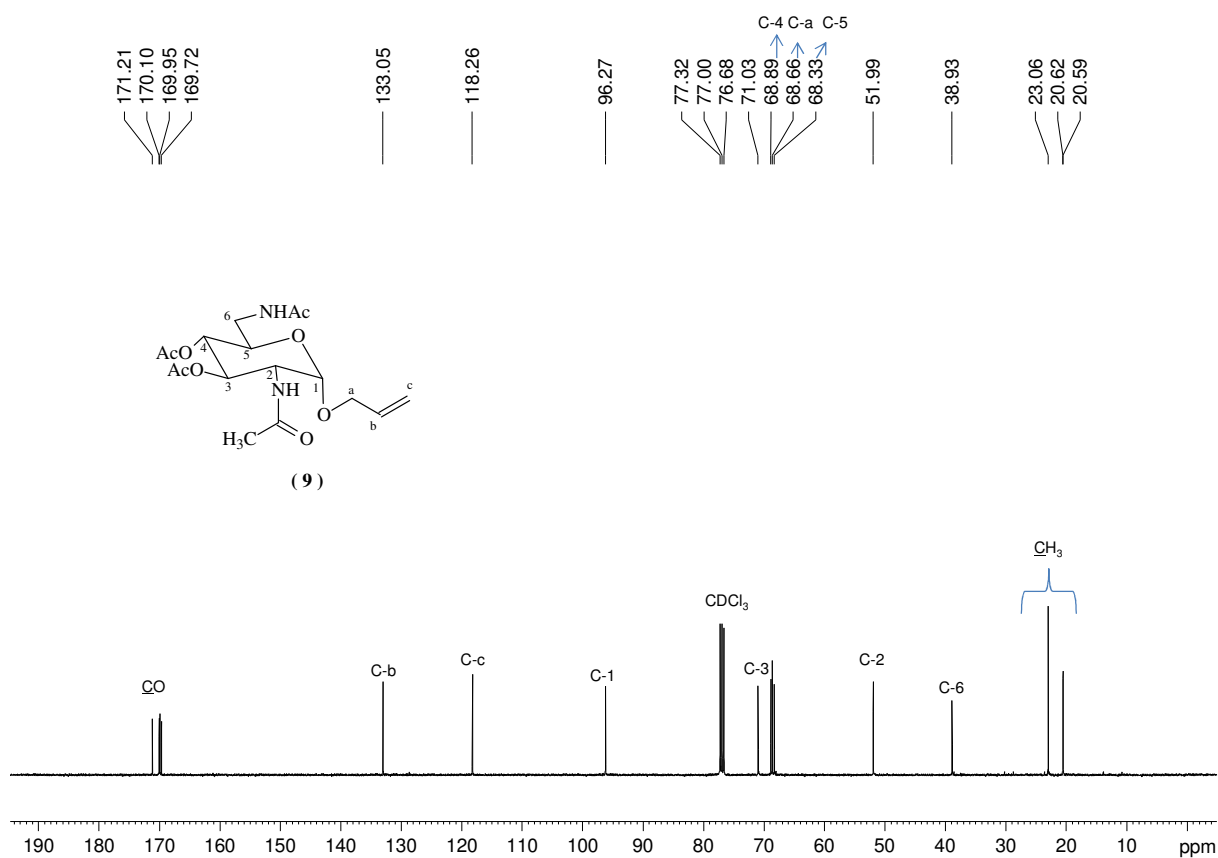


Figura A.18 – Espectro de Massas de 9.

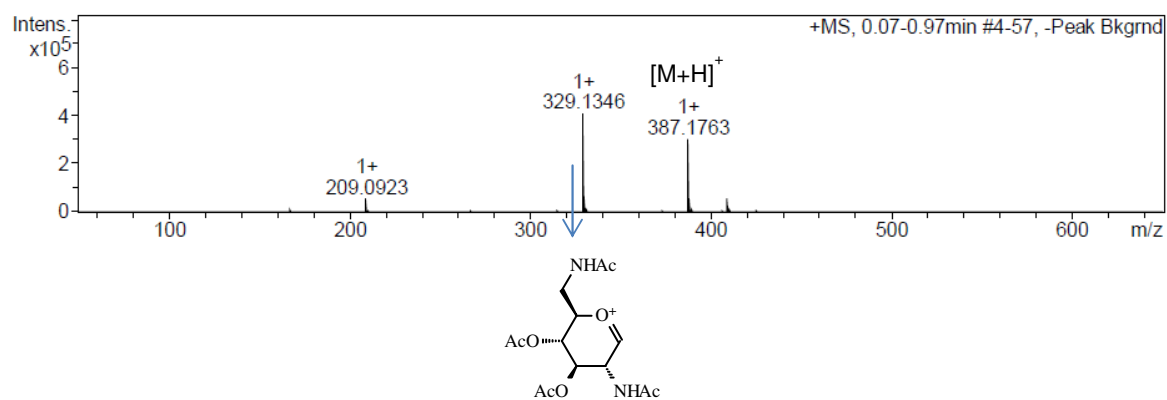


Figura A.19 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 10.

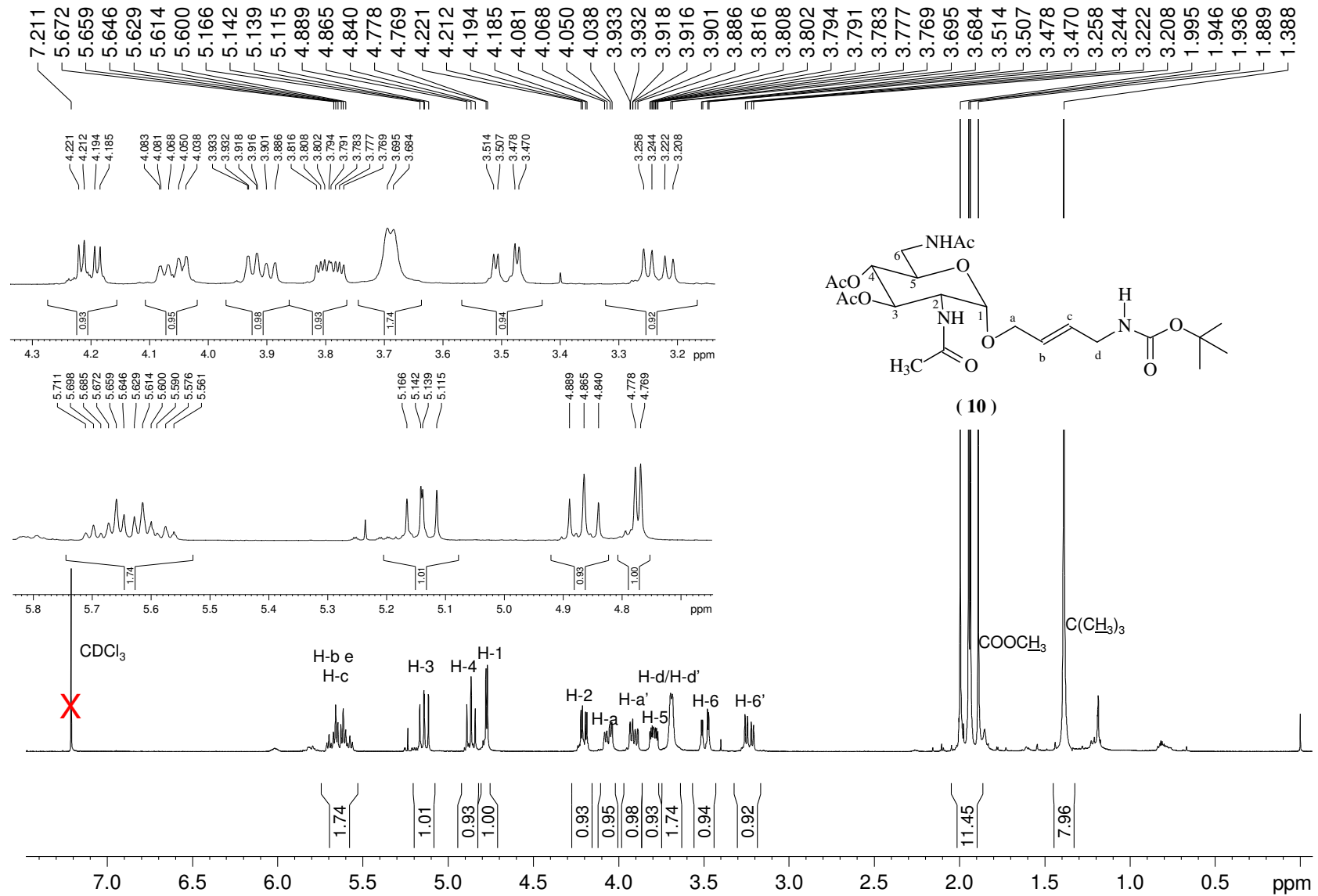


Figura A.20 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) de 10.

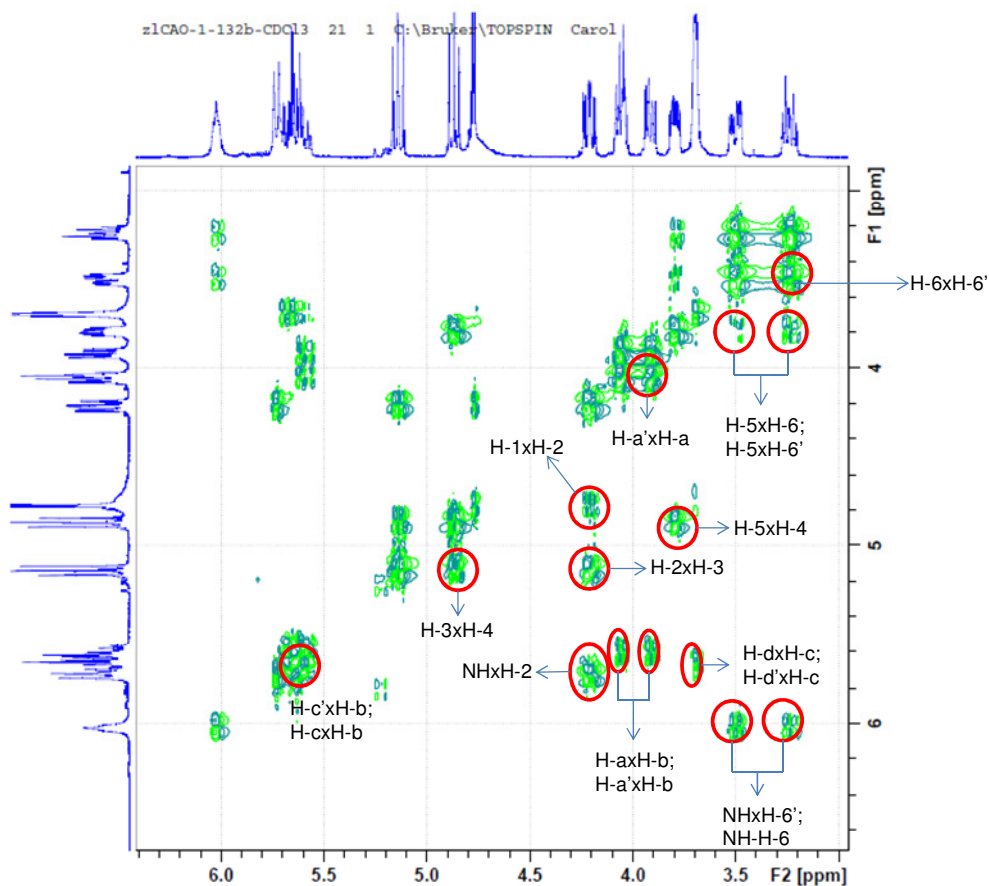


Figura A.21 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) 10.

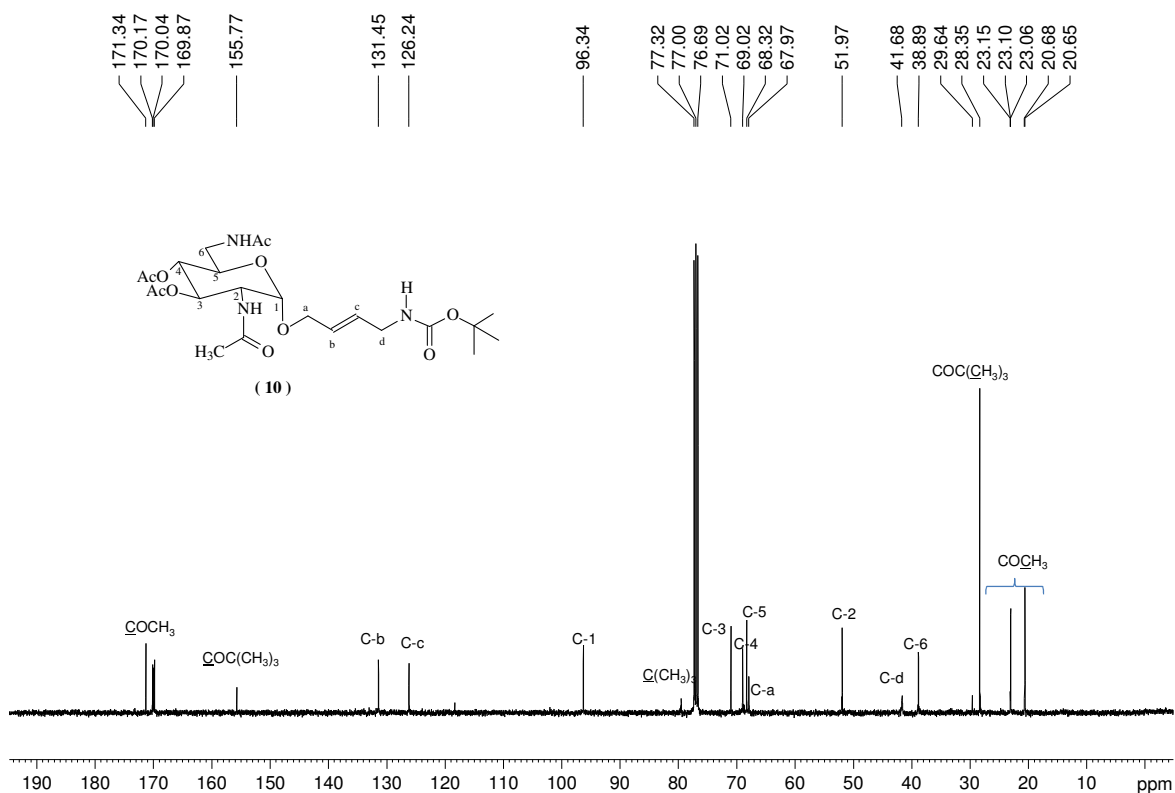


Figura A.22 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) de 10.

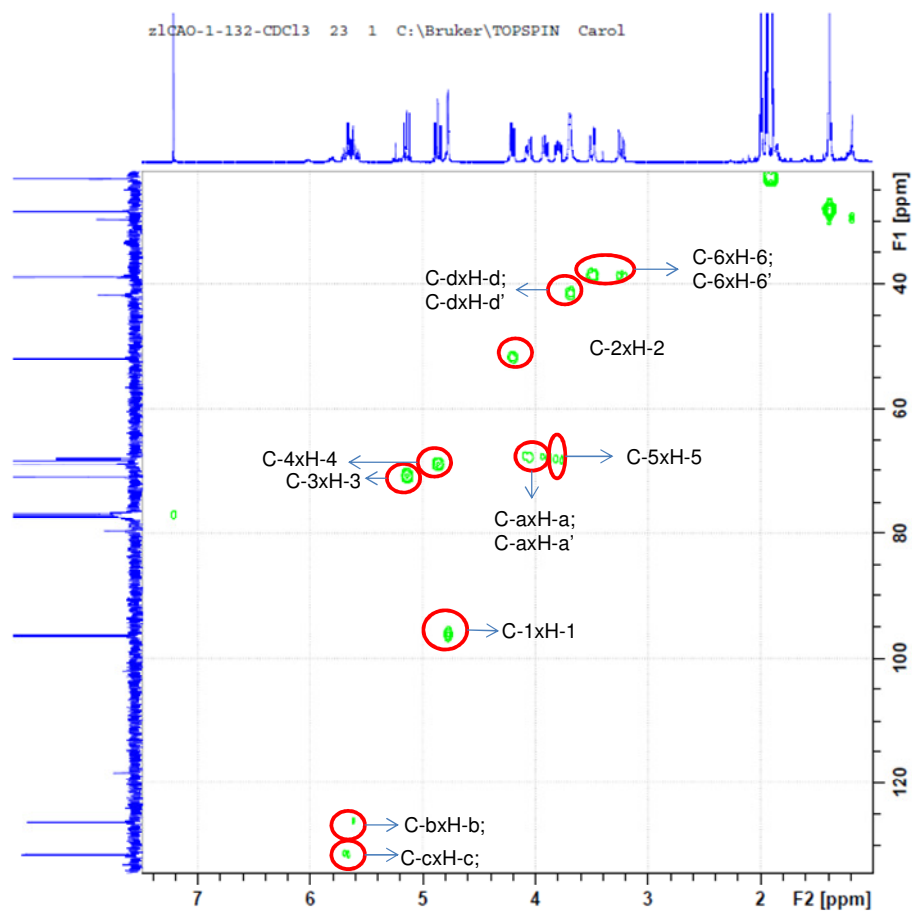


Figura A.23 – Espectro de Massas de 10.

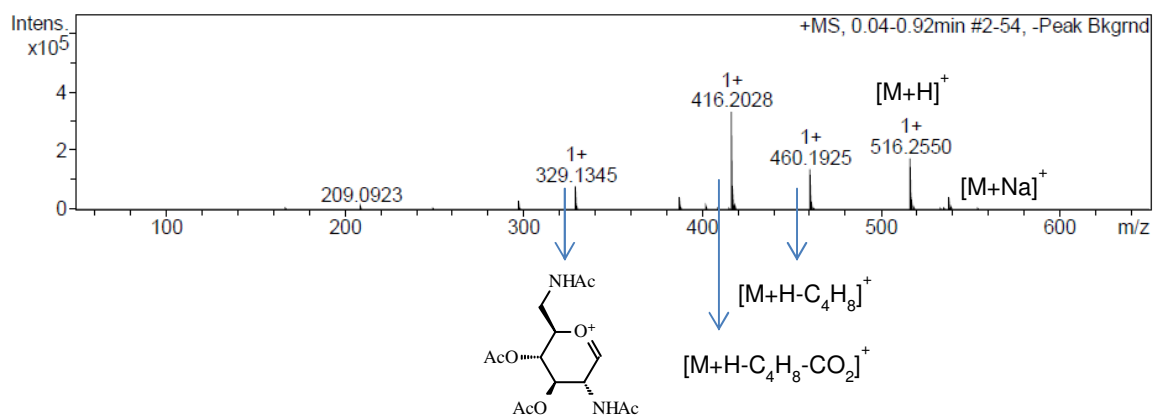


Figura A.24 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 13.1.

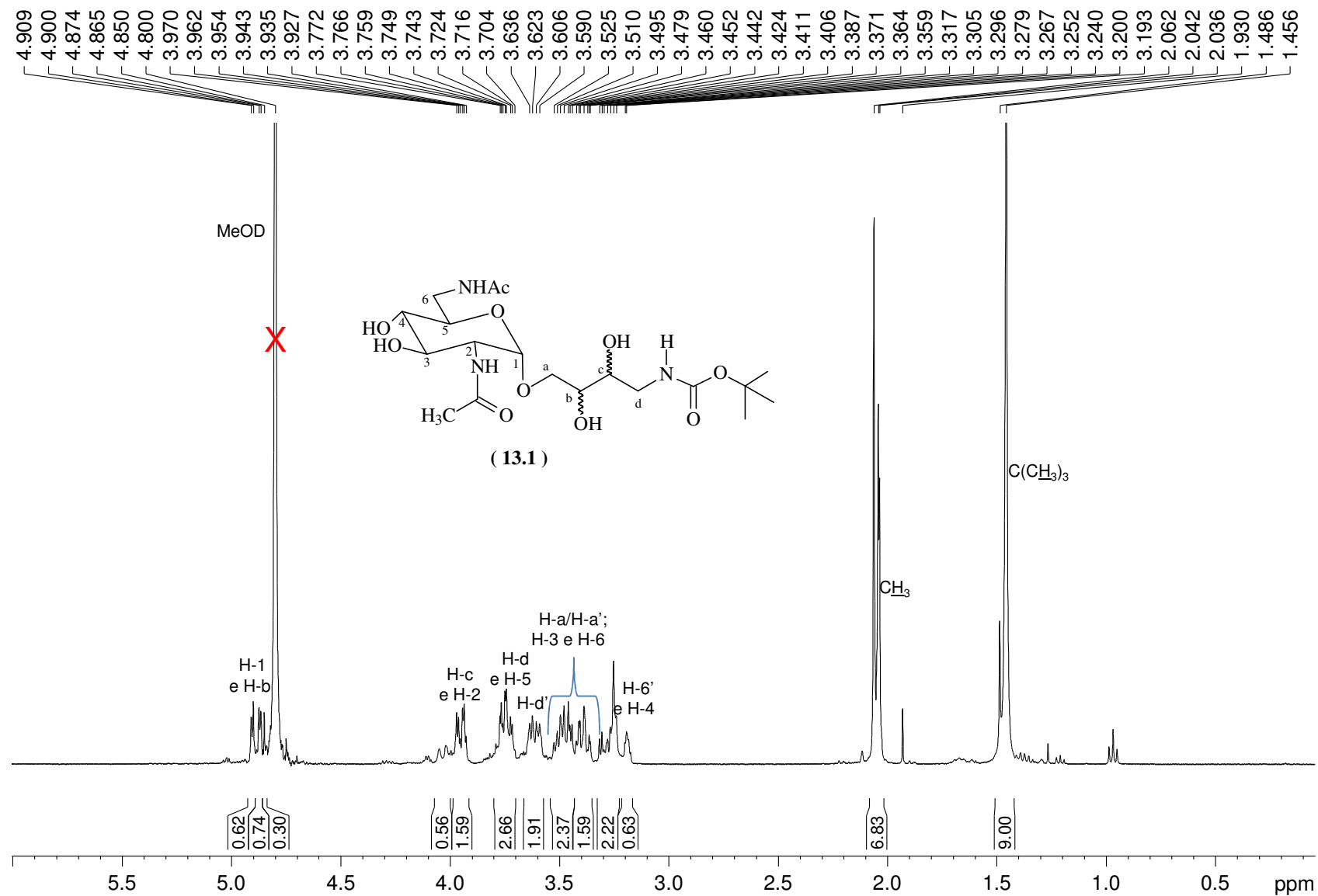


Figura A.25 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 13.1.

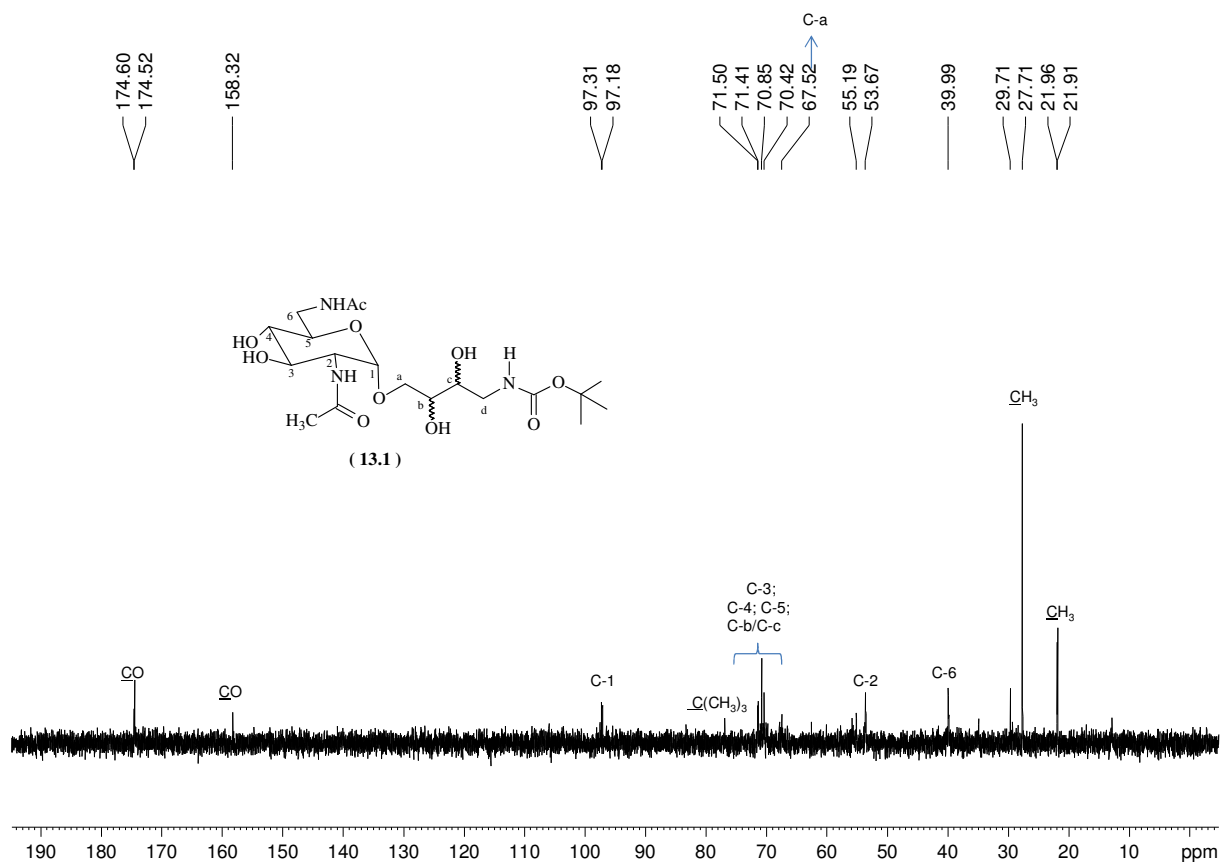


Figura A.26 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 13.1.

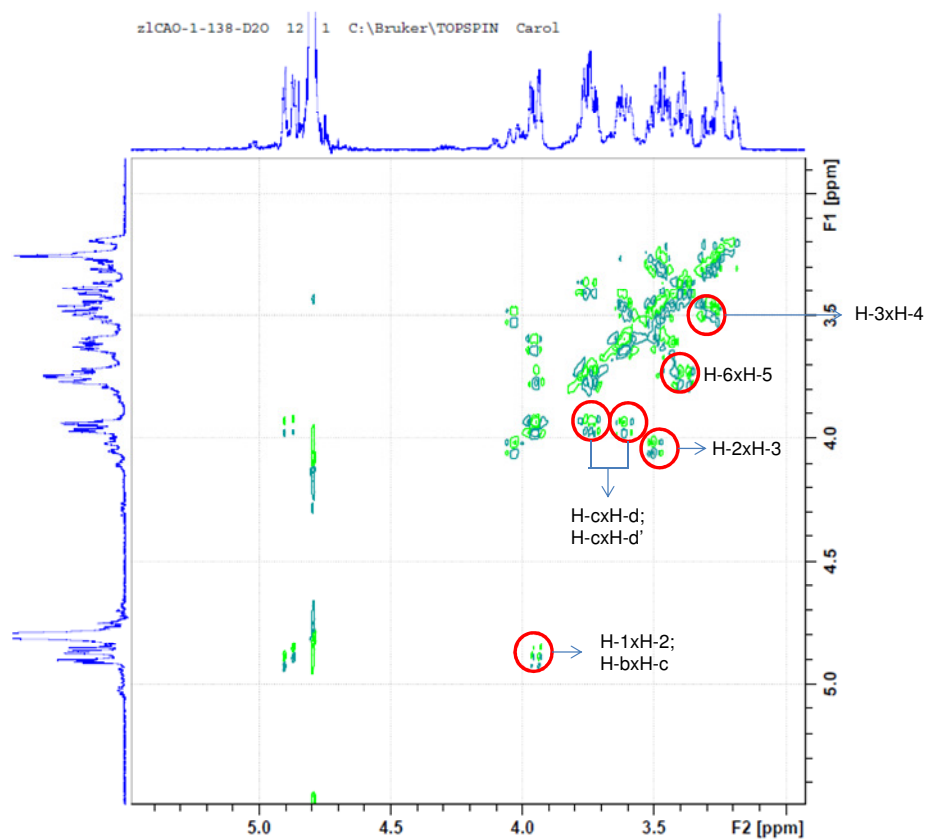


Figura A.27 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 13.2.

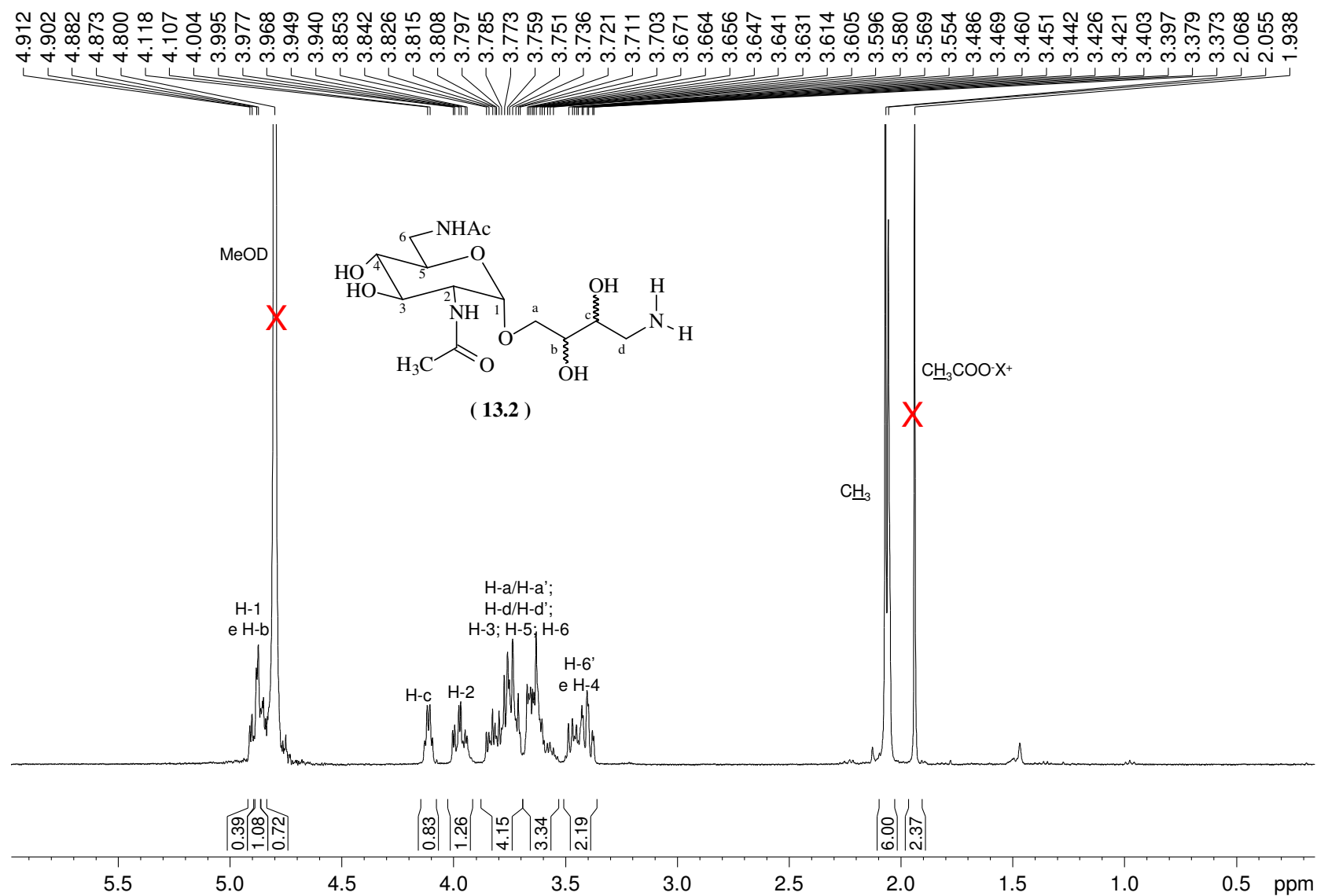


Figura A.28 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 13.2.

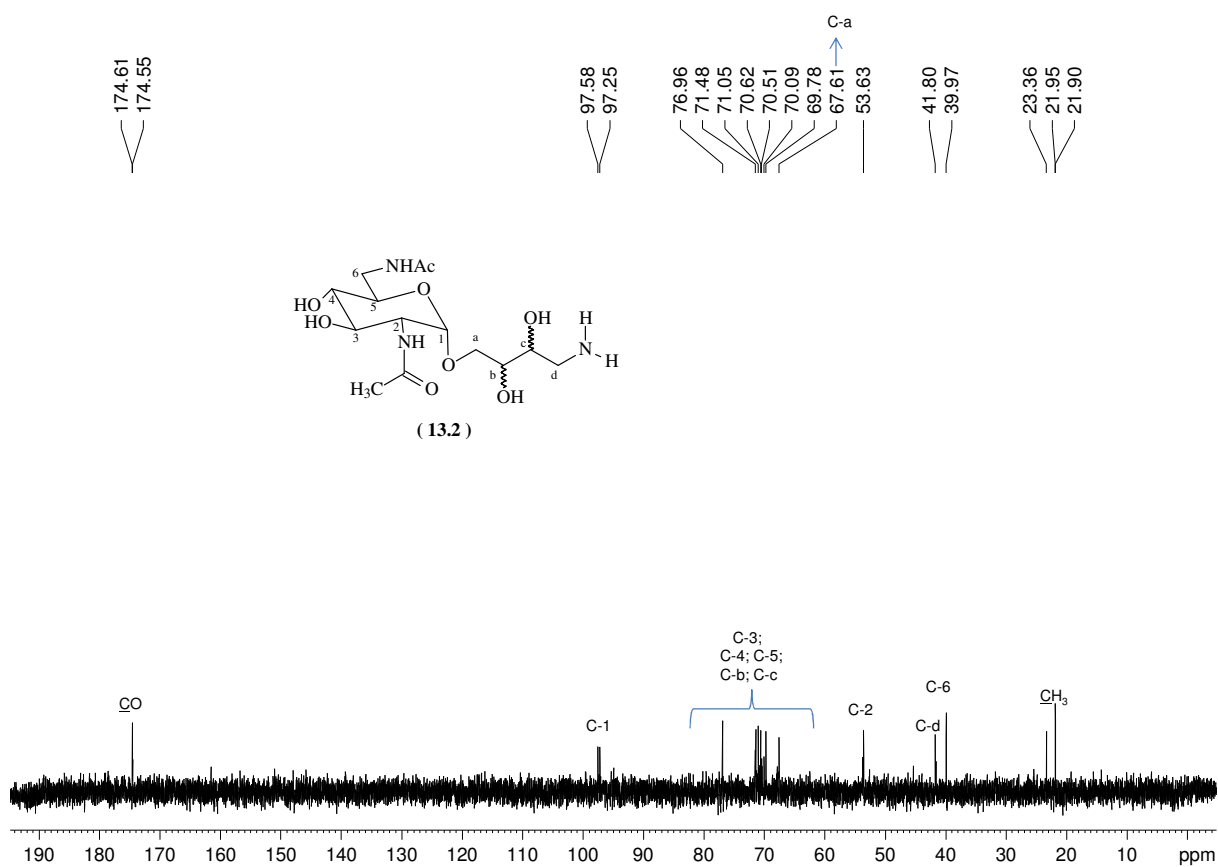


Figura A.29 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CD_3OD) de 13.2.

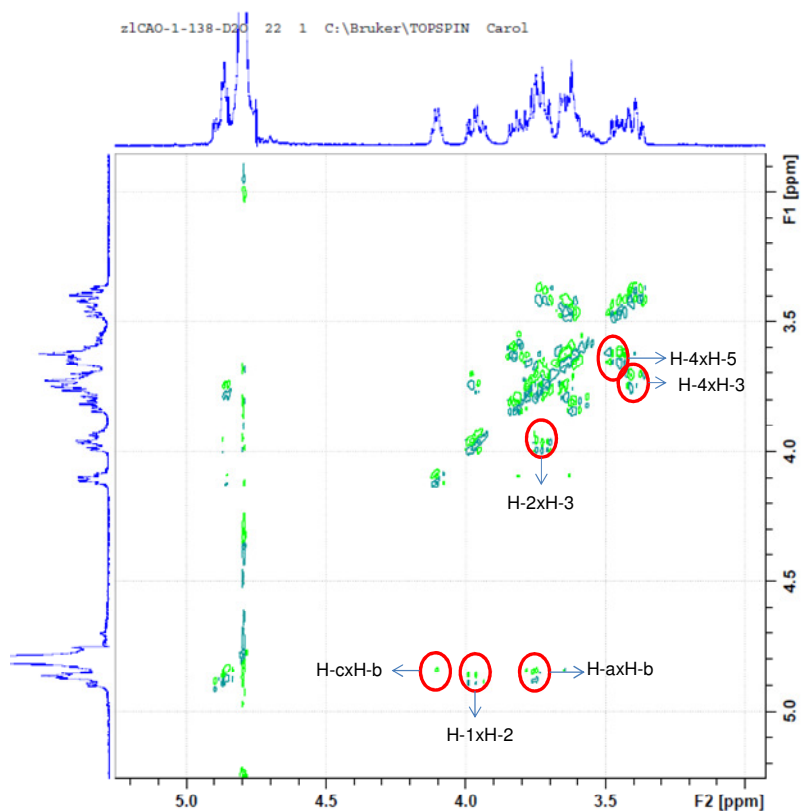


Figura A.30 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 11.

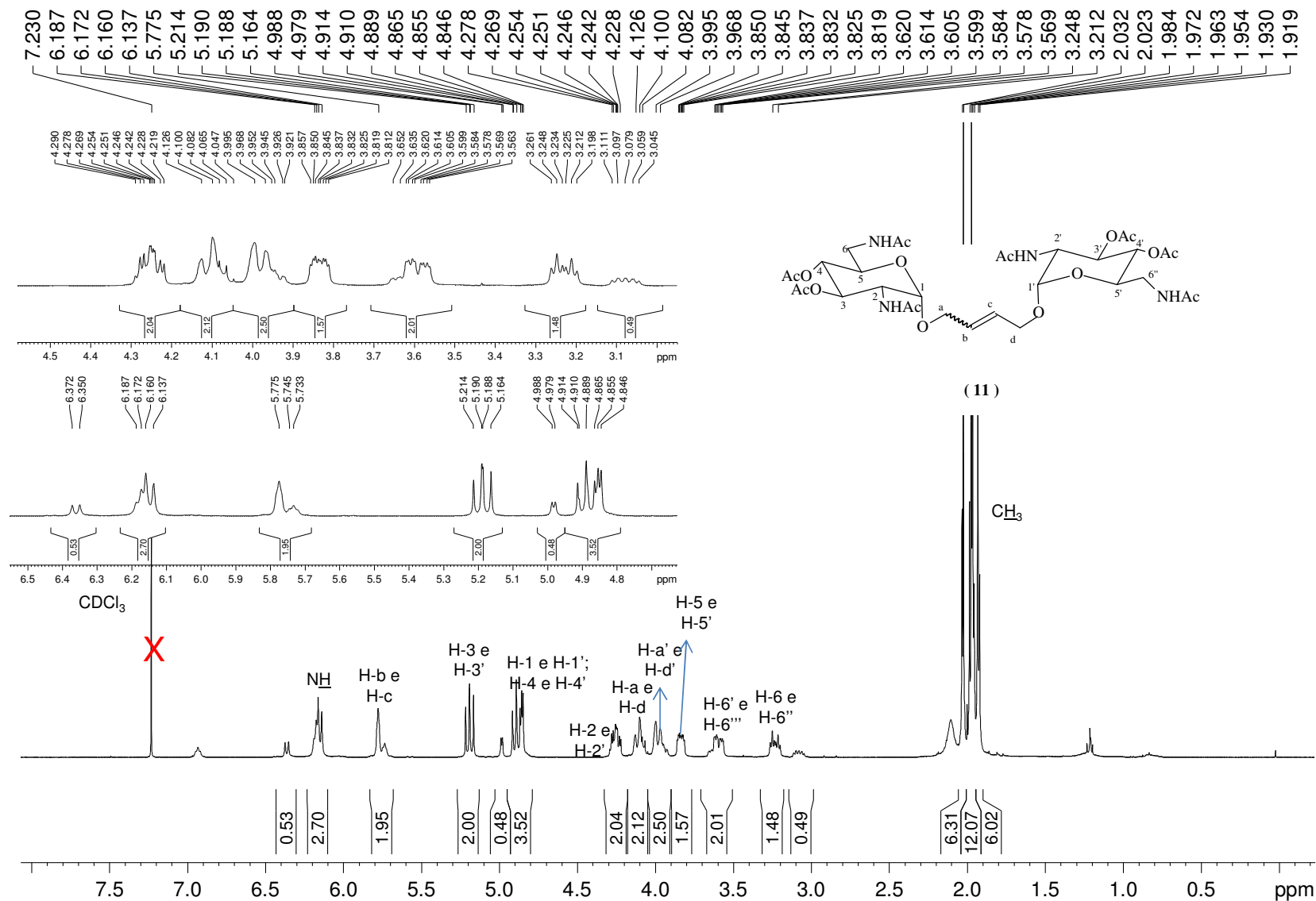


Figura A.31 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) de 11.

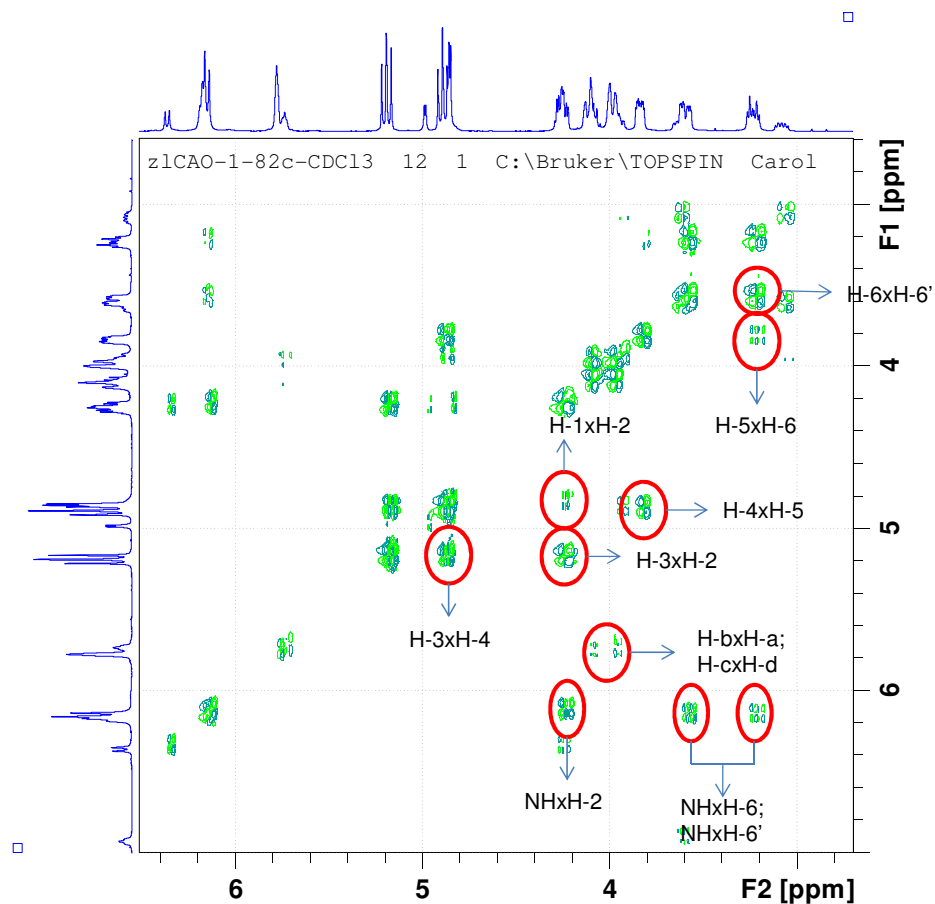


Figura A.32 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) 11.

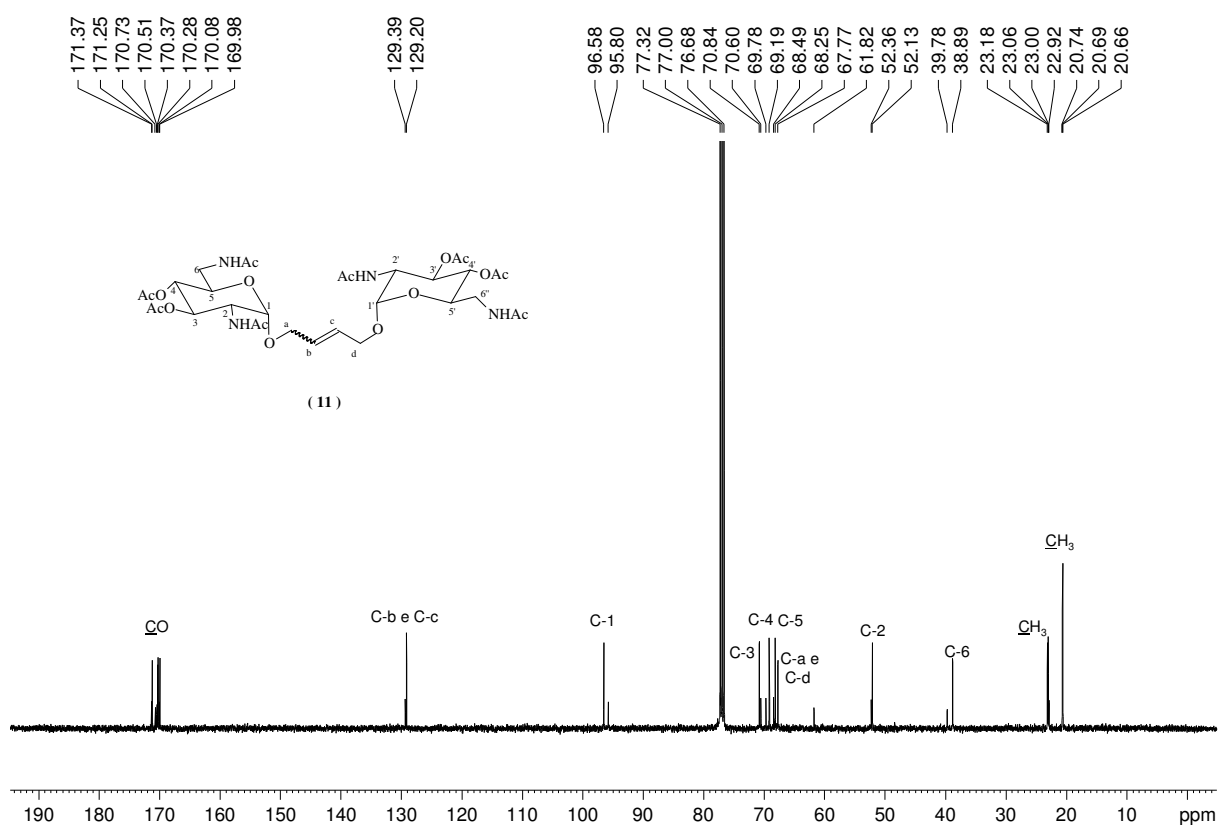


Figura A.33 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl₃) de 11.

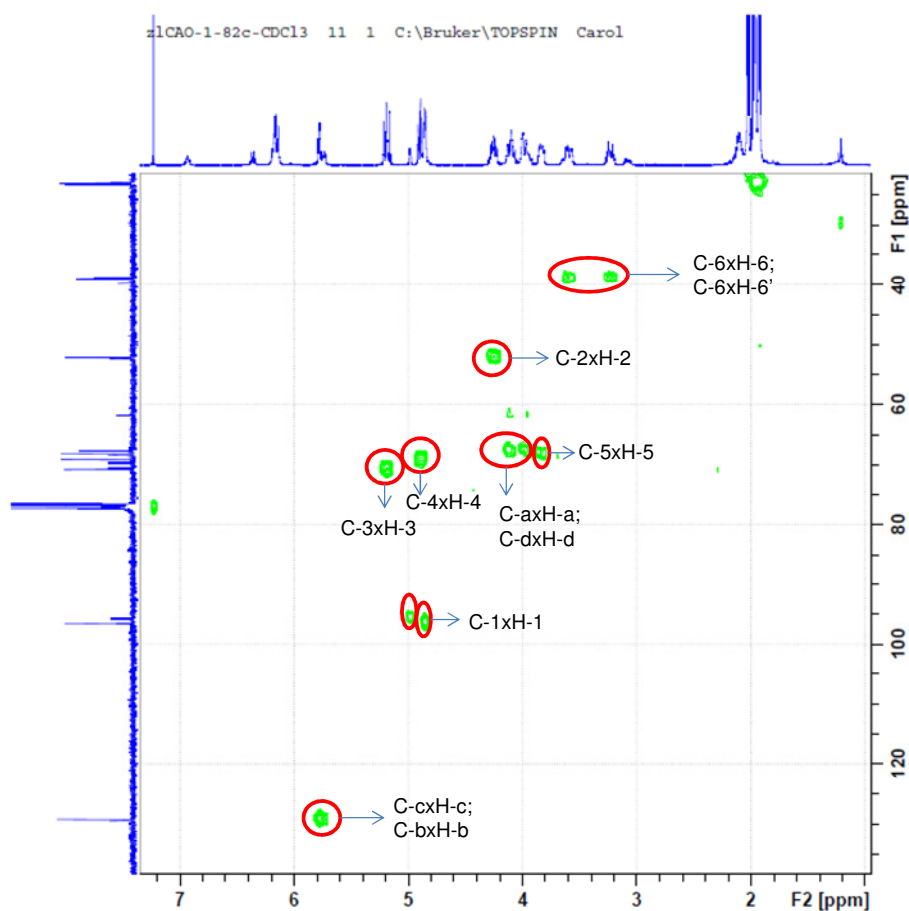


Figura A.34 – Espectro de Massas de 11.

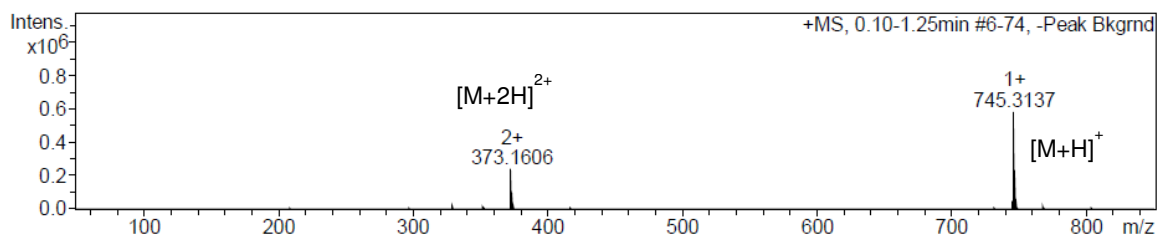


Figura A.35 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 14.

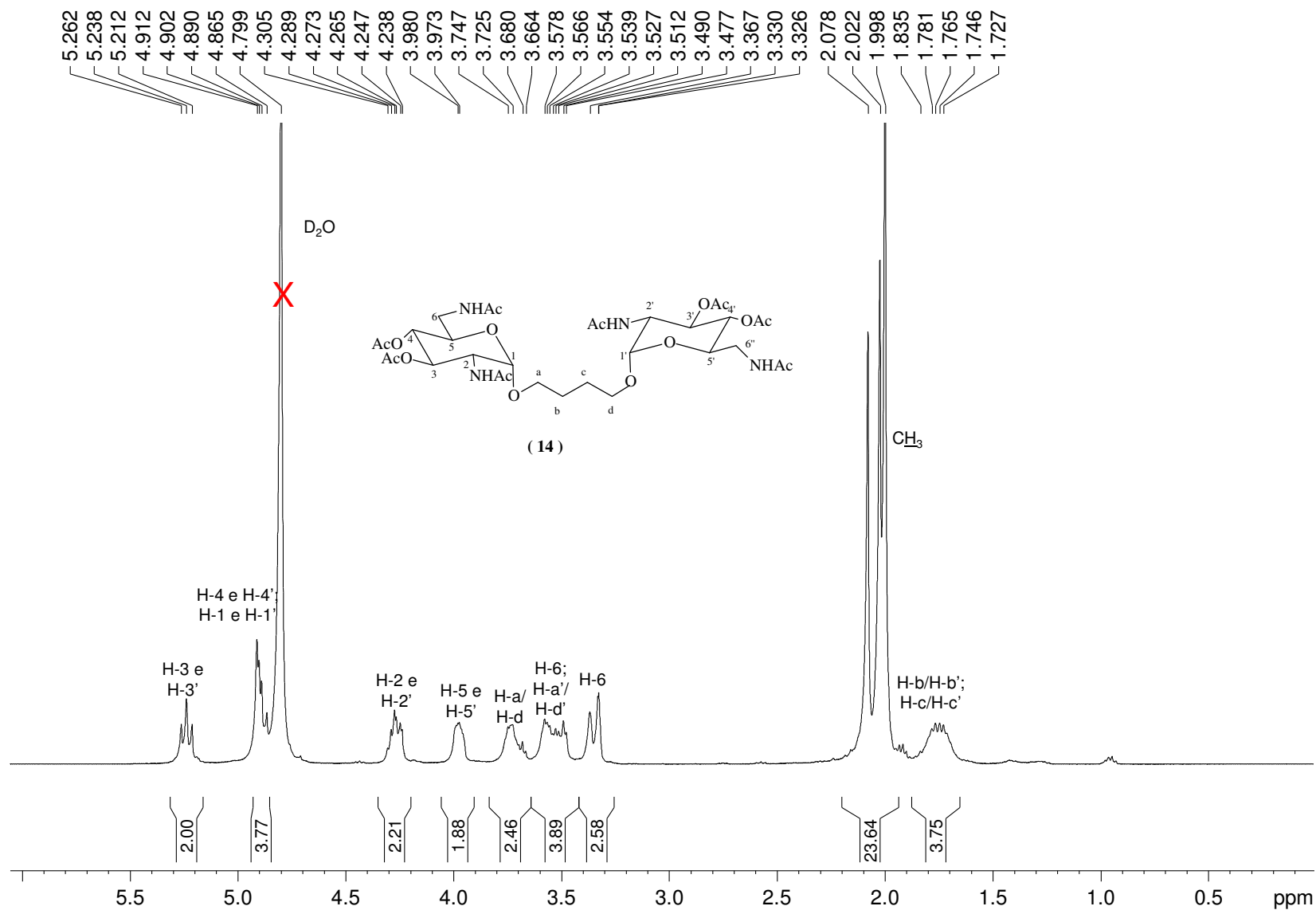


Figura A.36 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) 14.

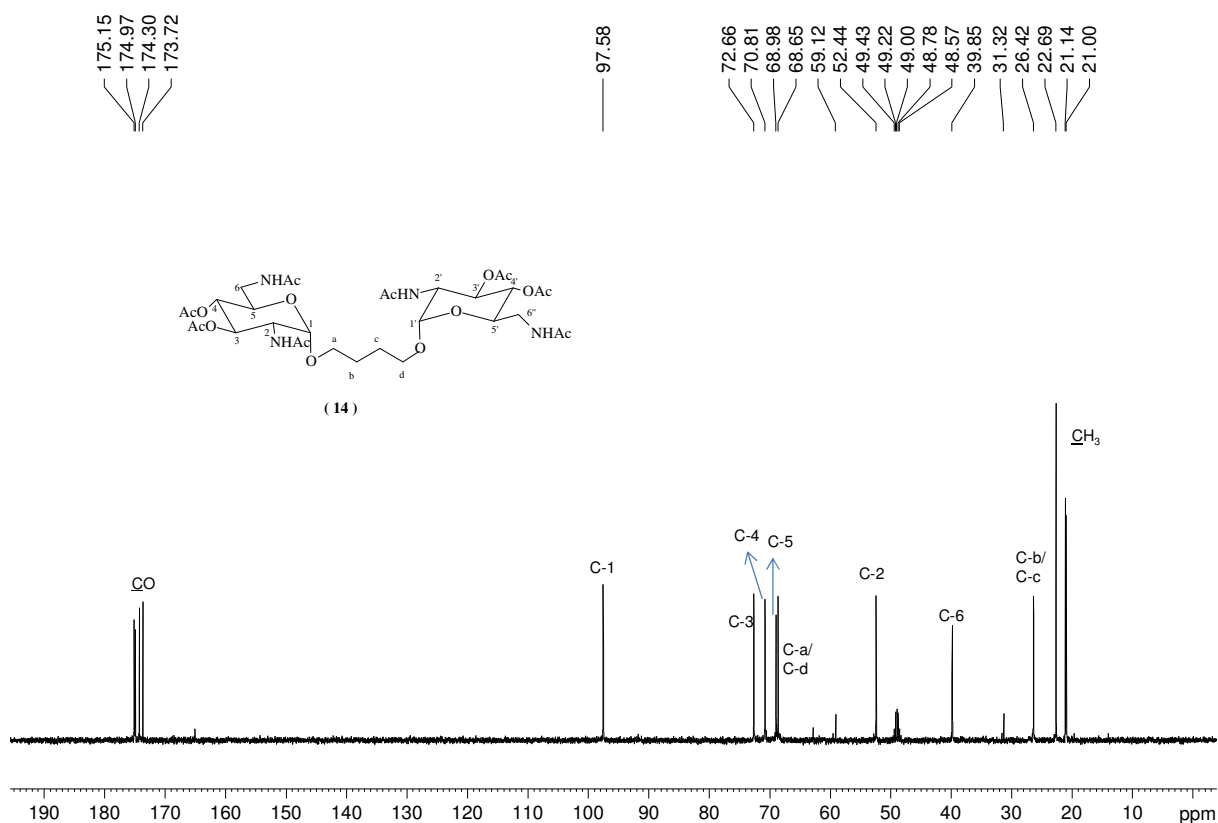


Figura A.37 – Espectro de Massas de 14.

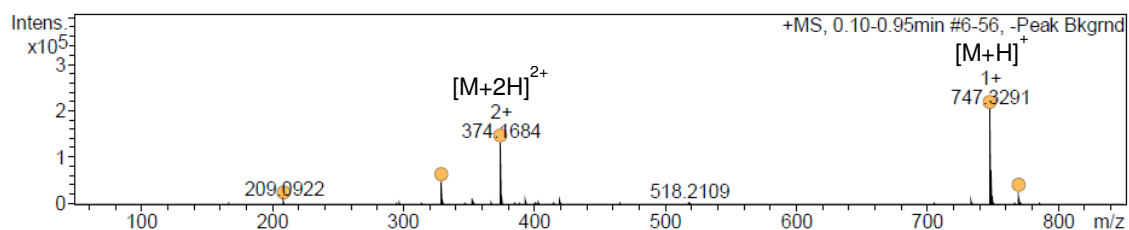


Figura A.38 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de 2.

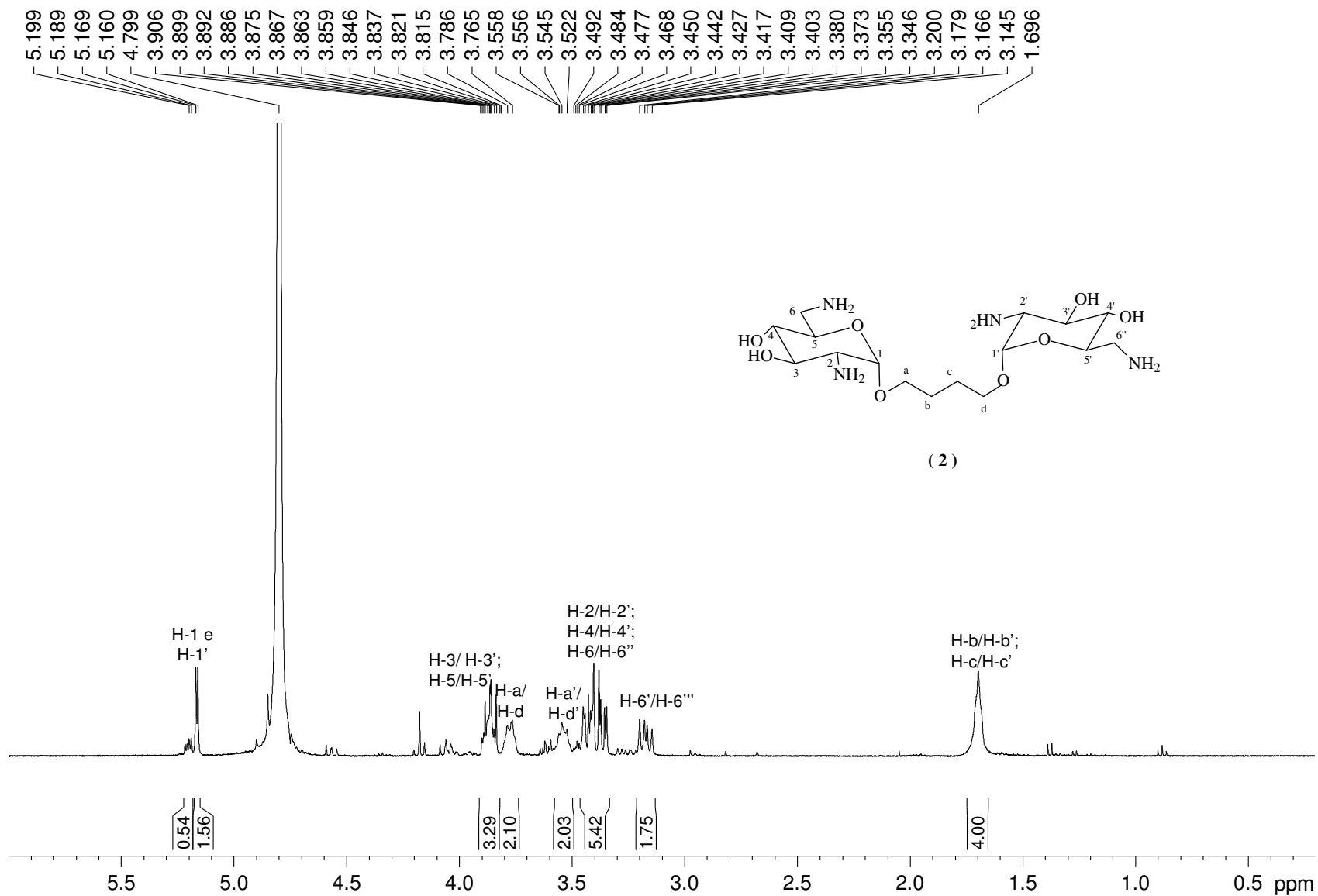


Figura A.39 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, D₂O) de 2.

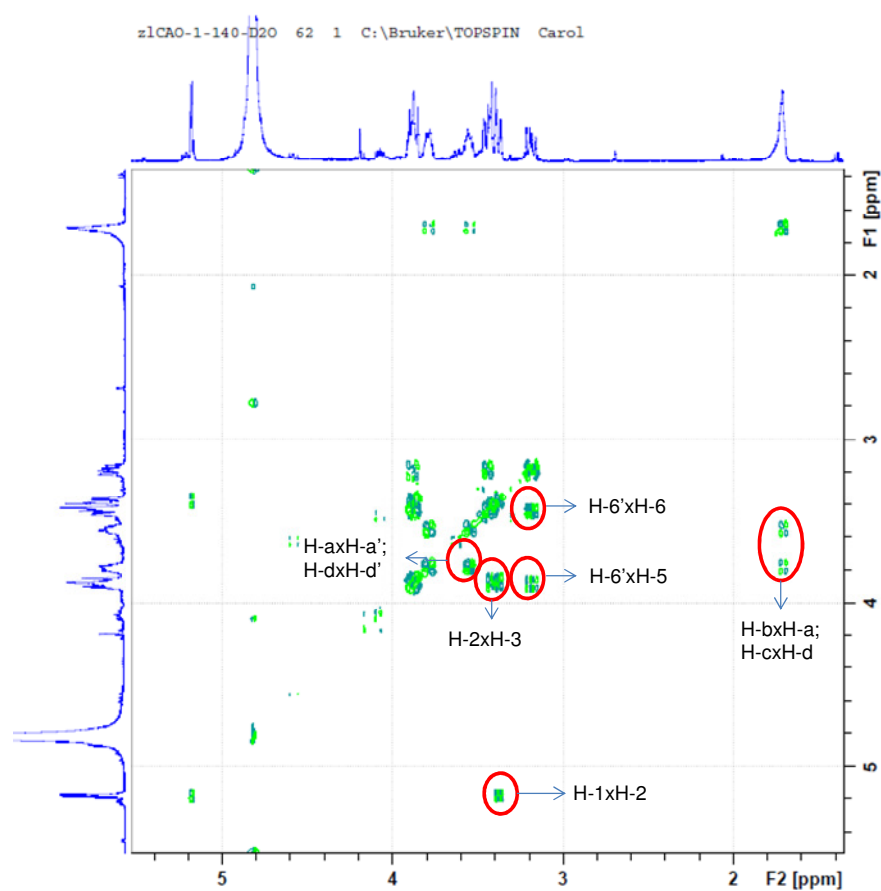
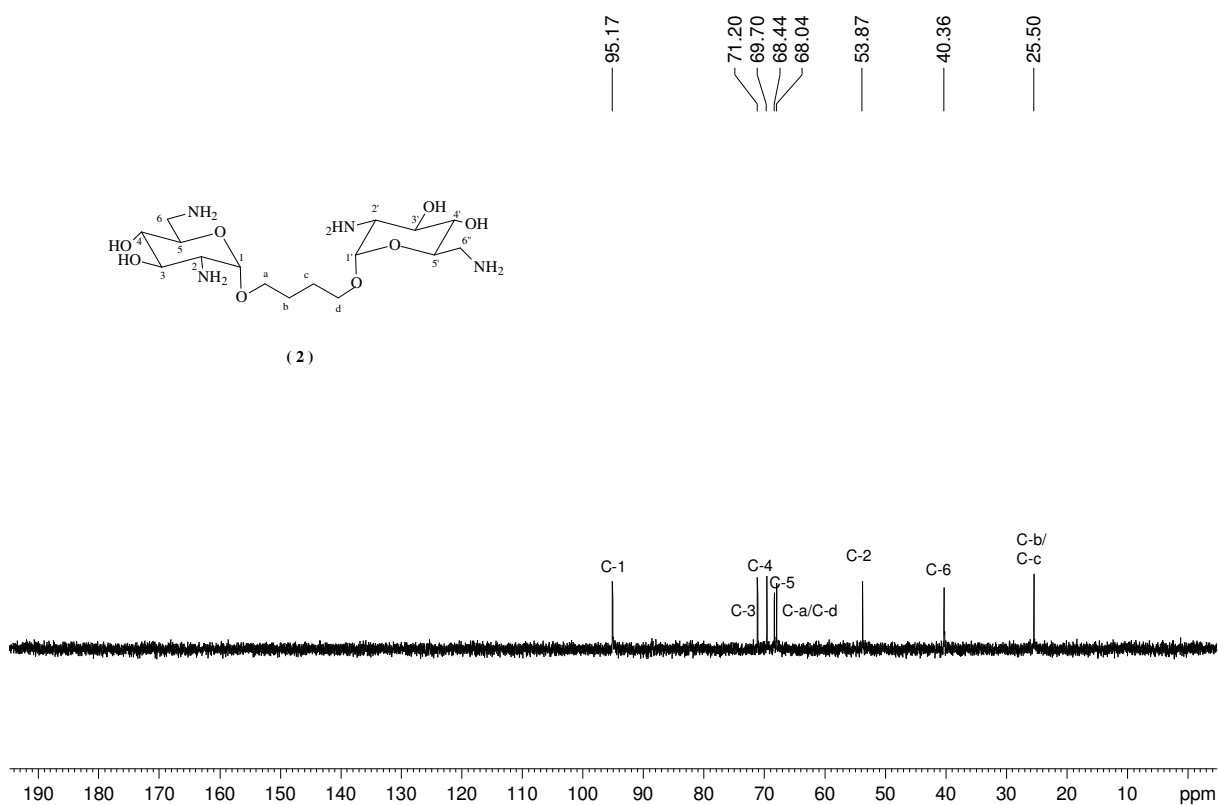


Figura A.40 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, D₂O) 2.



¹H NMR spectrum of compound **1** in CDCl₃. The spectrum shows peaks from 0.8 to 7.3 ppm. Key peaks are labeled: CDCl₃ (7.26 ppm, red X), H-b (~6.0 ppm), NH (~5.6 ppm), H-c and H-c' (~5.2 ppm), H-1 (~4.7 ppm), H-2 and H-a (~3.9 ppm), H-a' (~3.7 ppm), H-3, H-6/H-6' (~3.5 ppm), -O-CH₂- (~3.4 ppm), H-4 (~3.2 ppm), CH₃ (~2.1 ppm), -O-CH₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃ (~1.3 ppm), and -O-CH₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃ (~0.8 ppm). Integration values are provided for several regions.

Figura A.42 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 15.

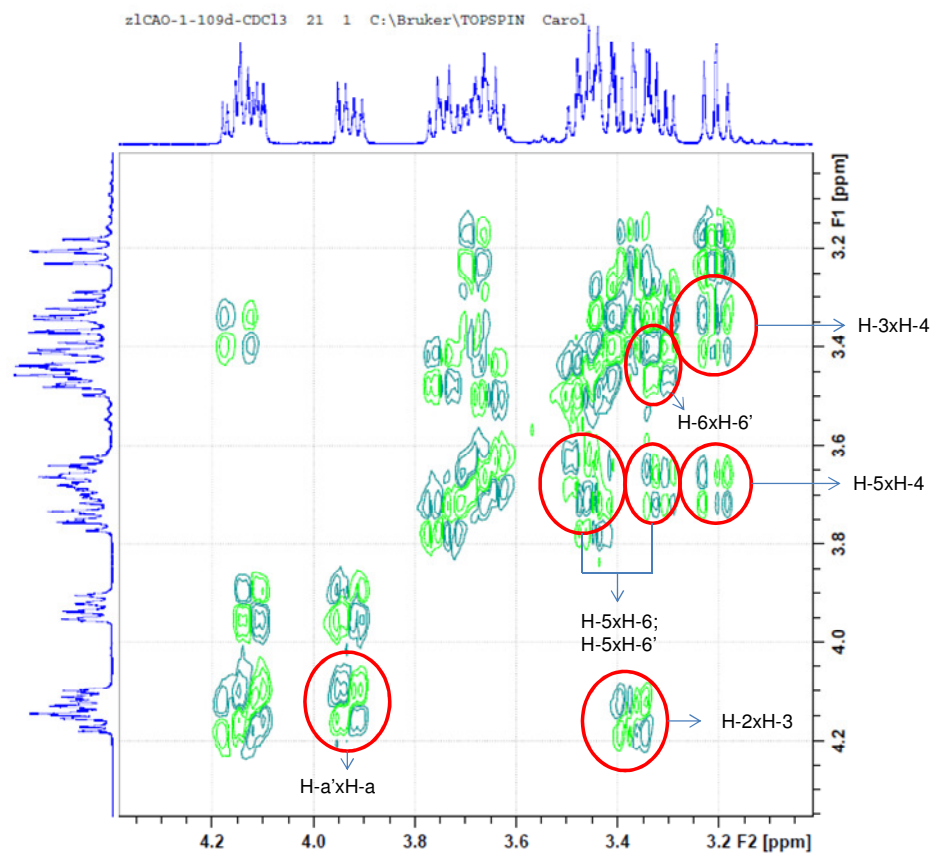
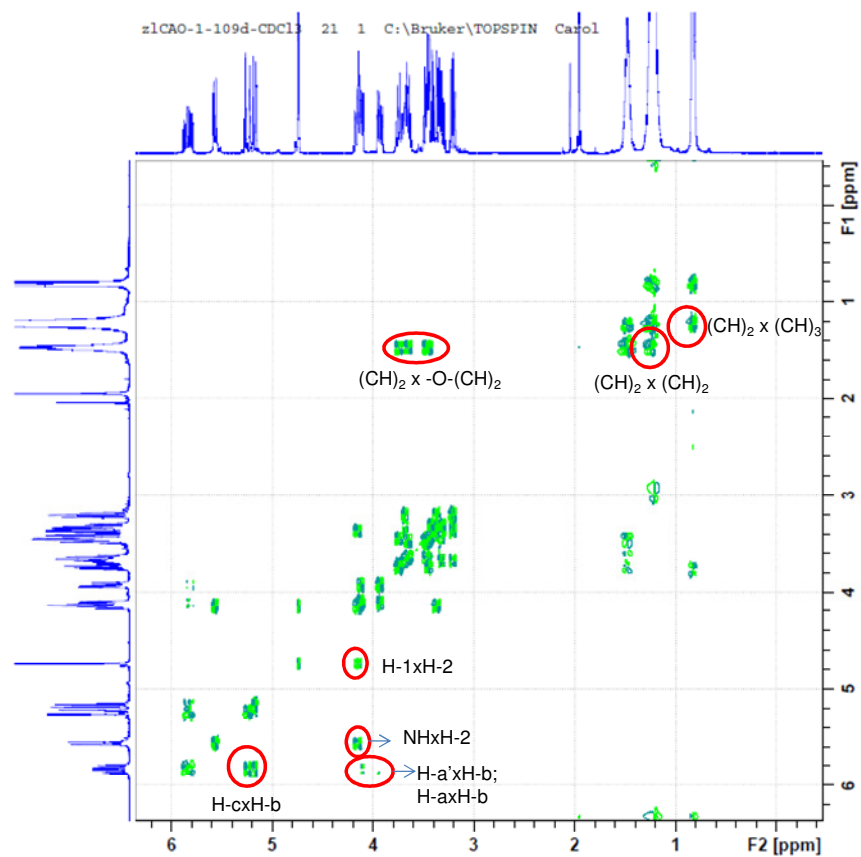


Figura A.43 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 15.

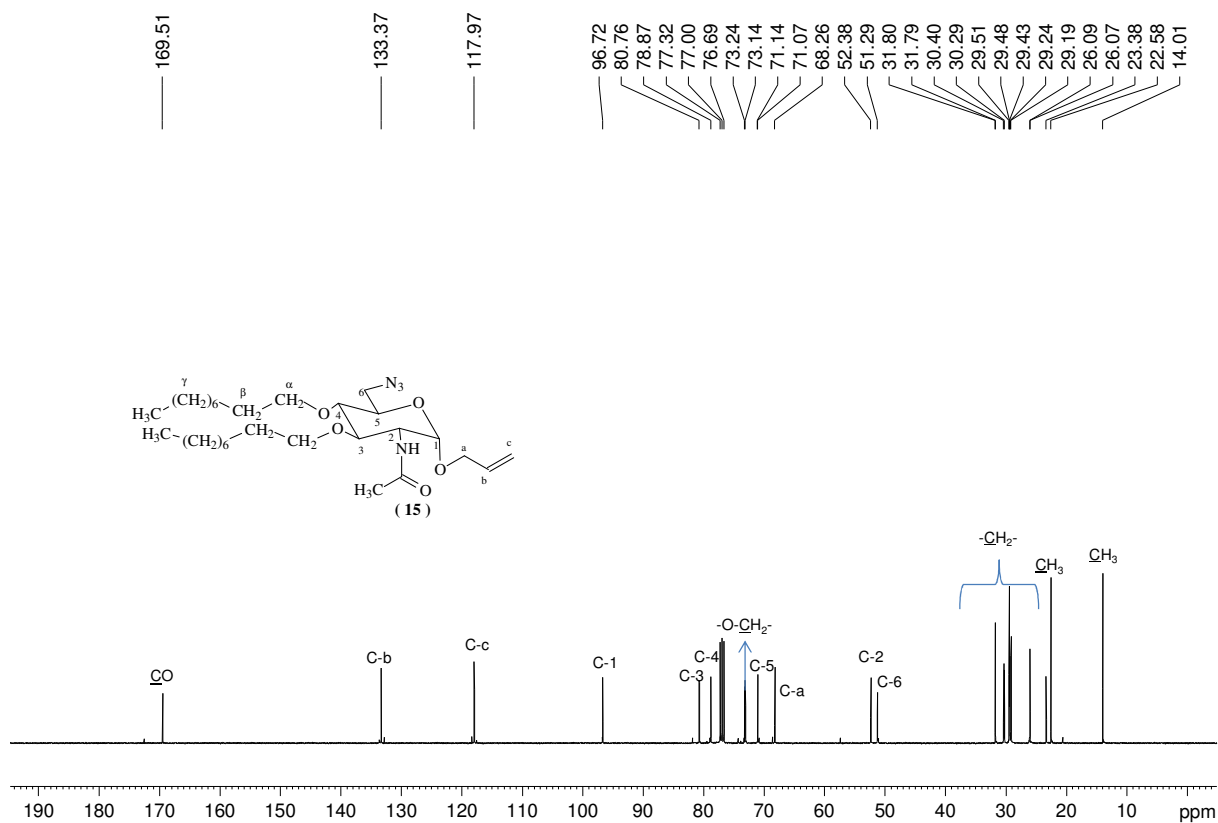
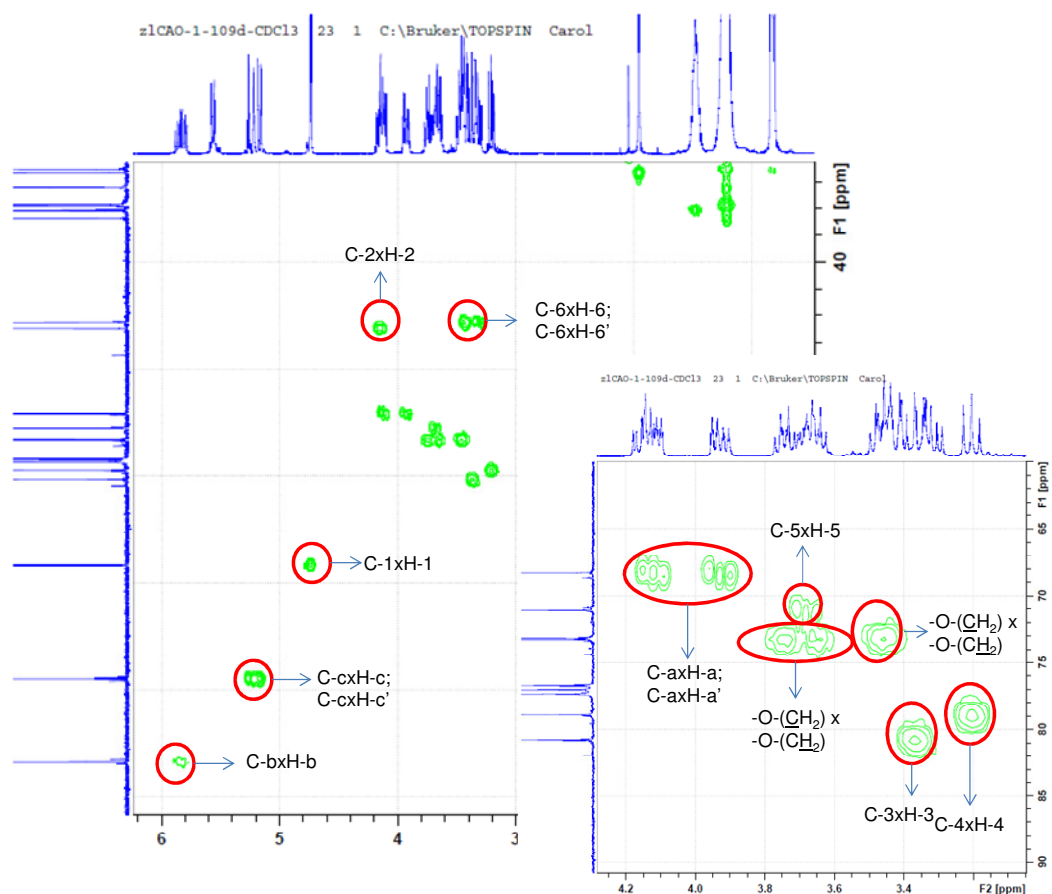


Figura A.44 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 15.



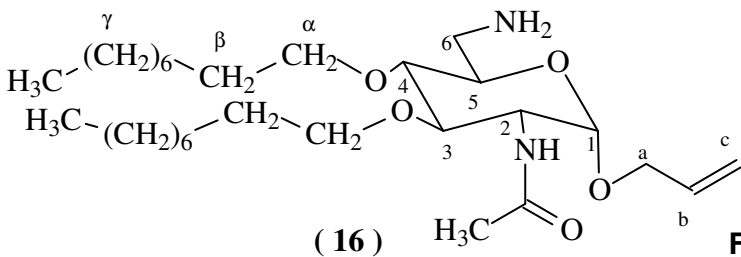


Figura A.45 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 16.

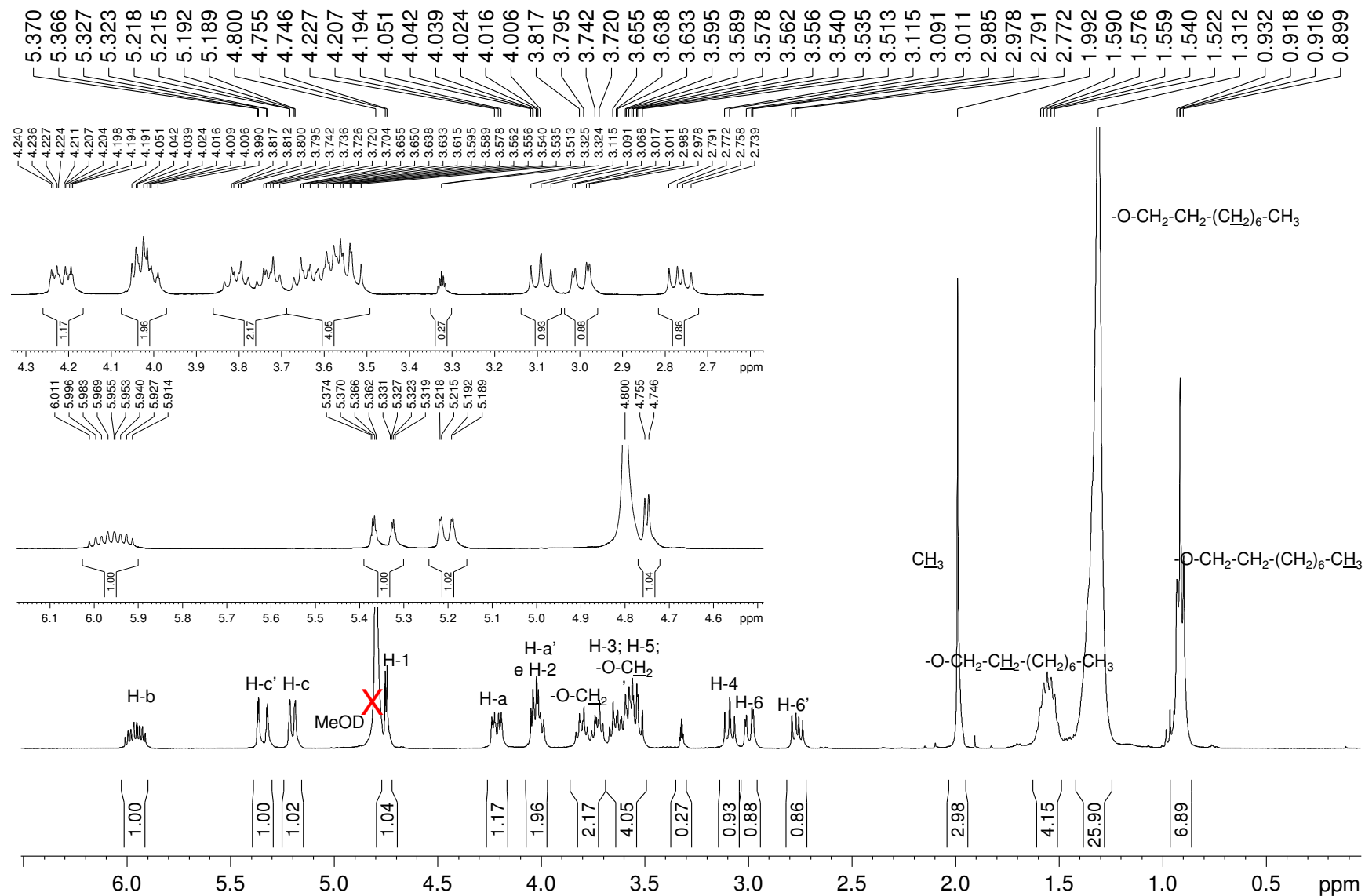


Figura A.46 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 16.

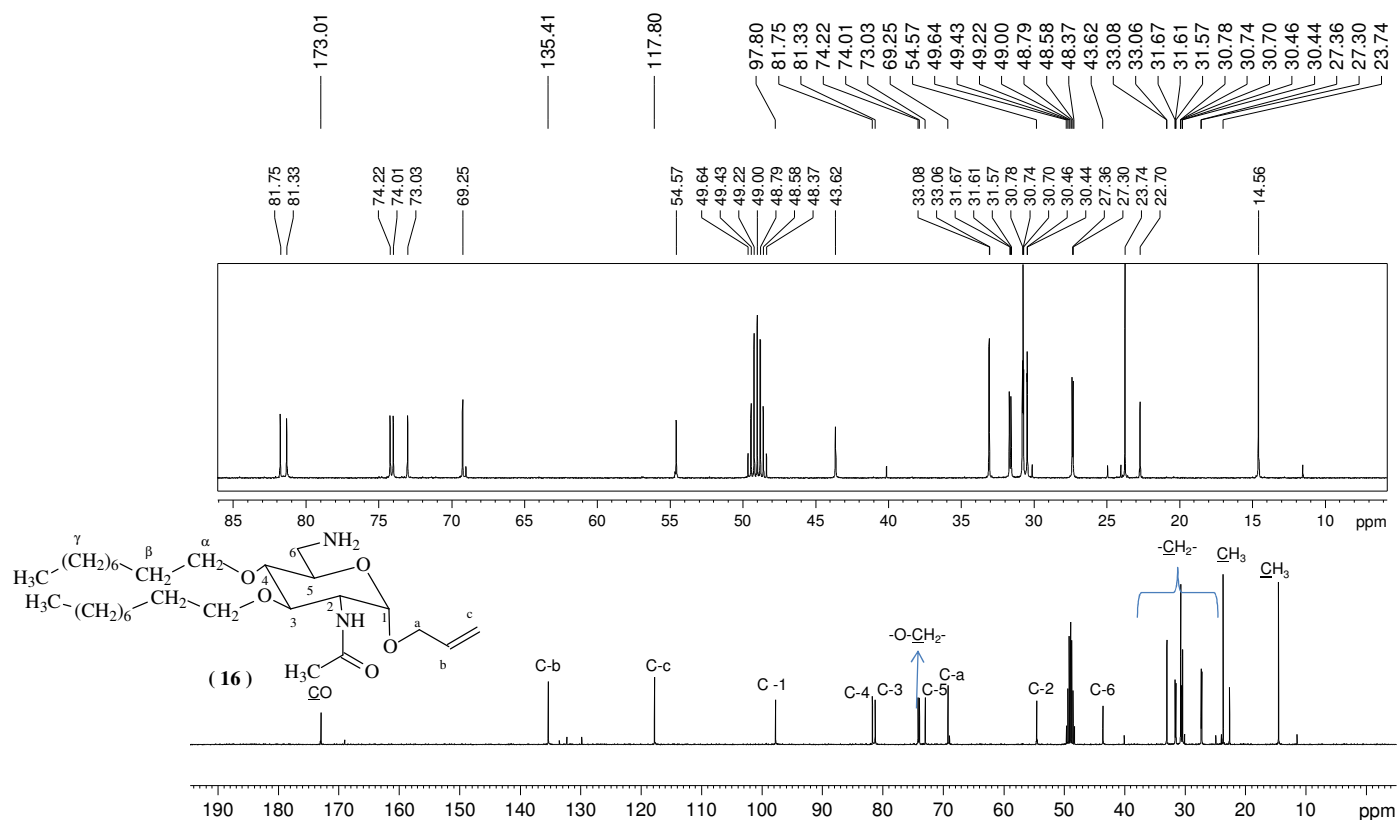
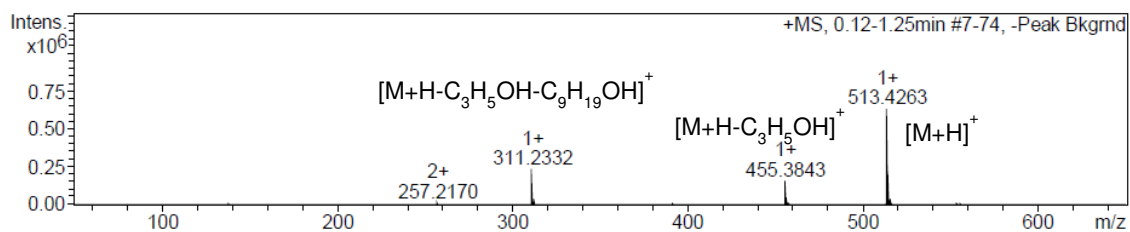


Figura A.47 – Espectro de Massas de 16.



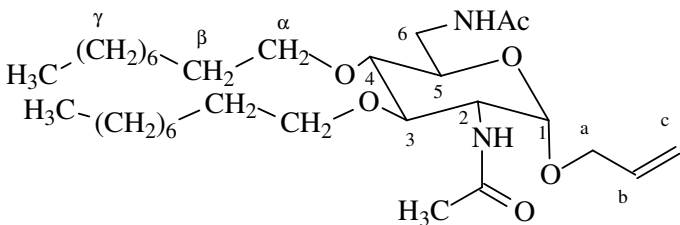


Figura A.48 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 17.

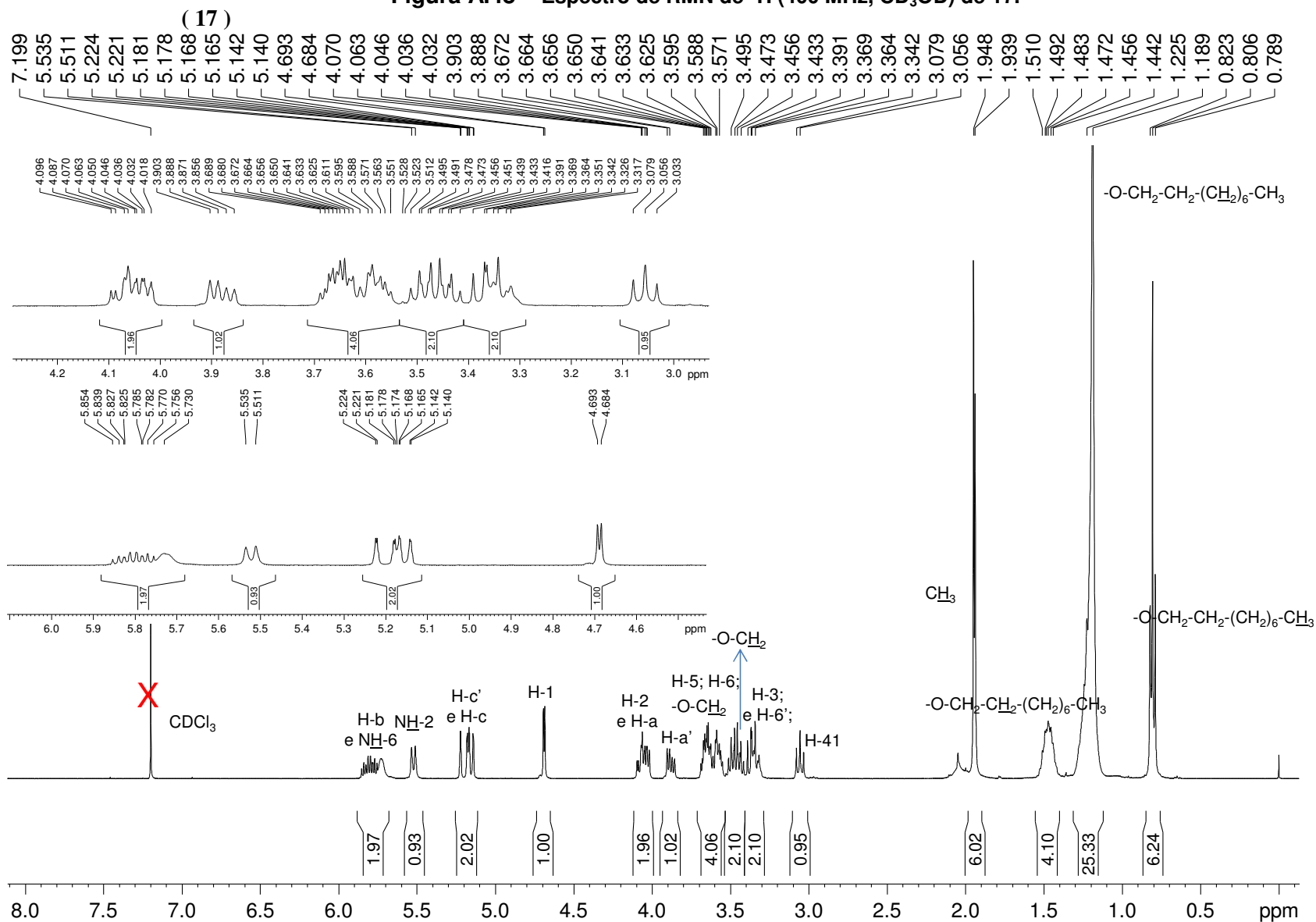


Figura A.49 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de 17.

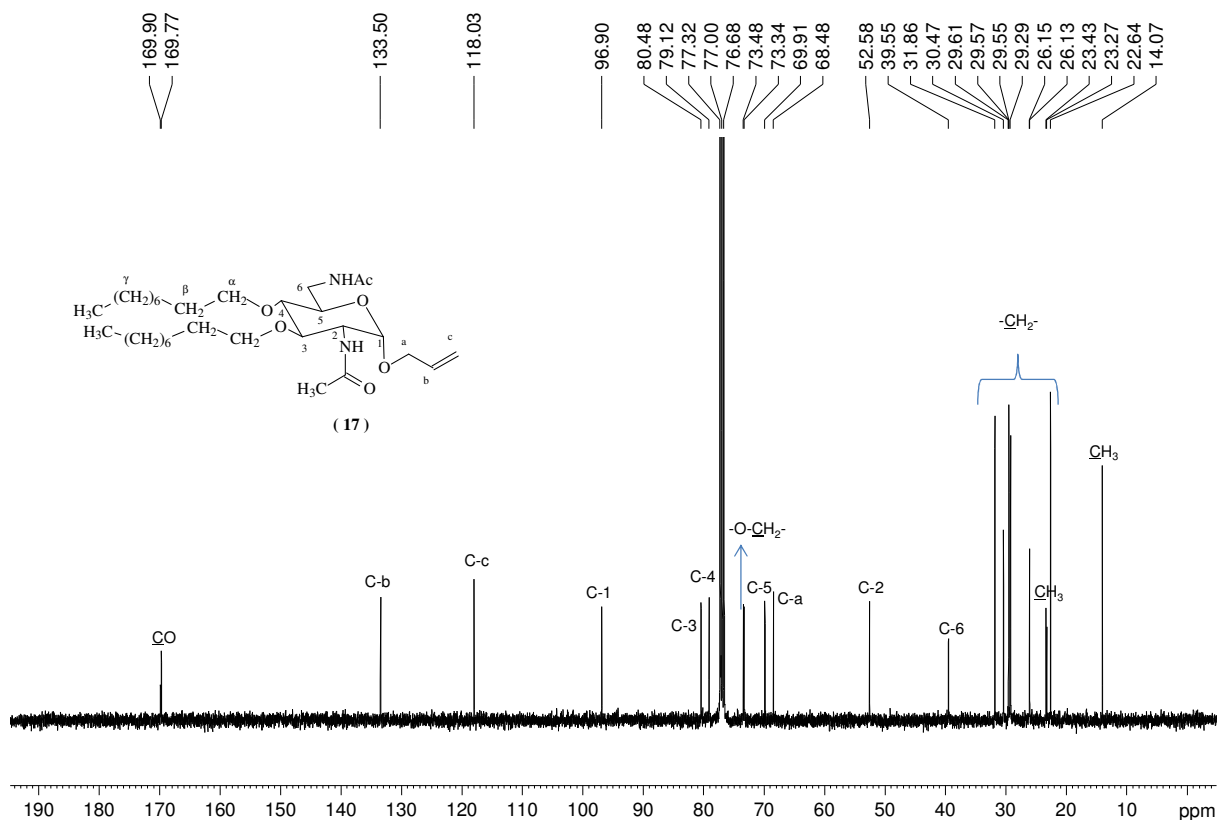


Figura A.50 – Espectro de Massas de 17.

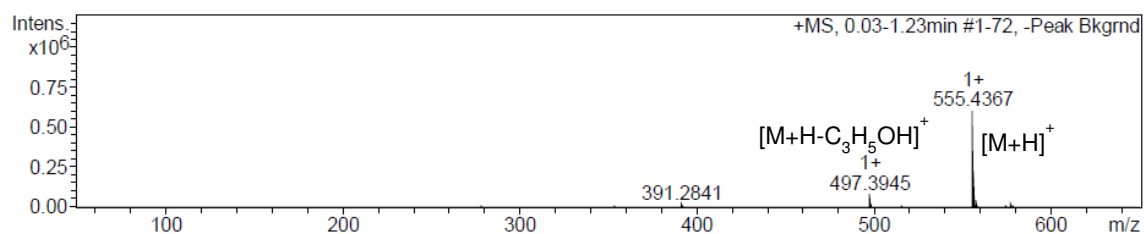


Figura A.51 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 18.

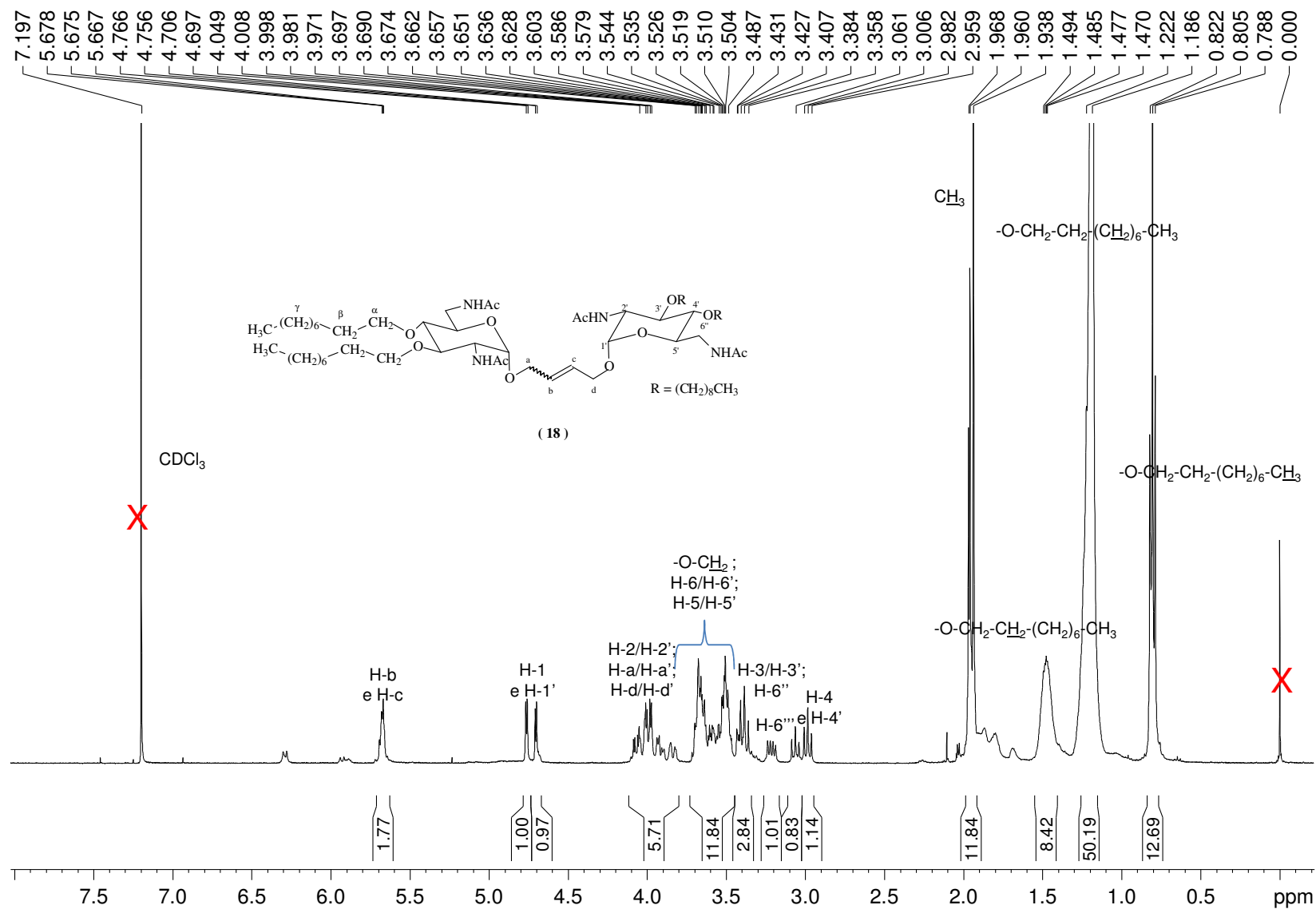


Figura A.52 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) de 18.

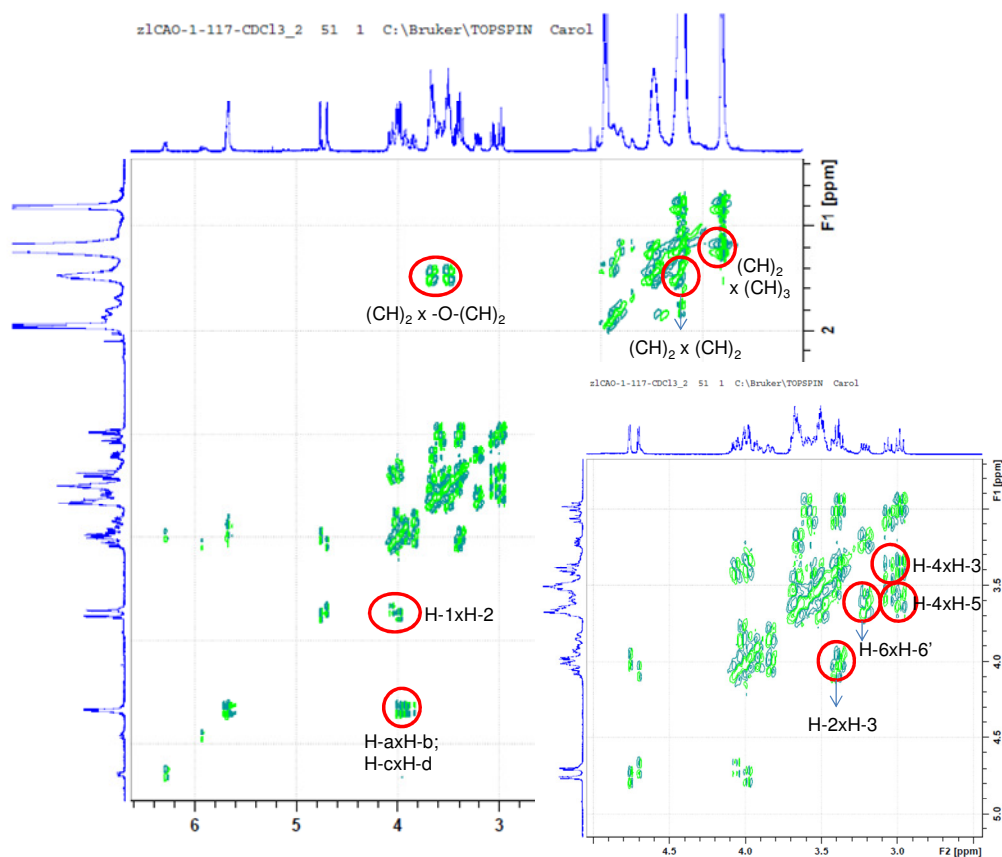


Figura A.53 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de 18.

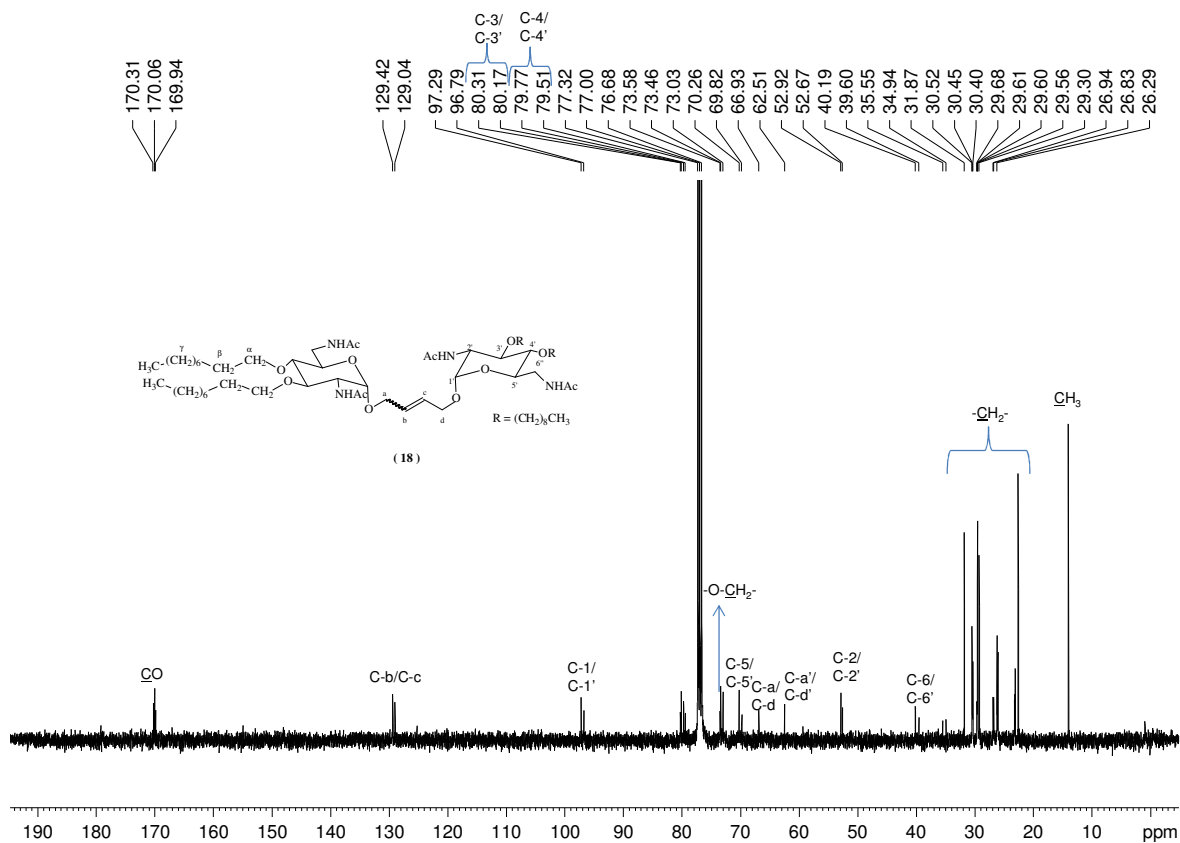


Figura A.54 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 18.

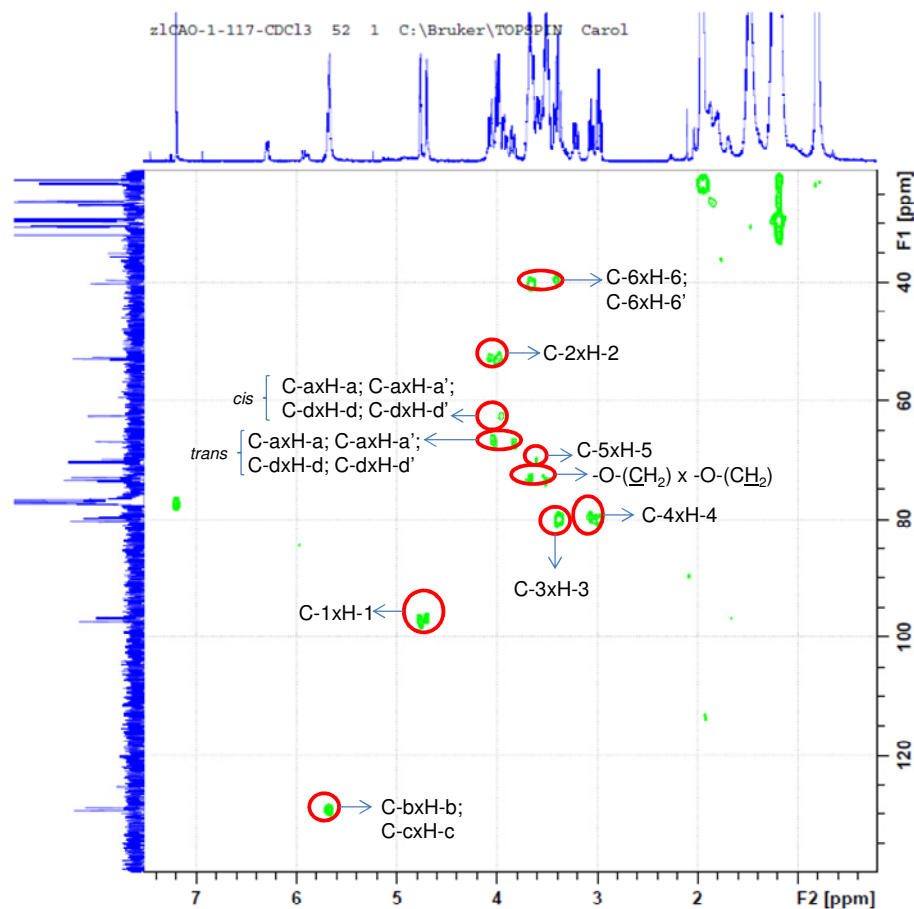
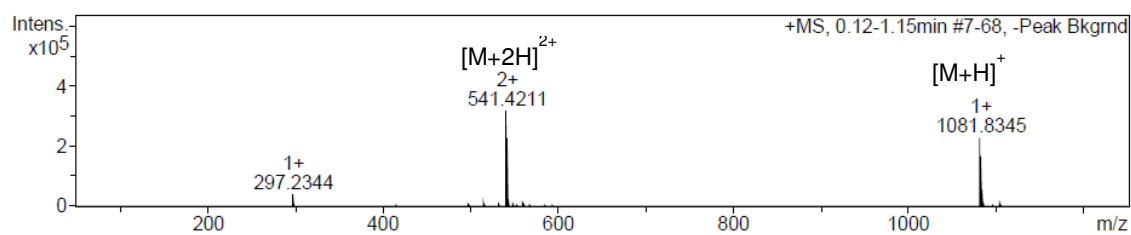
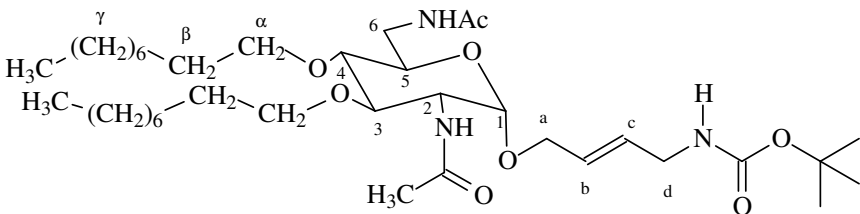


Figura A.55 – Espectro de Massas de 18.





(19)

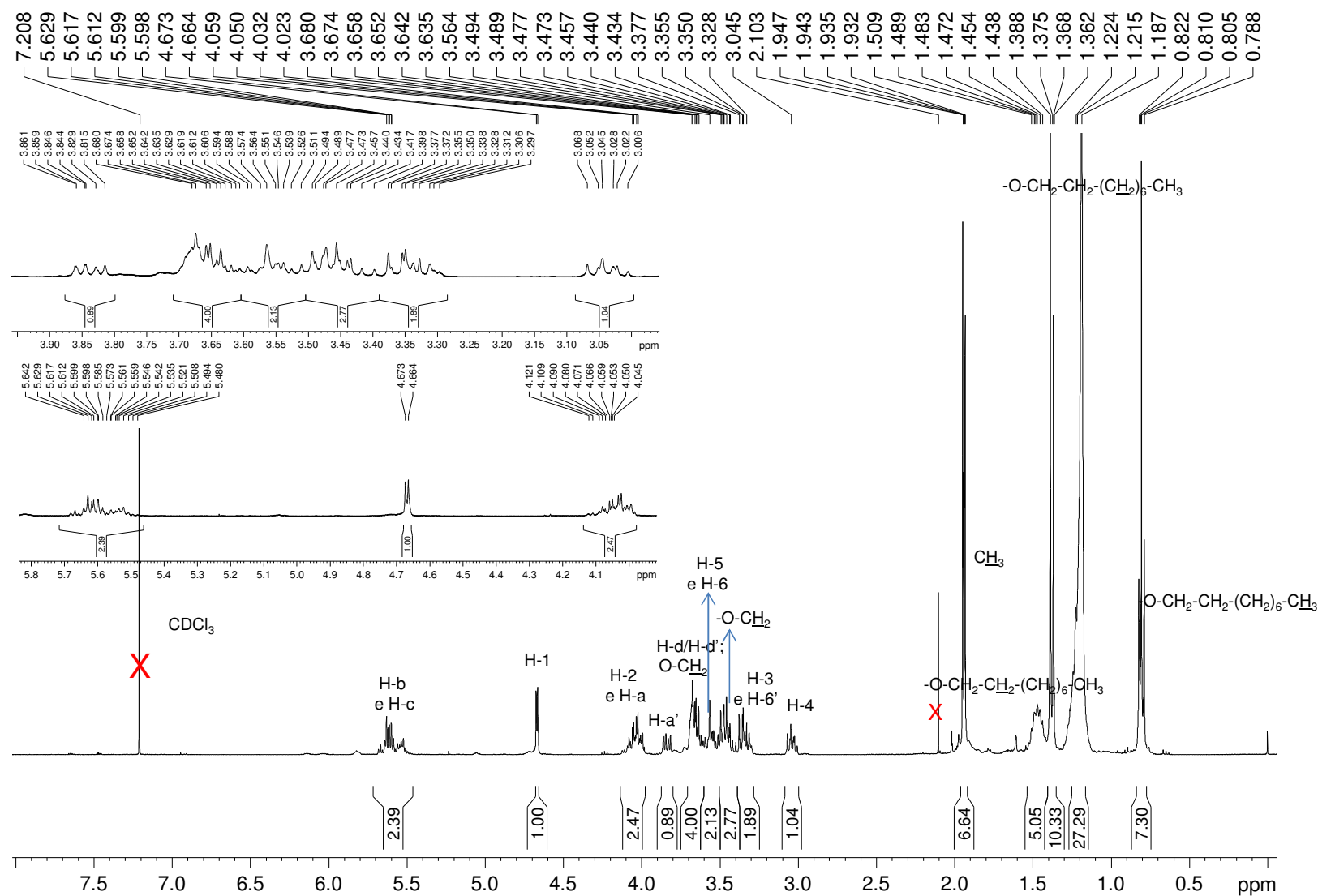
Figura A.56 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 19.

Figura A.57 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) de 19.

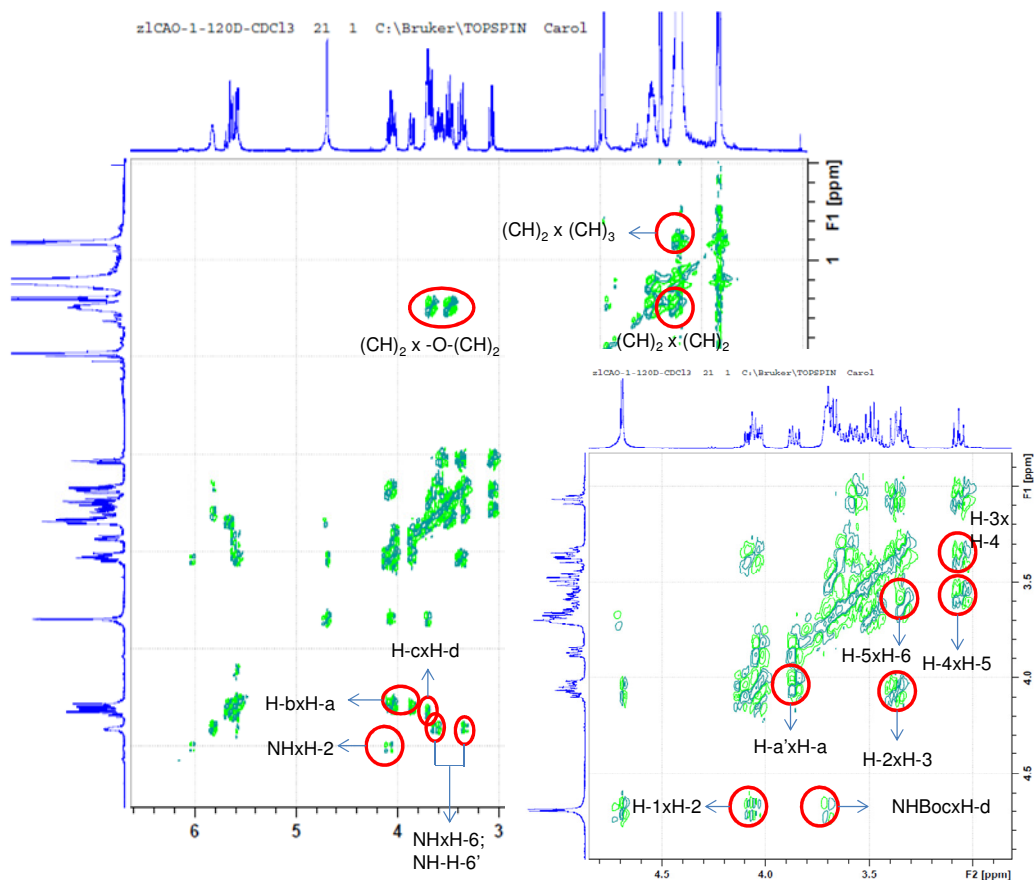


Figura A.58 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de 19.

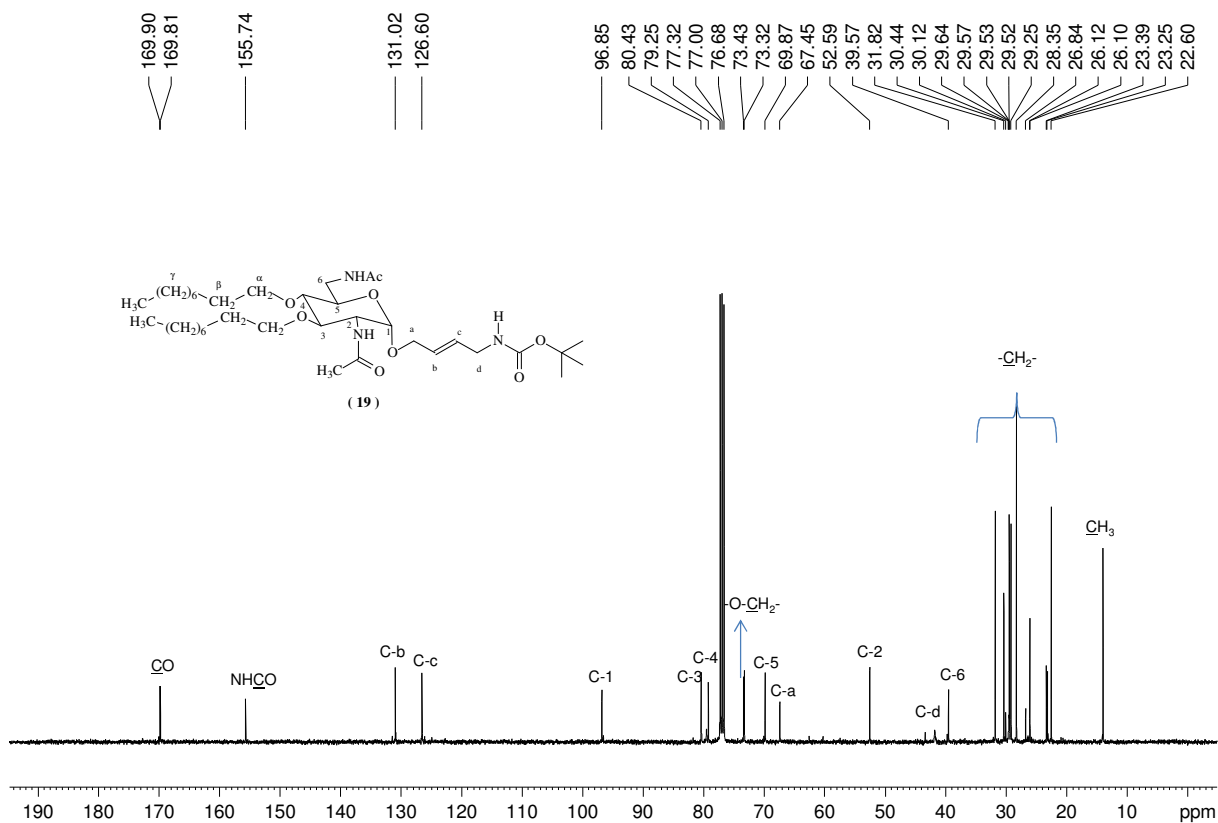


Figura A.59 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, CDCl_3) de 19.

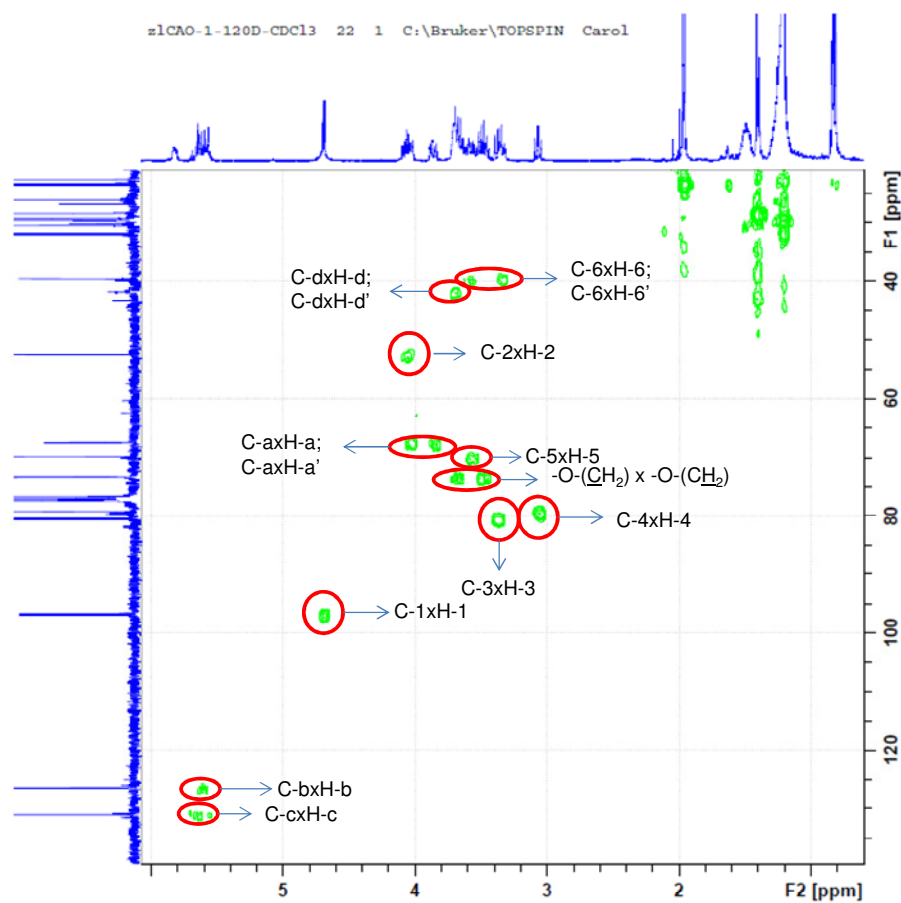


Figura A.60 – Espectro de Massas de 19.

