

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Cléudiomar Inácio Lino

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E
ANTIBACTERIANA DE DERIVADOS E ANÁLOGOS DA CLINDAMICINA**

Belo Horizonte

2023

Cléudiomar Inácio Lino

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E
ANTIBACTERIANA DE DERIVADOS E ANÁLOGOS DA CLINDAMICINA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obter o grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira

Belo Horizonte

2023

L758s Lino, Clêudiomar Inácio.
Síntese e avaliação da atividade anti-inflamatória e antibacteriana de derivados e análogos da clindamicina [recurso eletrônico] / Clêudiomar Inácio Lino. – 2023.

1 recurso eletrônico (215 f.) : pdf

Orientadora: Renata Barbosa de Oliveira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Inflamação – Teses. 2. Anti-inflamatórios – Teses. 3. Clindamicina – Teses. 4. Prolina – Teses. I. Oliveira, Renata Barbosa de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD:615.19



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIBACTERIANA DE DERIVADOS ANÁLOGOS DA CLINDAMICINA"

CLÉUDIOMAR INACIO LINO

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Doutora em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Prof. Dr. Thiago Belarmino de Souza
Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP

Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro Viana
Universidade Federal de São João Del Rei - UFSJ

Profa. Dra. Angela Cristina Leal Badaró Trindade
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Dr. Rodrigo Maia de Pádua
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira - Orientadora
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Renata Barbosa de Oliveira, Professora do Magistério Superior**, em 28/02/2023, às 19:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Maia de Padua, Professor do Magistério Superior**, em 28/02/2023, às 19:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Henrique Ribeiro Viana, Usuário Externo**, em 01/03/2023, às 08:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Belarmino de Souza, Usuário Externo**, em 01/03/2023, às 09:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ângela Cristina Leal Badaro Trindade, Usuária Externa**, em 01/03/2023, às 11:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2093652** e o código CRC **9A7375AE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela disposição e otimismo para trabalhar, e pela lucidez nos momentos de desespero.

A minha orientadora Profa. Renata Barbosa de Oliveira, pelo incentivo, pessoa chave para a realização desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Química Farmacêutica pelo companheirismo, ajuda, risos e pelo apoio de sempre.

A Faculdade de Farmácia, pela infraestrutura disponibilizada para a realização desse trabalho.

Aos colaboradores deste Felipe Fernandes e os professores Renes Machado e Marcio Coelho pela realização dos testes biológicos de atividade anti-inflamatória; Ao professor Vinícius Maltarollo pelos estudos de análise conformacionais e os testes antibacterianos; Ao o Professor Eduardo Nicolau dos Santos e ao pós-doutorando, Jesus Alberto Avendaño Villarreal.

Aos demais colaboradores que possibilitaram que o projeto se tornasse um trabalho com grandes resultados;

Aos professores do PPGCF, pelos ensinamentos e determinação para a excelência do programa, em especial ao professor Ricardo pelos ensinamentos e bate-papos.

A Raquel, pela amizade e disposição em ajudar com a organização do laboratório e disponibilidade sempre que precisava;

A Ângela, técnica responsável pela organização impecável do laboratório com seu senso de limpeza e contribuição nas nossas tarefas diárias sempre à disposição para auxiliar em tudo.

A Werônica, técnica do laboratório pelo auxílio grandioso para a realização desse trabalho.

Maior que a tristeza de não haver vencido é a vergonha de não ter lutado!

Rui Barbosa.

RESUMO

A dor é considerada como uma experiência desagradável e envolve vários aspectos sensoriais e emocionais do indivíduo. O tratamento farmacológico da dor inclui os AINES como paracetamol, naproxeno e os derivados da morfina como codeína e fentanil. Ambas as classes apresentam vários efeitos adversos, os ANES são associados a sangramento gastrointestinal e úlceras e os derivados da morfina causam sedação, depressão respiratória e dependência. Novas alternativas para o manejo da dor são necessárias. Estudos de reposicionamento de fármacos permitiram a identificação do antibiótico clindamicina como potencial anti-inflamatório. Modificações moleculares na estrutura da clindamicina assim como síntese de análogos mais simples foram propostos com o intuito de estabelecer uma relação estrutura atividade antimicrobiana X anti-inflamatória. Neste contexto, foram sintetizados, no presente trabalho, derivados e análogos da clindamicina utilizando materiais de partida de fácil acesso (L-prolina, α -D-glicopiranosídeo de metila, *N*-metil-2-pirrolcarboxaldeído e clindamicina) e reações clássicas de síntese orgânica, tais como, alquilação, acetilação, redução, oxidação, aminação redutiva, amidação, reação de substituição nucleofílica e cicloadição 1,3-dipolar. Foram sintetizados no total 30 compostos sendo cinco inéditos (**1a**, **1b**, **2**, **10** e **11**). Os compostos sintetizados foram submetidos a ensaios *in vitro* para avaliação da atividade antibacteriana. Após otimização das reações, os produtos foram obtidos, de forma geral, com bons rendimentos. A atividade anti-inflamatória do derivado peracetilado da clindamicina (**2**) foi avaliada em modelo murino com resultados comparáveis aos obtidos para a clindamicina. A principal vantagem deste derivado é que não apresentou atividade antimicrobiana *in vitro*. Nenhuma das substâncias sintetizadas apresentou atividade antimicrobiana, o que indica potencial seletividade em relação à atividade anti-inflamatória. Para confirmação desta premissa, a atividade anti-inflamatória dos demais compostos sintetizados será posteriormente avaliada. Os resultados obtidos nesse trabalho se mostraram promissores, abrindo novas perspectivas para síntese de outros análogos com possibilidade de otimização da atividade biológica.

Palavras-chave: inflamação; clindamicina; anti-inflamatório; derivados e análogos da clindamicina; L-prolina.

ABSTRACT

The pain is considered an unpleasant experience and involves several sensory and emotional aspects of the individual. The pharmacological one mainly includes NSAIDs such as paracetamol, naproxen, and morphine derivatives, such as codeine and fentanyl. It is well known that both NSAID classes and opioid derivatives have several adverse effects. The NSAID are associated with gastrointestinal bleeding and ulcers and the morphine derivatives are susceptible to sedation, respiratory depression and dependence. New alternatives for pain management are necessary. Drug repositioning studies allowed the identification of the antibiotic clindamycin as a potential anti-inflammatory drug. Molecular modifications in the structure of clindamycin, as well as the synthesis of analogues with a simpler chemical structure, were proposed with the aim of establishing a structure relationship between antimicrobial and anti-inflammatory activity. In this context, in the present work, derivatives and analogues of clindamycin were synthesized using easily accessible starting materials (L-proline, methyl α -D-glucopyranoside, N-methyl-2-pyrrolicarboxaldehyde and clindamycin) and classic reactions in organic synthesis, such as alkylation, acetylation, reduction, oxidation, reductive amination, amidation, nucleophilic substitution reaction and 1,3-dipolar cycloaddition. A total of 30 compounds were synthesized, five of which were new (**1a**, **2**, **10** and **11**). The synthesized compounds were subjected to *in vitro* tests to evaluate their antibacterial activity. After optimizing the reactions, the products were generally obtained in good yields. The anti-inflammatory activity of the peracetylated clindamycin derivative (**2**) was evaluated in a murine model with results comparable to those obtained for clindamycin. The main advantage of this derivative is that it did not show antimicrobial activity *in vitro*. None of the synthesized substances showed antimicrobial activity, which indicates a potential selectivity in relation to anti-inflammatory activity. To confirm this premise, the anti-inflammatory activity of the synthesized substances will be further evaluated. The results obtained in this work were promising, opening new perspectives for the synthesis of other analogues with the possibility of optimizing the biological activity.

Keywords: inflammation; clindamycin; anti-inflammatory; clindamycin derivatives and analogues; L-proline.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala da dor	28
Figura 2 - Estrutura da lincomicina e da clindamicina	31
Figura 3 - Resumo das modificações na estrutura da lincomicina.....	35
Figura 4 - Comparação entre os métodos de reposicionamento de novos fármacos	36
Figura 5 - Efeitos induzidos por administrações repetidas de clindamicina - Liminar nociceptivo (A) e Variação do volume (B)	38
Figura 6 - Visão geral da proposta do plano de síntese	41
Figura 7 - Propostas de síntese do derivado alquilado da clindamicina	48
Figura 8 - Proposta Mecanística para a reação.....	50
Figura 9 - Síntese do derivado alquilado da clindamicina por transferência de fase.....	51
Figura 10 - Proposta mecanística da reação de catálise por transferência de fase	52
Figura 11 - Comparação dos espectros no IV da clindamicina e de 1a.....	53
Figura 12 - Espectro de RMN de ¹ H de 1a (CDCl ₃ 400 MHz).....	54
Figura 13 - Comparação entre os espectros de RMN de ¹³ C de 1a (CDCl ₃ 100 MHz) e da clindamicina (DMSO-d ₆ 100 MHz).....	55
Figura 14 - Mapa de contornos COSY parcial de 1a (CDCl ₃ , 400 MHz).....	56
Figura 15 - Mapa de contornos HSQC parcial de 1a (CDCl ₃ , 400 MHz).....	56
Figura 16 - Espectro de RMN de ¹ H de 1b (CDCl ₃ , 400 MHz).....	57
Figura 17 - Mapa de contornos COSY parcial de 1b (CDCl ₃ , 400 MHz).....	58
Figura 18 - Mapa de contornos HSQC parcial de 1a (CDCl ₃ , 400 MHz).....	58
Figura 19 - Rotas de síntese para a obtenção do derivado acetilado da clindamicina (DAC) 2	59
Figura 20 - Comparação dos espectros no IV da clindamicina e de 2.....	60
Figura 21 - Espectro de RMN de ¹ H e ¹³ C de 2 (DMSO-d ₆ 200 MHz)	61
Figura 22 - Propostas de obtenção do derivado 3.....	62
Figura 23 - Derivados N-metilaminas obtidas por Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933) com técnica de N-alquilação utilizando-se ácido fórmico e aldeídos correspondentes... 63	
Figura 24 - Mecanismo proposto de N-alquilação modificado de Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933)	63
Figura 25 - Nova proposta de obtenção do derivado metilado 3	64
Figura 26 - Mecanismo de aminação reductiva.....	65
Figura 27 - Mapa de contornos HSQC parcial de 3 (D ₂ O, 400 MHz)	66
Figura 28 - Rota de síntese proposta para a obtenção das amidas 4a-4f	67
Figura 29 - Mecanismo proposto para a obtenção do éster ativado 4.1, a partir do ácido 4	68
Figura 30 - Espectro no Infravermelho de 4.1	69
Figura 31 - Mecanismo proposto para obtenção das amidas a partir do éster ativado 4.1	70
Figura 32 - Substituintes R das amidas com cadeia lateral aromática e alifática	70
Figura 33 - Espectro de RMN ¹ H da mistura obtida na tentativa de síntese de 5a (DMSO-d ₆ - 400 MHz).....	71
Figura 34 - Espectro de ¹³ C da reação de síntese de 5a (DMSO-d ₆ - 100 MHz).....	72
Figura 35 - Espectro de DEPT-135 da reação de síntese de 5a (DMSO-d ₆ -100 MHz)	73
Figura 36 - Comparação dos os espectros de RMN de ¹ H de 4c e 5c (DMSO- d ₆ , 400 MHz)	74
Figura 37 - Síntese das amidas a partir da N-metil-L-prolina 3	75
Figura 38 - Nova rota proposta para a síntese das amidas 7a-7d e 8a-8d	77
Figura 39 - Espectro de RMN ¹ H 7c evidenciando a mistura de rotâmeros (DMSO-d ₆ - 400 MHz).....	78

Figura 40 - Espectro de ^{13}C 7c evidenciando a mistura de rotâmeros (DMSO- d_6 – 100 MHz)	79
Figura 41 - Espectro de ^1H 7c com variação de temperatura (DMSO- d_6 , 400 MHz).....	80
Figura 42 - Representação do confôrmero de menor energia representado pela estrutura de 7c e gráfico de energia do ângulo de torção do grupo BOC.....	81
Figura 43 - Mapa de contorno parcial de NOESY de 7c (DMSO- d_6 , 400 MHz).....	82
Figura 44 - Predição da distância entre os hidrogênios do grupo Boc H-8 e os hidrogênios mais próximos do Boc H-5	83
Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H comparativo do derivado 7c (A) e do produto desprotegido correspondente 8c (B) (DMSO- d_6 , 400 MHz).....	84
Figura 46 - Proposta da síntese convergente para obtenção dos derivados triazólicos 10 e 11.....	85
Figura 47 - Mecanismo de formação do derivado 6-iodo 7.....	86
Figura 48 - Comparação dos espectros de RMN de ^{13}C de 8 (A) e 9 (A) (CDCl_3 - 100 MHz).....	87
Figura 49 - Reação de formação exclusiva de produto 1,4-dissubstituído.....	88
Figura 50 - Proposta mecanística para a formação do produto 1,4-dissubstituído.....	89
Figura 51 - Proposta de obtenção de 11 sem necessidade de acetilação das hidroxilas .	91
Figura 52 - Proposta alternativa de obtenção do derivado 6-metanossulfonila 12.....	91
Figura 53 - Espectros de RMN de ^1H dos produtos monotosilado (A) 12 e ditosilado 13 (B) (DMSO- d_6 400 MHz)	92
Figura 54 - Mapa de contornos de COSY (A); HSQC (B) e RMN de ^1H (C) parciais de 13 (DMSO- d_6 400 MHz)	93
Figura 55 - Acoplamento vicinais em derivados do ciclohexano	94
Figura 56 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H 12 (A) e 13 (B) (DMSO- d_6 400 MHz)	95
Figura 57 - Reação para obtenção do derivado azido 14 a partir do derivado monotosilado 12.....	96
Figura 58 - Comparação dos espectros no IV do derivado tosilado 12 (A) e do derivado azido 14 (B)	97
Figura 59 - Síntese do derivado triazólico 11	98
Figura 60 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H parcial de 4d e 11 (DMSO- d_6 400 MHz)	99
Figura 61 - Comparação dos espectros de RMN de ^{13}C de 4d e 11 (DMSO- d_6 200 MHz). 100	
Figura 62 - Estrutura dos compostos testados na atividade antibacteriana	102
Figura 63 - Diâmetro articular e limiar nociceptivo após administração intra-articular de salina estéril ou zimosano.....	104
Figura 64 - Efeito induzido pelo derivado acetilado 2 (DAC) sobre o edema articular induzido por zimosano	105
Figura 65 - Efeito induzido por clindamicina ou DAC sobre o número total de células, neutrófilos e mononucleares no lavado obtido da cavidade articular após 24 h da injeção i.a. de zimosano.....	106
Figura 66 - Efeito induzido por clindamicina ou DAC sobre as concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 no tecido periarticular coletado na 24 ^a h.....	107
Figura 67 - Efeito induzido por clindamicina ou DAC sobre a produção de TNF- α em cultura de células RAW264.7	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade antibacteriana da lincomicina da clindamicina.....	31
Tabela 2 - Modificação da lincomicina nível de carbono C-7	32
Tabela 3 - Modificação da lincomicina em C-1	33
Tabela 4 - Modificação da lincomicina na porção pirrolidina em N-1'	34
Tabela 5 - Modificações na posição C-4' do anel pirrolidina.....	35
Tabela 6 - Atividade antibacteriana da clindamicina e do derivado acetilado 2.....	101

APÊNDICE A

A 1 - Espectro no infravermelho de 1a.....	166
A 2 - Espectro de RMN de ^1H de 1a (400 MHz, CDCl_3)	166
A 3 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 1a (100 MHz, CDCl_3).....	167
A 4 - Mapa de contornos COSY de 1a (400 MHz, CDCl_3).....	167
A 5 - Mapa de contornos HSQC de 1a (400 MHz, CDCl_3).....	168
A 6 - Espectro de RMN de ^1H de 1b (400 MHz, CDCl_3)	168
A 7 - Espectro de RMN de ^{13}C de 1b (100 MHz, CDCl_3).....	169
A 8 - Mapa de contornos COSY de 1b (400 MHz, CDCl_3).....	169
A 9 - Mapa de contornos HSQC de 1b (400 MHz, CDCl_3).....	170
A 10 - Espectro no infravermelho de 2.....	170
A 11 - Espectro de RMN de ^1H de 2 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	171
A 12 - Espectro de RMN de ^{13}C de 2 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	171
A 13 - Espectro no infravermelho de 3.....	172
A 14 - Espectro de RMN de ^1H de 3 (400 MHz, D_2O).....	172
A 15 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 3 (100 MHz, D_2O)	173
A 16 - Mapa de contornos HSQC de 3 (400, MHz, D_2O).	173
A 17 - Mapa de contornos HSQC de 3 (400, MHz, D_2O).	174
A 18 - Espectro no infravermelho de 4.....	174
A 19 - Espectro de RMN de ^1H de 4 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	175
A 20 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4 (100 MHz,	175
A 21 - Espectro no infravermelho de 4.1.....	176
A 22 - Espectro de RMN de ^1H de 4.1 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	176
A 23 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4.1 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	177
A 24 - Espectro no infravermelho de 4a.....	177
A 25 - Espectro de RMN de ^1H de 4a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	178
A 26 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4a (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	178
A 27 - Espectro de RMN de HSQC de 4a (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	179
A 28 - Espectro no infravermelho de 4b	179
A 29 - Espectro de RMN de ^1H de 4b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	180
A 30 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	180
A 31 - Espectro no infravermelho de 4c.....	181
A 32 - Espectro de RMN de ^1H de 4c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	181
A 33 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	182
A 34 - Espectro no infravermelho de 4d	182
A 35 - Espectro de RMN de ^1H de 4d (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	183
A 36 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4d (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	183
A 37 - Espectro no infravermelho de 4e.....	184
A 38 - Espectro de RMN de ^1H de 4e (400 MHz, CDCl_3)	184
A 39 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4e (100 MHz, CDCl_3).....	185
A 40 - Espectro no infravermelho de 4f	185
A 41 - Espectro de RMN de ^1H de 4f (400 MHz, CDCl_3)	186
A 42 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4f (100 MHz, CDCl_3)	186
A 43 - Espectro no infravermelho de 5b	187
A 44 - Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	187
A 45 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 5b (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	188
A 46 - Mapa de contornos HSQC de 5b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	188
A 47 - Espectro no infravermelho de 5c.....	189
A 48 - Espectro de RMN de ^1H de 5c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	189
A 49 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 5c (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	190
A 50 - Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, CDCl_3)	190

A 51 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 6 (100 MHz, CDCl_3).....	191
A 52 - Espectro de RMN de ^1H de 7a (400 MHz, CDCl_3)	191
A 53 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7a (100 MHz, CDCl_3).....	192
A 54 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 7a (400 MHz, CDCl_3).....	192
A 55 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7a (400 MHz, CDCl_3).....	193
A 56 - Espectro de RMN de ^1H de 7b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	193
A 57 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7b (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	194
A 58 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 7b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	194
A 59 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	195
A 60 - Espectro de RMN de ^1H de 7c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	195
A 61 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7c (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	196
A 62 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	196
A 63 - Espectro de RMN de ^1H de 7d (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	197
A 64 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7d (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	197
A 65 - Espectro de RMN de ^1H de 8a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	198
A 66 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8a (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	198
A 67 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	199
A 68 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	199
A 69 - Espectro de RMN de ^1H de 8b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	200
A 70 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8b (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	200
A 71 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	201
A 72 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8b (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	201
A 73 - Espectro de RMN de ^1H de 8c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	202
A 74 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8c (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	202
A 75 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	203
A 76 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8c (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	203
A 77 - Espectro de RMN de ^1H de 8d (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	204
A 78 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8d (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	204
A 79 - Espectro de RMN de ^1H de 8 (400 MHz, CDCl_3)	205
A 80 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8 (100 MHz, CDCl_3).....	205
A 81 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos COSY de 8 (400 MHz, CDCl_3)....	206
A 82 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8 (400 MHz, CDCl_3)....	206
A 83 - Espectro de RMN de ^1H de 9 (400 MHz, CDCl_3)	207
A 84 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 9 (100 MHz, CDCl_3).....	207
A 85 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos COSY de 9 (400 MHz, CDCl_3)....	208
A 86 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos HSQC de 9 (400 MHz, CDCl_3)....	208
A 87 - Espectro de RMN de ^1H de 10 (400 MHz, CDCl_3)	209
A 88 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 10 (100 MHz, CDCl_3).....	209
A 89 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 10 (400 MHz, CDCl_3).....	210
A 90 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 10 (400 MHz, CDCl_3).....	210
A 91 - Espectro no infravermelho de 11	211
A 92 - Espectro de RMN de ^1H de 11 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	211
A 93 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 11 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	212
A 94 - Espectro no infravermelho de 12.....	212
A 95 - Espectro de RMN de ^1H de 12 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	213
A 96 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 12 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	213
A 97 - Espectro de RMN de ^1H de 13 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	214
A 98 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 13 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	214
A 99 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 13 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	215
A 100 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 13 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	215
A 101 - Espectro de RMN de ^1H de 13 (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).....	216
A 102 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 13 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) ...	216
A 103 - Espectro de massas de 1a no modo (ES+).....	217

A 104 - Espectro de massas de 1b no modo (ES+).....	218
A 105 - Espectro de massas de 2 no modo (ES+).....	218
A 106 - Espectro de massas de 10 no modo (ES+).....	218
A 107 - Espectro de massas de 11 no modo (ES+).....	219

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Rota de síntese proposta para a obtenção dos derivados alquilados e acetilados derivados da clindamicina.....	42
Esquema 2 - Rota de síntese proposta para a obtenção das amidas a partir da <i>N</i> -metil-L-prolina.....	43
Esquema 3 - Proposta de síntese de amidas derivadas do pirrolcarboxaldeído e seus derivados reduzidos	44
Esquema 4 - Proposta de síntese das amidas derivadas da pirrolidina com a amina do anel pirrolidínico protegida	45
Esquema 5 – Rota convergente para síntese do glicosiltriazol	46
Esquema 6 - Sugestão de mecanismo para a oxidação do carboidrato no processo de metilação em DMSO	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS E SÍMBOLOS

Ac	Acetila
Ac ₂ O	Anidrido acético
ASC	Área sob a curva
Aq.	Aquoso
atm	Atmosfera
CAM	Molibdato sérico amoniaco
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
Cl ₅₀	Concentração inibitória para 50% da viabilidade celular
CCD	Cromatografia em camada delgada
COSY	Espectroscopia de correlação
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	Dimetilformamida
EDAC	Cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
Et	Etila
FBS	Soro fetal bovino
FF	Faixa de Fusão
FR	Fator de retenção
HSQC	Correlação heteronuclear de ligações múltiplas
i.a	Intra-articular
Lit.	Literatura
m	Multiplete
Me	Metila
MM	Massa molar
n.	Número
NHS	<i>N</i> -hidroxisuccinimida
NOESY	Espectroscopia do efeito nuclear Overhauser
OMS	Organização Mundial de Saúde
p.	Página

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS E SÍMBOLOS (continuação)

p/v	Peso por volume
PBS	Solução tampão fosfato-salino
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
psi	Libra por polegada
q	Quarteto
qn	Quinteto
TEA	Trietilamina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
sl	Simpleto Largo
sx	Sexteto
S _N 2	Substituição nucleofílica bimolecular
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TsCl	Cloreto de <i>p</i> -toluenosulfonila
TBAB	Brometo de tetrabutilamônio
Subst.	Substância
THF	Tetrahidrofurano
TNF- α	Fator de necrose tumoral
TMS	Tetrametilsilano
J	Constante de acoplamento escalar
δ	Deslocamento químico
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
ν	Número de onda
$[\alpha]_D$	Poder Rotatório específico
™	Marca comercial (do inglês: "trademark")

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 Dor Neuropática	24
1.2 Dor Inflamatória	24
1.3 Inflamação	26
1.4 Tratamento da dor	27
1.5 Relação estrutura e atividade das lincosamidas	33
1.5.1 Modificações da fração carboidrato	33
1.5.2 Modificações no anel pirrolidina em N-1'	34
1.5.3 Modificações no anel pirrolidina em C-4'	34
1.6 Reposicionamento de fármacos	36
2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	39
3 OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo geral	40
3.2 Objetivos específicos	40
4 PROPOSTA DE SÍNTESE	41
4.1 Plano de síntese	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 Síntese dos derivados alquilado e acetilado da clindamicina	47
5.1.1 Síntese dos derivados alquilados	47
5.1.2 Síntese do derivado acetilado	59
5.2 Proposta de síntese do derivado N-metil-L-prolina 3	62
5.3 Síntese das amidas 4a-4f a partir do N-metil-2-pirrolcarboxaldeído	67
5.4 Proposta de síntese das amidas a partir da N-metil-L-prolina 3	75
5.5. Proposta de síntese das amidas 7a-7d e 8a-8d	77
5.6 Síntese dos análogos triazólicos da clindamicina	85
5.7 Ensaios Biológicos	101
5.7.1 Atividade antibacteriana para o derivado acetilado 2	101
5.7.2 Determinação da concentração inibitória de 4a-4f; 7a-7d; 8a-8d e 11	102
5.7.3 Atividade anti-inflamatória in vivo do derivado acetilado 2	103
5.7.4 Padronização do modelo de inflamação induzida por zimosano	103
5.7.5 Efeito induzido pelo pré-tratamento com clindamicina e o derivado acetilado 2 sobre a alodínia mecânica e o edema articular induzidos por zimosano	104
5.7.6 Contagem total e diferencial dos leucócitos no lavado articular	105
5.7.7 Quantificação de citocinas in vivo após administração de clindamicina e do derivado acetilado 2	106
5.7.8 Quantificação de TNF- α in vitro após administração de clindamicina e do derivado acetilado 2	107
6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	109
7 PARTE EXPERIMENTAL	111
7.1 Materiais e métodos	111
7.2 Síntese dos derivados alquilados e acetilados da clindamicina	112
7.2.1 Síntese de 7-cloro-2,3-di-O-metil-6,7,8-tridesoxi-6- $\{[(4R)-1\text{-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-}$ $\text{carboxamida}]-1\text{-tio-L-treo-}\alpha\text{-D-galacto-octopiranosideo de metila 1a (adaptado de D.}$ $\text{Yu, et al, 2012)}\}$	112
7.2.2 Síntese de 7-cloro-2-O-metil-6,7,8-tridesoxi-6- $\{[(4R)-1\text{-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-}$ $\text{carboxamida}]-1\text{-tio-L-treo-}\alpha\text{-D-galacto-octopiranosideo de metila 1b (adaptado de D.}$ $\text{Yu, et al, 2012)}\}$	113
7.2.3 Síntese de 7-cloro-2,3,4-tri-O-acetil-6,7,8-tridesoxi-6- $\{[(4R)-1\text{-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-}$ $\text{carboxamida}]-1\text{-tio-L-treo-}\alpha\text{-D-galacto-octopiranosideo de metila-3 (adaptado de}$ $\text{BISWAS, SHOGREN, WILLETT, 2005; KARTHA \& FIELD, 1997)}\}$	115

7.3 Síntese do derivado <i>N</i>-metilado da prolina	116
7.3.1 Síntese de ácido <i>N</i> -metilpirrolidino-2-carboxílico 3 (adaptado de AURELIO, et al., 2003)	116
7.4 Síntese dos derivados do ácido pirrólico 4 e 4.1	117
7.4.1 Síntese de ácido-1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2- carboxílico 4.....	117
7.4.2 Síntese de 1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxilato de 2,5 dioxopirrolidinil-1-il-metila	118
7.5 Síntese das amidas 4a, 4b, 4c, 4d, 4e e 4f	119
7.5.1 Método geral para a síntese das amidas derivadas do ácido pirrólico	119
7.5.2 Síntese de <i>N</i> -benzil-1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4a.....	120
7.5.3 Síntese de <i>N</i> -(2-hidroxi-etil) -1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4b	121
7.5.4 Síntese de 1-metil- <i>N</i> -propil-1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4c	122
7.5.5 Síntese de 1-metil- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il) -1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4d	123
7.5.6 Síntese de (<i>R</i>)-1-metil- <i>N</i> -(1-feniletil) -1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4e	124
7.5.7 Síntese de (<i>S</i>)-1-metil- <i>N</i> -(1-feniletil) -1 <i>H</i> -pirrol-2-carboxamida 4f	125
7.6 Síntese das amidas reduzidas, 5b e 5c	126
7.6.1 Método geral para redução das amidas reduzidas derivadas do ácido pirrólico	126
7.6.2 Síntese de (\pm)- <i>N</i> -(2-hidroxi-etil)-1-metilpirrolidina-2-carboxamida 5b (adaptado de BIRKENMEYER, et al., 1984).....	126
7.6.3 Síntese de \pm 1-metil- <i>N</i> -propilpirrolidina-2-carboxamida 5c (adaptado de BIRKENMEYER, et al., 1984)	127
7.7 Síntese da <i>L</i>-prolina com amida protegida com o grupo BOC.....	128
7.7.1 Técnica 1 para obtenção de ácido <i>N</i> -tec-butoxicarbonil)- <i>L</i> -pirrolidono-2-carboxílico 6 (adaptado de MAHAJAN et al., 2019)	128
7.7.2 Técnica 2 para obtenção de ácido <i>N</i> -tec-butoxicarbonil)- <i>L</i> -pirrolidono-2-carboxílico 6 (adaptado de C. Li et al., 2021)	129
7.8 Síntese das amidas, 7a, 7b, 7c e 7d	130
7.8.1 Método geral para obtenção das amidas protegidas	130
7.8.2 Obtenção de (<i>R</i>)-1-tec-butoxicarbonil- <i>N</i> -benzilpirrolidinocarboxamida 7a	131
7.8.3 Obtenção de (<i>R</i>)-1-tec-butoxicarbonil- <i>N</i> -(2-hidroxi-etil)-pirrolidinocarboxamida 7b	132
7.8.4 Obtenção de (<i>R</i>)-1-tec-butoxicarbonil- <i>N</i> -propilpirrolidino-2-carboxamida 7c	133
7.8.5 Obtenção de (<i>R</i>)-1-tec-butoxicarbonil- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)-pirrolidinocarboxamida 7d	134
7.9 Síntese das amidas, 8a, 8b 8c e 8d	135
7.9.1 Método geral para obtenção das amidas desprotegidas (Adaptado de GEORGE et al., 2021; HAN et al., 2001)	135
7.9.2 Obtenção do cloridrato de (<i>R</i>)- <i>N</i> -benzilpirrolidina-2-carboxamida 8a	136
7.9.3 Obtenção do cloridrato de (<i>R</i>)- <i>N</i> -(2-hidroxi-etil)pirrolidina-2-carboxamida 8b	137
7.9.4 Obtenção do cloridrato de (<i>R</i>)- <i>N</i> -propilpirrolidina-2-carboxamida 8c	137
7.9.5 Obtenção do cloridrato de (<i>R</i>)- <i>N</i> -(pro-2-in-1-il)pirrolidina-2-carboxamida 8d	138
7.10 Síntese dos glicosídeos 10,11, 12, 13 e 14	139
7.10.1 Técnica 1 para obtenção de 6- <i>O</i> -(4-toluenosulfonil)- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 12 (adaptado de MANFRINI, et al., 1984)	139
7.10.2 Técnica 2 para obtenção de 6- <i>O</i> -(4-toluenosulfonil)- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 12 (adaptado de MANFRINI, et al., 1984)	140
7.10.3 Obtenção de 2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-6-desoxi-6-iodo- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 8	141
7.10.4 Obtenção de 2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-6-azido-6-desoxi- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 9	143
7.10.5 Obtenção do 6-azido-6-desoxi- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 14	144
7.10.6 Obtenção de 6-desoxi-6-[4-[(1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-il)carbonil]amino]metil]-1- <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]-2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 10	145
7.10.7 Obtenção de 6-desoxi-6-[4-[(1-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2-il)carbonil]amino]metil]-1- <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]- α - <i>D</i> -glicopiranosídeo de metila 11	146
7.11 Redução do Anel Pirrólico	147
7.12 Estudos conformacionais dos compostos.....	147

7.13 Ensaio Biológicos	147
Os ensaios biológicos descritos abaixo foram realizados em colaboração com o professor Dr. Marcio de Matos Coelho, professor Dr. Renes Machado e o aluno de doutorado Felipe Rodrigues do departamento de Farmacologia da UFMG.....	147
7.13.1 Atividade anti-inflamatória in vivo.....	148
7.13.2 Preparo das soluções dos fármacos e reagentes.....	148
7.13.3 Estímulos inflamatório	149
7.13.4 Avaliação antibacteriana e cepas bacterianas composto (2).....	149
7.13.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	150
7.13.6 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)	150
7.13.7 Avaliação da alodínia mecânica induzida por zimosano	151
7.13.8 Avaliação do diâmetro articular	151
7.13.9 Padronização do modelo de inflamação articular induzida por zimosano	152
7.13.10 Efeito induzido pelo pré-tratamento com o derivado acetilado (2) sobre a alodínia mecânica e o edema articular induzidos por zimosano.....	152
7.13.11 Contagem total e diferencial dos leucócitos no lavado articular	152
7.13.12 Coleta e preparo das amostras para determinar concentrações de citocinas e quantificação de TNF- α	153
7.13.13 Quantificação de citocinas in vivo	153
7.13.14 Quantificação de TNF- α in vitro	154
7.13.15 Avaliação da atividade antibacteriana: determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos 7a-7d; 8a-8d e 11	154
REFERÊNCIAS.....	156
APÊNDICE.....	166

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a *International Association for the Study of Pain*, a dor pode ser entendida como uma “experiência desagradável a qual envolve aspectos sensoriais e emocionais, associada a uma lesão real ou potencial dos tecidos.” A dor possui o papel fisiológico de alertar o indivíduo sobre ameaças à integridade do organismo. Sensações desagradáveis são percebidas quando o organismo está exposto a estímulos potencialmente nocivos, informando ao indivíduo sobre perigos frente à sua integridade (KLAUMANN; WOUK & SILLAS, 2008; BURTON et al. 2016). Diante disso, pode-se considerar que a dor é uma importante sinalização de diversas doenças e ainda pode revelar uma forma de precaução (BURMA et al., 2016).

Apesar das sensações dolorosas serem um aviso que o organismo se utiliza para sinalizar um processo de agressão, a problemática da dor acompanha a humanidade na medida em que interfere na homeostase do indivíduo e na sua relação com os outros indivíduos (PIRES, 2007).

A dor se torna cada vez mais comum em consequência do envelhecimento da população e das taxas crescentes de câncer e quimioterapia. Além disso, o aumento da incidência de diabetes mellitus também pode contribuir para o provável aumento da dor (COLLOCA et al., 2017).

A dor possui diversas causas como, por exemplo, dor de intervenção em procedimentos cirúrgicos, após lesão tecidual e em condições crônicas como a artrite ou fibromialgia (CHRISTO & MAZLOOMDOOST, 2008). Ainda como causa da dor, podemos citar o câncer que pode provocar uma dor intensa em 14 a 100% dos pacientes afetados por esta enfermidade (MACINTYRE & SCHUG, 2007).

Ainda nesse contexto, a dor pode ser classificada em dor neuropática e, dor inflamatória.

1.1 Dor Neuropática

A dor neuropática é uma síndrome dolorosa, causada por uma lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial (GREENSPAN *et al.*, 2010; JENSEN, *et al.*, 2011; IASP, 2016).

A dor neuropática está entre uma das síndromes mais complexas, intrigante e difícil de se tratar. Pode ser originada por qualquer lesão do SNC, acidente vascular encefálico isquêmico ou hemorrágico, acidente vascular encefálico infeccioso, esclerose múltipla desmielinizante, traumatismo cerebral ou traumatismo da medula espinhal ou neoplasias. Na maioria dos casos, a causa está relacionada a acidente vascular encefálico e lesão medular (WATSON & SANDRONI, 2002).

1.2 Dor Inflamatória

O processo inflamatório consiste em uma resposta homeostática que ocorre nos tecidos vascularizados para remover agentes nocivos e restaurar suas funções normais, que chamamos de resolução e de acordo com o tempo de resolução, a dor poderá ser aguda (menos de três meses de duração) ou crônica (mais de três meses de duração (MACINTYRE & SCHUG, 2007). O excesso prolongado de ativação de vias neuronais, na dor aguda, pode dar lugar à dor crônica. Esse excesso pode estar associado a processos inflamatórios ou infecciosos e queimaduras (SALLUM, GARCIA & SANCHES, 2012). Considera-se que as dores agudas são graves e de início súbito. Isso pode descrever qualquer coisa, desde um osso quebrado até um ataque de asma. Em contrapartida, uma condição crônica, é uma síndrome de desenvolvimento prolongado, como osteoporose ou asma. A osteoporose, uma condição crônica, pode causar uma fratura óssea, uma condição aguda. Um ataque agudo de asma ocorre em meio à doença crônica da asma. Condições agudas, como um primeiro ataque de asma, podem levar a uma síndrome crônica se não forem tratadas. A função de proteção que observamos na dor aguda, está relacionada ao reparo tecidual, já que cria uma região de hipersensibilidade em torno da área da lesão. Isso reduz

os movimentos e ativa comportamentos de esquiva, levando a uma maior rapidez na recuperação tecidual (BASBAUM & WOOLF, 1999)

Outra característica observada na inflamação aguda são as alterações vasculares resultantes do acúmulo de fluidos e células polimorfonucleares no tecido lesionado. São observadas também respostas sistêmicas como hipertermia, leucocitose, catabolismo de proteínas aumento na síntese de proteínas C-reativas (RAHMATI, MOBASHERI & MOZAFARI, 2016). Já a inflamação crônica apresenta como características infiltrado celular (linfócitos e macrófagos) bem como a presença simultânea de lesão e reparação tecidual (OLIVEIRA JÚNIOR, JUNIOR & COHEN, 2016).

A dor gera impacto negativo na qualidade de vida das pessoas, especialmente a dor crônica. Quanto maior a intensidade da dor, pior se torna a qualidade de vida do indivíduo que convive com ela, por isso, amenizar essa dor é tão importante quanto melhorar o quadro clínico geral desses indivíduos (TANDER *et al.*, 2008). A dor não tratada pode causar sérios danos fisiológicos e psicológicos afetando a convivência social, por exemplo, no trabalho e a convivência familiar. Alterações fisiológicas causadas pela dor incluem aumento da atividade simpática resultando em taquicardia, hipertensão arterial, maior consumo de oxigênio pelo tecido miocárdico, redução da motilidade intestinal e aumento na produção de hormônios catabólicos (MACINTYRE & SCHUG, 2007).

É importante ressaltar que, em especial a dor crônica, já é considerada como um problema de saúde pública, já que tem grande prevalência entre a população adulta (MANTYSELKA *et al.*, 2003; PARASCHIV-IONESCU *et al.*, 2016). Além disso, ainda se mostra como o principal sintoma relatado nos serviços de saúde sendo uma das principais causas de incapacidade temporária ou permanente no trabalho (KROENKE & PRICE, 1993; SMITH *et al.*, 2001; VERHAAK *et al.*, 2006).

1.3 Inflamação

É cada vez mais compreendido que o organismo humano se defende de modo semelhante a diversas agressões sendo elas de natureza traumática, infecciosa e não infecciosa (BRUN-BUISSON, 2000; GOLIA, et al., 2014). O processo inflamatório, por exemplo, é uma resposta fisiológica inata do organismo às injúrias teciduais desencadeadas por agentes físicos, químicos e biológicos como infecção, trauma, toxina, e necrose tecidual e leva à liberação de uma variedade de mediadores inflamatórios proporcional à magnitude da agressão (AKHMEROV & PARIMON, 2022).

A inflamação é uma resposta de defesa local que ocorre após dano celular que pode ser iniciado por microrganismo, agentes físicos (radiação, trauma, queimaduras), químicos (toxinas, substâncias cáusticas), necrose tecidual e/ou reações imunológicas (GOMES-LEAL, 2002; KHOVIDHUNKIT, et al., 2004; KUMAR, et al., 2004). Ela se inicia por meio de uma série de eventos dentre os quais podemos citar o aumento no fluxo sanguíneo no local da inflamação, aumento de permeabilidade vascular na região afetada, inchaço e dor localizada (ABBAS & JANEWAY, 2000; GOLIA et al., 2014).

Uma variedade de células especializadas participa do processo inflamatório inicial como os neutrófilos, macrófagos, mastócitos, linfócitos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais e fibroblastos. Esse processo inflamatório iniciado a princípio é importante e benéfico para realizar a reparação tecidual e eliminar o agente o agressor por meio da liberação de importantes citocinas, mediadores inflamatórios, de interleucina 1 (IL-1), que consiste de três polipeptídeos estruturalmente semelhantes; os dois primeiros polipeptídeos são representados pela interleucina 1 alfa (IL-1 α) e interleucina 1 beta (IL-1 β) e o terceiro é representado pelo antagonista de receptor de interleucina 1 (IL-1ra), além da IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (DINARELLO, 1991).

Uma vez conhecendo o processo inflamatório, seus mediadores e diferentes mecanismos de inflamação, possibilita selecionar a melhor terapêutica para o tratamento da dor e do processo inflamatório.

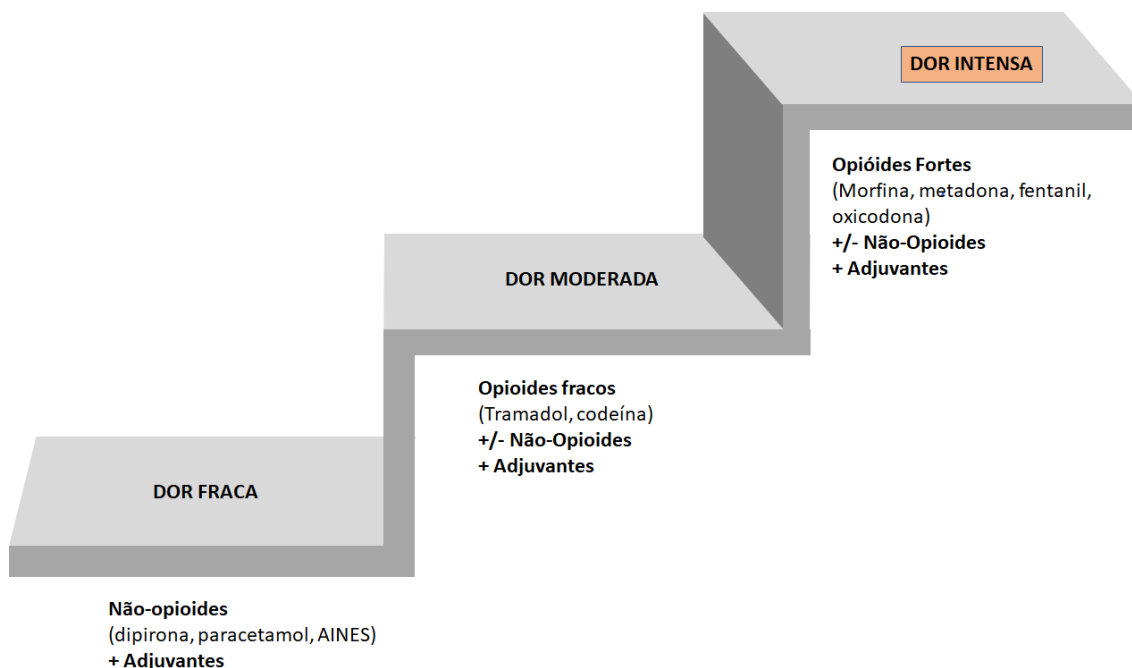
1.4 Tratamento da dor e inflamação

O controle da dor pode ser realizado tanto por técnicas farmacológicas ou por técnicas não farmacológicas. O controle da dor por técnicas não farmacológicas inclui a estimulação do nervo elétrico transcutâneo, acupuntura, massagem, relaxamento, reflexologia e terapia do comportamento cognitivo.

Para melhor direcionar o tratamento da dor, principalmente por técnicas farmacológicas, e auxiliar no seu diagnóstico, uma ferramenta simples poderá ser utilizada, como a escala unidimensional variando de 0 a 10. Nessa escala o zero representa ausência de dor e o dez representa dor extremamente intensa (ANDRADE, PEREIRA & SOUSA, 2006; GÖRANSSON, HEILBOORN & DJARV, 2016).

Por volta de 1986, a Organização Mundial da Saúde (OMS) já havia introduzido uma escala de fármacos a serem utilizados no tratamento de condições dolorosas, com base na sua potência (**Figura 1**), para reforçar o princípio básico de que a dor requer avaliação. Na concepção da OMS se um analgésico clássico não for eficaz, a dor persistirá ou aumentará, com isso o prescritor poderá então se orientar por essa escala se há necessidade de aumentar a escala de eficácia conforme a potência do fármaco (COX, 2010).

Figura 1 - Escala da dor



Fonte: **Projeto Diretrizes, Associação Médica Brasileira. 2012**

A escala da OMS em conjunto com a Associação Médica Brasileira foi proposta inicialmente para o tratamento da dor de pacientes oncológicos, porém hoje seu uso está mais associado a dor aguda. A sugestão é que todos os pacientes recebam de início paracetamol e não um anti-inflamatórios não-esteróide (AINE) clássico, salvo em casos de contraindicação (MACINTYRE & SCHUG, 2007).

Atualmente o tratamento de vários tipos de dor incluem, principalmente, o uso dos AINEs como paracetamol, naproxeno, meloxicam, entre outros e os análogos da morfina, como codeína e tramadol, oxicodona e fentanil, por exemplo. Os primeiros apresentam vasta utilização, porém podem provocar vários efeitos adversos, tais como úlceras, discrasias sanguíneas, e alergias. Os segundos são utilizados no tratamento de dores mais intensas, como por exemplo, àquelas provenientes do câncer e sua aplicação também é limitada, já que também estão associados a diversos efeitos adversos como sedação, tonteira, náusea e distúrbios do Sistema Nervoso Central (SNC) (COLUZZI *et al.*, 2016).

Merece atenção especial em relação às limitações do uso de AINEs principalmente a população idosa, pessoas em uso de anticoagulantes e pessoas com histórico de sangramento gastrointestinal e úlceras gastrointestinais superiores, já que os AINEs estão associados a vários tipos de hemorragias. Os AINEs também apresentam contraindicações nos casos de úlcera péptica, disfunção renal e asma (RISSER et al., 2009; WAN GHAZALI, et al., 2021).

Além disso, o uso dos AINEs também está contraindicado para pessoas com doenças cardiovasculares, já que essa classe tende a piorar a insuficiência cardíaca congestiva, aumentar a pressão arterial e agravar efeitos adversos cardiovasculares (CHRISTIANSEN, GROVE & HVAS, 2021; LAORUENGTHANA et al., 2021).

Já os derivados da morfina, deve-se ter bastante cautela com o seu uso, principalmente os mais potentes como a própria morfina e a oxicodona, uma vez que são susceptíveis a efeitos adversos como sedação e depressão respiratória (COX, 2010).

Uma boa sugestão de uso de derivados da morfina seria os de liberação imediata como a oramorph (solução oral de sulfato de morfina) ou a oxynorm (solução injetável de cloridrato de oxicodona). Isso porque permite avaliar se a dor do paciente responderá ao opiáceo na dosagem utilizada a um nível aceitável pelo paciente, sem haver necessidade de aumento de dose, o que poderia aumentar as chances de efeitos adversos. Outra boa prática para paciente em uso de opiáceos seria o uso profilático de laxantes, já que estes fármacos reduzem a disfunção intestinal como a constipação e dor abdominal (COX, 2010).

Estudos têm demonstrado que a clindamicina, um antibiótico de ação bacteriostática pertencente à classe das lincosamidas, é capaz de diminuir os níveis de citocinas como TNF- α , IL-1 e IFN- γ , mediadores inflamatórios que geram a sensação de dor (KISHI et al., 1999; NORIO et al., 2011; BASTOS, 2014). A clindamicina foi desenvolvida em 1966 quimicamente a partir de

modificações químicas da estrutura da lincomicina, antibacteriano de origem natural (YE, LAW & GU, 2009).

As lincosamidas formam um grupo pequeno de antibióticos, porém clinicamente importante. A lincomicina, antibiótico da classe das lincosamidas de origem natural, foi relatada primeiramente e isolada em 1962 a partir de um actinomiceto do solo, encontrado próximo de Lincoln, Nebraska, e por isso seu nome lincomicina (SPÍZEK & REZANKA, 2004).

A descoberta da nova espécie de bactérias estreptomiceto foi então denominada de *Streptomyces lincolnensis*. Nesse período, um importante agente antimicrobiano derivado da lincosamida, a clindamicina, ganhou uma importante aceitação clínica como um dos principais antibacterianos para o tratamento de infecções causadas por bactérias gram-positivas, como estafilococos e estreptococos (YE, LAW & GU, 2009).

Os representantes da classe das lincosamidas possuem propriedades antibacterianas similares aos macrolídeos, como a azitromicina, e curiosamente agem pelo mesmo mecanismo de ação. A lincomicina e seu derivado semissintético clindamicina foram introduzidos na prática clínica como antibióticos de uso oral exatamente na época em que foram isoladas e modificadas, por volta de 1962 e 1969, respectivamente (MAJERCÍKOVÁ et al., 2015).

A partir de então, uma gama de produtos químicos passou a fazer parte do processo de fermentação da espécie *Streptomyces lincolnensis* no sentido de encontrar novas substâncias antibióticas relacionadas à lincomicina (YE et al., 2009) e diversos experimentos foram propostos para melhorar os rendimentos de obtenção da lincomicina (CHOI & CHO, 2004).

Substituição da hidroxila em C-7 da lincomicina por um átomo de cloro resultou na obtenção do derivado semissintético (**Figura 2**), a clindamicina, com alta atividade biológica quando comparada com a lincomicina (**Tabela 1**).

Figura 2 - Estrutura da lincomicina e da clindamicina

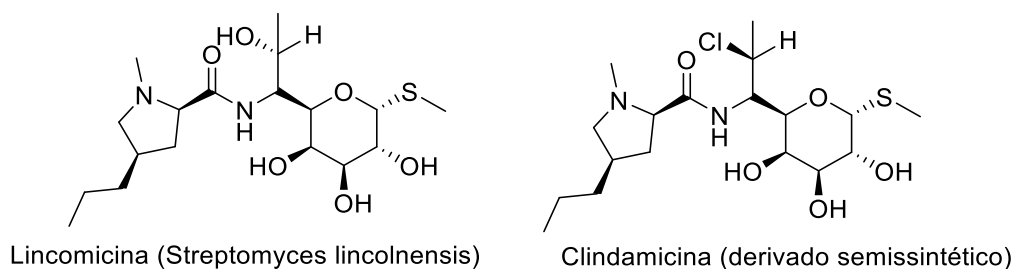


Tabela 1 - Atividade antibacteriana da lincomicina da clindamicina.

Espécie testada	CIM (mg/L)	
	Cloridrato de clindamicina	Cloridrato de lincomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,125	0,5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,125	0,25
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,064	0,5
<i>Streptococcus viridans</i>	0,064	0,25
<i>Escherichia coli</i>	64	1000
<i>Proteus vulgaris</i>	250	1000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	125

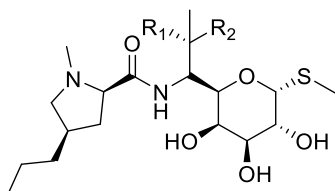
Quanto à atividade desses antibióticos, a clindamicina apresentou uma concentração inibitória mínima (CIM) de 0,125 mg/L contra *S. aureus*, enquanto a lincomicina apresentou uma CIM de 0,5 mg/L, ou seja, a clindamicina foi 4 vezes mais potente. A clindamicina foi novamente 4 vezes mais potente que a lincomicina contra *S. viridans* e 2 vezes mais potente que a lincomicina contra *S. pyogenes*. Já para a *E. coli*, *P. vulgaris* e *K. pneumoniae*, as CIM para ambas as substâncias foram bem maiores, isso já era de se esperar já que se tratam de bactérias gram-negativas e a clindamicina apresenta atividade mais pronunciada contra bactérias gram-positivas (NUSSBAUM, *et al.*, 2006). Ainda assim, a clindamicina exerceu melhor atividade quando comparada com a lincomicina.

A clindamicina é um antibiótico amplamente utilizado pois possui melhor atividade e maior absorção por via oral quando comparada com a lincomicina. Notadamente a clindamicina é o fármaco escolhido para o tratamento de infecções periféricas causadas por *Bacillus fragilis* ou outras bactérias anaeróbicas penicilina resistentes. Este fármaco é também topicamente utilizado para o tratamento de acne, por apresentar maior atividade frente a bactérias

gram-positivas e anaeróbicas facultativas (NUSSBAUM, *et al.*, 2006). Além disso a clindamicina apresentou baixa toxicidade quando administrada por via oral em ratos, com valor de DL₅₀ superior a 5.000 mg/kg.

Outras substituições explorando a posição C-7 destas lincosamidas foram realizadas e os resultados são mostrados na **Tabela 2**. A partir desses resultados pode-se observar que tanto a natureza da substituição quanto a configuração do centro quiral apresenta importante influência para a atividade antibacteriana. Ao observar o impacto das substituições na atividade antibacteriana dos derivados podemos perceber que a substância mais ativa para todas as cepas testadas foi aquela com substituintes em R₁ = H e R₂ = I. Conclui-se também que a atividade antibacteriana é influenciada pela natureza dos substituintes e configuração do C-7, sendo S a configuração de C-7 das lincosamidas mais ativas (GOFFIC, 1985)

Tabela 2 - Modificação da lincomicina a nível do carbono C-7



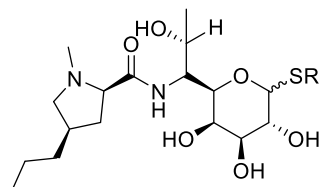
Compostos	CIM (mg/L)				
	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. schottmuelleri</i>
R ₁ = OH, R ₂ = H (Lincomicina)	0,4	12,5	400	800	4000
R ₁ = H, R ₂ = Cl (Clindamicina)	0,1	6,2	25	250	64
R ₁ = H, R ₂ = OH	1,6	25	> 200	> 200	> 200
R ₁ = SH, R ₂ = H	3,2	200	> 200	> 200	> 200
R ₁ = H, R ₂ = SH	1,6	100	> 200	> 200	> 200
R ₁ = H, R ₂ = Br	0,05	6,2	100	100	50
R ₁ = Cl, R ₂ = H	0,8	12,5	> 200	> 200	> 200
R ₁ = H, R ₂ = I	0,05	3,2	12,5	50	50

1.5 Relação estrutura e atividade das lincosamidas

1.5.1 Modificações da fração carboidrato

Para investigação da importância dos substituintes da porção carboidrato para a atividade antimicrobiana das lincosamidas, Magerlin (1997) sintetizou uma série de derivados 1-S-alkil da lincomicina. O que se observou é que tanto o substituinte quanto a configuração do centro anomérico afetam a atividade antibacteriana. O derivado α -1-dietil-tiolincomicina I, por exemplo (**Tabela 3**), foi praticamente tão potente quanto a lincomicina. Os resultados foram similares tanto *in vitro* quanto *in vivo*, porém observou-se que o derivado I foi mais ativo que o correspondente anomero β II, conforme pode ser observado na **Tabela 3**. Já o derivado 1- α -butiltio III foi ativo apenas *in vitro* sendo desprovido de atividade quando testado *in vivo*, especialmente quando administrado por via oral.

Tabela 3 - Modificação da lincomicina em C-1



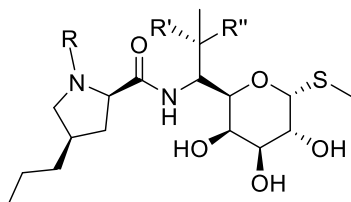
Compostos	Substituintes	CIM (mg/L)				
		<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. schottmuelleri</i>
Lincomicina	α -CH ₃	0,4	25	> 200	> 200	> 200
I	α -C ₂ H ₅	0,4	25	> 200	> 200	> 200
II	β -C ₂ H ₅	3,2	200	> 200	> 200	> 200
III	α -n-C ₄ H ₉	0,4	50	> 200	> 200	> 200

A 2-desoxi-lincomicina e a 2-O-metil-lincomicina foram sintetizadas e a atividade antibacteriana foi avaliada. A partir dos resultados obtidos, observou-se que o derivado 2-desoxi apresentou apenas 1% da atividade da lincomicina, enquanto que o derivado 2-O-metil, não apresentou atividade antibacteriana (MAGERLEIN, 1999).

1.5.2 Modificações no anel pirrolidina em N-1'

Derivados desmetilados **IV** e **VI**, metilado **VII** ou etilados **V** e **VIII** em *N*-1' também foram propostos. Foi possível observar que a presença de um grupo etil na posição *N*-1' **V**, altera significativamente a atividade antibacteriana (**Tabela 4**). Os derivados **VI**, **VII** e **VIII**, com substituinte cloro na posição R'' apresentaram melhores atividades, já que apresentaram menores valores de CIM, frente a cepas de *E. coli* mesmo essa sendo uma espécie gram-negativa, e melhores resultados frente às cepas de *S. aureus* e *S. faecalis*, com exceção do composto VIII que se mostrou menos ativo contra *S. faecalis*. (Magerlein,1977).

Tabela 4 - Modificação da lincomicina no anel pirrolidina em N-1' e em C-7

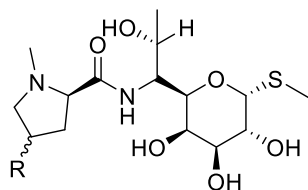


Compostos	Substituinte			CIM (mg/L)		
	R	R'	R''	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
Lincomicina	CH ₃	OH	H	0,8	0,4	> 200
IV	H	OH	H	3,2	1,6	> 100
V	CH ₂ CH ₃	OH	H	0,2	0,4	50
VI	H	H	Cl	0,1	3,2	25
VII	CH ₃	H	Cl	0,1	6,2	25
VIII	CH ₂ CH ₃	H	Cl	0,4	25	50

1.5.3 Modificações no anel pirrolidina em C-4'

Goffic (1985) observou que existe uma correlação entre aumento do número de carbonos na cadeia em C-4' e a atividade, variando de três a seis carbonos (**Tabela 5**). Os substituintes com grupos butilas **IX** e hexilas **XI** com a configuração *trans* se mostraram mais ativos contra cepas de *S. aureus*. Outra conclusão para os substituintes na posição C-4', é que os isômeros *trans* (em relação ao grupo amida) apresentaram o dobro de atividade quando comparado aos correspondentes isômeros *cis* **X** e **XII**.

Tabela 5 - Modificações na posição C-4' do anel pirrolidina

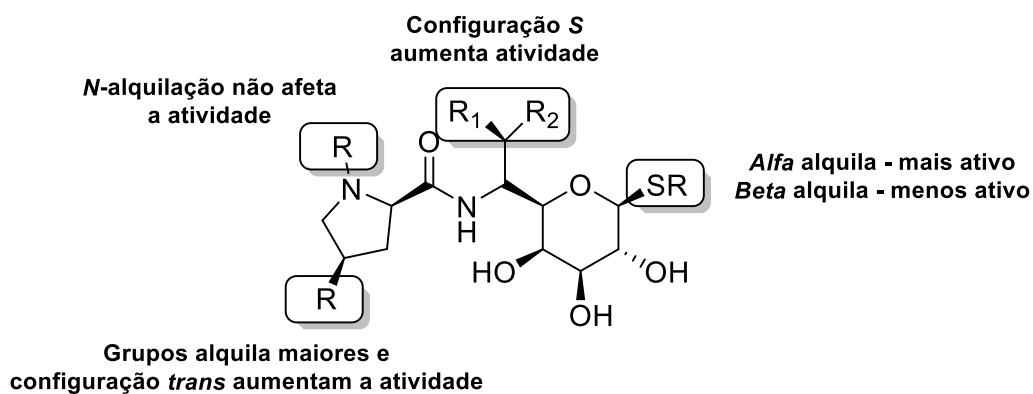


Compostos	Substituíntes	CIM (mg/L)				
		<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. schottmuellheri</i>
Lincomicina	n-C ₃ H ₇ -trans	0,4	0,4	> 200	> 200	> 200
IX	n-C ₄ H ₉ -trans	0,2	0,4	200	> 200	> 200
X	n-C ₄ H ₉ -cis	0,4	0,4	> 200	> 200	> 200
XI	n-C ₆ H ₁₃ -trans	0,2	0,2	200	> 200	> 200
XII	n-C ₆ H ₁₃ -cis	0,8	0,4	200	> 200	> 200

À luz desses conhecimentos esses autores contribuíram grandemente para se chegar a compostos com modificações na estrutura da lincomicina que influenciam na atividade antibacteriana.

Na **Figura 3** está representado um resumo das modificações descritas.

Figura 3 - Resumo das modificações na estrutura da lincomicina

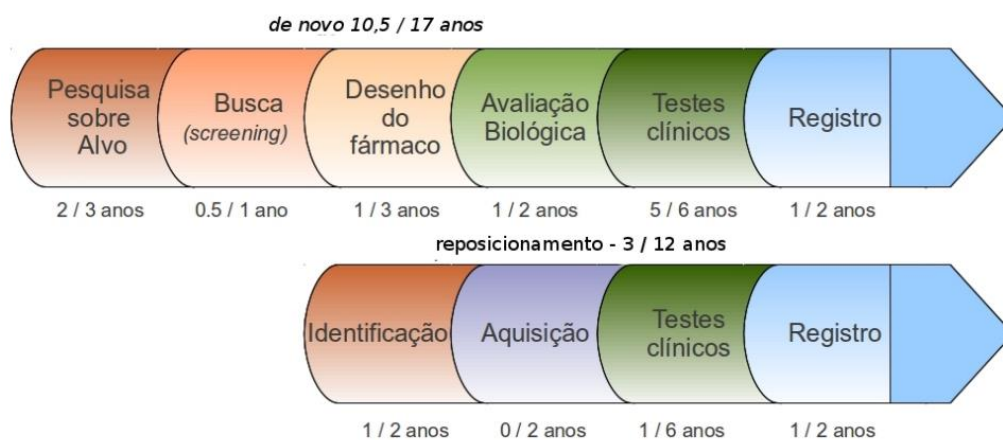


1.6 Reposicionamento de fármacos

Estudos afirmam que a descoberta de um novo fármaco está se tornando mais lenta e mais cara ao longo do tempo, apesar dos avanços da tecnologia. Para se chegar a um novo fármaco, as etapas envolvem, dentre outras, a identificação e validação de uma nova entidade química, o que é considerado um processo caro e demorado. O tempo até a descoberta e liberação de um novo fármaco no mercado passou de, em média, 10 anos na década de 90 e atualmente o processo convencional gira em torno de 14 anos, com um custo de mais de 2,5 bilhões de dólares (CHONG & SULLIVAN, 2007; NOSENGO, 2016).

Dado o custo e a despesa do desenvolvimento de fármacos, as empresas farmacêuticas aumentaram os investimentos em estudos de reposicionamento que é um novo uso de fármacos já existentes no mercado, ou ainda, é o processo de encontrar novos usos que estejam fora do escopo da indicação médica original para esses fármacos (ASHBURN & THOR, 2004). Essa técnica é utilizada há muito tempo, havendo registro de seu uso desde meados do século passado (ARONSON, 2007). O reposicionamento bem-sucedido pode reduzir custos e tempo de comercialização, pois os fármacos já passaram por estudos de segurança (ASHBURN & THOR, 2004; NOSENGO, 2016) (**Figura 4**).

Figura 4 - Comparação entre os métodos de reposicionamento de novos fármacos

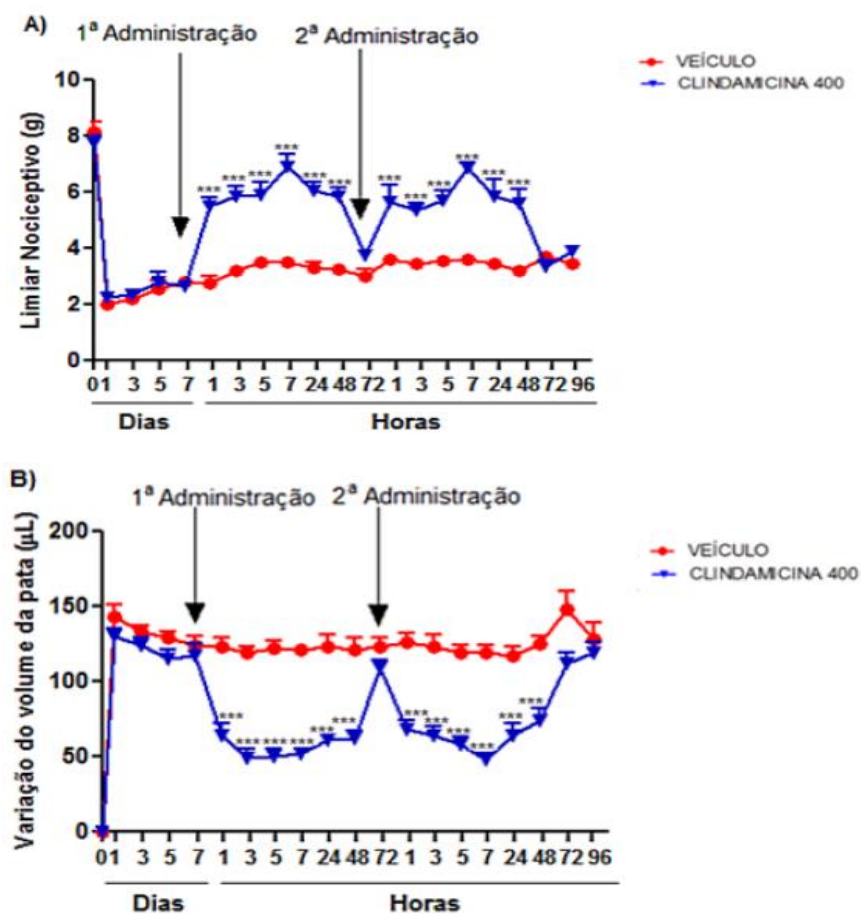


De acordo com o consenso da IUPAC a definição proposta para reposicionamento de fármacos é “estratégica que busca descobrir novas aplicações para um fármaco existente, que não foram previamente referenciadas e que atualmente não são prescritas ou investigadas”. O reposicionamento de fármacos é bastante atrativo, já que não se tem os altos custos e riscos relacionados ao tempo e dinheiro gastos no processo tradicional de descoberta e desenvolvimento de fármacos. Além disso, essa estratégia pode reduzir falhas associada a questões de segurança ou toxicidade, sem falar que pode propiciar uma economia de até 5 a 7 anos no tempo médio de desenvolvimento de fármacos (ASHBURN & THOR *et al.*, 2004).

São nas triagens laboratoriais e observações clínicas que se realiza o reposicionamento de fármacos. Uma boa abordagem de sucesso a ser citada é o exemplo do fármaco sildenafil, que hoje é utilizado para o tratamento da disfunção erétil, mas foi inicialmente investigado para tratamento de hipertensão pulmonar, bem como para tratamento da doença arterial crônica. O efeito adverso observado que levava à ereção peniana foi uma descoberta ao acaso e deu à Pfizer, empresa responsável pela sua criação, uma nova aplicação ao fármaco (NISHMURA & HARA, 2018).

Ainda com base nesse assunto, estudos recentes mostraram que administração do antibiótico clindamicina (400 mg/kg, i.p.) reduziu a alodínia mecânica e edema de pata em camundongos, induzidos por CFA por até 48 h. A clindamicina foi administrada a partir do 7º dia após a injeção de CFA. Uma nova administração de clindamicina foi então realizada 72 h após a primeira administração, visto que não foi observado efeito farmacológico nesse período (período de 48h a 72h) (**Figura 5**). O que se observou é que a segunda administração de clindamicina (400 mg/kg, i.p.) apresentou resultados semelhantes aos observados após a primeira administração, novamente com efeitos até 48 h após administração. Os autores afirmam que a clindamicina é capaz de reduzir a produção de vários mediadores inflamatórios e por isso exerce tal atividade (RODRIGUES, 2017).

Figura 5 - Efeitos induzidos por administrações repetidas de clindamicina - Limiar nociceptivo (A) e Variação do volume (B)



Clindamicina (400 mg/kg, i.p.) ou veículo (V) sobre a alodinia mecânica (A) e o edema de pata (B) induzido por ACF– adjuvante completo de Freund (20 μL), quando tratados no 7° e 10° dia após indução. *** indica diferença estatística significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). n=6. Fonte: (RODRIGUES, 2017)

2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

A dor não só impõe um desconforto físico e mental ao paciente como também gera encargos financeiros para a sociedade e indivíduos, com custos que estão estimados em aproximadamente 632 bilhões de dólares anualmente (GASKIN & RICHARD, 2012). No Brasil, a prevalência de dor crônica é diversa, sendo de 23,02% em um estudo realizado no Maranhão, até 76,17% (AGUIAR, et al., 2021) em um estudo *online* conduzido em âmbito nacional. De forma geral e inespecífica, a prevalência nacional de dor é de 45,59% (AGUIAR, et al., 2021). O Brasil apresenta uma alta prevalência de dor crônica e estudos mostram que esse panorama é comum a vários outros países como Japão 39,3% (INOUE, et al., 2015), China - Hong Kong, 34,9% (JACKSON, et al., 2014), Estados Unidos 30,7% (JOHANNES, et al., 2010) e Irã 38,9% (ZAREI, et al., 2012).

Sabe-se que nas abordagens terapêuticas de dor, embora existam fármacos empregados no alívio sintomático, ainda há grandes limitações evidentes tanto em relação à eficácia quanto à segurança desses fármacos (FRANCISCHI *et al.*, 2008).

Com base na necessidade de busca por novos anti-inflamatórios mais seguros e potentes e sabendo-se das propriedades analgésica e anti-inflamatória da clindamicina, a obtenção de análogos podem representar uma classe bastante relevante. Apesar de que estudos de reposicionamento de fármacos envolvendo os antimicrobianos para o tratamento de doenças não infecciosas venha sendo realizados, um risco inerente a essa aplicação seja a resistência bacteriana.

A resistência bacteriana já é considerada um problema de saúde global, porque compromete a efetividade de fármacos antimicrobianos prejudicando o tratamento de doenças infecciosas (WHO, 2009).

Nesse sentido, derivados e análogos da clindamicina merecem investigações adicionais na busca por fármacos mais efetivos, mais seguros e desprovidos de atividade antibacteriana.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar e avaliar a atividade anti-inflamatória e atividade antimicrobiana de análogos e derivados da clindamicina.

3.2 Objetivos específicos

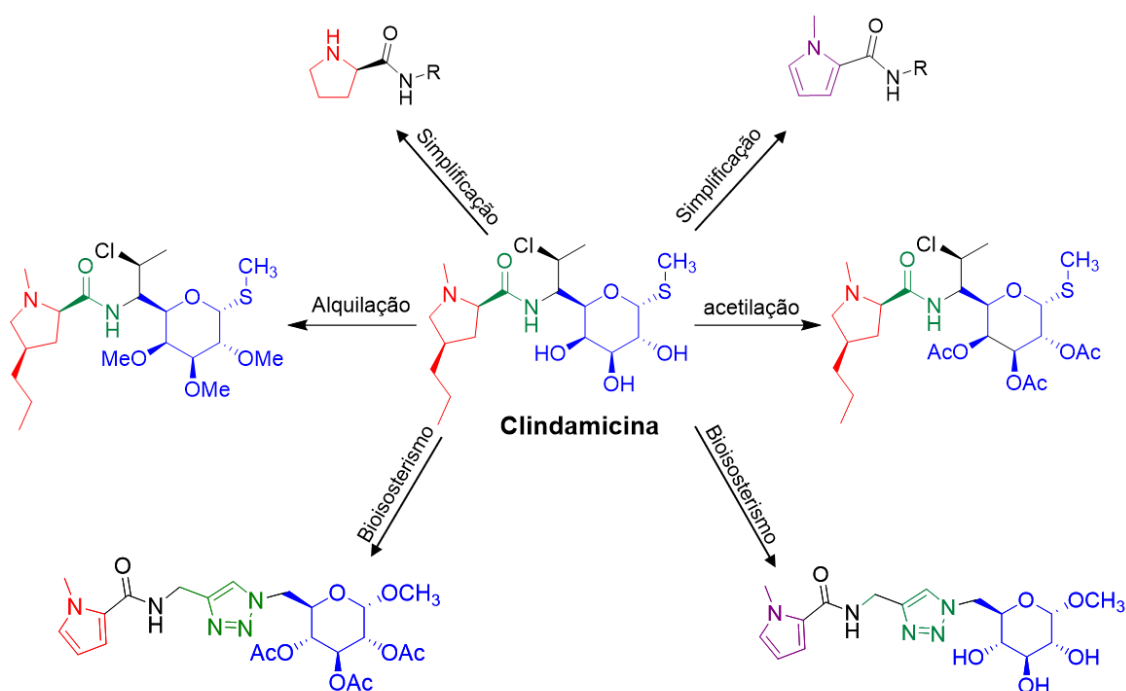
- Sintetizar derivados da clindamicina com modificação na fração açúcar;
- Sintetizar análogos da clindamicina com remoção da fração açúcar;
- Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana das substâncias sintetizadas, contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimuricum*;

Avaliar a atividade anti-inflamatória das substâncias sintetizadas *in vivo* em modelo experimental de inflamação crônica induzida em camundongos.

4 PROPOSTA DE SÍNTESE

A síntese de derivados e análogos da clindamicina foi proposta neste trabalho, uma vez que estudos anteriores demonstraram a atividade da clindamicina como agente anti-inflamatório (RODRIGUES, 2020; RODRIGUES, *et.al.*, 2021). Com a obtenção desses compostos espera-se estabelecer uma relação entre a estrutura química e atividade antimicrobiana X atividade anti-inflamatória. Uma visão geral da proposta do plano de síntese é mostrada na **Figura 6**.

Figura 6 - Visão geral da proposta do plano de síntese

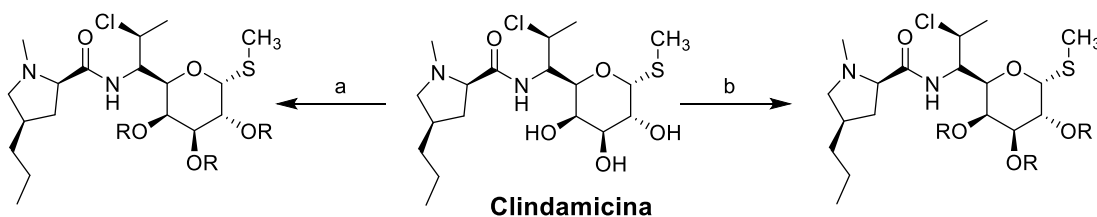


4.1 Plano de síntese

A obtenção dos derivados alquilados **1a** e **1b**, e acetilado **2** da clindamicina, proposta em uma etapa é ilustrado no esquema 1. A rota de síntese para formação dos derivados alquilados envolveu reações utilizando bases relativamente fortes como hidreto de sódio e hidróxido de sódio e solventes

anidros. Para a síntese do derivado acetilado **2** utilizou-se a reação clássica de acetilação envolvendo anidrido acético em piridina (**Esquema 1**).

Esquema 1 - Rota de síntese proposta para a obtenção dos derivados alquilados e acetilados derivados da clindamicina



a) CH_2Cl_2 , H_2O , TBAB, NaOH , t.a.

1a R = metila

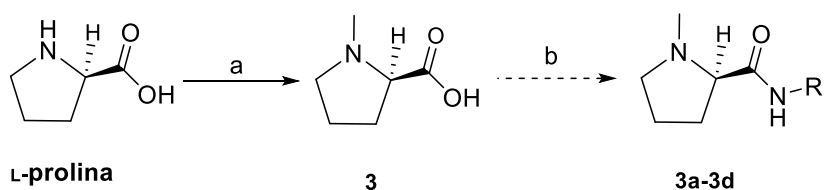
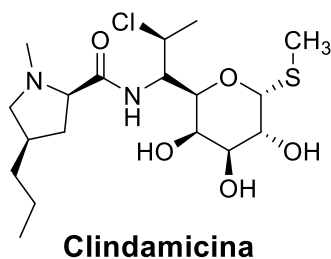
1b R = etila

b) piridina, Ac_2O , t.a

2 R = Ac

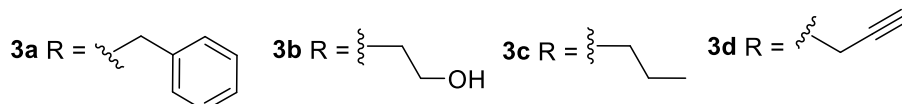
Para avaliar a importância da porção açúcar da clindamicina para a atividade antibacteriana e anti-inflamatória, uma rota de síntese a partir da L-prolina foi proposta. Essa rota consiste, inicialmente, da N-metilação da L-prolina, seguida da conversão do ácido carboxílico **3** em um éster ativado por reação de acoplamento com uma carbodiimida para posterior reação com as aminas correspondentes para síntese das amidas de interesse **3a-3d**, conforme mostrado no (**Esquema 2**).

Esquema 2 - Rota de síntese proposta para a obtenção das amidas a partir da *N*-metil-L-prolina.



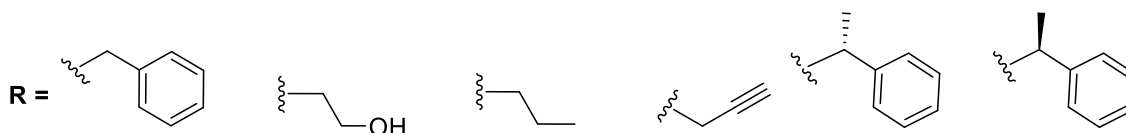
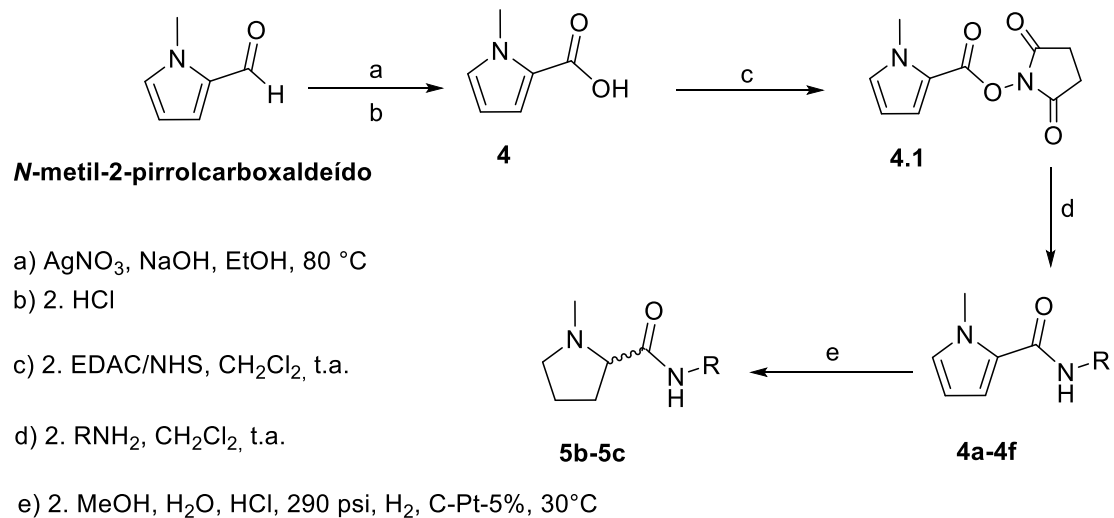
a) CH_2O aq., MeOH, H_2 , Pd-C-10%, t.a

b) EDAC, NHS, CH_3CN , RNH_2 , t.a



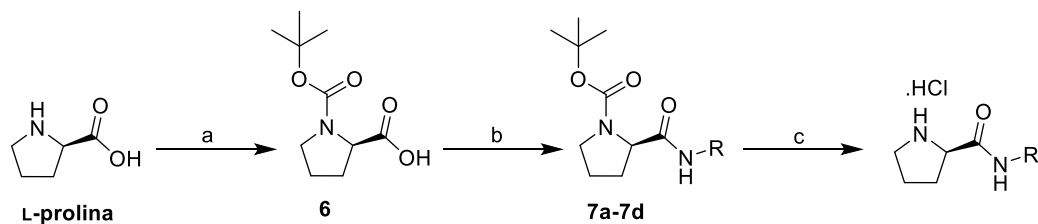
Adicionalmente, foi proposta a substituição do anel pirrolidínico por um anel pirrólico com a finalidade de remover o centro quiral e avaliar o potencial anti-inflamatório dessa nova classe, apesar da semelhança estrutural com o protótipo clindamicina ser já bastante restrita. Dessa vez, a rota sintética proposta (**Esquema 3**) inicia-se a partir do *N*-metilpirrolcarboxaldeído. A primeira etapa consiste na oxidação do aldeído pirrólico ao ácido carboxílico correspondente. Em seguida, o ácido carboxílico **4** é reagido na presença de EDAC/NHS em diclorometano para fornecer o éster ativado **4.1**, que por sua vez, será reagido com as amins correspondentes para obtenção das amidas de interesse **4a-4f**. Alternativamente, o anel pirrólico pode ser reduzido ao correspondente anel pirrolidínico, consistindo numa rota alternativa para obtenção desses derivados, apesar da desvantagem de obter o produto racêmico (**Esquema 3**).

Esquema 3 - Proposta de síntese de amidas derivadas do pirrolicarboxaldeído e seus derivados reduzidos



Outra rota de obtenção das amidas derivadas da pirrolidina é proposta. Essa rota consiste na proteção da amina do anel pirrolidínico com o reagente Boc_2O , síntese das amidas de interesse com as aminas correspondentes e posterior desproteção das aminas pirrolidínicas com remoção do grupo Boc (**Esquema 4**).

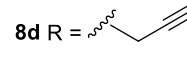
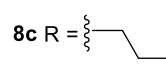
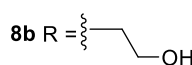
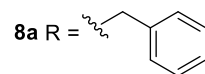
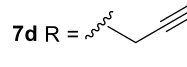
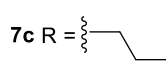
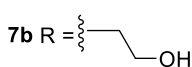
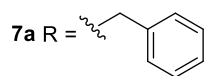
Esquema 4 - Proposta de síntese das amidas derivadas da pirrolidina com a amina do anel pirrolidínico protegida.



a) Boc_2O , TEA, CH_2Cl_2

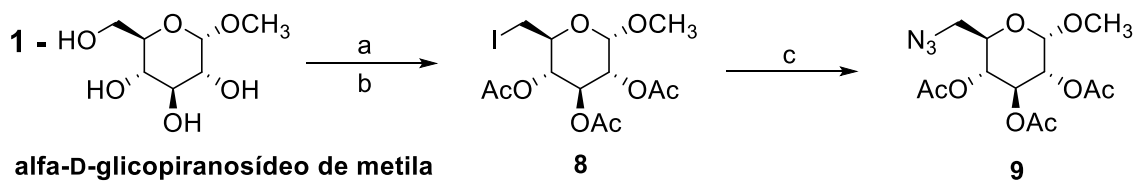
b) EDAC, NHS, RNH_2 , CH_2Cl_2 , t.a.

c) CH_2Cl_2 , HCl 37,5%



Por último, uma rota de síntese foi proposta para unir a porção pirrolidínica a uma porção carboidrato por meio de um anel triazólico em substituição à amida da clindamicina. Essa rota consiste em uma síntese convergente com a obtenção triazóis **10** e **11** a partir da amida propargílica **4d** e a porção azido açúcar **9**, conforme mostrado no **Esquema 5**.

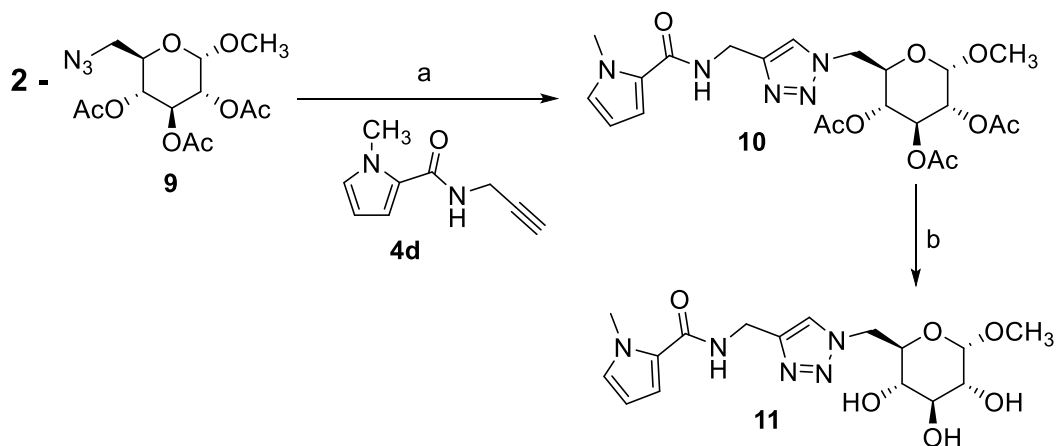
Esquema 5 – Rota convergente para síntese do glicosiltriazol



a) I₂, PPh₃, Imidazol, tolueno, refluxo.

b) Ac₂O, piridina, t.a.

c) NaN₃, DMF, t.a



a) CuSO₄.5H₂O, Ascorbato de sódio, *t*-BuOH:H₂O, t.a..

b) LiOH.H₂O, MeOH:H₂O (4:1).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

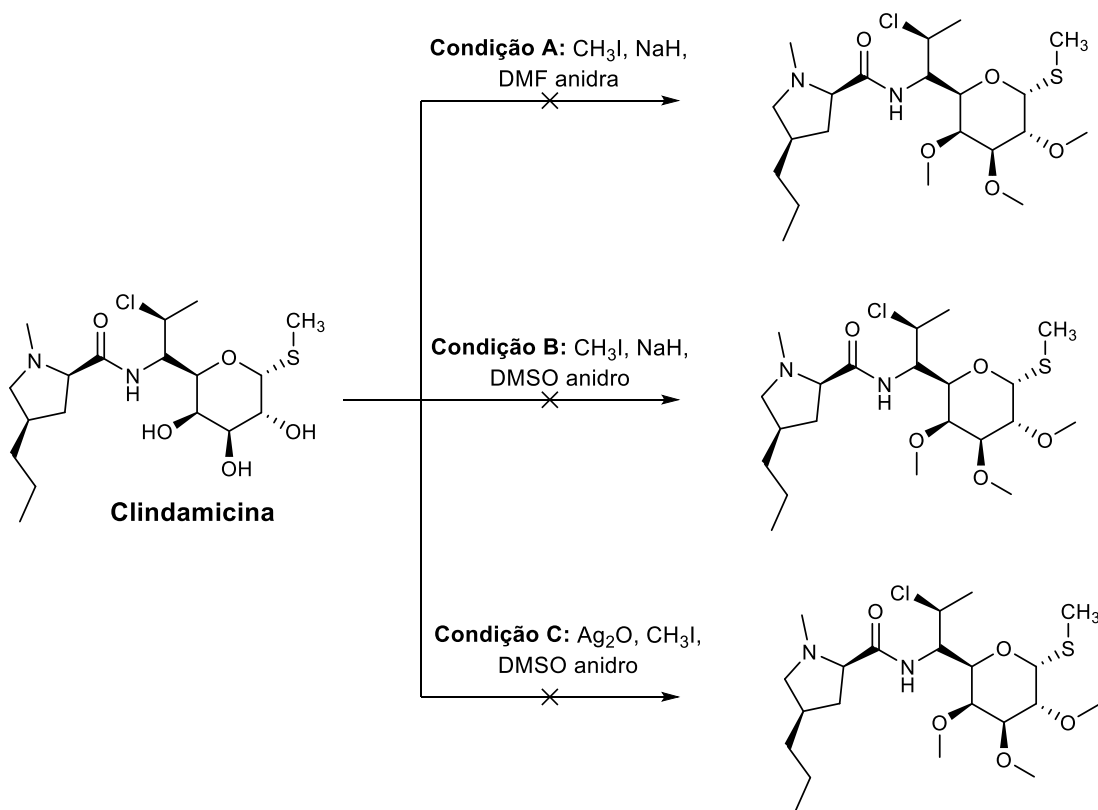
5.1 Síntese dos derivados alquilado e acetilado da clindamicina

5.1.1 Síntese dos derivados alquilados

A alquilação de grupos hidroxila é de pouco valor como grupos protetores já que são estáveis quando se deseja uma desproteção em condições brandas, porém eles têm importante lugar na química de carboidratos quando não precisam ser removidos (STICK, 2001). Na maioria dos procedimentos os agentes alquilantes mais utilizados são sulfato de dimetila e haletos de alquila. Esses agentes são geralmente utilizados com uma base como hidróxido de sódio, hidreto de sódio ou óxidos como óxido de prata ou óxido de bário (ARNARP, et al., 1975).

Reações de O-alquilação se iniciam com a desprotonação dos grupos hidroxila em uma reação de equilíbrio com a formação dos alcóxidos. Considerando esse tipo de reação, uma primeira tentativa para a síntese dos derivados alquilados a partir da clindamicina foi realizada utilizando a técnica clássica com iodeto de metila, como agente alquilante, na presença de hidreto de sódio em DMF anidra (CIUCANU e COSTELLO, 2003, PIAZ, et al.2007) (**Figura 7**, condição **A**, condição **B** e condição **C**).

Figura 7 - Propostas de síntese do derivado alquilado da clindamicina

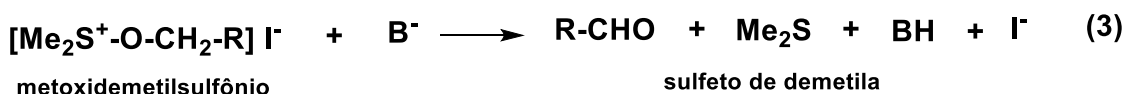
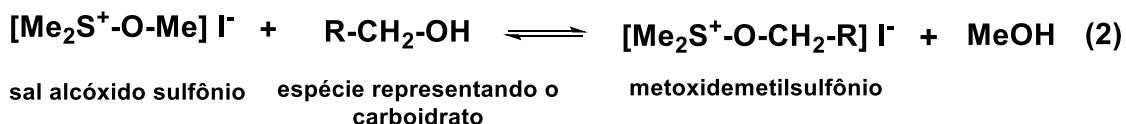
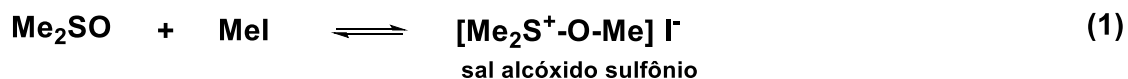


Após 24 horas não houve consumo do material de partida, o que foi observado por CCD com base na presença de uma mancha com o mesmo fator de retenção (FR) da clindamicina = 0,27. A reação foi mantida por mais 24 horas, sem sucesso. Tendo em vista que a condição A não logrou sucesso na obtenção do derivado metoxilado, a condição de reação foi alterada para a condição B, variando-se apenas o solvente da reação para DMSO anidro (**Figura 7, condição B**) (CIUCANU & COSTELLO, 2003). Após 12 horas de reação, o que se observou por CCD foi apenas uma mancha na base. Além de não terem funcionado nas condições testadas, essa técnica apresenta também como desvantagem os perigos de se trabalhar com hidretos de metais alcalinos que são inflamáveis e muito sensíveis à umidade e por isso devem ser manuseados com bastante cuidado (BRIMACOMBE, et al., 1966; ANDERSON, et al., 1979).

York et al. (1990) relatam que o método de Ciucanu & Kerek (1984) poderia ter formado também subprodutos de degradação do glicosídeo, quando se utiliza carboidratos redutores, aldeídos e cetonas, resultando na formação de alditóis. Essa hipótese sugere que a oxidação ocorre como resultado da interação entre dimetil sulfóxido e iodeto de metila, que pode produzir iodeto de

metoxidimetilsulfônio. Na tentativa de realizar reações de alquilação em condições mais brandas Ciucanu & Costello (2003) propuseram a técnica de *per-O*-metilação da D-glicose, D-frutose, manitol e celobiose, utilizando hidróxido de sódio sólido anidro e iodeto de metila em DMSO anidro. Uma proposta esquemática na concepção de Ciucanu & Costello (2003), após observação das hipóteses levantadas pelos autores anteriores, é mostrada no **Esquema 6**.

Esquema 6 - Sugestão de mecanismo para a oxidação do carboidrato no processo de metilação em DMSO

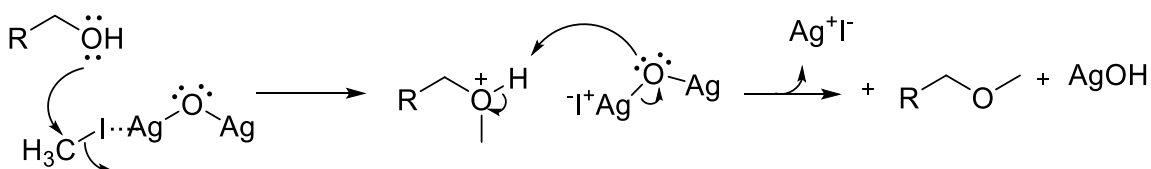


A formação do íon sulfônio na etapa 1 (**Esquema 6**), como resultado do caráter retirador de elétrons do DMSO, é uma reação de equilíbrio à temperatura ambiente. Uma vez formado, o íon sulfônio, sofrerá um ataque nucleofílico na presença de um reagente contendo um grupo nucleofílico, como por exemplo, hidroxilas alcoólicas, com o deslocamento do grupo metoxila na forma de metanol (**Esquema 1** – etapa 2). Na presença de uma base (B^-), o sal alcoxi-sulfônio formado na etapa 2 será irreversivelmente convertido em sulfeto de dimetila e um aldeído (**Esquema 1** – etapa 3) (SVENSSON, 1978; SZMANT, 1971).

Com base nesses conhecimentos, pode-se levantar a hipótese da razão da formação de produtos que ficaram retidos na base da CCD quando a reação de alquilação foi conduzida utilizando DMSO (**Figura 7** - condição **B**). Neste caso, provavelmente houve consumo da clindamicina a partir de reações semelhantes às mostradas no **Esquema 6**.

Ainda na tentativa de se obter o derivado alquilado da clindamicina, devido ao insucesso das condições **A e B**, uma nova proposta foi testada, a condição **C (Figura 7)**, utilizando-se óxido de prata, conforme técnica descrita por Purdie & Ivine (1903). Uma proposta de mecanismo S_N2 para essa reação é que o metal pesado, nesse caso a prata, interage com o halogênio do substrato, enfraquecendo a ligação carbono-halogênio e facilitando, assim, o ataque nucleofílico da hidroxila do carboidrato, com a formação do produto alquilado e liberação do haleto, que forma um par iônico com a prata (COLLINS & FERRIER, 1995) (**Figura 8**).

Figura 8 - Proposta Mecanística para a reação

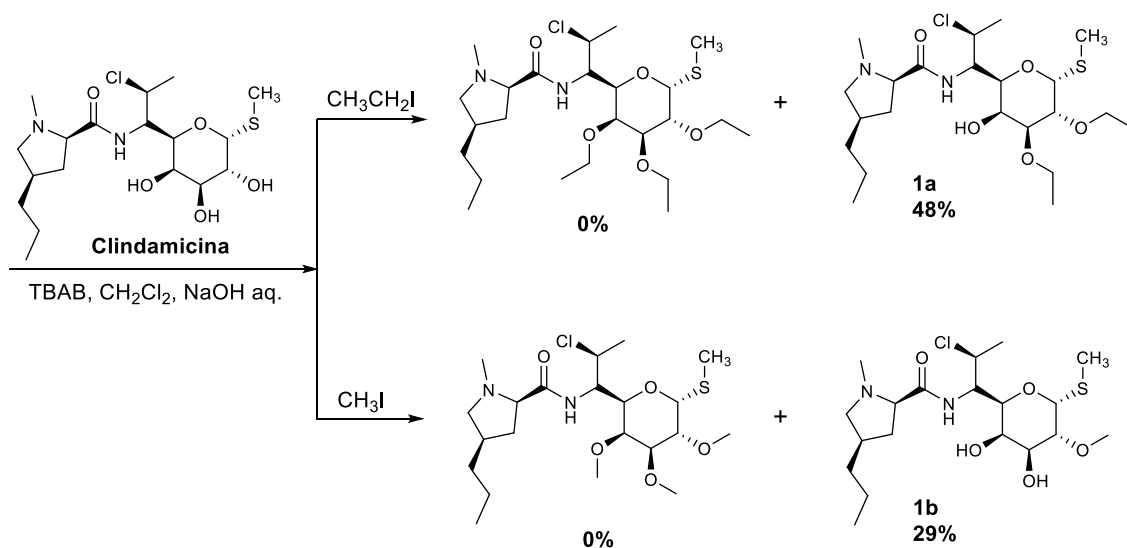


Entretanto, utilizando-se esta técnica, observou-se um perfil da CCD semelhante ao observado na condição **B (Figura 7)**,

Para confirmar que o problema não estava na qualidade do reagente iodeto de metila, reações em condições semelhantes foram repetidas com iodeto de etila. Entretanto, os mesmos resultados anteriores foram obtidos com este reagente.

Após leitura crítica dos trabalhos citados anteriormente e verificando a complexidade do carboidrato em questão, a clindamicina, opções de técnicas de alquilação mais brandas foram pesquisadas na literatura. Para isso adaptou-se a técnica proposta por Yu *et al.* (2013), referente a reações de epoxidação com catálise por transferência de fase, para reações de alquilação (**Figura 9**).

Figura 9 - Síntese do derivado alquilado da clindamicina por transferência de fase



A reação foi então realizada com catálise por transferência de fase, utilizando-se excesso do agente alquilante correspondente (5 equivalentes), diclorometano, hidróxido de sódio 50% m/v e brometo de tetra-*n*-butilamônio (TBAB) como agente transferidor de fase. A reação utilizando iodeto de metila foi mantida à temperatura ambiente por mais de 48 horas e não houve consumo do material de partida, verificado por meio de CCD.

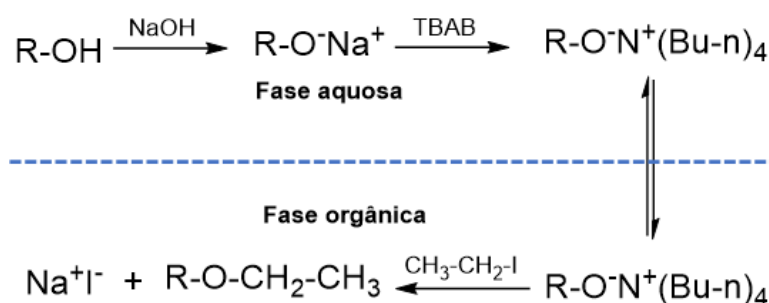
Quando se utilizou o iodeto de etila como agente alquilante, nas mesmas condições, observou-se, por CCD, a formação de um produto com FR = 0,57 superior ao da clindamicina (FR = 0,27), sugerindo a formação de um produto menos polar, como esperado. Entretanto, mesmo após 48 horas de reação, não houve consumo total do material de partida e nem modificação do perfil cromatográfico. Após purificação por CCS, o derivado dietilado **1a** foi obtido com 28% de rendimento.

Na tentativa de melhorar o rendimento da reação e se obter o produto metilado, uma nova modificação da técnica foi realizada. A reação seguiu as mesmas condições exceto pelo aumento da proporção do agente alquilante, iodeto de metila ou iodeto de etila, de 5 equivalentes para 9 equivalentes. Com essa modificação, o produto mono-metilado **1b** foi obtido com 29% de rendimento e o produto di-etilado **1a** foi obtido com 48% de rendimento.

A catálise por transferência de fase é um método muito utilizado que acelera reações químicas em que os reagentes estão solubilizados em diferentes fases, com a participação de um agente transferidor de fase. Essa técnica apresenta algumas vantagens como a utilização de solventes sem tratamento prévio, além de ser uma reação relativamente rápida e sem necessidade de aquecimento. Apresenta também outra grande vantagem que é a utilização de carbonatos e hidróxidos em substituição aos amidetos, hidretos e alcóxidos, facilitando o manuseio e com menores riscos operacionais, diferentemente das técnicas anteriormente testadas (STARKS, 1971).

Uma proposta mecanística adaptada da reação de catálise por transferência de fase (MAKOSZA e FEDORYNSKI, 2020) está ilustrada na **Figura 10**.

Figura 10 - Proposta mecanística da reação de catálise por transferência de fase



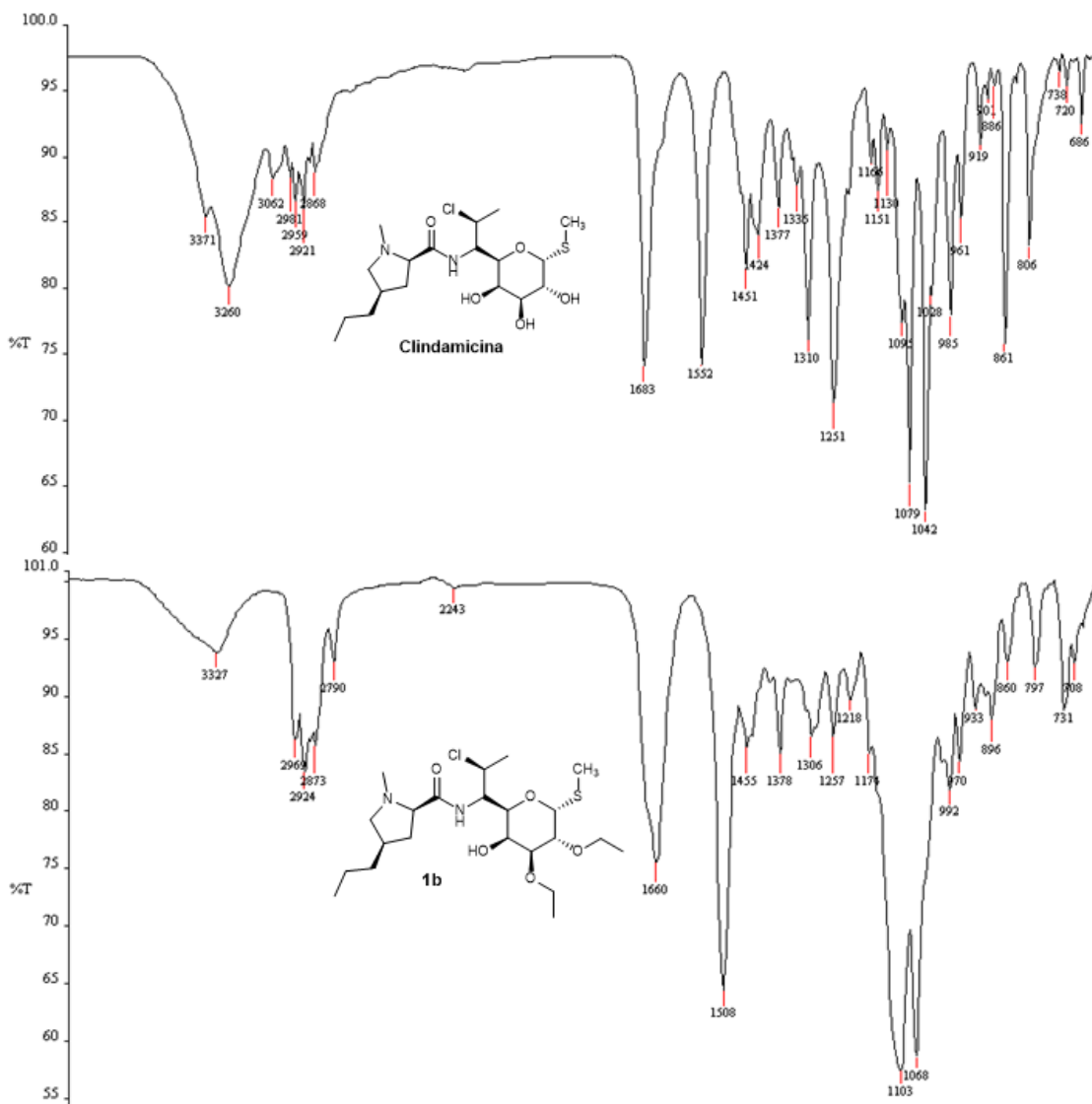
Considerando o mecanismo mostrado na (**Figura 10**), inicialmente as hidroxilas da clindamicina seriam desprotonadas pela base presente na fase aquosa, seguido pela formação do alcóxido de tetrabutilamônio ($\text{RO}^-\text{N}^+(\text{n-Bu})_4$). Em seguida, esse sal migraria para a fase orgânica, favorecendo o ataque do alcóxido ao carbono eletrofílico do iodeto de etila, que se encontra dissolvido nessa fase, resultando na formação do derivado alquilado **1a**.

Considerando as técnicas de alquilação testadas no presente trabalho, a técnica de transferência de fase se mostrou a mais promissora, resultando na formação dos produtos parcialmente alquilados com rendimentos de 29% para **1b** e 48% para **1a**.

A análise de **1a** por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas de alta resolução com ionização por “electrospray” (CLUAE-EMAR-IES), no modo positivo, registrou uma espécie catiônica $[M+H]^+$ em m/z 481,2425, compatível com o calculado para o derivado **1a** protonado ($[M+H]^+$ calculado = 481,2425).

O produto dietilado **1a** foi caracterizado por meio da análise de seus espectros no IV (**Figura 11**) e de RMN de 1H (**Figura 12**) e ^{13}C , (**Figura 13**). Para caracterização inequívoca da estrutura do derivado **1a** foi feita a comparação de seus espectros com os correspondentes espectros da clindamicina, além da análise de seus mapas de contorno COSY (**Figura 14**) e HSQC (**Figura 15**).

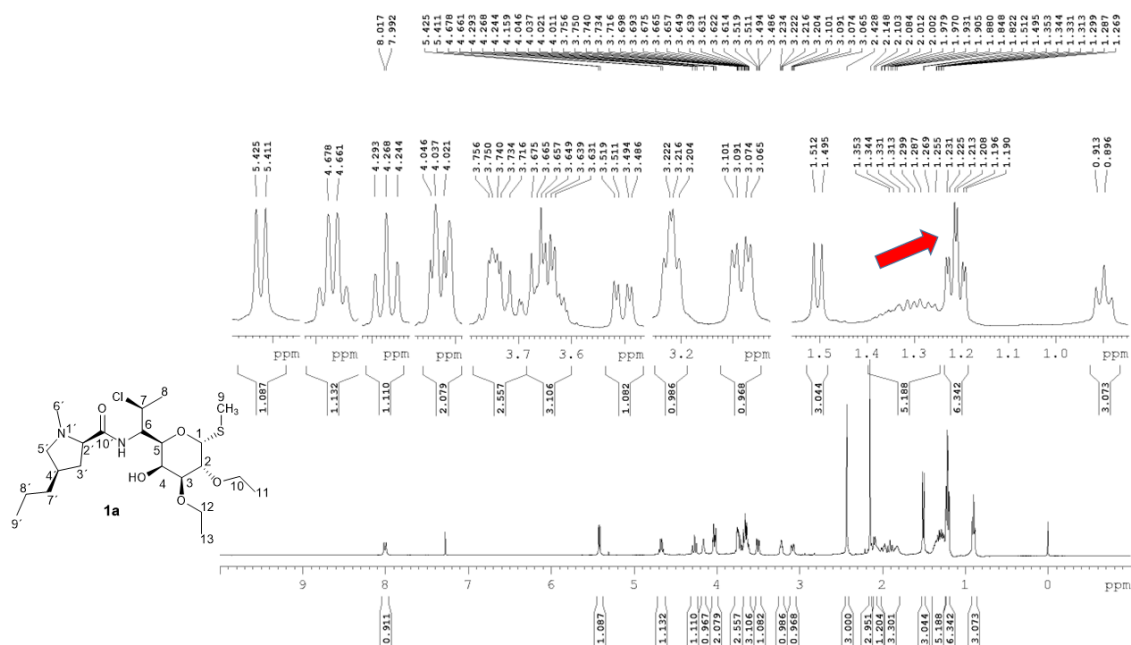
Figura 11 - Comparação dos espectros no IV da clindamicina e de 1a



Pela análise do espectro no infravermelho do derivado alquilado **1a** é possível observar um aumento na intensidade das bandas referentes ao estiramento da ligação C-O em 1103 e 1068 cm^{-1} quando comparado com o espectro da clindamicina. Observa-se também maior intensidade nas bandas de C-H sp^3 na faixa de 2969-2924 cm^{-1} . Outra observação importante é referente a banda de O-H que teve a intensidade bastante diminuída, porém ainda está presente, o que demonstra que nem todas as hidroxilas da clindamicina foram alquiladas.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H de **1a** é possível perceber, dentre outros sinais, um multipletto em δ 1,23-1,19 ppm, com integral para seis hidrogênios. Isso se deve à sobreposição dos tripletos referentes às metilas dos dois grupos etoxila.

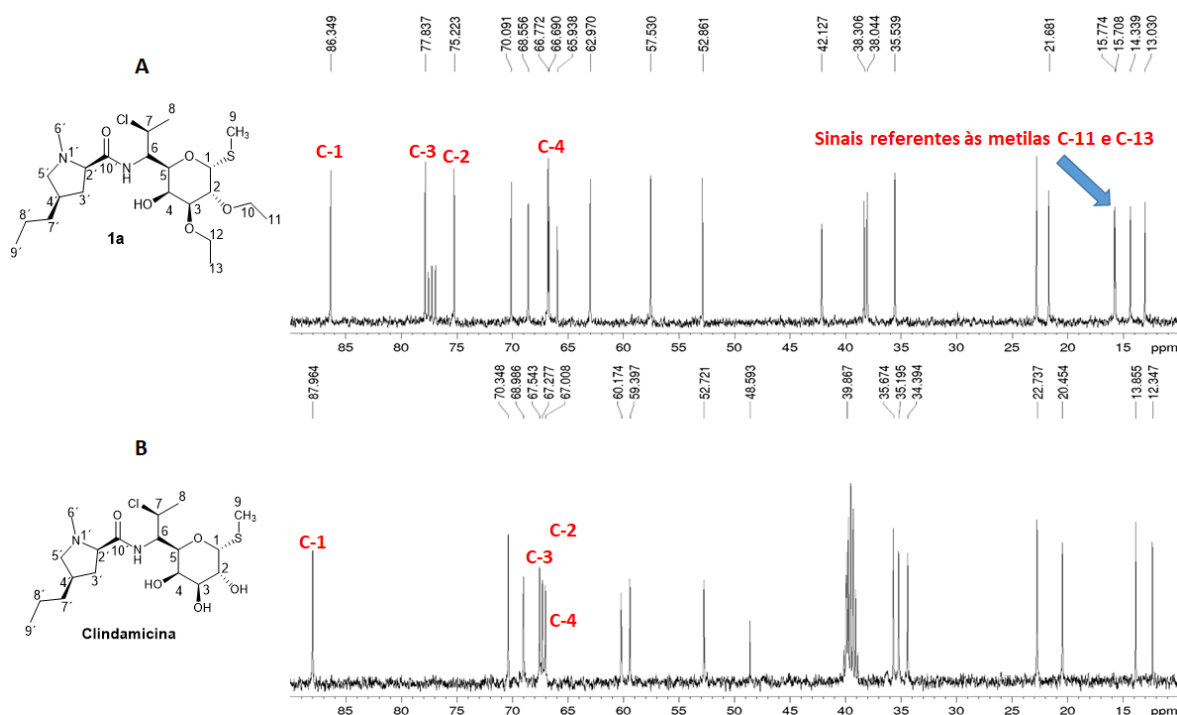
Figura 12 - Espectro de RMN de ^1H de **1a** (CDCl_3 400 MHz)



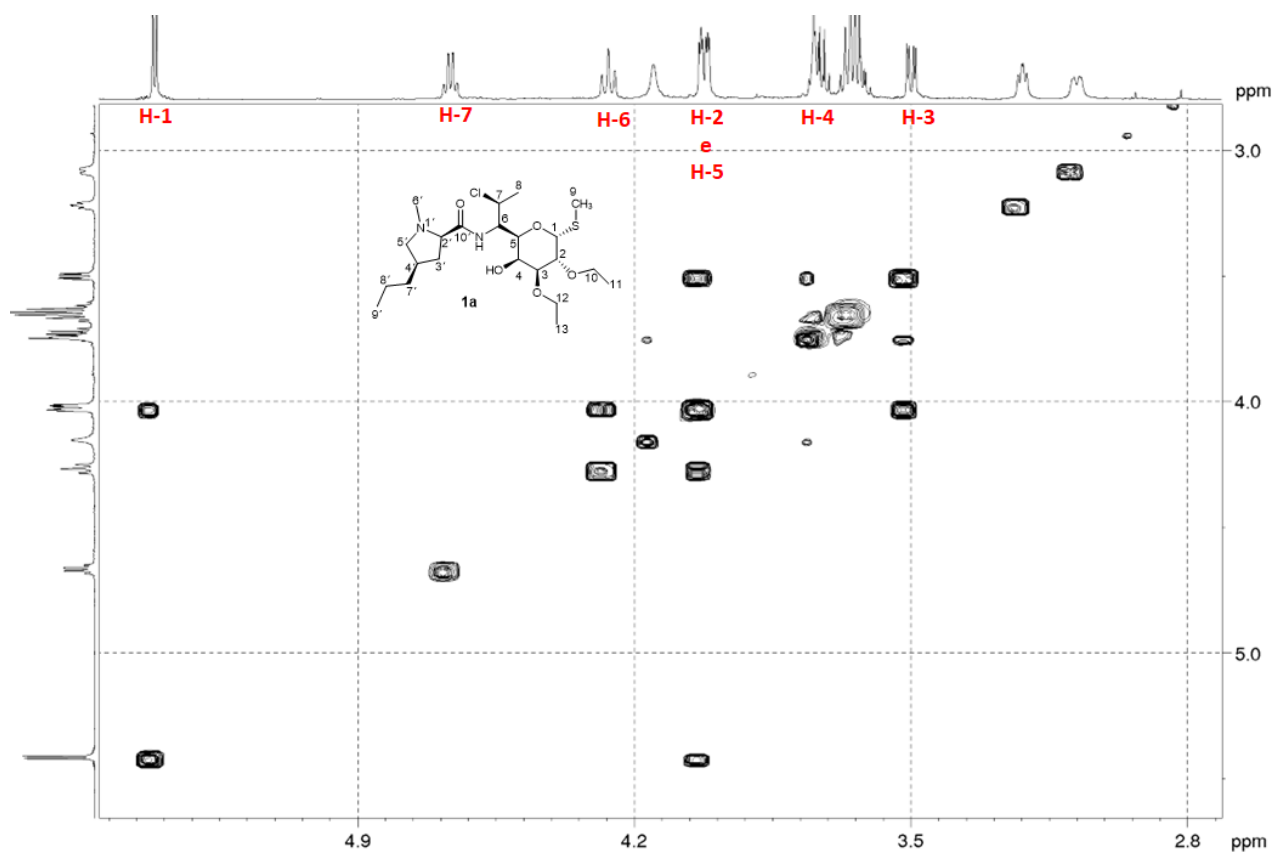
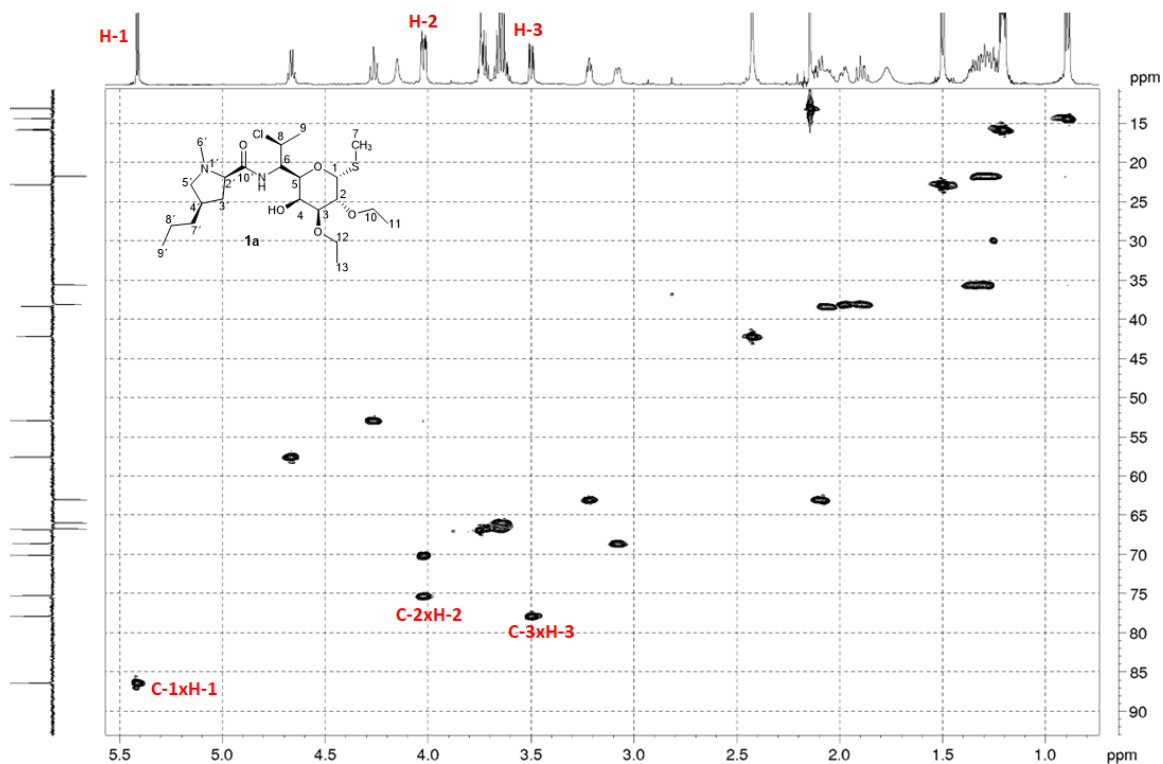
Ao avaliar tanto o espectro de RMN de ^{13}C de **1a** quanto da clindamicina, observa-se que o sinal referente ao C-1 possui deslocamento químico característico em torno de δ 85 a 100 ppm, por se tratar de um carbono anomérico. No espectro de RMN ^{13}C da clindamicina (**Figura 13 B**), os sinais referentes aos carbonos C-2, C-3 e C-4 foram registrados em δ 67,72, 67,99 e 67,45 ppm, respectivamente. Já no espectro do derivado alquilado **1a**, os sinais

referentes aos carbonos C-2, C-3 e C-4 foram registrados em δ 75,22, 77,83 e 66,77 ppm, respectivamente. Para o sinal do carbono C-4 do derivado alquilado **1a**, não foi observada variação significativa do deslocamento químico quando comparado com sinal correspondente da clindamicina. Já os carbonos C-2 e C-3 apresentaram variação bastante significativa nos deslocamentos químicos, evidenciando alquilação nas posições C-2 e C-3 da fração do carboidrato.

Figura 13 - Comparação entre os espectros de RMN de ^{13}C de **1a (CDCl_3 100 MHz) e da clindamicina (DMSO-d_6 100 MHz)**



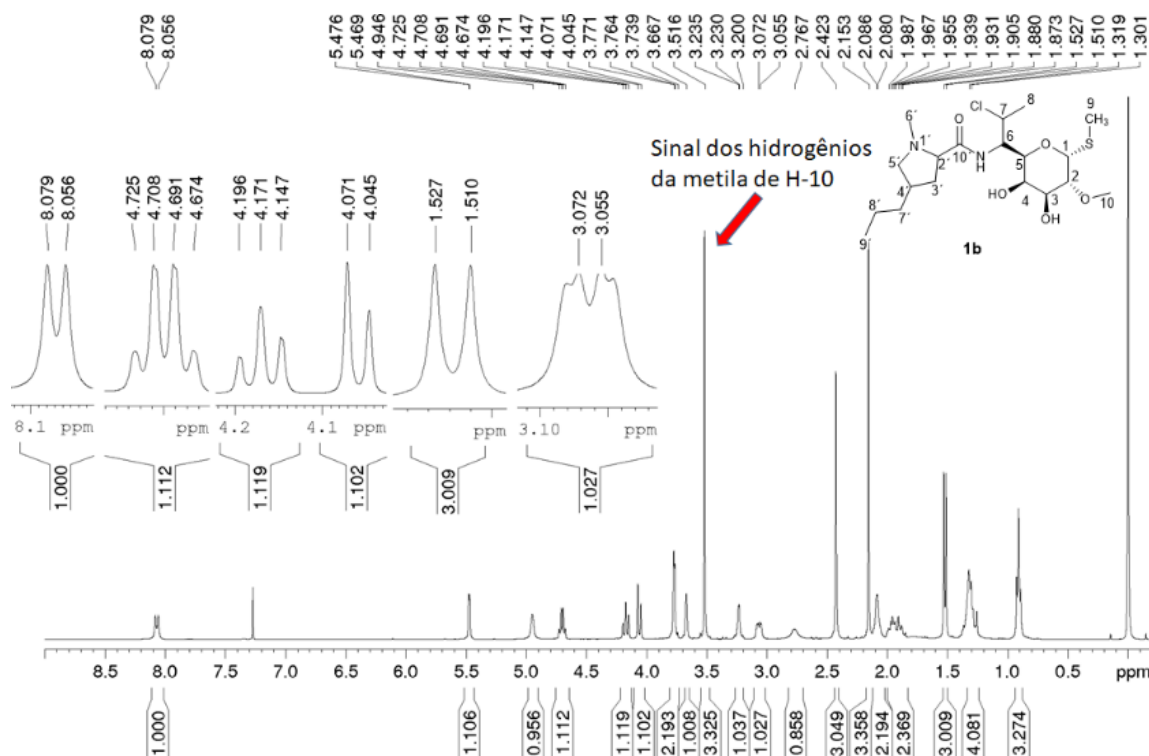
Além disso no espectro de RMN de ^{13}C de **1a** foram registrados, dentre outros, sinais em δ 66,69 e 65,93 ppm referente aos carbonos metilênicos, identificados no subspectro DEPT 135 referentes aos carbonos do grupo etoxila C-10 e C-12.

Figura 14 - Mapa de contornos COSY parcial de 1a (CDCl₃, 400 MHz)Figura 15 - Mapa de contornos HSQC parcial de 1a (CDCl₃, 400 MHz)

Da mesma forma que se identificou a posição de alquilação de **1a**, foi feito para **1b**.

No espectro de RMN de ^1H de **1b** (**Figura 16**) foi observado um sinal em δ 3,51 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila confirmando a formação de um derivado monoalquilado.

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H de **1b (CDCl_3 , 400 MHz)**



Com o auxílio do mapa de contornos COSY (**Figura 17**) de **1b** foi possível observar correlações que identificassem os principais hidrogênios envolvidos na caracterização de **1b** e por fim pelo mapa de contornos HSQC (**Figura 18**) foi possível observar as correlações entre H-2xC-2 o que confirma que a metilação foi realizada na posição 2 do anel carboidrato, já que o sinal de C-2 (δ 78,22 ppm) está mais deslocado do TMS quando comparado ao sinal correspondente da clindamicina C-2 (δ 67,72 ppm).

Figura 17 - Mapa de contornos COSY parcial de 1b (CDCl₃, 400 MHz)

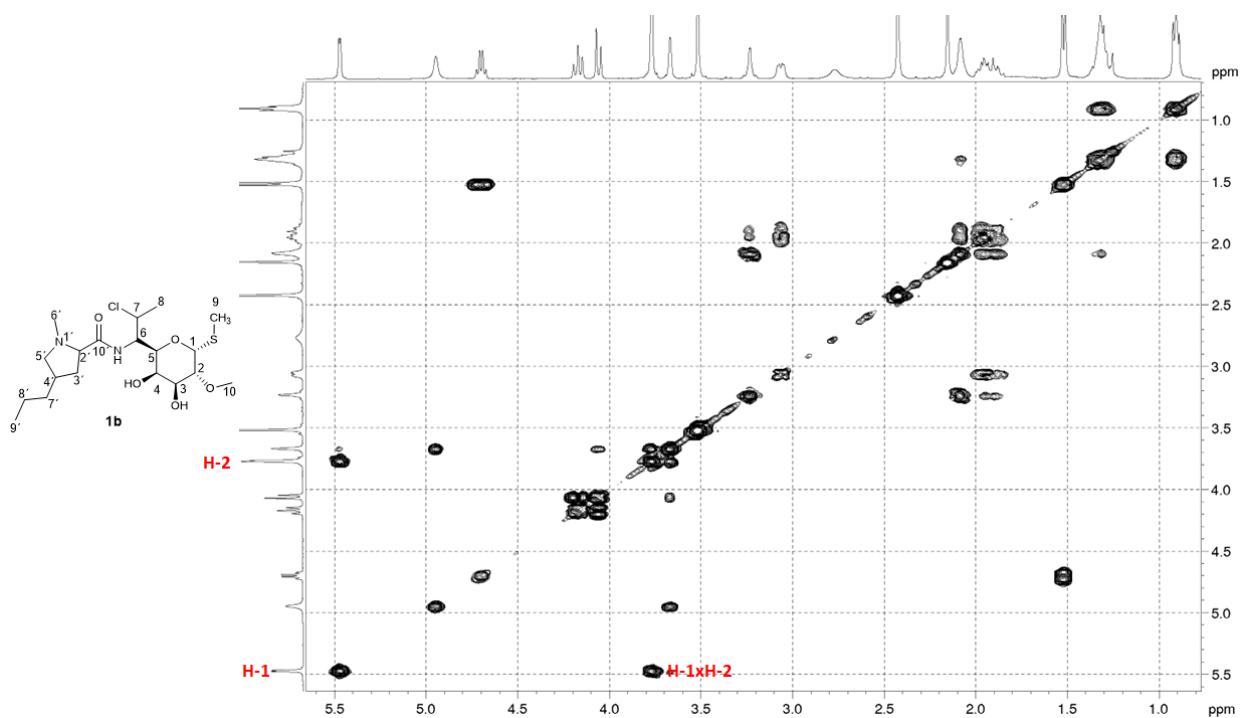
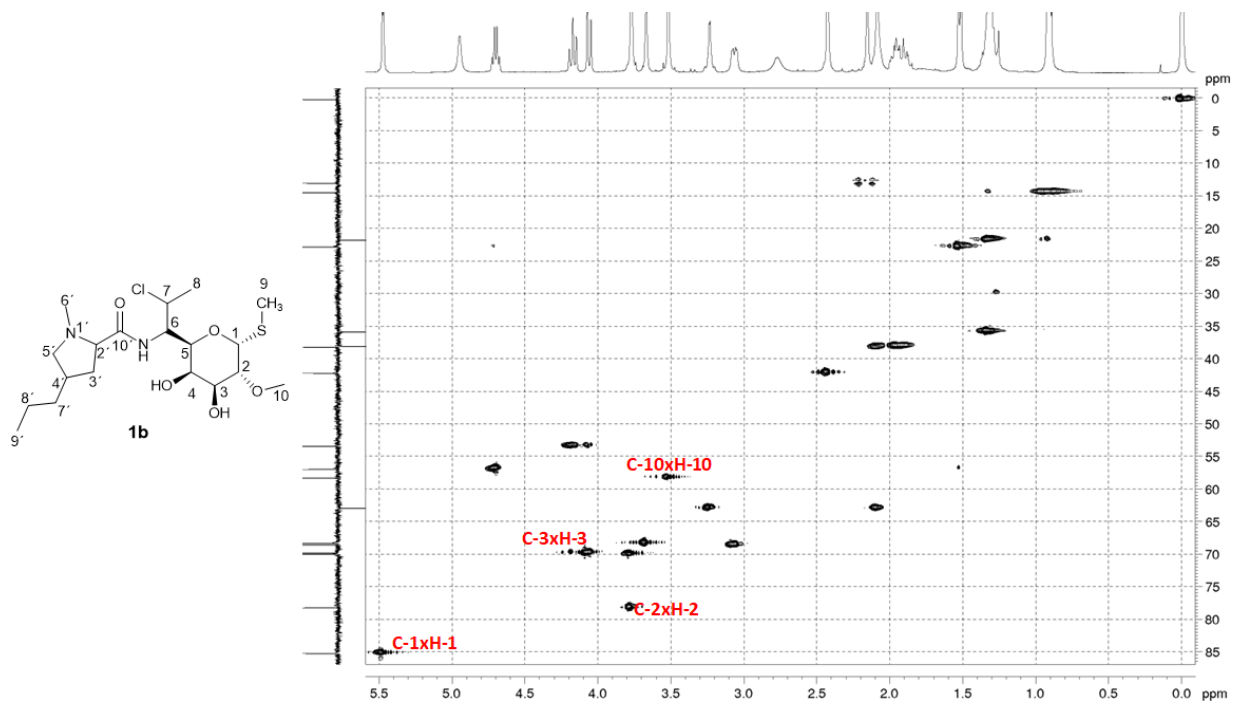


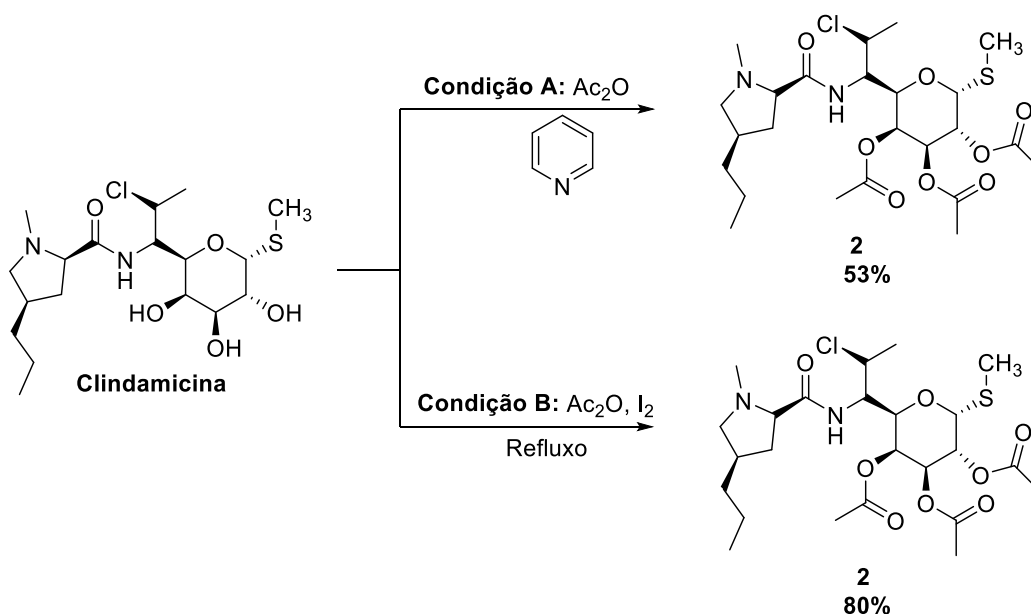
Figura 18 - Mapa de contornos HSQC parcial de 1a (CDCl₃, 400 MHz)



5.1.2 Síntese do derivado acetilado

A proposta de acetilação da clindamicina foi realizada testando-se duas metodologias: **A**) utilizando anidrido acético em piridina (CARDOZO, 2016) e **B**) utilizando anidrido acético e iodo molecular como catalisador (KARTHA & FIELD, 1997; BISWAS, SHOGREN, WILLETT, 2005) (**Figura 19**).

Figura 19 - Rotas de síntese para a obtenção do derivado acetilado da clindamicina (DAC) 2

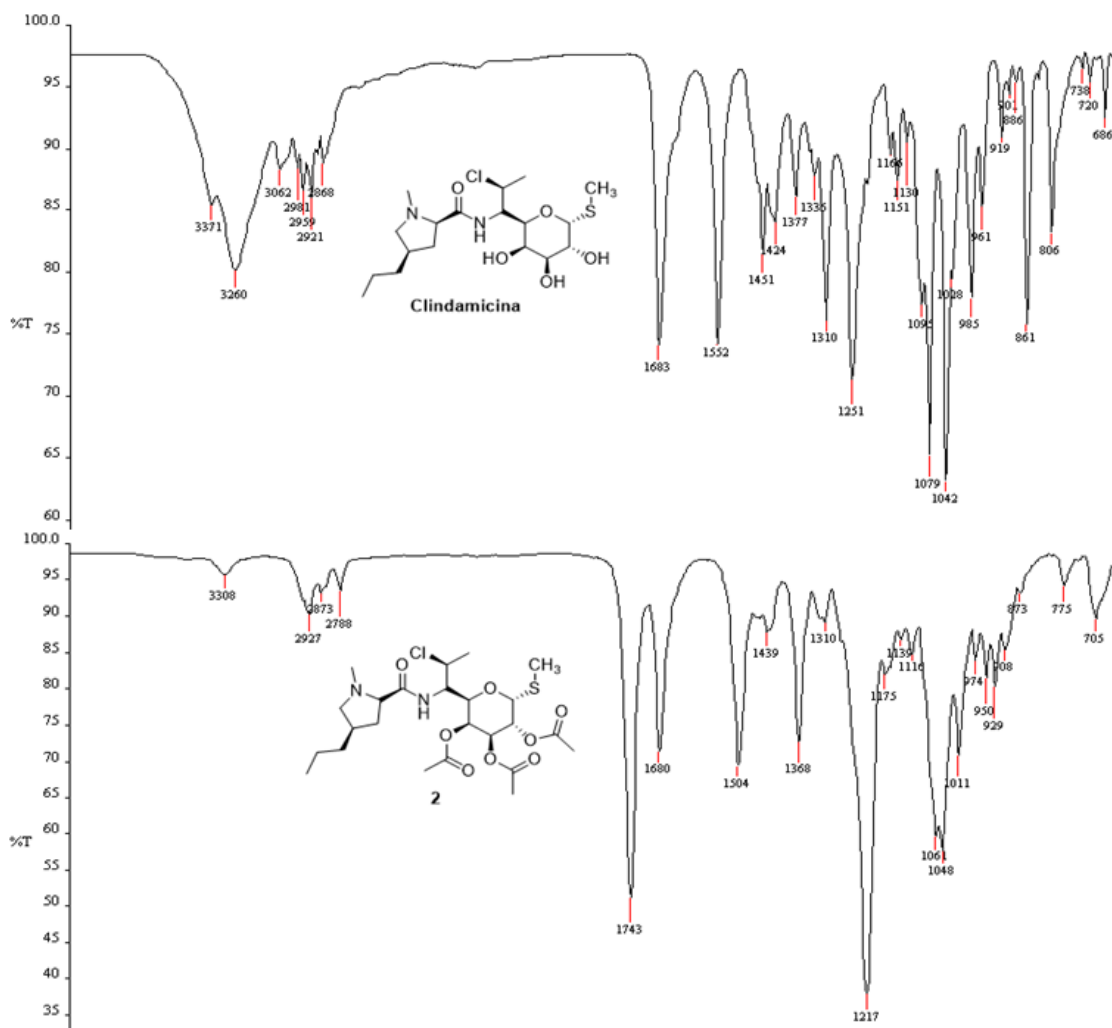


Utilizando-se a **condição A**, inicialmente, o produto foi obtido com 53% de rendimento após 6 horas de reação.

Na tentativa de melhorar o rendimento da reação, uma nova técnica foi testada (**condição B**) utilizando-se iodo molecular como catalisador. Com essa técnica o produto foi obtido com 80% de rendimento e o tempo de reação passou de 6 horas para 2 horas.

Após elaboração, o derivado acetilado **2** foi caracterizado por meio da análise de seus espectros no IV, (**Figura 20**) e de RMN de ^1H e ^{13}C (**Figura 21**), massa de alta resolução e ponto de fusão.

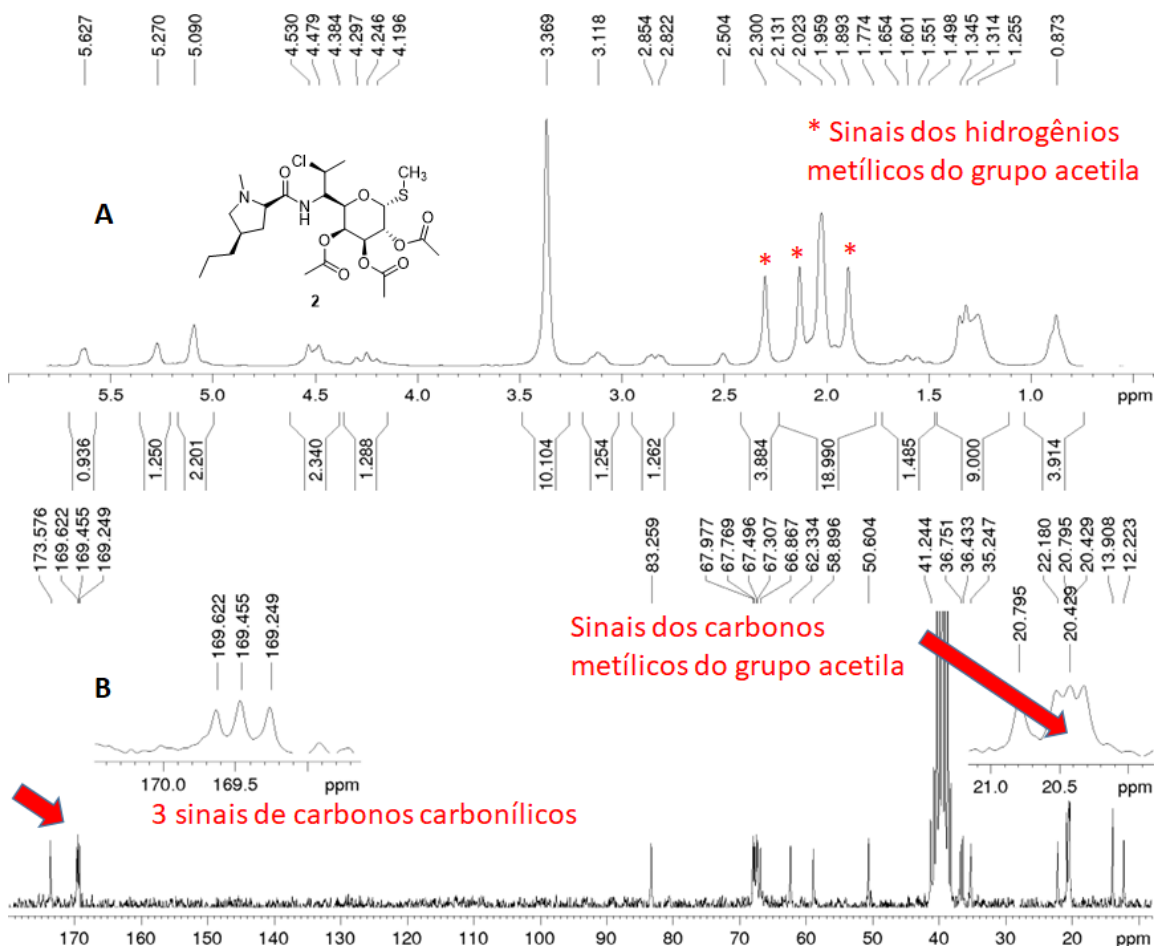
Figura 20 - Comparação dos espectros no IV da clindamicina e de **2**



Pela análise dos espectros observam-se evidências de formação do produto acetilado **2**. No espectro no IV observa-se uma banda intensa em 1743 cm^{-1} característica de estiramento da ligação C=O de éster (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2001), ausente no espectro da clindamicina. Além disso, a ausência da banda de O-H no IV do produto **2** é uma evidência de que todas as hidroxilas foram acetiladas. Em ambos os espectros pode-se observar uma banda em 1683 cm^{-1} e 1680 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O de amida para a clindamicina e **2**, respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H de **2** observam-se três simpletos, cada um com integral para três hidrogênios, em δ 2,30, 2,13 e 1,89 ppm, que correspondem aos hidrogênios metílicos dos grupos acetila (**Figura 21**).

Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C de **2 (DMSO- d_6 200 MHz)**



No espectro de RMN de ^{13}C de **2** (**Figura 21 B**), há, dentre outros, três sinais referentes a carbonos carbonílicos, em δ 169,58, 169,46 e 169,26 ppm, além dos sinais referentes aos carbonos metílicos próximos a δ 20,32 ppm, o que indica a presença de três grupos acetila na molécula (**Figura 21 B**).

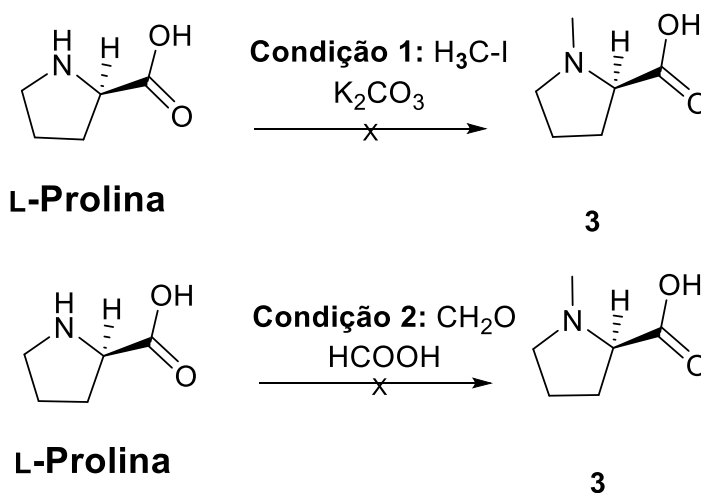
Análise de **2** por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas de alta resolução com ionização por “electrospray” (CLUAE-EMAR-IES), no modo positivo, registrou uma espécie catiônica $[\text{M}+\text{H}]^+$

em m/z 551,2211, compatível com o calculado para o derivado **2** protonado ($[M+H]^+$ calculado = 551,2188).

5.2 Proposta de síntese do derivado *N*-metil-L-prolina **3**

Inicialmente, a síntese do derivado **3** foi proposta utilizando as condições descritas por Rao, Reddy e Seshadri (1940), para a síntese de derivados pirazólicos *N*-alquilados (**Figura 22**; condição **1**). A metodologia descrita por esses autores utiliza brometos ou iodetos de alquila em condições básicas. Entretanto, no presente trabalho, seguindo-se essa metodologia, não se obteve sucesso na alquilação da L-prolina. Ao acompanhar a reação por CCD, não se observou o consumo do material de partida. A reação que foi mantida a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) e, posteriormente, aumentou-se a temperatura para 40°C , considerando que o ponto de ebulição do iodeto de metila é 42°C . Mesmo assim, após 24 horas, não houve progresso da reação. Sucessivas tentativas foram realizadas sem sucesso.

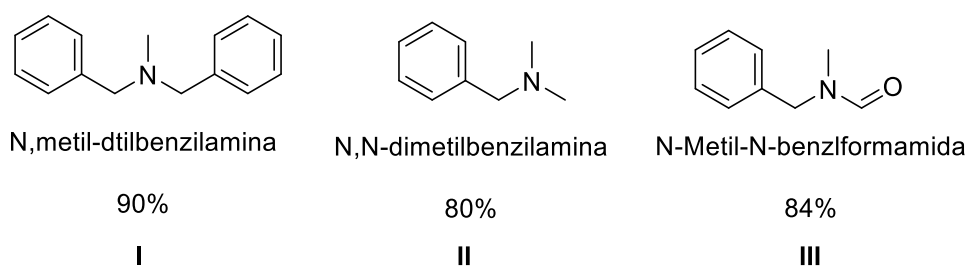
Figura 22 - Propostas de obtenção do derivado **3**



Alternativamente, decidiu-se testar a condição descrita por Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933), conhecida como reação de *Eschweiler-Clarke* (**Figura 22**; condição **2**).

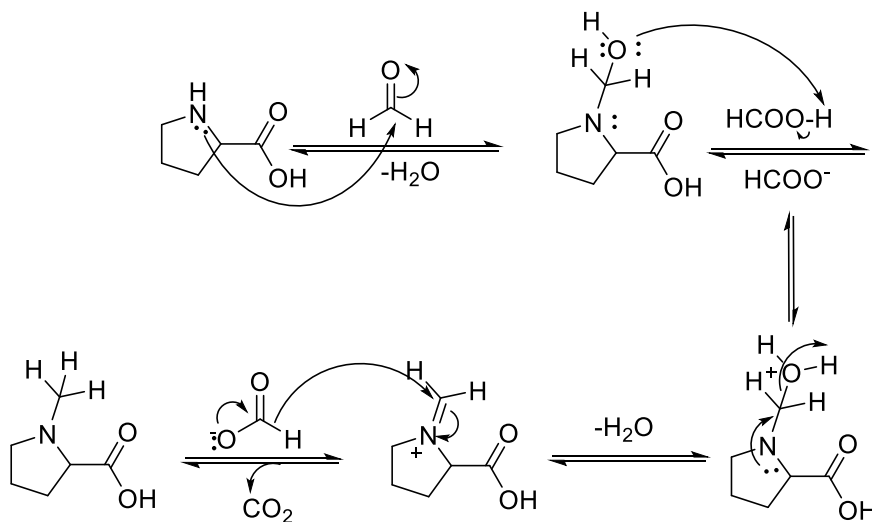
Essa reação permite a síntese de *N*-metilaminas a partir de aminas primárias e secundárias utilizando-se formaldeído 36% como agente alquilante e ácido fórmico como fonte de prótons e hidreto. Utilizando-se essa condição, Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933) obtiveram aminas terciárias com rendimentos acima de 80%, conforme mostrado na **Figura 23**.

Figura 23 - Derivados *N*-metilaminas obtidas por Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933) com técnica de *N*-alquilação utilizando-se ácido fórmico e aldeídos correspondentes



O mecanismo proposto para essa reação está mostrado na **Figura 24**.

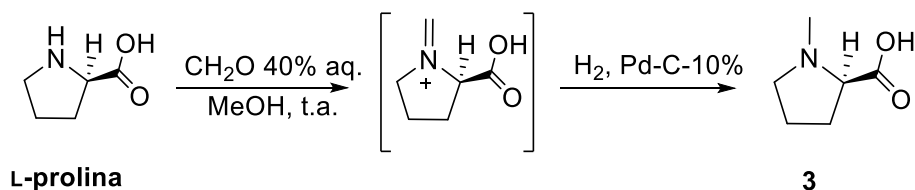
Figura 24 - Mecanismo proposto de *N*-alquilação modificado de Clarke, Gillespie e Weisshaus (1933)



Novamente, ao tentar reproduzir nas mesmas condições descritas por esses autores, o produto desejado não foi formado e, por CCD, não foi detectado o consumo da L-prolina. Novas tentativas foram realizadas variando as concentrações de formaldeído, porém não houve progresso da reação.

Considerando-se que o derivado **3** seria o principal precursor para síntese de várias amidas propostas nesse trabalho, resolveu-se persistir e testar outra técnica (**Figura 25**), proposta por Aurelio *et al.* (2003), com a qual os autores obtiveram 98% de rendimento na síntese da N-metil-L-prolina. Os autores relatam todas as etapas e reagentes utilizados, exceto a pressão de H₂ utilizada na reação. Essa técnica envolve uma reação de aminação reductiva que se aplica quando se deseja adicionar um grupo alquila a um átomo de nitrogênio a partir de aldeídos ou cetonas na presença de um agente redutor (RICE, KOHN, 1995).

Figura 25 - Nova proposta de obtenção do derivado metilado 3

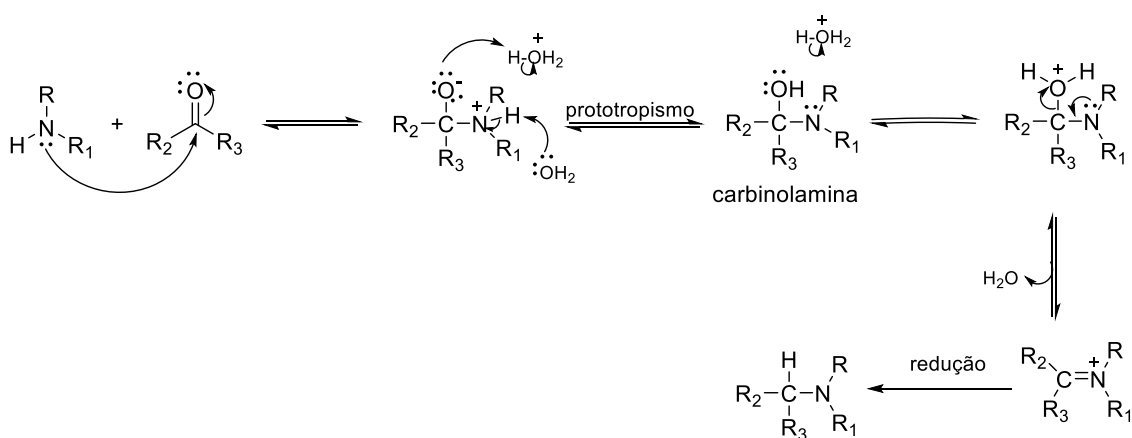


Utilizando a técnica ilustrada na **Figura 25** e com pressão de hidrogênio a 1 atm ou 14,7 psi, observou-se, por CCD, a presença de uma mancha com FR = 0,50, bem próximo ao do material de partida FR = 0,47, provavelmente correspondendo ao produto de interesse, além de manchas de coloração intensa bem próximas da base, sugerindo a formação de subprodutos mais polares. Mesmo após 24 horas de reação, não foi detectado o consumo total do material de partida. Após elaboração, o produto de interesse, **3** foi obtido com apenas 15% de rendimento.

Uma hipótese a ser considerada para obtenção do baixo rendimento do produto de interesse **3** é que, para a formação da imina, é necessário que haja desidratação do intermediário carbinolamina, porém esse processo seria

desfavorecido em razão da presença de água na mistura de reação, conforme mostrado no mecanismo da **Figura 26**. Vale ressaltar que todas as etapas para formação de iminas a partir de compostos carbonílicos são reversíveis (LAYER, 1963) e, além da reação ter sido realizada em meio aquoso, sabe-se que iminas alifáticas são hidrolisadas mais rapidamente do que iminas aromáticas (WILLI, 1954), o que deslocaria o equilíbrio em direção à formação dos materiais de partida (CLAYDEN, GREEVES e WARREN, 2012).

Figura 26 - Mecanismo de aminação redutiva



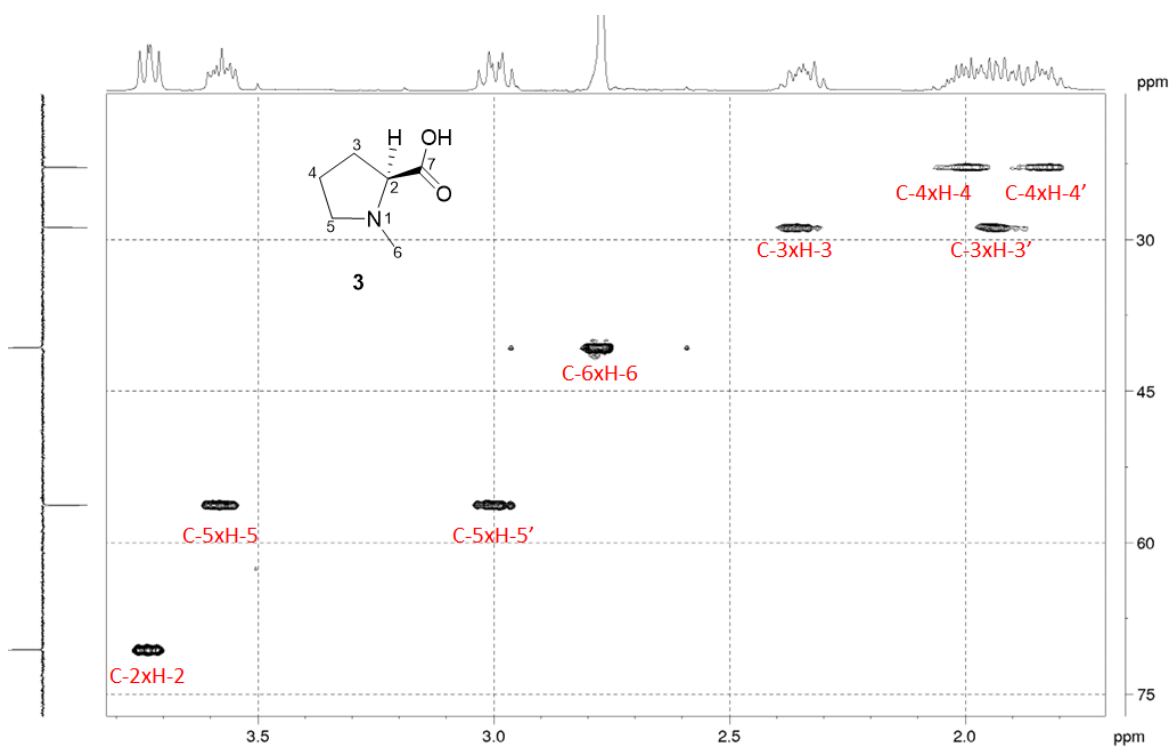
Segundo o mecanismo ilustrado na **Figura 26**, a formação do intermediário imínio ocorre por meio de uma reação de condensação após ataque nucleofílico da amina ao carbono carbonílico do aldeído ou cetona, levando à obtenção de um intermediário carbinolamina, seguido de desidratação. A etapa seguinte consiste na redução do derivado imínio para a formação do produto de interesse **3**.

Na tentativa de otimizar o rendimento, a reação foi repetida nas mesmas condições, exceto pela utilização de alta pressão de H_2 . Em colaboração com o Professor Dr. Eduardo Nicolau dos Santos e o pós-doutorando, Jesus Avendaño do Departamento de Química da UFMG (DQ-UFMG), a reação foi realizada em reator PAR sob pressão de H_2 de 290 psi, no Laboratório de Reações Perigosas. Nessas condições, o produto desejado **3** foi obtido com 85% de rendimento. Essas condições sugerem que, pelo fato da desidratação do intermediário instável, carbinolamina ser uma etapa lenta, o íon imínio então seria formado em

baixa quantidade. O aumento da pressão de hidrogênio reduziria o íon imínio formado com maior rapidez, descolocando o equilíbrio no sentido de formação do produto.

A formação de **3** foi confirmada pela análise de seus espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , porém a identificação inequívoca dos carbonos e hidrogênios desse produto só foi possível por meio do mapa de contornos HSQC (**Figura 27**). A característica mais marcante de formação do produto é a presença de um sinal com deslocamento próximo de δ 2,90 ppm, integrando para 3H, referente ao grupo metila.

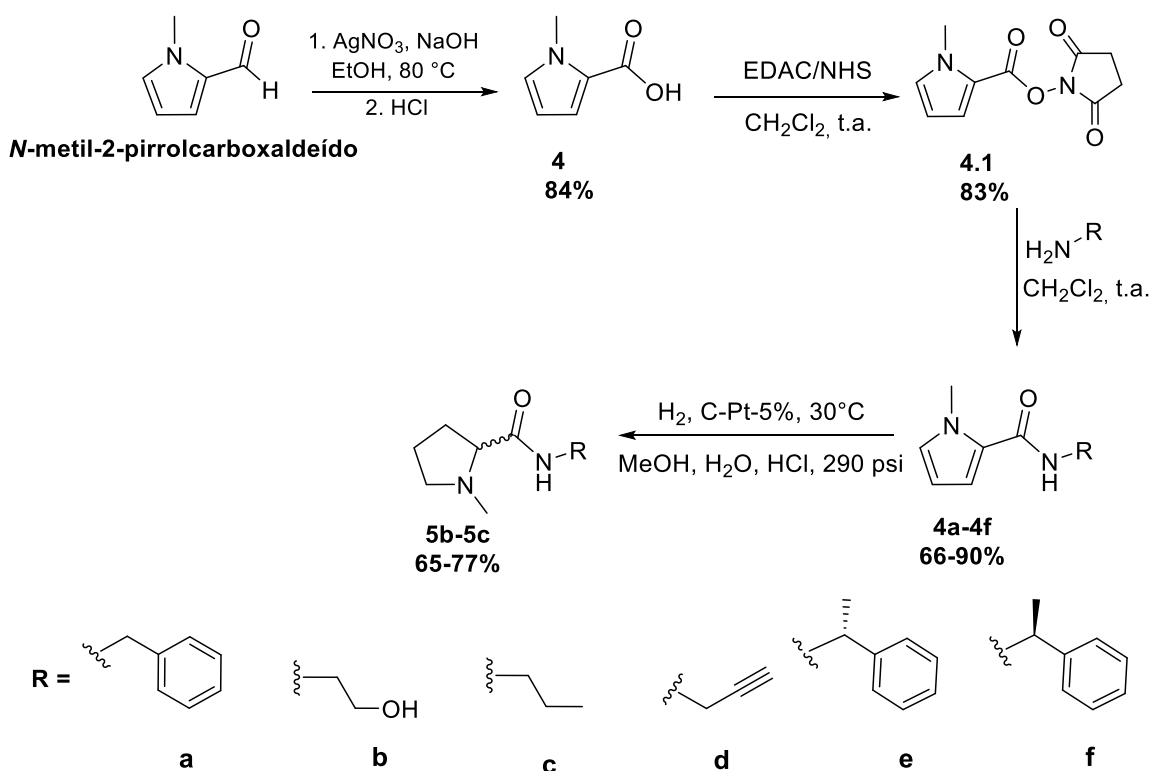
Figura 27 - Mapa de contornos HSQC parcial de 3 (D₂O, 400 MHz)



5.3 Síntese das amidas 4a-4f a partir do *N*-metil-2-pirrolcarboxaldeído

Alternativamente à obtenção das amidas desejadas a partir da *N*-metil-prolina, foi proposta uma nova rota de síntese, utilizando-se o *N*-metil-2-pirrolcarboxaldeído como material de partida (**Figura 28**). Essa rota de síntese foi proposta devido às tentativas exaustivas de sintetizar o derivado **3** em quantidade suficiente para dar continuidade às próximas etapas. Vale ressaltar que o derivado **3** só foi sintetizado com bom rendimento, após a síntese de toda essa etapa derivada do pirrolcarboxaldeído, quando a reação foi realizada sob alta pressão, conforme já mencionado, em colaboração com o Professor Eduardo Nicolau do DQ-UFMG.

Figura 28 - Rota de síntese proposta para a obtenção das amidas 4a-4f

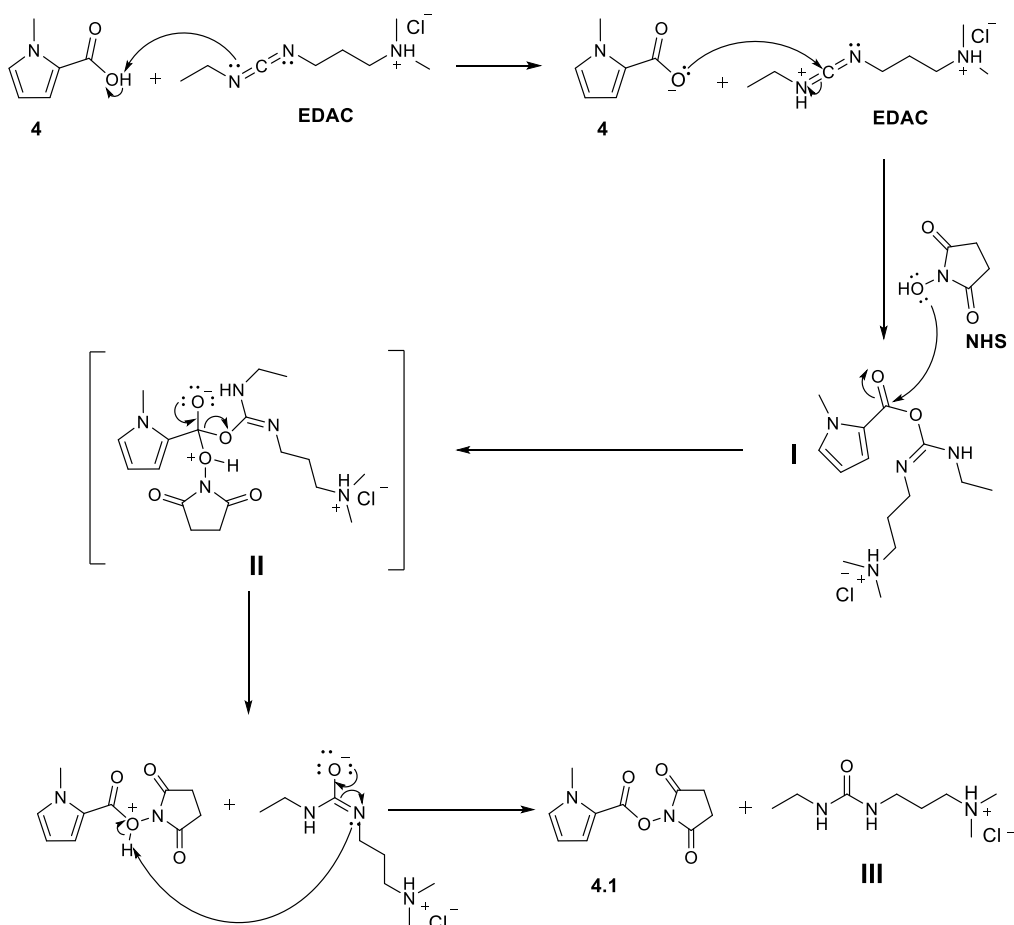


Considerando essa nova rota de síntese, inicialmente, o *N*-metil-2-pirrolcarboxaldeído foi oxidado ao derivado ácido carboxílico **4**, na presença de óxido de prata. A reação de nitrato de prata com hidróxido de sódio, fornece *in situ*, a formação do óxido de prata. O final da reação é característico, uma vez

que ao oxidar o aldeído, o espelho de prata é formado nas paredes do balão de reação. O produto **4** foi obtido com 84% de rendimento.

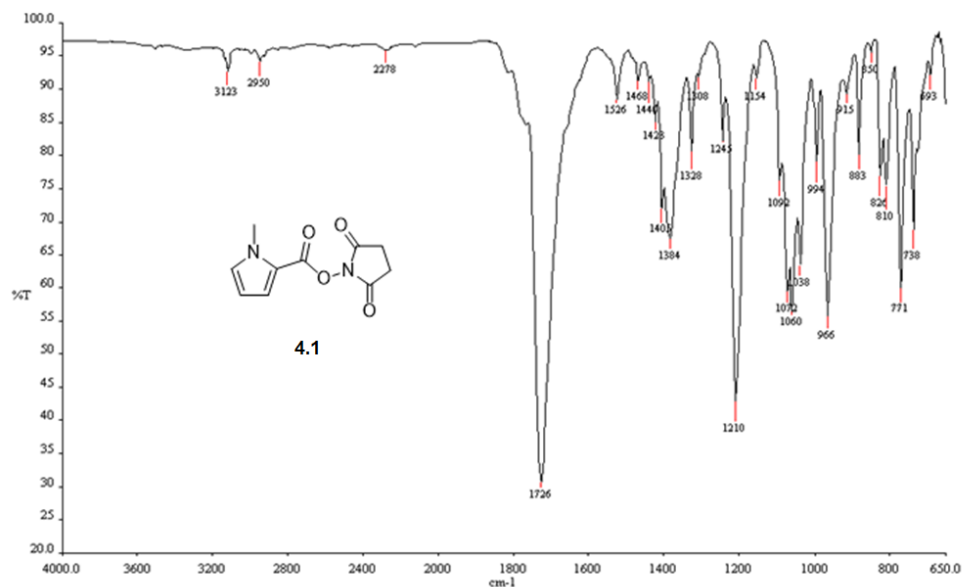
A síntese das amidas **4a-4f** foi realizada em duas etapas: ativação do ácido *N*-metil-2-pirrolcarboxílico, o intermediário **4**, com cloridrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC) e *N*-hidroxisuccinimida (NHS), seguida do acoplamento com a amina correspondente. O mecanismo desta reação está representado na **Figura 29**. Na primeira etapa da reação ocorre a formação do intermediário **I** que, em seguida, sofre ataque nucleofílico da hidroxila do NHS, originando o intermediário **II**, que, ao final, regenera a ligação dupla da carbonila, com liberação do éster ativado **4.1** e do derivado ureia **III** **Figura 29**.

Figura 29 - Mecanismo proposto para a obtenção do éster ativado 4.1, a partir do ácido 4



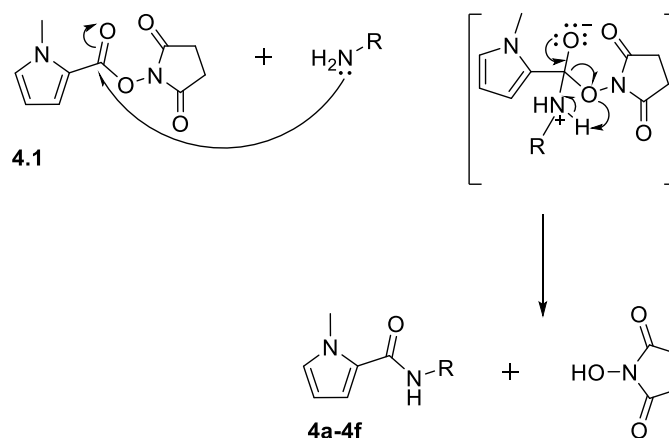
Após elaboração da reação, isolou-se um sólido marrom claro, cuja análise de seu espectro no IV indicou se tratar do produto desejado devido à presença de uma banda intensa em 1726 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C=O característico de carbonilas de éster (**Figura 30**). Este produto também foi caracterizado pela análise de seus espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C .

Figura 30 - Espectro no Infravermelho de 4.1



Na sequência, o éster ativado **4.1** foi submetido à reação de substituição nucleofílica com as aminas de interesse para síntese das amidas correspondentes, conforme mecanismo mostrado na **Figura 31**.

Figura 31 - Mecanismo proposto para obtenção das amidas a partir do éster ativado 4.1



A próxima etapa então consistiu na redução do anel pirrólico sob alta pressão de H₂, em colaboração com o Professor Dr. Eduardo Nicolau dos Santos e o pós-doutorando, Jésus Avendaño, do DQ-UFMG. A reação foi realizada em reator PAR sob pressão de 290 psi., não foi possível isolar as amidas derivadas das aminas com cadeias aromáticas (**Figura 32; Grupo I**). Neste caso, houve a formação de uma mistura complexa de produtos e a análise dos espectros de RMN da mistura que apresentou melhor perfil cromatográfico de **4a** e **4g** indicava que havia produto com anel benzênico reduzido (ciclohexano) e não reduzido (**Figura 33** RMN ¹H, **Figura 34**, RMN ¹³C e **Figura 35** RMN DEPT-135). Apenas as amidas derivadas de aminas com cadeias alifáticas foram isoladas e caracterizadas com sucesso (**Figura 32; Grupo II**).

Figura 32 - Substituintes R das amidas com cadeia lateral aromática e alifática

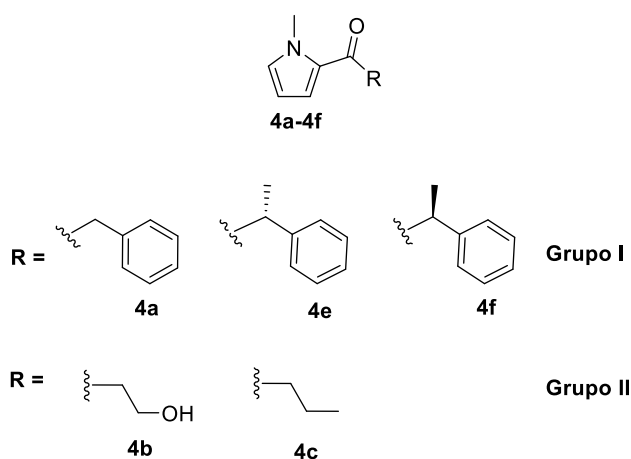
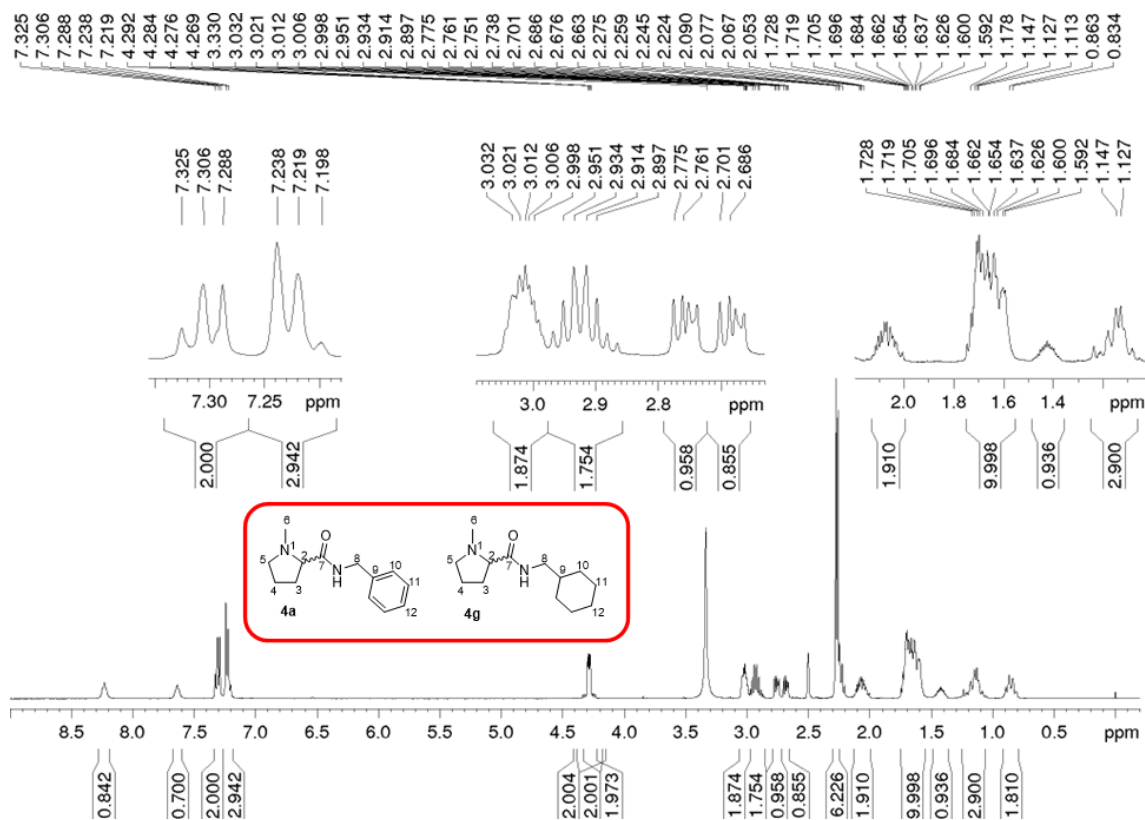
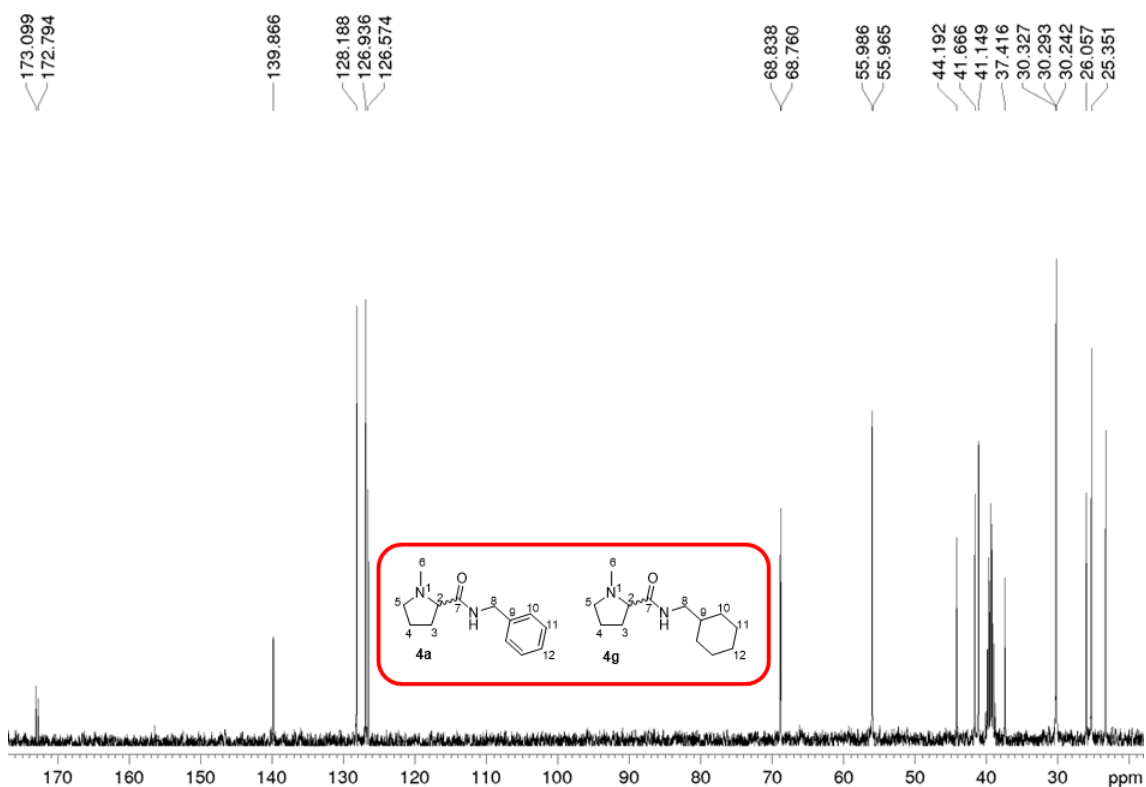


Figura 33 - Espectro de RMN ^1H da mistura obtida na tentativa de síntese de **5a** (DMSO- d_6 – 400 MHz)



Os sinais observados em δ 8,23 e 7,63 ppm sugerem a presença de dois NH de amidas com ambientes químicos diferentes, ou seja, as amidas de **4a** e **4g**. Observou-se, também, dois simpletos com integral para 6 hidrogênios em δ 2,077 e 2,067 ppm, que podem ser atribuídos às metilas ligadas ao átomo de nitrogênio de cada um dos produtos. Por fim, observou-se uma quantidade superior de sinais com deslocamentos químicos entre δ 3,3-0,83 ppm, compatível com hidrogênios alifáticos, como os presentes nos grupos metilênicos dos anéis pirrolidina e ciclohexano. A presença de sinais em δ 7,32-7,20 ppm, característicos de hidrogênios aromáticos, é compatível com a presença do produto desejado **4a** nesta mistura.

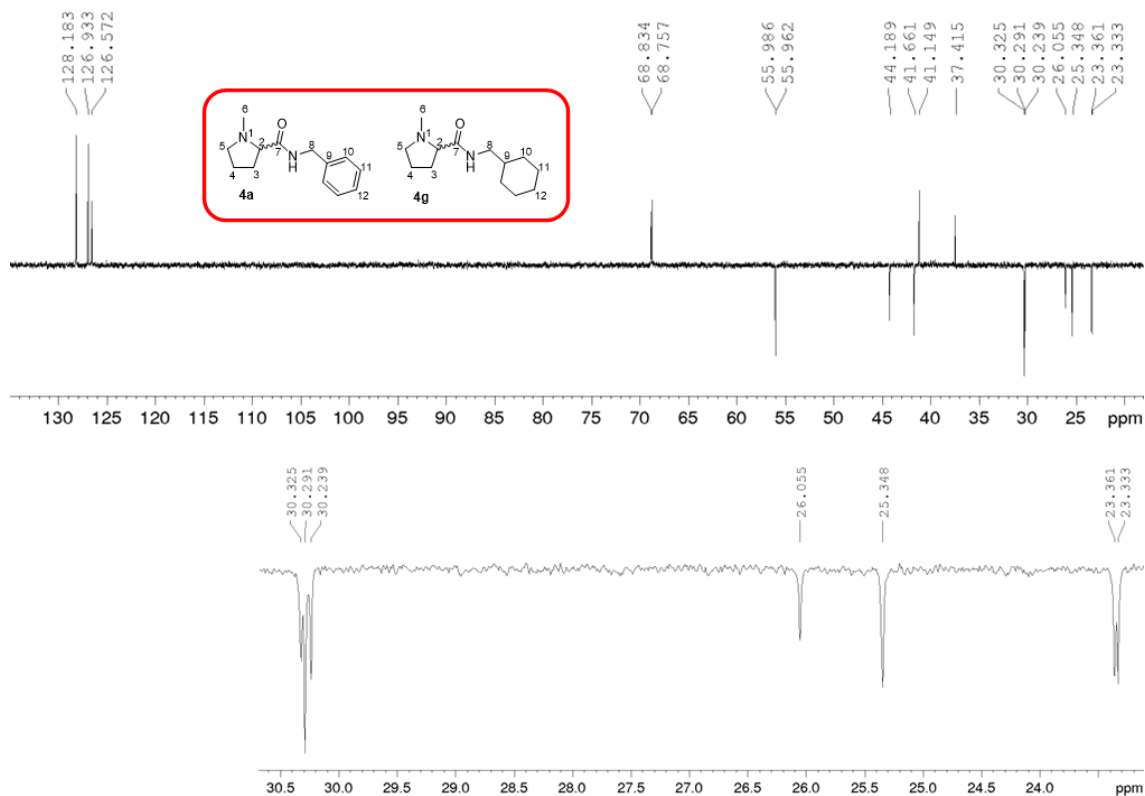
Figura 34 - Espectro de ^{13}C da reação de síntese de 5a (DMSO- d_6 – 100 MHz)



Ainda reforçando a ideia que de possam estar presentes pelo menos os dois produtos destacados, os dois sinais no espectro de RMN de ^{13}C desta mistura, com deslocamento químico em δ 173,10 ppm e 172,79 ppm, corroboram a hipótese da presença de dois grupos amida com ambiente químico diferente. Além disso, a presença de sinais na região de carbonos aromáticos em 139,87 ppm, 128,19 ppm, 126,94 ppm e 126,57 ppm confirmam a presença do grupo fenila na mistura de produtos.

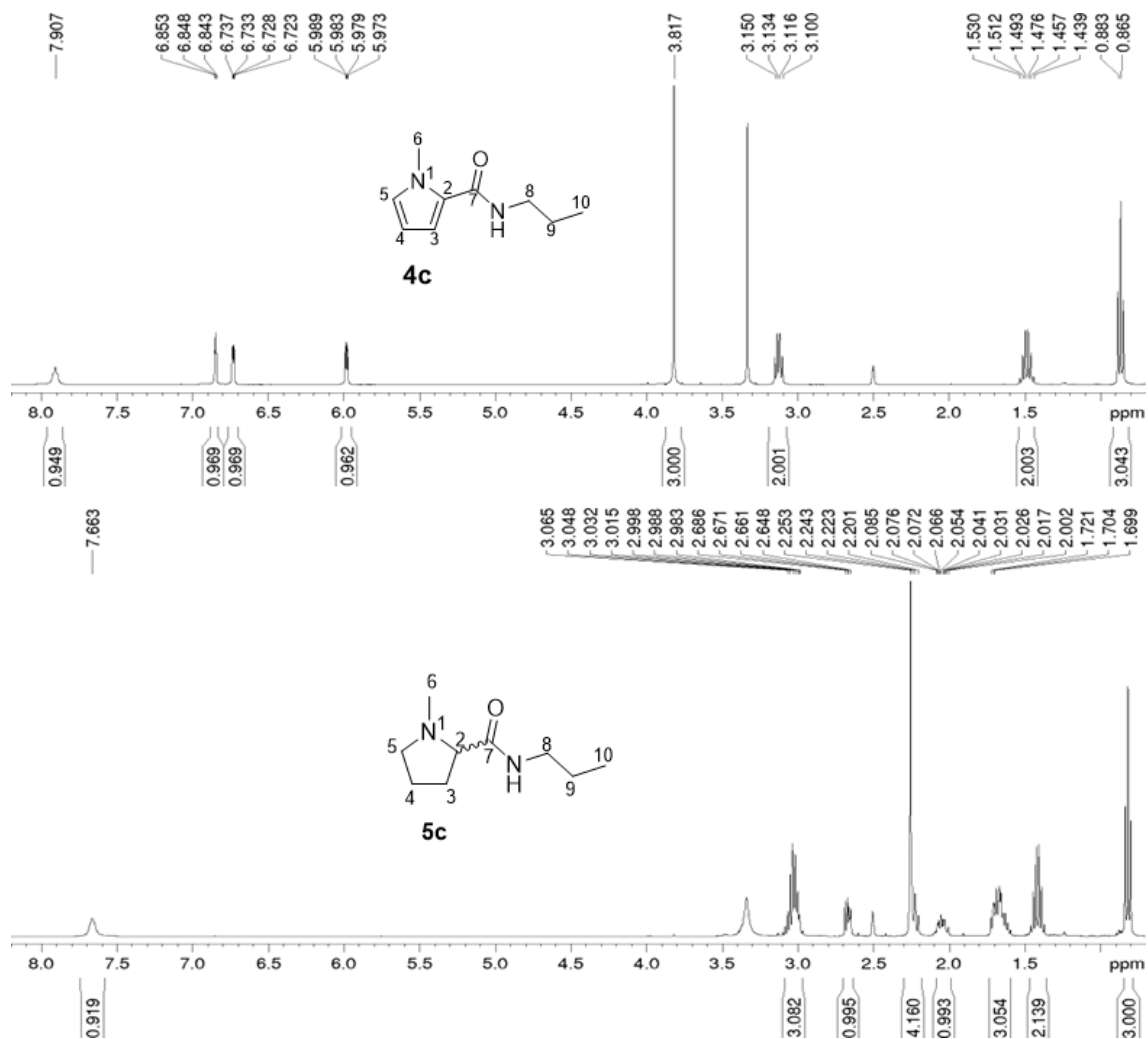
Outra informação crucial que sugere a mistura proposta é o espectro de DEPT-135 mostrado na **Figura 35**. Se apenas o anel pirrólico tivesse sido reduzido, era de se esperar apenas 3 sinais referentes aos carbonos 3, 4 e 5 do anel pirrolidínico. O que se observa são 9 sinais de carbonos metilênicos, compatível também com a formação de um anel ciclohexano na estrutura de **4g**

Figura 35 - Espectro de DEPT-135 da reação de síntese de 5a (DMSO-d₆ – 100 MHz)



No caso das amidas alifáticas, a reação de redução do anel pirrólico ocorreu com sucesso, resultando na formação de uma mistura racêmica. Para fins de exemplificação, na **Figura 36** está mostrada uma comparação entre os espectros de RMN de ¹H de **4c** e **5c**, correspondente a amida do pirrol e da pirrolidina, respectivamente.

Figura 36 - Comparação dos os espectros de RMN de ^1H de **4c** e **5c** (DMSO- d_6 , 400 MHz)



No espectro de RMN de ^1H das amidas **4c** e **5c** observam-se, dentre outros os sinais correspondentes ao NH em δ 7,90 e 7,70 ppm, respectivamente, com integral para 1H. Observam-se, também, sinais referentes à cadeia *n*-propílica em ambos os espectros, como um sexteto em, aproximadamente, δ 1,40 ppm, referente a 2 x H-9 e um triplete em, aproximadamente, δ 0,80 ppm referente a 3xH-10. No espectro de **4c** (Figura 36) observa-se um quarteto referente a 2xH-8 que fica mais complexo no espectro de **5c** (Figura 36), devido à presença de sinal de ^1H do anel pirrolidina na mesma região. A característica mais marcante de formação de **5c** a partir de **4c** é a ausência dos sinais dos hidrogênios do anel pirrólico presentes na região de δ 6,0-7,0 ppm com integral de 1H cada. Por fim,

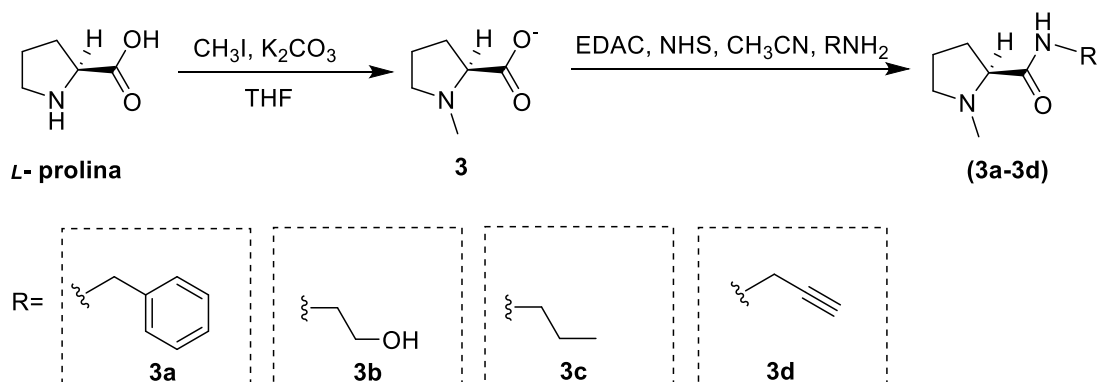
vale ressaltar que ambas as substâncias foram caracterizadas, também, pela análise de seus espectros de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT-135 (Apêndice A-32 e A-48, páginas 181 e 189, respectivamente).

5.4 Proposta de síntese das amidas a partir da *N*-metil-L-prolina **3**

Saber como uma substância química, utilizada como fármaco, exerce a sua atividade biológica nem sempre é simples e às vezes envolve estudos de elevada complexidade e custo. Algumas dessas substâncias podem ser quirais e a modificação da orientação espacial pode alterar o efeito biológico desses fármacos (COELHO, 2001). A existência de uma mistura de enantiômeros pode desencadear diferentes atividades biológicas para cada um dos isômeros. Além disso, fármacos administrados sob a forma de mistura racêmica podem apresentar efeitos inferiores quando comparados aos seus enantiômeros puros.

Por essas e outras situações é de fundamental importância que, antes da administração de uma substância na forma de mistura racêmica, a atividade de cada enantiômero seja investigada separadamente para garantir a segurança do paciente. Essa é a forma segura de afirmar que tal isômero apresenta ou não efeito adverso quando em contato com o meio biológico. Como os produtos **5b** e **5c** foram sintetizados na forma de racemato, uma nova proposta de síntese das amidas a partir de um material de partida enantiomericamente puro, a *N*-metil-L-prolina **3**, foi testada (**Figura 37**).

Figura 37 - Síntese das amidas a partir da *N*-metil-L-prolina **3**



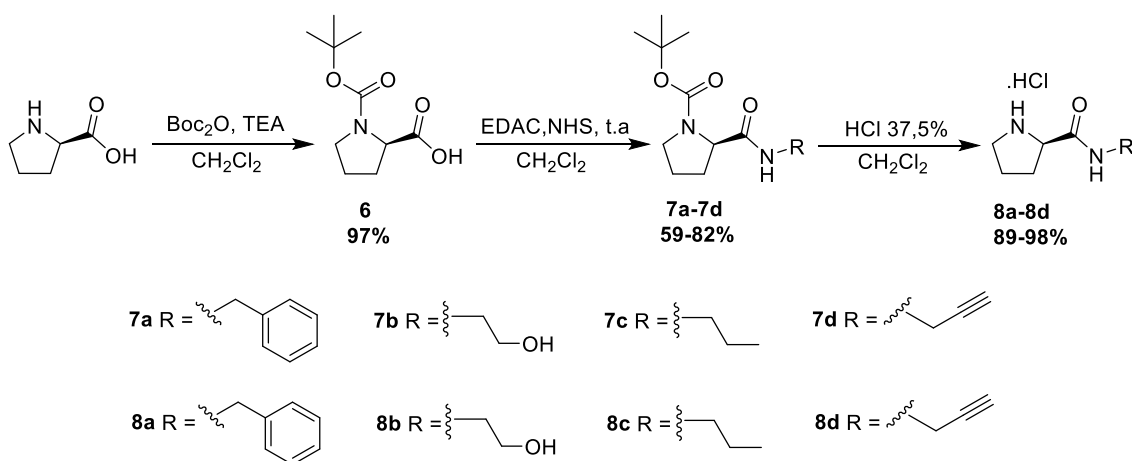
Com base na rota de síntese apresentada na **Figura 37**, reagiu-se o intermediário **3** com EDAC/NHS para a formação do éster ativado. A reação para formação do éster ativado foi monitorada por CCD. Após 12 horas de reação ainda não havia sido consumido o material de partida, a *N*-metil-L-prolina, e não havia indícios de formação de qualquer produto. A partir dessas observações, a reação foi mantida sob refluxo a 80 °C. Após 24 horas a reação foi interrompida, já que não houve progresso. Sucessivas tentativas foram realizadas utilizando-se diisopropilcarbodiimida (DIC) ao invés de EDAC como agente de acoplamento, para obtenção do éster ativado da *N*-metil-L-prolina, sem sucesso. O solvente também foi modificado substituindo-se a CH₃CN por DMF. Em nenhum dos casos houve progresso da reação. Na maioria das vezes o solvente era removido e com a adição de uma mistura de etanol/acetato de etila 1:1 ao resíduo, ocorria a precipitação do material de partida **3**. Quando o solvente utilizado era a DMF, a mistura reacional ficava secando ao ar com auxílio de soprador de ar comprimido. Após completa secagem a mistura etanol/acetato de etila 1:1 era adicionada e havia recuperação quase completa do material de partida.

É comum se observar que em larga faixa de pH os aminoácidos se apresentam duplamente carregados transformando-se em cátion amônio e ânion carboxilato, ou seja, formam um íon duplo denominado de *Zwitterion* (BISCHOFF e SCHLUTER, 2012). A presença do íon duplo, pode sugerir a formação de pares iônicos, o que pode reduzir a reatividade destes grupos, desfavorecendo a ocorrência da reação. Dessa forma, nenhuma das amidas planejadas (**Figura 37**) foi sintetizada, já que o reagente chave seria o éster ativado a partir da *N*-metil-L-prolina.

5.5. Proposta de síntese das amidas 7a-7d e 8a-8d

Diante dessa situação de insucesso da formação do éster ativado a partir da *N*-metil-L-prolina **3**, uma nova rota de síntese para obtenção das amidas desejadas foi sugerida. Essa proposta é mostrada na **Figura 38**.

Figura 38 - Nova rota proposta para a síntese das amidas 7a-7d e 8a-8d

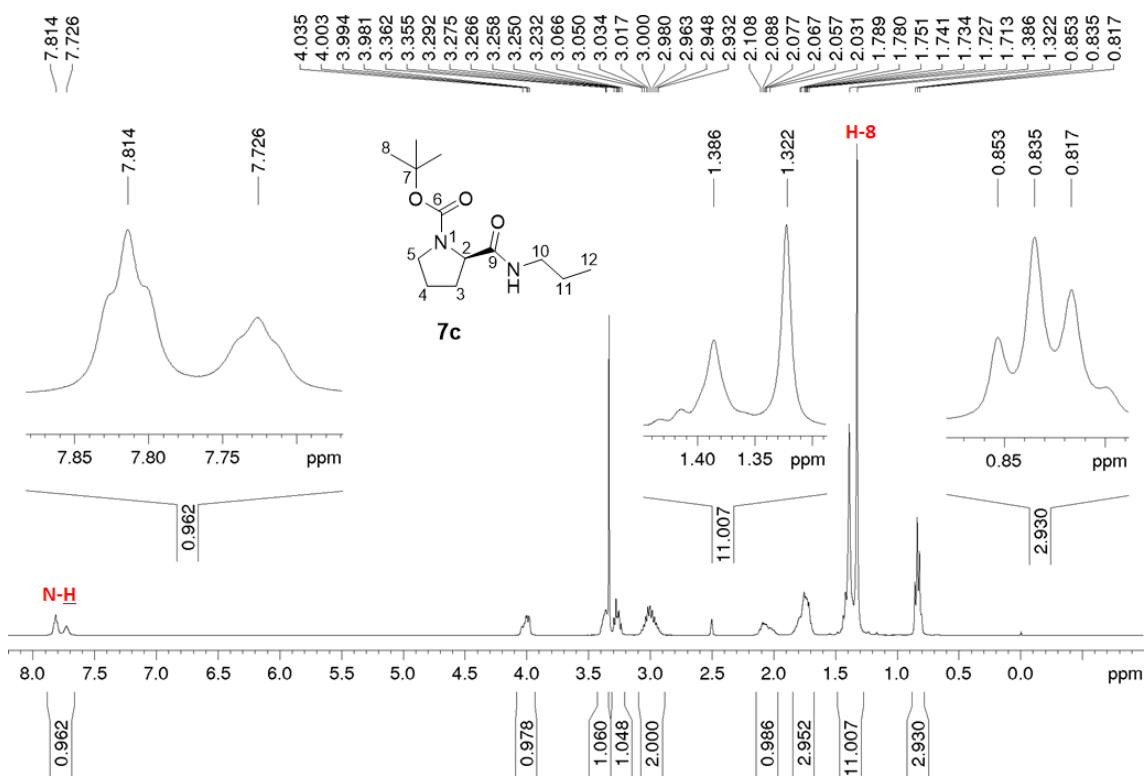


Diante do insucesso da formação das amidas a partir da *N*-metil-prolina, a alternativa encontrada foi proteger a amina com o grupo protetor Boc para obtenção da terc-butoxicarbonil-L-prolina **6**. A proteção da L-metil-prolina foi realizada com sucesso, obtendo-se o intermediário-chave **6** com 97% de rendimento. Posteriormente à proteção da amina, seguiu-se a etapa já descrita anteriormente com a formação do éster ativado na presença de EDAC e NHS em diclorometano. O passo seguinte foi a síntese das amidas com a adição da amina correspondente para obtenção das amidas de interesse **7a-7b**. As amidas foram sintetizadas com bons rendimentos, exceto a amida **7b** que foi sintetizada com menor rendimento, 59%. O acompanhamento da reação de formação de **7b** por CCD evidenciou a formação de duas manchas com $R_F = 0,62$ e $R_F = 0,25$. Os produtos foram isolados, purificados e caracterizados por espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e subespectro DEPT-135. Ao analisar os produtos por meio de seus respectivos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , identificou-se que o produto de interesse era o produto mais polar ($R_F = 0,25$) e que o produto menos polar (R_F

= 0,62) se tratava do material de partida **6**, indicando que a reação para a formação do éster ativado não foi completa.

Conforme descrito na literatura, as amidas protegidas **7a-7d** foram obtidas na forma de uma mistura de rotâmeros (MAHAJAN, *et al.*, 2019). É perceptível pelos espectros de RMN de ^1H (**Figura 39**) e RMN de ^{13}C (**Figura 40**) de **7c**, por exemplo, a duplicidade de sinais.

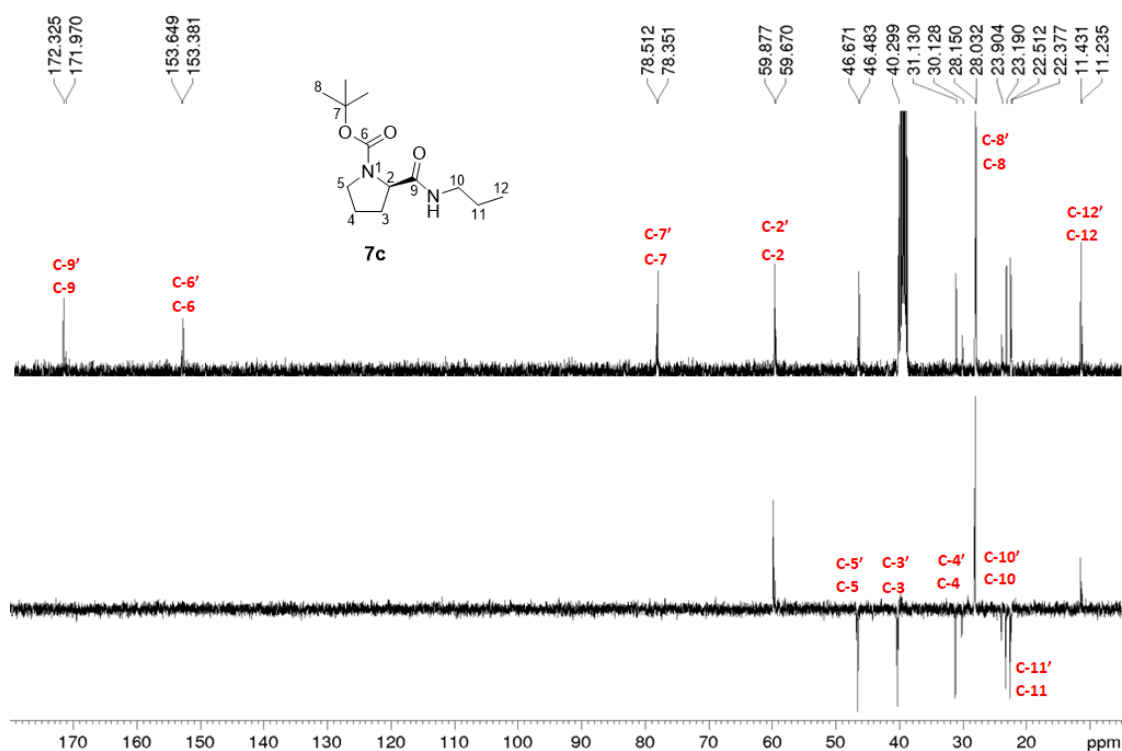
Figura 39 - Espectro de RMN ^1H 7c evidenciando a mistura de rotâmeros (DMSO- d_6 – 400 MHz)



Pela observação do espectro de RMN de ^1H de **7c** podemos observar dois sinais característicos de confôrmeros diferentes que são os sinais de N-H da amida registrando como um duplete aparente em δ 7,77 ppm e um sinal representado por outro duplete aparente em 1,78 ppm com integral para 11 H que podem ser atribuídos a 2xH-11 e 9xH-8.

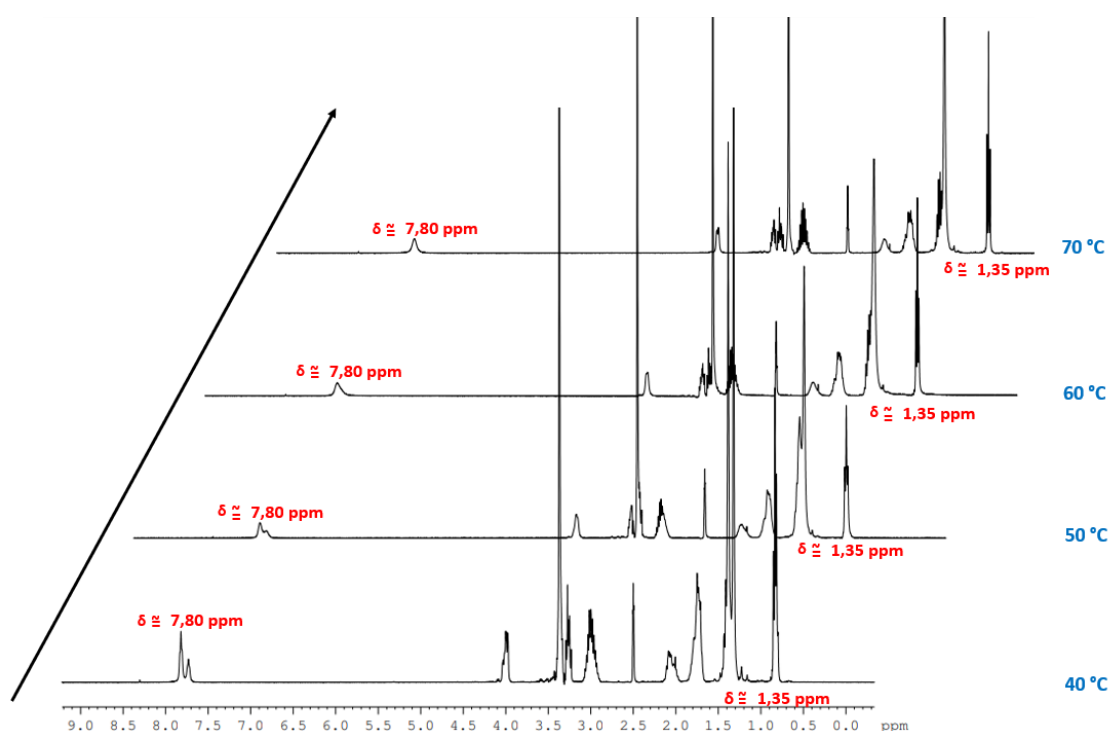
Essa confirmação fica ainda mais evidente com base na análise do espectro de RMN de ^{13}C de **7c** em que se nota a duplicidade dos carbonos das amidas de ambos os confôrmeros com sinais em δ 172,32 e δ 171,97 ppm para C-9 e C-9', respectivamente, sinais do grupo do grupo Boc em δ 153,65 ppm para C-6 e δ 153,38 ppm para C-6' ppm. Observa-se também uma duplicidade de sinais dos carbonos metilênicos do anel pirrolidínico registrados em δ 46,67 ppm e δ 46,48 ppm para C-5 e C-5'; δ 31,13 e δ 30,13 ppm referente a C-4 e C-4' e observa-se também duplicidade de sinal para o C-10 e C-10' respectivamente em δ 23,9 e δ 23,19 ppm e duplicidade de sinal para C-11 e C-11' respectivamente em δ 22,51 e δ 22,38 ppm respectivamente. Além disso, os sinais mais marcantes são os sinais do grupo Boc registrados em δ 28,15 e δ 28,03 ppm para C-8 e C-8'. Um dos sinais de C-4 pode ser visto em δ 40,29 ppm, já o sinal de C-4' pode estar sobreposto ao sinal do solvente DMSO- d_6 . Por fim, observam-se dois sinais um em δ 11,43 e outro em 11,23 ppm, referentes aos carbonos C-12 e C-12', respectivamente.

Figura 40 - Espectro de ^{13}C 7c evidenciando a mistura de rotâmeros (DMSO- d_6 – 100 MHz)



Com a finalidade de melhor explicar a natureza dos espectros das amidas protegidas **7a-7d**, sempre com sinais duplicados, investigações adicionais foram realizadas. Uma delas foi a realização do espectro de RMN de uma das amidas, a **7c**, com aumento de temperatura para promover maior rapidez de interconversão dos rotâmeros, de forma a registrar apenas a média dos sinais dos rotâmeros (**Figura 41**).

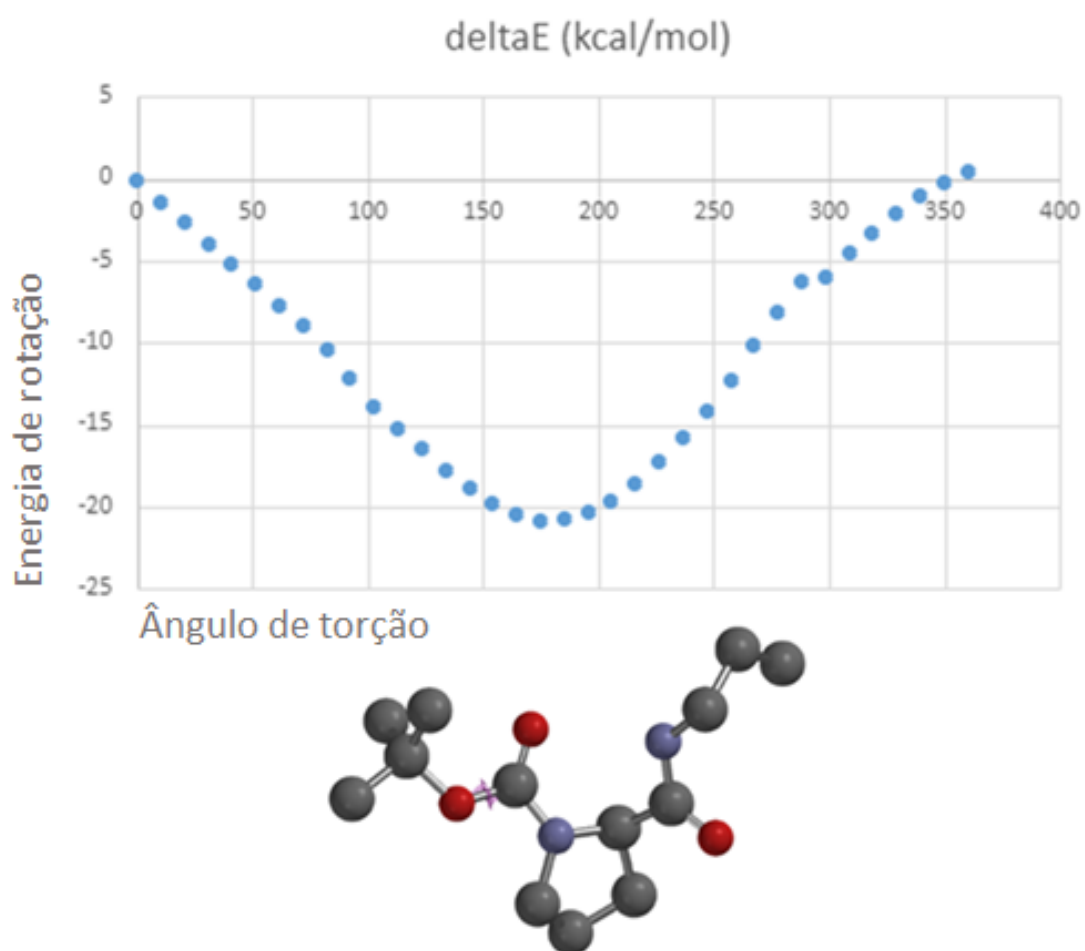
Figura 41 - Espectro de ^1H 7c com variação de temperatura (DMSO- d_6 , 400 MHz)



Como mostrado na **Figura 41**, o sinal em, aproximadamente, δ 7,80 ppm se refere ao NH da amida e o sinal em, aproximadamente, δ 1,35 ppm se refere aos hidrogênios do grupo Boc. Pode-se observar que à medida que a temperatura vai aumentando a conversão entre os rotâmeros se torna tão rápida, que os sinais se sobrepõem. Isso é mais nítido quando se observa o sinal no NH da amida e dos hidrogênios do grupo Boc, que são os sinais que sobressaem para ambos os rotâmetros, quando a temperatura atinge os 70 °C. Isso mostra que realmente existem dois rotâmeros de maior estabilidade nas amidas bocadas **7a-7d**. Com a finalidade de confirmar qual dos rotâmeros apresenta maior

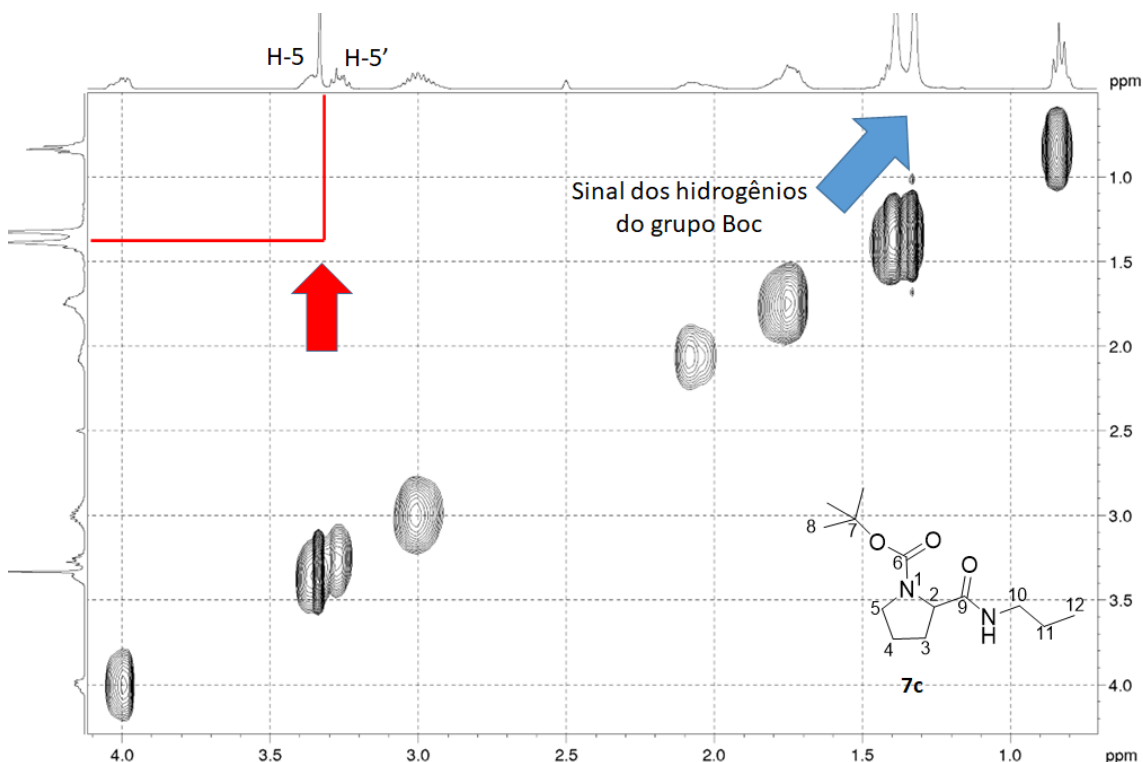
estabilidade foi realizado um estudo de análise conformacional. Considerando a rotação do grupo *tert*-butila, apenas um confôrmero de menor energia foi predominante. Como esperado, o confôrmero de menor energia foi aquele em que o grupo volumoso *tert*-butila está posicionado de forma a garantir o menor impedimento estérico com os demais grupos funcionais da molécula, conforme representado na **Figura 42**.

Figura 42 - Representação do confôrmero de menor energia representado pela estrutura de 7c e gráfico de energia do ângulo de torção do grupo BOC



Pode-se perceber que o confôrmero de menor energia é quando o grupo Boc atinge 180° , como representado no gráfico da **Figura 42**. A diferença de energia entre o confôrmero de menor energia e o de maior energia é de mais ou menos de 20 kcal/mol, logo é pouco provável que essa rotação ocorra nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP). Essa hipótese teórica sugerida no estudo de análise conformacional pôde ser comprovada pela análise bidimensional de mapa de contornos de NOESY mostrado na **Figura 43**.

Figura 43 - Mapa de contorno parcial de NOESY de 7c (DMSO- d_6 , 400 MHz)

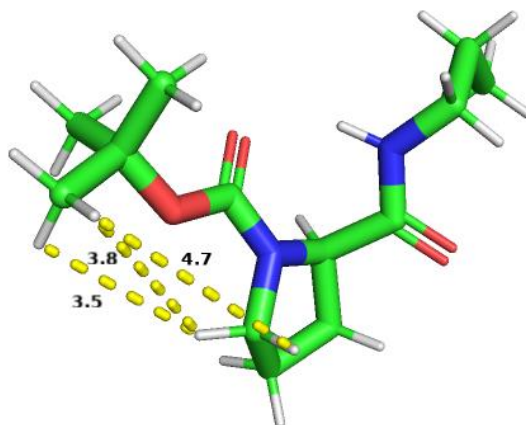


Como podemos observar na **Figura 42**, o grupo Boc, por ser volumoso, está o mais distante do anel pirrolidínico e da porção amídica. Se o grupo Boc estabelecesse correlação com os sinais de H-5 e H-5', era de se esperar uma mancha de correlação na região indicada pela seta vermelha na **Figura 43**. A ausência dessa mancha de correlação sugere, então, que, de fato, o confôrmero de menor energia é o confôrmero sugerido na **Figura 42**, com o grupo Boc mais distante do restante dos demais grupos da molécula.

Segundo Pavia e colaboradores (2010), para se observar uma interação espacial de núcleos de ^1H , os núcleos devem estar até uma distância de, no máximo, 5 Å de distância um do outro. Para verificar o porquê da ausência da correlação,

novos estudos conformacionais, para avaliar a distância dos hidrogênios do grupo Boc H-8 e os hidrogênios do anel H-5 foram realizados e os resultados são mostrados na **Figura 44**. Segundo Pavia et al., era se observar uma correlação cruzada entre o sinal de H-8 x H-5 de acordo com as distâncias mostradas na **Figura 44**. Todavia, segundo Sanders, Constable e Hunter (1989) e Croasmun e Carlson (1999), os sinais de NOESY são **intensos** quando os núcleo dos prótons ^1H estão separado por 1,8 a 2,7 Å; **médios** quando os núcleo dos prótons ^1H estão separado por 2,7 a 3,4 Å e fracos quando os núcleo dos prótons ^1H estão separado por 3,4 a 5 Å. Como a menor distância calculada entre os núcleos dos prótons ^1H (**Figura 44**) foi de 3,5 Å, é possível que essa correlação seja fraça e não apareça no mapa de contornos NOESY.

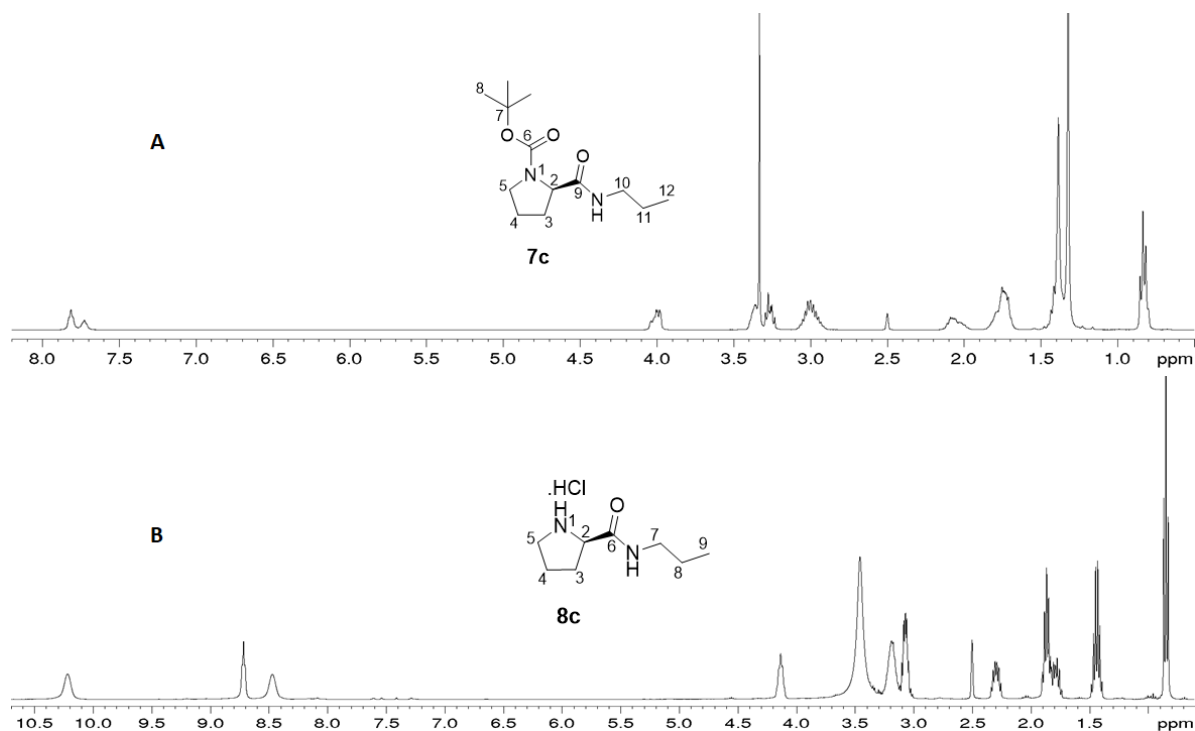
Figura 44 - Predição da distância entre os hidrogênios do grupo Boc H-8 e os hidrogênios mais próximos do Boc H-5



Por fim, a etapa final dessa rota sintética consistiu na remoção do grupo Boc utilizando HCl 37% em diclorometano 4 molL⁻¹.

Na **Figura 45** estão representados os espectros de RMN de ^1H do derivado protegido **7c** em comparação ao do derivado desprotegido **8c**.

Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H comparativo do derivado **7c (A) e do produto desprotegido correspondente **8c** (B) (DMSO- d_6 , 400 MHz)**

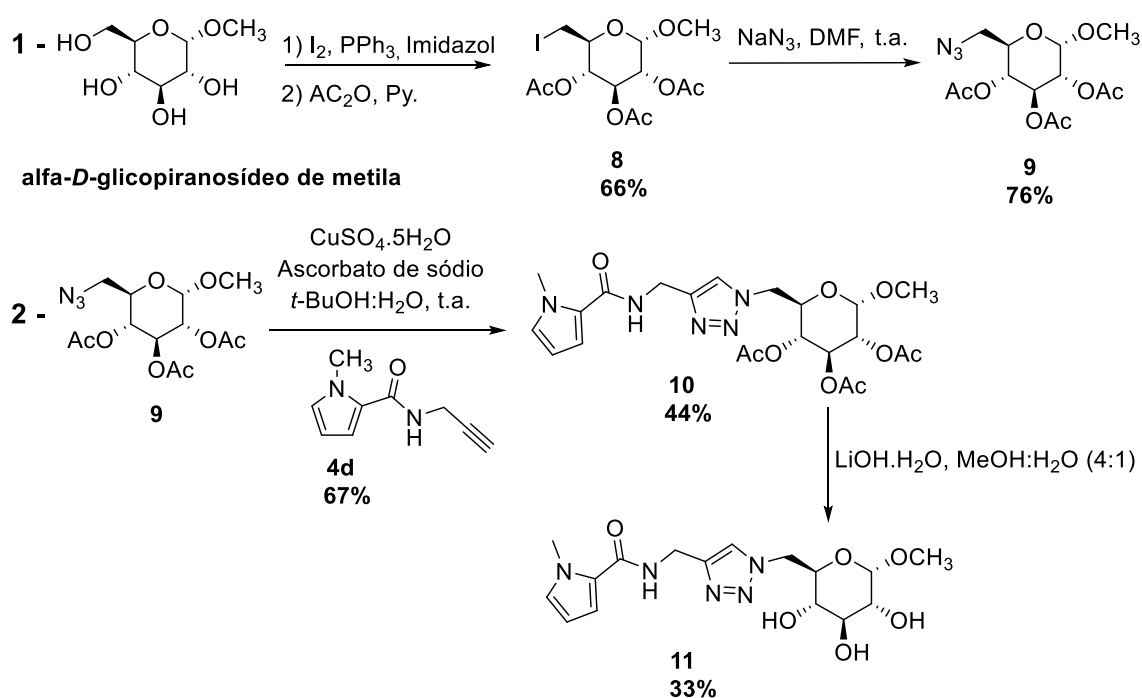


Pela análise do espectro de RMN de ^1H de **7c** (**Figura 45 A**) observam-se, dentre outros, os sinais referentes aos hidrogênios do grupo protetor Boc em δ 1,40 ppm. Observam-se, também, em δ 7,79 e 7,83 ppm sinais duplicados do nitrogênio da amida N-H e N-H', mostrando a existência dos confôrmeros devido à presença do grupo Boc. Já no espectro de RMN de ^1H de **8c** (**Figura 45 B**), a amina desprotegida, não se observa o sinal do grupo Boc e sim um sexteto em δ 1,43 ppm, correspondente aos hidrogênios H-8, que sobressai devido à ausência do sinal do grupo Boc. Ainda podemos observar outra evidência de desproteção da amina com os sinais em δ 10,2 ppm e 8,5 ppm referentes aos hidrogênios da amina protonada.

5.6 Síntese dos análogos triazólicos da clindamicina

A rota de síntese planejada para obtenção dos análogos triazólicos da clindamicina consistiu em uma síntese convergente, unindo, ao final, o derivado azido **9** com o derivado alcino **4d** por meio de uma reação de cicloadição 1,3 dipolar de azida-alcino catalisada por cobre (I) (CuAAc), reação “Click” (**Figura 46**).

Figura 46 - Proposta da síntese convergente para obtenção dos derivados triazólicos 10 e 11



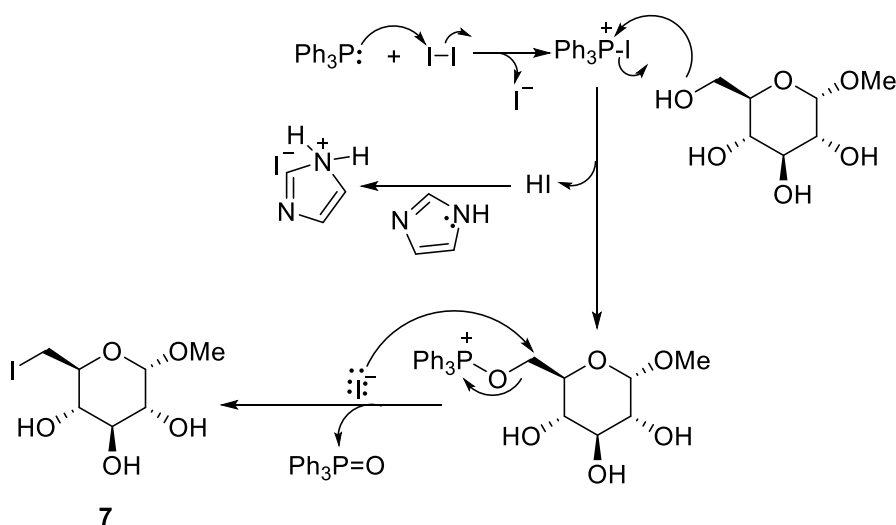
O derivado alcino **4d** foi sintetizado conforme descrito na seção **7.5.5** página 123. Após purificação por CCS, o produto foi reservado para síntese dos derivados triazólicos.

Já a síntese do derivado azido **9** foi proposta, inicialmente, em duas etapas, a partir do α -D-glicopiranosídeo de metila. A conversão da hidroxila de C-6 do açúcar em um bom grupo abandonador foi realizada por meio da reação de Garegg (**Figura 47**), com iodo e trifetilfosfina e imidazol em tolueno sob refluxo com a formação do derivado **7**, o qual foi submetido à reação de acetilação com anidrido acético em piridina, sem purificação prévia.

Posteriormente, o derivado iodado peracetilado **8** foi submetido a uma reação de substituição nucleofílica do tipo S_N2 com azida de sódio como nucleófilo. Considera-se que o íon azido seja um nucleófilo ideal para este tipo de reação, uma vez que não possui caráter básico considerável e, dessa forma, evita reações paralelas de eliminação e também era o desejado para a reação Click. O solvente da reação foi a DMF, um solvente polar aprótico, ideal para esse tipo de transformação, por não gerar solvatação do ânion N_3^- . Dessa forma o ânion fica mais disponível para o ataque nucleofílico. O derivado azido peracetilado foi obtido com bom rendimento, 76%.

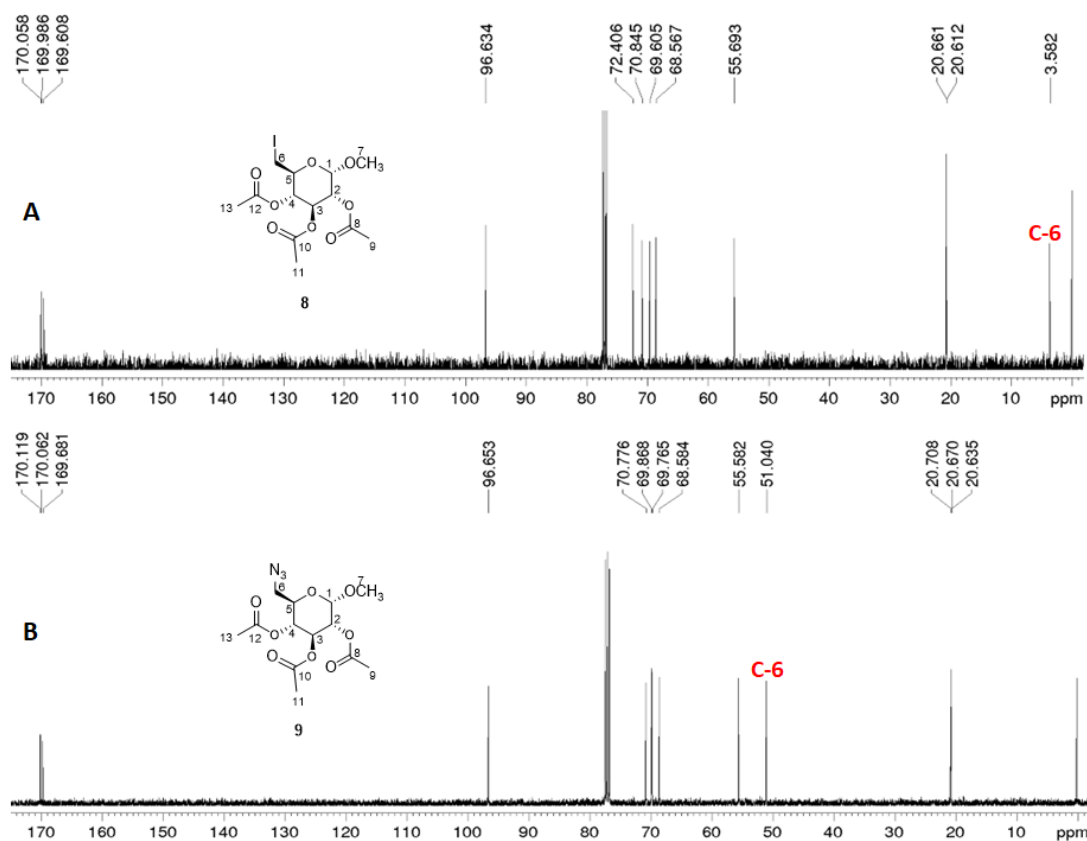
Ao utilizar a trifetilfosfina com um ativador eletrofílico hidroxilas alcoólicas são convertidas em íons alcoxifosfônio que posteriormente podem ser deslocadas para gerar o haleto de alquila correspondente, com liberação do estável óxido de trifetilfosfina. O mecanismo proposto para essa reação é ilustrado na **Figura 47** (GAREGG e SAMUELSSON, 1980). O óxido de trifetilfosfina formado nessa reação não foi problema para a rota sintética proposta neste trabalho. Como o derivado iodado era solúvel em água, o óxido de trifetilfosfina, permaneceu na fase orgânica sem necessidade de purificação. Posteriormente, para facilitar o isolamento na fase aquosa, o derivado iodado **7** foi submetido à reação de acetilação.

Figura 47 - Mecanismo de formação do derivado 6-iodo 7



A formação do derivado iodado **8** e do azido-açúcar peracetilado **9** foi confirmada pela análise de seus espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e subespectro de DEPT-135. No espectro aqui discutido será apresentada a principal evidência de formação do derivado azido **9** a partir do derivado iodado **8**. Comparando-se os espectros de RMN de ^{13}C de **8** (Figura 48 A) e **9** (Figura 48 B), há uma evidência marcante de substituição do iodo pelo grupo azido. O deslocamento químico de C-6 no derivado iodado **8** se encontra altamente blindado em δ 3,59 ppm, muito abaixo do esperado para um carbono C-6 glicosídico. Isso é característico da presença de um átomo volumoso e o efeito é chamado de *efeito do átomo pesado*. Esse fenômeno geralmente se observa com a presença de halogênios, por provocar uma maior blindagem do núcleo no qual estão ligados. Isso é perceptível à medida que se aumenta o número atômico do halogênio. É um fenômeno conhecido com blindagem diamagnética que é provocada pelos diversos elétrons ao redor do átomo “pesado” (KAUPP et al., 1998).

Figura 48 - Comparação dos espectros de RMN de ^{13}C de 8 (A) e 9 (A) (CDCl₃- 100 MHz)

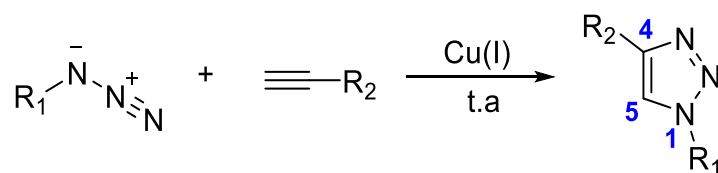


Ao contrário, no derivado azido **9**, o mesmo carbono C-6 se encontra em δ 51,04 ppm, deslocamento químico compatível com sinal de carbono ligado a nitrogênio, indicando que houve substituição do átomo de iodo pelo grupo azido.

5.7 Reação “click” e a síntese de heterociclos 1,2,3-triazólicos

O 1,2,3-triazol é um heterociclo de origem exclusivamente sintética, não sendo encontrado na natureza. O heterociclo triazólico é estável e apresenta bioisosterismo com a função amida presente na estrutura de fármacos e de várias substâncias com atividade biológica, como é o caso da clindamicina (LUNDBERG et al., 2008). A vantagem de um derivado triazólico em comparação ao grupamento amida é que os derivados triazólicos são estáveis e não susceptíveis à hidrólise. A reação “click” é uma cicloadição que utiliza uma azida orgânica, em geral, e um alcino terminal, catalisada por cobre(I). Na ausência do cobre, a reação é lenta e têm-se como produtos os regioisômeros triazólicos 1,4- e 1,5-dissubstituídos, em uma proporção de 1:1. Por apresentar esse inconveniente, os grupos de pesquisa de Meldal e de Sharpless, mostraram a importância do Cu(I) (**Figura 49**) que acelera a reação e resulta na formação exclusiva do produto 1,4-dissubstituído (ROSTOVTSEV, et al., 2002; TORNOE, et al., 2002).

Figura 49 - Reação de formação exclusiva de produto 1,4-dissubstituído

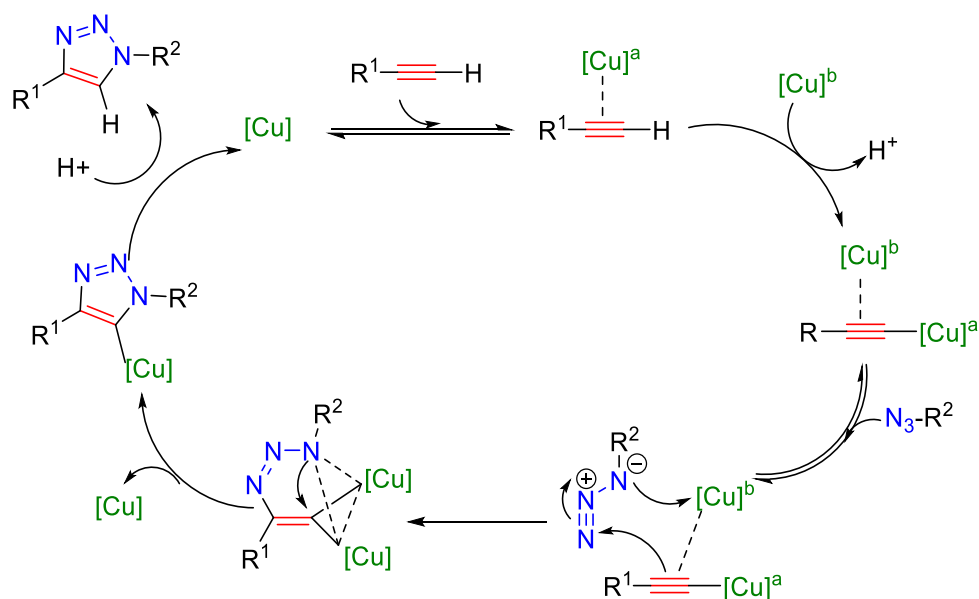


A função do cobre se dá primeiramente pela formação do acetilato do metal (**Figura 50**), facilitando o ataque do carbono do tipo β -vinilidênico do acetilato de Cu(I) ao nitrogênio eletrofílico terminal da azida orgânica, para se formar a primeira ligação C-N e obter um intermediário instável. Um estudo envolvendo isótopos marcados de cobre permitiu concluir o envolvimento de novos intermediários não isoláveis que antes não eram mencionados nos estudos

mecanísticos. Além disso, o estudo permitiu concluir especificamente a formação do complexo ativo de cicloadição envolvendo dois átomos de cobre diferenciáveis e não somente um como se pensava, o que resulta numa reatividade unificada de s-acetiletos eletronicamente ricos com 1,3-dipolos (por exemplo, azidas, óxidos de nitrila e nitronas) que podem efetivamente recrutar um átomo Cu (WORREL et al., 2013).

A proposta da etapa final do mecanismo envolve a protonação da espécie triazoíla de cobre promovendo a formação do produto e regeneração do catalisador. O próprio solvente utilizado na reação ou uma base protonada podem levar à protonação da espécie triazoíla (BOCK, 2006).

Figura 50 - Proposta mecanística para a formação do produto 1,4-dissubstituído



Fonte: WORREL et al., 2013.

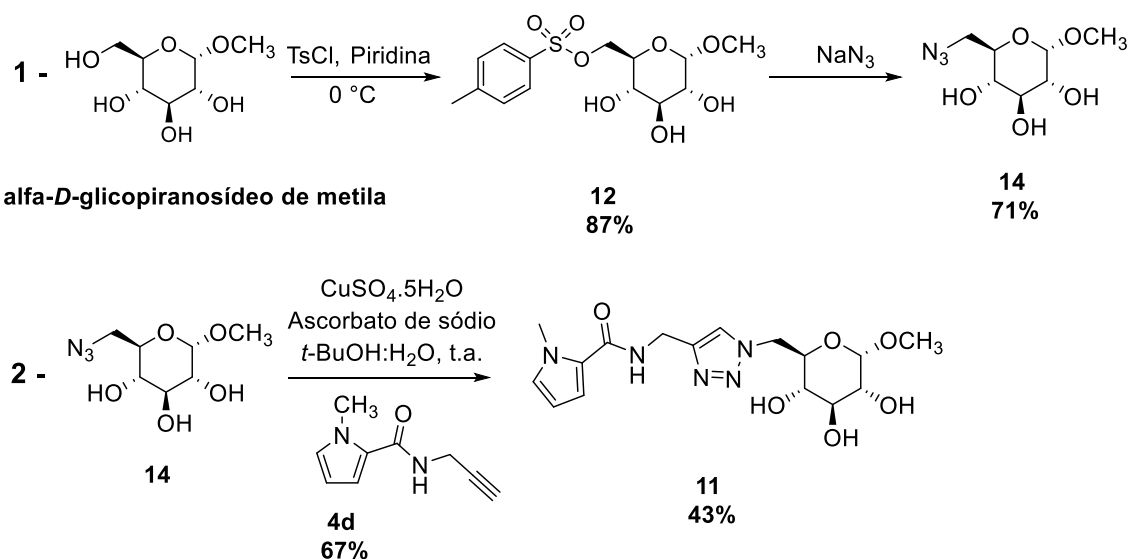
Considerando o mecanismo proposto e a eficiência das reações “click”, o derivado glicosiltriazol **10**, foi obtido por meio dessa reação de cicloadição, utilizando-se a amida propargílica **4d** e o α -D-glicosilazido peracetilado **9** e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e ascorbato de sódio como catalisadores. O solvente da reação foi uma mistura de *ter*-butanol/água na proporção 1:1 e a reação procedeu à

temperatura ambiente. O tempo de reação foi de, aproximadamente, 12 horas. No momento da elaboração a fase orgânica foi lavada com solução de EDTA 10 % e o resíduo obtido após evaporação da solvente orgânico foi purificado por CCS. O rendimento da reação foi satisfatório, 44%, considerando que o produto se encontra em uma penúltima etapa de uma rota sintética de oito etapas.

Com o derivado triazólico peracetilado **10** purificado, a reação final para essa rota de síntese seria a desproteção das hidroxilas por desacetilação com metóxido de sódio em metanol anidro. O resultado dessa reação não foi satisfatório, pois o perfil cromatográfico forneceu uma série de subprodutos que mal se conseguia distinguir uma mancha da outra na CCD, já que apresentavam FR muito próximos. Faraco et al. (1996) e Oliveira (1998) realizaram essa desproteção com sucesso em derivados glicosídicos com a diferença que a desproteção foi realizada no derivado azido peracetilado antes da reação de cicloadição que aqui corresponde ao intermediário azido **9**. Ainda na tentativa de obter o produto desacetilado, recorreu-se à técnica descrita por Beale e Taylor (2013) que utilizaram LiOH.H₂O em uma solução de metanol:água (4:1) v/v. O rendimento da reação não foi muito bom, 33%, porém, considerando-se um produto final de uma rota sintética de 8 etapas, considera-se o resultado satisfatório.

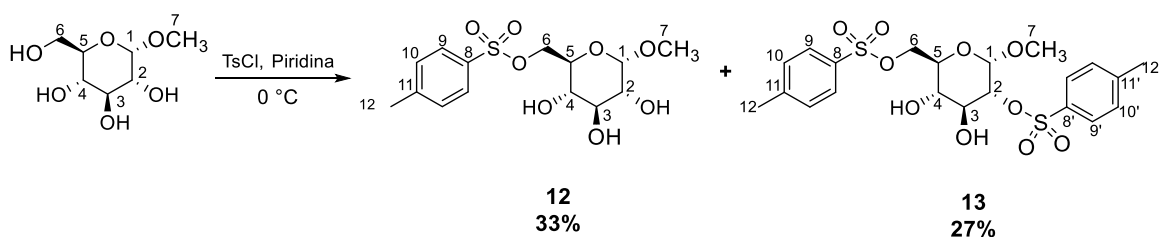
Como a amida propargílica **4d** foi sintetizada em uma quantidade superior, já que havia previsão de síntese de outros derivados triazólicos, resolveu-se modificar a rota de reação para tentar melhorar o rendimento de obtenção de **11**. Ao invés de realizar a desproteção de **9** conforme Faraco *et al.* (1996) e Oliveira (1998), optou-se por uma rota que já resultasse na obtenção do derivado azido sem necessidade de proteção posterior conforme mostrado na **Figura 51**.

Figura 51 - Proposta de obtenção de 11 sem necessidade de acetilação das hidroxilas



Optou-se, então, pela substituição da hidroxila de C-6 do α -D-glicopiranosídeo de metila por um grupo *para*-toluenossulfonila (**Figura 52**). Com essa finalidade, foi testada a reação do α -D-glicopiranosídeo de metila com cloreto de tosila na presença de piridina, mantendo a mistura reacional em refrigerador conforme descrito por Manfrini *et al.* (2008). Com essa técnica os autores obtiveram o produto desejado, a partir do 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glicopiranosídeo de 4-metilfenila, com 62% de rendimento, após 48 horas de reação.

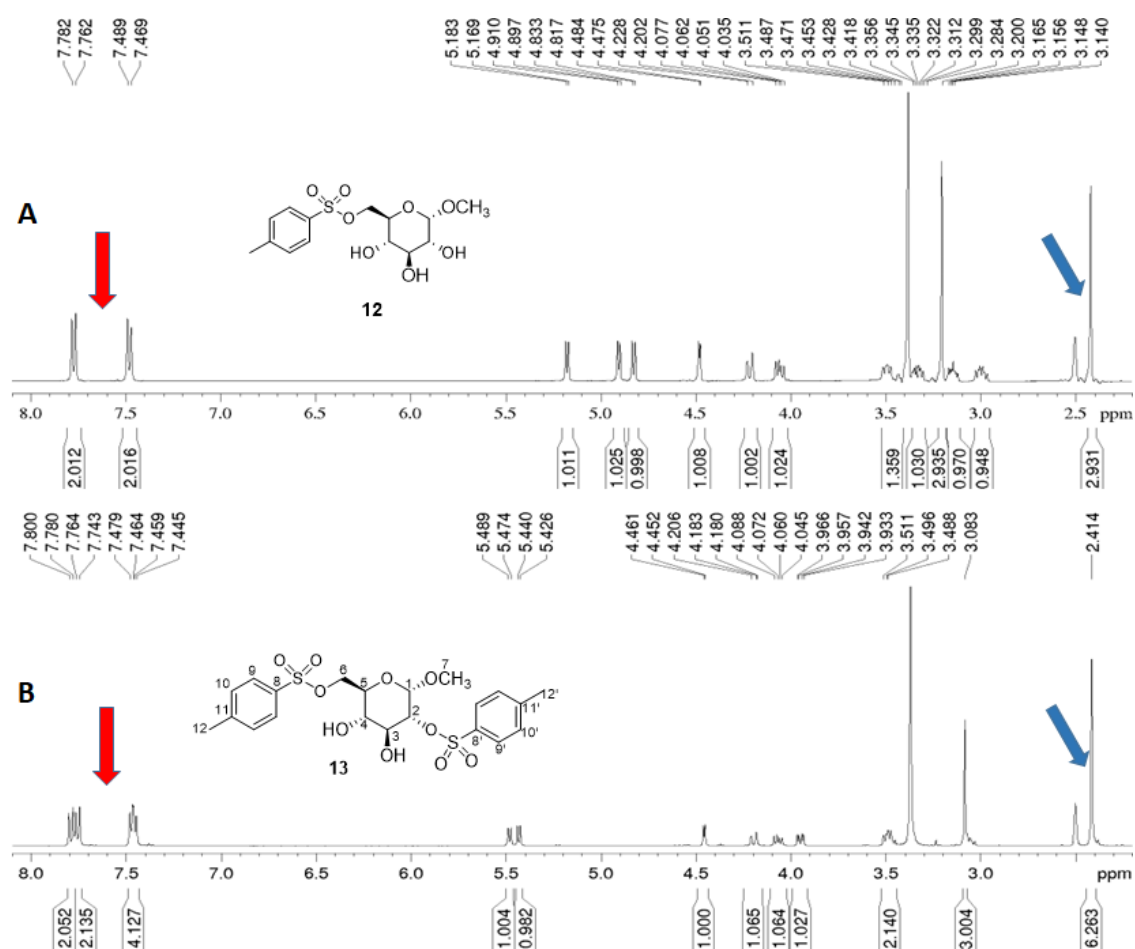
Figura 52 - Proposta alternativa de obtenção do derivado 6-metanossulfonila 12



Uma mistura do glicosídeo de partida e cloreto *p*-toluenossulfonila foram solubilizados em piridina. O balão com a mistura foi fechado com parafilm e então transferido para o freezer. Após cinco horas de reação foi possível observar por CCD o consumo total do glicosídeo de partida e a formação de duas manchas com FR superior ao do glicosídeo de partida (FR = 0,21), sendo FR = 0,37 e FR

= 0,74 para os produtos formados, respectivamente. Após elaboração, os produtos formados foram purificados por CCS obtendo-se 27% de rendimento do produto ditosilado **13** e 33% de rendimento do produto monotosilado **12**, identificados a partir da análise de seus espectros de RMN de ^1H (Figura 53).

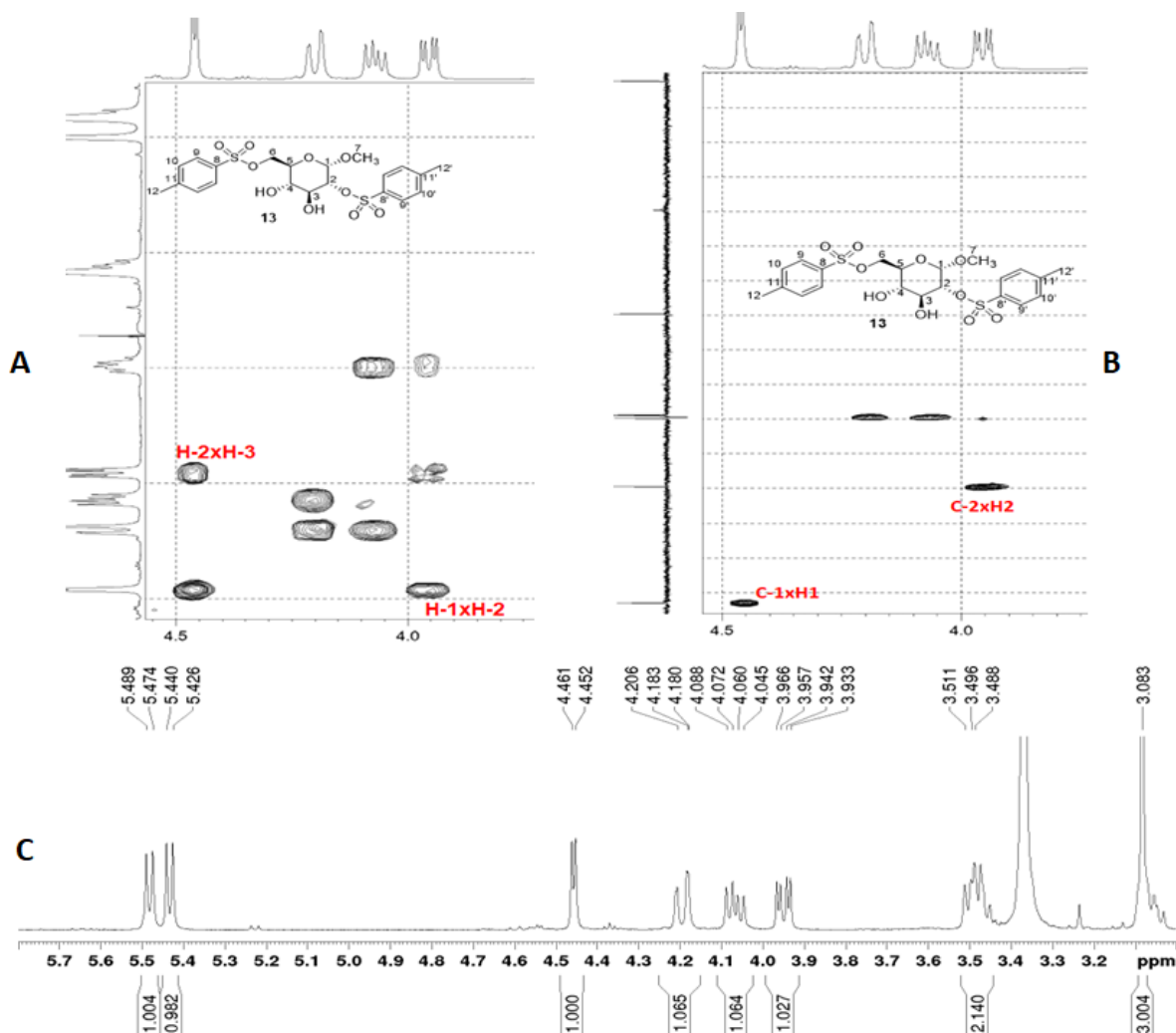
Figura 53 - Espectros de RMN de ^1H dos produtos monotosilado (A) **12** e ditosilado **13** (B) (DMSO-d_6 400 MHz)



Observa-se no espectro de RMN de ^1H do produto monotosilado **12** (Figura 53 A), na região entre δ 7,40-7,80 ppm, destacado pela seta vermelha, dois dupletos com integral de dois, referente aos hidrogênios do anel aromático *para*-substituído, indicando a presença de apenas um grupo tosila. Já no espectro do derivado ditosilado **13** (Figura 53 B), o que se observa nessa mesma região, são dois multipletos, provavelmente correspondentes à sobreposição de sinais, integrando para quatro hidrogênios cada sinal, indicando a presença de dois

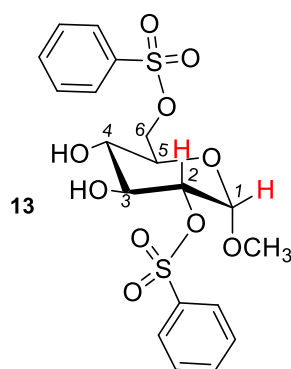
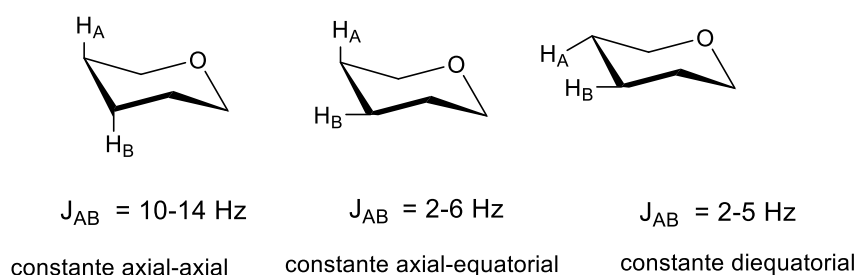
grupos tosila. Ainda confirmando essas características, podemos observar no espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura 53 A) um sinal em δ 2,41 ppm com integral de três hidrogênios referente à metila do grupo tosila e no espectro de **13** (Figura 53 B) pode-se observar também um sinal em δ 2,41 ppm com integral de seis hidrogênios, indicando a presença de dois grupos metila do grupo tosila. A posição dos grupos tosila no derivado ditosilado **13** e a elucidação inequívoca desse derivado, foi feita por meio da análise de seus mapas de correlação bidimensionais COSY (Figura 54 A), HSQC, (Figura 54 B) e seu espectro RMN de ^1H (Figura 54 C).

Figura 54 - Mapa de contornos de COSY (A); HSQC (B) e RMN de ^1H (C) parciais de **13** (DMSO- d_6 400 MHz)



Após analisar os espectros de RMN e mapa de contornos COSY e HSQC de **12**, foi possível identificar as principais modificações referentes ao deslocamento químico de alguns sinais em razão da presença de um segundo grupo tosila. No mapa de contornos de COSY pode-se observar uma correlação entre H-1 e H-2. O deslocamento químico de H-1 é característico por ser um hidrogênio anomérico, o que o torna mais afastado do TMS quando comparado aos outros sinais do anel glicosídico. Dessa forma, o duplete referente a H-1 em δ 4,45 ppm acopla somente com H-2. A constante de acoplamento desse duplete é de $J_{1 \times 2}$ 3,6 Hz, compatível com o anômero alfa, em que a relação entre os hidrogênios H-1 e H-2 é equatorial-axial. Pavia e colaboradores (2010) explicam bem essa questão quando propõem a disposição dos átomos de hidrogênio no ciclohexano na conformação em cadeira com constante de acoplamento para cada hidrogênio conforme ilustrado na **Figura 55**.

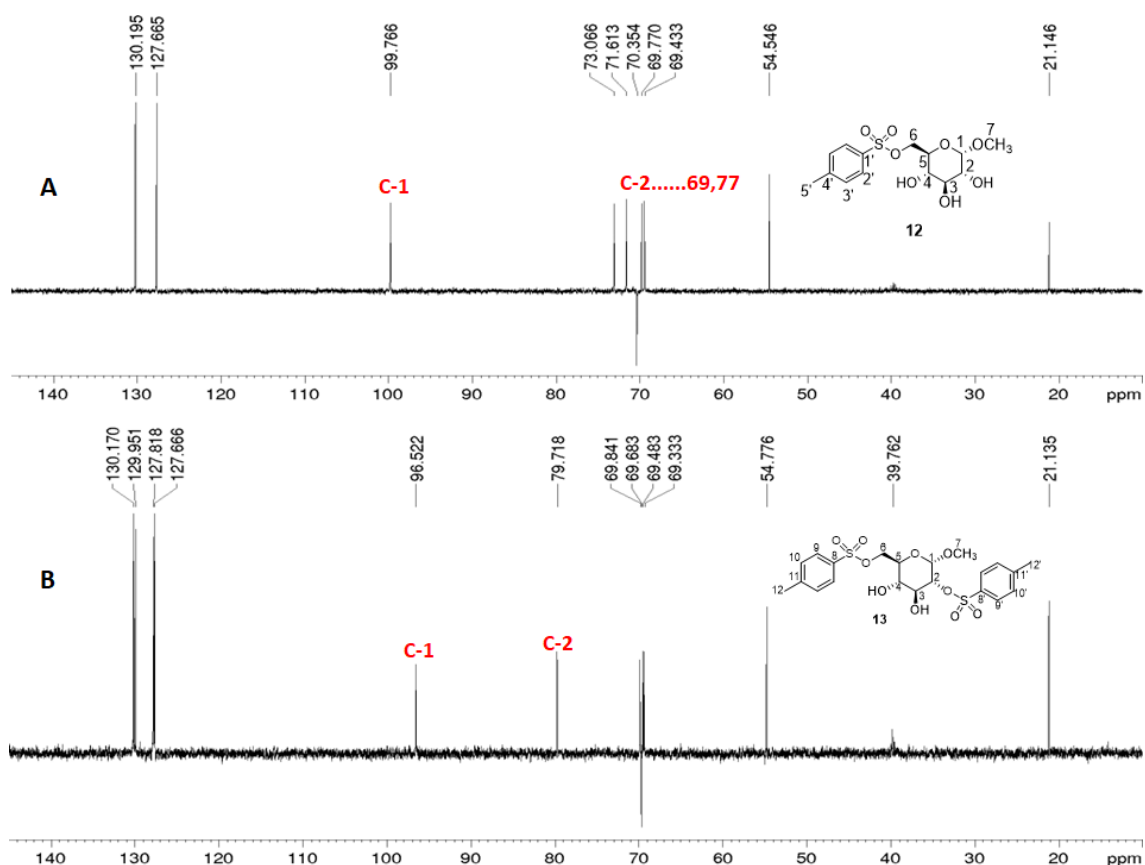
Figura 55 - Acoplamento vicinais em derivados do ciclohexano



Após identificar o sinal de H-1, a etapa seguinte foi verificar a correlação no mapa de contornos COSY e encontrar o sinal referente a H-2. De posse dessa informação, foi observada uma correlação entre os sinais de H-2 e C-2 no mapa de contornos HSCQ o que confirma que o grupo tosila está ligado ao carbono C-

2, comprovando então que o produto obtido foi o 2,6-ditosilado. Isso é confirmado porque no produto monotosilado **12** o deslocamento químico de C-2 no espectro de RMN de ^{13}C está próximo de δ 69,77 ppm e no produto **13** o deslocamento químico de C-2 é registrado em δ 79,72 ppm (**Figura 56 A (12) e 56 B (13)**).

Figura 56 - Comparação dos espectros de RMN de ^{13}C 12 (A) e 13 (B) (DMSO- d_6 400 MHz)

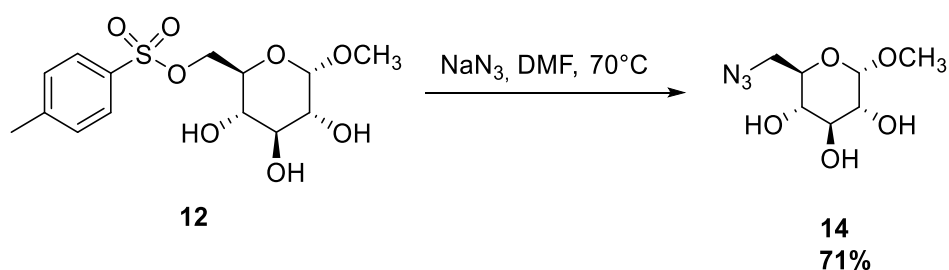


Tendo em vista que o produto de interesse é o monotosilado **12**, decidiu-se repetir a reação, com modificações, na tentativa de se obter exclusiva ou majoritariamente o produto desejado. Dessa vez, os reagentes foram adicionados previamente refrigerados, separadamente, por 2 horas e já solubilizados em piridina. A reação foi cessada logo após verter uma solução na outra e agitadas com agitador magnético. O tempo de reação contabilizando a mistura dos reagentes e a adição de gelo pilado com acidificação do meio, foi de aproximadamente 2 minutos. Foi observada, mesmo assim, por CCD, a

formação de duas manchas referentes aos produtos mono e ditosilado, porém com maior intensidade para a mancha com menor $FR = 0,37$, referente ao produto monotosilado **12**. Utilizando-se essa técnica, o produto de interesse foi isolado com 86% de rendimento, após purificação por CCS, repetindo as mesmas condições anteriores.

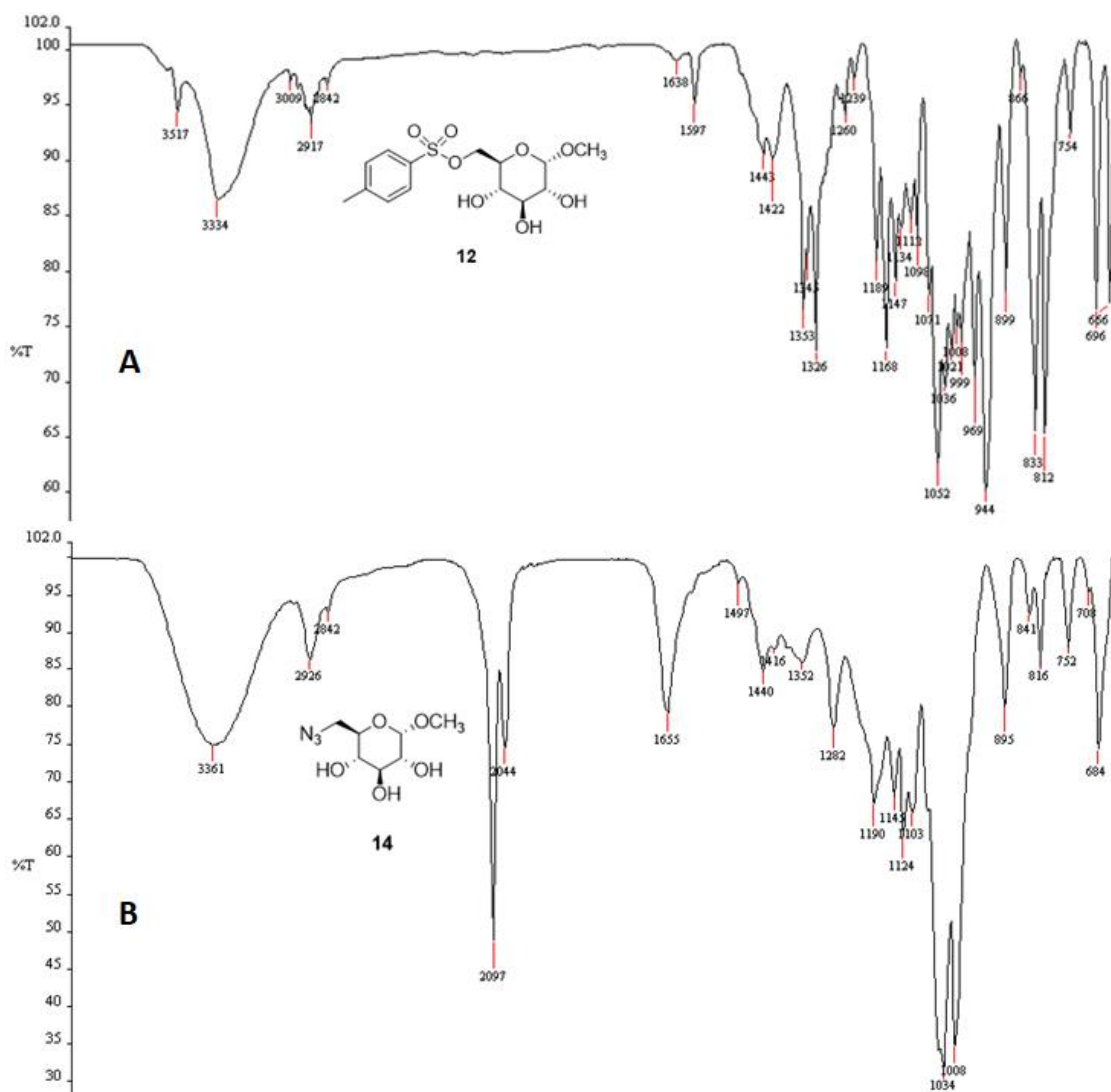
Com o produto monotosilado **12** obtido, o passo seguinte foi realizar o descolamento do grupo tosila com a azida de sódio (**Figura 57**).

Figura 57 - Reação para obtenção do derivado azido 14 a partir do derivado monotosilado 12



Inicialmente, a mistura reacional foi mantida à temperatura ambiente com agitação magnética e após 12 horas de reação, não foi detectado por CDD o consumo de material de partida. A temperatura então foi elevada para 70 °C e após mais 12 horas de reação observou-se o consumo do derivado tosilaado **12**. Como **12** e **14** apresentam o mesmo FR eles são identificados por CCD, principalmente pela diferença de coloração das manchas após revelação com solução de ácido de sulfúrico 15% v/v em etanol. A mancha referente ao derivado tosilaado **12** apresenta uma coloração cinza escura, praticamente preta, e a mancha referente ao derivado azido **14**, nas mesmas condições, possui uma coloração amarela intensa. A formação do produto de interesse **14** pôde ser evidenciada de imediato pela análise do seu espectro no IV, em que se pode observar uma banda intensa em 2097 cm^{-1} , característica do grupo $\text{—N}=\text{N}^+=\text{N}^-$ (**Figura 58**). Além disso, a ausência de bandas na região de estiramento $=\text{C-H}$ de carbono sp^2 indicam substituição do grupo tosila pelo grupo azido.

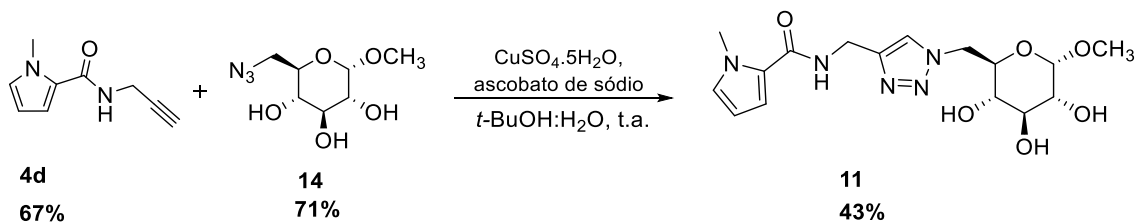
Figura 58 - Comparação dos espectros no IV do derivado tosilado 12 (A) e do derivado azido 14 (B)



Ainda nesse sentido, não se observam as bandas intensas na região de 1000-750 cm^{-1} características de estiramento da ligação S-O no espectro no IV do derivado azido **14**, como observado no espectro do derivado tosilado **12**.

De posse do derivado alcino 4d e do derivado azido 14 previamente sintetizados, procedeu-se a síntese do produto triazólico 11, análogo da clindamicina, conforme mostrado na **Figura 59**.

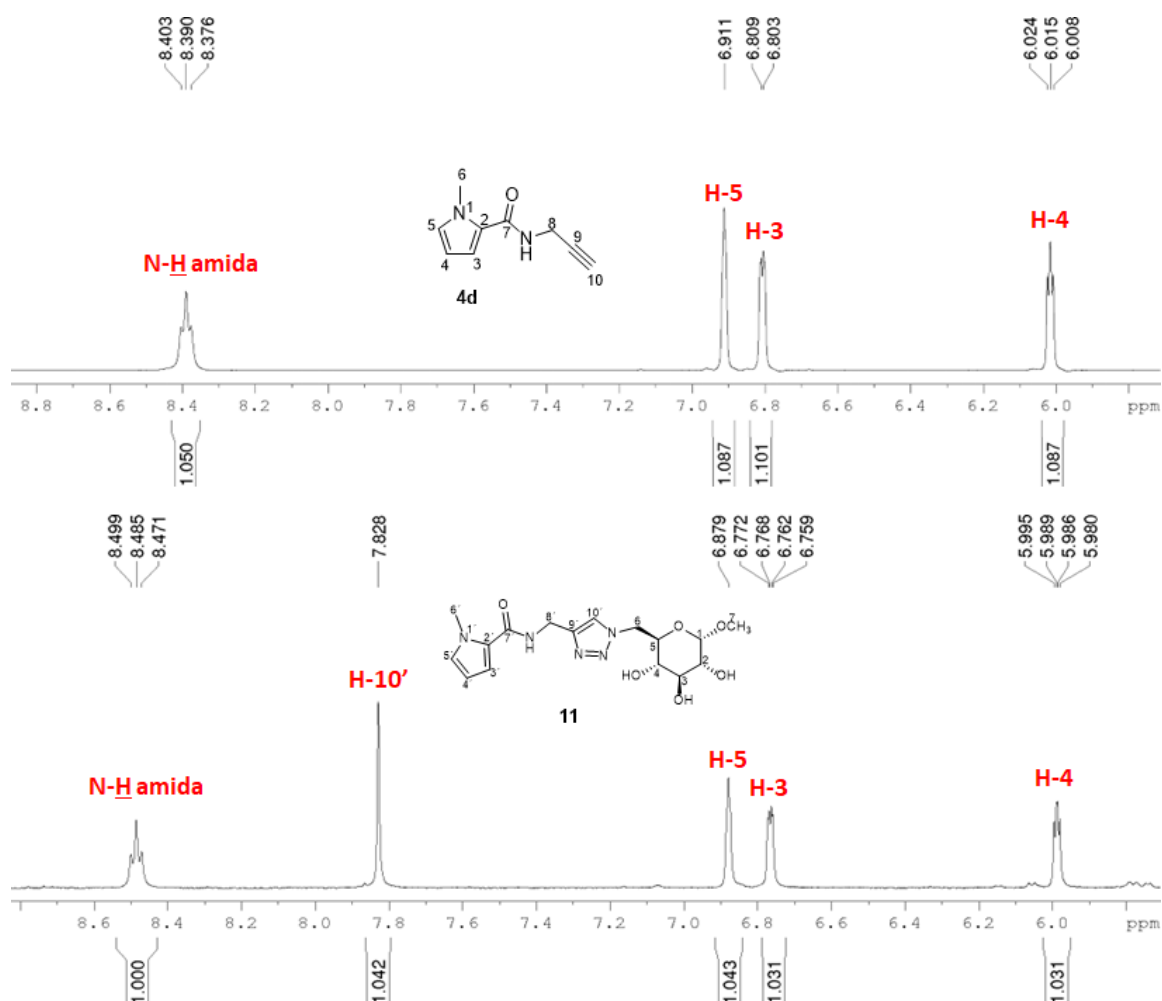
Figura 59 - Síntese do derivado triazólico 11



O derivado triazólico **11** foi sintetizado conforme já descrito para a reação de síntese do derivado triazólico peracetilado **10**. Após purificação por CCS o produto foi obtido com 43% de rendimento. Considerando as duas rotas sintéticas para se chegar ao produto **11** e fazendo um balanço final das reações, a rota em que se converteu a hidroxila de C-6 em um grupo tosila como bom grupo abandonador foi melhor que a rota de substituição da hidroxila de C-6 por iodo. Apesar de ter que realizar coluna para separar o produto monotosilado **12** do produto ditosilado **13**, essa rota ainda tem como vantagem uma etapa a menos, já que o derivado azido usado na reação já se encontra com as hidroxilas livres, sem falar que o produto foi obtido com um rendimento um pouco maior que a rota com o derivado iodado **8**.

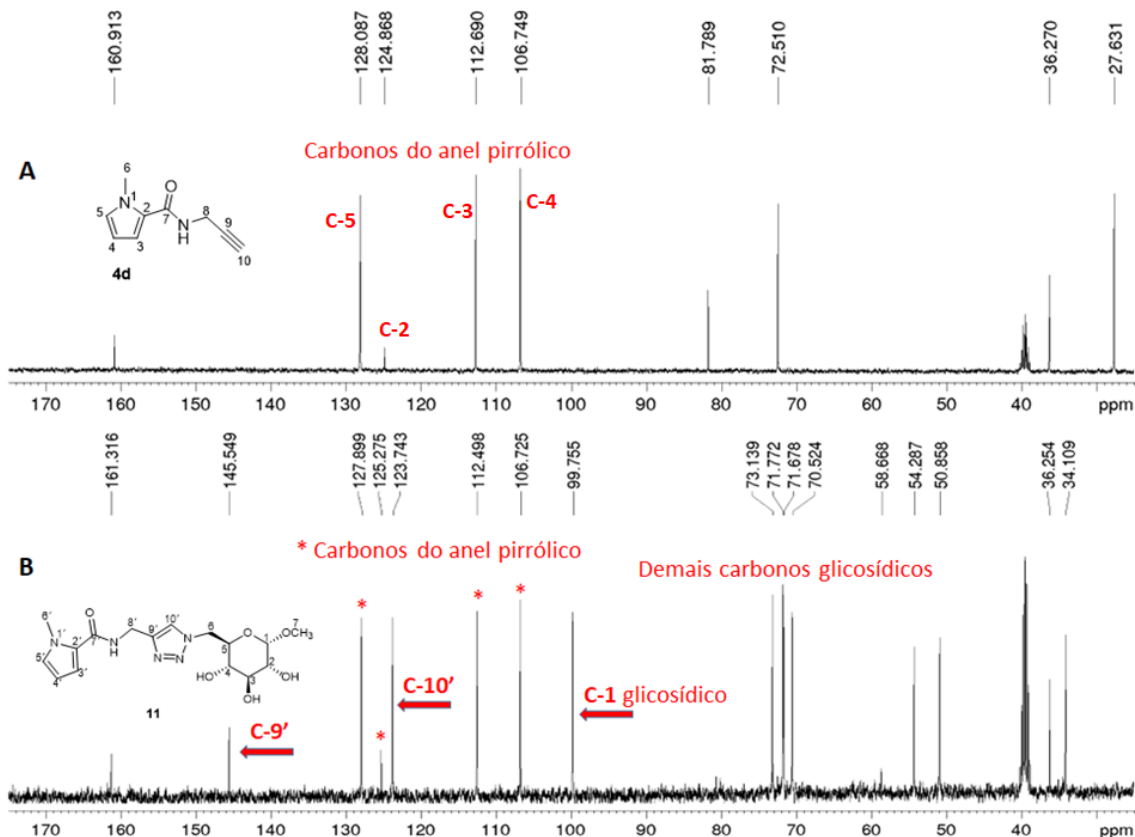
No espectro de RMN de ^1H de **11** (Figura 60) observa-se o sinal referente ao hidrogênio H-10', do anel triazólico, como simpleto em δ 7,82 ppm. Além disso pode-se observar os hidrogênios do anel pirrólico entre δ 7 e 6 ppm, tanto no espectro do **4d** quanto no espectro de **11**.

Figura 60 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H parcial de **4d** e **11** (DMSO- d_6 400 MHz)



No espectro de RMN de ^{13}C de **11** (Figura 61) pode-se observar sinais referentes aos carbonos do carboidrato na região característica de carbonos ligados a oxigênio, entre δ 61,8 a 83,8 ppm. Os sinais dos carbonos do anel triazólico são observados em 145,5 ppm (C-9') e 125,2 ppm (C-10'). Pode-se observar, também, tanto no espectro de **4d** quanto no de **11**, sinais dos carbonos do anel pirrólico na região de δ 130 e 100 ppm.

Figura 61 - Comparação dos espectros de RMN de ^{13}C de 4d e 11 (DMSO- d_6 200 MHz)



Em δ 99,76 ppm observa-se o sinal de C-1 do carboidrato, característico pelo seu maior deslocamento químico, por ser um carbono anomérico, com deslocamento químico em torno de 100 ppm. Mediante todas essas observações, fica evidente que a síntese convergente com objetivo de reagir a porção carboidrato-azido com a porção pirrol-alcino foi bem sucedida.

5.7 Ensaios Biológicos

5.7.1 Atividade antibacteriana para o derivado acetilado 2

A atividade antibacteriana das substâncias sintetizadas neste trabalho foi avaliada para se verificar se o objetivo proposto de obtenção de derivados e análogos da clindamicina mantendo atividade anti-inflamatória com ausência de atividade antibacteriana foi alcançado. Dessa forma, o derivado acetilado **2** foi testado frente às espécies *Staphylococcus aureus* (ATTC®6538™), *Staphylococcus aureus* (ATTC®25923™), *Staphylococcus aureus* (ATTC®29213™) e *Salmonella typhimurium* (ATTC®13311™). A ampicilina (AMP) foi utilizada como controle positivo nos ensaios (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Atividade antibacteriana da clindamicina e do derivado acetilado 2

Cepa bacteriana	CIM					
	(µg/mL)			(µM)		
	CLIN	2	AMP	CLIN	2	AMP
<i>Staphylococcus a.</i> (ATTC®6538™)	<4	500	<4	<9	> 900	<11.4
<i>Staphylococcus a.</i> (ATTC®25923™)	<4	> 500	<4	<9	> 900	<11.4
<i>Staphylococcus a.</i> (ATTC®29213™)	<4	> 500	<4	<9	> 900	<11.4
<i>Salmonella t.</i> (ATTC®13311™)	62,5	> 500	<4	135	> 900	<11.4

CLIN – Clindamicina; AMP – Ampicilina

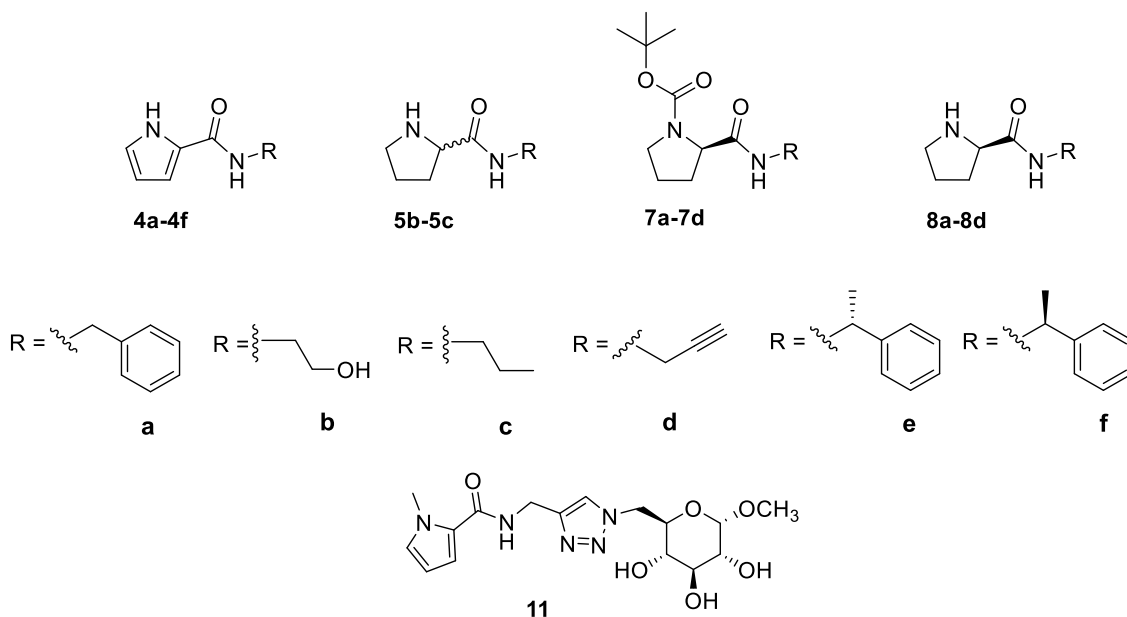
Como pode ser observado, a clindamicina apresentou alto valor de CIM (CIM=135 µM) contra *S. typhimurium*, já que a clindamicina é um antibacteriano com atividade específica para bacilos gram-positivos e a *S. typhimurium* é um bacilo gram-negativo (KURIYAMA, *et al.*, 2014). Por outro lado, valores de CIM bem menores são observados para a inibição do crescimento das três cepas de *S. aureus*, que são micro-organismos gram-positivos, já que essas cepas são sensíveis à clindamicina. É interessante observar que os valores de CIM para o derivado acetilado **2** foram todos > 500 µM, o que confirma sua baixa atividade antimicrobiana. Isso mostra que as hidroxilas presentes na porção carboidrato da clindamicina são importantes para a atividade antibacteriana, já que o

derivado acetilado **2**, contendo as hidroxilas protegidas por um grupo acetila não apresentou atividade antibacteriana.

5.7.2 Determinação da concentração inibitória de 4a-4f; 7a-7d; 8a-8d e 11

Os compostos sintetizados foram avaliados contra *Escherichia coli* (ATCC nº 25922), *S. aureus* (ATCC nº 25923) e *S. typhimurium* (ATCC nº 13311). A atividade antibacteriana dos compostos foi avaliada utilizando o método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços, de acordo com o protocolo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2017). A estrutura dos compostos testados é mostrada na **Figura 62**.

Figura 62 - Estrutura dos compostos testados na atividade antibacteriana



Nenhum dos compostos apresentou atividade antibacteriana. Este resultado é promissor, já que indica um grande potencial de seletividade em relação a atividade anti-inflamatória.

5.7.3 Atividade anti-inflamatória *in vivo* do derivado acetilado 2

Como discutido anteriormente, a clindamicina em testes *in vivo* apresentou atividade anti-inflamatória com potencial inibição na produção de mediadores inflamatórios e os resultados foram praticamente iguais aos apresentados pela dexametasona. Uma desvantagem é que a clindamicina não poderia ser utilizada com essa finalidade, uma vez que ela é antibacteriana e poderia levar à resistência bacteriana se não fosse utilizada corretamente. Com o intuito de verificar se um derivado acetilado da clindamicina que não exerceu atividade antibacteriana apresentaria atividade anti-inflamatória, testes *in vivo* com esse derivado foram realizados.

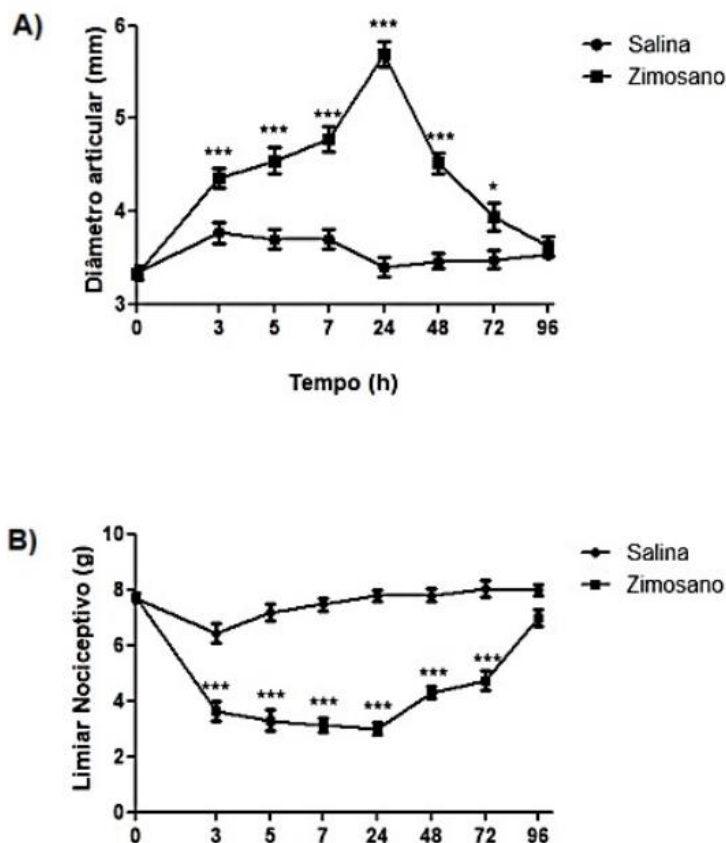
5.7.4 Padronização do modelo de inflamação induzida por zimosano

O zimosano é um composto derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FITZPATRICK & DICARLOS, 1964). A injeção intra-articular i.a. (i.a.) de zimosano induz o edema articular e alodínia mecânica por período (RODRIGUES, 2021).

O zimosano promove ativação do fator nuclear- κ B em leucócitos o que pode levar a transcrição de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF- α , resultando em edema articular e nocicepção (FAN et al., 2017; VOLMAN et al., 2005; TAKEUCHI & AKIRA, 2001).

A injeção i.a. de zimosano induziu tanto edema articular quanto alodínia mecânica. Conforme observado na **Figura 63A**, referente ao diâmetro articular e na **Figura 63B**, referente ao limiar nociceptivo, essas respostas se mantiveram por até 72 h. O grupo controle, que recebeu injeção i.a. de salina estéril, não apresentou alterações significativas nos parâmetros avaliados.

Figura 63 - Padronização do modelo de inflamação induzida por zimosano. Diâmetro articular (A) e limiar nociceptivo (B) após administração i.a. de salina estéril (10 μ L) ou zimosano (50 μ g/10 μ L). Em * e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (p)

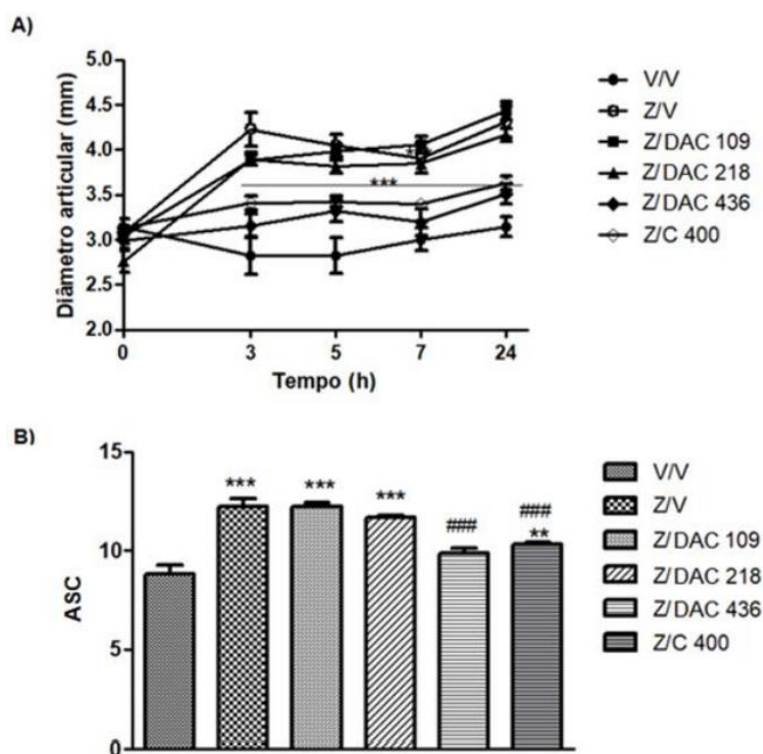


5.7.5 Efeito induzido pelo pré-tratamento com clindamicina e o derivado acetilado 2 sobre a alodínia mecânica e o edema articular induzidos por zimosano

Tanto a clindamicina quanto o seu derivado acetilado **2** foram avaliados em modelos de inflamação articular induzida por zimosano. Os animais do grupo controle receberam dexametasona (Dexa) (10 mg/kg; i.p.), um anti-inflamatório esteroidal. Para avaliar o efeito induzido pelo pré-tratamento com clindamicina (C) e do derivado acetilado **2** (DAC) sobre a alodínia mecânica e o edema de pata articular induzido por zimosano, um grupo de animais foi tratado com clindamicina nas dosagens (100 mg/kg; i.p.), (200 mg/kg; i.p.) e (400 mg/kg; i.p.) e outro grupo de animais foi tratado com o derivado acetilado **2**, nas dosagens (109 mg/kg; i.p.), (218 mg/kg; i.p.) e (436 mg/kg; i.p.). A administração prévia da maior dose do derivado **2** (436 mg/kg, i.p.), 1 h antes de indução inflamatória,

inibiu o edema articular e alodínia mecânica. Já com as doses de (109 e 218 mg/kg, i.p.), não houve inibição do edema articular e a alodínia mecânica (**Figura 64 A** curso temporal e **B** área sob a curva). Essas respostas também foram observadas quando administrada clindamicina prévia (1 h), (400 mg/kg; i.p.), usada como controle positivo.

Figura 64 - Efeito induzido pelo derivado acetilado 2 (DAC; 109, 218 e 436 mg/kg, i.p., - 1 h), clindamicina (C; 400 mg/kg, i.p., -1 h) ou veículo (V) sobre o diâmetro articular e alodínia mecânica, induzidos por zimosano (Z); 10 µL, i.a). (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. ** e *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). ### indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Z/V ($p < 0,001$)

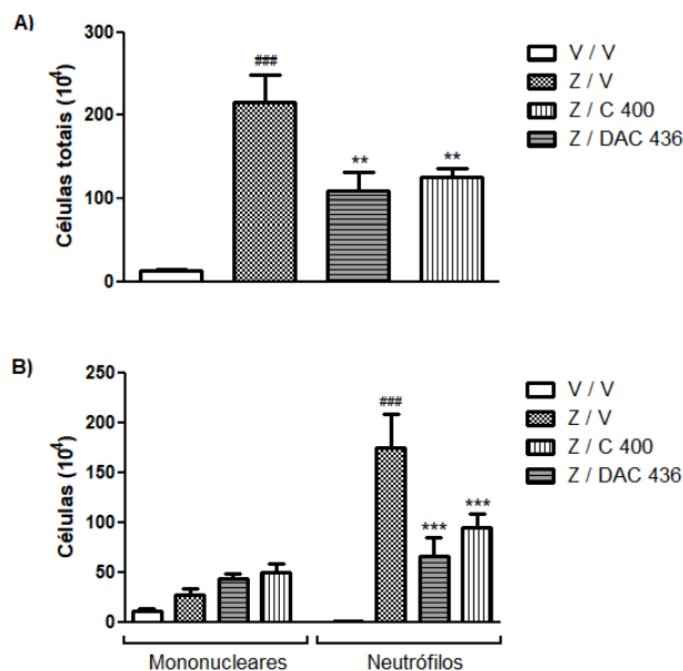


5.7.6 Contagem total e diferencial dos leucócitos no lavado articular

Foi observado que a injeção de zimosano i.a. induziu de forma expressiva o recrutamento celular, que foi dosado de forma direta no lavado articular.

A administração prévia de clindamicina (400 mg/kg, i.p.) ou do derivado acetilado 2 (436 mg/kg), i.p.) conseguiu reduzir o número total de células (**Figura 65 A**) e de neutrófilos (**Figura 65 B**) na cavidade articular.

Figura 65 - Efeito induzido pela clindamicina (C; 400 mg/kg, i.p., -1 h) ou derivado acetilado 2 (DAC; 436 mg/kg, i.p., -1 h) sobre o número total de células (A), neutrófilos e mononucleares (B) no lavado obtido da cavidade articular 24 h após a injeção i.a. de zimosano. Em ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). Em ### indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Z/V ($p < 0,0001$).

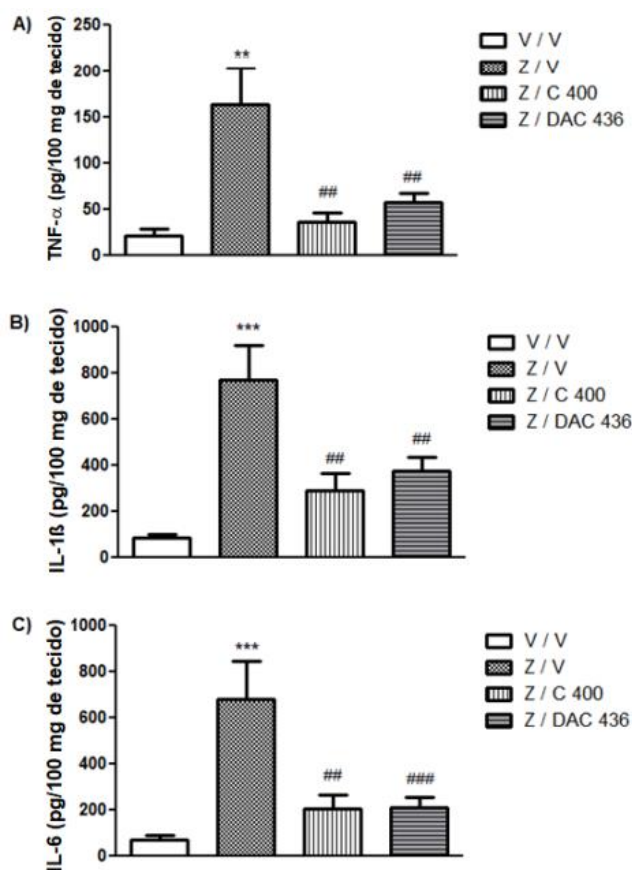


5.7.7 Quantificação de citocinas *in vivo* após administração de clindamicina e do derivado acetilado 2

A fim de compreender prováveis mecanismos que sugerem a indução da atividade anti-inflamatória da clindamicina e do derivado acetilado **2** nos modelos experimentais estudados, resolveu-se realizar a quantificação de algumas citocinas envolvidas no processo inflamatório. Após 24 h da administração i.a de 10 μ L de zimosano, para indução da inflamação local, sugere-se que já tenha aumento as concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Partindo-se desse pressuposto, após 24 horas foi coletado o tecido periarticular do joelho esquerdo dos camundongos para realizar a quantificação dessas citocinas. Conforme observado, houve de fato aumento na concentração de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6) quando administrada solução de zimosano (TNF- α (**Figura 66 A**), IL-1 β (**Figura 66 B**) e (**Figura 66 C**) IL-6). Observa-se também (**Figuras 66, A, B e C**) que administração de clindamicina (400 mg/kg, i.p.) ou de seu derivado **2** (436

mg/kg, i.p.) atenuou significativamente as concentrações de todas as citocinas avaliadas.

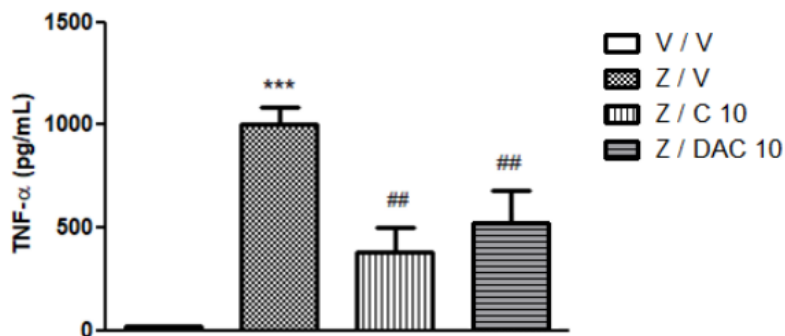
Figura 66 - Efeito induzido pela clindamicina (C; 400 mg/kg, i.p., -1 h) ou derivado acetilado 2 (DAC; 436 mg/kg, i.p., - 1 h) sobre a concentração de TNF- α (A), IL-1 β (B), IL-6 (C) no tecido periarticular coletado 24 h após a injeção i.a. de 10 μ L de zimosano (Z). Veículo (V)



5.7.8 Quantificação de TNF- α *in vitro* após administração de clindamicina e do derivado acetilado 2

Foi observado que após 5h de sensibilização das células macrofágicas RAW264.7 com zimosano (300 μ g/mL) um aumento na concentração de TNF- α . O pré-tratamento com clindamicina (10 μ M) ou com o derivado acetilado 2 (10 μ M) reduziu a produção de TNF- α pelas células RAW264.7 (**Figura 67**). Essa observação foi realizada 5 horas após administração da clindamicina, do derivado acetilado 2 e da solução salina.

Figura 67 - Efeitos induzidos pela clindamicina (C; 10 μ M., -1 h), derivado acetilado 2 (DAC; 10 μ M., -1 h) ou veículo (V) sobre a produção de TNF- α em cultura de células RAW264.7. As concentrações de citocinas na cultura de células RAW264.7 foram avaliadas 5 h após a administração de clindamicina, derivado 2 ou veículo



Como a concentração de clindamicina não foi determinada no sangue e tecido periarticular dos animais tratados com o derivado acetilado **2**, não é possível descartar a possibilidade do derivado acetilado **2** ser hidrolisado *in vivo*, gerando clindamicina. Por mais que a o derivado acetilado **2** apresente grupos que são passíveis de clivagem hidrolítica, os resultados dos estudos *in vitro* foram semelhantes à clindamicina na redução de produção de TNF- α induzida por zimossano em células RAW264.7. Isso é um indicativo de que o derivado acetilado **2** apresenta atividade anti-inflamatória similar à clindamicina, já que nos ensaios *in vitro* a possibilidade de ocorrência da hidrólise dos grupos acetila é reduzida.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os compostos derivados da clindamicina foram sintetizados com bons rendimentos, salvo o derivado alquilado **1b** que foi alquilado em apenas uma das três posições possíveis, porém mesmo somente com a monometilação já foi possível torná-lo desprovido da atividade antibacteriana. Dessa forma, os compostos derivados **1a** e **1b** poderão apresentar seletivamente atividade anti-inflamatória, o que constitui uma vantagem em relação ao protótipo clindamicina. Os compostos foram sintetizados utilizando-se materiais de partida de fácil acesso (*L*-prolina, α -D-glicopiranosídeo de metila, *N*-metil-2-pirrolcarboxaldeído e clindamicina).

Foram sintetizados no total 30 compostos sendo cinco inéditos (**1a**, **1b**, **2**, **10** e **11**). Os compostos sintetizados foram submetidos a ensaios *in vitro* para avaliação da atividade antibacteriana e anti-inflamatória. No ensaio de atividade antibacteriana, o derivado acetilado **2** apresentou atividade antimicrobiana reduzida em comparação à clindamicina e atividade anti-inflamatória similar. Os resultados sugerem que derivados e análogos da clindamicina devem ser investigados como candidatos a fármacos que podem ser úteis no tratamento de condições inflamatórias de dor intensa.

Ainda nesse contexto, uma breve relação de estrutura e atividade (REA) já pode ser sugerida. Fica evidente que a porção açúcar da clindamicina é importante para atividade antibacteriana e que ao modificar essa porção, impedindo interações do tipo ligação de hidrogênio das hidroxilas do açúcar, pode diminuir a atividade antibacteriana e manter a atividade anti-inflamatória.

Diante disso, os derivados alquilados **1a** e **1b** podem ser promissores, uma vez que são mais resistentes à hidrólise *in vivo*, com menor possibilidade de se converter no protótipo clindamicina quando comparados com o derivado acetilado **2**.

Vale ressaltar que todas os compostos sintetizados sem a fração açúcar, contendo apenas a porção pirrolidínica foram testados e não apresentaram atividade antibacteriana. Isso sugere uma alto potencial de seletividade para

atividade anti-inflamatória. Para avaliar essa hipótese, os compostos serão submetidos à atividade anti-inflamatória posteriormente.

Os resultados obtidos nesse trabalho se mostraram promissores, abrindo novas perspectivas para síntese de outros análogos com possibilidade de otimização da atividade biológica.

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Materiais e métodos

As temperaturas das faixas de fusão das substâncias sintetizadas foram determinadas em aparelho Microquímica MQAPF 301 no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro ATR com transformada de Fourier Spectrum One Perkin Elmer, no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Os espectros de RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135 foram registrados em aparelho Bruker AVANCE DPX400, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução – LAREMAR, no Departamento de Química da UFMG. Para o processamento dos espectros foi utilizado o programa TOPSPIN 3.6 – Bruker.

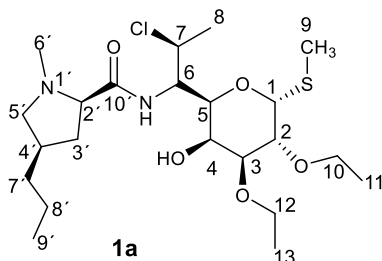
Para atribuição das bandas dos espectros no IV bem como dos sinais dos espectros de RMN utilizou-se como base as referências Silverstein e colaboradores e Pavia e colaboradores (PAVIA, LAMPMAN e KRIZ, 2001; SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2005), assim como simulação dos espectros de RMN utilizando o programa ChemDraw Ultra versão 19.0.

Para análise em cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica gel 60 G Merck® em camadas de 0,25 mm de espessura sobre placas de vidro. Para cromatografia em coluna de sílica (CCS) utilizou-se sílica gel 60 (0,063-0,200 mm/70-230 mesh) Merck®.

Utilizou-se como reveladores vapores de iodo, solução de ninhidrina 0,3% p/v em álcool etílico, solução de CAM contendo 5% p/v de molibdato de amônio, 14% v/v de H_2SO_4 , 1% p/v de sulfato de cério em solução aquosa e solução metanólica de ácido sulfúrico 10%.

7.2 Síntese dos derivados alquilados e acetilados da clindamicina

7.2.1 Síntese de 7-cloro-2,3-di-O-metil-6,7,8-tridesoxi-6-[[[(4R)-1-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-carboxamida]-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosideo de metila 1a (adaptado de D. Yu, et al, 2012).



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo cloridrato de clindamicina (0,100 g; 0,22 mmol) solubilizada em solução de NaOH 50% p/v (0,3 mL) foram adicionados iodeto de etila (0,280 g; 1,98 mmol) e diclorometano (1,0 mL). O balão contendo a mistura de reação foi imerso em banho de gelo e, em seguida, adicionou-se brometo de tetrabutilamônio (0,005 g; 0,015 mmol). O balão foi fechado com rolha de borracha e vedado com parafilm. A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 48 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5; revelador: vapor de iodo seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após o término de reação, foi adicionada água destilada (10 mL), a mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secadas com Na₂SO₄ anidro seguido de filtração. O solvente foi destilado em evaporador rotatório obtendo-se um resíduo pastoso que foi, então, purificado por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 1:1). Foram obtidos 0,051 g (48% de rendimento) na forma de óleo amarelo que, após análise dos espectros de RMN, revelou ser compatível com o produto 2,3-di-etoxilado **1a**.

Fórmula molecular: C₂₂H₄₁ClN₂O₅S [α]_D²⁵ +138,7 (c, 2,0 etanol)

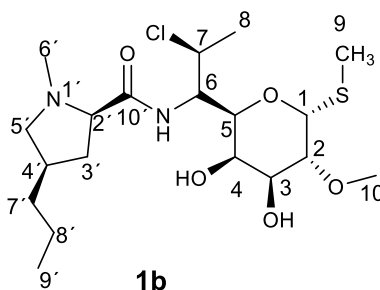
M.M.: 481,09 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3322 (N-H), 2927-2925 (*sp*³ C-H), 1659 (C=O), 1508 (N-H), 1102- e 1048 (C-O).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 8,0 (d, 1H, $J_{\text{N-H},6}$ 9,7 Hz, N-H); 5,41 (d, 1-H, $J_{1,2}$ 6,9 Hz H-1); 4,66 (q, 1-H, $J_{7,8} = J_{7,6}$ 7,0 Hz H-7); 4,26 (m, 1-H, H-6); 4,15 (s, 1H, O-H); 4,02 (m, 2H, H-5 e H-2'); 3,70-3,69 (m, 2H, 1xH-4, 1xH-12), 3,67-3,59 (m, 3H, 1xH-12, 2xH-10); 3,50 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3,5 Hz, $J_{3,2}$ 10,1 Hz H-3); 3,21 (m, 1H, H-5'); 3,08 (m, 1H, H-2'); 2,42 (s, 3H, H-6'); 2,14 (s, 3H, H-9); 2,08 (d, 1H, $J_{5',5''}$ 8,0 Hz, H-5''); 2,01-1,82 (m, 3H, 2xH-3', 1xH-4'); 1,5 (d, 3H, $J_{8,7}$ 7,0 Hz H-8); 1,36-1,28 (m, 5H, 2xH-7', 2xH-8'); 1,2-1,19 (m, 6H, H-11 e H-13); 0,89 (t, 3H, $J_{9',8'}$ 6,5 Hz, H-9').

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 177,27 (C-10'); 86,35 (C-1); 77,84 (C-3); 75,22 (C-2); 70,01 (C-5); 68,56 (C-2'), 66,77 (C-4); 66,69 (C-10 ou C-12); 65,93 (C-10 ou C-12); 62,97 (C-5'); 57,53 (C-7); 52,86 (C-6); 42,12 (C-6'); 38,31 (C-4'); 38,04 (C-3'); 35,54 (C-7'); 22,79 (C-8); 21,68 (C-8'); 15,77 (C-11 ou C-13), 15,70 (C-11 ou C-13), 14,34 (C-9'); (13,03 (c-7).

7.2.2 Síntese de 7-cloro-2-O-metil-6,7,8-tridesoxi-6-[[[(4R)-1-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-carboxamida]-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosideo de metila 1b (adaptado de D. Yu, et al, 2012).



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo cloridrato de clindamicina (0,100 g; 0,22 mmol) solubilizada em solução de NaOH 50% p/v (0,3 mL) foram adicionados iodeto de metila (0,281 g; 1,98 mmol) e diclorometano (1,0 mL). O balão contendo a mistura de reação foi imerso em banho de gelo e, em seguida, adicionou-se brometo de tetrabutilamônio (0,005 g; 0,015 mmol). O balão foi fechado com rolha de bocharra e vedado com papel filme. A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 48 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: diclorometano/metanol 9,5:0,5 com 3 gotas de NH_4OH ; revelador: vapor de iodo

seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após o término da reação, foi adicionada água destilada (10 mL) e a mistura resultante foi transferida para um funil de separação e extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secadas com Na₂SO₄ anidro seguido de filtração. O solvente foi removido em evaporador rotatório obtendo-se um resíduo pastoso que foi então purificado por CCS (fase móvel: acetato de etila/hexano 9:1 100 mL seguido de acetato de etila/metanol 9,5;0,5 e 0,4% de NH₄OH). Foram obtidos 0,280 g (29 % de rendimento) na forma de um sólido branco que, após análise dos espectros de RMN, revelou ser compatível com o produto mono-metoxilado **1b**.

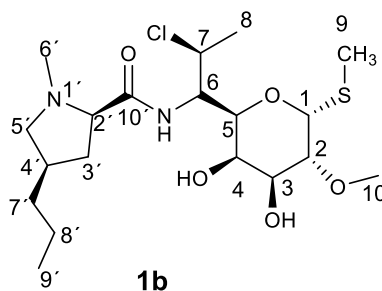
Fórmula molecular: C₁₉H₃₅ClN₂O₅S [α]_D²⁵ +137,9 (c 2,0 Etanol)

M.M.: 439,01 g/mol

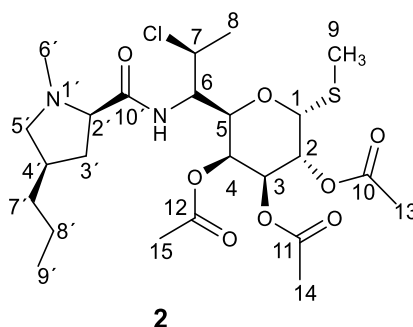
F.F: 106-108 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ /ppm: 8,0 (d, 1H, $J_{N-H,6}$ 9,7 Hz, N-H); 5,47 (d aparente, 1-H, $J_{1 \times 2}$ 9,7 Hz H-1); 4,96 (s, 1H, OH), 4,70 (q aparente, 1H, $J_{7,8} = J_{7,6}$ 6,8 Hz, H-7); 4,17 (t aparente, 1-H, $J_{6,5} = J_{6,7}$ 9,5 Hz, H-6); 4,06 (d, 1H, $J_{x,6}$ 10 Hz, H-2'); 3,81-3,73 (m, 2H, H-2 e H-5); 3,67 (s, 1H, OH); 3,51 (s, 3H, 3xH-10); 3,29-3,18 (m, 1H, H-5'); 3,06 (dd, 1H, $J_{2',3'}$ 3Hz, $J_{2',3'}$ 6,8 Hz H-2'); 2,77 (s, 1H, OH); 2,42 (s, 3H, H-6'); 2,15 (s, 3H, H-9); 2,09-2,07 (m, 2H, H-5'' e H-4'); 1,98-1,96 (m, 2H, H-3'); 1,51 (d, 3H, $J_{8,7}$ 6,8 Hz); 1,36-1,25 (m, 4H, 2Xh-7' e 2XH-8'); 0,91 (t, 3-H, $J_{9,8}$ 6,8 Hz).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ /ppm: 178,12 (C-10'); 85,22 (C-1); 78,22 (C-2); 69,97 (H-5); 69,78 (C-H); 68,54 (C-2'): 68,30 (H-3); 62,95 (C-5'); 58,28 (C-10); 56,95 (C-7); 53,39 (C-6); 42,20 (C-6'); 38,21 (C-4'); 38,08 (C-3'); 35,83 (C-7'); 22,81 (C-8); 21,75 (C-8'); 14,46 (C-9'); 13,02 (C-9)



7.2.3 Síntese de 7-cloro-2,3,4-tri-O-acetil-6,7,8-tridesoxi-6-[[[(4R)-1-metil-4-propil-L-pirrolidino-2-carboxamida]-1-tio-L-treo- α -D-galacto-octopiranosideo de metila-3 (adaptado de BISWAS, SHOGREN, WILLETT, 2005; KARTHA & FIELD, 1997)



Em um balão de fundo redondo de 100 mL, acoplado a um condensador de refluxo com tubo de CaCl_2 , foram adicionados cloridrato de clindamicina (0,500 g; 1,08 mmol), anidrido acético (2 mL) e iodo molecular (0,250 g; 0,098 mmol). A mistura de reação foi mantida sob refluxo por 2 h. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila 100%, solução revelador: de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após o término da reação, a mistura foi resfriada a temperatura ambiente e, em seguida, adicionou-se, gota a gota, solução de tiosulfato de sódio 20% p/v até desaparecimento da cor amarela. A mistura foi, então, transferida para um funil de separação e extraiu-se com acetato de etila (3 x 50 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (3 x 30 mL) e (2x50 mL de água destilada). Secou-se com Na_2SO_4 e filtrou-se. O solvente foi destilado em evaporador rotatório obtendo-se 0,475 g de um sólido branco (80% de rendimento).

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{ClN}_2\text{O}_8\text{S}$

M.M.: 551,08 g/mol

F.F.: 104-106 °C

IV ($\bar{\nu}$ / cm^{-1}): 3308 (N-H), 2927 (sp^3 C-H), 1743 (C=O), 1680 (C=O), 1217 (C-O éster), 1048 (C-O).

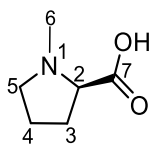
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ /ppm: 7,88 (d, 1H, $J_{\text{N-H},6}$ 107 Hz, N-H); 5,66-5,69 (t aparente, 1H, H-3); 5,3-5,25 (t aparente, 1H, H-2); 5,11-5,06 (m, 2H, 1xH-1, 1xH-4);

4,55-4,38 (m, 2H, 1xH-5, 1xH-7); 4,24 (t, 1H, $J_{6,5} = J_{6,8}$ 10, Hz H-5); 3,16-3,07 (t aparente, 1H, H-2'); 2,85-2,82 (m, 1H, H-5'); 2,29 (s, 3H, H-6'), 2,11 (s, 3H, H-8), 2,02 (s, 6H, 3xH-14, 3xH-15); 1,89 (s, 3H, H-13); 1,65-1,49 (m, 1H, H-5''); 1,34-1,25 (m, 9H, 3xH-9, 2xH-7', 2xH-8', 1x3'); 0,93-0,83 (m, 4H, 1xH3'', 3xH-9').

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ /ppm: 173,58 (C-10'); 169,63 (C-10); 169,46 (C-12), 169,26 (C-11), 83,26 (C-1), 67,97 (C-5); 67,77 (C-2'); 67,49 (C-3); 67,30 (C-2); 66,86 (C-4); 62,33 (C-5'); 58,89 (C-8), 50,60 (C-6); 41,24 (C-6'); 36,74 (C-2'); 36,43 (C-3'), 35,24 (C-7'); 22,17 (C-9); 20,79 (C-8'); 20,32 (C-13, 14e 15); 13,90 (C-9'); 12,21 (C-7).

7.3 Síntese do derivado *N*-metilado da prolina

7.3.1 Síntese de ácido *N*-metilpirrolidino-2-carboxílico **3** (adaptado de AURELIO, *et al.*, 2003)



3

Em um reator de vidro encamisado de 100 mL, contendo L-prolina (0,100 g; 0,86 mmol) e metanol (1 mL) foram adicionados solução aquosa de formaldeído 40% (0,07 mL) e catalisador de paládio suportado em carvão ativado (Pd/C 10%) (0,025 g). A reação foi mantida sob agitação magnética a 290 psi e 35 °C por 1 hora. Após esse tempo, a mistura foi filtrada e o sólido lavado com metanol. Em seguida, secou-se o filtrado com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se e destilou-se o solvente em evaporador rotatório. O resíduo pastoso foi novamente solubilizado numa mistura etanol/benzeno (1:1, 5 mL) e concentrado em evaporador rotatório para obtenção de um sólido que foi, então, recristalizado solubilizando em um mínimo de metanol e adicionando, aos poucos, éter dietílico até precipitação. Foram obtidos 0,095 g (85% de rendimento) de **3** na forma de um sólido branco.

FM: $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2$

MM: 129,16 g/mol

F.F.: 136-137,5°C; literatura (Aurelio *et al.*, 2003): 142-145°C

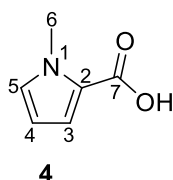
IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3349 (R_3NH^+), 2812 (sp^3 C-H), 1661 (C=O), 1602 (N-H), 1318 (C-O), 1182 (C-N).

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 3,90 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{2,3}$ 6,9 Hz, H-2); 3,79-3,71 (m, 1H, H-5); 3,22-3,12 (m, 1H, H-5'); 2,94 (s, 3H, H-6); 2,57-2,47 (m, 1H, H-3); 2,22-1,96 (m, 3H, 1xH-3', 2xH-4).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ/ppm : 173,64 (C=O); 70,59 (C-2); 56,27 (C-5); 40,67 (C-6), 28,75 (C-3); 22,78 (C-4).

7.4 Síntese dos derivados do ácido pirrólico 4 e 4.1

7.4.1 Síntese de ácido-1-metil-1H-pirrol-2- carboxílico 4



Em um balão de fundo redondo de 50 mL acoplado a um condensador de refluxo e contendo uma solução de nitrato de prata (0,408 g; 2,4 mmol) em água (2 mL) foi adicionada uma solução de NaOH 1 mol/L (4,8 mL; 0,192 g; 4,8 mmol), resultando na formação de um precipitado marrom. A essa suspensão, adicionou-se uma solução de 1-metil-1H-pirrol-carboxaldeído (0,131 mg; 1,2 mmol) em etanol (2 mL). A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo, por aproximadamente 1h, quando foi constatado o consumo do material de partida por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 6:4; revelador: vapor de iodo e 4 gotas de CH_3COOH). O precipitado foi filtrado e lavado com água quente. Em seguida, o filtrado foi acidificado com uma solução de HCl 3 mol/L até pH = 2, transferido para um funil de separação e extraído com acetato de etila (4 x 30 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secadas com Na_2SO_4 anidro. Filtrou-se e destilou-se o solvente em evaporador rotatório. Foram obtidos 0,126 g (84% de rendimento) de 4 na forma de um sólido verde claro.

Fórmula Molecular: C₆H₇NO₂

MM: 125,13 g/mol

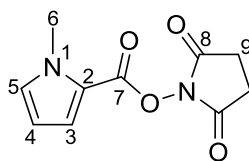
FF.: 130,5-133°C; literatura (KAWASHIMA *et al.*, 2011): 128-130°C

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3400-2600 (O-H), 2961 (sp^3 C-H), 1651 (C=O), 1258 (C-O), 1122 (C-N).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 12,13 (sl, 1H, O-H); 7,03 (t, 1H, $J_{5,4} = J_{5,3}$ 1,9 Hz, H-5), 6,79 (dd, 1H, $J_{3,5}$ 1,9 Hz, $J_{3,4}$ 4,0 Hz, H-3); 6,05 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 1,9 Hz, $J_{4,3}$ 4,0 Hz, H-4); 3,84 (s, 3H, 3xH-6);

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 162,05 (C-7); 129,84 (C-5); 122,53 (C-2); 117,28 (C-3), 107,37 (C-4); 36,34 (C-6).

7.4.2 Síntese de 1-metil-1H-pirrol-2-carboxilato de 2,5 dioxopirrolidinil-1-il-metila



4.1

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se uma solução do ácido **4** (0,2 g; 1,6 mmol) em diclorometano (10 mL). Em seguida, foram adicionados *N*-hidroxisuccinimida (NHS) (0,202 g; 1,76 mmol) e 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC) (0,337 g; 1,76 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética com tubo de CaCl₂, à temperatura ambiente por, aproximadamente, 2 horas e 30 minutos quando se observou o consumo total do material de partida, por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 7:3, revelador: vapor de iodo, CAM e aquecimento). Após o término da reação, foi adicionado diclorometano (30 mL), a solução foi transferida para um funil de separação e lavada com solução saturada de NaCl (3 x 50 mL). Secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se e destilou-se o solvente em evaporador rotatório. Foram obtidos 0,328 g (97% de rendimento) de um sólido bege que foi utilizado na próxima etapa de síntese sem purificação adicional.

Fórmula molecular: $C_{10}H_{10}N_2O_4$

M.M.: 222,20 g/mol

IV ($\bar{\nu}$ /cm-1): 2950 (sp^3 C-H), 1726 (C=O), 1405 (dobramento sp^2 C-H), 1038 (C-O).

RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 7,39 (s aparente, 1H, H-5); 7,17 (dd aparente, 1H, J 2,49 Hz, H-3); 6,26 (dd aparente, 1H, J 0,95 Hz, H-4); 3,86 (s, 3H, 3xH-6); 2,85 (s, 4H, 4xH-9).

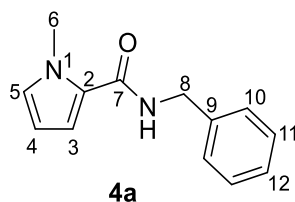
RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 170,73 (C-8); 155,43 (C-7); 133,73 (C-5); 120,28 (C-3); 115,80 (C-2); 109,19 (C-4), 36,33 (C-6); 25,46 (C-9).

7.5 Síntese das amidas 4a, 4b, 4c, 4d, 4e e 4f

7.5.1 Método geral para a síntese das amidas derivadas do ácido pirrólico

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados o éster ativado **4.1** (1 equivalente), a amina de interesse (2 equivalentes) e diclorometano (10 mL) para cada 0,1 g de **4.1**. A mistura de reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente com tubo de cloreto de cálcio até que o consumo do **4.1** fosse observado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 7:3, revelador: vapor de iodo, CAM e aquecimento). Após o término da reação, foram adicionados diclorometano (10 mL), a solução obtida foi transferida para um funil de separação, lavada com solução de HCl 1,5 mol/L (3 x 30 mL), solução saturada de $NaHCO_3$ (1 x 15 mL) e, por último, água destilada (2 x 30 mL). Em seguida, secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se e o solvente foi destilado em evaporador rotatório.

7.5.2 Síntese de N-benzil-1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida 4a



Foram obtidos 0,258 g (75% de rendimento) de **4a**, na forma de um sólido amarelo claro após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 6:4), a partir de **4.1** (0,200 g; 1,6 mmol) e benzilamina (0,349 mL, 3,2 mmol), de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 1 hora e 30 minutos de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 6:4, revelador: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

Fórmula Molecular: C₆H₇NO₂

: C₁₃H₁₄N₂O

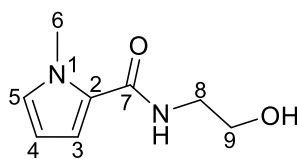
F.F: 80-82 °C

MM: 214,27 g/mol

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3358 (N-H), 3027 (C-H, sp²), 2923 (sp³ C-H), 1630 (C=O), 1542 (N-H), 1468 (C-N).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 8,53 (t, 1H, $J_{\text{N-H},8}$ 6,0 Hz, N-H); 7,35-7,27 (m, 4H, 2xH-10, 2xH-11); 7,25-7,20 (m, 1H, H-12); 6,90 (t aparente, 1H, H-5); 6,85 (dd, 1H, $J_{3,5}$ 1,6 Hz, $J_{3,4}$ 3,7 Hz, H-3); 6,02 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 2,7 Hz, $J_{4,3}$ 3,7 Hz, H-4); 4,40 (d, 2H, $J_{8,\text{NH}}$ 6,0 Hz, 2xH-8); 3,46 (s, 3H, 3xH-6).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 161,30 (C-7); 140,18 (C-9); 128,22 (C-11); 127,78 (C-5); 127,07 (C-10); 126,59 (C-12); 125,38 (C-2); 112,31 (C-3); 106,65 (C-4); 41,75 (C-8); 36,21 (C-6).

7.5.3 Síntese de N-(2-hidroxietil) -1-metil-1H-pirrol-2-carboxamida **4b****4b**

Foram obtidos 0,185 g (69% de rendimento) de **4b**, na forma de um óleo amarelo, a partir de **4.1** (0,200 g; 1,6 mmol) e da etanolamina (0,145 mL, 2,4 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 2 horas de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 6:4, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

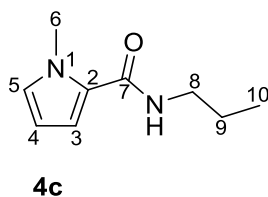
Fórmula Molecular: C₈H₁₂N₂O₂

MM: 168,19 g/mol

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3500-3200 (O-H e N-H), 2954-2922 (sp³ C-H), 1625 (C=O), 1542 (N-H), 1060 (C-O)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 7,91 (t, 1H, $J_{\text{N-H},8}$ 6,0 N-H); 6,90-6,85 (m, 1H, H-5); 6,76 (dd, 1H, $J_{3,5}$ 1,67 Hz, $J_{3,4}$ 3,9 Hz, H-3); 6,01-5,97 (m, 1H, H-4); 4,71 (t, 1H, $J_{\text{O-H},9}$ 6,0 Hz, O-H); 3,82 (s, 3H, 3x H-6); 3,46 (q, 2H, $J_{9,8} = J_{9,\text{OH}}$ 6,0 Hz, 2x H-9); 3,24 (q, 2H, $J_{8,9} = J_{8,\text{NH}}$ 6,0 Hz, 2x H-8)

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 161,50 (C-7); 127,55 (C-5); 125,58 (C-2); 112,12 (C-3); 106,56 (C-4), 60,06 (C-9); 41,36 (C-8); 36,18 (C-6).

7.5.4 Síntese de 1-metil-N-propil-1H-pirrol-2-carboxamida **4c**

Foram obtidos 0,175 g (66% de rendimento) de **4c**, na forma de um óleo amarelo claro após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 7,5:2,5), a partir de **4.1** (0,200 g; 1,6 mmol) e propilamina (0,242 mL, 3,2 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 3 horas de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 6:4, revelador: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

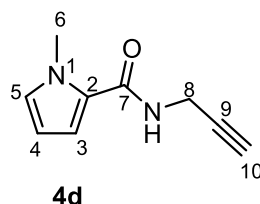
Fórmula Molecular: C₉H₁₄N₂O

MM: 166,2240 g/mol

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3330 (N-H), 3107 (sp^2 CH), 2962-2933 (sp^3 C-H), 1627 (C=O), 1542 (N-H), 1463 (C-N).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 7,90 (t aparente, 1H, N-H); 6,90-6,82 (m, 1H, H-5); 6,73 (dd, 1H, $J_{3,5}$ 2,0 Hz, $J_{3,4}$ 3,9 Hz, H-3); 5,98 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 2,6 Hz, $J_{4,3}$ 3,9 Hz, H-4); 3,82 (s, 3H, H-6); 3,12 (q, 2H, $J_{8,9} = J_{8,\text{NH}}$ 7,3 Hz, 2xH-8); 1,48 (sext, 2H, $J_{9,8} = J_{9,10} = 7,3$ Hz, 2xH-9); 0,86 (t, 3H, $J_{10,9}$ 7,3 Hz, 3xH-10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 161,27 (C-7); 127,32 (C-5); 125,77 (C-2); 111,82 (C-3); 106,41 (C-4), 40,13 (C-8); 36,03 (C-6); 22,60 (C-9); 11,40 (C-10).

7.5.5 Síntese de 1-metil-N-(prop-2-ino-1-il) -1H-pirrol-2-carboxamida **4d**

Foram obtidos 0,086 g (67% de rendimento) de **4d**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 8:2 e hexano/acetato de etila), a partir de **4.1** (0,100 g; 0,8 mmol) e propargilamina (0,051 mL, 0,8 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 3 horas de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 7:3, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

Fórmula Molecular: C₉H₁₀N₂O

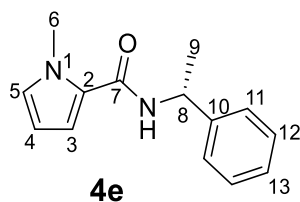
MM: 162,19 g/mol

F.F.: 107,2 – 108,2 °C. Lit. (BECCALLI, *et al.*, 2008): 111-112

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3340 (N-H), 3305 ($\equiv\text{C-H}$), 3112 (sp^2 C-H), 2938 (sp^3 C-H), 1633 (C=O), 1541 (N-H), 1463 (C-N).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 8,39 (t, 1H, $J_{\text{N-H},8}$ 5,4 Hz, N-H); 6,92-6,90 (m, 1H, H-5); 6,81-6,79 (m, 1H, H-3); 6,02-6,00 (m, 1H, H-4); 3,96 (dd, 2H, $J_{8,10}$ 2,3 Hz, $J_{8,\text{N-H}}$ 5,7 Hz, H-8); 3,84 (s, 3H, H-6); 3,08 (t, 1H, $J_{10,8}$ 2,3 Hz, H-10).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm : 160,91 (C-7); 128,09 (C-5); 124,87 (C-2); 112,69 (C-3); 106,75 (C-4), 81,79 (C-9); 72,51 (C-10); 36,27 (C-6); 27,63 (C-8).

7.5.6 Síntese de (R)-1-metil-N-(1-feniletil) -1H-pirrol-2-carboxamida **4e**

Foram obtidos 0,315 g (86% de rendimento) de **4e**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 7,5:2,5), a partir de **4.1** (0,200 g; 1,6 mmol) e (*R*)-(-)- α -metilbenzilamina (0,408 mL, 3,2 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 2 horas de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 6:4, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

Fórmula Molecular: C₁₄H₁₆N₂O

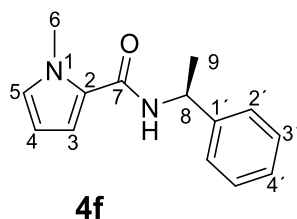
MM: 228,29 g/mol

F.F: 113-115 °C

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3358 (N-H), 3113-3034 (sp^2 C-H), 2971 (sp^3 C-H), 1629 (C=O), 1533 (N-H), 1413 (C-N).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm : 8,27 (d, 1H, $J_{\text{NH},8}$ 7,5 Hz, NH); 7,38-7,28 (m, 4H, 2x H-11 e 2x H-12); 7,24-7,17 (m, 1H, H-13); 6,95-6,91 (m, 1H, H-3); 6,78-6,70- (m, 1H, H-5); 6,04-6,00 (m, 1H, H-4); 5,23 (qn, 1H, $J_{8,9} = J_{8,\text{NH}}$ 7,5 Hz, H-8); 3,80 (s, 3H, 3xH-6), 1,44 (d, 3H, $J_{9,8}$ 7,5 Hz, 3xH-9).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm : 160,52 (C-7); 145,30 (C-1'); 128,15 (C-12); 127,71 (C-5); 126,43 (C-13); 125,98 (C-11); 125,45 (C-2); 112,48 (C-3); 106,48 (C-4); 47,47 (C-8); 36,15 (C-6); 22,30 (C-9).

7.5.7 Síntese de (S)-1-metil-N-(1-feniletil) -1H-pirrol-2-carboxamida **4f**

Foram obtidos 0,330 g (90% de rendimento) de **4f**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 7,5:2,5), a partir de **4.1** (0,200 g; 1,6 mmol) (*R*)-(+)- α -metilbenzilamina (0,408 mL, 3,2 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.5 1.**, após 2 horas de reação. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/hexano 6:4, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

Fórmula Molecular: C₁₄H₁₆N₂O

MM: 228,29 g/mol

F.F: 111-113 °C

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3358 (N-H), 3113-3034 (sp^2 C-H), 2970-2927 (sp^3 C-H), 1629 (C=O), 1532 (N-H), 1413 (C-N).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm : 7,38-7,28 (m, 4H, 2x H-11 e 2x H-12); 7,24-7,17 (m, 1H, H-13); 6,60-6,69 (m, 1H, H-5); 6,54-6,52 (m, 1H, H-4); 6,11-6,10 (d, 1H, $J_{\text{N-Hx8}}$ 7,0 Hz, N-H); 9,06-6,4 (m, 1H, C-4) (qn, 1H, $J_{8,9} = J_{8,\text{N-H}}$ 7,0 Hz, H-8); 3,92 (s, 3H, 3xH-6), 1,55 (d, 3H, $J_{9,8}$ 70 Hz, 3xH-9).

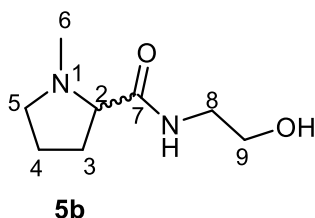
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm : 161,05 (C-7); 143,56 (C-10); 128,68 (C-12); 127,91 (C-5); 126,30 (C-13); 126,05 (C-11); 125,45 (C-2); 111,33 (C-3); 107,06 (C-4); 48,39 (C-8); 36,67 (C-6); 22,30 (C-9).

7.6 Síntese das amidas reduzidas, 5b e 5c

7.6.1 Método geral para redução das amidas reduzidas derivadas do ácido pirrólico

Em um reator de vidro encamisado de 100 mL, contendo uma solução da amida correspondente (~ 250 mg) em uma mistura metanol (6 mL) e água (4 mL), foram adicionados ácido clorídrico 37% P.A (0,1 mL) e carvão ativado contendo 5% de óxido de platina (500 mg). A reação foi mantida sob agitação magnética a 290 psi e 35 °C por 12 horas. Após esse tempo, a mistura foi filtrada à vácuo em papel de filtro faixa azul e terra de infusórios e o sólido lavado com metanol. O pH do filtrado foi ajustado para faixa de 5-6 com solução de hidróxido de sódio 1 mol/L e extraiu-se a solução resultante com acetato de etila (3 x 30 mL). Em seguida, secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se e destilou-se o solvente em evaporador rotatório.

7.6.2 Síntese de (±) N-(2-hidroxietil)-1-metilpirrolidina-2-carboxamida 5b (adaptado de BIRKENMEYER, et al., 1984)



Foram obtidos 0,200 g (77% de rendimento) de **5b**, na forma de um óleo amarelo claro a partir de **4b** (0,252 g; 1,5 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.6.1**, após 12 horas de reação. Após elaborada a reação, foi realizada CCD (eluente: acetato de etila/metanol 6:4, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento)

Fórmula Molecular: C₈H₁₆N₂O₂

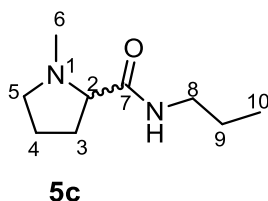
MM: 172,23 g/mol

IV, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹: 3500-3200 (O-H e N-H), 2947-2795 (*sp*³ C-H), 1636 (C=O), 1532 (N-H), 1065 (C-O).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 7,67 (s, 1H, N-H); 4,73 (sl, 1H, O-H); 3,40 (t, 2H, $J_{2,3}$ 5,85 Hz, H-9); 3,31-3,09 (m, 2H, H-8); 3,02-2,98 (m, 1H, H-5); 2,69-2,65 (m, 1H, H-2); 2,25 (s, 3H, H-6); 2,09-2,00 (m, 1H, 1xH-3); 1,71-1,60 (m, 3H, 1x H-3, 2x H-4).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 173,19 (C-7); 68,82 (C-2); 59,90 (C-9); 56,04 (C-5); 41,21 (C-6); 40,93 (C-8); 30,27 (C-3); 23,35 (C-4).

7.6.3 Síntese de \pm 1-metil-N-propilpirrolidina-2-carboxamida **5c** (adaptado de BIRKENMEYER, et al., 1984)



Foram obtidos 0,162 g (64% de rendimento) de **5c**, na forma de um óleo amarelo claro a partir de **4c** (0,249 g; 1,5 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.6.1**, após 12 horas de reação. Após elaborada a reação, foi realizada CCD (eluente: acetato de etila/metanol 6:4, reveladores: vapor de iodo, CAM e aquecimento).

Fórmula Molecular: $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$

MM: 170,25 g/mol

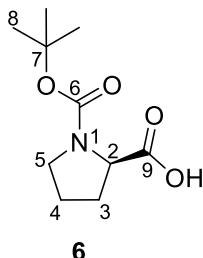
IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3321 (N-H), 2962-2936 (sp^3 C-H), 1653 (C=O), 1517 (N-H), 1458 (C-N).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 7,66 (sl, 1H, N-H); 3,06-2,98 (m, 3H, 2x H-8, 1xH-5); 2,68-2,64 (m, 1H, H-2); 2,25 (s, 3H, H-6); 2,24-2,20 (m, 1H, 1x H-5'); 2,08-2,00 (m, 1H, 1x H-3); 1,72-1,61 (m, 3H, 1x H-3', 2x H4); 1,41 (sext, 2H, $J_{9,8} = J_{9,10}$ 7,4 Hz H-9); 0,81 (t, 3H, $J_{10,9}$ 7,4 Hz, H-10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 172,80 (C-7); 68,87 (C-2); 55,98 (C-5); 41,09 (C-6); 39,74 (C-8); 30,24 (C-3); 23,28 (C-4); 22,45 (C-9); 11,20 (C-10).

7.7 Síntese da L-prolina com amida protegida com o grupo BOC.

7.7.1 Técnica 1 para obtenção de ácido N-*tert*-butoxicarbonil)-L-pirrolidono-2-carboxílico 6 (adaptado de MAHAJAN et al., 2019)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 mL de diclorometano foram adicionados L-prolina (0,100 g; 0,87 mmol); dicarbonato de di-*tert*-butila (Boc₂O) (0,210 g; 0,96 mmol) e trietilamina (0,097 g; 0,96 mmol). O balão de reação foi fechado com um tubo de cloreto de cálcio e a mistura foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 4 horas. Após esse tempo foram adicionados, sob agitação magnética, 30 mL de solução de ácido cítrico a 5%. A solução foi transferida para funil de separação e extraída com (3 x 20 mL) de diclorometano. Secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se e o solvente foi destilado em evaporador rotatório. Foi obtido um produto oleoso que se solidificou após a adição de uma mistura de hexano:acetato de etila 6:1. Foram obtidos 0,180 g (97% de rendimento) de sum sólido branco cristalino. A análise por CCD (eluente: hexano acetato de etila 6:4; reveladores: vapor de iodo e CAM) revelou uma macha com FR = 0,29 superior ao material de partida que apresentou RF nesse eluente = 0,12. Foram obtidos 0,128 g (68% de rendimento) de sum sólido branco cristalino.

Fórmula molecular: C₁₀H₁₇NO₄

M.M.: 215,25 g/mol

F.F: 131,2-132,6°C: lit (MAHAJAN et al.: 2019): 129.7–131.4°C

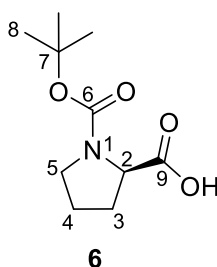
[α]_D²⁰ -65 (c,2,0 CH₃COOH): lit (MAHAJAN et a.: 2019): [α]_D²⁰ -79

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 9,14 (s, 1H, O-H rotâmeros); 4,38-4,32 (m, 1H, H-2 rotâmeros); 4,27-4,20 (m, 1H, H-2' rotâmeros) 3,60-3,32 (m, 1H, H-5 rotâmeros);

3,60-3,32 (m, 1H, H-5' rotâmeros) 2,34-1,82 (m, 4H, 2x H-3, 2x H-4 rotâmeros); 2,34-1,82 (m, 4H, 2x H-3', 2x H-4' rotâmeros) 1,47 (s, 9H, H-8, rotâmeros), 1,42 (s, 9H, H-8', rotâmeros)

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 178,76 (C-9 rotâmeros); 175,62 (C-9' rotâmeros); 156,08 (C-6 rotâmeros); 153,88 (C-6' rotâmeros) 81,14 (C-7 rotâmeros); 80,31 (C-7' rotâmeros); 59,00, (C-2 rotâmeros); 58,90 (C-2' rotâmeros) 46,88 (C-5 rotâmeros); 46,29 (C-5' rotâmeros) 30,78 (C-3 rotâmeros); 28,77 (C-3' rotâmeros) 28,34 (C-8 rotâmeros); 28,22 (C-8' rotâmeros) 24,26 (C-4 rotâmeros); 23,61 (C-4' rotâmeros).

7.7.2 Técnica 2 para obtenção de ácido N- tec-butoxicarbonil)-L-pirrolidono-2-carboxílico 6 (adaptado de C. Li et al., 2021)



Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo trietilamina (0,13 g; 1,28 mmol) e 1 mL de diclorometano foram adicionados *L*-prolina (0,100 g; 0,87 mmol). O balão de reação foi acoplado a um funil de adição acoplado a um tubo de cloreto de cálcio e o balão foi imerso em banho de gelo. Ao funil de adição foi acrescentada uma solução de Boc_2O (0,227 g, 1,04 mmol) em diclorometano (5 mL), que foi, então, adicionada, gota a gota, durante 30 minutos à mistura de reação. Após adição da solução contendo Boc_2O , a mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente por mais 12 horas. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo resultante foi resfriado a 0°C em banho de gelo e acidificou-se até $\text{pH} = 2$ com solução de HCl 2 mol/L. A mistura obtida foi transferida para um funil de separação e extraída com (3 x 20 mL) de diclorometano. Secou-se a fase orgânica reunida com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Foi obtido um produto oleoso

que se solidificou após a adição de uma mistura de hexano:acetato de etila 6:1. Foram obtidos 0,180 g (97% de rendimento) de um sólido branco cristalino. A análise por CCD (eluente: hexano acetato de etila 6:4; reveladores: vapor de iodo e CAM) revelou uma mancha do produto com $FR = 0,29$ superior ao material de partida que apresentou nesse eluente ($FR = 0,12$).

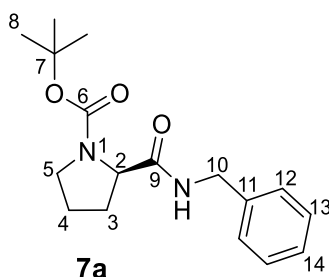
Fórmula molecular: $C_{10}H_{17}NO_4$

M.M.: 215,25 g/mol

7.8 Síntese das amidas, 7a, 7b, 7c e 7d

7.8.1 Método geral para obtenção das amidas protegidas

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo diclorometano (3mL) foram adicionados (1 equivalente) de *N*-hidroxisuccinimida (NHS), (1 equivalente) de cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilamino) carbodiimida (EDAC) e (0,100 g, 1 equivalente) de **6**. A reação foi mantida sob agitação magnética com tubo de cloreto de cálcio à temperatura ambiente e acompanhada por CCD, conforme cada descrição de obtenção dos produtos. Após verificar o consumo completo de **6** por CCD, adicionou-se a amina correspondente (1,5 equivalentes) e o acompanhamento da reação continuou a ser realizado por CCD (Após o término da reação, a mistura foi transferida para um funil de separação e lavada com solução de HCl 0,3 mol/L e extraída com (3 x 20 mL de diclorometano). A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório.

7.8.2 Obtenção de (R)-1-ter-butoxicarbonil-N-benzilpirrolidinocarboxamida **7a**

Foram obtidos 0,115 g (82% de rendimento) de **7a**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (eluente: 200 mL de acetato de etila/hexano 8,5:1,5, seguido de acetato de etila/hexano 7:3) a partir de **6** (0,1100 g; 0,46 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.8.1**, após 3 horas de reação, acompanhada por CCD (hexano:acetato de etila 1:1; reveladores: vapor de iodo e ninidrina 0,5% em água e aquecimento).

Fórmula molecular: C₁₇H₂₄N₂O₃

[α]_D²⁰ -64,3 (c,1,0 CHCl₃); lit. (MORIMOTO. et al., 2014): [α]_D²⁰ -74,6 (c,1,0 CHCl₃).

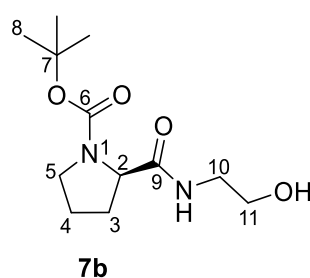
M.M.: 304,39 g/mol

F.F: 131,2-132,6 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 8,38 (t aparente, 1H, N-H rotâmeros); 8,33 (t aparente, 1H, N-H' rotâmeros); 7,33-7,18 (m, 5H, 2xH-12, 2xH-13, 1xH-14 rotâmeros); 7,33-7,18 (m, 5H, 2xH-12', 2xH-13', 1xH-14' rotâmeros); 4,38-4,29 (m, 1H, H-2 rotâmeros); 4,38-4,29 (m, 1H, H-2' rotâmeros); 4,22-4,16 (m, 2H, 2xH-10, rotâmeros); 4,15-4,03 (m, 2H, 2xH-10', rotâmeros); 3,45-3,37 (m aparente, 1H, H-5a rotâmeros); 3,45-3,37 (m aparente, 1H, H-5a' rotâmeros); 3,32-2,09 (m aparente, 1H, H-5b rotâmeros); 3,32-3,24 (m aparente, 1H, H-5b' rotâmeros); 2,18-2,09 (m, 1H, H-3a rotâmeros); 2,18-2,09 (m, 1H, H-3a' rotâmeros); 1,88-1,69 (m, 3H, 1xH-3b, 2xH-4 rotâmeros); 1,88-1,69 (m, 3H, 1xH-3b', 2xH-4' rotâmeros); 1,41(s, 9H, H-8 rotâmeros); 1,28 (s, 9H, H-8' rotâmeros).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 172,44 (C-9 rotâmeros); 172,24 (C-9' rotâmeros) 153,52 (C-6 rotâmeros); 153,35 (C-6' rotâmeros); 139,62 (C-11 rotâmeros); 139,62 (C-11' rotâmeros) 128,12 (C-13); 127,28(C-13') 126,82 (C-12); 126,71(C-12'); 126,56 (C-14); 126,56 (C-14'); 78,60 (C-7 rotâmeros); 78,44 (C-7' rotâmeros) 59,91 (C-2); 59,78 (C-2'); 46,66 (C-5 rotâmeros); 46,47 (C-5' rotâmeros); 42,03 (C-10); 41,80 (C-10'); 31,10 (C-3 rotâmeros); 30,03 (C-3' rotâmeros); 28,13 (C-8 rotâmeros); 27,94(C-8' rotâmeros); 23,97 (C-4 rotâmeros); 23,14(C-4' rotâmeros).

7.8.3 Obtenção de (R)-1-terc-butoxicarbonil-N-(2-hidroxi-etil)-pirrolidinocarboxamida **7b**



Foram obtidos 0,038 g (34% de rendimento) de **7b**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (eluente: acetato de etila com 0,5% de CH_3OOH) e 0,06g (59% de rendimento) a partir de **6** (0,100 g; 0,46 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.8.1**, após 3 horas de reação acompanhada por CCD (acetato de etila:hexano 7:3; reveladores: vapor de iodo e ninidrina 0,5% em água e aquecimento).

Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$

$[\alpha]_D^{20}$ -88,4 (c,1,0 CHCl_3); lit. (PEDROSA. et al., 2013): $[\alpha]_D^{20}$ -90,5 (c,1,0 CHCl_3);

M.M.: 258,32 g/mol

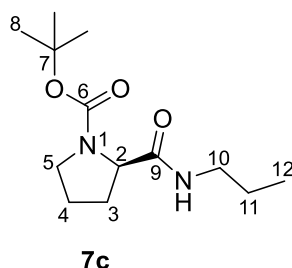
F.F: 157-158 °C; lit. (PEDROSA. et al., 2013): 172,2-173 °C

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 7,80 (t aparente, 1H, N-H rotâmeros); 7,74 (t aparente, 1H, N-H' rotâmeros); 4,64 (sl, 1H, O-H rotâmeros); 4,59 (sl, 1H, O-H' rotâmeros); 4,10-4,03 (m, 1H, H-2 rotâmeros); 4,03-3,97 (m, 1H, H-2' rotâmeros); 3,42-3,30 (m, 3H, 1xH-5a, 1xH-11a, 1xH-12a rotâmeros); 3,42-3,30 (m, 3H, 1xH-5a', 1xH-11a', 1xH-12a' rotâmeros); 3,30-3,22 (m, 1H, H-5b rotâmeros); 3,30-3,22 (m, 1H, H-5b')

rotâmeros) 3,18-3,04 (m, 2H, 1xH-11a', 1xH-12a' rotâmeros); (m, 2H, 1xH-11b', 1xH-12b' rotâmeros) 2,10-2,02 (m, 1H, H-3a rotâmeros); 2,10-2,02 (m, 1H, H-3a' rotâmeros) 1,85-1,66 (m, 3H, 1xH-3b, 2xH-4 rotâmeros); (m, 3H, 1xH-3b', 2xH-4' rotâmeros); 1,39 (s, 9H, H-8 rotâmeros); 1,32(s, 9H, H-8' rotâmeros).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ/ppm : 172,60 (C-9 rotâmeros); 172,18 (C-9 rotâmeros); 153,63 (C-6 rotâmeros); 153,31 (C-6' rotâmeros); 78,53 (C-7 rotâmeros); 78,37 (C-7' rotâmeros); 59,95 (C-11 rotâmeros); 59,95 (C-11' rotâmeros); 59,80 (C-2 rotâmeros); 59,54 (C-2' rotâmeros); 46,66 (C-5 rotâmeros); 46,45 (C-5' rotâmeros). 41,36 (C-10 rotâmeros); 41,36 (C-10' rotâmeros); 31,02 (C-3 rotâmeros); 30,06 (C-3' rotâmeros); 28,13 (C-8 rotâmeros); 27,99 (C-8' rotâmeros); 23,85 (C-4 rotâmeros); 23,19 (C-4' rotâmeros)

7.8.4 Obtenção de (R)-1-terc-butoxicarbonil-N-propilpirrolidino-2-carboxamida **7c**



Foram obtidos 0,079 g (67% de rendimento) de **7c**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (fase móvel: hexano/acetato de etila 7:3) a partir de **6** (0,100 g; 0,46 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.8.1**, após 4 horas de reação acompanhada por CCD (hexano:acetato de etila 1:1; reveladores: vapor de iodo e ninidrina 0,5% em água e aquecimento)..

Fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$

$[\alpha]_D^{20}$ -98,2 (c,1,0 CHCl_3)

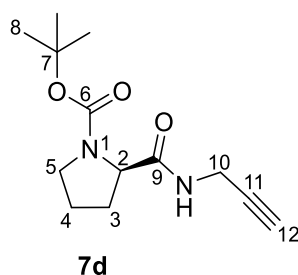
M.M.: 256,35 g/mol

F.F: 81,6-82,2 °C

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 7,81 (t aparente, 1H, N-H rotâmeros); 7,73 (t aparente, 1H, N-H' rotâmeros); 4,06-3,94 (m, 1H, H-2 rotâmeros); 4,06-3,94 (m, 1H, H-2' rotâmeros); 3,42-3,23 (m, 2H, 2xH-5, rotâmeros); 3,42-3,23 (m, 2H, 2xH-5', rotâmeros); 3,05-3,2,93 (m, 2H, H-10 rotâmeros); 3,05-3,2,93 (m, 2H, H-10' rotâmeros); 2,11-2,01 (m, 1H, H-3a rotâmeros); 2,11-2,01 (m, 1H, H-3a' rotâmeros); 1,85-1,67 (m, 3H, 1xH-3b, 2xH-4 rotâmeros); 1,85-1,67 (m, 3H, 1xH-3b', 2xH-4' rotâmeros); 1,42-1,36 (m, 2H, 2xH-11 rotâmeros); 1,42-1,36 (m, 2H, 2xH-11' rotâmeros); 1,38 (s, 9H, H-8 rotâmeros); 1,32 (s, 9H, H-8' rotâmeros); 0,83 (t, 3H, H-12 rotâmeros); 0,83 (t, 3H, H-12' rotâmeros).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 172,32 (C-9 rotâmeros); 171,97(C-9' rotâmeros); 253,65 (C-6 rotâmeros); 153,38(C-6' rotâmeros); 78,51 (C-7 rotâmeros); 78,35(C-7' rotâmeros); 58,88 (C-2 rotâmeros); 59,67(C-2' rotâmeros); 46,67 (C-5 rotâmeros); 46,48 (C-5' rotâmeros); 40,30 (C-3); 40,30(C-3'); 31,13 (C-4 rotâmeros); 30,13 (C-4' rotâmeros); 28,15 (C-8 rotâmeros); 28,03 (C-8' rotâmeros); 23,90 (C-10 rotâmeros); 23,19 (C-10' rotâmeros); 22,51 (C-11 rotâmeros); 22,38 (C-11' rotâmeros); 11,43 (C-12); 11,23 (C-12').

7.8.5 Obtenção de (R)-1-terc-butoxicarbonil-N-(prop-2-in-1-il)-pirrolidinocarboxamida **7d**



Foram obtidos 0,088 g (75% de rendimento) de **7d**, na forma de um sólido branco após purificação por CCS (fase móvel: acetato de etila/hexano 8,5:1,5 200 mL seguido de acetato de etila/hexano 7:3) a partir de **6** (0,100 g; 0,46 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.8.1**, após 5 horas de reação acompanhada por CCD (hexano:acetato de etila 1:1; reveladores: vapor de iodo e ninidrina 0,5% em água e aquecimento).

Fórmula molecular: $C_{13}H_{20}N_2O_3$

$[\alpha]_D^{25}$ -70,7 (c,1,4 $CHCl_3$); lit: (TRAN. et al., 2011): $[\alpha]_D^{23}$ -71,9 (c,1,4 $CHCl_3$)

M.M.: 252,31 g/mol

F.F: 111-112 °C.; lit: (TRAN. et al., 2011): 112 °C

RMN de 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$), δ/ppm : 8,33-8,21 (m, 1H, N-H rotâmeros); 8,33-8,21 (m, 1H, N-H' rotâmeros); 4,08-4,04 (m, 1H, H-2 rotâmeros); 4,04-3,98 (m, 1H, H-2' rotâmeros); 3,92-3,76 (m, 2H, 2xH-10, rotâmeros); 3,92,3,76 (m, 2H, 2xH-10', rotâmeros); 3,40-3,34 (m, 1H, H-5a rotâmeros); 3,40-3,34 (m, 1H, H-5a' rotâmeros); 3,30-3,23 (m, 1H, H-5b rotâmeros); 3,30-3,23 (m, 1H, H-5b' rotâmeros); 3,09-3,05 (m, 1H, H-12 rotâmeros); 3,09-3,05 (m, 1H, H-12' rotâmeros); 2,15-1,97 (m, 1H, H-3a rotâmeros); 2,15-1,97 (m, 1H, H-3a' rotâmeros); 1,85-1,67 (m, 3H, 1xH-3b, 2xH-4 rotâmeros); 1,85-1,67 (m, 3H, 1xH-3b', 2xH-4' rotâmeros); 1,39(s, 9H, H-8 rotâmeros); 1,34 (s, 9H, H-8').

RMN de ^{13}C (100 MHz, $DMSO-d_6$), δ/ppm : 172,28 (C-9 rotâmeros); 171,88 (C-9' rotâmeros); 153,22 (C-6 rotâmeros); 153,22 (C-6' rotâmeros); 81,13 (C-11); 81,13 (C-11') 78,50 (C-7 rotâmeros); 78,50 (C-7' rotâmeros); 72,90 (C-12 rotâmeros); 72,70 (C-12' rotâmeros); 59,64 (C-2); 59,32 (C-2'); 46,64 (C-5 rotâmeros); 46,40 (C-5' rotâmeros); 30,88 (C-3 rotâmeros); 29,98 (C-3' rotâmeros); 28,14 (C-8 rotâmeros); 27,99 (C-8' rotâmeros); 27,84 (C-10); 27,84 (C-10'); 23,84 (C-4 rotâmeros); 23,21 (C-4' rotâmeros).

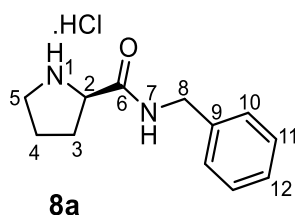
7.9 Síntese das amidas, 8a, 8b 8c e 8d

7.9.1 Método geral para obtenção das amidas desprotegidas (Adaptado de GEORGE et al., 2021; HAN et al., 2001)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 0,100 g da amida correspondente solubilizada em 4 mL de diclorometano foram adicionadas 12 gotas de HCl concentrado 37%. A mistura de reação foi mantida sob agitação magnética. O balão foi fechado com rolha de borracha e vedado com parafilm e

mantido à temperatura ambiente por 1 hora. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, (conforme descrito para cada produto) e revelador ninidrina sob aquecimento. Após o término da reação o solvente foi destilado em evaporador rotatório.

7.9.2 Obtenção do cloridrato de (R)-N-benzilpirrolidina-2-carboxamida **8a**



Foram obtidos 0,071 g (90% de rendimento) de **8a**, na forma um óleo amarelo a partir de **7a** (0,100 g; 0,328 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.9.1**. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, (eluente: acetato de etila/hexano 6:4 e 2 gotas de metanol).

Fórmula molecular: C₁₂H₁₇ClN₂O

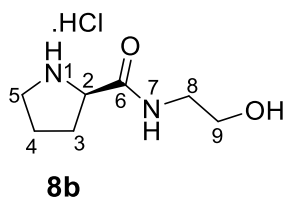
[α]_D²⁰ -30,6 (c,1,0 MeOH)

M.M.: 240,73 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 10,23 (sl, 1H, N-H-1); 9,27 (t, 1H, *J*_{NH,10} 5,7 Hz NH); 8,57 (sl, 1H, N-H-1'); 7,36-7,21 (m, 5H, 2xH-10, 2x H-11 e H-12); 4,38-4,29 (m, 2H, 2x8); 4,22 (t, 1H, *J*_{2,3} 7,5 Hz H-2); 3,27-3,13 (m, 2H, 2x H-5); 2,39-2,27 (m, 1H, H-3); 1,93-1,79 (m, 3H, H-3 e 2x H-4).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 168,09 (C-6); 138,59 (C-9); 128,41 (C-11); 127,27 (C-10); 127,05 (C-12); 58,87 (C-2); 45,44 (C-5); 42,37 (C-8); 29,71 (C-3); 23,64 (C-4).

7.9.3 Obtenção do cloridrato de (R)-N-(2-hidroxietil)pirrolidina-2-carboxamida **8b**



Foram obtidos 0,073 g (97% de rendimento) de **8b**, na forma de um óleo amarelo a partir de **7b** (0,100 g; 0,387 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.9.1**. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, (acetato de etila/metanol 8:2 para).

Fórmula molecular: C₇H₁₅ClN₂O₂

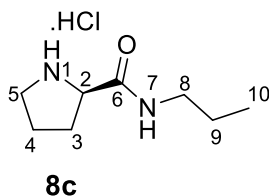
[α]_D²⁰ -38 (c,1,0 CHCl₃); lit: (BOURGEOIS. et al., 2019): [α]_D²⁰ -42,1 (c,1,0 CHCl₃);

M.M.: 194,66 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 10,16 (sl, 1H, N-H-1); 8,74 (t, 1H, *J*_{NH,8} Hz, 5,2, NH-7); 8,49 (sl, 1H, N-H-1'); 4,17-4,01 (m, 1H, H-2); 3,80 (sl, 1H, OH); 3,42 (t, 1H, *J*_{8,9} Hz, 5,9, H-9), 3,26-3,08 (m, 4H, 2xH-5 e 2xH-8); 2,34-2,21 (m, 1H, H-3); 1,91-1,73 (m, 3H, H-3' e 2xH-4).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 168,84 (C-6); 59,44 (C-9); 58,84 (C-2); 45,52 (C-5); 41,96 (C-8); 29,80 (C-3), 23,70 (C-4).

7.9.4 Obtenção do cloridrato de (R)-N-propilpirrolidina-2-carboxamida **8c**



Foram obtidos 0,070 g (98% de rendimento) de **8c**, na forma de um óleo amarelo a partir de **7c** (0,100 g; 0,39 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.9.1**. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, (eluente: acetato de etila/hexano 6:4 e 2 gotas de metanol).

Fórmula molecular: C₈H₁₇ClN₂O

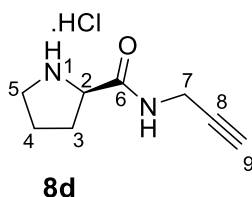
[α]_D²⁰ -68 (c,1,0 MeOH): lit: (LANIGAN. et al., 2013): [α]_D²⁰ -63,2 (c,1,0 MeOH)

M.M.: 192,69 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 10,22 (sl, 1H, N-H-1); 8,71 (t, 1H, , $J_{NH,8}$ Hz, 5,2, N-H-7); 8,47 (sl, 1H, N-H-1'); 4,13-4,11 (m, 1H, H-2); 3,33-3,13 (m, 2H, H-5), 3,09-3,04 (m, 2H, 2xH-8); 2,33-2,25 (m, 1H, H-3); 1,91-1,72 (m, 2H, H-3 e 2xH-4); 1,43 (sext, 2H, $J_{8,9} = J_{8,10}$ 7,4 Hz 2xH-9); 0,84 (t, 3H, $J_{9,8}$ 7,4 Hz 3xH-10).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 167,87 (C-6); 58,80 (C-2); 45,42 (C-5); 40,62 (C-8); 29,82 (C-3), 23,65 (C-4); 22,11 (C-9); 11,35 (C-11).

7.9.5 Obtenção do cloridrato de (R)-N-(pro-2-in-1-il)pirrolidina-2-carboxamida 8d



Foram obtidos 0,067 g (89% de rendimento) de **8d**, na forma de um sólido bege a partir de **7d** (0,100 g; 0,396 mmol) de acordo com o método geral descrito na seção **7.9.1**. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, (eluente: acetato de etila/hexano 6:4 e 2 gotas de metanol).

Fórmula molecular: C₈H₁₃ClN₂O

[α]_D²⁰ -51,6 (c,1,0 MeOH)

M.M.: 188,66 g/mol

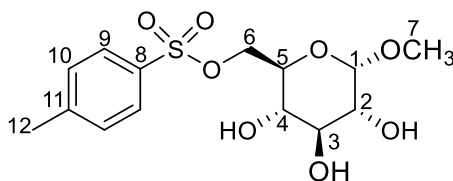
F.F.: 166-168 °C.

RMN: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 10,30 (sl, 1H, N-H-1); 9,21 (t aparente, 1H, N-H-7); 8,56 (sl, 1H, N-H-1'); 4,19-4,10 (m aparente, 1H, H-2); 3,96-3,87 (m, 2H, 2xH-8); 3,26-3,09 (m, 3H, 2x H-5 e H-10); 2,35-2,20 (m, 1H, H-3), 1,92-1,72 (m, 3H, H-3' e 2x H-4).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 167,90 (C-66); 80,27 (C-9); 73,66 (C-10); 58,66 (C-2); 45,43 (C-5); 29,54 (C-3); 28,29 (C-8), 23,59 (C-4).

7.10 Síntese dos glicosídeos 10,11, 12, 13 e 14

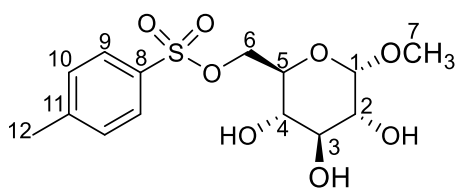
7.10.1 Técnica 1 para obtenção de 6-O-(4-toluenosulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de metila 12 (adaptado de MANFRINI, et al., 1984)



12

Em um balão de fundo rendo de 50 mL contendo uma solução do α -D-glicopiranosídeo de metila (0,200 g; 1,03 mmol) em piridina (2 mL), foram adicionados cloreto de tosila (0,294 g; 1,54 mmol). O balão foi fechado com rolha de borracha e transferido para um freezer por 5 horas, quando foi detectado por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5; reveladores: vapor de iodo seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento) o consumo total do glicosídeo de partida. Após esse tempo adicionaram-se gelo picado e solução de ácido clorídrico 4 mol/L até pH = 2. A mistura resultante foi transferida para um funil de separação e extraiu-se com diclorometano (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secou-se com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo pastoso obtido foi purificado por CCS (fase móvel: acetato de etila/hexano 7:3 150 mL e acetato de etila/hexano 8:2 200 mL) obtendo-se 140 mg (27% de rendimento) do produto ditosilado e 120 mg (33% de rendimento) do produto monotosilado na forma de um óleo incolor.

7.10.2 Técnica 2 para obtenção de 6-O-(4-toluenosulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de metila **12** (adaptado de MANFRINI, et al., 1984)



12

Em um balão de fundo rendo de 50 mL contendo uma solução do α -D-glicopiranosídeo de metila (0,200 g; 1,03 mmol) em piridina (2 mL) previamente refrigerado, foi adicionada uma solução de cloreto de tosilato em piridina (0,294 g; 1,54 mmol), ambas as soluções previamente refrigeradas separadamente, por 2 horas. Após homogeneização das soluções, com agitador magnético a reação foi cessada adicionando gelo picado e acidificando o meio reacional com solução de ácido clorídrico 4 mol/L até pH = 2. O tempo de reação considerando a agitação magnética das misturas e acidificação do meio foi de aproximadamente 2 minutos. A mistura obtida foi transferida para um funil de separação e extraiu-se com diclorometano (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secou-se com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo pastoso obtido purificado por CCS (fase móvel: acetato de etila/hexano 7:3 100 mL e acetato de etila/hexano 8:2 100 mL) obtendo-se 310 mg (86% de rendimento) do produto monotosilado **12** na forma de um óleo incolor.

M.M.: 348,37 g/mol **12**

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$ **12**: 3334 (O-H), 3009 (C=C), 2917 (sp^3 C-H), 1597-1443 (C=C aromáticos), 1353 e 1168 (S=O), 944 e 833 (S-O).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm **12**: 7,77 (d, 2H, $J_{9,10}$ 8,2 Hz, 2xH-9); 7,47 (d, 2H, $J_{10,9}$ 8,2 Hz, 2xH-10); 5,51 (d, 1H, O-H); 4,90 (d, 1H, O-H); 4,82 (d, 1H, O-H), 4,48 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3,2 Hz, H-1); 4,22 (d, 1H, $J_{6',6}$ 10,7 Hz, H-6'); 4,06 (dd, 1H, $J_{6,5}$ 6,4 Hz, $J_{6,6'}$ 10,7 Hz, H-6); 3,51-3,41 (m, 1H, H-5); 3,35-3,28 (m, 1H, H-2); 3,20 (s, 3H, H-7); 3,16-3,11 (m, 1H, H-3 ou H-4); 3,02-2,96 (m, 1H, H-4 ou H-3); 2,42 (s, 3H, H-12).

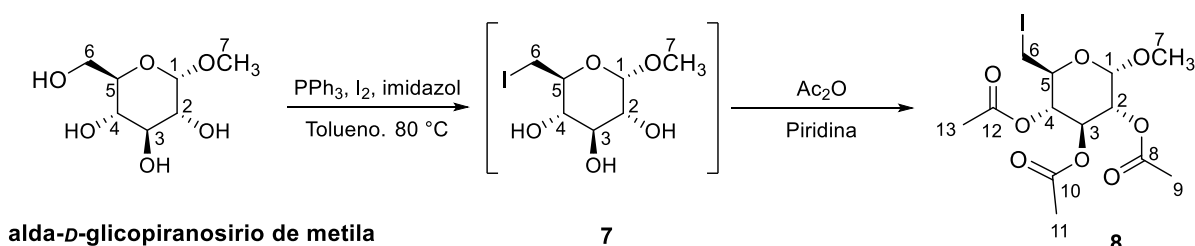
RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm **12**: 144,97 (C-8); 132,35 (C-11); 130,19 (C-10); 127,66 (C-9); 99,6 (C-1), 73,06 (C-5); 71,61 (C-3); 70,35 (C-6); 69,77 (C-2); 69,43 (C-4); 54,54 (C-7); 21,14 (C-12).

M.M.: 502,55 g/mol **13**

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm **13**: 7,79 (d, 2H, $J_{9,10}$ 8,2 Hz, H-9'); 7,75 (d, 2H, $J_{9,10}$ 8,2 Hz, H-9); 7,49-7,43 (m, 4H, 2xH-10' e 2xH-10); 5,48 (d, 1H, O-H); 5,43 (d, 1H, O-H); 4,45 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3,2 Hz, H-1); 4,23-4,16 (m, 1H, H-6); 4,10-3,99 (m, 1H, H-6'); 3,89 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 3,5 Hz, $J_{2,3}$ 9,6 Hz, H-2); 3,52-3,42 (m, 2H, H-5 e H-3); 3,09-3,03 (m, 1H, H-4); 3,08 (s, 3H, H-7); 2,41 (s, 6H, 3xH-12' e 3xH-12).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm **13**: 145,03 (C-8 ou C-8'); 144,95 (C-8' ou C-8); 133,12 (C-11 ou C-11'); 132,26 (C-11' ou C-11); 130,18 (C-10 ou C-10'); 129,95 (C-10' ou C-10); 127,82 (C-9 ou C-9'); 127,67 (C-9' ou C-9); 96,52 (C-1), 79,72 (C-2); 69,84 (C-5); 69,69 (C-6); 69,49 (C-4); 69,34 (C-3); 54,78 (C-7); 21,14 (C-12 e C-12').

7.10.3 Obtenção de 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila **8**



Em um balão de fundo redondo de 300 mL contendo α -D-glicopiranosídeo de metila (0,300 g; 1,54 mmol) foram adicionados trifetilfosfina (0,600 g; 2,31 mmol), imidazol (0,300 g; 4,65 mmol), iodo (0,5400 g; 1,26 mmol) e de tolueno (30 mL). O balão com a mistura reacional foi e mantido sob refluxo em agitação magnética, a 80 °C, em um sistema isento de umidade com o condensador acoplado a um tubo de cloreto de cálcio. A reação foi monitorada por CCD (eluente: clorofórmio/metanol 9:1; reveladores: vapor de iodo seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após 3 horas de reação

resfriou-se a mistura reacional à temperatura ambiente, adicionou-se água destilada (50 mL) e manteve-se sob agitação magnética por mais 15 minutos. Em seguida, a mistura foi transferida para um funil de separação e separou-se a fase aquosa da fase toluênica. A fase toluênica foi, então, extraída com água destilada (3 x 5 mL). As fases aquosas foram reunidas e transferidas para uma cápsula de porcelana e deixou-se secar à pressão atmosférica, com auxílio de ar comprimido. O resíduo resultante foi, então, solubilizado em etanol, transferido para um balão de fundo redondo e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Ao resíduo obtido foram adicionados anidrido acético (2 mL) e de piridina (1 mL). O balão foi fechado com rolha de borracha e deixado sob agitação magnética a temperatura ambiente. A reação foi monitorada por CCD (eluente: clorofórmio/metanol 9:1; reveladores: vapor de iodo seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após 3 horas, evidenciou-se o consumo completo do material de partida. A mistura de reação foi filtrada e, ao filtrado, adicionaram-se gelo picado e H₂SO₄, gota a gota, até pH 1,0. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 x 5 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução de bicarbonato de sódio (2 x 5 mL), água destilada (2 x 5 mL) e secada com Na₂SO₄ anidro. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o resíduo foi recristalizado em etanol. Foram obtidos 0,145 g (66 % de rendimento) de **8** na forma de um sólido branco.

Fórmula molecular: C₁₃H₁₉IO₈

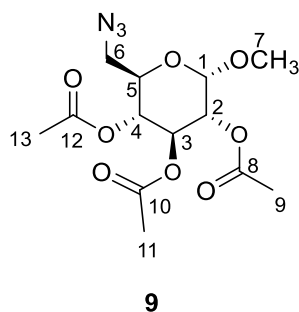
M.M.: 430,01 g/mol

F.F.: 143-144 °C lit: (FARACO, et al., 1996); 148-150 °C lit.: (OLIVEIRA, 1998): 143-143,7 °C.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 5,47 (t, 1H, *J*_{3,2} = *J*_{3,4} 9,7 Hz, H-3); 4,96 (d, 1H, *J*_{2,1} = 3,7 Hz, H-1); 4,92-4,84 (m, 2H, H-2 e H-4); 3,84-3,75 (m, 1H, H-6); 3,48 (s, 3H, 3 x H-7); 3,30 (dd, 1H, *J*_{6,5} = 2,9 Hz, *J*_{6',6} = 10,7 Hz, H-6'); 3,18-3,27 (m, 1H, H-5); 2,08; 2,04 e 2,01 (3s, H-9, ou H-11 ou H-13).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ/ppm: 170,12; 170,06 e 169,68 (C-8 ou C-10 ou C-12); 96,65 (C-1); 70,78 (C-5); 69,87 (C-2); 69,76 (C-4); 68,58 (C-3); 55,58 (C-7), 51,04 (C-6); 20,71; 20,67 e 20,63 (C-9 ou C-11 ou C-13).

7.10.4 Obtenção de 2,3,4-tri-O-acetil-6-azido-6-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila 9



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (0,100 g; 0,23 mmol) dissolvidos em DMF (15 mL), foi adicionado azida de sódio (0,093 g; 1,4 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e o balão foi fechado com rolha de borracha e mantido à temperatura ambiente. A reação foi monitorada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 6:4; reveladores: vapor de iodo seguido de solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após 3 horas, a mistura reacional foi transferida para uma cápsula de porcelana e deixou-se secar sob pressão atmosférica com auxílio de ar comprimido. Ao resíduo obtido foram adicionados água gelada (50 mL) e realizada filtração a vácuo. Foram obtidos 0,06 g (76% de rendimento) de 9 na forma de um sólido branco.

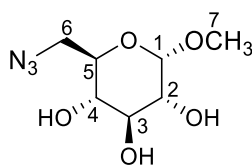
Fórmula Molecular: C₁₃H₁₉N₃O₈

M.M.: 345,30 g/mol

F.F.: 97,6-99,7 °C lit: (FARACO, et al., 1996); 104 °C lit.: (OLIVEIRA, 1998): 103-104 °C.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 5,47 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 9,9 Hz, H-3); 4,99 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5}$ 9,9 Hz H-4); 5,00-4,95 (m, 1H, H-1); 4,88 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,7$ e $J_{2,3} = 10,2$ Hz 1H, H-2); 4,05-3,93 (m, 1H, H-6); 3,45 (s, 3H, 3 x H-7); 3,38-3,26 (m, 2H, H-5 e H-6'); 2,08; 2,04 e 2,01 (3s, H-9 ou H-11 ou H-13).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 170,12; 170,06 e 169,68 (C-8 ou C-10 ou C-12); 96,65 (C-1); 70,78 (C-5); 69,87 (C-2); 69,76 (C-4); 68,58 (C-3); 55,58 (C-7), 51,04 (C-6); 20,71; 20,67 e 20,63 (C-9 ou C-11 ou C-13).

7.10.5 Obtenção do 6-azido-6-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila **14****14**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo uma solução de **12** (0,200 g; 0,57 mmol) em DMF (5 mL), foi adicionado azida de sódio (0,300 g; 4,61 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e fechado com rolha de borracha, a temperatura ambiente, durante 12 horas, quando a temperatura foi elevada para 70°C e ao balão foi acoplado a um condensador de refluxo por mais 12 horas, pois não houve consumo do material de partida quando a reação foi mantida à temperatura ambiente. O acompanhamento da reação foi feito por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5; reveladores: iodo, solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). A mistura foi transferida para uma cápsula de porcelana e deixou-se secar à pressão atmosférica, com auxílio de um ventilador. Ao resíduo obtido foi adicionado etanol para precipitar a acida remanescente. Foi feita filtração simples. O filtrado foi recolhido em um balão de fundo redondo de 100 mL e o solvente foi destilado em evaporador rotatório. Foram obtidos 0,12 g (71% rendimento) de **14** na forma de um óleo amarelo claro. O produto foi utilizado na próxima etapa sem purificação prévia.

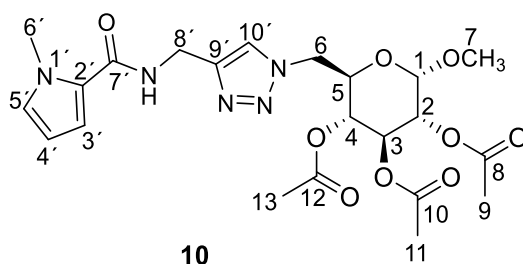
Fórmula molecular: C₇H₁₃N₃O₅

M.M.: 219,20 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm : 4,68 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1); 3,71-3,64 (m, 1H, H-2); 3,59 (t, 1H, $J_{6,6'} = J_{6,5}$ 9,2 Hz H-6); 3,50 (dd, 1H, H-3); 3,45-3,36 (m, 5H, H-4, H-5 e H-7); 3,25 (t, 1H, $J_{6',5} = J_{6',6}$ 9,2 Hz H-6').

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ /ppm: 101,45(C-1); 75,00 (C-5); 73,57 (C-2); 72,79 (C-3); 72,70 (C-4); 55,86 (C-7); 52,87 (C-6).

7.10.6 Obtenção de 6-desoxi-6-[4-[[[(1-metil-1H-pirrol-2-il)carbonil]amino]metil]-1-H-1,2,3-triazol1-il]-2,3,4-tri-O-acetil- α -D-glicopiranosídeo de metila **10**



Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo uma solução de **4d** (0,138 g; 0,84 mmol) e **9** (0,294 g; 0,84 mmol) em *tert*-butanol (3 mL), foi adicionada uma solução contendo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,105 g; 0,42 mmol) e ascorbato de sódio (0,102 g; 0,51 mmol), em uma mistura de *tert*-butanol/água 1:1 (40 mL). A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente e o balão foi fechado com rola de borracha. A reação foi monitorada por CCD (eluente: diclorometano/metanol 9,5:0,5; reveladores: vapor de iodo, solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após 12 horas, a mistura foi transferida para um funil de separação, lavada com solução saturada de NaCl e a fase aquosa foi extraída com CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução de EDTA 10% e secou-se com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente em evaporador rotatório. Após purificação por CCS (fase móvel: acetato de etila/hexano 1:1 150 mL; acetato de etila/hexano 8:2 200 mL) foram obtidos 0,190 g (44% de rendimento) de **10**, na forma de um sólido branco.

Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_9$ $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +72,3$ (c 2,0 Etanol)

M.M.: 507, 50 g/mol

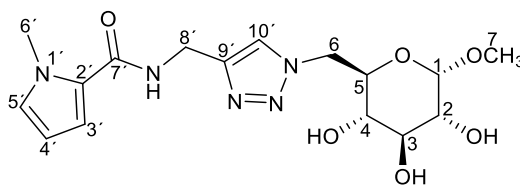
F.F: 94-95 °C

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ /ppm: 7,74 (sl, 1H, H-10); 6,92 (t aparente, 1-H, N-H); 6,70 (s, 1H, H-5'); 6,59 (s, 1H, H-3'); 6,04 (s, 1H, H-4'); 5,45 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 9,5 Hz, H-3); 4,94-4,77 (m, 3H, 2x H-8, 1x H-1); 4,65-4,50 (m, 3H, 1xH-6, 1xH-2, 1xH-4), 4,42-

4,31 (m, 1H, H-5); 4,15 (t, 1H, H-6', $J_{6'5} = J_{6'6}$, 9,5 Hz); 3,92 (s, 3H, 3x H-7); 3,08 (s, 3H, 3xH-6'); 2,09, 2,06 e 2,00 (s, 3H, 3x H-9 ou 3xH-11 ou 3x H-13).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 169,99, 169,83, 169,77 (C-8, C-10 e C-12); 161,79 (C-7'); 145,29 (C-9'); 127,98 (C-5'); 125,09 (C-2); 123,78 (C-10'); 112,05 (C-3'); 107,17 (C-4'), 96,43 (C-1); 70,50 (C-3); 69,81 (C-4); 69,63 (C-2); 67,69 (C-5); 55,28 (C-7); 50,55 (C-6); 36,55 (C-6'); 34,37 (C-8'); 20,55, 20,53 e 20,50 (C-9 ou C-11 ou C-13).

7.10.7 Obtenção de 6-desoxi-6-[4-[(1-metil-1H-pirrol-2-il)carbonil]amino]metil]-1-H-1,2,3-triazol-1-il]- α -D-glicopiranosídeo de metila **11**



11

Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo uma solução de **4d** (0,070 g; 0,43 mmol) e **14** (0,095 g; 0,43 mmol) em *tert*-butanol (1 mL), foi adicionada uma solução contendo $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,054 g; 0,21 mmol) e ascorbato de sódio (0,045 g; 0,26 mmol), em uma mistura de *tert*-butanol/água 1:1 (20 mL). A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente e o balão foi fechado com rolha de borracha. A reação foi monitorada por CCD (eluente: diclorometano/metanol 9:1; revelador: iodo, solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento). Após 3 horas, a mistura foi transferida para uma cápsula de porcelana e deixou-se secar à pressão atmosférica, com auxílio de um ventilador. O resíduo obtido foi parcialmente dissolvido em etanol e filtrado. O filtrado foi recolhido em um balão de fundo redondo de 100 mL e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Após purificação por CCS (fase móvel: diclorometano/metanol 9:1) foram obtidos 0,071 g (43% de rendimento) de **11**, na forma de um sólido bege claro.

Fórmula molecular: $C_{16}H_{23}N_5O_6$

M.M.: 381,39 g/mol

F.F: 112-114 °C

IV, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3321 (O-H), 2926 (sp^3 C-H), 1628 (C=O), 1543 (N-H), 1045 (C-O).

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 8,48(t, 1H, $J_{\text{N-H},8}$ 6,0 Hz, N-H); 7,82 (s, 1H, H-10'); 6,87 (t aparente, 1H, H-5'); 6,78-6,74 (m, 1H, H-3'); 5,99-5,96 (m, 1H, H-4'); 5,35 (d, 1H, $J_{1,2}$ 4,3 Hz, H-1); 4,93 (d, 1H, O-H); 4,81 (d, 1H, O-H); 4,70-4,64 (m, 1H, H-6); 4,45 (d, 1H, O-H); 4,39 (d, 2H, $J_{8',\text{N-H}}$ 6 Hz, H-8'); 4,36-4,32 (m, 1H, H-6'), 3,82 (s, 3H, H-6'); 3,67-3,60 (m, 2H, 1xH-5, 1xH-2), 3,20-3,15 (m, 1H, H-3 ou H-4); 2,99-2,96 (m, 1H, H-4 ou H-3); 2,91 (s, 3H, H-7)

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 161,31 (C-7'); 145,54 (C-9'); 127,89 (C-5'); 125,27(C-2'); 123,74 (C-10'); 112,49 (C-3'); 106,72 (C-4'), 99,75 (C-1); 73,13 (C-5); 71,77 (C-3); 71,67 (C-2); 70,52 (C-4); 54,28 (C-7); 50,85 (C-6); 36,25 (C-6'); 34,10 (C-8')

7.11 Redução do Anel Pirrólico

A redução do anel pirrólico foi realizada em colaboração com o Professor Eduardo Nicolau dos Santos do DQ da UFMG. As reações foram realizadas pelo doutorando Jesus Alberto Avendaño Villarreal, acompanhadas por mim.

7.12 Estudos conformacionais dos compostos

Esse foi realizado em colaboração com o Professor Vinícius Maltarollo. Os estudos foram feitos utilizando o programa Spartan'20 da Wavefunction. Método: DFT, Funcional (STEPHENS et al., 1994; BECKE, 1993): B3LYP; Basis set: 6-13G*.

7.13 Ensaio Biológicos

Os ensaios biológicos descritos abaixo foram realizados em colaboração com o professor Dr. Marcio de Matos Coelho, professor Dr. Renes Machado e o aluno de doutorado Felipe Rodrigues do departamento de Farmacologia da UFMG.

7.13.1 Atividade anti-inflamatória in vivo

Para a atividade anti-inflamatória in vivo do derivado acetilado da clindamicina **(2)**, foram utilizados camundongos machos da linhagem Swiss (25 - 30 g). Os animais experimentais foram fornecidos pelo biotério da Faculdade de Farmácia da UFMG. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA/UFMG – 124/2018). Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 h e ambientados na sala de experimento por pelo menos três dias antes da realização de todos os protocolos. Os ensaios realizados e o preparo de soluções estão descritos a seguir:

7.13.2 Preparo das soluções dos fármacos e reagentes

A solução de clindamicina foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v estéril, imediatamente antes da administração intraperitoneal (i.p.). As doses de clindamicina usadas nos protocolos experimentais foram de 100, 200 e 400 mg/kg. A solução de clindamicina foi administrada em um volume de 4 mL/kg.

A solução do derivado acetilado **(2)** também foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v estéril, imediatamente antes do experimento. As doses de **(2)** usadas nos protocolos experimentais (109, 218 e 436 mg/kg) foram equimolares às doses de 100, 200 e 400 mg/kg de clindamicina, respectivamente, e administradas pela via i.p. em um volume de 4 mL/kg.

A solução de dexametasona foi preparada imediatamente antes de cada administração em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v. A dose de dexametasona foi de 10 mg/kg. As soluções foram administradas por via i.p. em volume de 4 mL/kg.

7.13.3 Estímulos inflamatório

O estímulo inflamatório foi realizado por Zimosano. O zimosano ativa o fator nuclear- κ B em leucócitos, de modo a promover a transcrição de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF- α , levando ao edema articular e nocicepção (FAN et al., 2017; VOLMAN et al., 2005; TAKEUCHI & AKIRA, 2001). o qual ativa uma cascata de sinalizações intracelulares, resultando na produção de citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-1 β). Essas citocinas estimulam a produção de eicosanoides e aminas simpáticas que sensibilizam nociceptores (GUERREIRO et al., 2012). Como resultado tem-se uma vasodilatação por aumento de permeabilidade vascular com exsudação de proteínas plasmáticas e líquido, bem como, com da amplificação dos mecanismos inflamatórios na membrana sinovial, resultando em edema (MORRIS et al., 2019; CUCCHIARINI et al., 2016; CIRINO, 1999). A solução de zimosano (indutor de inflamação articular) (50 μ g em 10 μ L de solução salina estéril) foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v, imediatamente antes de cada experimento. Foram injetados 10 μ L dessa solução por via intra-articular (i.a.) no joelho esquerdo dos camundongos.

7.13.4 Avaliação antibacteriana e cepas bacterianas composto (2)

Os procedimentos microbiológicos foram realizados empregando cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC®):

Staphylococcus aureus (ATCC® 25923TM)

Staphylococcus aureus (ATCC® 6538TM)

Staphylococcus aureus (ATCC® 29213TM) 41

Salmonella typhimurium (ATCC® 1331TM)

7.13.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Foi realizado o procedimento de microdiluição em caldo Müller-Hinton (CMH) para se determinar a menor concentração da solução-teste da amostra necessária para inibir o crescimento bacteriano visível (CIM) (CLSI, 2012). Diluições seriadas das amostras e dos antimicrobianos (ampicilina e cloranfenicol) foram preparadas diretamente em microplacas de 96 poços, obtendo-se concentrações de 500 a 4 µg/mL. O mesmo foi realizado para clindamicina e o derivado (2), obtendo-se concentrações de 500 a 0,49 µg/mL. A visualização dos resultados foi facilitada pela adição de solução de cloreto de trifeniltetrazólio (CTT). Após incubação por 30 min, os poços que apresentaram coloração avermelhada indicaram crescimento bacteriano e os que mantiverem a cor original, ausência de crescimento. Cada ensaio foi realizado em quadruplicata, sendo que no quarto poço não foi acrescido indicador biológico para que o conteúdo do mesmo pudesse ser utilizado para determinação da Concentração Bactericida Mínima.

7.13.6 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A determinação da CBM foi realizada de acordo com o método descrito por Andrews (2001), com adaptações. A partir das colunas das microplacas do ensaio de determinação da CIM que não receberam solução corante de CTT, foram retiradas alíquotas de 10 µL dos poços correspondentes àqueles onde não foi observado crescimento bacteriano (CIM e duas ordens acima). Essas alíquotas foram então, estriadas em placas de Petri contendo Ágar Müller-Hinton (AMH) previamente identificadas com os poços de origem da microplaca. Após incubação por 16 a 20 h, em aerobiose, a 35 ± 2 °C, foi observada a presença ou ausência de crescimento de colônias. Assim, as concentrações das amostras que não permitiram o desenvolvimento bacteriano no AMH foram definidas como as que não permitiram o crescimento.

7.13.7 Avaliação da alodínia mecânica induzida por zimosano

Para avaliação da alodínia mecânica, os camundongos foram colocados em compartimentos de acrílico (22 x 18 x 14 cm) dispostos sobre um suporte que possui como base uma tela metálica. Os animais foram ambientados no aparato em uma sessão diária de 60 min cada, durante dois dias antes da realização do experimento e em uma sessão de 10 min, imediatamente antes do experimento. A alodínia mecânica foi avaliada por meio do uso de um analgesímetro digital (Insight Ltda., Ribeirão Preto, Brasil), que determina o limiar para a retirada da pata, que é expresso em gramas (g). Esse equipamento é dotado de uma ponteira de polietileno, acoplada a um braço transdutor de força (faixa: 0,1 a 1000 g, ou aproximadamente 0,1 a 10 N), que foi pressionada sobre o centro da superfície plantar da pata posterior direita de cada animal com aumento gradual de pressão até que o animal retirasse a pata. O valor que fez o animal retirar a pata foi registrado automaticamente. Para cada animal, foram feitas cinco avaliações em intervalos de 20 s, descartando-se o maior e o menor valor e calculando-se o limiar nociceptivo como a média das três medidas restantes. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os limiares basais médios dos diferentes grupos fossem semelhantes.

7.13.8 Avaliação do diâmetro articular

Para avaliação do diâmetro articular nos protocolos de inflamação articular induzida por zimosano, foi utilizado um paquímetro digital (Mitutoyo, modelo 200 mm, resolução 0,01 mm, escala Absolute). A aferição foi realizada com o animal imobilizado e o diâmetro foi medido com leve extensão do joelho esquerdo, o qual recebeu a injeção i.a. do estímulo inflamatório ou controle.

7.13.9 Padronização do modelo de inflamação articular induzida por zimosano

A indução de inflamação articular em camundongos seguiu o método descrito por Guerrero et al. (2006), que consiste na injeção i.a. no joelho esquerdo de salina estéril (10 μ L) ou zimosano (50 μ g em 10 μ L de solução salina estéril). Todos os animais foram anestesiados com solução contendo cetamina (80 mg/Kg) e xilazina (8 mg/Kg), por via i.p.

7.13.10 Efeito induzido pelo pré-tratamento com o derivado acetilado (2) sobre a alodínia mecânica e o edema articular induzidos por zimosano

Os animais foram pré-tratados com três diferentes doses de **(2)** (109, 218 e 436 mg/kg; i.p.), equimolares às doses de 100, 200 e 400 mg/kg de clindamicina, respectivamente, 1 h antes da injeção i.a. de zimosano. Os animais do grupo controle receberam clindamicina (400 mg/kg; i.p.). As avaliações do limiar de retirada de pata e diâmetro articular foram realizadas 3, 5, 7 e 24 h após a indução da inflamação. Para cada grupo experimental, foram utilizados seis animais.

7.13.11 Contagem total e diferencial dos leucócitos no lavado articular

Para a determinação do número total de leucócitos, uma alíquota de 20 μ L do lavado articular foi diluída duas vezes em solução de lise de hemácias e a contagem foi realizada com auxílio da câmara de Neubauer. A partir da alíquota remanescente (80 μ L) do lavado articular, foi centrifugado para confeccionar as lâminas da contagem diferencial. As lâminas foram coradas com corante panóptico e a contagem diferencial de neutrófilos foi feita em microscópio óptico em aumento de 100 vezes. Foram contadas 100 células. O tempo de coleta do lavado foi estabelecido em 24 h com base no perfil temporal da resposta no modelo experimental de inflamação articular induzida por zimosano, tanto para os animais tratados com clindamicina ou com **(2)**.

7.13.12 Coleta e preparo das amostras para determinar concentrações de citocinas e quantificação de TNF- α

Para determinar as concentrações das citocinas TNF- α , IL-6 e IL-1 β , foi coletado o tecido periarticular do joelho esquerdo dos camundongos. Os materiais coletados foram estocados a -70 °C até ser analisado. O tecido periarticular foi devidamente homogeneizado (Ultrastirrer, modelo ULTRA 80-II) em solução de extração de citocinas, seguido de centrifugação para utilização do sobrenadante (3000 rpm, 10 min a 4° C).

7.13.13 Quantificação de citocinas in vivo

As concentrações das citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6) foram determinadas de acordo com as instruções do fabricante (R&D Systems). O ensaio foi realizado em placa de microtitulação de 96 poços. O anticorpo de captura foi diluído em PBS e foram adicionados 50 μ L desse anticorpo em cada poço. A placa foi mantida na geladeira (4 °C) durante 12 h. Posteriormente, a placa foi lavada com tampão de lavagem e bloqueada com tampão de bloqueio (BSA 1%). Após o tempo de 1 h, a placa foi novamente lavada e adicionados 50 μ L do TNF- α , IL-6 e IL-1 β (duplicata), em diluição seriada, correspondentes à curva-padrão, nas duas primeiras colunas da placa. Nos outros poços, foram adicionados 50 μ L dos sobrenadantes diluídos (1:3) em BSA 0,1% e nos últimos dois poços, foram adicionados 50 μ L de PBS (branco). A placa foi devidamente vedada e armazenada na geladeira (4 °C) durante 12 h. Em seguida, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μ L do anticorpo de detecção em cada poço e, durante 2 h, a placa foi mantida no agitador para microplaca de ELISA. Após esse período, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μ L do revelador estreptavidina em cada poço e, durante 20 min, a placa foi mantida novamente no agitador. Finalmente, foram adicionados 50 μ L da solução do substrato (OPD) em cada poço. A reação foi monitorada de acordo com o aparecimento de coloração amarelada (5 a 15 min) e foi interrompida com a adição de 25 μ L de H₂SO₄. A leitura foi feita no leitor de ELISA, usando comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram

expressos em quantidade da respectiva citocina presente no tecido (pg/100 mg de tecido).

7.13.14 Quantificação de TNF- α in vitro

Macrófagos murinos (RAW264.7) foram obtidos da American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, EUA). As culturas de células foram mantidas em meio DMEM (Cultilab) suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino a 37 °C em 5% de CO₂. Depois de atingir 70-80% de confluência, as células foram privadas de soro durante a noite e a viabilidade foi determinada usando um ensaio de exclusão de corante azul de tripano. As células foram pré-tratadas com clindamicina (10 μ M) ou DAC (10 μ M) e, após 1 h, estimuladas com zimosano (300 μ g/mL). Após incubação por 5 h, a solução sobrenadante foi coletada para determinar a concentração de TNF- α usando ELISA, de acordo com as instruções do fabricante (R&D Systems, EUA).

7.13.15 Avaliação da atividade antibacteriana: determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos 7a-7d; 8a-8d e 11

Os compostos selecionados foram avaliados contra *Escherichia coli* (ATCC nº 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC nº 25923) e *Salmonella typhimurium* (ATCC nº 13311). A atividade antibacteriana e a concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos rastreados foram avaliadas com o método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços, de acordo com o protocolo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2017).

Inicialmente, os compostos foram dissolvidos em dimetil sulfóxido (DMSO) e depois diluídos em caldo Mueller Hinton (MHB; Oxoid, Thermo Scientific, Reino Unido) até a concentração de 200 μ M. Aqui, 100 μ L das diluições foram adicionados a cada poço, e o mesmo volume de uma suspensão bacteriana contendo 105 UFC/mL, ou seja, 100.000 unidades formadoras de colônia por mililitro, foi adicionado a cada uma das soluções anteriores, resultando em compostos concentrações de 250 μ M. Um controle de viabilidade (somente

suspensão bacteriana), controles de inibição (MHB contendo cinco vezes a MIC da penicilina G para *S. aureus* e estreptomicina para *E. coli*), um controle de esterilidade (somente meio) e um controle de veículo (diluição em série de DMSO) foram incluídos em cada microplaca de ensaio. Após 24 h de incubação a 37 °C, as microplacas foram inspecionadas visualmente quanto à inibição do crescimento bacteriano, e a absorbância a 600 nm de cada poço foi lida usando um espectrofotômetro leitor de microplacas (VersaMax, Molecular Devices, CA, EUA). A percentagem de inibição do crescimento foi calculada como a percentagem de redução do crescimento comparada com o controle do veículo. Os poços sem crescimento bacteriano visual (sem turbidez) foram considerados como ativos e as MIC dos compostos promissores na triagem inicial foram testadas conforme descrito anteriormente, com uma diluição seriada de cada composto (100 a 1,56 µM). Todas as condições foram testadas em triplicado a partir de pelo menos dois ensaios independentes.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.: JANEWAY, C. A. JR. Immunology: Improving on Nature in the Twenty-First Century. **Cell**. v. 100, n. 1, p. 129-138, 2000.

AGUIAR, D. P., *et.al.* Prevalence of chronic pain in Brazil: **systematic review Br JP**. jul-set. v. 4, n. 3, p. 257-267, 2001.

AKHMEROV, A.: PARIMON, T.: Extracellular vesicles, inflammation, and cardiovascular disease. **Cells**. v. 11, n. 2229, p. 1-13, 2022.

ANDERSON, D. M. W. E STEFANI, A. The degradation of acid polysaccharides during structural analysis involving permethylation. **Analytica Chimica Acta** v. 105, n. 1, p. 147-152, 1979.

ANDRADE, F. A.; PEREIRA, L. V.; SOUSA, F. A. E. F. Mensuração da dor no idoso: uma revisão. **Revista Latino Americana de Enfermagem**. v. 14, p. 271-276, 2006.

ARNARP, J. *et al.* Methylation of carbohydrates with methyl trifluoromethanesulfonate. **Carbohydrate Research**. v. 44, n. 1 p. C5-C7, 2975.

ASHBURN T.T.; THOR K.B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**. n. 3, p. 673-683, 2004.

AURELIO, L., *et al.* An Efficient Synthesis of N-Methyl Amino Acids by Way of Intermediate 5-Oxazolidinones. **The Journal of Organic Chemistry**. v. 68, n. 7, p. 2652-2667, 2003.

BASBAUM, A. I.; WOOLF, C. J. Pain. **Current Biology**. v. 9, n. 12, p. 29-31, 1999.

BASTOS, L. F. S.; COELHO, M. M. Drug repositioning: playing dirty to kill pain. **CNS Drugs**, v. 28, p. 45-61, 2014

BEALE, T. M.; TAYLOR, M. S. Synthesis of cardiac glycoside analogs by catalyst-controlled, regioselective glycosylation of digitoxin. **Org Lett**. v. 15, n. 6, p. 1358-1361, 2013.

BECCALLI E. M. *et al.* Intramolecular Pd(II)-Catalyzed Cyclization of Propargylamides: Straightforward Synthesis of 5-Oxazolecarbaldehydes. **The Journal of Organic Chemistry**. v. 73, n. 12, p. 4746-4749, 2008.

BECKE, A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. **Journal of Chemical Physics**. v. 98, p. 5648-5652, 1993

BIRKENMEYER, R. D., *et al.* Synthesis and Antimicrobial Activity of Clindamycin Analogues: pirlimycin, 1,2 a Potent Antibacterial Agent. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 27, p. 216-223, 1984

BISCHOFF, R.; SCHLÜTER, H.; Amino acids: Chemistry, functionality and selected non-enzymatic post-translational modifications. **Journal of Proteomics**. v. 75, n. 18, p. 2275-2296, 2012.

BISWAS, A.; SHOGREN, R. L.; WILLETT, J. L. Solvent-free process to esterify polysaccharides. **Biomacromolecules**. v. 6, n. 1, p. 1843-1845, 2005

BOCK, V. D.; HIEMSTRA, H.; MAARSEVEEN, J. H. Cu^I-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. **European Journal of Organic Chemistry**. n. 1, p. 51-68, 2006.

BOURGEOIS, F. *et al.* Catalyst Repurposing Sequential Catalysis by Harnessing Regenerated Prolinamide Organocatalysts as Transfer Hydrogenation Ligands. **Organic Letters**. v. 22, n. 1, p. 110–115, 2020

BRUN-BUISSON, C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. **Intensive Care Medicine**. v. 26 p. 64-74, 2000.

BURMA, N. E.; LEDUC-PESSAH, H.; FAN, C. Y.; TRANG, T. Animal models of chronic pain: advances and challenges for clinical translation. **Journal of Neuroscience Research**. v. 95 n. 6, p.1242-1256, 2017.

BURTON, A. R.; FAZALBHOY, A.; MACEFIELD, V. G. Sympathetic responses to noxious stimulation of muscle and skin. **Frontiers in Neurology**. v. 07, n.1 p. 109, 2016.

CARDOZO, herbert martins. **Síntese de derivados de carboidratos fundamentada nos preceitos da química verde**. Rio Grande do Sul: UFRS, 2016. Dissertação Mestrado - Programa de pós-graduação em química 2016.

CAREY, F. A. Química Orgânica. v.2. Tradução de KÁTIA, A. R.; JANE, M. M. e TELMA, R. 7.ed, Porto Alegre, 2011. P. 592.

CHOI, D.; CHO, K.. Effect of carbon source consumption rate on lincomycin production from *Streptomyces lincolnensis*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.14, p. 532-539, 2004

CHONG, C. R. e SULLIVAN, D. J. New uses for old drugs. **Nature**. v. 448, p. 645-646, 2007.

CHRISTIANSEN, M.; GROVE, E.L.; HVAS, A. M. Contemporary Clinical Use of Aspirin: Mechanisms of Action, Current Concepts, Unresolved Questions, and Future Perspectives. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**. v. 47, n. 7, p. 800-814, 2021.

CHRISTO, P. J.; MAZLOOMDOOST, D. Cancer pain and analgesia. **Annals of the New York Academy of Science**. v. 1138, n. 1, p. 278-298, 2008.

CIRINO, G. Multiple controls in inflammation: extracellular and intracellular phospholipase A2 inducible and constitutive cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase. **Biochemical Pharmacology**. v. 55, p. 105-111, 1999.

CIUCANU, I e KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research** v. 131. n.2, p. 209-217, 1984.

CIUCANU, I e COSTELLO, C. E. Elimination of oxidative degradation during the per-O-methylation of carbohydrates. **Journal of the American Chemical Society**. v. 125. n.1, p. 16213-16219, 2003.

CLARKE, T. B.; GILLESPIE, B. H.; WEISSHAUS, S. Z. The action of formaldehyde on amines and amino acids. **Departamento de Química Biológica, Universidade de Columbia**. v. 55, p. 4571-4587, 1933.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N. J.; WARREN, S.; Organic chemistry. 2nd Ed. Oxford: **Oxford University Press**, 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. **CLSI document M07-A9**. Wayne, PA, 2017.

COELHO A.S.R. Fármacos e Quiralidade, **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. n. 3, 2001.

COLLINS, P; FERRIER, R. **Monossaccharides**: Their chemistry and their roles in natural products. Chichester: John Wiley & Sons, 1995.

COLLOCA, L. *et al.* Neurophatic pain. Nature Reviews. **Disease Primers - Journals**. v. 3, 2017.

COLUZZI, F. *et al.* Orientação para boa prática clínica para opioides no tratamento da dor: os três “Ts” --- titulação (teste), ajustes (individualização), transição (redução gradual) a. **Brazilian Journal of Anesthesiology**. v. 66, n. 3, p. 310-317, 2016

COX, F. Basic principles of pain management: assessment and intervention. **Nursing Standard**. v. 25, p. 36-39, 2010.

CROASMUN, W. R.; CARLSON, R. M. K.; Eds; Two Dimensional NMR Spectroscopy; **VCH**. New York, 1994.

CUCCHIARINI, M. *et al.* Basic science of osteoarthritis. **Journal of Experimental Orthopaedics**. v. 03, p. 01-18, 2016.

DINARELLO, C. A. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonist. **Blood**. v. 77, n. 8, p. 1627-52, 1991.

FAN, X. *et al.* Evodiamine Inhibits Zymosan-Induced Inflammation *In Vitro* and *In Vivo*: Inactivation of NF- κ B by Inhibiting I κ B α Phosphorylation. **Inflammation**. v. 03, p. 1012-1027, 2017.

FARACO, A. G, *et al.* Síntese de amino e tio açúcares: ligantes para obtenção de complexos com potencial atividade biológica. **Revista Brasileira de Farmacêuticas**. v. 77, n. 1, p. 2-4, 1996.

FITZPATRICK, F. W.; DICARLO, F. J. Zymosan. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 118, p. 235-261, 1964.

GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**. n. 22, p. 978-980, 1979.

GASKIN, D. J. e RICHARD, P. The Economic Costs of Pain in the United States. **Journal of the Pain**. v.13, p. 715–724, 2012

GOFFIC, F. L. Structure activity relationships in lincosamide and streptogramin antibiotics. **Goffic Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.16, Suppl. A, p. 13-21. 1985

GOLIA, E.: LIMONGELLI, G.: NATALE, F.: FIMIANI, F.: MADDALONI, V.: PARIGGIANO, I: Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. **Current Atherosclerosis Reports**. v. 16, n. 9. p.1-7 – 435, 2014.

GOMES-LEAL, W. **Inflamação Aguda, Resposta Glial e Degeneração Axonal em um Modelo de Excitotoxicidade na Medula Espinhal**. Pará: Universidade Federal do Pará, 2002, 197 p. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Área de concentração em Neurociências Belém, 2002.

GÖRANSSON, K. E.; HEILBORN, U.; DJÄRV, T. Patients' perspectives on the insufficiency of scales to rate their pain in the ED. **The American Journal of Emergency Medicine**. v. 34, p. 2246-2247, 2016.

GREENSPAN, J. D. *et al.* Central pain States. In Fishman SM, Ballantyne, J. C. Cap. 28. **Management of Pain**. v. 4, n.1, p. 357-374, 2010.

GUERREIRO, A. T. *et al.* The role of PAF/PAFR signaling in zymosaninduced articular inflammatory hyperalgesia. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**. v. 386, p. 51-59, 2013.

HU, Y. *et al.* An antinociceptive role for ceftriaxone in chronic neuropathic pain in rats. **Pain** v. 148, p. 284–301, 2010.

IASP. Global year against neuropathic pain. 2015; Available at: [http:// www.iasp-pain.org/GlobalYear/NeuropathicPain?navItemNumber=5580](http://www.iasp-pain.org/GlobalYear/NeuropathicPain?navItemNumber=5580). Acessado em: 18 dezembro, 2022

INOUE S. *et al.* Chronic pain in the Japanese community-prevalence, characteristics and impact on quality of life. **Plos One**. v.10, n. 6; p. 1-14, 2015.

JACKSON T. *et al.* Prevalence and correlates of chronic pain in a random population study of adults in Hongqing, China. **The Clinical Journal of Pain**. v. 30, n. 4, p. 346-52, 2014

JARDIM, Rodrigo. **Estudo de reposicionamento de fármacos para doenças negligenciadas causadas por protozoários através da integração de bases de dados biológicas usando Web Semântica**. Belo Horizonte: Instituto Oswaldo Cruz, 2013. 176 p. Tese (Doutorado). Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2013.

JENSEN T.S. *et al.* A new definition of neuropathic pain. **Pain**. v. 152 n.10, p. 2204-2205, 2011.

JOHANNES C. B. The Prevalence of chronic pain in United States adults: results of an internet-based survey. **The Journal of Pain**. v.11, p. 1230-1239, 2010.

KARTHA, K.P.R.; FIELD, R. A. Iodine: A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-*O*-acetylation, regioselective acylation and acetolysis. **Tetrahedron**. v. 53, n. 34, p. 11753-11766, 1997.

KAUPP, M. *et al.* How do spin-orbit-induced heavy-atom effects on NMR chemical shifts function? Validation of a simple analogy to spin-spin coupling by Density Functional Theory (DFT) Calculations on some iodo compounds. **Chemistry - A European Journal**. v. 4, n. 1, p. 118-126, 1998.

KAWASHIMA, E. *et al.* Synthesis and Evaluation of Oligonucleotide-Conjugated Pyrrole Polyamide-2'-Deoxyguanosine Hybrids as Novel Gene Expression Control Compounds. **Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids**. v. 30, n. 11, p. 850-872, 2011.

KISHI, K. *et al.* Clindamicyn suppresses endotoxin released by ceftazidime-treated *Escherichia coli* 055:B5 and subsequent production of tumor necrosis factor alpha and interleukin- β . **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. n. 43, p. 616-622, 1999.

KHOVIDHUNKIT, W. *et al.* Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **Journal of Lipid Research**. v. 45, n. 7 p. 1169-1196, 2004.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Pathophysiology of pain. **Archives of Veterinary Science**. v. 13, p.01-12, 2008.

KROENKE, K.; PRICE, R.K. Symptoms in the community: prevalence, classification, and psychiatric comorbidity. **Arch Intern Med.** v. 153, p. 2474-2480, 1993

KUMAR, R. *et al.* The dynamics of acute inflammation. **Journal of Theoretical Biology.** v. 230, n. 2, p.145-55, 2004.

KURIYAMA, T.; KARASAWA, T.; WILLIAMS, D. W. Antimicrobial Chemotherapy: Significance to Healthcare. In: PERCIVAL, S. L.; WILLIAMS, D. W.; COOPER, T. (ed) Biofilms in infection, prevention and control - **A healthcare handbook, 1 st edn. Academic Press, Amsterdam.** p. 224, 2014.

LANGEDIJK, J. *et al.* Drug repositioning and repurposing: terminology and definitions in literature. **Drug Discov. Today.** v. 20, n. 8, p.1027-1034, 2015.

LANIGAN, R. M. *et al.* Direct Amidation of Unprotected Amino Acids using B(OCH₂CF₃)₃. **Royal Society of Chemistry.** v. 52, p. 8846-8849, 2016.

LAORUENGTHANA, A. *et al.* Perioperative Outcomes of Patients Who Were Not Candidates for Additional Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs in a Multimodal Pain Control Regimen for Total Knee Arthroplasty. **Clinics in Orthopedic Suregy.** v. 13, p. 160–167, 2021

LAYER, R. The Chemistry of Imines. **Chemicals. Reviews.** v. 63, p. 489-510, 963

LUNDBERG, P.; HAWKER, C. J.; HULT, A.; MALKOCH, M. Click assisted anepot-step reactions in polymer science: accelerated synthetic protocols **Macromolecular Rapid Communications.** v. 29, p. 998-1015, 2008

MACINTYRE, P. E. & SCHUG, S. A. Acute Pain Management: A Practical Guide. Third edition. **Saunders Elsevier, Edinburgh – Digital Librarian on Journal.** v.13, n.1, 2007.

MAGERLEIN, B. J. Modifications of lincomycin in structure activity relationships among the semisynthetic antibiotics (**Perlman, D., Ed.**). **Academic Press, London and Orlando,** 1977.

MAHAJAN, D. P. *et al.* Synthesis of novel phase transfer catalysts derived from proline-mandelic acid/tartaric acid: their evaluation in enantioselective epoxidation and Darzen condensation. **Journal of Chemical Sciences.** v. 131, n. 22, p-1-11, 2019

MAJERCÍKOVÁ, K. *et al.* The glucose effect on lincomycin production by streptomycetes lincolnensis var. lincomycicola DMS 40 355 on synthetic media. **Journal of microbiology, biotechnology and food sciences.** v. 4, n. 4, p. 306-309, 2015

MAKOZA, M.; FEDORYNSKI, M. Interfacial Processes – The key step of phase transfer catalyzed reactions. **Catalysts.** v. 10, n. 1436, p. 1-15, 2020.

MANFRINI, R. M *et al.* Síntese β -*N*-acetilglicosaminídeos de arila modificados em C-6 como potenciais agentes antimicrobianos. **Química Nova**. v. 31, n. 2, p. 326-329, 2008

MANTYSELKA, *et al.* Chronic pain and poor self-rated health. **JAMA**. v. 90, p. 2435-2442, 2003.

MORIMOTO, H. *et al.* Lanthanum(III) Triflate Catalyzed Direct Amidation of Esters. **Organic Letters**. v. 16, n. 7, p. 2018-2021, 2014.

MORRIS, J. L. *et al.* The CNS theory of osteoarthritis: Opportunities beyond the joint. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. S0049- 0172, p. 30012-30015, 2019.

NISHIMURA, Y.; HARA, H. Editorial: Drug Repositioning: Current Advances and Future Perspectives. **frontiers in pharmacology**, v. 9, 2018.

NORIO, H. *et al.* Pretreatment of Mice with Clindamycin Improves Survival of Endotoxic Shock by Modulating the Release of Inflammatory Cytokines. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 09, p. 2638–2642, 2001.

NOSENGO, N. Can you teach old drugs new tricks? **Nature**. v. 534, p. 314-316, 2016

NUSSBAUM V. F. *et al.* Antibacterial natural products in medicinal chemistry--exodus or revival? **Angewandte Chemie International Edition**. v. 45, n. 32, p. 5072-5129, 2006.,

OLIVEIRA JÚNIOR, J. O.; JUNIOR, C. S. A. P.; COHEN, C. P. Inflammatory mediators of neuropathic pain. **Revista Dor São Paulo**. v. 17. p. 35-42, 2016

OLIVEIRA, R. B. Síntese de 2,6-bis[(4-acetoximetil-3-nitrobenzoi)amino]-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila, potencial agente antineoplásico, a partir da D-glicosamina. Belo Horizonte: UFMG, 1998. 196 p Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas, Faculdade de farmácia, Universidade Federal de Minas gerais, Belo Horizonte, 1998.

PAMMOLLI, F.; MAGAZZINI, L.; RICCABONI, M. A. A crise da produtividade em P&D farmacêutica . **Nature Reviews Drug Discovery**. v. 10, p. 428-438, 2011

PARASCHIV-IONESCU, A. *et al.* Quantifying dimensions of physical behavior in chronic pain conditions. **Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation**, v. 13, p. 01-10, 2016.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. 3rd edition. Toronto: Nelson Thomson Learning, 2001.

PEDROSA, R. *et al.* Novel sulfonylpolystyrene-supported prolinamides as catalysts for enantioselective aldol reaction in water. **Tetrahedron**. v. 69, p. 10811-10819, 2013.

PIAZ, F. D. *et al.* Intramolecular interchain reactions in bidesmosidic glycosides, a new insight into carbohydrate rearrangements induced by electrospray ionisation. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**. v. 21 n. 1, p. 286-296, 2007.

PIRES, A. F. **Atividade antinociceptiva de uma lectina de sementes de *Canavalia brasiliensis* MART.** Dissertacao (Mestrado Academico em Ciencias Fisiologicas) – Universidade Estadual do Ceara - UECE, 2007.

PURDIE T. F. R. S. & IRVINE, J. C. The alkylation of sugars. **Journal of the Chemical Society, Transactions**. v. 83, p. 1021-1037, 1903.

RAO, P. S.; REDDY, P. P.; SEHADRI, T. R. Methylation of hydroxy flavonols using methyl iodide and potassium carbonate. **Springer**. Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section A, v. 12, n. 6, p. 495-497, 1940.

RAHMATI, M.; MOBASHERI, A.; MOZAFARI, M. Inflammatory mediators in osteoarthritis: A critical review of the state-of-the art, current prospects, and future challenges. **Bone**. v. 86, p. 81-90, 2016.

RISSER, A. *et al.* NSAID Prescribing Precautions. **AFP**, v. 80, p. 1371–1378, 2009

RODRIGUES, F. F. **Clindamicina inibe a resposta nociceptiva em modelos de dores aguda e crônica por meio de ativação de mecanismos opioidérgicos e serotoninérgicos.** Belo Horizonte: UFMG, 2017. 108 p Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas, Faculdade de farmácia, Universidade Federal de Minas gerais, Belo Horizonte, 2013.

RODRIGUES, F. F. *et al.* Clindamycin inhibits nociceptive response by reducing tumor necrosis factor- α and CXCL-1 production and activating opioidergic mechanisms. **Inflammopharmacology**. v. 28, n. 2, p. 551-561, 2020

RODRIGUES, F.F. **Atividades da clindamicina e de um análogo acetilado em modelos experimentais de inflamação articular.** Belo Horizonte: UFMG, 2021. 108 p Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas, Faculdade de farmácia, Universidade Federal de Minas gerais, Belo Horizonte, 2021.

ROSTOVTSEV, V. V. *et al.*, Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective Ligation of Azides and Terminal Alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 41, n. 14, p. 2596-2599, 2002

SALLUM, A. M. C.; GARCIA, D. M.; SANCHES, M. Dor aguda e crônica: revisão narrativa da literatura. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 25, p. 150-154, 2012.

SANDERS, J. K. M.; CONSTABLE, E. C.; HUNTER, B. K.; Modern NMR Spectroscopy, **Oxford, New York**, 1989.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds.**, 7th edition. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

SMITH, B. H. *et al.* The impact of chronic pain in the community. **Family Practice.** v. 18, n.3. p. 1292-299, 2001

SPIZEK, J. e REZANKA. T. ALincosamides: Chemical Structure, Biosynthesis, Mechanism of Action, Resistance, and Applications. **Advances in Applied Microbiology.** v. 56, p. 121-154, 2004

STARKS, C. M. Phase-Transfer Catalysis. I. Heterogeneous Reactions Involving Anion Transfer by Quaternary Ammonium and Phosphonium Salts. **Journal of the American Chemical Society.** v. 93, n.1, p. 195-199, 1971.

STEPHENS, P. J. *et al.* Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry.** v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 1994.

STICK, R. V. Carbohydrates: The Sweet Molecules of Life. Academic Press. Ed. 1. p. 256, 2001

SVENSSON, S. Degradation of polysaccharides by oxidation and β -elimination. **Methods in Enzymology.** v. 50, n. 1, p. 33-38, 1978.

TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. Toll-like receptors; their physiological role and signal transduction system. **International Immunopharmacology.** v. 01, p. 625-635, 2001.

TANDER, B. *et al.* comparative evaluation of health related quality of life and depression in patients with fibromyalgia syndrome and rheumatoid arthritis. **Rheumatology International.** v. 28, n. 9, p. 551-556, 2008

TORNOE, C. W; CHRISTENSEN, C; MELDAL, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]triazoles by regioespecific copper(I) – catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. **The Journal of Organic Chemistry.** v. 67, n. 9, p. 3057-3064, 2002.

TRAN, D. N. *et al.* Using click chemistry to access mono- and ditopic b-cyclodextrin hosts substituted by chiral amino acids. **Carbohydrate Research.** v. 346, p. 120-128, 2011.

VERHAAK P. F. M. Patients with a psychiatric disorder in general practice: determinants of general practitioners' psychological diagnosis. **General Hospital Psychiatry.** v. 28, n. 2, p.125-132, 2006.

VOLMAN, T. J.; HENDRIKS, T.; GORIS, R. J. Zymosan-induced generalized inflammation: experimental studies into mechanisms leading to multiple organ dysfunction syndrome. **Shock**. v. 23, p. 291-297, 2005.

WAN GHAZALI, W.S. *et al.* Older Age and Diclofenac Are Associated with Increased Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding in Gout Patients. **PeerJ**. v. 9, p. 1-12. 2021.

WATSON J.C. SANDRONI P. Central neuropathic pain syndromes. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 91, n. 3, p. 372385, 2016.

WILLI, A. V., ROBERTSON, R. E. Hydrolysis of Benzalaniline. **Canadian Journal of Chemistry**. v. 31, n. 4, p. 361-376, 19543.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: **First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care**. Geneva:WHO. p. 270, 2009.

WORRELL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V.V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. **Science**. v. 340, n. 6131, p. 457-460, 2013.

YE, Q.; LAW, R. e GU, B. The impact of online user reviews on hotel room sales International. **Journal of Hospital Management and Health Police**. v. 28, p. 180–182, 2009.

YORK, W. S. *et al.* Oxidation of oligoglycosyl alditols during methylation catalyzed by sodium hydroxide and iodomethane in methyl sulfoxide. **Carbohydrate Research**. v. 208, n.1, p.175-182, 1990

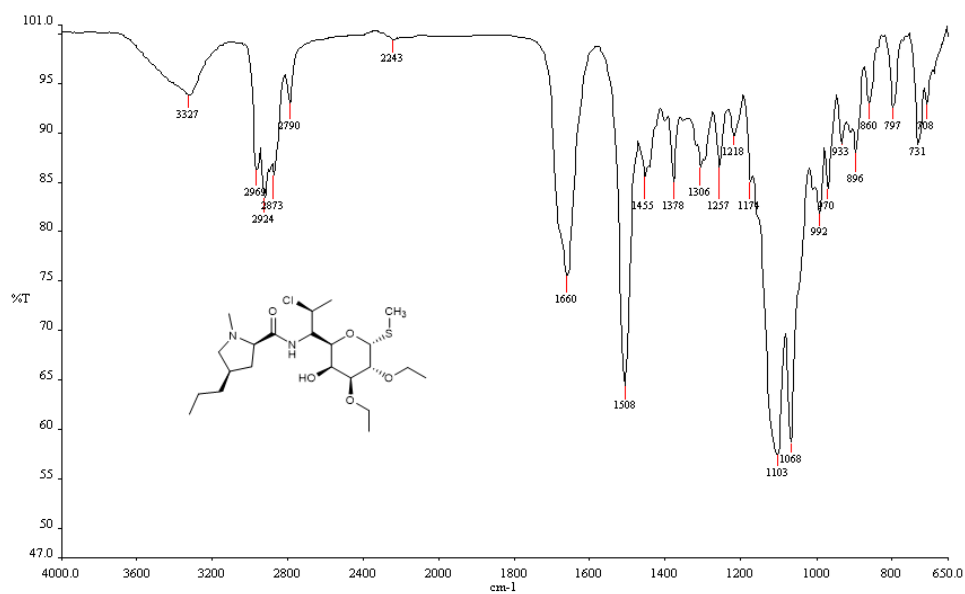
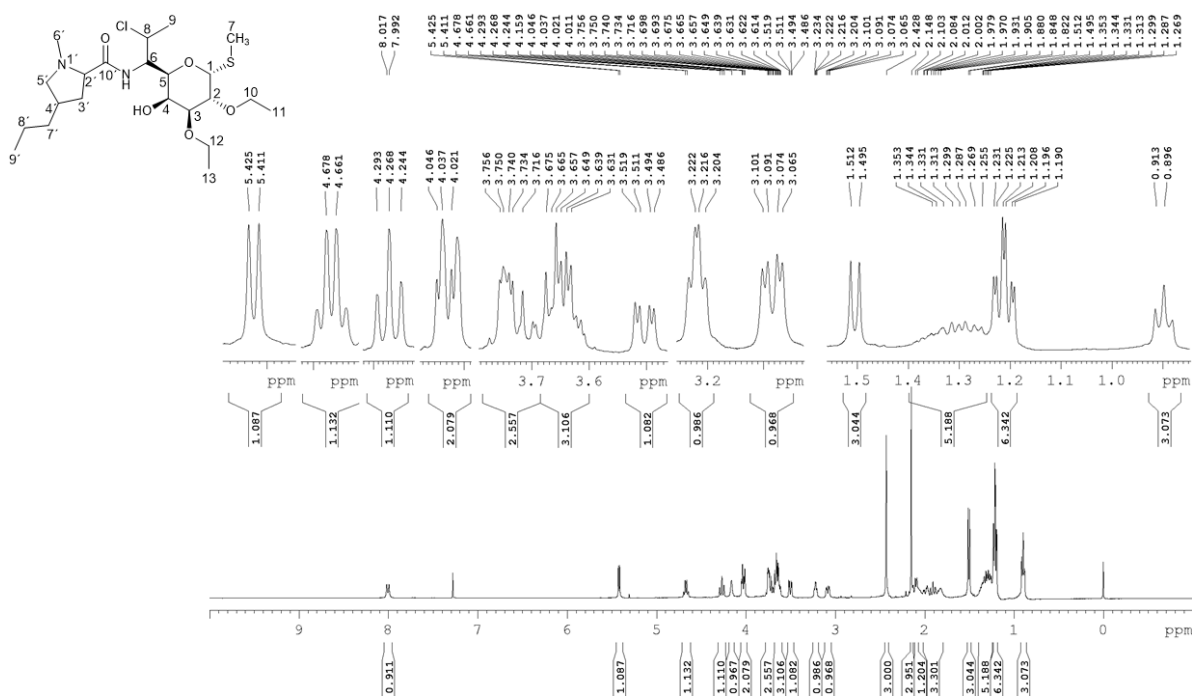
YU. D. *et al.*, Synthesis and Biological Activity of Novel Deoxynojirimycin Derivatives as Potent α -Glucosidase Inhibitors. Z. **Naturforsch.**, v. 68b, n.1 p. 383–390, 2013.

ZAREI S. *et al.* Chronic pain and its determinants: a population-based study in southern Iran. **The Korean Journal of Pain**. v. 25, n. 4, p. 245-253, 2012

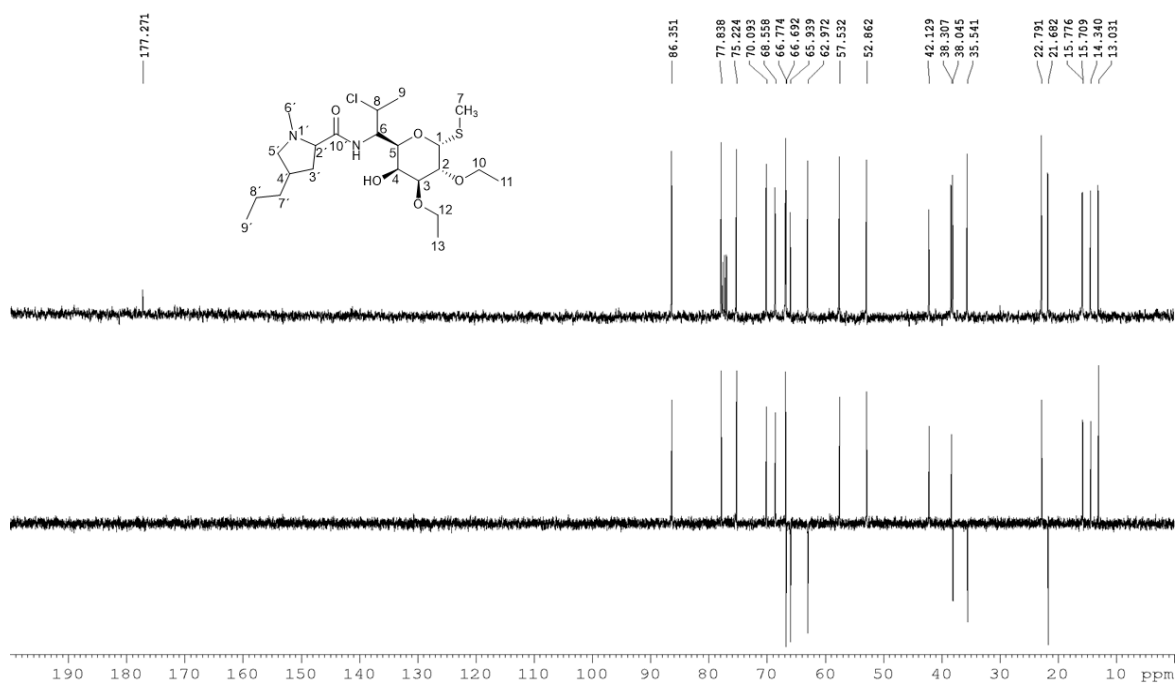
APÊNDICE

APÊNDICE A: ESPECTROS NO INFRAVERMELHO E DE RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR E DE MASSAS

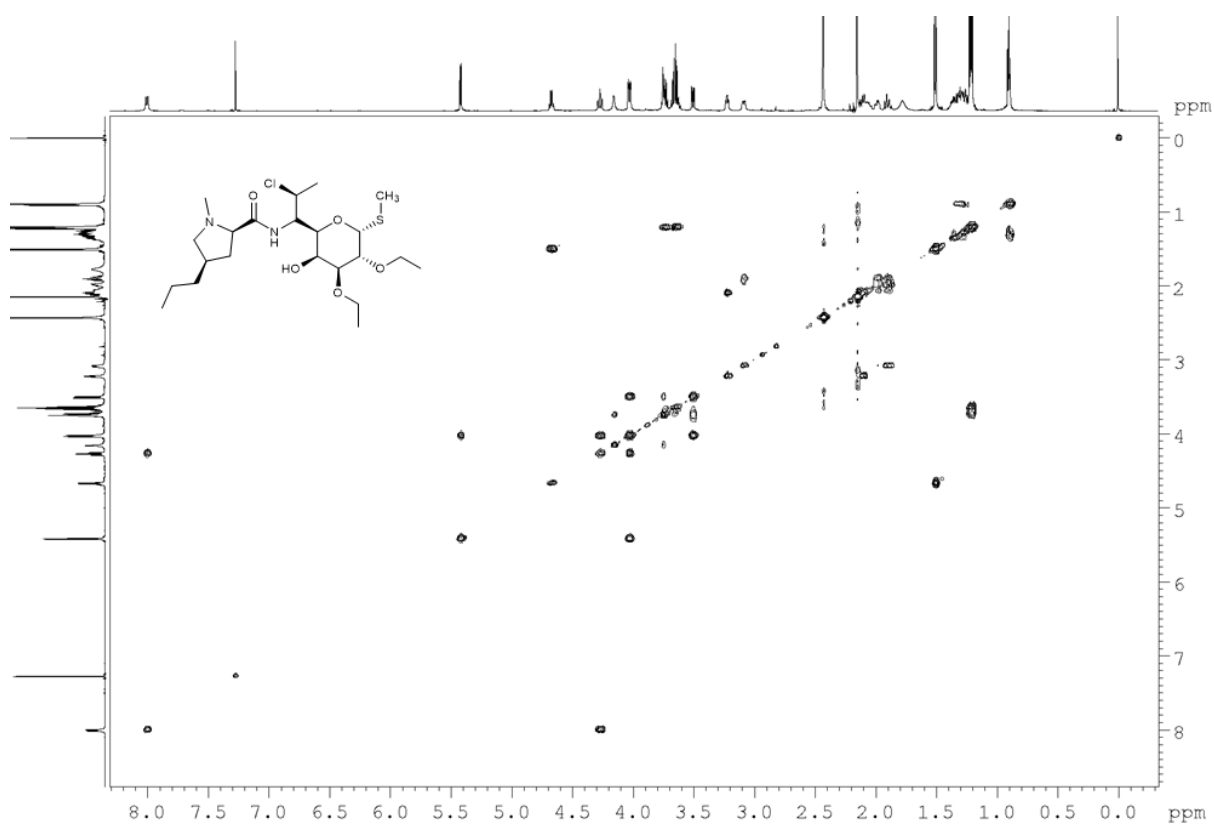
A 1 - Espectro no infravermelho de 1a

A 2 - Espectro de RMN de ¹H de 1a (400 MHz, CDCl₃)

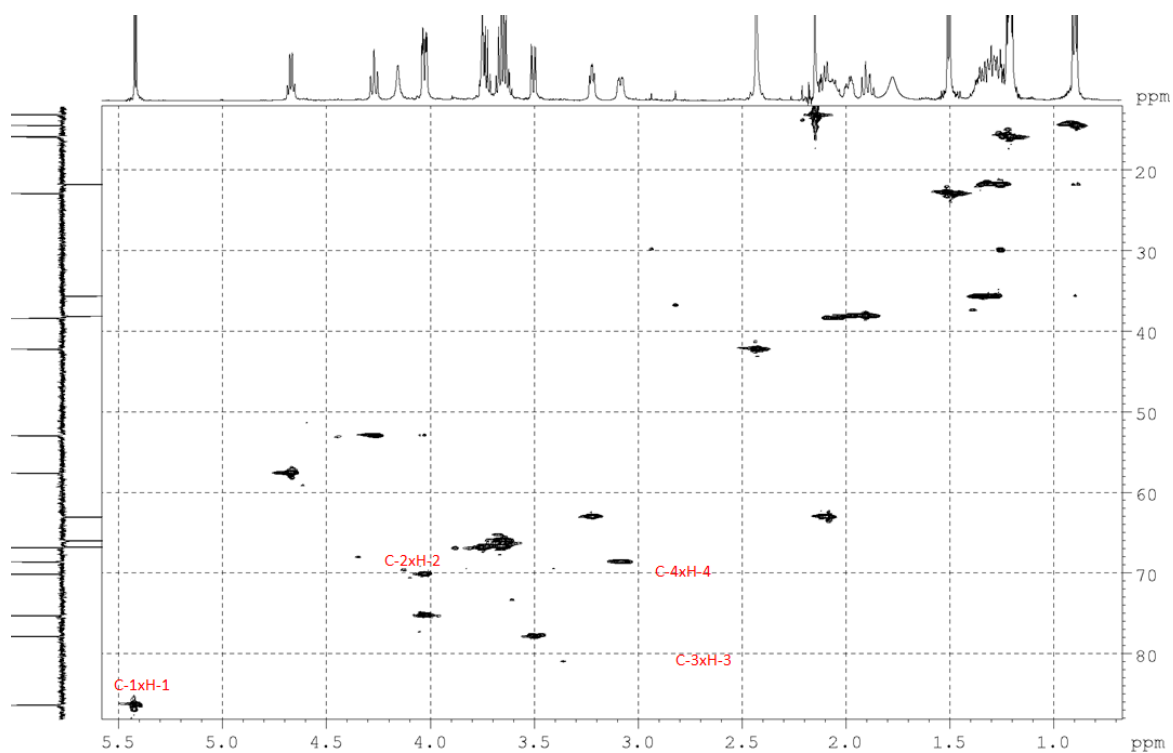
A 3 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 1a (100 MHz, CDCl_3)



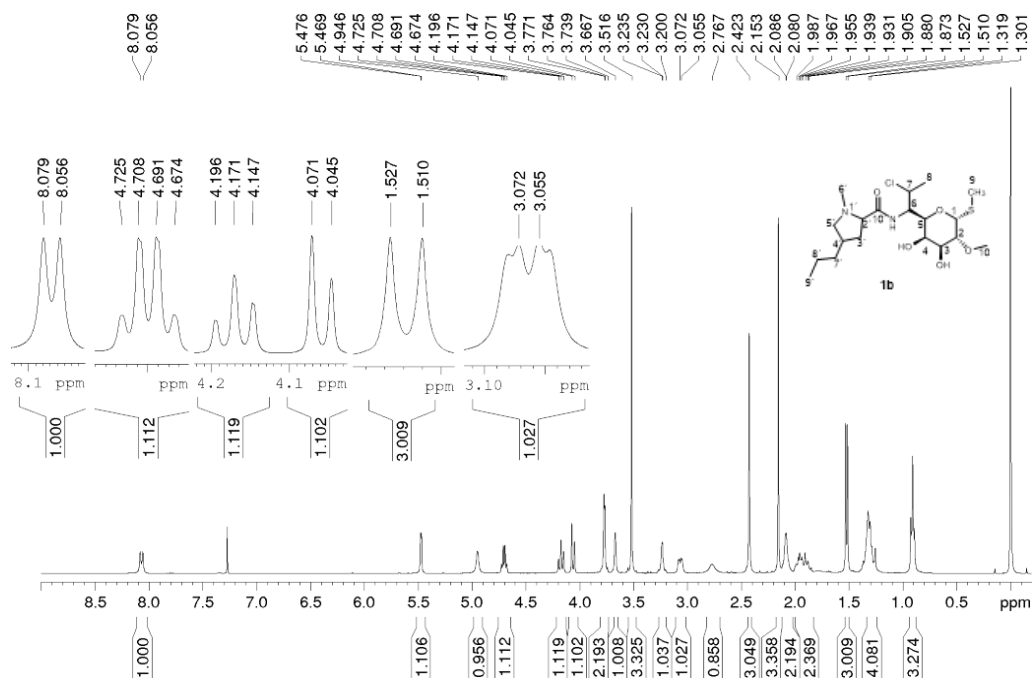
A 4 - Mapa de contornos COSY de 1a (400 MHz, CDCl_3)



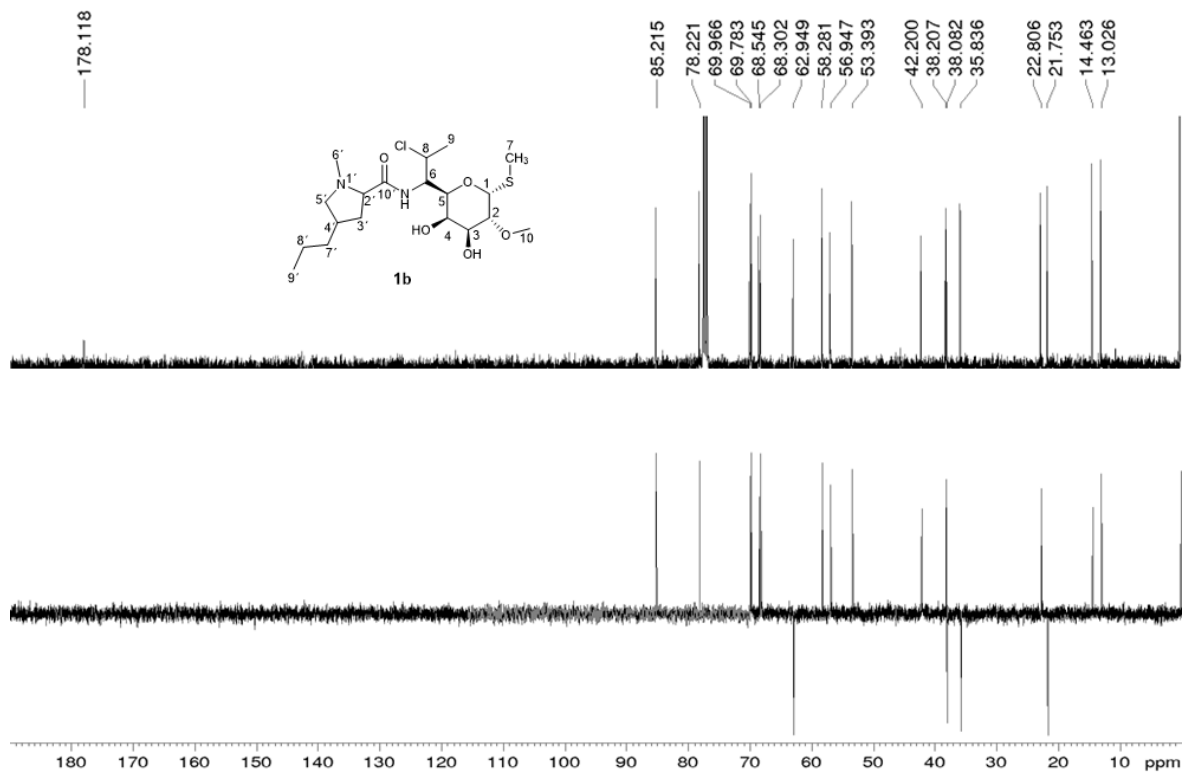
A 5 - Mapa de contornos HSQC de 1a (400 MHz, CDCl₃)



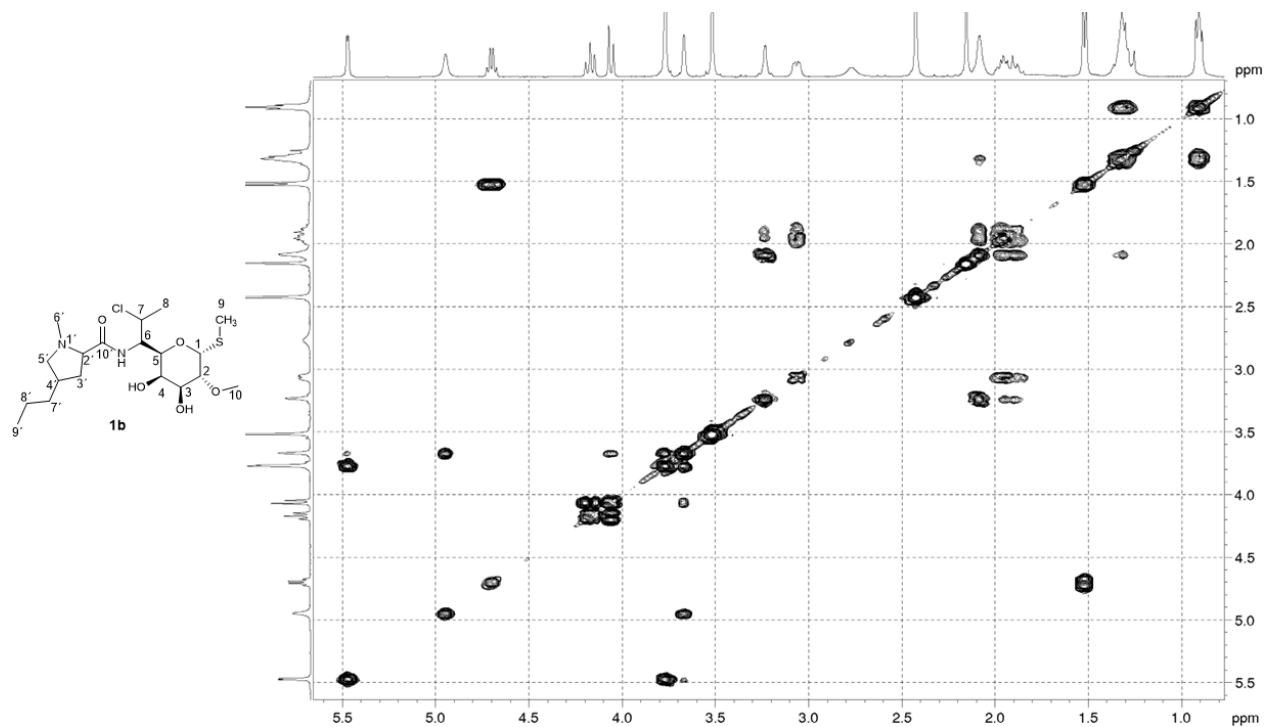
A 6 - Espectro de RMN de ¹H de 1b (400 MHz, CDCl₃)



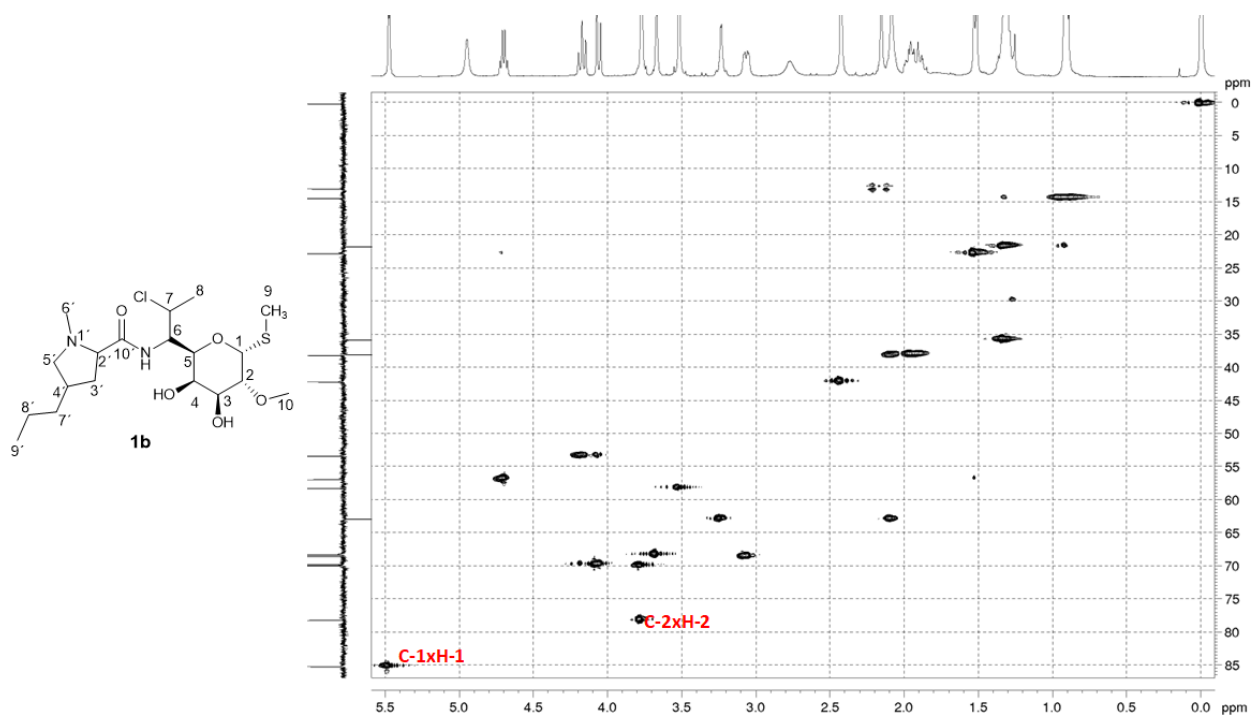
A 7 - Espectro de RMN de ^{13}C de 1b (100 MHz, CDCl_3)



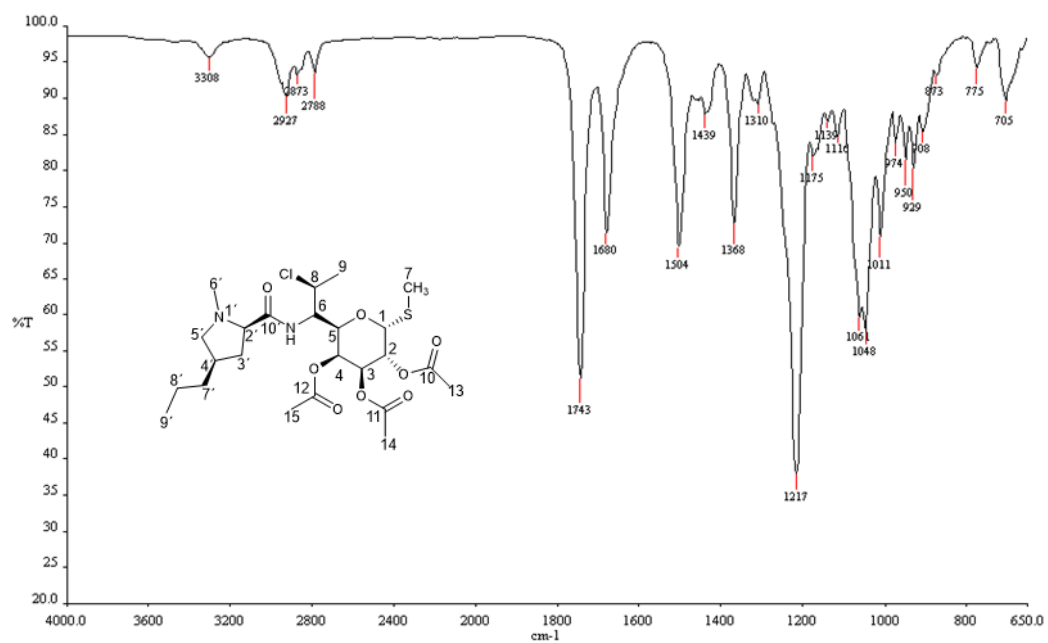
A 8 - Mapa de contornos COSY de 1b (400 MHz, CDCl_3)



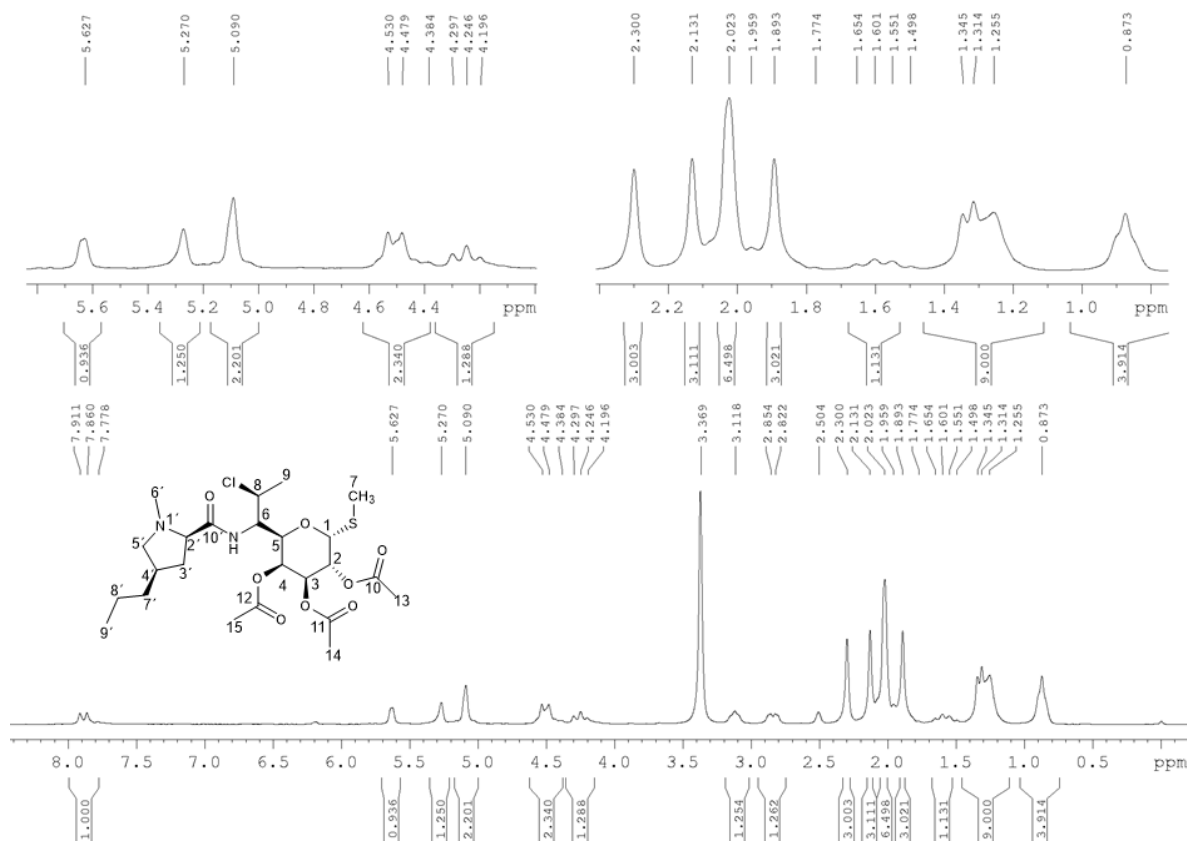
A 9 - Mapa de contornos HSQC de 1b (400 MHz, CDCl₃)



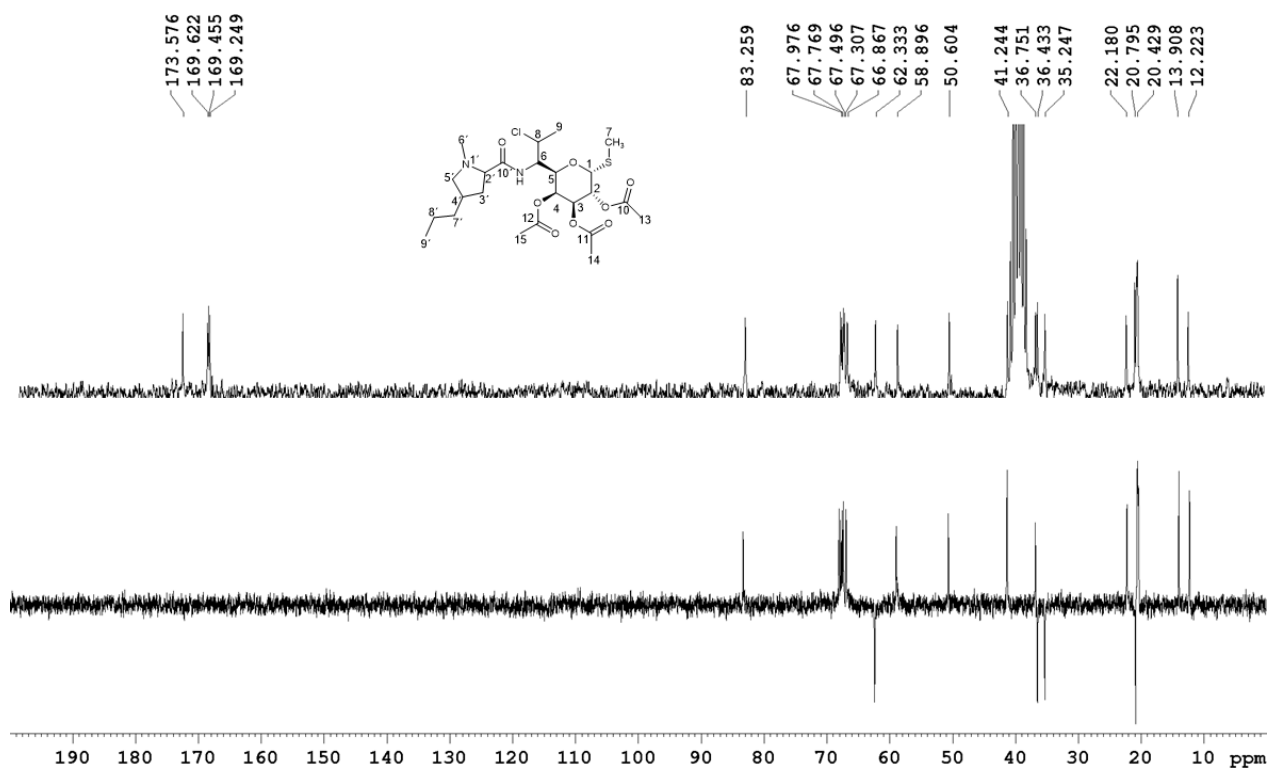
A 10 - Espectro no infravermelho de 2



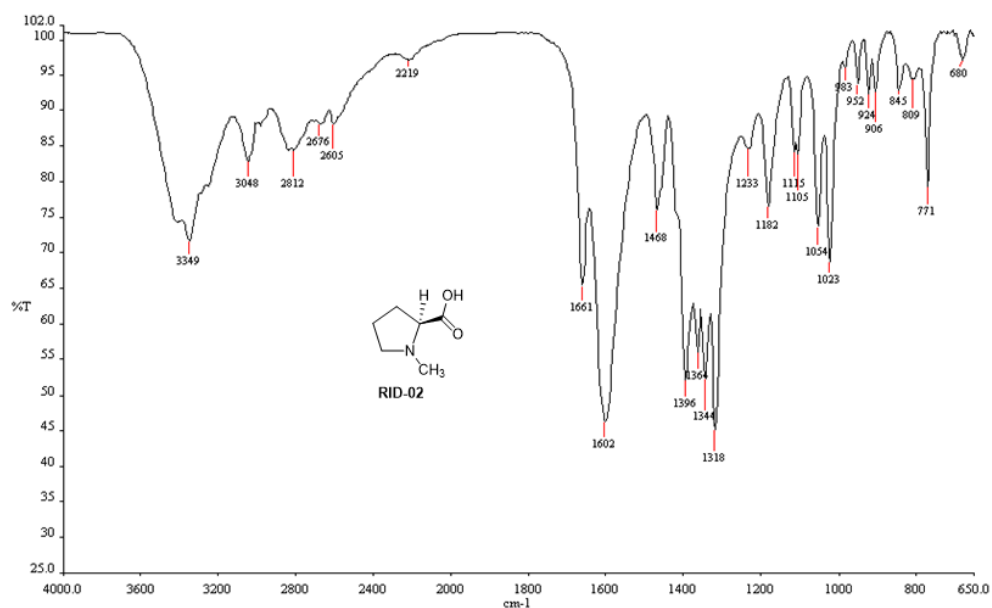
A 11 - Espectro de RMN de ^1H de 2 (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



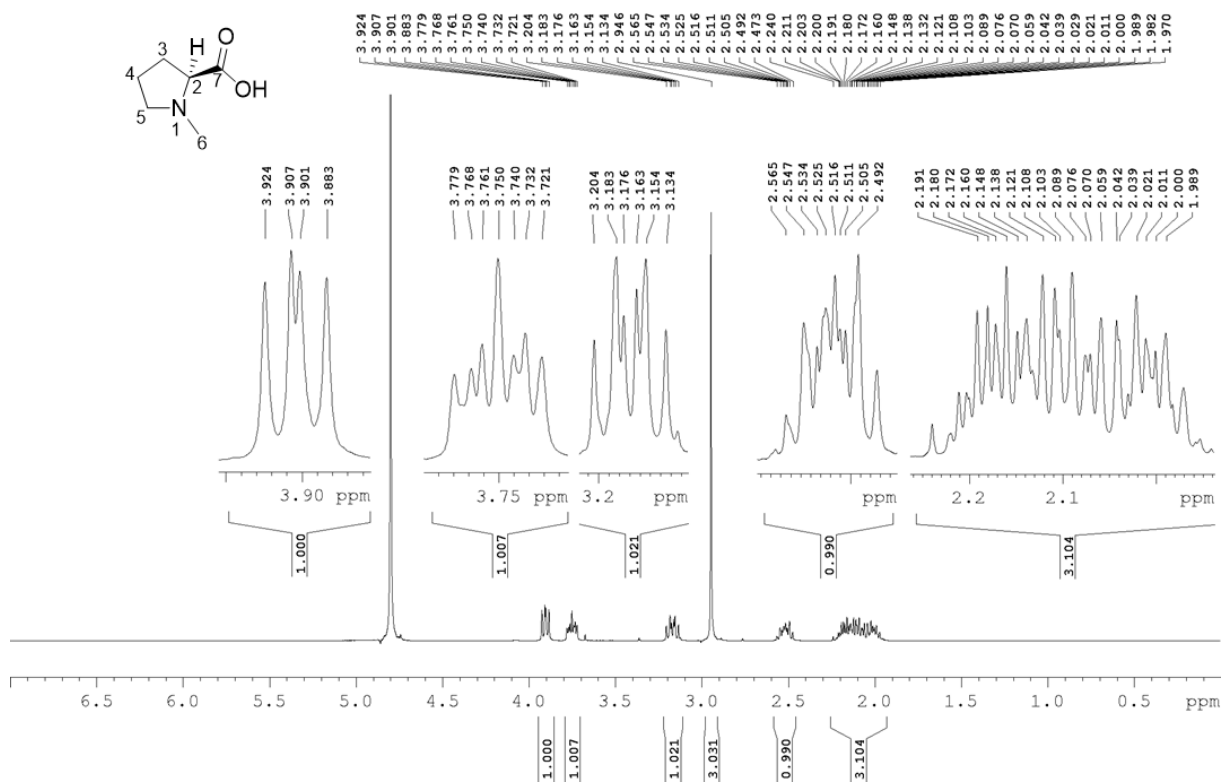
A 12 - Espectro de RMN de ^{13}C de 2 (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



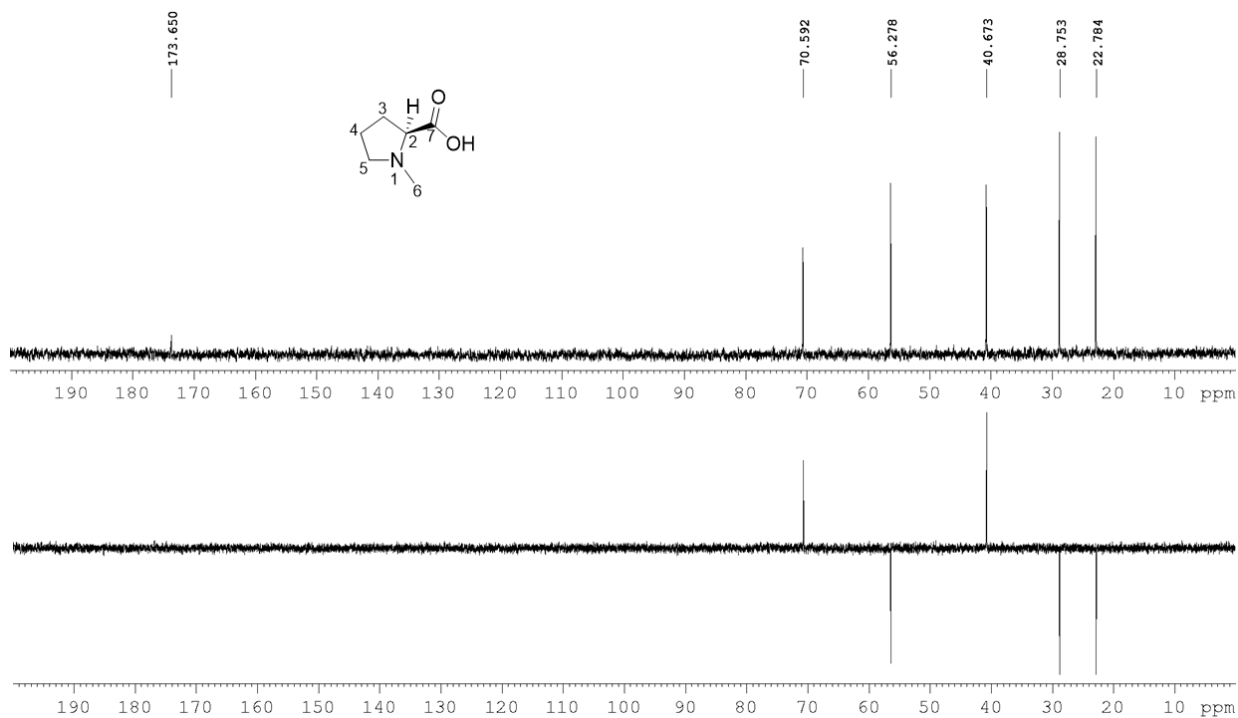
A 13 - Espectro no infravermelho de 3



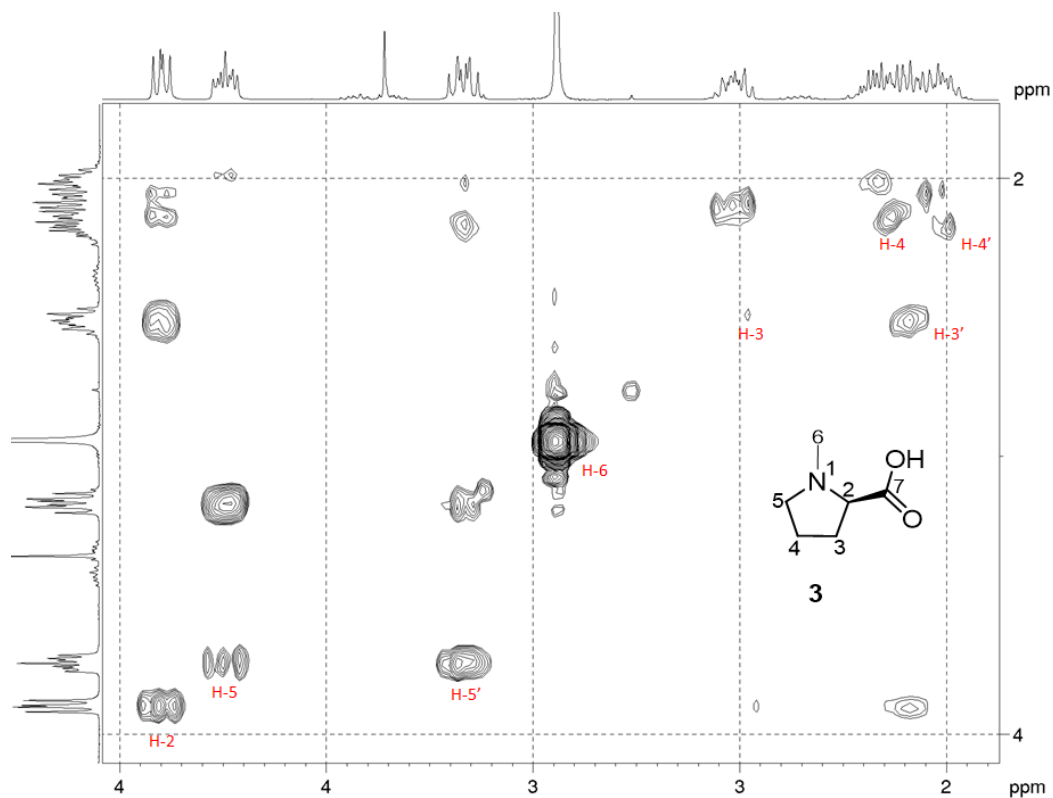
A 14 - Espectro de RMN de ¹H de 3 (400 MHz, D₂O)



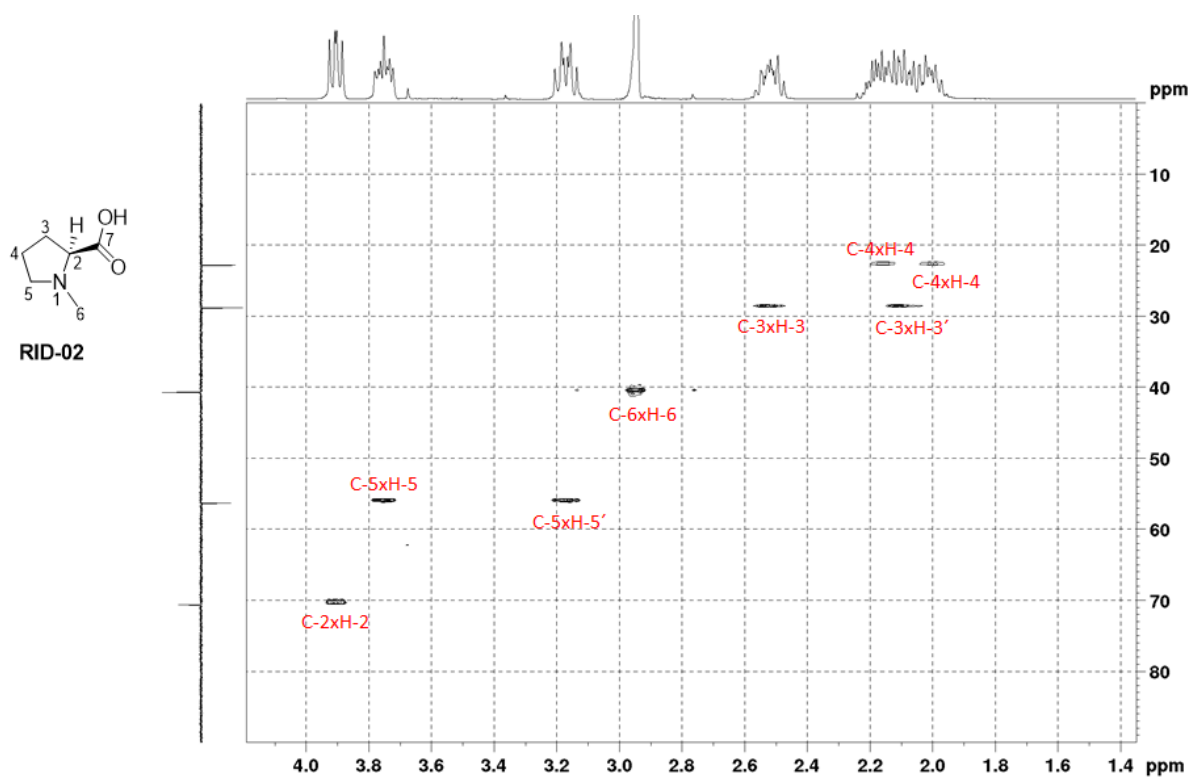
A 15 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 3 (100 MHz, D_2O)



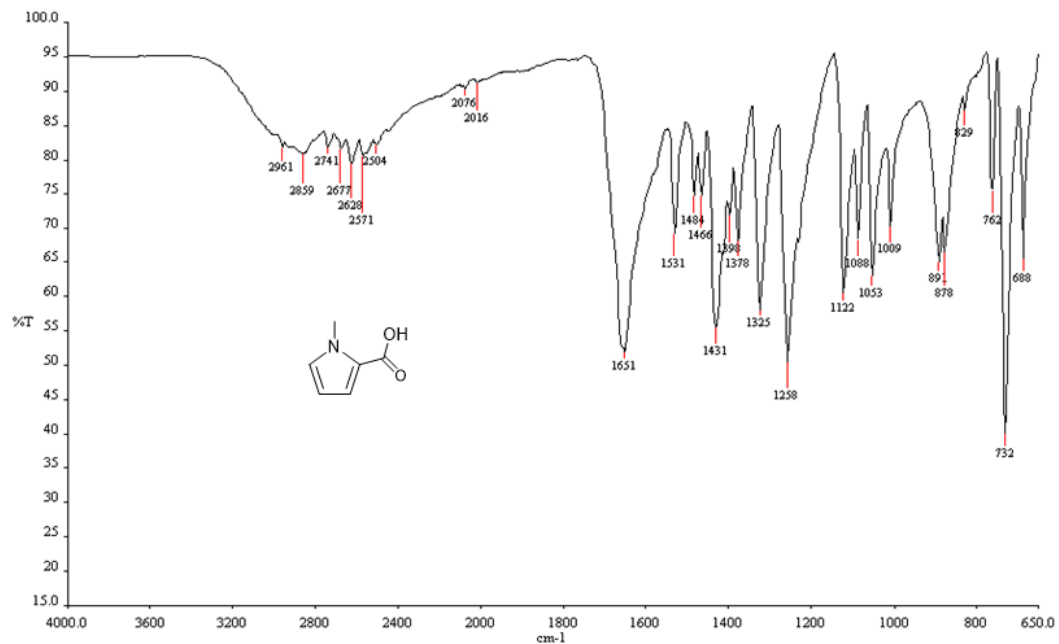
A 16 - Mapa de contornos HSQC de 3 (400, MHz, D_2O).



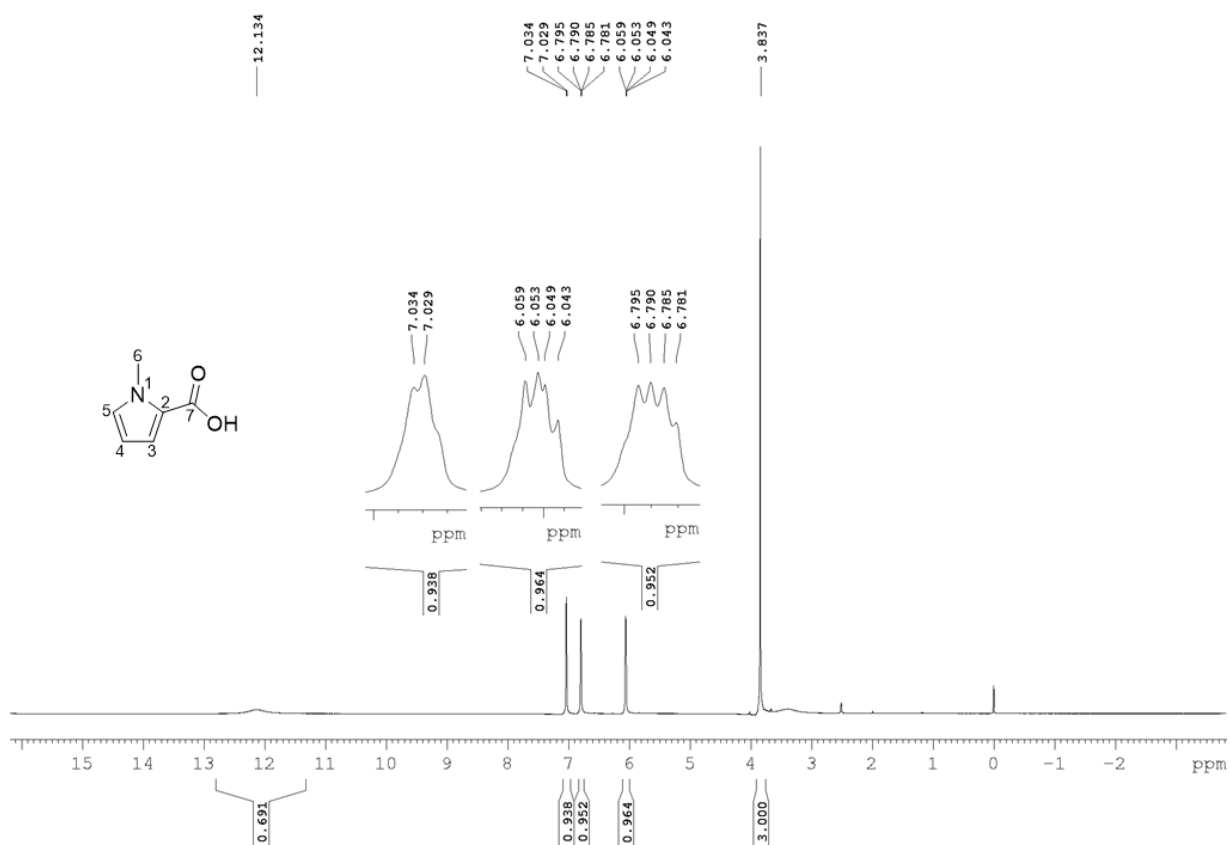
A 17 - Mapa de contornos HSQC de 3 (400, MHz, D₂O).



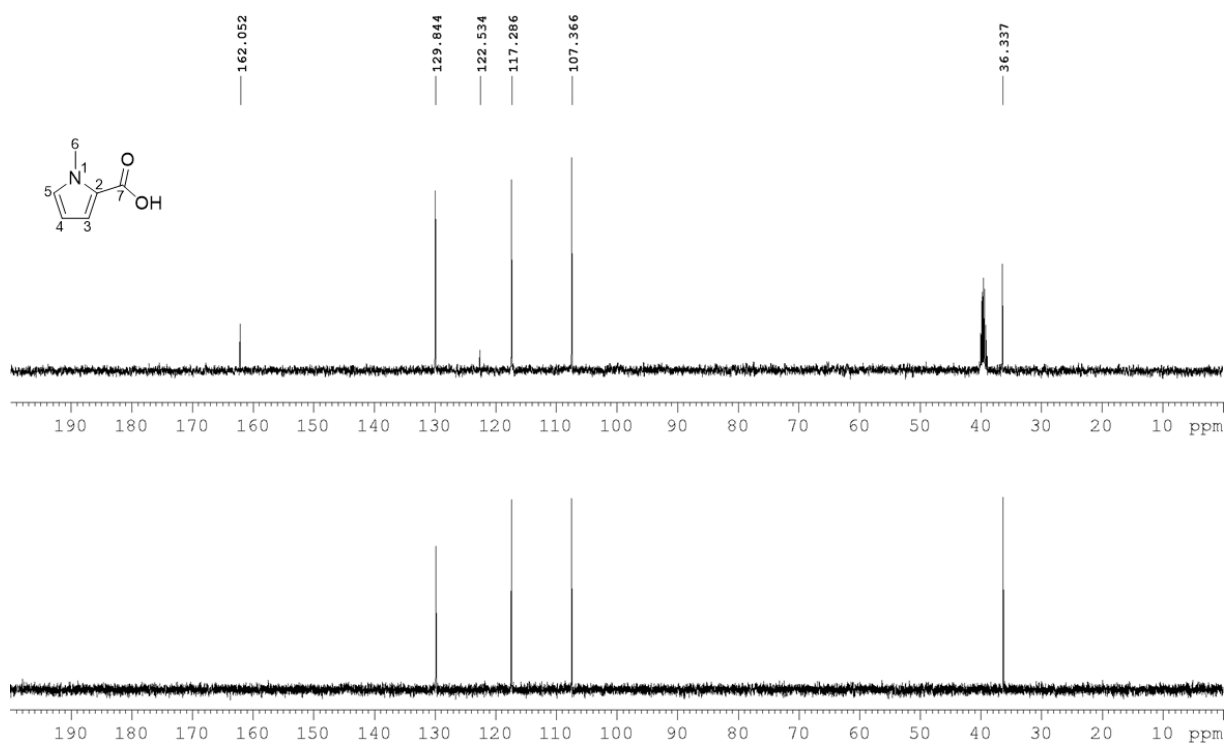
A 18 - Espectro no infravermelho de 4



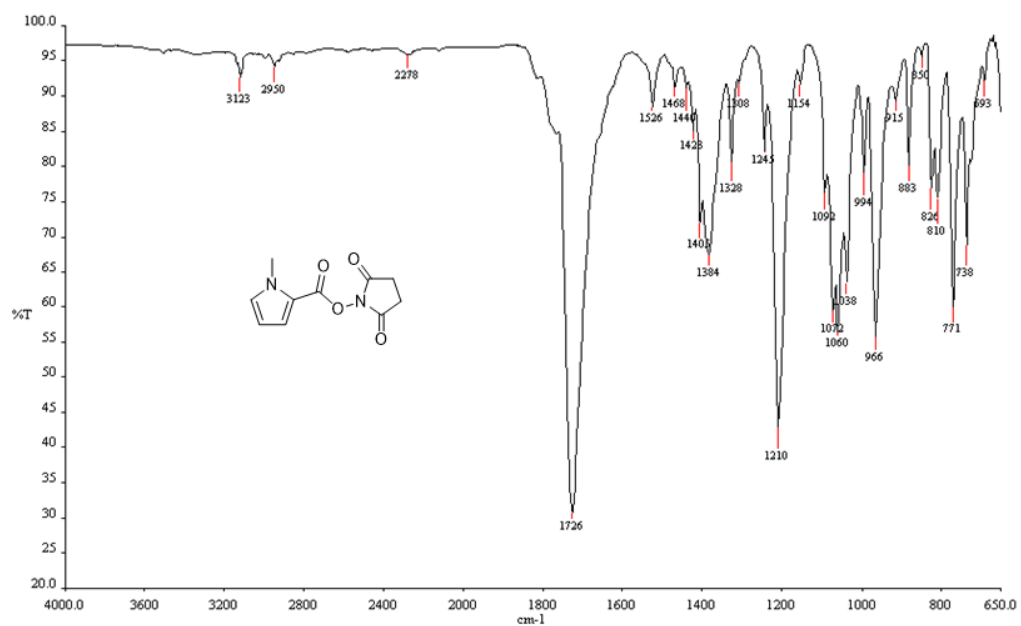
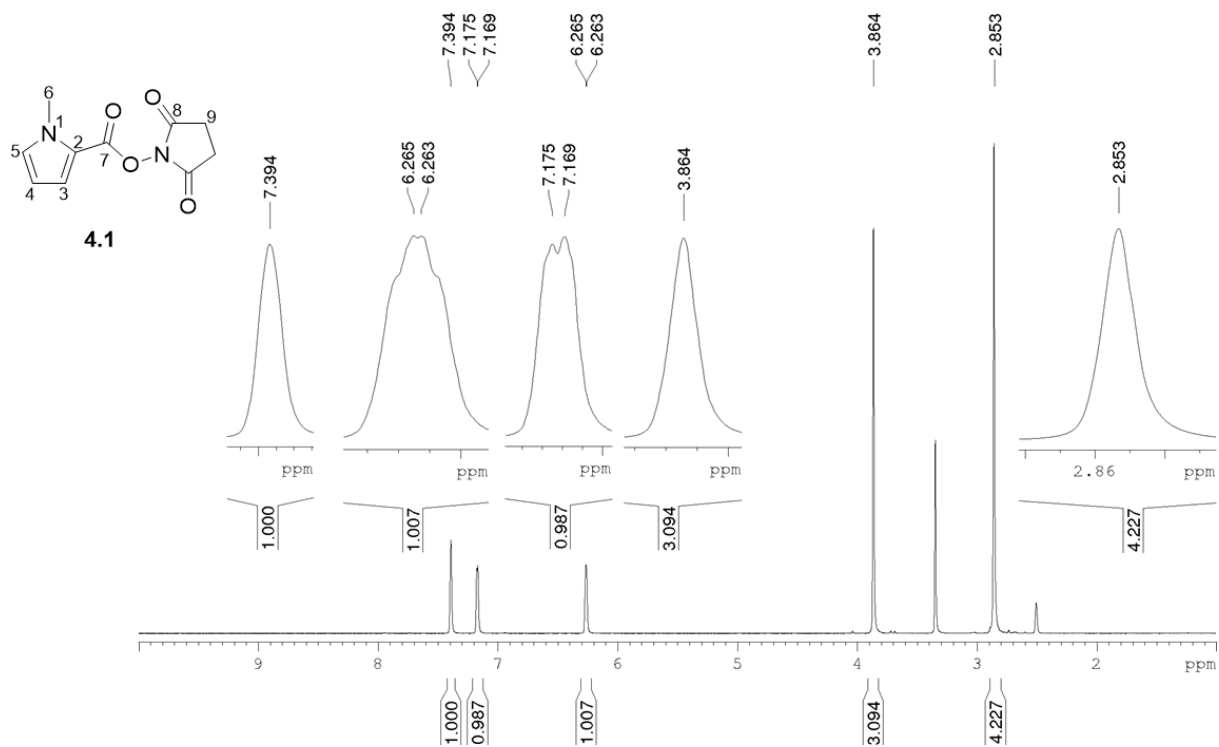
A 19 - Espectro de RMN de ^1H de 4 (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



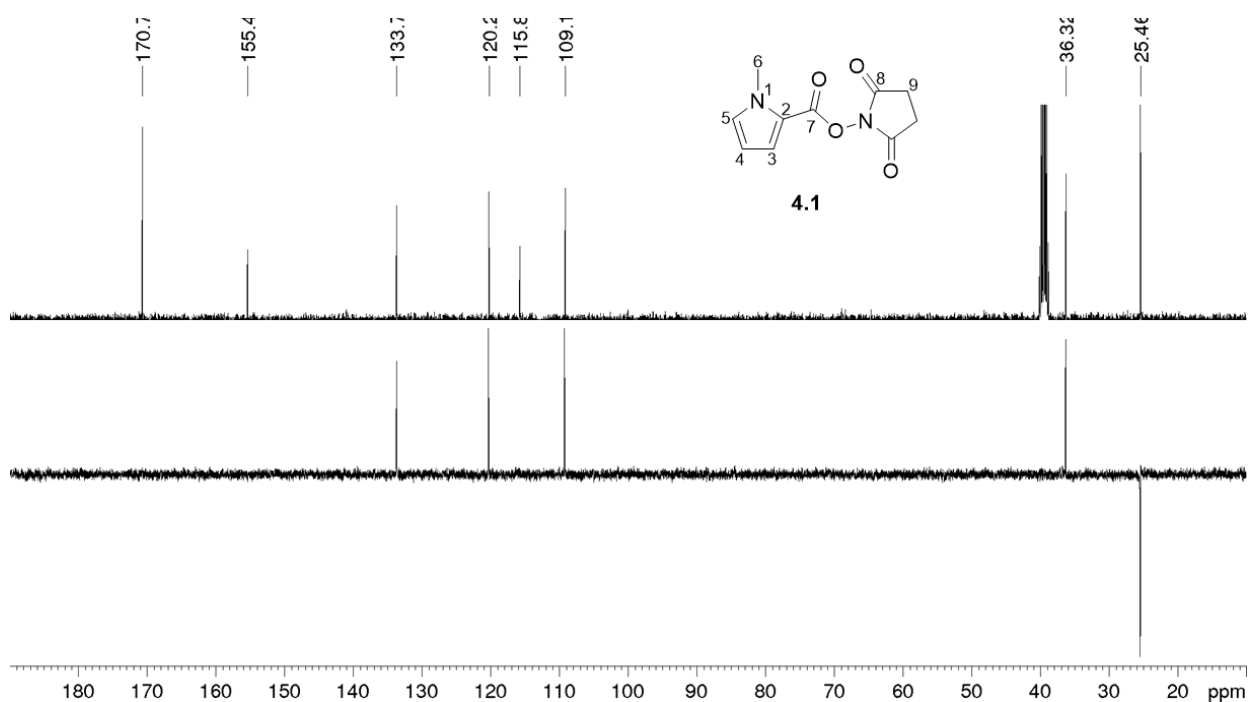
A 20 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4 (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



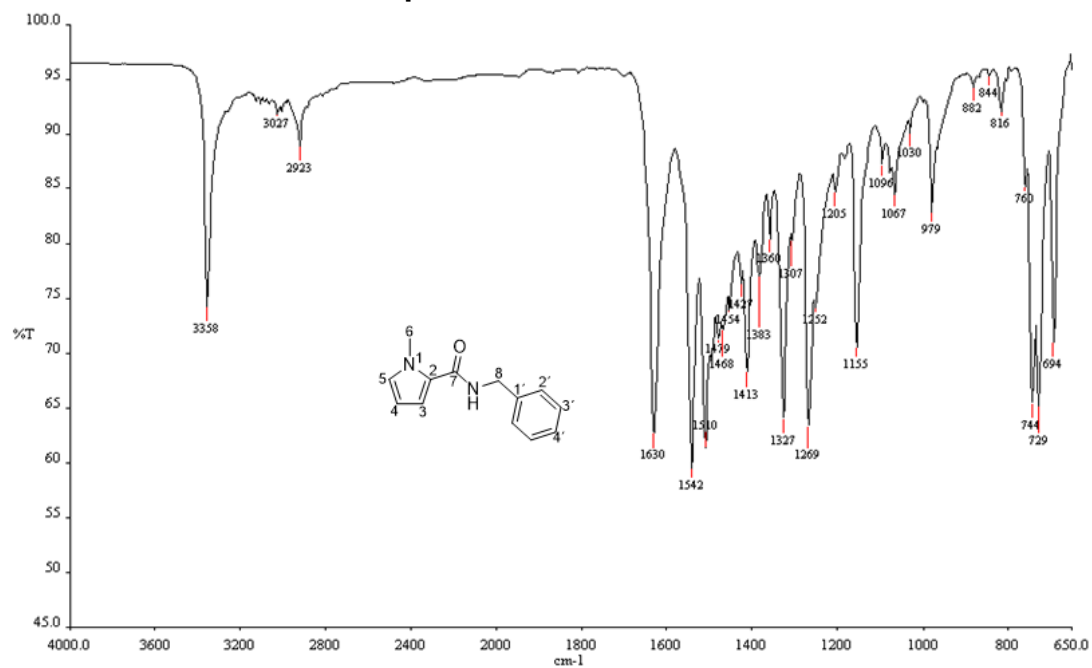
A 21 - Espectro no infravermelho de 4.1

A 22 - Espectro de RMN de ¹H de 4.1 (400 MHz, DMSO-d₆)

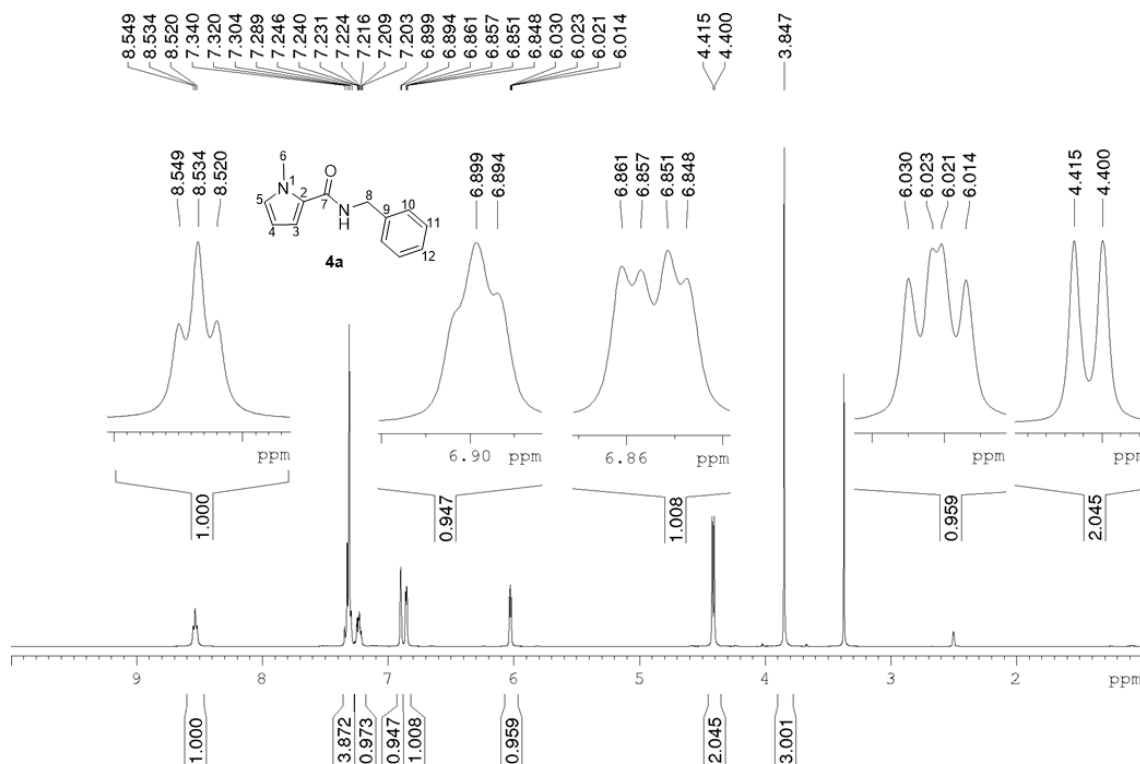
A 23 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4.1 (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



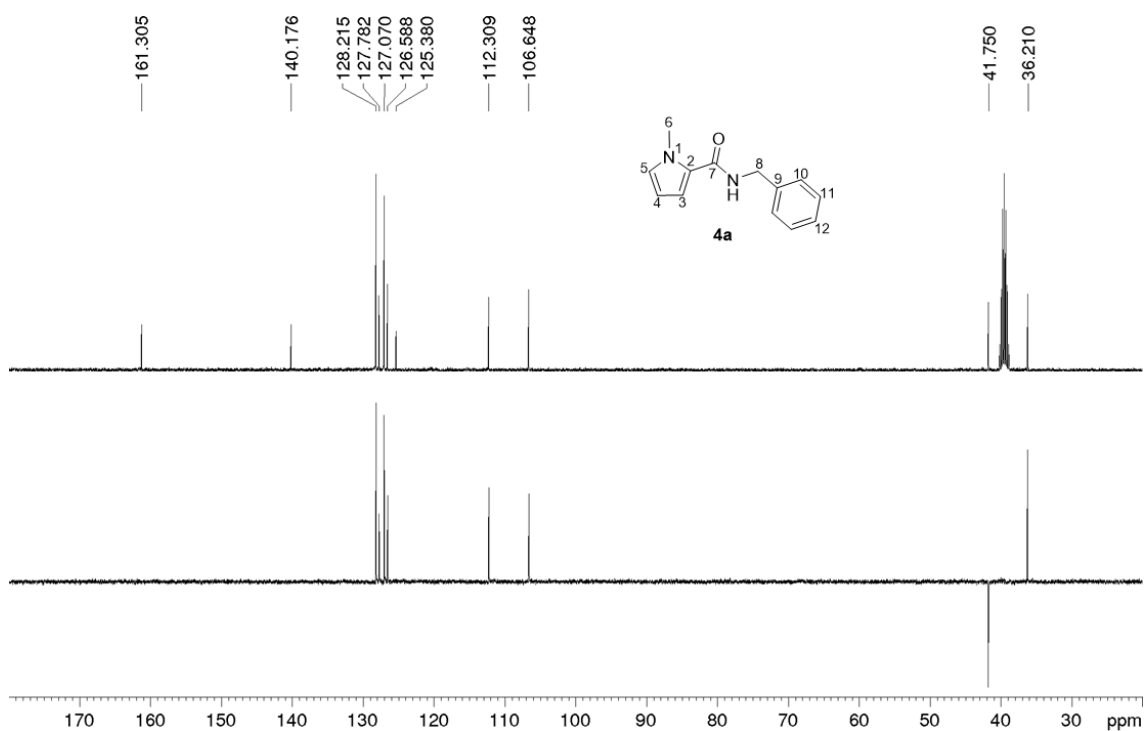
A 24 - Espectro no infravermelho de 4a

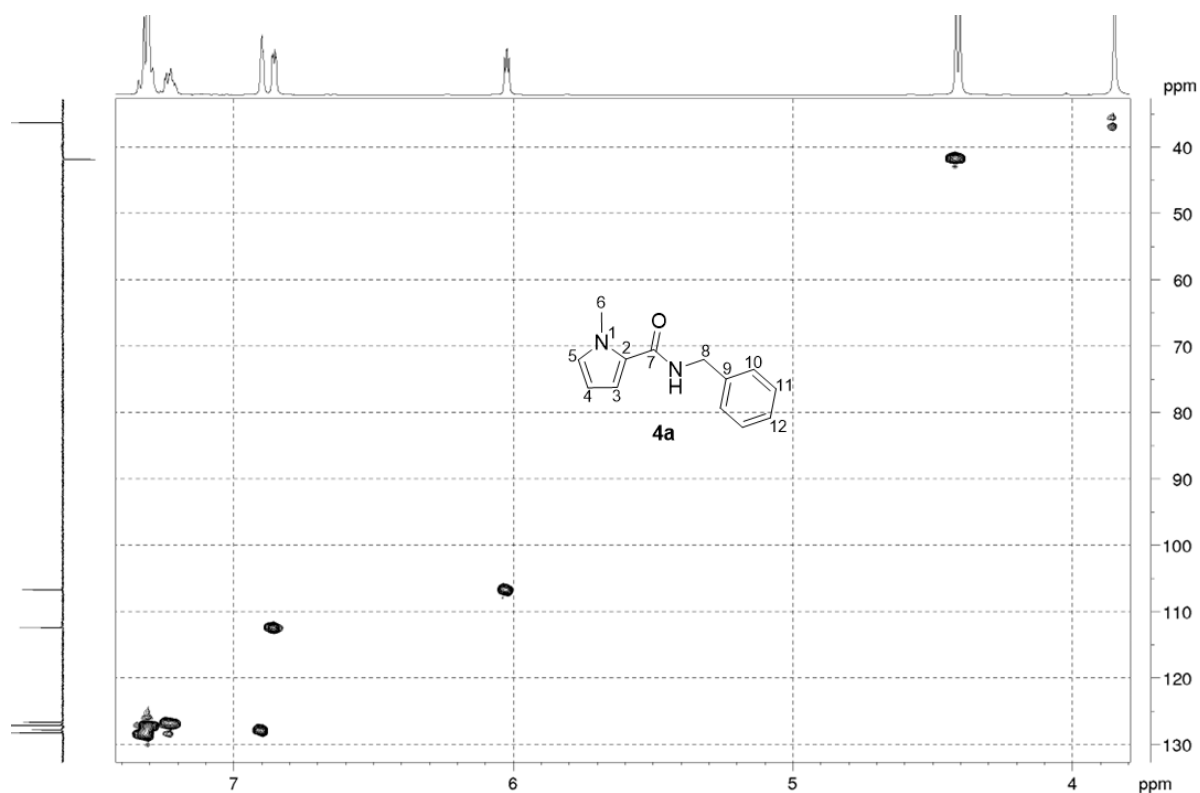
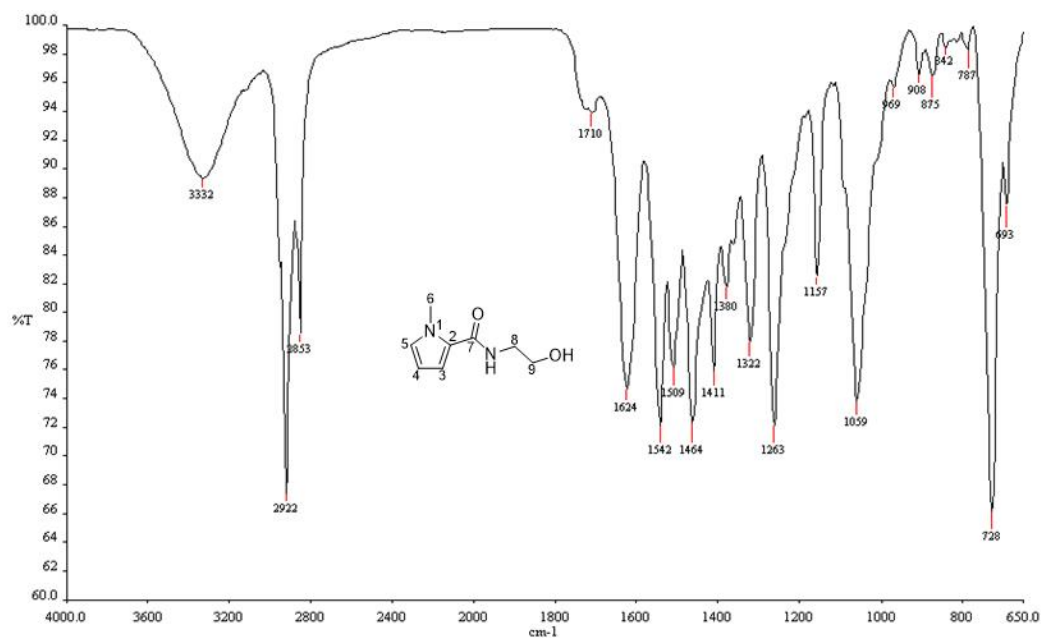


A 25 - Espectro de RMN de ^1H de 4a (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

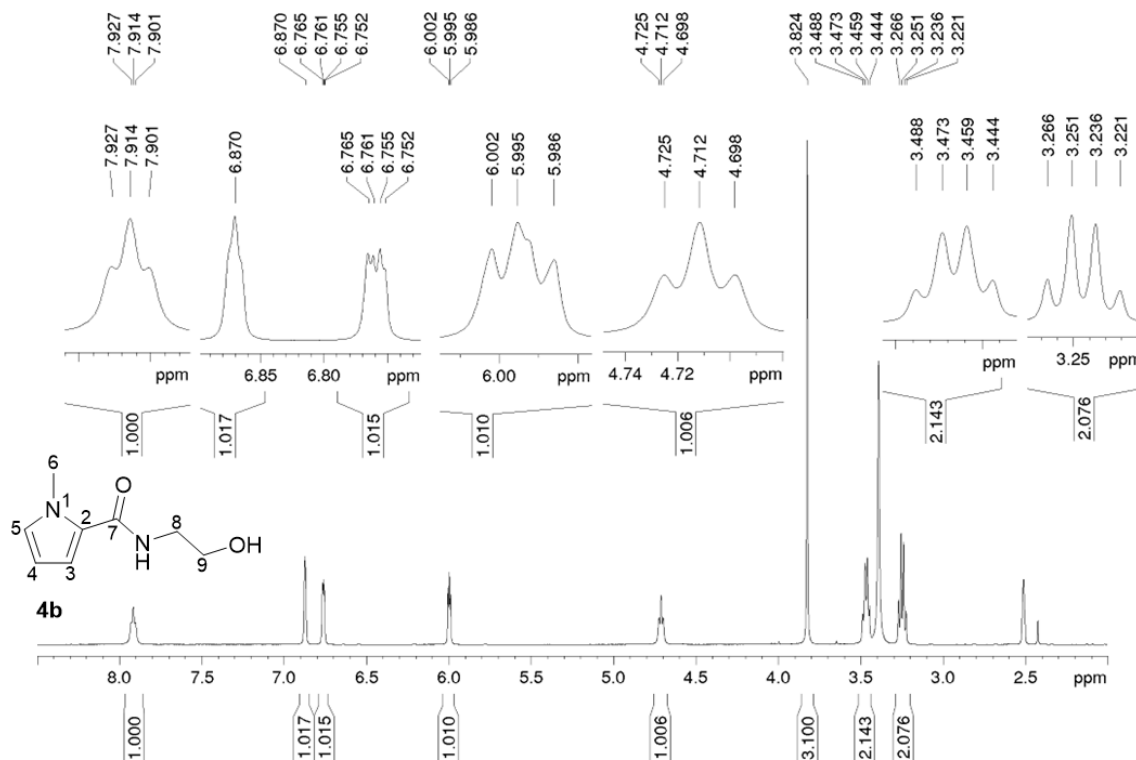


A 26 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4a (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

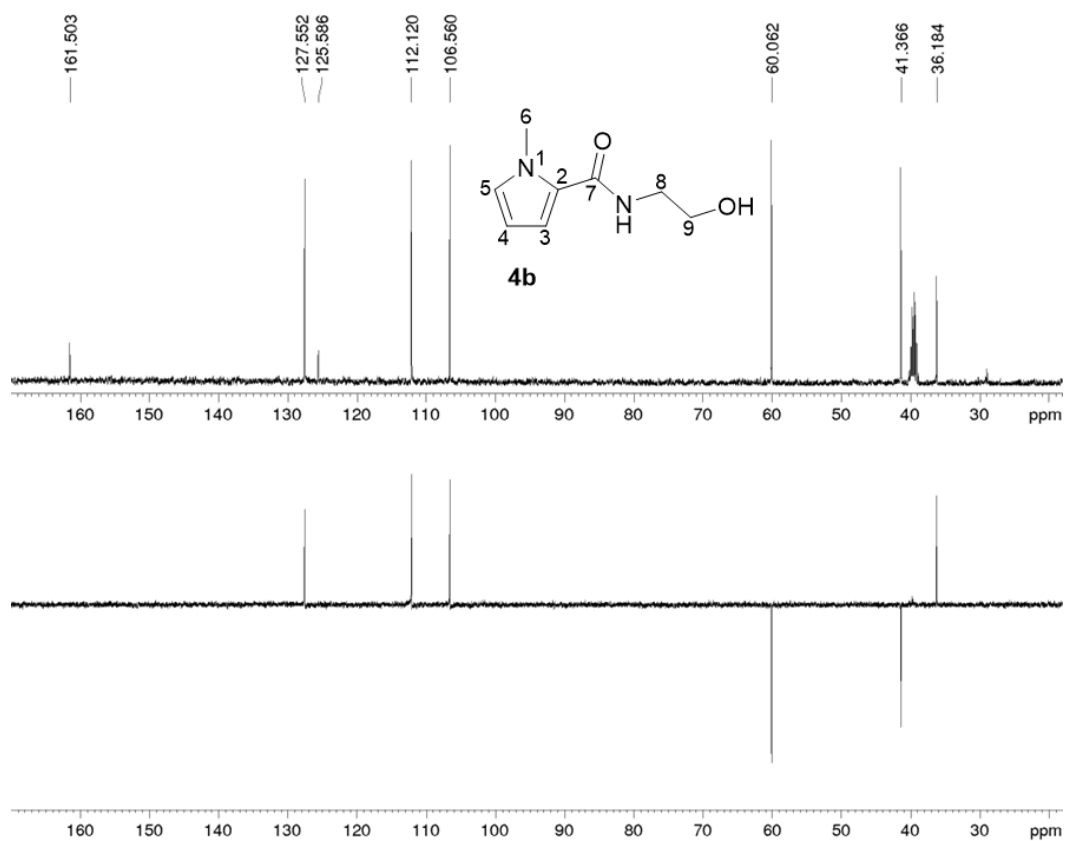


A 27 - Espectro de RMN de HSQC de 4a (100 MHz, DMSO-d₆)**A 28 - Espectro no infravermelho de 4b**

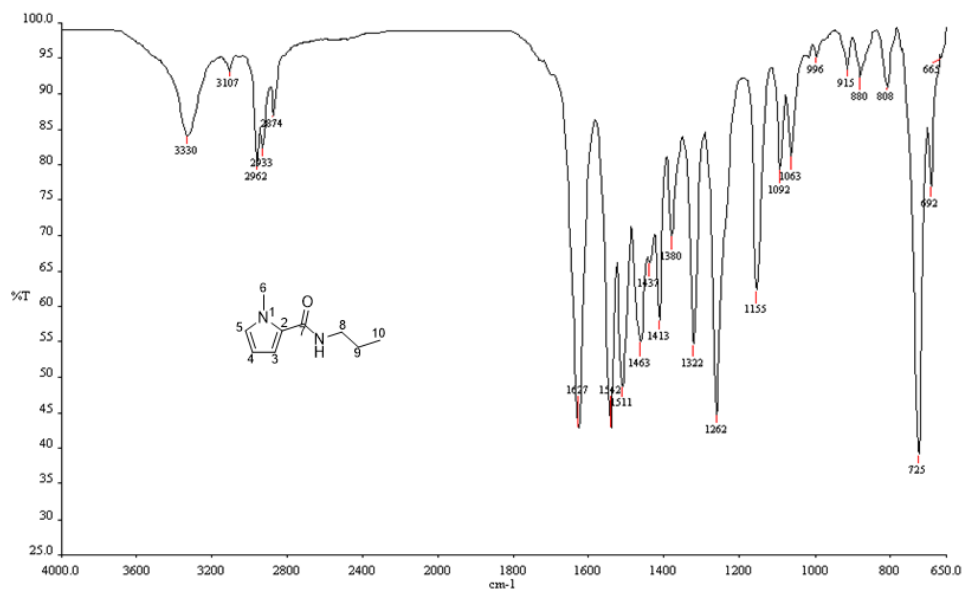
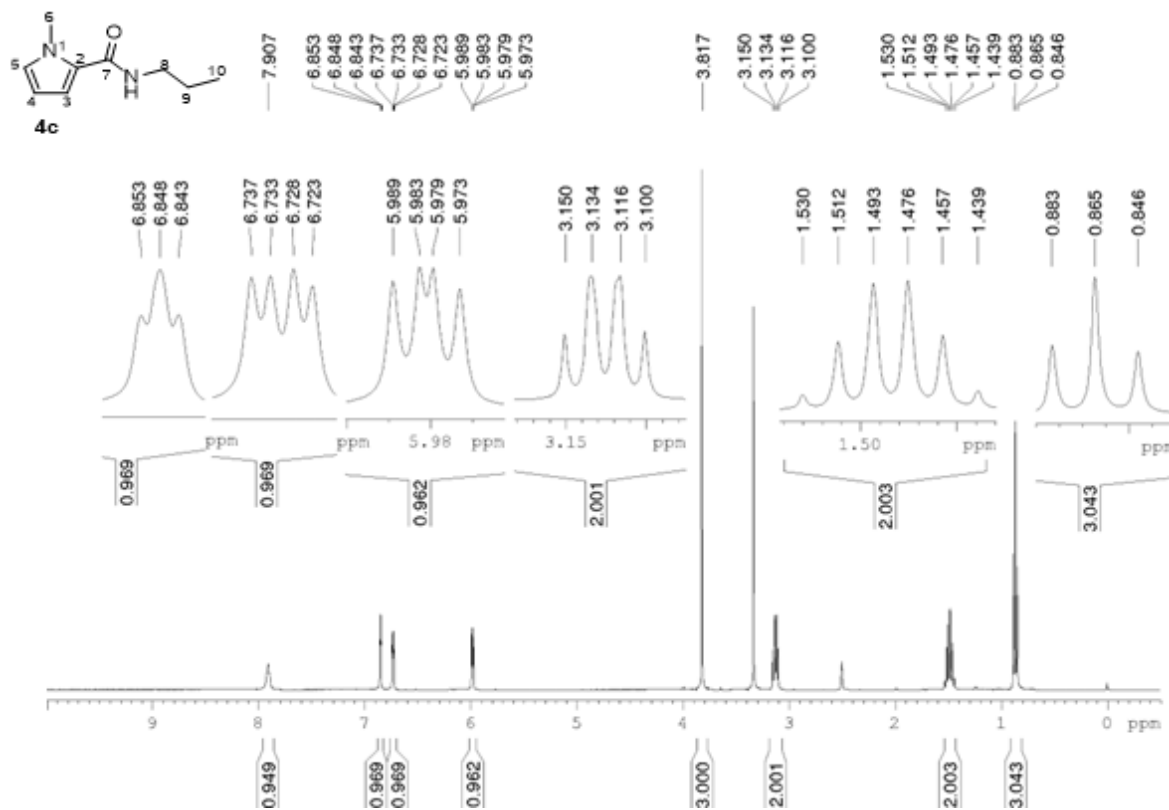
A 29 - Espectro de RMN de ^1H de 4b (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



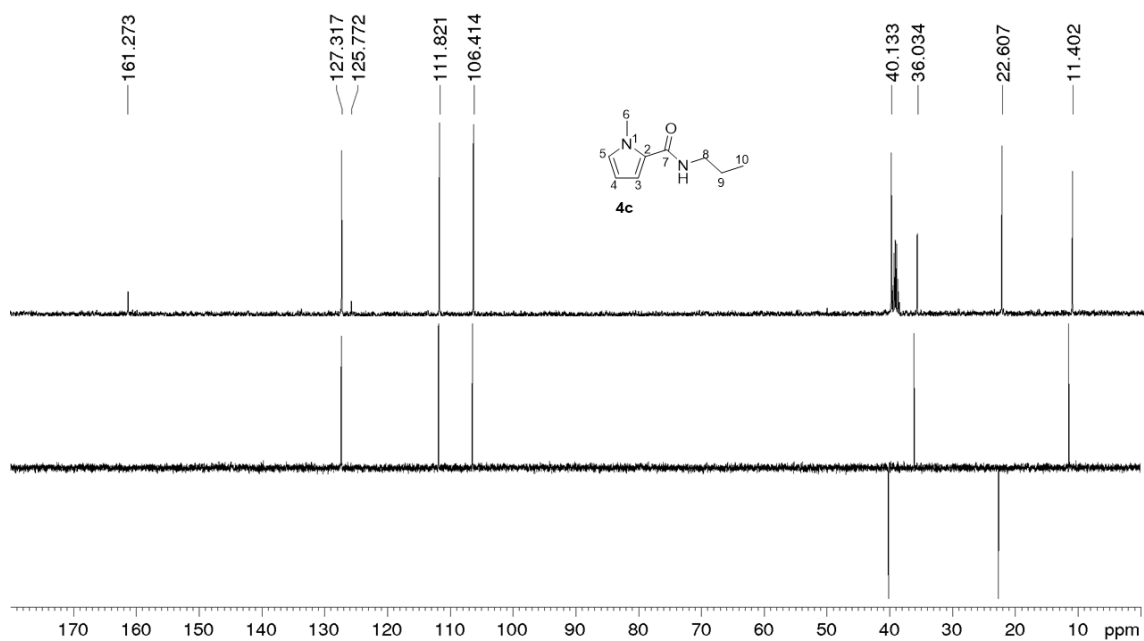
A 30 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4b (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



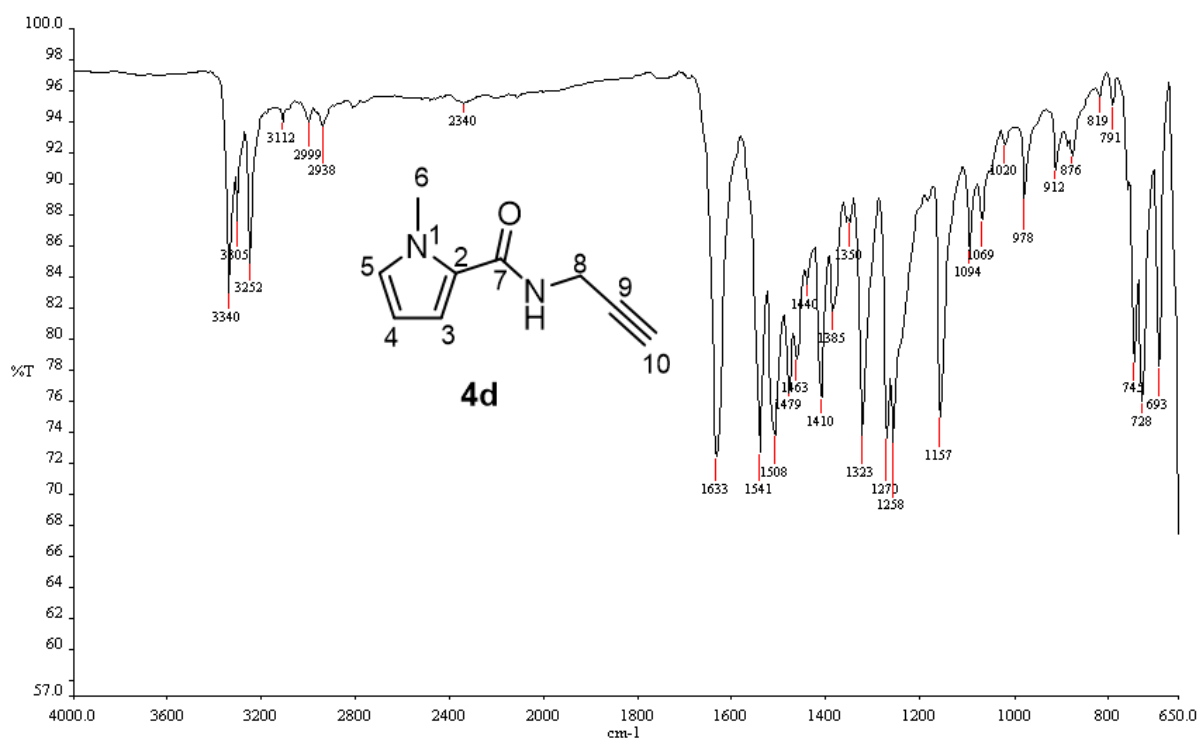
A 31 - Espectro no infravermelho de 4c

A 32 – Espectro de RMN de ¹H de 4c (400 MHz, DMSO-d₆)

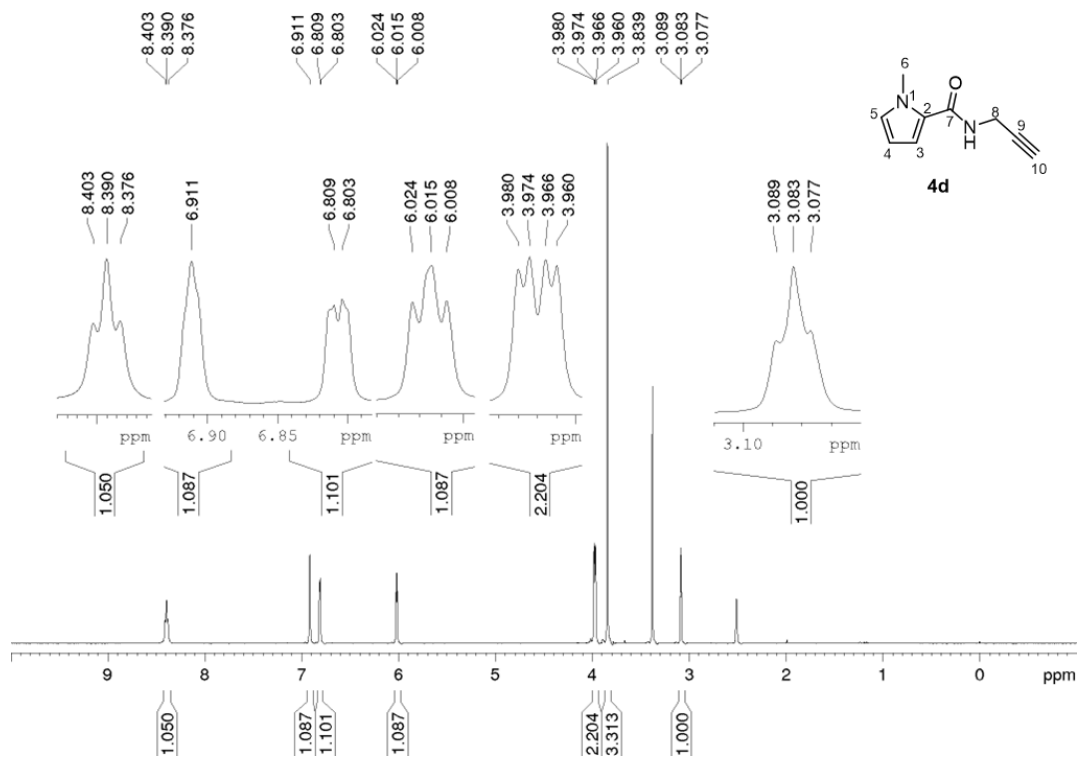
A 33 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4c (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



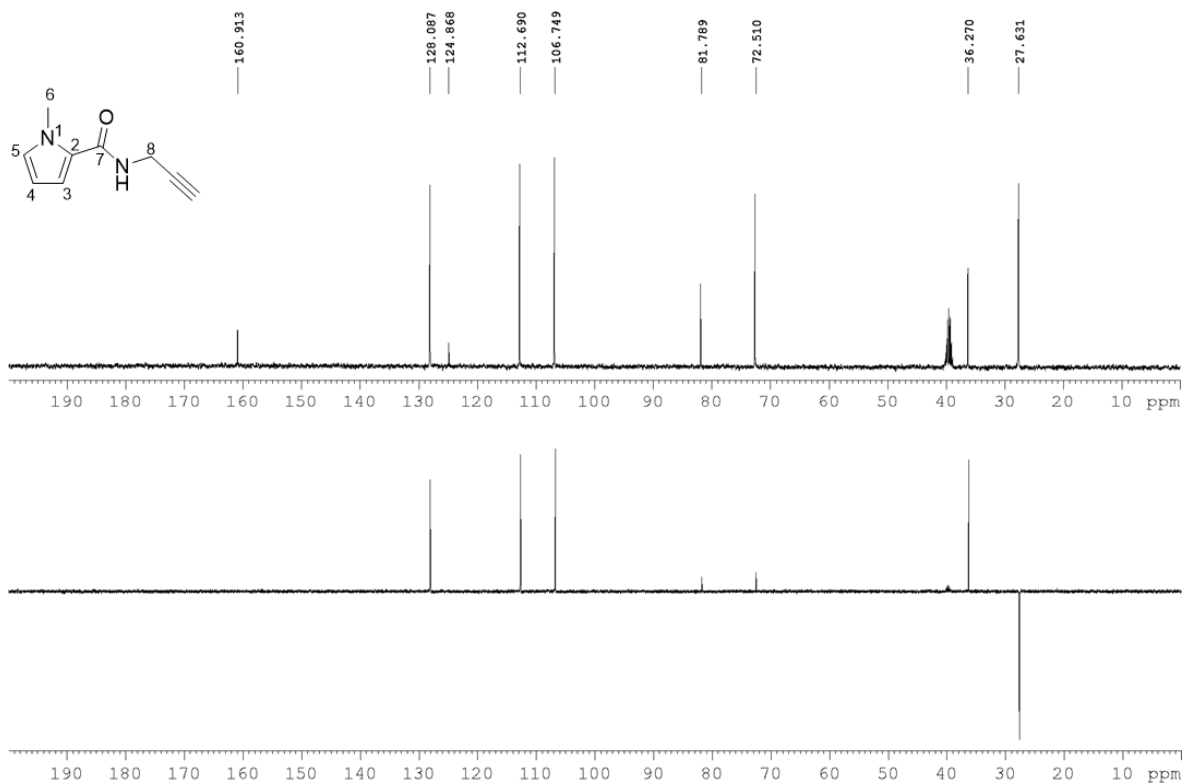
A 34 - Espectro no infravermelho de 4d



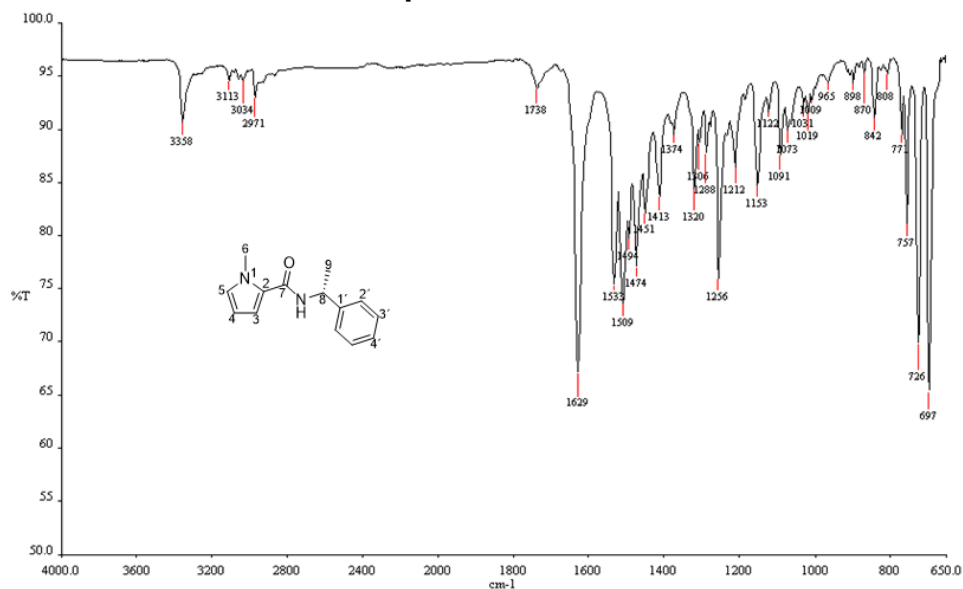
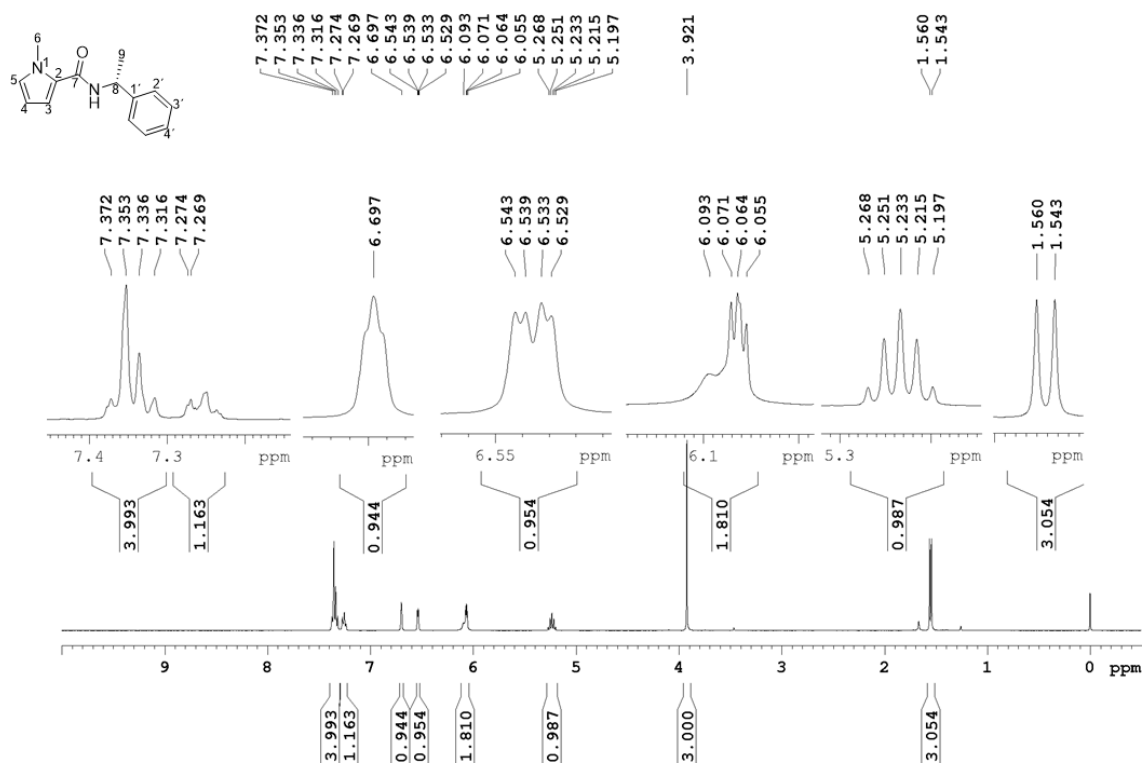
A 35 - Espectro de RMN de ^1H de 4d (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



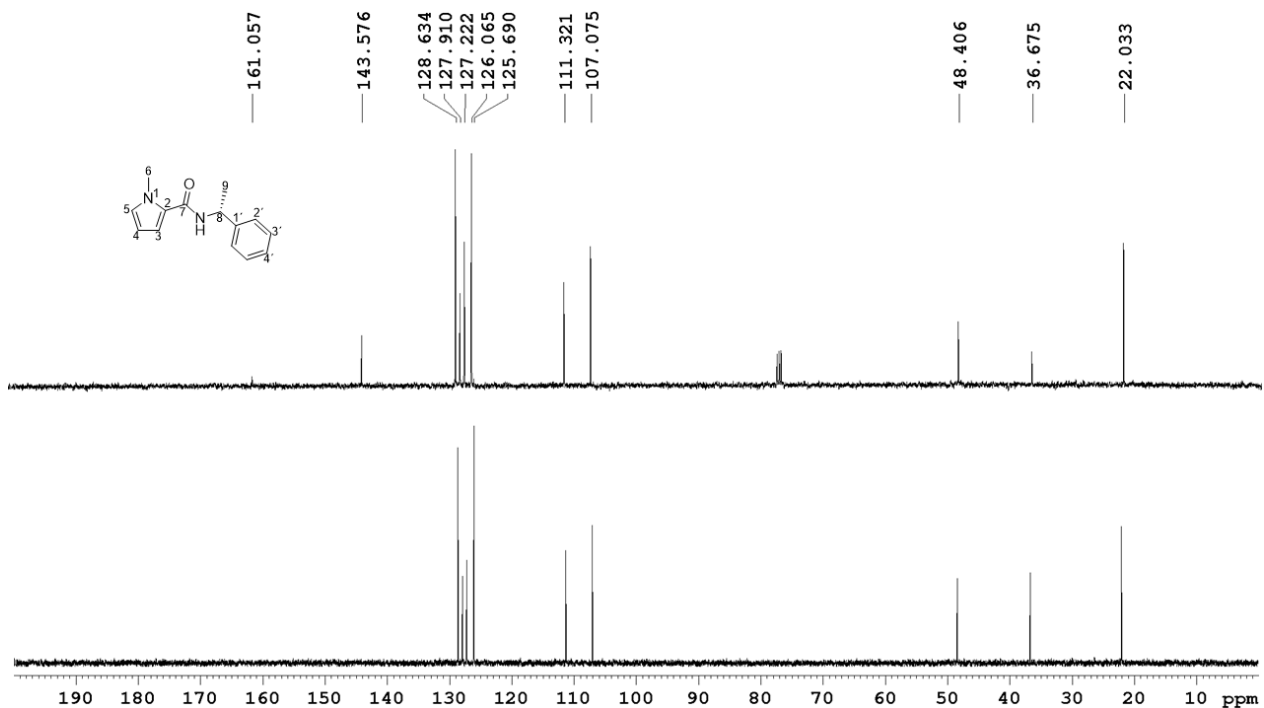
A 36 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4d (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



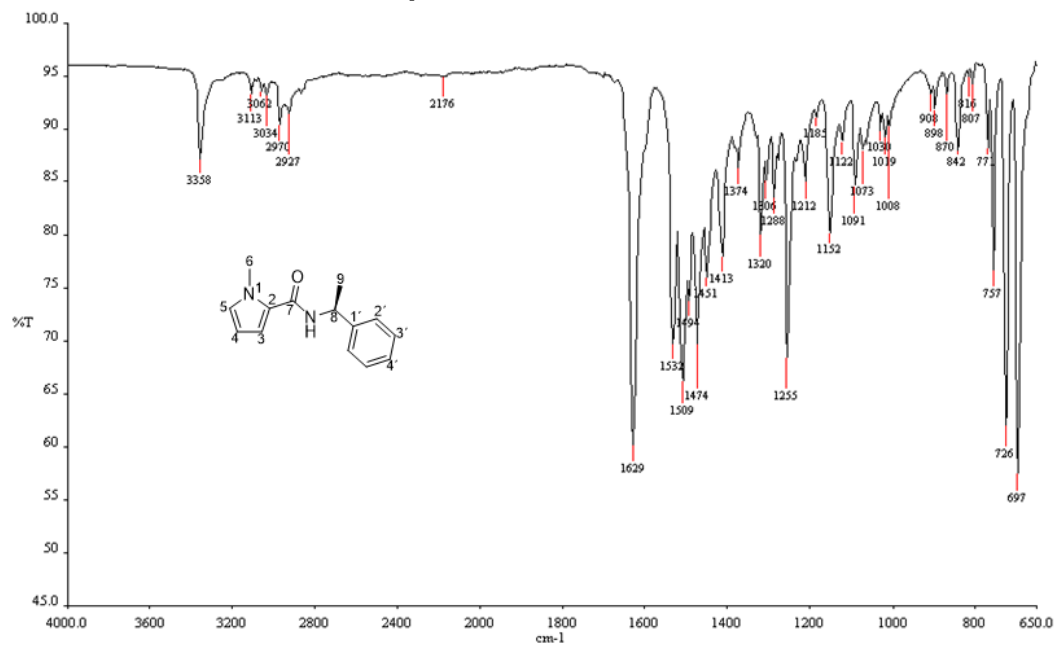
A 37 - Espectro no infravermelho de 4e

A 38 - Espectro de RMN de ¹H de 4e (400 MHz, CDCl₃)

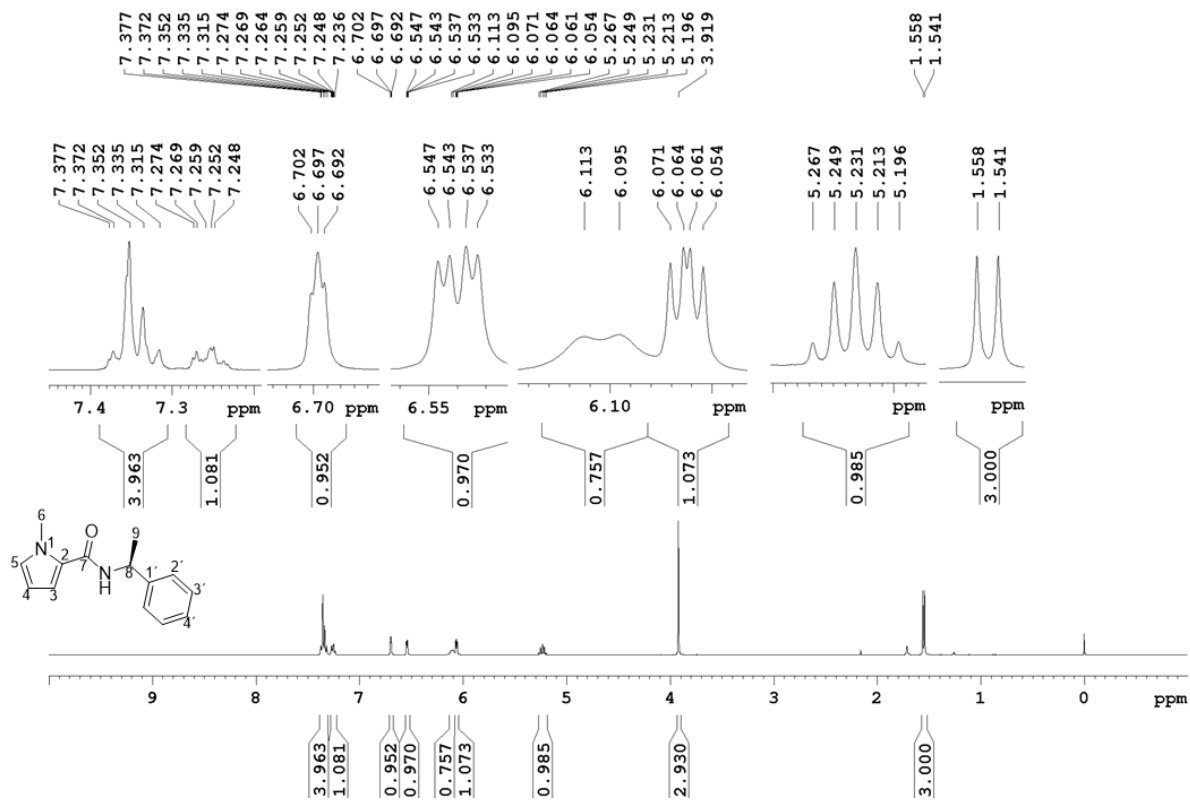
A 39 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4e (100 MHz, CDCl_3)



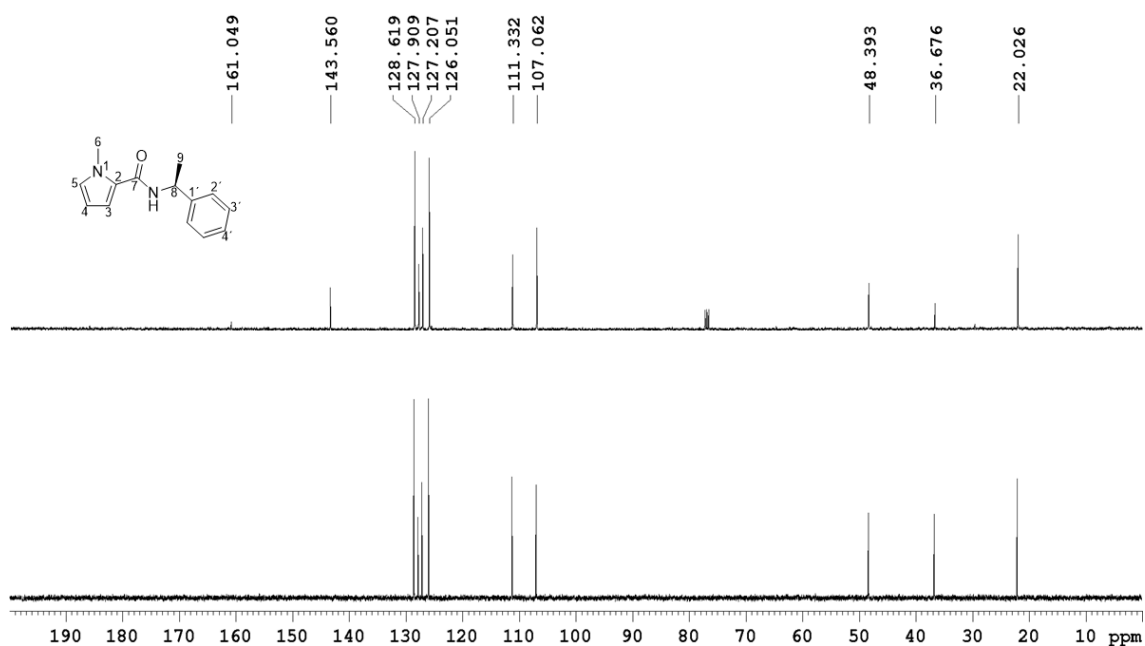
A 40 - Espectro no infravermelho de 4f



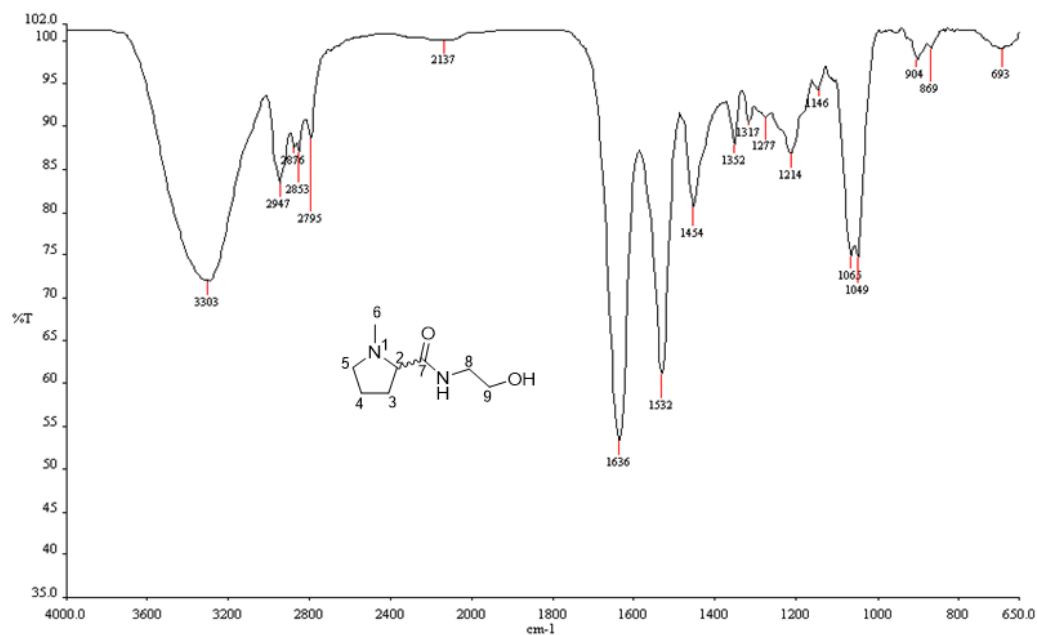
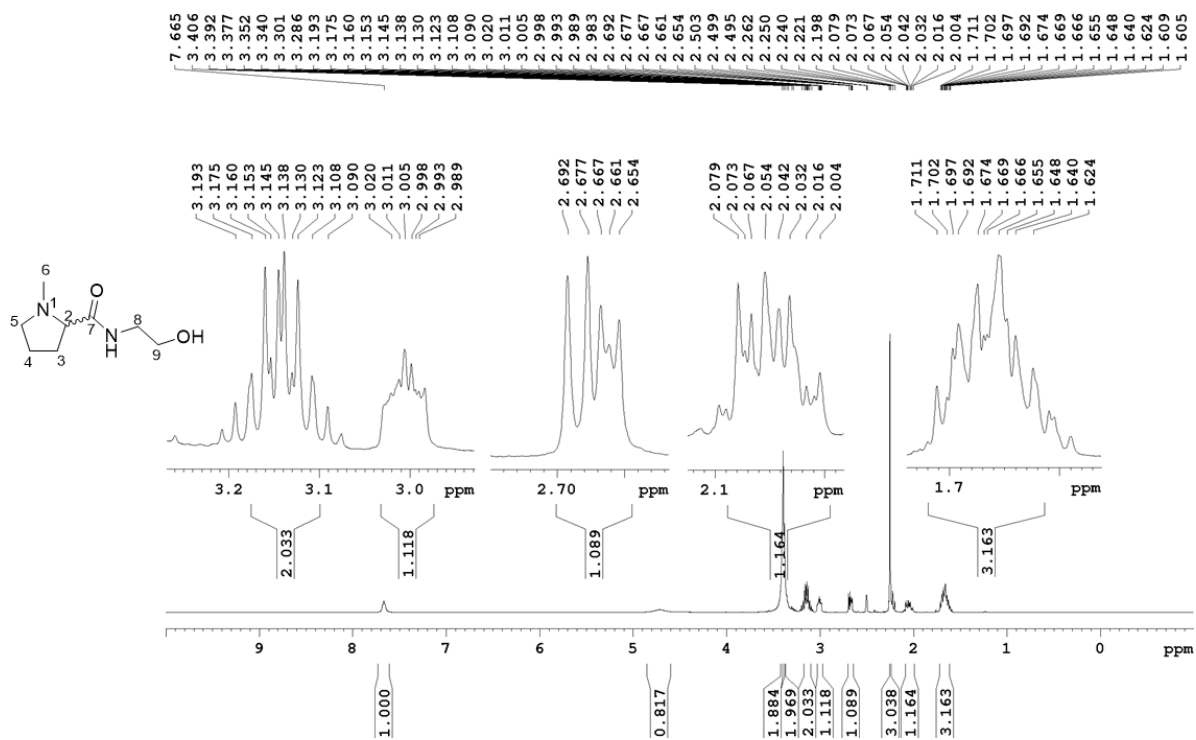
A 41 - Espectro de RMN de ^1H de 4f (400 MHz, CDCl_3)



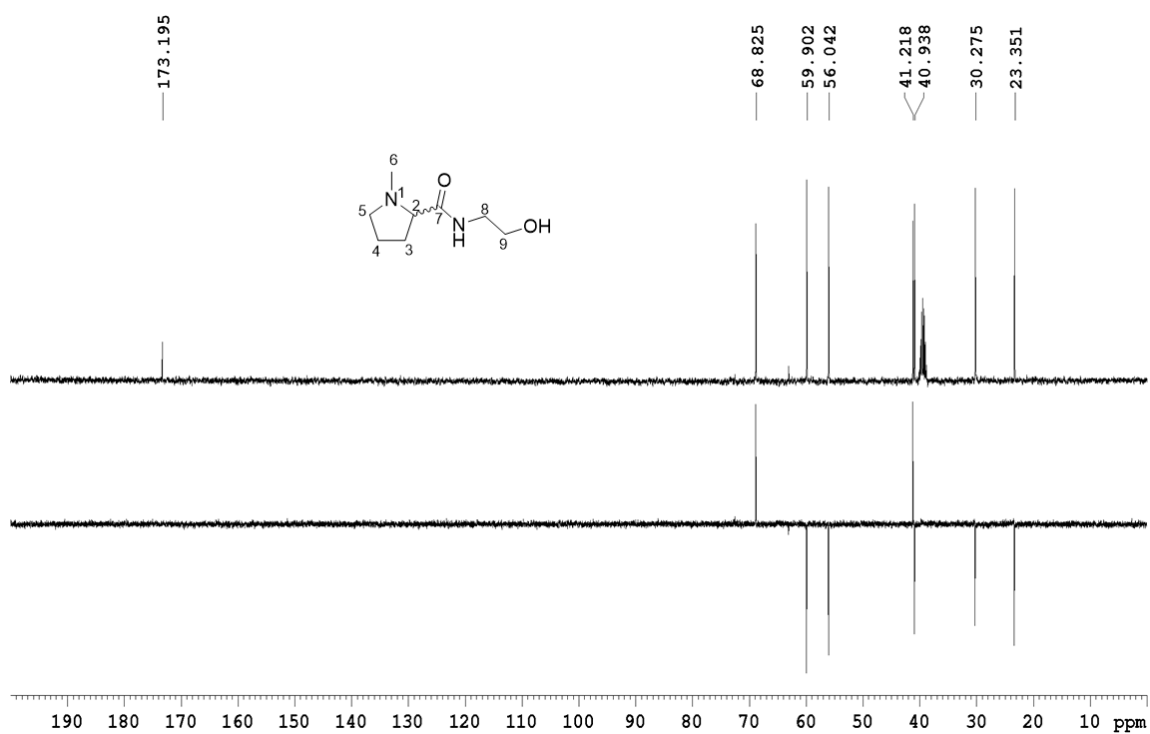
A 42 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 4f (100 MHz, CDCl_3)



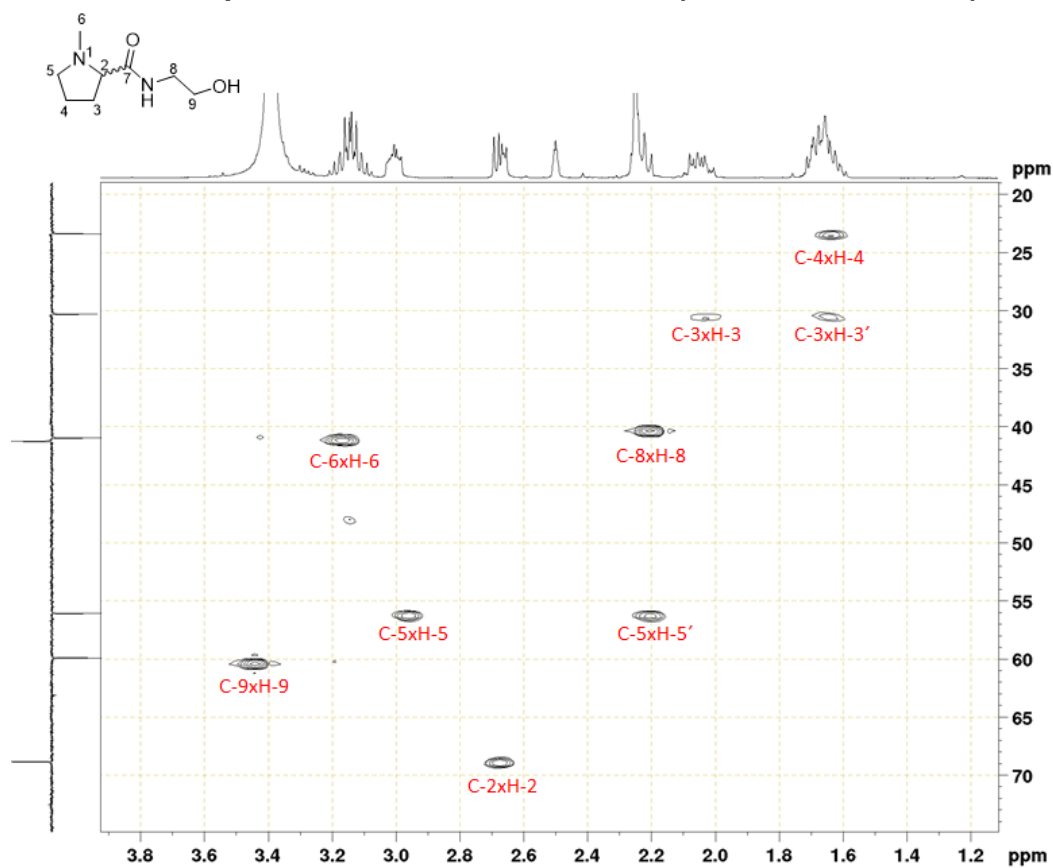
A 43 - Espectro no infravermelho de 5b

A 44 - Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

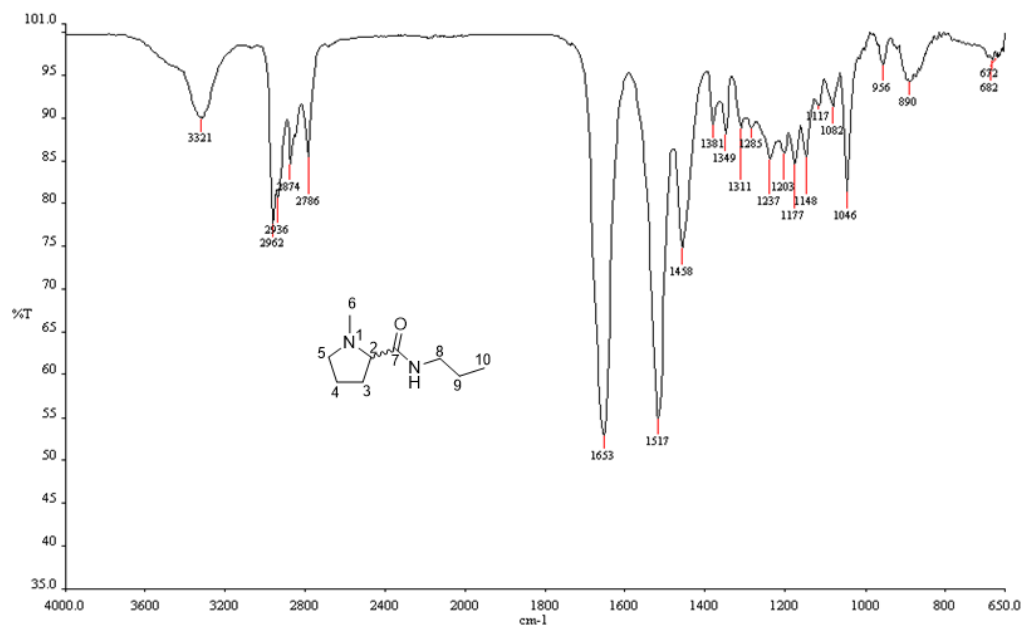
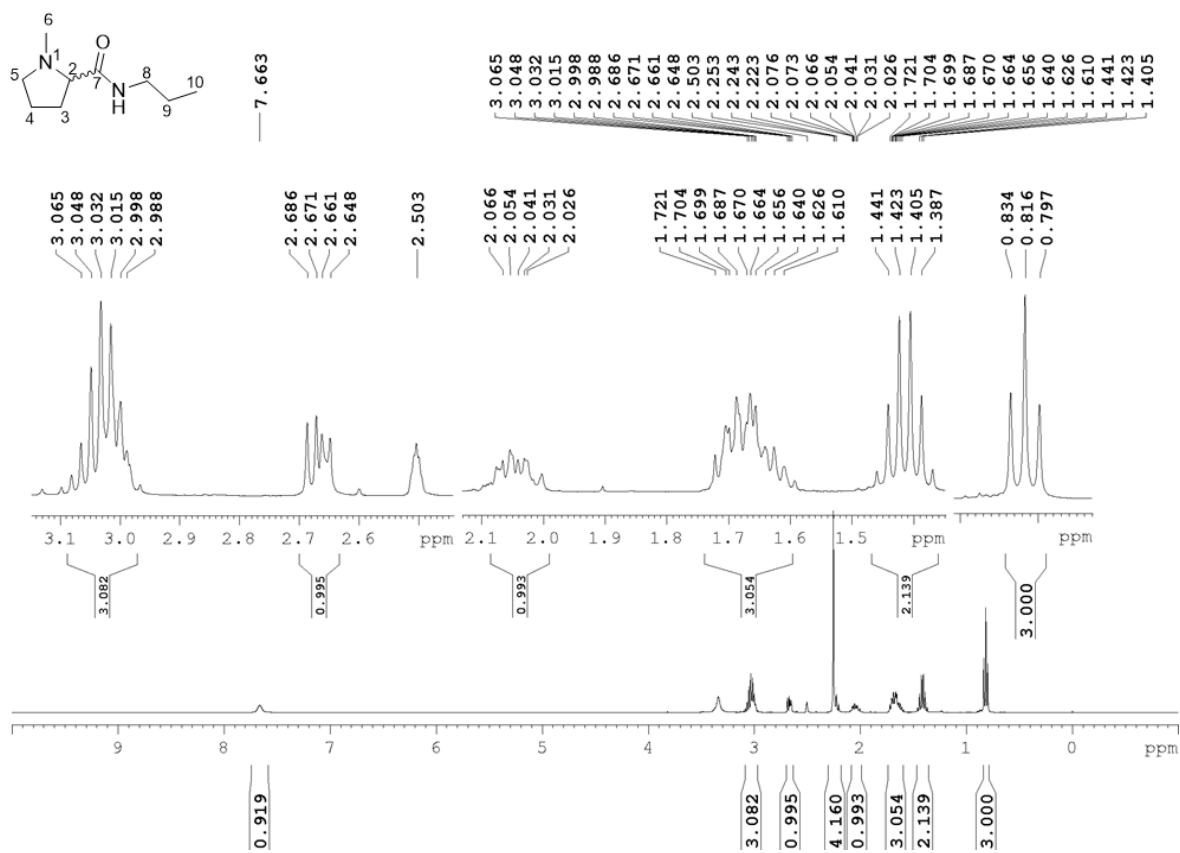
A 45 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 5b (100 MHz, DMSO- d_6)



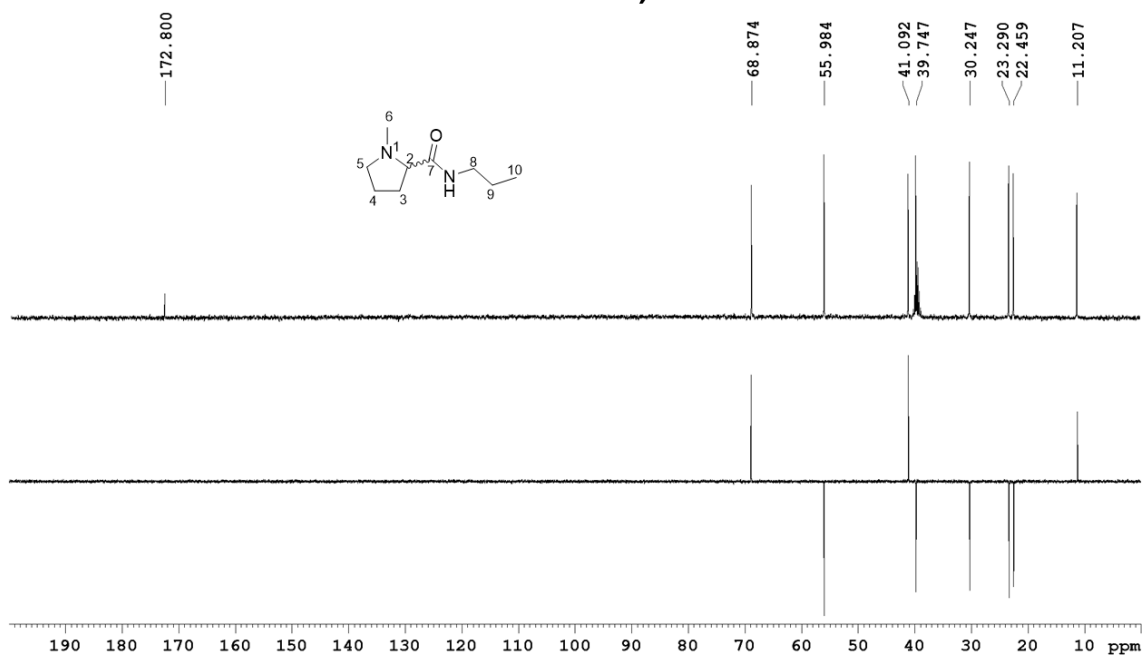
A 46 - Mapa de contornos HSQC de 5b (400 MHz, DMSO- d_6)



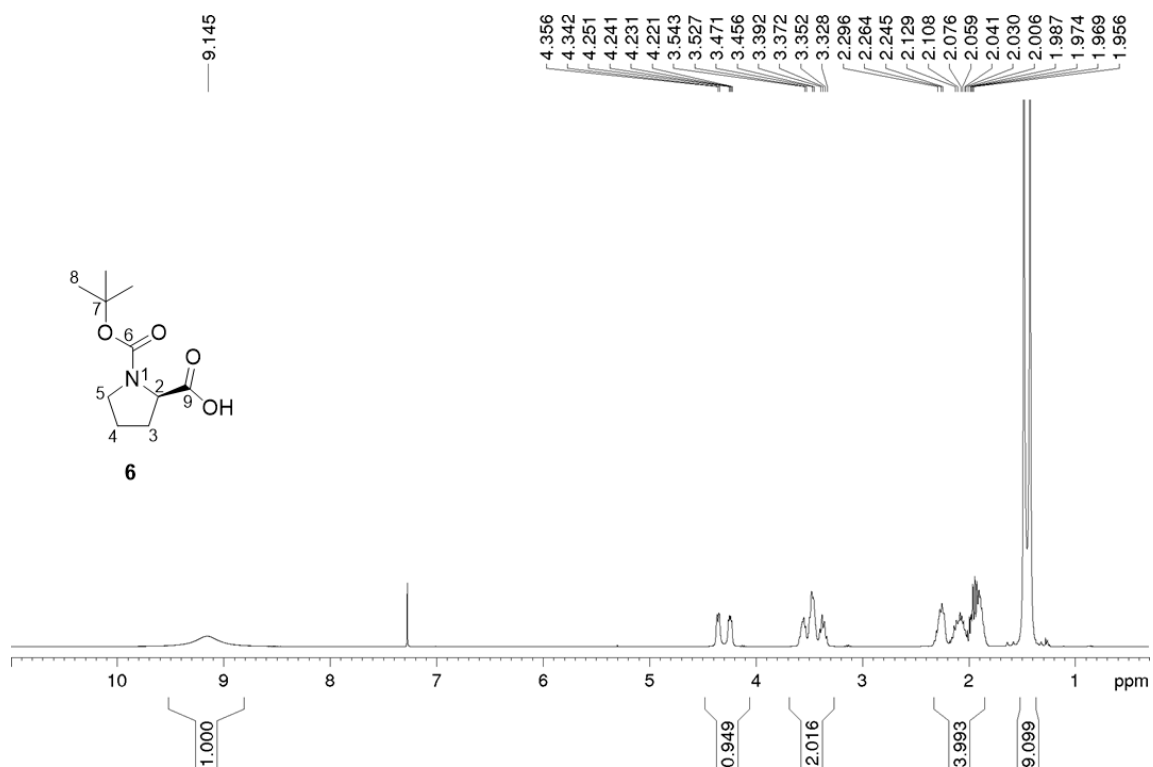
A 47 - Espectro no infravermelho de 5c

A 48 - Espectro de RMN de ^1H de 5c (400 MHz, DMSO-d_6)

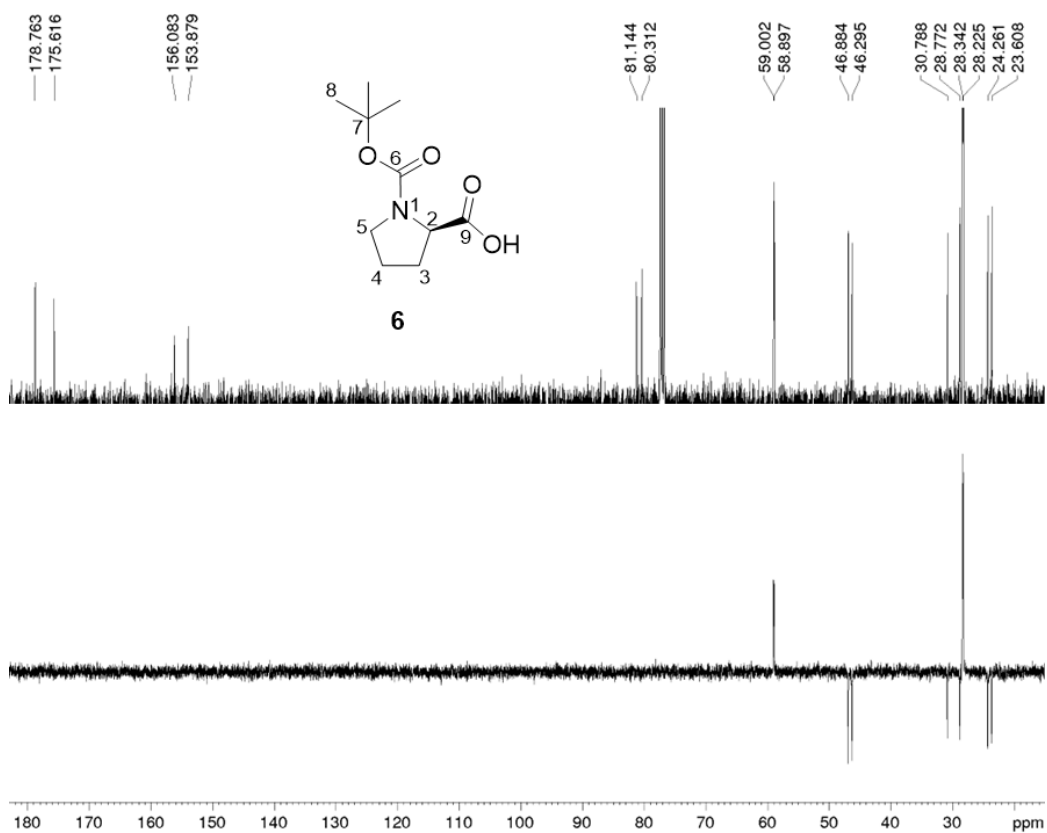
A 49 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 5c (100 MHz, DMSO- d_6)



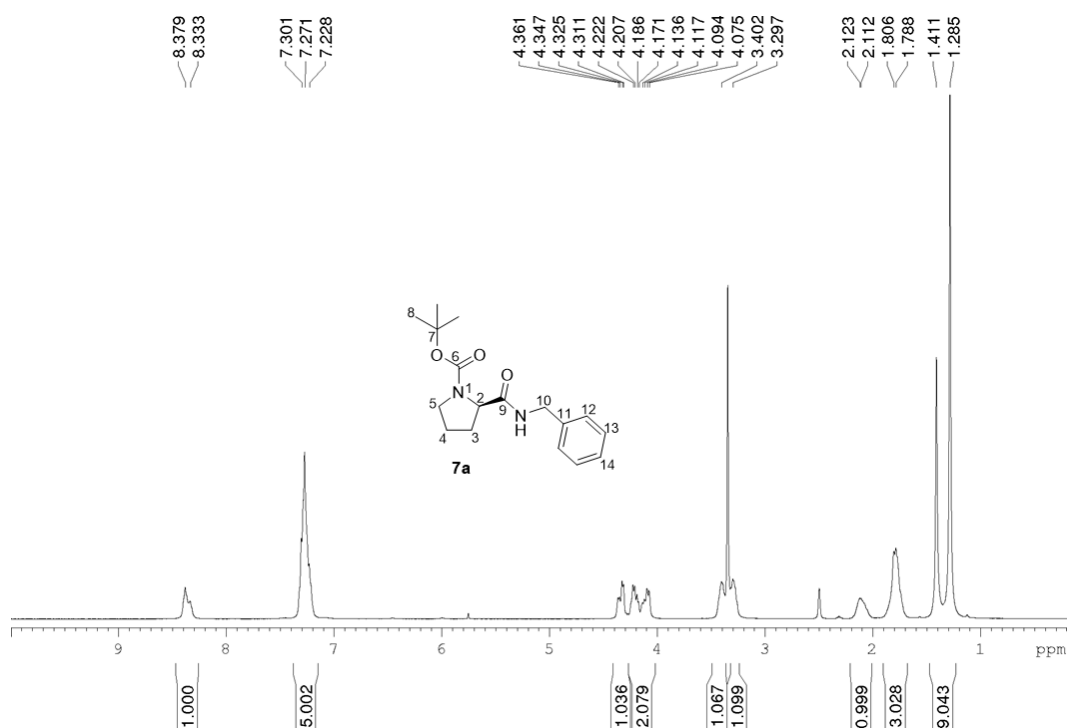
A 50 - Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, CDCl_3)



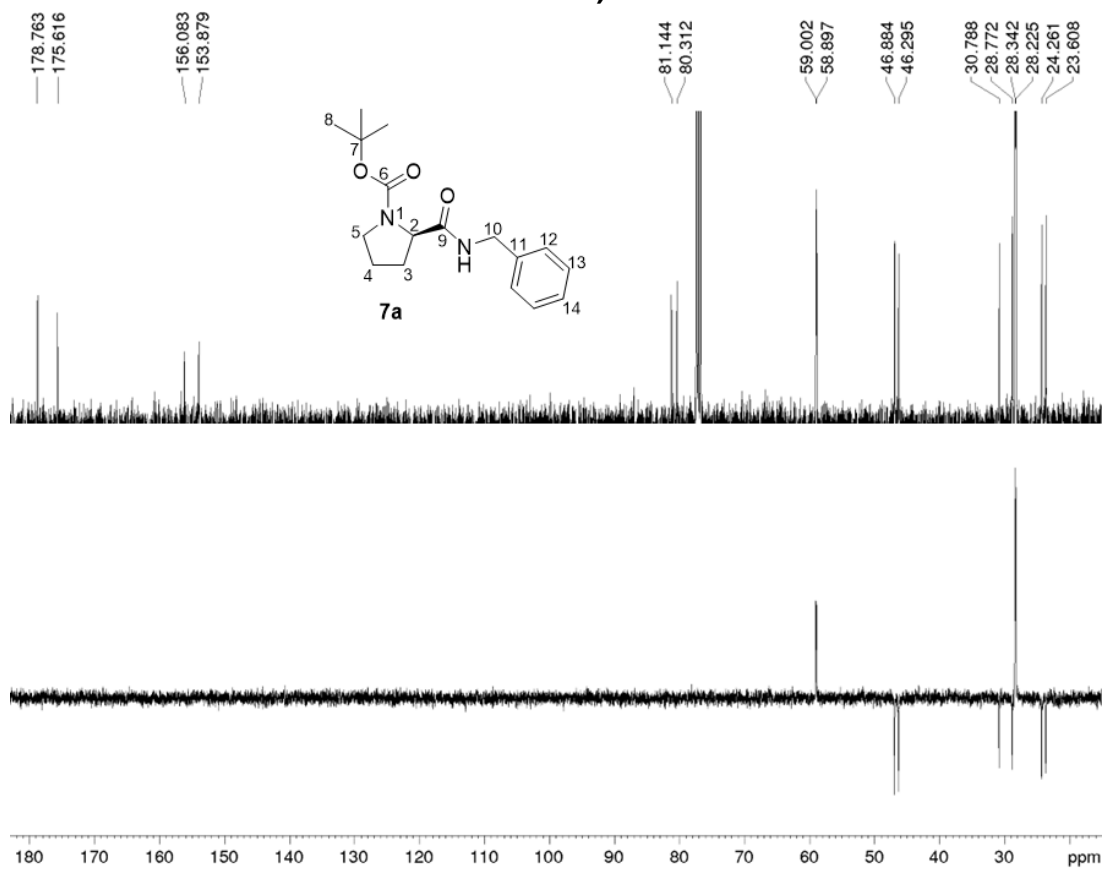
A 51 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 6 (100 MHz, CDCl_3)



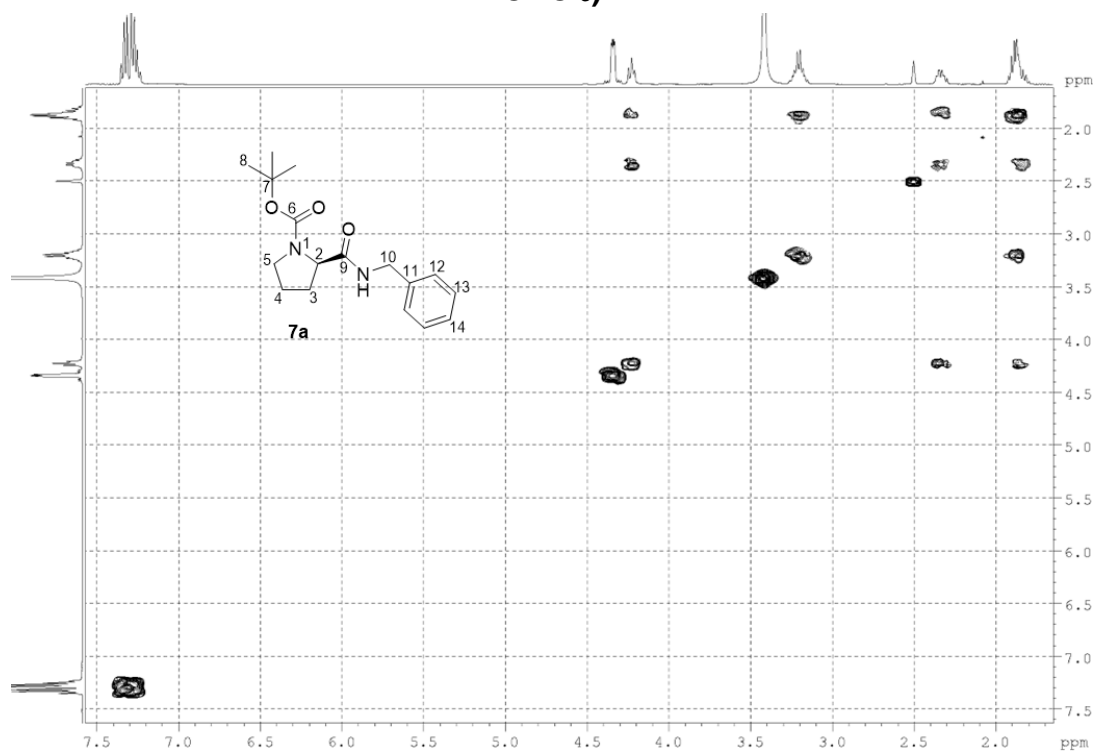
A 52 - Espectro de RMN de ^1H de 7a (400 MHz, CDCl_3)



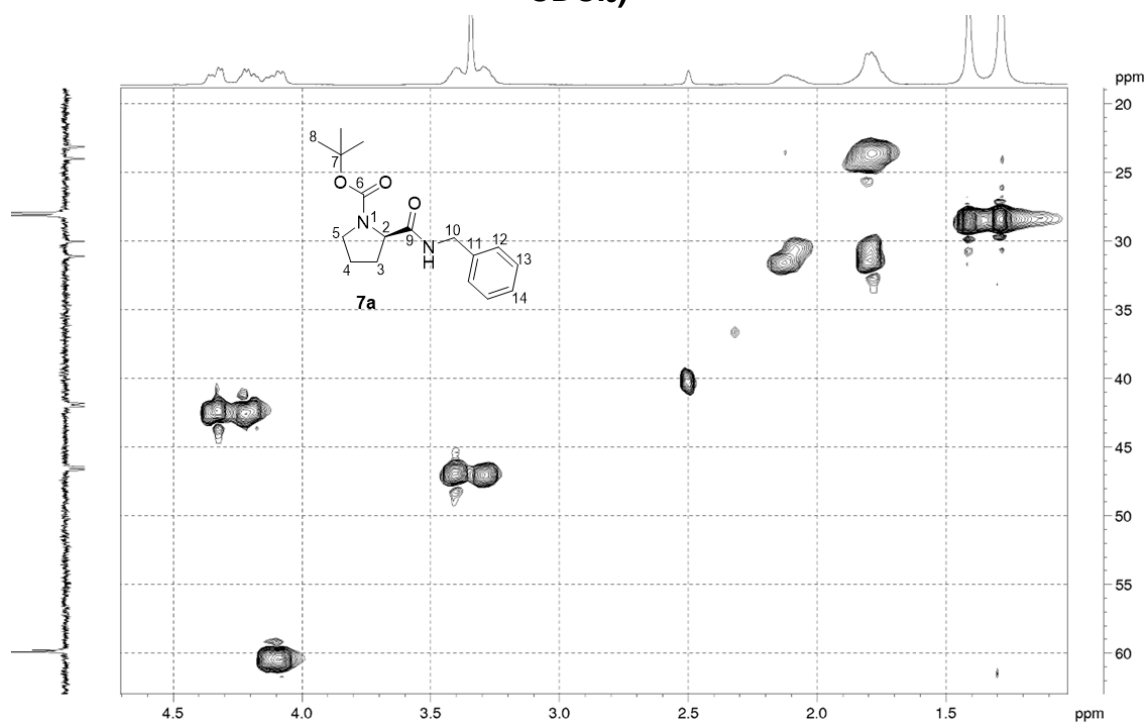
53 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7a (100 MHz, CDCl_3)



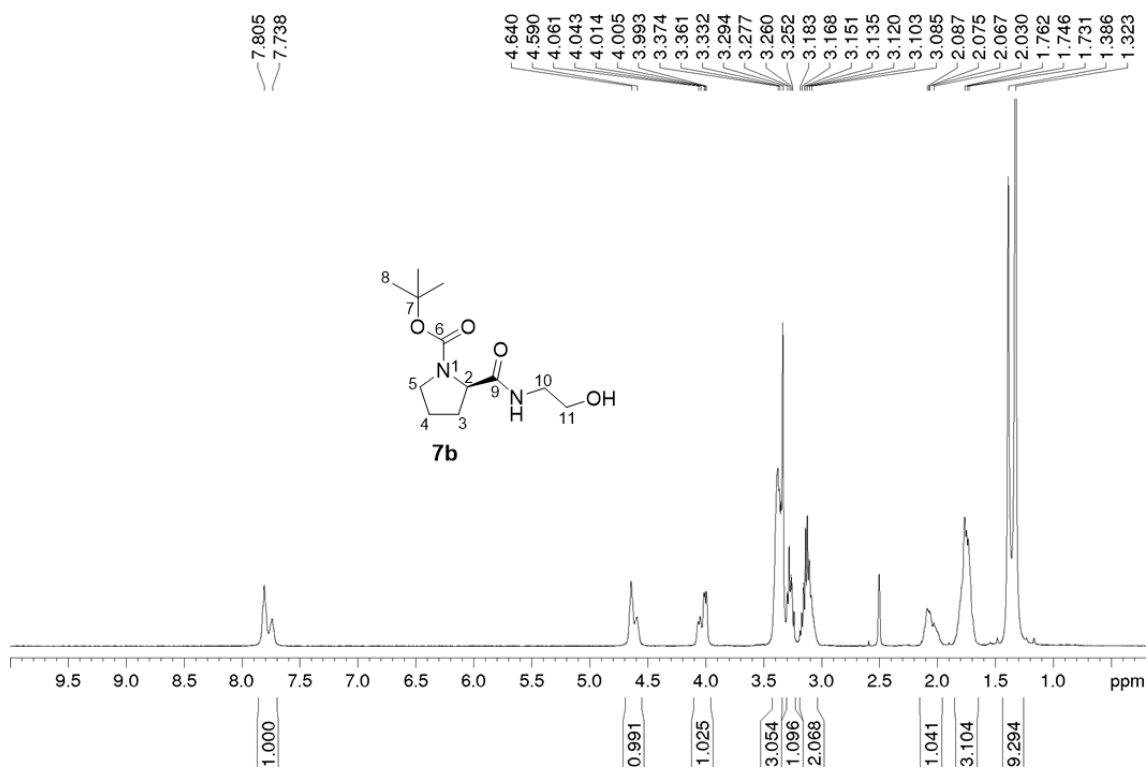
A 54 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 7a (400 MHz, CDCl_3)



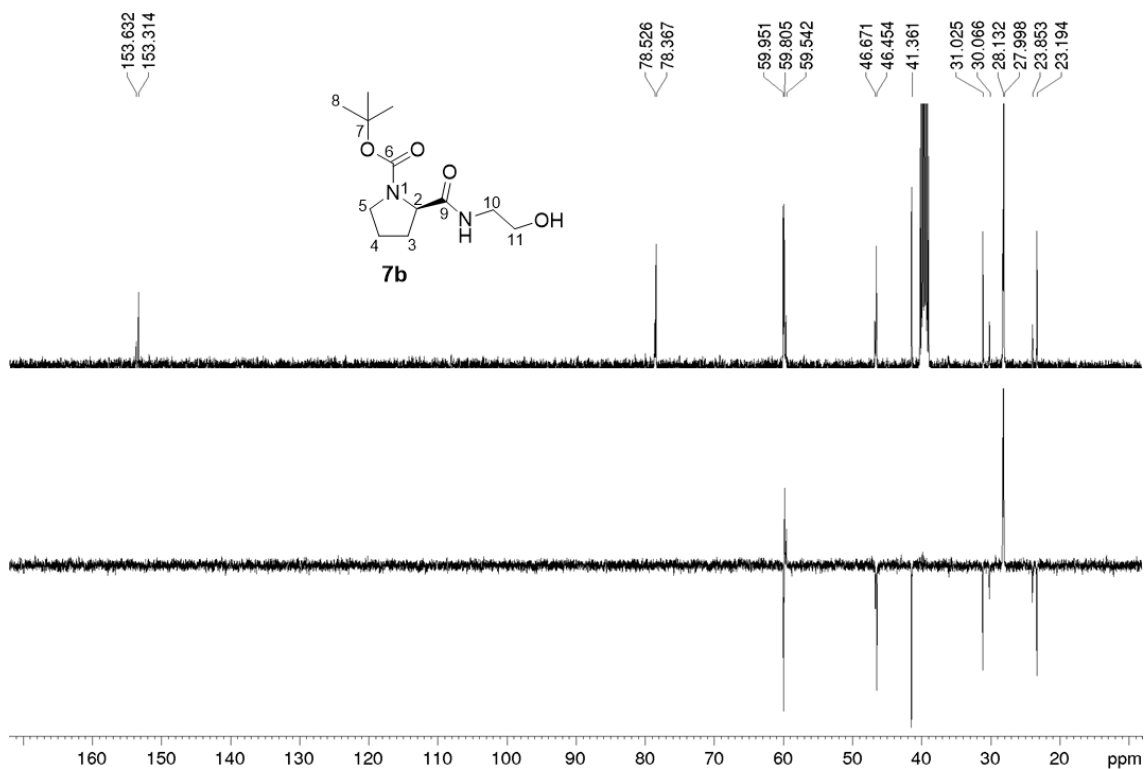
A 55 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7a (400 MHz, CDCl₃)



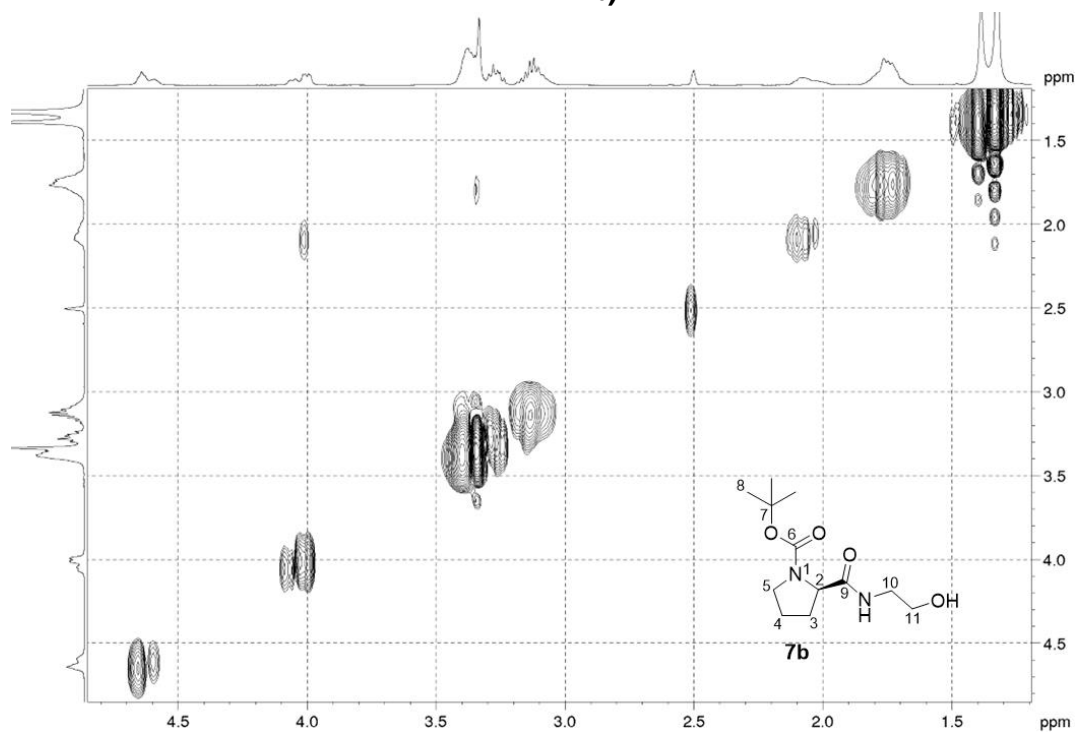
A 56 - Espectro de RMN de ¹H de 7b (400 MHz, DMSO-d₆)



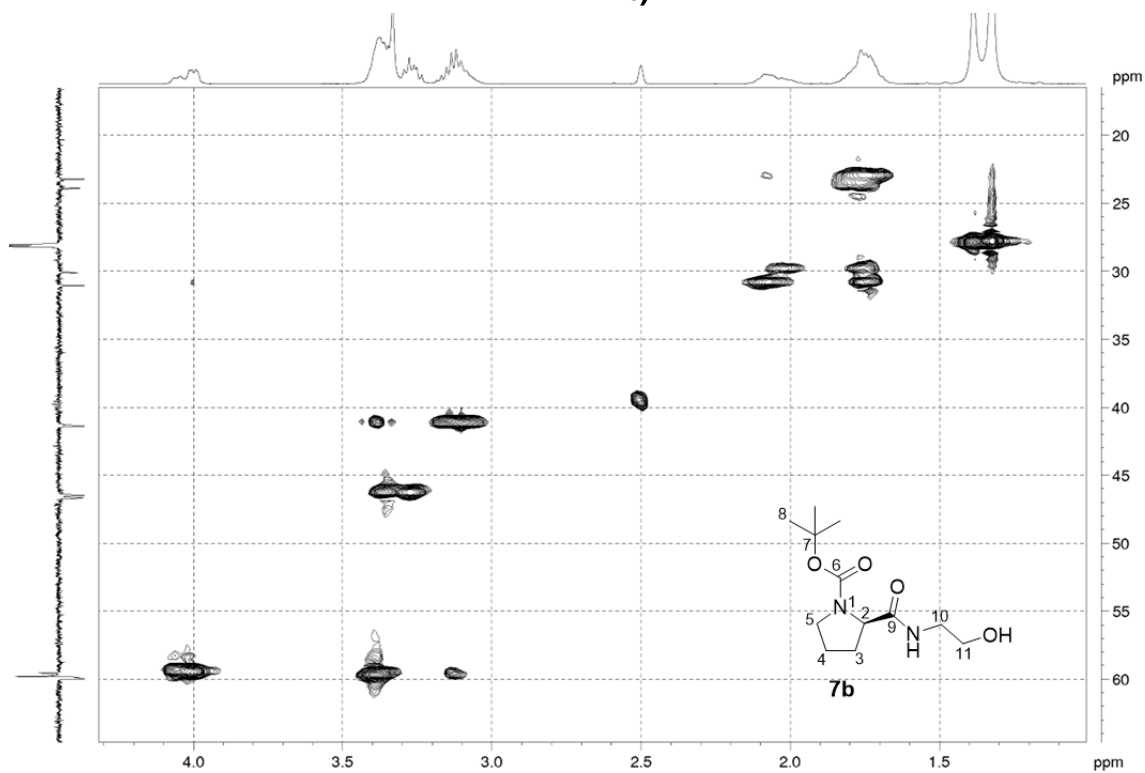
A 57 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7b (100 MHz, DMSO- d_6)



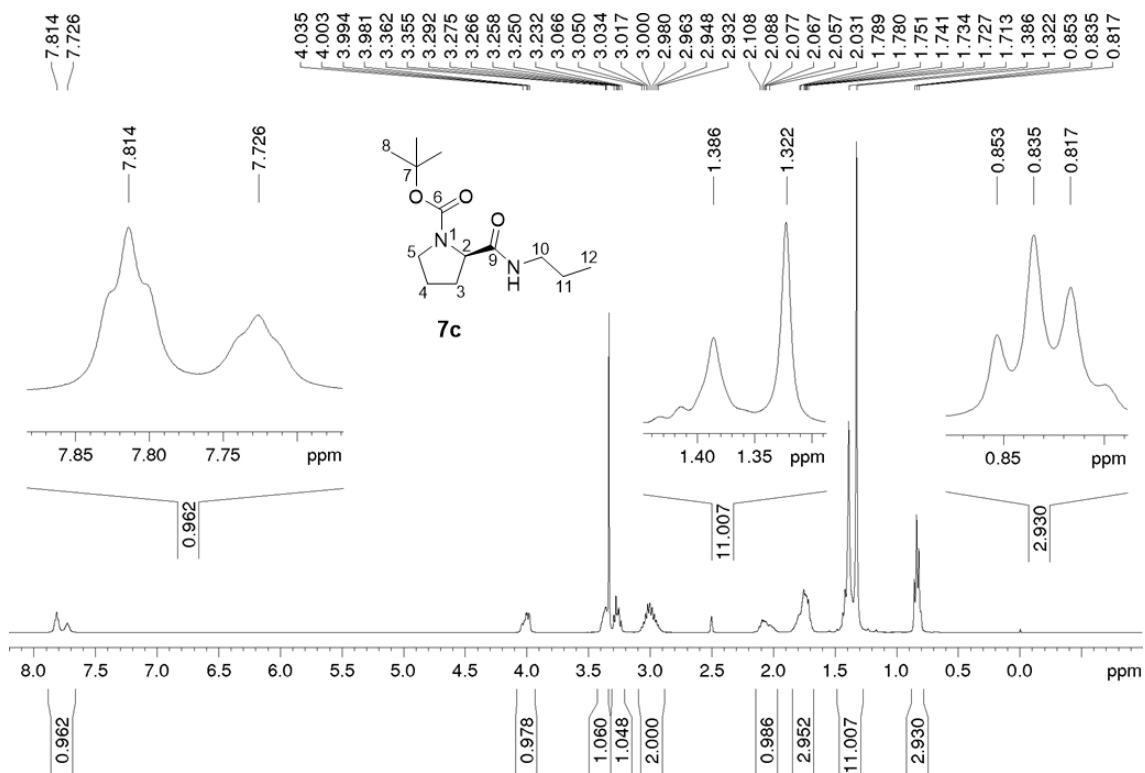
A 58 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 7b (400 MHz, DMSO- d_6)



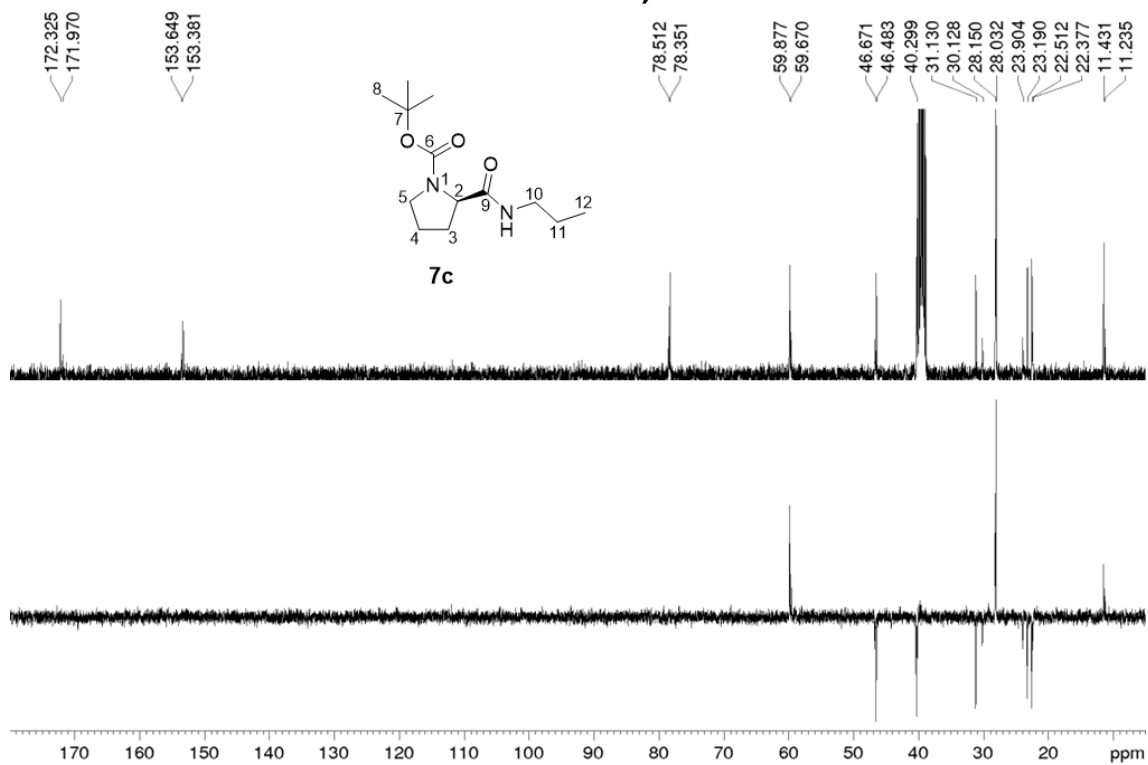
A 59 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7b (400 MHz, DMSO- d_6)



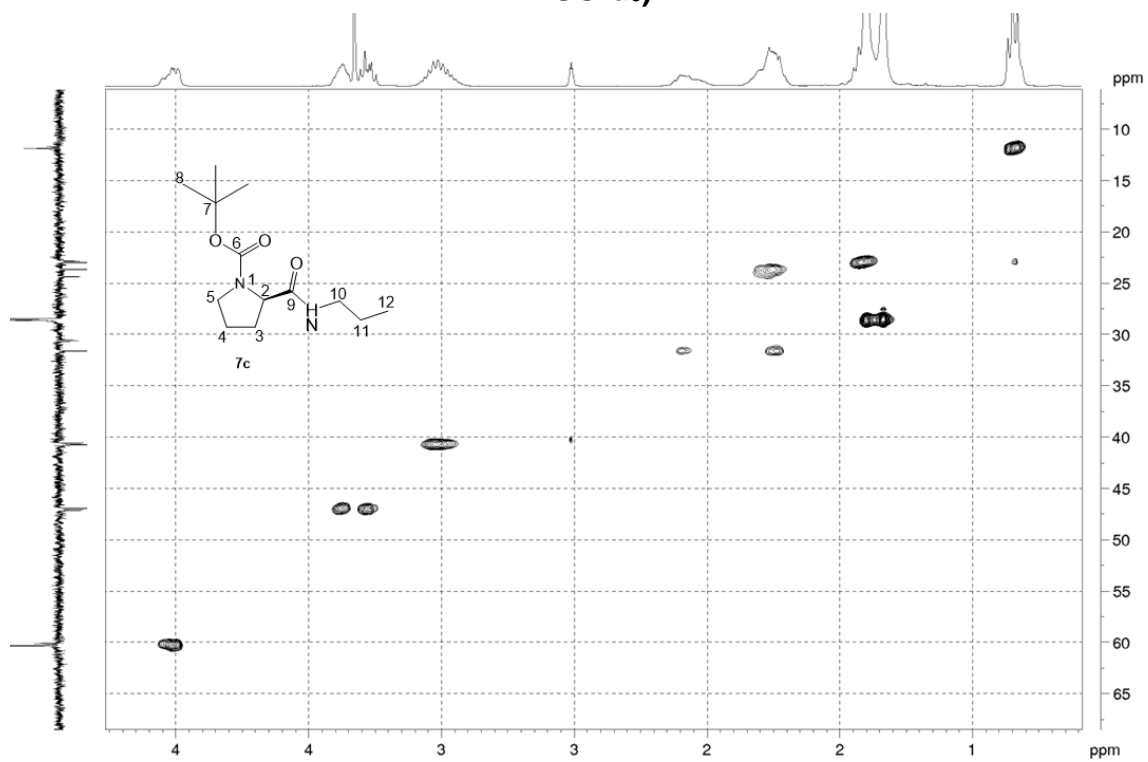
A 60 - Espectro de RMN de ^1H de 7c (400 MHz, DMSO- d_6)



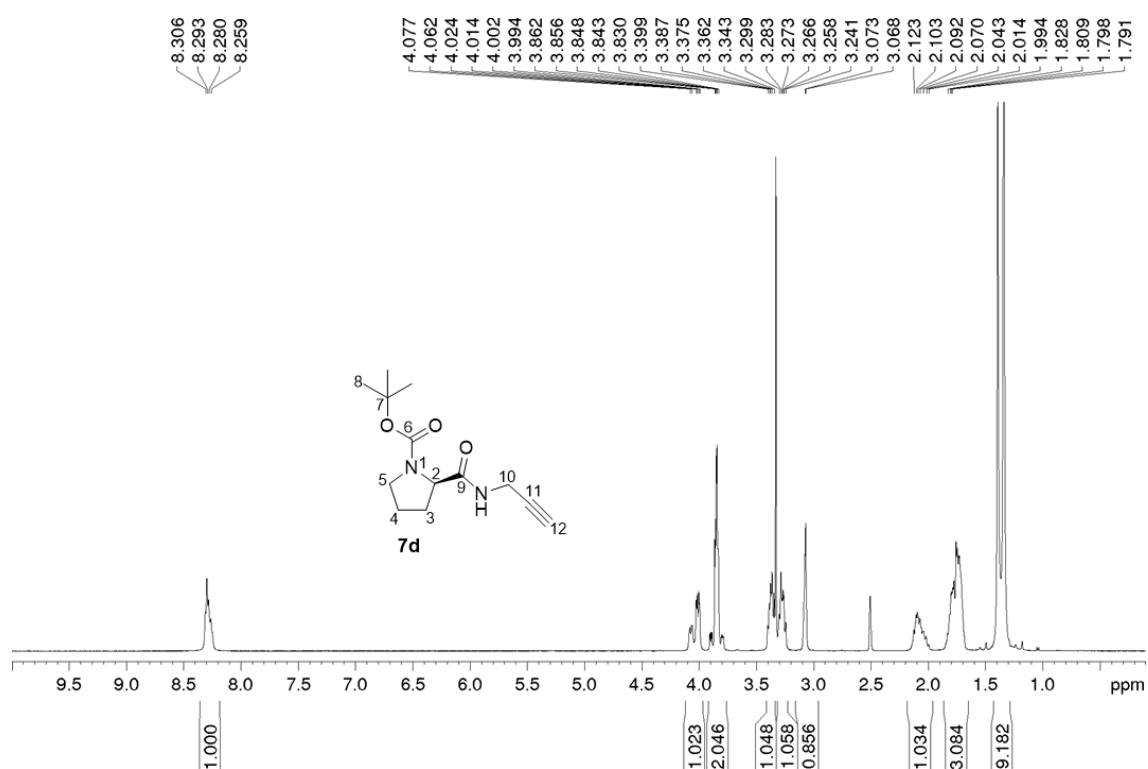
A 61 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7c (100 MHz, DMSO- d_6)



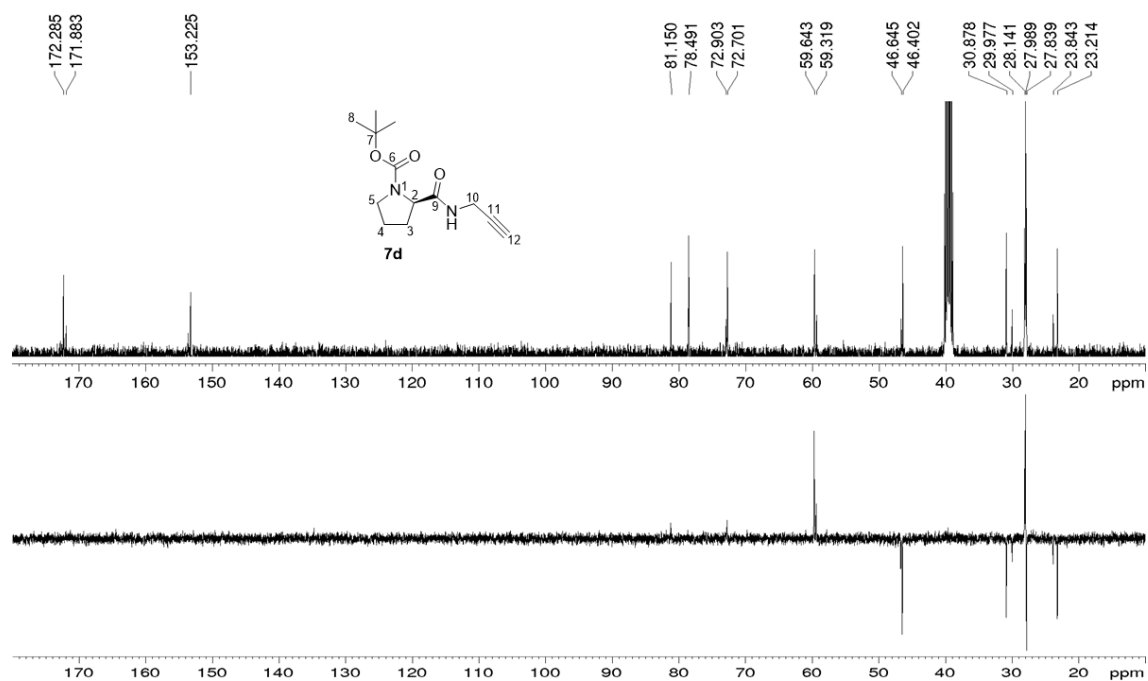
A 62 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 7c (400 MHz, DMSO- d_6)



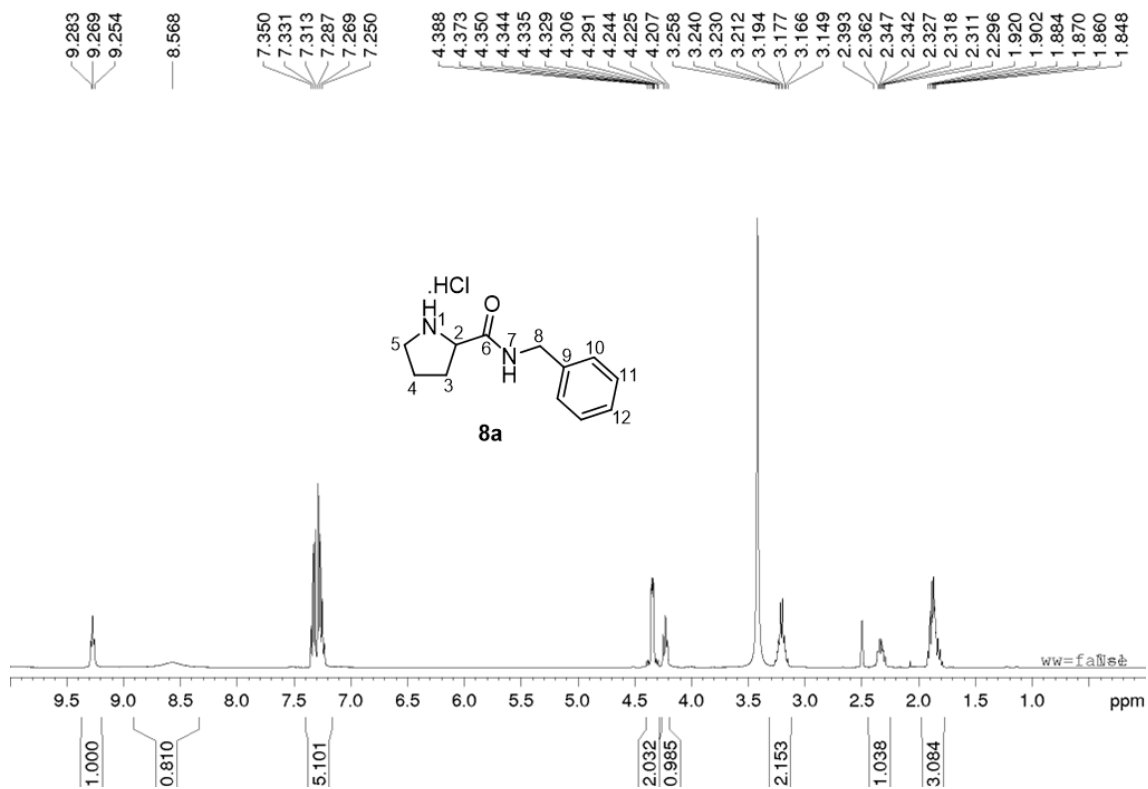
A 63 - Espectro de RMN de ^1H de 7d (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



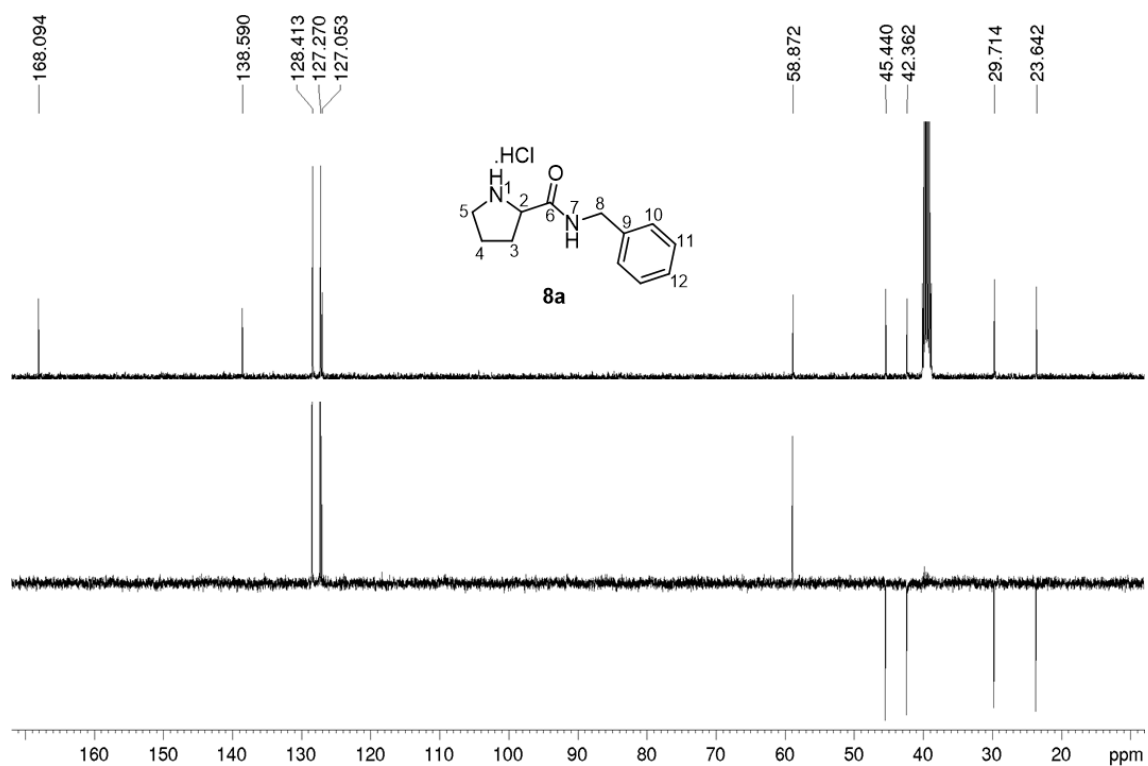
A 64 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 7d (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



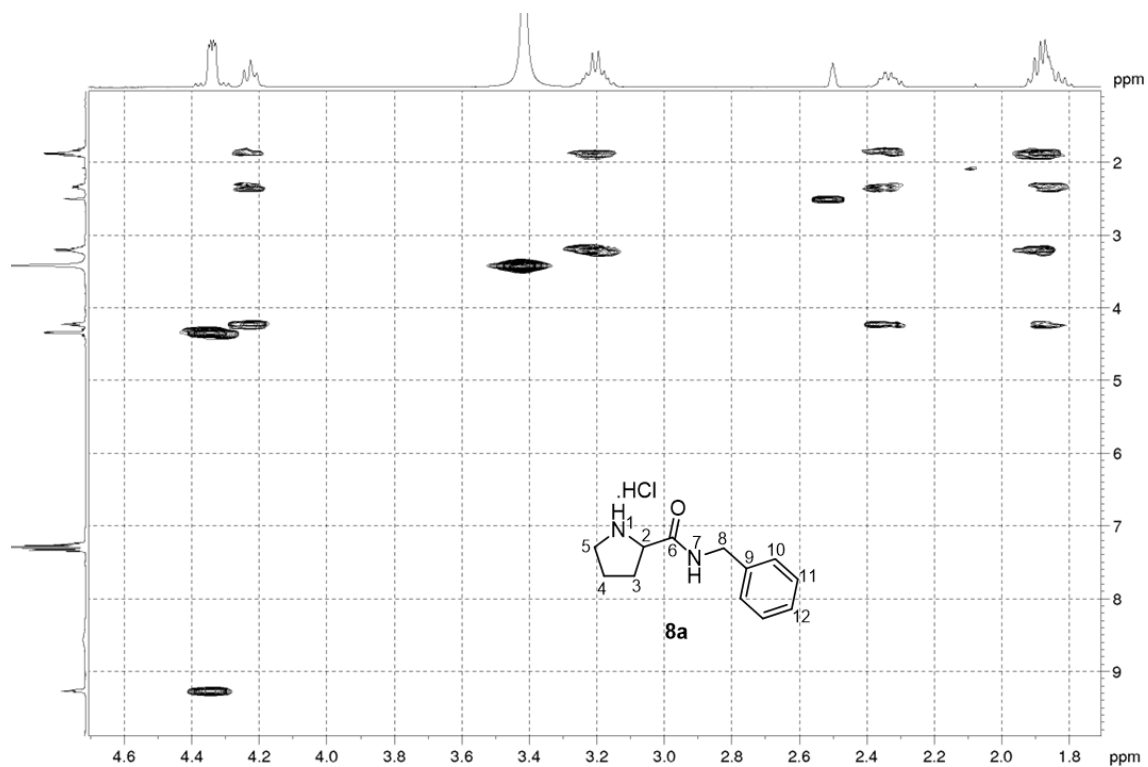
A 65 - Espectro de RMN de ^1H de 8a (400 MHz, DMSO-d_6)



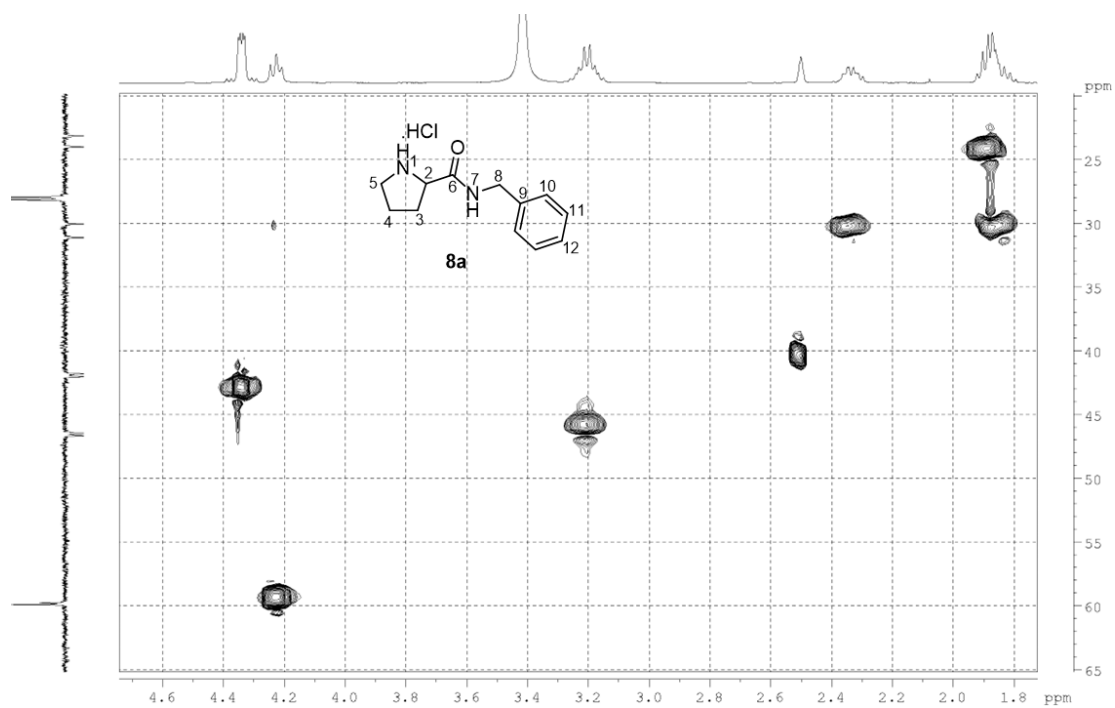
A 66 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8a (100 MHz, DMSO-d_6)



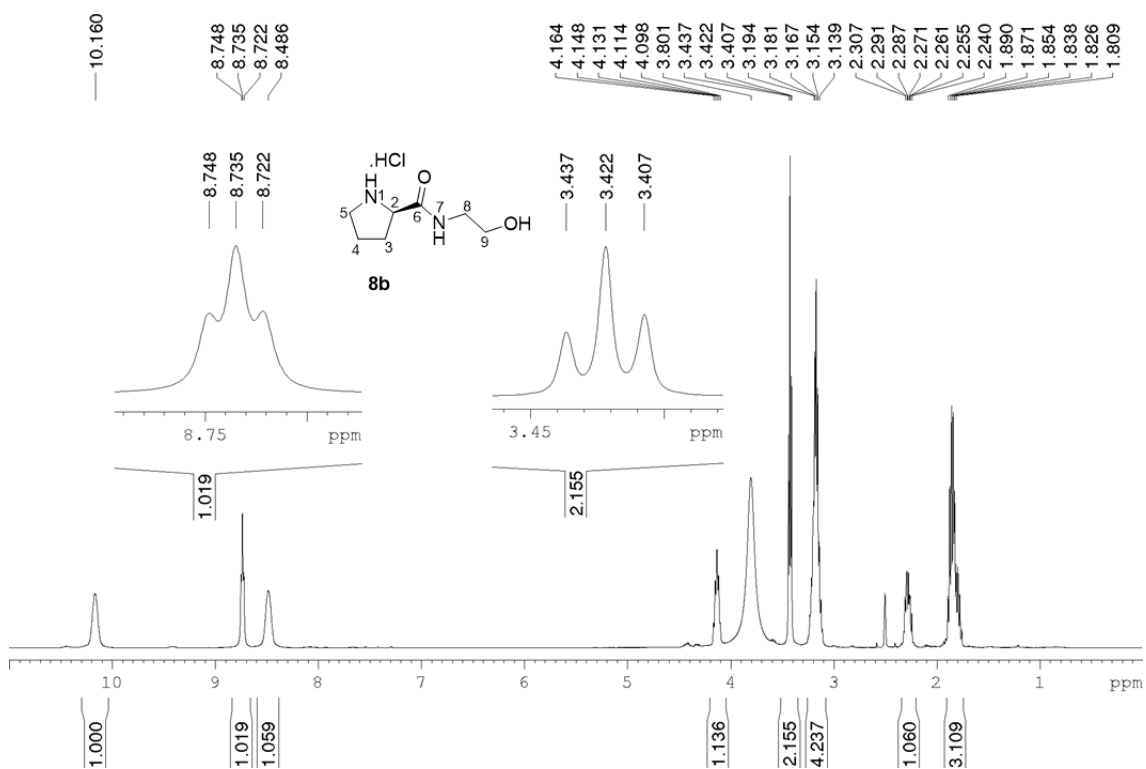
A 67- Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8a (400 MHz, DMSO-d₆)



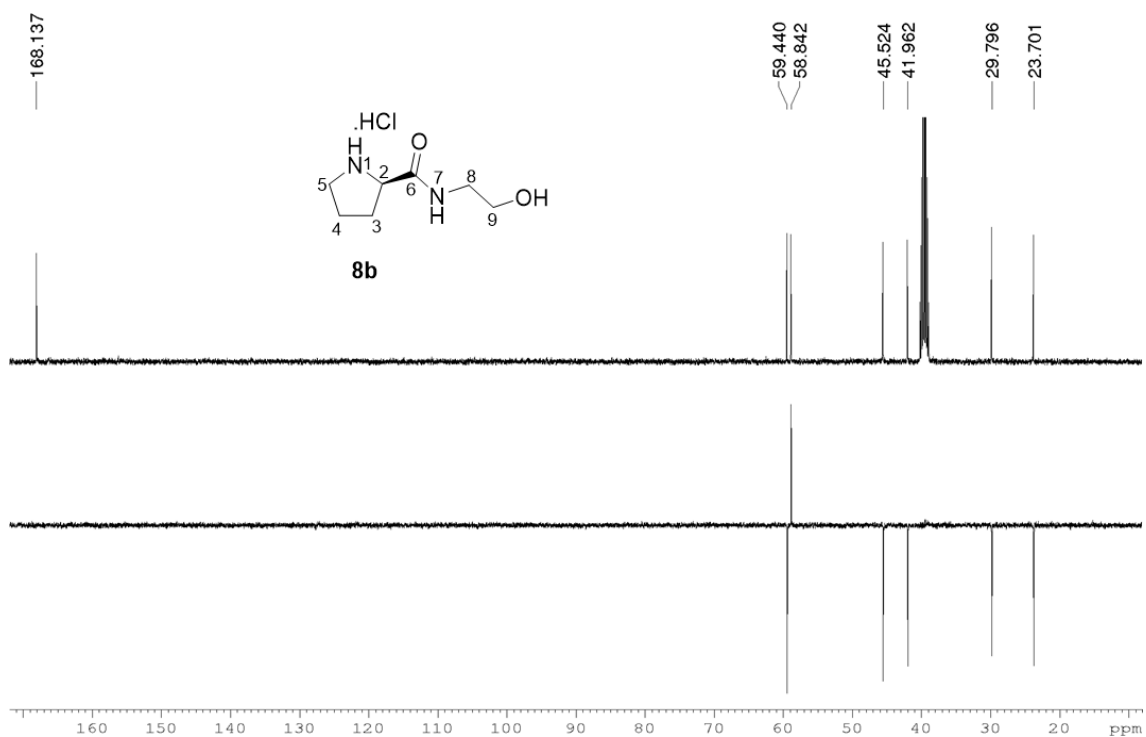
A 68 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8a (400 MHz, DMSO-d₆)



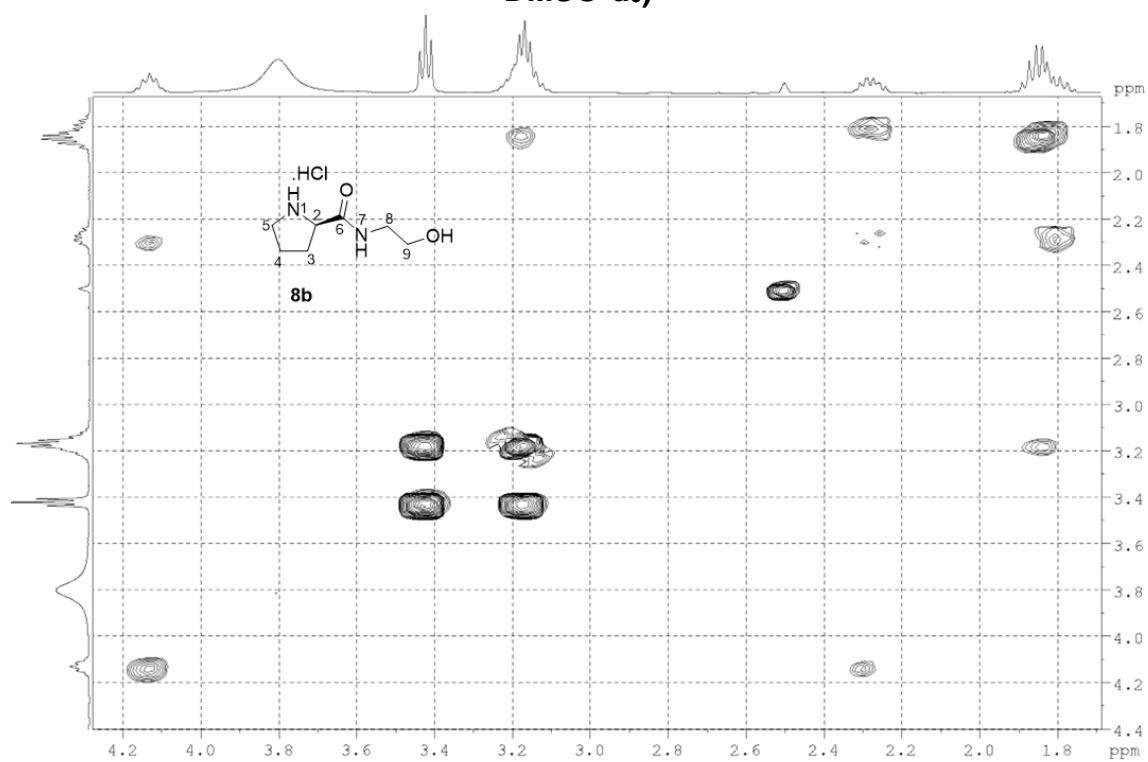
A 69 - Espectro de RMN de ^1H de 8b (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



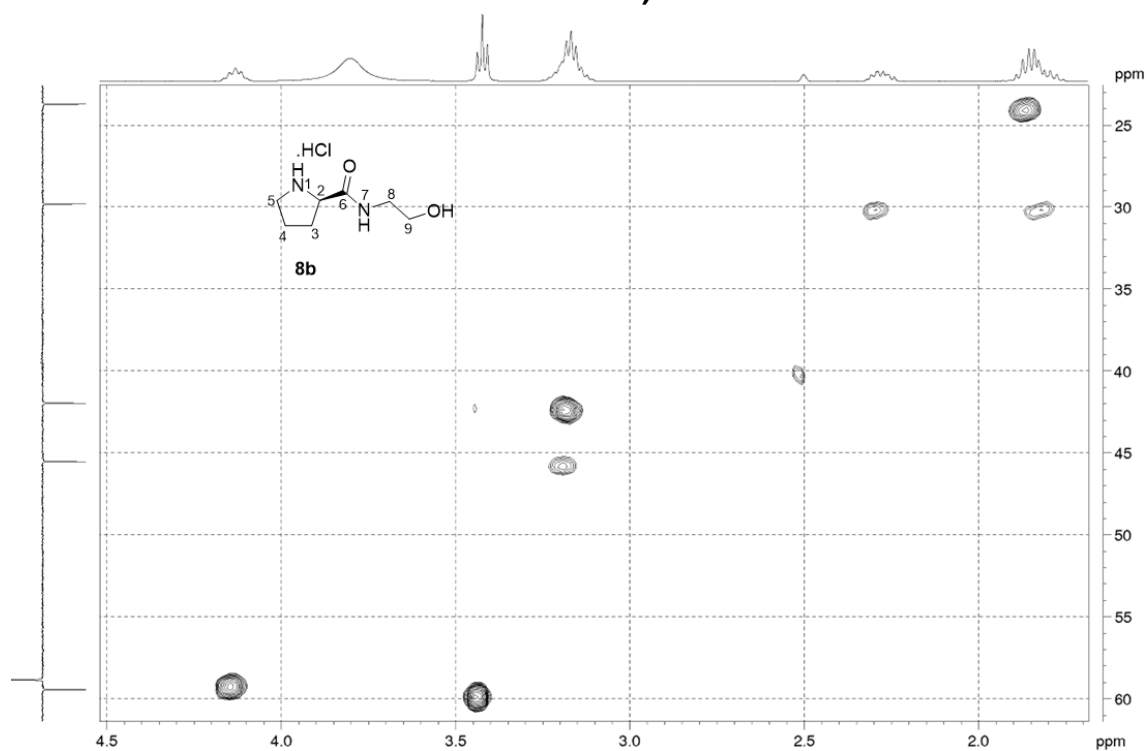
A 70 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8b (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



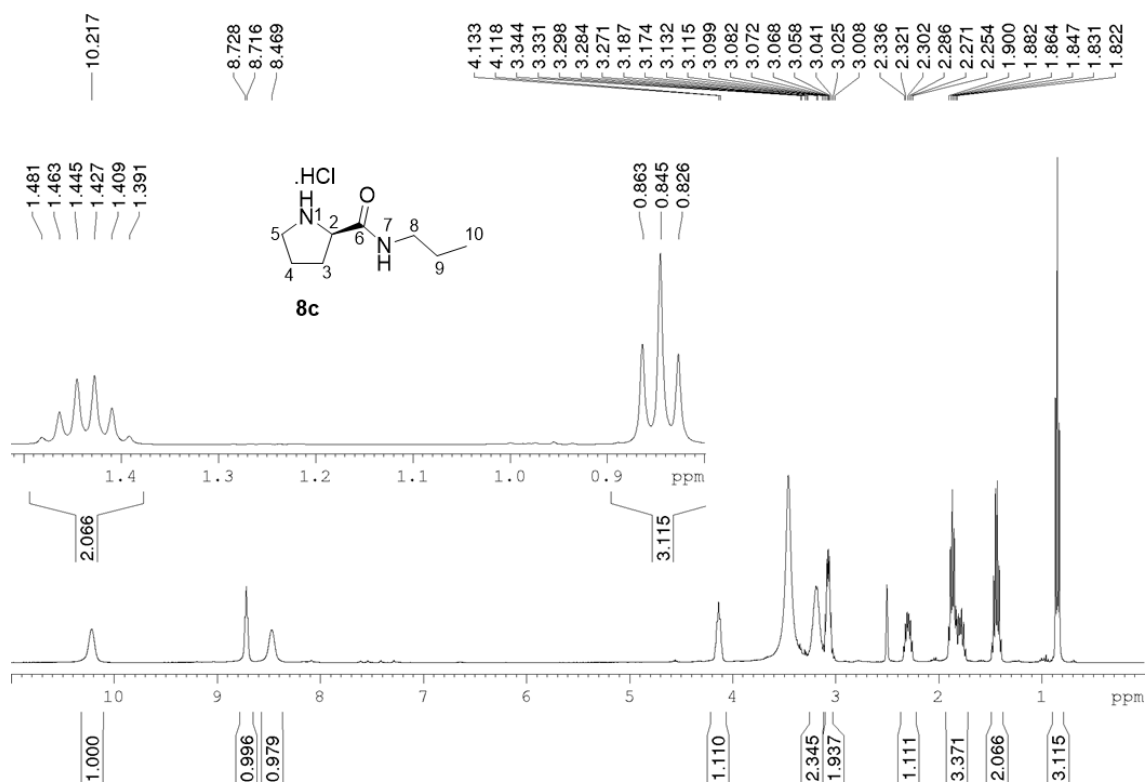
A 71 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8b (400 MHz, DMSO-d₆)



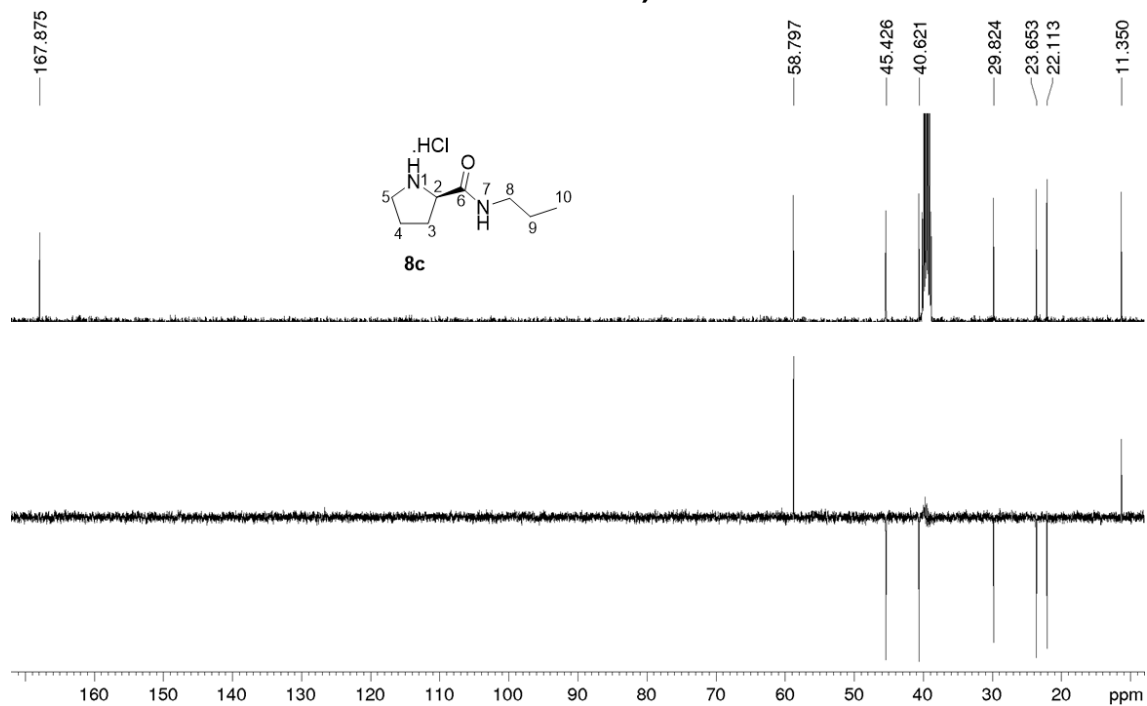
A 72 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8b (400 MHz, DMSO-d₆)



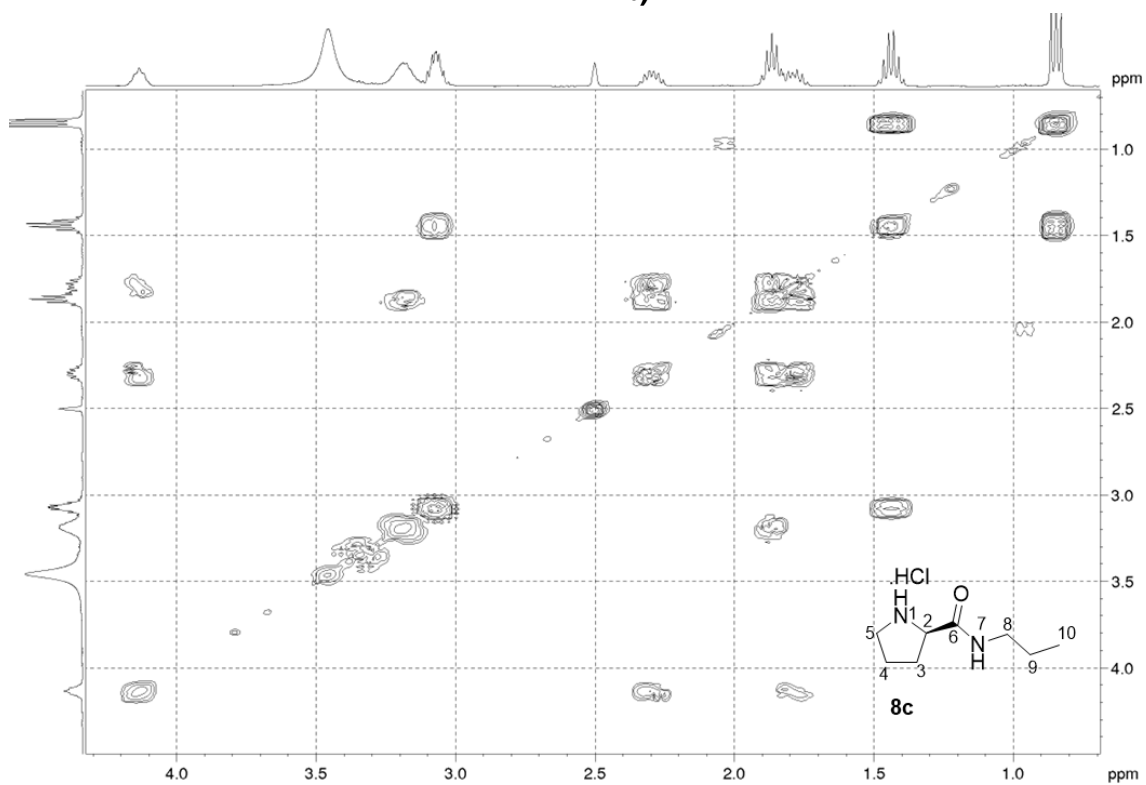
A 73 - Espectro de RMN de ^1H de 8c (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



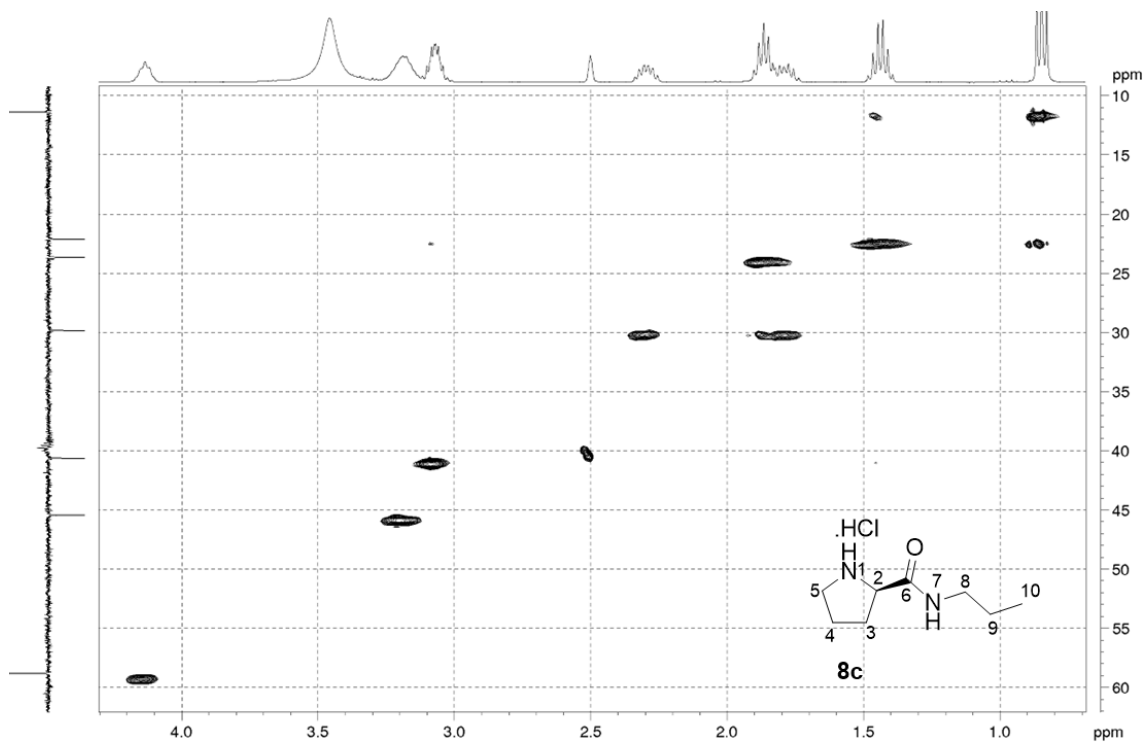
A 74 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8c (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



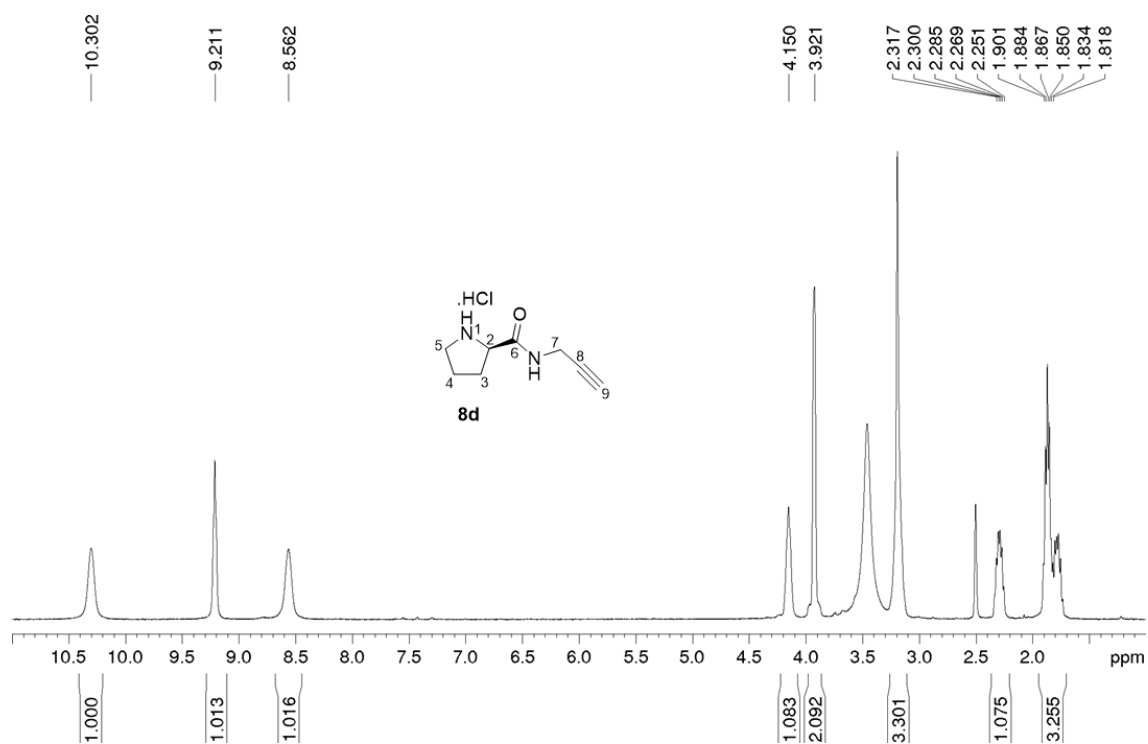
A 75 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 8c (400 MHz, DMSO-d₆)



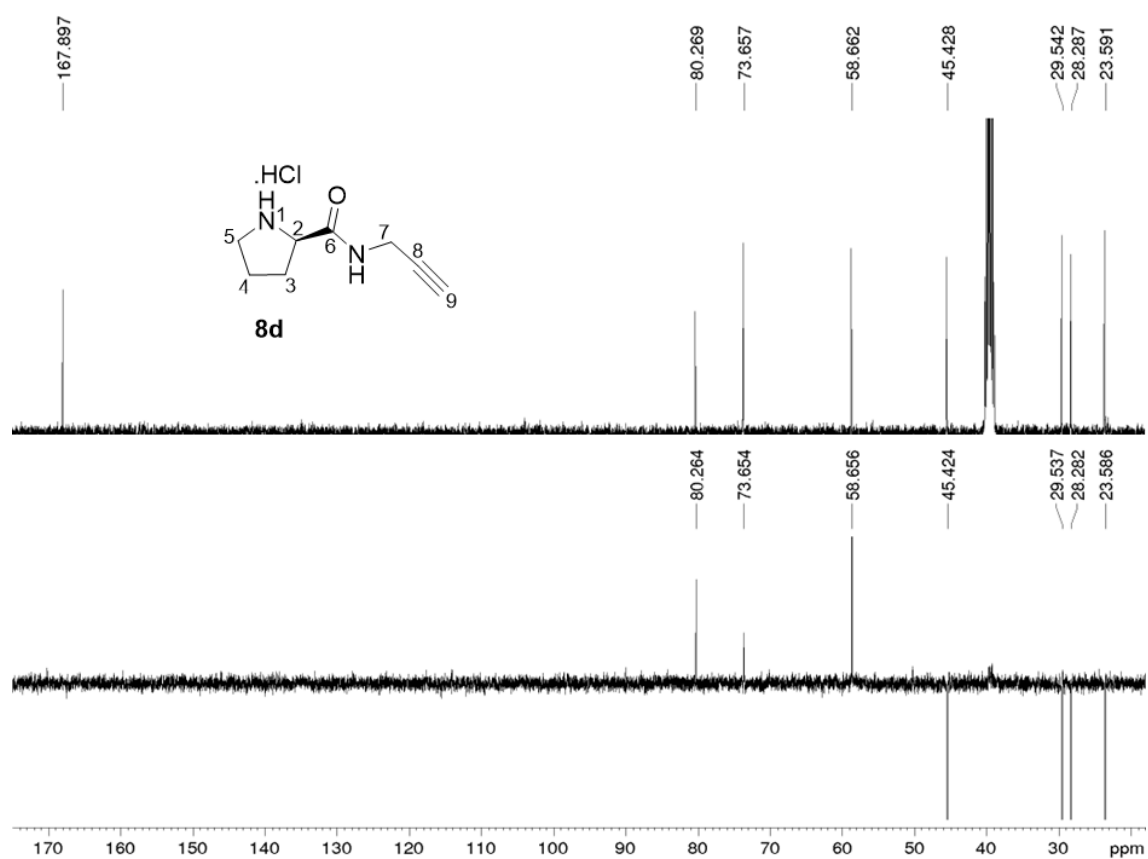
A 76 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8c (400 MHz, DMSO-d₆)



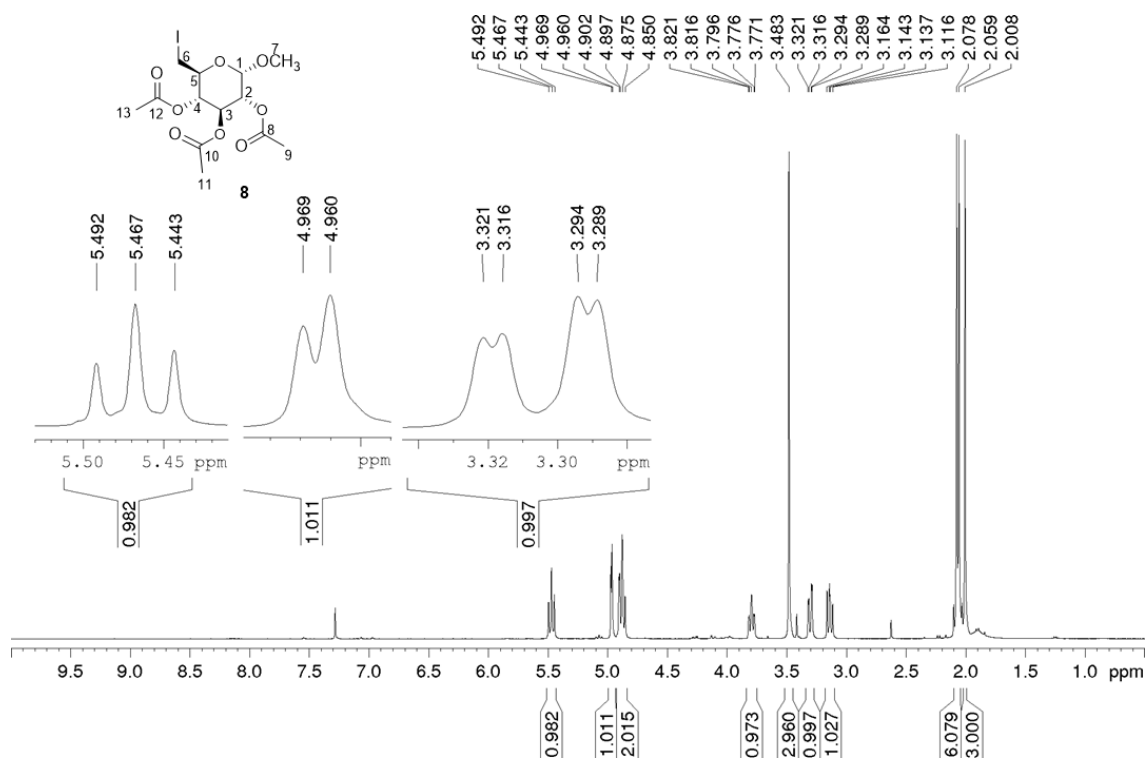
A 77 - Espectro de RMN de ^1H de 8d (400 MHz, DMSO-d_6)



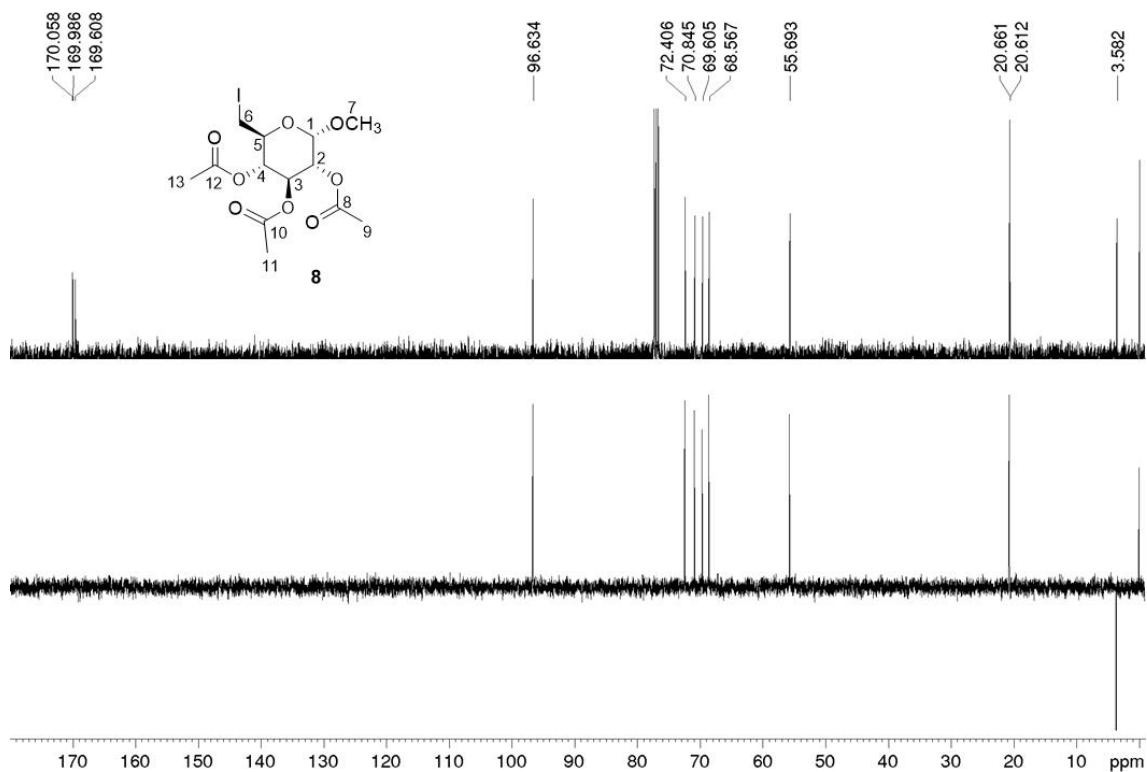
A 78 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 8d (100 MHz, DMSO-d_6)



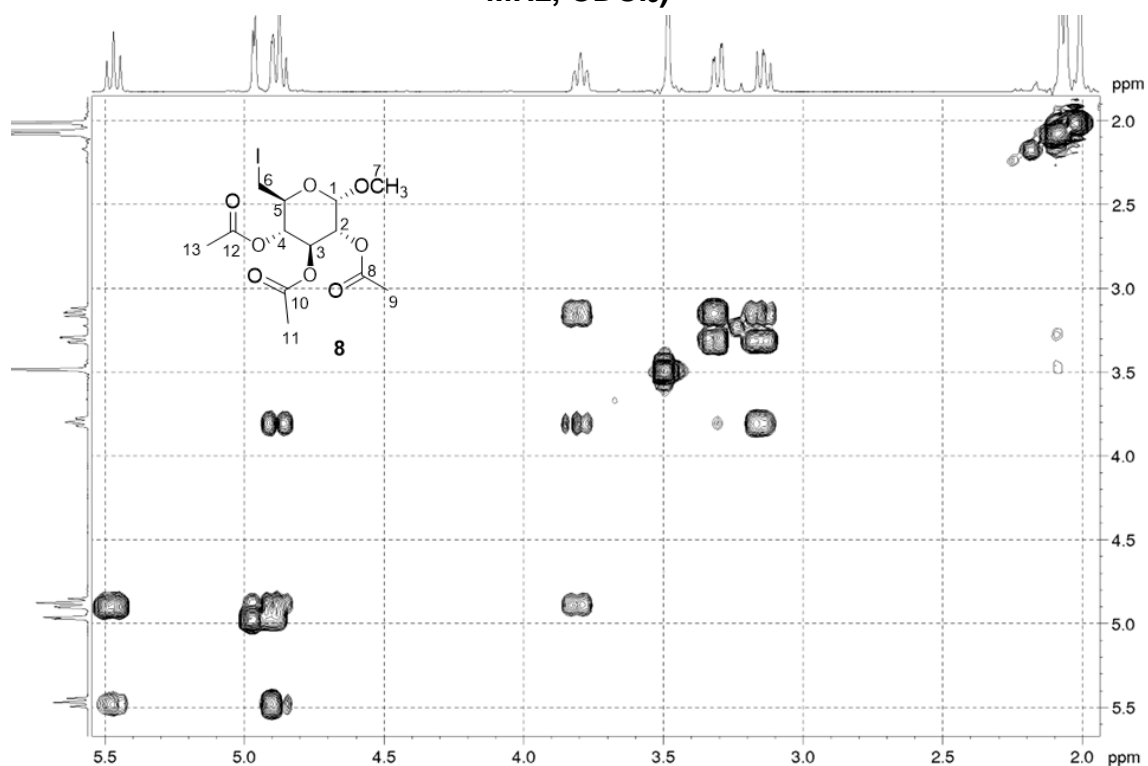
A 79 - Espectro de RMN de ^1H de **8** (400 MHz, CDCl_3)



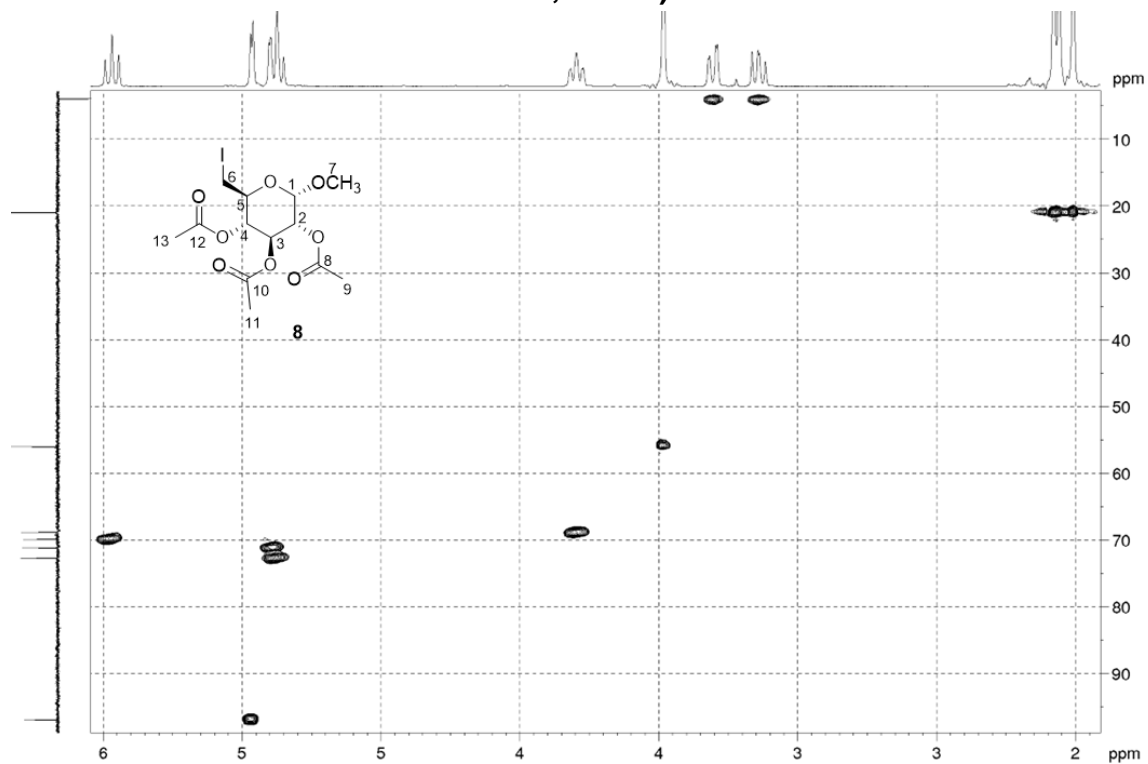
A 80 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de **8** (100 MHz, CDCl_3)



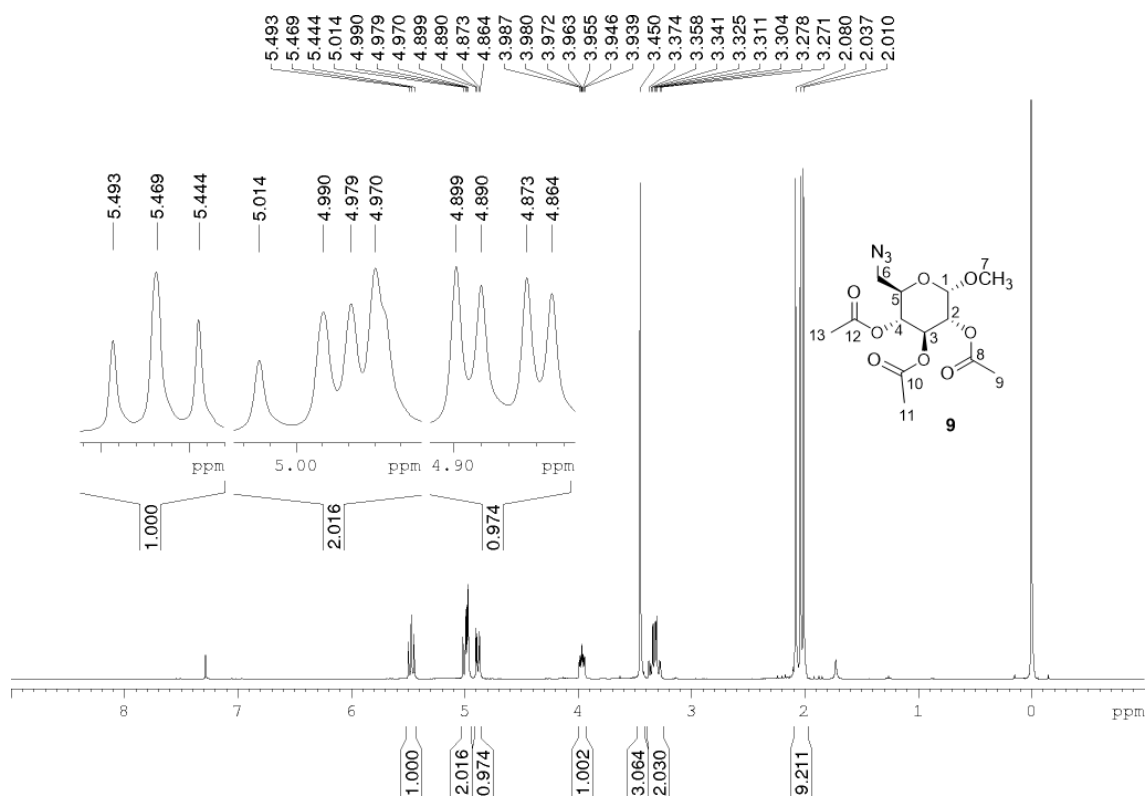
A 81 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos COSY de 8 (400 MHz, CDCl₃)



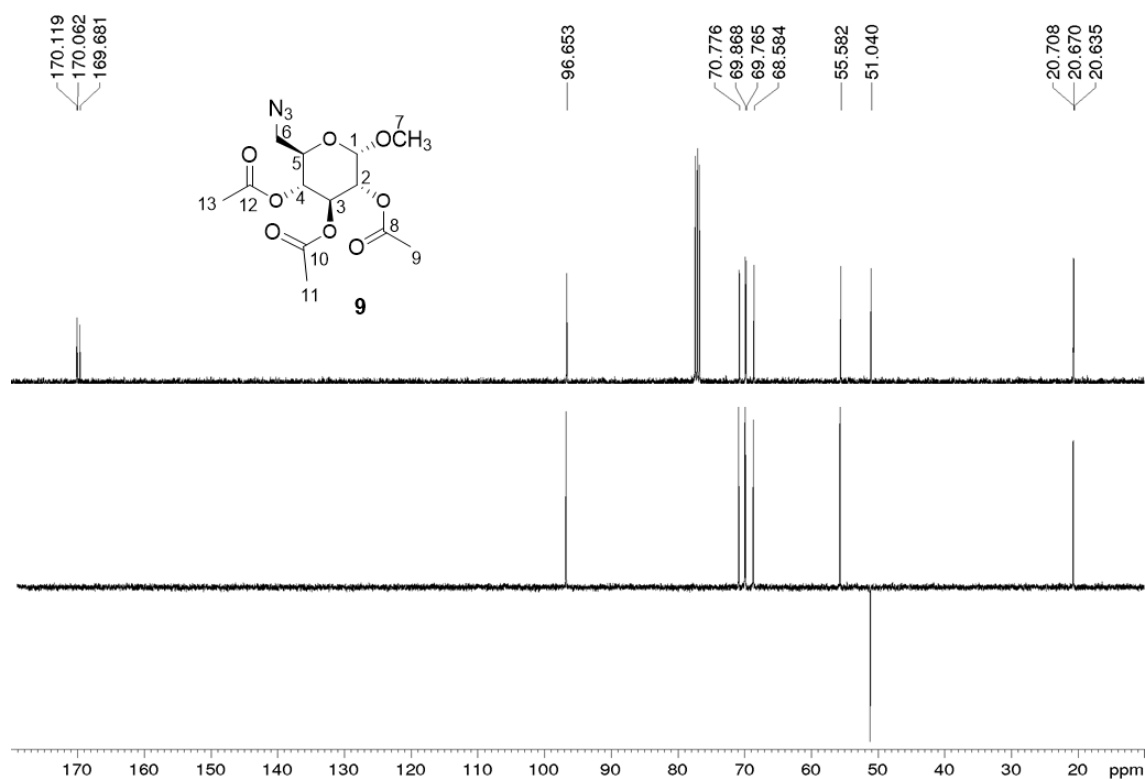
A 82 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos HSQC de 8 (400 MHz, CDCl₃)



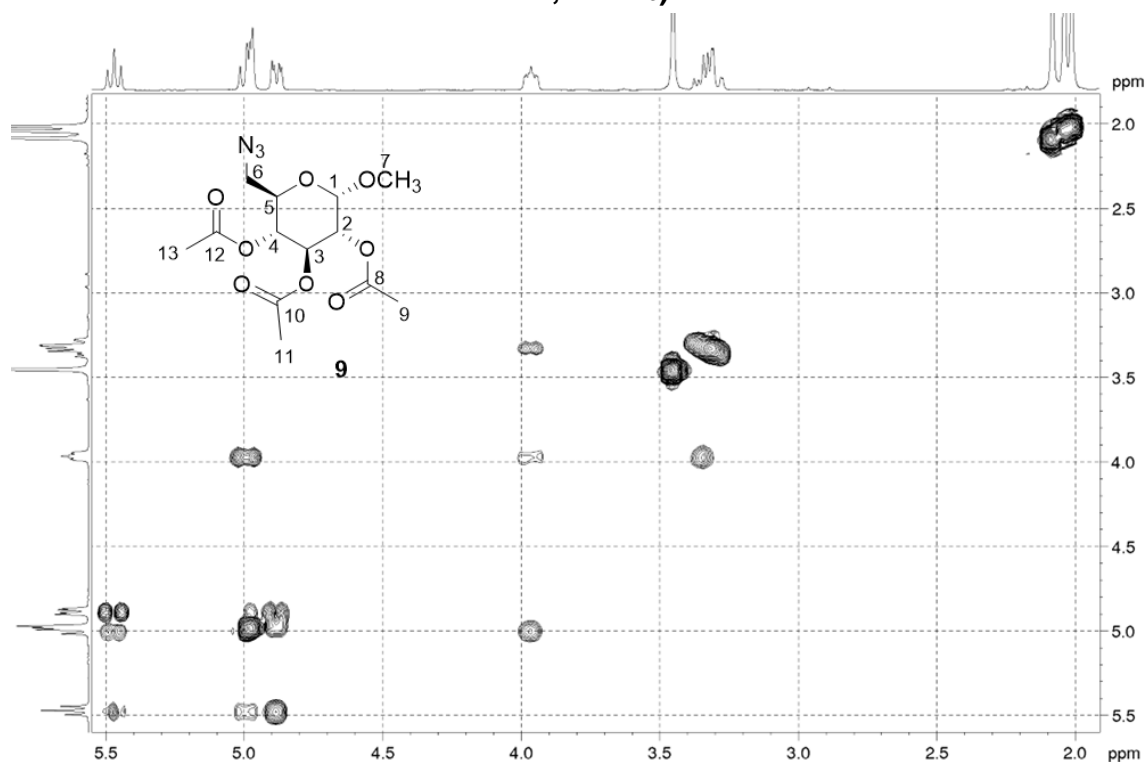
A 83 - Espectro de RMN de ^1H de 9 (400 MHz, CDCl_3)



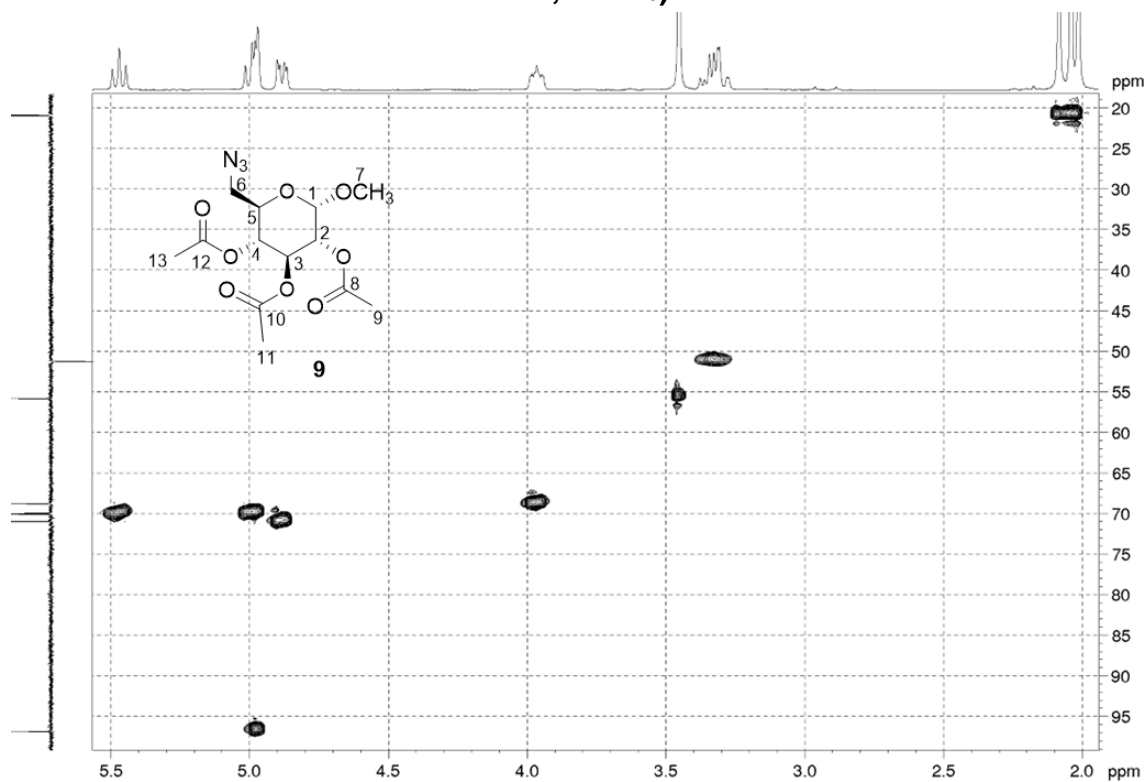
A 84 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 9 (100 MHz, CDCl_3)



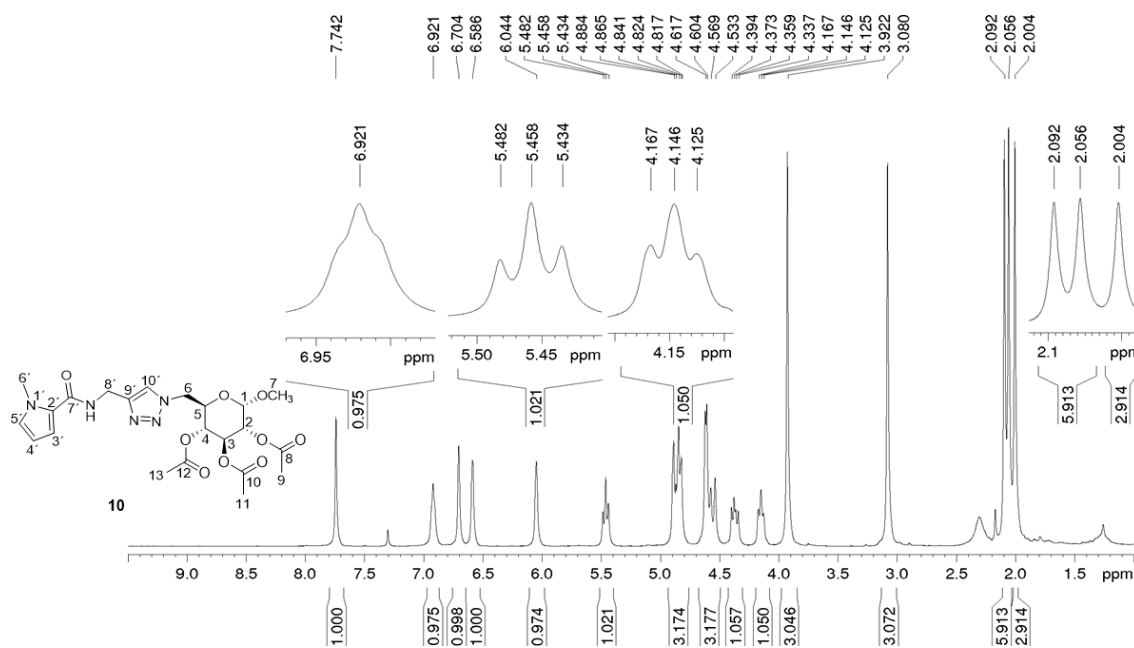
A 85 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos COSY de 9 (400 MHz, CDCl₃)



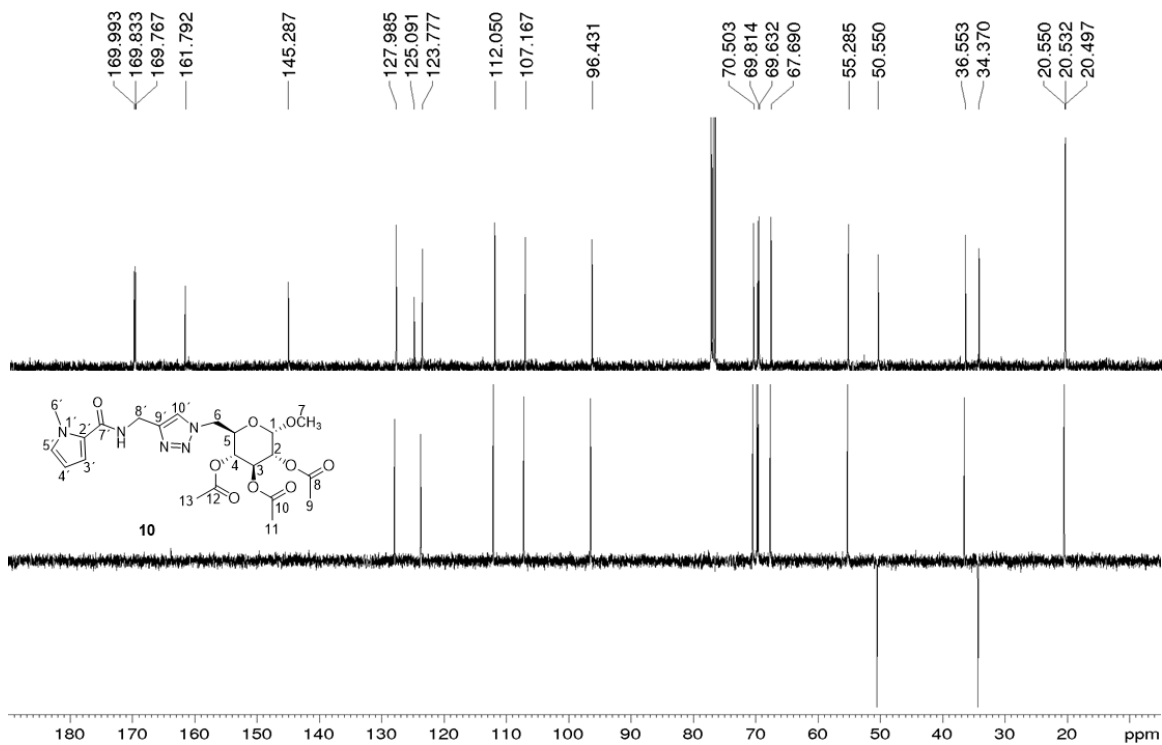
A 86 - Espectro Parcial de RMN de Mapa de contornos HSQC de 9 (400 MHz, CDCl₃)



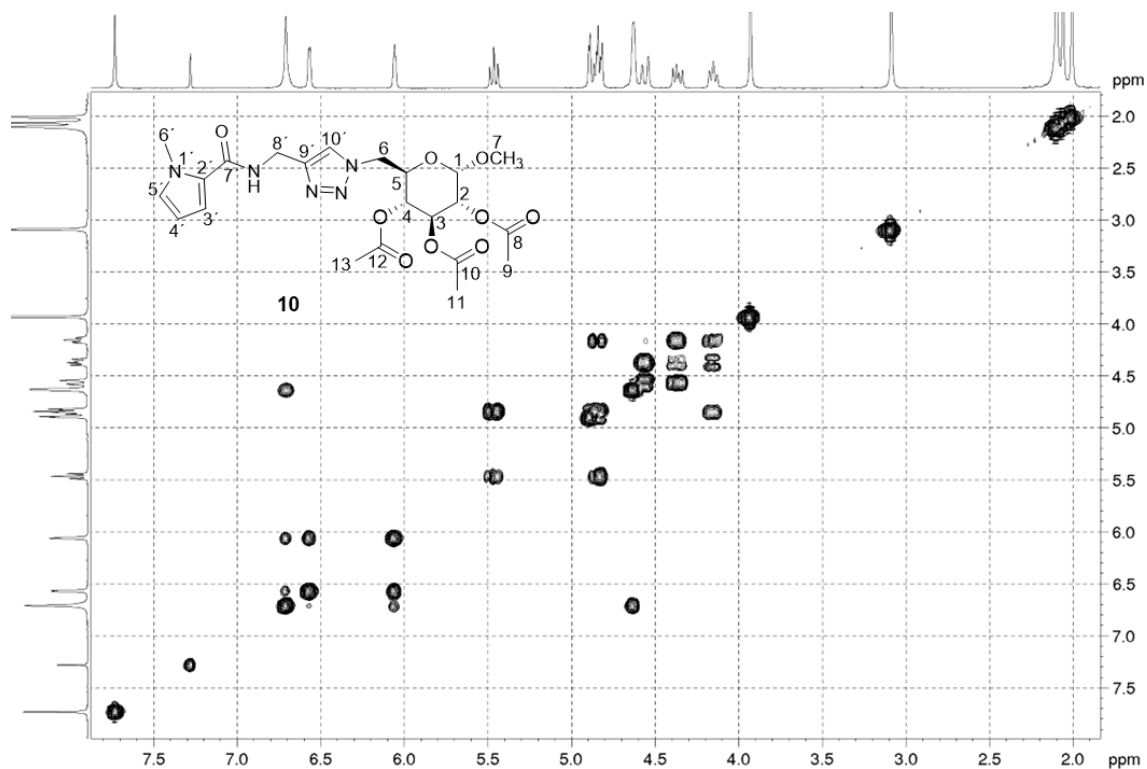
A 87 - Espectro de RMN de ^1H de 10 (400 MHz, CDCl_3)



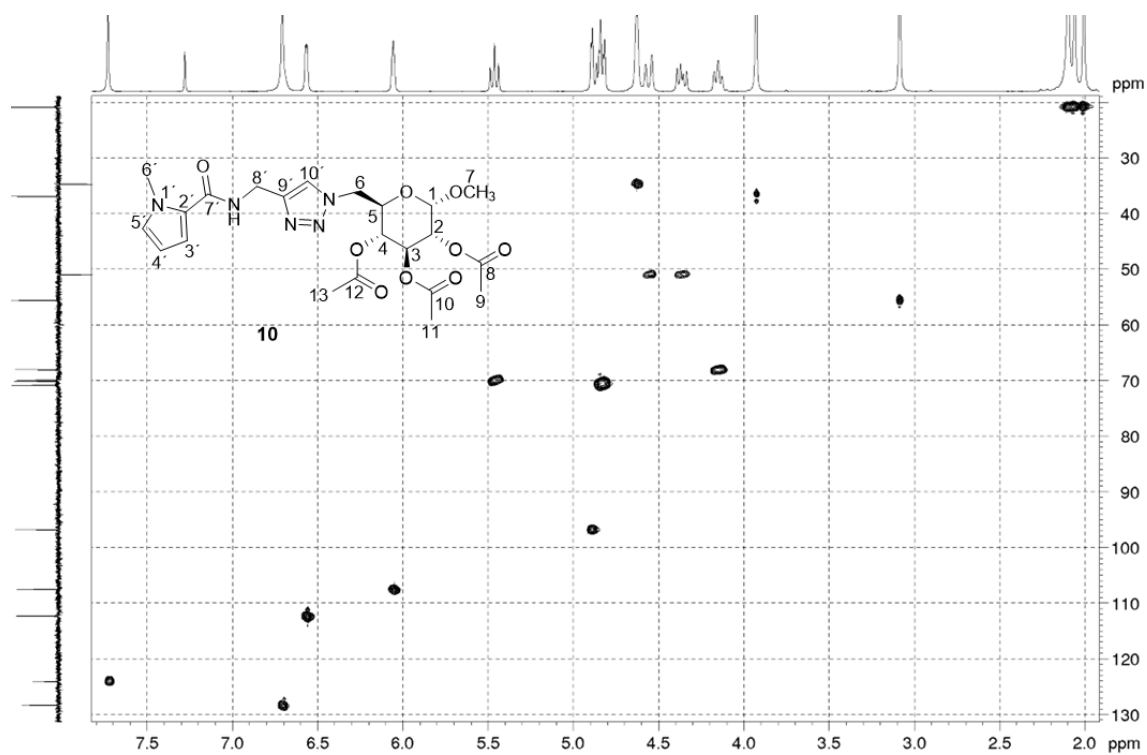
A 88 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 10 (100 MHz, CDCl_3)



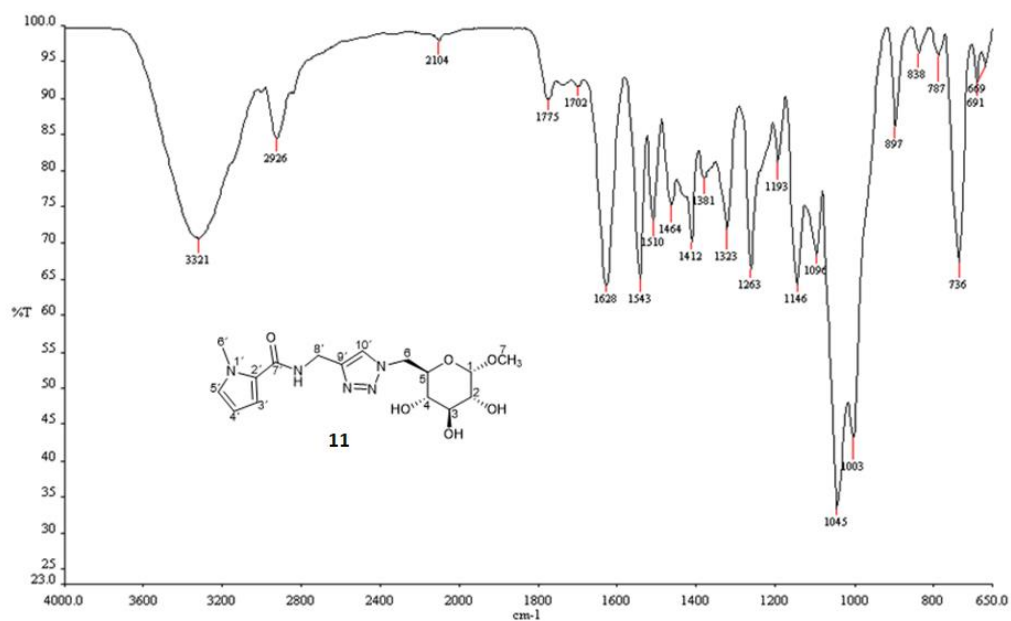
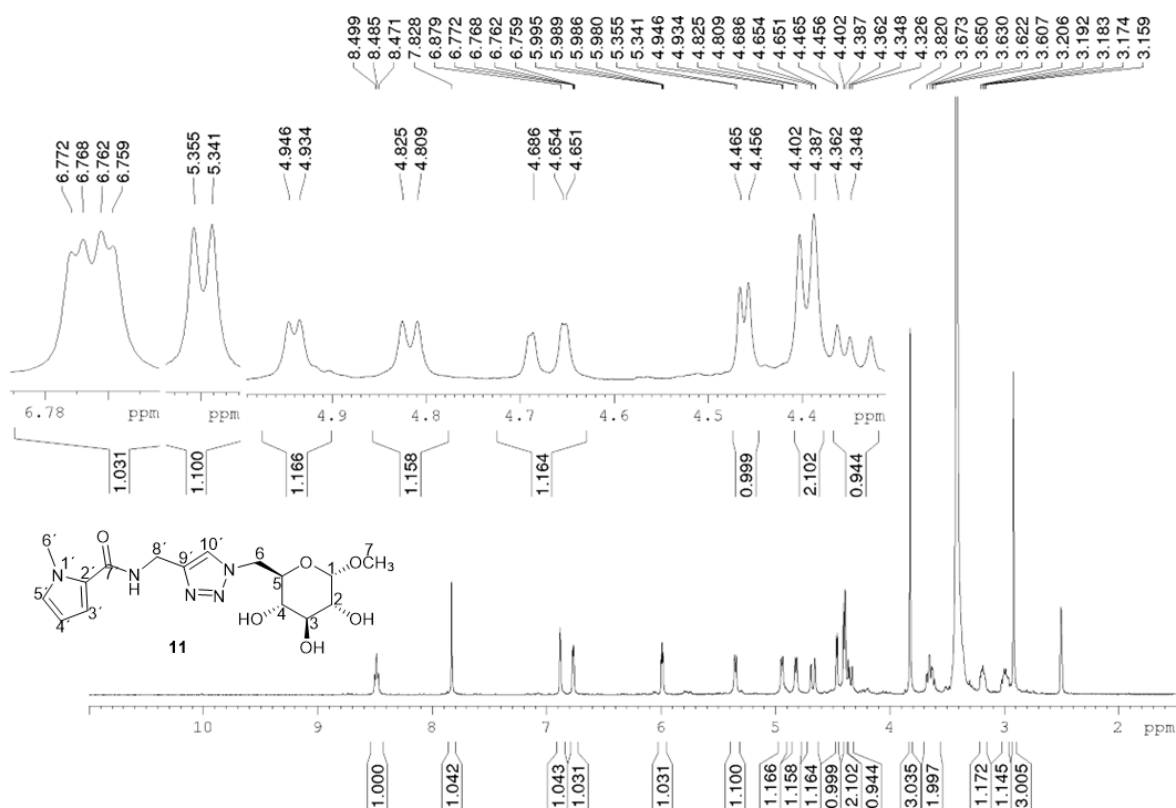
A 89 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 10 (400 MHz, CDCl₃)



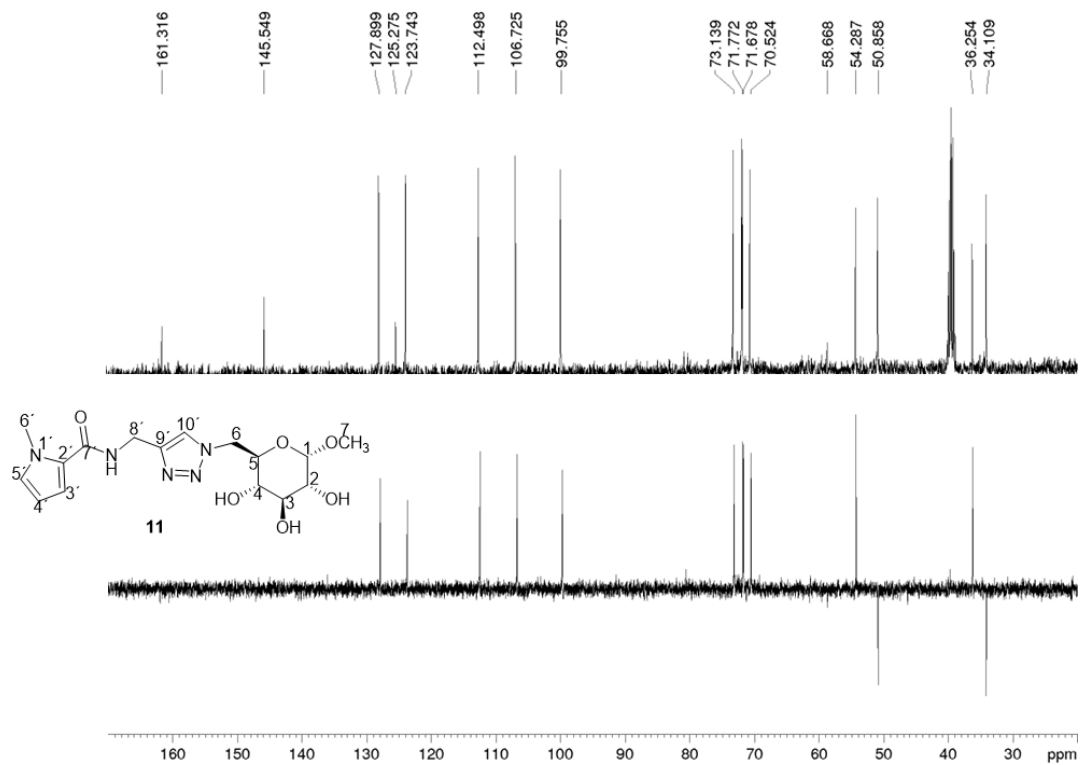
A 90 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 10 (400 MHz, CDCl₃)



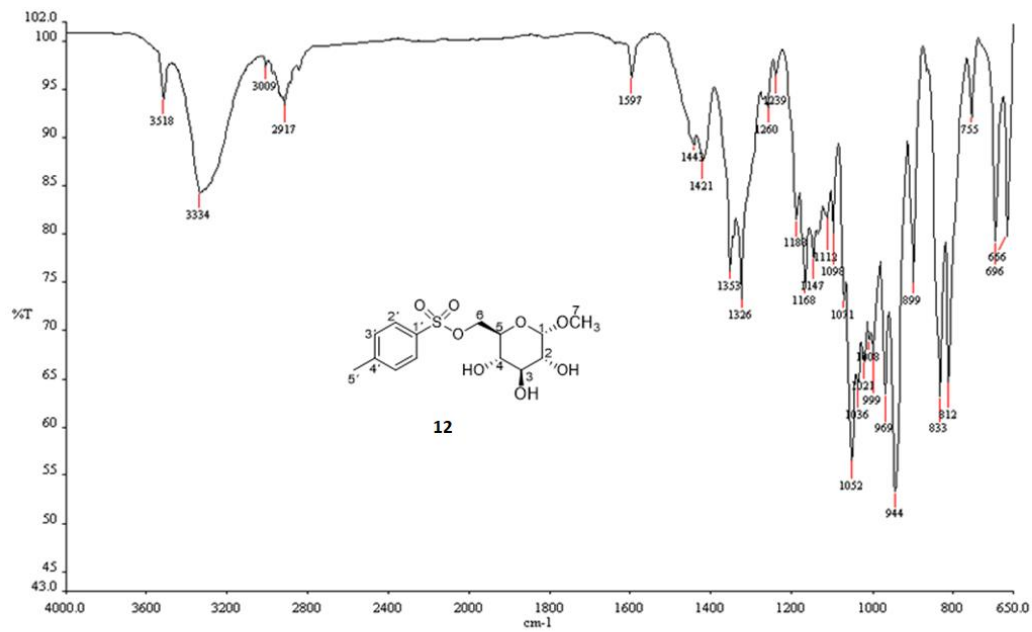
A 91 - Espectro no infravermelho de 11

A 92 - Espectro de RMN de ¹H de 11 (400 MHz, DMSO-*d*₆)

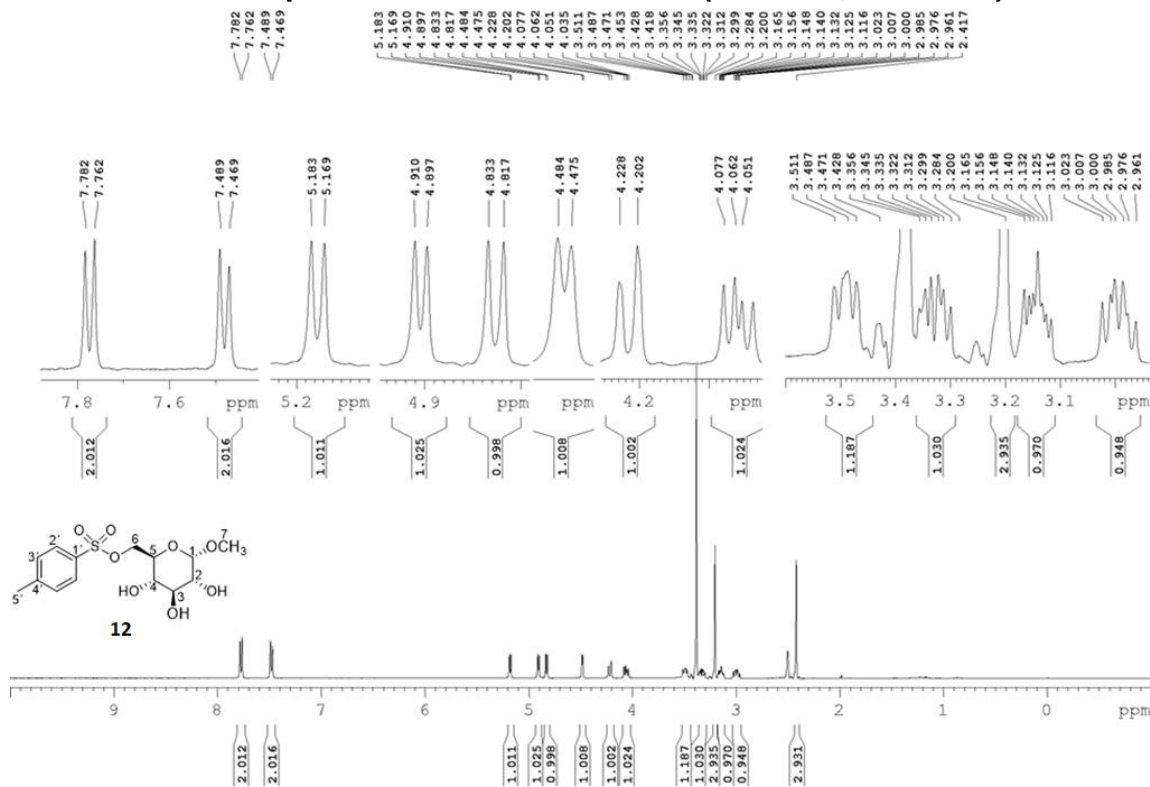
A 93 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 11 (100 MHz, DMSO- d_6)



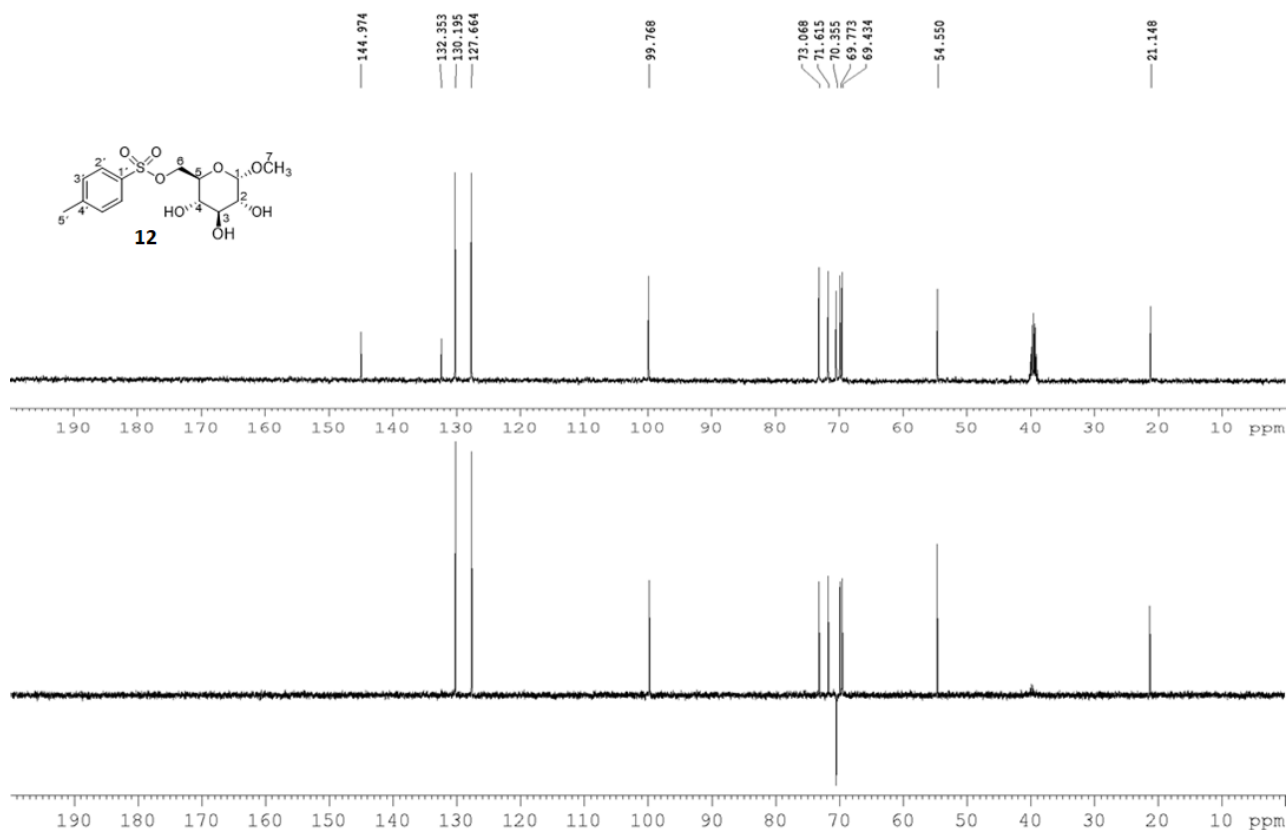
A 94 - Espectro no infravermelho de 12



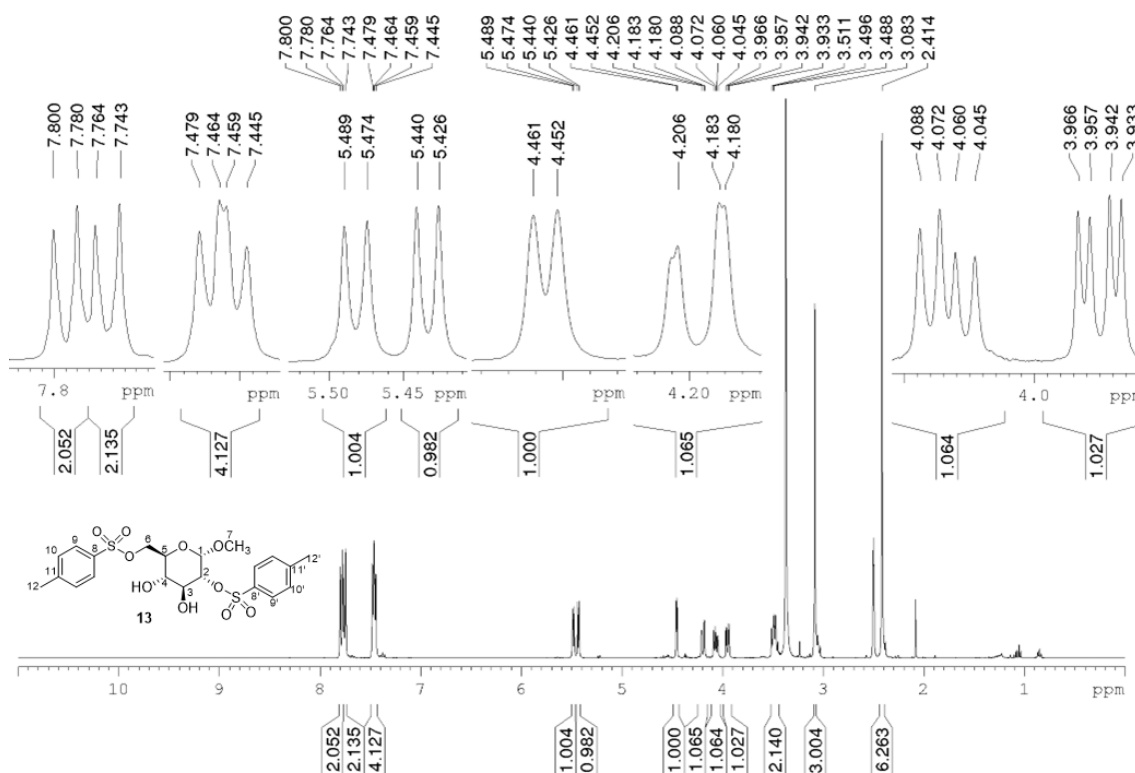
A 95 - Espectro de RMN de ^1H de **12** (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



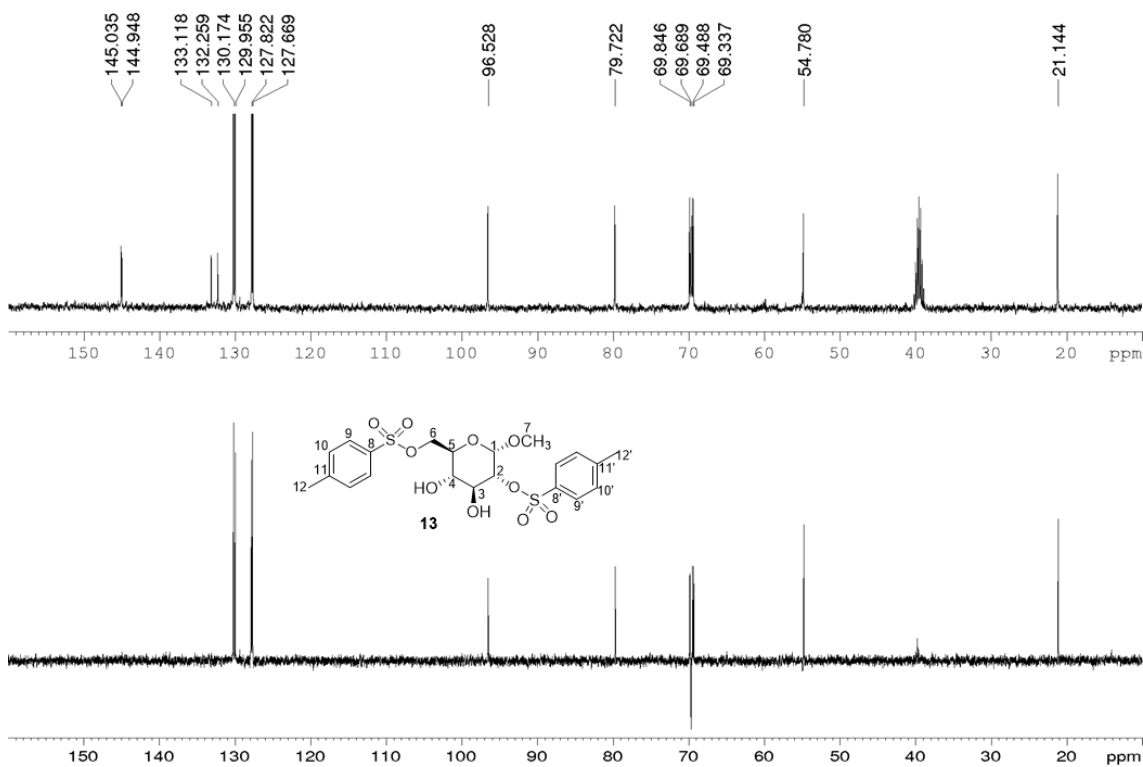
A 96 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de **12** (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



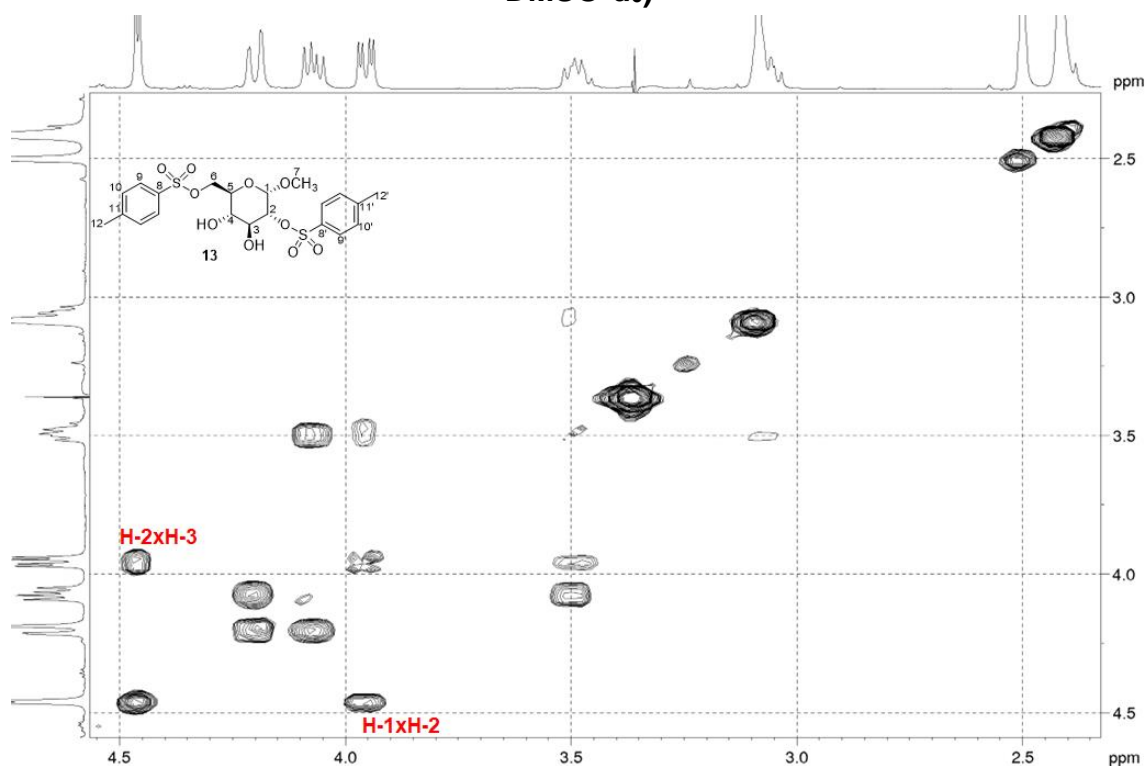
A 97 - Espectro de RMN de ^1H de 13 (400 MHz, DMSO-d_6)



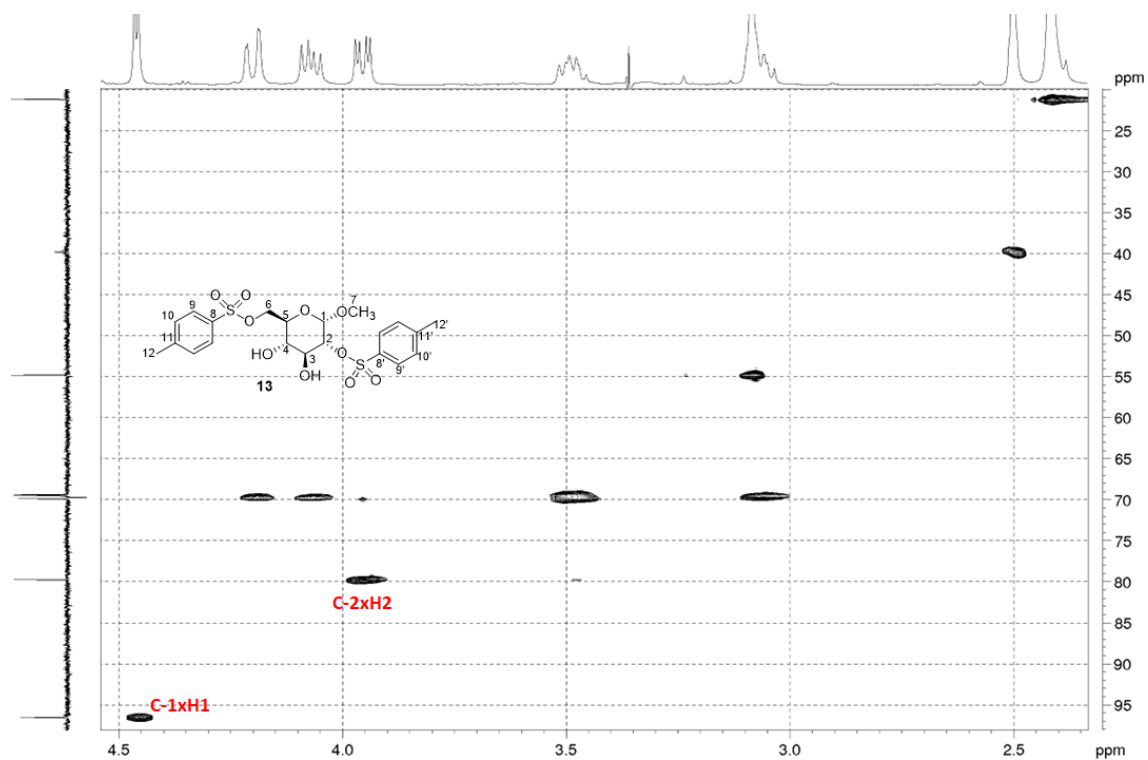
A 98 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 13 (100 MHz, DMSO-d_6)



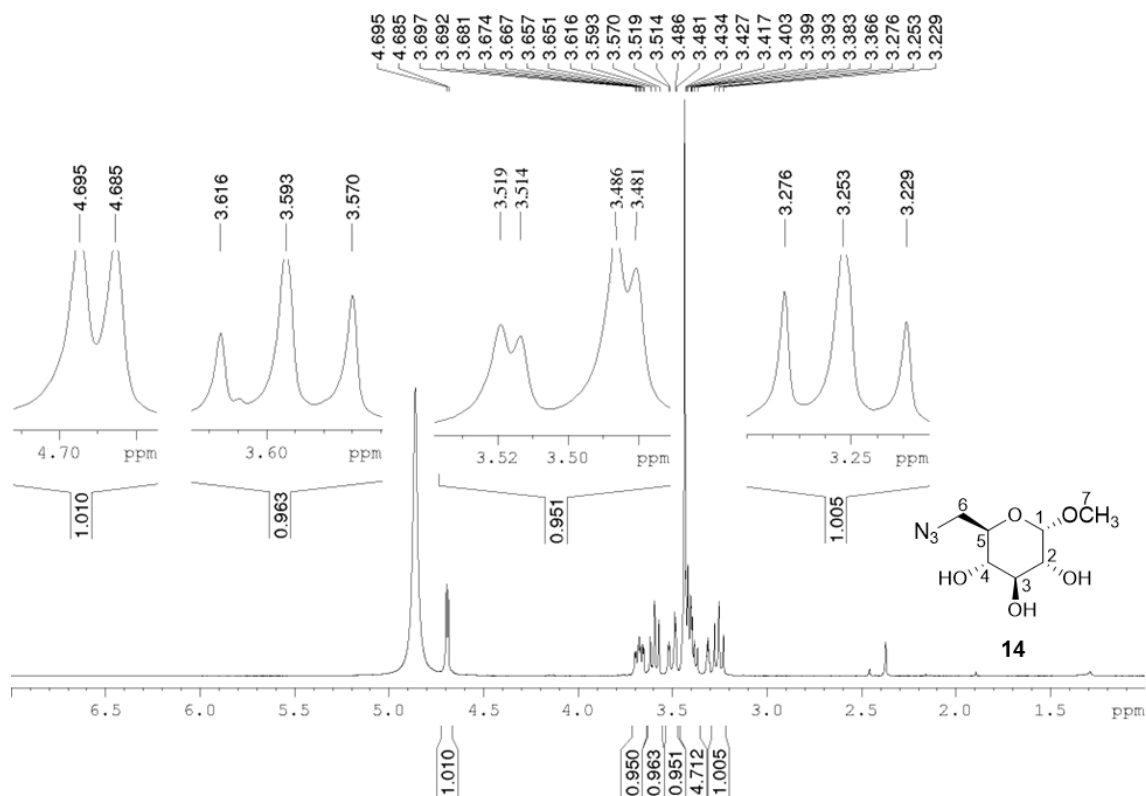
A 99 - Espectro de RMN de Mapa de contornos COSY de 13 (400 MHz, DMSO-d₆)



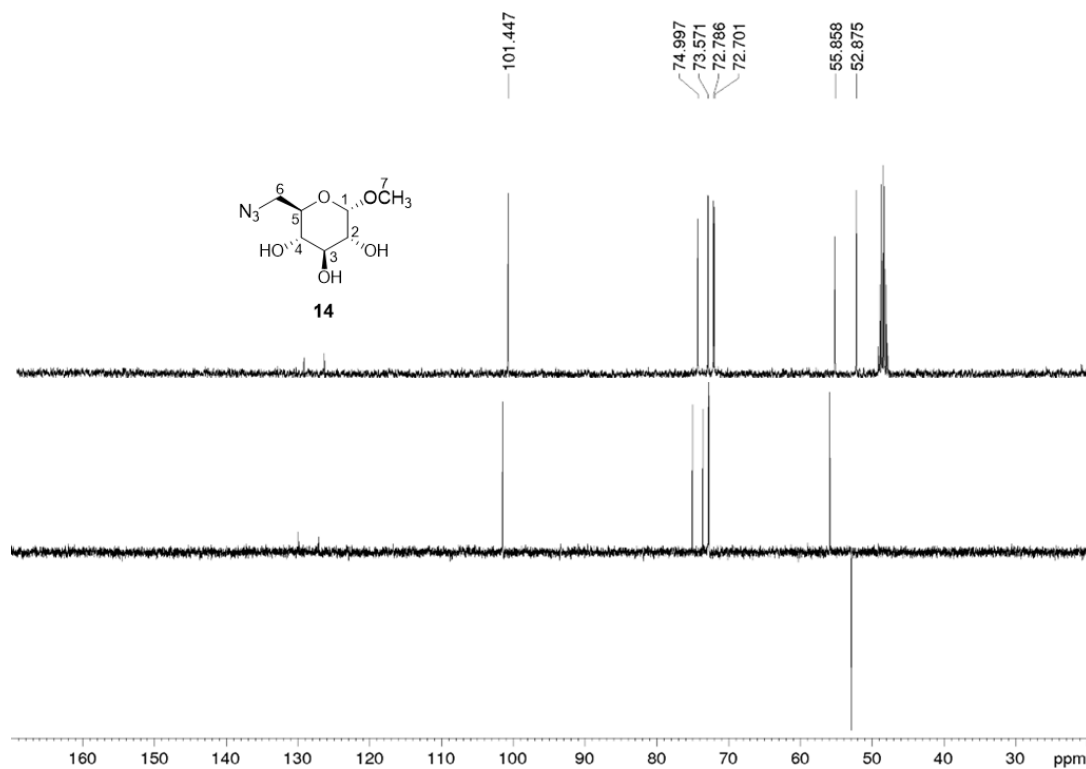
A 100 - Espectro de RMN de Mapa de contornos HSQC de 13 (400 MHz, DMSO-d₆)



A 101 - Espectro de RMN de ^1H de 13 (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

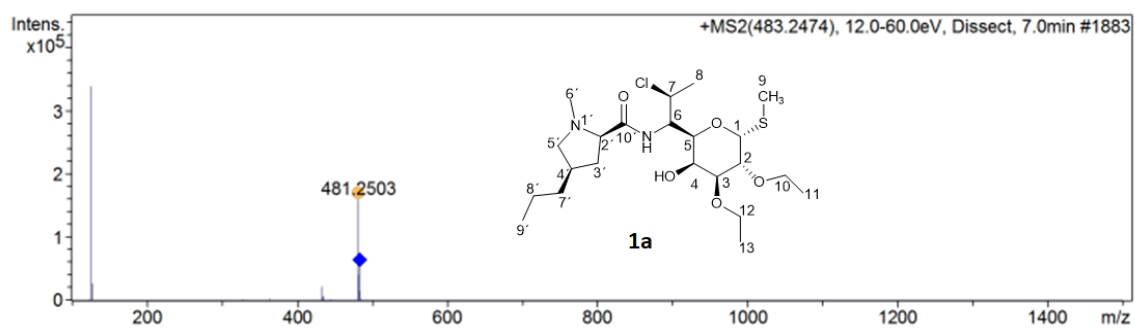


A 102 - Espectro de RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135 de 13 (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

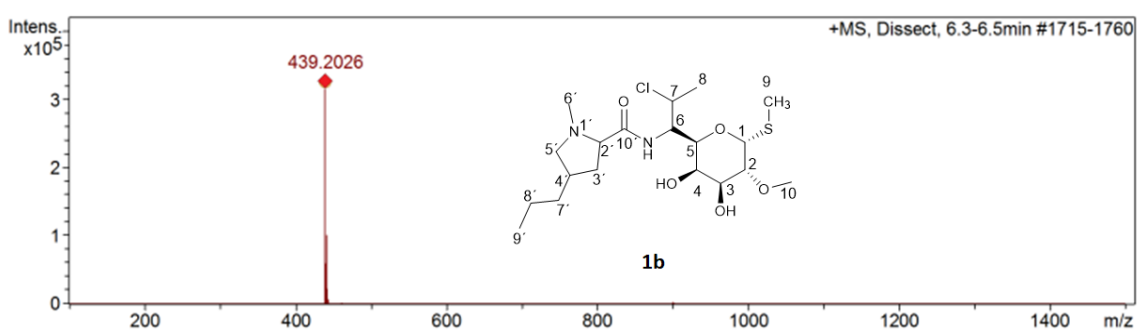


ESPECTROS DE MASSA

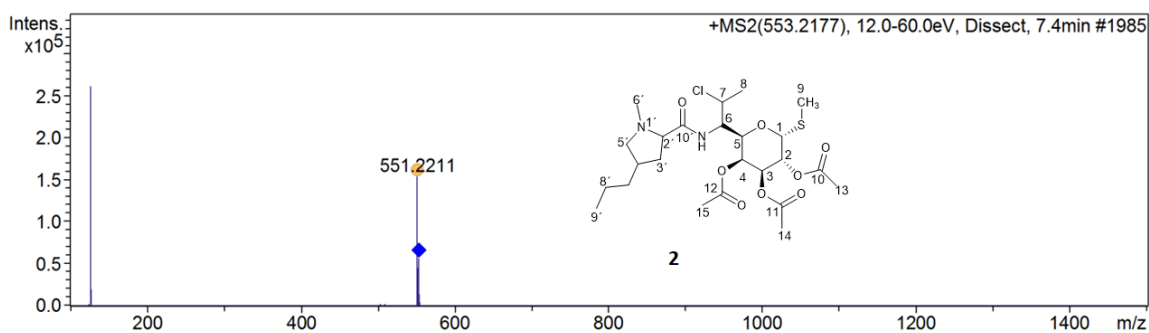
A 103 - Espectro de massas de 1a no modo (ES+)



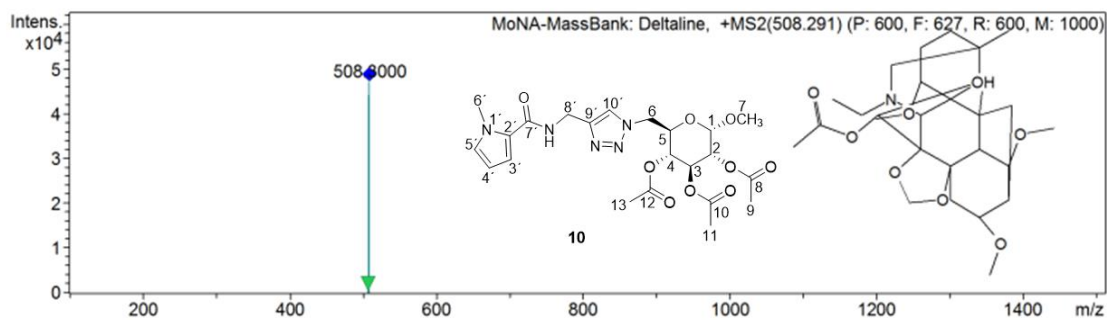
A 104 - Espectro de massas de 1b no modo (ES+)



A 105 - Espectro de massas de 2 no modo (ES+)



A 106 - Espectro de massas de 10 no modo (ES+)



A 107 - Espectro de massas de 11 no modo (ES+)