

**Síntese de derivados da lactose e investigação de  
sua interação com lectina de *Erythrina cristagalli*  
por ensaio de inibição de hemaglutinação**

**ANNA PAOLA BUTERA**

**UFMG–ICEx/DQ. 685  
D. 272**

**ANNA PAOLA BUTERA**

**Síntese de derivados da lactose e investigação de sua  
interação com lectina de *Erythrina cristagalli* por ensaio de  
inibição de hemaglutinação**

Tese apresentada ao Departamento de Química do  
Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal  
de Minas Gerais, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

**Belo Horizonte**

**2007**

*Esta tese foi desenvolvida sob a orientação de Ricardo  
José Alves e co-orientação de José Dias de Souza Filho.*

## Agradecimentos

*Agradeço, primeiramente, às pessoas que participaram diretamente da elaboração deste trabalho, em especial ao meu orientador, Ricardo, pela dedicação, pela paciência e por tudo que me ensinou nestes anos. Da mesma maneira, agradeço à Rute, colega e amiga, que voluntariamente colaborou em todas as etapas deste trabalho, pelas noites de sono perdidas, pela cumplicidade, por tantas lições e por seu exemplo. Agradeço à Marilda, por tanto ter me ajudado, de maneira dedicada e eficiente, por mais de um ano, como aluna de iniciação científica neste projeto. Também, à Taísia, à Fernanda e à Mayura, pelo trabalho que realizaram nos estágios de iniciação científica.*

*Agradeço aos professores, às funcionárias e aos numerosos alunos do Laboratório de Química Farmacêutica, que cotidianamente compartilharam das minhas pequenas descobertas e fracassos. À Thaís, Dôra, Ricardo e Basílio, pelo acolhimento, por tanto que me ajudaram e ensinaram. À Lavina e à Raquel pela disponibilidade e amizade. Aos colegas de laboratório, de longos e curtos períodos, Rô, Rute, Dani, Diogo, Carla, Daniel, Renato, Marilda, André, Luiz Carlos, Alisson, Maria Angélica, Arianne, Hugo, Soraia, Aline, Flávio, Fernanda, Taísia, Mayura, Carol, Magno, Grazi, Renata, Gleidson e Flávia, em especial aos que se fizeram grandes amigos, pela harmonia, por todas as idéias, por todas as risadas, por toda amizade. Agradeço aos professores do Departamento de Química que, nesta etapa, contribuíram para minha formação, como à professora Rosemeire, que me orientou dedicadamente no Treinamento em Docência, e também aos professores Délio e Dorila, pelo que me ensinaram nas disciplinas de química orgânica e de RMN. Também, às funcionárias da Secretaria de Pós-graduação, pela disponibilidade e atenção dadas em todas as questões formais. A CAPES, pelo financiamento da bolsa de estudos.*

*Agradeço também à outras pessoas com quem convivi nestes últimos anos, que compartilharam comigo tantos momentos e que, por simpatia e afeto se envolveram de maneira indireta com este trabalho. Antes de tudo, e sempre, agradeço aos meus pais, Giuseppe e Conceição, por entenderem minha ausência, pela cumplicidade, pelo incentivo constante e, sobretudo pelo afeto sem medidas. Aos meus irmãos Ernesto, Claudia e Alessandra, pelo laço de carinho e pelo apoio incondicional. Ao Renato, pelas boas descobertas, pela cumplicidade e pelo imenso carinho. A toda a família Figueiredo, pela disponibilidade, pelo apoio e pela amizade. Por fim, e especialmente, às meninas que moraram comigo durante estes anos, à Rozangela, à Denise, à Danielle, à Cristiane, às Janaínas e à Grazielle, por se fazerem minha família, pela harmonia da convivência, pela grande amizade e paciência, por todos os nossos momentos.*

## RESUMO

Lectinas vegetais são especialmente utilizadas como sistema modelo para o estudo das bases moleculares do reconhecimento lectina-carboidrato. As lectinas são proteínas, desprovidas de atividade enzimática, que se ligam de maneira reversível e específica a mono- e oligossacarídeos. Distinguem-se das imunoglobulinas, que eventualmente reconhecem especificamente antígenos sacarídicos, seja estruturalmente, seja porque estas últimas dependem de estímulo antigênico para serem sintetizadas. Reconhecidamente, as interações entre lectinas e carboidratos desempenham importante papel em diversos processos biológicos. No presente trabalho, descreve-se a síntese de vinte e um derivados da lactose, dentre os quais, quatro são lactosilamidas (lactosilacetamida e -benzamida) e sulfonamidas (lactosilmetanossulfonamida e -benzenossulfonamida), oito são lactosídeos aromáticos (lactosídeos de benzila, de 2-feniletila, de fenila, de 4-metoxicarbonilfenila, de 4-carboxifenila, de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila, de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila, de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila), e nove são derivados resultantes da modificação do lactosídeo de 4-metoxicarbonilfenila nas posições 6 e 6' (6-desoxi-6-iodo, -6-azido, -6-amino, -6-acetilamino, 6'-desoxi-6'-azido, -6'-amino, -6'-acetilamino, 6- e 6'-desoxi). A afinidade relativa dos derivados sintetizados pela lectina isolada das sementes de *Erythrina cristagalli* foi avaliada por ensaio de inibição da hemaglutinação mediada pela referida lectina. Nenhuma das modificações realizadas na estrutura da lactose resultou em aumento da afinidade destes compostos pela lectina, sendo que para os lactosídeos 6'-desoxi foi observada diminuição da afinidade.

*Palavras-chave: carboidratos, derivados da lactose, lectina, ensaio de inibição da hemaglutinação, síntese.*

## ABSTRACT

Plant lectins are especially well suited as a model system to study the molecular basis of protein-carbohydrate recognition. Lectins are carbohydrate binding proteins other than immunoglobulins that display no enzymatic activity towards the recognized sugars. Lectin-carbohydrate interactions play an important role on a myriad of biological processes. In this work, it is reported the synthesis of twenty one lactose derivatives. Four of them are lactosyl amides (acetamide and benzamide) and sulfonamides (methanesulfonamide and benzenesulfonamide) and eight are aromatic lactosides (benzyl, 2-phenylethyl, phenyl, 4-methoxycarbonylphenyl, 4-carboxylphenyl, 4-methoxycarbonylphenyl-2-nitrophenyl, 2-amino-4-methoxycarbonylphenylphenyl, 2-acetylamino-4-methoxycarbonylphenylphenyl lactosides). Two other series were obtained by modification of 6 and 6' positions of 4-methoxycarbonylphenyl lactoside (6-deoxy-6-iodo, -6-azido, -6-amino, -6-acetylamino, 6'-deoxy-6'-azido, -6'-amino, -6'-acetylamino, 6- e 6'-deoxy). The relative affinity of the synthesized derivatives towards the lectin from seeds of *Erythrina cristagalli* was evaluated by hemagglutination inhibition assay. None of the synthetic derivatives were better inhibitors than lactose.

*Key-words: carbohydrate, lactose derivatives, lectin, hemagglutination inhibition assay, synthesis.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Inibição da agegação de levedura e da adesão a células intestinais de cobaia por $\alpha$ -D-manosídeos aromáticos (FIRON <i>et al.</i> , 1983; 1984; 1987).....	20
Figura 1.2 – $\alpha$ -Manosídeos inibidores da adesão da subunidade FimH de fímbria tipo 1 de <i>E. coli</i> em ensaio de ressonância de plama de superfície [adaptado de Bouckaert <i>et al.</i> (2005)]. .....	21
Figura 1.3 – Derivados trivalentes potentes inibidores da fímbria tipo 1 de <i>E. coli</i> [adaptado de Horst <i>et al.</i> (2001)] .....	22
Figura 1.4 – Inibidores monovalentes da galectina-3 (SORME <i>et al.</i> , 2005; SALAMEH <i>et al.</i> , 2005).....	23
Figura 1.5 – Representação das estruturas tridimensionais de lectinas vegetais complexadas com oligossacarídeos (A. Complexo da lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> , dimérica, com $\alpha$ -L-Fucp-(1→2)- $\beta$ -D-Galp-(1→4)-D-Glcp (setas); B. Complexo de concanavalina A, de <i>Canavalia ensiformis</i> , tetramérica, com $\alpha$ -D-Manp-(1→2)- $\alpha$ -D-ManpOMe (setas) (Fonte: <a href="http://www.rcsb.org/pdb/">http://www.rcsb.org/pdb/</a> , acessada em 07/07, imagens retiradas dos arquivos com código PDB 1gz9 e 1bxh, respectivamente).....	24
Figura 1.6 – Representação do sítio de interação com carboidratos da lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> ; (A) Interações entre a proteína e a lactose mediadas por moléculas de água (esferas claras); (B) Interações hidrofóbicas entre os resíduos Tyr106 e Phe131 da lectina e o anel galactopiranosídico (Fonte: <a href="http://www.rcsb.org/pdb/">http://www.rcsb.org/pdb/</a> , acessada em 02/03, imagens retiradas do arquivo com código PDB 1gzc).....	26
Figura 2.1 – Derivados da lactose na posição 1, planejados para o estudo de suas interações com lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> .....	27
Figura 2.2 – Derivados da lactose nas posições 1, 6 e 6', planejados para o estudo de suas interações com lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> .....	28
Figura 4.1.1 – Esquema de síntese do derivado 1-azido-1-desoxi <b>4</b> a partir da lactose.....	35
Figura 4.1.2 – Esquema de síntese das amidas <b>A1-A4</b> a partir de <b>4</b> . .....	36
Figura 4.1.3 – Sinais referentes ao nitrogênio amídico e a H-1 do espectro de RMN de $^1\text{H}$ do anômero $\alpha$ de <b>6</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz). .....	37
Figura 4.1.4 – Anomerização parcial por mutarrotação da glicosilamina <b>5</b> .....	40
Figura 4.2.1 – Esquema de síntese dos lactosídeos <b>B1-B4</b> e <b>B6</b> a partir de <b>3</b> .....	42
Figura 4.2.2 – Esquema de síntese de <b>B8</b> a partir de <b>15</b> e de <b>B7</b> a partir de <b>B6</b> .....	44
Figura 4.2.3 – Esquema de síntese de <b>B5</b> a partir de <b>B4</b> . .....	45
Figura 4.3.1 – Esquema planejado para a síntese das séries <b>C1-C5</b> e <b>D1-D4</b> a partir de <b>B4</b> . .....	48

Figura 4.3.2 – Esquema proposto para reação entre um álcool primário e o aduto formado por trifenilfosfina, iodo metálico e imidazol [adaptado de Garegg e Samuelson (1980)].....	50
Figura 4.3.3 – Esquema de síntese de <b>17a</b> e <b>17b</b> a partir de <b>18</b> . .....	50
Figura 4.3.4 – Mecanismo proposto para a obtenção de <b>17b</b> a partir de <b>17a</b> .....	51
Figura 4.3.5 – Mapas de contornos COSY e HSQC de <b>17b</b> . .....	52
Figura 4.3.6 – Esquema de síntese da série <b>C1-C5</b> a partir de <b>17a</b> .....	52
Figura 4.3.7 – Mecanismo proposto para formação dos produtos da reação do 4,6- <i>O</i> -benzilideno-β-D-galactopiranosídeo de metila com NBS (CRICH <i>et al.</i> , 2006).....	55
Figura 4.3.8 – Produto da reação do 2,3-di- <i>O</i> -benzoil-4,6- <i>O</i> -benzilideno-β-D-galactopiranosídeo de metila com NBS (HANESSIAN; PLESSAS, 1969a). .....	55
Figura 4.3.9 – Mecanismo proposto para reação do derivado 4,6- <i>O</i> -benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de metila em presença de NBS [adaptado de Hanessian e Pessas (1969a)]. .....	56
Figura 4.3.10 – Produtos da reação de <b>19</b> com azida de sódio, em DMF. ....	57
Figura 4.3.11 – Esquema de síntese de <b>23</b> a partir de <b>18</b> . .....	59
Figura 4.3.12 – Esquema de síntese de <b>D1</b> a partir de <b>23</b> . .....	60
Figura 4.3.13 – Mecanismo proposto para migração do grupo benzoil de O-3' para O-4' a partir de <b>23</b> ou <b>24a</b> .....	61
Figura 4.3.14 – Esquema de síntese de <b>D2</b> e <b>D3</b> a partir de <b>D1</b> . .....	61
Figura 4.3.15 – Esquema de síntese de <b>D4</b> a partir de <b>23</b> .....	62
Figura 4.3.16 – Derivados da lactose sintetizados para o estudo de suas interações com a lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> .....	64
Figura I.1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	118
Figura I.2 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) .....	118
Figura I.3 – Mapa de contornos COSY de <b>6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	119
Figura I.4 – Mapa de contornos HSQC de <b>6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz).....	119
Figura I.5 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do anômero α de <b>6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	120
Figura I.6 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	120
Figura I.7 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) .....	121
Figura I.8 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	121
Figura I.9 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) .....	122
Figura I.10 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>9</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	122

Figura I.11 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).....	123
Figura I.12 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>A1</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	123
Figura I.13 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>A1</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	124
Figura I.14 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>A2</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	124
Figura I.15 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>A2</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	125
Figura I.16 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>A3</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	125
Figura I.17 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>A3</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	126
Figura I.18 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>A4</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	126
Figura I.19 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>A4</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	127
Figura I.20 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>13</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).....	127
Figura I.21 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>13</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).....	128
Figura I.22 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>14</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).....	128
Figura I.23 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>14</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).....	129
Figura I.24 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>15</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).....	129
Figura I.25 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>15</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).....	130
Figura I.26 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>B4</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	130
Figura I.27 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>B4</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	131
Figura I.28 – Mapa de contornos HSQC de <b>B4</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	131
Figura I.29 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>B5</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	132
Figura I.30 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>B5</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	132
Figura I.31 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>B6</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	133
Figura I.32 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>B6</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	133
Figura I.33 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>B7</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	134
Figura I.34 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>B7</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	134
Figura I.35 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>B8</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	135
Figura I.36 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>B8</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	135
Figura I.37 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>16</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).....	136
Figura I.38 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>16</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	136
Figura I.39 – Mapa de contornos HSQC de <b>16</b> ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).....	137

Figura I.40 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>17a</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	137
Figura I.41 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>17a</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) .....	138
Figura I.42 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>17b</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) .....	138
Figura I.43 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>17b</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) .....	139
Figura I.44 – Mapa de contornos COSY de <b>17b</b> (DMSO- $d_6$ , 200 MHz).....	139
Figura I.45 – Mapa de contornos HSQC de <b>17b</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	140
Figura I.46 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C1</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	140
Figura I.47 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C1</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	141
Figura I.48 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C2</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	141
Figura I.49 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C2</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	142
Figura I.50 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C3s</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) .....	142
Figura I.51 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C3s</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) .....	143
Figura I.52 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C4</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	143
Figura I.53 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C4</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	144
Figura I.54 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C5</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	144
Figura I.55 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C5</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	145
Figura I.56 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>18</b> (CDCl $_3$ , 200 MHz) .....	145
Figura I.57 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>18</b> (CDCl $_3$ , 100 MHz) .....	146
Figura I.58 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>19</b> (CDCl $_3$ , 200 MHz) .....	146
Figura I.59 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>19</b> (CDCl $_3$ , 50 MHz) .....	147
Figura I.60 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>20a</b> (CDCl $_3$ , 400 MHz) .....	147
Figura I.61 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>20a</b> (CDCl $_3$ , 100 MHz) .....	148
Figura I.62 – Mapa de contornos HSQC de <b>20a</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	148
Figura I.63 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>20b</b> (CDCl $_3$ , 400 MHz).....	149
Figura I.64 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>20b</b> (CDCl $_3$ , 100 MHz).....	149
Figura I.65 – Mapa de contornos HSQC de <b>20b</b> (CDCl $_3$ , 100 MHz) .....	150
Figura I.66 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>21</b> (CDCl $_3$ , 400 MHz) .....	150
Figura I.67 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>21</b> (CDCl $_3$ , 100 MHz) .....	151
Figura I.68 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>22</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	151

Figura I.69 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>22</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	152
Figura I.70 – Mapa de contornos HSQC de <b>22</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) .....	152
Figura I.71 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>23</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) .....	153
Figura I.72 – Subespectro DEPT 135 de <b>23</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).....	153
Figura I.73 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>D1</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) .....	154
Figura I.74 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>D1</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) .....	154
Figura I.75 – Mapa de contornos HSQC de <b>D1</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz).....	155
Figura I.76 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>D2</b> (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) .....	155
Figura I.77 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>D2</b> (DMSO- $d_6$ , 50 MHz).....	156
Figura I.78 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>D3</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).....	156
Figura I.79 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>D3</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	157
Figura I.80 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>D4</b> (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) .....	157
Figura I.81 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>D4</b> (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).....	158

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$[\alpha]_D$	poder rotatório específico
Ac	acetila
Bz	benzoíla
$c$	concentração em g/100 mL
CCD	cromatografia em camada delgada
CCS	cromatografia em coluna de sílica-gel
CD <sub>3</sub> OD	metanol deuterado
CDCl <sub>3</sub>	clorofórmio deuterado
COSY	spectroscopia de correlação ( <i>correlation spectroscopy</i> )
$\delta$	deslocamento químico
d	duplete
dd	duplete duplo
ddd	duplo duplete duplo
ddl	duplete duplo largo
DEPT	intensificação sem distorção via transferência de polarização ( <i>distortionless enhancement by polarization transfer</i> )
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO- $d_6$	dimetilsulfóxido deuterado
FimH	subunidade da fímbria tipo 1 que apresenta o sítio de interação com carboidratos
HMQC	coerência heteronuclear de múltiplo quantum ( <i>heteronuclear multiple quantum coherence</i> )
HSQC	coerência heteronuclear de simples quantum ( <i>heteronuclear single quantum coherence</i> )
Hz	hertz
IV	infravermelho
$J$	constante de acoplamento escalar
$K_d$	constante de dissociação

m	múltiplo
$\bar{\nu}$	número de onda
NBS	<i>N</i> -bromossuccinimida
RMN	ressonância magnética nuclear
s	simpleto
sílica A	sílica- gel 0,063 a 0,200 mm
sílica B	sílica-gel 0,040 a 0,063 mm
sl	simpleto largo
t	tripleto
td	tripleto duplo
THF	tetraidrofurano
TMS	tetrametilsilano
UH	unidades de hemaglutinação

# SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	OBJETIVOS .....	27
3	PLANO DE SÍNTESE.....	30
3.1	Síntese de lactosilamidas e sulfonamidas ( <b>A1-A4</b> ).....	30
3.2	Síntese de lactosídeos de arila e alquilarila ( <b>B1-B8</b> ).....	31
3.3	Síntese de derivados de <b>B4</b> modificados em C-6 e C-6' ( <b>C1-C5</b> e <b>D1-D4</b> ) .....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1	Lactosilamidas e sulfonamidas ( <b>A1-A4</b> ).....	35
4.2	Lactosídeos de arila e alquilarila ( <b>B1-B8</b> ).....	42
4.3	Derivados de <b>B4</b> em C-6 e C-6' ( <b>C1-C5</b> e <b>D1-D4</b> ) .....	48
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	65
5.1	Síntese .....	65
5.1.1	Métodos gerais.....	65
5.1.2	2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-azido-1-desoxi- 2,3,6-tri- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-glicopiranosose ( <b>4</b> ) .....	66
5.1.3	Procedimento geral para síntese de <b>A1</b> a <b>A4</b> .....	67
5.1.3.1	$\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-acetilamino-1-desoxi- $\beta$ -D- glicopiranosose ( <b>A1</b> ) .....	68
5.1.3.2	$\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-benzoilamino-1-desoxi- $\beta$ -D- glicopiranosose ( <b>A2</b> ) .....	70
5.1.3.3	$\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-desoxi-1-metanossulfonilamino- $\beta$ -D- glicopiranosose ( <b>A3</b> ) .....	72
5.1.3.4	$\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi- $\beta$ -D- glicopiranosose ( <b>A4</b> ) .....	73
5.1.4	$\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de benzila ( <b>B1</b> ) .....	75

5.1.5 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 2-feniletila ( <b>B2</b> ) .....	76
5.1.6 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de fenila ( <b>B3</b> ) .....	77
5.1.7 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4- metoxicarbonilfenila ( <b>B4</b> ) .....	78
5.1.8 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-carboxifenila ( <b>B5</b> )..	80
5.1.9 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2- nitrofenila ( <b>B6</b> ) .....	81
5.1.10 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2- aminofenila ( <b>B7</b> ).....	83
5.1.11 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2- acetilaminofenila ( <b>B8</b> ).....	84
5.1.12 4,6- <i>O</i> -Benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>16</b> ).....	80
5.1.13 4,6- <i>O</i> -Benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D- glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>17a</b> ) .....	86
5.1.14 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4- metoxicarbonilfenila ( <b>C1</b> ) .....	88
5.1.15 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-azido-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4- metoxicarbonilfenila ( <b>C2</b> ) .....	89
5.1.16 <i>para</i> -Metilbenzenossulfonato de $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-amino-6- desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>C3s</b> ).....	90
5.1.17 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-acetilamino-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>C4</b> ) .....	91
5.1.18 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4- metoxicarbonilfenila ( <b>C5</b> ) .....	93
5.1.19 2,3-Di- <i>O</i> -benzoil-4,6- <i>O</i> -benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>18</b> ).....	94
5.1.20 6-Bromo-6-desoxi-2,3,4-tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6- tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>19</b> ).....	95
5.1.21 6-Azido-6-desoxi-2,3,4-tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6- tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>20a</b> ).....	96
5.1.22 2,3-Di- <i>O</i> -acetil-4,6- <i>O</i> -benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>21</b> ).....	98
5.1.23 2,3-Di- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D- glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>22</b> ) .....	99

5.1.24 2,3-Di- <i>O</i> -benzoil-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri- <i>O</i> -benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>23</b> ).....	101
5.1.25 6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>D1</b> ) .....	102
5.1.26 6-Amino-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>D2</b> ) .....	103
5.1.27 6-Acetilamino-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>D3</b> ) .....	104
5.1.28 6-Desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ( <b>D4</b> ) .....	105
5.2 Ensaio de inibição de hemaglutinação mediada por lectina de <i>Erythrina cristagalli</i> .....	106
5.2.1 Métodos Gerais.....	106
5.2.2 Detecção do título de hemaglutinação e preparação da solução da lectina.....	106
5.2.3 Ensaio de inibição de hemaglutinação .....	107
6 CONCLUSÃO .....	108
REFERÊNCIAS .....	109
APÊNDICE I ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR .....	118

## 1 INTRODUÇÃO

As lectinas são proteínas desprovidas de atividade enzimática, que se ligam de maneira reversível e específica a mono- e oligossacarídeos. Distinguem-se das imunoglobulinas, que eventualmente reconhecem especificamente antígenos sacarídicos, seja estruturalmente, seja porque estas últimas dependem de estímulo antigênico para serem sintetizadas. Possuem a capacidade de aglutinar células e glicoconjugados. Sua origem primitiva na escala evolutiva levou à ampla distribuição na natureza. Podem ser encontradas em organismos com diversos graus de complexidade, tendo sido isoladas de vírus, bactérias, protozoários, plantas, animais invertebrados e vertebrados, nos quais desempenham funções variadas. As lectinas vegetais foram primeiramente descobertas e, por serem isoladas com maior facilidade, quando comparadas às de outras fontes, são ainda hoje extensivamente estudadas e caracterizadas em maior número (LIS; SHARON, 1998; RÜDIGER; GABIUS, 2001; LORIS, 2002).

O conceito para lectinas foi proposto em meados do século XX, após sete décadas das primeiras evidências das propriedades biológicas e da natureza protéica das lectinas presentes nas sementes de *Abrus precatorius* e de *Ricinus communis*, cujas toxicidades eram reconhecidas. A descoberta da propriedade hemaglutinante da ricina, em 1888, marca o início do estudo desta classe de proteínas. Esta característica das lectinas explica a utilização do termo hemaglutinina para designá-las (LIENER *et al.*, 1986; SHARON; LIS, 2004). Em meados da década de 1930, foi sugerido que a hemaglutinação induzida pela concanavalina A, lectina isolada das sementes de *Canavalia ensiformis*, poderia ser consequência de reação entre a lectina vegetal e carboidratos presentes na superfície dos eritrócitos (SUMNER; HOWELL, 1936). Na década de 1950, foi constatada a seletividade de certas hemaglutininas pelos grupos sanguíneos humanos, a partir de estudos com uma série de extratos de sementes de fabáceas (BOYD; SHAPLEIGH, 1954; MAKELA, 1957). Estas lectinas foram fundamentais em investigações subseqüentes que contribuíram para elucidação da especificidade dos antígenos associados ao sistema sanguíneo ABO (MORGAN; WATKINS, 2000). Nos anos seguintes, o emprego das lectinas ficou limitado à avaliação da atividade hemaglutinante dessas proteínas semi-purificadas provenientes, principalmente, de extratos de sementes de espécies vegetais (LIENER *et al.*, 1986; SHARON; LIS, 2004). As primeiras demonstrações do papel biológico das interações entre lectinas e carboidratos contaram com descobertas importantes que datam do início da década de 1960. São elas, a propriedade de

induzir mitose em linhagens de linfócitos, encontrada em lectinas vegetais, seguida da constatação de que este evento pode ser inibido na presença de monossacarídeos (NOWELL, 1960), e a capacidade de lectinas deste tipo de aglutinar preferencialmente células tumorais, que forneceu a evidência de que mudanças na expressão de carboidratos da superfície celular estão associadas ao desenvolvimento do câncer (AUB *et al.*, 1963; AUB *et al.*, 1965). No entanto, até o começo da década de 1970, o papel biológico das lectinas foi pouco explorado, uma vez que ainda se encontravam dificuldades para o isolamento destas proteínas. O desenvolvimento da cromatografia de afinidade favoreceu intensamente esta área de conhecimento, ao possibilitar o isolamento de muitas lectinas, em sua maioria de origem vegetal, permitir caracterizações ao nível molecular e investigações das suas aplicações em biologia (LIENER *et al.*, 1986; TAYLOR; DRICKAMER, 2003). A partir de então, começou-se a especular sobre o reconhecimento celular mediado por interações lectina-carboidrato. Nesta época, ficou bem estabelecido que quase todas as células apresentam carboidratos em sua superfície na forma de glicoproteínas, glicolipídios e polissacarídeos. Ao mesmo tempo, foi admitido o grande potencial biológico dos carboidratos na codificação de informações biológicas. Nos peptídeos e nos oligonucleotídeos, importantes chaves para o reconhecimento, a informação contida é baseada apenas no número e na seqüência das suas unidades monoméricas. Nos carboidratos uma maior diversidade estrutural é possível. Neles, a informação também pode ser codificada na posição das unidades sacarídicas, na configuração anomérica e no arranjo das ramificações. Ainda, podem ocorrer ligações a grupos fosfato, sulfatos e acetila (SHARON; LIS, 1989; RÜDIGER; GABIUS, 2001). A partir da década de 1980, o refinamento de algumas técnicas analíticas e o desenvolvimento de outras, trouxeram importantes ferramentas para a elucidação estrutural de proteínas, o que permitiu a compreensão de particularidades da interação lectina-carboidrato. A cristalografia de raios X e a ressonância magnética nuclear de lectinas complexadas com seus ligantes permitiram a identificação dos grupos químicos nas proteínas e nos carboidratos que participam desta interação. Experimentos de mutagênese direcionados para o sítio ativo e de modelagem molecular trouxeram outras informações a respeito da contribuição de cada resíduo de aminoácido para atividade de lectinas (SHARON; LIS, 2004; NILSSON, 2003). Atualmente, as lectinas são tidas como ferramentas poderosas, estejam em solução ou na superfície de células, para o desenvolvimento da glicobiologia. Elas têm sido usadas em análises bioquímicas, em biologia celular, extensivamente em imunologia e áreas relacionadas. Foram propostas como alternativas de carreadores de fármacos e mantêm aplicações clínicas na

distinção de grupos sanguíneos (RÜDIGER *et al.*, 2000; BREWER *et al.* 2002; BOETNER *et al.*, 2002).

A seletividade das interações de lectinas com monossacarídeos constitui uma característica geral e, devido a isto, elas são comumente classificadas de acordo com o monossacarídeo pelo qual exibem maior afinidade (LIS; SHARON, 1998). No entanto, estas interações, apesar de seletivas são intrinsecamente fracas. Tipicamente, estão envolvidas duas a cinco ligações de hidrogênio além de interações hidrofóbicas e de van der Waals complementares, que lhes conferem constantes de dissociação na escala de mmol/L (SÖRME *et al.*, 2005). A afinidade é potencializada nas interações com oligossacarídeos, para as quais os valores de constantes de dissociação são até mil vezes maiores que para os monossacarídeos. Do ponto de vista funcional, isto pode ser explicado pela proximidade estrutural que aqueles têm com os ligantes polissacarídicos naturais das lectinas (LIS; SHARON, 1998). A semelhança estrutural com os ligantes naturais também explica a razão de as interações naturais entre lectinas e glicodendrímeros, glicopolímeros ou alguns glicoconjugados, serem consideravelmente mais fortes. A natureza compensou a baixa afinidade intrínseca das interações lectina-carboidrato ao dispor de múltiplas cópias de carboidratos, expressos em glicoproteínas de superfície, e de proteínas oligoméricas capazes de apresentar múltiplos sítios de interação a carboidratos. O aumento da afinidade resulta do efeito de multivalência (POLIZZOTTI; KIICK, 2006). A multivalência proporciona um fenômeno sinérgico, cujas bases físico-químicas ainda não estão bem elucidadas, que aumenta acentuadamente a eficiência das interações com lectinas, quando comparadas às interações com o ligante monovalente correspondente (LUNDQUIST; TOONE, 2002; VON DER LIETH *et al.*, 2002). De uma maneira geral, os ligantes multivalentes são constituídos por um núcleo central ramificado, em cujas terminações são ligados epitopos sacarídicos que se ligam seletivamente a lectinas. O aumento linear do número de epitopos sacarídicos exposto em um ligante multivalente pode levar ao aumento logarítmico da afinidade pela lectina. As constantes de dissociação destas interações podem alcançar a escala de pmol/L (LEE; LEE, 1995; BEZOUŠKA, 2002; VON DER LIETH *et al.*, 2002; BOAS; HEEGAARD, 2004).

A importância biológica das interações entre lectinas e carboidratos foi reconhecida em diversos processos, dentre os quais, podem ser citados, o controle do tráfego intracelular de glicoproteínas, a adesão de agentes infecciosos à célula hospedeira, o recrutamento de leucócitos aos sítios inflamatórios, a depuração de proteínas do sistema circulatório e a

metástase de tumores (LIS; SHARON, 1998; NILSSON, 2003; ANDRÉ *et al.*, 2006). O entendimento do papel dos carboidratos no reconhecimento celular e de como eles interagem com as lectinas, bem como o desenvolvimento de inibidores de lectinas, derivados ou miméticos de carboidratos têm sido argumento para a busca de novas terapias para doenças humanas (RÜDIGER *et al.*, 2000; SVENSSON *et al.*, 2002; SHRIVER *et al.*, 2004; SHARON, 2006).

A proposta da terapia anti-adesão, que conta com o desenvolvimento de inibidores de lectinas, vem sendo considerada como alternativa no combate a infecções de diversas etiologias. Em sua maioria, doenças causadas por vírus, bactérias e parasitas são desencadeadas após a etapa de adesão do microorganismo ao tecido hospedeiro, que pode ser mediada por interações lectina-carboidrato (OFEK *et al.*, 2003; PACHECO *et al.*, 2004; COLTRI *et al.*, 2006; YAO *et al.*, 2007). A partir de estudos iniciados ainda na década de 1980,  $\alpha$ -D-manosídeos aromáticos foram reconhecidos como bons inibidores de fimbria tipo 1 de *Escherichia coli*,  $\alpha$ -D-manose específica. As frímbricas (ou pili) são proteínas de forma alongada presentes na superfície de microorganismos Gram-negativos, que atuam na etapa de adesão da bactéria à célula hospedeira, pela interação com carboidratos da superfície desta. Elas atuam como fatores de virulência e estão entre os determinantes da seletividade bacteriana pelos tecidos e órgãos. Os  $\alpha$ -D-manosídeos aromáticos **IV** e **V** (Figura 1.1) mostraram-se potentes inibidores da agregação de levedura mediada por bactéria *E. coli*. Em ensaio de inibição da bactéria a células intestinais de cobaia, foram até mil vezes mais ativos que o  $\alpha$ -D-manopiranosídeo de metila (**I**), apresentando afinidades na escala de nmol/L (SHARON, 2006).

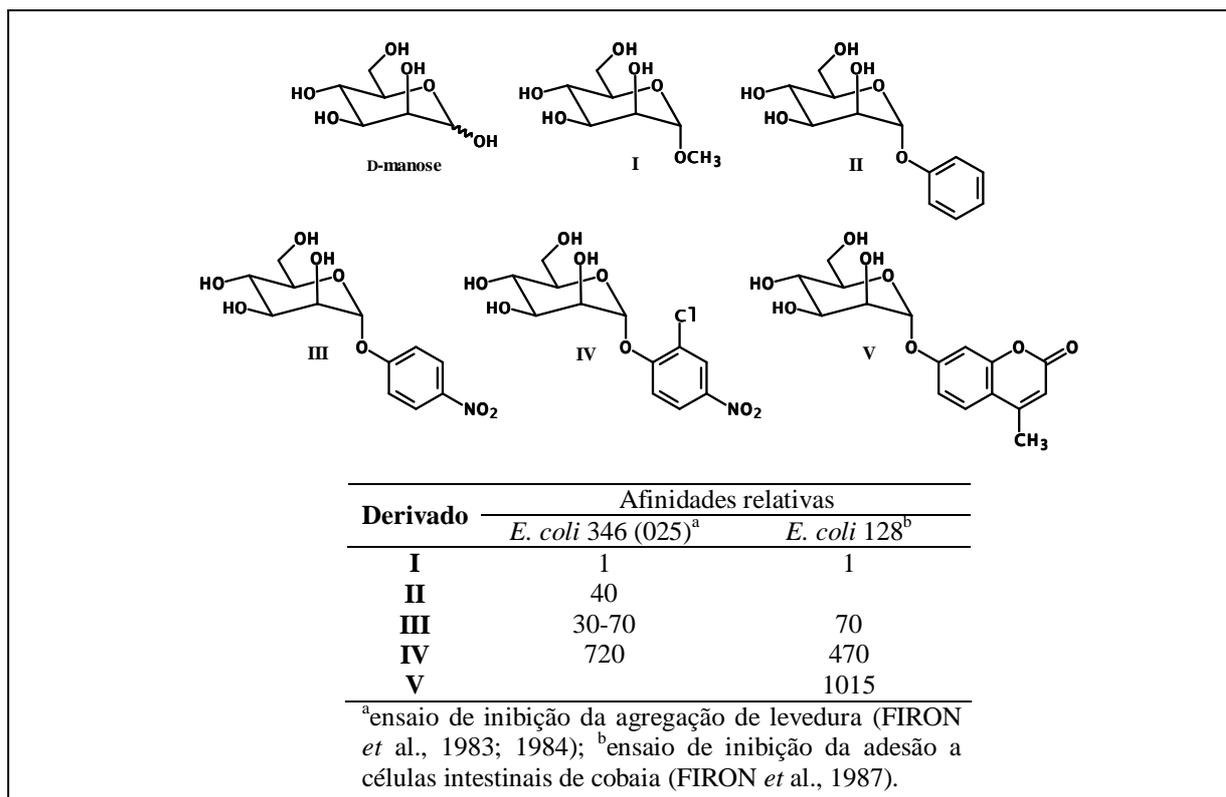


Figura 1.1 – Inibição da apegção de levedura e da adesão a células intestinais de cobaia por  $\alpha$ -D-manosídeos aromáticos (FIRON *et al.*, 1983; 1984; 1987).

Na fímbria tipo 1 de *E. coli*, o componente que se caracteriza propriamente como lectina, por apresentar sítio de ligação a carboidratos, é a subunidade denominada FimH (SHARON, 2006). Em ensaio de ressonância plasmônica de superfície, o  $\alpha$ -D-manopiranosídeo de heptila (**XI**, Figura 1.2) foi o melhor ligante da subunidade FimH (por apresentar menor valor de constante de dissociação, *K<sub>d</sub>*), dentre uma série de  $\alpha$ -D-manosídeos que incluía os derivados aromáticos **III** e **V** anteriormente avaliados (Figura 1.1) nos estudos de adesão celular. As altas afinidades destes derivados pela fímbria tipo 1 de *E. coli* foram justificadas pela identificação de uma região hidrofóbica vizinha ao sítio de interação com a porção sacarídica, de acordo com os dados de cristalografia de raios X do complexo de FimH com **VIII**, e com estudos de modelagem molecular com  $\alpha$ -manosídeos aromáticos. Estas promissoras constatações podem contribuir para a inovação do arsenal terapêutico para infecções bacterianas, especialmente as do trato urinário causadas por cepas de *E. coli* (BOUCKAERT *et al.*, 2005).

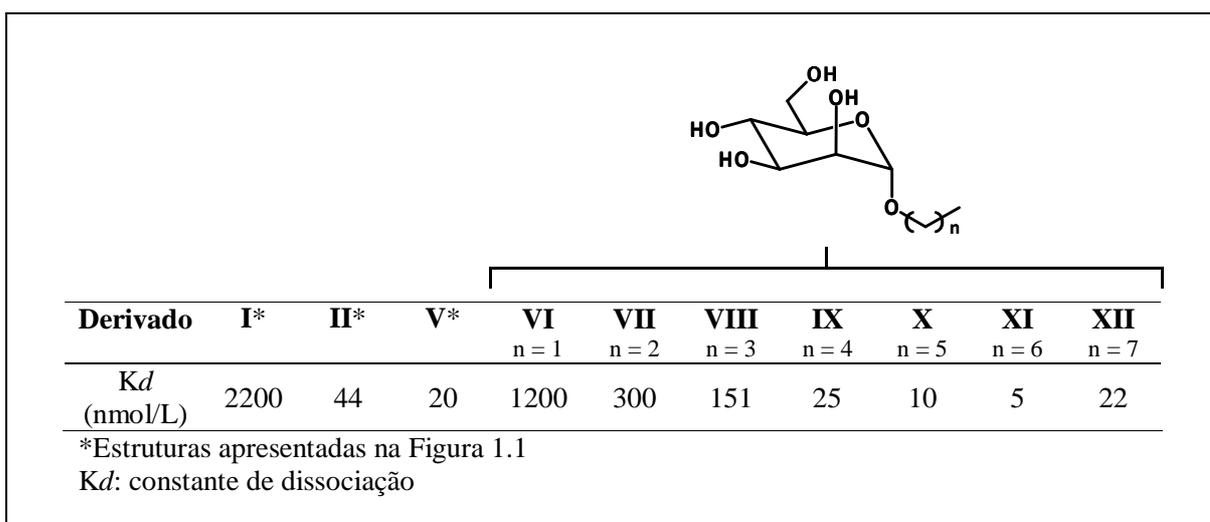


Figura 1.2 –  $\alpha$ -Manosídeos inibidores da adesão da subunidade FimH de fímbria tipo 1 de *E. coli* em ensaio de ressonância de plama de superfície [adaptado de Bouckaert *et al.* (2005)].

Outra classe de inibidores da fímbria tipo 1 de *E. coli* foi explorada, a dos ligantes multivalentes derivados de D-manose. Dentre estes, encontram-se ligantes cujas afinidades pela lectina são relativamente mais altas. Como exemplo, podem ser citados os derivados trivalentes **XIII** e **XIV** (Figura 1.3), que em ensaio de inibição da adesão da fímbria a neutrófilos humanos por experimento de citometria de fluxo, apresentaram concentração inibitória relativa, considerando-se a relação entre número de mols do monossacarídeo, superior a mil vezes a do  $\alpha$ -D-manopiranosídeo de metila (**I**). Ressalta-se que no mesmo ensaio, o manosídeo aromático **III** mostrou-se quase 500 vezes mais ativo que **I** (HORST *et al.*, 2001).

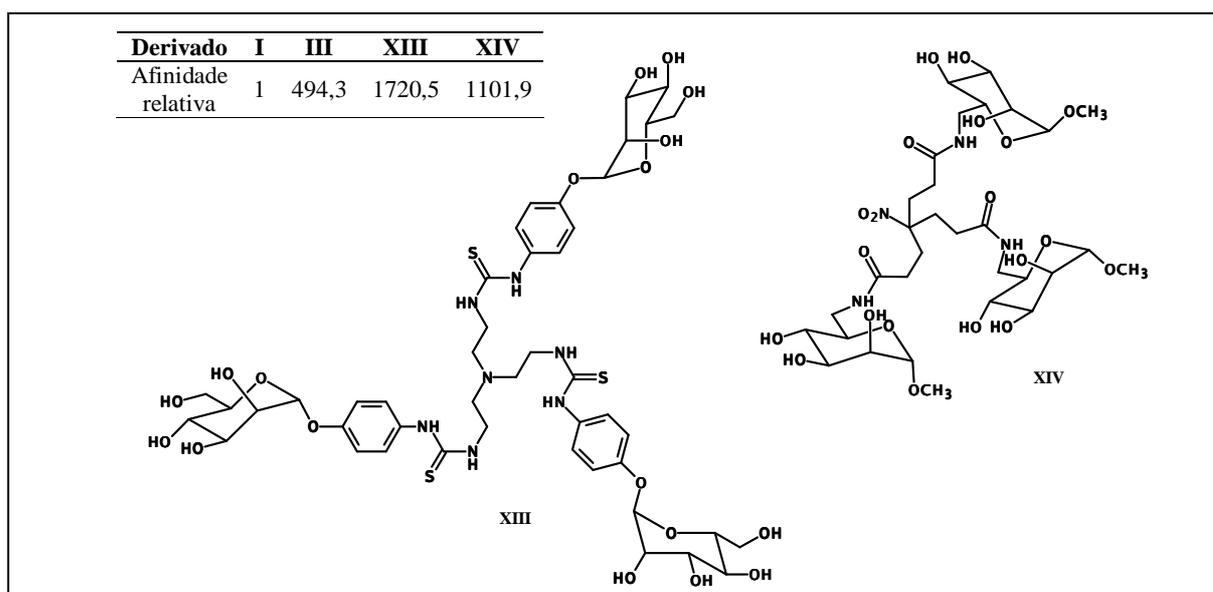


Figura 1.3 – Derivados trivalentes potentes inibidores da fímbria tipo 1 de *E. coli* [adaptado de Horst *et al.* (2001)].

Em geral, as altas afinidades por lectinas alcançadas por ligantes multivalentes, os fazem agentes terapêuticos promissores (MAMMEN *et al.*, 1998; RÜDIGER *et al.*, 2000; SHRIVER *et al.*, 2004). No entanto, em casos específicos o desenvolvimento de inibidores monovalentes potentes pode ser conveniente (SÖRME *et al.*, 2005; SALAMEH *et al.*, 2005; GIGUÈRE *et al.*, 2006; SALAMEH *et al.*, 2006).

O potencial antitumoral de derivados da D-galactose e da lactose vem sendo explorado em estudos de inibição da galectina-3. As galectinas são lectinas animais citosólicas específicas para  $\beta$ -D-galactose, cujo papel biológico não foi completamente elucidado. Fortes evidências sugerem que elas estão envolvidas na inflamação e no desenvolvimento do câncer. Para a galectina-3 são atribuídas atividades biológicas diversas. É conhecido seu envolvimento na metástase do câncer de cólon, na progressão do tumor cerebral e na formação da imunidade inata (GIGUÈRE *et al.*, 2006). Ao contrário de grande parte das lectinas, ela se apresenta em solução principalmente na forma monomérica. Com base nesta característica, explicou-se a razão de as interações entre ligantes divalentes derivados da *N*-acetilactosamina e esta lectina, em ensaios de inibição da hemaglutinação e de microcalorimetria de titulação isotérmica, não revelarem afinidade diferente do dissacarídeo de referência (AHMAD *et al.*, 2004).

Dentre diversos derivados monovalentes planejados como inibidores de galectina-3, foram encontradas para as amidas aromáticas **XVII-XIX** derivadas da *N*-acetilactosamina e, para os triazóis **XX-XXII** derivados da D-galactose, as maiores potências de inibição da interação da galectina no ensaio de polarização de fluorescência competitiva (Figura 1.4). As modificações na posição 3 da unidade galactosídica foram planejadas com base nos estudos de cristalografia de raios X (SÖRME *et al.*, 2005; SALAMEH *et al.*, 2005).

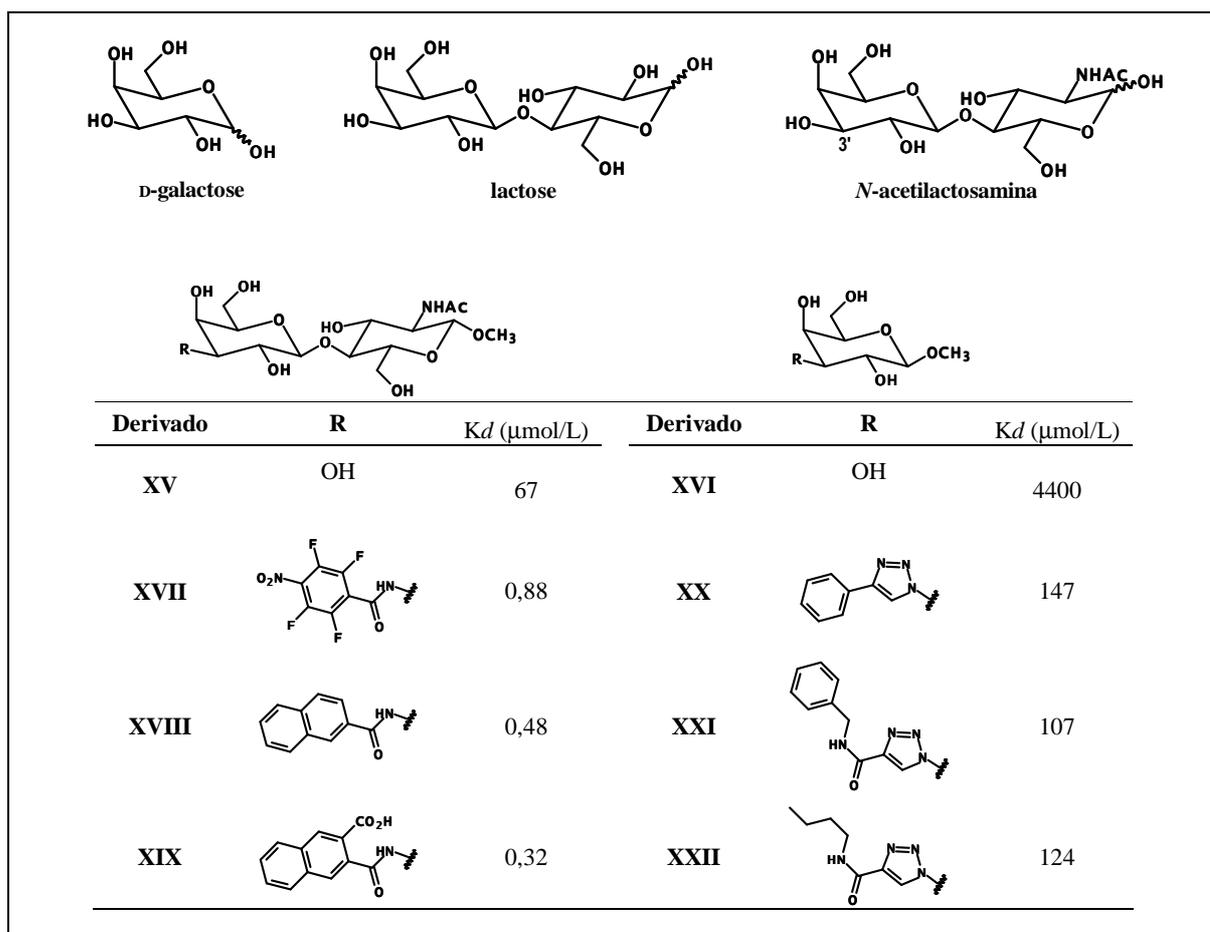


Figura 1.4 – Inibidores monovalentes da galectina-3 (SÖRME *et al.*, 2005; SALAMEH *et al.*, 2005).

A citada propriedade hemaglutinante das lectinas, constatada já nas origens de sua descoberta, resulta das estruturas oligoméricas e multivalentes, comuns entre elas. As lectinas vegetais e algumas galectinas, são particularmente capazes de aglutinar células, por apresentarem os sítios de interação com carboidratos posicionados nas extremidades opostas dos monômeros (LIS; SHARON, 1998; RÜDIGER; GABIUS, 2001) (Figura 1.5). Estudos com objetivos

específicos aproveitam a propriedade aglutinante das lectinas para a obtenção de dados da composição sacarídica da superfície de outros tipos celulares, como por exemplo, de células tumorais (LIENER *et al.*, 1986; LIS; SHARON, 1998; TAYLOR; DRICKAMER, 2003).

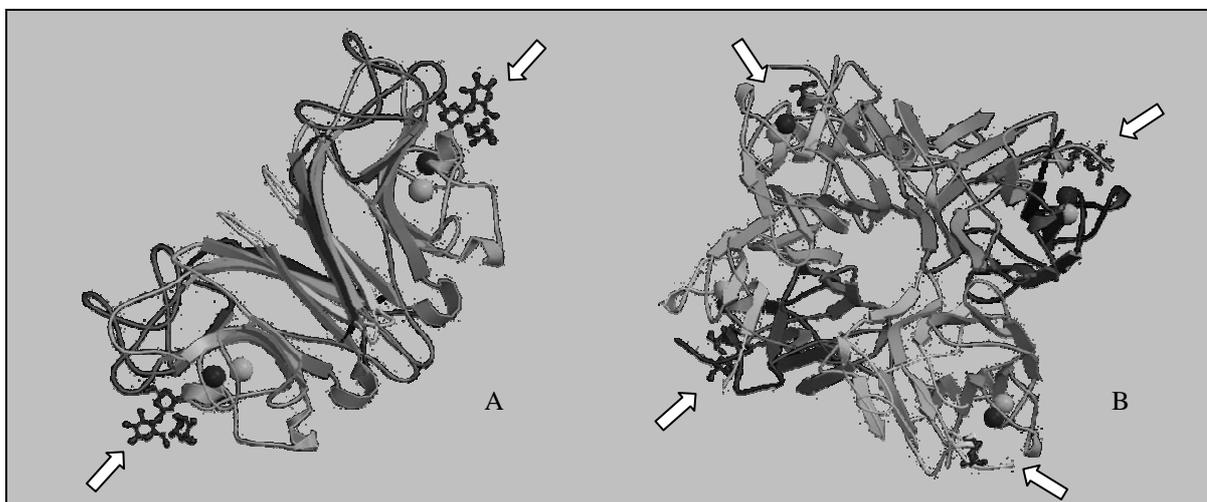


Figura 1.5 – Representação das estruturas tridimensionais de lectinas vegetais complexadas com oligossacarídeos (A. Complexo da lectina de *Erythrina cristagalli*, dimérica, com  $\alpha$ -L-Fucp-(1→2)- $\beta$ -D-Galp-(1→4)-D-Glcp (setas); B. Complexo de concanavalina A, de *Canavalia ensiformis*, tetramérica, com  $\alpha$ -D-Manp-(1→2)- $\alpha$ -D-ManpOMe (setas) (Fonte: <http://www.rcsb.org/pdb/>, acessada em 07/07, imagens retiradas dos arquivos com código PDB 1gz9 e 1bxh, respectivamente).

De outra maneira, esta propriedade é explorada no ensaio de inibição da hemaglutinação, também denominado ensaio de inibição do hapteno de Landsteiner (PUSZTAI, 1992), que permite a avaliação de interações entre lectinas e carboidratos de maneira semiquantitativa. Este é classicamente empregado na caracterização da seletividade de lectinas por mono- e oligossacarídeos (GALBRAITH; GOLDSTEIN, 1972; HSU, *et al.*, 1992; HUANG *et al.*, 2007; SINGHA *et al.*, 2007). É um ensaio simples que se apresenta como uma alternativa, dentre muitas, para detecção das interações carboidrato-lectina (RÜDIGER; GABIUS, 2001; AHMAD *et al.*, 2004). Este ensaio encontra subsídios na obtenção fácil dos eritrócitos do tecido sangüíneo e na riqueza qualitativa dos resíduos sacarídicos que são presentes em suas superfícies. Seu emprego limita-se a avaliação da interação de ligantes solúveis, e tem melhor expressão quando estes ligantes apresentam diferentes ordens de afinidade (CORBELL *et al.*, 2000; LUNDQUIST; TOONE, 2002).

Como dito anteriormente, as lectinas vegetais são muito estudadas e uma coleção delas tem sido isolada e caracterizada ao longo dos anos. As lectinas são particularmente abundantes nas sementes de muitas plantas, nas quais elas podem constituir mais de 10% da composição de nitrogênio das sementes (LIS; SHARON, 1989). As lectinas de fabáceas são especialmente utilizadas como sistema modelo para o estudo das bases moleculares do reconhecimento lectina-carboidrato pois, apesar da semelhança da estrutura primária destas proteínas, suas especificidades a carboidratos podem ser diferentes (RÜDIGER; GABIUS, 2001; SVENSSON *et al.*, 2002).

Apesar da aparente relevância do papel das lectinas de plantas, devido à sua ampla distribuição no reino vegetal, ainda se especula a respeito de seu significado fisiológico. Nas últimas décadas, muitas propostas têm sido investigadas, tais como a participação em processos de defesa da planta, no reconhecimento, transporte e imobilização celular, ou de armazenamento de carboidratos (BERINGER *et al.*, 1979, BARONDES, 1981; MARTÍNEZ *et al.*, 2004; SHARON; LIS, 2004).

As espécies de *Erythrina* (Fabaceae) se apresentam distribuídas em áreas tropicais e subtropicais. Este gênero é composto por cerca de 110 espécies arbóreas. Lectinas com especificidade para D-galactose e N-acetil-D-galactosamina são isoladas principalmente das sementes (LIS *et al.*, 1985). Outras lectinas foram detectadas em pequenas quantidades em outros tecidos como nas raízes, no caule e nas folhas. Algumas delas parecem ter grande similaridade estrutural com as lectinas das sementes, outras têm especificidades diferentes (KONOZY *et al.*, 2002). Seis lectinas de sementes de *Erythrina* (*E. caffra*, *E. cristagalli*, *E. flabelliformis*, *E. lysistemom*, *E. rubrinerva* e *E. vespertilio*) foram estudadas para que suas seqüências homólogas fossem estabelecidas e para determinação dos sítios de ligação com carboidratos. Os dados obtidos foram comparados com aqueles conhecidos para a lectina de *E. corallodendron* (BONNEIL *et al.*, 2004). Pequenas diferenças foram encontradas entre as seqüências destas lectinas, tanto na porção protéica quanto sacarídica. Portanto, a partir deste e de outros relatos tem sido constatado que, apesar da ampla distribuição geográfica das espécies de *Erythrina*, suas lectinas apresentam grandes similaridades nas características estruturais e biológicas (LIS *et al.*, 1985; KONOZY *et al.*, 2002; 2003; BONNEIL *et al.*, 2004). Vários resíduos de aminoácidos que são cruciais para interação com carboidratos são conservados nos sítios ativos destas lectinas e a seletividade destas é mantida provavelmente porque estes resíduos se mantêm próximos ao sítio de interação dos íons cálcio, comumente

presente nestas lectinas. A complexação com este íon metálico é essencial para que a conformação do sítio de interação com carboidratos seja mantida. O sítio de ligação das lectinas apresenta-se como uma depressão na superfície desta proteína (ELGAVIS; SHAANAN, 1998; TURTON *et al.*, 2004). Dentre as lectinas de *Erythrina* apenas as de *E. corallodendron* e *E. cristagalli* foram bem investigadas no nível molecular por dados cristalográficos de suas estruturas complexadas com mono- e dissacarídeos (ELGAVIS; SHAANAN, 1998; SVENSSON, *et al.*, 2002).

A lectina de *E. cristagalli*, foi isolada na forma dimérica e mostra uma topologia comum a outras lectinas de fabáceas. Cada monômero contém um íon  $\text{Ca}^{2+}$  e um  $\text{Mn}^{2+}$ , ambos necessários para a interação com carboidratos. Análises dos dados cristalográficos de alta resolução e de interação termodinâmica apontam para o importante papel de moléculas de água no sítio de interação da *E. cristagalli* (SVENSSON *et al.*, 2002). Foram ainda identificadas moléculas de água que possivelmente medeiam as interações entre os resíduos Gly107, Asn133, Ala218, Gln219 e as hidroxilas 2, 3 e 6 do anel galactopiranosídico e 2 do glicopiranosídico da lactose (Figura 1.6). Contribuem para interação, além das ligações de hidrogênio, mediadas muitas vezes por moléculas de água, interações hidrofóbicas entre os anéis aromáticos dos resíduos Phe131 e a Tyr106 do sítio de ligação da lectina com o anel galactopiranosídico da lactose ligada (TURTON *et al.*, 2004).

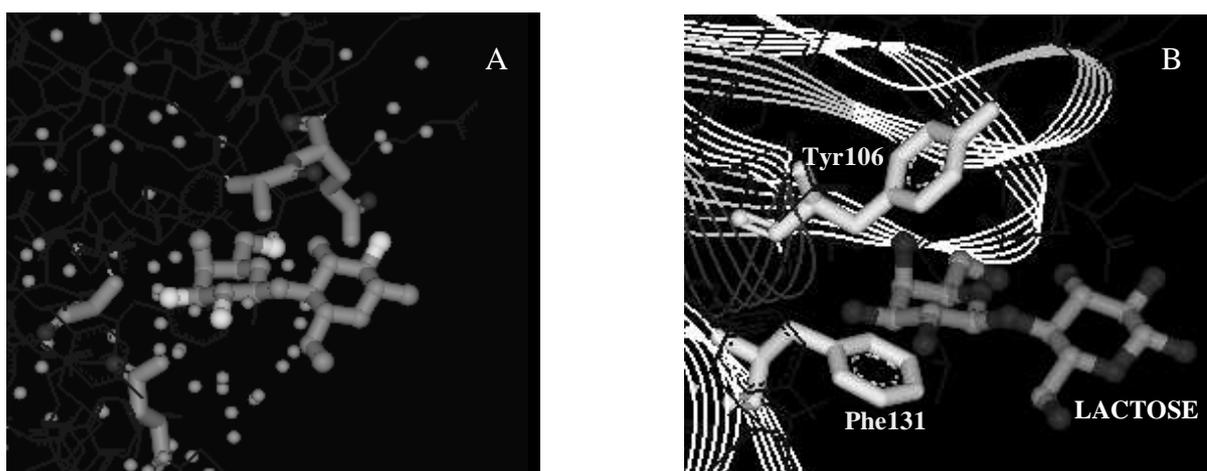


Figura 1.6 – Representação do sítio de interação com carboidratos da lectina de *Erythrina cristagalli*; (A) Interações entre a proteína e a lactose mediadas por moléculas de água (esferas claras); (B) Interações hidrofóbicas entre os resíduos Tyr106 e Phe131 da lectina e o anel galactopiranosídico (Fonte: <http://www.rcsb.org/pdb/>, acessada em 02/03, imagens retiradas do arquivo com código PDB 1gzc).



Duas outras séries planejadas seriam resultantes de modificações nas posições 6 (série C) e 6' (série D) (Figura 2.2) de um dos derivados em C-1, que seria selecionado a partir dos resultados preliminares do ensaio de afinidade para as duas primeiras séries.

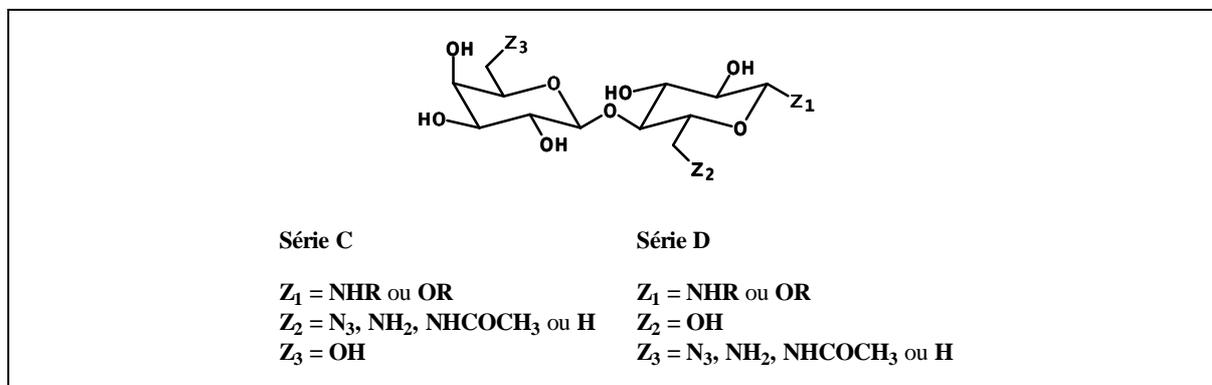


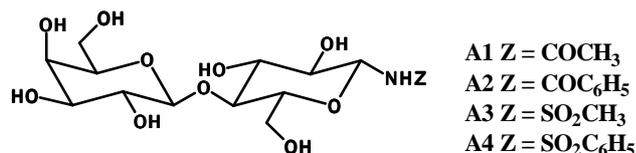
Figura 2.2 – Derivados da lactose nas posições 1, 6 e 6', planejados para o estudo de suas interações com lectina de *Erythrina cristagalli*.

O planejamento de ligantes com maior afinidade foi fundamentado na manutenção de pontos importantes para as interações entre carboidratos e lectina, e na criação de novos pontos de interação, pela introdução de grupos polares, especialmente de grupos que possam formar ligações de hidrogênio, e de grupos hidrofóbicos, posicionados de maneira adequada, que poderiam promover interações no próprio sítio de interação e em sítios adicionais. A introdução de grupos hidrofóbicos poderia ainda, conferir características que favorecessem os processos de solvatação e dessolvatação dos ligantes e de seu sítio de interação, e assim aumentassem a afinidade da interação carboidrato-lectina (GABIUS, 1998). A posição 1, anomérica, é de fácil manipulação química, além de ser bastante utilizada para a síntese de ligantes mono- e polivalentes de lectinas. Os derivados **A1-A4** planejados apresentam os grupos amido e sulfonamido, que preservam a capacidade de formação de ligação de hidrogênio no sítio de interação. Nesta série, poderiam ser comparadas as influências nas interações dos grupos aromáticos ou metílicos, e a diferença de hidrossolubilidade entre os grupos amido e sulfonamido, relacionada com os fatores entrópicos da interação. A funcionalização do anel aromático com grupos polares, capazes de formar ligação de hidrogênio, bem como a construção de uma série homóloga poderia trazer novas informações a respeito da influência da aglicona na interação das lectinas de fabáceas com os lactosídeos **B1-B8**. As modificações nas posições 6 e 6' de derivado lactosídico são favorecidas pela

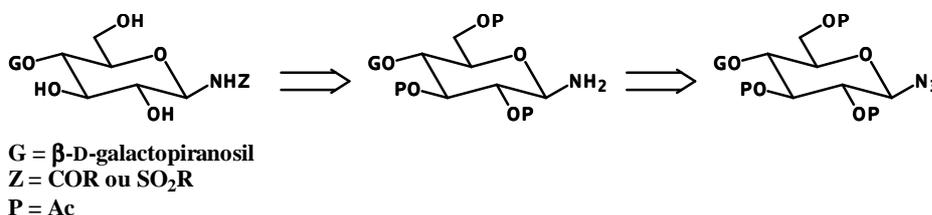
regiosseletividade de reações de hidroxilas primárias. As modificações na estrutura sacarídica poderiam permitir o acesso a pontos de interação de regiões mais profundas do sítio de interação. As modificações planejadas em C-6 e C-6' consistiram na substituição da hidroxila correspondente por grupos polares como azido, amino e acetilamino, dentre os quais, os dois últimos possibilitam a formação de ligação de hidrogênio com o sítio de interação da lectina, como também na remoção destas, que levaria a obtenção de derivados desoxi não substituídos.

### 3 PLANO DE SÍNTESE

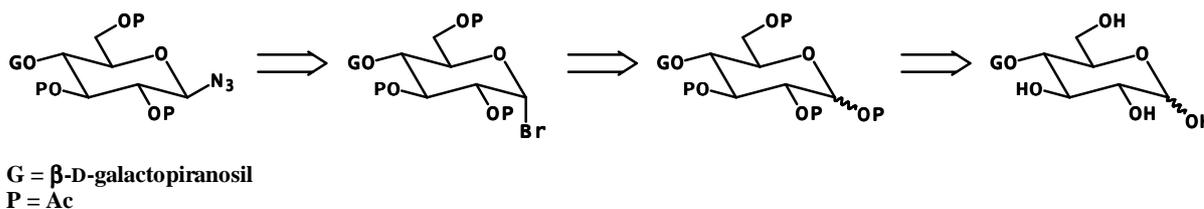
#### 3.1 Síntese de lactosilamidas e sulfonamidas (A1-A4)



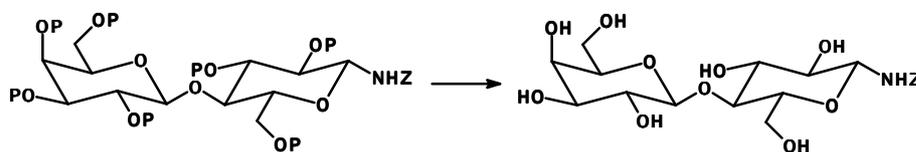
A síntese dos derivados da lactose propostos foi planejada com base em reações clássicas da química de carboidratos. Para a obtenção das amidas e sulfonamidas **A1-A4** foram propostas reações entre os agentes acilantes e sulfonilantes adequados e o derivado lactosilamino, que poderia ser obtido pela hidrogenação de precursor 1-desoxi-1-azido (SAHA *et al.*, 1995; SABESAN; NEIRA, 1992).



O derivado 1-desoxi-1-azido de configuração β poderia ser obtido por reação de substituição nucleofílica a partir do brometo de α-lactosila per-*O*-acetilado (CONCHIE *et al.*, 1957; TROPPER *et al.*, 1992), produto da reação da lactose peracetilada com ácido bromídrico. Esta poderia ser obtida por reação de peracetilação do dissacarídeo comercial (HUDSON; KUNS, 1925).



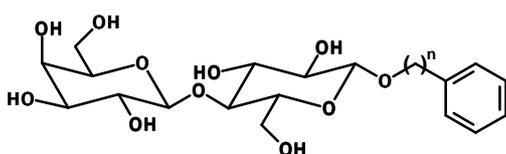
Considerando-se que as derivatizações em C-1 seriam feitas nos intermediários *O*-acetilados, os derivados finais seriam obtidos após a desproteção das hidroxilas por reação de transesterificação (CZIFRÁK *et al.*, 2006).



Z = COR ou SO<sub>2</sub>R

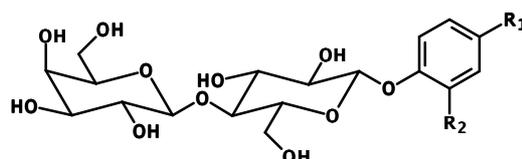
P = Ac

### 3.2 Síntese de lactosídeos de arila e alquilarila (B1-B8)



B1 n = 1

B2 n = 2



B3 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H

B4 R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H

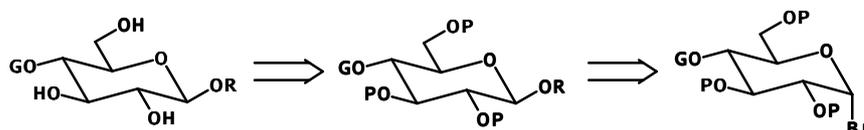
B5 R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>H, R<sub>2</sub> = H

B6 R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NO<sub>2</sub>

B7 R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NH<sub>2</sub>

B8 R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NHCOCH<sub>3</sub>

Os lactosídeos **B1-B4** e **B6**, poderiam ser obtidos a partir da reação de transesterificação dos respectivos precursores protegidos, estes fornecidos por glicosilações de álcoois e fenóis adequados com o brometo de  $\alpha$ -lactosila (HELFERICH; GRIEBEL, 1940; JUNG *et al.*, 1989).

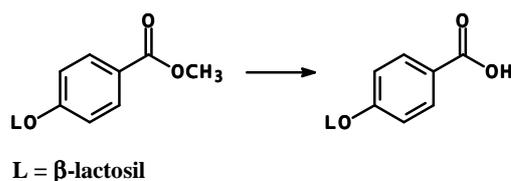


G =  $\beta$ -D-galactopiranosil

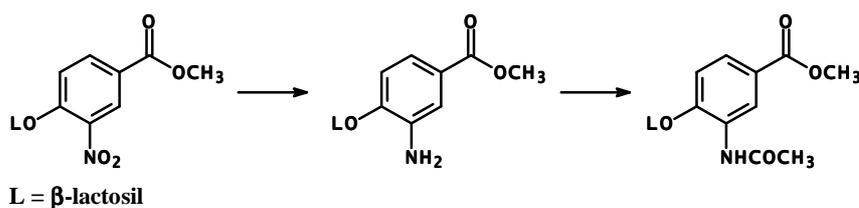
R = arila ou alquilarila

P = Ac

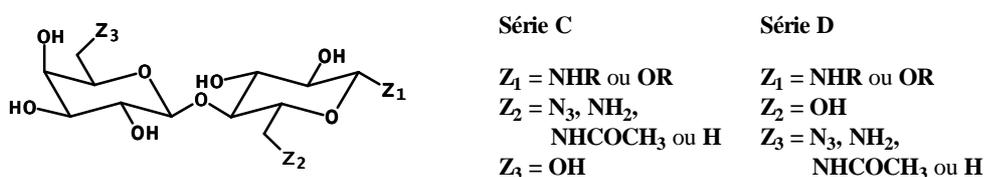
A obtenção do lactosídeo **B5** seria possível pela hidrólise básica do grupo éster de **B4** (COREY *et al.*, 1977).



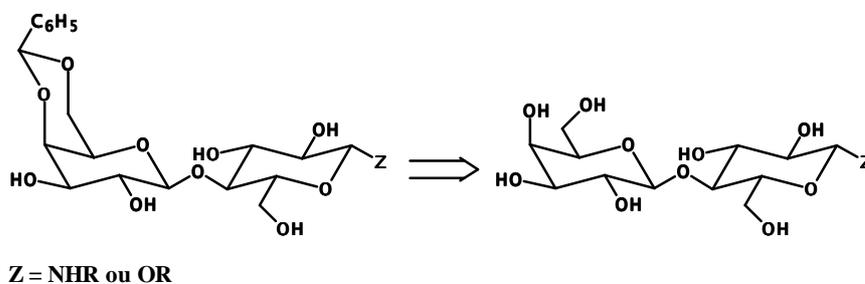
A hidrogenação do grupo nitro de **B6**, poderia fornecer o lactosídeo **B7**, cuja acetilação quimiosseletiva do grupo amino forneceria **B8** (ONODERA; KITAOKA, 1960).



### 3.3 Síntese de derivados lactosídicos modificados em C-6 e C-6' (séries C e D)

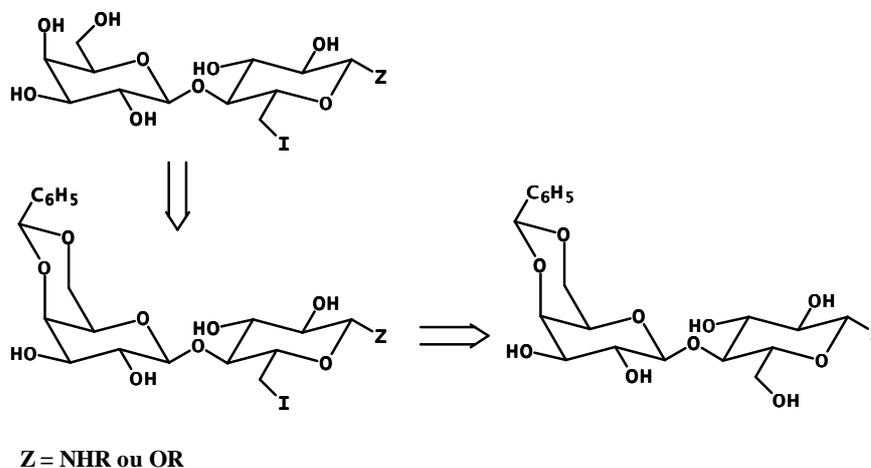


As derivatizações nos carbonos 6 e 6', foram planejadas a partir de um precursor comum, cujas hidroxilas 4' e 6' estariam protegidas na forma de acetal benzilidênico. Este precursor poderia ser obtido pela reação de um dos derivados da lactose em C-1 e benzaldeído (HALL, 1980).

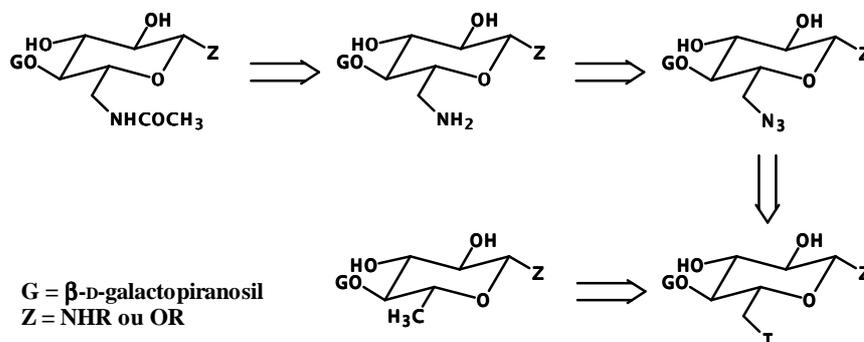


A substituição regioseletiva da hidroxila primária de C-6 por iodo seria possível uma vez que a hidroxila da posição 6' estivesse protegida (ZHANG; MAGNUSSON, 1996a). A remoção

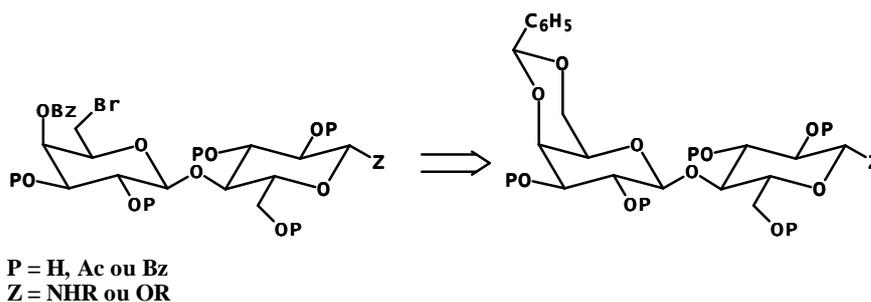
do grupo acetal benzilidênico, por hidrólise ácida (BELL; LORBER, 1940), bastaria para a obtenção de derivado 6-iodo desprotegido.



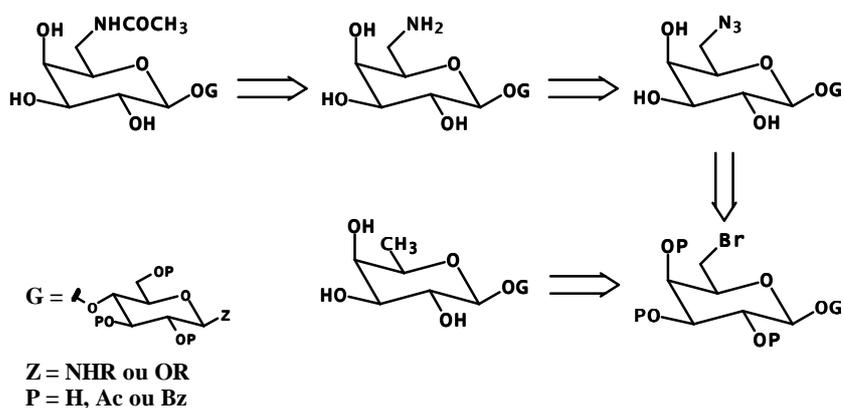
A substituição do iodo pelo grupo azido (HANSEN; MAGNUSSON, 1999), seguida da redução deste e acetilação do grupo amino obtido (ONODERA; KITAOKA, 1960) forneceria os derivados 6-azido, 6-amino e 6-acetilamino, respectivamente. A hidrogenação catalítica do derivado halogenado forneceria o derivado 6-desoxi correspondente (WESTERLIND *et al.*, 2005).



As modificações na posição 6', poderiam ser realizadas de maneira análoga sendo que o derivado halogenado desta vez poderia ser obtido pela reação de abertura do acetal benzilidênico com *N*-bromossuccinimida (HANESSIAN; PLESSAS, 1969a).



A redução da azida do derivado 6'-azido e a acetilação do grupo amino obtido forneceriam os derivados 6'-amino e 6'-acetilamino, respectivamente. A hidrogenação catalítica do derivado halogenado poderia fornecer o derivado 6-desoxi diretamente, se as hidroxilas tiverem sido previamente desprotegidas. Alternativamente, a etapa de desproteção decorreria seguida da de hidrogenação para a obtenção deste.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Lactosilamidas e sulfonamidas (A1-A4)

A lactose monoidratada comercial (**1**) foi submetida à reação de peracetilação. O produto peracetilado (**2**) foi convertido no brometo de lactosila **3** (HUDSON; KUNS, 1925), que pela reação com azida de sódio, em acetona e água, forneceu o derivado azido **4** (CONCHIE *et al.*, 1957; TROPPER *et al.*, 1992) (Figura 4.1.1).

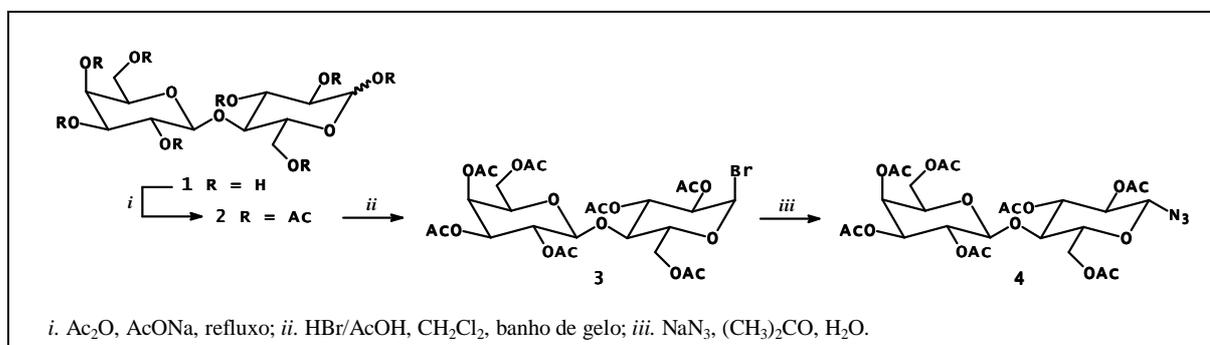


Figura 4.1.1 – Esquema de síntese do derivado 1-azido-1-desoxi **4** a partir da lactose.

A azida **4** foi caracterizada pela sua faixa de fusão, comparada com a descrita na literatura (QU *et al.*, 2003), pelo seu espectro de absorção no infravermelho, cuja banda em 2119 cm<sup>-1</sup> foi atribuída à deformação axial de grupo azido, e pelos seus espectros de RMN.

A redução de glicosilazidas seguida de acilação das glicosilaminas resultantes foi extensivamente descrita na literatura (SAHA *et al.*, 1995; SABESAN; NEIRA, 1992). A condensação de glicosilaminas com derivados de ácidos carboxílicos é um método usual para síntese de glicosilamidas (BIANCHI; BERNARDI, 2006). A síntese das amidas **A1** e **A2**, e das sulfonamidas **A3** e **A4** foi efetuada conforme esses métodos (Figura 4.1.2).

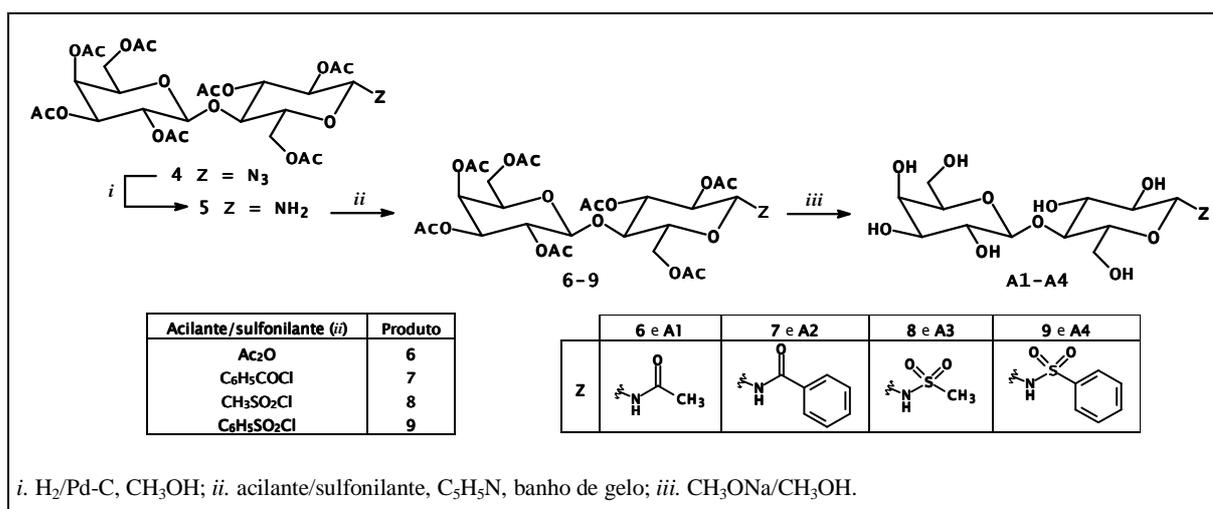


Figura 4.1.2 – Esquema de síntese das amidas **A1-A4** a partir de **4**.

A glicosilamina **5** foi preparada a partir de **4**, por reação de hidrogenação catalítica (TROPPEL *et al.*, 1992). Glicosilaminas são reconhecidamente instáveis. Além de susceptíveis à anomerização, são sensíveis às reações de hidrólise e dimerização (LIKHORSHESTOV *et al.*, 1986; LUBINEAU *et al.*, 1995; GABIUS, 1998). Em vista disto, logo que obtida, a glicosilamina **5** foi convertida nas amidas **6** e **7**, e sulfonamidas **8** e **9**, sem purificação prévia, pela reação com os agentes acilantes e sulfonilantes adequados, em piridina. Mesmo tomando-se o cuidado de se utilizar a glicosilamina logo que preparada, foram observados como produtos destas reações misturas anoméricas com proporções variadas de amidas e sulfonamidas, sempre com predominância do anômero de configuração  $\beta$ . Na Tabela 4.1.1 estão relacionados os rendimentos obtidos para os derivados **6-9**, a partir da azida **4**.

Tabela 4.1.1 – Rendimentos obtidos para as amidas e sulfonamidas **6-9** a partir de **4**

Produto	Método de purificação	Rendimento a partir de <b>4</b> (%)
<b>6</b>	-	97*
<b>7</b>	CCS	60**
<b>8</b>	CCS	30
<b>9</b>	CCS	19

\* Mistura de **6** e de seu anômero  $\alpha$  12:1; \*\* mistura de **7** e de seu anômero  $\alpha$  6:1.

Da reação de acetilação de **5**, que levaria à amida **6**, de configuração  $\beta$ , foi obtida uma mistura de proporção aproximada de  $\beta/\alpha$  de 12:1 (as proporções entre os anômeros foram determinadas por RMN de  $^1\text{H}$ ). Mesmo sendo difícil a separação dos anômeros por cromatografia, obteve-se uma pequena quantidade de **6** pura, que foi empregada na sua caracterização. A amida **6** foi caracterizada pela comparação dos valores medidos para faixa de fusão e poder rotatório específico, com aqueles relatados na literatura (PRIYA; LOGANATHAN, 1999) e pelos dados de seus espectros de RMN.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **6** (Figura I.1, página 118 Apêndice I), caracterizaram a formação da acetamida, os sinais referentes ao hidrogênio amídico (duplete,  $\delta 6,26$ ,  $J 9,3$  Hz), ao H-1 (triplete,  $\delta 5,20$ ,  $J 9,3$  Hz) e aos hidrogênios metílicos do grupo acetilamino (simpleto,  $\delta 2,15$ ). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.2), foram observados os sinais do carbono da carbonila em  $\delta 171,32$  e do carbono metílico do grupo acetilamino em  $\delta 23,36$ . O anômero  $\alpha$  de **6**, foi isolado em quantidade suficiente para sua caracterização por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura I.5, página 120). Neste espectro são observados, entre outros os sinais do hidrogênio amídico em  $\delta 6,41$ , e do H-1 em  $\delta 5,79$  (Figura 4.1.3).

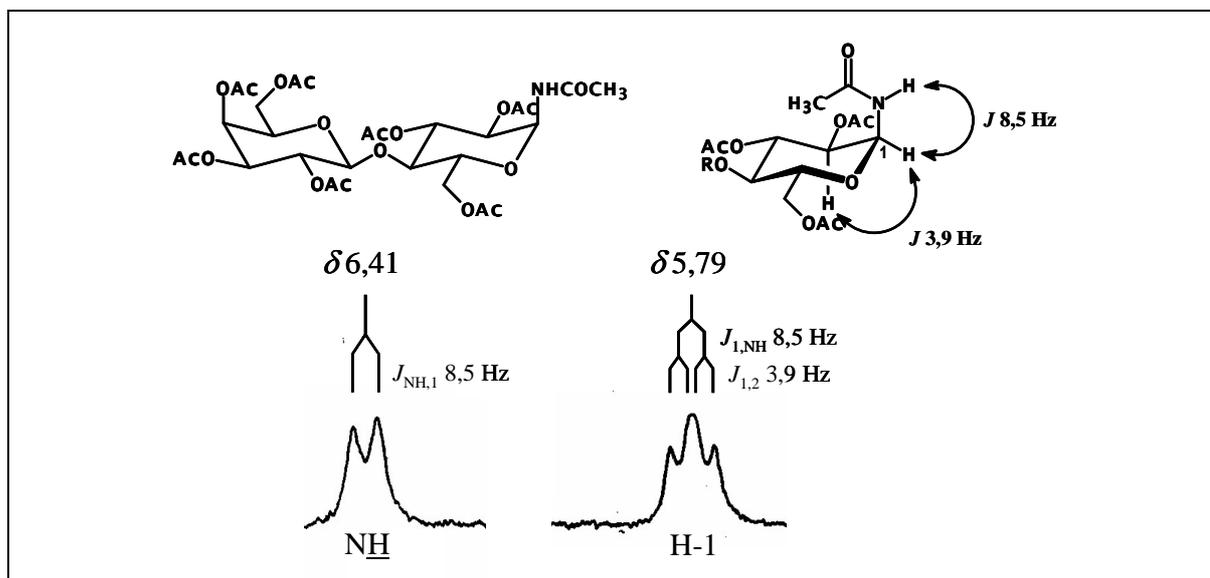


Figura 4.1.3 – Sinais referentes ao hidrogênio amídico e a H-1 do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do anômero  $\alpha$  de **6** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

O produto bruto obtido da síntese da benzamida desejada **7**, após cromatografia em coluna de sílica-gel, conduziu à mistura dos anômeros  $\beta$  (**7**) e  $\alpha$  na proporção 6:1, de acordo com o observado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura I.6, página 120). Neste, dentre os sinais menos intensos, foram atribuídos aos hidrogênios do anômero  $\alpha$  de **7**, o duplete em  $\delta$  7,02 ( $J$  7,6 Hz) referente ao hidrogênio amídico e o duplete duplo em  $\delta$  6,01 ( $J_{1,\text{NH}}$  7,6 Hz,  $J_{1,2}$  5,2 Hz) referente a H-1. Os sinais dos hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,74, 7,55-7,49 e 7,44 e do hidrogênio amídico  $\delta$  6,98 (duplete,  $J$  9,0 Hz) foram atribuídos à benzamida **7**. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.7, página 121), entre outros, foram observados o sinal carbono da carbonila do grupo amido em  $\delta$  171,75, os quatros sinais dos hidrogênios aromáticos entre  $\delta$  133 e  $\delta$  127 e o sinal de C-1 em  $\delta$  78,79.

Utilizando-se cromatografia em coluna de sílica-gel, foi possível obter os anômeros  $\beta$  **8** e **9**. Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das sulfonamidas **8** (Figura I.8, página 121) e **9** (Figura I.10, página 122), foram observados, respectivamente, os sinais referentes aos hidrogênios sulfonamídicos em  $\delta$  5,53 (duplete,  $J$  9,1 Hz) e em  $\delta$  5,68 (multiplete), e aos H-1 em  $\delta$  4,76 (duplete,  $J$  9,1 Hz) e em  $\delta$  4,81-4,75 (sobreposto ao sinal de H-2). Além destes, caracterizaram a formação das sulfonamidas a presença dos sinais referentes aos hidrogênios metílicos do grupo metanossulfonamido de **8**, em  $\delta$  3,05 e, aos hidrogênios aromáticos de **9** ( $\delta$  7,88-7,86,  $\delta$  7,60-7,56 e  $\delta$  7,52-7,48). Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  das sulfonamidas **8** (Figura I.9, página 122) e **9** (Figura I.11, página 123), o sinal referente ao carbono anomérico foi observado em  $\delta$  82,71 e 82,62, respectivamente.

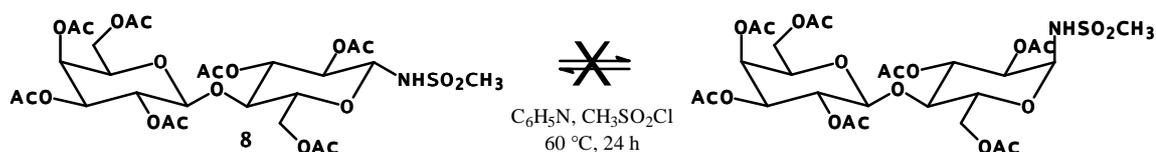
As amidas **6** e **7**, bem como os seus anômeros  $\alpha$ , e as sulfonamidas **8** e **9**, obtidas como anômeros  $\beta$  puros, foram submetidas à reação de transesterificação com metóxido de sódio em metanol (CZIFRAK *et al.*, 2006). As amidas e sulfonamidas desprotegidas **A1-A4**, foram obtidas com rendimentos de 49 a 76%, após purificação por recristalização (Tabela 4.1.2)

Tabela 4.1.2 – Rendimentos obtidos para as amidas e sulfonamidas **A1-A4** na etapa de desproteção das hidroxilas por reação de transesterificação.

Produto	Solvente de recristalização	Rendimento (%)
<b>A1</b>	Isopropanol/água 4:1	60
<b>A2</b>	Metanol	76
<b>A3</b>	Metanol	49
<b>A4</b>	Metanol	53

A desproteção das hidroxilas foi evidenciada pela presença de bandas largas atribuídas às deformações axiais de grupo hidroxila na região entre 3400 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ , nos espectros de absorção no infravermelho, pela presença dos sinais dos hidrogênios das hidroxilas no espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (solvente  $\text{DMSO-}d_6$ ) e pela ausência dos sinais dos carbonos dos grupos acetila protetores no espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figuras I.12 a I.19, páginas 123 e 127). A atribuição dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **6-9** e **A1-A4**, como dos demais derivados abordados a seguir, foi realizada pela análise conjunta dos subespectros DEPT135 e dos mapas de correlação COSY e HSQC. Os mapas de contornos COSY e HSQC de **6**, estão exemplificados nas Figuras I.3 e I.4 (página 119).

Assim que obtido, o produto resultante da hidrogenação catalítica de **4** foi submetido à RMN de  $^1\text{H}$ . Neste espectro não foi evidenciada a formação de mistura anomérica, tendo sido observados apenas sinais de hidrogênio compatíveis com a estrutura da amina de configuração  $\beta$  (**5**). Com a finalidade de avaliar se as amidas e sulfonamidas seriam susceptíveis à anomerização durante o processo de sua obtenção, a sulfonamida **8** pura foi colocada nas condições empregadas para sua preparação. A formação do anômero  $\alpha$  não foi observada enquanto a mistura reagente foi deixada em banho de gelo, nem quando aquecida até 60 °C por 24 horas.



Isto evidenciou que as amidas e sulfonamidas de configuração  $\alpha$  foram, possivelmente, formadas a partir da glicosilamina de mesma configuração, resultante da anomerização parcial da glicosilamina **5**, o que pode ter ocorrido durante as reações de acilação e sulfonilação (Figura 4.1.4).

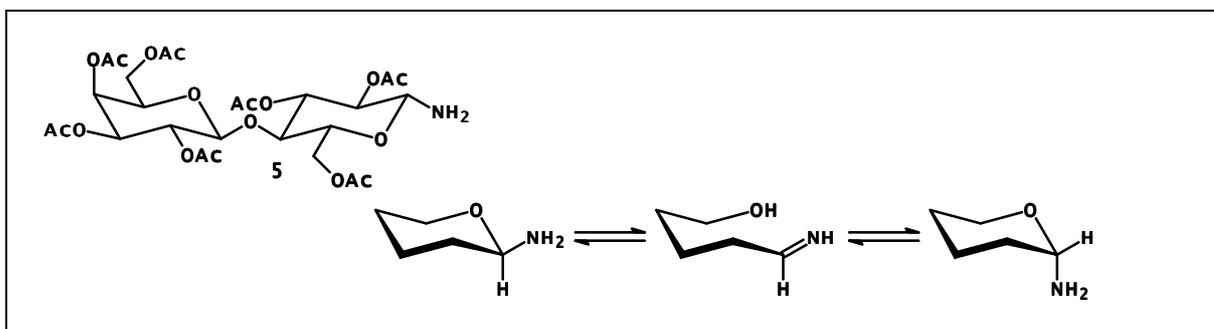


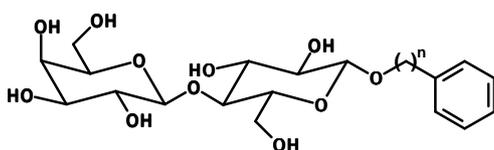
Figura 4.1.4 – Anomerização parcial por mutarrotação da glicosilamina **5**.

A afinidade das amidas e sulfonamidas **A1-A4** pela lectina de *Erythrina cristagalli* foi avaliada em ensaio de inibição de hemaglutinação mediada por esta lectina. Os resultados foram expressos em termos da potência relativa à capacidade de inibição promovida pela D-galactose, dada pela relação entre as menores concentrações de cada derivado capazes de promover a inibição da hemaglutinação e a do monossacarídeo de referência (Tabela 4.1.3). O ensaio de inibição de hemaglutinação fornece como resultado a concentração mínima dos ligantes capaz de inibir a hemaglutinação promovida pela lectina. No entanto, os resultados são usualmente expressos em termos de potência relativa, tendo em vista que, enquanto a ordem da potência de inibição geralmente é menos sensível a variações da composição da superfície dos eritrócitos, em consequência de fatores como a idade e a fonte das células, os valores de concentração inibitória mínima são bastante variáveis de ensaio para ensaio (CORBELL *et al.*, 2000; LUNDQUIST; TOONE, 2002).

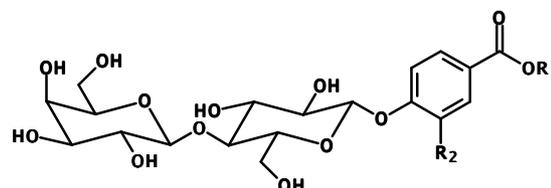
Tabela 4.1.3 – Potência relativa dos derivados **A1-A4** quanto à inibição da hemaglutinação mediada por lectina de *Erythrina cristagalli*, em relação à D-galactose

Derivado	Potência Relativa
D-Galactose	1
Lactose	4
<b>A1</b>	3
<b>A2</b>	4
<b>A3</b>	4
<b>A4</b>	4

Tendo em vista que, de acordo com os resultados apresentados, nenhum destes derivados mostrou-se melhor ligante da lectina que a lactose, uma nova série de derivados da lactose em C-1 foi planejada. A avaliação da influência da aglicona na interação com a lectina foi o objetivo da síntese de uma série homóloga (**B1-B3**) e de derivados funcionalizados no anel aromático com grupo polares, doadores e/ou reptoires de ligação de hidrogênio (**B4-B8**).



**B1** n = 1  
**B2** n = 2  
**B3** n = 0



**B4** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H  
**B5** R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H  
**B6** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NO<sub>2</sub>  
**B7** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NH<sub>2</sub>  
**B8** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = NHCOCH<sub>3</sub>

## 4.2 Lactosídeos de arila e alquilarila (B1-B8)

Os lactosídeos **B1-B4** e **B6** foram obtidos a partir dos precursores *O*-acetila protegidos (**10-14**), produtos da reação entre o brometo de lactosila **3** e o álcool ou fenol adequado (Figura 4.2.1).

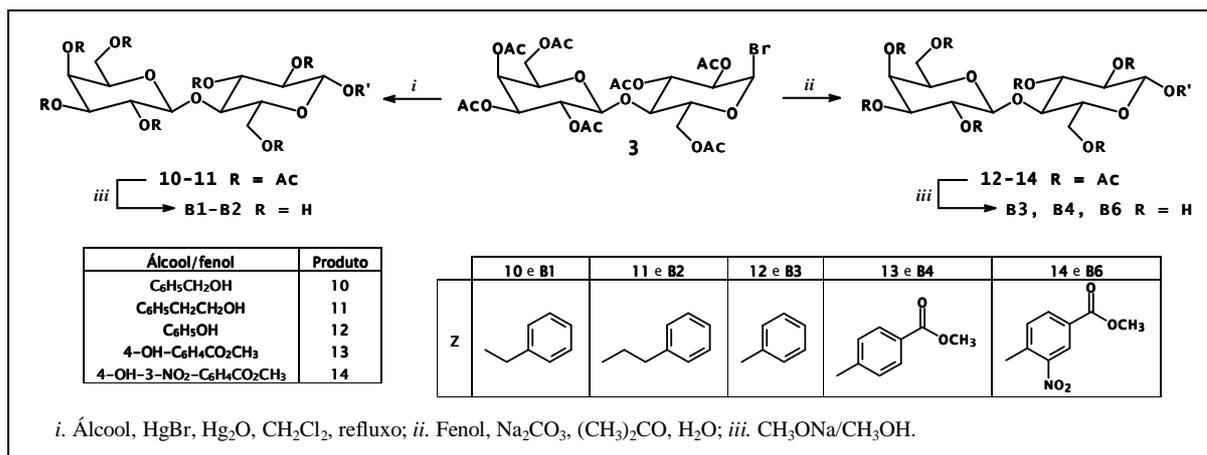


Figura 4.2.1 – Esquema de síntese dos lactosídeos **B1-B4** e **B6** a partir de **3**.

Os lactosídeos **10** e **11** foram obtidos pelo método de Koenigs-Knorr, estratégia clássica para a obtenção de glicosídeos de alquila, que emprega sais de prata ou mercúrio como catalisadores da reação entre álcoois e haletos de glicosila (IGARASHI, 1977; JACOBSSON *et al.*, 2006). A remoção dos grupos acetila de **10** e **11**, pela reação de transesterificação com metóxido de sódio forneceu os lactosídeos **B1** e **B2**, com rendimentos de 24% e 44%, respectivamente, a partir de **3**. O procedimento empregado na síntese de **B1** e **B2** não foi otimizado. Este foi adaptado daquele descrito por Jung *et al.* (1989), que obtiveram **B1** com 83% de rendimento, a partir de **3**. A síntese de lactosídeo **B2** foi anteriormente descrita por Ma *et al.* (2001), que empregou em lugar de sal de mercúrio, o triflato de prata como catalisador, e obteve **B2** com 41% de rendimento, a partir da lactose.

Os lactosídeos **12-14** foram preparados a partir de **3** por reações de glicosilação dos fenóis adequados em meio aquoso alcalino (HELFERICH, 1936 *apud* FISHER *et al.*, 1940; HELFERICH; GRIEBEL, 1940). Os lactosídeos **12-14** foram desacetilados por reação de transesterificação, com metóxido de sódio em metanol anidro. Os lactosídeos **B3**, **B4** e **B6**

foram obtidos com rendimentos de 30%, 55% e 35%, respectivamente, a partir de **3**, no entanto, os procedimentos empregados nas sínteses de **B3** e **B6** não foram otimizados.

As técnicas de glicosilação que empregam haletos de glicosila e fenóxidos são clássicas para preparação de glicosídeos de arila, descritas desde o final do século XIX, quando foi empregado cloreto de glicosila e hidróxido de potássio na síntese do glicosídeo de fenila (MICHAEL, 1879 *apud* JACOBSSON *et al.*, 2006). Posteriormente, a metodologia foi modificada, com a utilização de brometo de glicosila e o emprego da acetona como co-solvente (FISHER *et al.*, 1940; MONTGOMERY *et al.*, 1942). É comum encontrar para reações deste tipo, rendimentos inferiores a 60%, no entanto, a simplicidade do procedimento faz com que este seja extensivamente empregado (JACOBSSON, 2006).

Os valores medidos para as faixas de fusão e poder rotatório específico de **B1-B3**, assim como seus dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , foram comparados com os descritos na literatura (HELFERICH; GRIEBEL, 1940; JUNG *et al.*, 1989; MA *et al.*, 2001).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **13** (Figura I.20, página 127), a aglicona foi caracterizada pela presença dos sinais dos hidrogênios do sistema aromático *para*-dissubstituído ( $\delta$  7,98 e 6,98,  $J_{orto}$  8,8 Hz) e pelo simpleto referente aos hidrogênios do grupo metoxila do éster aromático em  $\delta$  3,89. O sinal atribuído a H-1 foi observado em  $\delta$  5,16-5,11, sobreposto ao sinal de H-2'. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.21, página 128), foram observados os sinais dos carbonos da carbonila do éster aromático em  $\delta$  166,40 e da metoxila em  $\delta$  52,00, além dos sinais dos carbonos aromáticos ( $\delta$  160,16,  $\delta$  131,52,  $\delta$  125,02 e  $\delta$  116,14). O sinal de C-1 foi observado em  $\delta$  97,91.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **14** (Figura I.22, página 128), os sinais dos hidrogênios aromáticos em  $\delta$  8,45 ( $J_{meta}$  2,0 Hz),  $\delta$  8,18 ( $J_{meta}$  2,0 Hz e  $J_{orto}$  8,8 Hz) e 7,32 ( $J_{orto}$  8,8 Hz) caracterizaram o anel 1,2,4-trissubstituído. O sinal atribuído a H-1 foi observado em  $\delta$  5,31-5,25, sobreposto ao sinal de H-3, pouco mais distante do sinal do tetrametilsilano (TMS) que o sinal correspondente de **13**, tal como o sinal de C-1, observado em  $\delta$  98,37. A desativação do anel aromático promovida pelo grupo nitro, em posição *orto* à ligação glicosídica, ocasiona a desblindagem por efeito indutivo retirador de elétrons observada para os núcleos de H-1 e C-1 de **14**, em relação aos de **13**. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **14** (Figura I.23, página 129),

foram ainda observados, além de outros, cinco sinais referentes aos carbonos aromáticos ( $\delta$  152,27,  $\delta$  140,61, carbono ligado ao grupo nitro,  $\delta$  134,74,  $\delta$  126,66,  $\delta$  125,30).

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **B4** e **B6** (Figuras I.26 e I.31, páginas 130 e 133, respectivamente) foram observados os sinais dos sete hidrogênios de hidroxilas, além dos sinais referentes aos hidrogênios das unidades sacarídicas e aos da aglicona. A configuração  $\beta$  da ligação glicosídica de foi confirmada pela observação dos dupletos referentes a H-1, em  $\delta$  5,11, com  $J_{1,2}$  7,8 Hz, no espectro de **B4**, e em  $\delta$  5,34, com  $J_{1,2}$  7,7 Hz, no de **B6**. O mapa de contornos HSQC de **B4**, empregado na atribuição dos sinais de hidrogênio e carbono-13, está ilustrado na Figura I.28 (página 131).

O lactosídeo **B7** foi obtido a partir de **B6** pela redução do grupo nitro-aromático a amino por hidrogenação catalítica com paládio-carvão, com 80% de rendimento (Figura 4.2.2). O lactosídeo **B8**, derivado *N*-acetil de **B7**, foi obtido em três etapas a partir de **14**, com 71% de rendimento. A redução do grupo nitro de **14** a amino foi realizada nas mesmas condições empregadas para a síntese de **B7**. O grupo amino foi acetilado pela reação com anidrido acético, em piridina. O derivado **15** obtido nesta etapa foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel e caracterizado antes de ser submetido à reação de tranterificação com metóxido de sódio em metanol (Figura 4.2.2).

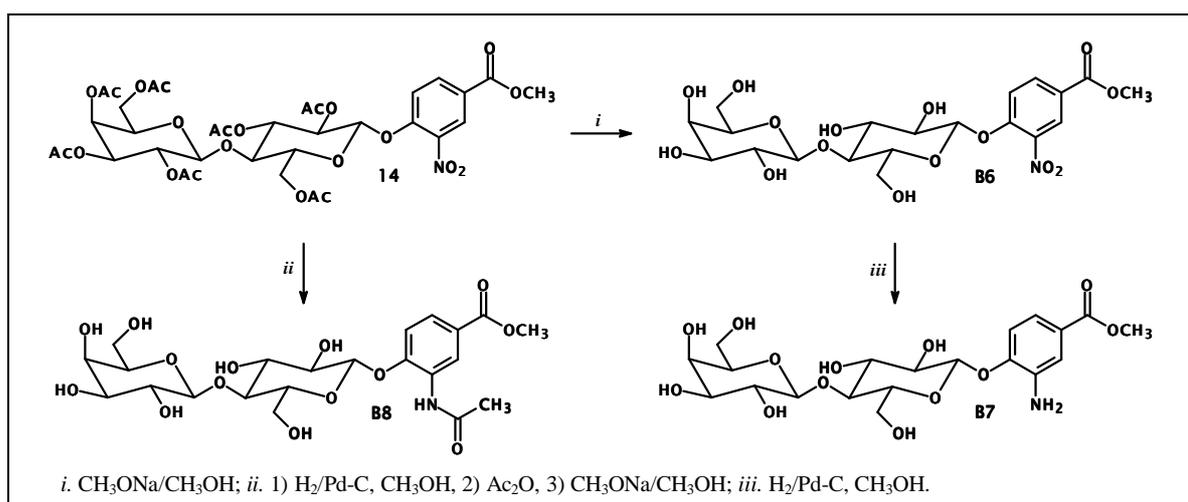


Figura 4.2.2 – Esquema de síntese de **B8** a partir de **15** e de **B7** a partir de **B6**.

Os lactosídeos **B7** e **B8**, foram caracterizados pelos sinais dos hidrogênios aromáticos do anel trissubstituído, observados em  $\delta$  7,29 ( $J_{meta}$  1,9 Hz), 7,13 ( $J_{meta}$  1,9 Hz,  $J_{orto}$  8,4 Hz), 7,04 ( $J_{orto}$  8,4 Hz) no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **B7** e em  $\delta$  8,74, 7,66 ( $J_{orto}$  8,6 Hz), 7,28 ( $J_{orto}$  8,6 Hz) no de **B8**. Os sinais dos hidrogênios anoméricos foram observados em  $\delta$  4,81 ( $J$  7,1 Hz) e em  $\delta$  4,97 ( $J$  7,6 Hz), respectivamente. Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , foram observados para cada um dos derivados, seis sinais referentes aos carbonos aromáticos, tendo sido o sinal em  $\delta$  139,13 atribuído ao carbono ligado ao grupo amino (espectro de **B7**) e o sinal em  $\delta$  125,73 atribuído ao carbono ligado ao grupo acetilamino (espectro de **B8**). O efeito doador de elétrons dos grupos amino e acetilamino no anel aromático, oposto ao do grupo nitro de **B6**, ficou evidenciado pela aproximação dos sinais dos carbonos do anel e dos hidrogênios anoméricos (C-1) do TMS. Adicionalmente, nos espectros de RMN de **B8** (Figura I.35), o grupo acetilamino foi caracterizado pela presença dos sinais dos hidrogênios amídicos em  $\delta$  9,16 e metílicos em  $\delta$  2,14 e dos carbonos em  $\delta$  169,16 (carbonila) e em  $\delta$  24,58 (metila) (Figuras I.33 a I.36).

O lactosídeo **B5** foi obtido pela da hidrólise do grupo éster de **B4**, em solução aquosa de hidróxido de lítio (COREY *et al.*, 1977), com 95% de rendimento (Figura 4.2.3, página 134 e 135).

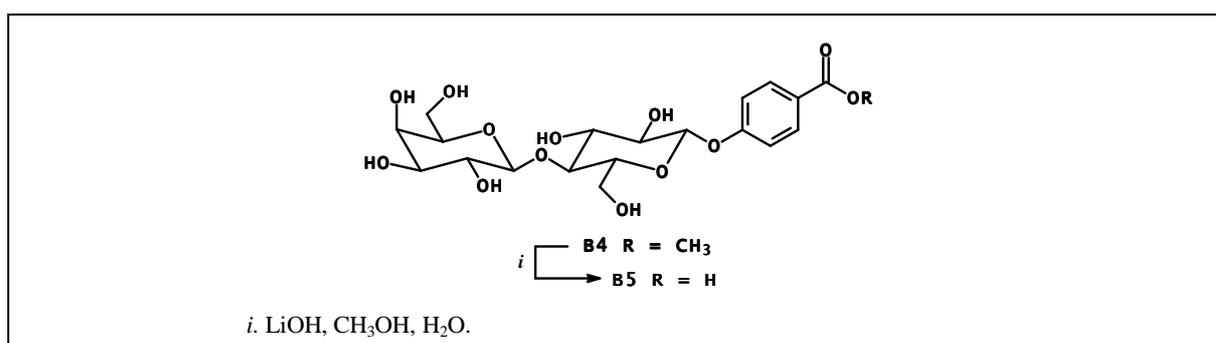


Figura 4.2.3 – Esquema de síntese de **B5** a partir de **B4**.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  os deslocamentos químicos dos hidrogênios e dos carbonos aromáticos foram semelhantes àqueles observados nos espectros do precursor **B4**. No espectro de  $^1\text{H}$  não foi observado o sinal dos hidrogênios do grupo metoxicarbonila e no

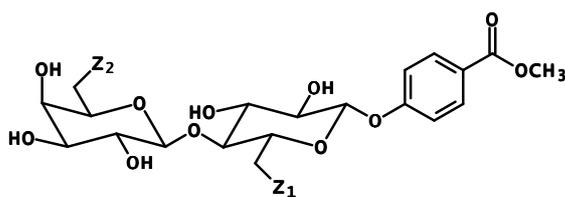
de  $^{13}\text{C}$  foi observado o sinal do carbono carbonílico de ácido carboxílico em  $\delta$  166,94 (Figuras I.29 e I.30, página 132).

Os lactosídeos **B1-B7** foram avaliados em ensaio de inibição de hemaglutinação mediada pela lectina de *E. cristagalli*, com a finalidade de se eleger dentre estes um protótipo para as modificações nas posições 6 e 6'. O derivado **B8** não foi testado por ser pouco solúvel em água ( $< 0,02$  mmol/mL). As potências relativas à inibição promovida pela D-galactose, para cada um dos derivados e para lactose, estão mostradas na Tabela 4.2.1.

Tabela 4.2.1 – Potência relativa dos derivados **B1-B7** quanto à inibição da hemaglutinação mediada por lectina de *Erythrina cristagalli*, em relação à D-galactose

Derivado	Potência Relativa	Derivado	Potência Relativa
D-Galactose	1	<b>B4</b>	4
Lactose (1)	4	<b>B5</b>	4
<b>B1</b>	4	<b>B6</b>	5
<b>B2</b>	4	<b>B7</b>	4
<b>B3</b>	4	<b>B8</b>	não testado

Assim como as amidas e sulfonamidas (**A1-A4**), os lactosídeos **B1-B7** apresentaram, praticamente, a mesma afinidade pela lectina que a lactose. Tendo em vista que, em geral, os sítios de interação de carboidratos das lectinas de fabáceas se apresentam como cavidades relativamente rasas na superfície da proteína (SVENSSON *et al.*, 2002), concluiu-se que os grupos adicionados em C-1 se posicionaram fora do sítio de interação e ainda, não alcançaram sítios de interações adicionais. Em vista disso, outras modificações nesta posição não foram propostas. Novos derivados (**C1-C5** e **D1-D4**), que poderiam permitir o acesso a pontos de interação de regiões mais profundas do sítio de interação, foram obtidos a partir de modificações nas posições 6 e 6' da porção dissacarídica do lactosídeo **B4**.

C1  $Z_1 = \text{I}, Z_2 = \text{OH}$ C2  $Z_1 = \text{N}_3, Z_2 = \text{OH}$ C3  $Z_1 = \text{NH}_2, Z_2 = \text{OH}$ C4  $Z_1 = \text{NHCOCH}_3, Z_2 = \text{OH}$ C5  $Z_1 = \text{H}, Z_2 = \text{OH}$ D1  $Z_1 = \text{OH}, Z_2 = \text{N}_3$ D2  $Z_1 = \text{OH}, Z_2 = \text{NH}_2$ D3  $Z_1 = \text{OH}, Z_2 = \text{NHCOCH}_3$ D4  $Z_1 = \text{OH}, Z_2 = \text{H}$ 

A escolha de **B4**, dentre os componentes das séries de derivados em C-1, foi feita pela relativa facilidade em obtê-lo. Optou-se por realizar as modificações na estrutura de um dos derivados em C-1, mesmo sem ter evidências da importância da configuração deste centro para a interação com a lectina de *E. cristagalli*, pois considerou-se que, ao manter em estudo derivados resistentes à anomerização, com a configuração anomérica definida, o ensaio permaneceria isento das possíveis variações trazidas por misturas de anômeros.

### 4.3 Derivados de B4 em C-6 e C-6' (C1-C5 e D1-D4)

A síntese dos derivados de **B4** nas posições 6 (**C1-C5**) e 6' (**D1-D4**) foi efetuada a partir de um intermediário comum, o lactosídeo protegido 4',6'-*O*-benzilideno **16** (Figura 4.3.1)

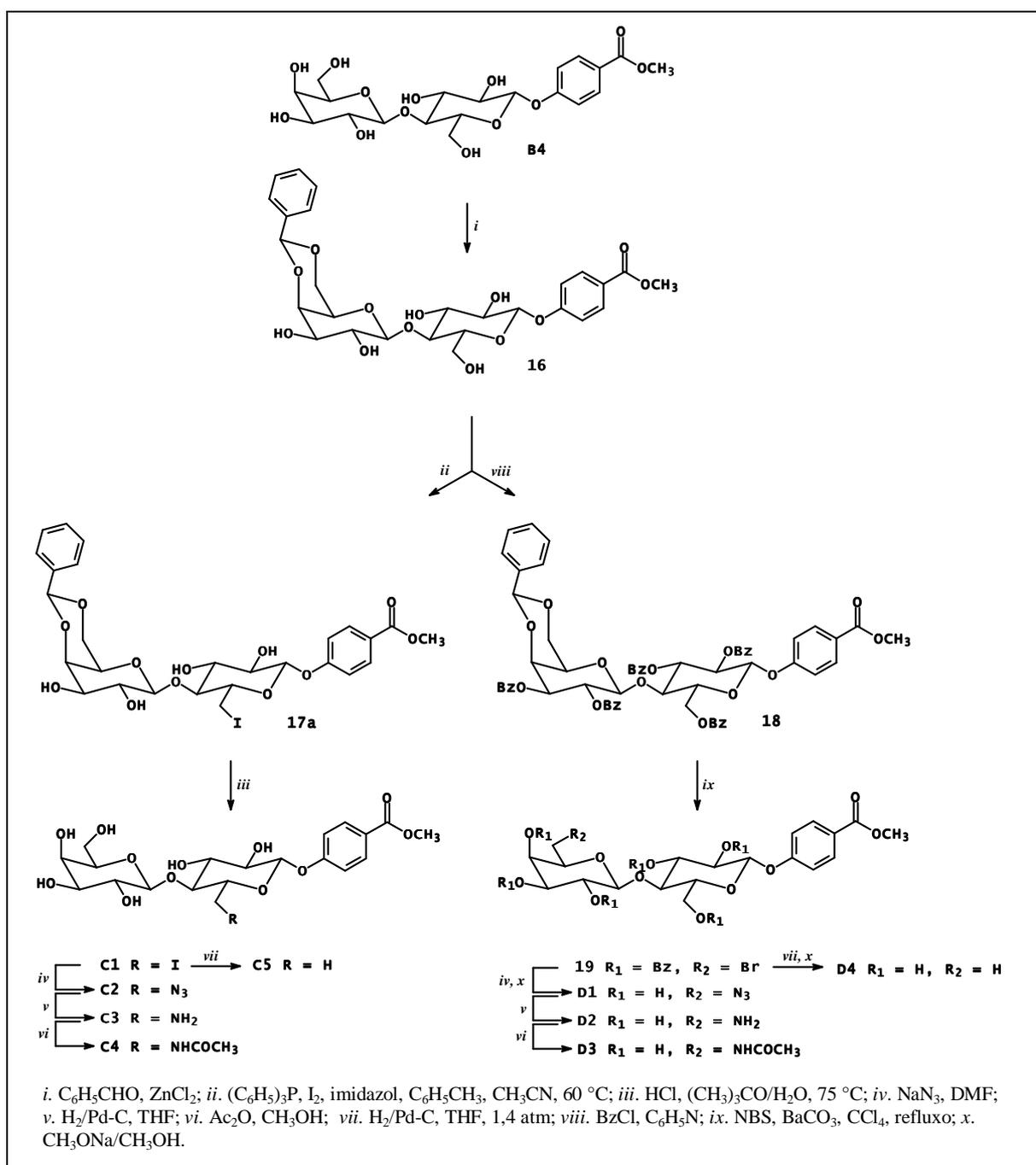


Figura 4.3.1 – Esquema planejado para a síntese das séries **C1-C5** e **D1-D4** a partir de **B4**.

Acetais cíclicos são grupos protetores versáteis, obtidos a partir de dióis, amplamente empregados na derivatização de carboidratos. A proteção das hidroxilas em 4' e 6' viabiliza a substituição regioseletiva da hidroxila primária em 6 por iodo, em reação com trifenilfosfina, iodo e imidazol (GAREGG; SAMUELSSON, 1980; ZHANG; MAGNUSSON, 1996a). Por outro lado, a obtenção do derivado bromado em 6' foi possível pelo tratamento de **16** com *N*-bromosuccinimida (NBS) em tetracloreto de carbono, procedimento clássico para funcionalização regioseletiva de carboidratos (HANESSIAN; PLESSAS, 1969a). Derivados halogenados são bons substratos para reação de substituição e hidrogenólise, e portanto possibilitaram o acesso às modificações planejadas.

O derivado **16**, produto da reação entre **B4** e benzaldeído, em presença de cloreto de zinco (HALL, 1980), obtido com 76% de rendimento, foi caracterizado pela presença dos sinais do grupo protetor em seus espectros de RMN. No espectro de  $^1\text{H}$  (Figura I.37, página 136), foram observados os sinais dos hidrogênios aromáticos em  $\delta$ 7,48-7,46 e em  $\delta$ 7,41-7,34, além daqueles do sistema *para*-dissubstituído (em  $\delta$ 7,92 e 7,15), e o sinal referente ao hidrogênio do acetal benzilidênico em  $\delta$ 5,58 (simpleto). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.38, página 136), foram observados, além de outros sinais, os quatro sinais de carbonos aromáticos e o sinal do carbono metínico ( $\delta$ 99,82) do grupo protetor. Ainda, foram observados os sinais dos carbonos em 4' e 6' em  $\delta$ 75,77 e 68,14, respectivamente, mais distantes do sinal do TMS que em **B4** (C-4' em  $\delta$  68,14 e C-6' em  $\delta$  60,42 ou 59,99) e dos hidrogênios respectivos sobrepostos em  $\delta$  4,12-4,01. Estes sinais foram atribuídos pela análise conjunta do mapa de contornos HSQC (Figura I.39, página 137).

A substituição da hidroxila de C-6 por iodo foi conseguida pela reação de **16** com iodo, trifenilfosfina e imidazol (ZHANG; MAGNUSSON, 1996b). A trifenilfosfina e o iodo formam um aduto pouco solúvel no meio de reação, na qual em geral, é empregado tolueno como solvente. A adição de imidazol permite a formação de outro aduto mais solúvel, o que viabiliza a reação (Figura 4.3.2). A substituição pelo iodeto ocorre com a inversão do centro assimétrico quando a reação acontece em hidroxilas secundárias de carboidratos. A regioseletividade para as hidroxilas primárias é alcançada quando a reação se desenvolve em temperaturas até 70 °C (GAREGG; SAMUELSSON, 1980).

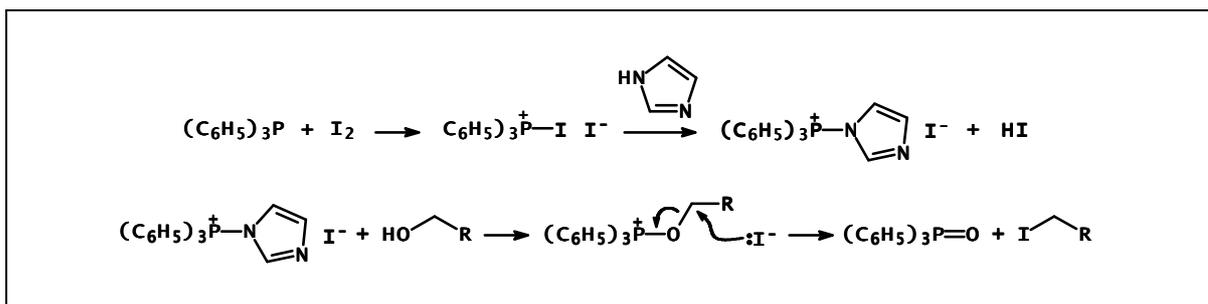


Figura 4.3.2 – Esquema proposto para reação entre um álcool primário e o aduto formado por trifetilfosfina, iodo e imidazol [adaptado de Garegg e Samuelson (1980)].

O derivado **17a** foi obtido a partir de **16** com 63% de rendimento (Figura 4.3.3). A blindagem de C-6 pelo efeito de átomo pesado do iodo caracterizou a formação do produto, ao se observar-se a presença do sinal em  $\delta$  7,25, no espectro de RMN de  $^{13}C$  (Figura I.41, página 138). Do resíduo bruto desta reação foi ainda isolado **17b**, com 9% de rendimento. O subproduto foi identificado como o derivado 3,6-diiodo de configuração *allo*, produto da substituição da hidroxila de C-3 pelo iodo (Figura 4.3.4).

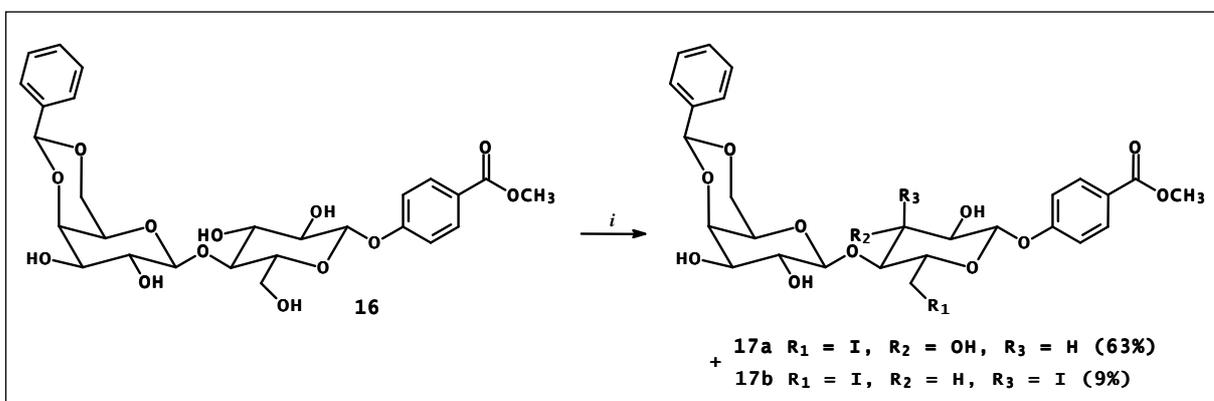


Figura 4.3.3 – Esquema de síntese de **17a** e **17b** a partir de **16**.

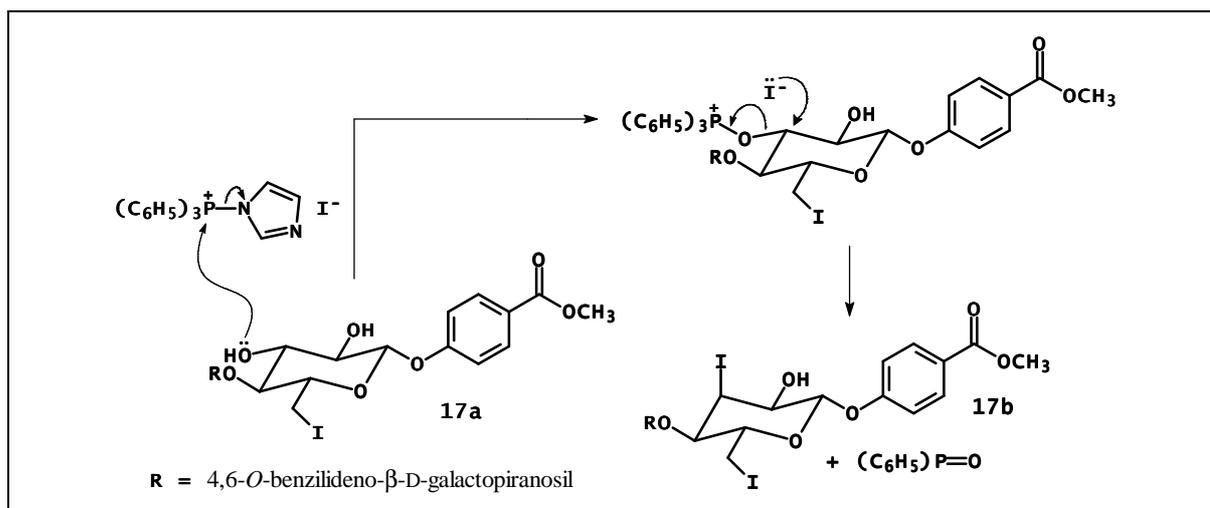


Figura 4.3.4 – Mecanismo proposto para a obtenção de **17b** a partir de **17a**.

Durante o curso da reação, acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), não se observou a formação de outros produtos. O derivado **17b** foi caracterizado pela análise dos seus espectros de RMN. No espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.43, página 139), o sinal em  $\delta$  48,68 é compatível com a presença de carbono secundário ligado a iodo. No mapa de contornos HSQC (Figura I.45, página 140), observou-se a correlação deste sinal com o tripleto em  $\delta$  5,05 ( $J$  3,1 Hz). Pela análise do mapa de contornos COSY (Figura I.44, página 139), o sinal foi atribuído a H-3 (Figura 4.3.5). A constante de acoplamento de 3,1 Hz evidencia a inversão de configuração de C-3 (Espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , Figura I.42, página 138).

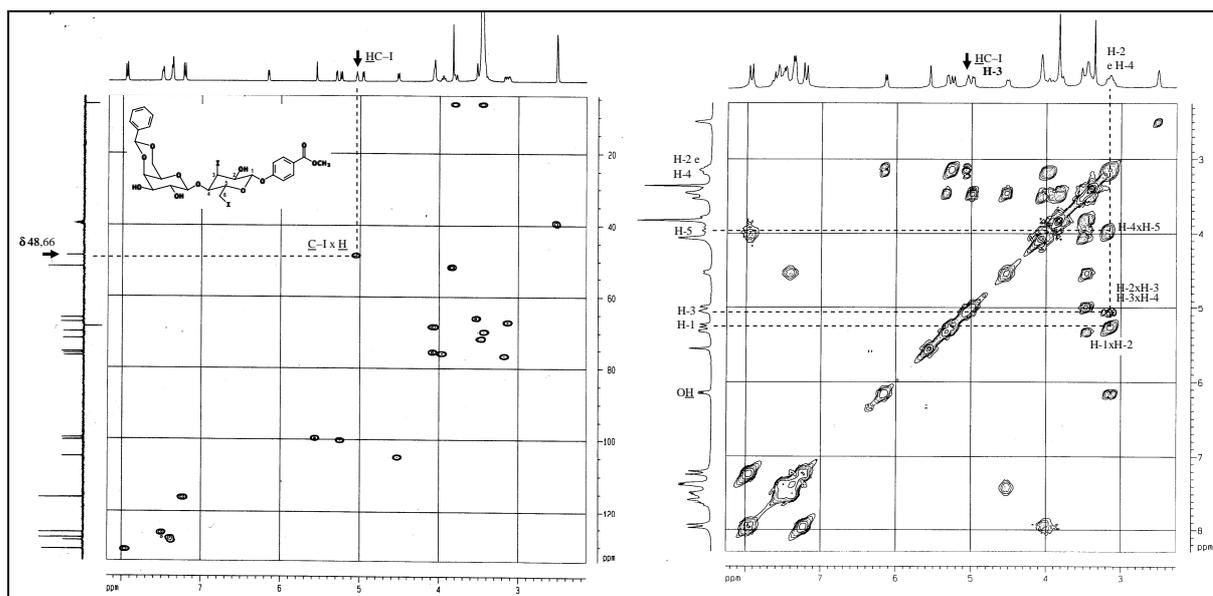


Figura 4.3.5 – Mapas de contornos COSY e HSQC de **17b**.

O grupo acetal benzilidênico de **17a** foi removido por hidrólise ácida (BELL; LORBER, 1940). O derivado **C1** foi obtido com 75% de rendimento e caracterizado pela ausência dos sinais do grupo protetor nos seus espectros de RMN (Figuras I.46 e I.47, páginas 140 e 141). Os demais derivados da série, **C2-C5**, foram obtidos a partir de **C1** (Figura 4.3.6).

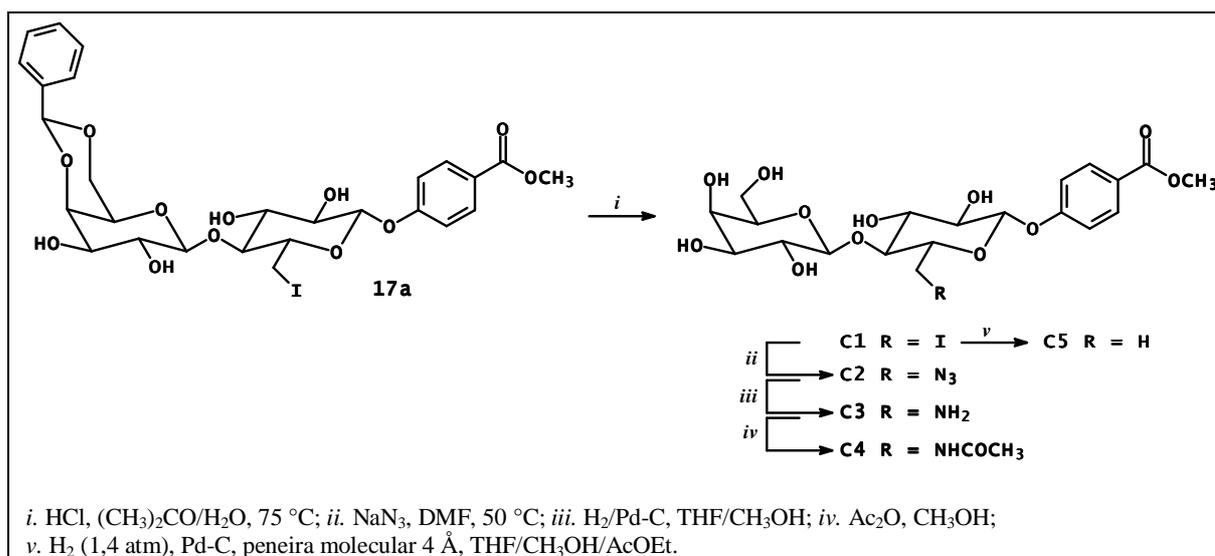
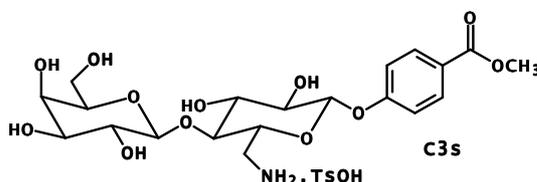


Figura 4.3.6 – Esquema de síntese da série **C1-C5** a partir de **17a**.

A síntese de carboidratos 6-azido-6-desoxi por reações de substituição de haletos e *O*-sulfonatos com azida de sódio em *N,N*-dimetilformamida (DMF) são extensivamente descritas (HANESSIAN; PLESSAS, 1969b; JEZO, 1978; HANSEN; MAGNUSSON, 1999; MAUNIER *et al.*, 1997; LI *et al.*, 2006). A substituição do iodo de **C1** pelo íon azida, pela da reação com azida de sódio em DMF forneceu **C2** com 87% de rendimento. A banda em 2098  $\text{cm}^{-1}$  presente no espectro de absorção no infravermelho e o sinal em  $\delta$  50,51 referente a C-6, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  caracterizou a formação do derivado azido **C2** (Figura I.49, página 142).

O produto da reação de redução do grupo azido de **C2**, o derivado 6-amino **C3**, foi convertido no sal de amônio correspondente, pela reação com o ácido *para*-toluenossulfônico. Tal procedimento foi requerido como alternativa para a purificação do derivado 6-amino, que não foi bem sucedida nas tentativas feitas a partir de produto bruto não tratado previamente com o ácido. A formação do sulfonato conferiu ao derivado propriedades físico-químicas que viabilizaram sua purificação. O sal de amônio **C3s** foi obtido por precipitação com 58% de rendimento a partir de **C2**.



No espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura I.50, página 142), os sinais dos hidrogênio aromáticos do *para*-toluenossulfonato foram observados em  $\delta$  7,51 e 7,14 ( $J$  7,6 Hz), com integração proporcional a dos hidrogênios anoméricos do derivado sacarídico, o que evidenciou a formação do sal. O sinal dos hidrogênios ligados ao nitrogênio foi observado em  $\delta$  7,88 (simpleto largo referente a três hidrogênios). No espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.51, página 143) foi observado o sinal em  $\delta$  39,78, referente ao C-6, e os sinais dos carbonos do *para*-toluenossulfonato (carbonos aromáticos em  $\delta$  145,40, 138,03, 128,79, 125,61 e carbono metílico em  $\delta$  20,88).

A redução de **C2** seguida da *N*-acetilação, por reação com anidrido acético em metanol (ONODERA; KITAOKA, 1960), forneceu o derivado **C4**, com 61% de rendimento. O grupo

acetilamino de **C4** foi caracterizado pelos sinais dos hidrogênios amídico e metílicos em  $\delta$  7,88 (duplete duplo,  $J$  4,5 e 6,8 Hz) e em  $\delta$  1,81 (simpleto), respectivamente, observados no seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura I.52, página 143) e pelos dos carbonos carbonílico em  $\delta$  169,41 e metílico em  $\delta$  22,48, presentes no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.53, página 144). O sinal referente a C-6 foi observado em  $\delta$  39,78.

A remoção do iodo de **C1**, por hidrogenação catalítica, com pressão de 1,4 atm de gás hidrogênio, forneceu o derivado 6-desoxi **C5** com 73% de rendimento. O produto de hidrogenólise **C5** foi caracterizado pela presença dos sinais do grupo metila formado nos seus espectros de RMN. No espectro de  $^1\text{H}$  (Figura I.54, página 144), foi observado um duplete em  $\delta$  1,30 ( $J_{6,5}$  3,5 Hz) e, no de  $^{13}\text{C}$  (Figura I.55, página 145), o sinal referente a C-6 em  $\delta$  17,39.

A preparação da séries de derivados em 6' (**D1-D4**) foi inicialmente conduzida, de acordo com o plano de síntese, a partir de derivado 6'-bromo-6'-desoxi **19**, obtido da reação do derivado benzoilado **18** com NBS, em tetracloreto de carbono (Figura 4.3.1, página 48). O derivado **18** foi obtido pela reação de **16** com cloreto de benzoíla em piridina, com 84% de rendimento. A esterificação das hidroxilas de **16** foi evidenciada pela presença dos sinais referentes aos grupos benzoíla protetores, nos espectros de RMN de **18** (Figuras I.56 e I.57, páginas 145 e 146). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **19** (Figura I.58, página 146), o carbono em 6' ligado ao bromo foi caracterizado pelo sinal em  $\delta$  27,70, e no de  $^1\text{H}$  (Figura I.59, página 147), pelos sinais em  $\delta$  2,92 ( $J$  6,2 e 10,6 Hz) e em  $\delta$  2,70 ( $J$  7,0 e 10,6 Hz), referentes aos hidrogênios em 6'.

A obtenção de derivado 6-bromo-6-desoxi a partir de **16** não foi conveniente, uma vez que a reação ocorreu muito lentamente. A baixa solubilidade em tetracloreto de carbono do material de partida muito polar, reconhecidamente compromete o desenvolvimento da reação (HANESSIAN; PLESSAS, 1969a). Além disso, com a proteção das hidroxilas livres na forma de benzoatos buscou-se aumentar a seletividade da reação para a formação do produto 6-bromo, com base no que foi relatado para 4,6-*O*-benzilideno  $\beta$ -galactopiranosídeos. De acordo com Hanessian e Plessas (1969a), a reação a partir do acetal benzilidênico do  $\beta$ -galactopiranosídeo de metila, forneceu mistura 1:1 do derivado 6-bromo correspondente (A) e de um isômero 3-bromo de configuração *gulo* (B), cuja formação foi justificada por Crich *et al.* (2006) (Figura 4.3.7). No entanto, a reação que partiu do derivado 2,3-di-*O*-benzoil-4,6-*O*-

benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosídeo de metila, forneceu apenas o derivado 6-bromo-6-desoxi, com 65% de rendimento (Figura 4.3.8).

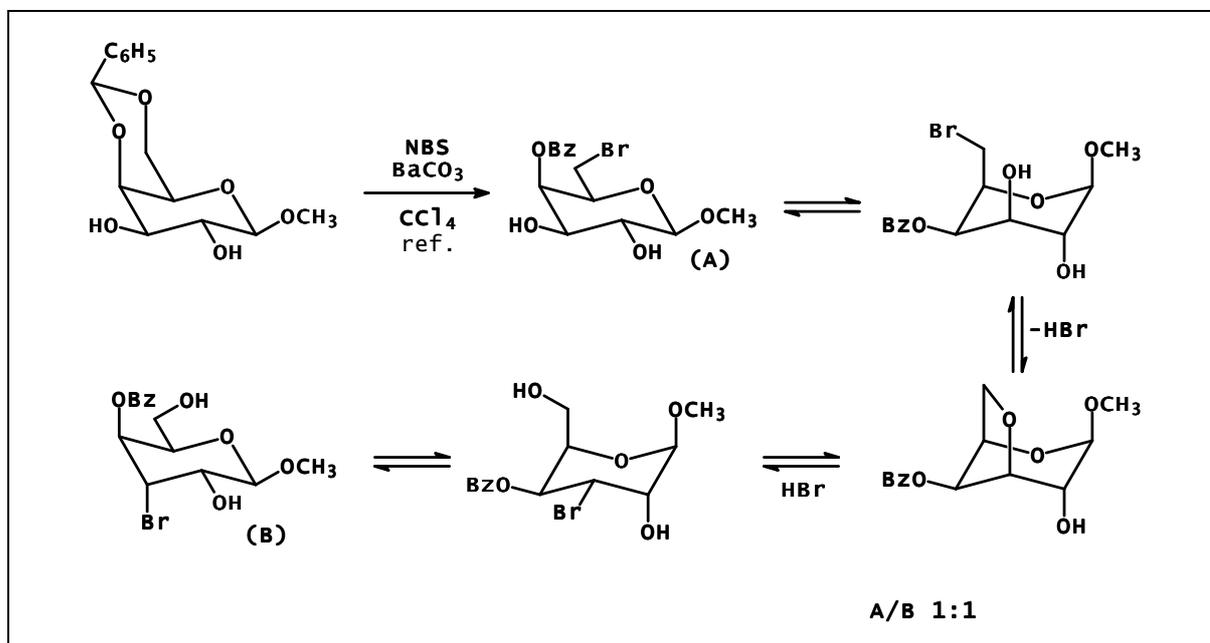


Figura 4.3.7 – Mecanismo proposto para formação dos produtos da reação do 4,6-*O*-benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosídeo de metila com NBS (CRICH *et al.*, 2006).

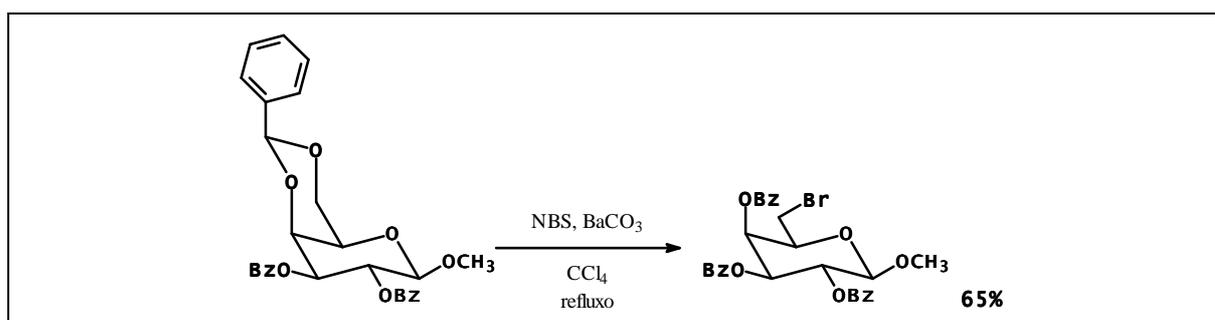


Figura 4.3.8 – Produto da reação do 2,3-di-*O*-benzoil-4,6-*O*-benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosídeo de metila com NBS (HANESSIAN; PLESSAS, 1969a).

Na Figura 4.3.9, a reação entre o derivado 4,6-*O*-benzilideno- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de metila e o radical bromo, gerado pela cisão homolítica da ligação N-Br do NBS, induzida por luz ou aquecimento, ilustra o mecanismo proposto para esta reação.

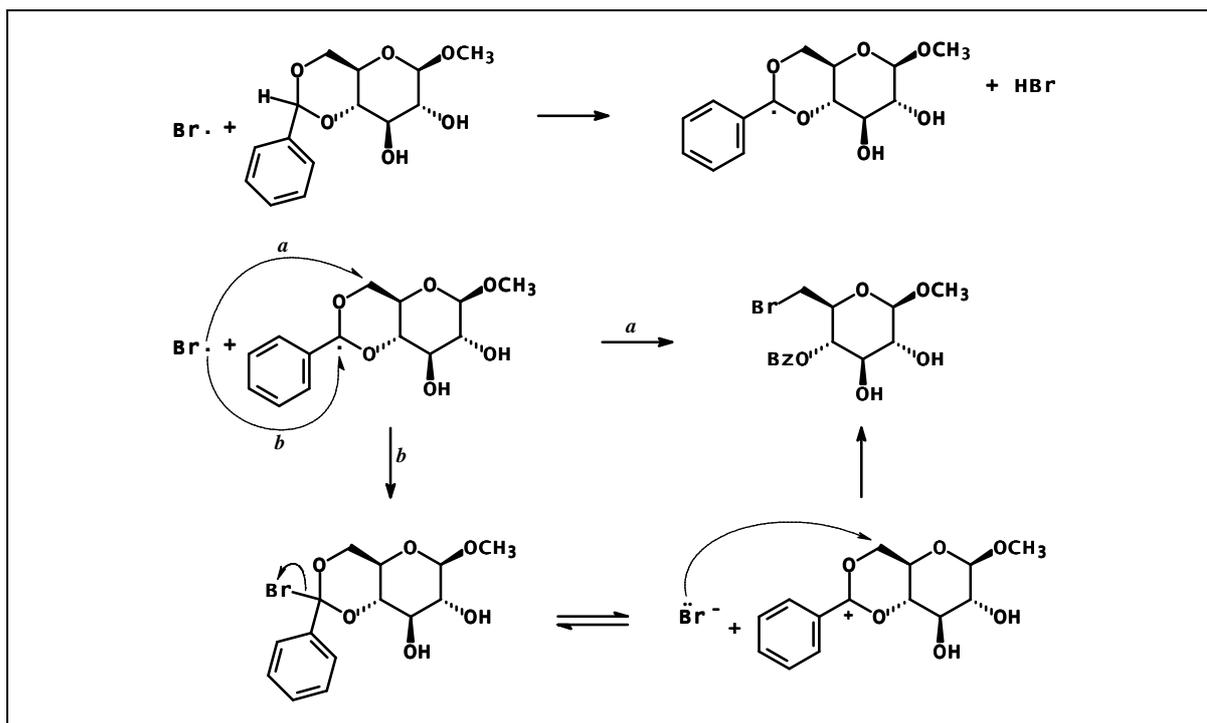


Figura 4.3.9 – Mecanismo proposto para reação do derivado 4,6-*O*-benzilideno-β-D-glicopiranosídeo de metila em presença de NBS [adaptado de Hanessian e Plessas (1969a)].

Na reação do derivado 6-bromo-6-desoxi **19** com azida de sódio, em DMF, a 80 °C, foi formado, além do produto de substituição **20a**, a olefina **20b**, na proporção de aproximadamente 2:1 (Figura 4.3.10). Os produtos foram isolados por cromatografia em coluna de sílica-gel com 21% e 10% de rendimento respectivamente. A proporção entre os produtos na mistura e suas caracterizações foram feitas com base nos seus espectros de RMN.

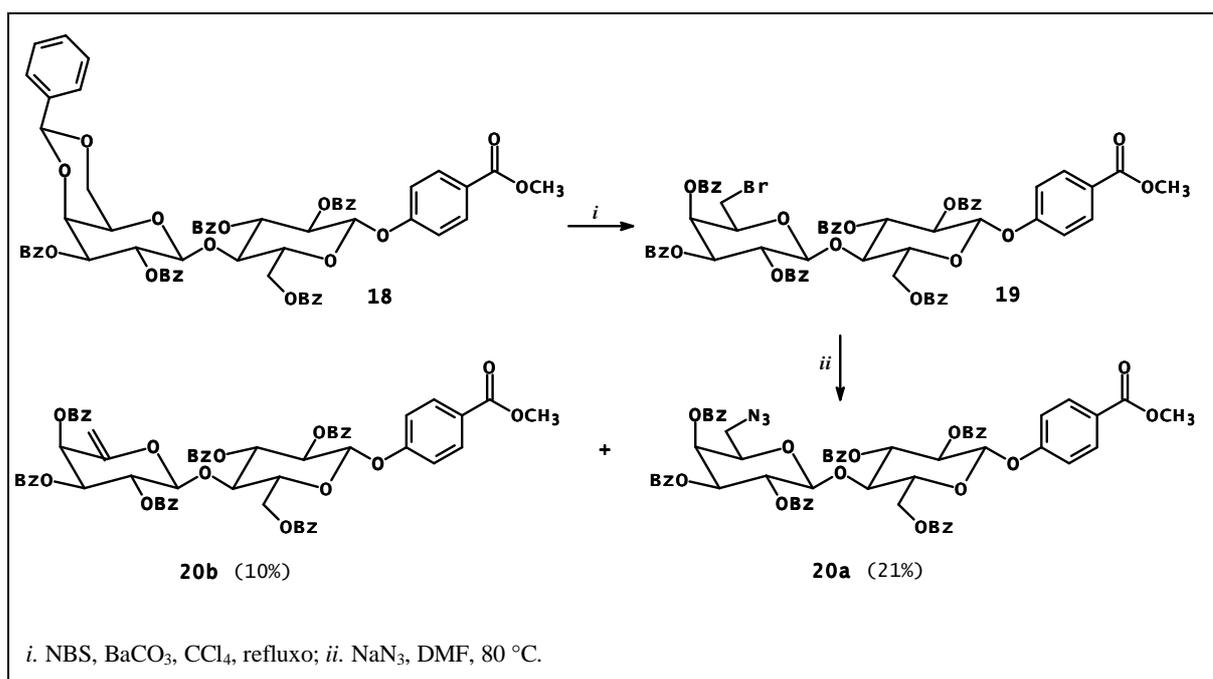


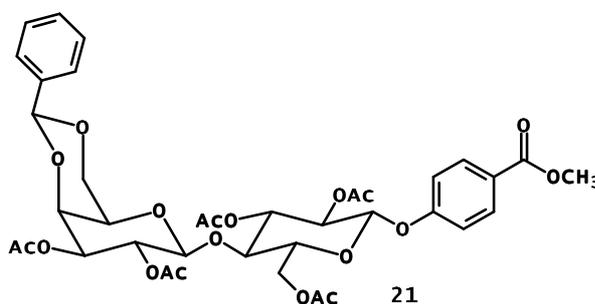
Figura 4.3.10 – Produtos da reação de **19** com azida de sódio, em DMF.

Caracterizaram fundamentalmente o derivado azido **20a**, a banda em 2104 cm<sup>-1</sup>, presente no seu espectro de absorção no infravermelho, referente a deformação axial do grupo azido, e o sinal em  $\delta$  49,21 referente a C-6', observado em seu espectro RMN de <sup>13</sup>C (Figura I.61, página 148). Além de outros, foram observados os dupletos duplos referentes aos hidrogênios metilênicos em 6', em  $\delta$  2,73 ( $J_{6',5'}$  5,3 Hz,  $J_{gem}$  12,9 Hz) e em  $\delta$  2,64 ( $J_{6',5'}$  7,2 Hz), no espectro de <sup>1</sup>H (Figura I.60, página 147). A olefina **20b**, cuja formação foi observada durante o desenvolvimento da reação pelo monitoramento por CCD, foi caracterizada pela presença dos simpletos em  $\delta$  4,63 e em  $\delta$  4,58, referentes aos H-6' e do sinal de carbono metilênico insaturado característico de sistema enólico em  $\delta$  102,86, no espectro de <sup>1</sup>H (Figura I.63, página 149) e no subespectro DEPT 135 (Figura I.64) respectivamente. Neste último, ainda, não foi observado o sinal referente ao carbono não hidrogenado C-5'.

O procedimento empregado para a purificação da mistura de **20a** e **20b**, por cromatografia em coluna de sílica-gel, levou ao isolamento de **20a**, com baixo rendimento. Em busca de rendimentos melhores para obtenção do derivado 6-azido, foram empregadas, em novas tentativas, condições de reação que visavam a defavorecer a formação do produto de eliminação. Em uma reação desenvolvida a temperatura mais baixa (60 °C), monitorada por

CCD, não se observou o consumo completo do material de partida (**19**), durante o tempo de uma semana. O emprego do éter 5-coroa-15, em outra tentativa (desenvolvida a 80 °C), não desfavoreceu significativamente a formação de **20b**. A reação desenvolvida com adição de 10% de água, em sentido de aumentar a solubilidade da azida de sódio no meio, procedimento tido como vantajoso em reações de substituição de tosilatos em C-6 de galactosídeos (LI *et al.*, 2006), forneceu predominantemente **20b**, de acordo com a análise do produto bruto por CCD. A formação de **20a** foi inexpressiva.

Foi investigada a hipótese de que os grupos benzoíla pudessem conferir alguma tendência conformacional que favorecesse a reação de eliminação. Ao se partir do derivado bromado obtido de **21** (por procedimento análogo ao da obtenção de **19**), entretanto, a formação do produto de eliminação foi observada em extensão semelhante à mencionada para reação a partir de **19**. O produto bruto desta reação foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel. Os produtos de substituição e eliminação não foram isolados, sendo que uma mistura de ambos, de proporção de 1:1, de acordo com a análise por RMN de  $^1\text{H}$ .



É uma consideração geral que o bloqueio estérico promovido pelo substituinte em C-4 implique na notória dificuldade encontrada para reações de substituição nucleofílica na posição 6 de derivados de galactose (RICHARDSON, 1969; DINEV *et al.*, 2007). Em consequência, a formação de produtos indesejados, como derivados 3,6-anidro, provenientes de ciclização intramolecular, e produtos de eliminação é comum nas reações que requerem temperaturas mais altas (LI *et al.*, 2006; DINEV *et al.*, 2007). Em vista disso, nas reações de substituição a partir de **19**, especulou-se que a presença do grupo benzoíla em O-4', poderia contribuir para o bloqueio estérico e desfavorecer ainda mais o ataque nucleofílico do grupo azido. Assim, uma nova rota de síntese foi proposta para a síntese dos derivados em 6'. A partir de **22**, obtido pela remoção do grupo acetal benzilidênico de **18** (64% de rendimento), pela reação de iodação com trifetilfosfina, iodo e imidazol, anteriormente empregada na

síntese de **17a**, obteve-se o derivado 6'-iodo **23**, produto possivelmente mais reativo para reação de substituição nucleofílica pelo grupo azido, por ser o iodo melhor grupo abandonador que o bromo, e cuja hidroxila em O-4' livre pode facilitar o acesso ao ataque nucleofílico em C-6' (Figura 4.3.11).

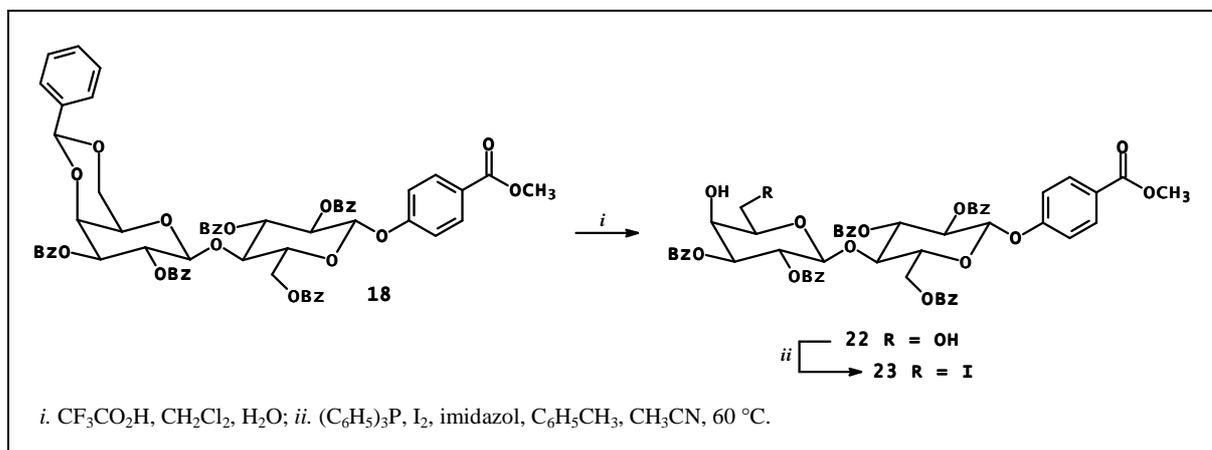


Figura 4.3.11 – Esquema de síntese de **23** a partir de **18**.

Nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H (Figura I.68, página 151) de **22** foram observados os sinais das hidroxilas livres em 4' e 6' em  $\delta$ 5,22 (*J* 5,4 Hz) e  $\delta$ 4,48 (*J* 5,0 Hz). O tripleto largo, referente a H-4', foi observado em  $\delta$ 4,06 e os sinais dos hidrogênios em 6', entre  $\delta$ 3,09-3,06 e em  $\delta$ 2,95 (*J*<sub>6',OH</sub> 5,0 Hz). No espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Figura I.69, página 152), os sinais referentes a C-4' e a C-6' foram observados em  $\delta$ 64,59 e 58,25, respectivamente, mais próximos do sinal do TMS que os sinais correspondentes do precursor **18**.

Uma amostra do intermediário 6'-iodo **23** foi purificada e caracterizada pelos seus espectros de RMN. No subespectro DEPT 135 de **23** (Figura I.72, página 153), entre outros, o sinal característico de C-6' ligado a iodo foi observado em  $\delta$ 0,49. Foram observados no espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura I.71, página 153), os sinais em 2,88 (*J*<sub>6',5'</sub> 6,8 Hz, 10,1 Hz) e em  $\delta$ 2,58 (*J*<sub>6',5'</sub> 6,8 Hz) referentes aos H-6', e o sinal do hidrogênio da hidroxila em 4', em  $\delta$ 2,42 (*J* 7,0), blindado possivelmente por compressão eletrônica, dada pela repulsão entre as nuvens eletrônicas de O-4' e do halogênio.

O derivado **23** foi empregado nas reações subseqüentes, sem ter sido previamente purificado. Durante o desenvolvimento da reação de **23** com azida de sódio em DMF, foi observada a

formação de dois produtos com fatores de retenção próximos, de acordo com a análise do produto bruto por CCD. Estes, no entanto, ao serem submetidos à reação de transesterificação, monitorada por CCD, forneceram essencialmente o produto desprotegido **D1**. É possível que os produtos formados na reação de substituição sejam os derivados 6-azido **24a**, e seu isômero de posição **24b** (Figura 4.3.12). A migração do grupo benzoíla de O-3' para O-4' pode ter ocorrido tanto no produto de substituição **24a**, como no material de partida **23** previamente à reação de substituição (Figura 4.3.13), de acordo com o que foi relatado para reação análoga a partir de 2,3-di-*O*-benzoil-6-*O*-*para*-toluenossulfonil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo de 2-trimetilsililetila (HANSEN; MAGNUSSON, 1999). Todavia, não foram encontradas evidências da formação de produto de eliminação pelo tratamento de **23** com azida de sódio nas condições de reação empregadas.

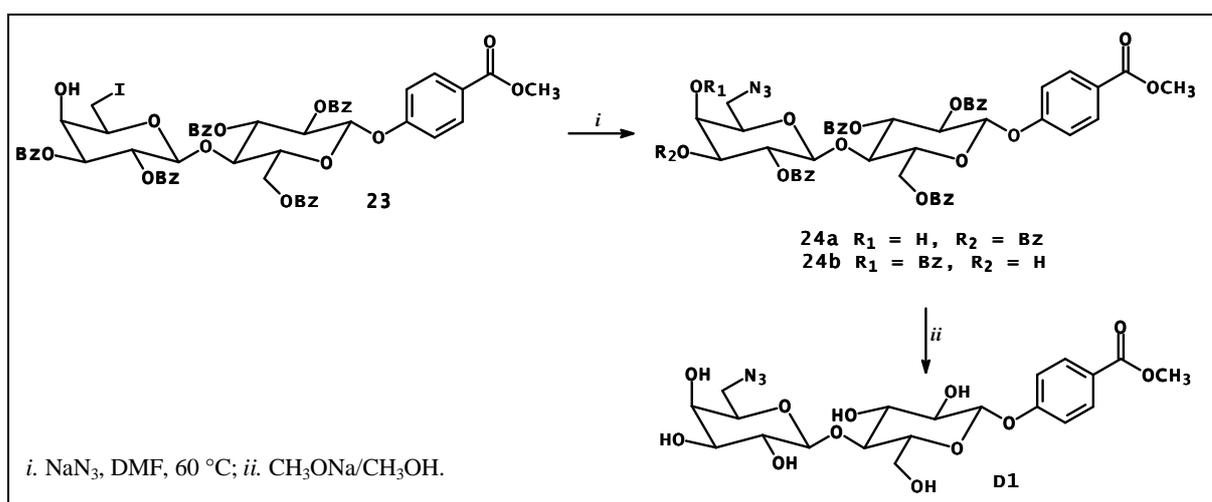


Figura 4.3.12 – Esquema de síntese de **D1** a partir de **23**.

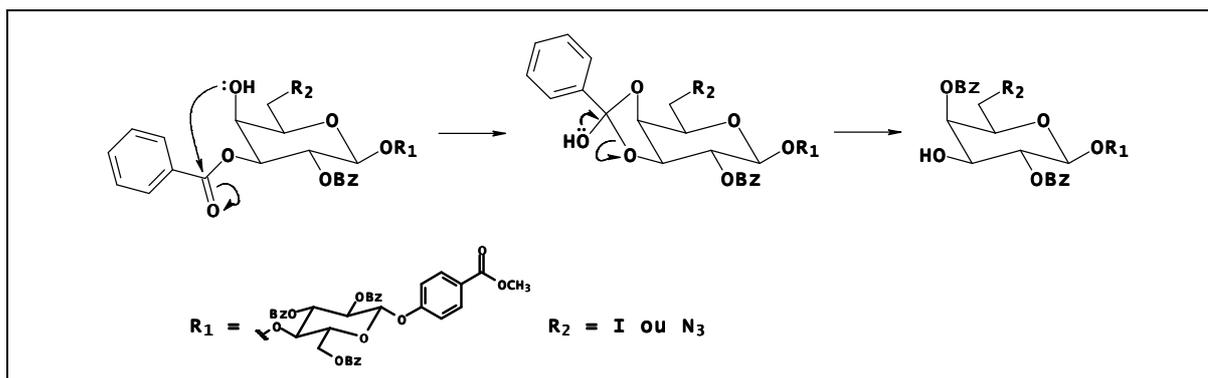


Figura 4.3.13 – Mecanismo proposto para migração do grupo benzofila de O-3' para O-4' a partir de **23** ou **24a**.

O produto bruto obtido da reação de **23** com azida de sódio foi submetido à reação de transesterificação, com metóxido de sódio em metanol e então purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. O derivado **D1** foi obtido com 36% de rendimento a partir de **22**. A redução, por hidrogenação catalítica, do grupo azido de **D1** forneceu diretamente o derivado 6'-amino **D2**, com 95% de rendimento. O derivado 6'-acetilamino **D3** foi obtido pela *N*-acetilação de **D2**, com anidrido acético em metanol (ONODERA; KITAOKA, 1960), com 70% de rendimento a partir de **D1**, após purificação por recristalização (Figura 4.3.14).

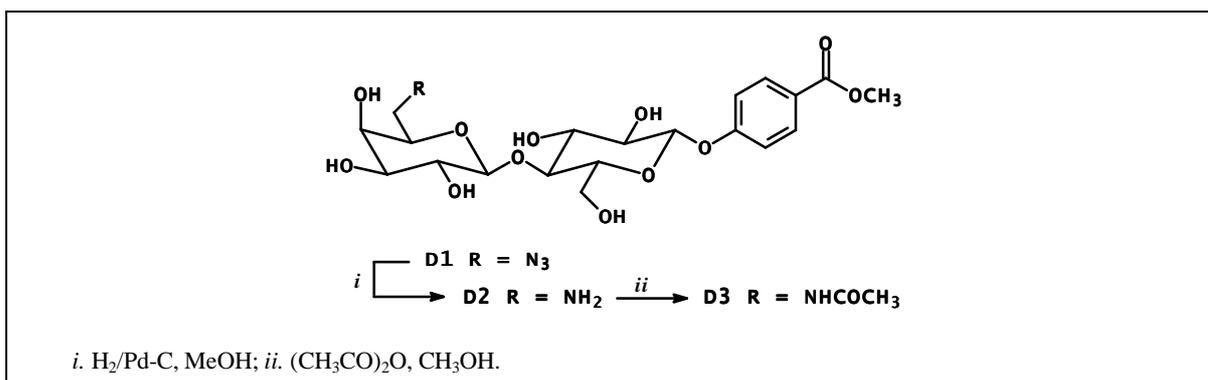


Figura 4.3.14 – Esquema de síntese de **D2** e **D3** a partir de **D1**.

O derivado 6'-iodo **23** foi também submetido sem purificação prévia às condições de hidrogenação catalítica, com pressão de 1,4 atm de gás hidrogênio. O produto bruto desta reação foi tratado com metóxido de sódio em metanol e o resíduo obtido foi purificado por

cromatografia em coluna de sílica-gel. O derivado 6'-desoxi **D4** foi obtido com 37% de rendimento, a partir de **23** (Figura 4.3.15).

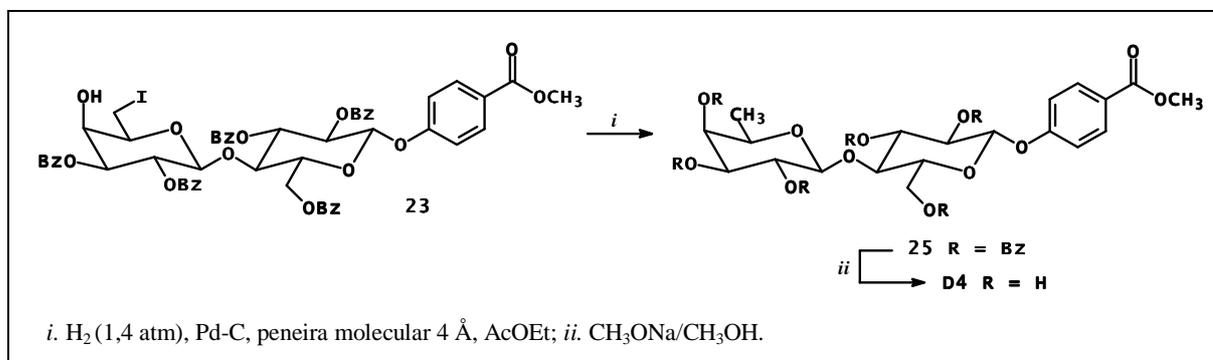


Figura 4.3.15 – Esquema de síntese de **D4** a partir de **23**.

Os derivados finais desta série, **D1-D4**, foram caracterizados pelo conjunto de dados fornecidos pelos seus espectros de RMN. Os sinais de C-6' evidenciaram as modificações químicas decorrentes. Os sinais dos carbonos metilênicos de **D1**, **D2** e **D3** foram observados em  $\delta$  52,55, 42,92, e 39,26, respectivamente, e do carbono metílico de **D4** em  $\delta$  16,40 (Figuras I.74, I.77, I.79, I.81, páginas 154, 156-158). A banda em 2105 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de grupo azido, no espectro no infravermelho, contribuiu para a identificação de **D1**. O tripleto referente ao hidrogênio amídico em  $\delta$  7,86, o sinal dos hidrogênios metílicos em  $\delta$  1,86, no espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **D3** (Figura I.78, página 156), e os sinais de carbono carbonílico, em  $\delta$  169,92, e metílico em  $\delta$  22,54, no espectro de <sup>13</sup>C (Figura I.79, página 157), evidenciaram a presença do grupo acetilamino. No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **D4** (Figuras I.80, página 157) foi observado um duplete referente aos hidrogênios em 6' em  $\delta$  1,17 (*J* 6,2 Hz).

Finalmente, os derivados **C2-C5** e **D1-D4** e, novamente as amidas **A1** e **A2**, a sulfonamida **A4**, e os lactosídeos **B2**, **B4-B6**, foram avaliados em ensaio de inibição de hemaglutinação mediada pela lectina de *E. cristagalli* (Tabela 4.3.1). O derivado **C1** não foi testado por ser pouco solúvel em água (< 0,02 mmol/mL).

Tabela 4.3.1 – Potência relativa dos derivados da lactose quanto à inibição da hemaglutinação mediada por lectina de *Erythrina cristagalli*, em relação à D-galactose.

Derivado	Potência Relativa	Derivado	Potência Relativa
D-Galactose	1	<b>C2</b>	4
Lactose ( <b>1</b> )	4	<b>C3s</b>	4
<b>A1</b>	4	<b>C4</b>	4
<b>A2</b>	8	<b>C5</b>	6
<b>A4</b>	8	<b>D1</b>	2
<b>B2</b>	8	<b>D2</b>	< 0,1
<b>B4</b>	8	<b>D3</b>	< 0,1
<b>B5</b>	8	<b>D4</b>	1
<b>B6</b>	8		

Pelo ensaio de inibição de hemaglutinação ter sido desenvolvido a partir de soluções dos carboidratos em diluições seriadas 1:2, a variação nos valores de potência relativa encontrada para os representantes das séries avaliadas previamente, com exceção de **A1**, é inerente ao procedimento empregado, que tem erro de, no mínimo, um fator de dois (ou seja, um poço) e, por isso não foi tida como relevante (LUNDQUIST; TOONE, 2002).

Diante dos resultados apresentados, tanto as modificações em C-1, quanto as em C-6 não pareceram afetar significativamente os modos de interação dos derivados da lactose com a lectina. Tendo em vista que a hidroxila de C-6, como a anomérica, nos complexos da lactose com a lectina de *E. cristagalli* descritos (SVENSSON *et al.*, 2002; TURTON *et al.*, 2004), se posicionam em região externa ao sítio de interação (Figura 1.6, página 26), ao que parece, os grupos adicionados nesta posição não alcançaram interações adicionais que pudessem ser evidenciadas pelo ensaio de inibição da hemaglutinação. As potências relativas apresentadas pela série de derivados em C-6', **D1-D4**, entretanto, evidenciaram que a remoção da hidroxila desta posição não foi compensada por possíveis interações com os grupos azido, amino ou acetamido adicionados. A perda da afinidade decorrente da remoção do grupo hidroxila, de acordo com o resultado apresentado para o derivado **D4**, denota a importância da interação da hidroxila de 6' com o sítio de ligação, que ocorre por meio de uma ligação de hidrogênio

mediada por água (SVENSSON *et al.*, 2002; TURTON *et al.*, 2004), que não se manteve com a substituição da hidroxila pelo grupos doadores/aceptores de ligação de hidrogênio, como amino (derivado **D2**) e acetilamino (derivado **D3**).

Na Figura 4.3.16 estão apresentadas as estruturas dos derivados da lactose (séries A, B, C e D) sintetizados para o estudo de suas interações com a lectina de *E. cristagalli*.

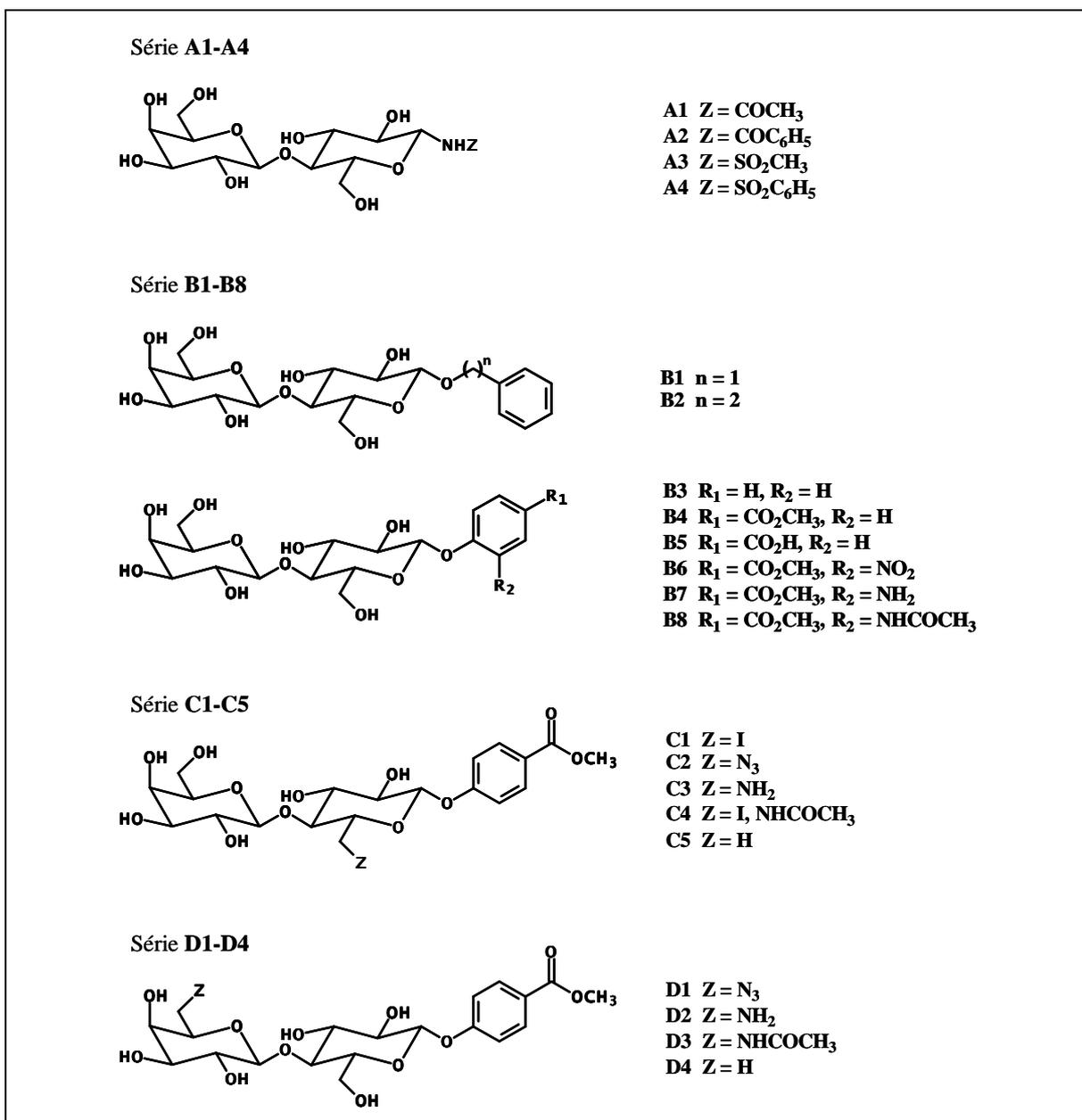


Figura 4.3.16 – Derivados da lactose sintetizados para o estudo de suas interações com a lectina de *Erythrina cristagalli*.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Síntese

#### 5.1.1 Métodos gerais

As reações foram realizadas em balões de fundo redondo, com exceção daquelas descritas nos subitens 5.1.18 e 5.1.28, nas quais foram empregadas o frasco do aparato de hidrogenação com agitação mecânica, modelo 3911 da Parr. Nas reações sensíveis à umidade, os balões de reação ou os condensadores de refluxo acoplados a estes, foram conectados a tubos com cloreto de cálcio anidro.

Os solventes anidros empregados nas reações foram obtidos a partir da purificação de similares comerciais. O metanol foi tratado com magnésio ativado pelo iodo, sob refluxo. Foi destilado e acondicionado em frasco com peneira molecular de 4 Å. O diclorometano foi tratado com ácido sulfúrico concentrado e, em seguida, com solução de hidróxido de sódio 30% m/v. Foi acondicionado em frasco com cloreto de cálcio por 24 horas e destilado. O tolueno e acetonitrila empregados nas reações apresentavam grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência. O tetracloreto de carbono empregado era da Merck.

Nas reações de hidrogenação catalítica (descritas nos subitens 5.1.3, 5.1.10, 5.1.16, 5.1.18, 5.1.26, 5.1.28), antes que as misturas reagentes fossem submetidas à atmosfera de gás hidrogênio, o sistema foi fechado com septos de borracha e, sob agitação, gás nitrogênio corrente foi passado durante dez minutos. Ao término das reações, o gás hidrogênio remanescente foi removido do recipiente de reação pela passagem de gás nitrogênio.

Nas reações de transesterificação (subitens 5.1.3, 5.1.4, 5.1.6, 5.1.7, 5.1.11, 5.1.25, 5.1.28), foram empregadas soluções metanólicas de metóxido de sódio preparadas pela dissolução um pedaço de sódio metálico de aproximadamente 3 mm<sup>3</sup> para cada 20 mL de metanol anidro, em banho de gelo. As soluções foram usadas imediatamente após o preparo.

O desenvolvimento das reações foi acompanhado por cromatografia em camada delgada (CCD). Foram empregadas placas confeccionadas com sílica gel 60 G da Merck. Os sistemas de eluentes empregados estão especificados em cada procedimento. Como reveladores foram

empregados vapores de iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v (com aquecimento a 100 °C) e, eventualmente, para identificação de amins primárias, solução etanólica de ninidrina 2% m/v (com aquecimento a 100 °C).

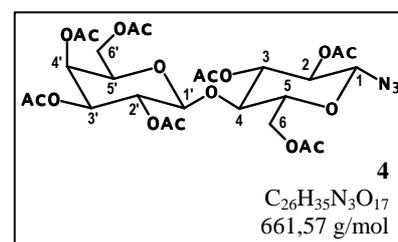
Para cromatografia em coluna (CCS), realizada como método de purificação de misturas, utilizaram-se sílica-gel 60, 0,063 a 0,200 mm (sílica A) e sílica-gel 0,040 a 0,063 mm (sílica B), da Merck. Estão especificados em cada procedimento, a dimensão da coluna, o suporte e o sistema de eluentes empregados.

As faixas de fusão foram determinadas em aparelho Microquímica MQAPF 301 e não foram corrigidos. O poder rotatório específico foi medido em polarímetros Perkin-Elmer 341 ou ADP220 Bellinghan + Stanley Ltd. Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Spectrum One da Perkin-Elmer, acoplado ao acessório de reflectância difusa. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos em espectrômetros AVANCE DPX200 e AVANCE DRX400, ambos da Bruker. Foram empregados como padrão interno o tetrametilsilano ou o próprio solvente deuterado. Para as atribuições dos sinais nos espectros de RMN, adotou-se a seguinte convenção: o resíduo de D-glicose foi numerado de 1 a 6, o de D-galactose de 1' a 6'. A numeração dos substituintes dos anéis piranosídicos, seguiram a seqüência do respectivo resíduo. Os substituintes em C-1, foram numerados de 1'' a 9'' (os anéis aromáticos foram numerados de 1'' a 6'').

Os derivados **2** e **3** (estruturas na Figura 4.1.1, página 35) foram preparados conforme procedimentos descritos por Hudson e Kuns (1925).

### 5.1.2 2,3,4,6-Tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-azido-1-desoxi-2,3,6-tri-O-acetil- $\beta$ -D-glicopiranoose (**4**)

A uma solução de acetobromolactose (**3**) (10 g, 14,30 mmol) em acetona (70 mL) foi adicionada uma solução aquosa de azida de sódio 10% m/v (40 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética, a 45 °C, por três horas. Ao término da reação (CCD,



diclorometano/metanol 98:2 v/v), evaporou-se a acetona sob ventilação. O resíduo foi extraído com diclorometano (3 x 25 mL). A fase orgânica foi extraída com água destilada (2 x 30 mL) e secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, 29 x 4 cm, hexano/acetato de etila 1:1 v/v). O derivado **4** foi obtido com 70% de rendimento (6,6 g, 9,97 mmol) a partir de **3**.

#### Caracterização de **4**

Faixa de fusão: 63-64 °C; literatura: 69-70 °C (QU *et al.*, 2003).

$[\alpha]_D^{19}$  -91,6 (*c* 0,52, CHCl<sub>3</sub>); literatura:  $[\alpha]_D$  -26,8 (*c* 1,13, CHCl<sub>3</sub>) (KAMITAKAHARA; NAKATSUBO, 2005);  $[\alpha]_D$  -18 (*c* 0,64, CHCl<sub>3</sub>) (PETÕ *et al.*, 1991).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 2119, 1740, 1211, 1043.

#### 5.1.3 Procedimento geral para síntese de A1 a A4

Foram adicionados a **4** (1 g, 1,51 mmol), paládio-carvão 10% p/p (50 mg) e metanol anidro (15 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob atmosfera de gás hidrogênio por 2 horas. Ao término da reação (CCD, hexano/acetato de etila 7:3 v/v), o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida, a 40 °C. A glicosilamina **5** obtida foi dissolvida em piridina (5 mL) e, em banho de gelo, o agente acilante ou sulfonilante foi adicionado gota a gota. A mistura reagente permaneceu à temperatura ambiente por 60-180 minutos, sob agitação magnética. Ao término da reação, a solução reagente foi vertida em gelo pilado e extraída com diclorometano (3 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de ácido clorídrico 1 mol/L (5 x 10 mL) e com água destilada até que a fase aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado à pressão reduzida. Os resíduos foram purificados, quando necessário, por cromatografia em coluna de sílica-gel. Os reagentes empregados, o tempo de cada reação e os rendimentos obtidos estão especificados na Tabela 5.1.3.1.

Tabela 5.1.3.1 – Dados das reações de obtenção de **6** a **9**.

Agente acilante/sulfonilante	Tempo de reação (min)	Produto desejado	Rendimento a partir de <b>4</b> (%)
(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O (3,5 mL, 34,28 mmol)	180	<b>6</b>	97*
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COCl (0,7 mL, 6,04 mmol)	90	<b>7</b>	60**
CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> Cl (0,35 mL, 4,53 mmol)	60	<b>8</b>	30
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> SO <sub>2</sub> Cl (0,35 mL, 2,73 mmol)	60	<b>9</b>	19

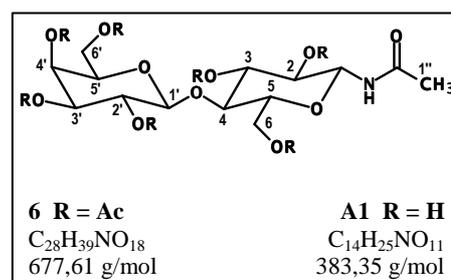
\*Mistura de **6** e de seu anômero  $\alpha$  12:1; \*\* mistura de **7** e de seu anômero  $\alpha$  6:1.

Os derivados per-*O*-acetilados foram adicionados à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por 60-90 minutos. O desenvolvimento da reação ocorreu à temperatura ambiente. Ao término das reações (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. Os produtos obtidos foram recristalizados em solventes apropriados. Os procedimentos empregados para a purificação de **6** a **9** e de **A1** a **A4**, como também os rendimentos obtidos e os dados para caracterização destes derivados, estão relatados adiante, nos subitens específicos (5.1.3.1 a 5.1.3.4).

### 5.1.3.1 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-acetilamino-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopirranose (**A1**)

A acetamida **6** (anômero  $\beta$ ) foi obtida em mistura com seu isômero  $\alpha$ , na proporção de 12:1 (0,99 g, 1,47 mmol, 97% de rendimento a partir de **4**). Esta mistura foi utilizada na reação de transesterificação seguinte, sem purificação prévia. Para fins de caracterização, a mistura de anômeros (400 mg, 0,59

mmol) foi purificada por CCS (sílica B, 22 x 1,5 cm, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). Foram obtidos 124 mg de **6** puro (0,18 mmol, 30% de rendimento a partir a **4**). A partir de **6** (680



mg, 1 mmol), **A1** foi obtido com 60% de rendimento (213 mg, 0,55 mmol), após recristalização com isopropanol/água 4:1 v/v.

### Caracterização de **6**

Faixa de fusão: 100-102 °C; literatura: 131-132 °C (PRIYA; LOGANATHAN, 1999).

$[\alpha]_D^{19} +11,9$  (*c* 1, CHCl<sub>3</sub>); literatura:  $[\alpha]_D +11,7$ , *c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (PRIYA; LOGANATHAN, 1999).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3323, 1744, 1368, 1681, 1214, 1038.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 6,26 (d,  $J_{\text{NH},1}$  9,3 Hz, NH); 5,35 (dd,  $J_{4',5'}$  0,9 Hz,  $J_{4',3'}$  3,4 Hz, H-4'); 5,29 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  9,3 Hz, H-3); 5,20 (t,  $J_{1,\text{NH}}=J_{1,2}$  9,3 Hz, H-1); 5,10 (dd,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz,  $J_{2',1'}$  7,8 Hz, H-2'); 4,95 (dd,  $J_{3',4'}$  3,4 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,82 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  9,3 Hz, H-2); 4,47 (d,  $J_{1',2'}$  7,8 Hz, H-1'); 4,43 (dd,  $J_{6a,5}$  1,3 Hz,  $J_{6a,6b}$  12,1 Hz, H-6a); 4,17-4,12 (m, 2H, H-6b e H-6a'); 4,07 (dd,  $J_{6b',5'}$  7,3 Hz,  $J_{6b',6a'}$  11,1 Hz, H-6b'); 3,87 (tl,  $J_{5',6'}=J_{5',4'}$  7,3 Hz, H-5'); 3,79-3,72 (m, 2H, H-4 e H-5); 2,15 (s, H-1''); 2,11 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,07 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,05 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,04 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,98 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,96 (s, OCOCH<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 171,32 (NHCOCH<sub>3</sub>); 170,37, 170,30, 170,16, 170,09, 169,34, 169,00 (7C, OCOCH<sub>3</sub>); 100,89 (C-1'); 78,09 (C-1); 75,97 (C-4); 74,50 (C-5); 72,42 (C-3); 71,02, 71,00 (C-2 e C-3'); 70,76 (C-5'); 69,05 (C-2'); 66,68 (C-4'); 62,03 (C-6); 60,89 (C-6'); 23,36 (C-1'); 20,86, 20,77, 20,69, 20,63, 20,60, 20,50 (7C, sinais sobrepostos de OCOCH<sub>3</sub>).

### Caracterização de **A1**

Faixa de fusão: 238-241 °C, com decomposição<sup>1</sup>; literatura: 246-248 °C, com decomposição (KUHN, KRÜUGER, 1954).

$[\alpha]_D^{20} +1,0$  (*c* 2,49, H<sub>2</sub>O); literatura:  $[\alpha]_D +1,5$ , *c* 1, H<sub>2</sub>O (KUHN, KRÜUGER, 1954).

<sup>1</sup> O cristal funde a 158-161 °C, solidifica a 167 °C e volta a fundir, com decomposição, entre 238-241 °C.

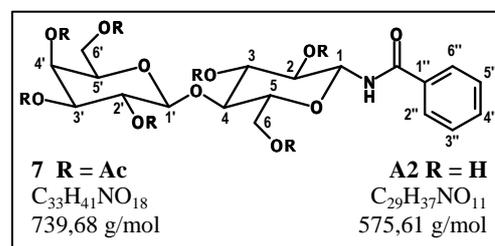
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3336, 3278, 1642, 1543.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 8,40 (d,  $J_{\text{NH},1}$  9,0 Hz, NH); 5,08 (d,  $J$  4,0 Hz, OH); 5,00 (d,  $J$  5,3 Hz, OH); 4,75-4,70 (m, OH); 4,71 (d,  $J_{1,\text{NH}}=J_{1,2}$  9,0 Hz, H-1); 4,64 (t,  $J$  4,9 Hz, OH); 4,52 (t,  $J$  5,9 Hz, OH); 4,49 (d,  $J$  4,5 Hz, OH); 4,20 (d,  $J_{1',2'}$  7,0 Hz, H-1'); 3,70 (ddl,  $J_{6a,5}$  5,4 Hz,  $J_{6a,6b}$  11,4 Hz, H-6a); 3,61-3,44 (m, 5H); 3,31 (sl, 1H); 3,11 (dt,  $J_{2,\text{OH}}$  5,60 Hz,  $J_{2,1}=J_{3,3}$  8,8 Hz, H-2); 1,84 (s, H-1'').

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 169,86 (NHCOCH<sub>3</sub>); 103,79 (C-1'); 80,56 (C-4); 79,23 (C-1); 76,41, 75,71, 75,54 (C-3, C-5 e C-5'); 73,23 (C-2' ou C-3'); 72,13 (C-2); 70,58 (C-2' ou C-3'); 68,18 (C-4'); 60,45 e 60,36 (C-6 e C-6'); 22,85 (C-1'').

### 5.1.3.2 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-benzoilamino-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosose (A2)

O material bruto obtido da síntese da benzamida **7** (0,90 g) foi submetido à CCS (sílica A, 20 x 1 cm, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). A partir de 300 mg do produto bruto, foi obtida uma mistura de **7** (anômero  $\beta$ ) e seu isômero  $\alpha$  na proporção



de 6:1 (224 mg, 0,30 mmol, 60% de rendimento a partir de **4**). A atribuição dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do produto predominante na mistura, possibilitou a caracterização de **7**. A partir de **7** (410 mg, 0,55 mmol), **A2** foi obtido com 76% de rendimento (185 mg, 0,42 mmol), após recristalização com metanol.

#### Caracterização de **7**

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,74 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  7,4 Hz, H-2'' e H-6''); 7,55-7,49 (m, H-4''); 7,44 (t,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}=J_{3'',4''}=J_{5'',4''}$  7,4 Hz, H-3'' e H-5''); 6,98 (d,  $J_{\text{NH},1}$  9,0 Hz, NH); 5,45-5,36 (m, H-1, H-3 e H-4'); 5,12 (dd,  $J_{2',1'}$  7,8 Hz,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz, H-2'); 4,99-4,94 (m, H-2 e H-3'); 4,48 (d,  $J_{1',2'}$  7,8 Hz, H-1'); 4,46 (d,  $J_{6a,6b}$  12,4 Hz, H-6a); 4,19-4,13 (m, H-6b e H-6a'); 4,09 (dd,  $J_{6b',5'}$  7,1 Hz,  $J_{6b',6a'}$  11,1 Hz, H-6b'); 3,89 (t,  $J_{5',6'}=J_{5',4'}$  7,1 Hz, H-5'); 3,84-3,80 (m, H-4 e H-5); 2,17 (s,

OCOCH<sub>3</sub>); 2,16 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,15 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,11 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,10 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,09 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,08 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,07 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,05 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,03 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,02 (s, OCOCH<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C (δ, CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 171,75 (NHCO<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 170,34, 170,15, 170,07, 169,32, 168,99, 167,04 (7C, OCOCH<sub>3</sub>); 132,89 (C-1''); 132,37 (C-4''); 128,75 (C-2'' e C-6''); 127,21 (C-3'' e C-5''); 101,30 (C-1'); 78,79 (C-1); 76,04 (C-4); 74,55 (C-5); 72,25 (C-3); 71,20, 71,04 (C-2 e C-3'); 70,94 (C-5'); 69,06 (C-2'); 66,69 (C-4'); 62,0 (C-6); 60,93 (C-6'); 20,86, 20,80, 20,74, 20,64, 20,62, 20,50 (7C, OCOCH<sub>3</sub>).

## Caracterização de A2

Decompõe-se, sem fundir, a 211,7 °C.

$[\alpha]_D^{20} +1,0$  (c 2,5, H<sub>2</sub>O)<sup>2</sup>.

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3551, 3467, 3368, 3254, 1655, 1538, 1011, 695.

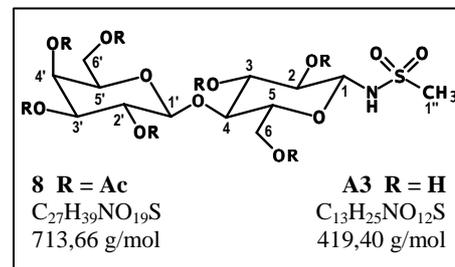
Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 8,87 (d,  $J_{\text{NH},1}$  8,7 Hz, NH); 7,91 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  7,4 Hz, H-2'' e H-6''); 7,56 (m, H-10); 7,48 (t,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}=J_{3'',4''}=J_{5'',4''}$  7,4 Hz, H-3'' e H-5''); 5,10 (d,  $J$  4,3 Hz, OH); 5,07 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 5,01 (tl,  $J_{1,\text{NH}}=J_{1,2}$  8,7 Hz, H-1); 4,76 (d, 2H, OH); 4,66 (t,  $J$  5,0 Hz, OH); 4,55 (t,  $J$  6,0 Hz, OH); 4,50 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,25 (d,  $J_{1',2'}$  7,0 Hz, H-1'); 3,75 (ddl,  $J_{6a,5}$  5,6,  $J_{6a,6b}$  11,0 Hz, H-6a); 3,65-3,35 (sinais encobertos pelo sinal da água do solvente, 11H).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 166,76 (NHCO<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 134,05 (C-1''); 131,51 (C-4''); 128,20 (C-2'' e C-6''); 127,57 (C-3'' e C-5''); 103,81 (C-1'); 80,69 (C-1); 80,09 (C-4); 76,66, 75,78, 75,53 (C-3, C-5 e C-5'); 73,23 (C-2' ou C-3'); 71,67 (C-2); 70,89 (C-2' ou C-3'); 68,18 (C-4'); 60,44 (C-6 e C-6').

<sup>2</sup> Deferrari *et al.* (1973) descrevem a obtenção desta benzamida, sem a especificação de sua configuração anomérica. A benzamida foi descrita como um sólido amorfo higroscópico, com  $[\alpha]_D +63,3$  (c 0,9, H<sub>2</sub>O).

### 5.1.3.3 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-1-desoxi-1-metanossulfonilamino- $\beta$ -D-glicopiranosose (A3)

O produto bruto obtido da síntese da sulfonamida **8** (890 mg) foi purificado por CCS (sílica A, 15 x 3 cm, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). A sulfonamida **8** foi obtida com 31% de rendimento a partir de **4** (337 mg, 0,47 mmol). A partir de **8** (350 mg, 0,49 mmol), **A3** foi obtido com 49% de rendimento (101 mg, 0,24 mmol), após recristalização com metanol.



#### Caracterização de **8**

Faixa de fusão: 99-103 °C.

$[\alpha]_D^{18} +11,9$  (*c* 2,01, CHCl<sub>3</sub>).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 1740, 1368, 1333, 1212, 1038.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 5,53 (d,  $J_{\text{NH},1}$  9,1 Hz, NH); 5,35 (d,  $J_{4',3'}$  3,2 Hz, H-4'); 5,28 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  9,1 Hz, H-3); 5,11 (dd,  $J_{2',1'}$  7,9 Hz,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz, H-2'); 4,98 (dd,  $J_{3',4'}$  3,2 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,82 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  9,1 Hz, H-2); 4,76 (t,  $J_{1,\text{NH}}=J_{1,2}$  9,1 Hz, H-1); 4,59 (dd,  $J_{6a,5}$  1,7 Hz,  $J_{6a,6b}$  10,4 Hz, H-6a); 4,51 (d,  $J_{1',2'}$  7,9 Hz, H-1'); 4,14 (dd,  $J_{6b',5'}$  6,6 Hz,  $J_{6b',6a'}$  11,1 Hz, H-6b'); 4,11-4,05 (m, H-6b e H-6a'); 3,89 (t,  $J_{5',6'}$  6,6 Hz, H-5'); 3,76-3,67 (m, H-4 e H-5); 3,05 (s, H-1''); 2,15 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,11 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,08 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,06 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,05 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,04 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,97 (s, OCOCH<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 170,99, 170,37, 170,16, 170,13, 170,09, 169,30, 168,95 (7C, OCOCH<sub>3</sub>); 100,89 (C-1'); 82,71 (C-1); 75,99 (C-4); 74,45 (C-5); 72,23 (C-3); 70,95, 70,82 (C-3' e C-5'); 70,23 (C-2); 69,13 (C-2'); 66,66 (C-4'); 61,19 (C-6); 60,87 (C-6'); 43,55 (C-1''); 2,15, 2,11, 2,08, 2,06, 2,05, 2,04, 1,97 (7C, OCOCH<sub>3</sub>).

Caracterização de **A3**

Faixa de fusão: 169-171 °C.

$[\alpha]_D^{20} +10,47$  (*c* 0,53, H<sub>2</sub>O).

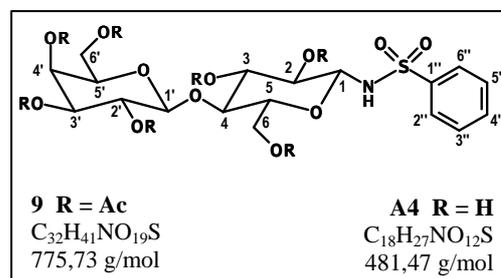
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3359, 3246, 1462, 1317, 782.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 8,05 (d, *J*<sub>NH,1</sub> 8,8 Hz, NH); 5,14 (d, *J* 5,8 Hz, OH); 5,07 (d, *J* 3,8 Hz, OH); 4,74 (s, 2H, OH); 4,64 (t, *J* 5,0 Hz, OH); 4,54 (t, *J* 5,6 Hz, OH); 4,52 (d, *J* 4,5 Hz, OH); 4,28 (tl, *J*<sub>1,NH</sub>=*J*<sub>1,2</sub> 8,8 Hz, H-1); 4,20 (d, *J*<sub>1,2'</sub> 6,6 Hz, H-1'); 3,79 (ddl, *J*<sub>6a,5</sub> 4,5 Hz, *J*<sub>6a,6b</sub> 10,8 Hz, H-6a); 3,61 (sl, H-4'); 3,56-3,40 (m, 4H); 3,20 (dd, *J*<sub>6,5</sub> ou *J*<sub>6',5'</sub> 4,5 Hz, *J*<sub>gem</sub> 10,8 Hz, H-6b ou H-6a'); 3,12 (dt, *J*<sub>2,OH</sub> 6,2 Hz, *J*<sub>2,1</sub>=*J*<sub>2,3</sub> 8,6 Hz, H-2); 2,97 (s, H-1'').

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 103,77 (C-1'); 84,45 (C-1); 80,66 (C-4); 76,25 (C-5); 75,68, 75,52 (C-3 e C-5'); 73,24 (C-2' ou C-3'); 72,00 (C-2); 70,52 (C-2' ou C-3'); 68,15 (C-4'); 60,56, 60,40 (C-6 e C-6'); 43,32 (C-1'').

#### 5.1.3.4 β-D-Galactopiranosil-(1→4)-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-β-D-glicopiranoose (**A4**)

O produto bruto obtido da síntese da sulfonamida **9** (930 mg) foi purificado por CCS (sílica A, 2 x 30 cm, clorofórmio/metanol 98:2 v/v). A sulfonamida **9** foi obtida com 18% de rendimento a partir de **4** (210 mg, 0,27 mmol). A partir de **9** (450 mg, 0,58 mmol), **A4** foi obtido com 53% de rendimento (200 mg, 0,31 mmol), após recristalização com metanol.



#### Caracterização de **9**

Faixa de fusão: 105-106 °C.

$[\alpha]_D^{18} +14,8$  (*c* 2,02, CHCl<sub>3</sub>).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 1744, 1437, 1367, 1218, 1039.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,88-7,86 (m, H-2'' e H-6''); 7,60-7,56 (m, H-4''); 7,52-7,48 (m, H-3'' e H-5''); 5,68 (m, NH); 5,34 (dd,  $J_{4',5'}$  0,9 Hz,  $J_{4',3'}$  3,4 Hz, H-4'); 5,25 (m, H-3); 5,09 (dd,  $J_{2',1'}$  7,8 Hz,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz, H-2'); 4,95 (dd,  $J_{3',4'}$  3,4 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,81-4,75 (m, H-1 e H-2); 4,44 (d,  $J_{1',2'}$  7,8 Hz, H-1'); 4,30 (dd,  $J_{6a,5}$  1,9 Hz,  $J_{6a,6b}$  12,0 Hz, H-6a); 4,13 (dd,  $J_{6a',6b'}$  6,4 Hz,  $J_{6a',6b'}$  11,1 Hz, H-6a'); 4,07 (dd,  $J_{6b',5'}$  7,2 Hz,  $J_{6b',6a'}$  11,1 Hz, H-6b'); 4,00 (dd,  $J_{6b,5}$  4,8 Hz,  $J_{6b,6a}$  12,0 Hz, H-6b); 3,86 (tl,  $J_{5',4'}$  0,9 Hz,  $J_{5',6b'}$  7,2 Hz, H-5'); 3,71 (t,  $J_{4,3}=J_{4,5}$  9,9 Hz, H-4); 3,62 (ddd,  $J_{5,6a}$  1,9 Hz,  $J_{5,6b}$  4,8 Hz,  $J_{5,4}$  9,9 Hz, H-5); 2,15 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,07 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,06 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,05 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,04 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,99 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,94 (s, OCOCH<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 170,87, 170,33, 170,12, 170,10, 170,04, 169,34, 168,95 (7C, OCOCH<sub>3</sub>); 141,28 (C-1''); 132,86 (C-4''); 128,94 (C-2'' e C-6''); 126,96 (C-3'' e C-5''); 100,81 (C-1'); 82,62 (C-1); 75,69 (C-4); 74,35 (C-5); 72,25 (C-3); 70,94, 70,75 (C-3' e C-5'); 70,49 (C-2); 69,06 (C-2'); 66,65 (C-4'); 61,67 (C-6); 60,67 (C-6'); 20,76, 20,68, 20,58, 20,45 (7C, OCOCH<sub>3</sub>).

#### Caracterização de A4

Faixa de fusão: 245-246 °C.

$[\alpha]_D^{20} +37,7$  (*c* 1,25, H<sub>2</sub>O).

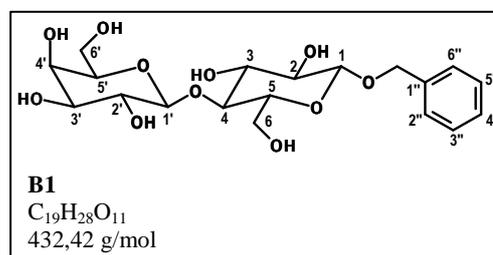
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3458, 3338, 3247, 3204, 1738, 1466, 1450.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 8,52 (sl, NH); 7,83 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  7,3 Hz, H-2'' e H-6''); 7,57 (t,  $J_{4'',3''}=J_{4'',5''}$  7,3 Hz, H-4''); 7,50 (t,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}=J_{3'',4''}=J_{5'',4''}$  7,3 Hz, H-3'' e H-5''); 5,21-5,19 (m, 2H, OH); 4,84 (t,  $J$  5,1 Hz, OH); 4,80 (s, OH); 4,78 (d,  $J$  1,4 Hz, OH); 4,57 (d,  $J$  4,7 Hz, OH); 4,39-4,34 (m, 2H, OH); 4,17 (m, H-1); 3,81-3,68 (m, H-1'); 3,60 (d,  $J_{4',3'}$  3,6 Hz, H-4'); 3,51-3,20 (m, 7H); 3,09 (m, H-2).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 142,60 (C-1''); 133,76 (C-4''); 129,96 (C-2'' e C-6''); 127,66 (C-3'' e C-5''); 104,10 (C-1'); 85,17 (C-1); 79,74 (C-4); 76,44, 76,29, 73,64, 72,64, 71,54, 71,10 (C-2, C-3, C-5, C-2', C-3' e C-5'); 69,20 (C-4'); 61,60 (C-6); 60,70 (C-6').

#### 5.1.4 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de benzila (**B1**) (JUNG *et al.*, 1989)

Foram adicionados álcool benzílico (19,5 mL, 184,2 mmol), óxido de mercúrio II amarelo (1,70 g, 7,8 mmol), brometo de mercúrio II (115 mg, 0,3 mmol), sulfato de sódio anidro (4,40 g, 31,0 mmol) e diclorometano anidro (20 mL). A mistura



foi mantida, sob agitação magnética e protegida de umidade. Após 30 minutos, uma solução de **3** (5 g, 7,15 mmol) em diclorometano anidro (20 mL) foi adicionada gota a gota. A mistura permaneceu sob refluxo por duas horas. Ao término da reação (CCD, hexano/acetato de etila 3:7 v/v), o material sólido da mistura reagente foi separado por filtração. O filtrado recolhido foi extraído com solução de iodeto de potássio 30% m/v (3 x 30 mL). A camada orgânica foi extraída com água destilada (3 x 20 mL) e secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, hexano/acetato de etila 3:7 v/v). O lactosídeo **10** foi obtido com 30% de rendimento (1,55 g, 2,13 mmol) a partir de **3**. O lactosídeo **10** (1 g, 1,38 mmol) foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B1** foi obtido com rendimento de 80% (470 mg, 1,10 mmol) em relação a **10**.

#### Caracterização de **B1**

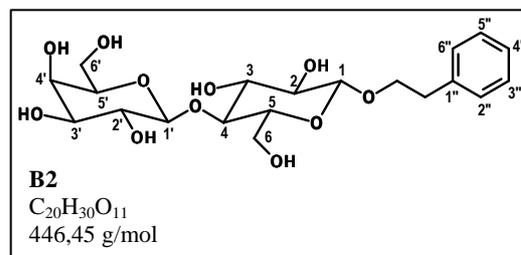
Faixa de fusão: 165,5-167,5 °C; literatura: 176 °C (JUNG *et al.*, 1989).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -16,5 ( $c$  1,  $\text{H}_2\text{O}$ ); literatura:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -17,2,  $\text{H}_2\text{O}$  (JUNG *et al.*, 1989).

### 5.1.5 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 2-feniletila (**B2**) (JUNG *et al.*, 1989)

Foram adicionados 2-feniletanol (1,70 g, 7,8 mmol), óxido de mercúrio II amarelo (1,70 g, 7,8 mmol), brometo de mercúrio II (115 mg, 0,3 mmol), sulfato de sódio anidro (4,40 g, 31,0 mmol) e diclorometano anidro (20 mL). A

mistura foi mantida, sob agitação magnética e protegida de umidade. Após 30 minutos, uma solução de **3** (5 g, 7,15 mmol) em diclorometano anidro (20 mL) foi adicionada gota a gota. A mistura permaneceu sob refluxo por duas horas. Ao término da reação (CCD, hexano/acetato de etila 3:7 v/v), o material sólido da mistura reagente foi separado por filtração. O filtrado recolhido foi extraído com solução de iodeto de potássio 30% m/v (3 x 30 mL). A camada orgânica foi extraída com água destilada (3 x 20 mL) e secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo obtido foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente, sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O produto bruto foi lavado com acetona. O lactosídeo **B2** foi obtido com 44% de rendimento (1,21 g, 2,71 mmol) a partir de **3**.



#### Caracterização de **B2**<sup>3</sup>

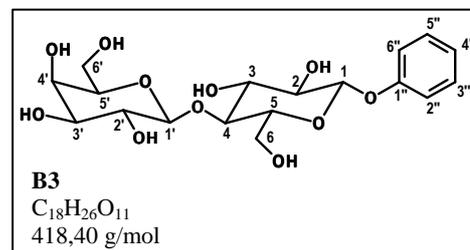
Faixa de fusão: 160-161,5 °C.

$[\alpha]_D^{20} +6,8$  (c 1, H<sub>2</sub>O).

<sup>3</sup>Os dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H foram comparados com os descritos por Ma *et al.* (2001) e, estão de acordo. Nesta referência não estão mencionados os dados de faixa de fusão e poder rotatório específico.

### 5.1.6 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de fenila (**B3**) [adaptado de Fisher *et al.* (1940)]

À solução de **3** (3 g, 4,29 mmol) em acetona (20 mL) foram adicionados fenol (1,88 g, 20 mmol), hidróxido de potássio (1,00 g, 17,9 mmol) e água destilada (12 mL). A mistura reagente permaneceu sob agitação magnética por quatro horas e 30 minutos. Ao término da reação (CCD, diclorometano/etanol 98:2 v/v), evaporou-se a acetona sob ventilação. O resíduo foi extraído com diclorometano (3 x 20 mL). A fase orgânica foi extraída com solução de hidróxido de sódio 0,5 mol/L (4 x 20 mL) e com água destilada até que a camada aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). O lactosídeo **12** foi obtido com 33% de rendimento (1,02 g, 1,41 mmol) a partir de **3**. O lactosídeo **12** (900 g, 1,26 mmol) foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B3** foi obtido com rendimento de 92% (489 mg, 1,16 mmol) em relação a **12**.



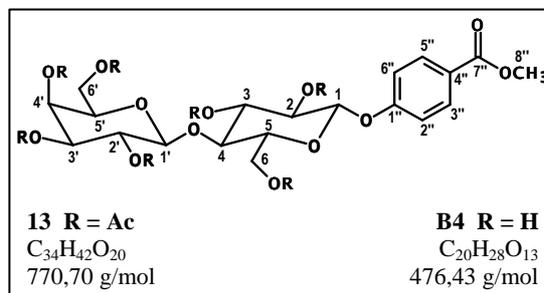
#### Caracterização de **B3**

Faixa de fusão: 188-189 °C; literatura: 190,5-191,5 °C (HELPERICH; GRIEBEL, 1940).

$[\alpha]_D^{20}$  -35,5 (*c* 1, H<sub>2</sub>O); literatura:  $[\alpha]_D^{19}$  -36,3, H<sub>2</sub>O (HELPERICH; GRIEBEL, 1940).

### 5.1.7 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (B4) [adaptado de Fisher *et al.* (1940)]

À solução de **3** (3 g, 4,29 mmol) em acetona (20 mL) foram adicionados 4-hidroxibenzoato de metila (1,95 g, 12,8 mmol), carbonato de sódio (2,46 g, 23,2 mmol) e água destilada (30 mL). A mistura reagente permaneceu sob agitação magnética



por três horas. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), evaporou-se a acetona sob ventilação. O resíduo foi extraído com diclorometano (3 x 20 mL). A fase orgânica foi extraída com solução de hidróxido de sódio 0,5 mol/L (4 x 20 mL) e com água destilada até que a camada aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). O lactosídeo **13** foi obtido com 26% de rendimento a partir de **3** (0,86 g, 1,12 mmol). Quantidades adicionais de **13** foram preparadas (2 g, 2,6 mmol) e este foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B4** foi obtido com rendimento de 97% (1,2 g, 2,5 mmol) a partir de **13**.

Posteriormente, o procedimento para a preparação de **B4** foi otimizado. Na etapa de glicosilação, para a reação de 15 g de **3** foram utilizados 7,35 g (48,31 mmol) de 4-hidroxibenzoato de metila e 10 g (94,35 mmol) de carbonato de sódio. O resíduo obtido foi submetido à reação de tranterificação, com metóxido de sódio em metanol, sem purificação prévia. O resíduo obtido da reação de desproteção das hidroxilas foi recristalizado em metanol. O lactosídeo **B4** foi obtido com 55% de rendimento em relação a **3** (5,63 g, 11,83 mmol). Desta maneira, foram preparadas as quantidades adicionais de **B4** empregadas na produção dos derivados modificados nas posições 6 e 6'.

### Caracterização de **13**

Faixa de fusão: 87-89 °C.

$[\alpha]_D^{19}$  -12,7 (*c* 1; CHCl<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,98 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 6,98 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,36 (d,  $J_{4',3'}$  3,4 Hz, H-4'); 5,29 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  8,2 Hz, H-3); 5,19 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  8,2 Hz, H-2); 5,16-5,11 (m, H-1 e H-2'); 4,98 (dd,  $J_{3',4'}$  3,4 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,53-4,48 (m, H-1' e H-6a); 4,16-4,10 (m, H-6b, H-6a' e H-6b'); 3,92-3,88 (m, H-4 e H-5'); 3,89 (s, H-8''); 3,86-3,83 (m, H-5); 2,16 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,10 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,08 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,07 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,06 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 2,05 (s, OCOCH<sub>3</sub>); 1,97 (s, OCOCH<sub>3</sub>).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 170,80, 170,18, 170,07, 169,99, 169,64, 169,48, 169,06 (7C, C=OCH<sub>3</sub>); 166,40 (C-7''); 160,16 (C-1''); 131,52 (C-3'' e C-5''); 125,02 (C-4''); 116,14 (C-2'' e C-6''); 101,12 (C-1'); 97,91 (C-1); 76,12 (C-4); 72,97 (C-5); 72,73 (C-3); 71,37 (C-2); 70,91 (C-3'); 70,79 (C-5'); 69,11 (C-2'); 66,62 (C-4'); 61,99 (C-6); 60,82 (C-6'); 52,00 (C-8''); 20,73, 20,67, 20,58, 20,45 (7C, COCH<sub>3</sub>).

### Caracterização de **B4**

Faixa de fusão: 232,5-233 °C.

$[\alpha]_D^{19}$  -37,5 (*c* 1,01; DMSO).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3308, 1704, 1608, 1513, 1434, 847, 767.

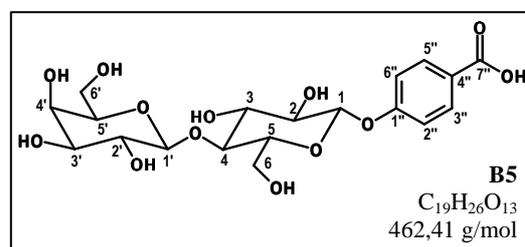
Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,92 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-3'' e H-5''); 7,14 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-2'' e H-6''); 5,52 (d,  $J$  5,3 Hz, OH); 5,11 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 5,08 (d,  $J$  4,5 Hz, OH); 4,81 (d,  $J$  1,8 Hz, OH); 4,78 (d,  $J$  5,3 Hz, OH); 4,66 (t,  $J$  5,1 Hz, OH); 4,61 (t,  $J$  5,9 Hz, OH); 4,51 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,25 (d,  $J_{1',2'}$  7,3 Hz, H-1'); 3,83 (s, H-8''); 3,79-3,74 (m, H-6a ou H-6a'); 3,68-3,28 (m, 11H).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 165,76 (C-7''); 160,97 (C-1''); 131,03 (C-3'' e C-5''); 123,02 (C-4''); 115,99 (C-2'' e C-6''); 103,76 (C-1'); 99,28 (C-1); 79,96 (C-4); 75,53, 74,99, 74,73 (C-2, C-3, C-5); 73,24, 72,89 (C-3', C-5'); 70,53 (C-2'); 68,14 (C-4'); 60,42, 59,99 (C-6 e C-6'); 51,86 (C-8'').

### 5.1.8 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-carboxifenila (**B5**)

[adaptado de COREY *et al.*, (1977)]

O lactosídeo **B4** (400 mg, 0,84 mmol) e hidróxido de lítio monohidratado (260 mg, 6,19 mmol) foram adicionados a uma solução metanol/água 3:1 v/v (40 mL). A solução reagente foi deixada à temperatura ambiente e



sob agitação magnética por 24 horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), foi adicionada à solução reagente resina de troca iônica Amberlite IRA 120 que foi filtrada assim que o pH do meio permaneceu 4. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em metanol. O lactosídeo **B5** foi obtido com 95% de rendimento (372 mg, 0,80 mmol) a partir de **B4**.

#### Caracterização de **B5**

Faixa de fusão: 245,5-246,5 °C, com decomposição.

$[\alpha]_D^{25}$  -17,9 ( $c$  1,01, DMSO).

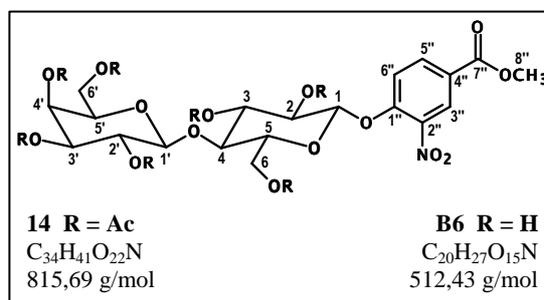
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3327, 1738, 1703, 1608, 1064, 1015.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,89 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,7 Hz, H-3'' e H-5''); 7,11 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,7 Hz, H-2'' e H-6''); 5,51 (sl, OH); 5,09 (d,  $J_{1,2}$  7,7 Hz, H-1); 4,81 (sl, OH); 4,61 (sl, OH); 4,25 (d,  $J_{1',2'}$  6,9 Hz, H-1'); 3,76 (d,  $J_{6a,6b}$  11,1 Hz, H-6a); 3,65-3,31 (m, 11H).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 166,94 (C-7''); 160,68 (C-1''); 131,16 (C-4''); 124,34 (C-3'' e C-5''); 115,81 (C-2'' e C-6''); 103,79 (C-1'); 99,35 (C-1); 80,00 (C-4); 75,56, 75,01, 74,77 (C-2, C-3, C-5); 73,27, 72,93 (C-3' e C-5'); 70,57 (C-2'); 68,18 (C-4'); 60,45 (C-6); 60,04 (C-6').

### 5.1.9 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (**B6**) [adaptado de Fisher *et al.* (1940)]

À solução de **3** (3 g, 4,29 mmol) em acetona (20 mL) foram adicionados 3-nitro-4-hidroxibenzoato de metila (2,52 g, 12,8 mmol), carbonato de sódio (1,23 g (11,6 mmol) e água destilada (30 mL). A mistura reagente permaneceu sob agitação magnética



por três horas. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), evaporou-se a acetona sob ventilação. O resíduo foi extraído com diclorometano (3 x 20 mL). A fase orgânica foi extraída com solução de hidróxido de sódio 0,5 mol/L (4 x 20 mL) e com água destilada até que a camada aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, hexano/acetato de etila 4:6 v/v). O lactosídeo **14** foi obtido com 45% de rendimento a partir de **3** (1,57 g, 1,93 mmol). Quantidades adicionais de **14** foram preparadas (2 g, 2,45 mmol) e este foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B6** foi obtido com 78% de rendimento (0,98 g, 1,91 mmol) a partir de **14**.

#### Caracterização de **14**

Faixa de fusão: 84,5-85,5 °C.

$[\alpha]_D^{23} +8,9$  (c 1,01, CHCl<sub>3</sub>)

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1744, 1367, 1212, 1041.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 8,45 (d,  $J_{3'',5''}$  2,0 Hz, H-3''); 8,18 (dd,  $J_{5'',3''}$  2,0 Hz,  $J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-5''); 7,32 (d,  $J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-6''); 5,36 (d,  $J_{4',3'}$  3,4 Hz, H-4'); 5,31-5,25 (m, H-3 e H-1); 5,19 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  7,4 Hz, H-2); 5,14 (dd,  $J_{2',1'}$  7,9 Hz,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz, H-2'); 4,99 (dd,  $J_{3',4'}$  3,4 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,56 (dd,  $J_{6a,5}$  2,2 Hz,  $J_{6a,6b}$  12,2 Hz, H-6a); 4,55 (d, sobreposto ao sinal em  $\delta$  4,56,  $J_{1',2'}$  7,8 Hz, H-1'); 4,16-4,07 (m, H-6b, H-6a', H-6b'); 4,02 (t,  $J$  9,0 Hz, H-4 ou H-5'); 3,94 (s, H-8''); 3,93-3,87 (m, H-4 ou H-5', e H-5); 2,18 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,16 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,12 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,10 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,07 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,03 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ); 2,00 (s,  $\text{OCOCH}_3$ ).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 170,37, 170,10, 170,01, 169,72, 169,37, 169,12, (7C,  $\text{COCH}_3$ ); 164,51 (C-7''); 152,27 (C-1''); 140,61 (C-2''); 134,74 (C-5''); 126,66, 125,30 (C-3'' e C-4''); 117,70 (C-6''); 101,21 (C-1'); 98,37 (C-1); 75,66 (C-4); 72,93, 72,49 (C-3 e C-5); 70,84, 70,80, 70,75 (C-2, C-3' e C-5'); 69,05 (C-2'); 66,61 (C-4'); 61,56 (C-6); 60,82 (C-6'); 52,67 (C-8''); 20,73, 20,67, 20,57, 20,44 (7C,  $\text{COCH}_3$ ).

### Caracterização de **B6**

Faixa de fusão: 203-206 °C.

$[\alpha]_D^{25}$  -47,6 ( $c$  1,01, DMSO).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3384, 1692, 1619, 1538.

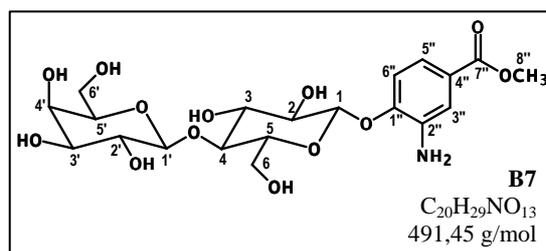
Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz): 8,37 (d,  $J_{3'',5''}$  2,1 Hz, H-3''); 8,17 (dd,  $J_{5'',3''}$  2,1 Hz,  $J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-5''); 7,52 (d,  $J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-6''); 5,57 (d,  $J$  5,3 Hz,  $\text{OH}$ ); 5,34 (d,  $J_{1,2}$  7,7 Hz, H-1); 5,06 (d,  $J$  4,3 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,83 (d,  $J$  1,3 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,78 (d,  $J$  4,9 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,67-4,60 (m, 2H,  $\text{OH}$ ); 4,51 (d,  $J$  4,6 Hz,  $\text{H}$ ); 4,25 (d,  $J_{1',2'}$  7,1 Hz, H-1'); 3,88 (s,  $\text{OH}$ ); 3,77 (dd, 1H,  $J$  5,2 Hz,  $J$  9,8 Hz); 3,69-3,62 (m, 3H); 3,59-3,42 (m, 5H); 3,36-3,27 (m, 3H).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ , 100 MHz): 164,78 (C-7''); 153,30 (C-1''); 140,09 (C-2''); 134,96 (C-5''); 126,30, 123,49 (C-3'' e C-4''); 117,57 (C-6'');

104,26 (C-1'); 100,17 (C-1); 80,15 (C-4); 76,50, 75,76 (C-3 e C-5); 75,29 (C-2); 73,73, 73,20 (C-3' e C-5'); 71,04 (C-2'); 68,64 (C-4'); 60,93 (C-6); 60,38 (C-6'); 52,99 (C-8'').

#### 5.1.10 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (**B7**)

À solução de **B6** (500 mg, 0,98 mmol) em metanol (40 mL) foi adicionado paládio-carvão 10% p/p (70 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob atmosfera de gás hidrogênio por uma hora.



Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), foi adicionada água (5 mL) à mistura reagente. O catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B7** foi obtido com 80% de rendimento (386 mg, 0,78 mmol) a partir de **B6**.

#### Caracterização de **B7**

Faixa de fusão: 149-151 °C.

$[\alpha]_D^{19}$  -42,7 (*c* 1, H<sub>2</sub>O);  $[\alpha]_D^{25}$  -23,8 (*c* 0,21, DMSO).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3319, 1697, 1305, 1216.

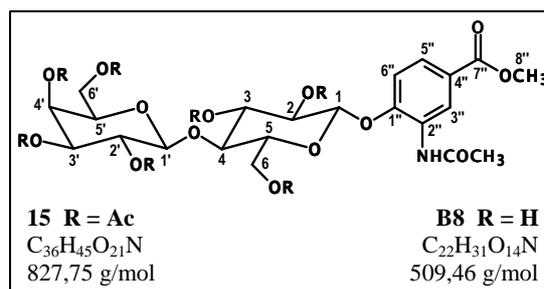
Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,29 (d,  $J_{3'',5''}$  1,9 Hz, H-3''); 7,13 (dd,  $J_{5'',3''}$  1,9 Hz,  $J_{5'',6''}$  8,4 Hz, H-5''); 7,04 (d,  $J_{6'',5''}$  8,4 Hz, H-6''); 5,59 (sl, OH); 5,30 (sl, OH); 4,81 (d,  $J_{1,2}$  7,1 Hz, H-1); 4,50 (sl, OH); 4,25 (d,  $J_{1',2'}$  6,9 Hz, H-1'); 3,80-3,27 (m, 12H); 3,78 (s, H-8'').

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 166,86 (C-7''); 148,30 (C-1''); 139,13 (C-2''); 124,35 (C-4''); 118,18, 115,68, 115,16 (C-3'', C-5'' e C-6''); 104,26 (C-1'); 101,66 (C-1); 80,63 (C-4); 76,02, 75,52, 74,61 (C-2, C-3 e C-5); 73,73,

73,45 (C-3' e C-5'); 71,03 (C-2'); 68,63 (C-4'); 60,91, 60,63 (C-6 e C-6'); 52,16 (C-8'').

### 5.1.11 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (**B8**)

À solução de **14** (1 g, 1,23 mmol) em metanol (100 mL) foi adicionado paládio-carvão 10% p/p (70 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob atmosfera de gás hidrogênio por uma hora. Ao término da reação (CCD,



diclorometano/metanol 98:2 v/v), o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi solubilizado em piridina (6 mL). A solução foi resfriada em banho de gelo e, sob agitação magnética, foi adicionado anidrido acético (5 mL). O sistema foi protegido de umidade e mantido em banho de gelo por 90 minutos. Ao término da reação, a solução reagente foi vertida em gelo pilado e extraída com diclorometano (3 x 20 mL). A camada orgânica foi extraída com solução de ácido clorídrico 1 mol/L (5 x 30 mL) e com água destilada até que a camada aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido por destilação à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, 20 x 3 cm, hexano/acetato de etila 3:7 v/v). O lactosídeo **15** foi obtido com 82% (828 mg, 1 mmol) a partir de **14**. O lactosídeo **15** (820 g, 0,99 mmol) foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (20 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O lactosídeo **B8** foi obtido com rendimento de 87% (462 mg, 0,87 mmol) a partir de **15**.

#### Caracterização de **B8**

Faixa de fusão: 210-212 °C.

$[\alpha]_D^{25} -11$  (c 1, DMSO).

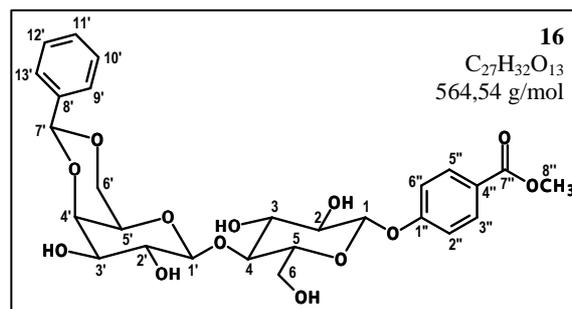
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3338, 1696, 1673, 1272.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 9,16 (s,  $\text{NH}$ ); 8,74 (s, H-3''); 7,66 (dd,  $J_{5'',6''}$  8,6 Hz, H-5''); 7,28 (d,  $J_{6'',5''}$  8,6 Hz, H-6''); 5,85 (s,  $\text{OH}$ ); 5,10 (d,  $J$  3,44 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,97 (d,  $J_{1,2}$  7,6 Hz, H-1); 4,85 (s,  $J$   $\text{OH}$ ); 4,79 (d,  $J$  4,3 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,68 (t,  $J$  4,8 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,63 (t,  $J$  5,8 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,52 (d,  $J$  4,3 Hz,  $\text{OH}$ ); 4,26 (d,  $J_{1',2'}$  6,9 Hz, H-1'); 3,82 (s, H-8''); 3,78-3,44 (m, 12H); 2,14 (s, H-10'').

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 169,16 (C-9''); 166,31 (C-7''); 150,51 (C-1''); 129,10 (C-5''); 125,73 (C-2''); 124,07 (C-3''); 122,32 (C-4''); 116,33 (C-6''); 104,27 (C-1'); 101,47 (C-1); 80,51 (C-4); 76,03, 75,63, 74,46 (C-2, C-3 e C-5); 73,23 (C-3' e C-5'); 71,03 (C-2'); 68,64 (C-4'); 60,93 (C-6); 60,54 (C-6'); 52,49 (C-8''); 24,58 (C-10'').

#### 5.1.12 4,6-O-Benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**16**) [adaptado de Hall (1980)]

Cloreto de zinco anidro (3,6 g, 26,41 mmol) e benzaldeído (2,4 ml, 58,80 mmol) foram homogeneizados por agitação magnética, até que uma pasta branca consistente foi formada. Foram adicionados o lactosídeo **B4** (6 g, 12,59 mmol) e



quantidade adicional de benzaldeído (6 mL). A mistura permaneceu sob agitação magnética por 20 horas. Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de umidade. Após o equilíbrio da reação ter sido alcançado, o excesso de benzaldeído foi extraído com éter de petróleo (2 x 15 mL). O solvente foi separado por decantação e à pasta formada foram adicionados gelo pilado e acetato de etila em quantidades suficientes para que se formasse um sólido branco. O sólido foi separado por filtração e lavado com água fervente. O acetal benzilidênico **16** foi obtido, sem grau pureza analítica, com 76% de rendimento a partir de **B4** (5,43 g, 9,61 mmol) e, assim foi empregado em reações subsequentes.

Caracterização de **16**

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3383, 1699, 1605, 1583, 1509, 1438, 770, 697.

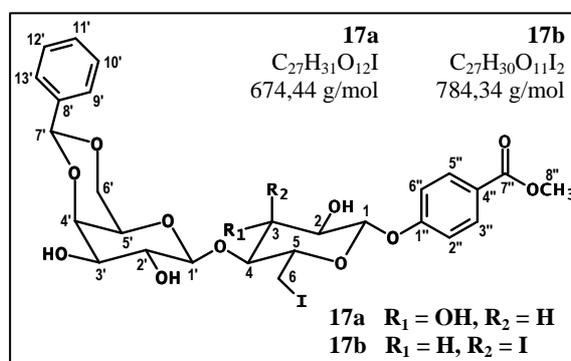
Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,92 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-3'' e H-5''); 7,48-7,46 e 7,41-7,34 (m, 5H, H-9' a H-13'); 7,15 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-2'' e H-6''); 5,58 (s, H-7'); 5,56 (d,  $J$  5,4 Hz, OH); 5,28 (d,  $J$  4,5 Hz, OH); 5,13 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 5,02 (d,  $J$  5,8 Hz, OH); 4,85 (s, OH); 4,60 (t,  $J$  6,0 Hz, OH); 4,45 (d,  $J_{1,2'}$  7,5 Hz, H-1'); 4,12-4,01 (m, H-4', H-6a' e H-6b'); 3,82 (s, H-8''); 3,76-3,50 (m, 7H); 3,40-3,47 (m, parcialmente sobreposto ao sinal em  $\delta$  3,76-3,50, H-2); 3,40-3,35 (m, H-2').

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 165,84 (C-7''); 161,00 (C-1''); 138,51 (C-8'); 131,10 (C-3'' e C-5''); 128,69 (C-11'); 127,96, 126,26 (C-9' e C-13', C-10' e C-12'); 123,11 (C-4''); 116,04 (C-2'' e C-6''); 102,97 (C-1'); 99,82 (C-7'); 99,38 (C-1); 78,26 (C-4); 75,77 (C-4'); 75,08, 74,56 (C-3 ou C-3' ou C-5'); 73,07 (C-2); 71,68 (C-3 ou C-3' ou C-5'); 69,89 (C-2'); 68,53 (C-6'); 66,35 (C-5'); 59,83 (C-6); 51,92 (C-8'').

### 5.1.13 4,6-*O*-Benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**17a**) [adaptado de Zhang e Magnusson (1996b)]

À solução de trifenilfosfina (4,48 g, 17,08 mmol) e imidazol (2,32 g, 34,08 mmol) em tolueno/acetonitrila 2:1 v/v (360 mL) foi adicionado iodo (3,84 g, 15,13 mmol), sob agitação magnética. Após a dissolução do iodo e formação de precipitado branco, foi adicionado **16** (2,40 g, 4,25 mmol). A

mistura foi aquecida até 60 °C. Durante todo procedimento o sistema foi protegido de umidade. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (diclorometano/metanol 92:8 v/v). Após três horas e 30 minutos, a mistura foi destilada à pressão reduzida e o resíduo



obtido foi extraído com acetato de etila (5 x 100 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, 39 x 4 cm, diclorometano/metanol 95:5 v/v). Foram separados o derivado 6-iodo **17a** (1,82 g, 2,70 mmol, 63% de rendimento a partir de **16**) e **17b** (310 mg, 0,39 mmol, 9% de rendimento), este caracterizado como o derivado 4,6-*O*-benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-didesoxi-3,6-diiodo- $\beta$ -D-alopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila.

#### Caracterização de **17a**

Faixa de fusão: 222-223 °C, com decomposição.

$[\alpha]_D^{19}$  -100,0 (*c* 1, DMSO).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3403, 1687, 1604, 1583, 1507, 771, 686.

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,94 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-3'' e H-5''); 7,49-7,47 e 7,42-7,36 (m, 5H, H-9' a H-13'); 7,22 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-2'' e H-6''); 5,63 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 5,59 (s, H-7'); 5,37 (d,  $J$  4,7 Hz, OH); 5,22 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 5,04 (d,  $J$  5,5 Hz, OH); 4,80 (d,  $J$  1,7 Hz, OH); 4,47 (d,  $J_{1',2'}$  7,5 Hz, H-1'); 4,12-4,02 (m, H-4', H-6a' e H-6b'); 3,88 (dd,  $J_{6a,5}$  1,6 Hz,  $J_{6a,6b}$  10,6 Hz, H-6a); 3,83 (s, H-8''); 3,77-3,72 (m, H-3); 3,66 (sl, H-5'); 3,59 (td,  $J_{5,6}$  1,6 Hz,  $J_{5,4}$  9,0 Hz, H-5); 3,53-3,50 (m, H-3'); 3,48-3,45 (m, H-2'); 3,44-3,33 (m, H-2, H-6b e H-4).

Dados do espectro de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 165,73 (C-7''); 160,69 (C-1''); 138,47 (C-8'); 130,94 (C-3'' e C-5''); 128,60 (C-11'); 127,89, 126,18 (C-9' e C-13', C-10' e C-12'); 123,22 (C-4''); 116,23 (C-2'' e C-6''); 103,18 (C-1'); 99,69 (C-7'); 99,06 (C-1); 82,78 (C-4); 75,67 (C-4'); 73,65 (C-3 e C-5); 72,98 (C-2); 71,67 (C-3'); 69,89 (C-2'); 68,44 (C-6'); 66,32 (C-5'); 51,87 (C-8''); 7,25 (C-6).

#### Caracterização de **17b**

Faixa de fusão: 205,5-206,5 °C, com decomposição.

$[\alpha]_D^{23}$  -19,9 (*c* 1,01, DMSO).

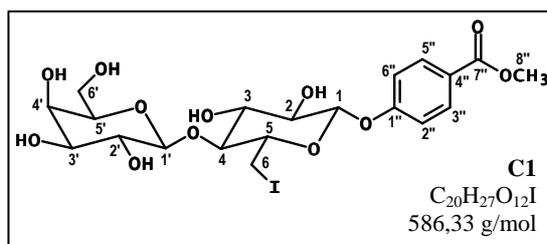
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3410, 1683, 1607, 1582, 1508, 1429, 772, 694.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,95 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,7 Hz, H-3'' e H-5''); 7,50-7,49 e 7,38-7,36 (m, 5H, H-9' a H-13'); 7,22 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,7 Hz, H-2'' e H-6''); 6,15 (d,  $J$  4,3 Hz, OH); 5,55 (s, H-7'); 5,30 (d,  $J$  4,1 Hz, OH); 5,25 (d,  $J_{1,2}$  7,4 Hz, H-1); 5,05 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  3,1 Hz, H-3); 4,95 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 4,52 (d,  $J_{1,2}$  6,8 Hz, H-1'); 4,07-4,06 (m, H-4', H-6a' e H-6b'); 3,96 (t,  $J_{5,4}=J_{5,6}$  8,3 Hz, H-5); 3,83 (s, H-8''); 3,82-3,79 (m, H-6a); 3,52-3,43 (m, H-6b, H-2', H-3', H-5'); 3,18-3,11 (m, H-2 e H-4).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 165,91 (C-7''); 160,69 (C1''); 138,81 (C-8'); 131,26 (C-3'' e C-5''); 128,77 (C-11'); 128,02, 126,50 (C-9' e C-13', C-10' e C-12'); 123,64 (C-4''); 116,41 (C-2'' e C-6''); 105,08 (C-1'); 100,54 (C-7'); 99,92 (C-1); 76,84 (C-4); 76,19 (C-5); 75,77 (C-4'); 71,87, 69,97 (C-2', C-3' e/ou C-5'); 68,58 (C-6'); 67,35 (C-2); 66,20 (C-2', C-3' ou C-5'); 52,07 (C-8''); 48,68 (C-3); 6,79 (C-6).

#### 5.1.14 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (C1) [adaptado de Bell e Lorber (1940)]

À solução acetona/água 1:1 v/v (64 mL) foram adicionados o derivado **17a** (1,6 g, 2,37 mmol) e solução de ácido clorídrico 1 mol/L (3,2 mL). A mistura reagente foi aquecida a 75 °C, sob agitação magnética,



por três horas e 20 minutos. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 8:2 v/v), o meio foi neutralizado com carbonato de bário (1 g, 5,07 mmol). O carbonato de bário foi separado por filtração, e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em metanol/água 9:1 v/v. O derivado **C1** foi obtido 75% de rendimento (1,04 g, 1,77 mmol) a partir de **17a**.

#### Caracterização de C1

Faixa de fusão: 216,5-217,5 °C, com decomposição.

$[\alpha]_D^{19} -78,9$  ( $c$  1,01, DMSO).

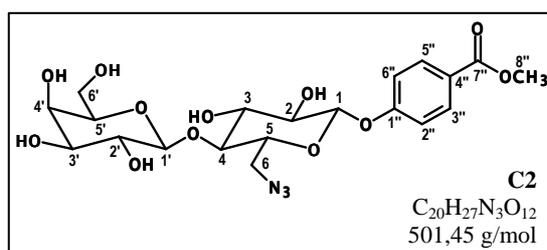
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3352, 1702, 1606, 1509, 1436.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,85 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-3'' e H-5''); 7,14 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-2'' e H-6''); 5,53 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 5,15-5,12 (m, H-1 e OH); 4,80 (d,  $J$  1,9 Hz, OH); 4,73 (t,  $J$  5,4 Hz, OH); 4,60 (t,  $J$  5,0 Hz, OH); 4,45 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,19 (d,  $J_{1',2'}$  7,3 Hz, H-1'); 3,77-3,74 (m, sobreposto ao sinal em  $\delta$  3,75, H-6a); 3,75 (s, H-8''); 3,62 (ddd,  $J_{5,6a}$  2,1 Hz,  $J_{5,6b}$  7,6 Hz,  $J_{5,4}$  9,8 Hz, H-5)<sup>4</sup>; 3,56 (tl,  $J_{4',3'}=J_{4',5'}$  3,8 Hz, H-4'); 3,51-3,40 (m, H-3, H-5', H-6a', H-6b'); 3,32-3,21 (m, H-2, H-6b, H-2', H-3'); 3,19 (t,  $J_{4,3}=J_{4,5}$  9,0 Hz, H-4).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 165,74 (C-7''); 160,71 (C-1''); 130,94 (C-3'' e C-5''); 123,19 (C-4''); 116,22 (C-2'' e C-6''); 104,04 (C-1'); 98,97 (C-1); 83,85 (C-4); 75,60 (C-5'); 74,06 (C-3); 73,48 (C-5); 73,19, 72,84 (C-2, C-3'); 70,42 (C-2'); 68,08 (C-4'); 60,40 (C-6'); 51,88 (C-8''); 7,57 (C-6).

### 5.1.15 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-azido-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (C2) [adaptado de Hansen e Magnusson (1999)]

Foram adicionados ao derivado 6-iodo **C1** (800 mg, 1,36 mmol), azida de sódio (400 mg, 6,15 mmol) e *N,N*-dimetilformamida anidra (30 mL). A mistura reagente foi aquecida a 50 °C. Durante todo o



procedimento o sistema foi protegido de umidade. Após 24 horas, evaporou-se o solvente sob ventilação. O resíduo obtido foi purificado por CCS (sílica A, 6 x 2 cm, acetato de etila/metanol 1:1 v/v) seguida da recristalização em metanol. O derivado **C2** foi obtido com 87% de rendimento (592 mg, 1,18 mmol) a partir de **C1**.

#### Caracterização de **C2**

<sup>4</sup> Os valores atribuídos para  $J_{5,6a}$  e  $J_{5,6b}$  são intercambiáveis.

Faixa de fusão: 214,5-217 °C, com decomposição.

$[\alpha]_D^{19}$  -92,0 (*c* 1, DMSO).

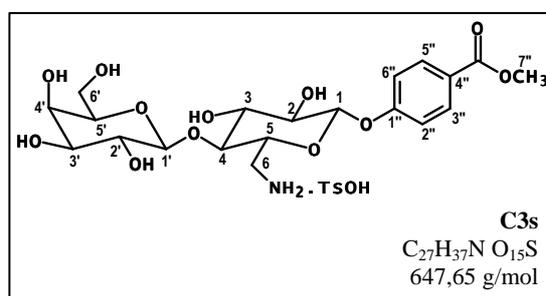
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3345, 2098, 1700, 1607, 1509, 1440.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,92 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 7,16 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8Hz, H-2'' e H-6''); 5,62 (d,  $J$  5,3 Hz, OH); 5,23 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 5,17 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,91 (d,  $J$  1,7 Hz, OH); 4,80 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 4,67 (t,  $J$  5,0 Hz, OH); 4,51 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,19 (d,  $J_{1',2'}$  7,2 Hz, H-1'); 3,93-3,88 (m, H-5); 3,82 (s, H-8''); 3,72 (dd,  $J_{6a,5}$  1,8 Hz,  $J_{6a,6b}$  13,2 Hz, H-6a); 3,63 (tl,  $J_{4',3'}=J_{4',5'}$  3,3 Hz, H-4'); 3,51-3,40 (m, H-3, H-6b, H-5', H-6a', H-6b'); 3,57-3,48 (m, H-2, H-4, H-2', H-3').

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 165,68 (C-7''); 160,63 (C-1''); 130,94 (C-3'' e C-5''); 123,12 (C-4''); 115,90 (C-2'' e C-6''); 103,95 (C-1'); 98,83 (C-1); 80,96 (C-4); 75,53 (C-5'); 74,35 (C-3); 73,35 (C-5); 73,07, 72,57 (C-2, C-3'); 70,30 (C-2'); 68,04 (C-4'); 60,36 (C-6'); 51,80 (C-8''); 50,51 (C-6).

#### 5.1.16 *para*-Metilbenzenossulfonato de $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-amino-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (C3s)

À solução de **C2** (200 mg, 0,4 mmol) em metanol/tetraidrofurano 3:2 v/v (25 mL) foram adicionados paládio-carvão 10% p/p (50 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob atmosfera de gás hidrogênio por 5 horas. Após o término da reação (CCD,



acetato de etila/metanol 1:2 v/v) o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi removido por destilação à pressão reduzida. Parte do resíduo obtido (156 mg, 0,33 mmol, de 184 mg) foi solubilizada em metanol, sob aquecimento. À solução foi adicionado ácido *para*-toluenossulfônico monoidratado (100 mg, 0,52 mmol). O sal de amônio **C3s** foi precipitado pela adição de éter etílico à solução e separado por filtração. O sal **C3s** foi obtido com 58% de

rendimento (128 mg, 0,20 mmol) a partir de **C2**. Por ser higroscópico, **C3s** foi acondicionado em dessecador.

### Caracterização de **C3s**

Faixa de fusão: 131-133 °C.

$[\alpha]_D^{24} -9,9$  (*c* 0,51, DMSO).

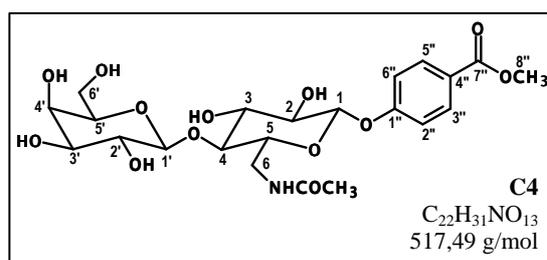
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3363, 1717, 1606, 1509, 1434, 768.

Dados do espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,94 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,4 Hz, H-3'' e H-5''); 7,88 (s, 3H, NH); 7,51 (d,  $J$  7,6 Hz, H aromáticos de TsO<sup>-</sup>); 7,19 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,4 Hz, H-2'' e H-6''); 7,14 (d,  $J$  7,6 Hz, H aromáticos de TsO<sup>-</sup>); 5,16 (d,  $J_{1,2}$  7,6 Hz, H-1); 4,34 (d,  $J_{1',2'}$  7,5 Hz, H-1'); 4,24-3,42 (sinais encobertos pelo sinal da água do solvente, 11H); 3,84 (s, H-8''); 3,05-3,02 (m, 1H); 2,31 (s, H metílicos de TsO<sup>-</sup>).

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 165,96 (C-7''); 160,88 (C-1''); 145,40 (C aromático de TsO<sup>-</sup>); 138,03 (C aromático de TsO<sup>-</sup>); 131,27 (C-3'' e C-5''); 128,79 (C aromático de TsO<sup>-</sup>); 125,61 (C aromático de TsO<sup>-</sup>); 123,44 (C-4''); 116,21 (C-2'' e C-6''); 103,48 (C-1'); 99,45 (C-1); 80,67 (C-4); 75,94 (C-5'); 74,38, 73,24 (C-3 e C-5); 72,65, 70,70 (C-2 e C-3'); 70,41 (C-2'); 68,30 (C-4'); 60,58 (C-6'); 52,09 (C-8''); 39,78 (C-6); 20,88 (C metílico de TsO<sup>-</sup>).

#### 5.1.17 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1→4)-6-acetilamino-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**C4**) [adaptado de Onodera e Kitaoka (1960)]

À solução de **C2** (280 mg, 0,56 mmol) em metanol/tetraidrofurano 3:2 v/v (30 mL) foram adicionados paládio-carvão 10% p/p (50 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob atmosfera de gás hidrogênio por 5 horas. Após o término da reação (CCD,



acetato de etila/metanol 1:2 v/v) o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi

removido por destilação à pressão reduzida. O resíduo foi solubilizado em metanol anidro (5 mL). A solução foi resfriada em banho de gelo e, sob agitação magnética, foi adicionado anidrido acético (0,14 mL, 1,48 mmol). Após 20 minutos, com o término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 8:2 v/v), foi adicionado gelo pilado. Evaporou-se o solvente da mistura reagente sob ventilação e o resíduo obtido foi recristalizado em metanol/água 3:1 v/v. O derivado **C4** foi obtido com 61% de rendimento (177 mg, 0,34 mmol) a partir de **C2** (duas etapas).

#### Caracterização de **C4**

Faixa de fusão: 233,5-234 °C.

$[\alpha]_D^{24}$  -17,6 (c 0,51, DMSO).

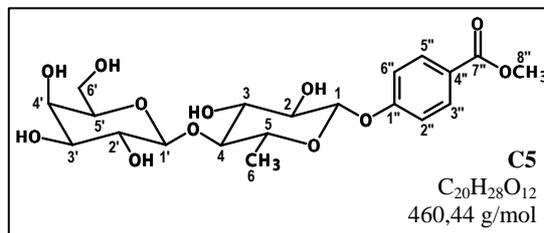
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3327, 1716, 1646, 1607, 1070, 678.

Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7,92 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,9 Hz, H-3'' e H-5''); 7,88 (dd,  $J_{\text{NH},6}$  4,5 e 6,8 Hz, NH); 7,12 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,9 Hz, H-2'' e H-6''); 5,55 (d,  $J$  5,4 Hz, OH); 5,11 (d,  $J$  4,9 Hz, OH); 5,04 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 4,97 (d,  $J$  1,8 Hz, OH); 4,81 (d,  $J$  5,4 Hz, OH); 4,70 (t,  $J$  4,9 Hz, OH); 4,53 (d,  $J$  4,7 Hz, OH); 4,30 (d,  $J_{1',2'}$  7,4 Hz, H-1'); 3,82 (s, H-8''); 3,69-3,62 (m, H-5 e H-4'); 3,57-3,45 (m, H-6a, H-6a', H-6b', H-5', além de 1H, H-3 ou H-3'); 3,41-3,29 (m, H-2, H-4, H-6b, H-2', além de 1H, H-3 ou H-3'); 1,81 (s, H-8).

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 100 MHz): 169,41 (C-7); 165,69 (C-7''); 160,79 (C-1''); 130,91 (C-3'' e C-5''); 123,07 (C-4''); 115,94 (C-2'' e C-6''); 103,59 (C-1'); 99,24 (C-1); 82,01 (C-4); 75,62 (C-5); 74,74, 73,27, 72,65, 72,52 (C-2, C-3, C-3' e C-5'); 70,55 (C-2'); 68,12 (C-4'); 60,39 (C-6'); 51,84 (C-8''); 39,78 (C-6); 22,48 (C-8).

### 5.1.18 $\beta$ -D-Galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-6-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (C5) [adaptado de Westerlind *et al.* (2005)]

Foram adicionados a uma solução de **C1** (página 88) (100 mg, 0,17 mmol) em tetraidrofurano/metanol/acetato de etila 10:3:2 v/v/v (9 mL), paládio-carvão 10% p/p (200 mg) e peneira molecular de 4 Å (1,3 g).



A mistura permaneceu em aparato de hidrogenação, sob agitação mecânica e pressão de 1,4 atm de gás hidrogênio, por quatro dias. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 8:2 v/v), o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado em metanol. O derivado **C5** foi obtido com 73% de rendimento (57 mg, 0,12 mmol) a partir de **C1**.

#### Caracterização de **C5**

Faixa de fusão: 250-251 °C.

$[\alpha]_D^{24}$  -32,5 (*c* 0,51, DMSO).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3359, 1706, 1245, 768.

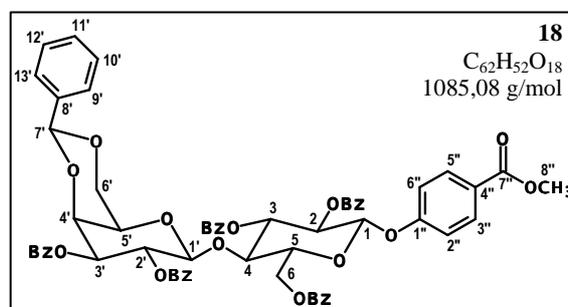
Dados dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,94 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,0 Hz, H-3'' e H-5''); 7,14 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,2 Hz, H-2'' e H-6''); 5,54 (d, 3,8 Hz, OH); 5,13-5,11 (m, 2H, H-1 e OH); 4,85 (s, OH); 4,80 (s, OH); 4,72 (s, OH); 4,54 (s, OH); 4,25 (d, 5,6 Hz, H-1'); 3,84 (s, H-8''); 3,71-3,30 (sinais encobertos pelo sinal da água do solvente, 11H); 3,12 (t,  $J_{4,3}=J_{4,5}$  8,5 Hz, H-4); 1,30 (d,  $J_{6,5}$  5,1 Hz, H-6).

Dados dos espectros de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)<sup>5</sup>: 165,81 (C-7''); 160,89 (C-1''); 131,09 (C-3'' e C-5''); 123,02 (C-4''); 115,92 (C-2'' e C-6''); 104,18 (C-1'); 98,93 (C-1); 85,51 (C-4); 75,44 (C-5'); 74,05 (C-3); 73,25, 72,99 (C-2, C-3'); 70,43 (C-2'); 70,16 (C-5); 68,11 (C-4'); 60,37 (C-6'); 51,88 (C-8''); 17,39 (C-6).

<sup>5</sup>No espectro de RMN de <sup>13</sup>C, a atribuição dos sinais de carbonos foi feita pela comparação com a de **C1**. A atribuição de C-5 está de acordo com Westerlind *et al.* (2005).

**5.1.19 2,3-Di-O-benzoil-4,6-O-benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**18**) [adaptado de Westerlind *et al.* (2005)]**

Cloreto de benzoíla (15,5 mL, 132,32 mmol) foi adicionado gota a gota, em banho de gelo e sob agitação magnética, a uma mistura de **16** (página 84) (5 g, 8,86 mmol) e piridina anidra (70 mL). Durante todo o procedimento o sistema foi



protegido de umidade. A mistura reagente permaneceu sob agitação magnética e à temperatura ambiente por quatro horas. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), foi adicionada à mistura reagente água destilada (60 mL), e após 30 minutos a solução reagente foi extraída com diclorometano (3 x 60 mL). A fase orgânica foi extraída com solução de ácido sulfúrico 2 mol/L (5 x 60 mL), com solução saturada de bicarbonato de sódio (4 x 60 mL) e com água destilada (2 x 60 mL), até que a camada aquosa da última extração permaneceu neutra. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi cristalizado em acetona/éter de petróleo 1:1 v/v. O derivado **18** foi obtido com 84% de rendimento (8,05 g, 7,42 mmol) a partir de **16**.

**Caracterização de 18**

Faixa de fusão: 263,5-265 °C.

$[\alpha]_D^{22} +35,9$  ( $c$  1,  $\text{CHCl}_3$ ).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1716, 1263, 1241, 705.

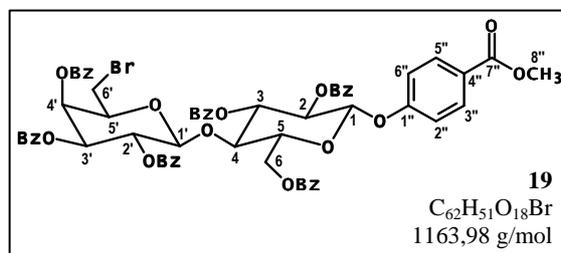
Dados dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 8,15 (d, 2H aromáticos,  $J$  7,2 Hz); 7,96-7,89 (m, 6H aromáticos); 7,81 (d, 2H aromáticos,  $J$  7,2 Hz); 7,77 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 7,56-7,25 (m, 18H aromáticos); 7,19 (t,  $J$  7,6 Hz, 2H aromáticos); 6,90 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,92 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  7,8 Hz, H-3); 5,82 (dd,  $J_{2',1'}$  8,0 Hz,  $J_{2',3'}$  10,4 Hz, H-2'); 5,62 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  7,8 Hz, H-2); 5,39 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1); 5,31 (s, H-7'); 5,23 (dd,  $J_{3',4'}$  3,5 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 4,89 (d,  $J_{1',2'}$  8,0

Hz, H-1'); 4,67 (dd,  $J_{6a,5}$  1,4 Hz,  $J_{6a,6b}$  11,7 Hz, H-6a); 4,39-4,31 (m, H-4, H-6b, H-4'); 4,12-4,09 (m, H-5); 3,83 (s, H-8''); 3,80 (d,  $J_{6a',6b'}$  12,3 Hz, H-6a'); 3,61 (d,  $J_{6b',6a'}$  12,3 Hz, H-6b'); 3,05 (s, H-5').

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 166,34, 166,07, 165,45, 165,23, 165,04, 164,84 (6C, C-7'' e  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ ); 160,00 (C-1''); 137,41, 133,26, 133,15, 132,99, 131,38, 129,86, 129,71, 129,60, 129,53, 129,47, 28,86, 128,79, 128,47, 128,38, 128,33, 128,20, 127,93, 126,31, 124,71 (C aromáticos); 116,21 (C-2'' e C-6''); 101,66 (C-1'); 100,61 (C-7'); 97,88 (C-1); 77,20 (C-4); 74,01 (C-3); 73,06, 73,04 (C-5 e C-4'); 72,50 (C-3'); 71,95 (C-2); 69,44 (C-2'); 67,96 (C-6'); 66,56 (C-5'); 62,32 (C-6); 51,86 (C-8'').

#### 5.1.20 6-Bromo-2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**19**) [adaptado de Hanessian e Plessas (1969a) e de Westerlind *et al.* (2005)]

À mistura de **18** (1 g, 0,92 mmol), carbonato de bário (380 mg, 1,93 mmol) e tetracloreto de carbono (30 mL), sob refluxo e agitação magnética, foi adicionada *N*-bromosuccinimida (330 mg, 1,81 mmol). A



mistura reagente foi mantida sob refluxo e agitação por quatro horas. Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de umidade. Ao término da reação (CCD, diclorometano/acetato de etila 9:1 v/v), o solvente foi destilado à pressão reduzida, o resíduo foi ressuspensionado em diclorometano e o carbonato de bário foi removido por filtração. O filtrado foi extraído com água destilada (3 x 10 mL) e a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O derivado **19** obtido foi empregado em reação subsequente sem purificação prévia.

#### Caracterização de **19**

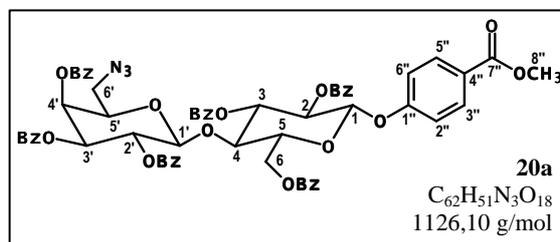
Dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz): 8,05-7,26 (m, 32H aromáticos); 7,00 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,95 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  8,9 Hz, H-3);

5,84-5,71 (m, H-2, H-2', H-4'); 5,46-5,39 (m, H-1 e H-3'); 4,97 (d,  $J_{1,2}$  7,8 Hz, H-1'); 4,76 (d,  $J_{6a,6b}$  10,9 Hz, H-6a); 4,56-4,40 (m, H-4 e H-6b); 4,19-4,12 (m, H-5); 3,89 (s, H-8''); 3,89-3,83 (m, 1H, sobreposto ao sinal em  $\delta$  3,89, H-5'); 2,92 (dd,  $J_{6a',5'}$  6,2 Hz,  $J_{6a',6b'}$  10,6 Hz, H-6a'); 2,70 (dd,  $J_{6b',5'}$  7,0 Hz,  $J_{6b',6a'}$  10,6 Hz, H-6b').

Dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz): 166,30, 165,62, 165,33, 165,20, 165,17, 165,06, 164,79 (6C,  $\text{COC}_6\text{H}_5$  e C-7''); 160,05 (C-1''); 133,58, 131,39, 129,94, 129,77, 129,67, 129,58, 129,35, 129,29, 128,91, 128,52, 128,38, 128,21, 124,83 (C aromáticos); 100,64 (C-1'); 98,34 (C-1); 75,65, 74,27, 73,25, 72,84, 71,69, 71,49, 69,69, 68,05 (C-2 a C-5, C-2' a C-5'); 62,29 (C-6); 51,89 (C-8''); 27,70 (C-6').

### 5.1.21 6-Azido-2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**20a**) [adaptado de Hansen e Magnusson (1999)]

O derivado 6'-bromo **19**, obtido da reação do acetal benzilidênico **18** (2 g, 1,84 mmol), com *N*-bromossuccinimida, foi solubilizado em *N,N*-dimetilformamida anidra (30 mL). À solução foi adicionada azida de sódio



(700 mg, 10,77 mmol). A mistura foi aquecida a 80 °C, durante 17 horas. Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de umidade. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), evaporou-se o solvente sob ventilação. O resíduo foi purificado por CCS (sílica B, 67 x 2 cm, clorofórmio). Foram separados o derivado **20a** com rendimento de 21% a partir de **18** (duas etapas, 441 mg, 0,39 mmol), e o produto de eliminação **20b** (6-desoxi-2,3,4-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -L-arabino-hex-5-enopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila), com 10% de rendimento (210 mg, 0,19 mmol)<sup>6</sup>.

<sup>6</sup> No espectro RMN de  $^1\text{H}$  das frações reunidas compostas pela mistura de **20a** e **20b** (833 mg), foi observada a proporção **20a/20b** de 5:3.

### Caracterização de **20a**

Faixa de fusão: 104,5-106,5 °C.

$[\alpha]_D^{22} +33,1$  (*c* 1, CHCl<sub>3</sub>).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 2104, 1722, 1259, 1089, 1066, 1025.

Dados do espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,99-7,93 (m, 10H, aromáticos); 7,84 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 7,73 (d, 7,5 Hz, 2H aromáticos); 7,67-7,60 (m, 2H, aromáticos); 7,54-7,47 (m, 5H, aromáticos); 7,42-7,29 (m, 7H, aromáticos); 7,25-7,17 (m, 4H, aromáticos); 6,95 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,86 (t,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  9,4 Hz, H-3); 5,76-5,71 (m, 2H, H-2 e H-2'); 5,61 (d,  $J_{4',3'}$  2,9 Hz, H-4'); 5,38-5,34 (m, 2H, H-1 e H-3'); 4,89 (d,  $J_{1',2'}$  7,8 Hz, H-1'); 4,66 (d,  $J_{6a,6b}$  11,9 Hz, H-6a); 4,48 (dd,  $J_{6b,5}$  4,8 Hz,  $J_{6b,6a}$  11,9 Hz, H-6b); 4,34 (t,  $J_{4,3}=J_{4,5}$  9,4 Hz, H-4); 4,07 (dd,  $J_{5,6b}$  4,8 Hz,  $J_{5,4}$  9,4 Hz, H-5); 3,85 (s, H-8''); 3,69 (t, H-5'); 2,73 (dd,  $J_{6a',5'}$  5,3 Hz,  $J_{6a',6b'}$  12,9 Hz, H-6a'); 2,64 (dd,  $J_{6b',5'}$  7,2 Hz,  $J_{6b',6a'}$  12,9 Hz, H-6b').

Dados do espectros de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 166,16, 165,48, 165,17, 165,08, 165,01, 164,87, 164,63 (6C, C-7'' e C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO); 159,93 (C-1''); 133,49, 133,24, 133,17, 133,10, 132,96, 131,23, 129,82, 129,55, 129,52, 129,43, 129,41, 129,15, 128,79, 128,52, 128,44, 128,33, 128,22, 128,06, 124,71, 116,10 (C aromáticos); 100,56 (C-1'); 98,23 (C-1); 75,53 (C-4'); 73,12 (C-5); 72,79 (C-5'); 72,54 (C-3); 71,47 (C-3'); 71,19, 69,61 (C-2, C-2'); 67,91 (C-4); 62,18 (C-6); 51,72 (C-8''); 49,21 (C-6').

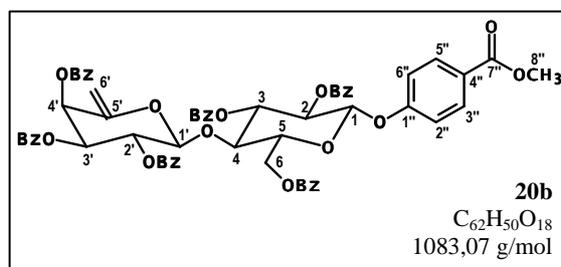
### Caracterização de **20b**

Faixa de fusão: 191-192 °C.

$[\alpha]_D^{22} +33,9$  (*c* 1, CHCl<sub>3</sub>).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>):

1718, 1267, 703.



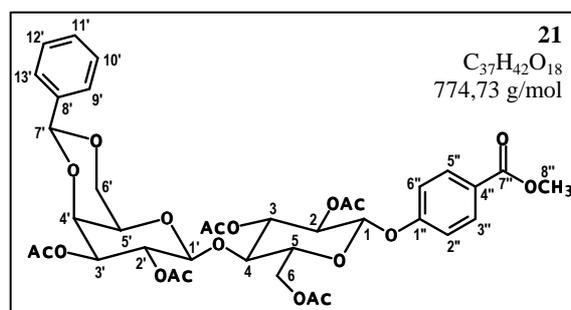
Dados do espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,99-7,92 (m, 8H aromáticos); 7,83 (d, *J* 7,9 Hz, 5H aromáticos); 7,62-7,56 (m, 2H aromáticos); 7,52-7,25

(m, 15H aromáticos); 7,11 (t,  $J$  7,7 Hz, 2H aromáticos); 6,95 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,6 Hz, H-2'' e H-6''); 5,90-5,85 (m, H-3, H-2' e H-4'); 5,72 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  7,9 Hz, H-2); 5,43 (dd,  $J_{3',4'}$  3,2 Hz,  $J_{3',2'}$  9,7 Hz, H-3'); 5,38 (d,  $J_{1,2}$  7,9 Hz, H-1); 5,01 (d,  $J_{1',2'}$  6,7 Hz, H-1'); 4,65 (d, sobreposto ao sinal em  $\delta$  4,63,  $J_{6a,6b}$  12,0 Hz, H-6a); 4,63 (s, H-6a'); 4,58 (s, H-6b'); 4,49 (dd,  $J_{6b,5}$  5,2 Hz,  $J_{6b,6a}$  12,0 Hz, H-6b); 4,35 (t,  $J_{4,3}=J_{4,5}$  9,2 Hz, H-4); 4,08 (dd,  $J_{5,6}$  5,2 Hz,  $J_{5,4}$  9,2 Hz, H-5); 3,85 (s, H-8'').

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 165,63, 165,61, 164,92 (7C, C-7'' e  $\text{COC}_6\text{H}_5$ ); 160,00 (C-1''); 149,19, 133,52, 133,35, 133,33, 132,79, 131,42, 129,86, 129,81, 129,63, 129,60, 129,42, 128,54, 128,47, 128,44, 128,39, 128,34, 127,99, 124,90 (C aromáticos); 116,33 (C-2'' e C-6''); 102,86 (C-6'); 101,67 (C-1'); 98,39 (C-1); 76,82 (C-4); 73,29 (C-5); 73,02 (C-3, C-2' ou C-4'); 71,49 (C-2); 70,25 (C-3'); 69,87 (C-3, C-2' ou C-4'); 68,81 (C-3, C-2' ou C-4'); 62,47 (C-6); 51,91 (C-8'').

### 5.1.22 2,3-Di-*O*-acetil-4,6-*O*-benzilideno- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-acetil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**21**)

Anidrido acético (1 mL, 9,80 mmol) foi adicionado, em banho de gelo e sob agitação magnética, a uma mistura de **16** (página 84) (450 mg, 0,80 mmol) e piridina anidra (70 mL). Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de



umidade. A mistura reagente permaneceu sob agitação magnética e à temperatura ambiente por quatro horas. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), foi adicionado à mistura reagente gelo pilado e solução de ácido clorídrico 3 mol/L até que o pH do meio permaneceu 1. O sólido branco formado foi filtrado e lavado com água destilada. O derivado **21** foi obtido com 92% de rendimento (571 mg, 0,74 mmol), a partir de **16**.

#### Caracterização de **21**

Faixa de fusão: 236,5-237 °C.

$[\alpha]_D^{22} +14,0$  ( $c$  1,  $\text{CHCl}_3$ ).

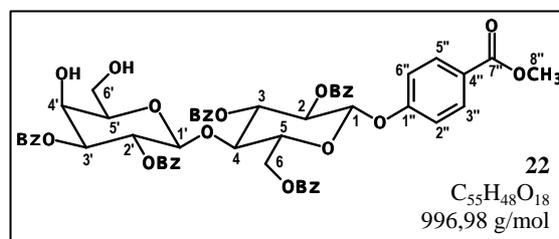
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1740, 1714, 1367, 1216.

Dados do espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 7,98 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,4 Hz, H-3'' e H-5''); 7,47-7,46 e 7,39-7,37 (m, H-9' a H-13'); 6,99 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,4 Hz, H-2'' e H-6''); 5,48 (s, H-7'); 5,32 (t, sobreposto ao sinal em  $\delta$  5,32,  $J_{3,2}=J_{3,4}$  8,2 Hz, H-3); 5,28 (dd,  $J_{2',1'}$  7,7 Hz,  $J_{2',3'}$  10,3 Hz, H-2'); 5,22 (t,  $J_{2,1}=J_{2,3}$  8,2 Hz, H-2); 5,15 (d,  $J_{1,2}$  8,2 Hz, H-1); 4,91 (dd,  $J_{3',4'}$  3,4 Hz,  $J_{3',2'}$  10,3 Hz, H-3'); 4,54-4,59 (m, H-6a e H-1'); 4,34 (d,  $J_{4',3'}$  3,4 Hz, H-4'); 4,31 (d,  $J_{6a',6b'}$  12,4 Hz, H-6a'); 4,16 (dd,  $J_{6b,5}$  5,7 Hz,  $J_{6b,6a}$  11,8 Hz, H-6b); 4,05 (d,  $J_{6b',6a'}$  12,4 Hz, H-6b'); 3,90-3,84 (m, sobreposto ao sinal em  $\delta$  3,89, H-4 e H-5); 3,89 (s, H-8''); 3,48 (s, H-5'); 2,08 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 2,06 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 2,04 (s,  $\text{COCH}_3$ ).

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 170,64, 170,18, 170,05, 169,53, 168,85 ( $\text{COCH}_3$ ); 166,41 (C-7''); 160,24 (C-1''); 137,40 (C-8'); 131,50 (C-3'' e C-5''); 129,19 (C-11'); 128,21, 126,44 (C-9' e C-13', C-10' e C-12'); 124,95 (C-4''); 116,12 (C-2'' e C-6''); 101,30 (C-7'); 101,09 (C-1'); 98,14 (C-1); 75,84 (C-4); 73,24, 73,09 (C-5 e C-4'); 72,29 (C-3); 72,00 (C-3'); 71,19 (C-2); 68,98 (C-2'); 68,40 (C-6'); 66,51 (C-5'); 62,01 (C-6); 51,99 (C-8''); 20,77, 20,71, 20,60 (5C,  $\text{COCH}_3$ ).

### 5.1.23 2,3-Di-*O*-benzoil- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (22) [adaptado de Hsieh *et al.* (2005)]

Foi adicionado a uma solução de **18** (página 93) (8 g, 7,37 mmol) em diclorometano (50 mL), ácido trifluoroacético (8 mL, 108,05 mmol) e água destilada (0,4 mL). A mistura reagente permaneceu sob agitação



magnética vigorosa por 10 horas. Ao se observar que a reação não evoluía mais (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), a mistura foi diluída com diclorometano e extraída com água destilada (2 x 40 mL), com solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 40 mL) e, novamente, com água destilada (3 x 30 mL) até que a camada aquosa da última extração

permaneceu neutra. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, 25 x 4 cm, diclorometano/metanol 95:5 v/v) e forneceu o derivado **22** com 64% de rendimento (4,7 g, 4,71 mmol) a partir de **18**.

#### Caracterização de **22**

Faixa de fusão: 237-238 °C.

$[\alpha]_D^{23} +34,9$  (*c* 1, DMSO).

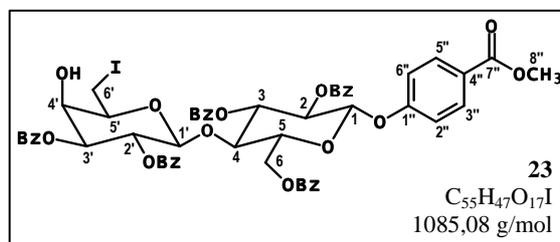
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1717, 1265, 704.

Dados do espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,96-7,90 (m, 4H aromáticos); 7,86-7,81 (m, 6H aromáticos); 7,71-7,36 (m, 15H aromáticos); 7,30 (t, *J* 7,5 Hz, 2H aromáticos); 7,01 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,91 (d,  $J_{1,2}$  7,9 Hz, H-1); 5,84-5,79 (m, H-3); 5,51-5,45 (m, H-2 e H-2'); 5,22 (d,  $J_{\text{OH},4'}$  5,4 Hz, OH em C-4'); 5,18 (dd,  $J_{3',4'}$  3,0 Hz,  $J_{3',2'}$  10,4 Hz, H-3'); 5,02 (d,  $J_{1',2'}$  8,0 Hz, H-1'); 4,57-4,47 (m, sobreposto ao sinal em  $\delta$  4,48, H-6a e H6b); 4,48 (t, *J* 5,0 Hz, OH em C-6'); 4,38-4,34 (m, H-4 e H-5); 4,06 (tl, H-4'); 3,78 (s, H-8''); 3,55 (tl, H-5'); 3,09-3,06 (m, H-6a'); 2,95 (td,  $J_{6b',5'}=J_{6b',\text{OH}}$  5,0 Hz,  $J_{6b',6a'}$  10,0 Hz, H-6b').

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 165,47, 165,09, 164,99, 164,77, 165,62 (6C, C-7'' e C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C=O); 159,57 (C-1''); 133,76, 133,43, 133,32 (C aromáticos); 130,95 (C-3'' e C-5''); 129,39, 129,23, 129,13, 128,80, 128,69, 128,41, 123,73 (C aromáticos); 115,87 (C-2'' e C-6''); 100,49 (C-1'); 96,01 (C-1); 76,03 (C-4); 74,80 (C-3'); 74,65 (C-5'); 72,89 (C-3); 72,56 (C-5); 71,68, 70,25 (C-2 e C2'); 64,59 (C-4'); 62,88 (C-6); 58,25 (C-6'); 51,88 (C-8'').

**5.1.24 2,3-Di-*O*-benzoil-6-desoxi-6-iodo- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**23**) [adaptado de Zhang e Magnusson (1996a)]**

À solução de trifenilfosfina (3,2 g, 12,2 mmol) e imidazol (1,66 g, 24,44 mmol) em de tolueno/acetonitrila 2:1 v/v (380 mL), foi adicionado, sob agitação magnética, iodo (2,5 g, 12,21 mmol). Após a dissolução do



iodo e formação de precipitado branco, foi adicionado **22** (4,8 g, 4,81 mmol). A mistura foi aquecida até 60 °C. Durante todo procedimento o sistema foi protegido de umidade. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (diclorometano/metanol 98:2 v/v). Após nove horas, a mistura reagente foi destilada à pressão reduzida e o resíduo obtido foi extraído com diclorometano (3 x 150 mL). A fase orgânica foi extraída com solução de tiosulfato de sódio 20% m/v (100 mL), com água destilada (2 x 100 mL) e secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo obtido foi cristalizado em éter etílico. O derivado **23** foi obtido, sem grau de pureza analítica, com 77% de rendimento (4,03 g, 3,71 mmol) a partir de **22**.

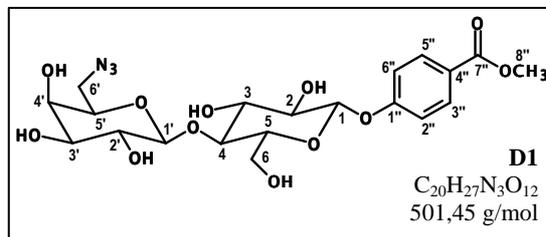
**Caracterização de 23**

Dados do espectro de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz): 8,08 (d, 2H aromáticos, *J* 7,0 Hz); 7,95-7,87 (m, H aromáticos); 7,81 (d, *J*<sub>3'',2''</sub>=*J*<sub>5'',6''</sub> 8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 7,64-7,20 (m, H aromáticos); 6,93 (d, *J*<sub>2'',3''</sub>=*J*<sub>6'',5''</sub> 8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,89 (t, *J*<sub>3,2</sub>=*J*<sub>3,4</sub> 8,8 Hz, H-3); 5,76-5,66 (m, H-2 e H2'); 5,41 (d, *J*<sub>1,2</sub> 7,4 Hz, H-1); 5,15 (dd, *J*<sub>3',4'</sub> 3,1 Hz, *J*<sub>3',2'</sub> 10,3 Hz, H-3'); 4,82 (d, *J*<sub>1',2'</sub> 7,8 Hz, H-1'); 4,68 (dl, *J*<sub>6a,6b</sub> 11,0 Hz, H-6a); 4,47-4,26 (m, H-4, H-4', H-6b); 4,15 (dd, H-5); 3,84 (s, H-8''); 3,56 (t, *J*<sub>5',6'</sub> 6,8 Hz, H-5'); 2,88 (dd, *J*<sub>6a',5'</sub> 6,8 Hz, *J*<sub>6a',6b'</sub> 10,1 Hz, H-6a'); 2,58 (dd, *J*<sub>6b',5'</sub> 6,8 Hz, *J*<sub>6b',6a'</sub> 10,1 Hz, H-6b'); 2,42 (d, *J*<sub>OH,4'</sub> 7,0 Hz, OH em C-4').

Dados do subespectro DEPT135 ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz): 133,46, 133,41, 133,33, 131,50, 131,43, 129,92, 129,82, 129,68, 128,54, 128,48, 128,42 (C aromáticos); 116,21 (C-2'' e C-6''); 100,58 (C-1'); 98,14 (C-1); 75,67 (C-4); 74,06 (C-3); 73,24, 73,09, 71,59, 69,42, 67,58 (C-2, C-5, C-2', C-3', C-4', C-5'); 62,42 (C-6); 51,95 (C-8''); 0,49 (C-6').

### 5.1.25 6-Azido-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**D1**) [adaptado de Hansen e Magnusson (1999)]

O derivado **23**, obtido da reação de **22** (4,8 g, 4,81 mmol) com trifetilfosfina, imidazol e iodo (subitem 5.1.24), foi solubilizado em *N,N*-dimetilformamida anidra (40 mL). À solução foi adicionada azida de sódio (1,17 mg, 18 mmol). A mistura foi aquecida a 60 °C durante 20 horas. Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de umidade. Ao término da reação (CCD, diclorometano/metanol 98:2 v/v), evaporou-se o solvente sob ventilação. O resíduo foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (120 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por três horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica B, 20 x 2 cm, diclorometano/metanol 85:15 v/v). O derivado 6'-azido **D1** foi obtido com 36% de rendimento (897 mg, 1,79 mmol) a partir de **22**.



#### Caracterização de **D1**

Faixa de fusão: 112-115 °C.

$[\alpha]_D^{24}$  -22,3 (*c* 0,94, CH<sub>3</sub>OH).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3376, 2105, 1704, 1306, 1506, 1436, 770.

Dados dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD<sup>7</sup>, 200 MHz): 8,01 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,8 Hz, H-3'' e H-5''); 7,19 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,8 Hz, H-2'' e H-6''); 5,12 (d,  $J_{1,2}$  7,7 Hz, H-1); 4,47 (s, sinais sobrepostos, H-1' e sinais OH não trocados por deutério); 3,97-3,90 (m, H-6a e H-6b); 3,91 (s, sobreposto ao multipeto em  $\delta$  3,97-3,90, H-8''); 3,81-3,53 (m, 10H).

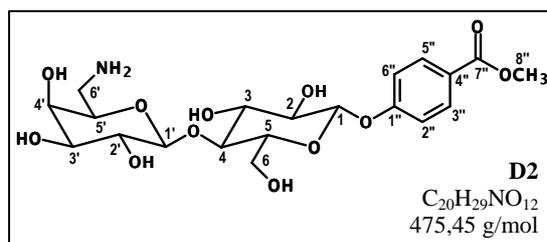
Dados dos espectros de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz): 168,38 (C-7''); 162,81 (C-1''); 132,48 (C-3'' e C-5''); 125,17 (C-4''); 117,29 (C-2'' e C-6''); 104,98 (C-1');

<sup>7</sup>Foram adicionadas duas gotas de DMSO-*d*<sub>6</sub> à amostra, para melhorar a solubilidade.

101,38 (C-1); 80,18 (C-4); 76,67, 76,19, 74,94, 74,58, 74,50, 72,30 (C-2, C-3, C-5, C-3', C-4' e C-5'); 70,46 (C-2'); 61,66 (C-6); 52,55 (C-6'); 52,43 (C-8'').

### 5.1.26 6-Amino-6-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**D2**)

À solução de **D1** (130 mg, 0,26 mmol) em metanol (15 mL) foi adicionado paládio-carvão 10% p/p (32 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e atmosfera de gás hidrogênio por 3 horas. Ao



término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 1:2 v/v), o catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O derivado **D2** foi obtido com 95% de rendimento (118 mg, 0,10 mmol) a partir de **D1**.

#### Caracterização de **D2**

Faixa de fusão: 123-127,5 °C.

$[\alpha]_D^{23}$  -21,1 (*c* 0,80, CH<sub>3</sub>OH).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3359, 1737, 1716, 1605, 1609, 1435 769.

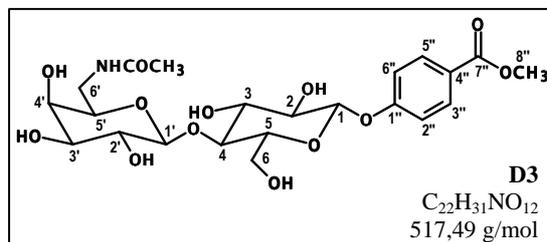
Dados do espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz): 7,91 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,6 Hz, H-3'' e H-5''); 7,13 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,6 Hz, H-2'' e H-6''); 5,11 (d,  $J_{1,2}$  7,6 Hz, H-1); 4,24 (d,  $J_{1',2'}$  6,6 Hz, H-1'); 3,81 (s, H-8''); 3,72-3,17 (m, 11H); 2,72 (d,  $J$  5,6, NH, 2H).

Dados do subespectro DEPT 135 ( $\delta$ , DMSO, 50 MHz)<sup>8</sup>: 131,96 (C-3'' e C-5''); 116,90 (C-2'' e C- 6''); 104,43 (C-1'); 100,19 (C-1); 80,03 (C-4); 77,04, 76,00, 74,26, 73,88, 71,41, (C-2, C-3, C-5, C-3', C-4' e C-5'); 69,58 (C-2'); 60,72 (C-6); 52,81 (C-8''); 42,92 (C-6').

<sup>8</sup> O subespectro DEPT 135 de **D2** não foi calibrado.

### 5.1.27 6-Acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (D3) [adaptado de Onodera e Kitaoka (1960)]

A uma solução de **D1** (200 mg, 0,4 mmol) em metanol anidro (5 mL) foram adicionados paládio-carvão 10% p/p (50 mg). A mistura permaneceu sob agitação magnética e sob



atmosfera de gás hidrogênio por 2 horas. Ao término da reação de redução do grupo azido (CCD, acetato de etila/metanol 8:2 v/v), anidrido acético (0,1 mL, 0,99 mmol) foi adicionado, sob agitação magnética, em banho de gelo. Durante todo o procedimento o sistema foi protegido de umidade. Após 20 minutos (CCD, diclorometano/metanol 85:15 v/v), com o término da reação, foi adicionado gelo pilado. O catalisador foi separado por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo obtido foi recristalizado de etanol e forneceu **D3** com 70% de rendimento (143 mg, 0,28 mmol) a partir de **D1** (duas etapas).

#### Caracterização de **D3**

Faixa de fusão: 211-211,5 °C.

$[\alpha]_D^{23}$  -6,0 (c 1, CH<sub>3</sub>OH).

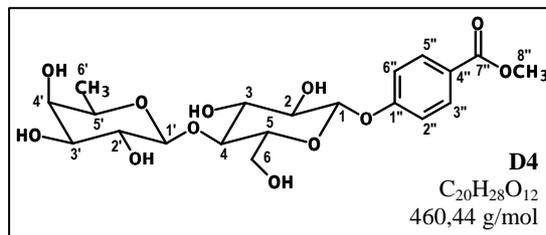
Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3600, 3396, 1738, 1693, 1629, 772.

Dados do espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 7,93 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,4 Hz, H-3'' e H-5''); 7,86 (t, NH); 7,15 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,4 Hz, H-2'' e H-6''); 5,56 (d,  $J$  5,0 Hz, OH); 5,14-5,10 (m, H-1 e OH); 4,81 (d,  $J$  4,4 Hz, OH); 4,69 (t,  $J$  5,5 Hz, OH); 4,66-4,63 (m, 2H, OH); 4,27 (d,  $J_{1',2'}$  6,6 Hz, H-1'); 3,84 (s, 3,80-3,75); 3,80-3,76 (m, H-6a); 3,69-3,29 (m, 10H); 3,21-3,17 (m, H-6b'); 1,86 (s, COCH<sub>3</sub>).

Dados do espectros de RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz): 169,92 (C-7); 165,81 (C-7''); 160,96 (C-1''); 131,05 (C-3'' e C-5''); 123,04 (C-4''); 116,00 (C-2'' e C-6''); 103,32 (C-1'); 99,34 (C-1); 79,09 (C-4); 75,05; 74,34, 73,04, 72,99, 72,77 (C-2, C-3, C-5, C-3' e C-5'); 70,39 (C-2'); 68,37 (C-4'); 59,85 (C-6); 51,88 (C-8''); 39,26 (C-6'); 22,54 (C-8).

### 5.1.28 6-Desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**D4**) [adaptado de Westerlind *et al.* (2005)]

Foram adicionados a **23** (página 100), obtido a partir de 950 mg (0,95 mmol) de **22** (página 99), acetato de etila (35 mL), paládio-carvão 10% p/p (1,64 mg) e peneira molecular de 4 Å (5,4 g). A mistura permaneceu no aparato



de hidrogenação catalítica, sob agitação mecânica e pressão de 1,4 atm de gás hidrogênio, por oito dias. A mistura reagente foi filtrada e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi novamente submetido às condições de reação (35 mL de acetato de etila, 1 g de paládio-carvão, 5,4 g de peneira molecular) por mais dois dias. Ao término da reação (CCD, diclorometano/acetonitrila 98:2 v/v), a mistura foi filtrada e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo (630 mg) foi adicionado à solução de metóxido de sódio gelada (80 mL). A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por cinco horas. Ao término da reação (CCD, acetato de etila/metanol 2:1 v/v), o meio reagente foi neutralizado com resina de troca catiônica Amberlite IRA 120. A resina foi separada por filtração e o solvente foi destilado à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por CCS (sílica A, 24 x 1,8 cm, diclorometano/metanol 88:12 v/v). O derivado **D4** foi obtido com 37% de rendimento (160 mg, 0,35 mmol) a partir de **22**.

#### Caracterização de **D4**

Faixa de fusão: 230-232 °C.

$[\alpha]_D^{24} +10,0$  (*c* 0,50, CH<sub>3</sub>OH).

Dados do espectro de IV ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): 3393, 1704, 1607, 1509, 1436, 769.

Dados dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ , DMSO, 400 MHz): 7,93 (d,  $J_{3'',2''}=J_{5'',6''}$  8,6 Hz, H-3'' e H-5''); 7,15 (d,  $J_{2'',3''}=J_{6'',5''}$  8,6 Hz, H-2'' e H-6''); 5,58 (d,  $J$  5,2 Hz, OH); 5,12-5,10 (m, H-1 e OH); 4,80 (s, OH); 4,77 (s, OH); 4,66 (t,  $J$  5,5 Hz, OH); 4,62 (d,  $J$  4,6 Hz, OH); 4,25 (m, H-1'); 3,83 (s, H-8''); 3,78-3,74 (m, 1H); 3,68-3,61 (m, 3H); 3,60-3,40 (sinais encobertos pelo sinal da água do solvente, 5H); 3,38-3,34 (m, 3H); 1,17 (d,  $J$  6,2 Hz, H-6').

Dados do espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO, 100 MHz): 165,98 (C-7''); 161,08 (C-1''); 131,21 (C-3'' e C-5''); 123,18 (C-4''); 116,14 (C-2'' e C-6''); 103,53 (C-1'); 99,40 (C-1); 79,73 (C-4); 75,09, 74,71, 73,41, 73,05, 70,96, 70,62, 70,24 (C-2, C-3, C-5, C-2', C-3', C-4' e C-5'); 59,93 (C-6); 52,04 (C-8''); 16,40 (C-6').

## 5.2 Ensaio de inibição de hemaglutinação mediada por lectina de *Erythrina cristagalli* [adaptado de Konosy *et al.* (2003)]

### 5.2.1 Métodos Gerais

A detecção do título de hemaglutinação e os ensaios de inibição da hemaglutinação foram realizados em poços de placa de microtitulação (96 poços), em um volume final de 150  $\mu\text{L}$ .

Empregou-se solução aquosa a 0,15 mol/L de cloreto de sódio, 5 mmol/L de cloreto de cálcio e 5 mmol/L de sulfato de manganês (solução salina com cálcio e manganês), como diluente da lectina, das substâncias analisadas e no preparo da suspensão de eritrócitos.

Para a preparação da suspensão de eritrócitos, as células obtidas de sangue do tipo O humano tratado com agente anticoagulante, separadas por centrifugação, foram lavadas com solução salina 0,9%. O sedimento de hemácias obtido foi ressuscitado em solução salina com cálcio e manganês.

### 5.2.2 Detecção do título de hemaglutinação e preparação da solução da lectina

À soluções da lectina de *Erythrina cristagalli* (50  $\mu\text{L}$ ), em 12 diluições seriadas 1:2, a partir de 0,2% m/v, foi adicionada suspensão de eritrócitos 1% v/v (100  $\mu\text{L}$ ). O experimento foi realizado em triplicata. Após uma hora, foi feita a leitura do título de hemaglutinação. O título encontrado foi de 32 UH<sup>9</sup>, para solução de lectina 0,2% m/v. A solução de lectina empregada no ensaio de hemaglutinação foi preparada pela diluição a 1:32 v/v da solução a 0,2% m/v.

---

<sup>9</sup> O título de hemaglutinação, expresso em Unidades de Hemaglutinação (UH), é dado como o inverso da maior diluição capaz de apresentar aglutinação visível a olho nu (FARIA *et al.*, 2004).

### 5.2.3 Ensaio de inibição de hemaglutinação

Foram adicionados, em poços diferentes, soluções dos carboidratos D-galactose e lactose (50  $\mu$ L) e dos derivados **A1-A4**, **B1-B7**, **C2-C5** e **D1-D4** em diluições seriadas 1:2 a partir de 0,025-0,1 mol/L (Tabela 5.2.3.1). Em cada poço foi adicionada solução de lectina (50  $\mu$ L). Após 30 minutos, foi adicionada suspensão de eritrócitos 2% v/v. Após uma hora, foi feita a leitura da inibição da hemaglutinação a olho nu (considera-se a menor concentração capaz de inibir a hemaglutinação). O experimento foi realizado em triplicata. A atividade inibitória da hemaglutinação mediada por lectina foi expressa em valores de inibição relativa à inibição promovida pela D-galactose.

Tabela 5.2.3.1 – Concentrações iniciais das soluções dos carboidratos e derivados empregadas no ensaio de hemaglutinação.

Carboidratos e derivados	Concentração (mol/L)*	Carboidratos e derivados	Concentração (mol/L)*
<b>D-galactose</b>	0,2	<b>B6</b>	0,2
<b>lactose</b>	0,2	<b>B7</b>	0,2
<b>A1</b>	0,2	<b>C2</b>	0,025
<b>A2</b>	0,2	<b>C3</b>	0,1
<b>A3</b>	0,2	<b>C4</b>	0,1
<b>A4</b>	0,2	<b>C5</b>	0,067
<b>B1</b>	0,2	<b>D1</b>	0,2
<b>B2</b>	0,2	<b>D2</b>	0,067
<b>B3</b>	0,2	<b>D3</b>	0,2
<b>B4</b>	0,1	<b>D4</b>	0,2
<b>B5</b>	0,1		

\*Relativa a solubilidade da amostra em solução salina com cálcio e manganês.

## 6 CONCLUSÃO

A partir de reações clássicas da química de carboidratos que levaram à modificações nas posições 1, 6 e 6' da lactose, foram sintetizados vinte e um derivados. As modificações na posição 1 levaram a uma série de lactosilamidas e sulfonamidas (lactosilacetamida (**A1**), -benzamida (**A2**), -metanossulfonamida (**A3**) e -benzenossulfonamida (**A4**)) e a uma de lactosídeos aromáticos (lactosídeos de benzila (**B1**), de 2-feniletila (**B2**), de fenila (**B3**), de 4-metoxicarbonilfenila (**B4**), de 4-carboxifenila (**B5**), de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (**B6**), de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (**B7**), de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (**B8**)). Duas outras séries foram resultantes da remoção das hidroxilas das posições 6 e 6' do lactosídeo de 4-metoxicarbonilfenila ou da substituição destas pelos grupos iodo, azido, amino, e acetilamino, que levaram aos derivados 6- e 6'-desoxi (**C5** e **D4**) e aos derivados 6-iodo (**C1**), 6- e 6'-azido (**C2** e **D1**), 6- e 6'-amino (**C3** e **D2**), 6- e 6'-acetilamino (**C4** e **D3**), respectivamente.

Com exceção dos derivados **B8** e **C1**, por estes serem pouco solúveis em água, os derivados da lactose sintetizados foram avaliados em ensaio de inibição de hemaglutinação mediada pela lectina de *Erythrina cristagalli*. De acordo com os resultados obtidos neste ensaio, tanto as modificações em C-1, quanto as em C-6 não resultaram em aumento da afinidade dos derivados pela lectina. Ao que parece, as modificações destas posições não propiciaram interações adicionais que pudessem ser evidenciadas pelo ensaio de inibição da hemaglutinação. As modificações em C-6' resultaram, de uma maneira geral na redução ou perda de afinidade pela lectina. As potências relativas apresentadas por esta série de derivados evidenciaram que a remoção da hidroxila desta posição não foi compensada por possíveis interações com os grupos azido, amino ou acetamido adicionados. A perda da afinidade decorrente da remoção do grupo hidroxila, de acordo com o resultado apresentado para o derivado 6'-desoxi **D1**, demonstra a importância da interação da hidroxila de 6' com o sítio de ligação, que ocorre por meio de uma ligação de hidrogênio mediada por água, de acordo com os dados cristalográficos do complexo da lectina com a lactose (SVENSSON *et al.*, 2002; TURTON *et al.*, 2004). A substituição da hidroxila pelo grupos amino (**D2**) e acetilamino (**D3**) parece não permitir a formação de ligações de hidrogênio com estes grupos e o sítio de interação da lectina.

## REFERÊNCIAS

AHMAD, N.; GABIUS, H. J.; SABESAN, S.; OSCARSON, S.; BREWER, C. F. Thermodynamic binding studies of bivalent oligosaccharides to galectin-1, galectin-3, and the carbohydrate recognition domain of galectin-3. *Glycobiology*, v. 14, p. 817-825, 2004.

ANDRÉ, S.; PEI, Z.; SIEBERT, H. C.; RAMSTRÖM, O.; GABIUS, H. J. Glycosyldisulfides from dynamic combinatorial libraries as *O*-glycoside mimetics for plant and endogenous lectins: their reactivities in solid-phase and cell assays and conformational analysis by molecular dynamics simulations. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 14, p. 6314-6326, 2006.

AUB, J. C.; SANFORD, B. H.; COTE, M. N. Studies on reactivity of tumor and normal cells to a wheat germ agglutinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 54, p. 396-399, 1965.

AUB, J. C.; TIESLAU, C.; LANKESTER, A. Reactions of normal and tumor cell to enzymes. I. Wheat-germ lipase and associated mucopolysaccharides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 50, p. 613-619, 1963.

BARONDES, S. H. Lectins: their multiple endogenous cellular functions. *Annual Reviews of Biochemistry*, v. 50, p. 207-231, 1981.

BELL, D. J.; LORBER, J. Use of the benzyl radical in synthesis of methylated sugars. Part I. 4,6-dimethyl glucose. *Journal of the Chemical Society*, v. 12, p. 453-455, 1940.

BERINGER, J.E.; BREWIN, N.; JOHNSTON, A. W.; SHULMAN, H.M., HOPWOOD, D. A. The rhizobium legume symbiosis. *Proceedings of the Royal Society of London*, v. 204, p. 219-233, 1979.

BEZOUŠKA, K. Design, functional evaluation and biomedical applications of carbohydrate dendrimers (glycodendrimers). *Reviews in Molecular Biothechnology*, v. 90, p. 269-290, 2002.

BIANCHI, A.; BERNARDI, A. Traceless Staudinger ligation of glycosyl azides with triarylphosphines: stereoselective synthesis of glycosyl amides. *Journal of Organic Chemistry*, v. 71, p. 4565-4577, 2006.

BOAS, U; HEEGAARD, P. M. H. Dendrimers in drug research. *Chemical Society Reviews*, v. 33, p. 43-63, 2004.

BOETNER, D.; HUSTON, C.; PETRI JR, W. A. Galactose/*N*-acetylgalactosamine lectin: the coordinator of host cell killing. *Journal of Bioscience*, v. 27, n. 6, p. 553-557, 2002.

BONNEIL, E.; YOUNG, N. M.; LIS, H; SHARON, N.; THIBAUT, P. Probing genetic variation and glycoforms distribution in lectins of *Erythrina* genus by mass spectrometry. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 426, p. 241-249, 2004.

BOUCKAERT, J.; BERGLUND J.; SCHEMBRI, M.; DE GENST, E.; COOLS, L.; WUHRER, M.; HUNG, C. S.; PINKNER, J.; SLATTEGARD, R.; ZAVIALOV, A.; CHOUDHURY, D.; LANGERMANN, S.; HULTGREN, S. J.; WYNS, L.; KLEMM, P.; OSCARSON, S.; KNIGHT, S. D.; GREVE, H. Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the *Escherichia coli* FimH adhesin. *Molecular Microbiology*, v. 55, p. 441-455, 2005.

BOYD, W. C.; SHAPLEIGH, E. Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, v. 119, p. 419, 1954.

BREWER, C. F.; MICELI, M. C.; BAUM, L. G. Clusters, bundles, arrays and lattices: novel mechanisms for lectin-saccharide-mediated cellular interactions. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 12, p. 616-623, 2002.

COLTRI, K. C.; CASABONA-FORTUNATO, A. S.; GENNARI-CARDOSO, M. L.; PINZAN, C. F.; RUAS, L. P.; MARIANO V. S.; MARTINEZ, R.; ROSA, J. S.; PANUNTO-CASTELO, A.; ROQUE-BARREIRA, M. C. Paracoccin, a GlcNAc-binding lectin from *Paracoccidioides brasiliensis*, binds to laminin and induces TNF- $\alpha$  production by macrophages. *Microbes and Infection*, v. 8, p. 704-713, 2006.

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

CORBELL, J. B.; LUNDQUIST J. J.; TOONE, E. J. A comparison of biological and calorimetric analyses of multivalent glycodendrimer ligands for concanavalin A. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 11, p. 95-111, 2000.

COREY, E. J.; SZÉKELY, I.; SHINER, C. S. Synthesis of 6,9 $\alpha$ -oxido-11 $\alpha$ , 15 $\alpha$ -dihydroxyprosta-(E)5,(E)13-dienoic acid, an isomer of PGI<sub>2</sub> (vane's PGX). *Tetrahedron Letters*, v. 18, p. 3529-3532, 1977.

CRICH, D.; YAO, Q.; BOWERS, A. A. On the regioselectivity of the Hanessian–Hullar reaction in 4,6-*O*-benzylidene protected galactopyranosides. *Carbohydrate Research*, v. 341, p. 1748-1752, 2006.

CZIFRÁK, K.; HADADY, Z.; DOCSA, T.; GERGELY, P.; SCHMIDT, J.; WESSJOHANN, L.; SOMSÁK, L. Synthesis of *N*-( $\beta$ -D-glucopyranosyl) monoamides of dicarboxylic acids as potential inhibitors of glycogen phosphorylase. *Carbohydrate Research*, v. 341, p. 947-956, 2006.

DEFERRARI, J. O.; THIEL, I. M. E.; CADENAS, R. A. The reaction of ammonia with acylated disaccharides: Part X. Octa-*O*-benzoyl-lactose and other benzoyl derivatives of lactose. *Carbohydrate Research*, v. 29, p. 141-146, 1973.

DINEV, Z.; GANNON, C. T.; EGAN, C.; WATT, J. A.; MCCONVILLE, M. J.; WILLIAMS, S. J. Galactose-derived phosphonate analogues as potential inhibitors of phosphatidylinositol biosynthesis in mycobacteria. *Organic and Biomolecular Chemistry*, v. 5, p. 952-959, 2007.

ELGAVIS, S.; SHAANAN, B. Structures of the *Erythrina corallodendron* lectin and of its complexes with mono- e dissacarides. *Journal of Molecular Biology*, v. 277, p. 917-932, 1998.

FARIA, R. A. P. G.; ANDRADE-NETO, M.; PINTO, L. S.; CASTELLÓN, R. R.; CALVETE, J. J.; CAVADA, B. S. Caracterização química parcial e bioquímica de sementes de *Bauhinia forficata* link. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 54, p. 349-353.

FIRON, N.; ASHKENAZI, S.; MIRELMAN, D.; OFEK, I.; SHARON, N. Aromatic alphasugcosides of mannose are powerful inhibitors of the adherence of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to yeast and intestinal epithelial cells. *Infection and Immunity*, v. 55, p. 472-476, 1987.

FIRON, N.; OFEK, I.; SHARON, N. Carbohydrate specificity of the surface lectins of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella typhimurium*. *Carbohydrate Research*, v. 120, p. 235-249, 1983.

FIRON, N.; OFEK, I.; SHARON, N. Carbohydrate-binding sites of the mannospecific fimbrial lectins of enterobacteria. *Infection and Immunity*, v. 43 p. 1088-1090, 1984.

FISHER, J. H.; HAWKINS, W. L.; HIBBERT, H. Studies on lignin and related compounds. XLVII. The synthesis of xylosides related to lignin plant constituents. *Journal of the American Chemical Society*, v. 62, p. 1412, 1940.

GABIUS, H. J. The how and why of protein-carbohydrate interaction: a primer to the theoretical concept and a guide to application in drug design. *Pharmaceutical Research*, v. 15, p. 23-29, 1998.

GALBRAITH, W.; GOLDSTEIN, I. J. Phytohemagglutinin of the lima bean (*Phaseolus lunatus*). Isolation, characterization, and interaction with type A blood-group substance. *Biochemistry*, v. 11, p. 3976-3984, 1972.

GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. J. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration. Part 2. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction 1*, p. 2866-2868, 1980.

GIGUÈRE, D.; SATO, S.; ST-PIERRE, C.; SIROISA, S.; ROY, R. Aryl O- and S-galactosides and lactosides as specific inhibitors of human galectins-1 and -3: role of electrostatic potential at O-3. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 16, p. 1668-1672, 2006.

HALL, D. M. A practical synthesis of methyl 4-6-O-benzylidene  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucopyranoside. *Carbohydrate Research*, v. 86, p. 158-160, 1980.

HANESSIAN, S.; PLESSAS, N. R. Reaction of *O*-benzylidene sugars with *N*-bromosuccinimide. II. Scope and synthetic utility in the methyl 4,6-*O*-benzylidenehexopyranoside series. *Journal of Organic Chemistry*, v. 34, p. 1035-1044, 1969a.

HANESSIAN, S.; PLESSAS, N. The reaction of *O*-benzylidene sugars with *N*-bromosuccinimide. III. Applications to the synthesis of aminodeoxy and deoxy sugars of biological importance. *Journal of Organic Chemistry*, v. 34, p. 1045-1053, 1969b.

HANSEN, H. C.; MAGNUSSON, G. Synthesis of selected aminodeoxy analogues of galabiose and globotriose. *Carbohydrate Research*, v. 322, p. 166-180, 1999.

HELFERICH, B.; GRIEBEL, R. Die fermentative spaltung von bis-glycosiden des protocatechu-aldehyds. *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 544, p. 191-205, 1940.

HORST, A. K.; KÖTTER, S.; LINDHORST, T. K.; LUDWIG, A.; BRANDT, E.; WAGENER, C. Binding inhibition of type 1 frimbriae to human granulocytes: a flow cytometric inhibition assay using trivalent clusters mannose. *Medical Microbiology and Immunology*, v. 190, p. 145-149, 2001.

HSIEH, S. Y.; JAN, M. D.; PATKAR, L. N.; CHEN, C. T.; LIN, C. C. Synthesis of a carboxyl linker containing Pk trisaccharide. *Carbohydrate Research*, v. 340, p. 49-57, 2005.

HSU, D. K.; ZUBERI, R. I.; LIU, F. T. Biochemical and biophysical characterization of human recombinant IgE-binding protein, an S-type animal lectin. *Journal of Biological Chemistry*, v. 267, p. 14167-14174, 1992.

<http://www.rcsb.org/pdb/>, acessado em julho de 2007.

HUANG, X.; TSUJI, N.; MIYOSHI, T.; NAKAMURA-TSURUTA, S.; HIRABAYASHI, J.; FUJISAKI, K. Molecular characterization and oligosaccharide-binding properties of a galectin from the argasid tick *Ornithodoros moubata*. *Glycobiology*, v. 17, p. 313-323, 2007.

HUDSON, C. S.; KUNS, A. Relations between rotatory power and structures in the sugar group. X. the chloro-, bromo- and iodo-acetyl derivatives of lactose. *Journal of American the Chemical Society*, v. 47, p. 2052-2055, 1925.

IGARASHI, K. The Koenigs-Knorr reaction. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, v. 34, p. 243-283, 1977.

JACOBSSON, M.; MALMBERG, J.; ELLERVIK, U. Aromatic *O*-glycosylation. *Carbohydrate Research*, v. 341, p. 1266-1281, 2006.

JEZO, I. Preparation of 6-, 6'-, and 6,6'-acetamido derivatives of methyl lactosides. *Chemické Zvesti*, v. 32, p. 493-500, 1978.

JUNG, K.; HOCH, M.; SCHIMIDT, R. R. Selectively protected lactose and 2-azido lactose, building blocks for glycolipid synthesis. *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 1989, p. 1099-1106, 1989.

KAMITAKAHARA, H.; NAKATSUBO, F. Synthesis of diblock copolymers with cellulose derivatives. 1. Model study with azidoalkyl carboxylic acid and cellobiosylamine derivative. *Cellulose (Dordrecht, Netherlands)*, v. 12, p. 209-219, 2005.

KONOZY, E. H. E.; MULAY, R.; FAÇA, V.; WARD, R. J. GREENE, L. J.; ROQUE-BARRIERA, M. C.; SABHARWAL, S.; BHIDE, S. Purification, some properties of a D-galactose-binding leaf lectin from *Erythrina indica* and further characterization of seeds lectin. *Biochimie*, v. 84, p. 1035-1043, 2002.

KONOZY, E. H.; BERNARDES, E. S.; ROSA, C.; FAÇA, V.; GREENE, L. J.; WARD, R. J. Isolation, purification, and physicochemical characterization of a galactose-binding lectin from seeds of *Erythrina speciosa*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 410, p. 222-229, 2003.

KUHN, R.; KRÜGER, G. 1-Acetamino-lactose. *Chemische Berichte*, v. 87, p. 1544-1547, 1954.

LEE, Y. C.; LEE, R. Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Accounts Chemical Research*, v. 28, p. 321-327, 1995.

LI, S. C.; MENG, X. B.; CAI, M. S.; LI, Z. J. Optimized procedure for the synthesis of 6-azido-6-deoxy-galactopyranosides from 6-O-tosyl-galactopyranosides. *Synthetic Communications*, v. 36, p. 637-643, 2006.

LIENER, I. E.; SHARON, N.; GOLDSTEIN, I. J. *The lectin: properties, functions, and applications in biology and medicine*. Orlando: Academic Press, Inc., 1986.

LIKHOSHERSTOV, L. M.; NOVIKOVA, O. S.; DEREVITSKAJA V. A.; KOCHETKOV, N. K. A new simple synthesis of amino sugar  $\beta$ -D-glycosylamines. *Carbohydrate Research*, v. 146, p. C1-C5, 1986.

LIS, H.; JOUBERT, F. J.; SHARON, N.; Isolation and properties of N-acetyllactosamine-specific lectins from nine *Erythrina* species. *Phytochemistry*, v. 24, n. 12, p. 2803-2809, 1985.

LIS, H.; SHARON, N. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chemical Reviews*, v. 98, p. 637-674, 1998.

LORIS, R. Principles of structures of animal and plant lectin. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1572, p. 198-208, 2002.

LUBINEAU, A.; AUGÉ, J.; DROUILLAT, B. Improved synthesis of glycosylamines and a straightforward preparation of N-acylglycosylamines as carbohydrate-based detergents. *Carbohydrate Research*, v. 266, p. 211-219, 1995.

LUNDQUIST, J. J.; TOONE, E. J. The cluster glycoside effect. *Chemical Reviews*, v. 102, p. 555-578, 2002.

MA S.-J.; MIZUTANI, M.; HIRATAKE, J.; HAYASHI, K.; YAGI, K.; WATANABE, N.; SAKATA, K. Substrate specificity of  $\beta$ -primeverosidase, a key enzyme in aroma formation during oolong tea and black tea manufacturing. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 65, p. 2719-2729, 2001.

MAKELA, O. Studies in hemagglutinins of Leguminosae seeds. *Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae*, suplemento 11, 1957.

MAMMEN, M.; CHOI, S. K.; WHITESIDES, G. M. Polyvalent interactions in biological systems: implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors. *Angewandte Chemie, International Edition in English*, v. 37, p. 2754-2794, 1998.

MARTÍNEZ, C. R.; CHANWAY, C. P.; ALBERTINI, A.; FIGUEIREDO, M. V. B.; SAMPAIO, A. H.; CASTELLON, R. R. CAVADA, B. S.; LIMA-FIHO, J. L. The interaction of *Vaitarea macrocarca* and *Rhizobium tropici*: net  $H^+$  efflux stimulus and alteration of extracellular  $Na^+$  concentration. *FEMS Microbiology Letters*, v. 238, p. 17-22, 2004.

MAUNIER, V.; BOULLANGER, P.; LAFONT, D.; CHEVALIER, Y. Synthesis and surface-active properties of amphiphilic 6-aminocarbonyl derivatives of D-glucose. *Carbohydrate Research*, v. 299, p. 49-57, 1997.

MICHAEL, A. *Journal of American Chemical Society*, v. 1, p. 305, 1879 *apud* JACOBSSON, M.; MALMBERG, J.; ELLERVIK, U. Aromatic O-glicosilation. *Carbohydrate Research*, v. 341, p. 1266-1281, 2006.

MONTGOMERY, E. M.; RICHTMYER, N. K.; HUDSON C. S. The preparation and rearrangement of phenylglycosides. *Journal of the American Chemical Society*, v. 64, p. 690-694, 1942.

MORGAN, W. T.; WATKINS, W. M. Unraveling the biochemical basis of blood group ABO and Lewis antigenic specificity. *Glycoconjugate Journal*, v. 17, p. 501-530, 2000.

NILSSON, C. L. Lectins: proteins that interpret the sugar code. *Analytical Chemistry*, p. 348A-353A, 2003.

NOWELL, P. C. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in culture of animal and human leukocytes. *Cancer Research*, v. 20, p. 462-466, 1960.

OFEK, I.; HASTY, D. L.; SHARON, N. Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v. 38, p. 181-191, 2003.

ONODERA, K.; KITAOKA, S. N-Acylation of unsubstituted glycosylamines. *Journal of Organic Chemistry*, v. 25, p. 1322-1325, 1960.

PACHECO, J.; SHIBAYAMA, M.; CAMPOS, R.; BECK, D. L.; HOUP, E.; PETRI, W. A., TSUTSUMIA, V. In vitro and in vivo interaction of *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin with various target cells: an immunocytochemical analysis. *Parasitology International*, v. 53, p. 35-47, 2004.

PETŐ, C.; BATA, G.; GYÖRGYDEÁK, Z.; SZTARICKAI, F. Zur darstellung der anomeren des hepta-O-acetylcellobiosyl-, -lactosyl-, -maltosyl- und -melibiosylazids. *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 1991, p. 505-507, 1991.

POLIZZOTTI, B. D.; KIICK, K. L. Effects of polymer structure on the inhibition of cholera toxin by linear polypeptide-based glycopolymers. *Biomacromolecules*, v. 7, p. 483-490, 2006.

PRIYA, K.; LOGANATHAN, D.  $\beta$ -Galactosidase catalysed transglycosylation in aqueous organic media using glycosylasparagine mimics as novel acceptors. *Tetrahedron*, v. 55, p. 1119-1128, 1999.

PUSZTAI, A. *Plant lectins (chemistry and pharmacology of natural products)*. Cambridge: Cambridge University Press, 1992, 271p.

QU, F.; LI, Y.-X.; SONG, N. Synthesis of hydrocortisone glycosylamine derivative. *Youji Huaxue*, v. 23, p. 361-367, 2003.

RICHARDSON, A. C. Nucleophilic replacement reactions of sulphonates: Part VI. A summary of steric and polar factors. *Carbohydrate Research*, v. 10, p. 395-402, 1969.

RÜDIGER H.; SIEBERT H. C.; SOLIS D.; JIMENEZ-BARBERO J.; ROMERO A.; LIETH C. W.; DIAZ-MAURINO T.; GABIUS H. J. Medicinal chemistry based on the sugar code: fundamentals of lectinology and experimental strategies with lectins as targets. *Current Medicinal Chemistry*, v. 28, p. 389-416, 2000.

RÜDIGER, H.; GABIUS, H. J. Plant lectin: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal*, v. 18, p. 589-613, 2001.

SABESAN, S.; NEIRA, S. Synthesis of glycosyl phosphates and azides. *Carbohydrate Research*, v. 223, p. 169-185, 1992.

SAHA, U. K.; ROY, R. First synthesis of N-linked glycopeptoid as new glycopeptidomimetics. *Tetrahedron Letters*, v. 36, p. 3635-3638, 1995.

SALAMEH, B. A.; LEFFLER, H.; NILSSON, U. J. 3-(1,2,3-Triazol-1-yl)-1-thio-galactosides as small, efficient, and hydrolytically stable inhibitors of galectin-3. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 15, p. 334-3346, 2005.

SALAMEH, B. A.; SUNDIN, A.; LEFFLER, H.; NILSSON, U. J. Thioureido N-acetyllactosamine derivatives as potent galectin-7 and 9N inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. v. 14, p. 1215-1220, 2006.

SHARON, N.; LIS, H. Lectins as cell recognition molecules. *Science*, v. 246, p. 227-234, 1989.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*, v. 14, p. 53R-62R, 2004.

SHARON, N. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1760, p. 527-537, 2006.

SHRIVER, Z.; RAGURAM, S.; SASISEKHARAN, R. Glycomics: a pathway to a class of new and improved therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, p. 863-873, 2004.

SINGHA, B.; ADHYA, M.; CHATTERJEE, B. P. Multivalent II [ $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-GlcpNAc] and T $\alpha$  [ $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-GalpNAc] specific Moraceae family plant lectin from the seeds of *Ficus bengalensis* fruits. *Carbohydrate Research*, v. 342, p. 1034-1043, 2007.

SÖRME, P.; ARNOUX, P.; KAHL-KNUTSSON, B.; LEFFLER, H.; RINI, J. M.; NILSSON, U. J. Structural and thermodynamic studies on cation- $\pi$  interactions in lectin-ligand complexes: high-affinity galectin-3 inhibitors through fine-tuning of an arginine-arene interaction. *Journal of the American Chemical Society*, v. 127, p. 1737-1743, 2005.

SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. The identification of the hemagglutinin of the jack bean with concanavalin A. *Journal of Bacteriology*, v. 32, p. 227-237, 1936.

SVENSSON, C.; TENEBERG, S.; NILSSON, C. L.; KJELLBERG, A.; SCHWARZ, N.; KRENGEL, U. High-resolution crystal structures of *Erythrina cristagalli* lectin in complex with lactose and 2- $\alpha$ -fucosyllactose and correlation with thermodynamic binding data. *Journal of Molecular Biology*, v. 321, p. 69-83, 2002

TAYLOR, M. E.; DRICKAMER, K. *Introduction to glycobiology*. New York: Oxford University Press Inc., 2003, 207p.

TROPPER, F. D.; ANDERSON, F. O.; BRAUM, S.; ROY, R. Phase transfer catalysis as a general and stereoselective entry into glycosyl azides from glycosyl halides. *Synthesis*, v. 7, p. 618-620, 1992.

TURTON, K.; NATESH, R.; THIYAGARAJAN, N.; CHADDOCK, J. A.; ACHARYA, K. R. Crystal structures of *Erythrina cristagalli* lectin with bound N-linked oligosaccharide and lactose. *Glycobiology*, v. 14, p. 923-929, 2004.

VON DER LIETH, C. W.; FRANK, M.; LINDHORST, T. K. Molecular dynamics simulation of glycoclusters and glycodendrimers. *Reviews in Molecular Biotechnology*, v. 90, p. 311-337, 2002.

WESTERLIND, U.; HAGBACK, P.; TIDBÄCK, B.; WIİK, L.; BLIXT, O.; RAZI, N.; NORBERG, T. Synthesis of deoxy and acylamino derivatives of lactose and use of these for

probing the active site of *Neisseria meningitidis* N-acetylglucosaminyltransferase. *Carbohydrate Research*, v. 340, p. 221-233, 2005.

YAO, L.; YIN, J.; ZHANG, X.; LIU, Q.; LI, J.; CHEN, L.; ZHAO, Y.; GONG, P.; LIU, C. *Cryptosporidium parvum*: Identification of a new surface adhesion protein on sporozoite and oocyst by screening of a phage-display cDNA library. *Experimental Parasitology*, v. 115, p. 333-338, 2007.

ZHANG, Z.; MAGNUSSON, G. Synthesis of double-chain bis-sulfone neoglycolipids of the 2'-, 3'-, and 6-deoxyglobotrioses. *Journal of Organic Chemistry*, v. 60, p. 7304-7315, 1995.

ZHANG, Z.; MAGNUSSON, G. DDQ-Mediated oxidation of 4,6-*O*-methoxybenzylidene-protected saccharides in the presence of various nucleophiles: formation of 4-OH, 6-Cl, and 6-Br derivatives. *Journal of Organic Chemistry*, v. 61, p. 2394-2400, 1996a.

ZHANG, Z.; MAGNUSSON, G. Synthesis of double-chain bis-sulfone neoglycolipids of the 2-, 3-, and 6-deoxyglobotrioses. *Journal of Organic Chemistry*, v. 61, p. 2383-2393, 1996b.

APÊNDICE I ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

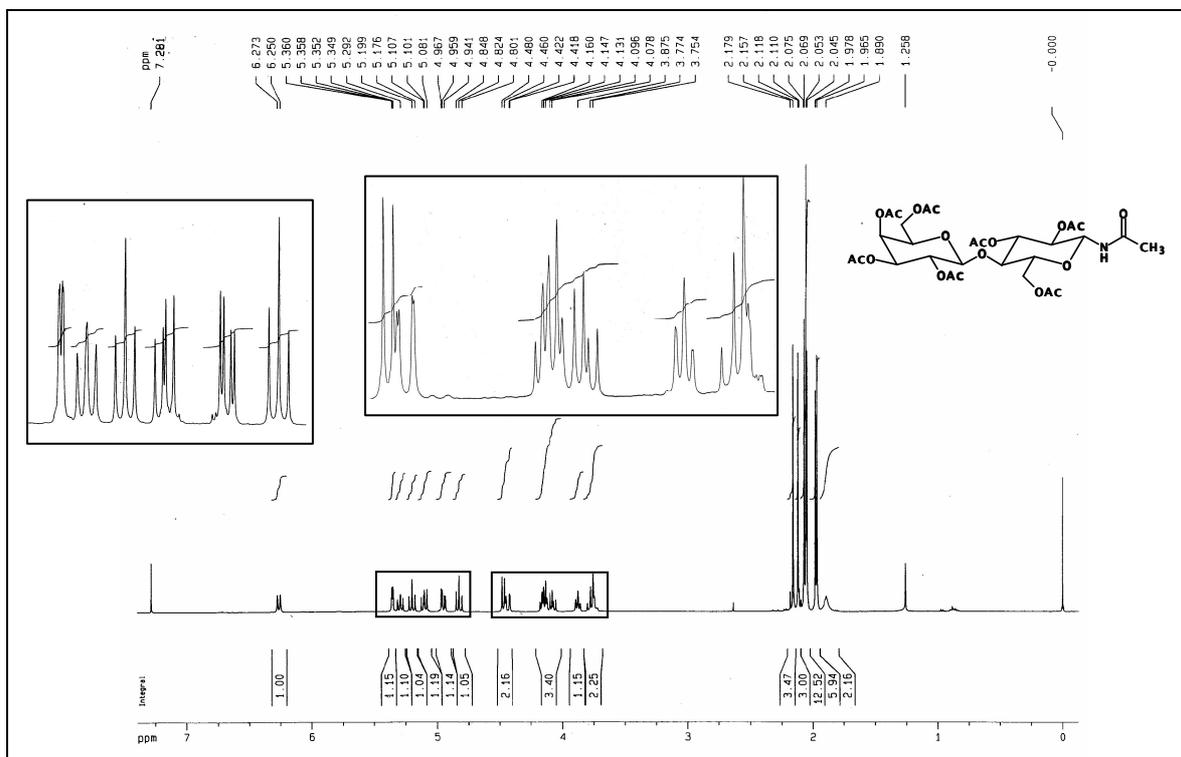


Figura I.1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **6** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

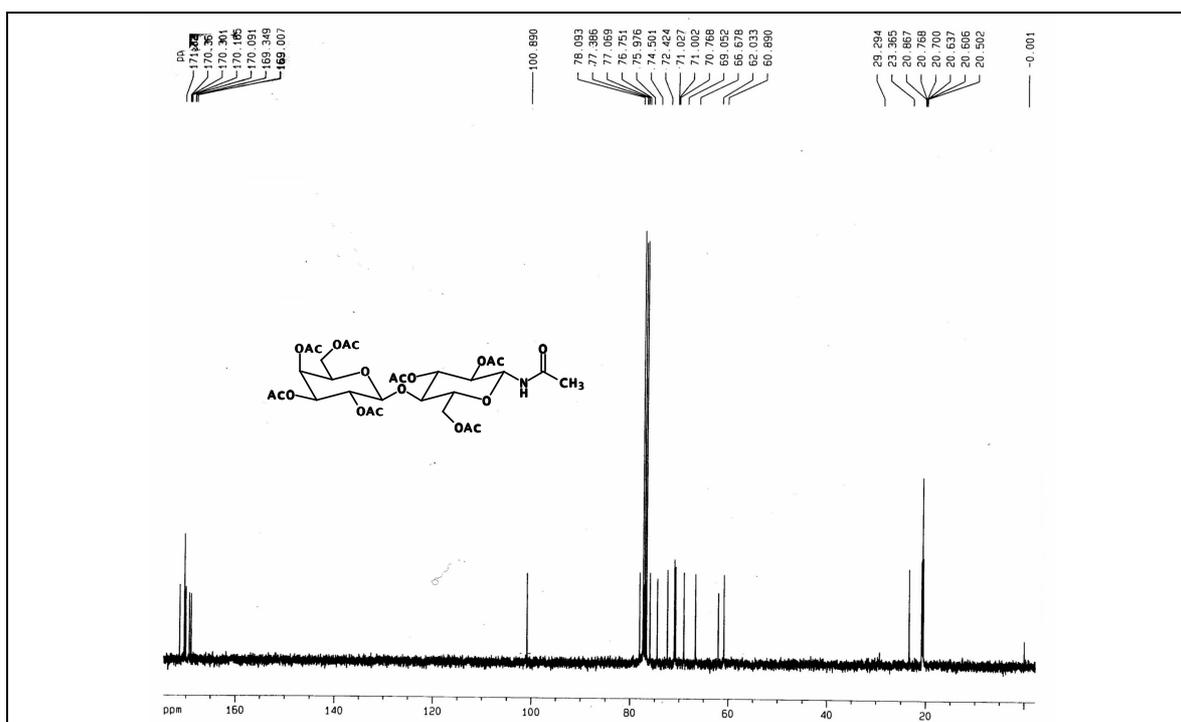


Figura I.2 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **6** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

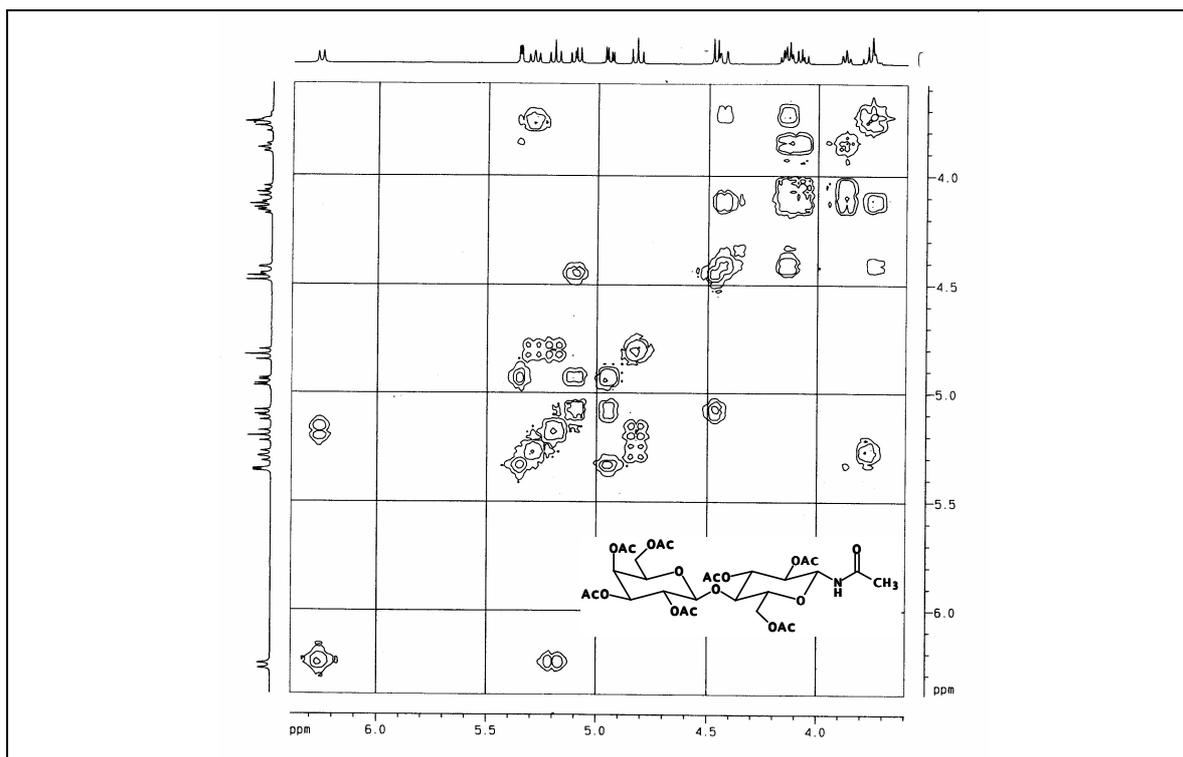


Figura I.3 – Mapa de contornos COSY de **6** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

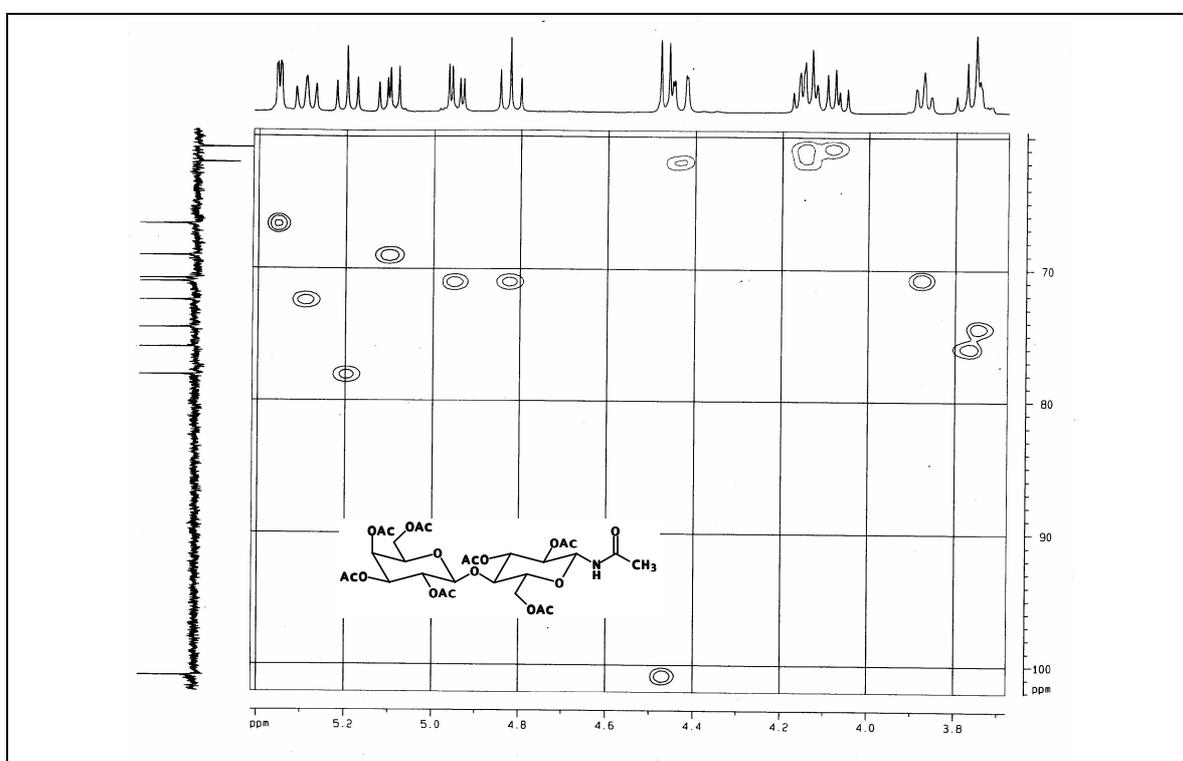


Figura I.4 – Mapa de contornos HSQC de **6** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

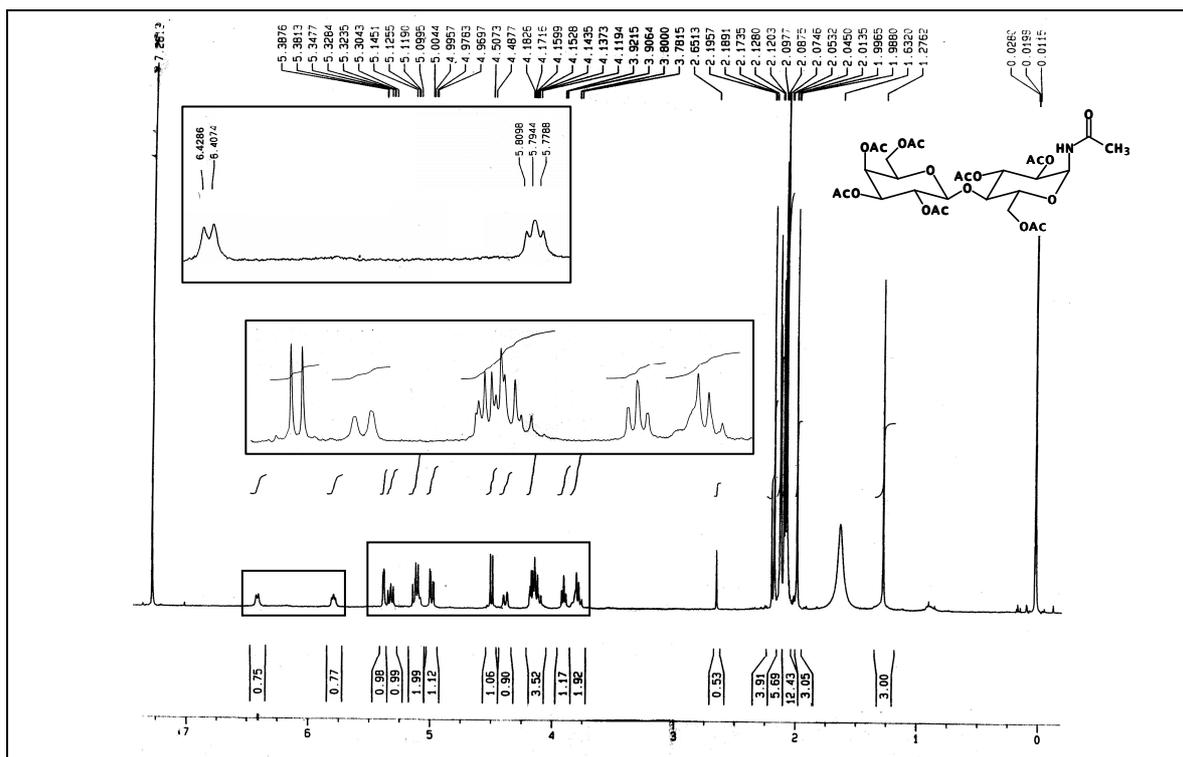
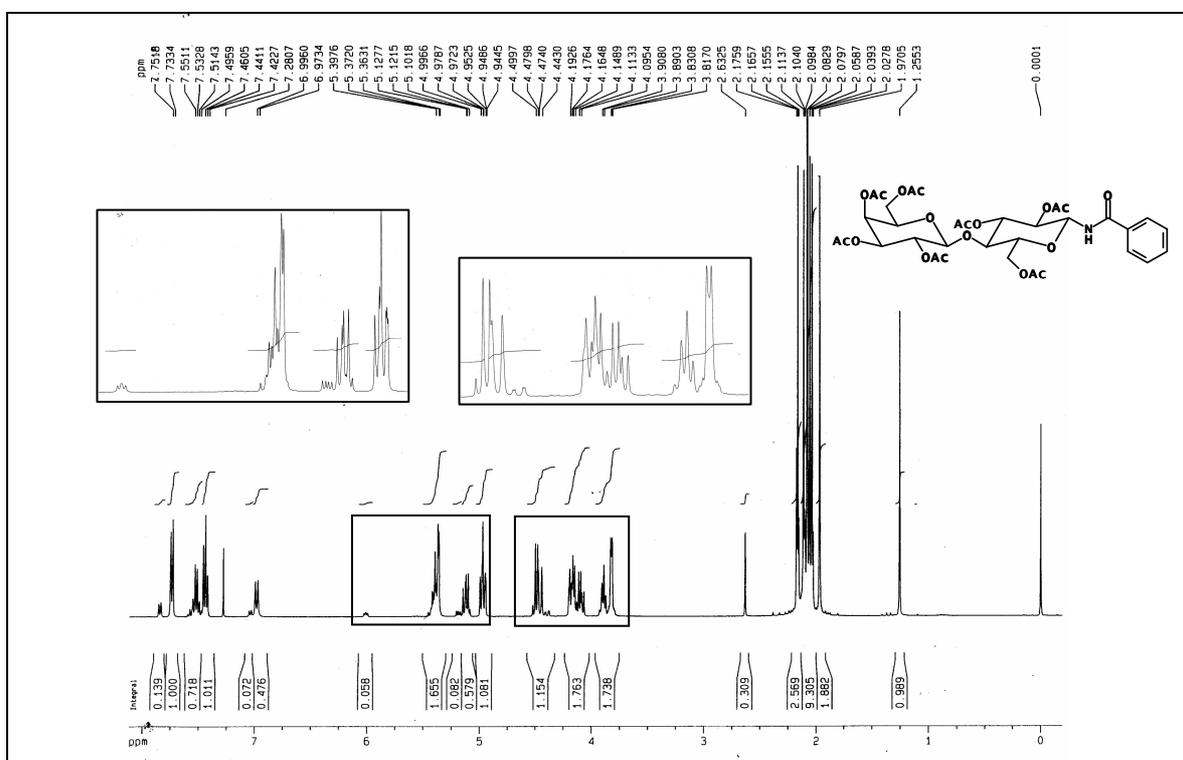


Figura I.5 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do anômero  $\alpha$  de **6** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



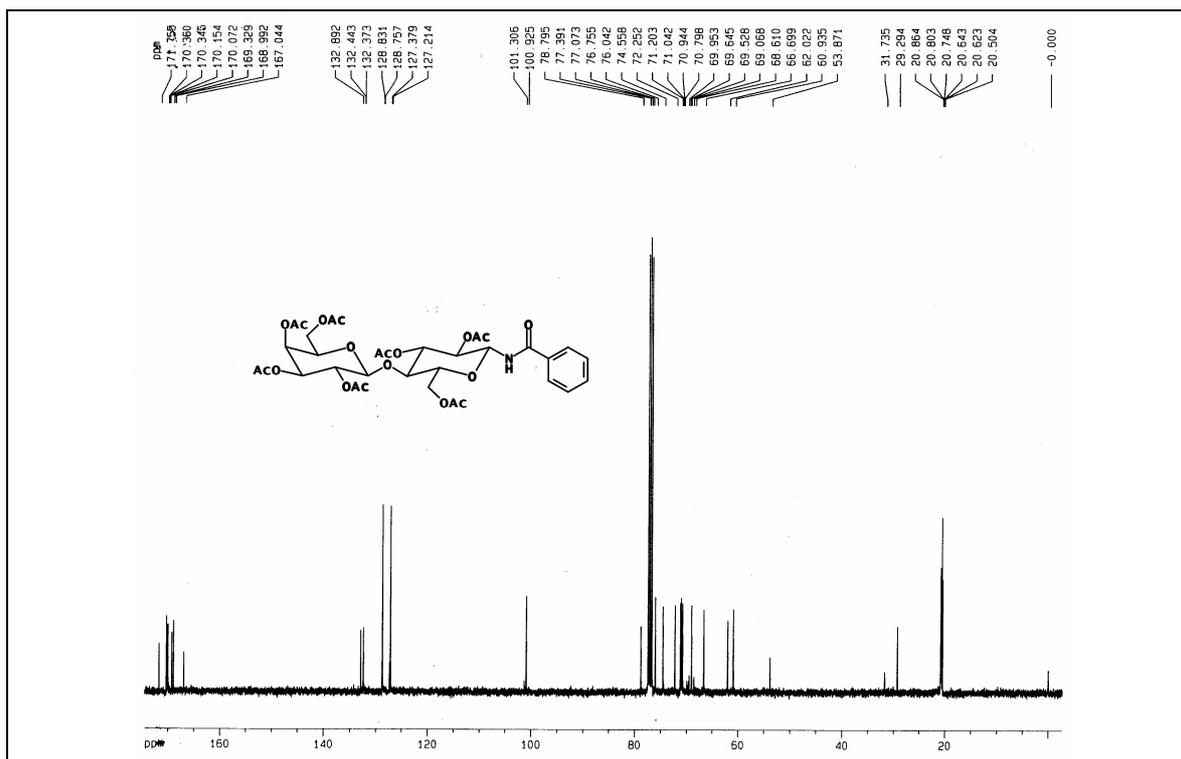


Figura I.7 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **7** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

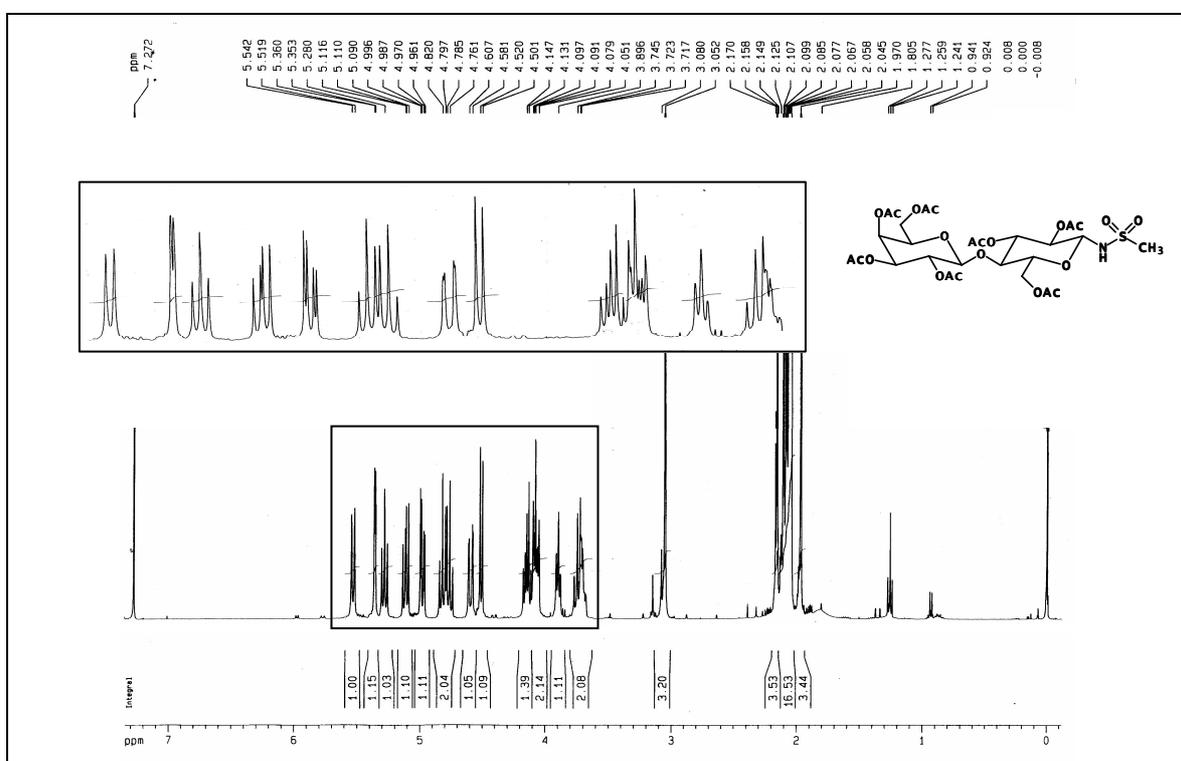


Figura I.8 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **8** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

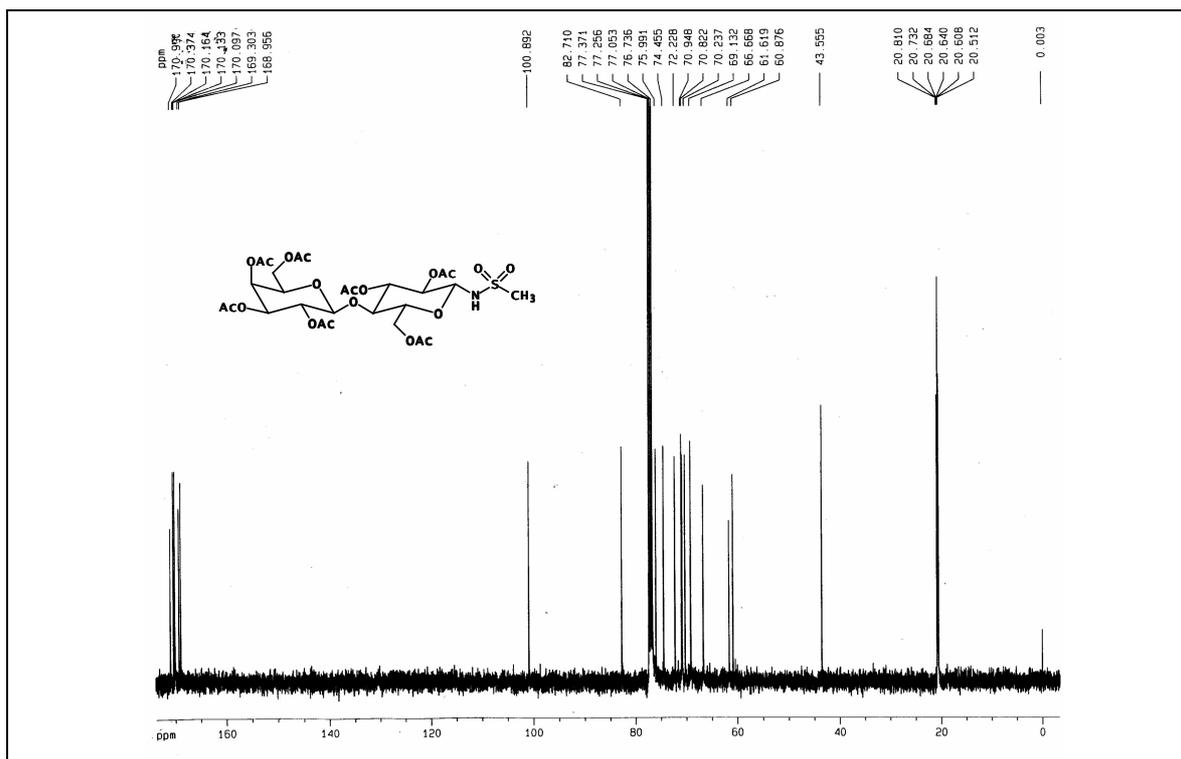


Figura I.9 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **8** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



Figura I.10 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **9** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

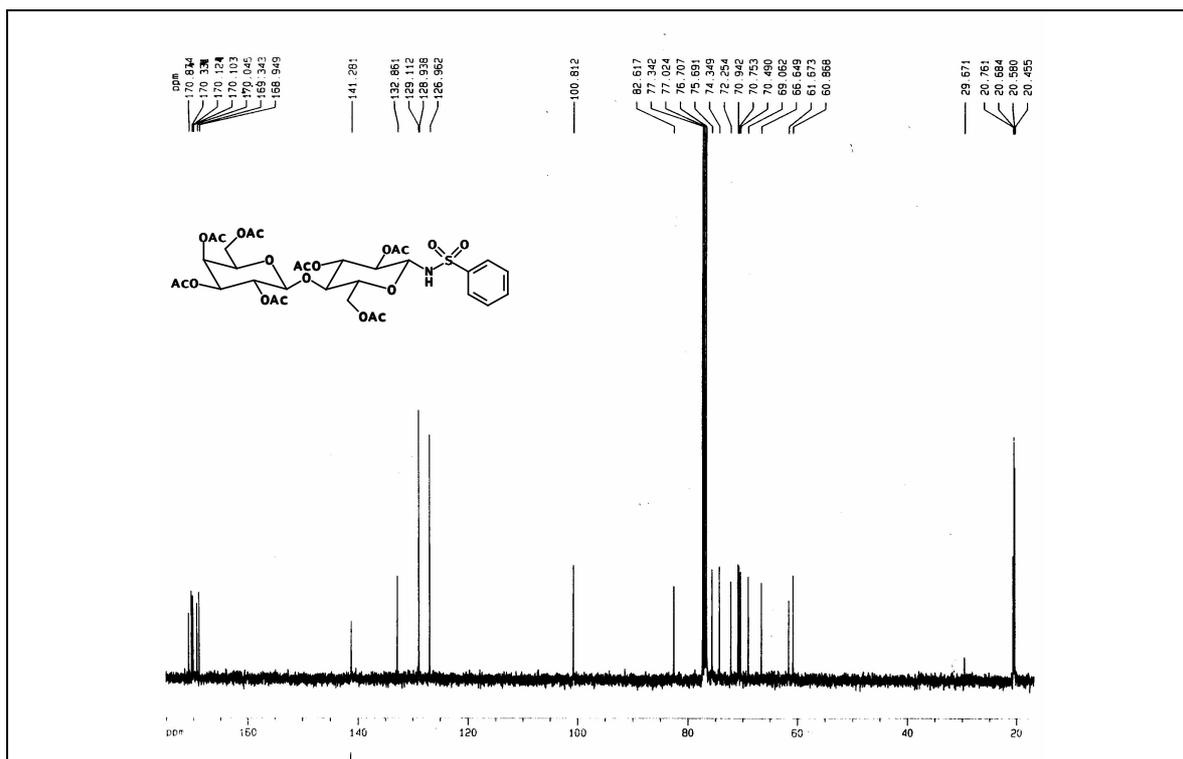


Figura I.11 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de 9 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

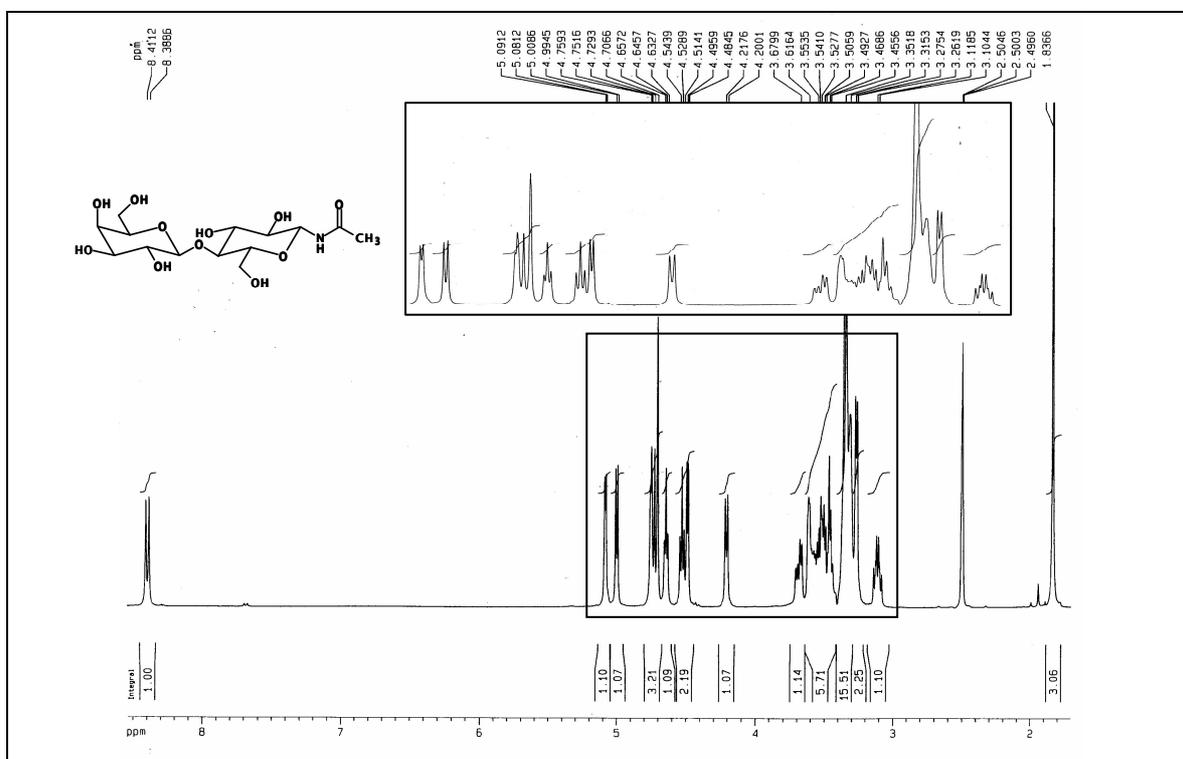


Figura I.12 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de A1 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

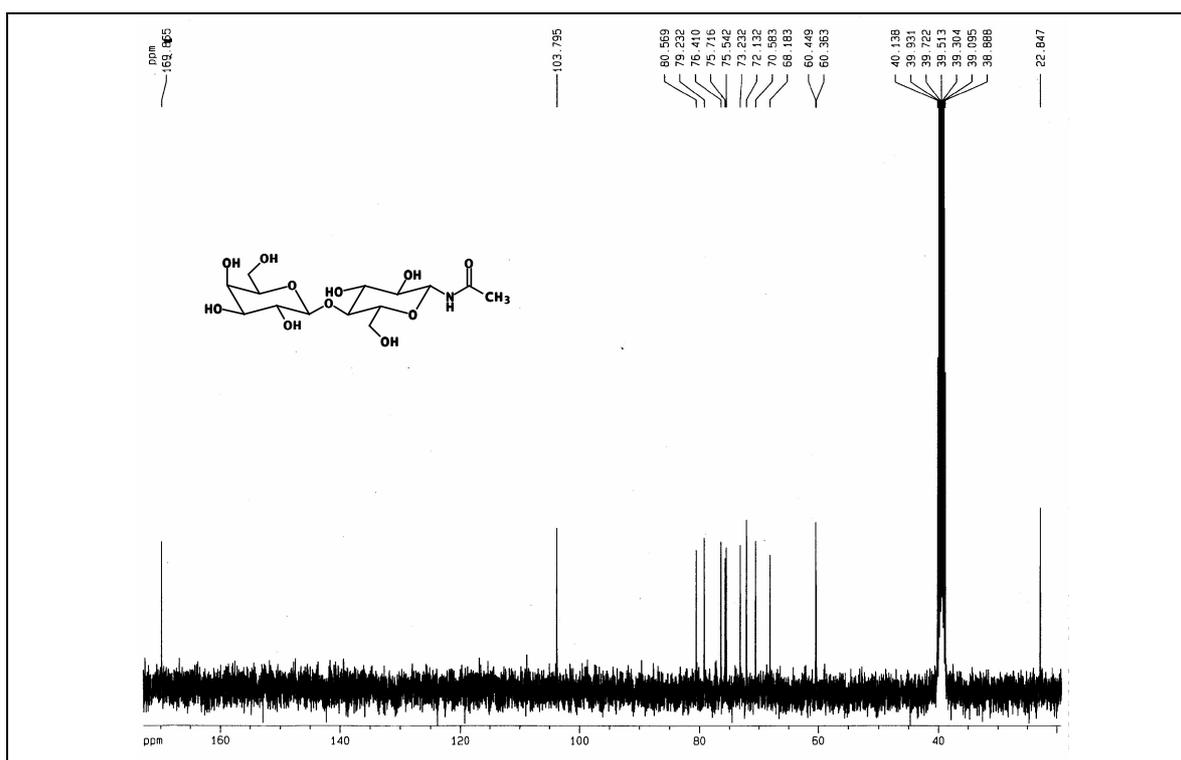


Figura I.13 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de A1 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

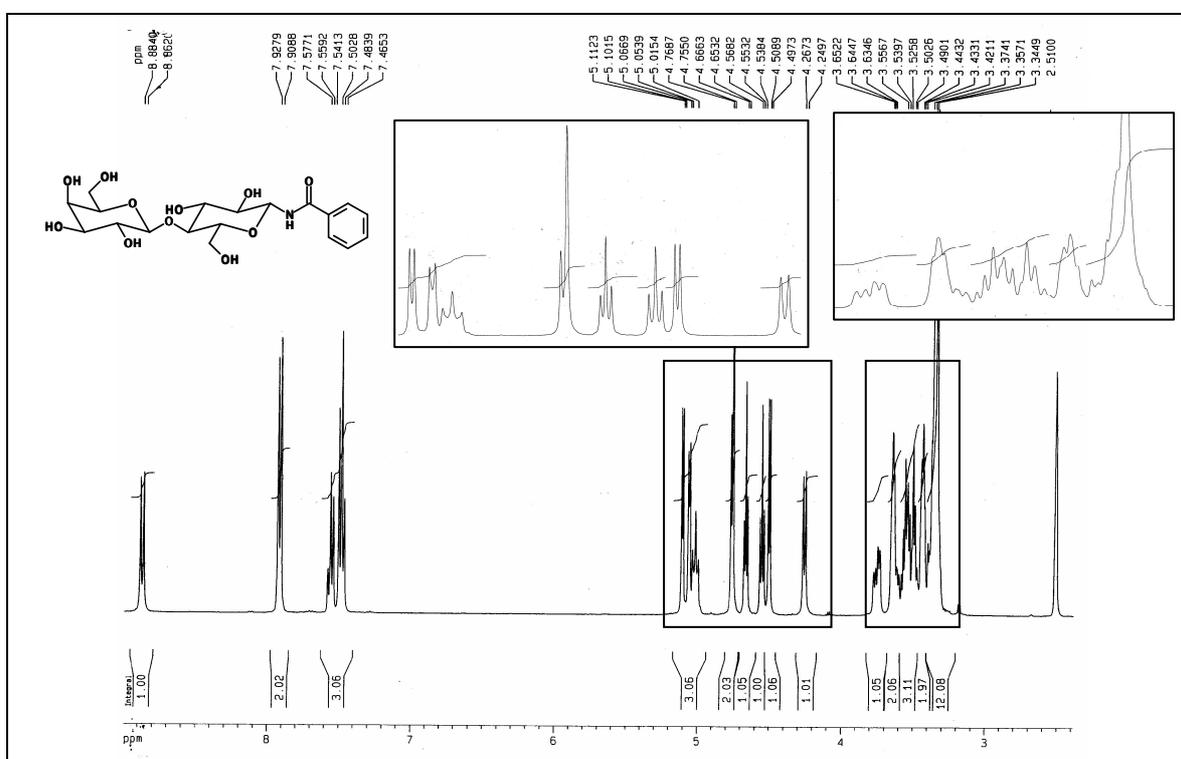


Figura I.14 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de A2 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

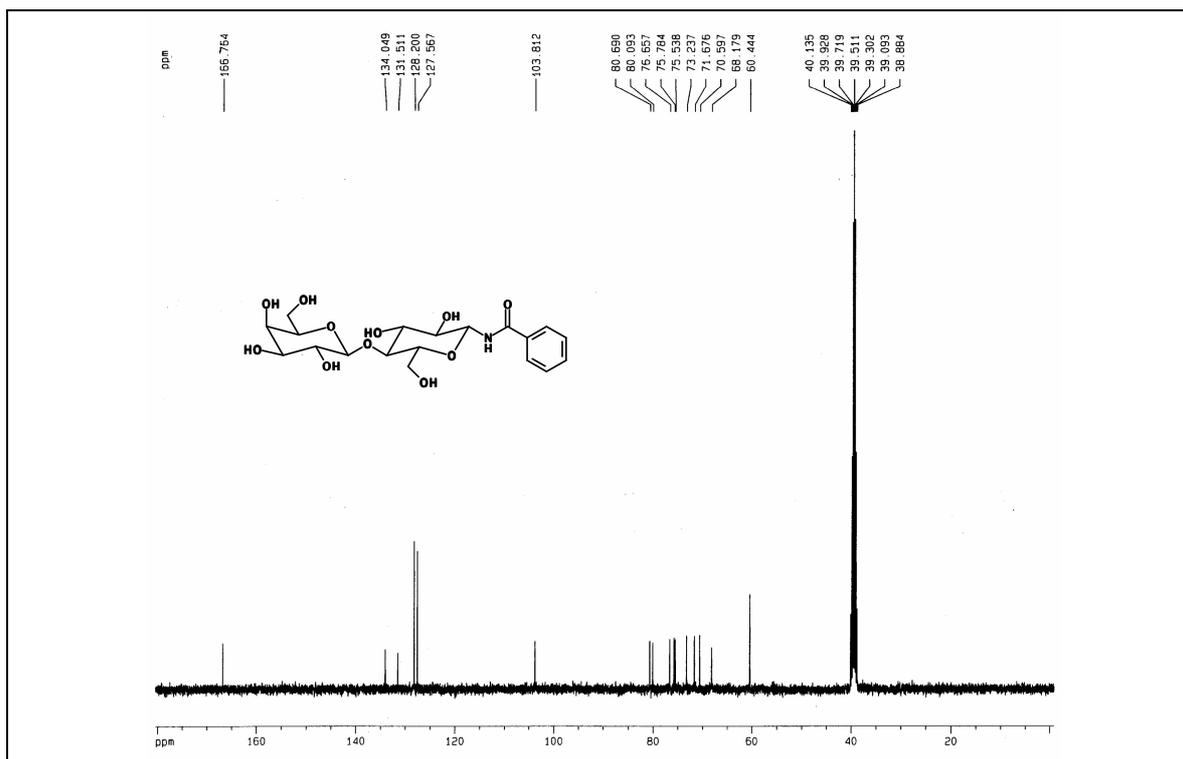


Figura I.15 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de A2 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

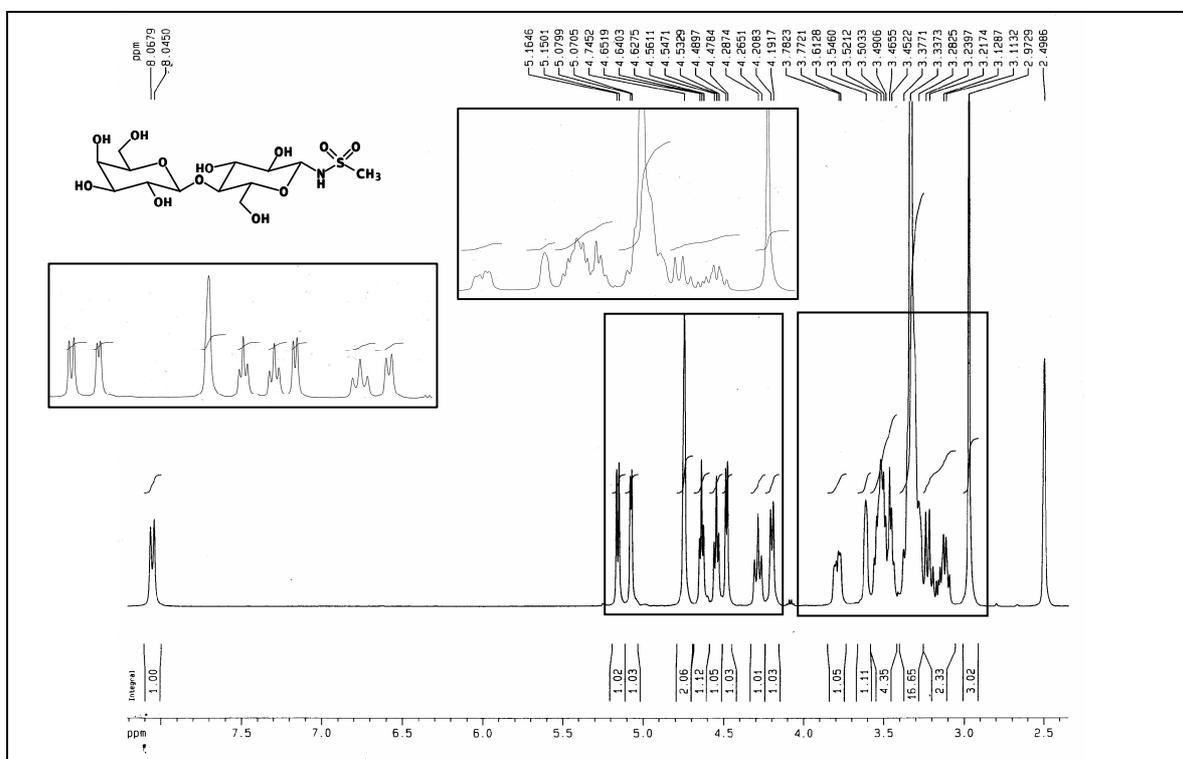


Figura I.16 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de A3 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

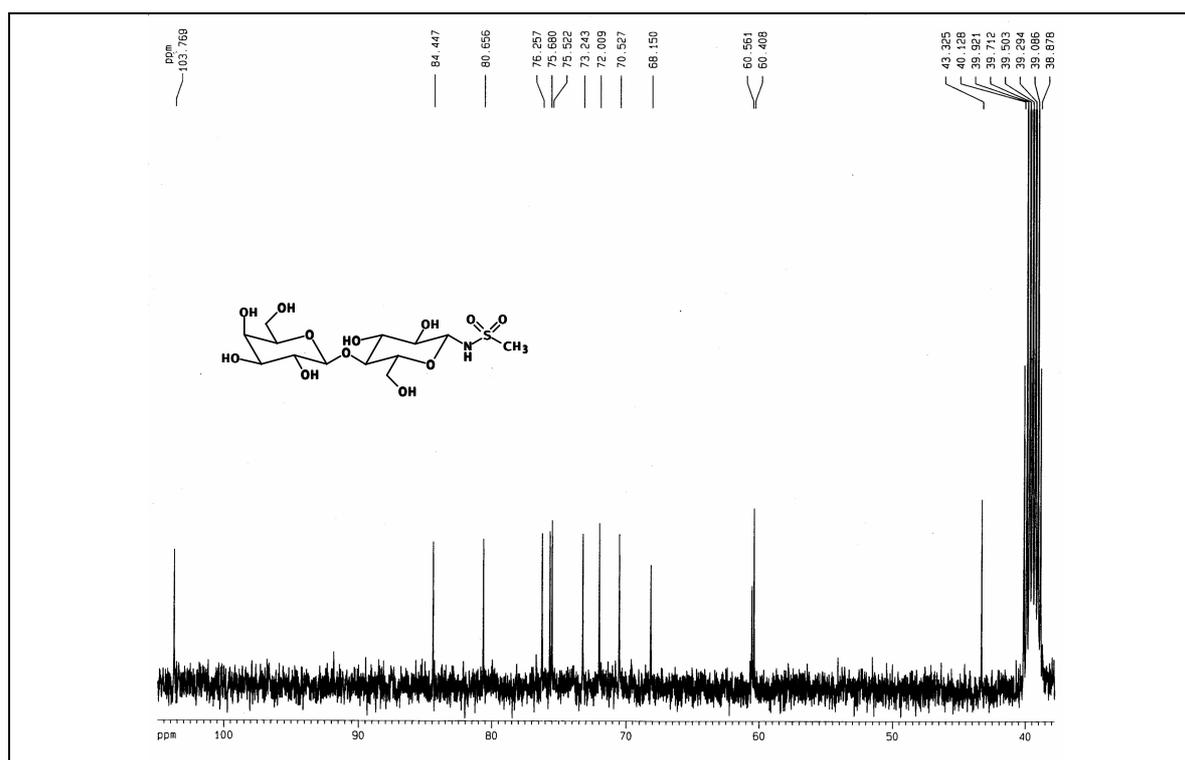


Figura I.17 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de A3 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

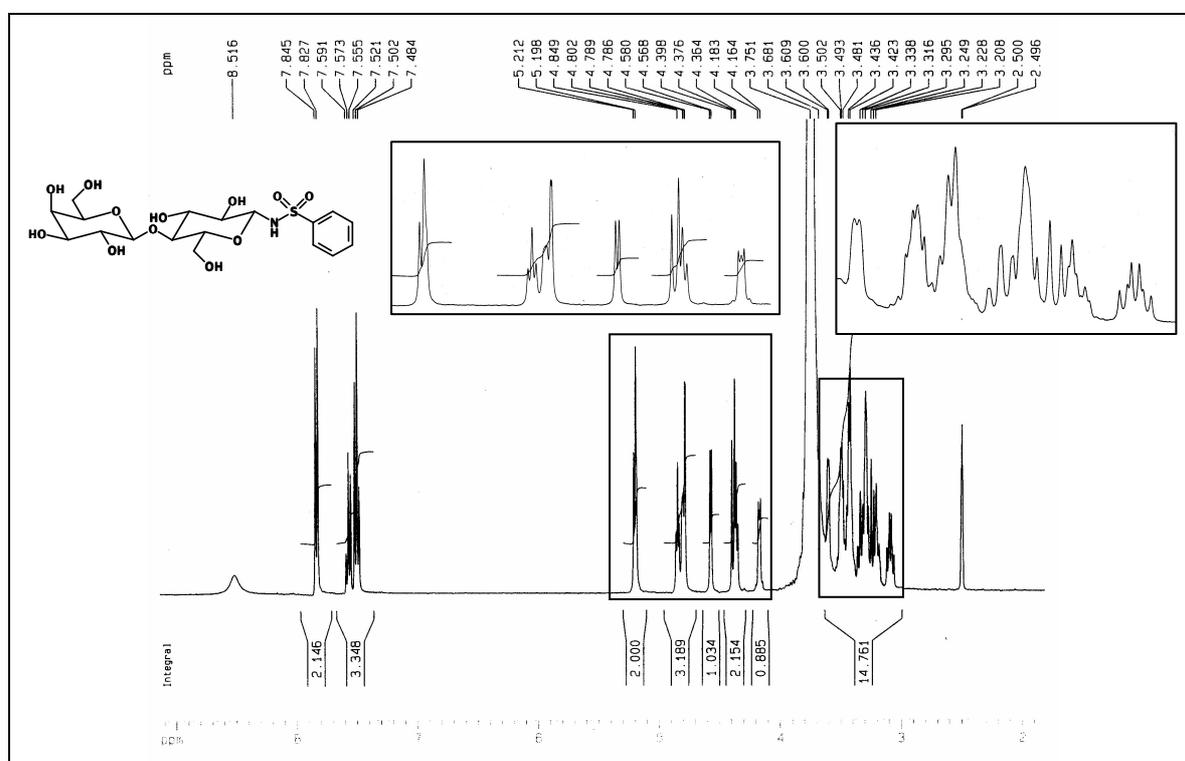


Figura I.18 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de A4 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

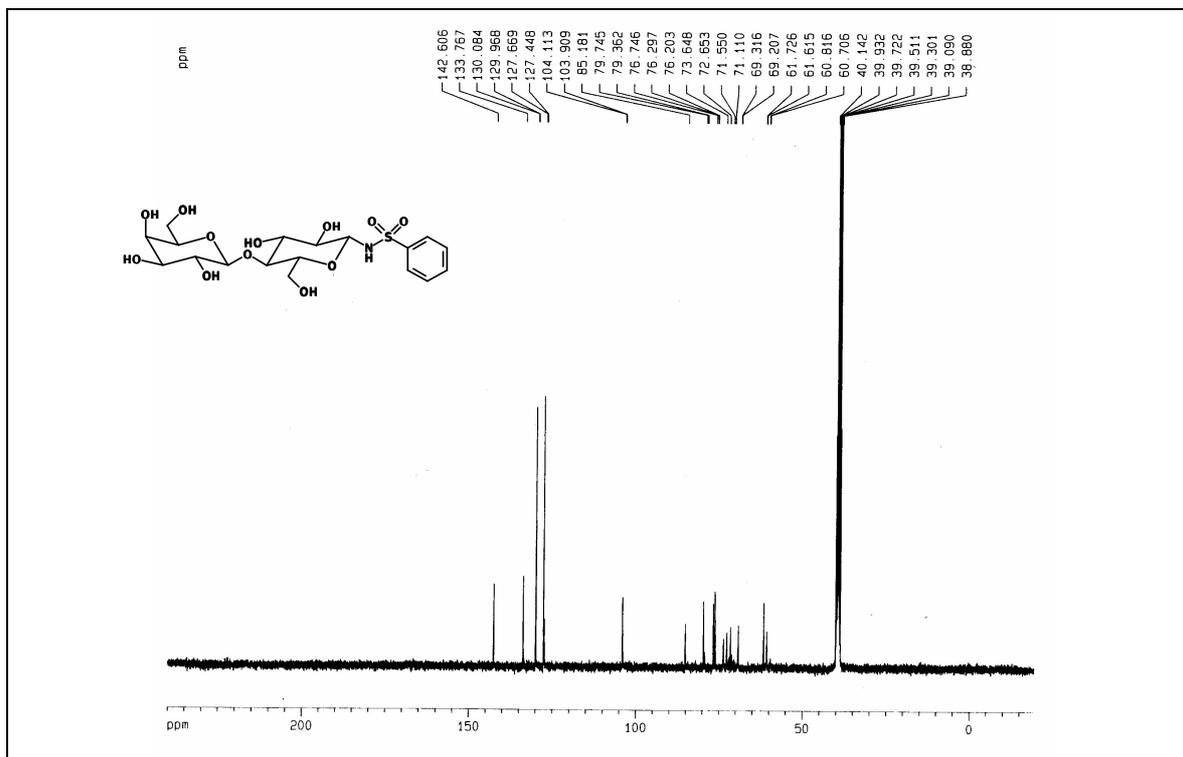


Figura I.19 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de A4 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

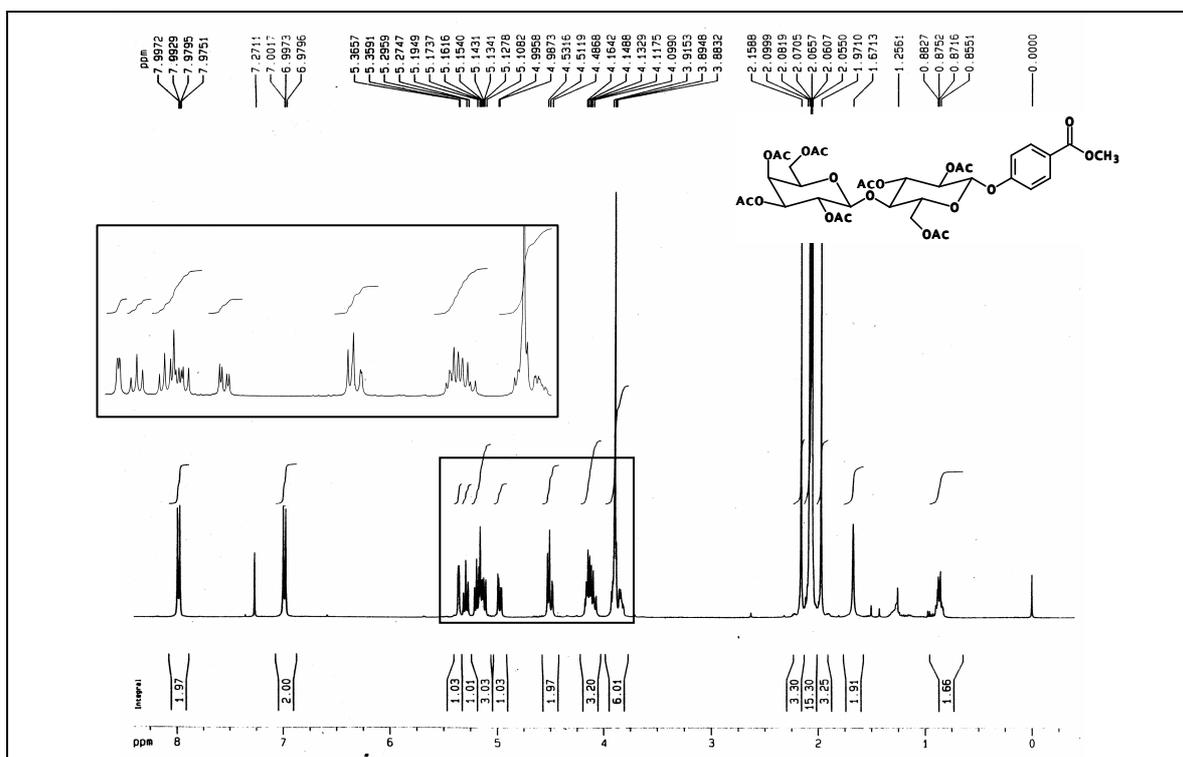


Figura I.20 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 13 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

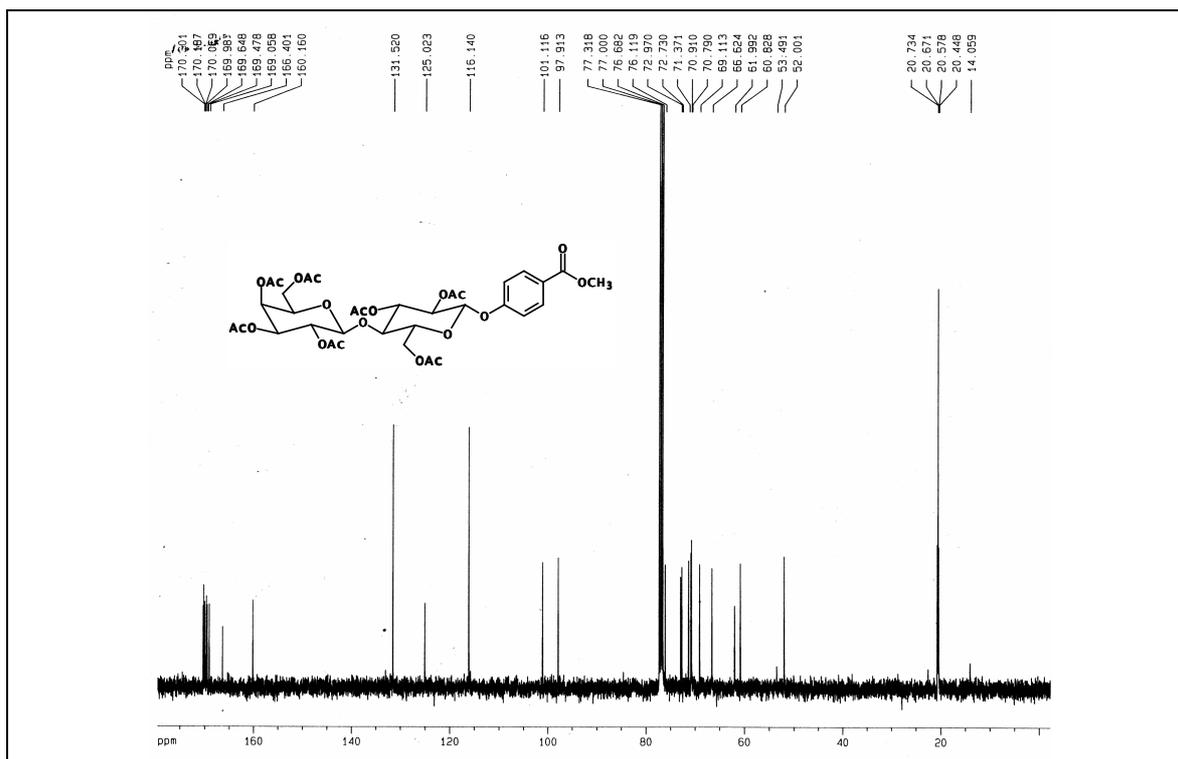


Figura I.21 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **13** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

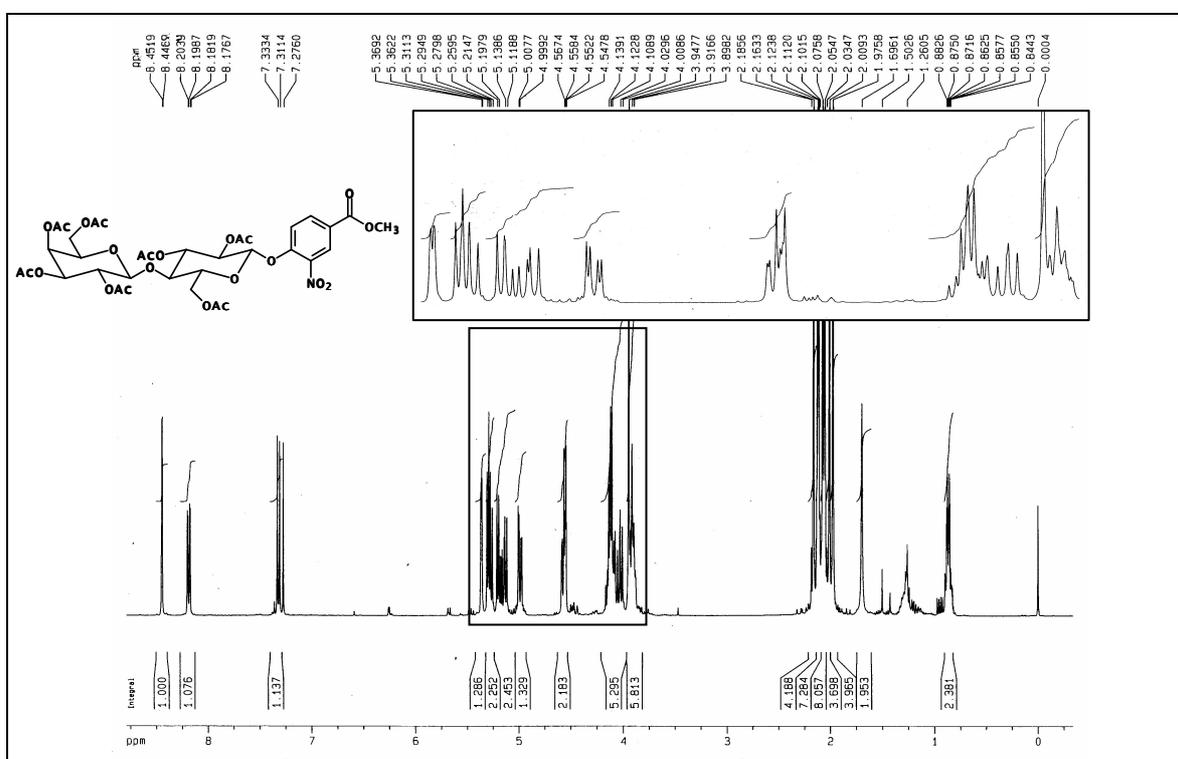


Figura I.22 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **14** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

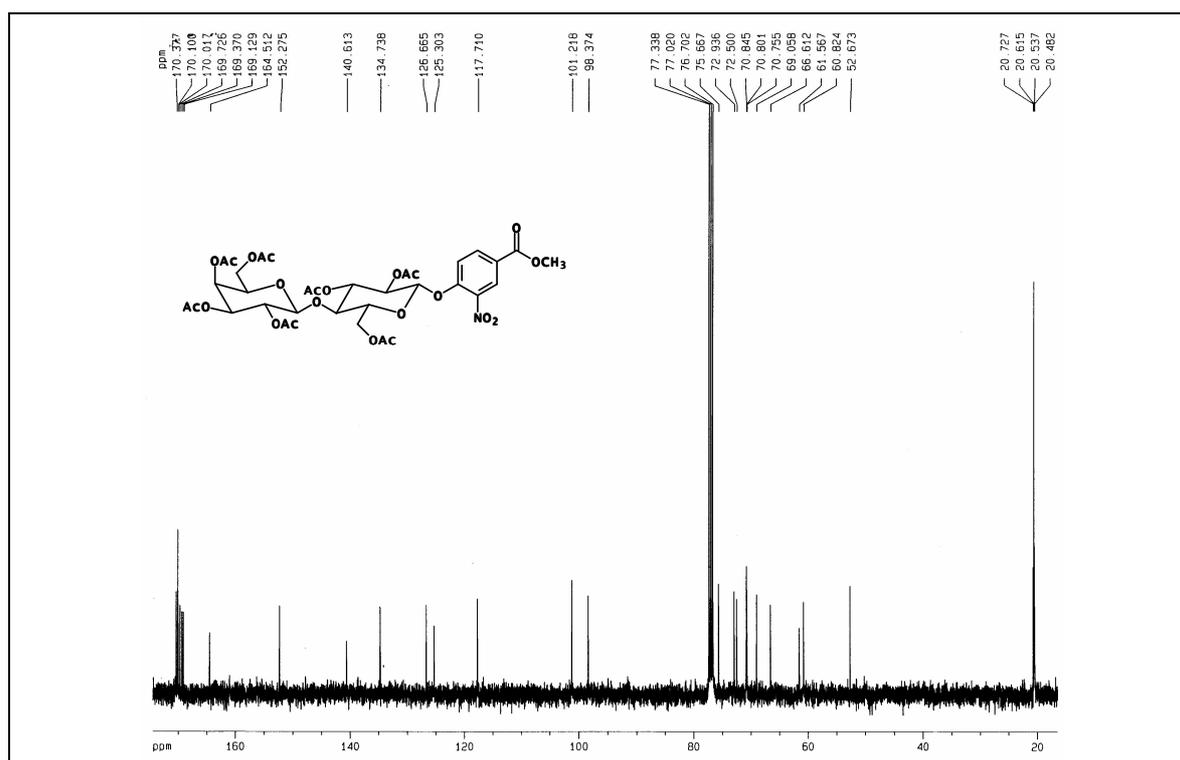


Figura I.23 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **14** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

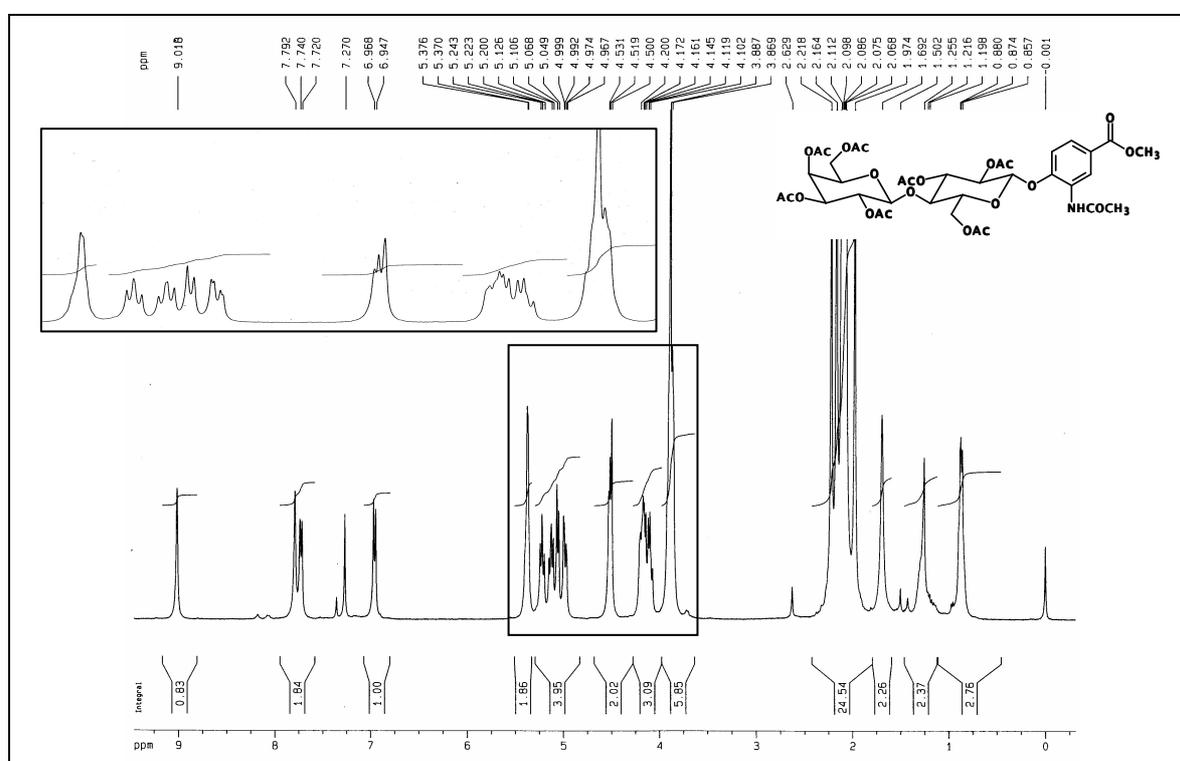


Figura I.24 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **15** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

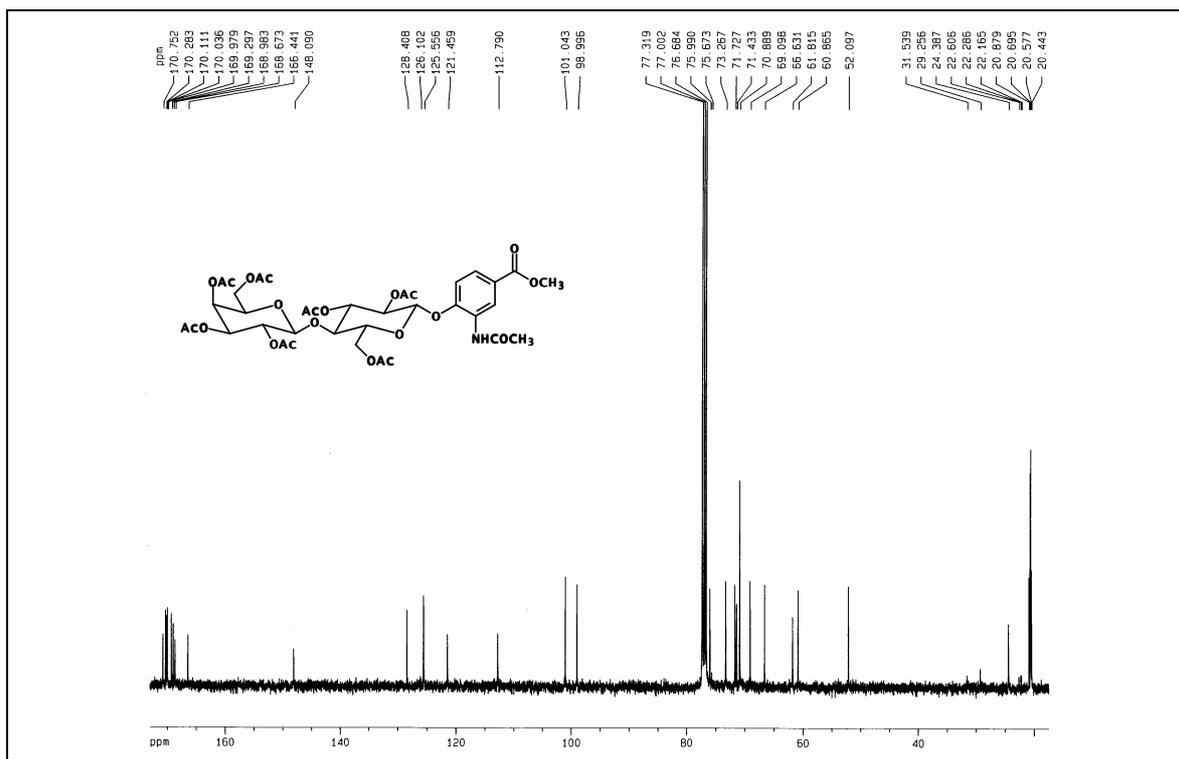


Figura I.25 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **15** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

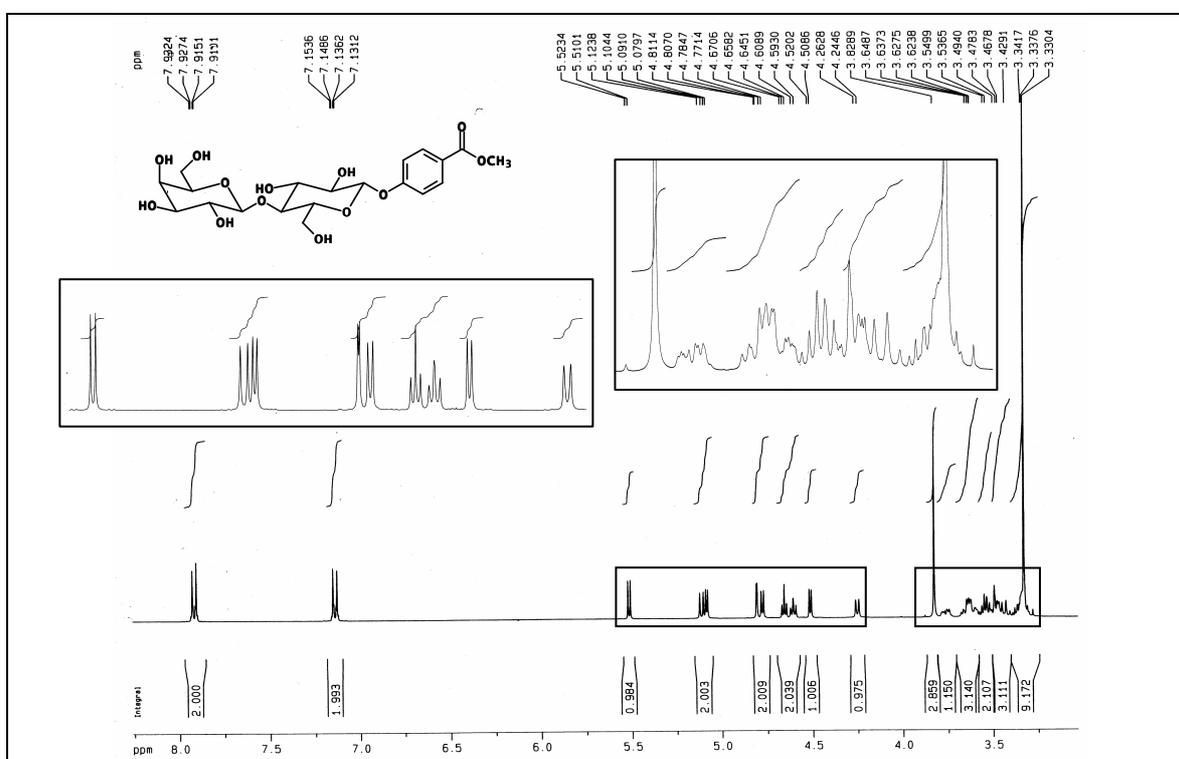


Figura I.26 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **B4** ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz).

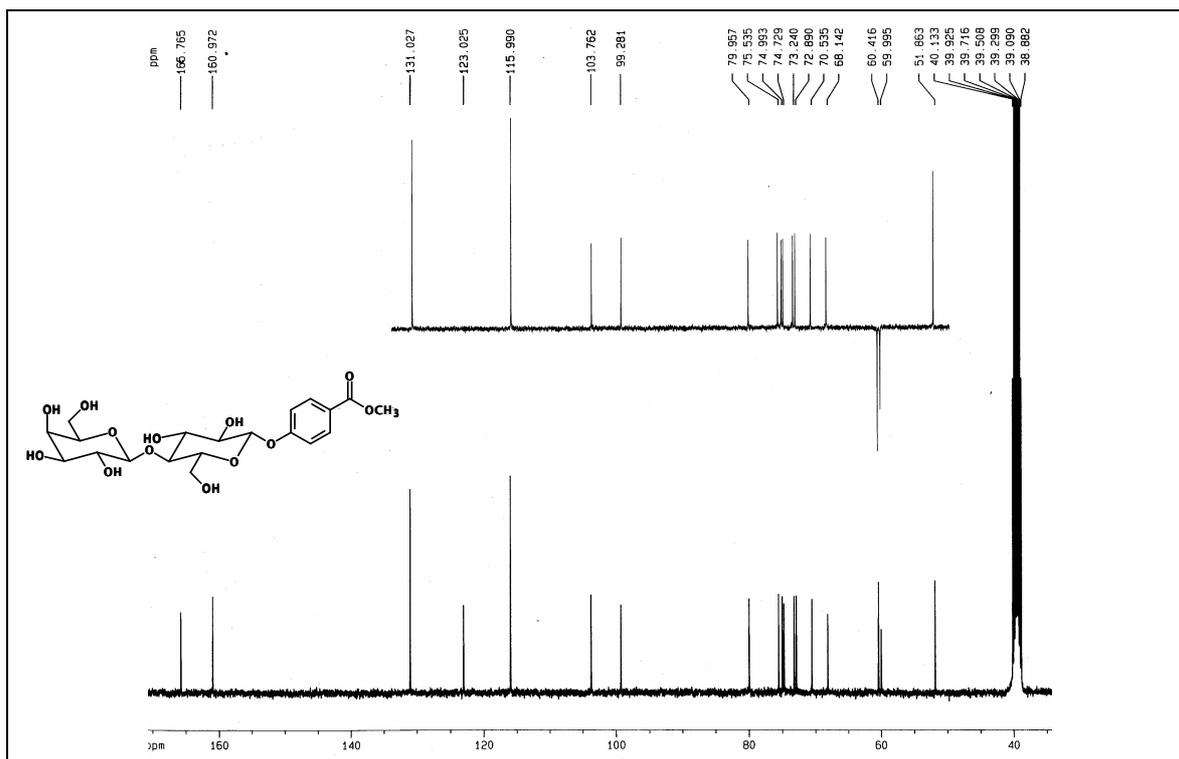


Figura I.27 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **B4** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

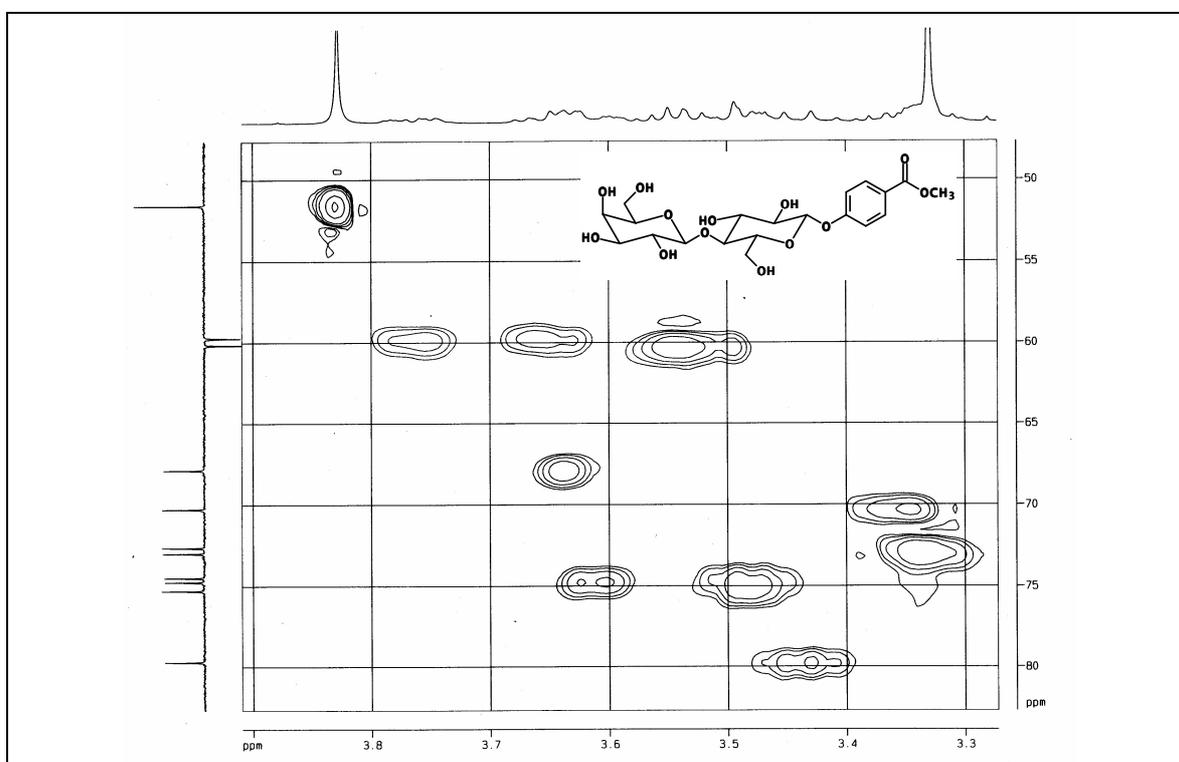


Figura I.28 – Mapa de contornos HSQC de **B4** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

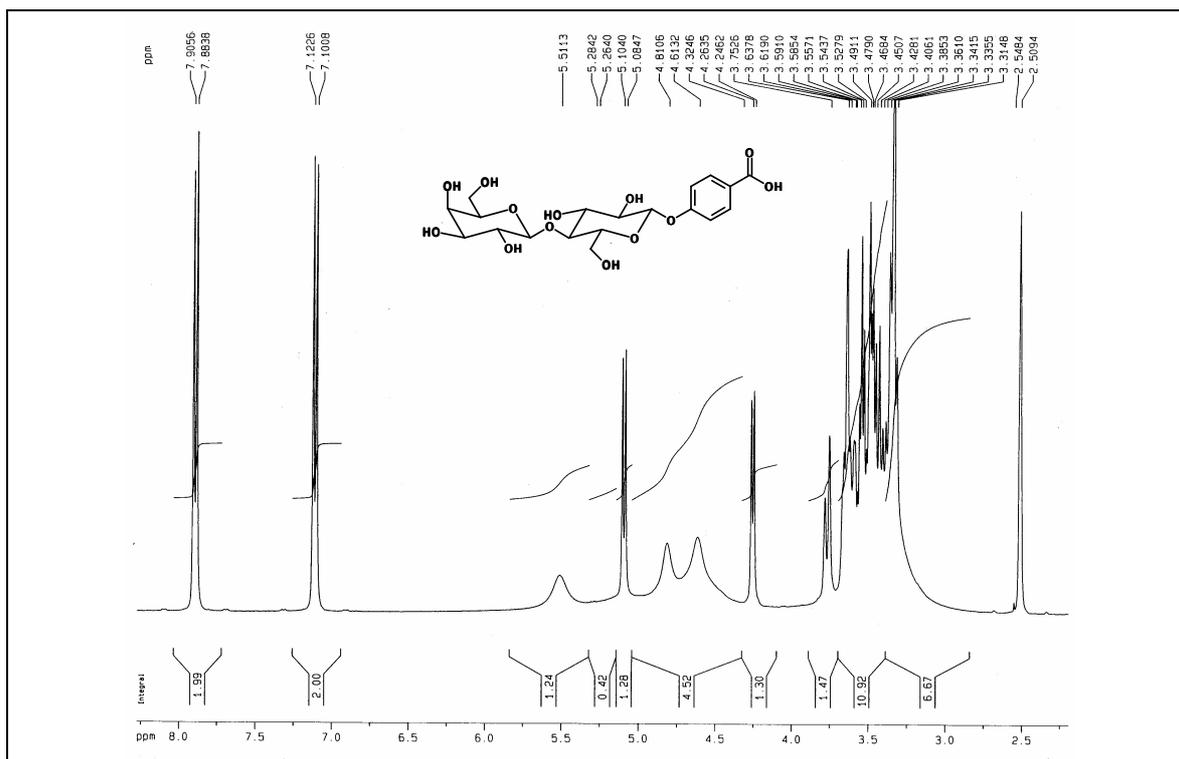


Figura I.29 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **B5** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

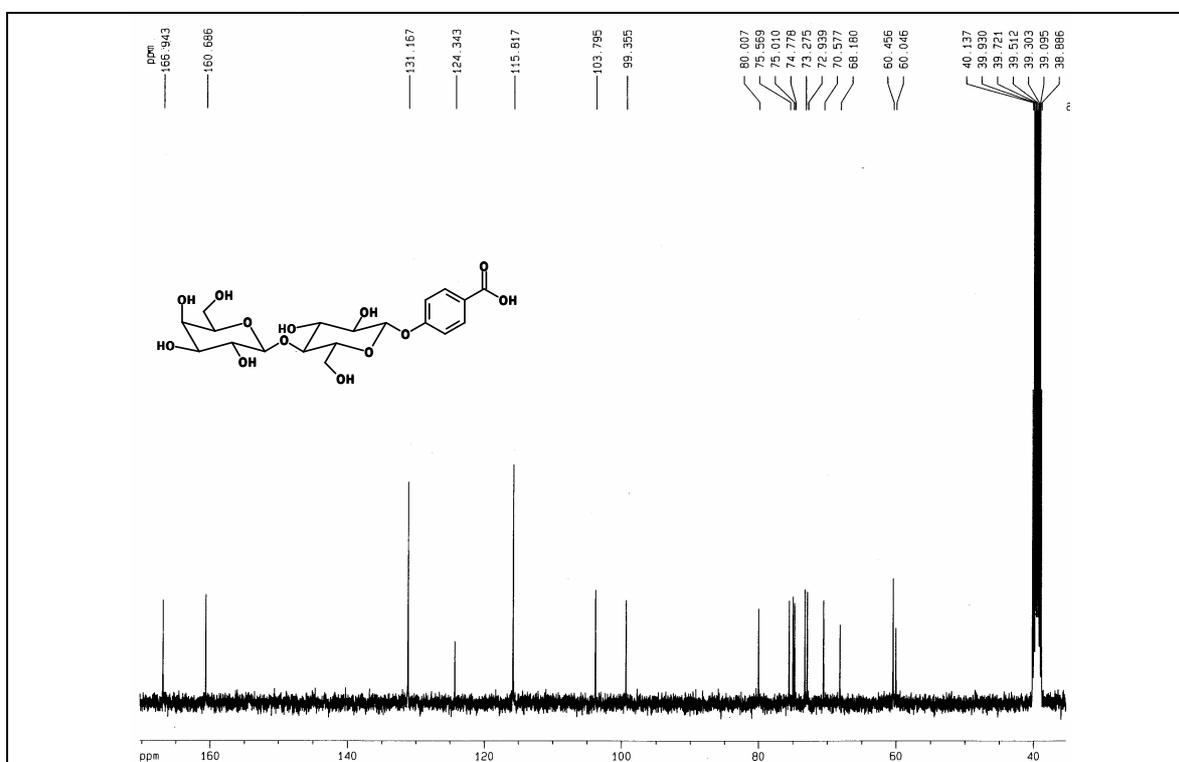


Figura I.30 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **B5** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).

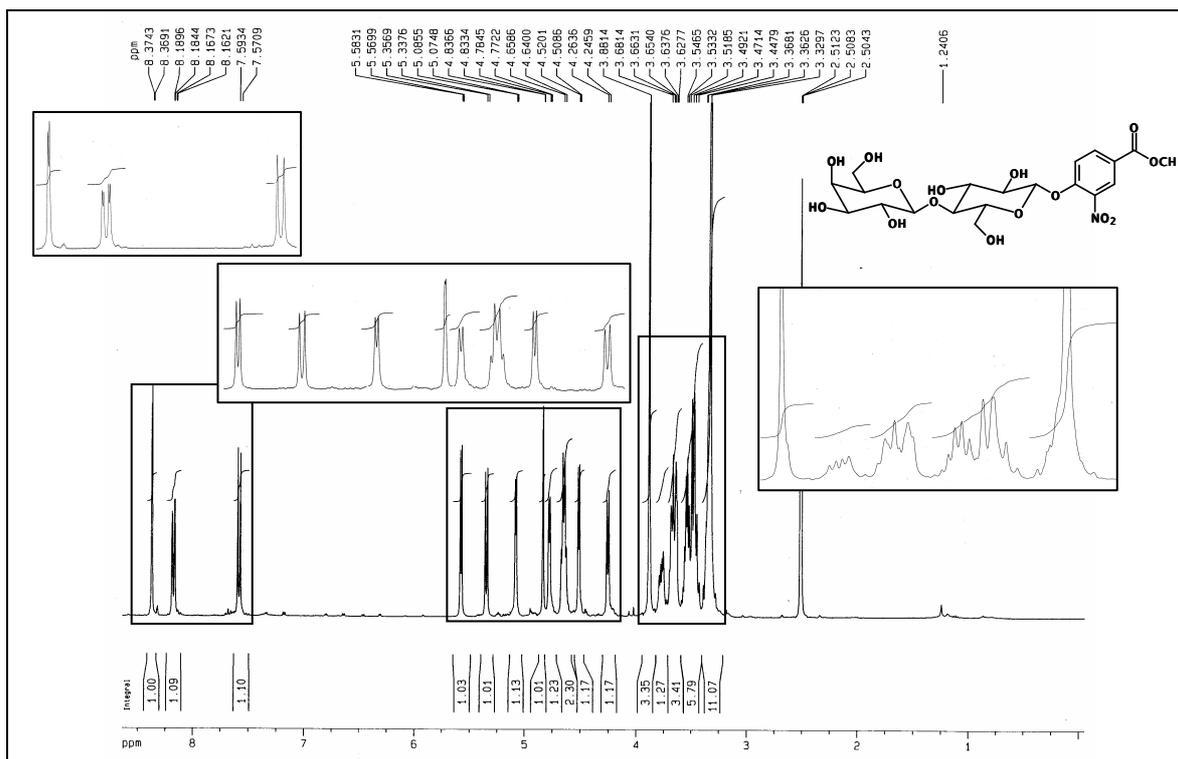


Figura I.31 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **B6** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

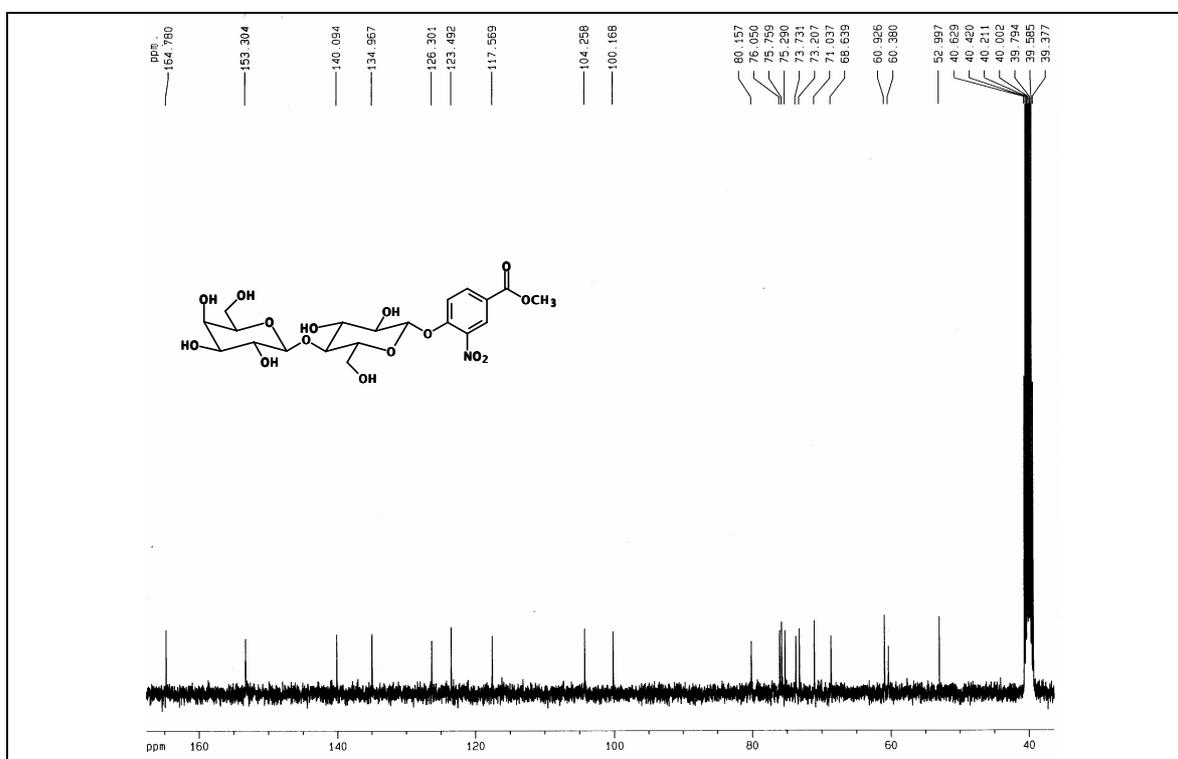


Figura I.32 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **B6** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).

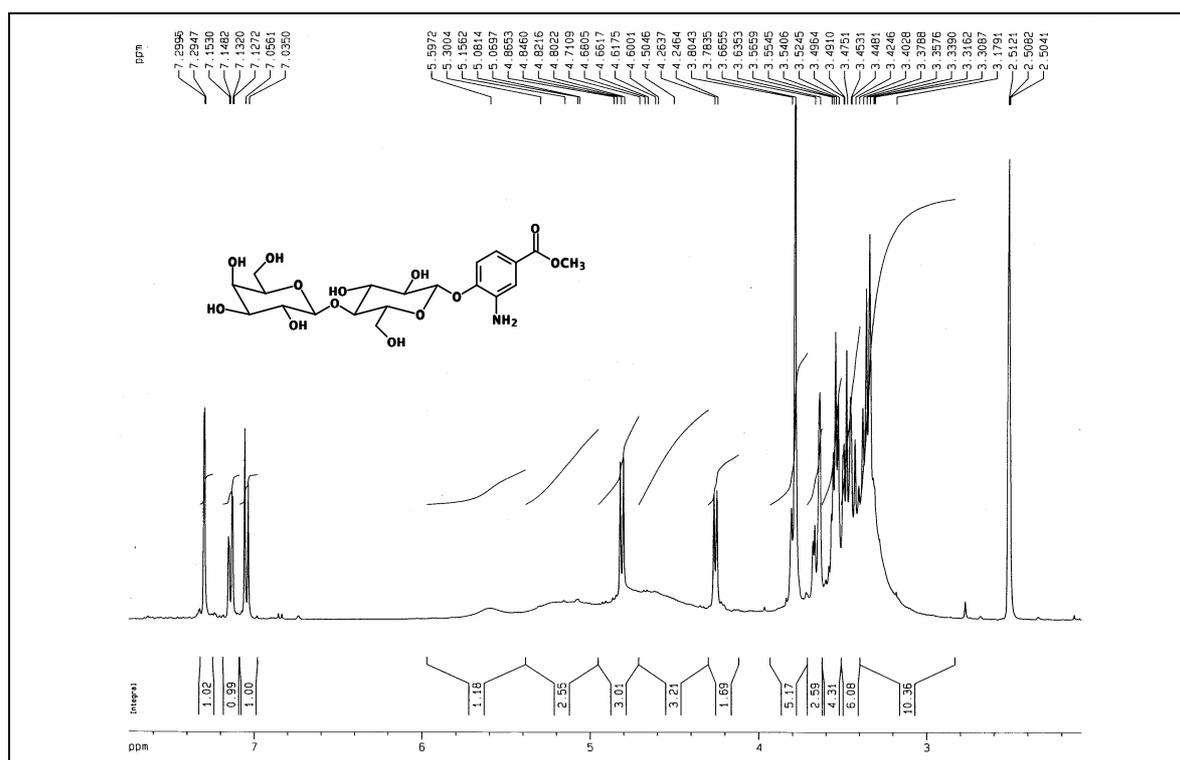


Figura I.33 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **B7** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

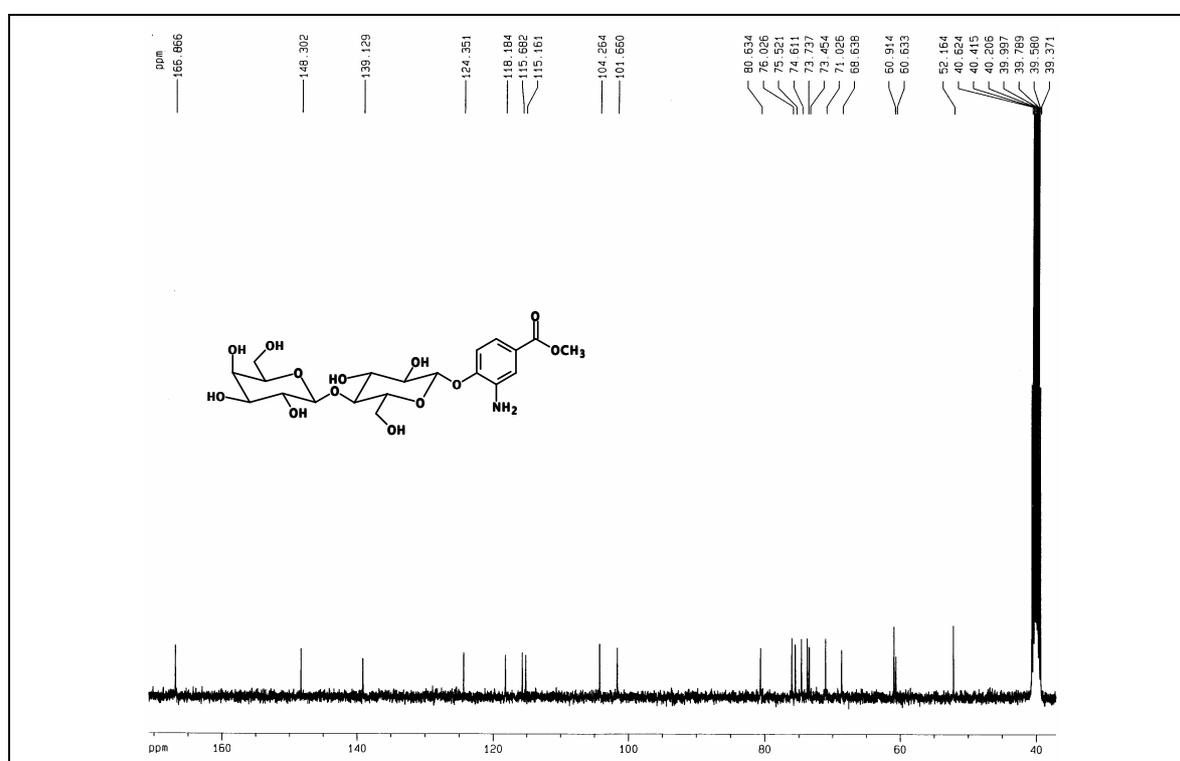


Figura I.34 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **B7** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

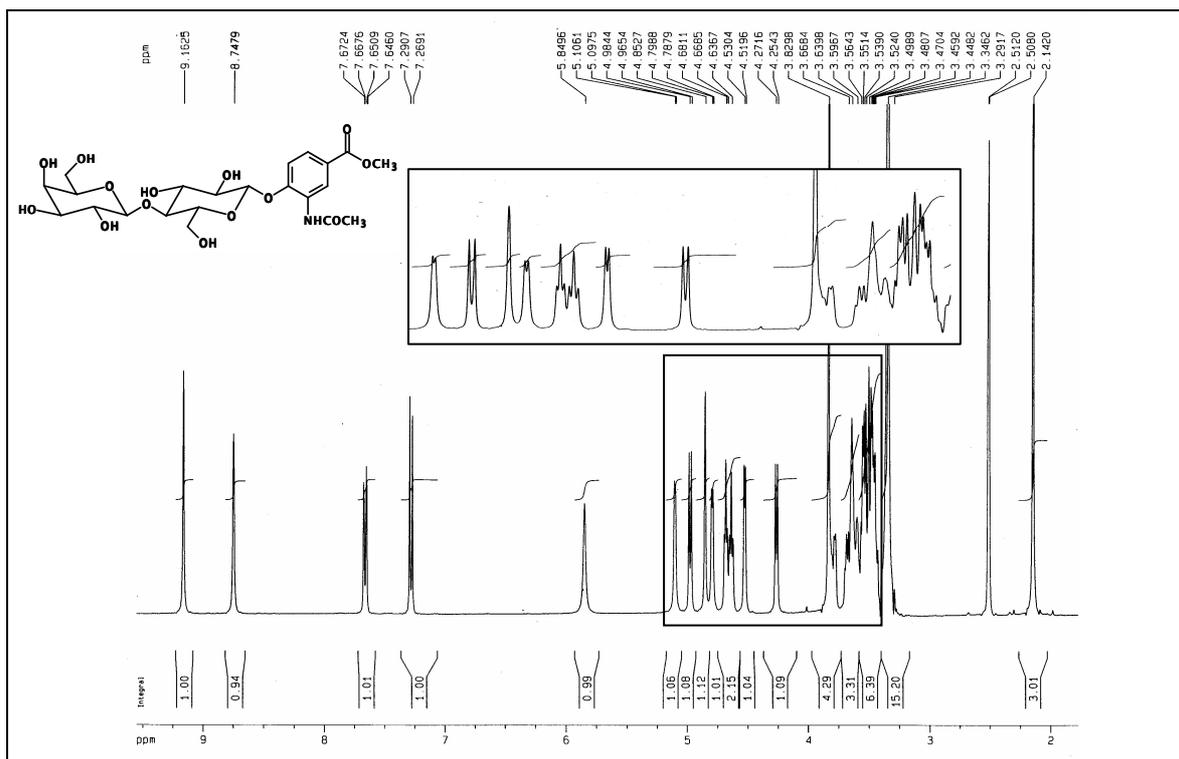


Figura I.35 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **B8** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

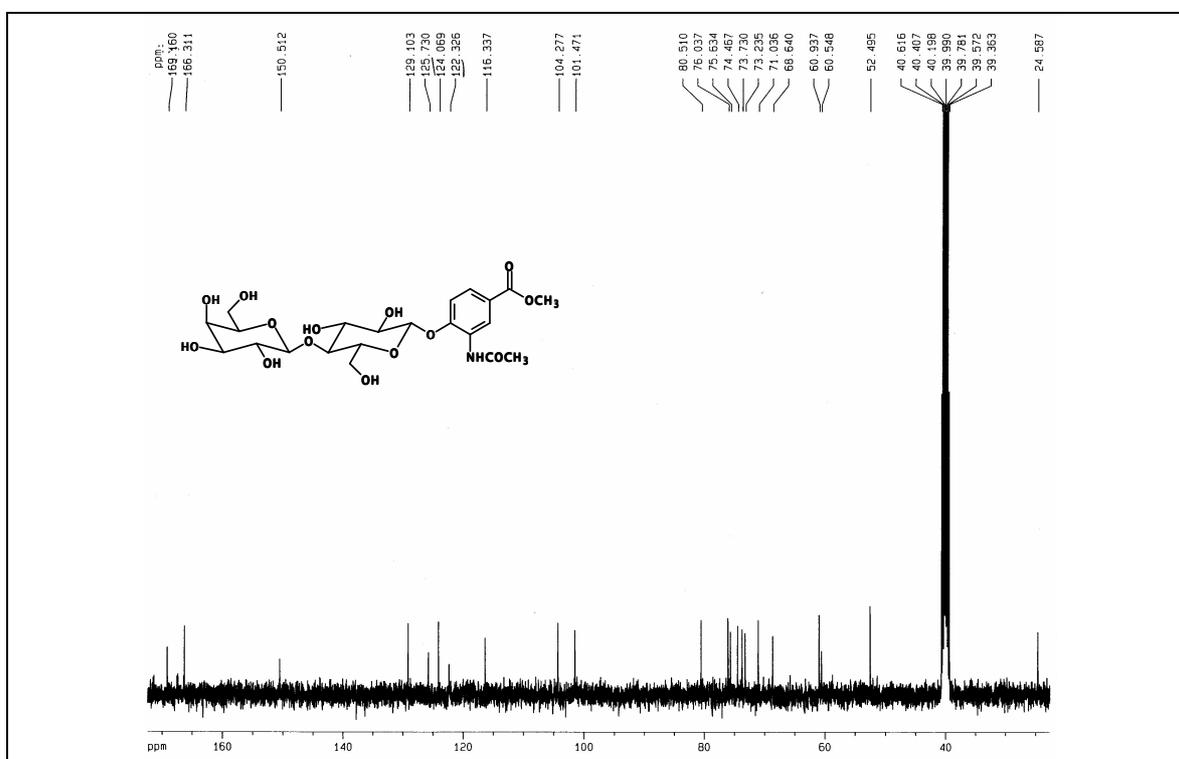


Figura I.36 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **B8** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).

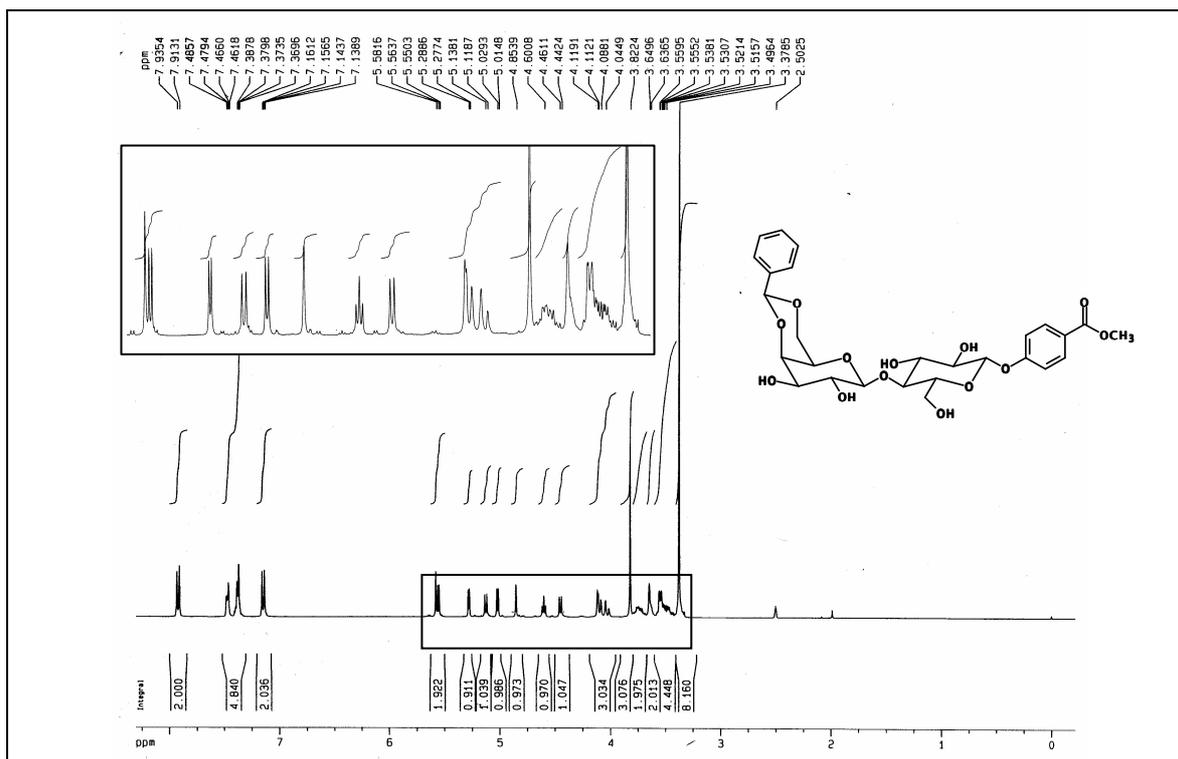


Figura I.37 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **16** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

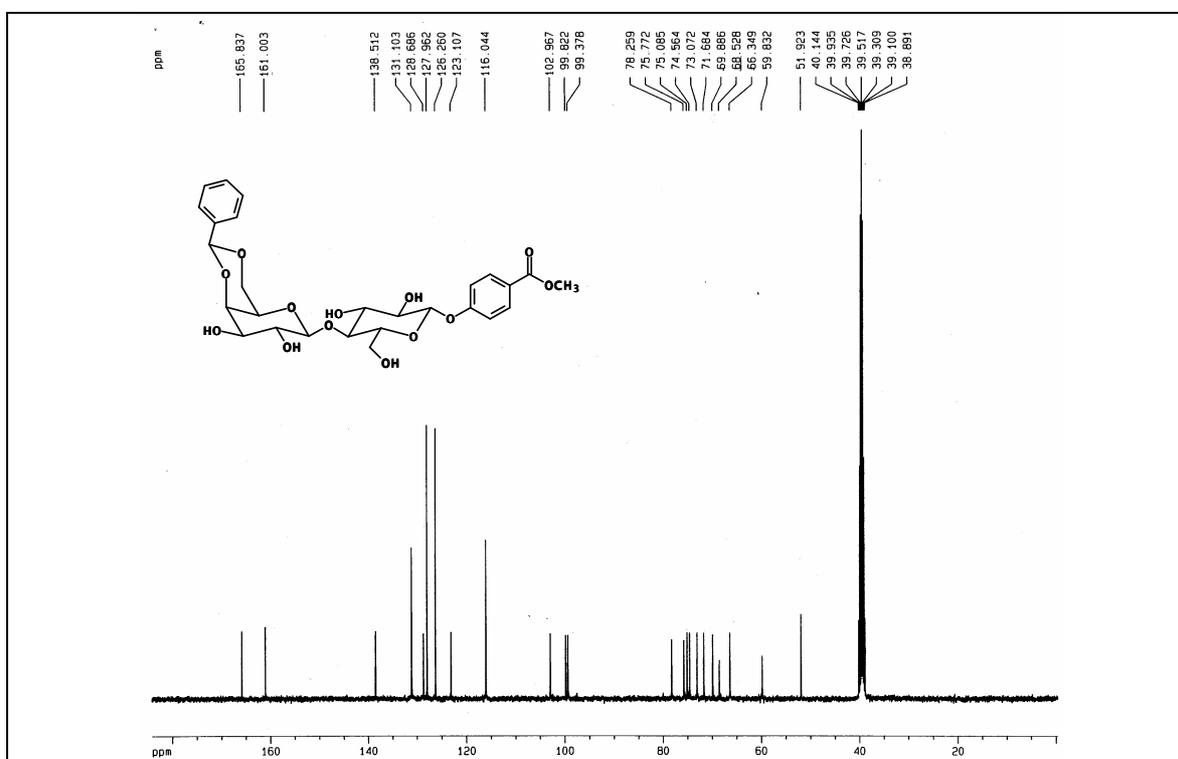


Figura I.38 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **16** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).

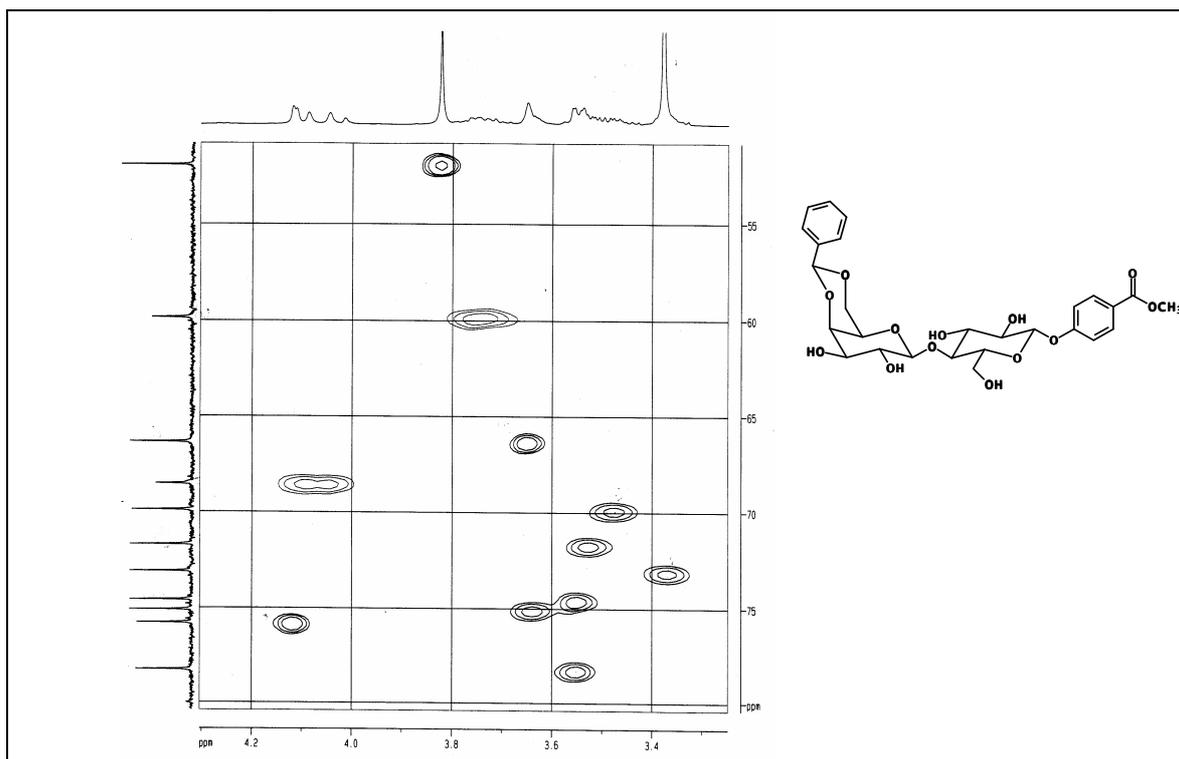


Figura I.39 – Mapa de contornos HSQC de **16** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

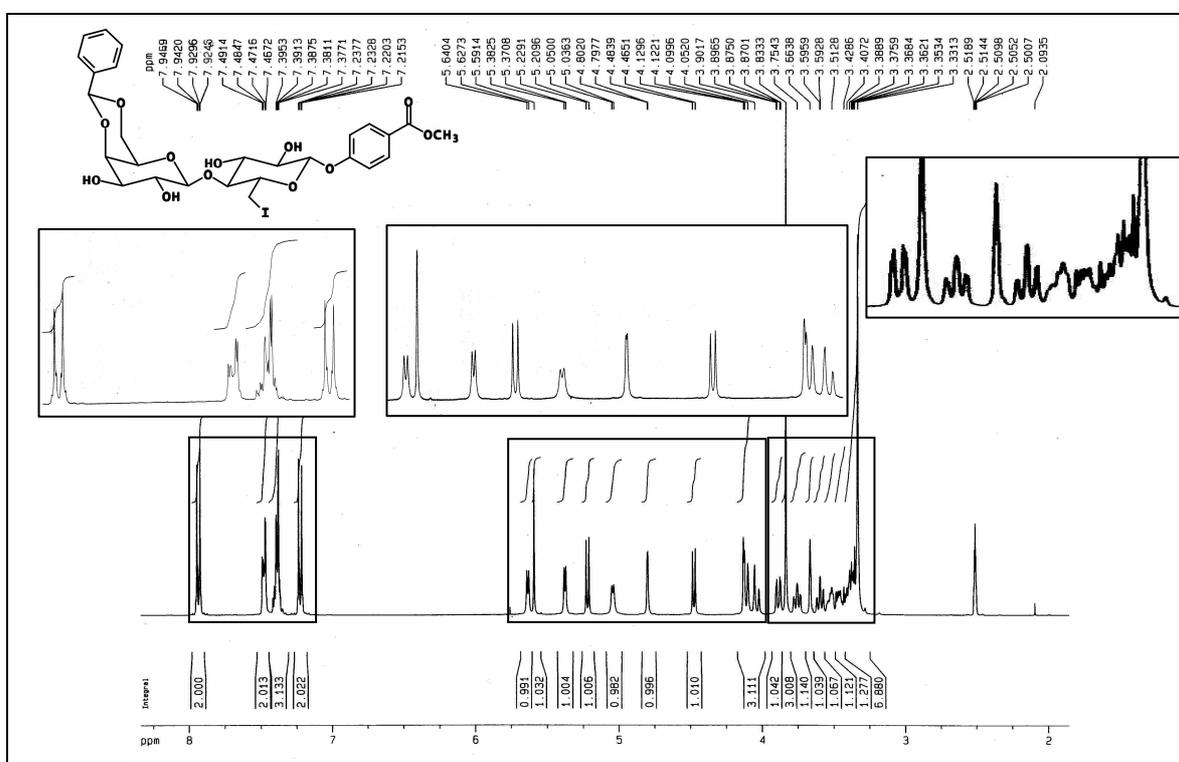


Figura I.40 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **17a** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

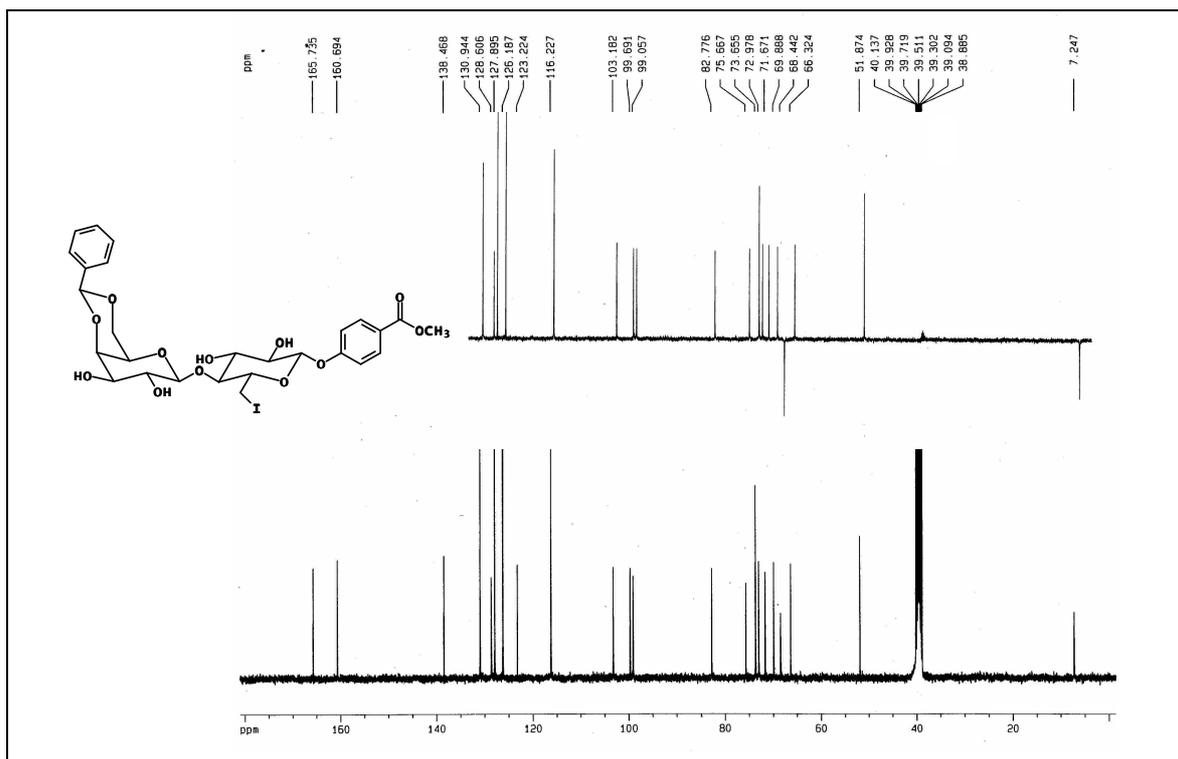


Figura I.41 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **17a** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 100 MHz).

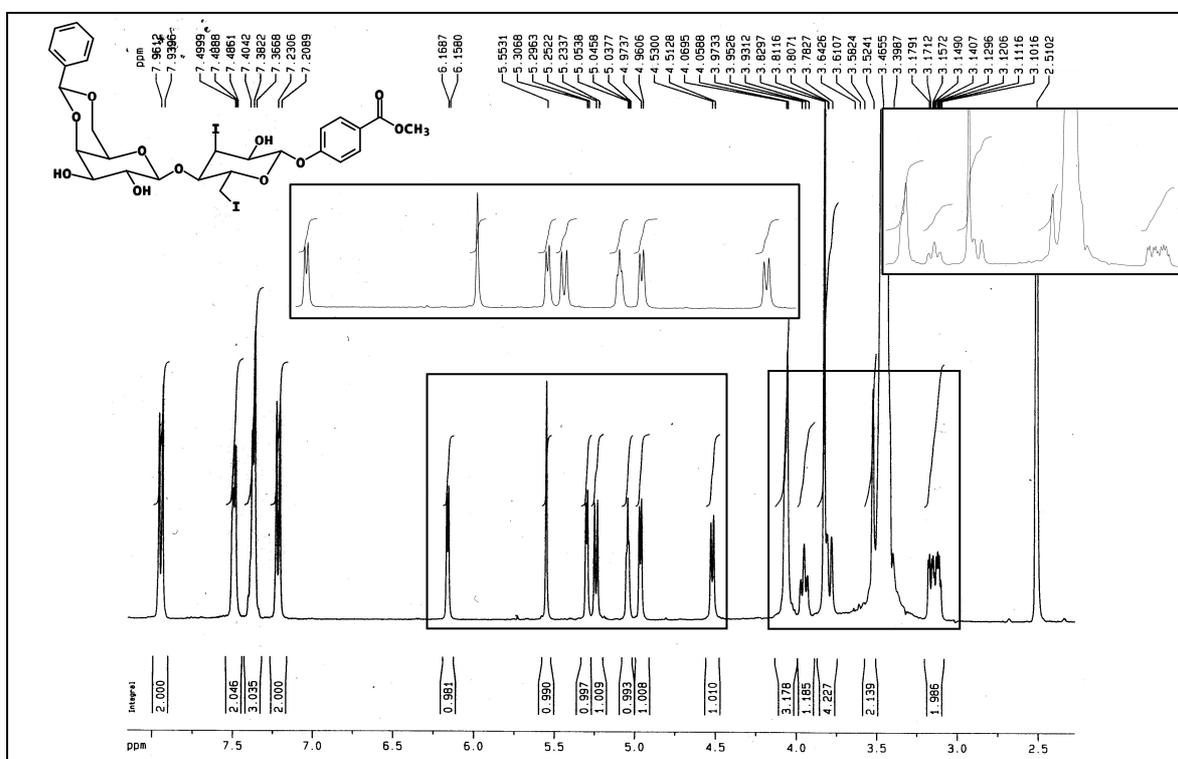


Figura I.42 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **17b** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

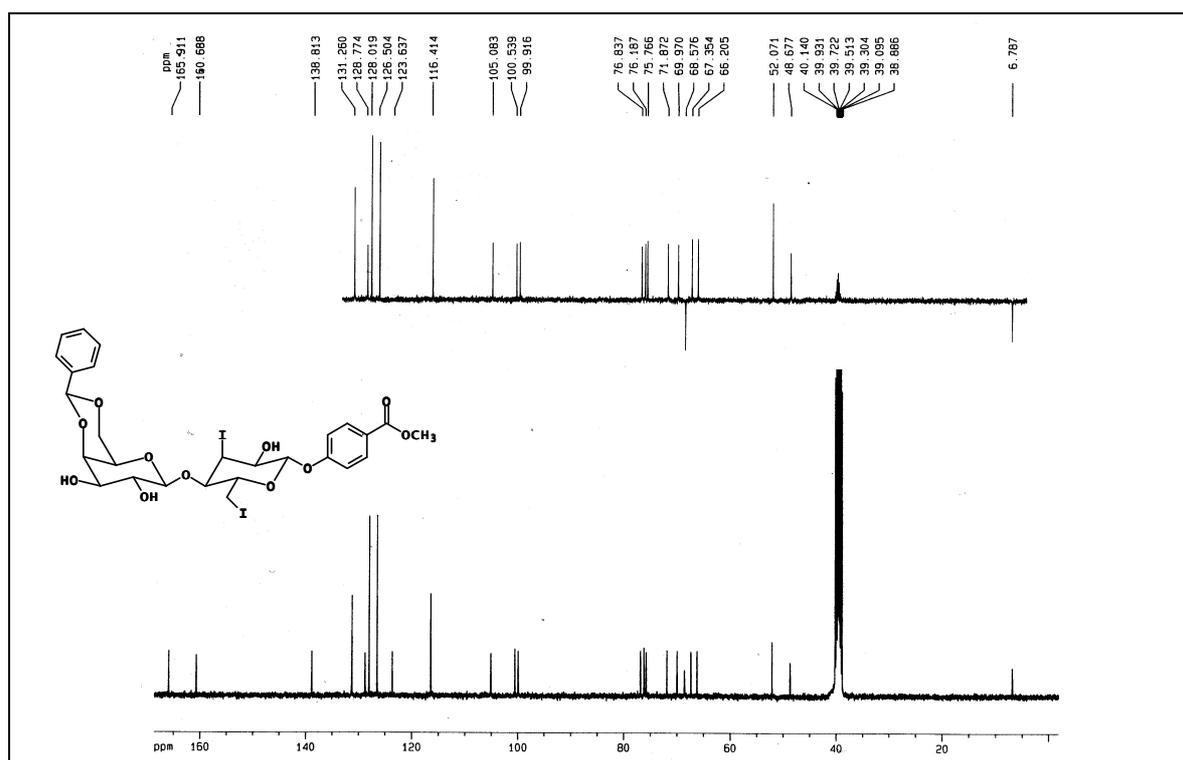


Figura I.43 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **17b** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

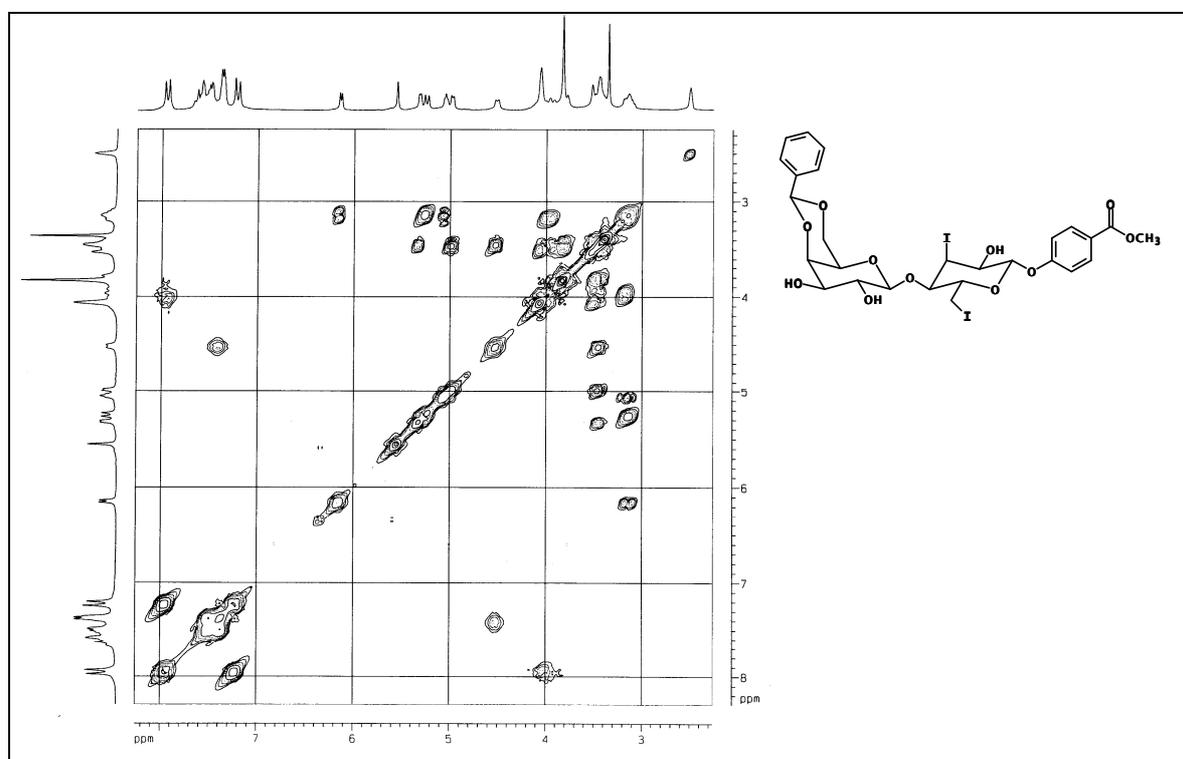


Figura I.44 – Mapa de contornos COSY de **17b** (DMSO- $d_6$ , 200 MHz).

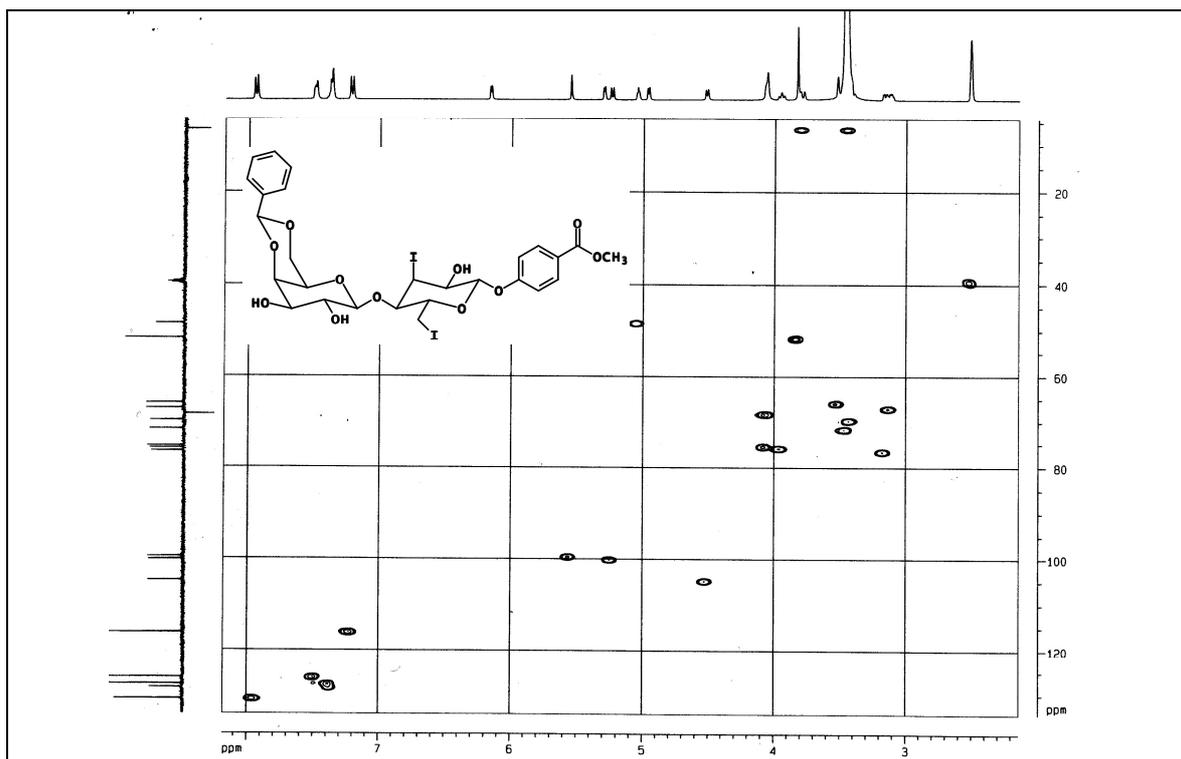


Figura I.45 – Mapa de contornos HSQC de **17b** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

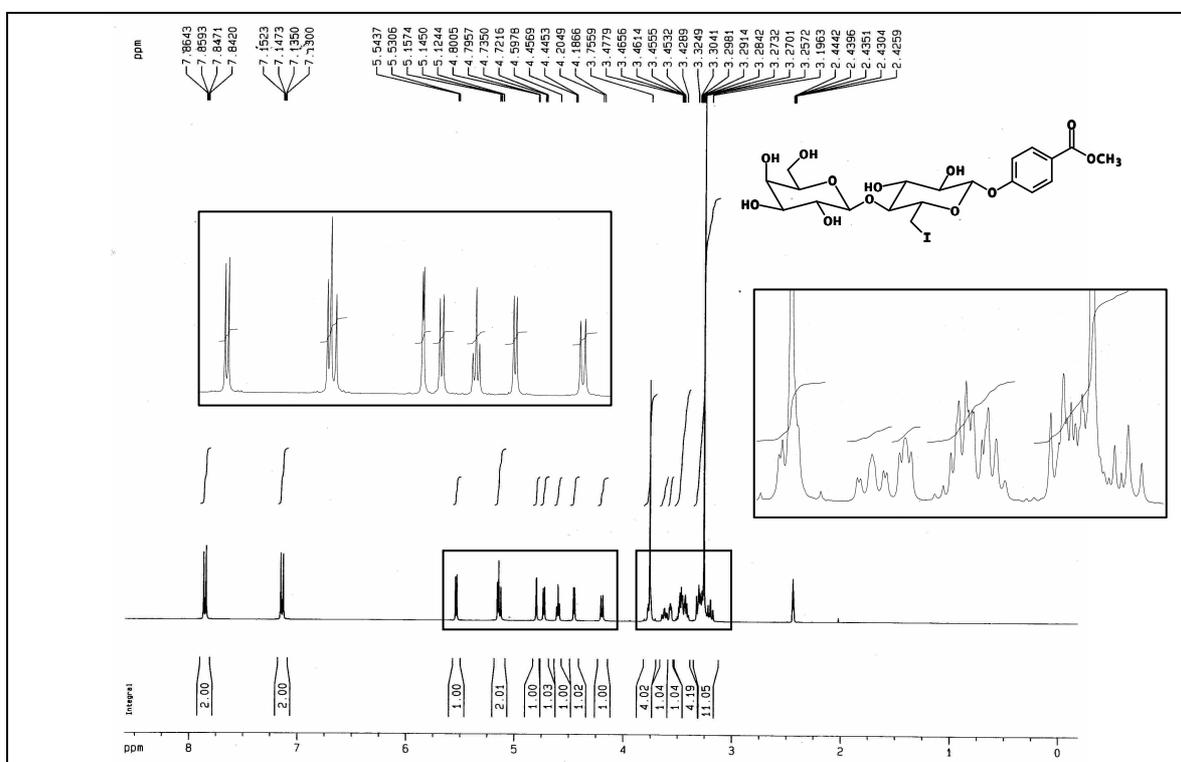


Figura I.46 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **C1** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

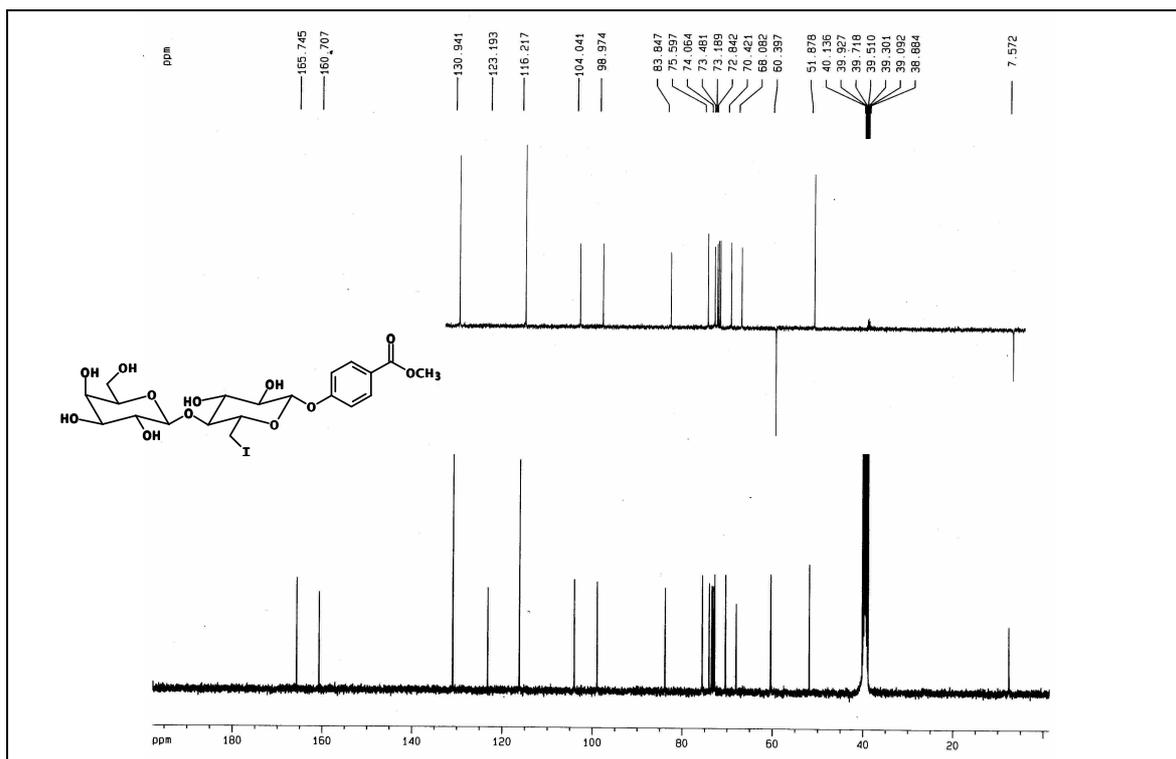


Figura I.47 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de C1 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

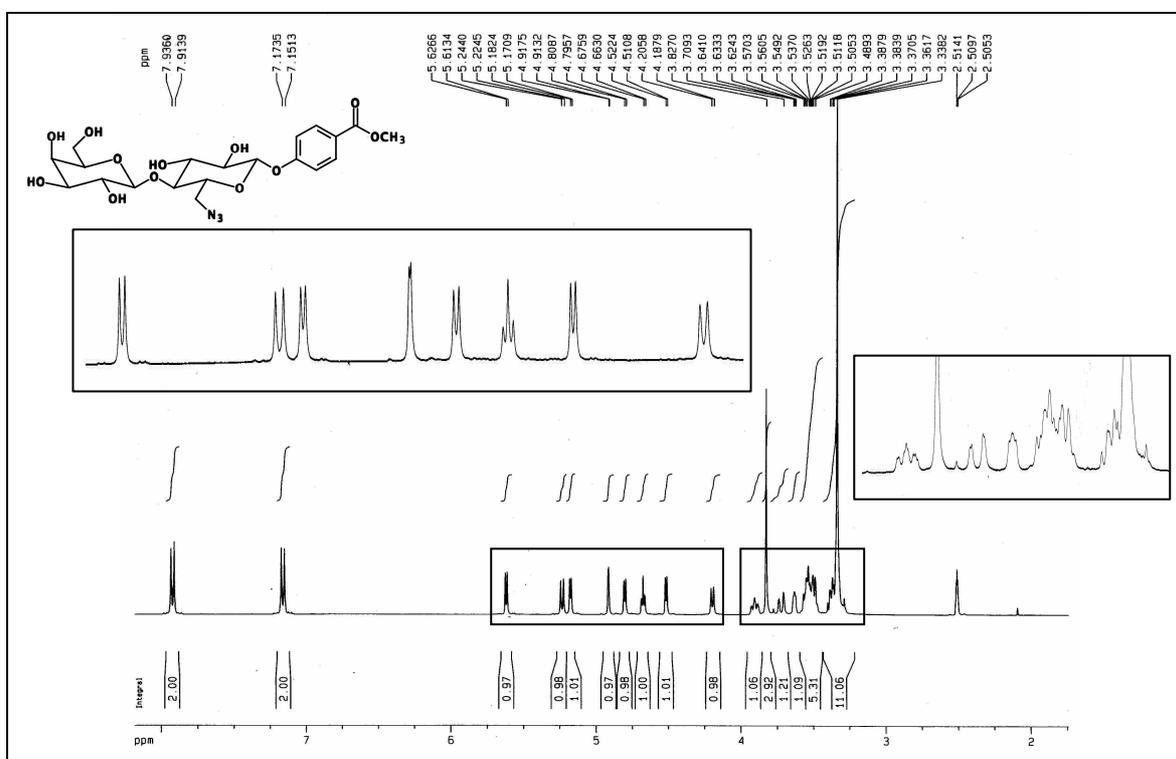


Figura I.48 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de C2 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

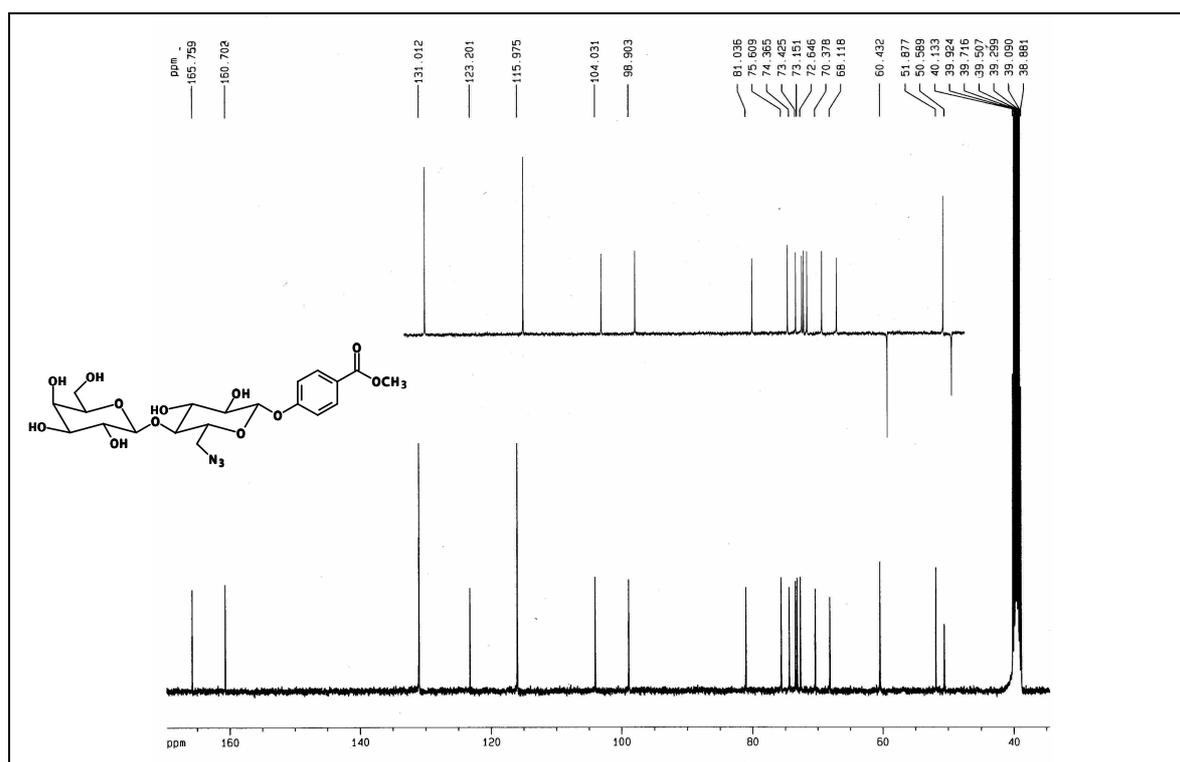


Figura I.49 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de C2 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

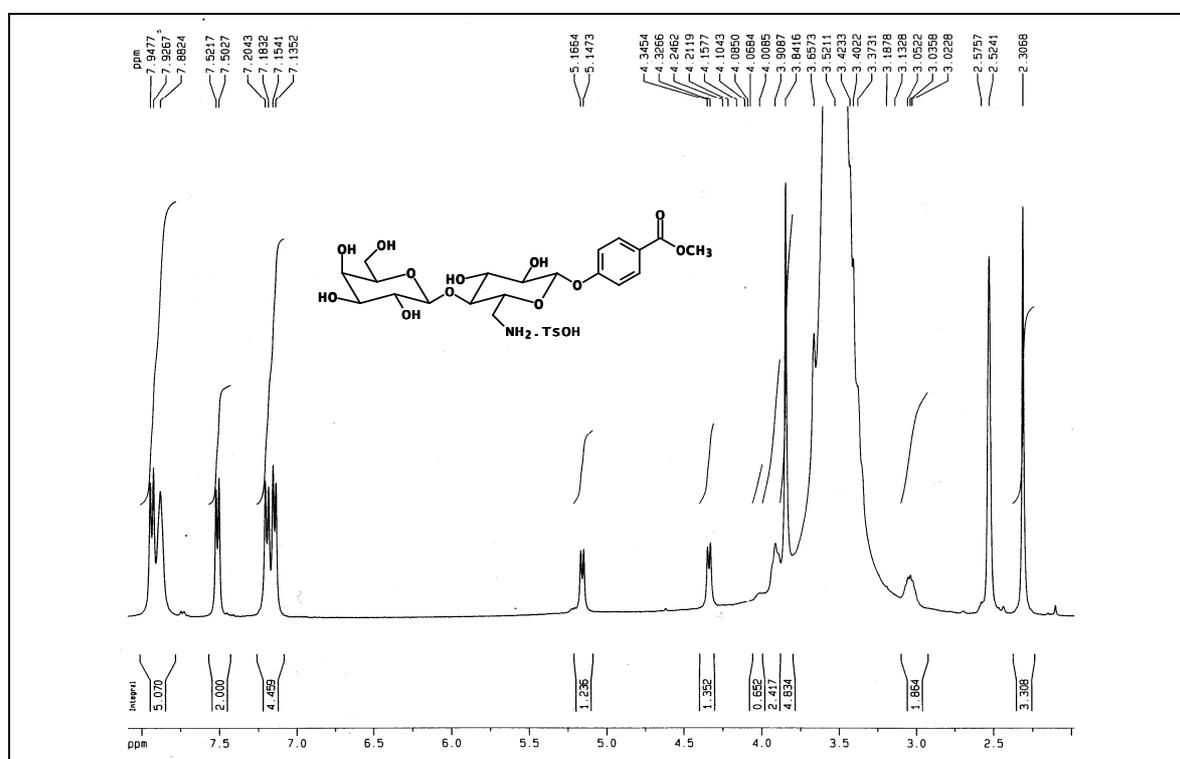


Figura I.50 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de C3s (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

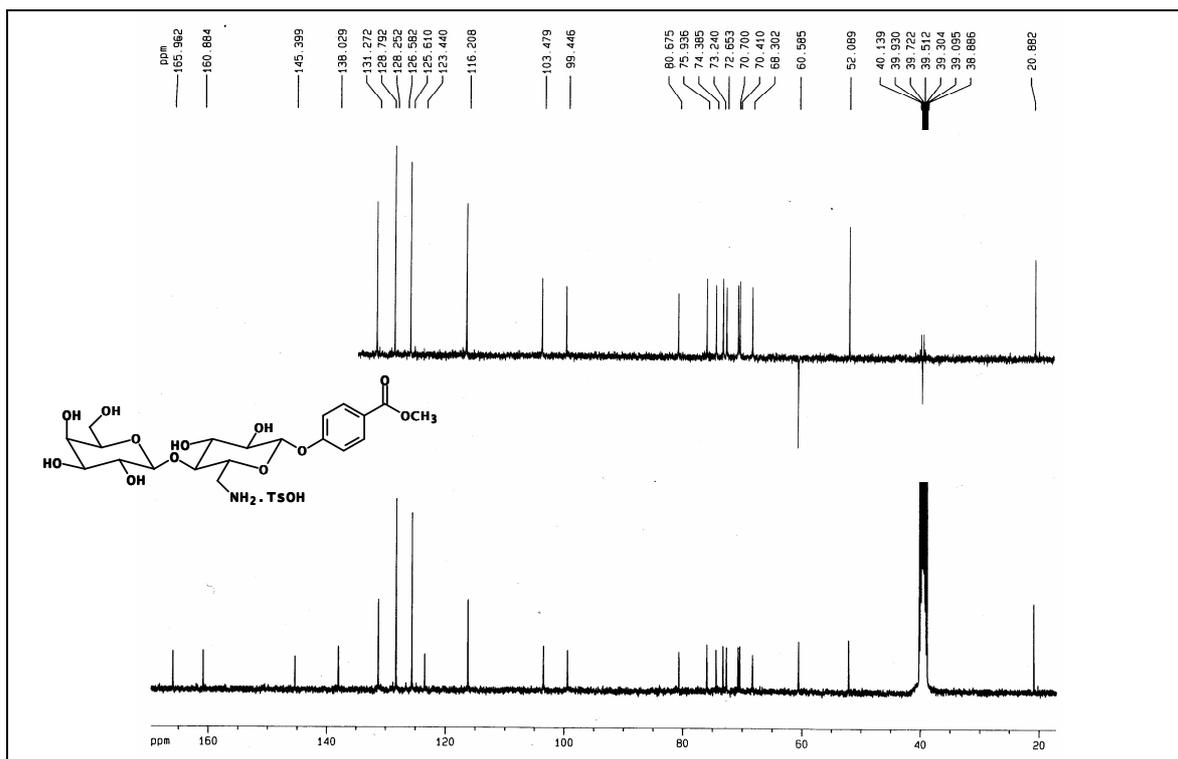


Figura I.51 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de C3s (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

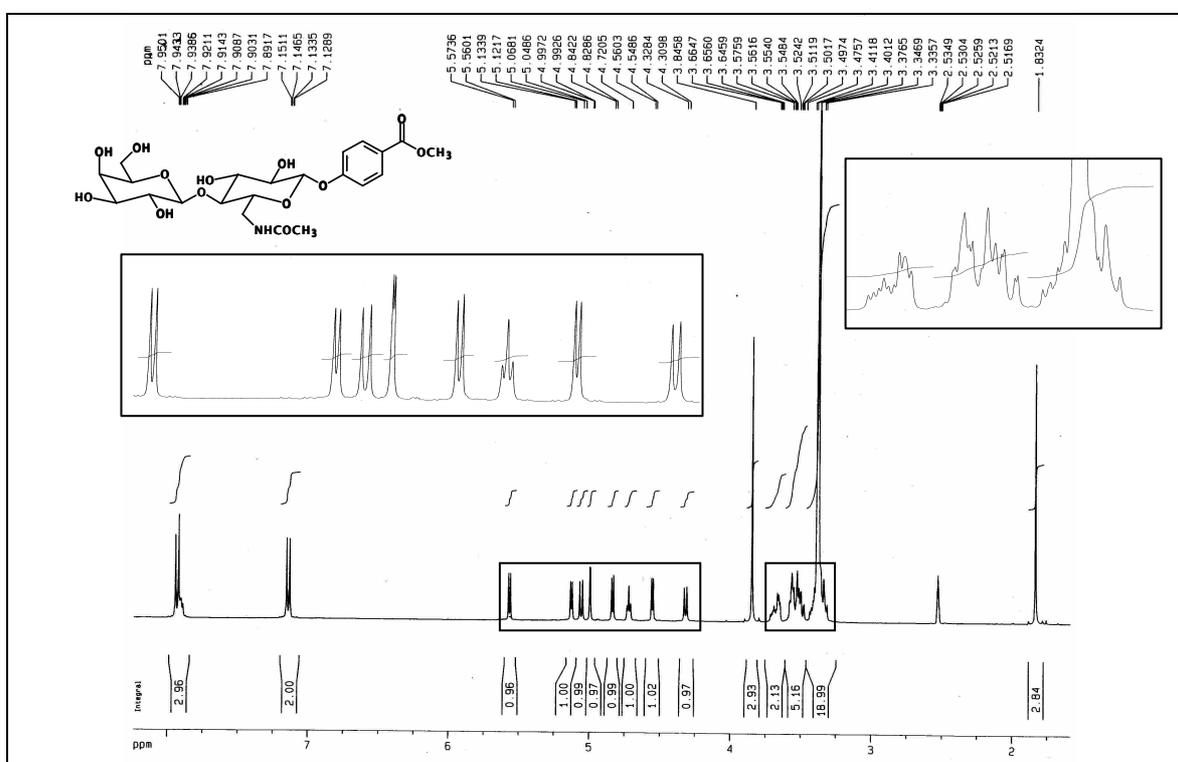


Figura I.52 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de C4 (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

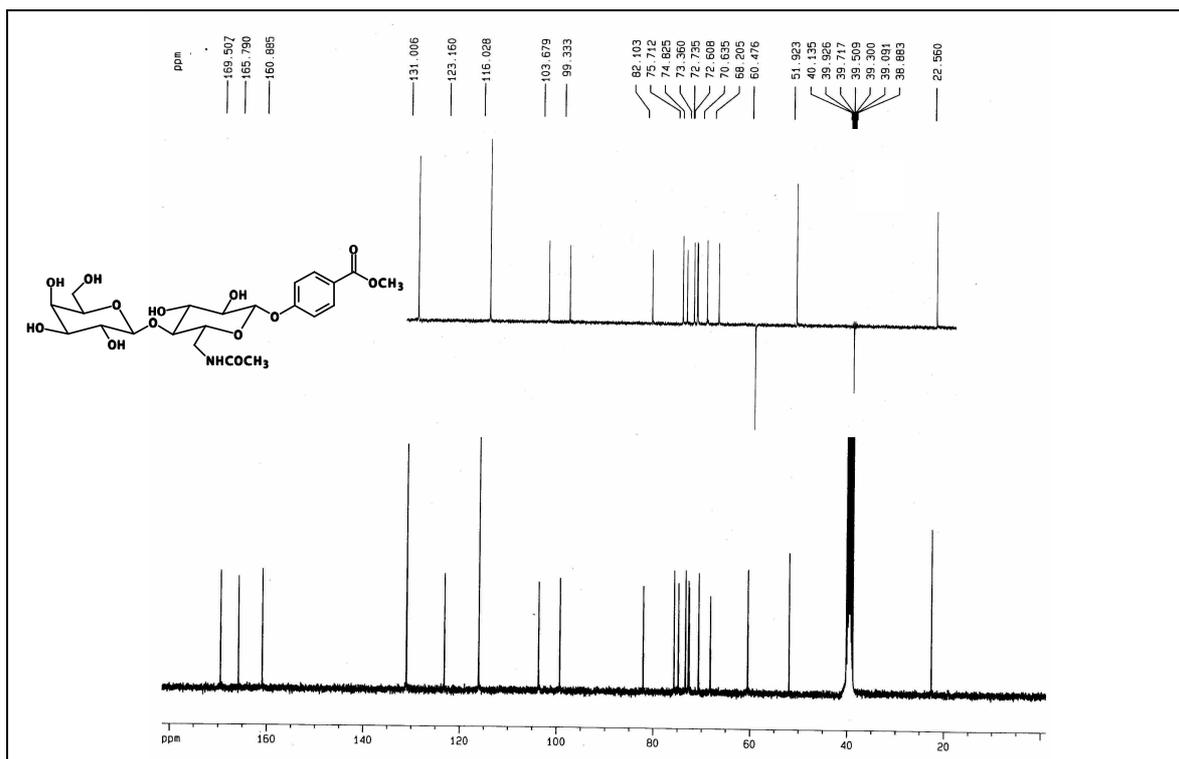


Figura I.53 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de C4 (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

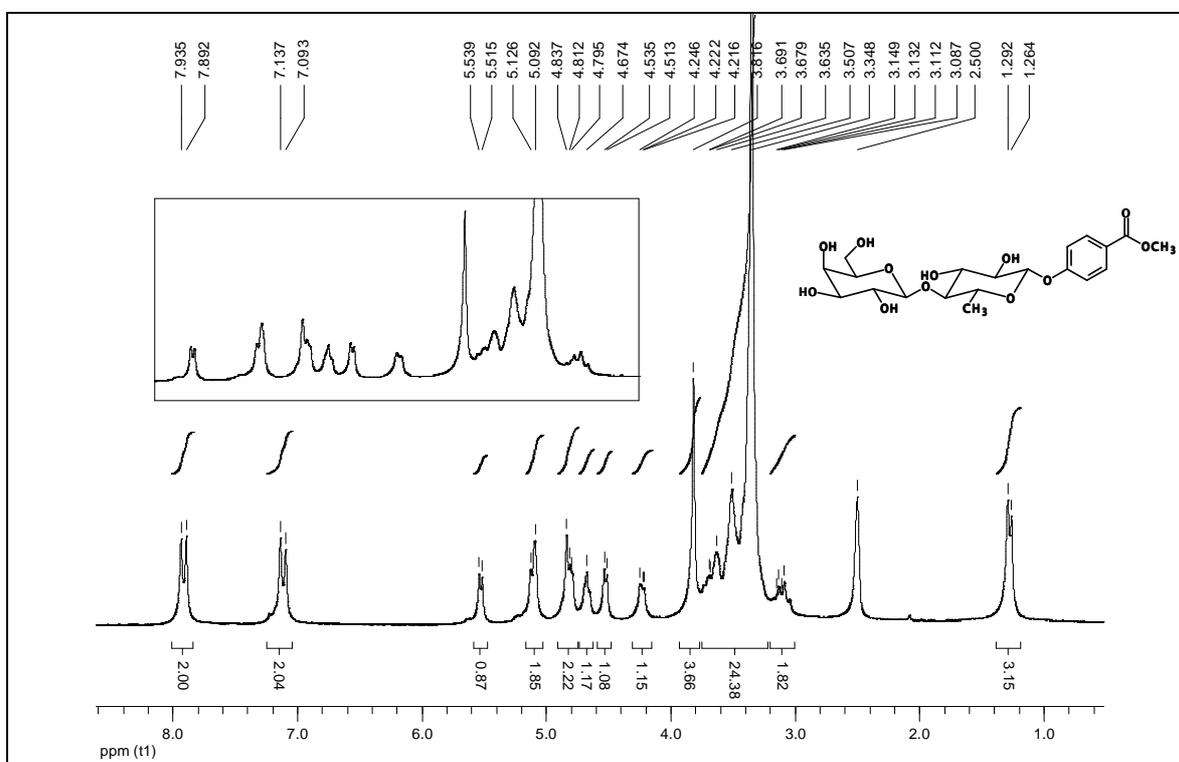


Figura I.54 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de C5 (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

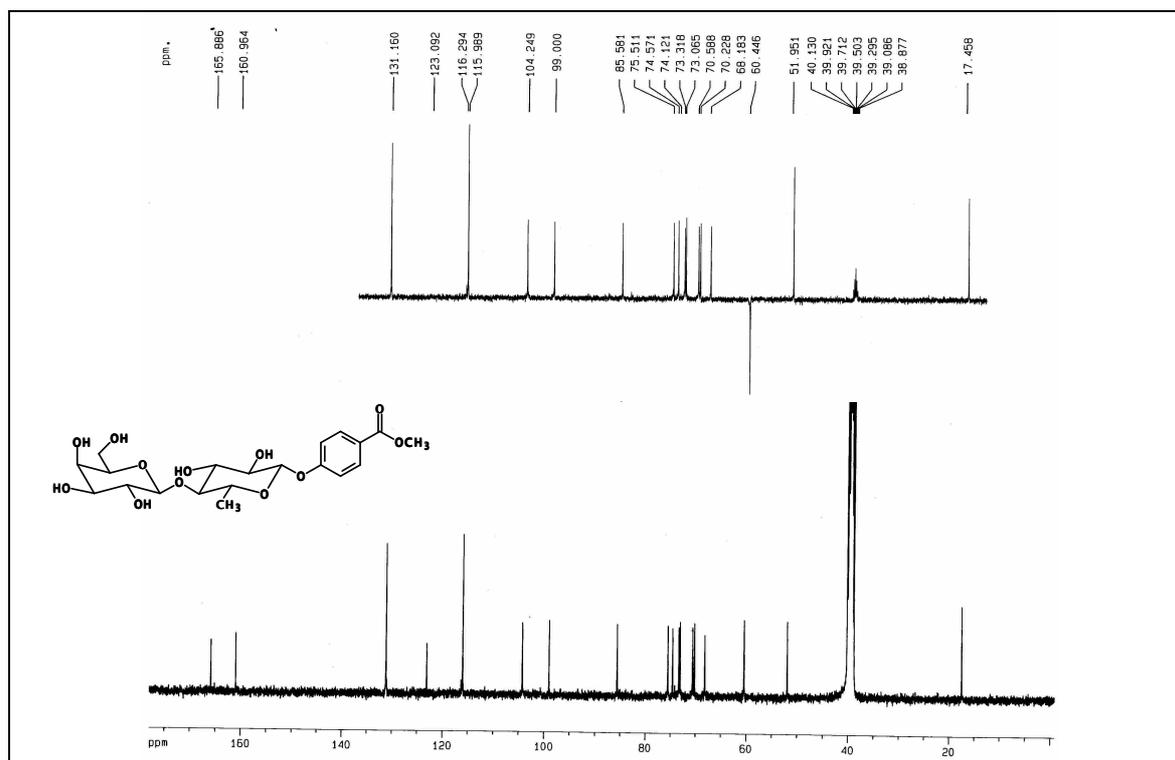


Figura I.55 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **C5** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

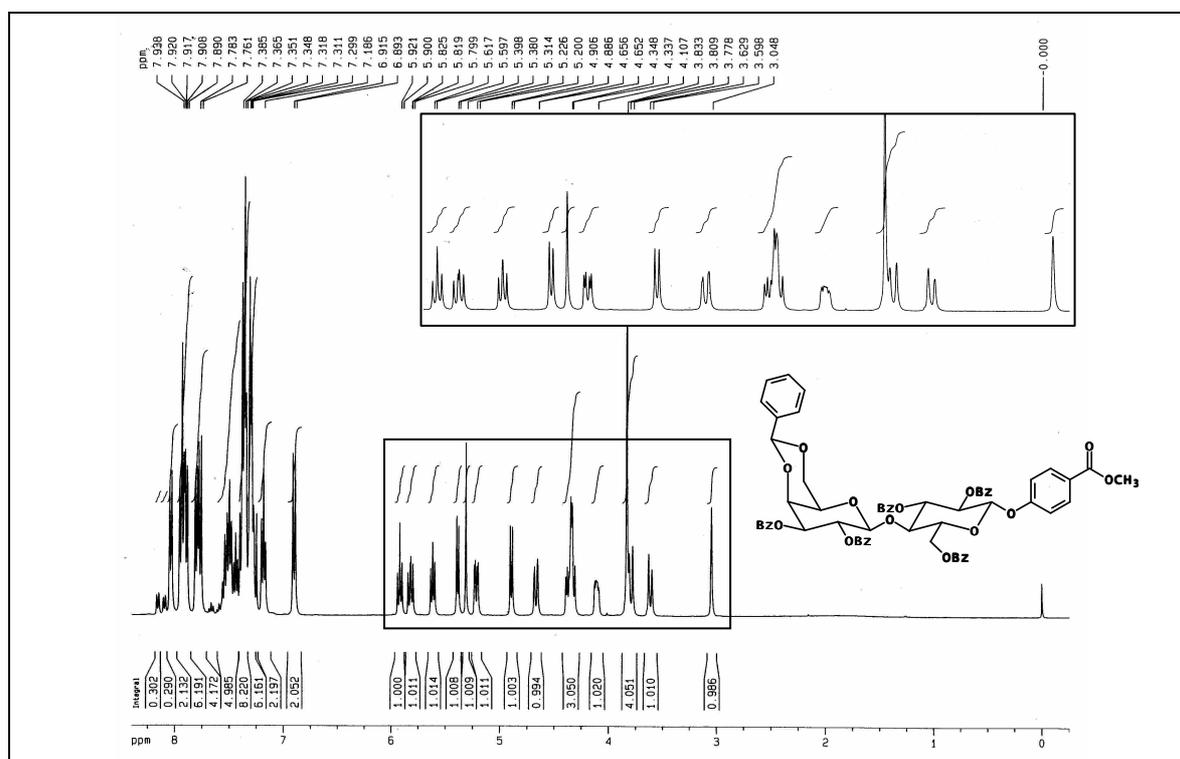


Figura I.56 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **18** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



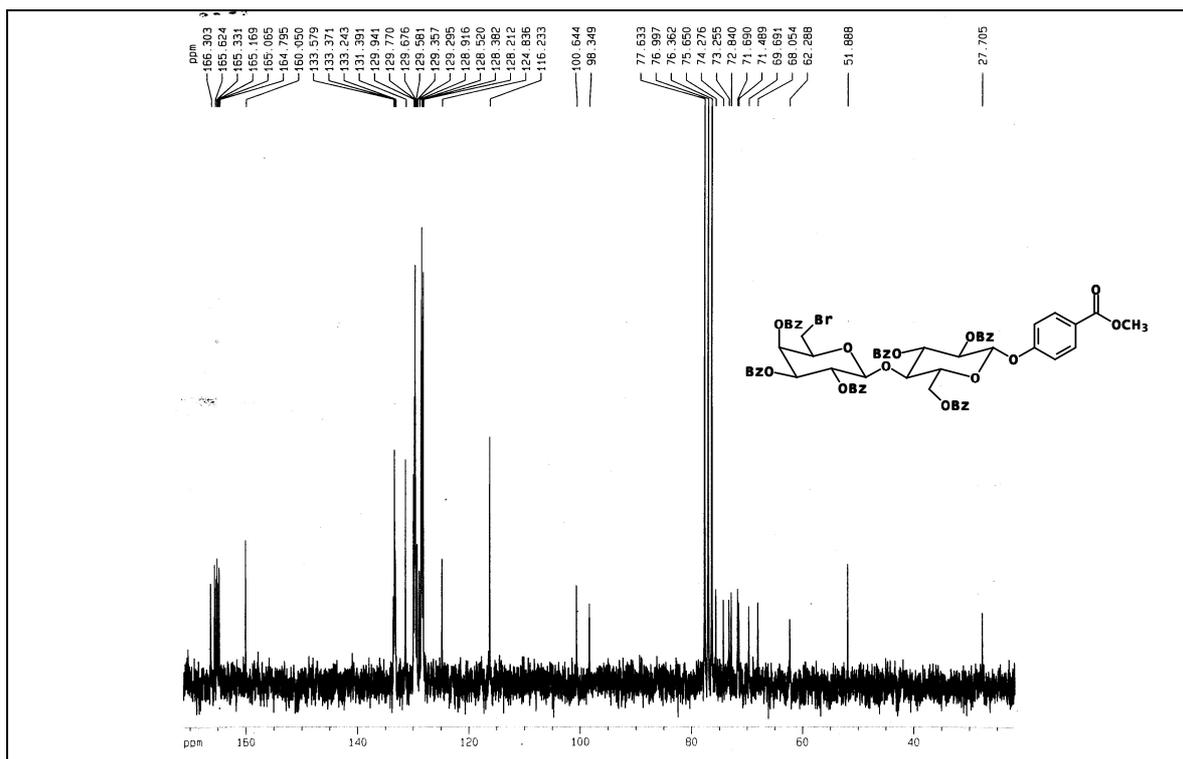


Figura I.59 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **19** ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz).

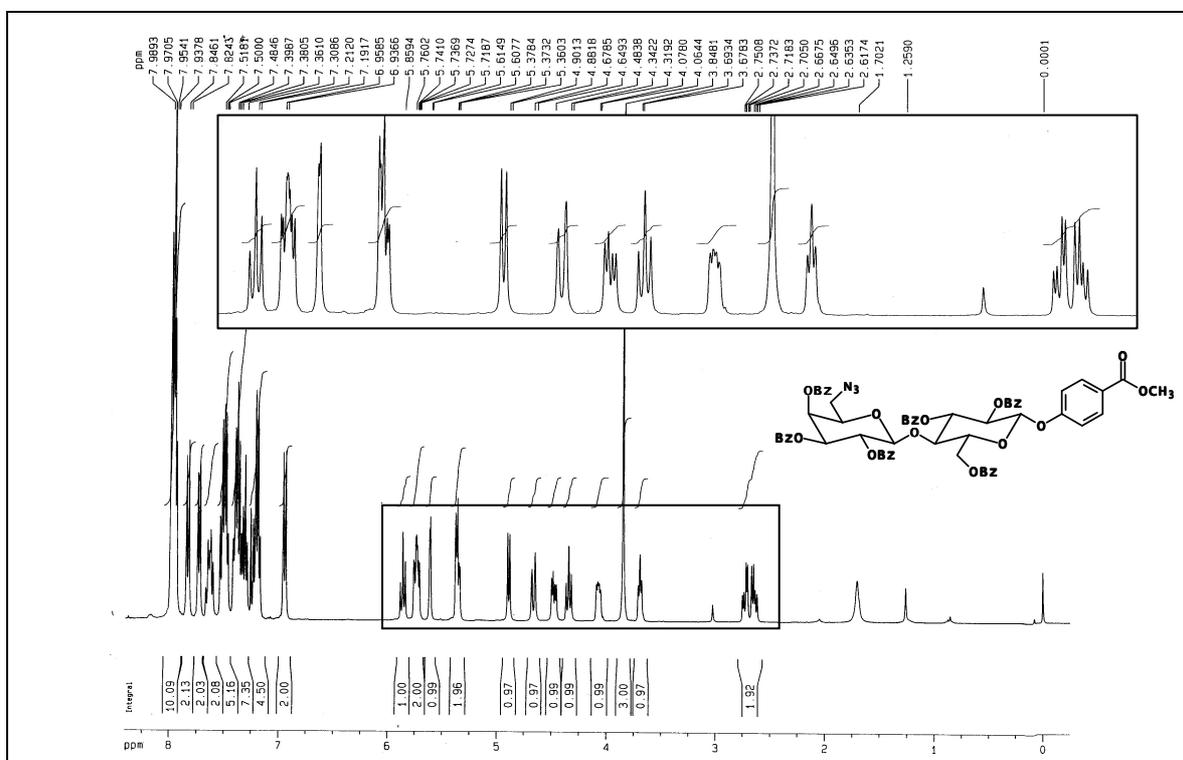


Figura I.60 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **20a** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

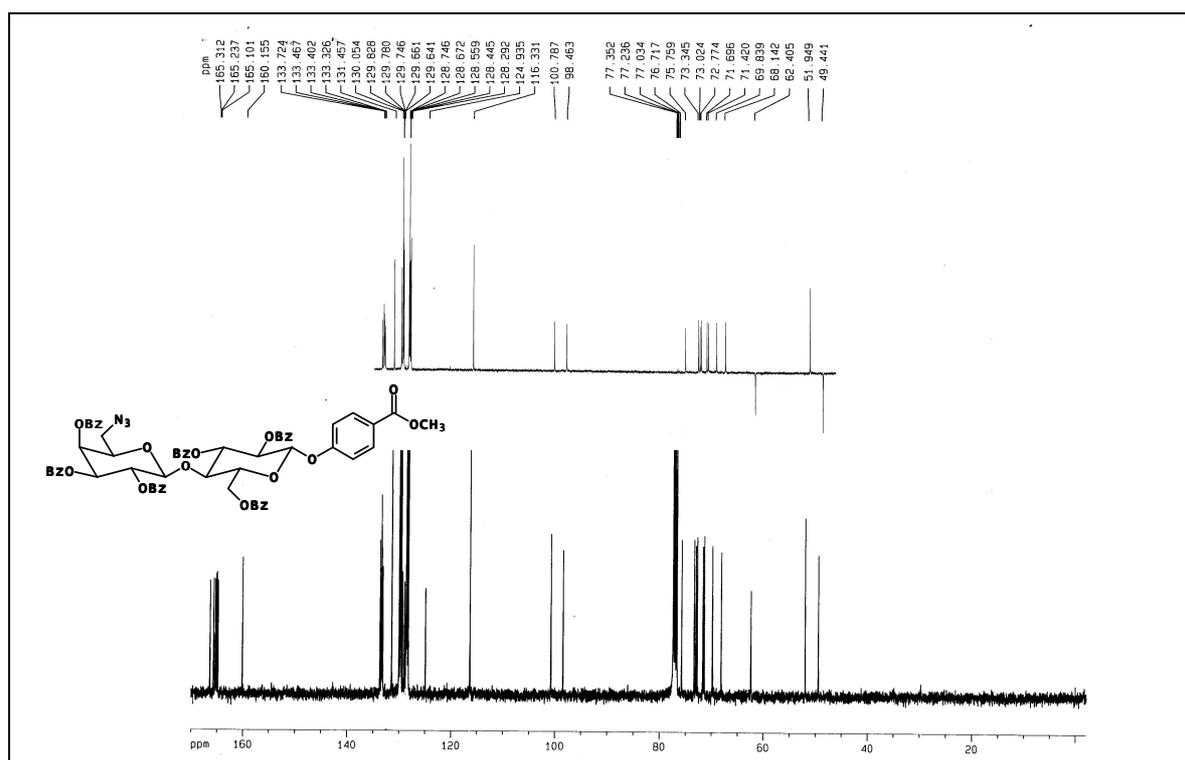


Figura I.61 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **20a** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

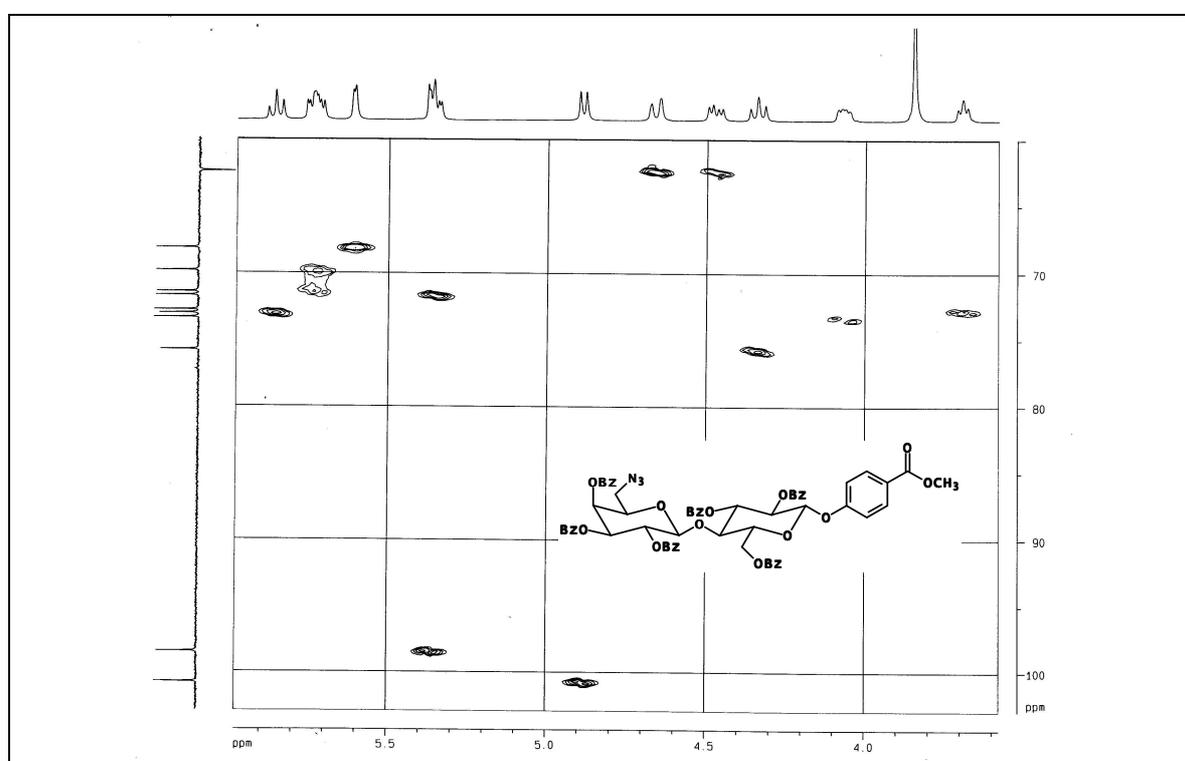


Figura I.62 – Mapa de contornos HSQC de **20a** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

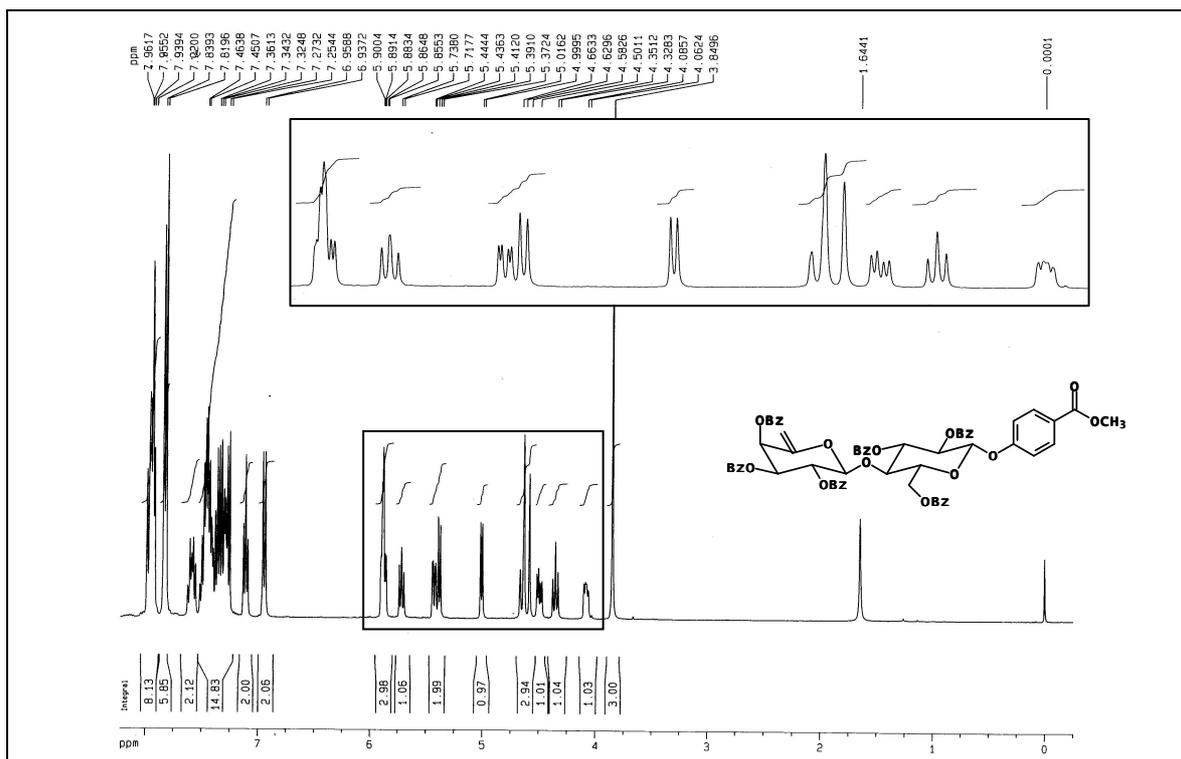


Figura I.63 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **20b** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

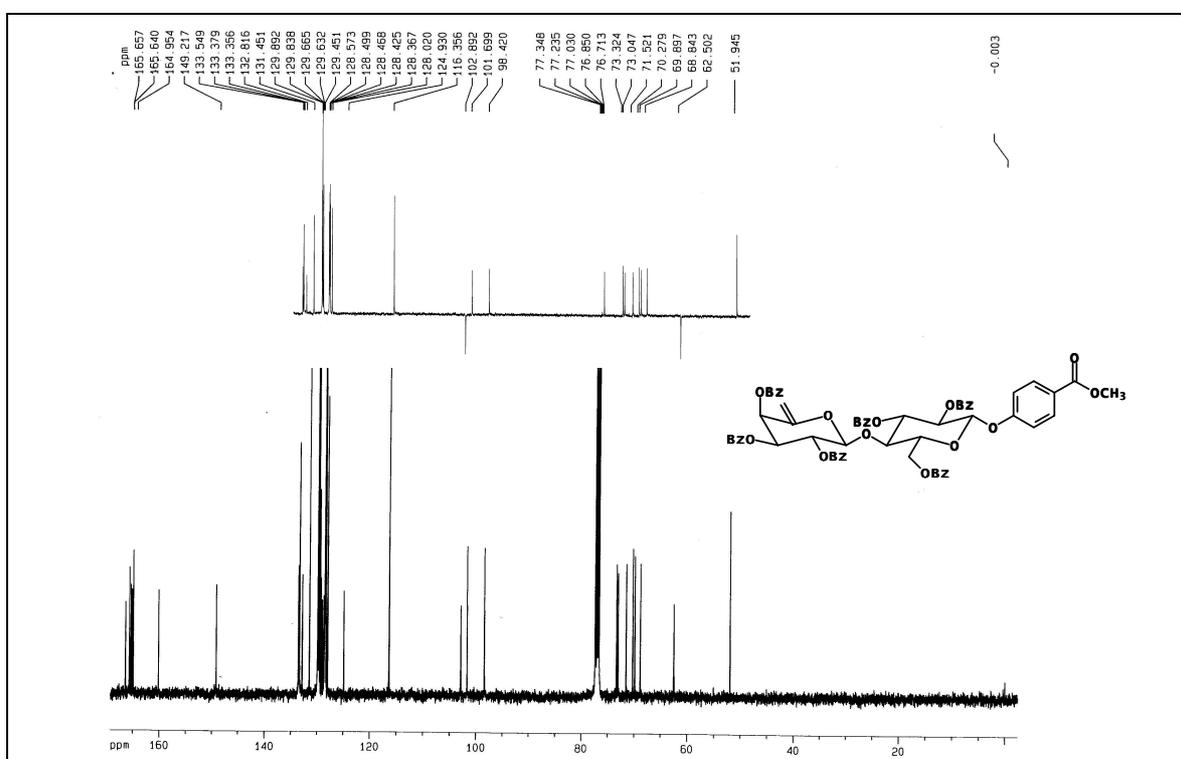


Figura I.64 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **20b** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

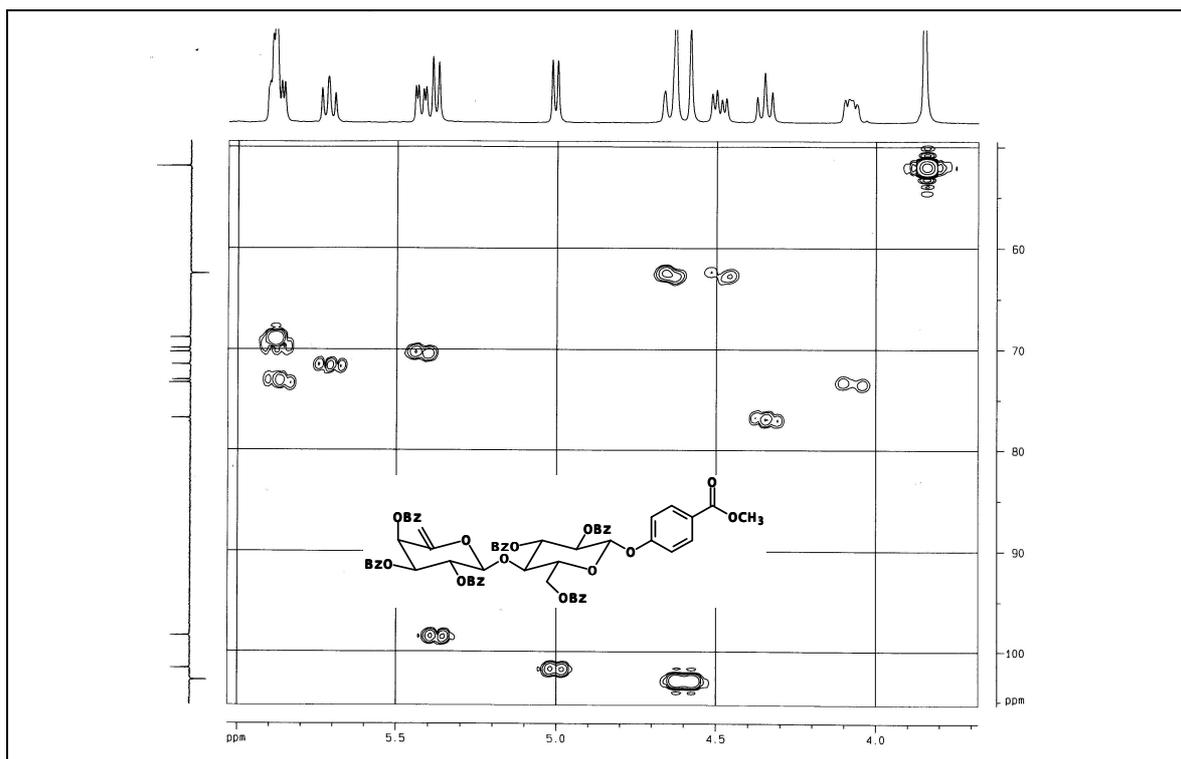


Figura I.65 – Mapa de contornos HSQC de **20b** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

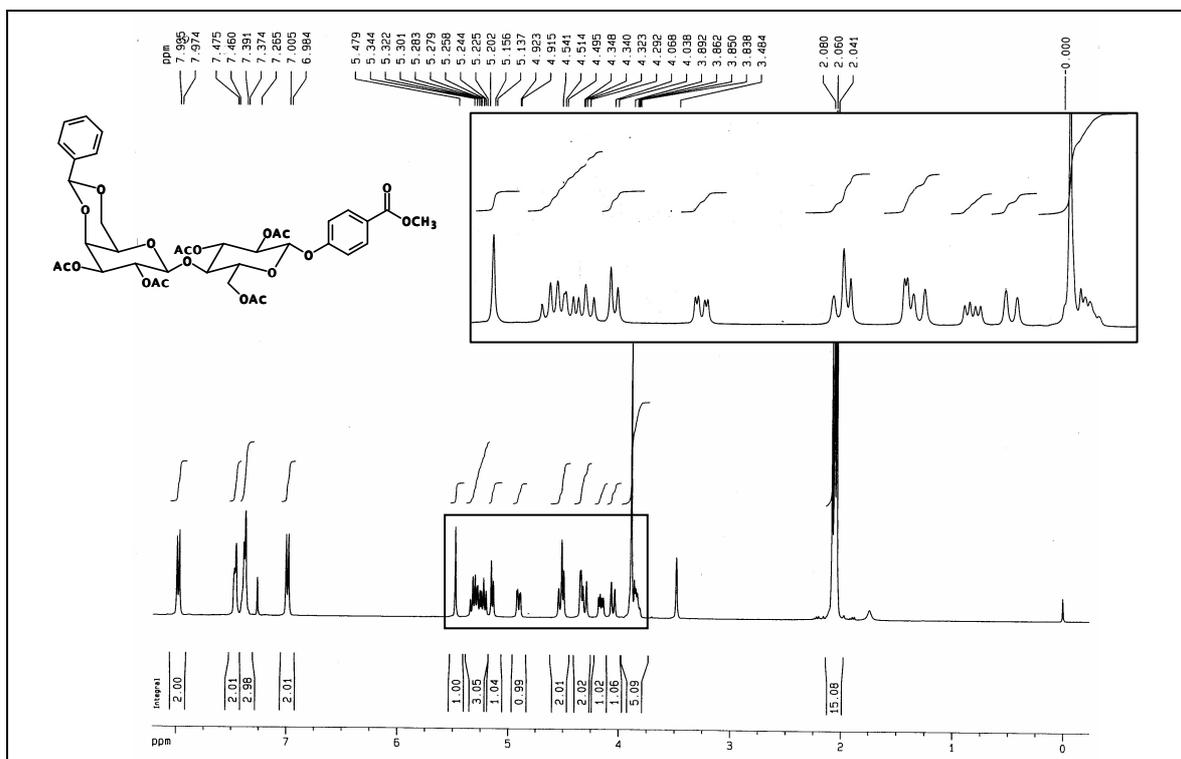


Figura I.66 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **21** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

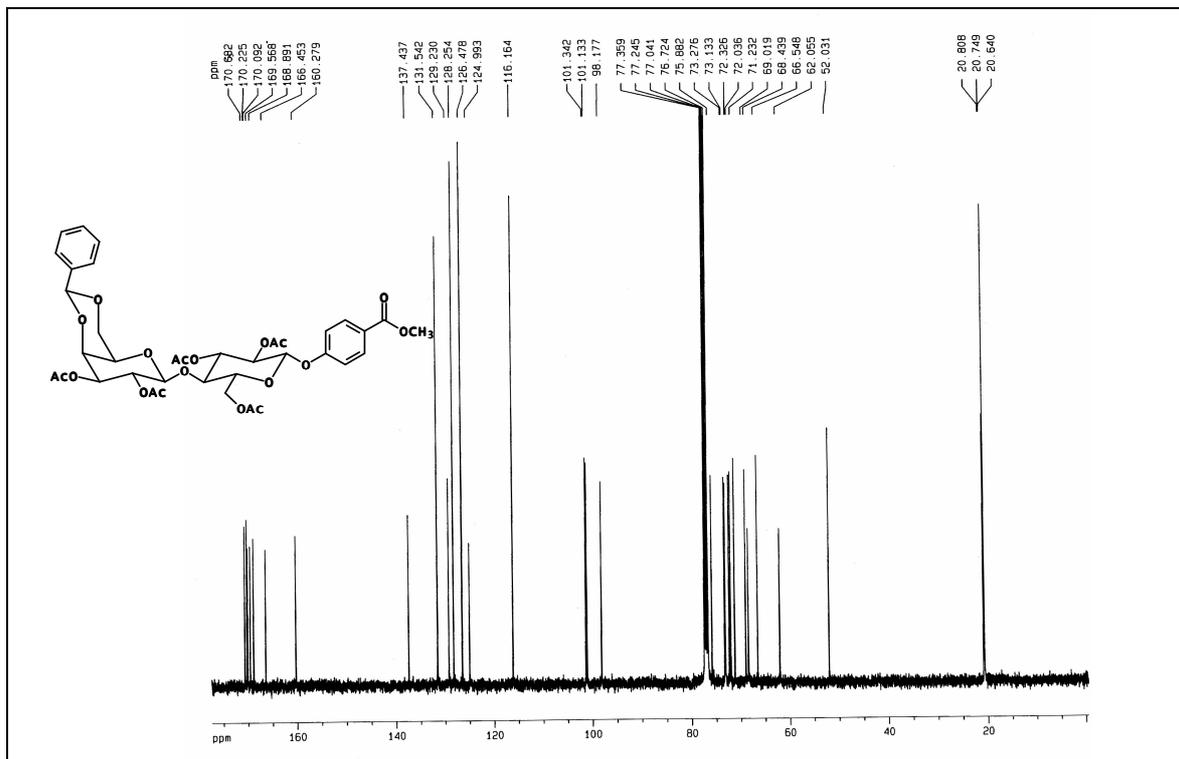


Figura I.67 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **21** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

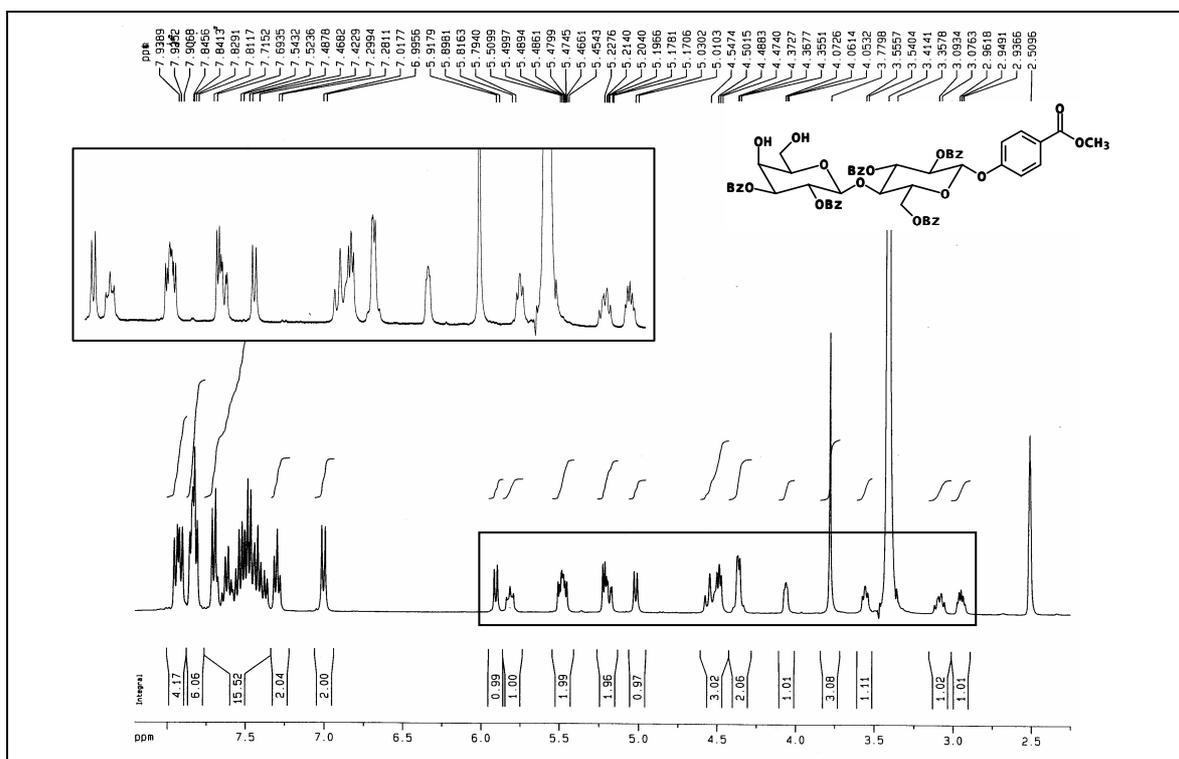


Figura I.68 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **22** ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).

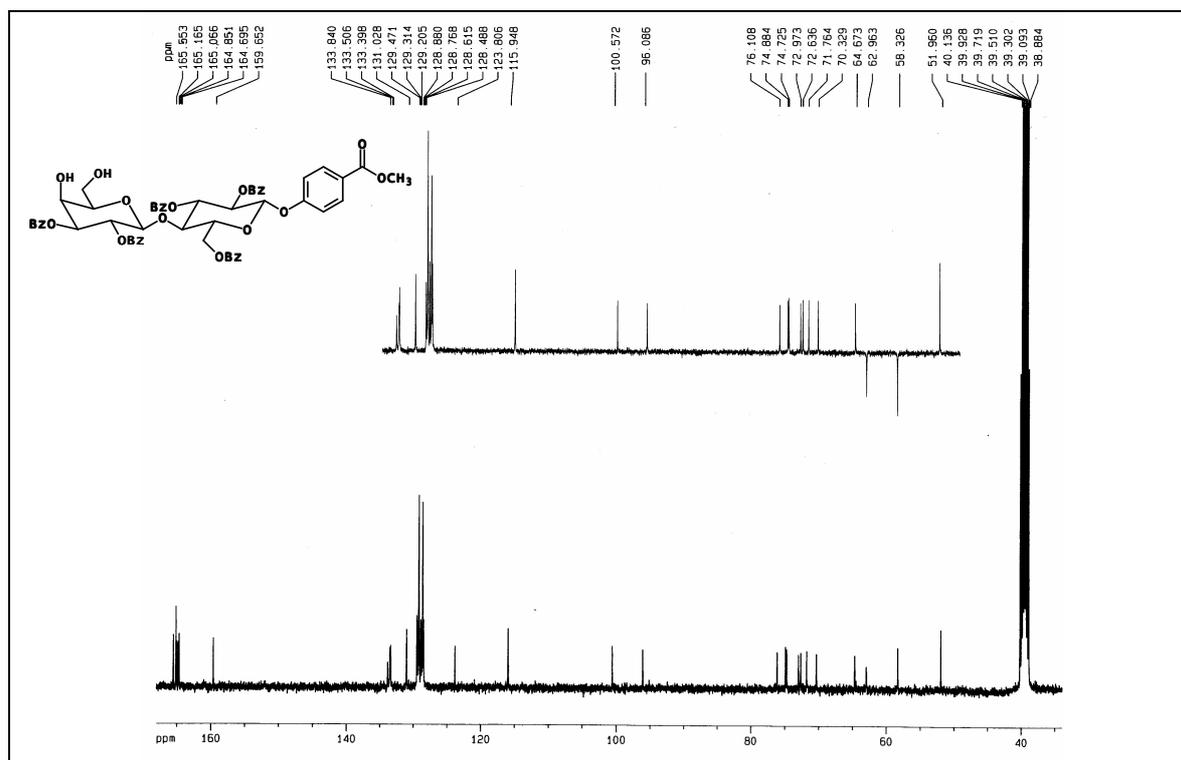


Figura I.69 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **22** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

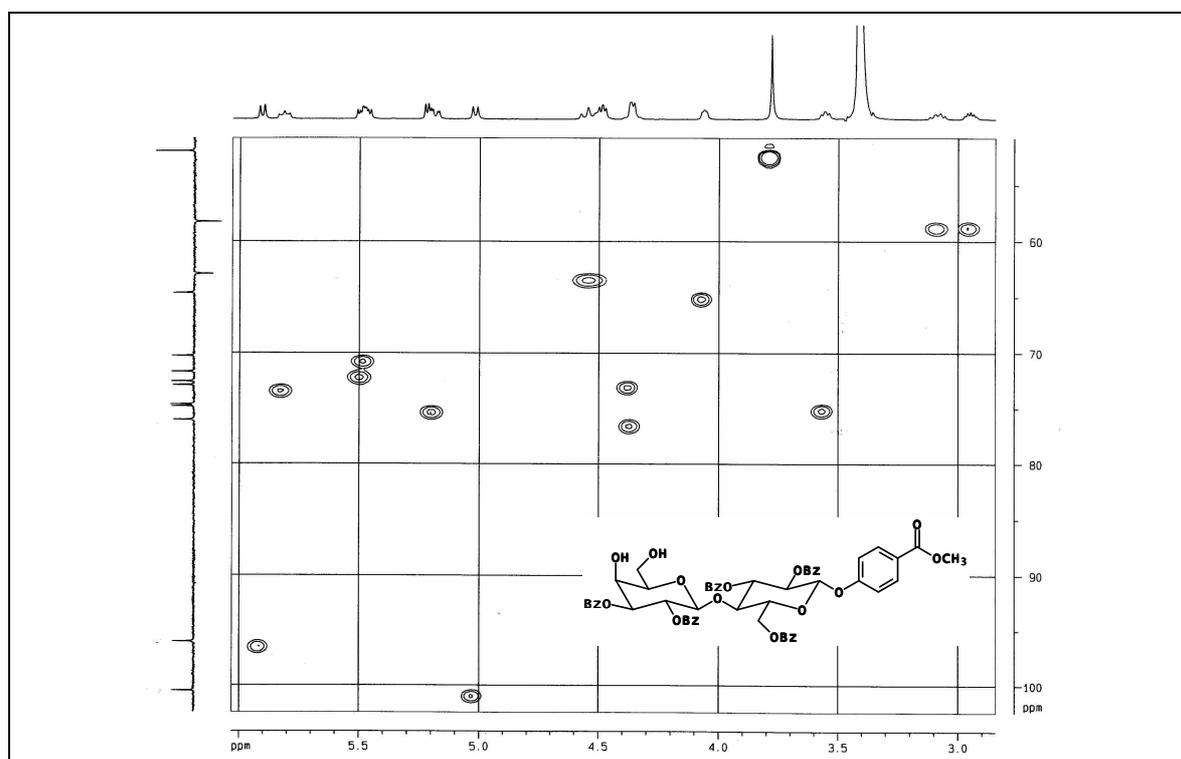


Figura I.70 – Mapa de contornos HSQC de **22** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

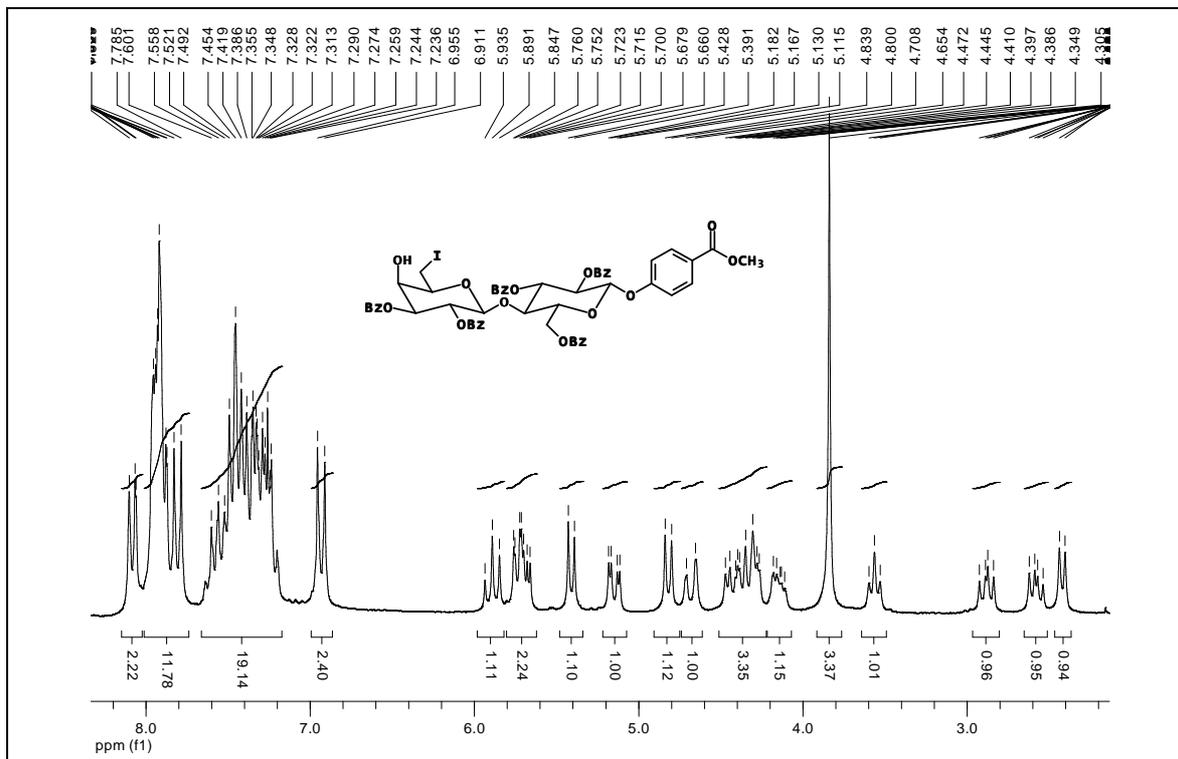


Figura I.71 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **23** ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz).

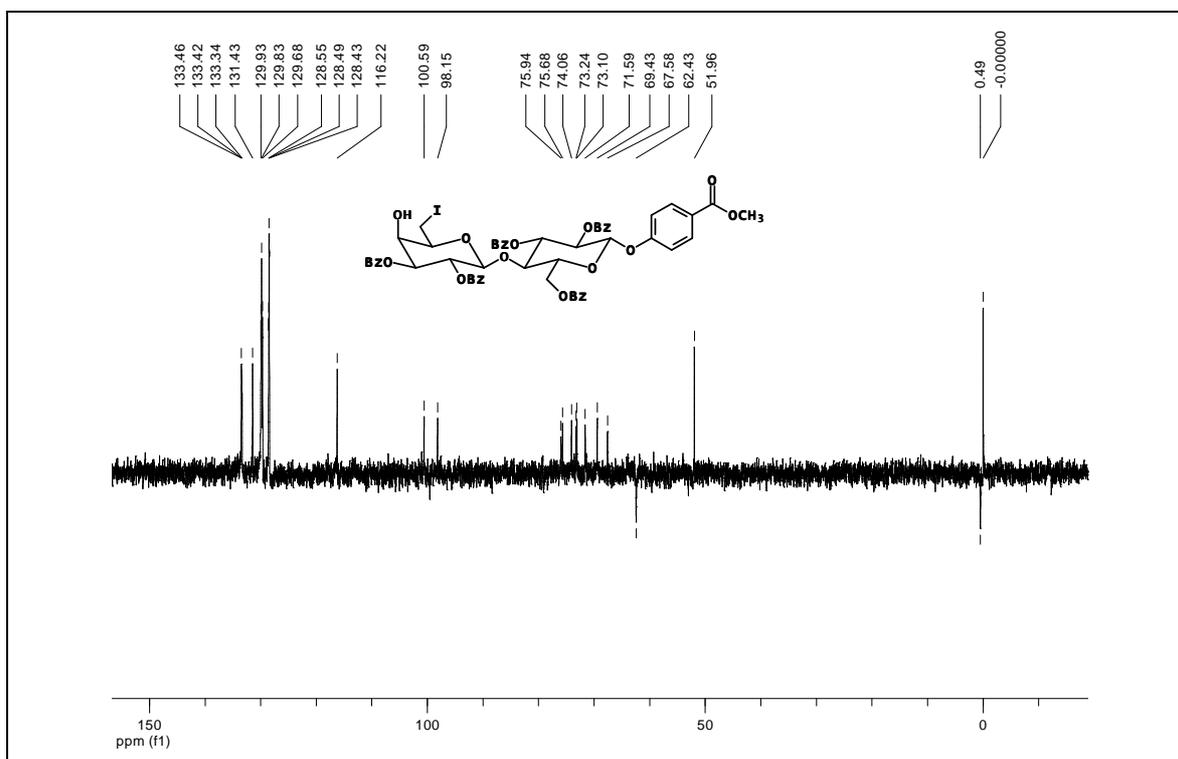


Figura I.72 – Subespectro DEPT 135 de **23** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

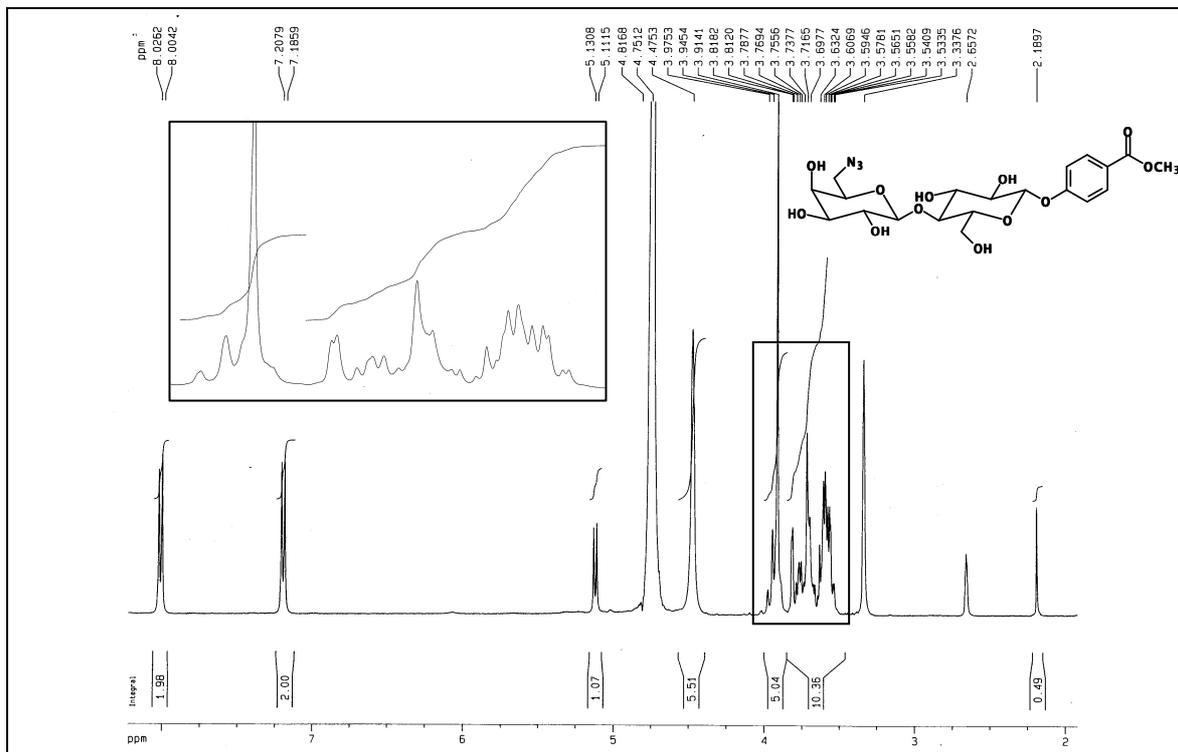


Figura I.73 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **D1** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

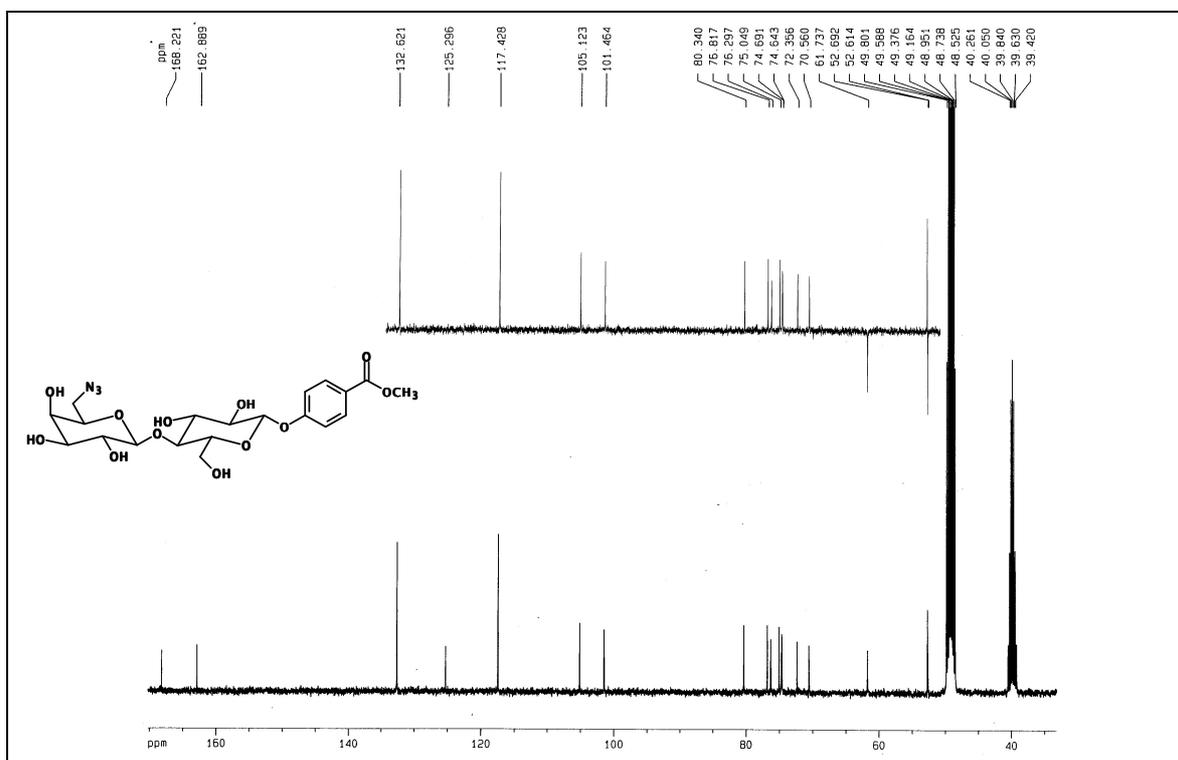


Figura I.74 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **D1** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz).

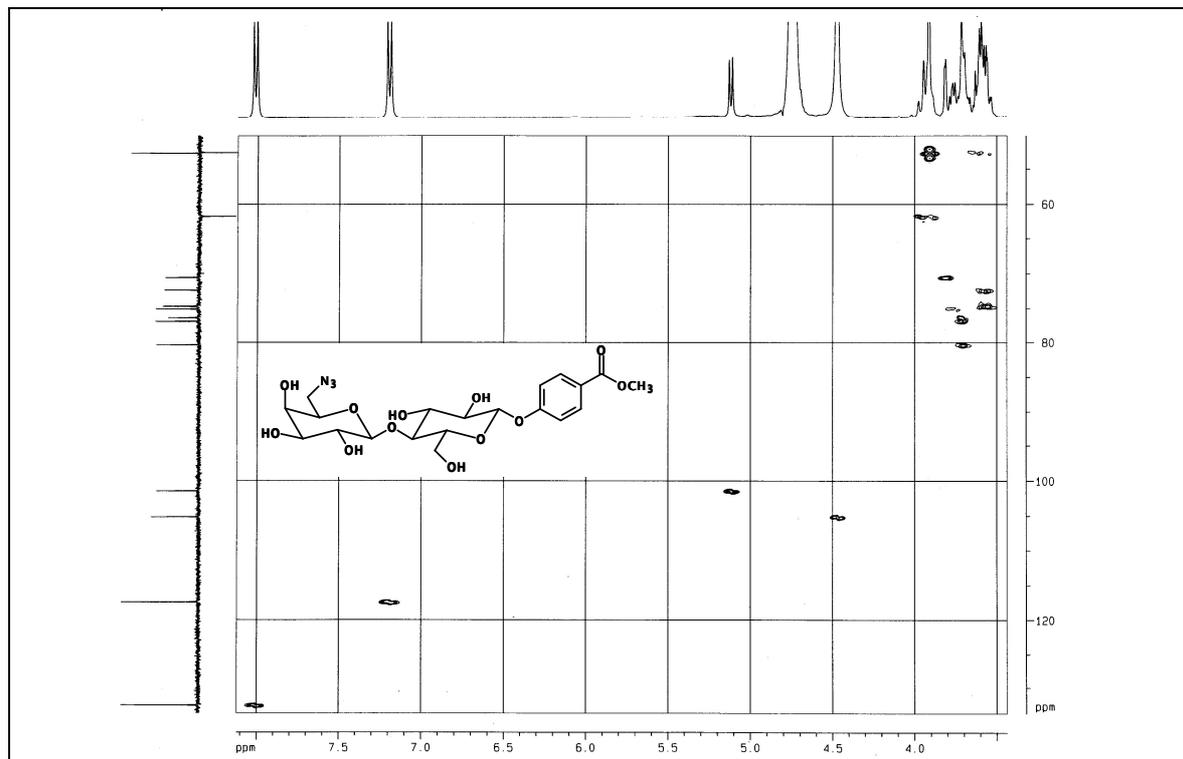


Figura I.75 – Mapa de contornos HSQC de **D1** (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz).

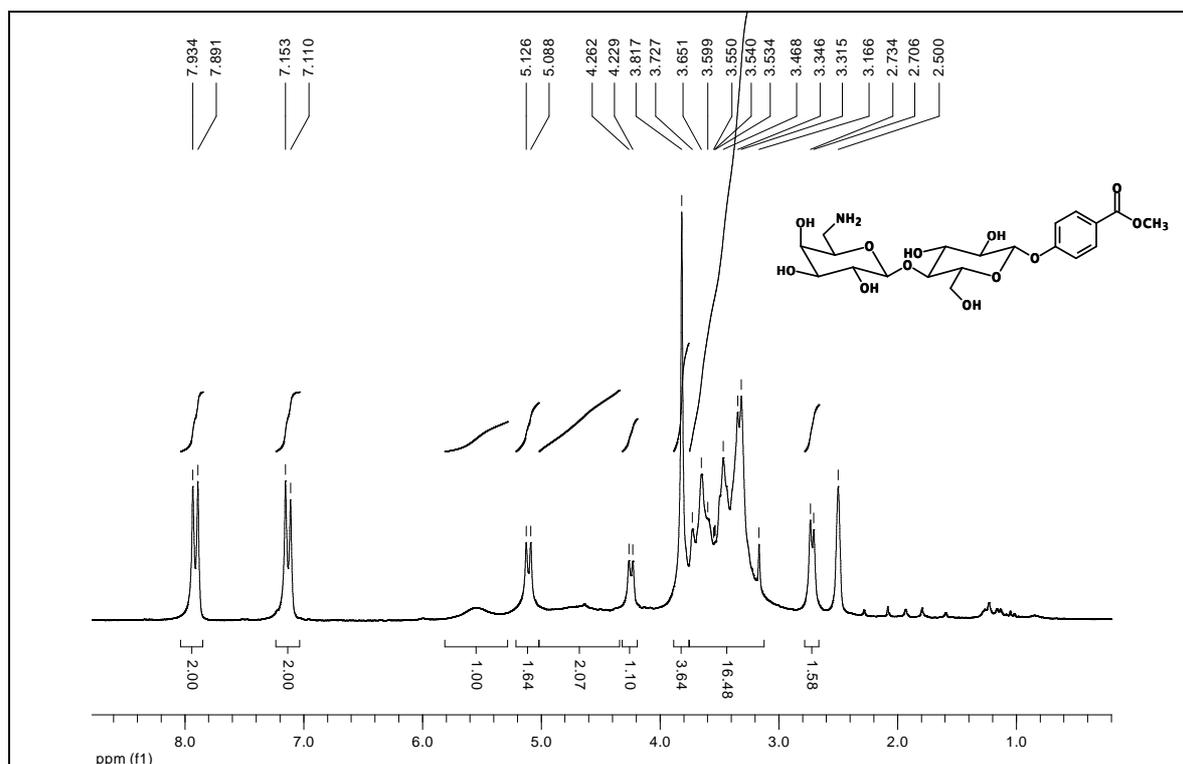


Figura I.76 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **D2** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz).

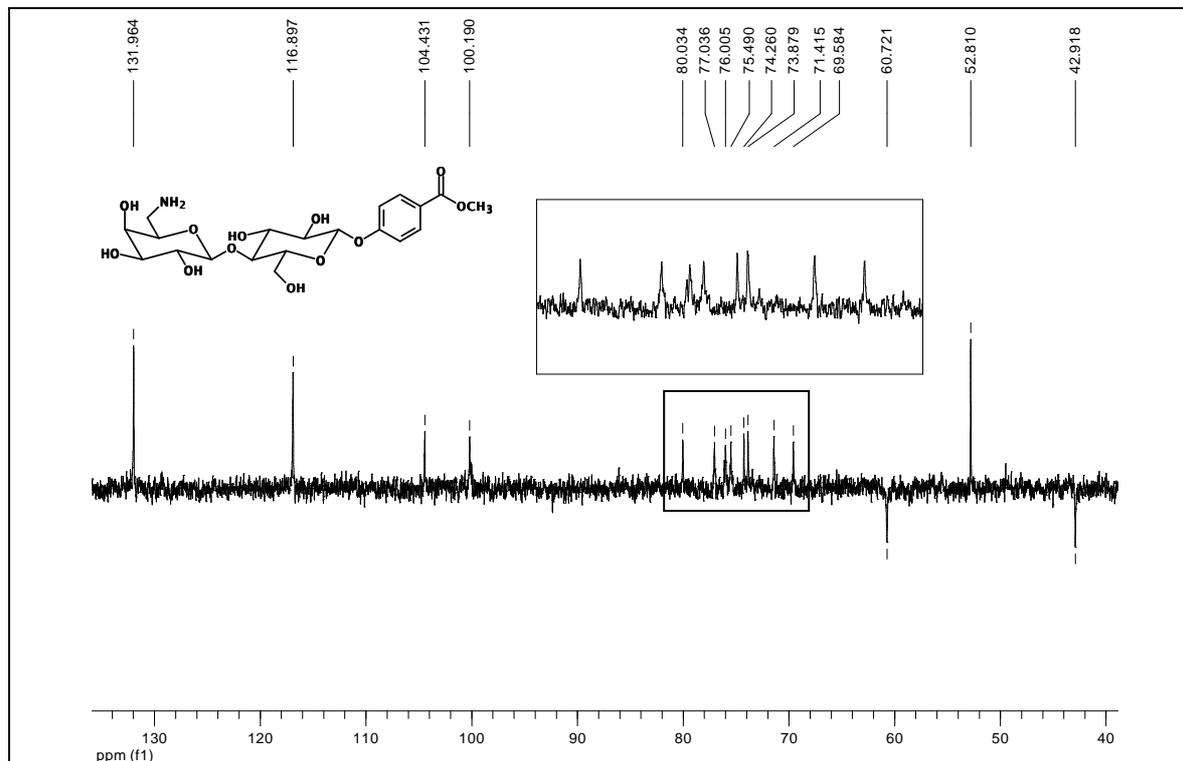


Figura I.77 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **D2** (DMSO- $d_6$ , 50 MHz).

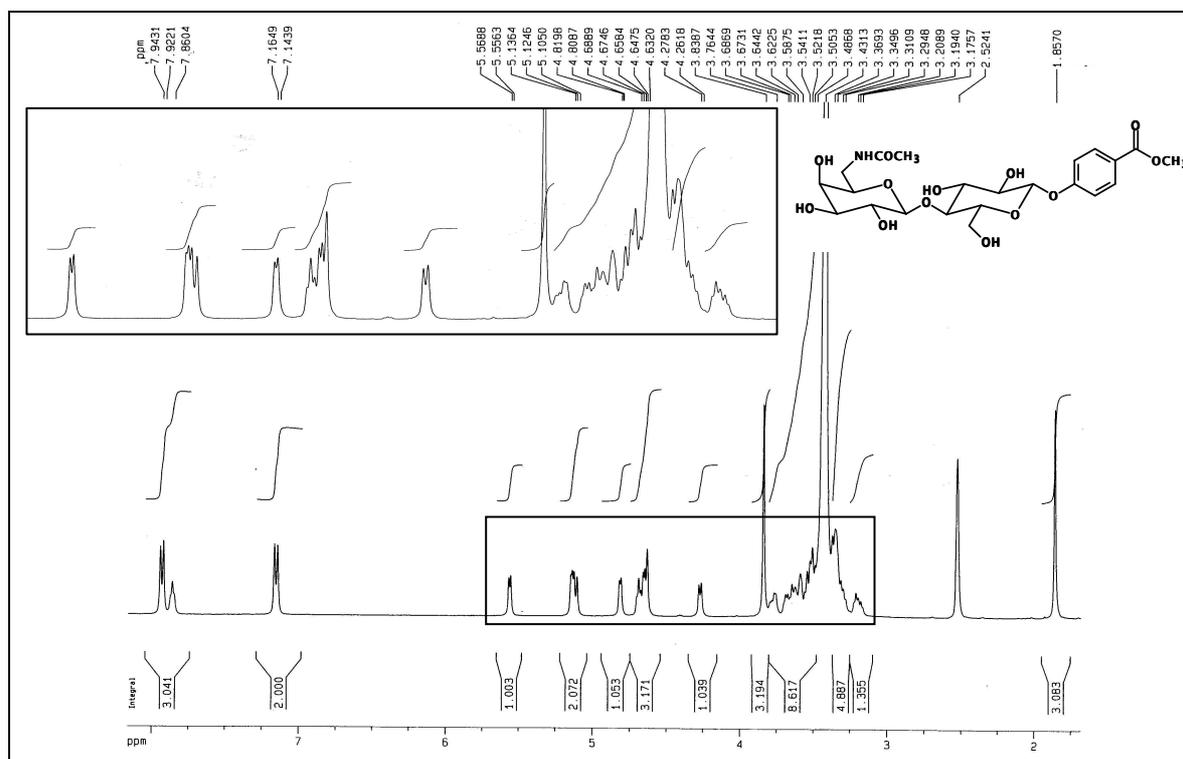


Figura I.78 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **D3** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

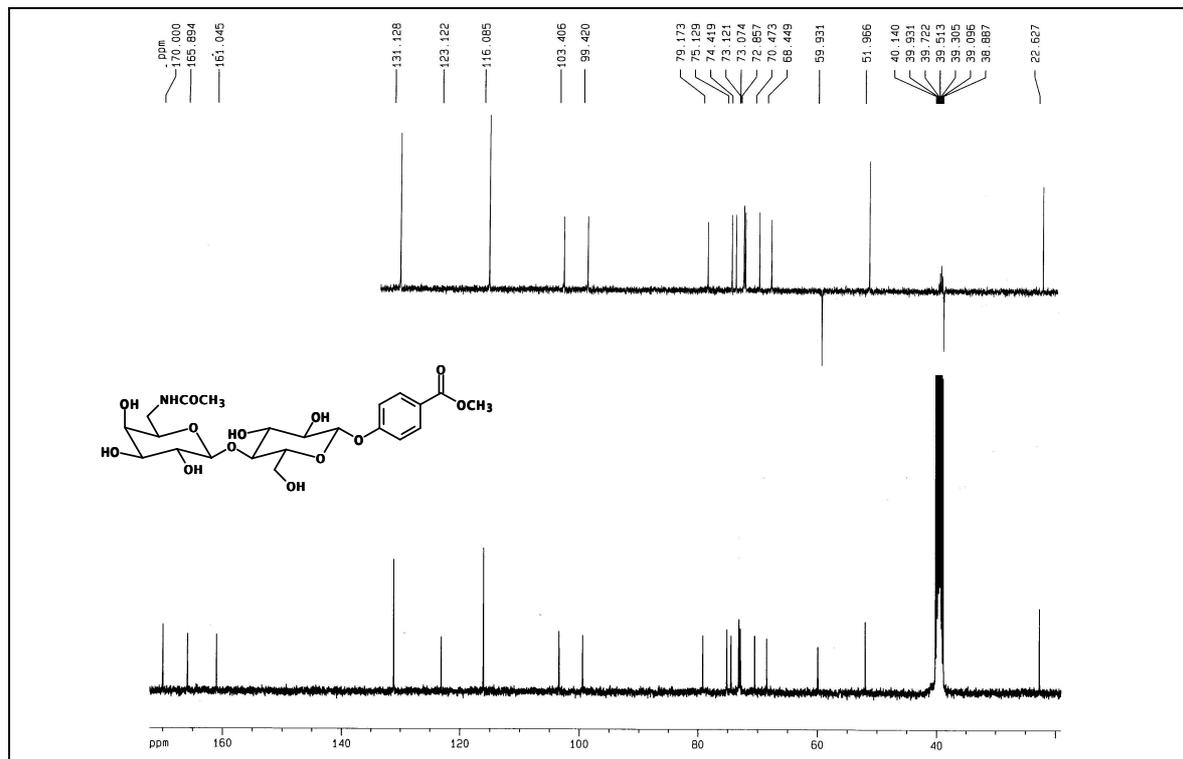


Figura I.79 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **D3** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

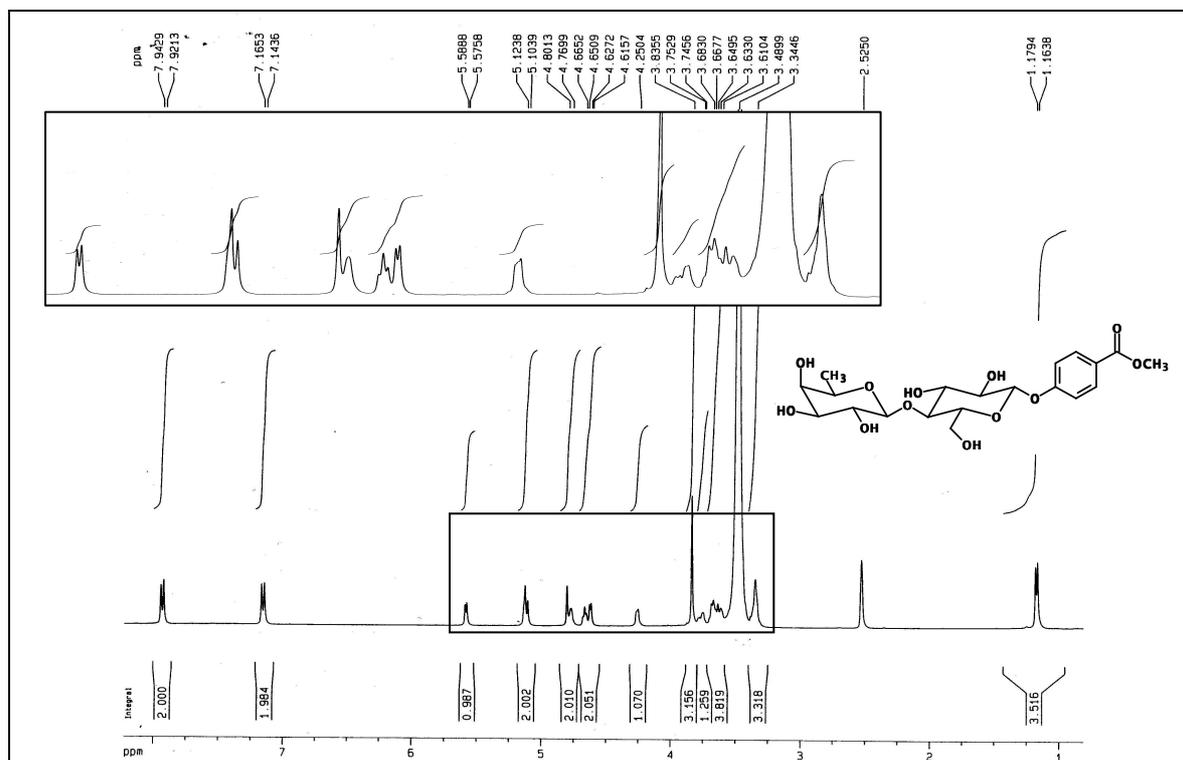


Figura I.80 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **D4** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

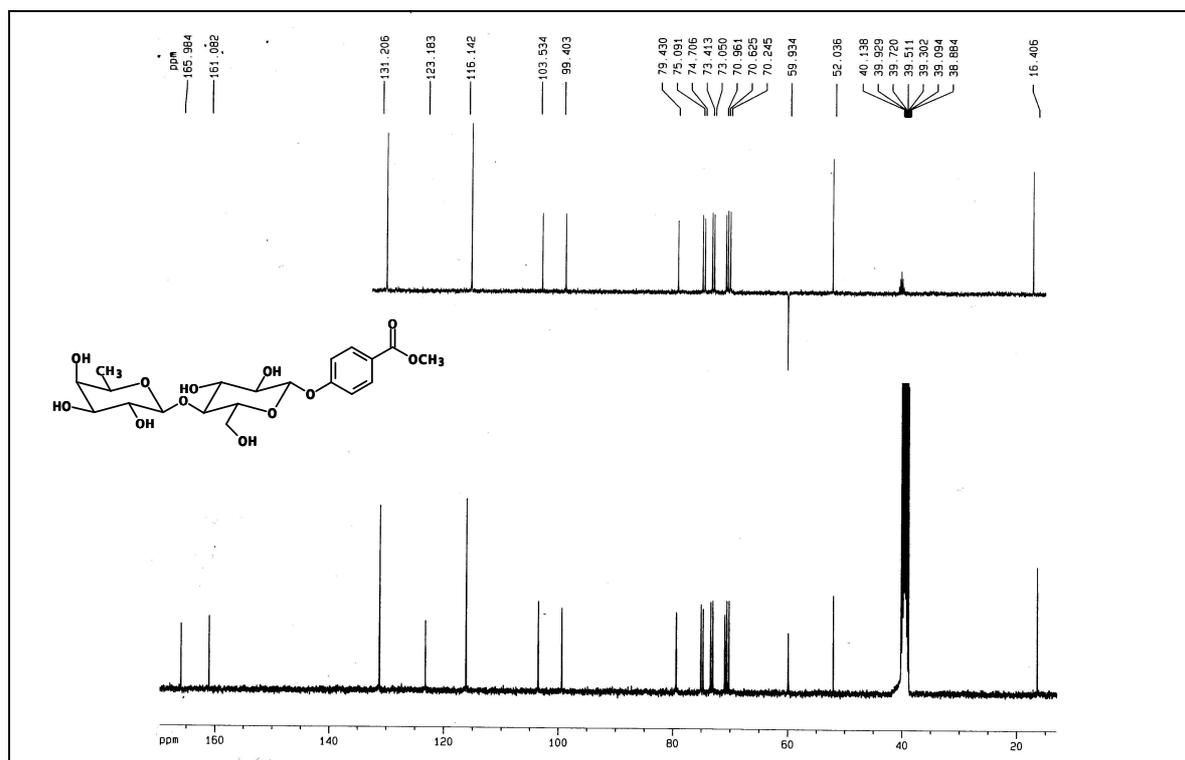


Figura I.81 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **D4** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).