

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Inácio Luduvico

SÍNTESE DE TETRAZÓIS E OXADIAZÓIS
A PARTIR DA GLICOSAMINA E TREALOSE E
AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E MODO
DE AÇÃO DE DERIVADOS DA GLICOSAMINA

Belo Horizonte

2018

UFMG/ICEx/1280^a
T. 579^a

Inácio Luduvico

SÍNTESE DE TETRAZÓIS E OXADIAZÓIS
A PARTIR DA GLICOSAMINA E TREALOSE E
AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E MODO
DE AÇÃO DE DERIVADOS DA GLICOSAMINA

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

Belo Horizonte

2018

L944 Luduvico, Inácio
2018 Síntese de tetrazóis e oxadiazóis a partir da
T glicosamina e trealose e avaliação da citotoxicidade e
 modo de ação de derivados da glicosamina [manuscrito]
 /Inácio Luduvico. 2018.
 III, 178 f. : il.

Orientadora: Rosemeire Brondi Alves.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais. Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química Orgânica - Teses 2. Trealose - Teses 3.
Síntese orgânica - Teses 4. Carboidratos - Teses.
5. Tetrazóis - Teses I. Alves, Rosemeire Brondi
Orientadora

CDU 043



"Síntese de Tetrazóis e Oxadiazóis a partir da Glicosamina e Trealose e Avaliação da Citotoxicidade e Modo de Ação de Derivados da Glicosamina"

Inácio Luduvico

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Rosemeire Brondi Alves

Profª. Rosemeire Brondi Alves - Orientadora
UFMG

Mauro Vieira de Almeida

Prof. Mauro Vieira de Almeida
UFJF

José Augusto Ferreira Perez Villar

Prof. José Augusto Ferreira Perez Villar
UFSJ

Ricardo José Alves

Prof. Ricardo José Alves
UFMG

Cleiton Moreira da Silva

Prof. Cleiton Moreira da Silva
UFMG

Belo Horizonte, 29 de junho de 2018.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me abençoar com pessoas tão especiais ao longo de minha vida.

Aos meus pais Manoel (*in memorian*) e Maria Luzia pela minha formação primeira.

A minha esposa Cleide e meus filhos Yasmin e João, aos quais dedico este trabalho.

Aos meus irmãos Moisés, Samuel e Maria Ester por compreenderem a distância necessária durante meu processo de formação.

Ao vô Quiquinha, vó Goinha, Bernado e Davi sempre presentes.

A tia Dina (*in memorian*).

A professora Rose que tanto contribuiu para minha formação profissional e pessoal.

As professoras Rossimiriam e Dora pela atenção e disponibilidade.

Ao professor Fernando pela colaboração durante a realização deste trabalho.

Aos colegas de laboratório Mara, Leandro, Gustavo, Ildefonso, Flaviana, Bruno, Lucas, Zaqueu, Wallace, Talita, Fernanda, Philipe, Ana Carolina, Natália, Matheus, Rafael, Fabíola, Débora, Sarah, Claiton, Angélica, Guilherme, Erúzia,

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial ao Anderson, Ivana, Paulete, Lílian, Alessandra, Romário e Wladimir.

Aos professores da UFMG pelo aprendizado, em especial ao Délio e Cleiton pelo incentivo e motivação ao longo desta caminhada.

Aos professores da UFJF pelo aprendizado, em especial ao Adilson, Mauro, Aloísio, Fabinho por me permitirem o encantamento pela química orgânica.

Aos colegas da UFV pelo estímulo e empenho, permitindo minha saída para este importante momento de formação profissional.

Aos professores da pré-banca e da banca, pela colaboração na conclusão deste trabalho.

E a tantos outros que não conseguiria citar aqui pontualmente e que de alguma forma compartilham deste momento.

Resumo:

Neste trabalho foram abordadas duas rotas de síntese de análogos tetrazólicos e oxadiazólicos a partir de carboidratos. Uma a partir de sulfato de D-glicosamina e outra a partir de trealose.

Para a primeira rota foram testadas cinco alternativas de síntese. Apenas na quinta sequência de síntese foram obtidos quatro novos derivados tetrazólicos e dois novos derivados oxadiazólicos por reações de *N*- e *S*-alquilações com rendimento global moderado entre 12% e 14% após cinco etapas.

Para a segunda rota foram testadas duas alternativas de síntese. Apenas na segunda sequência de síntese foram obtidos cinco novos derivados tetrazólicos e dois novos derivados oxadiazólicos por reações de *N*- e *S*-alquilações com bom rendimento global (28-33%) após cinco etapas.

Neste trabalho foi realizada também a avaliação citotóxica de compostos tetrazólicos e oxadiazólicos derivados de D-glicosamina em linhagens tumorais de ovário, mama, cólon e leucemia. Atividades substanciais foram detectadas para todos os compostos em todas as linhagens testadas. Os menores valores de citotoxicidade foram detectados para os compostos tio tetrazólico ($IC_{50}=18.6 \mu M$) e tio oxadiazólico ($IC_{50}=15.4 \mu M$) em linhagens leucêmicas do tipo THP-1.

A fim de se estudar o modo de ação dos compostos de maior citotoxicidade, uma investigação da expressão de metabólitos associados a morte celular programada foi conduzida. Ao longo dos testes incrementos significativos das expressões de *Caspase-3*, *BAK*, *p21* e *TP53* foram observados, sugerindo um mecanismo de ação de morte celular por apoptose.

Abstract:

In this work two synthesis routes of tetrazoles and oxadiazoles analogs from carbohydrates were studied. One starting from the D-glucosamine sulfate and other starting from the trealose.

For the first route five synthesis alternatives were tested. Just in the fifth synthesis sequence four new tetrazoles derivatives and two new oxadiazoles derivatives were obtained by *N*- and *S*-alkylations in moderate overall yield (12-14%) after five steps.

For the second route two synthesis alternatives were tested. And just in the second synthesis sequence five new tetrazoles derivatives and two new oxadiazoles derivatives were obtained by *N*- and *S*-alkylations in good overall yield (28-33%) after five steps.

Cytotoxic evaluation of tetrazolic and oxadiazolic derivatives of D-glucosamine in ovarian, breast, colon and leukemia tumor lines was realized. Substantial activities were detected for all compounds in all tested strains. The lower values of cytotoxicity were detected in thio-tetrazolic compounds ($IC_{50} = 18.6 \mu M$) and oxadiazolium thiols ($IC_{50} = 15.4 \mu M$) in THP-1-type leukemic lines.

In order to study the mode of action of compounds of higher cytotoxicity, an investigation of the metabolite expression associated with programmed cell death was conducted. Throughout the tests, significant increases of the expressions of *Caspase-3*, *BAK*, *p21* and *TP53* were observed, suggesting a mechanism of action of cell death by apoptosis.

SUMÁRIO

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
1 Introdução	1
2 Objetivos e planos de síntese	21
3 Discussão das reações	28
3.1 Discussão da rota de síntese de obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir do sulfato de D-glicosamina	28
3.2 Discussão da rota de síntese para obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir da trealose di-hidratada	41
4 Caracterização das substâncias	47
4.1 Substâncias provenientes da rota do sulfato de D-glicosamina	47
4.1.1 2-Benzamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (mistura <u>129α</u> e <u>129β</u>)	47
4.1.2 2-Benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>130</u>	50
4.1.3 1,6-Anidro-2-benzamido- β -D-glicopiranosose <u>137</u>	53
4.1.4 2-Benzamido-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>138</u> ⁵⁷	
4.1.5 3,6-Anidro-2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>139b</u>	60
4.1.6 2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzoil-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>140</u>	64
4.1.7 2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>141a</u>	69
4.1.8 3,6-Anidro-2-benzamido-4- <i>O</i> -benzil-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>141b</u>	73
4.1.9 2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila <u>142</u>	76
4.1.10 2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>144a</u>	80
4.1.11 2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-2-il)-	

	α -D-glicopiranosídeo de metila 144b	84
4.1.12	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila 145	85
4.1.13	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila 148	86
4.1.14	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila 149	87
4.1.15	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila 150	88
4.2	Substâncias provenientes da rota da trealose	92
4.2.1	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil- α -D-glicopiranosila 153	92
4.2.2	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosila 156	93
4.2.3	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila 158	98
4.2.4	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila 159	102
4.2.5	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila 160	103
4.2.6	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila 161	104
4.2.7	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosila 162	105
4.2.8	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila 163	106
4.2.9	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila 164	107
5	Parte experimental	113

5.1	Materiais e Métodos	113
5.1.1	Purificação de solventes e ativação de reagentes	113
5.1.2	Reveladores usados em CCD	115
5.1.3	Descarte de cianeto de potássio	115
5.2	Síntese	115
5.2.1	Obtenção do 2-benzamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (mistura <u>129α</u> e <u>129β</u>)	115
5.2.2	Obtenção do 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>130</u>	116
5.2.3	Tentativa de obtenção do 2-benzamido-2,6-di-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>131</u> e obtenção do 1,6-anidro-2-benzamido-2-desoxi- β -D-glicopiranosose <u>137</u>	117
5.2.4	Obtenção do 2-benzamido-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>138</u>	118
5.2.5	Tentativa de obtenção do 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila <u>139a</u> e obtenção do 3,6-anidro-2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>139b</u>	119
5.2.6	Obtenção do 2-benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzoil-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>140</u>	120
5.2.7	Tentativa de obtenção do 2-benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzoil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila <u>133</u> e obtenção do 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila <u>139a</u>	120
5.2.8	Obtenção do 2-benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2-desoxi-6- <i>O</i> - <i>p</i> -toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>141a</u> e do subproduto 3,6-anidro-2-benzamido-4- <i>O</i> -benzil-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>141b</u>	121
5.2.9	Obtenção do 2-benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila <u>142</u>	122
5.2.10	Método Geral para a obtenção dos tetrazóis (<u>144a</u> , <u>144b</u> , <u>145</u> e <u>148</u>) e 1, 3, 4-oxadiazóis (<u>149</u> e <u>150</u>) alquilados da glicosamina	123
5.2.10.1	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>144a</u>	123
5.2.10.2	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>144b</u>	124

5.2.10.3	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>145</u>	124
5.2.10.4	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>148</u>	124
5.2.10.5	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>149</u>	124
5.2.10.6	2-Benzamido-3,4-di- <i>O</i> -benzil-2,6-didesoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila <u>150</u>	125
5.2.11	Obtenção do 6- <i>O</i> -trifenilmetil- α -D-glicopiranosídeo de 6- <i>O</i> -trifenilmetil- α -D-glicopiranosila <u>154</u>	125
5.2.12	Obtenção do 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -trifenilmetil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -trifenilmetil- α -D-glicopiranosila <u>155</u>	126
5.2.13	Obtenção do 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil- α -D-glicopiranosila <u>153</u>	127
5.2.14	Obtenção do 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> - trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosila <u>156</u>	128
5.2.15	Método Geral para a obtenção dos tetrazóis (<u>158</u> , <u>159</u> , <u>160</u> , <u>161</u> e <u>162</u>) e 1, 3, 4-oxadiazóis (<u>163</u> e <u>164</u>) alquilados da trealose	129
5.2.15.1	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila <u>158</u>	129
5.2.15.2	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila <u>159</u>	130
5.2.15.3	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila <u>160</u>	131
5.2.15.4	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila <u>161</u>	131
5.2.15.5	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosila <u>162</u>	132
5.2.15.6	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila <u>163</u>	133

5.2.15.7	2,3,4-Tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila <u>164</u>	134
6	Ensaio Biológico	135
7	Conclusão	146
8	Referências bibliográficas	151
9	Apêndice	163

1 Introdução

Os heterociclos compõem uma grande classe de compostos orgânicos e possuem uma imensa importância industrial e biológica. Dentro desta classe de compostos podem ser citados o antibacteriano benzilpenicilina (1, BARREIRO, 1991), os tuberculostáticos cicloserina (2, VIGURI *et al.*, 2016), isoniazida (3) e pirazinamida (4, BOECHAT *et al.*, 2012), o antiangiogênico e antineoplásico semaxanibe (5, YE *et al.*, 2006; SINGH *et al.*, 2018), o antibacteriano e antiprotozoário metronidazol (6, NAGASE *et al.*, 2017), os antitumorais 5-fluorouracila (7, SHI *et al.*, 2018), vatalanibe (8) e vandetanibe (9, KISELYOV *et al.*, 2006), o antiviral ribavirina (10, CHUDINOV *et al.*, 2018), o antifúngico fluconazol (11, OUF *et al.*, 2018) e o antitérmico e analgésico dipirona sódica (12, GUO *et al.*, 2017) (Figura 1).

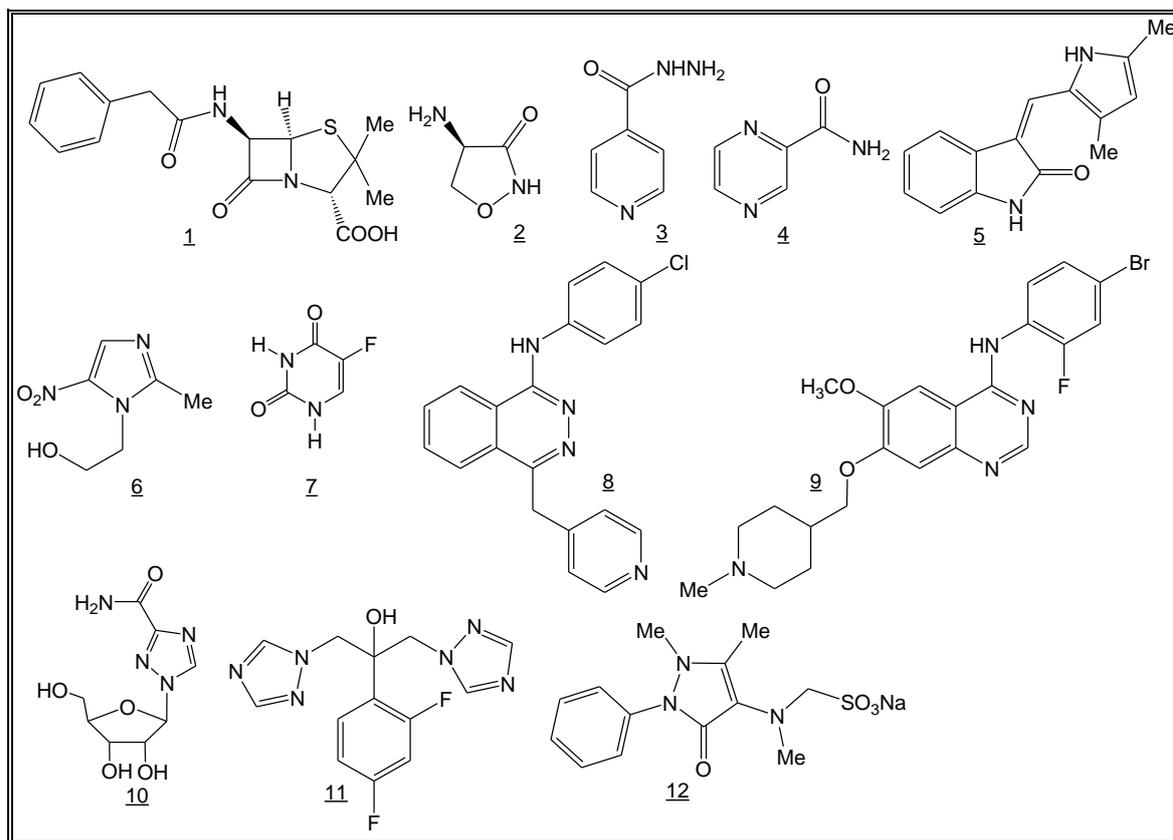


Figura 1 – Exemplos de heterociclos farmacologicamente ativos.

Um importante grupo representante da classe dos heterociclos é o tetrazol. Este se encontra presente em vários produtos farmacêuticos, cosméticos, agroquímicos, explosivos e plásticos (KATRIZK, 2004; OSTROVSKII *et al.*, 2017).

Os tetrazóis são substâncias aromáticas do tipo 6π -azapirrólico descobertas há mais de cem anos (OSTROVSKII *et al.*, 2008) e que existem predominantemente em equilíbrio sob duas formas tautoméricas (13 e 14, Figura 2) e raramente encontram-se também descritos como um terceiro tautômero não aromático 15 (SINGH *et al.*, 1980). A predominância de um dos tautômeros depende de o composto estar ou não em solução, o tipo de solvente e a presença de substituinte(s) no anel (PALMER & BEVERIDGE, 1987; MAZUREK & OSMAN, 1985; FOS *et al.*, 1985; RAZYNSKA *et al.*, 1983). De maneira geral, solventes muito polares e substituintes doadores de elétrons em C-5 tendem a aumentar a fração do tautômero 13 (OSTROVSKII & KOREN, 2000).

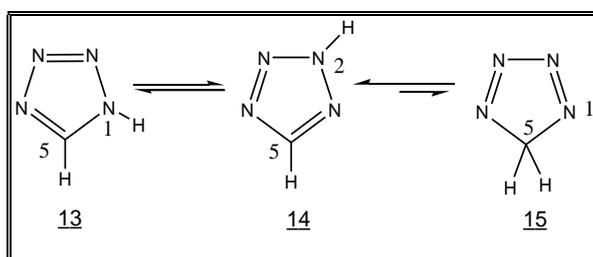


Figura 2 - Tautômeros tetrazólicos.

Como se observa na Figura 2, os átomos de nitrogênio são prioritários na numeração dos membros do anel. A substituição de apenas um dos hidrogênios do anel por um grupo nas posições 1-, 2- ou 5- possibilita a formação de três tipos de tetrazóis monossustituídos (16, 17 e 18), enquanto a substituição dos hidrogênios 1,5- e 2,5- possibilitam a formação de dois tipos de tetrazóis dissustituídos (19 e 20) (Figura 3) (BUTLER, 1984).

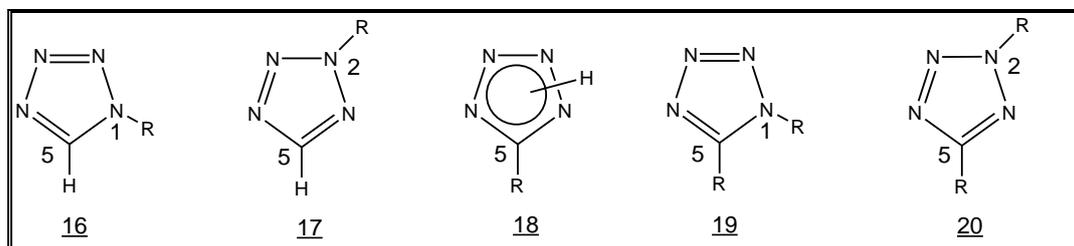


Figura 3 – Tetrazóis mono e dissustituídos.

Existe ainda a possibilidade de substituição em um segundo nitrogênio para a formação dos sais de tetrazóis 1,2,5-; 1,3,5-; 1,4,5- e 2,3,5 trissustituídos (21-24) como pode ser observado na Figura 4 p.3, (KOLDOBSKII & OSTROVSKII, 1994).

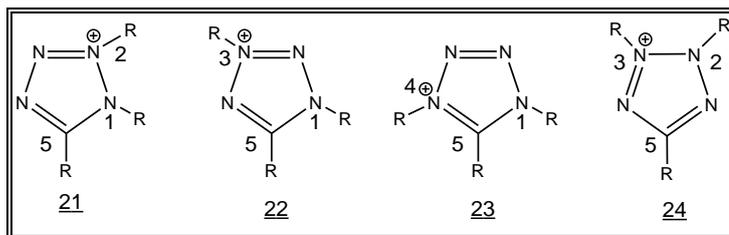


Figura 4 – Tetrazóis trissubstituídos.

Segundo Ostrovskii e colaboradores (2017) o estudo químico dos tetrazóis nas últimas décadas se desenvolveu devido ao seu uso em larga escala na medicina, bioquímica, agricultura e fotografia, bem como ao seu emprego na elaboração de inibidores de corrosão, explosivos e sistemas de gravação de informações.

Esta afirmativa pode ser confirmada pela análise do gráfico abaixo (Figura 5), no qual pode ser observado o crescente número de publicações que tratam sobre tetrazóis ao longo dos anos de 1919 a 2018.

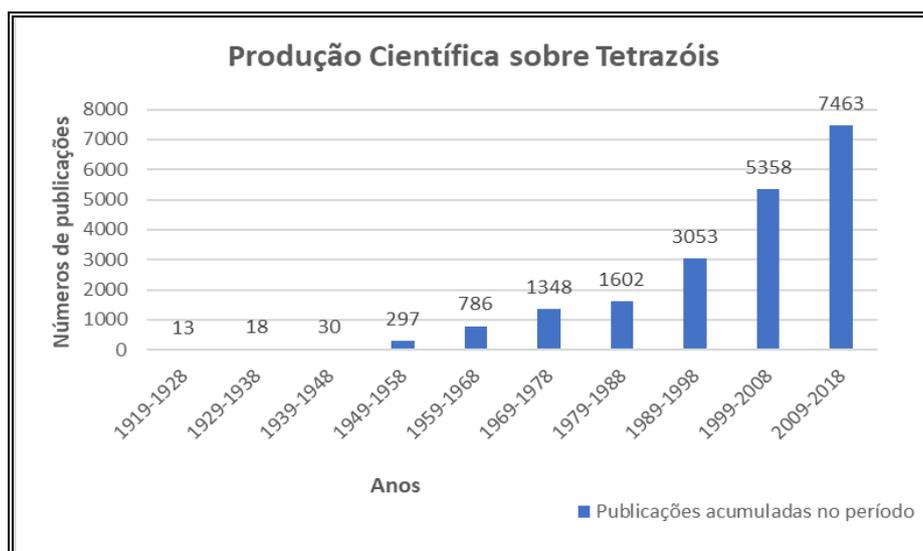


Figura 5 – Produção científica sobre tetrazóis entre 1919 a 2018 (SciFinder, termo de busca = “tetrazoles”).

Parte deste crescente interesse está na síntese de novos fármacos com estruturas tetrazólicas que possam ser utilizadas como bioisómeros não-clássicos do grupo funcional carboxila ou éster (HERR, 2002).

O termo bioisómero surgiu inicialmente a partir do conceito de isosterismo, desenvolvido por Langmuir em 1919, esta classificação foi dada a substâncias que possuíam comportamento químico e reatividade semelhantes. Em 1951, Friedman introduziu o termo bioisosterismo para classificar substâncias que possuíam

comportamento biológico semelhantes. Em 1970, Burger subdividiu o conceito de bioisosterismo em duas grandes categorias, segundo ele as substâncias poderiam ser um bioisótero clássico quando apresentassem o mesmo número de elétrons ligantes (F^- e Br^- , $-CH_2^-$ e $-O^-$, $=CH^-$ e $=N^-$) ou um bioisótero não-clássico quando apresentassem grupos funcionais não isoeletrônicos intercambiáveis ($-CO_2H$ ou $-SO_3H$, $-CF_3$ ou $-N(CN)_2$) (FERREIRA, 2017).

Dentro deste conceito temos que o tetrazol pode ser considerado um ácido análogo ao ácido carboxílico e que esses dois grupos funcionais possuem propriedades físico-químicas similares, podendo ser, muitas vezes, intercambiáveis e exercerem a mesma função biológica. Os tetrazóis são mais estáveis metabolicamente e quase dez vezes mais lipofílicos do que os correspondentes carboxilatos no pH fisiológico, o que influencia profundamente o mecanismo de passagem pelas membranas celulares (HERR, 2002).

Dentre os tetrazóis descritos, devem ser ressaltados pela sua importância medicinal e comercial os anti-hipertensivos antagonistas de angiotensina II, losartan (25) e valsartan (26), o antiasmático pranlukast (27) e o antibiótico cefazolina (28) (Figura 6) (LEE *et al.*, 2012; ATTANASI *et al.*, 1999; MIDDLEMISS & WATSON, 1994; PIERCE *et al.*, 1993; GILMAM *et al.*, 1991; IVASHCHENKO *et al.*, 2015).

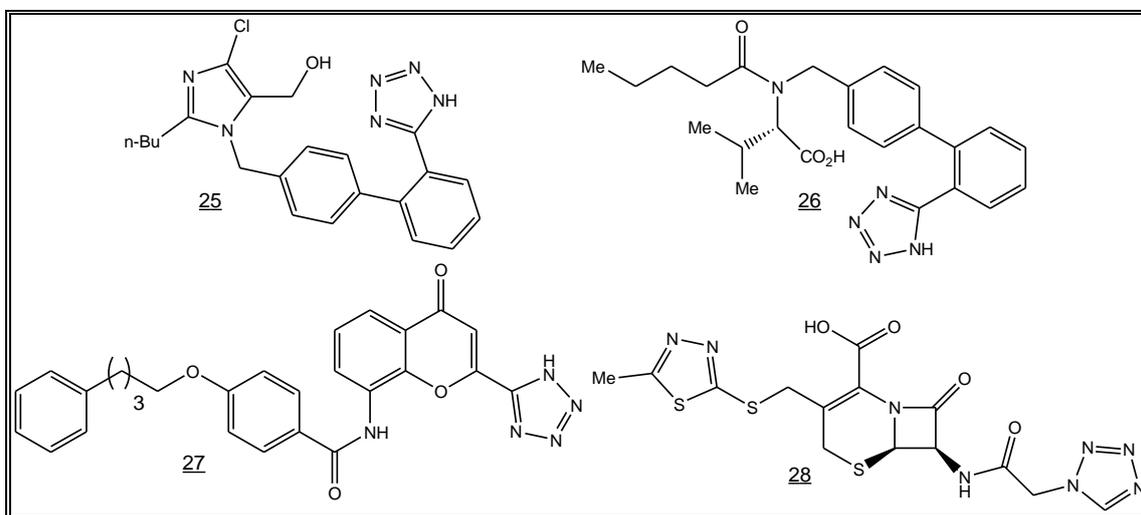


Figura 6 – Substâncias tetrazólicas de importância medicinal e comercial.

Após a descoberta do losartan (25) e valsartan (26) como potentes anti-hipertensivos inibidores de ECA (Enzima Conversora de Angiotensina), vários outros tetrazóis foram sintetizados visando a mesma atividade biológica (KAYA *et al.*, 2017;

ATTANASI *et al.*, 1999; MIDDLEMISS & WATSON, 1994; PIERCE *et al.*, 1993) e foram introduzidos na terapêutica o candesartan (29) e o irbesartan (30) (GALATSIS, 1998), representados na Figura 7.

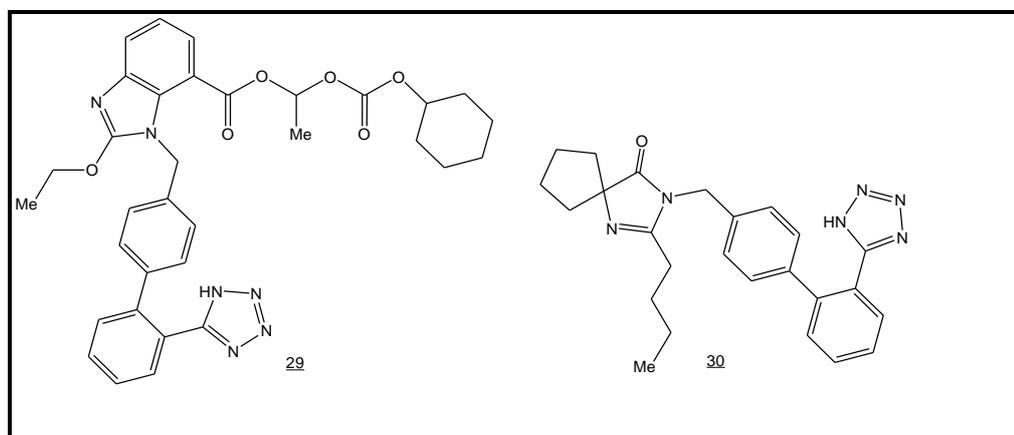


Figura 7 – Estruturas do candesartan (29) e do irbesartan (30).

Além das ações anti-hipertensiva, inibitória de metalo- β -lactamase e antiasmática citadas anteriormente, os tetrazóis possuem outras atividades biológicas como antiviral (31a e 31b), bactericida (32), micobactericida (33), antitrombótica (34), antitumoral (35), estimulante do sistema nervoso central (36) e hipoglicemiante (37), Figura 8 (OSTROVSKII *et al.*, 2017; JHA *et al.*, 2014; HERR, 2002; BUTLER, 1984).

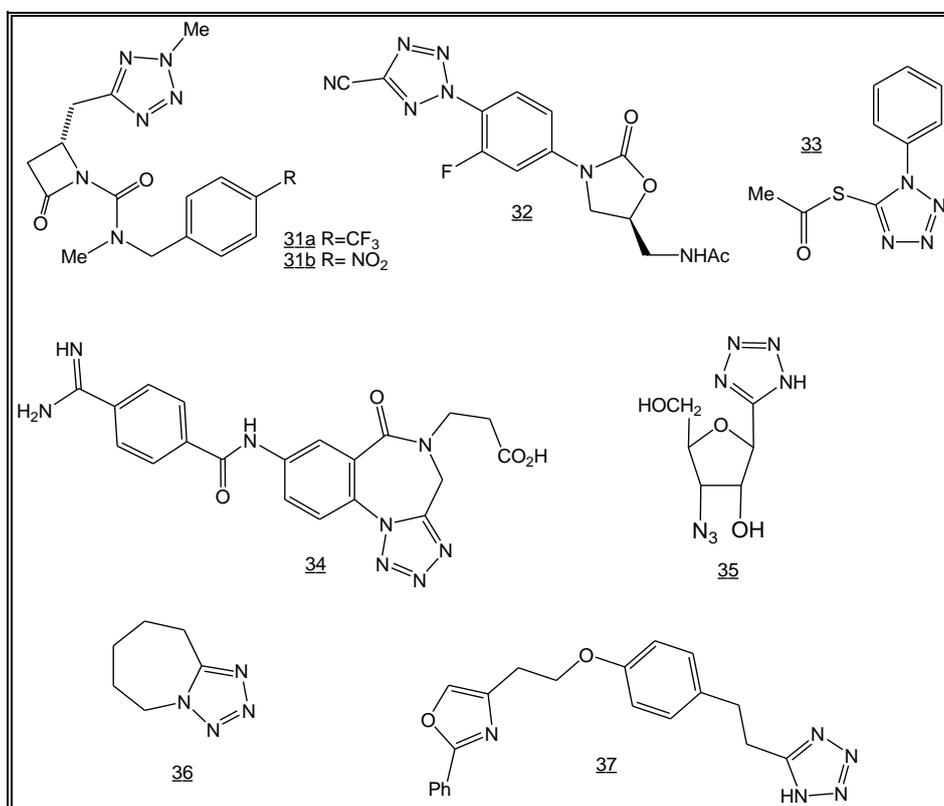


Figura 8 – Derivados tetrazólicos biologicamente ativos.

Encontram-se descritos inúmeros trabalhos divulgando e revisando as propriedades biológicas dos tetrazóis (HERR, 2002; SINGH *et al.*, 1980; BUTLER, 1984; PEDROSA, 2003; dos SANTOS, 2006; COURI, 2007; OSTROVSKII *et al.*, 2008). Uma revisão mais recente sobre esse assunto foi apresentada no trabalho de Ostrovskaa e colaboradores (2017).

Outra classe de compostos pertencentes aos heterociclos e que será abordada neste trabalho são os oxadiazóis. Estes, bem como os tetrazóis, tiveram um crescente número de publicações ao longo dos anos de 1919 a 2018. Em uma análise do gráfico a seguir (Figura 9) percebe-se que quase quarenta por cento das publicações em que ocorrem o termo oxadiazol se encontram nos últimos 10 anos.

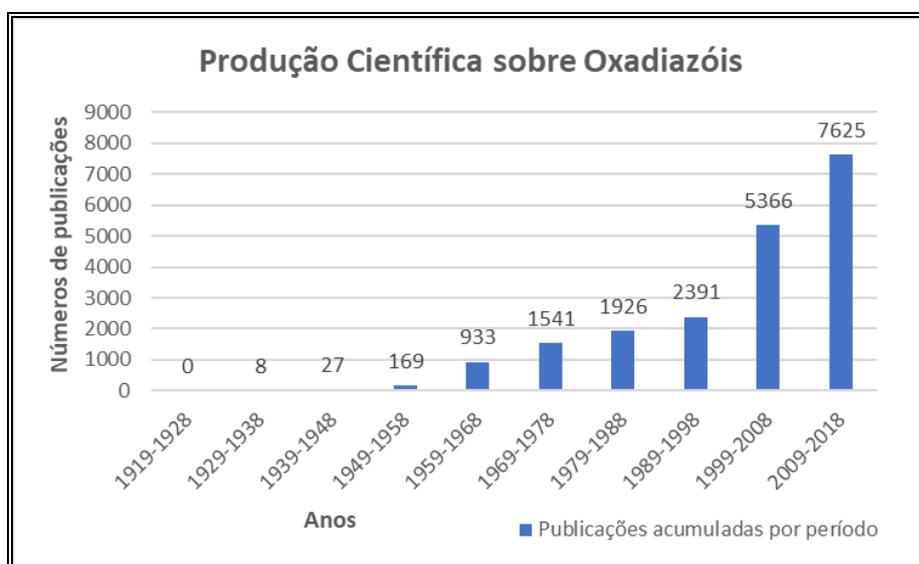


Figura 9 – Produção científica sobre oxadiazóis entre 1919 a 2018 (SciFinder, termo de busca = “oxadiazoles”).

A estrutura dos oxadiazóis é composta por um anel de cinco membros com dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio no anel aromático do tipo $\sigma\pi$ -azafurânico. Para numeração do anel é dada prioridade ao átomo de oxigênio, permitindo a existência dos isômeros 1, 2, 3 (38); 1, 2, 4 (39); 1, 2, 5 (40) e 1, 3, 4 (41) como representado na Figura 10.

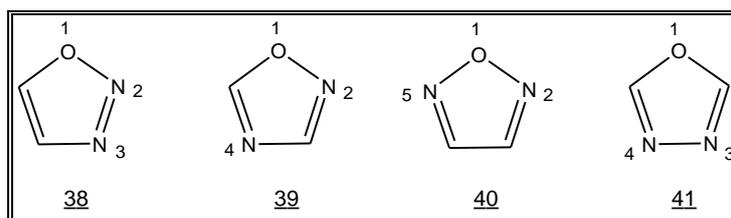


Figura 10 – Estruturas gerais dos oxadiazóis.

Oxadiazóis monossustituídos 1, 2, 3 (42 e 43); 1, 2, 4 (44 e 45); 1, 2, 5 (46) e 1, 3, 4 (47) também podem ser formados quando se tem a substituição de um dos hidrogênios (Figura 11). Existe ainda a possibilidade da formação de oxadiazóis dissustituídos 1, 2, 3 (48); 1, 2, 4 (49); 1, 2, 5 (50) e 1, 3, 4 (51) (Figura 11).

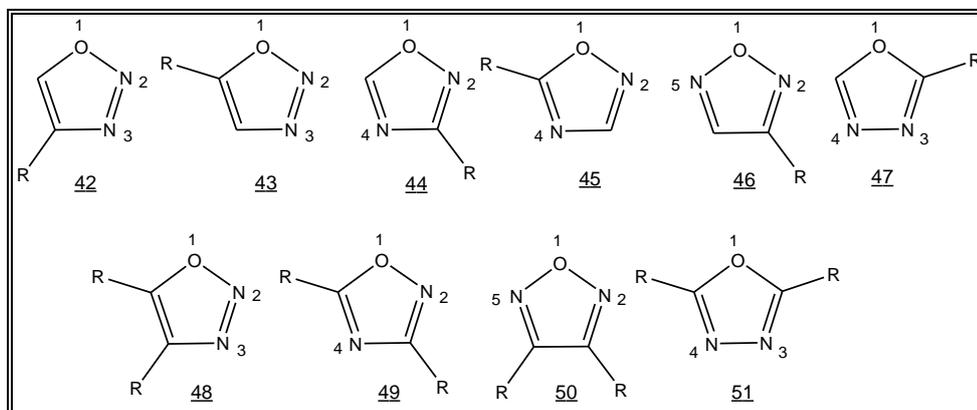


Figura 11 – Estruturas gerais dos oxadiazóis mono e dissustituídos.

Mesmo parecidos estruturalmente com os tetrazóis, os oxadiazóis não apresentam tantas aplicações descritas na literatura. Ainda assim algumas atividades biológicas podem ser citadas para estes compostos. Atividade anti-inflamatória, moderada a forte e depressora do sistema nervoso central (SNC) foram observadas para os compostos 52, 53a, e 53b dentre os oxadiazóis descritos por Shoman e colaboradores (2017) e Ramalingam e colaboradores (1981) (Figura 12).

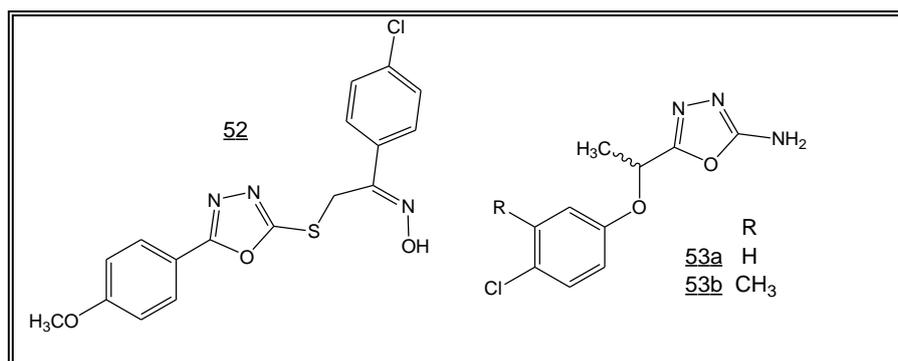


Figura 12 – Oxadiazóis com atividade anti-inflamatória e depressora do SNC.

Çavuşoglu e colaboradores (2018), bem como Mehta e Parekh (1988) observaram atividades antibacteriana e antifúngica para os derivados oxadiazólicos 54 e 55 (Figura 13).

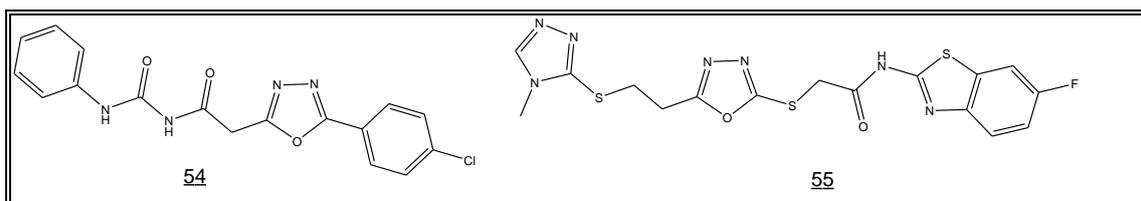


Figura 13 – Oxadiazóis antibacteriano e antifúngico.

A atividade fungicida foi observada também para os compostos 56-58 (Figura 14) sintetizados por Padmaja e colaboradores (2018) e Giri e colaboradores (1976).

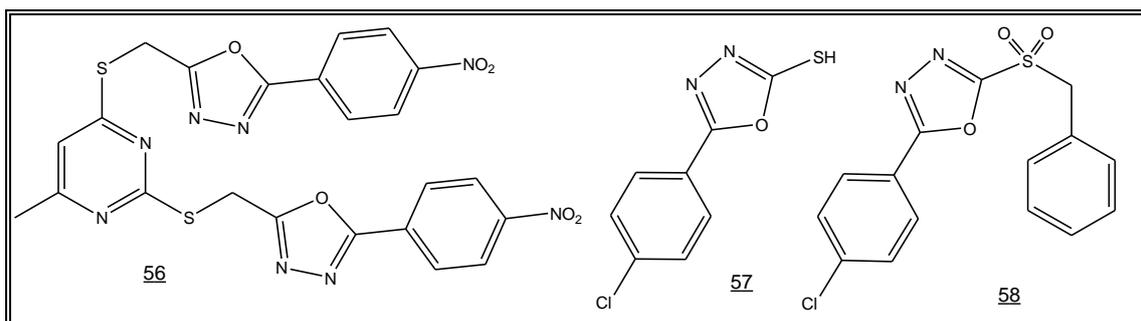


Figura 14 – Oxadiazóis fungicidas.

Por fim, além das atividades anti-inflamatória, depressora do SNC, antibacteriana e antifúngica, pode se citar ainda a aplicação dos oxadiazóis como antimaláricos, antineoplásicos (SHAQUIQUZZAMAN *et al.*, 2018), inibidores de glicosidades (KHAN *et al.*, 2018), anti diabetes (BHUTANI *et al.*, 2018), herbicidas (GIRI *et al.*, 1976) e na área da química de materiais, na qual os derivados oxadiazólicos dendriméricos são utilizados como emissores de luz em dispositivos eletroluminescentes (KRAFT, 1997).

Tendo em vista a diversidade de aplicações dos tetrazóis e dos oxadiazóis, foi obtida em nosso grupo de pesquisa uma série destes compostos. Para isto, foram utilizados carboidratos como materiais de partida, uma vez que estes estão envolvidos em importantes processos biológicos como: comunicação, adesão e reconhecimento celular. Deve-se ressaltar ainda que os carboidratos são importantes precursores sintéticos e biossintéticos de muitos compostos e apresentam pureza enantiomérica facilitando a síntese de compostos assimétricos, característica muitas vezes necessária para que se tenha uma determinada atividade biológica (PEDROSA, 2003).

Inicialmente nossos trabalhos foram inspirados na publicação de D'Accorso e Fascio (1995). Estes descrevem a síntese do tetrazol (60, Figura 15) e dos 1, 3, 4 e 1, 2, 4 oxadiazóis (61 e 63) a partir da D-manonitrila (59) utilizando duas diferentes rotas de

síntese, uma via azida de amônio e anidrido acético e outra via hidroxiamidina (62).

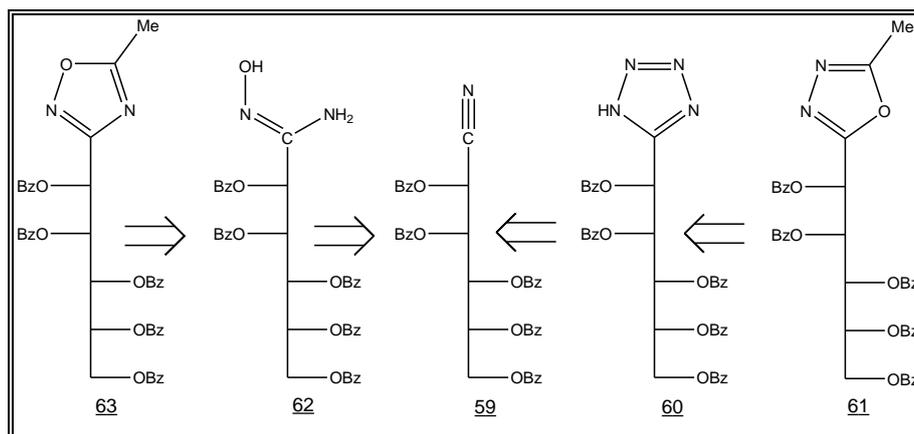


Figura 15 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por D'Accorso e Fascio.

Em nosso grupo de pesquisa, a síntese de tetrazóis e oxadiazóis foi iniciada em 1995 por Faraco em sua dissertação de mestrado (FARACO, 1997), tendo como base os trabalhos de D'Accorso e Fascio. Estes estudos foram continuados nas teses de doutorado em 1997 por Klier, em 1999 por Pedrosa e em 2003 por Couri; e nas dissertações de mestrado em 2004 por Santos e 2005 por Viana, e serão abordados a seguir em ordem cronológica.

Faraco e colaboradores (1999), utilizando da mesma técnica descrita por D'Accorso e Fascio, sintetizaram 1, 3, 4-oxadiazóis 64 e 65 a partir de seus respectivos intermediários tetrazólicos 66 e 67, estes foram obtidos por intermediários chave da α -acetamidonitrila 68, inicialmente obtida a partir da D-galactose por reação de proteção, seguida de reações de oxidação, cianoaminação e acetilação (Figura, 16).

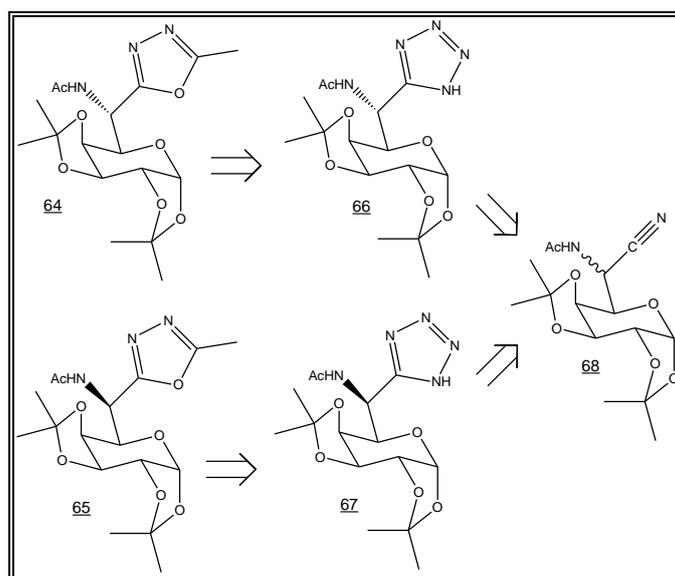


Figura 16 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Faraco e colaboradores.

Dando continuidade a este trabalho, Klier e colaboradores (2000) descrevem a síntese do derivado oxadiazólico 69 (Figura 17) obtido a partir do intermediário tetrazólico 70, procedente da D-galactonitrila 71. Esta por sua vez foi obtida em três etapas (proteção, iodação e substituição) a partir da D-galactose.

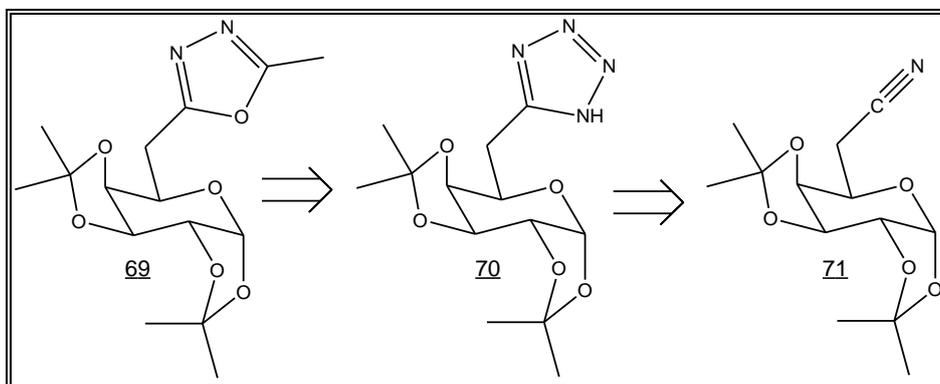


Figura 17 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólico obtidos por Klier e colaboradores.

Após a obtenção do derivado tetrazólico 70 (Figura 18) Klier obteve dois novos isômeros 1,5 e 2,5 tetrazólicos (72 e 73) respectivamente, estes foram sintetizados por reação de *N*-alquilação do precursor tetrazólico 70 em presença de carbonato de sódio, dimetilformamida e de um derivado tosilado de D-galactose (KLIER, 2000).

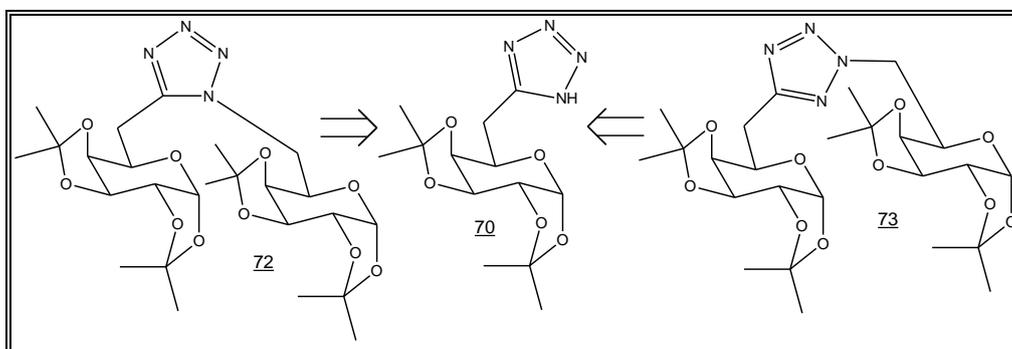


Figura 18 – Análogos tetrazólicos dissustituídos obtidos por Klier e colaboradores.

Pedrosa e colaboradores (2003) sintetizaram oito heterociclos nitrogenados, sendo dois oxadiazóis, dois tetrazóis monossustituídos e quatro dissustituídos. Os tetrazóis monossustituídos 75a e 75b (Figura 19, p.11) foram obtidos a partir dos intermediários chave 6-cianoglicopiranosídeos 76a e 76b em presença de azida de sódio. Os tetrazóis 1,5 e 2,5 dissustituídos (77a, 77b e 78a, 78b, respectivamente) foram obtidos pela *N*-alquilação dos tetrazóis 75a e 75b monossustituídos com um derivado

glicosídico iodado. Os oxadiazóis foram obtidos pela reação dos tetrazóis monossustituídos 75a e 75b com anidrido acético.

Os intermediários chave 76a e 76b foram obtidos em cinco etapas com reações de proteção das hidroxilas em C-4 e C-6 com acetal benzilidênico, benzilação das hidroxilas em C-2 e C-3, desproteção seletiva do acetal em C-6 e iodação seguida de substituição em C-6.

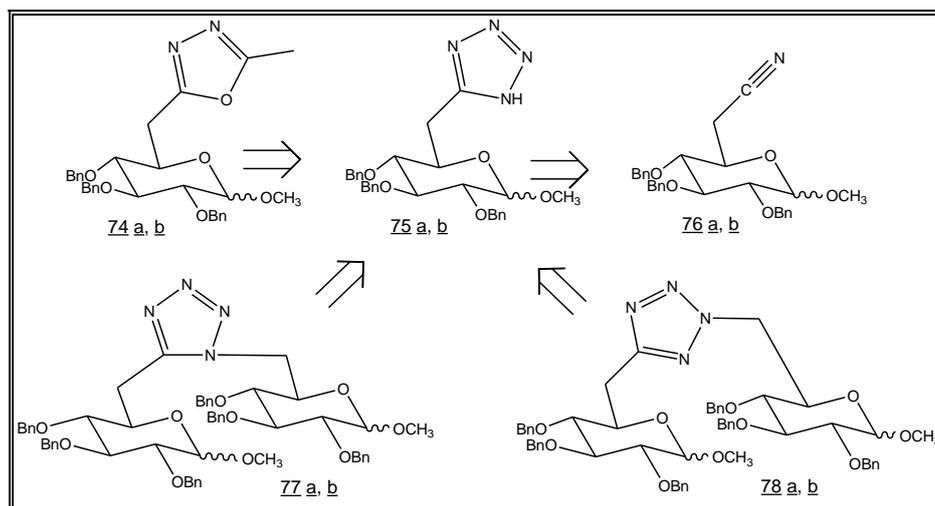


Figura 19 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Pedrosa e colaboradores.

No trabalho de doutorado de Couri e colaboradores (2007) foram sintetizados uma série de nove *N*-1, *N*-2 e *S*-5 derivados tetrazólicos (Figura 20). Estes tiveram como materiais de partida derivados de carboidratos com grupos abandonadores em C-1 e C-4.

Para a obtenção dos heterociclos mono (80a e 80b) e dissustituídos (79a, 79b, e 81a) foram utilizadas reações de alquilação dos tetrazóis comerciais 79, 13 e 81 com o brometo de 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila (82). Este foi obtido anteriormente por reações de peracetilação e bromação.

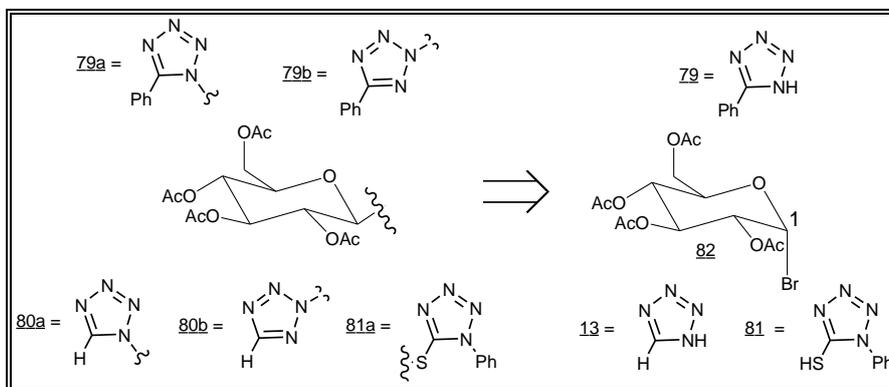


Figura 20 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Couri e colaboradores.

Para a obtenção dos heterociclos mono e dissustituídos (79c, 80c, 80d e 81b) foram utilizadas reações de alquilação de tetrazóis comerciais 79, 13 ou 81 com o 2, 3, 6-tri-*O*-benzil-4-trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila (83). Este foi obtido previamente por reações de proteção, desproteção seletiva e sulfonação.

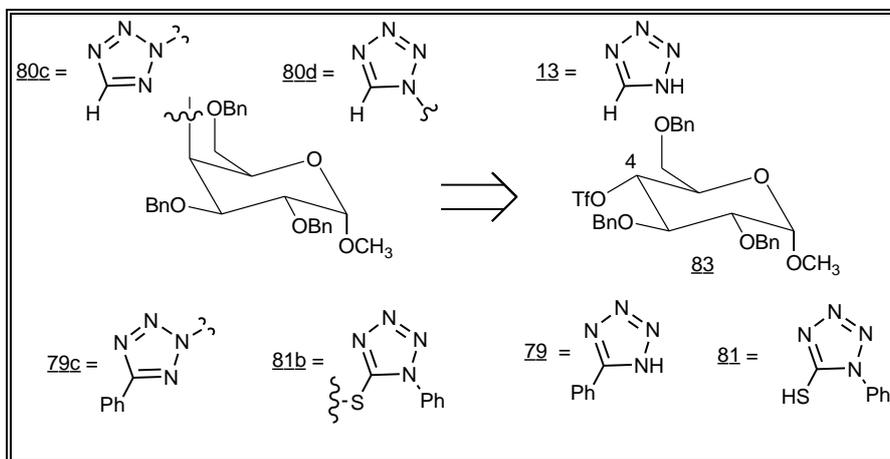


Figura 21 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Couri e colaboradores.

A irradiação sob microondas foi utilizada para todas as reações de alquilação e os resultados foram comparáveis a metodologias convencionais, com ganhos significativos nos tempos de reação (COURI, 2007).

Santos e colaboradores (2007) sintetizaram cinco novos derivados tetrazólicos (79d, 80e, 80f, 80g e 81c, Figura 22), sendo três mono e dois dissustituídos. Todos os heterociclos foram obtidos por reações de alquilação com o derivado dissacarídeo 2, 3, 6, 2', 3', 6'-hexa-*O*-benzil-4, 4'-ditrifluorometanossulfonil- α,α -trealose (84) e tetrazóis comerciais (79, 13 ou 81).

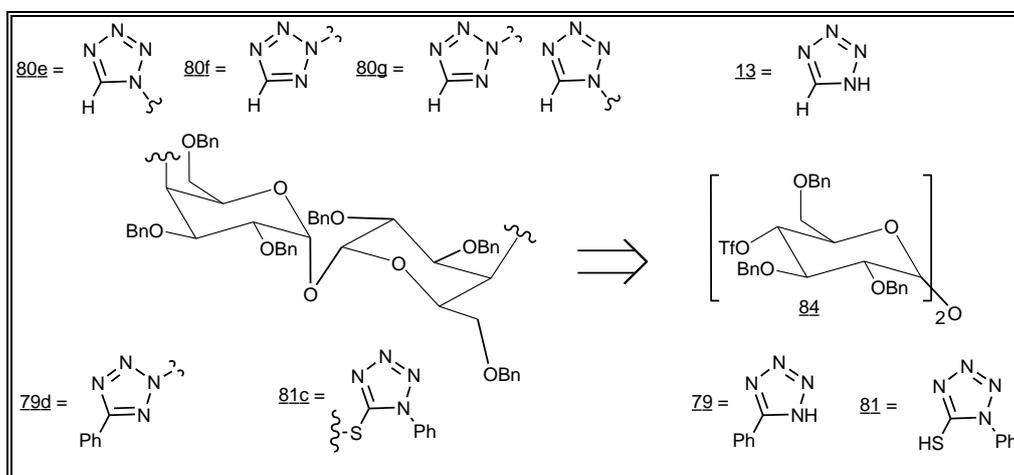


Figura 22 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Santos e colaboradores.

O dissacarídeo utilizado como material de partida nas reações de substituição foi obtido pela seguinte seqüência de reações: proteção das hidroxilas em C-4 e C-6, na forma de acetal benzilidênico, benzilação das hidroxilas em C-2 e C-3, clivagem redutiva do acetal benzilidênico em C-4 e sulfonação em C-4.

Viana e colaboradores (2008) descrevem a síntese do oxadiazol (85, Figura 23) e três tetrazóis (86a, 86b e 86c) a partir da D-arabinonitrila (87). O intermediário tetrazólico 86a foi obtido a partir da nitrila em presença de azida de sódio, e o intermediário oxadiazólico 85 pela reação do tetrazol 86a com anidrido acético (Figura 23).

A D-arabinonitrila 87 foi obtida em duas etapas a partir da D-arabinose por reações com hidroxilamina para a obtenção de uma oxima, seguida da acetilação com anidrido acético para obtenção do composto protegido.

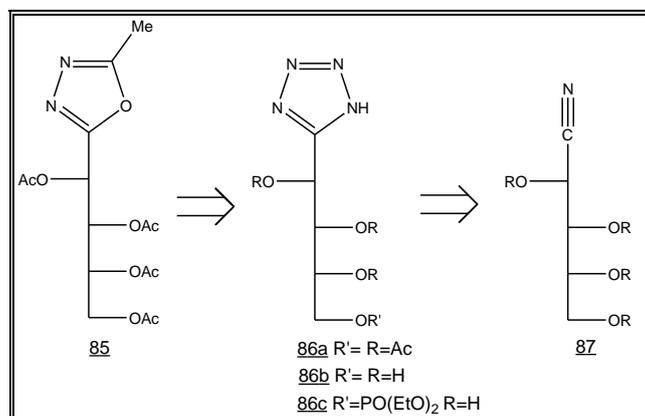


Figura 23 – Análogos tetrazólicos e oxadiazólicos obtidos por Viana e colaboradores.

Em continuidade a estes trabalhos, nosso grupo de pesquisa propôs a síntese de novos tetrazóis e oxadiazóis a partir de carboidratos. Como até o momento não haviam sido descritos na literatura derivados tetrazólicos e oxadiazólicos da glicosamina (88), e derivados dissacarídicos ainda apresentavam um grande potencial de exploração, a glicosamina (88) e a trealose (89) foram utilizadas como materiais de partida para a obtenção destes novos derivados (Figura 24).

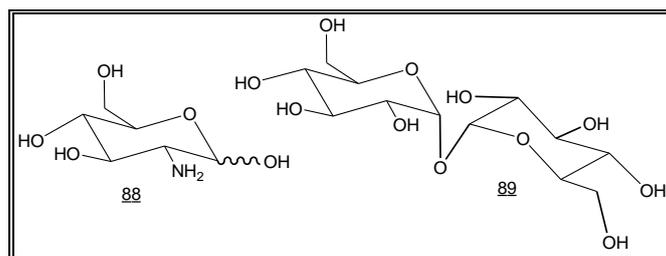


Figura 24 – Glicosamina (88) e trealose (89).

A glicosamina, 2-amino-2-desoxi-D-glicose, é um amino monossacarídeo essencial para composição de glicosaminoglicanas, quitina (90) e quitosana (91, Figura 25). Glicosaminoglicanas ou mucopolissacarídeos são grandes cadeias de carboidratos carregadas negativamente que estão presentes em secreções de mucosas, esqueletos, tendões, ligamentos e cartilagens (SILVA, 2006). Um importante membro desta classe é a heparina (92), utilizada clinicamente desde 1937, um potente anticoagulante e antitrombótico que foi utilizada como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos como o Fondaparinux (93), Org31550 (94) e Idraparinux (95) (KORT, 2005).

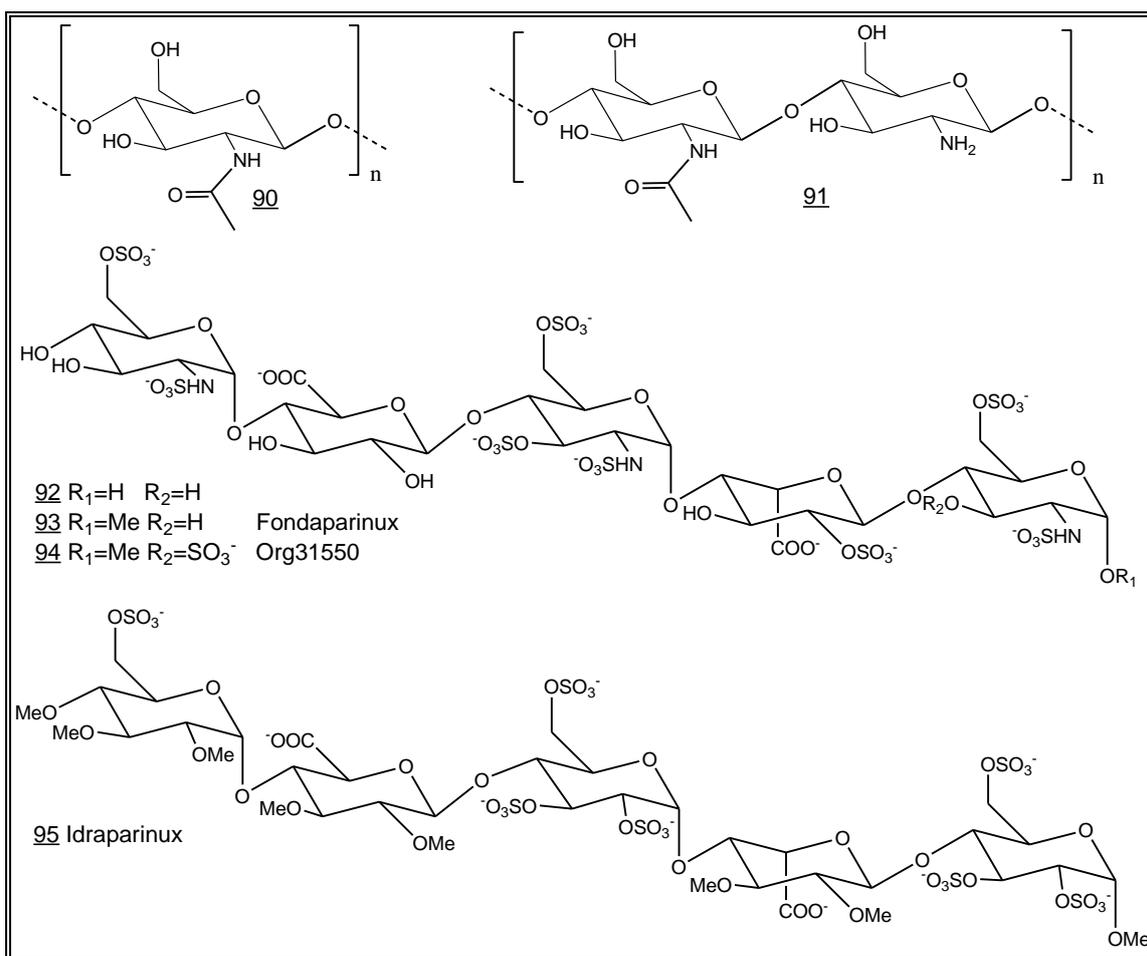


Figura 25 – Derivados e análogos de aminossacárides.

A quitina (90) é um polímero constituído por unidades de *N*-acetil-D-glicosamina. É o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose sendo o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos; sua presença ocorre também em nematóides e parede celular de fungos e leveduras. A quitosana (91) pode ser obtida a partir da quitina por desacetilação parcial com álcalis, podendo também estar presente em alguns fungos. De acordo com o grau de acetilação podem-se

obter diversas quitosanas variando-se, assim, suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, pKa e viscosidade (SILVA, 2006).

A glicosamina foi o primeiro aminossacarídeo a ser isolado, esta foi obtida por Ledderhose em 1878 pela hidrólise ácida da quitina extraída da carapaça de lagostas. Em 1922, Irvine e Earl isolaram as formas anoméricas do cloridrato de glicosamina (FOSTER, 1952).

A glicosamina é amplamente utilizada para aliviar os sintomas da osteoartrite e possui baixa toxicidade com DL₅₀ de 8000 mg/Kg. Para suprir a demanda nutricional de glicosamina normalmente são utilizadas a *N*-acetil-glicosamina, o sulfato de glicosamina e o cloridrato de glicosamina. Estes podem ser obtidos facilmente pela hidrólise ácida da quitina presente na carapaça de caranguejos (ANDERSON, 2005).

Após a rápida absorção da glicosamina esta é conduzida ativamente para o meio intracelular por transportadores de glicose (Figura 26). Então, a glicosamina é fosforilada por uma hexoquinase (HK) para formar a glicosamina-6-fosfato, esta também pode ser obtida via endógena pela conversão da glicose 6-fosfato a frutose-6-fosfato (Frut-6-P) (ANDERSON, 2005).

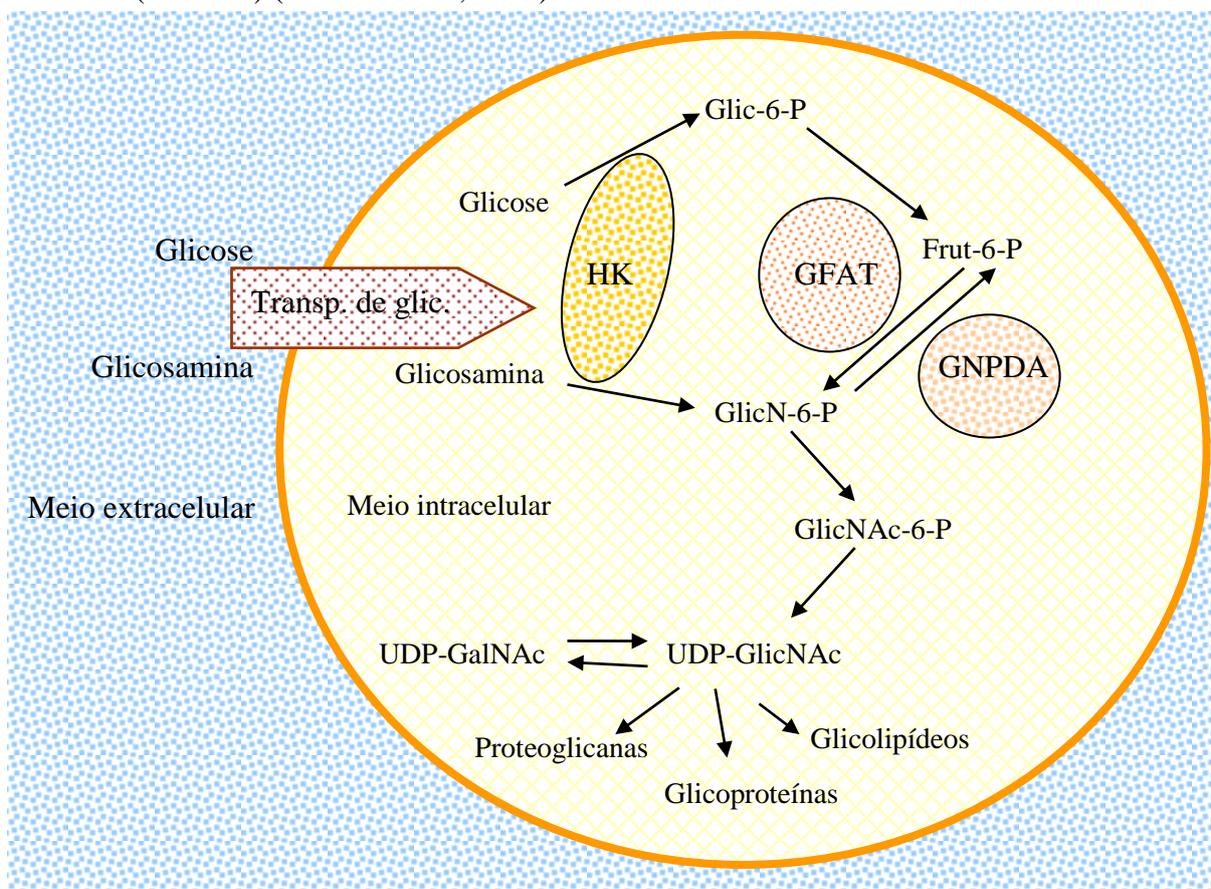


Figura 26 – Biossíntese de proteoglicanas, glicoproteínas e glicolipídeos.

A Frut-6-P em presença de glutamina e glicosamina-6-fosfato sintase (glicosamina:frutose-6-fosfato aminotransferase, GFAT) leva a obtenção da glicosamina 6-fosfato. Este processo encontra-se em equilíbrio e na presença de glicosamina-6-fosfato desaminase a glicosamina 6-fosfato pode ser novamente convertida à frutose 6-fosfato (ANDERSON, 2005).

As proteoglicanas, glicoproteínas e glicolipídeos são obtidos pela uridina difosfato *N*-acetilglicosamina que se encontra em equilíbrio com a uridina difosfato *N*-acetilgalactosamina e para que estas sejam formadas é necessário um intermediário chave que é a glicosamina 6-fosfato (ANDERSON, 2005).

Um segundo açúcar, também estudado neste trabalho é a trealose. Esta é extensivamente utilizada nas áreas alimentícia, de cosméticos e na indústria médica em geral e na tecnologia de conservação de fármacos e biomateriais (SOARES, 2008).

A trealose é o nome geral usado para descrever os três isômeros possíveis para os D-glicosil D-glicosídeos. Dentre estes a α,α -trealose é o isômero de maior ocorrência natural, os isômeros α,β -trealose e β,β -trealose foram obtidos sinteticamente e não são isolados na natureza com frequência (RICHARDS, 2002).

Estes açúcares são normalmente isolados de algas, bactérias, fungos, leveduras, insetos, invertebrados e plantas. A α,α -trealose foi isolada pela primeira vez a partir de cravos de centeio por Wiggers em 1832 (ELBEIN, 2003; ELBEIN, 1974).

Derivados de trealose são isolados com frequência. Um importante exemplo é o dimicolato de trealose (96, Figura 27), também chamado de fator corda. Este é responsável pelo cordeamento de micobactérias. Esta propriedade permite que o fator corda seja utilizado como protótipo para a síntese de análogos anfipáticos da trealose que possam ser utilizados no desenvolvimento de novos agentes contra a tuberculose (TAKAIAMA, 2005).

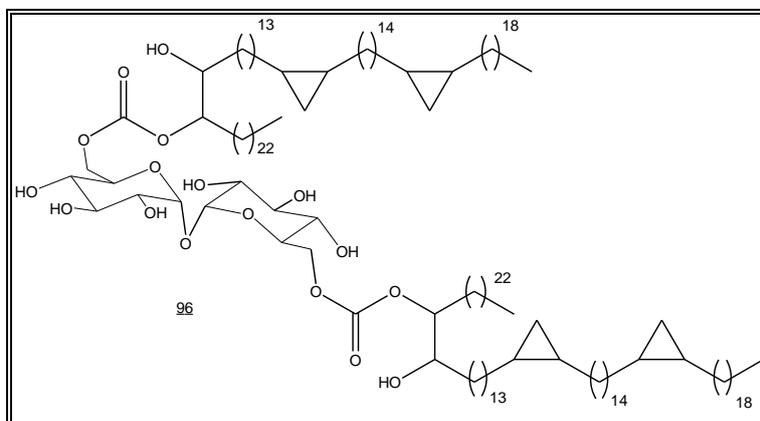


Figura 27 – Estrutura do dimicolato de trealose.

A tuberculose ainda é uma das doenças que estão a frente das causas de morte por agentes infecciosos. Um dos desafios apresentados no tratamento desta doença é a resistência a fármacos utilizados na terapia. A alta lipofilia da parede celular de micobactérias resulta em uma baixa permeabilidade de agentes e contribui significativamente para a resistência aos fármacos (RYLL, 2001; JACSON, 2006).

Entretanto, Wang e colaboradores (2004) descreveram uma alternativa para o desenvolvimento de novos agentes contra tuberculose que sejam mais eficazes no tratamento de micobactérias resistentes. Sabendo que a biossíntese do fator corda (Figura 28) é realizada por proteínas homólogas ag85 A, B e C, estas foram utilizadas como alvos para o desenvolvimento de protótipos mais eficientes no combate de micobactérias resistentes.

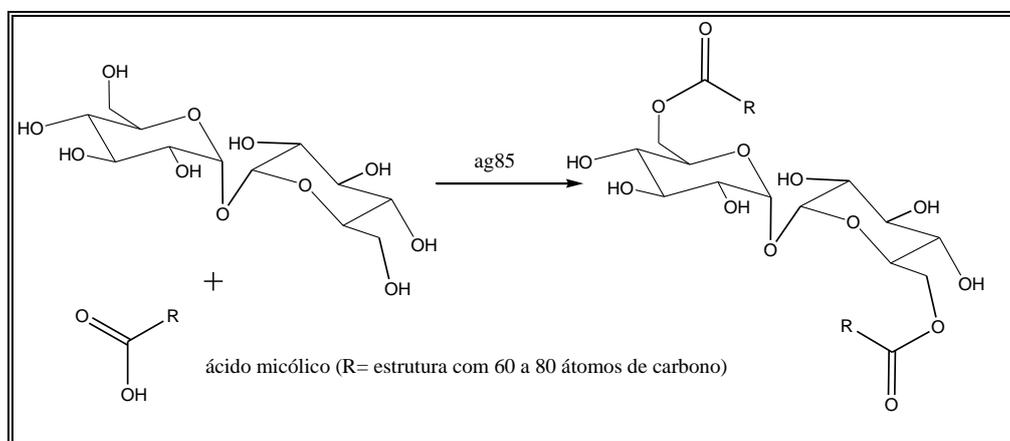


Figura 28 – Biossíntese do Micolato de trealose.

Análogos de trealose contendo a função éster com estrutura similar a de ácidos corinomicólicos (C-24 a C-40) e nocárdicos (C-40 a C-60) ao invés de ácidos micólicos (C-60 a C-80) são encontrados em outros organismos. Estes derivados também têm sido isolados de micobactérias e têm apresentado interessantes propriedades biológicas como: agregação celular, respostas imunológicas e antitumorais. Podem ser citados como exemplos os derivados de trealose contendo o grupo 6,6'-di-*O*-hexadecanoato ou o 2,3-di-*O*-acil-2'-sulfato contendo os grupos hexadecanoila e octadecanoila concomitantemente. Estes fatores corda têm sido associados a mecanismos de patogenicidade bacterianas e virulências, formação de granulomas, inibição da migração de leucócitos, diminuição de enzimas microsossomais NAD-dependentes e da síntese de glicogênio, propriedades imunoestimulantes e antitumorais (WANG, 2004).

Estas atividades biológicas têm chamado a atenção para a investigação de análogos da trealose. Alguns dos exemplos de ocorrência natural descritos na literatura (Hui & Chang, 2002) encontram-se ilustrados na Figura 29:

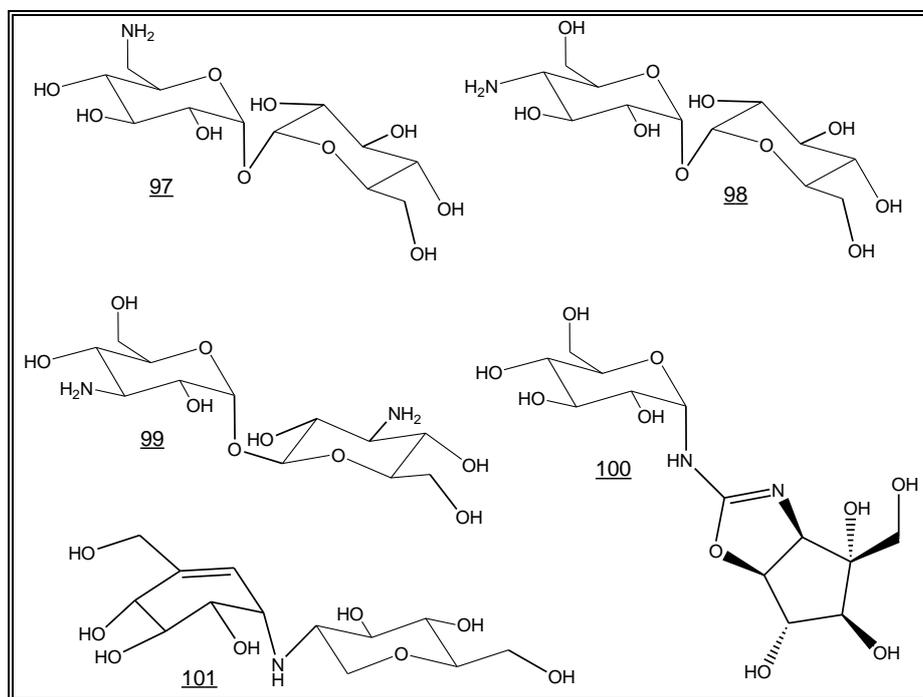


Figura 29 – Trealosaminas e análogos de ocorrência natural.

A α,α -trealosamina (97), isolada de *Streptomyces* é ativa contra *Mycobacterium tuberculosis*. A 4-amino-4-desoxi- α,α -trealose (98) é ativa contra *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. A 3,3-neotrealosediamina (99), isolada de *Bacillus pumilis*, é o primeiro exemplo da família de trealoses com ligação α, β . Podem ser citados como exemplos os inibidores de trealase e potenciais agentes antifúngicos, a treazolina (100) isolada de *Amycolatopsis trehalostatica* e a salbostatina (101) isolada de *Streptomyces albus* (Hui & Chang, 2002).

Além dos análogos de ocorrência natural, outros de origem sintética têm sido desenvolvidos com intuito de se avaliar suas atividades biológicas. Exemplos incluem a 2, 2', 6, 6'-tetraazido-2, 2', 6, 6'-tetradesoxi- α,α -trealose (102), a 6, 6'-diamino-6, 6'-didesoxi- α,α -trealose (103), a 3, 3'-diamino-3, 3'-didesoxi- α,α -trealose (104), a 3-amino-3-desoxi- α,α -trealose (105), a amida (106) e a amino amida (107), que apresentam atividades antioxidantes e antibacterianas, Figura 30 (WANG, 2004).

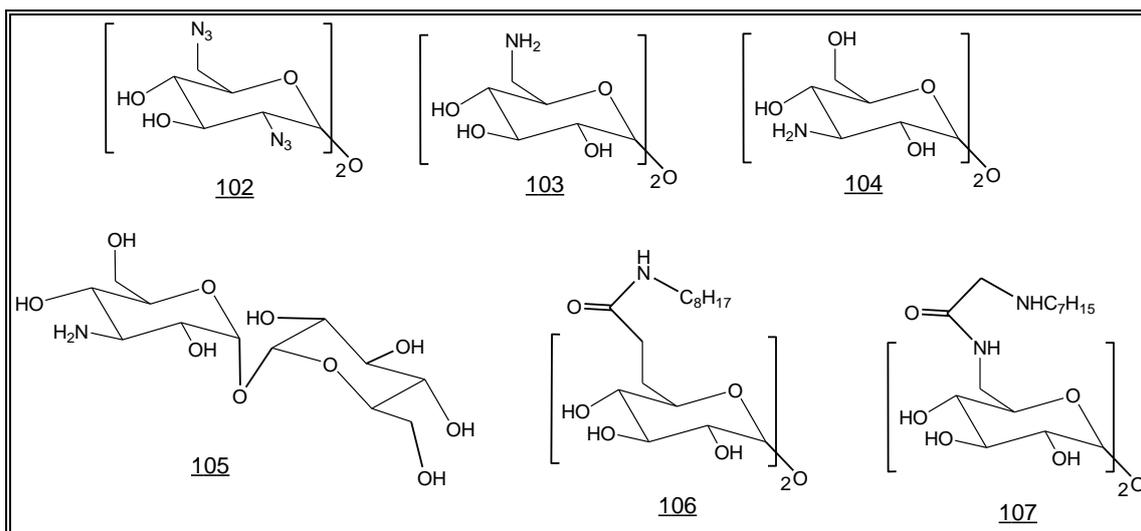


Figura 30 – Análogos sintéticos de trealose.

O metabolismo da trealose foi esclarecido por Cabib e Leloir, sua biossíntese passa pela reação da uridina difosfato D-glicose com a 6-fosfato-D-glicose em presença da trealose sintase e íons magnésio. Elbein descreveu posteriormente a síntese da trealose a partir da guanosina difosfato, porém sem a necessidade de íons magnésio.

Originalmente, a trealose, juntamente com o glicogênio, eram considerados substâncias de reserva energética para a levedura, porém, recentemente, vários autores sugerem que a trealose possua função de proteção para a célula de levedura durante processos de estresse, tais como altas temperaturas, choque osmótico, efeitos tóxicos do etanol e desidratação, ficando o glicogênio como o principal carboidrato de reserva em leveduras. Há também estudos sobre sua ação como antioxidante (RICHARDS, 2002).

Existem algumas propostas para o mecanismo de proteção: Cerrutti e colaboradores (2000) propuseram que o mecanismo de proteção tanto de membranas celulares como de proteínas acontecesse por meio de vitrificação. Há modelos que explicam o efeito de proteção da trealose na membrana da célula de levedura durante os processos de desidratação-hidratação e congelamento-descongelamento. O modelo mais aceito é o proposto por Crowe e colaboradores (1984), pelo qual a trealose interage com os grupos polares das cadeias fosfolipídicas existentes na membrana. A trealose substituiria a água que está ligada às cabeças polares dos fosfolipídios quando em condições favoráveis e seria perdida no processo de estresse. Com a ligação da trealose à membrana não há alteração do espaçamento entre os fosfolipídios, evitando assim as separações laterais dos componentes da membrana. Com a substituição das moléculas

de água pela trealose não há passagem da fase fluida para a fase gel da membrana, mantendo-se a integridade e a fluidez da membrana, e assim, a viabilidade celular.

Em complementação aos estudos anteriores, Pereira e colaboradores (2004) e Sum e colaboradores (2003), por meio de estudos de dinâmica molecular, propuseram que a interação entre a trealose e a membrana fosfolipídica aconteça preferencialmente por meio de interações tipo ligação de hidrogênio, que se tornam mais intensas à medida que o sistema perde água. Entretanto, não se pode precisar ainda ao certo se a trealose substitui a água normalmente presente no organismo em seu estado não desidratado, ou aprisiona esta, impedindo que seja eliminada para o meio durante a desidratação.

Tendo em vista a aplicabilidade de derivados tetrazólicos e oxadiazólicos, bem como a importância de derivados de glicosamina e trealose, o desenvolvimento de híbridos moleculares que contenham estas subestruturas e possam ter suas atividades analisadas torna-se estratégico para o entendimento do comportamento biológico e para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas.

2 Objetivos e planos de síntese

Como exposto anteriormente, há na literatura inúmeros exemplos de substâncias que contêm em suas estruturas o anel tetrazólico e seu bioisómero oxadiazol, e que apresentam importantes atividades biológicas.

Avaliando que compostos tetrazólicos e oxadiazólicos são potenciais agentes bioativos e que os carboidratos são interessantes substratos, pois permitem transformações químico e regioseletivas de suas hidroxilas, além de serem potenciais agentes bioativos e de fácil obtenção, foram executados em nosso grupo vários projetos (p.9). Estes permitiram o acúmulo de conhecimentos na síntese de novos tetrazóis e oxadiazóis a partir de carboidratos.

Considerando esta experiência, planejou-se no âmbito deste projeto:

1. A síntese dos tetrazóis 108 e 109, derivados da glicosamina (Figura 31)
2. A síntese dos tetrazóis 118 e 119, derivados da trealose (Figura 32, p. 22)
3. A síntese dos oxadiazóis 110 e 111, derivados da glicosamina (Figura 31)
4. A síntese dos oxadiazóis 120 e 121, derivados da trealose (Figura 32, p. 22)
5. A síntese dos *N*-alquiltetrazóis 112, 113, 114, 115, 116 e 117, derivados da glicosamina (Figura 31)
6. A síntese dos *N*-alquiltetrazóis 122, 123, 124, 125, 126 e 127, derivados da trealose (Figura 32, p. 22)
7. A avaliação da atividade antineoplásica dos produtos e intermediários de síntese.

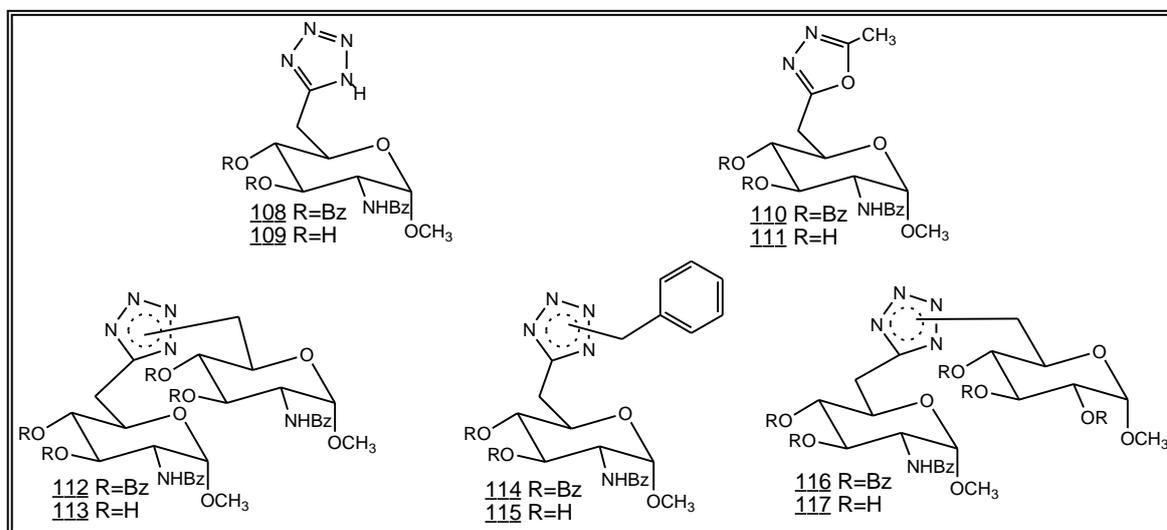


Figura 31 - Tetrazóis, oxadiazóis e *N*-alquil-tetrazóis derivados do sulfato de glicosamina.

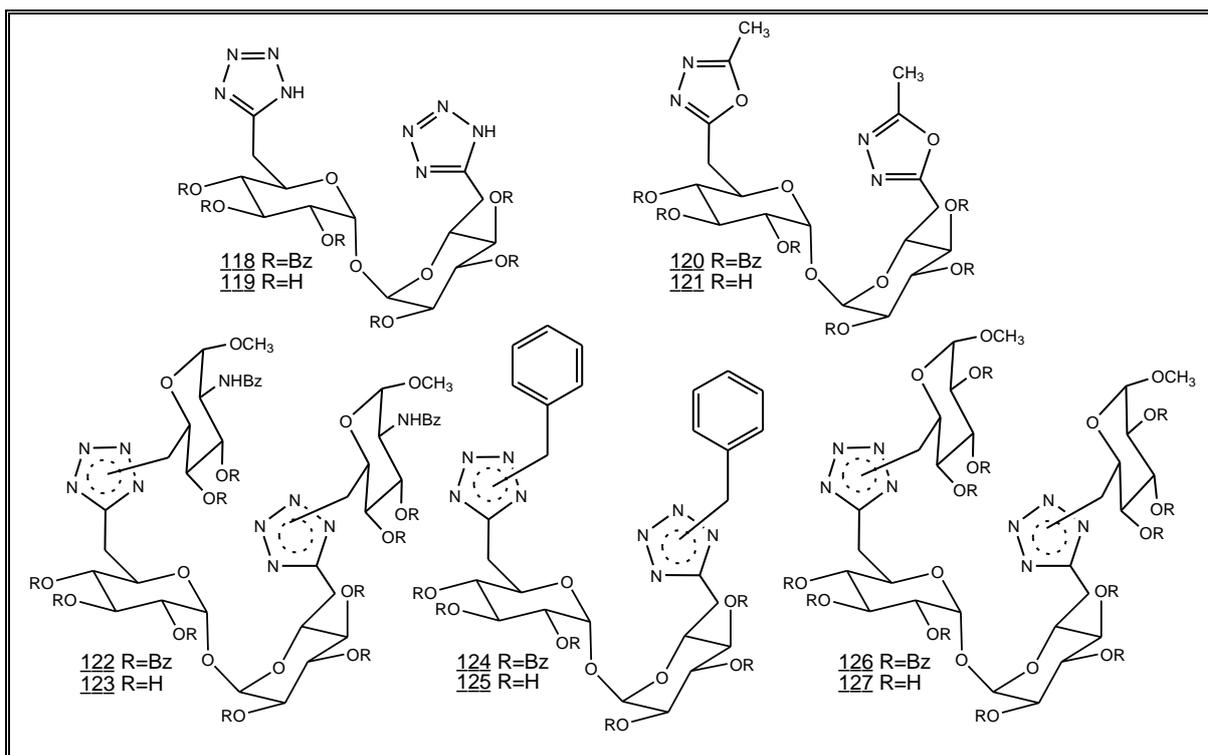


Figura 32 - Tetrazóis, oxadiazóis e *N*-alquil-tetrazóis derivados da trealose.

Além disso, considerando as vantagens da utilização do aquecimento por microondas para conduzir reações orgânicas, propôs-se o desenvolvimento de algumas reações pertinentes em microondas doméstico adaptado, a fim de se comparar a eficiência desta técnica com as convencionais.

O interesse pela síntese de tetrazóis e de seus bioisómeros oxadiazóis se deve, como descrito anteriormente, aos diversos exemplos de substâncias que possuem tais estruturas e que apresentam importantes atividades biológicas, além de este ser assunto de pesquisa do grupo.

O planejamento da síntese destes tetrazóis e oxadiazóis foi desenvolvido com base nos trabalhos relatados por Faraco (1997), Klier (2001) e Pedrosa (2003), que descrevem a obtenção de tetrazóis 5-monossustituídos por reação de adição 1,3-dipolar entre um cianeto orgânico e uma azida inorgânica, a alquilação de tetrazóis em meio básico para a obtenção de tetrazóis dissustituídos e a reação de tetrazóis 5-monossustituídos com anidridos para a síntese de 1, 3, 4 oxadiazóis.

Assim, levando em consideração a utilização frequente destas reações foi considerada a retró síntese apresentada na Figura 33, p.23 como sendo adequada para se planejar a obtenção de todos os compostos desejados.

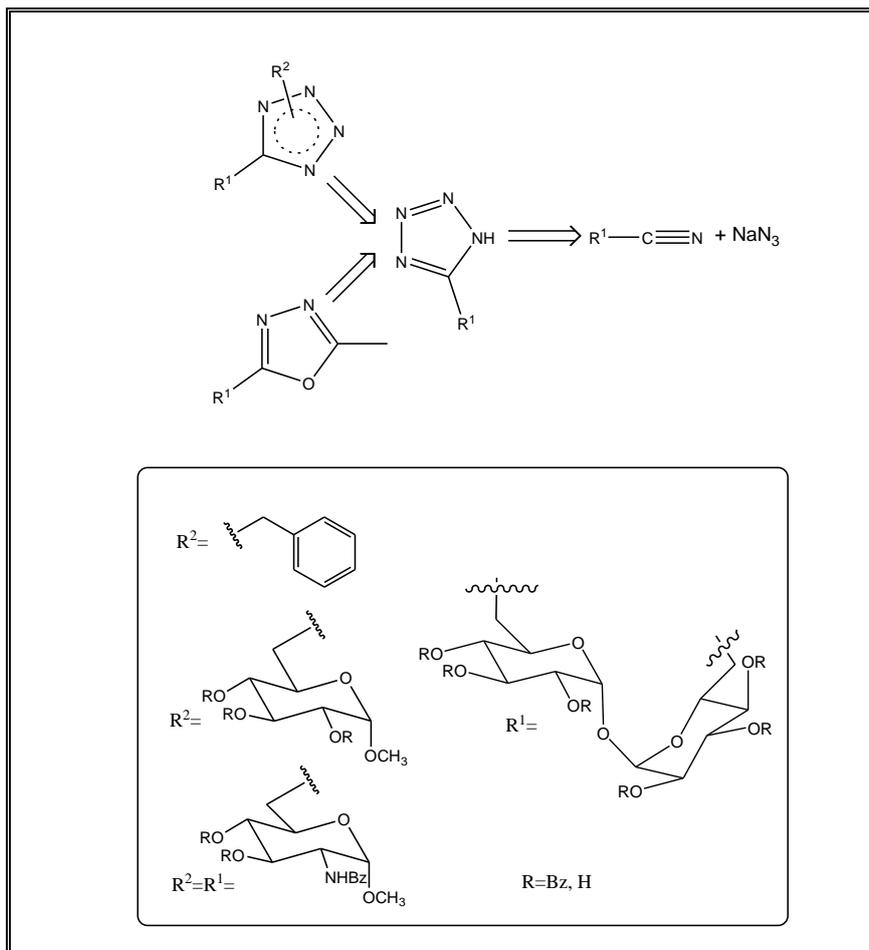


Figura 33 - Retrossíntese dos tetrazóis, *N*-alquil-tetrazóis e oxadiazóis.

Levando-se em conta a análise da retrossíntese, foram propostas duas rotas de síntese para os tetrazóis, oxadiazóis e *N*-alquiltetrazóis, derivados da glicosamina e da trealose.

Primeiramente, na rota de síntese envolvendo a glicosamina (Figura 34, p.24), o tetrazol 108 seria obtido por reação da nitrila 133 com azida de sódio em presença de cloreto de amônio, usando-se dimetilformamida como solvente (D'ACCORSO & THIEL, 1993). A síntese da nitrila 133 envolveria cinco etapas. A primeira consistiria na transformação quimiosseletiva do grupo amino da D-glicosamina na amida 129 (Figura 34, p.24). Para tal, seria necessário inicialmente obter-se a glicosamina livre através da reação do sulfato de D-glicosamina (128) com hidrogenocarbonato de sódio e em seguida fazer reação da mesma com cloreto de benzoila (BADARÓ, 1997). Na segunda etapa da rota de síntese seria feita a proteção quimiosseletiva da hidroxila anomérica, o que levaria ao intermediário 130. Em seguida este conduziria ao derivado iodado 131 por reação regioseletiva com iodo, trifetilfosfina e imidazol (GAREGG & SAMUELSSON, 1980).

Subsequente benzoilação das hidroxilas livres em C-3 e C-4 com cloreto de benzoila e piridina (BADARÓ, 1997), levaria à obtenção do derivado 132. Finalmente, a nitrila 133 seria obtida utilizando-se cianeto de potássio em dimetilformamida (SUGIHARA *et al.*, 1963).

O oxadiazol 110 seria obtido por reação do derivado tetrazólico 108 com anidrido acético e piridina (D'ACCORSO & FASCIO, 1995).

Os heterociclos benzoilados 108 e 110 seriam submetidos à reação com hidróxido de sódio em metanol para conduzir aos heterociclos hidroxilados 109 e 111, respectivamente (MASHIMO & SATO, 1970).

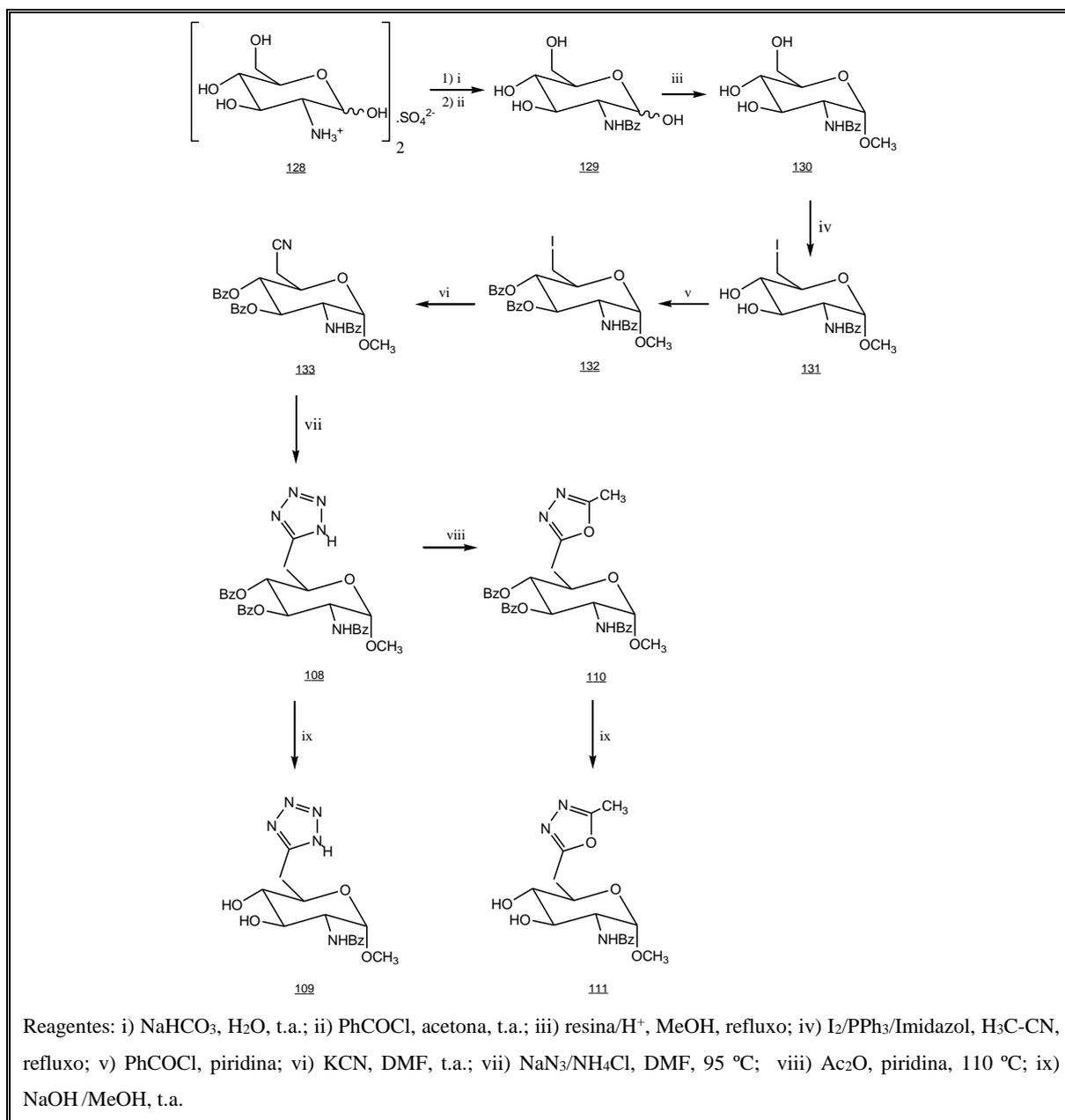


Figura 34 - Esquema para a obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir do sulfato de glicosamina.

Uma vez obtido o tetrazol 108, este seria submetido à reação de alquilação (Figura 35), utilizando-se haletos de glicosídeos ou de benzila em presença de carbonato de potássio, para levar aos tetrazóis 112, 114 e 116 (HARFENIST *et al.*, 1996). Os tetrazóis dialquilados 112, 114 e 116 seriam desbenzoilados resultando nos respectivos tetrazóis dialquilados desprotegidos 113, 115 e 117 (MASHIMO & SATO, 1970).

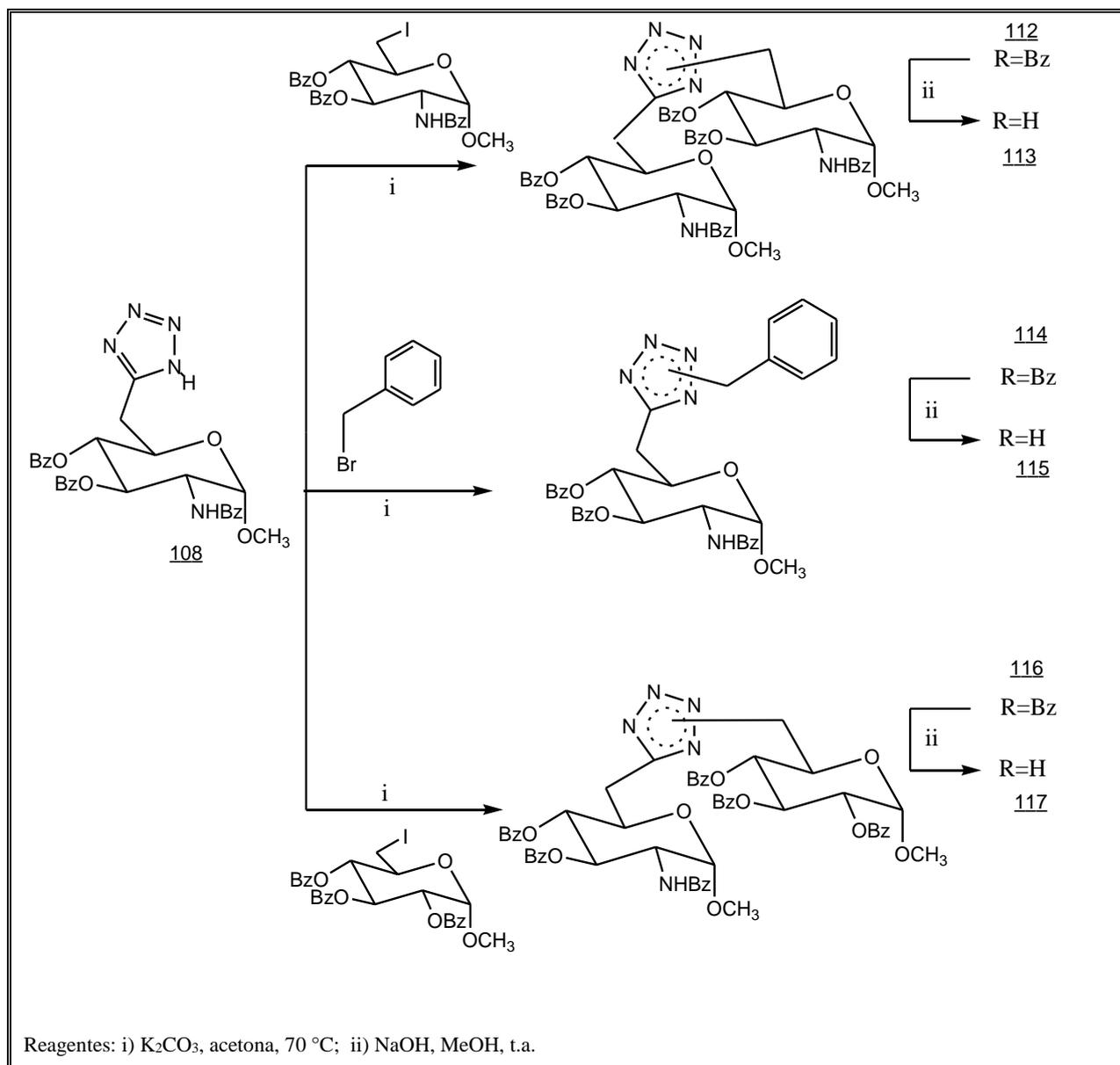


Figura 35 - Esquema para a obtenção de *N*-alquil-tetrazóis a partir do tetrazol 108.

Na rota de síntese envolvendo a trealose (Figura 36, p.26), o tetrazol 118 seria obtido por reação da nitrila 136 com azida de sódio em presença de cloreto de amônio, usando-se dimetilformamida como solvente (D'ACCORSO & THIEL, 1993). A síntese da nitrila 136 envolveria três etapas. A primeira consistiria na transformação da trealose (89) no derivado iodado 134, por reação regiosseletiva com iodo, trifetilfosfina e imidazol

(GAREGG & SAMUELSSON, 1980). Subsequente benzoilação das hidroxilas livres em C-2, C-3 e C-4 (BADARÓ, 1997), com cloreto de benzoíla e piridina, levaria à obtenção do derivado 135. Na terceira etapa de síntese seria obtida a nitrila 136, utilizando-se cianeto de potássio e dimetilformamida (SUGIHARA *et al.*, 1963).

O oxadiazol 120 seria obtido por reação do derivado tetrazólico 118 com anidrido acético e piridina (D'ACCORSO & FASCIO, 1995).

Os heterociclos benzoilados 118 e 120 seriam submetidos à reação com hidróxido de sódio em metanol para conduzir aos respectivos heterociclos hidroxilados 119 e 121, respectivamente (MASHIMO & SATO, 1970).

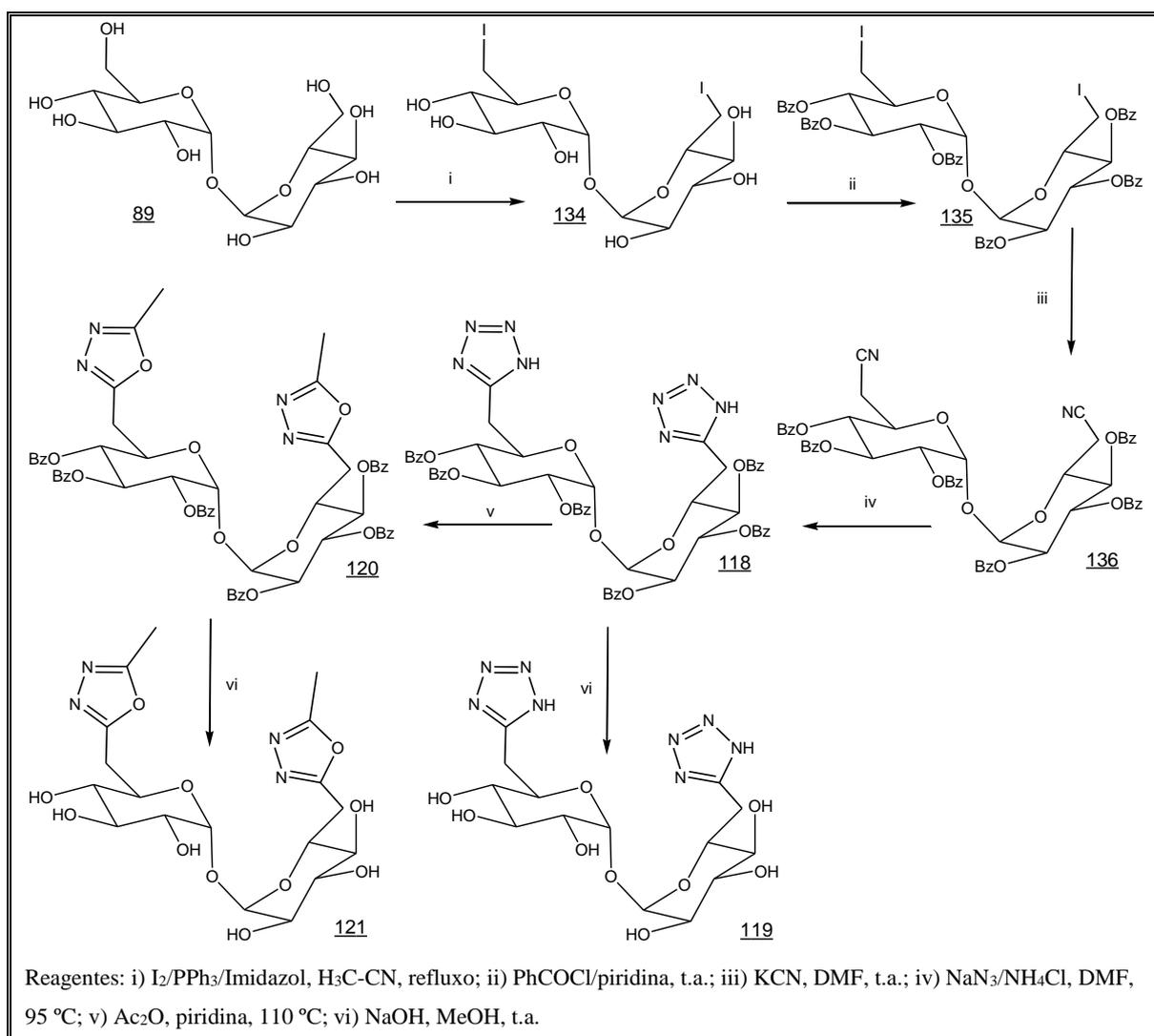


Figura 36 - Esquema para obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir da trealose.

Uma vez obtido o tetrazol 118, este seria submetido à reação de alquilação (Figura 37, p.27), utilizando-se haletos de glicosídeos ou de benzila em presença de carbonato de potássio, o que conduziria aos tetrazóis 122, 124 e 126 (HARFENIST *et al.*, 1996). Os

tetrazóis dialquilados 122, 124 e 126 seriam desbenzoidados resultando nos respectivos tetrazóis dialquilados 123, 125, e 127 (MASHIMO & SATO, 1970).

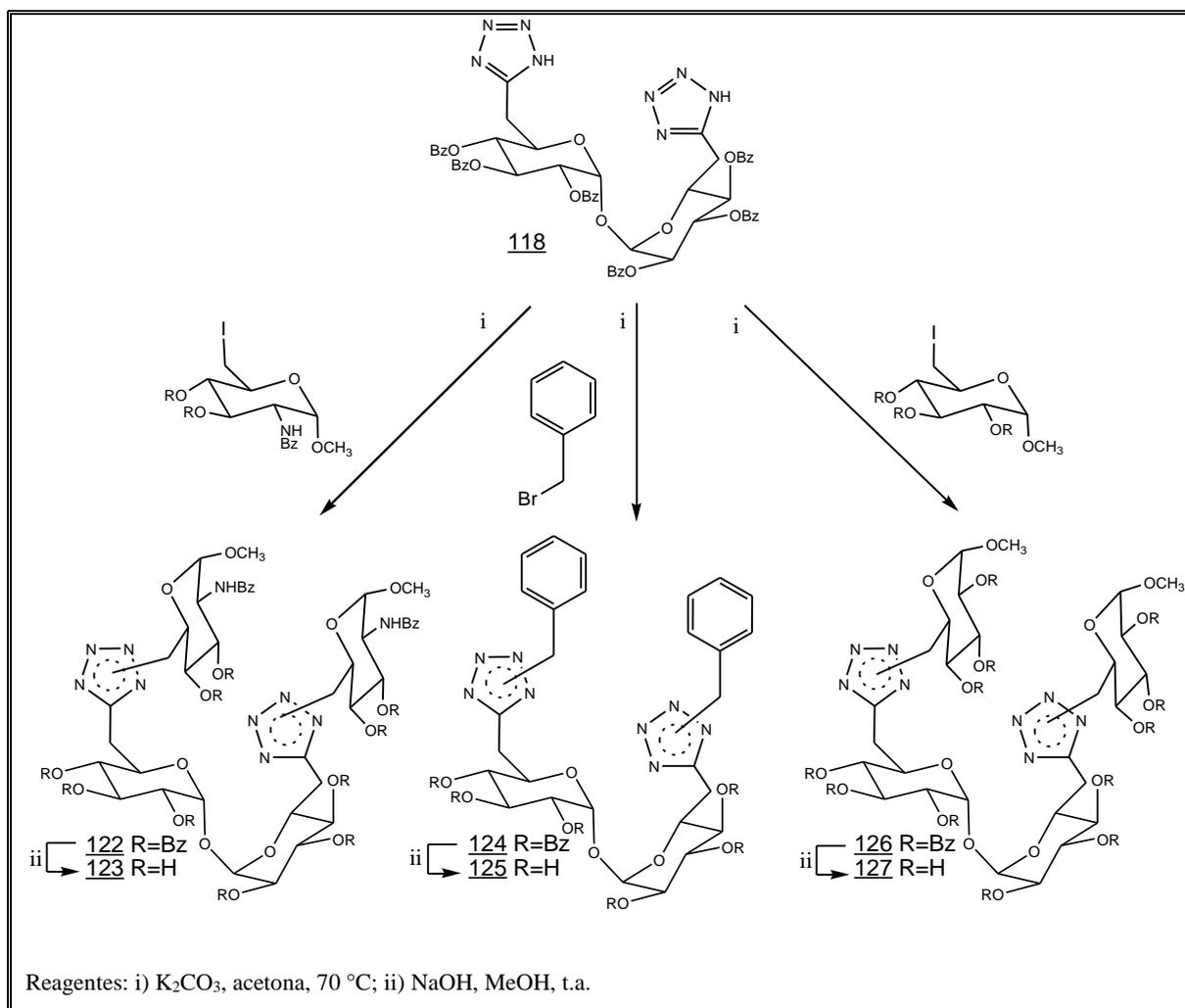


Figura 37 - Esquema para a obtenção de *N*-alquiltetrazóis a partir da trealose.

Após serem efetuadas as rotas de síntese utilizando-se métodos convencionais, algumas etapas seriam também desenvolvidas em forno de microondas caseiro adaptado, a fim de se comparar a eficiência desta técnica com as convencionais.

3 Discussão das reações

Como descrito no planejamento, foram propostas duas sequências de síntese a fim de se obterem compostos tetrazólicos e oxadiazólicos: uma a partir do sulfato de glicosamina (p. 24 e 25) e outra a partir da trealose desidratada (p. 26 e 27).

3.1 Discussão da rota de síntese de obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir do sulfato de glicosamina

A primeira etapa de síntese consistiu na proteção da amina em C-2 da glicosamina (128) na forma de benzamido (129, Figura 38).

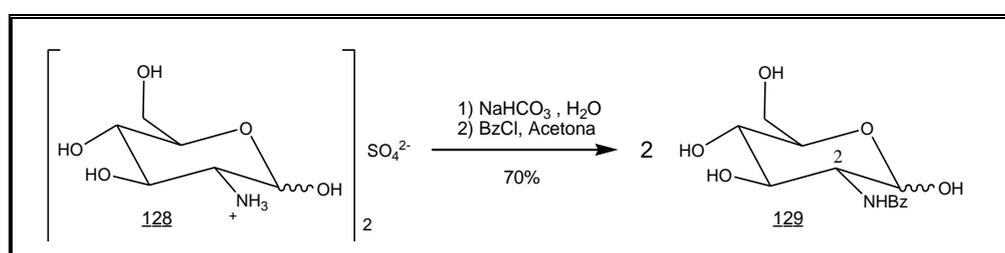


Figura 38 - Obtenção de 129.

O grupo amino deve ser inicialmente liberado de sua forma de sulfato. Tendo em vista o fato de que o grupo amino uma vez liberado, poderia sofrer reações de oxidação e proporcionar reações de substituição, este foi submetido a uma reação de benzoilação. A reação ocorreu com a adição do sulfato de glicosamina (128) a uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio. Logo após cessado o desprendimento de CO₂ foram adicionados dois equivalentes de cloreto de benzoíla solubilizados em acetona. Este procedimento, adaptado da técnica descrita por Badaró (1997), resultou em uma mistura dos anômeros 129 α e 129 β com 70 % de rendimento em uma proporção de 2:1 do anômero 129 α /129 β .

A segunda etapa de síntese consistiu na obtenção do glicosídeo de metila 130 a partir da glicosamina benzoilada (129, Figura 39).

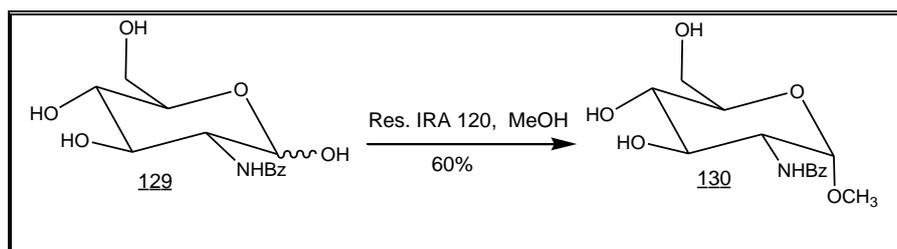


Figura 39 - Obtenção de 130.

A proteção da hidroxila anomérica em síntese envolvendo açúcares é uma etapa imprescindível devido à sua extrema reatividade, uma vez que o carbono anomérico é aldeídico ou cetônico em sua forma aberta. Para a *N*-benzoilglicosamina (129) esta interconversão do carbono aldeídico pode ser observada, quando em solução, sob sete formas, sendo uma aberta e seis cíclicas (Figura 40) (HORTON, 2011).

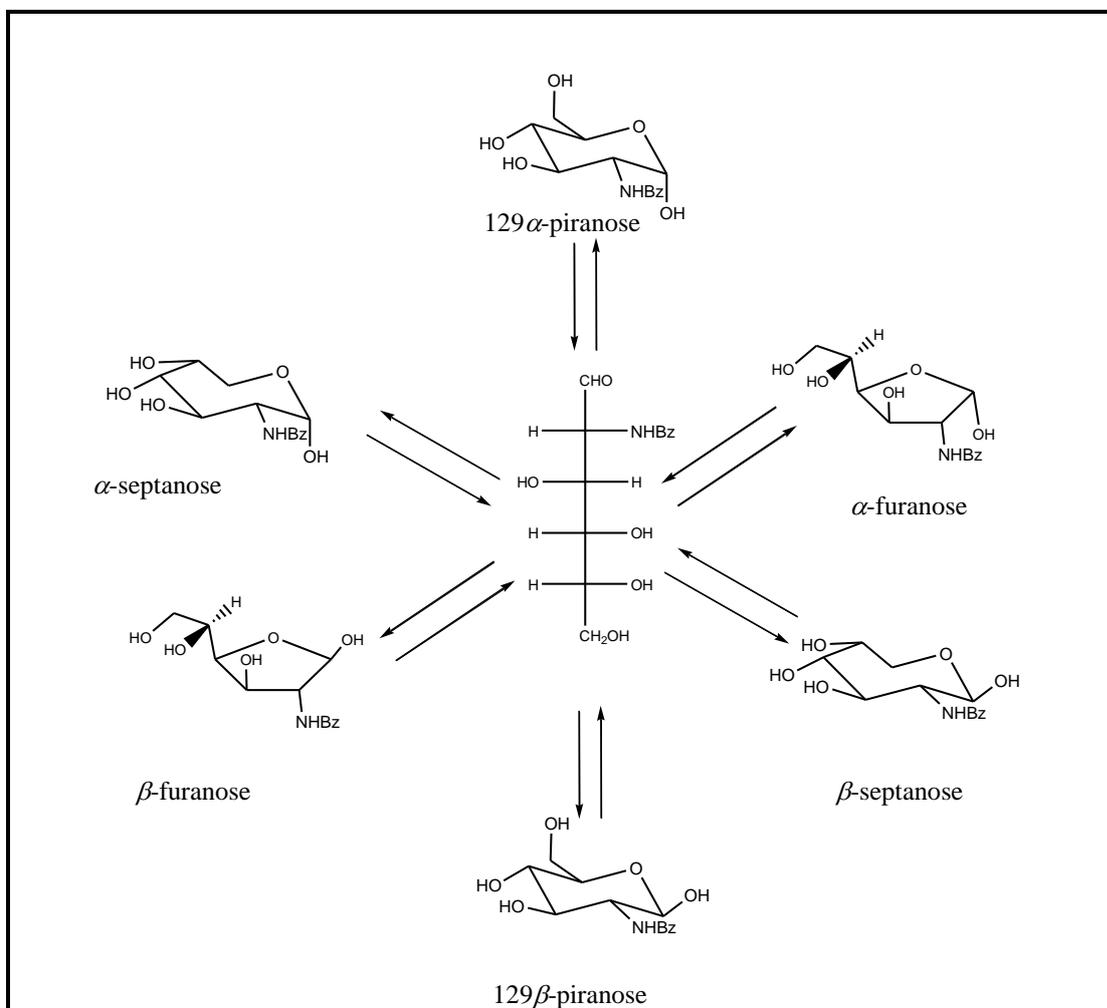


Figura 40 - Interconversões entre os isômeros da *N*-benzoilglicosamina (129).

Desta maneira, a conversão da benzamida 129 no glicopiranosídeo de metila, com o objetivo de se proteger o centro anomérico, foi efetuada por meio de sua reação com metanol anidro na presença de resina de troca iônica, amberlite IRA 120 (forma ácida) (SOUZA FILHO, 1985). O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD, que indicou a formação de dois produtos com fatores de retenção (*R_f*) muito próximos. Com o passar do tempo foi observado que o material de partida havia sido consumido e que o produto de *R_f* menor se convertia no produto de *R_f* maior. Este intermediário que apresenta *R_f* menor em CCD é o produto cinético (130β). Segundo o mecanismo apresentado na Figura 41, percebe-se que o ataque do metanol, em C-1 de 129.3, seria mais

favorecido pelo lado superior, levando ao produto da série β (130β) menos impedido estericamente (SOUZA FILHO, 1985).

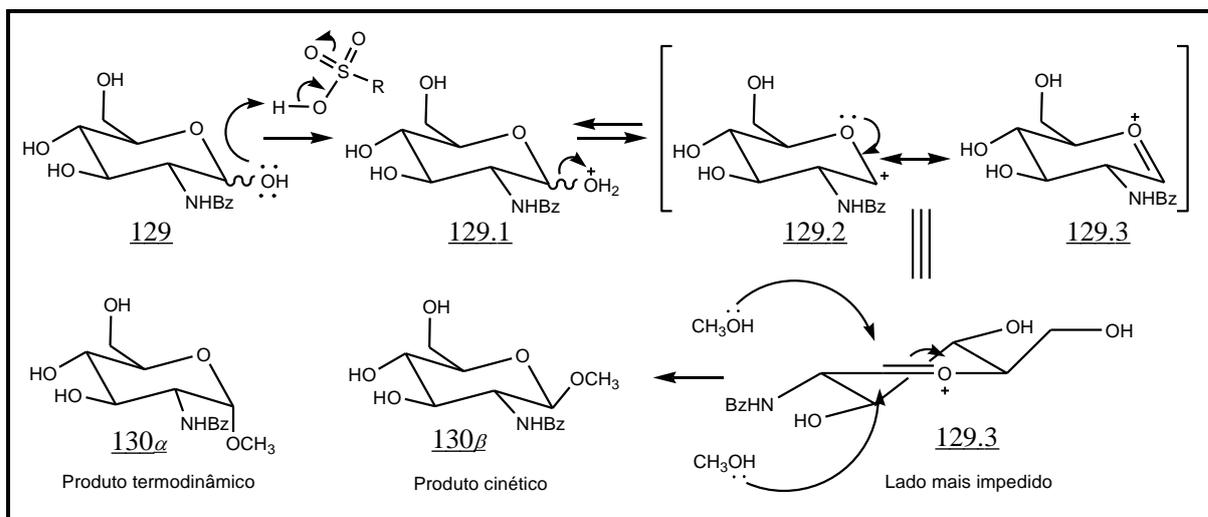


Figura 41 - Mecanismo da reação de glicosilação.

Porém, este não é o produto de maior estabilidade termodinâmica, e, por um processo de interconversão, há formação do produto da série α . Este processo de interconversão é conhecido como anomerização (COLLINS & FERRIER, 1995).

A anomerização do isômero β para o α , o produto termodinâmico (com R_f maior), é devida ao denominado efeito anomérico, explicado por dois fatores: interações polares e interações entre orbitais HOMO e LUMO (FLEMING, 2010; EL KHADEM, 2012).

As interações polares são provenientes da ligação de um elemento eletronegativo na posição anomérica e dos pares de elétrons não ligados do oxigênio (FLEMING, 2010; EL KHADEM, 2012). Estas interações podem ser bem observadas pelas projeções de Newman quando a metoxila se encontra em equatorial (Figura 42, A) e quando esta se encontra em axial (Figura 42, B). No primeiro caso é observada uma menor estabilidade termodinâmica, pois as interações polares apresentam a mesma direção enquanto no segundo caso as interações polares apresentam direções opostas.

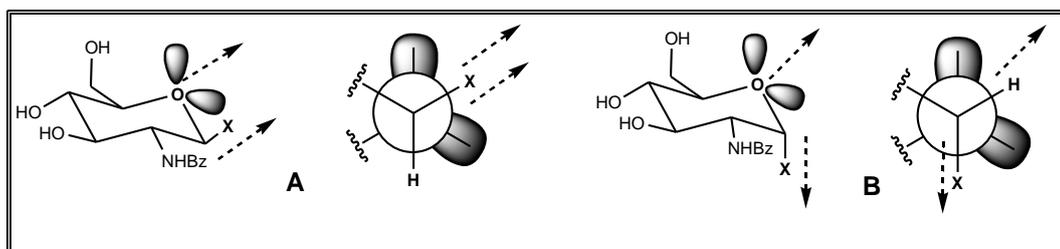


Figura 42 - Interações polares entre pares de elétrons não ligados do oxigênio e heteroátomo na posição anomérica.

Com relação aos orbitais HOMO-LUMO, para 130 α , encontra-se representada a interação entre o orbital HOMO, localizado sobre oxigênio do anel, com o orbital LUMO, localizado em C-1 (Figura 43). Para 130 β , encontra-se representada a interação entre o orbital HOMO, localizado sobre oxigênio do anel, com o orbital LUMO, localizado em C-1. Quando comparadas as interações HOMO-LUMO para os anômeros 130 α e 130 β a primeira é muito mais efetiva, pois seus orbitais são mais próximos em energia (FLEMING, 2010; EL KHADEM, 2012).

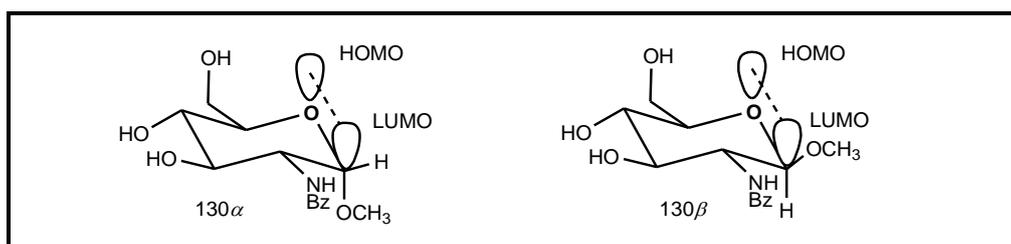


Figura 43 - Interações entre os orbitais HOMO e LUMO dos anômeros α e β .

Deste modo, o posicionamento da metoxila em axial resultará em um produto de maior estabilidade termodinâmica. Este efeito ainda é bem maior em haletos de glicosila e sua intensidade compensa o impedimento estérico gerado por grupos volumosos em posição axial (FLEMING, 2010; EL KHADEM, 2012).

A terceira etapa de síntese (Figura 44) consistiu na tentativa de iodação em C-6 do glicosídeo de metila (130) a fim de se obter um intermediário com um bom grupo abandonador e que pudesse ser substituído por cianeto em etapas posteriores.

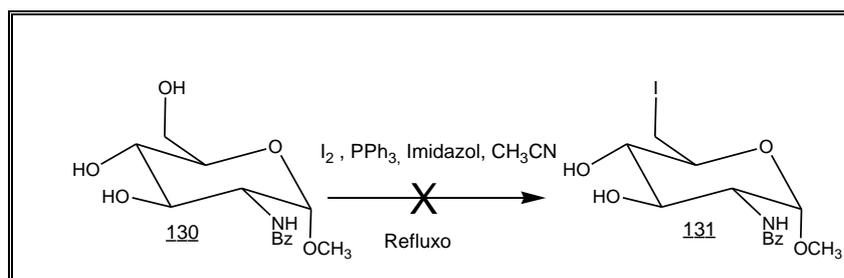


Figura 44 - Proposta para obtenção de 131.

Para a síntese de 131 foi utilizada uma metodologia adaptada da descrita por Garegg e Samuelsson (1980). Foram utilizados como reagentes trifetilfosfina, imidazol e iodo, e como solvente, acetonitrila, sob refluxo.

Garegg e Samuelsson (1980) relatam que na ausência de imidazol, a trifetilfosfina e o iodo formam um aduto que é insolúvel e que, portanto, não contribui para o

desenvolvimento da reação. Já com a adição do imidazol, forma-se um complexo parcialmente solúvel, o qual rapidamente reage com o álcool. O mecanismo proposto por Garegg e Samuelsson (1980) está apresentado na Figura 45.

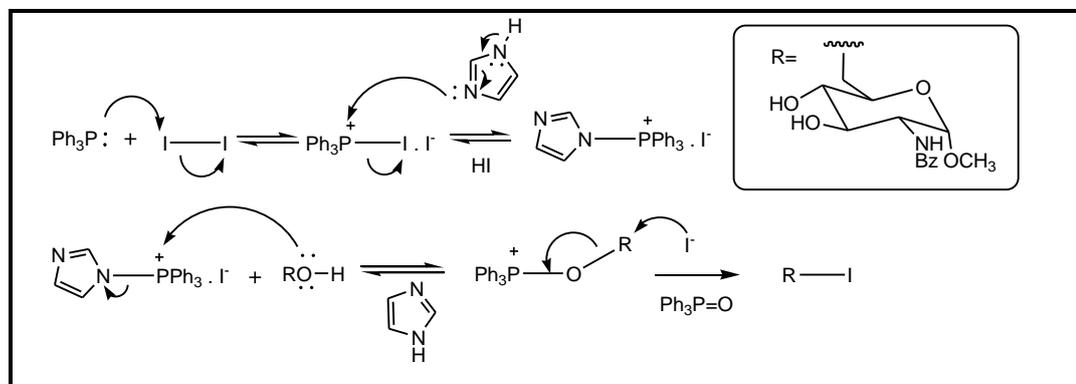


Figura 45 - Mecanismo proposto para a obtenção de 131.

Da reação de 130 com iodo, trifenilfosfina e imidazol foi isolado apenas o produto 137 com 30% de rendimento, cujos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , COSY, DEPT135, HSQC e HMBC (p.53-56) demonstram não se tratar do produto desejado 131 e sim do 1,6-anidro-2-benzamido-2-desoxi- β -D-glicopiranosose (137). É possível que 137 tenha sido formado pelo mecanismo apresentado na Figura 46. Esta proposta de mecanismo é fundamentada por Konstas e colaboradores (1959) e Kadokawa e colaboradores (1997).

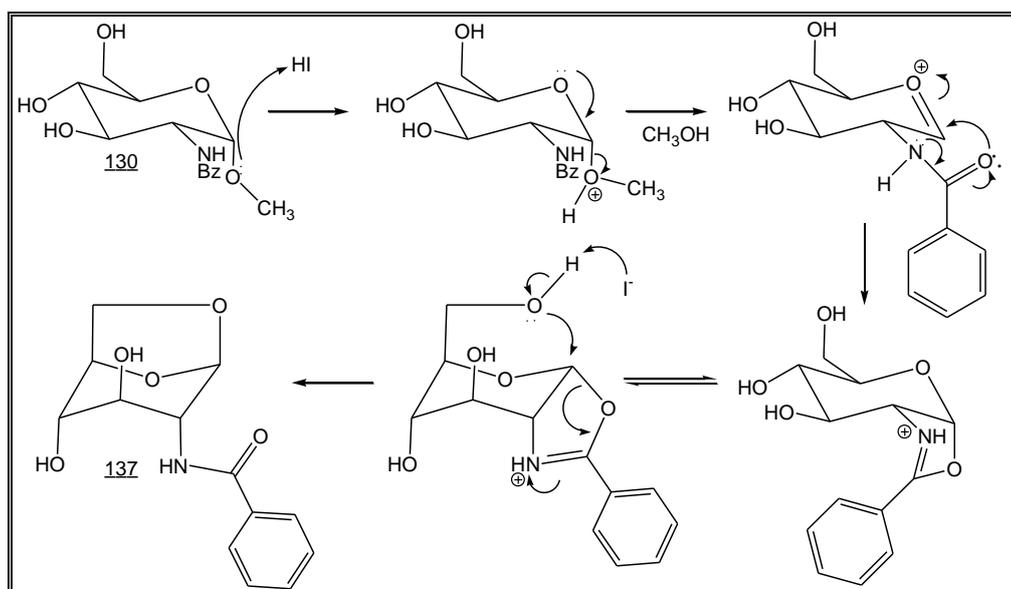


Figura 46 - Proposta de mecanismo para a obtenção de 137.

Como não foi possível obter o derivado 131 resolveu-se não investir nesta rota. Planejou-se, então, sintetizar o derivado 6-*O*-tosilado 138 (Figura 47), que também conduziria à nitrila desejada 133 (Figura 34, p.24).

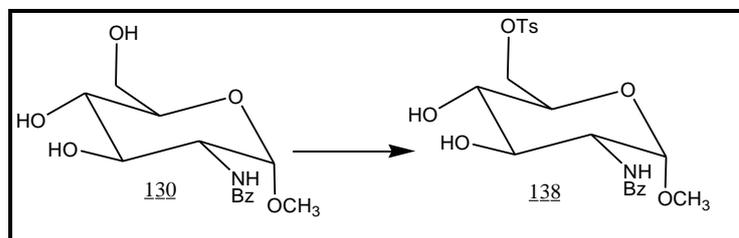


Figura 47 - Obtenção do éster sulfônico 138.

Ésteres de ácidos sulfônicos, particularmente os ácidos *p*-toluenossulfônicos e metanossulfônicos, estão entre os grupos funcionais mais comuns na química de carboidratos. São frequentemente usados não só como grupos protetores mas também como grupos abandonadores em reações de substituição ou eliminação. Estes ésteres são facilmente formados além de serem estáveis sob uma variedade de condições (BINKLEY, 1988; YIN, 2018).

Para obtenção do intermediário tosilado 138, foi adicionada uma solução do glicosídeo de metila (130) em piridina a uma solução contendo 5 equivalentes de cloreto de tosila em piridina, sob temperatura ambiente. A piridina utilizada serve como solvente e também como base para neutralizar o ácido formado na reação. (BINKLEY, 1988; YIN, 2018).

O excesso de cloreto de tosila pode ser utilizado sabendo-se que grupos hidroxila primários são esterificados mais rapidamente que os grupos secundários (BINKLEY, 1988; ZHAO, 2014). Assim, foi tosilada regioselectivamente a hidroxila primária em detrimento das hidroxilas secundárias, conduzindo ao composto 138 com 76 % de rendimento.

Para se obter o tetrazol 109 (Figura 48, p.34) a partir de uma nitrila precursora poder-se-iam seguir duas seqüências de síntese: a substituição direta do grupo tosiloila por cianeto a partir do intermediário 6-*O*-tosilado 138 (Rota A), ou a substituição do grupo tosiloila por cianeto a partir do intermediário 6-*O*-tosilado protegido 140 (Rota B).

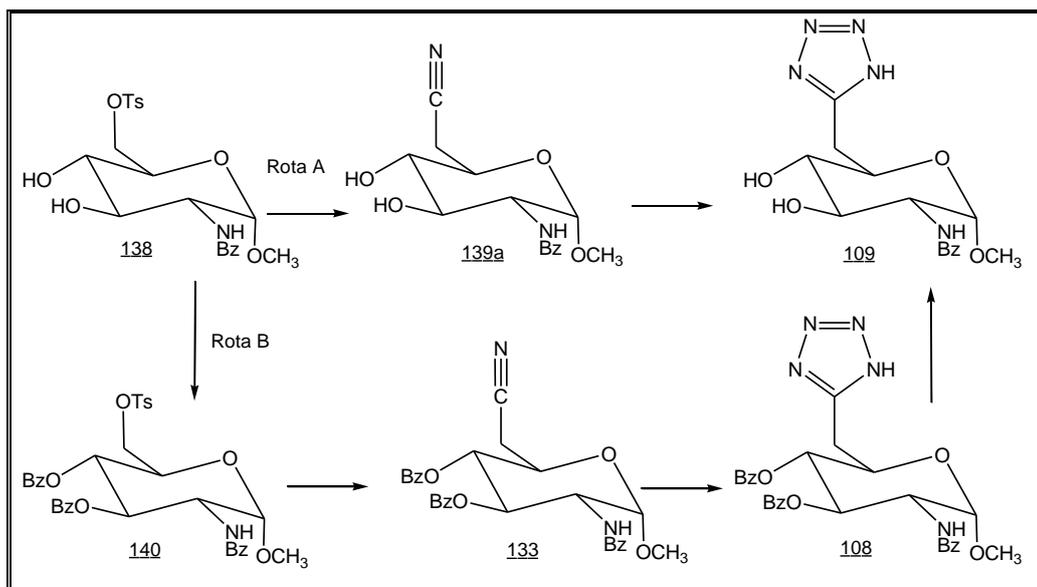


Figura 48 - Sequências para a obtenção do tetrazol 109.

Na primeira seqüência (138, 139a e 109, Figura 48) seria obtido o tetrazol 109 diretamente sem etapas de proteção e desproteção, o que poderia resultar em um ganho no rendimento global, economia de reagentes, elaboração de reação e tempo, mas com possibilidade de formação do composto 3,6-anidro 139b (WALKER *et al.*, 1974).

Na segunda seqüência (138, 140, 133, 108 e 109) seria obtido o tetrazol protegido 108, um produto menos polar, conseqüentemente mais fácil de ser purificado e interessante para etapas posteriores de *N*-alquilações, porém com duas etapas de síntese a mais.

Desta maneira, optou-se por realizar primeiro o caminho mais curto. Para a obtenção de 139a adicionou-se o intermediário 138 a uma suspensão de cianeto de potássio em DMF. Não sendo obtido o produto desejado em 24h, foi adicionado éter 18-coroa-6. Não tendo sido obtido o produto novamente, o material de partida foi adicionado a uma solução de cianeto de potássio em metanol anidro a temperatura ambiente conduzindo desta vez a formação de um produto (SUGIHARA, 1963; BEHRENS, 1985).

Nos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , juntamente com os mapas de contornos COSY, HMQC e HMBC, do único produto isolado da reação foram observados sinais condizentes com os da substância 139b, formada por substituição nucleofílica interna referente ao ataque do oxigênio da hidroxila em C-3 ao carbono C-6 (Figura 49).

Desta maneira concluiu-se que realmente seria importante a presença de grupos protetores nas hidroxilas 3 e 4 a fim de se evitar a formação do composto 3,6-anidro 139b. Sendo assim, optou-se pela proteção destas hidroxilas com o grupo benzoíla resistente às condições de reação das etapas posteriores (GRENNE, 1991).

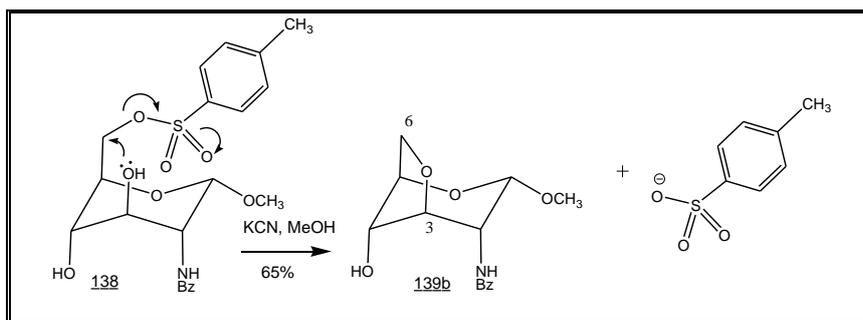


Figura 49 - Mecanismo de formação de 139b.

Para a obtenção de 140 (Figura 50) utilizou-se uma solução contendo excesso de cloreto de benzoíla em piridina, na qual foi adicionado o intermediário tosilado 138 dissolvido em piridina. Este procedimento resultou no intermediário di-*O*-benzoilado 140 com 90 % de rendimento.

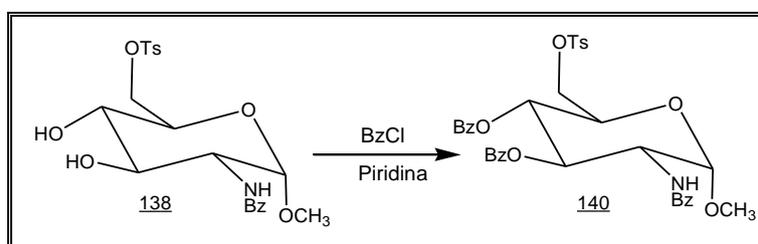


Figura 50 - Obtenção de 140.

A seguir, dando continuidade à Rota B de síntese (Figura 48, p. 34) para a obtenção de 133, adicionou-se 140 a uma suspensão de cianeto de potássio em DMF. Não sendo observado o andamento da reação, foi adicionado éter 18-coroa-6. Não sendo observado novamente o andamento da reação o material de partida foi solubilizado em DMF e adicionado a uma solução de cianeto de potássio em metanol anidro (SUGIHARA, 1963; BEHRENS, 1985). Este procedimento resultou em uma mistura complexa. Por RMN de ^{13}C pode ser percebido a presença da nitrila como produto minoritário, porém sem a presença dos grupos protetores benzoíla (Figura 51). Tendo em vista a instabilidade dos grupos benzoíla frente às condições de reação empregadas e o baixo rendimento do produto formado, possivelmente em função de reações paralelas de transesterificação, resolveu-se não investir nesta estratégia de síntese.

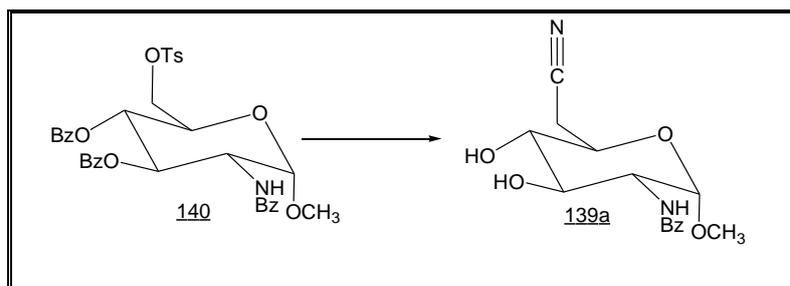


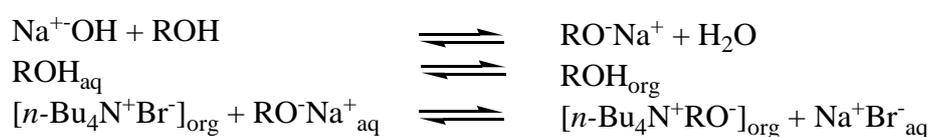
Figura 51 - Obtenção de 139a.

Considerando o insucesso de 140 como intermediário para a obtenção de 109 e a necessidade de se trabalhar com uma molécula protegida, desenvolveu-se um estudo para avaliar a eficácia do grupo benzila como protetor das hidroxilas 3 e 4. Esta escolha se deveu a facilidade de introdução deste grupo, à estabilidade do mesmo em condições ácidas ou básicas e também por ser facilmente removível (BINKLEY, 1988).

Levando-se em consideração a possibilidade de formação do composto 3,6-anidro 139b foi escolhida uma alternativa de alquilação mais branda das hidroxilas 3 e 4 em detrimento de métodos clássicos de alquilação que utilizam hidreto de sódio como base (BERNOTAS, 1990). Desta maneira, esta reação foi realizada envolvendo catálise de transferência de fase (PIETRASKIEWICZ & JURCZAK, 1984; CHATTOPADHYAY *et al.*, 1997). O intermediário tosilado 138 foi solubilizado em diclorometano e foram adicionados brometo de tetrabutilamônio como transferidor de fase, solução de hidróxido de sódio 50 % m/v como base e por fim brometo de benzila como o agente alquilante.

Neste tipo de reação, ocorrem conversões entre espécies químicas situadas em diferentes fases (orgânica e aquosa) na presença de um agente transferidor ou catalisador, cuja função é transferir os ânions do sal reagente ao meio orgânico, na forma de par iônico (LUCCHESI & MARZORATI, 2000). Se um solvente prótico é utilizado, a reação pode se tornar lenta devido à extensiva solvatação do ânion. Além disso, é ideal que o solvente orgânico seja imiscível em água, para que não ocorra excessiva hidratação do par iônico. Um fator determinante desta reação é a agitação vigorosa, pois é deste modo que se obtém um maior contato entre as fases orgânica e aquosa (DEHMLOW & DEHMLOW, 1993).

A reação envolve primeiramente os seguintes equilíbrios (DEHMLOW & DEHMLOW, 1993):



Adicionalmente, os seguintes equilíbrios também são importantes:



Finalmente, a reação do éter ocorre irreversivelmente:



Este método tem também como vantagens não envolver o uso de solventes anidros e uma elaboração bem mais fácil do que aquelas envolvidas em métodos clássicos de benzilação, e de acordo com o esperado foram obtidos os intermediários 141a e 141b com 43 e 37 % de rendimento, respectivamente (Figura 52, p.37).

Partindo do princípio que em meios fortemente básicos é favorecida a formação de 141b foi utilizada uma solução de hidróxido de sódio 25% m/v com o intuito de se otimizar o rendimento obtido para 141a. Este procedimento resultou em um aumento do rendimento de 141a para 50%. Menores concentrações para solução de hidróxido de sódio também foram estudadas, porém, não foi observado o aumento do rendimento e sim, um maior tempo de reação.

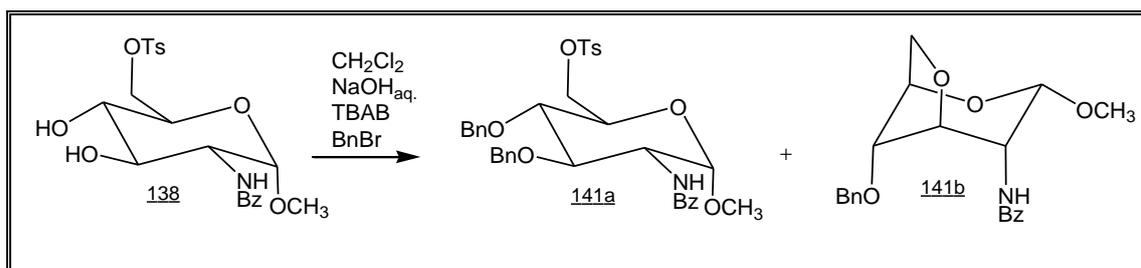


Figura 52 - Obtenção de 141a e 141b.

Tendo agora o intermediário 141a contendo um bom grupo abandonador e as hidroxilas 3 e 4 protegidas poder-se-ia dar continuidade à seqüência de síntese.

Assim, efetuou-se em seguida uma substituição nucleofílica bimolecular no carbono C-6. Esta reação foi realizada segundo a metodologia descrita por Reed e colaboradores (1994), utilizando-se uma solução do intermediário 141a em THF, na qual foram adicionados éter 18-coroa-6 e cianeto de potássio.

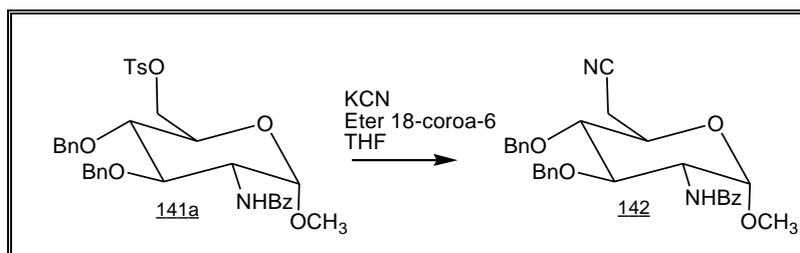


Figura 53 - Obtenção de 142.

Nesta reação o cianeto de potássio encontra-se insolúvel, promovendo com a solução de **141a** em THF uma mistura bifásica, para a qual é imprescindível uma agitação vigorosa. Da reação foi isolado o produto desejado 2-benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosiduronitrila de metila (**142**) com 52 % de rendimento.

Neste ponto do trabalho, optou-se por interromper esta rota de síntese e obter outros derivados de tetrazóis e oxadiazóis (Figura 54), diferentes daqueles da proposta original (Figura 54), a partir do composto tosilado **141a** por meio de reações de substituição nucleofílica. Esta decisão foi tomada considerando a facilidade de obtenção de heterociclos inéditos a partir da disponibilidade de tetrazóis e oxadiazóis comerciais. (COURI, 2007).

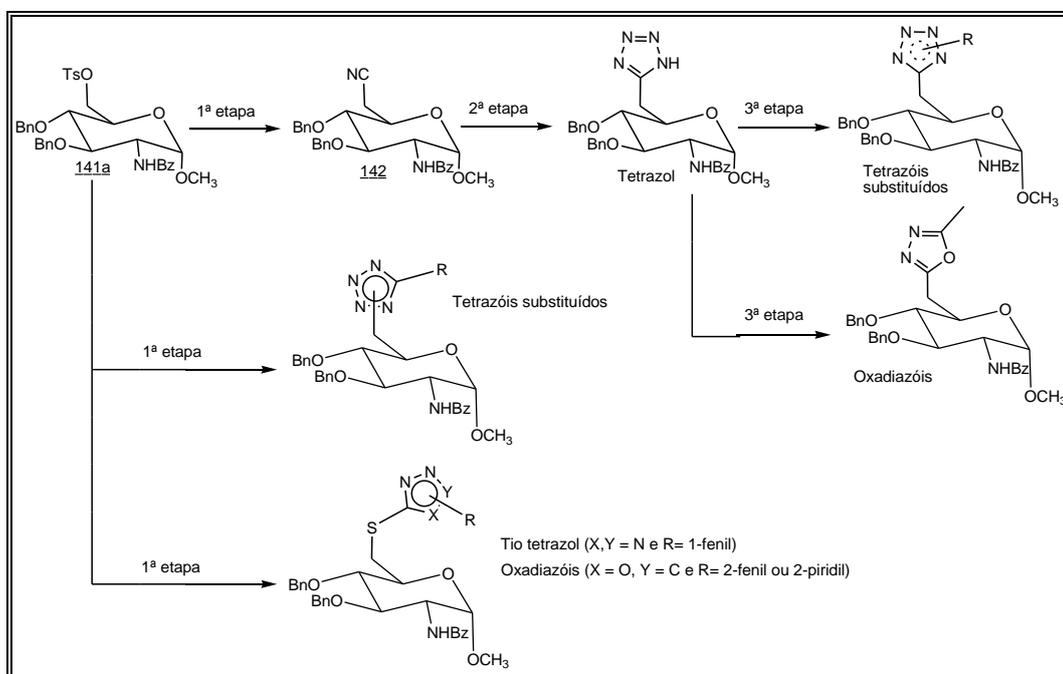


Figura 54 – Comparação entre o número de etapas das rotas para obtenção dos tetrazóis e 1, 3, 4-oxadiazóis.

Deste modo foram propostas reações de substituição utilizando o composto tosilado **141a** como agente alquilante e, como nucleófilos, os tetrazóis e oxadiazóis comerciais 1*H*-tetrazol, 1*H*-5-feniltetrazol, 1*H*-fenil-5-tiotetrazol, 5-fenil-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol e 5-(4-piridil)-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol.

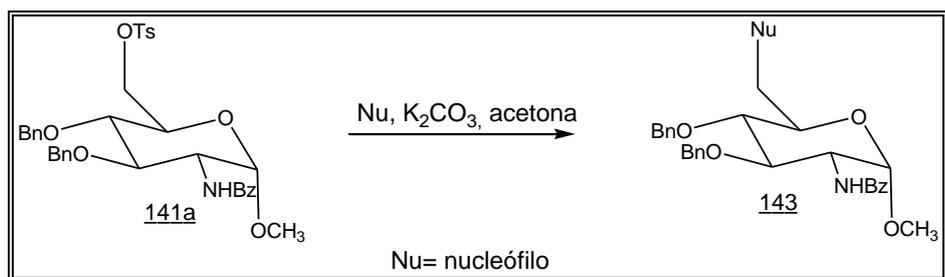


Figura 55 - Obtenção dos tetrazóis e 1, 3, 4-oxadiazóis 143.

A *N*-alquilação é um dos métodos mais utilizados na obtenção de tetrazóis mono e dissustituídos (KOLDOBSKII; OSTROVSKII, 1994; HARFENIST *et al.*, 1996), sendo que a alquilação dos tetrazóis nas posições 1 e 2 é possível devido à existência de tautomerismo no anel tetrazólico (Figura 2, p.2), o que torna estas posições potencialmente nucleofílicas. Além disto, o hidrogênio tetrazólico é relativamente ácido, tendo em vista que seu pKa é em torno de 5 (CATALAN *et al.*, 1987). Essas reações ocorrem, geralmente, de forma rápida, porém, os regioisômeros possuem R_f muito semelhantes, e a separação destes faz com que a *N*-alquilação de tetrazóis se torne um método trabalhoso (KOLDOBSKII; OSTROVSKII, 1994).

A reação de obtenção dos tetrazóis monossustituídos (144a e 144b) e 2,5-dissustituído (145) inéditos (Figura 56), foi adaptada da técnica descrita por PEDROSA e colaboradores (2003). Nestas reações foram utilizados como nucleófilos os tetrazóis comerciais 1*H*-tetrazol (13) ou 1*H*-5-feniltetrazol (79) e como agente alquilante o composto 141a. A reação foi realizada na presença de carbonato de potássio como base para abstração do hidrogênio ácido e a acetona como solvente (Figura 56).

Frente aos resultados positivos obtidos por nosso grupo de pesquisa ao utilizar irradiação de microondas em reações orgânicas, estas reações foram realizadas sob refluxo em um forno de microondas doméstico adaptado. Os experimentos realizados utilizando microondas têm apresentado significativa redução do tempo de reação e algumas vezes até melhoria dos rendimentos quando comparados ao aquecimento convencional (COURI, 2007a; COURI, 2007b; GORECI, 2016; KAUR, 2017). Porém, para obtermos os mesmos resultados que os de refluxo convencional por uma noite, foram necessárias entre 2 ou 3 horas de aquecimento por microondas.

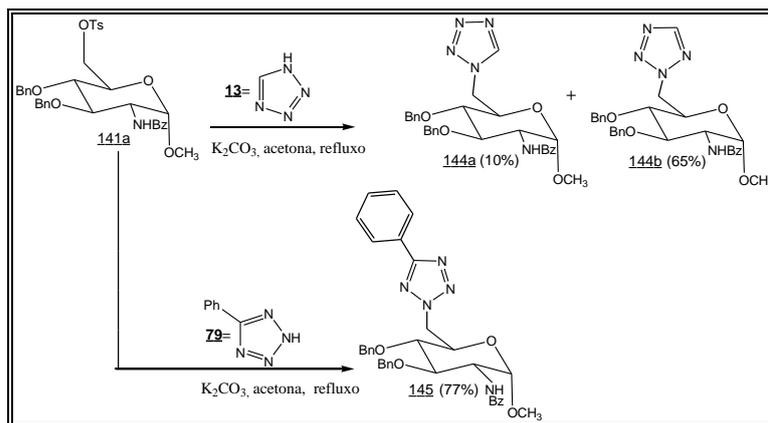


Figura 56 - Obtenção dos *N*-alquil-tetrazóis **144a**, **144b** e **145**.

De um modo geral, a formação de produtos alquilados na posição *N*-1 é favorecida por grupos doadores de elétrons no carbono tetrazólico, enquanto grupos retiradores favorecem a alquilação na posição *N*-2 (BRIGAS, 2004; KOLDOBSKII; OSTROVSKII, 1994). Isto está de acordo com o observado experimentalmente, uma vez que, na alquilação do 1*H*-5-feniltetrazol (**79**), não se detectou o isômero 1,5-dissubstituído, apenas o isômero inédito 2,5-dissubstituído **145**.

Utilizando-se ainda a adaptação da metodologia descrita por PEDROSA e colaboradores (2003), realizou-se a síntese de novos derivados tetrazólicos e oxadiazólicos pela *S*-alquilação de tetrazóis e oxadiazóis comerciais (Figura 57). Foram utilizados como nucleófilos os heterociclos 1*H*-fenil-5-tiotetrazol (**81**), 5-fenil-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol (**146**) e 5-(4'-piridil)-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol (**147**), e como agente alquilante a tosila **141a**. Assim como descrito por Couri (2007) e Santos (2007), nestas etapas não foram observados outros produtos de substituição que não os de *S*-alquilação.

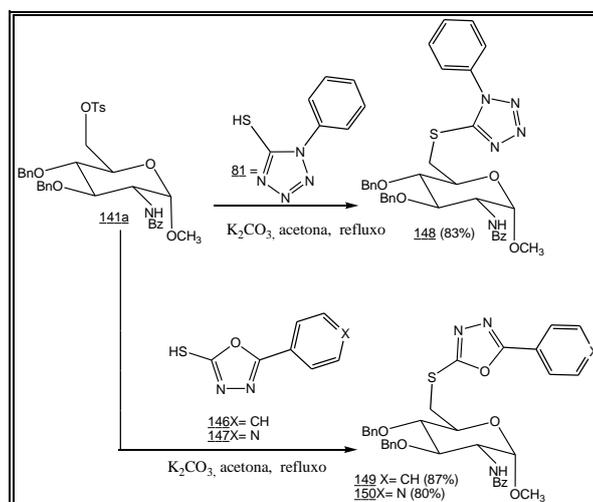


Figura 57 - Obtenção dos *S*-alquil-tetrazóis e oxadiazóis **148**, **149** e **150**.

Nesta primeira parte do trabalho foram obtidas dezessete substâncias, dentre estas, cinco são conhecidas (129 α , 129 β , 130, 138, e 140) e as demais inéditas, sendo que cinco heterociclos foram obtidos por reações de *N* e *S*-alquilações (Figura 58).

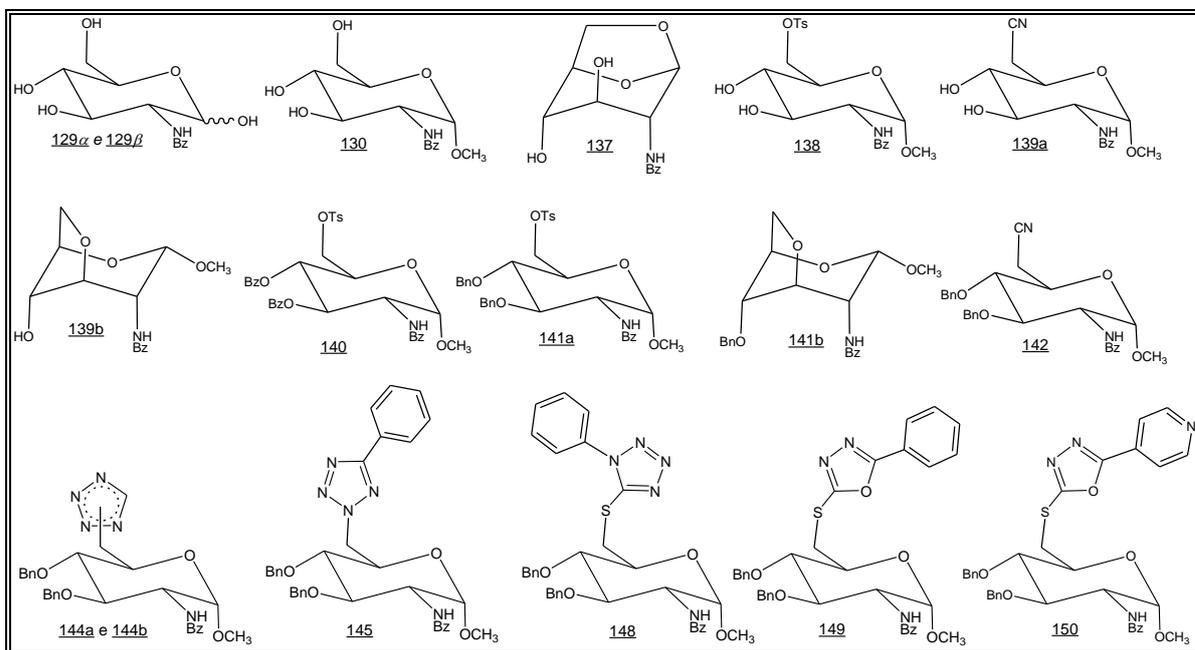


Figura 58 – Substâncias sintetizadas na rota do sulfato de glicosamina.

3.2 Discussão da rota de síntese para obtenção de tetrazóis e oxadiazóis a partir da trealose desidratada

Na segunda rota de síntese, o trabalho original (Figura 36, p.26) propunha uma seqüência envolvendo a iodação de C-6 seguida da benzoilação das hidroxilas em C-2, C-3 e C-4 a partir da trealose desidratada (Figura 59).

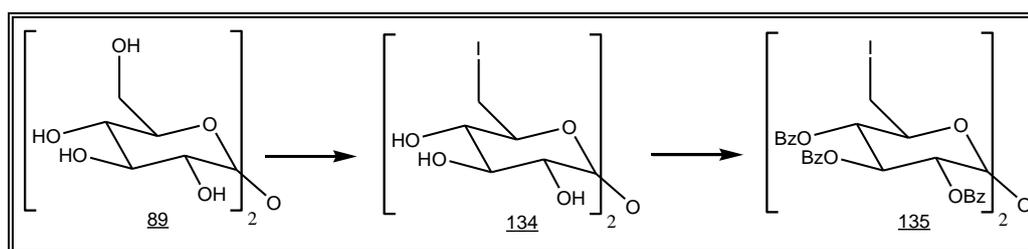


Figura 59 – Proposta inicial para a rota envolvendo a trealose.

Porém, como foi visto anteriormente para a rota do sulfato de glicosamina que os grupos benzoíla se mostraram instáveis em etapas posteriores de substituições, esta seqüência não foi realizada. Da mesma forma que foi feito na rota do sulfato de glicosamina, trocou-se o grupo protetor benzoíla pelo grupo benzila, por este ser mais resistente tanto em meio ácido quanto básico. Assim, uma segunda proposta consistia na

obtenção do intermediário 2, 2', 3, 3', 4, 4'-hexa-*O*-benzilado a partir da trealose desidratada (Figura 60). Esta nova rota consistiria na proteção prévia das hidroxilas em C-4, e C-6 e C-4', e C-6' na forma de acetal benzilidênico, seguida da benzilação das hidroxilas em C-2, 2' e C-3, 3' e posterior desproteção regioseletiva da hidroxila em C-6 e C-6' (Figura 37).

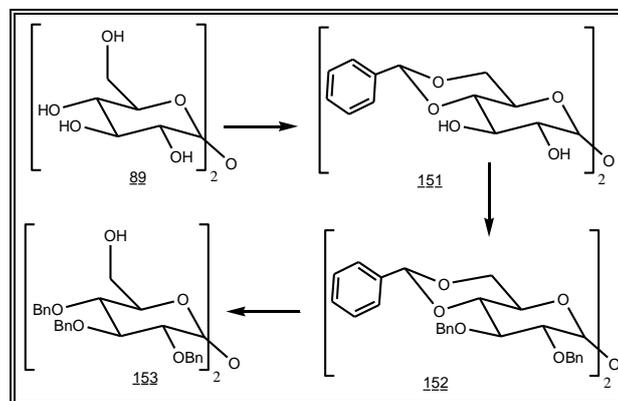


Figura 60 – Segunda proposta para rota de síntese de derivados da trealose.

Porém, a formação de um grande número de subprodutos indesejados durante a desproteção regioseletiva da hidroxila em C-6 e a dificuldade de purificação dos mesmos fez com que esta segunda proposta fosse também interrompida.

Desta forma, uma terceira sequência descrita por Gilbertson e colaboradores (1995) foi estudada como alternativa (Figura 61). Esta consistia na tritilação das hidroxilas em C-6, 6', seguida da benzilação das hidroxilas em C-2, 2', C-3, 3' e C-4, 4' e posterior desproteção das hidroxilas em C-6,6'. Esta rota nos pareceu bastante atraente pois, além de apresentar o mesmo número de etapas que a segunda rota de síntese para obtenção do intermediário 2, 2', 3, 3', 4, 4'-hexa-*O*-benzilado da trealose, o intermediário era obtido sem necessidade de purificação dos derivados 154 e 155.

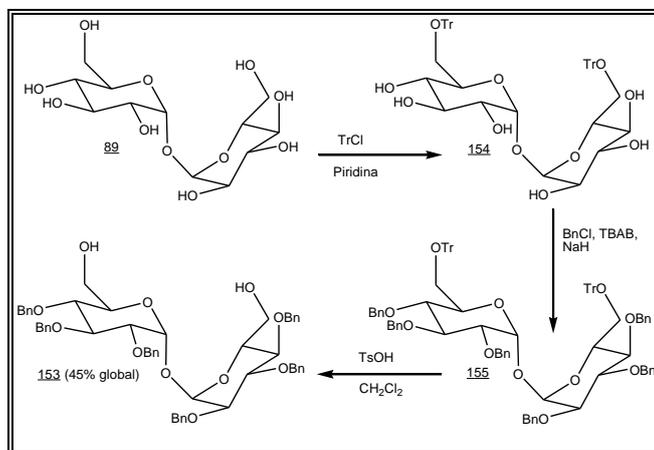


Figura 61 – Terceira sequência de síntese de derivados da trealose.

Deste modo, a trealose di-hidratada foi inicialmente desidratada sob refluxo em etanol e submetida a reação de proteção das hidroxilas primárias em C-6 com cloreto de tritila em piridina (Figura 61). A escolha do cloreto de tritila como grupo protetor é devida ao seu grande impedimento espacial, que o torna seletivo na proteção das hidroxilas em C-6, 6' em detrimento das hidroxilas em C-2, 2', C-3, 3' e C-4, 4'. Outro fator importante para sua escolha está baseado na facilidade de desproteção deste grupo em meio ácido, sendo que este fato lhe confere a possibilidade de desproteção seletiva em etapas posteriores (GILBERTSON, *et al.* 1995).

Na segunda etapa de síntese foi realizada a benzilação das hidroxilas em C-2, 2', C-3, 3' e C-4, 4'. Como descrito por Gilbertson e colaboradores (1995), esta escolha se deve a grande estabilidade dos grupos benzila em meio ácido, condição utilizada na etapa posterior de desproteção dos grupos tritila (Figura 61).

Na terceira etapa, foi realizada a retirada dos grupos tritila em presença de diclorometano, metanol e ácido *p*-toluenossulfônico. Embora muitas possibilidades de destruturação sejam descritas na literatura (JONES, 2000; GIESE, 2000 e RONALD, 1998), esta metodologia foi utilizada devido ao seu baixo custo e alta eficiência. Este procedimento permitiu a obtenção do intermediário desejado 153 com as hidroxilas em C-6, 6' livres com 45% de rendimento global (Figura 61, p.42).

A partir do intermediário chave 153, foi realizada a esterificação das hidroxilas em C-6, 6' em presença de piridina e anidrido trifluorometanossulfônico (Figura, 62). A escolha do triflato como grupo abandonador em detrimento de outros como o iodo, descrito anteriormente (p. 41), se deve à rápida adição e posterior substituição do triflato, bem como a fácil elaboração de sua reação. A utilização de um bom grupo abandonador como o triflato foi de fundamental importância nas etapas posteriores de alquilação.

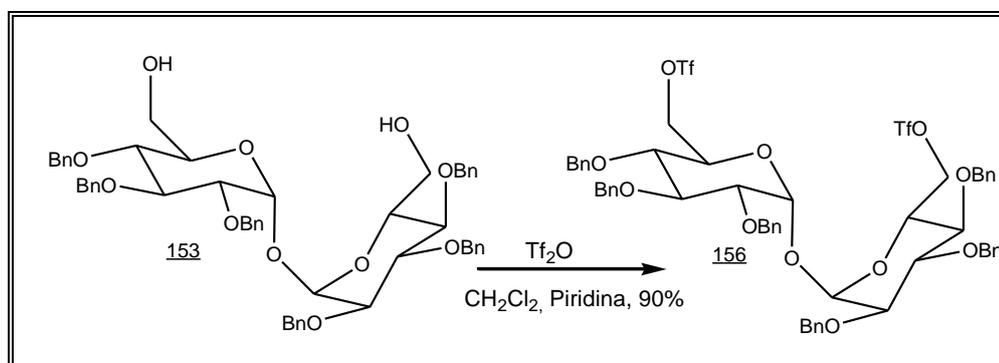


Figura 62 - Obtenção do éster sulfônico 156.

Tendo agora o intermediário 156 contendo um bom grupo abandonador e as hidroxilas 2, 2', 3, 3' e 4, 4' protegidas poder-se-ia dar continuidade a sequência de síntese.

Como descrito para a rota da glicosamina, foi preferida aqui também a obtenção de tetrazóis e oxadiazóis inéditos, a partir de derivados da trealose, via reações de substituição nucleofílica utilizando os tetrazóis e oxadiazóis comerciais empregados anteriormente (Figura 63).

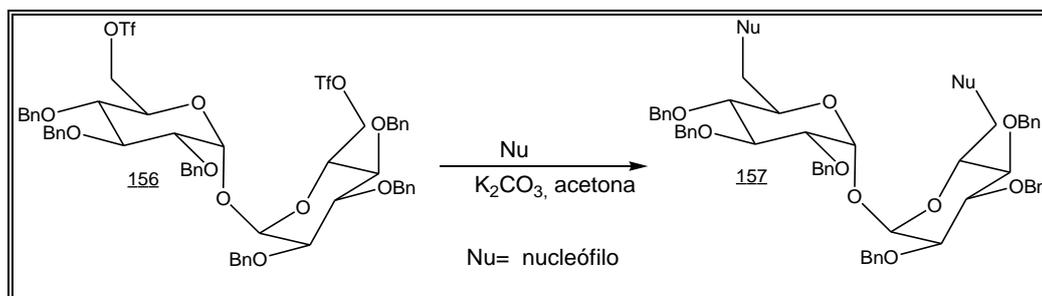


Figura 63 - Obtenção dos tetrazóis e 1, 3, 4-oxadiazóis 157.

Estas reações foram realizadas segundo a adaptação da metodologia descrita por Pedrosa e colaboradores (2003), utilizando-se uma solução do intermediário 156 em acetona anidra, na qual foram adicionados carbonato de potássio e os tetrazóis (13, 79 ou 81) ou 1, 3, 4-oxadiazóis (146 ou 147).

Para o tetrazol comercial 13, foram obtidos dois isômeros de posição (compostos 158 e 159). O produto simétrico *N*-2 *N*-2 (158, Figura 64) foi obtido com menor rendimento que o assimétrico *N*-1 *N*-2 (159, Figura 64), assim como descrito por Santos e colaboradores (2007).

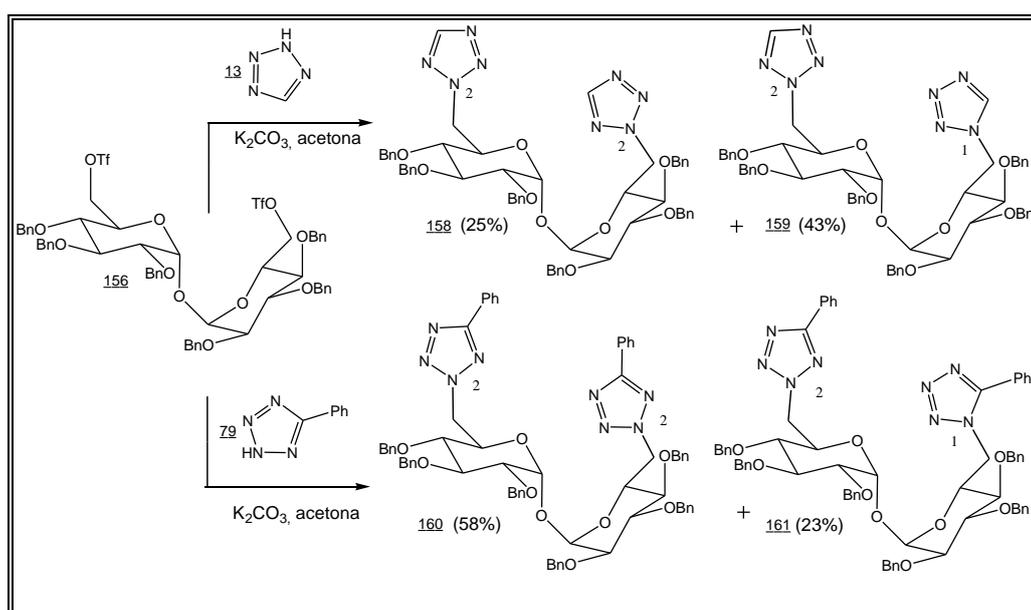


Figura 64 - Obtenção dos tetrazóis 158, 159, 160 e 161.

Para o fenil tetrazol (79) foram também obtidos dois isômeros de posição (compostos 160 e 161, Figura 64). Porém, neste caso o produto simétrico *N-2 N-2* (160) foi obtido com maior rendimento que o assimétrico *N-1 N-2* (161). Este resultado encontra-se em acordo com a literatura (SANTOS *et al.*, 2007, STANISZEWSKA, 2018) e pode ser explicado pelo maior impedimento espacial em *N-1*, ocasionado pelo grupo fenila em C-5.

Nas reações de substituição, utilizando-se como nucleófilos os tiois 81, 146 ou 147 com o agente alquilante 156, foram obtidos os produtos simétricos 162, 163 e 164 com bons rendimentos (76%-77%).

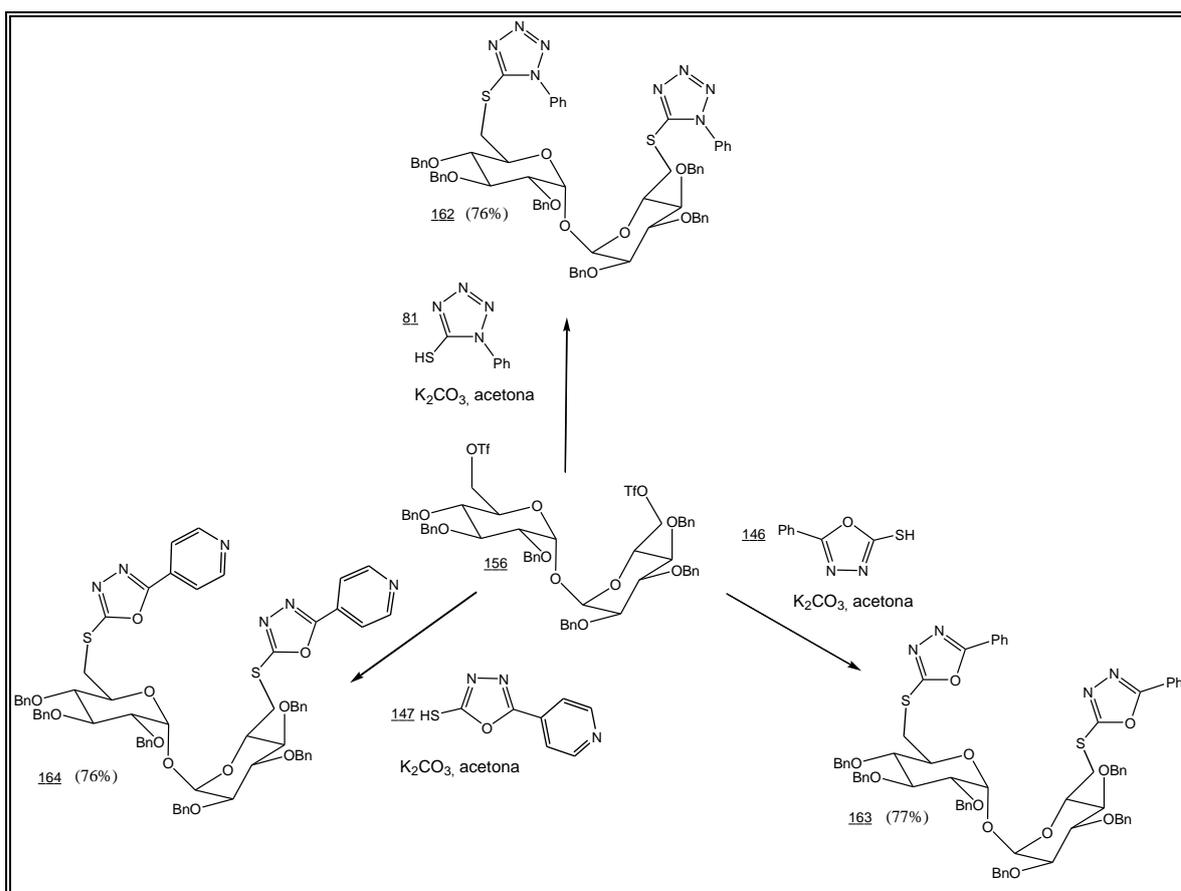


Figura 65 - Obtenção dos tio-tetrazol 162 e 1, 3, 4-oxadiazóis 163 e 164.

Conforme pode ser observado, os rendimentos para os tetrazóis 158 (25%), 159 (43%), 160 (58%) e 161 (23%) (Figura 41) e para os tio-tetrazol 162 (76%) e 1, 3, 4-oxadiazóis 163 (77%) e 164 (76%) (Figura 65) demonstram que as substituições foram realizadas com sucesso.

Na segunda parte deste trabalho foram obtidas onze substâncias (Figura 66, p.46), dentre estas, quatro previamente conhecidas (153, 154, 155 e 156). As demais foram publicadas pela primeira vez por Luduvico e colaboradores em 2008.

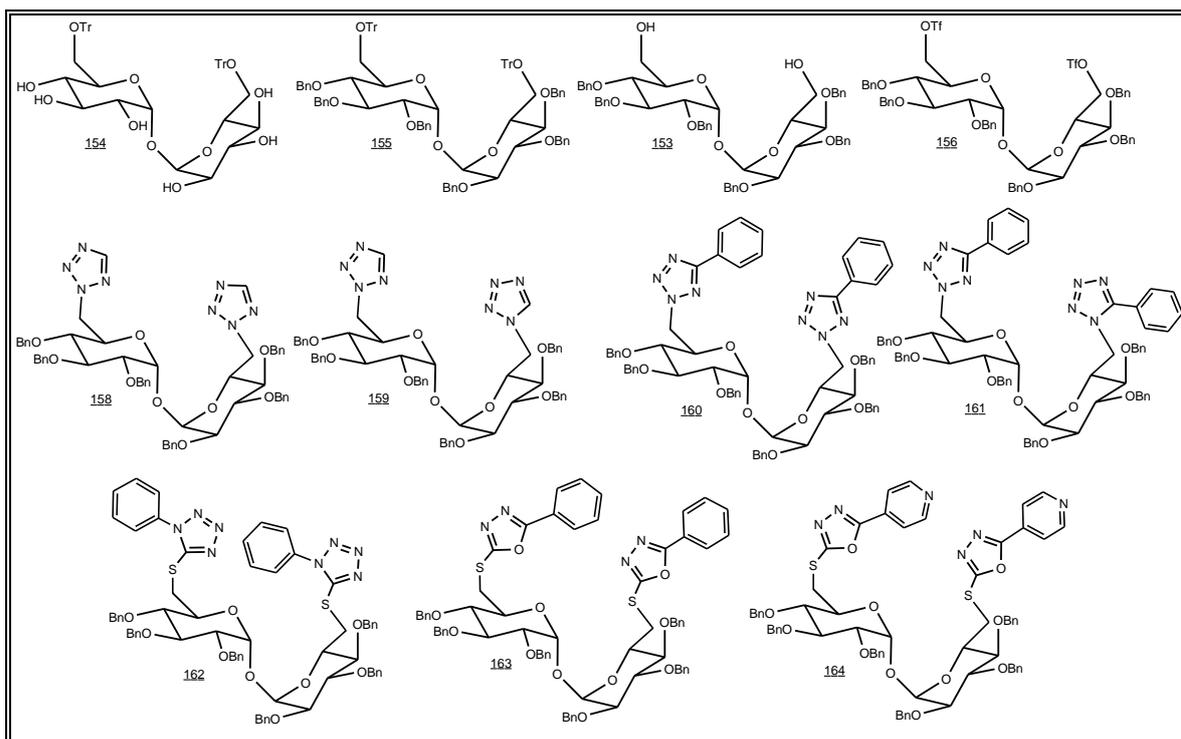
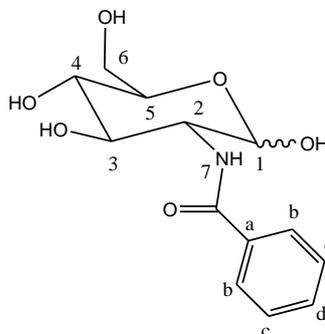


Figura 66 – Substâncias sintetizadas na rota da trealose.

4 Caracterização das substâncias sintetizadas

4.1 Substâncias provenientes da rota do sulfato de glicosamina

4.1.1 2-Benzamido-2-desoxi-D-glicopirranose (mistura 129α e 129β)



A mistura de 129α e 129β , obtida pela proteção quimiosseletiva da amina na posição 2 da glicosamina, apresentou-se como um sólido branco com faixa de fusão entre 182-188 °C. A faixa de fusão descrita na literatura (SOUZA FILHO, 1985) é de 196-200 °C.

Entre as bandas do espectro no infravermelho (Figura 67) destacam-se, aquelas referentes ao estiramento das ligações O-H e N-H em 3335 cm^{-1} ; e em 1635 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C=O, característica de amida.

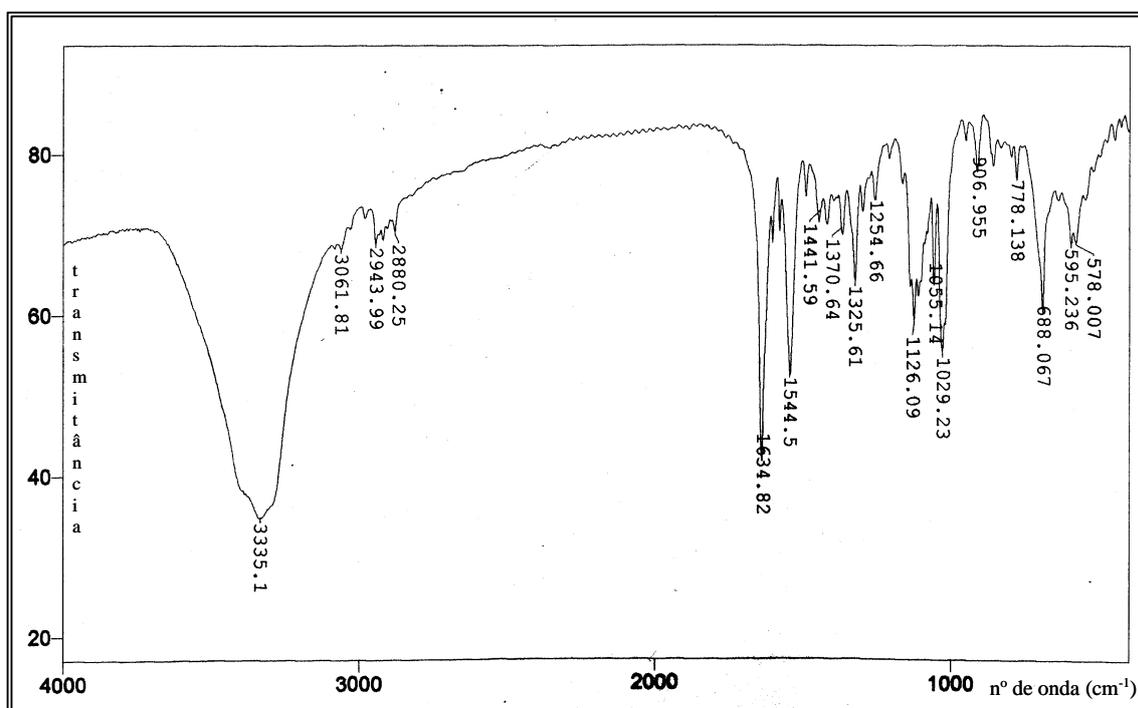


Figura 67 - Espectro no IV (KBr) da mistura de 129α e 129β .

No espectro de RMN de ^1H (Figura 68) foram observados, dentre os demais sinais de ressonância, aqueles entre δ 7,96-7,44 referentes aos hidrogênios aromáticos, e em δ 5,10 ($J_{1,2} = 2,8$ Hz, condizente com o acoplamento de hidrogênios equatorial-axial) o sinal referente ao hidrogênio anomérico do composto 129α . O sinal correspondente do anômero 129β foi observado em δ 4,64 com $J_{1,2} = 8,2$ Hz (Tabela 1).

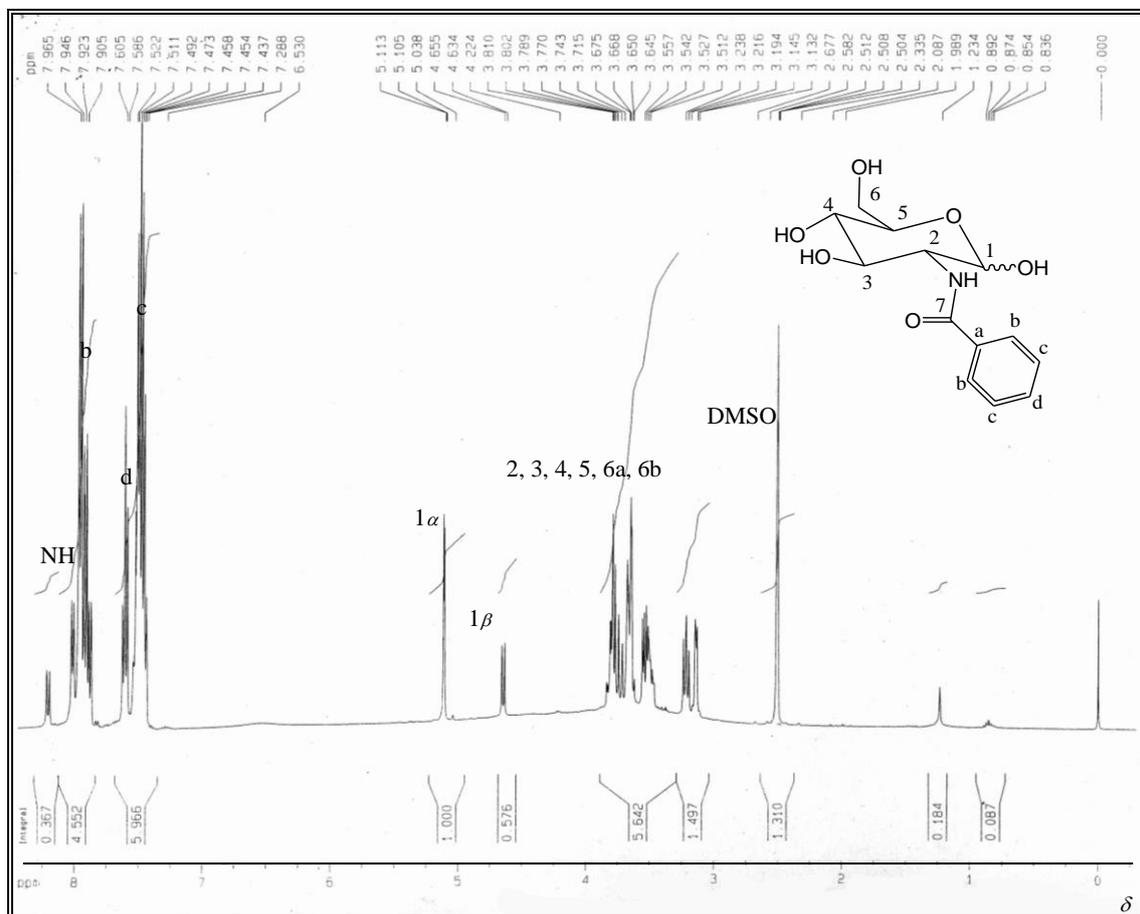


Figura 68 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da mistura 129α e 129β .

Tabela 1 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 129α e 129β .

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
8,20	d	8,8 $J_{\text{NH-2}}$	0,3/ NH_β	5,10	d	2,8 J_{1-2}	1/ $\text{H}_{1\alpha}$
8,00	d	6,9 $J_{\text{NH-2}}$	1/ NH_α	4,64	d	8,2 J_{1-2}	0,5/ $\text{H}_{1\beta}$
7,96-7,90	m	-	*4/ H_b	3,84-3,14	m	-	7/ $\text{H}_{2,3,4,5,6a,6b}$
7,60-7,44	m	-	*6/ $\text{H}_{c,d}$				

(Obs.: Mult.=multiplicidade, Int.=integral, Atr.=atribuição, *integração variando na região de aromáticos devido a mistura dos compostos 129α e 129β).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 69), permitiu atribuir os sinais referentes ao carbono carbonílico (C-7) em δ 166,4, e aos carbonos aromáticos entre δ 135,1-127,3. Os demais sinais referentes aos carbonos do anel glicosídico foram comparados diretamente com aqueles relatados por Souza Filho (1985) e se encontram na Tabela 2.

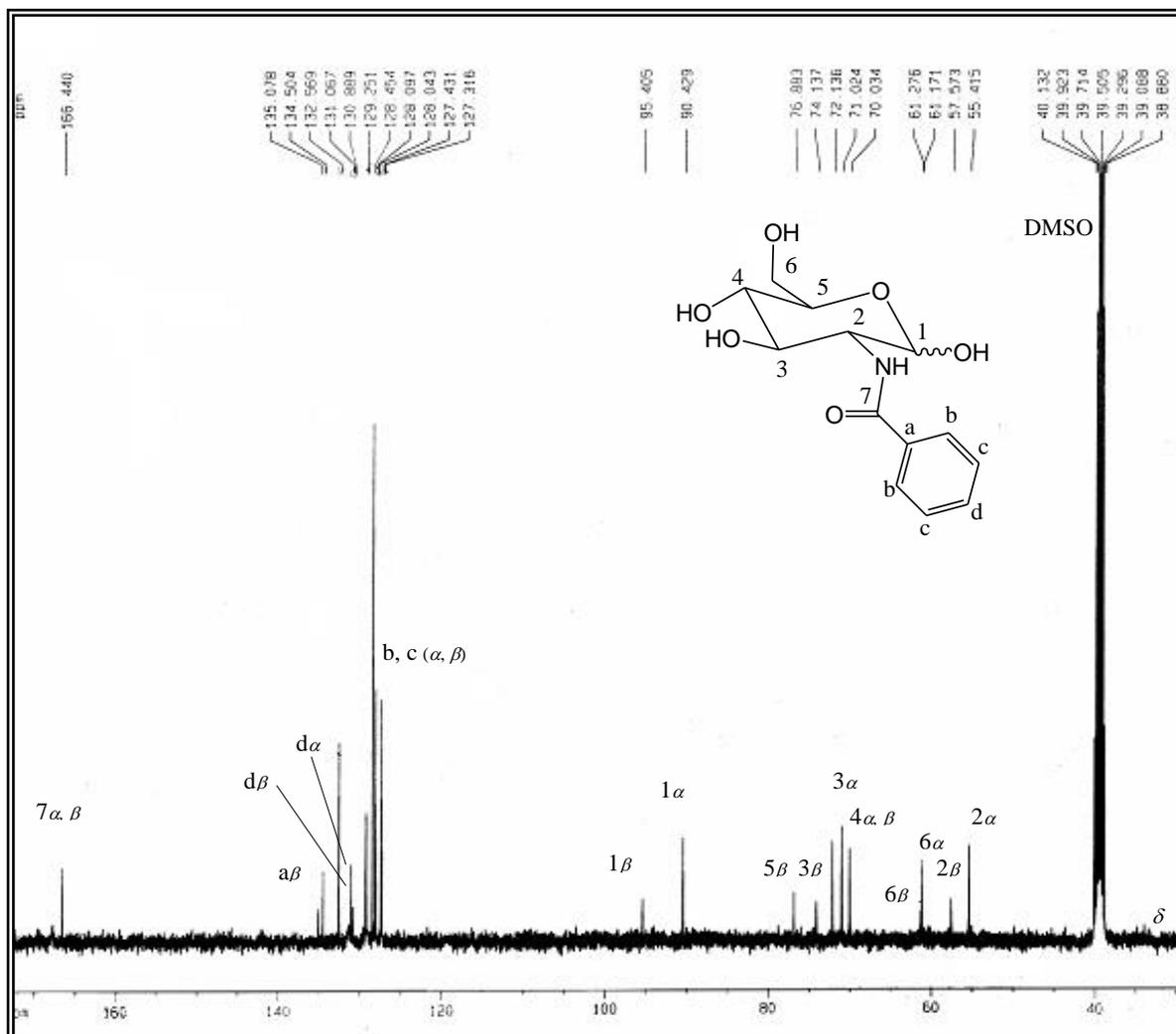


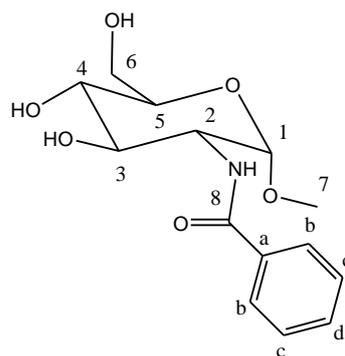
Figura 69 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) de $129\alpha/\beta$.

Tabela 2 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) de $129\alpha/\beta$

δ ppm (lit.)	n° s./Atr.	δ ppm (lit.)	n° s./Atr.
166,4(168,2)	C ₇	76,9(78,2)/72,1(73,5)	2/C ₅ β/α
135,1/134,5(136,2/135,7)	2/C _a β/α	74,1(75,6)/71,0(72,4)	2/C ₃ β/α
131,1/130,9(132,7)	2/C _d α/β	70,3(71,6)	2/C ₄ β/α
128,1/128,0(129,7)	2/C _b α/β ou C _c α/β	61,3/61,2(62,7)	2/C ₆ β/α
127,4/127,3(128,8)	2/C _c α/β ou C _b α/β	57,6(59,1)/55,4(56,9)	2/C ₂ β/α
95,4(96,8)/90,4(92,0)	2/C ₁ β/α		

(Obs.: n° s.=número de sinais, lit.=literatura: Souza Filho, 1985; RMN de ^{13}C 25 MHz, DMSO- d_6).

4.1.2 2-Benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila 130



O intermediário 130, obtido pela metoxilação de C-1, apresentou-se como um sólido branco com faixa de fusão entre 220-226 °C. Esta faixa se encontra de acordo com a literatura (220-226 °C; SOUZA FILHO, 1985).

No espectro no infravermelho observaram-se, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações O-H e N-H em 3478 e 3343 cm^{-1} , em 3070, 2910 as referentes ao estiramento das ligações C-H e em 1626 cm^{-1} a referente ao estiramento de C=O, característico de amida.

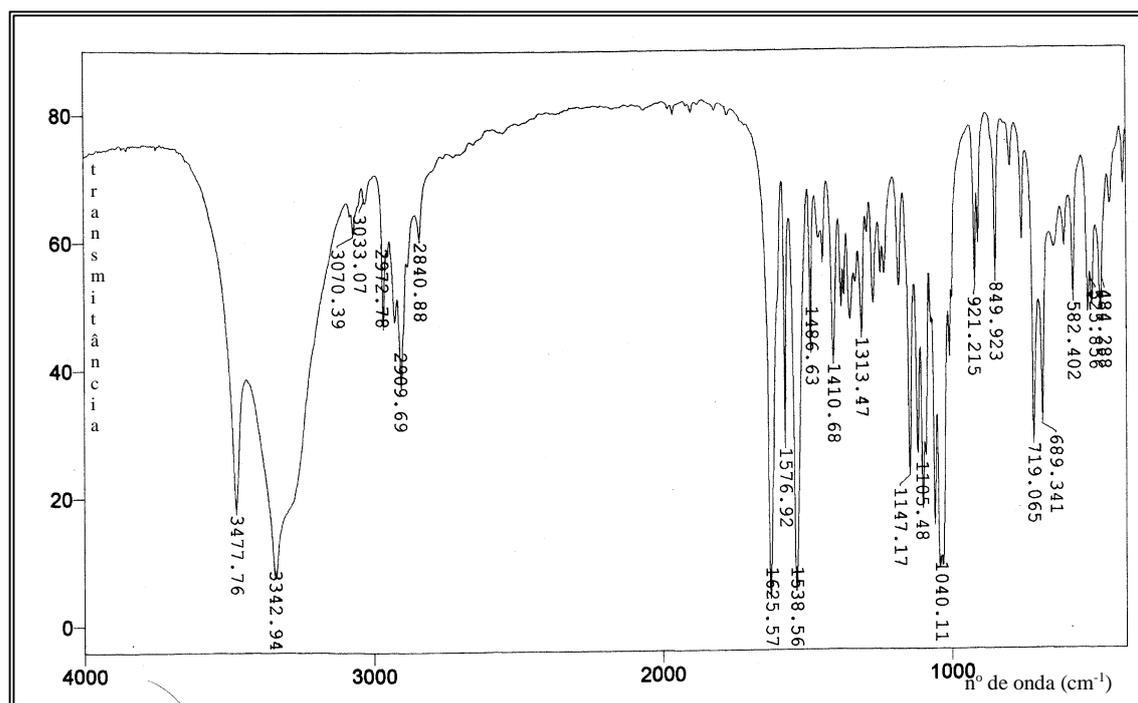


Figura 70 - Espectro no IV (KBr) de 130.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 71, p. 51) pode se destacar, dentre os demais sinais, o simpleto referente aos hidrogênios da metoxila (H-7) e o duplete de um único hidrogênio anomérico (H-1) em β ($J_{1,2} = 3,2$ Hz), indicando ter sido obtido apenas o produto mais estável, isto é, o anômero α (Tabela 3, p.51).

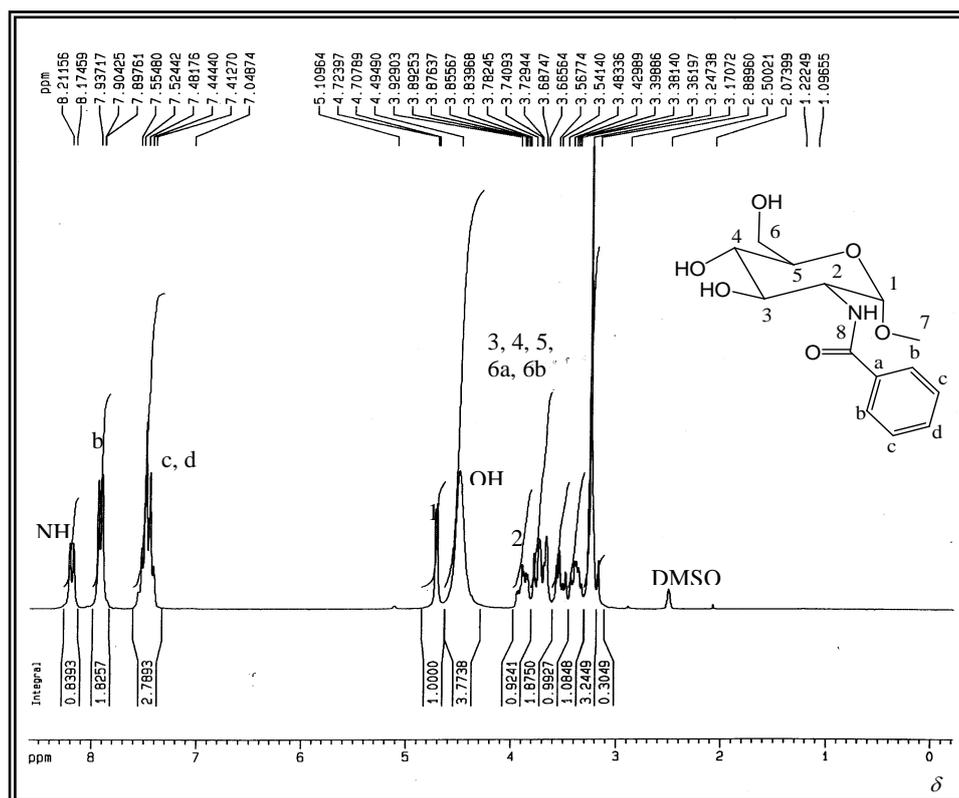


Figura 71 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 130.

Tabela 3 - Dados do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 130

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
8,19	d	7,3 $J_{\text{NH-2}}$	1/NH	4,49	sl	-	3/OH
7,94-7,90	m	-	2/ H_b	3,89	dt	7,3 J_{2-3}	1/ H_2
7,55-7,41	m	-	3/ $\text{H}_{c,d}$	3,78-3,33	m	-	5/ $\text{H}_{3,4,5,6a,6b}$
4,72	d	3,2 J_{1-2}	1/ H_1	3,25	s	-	3/ H_7

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 72, p.52) com o auxílio do subespectro DEPT 135 (Figura 73, p.52) destaca-se, dentre os demais sinais, aquele referente ao carbono da metoxila (C-7), condizente com a proposta de metoxilação do carbono anomérico. Observam-se ainda a presença do sinal carbonílico (C-8), dos sinais aromáticos (C-a e C-d), do sinal de carbono anomérico (C-1) e do carbono metilênico (C-6). Os demais sinais do anel glicosídico foram atribuídos de acordo com a literatura (Tabela 4, p. 53).

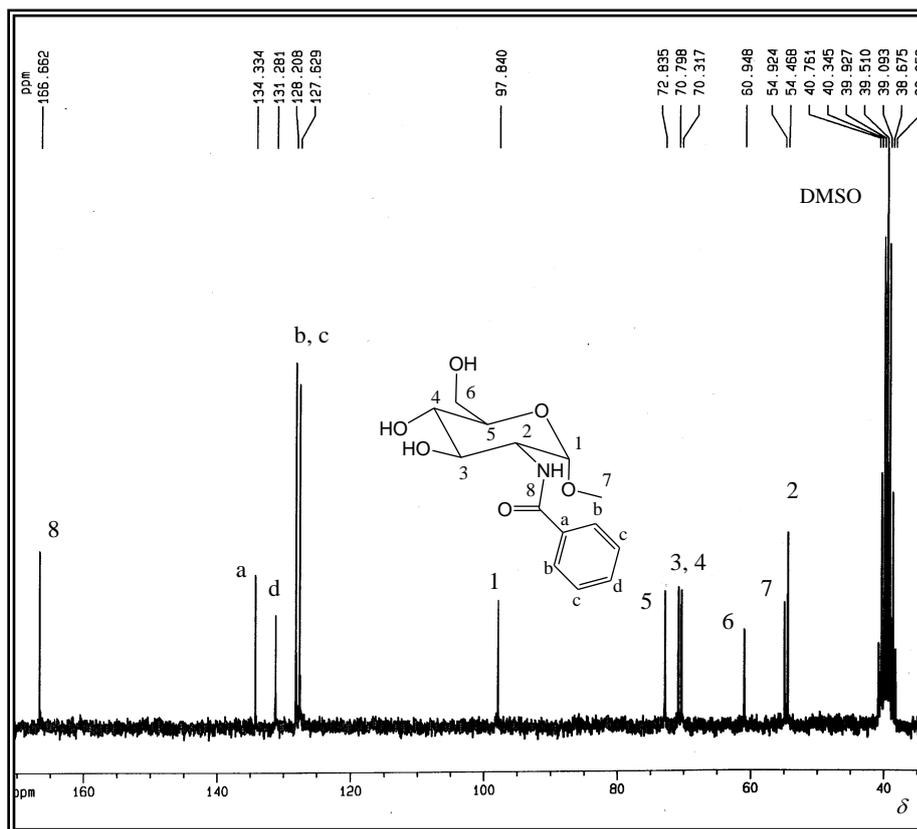


Figura 72.- Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆) de **130**.

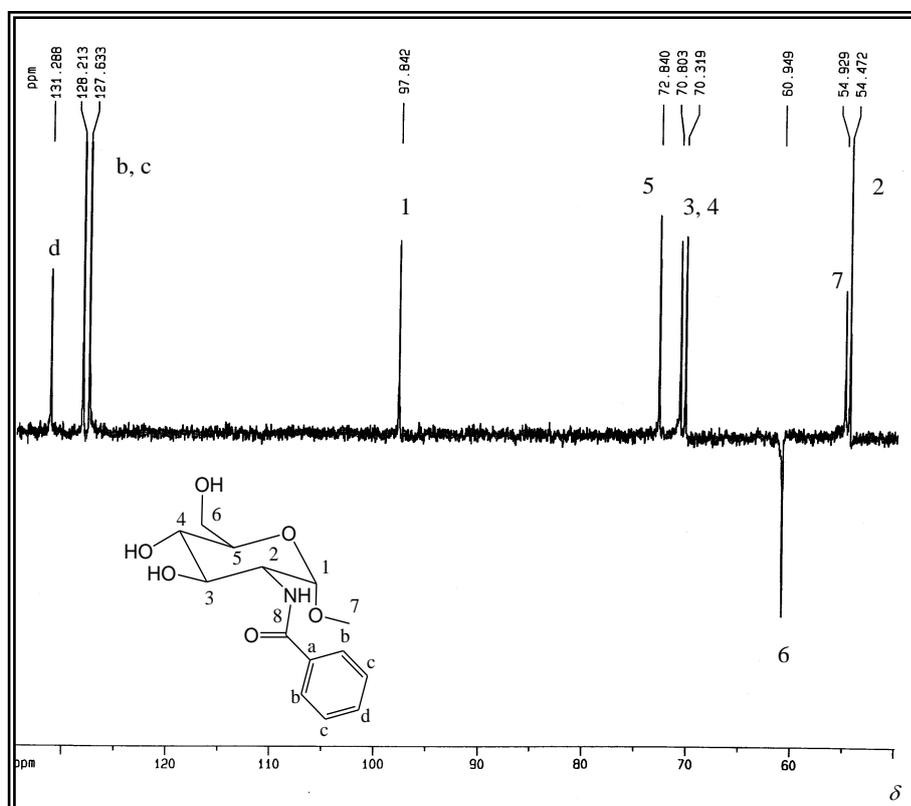


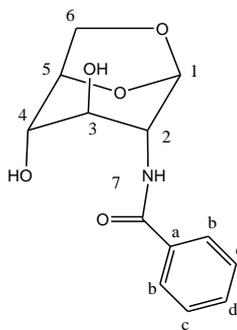
Figura 73 - Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO-d₆) de **130**.

Tabela 4 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 130

δ ppm (lit)	Atr.	δ ppm (lit)	Atr.
166,7 (168,0)	C ₈	72,8 (73,0)	C ₅
134,3 (134,3)	C _a	70,8 (71,1)	C ₃ ou C ₄
131,3 (132,3)	C _d	70,3 (70,8)	C ₄ ou C ₃
128,2 (129,0)	C _b ou C _c	60,9 (61,4)	C ₆
127,6 (128,0)	C _c ou C _b	54,9 (55,3)	C ₇
97,8 (98,3)	C ₁	54,5 (55,3)	C ₂

(lit.:Souza Filho, 1985; RMN de ^{13}C 25 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

4.1.3 - 1,6-Anidro-2-benzamido- β -D-glicopiranosose 137



Na tentativa de iodação do carbono C-6 foi isolado o intermediário 137 como um sólido branco. No espectro de RMN de ^1H (Figura 74) observou-se em δ 5,27 o simpleto referente ao hidrogênio H-1 condizente com a proposta de um anidro composto. Os demais sinais do anel glicosídico encontram-se descritos na Tabela 5 (p.54).

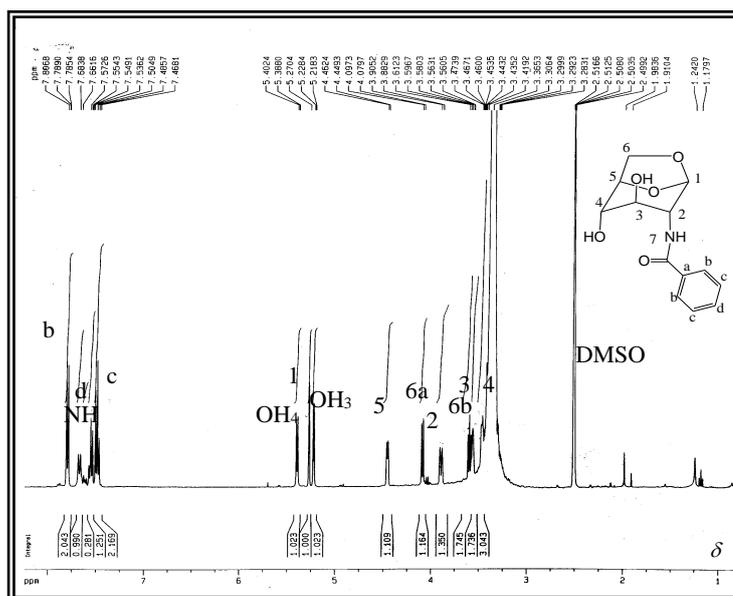


Figura 74 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 137.

Visando a atribuição dos sinais de hidrogênio, foi utilizado o mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 75) tendo como pontos de partida para as atribuições os sinais referentes ao hidrogênio anomérico (H-1) e aos hidrogênios metilênicos (H-6a, H-6b), ambos confirmados pelo mapa de contornos HSQC (Figura 78, p.56). Sendo assim, foi possível determinar as correlações entre os sinais de hidrogênios de maneira condizente com a estrutura proposta.

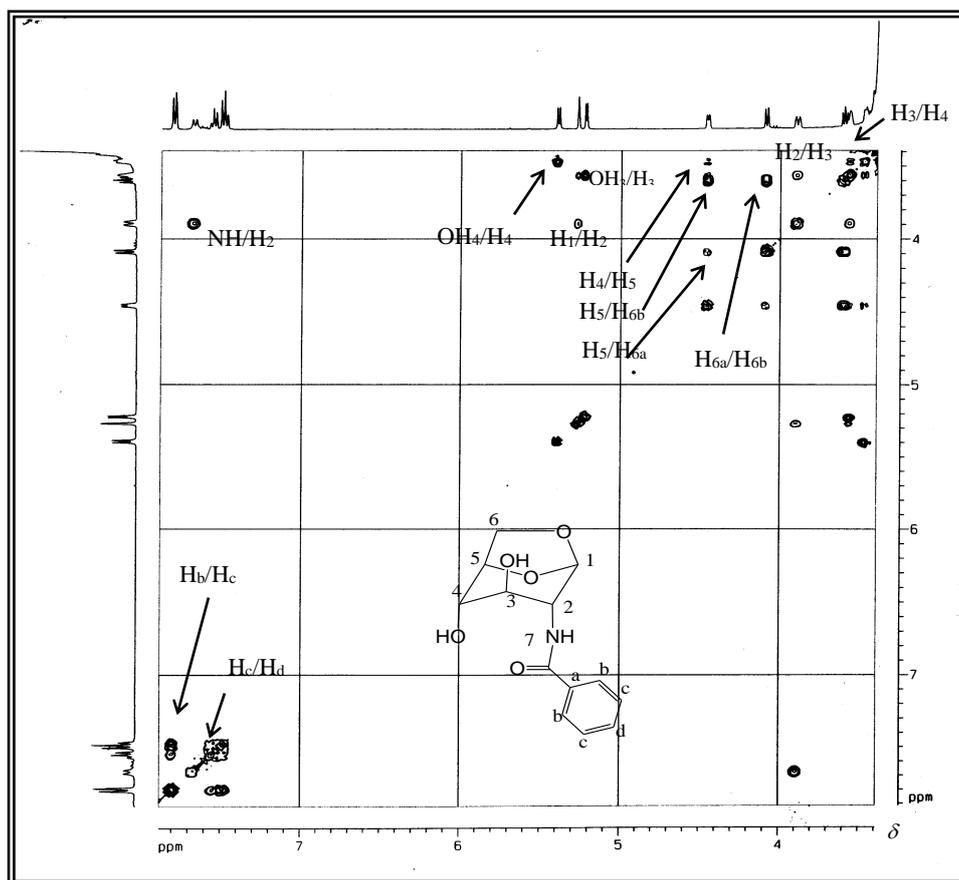


Figura 75 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO- d_6) de **137**.

Tabela 5 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de **137**

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,80	d	7,1 J_{b-c}	2/ H_b	4,45	d	5,2 J_{5-6b}	1/ H_5
7,67	d	8,9 J_{NH-2}	1/NH	4,09	d	7,04 J_{6a-6b}	1/ H_{6a}
7,55	t	7,1 J_{c-d}	1/ H_d	3,89	d	-	1/ H_2
7,49	t	-	2/ H_c	3,60	dd	-	1/ H_{6b}
5,39	d	5,8 J_{OH-4}	1/ OH_4	3,56	dd	1,0 J_{3-4}	1/ H_3
5,27	s	-	1/ H_1	3,44	dd	-	1/ H_4
5,22	d	4,0 J_{OH-3}	1/ OH_3				

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 76) auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 77) além de não se observar o sinal referente ao carbono metoxílico, puderam ser atribuídos prontamente os sinais referentes ao carbono carbonílico, aos aromáticos C-a e C-d e do carbono metilênico (Tabela 6, p. 57).

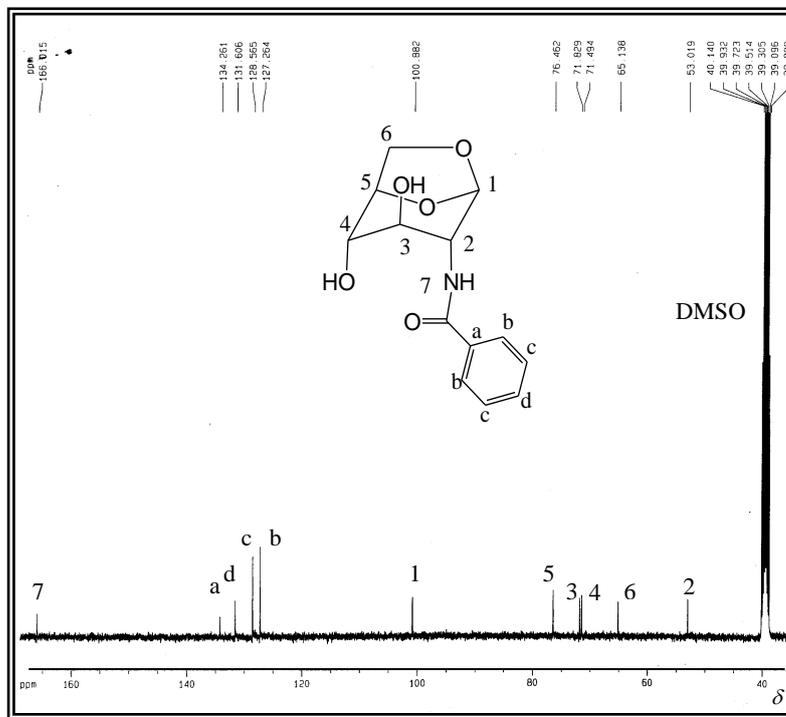


Figura 76 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 137.

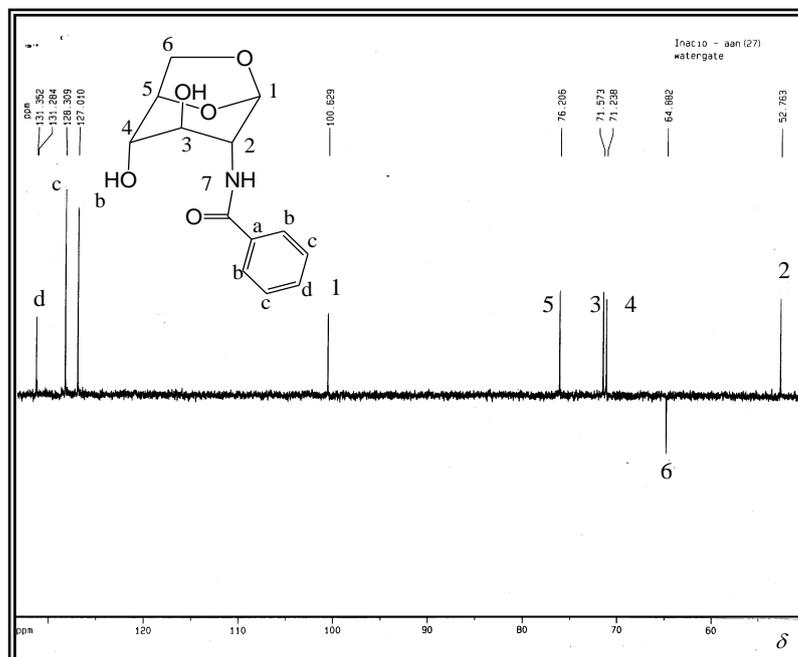


Figura 77 - Subespectro DEPT 135 (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 137.

O mapa de contornos HSQC (Figura 78, p.56) foi de fundamental importância na determinação dos sinais dos carbonos C-3, C-4 e C-5 e confirmou a determinação dos

sinais de hidrogênio H-1, H-2, H-6a e H-6b. O mapa de contornos HMBC (Figura 79) foi importante na observação das correlações a longa distância (3J) entre H₁/C₆ e H_{6a}/C₁.

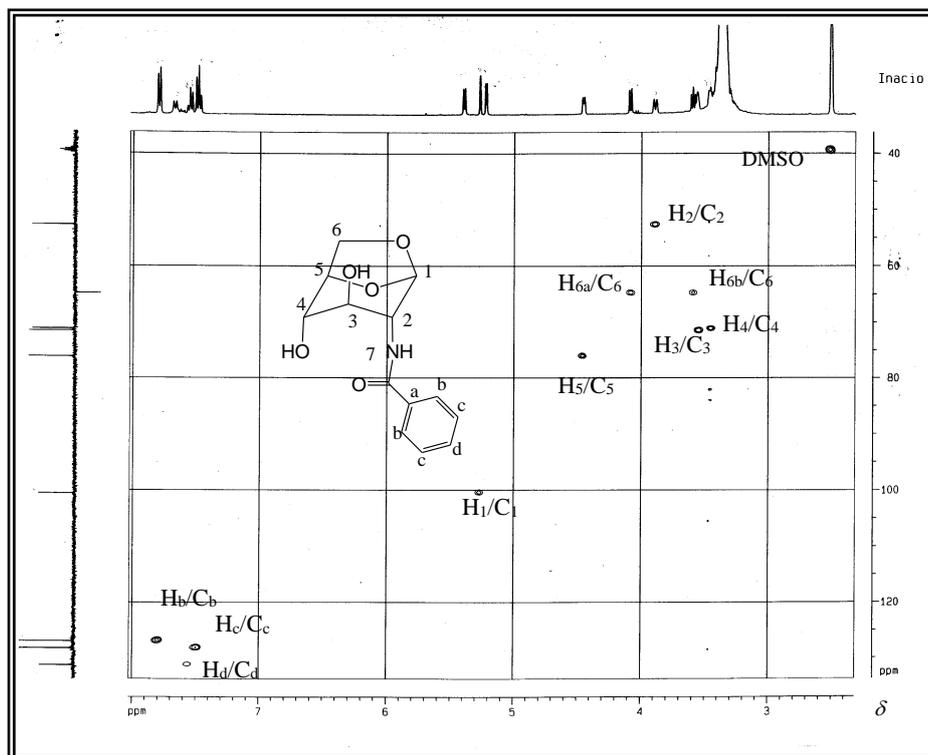


Figura 78 - Mapa de contornos HSQC (400 MHz, DMSO-*d*₆) de 137.

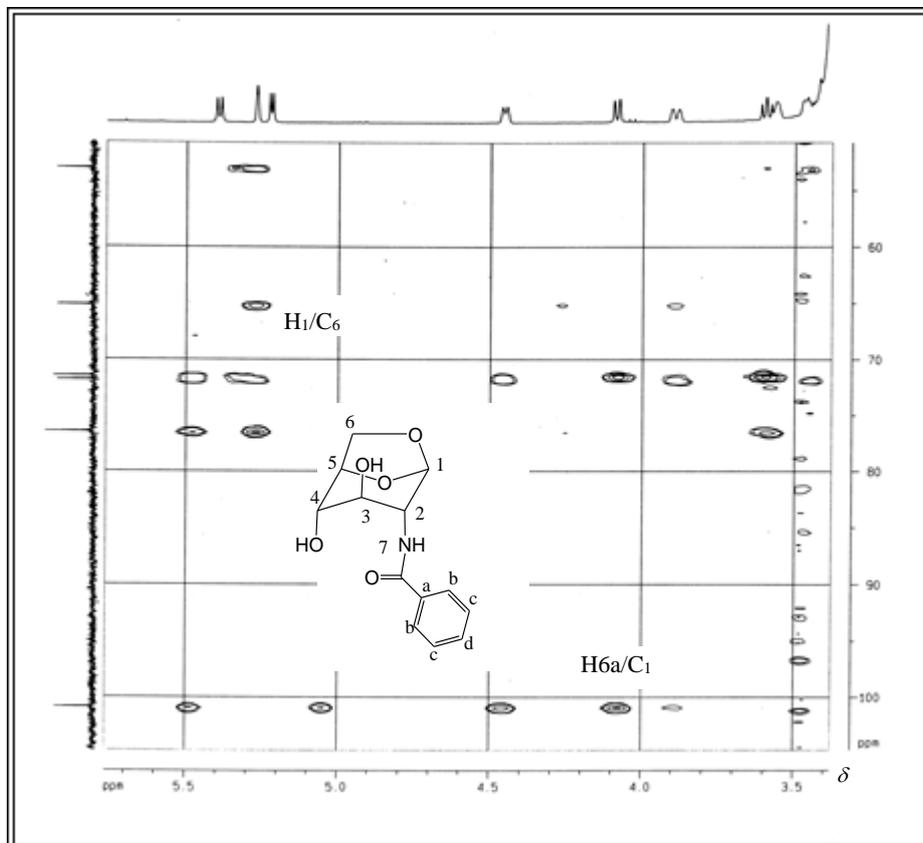
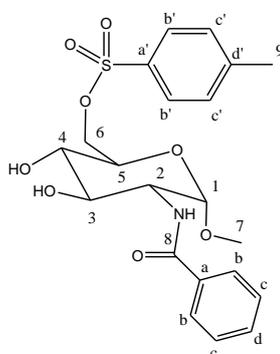


Figura 79 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO-*d*₆) de 137.

Tabela 6 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) de 137

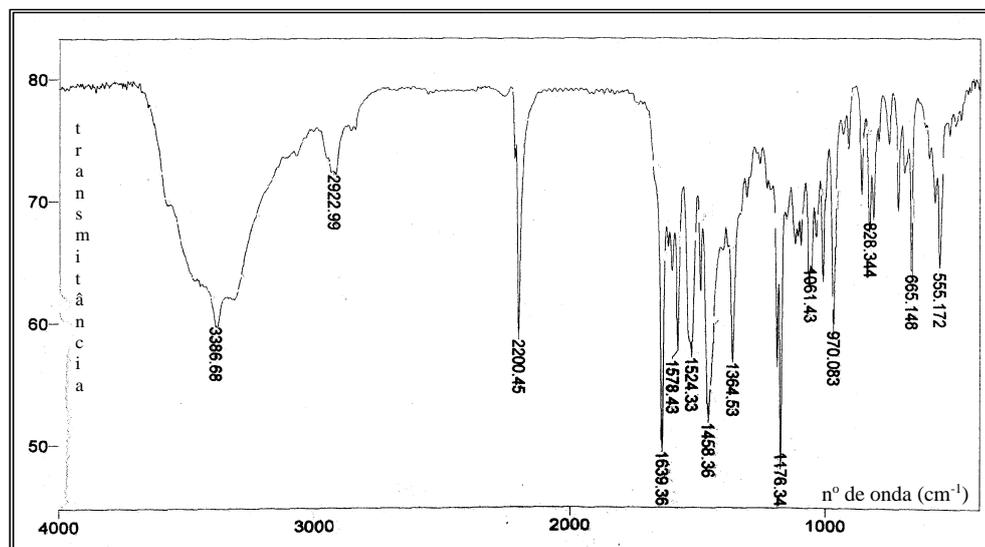
δ ppm	Atr.	δ ppm	Atr.
166,0	C ₇	76,5	C ₅
134,3	C _a	71,8	C ₃
131,6	C _d	71,5	C ₄
128,6	C _c	65,1	C ₆
127,3	C _b	53,0	C ₂
100,9	C ₁		

4.1.4 2-Benzamido-2-desoxi-6-*O*-*p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiransídeo de metila 138



O intermediário 138, obtido pela tosilção da hidroxila do carbono C-6, apresentou-se como um sólido branco com faixa de fusão entre 141-143°C.

No espectro no infravermelho (Figura 80) observaram-se, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações O-H e N-H em 3387 cm^{-1} , e em 1639 e 1176 cm^{-1} as referentes ao estiramento das ligações C=O e S=O, respectivamente.

Figura 80 - Espectro no IV (KBr) de 138.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 81) podem ser destacados, dentre os demais sinais, a presença daqueles referentes aos hidrogênios aromáticos (b' e c') e de hidrogênios metílicos (9) do grupo *p*-toluenossulfonila (Tabela 7).

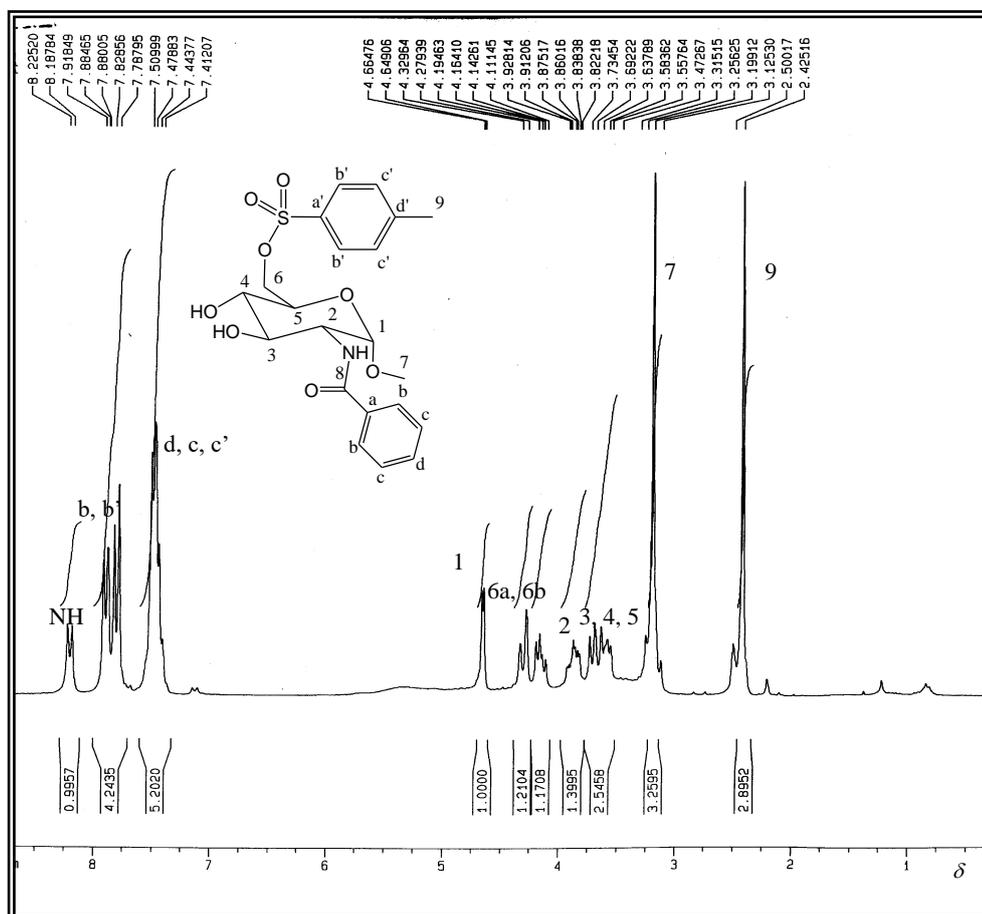


Figura 81 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 138.

Tabela 7 - Dados do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 138

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
8,20	d	7,5 $J_{\text{NH}-2}$	1/NH	3,87	td	7,5 J_{2-3}	1/ H_2
7,92-7,79	m	-	4/ H_b, b'	3,73-3,56	m	-	3/ $\text{H}_3, 4, 5$
7,51-7,41	m	-	5/ $\text{H}_{d, c, c'}$	3,20	s	-	3/ H_7
4,66	d	3,1 J_{1-2}	1/ H_1	2,43	s	-	3/ H_9
4,33-4,11	m	-	2/ $\text{H}_{6a, 6b}$				

Analogamente à discussão anterior, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 82, p.59) podem ser destacados, dentre os sinais descritos na Tabela 8 (p. 60), aqueles referentes aos carbonos aromáticos (a', b', c' e d') e carbono metílico (9) do grupo *p*-toluenossulfonila.

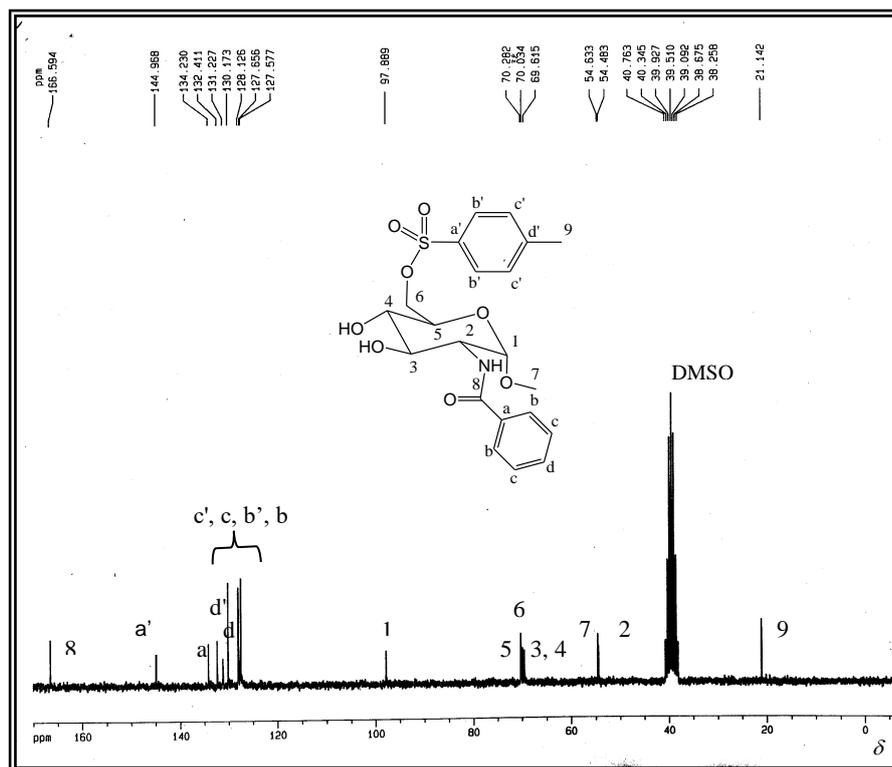


Figura 82 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 138.

Com o auxílio do subspectro DEPT 135 (Figura 83) foi possível, além de confirmar as considerações anteriores, atribuir os sinais referentes aos carbonos *ipso* (a, a' e d')

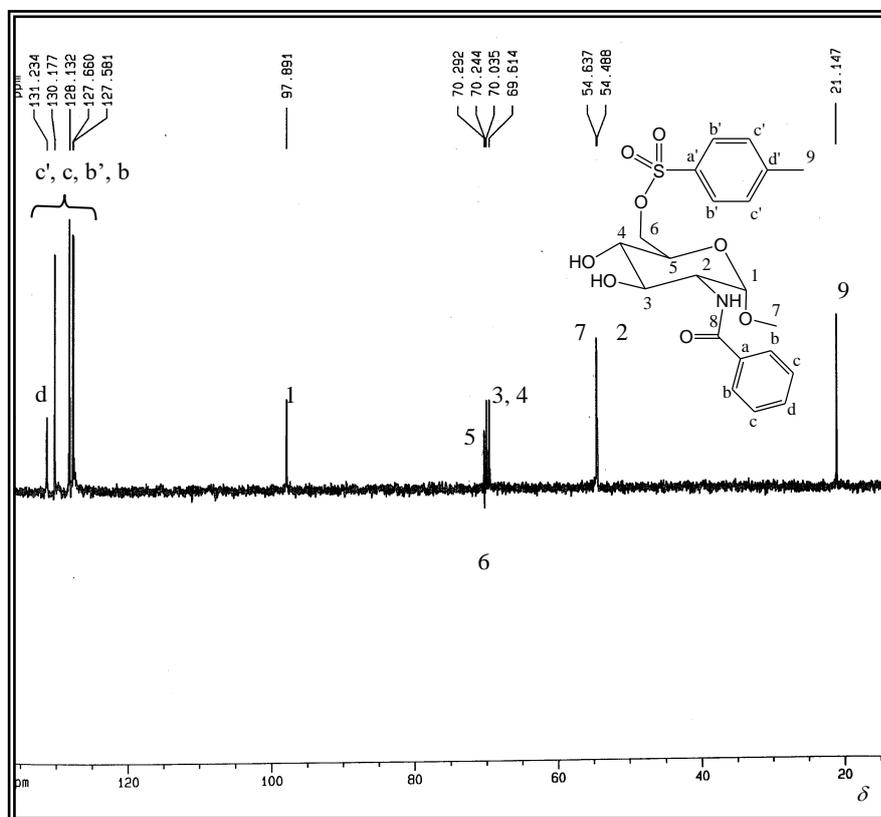
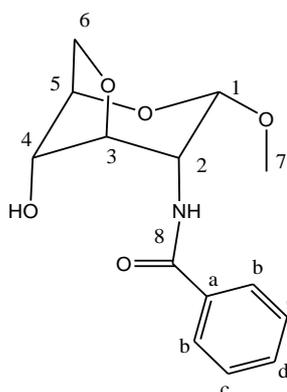


Figura 83 - Subspectro DEPT 135 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 138.

Tabela 8 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 138

δ ppm	Atr.	δ ppm	Atr.
166,6	C ₈	70,3	C ₅
145,0	C _{a'}	70,2	C ₆
134,2	C _a	70,0/69,6	C _{3,4}
132,4	C _{d'}	54,6	C ₇
131,2	C _d	54,5	C ₂
130,2/128,1/127,7/127,6	C _{b', b, c', c}	21,1	C ₉
97,9	C ₁		

4.1.5 3,6-Anidro-2-benzamido-2-desoxi- α -D -glicopiranosídeo de metila 139b



Na tentativa de substituir o grupo tosiloila em C-6, por meio de uma substituição nucleofílica com cianeto, foi isolado o intermediário 139b como um sólido branco.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 84, p.61) a integração dos sinais na região de aromáticos, assim como a ausência do simpleto em δ 2,43 confirmam a saída do grupo *p*-toluenossulfonila, indicando uma reação de substituição (Tabela 9, p. 62).

Visando a atribuição dos sinais de hidrogênio, foi utilizado o mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 85, p.61) tendo como pontos de partida para as atribuições os sinais referentes ao hidrogênio anomérico (H-1) e os hidrogênios metilênicos (H-6a, e H-6b). A partir destes sinais foram determinadas as correlações entre os demais sinais de hidrogênio.

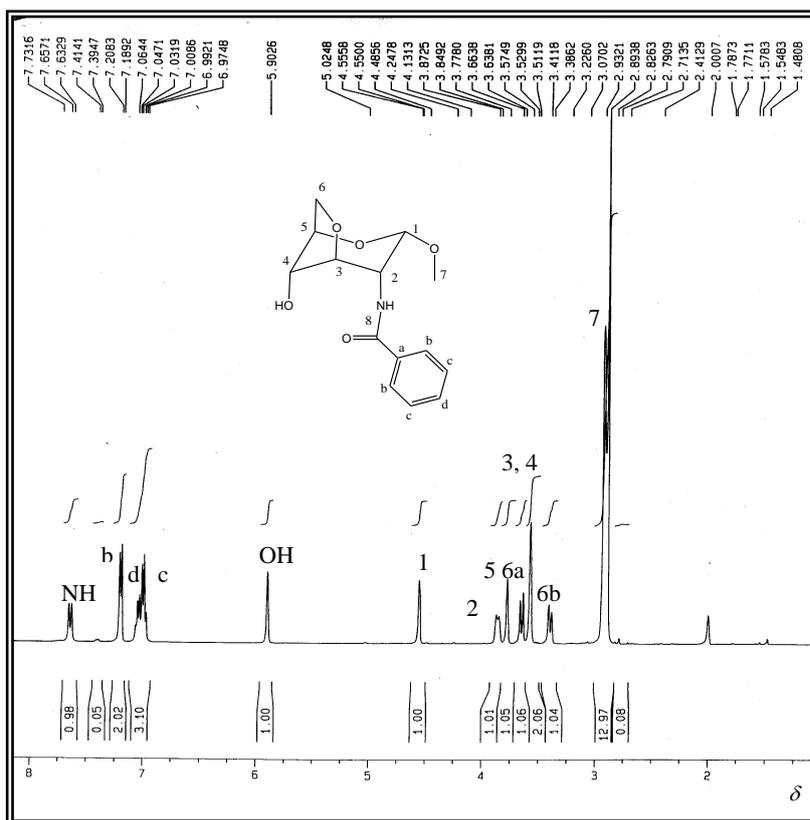


Figura 84 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 139b.

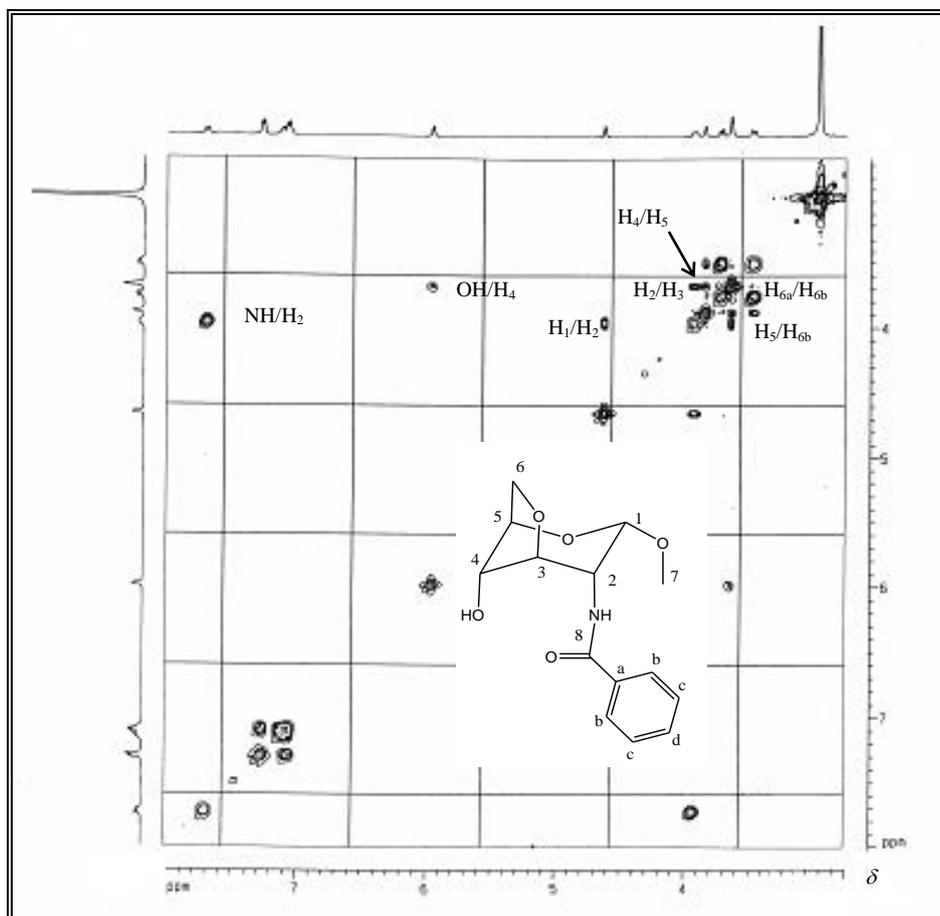


Figura 85 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 139b.

Tabela 9 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 139b

δ ppm	Mult.	Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,65	d	9,7 $J_{\text{NH}-2}$	1/NH	4,86	dd	-	1/ H_2
7,20	d	7,6 $J_{\text{b}-\text{c}}$	2/ H_b	3,78	s	-	1/ H_5
7,04	m	-	1/ H_d	3,65	d	10,3 $J_{6\text{a}-6\text{b}}$	1/ $\text{H}_{6\text{a}}$
6,98	m	-	2/ H_c	3,57	sl	-	2/ $\text{H}_{3,4}$
5,90	s	-	1/OH	3,40	d	-	1/ $\text{H}_{6\text{b}}$
4,55	d	2,3 J_{1-2}	1/ H_1	2,89	s	-	3/ H_7

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 86) auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 87, p.63) não foram observados os sinais referentes aos carbonos aromáticos (a', b', c'e d') e ao carbono metílico (C-9) do grupo *p*-toluenossulfonila. Foram ainda atribuídos os sinais referentes ao carbono *ipso* (a) e ao carbono metilênico C-6 (Tabela 10, p. 64).

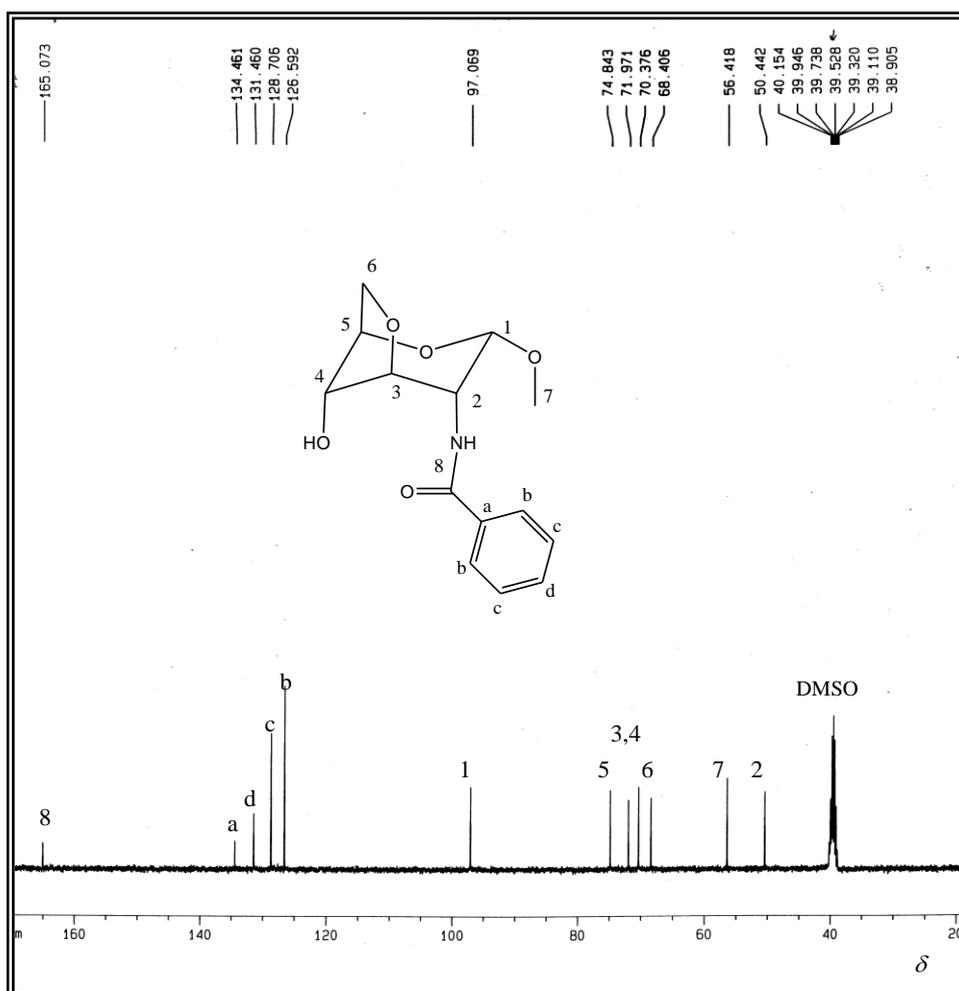


Figura 86 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 139b.

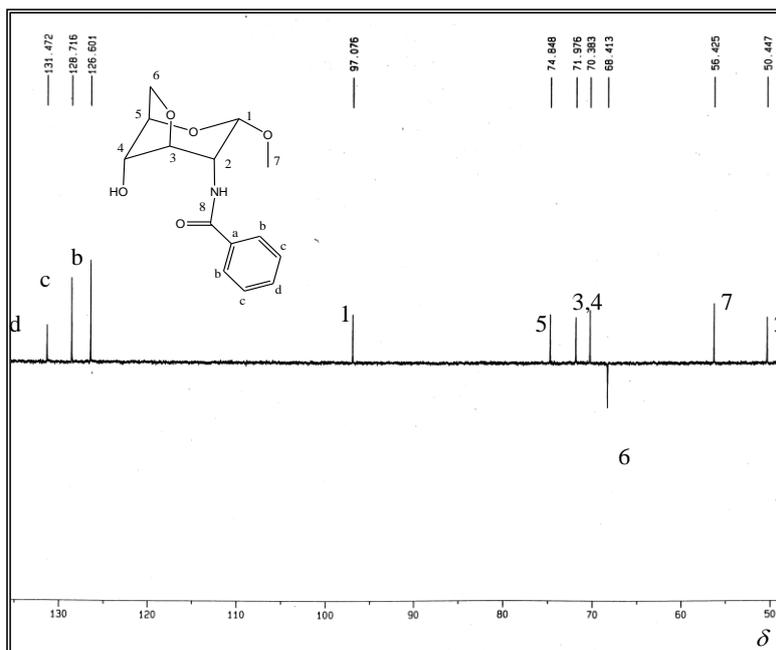


Figura 87 - Subespectro DEPT 135 (100 MHz, DMSO- d_6) de 139b.

O mapa de contornos de correlação heteronuclear HSQC (Figura 88) foi de fundamental importância na determinação do sinal de C-5. O experimento HMBC (Figura 89, p.64) foi de grande relevância na determinação do composto 1,6-anidro pois pela correlação 3J H₃/C₆ pode ser considerada a ciclização. Outra correlação, a 3J OH₄/C₅, corrobora com a proposta de formação de 139b.

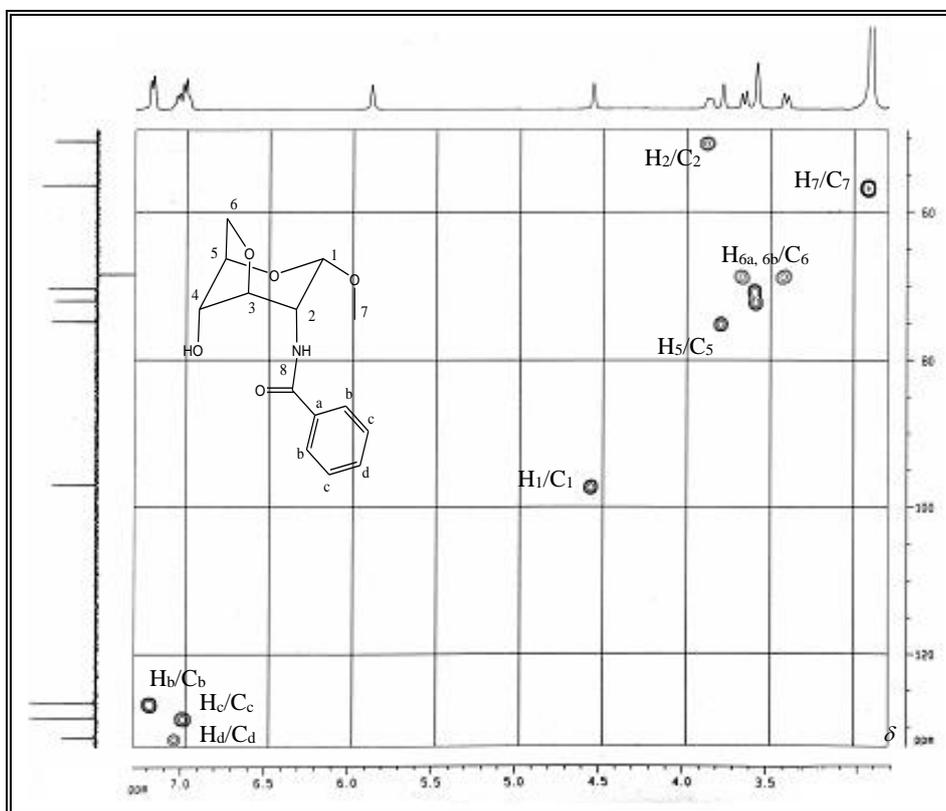


Figura 88 - Mapa de contornos HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) de 139b.

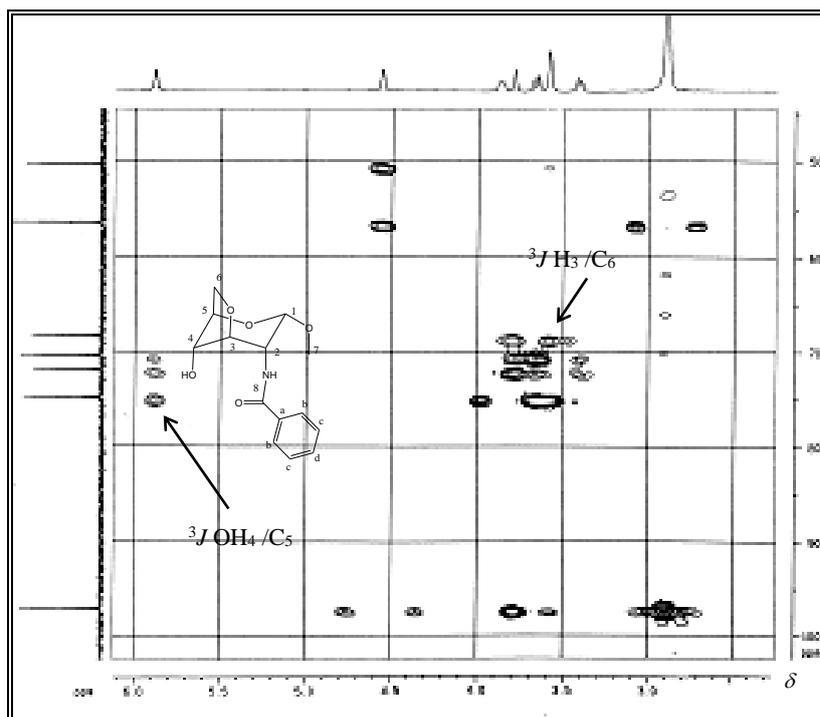
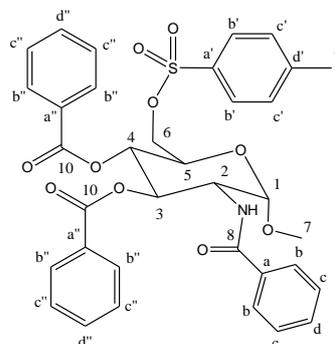


Figura 89 - Mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) de 139b.

Tabela 10 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) de 139b

δ ppm	Atr.	δ ppm	Atr.
165,1	C ₈	74,8	C ₅
134,5	C _a	71,9/70,4	C _{3,4}
131,5	C _d	68,4	C ₆
128,7	C _c	56,4	C ₇
126,6	C _b	50,4	C ₂
97,1	C ₁		

4.1.6 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzoil-2-desoxi-6-*O*-*p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila 140



Na reação de *O*-benzilação o intermediário 140 foi isolado como um sólido branco com faixa de fusão entre 192-193°C. Esta faixa está em acordo com a literatura (191-193 °C; MESZÁROS *et al.*, 1990).

A análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 90) evidenciou a obtenção do produto dibenzilaado pela integral dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos em relação a integral do sinal do hidrogênio anomérico, uma proporção de 19 para 1. Além disto, os sinais referentes aos hidrogênios H-3 e H-4 indicam que estes núcleos foram desblindados em relação ao material de partida. Os demais sinais encontram-se representados na Tabela 11 (p.66).

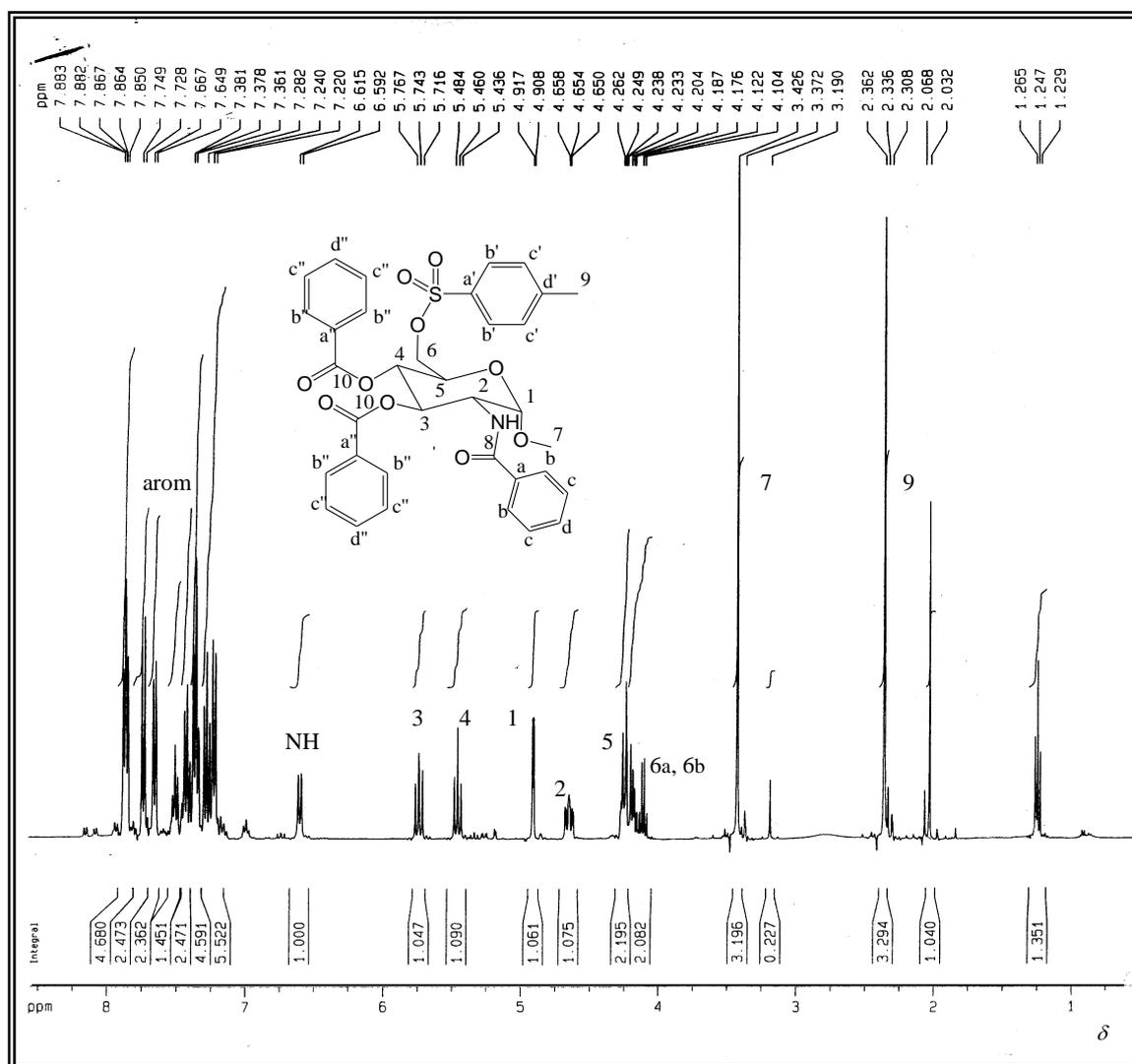


Figura 90 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 140.

O mapa de contornos COSY (Figura 91, p.66) auxiliou na atribuição dos sinais dos hidrogênios 3 e 4, visto que estes apresentavam deslocamentos químicos próximos.

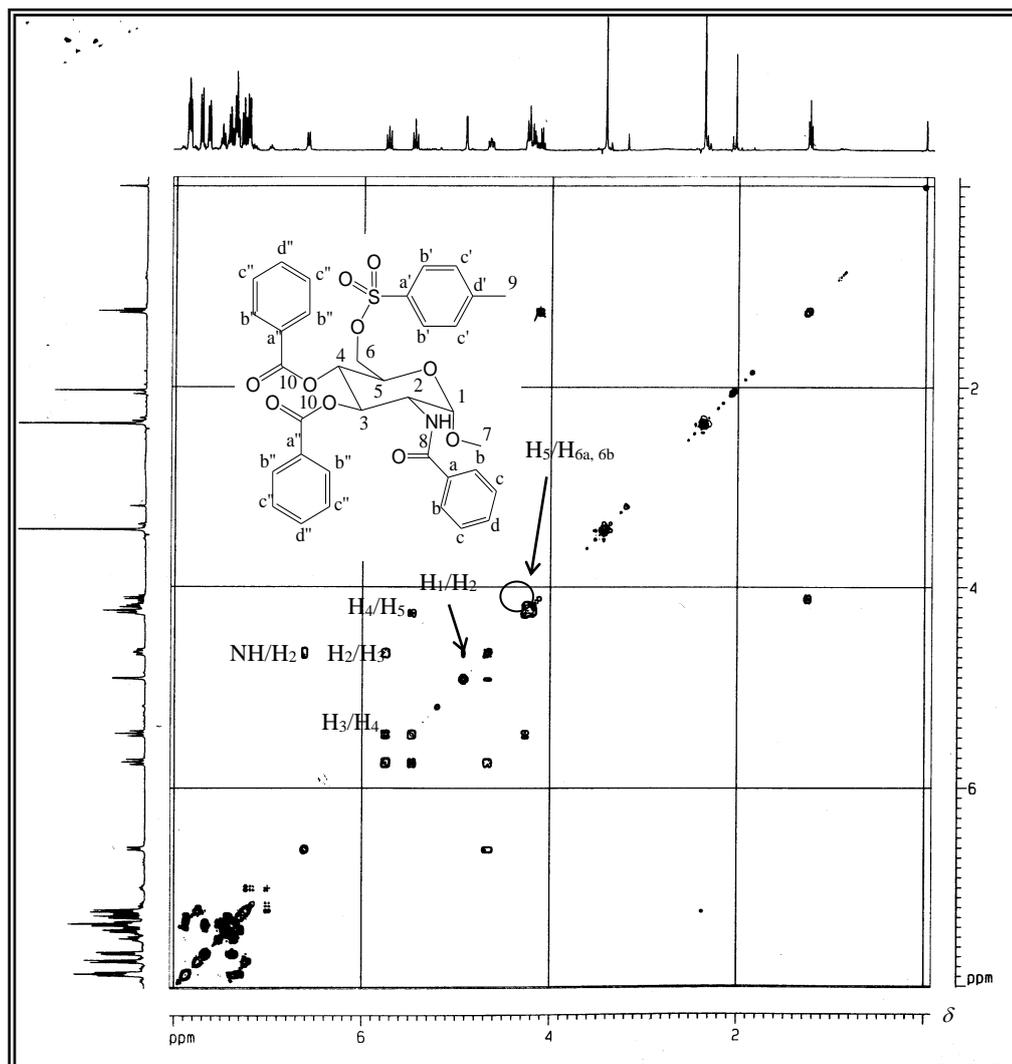


Figura 91 - Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 140.

Tabela 11 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 140

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,88-7,22	m	-	19/ H_{arom}	4,65	ddd	-	1/ H_2
6,60	d	9,2 $J_{\text{NH-2}}$	1/ NH	4,28-4,23	m	-	1/ H_5
5,74	t	10,0 J_{2-3}	1/ H_3	4,20-4,09	m	-	2/ $\text{H}_{6a, 6b}$
5,46	t	10,0 J_{3-4}	1/ H_4	3,43	s	-	3/ H_7
4,91	d	3,5 J_{1-2}	1/ H_1	2,36	s	-	3/ H_9

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 92, p.67), auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 93, p.67), pode ser destacada a presença dos sinais referentes aos dois carbonos carbonílicos de éster e aos carbonos aromáticos dos grupos benzoíla (Tabela 12, p.68).

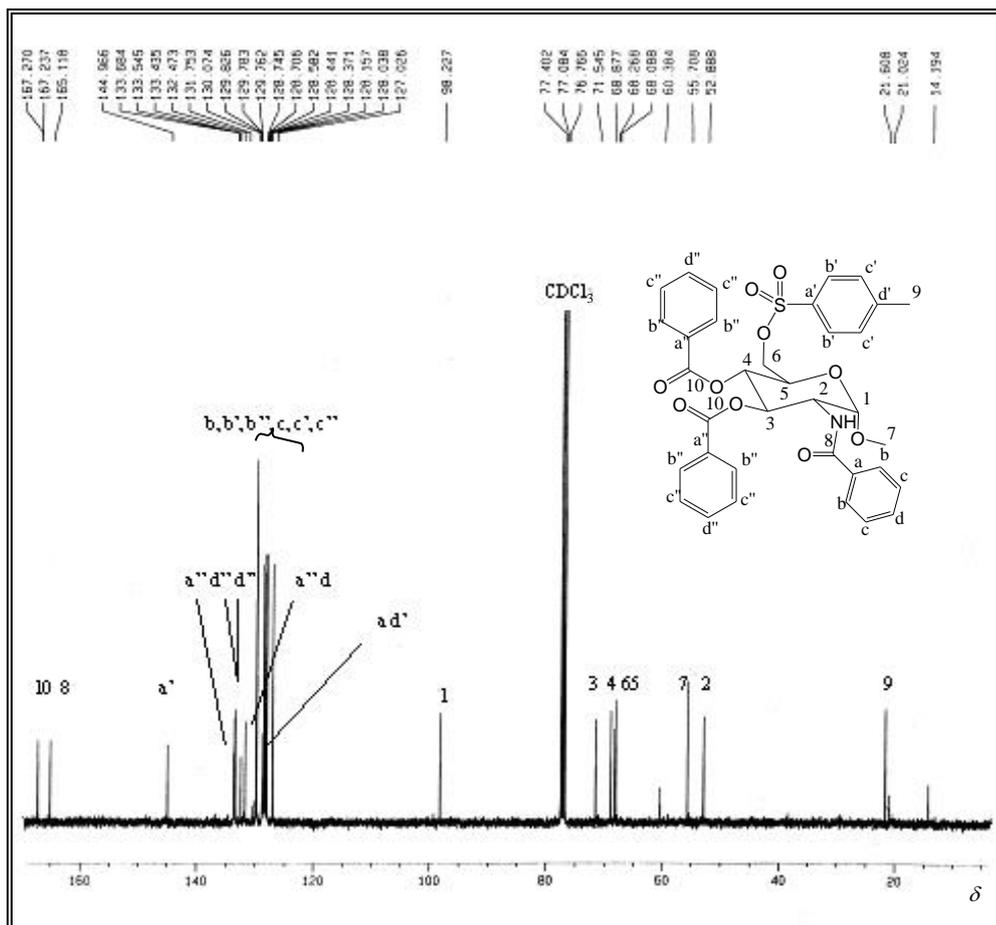


Figura 92 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 140.

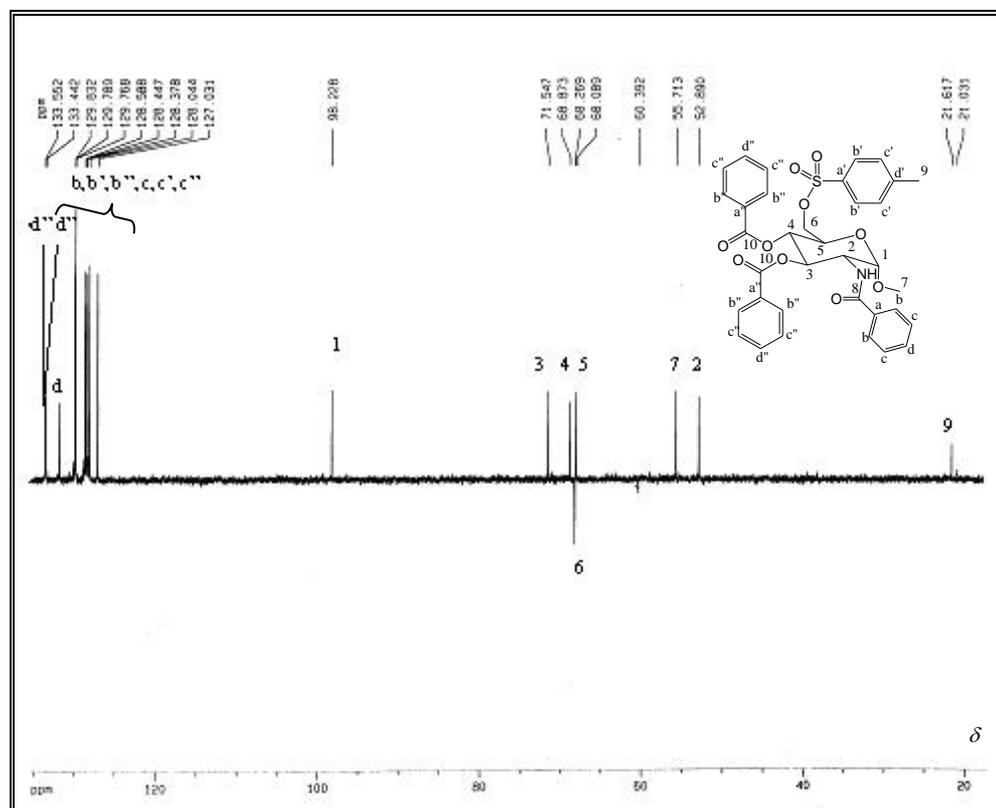


Figura 93 - Subespectro DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) de 140.

No mapa de contornos HSQC (Figura 94) puderam ser atribuídos os sinais referentes aos carbonos 3, 4 e 5.

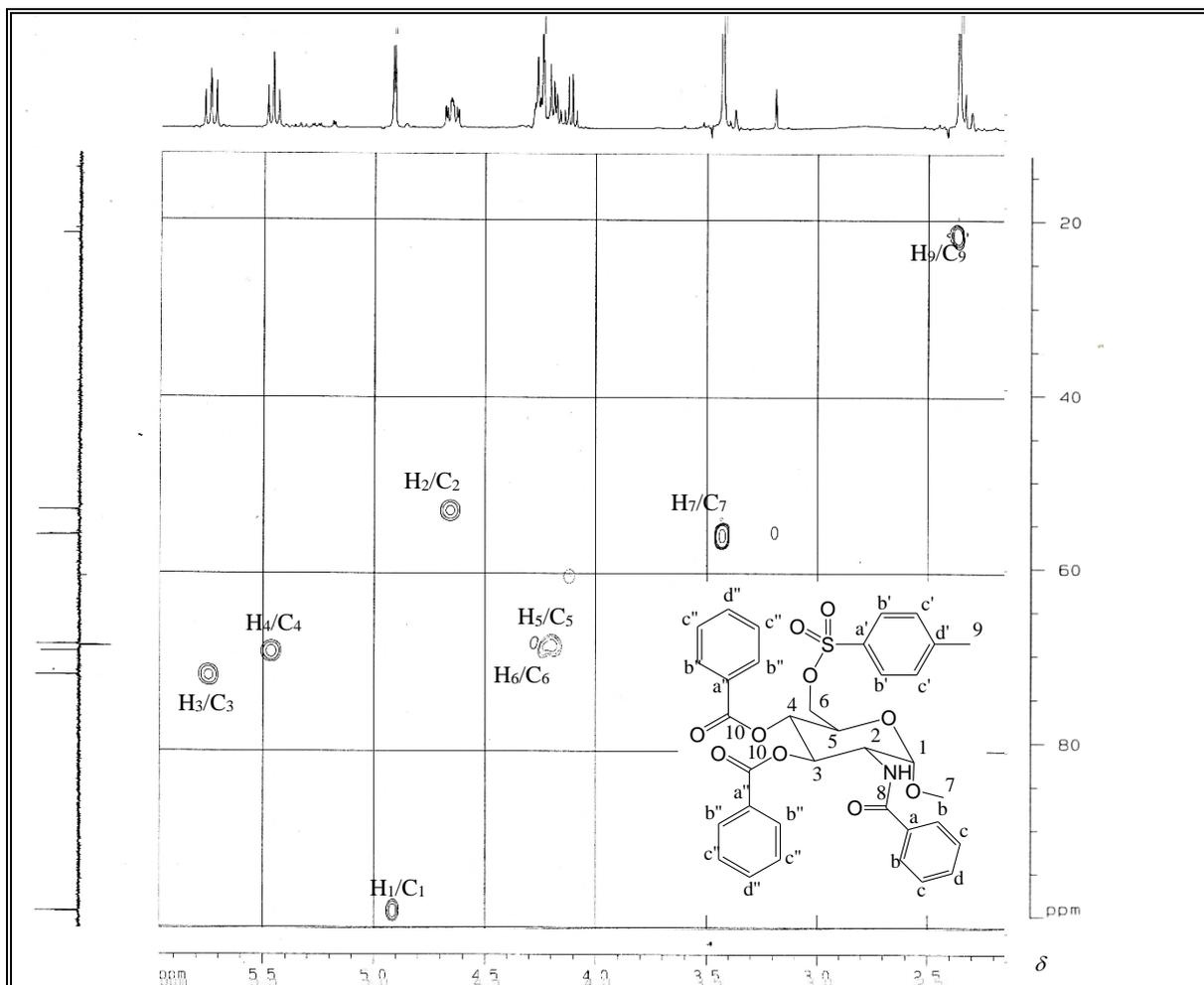
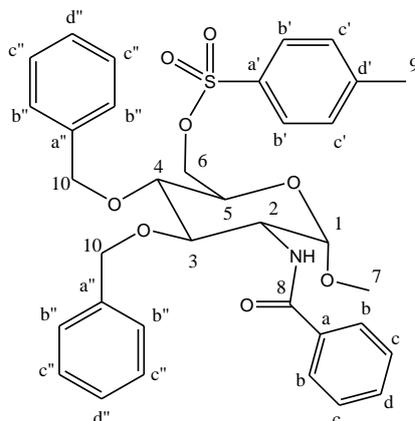


Figura 94 - Mapa de contornos HSQC (400 MHz, CDCl₃) de 140.

Tabela 12 - Dados do espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de 140

δ ppm	n° s./Atr.	δ ppm	n° s./Atr.
167,3/167,2	2/C ₁₀	97,8	C ₁
165,1	C ₈	71,5	C ₃
144,9	C _{a'}	68,8	C ₄
133,6/132,4	2/C _{a''}	68,2	C ₆
133,5/133,4	2/C _{d''}	68,0	C ₅
131,7	C _d	55,7	C ₇
129,8/129,7/129,7	3/C _b ou c ou (' ou '')	52,8	C ₂
128,7/128,7	2/C _{a, d'}	21,6	C ₉
128,4-127,	5/C _b ou c ou (' ou '')		

4.1.7 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2-desoxi-6-*O*-*p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila **141a**



Na reação de benzilação das hidroxilas 3 e 4 o intermediário **141a** foi isolado como um sólido branco com faixa de fusão entre 171-173 °C.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 95, p.70) foram observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e aos hidrogênios metilênicos dos grupos benzila (Tabela 13, p.71).

Com propósito de se atribuir os sinais de hidrogênio do anel glicosídico foi utilizado o mapa de correlação COSY (Figura 96, p.70). A análise deste experimento teve como ponto de partida para as atribuições os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos (6a e 6b), os quais foram prontamente atribuídos com base no mapa de contornos HMQC (Figura 99, p.72). Desta forma foi possível determinar todas as correlações.

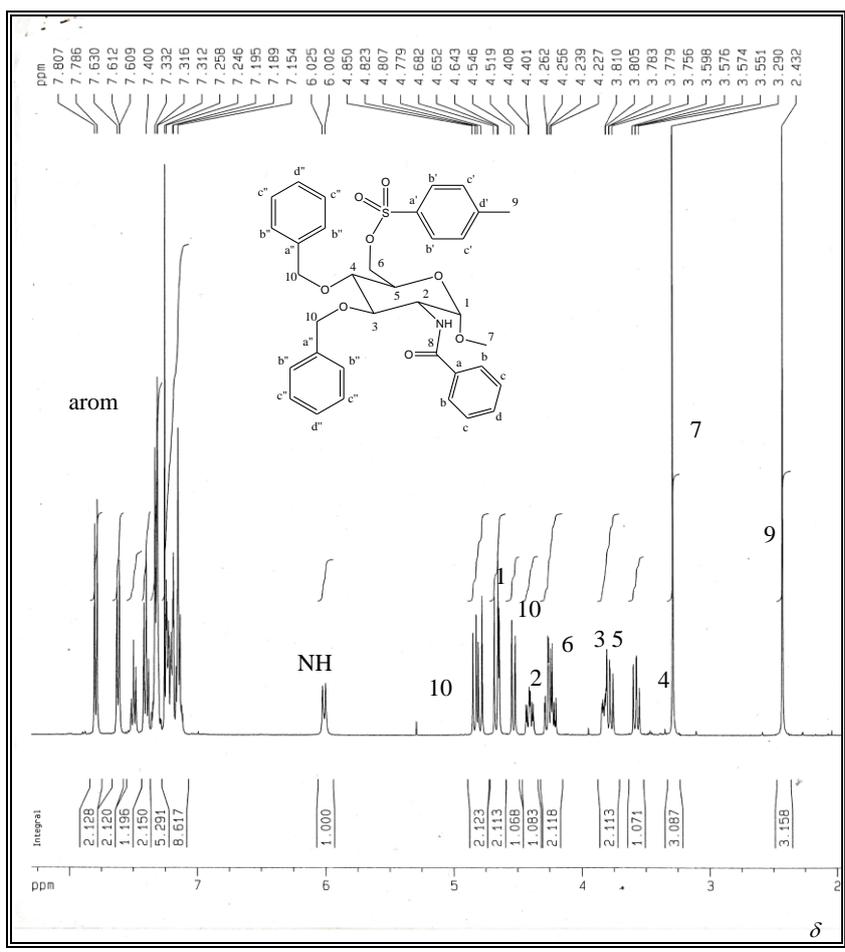


Figura 95 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **141a**.

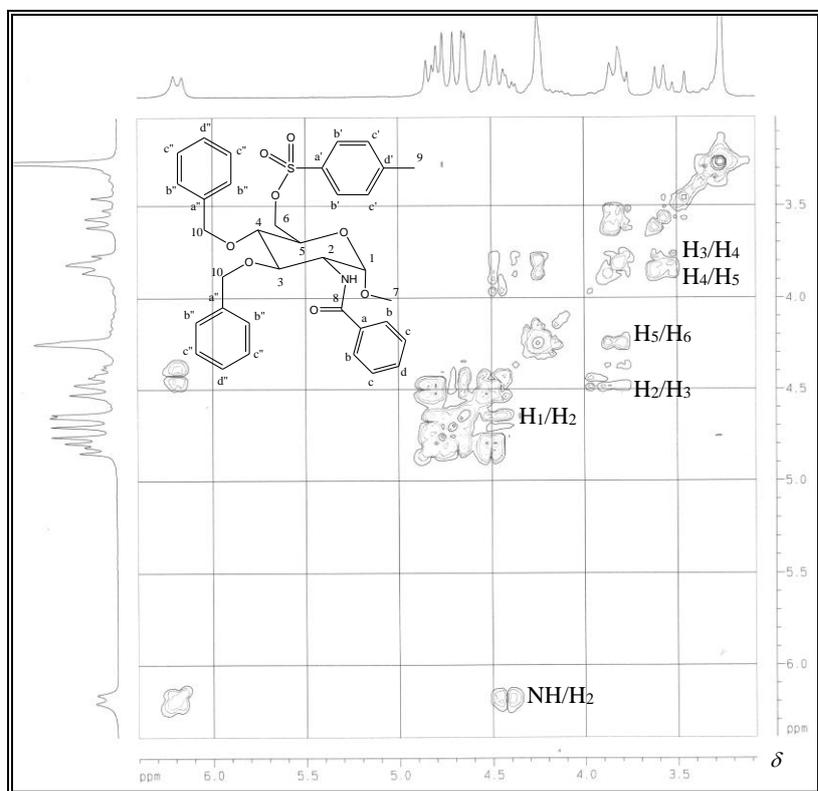


Figura 96 - Mapa de contornos COSY (200 MHz, CDCl_3) de **141a**.

Tabela 13 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 141a

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,81-7,12	m	-	19/ H_{arom}	4,28	dd	10,6 J_{6a-6b}	1/ H_{6a}
6,01	d	9,1 $J_{\text{NH-2}}$	1/ NH	4,22	dd	4,8 J_{5-6b}	1/ H_{6b}
4,84	d	10,7 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,83	ddd	2,1 J_{5-6a}	1/ H_5
4,79	d	11,5 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,78	dd	10,0 J_{3-4}	1/ H_3
4,67	d	11,5 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,57	dd	9,0 J_{4-5}	1/ H_4
4,65	d	3,8 J_{1-2}	1/ H_1	3,29	s	-	3/ H_7
4,53	d	10,7 J_{10-10}	1/ H_{10}	2,43	s	-	3/ H_9
4,40	dt	9,1 J_{2-3}	1/ H_2				

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 97), auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 98, p.72), pode se confirmar que houve a benzilação das hidroxilas 3 e 4, pela presença de sinais de carbonos aromáticos do grupo benzila. Foram também determinados os sinais referentes aos carbonos *ipso* (a, a', a'' e d') e aos carbonos metilênicos 6 e 10 (Tabela 14, p.73).

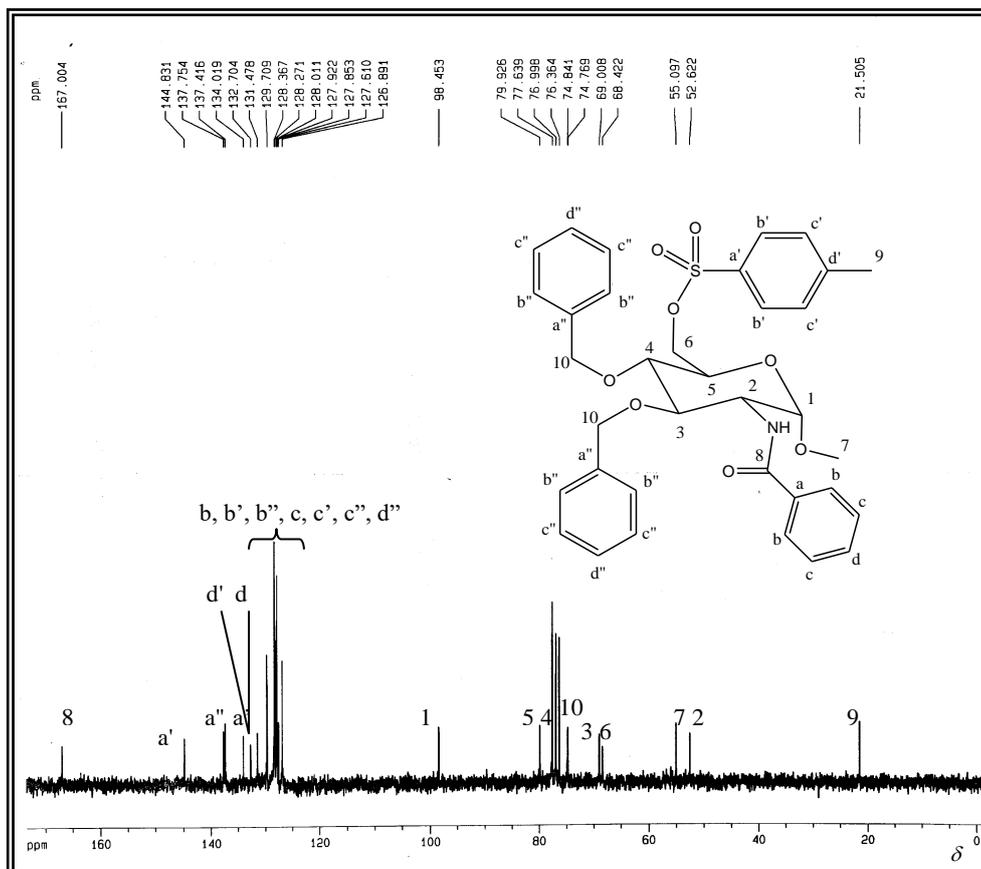


Figura 97 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 141a.

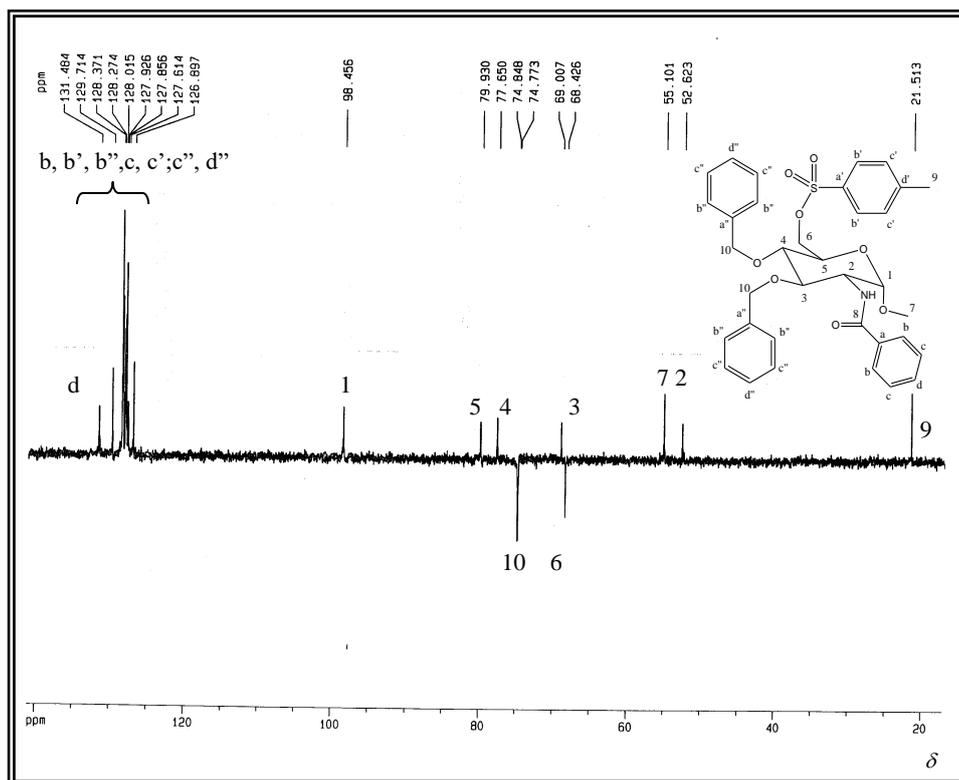


Figura 98 - Subespectro DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) de 141a.

No mapa de contornos HMQC (Figura 99) as correlações entre os sinais de hidrogênio e C-5, assim como aquelas referentes aos sinais de hidrogênio e C-4 foram importantes, pois os sinais destes carbonos apresentam deslocamentos químicos próximos.

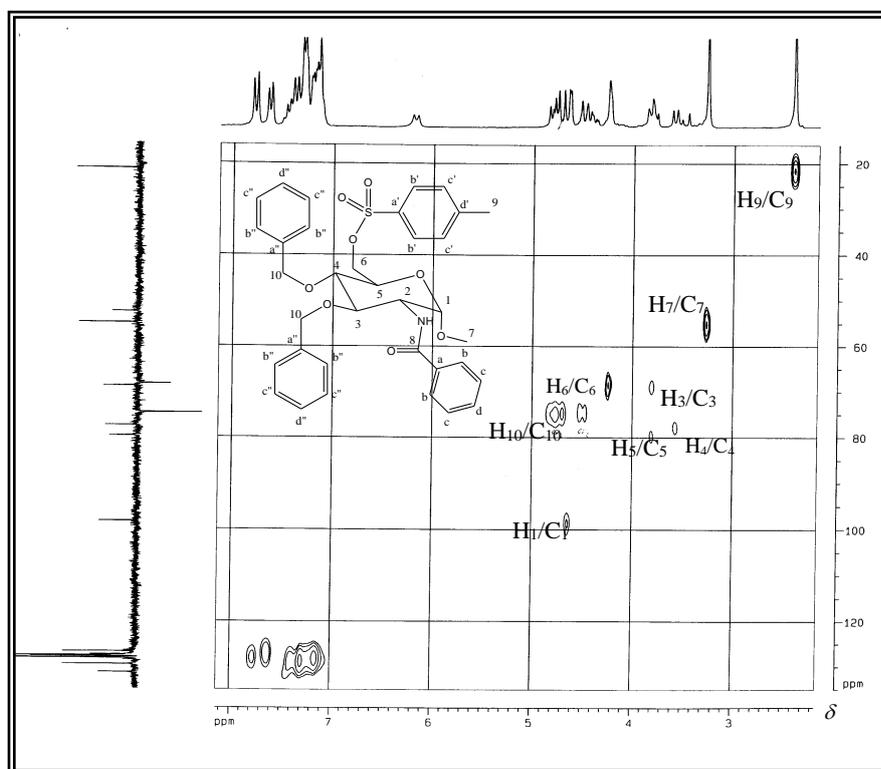
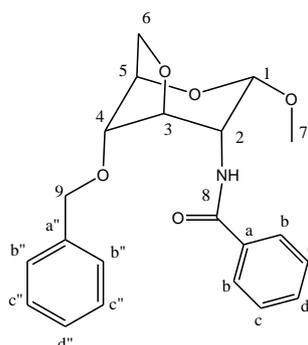


Figura 99 - Mapa de contornos HMQC (200 MHz, CDCl_3) de 141a.

Tabela 14 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 141a

δ ppm	n° s./Atr.	δ ppm	n° s./Atr.
167,0	C ₈	79,9	C ₅
144,8	C _{a'}	77,6	C ₄
137,7/137,4	2/C _{a''}	74,8/74,8	2/C ₁₀
134,0	C _a	69,0	C ₃
132,7	C _{d'}	68,4	C ₆
131,5	C _d	55,1	C ₇
129,7-126,9	7/C _{b, b', b'', c, c', c'', d''}	52,6	C ₂
98,4	C ₁	21,5	C ₉

4.1.8 - 3,6-Anidro-2-benzamido-4-O-benzil-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila 141b



Na reação de benzilação foi também isolado o intermediário 141b na forma de um sólido pastoso.

Pela integração dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e hidrogênios metilênicos (9) do espectro de RMN de ^1H (Figura 100, p.74) pode ser deduzida a presença de apenas um grupo benzila. Pode ainda ser sugerido que houve uma substituição nucleofílica intramolecular pois, não se observou o simpleto de hidrogênios metílicos do grupo tosila (Tabela 15).

As propostas de substituição intramolecular e monobenzilação para a obtenção de 141b foram consistentes com o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 101, p.75) e com seu subspectro DEPT 135 (Figura 102, p.75), uma vez que não se pode observar o sinal referente ao carbono metílico do grupo tosila e só se pode detectar um único sinal de carbono metilênico do grupo benzila (Tabela 16, p. 76).

Tabela 15 - Dados do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 141b

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,51-7,13	m	-	NH, H_{arom}	4,54	d	-	H_9
5,12	d	3,8 J_{1-2}	H_1	4,37	dd	4,9 J_{3-4}	H_3
4,82	d	10,5 J_{9-9}	H_9	4,31	d	10,7 J_{6a-6b}	H_{6a}
4,72	ddd	9,2 $J_{\text{NH}-2}$ 8,5 J_{2-3}	H_2	4,04-3,96	m	-	$\text{H}_{4, 6b}$
4,60	dd	2,6 J_{4-5} 2,8 J_{5-6b}	H_5	3,53	s	-	H_7

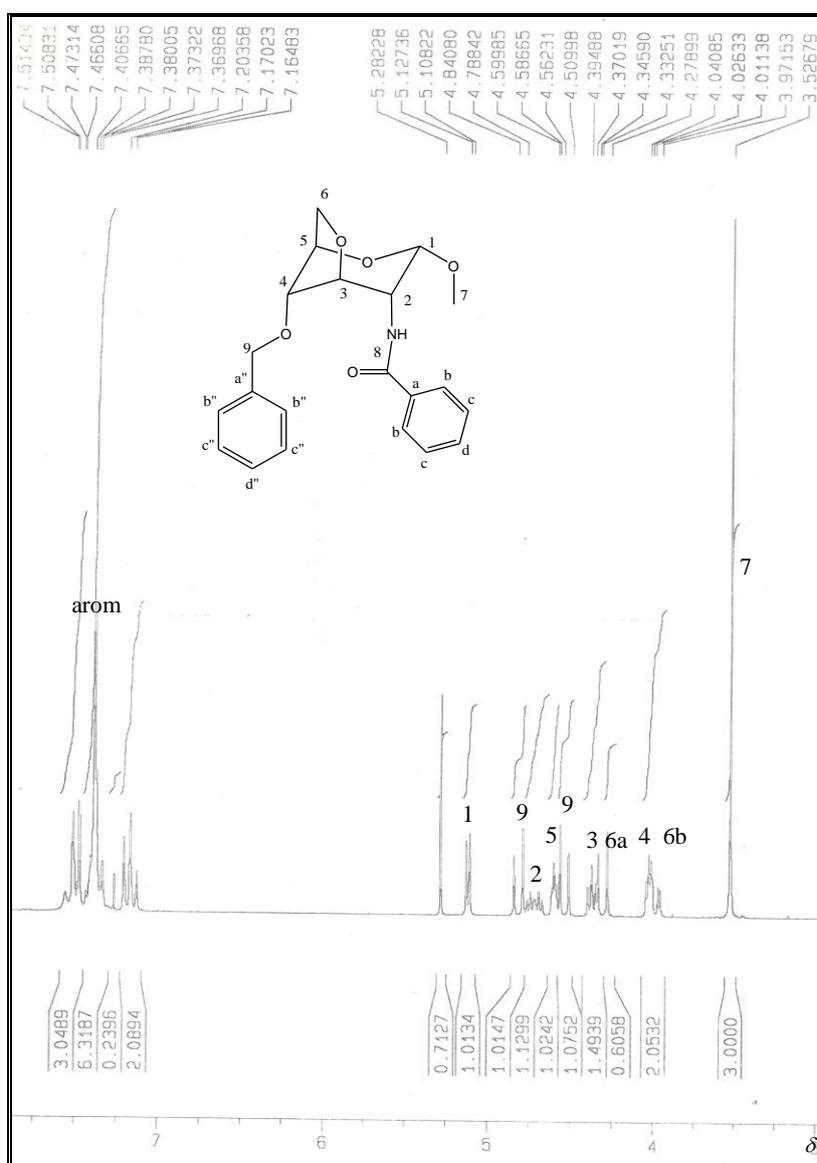


Figura 100 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 141b.

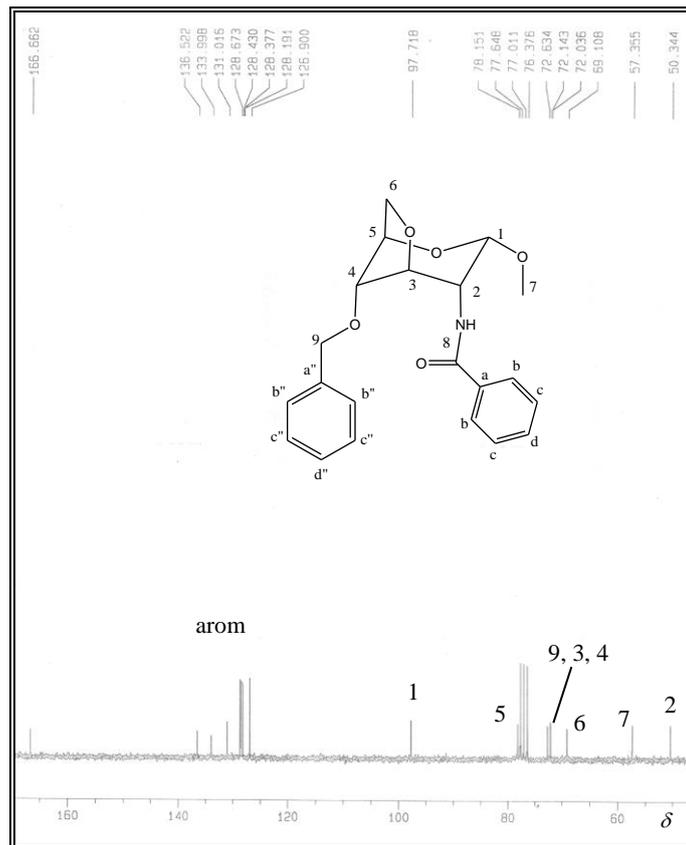


Figura 101 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 141b.

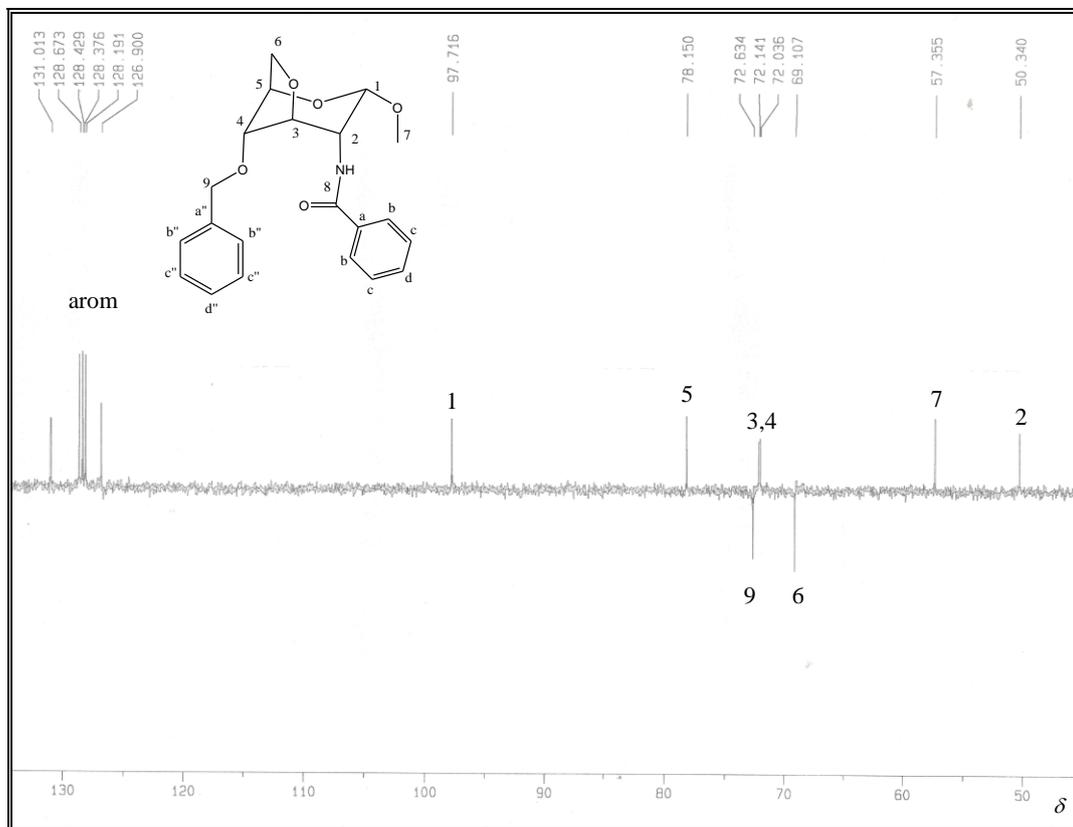


Figura 102 - Subespectro DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) de 141b.

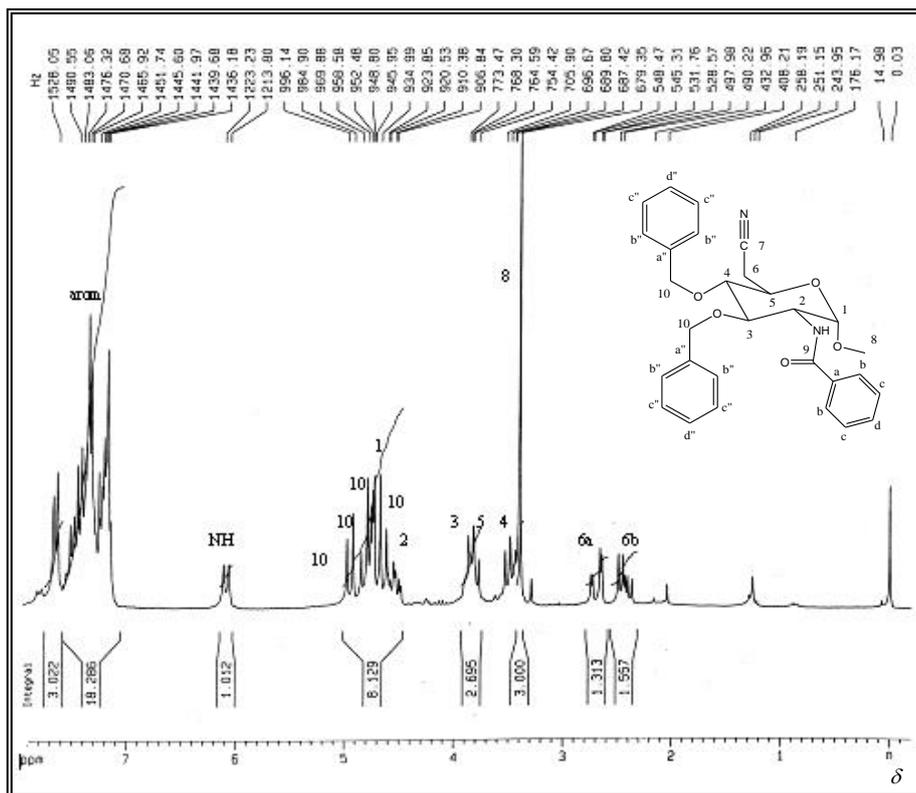


Figura 103 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 142.

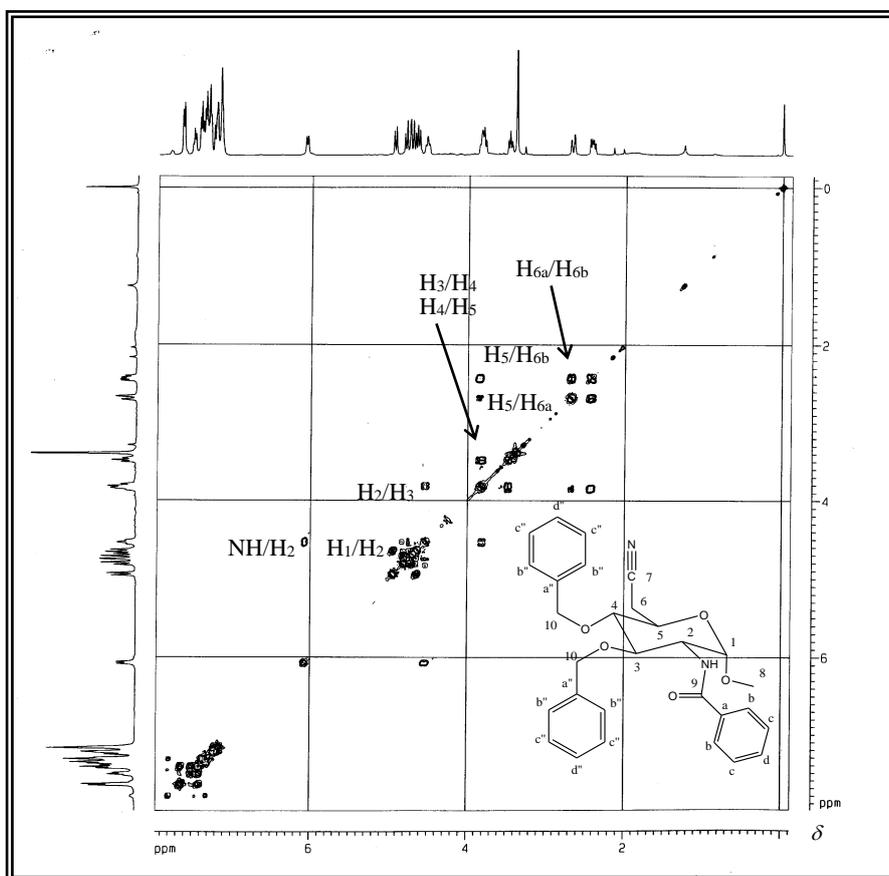


Figura 104 - Mapa de contornos COSY (200 MHz, CDCl_3) de 142.

Tabela 17 - Dados do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 142

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,64-7,18	m	-	15/ H_{arom}	4,55	ddd	9,8 J_{2-3}	1/ H_2
6,10	d	9,0 $J_{\text{NH-2}}$	1/NH	3,86	m	-	1/ H_3
4,95	d	11,2 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,80	m	-	1/ H_5
4,81	d	11,3 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,50	m	-	1/ H_4
4,74	d	11,3 J_{10-10}	1/ H_{10}	3,39	s	-	1/ H_8
4,73	d	3,6 J_{1-2}	1/ H_1	2,69	dd	16,7 J_{6a-6b} 3,2 J_{6a-5}	1/ H_{6a}
4,66	d	11,2 J_{10-10}	1/ H_{10}	2,45	dd	7,7 J_{6b-5}	1/ H_{6b}

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 105, p.78), auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 106, p.79), foi evidenciada a substituição do grupo tosila por ciano pelo sinal característico de carbono de nitrila em δ 117,2 e pela blindagem do carbono metilênico 6 (Tabela 18, p.80).

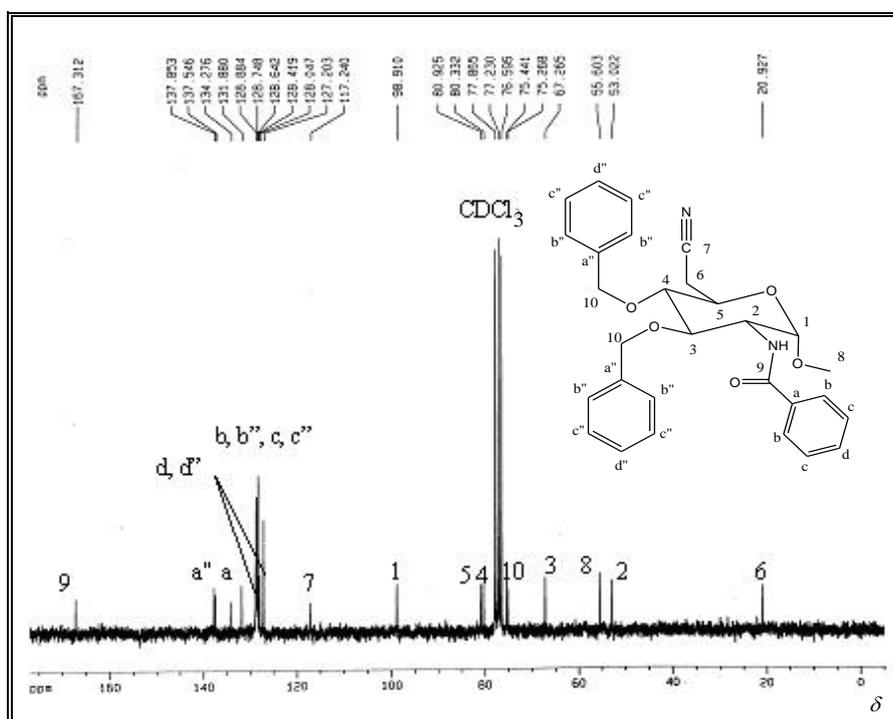


Figura 105 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 142.

Os sinais dos carbonos C-4 e C-5 foram determinados pelo mapa de contornos HSQC (Figura 107, p. 79), pois estes apresentam deslocamentos químicos próximos.

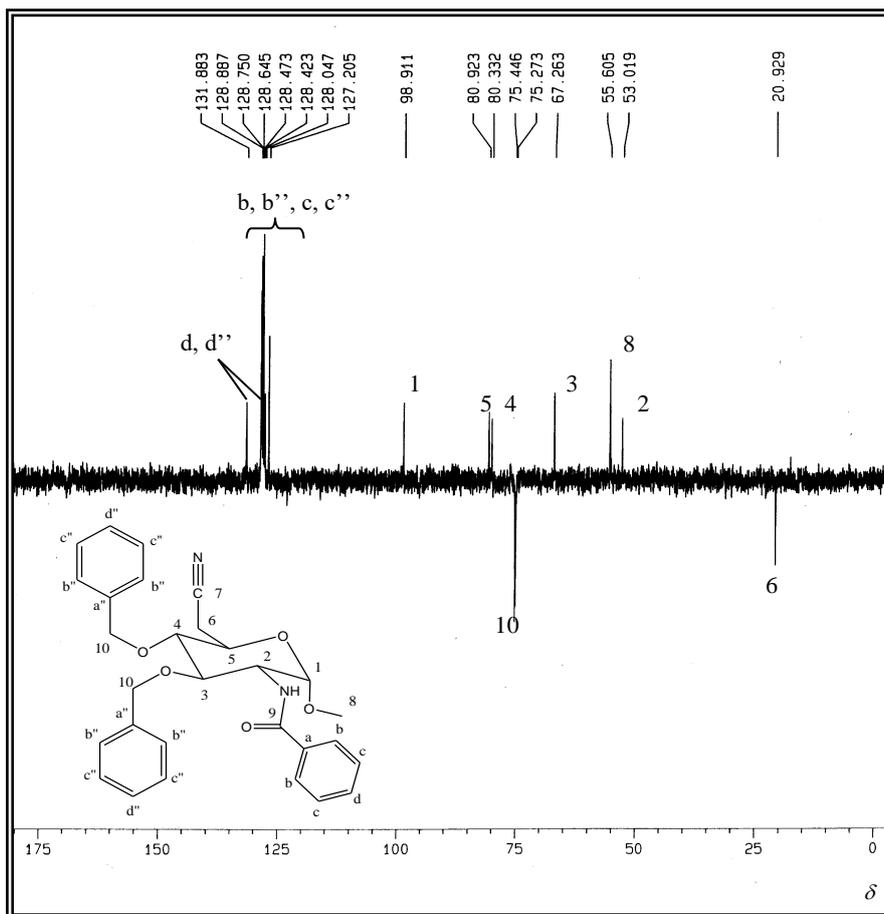


Figura 106 - Subespectro DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) de 142.

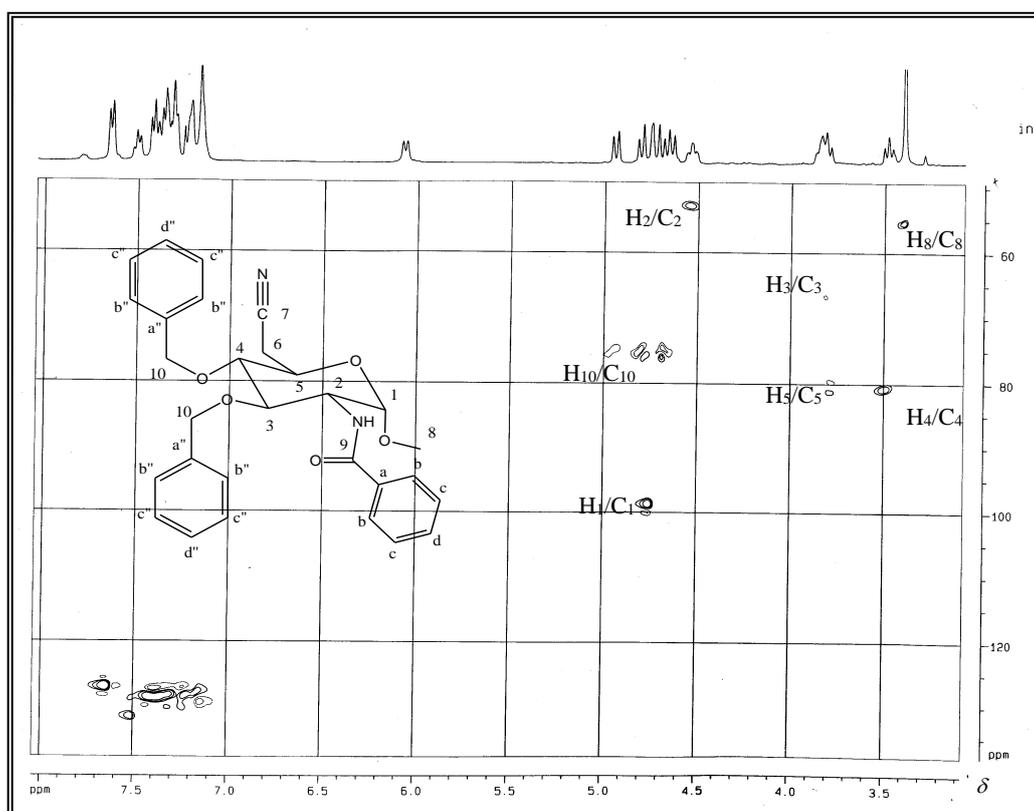
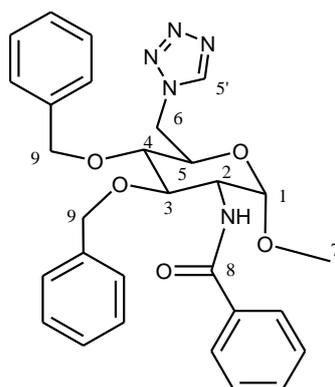


Figura 107 - Mapa de contornos HSQC (400 MHz, CDCl_3) de 142.

Tabela 18 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 142

δ ppm	n° s./Atr.	δ ppm	n° s./Atr.
167,3	C ₉	80,9	C ₅
137,8/137,5	2/C _a ^a , a ^a	80,3	C ₄
134,3	C _a	75,4/75,3	2/C ₁₀
131,9/128,4/128,0	3/C _d , d ^a	67,3	C ₃
128,9-127,2	6/C _b , b ^a , c, c ^a	55,6	C ₈
117,2	C ₇	53,0	C ₂
98,9	C ₁	20,9	C ₆

4.1.10 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (144a)



Na reação de substituição do grupo tosiloila pelo 1*H*-tetrazol foi isolado 144a como um sólido branco com faixa de fusão entre 223-225°C.

No espectro na região do infravermelho (Figura 108, p.81), foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações N-H em 3305 cm^{-1} , C-H em 3031 cm^{-1} e 2924 cm^{-1} e C=O de amida em 1639 cm^{-1} .

No espectro de RMN de ^1H (Figura 109, p.81), a substituição do grupo tosiloila pode ser evidenciada pela ausência do simpleto referente aos hidrogênios metílicos deste grupo, pela integração na região dos hidrogênios aromáticos e pela presença do sinal de H-5'.

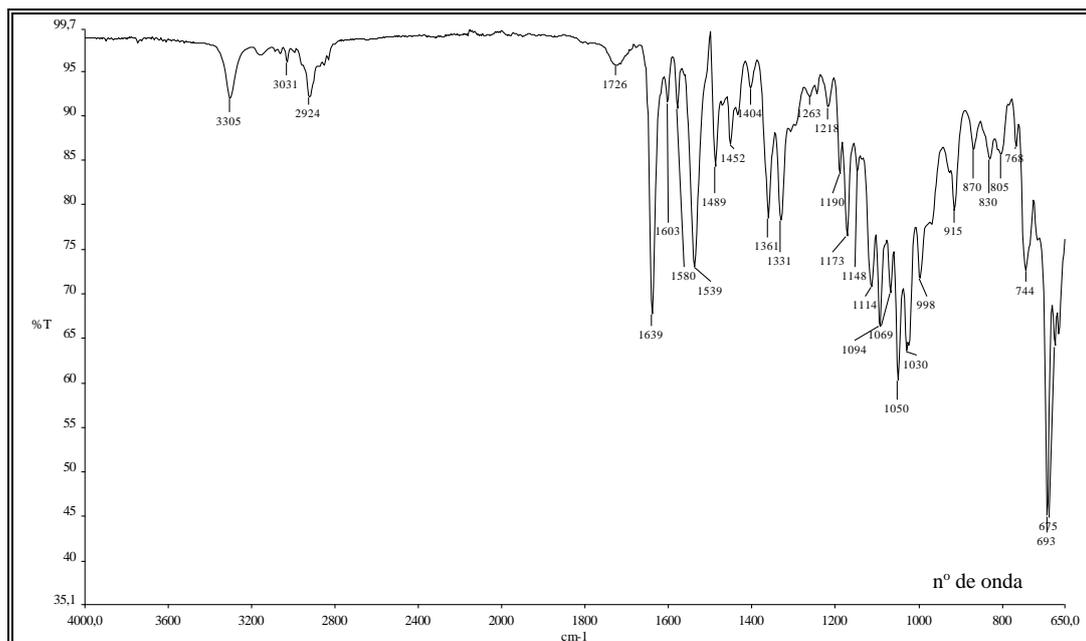


Figura 108 - Espectro no IV de 144a.

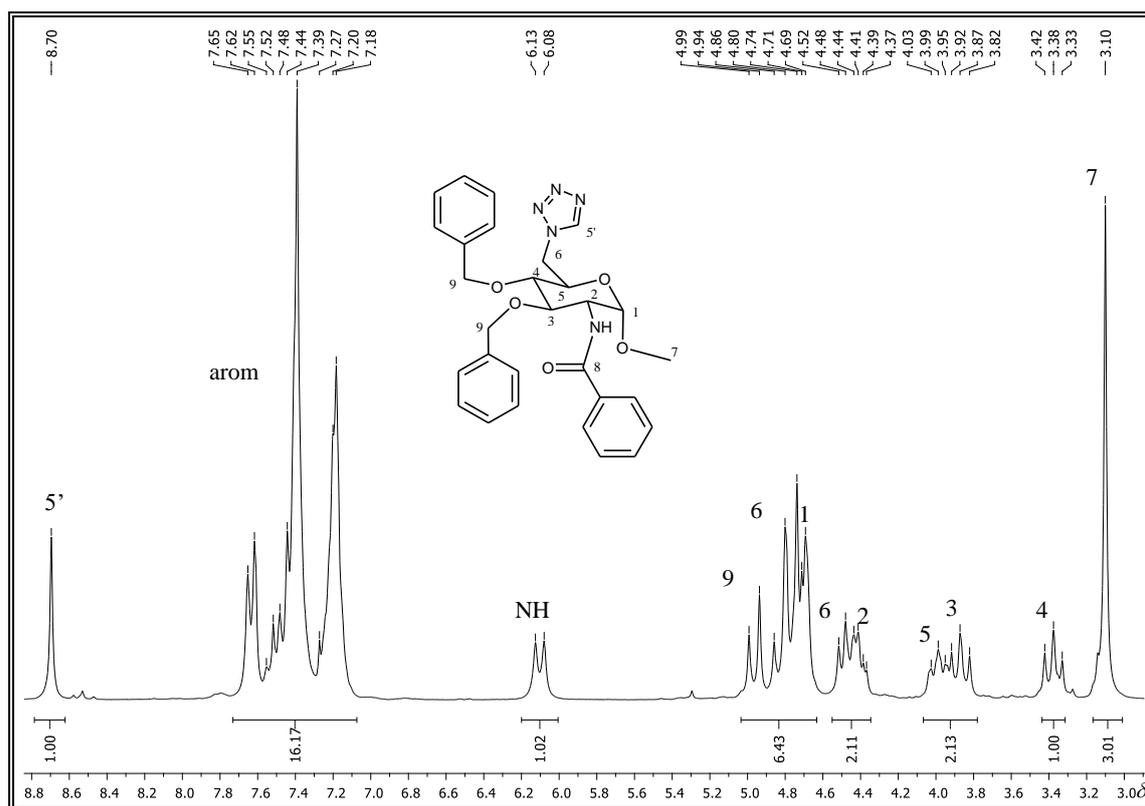


Figura 109 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 144a.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 110, p. 82), a substituição do grupo tosiloila pode ser evidenciada pela ausência do sinal referente ao carbono metílico deste grupo e pela blindagem do carbono metilênico C-6 em relação aquele do material de partida. O

sinal de carbono C-6 em δ 48,8 também se encontra condizente com a proposta de alquilação em N^1 , que também é confirmada pelo sinal de carbono 5' em δ 143,9.

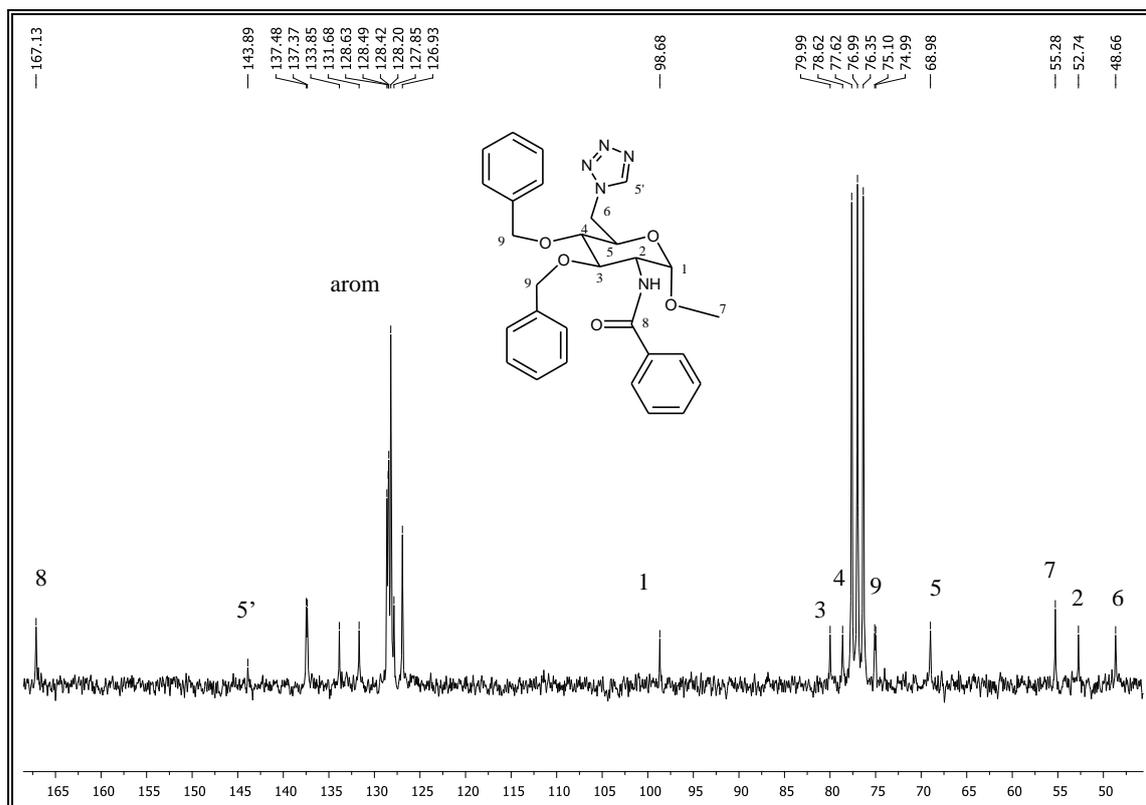


Figura 110 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 144a.

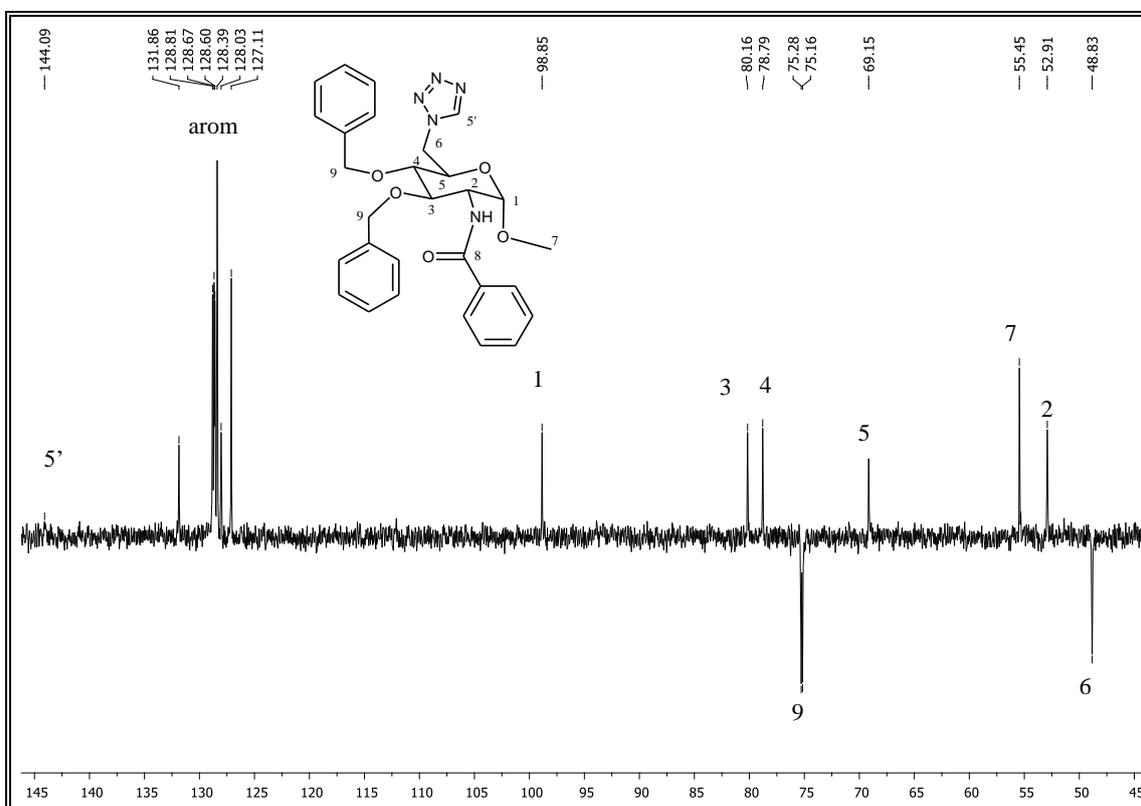


Figura 111 - Subespectro DEPT 135 (50 MHz, CDCl_3) de 144a.

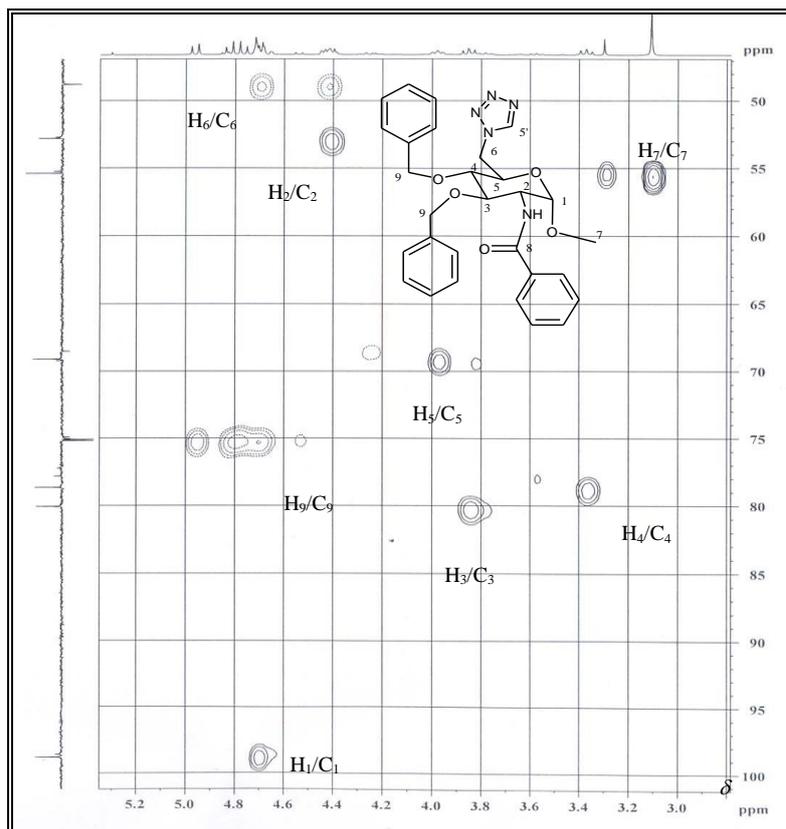


Figura 112 - Mapa de contornos HSQC (400 MHz, CDCl_3) de 144a.

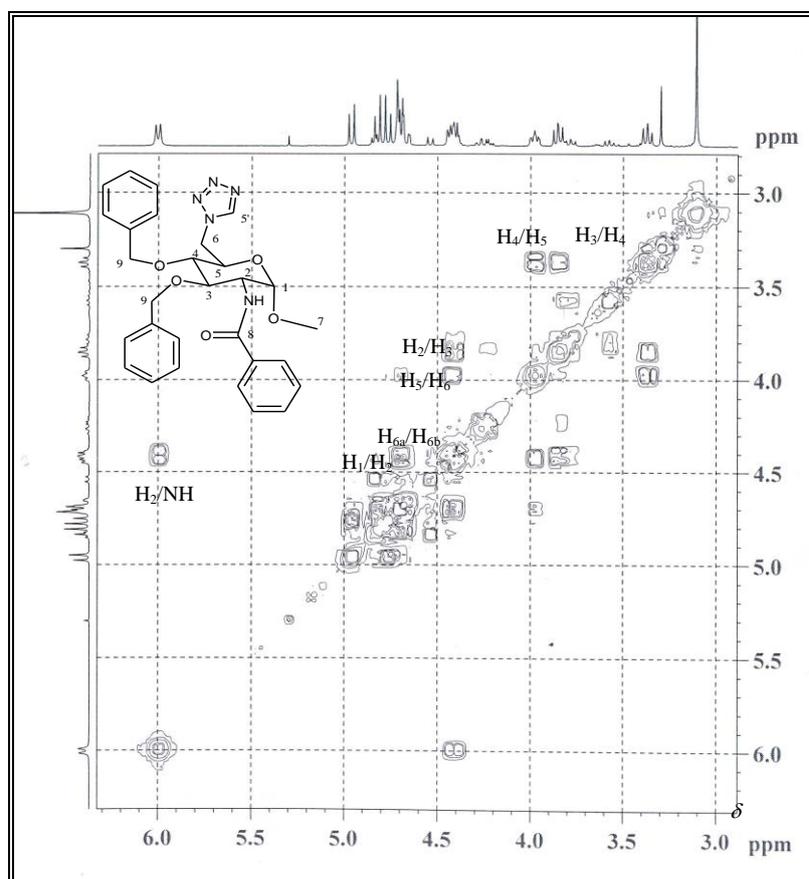
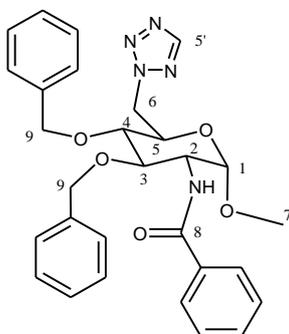


Figura 113 - Mapa de contornos COSY (200 MHz, CDCl_3) de 144a.

Visando a atribuição dos sinais de hidrogênio, foi utilizado o mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 113, p. 83) tendo como ponto de partida para a atribuição os sinais referentes ao hidrogênio H-1 e os hidrogênios metilênicos (6), ambos confirmados pelo mapa de contornos HSQC (Figura 112, p. 83). Desta forma foi possível atribuir os hidrogênios de maneira condizente com a estrutura proposta.

O mapa de contornos HSQC foi de fundamental importância na determinação dos sinais dos carbonos 3, 4 e 5, além de confirmar os sinais referentes aos hidrogênios H₁ e H₆.

4.1.11 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (**144b**)



Na reação de substituição do grupo tosiloila pelo 1*H*-tetrazol foi isolado **144b** como um sólido branco com faixa de fusão entre 226-229°C.

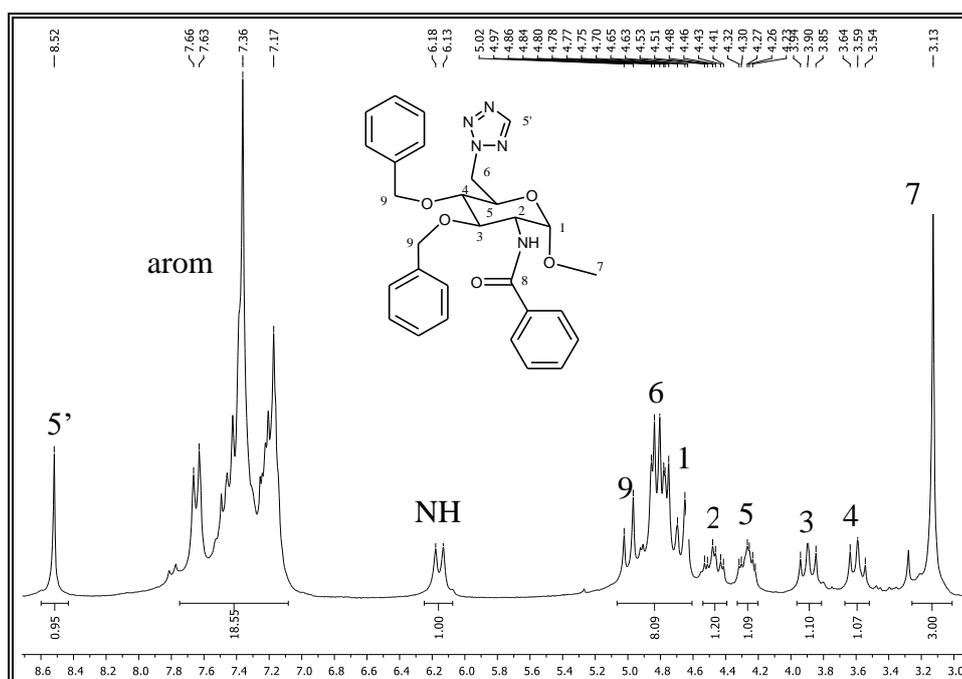


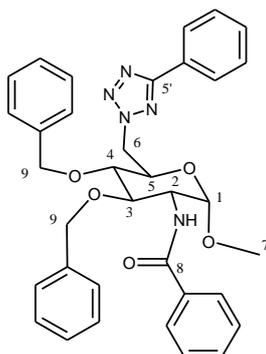
Figura 114 - RMN ¹H do composto **144b** (400 MHz, CDCl₃).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 114, p.84), a substituição do grupo tosiloila pode ser confirmada pela ausência do simpleto referente aos hidrogênios metílicos deste grupo, pela integração na região dos hidrogênios aromáticos e pelo sinal de H-5'.

O sinal referente ao carbono C-5' em δ 152,9, encontra-se condizente com a proposta de alquilação em N^2 pois o C-5' de regioisômeros alquilados em N^1 é mais blindado em cerca de 10 ppm (SANTOS *et al.*, 2007).

Afim de proporcionar uma melhor comparação, os valores para os sinais de hidrogênio e carbono dos tetrazóis e oxadiazóis desta mesma série encontram-se na Tabelas 19 e 20. Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.1.12 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (145)



Na reação de substituição do grupo tosiloila pelo 1*H*-5-feniltetrazol foi isolado 145 como um sólido branco com faixa de fusão entre 159-161°C.

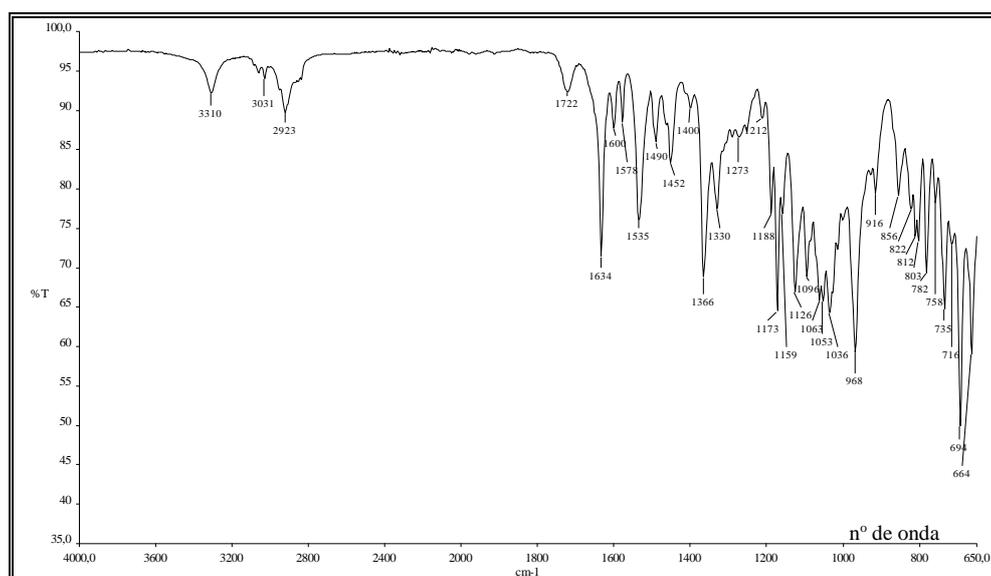
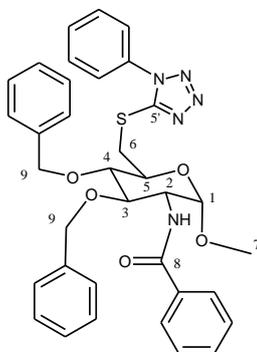


Figura 114 - Espectro no IV de 145.

No espectro na região do infravermelho, foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações N-H em 3310 cm^{-1} , C-H em 3031 cm^{-1} e 2923 cm^{-1} e C=O de amida em 1634 cm^{-1} .

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.10 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 19 e 20. Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.1.13 - 2-Benzamido-3,4-di-O-benzil-2,6-didesoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (148)



Na reação de substituição do grupo tosiloila pelo 1-feniltetrazol-5-tiol foi isolado 148 como um sólido branco com faixa de fusão entre $205\text{-}206^\circ\text{C}$.

No espectro na região do infravermelho, foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes aos estiramentos das ligações N-H em 3274 cm^{-1} , C-H em 3030 cm^{-1} e 2903 cm^{-1} e C=O de amida em 1635 cm^{-1} .

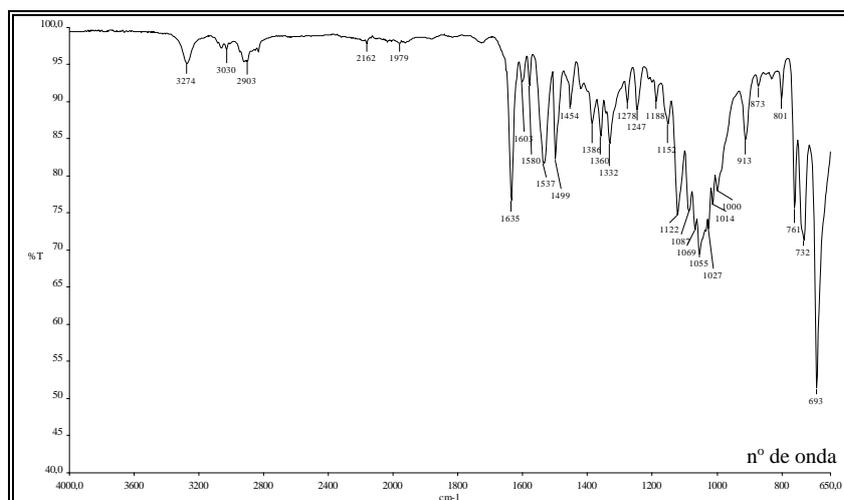
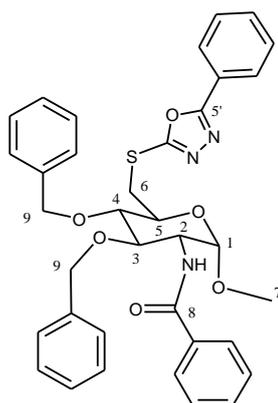


Figura 115 - Espectro no IV de 148.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectrometria de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.10 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 19 e 20. Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.1.14 - 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (149)



Na reação de substituição do grupo tosiloila pelo 5-fenil-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol foi isolado 149 como um sólido branco com faixa de fusão entre 169-170°C.

No espectro na região do infravermelho, foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações N-H em 3290 cm^{-1} , C-H em 3030 cm^{-1} e 2924 cm^{-1} e C=O de amida em 1637 cm^{-1} .

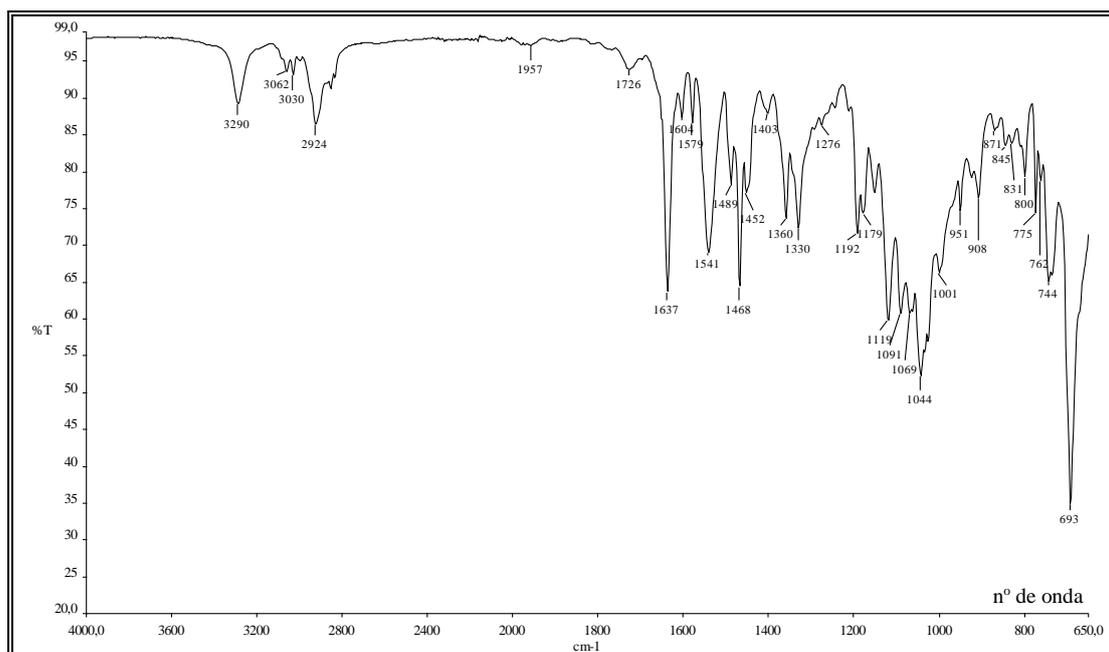
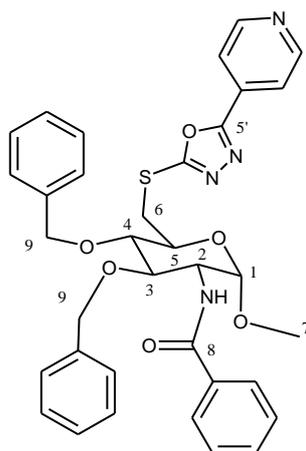


Figura 116 - Espectro no IV de 149.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectrometria de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.10 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 19 e 20. Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.1.15 - 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (150)



Na reação de substituição do grupo tosiloxila pelo 5-piridil-1,3,4-oxadiazol-2-tiol foi isolado 150 como um sólido amarelo com faixa de fusão entre 220-221 °C.

No espectro na região do infravermelho, foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações N-H em 3314 cm^{-1} , C-H em 3031 cm^{-1} e 2932 cm^{-1} e C=O de amida em 1633 cm^{-1} .

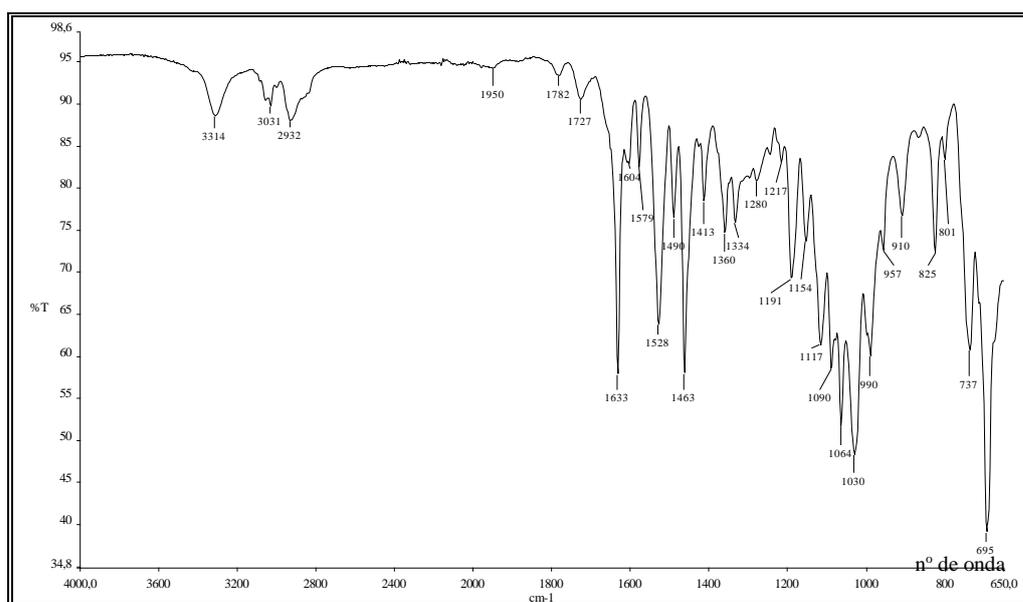


Figura 117 - Espectro no IV de 150.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectrometria de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.10 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 19 e 20. Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

Tabela 19 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

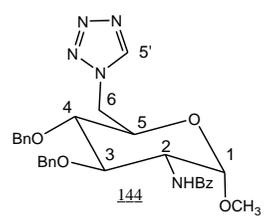
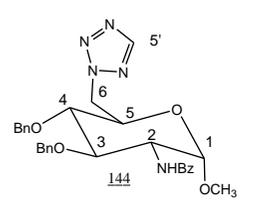
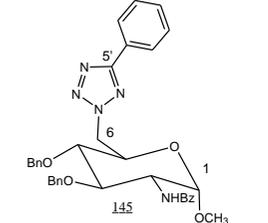
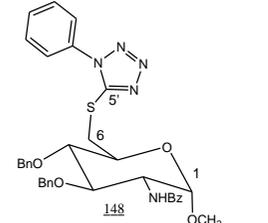
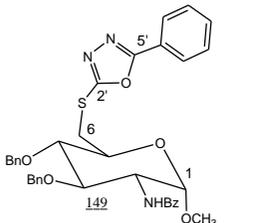
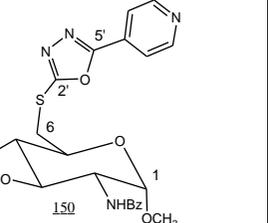
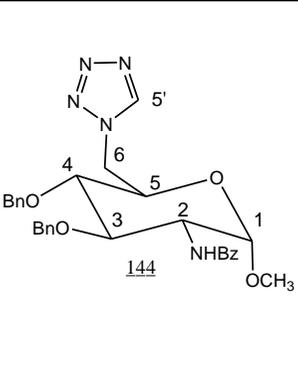
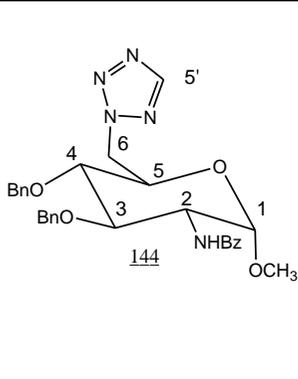
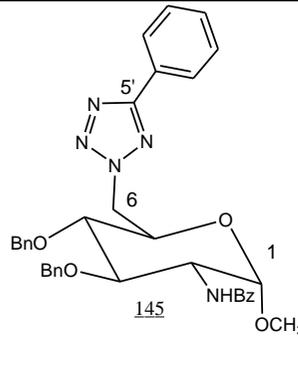
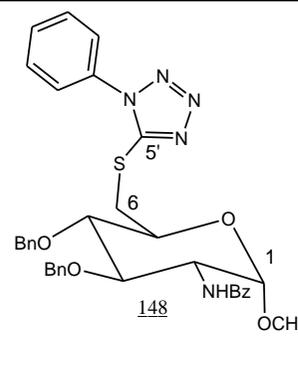
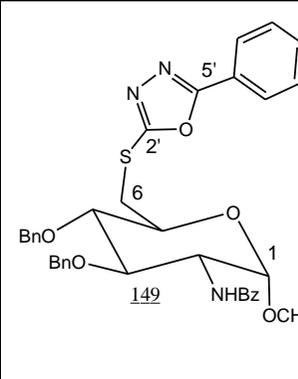
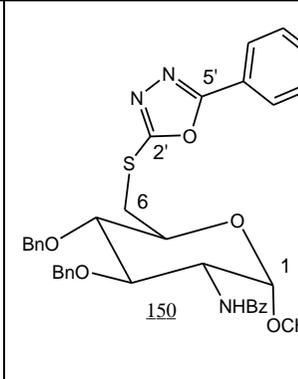
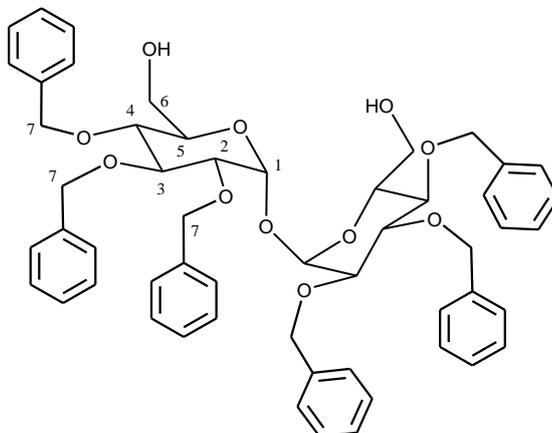
Atrib.																		
	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz
H-1	4,99-4,69	m	-	5,02-4,63	m	-	5,07-4,67	m	-	4,95-4,69	m	-	4,98-4,69	m	-	4,98-4,69	m	-
H-2	4,52-4,37	m	-	4,48	dt	$4,0J_{1-2}$ $10,0J_{2-3}$ $10,0J_{2-NH}$	4,53	dt	$4,0J_{1-2}$ $10,0J_{2-3}$ $10,0J_{2-NH}$	4,49	dt	$4,0J_{1-2}$ $10,0J_{2-3}$ $10,0J_{2-NH}$	4,53	dt	$4,0J_{1-2}$ $10,0J_{2-3}$ $10,0J_{2-NH}$	4,54	dt	$4,0J_{1-2}$ $10,0J_{2-3}$ $10,0J_{2-NH}$
H-3	4,03-3,82	m	-	3,90	t	$10,0 J_{3-4}$	3,94	t	$10,0 J_{3-4}$	4,09-3,81	m	m	3,90-3,81	m	-	3,86-3,82	m	-
H-4	3,38	t	$9,0 J_{3-4}$	3,59	t	$10,0 J_{4-5}$	3,67	t	$10,0 J_{4-5}$	3,67-3,57	m	-	3,62	t	$10,0 J_{3-4}$	3,61	t	$10,0 J_{3-4}$
H-5	4,03-3,82	m	-	4,28	dt	$10,0 J_{5-4}$ $10,0 J_{5-6}$ $4,0 J_{5-6}$	4,37	dt	$10,0 J_{5-4}$ $10,0 J_{5-6}$ $4,0 J_{5-6}$	4,09-3,81	m	-	4,04	dt	$10,0 J_{5-4}$ $10,0 J_{5-6}$ $2,0 J_{5-6}$	3,99	t	$10,0 J_{4-5}$ $10,0 J_{5-6}$
H-6a	4,99-4,69	m	-	5,02-4,63	m	-	5,07-4,67	m	-	4,09-3,81	m	-	3,90-3,81	m	-	3,86-3,82	m	-
H-6b	4,52-4,37	m	-	5,02-4,63	m	-	5,07-4,67	m	-	3,67-3,57	m	-	3,47-3,38	m	-	3,49-3,37	m	-
PhCH ₂	4,99-4,69	m	-	5,02-4,63	m	-	5,07-4,67	m	-	4,95-4,69	m	-	4,98-4,69	m	-	4,98-4,69	m	-
arom	7,65-7,18	m	-	7,66-7,17	m	-	8,20-7,18	m	-	7,66-7,16	m	-	8,03-7,18	m	-	8,80-7,18	m	-
H-5'	8,70	s	-	8,52	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-H	6,10	d	$10,0 J_{NH-2}$	6,16	d	$10,0 J_{NH-2}$	6,14	d	$8,0 J_{NH-2}$	6,07	d	$8,0 J_{NH-2}$	6,12	d	$10,0 J_{NH-2}$	6,14	d	$8,0 J_{NH-2}$
CH ₃	3,10	s	-	3,13	s	-	3,16	s	-	3,32	s	-	3,38	s	-	3,37	s	-

Tabela 20 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

						
Atrib.	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm
C-1	98,7	98,6	98,7	98,8	98,7	98,8
C-2	52,7	52,8	52,8	52,9	53,0	53,0
C-3	79,9	80,5	80,6	80,4	80,9	80,8 ou 80,2
C-4	78,6	79,1	79,3	80,1	80,2	80,8 ou 80,2
C-5	68,9	69,1	69,1	69,4	69,9	69,9
C-6	48,6	53,5	55,3	35,5	34,7	34,7
PhCH ₂	74,9/75,1	75,0/75,2	75,1/75,3	75,2/75,3	75,1/75,3	75,1/75,3
arom	126,9/127,8/128,2/ 128,4/128,5/128,6/ 128,7/131,6/133,8/ 137,3/137,4/	127,1/127,9/128,2/ 128,5/128,6/128,7/ 131,7/134,1/137,6/ 137,8	126,9/127,1/127,4/ 127,9/128,3/128,5/ 128,6/128,7/128,9/ 130,4/131,7/134,2/ 137,7/137,8	123,9/127,1/127,9/ 128,2/128,3/128,6/ 128,7/129,9/130,3/ 131,8/133,6/133,7/ 134,2/137,5/137,9	123,7/126,8/127,2/ 127,9/128,2/128,4/ 128,5/128,7/129,1/ 131,7/134,2/137,6/ 137,9	120,3/127,1/127,9/ 128,2/128,3/128,4/ 128,5/128,6/128,7/ 131,7/134,2/137,6/ 137,9/150,4
C-5'	143,1	152,9	165,2	154,2	164,2 ou 165,9	163,8 ou 166,1
C-2'	-	-	-	-	164,2 ou 165,9	163,8 ou 166,1
C=O	167,1	167,2	167,2	167,3	167,3	167,3
CH ₃	55,3	55,3	53,7	55,41	55,4	55,4

4.2 Substâncias provenientes da rota da trealose

4.2.1 2,3,4-Tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosila (153)



Na reação de destitilação das hidroxilas de C-6 foi obtido 153 como um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações O-H em 3457 cm^{-1} , C-H em 3030 cm^{-1} e 2924 cm^{-1} e C-OH em 1068 cm^{-1} .

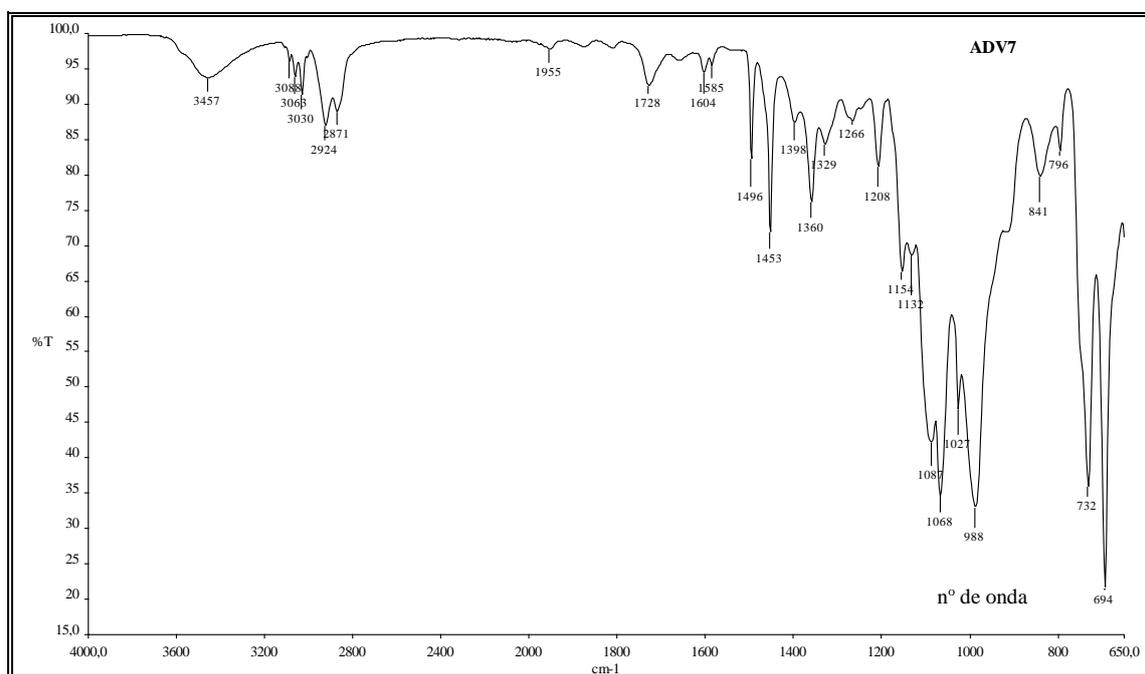


Figura 118 - Espectro no IV de 153.

A confirmação do composto 153 foi feita pela comparação direta dos seus dados de RMN de ^1H e ^{13}C a com aqueles descritos por Gilbertson e colaboradores (1995). Estes dados estão apresentados nas Tabelas 21 (p.92) e 22 (p.92).

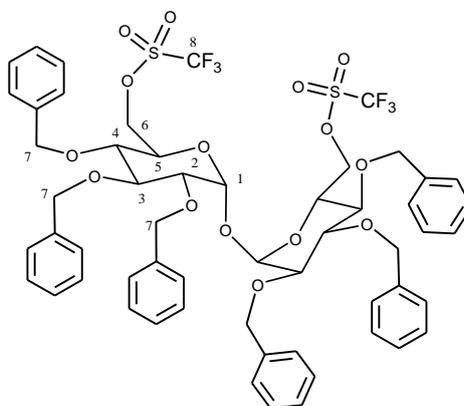
Tabela 21 - Dados do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 153

δ ppm (lit.)	Mult. (lit.)	J Hz (lit.)	Int./Atr.	δ ppm (lit.)	Mult. (lit.)	J Hz (lit)	Int./Atr.
7,31 (7,4-7,3)	sl (m)	-	30/ H_{arom}	4,68 (4,7)	sl (m)	-	6/ H_7
5,13 (5,1)	sl (d)	-	2/ H_1	4,07 (4,05)	sl (m)	-	2/ H_5
4,89 (5,0/4,9)	sl (2 d)	-	6/ H_7	3,57 (3,6)	sl (m)	-	$\text{H}_2, \text{H}_3,$ $\text{H}_4 \text{H}_{6a}$ e H_{6b}

(lit.=literatura; GILBERTSON *et al.*, 1995)Tabela 22 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 153

δ ppm (literatura)	Atr. (literatura)
138,9/138,4/138,2 (138,8/138,2/138,0)	C_{ipso}
128,6/128,2/128,1/127,8/127,7 (128,4/128,3/128,3/128,2/128,1/128,0/127,8/127,6/127,5)	C_{arom}
94,2 (93,9)	C_1
81,8/79,7 (81,6/79,5)	C_2 e C_5
77,6/75,8/75,2 (77,4/75,5/75,0)	C_7
73,2/71,6 (73,0/71,3)	C_3 e C_4
61,7 (61,6)	C_6

4.2.2 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-*O*-trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-*O*-trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosila (156)



Na reação de esterificação das hidroxilas em C-6 foi obtido 156 como um óleo.

No espectro na região do infravermelho, foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3030 cm^{-1} e 2919 cm^{-1} , S=O em 1411 cm^{-1} e C-O em 1206 e 1070 cm^{-1} . Não foram observados os estiramentos referentes as ligações O-H de C-6, o que está de acordo com a proposta de esterificação.

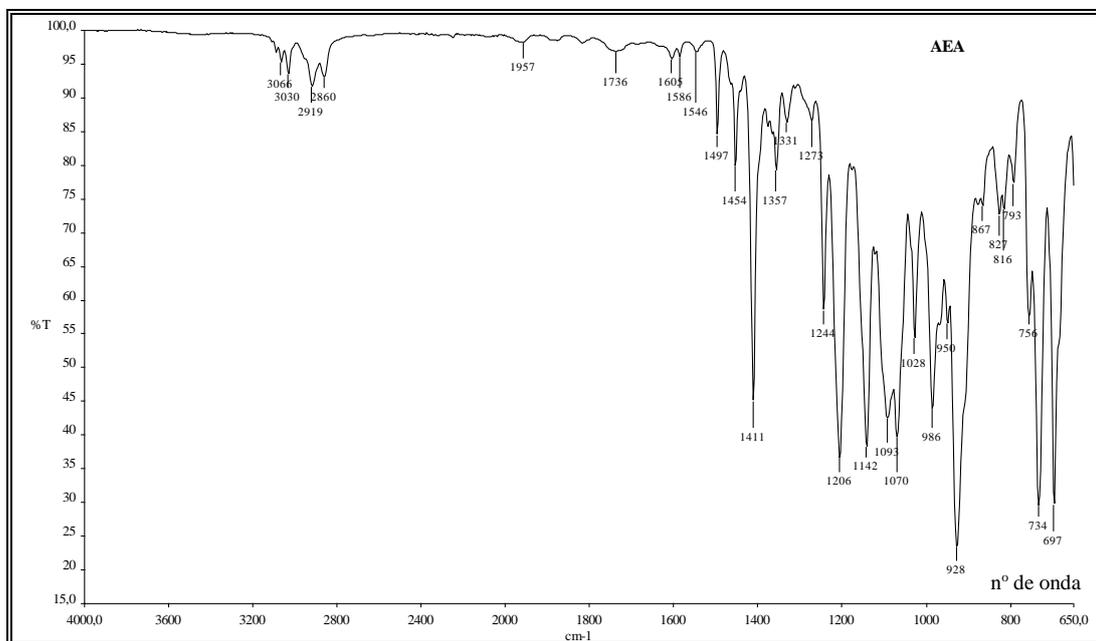


Figura 119 - Espectro no IV de 156.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 120, p. 94), a esterificação das hidroxilas pode ser evidenciada pelo deslocamento dos sinais referentes aos hidrogênios metilênicos H_6 ($\delta = 4,17$) quando comparados àqueles H_6 ($\delta = 3,57$) do material de partida. O que se encontra em acordo com o efeito de desblindagem do grupo sulfônico.

Visando a atribuição dos sinais de hidrogênio, foi utilizado o mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 121, p. 95) tendo como ponto de partida para a atribuição dos sinais referentes a H-2, H-3, H-4 e H-5 os hidrogênios anoméricos e os hidrogênios metilênicos H-6, ambos confirmados pelo mapa de contornos HSQC (Figura 122, p. 96). Além de confirmar os sinais referentes a H-1 e H-6, o mapa de contornos HSQC foi de fundamental importância na atribuição dos sinais dos carbonos 3, 4 e 5.

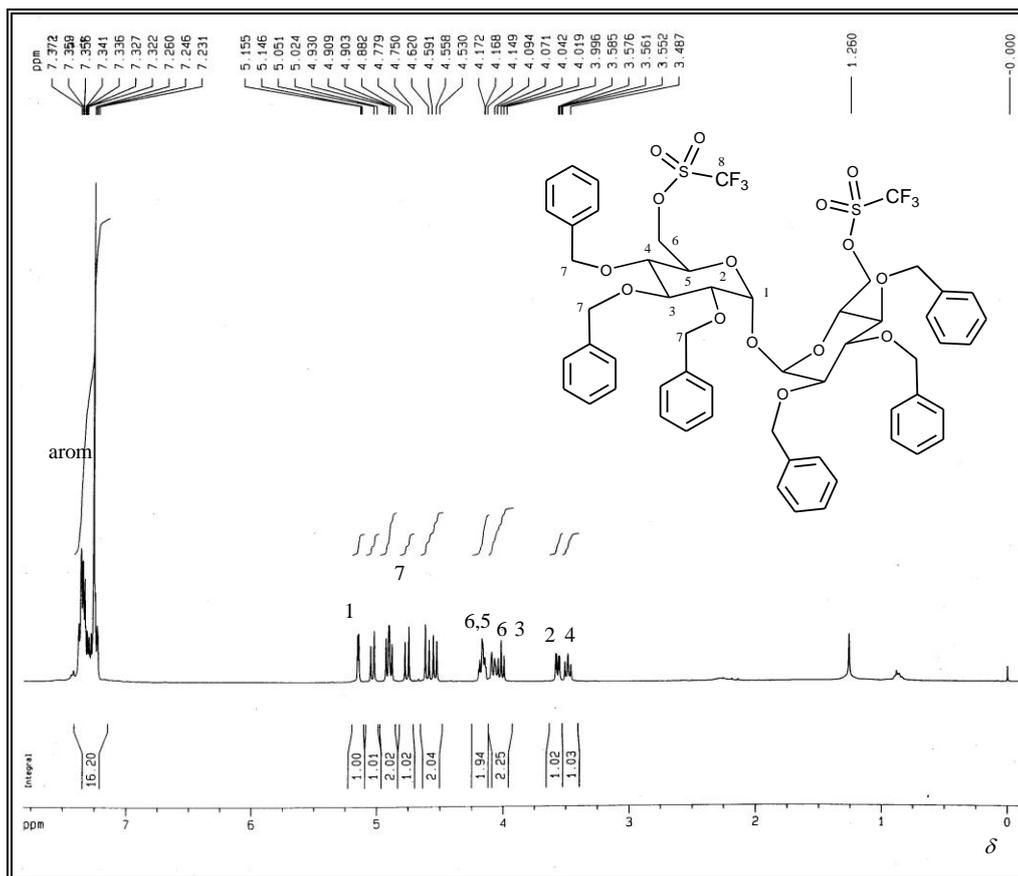


Figura 120 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 156.

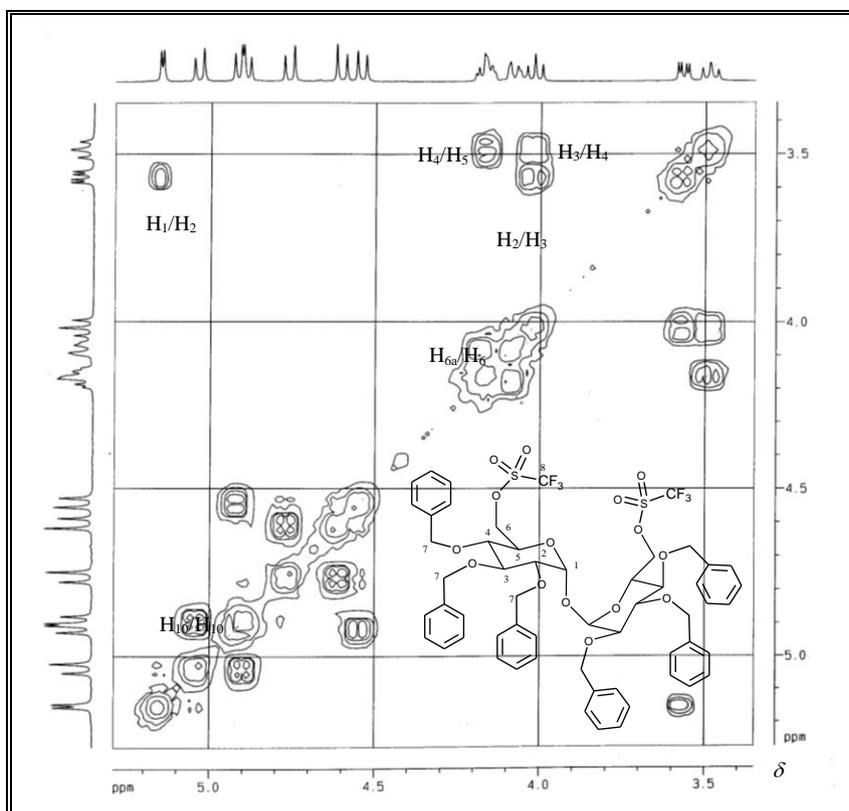


Figura 121 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl_3) de 156.

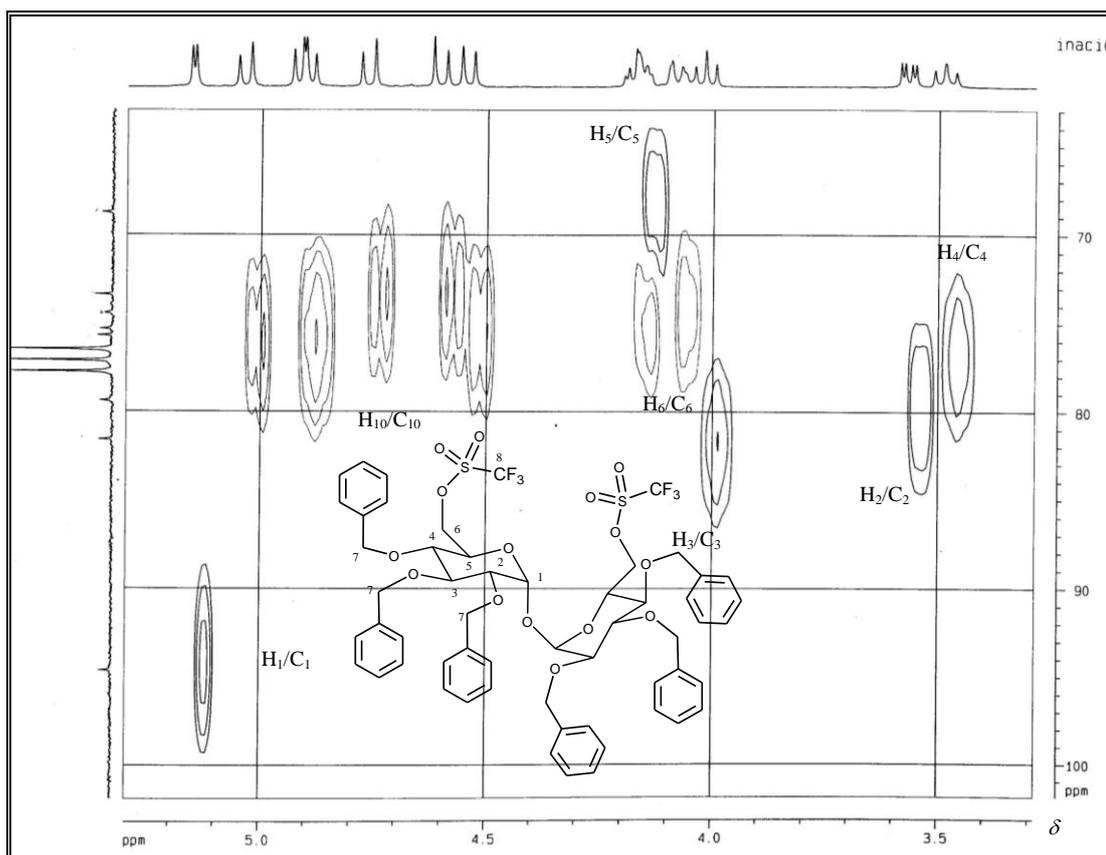


Figura 122 – Mapa de contornos HSQC (400 MHz, CDCl_3) de 156.

Tabela 23 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 156

δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.	δ ppm	Mult.	J Hz	Int./Atr.
7,37-7,23	m	-	30/ H_{arom}	4,54	d	10,9 J_{7-7}	2/ H_7
5,15	d	3,6 J_{1-2}	2/ H_1	4,20-4,14	m	-	4/ H_5 e H_6
5,04	d	11,0 J_{7-7}	2/ H_7	4,07	d	9,2 J_{6-6}	2/ H_6
4,91	d	10,8 J_{7-7}	2/ H_7	4,02	t	9,2 J_{3-4}	2/ H_3
4,89	d	11,0 J_{7-7}	2/ H_7	3,57	dd	9,2 J_{2-3}	2/ H_2
4,76	d	11,8 J_{7-7}	2/ H_7	3,49	t	9,4 J_{4-5}	2/ H_4
4,61	d	11,8 J_{7-7}	2/ H_7				

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 123, p.96), a esterificação pode ser confirmada pela presença do sinal em 118,6 ppm referente a C-8 e pelo deslocamento do sinal referente ao carbono metilênico C-6 ($\delta = 74,4$ ppm) quando comparados àqueles C-6 ($\delta = 61,7$ ppm) do material de partida, o que se encontra em acordo com o efeito de desblindagem do grupo sulfônico.

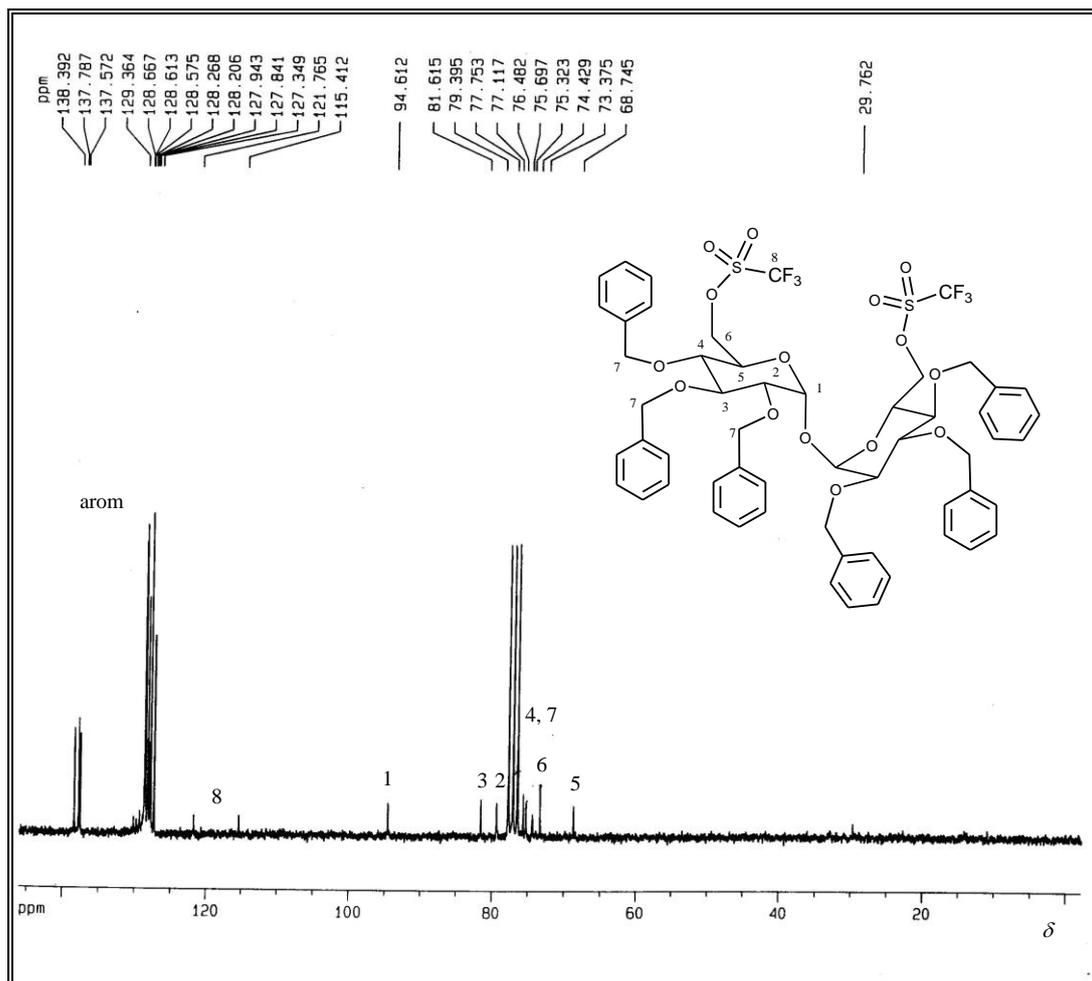
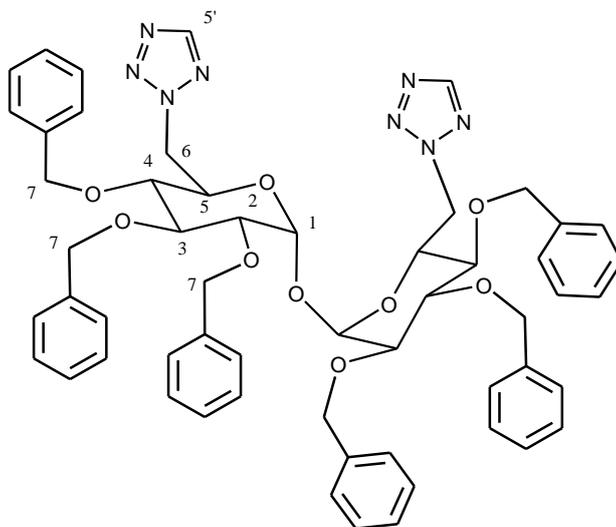

 Figura 123 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 156.

 Tabela 24 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 156

δ ppm	n° s./Atr.	δ ppm	n° s./Atr.
138,4/137,8/137,6	6/ C_{ipso}	77,1	2/ C_4
129,4/128,7/128,6/128,5/128,3/	30/ C_{arom}	75,7/75,3	4/ C_7
128,2/127,9/127,8/127,3			
118,6	2/ C_8	74,4	2/ C_6
	(q J_{C-F} 317,6 Hz)		
94,6	2/ C_1	73,4	2/ C_7
81,6	2/ C_3	68,7	C_5
79,4	2/ C_2		

4.2.3 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (**158**)



Na reação de *N*-alquilação do tetrazol em C-6 foi obtido **158** como produto secundário sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3063 cm^{-1} e 2920 cm^{-1} , e C-O em 1208 e 1066 cm^{-1} . Não foram observados os estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} , o que também se encontra condizente com a proposta de substituição nucleofílica do grupo trifluorometanossulfônico.

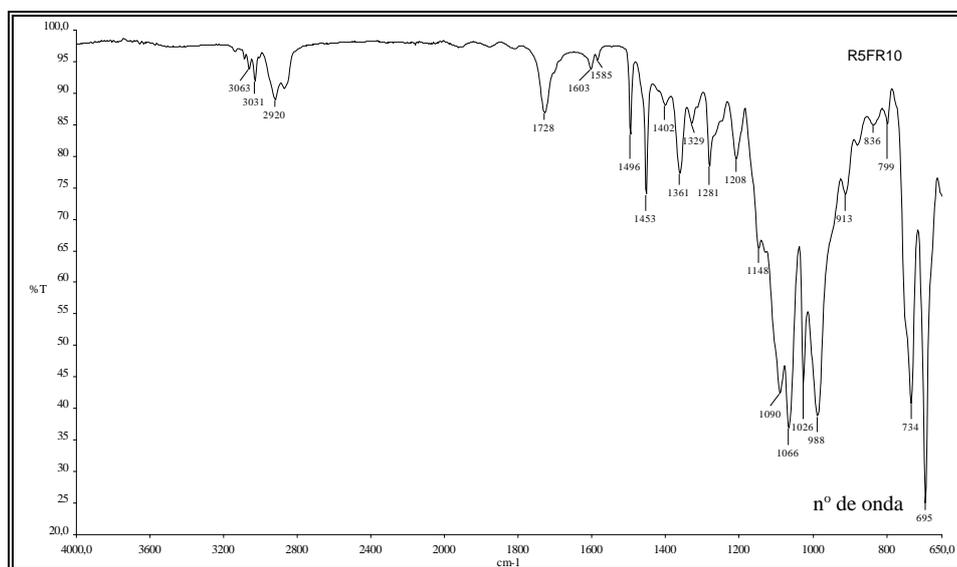


Figura 124 - Espectro no IV de **158**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 125, p. 99), a substituição do grupo trifluorometanossulfônico pode ser evidenciada pela presença do simpleto referente aos hidrogênios H-5'.

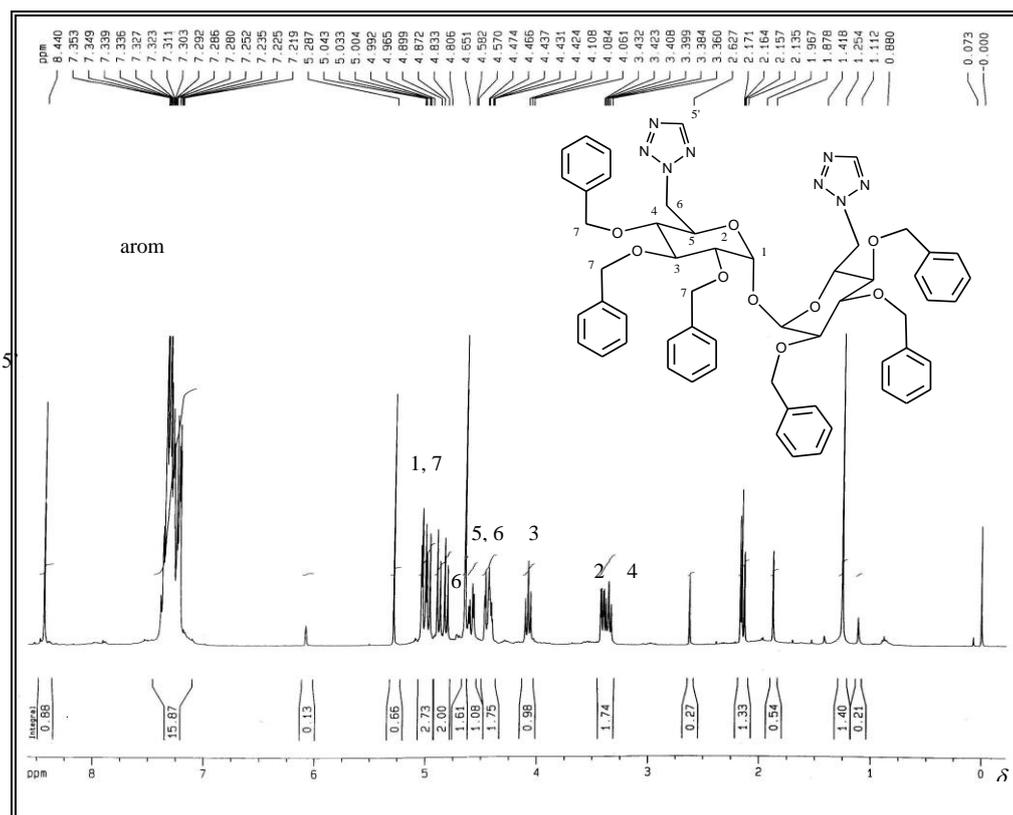


Figura 125 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **158**.

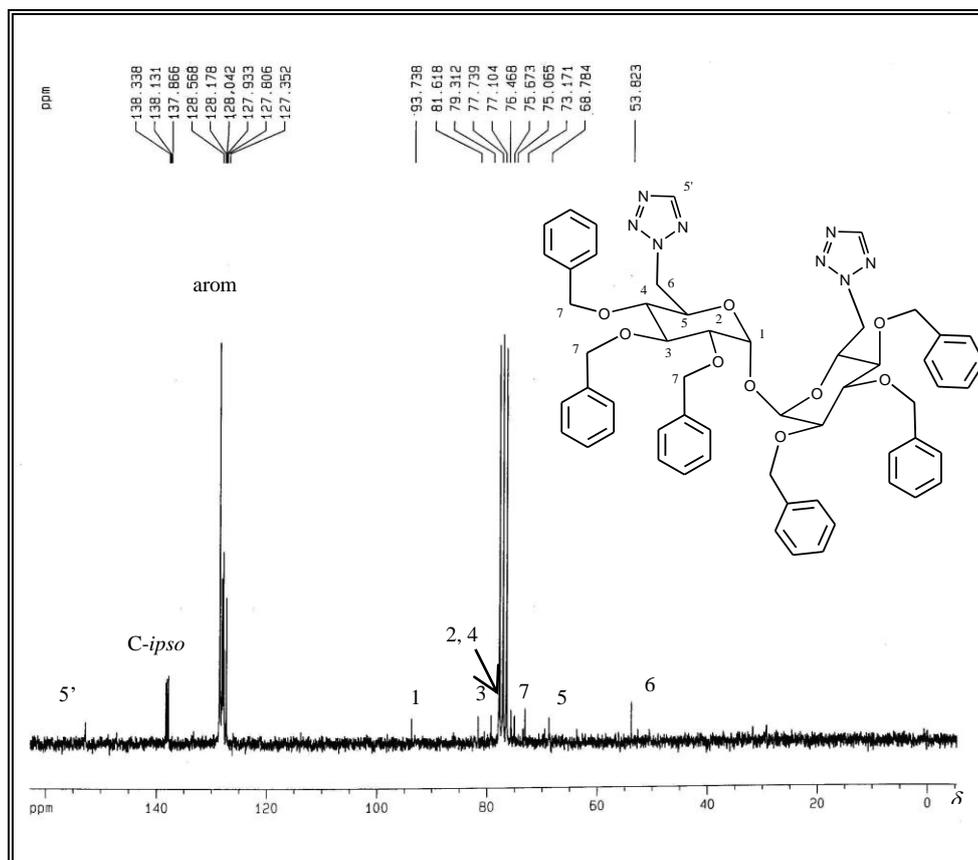


Figura 126 - Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **158**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 126, p. 99), auxiliado pelo subespectro DEPT 135 (Figura 127), pode ser observado o sinal do carbono metilênico C_6 em 53,8 ppm, o que se encontra em acordo com a proposta de *N*-alquilação do 1*H*-tetrazol.

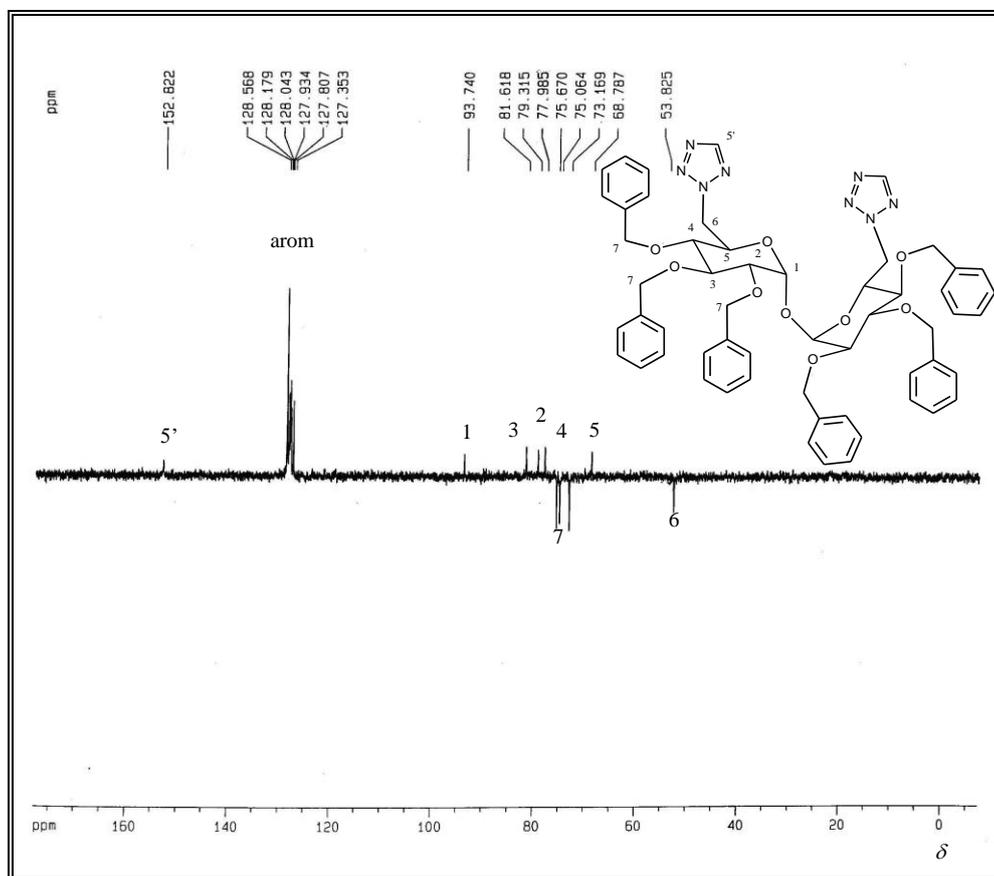


Figura 127 – Subespectro DEPT 135 RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 158.

Visando a atribuição dos sinais de hidrogênio, foi utilizado o mapa de correlação homonuclear COSY (Figura 128, p. 101) tendo como ponto de partida para a atribuição dos sinais de hidrogênidos H-2, H-3, H-4 e H-5 os sinais referentes aos hidrogênios H-1 e os hidrogênios metilênicos H-6, ambos confirmados pelo mapa de contornos HSQC (Figura 129, p. 101). O mapa de contornos HSQC foi de fundamental importância na determinação dos sinais dos carbono 3, 4 e 5.

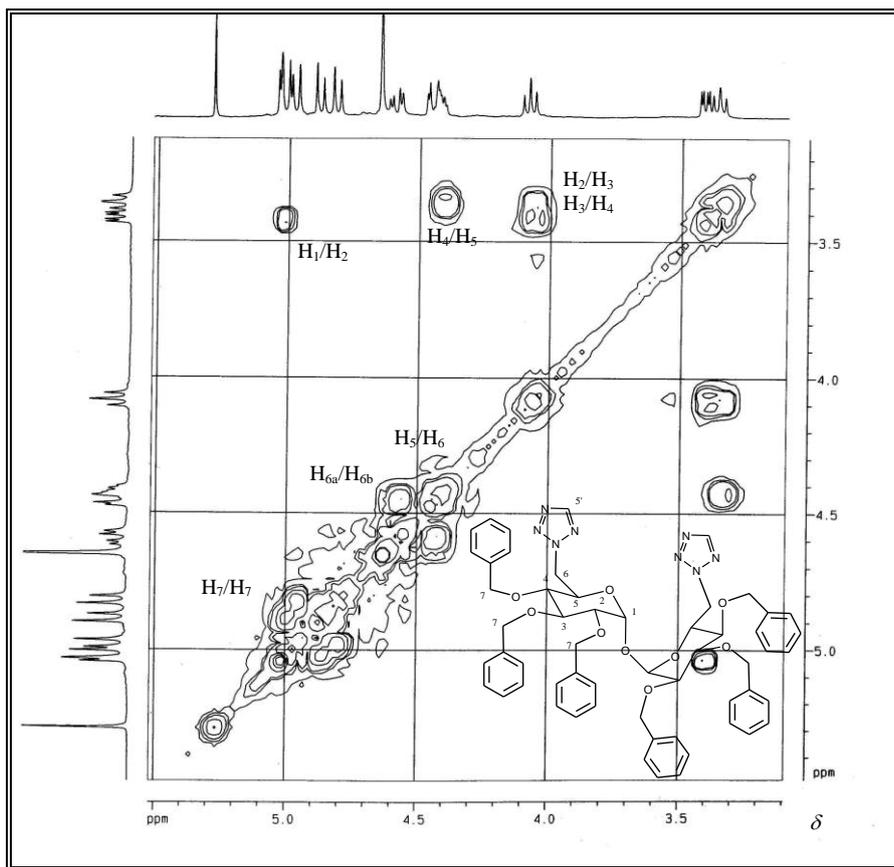


Figura 128 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, CDCl₃) de 158.

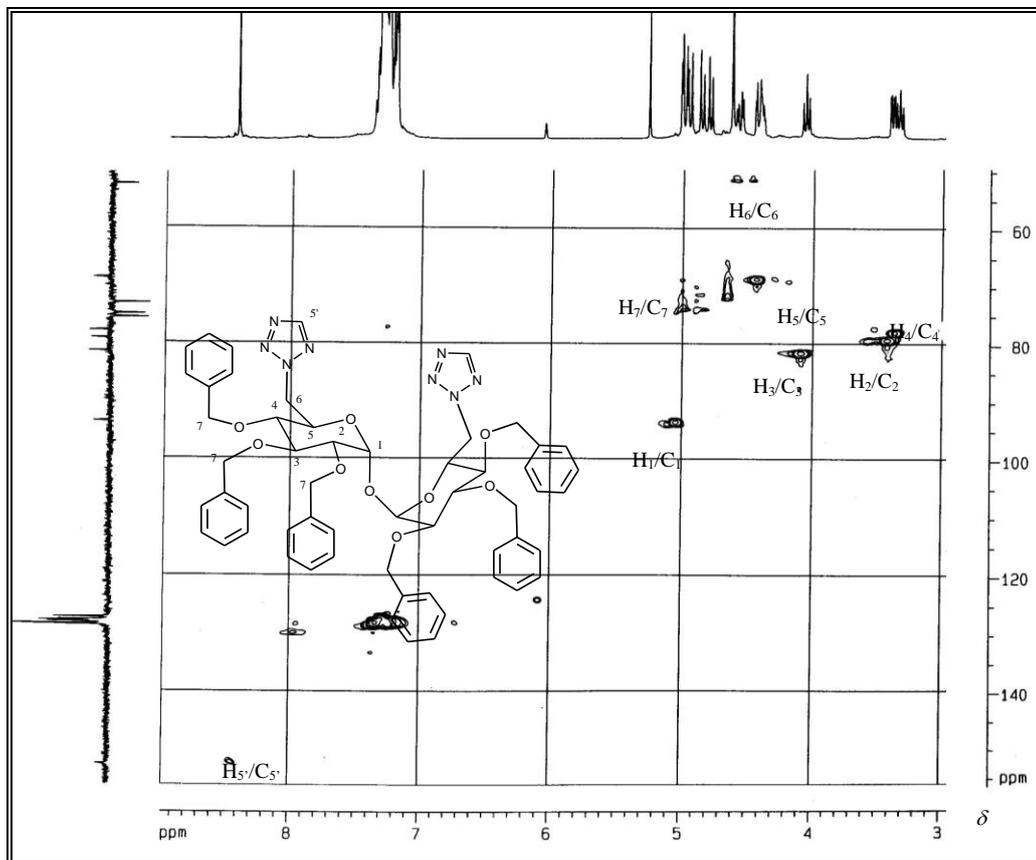
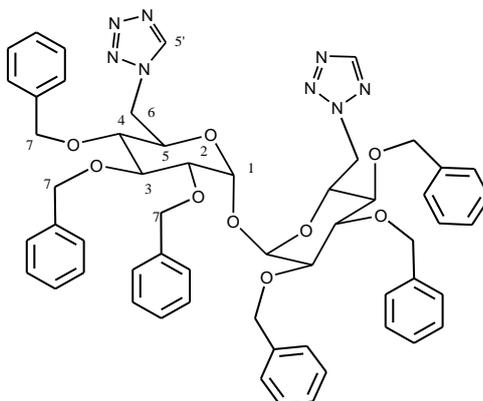


Figura 129 – Mapa de contornos HSQC (400 MHz, CDCl₃) de 158.

4.2.4 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (159)



Na reação de *N*-alquilação do tetrazol em C-6 foi obtido 159 como um produto de substituição assimétrica sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3031 cm^{-1} e 2923 cm^{-1} , e C-O em 1209 e 1066 cm^{-1} . Não foram observadas as bandas referentes aos estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} , o que se encontra em concordância com a proposta de *N*-alquilação.

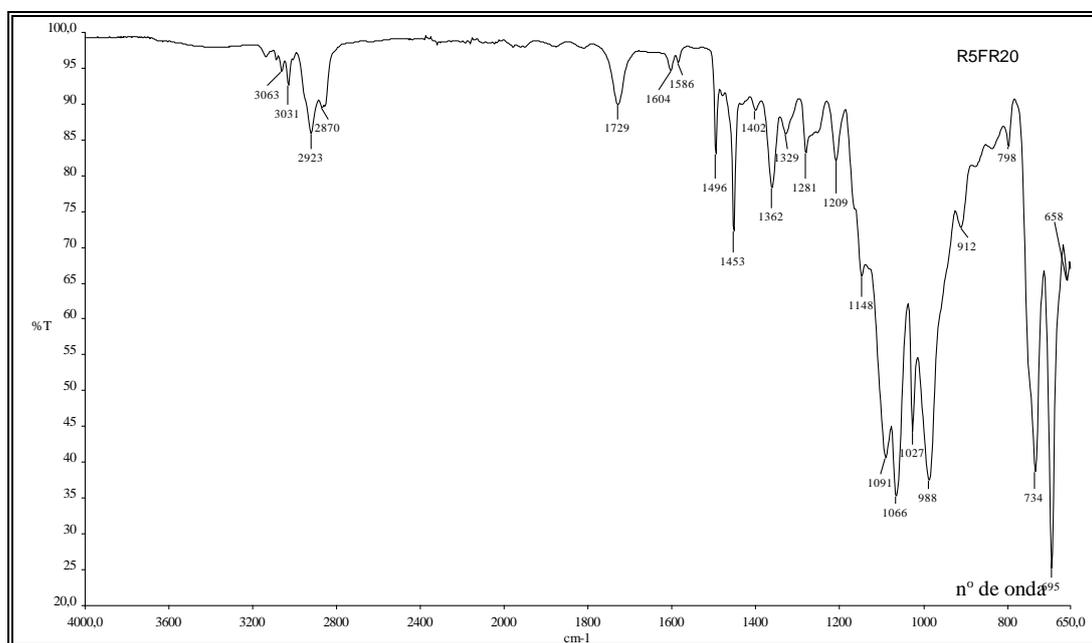
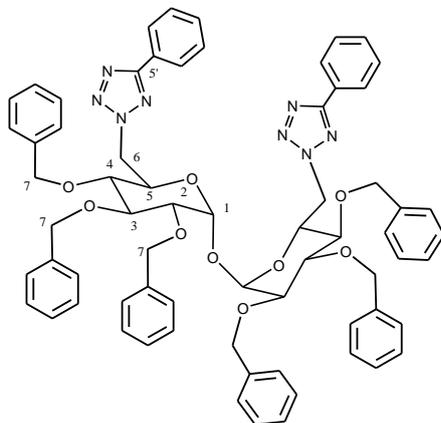


Figura 130 - Espectro no IV de 159.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e

oxadiazóis encontram-se na Tabelas 25 e 27 (p. 109 e 111). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.2.5 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (**160**)



Na reação de *N*-alquilação do 5-feniltetrazol em C-6 foi obtido **160** como produto principal sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foram observadas, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3063 cm^{-1} e 2922 cm^{-1} , e C-O em 1207 e 1067 cm^{-1} . Tal observação é condizente com a proposta de substituição nucleofílica do grupo triflato, pois não foram observados os estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} .

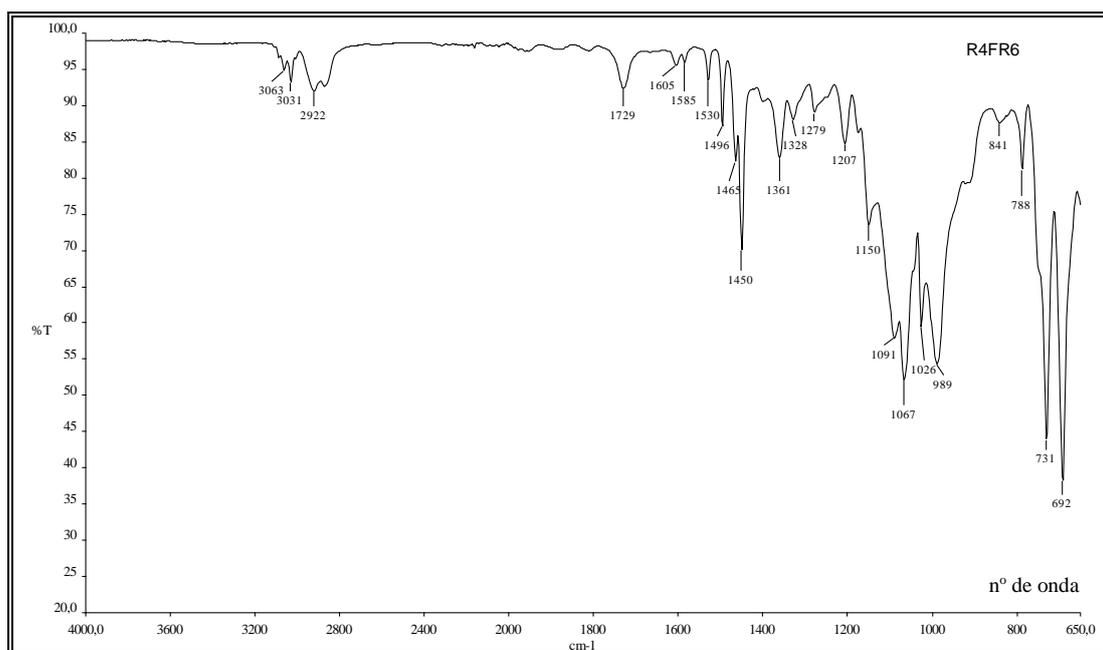
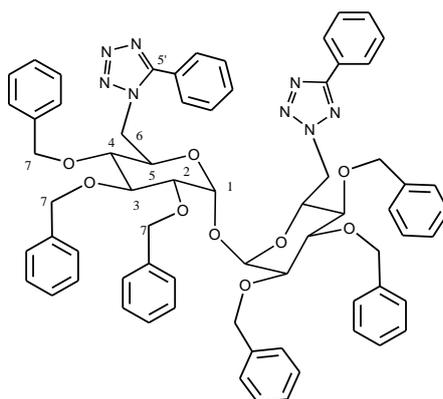


Figura 131 - Espectro no IV de **160**.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 25 e 27 (p. 109 e 111). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.2.6 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (161)



Na reação de *N*-alquilação do 5-feniltetrazol comercial em C-6 foi obtido 161 como um produto secundário sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3031 cm^{-1} e 2923 cm^{-1} , e C-O em 1208 e 1067 cm^{-1} . Também concordância com a proposta de substituição nucleofílica do triflato, não foram observados os estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} .

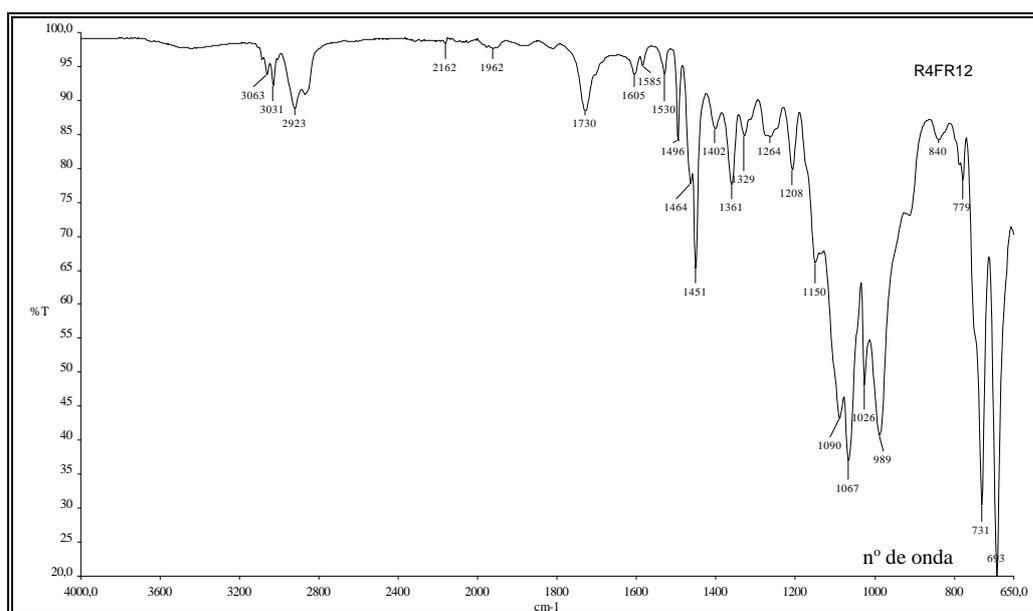
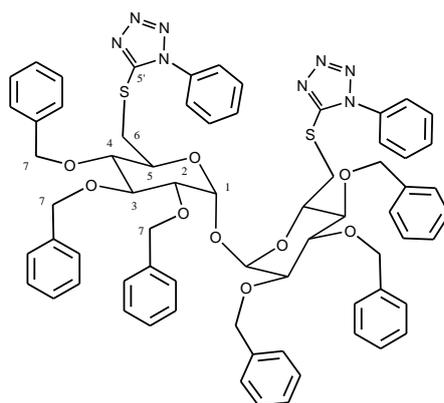


Figura 132 - Espectro no IV de 161.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 25 e 27 (p. 109 e 111). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.2.7 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(1-feniltetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosila (162)



Na reação de *S*-alquilação do 1-feniltetrazol-5-tiol em C-6 foi obtido 162 sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3030 cm^{-1} e 2919 cm^{-1} , e C-O em 1208 e 1063 cm^{-1} . Também em concordância com a proposta de substituição nucleofílica do triflato, não foram observadas as bandas referentes aos estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} .

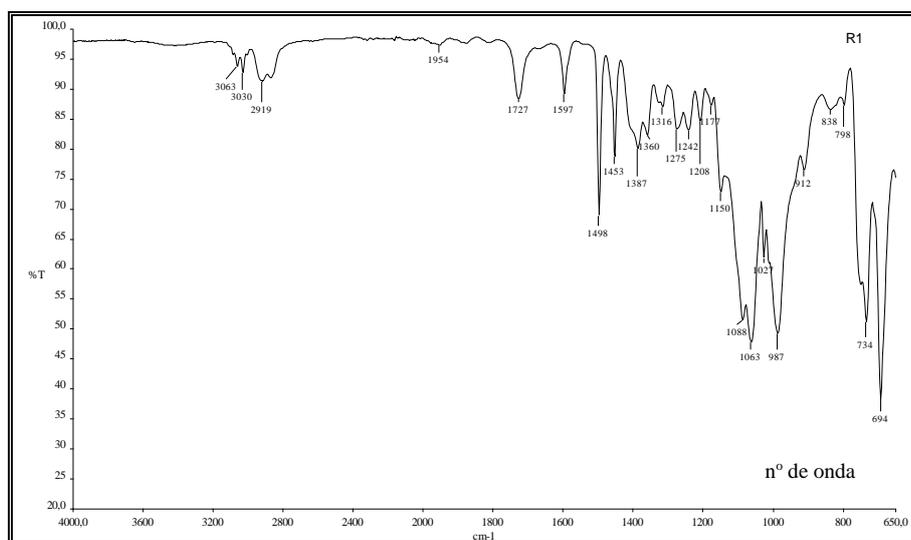
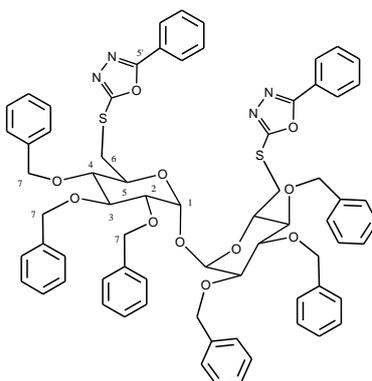


Figura 133 - Espectro no IV de 162.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 26 e 28 (p. 110 e 112). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.2.8 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila (**163**)



Na reação de *S*-alquilação do 5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiol em C-6 foi obtido **163** sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3030 cm^{-1} e 2918 cm^{-1} , e C-O em 1208 e 1063 cm^{-1} . Corroborando com a proposta de substituição nucleofílica do triflato, não foram observados as bandas referentes aos estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} .

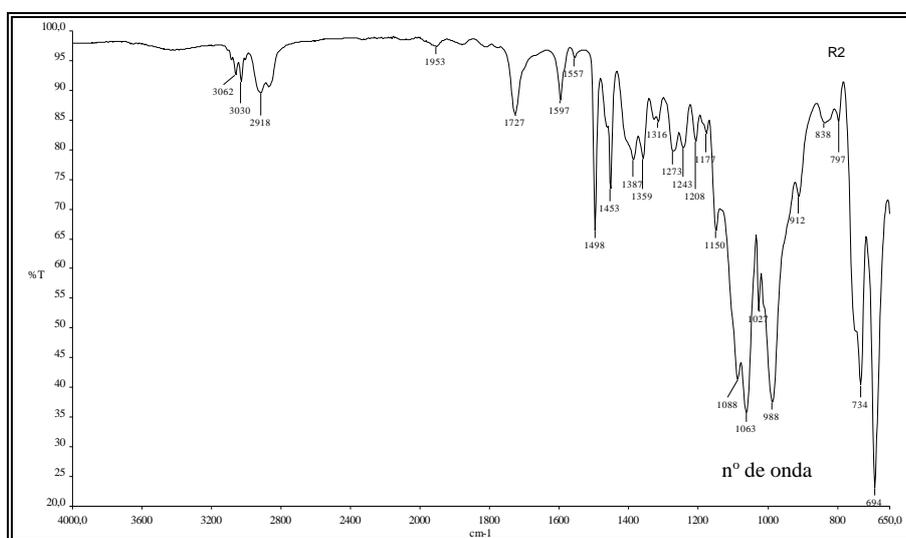
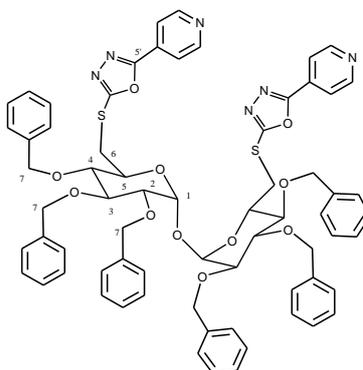


Figura 134 - Espectro no IV de **163**.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se na Tabelas 26 e 28 (p. 110 e 112). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

4.2.9 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila (164)



Na reação de *S*-alquilação do 5-piridinil-1, 3, 4-oxadiazol-2-tiol em C-6 foi obtido 164 sob a forma de um óleo.

No espectro na região do infravermelho foi observado, entre outras bandas, aquelas referentes ao estiramento das ligações C-H em 3030 cm^{-1} e 2925 cm^{-1} , e C-O em 1213 e 1062 cm^{-1} . Em concordância com a proposta de substituição nucleofílica do triflato, não foram observadas as bandas referentes aos estiramentos das ligações S=O em 1411 cm^{-1} .

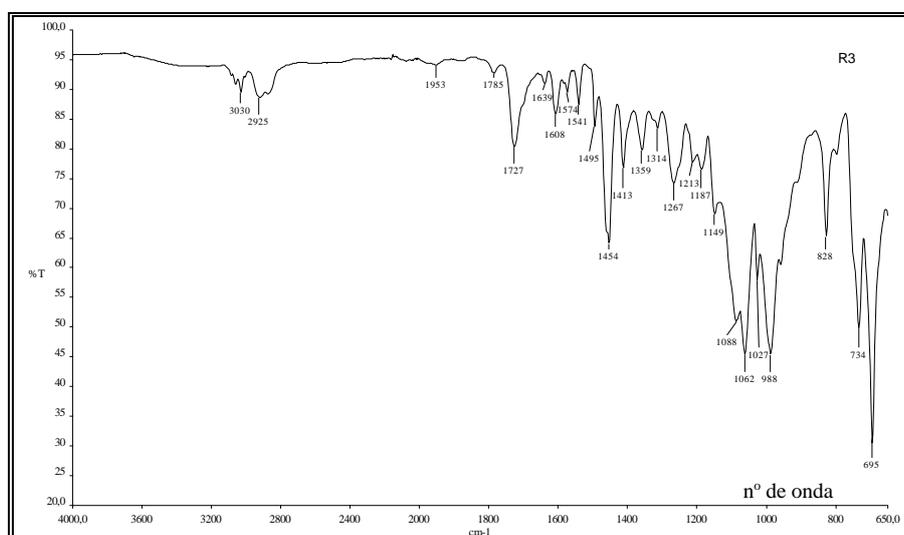


Figura 135 - Espectro no IV de 164.

Os dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear foram interpretados de maneira análoga ao discutido anteriormente no item 4.2.3 e os valores comparativos para os sinais de hidrogênio e carbono entre os tetrazóis e oxadiazóis encontram-se nas Tabelas 26 e 28 (p. 110 e 112). Os espectros correspondentes de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 se encontram no Apêndice (p. 163).

Tabela 25 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

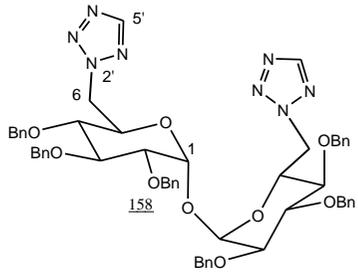
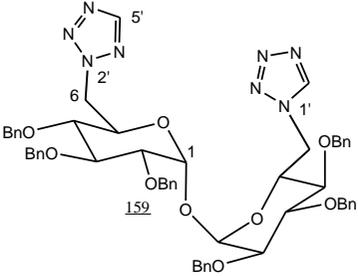
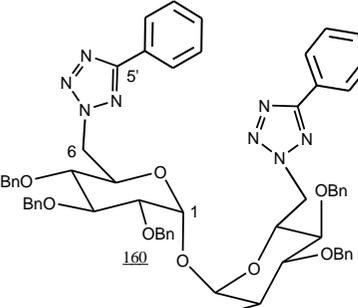
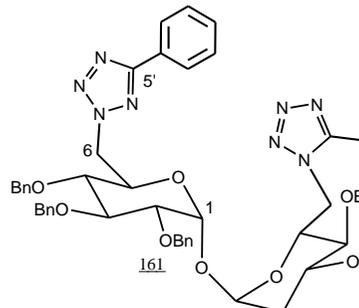
												
Atrib.	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz
H-1	5,04	d	3,9 J_{1-2}	5,06 5,02-4,95	d m	3,6 J_{1-2} -	5,09	d	3,6 J_{1-2}	5,03-4,99	m	-
H-2	3,41	dd	9,2 J_{2-3}	3,41-3,34	m	-	3,47-3,41	m	-	3,46-3,40	m	-
H-3	4,08	t	9,2 J_{2-3}	4,09-4,01	2t	9,3 J_{2-3}	4,10	t	9,2 J_{2-3}	4,11	t	9,2 J_{2-3}
H-4	3,36	t	9,4 J_{3-4}	3,41-3,34 2,98	m t	- 9,8 J_{3-4}	3,47-3,41	m	-	3,61 3,46-3,40	t m	9,8 J_{3-4} -
H-5	4,47-4,40	m	-	4,50 4,24	m d	- 10,0 J_{4-5}	4,69-4,43	m	-	4,69-4,37	m	-
H-6a	4,47-4,40	m	-	4,50-4,40	m	-	4,69-4,43	m	-	4,20	dd	4,8 J_{5-6} 14,6 J_{6-6}
H-6b	4,59	dd	4,9 J_{5-6} 14,4 J_{6-6}	4,74-4,60 3,98-3,93	m dd	- 2,9 J_{5-6} 14,5 J_{6-6}	4,69-4,43	m	-	4,69-4,37 3,99	m dd	- 3,4 J_{5-6} 14,6 J_{6-6}
PhCH ₂	5,02 4,98 4,88 4,82 4,65	d d d d s	11,8 J_{7-7} 10,8 J_{7-7} 10,9 J_{7-7} 10,8 J_{7-7} -	5,02-4,95 4,92-4,84 4,74-4,60 4,50-4,40	m m m m	- - - -	5,01 4,92 4,89 4,69-4,43	d d d m	10,7 J_{7-7} 12,8 J_{7-7} 10,8 J_{7-7} -	5,03-4,99 4,95-4,87 4,69-4,37	m m m	- - -
arom	7,35-7,22	m	-	7,36-7,23	m	-	8,09-7,20	m	-	8,04-7,09	m	-
H-5 (N^2)	8,44	s	-	8,46	s	-	-	-	-	-	-	-
H-5 (N^1)	-	s	-	8,38	s	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 26 - Dados do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

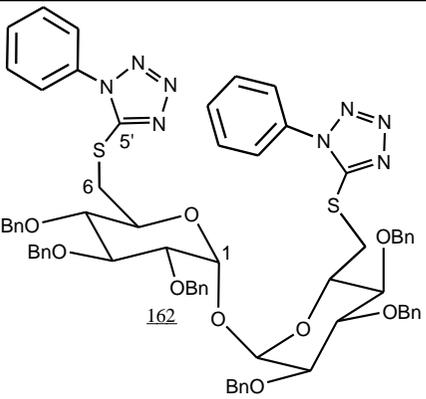
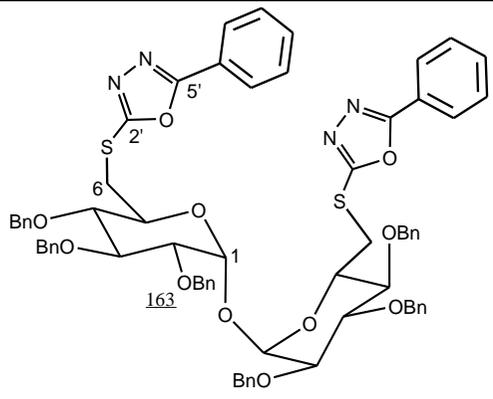
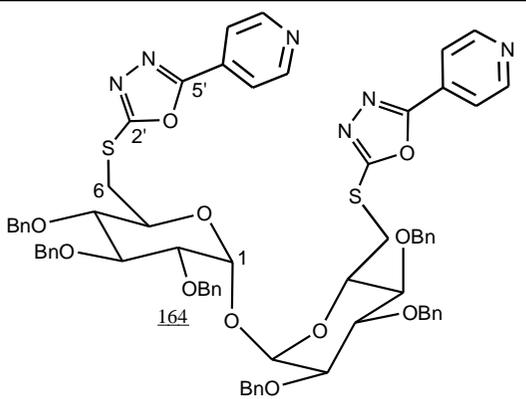
Atrib.									
	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz	δ ppm	M	J Hz
H-1	5,02	d	3,3 J_{1-2}	5,18	d	3,4 J_{1-2}	5,18	d	3,4 J_{1-2}
H-2	3,48-3,41	m	-	3,60	dd	3,4 J_{1-2} 9,3 J_{2-3}	3,60	dd	9,1 J_{2-3}
H-3	4,05	t	9,2 J_{2-3}	4,10	t	9,3 J_{2-3}	4,11	t	9,1 J_{3-4}
H-4	3,48-3,41	m	-	3,55-3,37	m	-	3,45	t	9,7 J_{4-5}
H-5	4,34	dt	9,3 J_{4-5} 5,2 J_{5-6} 9,3 J_{5-6}	4,37	ddd	9,7 J_{4-5} 6,3 J_{5-6} 3,2 J_{5-6}	4,38	ddd	9,7 J_{4-5} 6,4 J_{5-6} 3,2 J_{5-6}
H-6a	3,68-3,57	m	-	3,55-3,37	m	-	3,57	dd	13,1 J_{6a-6b}
H-6b	3,68-3,57	m	-	3,55-3,37	m	-	3,38	ddd	6,4 J_{5-6}
PhCH ₂	4,97	d	10,8 J_{7-7}	4,99	d	10,9 J_{7-7}	4,98	d	10,8 J_{7-7}
	4,88	d	11,0 J_{7-7}	4,92	d	10,9 J_{7-7}	4,94	d	11,0 J_{7-7}
	4,85	d	11,1 J_{7-7}	4,87	d	10,9 J_{7-7}	4,87	d	10,8 J_{7-7}
	4,65-4,57	m	-	4,75	s	-	4,65	d	11,0 J_{7-7}
arom	7,50-7,19	m	-	7,95-7,92	m	-	8,77	d	2,4 J_{o-m}
				7,51-7,17	m	-	7,79	d	2,4 J_{o-m}
							7,34-7,16	m	-

Tabela 27 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

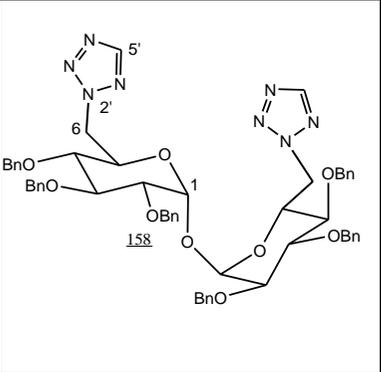
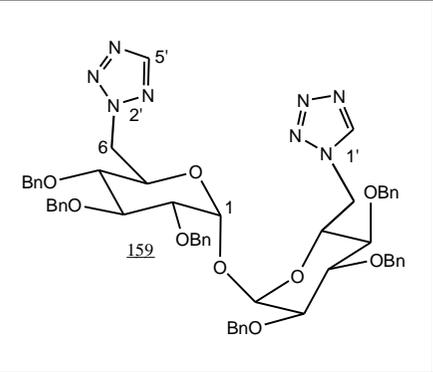
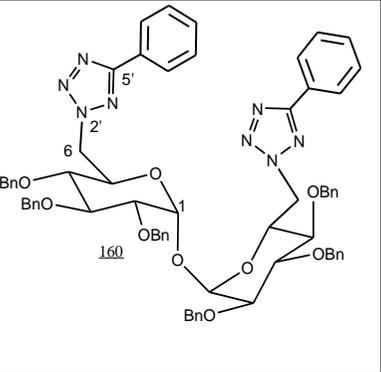
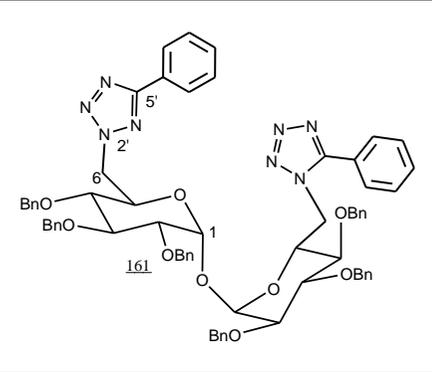
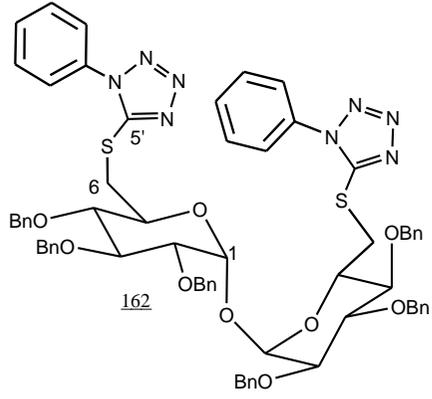
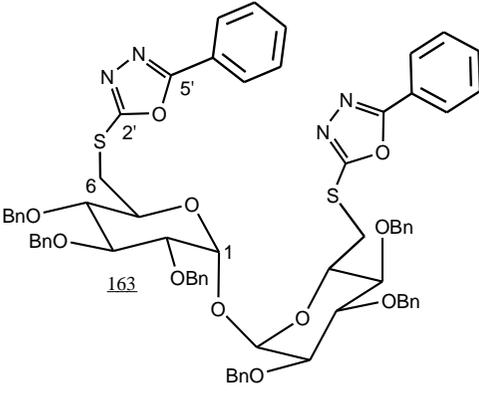
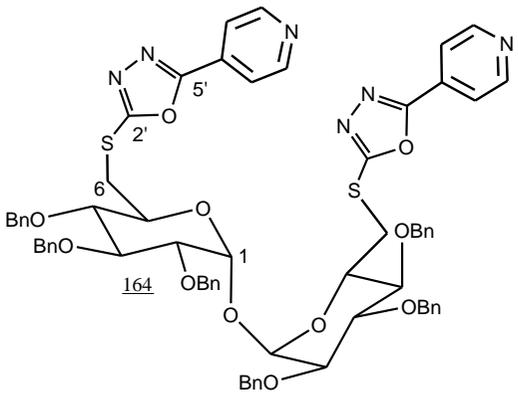
Atrib.	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm
				
C-1	93,9	94,4/94,2	93,8	93,7/93,6
C-2	79,4	79,5	78,2	79,1 ou 77,9
C-3	81,8	81,9/81,5	81,8	81,7/81,6
C-4	78,1	78,1/77,4	79,5	79,1 ou 77,9
C-5	68,9	69,1/68,9	68,9	68,9
C-6	52,7	52,6/47,9	52,9	52,6/46,8
PhCH ₂		75,8/75,8/75,4/75,3/73,6/73,5	75,8/75,3/73,3	75,7/75,5/75,1/73,3/72,9
arom	(138,5/138,3/138,0) <i>ipso</i> 128,7/128,3/128,2/128,1/ 127,9/127,5	(138,4/138,3/138,1/138,0/ 137,9) <i>ipso</i> 128,8/128,7/128,6/128,5/128,4/ 128,3/128,2/128,1/128,0/127,9/ 127,5/127,4	(138,5/138,4/137,9) <i>ipso</i> 130,4/129,0/128,7/128,6/12 8,3/128,2/128,1/127,9/127,5 (127,4) <i>ipso</i>	(138,4/138,3/138,2/138,1/ 137,8/137,7) <i>ipso</i> 131,0/130,4/129,3/128,9/128,7/1 28,6/ 128,5/128,4/128,3/128,2/128,1/1 28,0/ 127,9/127,8/127,6/127,3/127,1/1 26,9 (124,2/124,1) <i>ipso</i>
C-5 (N^1)	-	143,0	-	155,8
C-5 (N^2)	152,9	153,0	165,2	165,0

Tabela 28 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) dos tetrazóis e oxadiazóis

			
Atrib.	δ ppm	δ ppm	δ ppm
C-1	93,5	93,3	93,3
C-2	79,8 ou 79,2	79,4	79,3
C-3	81,4	81,5	81,4
C-4	79,8 ou 79,2	80,0	79,9
C-5	69,5	69,7	69,7
C-6	35,6	34,8	34,7
Ph $\underline{\text{C}}\text{H}_2$	75,7/75,3/73,2	75,7/75,3/73,3	75,7/75,3/73,2
arom	(138,5/137,8/133,7) <i>ipso</i> 130,2/129,9/128,6/128,5/128,4/123,9 (121,3) <i>ipso</i>	(138,6/137,9) <i>ipso</i> 131,7/129,1/128,6/128,5/128,4/ 128,0/127,7/127,4/126,7 (123,7) <i>ipso</i>	150,7 (138,4/137,8) <i>ipso</i> 130,8/128,6/128,5/128,4/128,3/ 127,9/127,8/127,7/127,2/120,1
C-2'	-	164,3 ou 165,8	163,8 ou 165,9
C-5'	154,2	164,3 ou 165,8	163,8 ou 165,9

5 Parte Experimental

5.1 - Materiais e Métodos

As faixas de fusão foram determinadas em aparelho *Mettler FP80HT Central Processor* acoplado ao aparelho *FP82HT Hot Stage* e ao microscópio *Olympus CH-2* e não foram corrigidas.

As leituras de rotação óptica foram feitas em polarímetro Perkin-Elmer 341 e as análises elementares foram realizadas em aparelho Perkin-Elmer 2400 CHN e CHNS.

Os espectros vibracionais na região do IV foram registrados em aparelhos Bomem MB-Series com Transformada de Fourier e Perkin-Elmer Spectrum One SP-IR. Laser com número de onda igual a 15799,7; 32 varreduras de 4000-400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} em pastilhas de KBr.

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C foram registrados em espectrômetros BRUKER *AVANCE DRX/400* e *DPX/200*. Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano.

Para a obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio foram utilizados os seguintes parâmetros: NS=16, DS=2, DE=6,00 μsec , TE=300 K, D1=1,00 sec.

Para a obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze foram utilizados os seguintes parâmetros: NS= (variável de 200 à 1K), DS=4, DE=6,00 μsec , TE=300 K, D1=1,00 sec.

As análises foram realizadas no Departamento de Química da UFMG, com exceção dos espectros vibracionais na região do IV que foram feitos no Departamento de Química da UFJF e no Departamento de Produtos Farmacêuticos da UFMG.

Para CCD foi utilizada sílica gel 60 G Merck sobre lamina de vidro. A espessura da camada de sílica foi de 0,25 mm. Para CCS foi utilizada sílica gel (0,063-200 mm/70-230 mesh ASTM) Merck.

5.1.1 Purificação de solventes e ativação de reagentes

- *N,N*-dimetilformamida anidra (PERRIN *et al.*, 1980)

Em um balão de fundo redondo contendo DMF foi adicionado sulfato de magnésio anidro que ficou sob repouso durante um dia. Em seguida este foi removido por filtração e o sobrenadante foi destilado sob pressão reduzida.

- Metanol anidro (PERRIN *et al.*, 1980)

Em um balão de 1L foram adicionados 100 mL de metanol, 5g de magnésio metálico e 500 mg de iodo. A mistura foi colocada sob agitação magnética e refluxada até descoloração. Em seguida foram adicionados mais 700 mL de metanol à mistura, esta foi refluxada por mais 3 horas e destilada.

- Piridina anidra (PERRIN *et al.*, 1980)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 4 g de hidróxido de potássio em 250 mL de piridina que foi deixada sob repouso durante 2 semanas. Em seguida o sobrenadante foi submetido a uma destilação fracionada e estocado sob atmosfera de nitrogênio.

- Tetra-hidrofurano anidro (PERRIN *et al.*, 1980)

Em um balão de 1L foram adicionados 800 mL de THF e, cuidadosamente, pequenas porções de hidreto de cálcio. A mistura foi refluxada sob agitação magnética por 3 horas e destilada. Em seguida foram adicionados um fio de sódio metálico e acetofenona, a mistura foi refluxada até atingir a coloração azul e redestilada.

- Cloreto de tosila (adaptado de PERRIN *et al.*, 1980)

Em um funil de decantação contendo uma solução de cloreto de tosila em diclorometano foi adicionada uma solução aquosa de hidróxido de sódio 10 % p/v. Após a extração a fração orgânica foi lavada por mais três vezes com solução aquosa de hidróxido de sódio 10 % m/v, secada com sulfato de sódio anidro e destilada completamente em evaporador rotatório.

- Resina Amberlite IRA 120 (CARVALHO, 2001)

Em um béquer foram adicionados 6 g de resina amberlite IRA 120 e 60 mL de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹. Esta mistura foi deixada sob temperatura ambiente e agitação

magnética por 3 h. Em seguida a mistura foi filtrada, a resina foi lavada com água destilada até pH 5,5 e por fim lavada com metanol e secada.

- Trealose anidra (SANTOS, 2007)

Em um balão de fundo redondo contendo 60 mL de etanol anidro foram adicionados 10 g de α,α -trealose di-hidratada. Após 30 minutos de refluxo o etanol foi destilado sob pressão reduzida, sendo obtidos 8,95 g da trealose anidra.

- Observação:

Os demais solventes utilizados (acetato de etila e hexano) foram submetidos à destilação simples, quando se julgou necessário.

5.1.2 Reveladores usados em CCD

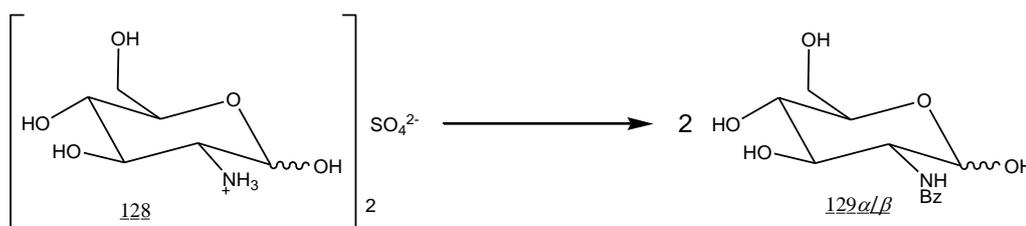
- iodo sublimado (primeira opção)
- ácido sulfúrico/etanol 2:8 v/v seguido de aquecimento em estufa (segunda opção)

5.1.3 Descarte de cianeto de potássio (PERRIN *et al.*, 1980)

À solução aquosa de cianeto de potássio, sob agitação magnética, foi adicionada uma solução aquosa de sulfato ferroso 5%, cloreto férrico 1% e então acidificadas com ácido clorídrico 6 mol L⁻¹.

5.2 - Síntese

5.2.1 Obtenção de 2-benzamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (129 α e 129 β) (adaptado de BADARÓ, 1997)



Em um balão de fundo redondo contendo uma solução aquosa (50 mL) de hidrogenocarbonato de sódio (4,42 g; 52,6 mmol), sob agitação magnética, foi adicionado o sulfato de glicosamina (4,00 g; 8,8 mmol). Após o desprendimento de dióxido de carbono, a solução foi resfriada em banho de gelo. A esta foi adicionada lentamente uma

solução a 0 °C de cloreto de benzoíla (2,1 mL; 17,9 mmol) em acetona (50 mL). O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 7:3 v/v, R_f 0,66). Com o término da reação, após 5 horas, esta foi concentrada em evaporador rotatório conectado a uma bomba de vácuo a temperatura de 25 °C, o precipitado branco formado foi isolado por filtração e lavado com diclorometano. Foram obtidas, com 70 % de rendimento, 3,5 g (12,3 mmol) de uma mistura dos produtos 129 α e 129 β .

FM: C₁₃H₁₇NO₆

MM: 283,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

RMN de ¹H: Tabela 1 (p. 48)

RMN de ¹³C: Tabela 2 (p. 49)

Tabela 29 - Dados do espectro no IV (KBr) de 129 α/β

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3335	O-H _v /N-H _v	1544	N-H _{δ} /C-N _v
3062	C-H _v	1326	O-H _{δ}
2944	C-H _v	1126	C-OH _v
2880	C-H _v	1029	C-OH _v
1635	C=O _v	778/688	C-H _{δ}

5.2.2 Obtenção de 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila (130) (SOUZA FILHO, 1985)



Em um balão de fundo redondo contendo 1,00 g de 2-benzamido-2-desoxi-glicopiranosose (3,5 mmol) foram adicionados 40 mL de metanol anidro e 2,00 g de resina amberlite catiônica IRA 120. A mistura reagente foi deixada sob agitação magnética lenta e temperatura de refluxo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1 v/v, R_f 0,65) e após 48 horas, quando foram consumidos os

materiais de partida (129 α e 129 β), a resina foi filtrada rapidamente a quente e lavada com metanol a 50 °C. O solvente foi destilado em evaporador rotatório e o sólido pardo formado foi lavado com acetona a 0 °C, resultando em 0,62g de um sólido branco 130 α (2,1 mmol) com 60 % de rendimento.

FM: C₁₄H₁₉NO₆

MM: 297,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

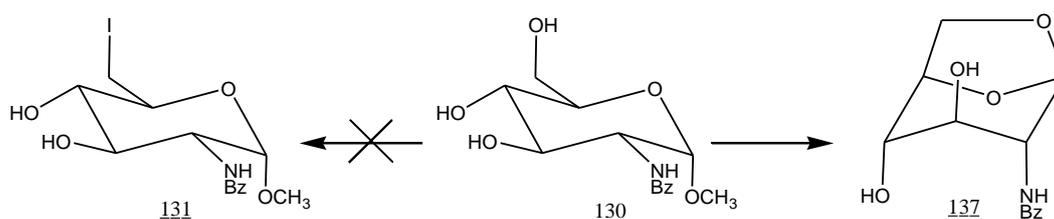
RMN de ¹H: Tabela 3 (p. 51)

RMN de ¹³C: Tabela 4 (p. 53)

Tabela 30 - Dados do espectro no IV (KBr) de 130

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3478	O-H _v	1626	C=O _v
3343	N-H _v	1539	N-H _{δ} / C-N _v
3070	C-H _v	1040	C-OH _v
2910	C-H _v	719	C-H _{δ}

5.2.3 Tentativa de obtenção de 2-benzamido-2,6-di-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (131) e obtenção de 1,6-anidro-2-benzamido-2-desoxi- β -D-glicopiranosose (137) (GAREGG & SAMUELSSON, 1980)



Em um balão de fundo redondo acoplado a um condensador de refluxo, conectado a uma saída para nujol, foram solubilizados 301,2 mg do intermediário 130 (1,0 mmol) em 15 mL de acetonitrila. Sob agitação magnética foram adicionados, vagarosamente, 398,6 mg (1,5 mmol) de trifetilfosfina, 103,5 mg (1,5 mmol) de imidazol e 463,2 mg (1,8 mmol) de iodo. Em seguida a mistura reagente foi deixada sob refluxo. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9,5:0,5 v/v, R_f 0,67). Com o término da reação, após 3 horas, foram adicionados 40 mL de acetato de etila e 40 mL de uma solução saturada de Na₂S₂O₃·5H₂O. A fase aquosa foi separada em funil de decantação e extraída novamente com acetato de etila (3x40mL). As frações orgânicas foram reunidas e destiladas completamente em evaporador rotatório sob temperatura de 25

°C e alto vácuo. O sólido obtido foi submetido a CCS (hexano, com gradual aumento de acetato de etila) fornecendo 70 mg (0,3 mmol) do produto 137 com 30 % de rendimento.

FM: C₁₃H₁₅NO₅

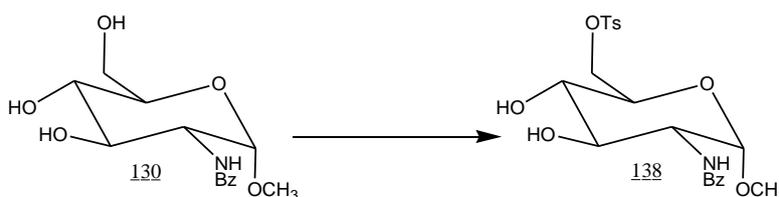
MM: 265,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

RMN de ¹H: Tabelas 5 (p. 54)

RMN de ¹³C: Tabelas 6 (p. 57)

5.2.4 Obtenção de 2-benzamido-2-desoxi-6-*O*-*p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila (138) (PEDROSA, 2003)



Em um balão de fundo redondo contendo uma solução de 675 mg (3,5 mmol) de cloreto de tosila em 3,5 mL de piridina foi adicionada uma solução de 215 mg (0,7 mmol) de 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila (130) em 3,5 mL de piridina. A mistura reagente foi deixada sob agitação magnética e temperatura ambiente. Sua evolução foi acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila, R_f 0,64). Após 3 horas, tendo sido consumido o material de partida, foram adicionados gelo picado e uma solução gelada de ácido clorídrico 3 mol L⁻¹ até pH 1. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação, extraída com diclorometano (4x40 mL). Em seguida foi adicionado sulfato de sódio anidro à fase orgânica e após 15 minutos filtrou-se a solução e a fase orgânica foi destilada. Após CCS (hexano/acetato de etila 1:1 v/v, com aumento gradual de acetato de etila), 138 (248 mg, 0,5 mmol) foi obtido como um sólido branco com 76% de rendimento.

FM: C₂₁H₂₅NO₈S

MM: 451,5 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

Análise elementar:

Calculado C 55,9; H 5,6; N 3,1

Encontrado C 55,5; H 5,5; N 2,8

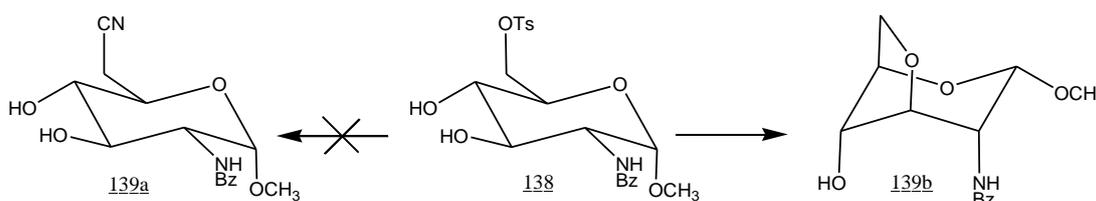
RMN de ¹H: Tabelas 7 (p. 58)

RMN de ¹³C: Tabelas 8 (p. 60)

Tabela 31 - Dados do espectro no IV (KBr) de 138

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3387	O-H _v / N-H _v	1458	CH _{3δ}
2923	C-H _v	1176	S=O _v
2200	⁺ N-H _v	1061	C-OH _v
1639	C=O _v	828	C-H _δ

5.2.5 Tentativa de obtenção de 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicohexapiranosiduronitrila de metila (139a) e obtenção de 3,6-anidro-2-benzamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila (139b) (SUGIHARA *et al.*, 1963; BEHRENS, 1985)



Em um balão de fundo redondo; acoplado em série a um condensador de refluxo, uma saída para nujol e uma solução aquosa de sulfato ferroso 5% e cloreto férrico 1%; foram solubilizados 389 mg (6,0 mmol) de cianeto de potássio em 8 mL de metanol anidro. A esta solução foram adicionados 450 mg (1,0 mmol) do intermediário 138 sob agitação magnética e 40°C. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD (eluente: acetato de etila, R_f 0,40) e após 24 horas, consumido o material de partida, os solventes foram eliminados sob pressão reduzida. Foram adicionados água e diclorometano, a mistura foi transferida para um funil de separação, extraída com diclorometano (3x40 mL). As frações orgânicas foram reunidas e destiladas em evaporador rotatório. Após CCS (hexano/acetato de etila 3:7 v/v, com aumento gradual da proporção de acetato de etila) 182 mg (0,65 mmol) do intermediário 139b foram obtidos com 65 % de rendimento na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₇NO₅

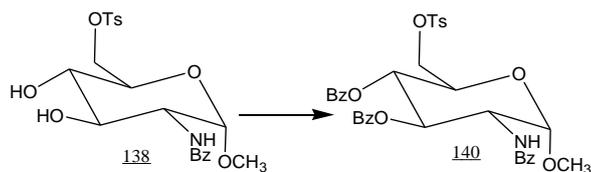
MM: 279,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

RMN de ¹H: Tabela 9 (p. 62)

RMN de ¹³C: Tabela 10 (p. 64)

5.2.6 Obtenção do 2-benzamido-3,4-di-*O*-benzoil-2-desoxi-6-*O*- *p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila (140) (BADARÓ, 1997)



Em um balão de fundo redondo contendo uma solução com 1,1 mL (9,0 mmol) de cloreto de benzoíla em 1,5 mL de piridina foi adicionada uma solução contendo 120 mg (0,3 mmol) de 138 em 1,5 mL de piridina. A mistura reagente foi mantida sob temperatura ambiente e agitação magnética por 30 horas. Sua evolução foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 6:4 v/v, R_f 0,54). Após consumido o material de partida foram adicionados 10 mL de gelo picado e uma solução gelada de ácido clorídrico 3 mol L⁻¹ até pH 1. A mistura reagente foi transferida para um funil de separação e lavada com diclorometano (4x40 mL). As frações orgânicas foram reunidas e destiladas em evaporador rotatório. Após CCS (hexano com aumento gradual de acetato de etila) o intermediário 140 (158 mg, 0,3 mmol) foi obtido com 90% de rendimento na forma de um sólido branco.

FM: C₃₅H₃₃NO₁₀S

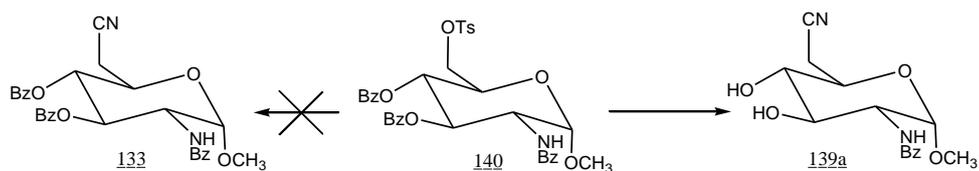
MM: 659,7 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

RMN de ¹H : Tabela 11 (p. 66)

RMN de ¹³C : Tabela 12 (p. 68)

5.2.7 Tentativa de obtenção do 2-benzamido-3,4-di-*O*-benzoil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila (133) e obtenção de 2-benzamido-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosidurononitrila de metila (139a) (SUGIHARA *et al.*, 1963; BEHRENS, 1985)



Em um balão, acoplado em série a uma saída para nujol e uma solução aquosa de sulfato ferroso 5% e cloreto férrico 1%, foram solubilizados 234 mg (3,6 mmol) de cianeto de potássio em 5 mL metanol anidro. A esta solução foram adicionados 350 mg (0,5 mmol) do intermediário 140 em 2 mL DMF. A mistura reagente foi deixada sob agitação magnética a temperatura ambiente por 140 horas. Sua evolução foi acompanhada por CCD

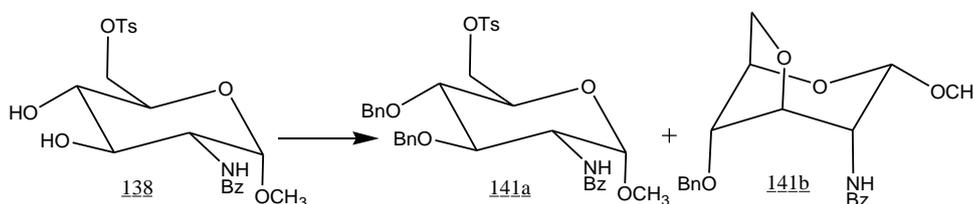
(eluente: hexano/acetato de etila 4:6 v/v, R_f 0,06). Após consumido o material de partida os solventes foram eliminados sob pressão reduzida. Foram adicionados água e diclorometano, a mistura foi transferida para um funil de separação, extraída com diclorometano (3x40 mL), então as frações orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio anidro e destiladas em evaporador rotatório. Após CCS (hexano/acetato de etila 1:9 v/v, com aumento gradual de acetato de etila) foram obtidos 40 mg de uma mistura contendo o intermediário 139a como minoritário.

FM: $C_{15}H_{18}N_2O_5$

MM: $306,3 \text{ g mol}^{-1}$

Aspecto físico: Sólido branco

5.2.8 Obtenção de 2-benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2-desoxi-6-*O*- *p*-toluenossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila (141a) e do subproduto 3,6-anidro-2-benzamido-4-*O*-benzil-2-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila (141b) (PIETRASKIEWICZ & JURCZAK, 1984; CHATTOPADHYAY *et al.*, 1997)



Em um balão foram adicionados 200 mg (0,4 mmol) do intermediário 138 solubilizado em 2,5 mL diclorometano. A esta solução foram adicionados 71 mg (0,2 mmol) de brometo de tetrabutilamônio (TBAB) e 0,6 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 25% m/v. Após 30 min, sob agitação vigorosa, foi adicionado 0,3 mL (2,2 mmol) de brometo de benzila. A reação ocorreu sob agitação magnética vigorosa e temperatura ambiente. Sendo verificado o consumo do material de partida por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 1:1 v/v, R_f 53a 0,53, R_f 53b 0,18) após 72 horas foram adicionados 40 mL de diclorometano e 40 mL água. A mistura foi transferida para um funil de separação, extraída com diclorometano (3x40 mL). As frações orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio anidro e destiladas. Após CCS (hexano com aumento gradual de acetato de etila) 120 mg (0,13 mmol) do intermediário 141a e 60 mg (0,29 mmol) do intermediário 141b foram obtidos como sólidos com 50% e 37 % de rendimentos, respectivamente.

FM 141a: $C_{35}H_{37}NO_8S$

FM 141b: C₂₁H₂₃NO₅

MM 141a: 631,7 g mol⁻¹

MM 141b: 369,4 g mol⁻¹

Aspecto físico 141a: Sólido branco

Aspecto físico 141b: Sólido pastoso

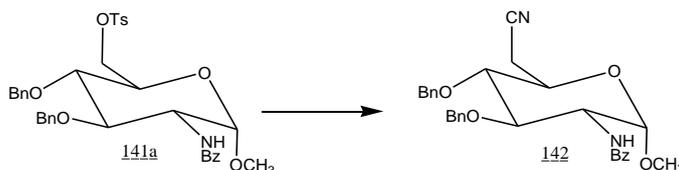
RMN de ¹H 141a: Tabela 13 (p. 71)

RMN de ¹³C 141a: Tabela 14 (p. 73)

RMN de ¹H 141b: Tabela 15 (p. 74)

RMN de ¹³C 141b: Tabela 16 (p. 76)

5.2.9 Obtenção de 2-benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2-desoxi- α -D-glico-heptapiranosiduronitrila de metila (142) (RED III A. L. *et al.*, 1994)



Em um balão, acoplado em série a uma saída para nujol e uma solução aquosa de sulfato ferroso 5% com cloreto férrico 1%, foram adicionados 150 mg (0,2 mmol) do intermediário 141a e 15 mL tetra-hidrofurano. A esta solução foram adicionados, sob agitação magnética vigorosa e temperatura ambiente, 95 mg (0,3 mmol) de éter 18-coroa-6 e 280 mg (3,6 mmol) de cianeto de potássio. Sendo verificado o consumo do material de partida por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 6:4 v/v, R_f 0,50) após 120 horas, a mistura reagente foi destilada em evaporador rotatório. Em seguida, foram adicionados 40 mL de diclorometano e 40 mL de água e a mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com diclorometano (3x40 mL). As frações orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio anidro e destiladas em evaporador rotatório. Após CCS (hexano com aumento gradual de acetato de etila) 60 mg (0,1 mmol) do intermediário 142 foram obtidos sob a forma de um sólido branco com 52 % de rendimento.

FM: C₂₉H₃₀N₂O₅

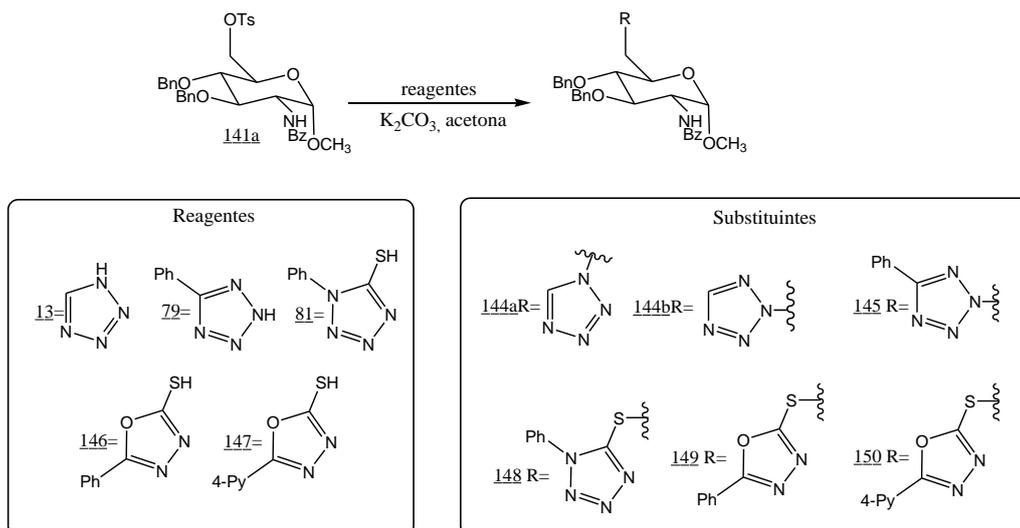
MM: 486,6 g mol⁻¹

Aspecto físico: Sólido branco

RMN de ¹H: Tabela 17 (p. 78)

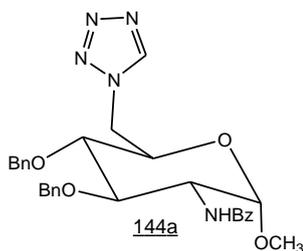
RMN de ¹³C: Tabela 18 (p. 80)

5.2.10 Método Geral para a obtenção dos tetrazóis (144a, 144b, 145 e 148) e 1,3,4-oxadiazóis (149 e 150) alquilados da glicosamina. (PEDROSA, 2003)



Em uma solução de 0,26 mmol de tetrazol (**13**, **79** e **81**) ou oxadiazol (**146** e **147**) em 5 mL de acetona anidra foi adicionado K_2CO_3 (2,62 mmol). Em seguida 0,17 mmol do tosilato **141a** foi adicionado. A mistura reagente foi deixada sob refluxo por uma noite (ou sob radiação de microondas, com tempos diferenciados para cada reação). Sendo verificado a formação do produto por CCD o solvente da reação foi destilado sob pressão reduzida. O resíduo foi diluído com água (30 mL) e lavado com diclorometano (3x30 mL). A fase orgânica foi então concentrada e submetida a CCS (hexano com aumento gradual de acetato de etila).

5.2.10.1 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (144a)



FM: $C_{29}H_{31}N_5O_5$

MM: $529,59 \text{ g mol}^{-1}$

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 10% (180 min sob M.O.)

R_f 0,2 (7:3 Hex:AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} +60,5^\circ$ ($CHCl_3$)

Análise elementar:

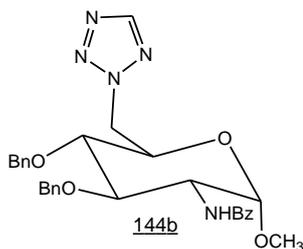
Calculado C 65,77; H 5,90; N 13,22

Encontrado C 65,54; H 5,81; N 13,57

RMN de 1H : Tabela 19 (p. 90)

RMN de ^{13}C : Tabela 20 (p. 91)

5.2.10.2 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (144b)



FM: C₂₉H₃₁N₅O₅

MM: 529,59 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 65% (180 min sob M.O.)

R_f 0,3 (7:3 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +65,6° (CHCl₃)

Análise elementar:

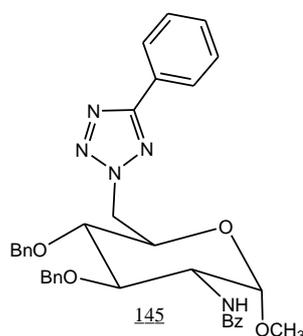
Calculado C 65,77; H 5,90; N 13,22

Encontrado C 65,54; H 5,81; N 13,57

RMN de ¹H: Tabela 19 (p. 90)

RMN de ¹³C: Tabela 20 (p. 91)

5.2.10.3 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de metila (145)



FM: C₃₅H₃₅N₅O₅

MM: 605,68 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 80% (150min sob M.O.)

R_f 0,3 (7:3 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +125,5° (CHCl₃)

Análise elementar:

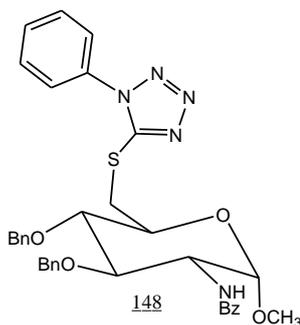
Calculado C 69,41; H 5,82; N 11,56

Encontrado C 69,49; H 5,98; N 11,36

RMN de ¹H: Tabela 19 (p. 90)

RMN de ¹³C: Tabela 20 (p. 91)

5.2.10.4 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(1-fenil-tetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (148)



FM: C₃₅H₃₅N₅O₅S

MM: 637,75 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 76% (180 min sob M.O.)

R_f 0,5 (7:3 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +90,2° (CHCl₃)

Análise elementar:

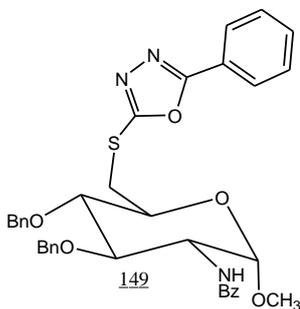
Calculado C 65,92; H 5,53; N 10,98

Encontrado C 66,18; H 5,79; N 10,68

RMN de ¹H: Tabela 19 (p. 90)

RMN de ¹³C: Tabela 20 (p. 91)

5.2.10.5 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (149)



FM: C₃₆H₃₅N₃O₆S

MM: 637,74 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 87% (120 min sob M.O.)

R_f 0,5 (7:3 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +186,0 (CHCl₃)

Análise elementar:

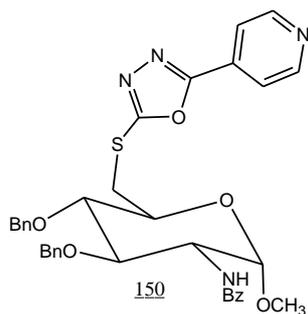
Calculado C 67,80; H 5,53; N 6,59

Encontrado C 67,93; H 5,37; N 6,88

RMN de ¹H: Tabela 19 (p. 90)

RMN de ¹³C: Tabela 20 (p. 91)

5.2.10.6 2-Benzamido-3,4-di-*O*-benzil-2,6-didesoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de metila (150)



FM: C₃₅H₃₄N₄O₆S

MM: 638,73 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido pastoso

Rendimento: 82% (120 min sob M.O.)

R_f 0,3 (7:3 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +73,7 (CHCl₃)

Análise elementar:

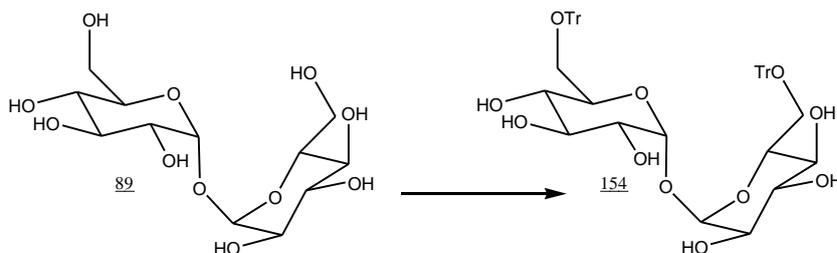
Calculado C 65,81; H 5,37; N 8,77

Encontrado C 65,54; H 5,16; N 8,28

RMN de ¹H: Tabela 19 (p. 90)

RMN de ¹³C: Tabela 20 (p. 91)

5.2.11 Obtenção de 6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosídeo de 6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosila (154) (GILBERTSON, 1995)



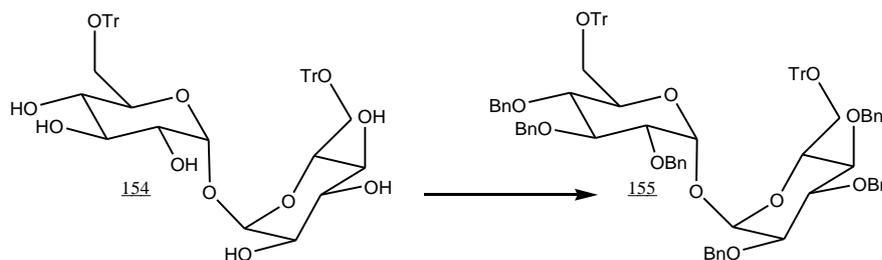
Em um balão contendo 0,5 g de α,α -trealose anidra (1,46 mmol) foram adicionados 10 mL de piridina. A mistura foi submetida à agitação magnética a temperatura ambiente por 30 min até a formação de uma suspensão. A esta suspensão foram adicionados 2,4 g de cloreto de tritila (8,61 mmol) e então aquecida a 40°C por 8 horas sob atmosfera de nitrogênio. Após percebido por CCD (eluente: diclorometano/metanol 6:1 v/v, R_f 0,65) o consumo do material de partida e formação do produto di-tritilado, foram adicionados 5 mL de metanol anidro. A solução foi agitada por mais 30 min e concentrada em evaporador rotatório. Foram obtidos 3,0 g de um sólido amarelado que foi utilizado sem purificação prévia na etapa posterior.

FM: C₅₀H₅₀O₁₁

MM: 826,93 g mol⁻¹

Aspecto físico: sólido palha

5.2.12 Obtenção de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosila (155) (GILBERTSON, 1995)



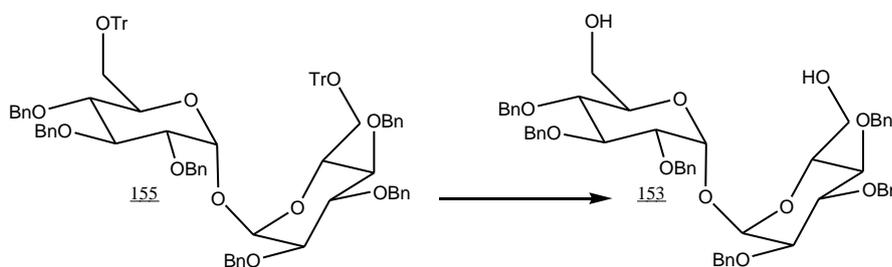
Em um balão sob atmosfera de nitrogênio contendo 3,4 g de hidreto de sódio seco (142,72 mmol) foi adicionada uma solução de 3,0 g de 6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosídeo de 6-*O*-trifenilmetil- α -D-glicopiranosose (sem purificação prévia) em 60 mL de DMF. Após cessado o desprendimento de gás, foram adicionados 0,04 g de brometo de tetrabutilamônio (0,12 mmol) e 8,0 mL de brometo de benzila (67,36 mmol). A mistura reagente foi deixada sob temperatura ambiente e agitação magnética por 72 horas, e sendo observada a formação do produto por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2 v/v, R_f 0,80) foram adicionados 150 mL de água. A solução foi transferida para um funil de separação e lavada com éter etílico (4x80 mL). As frações orgânicas foram reunidas, concentradas em evaporador rotatório e submetidas a etapa posterior sem purificação prévia.

FM: C₉₂H₈₆O₁₁

MM: 1367,66 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo castanho

5.2.13 Obtenção de 2,3,4-tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosila (153) (GILBERTSON, 1995)



Em um balão contendo 3,8 g do produto hexa-benzilado (sem purificação prévia) foram adicionados 25 mL de diclorometano e 25 mL de metanol. A esta solução, foram adicionados 2,62 g de ácido *p*-toluenossulfônico (13,8 mmol) solubilizados em 25 mL de diclorometano e 25 mL de metanol. A mistura reagente foi deixada sob temperatura ambiente e agitação magnética por 12 horas, e sendo observada a formação do produto por CCD (eluente:

hexano/acetato de etila 1:1 v/v, R_f 0,40) foram adicionados 15 mL de trietilamina. A reação foi concentrada em evaporador rotatório e submetida à CCS (hexano/acetato de etila 9:1 v/v com aumento gradual de acetato de etila).

FM: $C_{54}H_{58}O_{11}$

MM: 883,03 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo castanho

Rendimento a partir de 89: 45%

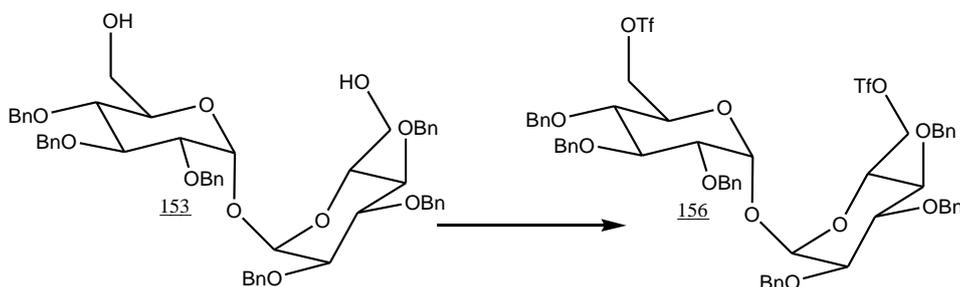
RMN de ¹H: Tabela 21 (p. 93)

RMN de ¹³C: Tabela 22 (p. 93)

Tabela 32 - Dados do espectro no IV de 153

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3457	OH _v	1453	C-H _δ
3030	C-H _v	1266	C-O _v
2924	C-H _v	1208	C-O _v
1728	O-C-O _v	988	C-H _δ

5.2.14 Obtenção de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-*O*-trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-*O*-trifluorometanossulfonil- α -D-glicopiranosila (156) (GILBERTSON, 1995)



Em uma solução de piridina (0,40 mL, 4,9 mmol) em CH₂Cl₂ (12 mL) foi adicionado, gota à gota, anidrido trifílico (1,03 mL, 6,12 mmol). Após 10 min, o banho de gelo foi removido e a solução de 2,3,4-tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil- α -D-glicopiranosose (1,08 g; 1,22 mmol) em CH₂Cl₂ anidro (13 mL) foi adicionada. A solução foi agitada por 2 horas a temperatura ambiente. Sendo observado o consumo do material de partida por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2 v/v, R_f 0,80) foi adicionado água. A mistura foi transferida para um funil de separação, extraída com CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), então as frações orgânicas foram reunidas e concentradas em

evaporador rotatório. Após CCS (hexano com o aumento gradual de acetato de etila) foram obtidos 1,25 g do produto 156 (1,09 mmol, 90%) como um óleo.

FM: C₅₆H₅₆F₆O₁₅S₂

MM: 1147,16 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo amarelo

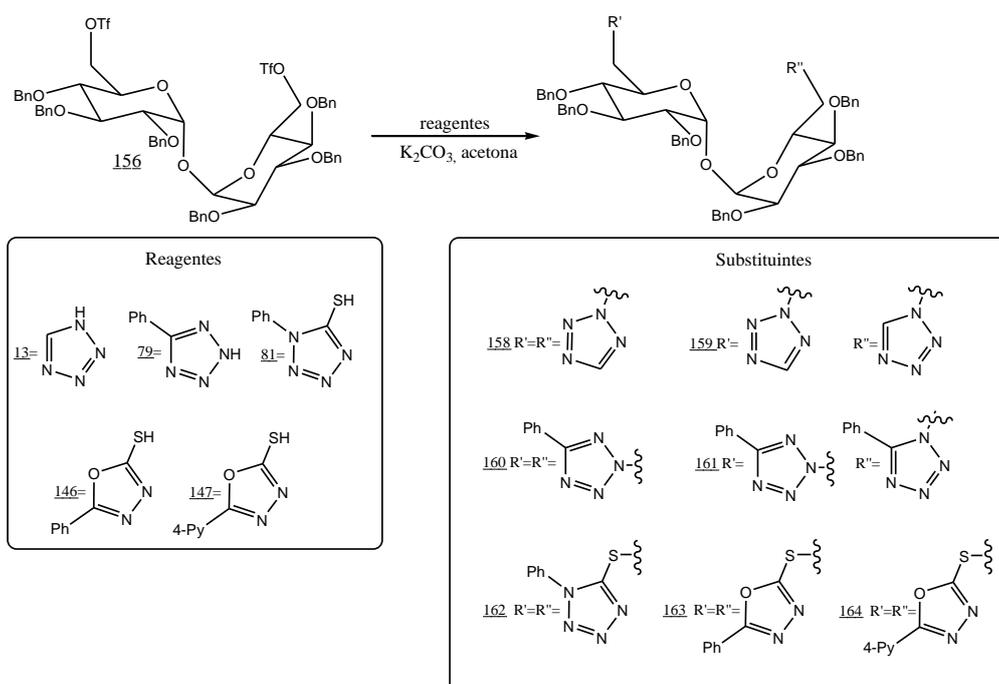
RMN de ¹H: Tabela 23 (p. 96)

RMN de ¹³C: Tabela 24 (p. 96)

Tabela 33 - Dados do espectro no IV de 156

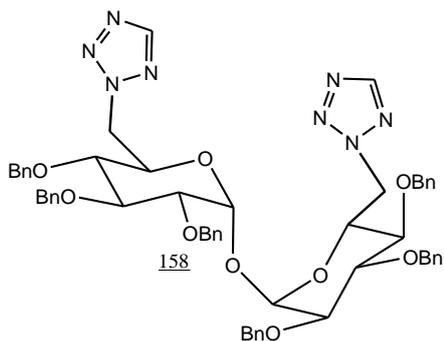
$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3066	C-H _v	1244	C-O _v
3030	C-H _v	1206	C-O _v
2919	C-H _v	1142	S=O _v
2860	C-H _v	1070	C-O-C _v
1411	S=O _v	986	C-H _δ
1357	C-F _v	928	C-H _δ

5.2.15 Método Geral para a obtenção dos tetrazóis (158, 159, 160, 161 e 162) e 1,3,4-oxadiazóis (163 e 164) alquilados da trealose: (PEDROSA, 2003)



Em uma solução de 0,52 mmol de tetrazol (13, 79, e 81) ou oxadiazol (146 e 147) em 7 mL de acetona anidra foi adicionado K_2CO_3 (5,23 mmol). Em seguida 0,17 mmol do triflato 156 foram adicionados. A mistura reagente foi deixada sob agitação magnética por uma noite. Sendo verificado a formação do produto por CCD, o solvente da reação foi destilado sob pressão reduzida. O resíduo foi diluído com água (30 mL) e lavado com diclorometano (3x30 mL). A fase orgânica foi então concentrada e submetida a CCS (hexano com aumento gradual de acetato de etila).

5.2.15.1 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (158)



FM: $C_{56}H_{58}N_8O_9$

MM: $987,11 \text{ g mol}^{-1}$

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 25%

R_f 0,60 (1:1 Hex:AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} +110$ (c 0,9; $CHCl_3$)

Análise elementar:

Calculado C 68,14; H 5,92; N 11,35

Encontrado C 67,92; H 5,59; N 11,14

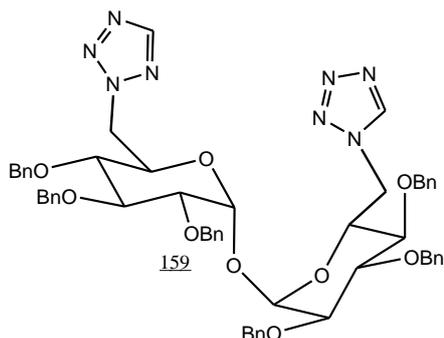
RMN de 1H : Tabela 25 (p. 109)

RMN de ^{13}C : Tabela 27 (p. 111)

Tabela 34 - Dados do espectro no IV de 158

$\bar{\nu} \text{ cm}^{-1}$	Ligações Químicas	$\bar{\nu} \text{ cm}^{-1}$	Ligações Químicas
3031	C-H ν	1361	=C-H δ
2920	C-H ν	1281	C-O ν
1728	O-C-O ν	1066	C-O-C ν
1453	N=N ν	988	=C-H δ

5.2.15.2 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(tetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (159)



FM: C₅₆H₅₈N₈O₉

MM: 987,11 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 43%

R_f 0,10 (1:1 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +73 (c 0,7; CHCl₃)

Análise elementar:

Calculado C 68,14; H 5,92; N 11,35

Encontrado C 67,97; H 5,63; N 11,21

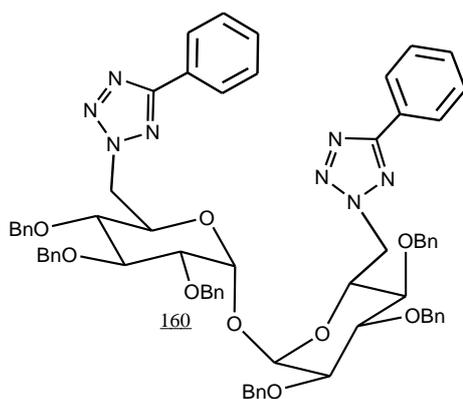
RMN de ¹H: Tabela 25 (p. 109)

RMN de ¹³C: Tabela 27 (p. 111)

Tabela 35 - Dados do espectro no IV de 159

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3031	C-H _v	1362	=C-H _δ
2923	C-H _v	1281	C-O _v
1729	O-C-O _v	1066	C-O-C _v
1453	N=N _v	988	=C-H _δ

5.2.15.3 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (160)



FM: C₆₈H₆₆N₈O₉

MM: 1139,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 58%

R_f 0,4 (4:2 Hex:AcOEt)

[α]_D²⁰ +107 (c 1,05; CHCl₃)

Análise elementar:

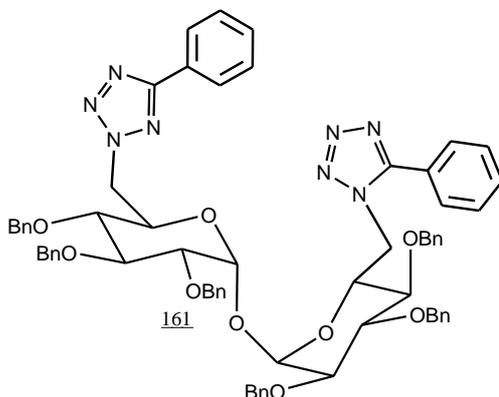
Calculado C 71,69; H 5,84; N 9,84

Encontrado C 71,02; H 5,84; N 9,84

Tabela 36 - Dados do espectro no IV de 160

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3031	C-H _v	1361	=C-H _δ
2922	C-H _v	1207	C-O _v
1729	O-C-O _v	1067	C-O-C _v
1450	N=N _v	989	=C-H _δ

5.2.15.4 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-1-il)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-feniltetrazol-2-il)- α -D-glicopiranosila (161)

FM: C₆₈H₆₆N₈O₉MM: 1139,3 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 23%

*R*_f 0,13 (4:1 Hex:AcOEt)[α]_D²⁰ +114 (c 0,8; CHCl₃)

Análise elementar:

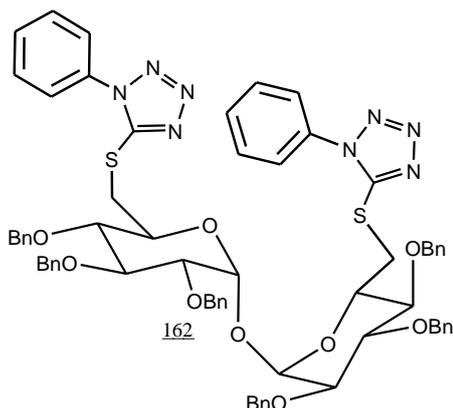
Calculado C 71,69; H 5,84; N 9,84

Encontrado C 72,19; H 5,24; N 9,71

RMN de ¹H: Tabela 25 (p. 109)RMN de ¹³C: Tabela 27 (p. 111)Tabela 37 - Dados do espectro no IV de 161

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3031	C-H _v	1361	=C-H _δ
2923	C-H _v	1208	C-O _v
1730	O-C-O _v	1067	C-O-C _v
1451	N=N _v	989	=C-H _δ

5.2.15.5 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(1-fenil-tetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(1-fenil-tetrazol-5-tiolil)- α -D-glicopiranosila (162)



FM: C₆₈H₆₆N₈O₉S₂

MM: 1203,43 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 76%

R_f 0,14 (4:1 Hex:AcOEt)

$[\alpha]_D^{20}$ +59 (c 0,6; CHCl₃)

Análise elementar:

Calculado C 67,87; H 5,53; N 9,31

Encontrado C 67,85; H 5,56; N 9,40

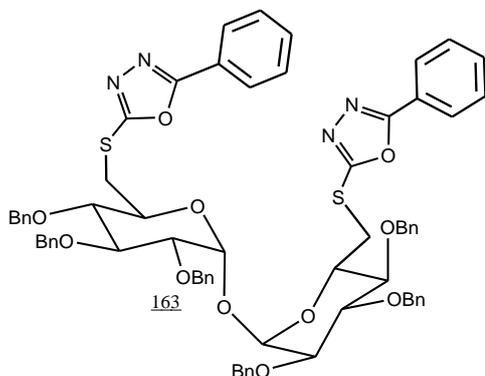
RMN de ¹H: Tabela 26 (p. 110)

RMN de ¹³C: Tabela 28 (p. 112)

Tabela 38 - Dados do espectro no IV de 162

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Ligações Químicas
3030	C-H _v	1359	=C-H _δ
1727	O-C-O _v	1275	C-O _v
1598	C=N _v	1208	C-O _v
1453	N=N _v	1063	C-O-C _v
1387	=C-H _δ	988	C-H _δ

5.2.15.6 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila (163)



FM: C₇₀H₆₆N₄O₁₁S₂

MM: 1203,42 g mol⁻¹

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 77%

R_f 0,21 (4:1 Hex:AcOEt)

$[\alpha]_D^{20}$ +86 (c 1,25; CHCl₃)

Análise elementar:

Calculado C 69,86; H 5,53; N 4,66

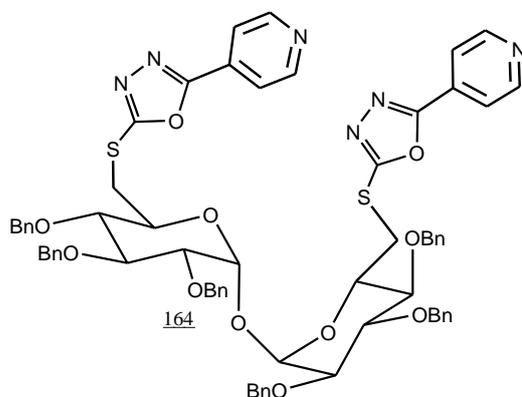
Encontrado C 69,30; H 5,41; N 4,65

RMN de ¹H: Tabela 26 (p. 110)

Tabela 39 - Dados do espectro no IV de 163

$\bar{\nu}$ cm^{-1}	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm^{-1}	Ligações Químicas
3030	C-H ν	1387	=C-H δ
2918	C-H ν	1273	C-O ν
1727	O-C-O ν	1243	C-O ν
1597	C=N ν	1063	C-O-C ν
1453	N=N ν	988	C-H δ

5.2.15.7 2,3,4-Tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosídeo de 2,3,4-tri-*O*-benzil-6-desoxi-6-(5-piridin-4-il-1,3,4-oxadiazol-2-tiolil)- α -D-glicopiranosila (164)


 FM: $\text{C}_{68}\text{H}_{64}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{S}_2$

 MM: $1205,4 \text{ g mol}^{-1}$

Aspecto físico: óleo

Rendimento: 76%

 R_f 0,43 (1:1 Hex:AcOEt)

 $[\alpha]_D^{20} +80$ (c 1,65; CHCl_3)

Análise elementar:

Calculado C 67,76; H 5,35; N 6,97

Encontrado C 67,16; H 4,81; N 6,41

 RMN de ^1H : Tabela 26 (p. 110)

 RMN de ^{13}C : Tabela 28 (p. 112)

 Tabela 40 - Dados do espectro no IV de 164

$\bar{\nu}$ cm^{-1}	Ligações Químicas	$\bar{\nu}$ cm^{-1}	Ligações Químicas
3030	C-H ν	1413	=C-H δ
2925	C-H ν	1267	C-O ν
1727	O-C-O ν	1062	C-O ν
1608	C=N ν	988	C-O-C
1454	N=N ν	828	C-H δ

6 Ensaio Biológicos

Compostos heterocíclicos constituem um grande número de agroquímicos biologicamente ativos bem como a maioria dos princípios que compoem o atual arsenal farmacêutico. Dentre os heterociclos estão os tetrazóis e oxadiazóis com conhecida atividade anticancerígena. Estes compostos têm sido reconhecidos por sua capacidade em induzir apoptose e causar a inibição de crescimento de células cancerígenas e células cancerígenas resistentes (MARTINS *et al.*, 2015).

Outros compostos que têm ganhado importância na terapia do câncer são os sacarídeos. Durante o processo de desenvolvimento tumoral, as alterações no crescimento celular, bem como a migração celular e a imunidade antitumoral podem ser correlacionadas com uma variedade de mecanismos de glicosilação na superfície celular (PIERRE *et al.*, 2014). As células tumorais exibem uma ampla gama de alterações na glicosilação, em comparação com células homólogas não transformadas (MARCHIORI *et al.*, 2015). Portanto, para uma compreensão completa de quais fatores ocorrem durante os estágios iniciais e tardios das doenças neoplásicas, é essencial levar em consideração a identificação e expressão de proteínas correlacionadas a carboidratos.

Deste modo, a avaliação da citotoxicidade e do mecanismo de ação de novos derivados tetrazólicos e oxadiazólicos de carboidratos (Figura 136) torna-se importante para aprimorar o entendimento e o desenvolvimento de fármacos antitumorais.

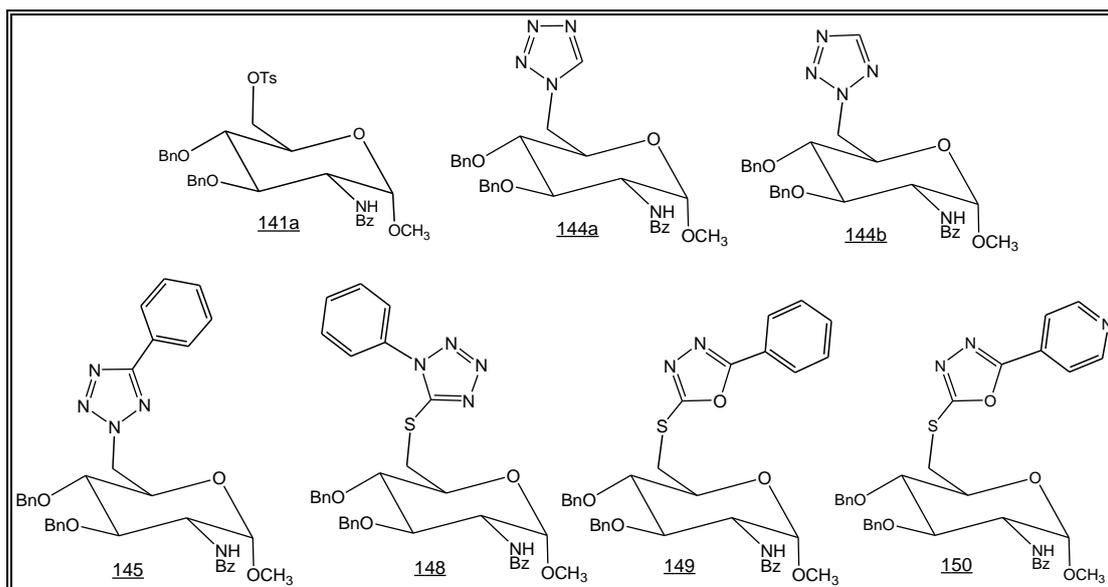


Figura 136 – Compostos avaliados quanto a citotoxicidade e modo de ação.

Sendo assim, os compostos 141a, 144a, 144b, 145, 148, 149 e 150 foram avaliados quanto a citotoxicidade no Laboratório de Bioquímica Medicinal (LBqM) do Núcleo de Pesquisa em Química Biológica da UFSJ-CCO (NQBio), sob a supervisão do Prof. Dr. Fernando de Pilla Varotti, e quanto ao modo de ação no Laboratório de Hematologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG sob a supervisão do Prof. Dr. Adriano de Paula Sabino.

Procedimentos

Cultivo de linhagens celulares

As linhagens celulares humanas utilizadas para análise de toxicidade foram MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama ATCC HTB-26), TOV-21g (adenocarcinoma de ovário ATCC CRL-11730), THP-1 (leucemia monocítica aguda ATCC TIB-202) e RKO-AS45 (carcinoma de colon ATCC CRL-2579). Essas linhagens fazem parte do banco de células animais do Serviço de Biologia Celular (SBC) da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) em Belo Horizonte, que possui um laboratório com certificação ABNT NBR ISO9001/2008 e se destaca no suporte ao desenvolvimento de projetos de pesquisa que requerem o acesso às técnicas de cultivo de células e tecidos, consolidando-se como referência no cultivo de células animais.

O conteúdo do criotubo (linhagem celular com 5% de dimetilsulfóxido e soro), que estava mantido em nitrogênio líquido no banco de criopreservação (CryoPlus 7405 / Thermo Scientific, EUA), foi descongelado a 37°C, transferido para um tubo de centrífuga de 15 mL (Corning, EUA) contendo 2 mL de meio RPMI 1640 incompleto e então submetido à centrifugação de 700 m s⁻² durante cinco minutos (mod. CS-6R, Becman, EUA).

O sobrenadante foi descartado e a massa celular presente no fundo do tubo foi ressuspendida em 5 mL de meio RPMI 1640 suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF) inativado pelo calor.

A suspensão celular foi transferida para garrafas plásticas de cultivo celular, tratada para promover a adesão celular, T75 (75cm²) 15 mL (Corning Costar Inc., EUA), mantidas como monocamadas a 37°C em estufa (Thermo electron co. EUA) com atmosfera úmida de 5% de CO₂.

Para a manutenção da linhagem, após a adesão celular, o meio de cultura foi substituído a cada 48 horas para garantir a renovação dos nutrientes. Contaminações, morfologia celular e formação da monocamada foram observadas ao microscópio invertido em aumento de 100x (modelo Olympus, CKX 41).

No momento em que a cultura apresentou formação de monocamada com 80% de confluência fez-se um repique utilizando a enzima tripsina (1:250 Sigma) para remover células aderidas no fundo da garrafa. As células soltas foram ressuspensas em 5 mL de meio e recolhidas em tubo de centrifuga. O tubo foi centrifugado por 5 minutos a 700 m s^{-2} e o sobrenadante descartado. A massa celular foi ressuspensa em 5 mL de meio novo e 50 μL da suspensão foi retirada para misturar com 50 μL de azul de tripan para contagem manual de células viáveis em câmara de Neubauer ao microscópio óptico 16x. Após contagem, as células foram distribuídas em placas de 96 poços (Corning Costar Inc., EUA) para realização do ensaio de viabilidade celular.

Ensaio de Viabilidade Celular

A citotoxicidade dos compostos sintéticos em linhagens celulares foi avaliada pelo ensaio do MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol]. O MTT é um sal tetrazólico que reage com enzimas mitocondriais de células viáveis formando um cristal de cor violeta, insolúvel em água, o formazan, que é solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO). Para cálculo da viabilidade celular faz-se leitura da absorbância a 550 nm em um leitor de placas de Elisa.

Para o ensaio da viabilidade celular as células foram transferidas para uma placa de 96 poços na concentração de 1×10^5 células/poço. A placa foi incubada em estufa de CO_2 , a 37°C e atmosfera úmida de CO_2 a 5% por 24h. Após esse período os poços foram lavados com solução salina tamponada (PBS). Os compostos a serem testados foram diluídos em meio de cultivo fresco, contendo 1% de soro fetal bovino (SFB) e adicionados à placa. Após 48 horas de incubação, os poços foram lavados com PBS novamente, e adicionaram-se 100 μL da solução tetrazólica de MTT na concentração de 5 mg/mL. A placa foi incubada por 3 horas e, após esse tempo, foi centrifugada por 5 min a 3200 m s^{-2} g. Então, retirou-se o sobrenadante e foram adicionados 50 μL de DMSO em cada poço para solubilizar os cristais de formazan. A absorbância por poço foi medida a um comprimento de onda de 550 nm utilizando o Gen5 (Data Analysis Software - Bio-Tek). Os dados foram analisados a partir de três experimentos independentes.

A concentração dos compostos que inibiu 50% do crescimento das células (IC_{50}) foi determinada em comparação com células cultivadas sem a presença de compostos (considerada 100% de viabilidade). A densidade óptica (DO) de cada poço das placas de 96 poços foi medida utilizando um espectrofotometro de microplacas Spectramax M5e a 550 nm (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA). A DO em células de controle não tratadas foi definida como 100% de viabilidade celular (LEE *et al.*, 2003).

Todas as experiências foram realizadas em triplicata. Os resultados são expressos como a média da IC_{50} (concentração de fármaco letal que reduziu a viabilidade celular em 50%). Os valores de IC_{50} foram calculados usando o software OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

Teste Colorimétrico para Caspase-3

Para investigação da ativação da Caspase-3, após o tratamento das linhagem THP-1 com o compostos 148 e 149, foi utilizado o Kit colorimétrico da R&D Systems (Wiesbaden-Nordenstadt, Alemanha) de acordo com as instruções do próprio fabricante. Neste ensaio, 2×10^6 células THP-1 /poço foram inoculadas em placas de cultura de seis poços e incubadas pelo período de 24 horas na ausência ou presença dos compostos 148 e 149, na sua respectiva concentração do IC_{50} , diluído no meio de cultura. Após a incubação, as células foram inicialmente centrifugadas e os pellets de células formados foram incubados com tampão de lise em banho de gelo por 10min. As células de cada linhagem foram lisadas com 100 μ l do tampão de lise. Os homogeneizados foram centrifugados a 200000 m s^{-2} durante 1min e os sobrenadantes foram incubados com os substratos para caspase-3 a 37°C por 2h. A absorbância de cada amostra foi registrada a 405nm e o nível da atividade da caspase-3 foi diretamente proporcional à reação de cor. Ressalta-se que foram realizados três experimentos totalmente independentes.

Extração de RNA

A extração do RNA total das células da linhagem THP-1 foi realizada com o reagente Trizol LS (Introgen, EUA) seguindo-se rigorosamente as recomendações do fabricante.

Esta extração foi realizada em dois momentos distintos, 24 e 48 horas após o tratamento das células com o compostos 148 e 149 nas concentrações de IC_{50} , $IC_{50}/2$ e

IC₅₀/4. As preparações das placas de 96 poços para extração foram equivalentes às preparadas para o teste de citotoxicidade, com uma quantidade de plaqueamento de 1×10^5 de células por poço. O meio de cultura presente nas placas foi removido para a adição direta de 10µL de reagente Trizol LS nas células, para que houvesse a lise das mesmas. Em seguida, homogeneizou-se e incubou-se por cinco minutos em temperatura ambiente para permitir a completa dissociação do complexo nucleoproteína, em seguida o conteúdo dos poços foi transferido para um tubo de 1,5mL.

A separação das fases orgânica e aquosa foi realizada por meio da adição de 3µL de clorofórmio (Merck). As amostras foram agitadas vigorosamente por 15 segundos e incubadas por dez minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 120000 m s^{-2} por 15 minutos a uma temperatura de 4°C. A fase aquosa (camada superior) foi transferida para outro tubo estéril e o restante foi descartado. Na fase aquosa, contendo o RNA total, foram adicionados 7µL de isopropanol 100% (Merck) para precipitação do RNA. Seguiu-se uma nova incubação por 10 minutos a temperatura ambiente. As amostras foram novamente centrifugadas a 120000 m s^{-2} por 10 minutos em temperatura de 4°C e o sobrenadante descartado. O sedimento formado foi lavado com 14µL de etanol (Merck) 75% (diluído em água DEPC 0,1% estéril). As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 75000 m s^{-2} por 5 minutos (4°C) e, logo após, o sobrenadante foi descartado novamente. O pellet de RNA formado foi ressuspenso com 40µL de água livre de RNase. Em seguida foram incubados por 15 minutos a uma temperatura de 60°C para completa dissolução do RNA. Por fim, o RNA total foi usado para síntese de cDNA e/ou armazenado a -80°C até sua utilização.

Para quantificar o RNA total obtido após o processo de extração, as amostras foram analisadas por espectrofotometria (Nanovue, GE Healthcare Life Sciences, UK), por meio da leitura simultânea da densidade óptica nos comprimentos de onda 260 e 280nm. A identificação da pureza do RNA extraído foi calculada por meio da razão entre a absorvância medida a 260nm e a 280nm.

Confecção de cDNA

Os RNAs extraídos foram submetidos à reação de transcriptase reversa para obtenção de cDNA (High Capacity cDNA Reverse Transcription kit® (Applied Biosystems, USA). Ao término dessa etapa, foi obtido cerca de 100ng/µL de cDNA, que foi armazenado a -20°C para posteriormente ser utilizado para a análise de expressão

gênica. A identificação da integridade dos RNAs extraídos e a qualidade dos cDNAs sintetizados foi realizada por meio da amplificação da reação em cadeia de polimerase (PCR) do fragmento de cDNA correspondente ao RNA mensageiro (RNAm) da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH), os resultados foram visualizados através do gel de poliacrilamida a 8%.

PCR em Tempo Real

Quanto aos experimentos de qRT - PCR, foram utilizados o fluoróforo SYBR® Green. Para garantir uma alta eficiência, foi realizada a padronização da temperatura ideal de anelamento para cada sequência de oligonucleotídeo a ser analisada. Realizou-se essa padronização através de PCR convencional, no qual as reações foram processadas em um termociclador (Applied Biosystems, Foster, CA, USA). As reações de amplificação consistem de uma desnaturação inicial a 94°C por três minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos; anelamento no qual a temperatura vai ser determinada por um minuto e extensão a 72°C por dois minutos, com extensão final a 72°C por dez minutos. A segunda padronização realizada foi à titulação dos oligonucleotídeos iniciadores, ou seja, realizou-se uma série de reações em que a concentração dos iniciadores foi diversificada, o que possibilitou a escolha da concentração mais adequada. Assim, os iniciadores foram diluídos entre as concentrações de 100 a 600 nanomolar (nM).

Ressalta-se que todas as reações foram feitas em triplicatas, com controles negativos para cada combinação de iniciadores. As condições encontradas foram posteriormente testadas na construção de uma curva padrão, construída a partir de diluições seriadas do pool de cDNA. As curvas padrão foram utilizadas como teste da eficiência da reação, sendo que uma curva padrão ótima apresenta valor de eficiência de um (100% de amplificação por ciclo), nesta situação as concentrações da curva devem corresponder com as diluições realizadas.

A PCR em tempo real, para o cálculo da expressão gênica relativa, foi realizada após o término da padronização, utilizando-se o método do $\Delta\Delta CT$ comparativo. No qual a quantificação relativa é a comparação da expressão de um grupo tratado com uma amostra de referência não tratado. Assim, para utilizar o método de comparação CT é necessário otimizar as reações de modo que as eficiências sejam próximas de 100%. Ademais, deve-

se certificar que a eficiência da reação do gene de interesse é semelhante ao controle endógeno.

Ressalta-se que a ausência de variação na expressão do gene endógeno também pode ser interpretado como um indicador da integridade do RNA extraído de uma síntese de cDNA apropriada na reação de transcrição reversa e amplificação do produto durante a PCR.

Todas as reações de qRT - PCR foram realizadas em equipamento StepOne Real-Time PCR (Applied Biosystems, Foster, CA, USA), utilizando kit SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster, CA, USA). Este kit contém todos os componentes (exceto oligonucleotídeos iniciadores, amostras e água), necessários para as reações de PCR: tampão 2X, dNTPs, MgCl₂, SYBR Green I Dye, AmpliTaq Gold® DNA polimerase e ROX como referência passiva. Os passos do ciclo de amplificação foram: 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 10 minutos, 60 °C por um minuto, em um total de 40 ciclos.

Resultados e discussão

Estudos têm demonstrado a promissora atividade antineoplásica dos derivados azólicos. Segundo Gomha *et al.*, 2015, a citotoxicidade de moléculas híbridas de triazol contra linhagens celulares de tumor de cólon, próstata e pulmão resultou em uma significativa inibição do crescimento celular para estes diferentes tipos de câncer.

Em outro estudo, triazóis betulínicos testados em linhagens de leucemia (THP1 e HL60) demonstraram induzir apoptose nestas linhagens pela perda do potencial de membrana mitocondrial e fragmentação do DNA. O mesmo estudo relacionou o mecanismo de citotoxicidade induzido por alguns derivados triazólicos com parada do ciclo celular e apoptose (MAJEED *et al.*, 2013).

De modo a avaliar a atividade citotóxica dos compostos tetrazólicos e oxadiazólicos da glicosamina, os ensaios de MTT foram realizados em linhagens celulares humanas MDA-MB-231, TOV-21G, THP-1 e RKO-AS45-1, utilizando como padrão o etoposídeo. Quando analisada a Tabela 41, pode se perceber que os resultados apresentaram valores moderados a significativos para todos os compostos testados. Quando os produtos de substituição não apresentaram o grupo fenila ([144a](#) e [144b](#)) ligado ao tetrazol ou ao oxadiazol observou-se, de forma geral, uma diminuição da atividade citotóxica. Apenas para as linhagens de células TOV e MDA-MB foi observado um aumento na citotoxicidade com a modificação do grupo fenila por piridila.

De modo geral os compostos contendo enxofre em suas estruturas apresentaram uma citotoxicidade mais pronunciada que os demais. Os menores valores de IC₅₀ (18,6 e 15,4 µM) foram exibidos respectivamente para os compostos 148 e 149 contra a linhagem celular de leucemia THP-1.

A citotoxicidade observada pode estar associada com interações de enzimas fosforilase com os derivados glicosamínicos, uma vez que a posição 6 do carboidrato, associada a processos de fosforilação, está comprometida com a presença de heterocíclis. Como, em geral, uma atividade mais alta foi observada para os compostos contendo enxofre, e este elemento é bastante suscetível à variação de seu Nox, este fenômeno pode estar correlacionado com processos associados a enzimas oxidases.

Tabela 41 – Valores de citotoxicidade para derivados tetrazólicos e oxadiazólicos da glicosamina em diferentes linhagens de células tumorais

Compostos	CI ₅₀ (µM) ^a			
	TOV-21G*	RKO-AS45-1*	MDA-MB-231*	THP-1*
<u>141a</u>	53,19±8,45	27,96±1,31	32,4±2,98	107,63±1,85
<u>144a</u>	67,01±6,17	48,74±7,82	37,07±12,61	78,99±3,74
<u>144b</u>	71,11±26,23	45,22±6,61	47,77±5,61	161,92±7,89
<u>145</u>	77,12±8,73	31,45±4,7	72,72±6,83	63,26±8,75
<u>148</u>	43,18±8,25	33,76±5,24	55,18±9,6	18,61±2,45
<u>149</u>	41,3±5,32	39,03±7,28	48,4±5,58	15,41±1
<u>150</u>	25,31±7,11	42,19±1,53	26,02±1,5	58,49±4,77
Etoposídeo ^b	5,1±1,7	3,6±1,7	4,2±1,0	9,8±1,5

^a CI₅₀ valores são indicados com ± Desvio padrão a partir de três experimentos independentes.

^b Etoposídeo foi utilizada como controle positivo.

*TOV-21G (adenocarcinoma de ovário ATCC CRL-11730), RKO-AS45 (carcinoma de colon ATCC CRL-2579), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama ATCC HTB-26) e THP-1 (leucemia monocítica aguda ATCC TIB-202).

A fim de se entender um pouco mais sobre o modo de ação destes derivados, os compostos que apresentaram maior citotoxicidade (148 e 149) foram selecionados para continuidade dos estudos.

De modo a determinar se a atividade citotóxica dos compostos 148 e 149 contra a linhagem celular de leucemia THP-1 pode estar relacionada a apoptose, foi realizado um ensaio colorimétrico de caspase-3. Como mostrado na Figura 137, ambos os compostos foram capazes de aumentar a atividade da caspase-3. Estes resultados confirmam que os compostos 148 e 149 induzem a apoptose na linhagem celular de leucemia THP-1.

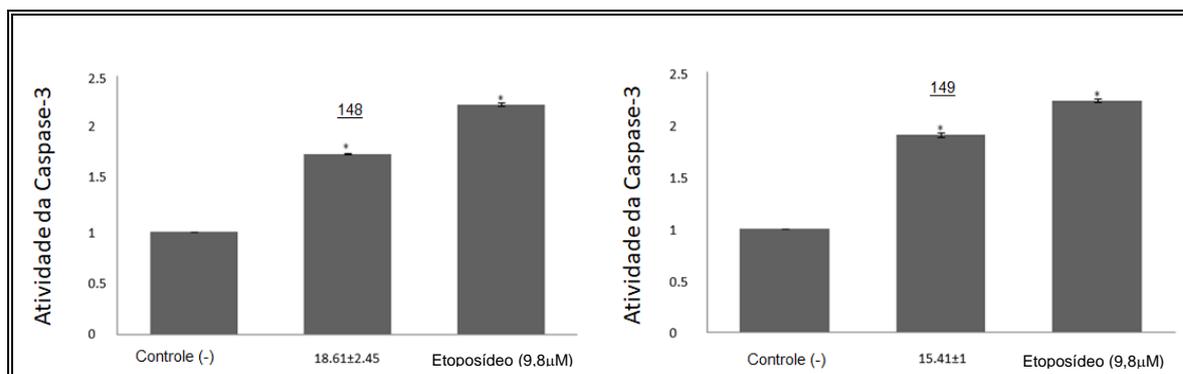


Figura 137 – Teste de atividade da Caspase-3.

A fim de se investigar outros possíveis mecanismos que conduzam apoptose, foram avaliadas também as variações de expressão de *TP53*, *P21* e *BAK* da linhagem THP-1, uma vez que o aumento da concentração destes metabólitos está muitas vezes associado a morte celular.

Em relação aos mecanismos moleculares relacionados à regulação da morte celular, destacamos a importância do gene supressor tumoral TP53. Este é um gene localizado no cromossomo 17p13.1 e desempenha um papel fundamental na regulação do crescimento celular.

Além disso, o TP53 também coordena a expressão de vários genes que participam de diversas respostas celulares a condições de estresse, auxilia no controle e integridade do genoma contra possíveis danos celulares e codifica a proteína p53, que é capaz de controlar a fosforilação (ciclina quinase dependente).

Este processo está relacionado à ruptura do ciclo celular através da ativação da proteína p21, que é um supressor de tumor, e no ciclo celular é responsável por regular a transição da fase G1 para a fase S (VIRNIG *et al.*, 2009; CHIANG *et al.*, 2014; OHKOSHI *et al.*, 2015; PARSA *et al.*, 2016).

Assim, p21 associa ciclinas D e E, o que leva a inibição de quinases dependentes de ciclina cdk2 e cdk4, conduzindo a ruptura do ciclo celular. Ressalta-se que a expressão e

transcrição da p21 é regulada pela p53, e que a conjugação da proteína p53 à p21 também promove o reparo do DNA (RANE *et al.*, 2014)

A proteína p53 também é capaz de induzir apoptose regulando a expressão das proteínas da família Bcl-2, que inclui proteínas anti-apoptóticas (por exemplo, BCL-XL) e apoptóticas (por exemplo, BAX, BAK). Em relação à BAK, ela tem localização mitocondrial e é capaz de induzir a apoptose por meio da interação com a p53, que é capaz de se ligar à Bcl2c e inibir sua atividade antiapoptótica (VOLKMANN *et al.*, 2014). No entanto, Petros *et al.*, 2004 demonstraram em seu estudo que o BAK pode promover a apoptose sem interagir com proteínas antiapoptóticas por meio da interação direta com as mitocôndrias. Assim, um dos papéis essenciais dessas proteínas é a promoção ou inibição da permeabilidade da membrana mitocondrial externa e a regulação da via mitocondrial para a apoptose, já que alterações na membrana mitocondrial externa, induzidas pela BAK, permitem o escape de proteínas para o citoplasma, levando à apoptose (VOLKMANN *et al.*, 2014).

Vale ressaltar que a grande maioria dos tumores apresenta problemas como perda ou mutação do TP53 e aberrações em outras vias responsáveis pelo controle dos níveis e atividade da proteína p53. Já a inativação da via da p53 está frequentemente relacionada à expressão da proteína p53 mutante, que expressa uma proteína não funcional (WANG *et al.*, 2015). É digno de nota que a mutação p53 ocorre em 50% a 70% das neoplasias e está relacionada à resistência a terapias e pior sobrevida global (ZGHAIR *et al.*, 2016).

Na Figura 138 pode ser observada a variação da expressão de *TP53*, *P21* e *BAK* da linhagem THP-1, na qual *TP53* e *P21* mostraram um aumento significativo de expressão em 48 horas de exposição em todas as concentrações de 148. Finalmente, a expressão de *BAK* teve um aumento significativo em 24 horas na concentração de 18,60 µM. Em 48 horas houve uma significativa variação de expressão em todas as concentrações.

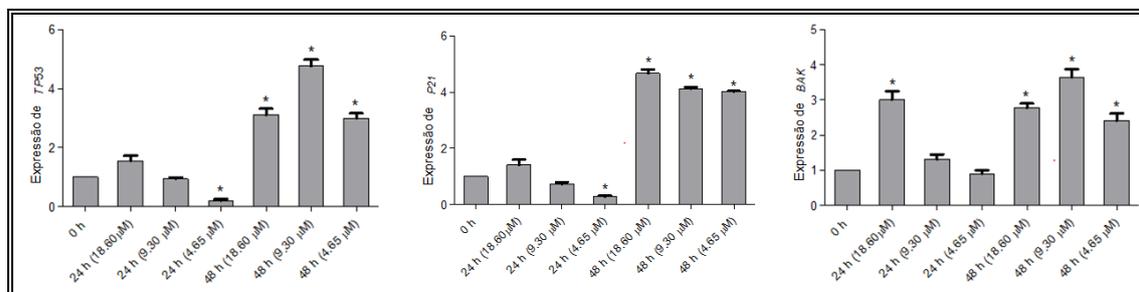


Figura 138 – Variação das expressões de *TP53*, *P21* e *BAK* para o composto 148 em diferentes concentrações e tempos.

Na Figura 139 pode ser observada a variação da expressão de *TP53*, *P21* e *BAK* da linhagem THP-1, em 24 e 48 horas de exposição a diferentes concentrações do composto 149. Um aumento significativo da concentração de *TP53*, *P21* e *BAK* (com aumento substancial de aproximadamente 13 vezes) em ambas as 24 e 48 horas de exposição pode ser observada em relação ao grupo de referência (sem tratamento).

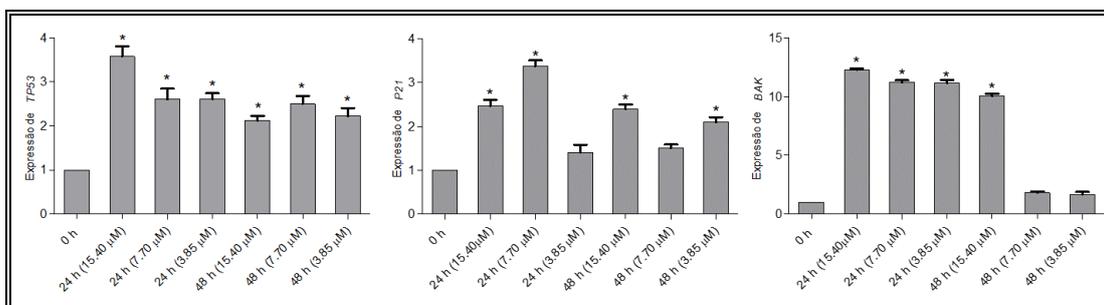


Figura 139 – Variação das expressões de *TP53*, *P21* e *BAK* para o composto 149 em diferentes concentrações e tempos.

A ativação da caspase-3 é geralmente vista como um requisito para categorizar uma via de morte celular. Este resultado, associado ao aumento das expressões de *TP53*, *P21* e *BAK*, bem como uma redução significativa no número de células THP-1 na presença dos compostos 148 e 149 nos ensaios anteriores, sugere que estes compostos podem induzir a morte celular por apoptose.

7 Conclusões

Como pode ser visto durante a exposição deste trabalho, foram abordadas duas rotas de síntese para obtenção dos análogos tetrazólicos 144a, 144b, 145, 148, 158, 159, 160, 161 e 162 e oxadiazólicos 149, 150, 163 e 164 a partir de carboidratos (Figuras 143 e 146, p. 147 e 149). Sendo uma rota a partir do sulfato de glicosamina (128, Figura 140, p.146) e outra a partir da trealose (89, Figura 145, p. 148).

Na rota de síntese que foi iniciada pelo sulfato de glicosamina (128), foram investigadas três alternativas para obtenção do intermediário chave 133 (Figura 140).

Na primeira seqüência de síntese, na tentativa de se obter o intermediário iodado 131 foi obtido o composto 1,6-anidro 137. Na segunda seqüência de síntese, durante a reação de substituição do intermediário 138 para obtenção do intermediário 139a foi obtido o composto 1,3-anidro 139b. E na terceira seqüência de síntese, durante a etapa de substituição do intermediário 140 para obtenção do intermediário 133 foi obtido o composto desprotegido 139a (Figura 140).

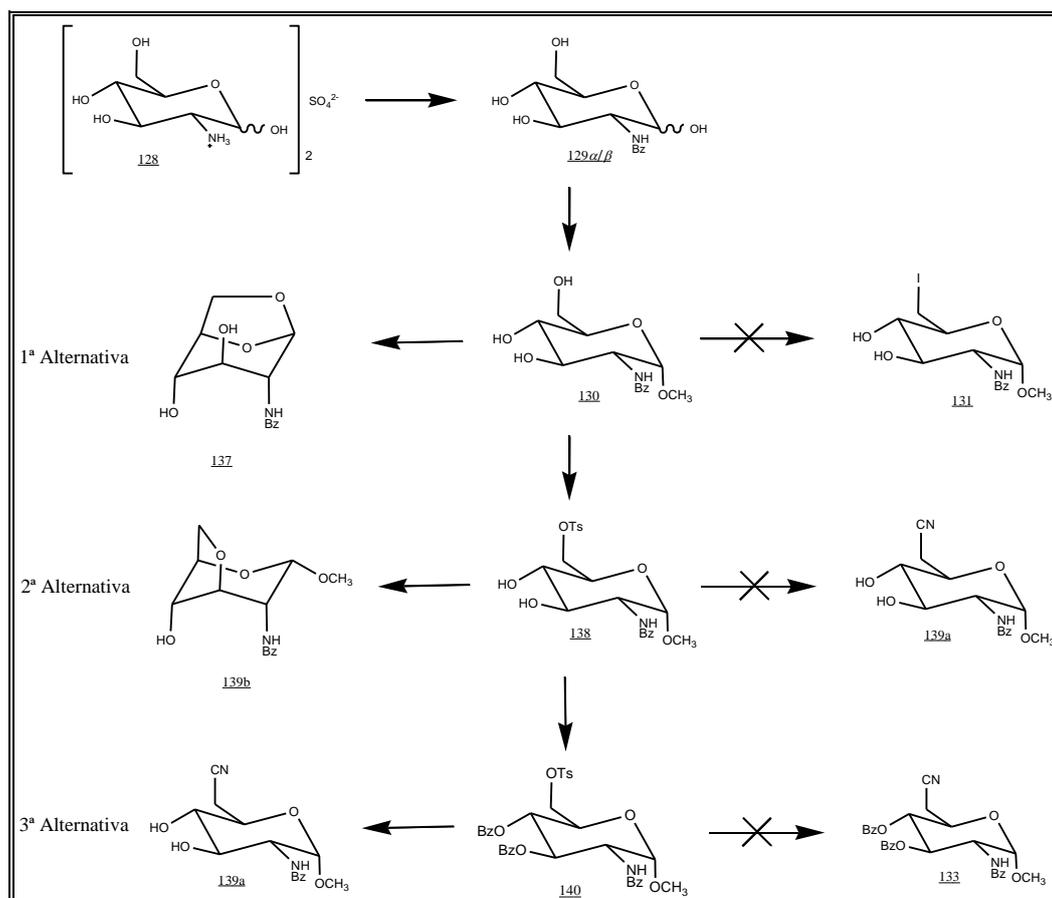


Figura 140 – Alternativas para obtenção da nitrila 133.

Como as três alternativas testadas não permitiram a obtenção de 133, um novo intermediário (141a) foi proposto a partir do composto tosilado 138. Sendo assim o intermediário 141a foi sintetizado, porém com a formação do subproduto 141b (Figura 141).

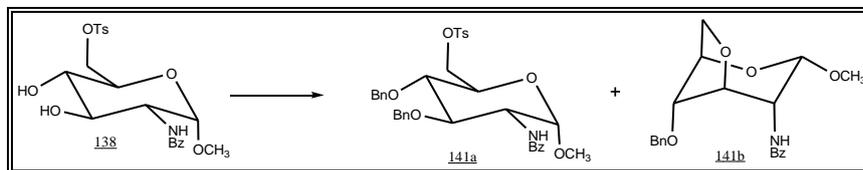


Figura 141 – Obtenção do intermediário 138.

O produto 141a foi isolado e utilizado para a obtenção de uma nova nitrila 142 (Figura 142). Como esta era um intermediário chave para obtenção de derivados tetrazólicos e oxadiazólicos e só pode ser obtida com um rendimento global menor que 10% após todas as tentativas de síntese, a estratégia de síntese para obtenção de derivados tetrazólicos e oxadiazólicos via adição foi abandonada e uma nova estratégia de síntese para obtenção destes derivados via substituição nucleofílica foi empregada (Figura 143).

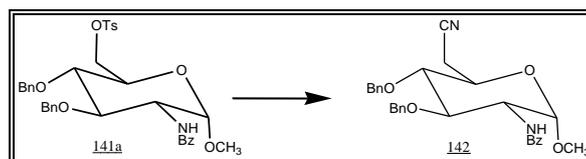


Figura 142 – Obtenção da nitrila 142.

Nesta nova opção foi utilizado 141a como substrato e os tetrazóis 13, 79 e 81 e os oxadiazóis 146 e 147 comerciais como nucleófilos para a obtenção dos derivados tetrazólicos 144a, 144b, 145, 148 e oxadiazólicos 149 e 150 (Figura 143).

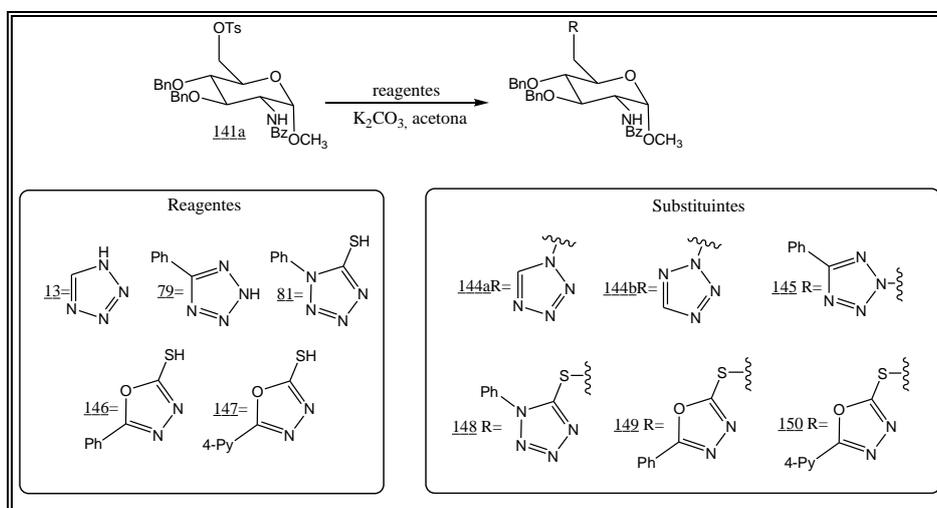


Figura 143 – Obtenção dos derivados tetrazólicos e oxadiazólicos da glicosamina.

Sendo assim, pode ser concluído que para a rota da glicosamina, as estratégias iniciais para obtenção de tetrazóis e oxadiazóis inéditos não foram eficazes. Mas, apesar de todos os percalços, com a última estratégia utilizada derivados inéditos alternativos puderam ser obtidos com rendimento global moderado entre 12% e 14% após cinco etapas de reação.

Na rota de síntese que foi iniciada pela trealose (89), o intermediário 135 (Figura 36, p. 26), inicialmente proposto não foi sintetizado. Esta escolha foi devida aos grupos benzoílas terem apresentado baixa estabilidade durante as reações de substituição realizadas para a rota da glicosamina. Como alternativa foi investigada uma nova seqüência que propunha a proteção das hidroxilas em C-4, C-6 e C-4', C-6' na forma de acetal benzilidênico, seguida da benzilação das hidroxilas em C-2, 2' e C-3, 3' com posterior desproteção regioseletiva das hidroxilas em C-6, 6' para a obtenção do intermediário 153 (Figura 144). Porém a obtenção de um grande número de produtos durante a reação de desproteção em C-6, 6' e a difícil purificação dos mesmos fez com que esta proposta fosse interrompida.

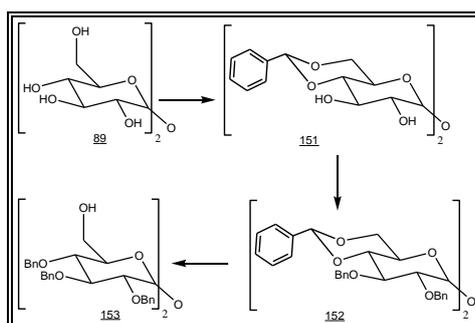


Figura 144 – Obtenção do intermediário 153.

Deste modo, um novo intermediário chave 156 foi proposto (Figura 145). Este foi obtido por reação de tritilação da trealose (89), seguido de reações de benzilação das hidroxilas secundárias, desproteção das hidroxilas primárias e esterificação com anidrido trifluormetanossulfônico.

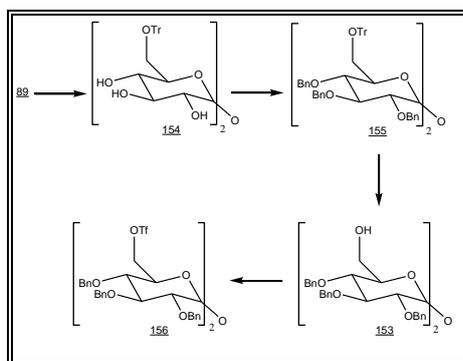


Figura 145 – Alternativa para obtenção do intermediário 156.

Após obtenção de **156**, as reações de substituição foram realizadas tendo como nucleófilos os tetrazóis **13**, **79** e **81** e os oxadizóis **146** e **147** comerciais para obtenção dos derivados tetrazólicos **158**, **159**, **160**, **161** e **162** e derivados oxadiazólicos **163** e **164** (Figura 146).

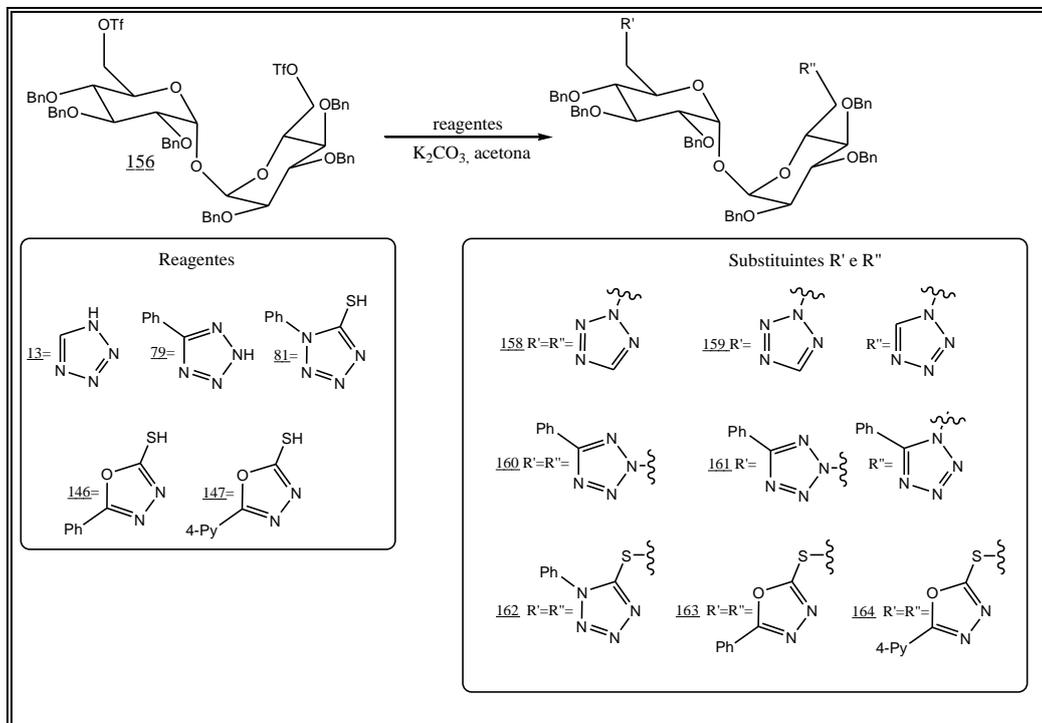


Figura 146 – Obtenção dos derivados tetrazólicos e oxadiazólicos da trealose.

Desta forma, podemos concluir que para a rota da trealose as estratégias iniciais não foram eficazes. Mas, que a última sequência utilizada foi eficiente para obtenção de derivados tetrazólicos e oxadiazólicos inéditos, com um bom rendimento global (28-33%) após cinco etapas de reação. Isto sugere que em estudos futuros uma estratégia semelhante possa ser utilizada para obtenção de derivados da glicosamina.

Após a obtenção dos derivados tetrazólicos e oxadiazólicos, os compostos da rota da glicosamina foram selecionados e conduzidos aos testes de citotoxicidade e de expressão enzimática. Os resultados preliminares demonstraram de uma forma geral uma boa atividade citotóxica, com destaque para os compostos **148** e **149** que apresentaram as maiores citotoxicidades em linhagens de leucemia monocítica aguda.

Com isto, a expressão de *TP53*, *P21*, *BAK* e *Caspase-3*, responsáveis pela morte celular por apoptose, foi investigada para os compostos **148** e **149**. De modo geral, foi observado o aumento significativo da expressão de enzimas causadoras de apoptose, com

destaque para o composto 149 que proporciona um aumento de aproximadamente 13 vezes da expressão de *BAK*.

Sendo assim, pode ser concluído que derivados tetrazólicos e oxadiazólicos da glicosamina são promissores candidatos a protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos que possam compor o atual arsenal terapêutico.

De modo semelhante, é possível supor que análogos tetrazólicos e oxadiazólicos da trealose tenham efeito biológico similar, sugerindo que estudos futuros de citotoxicidade e de expressão enzimática também sejam realizados.

8 - Referências bibliográficas

- ANDERSON, J. W.; NICOLOSI, R. J.; BORZELLECA, J. F. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations, and efficacy. *Food Chem. Toxicol.*, v.43, p.187-201, 2005.
- ATTANASI, O. A.; COLOMBANI, S. M.; CRESCENTINI, L.; GIORGI, R.; MONTI, S.; PERRONE, A.; PERRULI, F. R.; RENZETTI, A. R.; SANTEUSANIO, S. Synthesis of biphenyltetrazole derivatives of 1-aminopyrroles as angiotensin II antagonists. *Il Fármaco*, v.54, p.64-76, 1999.
- BADARÓ, A. C. L. *Tentativa de síntese de Análogos de Alcalóides de Amarillidaceae a partir da D-glicosamina*. Belo Horizonte: UFMG, 1997, 157p. (Dissertação, Mestrado em Química).
- BARREIRO, E. J. Importance of drug synthesis in production of medicines. *Química Nova*, v. 14, p. 179-188, 1991.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal: As bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. Porto Alegre: Artmed Editora LTDA, 2001, 243p.
- BEHRENS, C. H.; KO, S. Y.; SHARPLESS, K. B.; WALKER, F. J. Selective Transformation of 2,3-Epoxy Alcohols and Related Derivatives. Strategies for Nucleophilic Attack at Carbon-1. *J. Org. Chem.*, v.50, p.5687-5696, 1985.
- BERNOTAS, R. C. A short, versatile approach to polyhydroxylated pyrrolidines utilizing a reductive elimination-reductive amination as a key step. *Tetrahedron Lett.*, v.31, n.4, p.469-472, 1990.
- BEWLEY, A. C.; LAM, S. N.; ACHARYA, P.; WYATT, R.; KWONG, P. D. Tyrosine-sulfate isosteres of CCR5 N-terminus as tools for studying HIV-1 entry. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 16, p. 10113-10120, 2008.
- BINKLEY, R. W. *Modern Carbohydrate Chemistry*. New York: Marcell Dekker, 1988, 343p.
- BOECHAT, N.; BRANCO, F. S. C.; PINTO A. C. A Química Medicinal de Novas Moléculas em Fase Clínica para o Tratamento da Tuberculose. *Rev. Virtual Quim.*, v.4, p. 287-328, 2012.

- BRIGAS, A. F. *Science of Synthesis: Five-membered heteroarenes with three or more heteroatoms: Product Class 30: Tetrazoles*, v.13, p.861-912, 2004.
- BHUTANI, R.; PATHAK, D. P.; KAPOOR, G.; HUSAIN, A.; KANT, R.; IQBAL, M. A. Synthesis, molecular modelling studies and ADME prediction of benzothiazole clubbed oxadiazole-Mannich bases, and evaluation of their anti-diabetic activity through in vivo model. *Bioorg. Chem.*, v. 77, p. 6–15, 2018.
- BUTLER, R. N. Tetrazoles. In: KATRITZKY, A. R., REES, C. W. (Eds.). *Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The Structure, Reactions, Synthesis and uses of Heterocyclic Compounds*. Oxford: Imprenta Pergamon Press, 1984, v.5, cap.4.13, p.791-838.
- CARVALHO, S. C. *Síntese de Glicosídeos Cianogênicos*. Belo Horizonte: UFMG, 2001, 102p. (Dissertação, Mestrado em Química).
- ÇAVUSOGLU, B. K.; YURTTAS, L.; CANTÜRK, Z. The synthesis, antifungal and apoptotic effects of triazole-oxadiazoles against *Candida* species. *European J. Med. Chem.*, v. 144, p. 255-261, 2018.
- CATALAN, J.; ELGUERO, J. Basicity and acidity of azoles. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, v. 41, p. 187-274, 1987.
- CERRUTI, P.; HUERGO, M. S.; GALVAGNO, M.; SCHEBOR, C.; BUERA, M. D. Commercial baker's yeast stability as affected by intracellular content of trehalose, dehydration procedure and the physical properties of external matrices. *Appl. Microbil. Biotechnol.* v. 54, p. 575-580, 2000.
- CHATTOPADHYAY, P.; MUKHERJEE, M.; GHOSH, S. A simple construction of chiral fused benzoxocine ring ethers from D-glucose by regioselective 8-endo-arylradical cyclisation. *Journal of Chemical Society-Chemical Communications*, p.2139-2140, 1997.
- CHUDINOV, M. V.; ZHURILO, N. I.; MATVEEV, A. V.; SMIRNOVA, O. S.; KONSTANTINOVA, I. D.; MIROSHNIKOV, A. I.; PRUTKOV, A. N.; GREBENKINA, L. E.; PULKOVA, N. V.; SHVETS, V. I. Isosteric ribavirin analogues: Synthesis and antiviral activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 28, p. 11–14, 2018.
- COLLINS, P. M.; FERRIER, R. J. *Monosaccharides. Their Chemistry and Their Roles in Natural Products*. New York: John Wiley & Sons Inc., 1995, 204p.

- COURI, M. R.; LUDUVICO, I. ; SANTOS, L. ; ALVES, R.; PRADO, M. A.; GIL, R. F. Microwave-assisted efficient preparation of novel carbohydrate tetrazole derivatives. *Carbohydr. Res* v. 342, p.1096-1100, 2007.
- COURI, M. R. C. *Síntese de tetrazóis e oxadiazóis a partir do α -D-glicopiranosídeo de metila: comparação entre os métodos convencionais e de microondas*. Belo Horizonte: UFMG, 2007, 245p. (Tese de Doutorado em Química).
- CROWE, J. H.; CROWE, L. M.; WOMERSLEY, C.; MOURADIAN, R. Preservation of functional integrity during long term storage of a biological membrane. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 778, p. 615-617, 1984.
- D' ACCORSO, N. B.; FASCIO, M. L. Synthesis of Some Oxadiazole Derivatives of D-mannose. *Journal of Heterocyclic Chemistry.*, v.32, p.815-818, 1995.
- D'ACCORSO, N. B.; THIEL, M. E. Synthesis and Characterization of two 1, 2, 3, 6, 2', 3', 4', 6'-octa-O-benzoil- β -D-hexapyranosyl-(1 \rightarrow 4) β -D-allopyranoses. *Carbohydrate Research*, v.89, n.2, p.266-268, 1993.
- DEHMLow, E. V.; DEHMLow, S. S. *Phase Transfer Catalysis*. 3^a. ed Weinheim: VCH, 1993, 499p.
- EL KHADEM, H. S. *Carbohydrate Chemistry*. San Diego: Academic Press, 2012, 266p.
- ELBEIN, A. D. The metabolism of α,α -trehalose *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, v. 30, p.227-256, 1974.
- ELBEIN, A. D.; PAN, Y. T.; PASTUSZAK, I.; CARROLL, D. New insights on trehalose: a multifunctional molecule *Glycobiology*, v.13, p.17-27, 2003.
- FARACO, A. A. G.; PRADO, M. A. F.; D'ACORSO, N. B.; ALVES, R. J.; FILHO, J. D. S.; PRADO, R. F. Synthesis and characterization of some nitrogen heterocycles from D-galactose derivatives. *J. Heterocyclic Chem.* v. 36, p.1129-1133, 1999.
- FARACO, A. A. *Síntese de tetrazóis e oxadiazóis a partir de D-galactose*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 1997, 174p. (Dissertação, Mestrado em Química).

- FERREIRA, F. F.; BASTOS, I. T.S.; COSTA, F. N.; SILVA, T. F.; BARREIRO, E. J.; LIMA, L. M.; BRAZ, D.; LOMBARDO, G. M.; PUNZO, F.; BARROSO, R. C. A combined experimental and in silico characterization to highlight additional structural features and properties of a potentially new drug. *Journal of Molecular Structure* v. 1146, p. 735-743, 2017.
- FLEMING, I. *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions*. U.K.: John Willey & Sons, 2010, 529p.
- FOS, E.; VILARRASA, J.; FERNANDEZ, J. MNDO semiempirical and 4-31 ab initio SCF-MO calculations of heteroaromatic compounds. *J. Org. Chem.*, v.50, n.24, p.4894-4899, 1985.
- FOSTER, A. B.; STACEY, M. The chemistry of the 2-amino sugars (2-amino-2-deoxy-sugars). *Adv. Carbohydr. Chem.* v. 7, p. 247-288, 1952.
- GALATSIS, To market, to market – 1997. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, v.33, p.327-353, 1998.
- GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. Novel reagent system for converting a hydroxyl-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration. *Journal of Chemical Society, Perkin I*, p.2866-2869, 1980.
- GIESE, R. W.; LU, R. J. LIU, D. Detritylation with ytterbium triflate. *Tetrahedron Lett.* v.41, p.2817-2819, 2000.
- GILBERTSON, S. R.; CHANG, C. T. Synthesis of New Disugar Phosphine Ligands and Their Use in Asymmetric Hydrogenation. *J. Org. Chem.* v. 60, p.6226-6228, 1995.
- GILMAM, A. G.; MUMBY, S. M. Synthetic peptide antisera with determined specificity for G protein alpha or beta subunits. *Methods in Enzymology* v. 195, p. 215-233, 1991.
- GIRI, S.; SINGH, H.; YADAV, L. D. S. Studies in oxadiazoles synthesis of some 2-mercapto-1, 3, 4-oxadiazoles and related compounds as potential fungicides. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.40, n.1, p.17-21, 1976.

- GIZINSKA, M.; MIKULAK, E.; ADAMUS, K.; KORONKIEWICZ, M.; CHOINACKA, E. Ł. New 1,5 and 2,5-disubstituted tetrazoles-dependent activity towards surface barrier of *Candida albicans* *European J. Med. Chem.* v. 145, p.124-139, 2018.
- GORECI, C. Y.; DEMIR, Z.; ALTAS, N. Green synthesis of new amino acid schiff bases and their biological activities. *JOTCSA*, v. 3, p. 15-26, 2016.
- GOMHA, S. M.; AHMED, S. A.; ABDELHAMID, A. O. Synthesis and cytotoxicity evaluation of some novel thiazoles, thiadiazoles, and pyrido[2,3-d][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidin-5(1H)-ones incorporating triazole moiety. *Molecules*, v.20, p.1357-1376, 2015.
- GRENNE, T. W., WUTS, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*. 2^a. ed. New York: John Wiley & Sons, 1991, 473p.
- GUO, M.; YIN, Q.; WANG, C.; HUANG, Y.; LI, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, X.; WANG, Z.; ZHANG, M.; ZHOU, L.; Thermodynamic properties of metamizol monohydrate in pure and binary solvents at temperatures from (283.15 to 313.15) K. *Chinese J. Chem. Eng.*, v. 25, p. 1481-1491, 2017.
- HARFENIST, M.; HEUSER, D. J.; JOYNER, C. T.; BATCHELOR, J. F.; WHITE, H. L. Selective inhibitors of monoamine oxidase. 3. Structure-activity relationship of tricyclics imidazoline, oxadiazole, or tetrazole groups. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.39, p.1857-1863, 1996.
- HERR, R. J. 5-Substituted-1H-tetrazoles as carboxylic acid isosteres: medicinal chemistry and synthetic methods. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.10, p.3379-3393, 2002.
- HORTON, D. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 2011, 331p.
- HUI, Y.; CHANG, C. T. Convenient Divergent Synthesis of a Library of Trehalosamine Analogues. *Organic Lett.* v. 4, p.2245-2248, 2002.
- IVASHCHENKO, O.; LEWANDOWSKI, M.; PEPLINSKA, B.; JAREK, M.; NOWACZYK, G.; WIESNER, M.; ZALESKI, K.; BABUTINA, T.; WAROVICKA, A.; JURGA, S. *Mat. Sci. Eng.* v. 55, p. 343-359, 2015.

- JACKSON, M.; STADTHAGEN, G.; GICQUEL, B. Long-chain multiple methyl-branched fatty acid-containing lipids of *Mycobacterium tuberculosis*: Biosynthesis, transport, regulation and biological activities. *Tuberculosis* v. 87, p. 78-86, 2006.
- JHA, A.; PAUL, N. K.; JHA, M.; BHULLAR, K. S.; RUPASINGHE, H. P. V.; BALZARINI, J. All trans 1-(3-arylacryloyl)-3,5-bis(pyridin-4-ylmethylene)piperidin-4-ones as curcumin-inspired antineoplastics. *European J. Med. Chem.* v. 87, p. 461-470, 2014.
- JONES, G. B.; HYND, G.; WRIGHT J. M.; SHARMA, A. On the selective deprotection of trityl ethers. *J. Org. Chem.* v.65, p.263-265, 2000.
- KAYA, M.; ESIRDEN, I.; TANÇ, M.; SUPURAN, C. T. Microwave assisted synthesis of novel tetrazole/sulfonamide derivatives based on octahydroacridine, xanthene and chromene skeletons as inhibitors of the carbonic anhydrases isoforms I, II, IV and VII. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 27, p. 86–89, 2017.
- KADOKAWA, J.; KASAI, S.; WATANABE, Y.; KARASU, H.; TAGAYA, H.; CHIBA, K. Synthesis of natural- and non-natural-type aminopolysaccharides: 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranan derivatives by acid-catalyzed polymerization of 2-methyl(3,6- and 3,4-di-O-benzil-1,2-dideoxy- α -glycopyrano)-[2,1-d]-2-oxazolines involving stereoregular glycosylation. *Macromolecules*, v.30, p.8212, 1997.
- KATRITZKY, A. R. *Chem. Rev.*, v. 104, p.2125-2126, 2004.
- KAUR, B.; SAMDHIAN, V.; BHATIA, S. K. *J. Heterocyclic Chem.*, v. 55, p. 935-942, 2018.
- KHAN, I.; KAZMI, M.; ZAIB, S.; IBRAR, A.; AMJAD, S. T.; SHAFIQUE, Z.; MEHSUD, S.; SAEED, A.; IQBAL, J. *Bioorg. Chem.*, v. 77, p. 190–202, 2018.
- KISELYOV, A. S. ; SEMENOVA, M.; SEMENOV, V. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* v. 16, p. 1440-1444, 2006.
- KLIER, A. H.; ALVES, R. J.; PRADO, M. A. F.; FILHO, J. D. S.; D'ACORSO, N. B. *Synthetic Comm.* v. 30, p.4361-4374, 2000.
- KLIER, A. H. *Síntese de Heterociclos a partir de Carboidratos*. Belo Horizonte: UFMG, 2001, 181p. (Tese, Doutorado em Química).

- KOLDOBSKII, G. I.; OSTROVSKII, V. A. Tetrazoles. *Russian Chemistry Review*, v.63, n.10, p.797-814, 1994.
- KONSTAS, S.; PHOTAKI, I.; ZERVAS, L. Überführung von D-glucosamin in oxazol- und oxazolinderivate. *Chemische Berichte*, v.92, p.1288-1293, 1959.
- KORT, M.; BUIJSMAN, R. C.; BOECKEL, C. A. A. *Drug Discovery Today* v. 10, p. 769-779, 2005.
- KRAFT, A. Synthesis and self-association of first-generation 1,3,4-oxadiazole-containing dendrimers. *Liebigs Annalen der Chemie / Recueil*, p.1463-1471, 1997.
- LEE, S. E.; SHIN, H. T.; HWANG, H. J.; KIM, J. H. *Phyther Res.*, v.17, p.1041-1047, 2003.
- LEE, J. Y.; KIM, T. W.; YOO, B. W.; LEE, J. K.; KIM, J. H.; LEE, K. T.; CHI, Y. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 22, p. 1649–1654, 2012.
- LUCHESE, A. M.; MARZORATI, L. Catálise de transferência de fase. *Química Nova*, v.23, n.5, p.641-652, 2000.
- LUDUVICO, I.; COURI, M. R. C.; SANTOS, L. J.; PRADO, M. A. F.; GIL, R. P. F.; ALVES, R. B. Synthesis of new heterocyclic derivatives of α,α -trehalose. *Carb. Res.*, v 343, p. 536–540, 2008.
- MAJEED, R.; SANGWAN, P. L.; CHINTHAKINDI, P. K.; KHAN, I.; DANGROO, N. A.; THOTA, N.; HAMID, A.; SHARMA, P. R.; SAXENA, A. K.; KOUL, S. *European J. Med. Chem.*, v.63, p.782-792, 2013.
- MARCHIORI, M. F.; SOUTO, D. E. P.; BORTOT, L. O.; PEREIRA, J. F.; KUBOTA, L. T.; CUMMINGS, R. D.; BARUFFI, M. D.; CARVALHO, I.; CAMPO, V. L. *Bioorg. Med. Chem.*, v.23, p.3414-3425, 2015.
- MARTINS, P.; JESUS, J.; SANTOS, S.; RAPOSO, L. R.; ROMA-RODRIGUES, C.; BAPTISTA, P. V.; FERNANDES, A. R. *Molecules*, v.20, p.16852-16891, 2015.
- MASHIMO, K.; SATO, Y. Synthesis of Isoajmaline, *Tetrahedron*, v.26, p.803-812, 1970.

- MAZUREK, A.; OSMAN, R. Molecular orbital studies of tautomerism in tetrazole. *The Journal of Physical Chemistry*, v.89, n.3, p.460-463, 1985.
- MEHTA, L.; PAREKH, H. Studies on ureas. Part I. Preparation and antimicrobial activity of *N'*-aryl-*N*³-2-*p*-chlorophenyl-1,3,4-oxadiazol-5-ylacetylureas. *Journal of the Indian Chemical Society*, v.65, p.521-522, 1988.
- MESZÁROS, P.; PINTÉR, I.; MESSMER, A. A novel synthesis of 2-azido-deoxyinosose oximes. *Carbohydrate Research*, v.197, p.302-309, 1990.
- MIDDLEMISS, D.; WATSON, S. P. A medicinal chemistry case study: an account of angiotensin II antagonist drug discovery programme. *Tetrahedron*, v.50, n.46, p.13049-13080, 1994.
- NAGASE, H.; KUTSUMURA, N.; KOYAMA, Y.; NAGUMO, Y.; NAKAJIMA, R.; MIYATA, Y.; YAMAMOTO, N.; SAITOH, T.; YOSHIDA, N.; IWATA, S. Antitrichomonal activity of d opioid receptor antagonists, 7-benzylidenenaltrexone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 25 , p. 4375–4383, 2017.
- OHKOSHI, S.; YANO, M.; MATSUDA, Y. *World Journal of Gastroenterology*, v.21, p.12150-12156, 2015.
- OSTROVSKII, V. A.; KOREN, A. O. Alkylation and related electrophilic reactions at endocyclic nitrogen atoms in the chemistry of tetrazoles. *Heterocycles*, v.53, n.6, p.1421-1448, 2000.
- OSTROVSKII, V.A.; KOLDOBSKII, G.I.; TRIFONOV, R.E. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*, v. 6, p. 257-423, 2008.
- OSTROVSKII, V. A.; TRIFONOV, R. E.; POPOVA, E. A. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, v. 123, p. 1-62, 2017.
- OUF, S. A.; GOMHA, S. M.; EWEIS, M.; OUF, A. S.; SHARAWY, I. A. Efficiency of newly prepared thiazole derivatives against some cutaneous fungi. *Bioorg. Med. Chem., In press*, 2018.
- PADMAJA, A.; SEKHAR, M. M.; NAGARJUNA, U.; PADMAVATHI, V.; REDDY, N. V.; VIJAYA, T. *European J. Med. Chem.*, v. 145, p. 1-10, 2018.

- PALMER, M. H.; BEVERIDGE, A. J. Assignment of the UV photoelectron spectra of the azoles by ab initio multi-reference configuration interaction calculations. *Chemical Physics*, v.111, p.249-261, 1987.
- PARSA, Y.; MIRMALEK, S. A.; KANI, F. E.; AIDUN, A.; SALIMI-TABATABAEE, S. A.; YADOLLAH-DAMAVANDI, S.; JANGHOLI, E.; PARSA, T.; SHAHVERDI, E. *Electronic Physician*, v.8, p.2416-2424, 2016.
- PEDROSA, M. T. C.; ALVES, R. B.; PRADO, M. A. F.; FILHO, J. D. S.; ALVES, R. J.; D'ACORSO, N. B. *J. Carbohydr. Chem.* v. 22, p. 433-442, 2003.
- PEDROSA, M. T. C. *Síntese de tetrazóis e oxadiazóis a partir do D-glicopiranosídeo de metila*. Belo Horizonte: UFMG, 2003, 287p. (Tese, Doutorado em Química).
- PEREIRA, C. S.; LINS, R. D.; CHANDRASEKHAR, I.; FREITAS, L. C. G.; HÜNENBERGER, P. H. *Biophys. J.* v. 86, p. 2273-2285, 2004.
- PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F.; PERIN, D. R. *Purification of Laboratory Chemical*. 2ª ed. Oxford: Pergamon Press, 1980. 568p.
- PETROS, A. M.; OLEJNICZAK, E. T.; FESIK, S. W. *Biochim Biophys Acta.*, v.1644, p.83-84, 2004.
- PIERCE, M. E.; CARINI, D. J.; HUHN, G. F.; WELLS, G. J.; ARNETT, J. F. Practical synthesis and regioselective alkylation of methyl 4(5)-(pentafluoroethyl)-2-propylimidazole-5(4)-carboxylate to give DuP 532, a potent angiotensin II antagonist. *J. Org. Chem.*, v.58, n.17, p.4642-4645, 1993.
- PIERRE, Y. S.; VLADOIU, M. C.; LABRIE, M. *Int. J. Oncol.*, v.44, p.1001-1014, 2014.
- PIETRASKIEWICZ, M.; JURCZAK, J. Synthesis of chiral diaza-crown ethers incorporating carbohydrate units. *Tetrahedron*, v.40, n.15, p.2967-2970, 1984.
- RAMALINGAM, T.; DESHMUKH, A. A.; SATTUR, P. B.; SHETH, U. K.; NAIK, S. R. Synthesis and pharmacology of 2, 5-disubstituted 1, 3, 4-oxadiazoles. *Journal of the Indian Chemical Society*, v.58, p.269-271, 1981.
- RANE, C. K.; MINDEN, A. *Small GTPases*, v.5, p.e28003, 2014.

- RAZYNSKA, A.; TEMPCZYK, A.; MALINSKI, E.; SZAFRANEK, J.; GRZONKA, Z.; HERMANN, P. Application of mass spectrometry to the study of prototropic equilibria in 5-substituted tetrazoles in the gas phase: experimental evidence and theoretical considerations. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions II*, p.379-383, 1983.
- RED III L. A.; HUANG, J. T.; MCGREGOR, M.; GOODMAN, L. Stereospecific carbon-carbon bond formation at secondary carbons in cyclic sugars. *Carbohydrate Research*, v.254, p.133-140, 1994.
- RICHARDS, A. B.; KRAKOWKA, S.; DEXTER, L. B.; SCHMID, H.; WOLTERBEEK, A. P. M.; BERENDSEN, D. H. W.; SHIGOYUKI, A. KURIMOTO, M. *Food and Chemical Toxicology* v. 40, p. 871-898, 2002.
- RYLL, R.; KUMAZAWA, Y.; YANO, I. *Microbiol. Immunol.* v. 41, p. 801-811, 2001.
- RONALD, R. C.; WAHLSTROM, J. L. *J. Org. Chem.* v. 63, p.6021-6022 1998.
- SANTOS, L. J. *Síntese de tetrazóis a partir da alfa, alfa-trealose*. Belo Horizonte: UFMG, 2006, 153p. (Dissertação de Mestrado em Química).
- SANTOS, L. J.; COURI, M. R. C.; LUDUVICO, I.; ALVES, R. B.; PRADO, M. A. F.; GIL, R. P. F. *Synthet. Comm.* v. 37, p. 3059-3066, 2007.
- SHAQUIQUZZAMAN, M.; VERMA, G.; CHASHOO, G.; ALI, A.; KHAN, M. F.; AKHTAR, W.; ALI, I.; AKHTAR, M.; ALAM, M. M. *Bioorg. Chem.*, v. 77, p. 106–124, 2018.
- SHI, X.; HE, D.; TANG, G.; TANG, Q.; XIONG, R.; OUYANG, H.; YU, C. Fabrication and characterization of a folic acid-bound 5-fluorouracil loaded quantum dot system for hepatocellular carcinoma targeted therapy. *RSC Adv.*, v.8, p. 19868-19878, 2018.
- SHOMAN, M. E.; ABD-ELLAH, H. S.; ABDEL-AZIZ, M.; E. BESHAR, A. M.; KAOUD, T. S.; AHMED, A. S. F. F. *Bioorg. Chem.*, v. 74, p. 15–29, 2017.
- SILVA, H. R. S. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. *Química Nova* v.29, p. 776-785, 2006.
- SINGH, H.; CHAWLA, A. S.; KAPOOR, V. K.; PAUL, D.; MALHOTRA, R. K. Medicinal Chemistry of Tetrazoles. In: Ellis, G. P.; West, G. B. (Eds). *Progress in Medicinal Chemistry*. Holland: North-Holland Biomedical Press, 1980, v.17, p.151-176.

- SINGH, P.; KAUR, J.; KAUR, B. Rational modification of semaxanib and sunitinib for developing a tumor growth inhibitor targeting ATP binding site of tyrosine kinase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* v.28, p. 129-133, 2018.
- SOARES, C. S.; SILVA, C. O. *Química Nova* v. 31, p. 280-284, 2008.
- SOUZA FILHO, J. D. *Síntese de 3-benzamido-2-fluoro-2, 3, 6-tridesoxi-β-L-(-)-galactopiranosídeo de metila, um análogo da L-(-)-daunosamina fluorado em C₂ e protegido em C₁ e C₃*. Belo Horizonte: UFMG, 1985, 101p. (Dissertação, Mestrado em Química).
- SUGIHARA, J. M.; TEERLINK, W. J.; MACLEOD, R.; DORRENE, S. M.; SPINGER, C. J. *Org. Chem.*, v.28, p.2079-2082, 1963.
- SUM, A. K.; FALLER, R.; PABLO J. J. Molecular simulation study of phospholipid bilayers and insights of the interactions with disaccharides. *Biophys. J.* v. 85, p. 2830-2844, 2003.
- TAKAIAMA, K.; WANG, C.; BESRA, G. S. Pathway to synthesis and processing of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiology Reviews* v. 18, p.81-101, 2005.
- TANYELI, C.; ROUF, A. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives. *European J. Med. Chem.* v. 97, p.911-927, 2015.
- VIANA, R. M. R.; PRADO, M. A. F.; ALVES, R. J. A. Synthesis and modifications of heterocyclic derivatives of D-arabinose: potential inhibitors of glucose-6-phosphate isomerase and glucosamine-6-phosphate synthase. *Química Nova*, v. 31, p. 1710-1713, 2008.
- VIGURI, E. M.; VELIZ, M. S.; SILANES, S. P.; TORRES, E. Design and synthesis of novel quinoxaline derivatives as potential candidates for treatment of multidrug-resistant and latent tuberculosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 26, p. 2188–2193, 2016.
- VIRNIG, B. A.; SHAMLIYAN, T.; TUTTLE, T. M.; KANE, R. L.; WILT, T. J. Diagnosis and management of ductal carcinoma in situ (DCIS). *Evid. Rep. Technol. Assess*, v.185, p.54-59, 2009.

- VOLKMANN, N.; MARASSI, F. M.; NEWMMEYR, D. D.; HANEIN, D. The rheostat in the membrane: BCL-2 family proteins and apoptosis. *Cell death and differentiation*, v.21, p.206-215, 2014.
- WALKER, E.; ROUSSEL, P.; JEANLOZ, R. W.; REINHOLD, V. N. Amino sugars. LXXXIX. Synthesis of methyl 2-acetamido-3,6-anhydro-2-deoxy- α -D-glucopyranoside and derivatives. *Carbohydr. Res.* v. 35, p. 270-279, 1974.
- WANG, J.; ELCHERT, B.; HUI, Y.; TAKEMOTO, J. Y.; BENSACI, M.; WENNERGREN, J.; CHANG, H.; RAI, R.; CHENG, C.T. Synthesis of Trehalose-based Compounds and Study of Their Antibacterial Activity against Mycobacterium smegmatis. *Bioorg. Medic. Chem.* v.12, p. 6397-6413, 2004.
- WANG, Y.; XU, Y.; CHEN, J.; OUYANG, T.; LI, J.; WANG, T.; FAN, Z.; FAN, T.; LIN, B.; XIE, Y. TP53 mutations are associated with higher rates of pathologic complete response to anthracycline/cyclophosphamide-based neoadjuvant chemotherapy in operable primary breast cancer. *Int J Cancer*, v.138, p.489-496, 2015.
- YE, C.; SWEENEY, D.; SUKBUNTHERNG, J.; ZHANG, Q.; TAN, W.; WONG S.; MADAN, A.; OGILVIE, B.; PARKINSON, A.; ANTONIAN, L. Distribution, metabolism, and excretion of the anti-angiogenic compound SU5416. *Toxicology in Vitro* v. 20, p. 154–162, 2006.
- YIN, J.; QIN, C.; SCHUMANN, B.; ZOU, X.; PEREIRA, C. L.; TIAN, G.; HU, J.; SEEBERGER, P. H. Total Synthesis of a Densely Functionalized Plesiomonas shigelloides Serotype 51 Aminoglycoside Trisaccharide Antigen. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 140, p. 3120–3127, 2018.
- ZGHAIR, A. N.; SINHA, D. K.; KASSIM, A.; SHARMA, A. K. Differential Gene Expression of BRCA1,ERBB2 and TP53 biomarkers between Human Breast Tissue and Peripheral Blood Samples of Breast Cancer. *Anticancer Agents Med Chem*, v.16, p.519-525, 2016.
- ZHAO, W.; GUO, L.; LIU, T.; CHEN, K.; SONG, T.; WANG, P. G. Facile synthesis of 5-hydroxy-L-lysine from D-galactose as a chiral-precursor. *Org. Biomol. Chem.*, v. 12, p. 7310-7317, 2014.

9 Apêndice

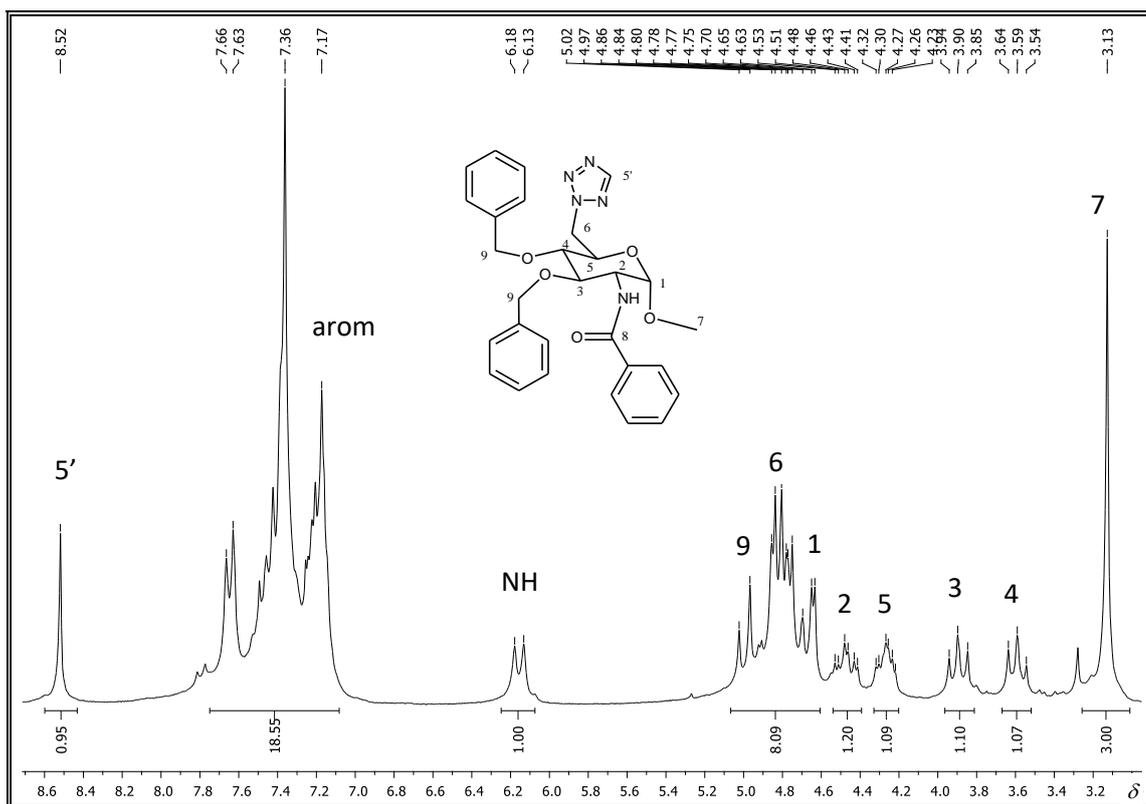


Figura 147 - RMN ^1H do composto 144b (400 MHz, CDCl_3).

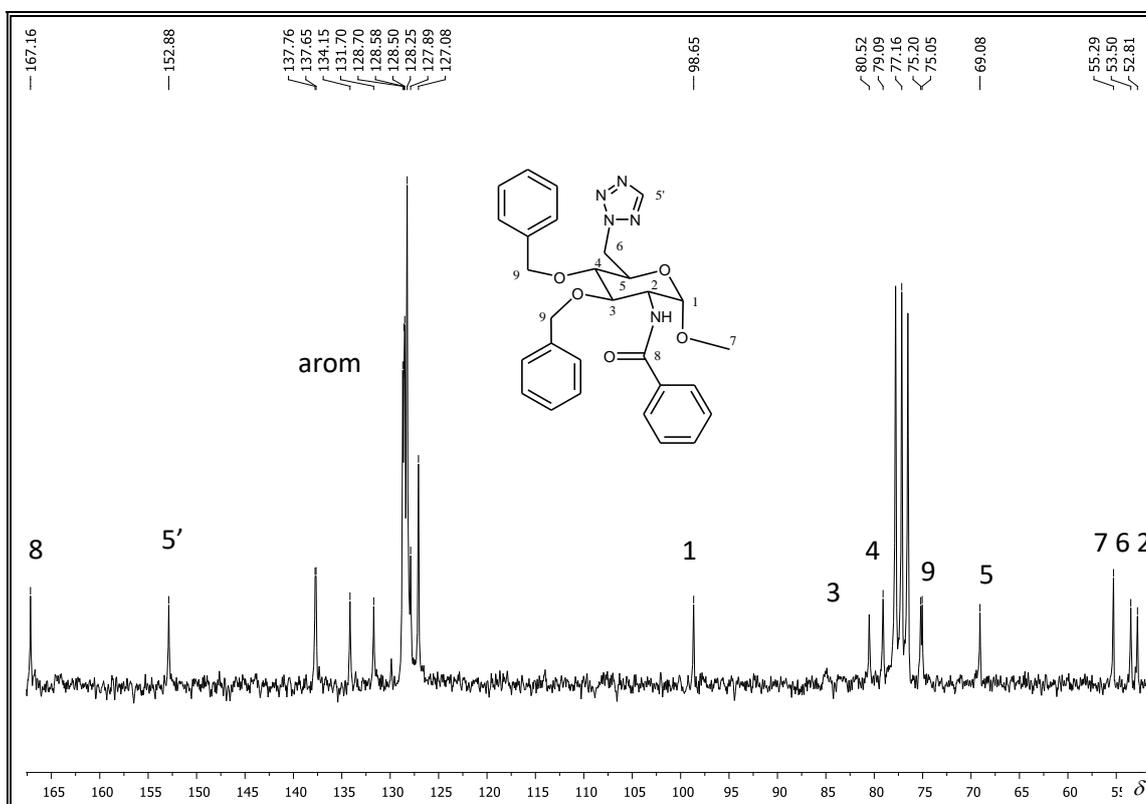


Figura 148 - RMN ^{13}C do composto 144b (50 MHz, CDCl_3).

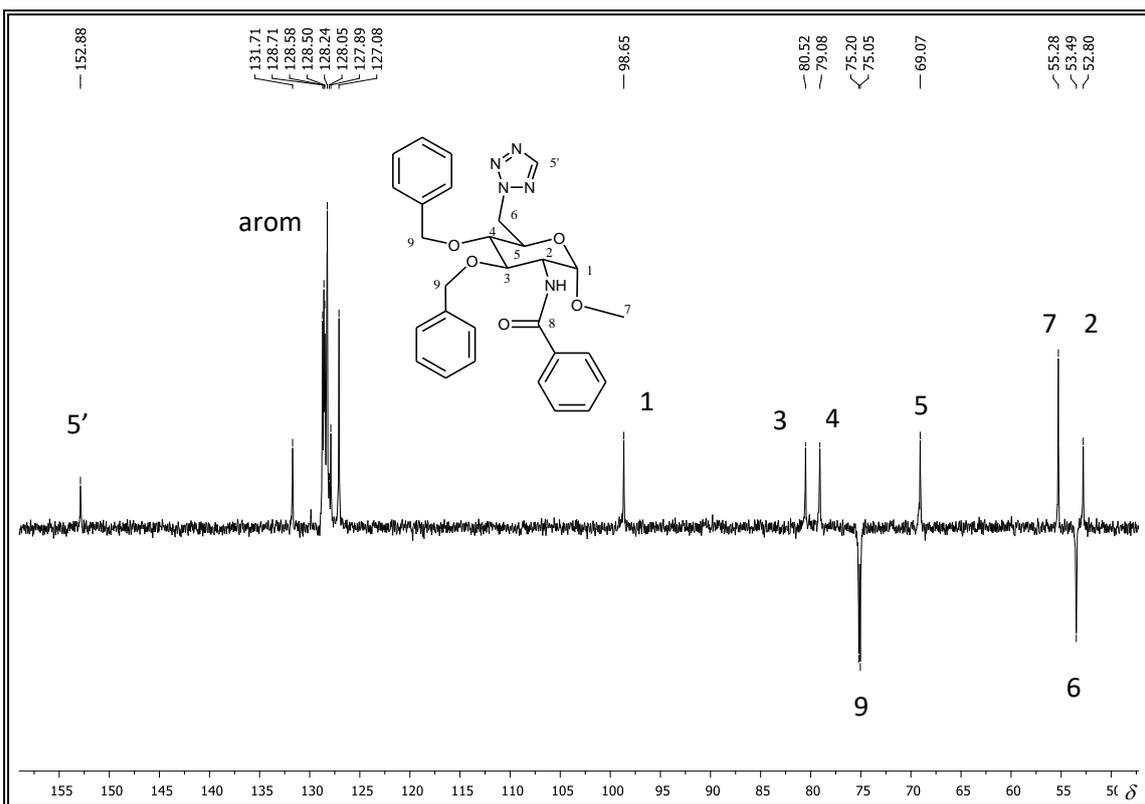


Figura 149 - DEPT 135 do composto **144b** (50 MHz, CDCl₃).

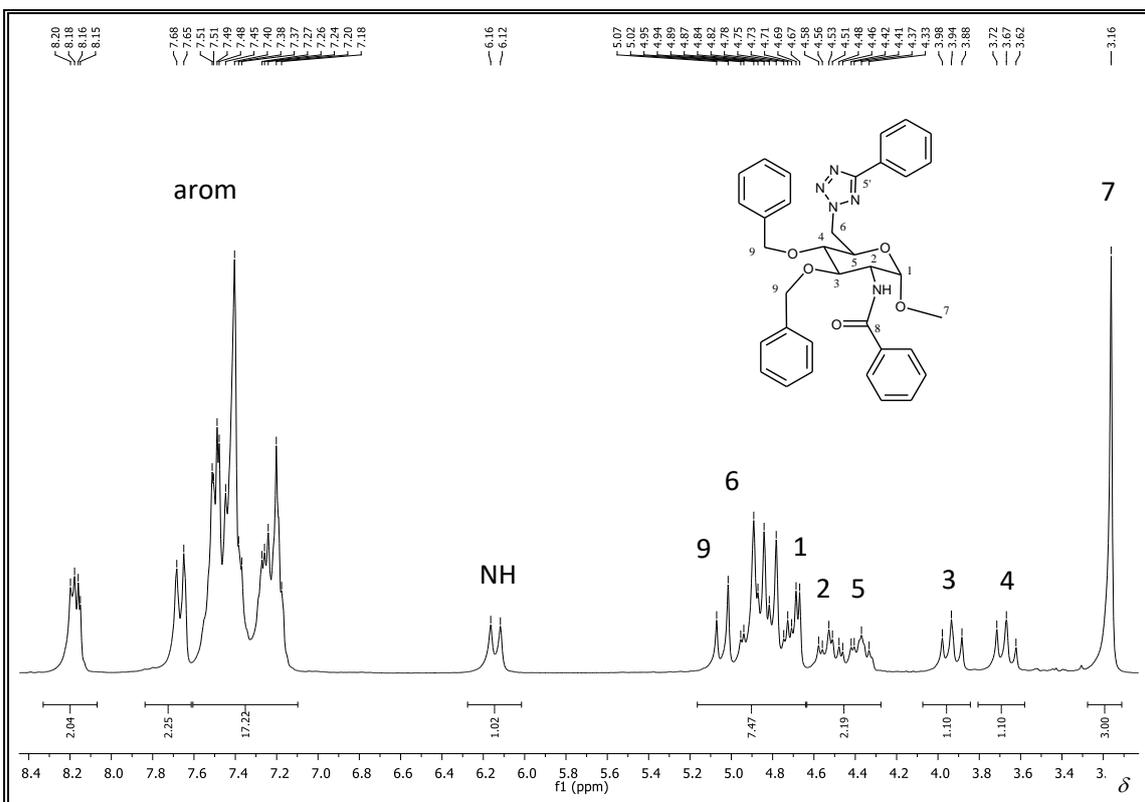


Figura 150 - RMN ¹H do composto **145** (200 MHz, CDCl₃).

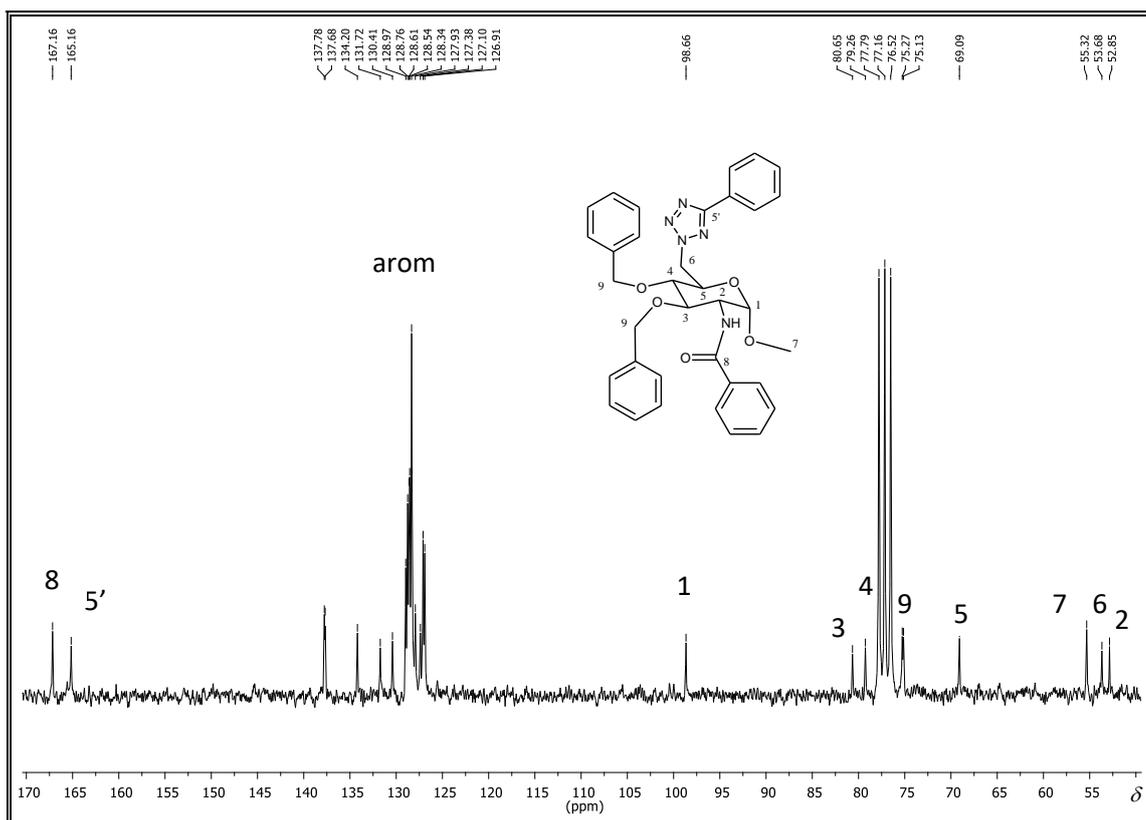


Figura 151 - RMN ^{13}C do composto 145 (50 MHz, CDCl_3).

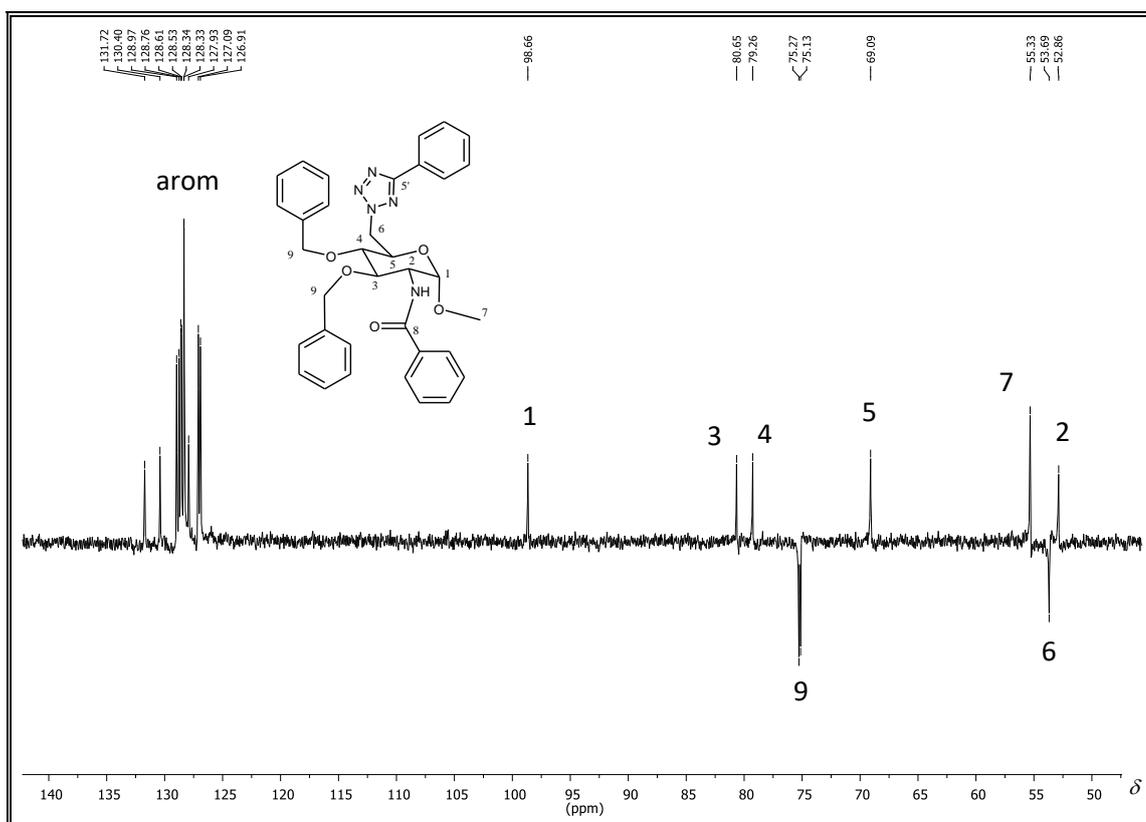


Figura 152 - DEPT do composto 145 (50 MHz, CDCl_3).

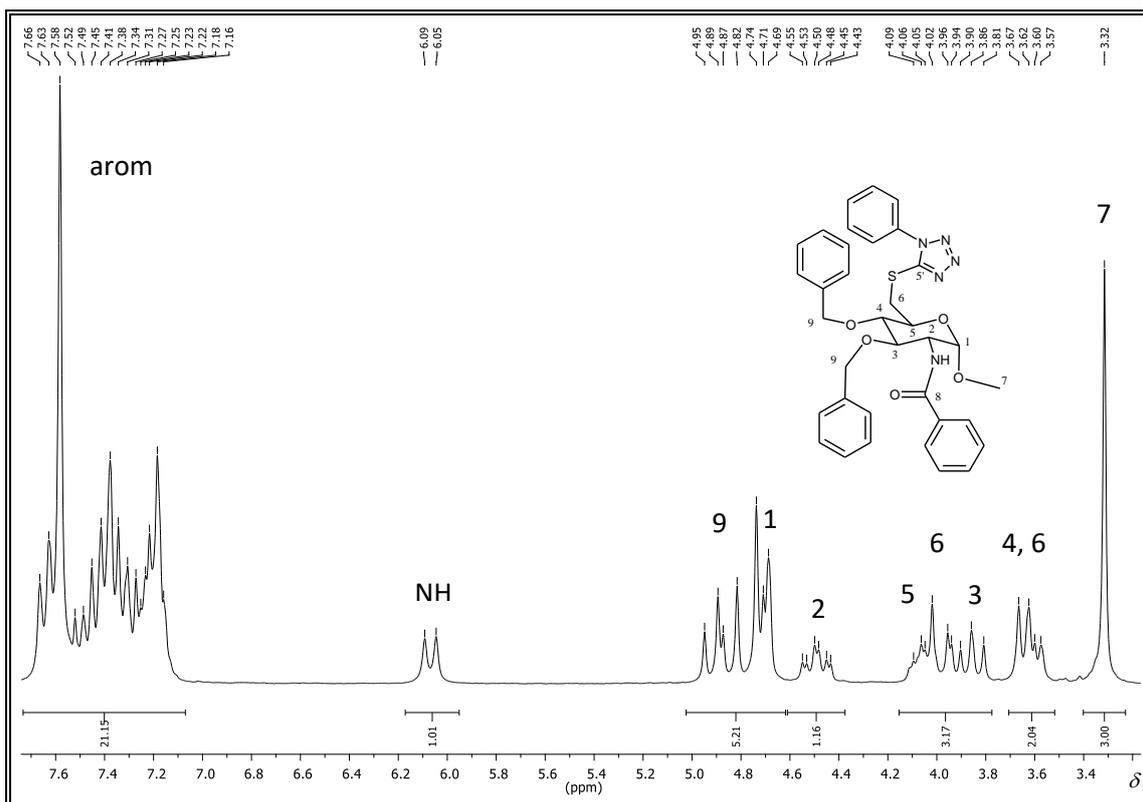


Figura 153- RMN ^1H do composto 148 (200 MHz, CDCl_3).

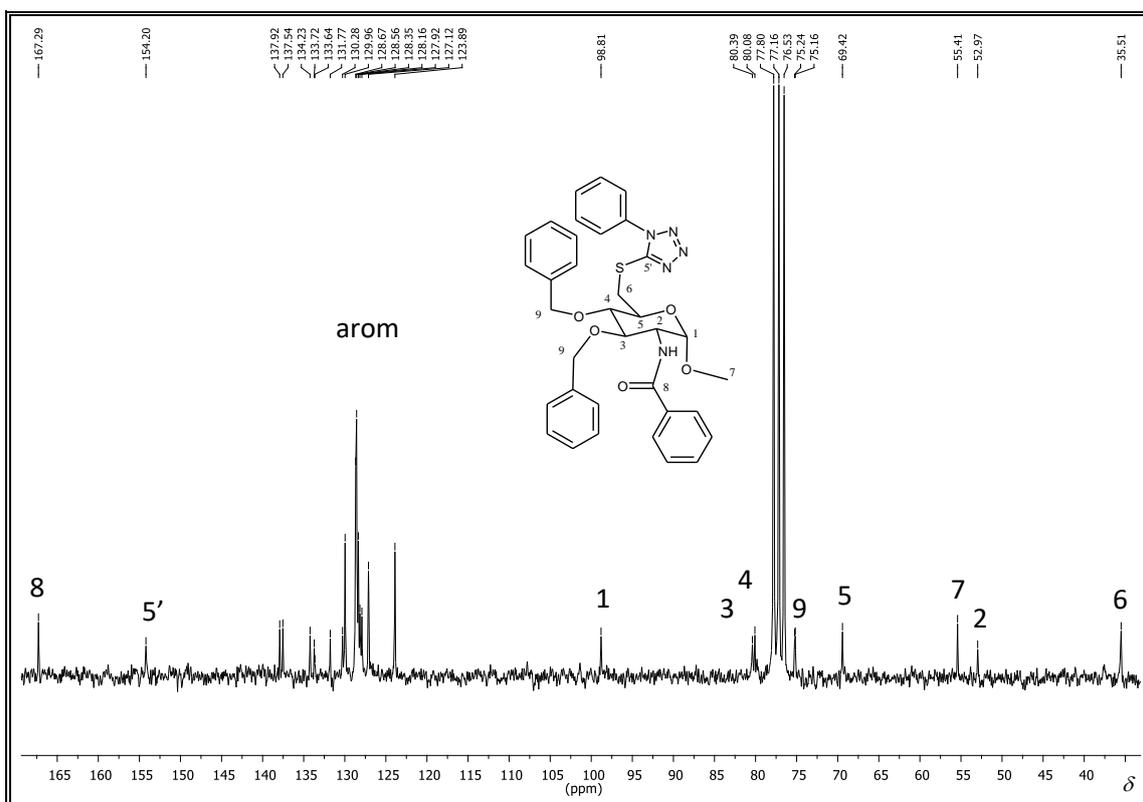


Figura 154 - RMN ^{13}C do composto 148 (50 MHz, CDCl_3).

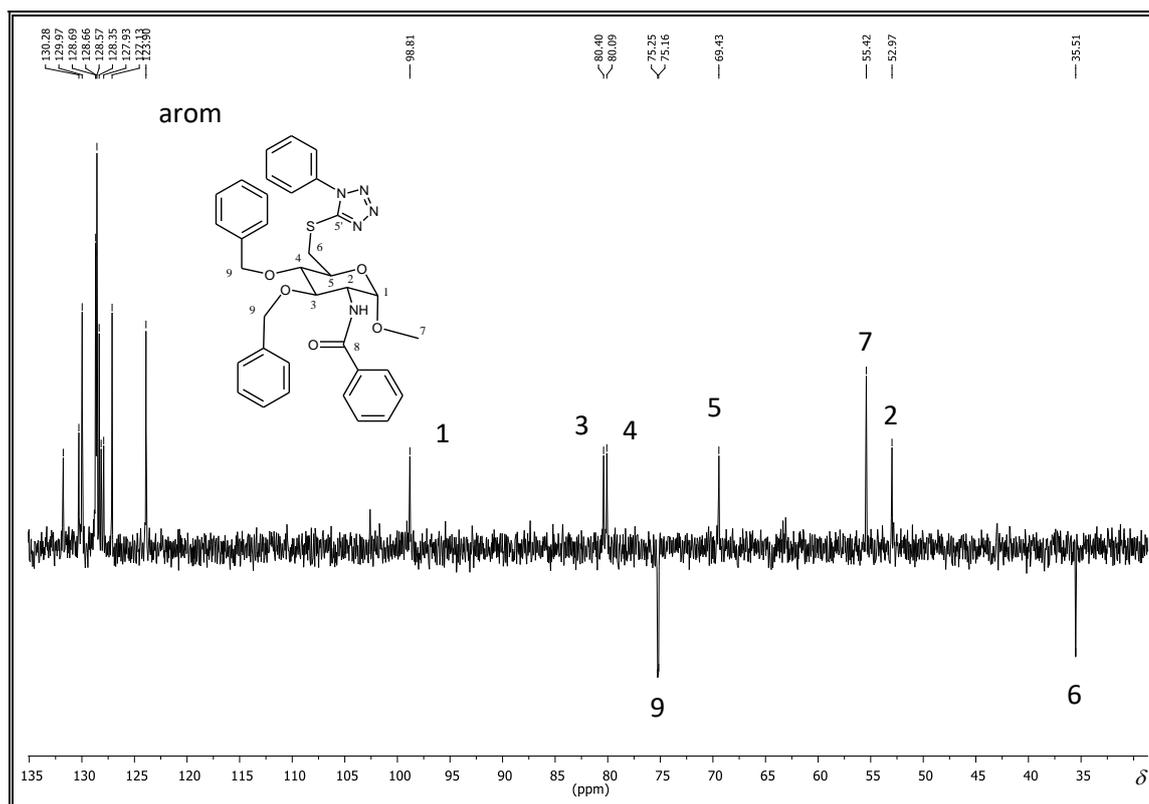


Figura 155 - DEPT do composto 148 (50 MHz, CDCl_3).

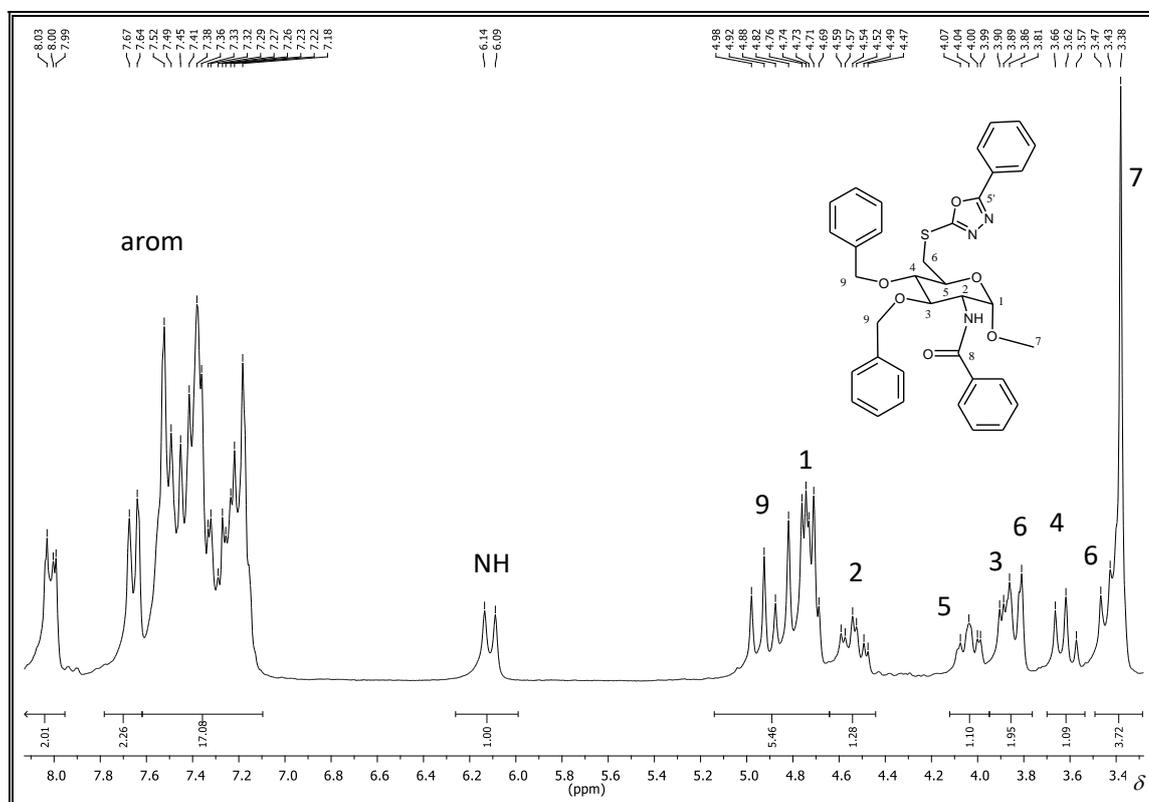


Figura 156 - RMN ^1H do composto 149 (200 MHz, CDCl_3).

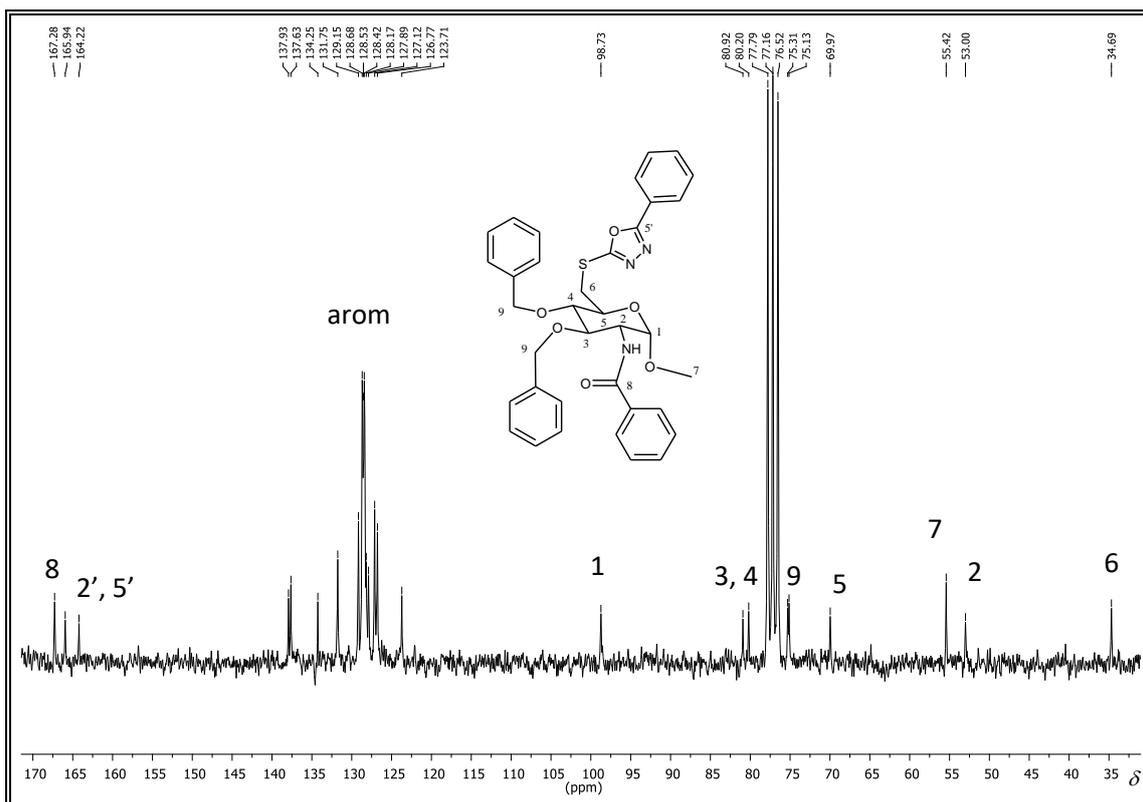


Figura 157 - RMN ^{13}C do composto 149 (50 MHz, CDCl_3).

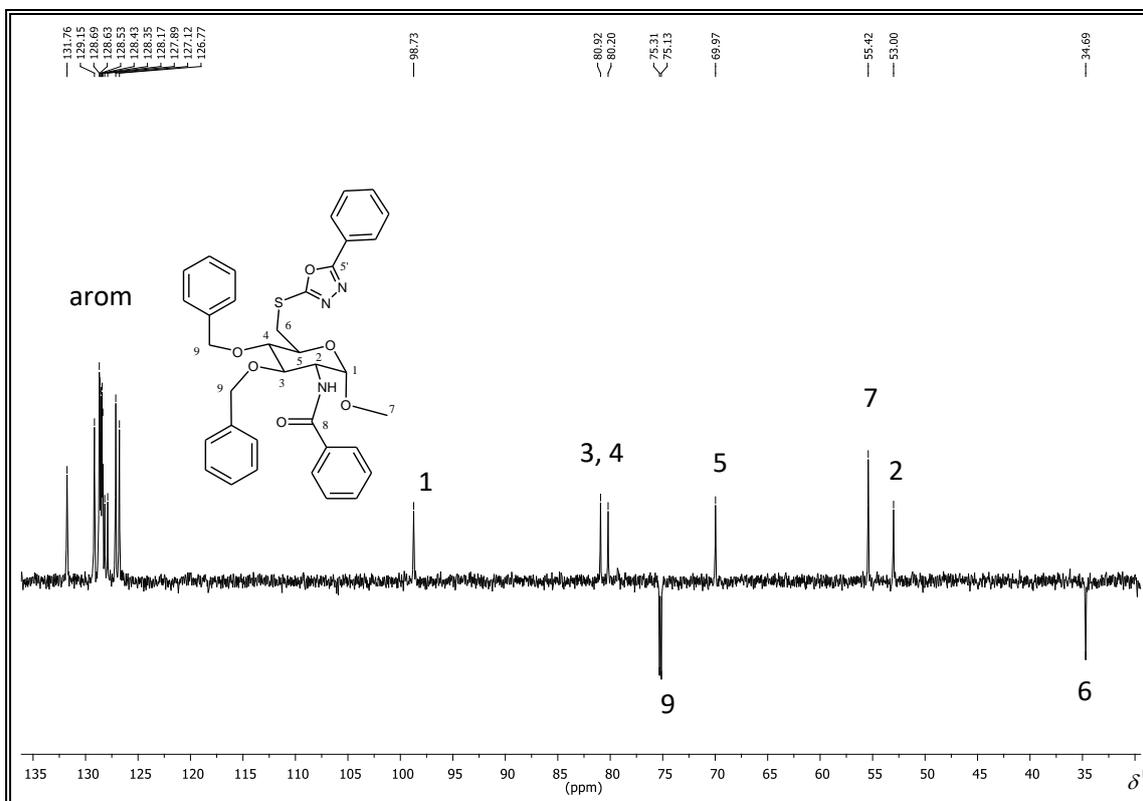


Figura 158 - DEPT 135 do composto 149 (50 MHz, CDCl_3).

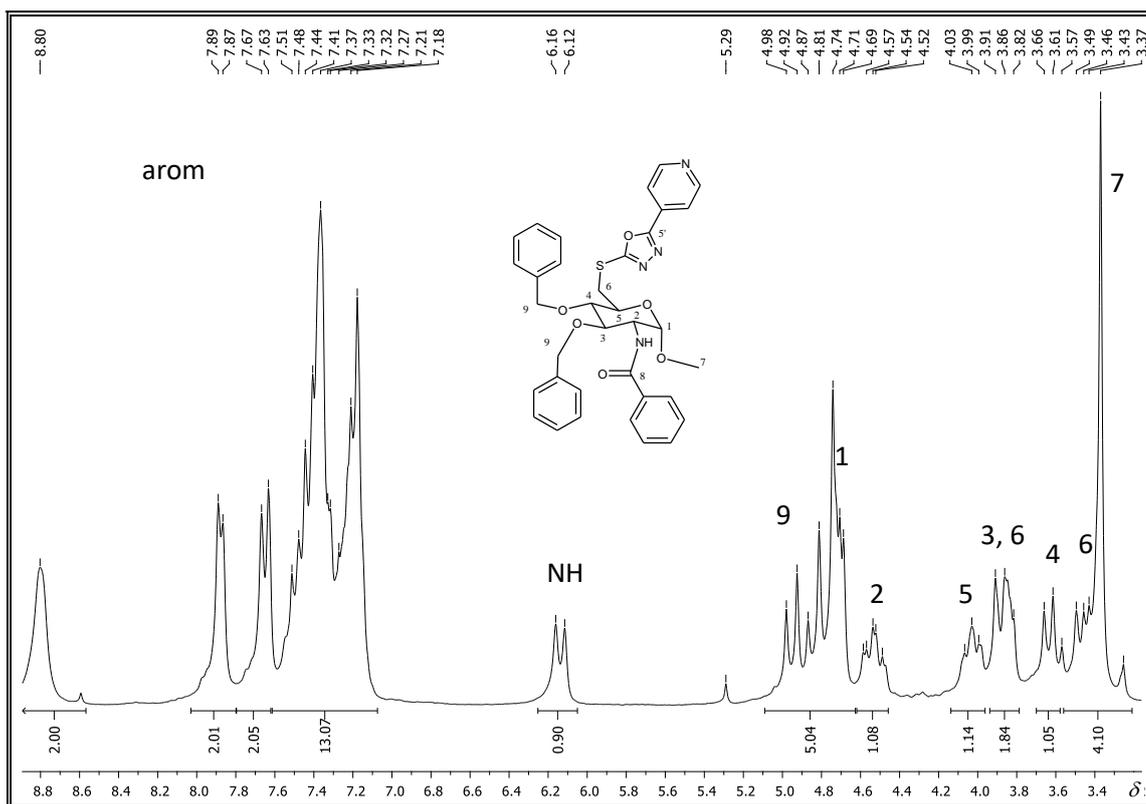


Figura 159 - RMN ^1H do composto **150** (200 MHz, CDCl_3).

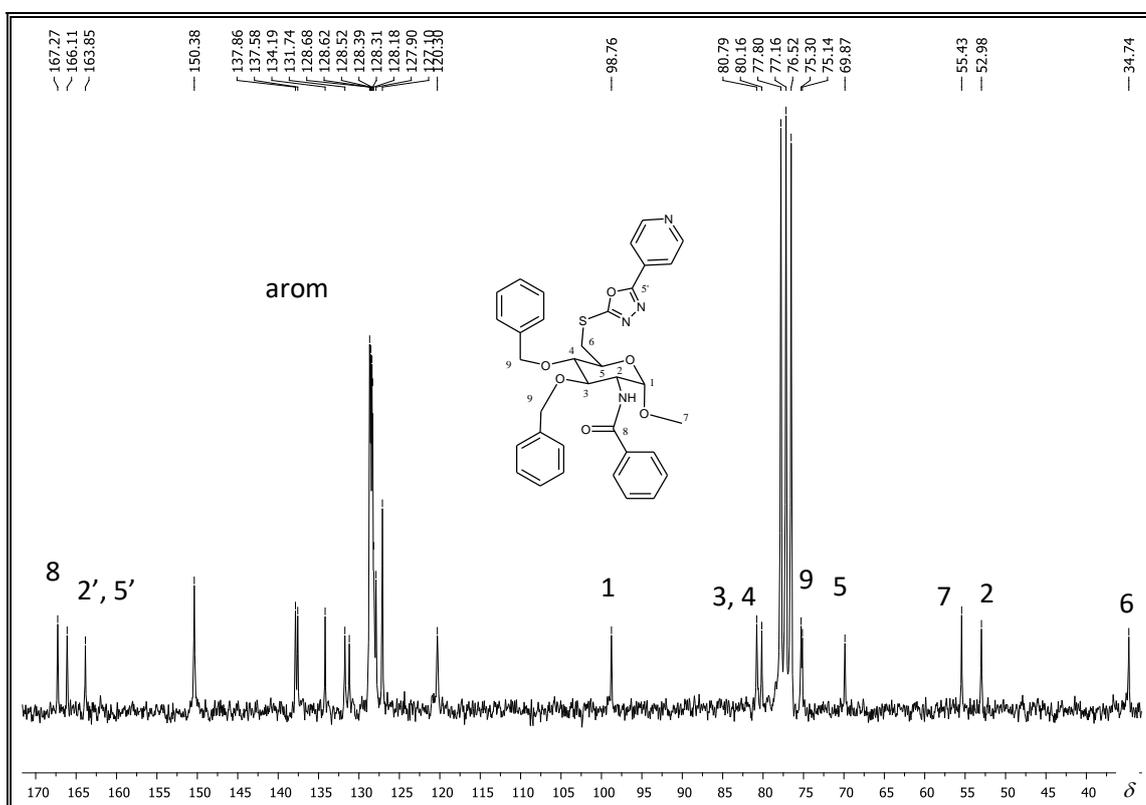


Figura 160 - RMN ^{13}C do composto **150** (50 MHz, CDCl_3).

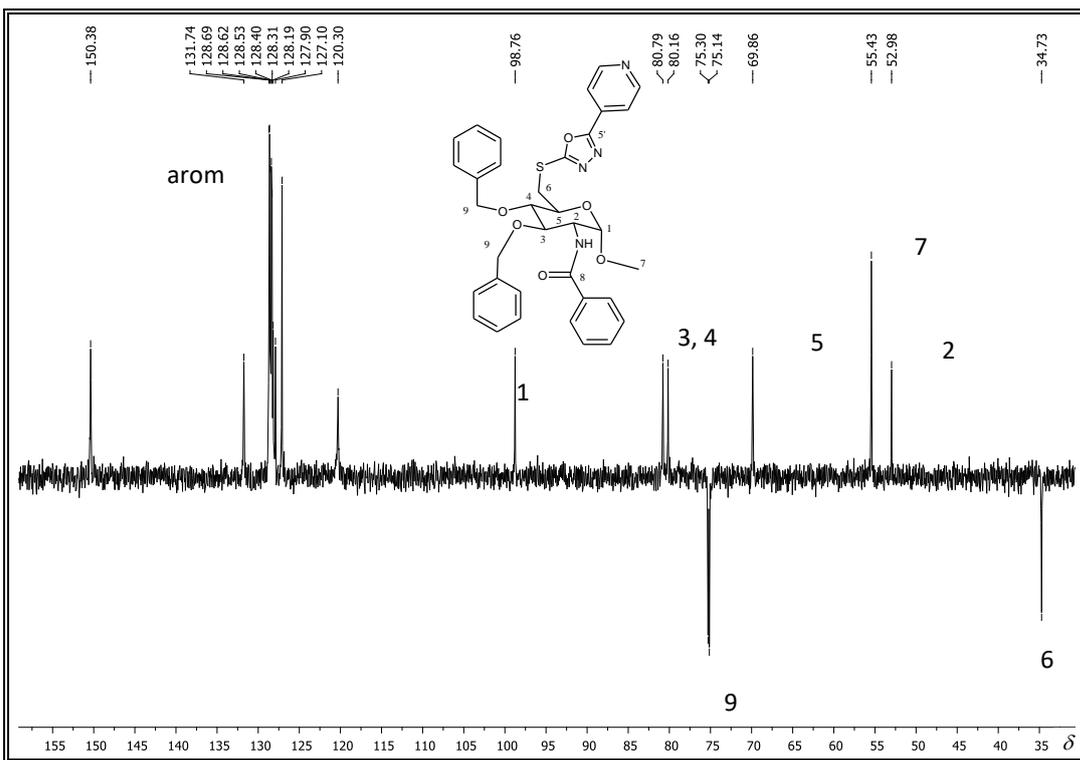


Figura 161 - DEPT 135 do composto **150** (50 MHz, CDCl_3).

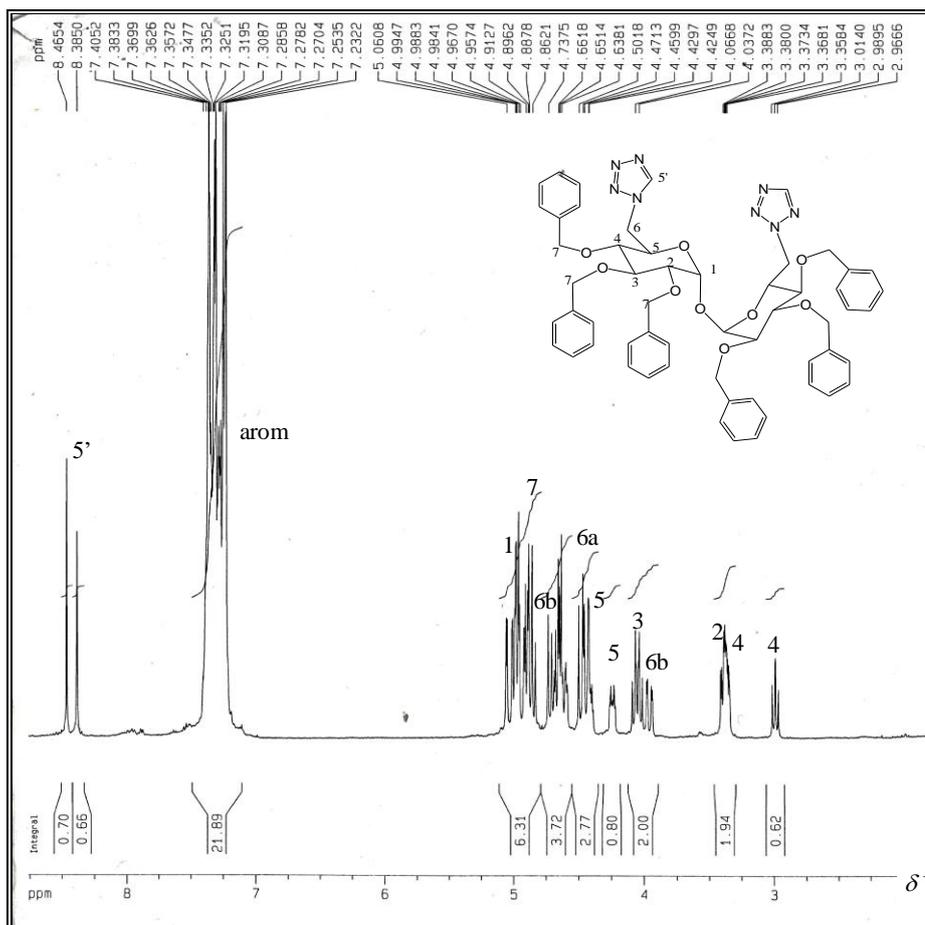


Figura 162 - RMN ^1H do composto **159** (200 MHz, CDCl_3).

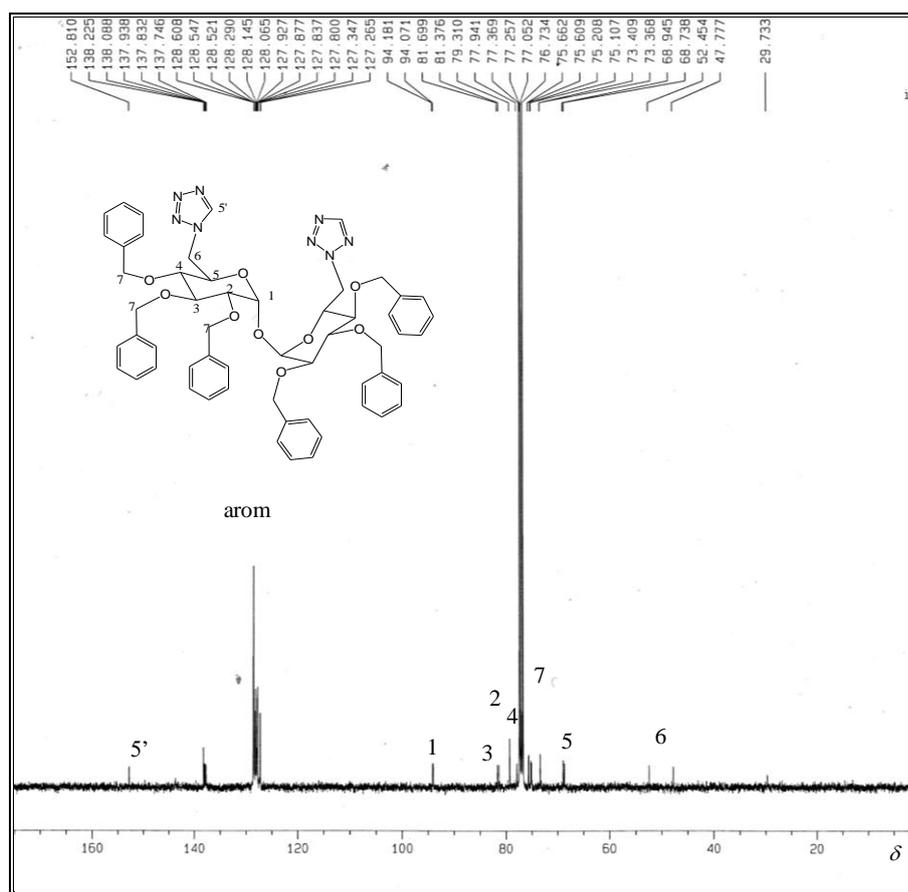


Figura 163 - RMN ^{13}C do composto 159 (50 MHz, CDCl_3).

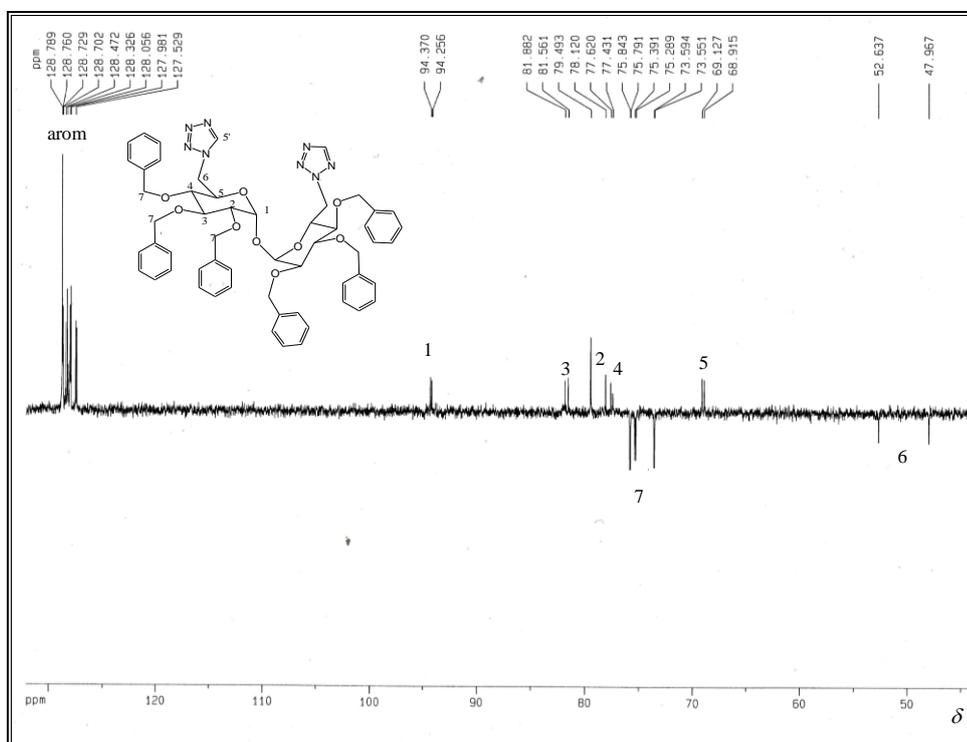


Figura 164 - DEPT 135 do composto 159 (50 MHz, CDCl_3).

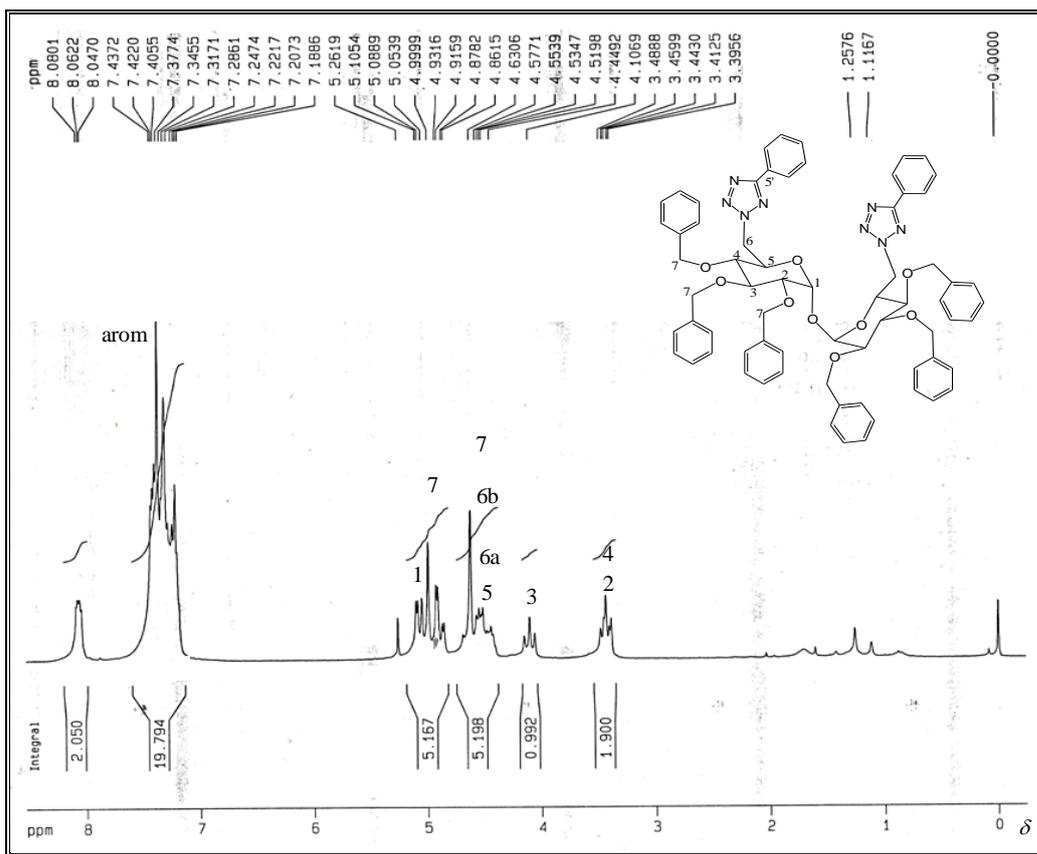


Figura 165 - RMN ^1H do composto **160** (200 MHz, CDCl_3).

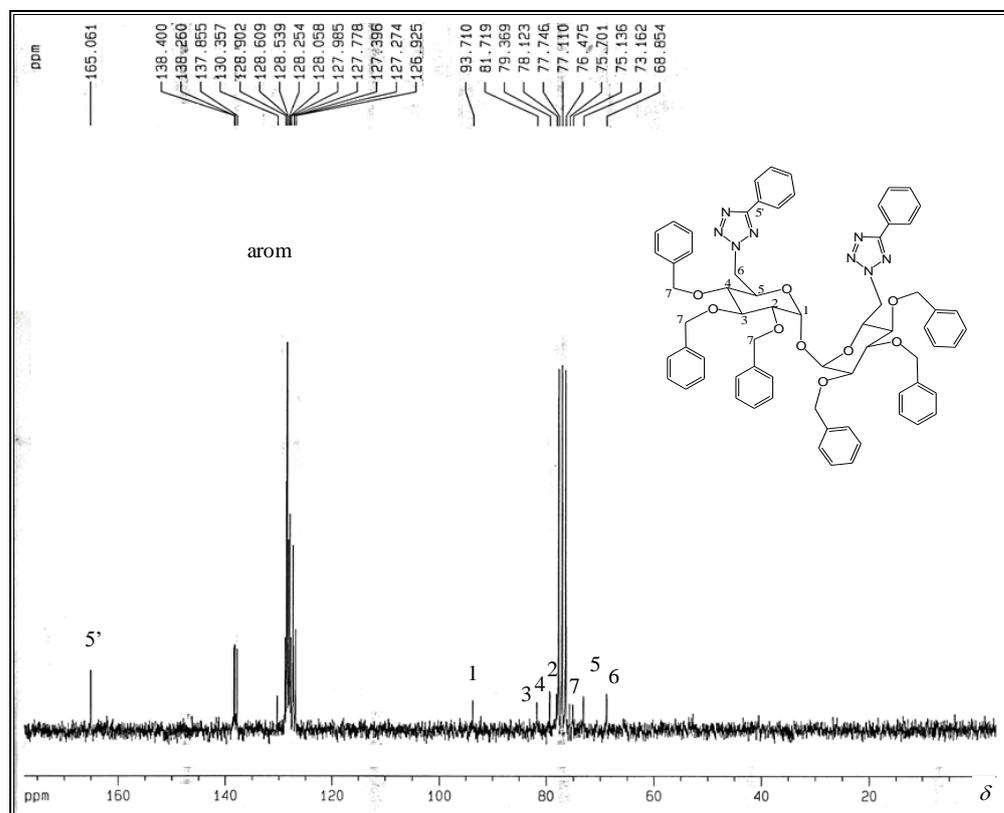


Figura 166 - RMN ^{13}C do composto **160** (50 MHz, CDCl_3).

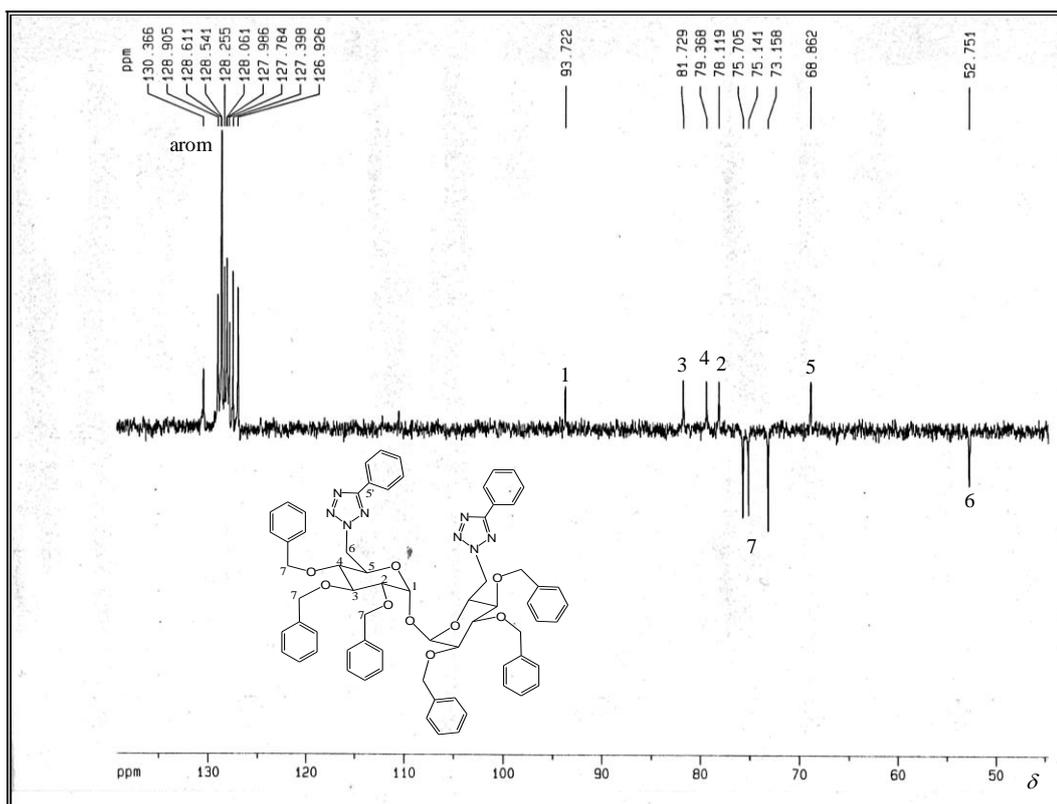


Figura 167 - DEPT 135 do composto 160 (50 MHz, CDCl_3).

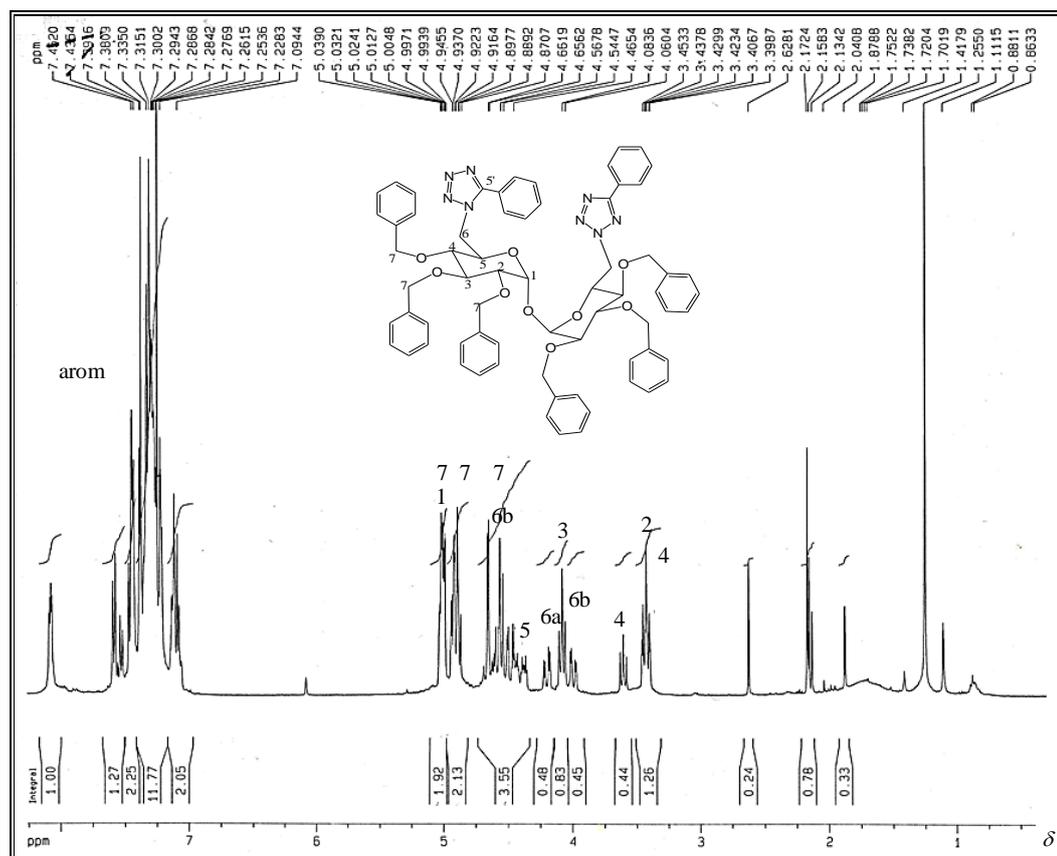


Figura 168 - RMN ^1H do composto 161 (200 MHz, CDCl_3).

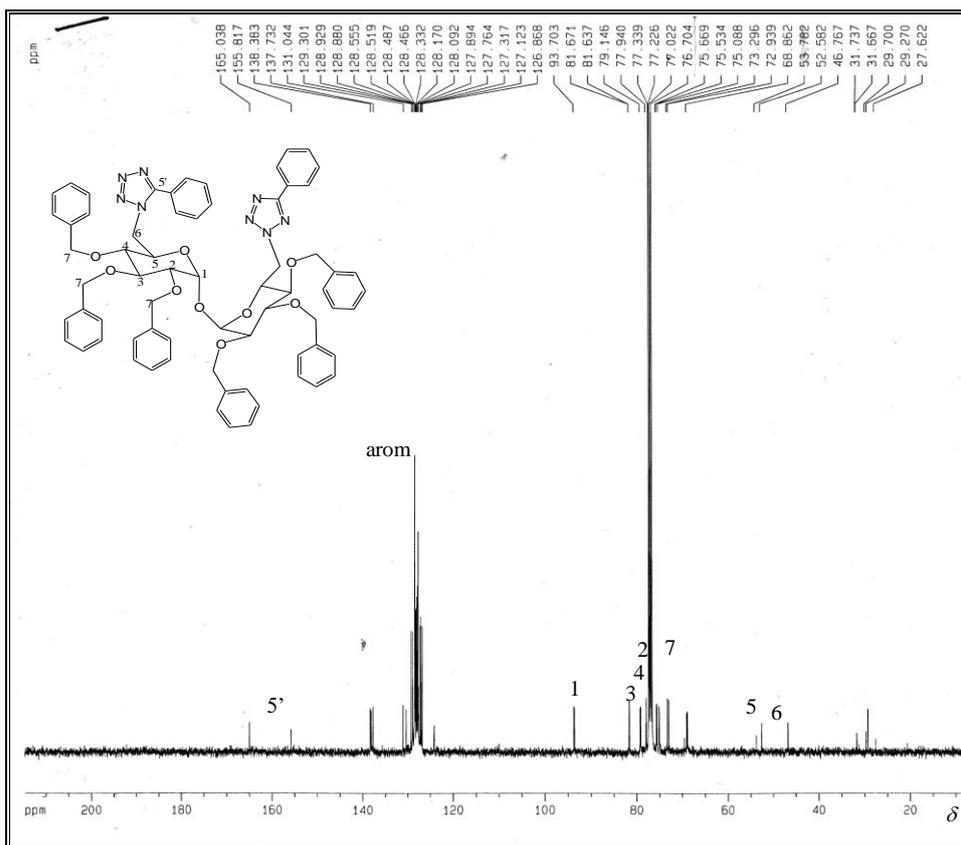


Figura 169 - RMN ^{13}C do composto **161** (50 MHz, CDCl_3).

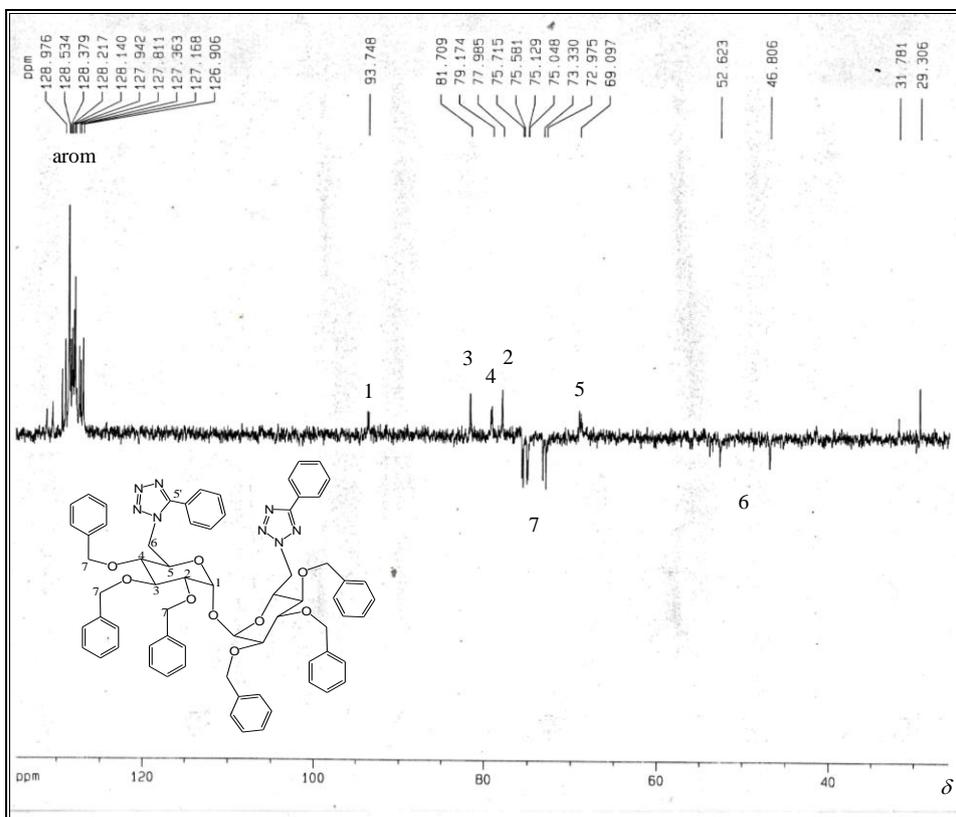


Figura 170 - DEPT 135 do composto **161** (50 MHz, CDCl_3).

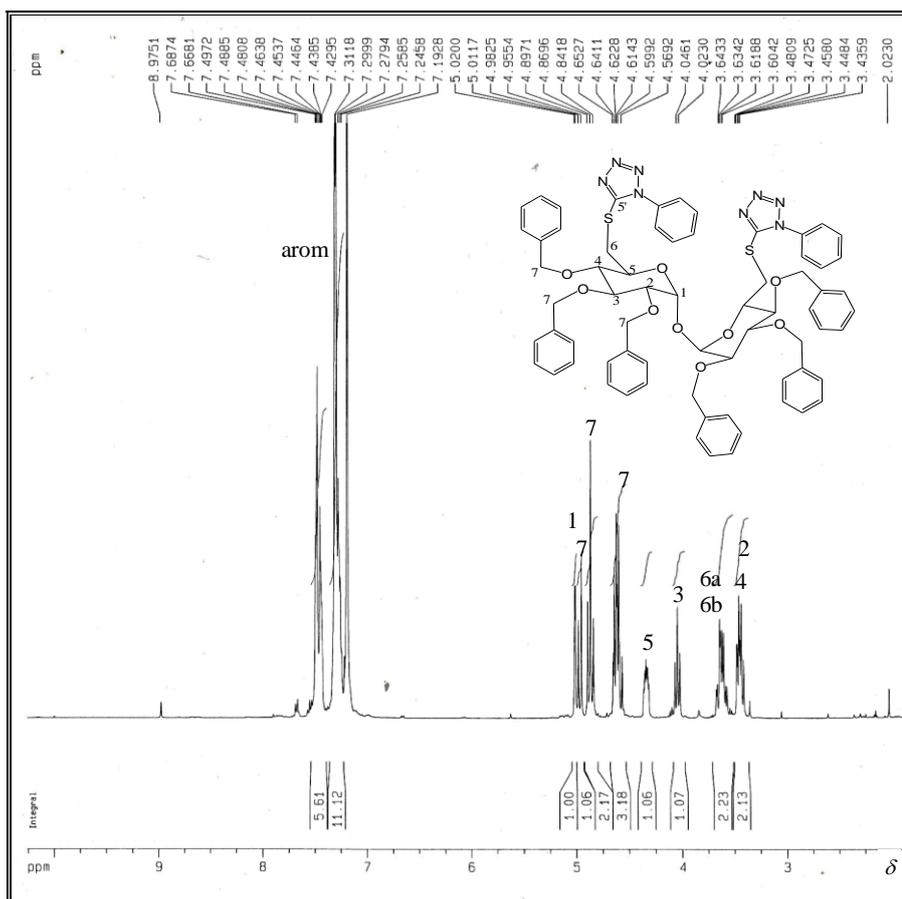


Figura 171 - RMN ¹H do composto 162 (200 MHz, CDCl₃).

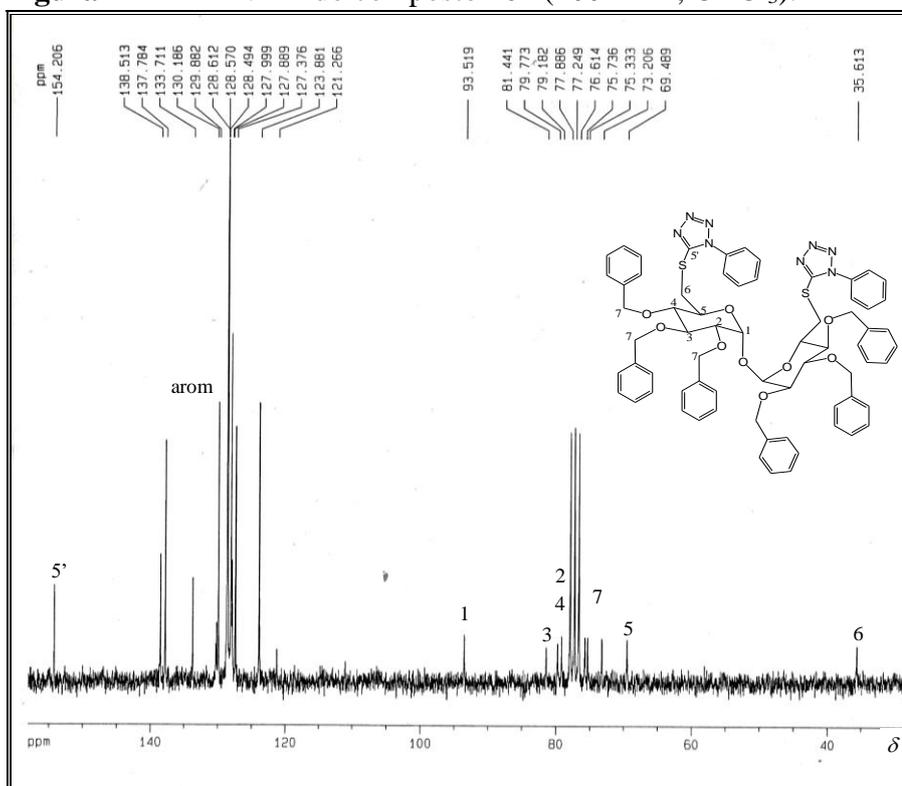


Figura 172 - RMN ¹³C do composto 162 (50 MHz, CDCl₃).

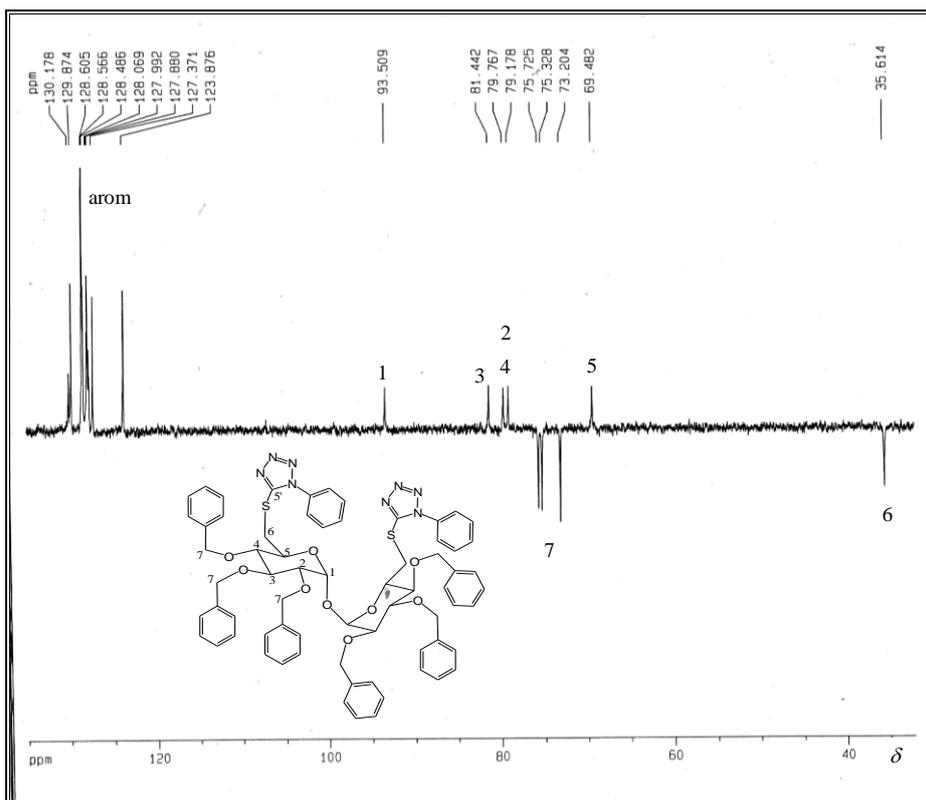


Figura 173 - DEPT 135 do composto **162** (50 MHz, CDCl_3).

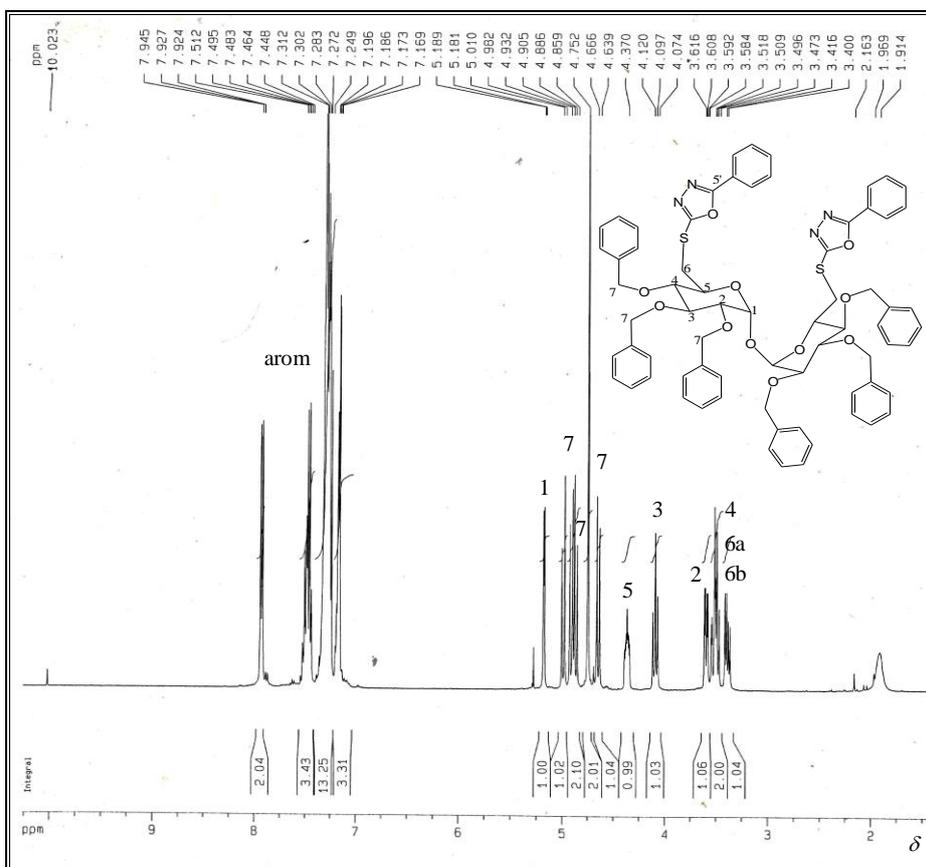


Figura 174 - RMN ^1H do composto **163** (200 MHz, CDCl_3).

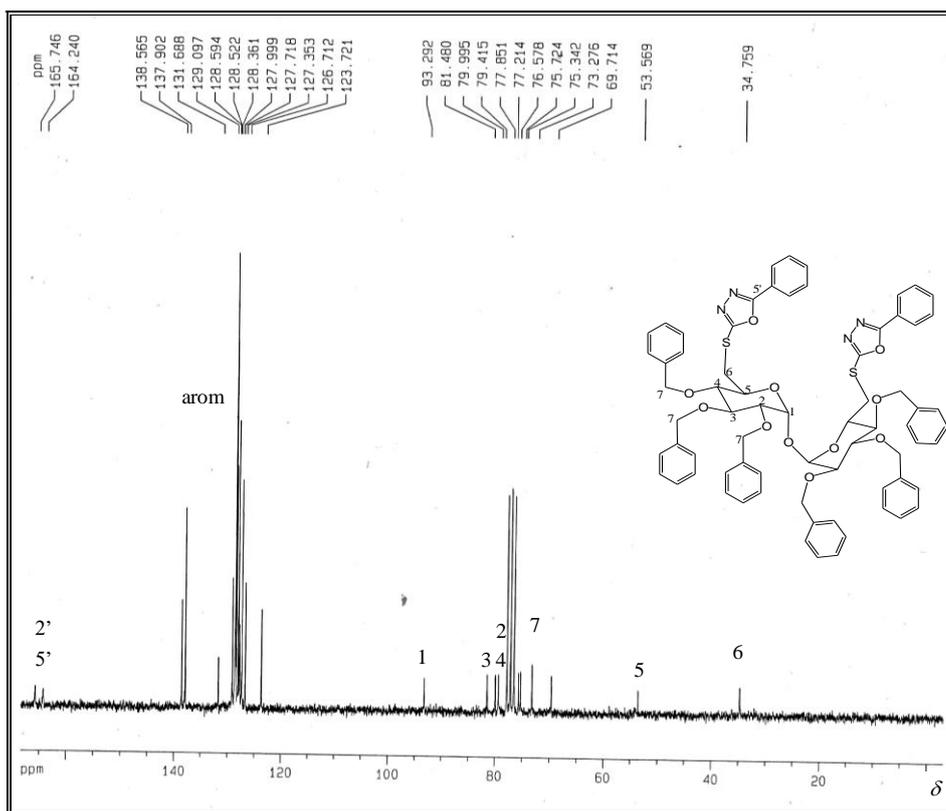


Figura 175 - RMN ¹³C do composto **163** (50 MHz, CDCl₃).

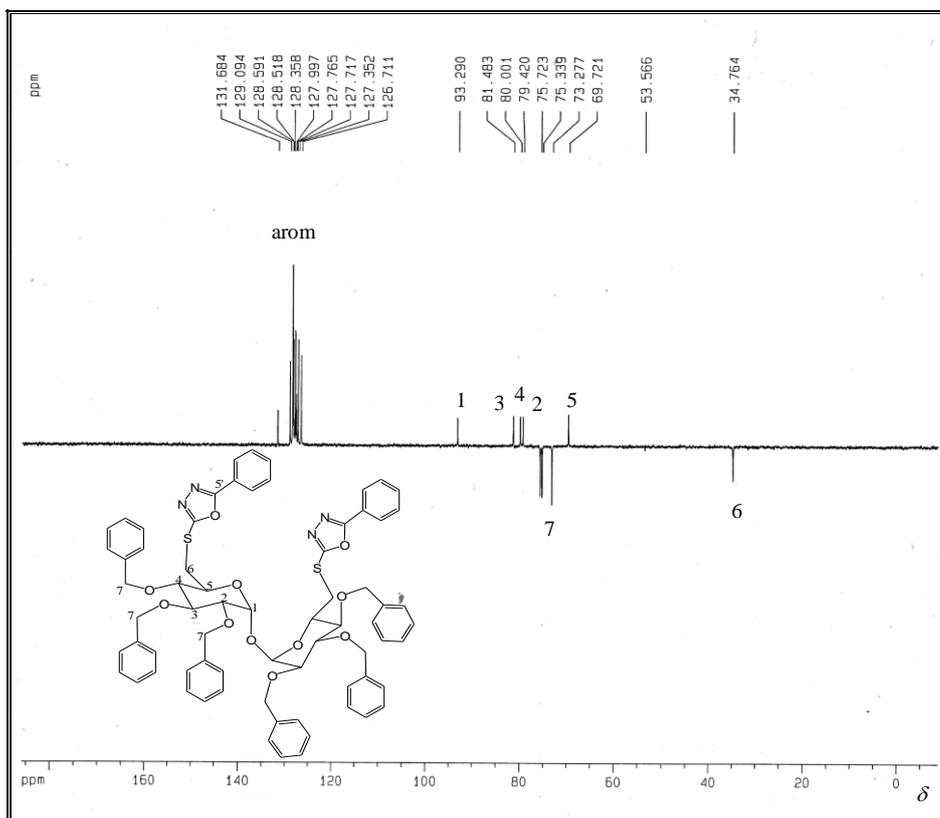


Figura 176 - DEPT 135 do composto **163** (50 MHz, CDCl₃).

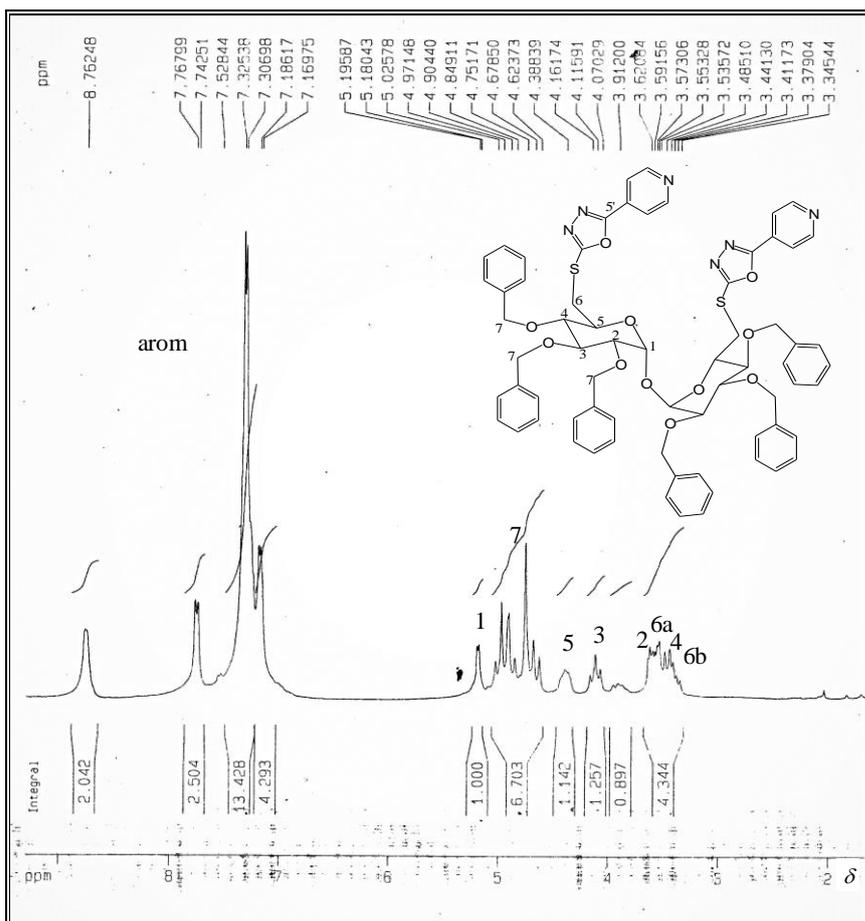


Figura 177 - RMN ^1H do composto **164** (200 MHz, CDCl_3).

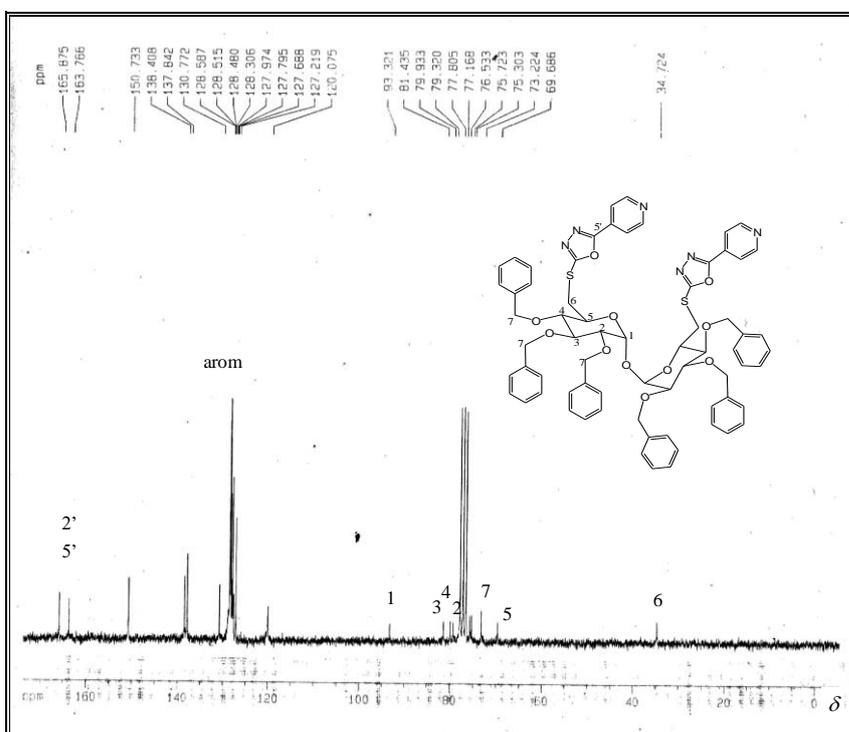


Figura 178 - RMN ^{13}C do composto **164** (50 MHz, CDCl_3).