



Dissertação de Mestrado

**“Síntese de Candidatos a Inibidores da Enzima 5’-
metiltioadenosina/S-adenosilhomocisteína
nucleosidase, Potenciais Agentes Antiparasitários”**

Isabela Gabriel de Lade

Orientador: Prof. Dr. Adilson David da Silva

**Dissertação apresentada ao
Departamento de Química da
Universidade Federal de Juiz de
Fora como parte dos requisitos
necessários à obtenção do título de
Mestre em Química.**

Juiz de Fora – Abril de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

*" ... O tempo é algo que não volta atrás.
Por isso plante seu jardim e decore sua alma,
ao invés de esperar que alguém lhe traga flores ... "*

(William Shakespeare)

“Tendo em conta as condições de que dispõe e na medida do possível, é a natureza que faz sempre as coisas mais belas e melhores.”

(Aristóteles)

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlos e Tecla, exemplos de força e dedicação sempre. Obrigada por toda confiança, educação e por nunca medir esforços para que eu pudesse chegar até aqui. Dedico, também, aos meus irmãos Biel e David, por me alegrarem e apoiarem nos momentos de indecisões. E à minha querida avó Tecla, pela presença constante com seu amor zeloso que tanto me ajudou.

Agradecimentos

A Deus, por me privilegiar com uma família maravilhosa, uma vida de felicidades e com saúde.

À minha família, mãe Tecla, pai Carlos, meus irmãos Biel e David, pelo apoio, incentivo e união.

À minha vovó Tecla por tudo que sempre fez e ao meu querido vovô Abdo (*in memoriam*), que lá de cima sei que olha mim.

Aos meus padrinhos Rita, José Antônio, Luiza e Dodoca e, também, a tia Dith e tio Cacai por sempre estarem presentes em todas as etapas de minha vida.

À Joaquina, que está ao nosso lado há tanto tempo e que sempre me ajudou e torceu em todas as etapas e conquistas.

Ao professor-orientador-amigo-conselheiro, Dr. Adilson David da Silva, por ter me dado a chance de crescer e por ter compartilhado comigo um pouco de muito que ainda tenho que aprender. Obrigada pela enorme paciência e por ignorar meus dias de fúria.

Não poderia deixar de agradecer os colegas Marisa Damato e Leandro José, que muito me ajudaram no começo de minha iniciação científica.

Aos amigos de bancada: Arturene, Julianinha, Rafaelzão, Marcos, Rafaelzim e, principalmente, ao Gustavo, pelas trocas de idéias sempre. Com certeza, meus momentos de estresse teriam sido fatais sem as risadas de vocês. Mesmo quando isso fazia piorar tudo...

As queridas amigas Roberta, pelas confidências, amizade, parcerias e risadas e Luana, pela as alegrias de tantos momentos e início de uma grande amizade.

Aos queridos amigos, Clebinho e Daniella que, apesar da distância, em nada diminuiu nossa amizade.

Ao amigo Luis Gustavo Dias, uma pessoa maravilhosa, prestativa que sempre me ajudou em qualquer situação. Obrigada por me aconselhar e me socorrer nos momentos de sufoco, seja pessoalmente ou por msn. Obrigada, também, por todos os Batons....

Aos amigos do espaço: Danilo, Ju, Dudi e Fernanda, por serem meus amigos de tantos anos, de tantos momentos, de tantas histórias. A Bruna, por sempre estar presente, mesmo de longe. O fato de vocês estarem em minha vida é a prova de que Deus quer sempre a nossa felicidade. Vocês são minha vida!

Aos amigos do prédio, Fabíola, Déia, Lucila, Gabi, Covinha, Valéria, Diogo, Suzana, Cearense, Samir, Lucas, Marcelo, Douglas por sermos amigos de infância, de tantas bagunças, viagens, brigas e alegrias. O tempo passa, mas nossas bobearas, jamais!!!! Amo muito vocês.

Aos colegas de todos os laboratórios, NUPEQ, NEEM, NEQC, NUPES e GFQSI.

Ao professores do DQ: Flávia, Marcone, Hélio, Eugênio e Aloísio pela amizade, ensinamentos, preocupações e tantas alegrias e momentos compartilhados.

À Alice, por sempre se mostrar prestativa e por todos os bolos, doces, biscoitos que muitas vezes acalentaram nossos estômagos. E a Simone, por sempre fazer valer o famoso “jeitinho brasileiro” nas horas de aperto.

Ao professor Dr. Jean-Louis Fourrey do Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS – França, por toda ajuda e disponibilidade oferecida durante todo este trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal de Juiz de Fora, por proporcionar a realização deste trabalho.

Índice

Resumo Geral	i
Abstract	iii
Lista de siglas e símbolos	v
Lista de moléculas descritas neste trabalho	viii
Publicações durante a realização deste trabalho	x

Capítulo 1

<i>Resumo do Capítulo 1</i>	1
1.1 – Introdução	2
1.1.1 – A Malária: Um breve Histórico	2
1.1.2 – Modos de transmissão da Malária	4
1.1.3 – A Resistência aos antimaláricos	5
1.1.4 – Principais fármacos utilizados no combate à Malária	6
1.1.5 – A Pesquisa	9
1.2 – Justificativas	12
1.3 – Objetivo	14
1.4 – Resultados e discussões	15
1.4.1 – Tentativa de obtenção do análogo da 5'-metiltioadenosina, um análogo nucleosídico do MeSAdo – Estratégia 1	15

1.4.1.1 – Síntese e caracterização do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno- β -D-frutopiranosose <u>1</u>	17
1.4.1.2 – Síntese e caracterização do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno- β -D-psicopiranosose <u>2</u>	19
1.4.1.3 – Síntese e caracterização do 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose <u>3</u>	23
1.4.1.4 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-6-Iodo-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose <u>4</u>	25
1.4.1.5 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-6-metiltio-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose <u>5</u>	28
1.4.1.6 – Síntese e caracterização da 6-N-benzoil-adenina	31
1.4.1.7 - Síntese da 6-(N-benzoil-N-trimetilsilil)-9-N-trimetilsilil-adenina	33
1.4.1.8 - Síntese e caracterização do 6-N-benzoil-9-[3',4'-O-isopropilideno-6'-(metiltio)- α -D-psicofuranosil]-adenina <u>6a</u> e 6-N-benzoil-9-[3',4'-O-isopropilideno-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina <u>6b</u>	34
1.4.1.9 – Tentativa de obtenção do 9-[6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina <u>7</u>	43
1.4.1.10 – Síntese e caracterização do 9-[3',4'-O-isopropilideno-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina <u>7</u>	44
1.4.1.11 – Tentativa de síntese do 9-(6'-metiltio- β -D-psicofuranosil)-adenina <u>8</u>	49

1.4.2 – Obtenção de um análogo nucleosídico do MeSAdo – Estratégia 2	50
1.4.2.1 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-(6-metiltio)-D-psicofuranose <u>9</u>	51
1.4.2.2 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-(6-metiltio)-1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-psicofuranose <u>10</u>	53
1.4.2.3 – Síntese do 6-desoxi-(6-metiltio)-2-bromo-1,3,4-tri-O-acetil- β -D-psicofuranose <u>11</u>	54
1.4.2.4 – Síntese e caracterização do 6-N-benzoil-9-[1',3',4'-tri-O-acetil-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina <u>12</u>	55
1.5 – Conclusões	59
1.6 – Parte Experimental	60
5.1 – Métodos Gerais	60
1.5.1 – Sínteses	62
Referências Bibliográficas	83
<i>Capítulo 2</i>	
<i>Resumo do Capítulo 2</i>	86
2.1 – Introdução	87
2.1.1 – Leishmaniose ou Leishmaníase ou Calazar	87

2.1.2 – Modos de Transmissão	89
2.1.3 – Principais fármacos utilizados no combate a Leishmaniose	91
2.2 – Justificativas	94
2.3 – Objetivos	96
2.4 – Resultados e discussões	97
Obtenção dos derivados de heterociclos condensados à Psicofuranose – Análogos da 5-metilioribose	100
2.4.1 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)-1,2:3,4-Di- O-isopropilideno-β-D-psicofuranose <u>15</u>	100
2.4.1.1 – Síntese do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)- β-D-psicofuranose <u>15a</u>	104
2.4.2 – Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)-1,2:3,4-Di-O- isopropilideno-β-D-psicofuranose <u>16</u>	107
2.4.2.1 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)-β-D- psicofuranose <u>16a</u>	110
2.4.3 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopiridina)-1,2:3,4- Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose <u>17</u>	113
2.4.3.1 – Síntese e caracterização do 6'-Desoxi-6'-(2-mercaptopiridina)-β-D- psicofuranose <u>17a</u>	116
2.4.4 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzimidazol)- 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose <u>18</u>	119

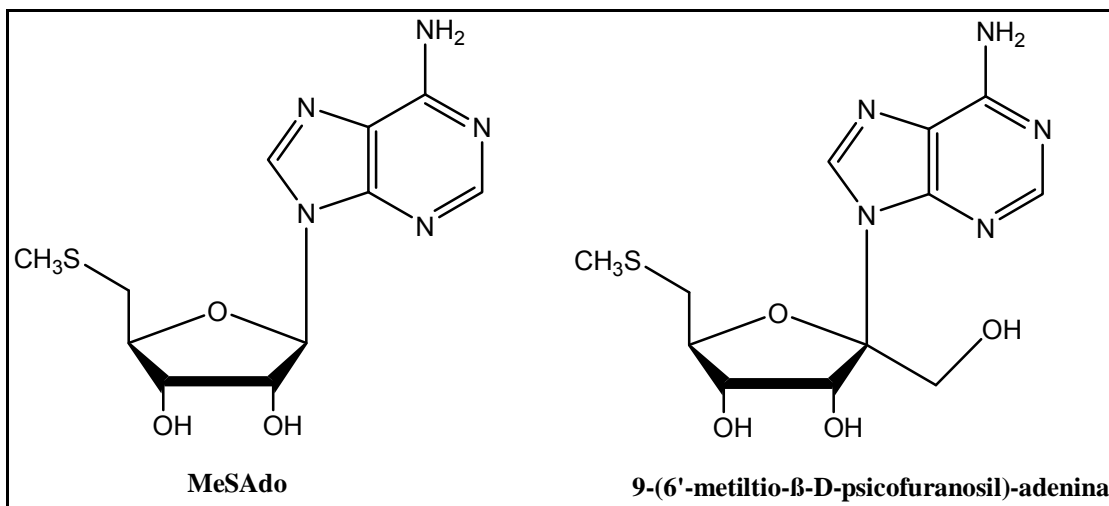
2.4.4.1 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzimidazol)-β-D-psicofuranose <u>18a</u>	122
2.4.5 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose <u>19</u>	125
2.4.5.1 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol)-β-D-psicofuranose <u>19a</u>	129
2.5 – Conclusões	131
2.6 - Parte Experimental	132
2.6.1 – Sínteses	132
Referências Bibliográficas	151

Resumo Geral

Esta dissertação intitulada "**Síntese de candidatos a inibidores da enzima 5'-metiltioadenosina/S-adenosilhomocisteína nucleosidase, potenciais agentes antiparasitários**" foi dividida em dois capítulos que descrevem a síntese de novos compostos com potencial atividade antiparasitária.

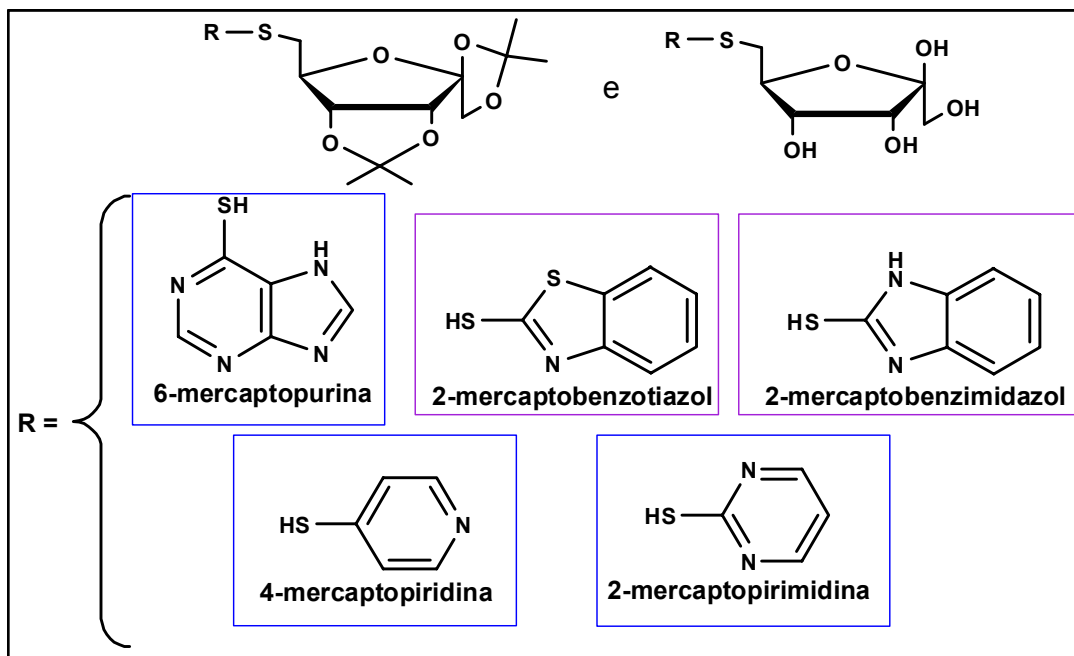
O primeiro capítulo mostra a tentativa de síntese do **9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina**, um análogo do nucleosídeo **5'-metiltioadenosina (MeSAdo)** modificado pela adição de um grupo hidroximetileno sobre a posição 1' da parte ribosídica. (figura abaixo)

Muitos microorganismos, inclusive o *Plasmodium sp*, utilizam a enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** para clivar o acoplamento ribosídico do nucleosídeo **MeSAdo** em Adenina e 5-metiltioribose, reação fundamental para a conclusão do ciclo metabólico dos parasitas.



O segundo capítulo mostra a síntese de compostos derivados de purinas, pirimidinas e heterociclos acoplados a frutose sobre a posição 6, visto na figura abaixo. Os compostos obtidos são análogos da **5-metiltioribose**, que é um

subproduto da hidrólise do nucleosídeo **MeSAdo** pela enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**. (figura abaixo)

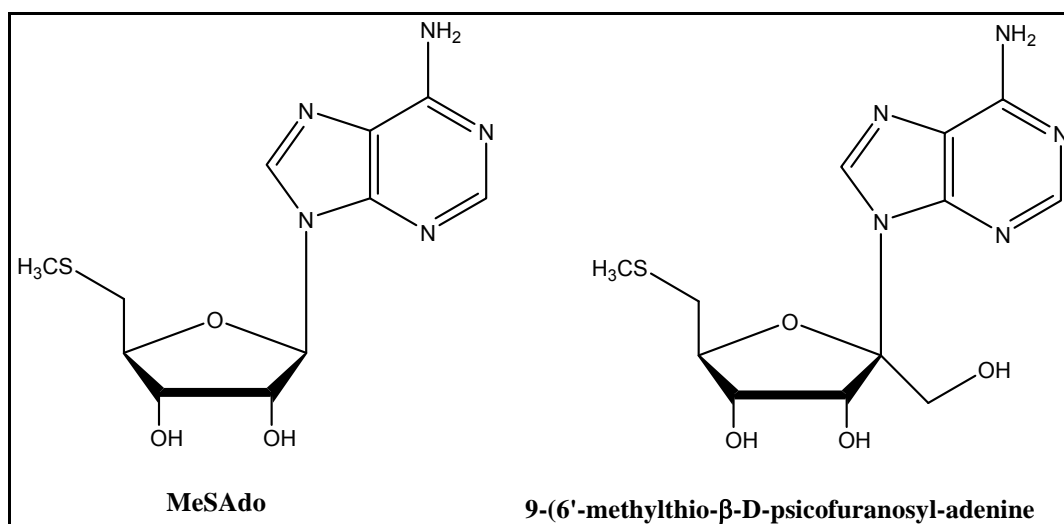


Abstract

This thesis, entitled “**Synthesis of candidates as inhibitors of the enzyme 5'-methylthioadenosine/S-adenosylhomocysteine nucleosidase: potential anti-parasitic agents**”, concerns the synthesis of novel, potentially active anti-parasitic compounds. For sake of clarity, the thesis is presented in two chapters.

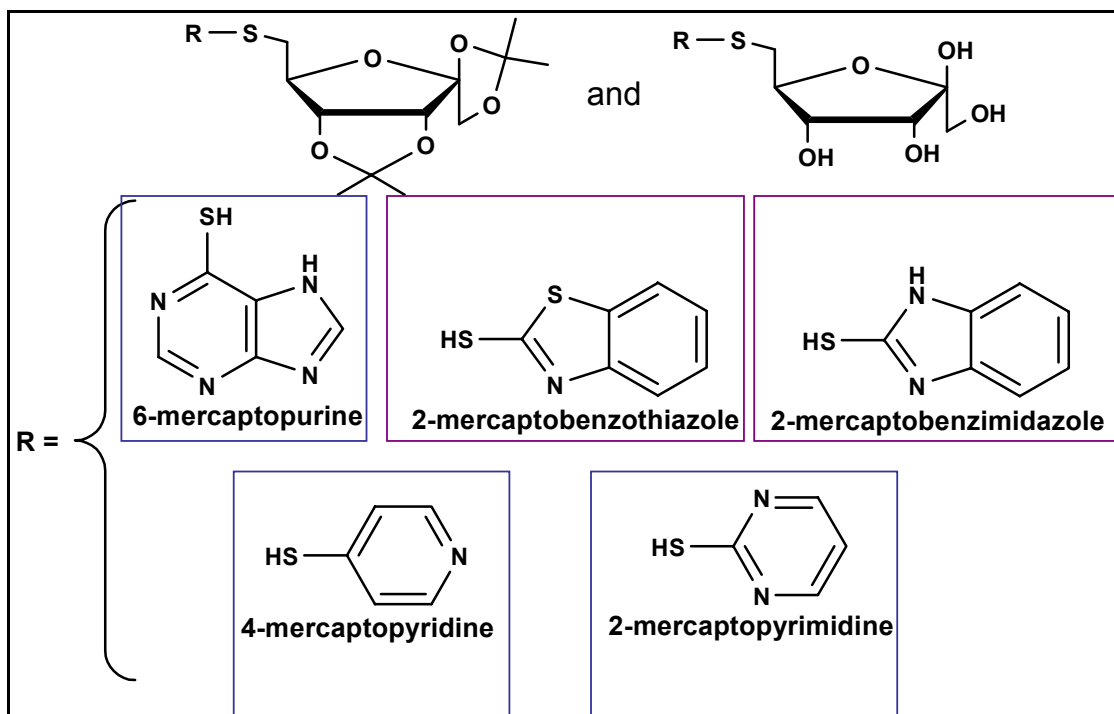
Chapter one shows an attempted synthesis of **9-(6'-methylthio- β -D-psicofuranosyl)-adenine**, an analogue of **5'-methylthioadenosine (MeSAdo)**, modified by addition of a hydroxymethyl group at position 1' of the ribosidic linkage.

Many microorganisms, including *Plasmodium spp.*, can use the **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** enzyme to cleave the ribosidic linkage of the **MeSAdo** nucleoside into adenine and 5-methylthioribose, a fundamental reaction in the closure of the metabolic cycle of the parasites.



The second chapter of this thesis describes the synthesis of analogues of **5-methylthioribose** derived from purines, pyrimidines and heterocycles linked to fructose at position 6. Such compounds are potential inhibitors of the specific double-substrate **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** enzyme, governing the

hydrolysis of **MeSAdo** and **AdoHcy** nucleosides. In the parasite, the hydrolysis leads to **5-methylthioribose** and **S-ribosylhomocysteine** as reaction products.



Lista de siglas e símbolos

Å: Angstrom

Ac₂O: Anidrido Acético

AcOET: Acetato de Etila

AcOH: Ácido Acético

AdoHcy: S-Adenosilhomocisteína

Ar: Argônio

Bz: grupo Benzoi

CCDS: Cromatografia em camada delgada de sílica

CCS: Cromatografia em coluna de sílica

CDCl₃: Clorofórmio Deuterado

CH₂Cl₂: Diclorometano

CH₃S⁻Na⁺: Tiometóxido de Sódio

cm⁻¹: centímetros recíprocos

COSY: Homonuclear Correlation Spectroscopy

CrO₃: Óxido de Cromo (VI)

d: duplete

DEPT: Distortionless Enhanced Polarization Transfer

DMF: N, N-dimetilformamida

DMP: 2,2-dimetoxidopropano

DMSO: dimetilssulfóxido

dd: duplete duplo

ES: Electro Spray

EtOH: etanol

FF: faixa de fusão

FM: fórmula molecular

g: grama

H: horas

Hex: Hexano

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMDS: Hexametildisilano
HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
H₂O: Água
HRMS: High Resolution Mass Spectroscopy
H₂SO₄: Ácido Sulfúrico
Hz: Hertz
IV: Infravermelho
J: Constante de Acoplamento
KBr: Brometo de Potássio
M: Molaridade
m: multiplete
MeOD: Metanol Deuterado
MeOH: Metanol
MeSAdo: 5'-metiltioadenosina
mg: miligrama
MHz: Mega Hertz
mL: mililitros
MM: Massa Molar
mmol: milimol
M.S.: Mass Spectrometer
m/z: razão massa/carga
NaBH₄: Borohidreto de Sódio
NaH: Hidreto de Sódio
NaOH: Hidróxido de Sódio
NH₄OH: Hidróxido de Amônio
NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
P.F.: Ponto de Fusão
Pi: Piridina
R_f: Relação de frente
RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ^1H : Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s: simpleto

SIBA: 5'-iso-butil-tioadenosina

t: tripleto

t.a.: temperatura ambiente

TFA: Ácido Trifluorocético

THF: Tetrahidrofurano

TMSCl: Cloreto de Trimetilsilila

TMSOTf: Trifluorometano Sulfonato de Trimetilsilila

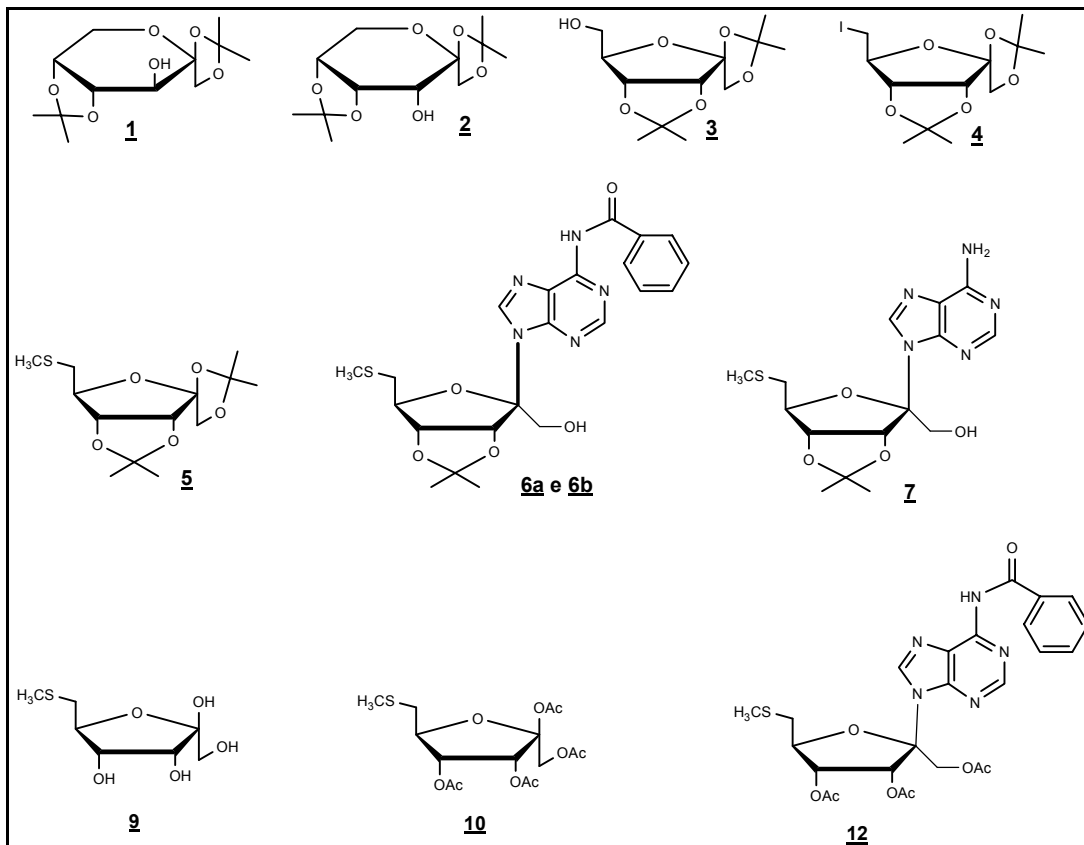
UV: Ultravioleta

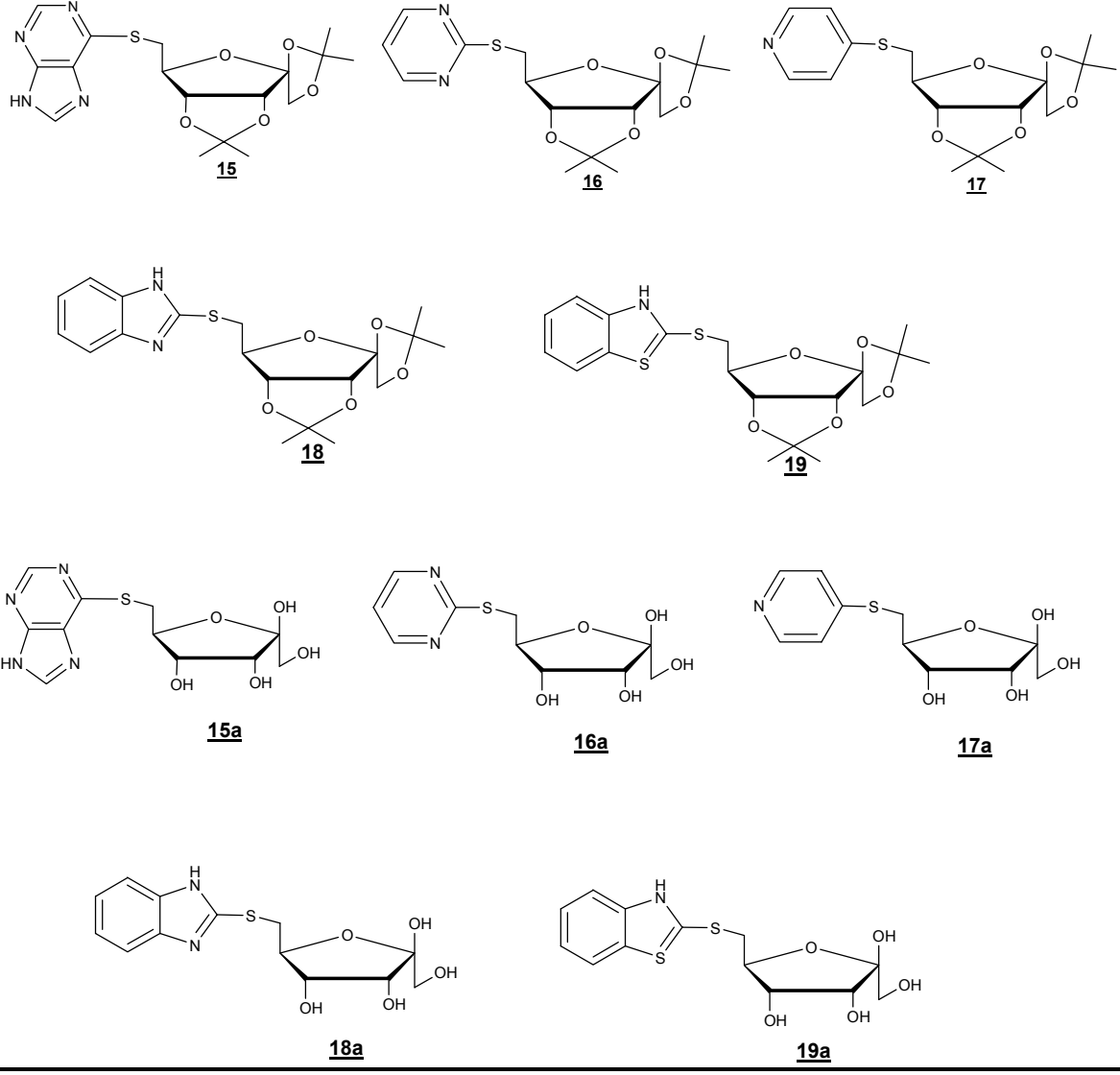
δ : deslocamento químico

$^{\circ}\text{C}$: graus Celsius

$\bar{\nu}$: número de onda

Lista de moléculas descritas neste trabalho





Publicações durante a realização deste trabalho

I - Resumos publicados em anais de congressos:

I. I - Painéis:

a) “Derivados de Mercaptopurina e de Nucleosídeos Fluorados. Atividade Biológica em *Leishmania amazonensis*.” Fernanda G. Braga, F. G.; Cancio, M. D. ; Prado, M. J. V; De Lade, I. G.; Da Silva, A. D. e Coimbra, E. S.; 28^a RASBQ **2005**, Poços de Caldas – M.G.

b) “Síntese de um Derivado Protegido do Antibiótico Psicofurana”. De Lade, I. G.; Da Silva, A. D. e Fourrey, J.-L.; 29^a RASBQ **2006**, Águas de Lindóia – S.P.

c) “Síntese de um Derivado da 6- Mercaptopurina, acoplado a Psicofuranose”. De Lade, I. G.; Da Silva, A. D.; 30^a RASBQ **2007**, Águas de Lindóia – S.P.

d) “Development of Potential Inhibitors of MTA/AdoHcy Nucleosidase”. Da Silva, A. D.; De Lade, I. G.; De Carvalho, G. S. G.; Fourrey, J. –L.; The Nineteenth Frech-Japanese Symposium On Medicinal And Fine Chemistry FIS-**2007**, pg-49, poster p-17, Toyama-Japão.

Capítulo 1

Resumo do Capítulo 1

Este primeiro capítulo descreve a tentativa de síntese de um análogo do nucleosídeo **5'-Metiltioadenosina (MeSAdo)**, um potencial inibidor da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**. Foi, então, utilizada uma rota sintética linear, usando a D-Frutose como material de partida. O precursor do derivado nucleosídico **5**, que apresenta um grupo metil sulfeto sobre a posição 6, foi obtido a partir do conhecido iodeto **4**^{15,16}. O composto **5** foi submetido à reação de nucleosidação fornecendo o nucleosídeo almejado protegido, como uma mistura de isômeros **6a** e **6b** numa relação 75:25%. Finalmente, o isômero majoritário **6b** foi submetido, a condições ácidas para tentativa de hidrólise dos grupos protetores.

A hidrólise em meio ácido dos grupos protetores não levou ao produto desprotegido desejado e sim a hidrólise da ligação entre o açúcar e a base nitrogenada. Fato este que levou-nos a propor uma estratégia sintética alternativa, desta vez, construindo o derivado nucleosídico com grupos protetores hidrolizáveis sob condições básicas.

1.1– Introdução

1.1.1- A Malária: Um breve Histórico

A Malária é uma doença que acomete o homem desde a pré-história. Originada provavelmente no continente Africano, que é entendido como “Berço da Humanidade”, acompanhou a saga migratória do ser humano pelas regiões do Mediterrâneo, Mesopotâmia, Índia e Sudeste Asiático.

A chegada da doença ao Novo Mundo ainda hoje é motivo de especulações, já que não se dispõe de informações confiáveis. É possível discutir hipóteses, tais como, viagens transpácificas em tempos remotos, bem como viagens de colonizadores espanhóis e portugueses à partir do século XVI¹.

Apesar de a associação com a malária ser incerta, existem referências a respeito de febres sazonais e intermitentes em textos religiosos e textos médicos bastante antigos, entre assírios, chineses e indianos, que relacionavam a doença à punição de deuses e presença de maus espíritos. No século V a.C., Hipócrates foi o primeiro médico a descartar a superstição e relacionar a doença às estações do ano ou aos locais freqüentados pelos doentes. Também foi o primeiro a descrever detalhadamente o quadro clínico da malária e algumas de suas complicações¹.

A partir daí, durante quase 1500 anos, pouco foi acrescentado ao conhecimento sobre a doença e seu tratamento. Somente no século XVII, alguns padres Jesuítas ao observarem as populações indígenas da América do Sul, notaram que estes utilizavam a casca de uma árvore nativa para o tratamento de alguns tipos de febres. O uso de tal casca se espalhou rapidamente pela Europa e passou a ser conhecida como “pó dos Jesuítas” e a árvore de onde era extraído recebeu o nome de Chinchona, em 1735. Seu princípio ativo, o alcalóide Quinino, foi isolado em 1820.

Somente no final do século XIX, quando bacteriologistas e patologistas estavam descobrindo as causas de diversas doenças infecciosas, bem como o papel de alguns insetos na transmissão de algumas delas, é que o conhecimento sobre a malária passou por um período de importantes descobertas:

- Em 1880, o médico do exército francês, Charles Alphonse Loveran, trabalhando na Argélia, foi o primeiro a observar e descrever parasitas da malária no interior de glóbulos vermelhos humanos^{1,2}.
- Em 1897, o médico britânico Ronald Ross, trabalhando na Índia, tornou possível a elucidação do modo de transmissão, ao encontrar formas do parasita da malária no interior de um mosquito que havia se alimentado em um portador da doença^{1,2}.
- Entre 1890 e 1899 foi obtido o quadro completo do ciclo do desenvolvimento do parasita da malária no homem e na fêmea do mosquito *Anopheles*, graças aos pesquisadores italianos Amico Bignami, Giuseppe Bastianelli e Batista Grassi^{1,2}.

Durante a primeira metade do século XX, muitas pesquisas eram dedicadas ao controle da malária, especialmente no sentido de reduzir ou eliminar a presença de criadouros do inseto transmissor, o que se mostrou bastante eficiente em algumas situações.

Em outra direção, as dificuldades no fornecimento do Quinino durante a Primeira Guerra Mundial estimularam pesquisadores alemães a obter antimaláricos sintéticos, culminados com o desenvolvimento da Pamaquina (1924), Mepacrina (1930) e Cloroquina (1934). Paralelamente, eram desenvolvidos estudos para a síntese de substâncias com ação inseticida, que apresentaram seu ápice em 1942, com a obtenção por Paul Müller do composto diclorodifeniltricloroetano (DDT), que apresentava grande atividade inseticida, grande poder residual e baixo custo¹.

A Organização Mundial da Saúde lançou em 1957 as bases para a Campanha Mundial de Erradicação da Malária, que incluía uma fase preparatória, com identificação de todas as áreas malarígenas e seus imóveis em condições de receber aplicação do inseticida, seguida de uma fase de ataque, com a borrifação semestral de DDT em imóveis, tratamento de todos os moradores com sintomas, coleta de amostras de sangue, etc. O programa pareceu ter algum sucesso inicial, dado que a malária foi eliminada ou reduzida em 77 países (incluindo Portugal, Itália e Cabo Verde). No entanto, e passado pouco tempo, o número de casos registrados recuperou e excedeu até níveis anteriores, principalmente no continente Africano¹.

Ainda hoje a doença se faz presente em cerca de 100 países, especialmente África, Ásia e Américas Central e do Sul (clima tropical e subtropical)^{24,25}.

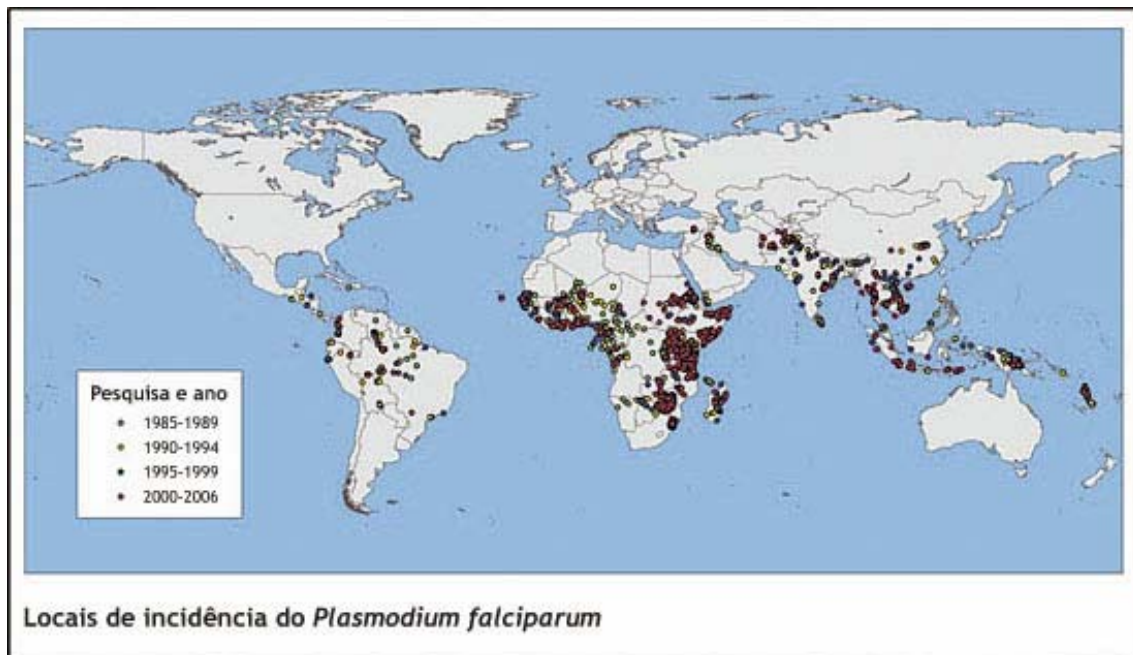


Figura 2: principais áreas de risco para malária no mundo.
(fonte anvisa)

1.1.2 – Modos de transmissão da Malária

Transmissão natural: a infecção é causada por um parasita-protozoário unicelular do gênero *Plasmodium*, e transmitida indiretamente entre seres humanos, através da picada de mosquitos fêmea do gênero *Anopheles*.³ As quatro estirpes principais do parasita causadores da doença são:

- *Plasmodium vivax*.
- *Plasmodium falciparum*
- *Plasmodium malariae*
- *Plasmodium ovale*³.



Figura 3: mosquito fêmea do gênero *Anopheles* se alimentado de sangue contaminado com *Plasmodium*.

Transmissão induzida: é como se denomina qualquer outro modo de transmissão. São exemplos: transfusões de sangue, uso compartilhado de seringas e/ou agulhas contaminados, malária adquirida no momento do parto (congenita) e acidentes de trabalho em pessoal de laboratório ou hospital^{1,3}.

1.1.3 - A Resistência aos antimaláricos

A utilização de fármacos antimaláricos representa a solução mais eficaz no controle da malária. No entanto, no decorrer das últimas décadas, o aparecimento e propagação de parasitas resistentes à maior parte dos antimaláricos disponíveis têm-se relevado como principal obstáculo a uma eficiente contenção da malária³.

Muitos dos compostos disponíveis, tais como, a Cloroquina, são relativamente acessíveis, fáceis de distribuir e eficazes, mas o problema da resistência tem tornado redundante a sua utilização. Mais preocupante é que em muitas das áreas endêmicas para malária, o parasita *P. falciparum* apresenta fenótipos de insensibilidade a dois ou mais fármacos em simultâneo, um fenômeno conhecido por MDR (mult-drug resistance)³.

A resistência aos antimaláricos é definida pela OMS como a “capacidade que um parasito possui para sobreviver e se multiplicar na presença de concentração de fármaco que normalmente destruiriam parasitas da mesma espécie ou preveniriam a sua multiplicação” (OMS, 1963). A quimio-resistência da malária pode depender de vários fatores, tais como, a administração inadequada de fármacos, propriedades intrínsecas e composto utilizado, nível de imunidade do hospedeiro, farmacogenética e má nutrição. Em se tratando do parasito *P. falciparum*, a quimio-resistência surge quando um ou mais indivíduos constituintes de uma população parasitária possuem mutações que lhe proporcionam uma vantagem seletiva na presença de concentrações de fármaco que, em condições normais, inibiriam a proliferação da fração sensível da população parasitária^{2,3}.

1.1.4 – Principais fármacos utilizados no combate à Malária

1.1.4.1 - Cloroquina:

Sintetizada na Alemanha durante a Segunda Guerra Mundial, a cloroquina seria o “fármaco perfeito”; altamente eficaz contra formas eritrocíticas de *P. falciparum*, de baixo custo e sem efeitos secundários. Rapidamente se tornou no fármaco mais popular e extensivamente utilizado em praticamente todas as regiões endêmicas de malária.

Os primeiros casos de resistência à Cloroquina surgiram no final dos anos 50, em dois lugares geograficamente distantes: a Colômbia e Tailândia. A partir do foco inicial na Colômbia, os parasitos resistentes alastraram-se para o sul do continente americano, e da Tailândia difundiram-se para o Ocidente, atingindo o continente africano no final dos anos 70. Desde então, o alastramento da resistência à Cloroquina tem sido lento, mas implacável e está hoje bem estabelecida na maioria das regiões onde existe malária³.

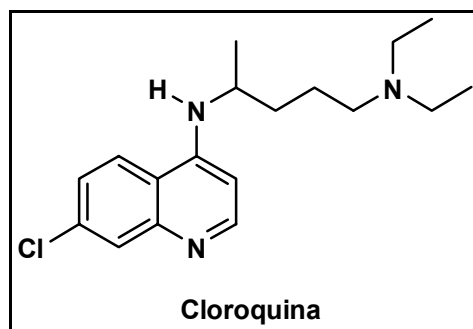


Figura 4: estrutura química do fármaco Cloroquina

1.1.4.2 - Quinino e Mefloquina:

O Quinino é o antimalárico mais antigo conhecido no Ocidente, podendo ser extraído da casca de várias espécies de árvores do gênero *Chinchona*. O composto quinino foi isolado da casca da árvore em 1820 pelos químicos franceses Pierre Pelletier e Joseph Caventou, mas só foi sintetizado em laboratório pela primeira vez em meados dos anos 40^{3,4}.

O Quinino tem um efeito potente em nível de estados intra-eritrócitários de *P. falciparum*, mas o seu curto tempo de vida implica que o fármaco não possa ser utilizado como profilático. O Quinino apresenta, também, uma elevada toxicidade e efeitos secundários adversos e por estas razões, o seu uso tem sido praticamente limitado ao tratamento de casos mais graves de malária^{3,4}.

Os primeiros registros de suposta resistência de *P. falciparum* ao Quinino datam de 1910, mas a resistência a este composto parece não ter sofrido uma elevada propagação.

A Mefloquina, um composto derivado do Quinino, foi produzida durante os anos 70 pelo exército norte-americano, com objetivo principal de combater a resistência aos fármacos existentes na época. No entanto, estudos iniciais em modelos roedores de malária indicaram que a resistência ao fármaco poderia se tornar um problema grave, caso este fosse introduzido em regime monoterapêutico.

Os primeiros casos de *P. falciparum* resistentes a Mefloquina surgiram no princípio dos anos 80 e, atualmente, a resistência a este composto é um

obstáculo sério a um eficiente controle da malária em diversas áreas geográficas³.

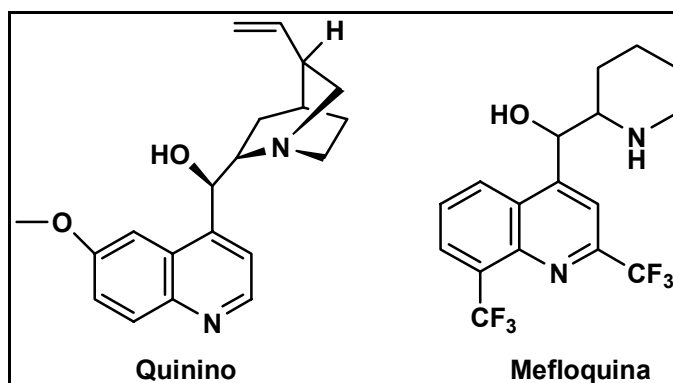


Figura 5: estruturas químicas dos fármacos Quinino e Mefloquina

1.1.4.3 - Sulfadoxina-pirimetamina (SP):

A combinação SP foi introduzida para o tratamento de *P. falciparum* de um modo globalizado durante os anos 60.

Rapidamente, no entanto, surgiram os primeiros casos publicados de resistência na fronteira da Tailândia – Camboja. Atualmente, existem já níveis elevados de resistência a este composto em grande parte do sudoeste asiático, sul da China e no Amazonas.

A resistência à SP só atingiu o continente Africano nos anos 80 e embora existam ainda áreas onde o parasita é sensível ao fármaco, a sua eficácia está comprometida³.

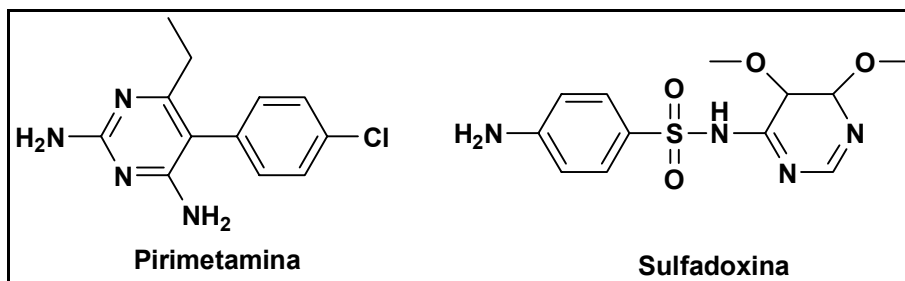


Figura 6: estruturas químicas dos fármacos Pirimetamina e Sulfadoxina

1.1.4.4 - Derivados Artemisinínicos:

A Artemisinina é o agente antimalárico de ação mais rápida, originando melhoras significativas do estado febril em apenas 32 horas, em contraste com os dois ou três dias que outros antimaláricos clássicos demoram para provocar efeitos semelhantes.

A Artemisinina e seus derivados são gametotocidas, logo, bloqueadores da propagação da doença. No entanto, a sua utilização tem que ser acompanhada por medidas radicais de eliminação total dos mosquitos, dado o curto tempo de semi-vida que caracteriza essa classe de antimaláricos (5 a 7 dias).⁴

Uma outra forma alternativa de potenciar a ação dos fármacos artemisinínicos reside na sua combinação com outros antimaláricos, como a mefloquina, a lumefantrina ou os antifolatos^{5,6}

Por estes motivos, torna-se fundamental compreender quais os mecanismos utilizados pelos parasitos de modo a evitar os efeitos tóxicos dos fármacos. Esses dados poderão facilitar a implementação de estratégias racionais na síntese de novos fármacos e na reestruturação de compostos existentes.

1.1.5 – A pesquisa: As diferenças entre os metabolismos dos parasitos e do homem

A necessidade de descobrir novos alvos antiparasitários e novas terapias capazes de eliminar as doenças sem atingir o hospedeiro é de suma importância.

O modelo de drogas pode requerer a identificação de diferentes metabolismos entre o parasito e o hospedeiro. Dessa maneira, um exemplo alvo é a enzima **5'-metiltioadenosina/S-adenosilhomocisteína nucleosidase (MeSAdo/AdoHcy nucleosidase)**. É uma enzima de duplo substrato-específica responsável pela hidrólise dos nucleosídeos MeSAdo e AdoHcy, para formar Adenina e a correspondente tioribose, ou seja, 5-metiltioribose e S-ribosilhomocisteína (Figuras 7 e 8).

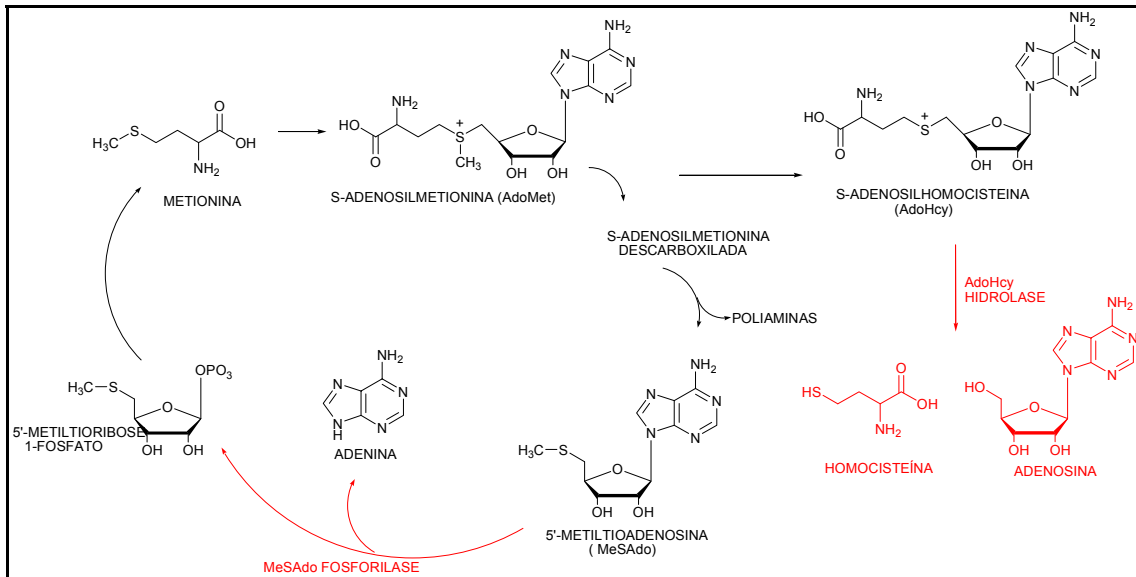


Figura 7: caminhos catabólicos do MeSAdo e AdoHcy no homem

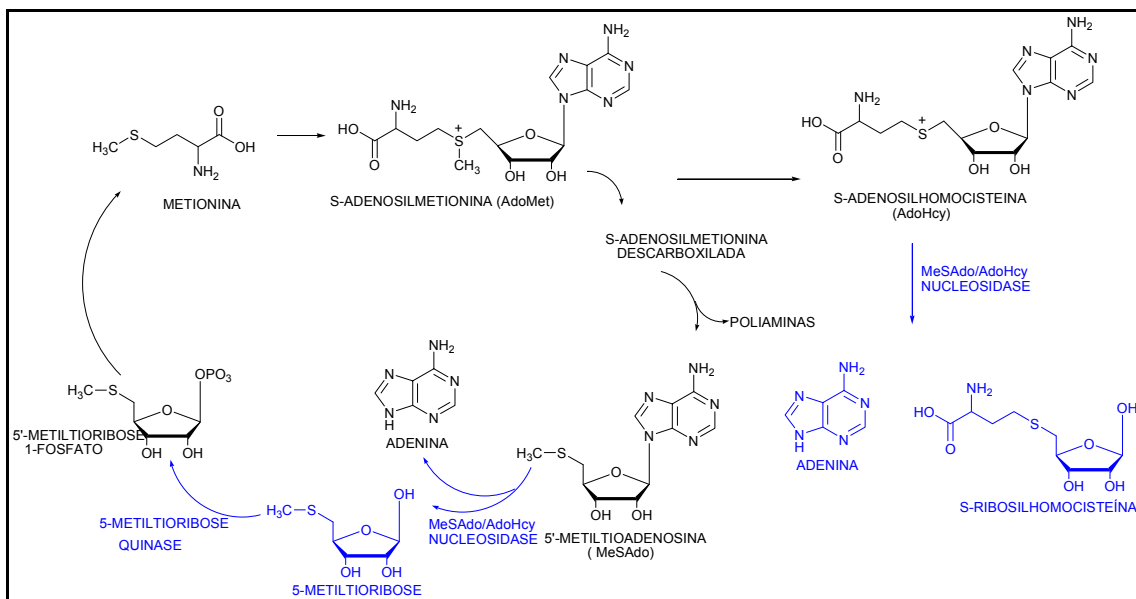


Figura 8: caminhos catabólicos do MeSAdo e AdoHcy nos parasitas

Inúmeros estudos^{7,8} mostram que a enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** está envolvida na regulação de vários processos fisiológicos, inclusive no *Plasmodium sp.*, como regulação da reciclagem de metionina, um aminoácido essencial.

Os nucleosídeos MeSAdo e AdoHcy são catabolisados no homem e no parasita por dois mecanismos diferentes exclusivos:

- No metabolismo humano o MeSAdo é catabolizado em Adenina e 5-metiltioribose-1-fosfato pela enzima **MeSAdo fosforilase**, assim como o AdoHcy é hidrolisado pela enzima **AdoHcy hidrolase**, em homocisteína e adenosina. (Figura 7)

- Já em muitos microorganismos, inclusive no *Plasmodium sp*, que não possuem as enzimas MeSAdo fosforilase ou AdoHcy hidrolase, utilizam a enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** para clivar o acoplamento ribosídico do MeSAdo em Adenina e 5-metiltioribose e, também, do AdoHcy em Adenina e S-ribosilhomocisteína. (Figura 8)

A inibição da enzima MeSAdo/AdoHcy nucleosidase permite o acúmulo de dois nucleosídeos tóxicos, MeSAdo e AdoHcy. O acúmulo de MeSAdo atua como um potente inibidor da síntese de espermidina, que está envolvida na biosíntese de poliaminas, conseqüentemente, nos processos de crescimento e regulação de síntese de DNA^{7,8}.

Sendo assim, com estas diferenciações nos caminhos catabólicos dos nucleosídeos MeSAdo e AdoHcy, no homem e nos parasitas, torna-se muito interessante a síntese de drogas inibidoras seletivas da MeSAdo/AdoHcy nucleosidase, presentes nos patógenos⁸.

1.2 – Justificativas

Sabe-se que é cada vez maior o número de parasitas resistentes aos fármacos antimaláricos utilizados. Como por exemplo, pode-se citar a Cloroquina, que não mais apresenta eficácia contra os parasitos existentes no continente africano e na Índia⁹. É sabido, também, que análogos do MeSAdo (SIBA: 5'-isobutil-tioadenosina e 5'-metil-tiotubercidina) mostraram bons resultados como inibidores do ciclo parasitário¹⁰⁻¹³ (Figura 9). Estes derivados possuem pequenas diferenciações do MeSAdo: para o primeiro caso, a 5'-isobutil-tioadenosina, há a troca do grupo metil ligado ao átomo de enxofre por um grupo isobutil e para o segundo caso, a 5'-metil-tiotubercidina, há a troca do nitrogênio sobre a posição 9 da base nitrogenada por um grupo metino (=CH-).

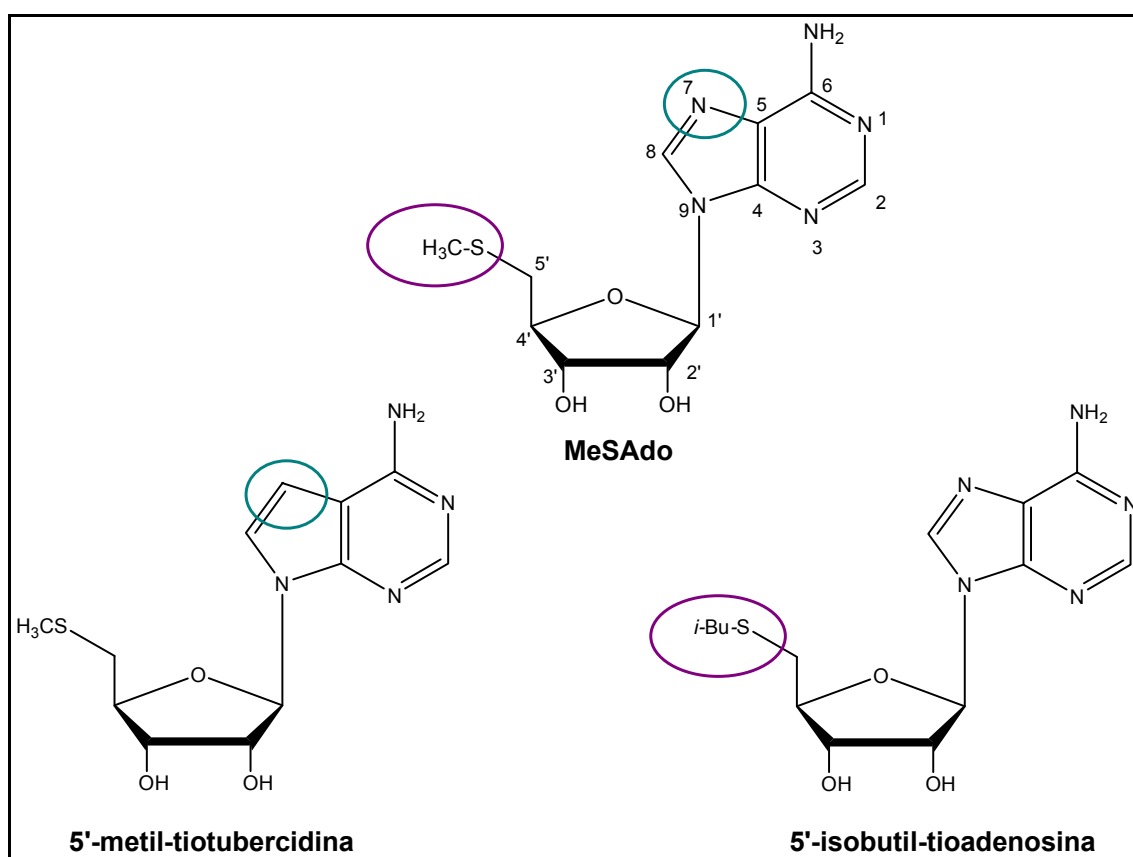


Figura 9: nucleosídeo MeSAdo e dois análogos antimaláricos

Muitos microorganismos, inclusive o *Plasmodium sp*, utilizam a enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** para clivar o acoplamento ribosídico do **MeSAdo** em Adenina e 5-metiltioribose⁷

A resistência aos antimaláricos e os bons resultados dos análogos do MeSAdo como inibidores do ciclo parasitário justificam, então, a síntese de outros análogos nucleosídicos do MeSAdo, com vistas a obtenção de novos agentes antiparasitários.

1.3 – Objetivo

Este capítulo mostra a tentativa de síntese do **9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina**, um potencial inibidor da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**⁸.

Objetivou-se, então, obter o análogo nucleosídico da **MeSAdo** (figura 12) em que este se diferencia do mesmo pela adição de um grupo hidroximetileno sobre a posição 1' do açúcar.

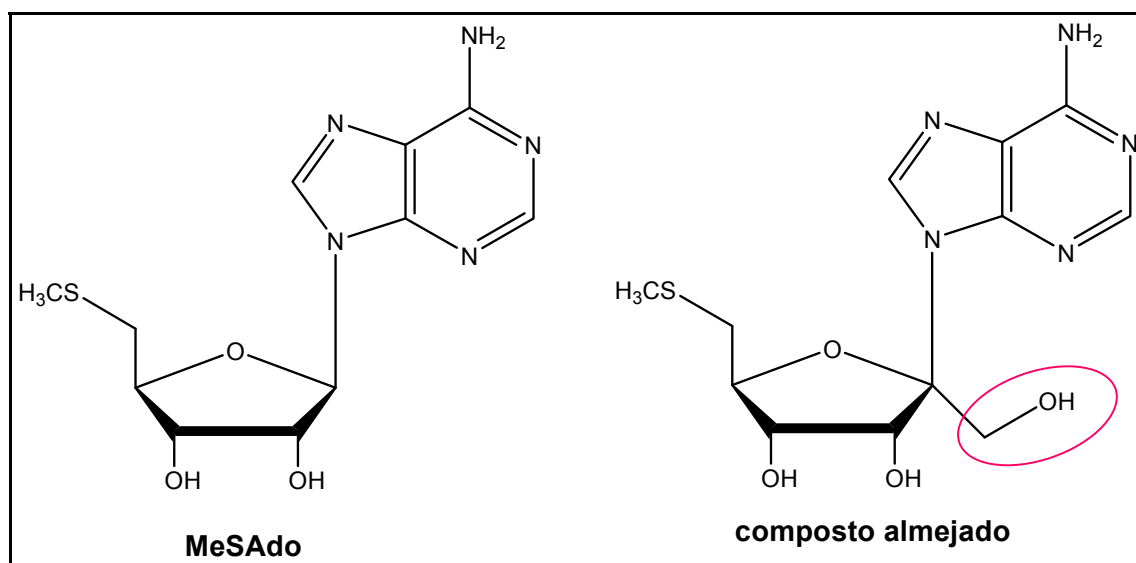


Figura 10: molécula MeSAdo e seu análogo almejado 9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina.

1.4 – Resultados e Discussões

1.4.1 – Tentativa de obtenção do 9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina, um análogo nucleosídico do MeSAdo – Estratégia 1

Inicialmente, para a síntese do análogo nucleosídico, propôs-se um esquema retrosintético que tem como material de partida a D-frutose (Figura 11). O produto almejado pode ser obtido a partir de seu precursor protegido. Utilizando a reação de Vorbrüggen, pode-se obter o nucleosídeo protegido em presença da adenina benzoilada e da psicofuranose¹⁴. O derivado metil sulfeto de psicofuranose utilizado na reação de nucleosidação pode ser obtido a partir do iodeto correspondente, descrito na literatura^{15,16}.

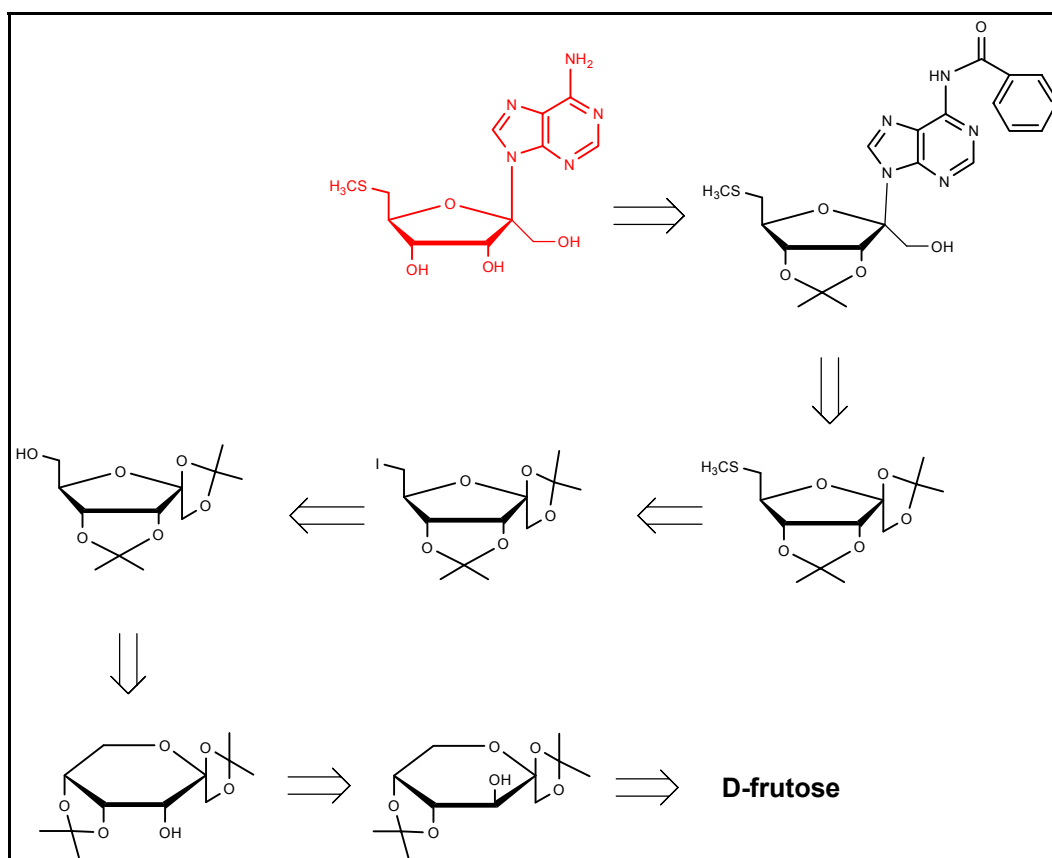


Figura 11: esquema retrosintético para obtenção do 9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina

Segundo o esquema retrosintético apresentado, foi proposto então o esquema sintético abaixo (figura 12).

A D-frutose em presença de ácido catalítico em acetona anidra forneceu seletivamente o composto **1,2:4,5-Di-O-isopropilideno-β-D-frutopiranosose 1**¹⁶. Assim, a hidroxila em C-3 pôde ser oxidada à cetona utilizando-se a oxidação de Swern (DMSO em anidrido acético) e/ou a oxidação de Jones (CrO₃ e piridina). Utilizou-se NaBH₄, à 0 °C, como agente redutor para promover a redução da cetona ao álcool, com inversão de configuração, devido ao seu favorecimento estérico^{15,16}.

Após a inversão, a reação de rearranjo da conformação piranosídica à forma furanosídica pôde ser realizada com adição de ácido em uma solução de 6,6-dimetóxidoopropano e acetona¹⁶. Em seguida, foi possível promover a substituição da hidroxila em C-6 pelo iodeto e, conseqüentemente, sua substituição através da adição de tiometóxido de sódio, obtendo-se, assim, a psicofuranose substituída com o grupo metiltio.

Assim, a psicofuranose substituída pôde ser submetida à reação de nucleosidação^{14,19,20}. E, finalmente, este análogo nucleosídico protegido pôde ser submetido à hidrólise dos grupos protetores. (figura 12)

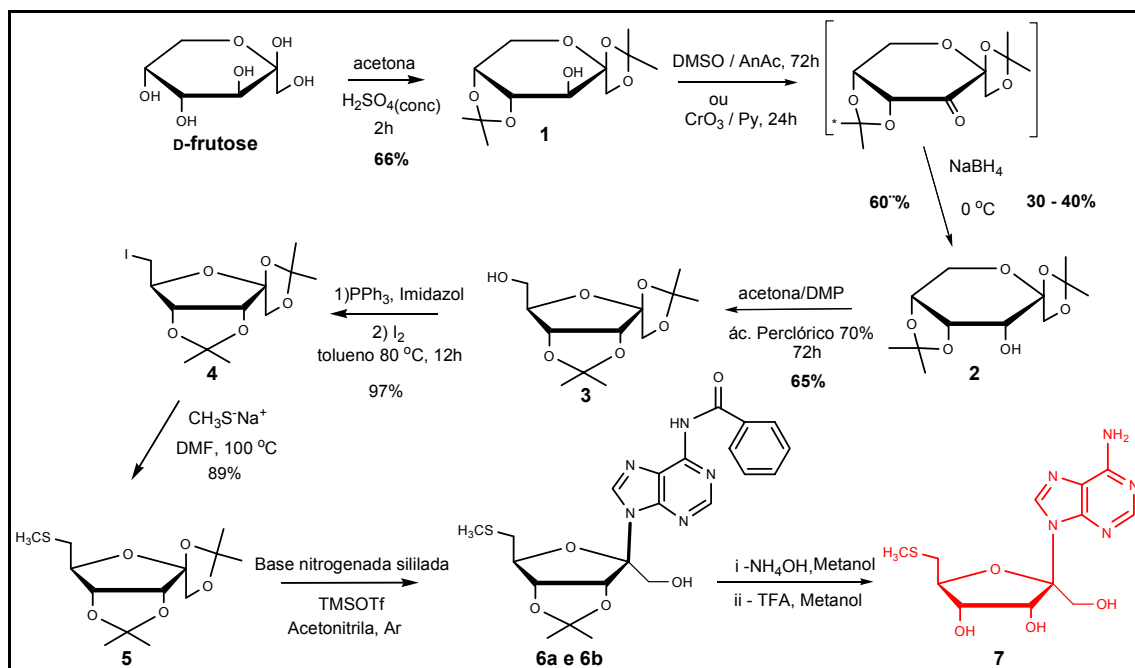


Figura 12: esquema sintético linear para obtenção do composto **7**

1.4.1.1 - Síntese e caracterização do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **1**¹⁶

As proteções seletivas das hidroxilas em C-1; C-2 e C-4; C-5, da D-frutose, foram realizadas em presença de acetona anidra e ácido sulfúrico concentrado catalítico, por 2 horas, sobre agitação e a temperatura ambiente.

O produto **1** foi extraído com diclorometano e recristalizado em hexano, com um rendimento de 67%.

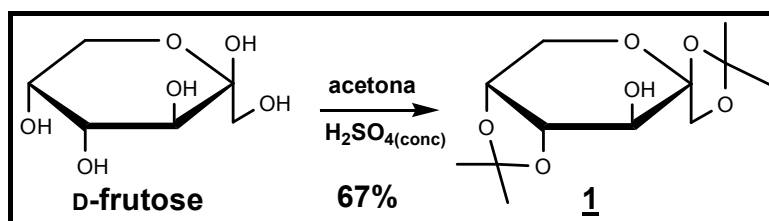


Figura 13: esquema de reação de proteção seletiva da D-frutose

Para esta reação existe a formação do produto cinético (que é este caso) e o produto termodinâmico que é formado após 3 horas de reação. A confirmação da formação do isômero **1** é feita através da análise da faixa de

fusão. De acordo com a literatura,^{15,16} o correspondente açúcar protegido apresenta ponto de fusão 119 °C, valor confirmado no produto sintetizado.

Adicionalmente, a caracterização através de técnicas espectroscópicas, tais como, Espectroscopia Vibracional no Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ¹H também foram realizadas.

No espectro de RMN de ¹H, os quatro simpletos intensos entre δ 1,36 e 1,53 ppm foram atribuídos aos 12 prótons correspondentes aos quatro grupos CH₃ dos grupos isopropilídenos, fato que confirma a proteção das hidroxilas.

BCD

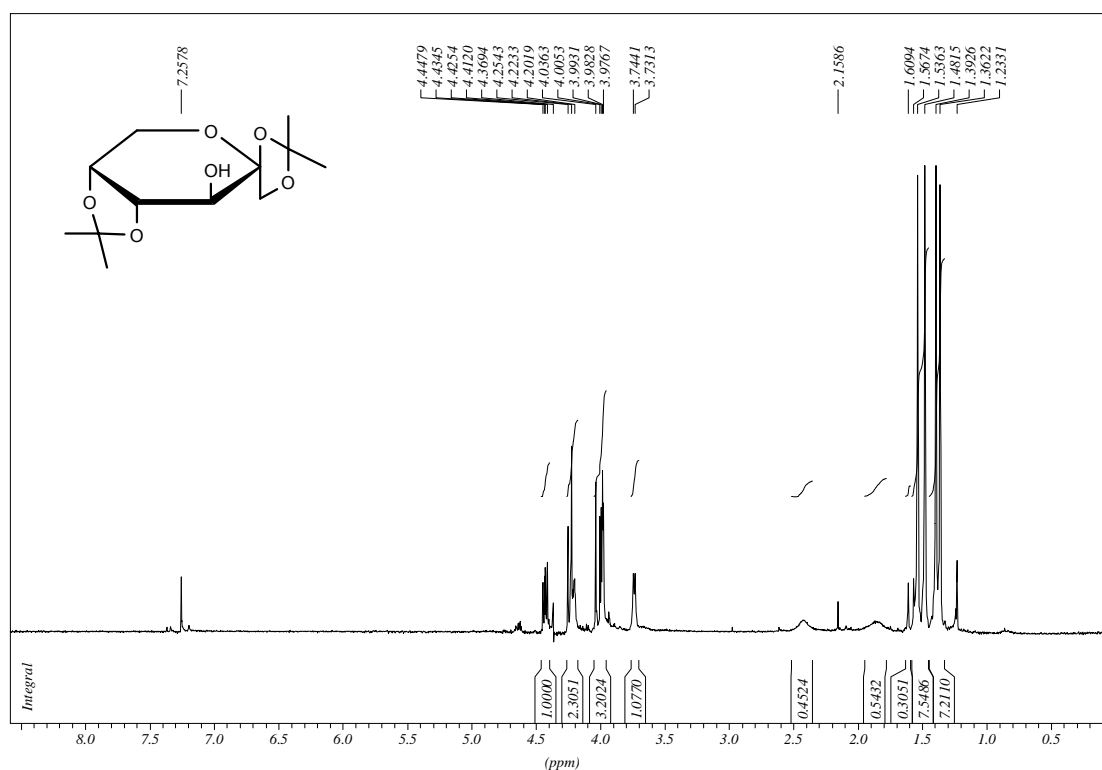


Figura 14: espectro de RMN de ¹H do composto 1 (CDCl₃)

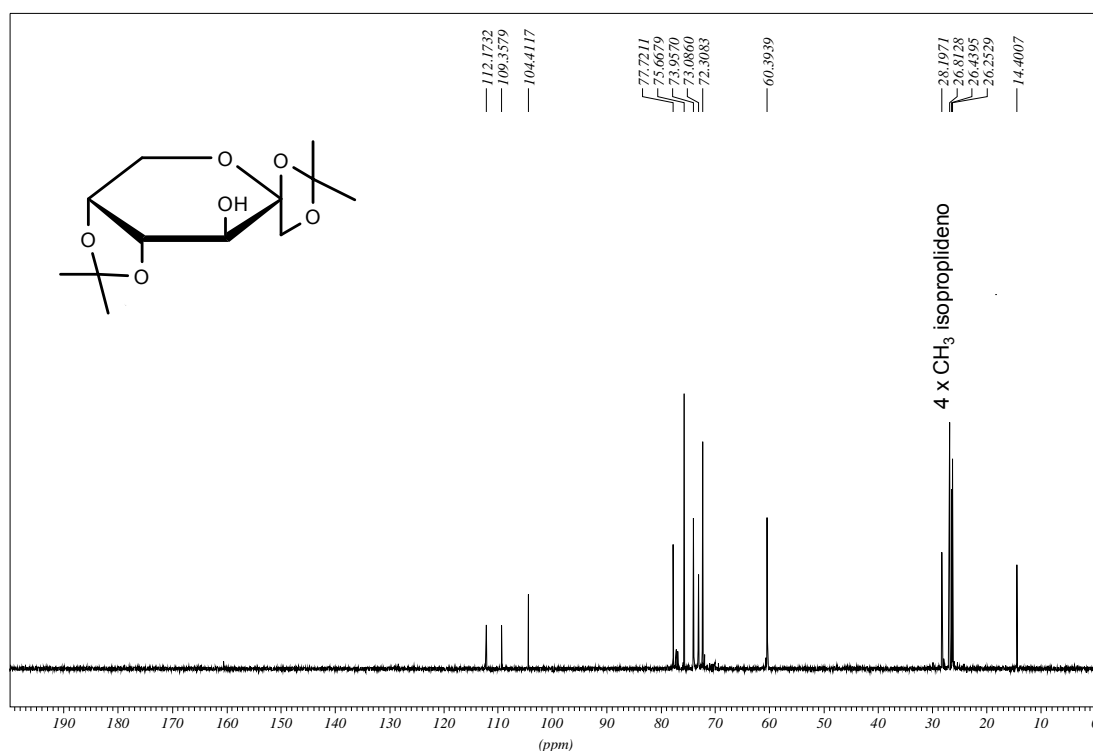


Figura 15: espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (CDCl_3)

No espectro de RMN de ^{13}C observou-se a presença dos sinais entre 28,1 e 26,2 ppm, referentes a quatro sinais metílicos o que comprovou a presença do grupo isopropilideno.

Na região entre 77,7 e 72,3 ppm verificou-se a presença dos sinais dos carbonos do carboidrato, C-1, C-3, C-4, C-5 e C-6.

E, também, constatou-se a presença dos sinais entre 112,1 e 104,4 referentes aos carbonos não hidrogenados da molécula, C-2 e 2 x Cq isopropilideno.

1.4.1.2 - Síntese e caracterização do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno- β -D-psicopiranosose **2**

Realizou-se a inversão da configuração da hidroxila em C-3 com o objetivo de se obter a forma isômera furanosídica a partir do anel

piranosídico, pois este procedimento torna a molécula estericamente favorável para sofrer rearranjo em condições apropriadas.

A ocorrência da inversão de configuração da hidroxila é descrita na literatura^{15,16}. A confirmação da inversão é possível a partir da observação da mudança no valor da constante de acoplamento dos hidrogênios de C-3 e C-4.

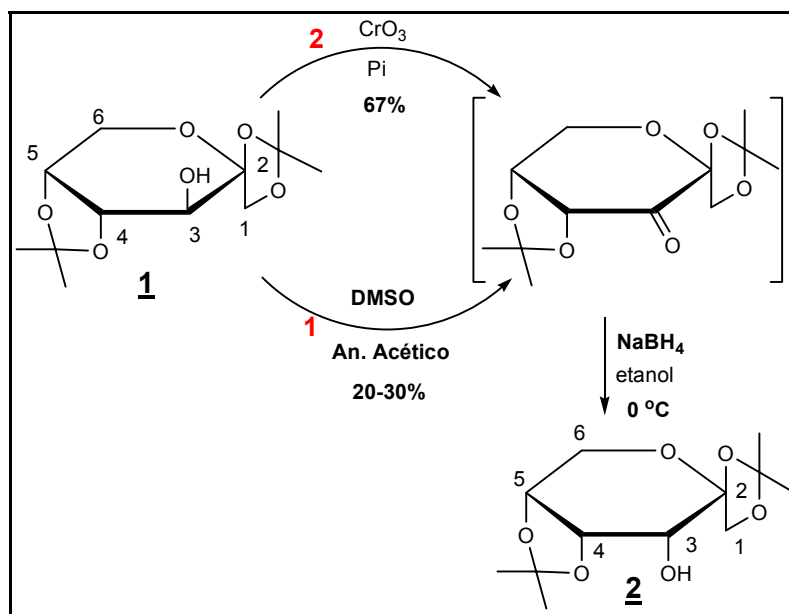


Figura 16: esquema da de reação inversão da configuração da hidroxila

Método A: Utilização de DMSO em Anidrido Acético como agente oxidante

Para promover a oxidação do composto **1** à cetona, este foi solubilizado em uma solução de dimetilsulfóxido e anidrido acético (reação de Swern¹⁶), que permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 48 horas.

Após verificar a oxidação por cromatografia em camada delgada, foi adicionado, *in situ*, NaBH₄ à 0 °C, para promover a redução da cetona ao álcool, com inversão de configuração, fornecendo o composto desejado **2**.

A utilização desta reação de oxidação apresentou alguns inconvenientes, como: a dificuldade de evaporação do DMSO (PE = 168 °C), sua toxicidade ao utilizá-lo com freqüência no trabalho e o baixo rendimento para obtenção da cetona e, conseqüentemente, do álcool isômero **2**.

Além do isômero **2** também há a formação de um produto majoritário nesta reação. Dados da literatura¹⁶ mostram que a formação de tal composto

pode ser minimizada satisfatoriamente quando o anidrido acético é substituído por anidrido trifluoroacético.

Método B: Utilização de CrO₃ em Piridina como agente oxidante^{17,18}

Com o objetivo de facilitar a remoção dos solventes, uma vez que o DMSO possui um alto P.E. e, também, trabalhar com reagentes menos tóxicos, foi utilizado outro método para promover a oxidação.

Em uma solução formada por piridina e anidrido acético, foi adicionada uma mistura de CrO₃ em diclorometano. A reação permaneceu a temperatura ambiente por 30 minutos e, posteriormente, o composto **1** foi adicionado à solução.

Observou-se por CCDS a formação de um produto único, ou seja, apenas a cetona e esta foi recristalizada em hexano. Posteriormente, sua redução ao álcool isômero **2** ocorreu diluindo-se os cristais em etanol com adição de NaBH₄ à 0 °C. A redução ao álcool ocorreu com formação de um produto único, fato observado em placa. Isso evitou a purificação em coluna cromatográfica do composto **2**, ao contrário da reação com método de Swern.

A cromatografia em placa mostrou uma diferença de R_f do isômero **2** (R_f = 0,3) quando comparado ao composto **1** (R_f = 0,4), Hex/AcOEt 7:3.

O composto **2** foi caracterizado por RMN de ¹H e ¹³C e espectroscopia vibracional no infravermelho e após verificar uma pequena presença do isômero de partida, o composto foi levado novamente a recristalização em hexano.

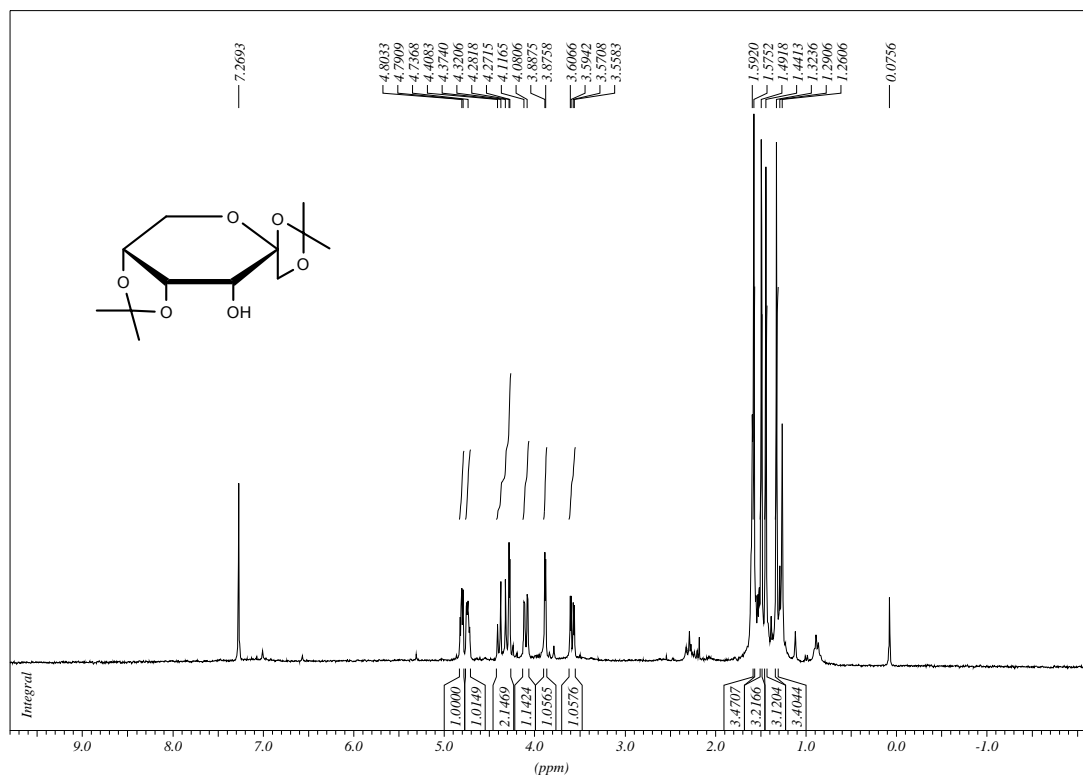


Figura 17: espectro de RMN de ¹H do composto **2**

No espectro de RMN de ¹H foram observadas alterações nos deslocamentos químicos dos sinais dos prótons para campo menos blindado, quando comparado aos deslocamentos dos sinais do álcool isômero **1**.

O duplete referente a H-4 deslocou-se para δ 4.80 ppm, assim como notou-se, também, a alteração do deslocamento químico do sinal referente a H-1 para δ 4,60 ppm aproximadamente, confirmando a formação do isômero **2**.

SIL2

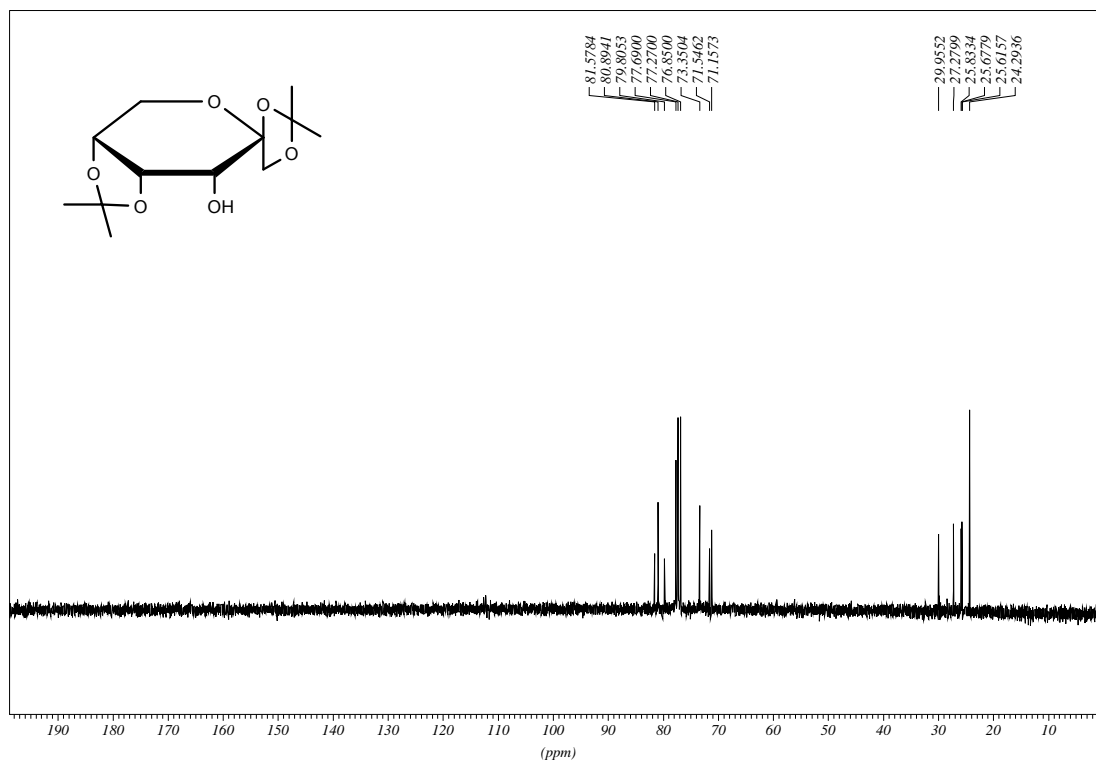


Figura 19: espectro de RMN de ^{13}C do composto 2

No espectro de RMN de ^{13}C foi possível determinar os quatro sinais entre δ 27,2 e 24,3 ppm referentes aos quatro carbonos metílicos dos grupos isopropilidenos.

Na região entre δ 81,5 e 71,2 ppm pôde-se verificar a presença dos sinais atribuídos aos carbonos C-5, C-1, C-3 e C-6 do composto.

1.4.1.3 - Síntese e caracterização do 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 3¹⁶

Após as hidrólises dos grupos isopropilidenos, e devido a inversão prévia da hidroxila em C-3, há a formação preferencial, desta vez, do anel furanosídico protegido com os grupos isopropilidenos.

Este rearranjo ocorre em presença de uma solução de acetona e 2,2-dimetoxipropano contendo ácido perclórico 70%, por um período de 72 horas a temperatura ambiente.

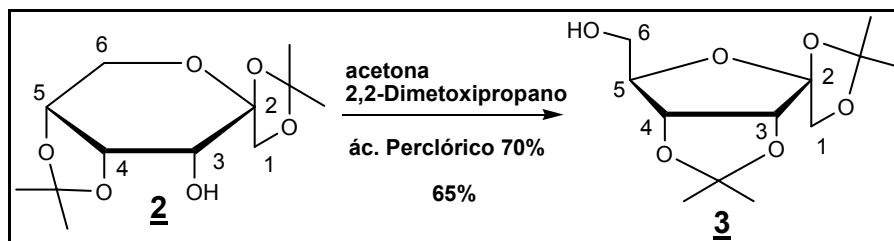


Figura 19: esquema de reação para obtenção do composto **3**

Na análise do espectro de RMN de ^1H , notou-se a presença dos quatro simples intensos, referentes aos CH_3 dos grupos isopropilídenos (entre δ 1,51 e 1,33 ppm). Em δ 3,74 ppm apareceu um multipeto atribuído a H-6 e H-6', em torno de δ 4,07 ppm um dupeto ($J_{1,1'} = 9,7$ Hz) referente a H-1 e em δ 4,33 ppm um dupeto juntamente ao simpleto alargado referente a H-1' H-5, respectivamente. A presença do simpleto alargado é característico de H-5 em furanose, comprovando a ocorrência do rearranjo. Adicionalmente, observou-se a presença de dois dupletos, referentes aos H-3 ($J_{3,4} = 5,9$ Hz) e H-4, com δ 4,65 e 4,92 ppm, respectivamente.

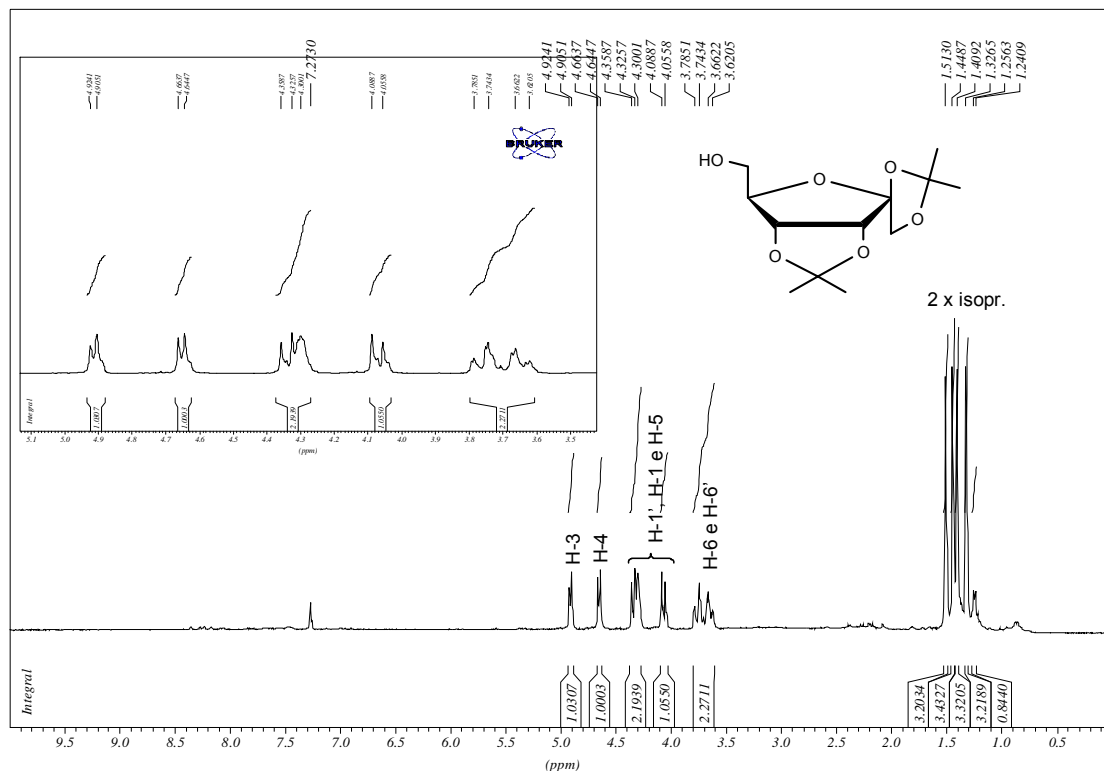


Figura 20: espectro de RMN de ^1H do produto **3 e expansão da região dos prótons do açúcar.**

O espectro RMN de ^{13}C mostrou quatro sinais entre δ 113,8 e 111,9 ppm referentes aos carbonos não hidrogenados dos grupos isopropilideno e C-2 do carboidrato. Entre 26,7 e 25,0 verificou-se a presença dos quatro picos característicos de carbonos metílicos dos grupos isopropilideno.

S112

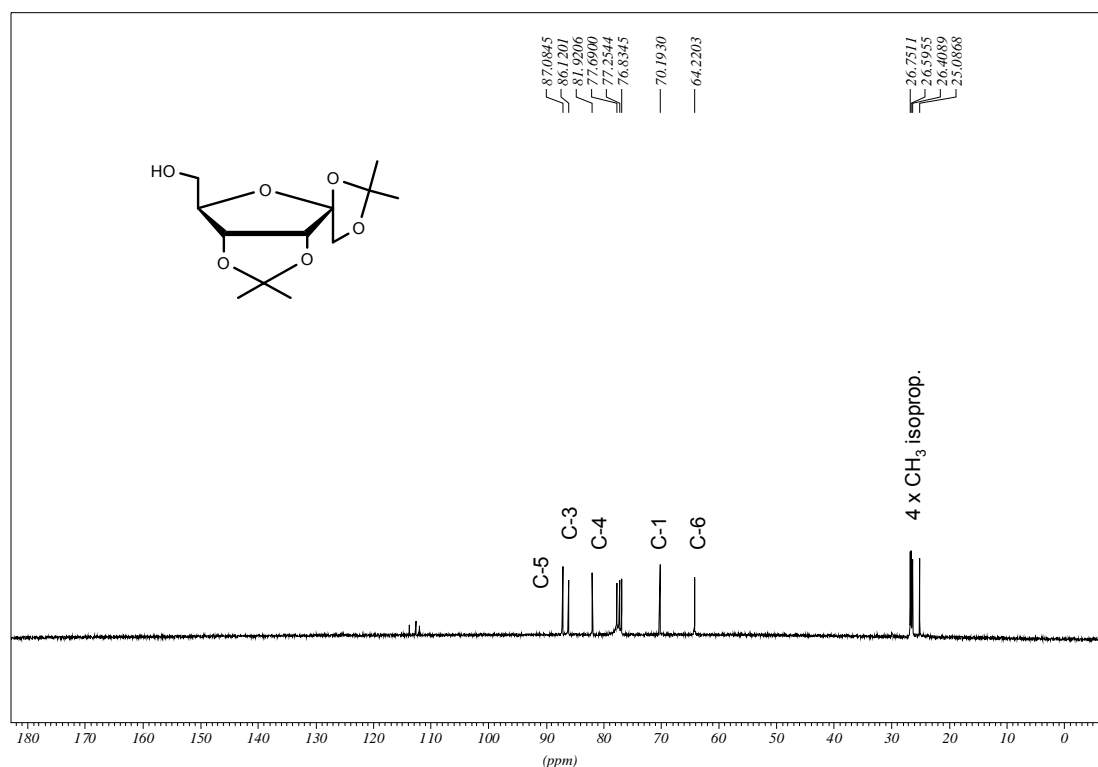


Figura 21: espectro de RMN de ^{13}C do composto **3**

1.4.1.4 - Síntese e caracterização do 6-desoxi-6-iodo-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose **4**

A presença de um grupo abandonador em C-6, no caso o iodeto, permite realizar uma série de reações nesta posição.

Com base na referência¹⁶ utilizada para promover a iodação em C-6, foi realizado o seguinte procedimento.

Em uma solução do composto **3** em tolueno, foram adicionados trifetilfosfina e imidazol. A reação permaneceu a 80 °C durante um período de 30 minutos, em seguida, adicionou-se $\text{I}_2(\text{s})$. Após 12 horas, foi verificado por cromatografia, o total consumo do material de partida. O composto **4** foi purificado em coluna, obtendo-se um rendimento de 97% para esta reação.

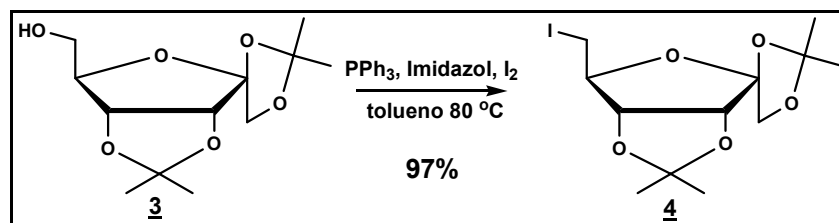


Figura 22: esquema de reação para obtenção do composto **4**

No espectro no infravermelho do composto **4**, a diferença marcante com o espectro da etapa anterior foi a ausência da banda referente ao estiramento da ligação OH, em aproximadamente 3500 cm^{-1} , fato que evidencia a substituição da hidroxila em C-6. A pequena banda nesta região refere-se, provavelmente, ao estiramento das ligações O-H da água presente no KBr utilizado.

Nota-se, também, a presença da banda referente a deformação angular da ligação C-I em 573 cm^{-1} .

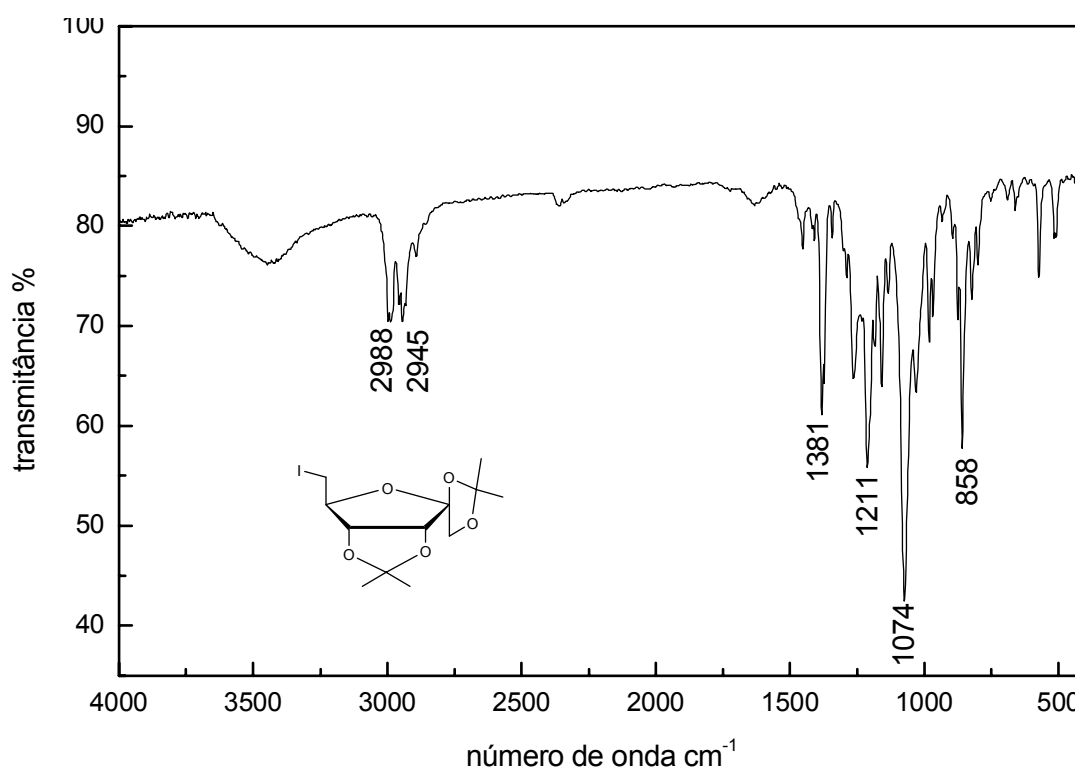


Figura 23: espectro no IV do produto **4**

Na análise do espectro de RMN de ^1H , como esperado, houve uma mudança no deslocamento químico do multipeto referente a H-6 e H-6', para

campo mais alto. De δ 3,74 ppm deslocou-se para δ 3,23 ppm, em consequência da saída de um grupo OH e da entrada do iodeto.

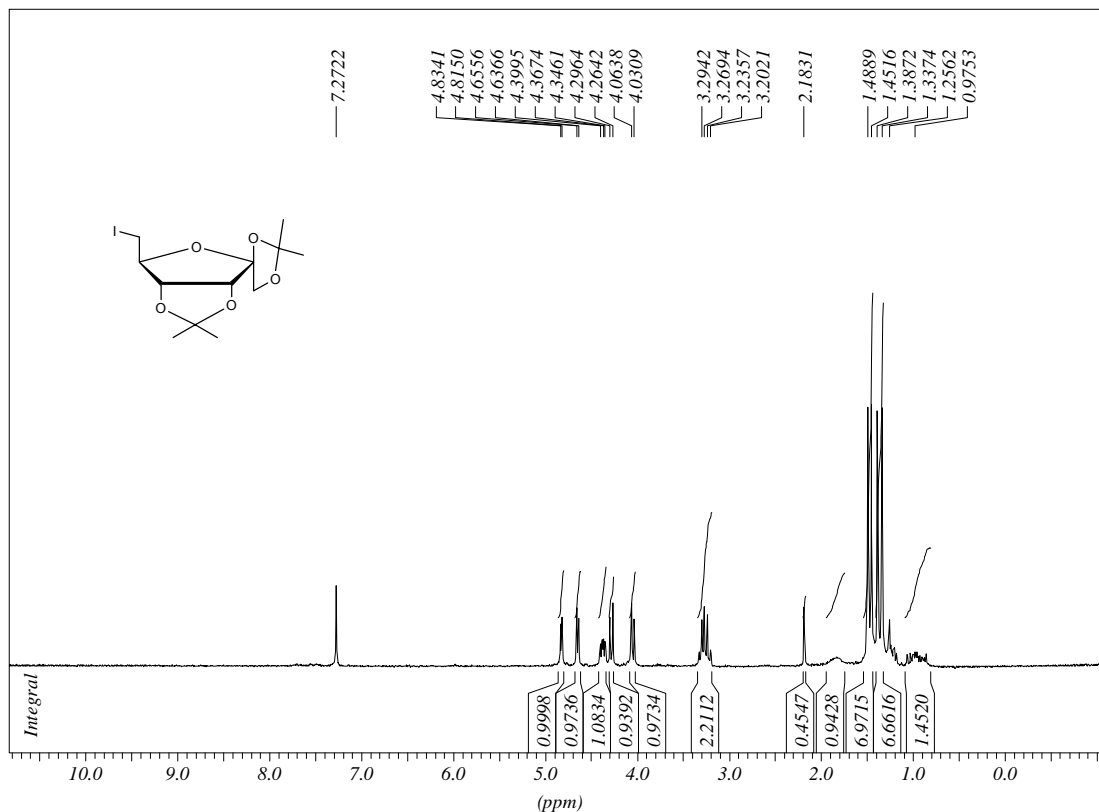


Figura 24: espectro de RMN de ^1H do composto halogenado 4

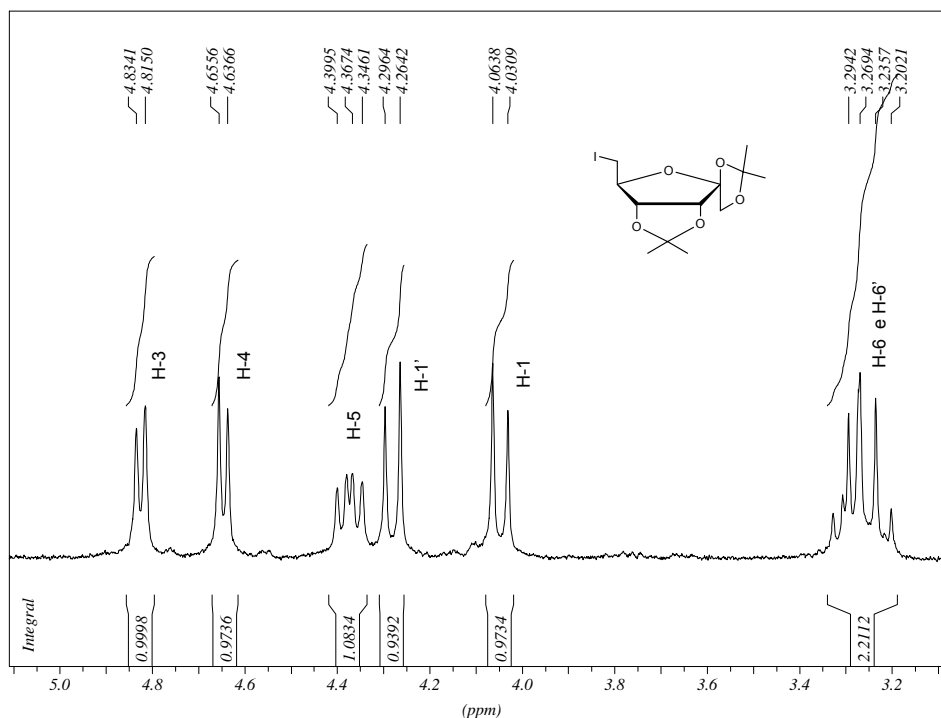


Figura 25: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto 4

O mesmo deslocamento para campo baixo pôde ser observado no espectro de RMN de ^{13}C . Com a presença da hidroxila, o carbono C-6 antes apresentava um deslocamento químico em δ 29,9 ppm. Após a substituição nucleofílica da hidroxila pelo átomo de Iodo, o carbono 6 deslocou-se para a região de δ 7,0 ppm, valor característico do deslocamento químico do carbono de $\text{CH}_2\text{-I}$.

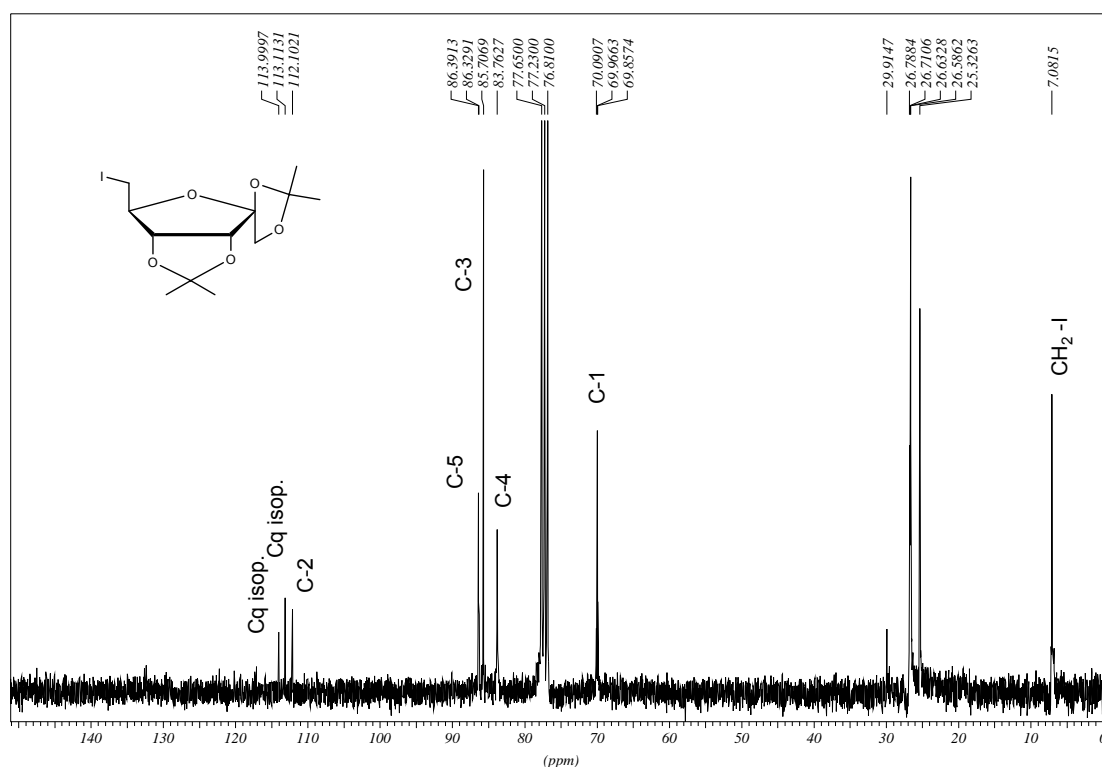


Figura 26: espectro de RMN de ^{13}C do composto **4**

1.4.1.5 - Síntese e caracterização do 6-desoxi-6-metiltio-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose **5**

Com o objetivo de introduzir o grupo metiltio na posição C-6 do carboidrato, fez-se a substituição do halogênio usando o tiometóxido de sódio ($\text{CH}_3\text{S}^-\text{Na}^+$) comercial.

Após o composto **4** ter sido solubilizado em DMF, o reagente tiometóxido de sódio foi adicionado à solução e esta aquecida à 100 °C, por 24 horas. Passado o tempo descrito, foi observado, por cromatografia em camada delgada, o total consumo do material de partida e a formação de um produto

mais polar. Assim, fez-se a extração utilizando acetato de etila e água. A fase orgânica foi evaporada obtendo-se o produto na forma de óleo, com rendimento de 89%.

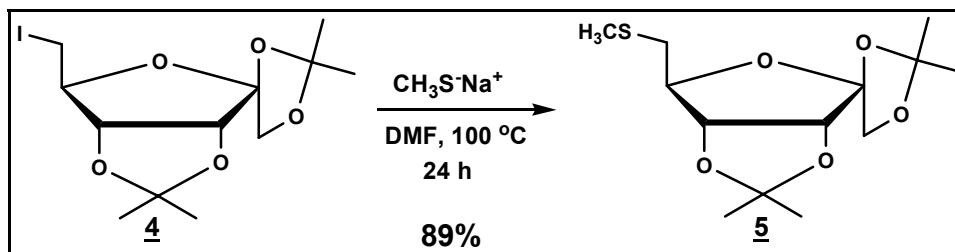


Figura 27: esquema de reação para obtenção do composto **5**

Através dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , obteve-se a confirmação da presença do grupo S-metil em C-6.

No espectro RMN de ^1H , o simpleto intenso em δ 2,17 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios metílicos ligado ao átomo de enxofre, um sinal característico deste tipo de próton. Observou-se, também, uma mudança no deslocamento químico do multiplete referente a H-6' e H-6, para campo mais alto, para δ 2,67 ppm, quando comparado ao deslocamento químico dos mesmos prótons na presença do iodo. Essa blindagem ocorre devido a saída do halogênio, melhor retirador de densidade eletrônica.

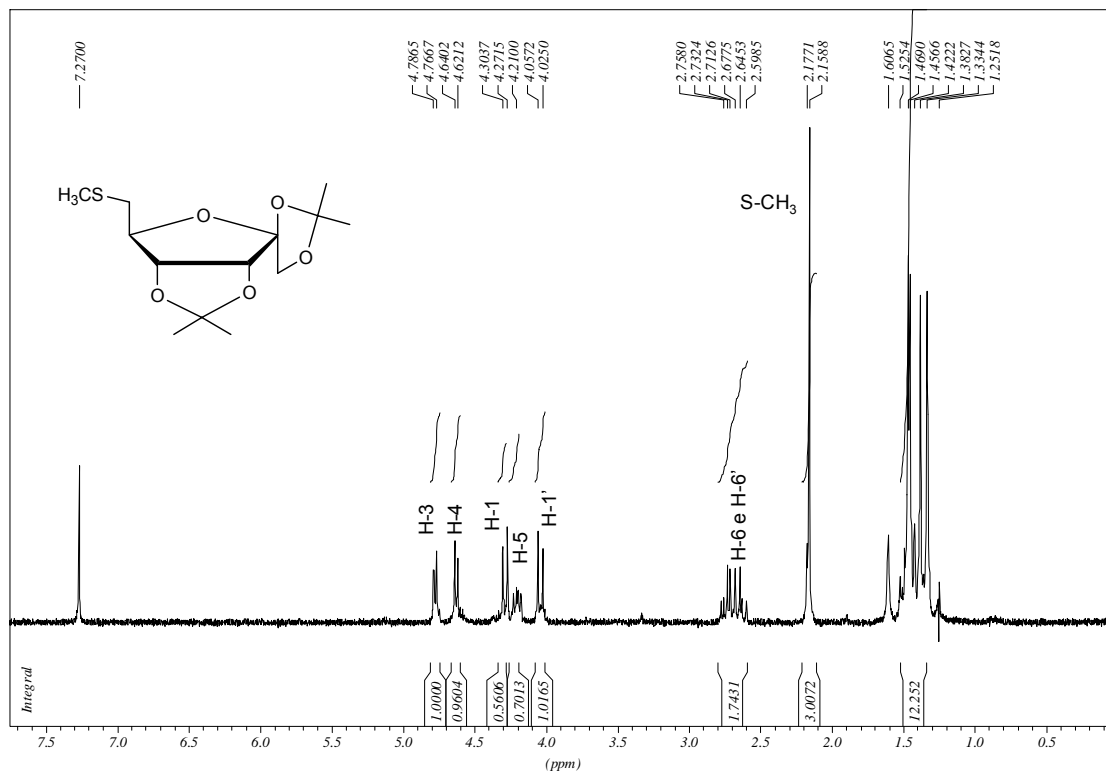


Figura 28: espectro de RMN de ¹H do composto **5**

No espectro de RMN de ¹³C, ficou claro o aparecimento de um sinal referente ao carbono metílico ligado ao átomo de enxofre, que possui deslocamento químico em δ 15,0 ppm. Como esperado, houve uma mudança no deslocamento químico de C-6, de δ 7,0 para aproximadamente δ 37,5 ppm.

SIL2

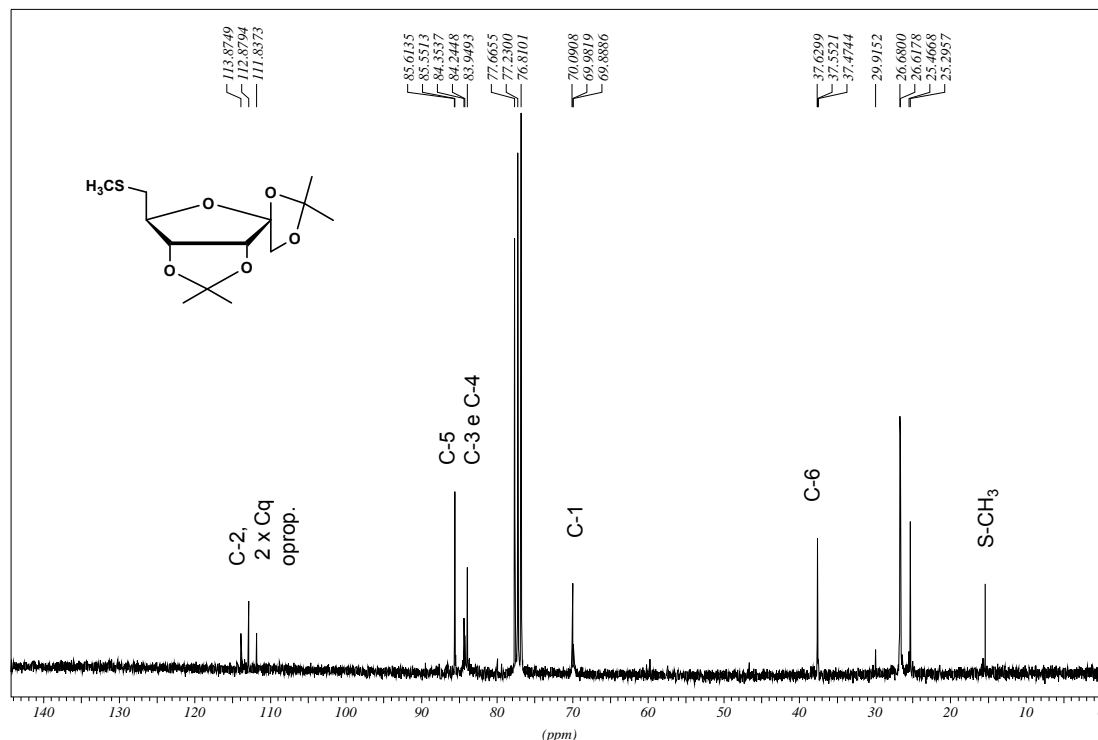


Figura 29: espectro de RMN de ^{13}C do composto 5

1.4.1.6 - Síntese e caracterização da 6-*N*-benzoil-adenina

Para que ocorra uma solubilização mais eficiente da adenina, freqüentemente utiliza-se a adenina benzoilada nas reações de acoplamento com um carboidrato. E esta reação ocorre preferencialmente no grupo NH_2 por se tratar de uma amina primária e, conseqüentemente, mais reativa.

A reação de benzoilação foi realizada em piridina anidra e cloreto de benzoila, sob refluxo, durante 2 horas (rendimento de 70%)

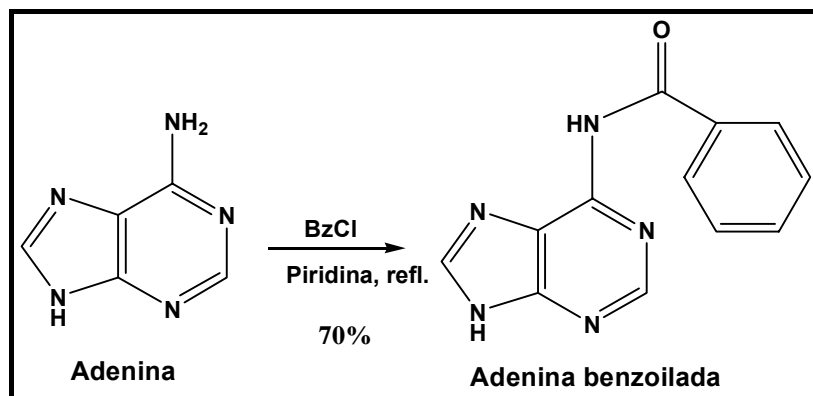


Figura 30: esquema de reação para a benzoilação da Adenina

A adenina benzoilada foi recristalizada em etanol e caracterizada pela análise da faixa de fusão, por RMN de ^1H e infravermelho. A faixa de fusão dos cristais ficou entre 243,5 – 244,3 °C e dados da literatura¹⁹ mostram que o ponto de fusão da adenina benzoilada é de 240,5 °C.

No espectro de RMN de ^1H foi verificado a presença de dois simpletos em δ 8,4 e 8,8 ppm, referentes aos hidrogênios H-2 e H-8 da adenina, respectivamente. Adicionalmente, em δ 8,03; 7,70 e 7,60 ppm foram observados a presença de um duplete e dois tripletos correspondentes aos hidrogênios do grupo benzoila.

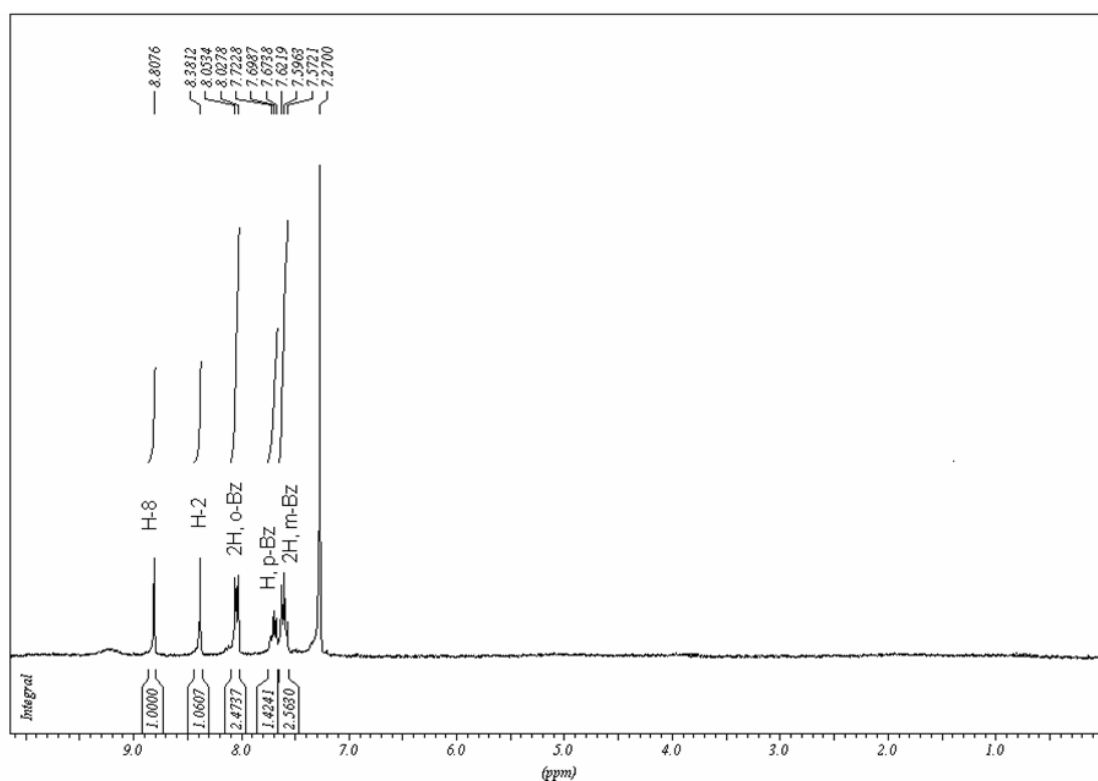


Figura 31: espectro de RMN de ^1H da adenina benzoilada

No espectro de Infravermelho do composto verificou-se a presença de uma banda em 1687 cm^{-1} referente à ligação C=O do grupo benzoila.

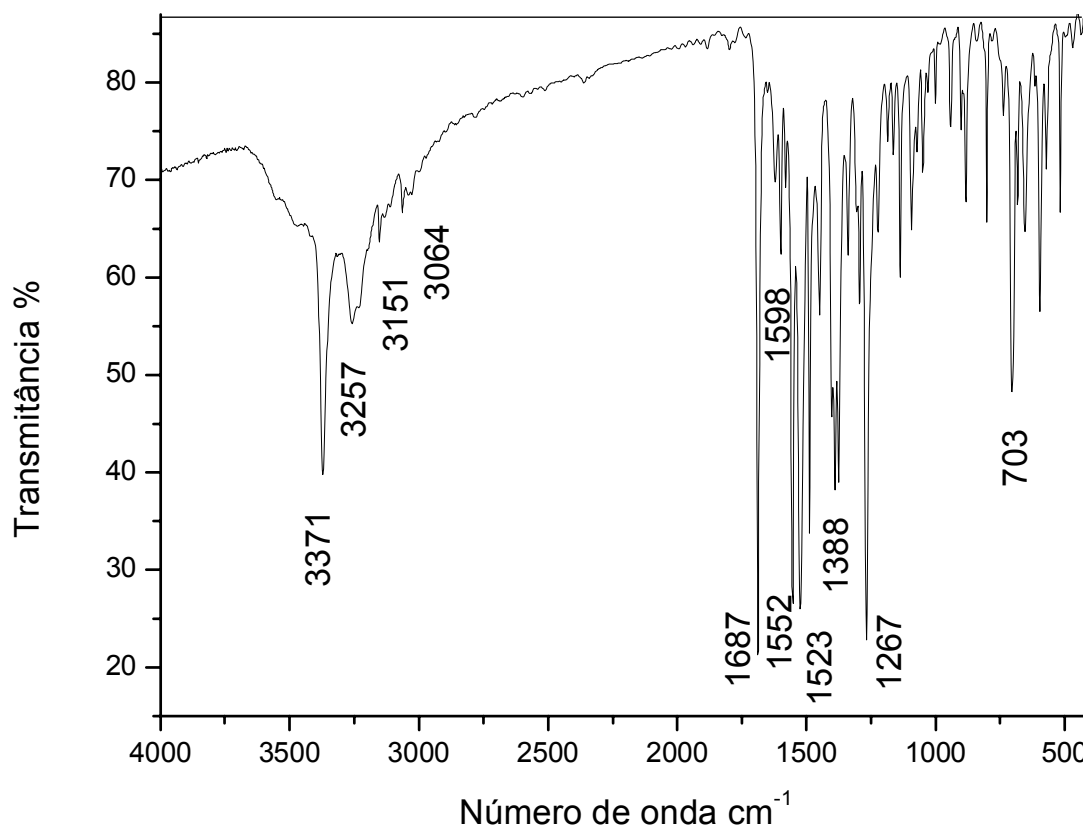


Figura 32: espectro no IV da adenina benzoilada

1.4.1.7 - Síntese da 6-(*N*-benzoil-*N*-trimetilsilil)-9-*N*-trimetilsilil-adenina

A prévia silição¹⁴ da base nitrogenada deve ser realizada a fim de conferir uma maior nucleofilicidade ao nitrogênio N-9, para que este promova o ataque nucleofílico ao carbono anomérico, durante a reação de nucleosidação.

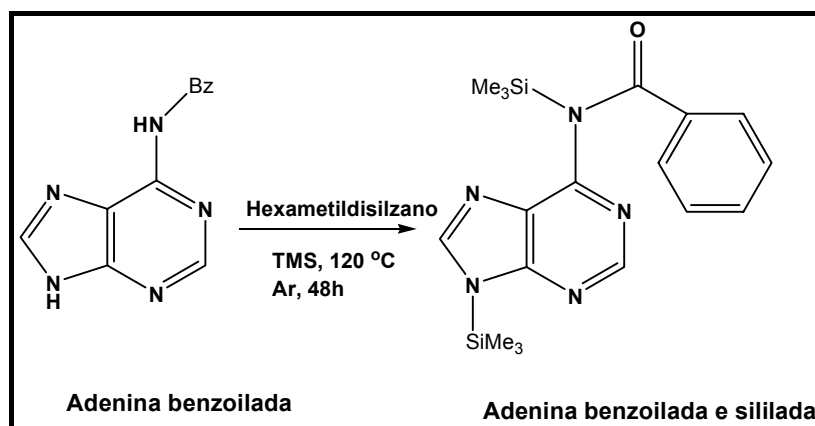


Figura 33: esquema de reação para silição da adenina benzoilada

A adenina sililada foi utilizada, *in situ*, para a etapa de nucleosidação devido a sua instabilidade e para evitar a presença de umidade.

1.4.1.8 - Síntese e caracterização do 6-*N*-benzoil-9-[3',4'-*O*-isopropilideno-6'-(metiltio)- α -D-psicofuranosil]-adenina **6a** e 6-*N*-benzoil-9-[3',4'-*O*-isopropilideno-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina **6b**

A adenina benzoilada e sililada, previamente sintetizada, foi solubilizada em hexametildisilazano (HMDS) e, em seguida, trimetilsilano (TMS) foi adicionado na solução. A mistura foi deixada em agitação a 120 °C sob atmosfera de argônio por 16h. Posteriormente, o solvente foi evaporado e deixado em bomba de vácuo por 3 horas, para total evaporação do HMDS restante²⁰.

O açúcar **5** foi dissolvido em acetonitrila anidra e a base persililada, produzida como descrito anteriormente, foi adicionada a solução do carboidrato.

A reação foi levada a 4 °C com banho de gelo, quando o ácido de Lewis, TMSOTf, foi adicionado, em atmosfera de argônio²⁰. Assim, o produto foi detectado através de CCDS após 24 horas de reação e apresentou Rf 0,3, em CH₂Cl₂ / MeOH 9:1.

O composto foi obtido em uma mistura de isômeros α e β , na proporção de 1:4.

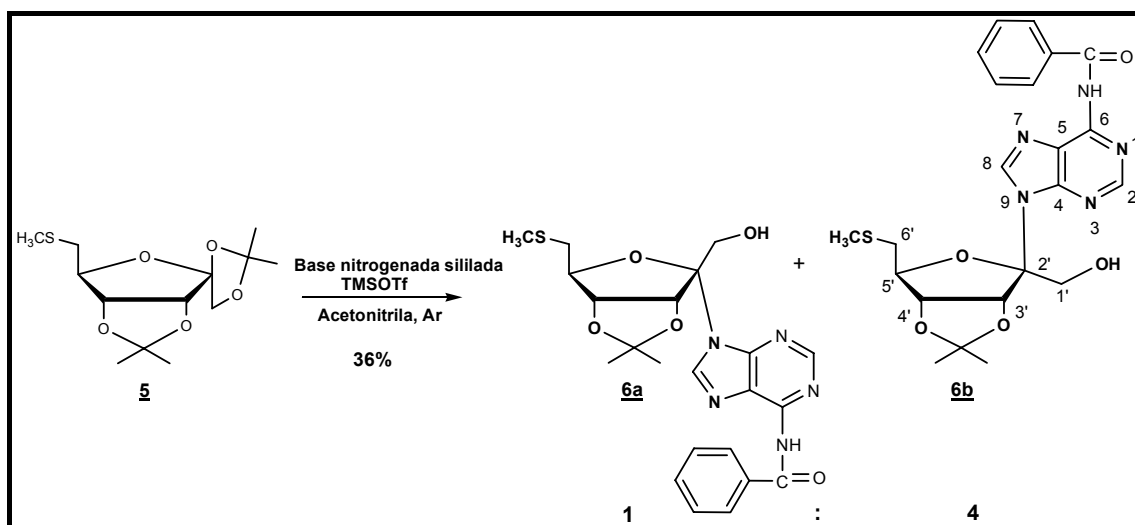


Figura 34: esquema de reação para obtenção dos isômeros **6a** e **6b**

Assim, a mistura foi levada à purificação em coluna cromatográfica, utilizando-se a mistura de solventes metanol e diclorometano como gradiente.

Obteve-se, em quantidade significativa, o isômero β . Este fato pode ser explicado devido a presença dos grupos volumosos próximos, o isopropilideno em C-3' e C-4' e o grupo benzoil da base, causando um impedimento estérico para o isômero α .

Ambos os produtos foram caracterizados pela técnica RMN de ^1H e espectrometria de massas. A confirmação da estereoquímica do isômero β foi realizada utilizando as técnicas de espectrometria de RMN de ^{13}C , RMN DEPT 135 °C, além das técnicas 2D, como mapas de contorno: COSY, NOESY, HMQC foi realizada também a espectrometria de massas de alta resolução das amostras.

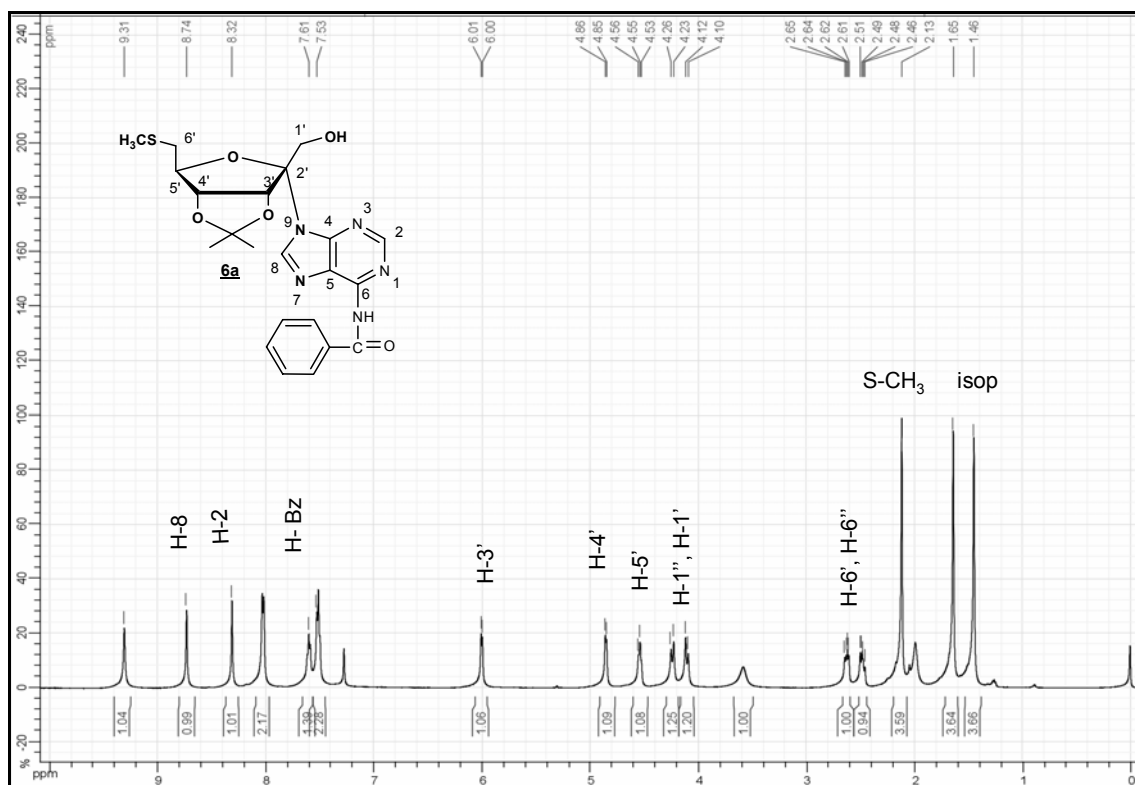


Figura 35: espectro de RMN de ^1H do isômero α , composto **6a**

No espectro de RMN de ^1H do isômero α , composto **6a**, nota-se a presença dos dois simpletos em 8,74 e 8,32 ppm, referentes aos dois prótons

da base nitrogenada, H-8 e H-2, respectivamente. Entre 8,10 e 7,53 ppm estão presentes os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos do grupo benzoil.

Entre 6,01 e 2,43 ppm é possível perceber a presença de todos os sinais atribuídos aos hidrogênios do carboidrato, além da presença do simpleto intenso em 2,13 ppm, referente aos três hidrogênios metílicos ligado ao átomo de enxofre.

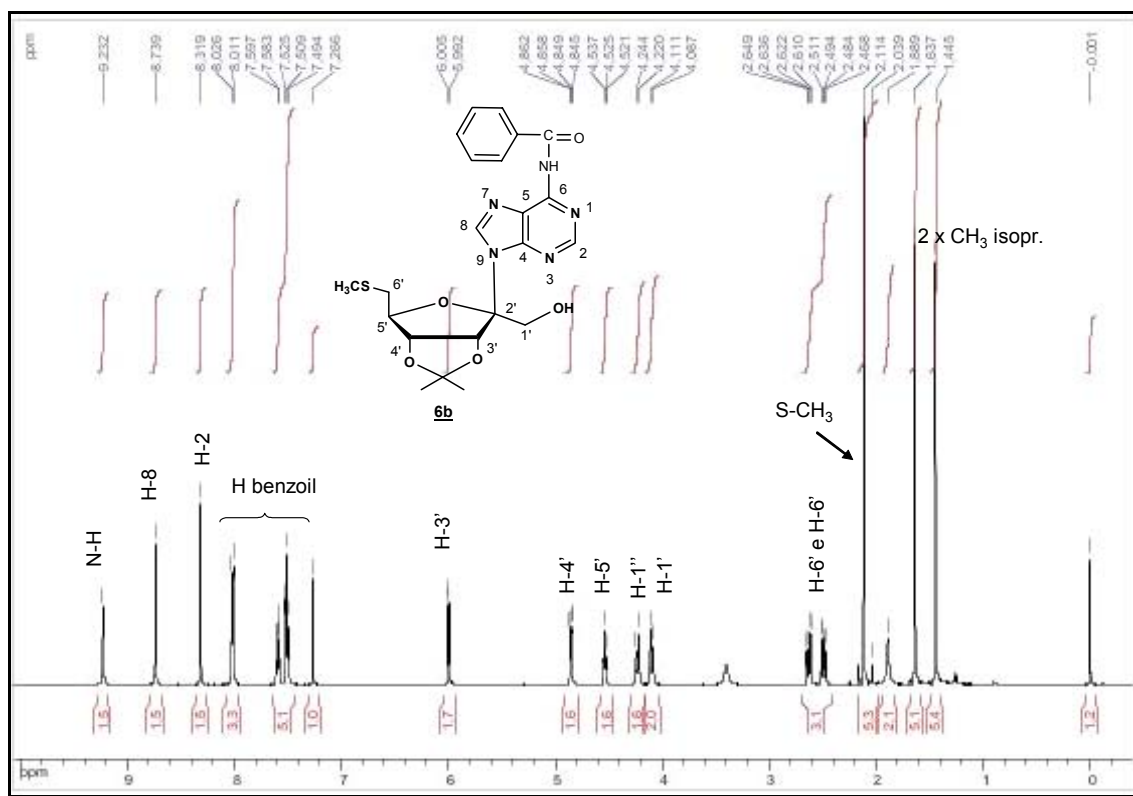


Figura 37: espectro de RMN de ^1H do isômero β , composto **6b**

Na figura 32 é possível observar a presença do simpleto característico em δ 2,12 ppm, referente aos hidrogênios metílicos ligado ao átomo de enxofre, em C-6'. Nota-se, também, entre δ 8,03 e 7,53 ppm os sinais referentes aos prótons aromáticos do grupo benzoil ligado a base nitrogenada. E, adicionalmente, em δ 8,74 e 8,32 ppm há a presença dos dois simpletos atribuídos aos hidrogênios H-8 e H-2 da adenina, respectivamente.

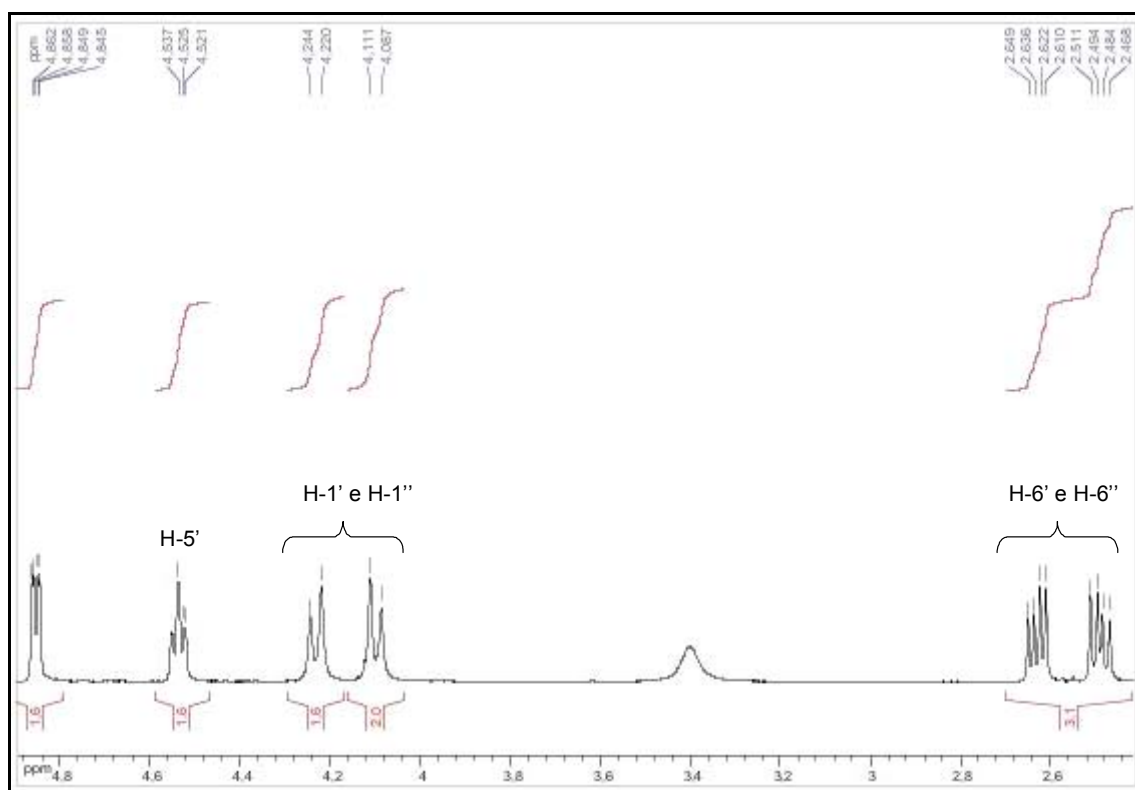


Figura 38: espectro de RMN de ^1H (expansão) do isômero β , **6b**.

Na figura 33, acima, está representada a expansão do espectro da figura 32, onde se observou, mais claramente, os desdobramentos dos hidrogênios H-6' e H-6'' em dois dupletos duplos, entre δ 2,65 e 2,47 ppm. Em campo mais baixo, entre δ 4,25 e 4,09 ppm há o desdobramento dos hidrogênios H-1' e H-1'', na forma de dois dupletos.

Nos espectros de RMN de ^1H dos compostos **6a** e **6b**, notam-se diferenças bastante sutis entre ambos, confirmando a formação dos isômeros.

No mapa de contornos COSY, que é uma técnica de RMN em 2D, é possível verificar manchas de correlação entre hidrogênios próximos, com relação ao número de ligações que os separam.

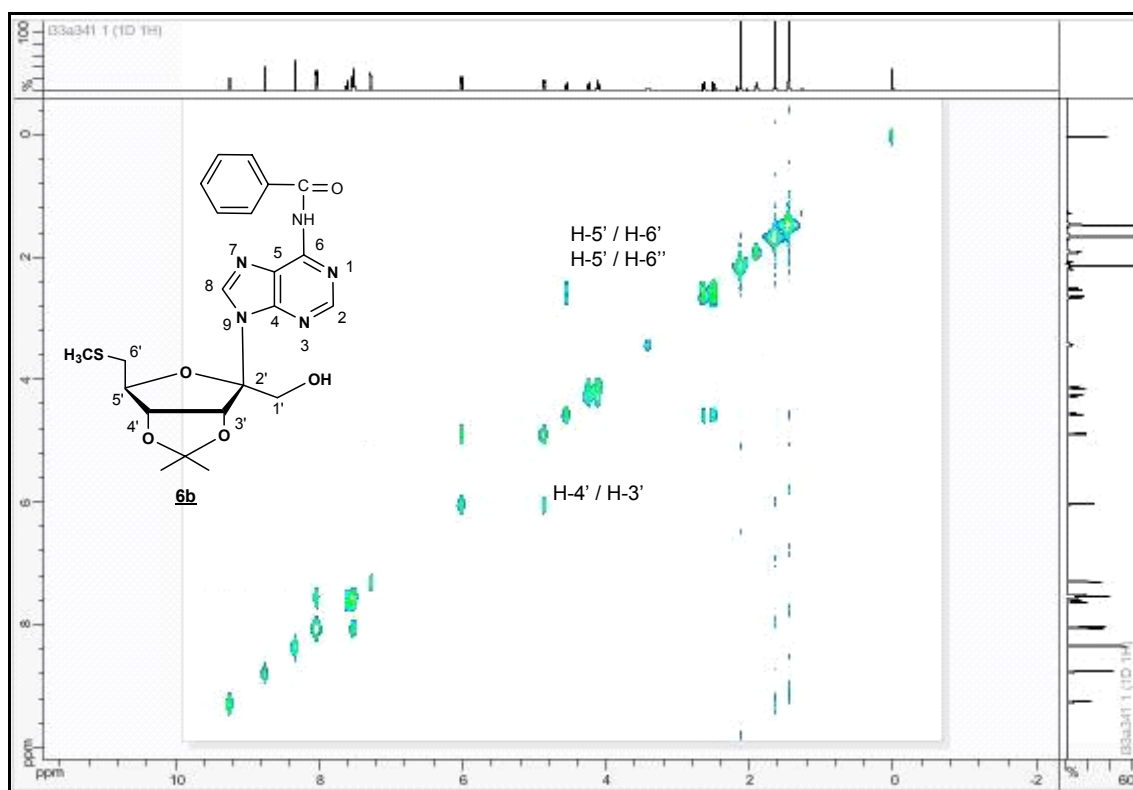


Figura 39: mapa de contornos COSY referente ao isômero β , **6b**.

A mancha de correlação entre o duplete referente a H-3' (em δ 5,8 ppm) com o duplete duplo referente a H-4' (em δ 4,86 ppm) mostra que ambos os prótons apresentam-se voltados para cima do anel furanosídico. É possível notar, também, a mancha intensa referente à correlação do multipletto H-5' com os dois dupletos duplos de H-6' e H-6'' (entre δ 2,47 e 2,65 ppm). Esse fato confirma a proximidade destes hidrogênios.

No espectro de RMN de ^{13}C foi possível verificar a presença de alguns sinais importantes, que confirmam, também, a efetividade da nucleosidação.

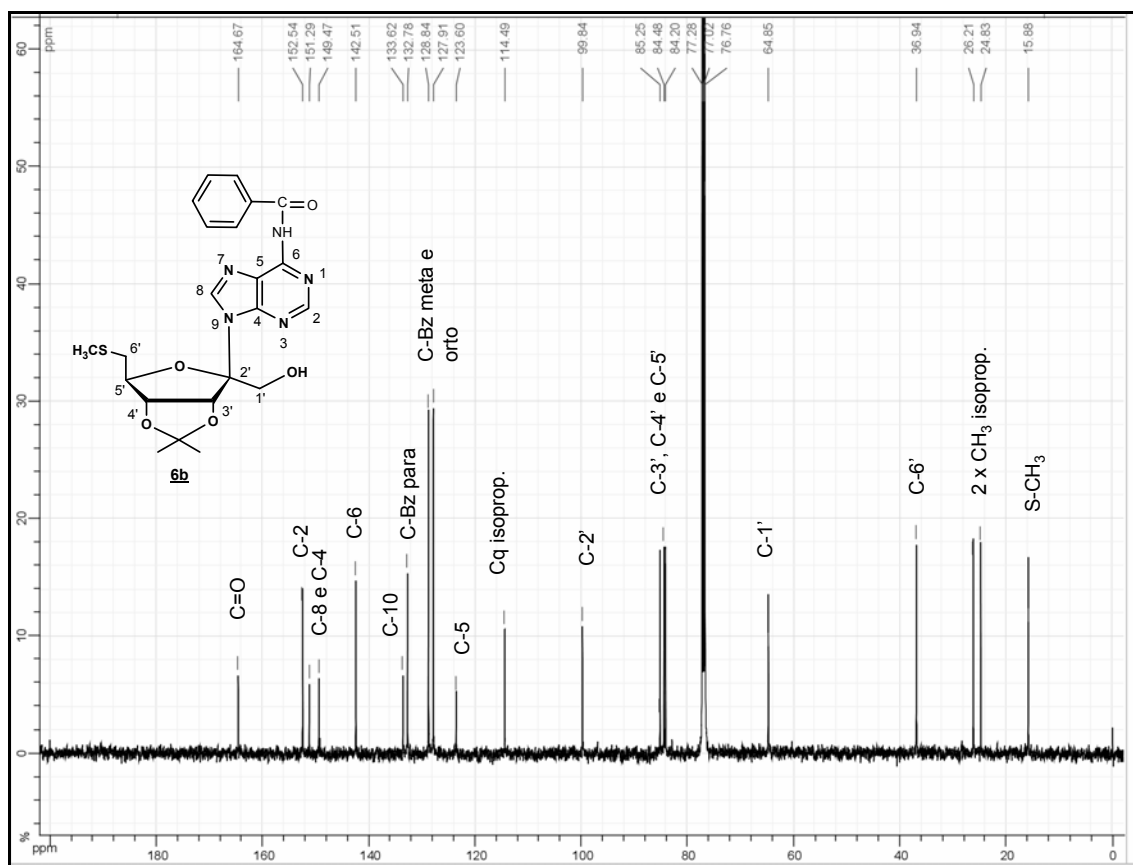


Figura 40: espectro de RMN de ^{13}C do isômero β , **6b**.

Em δ 15,8 ppm há o sinal referente ao carbono metílico, ligado ao átomo de enxofre de C-6'. Outros sinais importantes estão presentes em δ 164,6; 152,5; 151,2; 149,5; 142,5; 133,6 e 132,7 ppm referentes aos carbonos do grupo adenina C=O, C-2, C-4, C-8, C-6 e C-10, respectivamente.

Adicionalmente, notam-se os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos do grupo benzoiil, em δ 132,7; 128,8; 127,9 ppm, além de todos os outros sinais do carboidrato observados.

No espectro DEPT 135° (figura 36), observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos hidrogenados, sendo que os sinais dos carbonos metilênicos aparecem invertidos (voltado para baixo da linha base), em δ 64,8 e 36,9 ppm são atribuídos aos carbonos metilênicos C-1' e C-6', respectivamente.

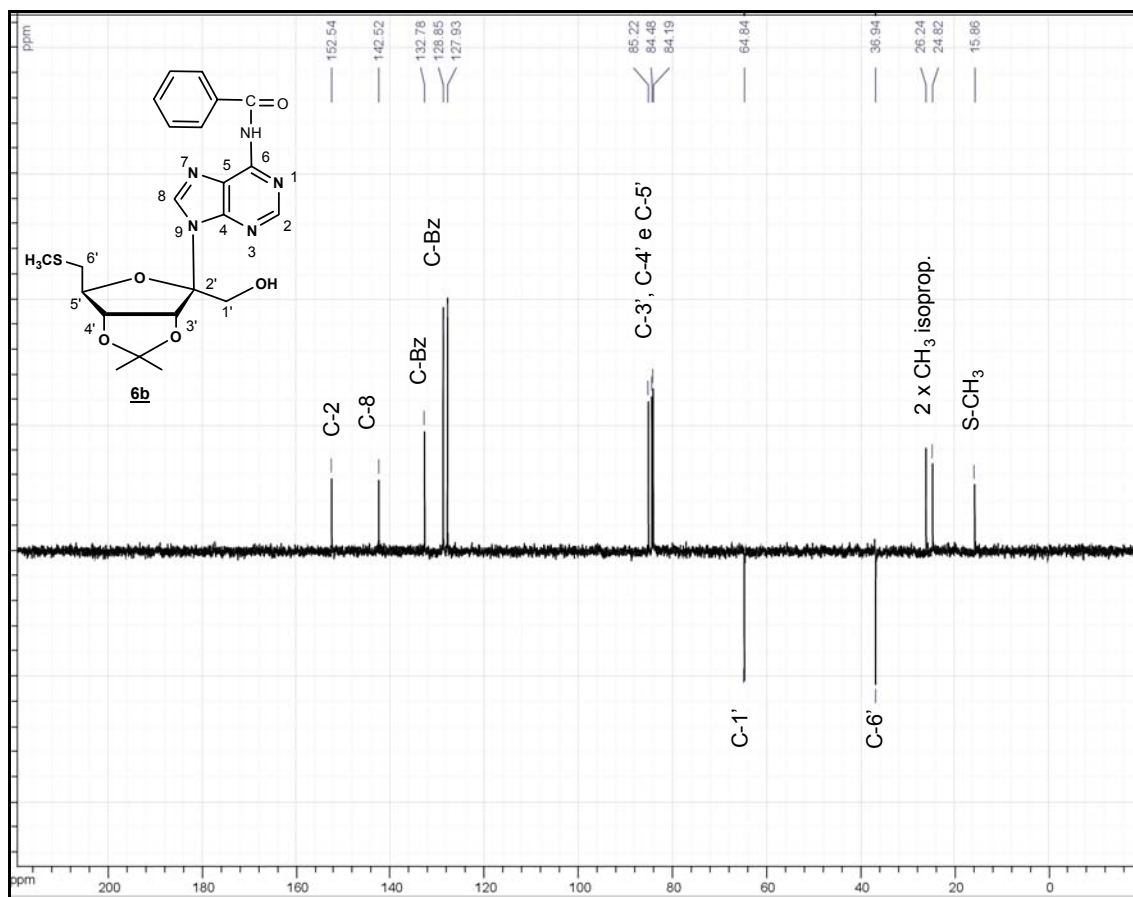


Figura 41: espectro DEPT 135° de ¹³C do isômero β, **6b**.

A técnica de dupla dimensão NOESY está baseada na interação dipolar que é produzida entre os pares de núcleos, no caso, prótons próximos espacialmente. Sendo assim, com base nessas interações, é possível verificar a confirmação do isômero beta.

No mapa de contorno NOESY observou-se a mancha de correlação do simpleto referente a H-2 da adenina com um dos dupletos duplos, referentes a H-6' ou H-6''. Outra mancha presente no mapa é a que se refere à correlação do mesmo simpleto referente a H-2 da base com o duplete referente a H-3'.

As presenças das duas manchas descritas comprovaram a conformação beta do isômero **6b**.

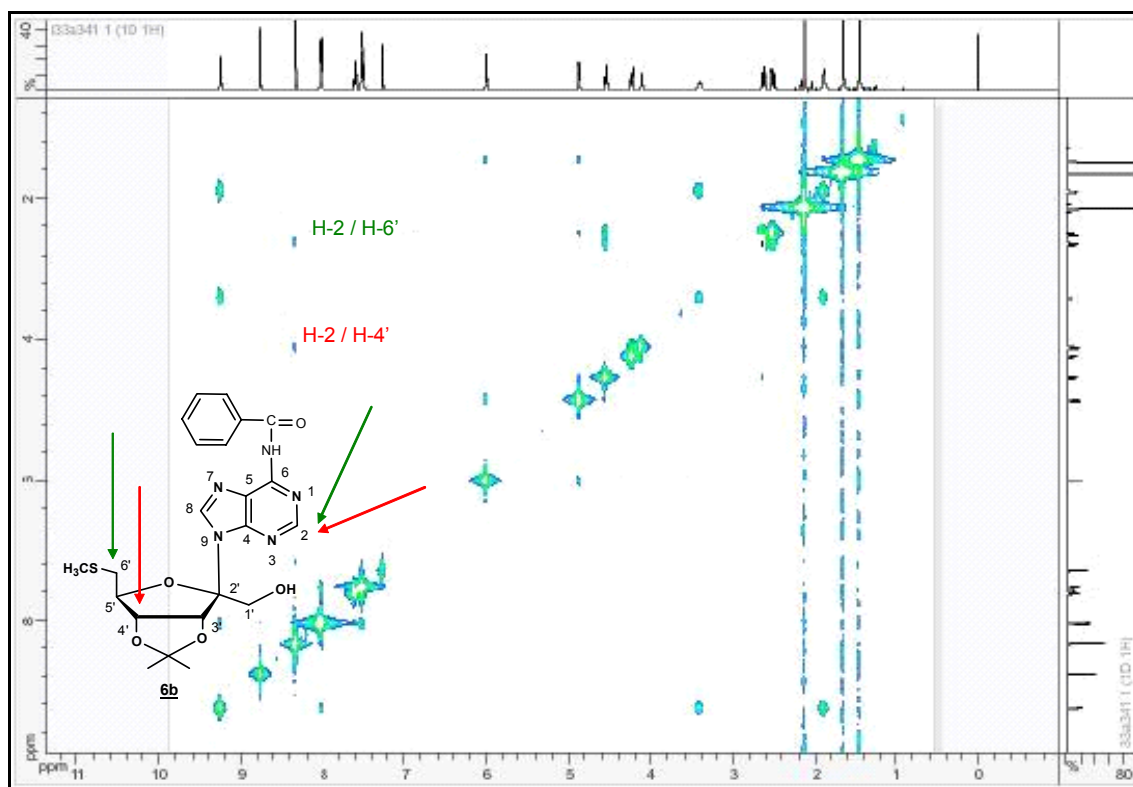


Figura 42: mapa de contornos NOESY do isômero β , **6b**.

A técnica de dupla dimensão denominada HMQC permite observar a correlação entre os sinais dos prótons e os sinais dos carbonos que compartilham a mesma ligação. Por intermédio do mapa de contorno HMQC de **6b** pôde-se estabelecer a origem dos acoplamentos escalares entre os hidrogênios, já atribuídos, e os carbonos, que se desejava atribuir. Assim, todas as atribuições feitas anteriormente ao espectro de carbono do composto **6b** puderam ser confirmadas.

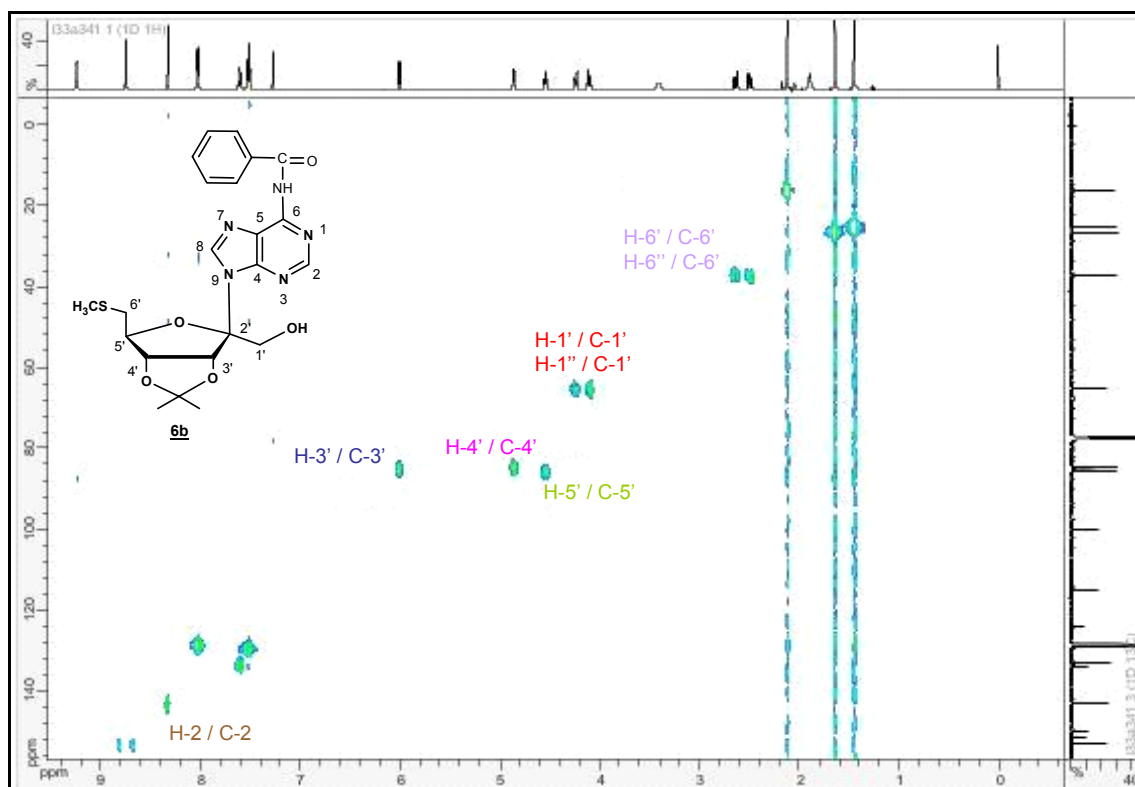


Figura 43: mapa de contornos HMBC do isômero β , **6b**.

Um exemplo importante refere-se à mancha de correlação entre o simpleto correspondente aos prótons metílicos de S-CH_3 com o carbono mais blindado do espectro, confirmando a atribuição feita anteriormente a este sinal como $\text{H}_3\text{C-S}$.

Com relação à base nitrogenada, uma mancha importante também pode ser percebida no mapa, referente à correlação de H-2 com o carbono C-2.

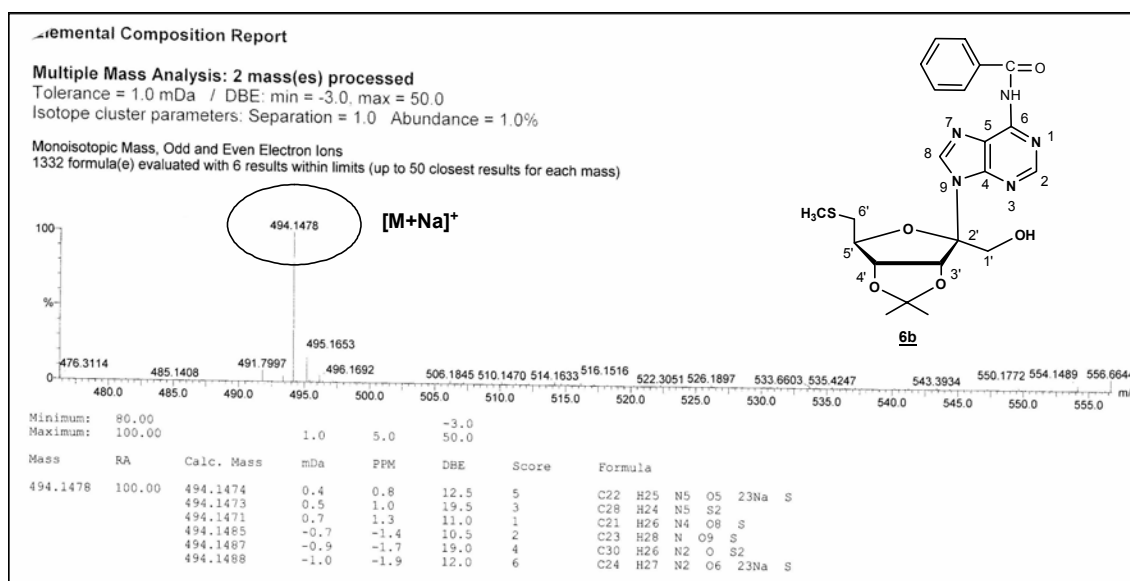


Figura 44: espectro de massas HRMS do composto 6b

No espectro de massas de alta resolução, representado acima, notou-se a presença do pico referente a $[M+Na]^+$ em 494,1478 m/z. Este valor é bem próximo do valor teórico (494,1474 m/z) fato que confirma o peso molecular do composto analisado.

As caracterizações do isômero β foram realizadas mais sucintamente devido ao fato deste ter sido obtido em uma proporção bem mais significativa do que o isômero α , (4:1). E, sendo assim, este foi escolhido para ser o material de partida das etapas posteriores.

1.4.1.9 – Tentativa de obtenção do 9-[6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina **7**

Primeiramente tentou-se promover as hidrólises do grupo benzil e do grupo isopropilideno *in situ*, através da adição de hidróxido de amônio seguido de adição de ácido trifluoroacético, conforme mostrado na figura 45.

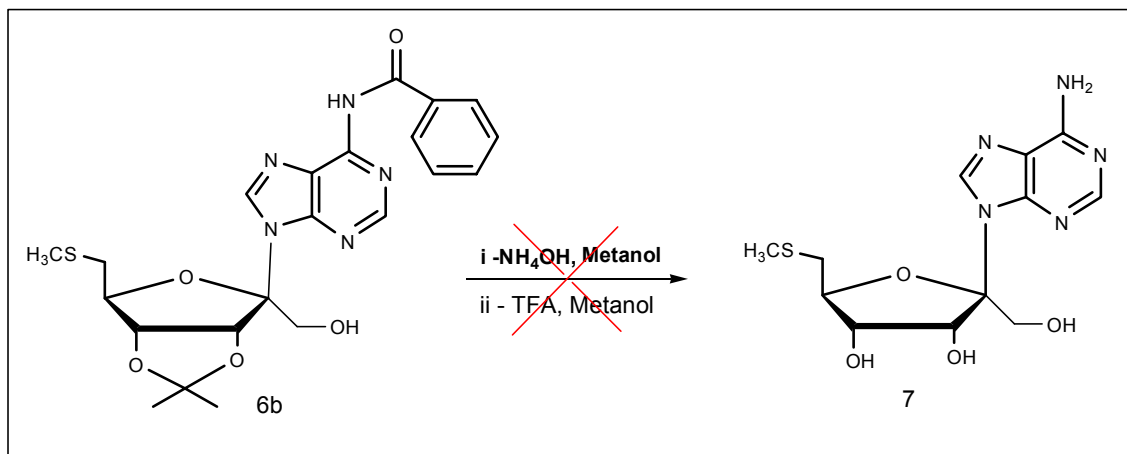


Figura 45: esquema de reação para obtencao do composto 7, por hidrólises básica e ácida de 6b.

Após 24 horas de reação foi verificada por RMN a presença da base nitrogenada e do açúcar separadamente, ou seja, observou-se a hidrólise da ligação ribosídica.

Decidiu-se, então, promover as hidrólises separadamente, básica e ácida, do grupo benzoil e do grupo isopropilideno, respectivamente.

1.4.1.10 – Síntese e caracterização do 9-[3',4'-O-isopropilideno-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina 7

A reação de hidrólise básica do grupo benzoil ocorreu em presença de hidróxido de amônio em metanol, durante 12 horas e o produto foi purificado por CCS.

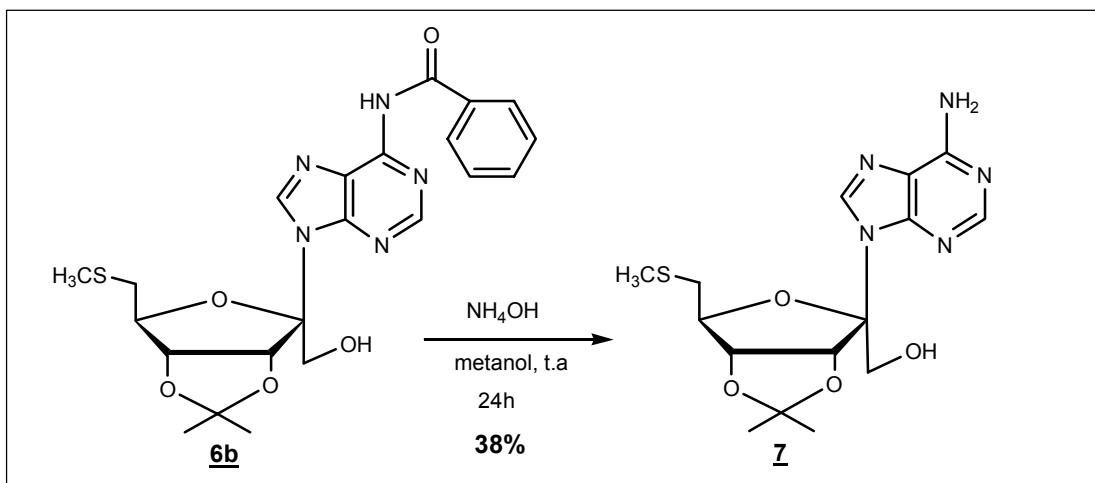


Figura 46: esquema de reação de desproteção do grupo amina

Com base nas caracterizações realizadas, pôde-se afirmar que a reação representada na figura 46 ocorreu com sucesso.

Primeiramente, no espectro de RMN de ^1H verificou-se a inexistência dos sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos entre δ 8,02 e 7,49 ppm.

O composto **7** foi purificado por CCDS e por placa preparativa, porém verificou-se o aparecimento de sinais de contaminação referente a presença de ácido benzóico na região entre δ 7,70 e 7,57 ppm,. A presença deste deste contaminante foi calculado por RMN apresentando na proporção de 8

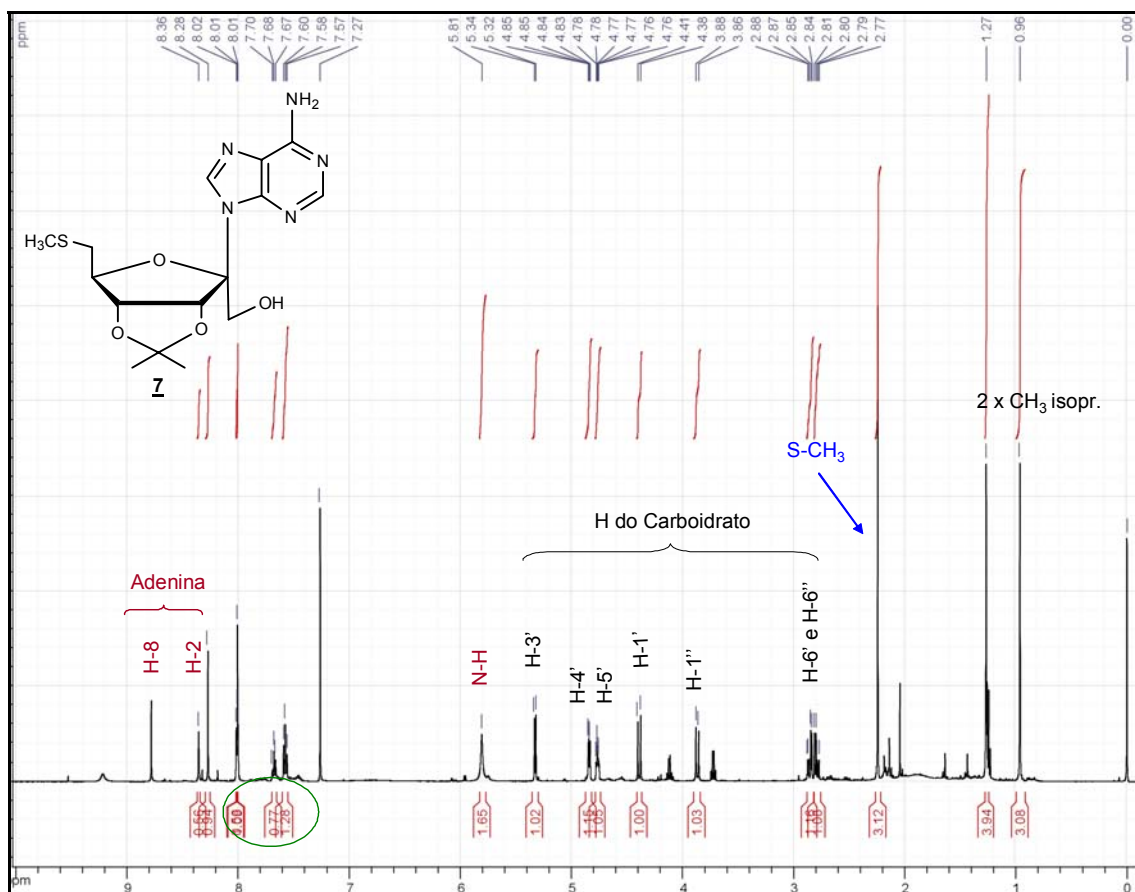


Figura 47: espectro de RMN de ^1H do produto Z

Os outros sinais importantes, como os do carboidrato, os dois dupletos duplos entre δ 2,77 e 2,88 ppm, de H-6' e H-6'', o simpleto em δ 2,17 ppm, referente aos três hidrogenios metílicos de $\text{H}_3\text{C-S}$, entre outros se mostraram presentes, assim como os dois simpletos da base nitrogenada, em δ 8,01 ppm e δ 8,28 ppm, de H-2 e H-8, respectivamente. Estes dois últimos tiveram seus sinais deslocados para campo mais alto, decorrente da saída do grupo benzil, retirador de densidade eletrônica.

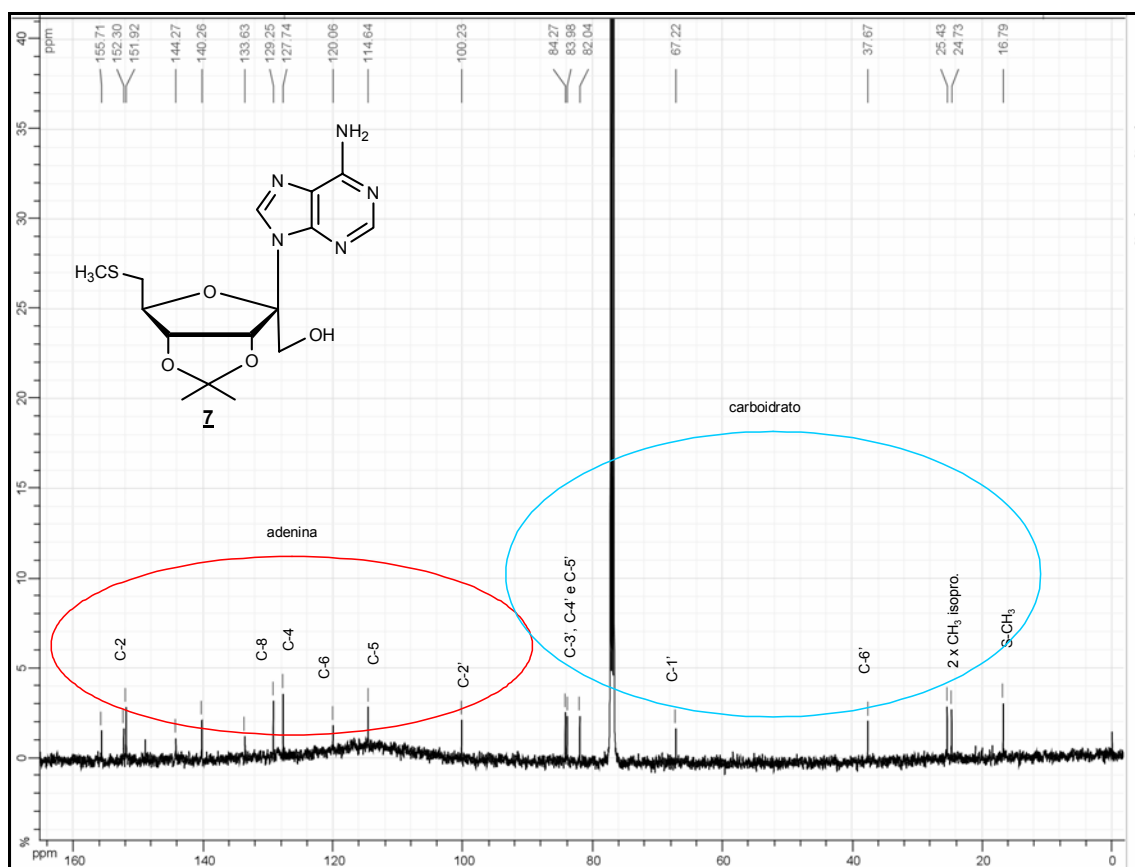


Figura 48: espectro de RMN de ^{13}C do composto 7

No espectro de RMN de ^{13}C , verificou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos C-3', C-4' e C-5', entre 84,2 e 82,0 ppm, C-6' em δ 37,6 ppm, H₃C-S em δ 16,7 ppm, entre outros. Além destes, observou-se os sinais correspondentes aos carbonos da base nitrogenada, como C-2 em δ 151,9 e C-8 em δ 129,2 ppm.

Por fim, foi feito além da caracterização por RMN, o espectro de massas em que se verificou o aparecimento dos picos correspondente à massa $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 390,1 m/z e $[\text{M}+\text{H}]^+$ 368,1 m/z, confirmando o produto obtido.

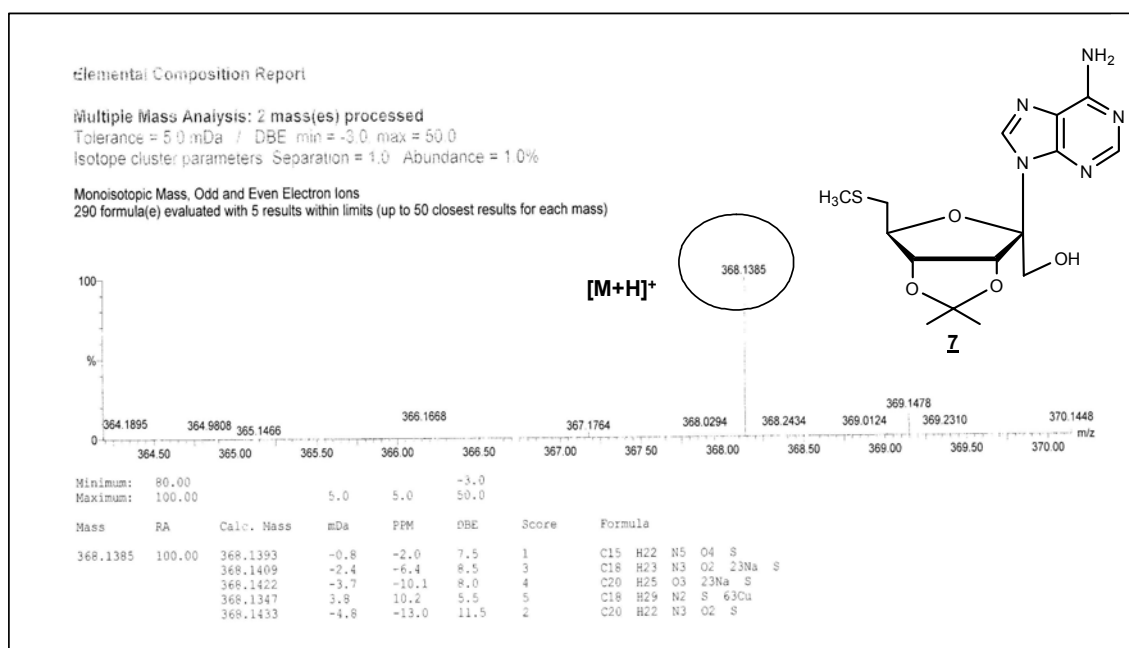


Figura 49: Espectro de massas (HRMS) do composto 7

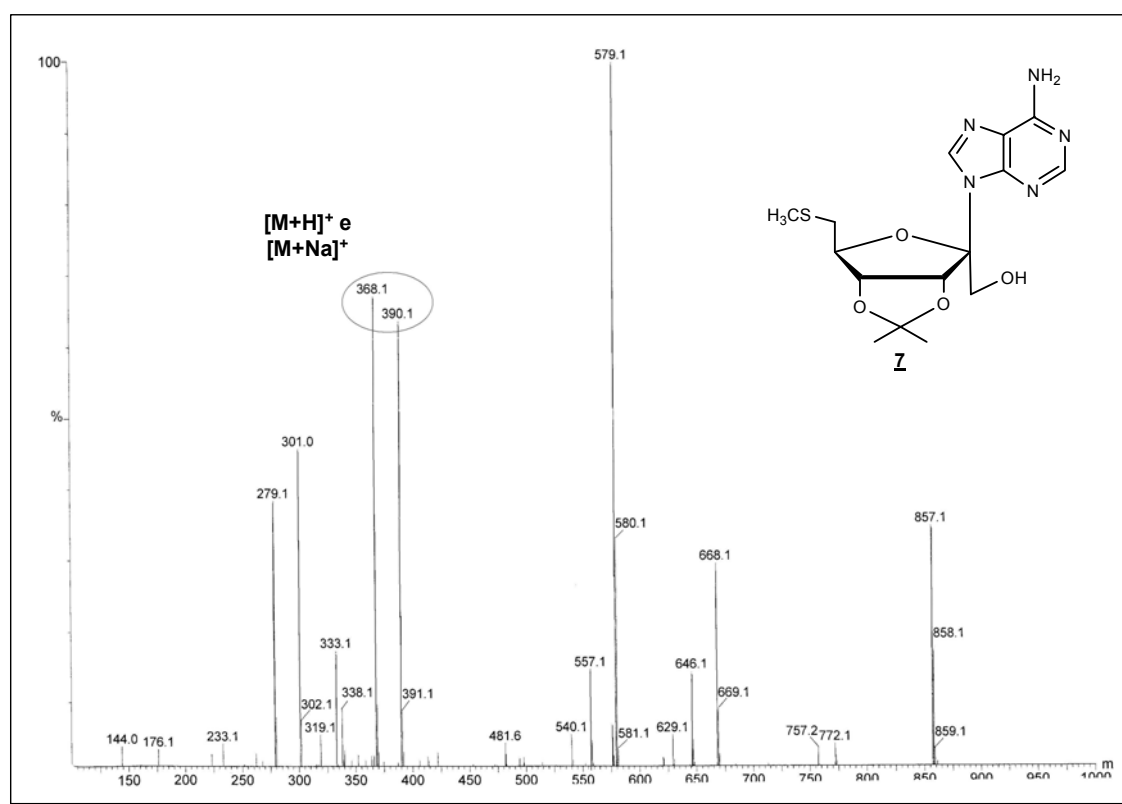


Figura 50: espectro de massas (ES) do composto 7

1.4.1.11 – Tentativa de síntese do 9-(6'-metiltio-β-D-psicofuranosil)-adenina **8**

A tentativa de hidrólise ácida foi realizada primeiramente em presença de ácido trifluoroacético e metanol. A reação foi acompanhada por 72 horas e observou-se a não ocorrência de formação do composto almejado.

Tabela 1: Condições de tentativas de hidrólise

Condições*	ácidos	solvente
1	TFA	
2	TFA	água
3	TFA	metanol
4	H ₂ SO ₄ (conc. cat)	metanol
5	Resina ácida	metanol

* Tempo observado: até 72h

As condições de tentativas de hidrólise do grupo hisopropilideno estão descritas na tabela 1, concluiu-se que o composto **8** é instável em meio ácido.

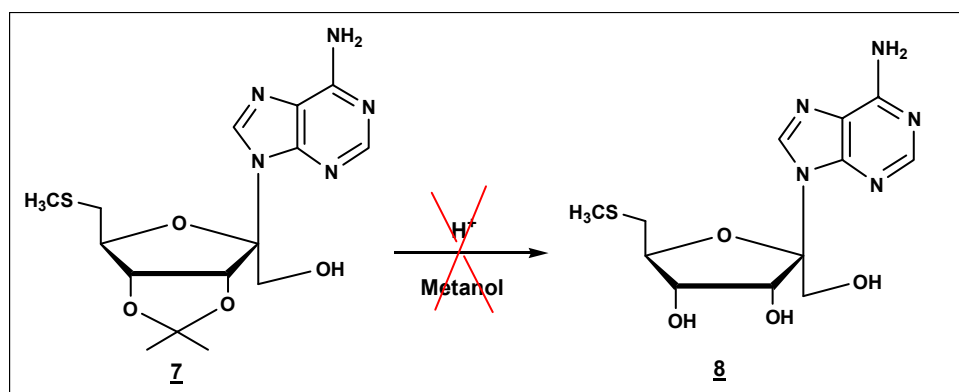


Figura 51: esquema de reação para obtenção do composto hidrolisado 8
1.4.2 - Obtenção de um análogo nucleosídico do MeSA do – Estratégia 2

A partir destes resultados, planejou-se outra estratégia sintética a fim de se evitar a utilização das condições ácidas.

Foi proposta uma rota sintética alternativa, e neste caso, seria usado um grupo protetor hidrolisável em meio básico.

Optou-se por utilizar como material de partida, o carboidrato 5 sintetizado na estratégia anterior. Este pode ter os grupos isopropilidenos substituídos por grupos acetatos. Estes serão, então, primeiramente hidrolisados e, posteriormente, submetidos à condição de reação de acetilação.

Assim, o composto tetraacetilado obtido pode ser o precursor da reação de nucleosidação.

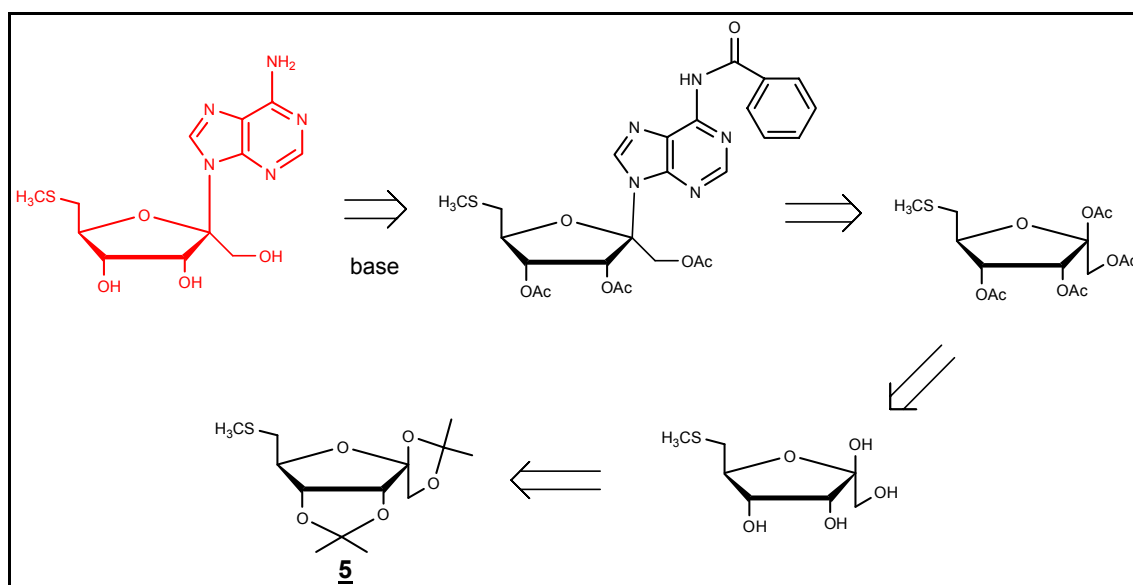


Figura 52: esquema retrosintético alternativo para obtenção do análogo almejado.

O açúcar protegido 5 seguido da adição de ácido em meio aquoso pode ser hidrolisado para que, posteriormente, tenha suas hidroxilas novamente protegidas com grupos acetatos, através da utilização de reagentes muito comumente usados, como anidrido acético e piridina^{21,22}.

Após a acetilação das hidroxilas, uma reação de bromação^{16,26} sobre a posição anomérica é realizada em presença de HBr em 30% AcOH para uma maior efetivação da reação de nucleosidação. E, assim, após submeter o

açúcar à reação de acoplamento com a base nitrogenada, obtém-se o análogo de nucleosídeo hidrolisado após uma reação de hidrólise básica.

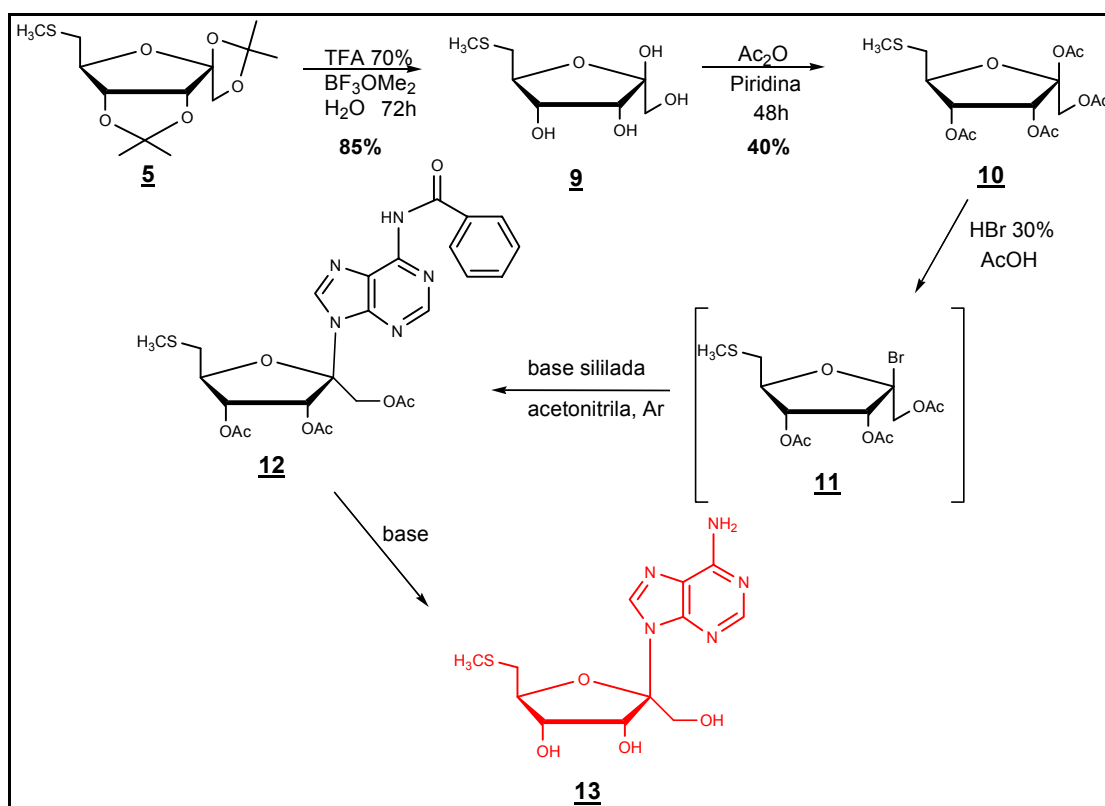


Figura 53: esquema sintético linear alternativo para obtenção do composto **13**, via hidrólise básica.

1.4.2.1 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-(6-metil)-D-psicofuranose **9**

A partir do composto **5** foi realizada a hidrólise ácida para a desproteções das quatro hidroxilas. Para esta reação, utilizou-se ácido trifluoroacético/água 70%. A mistura permaneceu sob constante agitação a temperatura ambiente por 3 dias, até que por CCDS observou-se a formação de um produto único, mais polar que o composto **5**.

Os solventes foram evaporados e o óleo obtido foi submetido às caracterizações convencionais.

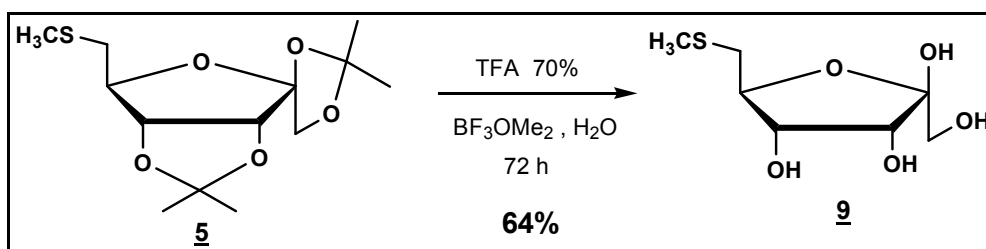


Figura 54: esquema de reação para obtenção do composto 9

No espectro de RMN de ^1H notou-se a ausência dos quatro simpletos referentes aos doze prótons metílicos dos dois grupos isopropilídenos. Verificou-se a presença dos sinais referentes aos prótons do carboidrato, juntamente com o simpleto em 2,15 ppm do grupo metílico ligado ao átomo de enxofre.

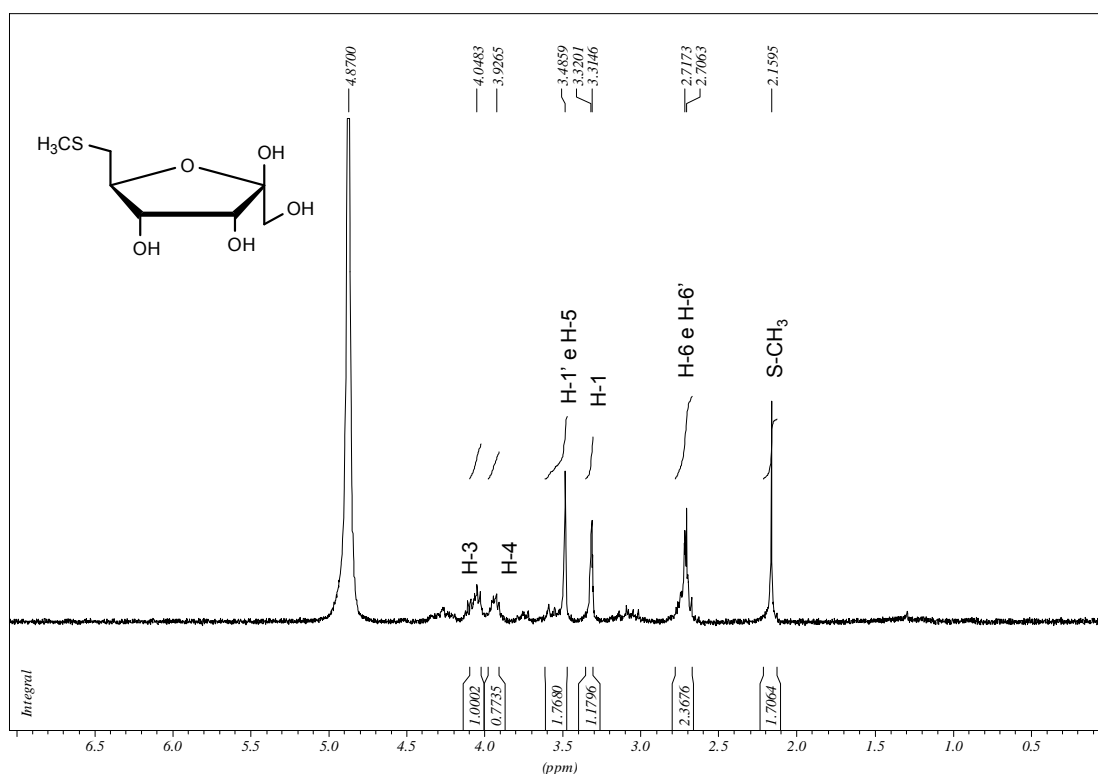


Figura 55: espectro de RMN de ^1H do composto desprotegido 9

O espectro de massas HRMS também é uma evidência da formação do composto desejado.

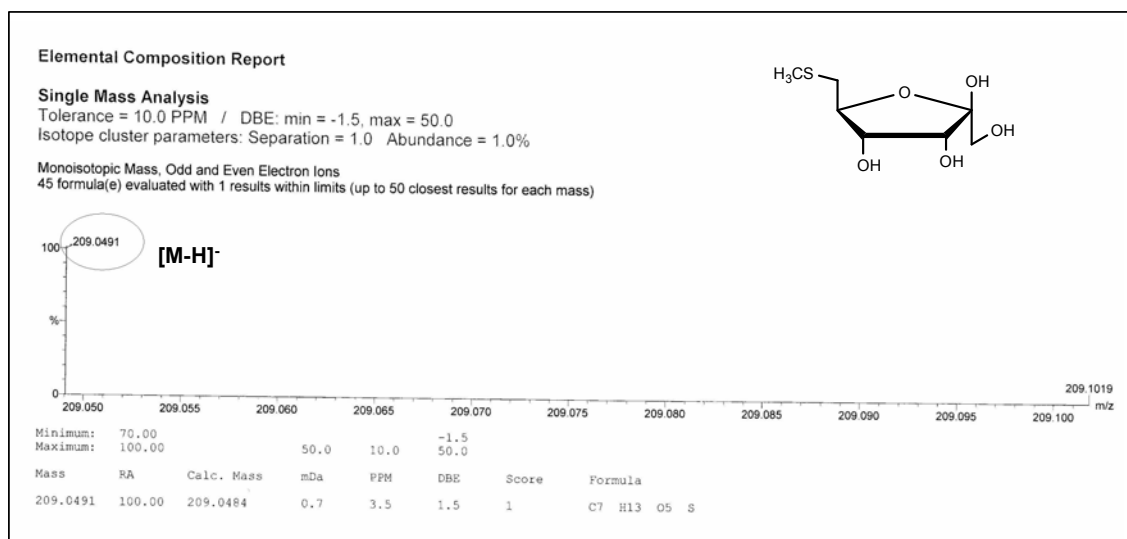


Figura 56: espectro de massas (HRMS) do composto 9

No espectro de massas (HRMS) observou-se a presença do pico em 209,0491 m/z referente à massa do composto subtraída de um átomo de hidrogênio $[M-H]^-$, que comparado ao valor teórico ($[M-H]^- = 209,0484$ m/z), confirma o produto (Figura 56)

1.4.2.2 – Síntese e caracterização do 6-desoxi-(6-metiltio)-1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-psicofuranose 10

A partir do composto 9 foi realizada a reação de acetilação^{21,22} em presença de anidrido acético e piridina, para formação do composto tetraacetilado 10.

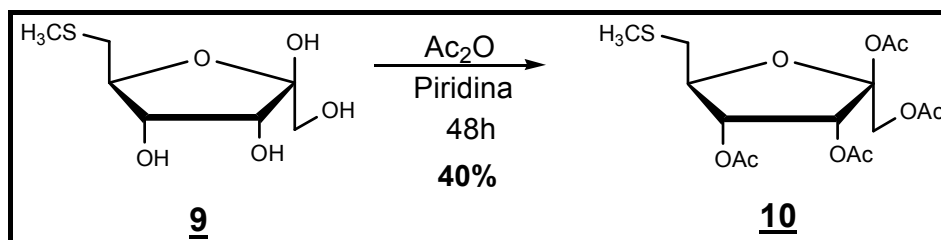


Figura 57: esquema de reação para obtenção do composto tetraacetilado 10

O composto **10** também foi caracterizado por espectrometria de massas (ES), que confirmou o peso molecular do composto proposto, apresentando um pico em 401,1 m/z $[M+Na]^+$ referente à massa mais o átomo de sódio. (valor teórico 401,08 $[M+Na]^+$).

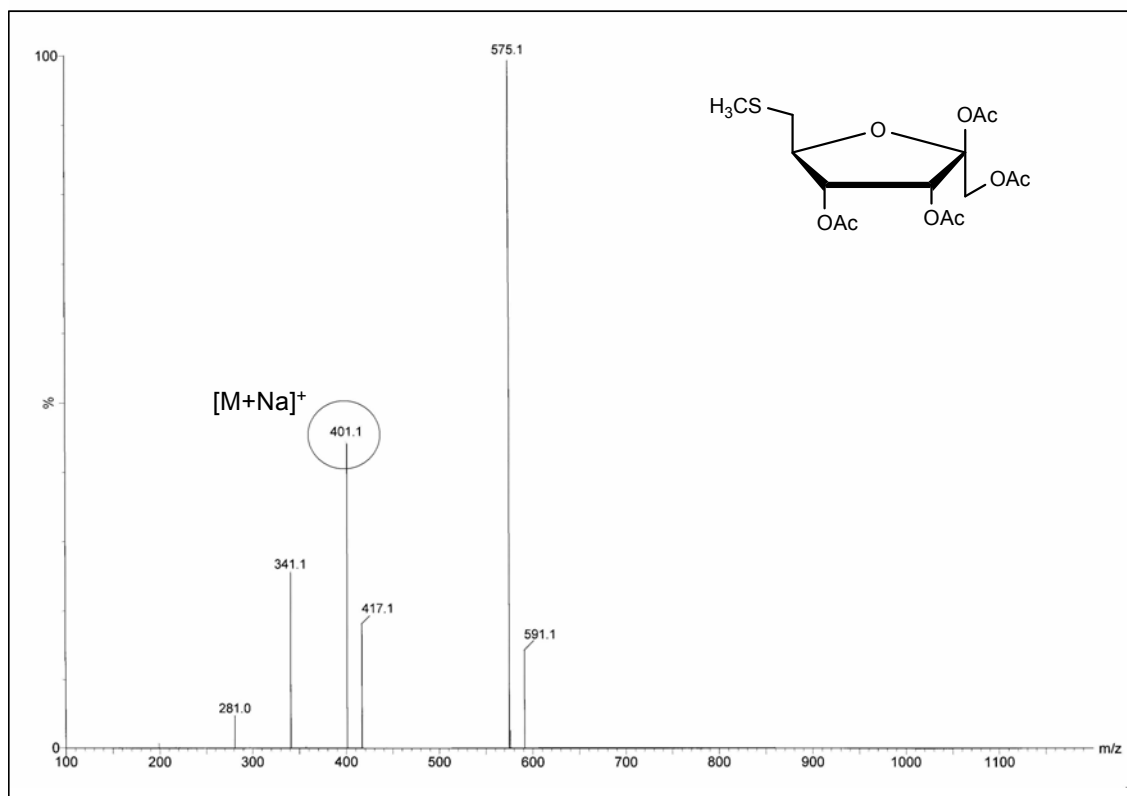


Figura 59: espectro de massas (ES) do composto **10**

1.4.2.3 – Síntese do 6-desoxi-(6-metiltio)-2-bromo-1,3,4-tri-O-acetil- β -D-psicofuranose **11**

Devido à reação de nucleosidação utilizando o grupo acetato sobre a posição anomérica não ter sido realizado com sucesso, realizou-se, primeiramente, a bromação na posição anomérica para posterior nucleosidação.

Esta ocorreu em diclorometano em presença de uma solução de HBr em 30% ácido acético.

A formação de um produto de maior Rf foi observada, através de CCDS, quando comparado ao material de partida. Então, realizou-se a evaporação dos

solventes e o composto foi mantido em dessecador para utilização na etapa posterior sem purificação. Segundo a literatura^{16,26} este brometo, é instável.

Ao último foi realizado co-evaporações sucessivas com misturas de diclorometano/tolueno e/ou benzeno¹⁶.

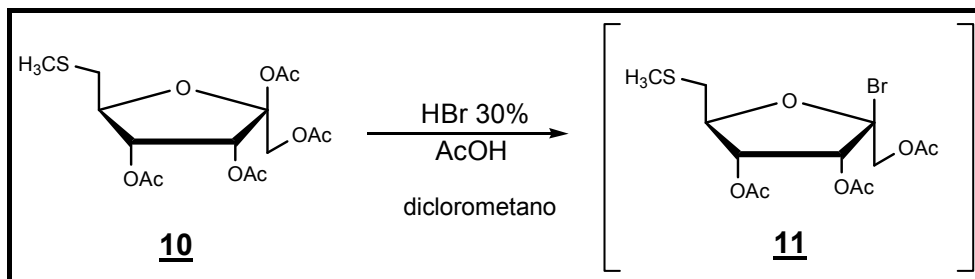


Figura 60: esquema de reação de bromação do composto **10**

1.4.2.4 – Síntese e caracterização do 6-*N*-benzoil-9-[1',3',4'-tri-*O*-acetil-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina **12**

A adenina benzoilada, previamente sintetizada, foi solubilizada em hexametildisilazano (HMDS) e, em seguida, trimetilclorosilano (TMS) foi adicionado na solução. A mistura foi aquecida a 120 °C sob atmosfera de argônio por 16h. Posteriormente, o solvente foi evaporado e deixado em bomba de vácuo por 3 horas.

A psicofuranose **11** foi dissolvida em acetonitrila anidra e adicionada à base persililada.

A reação foi deixada a 4 °C, quando o ácido de Lewis, TMSOTf, foi adicionado, sob atmosfera inerte.

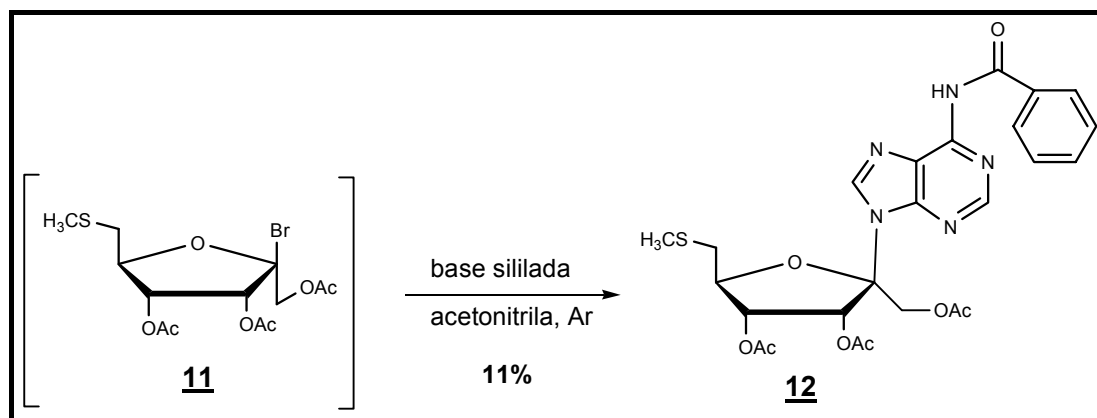


Figura 61: esquema de reação de nucleosidação do composto **11**

Devido ao baixo rendimento obtido nesta etapa, não foi possível uma total caracterização, porém, permitiu verificar a formação de apenas um isômero, ou seja, o isômero β que é favorecido pelo menor impedimento estérico.

Este trabalho foi interrompido nesta etapa e não foi possível repetir essa rota sintética para uma total caracterização do composto **12**. O grupo está, atualmente, repetindo esta rota sintética, para permitir a total caracterização e confirmação da rota sintética proposta.

A análise do espectro de massas (ES) do composto **12**, que está mostrado nas figuras 56 e 57 mostra uma indicação da formação da estrutura proposta.

Na figura 56, notou-se um pico em 580, 1 m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ referente à massa do composto somada à massa do átomo de sódio.

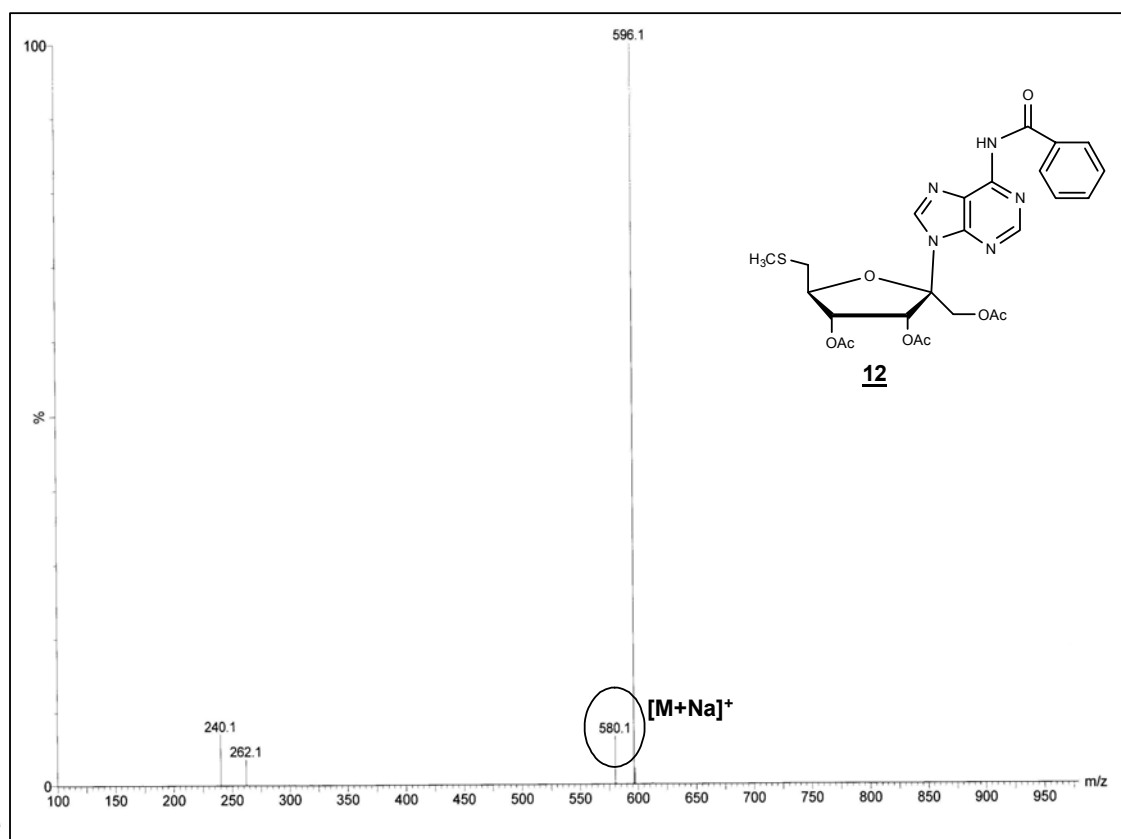


Figura 62: espectro de massas (ES) do composto **12** (pico em 580, 1 m/z $[M+Na]^+$)

Na figura 57, a seguir, é possível observar outro pico em 556,1 m/z $[M-H]^-$ que comprova, ainda mais, a obtenção do nucleosídeo **12**.

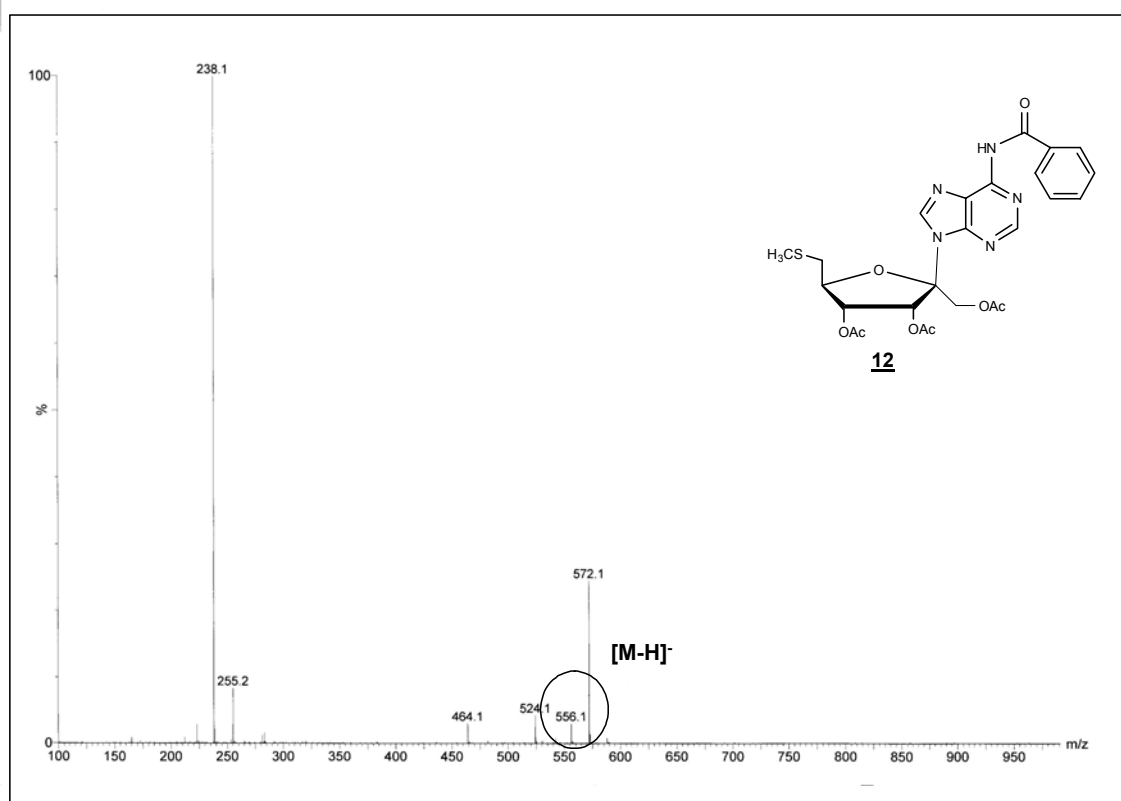


Figura 63: espectro de massas (ES) do composto **12** (pico em 556,1 m/z $[M-H]^-$)

1.5 – Conclusões

Tentativa de obtenção do análogo nucleosídico 5'-metiltioadenosina (MeSAdo)

Foram realizadas duas estratégias sintéticas para tentativa de obtenção do análogo nucleosídico da 5'-metiltioadenosina (MeSAdo).

Nesta primeira estratégia, realizou-se a síntese do nucleosídeo almejado **6b**, protegido com o grupo isopropilideno sobre as posições 1', 2' e benzoil sobre o grupo amino da base nitrogenada. Porém a desproteção *in situ* dos grupos protetores não levou ao produto desejado, obtivemos, por outro lado, a hidrólise da ligação entre o açúcar e a base nitrogenada. Para tentar entender, e evitar, esta decomposição do nucleosídeo, realizou-se esta reação em duas etapas. A primeira hidrólise em condição ácida e a segunda em condição básica. Assim, promoveu-se, primeiramente, a hidrólise do grupo benzoil na presença de hidróxido de amônio, levando ao composto **7**. Posteriormente, o composto **7** foi submetido à reação de hidrólise ácida em condições ácidas. Porém esta etapa se mostrou instável, pois em diferentes condições ácidas, houve a hidrólise da posição anomérica.

A estratégia sintética inicial consistiu em 8 etapas, na qual foi possível a obtenção de 3 compostos inéditos: o carboidrato substituído com o grupo metiltio em C-6, **5**, os análogos de nucleosídeos protegidos, isômeros **6a**, **6b** e análogo **7**.

Sendo assim, devido a instabilidade do composto **7** em meio ácido, planejou-se uma estratégia sintética utilizando grupos protetores hidrolizáveis sob condições básicas. Então, promoveu-se a proteção das hidroxilas do carboidrato precursor com grupos acetatos.

Nesta segunda estratégia sintética foram realizadas 5 etapas a partir do carboidrato **5**, obtendo, então, mais 3 compostos inéditos: **9**, **10** e **12**.

Porém, não foi possível realizar a última etapa, ou seja, a reação de hidrólise do nucleosídeo sintetizado, sobre condição básica. Esta rota sintética será novamente realizada pelo grupo para que se possa obter o produto final desprotegido, bem como, confirmar a teoria de que é possível realizar a hidrólise dos grupos protetores em condições básicas.

1.6 – Parte Experimental

Métodos Gerais

As medidas das faixas de fusão apresentadas neste trabalho foram obtidas em aparelho digital MQAPF-Microquímica no departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro BOMEM-FTIR MB-102, no Departamento de Química, ICE, UFJF e no espectrômetro PERKIN ELMER SPECTRUM BX, FTIRI SYSTEM, no Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif -sur -yvette/ França.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, carbono 13, mapas de contornos COSY, NOESY e HMQC foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX300, no Departamento de Química, ICE, UFJF e, também, no espectrômetro BRUKER AVANCE 500 e BRUKER AVANCE 300, no Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif -sur -yvette/ França.

Os espectros de massas foram obtidos com um “LCT Micromass spectrometer”, no Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif sur yvette/ França.

Para a cromatografia em coluna de sílica utilizou-se a sílica-gel 60G 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTIM) MERCK.

Para a cromatografia em camada delgada de sílica utilizou-se sílica-gel 60G MERCK, em lâminas de vidro.

Os solventes abaixo foram purificados e/ou secos, seguindo os seguintes procedimentos:

Acetona: refluxo em presença de sulfato de sódio anidro, seguido de destilação fracionada e estocagem em frasco com peneira molecular 4 Å.

Diclorometano: refluxo em presença de pentóxido de fósforo, seguido de destilação fracionada e estocagem em frasco com peneira molecular 4 Å.

N,N-Dimetilformamida e piridina: refluxo em presença de hidróxido de sódio, seguido de destilação fracionada e estocagem em frasco com peneira molecular 4 Å.

Acetonitrila: refluxo durante 12 horas com CaH_2 , seguido de destilação. Posteriormente, refluxo com de P_2O_5 e estocagem em frasco com peneira molecular 4 Å.

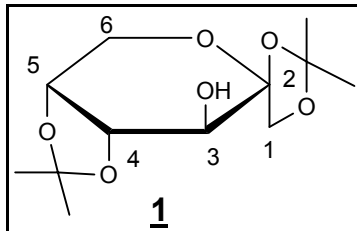
Nos procedimentos de purificação, por extração ou coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. VETEC.

Como reveladores para cromatografia em camada delgada foram utilizados vapores de iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico a 20% v/v e lâmpada ultravioleta.

1.6.1 – Tentativa de obtenção de um análogo nucleosídico do MeSAdo – Estratégia 1

1.6.1.1 – Síntese do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno-β-D-frutopirranose **1**

Em um balão de 1000 mL de fundo redondo, adicionou-se 10 g (55,5 mmol) de D-frutose e 600 mL de acetona anidra. Posteriormente, 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado foram gotejados lentamente na solução. A reação permaneceu sob agitação constante a temperatura ambiente por 2 horas, tempo suficiente para a mistura se tornar completamente homogênea e de coloração amarela clara. Em seguida, uma solução de 3 g (125 mmol) de NaOH em 20 mL de água foi adicionada, lentamente, para a neutralização do ácido. O solvente foi, então, removido a vácuo e o óleo resultante foi submetido a extração com diclorometano (500 mL) e água destilada (200 mL). A fase orgânica foi separada e o solvente removido em rotaevaporador. Após a adição de hexano o produto foi cristalizado na forma de um sólido branco e obteve-se 9,50 g (36,5 mmol) do composto **1** (rendimento de 66 %).



F.M = $C_{12}H_{20}O_6$

M.M. = 260,28 g/mol

P.F (experimental) = 118 – 119 °C / P.F.(literatura)^{15,16} = 119 °C

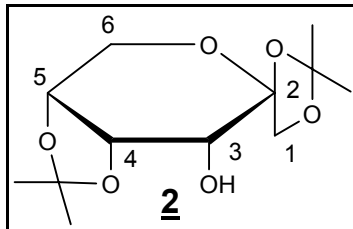
R_f = 0,4 (Hex/AcOEt 7:3) ; Revelador: 20% solução etanólica de H₂SO₄(conc)

Característica física = cristais pontiagudos brancos com PF = 119 °C¹⁶

As caracterizações deste composto já são descritas na literatura^{15,16}.

1.6.1.2 - Síntese do 1,2:4,5-Di-O-isopropilideno- β -D-psicopiranosose 2.**Método A: Utilização de DMSO em Anidrido Acético como agente oxidante (Reação de Swern^{15,16})**

Em um balão de 500 mL foram solubilizados 10 g (55,5 mmol) de 1, em uma solução de 150 mL composta por dimetilsulfóxido anidro (100 mL) e Anidrido Acético (50 mL). A reação permaneceu sob agitação constante a temperatura ambiente por 72 horas. Por CCDS foi verificada o total consumo do material de partida e a formação de um produto de maior Rf = 0,8. Em seguida, adicionou-se lentamente, 2 g (52,6 mmol) de NaBH₄ a 0 °C. A reação permaneceu em banho de gelo sob agitação por 30 minutos. O solvente foi evaporado em placa de Petri, utilizando secador em alta temperatura e, posteriormente, o óleo resultante foi dissolvido em éter (1 litro) e lavado cinco vezes com água (800 mL). Com o auxílio de um funil de extração de 500 mL, as duas fases foram separadas e o produto purificado em coluna cromatográfica, utilizando como gradiente de eluição uma mistura de Hex/AcOEt 8:2. Foram obtidos 4 g (15,4 mmol) do produto desejado em forma de óleo (rendimento 20 - 40%)



F.M = C₁₂H₂₀O₆

M.M. = 260,28 g/mol

Rf = 0,8 (Hex/AcOEt 7:3) ; Revelador: 20% solução etanólica de H₂SO₄(conc)

Característica física = óleo amarelo escuro

As caracterizações já são descritas na literatura. As descrições dos RMN de ¹H e ¹³C são para confirmação.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 4,80 (1H, d, J_{4,3} = 3,72 Hz, H-4); 4,85 (1H, d, J_{1,1'} = 32,9 Hz, H-1); 4,32 (1H, m, H-1'); 4,27 (1H, m, H-5); 4,11

(1H, m, H-6); 3,88 (1H, m, H-6'); 3,59 (1H, d, H-3); 1,59 – 1,29 (4 × s, 4 × 3H, 2 × isopropilideno).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 112,0 (C-2); 80,8 (C-5); 79,8 (C-1); 73,3 (C-3); 71,5 (C-6); 29,9; 27,2; 25,8, 25,6 (4 × CH₃ isopropilideno).

Método B: Utilização de CrO₃ em Piridina como agente oxidante^{17,18}

Em um balão de 250mL, adicionou-se a uma solução de 1,9 mL de Piridina em 1,1 mL de Anidrido Acético, uma mistura de 1,5 g (15 mmol) de CrO₃ em 30 mL de diclorometano. A reação permaneceu em agitação constante a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, 1,5 g (5,7 mmol) do composto **1** foram adicionados. Após 24 horas de reação verificou-se por CCDS que todo material de partida havia sido consumido. Então, para a precipitação do excesso do oxidante, adicionou-se acetato de etila a 0 °C e, em seguida, a reação foi filtrada. A fase orgânica foi extraída com hexano e o produto **2** obtido na forma de cristais brancos (rendimento 67%).

F.M = C₁₂H₂₀O₆

M.M. = 260,28 g/mol

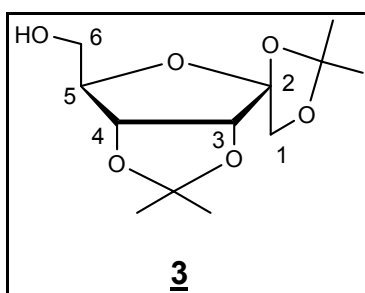
R_f = 0,8 (Hex/AcOEt 7:3) ; Revelador: 20% solução etanólica de H₂SO₄(conc)

Característica física = cristais pequenos e brancos

As caracterizações por **RMN** idem método **A**.

1.6.1.3 - Síntese do 1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 3¹⁶

Em um balão de 250 mL de fundo chato, 4 g (15,4 mmol) do composto 2 foram totalmente dissolvidos em uma mistura de 50 mL de Acetona e 8 mL de 2,2-dimetoxipropano contendo 0,2 mL de ácido perclórico 70%. A reação permaneceu sob agitação constante a temperatura ambiente por 72 horas. A solução tornou-se de coloração roxa e, verificou-se através de CCDS (Hex/AcOEt 7:3, Rf = 0,6), que todo o material de partida havia sido consumido. Em seguida, a reação foi neutralizada com $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{conc})}$ até atingir pH 7 e o solvente removida sob pressão reduzida. O óleo resultante foi lavado com uma mistura de Acetato de Etila e água e, então, a fase orgânica extraída. Posteriormente, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica, utilizando-se como gradiente hexano e acetato de etila, obtendo-se 2,5 g (9,60 mmol) do composto 3 (rendimento 65 %).



F.M = $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$

M.M. = 260,28 g/mol

Rf = 0,6 (Hex/AcOEt 7:3) ; Revelador: 20% solução etanólica de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{conc})}$

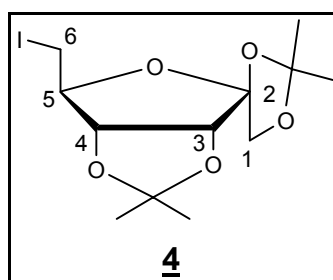
Característica física = óleo verde-amarelado claro

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 5,30 (1H, s, OH); 4,91 (1H, d, H-4); 4,65 (1H, d, $J_{3,4} = 5,91\text{Hz}$, H-3); 4,31 (2H, m, H-5 e H-1); 4,05 (1H, d, $J_{1,1'} = 9,72\text{ Hz}$, H-1'); 3,74 (1H, m, H-6); 3,66 (1H, m, H-6'); 1,51; 1,45; 1,41; 1,33 (4 \times s, 4 \times 3H, 2 \times isopropilideno).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 114,0; 113,0 (2 \times C isopropilideno); 112,0 (C-2); 87,0 (C-1); 86,1 (C-5); 81,9 (C-3); 70,1 (C-4); 64,2 (C-6); 26,7; 26,5; 26,4; 25,0 (4 \times CH_3 isopropilideno).

1.6.1.4 - Síntese do 6'-desoxi-6'-Iodo-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 4

Em um balão de 100 mL, foram dissolvidos 2,5 g (10,08 mmol) do composto 3 em 80 mL de Tolueno. Em seguida, 7,5 g (1,5 eq, 28,6 mmol) de Trifenilfosfina e 2,5g (36,7 mmol) de Imidazol foram adicionados à solução. A mistura permaneceu sob agitação e aquecimento a 100 °C durante 30 minutos. Posteriormente, 5 g (19,8 mmol) de Iodo_(s) foram adicionados. A reação permaneceu nestas condições por 2 horas e através de CCDS confirmou-se o consumo do material de partida. (Hex/AcOEt, 8:2, R_f = 0,7). Em seguida, o solvente foi totalmente evaporado a vácuo e o óleo resultante purificado em coluna cromatográfica *flash*. Assim, foram obtidos 3,3 g (8,91 mmol) do composto 4 (rendimento 97%).



F.M = C₁₂H₁₉O₅I

M.M. = 370,18 g/mol

R_f = 0,7 (Hex/AcOEt 8:2) ; Revelador: 20% solução etanólica de H₂SO₄(conc)

Característica física = óleo amarelo claro

Até a obtenção do carboidrato iodado, as caracterizações já são descritas na literatura¹⁶. Mas para confirmação, foram feitas RMN de ¹H e ¹³C e IV.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 4,83 (1H, d, J_{4,3} = 5,73 Hz, H-4); 4,65 (1H, d, H-3); 4,35 (1H, m, H-5); 4,29 (1H, d, J_{1,1'} = 9,7 Hz, H-1); 4,05 (1H, d,

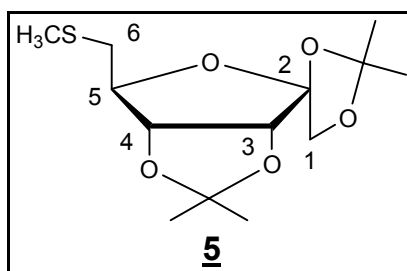
$J_{1,1} = 9,7$ Hz, H-1'); 3,28 (2H, m, H-6 e H-6'); 1,52; 1,45; 1,41; 1,34 (4 × s, 12H, 2 × isopropilideno).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 113,9; 113,1 (2 × C isopropilideno); 112,1 (C-2); 86,3 (C-5); 85,7 (C-3); 83,7 (C-4); 7,00 (C-6); 26,7; 26,7; 26,6; 25,3 (4 × CH_3 , 2 × isopropilideno).

IV (KBr, $\bar{\nu}$ (cm^{-1})): 2988 e 2945 (estiramento CH alifático), 1381 (deformação simétrica de CH_3), 1211 (deformação simétrica e assimétrica CH_2 fora do plano), 1074 (estiramento C-O-C), 558 (deformação angular da ligação C-I).

1.6.1.5 - Síntese do 6'-desoxi-6'-metiltio-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose 5

Em um balão de 100 mL de fundo redondo, 0,50 g (1,35 mmol) do composto 4 foram solubilizados em 20 mL de DMF anidro. Em seguida, 0,21 g (1,5 eq.; 3,01 mmol) do reagente Tiometóxido de Sódio ($\text{CH}_3\text{S}^-\text{Na}^+$) foram adicionados à solução. A mistura permaneceu sob agitação constante e aquecimento ($100\text{ }^\circ\text{C}$) durante 24 horas. A CCDS (Hex/AcOEt 9,5:0,5) mostrou uma diferença de R_f do material de partida ($R_f = 0,7$) em relação ao produto ($R_f = 0,6$). O solvente foi evaporado em placa de Petri com o auxílio de um secador em alta temperatura. Posteriormente, fez-se a extração do óleo resultante com diclorometano e água destilada. A fase orgânica foi removida, obtendo-se 0,35 g (1,20 mmol) do produto 5. (rendimento 89%)



F.M = $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{S}$

M.M. = 290,38 g/mol

$R_f = 0,6$ (Hex/AcOEt 9,5:0,5); Revelador: 20% solução etanólica de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{conc})}$

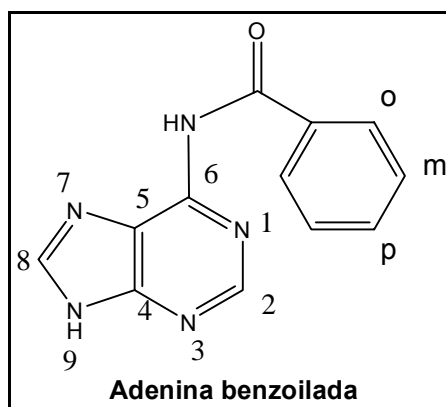
Característica física = óleo pouco viscoso amarelo escuro

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 4,78 (1H, d, $J_{4,3} = 5,94$ Hz, H-3); 4,63 (1H, d, H-4); 4,29 (1H, d, $J_{1,1'} = 9,7$ Hz, H-1'); 4,21 (1H, m, H-5); 4,02 (1H, d, $J_{1,1'} = 9,7$ Hz, H-1); 3,67 (2H, m, H-6' e H-6); 1,46; 1,45; 1,42; 1,38 (4 \times s, 4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 113,8 (C-2); 112,8; 11,8 (2 \times C isopropilideno); 85,5 (C-5); 84,2 (C-3); 83,9 (C-4); 70,0 (C-1); 37,6 (C-6); 15,0 ($\text{CH}_3\text{-S}$); 26,6; 26,6; 25,4; 25,2 (4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

1.6.1.6 - Síntese da 6-*N*-benzoil-adenina

Em um balão de 250 mL, solubilizou-se 6,0 g (44,41 mmol) de Adenina, em 25 mL de piridina anidra (previamente tratada com KOH). Em seguida, adicionou-se 15,4 mL (133,23 mmol) de Cloreto de Benzoila. A reação permaneceu sob agitação constante e refluxo por 2 horas e, após resfriar a reação, foram adicionados 15 mL de uma solução de Bicarbonato de Sódio saturada. A mistura de solventes foi evaporada e o resíduo recristalizado em etanol, fornecendo 6,37 g (26,65 mmol) do produto (rendimento de 60%).



F.M = C₁₂H₉N₅O

M.M = 239,23 g/mol

F.F (experimental) = 243,5 – 244,3 °C F.F (literatura)²³ = 240 – 240,5 °C

Característica física = cristal branco

R_f = 0,57 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) ; revelador: lâmpada U.V.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 8,8 (1H, s, H-8); 8,4 (1H, s, H-2); 7,7 (1H, t, H p-Bz); 7,6 (2H, t, H m-Bz, J_{m,o} = 7,7; J_{m,p} = 7,2).

I.V. (KBr), $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3371 (estiramento assimétrico de NH), 3257 (estiramento simétrico de NH), 3151 e 3064 (estiramento de C-H aromático), 1687 (estiramento simétrico de C=O), 1599, 1552, 1524 (estiramento C=C do anel aromático), 1267 (estiramento CN), 704 (deformação angular CH aromático fora do plano).

1.6.1.7 - Síntese do 6-*N*-benzoil-9-[3',4'-*O*-isopropilideno-6'-(metiltio)- β -D-psicofuranosil]-adenina **6b** e 6-*N*-benzoil-9-[3',4'-*O*-isopropilideno-6'-(metiltio)- α -D-psicofuranosil]-adenina **6a**

Em um balão de 100 mL foram adicionados 240 mg (1,0 mmol) de 6-*N*-Benzoil-Adenina, 2,0 mL de HMDS e 0,07 mL de TMS. A solução permaneceu sob agitação e em refluxo a 130 °C sob atmosfera de argônio, durante 48 horas, até que a total solubilização do sólido se efetivasse

A solução foi, em seguida, destilada sob pressão reduzida para a total retirada do HMDS.

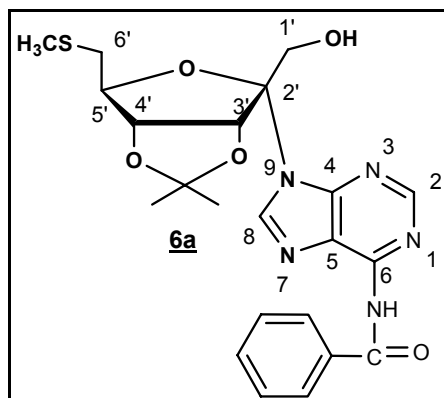
Após a retirada do solvente, 300 mg (0,72 mmol) do açúcar diluídos em acetonitrila (5 mL) foram adicionados à base sililada. Posteriormente, a reação foi resfriada em banho de gelo e TMSOTf (0,5 mL) foi adicionado sob atmosfera de argônio.

Após 48 horas sob agitação, a temperatura ambiente e sob agitação constante, verificou-se por CCDS (CH₂Cl₂/MeOH) a formação de dois produtos de menor R_f, quando comparado ao material de partida.

Assim, foi adicionada uma solução saturada de cloreto de amônio (3 mL) e a mistura permaneceu, sob agitação por 30 minutos. Posteriormente, a essa mistura foram adicionados diclorometano (200 mL) e uma solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução de bicarbonato de sódio e água destilada, seca com Sulfato de Sódio e, em seguida, evaporada até a secura.

O resíduo foi purificado por CCS e utilizou-se como eluente uma mistura de diclorometano e metanol, obtendo-se 250 mg de uma mistura de isômeros α e β . (60% de rendimento)

Foi feita a separação dos isômeros por CCS (CH₂Cl₂/MeOH), obtendo-se o isômero β em maior quantidade (75 mg) e o isômero α em menor quantidade (10 mg).



Isômero = alfa

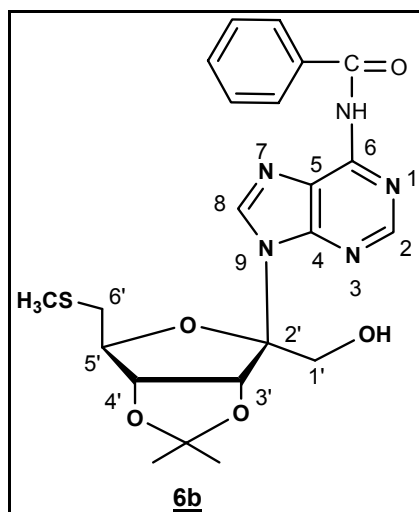
F.M = $C_{22}H_{25}N_5O_5S$

M.M = 471,53 g/mol

Característica física = óleo

Rf = 0,3 ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9,5:0,5) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz): 9,31 (1H, s, NH adenina); 8,74 (1H, s, H-8 adenina); 8,32 (1H, s, H-2 adenina); 8,03 (2H, m, $2H_{bzorto}$); 7,57 (3H, m, $2H_{bzmeta}$ e $1H_{bzpara}$); 6,01 (1H, d, $J_{3',4'} = 6,04$ Hz, H-3'); 4,86 (1H, m, H-4'); 4,55 (1H, m, H-5'); 4,10 - 4,26 (2H, dd, $J_{1',1''} = 65,2$ Hz, H-1' e H-1''); 2,46 - 2,65 (2H, 2m, H-6' e H-6''); 2,13 (3H, s, H_3C-S); 1,65; 1,46 (6H, 2s, 2 x CH_3 isopropilideno).



Isômero = beta

F.M = C₂₂H₂₅N₅O₅S

M.M = 471,53 g/mol

Característica física = óleo

R_f = 0,4 (CH₂Cl₂/MeOH 9,5:0,5) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄, lâmpada U.V.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 9,23 (1H, s, NH adenina); 8,74 (1H, s, H-8 adenina); 8,32 (1H, s, H-2 adenina); 8,02 (2H, d, J_{Ho-Hm} = 7,5 Hz, 2H_{bzorto}); 7,60 – 7,53 (3H, td, J_{Hp-Hm} = 6,0 Hz, 2H_{bzmeta} e 1H_{bzpara}); 6,00 (1H, d, J_{3',4'} = 5,8 Hz, H-3'); 4,86 (1H, m, H-4'); 4,54 (1H, m, H-5'); 4,23 (2H, dd, J_{1',1''} = 65,9 Hz, H-1' e H-1''); 2,65 - 2,47 (2H, dd, J_{6',6''} = 13,5 Hz, H-6' e H-6''); 2,13 (3H, s, H_{3C-S}); 1,65; 1,46 (6H, 2s, 2 x CH₃ isopropilideno);

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 164,6 (C=O); 152,5 (C-2); 151,2 (C-8); 149,4 (C-4); 142,5 (C-6); 133,6 (C-10); 132,7 (C-Bzp); 128,8 (2 x C-Bzo) 127,9 (2 x C-Bzm); 123,6 (C-5); 114,4 (Cq-isop); 99,8 (C-2'); 85,2 (C-5'); 84,4 (C-3'); 84,2 (C-4'); 64,8 (C-1'); 36,9 (C-6'); 26,2 e 24,8 (2 x CH₃ isopropilideno); 15,8 (H_{3C-S});

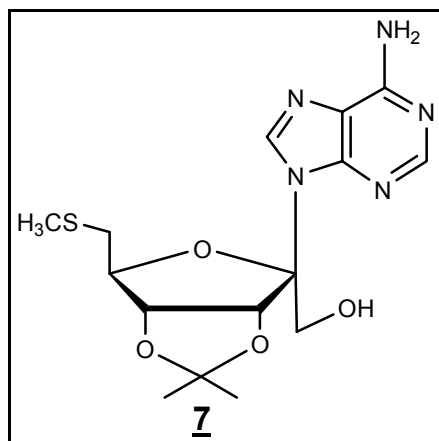
ESI-MS (TOF), m/z: um pico referente a: teórico $[M + Na]^+$ 494,2 m/z; experimental $[M + Na]^+$ 494,1 m/z.

1.6.1.8 - Síntese do 9-[3',4'-O-isopropilideno-6'-(metiltio)-β-D-psicofuranosil]-adenina 7

Em um balão de fundo redondo, foram solubilizados 0,10 g (0,212 mmol) do composto 6b, em 3 mL de metanol. Posteriormente, adicionou-se 1 mL de NH₄OH.

A solução permaneceu sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas e por CCDS (CH₂Cl₂/MeOH 75:25) foi verificado o término da reação.

A solução foi evaporada até a secura sob pressão reduzida à temperatura ambiente. Em seguida, o resíduo foi purificado em CCS, utilizando-se como gradiente diclorometano e metanol. Obteve-se, assim, 30,2 mg (0,0870 mmol) do composto 7 (38% rendimento).



F.M = C₁₅H₂₁N₅O₄S

M.M = 367,42 g/mol

Característica física = óleo

R_f = 0,3 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄, lâmpada U.V.

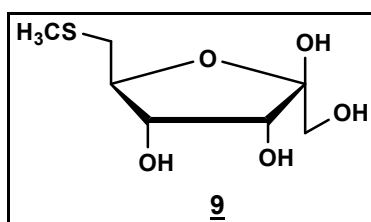
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 8,79 (1H, s, H-2 adenina); 8,36 (1H, s, H-8 adenina); 5,81 (1H, m, H-3'); 4,78 – 4,85 (1H, dd, J_{4',3'} = 2,8 Hz, J_{4',3'} = 6,1 Hz, H-4'); 4,76 (1H, m, H-5'); 4,40 (1H, d, J_{1'',1'} = 9,8, H-1''); 3,87 (1H, d, H-1'); 2,77 – 2,88 (2H, 2 x dd, J_{6',6''} = 5,2 Hz, H-6' e H-6''); 2,19 (3H, s, H₃C-S); 1,26 1,00 (6H, 2s, 2 x CH₃ isopropilideno).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): δ 153,5 (C-2); 129,3 (C-8); 127,7 (C-4); 120,1 (C-6); 114,6 (C-5); 100,2 (Cq-isop); 84,3 (C-5'); 83,9 (C-3'); 82,0 (C-4'); 67,2 (C-1'); 37,7 (C-6'); 25,4; 24,7 (2x CH_3 isop.); 16,8 ($\text{H}_3\text{C-S}$).

1.6.2 – Tentativa de obtenção de um análogo nucleosídico do MeSAdo – Estratégia 2

1.6.2.1 - Síntese do 6'-desoxi-(6'-metiltio)-D-psicofuranose 10

Em um balão de 100 mL foram transferidos 0,15 g (0,34 mmol) do composto 5 e, posteriormente, solubilizados em 10 mL de uma mistura de água e THF (8:2). Após a homogeneização parcial, foram adicionados 2 mL de ácido trifluoracético e 0,3 mL de BF₃.OMe₂. A mistura permaneceu em agitação constante a temperatura ambiente por 72 horas e através de CCDS (2:8 MeOH: CH₂Cl₂) observou-se a formação de um produto mais polar. O meio foi neutralizado com NH₄OH até atingir pH neutro e o solvente evaporado em rotaevaporador, obtendo-se 0,07 g (0,333 mmol) do composto polihidroxilado 9 (64% rendimento, aparentemente).



F.M = C₇H₁₄O₅S

M.M = 210,25 g/mol

Característica física = óleo

R_f = 0,5 (CH₂Cl₂/MeOH 8:2)) Revel. = solução 20% etanólica de H₂SO₄.

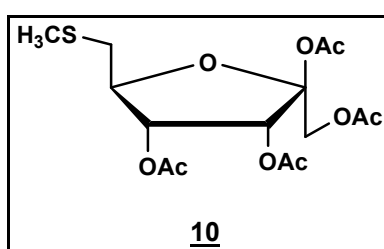
RMN ¹H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 4,04 (1H, s, H-3'); 3,92 (1H, s, H-4'); 3,48 (2H, m, H-1'' e H-5'); 3,31 (1H, m, H-1'); 2,71 (2H, m, H-6' e H-6''); 2,15 (3H, s, S-CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 83,7 (C-2'); 75,6 (C-5'); 74,7 (C-4'); 71,5 (C-3'); 64,3 (C-1'); 37,4 (C-6'); 16,3 (S-CH₃).

ESI-MS (TOF), m/z: valor teórico $[M - H]^+$ 209,06; valor experimental $[M - H]^+$ 208,9.

1.6.2.2 – Síntese do 6'-desoxi-(6'-metiltio)-1',2',3',4'-tetra-O-acetil-β-D-psicofuranose 10

0,07 g (0,33 mmol) do produto 9 foram solubilizados em 3 mL de piridina e, posteriormente, adicionou-se 1 mL de anidrido acético. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas verificou-se por CCDS (8:2 Hex/AcOEt) a formação do produto com maior R_f (mais apolar), evidenciando a formação do composto acetilado. Em seguida, os solventes foram removidos sob pressão reduzida, obtendo-se 0,05 g (0,132 mmol) do composto 10 (rendimento 40%).



F.M = C₁₅H₂₂O₉S

M.M = 378,39 g/mol

Característica física = óleo

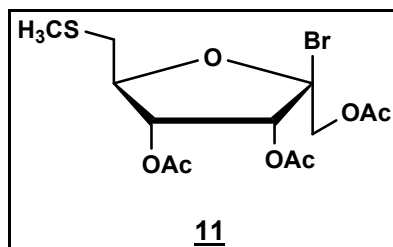
R_f = 0,4 (9:1 Hex/AcOEt) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄.

ESI-MS (TOF), m/z: um pico referente a: teórico [M + Na]⁺ 401,08
experimental: [M + Na]⁺ 401,1.

1.6.2.3 – Síntese do 6'-desoxi-(6'-metiltio)-1'-Bromo-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-psicofuranose 11

0,05 g (0,132 mmol) do composto 11 foram solubilizados em 5 mL de diclorometano e posteriormente foram adicionados 0,20 mL de solução de HBr em 30% AcOH. A reação permaneceu sob agitação constante a temperatura ambiente por 48 horas. Através de CCDS verificou-se a formação de um produto mais polar cujo composto não foi caracterizado. Posteriormente, o solvente foi removido em rotaevaporador até a secura e mantido em atmosfera inerte de argônio até ser usado rapidamente na próxima etapa.

Devido a sua instabilidade, este não foi isolado e, foi conseqüentemente, utilizado diretamente na etapa posterior.



F.M = C₁₃H₁₉BrO₇S

M.M = 399,25 g/mol

R_f = 0,3 (9:1 Hex/AcOEt) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄.

1.6.2.4 – Síntese do 6-*N*-benzoil-9-[1',3',4'-tri-*O*-acetil-6'-(metiltio)-β-*D*-psicofuranosil]-adenina **12**

Em um balão de 50 mL foram adicionados 120 mg (0,5 mmol) de 6-*N*-Benzoil-Adenina, 1,0 mL de HMDS e 0,05 mL de TMS. A solução permaneceu sob agitação e em refluxo a 130 °C sob atmosfera de argônio durante 48 horas, até que a total solubilização do sólido se efetivasse

A solução foi, em seguida, destilada sob pressão reduzida para a total retirada do HMDS.

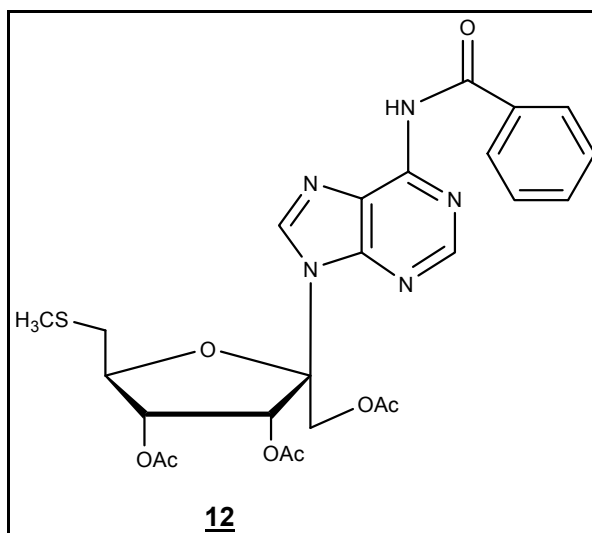
Após a remoção dos solventes, 0,05 g (0,12 mmol) do açúcar diluídos em acetonitrila (3 mL) foram adicionados à base siliada. Posteriormente, a reação foi resfriada em banho de gelo e 0,5 mL de TMSOTf foram adicionados, sob atmosfera de argônio.

Após 48 horas sob agitação, a temperatura ambiente e sob agitação constante, verificou-se por CCDS (CH₂Cl₂/MeOH) a formação de um produto mais polar.

Posteriormente, foi adicionada uma solução saturada de cloreto de amônio (1mL) e a mistura permaneceu sob agitação por 30 minutos. A essa mistura foram adicionados diclorometano (50 mL) e uma solução saturada de bicarbonato de sódio (7 mL).

A fase orgânica extraída, seca com sulfato de sódio e, em seguida, evaporada até a secura.

O resíduo foi purificado por CCS e utilizou-se como eluente a mistura de solventes diclorometano e metanol, obtendo-se 10 mg (0,017 mmol) do composto **13** (rendimento 11%).



F.M = $C_{25}H_{27}N_5O_8S$

M.M = 557,58 g/mol

Característica física = óleo

Rf = 0,4 ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9,5:0,5) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

ESI-MS (TOF), m/z: valores teóricos $[M + Na]^+$ 579,14 m/z, $[M-H]^-$ 556,16 m/z ; valores experimentais: $[M + Na]^+$ 580,1 m/z, $[M-H]^-$ 556,1 m/z

Referências Bibliográficas

- 1 – www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria (acessada em 24/06/2006)
- 2 – Cravo, P.; Rosário, V. E., *Bio-medicina e Saúde Pública*; Boletim de Biotecnologia.
- 3 – Ferraz, R. J. V.; *Quimioterapia da malária: síntese de pró-fármacos da primaquina, Faculdade de ciências, Universidade do Porto, 2002.* (Seminário)
- 4 – Wiesnar, J.; Ortmann, R.; Jomma, H.; Schlitzer, M.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 5274.
- 5 – Vale, N.; Moreira, R.; Gomes, P.; *Quimioterapia da Malária, um século no desenvolvimento de Antimaláricos*, **out/dez 2005**, artigo 57.
- 6 – Gao, P. T.; Vries, P. J.; *Clin. Pharmacokinet*, **2001**, *40*, 343.
- 7 - Fidock, D. A.; Rosenthal, P. J.; Croft, S. L.; Brun, R.; Nwaka, S.; *Nature Rev.*, **2004**, *3*, 509-520.
- 8 - Lee, J. E.; Settembre, E. C.; Cornell, K. A.; Riscoe, M. K.; Sufrin, J. R.; Ealick, S. E.; Howell, P.L., *Biochem.*, **2004**, *43*, 5159-5169 e referências citadas.
- 9 - Wilaratana, P.; Krudsood, S.; Treeprasertsuk, S.; Chalermurut, K. and Looareesuwan, S.; *Archives of Medical Research*, **2002**, *33*, 416.
- 10 – Pankaski, M. C.; *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 1117-1119.
- 11 – Wnuk, S. F.; *Mini Rev. in Medicinal Chem.*, **2001**, *1*, 307-316.
- 12 - Wnuk, S. F.; *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 2096-2102.

- 13 – Cool, E. T.; *Chem. Rev.*; **1997**, 97, 1473 – 1488.
- 14 – Soares, M. C.; de Souza, M. C. B. V.; Ferreira, V. F.; *Ver. Quim. Nova*, **2001**, 24, 206-219.
- 15 - Christensen, S. M.; Hansen, H. F.; Kock, T.; *Organic Process Research and Development*, **2004**, 777-780.
- 16 - Prisbe, E. J.; Smejkal, J.; Verheyden, J. P. H.; Moffat, J. G., *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 1836-1846.
- 17 - Bio, M. M.; Xu, F.; Waters, M.; Williams, J. M.; Savary, K. A.; Cowden, C. J.; Yang, C.; Buck, E.; Song, Z. J.; Tschaen, D. M.; Volante, R. P.; Reamer, R. A.; Grabowski, E. J. J.; *J. Org. Chem*, **2004**, 69, 6257 – 6266.
- 18 – Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M.; *Tetrahedron*, **1984**, 40, 125.
- 19 - Bullock, M. W.; *J. Org. Chem.*, **1957**, 22, 568.
- 20 - Pradeepkumar, P. I.; Zamaratski, E.; Foldese, A.; Chattopadhyaya, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2001**, 2, 402-408.
- 21 – Youssefyeh, R., D.; Verheyden, J. P. H. and Moffat, J. G.; *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 1301.
- 22 - Rapp, M.; Haubrich, T. A.; Perrault, J.; Mackey, Z. B.; McKerrow, J. H.; Chiang, P. K.; Wnuk, S. F.; *J. Med. Chem*, **2006**, 49, 2096 – 2102.
- 23 - Hyde, J. E.; *Microbes and Infection*, **2002**, 4, 165 – 174.
- 24 - Balint, G. A. *Pharmacology e Therapeutics*, **2001**, 90.

25 - Trape, J-F.; Pison, G.; Spiegel, A.; Enel, C. and Rogier, C.; TRENDS in Parasitology, **2002**, 18, no 5, may.

26 – Wilds, C. J and Damha, M. J; *Nucleic Acids Research*, **2000**, 28, Nº 18, 3625-3635.

Capítulo 2

Resumo do Capítulo 2

Este capítulo descreve as sínteses de análogos da **5-metiltioribose**, possíveis inibidores da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**.

Foi utilizado como precursor para as sínteses, o composto halogenado **4**. Este último foi submetido a reações de substituição nucleofílica com a 6-Mercaptopurina, 4-Mercaptopiridina, 2-Mercaptopirimidina, 2-Mercaptobenzotiazol e 2-Mercaptobenzimidazol. Obteve-se com este trabalho, 10 compostos inéditos (**15 – 19** e **15a – 19a**) que estão sendo submetidos a ensaios biológicos antiparasitários, antivirais e anticancerígenos.

2.1 – Introdução

2.1.1 – Leishmaniose ou Leishmaníase ou Calazar

As leishmanioses constituem um complexo de enfermidades que atingem o homem, causadas por diferentes espécies morfologicamente semelhantes, sendo diferenciadas apenas por métodos bioquímicos, imunológicos ou mesmo patológicos¹.

A doença pode se manifestar no homem de várias formas, dependendo da espécie causadora da doença. As formas mais comuns são: a leishmania cutânea (ataca a pele), leishmania muco cutânea (ataca as mucosas e a pele) e leishmania visceral (ataca os órgãos internos). Estas variantes da doença estão presentes em muitos países, como no Afeganistão, Arábia, Argélia, Iran, Iraque e inclusive no Brasil¹.

A forma muco cutânea é a mais comum na América Latina¹. Admite-se que a leishmaniose tegumentar seja uma doença do continente Americano. Os ceramistas pré-colombianos, do Peru e do Equador, já reproduziam em suas peças de cerâmica as figuras humanas com numerosos estados patológicos^{2,3}.



Figura 1: foto de uma peça de cerâmica com aspecto desfigurado

(fonte: site Fiocruz)

Assim, não há dúvida que esta doença provocava o sofrimento de populações desde a época pré-colombiana. A leishmaniose cutânea atinge

populações indígenas até os nossos dias, e na Amazônia brasileira o assunto tem sido revisto constantemente³.



Figura 2: áreas em destaque com maior número de casos para Leishmania Visceral (fonte: site Anvisa)



Figura 3: áreas em destaque com maior número de casos para Leishmania Cutânea (fonte: site Anvisa)

2.1.2 – Modos de Transmissão

O parasita do gênero *Leishmania sp* é transmitido ao homem através da picada do mosquito fêmea do gênero *Lutzomyia*¹. Entretanto, a descoberta dos agentes etiológicos das leishmanioses só ocorreu no final do século XIX, quando Cunningham (1885), na Índia, descreveu formas amastigotas em casos de calazar. Estas formas foram estudadas por Leishman, em 1903, que reconheceu a semelhança deste protozoário com as formas arredondadas do *Trypanosoma*^{1,3}.

No mesmo ano, Donovan descreveu-os na moléstia chamada Dum-Dum ou calazar. Laveram e Mesnil, examinando alguns preparados de Donovan, chamou-os de *Pinoplasma donovani*. Ross, em 1903, demonstrou que os organismos evidenciados na preparação de Donovan não eram esporozoários como este havia pensado e lhes estabeleceu um novo gênero, o gênero *Leishmania*. Assim, o nome correto do agente etiológico do calazar ficou sendo *Leishmania donovani*^{1,2}.

Um organismo semelhante foi descrito por Wright, em 1903, em uma criança com botão do Oriente na Síria, sendo proposto o nome de *Helcosoma tropicum* para este parasita. Mais tarde ele foi colocado no gênero *Leishmania*: *Leishmania tropical*^{1,2}.

No continente americano, várias doenças que criavam lesões, freqüentes em determinadas regiões, eram chamadas de úlcera de Bauru, ferida brava, úlcera de chichlero, etc. A correlação destas lesões com um protozoário do gênero *Leishmania* foi estabelecido por Gaspar Vianna, em 1909, no Instituto Oswaldo Cruz, recebendo o nome de *Leishmania braziliensis*^{1,2,3}.

A *Leishmania* é transmitida ao homem e às demais espécies de hospedeiros vertebrados por pequenos insetos, de cor amarelada: os flebotomíneos. Estes pertencem à ordem *Diptera*, que agrupa, entre outros insetos, os mosquitos e as moscas. A transmissão acontece quando uma fêmea infectada de flebotomíneo passa o protozoário a uma vítima saudável, enquanto se alimenta de seu sangue.^{2,3,4}



Figura 4: foto do inseto vetor, mosquito-palha, do gênero *Lutzomyia*.

(fonte: site Fiocruz)

Tais vítimas, além do homem, são vários mamíferos silvestres (como a preguiça, o gambá e alguns roedores, dentre outros) e domésticos (cão, cavalo etc.). Os indivíduos infectados são conhecidos no meio científico como hospedeiros. Entre eles, alguns têm um papel preponderante na manutenção do parasito na natureza e são então chamados de reservatórios. No contexto epidemiológico, os reservatórios representam a principal fonte de infecção dos flebotomíneos que posteriormente transmitirão a doença ao homem. O cão doméstico é considerado o reservatório epidemiologicamente mais importante para a leishmaniose visceral americana.^{2,3,4}

Não há vacina contra as leishmanioses, assim como ainda não há para quaisquer doenças parasitárias humanas. Portanto, as medidas mais utilizadas para o combate da enfermidade se baseiam no controle de vetores e dos reservatórios.^{2,4}

2.1.3 – Principais fármacos utilizados no combate a Leishmaniose

Em média, existem aproximadamente 25 compostos com ação antileishmanial, mas apenas poucas são classificadas como fármacos antileishmaniais utilizados pelo homem¹.

A primeira droga eficaz com ação antileishmaniose, ureaestibamina, foi descoberta em 1912. Mais tarde, em 1922, Brahmchari demonstrou sua ação contra a espécie *Leishmania dodovani*. Tal descoberta salvou milhares de populações pobres indianas, e assim, o professor Brahmchari recebeu o Prêmio Nobel em 1929^{4,5}.

Mais tarde, a descoberta de compostos pentavalentes antimoniais [Sb(v)] apresentaram resistência de ação e atualmente esses compostos são pouco ativos nas formas de leishmania na Índia. Os compostos orgânicos de antimônio mais utilizados são do tipo antimônio gluconato de sódio (sintetizado por Albert-David)^{4,5}.

2.1.3.1 – Pentamidina

Para superar o problema da resistência aos compostos antimoniais, na Índia, foram sintetizados derivados de pentamidina, como o Isetionato de Pentamidina para o tratamento de leishmania visceral. Primeiramente, este composto era utilizado para o tratamento de pneumonia.

O mecanismo exato de ação desse fármaco ainda é desconhecido, mas alguns trabalhos têm hipóteses que compostos derivados de poliaminas agem no DNA e, conseqüentemente, inibindo sua duplicação^{1,4,5}.

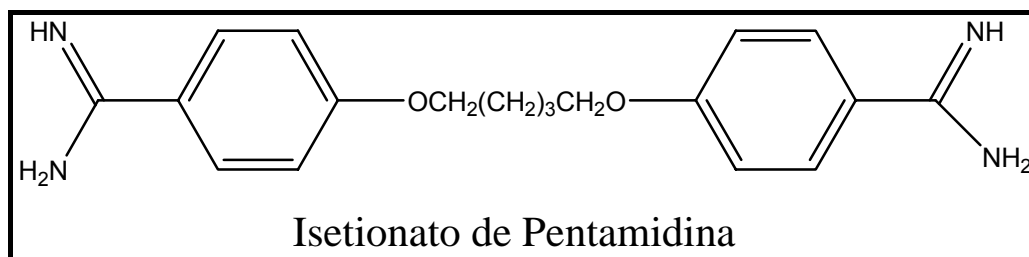


Figura 5: estrutura química do composto Isetionato de Pentamidina.

2.1.3.2 – Anfotericina B

A Anfotericina B possui uma cadeia com várias insaturações alternadas e consiste em um agente antifúngico e antibiótico.

A Anfotericina B liga-se às paredes das células, preferencialmente no ergosterol, que forma a maioria das células da membrana de fungos e do parasito *Leishmania*, não ocorrendo com a membrana celular dos mamíferos. Assim, o composto é um potente inibidor seletivo da síntese da membrana celular do parasito, o que acarreta a sua morte. Porém, pode ocorrer algum efeito toxicológico devido a ligação do composto com a parede celular de células como o colesterol^{1,4,5}.

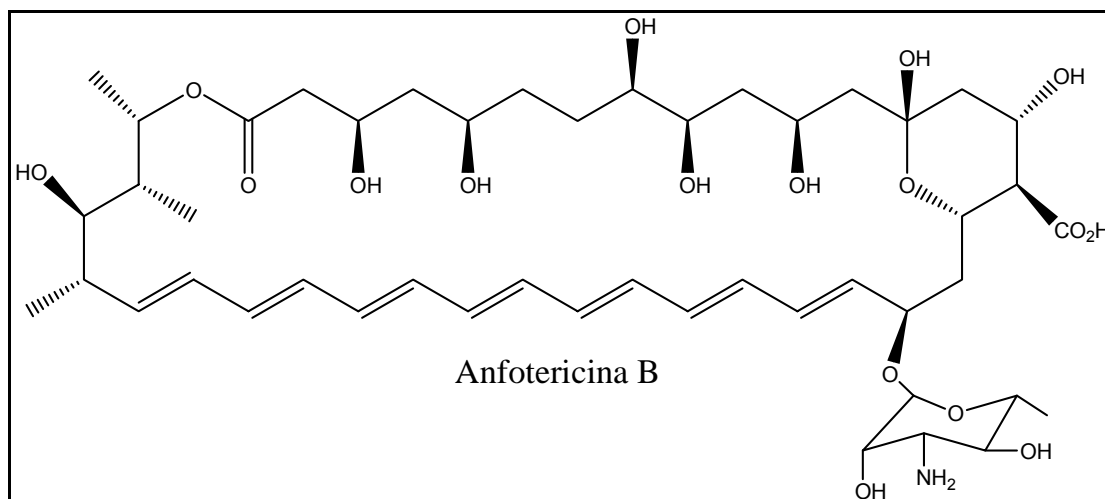


Figura 6: estrutura química do composto Anfotericina B.

2.1.3.3 – Purinas 6-substituídas

A inibição de protozoários parasitas através da síntese de derivados de purinas tem se mostrado como uma estratégia terapêutica racional para o tratamento e prevenção de doenças parasitárias^{2,4}.

Os antimetabólitos de purinas e pirimidinas têm sido altamente ativos em muitas infecções virais e mostram ser ótima alternativa no combate infecções de doenças parasitárias.

A seletividade e eficácia de antimetabólitos de purinas são ativos na superfície da membrana celular e na enzima do metabolismo das purinas^{2,6}.

Alopurinol é um análogo de base purínica e quimicamente usado para o tratamento de várias manifestações da Leishmania.

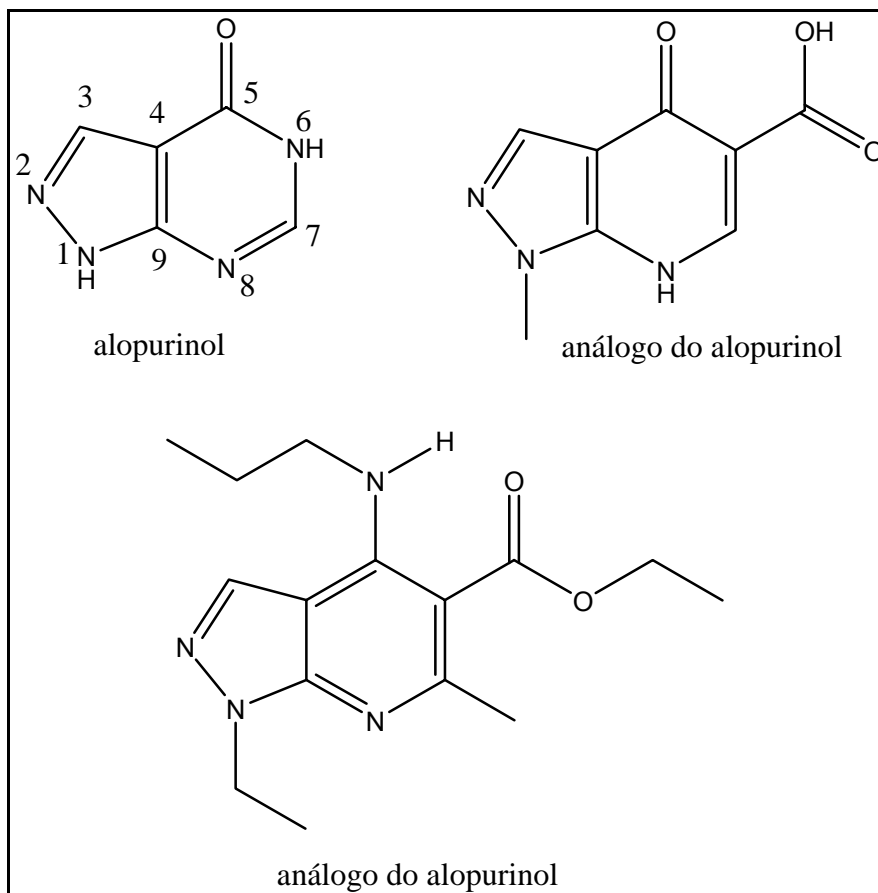


Figura 7: estrutura química do alopurinol e dois análogos^{2,6}

2.2 – Justificativas

A primeira justificativa se relaciona com a provável ação inibitória das moléculas almeçadas, que está no fato de que derivados substituídos da psicofuranose são análogos da **5-metiltioribose**. Esta, juntamente com Adenina, é produzida após a ação da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**, que cliva a ligação entre a ribose e a adenina do nucleosídeo **MeSAdo**^{7,8}.

Assim, as moléculas sintetizadas no presente capítulo (análogas da 5-metiltioribose) podem inibir a ação da enzima MeSAdo/AdoHcy nucleosidase num processo do tipo *feedback*, ou seja, aumentando a concentração do reagente, ou seja, ocorre um deslocamento do equilíbrio da reação aumentando a concentrações dos reagentes. (figura 9)

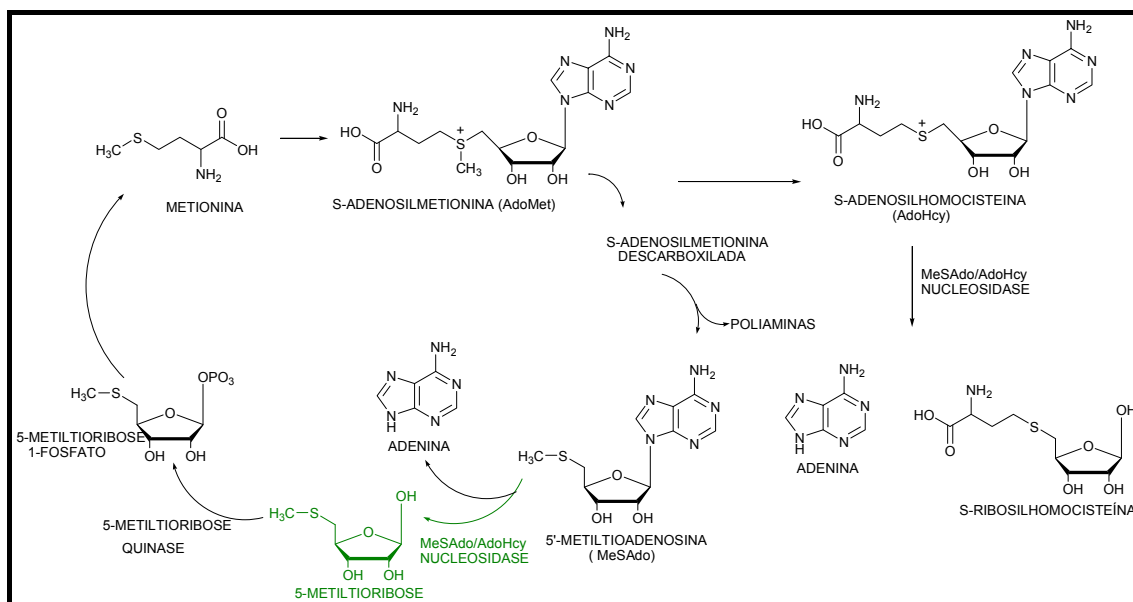


Figura 9: esquema do ciclo metabólico parasitário, destacando-se a ação da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase** para formação da **5-metiltioribose**.

Uma outra justificativa está nos resultados obtidos anteriormente por nosso grupo de pesquisa, que consistiu na obtenção de moléculas derivadas de bases purínicas e pirimidínicas condensadas a carboidratos (Figura 8), e que apresentaram resultados contra espécies de *Leishmania sp*⁴, e isto nos levou a sintetizar novos derivados da psicofuranose substituída sobre a posição 6.

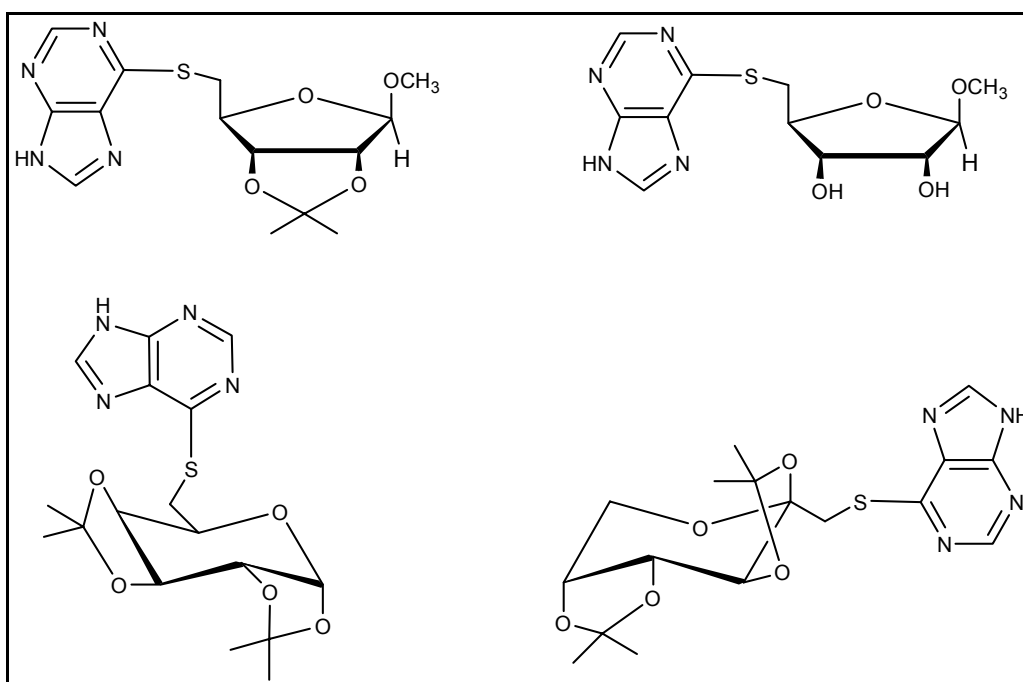


Figura 8: exemplos de moléculas derivadas de purinas acopladas a carboidratos⁴

2.3 – Objetivos

Objetivou-se sintetizar moléculas derivadas de bases purínicas (6-mercaptopurina), pirimidínicas (4-mercaptopiridina e 2-mercaptopirimidina) e derivadas de heterociclos⁹⁻¹² (2-mercaptobenzimidazol e 2-mercaptobenzotiazol)¹²⁻²⁰.

Todas foram condensadas sobre a posição 6' da psicofuranose em seguida estas foram submetidas a reação de desproteção dos grupos protetores. Estas moléculas representam análogos da 5-metilioribose²⁰⁻³⁰.

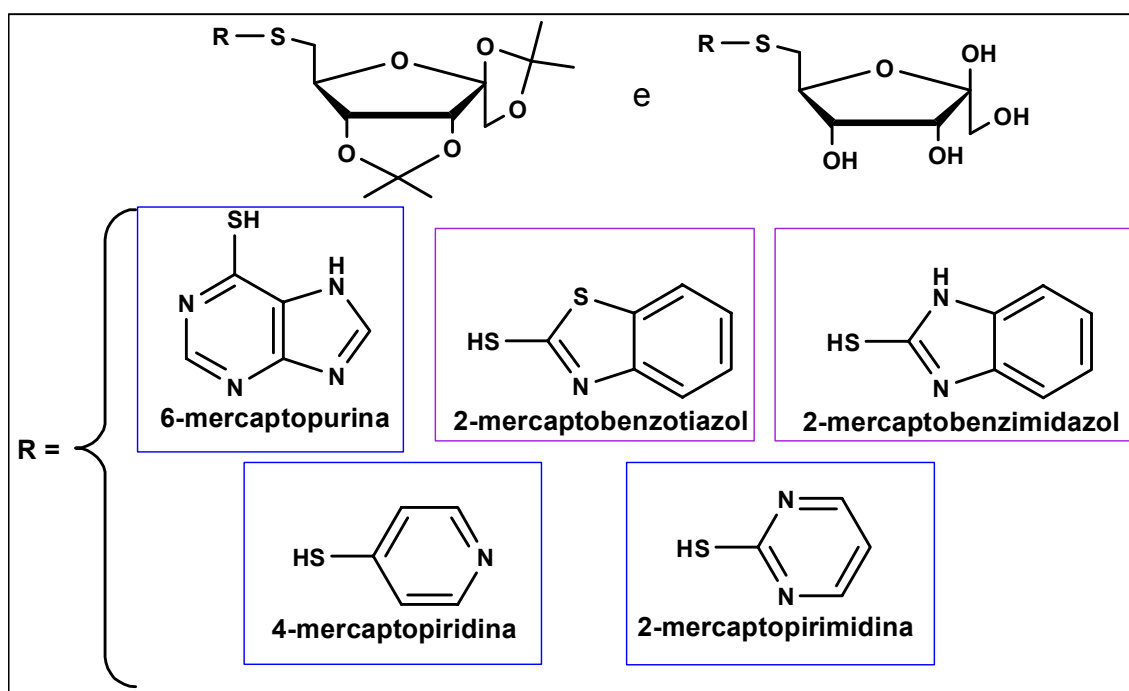


Figura 10: moléculas alvo, protegidas e desprotegidas, com respectivos grupos R

2.4 – Resultados e Discussões

Obtenção dos derivados de heterociclos condensados à Psicofuranose – análogos da 5-metilioribose

Primeiramente foi proposta uma retróssíntese para obtenção dos produtos desejados. A partir do carboidrato iodado **4**, foram sintetizados derivados de heterociclos condensados na posição 6' do carboidrato.

Após a reação de desprotonação dos heterociclos, na presença de NaH em DMF, o carboidrato contendo um grupo de saída em C-6', pode sofrer um reação tipo S_N2 pelo sulfeto para formar os compostos de heterociclos acoplados ao carboidrato. Posteriormente, as hidrólises ácidas dos grupos isopropilidenos.

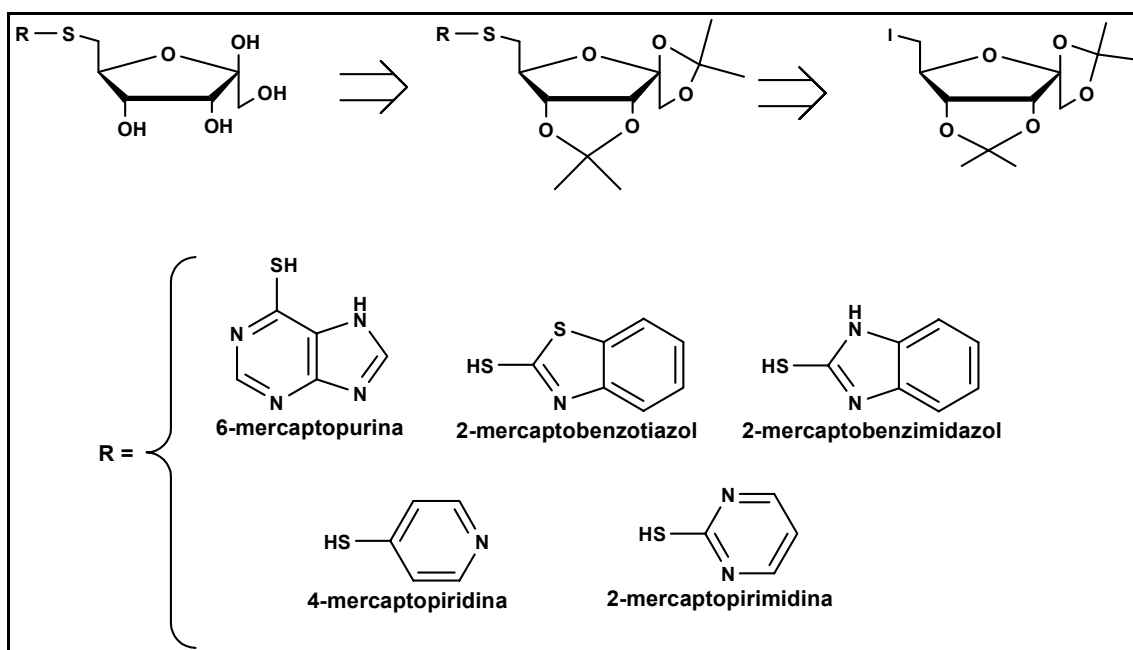


Figura 11: esquema retróssintético para obtenção dos derivados de heterociclos condensados ao carboidrato.

O procedimento geral para as reações de obtenção dos tioderivados foi realizado da seguinte forma: após a formação do sal em presença de NaH para a funcionalização do átomo de enxofre, em DMF, o carboidrato halogenado **4** foi adicionado à solução e esta levada ao aquecimento. A temperatura de aquecimento para cada reação variou em torno de 60 a 100 °C. O tempo médio para a formação dos produtos foi de 72 horas, com rendimentos em torno de 70%.

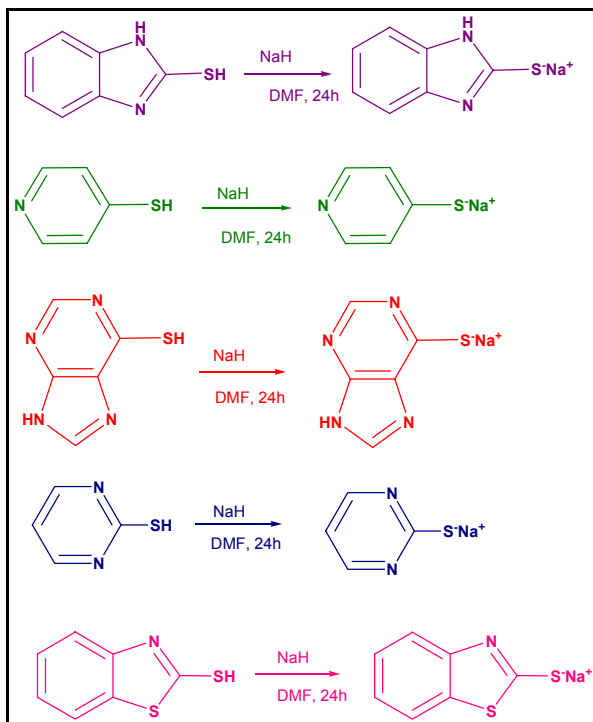


Figura 12: esquema de reações para obtenção dos sais.

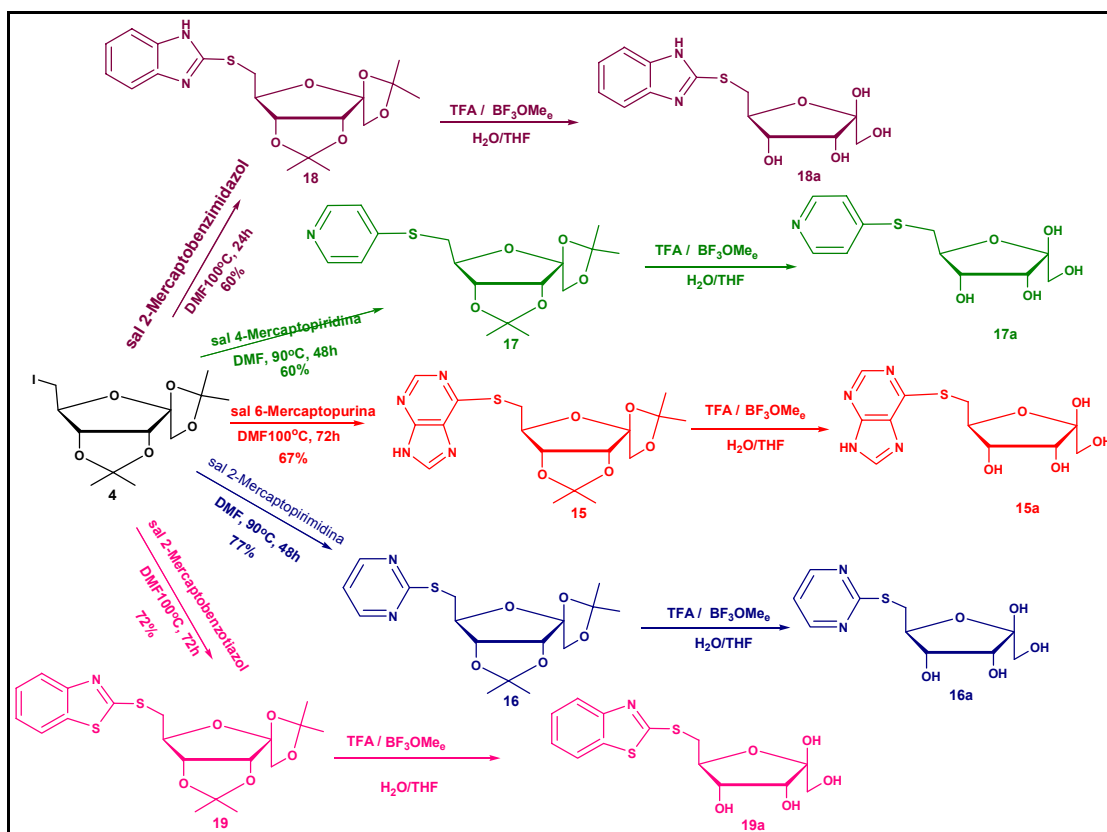


Figura 13: esquema geral das reações dos acoplamentos das bases nitrogenadas e dos heterociclos sobre a posição C-6' do açúcar.

Os produtos **15** a **19** foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila como eluentes e, posteriormente, caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , Espectrometria de Massas e por Espectroscopia Vibracional no Infravermelho.

Após a obtenção e caracterização dos compostos protegidos **15** a **19**, estes foram submetidos à hidrólise ácida, com TFA, água e BF_3OME_2 , para hidrólise dos grupos isopropilidenos, com o objetivo de se obter compostos mais polares e, conseqüentemente, hidrossolúveis.

Os compostos hidrolisados foram submetidos a uma neutralização do meio ácido seguida da evaporação dos solventes. Posteriormente, estes foram purificados em coluna cromatográfica de sílica e, para todos os casos, utilizou-se um gradiente de eluição bastante polar (9:1 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) devido a alta polaridade dos produtos **15a** a **19a**.

Os óleos resultantes foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , onde foi possível verificar a presença dos sinais tanto do açúcar quanto dos tiorreagentes acoplados e, concomitantemente, à ausência dos sinais referentes aos grupos isopropilidenos. Adicionalmente, realizou-se a caracterização por espectrometria de massas (ES ou HRMS), o que confirmou a presença dos compostos.

2.4.1 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose 15

Após a formação do sal de sódio da 6-mercaptopurina, o carboidrato 4 foi adicionado à mistura reacional e esta levada ao aquecimento (100 °C), durante 72 horas. Após este período, foi observado o término da reação. Esta foi purificada em coluna cromatográfica e o composto caracterizado por RMN, infravermelho e espectrometria de massas (rendimento 67%).

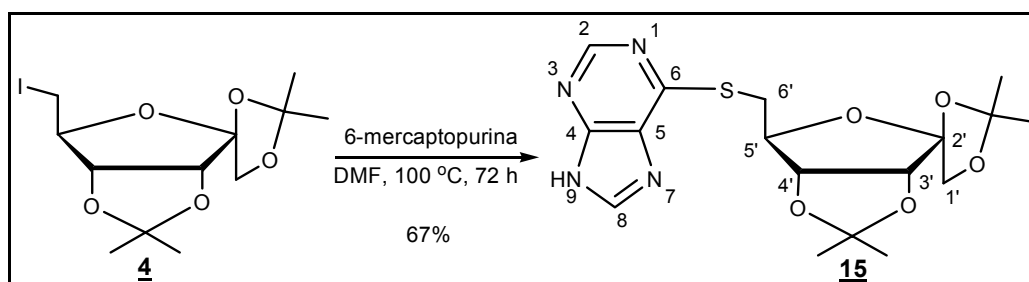


Figura 14: esquema de reação para obtenção do composto 15

No espectro de RMN de ^1H , além da presença dos sinais característicos do carboidrato, observa-se, também, a presença de dois simpletos em δ 8,21 e 8,74 ppm, que podem ser atribuídos aos prótons H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente.

Na região entre δ 7,8 e 7,4 ppm nota-se a presença de sinais referentes a contaminação do produto por óxido de trifenilfosfina, que é um subproduto decorrente da reação de iodação e tem importância relevante.

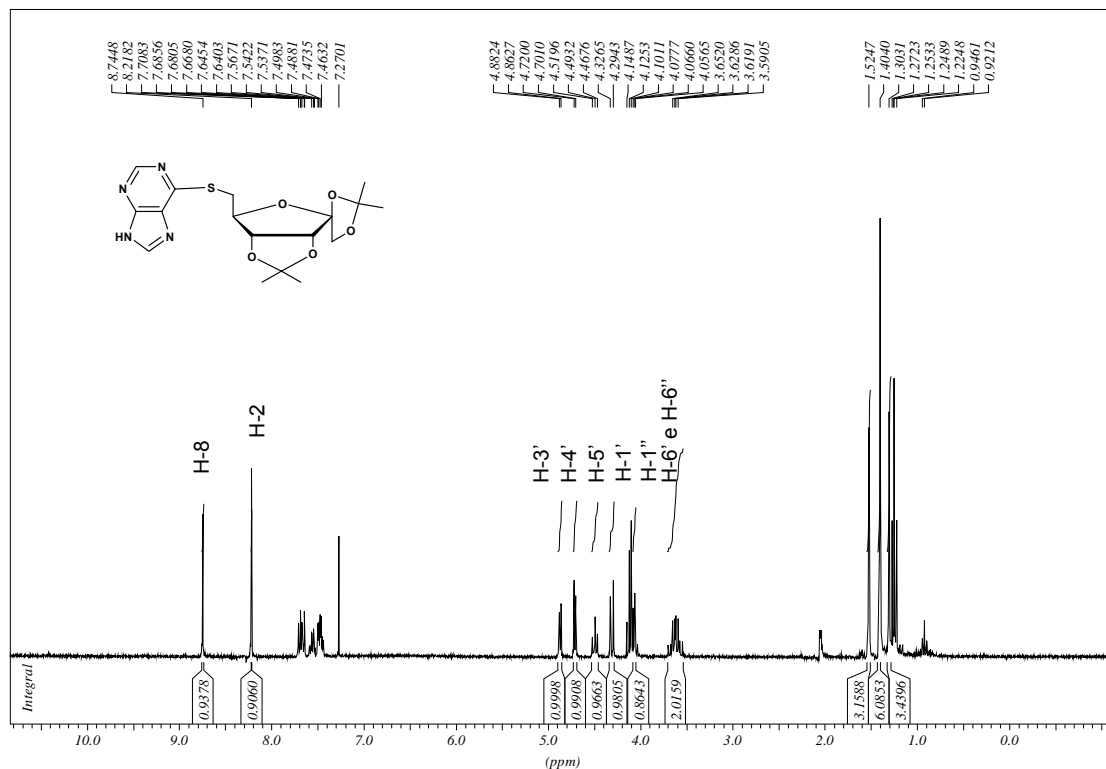


Figura 15: espectro de RMN de ^1H do carboidrato acoplado a 6-mercaptopurina 15

No espectro de RMN de ^{13}C observou-se a presença de cinco sinais: em δ 159,5, 151,9, 149,6, 141,8 e 114,0 ppm, referentes aos cinco carbonos da 6-mercaptopurina, C-2, C-4, C-6, C-5 e C-8, respectivamente, bem como todos os outros sinais referentes aos carbonos do carboidrato (C-1' a C-6' e isopropilideno).

Assim como no espectro de RMN de ^1H , notou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos do óxido de trifenilfosfina, entre δ 128,8 e 132,4 ppm, fato que não interfere na caracterização do composto.

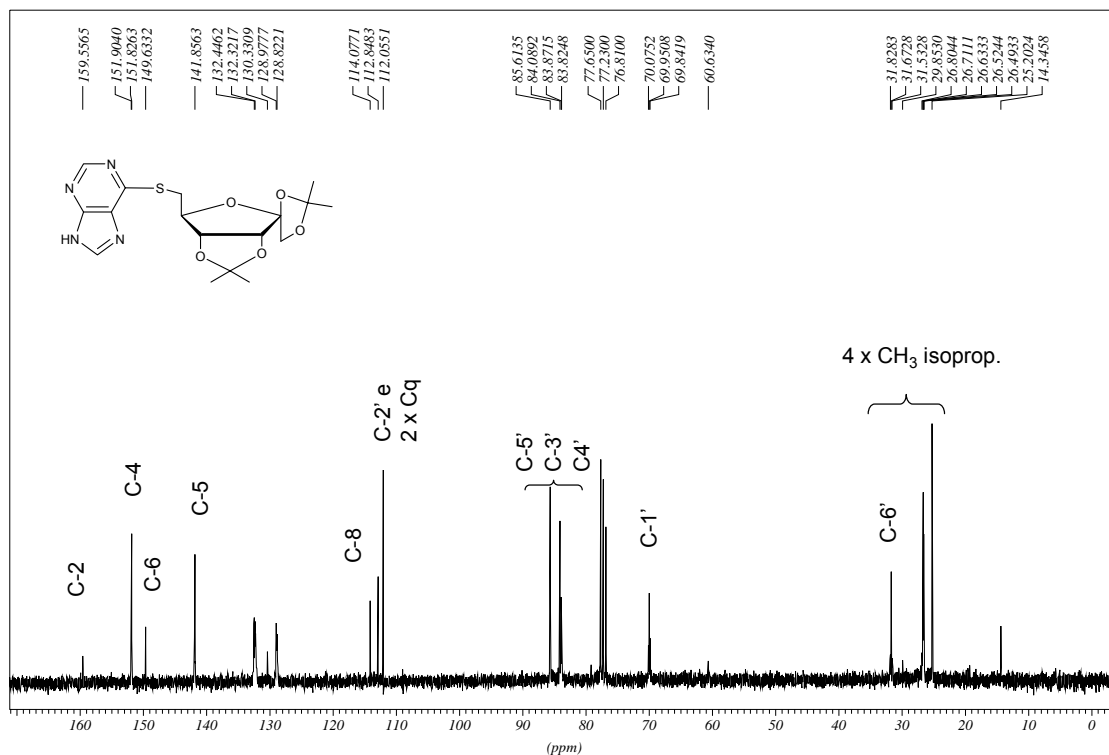


Figura 16: espectro de RMN de ^{13}C do composto **15**

No espectro no IV do composto **15**, observaram-se a presença das bandas em 3105 (estiramento CH aromático), 2989 e 2812 (estiramento de C-H alifático), 1558 a 1383 (estiramento C=C do anel aromático) e 1213 (estiramento CN).

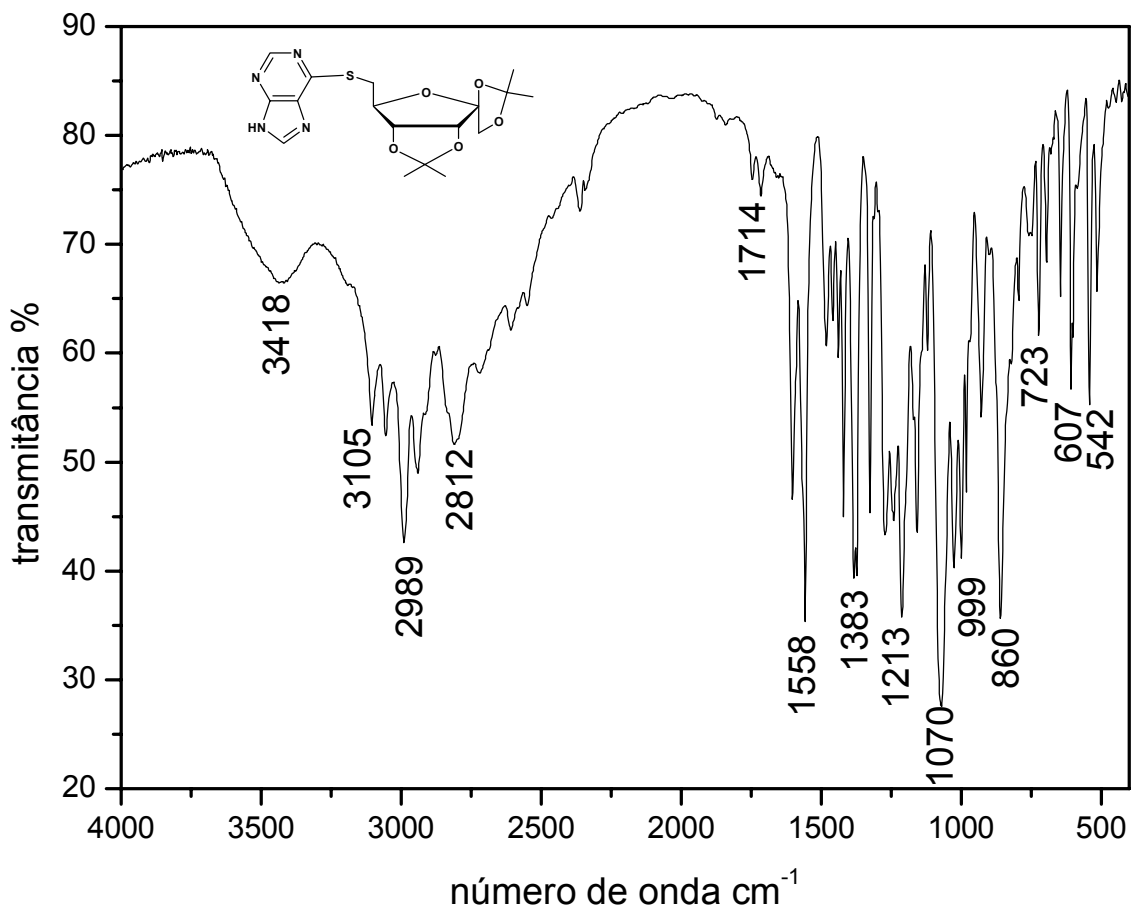


Figura 17: espectro no IV do composto **15**

Além das caracterizações citadas anteriormente, fez-se a determinação de espectrometria de massas, que mostrou picos em $[M + Na]^+$ igual a 417,1215 m/z que comparado ao valor teórico $[M + Na]^+$ igual a 417,1209 m/z confirma o peso molecular do composto **15**.

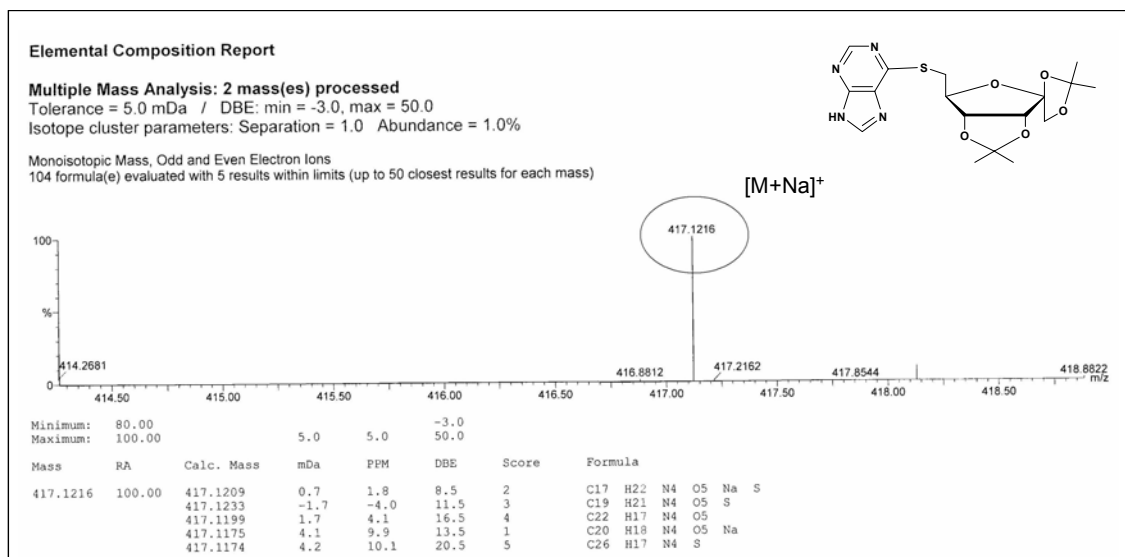


Figura 18: espectro de massas (HRMS) do composto **15**

2.4.1.1 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)- β -D-psicofuranose **15a**

O composto **15** foi submetido à reação de desproteção utilizando-se ácido trifluoroacético, BF_3OME_2 e água.

A reação permaneceu a temperatura ambiente por 72 horas. Em seguida, neutralizou-se o meio e os solventes foram evaporados.

O óleo resultante foi purificado por coluna e utilizou-se um gradiente de eluição de alta polaridade (aproximadamente MeOH 100%)

A caracterização foi realizada por RMN e espectrometria de massas e calculou-se um rendimento de 70%.

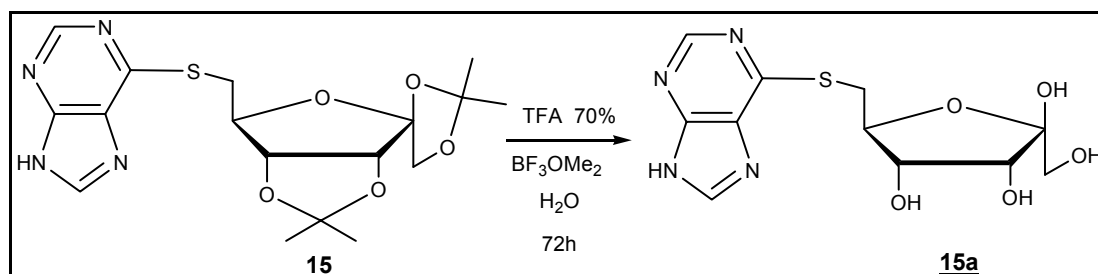


Figura 19: esquema de reação de hidrólises dos grupos isopropilidenos do composto **15**

No espectro de RMN de ^1H é possível perceber a ausência dos quatro simpletos intensos entre δ 1,00 e 1,70 ppm, referentes aos hidrogênios metílicos dos grupos isopropilideno, além da presença dos sinais atribuídos a 6-mercaptapurina, entre δ 8,00 e 9,00 ppm e dos sinais característicos do carboidrato.

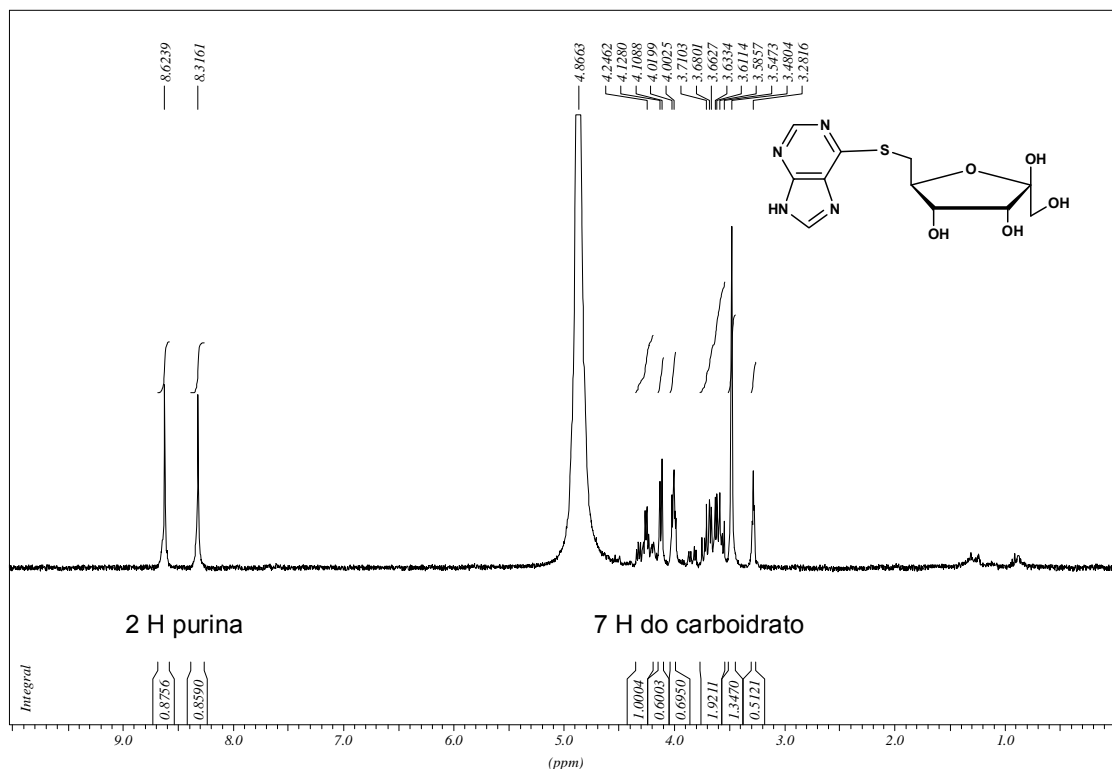


Figura 20: espectro de RMN de ^1H do composto 15a

A mesma observação pode ser feita, a seguir, no espectro de RMN de ^{13}C do composto desprotegido. Há a ausência dos sinais atribuídos aos carbonos metílicos, entre δ 30 e 20 ppm e carbonos quaternários, entre δ 120 e 110 ppm, dos grupos isopropilideno, confirmando, assim, a hidrólise dos grupos isopropilidenos.

SIL2

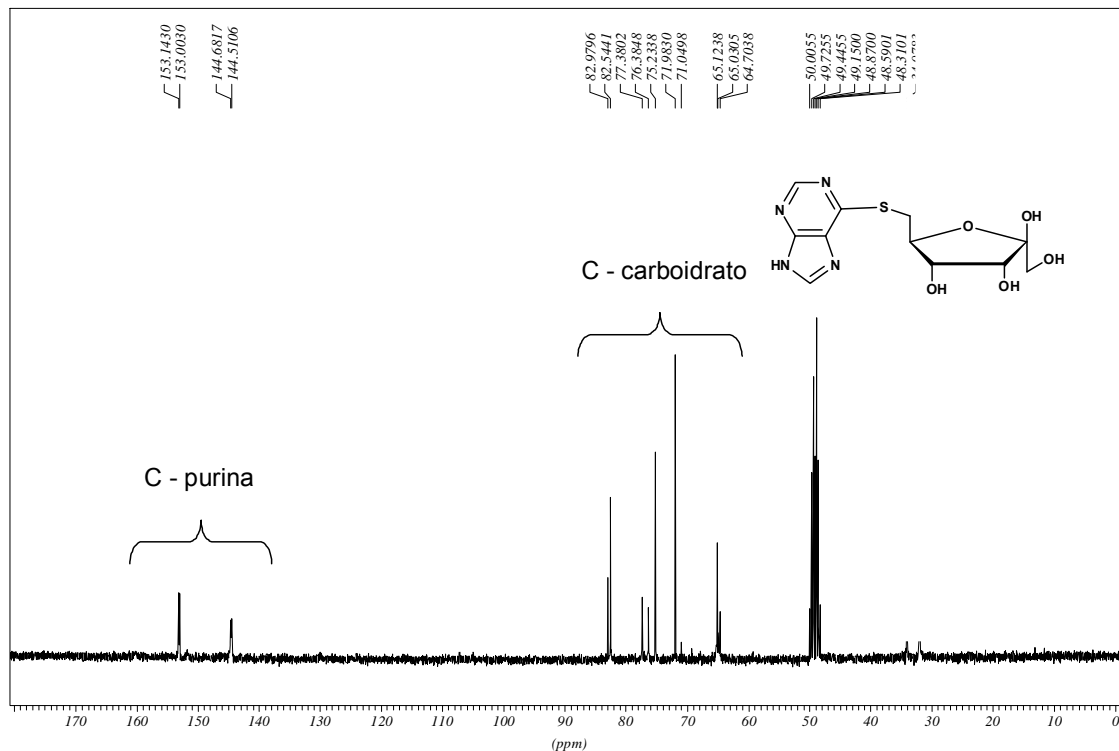


Figura 21: espectro de RMN de ^{13}C do composto 15a

Verificou-se no espectro de massas a presença do pico em 337,1 m/z referente ao peso molecular do composto somado a massa do sódio $[\text{M} + \text{Na}]^+$, valor este que, quando comparado ao valor teórico, $[\text{M} + \text{Na}]^+$ igual a 337,1 m/z, confirmou a formação do composto esperado.

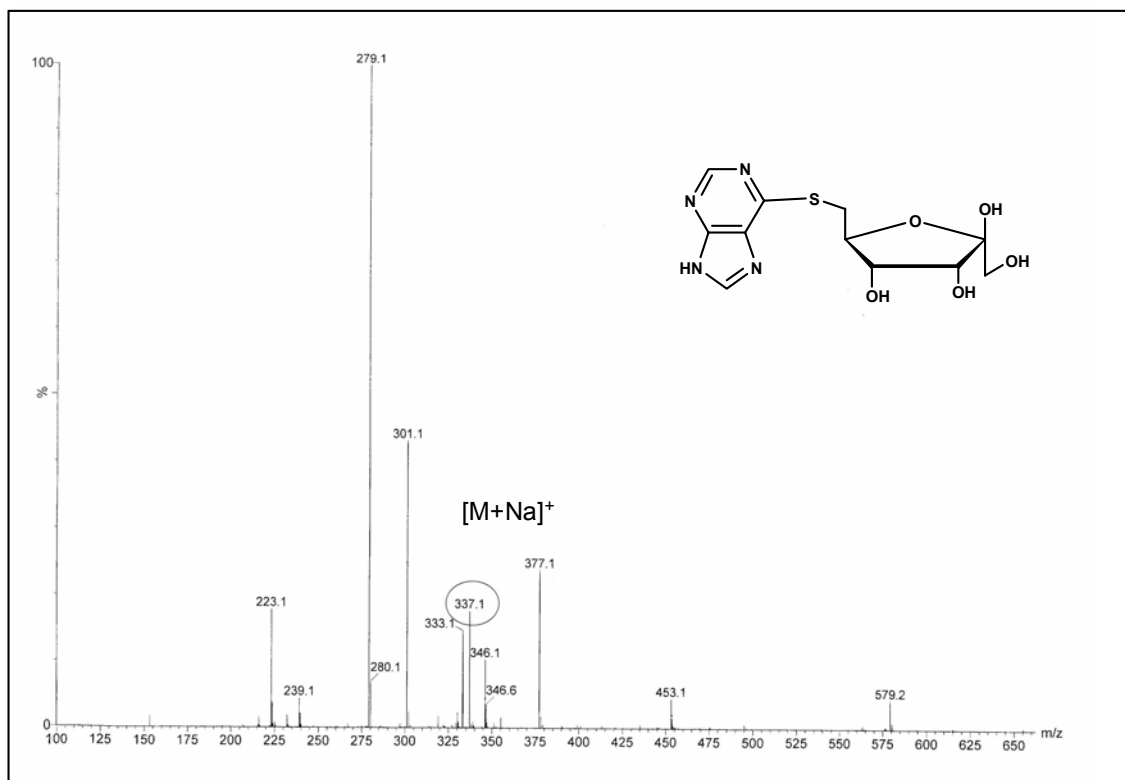


Figura 22: espectro de massas ES do produto **15a**

2.4.2 – Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose **16**

Analogamente, o sal da 2-mercaptopirimidina foi preparado nas mesmas condições descritas no item 3.2.1. Em seguida, para a formação do composto **16**, adicionou-se o composto halogenado **4** a esta solução e deixou-se em aquecimento a 90 °C por 48 horas.

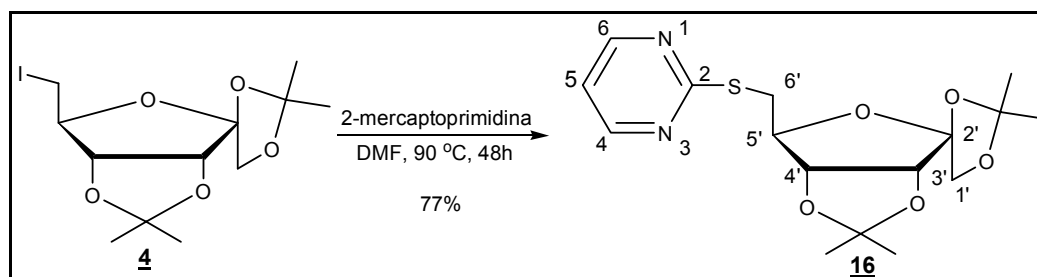


Figura 23: esquema de reação para obtenção do composto **16**

Após a evaporação do solvente, o produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel (Hex/AcOEt) e obteve-se um rendimento de 77% .

O composto **16** foi caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C e infravermelho.

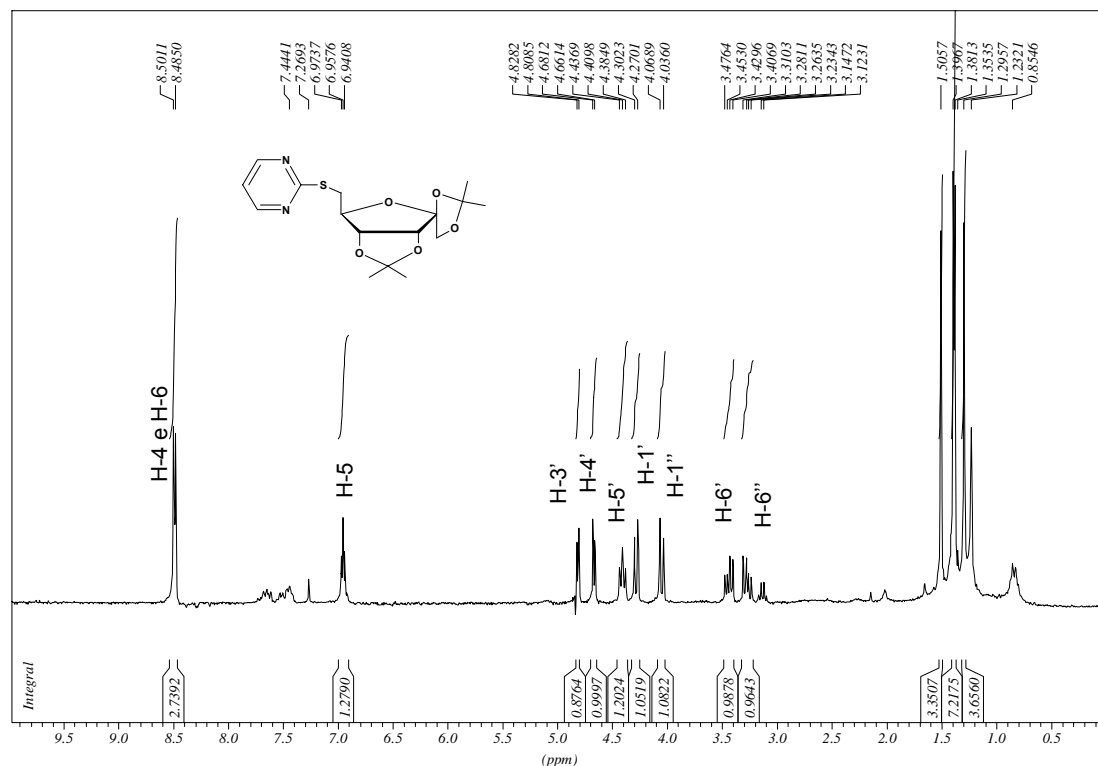


Figura 24: espectro de RMN de ^1H do composto **16**

No espectro de RMN de ^1H foi possível observar a presença dos sinais na região de prótons aromáticos, além dos sinais característicos do carboidrato.

Observou-se a presença de um tripleto em δ 6,95 ppm, referente ao próton aromático H-5 (em posição “meta” aos átomos de nitrogênio do anel).

Verificou-se um duplete bastante desblindado em δ 8,50 ppm, atribuído aos prótons aromáticos em posição “orto” aos nitrogênios do anel pirimidínico.

No espectro de RMN de ^{13}C , observou-se a presença de um sinal em δ 132,5 ppm referente a C-5, em posição “meta” aos nitrogênios do anel. Dois picos intensos foram atribuídos aos dois carbonos aromáticos, C-6 e C-4, vizinhos aos átomos de nitrogênio (em δ 157,9 ppm e 157,7ppm, respectivamente). O pico em δ 171,9 ppm foi atribuído ao carbono aromático, C-2, ligado aos dois átomos de nitrogênio e ao átomo de enxofre. Também estão incluídos todos os sinais referentes aos carbonos do carboidrato.

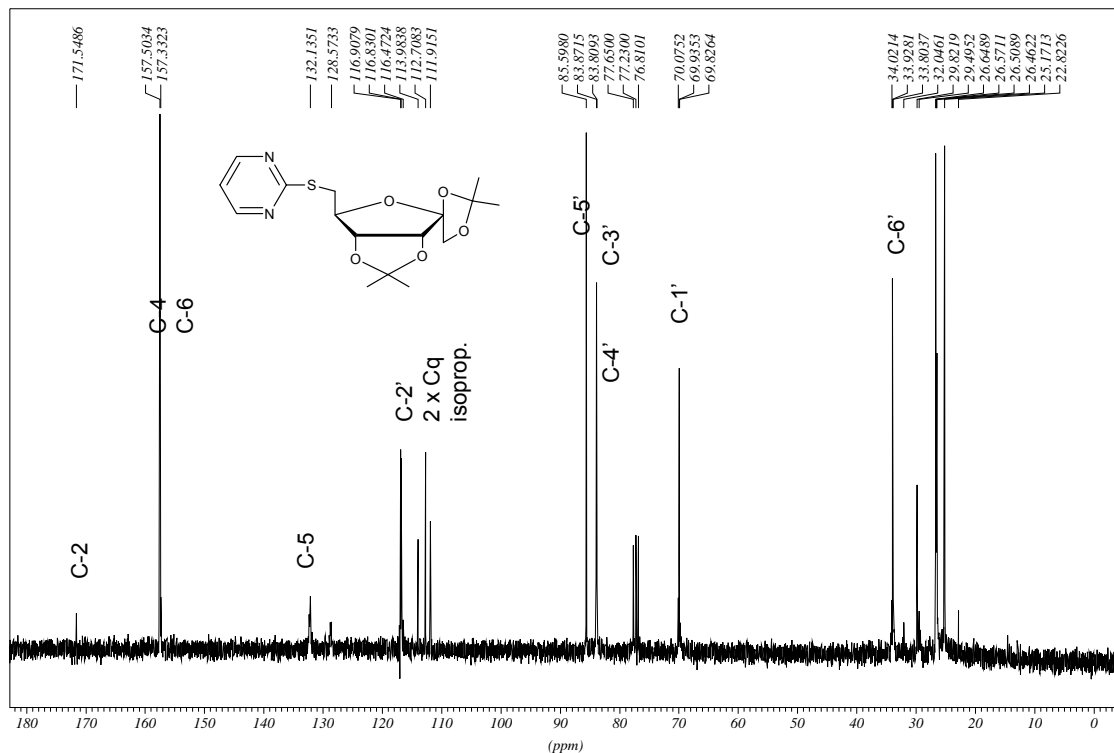


Figura 25: espectro de RMN de ^{13}C do composto 16

No espectro no IV é possível perceber a presença das bandas correspondentes ao anel pirimidínico, com em 2989 cm^{-1} atribuída ao estiramento simétrico de CH, em 1547 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=C do anel aromático e em 1387 cm^{-1} referente ao estiramento CN.

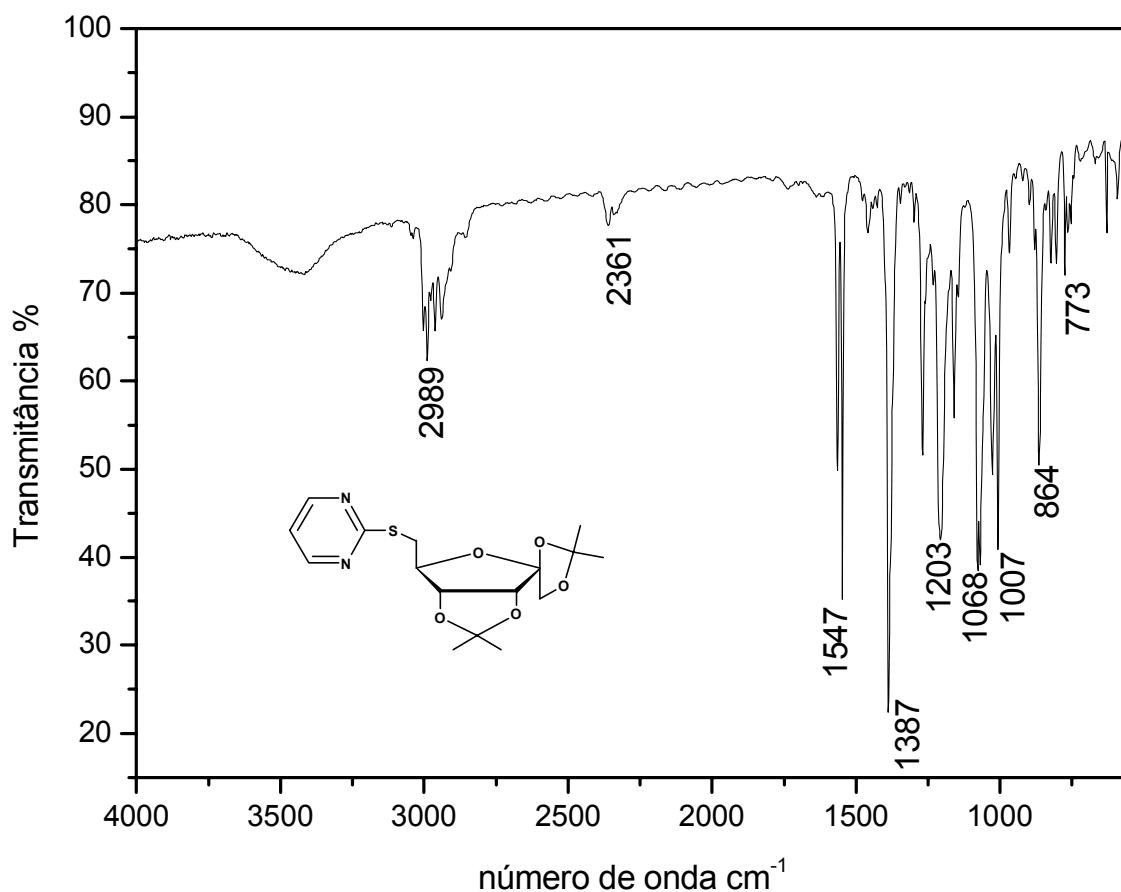


Figura 26: espectro no IV do composto 16

2.4.2.1 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)-β-D-psicofuranose 16a

No composto 16, promoveram-se as desproteções das hidroxilas utilizando ácido trifluoroacético, BF₃OMe₂ e água. Após 48 horas em agitação e temperatura ambiente, neutralizou-se o meio (com NH₄OH) e evaporou-se a mistura de solventes.

O produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica, onde foi utilizado a mistura de solventes na proporção 9:1 (MeOH/CH₂Cl₂) como gradiente de eluição devido a alta polaridade da molécula. Foi calculado um rendimento de 94%.

O produto polihidroxilado 16a foi caracterizado pelas técnicas de RMN e espectrometria de massas.

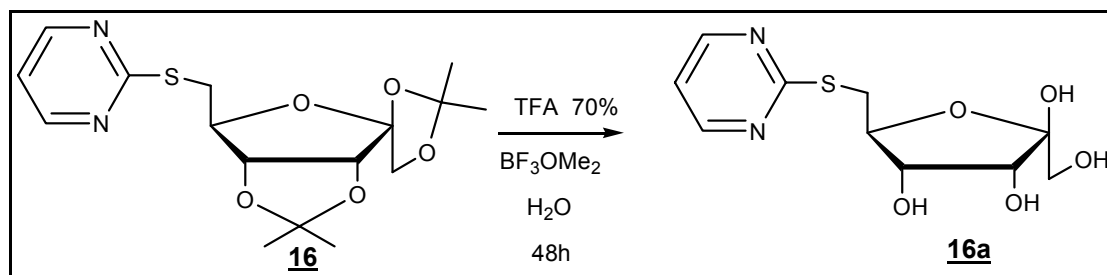


Figura 27: esquema de reação para obtenção do composto **16a**

Como esperado, no espectro de RMN de ^1H , não há a presença dos quatro simpletos intensos referentes aos prótons metílicos dos grupos isopropilidênicos.

Adicionalmente as informações do espectro de RMN de ^{13}C , a seguir, notaram-se a ausência dos sinais de carbonos metílicos, além dos sinais referentes aos carbonos do carboidrato.

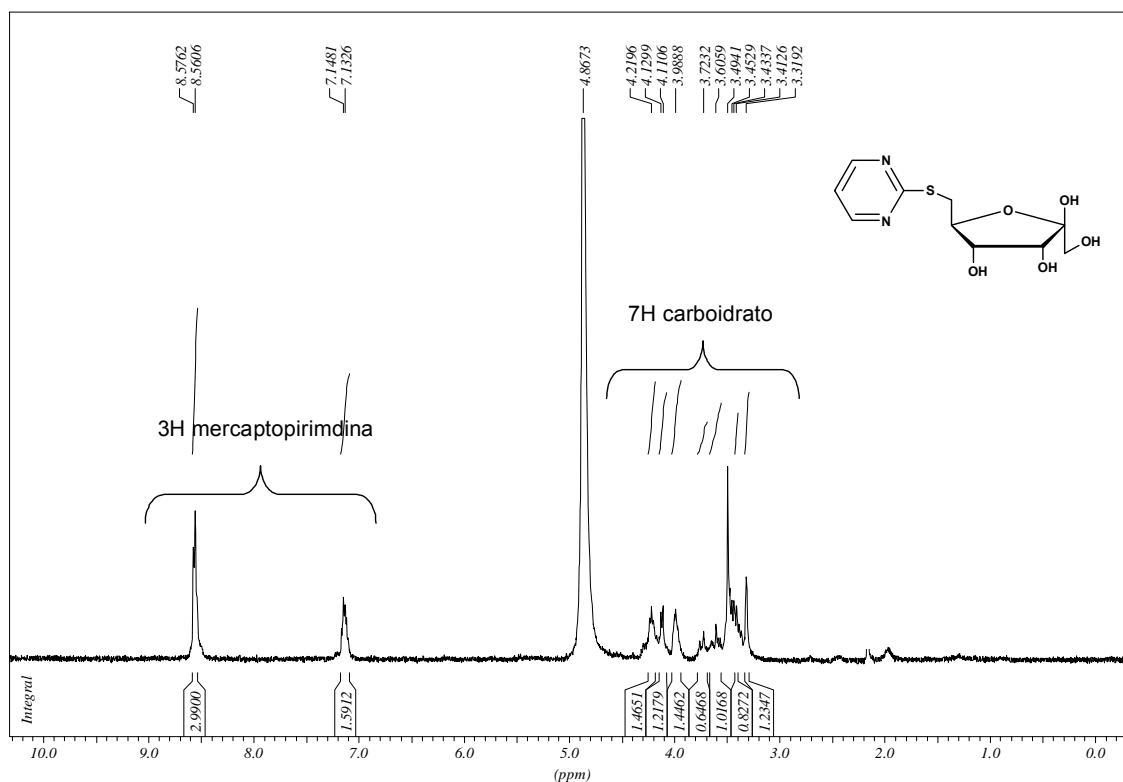


Figura 28: espectro de RMN de ^1H do composto **16a**

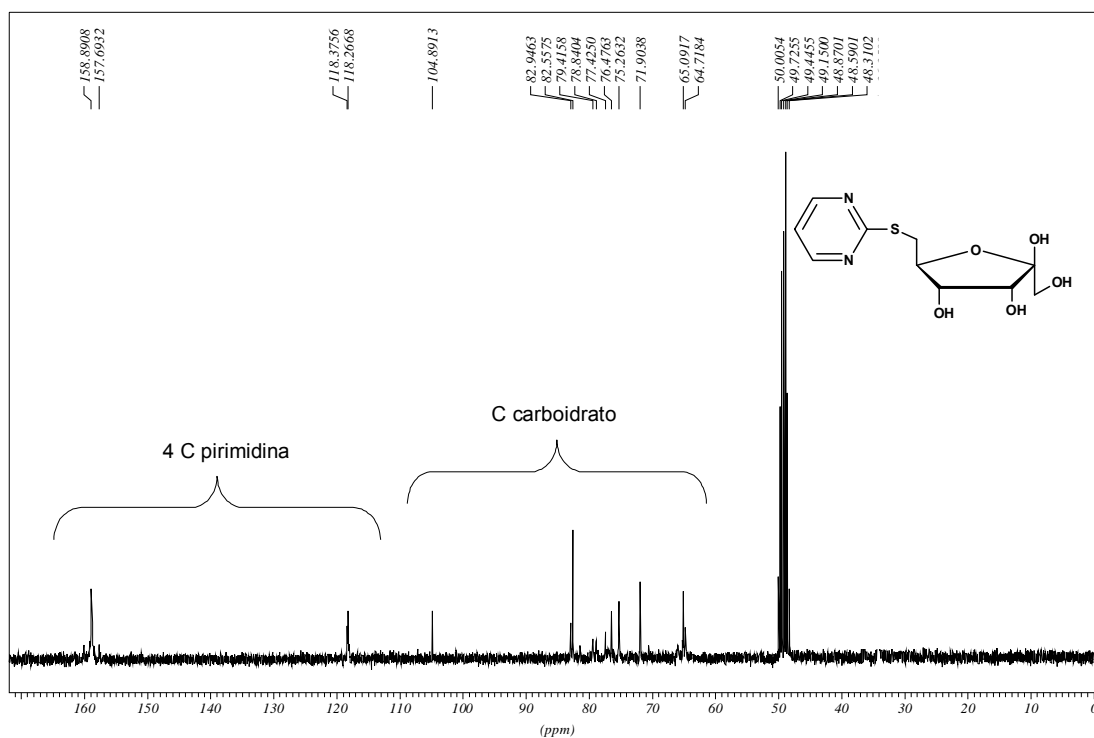


Figura 29: espectro de RMN de ^{13}C do composto **16a**

Além da verificação da efetividade das desproteções das hidroxilas, realizada através da técnica de RMN, foi feita, também, a espectrometria de massas de Alta Resolução.

No espectro foi possível observar a presença do pico referente a $[\text{M} + \text{Na}]^+$ de valor 297,0533 (valor teórico calculado $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 297,0521 m/z) confirmando a formação do composto **16a**.

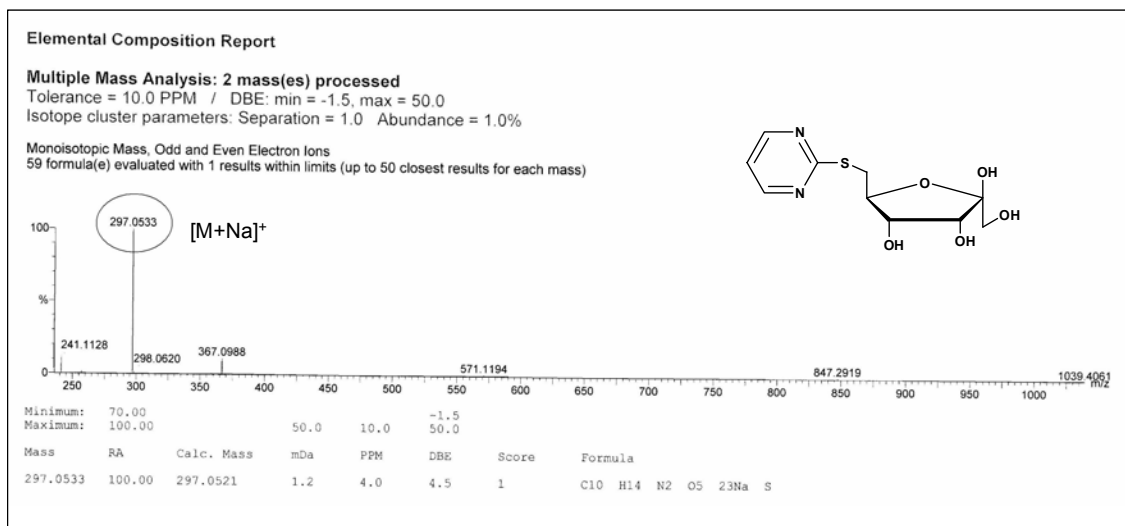


Figura 30: espectro de massas HRMS do composto **16a**

2.4.3 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopyridina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose **17**

Após a formação do sal da 4-mercaptopyridina, o composto **4** foi adicionado à mistura e esta aquecida a 90 °C, durante 72 horas. Em seguida, a reação foi purificada em coluna cromatográfica utilizando-se acetato de etila e hexano. Posteriormente, foram feitas as caracterizações para confirmação do composto **17** (rendimento 60%).

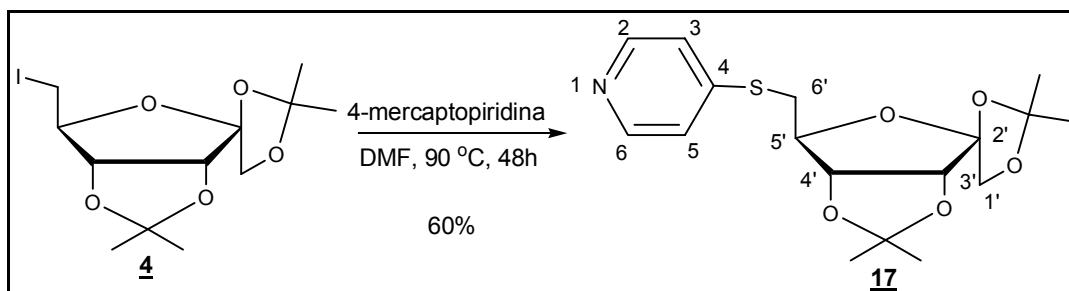


Figura 31: esquema de reação para obtenção do composto **17**

No espectro de RMN de ^1H , verificou-se a presença de um simpleto alargado em δ 7,16 ppm, que podem ser atribuído aos prótons H-3 e H-5 aromáticos.

Verificou-se, também, a presença de outro simpleto largo em δ 8,40 ppm, atribuído aos prótons H-2 e H-6, também aromáticos, além da presença de todos os outros sinais referentes aos hidrogênios do carboidrato.

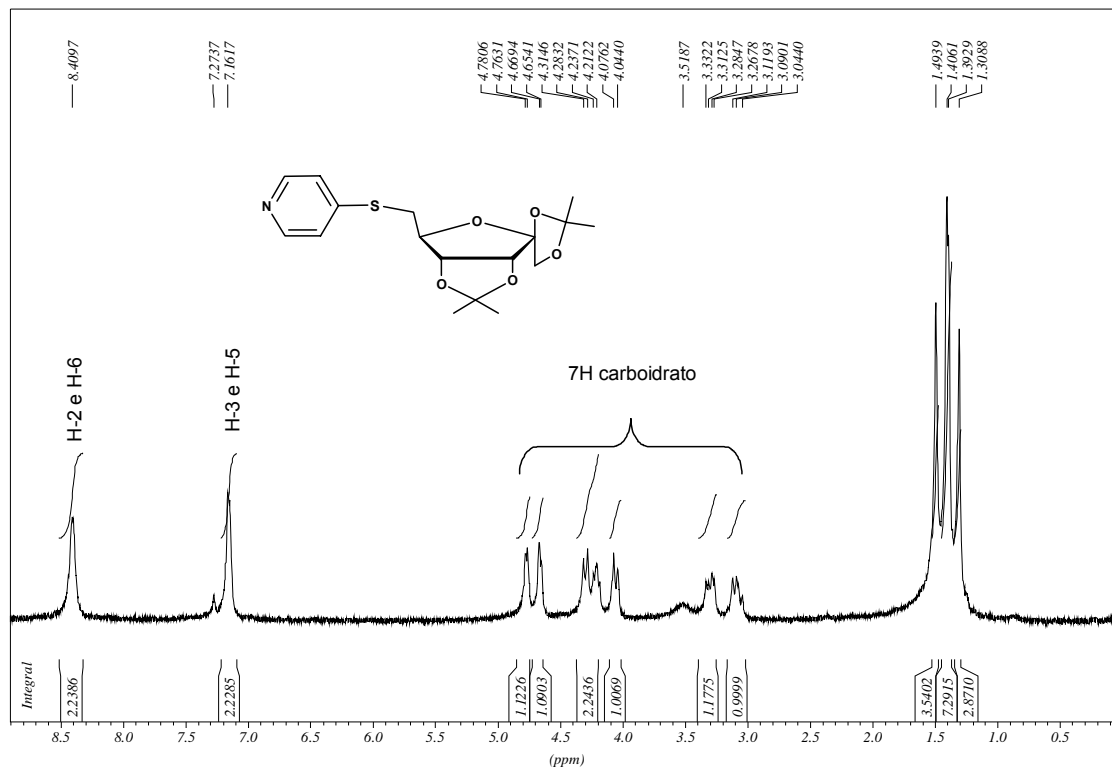


Figura 32: espectro de RMN de ^1H do composto 17

No espectro de RMN de ^{13}C do produto 17 é percebida a presença dos sinais de carbonos aromáticos em campo baixo, em δ 121,0 ppm, referente a C-3 e C-5 (posições “meta” ao átomo de nitrogênio), em δ 148,4 ppm, correspondente a C-4 em posição “para” ao átomo de nitrogênio e, finalmente, em δ 149,1 ppm, atribuído a C-2 e C-6, vizinhos ao átomo de nitrogênio do anel.

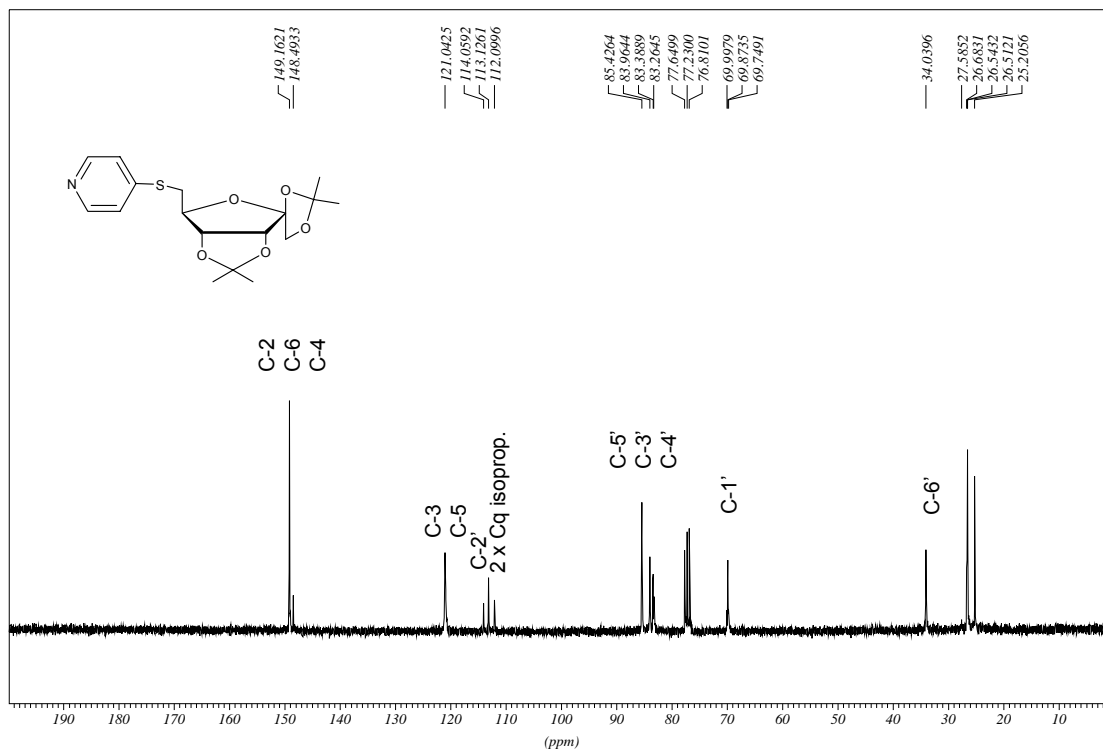


Figura 33: espectro de RMN de ^{13}C do produto 17

No espectro no IV do carboidrato condensado aos heterociclo, observaram-se bandas que auxiliaram na confirmação do composto como, por exemplo, em 2989 cm^{-1} (estiramento simétrico de CH), em 1545 cm^{-1} (estiramento C=C do anel aromático) e em 1387 cm^{-1} (estiramento CN).

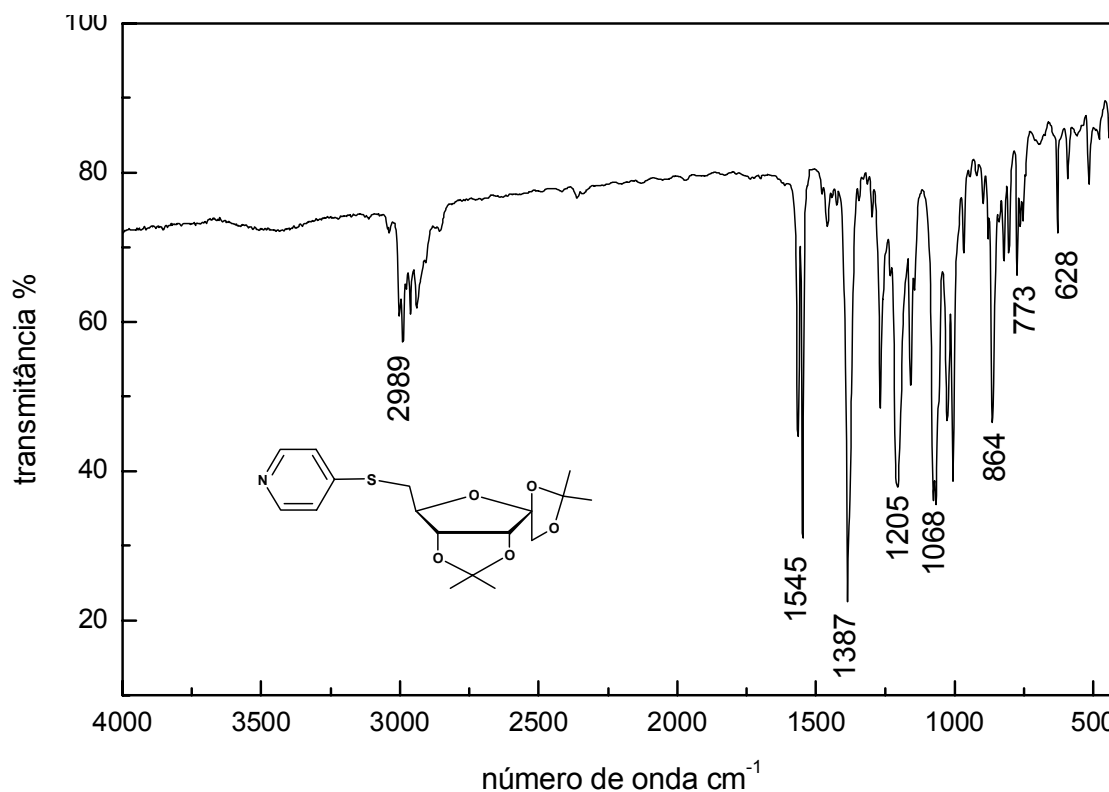


Figura 34: espectro no IV do composto 17

2.4.3.1 - Síntese e caracterização do 6'-Desoxi-6'-(2-mercaptopiridina)- β -D-psicofuranose 17a

A reação para obtenção do composto totalmente hidrolisado 17a foi realizada nas mesmas condições descritas para os compostos 15a e 16a já descritos anteriormente.

Após a adição de ácido trifluoroacético e BF_3OMe_2 , em água e, após 48 horas a ocorrência da formação de um produto polar, observada por CCDS, a mistura foi neutralizada com NH_4OH até pH neutro. Posteriormente, com a evaporação dos solventes à pressão reduzida foi obtido o óleo, e este foi purificado por coluna cromatográfica de sílica, onde foi utilizada uma mistura de solventes bastante polar. Assim, calculou-se o rendimento para esta reação de 96%.

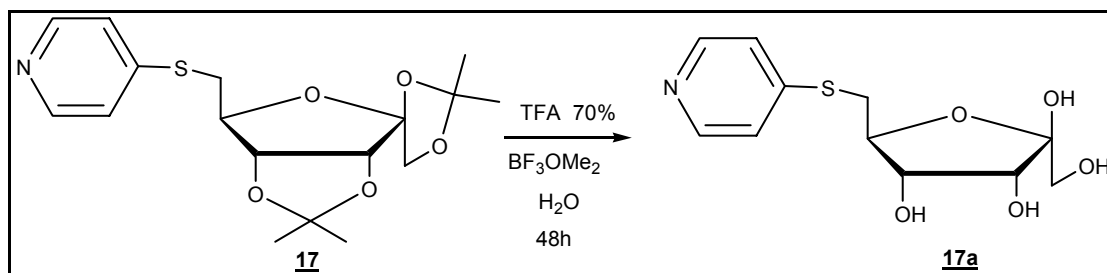


Figura 35: esquema de reação para obtenção do composto **17a**

O composto desprotegido **17a** foi confirmado pelas técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C , além da determinação da massa de alta resolução HRMS.

Primeiramente, no espectro de RMN de ^1H , observou-se a inexistência dos singletos entre δ 2,00 e 1,00 ppm, referentes aos carbonos metílicos dos grupos isopropilidênicos, antes presentes no produto **17**. A simples observação deste fato evidencia as desproteções das hidroxilas dos carbonos 1', 2', 3' e 4'.

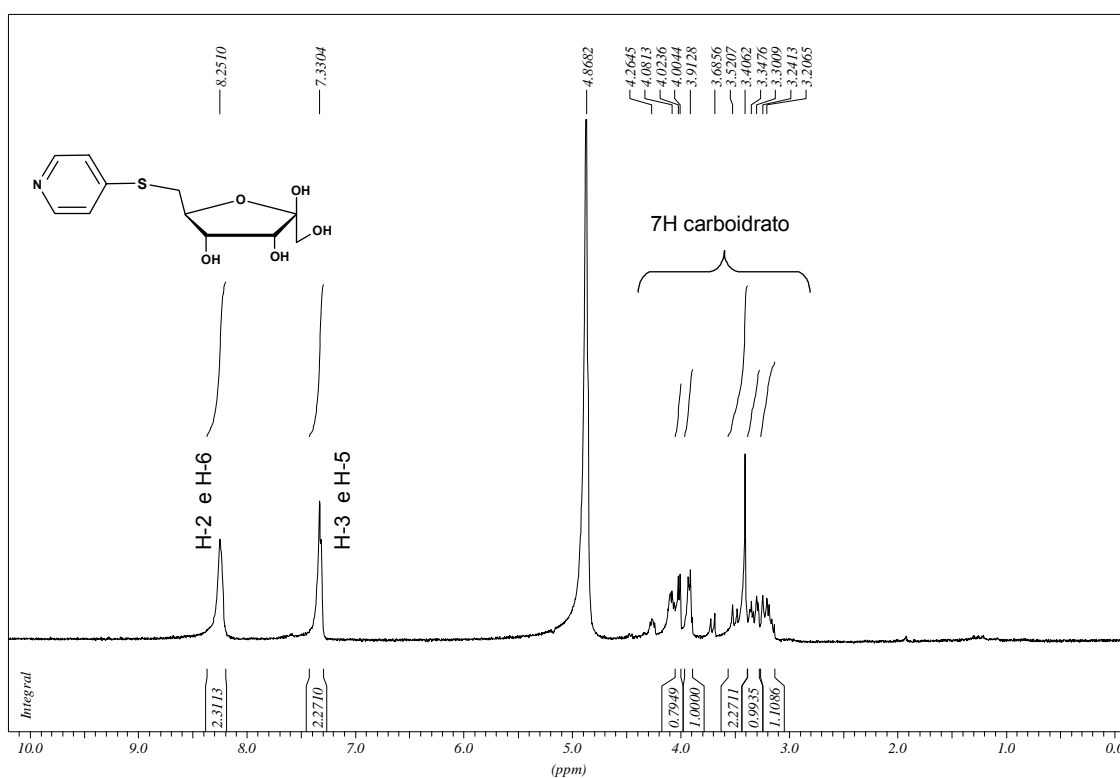


Figura 36: espectro de RMN de ^1H do composto **17a**

Analogamente, no espectro de RMN de ^{13}C notou-se que, entre δ 30,0 e 20,0 ppm não há a presença dos picos atribuídos aos carbonos metílicos dos grupos isopropilídenos, porém, todos os outros correspondentes ao carboidrato podem ser observados, tanto no espectro de ^1H , quanto no espectro de ^{13}C .

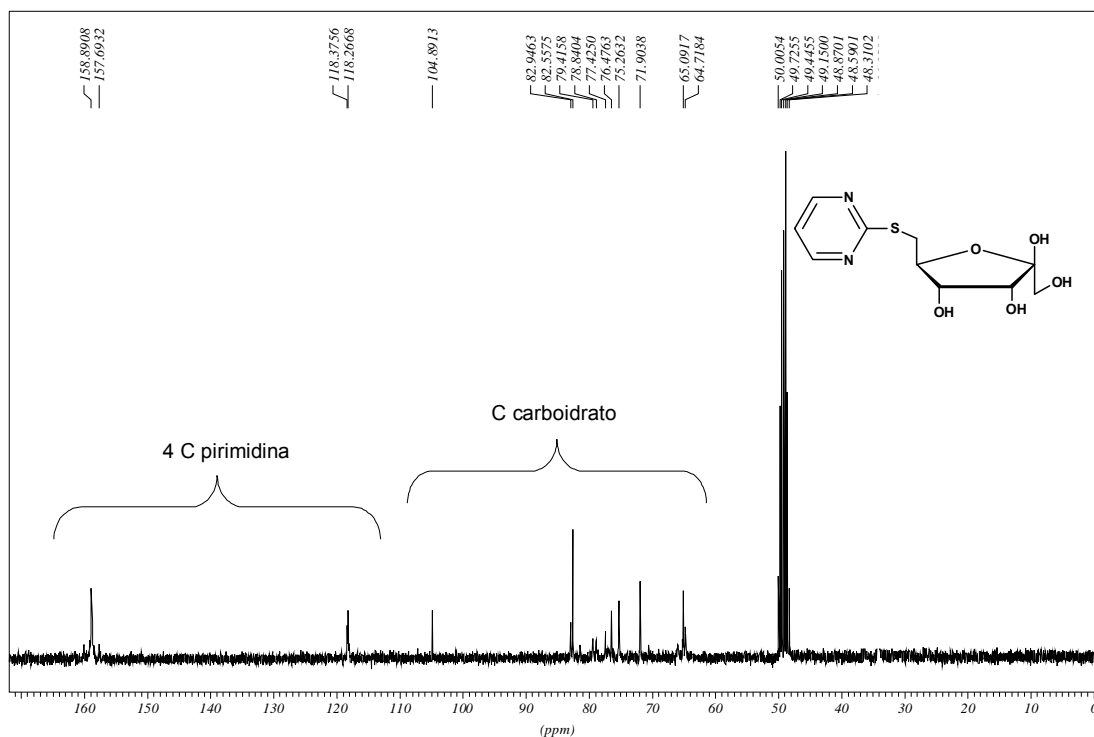


Figura 37: espectro de RMN de ^{13}C do composto **17a**

A análise no espectro de massas do composto **17a** confirma a estrutura proposta, pois o pico de $[\text{M} + \text{H}]^+$ em 274,0743 m/z aproxima-se satisfatoriamente com o valor teórico calculado $[\text{M} + \text{H}]^+ = 274,0749$ m/z.

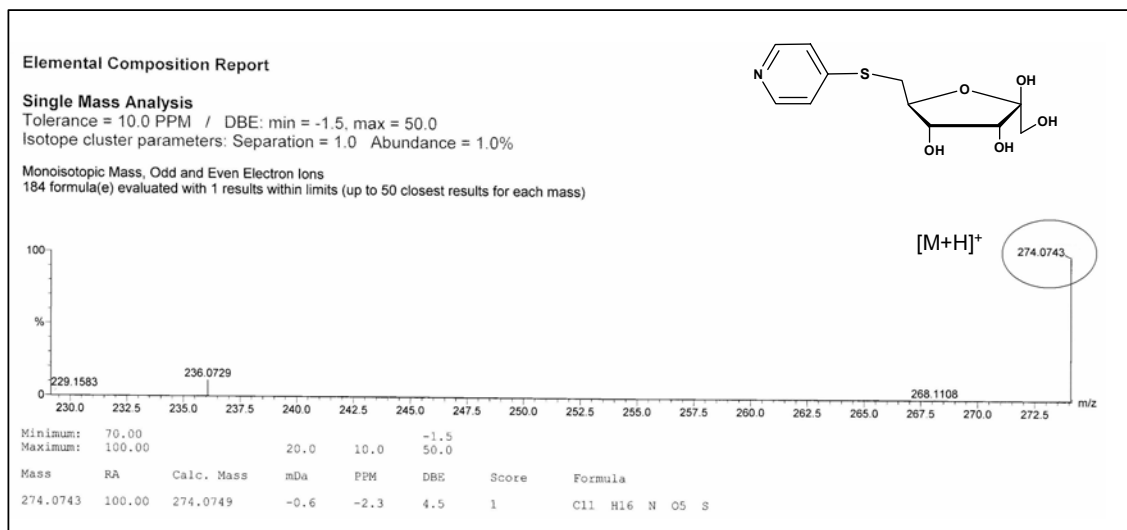


Figura 38: espectro de massas (HRMS) do composto 17a

2.4.4 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopbenzimidazol)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 18

Após a desprotonação do átomo de enxofre no reagente 2-mercaptopbenzimidazol, com NaH em DMF, o carboidrato halogenado 4 foi adicionado na mistura. Esta foi levada ao aquecimento a 100 °C, durante 24 horas. Após observar o total consumo do material de partida, a mistura foi purificada em coluna de sílica gel, chegando a um rendimento de 60%.

O composto 18 foi caracterizado através das técnicas de RMN, espectroscopia no IV e espectrometria de massas em alta resolução.

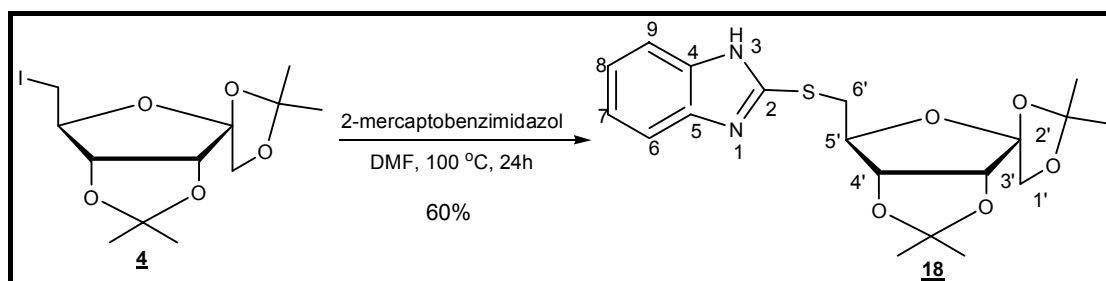


Figura 39: esquema de reação para obtenção do composto 18

No espectro de RMN de ^1H verificou-se a presença de dois sinais na região característica de prótons benzênicos: em δ 7,63 ppm, um duplete, referente a H-6 e H-9 e em δ 7,30 ppm, referente aos prótons H-7 e H-8, além de todos os outros sinais referentes aos sete prótons do carboidrato.

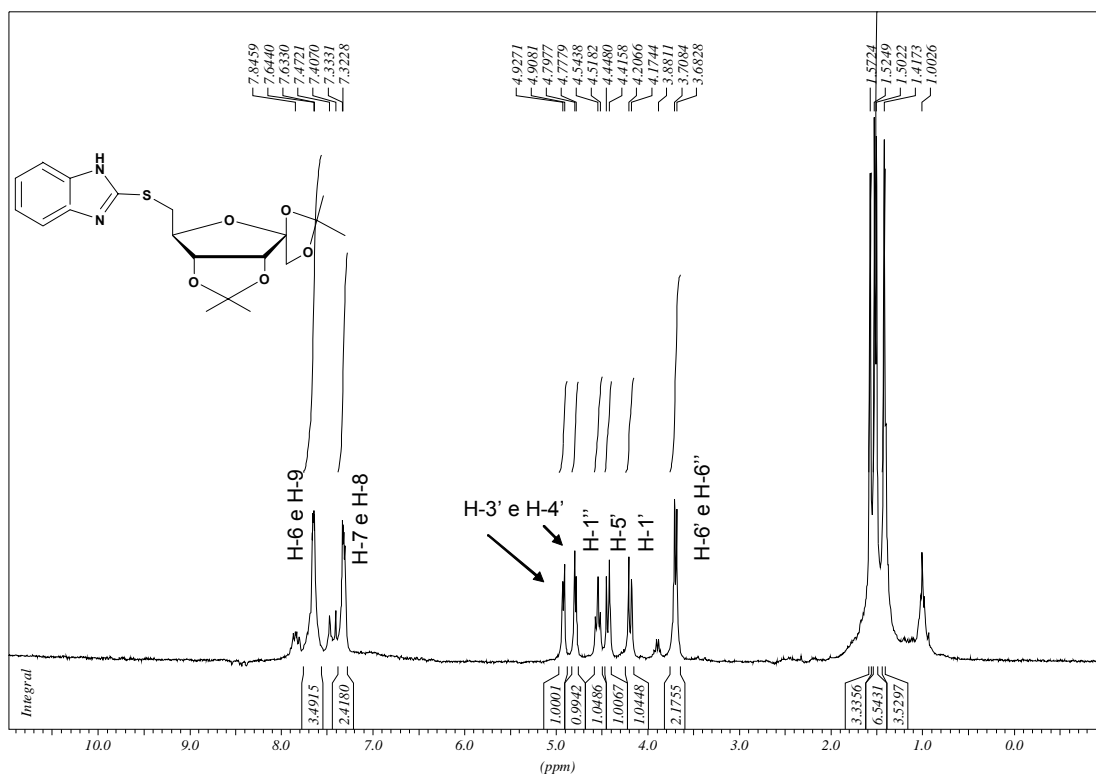


Figura 40: espectro de RMN de ^1H do composto 18.

No espectro de RMN de ^{13}C , como esperado, observaram-se os sinais característicos dos carbonos benzênicos em δ 122,0 ppm (C-2), bem como os sinais em δ 149,4 ppm (C-4), 139,1 ppm (C-9); 132,5 ppm (C-5); 128,8 ppm (C-8); 122,6 ppm (C-7, C-6 e C-2).

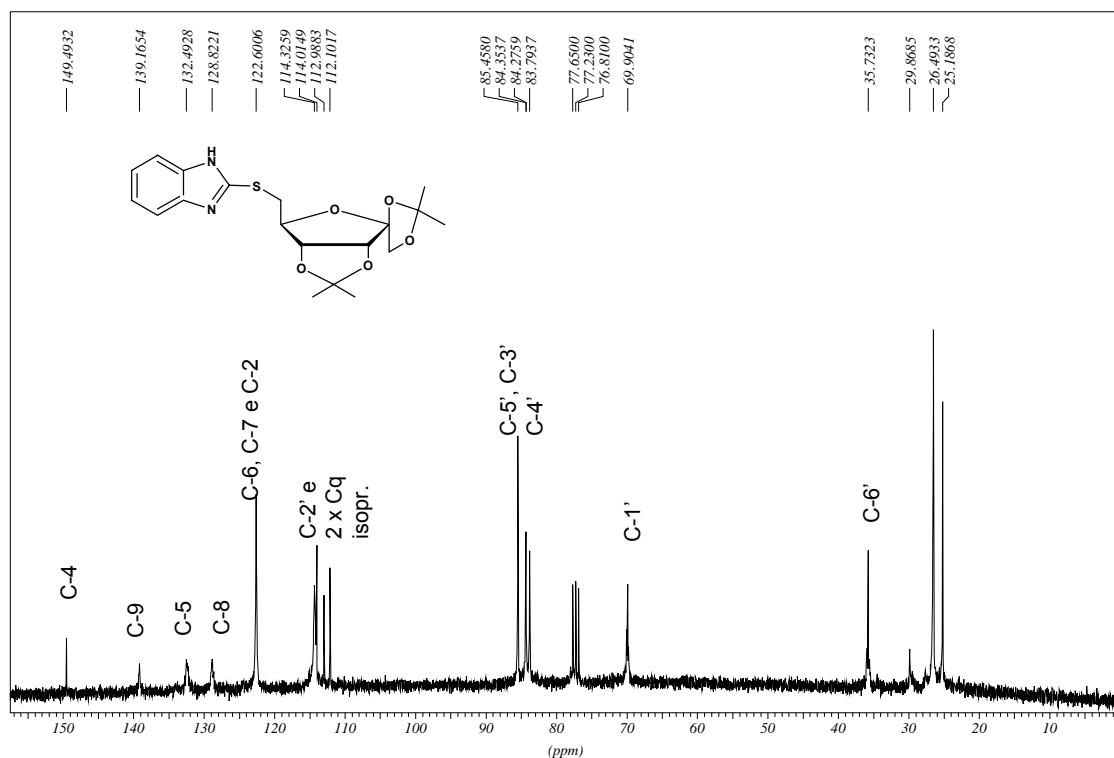


Figura 41: espectro de RMN de ^{13}C do composto **18**

No espectro no IV do composto **18** observou-se a presença de bandas características do grupo 2-mercaptobenzimidazol, como em 3151 cm^{-1} referente ao estiramento de C-H aromático, em 2988 cm^{-1} atribuída ao estiramento simétrico de NH, em 1742 e 1620 cm^{-1} , atribuída ao estiramento simétrico de C=N, em 1514 a 1383 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=C do anel aromático e em 1269 e 1213 cm^{-1} atribuído ao estiramento CN.

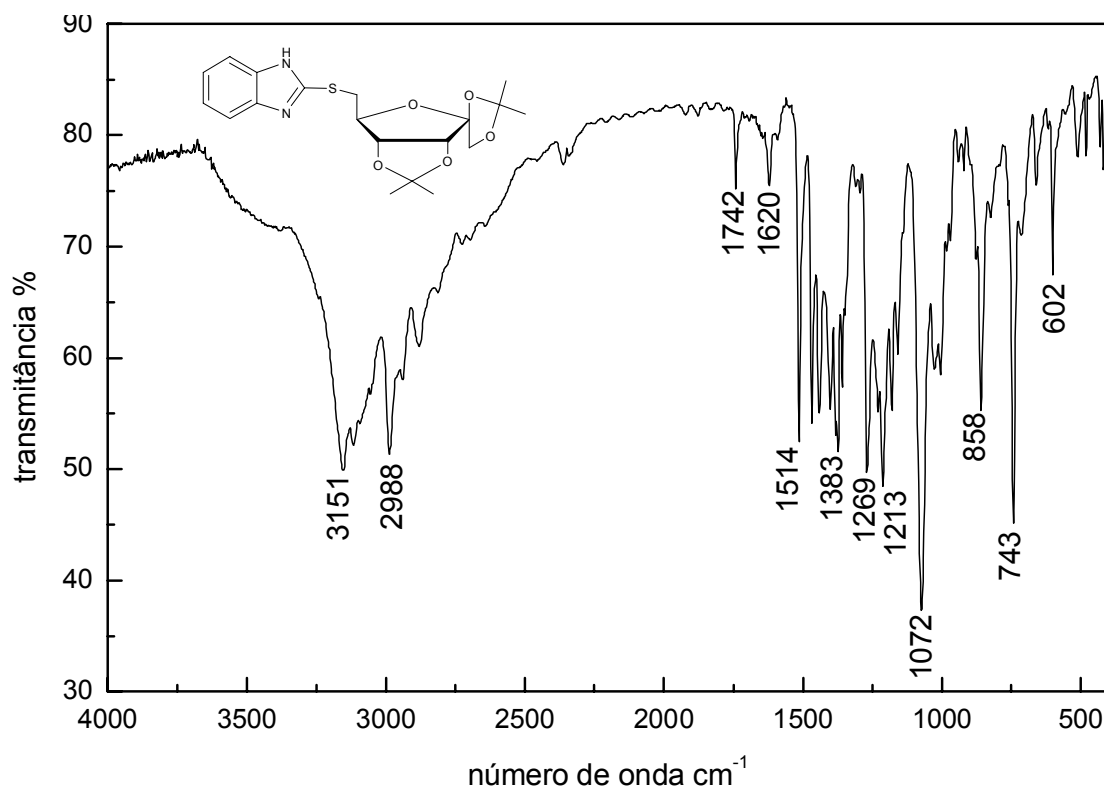


Figura 42: espectro no IV do composto **18**

2.4.4.1 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzimidazol)- β-D-psicofuranose **18a**

Em presença de ácido trifluoroacético, água e com adição de um ácido de Lewis (BF₃OMe₂) o composto protegido **17** foi submetido à hidrólise ácida, promovendo, assim, as desproteções das hidroxilas de C-1', C-2' e C-3', C-4'.

Após a verificação da formação do composto polar, por CCDS, o meio foi neutralizado com hidróxido de amônio até atingir pH neutro. Em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e o óleo resultante purificado por CCS (gradiente de eluição 9:1, MeOH/CH₂Cl₂) o que levou ao produto desejado **18a**, em um rendimento foi de 60%.

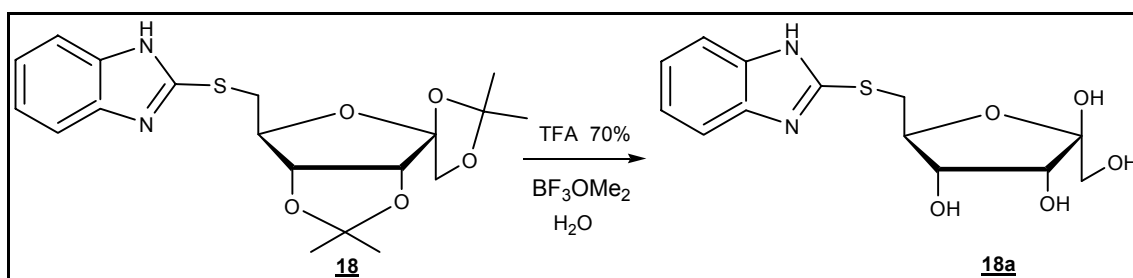


Figura 43: esquema de reação para obtenção do composto **18a**

O composto **18a** foi caracterizado através das técnicas espectroscópicas de RMN, além da espectrometria de massas de alta resolução.

No espectro de RMN de ^1H não estão presentes os simpletos correspondentes aos prótons metílicos dos grupos isopropilídenos, na região entre δ 2,00 e 1,00 ppm. Em conjunto, os sinais na região de prótons aromáticos, entre δ 7,50 e 7,00 ppm do anel benzênico, e os sinais referentes aos prótons do carboidrato também foram verificados.

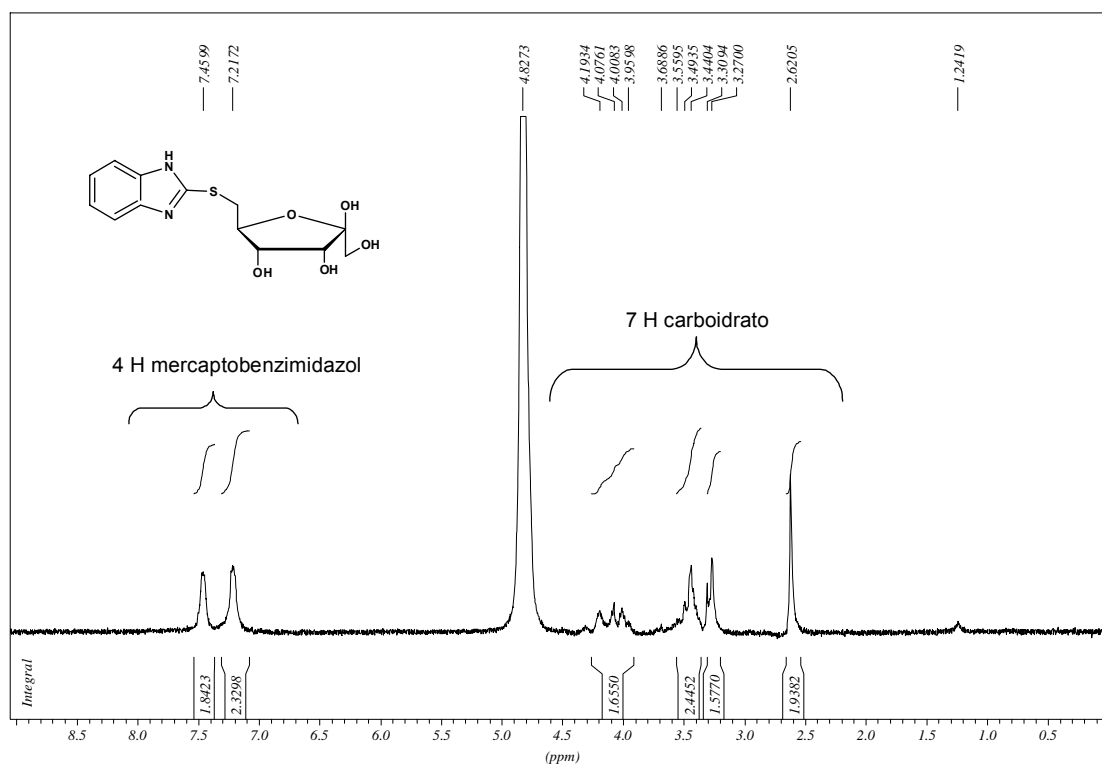


Figura 44: espectro de RMN de ^1H do composto **18a**

A seguir, no espectro de RMN de ^{13}C há a presença dos sinais referentes aos carbonos aromáticos, entre δ 130,00 e 100,00 ppm e, também, os sinais correspondentes aos carbonos do carboidrato.

Em comparação com o espectro do produto protegido **18** percebeu-se a ausência dos sinais atribuídos aos carbonos metílicos dos grupos isopropilidenos, entre δ 30,00 e 20,00 ppm, comprovando a efetividade da reação de hidrólise.

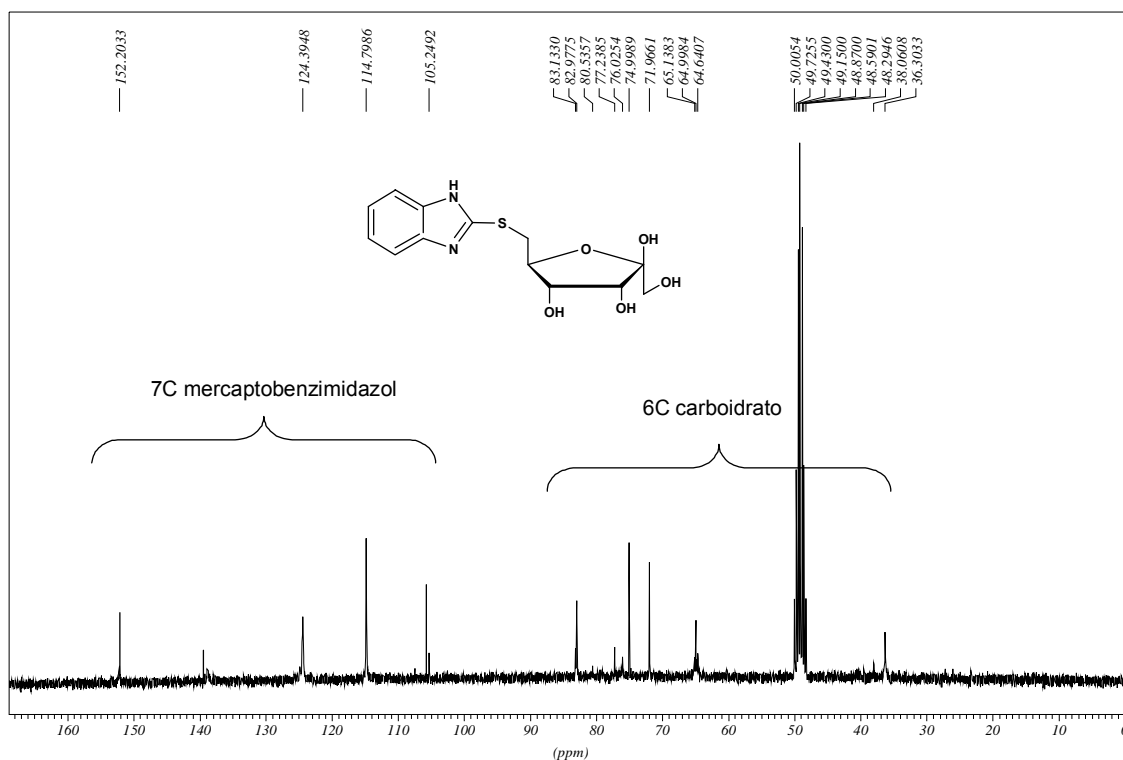


Figura 45: espectro de RMN de ^{13}C do composto **18a**

O composto foi confirmado pela análise do espectro de massas de alta resolução. Neste estão presentes os pico referente a $[\text{M} + \text{H}]^+$ em 313,0863 m/z e $[\text{M} + \text{Na}]^+$ em 335,0696 m/z.

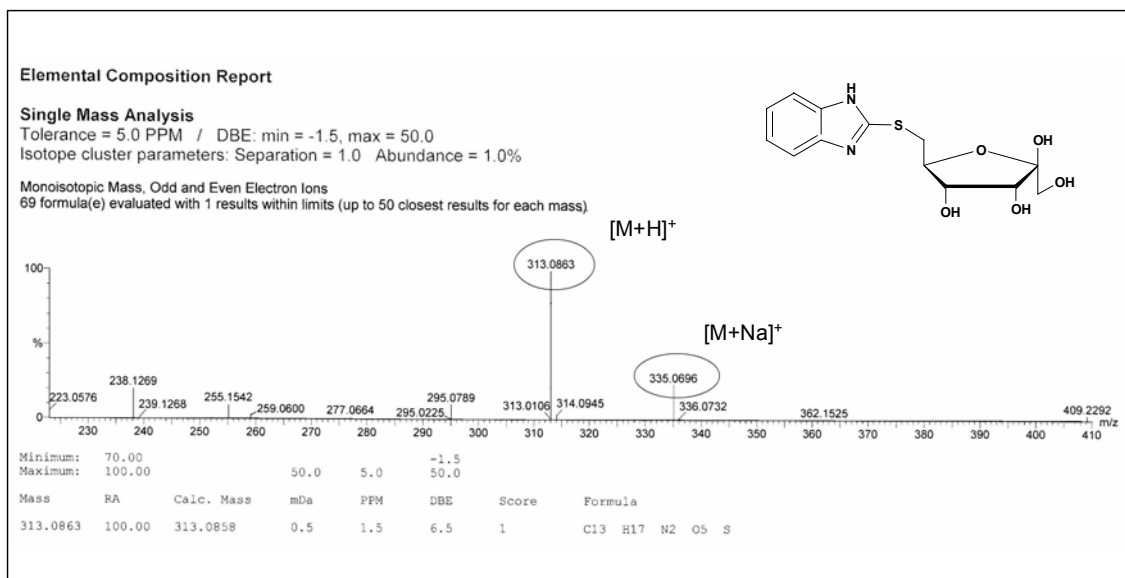


Figura 46: espectro de massas (HRMS) do composto **18a**

2.4.5 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose **19**

Após a formação do sal de 2-mercaptobenzotiazol, o composto **4** foi adicionado à mistura e esta aquecida a 100 °C, durante 72 horas. A reação foi purificada em coluna cromatográfica utilizando-se acetato de etila e hexano.

Foram feitas as caracterizações por RMN de ¹H e ¹³C, IV e espectrometria de massas HRMS para confirmação do composto **19** (rendimento 72%).

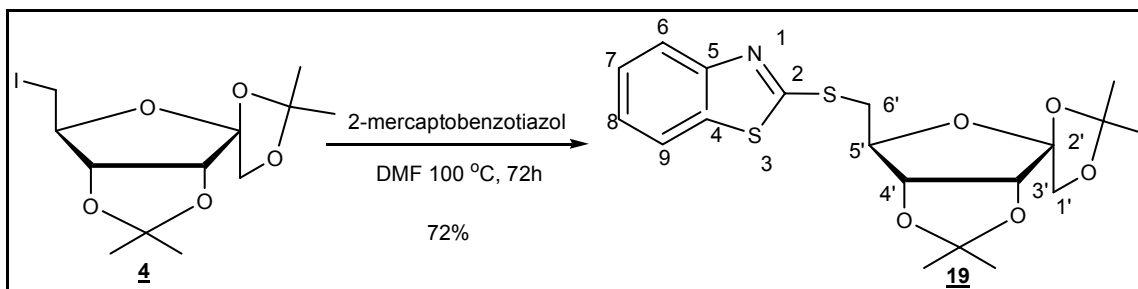


Figura 47: esquema de reação para obtenção do composto **19**

No espectro de RMN de ^1H observou-se a presença de dois tripletos: em δ 7,39 ppm, atribuído a H-8 e em δ 7,30 ppm, referente a H-7. Além dos tripletos, observou-se, também, a presença de dois dupletos: em δ 7,87 ppm, referente a H-6 e em δ 7,73 ppm, correspondente a H-9, além de todos os sinais referentes aos prótons do carboidrato, confirmando a formação do composto.

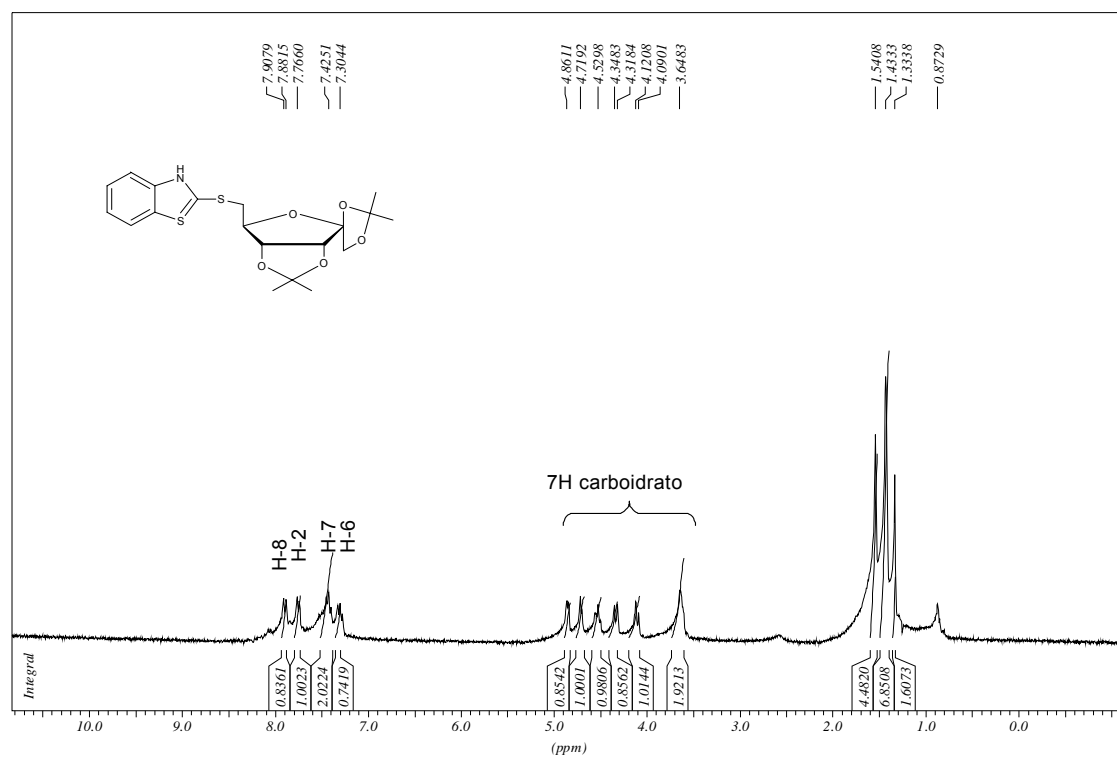


Figura 48: espectro de RMN de ^1H do composto 19

No espectro de RMN de ^{13}C verificaram-se os sinais característicos de carbonos aromáticos, além dos sinais anteriormente atribuídos aos carbonos do carboidrato.

Os picos em δ 154, 0, 126,2, 124,5, 121,6 e 121,1 ppm, atribuídos a C-4, C-9, C-5, C-8, C-7, C-6 e C-2 do 2mercaptobenzotiazol, respectivamente.

isa036.002

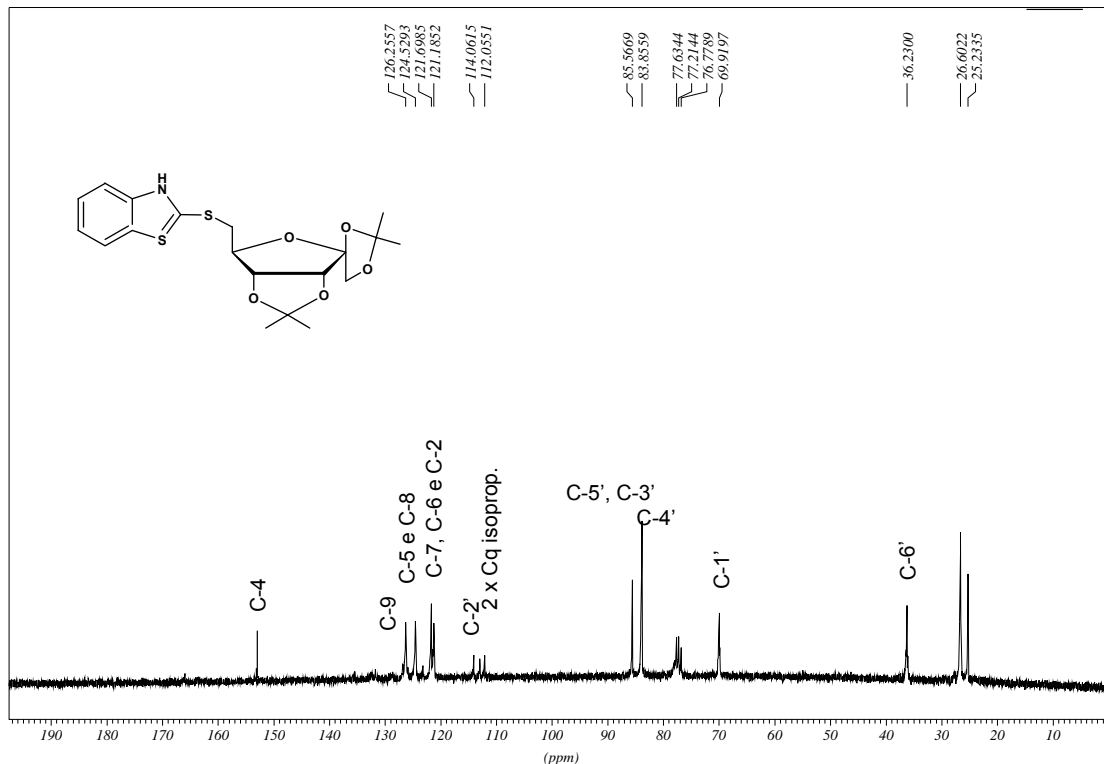


Figura 49: espectro de RMN de ^{13}C do composto 19

No espectro no infravermelho observou-se a presença de bandas características do heterociclo, como em 2986 cm^{-1} atribuída ao estiramento simétrico de NH, em 1618 cm^{-1} , ao estiramento simétrico de C=N e em 1429 a 1261 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=C do anel aromático.

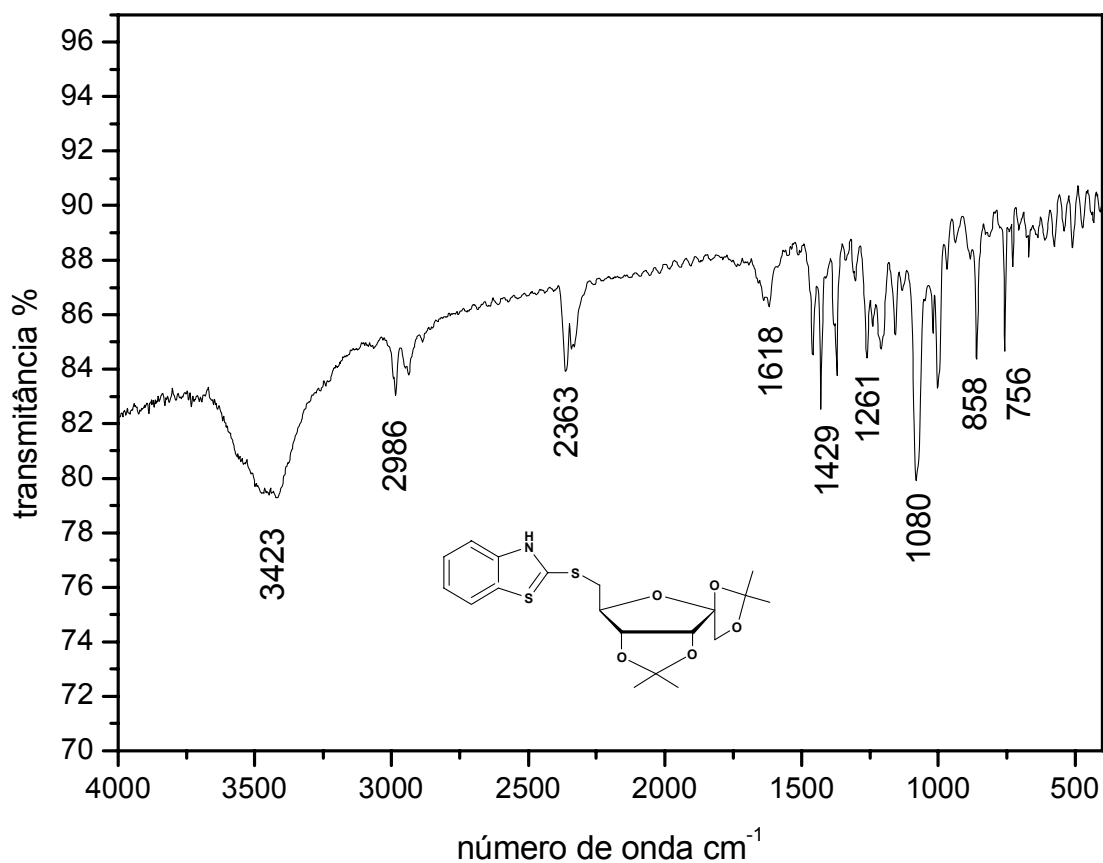


Figura 50: espectro no IV do composto **19**

A confirmação da formação do produto resultante da condensação do carboidrato foi feita por espectrometria de massas de alta resolução, em que se verificou a presença do pico referente a $[M + Na]^+$ igual a 432,0912 m/z (valor teórico $[M + Na]^+ = 432,0915$ m/z), comprovando o peso molecular referente ao composto desejado **19**.

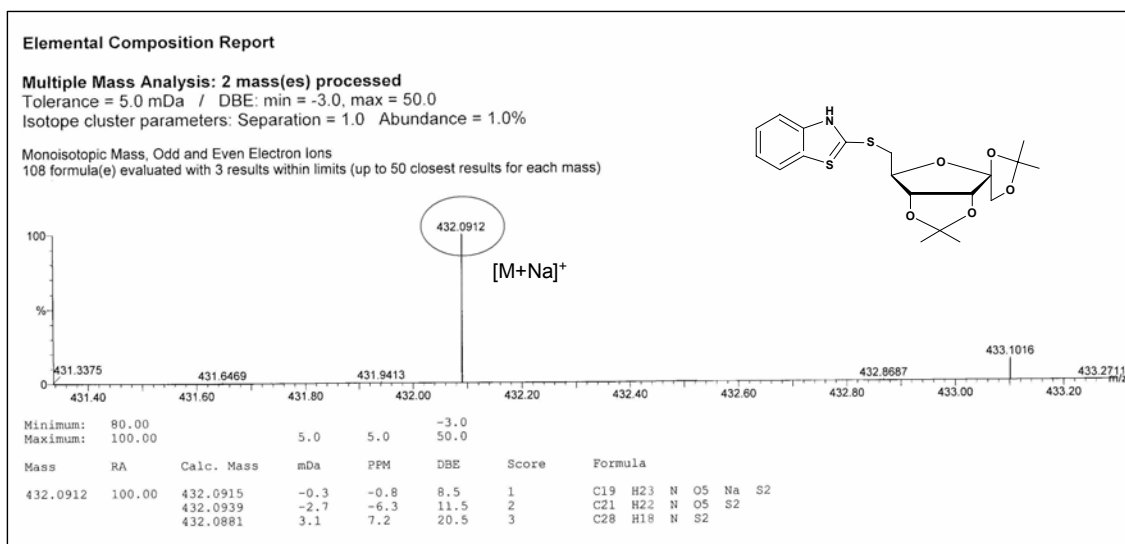


Figura 51: espectro de massas HRMS do composto **19a**

2.4.5.1 - Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol-β-D-psicofuranose **19a**

As desproteções das hidroxilas de C-1', C-2', C-3' e C-4' foram realizadas utilizando o mesmo método descrito anteriormente para as outras reações de hidrólise, ou seja, em presença de ácido trifluoroacético, água e BF_3OME_2 .

Inesperadamente, esta reação de hidrólise apresentou alguns inconvenientes, como um maior tempo de reação e a não consumição total do material de partida. Devido a este fato foi possível notar uma maior presença de impurezas no espectro de RMN de hidrogênio, além de um rendimento bastante inferior do que os valores obtidos para as outras hidrólises.

Após a verificar que a reação não sofria evolução, o meio foi neutralizado com hidróxido de amônio a pH neutro e, em seguida, o solvente foi removido a vácuo. O composto **18a** foi submetido à purificação obtendo-se um rendimento para as hidrólises de 25%.

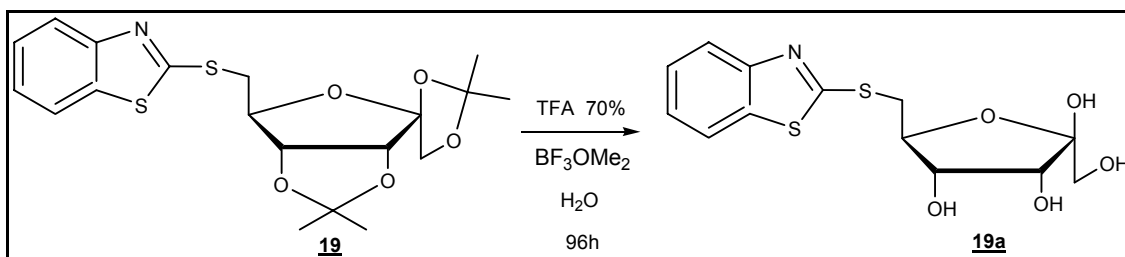


Figura 52: esquema de reação para obtenção do composto **19a**

No espectro de RMN de ^1H foi possível perceber a ausência dos quatro simpletos entre δ 2,00 e 1,00 ppm, antes presentes, referentes aos prótons metílicos dos dois grupos isopropilídenos. A ausência destes sinais adicionada a presenças dos outros referentes ao carboidrato e ao 2-mercaptopbenzotiazol comprovam a formação do composto polihidroxilado almejado.

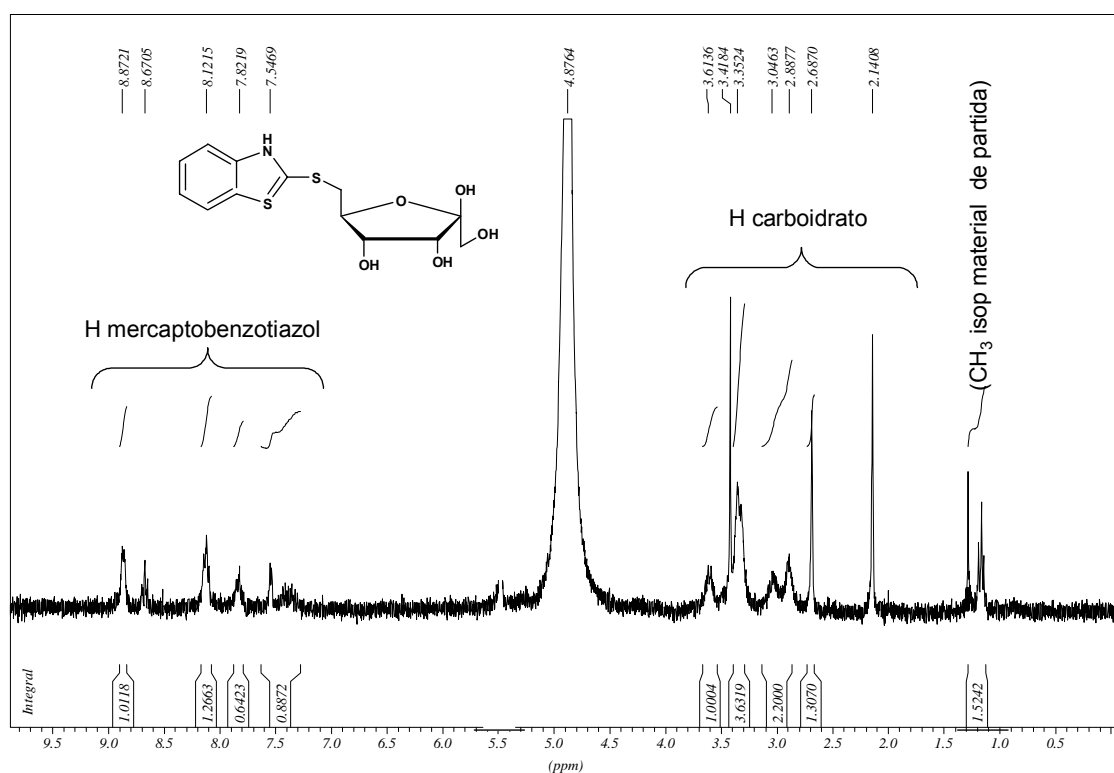


Figura 53: espectro de RMN de ^1H do composto **19a**

2.5 - Conclusões

Obtenção de heterociclos condensados a Psicofuranose (análogos da 5-metiltioribose)

Durante a realização do presente trabalho foram possíveis, também, as sínteses de heterociclos condensados a Psicofuranose, na posição 6', a partir do composto halogenado **4**.

Esta parte proporcionou obter mais 10 compostos inéditos: **15** – **19** e **15a** – **19a**. Estes derivados são análogos da **5-metiltioribose** que, juntamente com Adenina, é produzida após a ação da enzima MeSAdo/AdoHcy nucleosidase, que cliva a ligação ribosídica do nucleosídeo MeSAdo.

Assim, as moléculas sintetizadas no presente capítulo (análogas da 5-metiltioribose) podem inibir a ação da enzima **MeSAdo/AdoHcy nucleosidase**, num processo de deslocamento do equilíbrio do tipo *feedback*, impedindo as posteriores etapas para conclusão do ciclo metabólico do parasita, especialmente do gênero *Leishmania sp.*

Estes compostos foram enviados para análises que permitirão avaliar suas capacidades farmacológicas.

2.6 – Parte Experimental

As reações de acoplamentos dos heterociclos na posição 6' do carboidrato ocorreram, basicamente, nas mesmas condições para todos os casos.

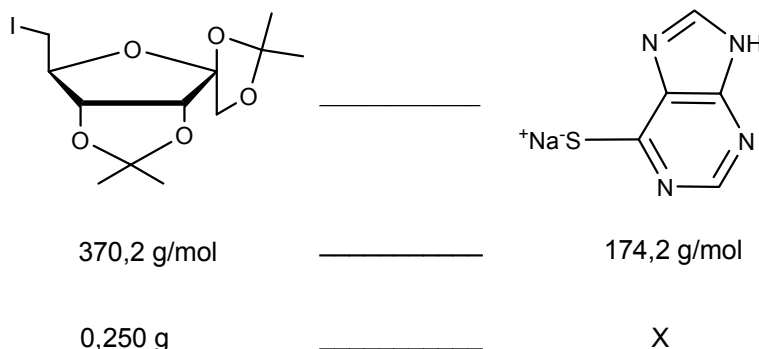
Os procedimentos resumem-se da seguinte forma: promoveu-se as desprotonações do átomo de enxofre dos tio-reagentes através da adição de NaH em DMF, obtendo-se os sais de sódio. Para obter a quantidade de hidreto de sódio e do reagente a ser acoplado, fez-se um cálculo indireto.

Em nível de exemplificação foi descrito, a seguir, os cálculos para o acoplamento da 6-mercaptopurina. Os cálculos de todas as outras reações de acoplamento foram feitos de maneira análoga.

2.6.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 15

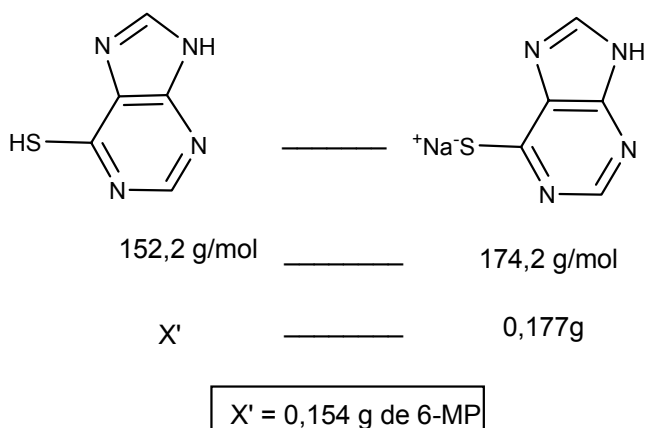
As quantidades dos reagentes foram calculadas da seguinte maneira:

1) Cálculo da quantidade do sal:

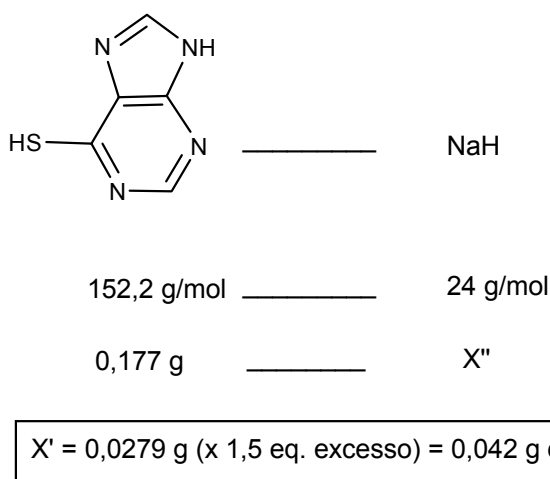


$$X = 0,118\text{g} \times 1,5 \text{ eq. excesso} = 0,177 \text{ g do sal}$$

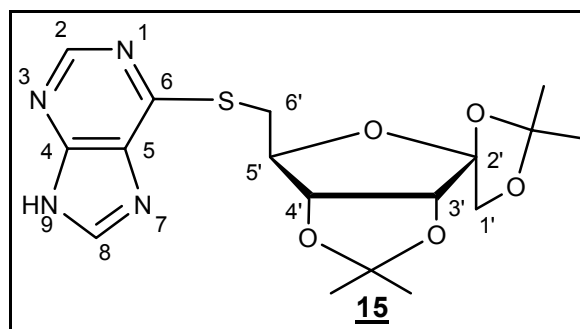
2) Cálculo da quantidade de 6-mercaptapurina:



3) Cálculo da quantidade de hidreto de sódio:



Em um balão de 50 mL foram transferidos 0,177 g (1,01mmol) do sal da 6-Mercaptapurina e diluídos em 10 mL de DMF. Em seguida, 0,250 g (0,675 mmol) do carboidrato iodado **4** foram adicionados na mistura. A reação permaneceu sob constante agitação e aquecimento a 100 °C durante 48 horas, quando foi constatado por CCDS (8:2 Hexano/AcOEt) o consumo do material de partida, com formação de um composto de maior polaridade (R_f = 0,3). O solvente foi evaporado em rotaevaporador e o resíduo purificado em coluna cromatográfica, utilizando-se como solventes de eluição acetato de etila e hexano e obteve-se 0,180 g (0,556 mmol) do composto **15** (rendimento 67%).



F.M = C₁₇H₂₂N₄O₅S

M.M = 394,45 g/mol

Característica física = óleo

R_f = 0,2 (AcOEt/Hex 2:8) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄, lâmpada U.V.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 8,74 (1H, s, H-2); 8,21 (1H, s, H-8); 4,87 (1H, d, H-3'); 4,71 (1H, d, J_{4',3'} = 5,70 Hz, H-4'); 4,49 (1H, t, J_{1',1''} = 7,68 Hz, H-1'); 4,31 (1H, d, H-1''); 4,10 (1H, m, H-5'); 3,62 (2H, m, H-6' e H-6''); 1,52; 1,40; 1,30; 1,27 (4 × 3H, 4 × s, 2 × isopropilideno).

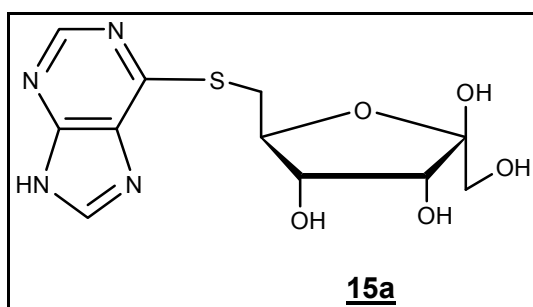
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 159,5 (C-2); 151,9 (C-4); 149,6 (C-6); 141,8 (C-5); 114,0 (C-8); 112,8 (C-2'); 112,0; (2 × C_q isopropilideno); 84,0 (C-5'); 83,8 (C-3'); 83,8 (C-4'); 70,0 (C-1'); 31,6 (C-6', CH₂-S); 26,7 (2 × CH₃ isopropilideno); 26,4 (2 × CH₃ isopropilideno).

ESI-MS (TOF), m/z: valores teóricos [M + Na]⁺ 417,1 e [M + H]⁺ 395,1 ; valores experimentais: [M + Na]⁺ 417,1 e [M + H]⁺ 395,2.

IV (KBr), $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3105 (estiramento CH aromático), 2989 e 2812 (estiramento de C-H alifático), 1558 a 1386 (estiramento C=C do anel aromático), 1213 (estiramento CN), 1070 (estiramento assimétrico das ligações C-O-C do carboidrato) e 723 (deformação angular CH aromático fora do plano).

2.6.1.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(6-mercaptopurina)-D-psicofuranose 15a

Em um balão de 50 mL foram transferidos 0,180 g (0,572 mmol) do composto 15. Em seguida, adicionou-se 3 mL de água destilada e, posteriormente, gotejou-se 1 mL de ácido trifluoroacético e 1 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$. A mistura permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 72 horas. Através de CCDS ($R_f = 0,2$ MeOH/ CH_2Cl_2 , 9:1), verificou-se a formação de um produto polar. A solução foi neutralizada com hidróxido de amônio concentrado até atingir pH 7 e os solventes foram removidos a vácuo a temperatura ambiente. Em seguida, o resíduo foi submetido à purificação por CCS utilizando-se metanol e diclorometano como eluentes (9:1). Assim, obteve-se 0,100 g (0,318 mmol) de 15a (rendimento de 70%).



F.M = $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$

M.M = 314,32 g/mol

Característica física = óleo amarelo claro

$R_f = 0,2$ (AcOEt/Hex 4:6) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

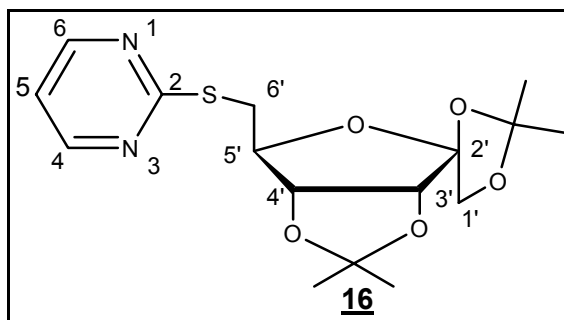
RMN ^1H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 8,62 (1H, s, H-2); 8,31 (1H, s, H-8); 4,12 (1H, m, H-3'); 4,01 (1H, d, $J_{1',1''} = 5,22$ Hz, H-1'); 3,66 (2H, m, H-1'' e H-5'); 3,48 (1H, s, H-6'); 3,28 (1H, m, H-6'').

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 153,1 (C-2); 153,0 (C-4); 144,6 (C-6); 144,5 (C-5); 107,2 (C-8); 105,0 (C-2'); 82,5 (C-5'); 76,3 (C-3'); 71,9 (C-4'); 65,1 (C-1'); 32,0 (C-6').

ESI-MS (TOF), m/z: valor teórico $[M + Na]^+$ 337 ; valor experimental: $[M + Na]^+$ 337,1.

2.6.2 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose **16**

Em um balão de 100 mL foram adicionados 0,411 g (3,0 mmol) do sal da 2-Mercaptopirimidina e diluídos em 10 mL de DMF. Em seguida, 0,30 g (0,810 mmol) do carboidrato iodado **4** foram adicionados na mistura. A reação permaneceu sob constante agitação e aquecimento a 100 °C durante 48 horas. Foi constatado por CCDS ($R_f = 0,2$, AcOEt/Hex, 2:8) o desaparecimento do material de partida e a formação de um composto de menor R_f . O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica, utilizando-se acetato de etila e hexano como eluentes. O composto **16** foi obtido com 77% de rendimento (0,22 g (0,621 mmol)).



F.M = $C_{16}H_{22}N_2O_5S$

M.M = 354,42 g/mol

Característica física = óleo

$R_f = 0,23$ (AcOEt/Hex 2:8) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz):); 8,49 (2H, d, H-4 e H-6); 6,95 (1H, m, H-5); 4,81 (1H, d, $J_{3',4'} = 5,94$ Hz, H-3'); 4,67 (1H, d, H-4'); 4,40 (1H, m, H-5'); 4,28 (1H, d, $J_{1',1''} = 5,56$ Hz, H-1'); 4,03 (1H, d, H-1''); 3,43 (1H, m, H-6''); 3,31 (1H, m, H-6'); 1,38; 1,35; 1,29; 1,23 (4 \times 3H, 4 \times s, 2 \times isopropilideno).

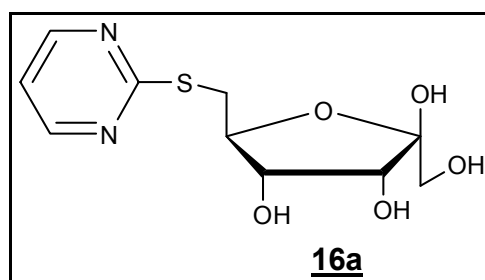
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz): 171,9 (C-2); 157,9 (C-6); 157,7 (C-4); 132,5 (C-5); 114,4 (C-2'); 113,1; 112,3 (2 \times Cq isoprop.); 86,1 (C-

5'); 84,2 (C-3', C-4'); 70,2 (C-1'); 34,4 (C-6'); 26,9; 26,8; 25,5; 23,2 (4 × CH₃, 2 × isopropilideno).

IV (KBr), $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 2989 (estiramento simétrico de CH), 1547 (estiramento C=C do anel aromático), 1387 (estiramento CN), 1068 (estiramento assimétrico das ligações C-O-C carboidrato).

2.6.2.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptopirimidina)- β -D-psicofuranose **16a**

O composto **16** (0,22 g, 0,621 mmol) foi dissolvido em uma solução de água (7 mL) e THF (3 mL) e, posteriormente, 2,0 mL de ácido trifluoroacético foram adicionados na mistura. Após a solubilização parcial do óleo, gotejou-se 1 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas. Através da verificação por CCDS constatou-se a formação de um produto polar ($R_f = 0,3$, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 98:2). Em seguida, a mistura foi neutralizada até atingir pH 7 e o solvente foi removido a vácuo. O óleo obtido foi purificado em por CCS com uma mistura de solventes de alta polaridade ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 9:1) obtendo-se 0,160 g (5,83 mmol) do composto polihidroxilado **16** (rendimento de 94%).



F.M = $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$

M.M = 274,29 g/mol

Característica física = óleo

$R_f = 0,3$ (AcOEt/Hex 4:96) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

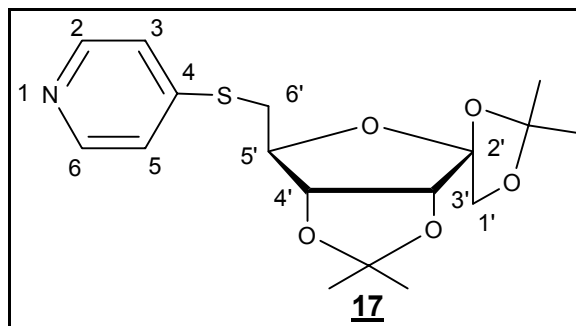
RMN ^1H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 8,56 (2H, m, H-4 e H-6); 7,14 (1H, m, H-5); 4,21 (1H, d, H-3'); 4,12 (1H, d, $J_{4',3'} = 5,78$ Hz, H-4'); 3,98 (1H, m, H-1'); 3,72 (1H, m, H-1''); 3,72 (1H, m, H-5'); 3,43 (1H, m, H-6'); 3,31 (1H, m, H-6'').

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 158,8 (C-2); 118,3 (C-6); 118,2 (C-4); 104,8 (C-5); 104,0 (C-2'); 82,5 (C-5'); 75,2 (C-3'); 71,9 (C-4'); 65,0 (C-1'); 34,2 (C-6').

ESI-MS (TOF), m/z: valor teórico $[M + Na]^+$ 297,1 ; valor experimental $[M + Na]^+$ 297,0.

2.6.3 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(4-mercaptopiridina)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose 17

Em um balão de 100 mL foram transferidos 0,672 g (5,04 mmol) do sal da 2-Mercaptopiridina e diluídos em 10 mL de DMF. Posteriormente, 0,30 g (0,810 mmol) do carboidrato iodado 4 foram adicionados na mistura. A reação permaneceu sob agitação e aquecimento a 90 °C durante 72 horas. Após a verificação do término da reação por CCDS, $R_f = 0,4$ (Hex/AcOEt, 8:2), o solvente foi evaporado em rota-evaporador e o resíduo purificado em coluna cromatográfica, utilizando-se AcOEt e Hexano como mistura de solventes. O composto 18 foi obtido em 0,210 g (0,594 mmol) com 73% rendimento.



F.M = $C_{17}H_{23}NO_5S$

M.M = 353,43 g/mol

Característica física = sólido amarelo

$R_f = 0,4$ (AcOEt/Hex 4:96) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

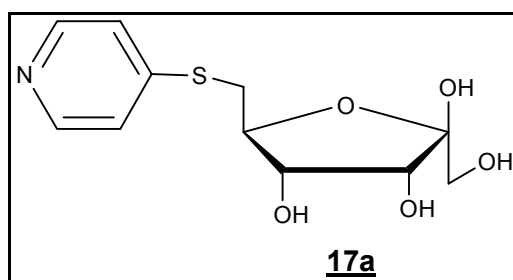
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz): 8,40 (2H, d, H-2 e H-6); 7,16 (2H, d, H-3 e H-5); 4,77 (1H, d, $J_{3',4'} = 5,25$ Hz, H-3'); 4,71 (1H, d, H-4'); 4,28 (1H, d, H-1'); 4,23 (1H, m, H-5'); 4,05 (1H, d, $J_{1'',1'} = 9,66$ Hz, H-1''); 3,28 (1H, m, H-6''); 3,09 (1H, m, H-6''); 1,49; 1,40; 1,39; 1,30 (4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz): 149,1 (C-2); 149,1 (C-6); 148,5 (C-4); 121,0 (C-3, C-5); 114,0 (C-2'); 113,1; 112,1 (2 \times Cq isopropilideno); 85,4 (C-5'); 83,9 (C-3'); 83,2 (C-4'); 69,9 (C-1'); 34,0 (C-6'); 27,5; 26,6; 26,5; 26,5 (4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno)

IV (KBr), $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 2989 (estiramento simétrico de CH), 1545 (estiramento C=C do anel aromático), 1387 (estiramento CN), 1068 (estiramento assimétrico das ligações C-O-C carboidrato).

2.6.3.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(4-mercaptopiridina)- β -D-psicofuranose **17a**

O composto **17**, 0,21 g (0,594 mmol), foi dissolvido em uma mistura de 10 mL de água e THF (7:3) e, em seguida, 2,0 mL de ácido trifluoroacético foram adicionados na solução. Após a solubilização parcial do óleo, gotejou-se 1 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas. Constatou-se por CCDS ($R_f = 0,3$ MeOH/ CH_2Cl_2 , 8:2) a finalização do material de partida. Em seguida, a reação foi neutralizada com adição de hidróxido de amônio até atingir pH neutro e o solvente foi evaporado a pressão reduzida. Posteriormente, realizou-se a purificação do resíduo por CCS onde foi preciso um gradiente de eluição de alta polaridade (MeOH/ CH_2Cl_2 9,5:0,5) obtendo-se 0,157 g do composto polioxilado **17a** (96% de rendimento).



F.M = $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_5\text{S}$

M.M = 273,31g/mol

Característica física = sólido amarelo

$R_f = 0,5$ (AcOEt/Hex 4:96) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

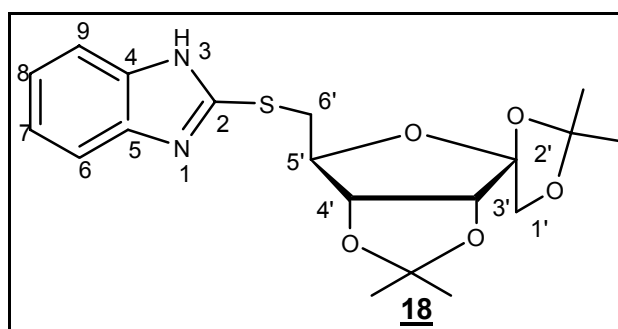
RMN ^1H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 8,25 (2H, d, H-2 e H-6); 7,33 (2H, d, H-3 e H-5); 4,00 (1H, d, $J_{3',4'} = 5,76$ Hz, H-3'); 3,91 (1H, m, H-4'); 3,40 (1H, m, H-5'); 3,40(1H, m, H-1'); 3,30 (1H, m, H-6'); 3,20 (1H, m, H-6'').

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 154,4 (C-2); 154,0 (C-6); 148,5 (C-4); 148,3 (C-3); 122,5 (C-5); 105,1 (C-2'); 81,4 (C-5'); 76,9 (C-3'); 76,3 (C-4'); 72,0 (C-1'); 34,2 (C-6').

ESI-MS (TOF), m/z : valor teórico $[\text{M} + \text{H}]^+$ 273,0 ; valor experimental $[\text{M} + \text{H}]^+$ 274,0.

2.6.4 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzimidazol)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno-β-D-psicofuranose 18

Em um balão de 100 mL foram transferidos 0,30 g (1,74 mmol) do sal de 2-Mercaptobenzimidazol e dissolvidos em DMF (10 mL). Após a total homogeneização da mistura, 0,250 g (0,675 mmol) do carboidrato iodado 4 foram adicionados na solução. A reação permaneceu sob agitação e aquecimento a 100 °C durante 48 horas. Então, através de verificou-se o total consumo do material de partida e a formação de um produto de maior polaridade ($R_f = 0,19$, 1:9 AcOEt/Hex). O solvente foi removido a vácuo e o resíduo purificado em CCS. Foi utilizado AcOEt e Hexano como eluentes e obteve-se 0,200 g (0,489 mmol) do composto protegido 18 (60% de rendimento).



F.M = $C_{20}H_{28}N_2O_5S$

M.M = 408,51 g/mol

Característica física = sólido amarelo claro

$R_f = 0,19$ (AcOEt/Hex 1:9) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

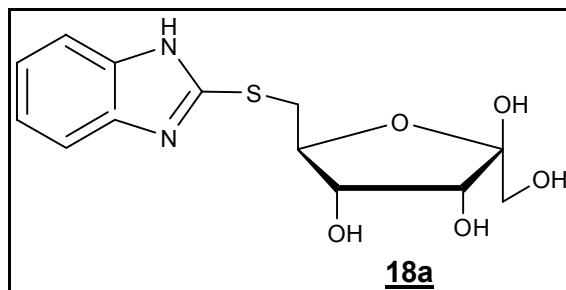
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm), J (Hz): 7,63 (2H, d, $J_{6,7} = J_{8,9} = 8,13$ Hz, H-6 e H-9); 7,30 (2H, t, H-7 e H-8); 4,81 (1H, d, H-3'); 4,72 (1H, d, $J_{4',3'} = 5,7$ Hz, H-4'); 4,51 (1H, m, H-5'); 4,33 (1H, d, H-1''); 4,10 (1H, d, $J_{1',1''} = 9,0$ Hz, H-1'); 3,68 (2H, m, H-6' e H-6''); 1,57; 1,52; 1,50; 1,41(4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 253,1 (C-4); 139,1 (C-9); 132,5 (C-5); 128,8 (C-8); 122,6 (C-7, C-6); 114,0 (C-2'); 112,9; 112,1 (2 \times C isopropilideno); 85,5 (C-5'); 84,3 (C-3'); 83,7 (C-4'); 69,9 (C-1'); 35,7 (C-6'); 26,9; 26,9; 26,6; 25,2 (4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

IV (KBr), $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3151 (estiramento de C-H aromático), 2988 (estiramento simétrico de NH), 1742 e 1620 (estiramento simétrico de C=N), 1514 a 1383 (estiramento C=C do anel aromático), 1269 e 1213 (estiramento CN), 1072 (estiramento assimétrico das ligações C-O-C carboidrato, 743 (deformação angular CH aromático fora do plano).

2.6.4.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzimidazol)-β-D-psicofuranose **18a**

0,20 g (0,509 mmol) do composto **18** foram transferidos para um balão de 50 mL, onde foram adicionados 7 mL de água destilada e 2,0 mL de ácido trifluoracético. Após a dissolução parcial do sólido, adicionou-se 1 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 72 horas. A observação por CCDS mostrou a formação de um produto polar ($R_f = 0,2$ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 2:8). Em seguida, a reação foi neutralizada com NH_4OH até atingir pH 7. O solvente evaporado em rota-evaporador obtendo-se 0,097 g (0,295 mmol) de **18a** (60% de rendimento).



F.M = $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$

M.M = 328,4 g/mol

Característica física = sólido amarelo

$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8:2) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

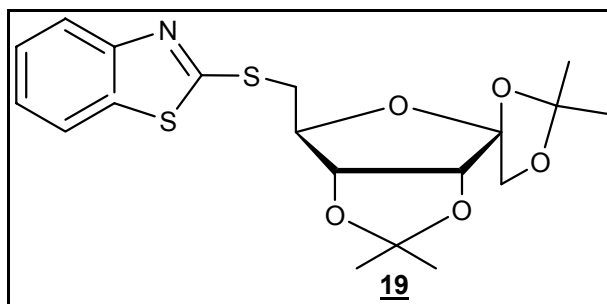
RMN ^1H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 7,45 (2H, m, H-6 e H-9); 7,21 (2H, m, H-7 e H-8); 4,07 (2H, m, H-3' e H-4'); 3,44 (2H, m, H-1'' e H-5'); 3,29 (1H, d, $J_{1'1''} = 11,8$ Hz, H-1').

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 152,2 (C-4); 124,3 (C-9 e C-5); 114,7 (C-8, C-7 e C-6); 105,2 (C-2'); 82,9 (C-5'); 74,9 (C-3'); 71,9 (C-4'); 64,6 (C-1'); 36,3 (C-6').

ESI-MS (TOF), m/z: valores teóricos $[\text{M} + \text{H}]^+$ 313,0 e $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 335,0 ; valores experimentais $[\text{M} + \text{H}]^+$ 313,0 e $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 335,0.

2.6.5 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol)-1,2:3,4-Di-O-isopropilideno- β -D-psicofuranose **19**

0,579 g (3,06 mmol) do sal de 2-Mercaptobenzotiazol foram transferidos para um balão de fundo redondo de 100 mL. Em seguida, adicionou-se 6 mL de DMF. Após a total solubilização, foram transferidos para a reação 0,35 g (0,945 mmol) do carboidrato iodado **4**. A reação permaneceu sob agitação e aquecimento a 100 °C durante 96 horas. Observou-se por CCDS o total consumo do material de partida e a formação de um produto de Rf = 0,6 (eluente AcOEt/Hex, 3:7). O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado em CCS, utilizando-se AcOEt e Hexano como eluentes. Foram obtidos 0,290 g (0,681 mmol) do produto **19** (72% rendimento).



F.M = C₂₀H₂₇NO₅S₂

M.M = 425,6 g/mol

Característica física = óleo amarelo escuro

Rf = 0,59 (Hex/AcOEt 9:1) Reveladores = solução 20% etanólica de H₂SO₄, lâmpada U.V.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 7,87 (1H, d, J_{9,6} = 8,34 Hz, H-8); 7,73 (1H, m, H-8); 7,42 (1H, m, H-7);); 7,30 (1H, m, H-6); 4,86 (1H, d, H-3'); 4,71 (1H, d, J_{4,3} = 5,7 Hz, H-4'); 4,52 (1H, m, H-5'); 4,21 (1H, d, J_{1'',1} = 9,6 Hz, H-1''); 4,11(1H, d, H-1'); 3,63 (2H, m, H-6' e H-6''); 1,54; 1,43; 1,33; 1,29 (4 \times 3H, 4 \times s, 2 \times isopropilideno).

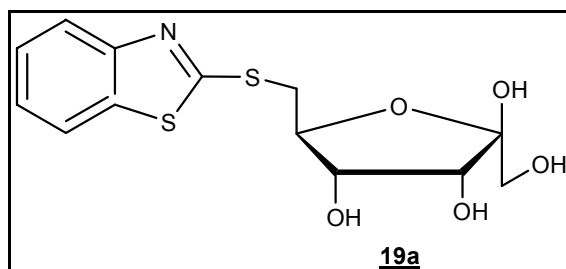
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 153,0 (C-4); 126,2 (C-9); 124,5 (C-5 e C-8); 121,7 (C-7 e C-6); 114,0 (C-2'); 112,1 (2 \times isopropilideno); 85,5 (C-5'); 83,8 (C-3' e C-4'); 69,9 (C-1'); 36,2 (C-6'); 26,6; 25,2 (4 \times CH_3 , 2 \times isopropilideno).

ESI-MS (TOF), m/z : valor teórico $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 432,09 ; valor experimental $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 432,09.

IV (KBr), $\bar{\nu}$ (cm^{-1}): 3423 (estiramento de C-H aromático), 2986 (estiramento simétrico de NH), 1618 (estiramento simétrico de C=N), 1429 (estiramento C=C do anel aromático), 1261 (estiramento CN), 1080 (estiramento assimétrico das ligações C-O-C carboidrato, 858 e 756 (deformação angular CH aromático fora do plano).

2.6.5.1 - Síntese do 6'-desoxi-6'-(2-mercaptobenzotiazol)-β-D-psicofuranose **19a**

0,290 g (0,708 mmol) do composto **19** foram transferidas para um balão de 50 mL, posteriormente adicionou-se 7 mL de água destilada e 5,0 mL de ácido trifluoracético. Após a dissolução parcial do sólido, 3 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$ foram gotejados na mistura. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 96 horas. Foi verificada por CCDS a formação de um produto mais polar ($R_f = 0,2$ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 3:8). Em seguida, a reação foi neutralizada com NH_4OH até atingir pH neutro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se 0,06 g (0,173 mmol) de **19a** (25% rendimento aparente).



F.M = $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{S}_2$

M.M = 345,4 g/mol

Característica física = óleo amarelo escuro

$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8:2) Reveladores = solução 20% etanólica de H_2SO_4 , lâmpada U.V.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm), J (Hz): 8,87 (1H, m, H-9); 8,12 (1H, m, H-6); 7,82 (1H, m, H-8); 7,34 (1H, m, H-7); 3,61 (1H, m, H-3'); 3,42 (3H, H-1', H-4', e H-5'); 3,40 (3H, m, H-1'', H-6' e H-6'').

Referências Bibliográficas

- 1 – Sing, S.; Sivakumar, R.; *Jour. Infect Chemother*, **2004**, 10, 307-315.
- 2 – Junior, G. G.; Tesh, R. B.; *Clin. Microbiol.*, **1993**, Rev. 6, 230 – 250
- 3 – Landfear, S. M.; Ullman, B.; Carter, N. S.; Sanchez, M. A.; *Eukaryot Cell*, **2004**, 3, 245 – 254.
- 4 – Rath, S.; Trivelin, L.; Imbrunito, T. R.; Tomazela, D. M.; Jesús, M. N. e Marzal, P. C.; *Química Nova*, **2003**, 26(4), 550-555.
- 5 – Braga, F. G.; Coimbra, E. S.; Matos, M. O.; Carmo, A.. M. L.; Canci, M. D.; da Silva, A. D.; *Eur. Jour. Chem.*, **2007**, 42, 530 – 537.
- 6 – Mello, H. D.; Silva, E. F.; Echevarria, A.; Carvalho, M. G.; *Química Nova*, **1999**, 22(1), 26-30.
- 7 - Fidock, D. A.; Rosenthal, P. J.; Croft, S. L.; Brun, R.; Nwaka, S.; *Nature Rev.*, **2004**, 3, 509-520.
- 8 - Lee, J. E.; Settembre, E. C.; Cornell, K. A.; Riscoe, M. K.; Sufrin, J. R.; Ealick, S. E.; Howell, P.L., *Biochem.*, **2004**, 43, 5159-5169 e referências citadas.
- 9 – Zitouni, G. T.; Demirayak, S.; Ozdemir, A.; Kaplancikh, Z. A.; Yildiz, M. T.; *Eur. Joun. Med. Chem.*, **2003**, 39, 267 – 272.
- 10 – Andrzejewska, M.; Mulia, L. Y.; Rivera, R. C.; Tapia, A.; Vilpo, L.; Vilpo, J.; Kazimierczuk, Z., *Eur. Joun. Med. Chem.*, **2002**, 37, 973 – 978.
- 11 – Klimesová, V.; Koci, J.; Pour, M.; Stachel, J.; Waisser, K.; Kaustová, J.; *Eur. Joun. Med. Chem.*, **2002**, 37, 409 – 418.

12 – Klimesová, V.; Svoboda, M.; Waisser, K.; Kaustová, J.; Buchta, V.; Kralová, K.; *Eur. Joun. Med. Chem*, **1999**, *34*, 433 – 440.

13 – Barry III, C. E.; Slayden, R. A.; Sampson, A. E.; Lee, R. E.; *Biochemical Pharmacology*, **2000**, *59*, 221 – 231.

14 – Brennan, P. J.; *Tuberculosis*, **2003**, *83*, 91 – 97.

15 – Katiyar, D.; Tiwari, V. K.; Tewari, N.; Verma, S. S.; Sinha, S.; Gaikwad, A.; Srivastava, A.; Chaturved, V.; Srivastava, R.; Srivastava, B. S.; Tripathi, R. P.; *Eur. Joun. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 351 – 360.

16 – Gillsepie, S. H.; McHugh, T. D.; *Trends and Microbiology*, **sept 1997**, *5*, nº 9.

17 – Slauden, R. A.; Barry III, C. E.; *Microbes and Infection*, **2000**, 659 – 669.

18 – Duncan, K.; Barry III, C. E.; *Current Opinion in Microbiology*, **2004**, *7*, 460 – 465.

19 - Prisbe, E. J.; Smejkal, J.; Verheyden, J. P. H.; Moffat, J. G., *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 1836-1846.

20 - Christensen, S. M.; Hansen, H. F.; Kock, T.; *Organic Process Research and Development*, **2004**, 777-780.

21 – Hansske, F.; Madej, D.; Robins, M.; *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 125.

22 – Bio, M. M.; Xu, F.; Waters, M.; Williams, J. M.; Savary, K. A.; Cowden, C. J.; Yang, C.; Buck, E.; Song, Z. J.; Tschaen, D. M.; Volante, R. P.; Reamer, R. A.; Grabowski, E. J. J.; *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6257 – 6266.

23 - Bullock, M. W.; *J. Org. Chem.*, **1957**, *22*, 568.

24 - Pradeepkumar, P. I.; Zamaratski, E.; Foldese, A; Chattopadhyaya, J. *Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2001**, 2, 402-408.

25 – Rapp, M.; Haubrich, T. A.; Perrault, J.; Mackey, Z. B.; McKerrow, J. H.; Chiang, P. K.; Wnuk, S. F.; *J. Med. Chem*, **2006**, 49, 2096 – 2102.

26 - Bullock, M. W.; *J. Org. Chem.*, **1957**, 22, 568.

27 – Souza, M. V. N.; Ferreira, S. B.; Mendonça, J. S.; Costa, M.; Rabello, F. R., *Quim. Nova*, **2005**, 28, 77-84.

28 - Klimesová, V.; Svoboda, M.; Waisser, K.; Kaustová, J.; Buchta, V.; Králová, K., *Eur. Med. Chem.*, **1999**, 34, 433-440.

29 - Goodman, I. ; Salce, L.; Hitchings, G. H.; *J. Méd. Chem*, **1968**, 11, 516-521.

30 - Bach, J. F. and Darlenne, *M. transplantation*, **1971**, 12 (4), 253.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)