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

DIOGO TEIXEIRA CARVALHO

SÍNTESE DE DERIVADOS DE D-GALACTOSE INIBIDORES POTENCIAIS DE INTERAÇÃO LECTINA-CARBOIDRATO

Belo Horizonte - MG
2008

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

DIOGO TEIXEIRA CARVALHO

SÍNTESE DE DERIVADOS DE D-GALACTOSE INIBIDORES POTENCIAIS DE INTERAÇÃO LECTINA-CARBOIDRATO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Alves

Belo Horizonte - MG
2008

Carvalho, Diogo Teixeira.
C331s Síntese de derivados de D-galactose inibidores potenciais de interação lectina-carboidrato / Diogo Teixeira Carvalho – 2008.
236 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Alves.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Carboidratos – Teses. 2. Hemaglutinação – Teses. 3.Eritrofagocitose – Teses. 4.Química farmacêutica – Teses. I. Título. II. Alves, Ricardo José. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia.

CDD: 615.19

Ofereço este trabalho, com amor, à minha esposa Francine,
que há muito tempo abraçou meus sonhos como
seus, e que é meu suporte, minha companheira.
Enfim, uma parte de mim.

Dedico-o com alegria aos meus pais, Antônio e Ivolina,
à minha querida irmã Elisa, e ao Hugo, meu primeiro sobrinho,
que tantas alegrias tem nos trazido com sua existência.

AGRADECIMENTOS

Ao caríssimo professor Ricardo, orientador desse trabalho e que o fez de forma contagiante, responsável e competente, além de ter depositado em mim confiança no sentido de me estimular e guiar no aprendizado de diversos aspectos da química orgânica. Agradeço, ainda, pela amizade além dos limites do laboratório e pelo bom humor freqüente, mesmo em situações difíceis.

À querida professora Dora, pelas conversas otimistas e revigorantes, pela clareza incomum de suas aulas e pelo aconchego e segurança encontrados na sua amizade.

Aos professores Basílio e Thaïs, do Laboratório de Química Farmacêutica, e Rose Brondi, do Departamento de Química, pela recepção calorosa e convivência amigável em todos esses anos. Ao professor Fernão, do Laboratório de Fitoquímica, pelas discussões sempre valiosas.

À Rute, pelo companheirismo, amizade, alegria e reflexões com que me tem presenteado ao longo desse tempo. Sua existência foi fundamental durante os altos e baixos que se alternaram nesse período e o mesmo se estende à sua famíla.

À Rozângela, por seu espírito elevado e humor cativante, que me ensinaram a ver cada detalhe do nosso dia-a-dia como um aprendizado a mais.

À Danielle, amiga fidelíssima, por todo seu auxílio e desprendimento, muitas vezes abrindo mão de suas tarefas em função de auxiliar nas minhas.

À Anna Paola, companheira de toda essa trajetória, minha sincera gratidão pela amizade, cumplicidade e competência exemplar.

Ao Daniel, por sua companhia, humor expansivo e prontidão em auxiliar-me nos quebra-cabeças computacionais.

Aos amigos mais recentes, mas não menos importantes nessa jornada: André, Hugo, Magno, Marilda e Renato, pelo apoio incondicional, pelas risadas das bobeiras que inventávamos para nos distrair e convívio sempre prazeroso no ambiente de trabalho e fora dele. Aos ex-alunos de iniciação científica que trabalharam comigo durante esse projeto, Flávio, Maria Angélica e Luiz Carlos, obrigado pela dedicação.

Aos outros amigos do Laboratório de Química Farmacêutica ou que o freqüentavam, mesmos vindos de outros locais: Arianne, André Mainard, Denise, Cristiane, Janaína, Fernando Henrique, Zé, Celinho, Léo, Suzan, Flávia, Soraia, Alisson, Fernanda, Carla, Ana Paula, Fabiana, Carol, Aline, Edson, Francisco, Rafael, Taísia, Mayura, Raquel, Renata, Graziele, Saulo e tantos outros.

À Lavina e Soninha, pelo carinho no bom dia de cada manhã e pelas conversas engraçadas que compartilhamos. À Rose, pelo apoio incomum na secretaria do PPGCF.

Ao Sílvio Dolabella, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pelo pronto auxílio na realização dos ensaios de inibição de eritrofagocitose. À grandes amigas Kátia Botelho (FCF-USP) e Denise Becker (FEA-UNICAMP) pelo auxílio com aquisição de material bibliográfico.

Aos meus atenciosos primos Rafael e Gabriel pela receptividade na minha chegada a Belo Horizonte e gentileza durante minha estada nessa cidade.

À amiga Francisca, por tantos diálogos, reflexões, desesperos, sonhos e ideais compartilhados. Ao velho e grande amigo Heleno, presente em tantos acontecimentos, e à sua tia Luzia, pelo acolhimento em sua casa.

Ao Centro Universitário de Lavras, UNILAVRAS, pelo estímulo à realização desse curso e pela liberação em situações especiais. Agradeço especialmente aos professores e amigos que me entusiasmaram durante esse período para a conclusão desse curso.

Aos meus antigos e atuais alunos de iniciação científica do UNILAVRAS, que me suportaram nos momentos de impaciência e indisponibilidade, mas que também comemoraram comigo cada pequena vitória alcançada: Lidiane, Thiago, Fabiana, Jaqueline, Felipe, José Augusto, Vitória, Cássio, Ademir, Cíntia, Leandro Carvalho, Leandro Neves, Daniel, Marco Antônio, Janaína, Wagner, Daniele, Déborah e Dayane.

Aos meus familiares que, desde o mestrado, mantiveram-se como apoiadores dos meus ideais profissionais. Meu agradecimento especial vai à Tia Déia, pelo carinho com que sempre me recebeu e me atendeu em sua casa ou qualquer outro lugar.

Aos meus sogros, Emília e Aloysio, que mesmo não entendendo bem como alguém pode querer passar tanto tempo estudando, sempre respeitaram minha decisão.

De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seria interrompido antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo. Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro.

(O Encontro Marcado – Fernando Sabino)

RESUMO

Diversos eventos relacionados ao processo de adesão celular são dependentes do reconhecimento molecular mediado por lectinas, proteínas especializadas no reconhecimento de carboidratos. Em vista disso, considera-se a possibilidade do emprego de substâncias que funcionem como antiadesinas, sejam elas derivados mono- ou multivalentes de carboidratos, que possam impedir esse evento de reconhecimento intercelular, quando dele surge um quadro patológico, como infecções e metástases. Nesse trabalho é descrita a síntese de trinta derivados monoméricos da D-galactose, dos quais dezenove são inéditos, sendo um derivado galactosilazido, quatro são galactosilamidas e galactosilsulfonamidas, doze são galactosídeos aromáticos, cinco são aminas e sete são derivados obtidos de modificações de C-6 do β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila. Os derivados foram obtidos, em geral, com rendimentos satisfatórios e caracterizados por espectrometria no infravermelho e de ressonância magnética nuclear. Os produtos finais foram avaliados como inibidores de hemaglutinação mediada pela lectina de *Erythrina cristagalli*, lectina vegetal específica para D-galactose, muito empregada como modelo de interação lectina-carboidrato. Também foi avaliada a inibição da eritrofagocitose realizada por *Entamoeba histolytica*. A eritrofagocitose é mediada por lectina específica para resíduos D-galactosídicos e *N*-acetil-D-galactosamínicos e está relacionada com o processo patogênico da infecção causada por aquele protozoário. Alguns dos galactosídeos aromáticos mostraram-se cerca de oito vezes mais potentes que a D-galactose como inibidores da hemaglutinação intermediada pela lectina de *Erythrina cristagalli*. No ensaio de eritrofagocitose, a maioria dos derivados testados não se mostrou ativa na inibição da eritrofagocitose, exceto por um derivado isopropilamínico, que foi capaz de reduzir em cerca de 65% o percentual de trofozoítos que fagocitaram hemácias.

Palavras-chave: derivados da D-galactose, lectinas, hemaglutinação, eritrofagocitose, antiadesinas.

ABSTRACT

Lectins are proteins involved in carbohydrate recognition and their interaction is important in many natural and pathogenic events, as immunological response, fertilization, embryogenesis, infection and cancer metastasis. Hence, studies aimed at antiadhesion therapy with natural and synthetic mono- or multivalent carbohydrate derivatives show promising results, mainly in infectious diseases. Herein is described the synthesis and spectrometric characterization of nineteen new substances in a total of thirty D-galactose derivatives: one galactosyl azide, two galactosyl amides, three galactosyl sulfonamides, twelve aryl galactosides and a series of seven methoxycarbonylphenyl galactosides derivatives obtained by modification at C-6 position. These substances were obtained in good yields and were evaluated in two biological assays, the *Erythrina cristagalli*-induced hemagglutination assay and the inhibition of erythrophagocytosis by *Entamoeba histolytica* trofozoites assay. These processes are mediated by D-galactose and D-galactose/*N*-acetyl-D-galactosamine specific lectins, respectively. Although most D-galactose derivatives were not good enough as inhibitors of hemagglutination process, some aryl galactosides showed an eight-fold increase in potency when compared to D-galactose. In the erythrophagocytosis inhibition assay, most of tested substances were not active, except one amine, the isopropyl derivative, which reduced erythrophagocytosis in 65% .

Key-words: D-galactose derivatives, lectins, hemagglutination, erythrophagocytosis, antiadhesins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das interações lectinas-carboidratos na superfície celular 25

Figura 2: Comparação da inibição da ligação de lectina *de E. histolytica* a ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA por glicosídeos de D-galactose e *N*-acetil-D-galactosamina [Adaptado de Adler *et al.*(1995). Os valores entre parênteses referem-se às concentrações inibitórias mínimas em μmol.L^{-1} das substâncias em teste necessárias para inibir especificamente 50% da ligação de ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA à membrana de *E. histolytica*] 29

Figura 3: Comparação da inibição da ligação de lectina *de E. histolytica* a ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA por *N*-acetil-D-galactosamina e derivados [adaptado de Yi *et al.*(1998); Neste estudo, os valores de IC$_{50}$ referem-se às concentrações inibitórias mínimas das substâncias em teste necessárias para inibir especificamente 50% da ligação de ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA à membrana de *E. histolytica*]..... 30

Figura 4: Derivados amídicos e sulfonamídicos de D-galactose planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular..... 38

Figura 5: Galactosídeos planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular..... 38

Figura 6: Aminas planejadas para avaliação como inibidores de processos de adesão celular..... 39

Figura 7: Galactosídeos substituídos em C-6 planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular..... 39

Figura 8: Esquema de síntese dos derivados **5** e **12**-**16** a partir da D-galactose 40

Figura 9: Esquema de síntese de **4** e **6** 41

Figura 10: Esquema de síntese das amidas **7** e **8** e das sulfonamidas **9**, **10** e **11** 42

Figura 11: Esquema de síntese de **12**-**16** pelo método de Zemplén 43

Figura 12: Esquema de síntese dos galactosídeos **28**-**33** 44

Figura 13: Formação de glicosídeos por reação de fenóxido de potássio com cloreto de glicosila (MICHAEL, 1879) 45

Figura 14: Espectro de RMN de ^{1}H do galactosídeo **18** (200 MHz, $CDCl_3$) 47

Figura 15: Espectro de RMN de ^{1}H do galactosídeo **21** (200 MHz, $CDCl_3$) 48

Figura 16: Esquema de síntese dos galactosídeos **34**-**38** 49

Figura 17: Esquema de síntese da amida **26** e das sulfonamidas **25** e **27** 50

Figura 18: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **27** (200 MHz, $CDCl_3$) 51

Figura 19: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **37** (200 MHz, DMSO-d_6) 52

Figura 20: Reação de hidrólise de **29** 53

Figura 21: Esquema de síntese das aminas **44**-**47** 53

Figura 22: Mecanismo proposto de formação de iminas 54

Figura 23: Representação esquemática da reação de aminação redutiva 55

Figura 24: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **41** (DMSO-d_6, 200 MHz) 56

Figura 25: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **46** (DMSO-d_6, 400 MHz) 57

Figura 26: Esquema de síntese de **44**-**45** via iminas **48**-**51** 58

Figura 27: Espectro de RMN de ^{1}H da base de Schiff **49** (DMSO-d_6, 200 MHz) 59

Figura 28: Formação de **52** por hidrogenólise de **48** 60

Figura 29: Rota de síntese proposta para obtenção dos derivados de **29** modificados em C-6 63

Figura 30: Mecanismo proposto para a reação de substituição de hidroxila por iodo na síntese de **58** pelo método de Garegg e Samuelsson 64

Figura 31: Estrutura proposta para o produto **53** 65

Figura 32: Mapa de contornos COSY do produto **53** (400 MHz, DMSO-d_6)..... 65

Figura 33: Mapa de contornos HSQC do produto **53** (100 MHz, DMSO-d_6)..... 66

Figura 34: Mapa de contornos HMBC do produto **53** (100 MHz, DMSO-d_6)..... 66

Figura 35: Mecanismo de formação do derivado 3,6-anidro a partir do deslocamento de um grupo abandonador 67

Figura 36: Esquema de síntese do derivado monotosilado **54** 67

Figura 37: Estrutura de **55**, subproduto da reação de tosilação de **29** 68

Figura 38: Espectro de RMN de ^{1}H de **54** (200 MHz, DMSO-d_6) 69

Figura 39: Subespectro DEPT 135 de **54** (50 MHz, DMSO-d_6) 69

Figura 40: Mapa de correlação HSQC de **55** (100 MHz, DMSO-d_6) 70

Figura 41: Mapa de correlação COSY de **55** (400 MHz, DMSO-d_6)..... 71

Figura 42: Esquema de síntese de **58** via derivado tosilado peracetilado **56** 72

Figura 43: Subespectro DEPT-135 do intermediário **57** (DMSO-d_6, 200 MHz) 73

Figura 44: Esquema de síntese do derivado C-6 azido **62** 74

Figura 45: Subespectro DEPT-135 do produto **61** (DMSO-d_6, 100 MHz) 75

Figura 46: Formação do intermediário **60** e do produto **61** 76

Figura 47: Subespectro DEPT-135 do produto **62** (DMSO-d_6, 50 MHz) 77

Figura 48: Esquema de síntese da benzamida **64** 78

Figura 49: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **64** (DMSO-d_6, 200 MHz) 78

Figura 50: Esquema de síntese das sulfonamidas **65** e **66** 79

Figura 51: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **65** (DMSO-d_6, 200 MHz) 80

Figura 52: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **66** (DMSO-d_6, 200 MHz) 81

Figura 53: Proposta de mecanismo de formação do produto **67** a partir de um intermediário *O*-sulfonilado 82

Figura 54: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **67** (DMSO-d_6, 400 MHz) 83

Figura 55: Subespectro DEPT 135 do produto **67** (DMSO-d_6, 100 MHz) 83

Figura 56: Comparação da influência do grupo C=N ou S=N sobre o deslocamento do sinal RMN de um carbono metilênico vizinho 84

Figura 57: Derivados de D-galactose empregados no ensaio de inibição de hemaglutinação.. 86

Figura 58: Derivados da D-galactose utilizados no teste de inibição de eritrofagocitose..... 88

Figura 59: Porcentagem de trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1-IMSS que fagocitaram eritrócitos humanos, após 30 minutos de interação com D-galactose, lactose ou derivados de D-galactose. Foi utilizada uma relação de um trofozoíto para 100 eritrócitos. (* = $p<0.05$)..... 89

Figura 60: Substâncias empregadas no ensaio de inibição da hemaglutinação 140

Figura 61: Substâncias empregadas no ensaio de inibição de eritrofagocitose 142

Figura 62: Espectro de RMN de ^{1}H de **14** (200 MHz, DMSO-d_6) 157

Figura 63: Espectro de RMN de ^{13}C de **14** (50 MHz, DMSO-d_6)..... 158

Figura 64: Espectro de RMN de ^{1}H de **15** (200 MHz, DMSO-d_6)..... 159

Figura 65: Espectro de RMN de ^{13}C de **15** (50 MHz, DMSO-d_6)..... 160

Figura 66: Espectro de RMN de ^{1}H de **16** (200 MHz, DMSO-d_6)..... 161

Figura 67: Espectro de RMN de ^{13}C de **16** (50 MHz, DMSO-d_6)..... 162

Figura 68: Espectro de RMN de ^{1}H de **23** (200 MHz, DMSO-d_6)..... 163

Figura 69: Espectro de RMN de ^{13}C de **23** (50 MHz, DMSO-d_6)..... 164

Figura 70: Espectro de RMN de ^{1}H de **28** (200 MHz, DMSO-d_6)..... 165

Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}C de **28** (50 MHz, DMSO-d_6)..... 166

Figura 72: Espectro de RMN de ^{1}H de **29** (200 MHz, DMSO-d_6)..... 167

Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C de **29** (50 MHz, DMSO-d_6) 168

Figura 74: Espectro de RMN de ^{1}H de **39** (200 MHz, DMSO-d_6) 169

Figura 75: Espectro de RMN de ^{13}C de **39** (50 MHz, DMSO-d_6) 170

Figura 76: Espectro de RMN de ^{1}H de **30** (200 MHz, DMSO-d_6) 171

Figura 77: Espectro de RMN de ^{13}C de **30** (50 MHz, DMSO-d_6) 172

Figura 78: Espectro de RMN de ^{1}H de **31** (200 MHz, DMSO-d_6) 173

Figura 79: Espectro de RMN de ^{13}C de **31** (50 MHz, DMSO-d_6) 174

Figura 80: Espectro de RMN de ^{1}H de **32** (200 MHz, DMSO-d_6) 175

Figura 81: Espectro de RMN de ^{13}C de **32** (50 MHz, DMSO-d_6) 176

Figura 82: Espectro de RMN de ^{1}H de **33** (200 MHz, DMSO-d_6) 177

Figura 83: Espectro de RMN de ^{13}C de **33** (50 MHz, DMSO-d_6) 178

Figura 84: Espectro de RMN de ^{1}H de **36** (400 MHz, DMSO-d_6) 179

Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C de **36** (100 MHz, DMSO-d_6) 180

Figura 86: Espectro de RMN de ^{13}C de **37** (50 MHz, DMSO-d_6) 181

Figura 87: Espectro de RMN de ^{1}H de **38** (200 MHz, DMSO-d_6) 182

Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C de **38** (50 MHz, DMSO-d_6) 183

Figura 89: Subespectro DEPT-135 de **38** (50 MHz, DMSO-d_6) 184

Figura 90: Espectro de RMN de ^{1}H de **48** (200 MHz, DMSO-d_6) 185

Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C de **48** (50 MHz, DMSO-d_6) 186

Figura 92: Subespectro DEPT-135 de **48** (50 MHz, DMSO-d_6) 187

Figura 93: Espectro de RMN de ^{1}H de **44** (400 MHz, DMSO-d_6) 188

Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C de **44** (100 MHz, DMSO-d_6) 189

Figura 95: Subespectro DEPT-135 de **44** (100 MHz, DMSO-d_6) 190

Figura 96: Espectro de RMN de ^{13}C de **49** (50 MHz, DMSO-d_6) 191

Figura 97: Subespectro DEPT-135 de **49** (50 MHz, DMSO-d_6) 192

Figura 98: Espectro de RMN de ^{1}H de **45** (200 MHz, CD_3OD) 193

Figura 99: Espectro de RMN de ^{13}C de **45** (50 MHz, CD_3OD) 194

Figura 100: Espectro de RMN de ^{1}H de **50** (200 MHz, DMSO-d_6) 195

Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C de **50** (50 MHz, DMSO-d_6) 196

Figura 102: Subespectro DEPT-135 de **50** (50 MHz, DMSO-d_6) 197

Figura 103: Espectro de RMN de ^{13}C de **46** (100 MHz, CD_3OD) 198

Figura 104: Espectro de RMN de ^{1}H de **51** (200 MHz, DMSO-d_6) 199

Figura 105: Espectro de RMN de ^{13}C de **50** (50 MHz, DMSO-d_6) 200

Figura 106: Subespectro DEPT-135 de **51** (50 MHz, DMSO-d_6) 201

Figura 107: Espectro de RMN de ^{1}H de **47** (200 MHz, DMSO-d_6) 202

Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C de **47** (50 MHz, DMSO-d_6) 203

Figura 109: Subespectro DEPT-135 de **47** (50 MHz, DMSO-d_6) 204

Figura 110: Espectro de RMN de ^{1}H de **52** (200 MHz, DMSO-d_6) 205

Figura 111: Espectro de RMN de ^{13}C de **52** (50 MHz, DMSO-d_6) 206

Figura 112: Espectro de RMN de ^{1}H de **53** (400 MHz, DMSO-d_6) 207

Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C de **53** (100 MHz, DMSO-d_6) 208

Figura 114: Espectro de RMN de ^{1}H de **58** (200 MHz, DMSO-d_6) 209

Figura 115: Espectro de RMN de ^{13}C de **58** (50 MHz, DMSO-d_6) 210

Figura 116: Subespectro DEPT-135 de **58** (50 MHz, DMSO-d_6) 211

Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C de **54** (50 MHz, DMSO-d_6) 212

Figura 118: Subespectro DEPT 135 de **54** (50 MHz, DMSO-d_6) 213

Figura 119: Espectro de RMN de ^{1}H de **55** (200 MHz, $CDCl_3$) 214

Figura 120: Espectro de RMN de ^{13}C de **55** (50 MHz, $CDCl_3$) 215

Figura 121: Espectro de RMN de ^{1}H de **55** (400 MHz, DMSO-d_6) 216

Figura 122: Espectro de RMN de ^{13}C de **55** (100 MHz, DMSO-d_6) 217

Figura 123: Subespectro DEPT-135 de **55** (100 MHz, DMSO-d_6) 218

Figura 124: Espectro de RMN de ^{1}H de **62** (200 MHz, DMSO-d_6) 219

Figura 125: Espectro de RMN de ^{13}C de **62** (50 MHz, DMSO-d_6) 220

Figura 126: Espectro de RMN de ^{1}H de **63** (200 MHz, DMSO-d_6) 221

Figura 127: Espectro de RMN de ^{13}C de **63** (50 MHz, DMSO-d_6) 222

Figura 128: Subespectro DEPT-135 de **63** (50 MHz, DMSO-d_6) 223

Figura 129: Espectro de RMN de ^{13}C de **64** (50 MHz, DMSO-d_6) 224

Figura 130: Subespectro DEPT-135 de **64** (50 MHz, DMSO-d_6) 225

Figura 131: Espectro de RMN de ^{1}H de **60** (200 MHz, DMSO-d_6) 226

Figura 132: Espectro de RMN de ^{13}C de **60** (50 MHz, DMSO-d_6) 227

Figura 131: Espectro de RMN de ^{1}H de **61** (200 MHz, DMSO-d_6) 228

Figura 132: Espectro de RMN de ^{13}C de **61** (50 MHz, DMSO-d_6) 229

Figura 133: Subespectro DEPT-135 de **61** (50 MHz, DMSO-d_6) 230

Figura 134: Espectro de RMN de ^{1}H de **66** (200 MHz, DMSO-d_6) 231

Figura 135: Espectro de RMN de ^{13}C de **66** (50 MHz, DMSO-d_6) 232

Figura 136: Espectro de RMN de ^{13}C de **65** (50 MHz, DMSO-d_6) 233

Figura 137: Subespectro DEPT-135 de **65** (50 MHz, DMSO-d_6) 234

Figura 138: Espectro de RMN de ^{13}C de **67** (100 MHz, DMSO-d_6) 235

Figura 139: Mapa de contornos HSQC de **67** (100 MHz, DMSO-d_6) 236

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de bactérias e especificidades de suas lectinas de superfície por carboidratos..... 28

Tabela 2: Inibidores de adesão bacteriana em infecções experimentais *in vivo* (adaptado de Sharon; Ofek, 2000)..... 32

Tabela 3: Inibição da atividade hemaglutinante de LEC com eritrócitos humanos por diversos carboidratos [adaptado de Iglesias *et al.* (1982)]..... 35

Tabela 4: Rendimentos das reações de obtenção dos derivados **28**-**38**..... 52

Tabela 5: Valores de CIM [(a)] e potência relativa [(b)] dos derivados de D-galactose quanto à inibição da hemaglutinação mediada por LEC..... 85

Tabela 6: Condições empregadas na síntese de **7**-**11**..... 93

Tabela 7: Condições empregadas nas reações de síntese de **17**-**22**..... 100

Tabela 8: Condições empregadas nas reações de síntese de **25**-**27**..... 105

Tabela 9: Condições empregadas nas reações de aminação redutiva para a obtenção de **40**-**43**..... 115

Tabela 10: Condições empregadas nas reações de obtenção das bases de Schiff **48**-**51**..... 120

Tabela 11: Condições empregadas nas reações de síntese de **65** e **66**..... 133

Tabela 12: Concentrações iniciais das soluções de D-galactose, lactose e derivados empregados no ensaio de inibição da hemaglutinação..... 140

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATR	*attenuated total reflectance*
Ac	acetila
AcO	acetoxila
Bz	benzoíla
CCD	cromatografia em camada delgada
CCS	cromatografia em coluna de sílica
COSY	espectroscopia de correlação (*correlation spectroscopy*)
d	dupleto
dd	dupleto duplo
DEPT	intensificação sem distorção via transferência de polarização (*distortionless enhancement by polarization transfer*)
dl	dupleto largo
DMF	dimetilformamida
F.M.	fórmula molecular
HMBC	coerência heteronuclear de múltipla ligação (*heteronuclear multiple bond correlation*)
HMQC	coerência heteronuclear de múltiplo quantum (*heteronuclear multiple quantum coherence*)
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento escalar
m	multipleto
MHz	megaHertz
ppm	partes por milhão
Ph_3P	trifenilfosfina
q	quarteto
qn	quinteto
P.F.	ponto de fusão
RMN	ressonância magnética nuclear
s	simpleto
sl	simpleto largo
sx	sexteto
t	tripleto
t.a.	temperatura ambiente
THF	tetraidrofurano

tl	tripleto largo
TsCl	cloreto de *p*-toluenossulfonila
$[\alpha]_D$	poder rotatório específico
δ	deslocamento químico
$\overline{\nu}$	número de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 24

2 OBJETIVOS 37

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 40

3.1 Síntese e caracterização dos derivados de D-galactose 40

3.1.1 Síntese do derivado azido **5**, das amidas **12** e **13** e das sulfonamidas **14**, **15** e **16** 40

3.1.2 Síntese dos β-D-galactopiranosídeos de arila 44

3.1.3 Síntese de aminas por aminação redutiva de **17** 53

3.1.4 Síntese de derivados de **29** por modificações em C-6 62

3.2 Ensaios biológicos 84

3.2.1 Ensaio de inibição de hemaglutinação..... 84

3.2.2 Ensaio de inibição de eritrofagocitose..... 88

4 PARTE EXPERIMENTAL 91

4.1 Procedimentos gerais 91

4.2 Métodos de síntese 92

4.2.1 Síntese do derivado azido **5**, das amidas **12** e **13** e das sulfonamidas **14**, **15** e **16** 92

4.2.1.2 Síntese de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**4**) 92

4.2.1.3 Síntese de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosilamina (**6**) 92

4.2.1.4 Procedimento geral de síntese de **7**-**11** 93

4.2.1.4.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-acetilamino-1-de-soxi-β-D-galactopiranose (**7**) 94

4.2.1.4.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-benzoilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**8**) 94

4.2.1.4.3 Dados de caracterização 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi-1-metanos-sulfonilamino-β-D-galactopiranose (**9**) 95

4.2.1.4.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**10**) 95

4.2.1.4.5 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)-β-D-galactopiranose (**11**) 96

4.2.1.5 Procedimento geral de síntese de **5** e **12**-**16** 96

4.2.1.5.1 Dados de caracterização de 1-azido-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**5**) 96

4.2.1.5.2 Dados de caracterização de 1-acetilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**12**) 97

4.2.1.5.3 Dados de caracterização de 1-benzoilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**13**) 97

4.2.1.5.4 Dados de caracterização de 1-desoxi-1-metanossulfonilamino-β-D-galactopiranose (**14**) 98

4.2.1.5.5 Dados de caracterização de 1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (**15**) 98

4.2.1.5.6 Dados de caracterização de 1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)-β-D-galactopiranose (**16**) 99

4.2.2 Síntese dos β-D-galactopiranosídeos de arila 99

4.2.2.1 Procedimento geral de síntese de **17**-**22** 99

4.2.2.1.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-formilfenila (**17**) 100

4.2.2.1.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**18**) 101

4.2.2.1.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (**19**) 101

4.2.2.1.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila (**20**) 102

4.2.2.1.5 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (**21**) 102

4.2.2.1.6 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-acetilaminofenila (**22**) 103

4.2.2.2 Procedimento geral de síntese de **23** e **24** 103

4.2.2.2.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (**23**) 104

4.2.2.2.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-aminofenila (**24**) 104

4.2.2.3 Procedimento geral de síntese de **25**, **26** e **27** 105

4.2.2.3.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metanossulfonilaminofenila (**25**) 105

4.2.2.3.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (**26**) 106

4.2.2.3.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-metanossulfonilamino-4-metoxicarbonilfenila (**27**)..... 107

4.2.2.4 Procedimento geral de síntese de **28**-**38** 107

4.2.2.4.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-formilfenila (**28**) 107

4.2.2.4.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**29**) 108

4.2.2.4.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (**30**) 109

4.2.2.4.4 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila (**31**) 109

4.2.2.4.5 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (**32**)..... 110

4.2.2.4.6 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-acetilaminofenila (**33**)..... 110

4.2.2.4.7 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-aminofenila (**34**) 111

4.2.2.4.8 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (**35**) 111

4.2.2.4.9 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metanossulfonilaminofenila (**36**)..... 112

4.2.2.4.10 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (**37**) 112

4.2.2.4.11 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-metanossulfonilamino-4-metoxicarbonilfenila (**38**) 112

4.2.2.4.12 Síntese do β-D-galactopiranosídeo de 4-carboxifenila (**39**) 114
4.2.3 Síntese dos derivados amínicos a partir de **28** 114
4.2.3.1 Por reação de aminação redutiva 114
4.2.3.1.1 Procedimento geral da síntese de **40**-**43** 114
4.2.3.1.1.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilaminometil)fenila (**40**) 115
4.2.3.1.1.2 Dados de caracterização de cloridrato de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(butilaminometil)fenila (**41**) 116
4.2.3.1.1.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(hexilaminometil)fenila (**42**) 116
4.2.3.1.1.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropilaminometil)fenila (**43**) 117
4.2.3.1.2 Procedimento geral da síntese de **44**, **46** e **47** 117
4.2.3.1.2.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilaminometil)fenila (**44**) 118
4.2.3.1.2.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(hexilaminometil)fenila (**46**) 118
4.2.3.1.2.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropilaminometil)fenila (**47**) 119
4.2.3.2 Por redução de bases de Schiff 119
4.2.3.2.1 Procedimento geral de síntese das bases de Schiff **48** – **51** 119
4.2.3.2.1.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benziliminometil)fenila (**48**) 120
4.2.3.2.1.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(butiliminometil)fenila (**49**) 121
4.2.3.2.1.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(hexiliminometil)fenila (**50**)..... 121
4.2.3.2.1.4 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropiliminometil)fenila (**51**) 122
4.2.3.2.2 Redução das bases de Schiff aos derivados **44** e **45** 122
4.2.3.2.2.1 Por hidrogenação catalítica 122
4.2.3.2.2.2 Por reação com boridreto de sódio 123

4.2.3.2.2.2.1 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilaminometil)fenila (**44**) 123
4.2.3.2.2.2.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-butil-aminometil)fenila (**45**) 123
4.2.3.2.2.2.3 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-hexilaminometil)fenila (**46**) 124
4.2.3.2.2.2.4 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-isopropilaminometilfenila (**47**) 124
4.2.4 Síntese de derivados de **29** por modificações em C-6 124
4.2.4.1 Síntese de 6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo do 4-metoxicarbo-nilfenila (**62**) 124
4.2.4.1.1 Síntese de 6-*O*-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**54**) 125
4.2.4.1.2 Síntese de 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-*O*-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galac-topiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**56**) 126
4.2.4.1.3 Síntese de 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**59**) 127
4.2.4.1.4 Síntese do 6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicar-bonilfenila (**62**) 128
4.2.4.2 Síntese de 6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxi-carbonilfenila (**61**) 129
4.2.4.2.1 Síntese de 2,3-di-*O*-acetil-6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosí-deo de 4-metoxicarbonilfenila (**60**) 129
4.2.4.2.2 Síntese de 6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-meto-xicarbonilfenila (**61**) 130
4.2.4.3 Síntese do 6-amino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbo-nilfenila (**63**) 131
4.2.4.4 Síntese do 6-benzoilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-meto-xicarbonilfenila (**64**) 132
4.2.4.5 Procedimento geral de síntese de **65** e **66** 133
4.2.4.5.1 Dados de caracterização de 6-(4-metilbenzenossulfonil)amino-6-deso-xi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**65**) 134
4.2.4.5.2 Dados de caracterização de 6-metanossulfonilamino-6-desoxi-β-D-ga-lactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**66**) 134
4.2.4.5.3 Dados de caracterização do subproduto **67** 135

4.2.4.6 Síntese do 6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**58**) 135
4.2.4.6.1 Tentativa pelo método de Garegg e Samuelsson (1980) 135
4.2.4.6.2 A partir do 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-*O*-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**56**) 136
4.2.4.6.2.1 Síntese de 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**57**) 136
4.2.4.6.2.2 Síntese de 6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**58**) 137
4.3 Ensaios biológicos 138
4.3.1 Ensaio de hemaglutinação..... 138
4.3.1.1 Preparo da suspensão de eritrócitos 139
4.3.1.2 Determinação do título de hemaglutinação da solução estoque de LEC.. 139
4.3.1.3 Ensaio de inibição de hemaglutinação 139
4.3.2 Ensaios de inibição de eritrofagocitose 141
4.3.2.1 Preparação do ensaio controle 141
4.3.2.2 Preparo do ensaio de inibição da eritrofagocitose pelos carboidratos 141
4.3.2.3 Determinação da porcentagem de trofozoítos que fagocitaram eritrócitos 142
5 CONCLUSÃO 143
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 144
APÊNDICE: ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR 156

1 INTRODUÇÃO

Por muito tempo os carboidratos foram vistos apenas como moléculas envolvidas em processos de geração de energia, na forma de monossacarídeos ou polissacarídeos, ou, ainda, como material estrutural, como a celulose nas plantas e a quitina dos exoesqueletos de insetos.

O interesse pelo estudo dos carboidratos como moléculas de reconhecimento celular só surgiu por volta de 1968. Antes disso, pouco era pesquisado e divulgado, em grande parte devido à complexidade estrutural dos mesmos e das inúmeras possibilidades de interligações dos carboidratos, o que dificultava o controle régio- e estereosseletivo nas reações de síntese e a caracterização estrutural dos produtos obtidos (SHARON; LIS, 1993).

Atualmente, com o avanço dos métodos de síntese orgânica e inovações nas técnicas de análise espectrométrica, os carboidratos podem ser bem estudados e o fato de que estão envolvidos em processos de reconhecimento celular é comprovado o bastante.

Como uma extensão da hipótese chave-fechadura, formulada por Emil Fischer em 1897, os bioquímicos geralmente aceitam que as células se reconhecem por meio de pares de estruturas complementares presentes em suas superfícies (SHARON; LIS, 1993; KARLSSON, 1998). A descoberta de que as células continham resíduos de açúcares ancorados à suas membranas celulares na forma de glicoproteínas e glicolipídeos, e que sua modificação ou extinção acarretava alterações em funções celulares, promoveu um rápido interesse em uma nova área conhecida por glicobiologia (HART, 1980; GABIUS, 1998).

A diversidade química proporcionada pelos carboidratos, resultado das diferentes formas como podem combinar entre si e com outras moléculas é biologicamente muito significativa (SHARON; LIS, 1989). Assim, os carboidratos presentes na superfície celular na forma de glicolipídeos, glicoproteínas e polissacarídeos são receptores naturais para vários vírus, bactérias, protozoários e toxinas (JACOBSON; DOYLE, 1996; PACHECO-YÈPEZ *et al.*, 2000; BOETTNER *et al.*, 2002). Esses microrganismos e toxinas reconhecem e se ligam reversivelmente aos carboidratos de superfície com grande especificidade – processo denominado adesão - e, para muitos deles, esta interação é o primeiro passo para sua endocitose em indivíduos susceptíveis. Aqueles microrganismos

e toxinas que não têm esta habilidade são rapidamente eliminados por mecanismos naturais de defesa do organismo.

Esses processos de adesão célula-célula e célula-toxina são mediados por lectinas, proteínas especializadas em reconhecer carboidratos e que a eles se ligam de forma reversível e altamente seletiva (KENNEDY *et al.*, 1995; LIS; SHARON, 1998; WU *et al.*, 2008). Na Figura 1 são mostradas, esquematicamente, interações celulares mediadas por lectinas.

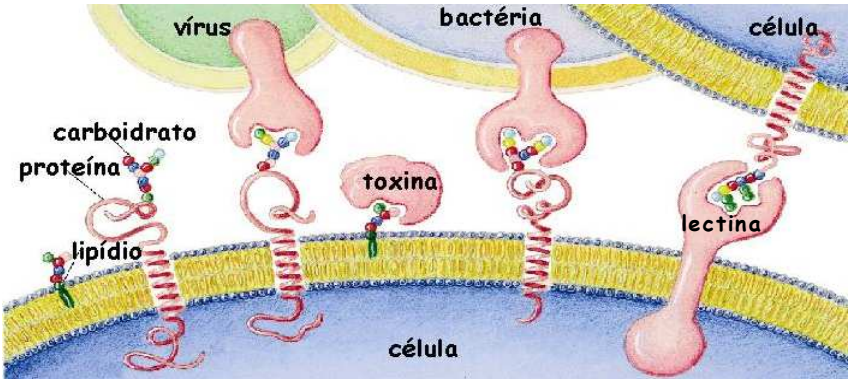


Figura 1: Representação esquemática das interações lectinas-carboidratos na superfície celular.

As lectinas existem na forma livre ou associadas às células, podendo ser encontradas na superfície ou no interior dessas e não apresentam atividade catalítica nem são frutos de resposta imune. Estas proteínas são encontradas entre animais, plantas e microrganismos e a ampla ocorrência das mesmas em diferentes espécies, tecidos ou células mostra a importância dessas moléculas na natureza (LIS; SHARON, 1998).

Tipicamente, a lectina e o carboidrato complementar estão em superfícies de células que se opõe. Alternativamente, lectinas livres (também conhecidas por lectinas solúveis) podem atuar como pontes ao promover a ligação de carboidratos de células opostas. O contrário também pode ocorrer, ou seja, carboidratos intermediarem a ligação de lectinas presentes em células diferentes (SHARON; LIS, 1989; GABIUS, 1998).

A capacidade de provocarem o fenômeno da hemaglutinação, por se ligarem a carboidratos presentes na superfície de eritrócitos, é uma das formas de demonstrar a interação celular mediada por lectinas. Em 1888, foi relatada a primeira observação quanto à capacidade de hemaglutinação de um extrato vegetal (*Ricinus communis*), o que suscitou o emprego do termo fitoaglutininas (KENNEDY *et al.*, 1995).

No ensaio de hemaglutinação, uma diluição seriada da lectina é incubada com eritrócitos humanos ou de outro animal. A inibição desse processo por carboidratos é

muito utilizada para o estudo da especificidade das lectinas, já que tanto a aglutinação quanto a precipitação, induzidas por lectinas, são inibidas pelos ligantes monossacarídicos pelos quais elas são específicas (LIS; SHARON, 1998; GIGUÈRE *et al.*, 2006; MAKIMURA *et al.*, 2006).

A afinidade das lectinas por monossacarídeos é usualmente fraca, com constantes de associação na faixa de milimolar, embora sejam de grande seletividade. Os sítios de ligação para açúcares nas lectinas são em forma de depressões rasas e cada lectina possui um, dois ou mais destes sítios. Em geral, apenas uma ou duas faces do carboidrato faz ligação com a proteína (LIS; SHARON, 1998).

A formação do complexo carboidrato-lectina envolve o deslocamento de moléculas de água associadas aos grupos polares da proteína e ao redor do açúcar também polar, com o estabelecimento de novas ligações de hidrogênio. Estas ligações e as interações de van der Waals são dominantes para a estabilidade da associação entre estas moléculas (KENNEDY *et al.*, 1995). Mesmo sendo muito polares, os carboidratos possuem seus grupos hidroxila dispostos de tal maneira que se formam regiões hidrofóbicas nas superfícies sacarídicas que podem formar contatos com regiões hidrofóbicas na lectina. Já que a maioria dos carboidratos são não-carregados, interações iônicas não ocorrem comumente.

Geralmente, é observado aumento na potência das interações entre lectinas e carboidratos quando estes últimos estão na forma oligossacarídica. Isto foi verificado com diversos derivados sintéticos deste tipo e acredita-se que a similaridade que apresentam com os ligantes naturais, em geral glicopeptídeos ou glicolipídeos, seja a razão para isso (KITOV *et al.*, 2000). Em glicobiologia, refere-se a este efeito de potencialização com o termo *multivalência* que, embora seja um fenômeno não muito bem elucidado, pode levar a acentuadas reduções nas constantes de dissociação dos complexos lectina-carboidrato.

Certas lectinas pertencentes ao mesmo grupo de especificidade combinam-se preferencialmente ou exclusivamente com o anômero α ou β de um determinado açúcar em forma de glicosídeo. As propriedades da aglicona também podem influenciar a interação de um glicosídeo com uma lectina, em especial os glicosídeos aromáticos, que se ligam, em geral, mais fortemente que os alifáticos, possivelmente por interações adicionais com pontos extras no sítio de ligação da lectina. O efeito hidrofóbico é às vezes tão intenso que pode se sobrepor à preferência anomérica (LIS; SHARON, 1998).

As lectinas estão envolvidas em diversos fenômenos naturais. Entre eles, destacam-se os processos de fertilização, embriogênese, migração celular, formação de órgãos e defesa imunológica (SHARON; LIS, 2004). O funcionamento impróprio destes processos de reconhecimento celular pode levar ao surgimento de diversas patologias (SHARON; LIS, 1989).

Uma série de infecções é iniciada por interações lectina-carboidrato, como no caso da adesão celular e fagocitose de *Pseudomonas aeruginosa* (IMBERTY *et al.*, 2004), *Neisseria gonorrhoeae* (SHARON, 2006), *Escherichia coli* (FIRON *et al.*, 1983), formas tripomastigotas de *Trypanossoma cruzi* (SILBER *et al.*, 2002) e promastigotas de *Leishmania major* (SACKS *et al.,* 1985), entre outros. Muitos destes patógenos desenvolveram mecanismos de fixação ou adesão aos tecidos ou células do hospedeiro e esta adesão é necessária, já que, de outra forma, estes microrganismos seriam eliminados pelos mecanismos naturais de defesa do hospedeiro, como o fluxo de ar no sistema respiratório ou a urina no sistema excretório (SHARON; LIS, 1993). Além disso, a adesão adequada do patógeno propicia melhor acesso a fontes nutritivas, facilita a introdução de substâncias tóxicas nos tecidos do hospedeiro e mesmo a penetração do patógeno nestes tecidos (KARLSSON, 1998).

No caso das bactérias, a maioria das lectinas está disposta na superfície celular, muitas vezes na forma de multiunidades protéicas denominadas fímbrias ou pili, que se caracterizam como fibras alongadas expressas em bactérias Gram-negativas (SHARON; LIS, 1989; SAUER *et al.*, 2000). A adesão celular não é o único evento que caracteriza a patogenicidade bacteriana. Após ter ocorrido o reconhecimento lectina-carboidrato, a célula alvo é ativada, com conseqüente produção e secreção de citocinas que irão estimular a resposta aguda inflamatória e outros sintomas da doença.

Até princípios de 1980, somente bactérias que possuíam lectinas específicas para manose haviam sido identificadas e estes estudos foram desenvolvidos principalmente com *Escherichia coli* (SHARON, 2006). A partir daí, diferentes cepas de *E. coli* com especificidades distintas foram descobertas, como aquelas que colonizam o tecido do trato urinário (fímbrias P, específicas para galabiose, Galα4Gal) ou o tecido nervoso (fímbrias S, específicas para o trissacarídeo NeuAc(α2-3)Galβ3GalNAc).

Bactérias que possuem lectinas com especificidade por outros açúcares foram em seguida descritas, como a *Neisseria gonorrhoea*, que reconhece resíduos de *N*-acetil-lactosamina (Galβ4GlcNAc), e *Streptococcus pneumoniae*, que tem alta especificidade pelo pentassacarídeo NeuAc(α-3)Galβ4GlcNAcβ3Galβ4Glc.

Embora um pequeno número de lectinas bacterianas tenha sido adequadamente caracterizado, a existência de uma grande diversidade das mesmas vem sendo reconhecida por meio de experimentos nos quais o efeito inibitório sobre a adesão por diversos carboidratos é examinado, em geral, com ensaios de hemaglutinação (GOLDHAR, 1995).

Na Tabela 1 estão listadas outras bactérias e a especificidade de suas lectinas por carboidratos, além do local do organismo que normalmente colonizam.

Tabela 1: Exemplos de bactérias e especificidades de suas lectinas de superfície por carboidratos.

Microrganismo	Carboidrato	Alvo da adesão
Campylobacter jejuni	Fucα2GalβGlcNAc	Intestino
Escherichia coli (CFA/1)	NeuAc(α2-8)-	Intestino
Escherichia coli (K1)	GlcNAcβ4GlcNAc	Endotélio
Haemophilus influenzae	$[NeuAc(\alpha2\text{-}3)]_{0,1}Gal\beta4GlcNAc\beta3Gal\beta4GlcNAc$	Trato respiratório
Pseudomonas aeruginosa	L-Fucose	Trato respiratório
Salmonella typhimurium	Manose	Intestino
Helicobacter pylori	NeuAc(α2-3)Galβ4GlcNAcFucα2Galβ3(Fucα4)Gal	Estômago

O protozoário *Entamoeba histolytica*, terceira maior causa de mortes por parasitas, é o agente etiológico de abcessos hepáticos e colites conseqüentes da infecção por este microrganismo (GILCHRIST; PETRI Jr, 1999; HOUPT *et al.*, 2004; TURNER; EICHINGER, 2007). Lectinas específicas para D-galactose e *N*-acetil-D-galactosamina, situadas na superfície de *E. histolytica*, são responsáveis pela adesão deste parasita em sua forma trofozoítica a células hospedeiras, em geral na mucosa da região do cólon intestinal. Desta interação lectina-carboidrato resulta a liberação de enzimas proteolíticas amebianas que rompem conexões intercelulares no tecido hospedeiro, facilitando a penetração tecidual e disseminação sistêmica dos trofozoítos, especialmente ao fígado (HUGHES *et al.*, 2000; BLASQUEZ *et al.*, 2007).

Diversas evidências contribuiram para se estabelecer a importância da interação lectina-carboidrato na infecção por *E. histolytica*.

Estudos relacionados aos mecanismos de defesa do hospedeiro contra amebíase invasiva demonstraram a importância do muco que naturalmente se adere à membrana do cólon intestinal e das bactérias da flora intestinal que são produtoras de glicosidases.

O referido muco, rico em moléculas com terminações galactosídicas, como a

membrana intestinal por ele encoberta, constitui uma barreira protetora, uma vez que bloqueia a passagem dos trofozoítos, via interação com suas lectinas (CHADEE, 1987). Por outro lado, cerca de 1% das bactérias da região do cólon intestinal produzem diversas glicosidases que degradam vários glicoconjugados, como as lectinas de superfície de *E. histolytica*, o que reduz a aderência às células do epitélio intestinal (VARIYAM, 1996).

Pesquisas realizadas por Adler e colaboradores (1995) com diversos carboidratos naturais e sintéticos, ensaiados como inibidores da hemaglutinação induzida pela lectina de *E. histolytica*, demonstraram que derivados multivalentes com resíduos D-galactosídicos ou *N*-acetil-D-galactosamínicos (como a fetuína e a asialofetuína) foram superiores aos derivados monovalentes. Por outro lado, ficou evidente que um galactosídeo hidrofóbico, mono-valente, obtido a partir da *N*-acetil-D-galactosamina, levou a um aumento de vinte vezes na potência inibitória sobre a hemaglutinação. O aumento de potência também foi obser-vado ao se comparar derivados galactosídicos como inibidores da adesão celular de *N*-acetil-D-galactosamina, marcada radioativamente, à lectina de *E. histolytica*, como mostrado na Figura 2.

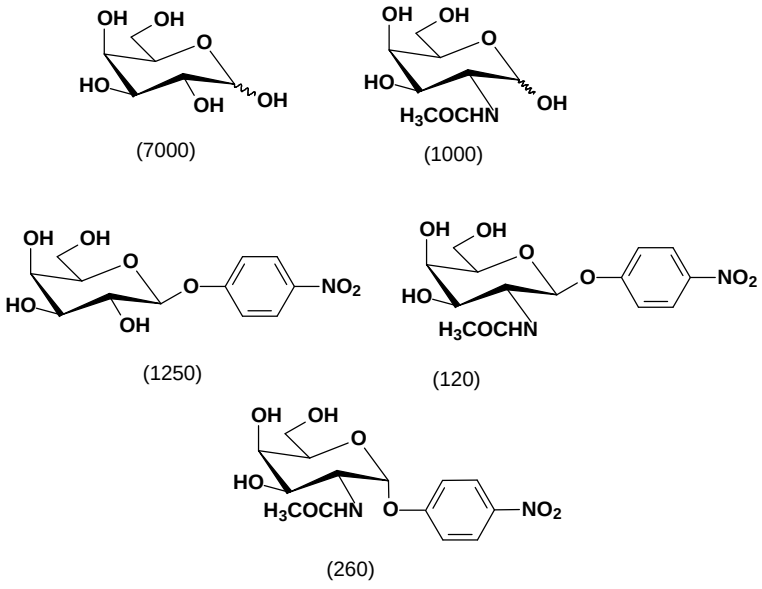
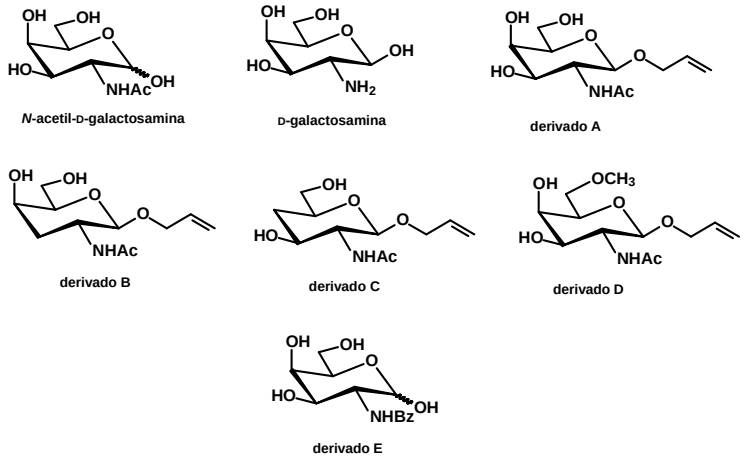


Figura 2: Comparação da inibição da ligação de lectina *de E. histolytica* a ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA por glicosídeos de D-galactose e *N*-acetil-D-galactosamina [Adaptado de Adler *et al.*(1995). Os valores entre parênteses referem-se às concentrações inibitórias mínimas em μmol.L^{-1} das substâncias em teste necessárias para inibir especificamente 50% da ligação de ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA à membrana de *E. histolytica*].

Estudos de especificidade e que visavam descobrir derivados de *N*-acetil-D-galactosamina com atividade inibitória desta interação com a BSA, levaram à conclusão que os grupos hidroxila de C-3, C-4 e C-6 parecem ser essenciais para o reconhecimento

pela lectina de *E. histolytica* (YI *et al.*, 1998), provavelmente devido a seu caráter aceptor-doador de ligações de hidrogênio. O derivado *N*-benzoilamínico da *N*-acetil-D-galactosamina (derivado E), com as hidroxilas anteriormente citadas conservadas, mostrou ser um melhor inibidor que aqueles nos quais uma dessas hidroxilas estava ausente, como mostrado na Figura 3.



Substância	CI_{50} ($\mu mol.L^{-1}$)
N-acetil-D-galactosamina	610
D-Galactosamina	4700
Derivado A	480
Derivado B	> 10000
Derivado C	10000
Derivado D	2500
Derivado E	350

Figura 3: Comparação da inibição da ligação de lectina *de E. histolytica* a ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA por *N*-acetil-D-galactosamina e derivados [adaptado de Yi *et al.*(1998). Neste estudo, os valores de CI_{50} referem-se às concentrações inibitórias mínimas das substâncias em teste necessárias para inibir especificamente 50% da ligação de ^{125}I-GalNAc$_{39}$BSA à membrana de *E. histolytica*].

Houpt e colaboradores (2004) mostraram que a imunização de camundongos com a lectina isolada deste protozoário preveniu, com eficácia média de 90 %, a instalação da infecção nestes animais, após serem desafiados com trofozoítos de *E. histolytica*. Recentemente, Okada e Nozaki (2006) relataram o estímulo à reorganização do citoesqueleto e à transdução de sinal que se seguem à adesão lectina-carboidrato na infecção por este protozoário.

Considerando-se outro protozoário, foi sugerido que os merozoítos de *Plasmodium falciparum* possuem lectinas em sua superfície capazes de estabeler ligações com resíduos sacarídicos em eritrócitos, células-alvo de um dos estágios de infecção na malária (JACOBSON, 1996; VON ITZSTEIN *et al.*, 2008). Estudos *in vitro* com *N*-acetil-D-glicosamina, *N*-acetil-D-galactosamina e ácido *N*-acetil-neuramínico mostraram a possibilidade de bloqueio, com estas substâncias, da invasão do eritrócito pelo parasita. Ramasamy e colaboradores (1997) verificaram que o mosquito *Anopheles tessellatus*, um dos vetores na transmissão da malária, contém em suas glicoproteínas de superfície intestinal resíduos *N*-acetil-D-glicosamínicos essenciais para o reconhecimento pelas lectinas do parasita.

Silber e colaboradores (2002) identificaram e purificaram uma lectina, presente na superfície de epimastigotas e tripomastigotas do protozoário *Trypanosoma cruzi*, específica para D-galactose. Além de seus estudos também demonstrarem o envolvimento desta lectina na invasão da célula hospedeira, outros dados indicaram a habilidade do parasita em invadir tecidos humanos específicos como o endotélio da artéria mamária e células do átrio e ventrículo direito. Resíduos galactosídicos presentes em glicoconjugados da superíficie celular destes sítios parecem ser essenciais para adesão e invasão pelo parasita.

A estratégia para o uso de análogos de adesinas a fim de prevenir a infecção é baseada na suposição de que a molécula do carboidrato envolvida na adesão, ou análogo, liga-se à lectina receptora e bloqueia a adesão celular. Este impedimento ou reversão do reconhecimento celular mediado por lectinas constitui o objetivo da chamada terapia anti-adesão. Como esta etapa de adesão celular é essencial para o microrganismo e peça chave na patogênese do mesmo, uma intervenção molecular deste tipo poderia ser interessante, uma vez que o desenvolvimento da doença seria bloqueado em uma fase muito precoce da infecção (OFEK *et al.*, 2003; SHARON, 2006).

Algumas evidências experimentais reforçam a possibilidade do uso de anti-adesinas. O efeito protetor de carboidratos com ação anti-adesina foi demonstrado em estudos de infecção experimental com diversos animais, como mostrado na Tabela 2 .

Um exemplo importante, entre os apresentados nessa tabela, é aquele que relaciona o efeito protetor do colostro e a inibição da instalação de infecção intestinal por *E. coli*. Em estudos *in vivo*, Mouricout e colaboradores (1990) demonstraram que bezerros recém-nascidos e privados deste alimento desenvolveram facilmente infecção por este microrganismo quando avaliados experimentalmente. Foi observado, ainda, que os

mesmos puderam ser curados quando uma mistura de glicopeptídeos, que continham a seqüência NeuGc(α2-3)Gal-R, foi administrada junto com alimento.

Tabela 2: Inibidores de adesão bacteriana em infecções experimentais *in vivo* (adaptado de Sharon; Ofek, 2000)

PATÓGENO	ANIMAL / SÍTIO DA INFECÇÃO	INIBIDOR
Escherichia coli (tipo 1)	Camundongo / TU	α-D-manopiranosídeo de metila
Escherichia coli P	Camundongo / TGI	D-manose
	Camundongo / TU	globotetraose
Escherichia coli K99	Macaco / TU	Gal(α1-4)GalβOMe
	Bezerro / TGI	Glicopeptídeos
Helicobacter pylori	Porco / TGI	Sia3´LacNAc
	Macaco / TGI	Sia3'Lac
Klebsiella pneumoniae (tipo 1)	Rato / TU	α-D-manopiranosídeo de metila
Shigella flexneri (tipo 1)	Porco / Olhos	D-manose
Streptococcus pneumoniae	Camundongo / pulmões	*N*-acetil-D-glicosamina
	Coelho / pulmões	Lacto-*N*-neotetraose

TU: trato urinário; TGI: trato gastrintestinal

Em estudos desenvolvidos por Mysore e colaboradores (1999), foi avaliada a capacidade do derivado sialilado Sia3'Lac em impedir a progressão da infecção por *H. pylori*, patógeno envolvido em processos ulcerosos gástricos, em macacos experimentalmente infectados. Embora tenham sido observados decréscimos transitórios na contagem bacteriana dos animais tratados, os resultados obtidos sugeriram a possibilidade de utilização desta estratégia contra a infecção pelo *H. pylori*, após ser otimizada.

A colonização persistente da nasofaringe com *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* representa um fator importante na patogênese das otites agudas. A prevenção ou a reversão da adesão bacteriana às células epiteliais respiratórias poderia ser útil no sentido de reduzir a colonização bacteriana e facilitar a eliminação das mesmas pela ação mucociliar (UKKONEN *et al.*, 2000). Assim, compostos que atuassem como anti-adesinas poderiam representar alternativa para a prevenção desta infecção. Estudos mostraram que um pentassacarídeo sialilado naturalmente encontrado no leite materno, denominado NE-1530, inibia a ligação de *S. pneumoniae* e *H. influenzae* às

células do epitélio respiratório de coelhos (BARTHELSON *et al.*, 1998). Estudos clínicos de fase I sugeriram que o NE-1530 foi bem tolerado e apenas efeitos adversos discretos foram relatados. Entretanto, estudos clínicos posteriores não foram bem-sucedidos, uma vez que a eficácia esteve abaixo da desejada. Os autores relatam que a baixa potência ou a biodisponibilidade insuficiente da substância poderiam ser as causas do insucesso (UKKONEN *et al.*, 2000).

Existem alguns entraves que têm dificultado a aplicação prática da terapia com anti-adesinas. A baixa afinidade na interação lectina-carboidrato é uma das desvantagens, o que leva à necessidade de serem empregadas altas concentrações das antiadesinas. Isto provavelmente pode ser melhorado por modificações químicas na estrutura do protótipo que otimizem a ligação do mesmo à lectina, em geral por ligações adicionais a outros resíduos de aminoácidos que não sejam aqueles diretamente envolvidos com o reconhecimento do ligante natural.

Resultados baseados nesta estratégia foram relatados por Firon e colaboradores (1987) que observaram aumento intenso na potência inibitória de derivados de manose sobre a adesão ao epitélio intestinal por fímbrias do tipo 1 de *E. coli*. Os derivados de D-manose por eles descritos eram α-D-manopiranosídeos de arila e os grupos aromáticos destes compostos parecem ser os responsáveis por interações hidrofóbicas extras que permitiram o aumento de afinidade pela lectina.

Outra forma de otimizar a afinidade entre o ligante e a lectina parece ser a preparação de derivados multivalentes, ou seja, repetições de unidades sacarídicas, que apresentem especificidade isoladamente, ligadas a uma molécula conveniente, como um polímero (ZOPF; ROTH, 1996). O efeito de multivalência pode levar à redução das doses da anti-adesina, já que a interação com a lectina se torna mais potente. Isto provavelmente vem do fato de a molécula polivalente interagir, ao mesmo tempo, com diversas moléculas de lectinas da superfície celular, formando um complexo mais estável que no caso de ligantes monovalentes. Bezouška (2002) demonstrou que compostos dendriméricos, com grupos terminais sacarídicos, portanto denominados glico-dendrímeros, são agentes promissores na prevenção contra infecções microbianas e neoplasias malignas, já que pelo menos *in vitro* estes derivados parecem ser inibidores muito potentes da adesão celular.

A produção de oligossacarídeos ainda requer altos investimentos financeiros, mas existe a possibilidade de desenvolvimento de substâncias glicomiméticas ou o uso de bioengenharia a fim de reduzir estes custos (ENDO; KOIZUMI, 2000).

A capacidade que as células têm de expressarem múltiplos tipos de adesinas, com diversas funções, é outro fator limitante para a terapia com anti-adesinas. Seria necessário o uso de um coquetel de substâncias que apresentassem especificidades diferenciadas pelos tipos distintos de adesinas ou um único produto com amplo espectro de afinidades (OFEK *et al.*, 2003). O entendimento dos fatores que levam à expressão destes tipos de lectinas ao longo do processo natural de infecção é importante para superar essa limitação (SHARON, 2006).

Os carboidratos e seus derivados, que funcionam como anti-adesinas, não costumam ser tóxicos ou imunogênicos. Além disso, no caso de infecções microbianas, pode-se esperar que a emergência de cepas resistentes provavelmente ocorra em uma velocidade bem menor do que com antibióticos e quimioterápicos, já que as anti-adesinas atuariam de maneira mais branda, apenas no bloqueio da fixação do agente invasor.

Como citado nos diversos exemplos apresentados, o reconhecimento entre lectinas e carboidratos é primordial em muitos processos biológicos, como nas infecções por microrganismos, na fertilização, em metástases tumorais e diferenciação celular.

Dentre as várias lectinas estudadas, aquelas presentes em plantas, em especial nas leguminosas, ocupam uma posição especial, já que representam a maior família destas proteínas (LORIS *et al.*, 1998). No estudo dos eventos bioquímicos dos quais participam as lectinas, essas lectinas isoladas de leguminosas são apontadas como os melhores sistemas modelo para o estudo das bases moleculares do reconhecimento entre lectinas e carboidratos. Isto vem do fato de serem facilmente isoladas e em grandes quantidades, além de possuírem similaridade estrutural entre si, embora sejam diferentes em especificidade frente aos ligantes sacarídicos (LIS; SHARON, 1998; SVENSSON *et al.*, 2002; BONNEIL *et al.*, 2004).

Integrantes da família das leguminosas, mais de vinte espécies do gênero *Erythrina* foram bem estudadas e suas lectinas pertencem ao grupo com especificidade por D-galactose/*N*-acetil-D-galactosamina, embora possuam afinidade também por *N*-acetil-lactosamina. Conseqüentemente, estas lectinas têm sido muito empregadas no isolamento de glicoproteínas e também no estudo de células que expressam resíduos terminais daqueles carboidratos em sua superfície (BONNEIL *et al.*, 2004).

A lectina de *Erythrina cristagalli* (LEC) tem seletividade para o monossacarídeo D-galactose, embora reconheça melhor a lactose e os derivados fucosil-lactose e fucosil-lactosamina. O sítio de ligação desta lectina encontra-se superficialmente em sua estrutura e acomoda a porção galactosídica dos carboidratos que se ligam a ela. Várias moléculas de água medeiam esta interação via ligações de hidrogênio. Os íons Ca^{2+} e

Mn^{2+} são essenciais para a interação entre a LEC e os carboidratos, uma vez que ajudam a manter a orientação espacial correta dos resíduos de aminoácidos do sítio de ligação envolvidos na interação (TURTON *et al.*, 2004).

Por meio de estudos cristalográficos, foi detectado que as principais ligações, intermediadas por moléculas de água, entre o resíduo galactosídico e a lectina são aquelas entre as hidroxilas de C-2, C-3 e C-6 do açúcar e os aminoácidos glicina 107, asparagina 133, alanina 218 e glutamina 219 do sítio de ligação da proteína. Interações hidrofóbicas do tipo π-*stacking* foram observadas entre o anel aromático da fenilalanina 131, o anel piranosídico da D-galactose e a cadeia lateral da tirosina 106, posicionando a D-galactose entre estes grupos aromáticos (SVENSSON *et al.*, 2002; TURTON *et al.*, 2004).

Diversos carboidratos foram testados por Iglesias e colaboradores (1982) como inibidores da hemaglutinação induzida por LEC. Os resultados são mostrados na Tabela 3:

Tabela 3: Inibição da atividade hemaglutinante de LEC com eritrócitos humanos por diversos carboidratos [adaptado de Iglesias *et al.* (1982)].

INIBIDOR	**CIM (mmol.L^{-1})**
N-acetil-lactosamina	0,4
Lactose	2,0
β-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila	2,0
α-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila	4,0
N-acetil-D-galactosamina	6,5
α-D-galactopiranosídeo de metila	4,8
β-D-galactopiranosídeo de metila	13,5
D-galactose	13,5
D-fucose	18,0
rafinose	7,2
D-galactosamina	20,0

CIM: concentração inibitória mínima

Outros carboidratos testados, como a D-glicose, *N*-acetil-D-glicosamina, manose, manosídeos de metila, xilose, L-fucose, L-arabinose e L-raminose não mostraram qualquer efeito inibitório até uma concentração de 100 mmol.L^{-1}. Estes estudos deixaram clara

a preferência pela configuração *galacto* do derivado sacarídico, além de sugerir a necessidade de um grupo hidroximetílico ou metílico em C-5, uma vez que a L-arabinose não é inibidora.

A observação de que a *N*-acetil-D-galactosamina é um melhor inibidor que a D-galactose ou a D-galactosamina sugeriu a existência de um sítio de ligação extra nesta lectina para acomodar o grupo volumoso acetilamino. Isto foi confirmado com o trabalho de Svensson e colaboradores (2002), que analisaram por cristalografia de raios-X as interações da fucosil-lactose com a LEC e descobriram que a porção fucosídica, ligada na posição 2 do anel galactopiranosídico da lactose, posiciona-se em uma depressão rasa e hidrofóbica, possivelmente a mesma que acolhe o referido grupo acetilamínico.

Um estudo mais recente, realizado por Wu e colaboradores (2007), demonstrou que o sítio de ligação da LEC pode ser mais amplo que o sugerido pelos estudos cristalográficos descritos acima e que tetra a hexassacarídeos contendo resíduo β-galactosídico são melhores inibidores que *N*-acetil-D-galactosamina, *N*-acetil-lactosamina ou fucosil-lactose.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se neste trabalho a síntese e caracterização espectrométrica de derivados monovalentes de D-galactose e a avaliação do potencial destes como inibidores do processo de adesão celular mediado por lectinas que reconhecem resíduos deste carboidrato.

Como objetivos específicos, planejou-se obter derivados da D-galactose e avaliar a atividade relativa dos mesmos na inibição da (a) hemaglutinação induzida pela lectina de *Erythrina cristagalli* (LEC) e (b) eritrofagocitose realizada por *Entamoeba histolytica.*

É bem relatado que aumentos de várias ordens de magnitude em relação à afinidade lectina-carboidrato podem ser alcançados por meio de derivatização adequada do ligante sacarídico natural (SHARON, 2006). A modificação de determinadas posições do anel piranosídico por inserção de funcionalidades químicas que possam realizar interações em pontos adicionais do sítio de ligação da lectina, geralmente pode cumprir este propósito.

Com base nesta idéia, foram propostas modificações nas posições 1 e 6 da D-galactose, a fim de se verificar o efeito resultante na inibição de processos de adesão mediados por lectinas. A escolha das posições 1 e 6 foi feita com base na maior facilidade de manipulação dessas posições em relação às hidroxilas de C-2, C-3 e C-4, além de possibilitar a avaliação da contribuição que modificações nessas posições poderiam trazer a favor ou contra o aumento de afinidade pelos alvos empregados nos ensaios biológicos.

O planejamento da primeira série de ligantes monovalentes, as amidas e sulfonamidas em C-1 (Figura 4), foi fundamentado na introdução de substituintes contendo grupos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, além de grupos hidrofóbicos. Tais substituintes poderiam interferir nos processos de solvatação e dessolvatação dos ligantes, aumentando a afinidade carboidrato-lectina (GABIUS, 1998). Devido a essa posição ser bem acessível do ponto de vista químico, é bastante empregada para a síntese de ligantes mono- e polivalentes de lectinas (LIENER; SHARON, 1986).

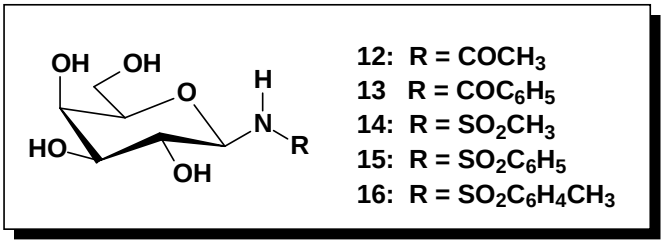


Figura 4: Derivados amídicos e sulfonamídicos de D-galactose planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular.

Com relação aos β-D-galactopiranosídeos de arila, a segunda série planejada, os mesmos foram idealizados com base nas informações, relatadas por diversos autores, de que a inserção de grupo hidrofóbico em C-1 geralmente aumenta a afinidade do inibidor pela LEC ou pela lectina de *E. histolytica* (IGLESIAS *et al.*, 1982; ADLER *et al.*, 1995). A configuração β do glicosídeo também foi demonstrada como preferencial, quando comparado o efeito inibitório destes anômeros com os α-D-galactopiranosídeos (YI *et al.*, 1998; WU *et al.*, 2007). Assim, foram propostas agliconas aromáticas com grupos substituintes (metoxila, nitro, amino, acetamido e sulfonamido, entre outros) que pudessem criar pontos adicionais de interação (Figura 5). Isso é razoável em relação à LEC, que reconhece melhor a lactose do que a D-galactose, por isso acreditou-se que esses grupos funcionais pudessem formar ligações de hidrogênio naquela região em que a aglicona substitui o resíduo de glicose da lactose.

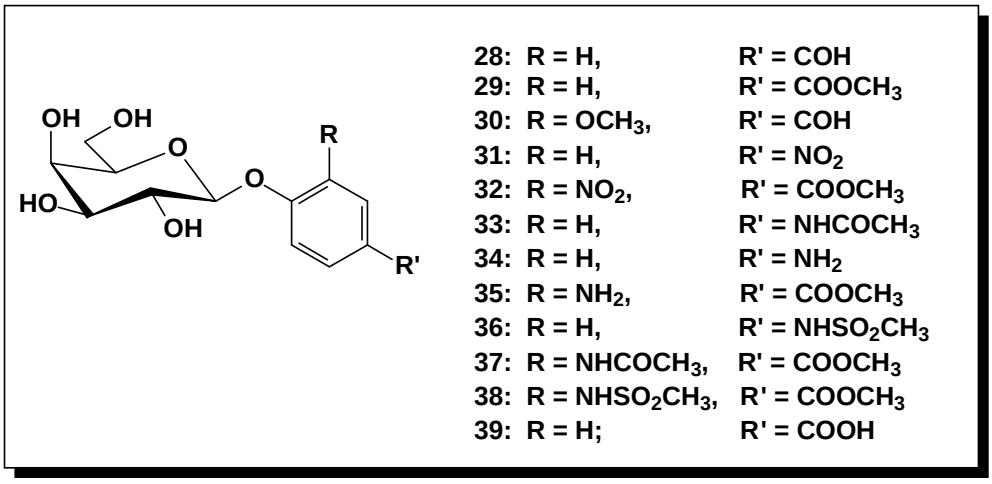


Figura 5: Galactosídeos planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular.

Os β-D-galactopiranosídeos com grupos alquilamínicos ligados ao anel benzênico, constituintes do terceiro grupo de derivados (Figura 6), surgiram da idéia de também se

avaliar a possibilidade de aumento da afinidade por conta do grupo amino, via ligações de hidrogênio ou eletrostáticas, e de cadeias alquílicas homólogas, que teriam a possibilidade de interagir com a lectina, seja como ligante hidrofóbico, seja como facilitador da dessolvatação.

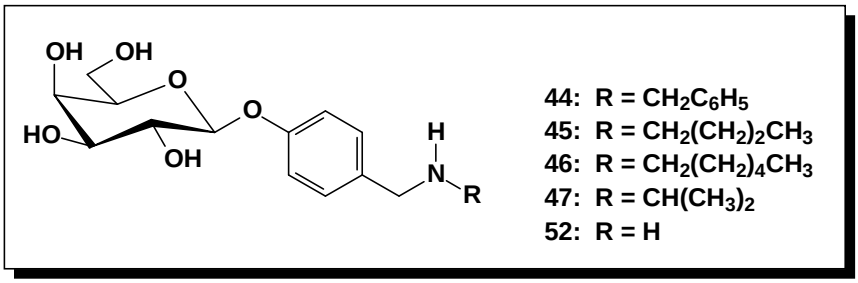


Figura 6: Aminas planejadas para avaliação como inibidores de processos de adesão celular.

A quarta série planejada, correspondente aos derivados substituídos em C-6 (Figura 7), foi idealizada para se avaliar o efeito da substituição deste grupo na atividade inibitória do ligante.

Assim, outros grupos capazes de estabelecer ligações de hidrogênio seriam inseridos, como amino, amido e sulfonamido (aceptores ou doadores de ligação de hidrogênio). Além disso, poderia ser avaliada a possibilidade de que o grupo hidrofóbico presente em alguns destes grupos funcionais pudesse contribuir com ligações adicionais nesta região. Outros derivados teriam grupos com os quais esta ligação de hidrogênio não pudesse ocorrer (azido e iodo), a fim de comprovar a necessidade do grupo hidroxila ou de outro que propiciasse o mesmo efeito.

Para a síntese destes produtos substituídos em C-6, seria utilizado como protótipo um dos derivados das séries anteriores que apresentasse maior afinidade em ensaios preliminares de inibição de hemaglutinação induzida por LEC. Na figura a seguir o grupo R' simboliza a aglicona desse protótipo.

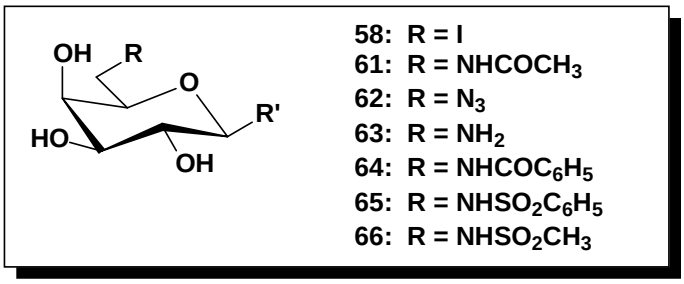


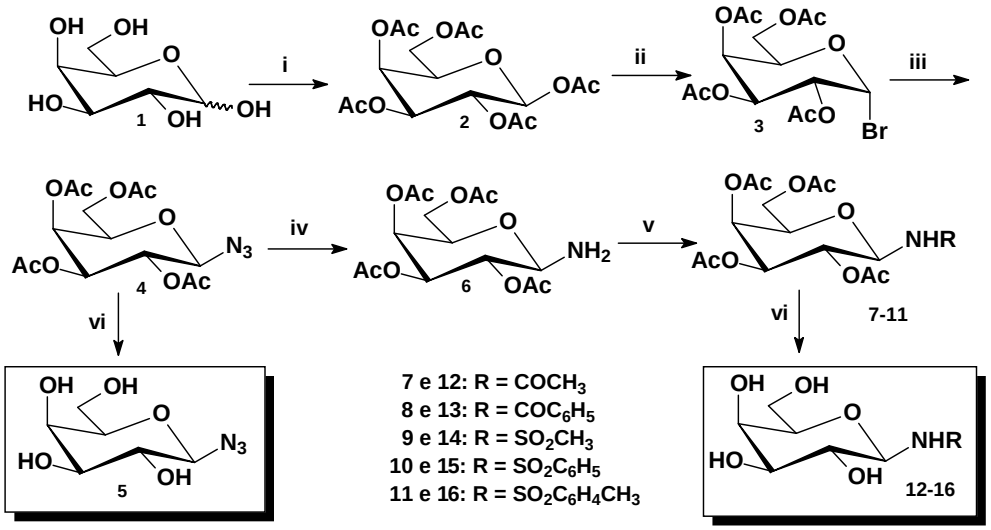
Figura 7: Galactosídeos substituídos em C-6 planejados para avaliação como inibidores de processos de adesão celular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS DE D-GALACTOSE

3.1.1 Síntese do derivado azido 5, das amidas 12 e 13 e das sulfonamidas 14, 15 e 16

Para a obtenção desses derivados foi proposta a seguinte rota de síntese:



i) Ac_2O, AcONa, 100 ^oC; ii) HBr, Ac_2O, O ^oC; iii) NaN_3, acetona, H_2O, iv) Pd-C, H_2, THF, t.a.; v) agente acilante ou sulfonilante, piridina, 0 ℃; vi) MeONa, MeOH, 0 ^oC.

Figura 8: Esquema de síntese dos derivados **5** e **12**-**16** a partir da D-galactose.

Inicialmente, a D-galactose foi peracetilada com anidrido acético em presença de acetato de sódio, condições que conduzem majoritariamente ao anômero β do derivado penta-acetato **2**, com rendimento médio de 65 %.(SWAIN, BROWN, 1952; CONCHIE *et al.*, 1957; SCHMIDT, MICHEL, 1984). O brometo de galactopiranosila **3** foi preparado por reação de **2** com ácido bromídrico em anidrido acético (CONCHIE *et al.*, 1957), com rendimento médio de 75 %.

Os brometos de glicosila são intermediários importantes na química de carboidratos e podem ser usados como materiais de partida para a síntese de glicosilaminas, glicosídeos e oligossacarídeos, além de outras classes de substâncias. Nesse trabalho foi empregado um método tradicional de obtenção de brometo de glicosila. Existem outros métodos, descritos mais recentemente, como o emprego de brometo de acetila em metanol para geração de ácido bromídrico *in situ* (HUNSEN *et al.*, 2005).

O brometo de galactosila **3** é um derivado instável, portanto foi rapidamente utilizado na etapa seguinte. A síntese do derivado azido **4** foi realizada mediante substituição nucleofílica em **3** com azida de sódio em mistura de acetona e água, à temperatura ambiente (SINNOTT, 1971). A formação do produto **4** ocorreu sem problemas e o derivado azido foi obtido praticamente como o único produto. A recristalização do produto bruto em isopropanol levou à formação de um sólido cristalino, com 66% de rendimento, cuja temperatura de fusão e $[\alpha]_D$ são concordantes com valores descritos para este produto (SABESAN, 1992). Além disso, no espectro no infravermelho de **4** pôde ser observada banda intensa e aguda em 2126 cm^{-1}, típica de deformação axial de grupo azido.

A galactosilamina **6** foi obtida pela redução de **4** (THIERING *et al.*, 2001). Diversos procedimentos são relatados para a conversão do grupo azido em amino, por exemplo, hidrogenação catalítica com paládio, platina ou níquel de Raney, redução com trifenilfosfina, redução com hidreto de alumínio e lítio e redução com boridreto de sódio em presença de aditivos, entre outros (SCRIVEN, TURNBULL, 1988; GOLOLOBOV, KASUKHIN, 1992; FRINGUELLI *et al.*, 2000; PERIASAMY, 2000).

O método empregado para redução de **4** e obtenção de **6** foi a hidrogenação catalítica com paládio-carvão, uma vez que permitiu obter o produto desejado, com 87% de rendimento, simplesmente pela remoção do catalisador por filtração, seguido de eliminação do solvente em rotavapor e solidificação do óleo obtido com éter etílico, sem necessidade de purificação adicional (Figura 9).

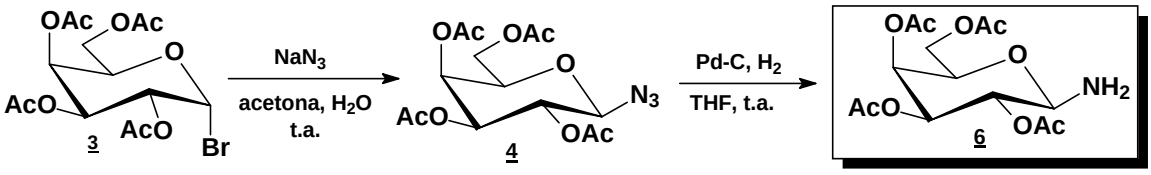
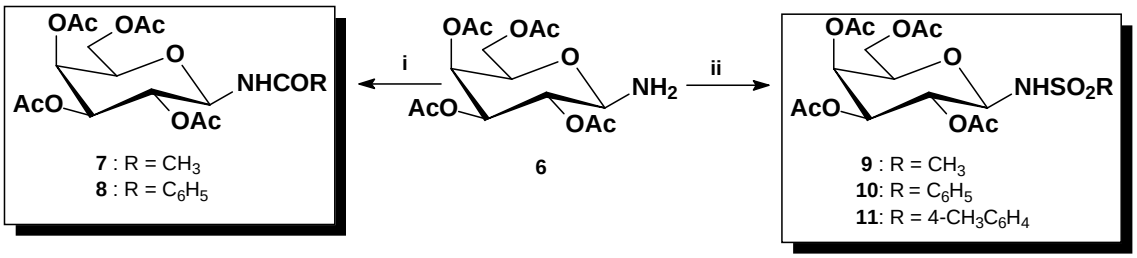


Figura 9: Esquema de síntese de **4** e **6**.

A formação de **6** foi evidenciada pela determinação de sua faixa de fusão, que coincidiu com o valor relatado (JARRAHPOUR *et al.*, 2004), além de dar mancha característica com ninidrina, que, em CCD, forma produto de cor vermelha com substâncias que contenham grupo amino primário. Além disso, no espectro no IV de **6** não foi observada banda relativa ao estiramento de grupo azido.

As glicosilaminas são bastante instáveis, susceptíveis a reações de anomerização e hidrólise (GABIUS, 1998; LUBINEAU *et al.*, 1995). Assim, logo que obtida, **6** foi

transformada nas amidas e sulfonamidas por reação com os reagentes acilantes (anidrido acético ou cloreto de benzoíla) e sulfonilantes (cloreto de metanossulfonila, cloreto de benzenossulfonila e cloreto de 4-metilbenzenossulfonila) apropriados (Figura 10). Todas as reações de acilação e sulfonilação foram realizadas em piridina, utilizada como base e solvente, e sob resfriamento em banho de gelo e água. As reações evoluíram rapidamente e a conclusão das mesmas se deu no intervalo de 60 a 150 minutos.



i = Ac_2O ou BzCl, piridina; ii = CH_3SO_2Cl, $C_6H_5SO_2Cl$ ou 4-$CH_3C_6H_4SO_2Cl$

Figura 10: Esquema de síntese das amidas **7** e **8** e das sulfonamidas **9**, **10** e **11**.

A elaboração das reações, por acidificação da mistura reagente, seguida de extração com solvente orgânico, forneceu os produtos desejados. As amidas **7** e **8** e a sulfonamida **11** foram obtidas na forma sólida, com rendimentos de 80, 88 e 69%, respectivamente, e com pureza suficiente para serem empregadas na próxima etapa, conforme pôde-se notar pelas suas faixas de fusão estreitas. As sulfonamidas **9** e **10** foram purificadas por recristalização em isopropanol e em água, respectivamente, o que levou aos produtos puros com 73 e 78% de rendimento.

A formação das amidas **7** e **8** foi confirmada pela comparação dos resultados de suas análises de RMN, IV e determinação de faixa de fusão com aqueles anteriormente relatados (FRUSH, 1951; KOVÁCS, 2001).

A confirmação das estruturas químicas das sulfonamidas inéditas **9**-**11** foi estabelecida mediante análise de seus espectros de RMN de ^{1}H, de ^{13}C e no infravermelho.

Nos espectros no infravermelho de **7** e **8** foram observadas bandas de deformação axial de C=O de amida em 1666 e 1677 cm^{-1}, respectivamente. As bandas de deformação axial simétrica e assimétrica de grupo SO_2 de sulfonamida (a cerca de 1330 e 1150 cm^{-1}, respectivamente) puderam ser evidenciadas nos espectros dos produtos **9**-**11**.

Nos espectros de RMN de ^{1}H destas substâncias pôde-se perceber dupletos com valores de constante de acoplamento de 8,8 a 9,8 Hz, referentes ao acoplamento do hidrogênio de N-H com o hidrogênio anomérico em configuração α. Os hidrogênios metíli-

cos das agliconas foram observados como simpletos em δ 2,15 (amida **7**), δ 2,95 (sulfonamida **9**) e δ 2,41 (sulfonamida **11**). Os sinais dos hidrogênios aromáticos da sulfonamida **11** puderam ser observados como dois dupletos centrados em δ 7,76 e 7,28 . Para a amida **8** e sulfonamida **10** os sinais relativos aos hidrogênios aromáticos 2' e 6' foram observados como um dupleto (amida **8**: δ 7,78 ; sulfonamida **10**: δ 7,89) e, relativo aos hidrogênios 3', 4' e 5', um multipleto no intervalo de δ 7,58-7,41 (amida **8**) e δ 7,58-7,46 (sulfonamida **10**).

Nos espectros de RMN de ^{13}C foram observados sinais relativos aos carbonos carbonílicos de amida em δ 169,80 e 167,19 para os derivados **7** e **8**, respectivamente. Nos espectros das sulfonamidas **9** e **11** notaram-se sinais relativos aos grupos metílicos do grupo metanossulfonamido e *p*-toluenossulfonamido, respectivamente, em δ 42,8 e 21,6.

Para a remoção dos grupos acetila do derivado azido e das amidas e sulfonamidas, a fim de se obter os produtos **5** e **12**-**16**, respectivamente, empregou-se o método de Zemplén (CONCHIE *et al.*, 1957; ROY; KIM, 2003). Este consiste na transesterificação dos grupamentos éster do anel piranosídico com metóxido de sódio em metanol anidro (Figura 11). Essa reação de desproteção é realizada sob condições amenas e fornece os produtos desacetilados com elevado teor de pureza e altos rendimentos, quase sempre quantitativos.

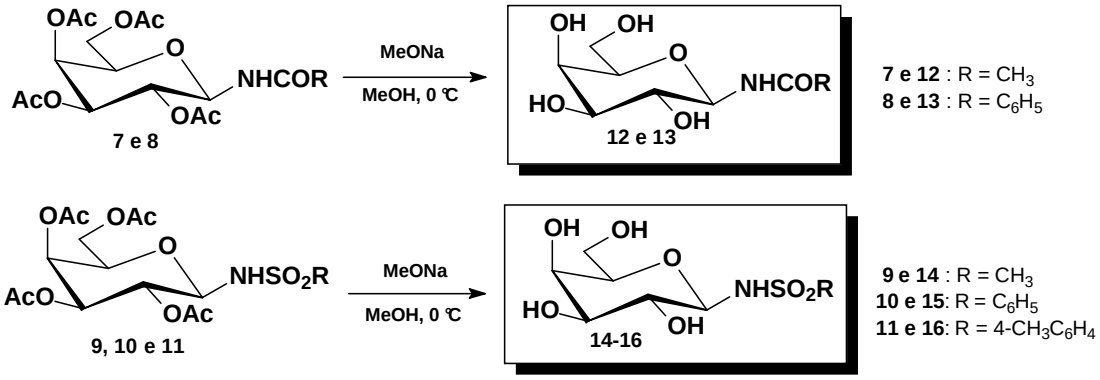


Figura 11: Esquema de síntese de **12**-**16** pelo método de Zemplén.

Outros métodos que poderiam ser utilizados nesta reação clássica de desproteção são o uso de resina de troca aniônica, amônia ou cianeto de potássio em metanol (CONCHIE *et al.*, 1957; HERZIG *et al.* 1986), mistura de guanidina e nitrato de guanidínio em metanol (ELLERVIK, MAGNUSSON, 1997) e uma mistura de trietilamina, metanol e água (LEMIEUX *et al.*, 1975). No caso de substratos sensíveis a meio básico, opta-se por

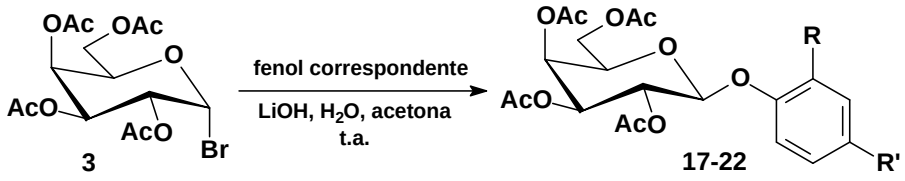
solução metanólica de ácido clorídrico ou ácido tetrafluorobórico em metanol (VEKEMANS *et al.*, 1987).

Utilizando-se a metodologia de Zemplén, as reações ocorreram em curto intervalo de tempo (entre 30 e 90 minutos) e com rendimentos elevados (**12**: 98%; **13**: 95%; **14**: 87%; **15**: 92% e **16**: 91%). Os produtos foram isolados após neutralização da mistura reagente com resina de troca catiônica IRA-120 e eliminação do solvente a pressão reduzida. Os produtos resultantes foram anali-sados por RMN de ^{1}H e ^{13}C e espectrometria no infravermelho, além de comparação dos valores de faixa de fusão e $[\alpha]_D$ com aqueles já descritos na literatura (FRUSH, 1951; PRIYA, 1999; KOVÁCS, 2001). Em todos os casos, foram obtidos os derivados desejados.

Nos espectros no IV de **12**-**16** não foram notadas bandas referentes a grupo carbonila de éster. Além disso, em todos eles, observaram-se bandas largas de deformação axial de grupos hidroxila em ligação de hidrogênio. Nos espectros de RMN de ^{1}H destes produtos (Figuras 62, 64 e 66) não foram constatados sinais relativos aos hidrogênios metílicos dos grupos acetila protetores. A mesma evidência de sucesso nas reações pôde ser notada nos espectros de RMN de ^{13}C, nos quais não se notaram sinais dos carbonos carbonílicos e metílicos destes ésteres (Figuras 63, 65 e 67).

3.1.2 Síntese dos β-D-galactopiranosídeos de arila

Inicialmente, foram sintetizados os intermediários **17** a **22**. Para tanto, diferentes fenóis foram submetidos a reações de glicosilação com o intermediário **3** (Figura 12).



17	**R =** H	**R' =** CHO
18	**R =** H	**R' =** CO_2CH_3
19	**R =** OCH_3	**R' =** CHO
20	**R =** H	**R' =** NO_2
21	**R =** NO_2	**R' =** CO_2CH_3
22	**R =** H	**R' =** $NHCOCH_3$

Figura 12: Esquema de síntese dos galactosídeos **17**-**22**.

O método de glicosilação empregado neste trabalho foi uma adaptação do método descrito por Michael em 1879 e citado por outros autores (*e.g.*, FISCHER; MECHEL, 1916; CONCHIE *et al.*, 1957; JACOBSON, 2006). Na reação original a ligação glicosídica era formada pelo acoplamento do cloreto de glicosila peracetilado ao fenóxido de potássio, formado pela dissolução do fenol em meio aquoso alcalino, conforme mostrado na figura a seguir:

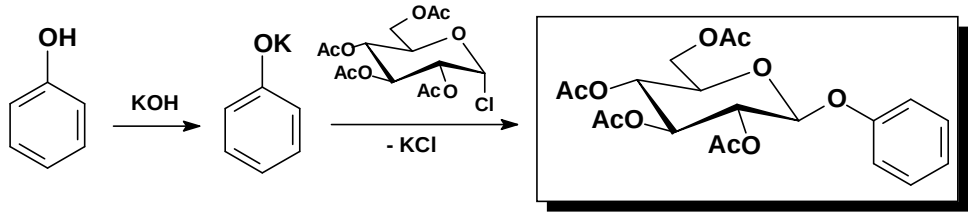


Figura 13: Formação de glicosídeos por reação de fenóxido de potássio com cloreto de glicosila (MICHAEL, 1879).

Posteriormente, este método foi estendido também para agliconas alcoólicas, pelo emprego de brometo de glicosila, álcoois e carbonato de prata. Este método particular passou a ser denominado glicosilação de Koenigs-Knorr, em referência aos seus criadores (IGARASHI, 1977). Nestas reações descritas, que ocorrem em meio alcalino, as ligações glicosídicas são formadas via mecanismo S_N2.

Além destes métodos, outros estão bastante difundidos nos dias atuais. Entre eles citam-se: reação com acetatos de glicosila ativados por ácidos de Lewis ou de Brönsted (PONTICELLI *et al.*, 2001), emprego de tricloroacetimidatos de glicosila (SCHMIDT, KINZY, 1994), reação com glicais oxidados (DUSHIN, DANISHEFSKY, 1992) e o emprego de reações de biotransformação (REISS *et al.*, 1999; KAMINAGA *et al.*, 2004), além de outros.

Rendimentos variáveis são relatados para os diversos métodos de glicosilação. Dentre os diversos problemas específicos associados à glicosilação de fenóis e que podem ser responsáveis pelos baixos rendimentos relatados com este método, podem ser citados (DESS, 1981; JACOBSON, 2006): a) o efeito elétron-atraente do anel aromático, o que reduz a nucleofilia da aglicona; b) o fato de os fenóis serem nucleófilos bidentados, o que pode levar ao surgimento de produtos oriundos de *C*-glicosilação, em especial no caso de uso de meio ácido e c) o bloqueio estérico de grupos substituintes presentes no composto fenólico.

Em geral, o uso de haletos de glicosila como doadores do grupo sacarídico fornece rendimentos menores que 60%. Apesar deste problema, a insistência em se utilizar o

método descrito se baseia em sua simplicidade de execução e uso de reagentes facilmente acessíveis. Estes haletos são prontamente sintetizados a partir dos compostos peracetilados e são importantes em reações de glicosilação sob condições alcalinas e em que se empregam fenóis deficientes em elétrons (JACOBSON, 2006).

As reações de glicosilação ocorreram em curto espaço de tempo, em geral de 30 a 60 minutos. Os rendimentos obtidos para os produtos protegidos puros foram, em geral, baixos: **17** (29%), **18** (42%), **19** (25%), **20** (42%), **21** (37%) e **22** (32%). No método utilizado, foram observados por CCD diversos subprodutos mais polares que os galactosídeos. Sugere-se que eles sejam formados por degradação do brometo de galactosila, instável no meio de reação. Por outro lado, os subprodutos poderiam ser oriundos de reações de desacetilações parciais do produto formado no meio aquoso e fortemente básico.

Os intermediários **17**-**19** e **22** foram obtidos diretamente na forma de sólidos cristalinos puros. Entretanto, **20** e **21**, os galactosídeos nitrados, necessitaram de recristaliza-ção. Os produtos foram caracterizados mediante suas faixas de fusão, $[\alpha]_D$ e dados de análises espectrométricas.

Nos espectros de RMN de ^{1}H dos galactosídeos **19** e **22** foram nítidos os dupletos referentes a H-1 em aproximadamente δ5,0 com constantes de acoplamento de cerca de 8,0 Hz, característicos de anômero β. Além disso, puderam ser observados nos espectros de RMN de ^{1}H referentes a **17**, **18**, **20** e **22** dois dupletos relativos a hidrogênios de sistemas aromáticos 1,4-dissubstituído com valores médios de constante de acoplamento de 8,5 Hz, o que evidenciou a presença dessa aglicona.

Na Figura 14 está representado, como exemplo, o espectro de um destes intermediários. Nos espectros de RMN de ^{13}C desses mesmos produtos pôde-se notar os sinais relativos a carbonos aromáticos situados no intervalo de δ169-116 .

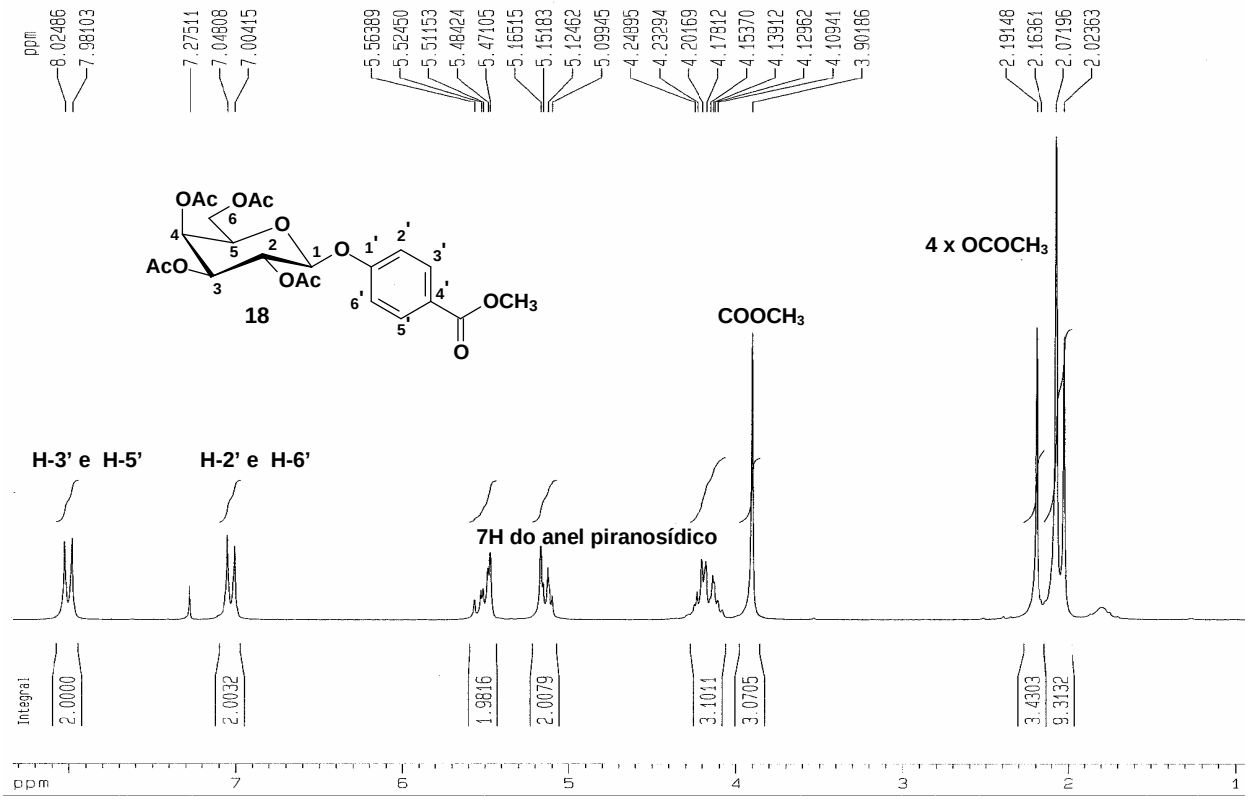


Figura 14: Espectro de RMN de ^{1}H do galactosídeo **18** (200 MHz, $CDCl_3$).

Os intermediários **19** e **21**, com anéis aromáticos 1,2,4-trissubstituídos, tiveram suas identidades confirmadas pelo sistema típico de acoplamento em espectros de RMN de ^{1}H, nos quais se percebem três sinais em deslocamentos químicos diferentes para cada tipo de hidrogênio do anel. Isto foi evidenciado no espectro do produto **21**, mostrado na Figura 15, em que se pôde notar um dupleto em δ 8,4 com constante de acoplamento de 1,9 Hz, referente ao acoplamento de H-3' com H-5', um dupleto duplo em δ 8,19 originado do acoplamento de H-5' com H-6' e com H-3', com constantes de 8,0 e 1,9 Hz, respectivamente. Em δ 7,4 , na forma de um dupleto de constante de acoplamento 8,0 Hz, observou-se o sinal relativo a H-6' em acoplamento com H-5'.

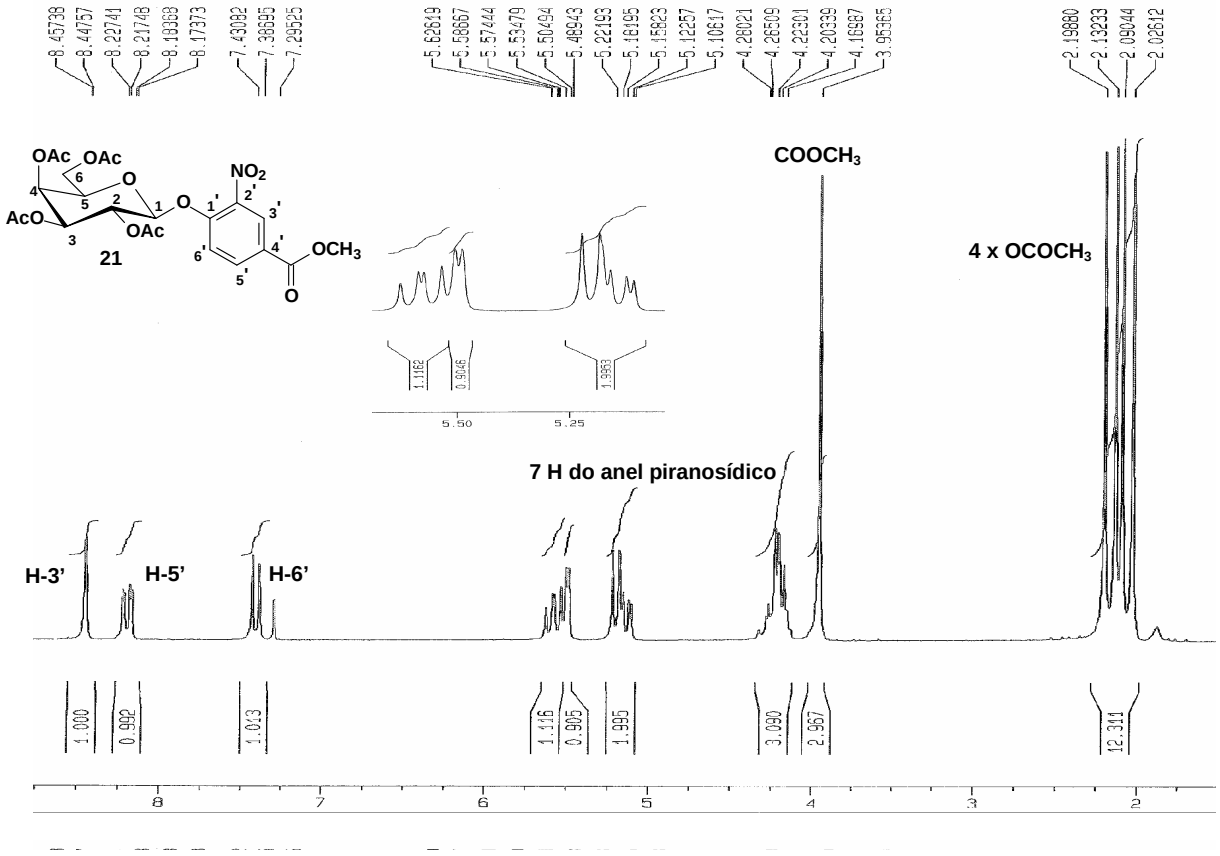
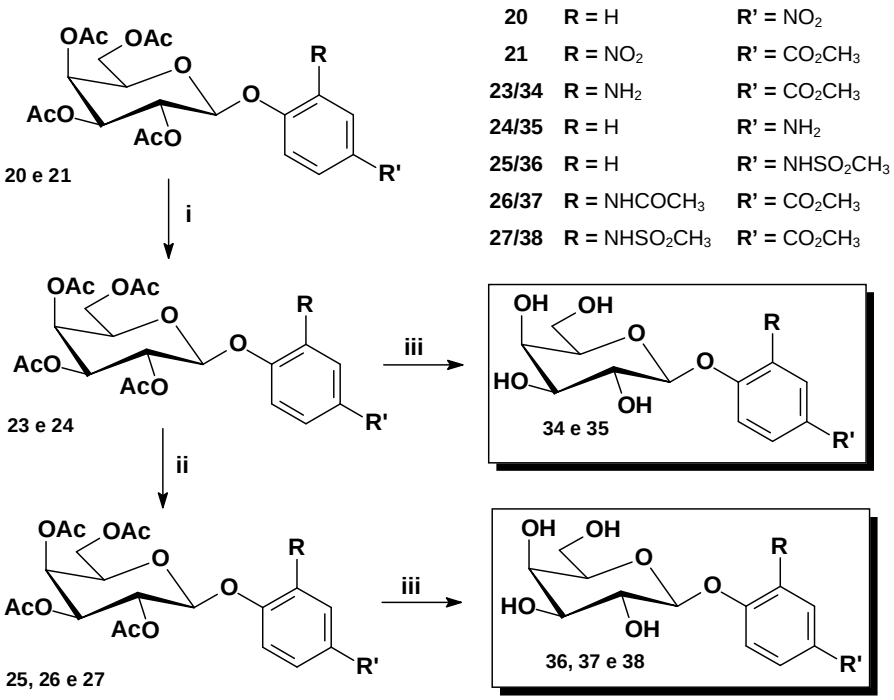


Figura 15: Espectro de RMN de ^{1}H do galactosídeo **21** (200 MHz, $CDCl_3$).

Além dos sinais referentes aos hidrogênios e carbonos dos anéis aromáticos, pôde-se notar, ainda, sinais referentes aos grupos substituintes particulares de cada anel. Nos espectros de **17** e **19** observaram-se simpletos em cerca de δ 9,8 relativos ao hidrogênio do grupo formila. Os sinais relativos aos hidrogênios do éster metílico de **18** e **21** e do grupo metoxila de **19** puderam ser observados, nesta ordem, em δ 3,90, 3,95 e 3,86 . A presença de tais grupos também foi evidente ao se analisar os espectros no infravermelho, nos quais notaram-se bandas de deformação axial de carbonila de éster (1715 cm^{-1}, derivado **18**), de aldeído (1693 cm^{-1}, derivado **17**), de amida (1668 cm^{-1}, derivado **22**) e de deformação axial assimétrica e simétrica de grupo nitro, respectivamente, a 1591 e 1345 cm^{-1} (derivado **20**).

As etapas seguintes, mostradas na Figura 16, consistiram na redução dos grupos nitro dos galactosídeos **20** e **21** para obtenção das aminas **23** e **24** e suas conversões na amida **37** e sulfonamidas **36** e **38**.



i) Pd-C, H_2, THF, t.a.; ii) CH_3SO_2Cl, piridina, 0 ºC (**25** e **27**) ou Ac_2O, piridina, 0 ºC (**26**); iii) MeONa, MeOH, 0 ºC.

Figura 16: Esquema de síntese dos galactosídeos **34**-**38**.

Existem diversos métodos para a redução de nitrocompostos aromáticos. Utilizam-se desde condições que empregam ácidos ou bases inorgânicas fortes e metais, como ferro, estanho e zinco, em aquecimento sob refluxo (HOUSE, 1972), até reações que se processam de forma mais branda, como: emprego de boridreto de sódio associado a cloreto de cobalto, sulfato de cobre ou sulfato de amônio (GRIBBLE, 1998; PERIASAMY, 2000); redução em presença de samário e metanol com quantidades catalíticas de iodo (BANIK *et al.*, 1998); redução com cloreto de amônio e alumínio metálico sob ultrassom (NAGARAJA; PASHA, 1999); emprego de cloreto estanoso em etanol sob refluxo (BELLAMY, 1984) etc. A escolha dos reagentes redutores é feita, em geral, com base na coexistência ou não de outros grupos na substância sensíveis a esses reagentes e também para evitar impurezas no produto final.

Neste trabalho, empregou-se a hidrogenação catalítica como método de redução, já que não interfere com outros grupos funcionais presentes nos galactosídeos. Entretanto, as reações de redução não foram eficientes em todos os casos, quando se levaram em conta o tempo gasto para seu término e a pureza observada para os produtos. Na redução dos dois galactosídeos nitrados, depois de constatado o término das reações, o catalisador foi separado por filtração e o solvente eliminado sob ar comprimido, a frio.

Em ambos os casos foram obtidos produtos na forma de óleo amarelado com rendimentos de 56 e 26% para **23** e **24**, respectivamente. Quando não usados prontamente nas reações seguintes, estes produtos levavam rapidamente a produtos de degradação, percebidos por mudança da coloração e perfil em CCD, o que é comum para aminas aromáticas.

Pequenas quantidades dessas aminas foram purificadas por cristalização com éter etílico (**23**) ou por CCS (**24**) para caracterizar as substâncias pelo valor de $[\alpha]_D$, dados de espectrometria no infravermelho (**24**) e por RMN de ^{1}H e ^{13}C e espectrometria no infravermelho (**23**, Figuras 65 e 66). Uma vez que as amidas e sulfonamidas são mais estáveis que as aminas de origem, os derivados **25**, **26** e **27** foram sintetizados a partir do produto bruto da redução, sem purificação prévia dos mesmos, por reação com os agentes acilantes ou sulfonilantes apropriados (Figura 17).

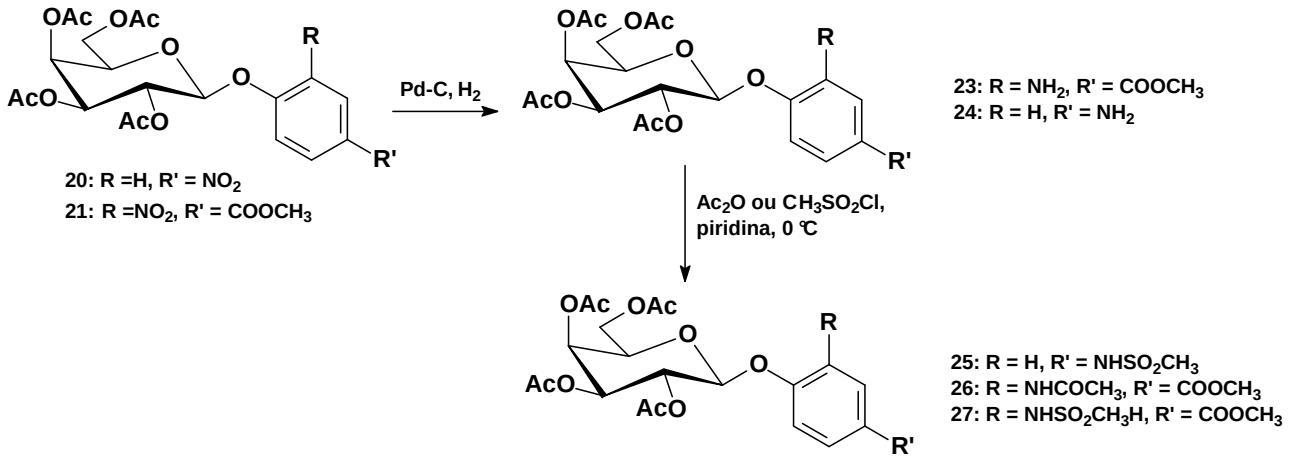


Figura 17: Esquema de síntese da amida **26** e das sulfonamidas **25** e **27**.

As reações ocorreram num intervalo de 120-190 minutos e apresentaram, em geral, produtos com bons rendimentos: **25** (59%), **26** (71%) e **27** (71%).

Na Figura 18 está mostrado o espectro de RMN de ^{1}H de um destes produtos, a sulfonamida **27**.

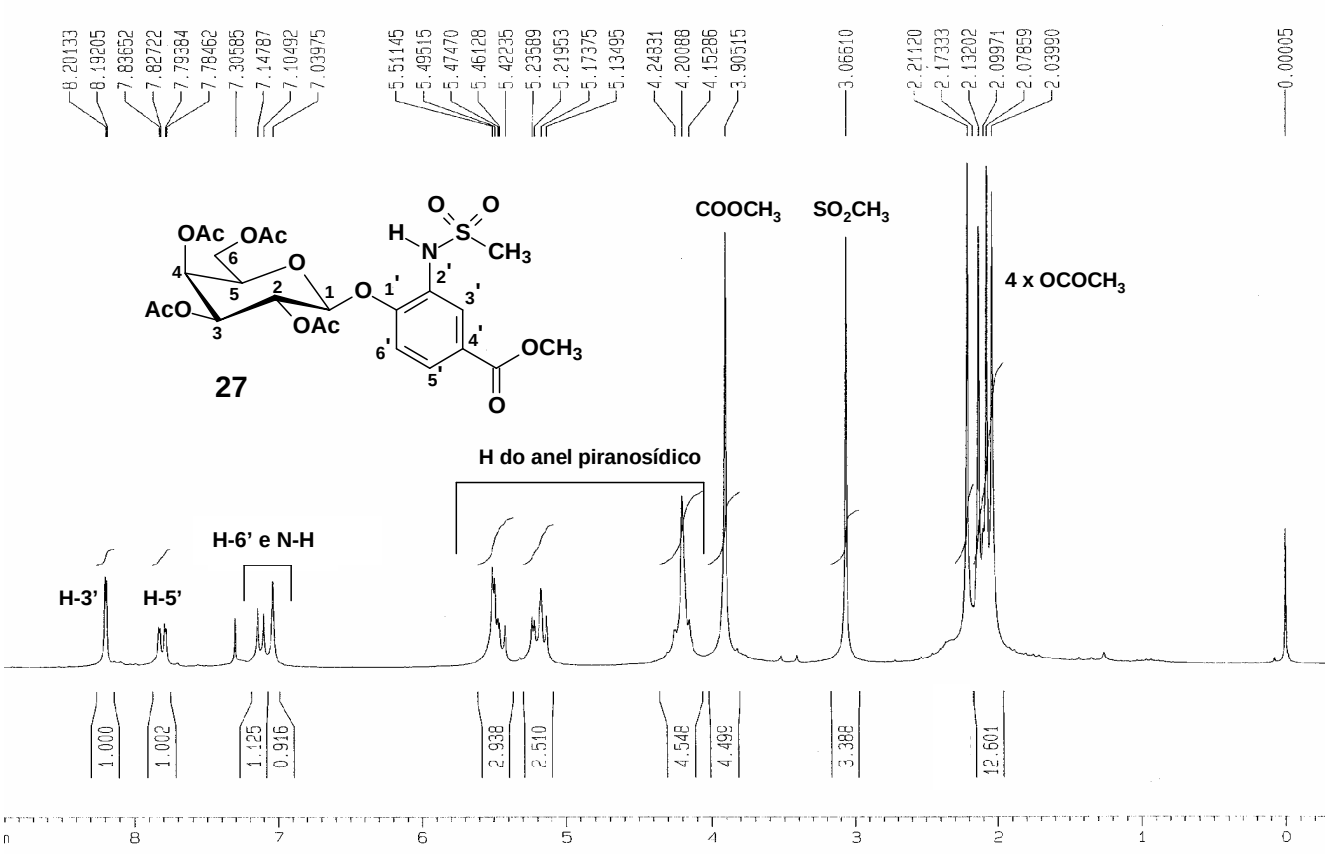


Figura 18: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **27** (200 MHz, $CDCl_3$).

Nos espectros de RMN de ^{1}H de todos estes derivados pôde-se notar os simpletos relativos aos hidrogênio do grupo N-H a δ6,97, 7,87 e 7,03, respectivamente para **25**, **26** e **27**. No espectro de RMN de ^{13}C, relativo ao derivado acetamídico **26**, pôde-se observar um sinal relativo à carbonila de amida em δ168,97 , além do carbono metílico em δ52,23. Os sinais referentes aos carbonos metílicos das sulfonamidas **25** e **27** puderam ser notados em δ 39,1 e 39,8 , respectivamente. Nos espectros no infravermelho destas mesmas substâncias observaram-se, ainda, duas bandas a cerca de 1360 e 1150 cm^{-1}, características de deformações axiais do grupo SO_2 de sulfonamidas. Para a acetamida **26** notou-se banda a 1685 cm^{-1} relativa à carbonila de amida.

Uma vez obtidos os derivados **17**-**27**, procedeu-se às reações de transesterificação dos mesmos com metóxido de sódio, como descrito anteriormente, a fim de se obter os galactosídeos desprotegidos **28**-**38**. Estes produtos foram obtidos, em sua maioria, na forma cristalina e pura, exceto os produtos **33** e **36**, que foram purificados por recristalização em metanol e isopropanol, respectivamente. Na Tabela 4 estão mostrados os rendimentos obtidos nas reações de preparação destes derivados.

Tabela 4: Rendimentos das reações de transesterificação para obtenção dos derivados **28**-**38**.

Derivado	**28**	**29**	**30**	**31**	**32**	**33**	**34**	**35**	**36**	**37**	**38**
Rendimento (%)	91	89	91	94	82	95	73	90	92	99	83

A remoção dos grupos acetila foi confirmada por análise dos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e infravermelho destes produtos. Nos espectros no infravermelho observaram-se bandas largas características da deformação axial de O-H entre 3500 e 3200 cm^{-1}. Além disso, não se observaram bandas de carbonila de éster alifático. O mesmo pôde ser notado nos espectros de RMN de ^{13}C e de ^{1}H, pois em contraste com os espectros dos galactosídeos precursores, não há sinais relativos aos carbonos dos grupos acetila e dos hidrogênios metílicos (Figuras 70-89). Na figura a seguir, como exemplo, é mostrado o espectro de RMN de ^{1}H da amida desprotegida **37**.

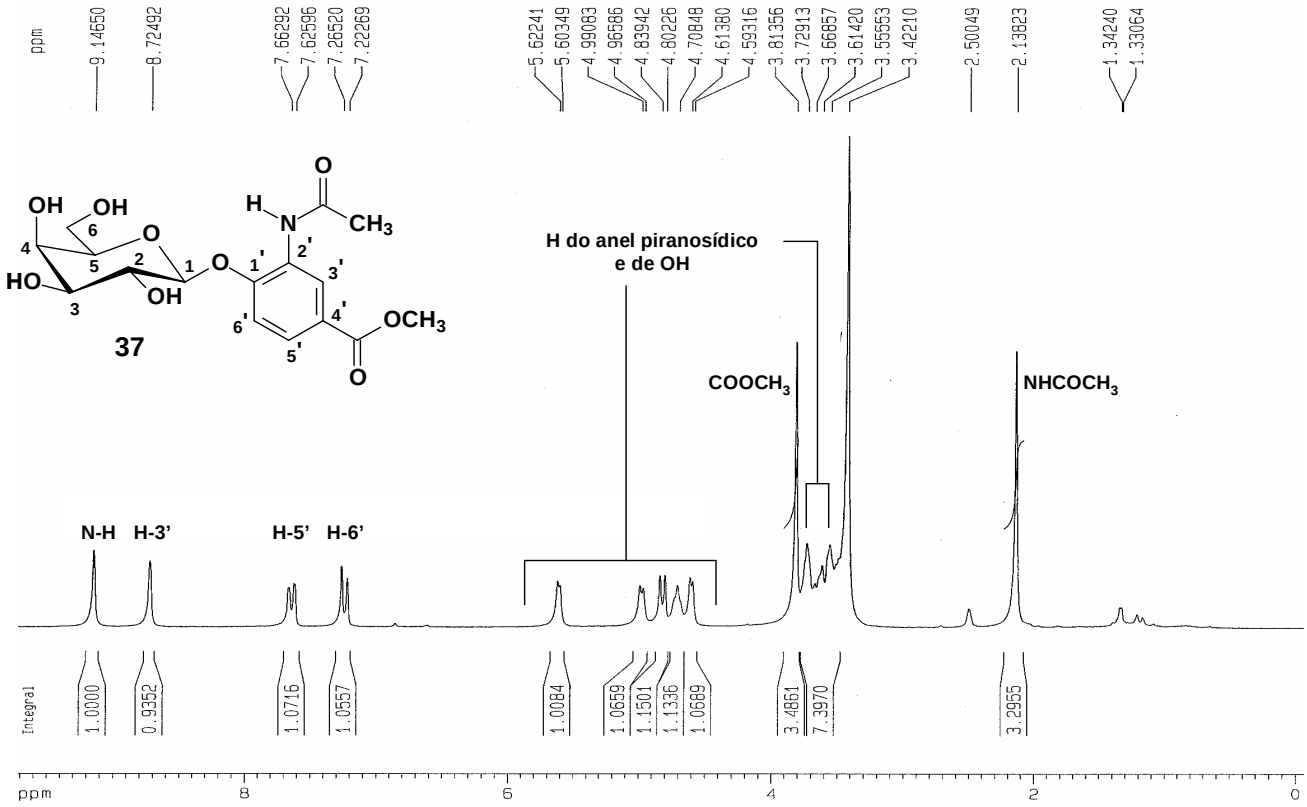


Figura 19: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **37** (200 MHz, DMSO-d_6).

O galactosídeo **29**, derivado do 4-hidroxibenzoato de metila, foi submetido à reação de hidrólise (Figura 20), a fim de se obter o ácido carboxílico correspondente **39**.

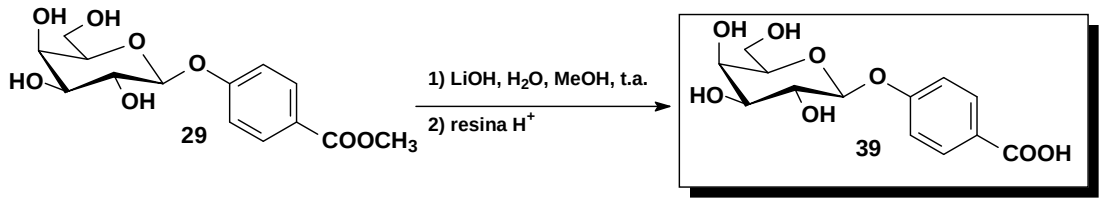


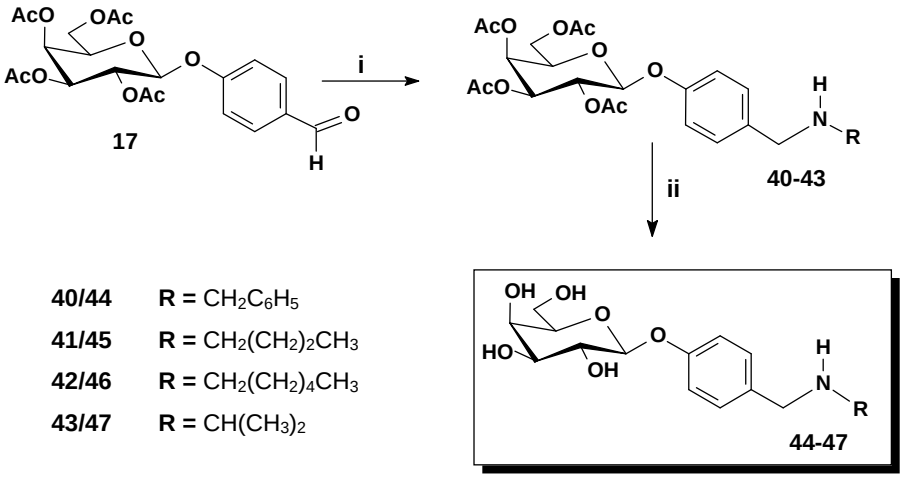
Figura 20: Reação de hidrólise de **29**.

Assim, **29** foi submetido a hidrólise com hidróxido de lítio em mistura de metanol e água. A reação ocorreu à temperatura ambiente e em 60 minutos todo o material de partida foi consumido, como observado por CCD, levando à formação de um único produto (**39**), bem mais polar que **29**. O tratamento da mistura reagente com resina de troca catiônica teve a finalidade de abaixar o valor de pH do meio para cerca de 3, a fim de evitar o isolamento do sal de lítio correspondente.

O produto **39** foi obtido na forma de um sólido cristalino branco, com rendimento de 70 %, e foi caracterizado por análises de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. O sucesso da reação pôde ser evidenciado por análise dos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C de **39**, uma vez que não se observou o simpleto referente aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila do éster (RMN de ^{1}H, Figura 74), ou o sinal relativo ao carbono do mesmo grupo funcional (espectro de RMN de ^{13}C, Figura 75).

3.1.3 Síntese de aminas por aminação redutiva de 17

Para a obtenção dos produtos **44**-**47**, seguiu-se o esquema de síntese mostrado na Figura 21:



40/44	**R =** $CH_2C_6H_5$
41/45	**R =** $CH_2(CH_2)_2CH_3$
42/46	**R =** $CH_2(CH_2)_4CH_3$
43/47	**R =** $CH(CH_3)_2$

i) amina correspondente, $NaBH_3CN$, CH_3OH, HCl (pH 6), t. a.; ii) MeONa, MeOH, 0 ^{o}C.

Figura 21: Esquema de síntese das aminas **44**-**47**.

Utilizou-se o galactosídeo **17** como material de partida e as aminas benzilamina, *n*-butilamina, *n*-hexilamina e isopropilamina. O método empregado de início foi a aminação redutiva, no qual uma substância carbonílica é convertida em uma amina por reação com amônia ou a amina apropriada na presença de um agente redutor (LANE, 1975; MIRIYALA *et al.*, 2004).

As reações de aminação redutiva são divididas em reações diretas ou indiretas. Nas reações diretas, a substância carbonílica, a amina e o agente redutor são adicionados ao mesmo tempo no frasco de reação. Já nas reações indiretas, primeiramente é formada a imina, por reação da amina com o composto carbonílico e a redução é efetuada em etapa subseqüente (SPRING, 1940; LAYER, 1963; CROUCH *et al.*, 1998). Quando a amina utilizada é primária, a imina formada é denominada base de Schiff. Uma proposta simplificada do mecanismo de formação de iminas está representada na figura a seguir:

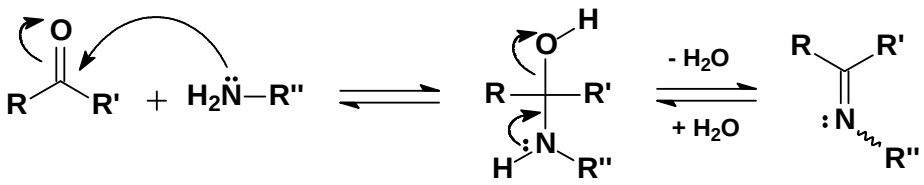


Figura 22: Mecanismo proposto de formação de iminas.

De uma forma ou de outra, os métodos de redução mais empregados são a hidrogenação catalítica ou o uso de hidretos, em especial o cianoboridreto de sódio. Dentre esses dois métodos, prefere-se o uso de cianoboridreto de sódio como redutor ao uso da hidrogenação catalítica, pois esta última é um método de redução não seletivo, podendo afetar outros grupos presentes na molécula, *e.g.*, grupos nitro, nitrila, azido, alquenos e alquinos.

O cianoboridreto de sódio é um redutor brando, e sua seletividade pode ser controlada por modificação do pH do meio de reação. É relatado que cetonas e aldeídos são facilmente reduzidos por esse reagente desde que o pH do meio reagente seja mantido na faixa de 3-4, intervalo em que há quantidade ideal de íons hidrogênio no meio para a catálise da reação sem ser prejudicial para a estabilidade do redutor. Entretanto, em valores mais altos de pH, a redução de compostos carbonílicos é negligenciável (LANE, 1975; CROUCH, 1998).

Na reação de aminação redutiva, um cátion imínio, formado pela adição da amônia ou amina ao composto carbonílico, é a espécie reduzida pelo hidreto. Esse intermediário

é formado facilmente na faixa de pH de 6-8, intervalo no qual a sua redução é preferencial à redução do composto carbonílico de origem (Figura 23). Portanto, a manutenção do pH da mistura reagente neste intervalo é importante para o sucesso da reação.

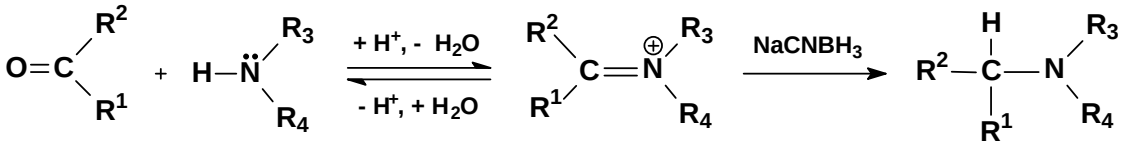


Figura 23: Representação esquemática da reação de aminação redutiva.

As reações de aminação redutiva ocorreram com rendimentos variados, dependendo da amina utilizada. Nas reações de síntese das aminas **42** e **43**, os produtos foram obtidos com bons rendimentos e sem necessidade de purificação (60 e 40%, respectivamente). Entretanto, o derivado benzilamínico **40** necessitou de purificação em CCS, devido à existência de vários subprodutos observados por CCD. Isto levou à obtenção do produto com rendimento baixo, em torno de 20%. O derivado sintetizado com a butilamina (**41**) foi isolado por solidificação com éter de petróleo e acetona, e obteve-se um rendimento também muito baixo (5%).

Várias repetições das sínteses de **40** e **41** foram realizadas. No intuito de se otimizar essas reações e evitar o surgimento de produtos de degradação, foram realizadas tentativas nas quais empregou-se peneira molecular para acelerar a etapa de desidratação que conduz à imina ou a proteção contra a luz da mistura reagente, uma vez que as aminas podem ser fotossensíveis. Em nenhum dos casos obteve-se sucesso no sentido de diminuir a formação de subprodutos ou aumentar os rendimentos.

Mesmo assim, houve formação de quantidades suficientes dos produtos para a caracterização por métodos espectrométricos. Além da presença de sinais característicos de cada cadeia lateral inserida, não se observaram, nos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C e no infravermelho, sinais relativos ao grupo formila do galactosídeo usado como material de partida.

No espectro de RMN de ^{1}H de **40** pôde-se observar um multipleto no intervalo de δ 7,34-7,26, relativo aos hidrogênios aromáticos H-3' e H-5' do anel aromático do material de partida e H-10' - H-14' do anel benzílico introduzido com a reação. Os hidrogênios H-2' e H-6', do primeiro anel, puderam ser notados como um dupleto centrado em δ 6,96, com constante de acoplamento de 8,32 Hz. Em δ 3,79 e 3,76 observaram-se os simpletos dos grupos metilênicos benzílicos. No espectro de RMN de ^{13}C da mesma substância há

sinais relativos aos átomos de carbono do novo anel aromático no intervalo de δ 128,45-127,11 e sinais do grupos metilênicos C-7' e C-8' em δ 52,88 e 52,23, respectivamente.

A formação do derivado **41** pôde ser confirmada pela análise de seu espectro de RMN de ^{1}H, mostrado na Figura 24, a título de exemplo de um intermediário protegido dessa classe. Observou-se um quinteto em δ 1,61 relativo aos hidrogênios H-9' em acoplamento com os grupos metilênicos vizinhos H-8' e H-10'. Além desse sinal, puderam ser notados um sexteto em δ 1,30, relativo aos hidrogênios H-10' em acoplamento com H-9' e H-11' e um tripleto centrado em δ 0,86, relativo aos hidrogênios H-11' em acoplamento com os hidrogênios metilênicos de H-10'. O sinal largo em δ 9,36, com valor de integral correspondente a dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios do grupo amino protonado, o que levou à conclusão que o produto **41** foi isolado na forma de sal cloridrato. No espectro de RMN de ^{13}C dessa substância pôde-se observar o conjunto de sinais relativos à cadeia butílica no intervalo de δ 45,90-27,32 e δ 19,41-13,53.

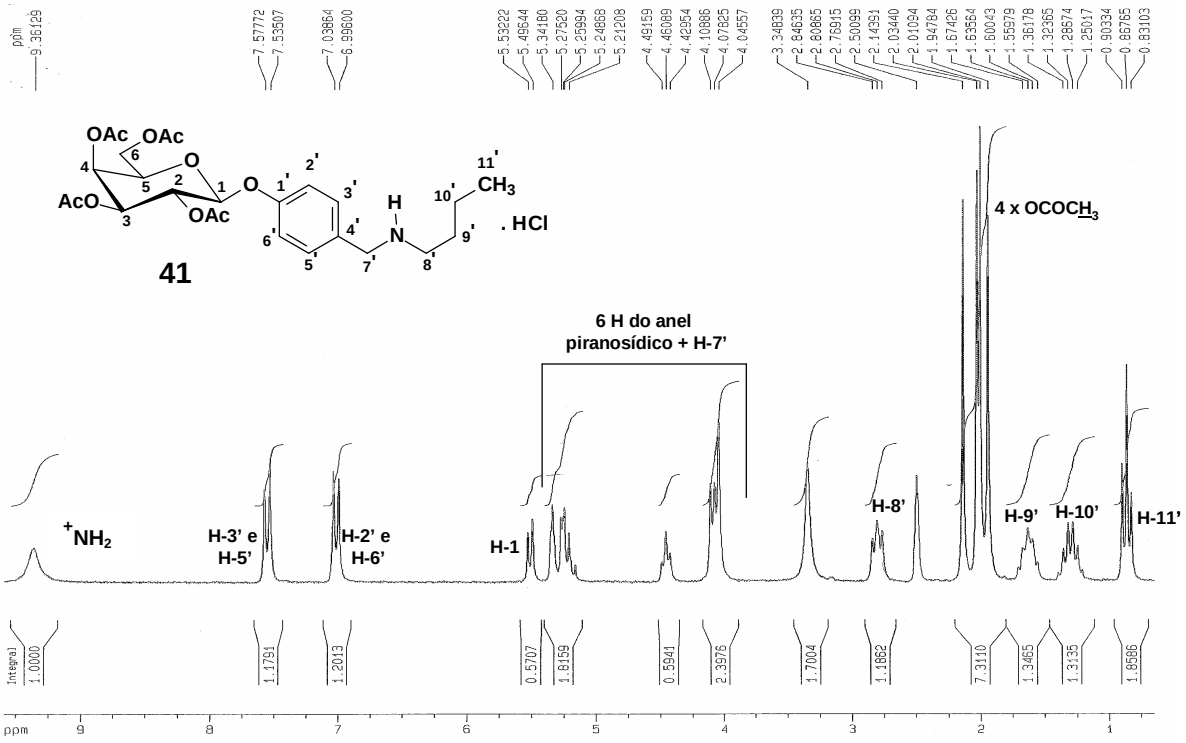


Figura 24: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **41** (200 MHz, DMSO-d_6).

Ao se analisar o espectro de RMN de ^{1}H de **42** puderam ser notados sinais referentes à cadeia lateral deste produto. Em δ 2,76-2,72, δ 1,87-1,79 e δ 1,34-1,22 , observaram-se multipletos referentes aos hidrogênios metilênicos H-8', H-9' e ao conjunto H-10', H-11' e H-12'. O sinal de H-13' foi observado como um tripleto centrado em δ 0,84 ,

com constante de acoplamento 6,8 Hz, referente ao acoplamento deste hidrogênio com os dois hidrogênios H-12'. No espectro de RMN de ^{13}C os carbonos da cadeia hexílica foram observados no intervalo de δ 49,6-22,3 (C-8' a C-12', respectivamente) e em δ 13,8 (C-13'). A formação do derivado com isopropilamina (**43**) foi evidenciada pela presença, no espectro de RMN de ^{1}H, de um simpleto em δ 3,75 referente aos hidrogênios benzílicos H-7' e de um dupleto, referente aos seis hidrogênios metílicos do grupo isopropila, de constante de acoplamento 6,2 Hz, centrado em δ1,11. No espectro de RMN de ^{13}C notaram-se sinais em δ50,5 referentes ao carbono benzílico, C-7', e aos carbonos do grupo isopropila em δ48,1 (C-8') e δ22,5 (C-9').

Os produtos **40**, **42** e **43** foram submetidos, em seguida, à reação de desproteção pelo método de Zemplén. O produto **41** não foi desacetilado devido à pequena quantidade de material disponível para realizar essa reação. As reações de desproteção levaram aos produtos desacetilados **44**, **46** e **47**, com rendimentos de 33, 46 e 80%, respectivamente.

Nos espectros no infravermelho destas substâncias notaram-se bandas largas relativas à deformação axial de grupo hidroxila e não mais se observaram as bandas referentes ao estiramento de carbonila de éster. Nos espectros de RMN de ^{1}H (Figuras 93, 98 e 107) e de ^{13}C (Figuras 94, 99, 103 e 106) destas substâncias não foram observados sinais relativos ao grupo acetila. Na figura a seguir está representado, como exemplo, o espectro de RMN de ^{1}H da amina desprotegida **46**.

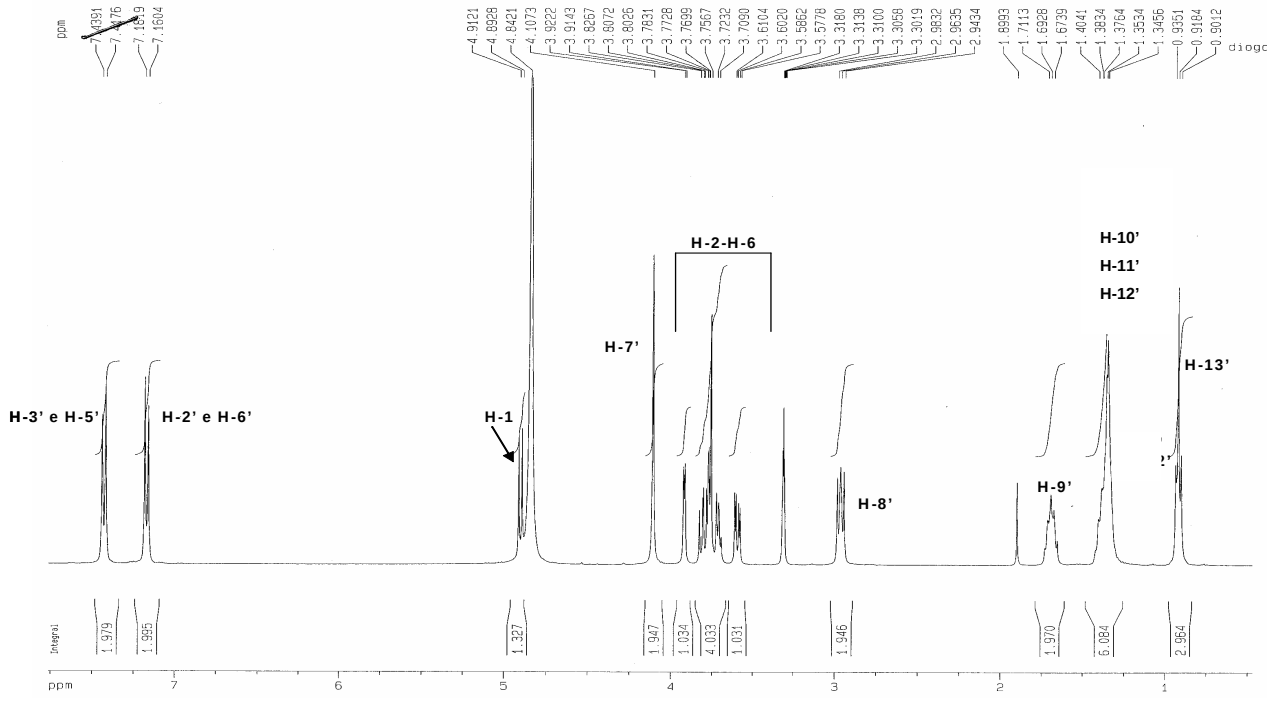
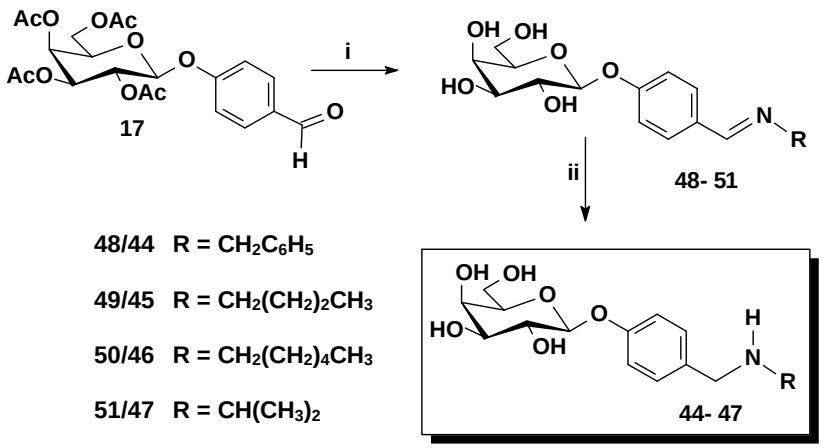


Figura 25: Espectro de RMN de ^{1}H do derivado **46** (400 MHz, CD3OD).

Em vista das dificuldades encontradas na síntese e isolamento das aminas **40** e **41** e da necessidade de se disponibilizar quantidades suficientes dos produtos desacetilados **44** e **45** para a execução dos testes biológicos, optou-se pela tentativa de prepará-los por meio da síntese e posterior redução de iminas, conforme mostrado na Figura 26.



i) amina correspondente, MeOH, Na_2SO_4 anidro; t.a.; ii) Pd-C/H_2, MeOH, t.a. ou $NaBH_4$, EtOH, 0 ℃, seguido de refluxo.

Figura 26: Esquema de síntese de **44**-**47** via iminas **48**-**51**.

A título de comparação entre os métodos, os produtos hexilamínico **46** e isopropilamínico **47** também foram preparados por este método indireto.

São relatados diversos procedimentos experimentais para a obtenção de bases de Schiff, desde os mais tradicionais que empregam a agitação do composto carbonílico e amina em solvente aprótico à temperatura ambiente ou com aquecimento sob refluxo em etanol (LAYER, 1963; GAO, ZHENG, 2003) até métodos mais modernos, como o uso de irradiação por microondas (VARMA *et al.*, 1997) ou ultrassom (GUZEN *et al.*, 2007).

Como comentado anteriormente (p. 54), o primeiro passo da reação de síntese de imina consiste na adição nucleofílica da amina (ou amônia) ao composto carbonílico. Na etapa seguinte ocorre eliminação de água e formação da ligação C=N, característica nessa classe. A formação do aminoálcool, etapa prévia à desidratação, é fundamental para a formação do produto e pode ocorrer por um mecanismo de migração intramolecular de hidrogênio ou pelo uso de catálise ácida, que acelera essa etapa da reação (LAYER, 1963). Todavia, o pH do meio reagente deve ser mantido, em geral, na faixa de 5-8 aproximadamente, sob o risco de a grande quantidade de íons hidrogênio existentes em pH menor que quatro levar à protonação e diminuição da concentração do nucleófilo da amina (ou amônia). Por outro lado, valores elevados de pH não facilitariam a eliminação de água para formação da imina, devido à deficiência de íons hidrogênio (CROUCH, 1998). Outra forma de deslocar o equilíbrio da reação para a formação das

iminas é por retirada da água formada no meio por algum processo (SPRING, 1940; LAYER, 1963). Um método usualmente empregado é a remoção da água na forma de azeótropo com to-lueno, solvente da reação nesses casos, por meio do aparelho Dean-Stark. Neste traba-lho, optou-se por usar sulfato de sódio anidro como agente desidratante (JARRAHPOUR *et al.*, 2004), que é removido do meio por filtração simples ao final da reação.

Os derivados **48**, **49**, **50** e **51** foram obtidos com rendimentos de 71, 36, 67 e 66%, respectivamente, na forma de sólidos cristalinos após filtração, eliminação do solvente em evaporador rotatório, solidificação com éter etílico e recristalização em isopropanol, exceto pelo derivado isopropilamínico, recristalizado em metanol. Pela análise dos espectros de RMN de ^{1}H (Figuras 90, 100 e 104) e ^{13}C (Figuras 91, 96, 101 e 104) e no infravermelho também se pôde perceber que durante as reações de formação das iminas ocorreu a desacetilação integral desses derivados. Não foram observados sinais de hidrogênios ou carbonos de grupo acetila característicos nos espectros em questão. Possivelmente, o fato ocorreu por transesterificação destes grupos protetores pelo metanol usado como solvente, com catálise pela amina usada na reação. De fato, são conhecidos métodos de transesterificação utilizando-se álcoois e aminas (OTERA, 1993). Isto não representou problema, pois reduziu uma etapa de reação que seria a desacetilação pelo método de Zemplén. Na Figura 27 é mostrado o espectro de RMN de ^{1}H da base de Schiff **49**.

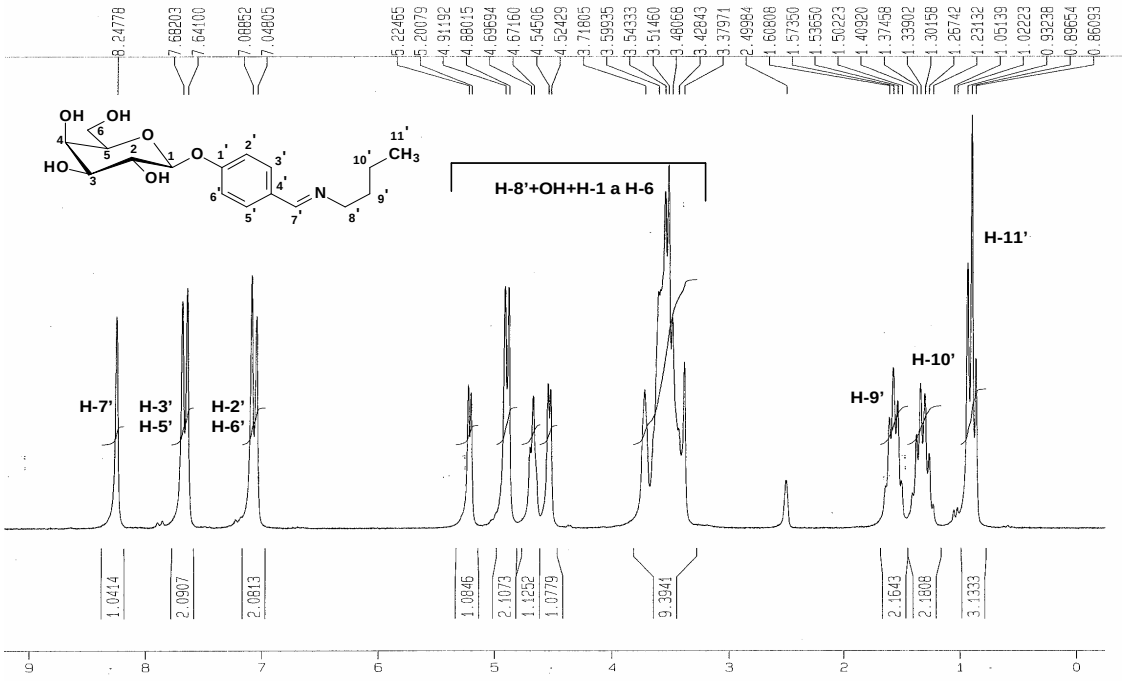


Figura 27: Espectro de RMN de ^{1}H da base de Schiff **49** (200 MHz, DMSO-d_6).

Observaram-se sinais condizentes com as estruturas esperadas para todas as iminas, em especial os simpletos em δ 8,41(**48**), 8,24 (**50**) e 8,27 (**51**), correspondentes aos hidrogênios imínicos H-7' das bases de Schiff. Nos espectros no infravermelho destas substâncias, puderam ser observadas bandas relativas à deformação axial de grupo C=N em 1645 (**48**),1644 (**49**), 1640 (**50**) e 1637 cm^{-1} (**51**) e nitidamente não há banda típica de carbonila de aldeído, como esperado.

As bandas em 746 e 698 cm^{-1} no espectro no infravermelho de **48** são característicos de anel benzênico monossubstituído. Isto foi confirmado pela observação, no espectro de RMN de ^{1}H (Figura 90) de **48**, de sinais no intervalo de δ 7,32-7,24, relacionados aos cinco hidrogênios do anel benzênico monossubstituído.

Os sinais referentes aos hidrogênios H-9', H-10' e H-11', relativos à imina **49**, puderam ser vistos no seu espectro de RMN de ^{1}H (Figura 27) um quinteto em δ 1,55, um sexteto em δ 1,32 e um tripleto em δ 0,89, respectivamente. Quanto às iminas **50** e **51**, pôde-se observar em seus espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C o mesmo padrão de sinais relatados para suas cadeias laterais nas respectivas aminas obtidas anteriormente por aminação redutiva. Vale notar que, para todas as iminas, foi observado sinal referente ao carbono azometínico entre δ 157 e 161.

A etapa seguinte consistiu na redução das iminas às aminas correspondentes. Esta conversão pode ser realizada empregando-se diferentes métodos de redução. Entre eles, citam-se o uso de hidretos como $LiAlH_4$, $NaBH_4$ e Bu_2SnClH (SHIBATA *et al.*, 1998; BEKIRCAN, 2006;), hidrogenação catalítica com Pd-C ou Pt, associação de samário e iodo (BANIK *et al.*, 1999), zinco metálico em meio aquoso (TSUKINOKI *et al.*, 1998), entre outros.

O primeiro método utilizado para esse propósito foi hidrogenação catalítica com paládio-carvão, tendo sido empregada a imina **48**, derivada da benzilamina. Entretanto, o produto isolado não foi a amina **44** e sim o produto de hidrogenólise **52**, cuja estrutura é mostrada na Figura 28.

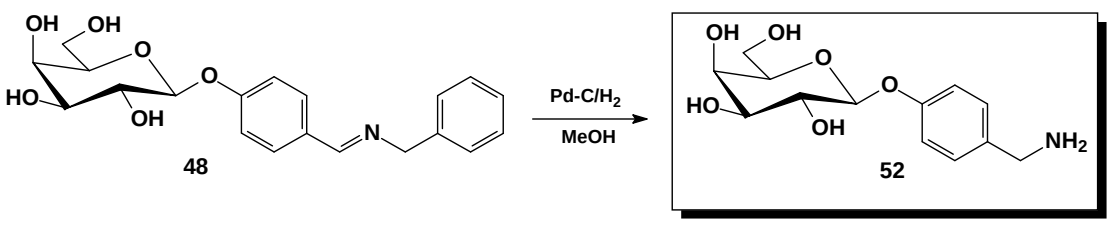


Figura 28: Formação de **52** por hidrogenólise de **48**.

A estrutura de **52** foi confirmada com base em seus espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C (Figuras 110 e 111, respectivamente). No espectro de RMN de ^{1}H não se observam os sinais relativos aos hidrogênios do anel aromático benzílico monossubstituído, apenas os do anel 1,4-dissubstituído. O mesmo pode ser observado no espectro de RMN de ^{13}C, no qual não se observam sinais referentes aos carbonos do anel benzílico. Na região típica de carbonos benzílicos pode-se notar apenas um sinal correspondente a carbono dessa natureza em δ 44,7, e não dois sinais, caso houvesse ocorrido apenas a reação de hidrogenação.

O projeto original também contemplava a síntese de **52**, mas pela metodologia direta de aminação redutiva com acetato de amônio e cianoboridreto de sódio. Para a realização dos testes biológicos o derivado **52** foi utilizado a partir desta reação de hidrogenólise de **48**.

Para evitar a reação de hidrogenólise, resolveu-se empregar o método de redução com boridreto de sódio (BILLMAN; DIESING, 1957; ESTEVES-SOUZA, 2004). O $NaBH_4$ foi o reagente usado na redução de todas as iminas, pois ele apresenta as vantagens de ser menos reativo que outros hidretos e de não exigir solventes anidros e apróticos para ocorrer a reação.

Assim, à solução de cada imina em etanol foi adicionado boridreto de sódio, com resfriamento. Após a adição de toda a quantidade de redutor e ao cessar a efervescência observada, a mistura reagente foi levada a aquecimento sob refluxo. O material de partida foi consumido totalmente em duas horas nessas condições, tendo-se observado o resultado por CCD, utilizando-se como revelador a ninidrina, empregada comumente na detecção de aminas.

O problema encontrado com esse método foi no momento da purificação dos produtos brutos. Após a destilação do solvente, o resíduo sólido obtido deveria passar por um processo que eliminasse subprodutos inorgânicos provenientes da oxidação do boridreto de sódio. De início experimentou-se a partição da mistura em acetato de etila e água, mas não foram observados sequer vestígios dos produtos ao se eliminar o solvente da fase orgânica, o que sugeriu que a alta polaridade do produto não permitia o emprego desse método de purificação. Todavia, a separação das aminas das impurezas foi possível por meio de CCS com acetato de etila e metanol a 20% como eluente.

Os produtos da reação de redução de **48**, **50** e **51**, obtidos com rendimentos de 46, 94 e 90%, respectivamente, foram caracterizados por suas faixas de fusão, que estão de

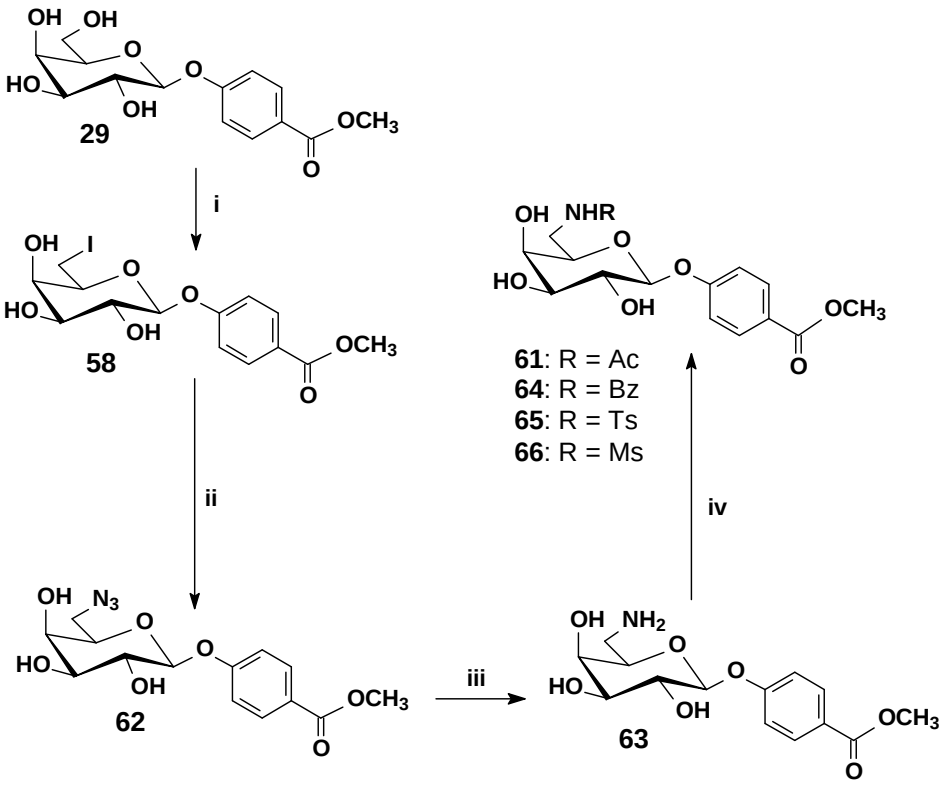
acordo com aquelas encontradas para esses mesmos produtos obtidos anteriormente por aminação redutiva, seguida de desacetilação pelo método de Zemplén.

O derivado butilamínico **45** foi obtido com rendimento de 39% e foi caracterizado por RMN de ^{1}H e de ^{13}C (Figuras 98 e 99, respectivamente). No espectro de RMN de ^{1}H observaram-se os sinais relativos à cadeia lateral butilamínica, mas não se notou o sinal relativo ao H-7' do grupo HC=N, como esperado. Já no espectro de RMN de ^{13}C pôde-se observar um sinal correspondente ao carbono benzílico C-7' a δ 51,9, região própria de carbono desta natureza. A ausência de banda de grupo C=N no espectro no infravermelho foi outra evidência da redução das iminas.

Em termos comparativos, as reações de obtenção das aminas pelo método indireto, ou seja, via bases de Schiff, levaram a melhores rendimentos do que pelo método direto, considerando-se duas etapas a partir do galactosídeo **17** (**44**: 58 % contra 27 %; **46**: 80 % contra 53 %; **47**: 78 % contra 60 %).

3.1.4 Síntese de derivados de 29 por modificações em C-6

Para a preparação dos produtos modificados na posição C-6 do anel piranosídico de **29** foi proposto o esquema de síntese mostrado na Figura 29. O galactosídeo **29** foi escolhido como protótipo para essas modificações em vista de ter se mostrado um dos melhores inibidores da hemaglutinação induzida por LEC (experimentos descritos adiante, na seção 3.2), além de ser facilmente obtido, e com melhor rendimento em duas etapas, a partir do brometo de galactosila **3**.



i) Ph_3P, I_2, imidazol, tolueno, refluxo **ii)** NaN_3, DMF, 80 ℃; **iii)** Pd-C, H_2, MeOH, t.a.; **iv)** amidas: anidrido respectivo, MeOH, 0 ^oC; sulfonamidas: cloreto de sulfonila respectivo, MeOH, NaOH aquoso, 0 ^oC.

Figura 29: Rota de síntese proposta para obtenção dos derivados de **29** modificados em C-6.

A primeira etapa da rota foi a tentativa de síntese do derivado iodado **58**. A síntese desta substância foi primeiramente idealizada por emprego do método descrito por Garegg e Samuelsson (1980). Segundo estes autores, álcoois podem ser facilmente convertidos em iodetos de alquila por reação com trifenilfosfina, iodo e imidazol, em tolueno ou mistura deste com outros solventes, sob refluxo. O uso de imidazol torna o aduto formado por trifenilfosfina e iodo mais solúvel no meio de reação, o que faz com que a mesma se processe de forma mais conveniente. Na Figura 30 está representado o mecanismo proposto para essa reação.

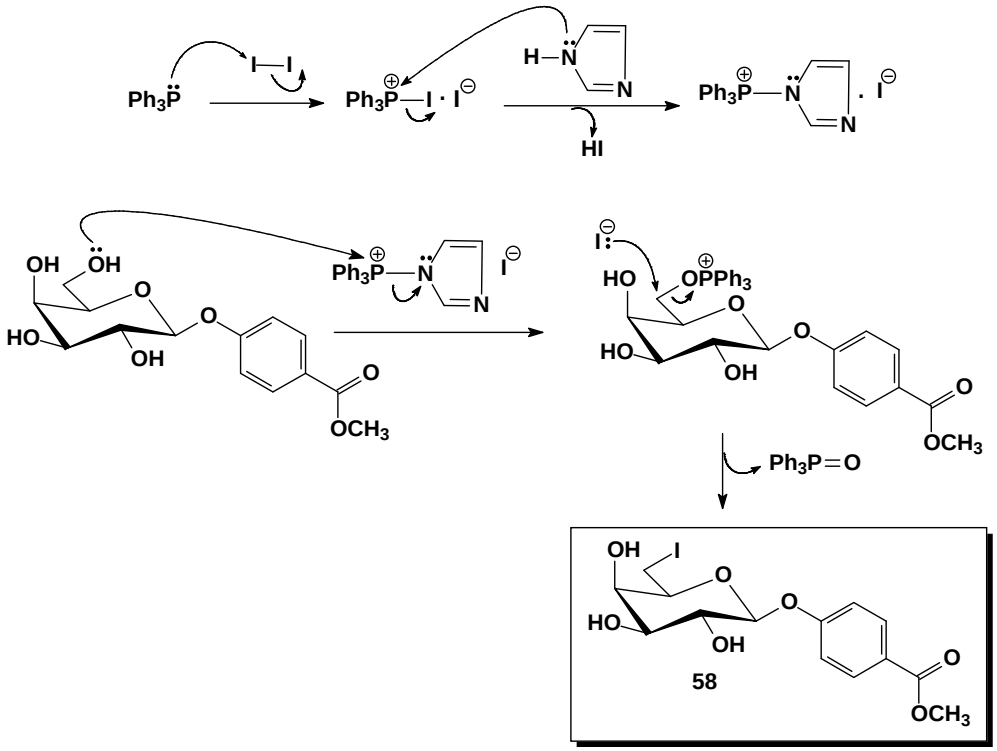


Figura 30: Mecanismo proposto, segundo para a reação de substituição de hidroxila por iodo na síntese de **58** pelo método de Garegg e Samuelsson.

O galactosídeo desprotegido **29** foi submetido à reação nas condições descritas na Figura 29, com o objetivo de substituição da hidroxila de C-6 por iodo. Após quatro horas de aquecimento sob refluxo, foi detectado o consumo de todo o material de partida e a formação de um produto de maior Rf que aquele do galactosídeo de origem. Após a elaboração da reação, foi obtido produto bruto contaminado com óxido de trifenilfosfina e outros subprodutos da reação. Esse material foi purificado por CCS, o que levou a um produto (**53**) que não era o derivado iodado esperado, com rendimento de 35%.

Não foi observado, no espectro de RMN de ^{13}C de **53** (Figura 112), sinal de carbono metilênico C-6 ligado a átomo de iodo, cujo valor de deslocamento químico, bem próximo do TMS, é típico, devido ao efeito do átomo pesado.

As atribuições de H-2 a H-6 foram feitas com auxílio dos mapas de contorno COSY e HMQC (Figuras 32 e 33, respectivamente). Pode-se detectar, por essas análises, a existência de apenas duas hidroxilas livres, uma em C-2, outra em C-4. Não se observa acoplamento detectável entre H-1 e H-2.

Com base nas análises dos espectros de RMN de ^{1}H (Figura 112), de ^{13}C (Figura 113) e dos mapas de contornos sugeriu-se a formação do produto 3,6-anidro com a estrutura mostrada a seguir.

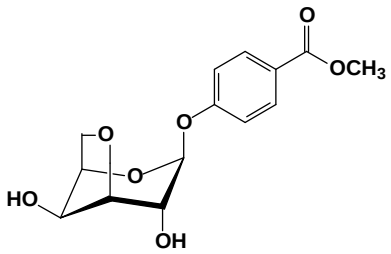


Figura 31: Estrutura proposta para o produto **53**.

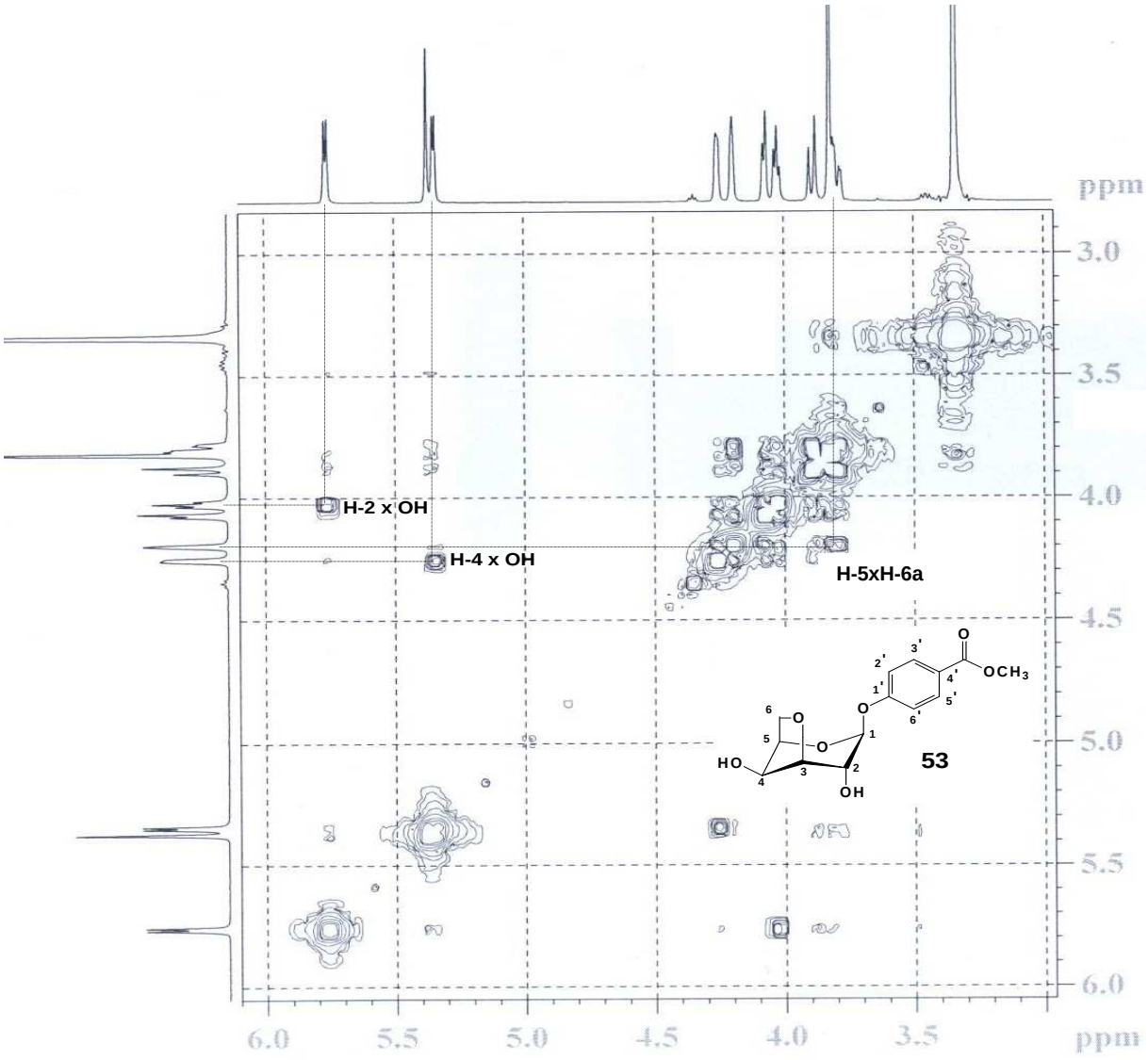


Figura 32: Mapa de contornos COSY do produto **53** (400 MHz, DMSO-d_6).

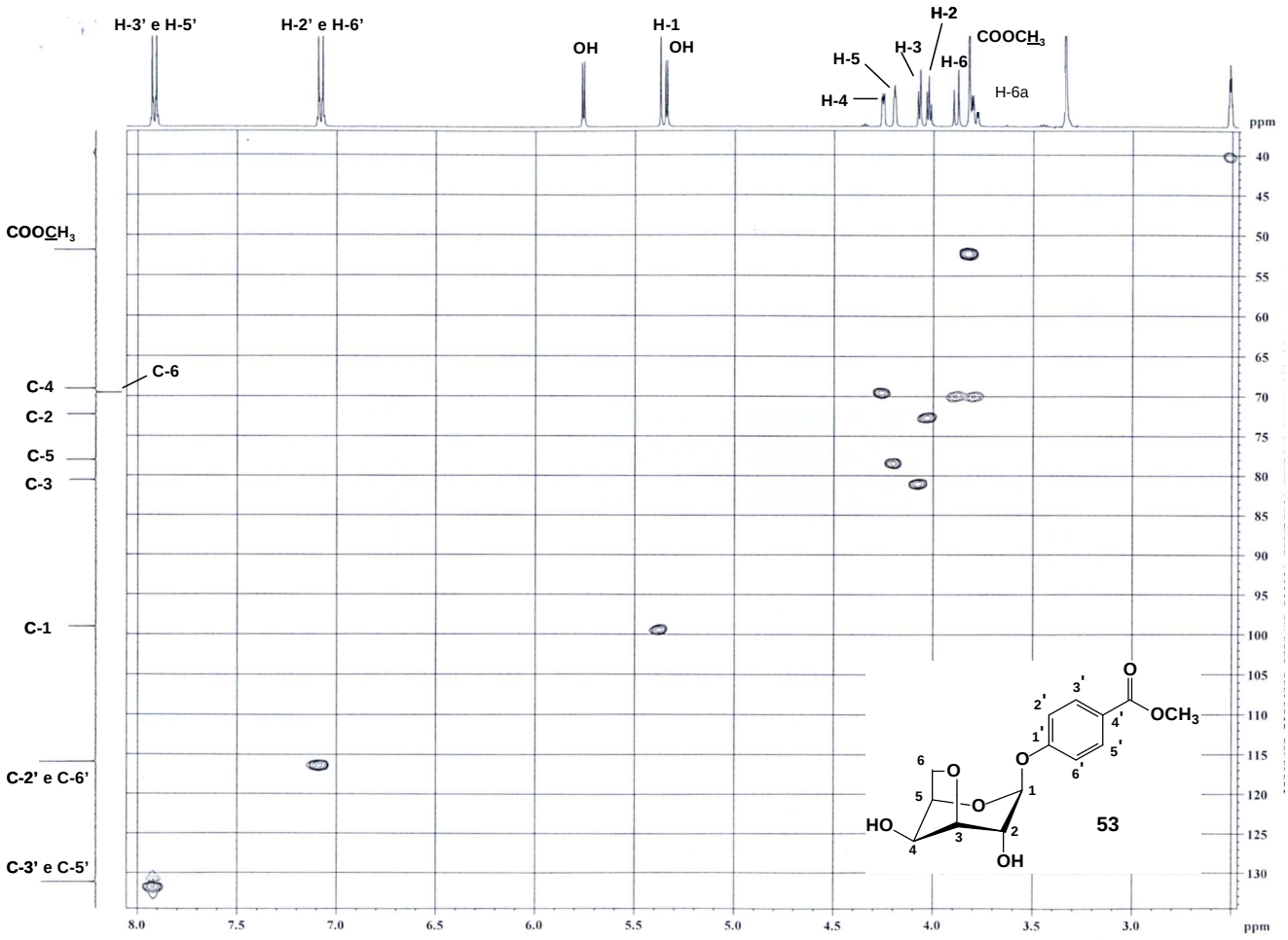


Figura 33: Mapa de contornos HSQC do produto **53** (400 MHz, DMSO-d_6)..

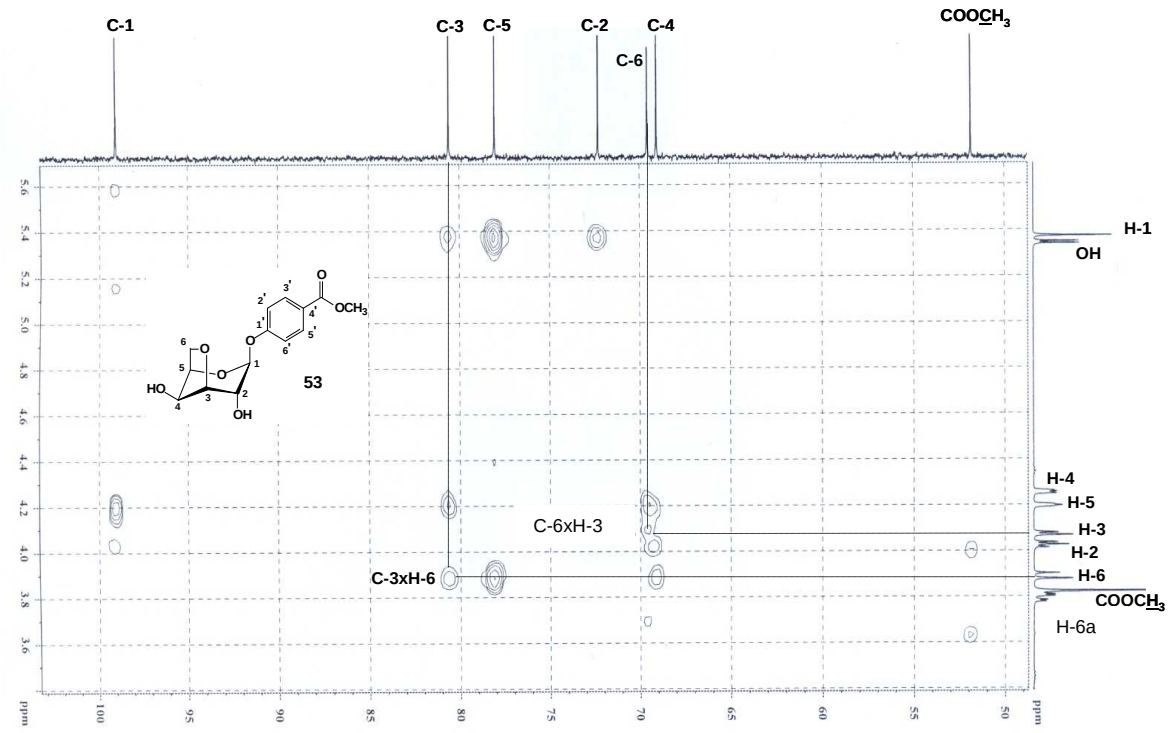


Figura 34: Mapa de contornos HMBC do produto **53** (400 MHz, DMSO-d_6).

Na Figura 34, em que é mostrado um detalhe expandido do mapa de contornos HMBC de **53** com algumas correlações ^{3}J destacadas, pode-se verificar a existência de correlação entre C-6 e H-3, além do recíproco C-3/H-6, o que comprova o perfil estrutural sugerido para o produto **53**.

Segundo Lewis e colaboradores (1963), a ocorrência de formação de derivados 3,6-anidro é bastante comum quando se lida com glicosídeos desprotegidos portadores de um bom grupo abandonador em C-6, em especial nas reações sob aquecimento e/ou com meio alcalino. Na Figura 35 está representado, como exemplo, a formação de um derivado desse tipo a partir de um glicosídeo tosilado na hidroxila de C-6.

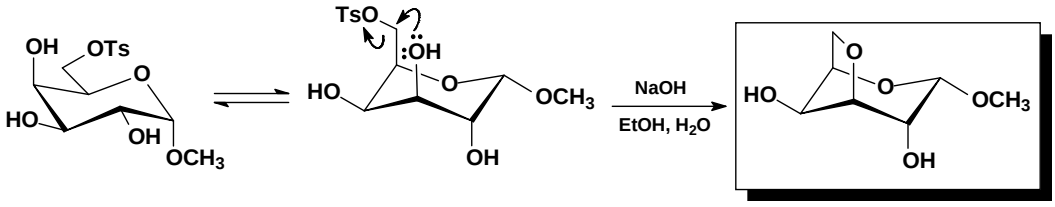


Figura 35: Mecanismo de formação do derivado 3,6-anidro a partir do deslocamento de um grupo abandonador (adaptado de Stick, 2001).

Em vista do insucesso na obtenção do produto iodado por esse caminho, buscou-se prepará-lo de outra maneira. O método escolhido foi a tosilação da hidroxila de C-6 de **29**, seguida de substituição nucleofílica com iodeto de sódio.

A síntese do derivado tosilado **54**, por reação com cloreto de *p*-toluenossulfonila em piridina, deveria ser executada com relativa facilidade. O grupo hidroxila de C-6, menos impedido estericamente que os outros da mesma molécula, tem preferência em termos de reatividade e o derivado monotosilado seria esperado como produto majoritário nessa reação (Figura 36):

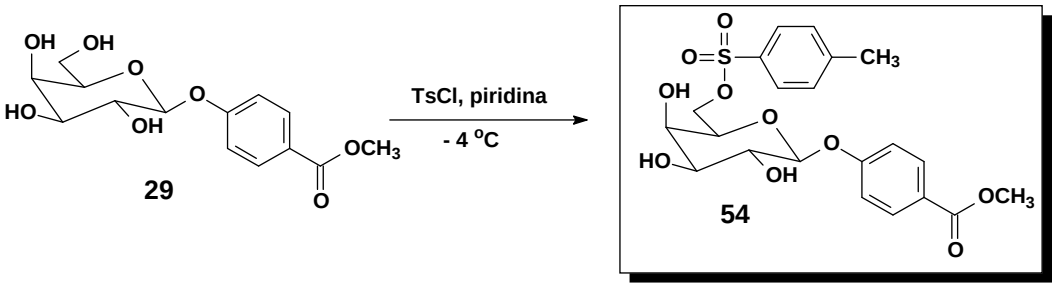


Figura 36: Esquema de síntese do derivado monotosilado **54**.

Entretanto, foram observados perfis irregulares no tempo e grau de tosilação em todas as vezes que essa reação foi realizada a fim de acumular quantidades do produto **54**. A tosilação foi experimentada sob resfriamento a - 4 ℃ e à temperatura ambiente. Em ambas tentativas, observou-se a formação de produto de ditosilação (**55**, Figura 37), além do monotosilado desejado. Todavia, quando a mistura reagente foi mantida em freezer a - 4 ℃ em intervalos variáveis de tempo (desde duas até 48 horas) o rendimento do produto monotosilado foi maior, 66% contra 27% do ditosilado. Nas reações mantidas sob temperatura ambiente a proporção obtida entre esses produtos era praticamente equivalente.

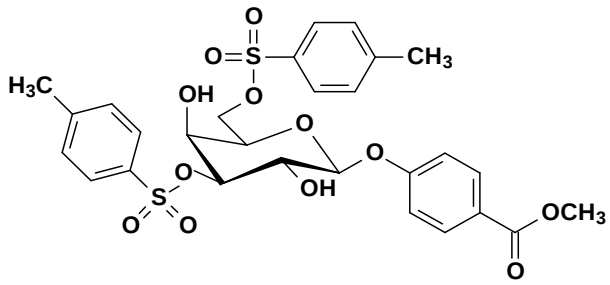


Figura 37: Estrutura de **55**, subproduto da reação de tosilação de **29**.

A separação dos derivados tosilados **54** e **55** foi efetuada facilmente e com alta reprodutibilidade por CCS. O uso da mistura clorofórmio/metanol como eluente permitiu ótima separação destes produtos, levando à obtenção de ambos com elevado grau de pureza. Os produtos **54** e **55** foram caracterizados por RMN de ^{1}H, de ^{13}C e por espectrometria no infravermelho.

A seguir, na Figura 38, pode ser observado o espectro de RMN de ^{1}H do derivado monotosilado **54**. Nota-se a presença de dois dupletos relativos ao novo sistema aromático 1,4-dissubstituído, grupo tosila, em δ 7,29 e 7,08, com J 8,0 Hz. Além disso, há um sinal em δ 2,34, relativo ao grupo metílico aromático.

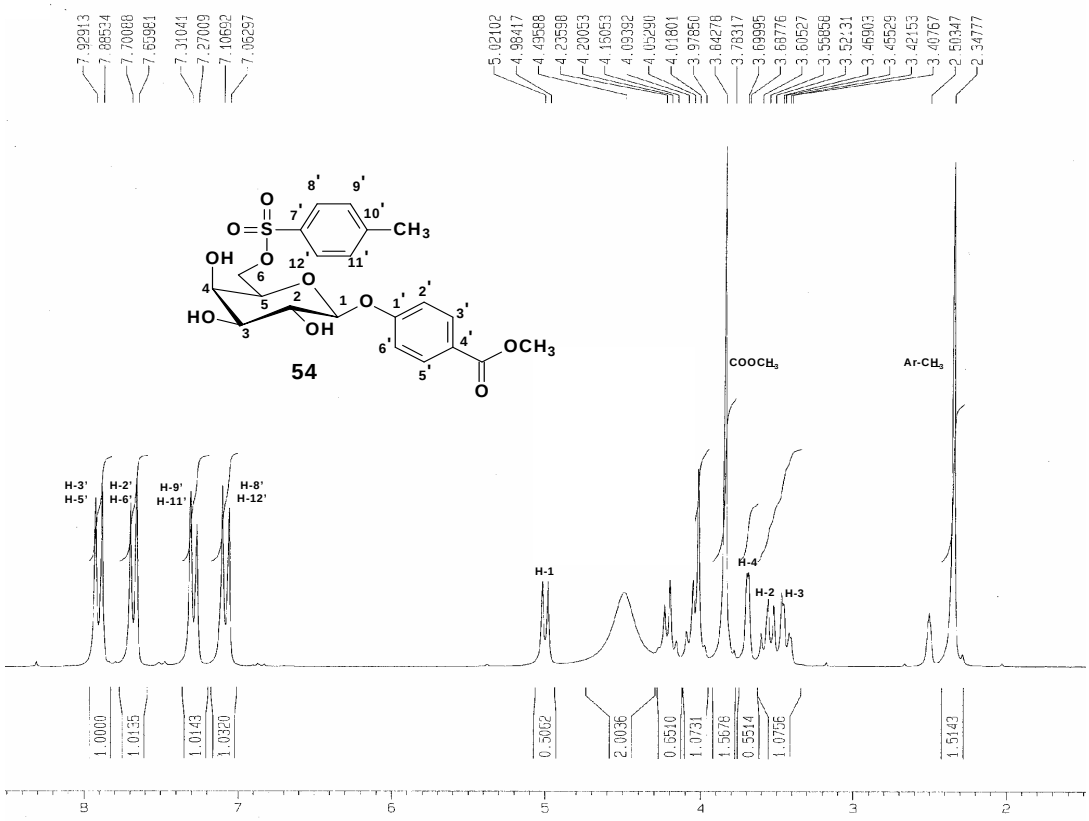


Figura 38: Espectro de RMN de ^{1}H de **54** (200 MHz, DMSO-d_6).

No subespectro DEPT 135 de **54** (Figura 39) observaram-se sinais em δ 129,9 e 127,5, relativos aos carbonos aromáticos hidrogenados do grupo tosila, além de um sinal de grupo metila ligado a anel aromático, em δ 21. O valor de deslocamento (70,3) do sinal de C-6 foi um indício de que o grupo tosiloxila se encontra nesta posição, já que houve desproteção deste carbono.

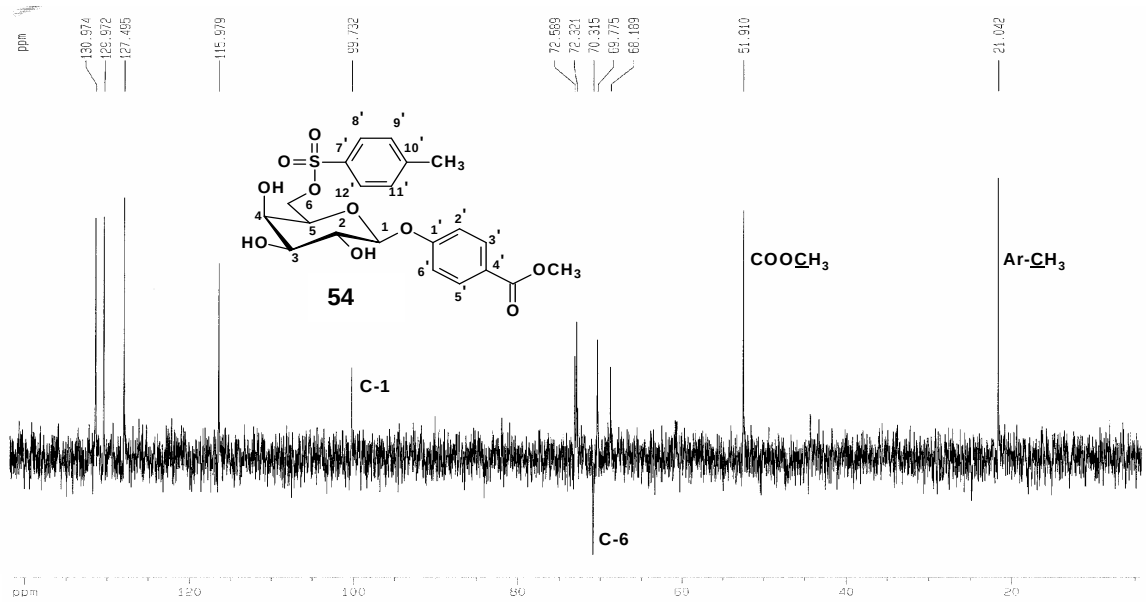


Figura 39: Subespectro DEPT 135 de **54** (50 MHz, DMSO-d_6).

Foram observados sinais compatíveis com a estrutura do subproduto ditosilado **55** nos seus espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. No espectro de RMN de ^{1}H (Figura 121) notou-se a presença de novos sinais de hidrogênios aromáticos perfeitamente distinguíveis quando se comparou este espectro ao de **54**. Os sinais relativos ao sistema 1,4-dissubstituído do anel aromático referente ao segundo grupo tosila ocorreram como dupletos centrados em δ 7,82 e 7,43. Em δ 2,40 e 2,36 observaram-se simpletos relativos aos dois grupos metílicos dos referidos grupos. É interessante observar, com auxílio do mapa de contornos COSY da Figura 41, que o dupleto duplo relativo ao H-3 foi observado em δ 4,47, desprotegido se comparado ao mesmo sinal no derivado monotosilado (δ 3,43). Isso evidencia que o segundo grupo tosila foi inserido nesta posição.

Nos espectros de RMN de ^{13}C de **55** (Figura 122) puderam ser notados novos sinais de carbonos aromáticos, além de sinais de carbono metílico aromático, sobrepostos, em δ 21,03. É importante notar, pelo mapa de contornos HSQC (Figura 40) que o sinal relativo ao C-3 de **55** encontra-se em δ 82,5 , desprotegido em relação àquele observado no espectro de RMN de ^{13}C de **54**. Isto comprovou, associado ao sinal de H-3 no espectro de RMN de ^{1}H, que o segundo grupo tosila foi inserido nesta posição do anel piranosídico, uma vez que houve em C-3 o efeito de desproteção pelo grupo tosiloxila, como no caso de C-6 deste produto e de **54**.

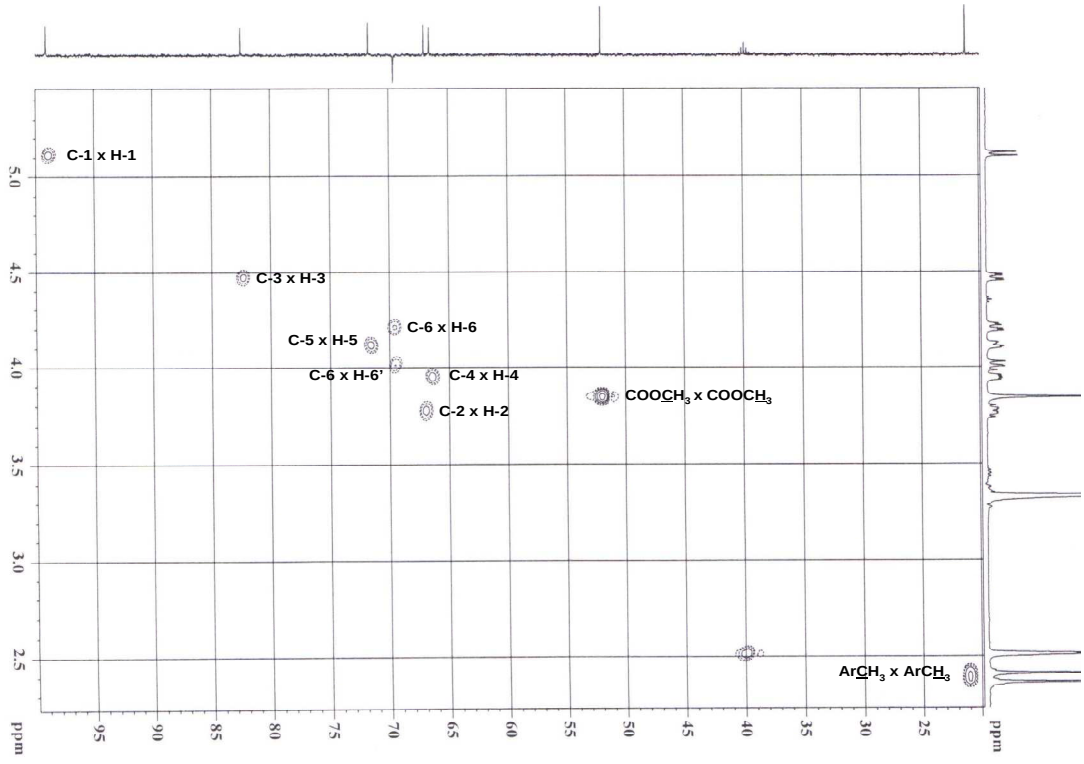


Figura 40: Mapa de contornos HSQC de **55** (100 MHz, DMSO-d_6).

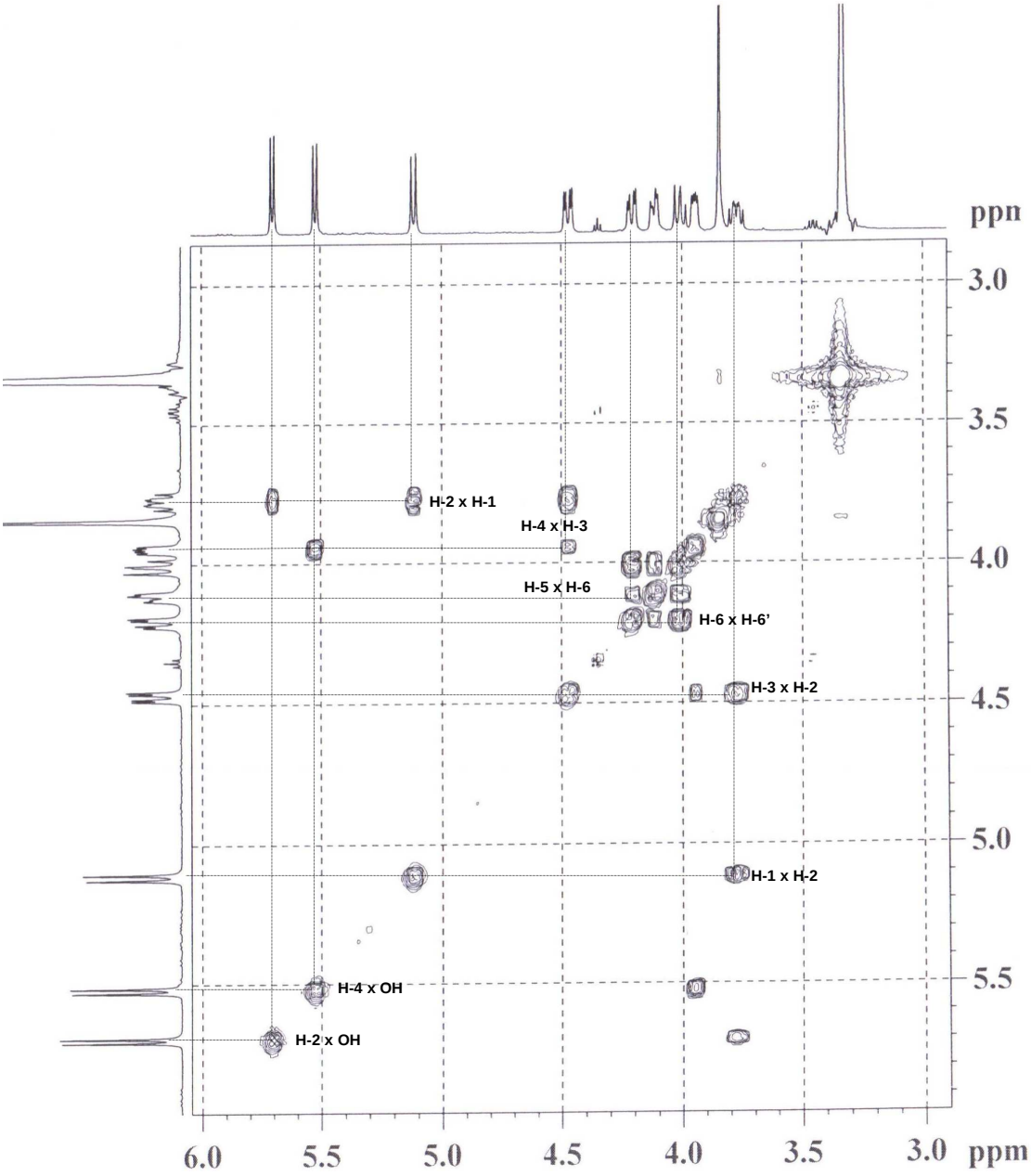


Figura 41: Mapa de contornos COSY de **55** (400 MHz, DMSO-d_6).

A etapa seguinte consistiria, então, no deslocamento nucleofílico do grupo tosiloxila pelo ânion iodeto. No entanto, a fim de evitar o problema de possível deslocamento do grupo tosiloxila e formação do produto 3,6-anidro, optou-se por trabalhar com o derivado tosilado peracetilado **56**, a fim de evitar o ataque nucleofílico da hidroxila de C-3.

O derivado monotosilado então foi acetilado em anidrido acético e piridina, o que forneceu **56** com 85% de rendimento na forma de um óleo amarelo-claro. A confirmação da formação do produto peracetilado foi possível pela análise de seus espectros no infravermelho e de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. No espectro no infravermelho pôde-se perceber a existência de banda intensa de deformação axial de grupo carbonílico de éster alifático

em 1750 cm^{-1}. Não se observaram bandas referentes a grupos hidroxila. Sinais relativos aos hidrogênios do grupo acetila puderam ser notados no espectro de RMN de ^{1}H em δ 2,08-2,02 (Figura 119) desta substância, além de sinais condizentes com os átomos de carbono dos grupos acetila no intervalo de δ 170,07-169,47 e 20,82-20,66 (carbonos carbonílicos e metílicos, respectivamente; Figura 120).

Em seguida, para a síntese do derivado iodado, o intermediário tosilado protegido foi dissolvido em DMF e à solução adicionado iodeto de sódio. Por aquecimento da mistura reagente a 80 ^{o}C, obteve-se o intermediário iodado peracetilado **57** com 48 % de rendimento após 24 horas de reação e purificação do material bruto por CCS. Este intermediário foi submetido à reação de remoção dos grupos acetila pelo método de Zemplén e o produto final **58** foi obtido com um rendimento de 41 %, a partir de **56** (Figura 42).

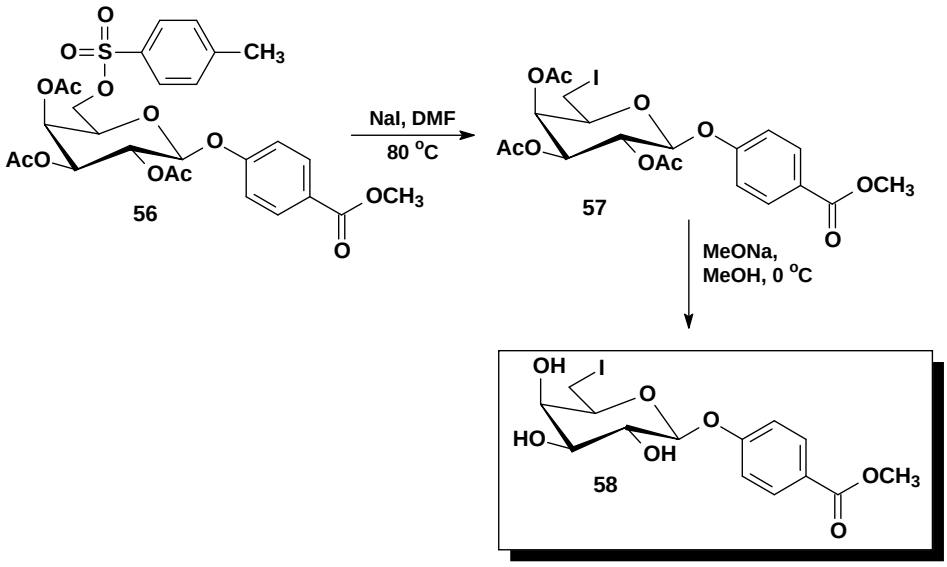


Figura 42: Esquema de síntese de **58** via derivado tosilado peracetilado **56**.

A comprovação de sucesso na conversão de **56** em **57** foi feita pela análise de seus espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C. No espectro de RMN de ^{1}H não mais se notaram sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e metílicos do grupo tosila. O deslocamento do sinal de C-6 para região mais próxima do TMS (δ – 0,07) no espectro de RMN de ^{13}C (confirmado pelo subespectro DEPT-135, mostrado na Figura 43), resultante do efeito de átomo pesado de iodo, é compatível com a formação de **57**.

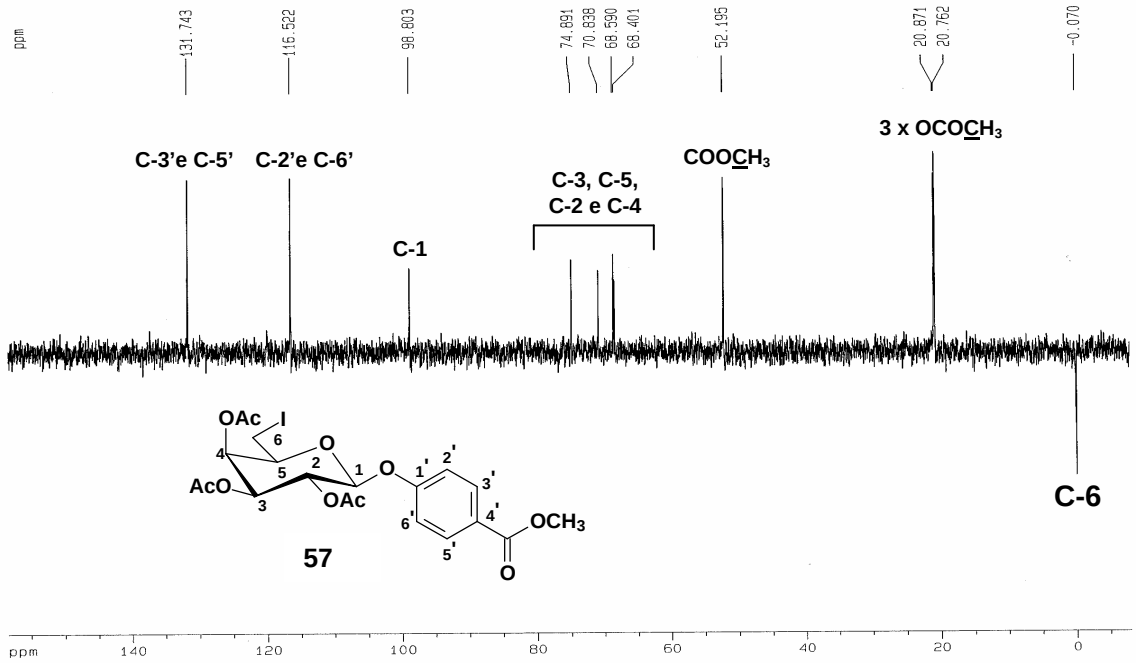


Figura 43: Subespectro DEPT do intermediário **57** (200 MHz, DMSO-d_6).

A análise do espectro no infravermelho de **58** permitiu confirmar a remoção dos grupamentos acetila. Nos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C (Figuras 114 e 115) também não se notaram sinais relativos aos hidrogênios e carbonos dos grupos acetila. Neste último, novamente foi possível notar o efeito do átomo de iodo sobre o deslocamento químico de C-6, cujo sinal se observa em δ 5,45, o qual é comprovado pelo subespectro DEPT (Figura 116).

Com o intuito de se obter o derivado C-6 azido **62**, intermediário para a síntese das amidas, o derivado **56** foi, em seguida, submetido à reação de substituição nucleofílica com azida de sódio, conforme mostrado na Figura 44. As reações de deslocamento de grupo tosiloxila inseridos em C-6 de anéis piranosídicos são fortemente influenciadas pela existência de substituinte em posição axial em C-4, como no caso de derivados de configuração *galacto*. O impedimento estérico e os efeitos polares à aproximação do nucleófilo, promovidos pelo substituinte disposto axialmente, afetam a velocidade e o rendimento dessas reações (SUGIHARA, 1963; RICHARDSON, 1969). Assim, quando comparados a derivados de configuração *glico*, compostos *galacto* têm maior resistência a essa reação de deslocamento, o que leva, em geral, a maiores tempos de reação.

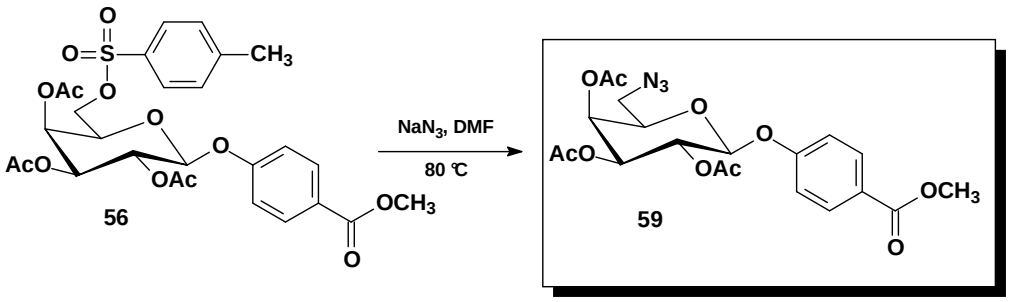


Figura 44: Esquema de síntese do derivado C-6 azido **59**.

O emprego de solventes polares apróticos, *e.g.*, *N*,*N*-dimetilformamida e dimetilsulfóxido, em reações nas quais nucleófilos carregados estejam envolvidos, aumenta a velocidade da reação de substituição nucleofílica. Entretanto, é relatado que a adição de água como co-solvente, até um máximo de 10 % em relação ao volume de sovente orgânico empregado, pode otimizar a velocidade de reação, uma vez que melhora a solubilidade da azida de sódio no meio de reação (LI *et al.*, 2006).

A melhor condição de reação encontrada e descrita neste trabalho foi aquela em que se utilizaram DMF não destilada, vinte equivalentes de azida de sódio e aquecimento da mistura reagente a cerca de 80 ℃, por 24 horas. Menores quantidades de azida de sódio resultaram em maior tempo de reação e o uso concomitante de água levou à formação de subprodutos.

Desta forma, obteve-se **59** como produto majoritário de reação, com rendimento médio de 50% após separação de subprodutos minoritários mais polares por CCS. A caracterização do produto foi feita por análise de seus espectros no infravermelho e de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. Pôde-se observar banda característica de grupo azido em 2102 cm^{-1} no espectro no infravermelho. Já no seu espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT-135 pôde-se notar sinal típico de carbono ligado a grupo azido em δ 50,7 e não foram observados sinais relativos ao grupo tosiloxila, os quais também estavam ausentes no espectro de RMN de ^{1}H da mesma substância. Uma vez obtido o produto **59**, a próxima etapa consistiu em submetê-lo a condições de hidrogenação catalítica para a obtenção do derivado 6-amino correspondente, a fim de que, a partir deste, se preparassem as amidas planejadas. A reação de hidrogenação foi concluída com 15 horas e forneceu o produto de migração do grupo acetila **60**.

A formação de **60** foi comprovada pela análise de seus espectros no infravermelho e de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. Pôde-se observar, no espectro no infravermelho, uma banda em 1652 cm^{-1} relativa à deformação axial de carbonila de amida, além de não ser notada presença de banda de grupo azido ou amino primário. No espectro de RMN de ^{13}C

(Figura 133) observou-se um sinal de carbono metílico de grupo acetamido em δ 22,5 e apenas dois sinais para os carbonos metílicos de éster acetato. Além disso, observou-se um deslocamento de C-6 para região mais próxima do TMS, em δ 39,1, visualizado no subespectro DEPT dessa substância (Figura 45). Os dois tipos diferentes de hidrogênios metílicos de grupos acetila puderam ser evidenciados no espectro de RMN de ^{1}H (Figura 132), no qual se notaram-se simpletos em δ 2,0, 2,0 e 1,8, relativos aos grupos acetato e acetamido, respectivamente. O tripleto centrado em δ8,03 corresponde ao hidrogênio ligado ao nitrogênio amídico, que acopla com os hidrogênios metilênicos de C-6, com *J* 5,35 Hz.

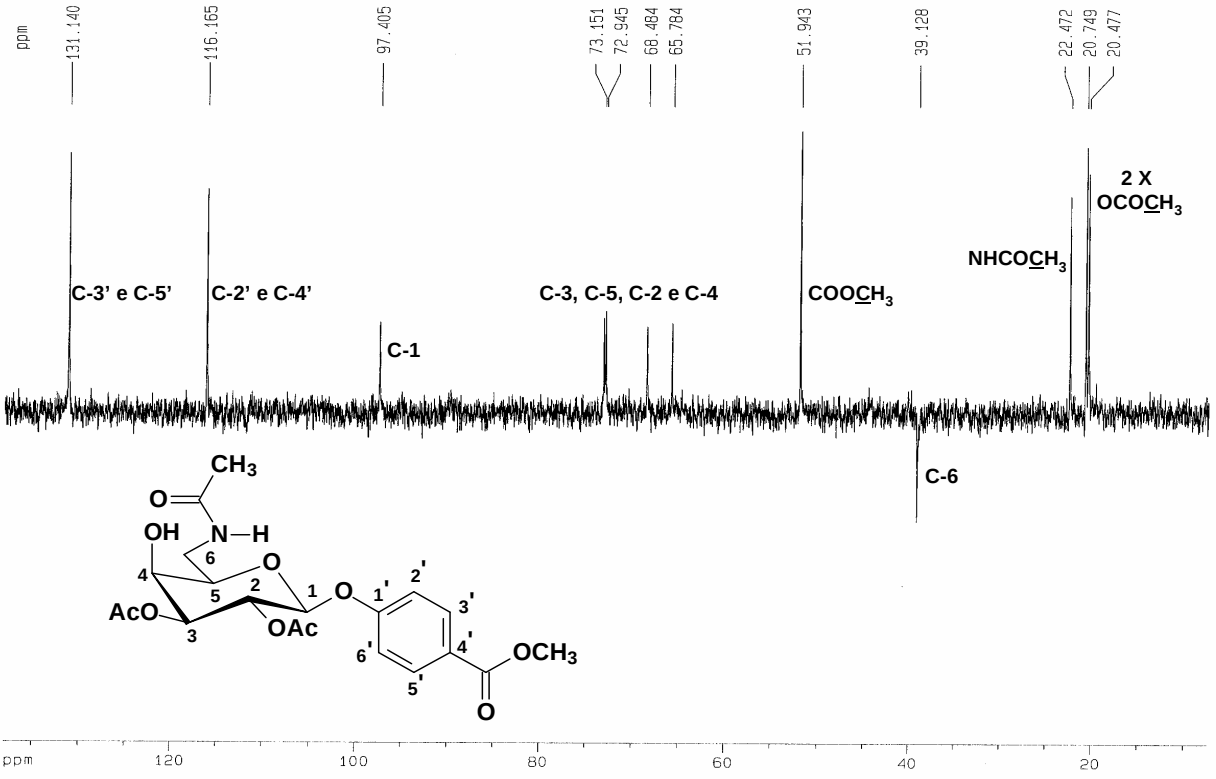


Figura 45: Subespectro DEPT -135 do produto **60** (100 MHz , DMSO-d_6).

Em seguida, procedeu-se à reação de transesterificação de **60** pelo método de Zemplén para levar à formação da acetamida **61**, uma das amidas idealizadas. Na figura mostrada a seguir está mostrado o esquema de obtenção de **61**, com detalhe para o mecanismo proposto de formação de **60**.

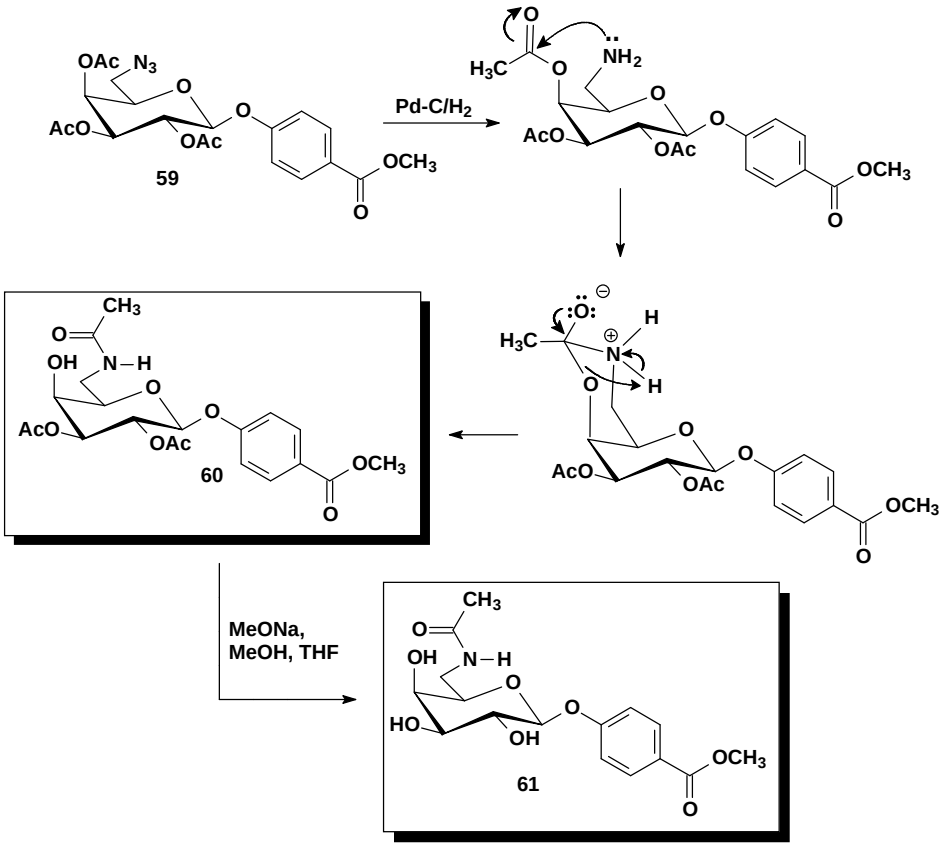


Figura 46: Formação do intermediário **60** e do produto **61**.

A acetamida **61** foi obtida com rendimento de 83% em relação ao derivado azido **59**. A formação de **61** foi certificada pela análise de seus espectros no infravermelho e de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. No espectro no infravermelho não se notou banda referente ao estiramento de carbonila de éster alifático, mas somente a banda de carbonila de éster aromático em 1718 cm^{-1}. Em 1655 cm^{-1} observou-se banda relativa ao grupo carbonílico de amida. Nos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C (Figuras 134 e 135, respectivamente) não foram observados sinais referentes a grupo acetila de éster alifático, mas apenas de carbono carbonílico de amida em δ169,73.

Para a síntese da benzamida **64**, da *p*-metilbenzenossulfonamida **65** e da metanossulfonamida **66** foi necessário trabalhar com o derivado azido previamente desacetilado, em vista da migração do grupo acetila observada com a hidrogenação de **59**. Desta forma, procedeu-se à reação de transesterificação de **59** com metóxido de sódio em metanol, que forneceu **62**, caracterizado pela ausência de sinais relativos ao grupo acetila nos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C (Figuras 124 e 125, respectivamente). Além disso, não foi observada banda relativa à deformação axial de carbonila de éster alifático no espectro no infravermelho dessa substância.

No subespectro DEPT-135, mostrado na Figura 47, pode-se notar, dentre outros, o sinal correspondente a C-6 ligado a grupo azido, caracterizado pelo valor de δ em 51,1.

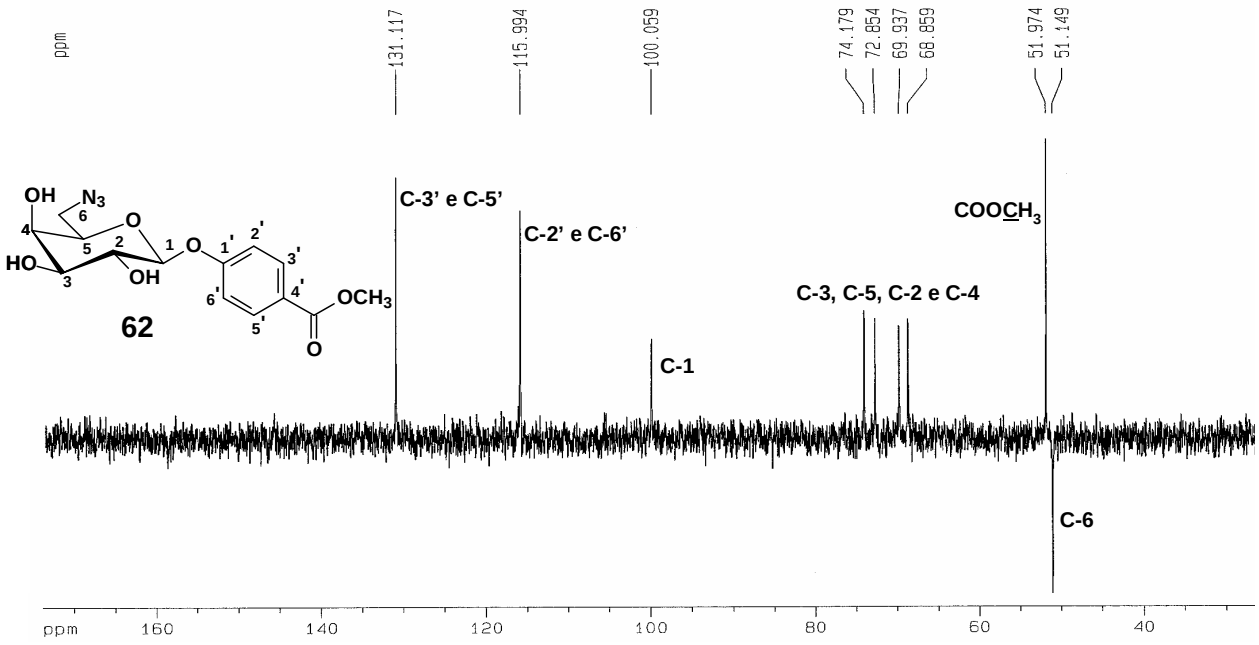


Figura 47: Subespectro DEPT-135 do produto **62** (50 MHz , DMSO-d_6).

A redução do derivado azido **62** foi realizada por hidrogenação catalítica com paládio-carvão. A amina **63**, após separação do catalisador por filtração e eliminação do solvente sob ar comprimido, foi analisada por espectrometria no IV e de RMN. Em seu espectro no IV não foi observada banda característica de grupo azido. Já no espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT-135 (Figuras 127 e 128, respectivamente) observou-se sinal de C-6 deslocado para região mais próxima do TMS, em relação ao mesmo carbono no derivado azido, como era esperado.

Em seguida, a amina **62** foi empregada nas reações de acilação e sulfonilação. Primeiramente, foi realizada a benzoilação de **62** com anidrido benzóico em metanol, sob resfriamento (Figura 48). O produto *N*-benzoilamino formou-se quase de imediato no meio reagente, na forma de um sólido muito fino e branco que, após recristalização em água, foi obtido com rendimento de 55%.

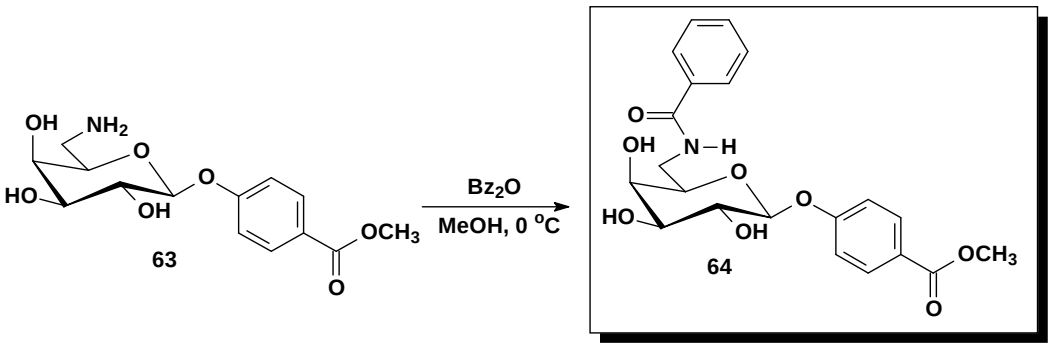


Figura 48: Esquema de síntese da benzamida **64**.

Nos espectro no infravermelho de **64** pôde-se notar a presença de banda intensa relativa à deformação axial de carbonila de amida em 1638 cm^{-1}. No espectro de RMN de ^1H, mostrado na Figura 49, pôde-se perceber a presença de sinais do novo sistema aromático monossubstituído presente na estrutura de **64** como um multipleto no intervalo de δ7,56-7,42, relativo a três hidrogênios (H-9', H-10' e H-11') e um dupleto centrado em δ7,70, referente aos hidrogênios H-8' e H-12'. Além disso, em δ8,52 observou-se um simpleto relativo ao hidrogênio amídico.

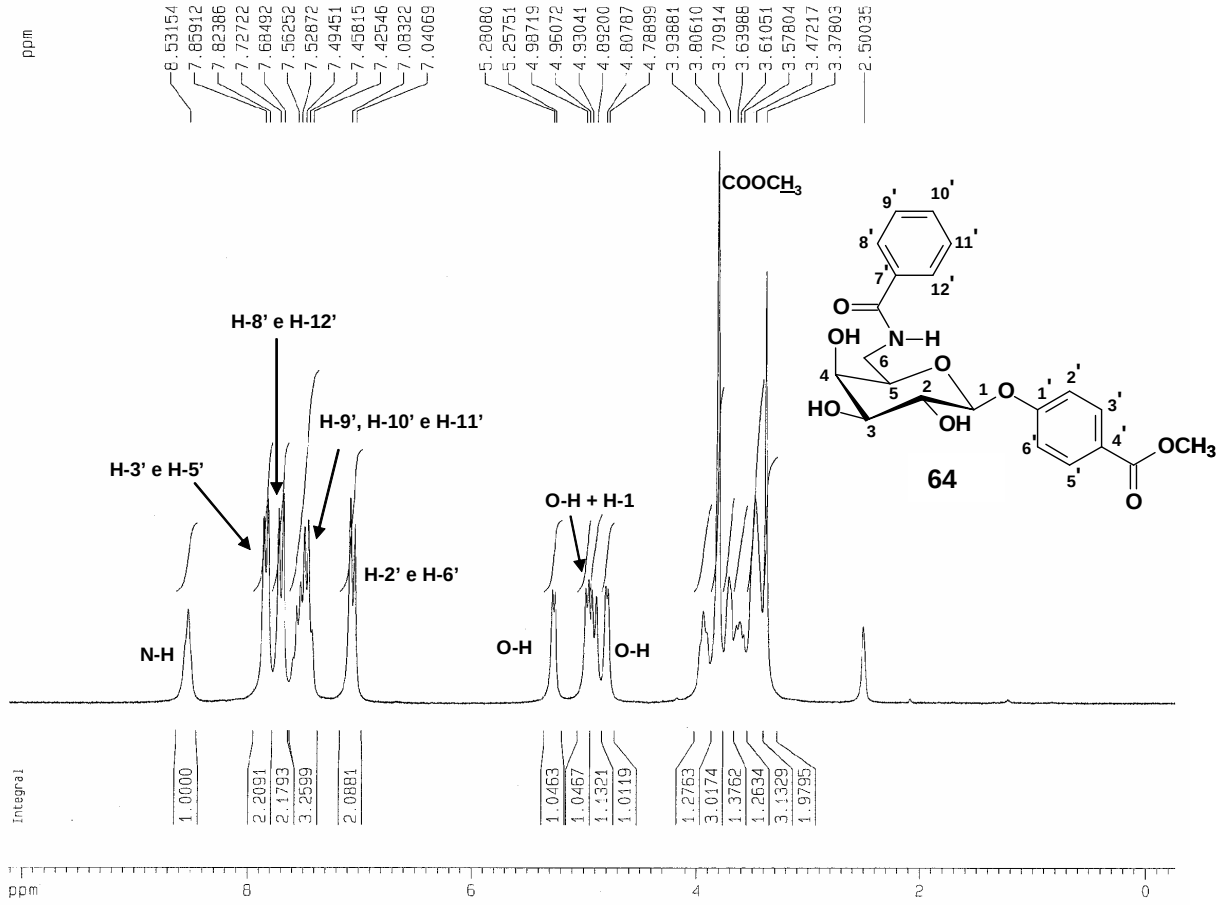


Figura 49: Espectro de RMN de ^1H do produto **64** (200 MHz, DMSO-d_6).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 129) puderam ser observados os sinais relativos ao carbono carbonílico de amida em δ 166,53, aqueles relativos ao anel aromático do anel benzênico, no intervalo de δ 130,89-122,81 e um sinal relativo a C-6 ligado a átomo de nitrogênio, em δ 40,31 (subespectro DEPT-135, Figura 130).

Ainda partindo do derivado C-6 amino **63** foram sintetizadas as sulfonamidas **65** e **66**, porém por método diferente daquele empregado para a formação da benzamida anteriormente descrita, uma vez que se dispunha dos cloretos de sulfonila como reagentes, e não de anidridos (Figura 50).

Assim, a fim de evitar que ocorresse reação destes cloretos com as hidroxilas livres de **63**, as reações foram conduzidas em metanol, a 0 ℃, com 50% de excesso de trietilamina no meio, em relação à quantidade de equivalentes utilizados do intermediário amínico.

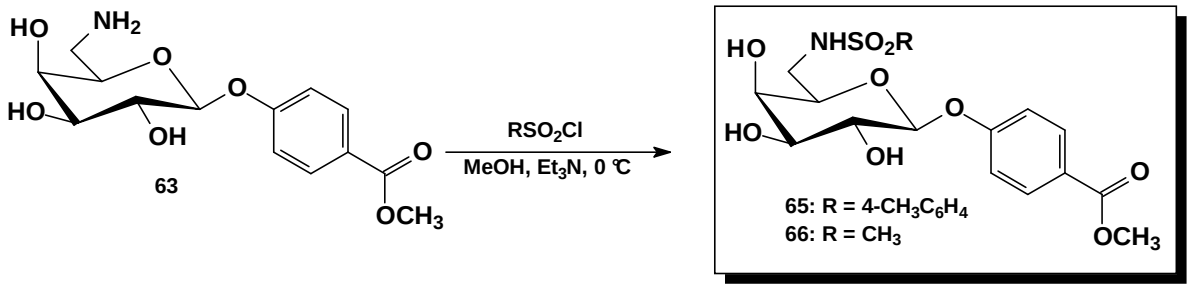


Figura 50: Esquema de síntese das sulfonamidas **65** e **66**.

A síntese do derivado tosilamino **65** ocorreu rapidamente, sem gerar quantidade significativa de subprodutos. Observou-se por CCD que, com dez minutos da adição do agente sulfonilante, restava pouco material de partida para ser consumido. A reação se completou num prazo de uma hora e o produto bruto obtido, após acidificação do meio e eliminação a frio do solvente, foi purificado por CCS e resultou em 62% de rendimento.

O espectro de RMN de ^{1}H de **65** está mostrado na Figura 51. Pôde-se observar dupletos relativos aos hidrogênios do anel aromático do grupo tosila centrados em δ 7,6 e 7,2, com *J* 8,0 Hz, além do simpleto característico de grupo metila aromático em δ 2,3.

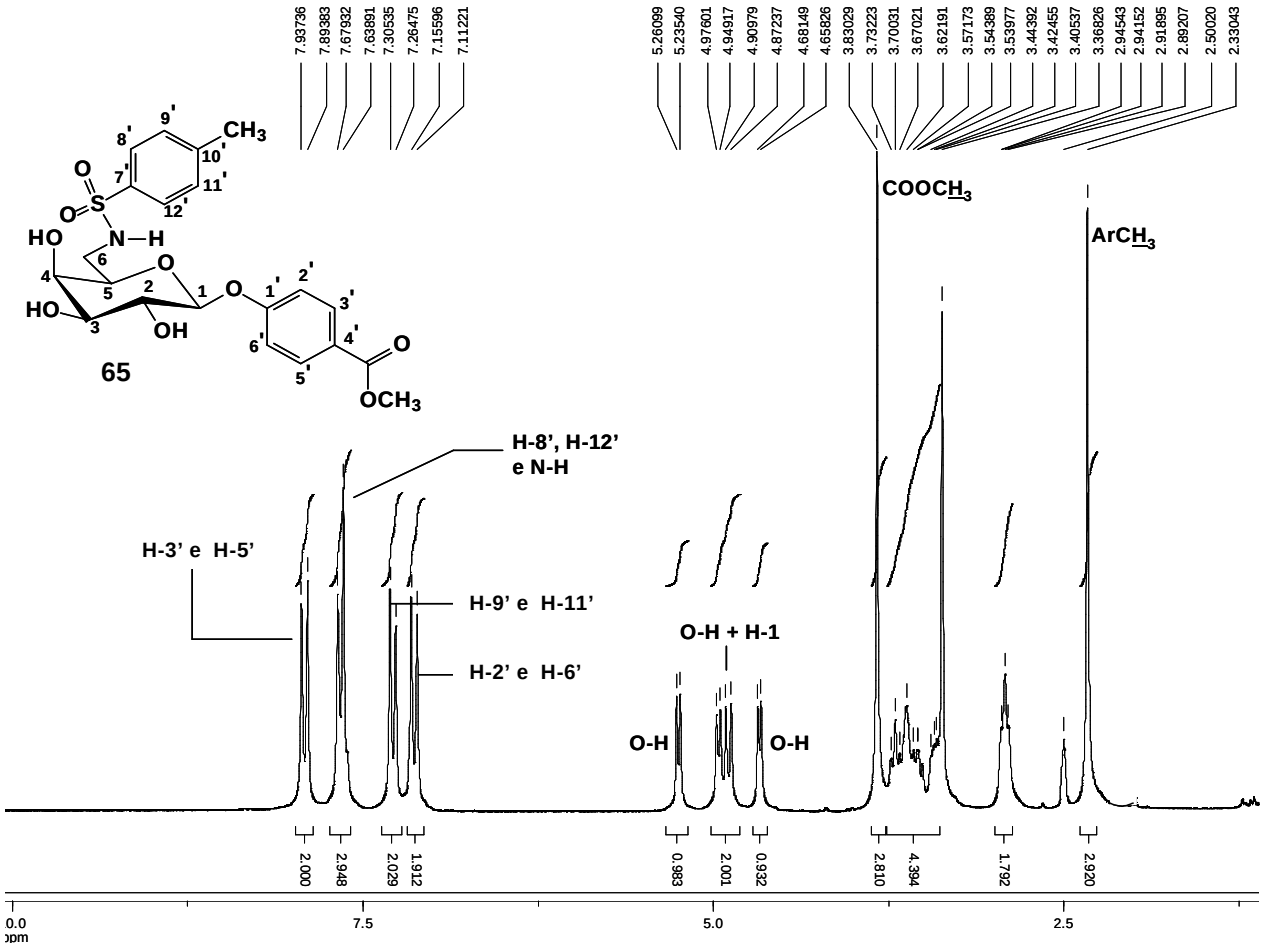


Figura 51: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **65** (200 MHz , DMSO-d_6).

Já no espectro de RMN de ^{13}C, mostrado na Figura 138, notou-se aumento no número de sinais de átomos de carbonos aromáticos, condizentes com a presença do grupo tosila e, ainda, um sinal em δ 20,87, relativo ao grupo metila ligado ao anel aromático. Pôde-se notar também deslocamento do sinal relativo a C-6 para região mais próxima do TMS (δ 43,4) no subespectro DEPT-135, o que é típico no caso da existência de grupos acilamínicos ou sulfonilamínicos ligados a este carbono do anel piranosídico (Figura 139).

O derivado sulfonamídico **66** não foi obtido com a mesma facilidade de **65**. Mesmo após várias horas de reação, a evolução da mesma era lenta e, concomitantemente ao consumo do material de partida, foi observada gradualmente a formação de dois produtos, os quais possuíam polaridades bastante diferentes. Como após um período de 10 horas a reação pareceu ter estagnado, procedeu-se à sua elaboração. Após acidificação do meio e destilação a frio do solvente, seguido de purificação por CCS, isolaram-se dois produtos (**66** e **67**) que foram analisados por espectrometria de RMN.

O produto **66**, mais polar e majoritário (19% de rendimento) foi caracterizado como o produto desejado, conforme observado em seus espectros de RMN. A seguir, é mostrado o espectro de RMN de ^{1}H desta sulfonamida:

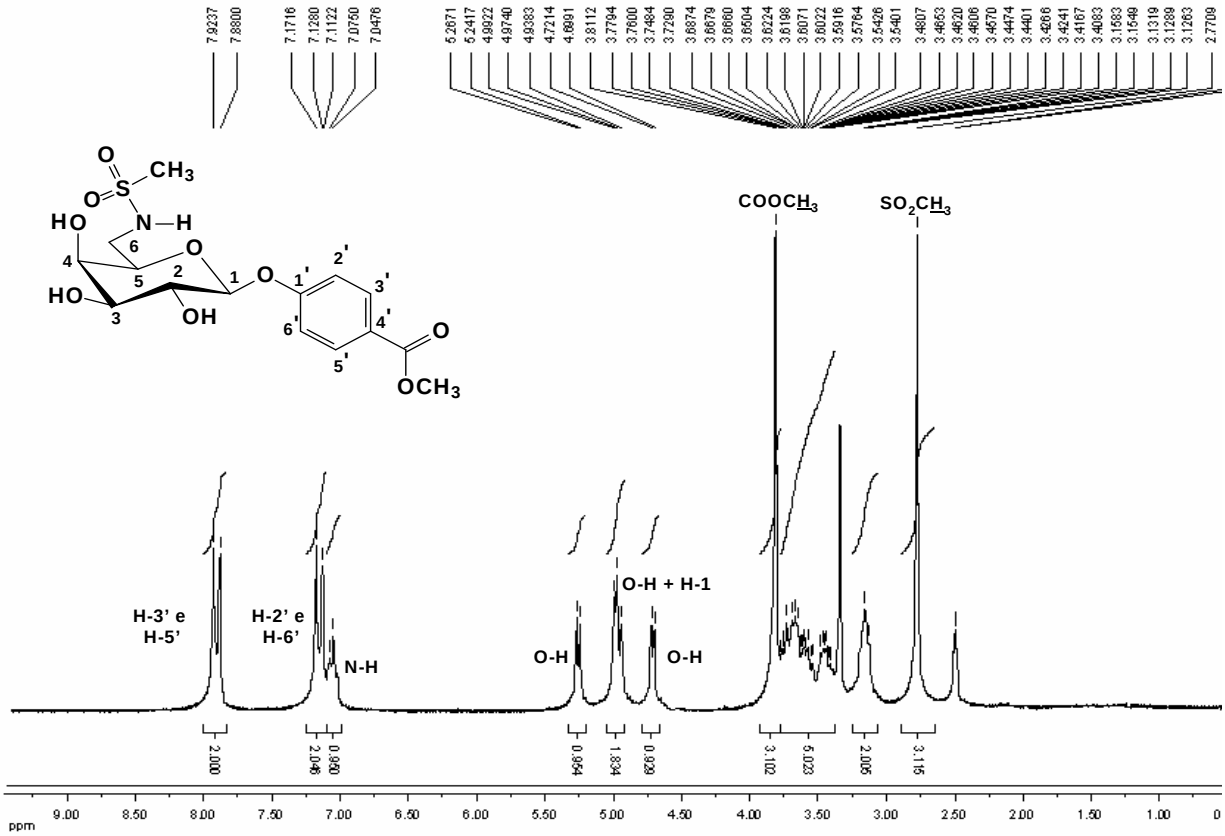


Figura 52: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **66** (200 MHz , DMSO-d_6).

Pode-se notar neste espectro, os sinais relativos ao grupo metila da sulfonamida em δ 2,77 e um tripleto centrado em δ 7,07, atribuído ao hidrogênio amídico deste em acoplamento com os hidrogênios H-6 e H-6'. Pela análise de seu espectro de RMN de ^{13}C (Figura 136) e subsespectro DEPT-135 (Figura 137), notou-se, como relatado para o derivado **65**, sinal relativo a C-6 mais deslocado em sentido ao TMS, em δ 43,21 e, em δ 39,5, o sinal correspondente ao grupo metila da sulfonamida.

Por outro lado, da análise dos espectros de RMN de **67**, produto isolado com 4% de rendimento, sugeriu-se a formação de um derivado heterocíclico, provavelmente por um ataque intramolecular do grupo amino de C-6 ao átomo de enxofre de um intermediário *O*-sulfonilado. Low e colaboradores (1992) relataram a formação de produto semelhante durante o preparo de sulfonamidas nas condições de Schotten-Baumann. Além disso, é descrito que, mesmo sob essas condições, é possível que ocorra sulfonilação previamente em um grupo hidroxilado e que o fato de, em geral, ser isolado

apenas produto *N*-sulfonilado provavelmente deve-se a uma ciclização espontânea, seguida de desidratação, originada do ataque do grupo amino ao enxofre do éster sulfonílico (GORDEN *et al.*, 1989). Especula-se que o produto **67** possa ter sido formado a partir do intermediário 3-*O*-sulfonilado, por ataque intramolecular do grupo amino ao enxofre de um intermediário cíclico, com eliminação de uma molécula de água (Figura 53).

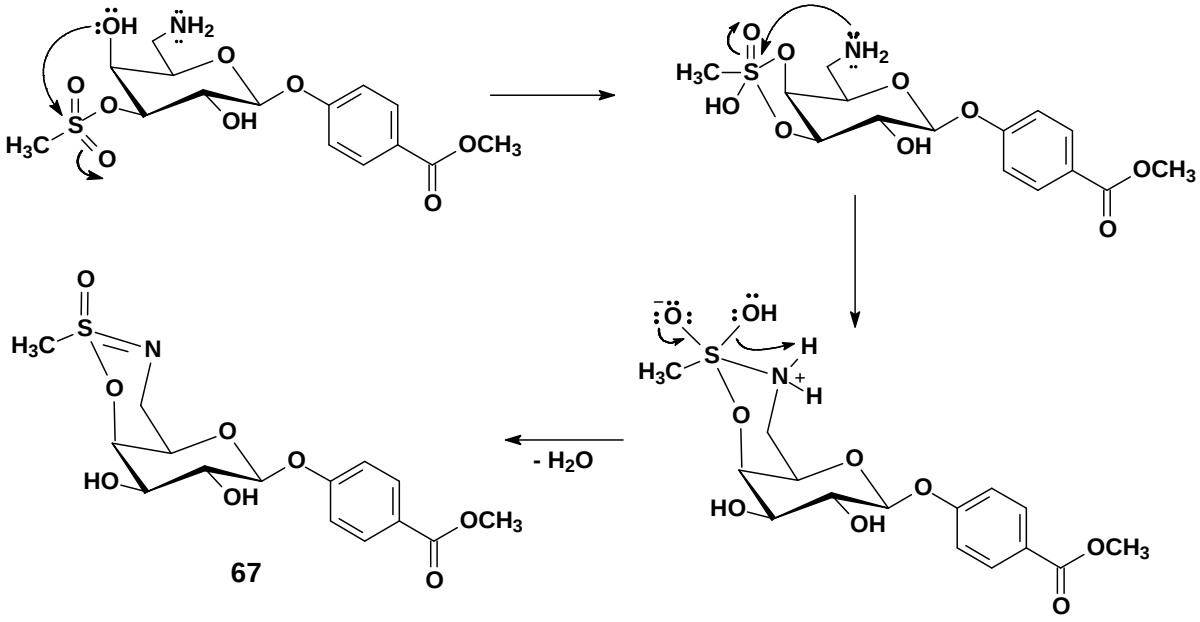


Figura 53: Proposta de mecanismo de formação do produto **67** a partir de um Intermediário *O*-sulfonilado.

Não há, pela observação do espectro de RMN de ^{1}H, mostrado na Figura 54, sinal relativo ao grupo N-H de sulfonamida, que ocorre em geral entre δ 8 e 5. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 140) e subespectro DEPT 135 (Figura 55) de **67**, em comparação com os de **66**, as únicas diferenças significativas observadas foram os deslocamentos do sinal referente ao grupo metílico ligado ao enxofre, de δ 39,6 para 42,6 e do sinal relativo a C-6 de δ 43,2 para cerca de 49,0.

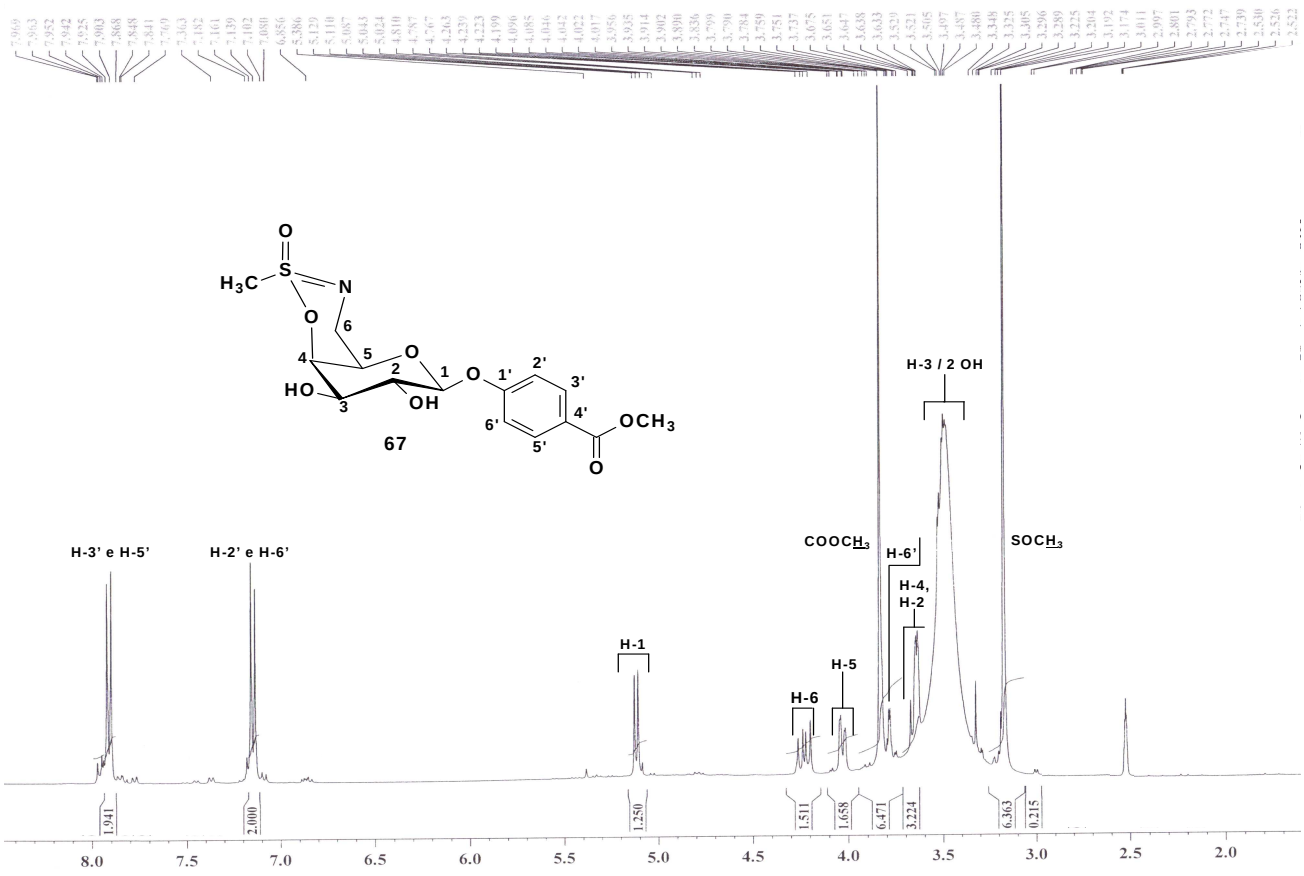


Figura 54: Espectro de RMN de ^{1}H do produto **67** (400 MHz , DMSO-d_6,).

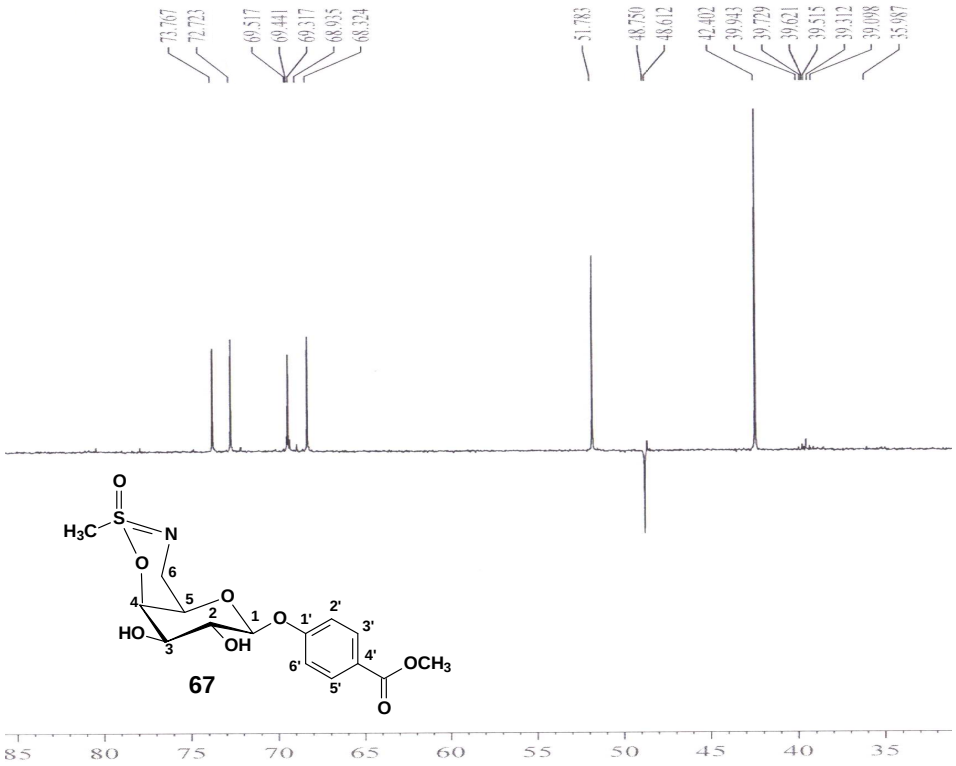


Figura 55: Subespectro DEPT 135 do produto **67** (100 MHz, DMSO-d_6).

Sugere-se que o deslocamento de C-6 para região mais desprotegida, no caso do derivado **67**, seja devido ao efeito retirador de elétrons da ligação dupla presente no nitrogênio da estrutura proposta. Efeito semelhante foi observado quando se analisou a posição relativa do carbono metilênico vizinho ao nitrogênio amínico ou imínico nos derivados sintetizados descritos no item 3.1.3. Na Figura 56 é feita essa comparação.

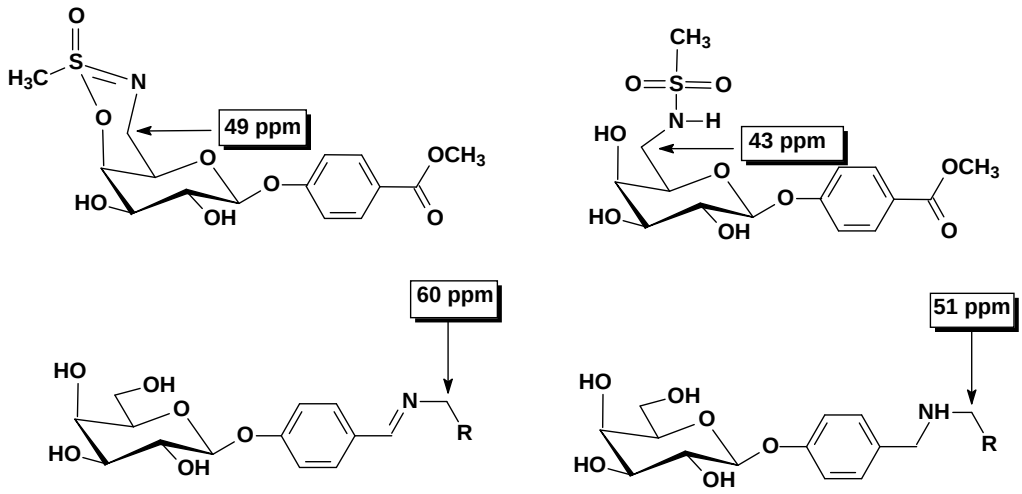


Figura 56: Comparação da influência do grupo C=N ou S=N sobre o deslocamento do sinal RMN de um carbono metilênico vizinho.

3.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

3.2.1 ENSAIO DE INIBIÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO

A avaliação dos derivados de D-galactose, como inibidores do processo de hemaglutinação mediada por LEC, foi realizada por adaptação do procedimento tradicional empregado por diversos autores (LIS; SHARON, 1998; KONOZY *et al.*, 2002; MAKIMURA *et al.*, 2006; GIGUÈRE *et al.*, 2006; JUNG *et al.*, 2007; GUPTA *et al.*, 2007).

Os resultados foram expressos em termos da potência relativa à capacidade de inibição promovida pela D-galactose. Embora esse teste forneça a concentração inibitória mínima dos derivados que pode inibir a hemaglutinação promovida pela lectina, é mais comum a divulgação dos resultados como potência relativa, tendo em vista que é um parâmetro menos sensível a variações como ocorre com os valores de concentração

inibitória mínima em comparações interensaios (CORBELL *et al.*, 2000; LUNDQUIST; TOONE, 2002).

Na Tabela 5 são mostrados os resultados do ensaio de inibição de hemaglutinação. As concentrações iniciais empregadas de D-galactose, lactose e derivados de D-galactose diferem em função da solubilidade relativa de cada substância em solução salina Ca^{2+}/Mn^{2+}.

Tabela 5: Valores de CIM *(a)* e potência relativa *(b)* dos derivados de D-galactose quanto à inibição da hemaglutinação mediada por LEC.

Substância	CIM ($mmol.L^{-1}$)	Potência Relativa	Substância	CIM ($mmol.L^{-1}$)	Potência Relativa
D-galactose	3,125	1	**37**	0,391	8
lactose	0,781	4	**38**	4,167	0,75
5	3,125	1	**39**	0,781	4
12	6,250	0,5	**44**	*ni*	
13	12,50	0,25	**45**	*ni*	
14	6,250	0,5	**46**	1,042	3
15	6,250	0,5	**47**	*ni*	
16	6,250	0,5	**53**	50,0	<0,0625
28	0,391	8	**54**	*ni*	
29	0,391	8	**58**	1,201	5
30	0,391	8	**61**	50,0	0,0625
31	0,781	4	**62**	3,125	1
32	0,391	8	**63**	*ni*	
33	0,781	4	**65**	*ni*	
35	0,781	4	**66**	4,987	1
36	1,563	2			

(a) concentração da substância testada na menor concentração que inibe a hemaglutinação; *(b)* resultados expressos em termos de potência relativa à inibição promovida pela D-galactose; *ni* : não inibiu na maior concentração testada.

Com base nos resultados encontrados, pode-se concluir que não houve aumentos expressivos na afinidade dos derivados pela LEC, em relação à D-galactose. Na Figura **57** estão mostradas as estruturas dos derivados ensaiados como inibidores de hemaglutinação.

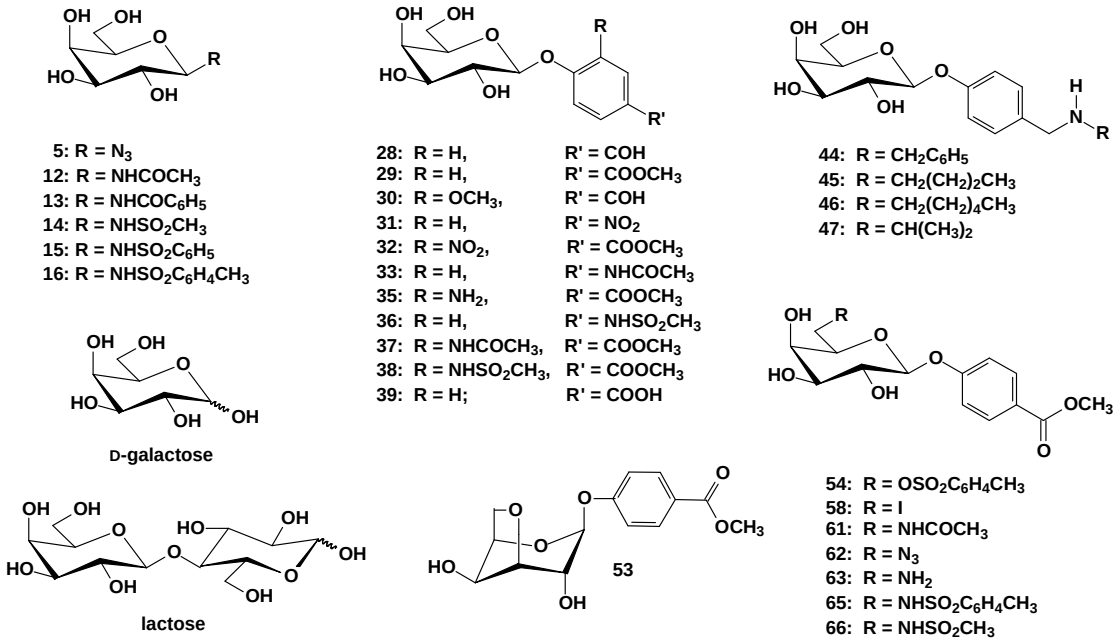


Figura 57: Derivados de D-galactose empregados no ensaio de inibição de hemaglutinação.

As modificações efetuadas em C-1, relacionadas à obtenção do derivado azido (**5**), amidas (**12** e **13**) e sulfonamidas (**14**,**15** e **16**), não levaram a melhoria na interação dos produtos com o sítio de ligação da lectina. Nenhum desses derivados teve potência igual ou superior a da D-galactose. A afinidade da lactose, quatro vezes maior em relação à da D-galactose, é devida às interações da lectina, mediadas por moléculas de água, com grupos hidroxila do resíduo de glicose, assim como ocorre na interação com ricina, outra lectina específica para D-galactose (RUTENBER *et al.*, 1991; SVENSSON *et al.*, 2002). No caso das amidas e sulfonamidas, estes grupos pareceram não poder exercer o mesmo efeito do resíduo de glicose da lactose. Uma possibilidade de se explicar a diminuição da afinidade pela LEC pode ser um provável aumento da energia de dessolvatação obtida com os derivados sintetizados, favorecida pelas ligações de hidrogênio entre moléculas de água e seus grupos amido e sulfonamido, o que conseqüentemente acarretaria diminuição da interação desses carboidratos com a lectina.

O grupo de derivados **28**-**39**, galactosídeos obtidos de modificações em C-1, apresentou atividade inibitória da hemaglutinação superior àquela observada para o conjunto de amida e sulfonamidas, exceto pelo galactosídeo **38**. Os derivados **28**, **29**, **30**, **32** e **37** mostraram-se oito vezes mais potentes como inibidores quando comparados à D-galactose, e duas vezes mais potente do que a lactose. Por outro lado, os derivados com substituinte em posição *para* no anel benzênico (**31**, **33**, **36** e **39**) foram menos ativos que a série 2,4-dissubstituída. Exceção é feita aos derivados **28** e **29** que se equipararam a

estes. Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir, como regra geral, que a substituição do resíduo de D-glicose da lactose por grupos aromáticos ligados ao resíduo de D-galactose (galactosídeos de arila), levou a um aumento da potência inibitória, mesmo que discreto e com algumas exceções. O mesmo não ocorreu ao se comparar esses galactosídeos às amidas e sulfonamidas do primeiro grupo testado. Com relação à influência da substituição em *para* no anel aromático apenas algumas informações de caráter geral puderam ser tiradas com esse estudo. Especula-se que a potência observada com os derivados que apresentaram maior atividade nessa série esteja ligada aos grupos hidrofóbicos que estes possuem, uma vez que a presença de grupos mais hidrofílicos (NO_2, $NHCOCH_3$, $NHSO_2CH_3$ e COOH nos derivados **31**, **33**, **36** e **39**, respectivamente) parece influenciar negativamente na potência.

As aminas **44**-**47**, pertencentes ao terceiro grupo de derivados planejados, não inibiram o processo de hemaglutinação na concentração testada, exceto por **46** que mostrou ser três vezes superior à D-galactose. Apesar de o sítio de ligação da LEC aceitar bem um grupo hidrofóbico inserido na posição 1 da D-galactose, esses resultados podem mostrar que substituintes alquílicos volumosos em posição *para* no anel aromático não são bem vindos, possivelmente por não haver espaço livre para sua acomodação nessa região do sítio de ligação, nem a capacidade de estabelecimento de interações hidrofóbicas que aumentem a afinidade da lectina pelo ligante.

Finalmente, os derivados **53**-**66**, originados de substituições na posição C-6 do anel piranosídico, mostraram-se inferiores quanto à capacidade de inibir o processo de hemaglutinação, quando comparados às substâncias descritas anteriormente, à exceção do derivado C6-iodo (**58**), que mostrou aumento discreto de potência em comparação à D-galactose. Por outro lado, os derivados em que a hidroxila de C-6 foi substituída por um grupo azido (**62**) ou um grupo metanossulfonilamino (**66**) mostraram a mesma atividade da D-galactose, enquanto aquele substituído pelo grupo acetamido (**61**) foi muito inferior a esse monossacarídeo. Também é interessante notar que o derivado 3,6-anidro (**53**) também foi muito menos potente que a D-galactose, possivelmente pela conformação diferenciada de seu anel piranosídico e a configuração invertida no carbono anomérico. Como conclusão geral dessa série, pode-se dizer que os resultados observados corroboraram a necessidade da existência do grupo hidroxila livre em C-6, conforme sugeriram diversos autores, como citado na introdução deste trabalho.

3.2.2 ENSAIO DE INIBIÇÃO DE ERITROFAGOCITOSE

O teste para verificação do potencial inibitório dos derivados sacarídicos sobre o processo de eritrofagocitose, que é mediado por lectina específica para D-galactose/*N*-acetil-D-galactosamina, foi realizado por adaptação do método descrito por Boettner (2005). Este consistiu em incubar trofozoítos de *E. histolytica* em meio de cultivo com soluções dos derivados em teste e posterior incubação dessas misturas com suspensão de eritrócitos. A cepa de *E. histolytica* empregada foi a HM1-IMSS (*E. histolytica* patogênica), cepa isolada na Cidade do México a partir de um paciente com disenteria amebiana. Essa cepa é amplamente empregada para estudos de patologia, imunologia, biologia celular e molecular, entre outros.

Pretendeu-se, com este experimento, avaliar a capacidade de os derivados ensaiados atuarem como anti-adesinas no reconhecimento dos resíduos de carboidratos de superfície das hemácias pelas lectinas amebianas.

Somente foram testados os derivados que foram solúveis em meio de cultivo na concentração de teste. Desta forma, dentre as substâncias sintetizadas, apenas treze apresentaram o perfil de solubilidade adequado. As estruturas químicas das substâncias testadas estão mostradas na figura a seguir.

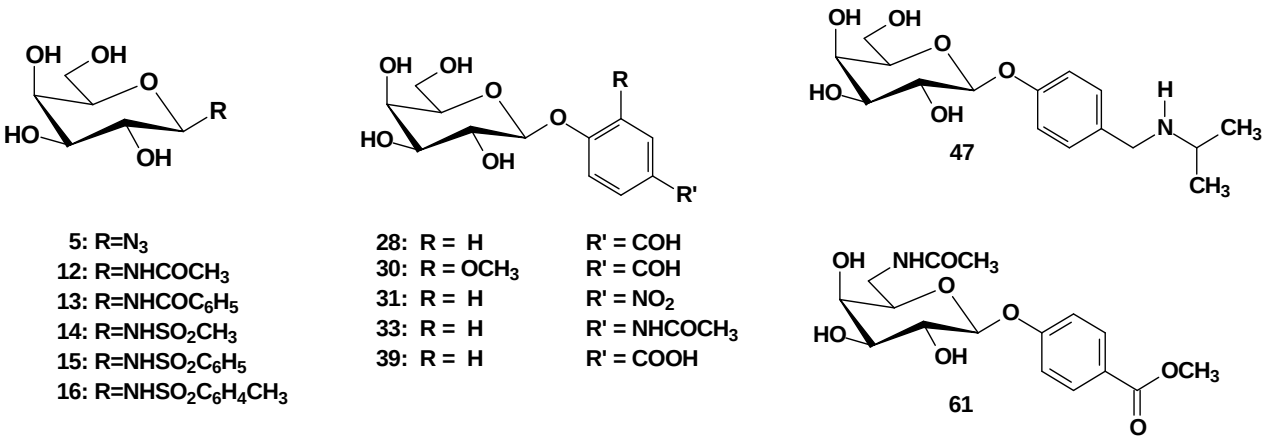


Figura 58: Derivados da D-galactose ensaiados no teste de inibição de eritrofagocitose.

Na Figura 59 é mostrado o resultado desse teste na forma de porcentagem de trofozoítos que fagocitaram eritrócitos. Foram considerados na contagem aqueles trofozoítos que fagocitaram uma ou mais hemácias.

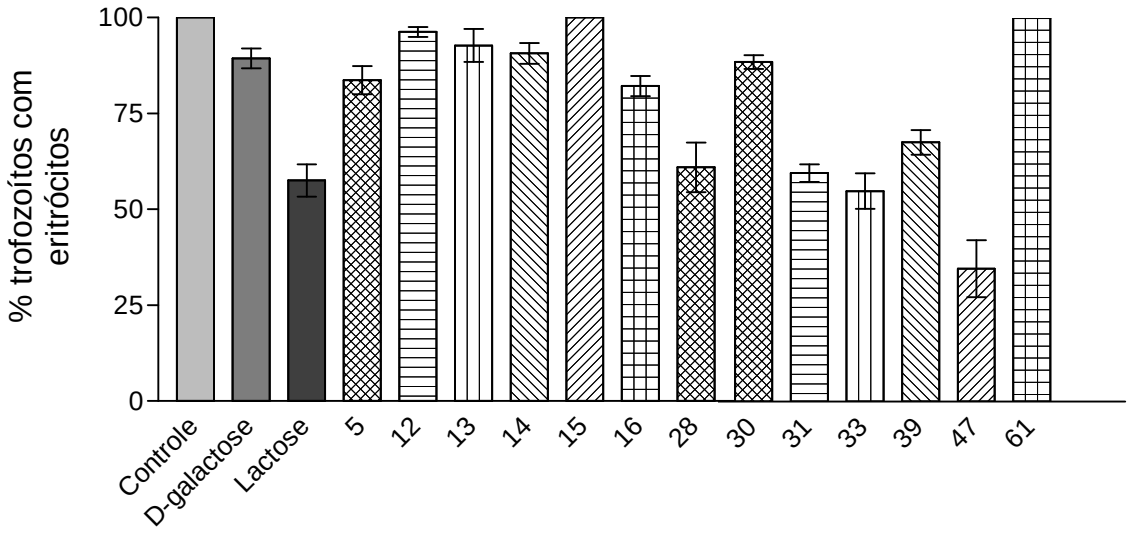


Figura 59: Porcentagem de trofozoítos de *E. histolytica* cepa HM1-IMSS que fagocitaram eritrócitos humanos, após 30 minutos de interação com D-galactose, lactose ou derivados de D-galactose. Foi utilizada uma relação de um trofozoíto para 100 eritrócitos (* = p<0,05).

Em vista desses resultados, pôde ser observado que o grupo de derivados modificados em C-1 com os grupos azido (**5**), amido (**12** e **13**) e sulfonamido (**14**, **15** e **16**) não foram superiores à D-galactose no sentido de inibir a fagocitose de eritrócitos.

Os resultados com os galactosídeos de arila (**28**, **30**, **31**, **33** e **39**) mostraram que a presença do grupo hidrofóbico em C-1 aumentou a afinidade da lectina de *E. histolytica* pelos ligantes, levando a um decréscimo da ordem de 20-40% na percentagem de trofozoítos que fagocitaram hemácias.

Por outro lado, o derivado com o grupo acetamido em C-6 (**61**) teve o pior resultado entre as substâncias testadas, o que evidenciou a exigência da hidroxila livre nessa posição, conforme descrito na literatura e comentado anteriormente.

O melhor resultado encontrado foi para o derivado **47**, que possui a cadeia isopropilamínica inserida na posição *para* do anel aromático. Com essa substância, foi observada uma redução de 65% no número de trofozoítos que fagocitaram eritrócitos. Isto pode mostrar que grupos alquílicos nessa posição podem ser bem acomodados no sítio de ligação da lectina amebiana, possivelmente devido a interações hidrofóbicas com essa

cadeia carbônica de **47**. A formação de ligação de hidrogênio envolvendo o grupo amino constitui outra possibilidade nessa interação. Entretanto, o fato de os outros derivados da mesma série não terem sido ensaiados, por problemas de solubilidade, não permite levantar resultados conclusivos a esse respeito.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

As faixas de fusão foram determinadas em aparelho Microquímica MQAPF 301 e não foram corrigidas.

Os valores de poder rotatório específico, $[\alpha]_D$, foram medidos em polarímetro ADP220 Bellinghan + Stanley Ltd., a 20 ℃.

Os espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C foram obtidos em espectrômetros *Avance* DPX 200 e *Avance* DRX 400, ambos da Brucker. Foram empregados como padrão interno o tetrametilsilano ou o próprio solvente deuterado. Os valores de deslocamento químico foram descritos em ppm.

Os espectros no IV foram obtidos em aparelho Spectrum One, Perkin-Elmer (Laboratório de Química Farmacêutica, FAFAR, UFMG), acoplado ao acessório de reflectância difusa.

A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando placas confeccionadas com sílica gel 60 G (Merck). Os sistemas de eluentes empregados estão especificados em cada procedimento. Como reveladores foram empregados vapores de iodo metálico, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% v/v (com aquecimento a 100 ℃) e, eventualmente, para identificação de grupos amino primário, solução etanólica de ninidrina 2% p/v (com aquecimento a 100 ℃).

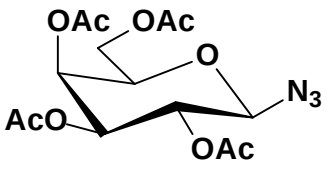
As purificações por cromatografia em coluna de sílica (CCS) foram realizadas com sílica gel 60 (0,063-0,200 mm/70-230 mesh (Merck) e os eluentes empregados estão descritos em cada procedimento.

4.2 MÉTODOS DE SÍNTESE

4.2.1 SÍNTESE DO DERIVADO AZIDO 5, DAS AMIDAS 12 E 13 E DAS SULFONAMIDAS 14, 15 E 16

4.2.1.2 Síntese de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-galactopiranose (4)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram dissolvidos 14 g (33,98 mmol) do brometo de galactopiranosila **3** em 80 mL de acetona. Foi adicionada uma solução de 2,86 g (44,00 mmol) de azida de sódio em 40 mL de água destilada. Deixou-se a mistura sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por seis horas. Após o término da reação, detectado por CCD (diclorometano/EtOAc 9:1), a mistura reagente foi vertida em cápsula de porcelana e a acetona evaporada sob ventilação. O resíduo aquoso obtido foi extraído com diclorometano (3 x 30 mL) e fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado em evaporador rotatório, fornecendo um óleo que foi pré-purificado por filtração em coluna de sílica com acetato de etila. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório e o sólido obtido foi recristalizado com álcool isopropílico. Foram obtidos 8,4 g (22,5 mmol; 66%) de **4,** como um sólido branco cristalino.



F.M.: $C_{14}H_{19}O_9N_3$

M.M.: 373 $g.mol^{-1}$

P.F.: 91,5-93,0 ℃ {literatura: 91-92 ºC (JARRAHPOUR, 2 004)}

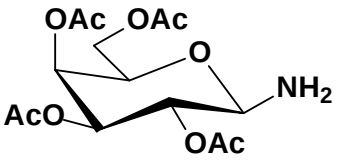
$[\alpha]_D$ -4,8 (*c* 1, $CHCl_3$) {literatura: $[\alpha]_D$ -8,0, (*c* 1, $CHCl_3$) (SABESAN, 1992)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 2126 (N_3), 1737 (C=O), 1054 (C-O-C)

4.2.1.3 Síntese de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosilamina (6)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram colocados 50 mg de paládio-carvão 10 % e 5 mL de tetraidrofurano. O balão foi fechado com septo de borracha. A mistura foi deixada sob agitação e atmosfera de gás hidrogênio por 15 minutos. Em seguida, adicionou-se 1 g de **4** (2,67 mmol), dissolvido em 10 mL de tetraidrofurano, por meio de seringa. A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio e agitação. Após o término da reação, detectado por CCD (diclorome-

tano/EtOAc 1:1), o catalisador foi removido por filtração e o solvente evaporado em evaporador rotatório. O produto foi obtido como um óleo que solidificou prontamente por tratamento com éter etílico, resultando em 0,81 g (87%) de um sólido branco que foi empregado nas reações subseqüentes, imediatamente, sem purificação prévia. Quantidades adicionais de **6** (8,6 g) foram obtidas por repetições do mesmo procedimento.



F.M.: $C_{14}H_{21}O_9N$

M.M.: 347 $g.mol^{-1}$

P.F.: 119,5–122,6 ℃ {literatura: 120-122 ºC (JARRAHPOU R, 2004)}.

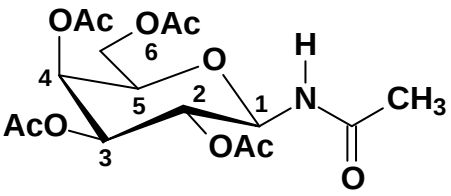
4.2.1.4 Procedimento geral de síntese de 7-11

Em um balão de 50 mL, imerso em banho de gelo e água, 1 g de **6** (2,9 mmol) foi dissolvido em 5 mL de piridina. O respectivo agente acilante ou sulfonilante foi adicionado gota a gota, na quantidade apropriada, conforme mostrado na Tabela 6, e a mistura reagente foi agitada sob as mesmas condições. O progresso da reação foi acompanhado por CCD (diclorometano/EtOAc 1:1). Após o término da mesma, a solução reagente foi vertida em gelo pilado e submetida à extração com três porções de 15 mL de diclorometano. As camadas orgânicas reunidas foram lavadas com cinco porções de 10 mL de solução de ácido clorídrico 1 mol/L e, em seguida, com água destilada até o pH da fase aquosa da última lavagem permanecer seis. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em evaporador rotatório.

Tabela 6: Condições empregadas na síntese de **7**-**11**.

Produto	Agente acilante/sulfonilante (proporção molar)	Tempo de reação (min)	Rendimento a partir de 4 (%)
7	$(CH_3CO)_2O$ (5,5)	120	80
8	C_6H_5COCl (4,6)	60	88
9	CH_3SO_2Cl (4,5)	150	73
10	$C_6H_5SO_2Cl$ (2)	80	78
11	4-CH_3-$C_6H_4SO_2Cl$ (2)	140	69

4.2.1.4.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-acetilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (7)



Sólido branco cristalino (0,83 g; 2,14 mmol)

F.M.: $C_{16}H_{23}O_{10}N$

M.M.: 389 g.mol^{-1}

P.F.: 169,6-170,8 ℃ {literatura: 173 ºC (FRUSH, **1951**)};

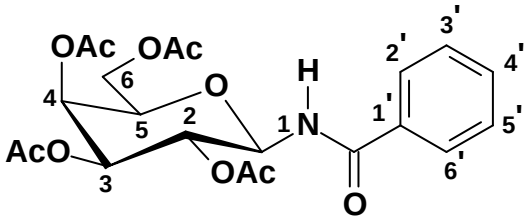
$[\alpha]_D$ +33,0 (*c* 2, $CHCl_3$) {literatura: $[\alpha]_D$ +34,7 (*c* 2, $CHCl_3$), (FRUSH, 1951)}.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3200 (N-H), 1756 e 1737 (C=O de éster), 1666 (C=O de amida), 1223 (C-O), 1050 (C-O-C).

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 6,50 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 8,9 Hz; N<u>H</u>); 5,45 (d; 1H; *J* 1,7 Hz); 5,30-5,05 (m; 3H); 4,17-4,02 (m; 3H); 2,15 (s; 3H; COC<u>H</u>$_3$); 2,07-1,99 (m; 12H; OCOC<u>H</u>$_3$).

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 171,26-170,09 (O<u>C</u>OCH$_3$); 169,80 (NH<u>C</u>OCH$_3$); 78,57 (C-1); 72,50 (C-3); 70,99 (C-5); 68,44 (C-2); 67,34 (C-4); 61,32 (C-6); 23,37 (NHCO<u>C</u>H$_3$); 20,80-20,59 (OCO<u>C</u>H$_3$).

4.2.1.4.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-benzoilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (8)



Sólido branco cristalino (1,06 g; 2,35 mmol)

F.M.: $C_{21}H_{25}O_{10}N$

M.M.: 451 g.mol^{-1}

P.F.: 143-144,5 ℃ {literatura: 148-149 ºC KOVÁCS, 2001)}

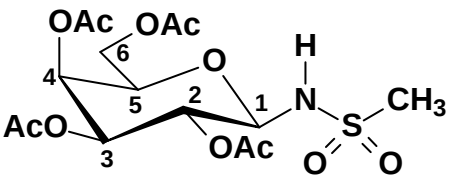
$[\alpha]_D$ +6,0 (*c* 2, $CHCl_3$) {literatura: $[\alpha]_D$ +4,9, *c* 1 $CHCl_3$ (KOVÁCS, 2001)}.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3324 (N-H), 1736 (C=O de éster), 1677 (C=O de amida), 1605 (C=C), 1212 (C-O), 1055 (C-O-C), 720, 655 (C-H de anel aromático monossubstituído).

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,78 (d; 2H; $J_{2',3';6',5'}$ 7 Hz; H-2' e H-6'); 7,58-7,41 (m; 3H; H-3', H-4' e H-5'); 7,12 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 8,89 Hz; N<u>H</u>); 5,49-5,23 (m; 4H); 4,18-4,09 (m; 3H); 2,15-2,02 (m; 12H; COC<u>H</u>$_3$).

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 171,90-169,91 (O<u>C</u>OCH$_3$); 167,19 (NH<u>C</u>O); 132,99 (C-1'); 132,50 (C-4'); 128,87 (C-2' e C-6'); 127,36 (C-3' e C-5'); 79,32 (C-1); 72,48 (C-3); 72,48 (C-5); 70,93 (C-2); 68,69 (C-4); 61,25 (C-6); 20,91-20,72 (OCO<u>C</u>H$_3$).

4.2.1.4.3 Dados de caracterização 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi-1-metanossulfonil-amino-β-D-galactopiranose (9)



Sólido branco após recristalização em isopropanol (0,83 g; 1,95 mmol)

F.M.: $C_{15}H_{23}O_{11}NS$

M.M.: 425 g.mol^{-1}

P.F.: 187-188 ℃

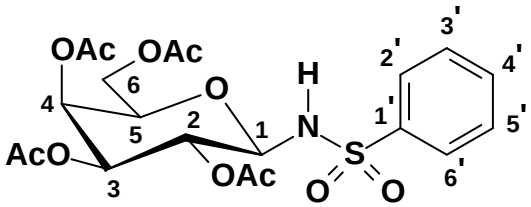
[α]$_D$ +31,8 (*c* 1, $CHCl_3$)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3188 (N-H), 1754, 1738 e 1713 (C=O), 1333, 1152 (SO_2), 1215 (C-O), 1035 (C-O-C).

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,46 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 9,9 Hz; NH); 5,26 (m; 2H); 5,00 (t; 1H; $J_{1,NH}$= 9,8 Hz; H-1); 4,85; (t; 1H; $J_{2,1}$ 8,9 Hz; H-2); 4,32-4,26 (m; 1H; H-3); 4,11-4,04 (m; 2H); 2,95 (s; 3H; SO_2CH_3); 2,10-1,91 (m; 12H; $OCOCH_3$).

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 169,91-169,71 ($OCOCH_3$); 82,23 (C-1); 71,23 (C-3); 70,83 (C-5); 67,42 (C-2 e C-4); 61,49 (C-6); 42,82 (SO_2CH_3); 20,53-20,35 ($OCOCH_3$).

4.2.1.4.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (10)



Sólido branco após recristalização em água (1,01 g; 2,08 mmol)

F.M.: $C_{20}H_{25}O_{11}NS$

M.M.: 487,5 g.mol^{-1}

P.F.: 112,5-114,0 ℃

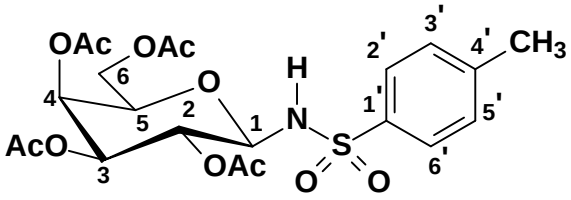
[α]$_D$ +23,9 (*c* 1,$CHCl_3$)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3133 (N-H), 1751 e 1717 (C=O), 1485 e 1447 (C=C), 1331 e 1159 (SO_2), 1210 (C-O), 1046 (C-O-C).

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,89 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 6,8 Hz; H-2' e H-6'); 7,58-7,46 (m; 3H; H-3', H-4' e H-5'); 5,81 (d; 1H; $J_{NH,1}$=9,7 Hz; NH); 5,38 (d; 1H; *J* 1,9 Hz; H-4); 5,09-5,00 (m; 2H); 4,87-4,77 (m; 1H); 4,01-3,80 (m; 3H); 2,09-1,97 (m; 12H; $OCOCH_3$).

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 171,08-169,92 ($OCOCH_3$); 141,50 (C-1'); 133,02 (C-4'); 129,06 (C-2' e C-6'); 127,18 (C-3' e C-5'); 83,32 (C-1); 72,30 (C-3); 70,89 (C-5); 67,80 (C-2); 67,02 (C-4); 61,05 (C-6); 20,77-20,62 ($OCOCH_3$).

4.2.1.4.5 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)-β-D-galactopiranose (11)



Sólido branco cristalino (0,92 g;1,84 mmol)

F.M.: $C_{21}H_{27}O_{11}NS$

M.M.: 501,5 g.mol^{-1}

P.F.: 153,8-154,7 ℃

$[\alpha]_D$ +11,9 (*c* 1, $CHCl_3$)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3185 (N-H), 1751 e 1720 (C=O), 1595, 1480 e 1434 (C=C), 1341, 1157 (SO_2), 1213 (C-O), 1047 (C-O-C).

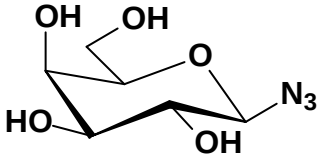
RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,76 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,2 Hz; H-2' e H-6'); 7,28 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8 Hz; H-3' e H-5'); 5,78 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 9,8 Hz; N<u>H</u>); 5,38 (sl; 1H; H-4); 5,08-5,05 (m; 2H); 4,81 (t; 1H; *J* 8,46 Hz); 3,99-3,84 (m; 3H; H-5; H-6a e H-6b); 2,41 (s; 3H; Ar<u>C</u>H$_3$); 2,09-1,97 (m; 12H; OCO<u>C</u>H$_3$).

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 171,05-169,94 (O<u>C</u>OCH$_3$); 143,85 (C-1'); 138,55 (C-4'); 129,60 (C-2' e C-6'); 127,23 (C-3' e C-5'); 83,29 (C-1); 72,23 (C3); 70,9 (C-5); 67,78 (C-2); 67,06 (C-4); 61,04 (C-6); 21,64-20,67 (Ar<u>C</u>H$_3$ e OCO<u>C</u>H$_3$).

4.2.1.5 Procedimento geral de síntese de 5 e 12-16

Em balão de 100 mL, imerso em banho de gelo e água, **4** ou os derivados per-*O*-acetilados (**7**-**11**) foram dissolvidos em 20 mL de solução metanólica de metóxido de sódio, preparada pela dissolução de um pedaço de cerca de 30 mg de sódio metálico em metanol anidro. A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e agitação magnética até que, por CCD (diclorometano/EtOAc 1:1), fosse verificado o término da reação. A solução foi então neutralizada com resina de troca catiônica Amberlite® IRA-120 e o solvente destilado em evaporador rotatório. Quando necessário, o sólido obtido foi recristalizado em solvente apropriado.

4.2.1.5.1 Dados de caracterização de 1-azido-1-desoxi-β-D-galactopiranose (5)



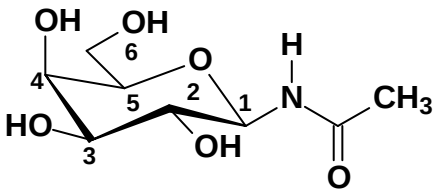
Sólido branco cristalino [0,19 g (0,92 mmol; 72 %) a partir de 0,5 g (1,3 mmol) de **4**]

F.M.: $C_6H_{11}O_5N_3$

M.M.: 205 g.mol^{-1}

P.F.: 146,6-147,5 ℃

4.2.1.5.2 Dados de caracterização de 1-acetilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (12)



Sólido branco [0,556 g (2,50 mmol; 98%) a partir de 1 g (2,5 mmol) de **7**]

F.M.: $C_8H_{15}O_6N$

M.M.: 221 g.mol^{-1}

P.F.: 234,1-235,2 ℃ {literatura: 233 ºC (FRUSH,. 1951)}

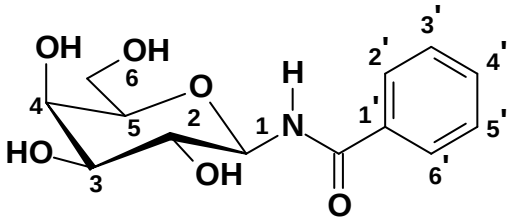
[α]$_D$ +8,0 (*c* 2, H_2O) {literatura: +9,8, (*c* 2, H_2O) (FRUSH, 1951)}.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3383-3270 (N-H e O-H), 1670 (C=O), 1548 (C-N), 1084 (C-O-C).

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 8,36 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 9,1Hz; N<u>H</u>); 4,76 (d; 1H; *J* 4,2 Hz; OH); 4,69-4,53 (m; 5H); 4,4 (d; 1H; *J* 3,2 Hz; OH); 3,66 (sl; 1H); 3,45-3,33 (m; 5H); 1,81 (s; 3H; CH_3).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 169,78 (NH<u>C</u>OR); 79,94 (C-1); 76,64 (C-3); 74,23 (C-5); 69,70 (C-2); 68,28 (C-4); 60,54 (C-6); 22,92 (CO<u>C</u>H$_3$).

4.2.1.5.3 Dados de caracterização de 1-benzoilamino-1-desoxi-β-D-galactopiranose (13)



Sólido branco [1,01 g (3,60 mmol; 95%) a partir de 1,7 g (3,76 mmol) de **8**]

F.M.: $C_{13}H_{17}O_6N$

M.M.: 283 g.mol^{-1}

P.F.: 117-119 ℃ {literatura: 114-118 ºC {KOVÁCS, 2001)}

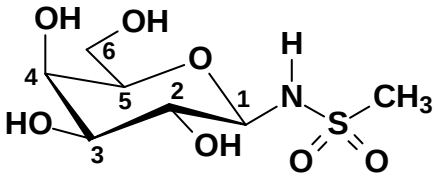
[α]$_D$ +38,0 (*c* 2, H_2O) {literatura: +25,0 (*c* 0,02, H_2O), (PRIYA, 1999}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3305 (N-H e O-H), 1639 (C=O), 1602, 1578, 1542, 1492, 1448 (C=C), 1077 (C-O-C).

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 8,86 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 8,8 Hz; N<u>H</u>); 7,93 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 6,6 Hz; H-2' e H-6'); 7,53-7,42 (m; 3H; H-3', 4' e 5'); 4,94 (t; 1H; $J_{1,NH}$ 8,9 Hz; H-1); 4,81 (sl; 1H); 4,62 (sl; 1H); 4,45 (sl; 1H); 3,74-3,46 (m; 3H; H-5; H-6a e H-6b).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 166,79 (NH<u>C</u>OAr); 134,21 (C-1'); 131,53 (C-4'); 128,24 (C-2' e C-6'); 127,73 (C-3' e C-5'); 80,88 (C-1); 76,99 (C-3); 74,33 (C-5); 69,43 (C-2); 68,45 (C-4); 60,66 (C-6).

4.2.1.5.4 Dados de caracterização de 1-desoxi-1-metanossulfonilamino-β-D-galacto-piranose (14)



Sólido branco [0,63 g (2,5 mmol; 87%) a partir de 1,2 g (2,82 mmol) de **9**]

F.M.: $C_7H_{15}O_7NS$

M.M.: 257 $g.mol^{-1}$

P.F.: 97,5-98,5 ℃

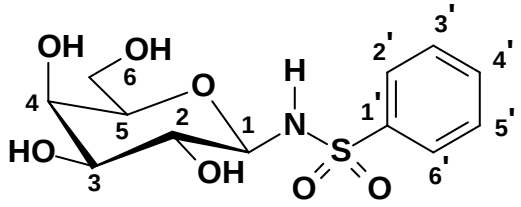
$[\alpha]_D$ +14,1 (*c* 1; CH_3OH)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3542-3125 (N-H e O-H), 1302, 1142 (SO_2), 1035 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (*δ*; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 7,94 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 7,4 Hz; N<u>H</u>); 4,86-4,79 (m; 2H); 4,58 (t; 1H; *J* 5,2 Hz; H-4); 4,45 (d; 1H; *J* 3,34 Hz); 4,18 (tl; 1H); 3,47-3,32 (m; 6H); 2,95 (s; 3H; $SO_2C\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (*δ*; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 85,33 (C-1); 76,68 (C-3); 74,19 (C-5); 69,48 (C-2); 68,26 (C-4); 60,69 (C6); 43,43 ($SO_2\underline{C}H_3$)

4.2.1.5.5 Dados de caracterização de 1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-β-D-galacto-piranose (15)



Sólido branco a incolor após recristalização em isopropanol [0,96 g (3,0 mmol; 92%) a partir de 1,6 g (3,28 mmol) de **10**]

F.M.: $C_{12}H_{17}O_7NS$

M.M.: 319 $g.mol^{-1}$

P.F.: 143,5-145,0 ℃

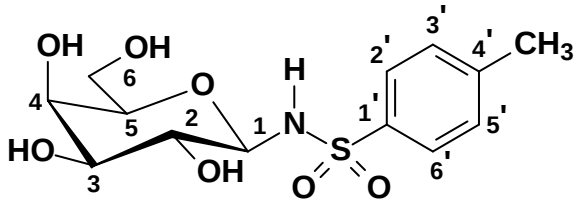
$[\alpha]_D$ +16,0 (*c* 1, CH_3OH)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3380-3228 (N-H e O-H), 1584, 1477, 1459, 1448 (C=C), 1335, 1152 (SO_2), 1032 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (*δ*; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 8,47 (d; 1H; $J_{NH,1}$ 8,96 Hz; N<u>H</u>); 7,85 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 6,8 Hz; H-2' e H-6'); 7,57-7,46 (m; 3H; H-3', H-4' e H-5'); 4,85-4,77 (m; 2H); 4,40-4,29 (m; 3H); 3,63 (s; 1H); 3,36-3,17 (m; 4H); 3,11-3,04 (m; 1H)

RMN de ^{13}C (*δ*; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 143,03 (C-1'); 131,94 (C-4'); 128,47 (C-2' e C-6'); 126,88 (C-3' e C-5'); 85,32 (C-1); 76,11 (C-3); 74,25 (C-5); 69,39 (C-2); 67,59 (C-4); 59,52 (C-6)

4.2.1.5.6 Dados de caracterização de 1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)-β-D-galactopiranose (16)



Sólido branco-amarelado [0,6 g (1,8 mmol; 91%) a partir de 1 g (2,0 mmol) de **11**]

F.M.: $C_{13}H_{19}O_7NS$

M.M.: 333 $g.mol^{-1}$

P.F.: 171,8-173,1 ℃

$[\alpha]_D$ +11,9 (*c* 1, CH_3OH)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3411-3246 (N-H e O-H), 1599, 1496, 1457, 1403 (C=C), 1336, 1156 (SO_2) 1037 (C-O-C), 815 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^1H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,36 (s; N<u>H</u>); 7,74 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 7,6 Hz; H-2' e H-6'); 7,30 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 7,5 Hz; H-3' e H-5'); 4,78-4,74 (m; 2H); 4,34-4,33 (m; 3H); 3,64 (sl; 1H); 3,36-3,27 (m; 5H); 3,14-3,11 (m; 1H); 2,35 (s; ArC<u>H</u>$_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 141,99 (C-1'); 140,27 (C-4'); 128,84 (C-2' e C-6'); 126,94 (C-3' e C-5'); 85,30 (C-1); 76,14 (C3); 74,24 (C5); 69,40 (C2); 67,63 (C4); 59,60 (C-6); 20,97 (Ar<u>C</u>H$_3$)

4.2.2 Síntese dos β-D-galactopiranosídeos de arila

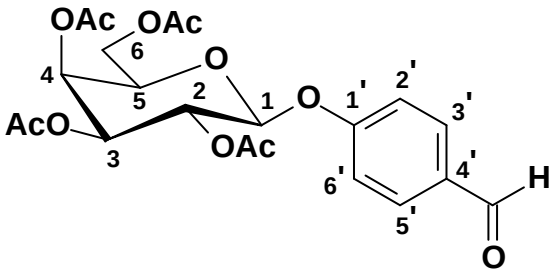
4.2.2.1 Procedimento geral de síntese de 17-22

Em um balão de 100 mL foram adicionados 30 mL de água, hidróxido de lítio e o composto fenólico correspondente. Manteve-se a mistura sob agitação a temperatura ambiente até a solubilização completa dos reagentes. Em seguida, adicionou-se uma solução de **3** em 30 mL de acetona. Deixou-se a mistura reagente sob as mesmas condições e o desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD. Ao fim da mesma, verteu-se a mistura em uma cápsula de porcelana e evaporou-se a acetona com corrente de ar. O resíduo obtido foi extraído com três porções de 30 mL de diclorometano e as fases orgânicas reunidas e lavadas com cinco porções de 30 mL de solução de hidróxido de sódio a 10%, seguido de água destilada até pH aproximadamente 7. A fase orgânica foi então secada com sulfato de sódio anidro e o solvente eliminado no evaporador rotatório. Na Tabela 7 podem ser observados detalhes da reação com cada derivado fenólico empregado.

Tabela 7: Condições empregadas nas reações de síntese de 17-22.

Produto	Composto fenólico	Proporção molar entre fenol / LiOH / 3	Eluente da CCD
17	4-hidroxibenzaldeído	3:3:1	diclorometano/EtOAc 8:2
18	4-hidroxibenzoato de metila	3:3:1	hexano/EtOAc 1:1
19	4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído	3:3:1	diclorometano/EtOAc 9:1
20	4-nitrofenol	3:3:1	diclorometano/EtOAc 9:1
21	4-hidroxi-3-nitrobenzoato de metila	3:3:1	diclorometano/EtOAc 9:1
22	*N*-(4-hidroxifenil)acetamida	3:3:1	diclorometano/EtOAc 9:1

4.2.2.1.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-formilfenila (17)



Sólido branco após cristalização do óleo obtido com éter de petróleo [3,3 g (9,9 mmol; 29%) a partir de 10,37 g (25,2 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{20}H_{24}O_{11}$

M.M.: 440 $g.mol^{-1}$

P.F.: 105,5-106,9 ℃ {literatura: 106 ℃ (DEVALAPALLY *et al.*, 2007)}

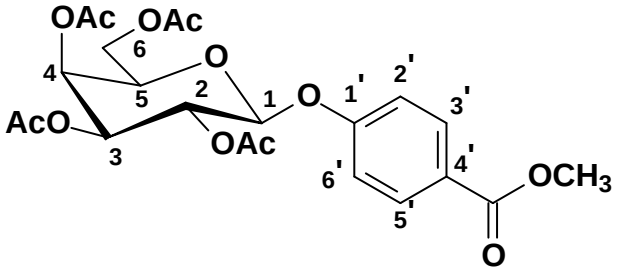
$[\alpha]_D$ -12,0 (*c* 1, $CHCl_3$) {literatura: -11,5 (*c* 1 $CHCl_3$), (DEVALAPALLY *et al.*, 2007)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1735 (C=O de éster), 1700 (C=O de aldeído), 1603, 1580, 1507 (C=C), 1222 (C-O), 1045 (C-O-C)

RMN de ^1H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 9,93 (s; 1H; C<u>H</u>O), 7,86 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,74 Hz; H-3' e H-5'), 7,13 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,65 Hz; H-2' e H-6'), 5,58-5,48 (m; 2H, H-2 e H-3), 5,23-5,12 (m; 2H; H-1 e H-4), 4,30-4,15 (m; 3H; H-5, H-6 e H-6'), 2,19-2,03 (m; 12H; 4 x OCOC<u>H</u>$_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 190,82 (CHO), 170,42-170,17 (4 x O<u>C</u>OCH$_3$), 169,42 (C-1'), 161,43 (C-4'), 131,92 (C-3' e C-5'), 116,88 (C-2' e C-6'), 98,71 (C1), 71,46 (C-3), 70,80 (C-5), 68,57 (C-2), 66,94 (C-4), 61,50 (C-6), 20,73-20,65 (4 x OCO<u>C</u>H3)

4.2.2.1.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (18)



Sólido branco [3,18 g (6,59 mmol; 42%) a partir de 6,5 g (15,8 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{22}H_{26}O_{12}$

M.M.: 482 g.mol^{-1}

P.F.: 141-142 ℃

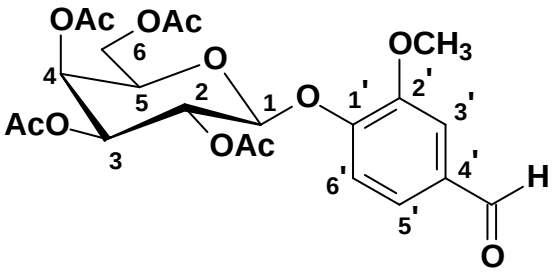
$[\alpha]_D$ +8,0 (*c* 1, $CHCl_3$)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1737 (C=O de éster alifático), 1715 (C=O de éster aromático), 1607, 1586, 1511, 1439 (C=C), 1219 (C-O), 1046 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,00 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,77 Hz; H-3' e H-5'), 7,03 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,78 Hz; H-2' e H-6'), 5,56-5,47 (m; 2H), 5,16-5,09 (m; 2H), 4,28-4,08 (m; 3H), 3,90 (s; 3H; $COOC\underline{H}_3$), 2,19-2,02 (m; 12H; 4 x $OCOCH_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,33-169,32 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 166,45 ($\underline{C}OOCH_3$), 160,26 (C-1'), 131,58 (C-3' e C-5'), 125,09 (C-4'), 116,00 (C-2' e C-6'), 98,84 (C-1), 71,30 (C-3), 70,75 (C-5), 68,52 (C-2), 66,85 (C-4), 61,42 (C-6), 52,06 ($COO\underline{C}H_3$), 20,70-20,56 (4 x $OCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.1.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (19)



Sólido branco após cristalização do óleo obtido com éter de petróleo [0,88 g (1,8 mmol; 25%) a partir de 3 g (7,3 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{22}H_{26}O_{12}$

M.M.: 482 g.mol^{-1}

P.F.: 122-124 ℃ {literatura: 123-124 ºC (MOHRI *et al.*, 2003)}

$[\alpha]_D$ -3,0 (*c* 1, CH_3OH) {literatura: -3,5 (*c* 1, CH_3OH), (MOHRI *et al.*, 2003)}

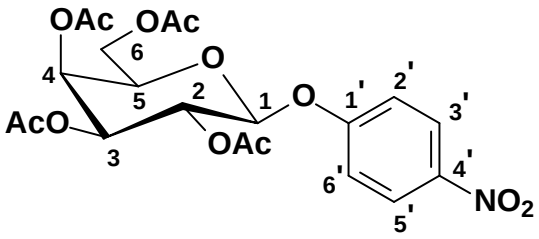
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1762, 1740 (C=O de éster), 1693 (C=O de aldeído), 1588, 1515 (C=C), 1224 (C-O), 1040 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 9,86 (s; 1H; CHO), 7,40-7,19 (m; 3H; H-3', H-5' e H-6'), 5,57-5,42 (m; 2H), 5,10 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 9,66 Hz, $J_{3,4}$ 3,34 Hz; H-3), 5,04 (d; 1H; $J_{1,2}$ 8,0 Hz; H-1), 4,22-4,02 (m; 3H), 3,86 (s; 3H; $OC\underline{H}_3$), 2,14-1,99 (m; 12H; 4 x $OCOCH_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 190,76 (CHO), 170,15-169,19 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 151,13 (C1'), 150,73 (C-2'), 132,55 (C-4'), 125,20 (C-5'), 117,73 (C-3'), 110,62 (C-6'), 100,12 (C-1), 71,10

(C-3), 70,41 (C-5), 68,31 (C-2), 66,69 (C-4), 61,18 (C-6), 55,95 (OCH_3), 20,47 (4 x $OCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.1.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila (20)



Sólido cristalino branco-amarelado após re-cristalização em isopropanol [1,96 g (4,17 mmol; 42%) a partir de 4,1 g (9,9 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{20}H_{23}O_{12}N$

M.M.: 469 $g.mol^{-1}$

P.F.: 139-140 ℃ {literatura: 143-145 ºC (KLEINE *et al.*, 1985)}

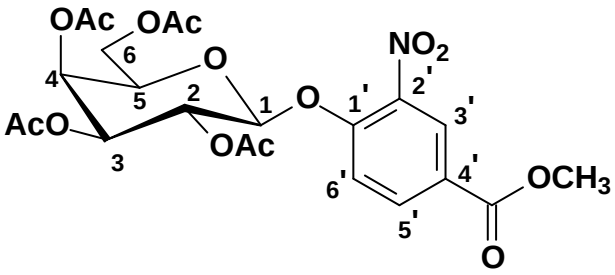
$[\alpha]_D$ –22,0 (*c* 1, $CHCl_3$) {literatura: -11 (*c* 2, $CHCl_3$) (KLEINE *et al.*, 1985)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1739 (C=O), 1611, 1516, 1496 (C=C), 1591, 1345 (NO_2), 1220 (C-O), 1044 (C-O-C)

RMN de ^1H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,19 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 9,22 Hz; H-3' e H-5'), 7,08 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 9,21 Hz; H-2' e H-6'), 5,52-5,46 (m; 2H), 5,20-5,12 (m; 2H), 4,17-4,14 (m; 3H), 2,18-2,01 (m; 12H; 4 x $OCOC\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,43-170,17 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 161,39 (C-1'), 143,39 (C-4'), 125,94 (C-3' e C-5'), 116,76 (C-2' e C-6'), 98,77 (C-1), 71,64 (C-3), 70,74 (C-5), 68,48 (C-2), 66,89 (C-4), 61,52 (C-6), 20,82-20,69 (4 x $OCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.1.5 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (21)



Sólido branco após solubilização do produto bruto em isopropanol fervente e precipitação com água [2 g (3,8 mmol; 37 %) a partir de 4,35 g (10 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{22}H_{25}O_{14}N$

M.M.: 527 $g.mol^{-1}$

P.F.: 160-161,5 ℃ {literatura: 163 ℃ (KROEGER; THIEM, 2007)}

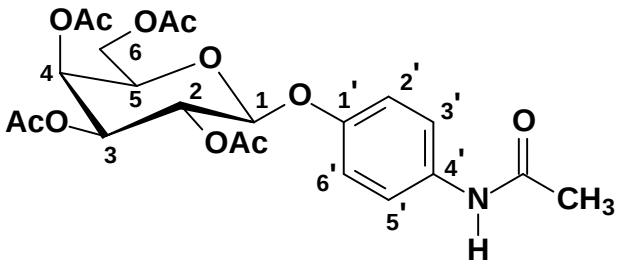
$[\alpha]_D$ +54,0 (*c* 0,5, CH_3Cl) {literatura: + 57 (*c* 0,5, CH_3Cl) (KROEGER; THIEM, 2007)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1751 (C=O de éster alifático), 1713 (C=O de éster aromático), 1618, 1583, 1503, 1439 (C=C), 1210 (C-O), 1035 (C-O-C), 766 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,45 (d; 1H; $J_{3',5'}$ 1,96 Hz; H-3'), 8,19 (dd; 1H; $J_{5',6'}$ 8,75 Hz; $J_{5',3'}$ 1,98 Hz; H-5'), 7,40 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,77 Hz; H-6'), 5,62-5,48 (m; 2H), 5,22-5-10 (m; 2H; H-1 e H-3), 4,28-4,16 (m; 3H), 3,95 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 2,19-2,02 (m; 12H; 4 x OCO$\underline{C}H_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,42-169,37 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 164,69 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 152,63 (C-1'), 140,86 (C-5'), 134,86 (C-2'), 126,85 (C-3'), 125,69 (C-4'), 118,41 (C-6'), 100,26 (C-1), 71,86 (C-3), 70,56 (C-5), 67,81 (C-2), 66,83 (C-4), 61,58 (C-6), 52,85 (COO$\underline{C}H_3$), 20,81-20,70 (4 x OCO$\underline{C}H_3$)

4.2.2.1.6 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-acetilaminofenila (22)



Sólido branco [1,9 g (3,95 mmol; 32%) a partir de 5 g (12,1 mmol) de **3**]

F.M.: $C_{22}H_{27}O_{11}N$

M.M.: 481 g.mol^{-1}

P.F.: 75-76,1 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3313 (N-H), 1742 (C=O de éster), 1668 (C=O de amida), 1606, 1538, 1508 (C=C), 1210 (C-O), 1040 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,93 (s; 1H; N-H), 7,43 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,7 Hz; H-3' e H-5'), 6,94 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,7 Hz; H-2' e H-6'), 5,50-5,41 (m; 2H), 5,11 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,5 Hz; $J_{3,4}$ 3,04 Hz; H-3), 4,99 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,86 Hz; H-1), 4,27-4,02 (m; 3H), 2,17-2,01 (m; 15H; NHCOC$\underline{H}_3$ e 4 x OCOC$\underline{H}_3$)

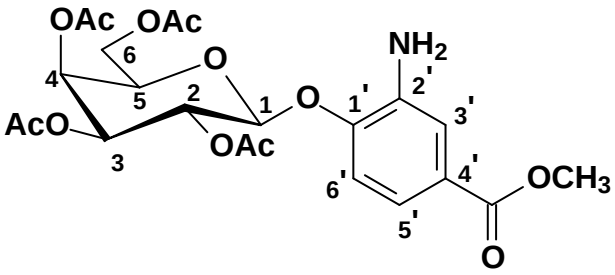
RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,57-169,64 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 169,02 (NH$\underline{C}$OCH$_3$), 153,74 (C-1'), 133,59 (C-4'), 121,87 (C-3' e C-5'), 117,70 (C-2' e C-6'), 100,20 (C-1), 71,16 (C-3), 70,95 (C-5), 68,84 (C-2), 67,08 (C-4), 61,50 (C-6), 24,28 (NHCO$\underline{C}H_3$), 20,87-20,76 (4x OCO$\underline{C}H_3$)

4.2.2.2 Procedimento geral de síntese de 23 e 24

A um balão de 100 mL foram adicionados 10 mL de tetraidrofurano e 50 mg de paládio-carvão 10 %. O balão foi vedado com septo de borracha e a suspensão mantida sob agitação e atmosfera de hidrogênio por 15 minutos. Em seguida, a esta suspensão foi adicionada solução do nitrocomposto (**20** ou **21**) em 10 mL de tetraidrofurano, por meio de seringa. Deixou-se a mistura reagente sob agitação, temperatura ambiente e atmosfera de hidrogênio até que se detectou, por CCD (clorofórmio/EtOAc 9:1), o fim da reação. A

mistura foi então filtrada em coluna de sílica gel com tetraidrofurano para remoção do catalisador e o solvente eliminado a frio com ar comprimido.

4.2.2.2.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (23)



Sólido branco após cristalização do óleo obtido com éter etílico [0,124 g (0,25 mmol; 26%) a partir de 0,5 g (0,95 mmol) de **21**]

F.M.: $C_{22}H_{27}O_{12}N$

M.M.: 497 g.mol^{-1}

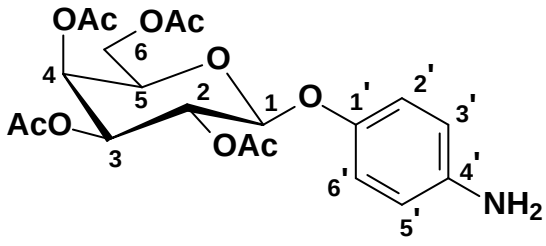
P.F.: 135,5-135,9 ºC

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3468, 3372 (N-H primário), 1747, 1732 (C=O de éster alifático), 1705 (C=O de éster aromático), 1616, 1597, 1510, 1451 (C=C), 1219 (C-O), 1046 (C-O-C), 763 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,44-7,38 (m; 2H; H-3' e H-5'), 6,93 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,23 Hz; H-6'), 5,54-5,46 (m; 2H), 5,14 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,66 Hz; $J_{3,4}$ 3,1 Hz; H-3), 5,06 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,77 Hz; H-1), 4,23-4,13 (m; 5H), 3,84 (s; 1H; COOC$\underline{H}_3$), 2,17-2,01 (m; 12H; 4 x OCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,46-170,12 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 166,95 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 147,69 (C-1'), 137,09 (C-2'), 125,62 (C-4'), 120,09 (C-5'), 116,48 (C-3'), 114,18 (C-6'), 99,98 (C-1), 71,34 (C-3), 70,50 (C-5), 68,81 (C-2), 66,94 (C-4), 61,52 (C6), 52,08 (COO$\underline{C}$H$_3$), 21,02-20,68 (4 x OCO$\underline{C}$H$_3$)

4.2.2.2.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-aminofenila (24)



Óleo amarelado [0,26 g (0,59 mmol; 56 %) a partir de 0,5 g (1 mmol) de **20**]

F.M.: $C_{20}H_{25}O_{10}N$

M.M.: 439 g.mol^{-1}

[α]$_D$ +4,5 (*c* 1, $CHCl_3$) {literatura: [α]$_D$ +3,8 (*c* 1, $CHCl_3$) (KLEINE *et al.*, 1985)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3372 (N-H), 1740 (C=O), 1509 (C=C), 1209 (C-O), 1041 (C-O-C), 829 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituido)

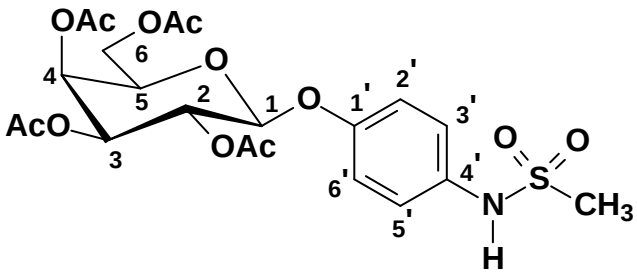
4.2.2.3 Procedimento geral de síntese de 25, 26 e 27

Em um balão de 50 mL a amina correspondente (**23** ou **24**) foi solubilizada em 3 mL de piridina. A solução, sob agitação magnética, foi resfriada em banho de gelo e água e a ela adicionou-se, por gotejamento, o agente acilante ou sulfonilante (Tabela 8). A reação foi mantida nessas condições e acompanhada por CCD. Verificado o fim da reação, acidificou-se a mistura a pH 1 com HCl concentrado. Extraiu-se a mistura com três porções de 30mL de diclorometano, lavou-se a mesma com três porções de 30mL de solução de bicarbonato de sódio a 10% p/v e, finalmente, com água destilada até pH 7. A fase orgânica foi então secada com sulfato de sódio anidro e o solvente eliminado em evaporador rotatório.

Tabela 8: Condições empregadas nas reações de síntese de **25**-**27**.

Produto	Derivado amínico	Agente acilante ou sulfonilante	Eluente da CCD	Tempo de reação (min)
25	**24** (0,468 g; 1,06 mmol)	CH_3SO_2Cl (0,16 mL; 0,24 g; 2,12 mmol)	hexano/EtOAc 1:1	190
26	**23** (0,94 g; 1,89 mmol)	$(CH_3CO)_2O$ (0,35 mL ; 0,39 g; 3,78 mmol)	hexano/EtOAc 6:4	120
27	**23** (0,60 g; 1,20 mmol)	CH_3SO_2Cl (0,19 mL; 0,27 g; 2,40 mmol)	hexano/EtOAc 8:2	140

4.2.2.3.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-metanossulfonilaminofenila (25)



Sólido branco, após purificação do óleo obtido, por CCS com EtOAc/hexano 1:1 [0,326 g (0,63 mmol; 59 %)]

F.M.: $C_{21}H_{27}O_{12}NS$

M.M.: 517 $g.mol^{-1}$

P.F.: 79-80,2 ℃

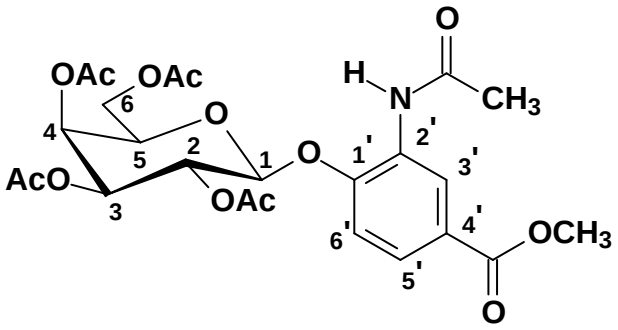
$[\alpha]_D$ +44,0 (*c* 1, $CHCl_3$)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3257 (N-H), 1746 (C=O), 1507 (C=C), 1369, 1152 (SO_2), 1214 (C-O), 1045 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,22 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,10Hz; H-3' e H-5'), 7,04 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 7,90 Hz; H-2' e H-6'), 6,97 (s; 1H; N-H), 5,52-5,43 (m; 2H), 5,13 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,4 Hz; $J_{3,4}$ 2,4 Hz; H-3), 4,28-4,05 (m; 3H), 2,97 (s; 3H; $NHSO_2C\underline{H}_3$), 2,18-2,01 (m; 12H; 4 x $OCOC\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,628-169,61 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 165,01 (C-1'), 132,12 (C-4'), 123,79 (C-3' e C-5'), 118,26 (C-2' e C-6'), 99,89 (C-1), 71,23 (C-3), 70,93 (C-5), 68,76 (C-2), 67,04 (C-4), 61,51 (C-6), 39,18 ($NHSO_2\underline{C}H_3$), 20,89-20,75 (4 x $OCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.3.2 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (26)



Sólido branco após trituração do óleo obtido com éter etílico [0,725 g (1,34 mmol; 71 %)]

F.M.: $C_{24}H_{29}O_{13}N$

M.M.: 539 g.mol^{-1}

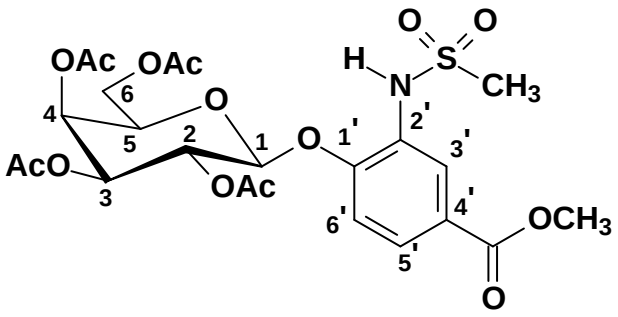
P.F.: 169-169,5 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3402 (N-H), 1744 (C=O de éster alifático), 1717 (C=O de éster aromático), 1685 (C=O de amida), 1607, 1597, 1531 (C=C), 1215 (C-O), 1060 (C-O-C), 765 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 9,00 (d; 1H; $J_{3',5'}$ 1,94 Hz; H-3'), 7,87 (s; 1H; N-H), 7,70 (dd; 1H; $J_{5',6'}$ 8,58 Hz; $J_{5',3'}$ 2,07 Hz; H-5'), 6,97 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,62 Hz; H-6'), 5,51-5,42 (m; 2H; H-4 e H-2), 5,19 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,56 Hz; $J_{3,4}$ 3,35 Hz; H-3), 5,11 (d; 1H; $J_{1,2}$ 8,5 Hz; H-1), 4,24-4,12 (m; 3H; H-5, H-6 e H-6'), 3,85 (s; 1H; $COOC\underline{H}_3$), 2,22-2,01 (m; 15H; $NHCOC\underline{H}_3$ e 4 x $OCOC\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 171,13-169,95 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 168,97 ($NH\underline{C}OCH_3$), 166,62 ($\underline{C}OOCH_3$), 148,14 (C-1'), 128,38 (C-4'), 125,61 (C-5'), 125,43 (C-2'), 121,42 (C-3'), 112,52 (C-6'), 99,30 (C-1), 71,50 (C-3), 69,98 (C-5), 69,22 (C-2), 66,77 (C-4), 61,44 (C-6), 52,23 ($COO\underline{C}H_3$), 24,56 ($NHCO\underline{C}H_3$), 21,14-20,65 (4 x $OCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.3.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 2-metanossulfonilamino-4-metoxicarbonilfenila (27)



Sólido branco após purificação do óleo obtido por CCS com EtOAc/hexano 1:1 [0,42 g (0,73 mmol; 61%)]

F.M.: $C_{23}H_{29}O_{14}NS$

M.M.: 575 g.mol^{-1}

P.F.: 78,2-80,3 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3304 (N-H), 1744 (C=O de éster alifático), 1718 (C=O de éster aromático), 1608, 1509, 1437 (C=C), 1336, 1156 (SO_2), 1213 (C-O), 1040 (C-O-C), 765 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

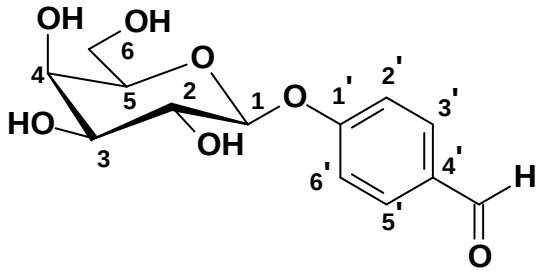
RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,19 (d; 1H; $J_{3',5'}$ 1,85; H-3'), 7,81 (dd; 1H; $J_{5',6'}$ 8,2 Hz; H-5'), 7,12 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,5 Hz; H-6'), 7,03 (s; 1H; N-H), 5,51-5,42 (m; 3H), 5,23-5,13 (m; 2H); 4,24-4,15 (m; 3H); 3,90 (s; 3H; $COOC\underline{H}_3$), 3,06 (s; 3H; $NHSO_2C\underline{H}_3$), 2,21-2,03 (m; 12H; 4 x $OCOC\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,45-169,76 (4 x $O\underline{C}OCH_3$), 165,77 ($\underline{C}OOCH_3$), 149,39 (C-1'), 127,59 (C-4'), 126,66 (C-5'), 125,99 (C-2'), 121,16 (C-3'), 114,65 (C-6'), 99,72 (C-1), 71,43 (C-3), 69,92 (C-5), 68,75 (C-2), 66,54 (C-4), 61,18 (C-6), 52,19 ($COO\underline{C}H_3$), 39,86 ($NHSO_2\underline{C}H_3$), 20,76-20,39 (4 x $OCO\underline{C}H_3$).

4.2.2.4 Procedimento geral de síntese de 28-38

Em um balão de 50 mL foi preparada uma solução de metóxido de sódio pela solubilização de cerca de 30 mg de sódio em 20 mL de metanol anidro, com resfriamento em banho de gelo e água. A esta solução foi adicionado o glicosídeo per-*O*-acetilado correspondente e a mistura mantida sob agitação magnética, ainda sob resfriamento. Ao fim da reação, detectado por CCD, o meio foi neutralizado por adição de resina Amberlite IRA 120 e o solvente removido em evaporador rotatório.

4.2.2.4.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-formilfenila (28)



Sólido branco [0,286 g (1 mmol; 91%) a partir de 0,5 g (1,1 mmol) de **17**]

F.M.: $C_{13}H_{16}O_7$

M.M.: 284 g.mol^{-1}

P.F.: 171-172,5 ℃ {literatura: 177-178 ℃, (CSUROS *et al.*, 1964)}

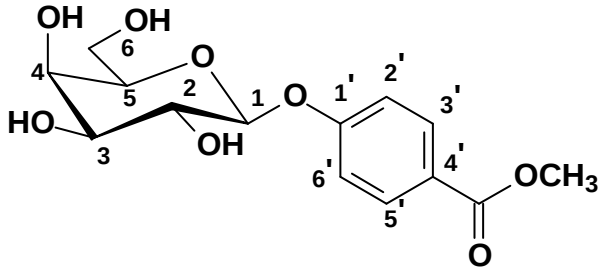
$[\alpha]_D$ –62 (*c* 1, H_2O) {literatura: -65 (*c* 1, H_2O), (CSUROS *et al.*, 1964)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3347 (O-H), 1681 (C=O), 1598, 1580, 1511 (C=C), 837 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,88 (s; 1H; C<u>H</u>O), 7,87 (d; 2H; $J_{3',\ 2';\ 5',6'}$ 8,6 Hz; H-3' e H-5'), 7,20 (d; 2H; $J_{2',\ 3';\ 6',5'}$ 8,6 Hz; H-2' e H-6'), 5,26 (d; 1H; *J* 5,07 Hz; O-H), 5,01 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,50 Hz; H-1), 4,92 (d; 1H; *J* 5,62 Hz; O-H), 4,68 (t; 1H; *J* 5,3 Hz; O-H), 4,56 (d; 1H; *J* 4,49 Hz; O-H), 3,74-3,42 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 191,49 (<u>C</u>HO), 162,25 (C-1'), 131,65 (C-3' e C-5'), 130,47 (C-4'), 116,46 (C-2' e C-6'), 100,38 (C-1), 75,70 (C-3), 72,25 (C-5), 70,19 (C-2), 68,14 (C-4), 60,37 (C-6)

4.2.2.4.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (29)



Sólido branco [0,29 g (0,92 mmol; 89%) a partir de 0,5 g (1,03 mmol) de **18**]

F.M.: $C_{14}H_{18}O_8$

M.M.: 314 g.mol^{-1}

P.F.: 153,5-155 ℃

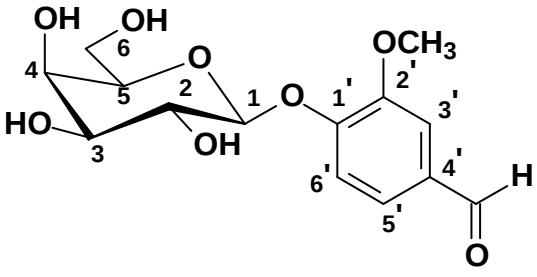
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3593-3380 (O-H), 1677 (C=O de éster aromático), 1606, 1514, 1439 (C=C), 1250 (C-O), 1057 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO; 200 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,82 Hz; H-3' e H-5'), 7,12 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,85 Hz; H-2' e H-6'), 4,96 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,53 Hz; H-1), 4,24 (sl), 3,81 (s; 3H; COOC<u>H</u>$_3$), 3,72 (d;

1H; *J* 2,78 Hz), 3,64-3,50 (m; 5H), 3,44 (dd; 1H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO; 50 MHz): 165,93 ($\underline{C}OOCH_3$), 161,29 (C-1'), 131,14 (C-3' e C-5'), 122,93 (C-4'), 116,08 (C-2' e C-6'), 100,46 (C-1), 75,68 (C-3), 73,28 (C-5), 70,26 (C-2), 68,17 (C-4), 60,39 (C-6), 51,96 ($COO\underline{C}H_3$)

4.2.2.4.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-formil-2-metoxifenila (30)



Sólido branco [0,267 g (0,85 mmol; 91%) a partir de 0,45 g (0,93 mmol) do **19**]

F.M.: $C_{14}H_{18}O_8$

M.M.: 314 g.mol^{-1}

P.F.: 176-178 ℃

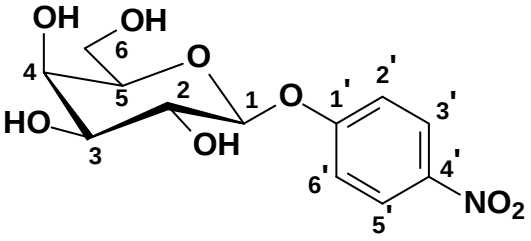
$[\alpha]_D$ –70 (*c* 1, H_2O) {literatura: -65 (*c* 1, H_2O), (AAMLID *et al.*, 1990)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3469-3256 (O-H), 1686 (C=O), 1589, 1507 (C=C), 1264 (C-O), 1019 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,85 (s; 1H; C$\underline{H}$O), 7,53-7,26 (m; 3H; H-3', H-5' e H-6'), 5,19 (d; *J* 5,35 Hz; O-H), 5,06 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,5 Hz; H-1), 4,89 (d; 1H; *J* 5,7 Hz; O-H), 4,66 (t; 1H; *J* 5,43 Hz; O-H), 4,55 (d; 1H; *J* 4,5 Hz; O-H), 3,84 (s; 3H; $OC\underline{H}_3$), 3,72-3,43 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 191,55 ($\underline{C}$HO), 151,87 (C-1'), 149,38 (C-2'), 130,47 (C-4'), 125,32 (C-5'), 114,54 (C-3'), 110,63 (C-6'), 100,03 (C-1), 75,67 (C-3), 73,53 (C-5), 70,10 (C-2), 68,14 (C-4), 60,34 (C-6), 55,68 ($O\underline{C}H_3$)

4.2.2.4.4 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-nitrofenila (31)



Sólido cristalino amarelo-claro [0,3 g (1 mmol; 94%) a partir de 0,5 g (1 mmol) de **20**]

F.M.: $C_{14}H_{17}O_{10}N$

M.M.: 301 g.mol^{-1}

P.F.: 176,3-178 ℃ {literatura: 180-182 ºC (MATTA, BARLOW *et al.*, 1977)}

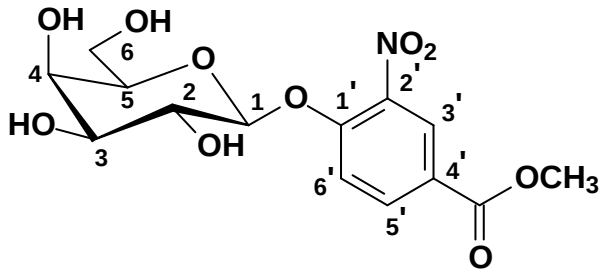
$[\alpha]_D$ –74,0 (*c* 1, H_2O) {literatura: -79,5 (*c* 1, H_2O) (MATTA, BARLOW *et al.*, 1977}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3380 (O-H), 1610, 1496, (C=C), 1592, 1339 (NO_2), 1254 (C-O), 1080 (C-O-C), 852 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,20 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,79 Hz; H-3' e H-5'), 7,21 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,73 Hz; H-2' e H-6'), 5,30 (d; 1H; *J* 3,48 Hz); 5,03 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,2 Hz; H-1); 4,95 (d; *J* 3,45 Hz, 1H), 4,68 (sl; 1H), 4,59 (sl; 1H), 3,72-3,48 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 162,52 (C-1'), 141,62 (C-4'), 125,71 (C-3' e C-5'), 116,56 (C-2' e C-6'), 100,54 (C-1), 75,77 (C-3), 73,17 (C-5), 70,12 (C-2), 68,07 (C-4), 60,30 (C-6)

4.2.2.4.5 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-2-nitrofenila (32)



Sólido branco [0,129 g (0,36 mmol; 95 %) a partir de 0,2 g (0,38 mmol) de **22**]

F.M.: $C_{14}H_{17}O_{10}N$

M.M.: 359 g.mol^{-1}

P.F.: 198 ℃ dec.

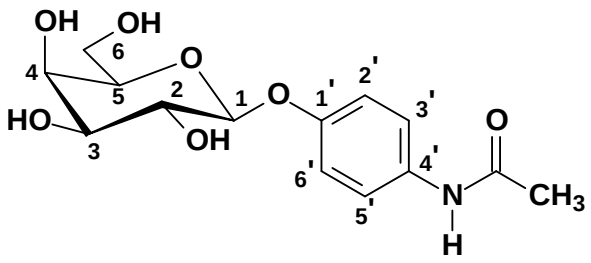
$[\alpha]_D$ –88,0 (*c* 0,4, CH_3OH) {literatura: -90 (*c* 0,4, CH_3OH) (KROEGER; THIEM, 2007)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3556-3359 (O-H), 1690 (C=O), 1616, 1574, 1444 (C=C), 1533, 1352 (NO_2), 1275 (C-O), 1057 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,35 (s; 1H; H-3'), 8,15 (d; 1H; *J* 7,94; H-5'), 7,54 (d; 1H; *J* 8,54 Hz; H-6'), 5,26-4,67 (m; 5H), 3,86 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,70-3,40 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 164,41 ($\underline{C}OOCH_3$), 153,15 (C-1'), 139,65 (C-5'), 134,58 (C-2'), 125,91 (C-3'), 122,84 (C-4'), 117,11 (C-6'), 100,89 (C-1), 75,98 (C-3), 73,29 (C-5), 70,00 (C-2), 68,00 (C-4), 60,26 (C-6), 52,59 (CH_3)

4.2.2.4.6 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-acetilamino-fenila (33)



Sólido branco após recristalização com metanol [0,185 g (0,85 mmol; 82 %) a partir de 0,4 g (1 mmol) de **21**]

F.M.: $C_{14}H_{19}O_7N$

M.M.: 217 g.mol^{-1}

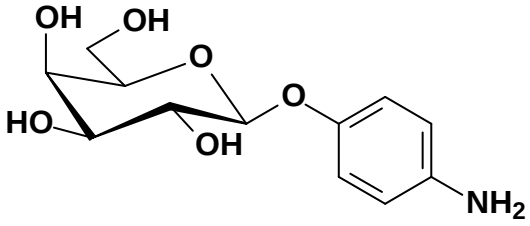
P.F.: 214-216 ℃ {literatura: 215-218 ℃ (EKBORG *et al.*, 1985)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3261(O-H e N-H), 1658 (C=O), 1606, 1544, 1508 (C=C), 1078 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,80 (s; 1H; N-H), 7,47 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,89 Hz, H-3' e H-5'), 7,47 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,90 Hz; H-2' e H-6'), 5,15-4,65 (m; 5H), 3,70-3,24 (m; 8H), 1,99 (s; 3H; NHCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 167,89 (NH$\underline{C}$OCH$_3$), 153,27 (C-1'), 133,56 (C-4'), 120,29 (C-3' e C-5'), 116,48 (C-2' e C-6'), 101,49 (C-1), 75,47 (C-3), 73,34 (C-5), 70,35 (C-2), 68,18 (C-4), 60,44 (C-6), 23,84 (NHCO$\underline{C}$H$_3$)

4.2.2.4.7 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-aminofenila (34)



Sólido branco-amarelado [0,127 g (0,468 mmol; 90%) a partir de 0,23 g (0,520 mmol) de **24**]

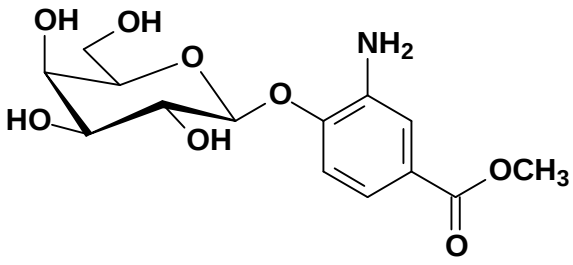
F.M.: $C_{12}H_{17}O_6N$

M.M.: 271 g.mol^{-1}

P.F.: 156-160 ℃ {literatura: 158-159 ºC (GOEBEL; AVERY, 1929)}

IV ($\nu_{máx}$, cm^{-1}): 3319 (O-H e N-H), 1508 (C=C), 1215 (C-O), 1034 (C-O-C)

4.2.2.4.8 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-amino-4-metoxicarbonilfenila (35)



Sólido branco-amarelado [0,171 g (0,52 mmol; 73%) a partir de 0,355 g (0,71 mmol) de **23**]

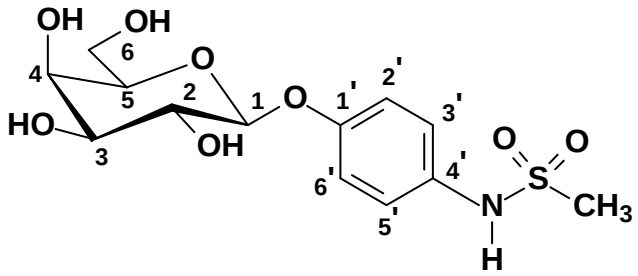
F.M.: $C_{14}H_{19}O_8N$

M.M.: 329 g.mol^{-1}

P.F.: 150-152 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3492 (N-H), 3310 (O-H), 1691 (C=O), 1598, 1507, 1441 (C=C), 1210 (C-O), 1060 (C-O-C), 762 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

4.2.2.4.9 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-metanossulfonilaminofenila (36)



Sólido branco após recristalização em isopropanol [0,05 g (0,15 mmol; 60%) a partir de 0,128 g (0,25 mmol) de **27**]

F.M.: $C_{13}H_{19}O_8NS$

M.M.: 349 g.mol^{-1}

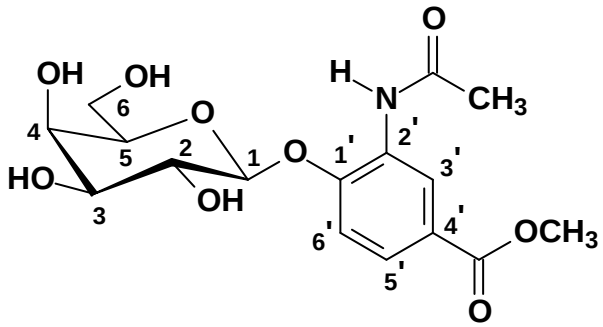
P.F.: 108-110,1 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3294 (N-H e O-H), 1610, 1592, 1508 (C=C), 1229 (C-O), 1064 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 400 MHz): 9,42 (s; 1H; N-H), 7,15 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,0 Hz; C-3' e C-5'), 7,03 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,0 Hz; H-2' e H-6'), 5,14 (d; 1H; *J* 5,12 Hz; O-H), 4,84 (d; 1H; *J* 5,72 Hz; O-H), 3,71 (t; 1H; *J* 3,92 Hz), 3,60-3,39 (m; 5H), 2,92 (s; 3H; CH_3)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 100 MHz): 155,17 (C-1'), 132,45 (C-4'), 133,22 (C-3' e C-5'), 117,46 (C-2' e C-6'), 101,81 (C-1), 75,99 (C-3), 73,77 (C-5), 70,74 (C-2), 68,62 (C-4), 60,88 (C-6), 39,20 (CH_3)

4.2.2.4.10 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-acetilamino-4-metoxicarbonilfenila (37)



Sólido branco [0,19 g (0,55 mmol; 99 %) a partir de 0,285 g (0,55 mmol) de **25**]

F.M.: $C_{14}H_{21}O_9N$

M.M.: 347 g.mol^{-1}

P.F.: 183 ℃ dec.

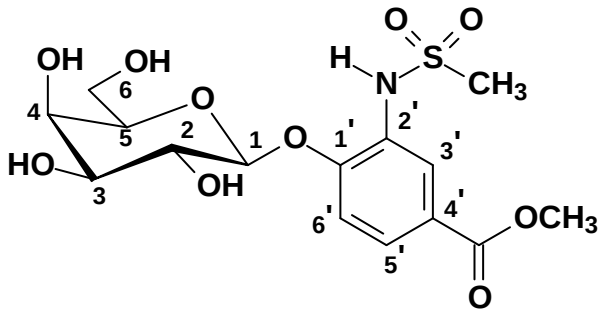
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3278 (N-H e O-H), 1697 (C=O de éster aromático), 1680 (C=O de amida), 1595, 1542, 1490, 1424 (C=C), 1084 (C-O-C), 766 (C-H de anel aromático 1,2,4-trissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,14 (s; 1H; N-H); 8,72 (s; 1H; H-3'); 7,64 (d; 1H; $J_{5',6'}$ 7,39 Hz; H-5'), 7,24 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,50 Hz; H-6'), 5,61 (d; 1H; *J* 3,78 Hz; H-4), 4,97 (d; 1H;

J 4,99 Hz; O-H), 4,82 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,43 Hz; H-1), 4,70 (sl; 1H); 4,60 (d; 1H; *J* 4,12 Hz; O-H), 3,81 (s; 3H; $COOCH_3$), 3,72-3,55 (m; 7H), 2,13 (s; 3H; $NHCOCH_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 168,76 ($NH\underline{C}OCH_3$), 165,93 ($\underline{C}OOCH3$), 150,35 (C-1'), 128,53 (C-4'), 125,39 (C-5'), 123,39 (C-2'), 121,95 (C-3'), 115,68 (C-6'), 102,12 (C-1), 75,86 (C-3), 72,49 (C-5), 70,23 (C-2), 68,11 (C-4), 60,42 (C-6), 52,05 ($COO\underline{C}H_3$), 24,15 ($NHCO\underline{C}H_3$)

4.2.2.4.11 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 2-metanossulfonilamino-4-metoxicarbonilfenila (38)



Sólido branco [0,176 g (0,45 mmol; 83 %) a partir de 0,3 g (0,52 mmol) de **26**]

F.M.: $C_{14}H_{21}O_{10}NS$

M.M.: 395 $g.mol^{-1}$

P.F.: 215 ℃ dec.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3496-3304 (N-H e O-H), 1699 (C=O), 1597, 1507 (C=C), 1332, 1157 (SO_2), 1081 (C-O-C)

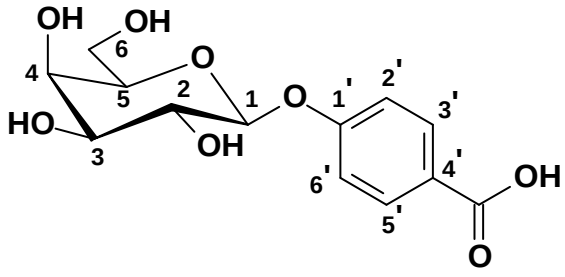
RMN de ^1H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,07 (s; 1H; N-H), 7,97 (d; 1H; $J_{3',5'}$ 1,87 Hz; H-3'), 7,76 (dd; 1H; $J_{5',3'}$ 1,88 Hz; $J_{5',6'}$ 8,5 Hz; H-5'), 7,28 (d; 1H; $J_{6',5'}$ 8,6 Hz; H-6'); 5,50 (d; 1H; *J* 3,75 Hz), 4,95 (1H), 4,88 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,5 Hz; H-1); 4,71 (m; 1H), 4,60 (1H), 3,83 (s; 3H; $COOC\underline{H}_3$), 3,73-3,49 (m; 6H); 2,99 (s; 3H; $NHSO_2C\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,54 ($\underline{C}OOCH_3$), 152,74 (C-1'), 127,29 (C-5'), 126,66 (C-4'), 124,23 (C-3'), 123,29 (C-2'), 115,06 (C-6'), 101,66 (C-1), 75,92 (C-3), 72,32 (C-5), 70,14 (C-2), 68,04 (C-4), 60,35 (C-6), 52,11 ($COO\underline{C}H_3$), 39,84 ($NHSO_2\underline{C}H_3$)

4.2.2.4.12 Síntese do β-D-galactopiranosídeo de 4-carboxifenila (39)

Foram solubilizados, em um balão de 50 mL, 0,16 g de hidróxido de lítio (6,6 mmol) e 0,2 g (0,636 mmol) de **29** em uma mistura de água e metanol (3:1). Deixou-se a solução sob agitação à temperatura ambiente. Ao fim da reação, detectado por CCD (EtOAc/CH_3OH 1:1), adicionou-se resina Amberlite® IRA-120 e deixou-se agitar até que o

pH do meio reduzisse a cerca de três. A resina foi separada por filtração e o filtrado concentrado sob ar comprimido.



Sólido branco após cristalização com éter etílico [0,135 g (0,45 mmol; 75 %)]

F.M.: $C_{13}H_{16}O_8$

M.M.: 300 g.mol^{-1}

P.F.: 203-205 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3342 (O-H), 1682 (C=O de ácido carboxílico aromático), 1606, 1586, 1509 (C=C), 1243 (C-O), 1041 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,87 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,64 Hz; H-3' e H-5'), 7,07 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,71 Hz; H-2' e H-6'), 4,93 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,5 Hz; H-1), 3,73-3,40 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 160,67 (C-1' e COOH, sobrepostos), 131,15 (C-3' e C-5'), 125,34 (C-4'), 115,74 (C-2' e C-6'), 100,56 (C-1), 75,65 (C-3), 73,33 (C-5), 70,30 (C-2), 68,15 (C-4), 60,39 (C-6)

4.2.3 Síntese dos derivados amínicos a partir de 28

4.2.3.1 *Por reação de aminação redutiva*

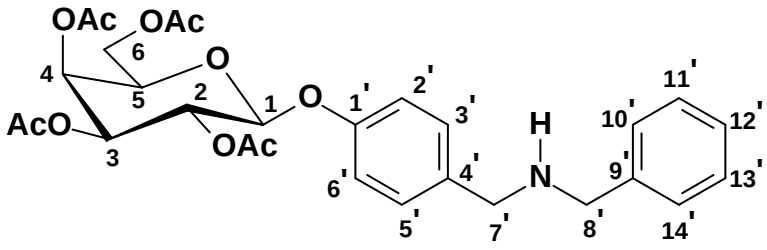
4.2.3.1.1 Procedimento geral da síntese de 40-43

Em um balão de 100 mL foram adicionados 25 mL de metanol e a amina correspondente, sob agitação e à temperatura ambiente. Ajustou-se o pH do meio a cerca de seis com solução metanólica de ácido clorídrico a 5 mol.L^{-1}. Em seguida, adicionou-se **17** solubilizado em 15 mL de metanol. Deixou-se dissolver por agitação e, então, adicionou-se cianoboridreto de sódio ao meio reagente. Deixou-se a mistura sob as mesmas condições e o desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD. Terminada a reação, verteu-se a mistura em cápsula de porcelana e eliminou-se o metanol sob corrente de ar. Extraiu-se o resíduo obtido com três porções de 25 mL de diclorometano e lavou-se a fase orgânica com três porções de 25 mL de água. A fase orgânica foi então secada com sulfato de sódio anidro e o solvente eliminado em evaporador rotatório.

Tabela 9: Condições empregadas nas reações de aminação redutiva para a obtenção de **40**-**43**.

Produto	Quantidades dos reagentes			Eluente CCD	Tempo de reação (h)
	17	**Amina**	**$NaBH_3CN$**		
40	2 g (4,4 mmol)	benzilamina 1,44 mL; 1,41 g (26,4 mmol)	0,14 g (4,4 mmol)	Hexano / EtOAc (1:1)	17
41	1 g (2,2 mmol)	*n*-butilamina 1,3 mL; 0,96 g (13,2 mmol)	0,14 g (2,2 mmol)	Hexano / EtOAc (1:1)	1
42	0,5 g (1,1 mmol)	*n*-hexilamina 0,9 mL; 0,66 g (6,6 mmol)	0,07 g (1 mmol)	CH_2Cl_2 / EtOAc (9:1)	15
43	0,6 g (1,3 mmol)	isopropilamina 1,3 mL; 0,89g (15 mmol)	0,13 g (2,6 mmol)	$CHCl_3$ / MeOH (6:4)	12

4.2.3.1.1.1 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilaminometil)fenila (40)



Sólido amarelado após purificação do produto bruto em CCS com hexano/EtOAc 6:4 a 4:6 [0,5 g (0,92 mmol, 21 %)]

F.M.: $C_{28}H_{33}O_{10}N$

M.M.: 543 $g.mol^{-1}$

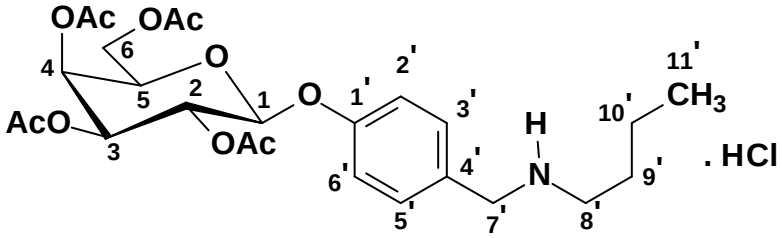
P.F.: 133-135 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3392 (N-H), 1734 (C=O), 1611, 1570, 1504, 1480 (C=C), 1058 (C-O-C)

RMN de ^1H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,34-7,26 (m; 7H; H-3', H-5', H-10', H-11', H-12', H-13' e H-14'); 6,96 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',2'}$ 8,32 Hz; H-2' e H-6'); 5,53-5,44 (m; 2H); 5,10 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,5 Hz; $J_{3,4}$ 3,20 Hz; H-3'), 5,02 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,93 Hz; H-1), 4,23-4,02 (m; 3H), 3,79 (s; 2H; H-7' ou H-8'), 3,76 (s; 2H; H-8' ou H-7'), 2,18-2,01 (m; 12H; 4 x OCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,37-169,40 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 156,08 (C-1'), 139,72 (C-4'), 134,85 (C-3' e C-5'), 129,49 (C-9'), 128,45 (C-12'), 128,22 (C-11' e C-13'), 127,11 (C-10' e C-14'), 116,95 (C-2' e C-6'), 99,84 (C-1), 71,00 (C-3), 70,85 (C-5), 68,67 (C-2), 66,89 (C-4), 61,37 (C-6), 52,88 (C-7' ou C-8'), 52,23 (C-7' ou C-8'), 20,67-20,59 (4 x OCO$\underline{C}$H$_3$)

4.2.3.1.1.2 Dados de caracterização de cloridrato de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-butilaminometil)fenila (41)



Sólido amarelo-claro após cristalização com mistura de éter de petróleo e acetona [0,05 g (0,1 mmol; 5%)]

F.M.: $C_{25}H_{35}O_{10}N.HCl$

M.M.: 509 g.mol^{-1}

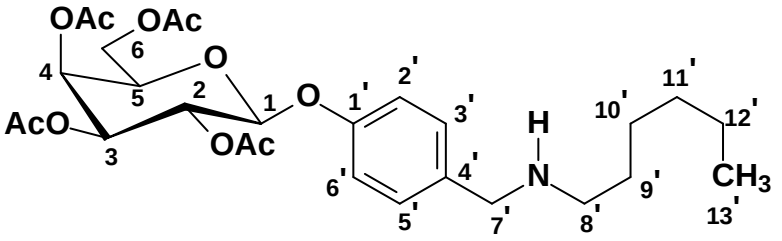
P.F.: 278 ℃ dec.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1738 (C=O), 1614, 1516 e 1439 (C=C), 1220 (C-O), 1060 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 9,36 (largo; 2H; RR'NH_2^+), 7,55 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,53 Hz; H-3' e H-5'), 7,01 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,52 Hz; H-2' e H-6'), 5,51 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,15 Hz; H-1), 5,34-5,16 (m; 3H), 4,46 (t; 1H; J 6,20 Hz), 4,10-4,04 (m; 4H); 2,80 (m; H-8'), 2,14-1,94 (m; 12H; 4 x OCOC$\underline{H}_3$), 1,61 (qn; 2H; $J_{9',8';\ 9',10'}$ 7,63 Hz; H-9'), 1,30 (sx; 2H; $J_{10',9';\ 10',11'}$ 7,43 Hz; H-10'), 0,86 (t; 3H; $J_{11',10'}$ 7,23 Hz; H-11')

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 169,99-169,24 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 156,71 (C-4'), 131,79 (C-1'), 126,45 (C-3' e C-5'), 116,26 (C-2' e C-6'), 97,44 (C-1), 70,15 (C-3), 68,32 (C-5), 67,23 (C-2), 45,90 (C-8'), 27,32 (C-9'), 20,56-20,42 (4 x OCO$\underline{C}$H$_3$), 19,41 (C-10'), 13,53 (C-11')

4.2.3.1.1.3 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(hexilaminometil)fenila (42)



Sólido branco após cristalizado com éter etílico [0,333 g (0,62 mmol; 60 %)]

F.M.: $C_{27}H_{39}O_{10}N$

M.M.: 537 g.mol^{-1}

P.F.: 160-162 ℃

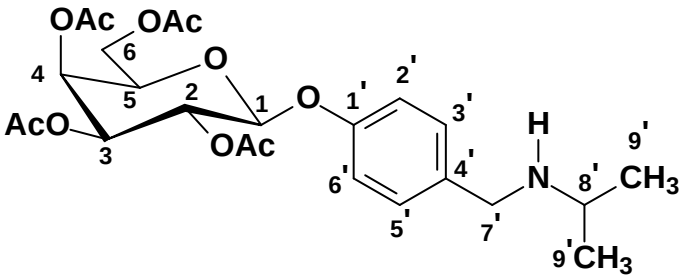
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3371 (N-H), 1739 (C=O), 1613, 1589, 1515, 1440 (C=C), 1219 (C-O), 1060 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 400 MHz): 9,81 (sl; 1H; N-H), 7,56 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,6 Hz; H-3' e H-5'), 7,04 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,64 Hz; H-2' e H-6'), 5,48-5,44 (m; 2H), 5,10 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 11,27 Hz; $J_{3,4}$ 3,4 Hz; H-3), 5,01 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,96 Hz; H-1), 4,22-4,13 (m; 2H); 4,06-3,98 (m; 3H); 2,76-2,72 (m; 2H; H-8'), 2,18-2,01 (m; 12H; 4 x OCOC$\underline{H}_3$), 1,87-1,79 (m; 2H; H-9'), 1,34-1,22 (m; 6H; H-10', H-11' e H-12'), 0,84 (t; 3H; $J_{13',12'}$ 6,80 Hz; H-13')

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 100 MHz): 170,26-169,23 (4 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 157,54 (C-1'), 131,90 (C-3' e

C-5'), 124,73 (C-4'), 117,8 (C-2' e C-6'), 99,16 (C-1), 71,07 (C-3), 70,67 (C-5), 68,46 (C-2), 66,78 (C-4), 61,2 (C-6), 49,64 (C-7'), 45,66 (C-8'), 31,03 (C-9'), 26,34 (C-10'), 25,77 (C-11'), 22,29 (C-12'), 20,62-20,47 (4 x OCO<u>C</u>H_3), 13,80 (C-13')

4.2.3.1.1.4 Dados de caracterização de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropilaminometil)fenila (43)



Sólido branco após cristalização com éter de petróleo [0,265 g (0,535 mmol; 40 %)]

F.M.: $C_{24}H_{33}O_{10}N$

M.M.: 495 g.mol^{-1}

P.F.: 82-84 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3309 (N-H), 1743 (C=O), 1612, 1563, 1509, 1477 (C=C), 1219 (C-O), 1061 (C-O-C), 821 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

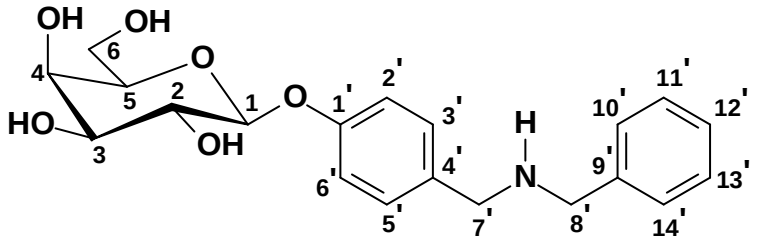
RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,28 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 7,95 Hz; H-3' e H-5'), 6,96 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,28 Hz; H-2' e H-6'), 5,46-5,44 (m; 2H), 5,12 (dd; 1H; $J_{3,4}$ 3 Hz; H-3), 5,01 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,90 Hz; H-1), 4,22-4,04 (m; 3H), 3,75 (sl; 2H), 2,18-2,01 (m; 12H; 4 x OCOC<u>H</u>$_3$), 1,11 (d; 6H; $J_{9',8'}$ 6,2 Hz; 2 x H-9')

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 170,37-169,40 (4 x O<u>C</u>OCH$_3$), 156,09 (C-1'), 134,79 (C-4'), 129,59 (C-3' e C-5'), 117,00 (C-2' e C-6'), 99,84 (C-1), 71,01 (C-3), 70,85 (C-5), 68,68 (C-2), 66,90 (C-4), 61,37 (C-6), 50,52 (C-7'), 48,08 (C-8'), 22,52 (2 x C-9'), 20,74-20,59 (4 x OCO<u>C</u>H$_3$)

4.2.3.1.2 Procedimento geral para a síntese de 44, 46 e 47:

A um balão de 50 mL, munido de tubo com cloreto de cálcio e contendo solução de metóxido de sódio em metanol resfriada em banho de gelo e água, preparada pela dissolução de cerca de 30 mg de sódio em 15 mL de metanol anidro, foi adicionado a amina correspondente. A solução foi mantida sob agitação nessas condições até o término da reação, indicado por CCD (MeOH 100%). Adicionou-se então, sob agitação, resina Amberlite® IRA-120 para neutralização do meio reagente. A resina foi removida por filtração e o solvente eliminado em evaporador rotatório.

4.2.3.1.2.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilamino-metil)fenila (44)



Sólido branco após cristalização com éter etílico [0,09 g (0,24 mmol; 33 %) a partir de 0,4 g (0,7 mmol) de **40**]

F.M.: $C_{20}H_{25}O_6N$

M.M.: 375 g.mol^{-1}

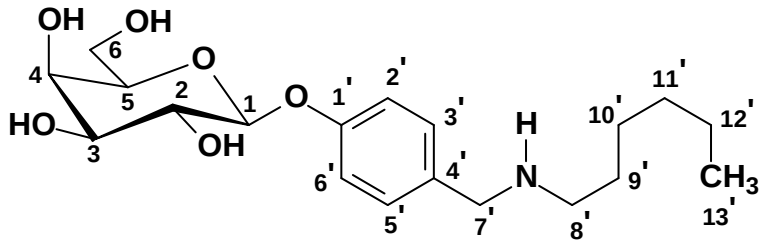
P.F.: 136,8-140 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3307 (N-H e O-H), 1610, 1564, 1510 (C=C), 1231 (C-O), 1048 (C-O-C), 745, 698 (C-H de anel aromático monossubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 400 MHz): 7,32-6,94 (m; 9H aromáticos), 4,77 (d; 1H, $J_{1,2}$ 7,62 Hz; H-1), 3,71-3,40 (m; 14 H).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 100 MHz): 156,43 (C-1'), 140,78 (C-9'), 133,82 (C-4'), 128,56-126,36 (4 x C-H aromáticos), 115,86 (C-2' e C-6'), 101,08 (C-1), 75,38 (C-3), 73,31 (C-5), 70,29 (C-2), 67,85 (C-4), 60,18 (C-6), 51,93 (C-7' ou C-8'), 51,48 (C-7' ou C-8').

4.2.3.1.2.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-hexilami-nometil)fenila (46)



Sólido branco-amarelado após cristalização com acetato de etila [0,31 g (0,84 mmol; 46%) a partir de 0,68 g (1,26 mmol) de **42**]

F.M.: $C_{19}H_{31}O_6N$

M.M.: 369 g.mol^{-1}

P.F.: 149,5-150,3 ℃

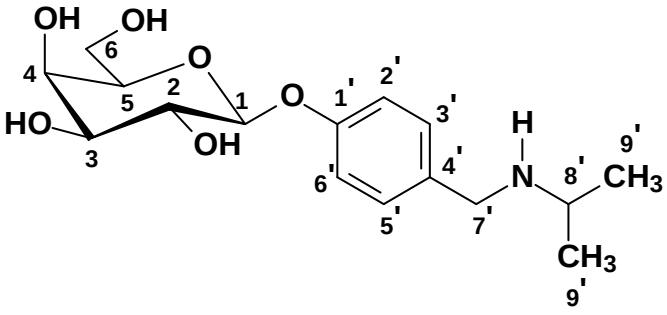
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3292 (N-H e O-H), 1614, 1589, 1515 (C=C), 1238 (C-O), 1079 (C-O-C), 824 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 400 MHz): 7,42 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,6 Hz; H-3' e H-5'), 7,17 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,6 Hz; H-2' e H-6'), 4,90 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,7 Hz; H-1), 4,10 (s; 2H; H-7'), 3,90 (d; 1H; J 3,16 Hz), 3,82-3,69 (m; 4H), 3,59 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 9,68 Hz; $J_{3,4}$ 3,36 Hz; H-3), 2,98-2,94 (m; 2H; H-8'), 1,71-1,67 (m; 2H; H-9'), 1,40-1,34 (m; 6H; H-10', H-11' e H-12'), 0,91 (t; 3H; $J_{13',12'}$ 6,78 Hz; H-13')

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 100 MHz): 160,09 (C-1'), 132,45 (C-3' e C-5'), 126,88 (C-4'), 118,37

(C-2' e C-6'), 102,80 (C-1), 77,15 (C-3), 74,96 (C-5), 72,35 (C-2), 70,34 (C-4), 62,55 (C-6), 52,06 (C-7'), 48,67 (C-8'), 32,54 (C-9'), 27,51 (C-10' ou C-11'), 27,48 (C-10' ou C-11'), 23,58 (C-12'), 14,40 (C-13')

4.2.3.1.2.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropilaminometil)fenila (47)



Sólido amarelo-claro após cristalização com mistura de éter de petróleo e acetona [0,21 g (0,64 mmol, 80 %) a partir de 0,4 g (0,8 mmol) de **43**]

F.M.: $C_{16}H_{25}O_6N$

M.M.: 327 g.mol^{-1}

P.F.: 141-143 ºC

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3371 (N-H e O-H), 1611, 1565, 1514 (C=C), 1249 (C-O), 1069 (C-O-C), 831 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,31 (sl; 2H; H-3' e H-5'), 7,00 (sl; 2H; H-2' e H-6'), 4,78 (sl; 6H); 3,79-3,43 (m; 6H), 2,89 (sl; 1H) 1,80 (sl; 2H), 1,10 (sl; 6H; 2 x C$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 156,91 (C-1'), 130,58 (C-4'), 129,96 (C-3 e C-5'), 116,08 (C-2' e C-6'), 100,99 (C-1), 75,53 (C-3), 73,41 (C-5), 70,38 (C-2), 68,12 (C-4), 60,38 (C-6), 48,37 (C-7' ou C-8'), 47,71 (C-7'ou C-8'), 22,69 e 20,93 (2 x C-9')

4.2.3.2 *Por redução de bases de Schiff*

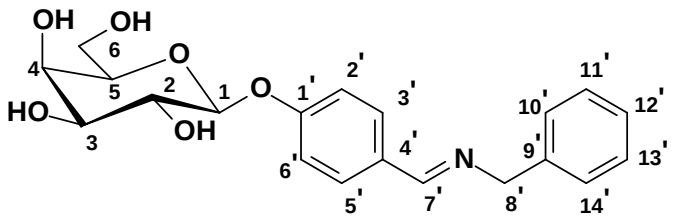
4.2.3.2.1 Procedimento geral de síntese das bases de Schiff 48 - 51

A um balão de 100 mL foram adicionados **17** e 15 mL de metanol anidro. Deixou-se agitar à temperatura ambiente para solubilização. Então, juntaram-se à solução 3 g de sulfa-to de sódio anidro e a amina respectiva. Deixou-se agitar à temperatura ambiente por um período de 15 horas, quando foi observado o fim da reação por CCD (metanol/EtOAc 1:1). O sulfato de sódio foi separado por filtração e o solvente removido em evaporador rotatório. O óleo resultante foi solidificado com éter etílico e o produto bruto recristalizado com isopropanol.

Tabela 10: Condições empregadas nas reações de obtenção das bases de Schiff de **48**-**51**.

Produto	17	Amina	Solvente de recristalização
48	0,7 g (1,6 mmol)	**benzilamina** 1,5 mL (1,46 g; 27,5 mmol)	Isopropanol
49	0,7 g (1,6 mmol)	***n*-butilamina** 1,5 mL (1,11 g; 15,2 mmol	Isopropanol
50	1,44 g (3,2 mmol)	***n*-hexilamina** 0,9 mL (0,64 g; 6,4 mmol)	Isopropanol
51	2,0 g (4,6 mmol)	**isopropilamina** 0,8 mL (0,52 g; 8,8 mmol)	metanol

4.2.3.2.1.1 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilimino-metil)fenila (48)



Sólido branco [0,33 g (0,88 mmol; 71 %).

F.M.: $C_{20}H_{23}O_6N$

M.M.: 373 $g.mol^{-1}$

P.F.: 185-185,9 ℃

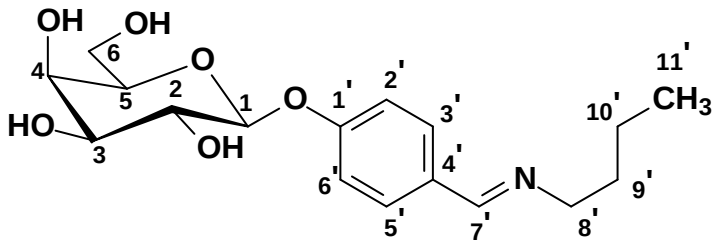
$[\alpha]_D$ -1,35 (*c* 1, CH_3OH).

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3558-3248 (O-H), 1645 (C=N), 1602, 1508 (C=C), 1247 (C-O), 1078 (C-O-C), 746, 698 (C-H de anel aromático monossubstituído)

RMN de ^1H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,41 (s; 1H; H-7'), 7,73 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,18 Hz,; H-3' e H-5'), 7,32-7,24 (m; 5H; H-10', H-11', H-12', H-13' e H-14'), 7,10 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,20 Hz, H-2' e H-6'), 5,24 (d; 1H; *J* 4,69 Hz; O-H), 4,94-4,91 (m; 2H), 4,72 (sl; 3H), 4,56 (d; 1H; *J* 4,12 Hz; O-H), 3,74-3,48 (m; 6H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 161,02 (C-7'), 159,47 (C-1'), 139,86 (C-4'), 129,90 (C-3' e C-5'), 129,46 (C-9'), 128,37 (C-12'), 127,90 (C-11' e C-13'), 126,77 (C-10' e C-14'), 116,27 (C-2' e C-6'), 100,66 (C-1), 75,57 (C-3), 73,33 (C-5), 70,30 (C-2), 68,16 (C-4), 63,94 (C-8'ou C-6'), 60,41 (C-8'ou C-6')

4.2.3.2.1.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-butiliminometil)fenila (49)



Sólido branco [0,135 g (0,39 mmol; 36 %).

F.M.: $C_{17}H_{25}O_6N$

M.M.: 339 g.mol^{-1}

P.F.: 189,5-190,4 ℃

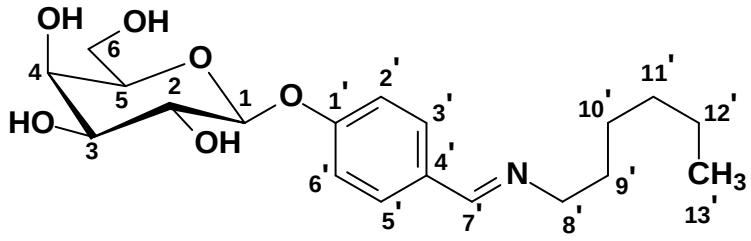
[α]$_D$ - 0,83 (*c* 0,6, CH_3OH).

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3560-3160 (O-H), 1644 (C=N), 1602, 1507 (C=C), 1246 (C-O), 1079 (C-O-C), 776, 697(C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 8,24 (s; 1H; H-7'), 7,66 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,20 Hz; H-3' e H-5'), 7,06 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,00 Hz; H-2' e H-6'), 5,21 (d; 1H; *J* 4,77 Hz; O-H), 4,89 (d; 2H), 4,68 (m; 1H), 4,53 (d; 1H; *J* 4,15 Hz; O-H), 3,59-3,37 (m; 9H), 1,55 (qn; 2H; $J_{9',8';\ 9',10'}$ 6,88 Hz; H-9'), 1,32 (sx; 2H; $J_{10',9';\ 10',11'}$ 7,20 Hz; H-10'), 0,89 (t; 3H; $J_{11',10'}$ 7,14 Hz; H-11')

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 159,62 (C-7'), 159,21 (C-1'), 130,03 (C-4'), 129,17 (C-3' e C-5'), 116,17 (C-2' e C-6'), 100,64 (C-1), 75,57 (C-3), 73,29 (C-5), 70,26 (C-2), 68,13 (C-4), 60,35 (C-6 ou C-8'), 60,16 (C-6 ou C-8'), 32,72 (C-9'), 19,94 (C-10'), 13,78 (C-11')

4.2.3.2.1.3 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-hexiliminometil)fenila (50)



Sólido branco-amarelado cristalino [0,78 g (2,1 mmol; 67%).

F.M.: $C_{19}H_{29}O_6N$

M.M.: 367 g.mol^{-1}

P.F.: 176–178 ºC

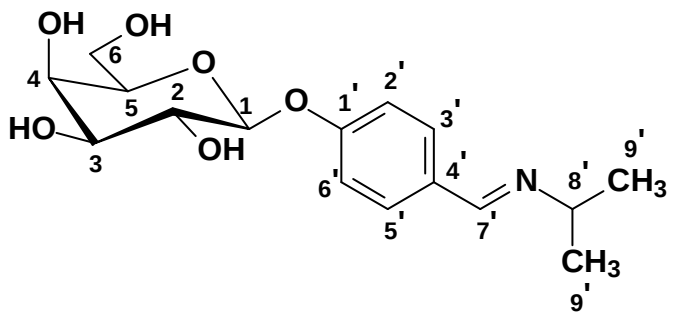
[α]$_D$ -0,74 (*c* 1, CH_3OH)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3363 (OH), 2930 (CH), 1640 (C=N), 1605, 1513 (C=C), 1256 (C-O), 1087 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 8,24 (s; 1H; H-7'); 7,65(d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,3 Hz; H-3' e H-6'); 7,06 (d; 2H; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,3 Hz; H-2' e H-6'); 5,20 (d; 1H; *J* 4,4 Hz; O-H); 4,89 (d; 2H; *J* 6,8); 4,67 (m; 1H); 4,53 (d; 1H; *J* 3,9 Hz; O-H); 3,71-3,47 (m; 9H); 1,57 (m; 1H; H-9'); 1,28 (m; 3H; H-10', H-11' e H-12'); 0,85 (m; 1H; H-13')

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 159,61 (C-7'); 159,22 (C-1'); 130,03 (C-4'); 129,17 (C-3' e C-5'); 116,18 (C-2' e C-6'); 100,66 (C-1); 75,55 (C-3); 73,29 (C-5); 70,26 (C-2); 68,12 (C-4); 60,51 (C-6 ou C-8'); 60,34 (C-6 ou C-8'); 31,11 (C-9' ou C-10'); 30,56 (C-9' ou C-10'); 26,49 (C-11'); 22,11 (C-12'); 13,96 (C-13')

4.2.3.2.1.4 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(isopropilimi-nometil)fenila (51)



Sólido branco cristalino [0,962 g (2,9 mmol; 66%).

F.M.: $C_{16}H_{23}O_6N$

M.M.: 325 g.mol^{-1}

P.F.: 238-240 ℃

$[\alpha]_D$ -0,17 (*c* 0,6, DMSO)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3554-3250 (OH), 2968 (CH), 1637 (C=N), 1602, 1513 (C=C), 1256 (C-O), 1058 (C-O-C)

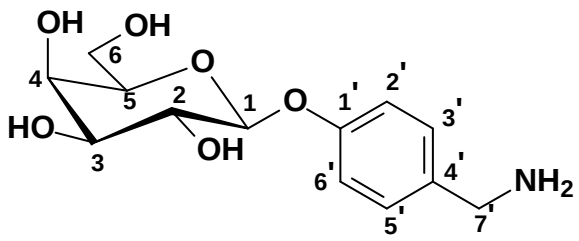
RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,27 (s; 1H; H-7'); 7,65 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,6 Hz; H-3' e H-5'); 7,06 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,6 Hz; H-2' e H-6'); 5,19 (d; 1H; *J* 5,0 Hz; O-H); 4,90-4,86 (m; 2H; H-1 e O-H); 4,66 (d; 1H; *J* 5,4 Hz; O-H); 4,51 (d; 1H; *J* 4,5 Hz; O-H); 3,70-3,41 (m; 7H); 1,17 (s; 1H; CH_3); 1,14 (s; 1H; CH_3)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 159,15 (C-1'); 157,21 (C-7'); 130,05 (C-4'); 129,16 (C-3' e C-5'); 116,13 (C-2' e C-6'); 100,60 (C-1); 75,52 (C-3); 73,25 (C-5); 70,24 (C-2); 68,09 (C-4); 60,43 (C-6 ou C-8'); 60,29 (C-6 ou C-8'); 24,31 (2 x CH_3)

4.2.3.2.2 *Redução das bases de Schiff aos derivados 44 e 45*

4.2.3.2.2.1 Por hidrogenação catalítica

A um balão de 50 mL foram adicionados 20 mL de metanol e 15 mg de paládio-carvão 10 %. O balão foi vedado com septo de borracha e a suspensão foi agitada à temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio por 15 minutos. Em seguida adicionou-se, via seringa, uma solução de 0,14 g de **48** em 2 mL de metanol. Deixou-se a mistura sob agitação e atmosfera de hidrogênio por 3 horas, quando foi detectado o fim da reação por CCD (MeOH/EtOAc 1:1). A mistura foi filtrada para remoção do catalisador e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido produto oleoso que, por adição de éter etílico, resultou em 0,1 g (0,35 mmol; 95%) de um sólido branco-amarelado, caracterizado como o produto de hidrogenólise (**52**), conforme mostrado a seguir.



F.M.: $C_{13}H_{19}O_6N$

M.M.: 285 $g.mol^{-1}$

P.F.: 199,5-200,4 ℃ {literatura: 206-208 ℃ (HELFERICH *et al.*, 1934)}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3294 (N-H e O-H), 1610, 1592, 1508 (C=C), 1229 (C-O), 1064 (C-O-C)

RMN de ^1H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,23 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 7,82 Hz; H-3' e H-5'), 6,96 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,12 Hz; H-2' e H-6'), 4,78 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,18 Hz; H-1), 4,04 (sl; 6H), 3,70-3,38 (m; 8H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 156,26 (C-1'), 136,38 (C-4'), 128,31 (C-3' e C-5'), 116,09 (C-2' e C-6'), 101,19 (C-1), 75,50 (C-3), 73,41 (C-5), 70,41 (C-2), 68,18 (C-4), 60,43 (C-6), 44,75 (C-7')

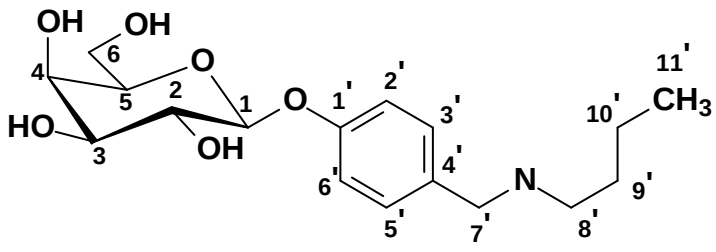
4.2.3.2.2.2 Por reação com boridreto de sódio

A base de Schiff correspondente foi adicionada em 25 mL de etanol, contidos em um balão de 50 mL, sob agitação magnética e banho de gelo e água. Adicionaram-se à mistura 2 equivalentes de boridreto de sódio, em pequenas porções. A mistura reagente foi então aquecida sob refluxo e agitação até que, por CCD (MeOH 100%), foi constatado o fim da reação. A mistura foi resfriada até a temperatura ambiente e, então, adicionou-se 0,5 mL de solução de HCl a 1 $mol.L^{-1}$ à mesma e deixou-se agitar por mais 10 minutos. Em seguida o pH do meio foi elevado a 7 com solução de $NaHCO_3$ a 10% p/v. O solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o resíduo formado purificado por filtração em uma coluna (1 x 15 cm) de sílica (1,5 g) com EtOAc/MeOH 8:2. O filtrado obtido foi evaporado sob ar comprimido, o que levou aos produtos desejados.

4.2.3.2.2.2.1 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-(benzilaminometil)fenila (44)

Obteve-se 0,092 g (0,24 mmol; 46 %) deste produto a partir de 0,2 g (0,53 mmol) de **48**.

4.2.3.2.2.2.2 Dados de caracterização de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-butilamino-metil)fenila (45)



Sólido branco [0,07 g (0,21 mmol; 39 %) a partir de 0,18 g (0,53 mmol) de **49**]

F.M.: $C_{17}H_{27}O_6N$

M.M.: 341 g.mol^{-1}

P.F.: 186,2-187,9 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3514-3315 (N-H e O-H), 111615, 1588, 1515, 1440 (C=C), 1230 (C-O), 1055 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; CD_3OD; 200 MHz): 7,27 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,56 Hz; H-3' e H-5'), 7,02 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,52 Hz; H-2' e H-6'), 4,78 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,65 Hz; H-1), 3,99-3,46 (m; 8H), 2,81-2,73 (m; 2H; H-8'), 1,52 (qt; 2H; $J_{9',8;\ 9',10'}$ 7,41 Hz; H-9'), 1,25 (sx; 2H; $J_{10',9';\ 10',11'}$ 7,35 Hz; H-10'), 0,82 (t; 3H; $J_{11',10'}$ 7,19 Hz: H-11')

RMN de ^{13}C (δ;CD_3OD; 50 MHz): 159,80 (C-1'), 132,32 (C-4'), 127,70 (C-3' e C-5'), 118,21 (C-2' e C-6'), 102,77 (C-1), 77,04 (C-3), 74,89 (C-5), 72,34 (C-2), 70,27 (C-4), 62,46 (C-6), 51,98 (C-7'), 29,73 (C-8'), 24,39 (C-9'), 21,13 (C-10'), 14,12 (C-11')

4.2.3.2.2.2.3 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-(*n*-hexilaminometil)fenila (46)

Obteve-se 0,47 g (1,2 mmol; 93 %) deste produto a partir de 0,5 g (1,36 mmol) de **50**

4.2.3.2.2.2.4 Dados de β-D-galactopiranosídeo de 4-isopropilaminometilfenila (47)

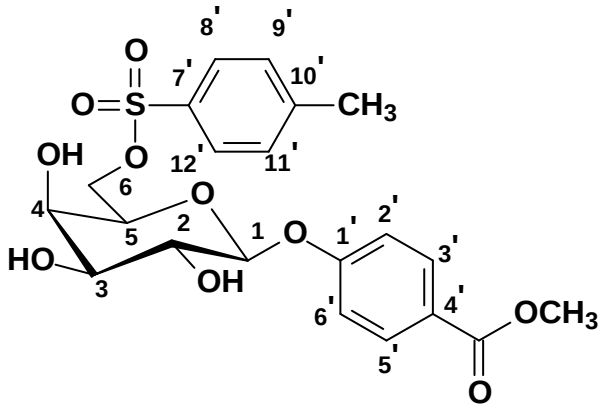
Obteve-se 0,45 g (1,37 mmol; 90 %) deste produto a partir de 0,5 g (1,5 mmol) de **51**

4.2.4 Síntese de derivados de 29 por modificações em C-6

4.2.4.1 Síntese de 6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo do 4-metoxicarbonilfenila (62)

4.2.4.1.1 *Síntese de 6-O-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (54)*

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 1 g (3,18 mmol) de **29** em 20 mL de piridina. Em seguida, sob banho de gelo e água e agitação adicionaram-se 1,8 g (9,41 mmol) de cloreto de tosila. A mistura reagente foi mantida sob resfriamento a –4 ℃ e o desenvolvimento da reação acompanhado por CCD (clorofórmio/metanol 25%). Após 24 horas, adicionou-se mais 0,6 g (3,14 mmol) de cloreto de tosila. Passadas novas 24 horas, detectou-se o fim da reação. A mistura reagente foi então vertida sobre gelo pilado e acidificada com ácido clorídrico concentrado até pH próximo de 1. A mistura foi extraída com três porções de 50 mL de diclorometano, as fases orgânicas reunidas e lavadas com três porções de 50 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio, seguido de água até pH aproximadamente 7. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e elimonou-se o solvente em evaporador rotatório.



Sólido branco após purificação do produto bruto em CCS com clorofórmio/MeOH 9,5:0,5 [1,2 g (2,6 mmol; 66%)]

F.M.: $C_{21}H_{24}O_{10}S$

M.M.: 467 g.mol^{-1}

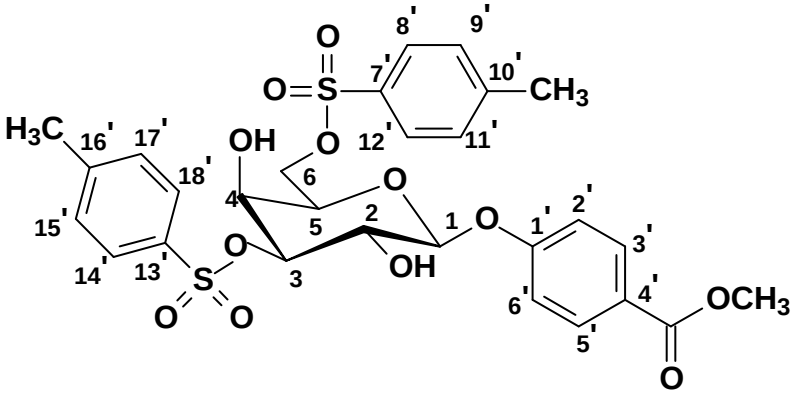
P.F.: 107-108,4 ºC

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3506-3227 (O-H), 1712 (C=O), 1605, 1508, 1435 (C=C), 1241 (C-O), 1079 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,90 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,75 Hz; H-3' e H-5'), 7,68 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,21 Hz; H-2' e H-6'), 7,29 (d; 2H; $J_{9',8';\ 11',12'}$ 8,06 Hz; H-9' e H-11'), 7,08 (d; 2H; $J_{8',9';\ 12',11'}$ 8,0 Hz; H-8' e H-12'), 5,00 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,37 Hz; H-1), 4,49 (sl; 2H); 4,23-3,97 (m; 3H); 3,84 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,69 (d; 1H; J 2,43 Hz; H-4), 3,55 (t; 1H; $J_{2,1;\ 2,3}$ 7,35 Hz; H-2), 3,43 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 7,30 Hz; $J_{3,4}$ 2,75 Hz; H-3), 2,34 (s; 3H; Ar-C$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,81 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 160,90 (C-1'), 144,83 (C-7'), 132,21 (C-10'), 130,97 (C-3' e C-5'), 129,97 (C-8' e C-12'), 127,49 (C9' e C-11'), 123,03 (C-4'), 115,97 (C-2' e C-6'), 99,73 (C-1), 72,58 (C-3), 72,32 (C-5), 70,31 (C-6), 69,77 (C-4 ou C-2), 68,18 (C-2 ou C-4), 51,91 (COO$\underline{C}$H$_3$), 21,04 (Ar-$\underline{C}$H$_3$)

Além desta substância, foi obtido outro produto, menos polar, caracterizado como 3,6-di-*O*-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (**55**), conforme dados de caracterização mostrados a seguir.



Sólido branco [0,25 g (0,4 mmol; 27%)]

F.M.: $C_{28}H_{30}O_{12}S_2$

M.M.: 622 g.mol^{-1}

P.F.: 166 ℃ dec.

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3586-3513 (O-H), 1693 (C=O), 1606, 1584, 1511, 1434 (C=C), 1359, 1173 (SO_2), 1075 (C-O-C), 817 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

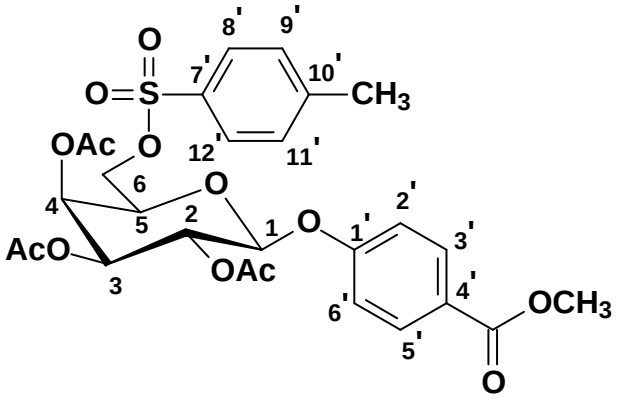
RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,90 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,85 Hz; H-3' e H-5'), 7,82 (d; 2H; $J_{15',14';\ 17',18'}$ 8,30 Hz; H-17'e H-15'), 7,68 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,29 Hz; H-2' e H-6'), 7,43 (d; 2H; $J_{14',15';\ 18',17'}$ 8,21 Hz; H-14' e H-18'), 7,31 (d; 2H; $J_{9',8';\ 11',12'}$ 8,02 Hz; H-9' e H-11'), 7,04 (d; 2H; $J_{8',9';\ 12',11'}$ 8,89 Hz; H-8' e H-12'), 5,70 (d; 1H; *J* 5,73 Hz; O-H), 5,52 (d; 1H; *J* 6,50 Hz; O-H), 5,11 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,6 Hz; H-1); 4,47 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10 Hz; $J_{3,4}$ 3,2 Hz; H-3), 4,20 (dd; 1H; $J_{6;6'}$ 10 Hz; $J_{6;5}$ 3,2 Hz; H-6b), 4,11 (dd; 1H; $J_{5;6'}$ 8,5 Hz; $J_{5;6}$ 3,2 Hz; H-5), 4,0 (m; 1H; H-6a), 3,95-3,93 (m; 1H; H-4); 3,84 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$); 3,80-3,74 (m; 1H; H-2); 2,40 (s; 3H; Ar-C$\underline{H}_3$); 2,36 (s; 3H; Ar'-C$\underline{H}_3$).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,73 ($COOCH_3$), 160,56 (C-1'), 144,48 (C-7' ou C-13'), 133,43 (C-10' ou C-16'), 132,09 (C-10' ou C-16'), 131,0 (C-3' e C-5'), 129,98 (C-8' e C-12' ou C-2' e C-6'), 129,68 (C-8' e C-12' ou C-14' e C-18'), 127,81 (C-9' e C-11' ou C-17' e C-14'), 127,49 (C-9' e C-11' ou C-17' e C-15'), 123,32 (C-4'), 115,94 (C-2' e C-6'), 99,03 (C-1), 82,42 (C-3), 71,66 (C-5), 69,55 (C-6), 66,97 (C-2), 66,49 (C-4), 51,92 (COO$\underline{C}H_3$), 21,05 e 21,03 (2 x Ar-$\underline{C}H_3$).

4.2.4.1.2 *Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (56)*

Em um balão de 50 mL foram solubilizados 1,6 g (0,257 mmol) de **54** em 10 mL de piridina. Essa solução foi mantida sob agitação à temperatura ambiente e a ela adicionados 2 mL (2,16 g; 21 mmol) de anidrido acético. Ao final da reação, detectado por CCD (clorofórmio/metanol 10%) após três horas, verteu-se a mistura reagente sobre gelo pilado e adicionou-se ácido clorídrico concentrado até pH próximo de 1. Extraiu-se a

mistura com três porções de 30 mL de diclorometano. A fase orgânica foi então lavada com três porções de 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio seguidas de água até pH aproximadamente 7. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e removeu-se o solvente em evaporador rotatório.



Óleo amarelo-claro [1,8 g (3 mmol; 85%)

F.M.: $C_{21}H_{27}O_{13}S$

M.M.: 593 g.mol^{-1}

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1750 (C=O de éster alifático), 1716 (C=O de éster aromático), 1606, 1509, 1435 (C=C), 1366, 1175 (SO_2), 1212 (C-O), 1069 (C-O-C)

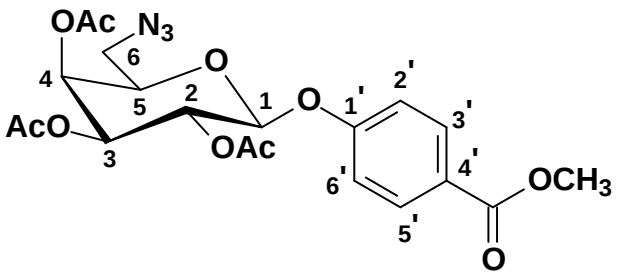
RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 7,97 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,76 Hz; H-3' e H-5'), 7,73 (d; 2H; $J_{\ 2',3';\ 6',5'}$ 8,23 Hz; H-2' e H-6'), 7,27 (d; 2H; $J_{9',8';\ 11',12'}$ 7,93 Hz; H-9' e H-11'), 6,98 (d; 2H; $J_{\ 8',9';\ 12',11'}$ 8,77 Hz; H-8' e H-12'), 5,51-5,41 (m; 2H); 5,17-5,09 (m; 2H); 4,21-4,11 (m; 3H); 3,90 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 2,41 (s; 3H; Ar-C$\underline{H}_3$), 2,08-2,00 (3 x OCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,07-169,47 (3 x OCOC$\underline{H}_3$), 166,57 ($\underline{C}OOCH_3$), 160,23 (C-1'), 145,48 (C-7'), 132,35 (C-10'), 131,75 (C-3' e C-5'), 130,11 (C-8' e C-12'), 128,11 (C9' e C-11'), 125,19 (C-4'), 116,25 (C-2' e C-6'), 98,71 (C-1), 71,41 (C-3), 70,64 (C-5), 68,46 (C-2), 66,92 (C-4 ou C-6), 66,59 (C-4 ou C-6), 52,19 (COO$\underline{C}H_3$), 21,77 (Ar-$\underline{C}H_3$), 20,82-20,66 (3 x OCO$\underline{C}H_3$)

4.2.4.1.3 *Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (59)*

Em um balão de 50 mL foram solubilizados, em 20 mL de dimetilformamida, 1,8 g (3 mmol) de **56**. À solução formada adicionaram-se 4 g (60 mmol) de azida de sódio. A mistura foi aquecida a cerca de 80 ℃, sob agitação , por 24 horas. Detectado o fim da reação por CCD (hexano/EtOAc 1:1), a mistura foi transferida para uma cápsula de porcelana e o excesso de dimetilformamida evaporado sob corrente de ar quente. O resíduo obtido foi particionado em água e éter etílico (30 mL de cada). Separou-se a fase

orgânica e extraiu-se a aquosa com mais três porções de 30 mL de éter. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e eliminou-se o solvente no evaporador rotatório.



Óleo incolor após purificação do produto bruto por CCS com hexano/EtOAc 7:3 [0,73 g (1,5 mmol; 50 %)]

F.M.: $C_{20}H_{23}O_{10}N_3$

M.M.: 478 g.mol^{-1}

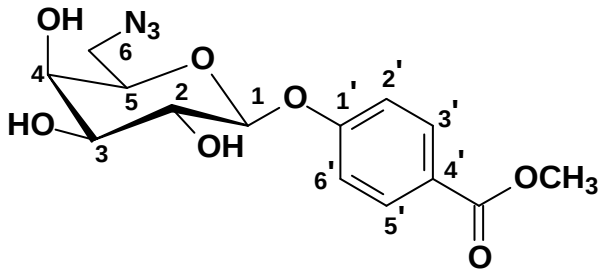
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 2102 (N_3), 1748 (C=O de éster alifático), 1717 (C=O de éster aromático), 1606, 1509, 1436 (C=C), 1212 (C-O), 1062 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,00 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,85 Hz; H-3' e H-5'), 7,04 (d; 2H; $J_{\ 2',3';\ 6',5'}$ 8,87 Hz; H-2' e H-6'), 5,51 (dd; 1H; $J_{2,3}$ 10,44 Hz; $J_{2,1}$ 7,88 Hz; H-2), 5,42 (d; 1H; $J_{4,3}$ 2,89 Hz; H-4), 5,16 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,92 Hz; H-1), 5,12 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 10,37 Hz; $J_{3,4}$ 3,37; H-3), 3,99-3,95 (m; 1H), 3,88 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,56 (dd; 1H; *J* 12,85 Hz; *J* 3,26 Hz), 2,19-2,01 (m; 9H; OCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,36-169,50 (3 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 166,64 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 160,32 (C-1'), 131,83 (C-3' e C-5'), 125,30 (C-4'), 116,36 (C-2' e C-6'), 99,00 (C-1), 73,21 (C-3), 70,84 (C-5), 68,60 (C-2), 67,80 (C-4), 52,20 (COO$\underline{C}$H$_3$), 50,78 (C-6), 20,85-20,71 (3 x OCO$\underline{C}$H$_3$)

4.2.4.1.4 *Síntese do 6-azido-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (62)*

A uma solução de metóxido de sódio, preparada pela solubilização de 30 mg de sódio em 20 mL de metanol anidro, foi adicionado 0,33 g (0,69 mmol) de **59** e a mistura foi mantida em agitação sob banho de gelo e água por uma hora, quando detectou-se o fim da reação por CCD (clorofórmio/metanol 25%). O meio foi neutralizado por adição de resina Amberlite® IRA 120 e o solvente foi removido em evaporador rotatório, após separação da resina por filtração.



Sólido branco após recristalização do produto bruto em isopropanol [0,15 g (0,44 mmol; 66%)]

F.M.: $C_{14}H_{17}O_7N_3$

M.M.: 338 g.mol^{-1}

P.F.: 133,9-135 ℃

$[\alpha]_D$ –154 (*c* 1, CH_3OH)

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3412 (O-H), 2110 (N_3), 1720 (C=O de éster aromático), 1696 (C=O de amida), 1607, 1585, 1509, 1436 (C=C)

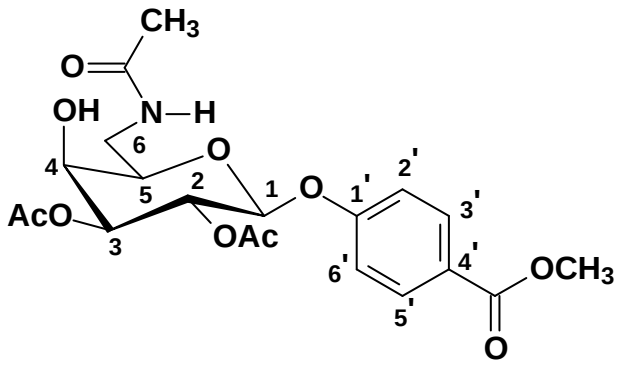
RMN de ^{1}H (δ; DMSO-*d*$_6$; 200 MHz): 7,90 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,60 Hz; H-3' e H-5'), 7,13 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,63 Hz; H-2' e H-6'), 5,32 (d; 1H; *J* 4,83 Hz; O-H), 5,07-5,01 (m; 2H), 4,84 (d; 1H; *J* 4,44 Hz; O-H), 3,92-3,88 (m; 1H), 3,80 (s; 3H; $COOC\underline{H}_3$), 3,65-3,41 (m; 4H), 3,27 (dd; 1H; *J* 12,86; *J* 3,18 Hz)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-*d*$_6$; 50 MHz): 165,89 ($COOCH_3$), 160,98 (C-1'), 131,07 (C-3' e C-5'), 123,04 (C-1'), 115,97 (C-2' e C-6'), 100,05 (C-1), 74,13 (C-3), 72,83 (C-5), 69,91 (C-2), 68,83 (C-4), 51,92 ($COO\underline{C}H_3$), 51,12 (C-6)

4.2.4.2 Síntese de 6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (61)

4.2.4.2.1 *Síntese de 2,3-di-O-acetil-6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (60)*

A um balão de 100 mL foram adicionados 10 mL de tetraidrofurano e 50 mg de paládio-carvão 10 %. O balão foi vedado com septo de borracha e a suspensão mantida sob agitação e atmosfera de hidrogênio por 15 minutos. Em seguida, a esta suspensão foi adicionada solução de 0,365 g (0,76 mmol) de **59** em 10 mL de tetraidrofurano por meio de seringa. Deixou-se a mistura reagente sob agitação, temperatura ambiente e atmosfera de hidrogênio até que se detectou, por CCD (hexano/EtOAc 1:1), o fim da reação. A mistura foi então filtrada em coluna de sílica com tetraidrofurano para remoção do catalisador e o solvente eliminado em evaporador rotatório.



Sólido branco após purificação por CCS com EtOAc 100% [0,31 g (89%)]

F.M.: $C_{20}H_{25}O_9N$

M.M.: 452 g.mol^{-1}

P.F.: 201-203 ℃

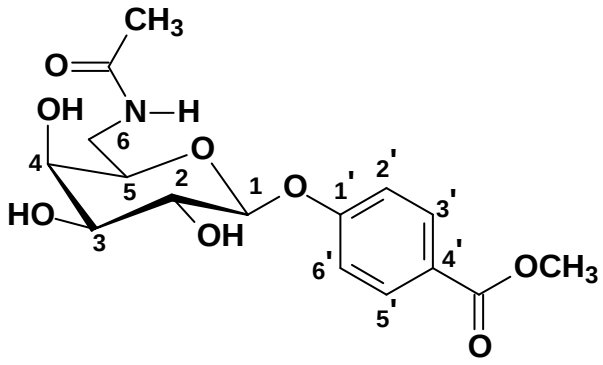
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3367-3291 (N-H e O-H), 1734 (C=O de éster alifático), 1713 (C=O de éster aromático), 1652 (C=O de amida), 1605, 1585, 1547, 1508 (C=C), 1223 (C-O), 852 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,03 (t; *J* 5,35 Hz, 1H; N-H), 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,83 Hz; H-3' e H-5'), 7,08 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,83 Hz; H-2' e H-6'), 5,46-5,30 (m; 3H); 4,96 (dd; 1H; $J_{3,2}$ 8,48 Hz; $J_{3,4}$ 2,92 Hz; H-3); 2,03-2,00 (2 x OCOC$\underline{H}_3$), 1,83 (s; 3H; NHCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 169,95-169,76 (2 x O$\underline{C}$OCH$_3$), 169,27 (NH$\underline{C}$OCH$_3$), 165,69 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 160,31 (C-1'), 131,13 (C-3' e C-5'), 123,68 (C-4'), 116,16 (C-2' e C-6'), 97,40 (C-1), 73,14 (C-3), 72,93 (C-5), 68,48 (C-2), 65,78 (C-4), 51,93 (COOC$\underline{H}_3$), 39,12 (C-6), 22,4 (NHCOC$\underline{H}_3$), 20,74-20,47 (2 x OCOC$\underline{H}_3$)

4.2.4.2.2 *Síntese de 6-acetilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (61)*

A uma solução de metóxido de sódio, em um balão de 50 mL, munido de tubo secante, foi adicionado 0,15 g (0,33 mmol) de **60** e deixou-se agitar nas mesmas condições. Após 20 minutos, foi detectado por CCD (EtOAc 100%) o término da reação. Neutralizou-se o meio reacional com resina Amberlite® IRA 120 e eliminou-se o solvente no evaporador rotatório.



Sólido branco [0,12 g (0,326 mmol; 98%]

F.M.: $C_{16}H_{21}O_7N$

M.M.: 368 g.mol^{-1}

P.F.: 202-205 ℃ dec.

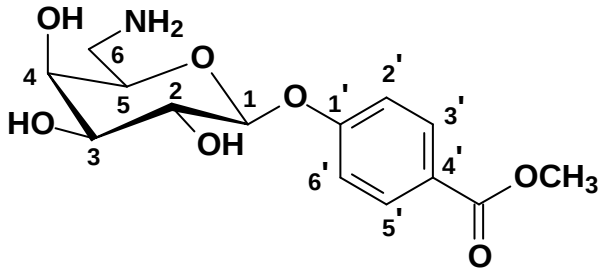
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3401-3274 (N-H e O-H), 1718 (C=O de éster), 1655 (C=O de amida), 1607, 1563, 1509 (C=C), 1083 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,90 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,11 Hz; H-3' e H-5'), 7,10 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 7,96 Hz; H-2' e H-6'), 5,24 (d; 1H; J 4,0 Hz; O-H), 4,91 (sl; 2H), 4,69 (sl; 1H; O-H), 3,81 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,70-3,62 (m; 3H); 3,21 (sl; 2H); 1,82 (s; 3H; NHCOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 169,73 (NH$\underline{C}$OCH$_3$), 165,84 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 161,16 (C-1'), 131,02 (C-3' e C-5'), 122,93 (C-4'), 116,02 (C-2' e C-6'), 100,35 (C-1), 73,03 (C-3 e C-5), 70,05 (C-2), 68,57(C-4), 51,91 (COOC$\underline{H}_3$), 39,54 (C-6), 22,53 (NHCOC$\underline{H}_3$)

4.2.4.3 Síntese do 6-amino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (63)

Em um balão de 50 mL foram suspensos 15 mg de paládio-carvão 10 % em 10 mL de tetraidrofurano. Vedou-se o balão com septo de borracha e a mistura foi mantida sob agitação, temperatura ambiente e atmosfera de hidrogênio por 15 minutos. Então, foi adicionada, via seringa, solução de 0,1 g (0,28 mmol) de **62** em 5 mL de tetraidrofurano. A mistura foi mantida sob as mesmas condições por oito horas, quando foi detectado por CCD (clorofórmio/metanol 25%) o consumo de todo o material de partida. Separou-se o catalisador por filtração em papel e o solvente foi eliminado sob ar comprimido. O produto foi utilizado de imediato nas reações de síntese de **64**, **65** e **66**.



Semi-sólido branco após adição de éter etílico ao produto bruto [0,64 g (2 mmol; 69%)]

F.M.: $C_{14}H_{19}O_7N$

M.M.:313 g.mol^{-1}

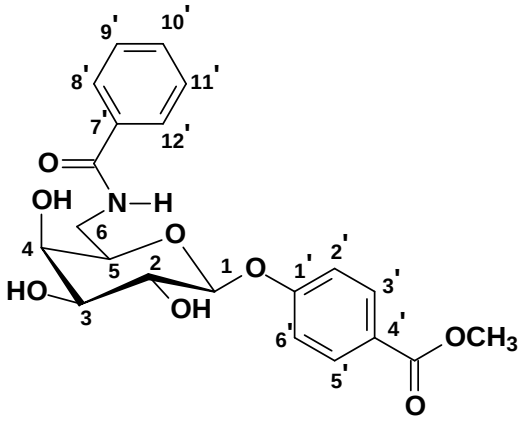
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3364 (N-H e O-H), 2879 (C-H), 1710 (C=O), 1605, 1508, 1435 (C=C), 1050 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 400 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,8 Hz; H-3' e H-5'); 7,11 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,8 Hz; H-2' e H-6'); 4,93 (d; 1H; $J_{1;2}$ 7,6 Hz; H-1); 3,81 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$); 3,73-3,28 (m).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 100 MHz): 165,71 ($\underline{C}OOCH_3$), 161,04 (C-1'), 130,98 (C-3' e C-5'), 122,73 (C-4'), 115,82 (C-2' e C-6'), 100,24 (C-1), 76,01 (C-3), 73,22 (C-5), 70,06 (C-2), 68,54 (C-4), 51,76 (COOC$\underline{H}_3$), 41,88 (C-6)

4.2.4.4 Síntese do 6-benzoilamino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (64)

Foi dissolvido, em um balão de 50 mL, 0,37 g (1,13 mmol) de **63** em 35 mL de metanol, sob agitação e banho de gelo e água. Em seguida, juntou-se à solução 0,28 g (1,23 mmol) de anidrido benzóico e deixou-se reagir sob as mesmas condições. Ao final da reação, detectada por CCD (metanol 100%), separou-se o sólido formado por filtração a vácuo.



Sólido branco após recristalização em água [0,26 g (0,62 mmol; 55% de rendimento)

F.M.: $C_{21}H_{23}O_8N$

M.M.: 417 g.mol^{-1}

P.F.: 117-118 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3468-3246 (N-H e O-H), 1699 (C=O de éster), 1638 (C=O de amida), 1607, 1582, 1543, 1510 (C=C), 1081 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 8,53 (sl; 1H; N-H); 7,84 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 7,05 Hz; H-3' e H-5'), 7,70 (d; 2H; $J_{8',9';\ 12',11'}$ 8,5 Hz; H-8' e H-12'), 7,56-7,42 (m; 3H; H-9', H-10' e H-11'), 7,06 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,46 Hz; H-2' e H-6'), 5,26 (d; 1H; J 4,65 Hz; O-H), 4,97 (d; 1H; J 5,29 Hz; O-H), 4,91 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,68 Hz; H-1), 3,93 (sl; 1H), 3,70-3,47 (m; 5H), 3,80 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 166,53 (NH$\underline{C}OCH_3$), 165,74 ($\underline{C}OOCH_3$), 161,04 (C-1'), 134,38 (C-7'), 131,21 (C-10'), 130,89 (C-3' e C-5'), 128,22 (C-9' e C-11'), 127,19 (C-8' e C-12'), 122,81 (C-4'), 115,95 (C-2' e C-6'), 100,29 (C-1), 73,19 (C-3), 72,73 (C-5), 70,11 (C-2), 68,76 (C-4), 51,86 (COOC$\underline{H}_3$), 40,31 (C-6)

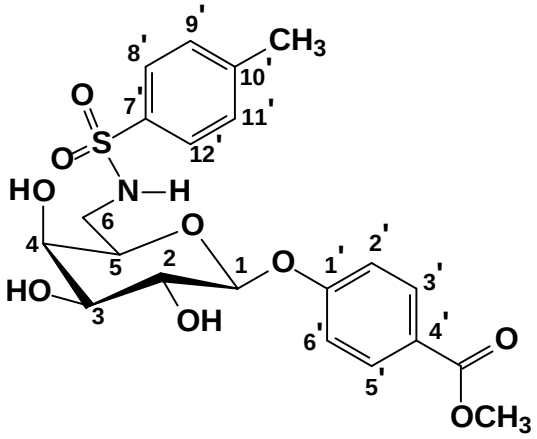
4.2.4.5 Procedimento geral de síntese de 65 e 66

Em um balão de 25 mL foram adicionados o intermediário amínico **63**, 15 mL de metanol e trietilamina. A solução formada foi mantida sob agitação e banho de gelo e água até que atingisse a temperatura de 0 ℃. Em se guida, juntou-se à mistura o cloreto de sulfonila correspondente e deixou-se reagir sob as mesmas condições. Ao final da reação, detectada por CCD, a mistura reagente foi acidificada a pH 1 com HCl concentrado ainda sob banho de gelo e água. A solução foi então transferida para cápsula de porcelana e o solvente evaporado com corrente de ar. O resíduo obtido foi purificado por CCS. Na Tabela 11 podem ser observados detalhes particulares de cada reação.

Tabela 11: Condições empregadas nas reações de síntese de **65** e **66**

Produto	**63**	**Agente sulfonilante**	**Trietilamina**	**Eluente da CCD**	**Eluente da CCS**
65	0,1 g (0,32 mmol)	***p*-$CH_3C_6H_4SO_2Cl$** 0,062 g (0,32 mmol)	0,065 mL (0,048 g; 0,33 mmol)	acetona/MeOH 9,8:0,2	EtOAc 100%
66	0,074 g (0,24 mmol)	**CH_3SO_2Cl** 0,02 mL (0,03 g; 0,22 mmol)	0,047 mL (0,034 g; 0,33 mmol)	acetona/MeOH 9,9:0,1	EtOAc/MeOH 9,9:0,1

4.2.4.5.1 Dados de caracterização de 6-(4-metilbenzenossulfonil)amino-6-desoxi-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (65)



Sólido branco [0,082 g (0,18 mmol; 55%)]

F.M.: $C_{21}H_{25}NO_9S$

M.M.: 467 g.mol^{-1}

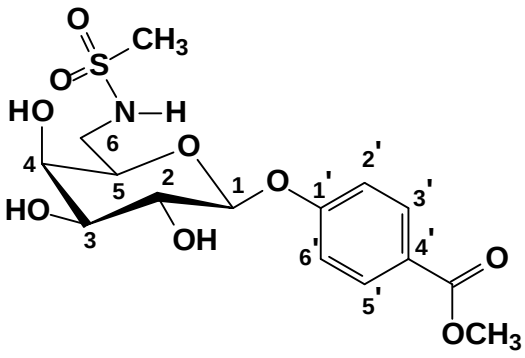
P.F.: 182-184,5 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3600-3266 (O-H e N-H), 2950 (C-H), 1714 (C=O), 1606, 1509, 1433 (C=C), 1058 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,70 Hz; H-3' e H-5'), 7,65 (d; 3H; $J_{8',9';\ 12',11'}$ 8,08 Hz; H-8', H-12' e N-H), 7,28 (d; 2H; $J_{9',8';\ 11',12'}$ 8,12 Hz; H-9' e H-11'), 7,13 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,75 Hz; H-2' e H-6'), 5,24 (d; 1H; J 5,12 Hz; O-H), 4,96 (d; 1H; J 5,36 Hz; O-H), 4,89 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,48 Hz; H-1), 4,67 (d; 1H;J 4,65 Hz; O-H), 3,83 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,73-3,40 (m; 4H), 2,94-2,89 (m; 2H), 2,33 (s; 3H; Ar-C$\underline{H}_3$)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,76 ($\underline{C}$OOCH$_3$), 161,05 (C-1'), 142,46 (C-7'), 137,43 (C-10'), 130,95 (C-3' e C-5'), 129,44 (C-8' e C-12'), 126,48 (C-9' e C-11'), 122,87 (C-4'), 116,01 (C-2' e C-6'), 100,23 (C-1), 73,41 (C-3), 72,84 (C-5), 69,87 (C-2), 68,46 (C-4), 51,85 (COO$\underline{C}$H$_3$), 43,38 (C-6), 20,87 (Ar-$\underline{C}$H$_3$)

4.2.4.5.2 Dados de caracterização de 6-metanossulfonilamino-6-desoxi-β-D-galacto-piranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (66)



Sólido branco [0,017 g (0,43 mmol; 19%)]

F.M.: $C_{15}H_{21}NO_9S$

M.M.: 391 g.mol^{-1}

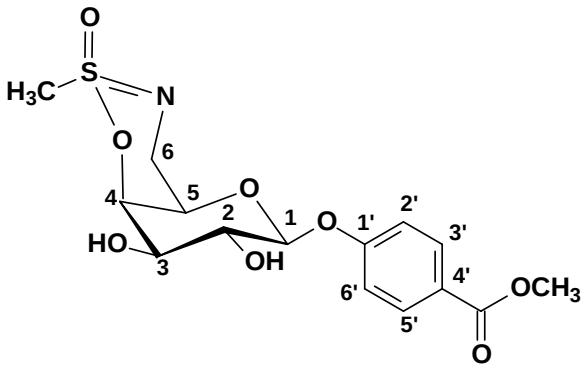
P.F.: 108-109,5 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3482-3223 (O-H e N-H), 2918 (C-H), 1715 (C=O), 1604, 1508, 1435 (C=C),1050 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,90 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,74 Hz; H-3' e H-5'), 7,15 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,72 Hz; H-2' e H-6'), 7,07 (t; 1H; $J_{NH,\ H\text{-}6/H\text{-}6'}$ 5,48 Hz; N-H), 5,25 (d; 1H; *J* 5,08 Hz; O-H), 4,98 (m; 3H; H-1 e O-H), 4,71 (d; 1H;*J* 4,46 Hz; O-H), 3,81 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,77-3,40 (m; 5H), 3,15-3,12 (m; 2H), 2,77 (s; 3H; $SO_2C\underline{H}_3$).

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,72 ($\underline{C}OOCH_3$), 161,05 (C-1'), 130,95 (C-3' e C-5'), 122,88 (C-4'), 115,98 (C-2' e C-6'), 100,15 (C-1), 73,58 (C-3), 72,89 (C-5), 69,87 (C-2), 68,36 (C-4), 51,83 (COO$\underline{C}H_3$), 43,21 (C-6), 39,58 ($SO_2\underline{C}H_3$)

4.2.4.5.3 Dados de caracterização do subproduto 67



Sólido branco [0,003 g (0,008 mmol; 4 %)]

F.M.: $C_{15}H_{19}NO_8S$

M.M.: 373 g.mol^{-1}

P.F.: 126-127,3 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3357 (O-H), 2931 (C-H), 1689 (C=O), 1605, 1584, 1508, 1446 (C=C), 1047 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 400 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,0 Hz; H-3' e H-5'), 7,15 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,8 Hz; H-2' e H-6'), 5,12 (d; 1H; *J* 7,6 Hz; H-1), 4,23 (dd; 1H; $J_{6a;6b}$ 16 Hz; $J_{6a;5}$ 9,6 Hz; H-6), 4,03 (dd; 1H; $J_{5;6}$ 9,7 Hz; $J_{5;4}$ 2 Hz; H-5), 3,83 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,79-3,78 (m; 1H; 6a), 3,67-3,63 (m; 2H; H-4 e H-2), 3,52-3,48 (m; 3H); 3,17 (s; 1H; SOC$\underline{H}_3$).

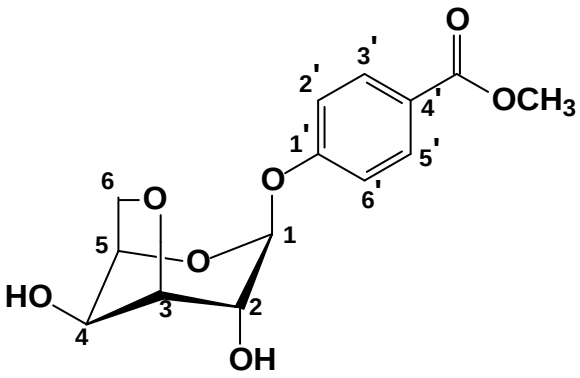
RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 100 MHz): 165,85 ($\underline{C}OOCH_3$), 160,87 (C-1'), 131,16 (C-3' e C-5'), 123,24 (C-4'), 116,02 (C-2' e C-6'), 100,13 (C-1), 74,01 (C-3), 72,97 (C-5), 69,69 (C-2), 68,57 (C-4), 52,02 (COO$\underline{C}H_3$), 48,99 (C-6), 42,40 (SO$\underline{C}H_3$)

4.2.4.6 Síntese do 6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (58)

4.2.4.6.1 Tentativa pelo método de Garegg e Samuelsson (1980)

A um balão de 250 mL foram adicionados 100 mL de uma mistura de tolueno e acetonitrila (7:3) e 1 g (3,18 mmol) do **29**. Aqueceu-se a mistura a 60 ℃ sob agitação e adicionaram-se 2,4 g (9,15 mmol) de trifenilfosfina, 1,2 g de imidazol (17,6 mmol) e 2,4 g

de iodo (9,45 mmol). A mistura foi então aquecida a 120 ℃ por um período de quatro horas quando, por CCD (clorofórmio/metanol 20%), foi verificado o detectado o consumo de todo material de partida. Deixou-se a mistura resfriar até a temperatura ambiente e a ela foram adicionados 40 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio seguidos de solução saturada de tiossulfato de sódio em quantidade suficiente para o consumo do iodo em excesso, detectado pelo desaparecimento de sua cor característica. Em seguida, a fase orgânica foi separada e a aquosa extraída com três porções de 30 mL de acetato de etila. As fases orgânicas foram reunidas, sulfato de sódio anidro adicionado para secagem e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Ao resíduo obtido da destilação foi adicionado éter de petróleo para solidificação. O produto obtido proposto foi o derivado 3,6-anidro **53**, conforme dados de caracterização apresentados a seguir.



Sólido branco após purificação por CCS com clorofórmio/MeOH 9,5:0,5 [0,471g (1,58 mmol; 35 %)]

F.M.: $C_{14}H_{16}O_7$

M.M.: 297 $g.mol^{-1}$

P.F.: 173,6-174,6 ℃

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,4 Hz; H-3' e H-5'), 7,07 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,4 Hz; H-2' e H-6'), 5.77 (d; 1H; *J* 4,0 Hz; O-H), 5,36 (s; 1H; H-1), 5,35 (d; 1H; *J* 3,6 Hz; O-H), 4,25 (d; 1H; *J* 3,6 Hz; H-4), 4,19 (sl; 1H; H-5), 4,07 (d; 1H; *J* 4,8 Hz; H-3), 4,02 (t; 1H; *J* 4,4 Hz; H-2), 3,89-3,77 (m; 5H; H-6, H-6a e $COOC\underline{H}_3$)

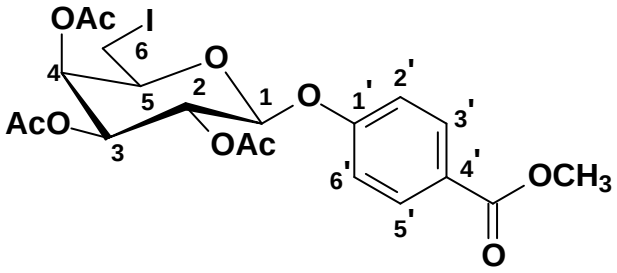
RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,74 ($\underline{C}OOCH_3$), 160,23 (C-1'), 131,11 (C-3' e C-5'), 122,59 (C-4'), 115,88 (C-2' e C-6'), 98,97 (C-1), 80,52 (C-3), 77,97 (C-5), 72,23 (C-2), 69,50 (C-6), 68,99 (C-4), 51,76 ($COOCH_3$)

4.2.4.6.2 *A partir do 2,3,4-tri-O-acetil-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (56)*

4.2.4.6.2.1 Síntese de 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (57)

Em um balão de 50 mL solubilizaram-se 1,14 g (1,92 mmol) de **56** em 10 mL de dimetilformamida. A essa solução foram adicionados 2,89 g (19,2 mmol; 10 eq) de iodeto

de sódio. Aqueceu-se a mistura sob agitação magnética à cerca de 80 ℃ por 24 horas, quando foi detectado o fim da reação por CCD (hexano/EtOAc 1:1). Transferiu-se a mistura reagente para uma cápsula de porcelana e evaporou-se o excesso de dimetilformamida sob corrente de ar quente. O resíduo obtido foi particionado em água e éter (30 mL de cada). A fase aquosa foi extraída com três porções de 30 mL de éter etílico e lavada com três porções de solução saturada de tiossulfato de sódio. Em seguida, as fases orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio anidro e o solvente destilado em evaporador rotatório.



Sólido branco após purificação do produto bruto por CCS com hexano/EtOAc 7:3 [0,521 g (0,92 mmol; 48 %)]

F.M.: $C_{20}H_{23}O_{10}I$

M.M.: 563 g.mol^{-1}

P.F.: 68,6-70,3 ℃

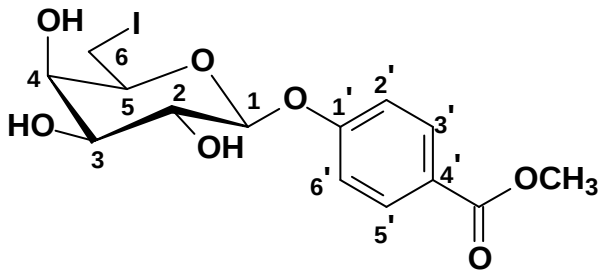
IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 1746 (C=O de éster alifático), 1714 (C=O de éster aromático), 1605, 1586, 1509, 1434 (C=C), 1210 (C-O), 1051 (C-O-C)

RMN de ^{1}H (δ; $CDCl_3$; 200 MHz): 8,02 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6'}$ 8,72 Hz; H-3' e H-5'), 7,13 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5'}$ 8,78 Hz; H-2' e H-6'), 5,59-5,46 (m; 2H), 5,17-5,13 (m; 2H), 4,13-4,09 (m; 1H), 3,89 (s; 3H; COOC$\underline{H}_3$), 3,25-3,22 (m; 2H), 2,20-2,02 (m; 9H; 3 x OCOCH_3)

RMN de ^{13}C (δ; $CDCl_3$; 50 MHz): 170,36-169,50 (3 x O$\underline{C}$OCH_3), 166,63 ($\underline{C}$OOCH_3), 160,31 (C-4'), 131,74 (C-3' e C-5'), 125,16 (C-2' e C-6'), 116,52 (C-1'), 98,80 (C-1), 74,89 (C-3), 70,83 (C-5), 68,59 (C-2), 68,39 (C-4), 52,19 (COO$\underline{C}$H$_3$), 20,86-20,73 (3 x OCO$\underline{C}$H$_3$), -0,07 (C-6)

4.2.4.6.2.2 Síntese de 6-desoxi-6-iodo-β-D-galactopiranosídeo de 4-metoxicarbonil-fenila (58)

Trezentos miligramas (0,53 mmol) de **57** foram adicionados a uma solução de metóxido de sódio em metanol em um balão de 50 mL, munido de tubo secante, preparada pela dissolução de um cubo de sódio de cerca de 30 mg em 25 mL de metanol anidro, sob agitação e banho de gelo e água. Após uma hora de reação, detectou-se o fim da mesma por CCD (hexano/EtOAc 1:1). Em seguida, a mistura reagente foi neutralizada por adição de resina Amberlite® IRA 120 e o solvente eliminado em evaporador rotatório.



Sólido branco [0,2 g (0,46 mmol; 86%)]

F.M.: $C_{14}H_{17}O_7I$

M.M.: 437 $g.mol^{-1}$

P.F.: 175,6-176,8 ℃

IV ($\overline{\nu}_{máx}$, cm^{-1}): 3408 (O-H), 1694 (C=O), 1606, 1584, 1509, 1436, (C=C), 1057 (C-O-C), 846 (C-H de anel aromático 1,4-dissubstituído)

RMN de ^{1}H (δ; DMSO-d_6; 200 MHz): 7,91 (d; 2H; $J_{3',2';\ 5',6';\ 5',6'}$ 8,58 Hz; H-3' e H-5'), 7,19 (d; 2H; $J_{2',3';\ 6',5';\ 6',5'}$ 8,63 Hz; H-2' e H-6'), 5,27-4,72 (m; 2H), 4,99 (d; 1H; $J_{1,2}$ 7,52 Hz; H-1), 3,94-3,88 (m; 1H), 3,81 (s; 3H; $COOC\underline{H}_3$), 3,64-3,16 (m; 5H)

RMN de ^{13}C (δ; DMSO-d_6; 50 MHz): 165,81 ($\underline{C}OOCH_3$), 160,97 (C-4'), 130,96 (C-3' e C-5'), 122,98 (C-2' e C-6'), 116,19 (C-1'), 100,09 (C-1), 75,40 (C-3), 72,83 (C-5), 69,61 (C-2), 69,38 (C-4), 51,89 ($COO\underline{C}H_3$), 5,41 (C-6)

4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.3.1 ENSAIO DE HEMAGLUTINAÇÃO [adaptado de KONOZY *et al.* (2003)]

Os ensaios de hemaglutinação foram realizados, pelo autor do trabalho, no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG. Utilizou-se lectina de *E. cristagalli* obtida de Sigma-Aldrich, na forma de pó liofilizado. A determinação do título da LEC e os ensaios de inibição da hemaglutinação foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços com volume final de 150 μL por poço. Para a lavagem do sedimento de hemácias foi empregada solução salina a 0,9 % m/v. Foi empregada solução aquosa a 0,15 $mol.L^{-1}$ de cloreto de sódio, 5 $mmol.L^{-1}$ de cloreto de cálcio e 5 $mmol.L^{-1}$ de sulfato de manganês (solução salina Ca^{2+}/Mn^{2+}) no preparo das soluções de lectina, das substâncias testadas e da suspensão de eritrócitos.

4.3.1.1 Preparo da suspensão de eritrócitos

Transferiram-se 10 mL de sangue do tipo O humano para tubo de centrífuga junto a 1 mL de solução anticoagulante de citrato de sódio a 5% p/v. O sangue foi centrifugado, o soro descartado e a papa de hemácias obtida lavada quatro vezes com porções de 10 mL de solução salina a 0,9 %. Em seguida, preparou-se uma suspensão com 2 mL do sedimento de hemácias, resultante da última lavagem, em 48 mL de solução salina Ca^{2+}/Mn^{2+}, de forma a se obter suspensão na concentração de 4 % v/v.

4.3.1.2 Determinação do título de hemaglutinação da solução estoque de LEC

Foi preparada solução estoque da lectina na concentração de 0,2 % m/v em solução salina Ca^{2+}/Mn^{2+}. À 50 μL desta solução, em 12 diluições seriadas 1:2, foram adicionados 100 μL da suspensão de eritrócitos e a mistura foi incubada por uma hora à temperatura ambiente. Após este tempo, foi feita a leitura da hemaglutinação e o título encontrado foi de 64 UH (Unidades de Hemaglutinação). O experimento foi realizado em triplicata. Segundo FARIA e colaboradores (2004) o título de hemaglutinação é dado como o inverso da maior diluição na qual se constata aglutinação visível a olho nu. A solução de LEC empregada no ensaio de hemaglutinação, descrito a seguir, foi preparada pela diluição 1:128 v/v da solução estoque desta lectina.

4.3.1.3 Ensaio de inibição de hemaglutinação

Foram adicionados, em poços diferentes, 50 μL de solução, em salina Ca^{2+}/Mn^{2+}, de D-galactose, lactose e dos derivados da D-galactose em diluições seriadas 1:2 a partir de concentrações de 0,02-0,2 $mol.L^{-1}$, conforme mostrado na Figura 60 e na Tabela 12. As concentrações iniciais diferem em função da solubilidade relativa de cada substância na solução salina. Foram excluídos do ensaio aqueles derivados que se mostraram insolúveis em até 15 mL de salina com 20% de DMSO (maior concentração não-hemolisante desse solvente).

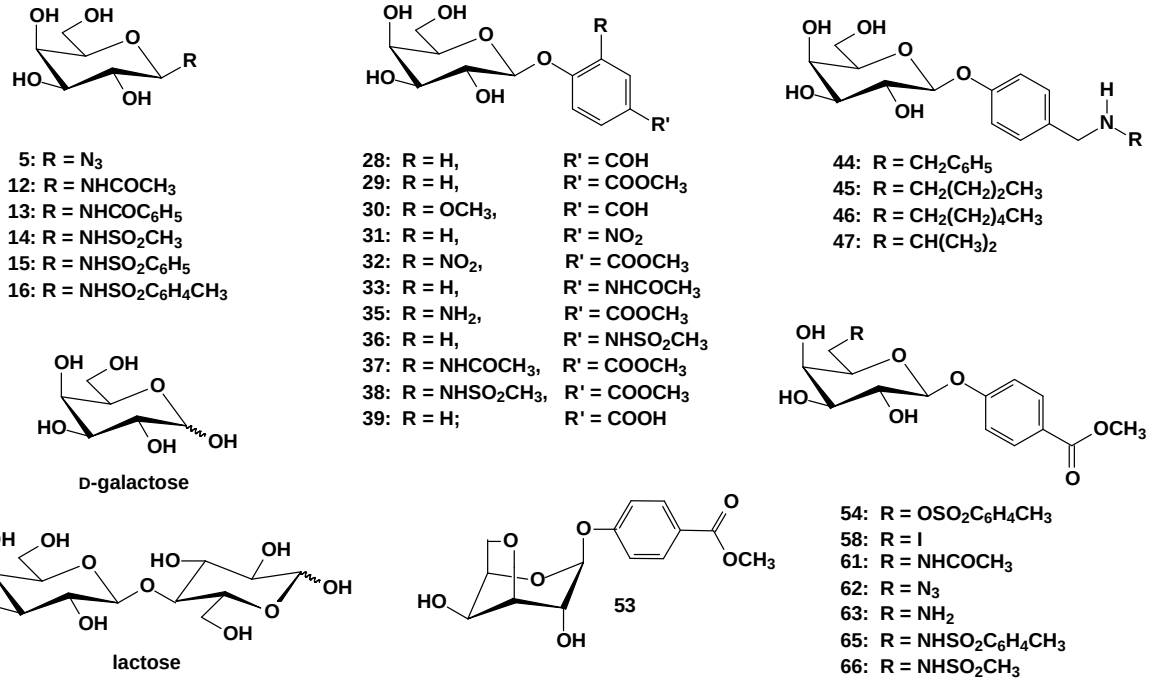


Figura 60: Substâncias avaliadas no ensaio de inibição da hemaglutinação.

Tabela 12: Concentrações iniciais das soluções de D-galactose, lactose e derivados empregados no ensaio de inibição da hemaglutinação

Substância	Concentração ($mol.L^{-1}$)	Substância	Concentração ($mol.L^{-1}$)	Substância	Concentração ($mol.L^{-1}$)
D-galactose	0,2	**31**	0,1	**47**	0,067
lactose	0,2	**32**	0,1	**53**	0,1
5	0,2	**33**	0,2	**54**	0,02
12	0,2	**35**	0,1	**58**	0,01
13	0,2	**36**	0,1	**61**	0,1
14	0,2	**37**	0,05	**62**	0,1
15	0,2	**38**	0,067	**63**	0,066
16	0,2	**39**	0,1	**65**	0,004
28	0,2	**44**	0,033	**66**	0,02
29	0,1	**45**	0,067		
30	0,1	**46**	0,067		

Em seguida, foram adicionados 50 μL de solução de LEC em cada poço. Após 30 minutos, à temperatura ambiente, foram adicionados 50 μL da suspensão de eritrócitos. Após uma hora à temperatura ambiente foi feita a leitura, a olho nu, da atividade inibitória da hemaglutinação, considerada como a menor concentração capaz de inibir a aglutinação dos eritrócitos. O experimento foi realizado em triplicata. A atividade inibitória da hemaglutinação mediada por LEC foi expressa em valores de inibição relativa à inibição promovida pela D-galactose.

4.3.2 ENSAIO DE INIBIÇÃO DE ERITROFAGOCITOSE [adapatado de BOETTNER *et al.* (2005)]

Este ensaio foi realizado no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pelo Dr. Sílvio Santana Dolabella. Para estes experimentos foi utilizada a cepa HM1-IMSS axênica de *E. histolytica*. Ajustou-se o número de trofozoítos visando-se obter uma concentração de $1x10^6$ tro-fozoítos/mL em meio de cultivo TYI-S-33 (DIAMOND, 1968). Foi também preparada uma suspensão de eritrócitos humanos (resultantes da diluição de sangue tipo B positivo heparinizado) em salina 0,9%, de forma a se obter uma concentração de $1x10^7$ eritrócitos/mL.

4.3.2.1 Preparo do ensaio controle

Foram incubados, por 30 minutos a 37 ℃, mistura de 0,4 mL da suspensão de trofozoítos com o mesmo volume da suspensão de eritrócitos, obtendo-se uma relação de 10:1 eritrócitos/trofozoíto.

4.3.2.2 Preparo do ensaio de inibição da eritrofagocitose pelos carboidratos

Soluções de D-galactose, lactose e dos diferentes derivados sacarídicos (Figura 61), preparadas por dissolução dessas substâncias em meio de cultivo a fim de se obter concentração de 55 $mmol.L^{-1}$, foram incubadas com suspensão de trofozoítos em estufa a 37 ℃ por 30 minutos. Após esse tempo, foi adicionada a suspensão de eritrócitos e incubou-se a mistura novamente por 30 minutos. O ensaio foi feito em triplicata.

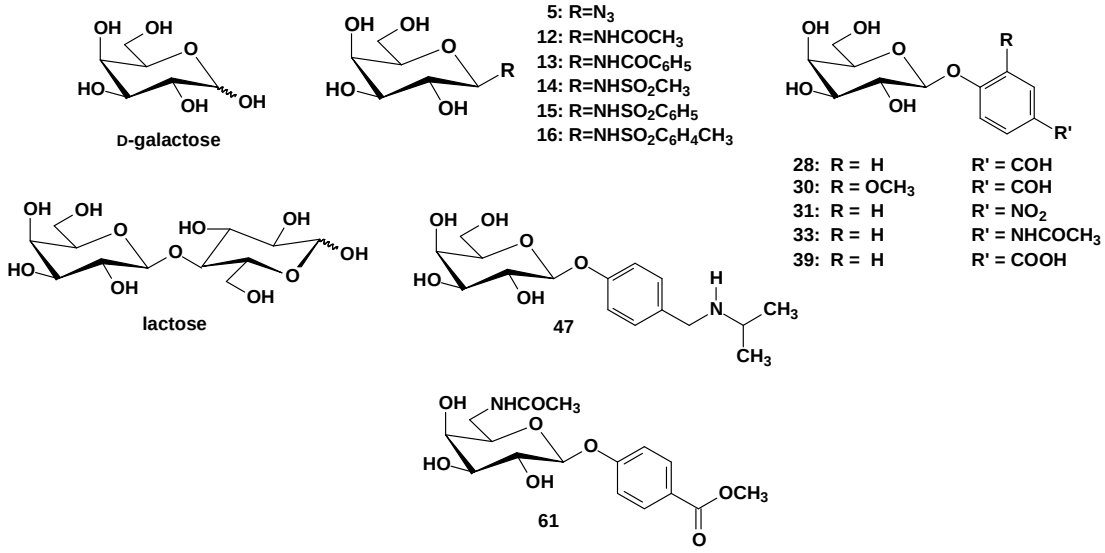


Figura 61: Substâncias avaliadas no ensaio de inibição de eritrofagocitose.

4.3.2.3 Determinação da porcentagem de trofozoítos que fagocitaram eritrócitos

Após este tempo, a interação entre os trofozoítos e os eritrócitos foi interrompida, tanto no controle quanto nos derivados em teste, pela adição de água destilada, a fim de lisar os eritrócitos livres e aqueles aderidos à superfície das amebas. O material foi então centrifugado a 200g por três minutos e os trofozoítos, juntamente com os eritrócitos fagocitados, fixados com glutaraldeído 2,5% v/v em PBS por 30 minutos, à temperatura ambiente. Retirou-se o excesso de glutaraldeído lavando-se os trofozoítos três vezes com PBS. Os eritrócitos ingeridos foram contrastados com diaminobenzidina a 25 mg/100mL em PBS adicionados de 500µL de H_2O_2 40 volumes, seguido de incubação por cinco minutos à temperatura ambiente. Os trofozoítos foram lavados novamente com PBS e centrifugados a 200g por cinco minutos. Foram contadas, com auxílio de microscópio de luz (aumento de 40 vezes), 100 amebas escolhidas ao acaso. Os resultados foram expressos como a porcentagem dos trofozoítos que fagocitaram eritrócitos (comparados pelo teste de Kruskal-Wallis).

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizados trinta derivados monoméricos da D-galactose, obtidos por modificações em C-1 e C-6 desse monossacarídeo. Os derivados obtidos pela manipulação em C-1 foram um derivado azido (**5**), duas D-galactosilamidas (**12** e **13**), três D-galactosilsulfonamidas (**14**-**16**) e doze galactosídeos aromáticos, dentre os quais sete são monossubstituídos na posição *para* do anel aromático (**28**, **29**, **31**, **33, 34, 36 e 39)** e cinco são 2,4-dissubstituídos (**30**, **32**, **35**, **37**, **38**). Um desses galactosídeos (**28**) ainda originou uma série de cinco aminas (**44**-**47** e **52**), e outro (**29**), um grupo de sete derivados substituídos na posição 6 do anel piranosídico (**58**, **61**-**66**). Dos trinta produtos finais idealizados, dezenove são inéditos (sulfonamidas **14**-**16,** galactosídeos **35**-**39**, aminas **44**-**47**, e todos os derivados modificados em C-6). Duas substâncias inéditas (**53** e **67**), originadas de reações de ciclização intramolecular, foram também obtidas, embora não tivessem sido planejadas.

Vários dos derivados obtidos foram avaliados em testes de inibição de dois processos de interação celular mediados por lectinas específicas para D-galactose e D-galactose/*N*-acetil-D-galactosamina, a hemaglutinação promovida pela lectina de *Erythrina cristagalli* e a eritrofagocitose por *Entamoeba histolytica*, respectivamente. Algumas substâncias não foram testadas por limitações referentes à quantidade disponível ou à baixa solubilidade nos veículos empregados nos testes. Pôde-se evidenciar, com os resultados obtidos do teste de hemaglutinação, que as únicas modificações feitas em C-1 da D-galactose que levaram a produtos com melhorias significativas na afinidade pela lectina de *Erythrina cristagalli* foram aquelas associadas aos galactosídeos aromáticos, em especial os produtos **28**-**30**, **32** e **37**. As modificações feitas em C-6 do galactosídeo **29** levaram à obtenção de derivados que apresentaram atividades inibitórias de hemaglutinação inferior àquelas observadas com o protótipo e mesmo com a D-galactose, o que pode confirmar a importância da presença da hidroxila de C-6 para a interação com o sítio de ligação. Conclusões semelhantes podem ser tiradas em relação à inibição do processo de eritrofagocitose com a maioria dos derivados avaliados. Entretanto, com uma dessas substâncias testadas, a isopropilamina **47**, foi observada queda acentuada (65%) no número de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* que fagocitaram hemácias, o que talvez sugira um papel importante da cadeia alquilamínica no aumento de afinidade pela lectina amebiana, o que deve ser comprovado em estudos mais detalhados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAMLID, K. H.; LEE, G.; SMITH, B. V.; RICHARDSON, A. C.; PRICE, R. G. New colorimetric substrates for the assay of glycosidases. *Carbohydrate Research*, 205, C5-C9.

ADLER, P.; WOOD, S. J.; LEE, Y. C.; LEE, R. T.; PETRI Jr, W. A.; SCHNAAR, R. L. High affinity binding of the *N*-acetylgalactosaminides. *The Journal of Biological Chemistry*, 270 (10), 5164-5171, 1995.

BILLMAN, J. H.; DIESING, A. C. Reduction of Schiff bases with sodium borohydride. *Journal of Organic Chemistry*, 22, 1068-1070, 1957.

BANIK, B. K.; MUKHOPADHYAY, C.; VENKATRAMAN, M. S.; BECKER, F. F. A facile reduction of aromatic nitro compounds to aromatic amines by samarium and iodine *Tetrahedron Letters*, 39, 7243-7246, 1998.

BANIK, B. K.; ZEGROCKA, O.; BANIK, I.; HACKFELD, L.; BECKER, F. F. Samarium-induced iodine-catalyzed reduction of imines: synthesis of amine derivatives. *Tetrahedron Letters*, 40, 6731-6734, 1999.

BARTHELSON, R.; MOBASSERI, A.; ZOPF, D.; SIMON, P. Adherence of *Streptococcus pneumoniae* to respiratory epithelial cells is inhibited by sialylated oligosaccharides. *Infection and Immunity*, 66, 1439–1444, 1998.

BEKIRCAN, O.; BEKTAS, H. Synthesis of new bis-1,2,4-triazole derivatives. *Molecules*, 11, 469-473, 2006.

BELLAMY, F. D. Selective reduction of aromatic nitro compounds with stannous chloride in non acidic and non aqueous medium. *Tetrahedron Letters*, 25, 839-842, 1984.

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

BLASQUEZ, S.; RIGOTHIER, M.; HUERRE, M.; GUILLÉN, N. Initiation of inflammation and cell death during liver abcess formation by *Entamoeba histolytica* depends on activity of the galactose/*N*-acetyl-D-galactosamine lectin. *International Journal of Parasitology*, 37, 425-433, 2007.

BOETTNER, D. R.; HUSTON, C. D.; SULLIVAN, J. A.; PETRI, W. A. *Entamoeba hystolytica* and *Entamoeba dispar* utilize externalized phosphatidylserine for recognition and phagocytosis of erythrocytes. *Infection and Immunity*, 73 (6), 3422-3430, 2005.

BOETTNER, D. R.; HUSTON, C.; PETRI, W. A. Galactose/N-acetylgalactosamine lectin: the coordinator of host cell killing. *Journal of Biosciences*, 27 (6), 553-557, 2002.

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

CHADEE, K.; PETRI JR., W. A.; INNES, D. J.; RAVDIN, J. Rat and human colonic mucins bind to and inhibit adherence lectin of *Entamoeba histolytica. Journal of Clinical Investigation*, 80, 1245-1254, 1987.

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

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

CROUCH, R. D.; HOLDEN, M. S.; WEAVER, T. M. Reductive amination of pyruvate esters: a microscale synthesis of N-benzylalanine esters. *The Chemical Educator*, 3 (3), 1998.

CSUROS, Z.; DEAK, G.; HARASZTHY-PAPP, M. Correlation of the optical rotation of aromatic galactosides with the dissociation constants of the corresponding phenols. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 42(3), 263-267, 1964.

DESS, D.; KLEINE, H. P.; WEINBERG, D. V.; KAUFMAN, R. J.; SIDNU, R. S. Phase-transfer catalyzed synthesis of acetylated aryl β-D-glucopyranosides and aryl β-D-galactopyranosides. *Synthesis*, 11, 883-885, 1981.

DEVALAPALLY, H.; NAVATH, R. S.; YENAMANDRA, V.; AKKINEPALLY, R. R.; DEVARAKONDA, R. β-galactoside prodrugs of doxorubicin for application in antibody directed enzyme prodrug therapy/prodrug monotherapy. *Archives of Pharmaceutical Research*, 30 (6), 723-732, 2007.

DIAMOND, L. S. Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudin, 1903 and Entamoeba histolytica-like amoebae. *Journal of Parasitology*, 54, 1047-1056, 1968.

DUSHIN, R. G.; DANISHEFSKY, S. J. Stereospecific synthesis of aryl β–glucosides: an application to the synthesis of a prototype corresponding to the aryloxy carbohydrate domain of vancomycin. *Journal of the American Chemical Society*, 114 (9), 1992.

EKBORG, G.; VRANESIC, B.; BHATTACHARJEE, A. K.; KÓVACS, P.; GLAUDEMANS, C. P. J. Synthesis of *p*-nitrophenyl β-glycosides of (1→6)-β-D-galactopyranosyl-oligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 142, 203-211, 1985.

ELLERVIK, U.; MAGNUSSON, G. Guanidine/guanidinium nitrate: a mild and selective *O*-deacetylation reagent that leaves the *N*-Troc group intact. *Tetrahedron Letters,* 38 (9), 1627-1628, 1997.

ENDO, T.; KOIZUMI, S. Large-scale production of oligosaccharides using engineered bacteria, *Current Opinion in Structural Biology*, 10, 536–541, 2000.

ESTEVES-SOUZA, A.; ECHEVARRIA, A.; SANT'ANNA, C. M. R. Estudo experimental e teórico da redução de bases de Schiff derivadas da 3,3-difenilpropilamina. *Química Nova*, 27 (1), 72-75, 2004.

FARIA, R. A. P. G.; ANDRADE-NETO, M.; PINTO, L. S.; CASTELLÓN, R. R.; CALVETE, J. J.; CAVADA, B. S. Caracterização química parcial e bioquímica de sementes de *Bauhinia forficata* link. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54, 349-353, 2004.

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

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

FISCHER, E.; MECHEL, L. Zur synthese der phenol-glucoside. *Berichte der Deutschen*, 49 (2), 2813-2820, 1916.

FRINGUELLI, F.; PIZZO, F.; VACCARO, L. Cobalt (II) chloride-catalyzed chemoselective sodium borohydride reduction of azides in water. *Synthesis*, 5, 646-650, 2000.

FRUSH, H. L.; ISBELL, H. S. Mutarotation, hydrolysis and structure of D-galactosylamines. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 47, 239-247, 1951.

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

GAO, W. T.; ZHENG, Z. Synthesis and characterization of chiral nitrobenzaldehyde-Schiff base ligands. *Molecules*, 8, 788-792, 2003.

GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration. *Journal of the Chemical Society*, 2866-2869, 1980.

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

GILCHRIST, C. A.; PETRI Jr., W. A. Virulence factors of *Entamoeba histolytica*. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 433-437, 1999.

GOEBEL, W. F.; AVERY, O. T. Chemo-immunological studies on conjugated carbohydrate-proteins: the synthesis of *p*-aminophenol β-glucoside, *p*-aminophenol β-galactoside, and their coupling with serum globulin. *Journal of Experimental Medicine*, 50, 521-531, 1929.

GOLDHAR, J. Erythrocytes as target cells for testing bacterial adhesins. *Methods in Enzymology*, 253, 43-50, 1995.

GOLOLOBOV, Y. G.; KASUKHIN, L. F. Recent advances in the Staudinger reaction. *Tetrahedron*, 48 (8), 1353-1406, 1992.

GORDEN, I. M.; MASKILL, H.; RUASSE, M. Sulphonyl transfer reactions. *Chemical Society Reviews*, 18, 123, 1989.

GRIBBLE, G. W. Sodium borohydride in carboxylic acid media: a phenomenal reduction system. *Chemical Society Reviews*, 27, 395-404, 1998.

GUPTA, K.; CHOU, M. Y.; HOWELL, A.; WOBBE, C.; GRADY, R.; STAPLETON, A. E. Cranberry products inhibit adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *The Journal of Urology*, 177, 2357-2360, 2007.

GUZEN, K. P.; GUAREZEMINI, A. S.; ÓRFÃO, A. T. G.; CELLA, R.; PEREIRA, C. M. P.; STEFANI, H. A. Eco-friendly synthesis of imines by ultrasound irradiation. *Tetrahedron Letters*, 48, 1845-1848, 2007.

HART, D. A. Lectins in biological systems: applications to microbiology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33, 2416-2425, 1980.

HELFERICH, B.; GUNTHER, E.; WINKLER, S. Preparation and enzymic splitting of basic glucosides. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 508, 192-205, 1934.

HERZIG,J. Studies in sugar chemistry: a simple method for *O*-deacylation of polyacylated sugars. *Journal of Organic Chemistry,* 51 (5)**,** 727-730, 1986.

HOUPT, E.; BARROSO, L.; LOCKHART, L.; WRIGHT, R.; CRAMER, C.; LIERLY, D.; PETRI, W. A. Prevention of intestinal amebiais by vaccination with the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNac lectin. *Vaccine*, 22, 611-617, 2004.

HOUSE, H. O. Modern synthetic reactions. 2 ed. Menlo Park: W. A. Benjamin, INC. 1972, 595 p.

HUGHES, M. A.; REED, S. L.; MANN, B. J. Role of the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin in recruiting proteins to the host:parasite interface. *Archives of Medical Research*, 31, S229-S230, 2000.

HUNSEN, M.; LONG, D. A.; D'ARDENNE, C. R.; SMITH, A. L.; Mild one-pot preparation of glycosil bromides. *Carbohydrate Research*, 340, 2670-2674, 2005.

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

IGLESIAS, J. L.; LIS, H.; SHARON, N. Purification and properties of a D-galactose/*N*-acetyl-D-galactosamine-specific lectin from *Erytrina cristagalli. European Journal of Biochemistry*, 123, 247-252, 1982.

IMBERTY, A.; WIMMEROVÁ, M.; MITCHELL, E. P.; GILBOA-GARBER, N. Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition. *Microbes and Infection*, 6 , 221–228, 2004.

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

JACOBSON, R. L., DOYLE, R. J. Lectin-parasite interactions. *Parasitology today*, 12 (2), 55-60, 1996.

JARRAHPOUR, A. A.; SHEKARRIZ, M.; TASLIMI, A. Asymmetric synthesis and antimicrobial activity of some new mono and bicyclic β-lactams. *Molecules*, 9, 939-948, 2004.

JUNG, E. C.; KIM, K. D.; BAE, C. H.; KIM, J. C.; KIM, D. K. A mushroom lectin from ascomycete *Cordyceps militaris*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770, 833–838, 2007.

KAMINAGAA, Y.; SAHINA, F. P.; MIZUKAMI, B. H. Molecular cloning and characterization of a glucosyltransferase catalyzing glucosylation of curcumin in cultured *Catharanthus roseus* cells. *FEBS Letters*, 567,197–202, 2004.

KARLSSON, K. Meaning and therapeutic potential of microbial recognition of host glycoconjugates. *Molecular Microbiology*, 29 (1), 1-11, 1998.

KENNEDY, J. F.; PALVA, P. M. G.; CORELLA, M. T. S.; CAVALCANTI, M. S. M.; COELHO, L. C. B. B. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. *Carbohydrate Polymers*, 26, 219-230, 1995.

KITOV, P. I.; SADOWSKA, J. M.; MULVEY, G.; ARMSTRONG, G. D.; LING, H.; PANNU, N. S.; READ, J.; BUNDLE, D. R. Shiga-like toxins are neutralized by tailored multivalent carbohydrate ligands. *Nature*, 403 , 10-13, 2000.

KLEINE, H. P.; WEINBERG, D. V.; KAUFMAN, R. J.; SIDHU, R. S. Phase-tranfer-catalysed synthesis of 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosides. *Carbohydrate Research*, 142, 333-337, 1985.

KONOZY, E. H.; BERNARDES, E. S.; ROSA, C.; FAÇA, V.; GREENE, L. J.; WARD, R. J. Isolation, purification, and physicochemical characterization of a D-galactose-binding lectin from seeds of *Erythrina speciosa*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 410, 222, 2002.

KOVÁCS, L.; ÓSZ, E.; DOMOKOS, V.; HOLZER, W.; GYÖRGYDÉAK, Z. An easy access to anomeric glycosyl amides and imines (Schiff bases) via transformation of glycopyranosyl trimethylphosphimides. *Tetrahedron*, 57, 4609-4621, 2001.

KRÖEGER, L.;THIEM, J. Synthesis and evaluation of glycosyl donors with novel leaving groups for transglycosylations employing β-galactosidase from bovine test. *Carbohydrate Research*, 342 (3-4), 467-481, 2007.

LANE, C. F. Sodium cianoborohydride – a highly selective reducing agent for organic functional groups. *Synthesis*, 135-146, 1975.

LAYER, R. W. The chemistry of imines. *Chemical Reviews*, 63, 489-510, 1963.

LEMIEUX, R. U.; HENDRIKS, K. B. ; STICK, R. V. ; JAMES, K. Halide ion catalyzed glycosidation reactions: syntheses of α-linked disaccharides. *Journal of the American Chemical Society*, 97, 4056-4062, 1975.

LEWIS, B. A.; SMITH, F.; STEPHEN, A. M. 2,5- and 3,6-anhydrosugars and their derivatives. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 2, 172-188, 1963. Apud: STICK, R. V. Carbohydrates: the sweet molecules of life. London: Academic Press. 2001, p.95.

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

LIENER, I. E.; SHARON, N.; GOLDSTEIN, I. J.; *The Lectin: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine.* Orlando: Academic Press, Inc., 1986. 600 p.

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

LORIS, R.; HAMELRYCK, T.; BOUCKAERT, J.; WYNS, L. Legume lectin structure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1383, 9-36, 1998.

LOW, C. M. R.; BROUGHTON, H. B.; KALINDJIAN, S. B.; McDONALD, I. M. Novel oxathiazinones as gastrin ligands: unexpected products from the Schotten-Baumann reaction of arylsulphonyl-chlorides with derivatives of aspartic acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2 (4), 325-330, 1992.

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

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

MAKIMURA, Y.; WATANABE, S.; SUZUKI, T.; SUZUKI, Y.; ISHIDA, H.; KISO, M.; KATAYAMA, T.; KUMAGAIA, H.; YAMAMOTOA, H. Chemoenzymatic synthesis and application

of a sialoglycopolymer with a chitosan backbone as a potent inhibitor of human influenza virus hemagglutination. *Carbohydrate Research*, 341, 1803–1808, 2006.

MATTA, K. L.; BARLOW, J. J. Synthesis of *p*-nitrophenyl 6-*O*-(2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-β-D-galactopyranoside and *p*-nitrophenyl-*O*-β-D-glucopyranosyl)-(1→3)-*O*-(2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-β-D-galactopyranoside. *Carbohydrate Research*, 53, 209-216, 1977.

MIRIYALA, B.; BHATTACHARYYA, S.; WILLIAMSON, J. S. Chemoselective reductive alkylation of ammonia with carbonyl compounds: synthesis of primary and symmetrical secondary amines. *Tetrahedron Letters*, 60, 1463-1471, 2004.

MYSORE, J.V.; WIGGINTON, T.; SIMON, P.M.; ZOPF, D.; HEMAN-ACKAH, L.M.; DUBOIS, A. Treatment of Helicobacter pylori infection in rhesus monkeys using a novel antiadhesion compound. *Gastroenterology*, 117, 1316-1325.

MOHRI,K.; WATANABE, Y.; YOSHIDA, Y.; SATOH, M.; ISOBE, K.; SUGIMOTO, N.; TSUDA, Y. Synthesis of glycosylcurcuminoids. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 51(11) 1268-1272, 2003.

MOURICOUT, M.; PETIT, J. M.; CARIAS, J. R.; JULIEN, R. Glycoprotein glycans that inhibit adhesion of *Escherichia coli* mediated by K99 fimbriae: treatment of experimental colibacillosis. *Infection and Immunity*, 58, 98–106, 1990.

NAGAJARA, D.; PASHA, M. A. Reduction of aryl nitro compounds with aluminium/NH_4Cl: effect of ultrasound on the rate of the reaction. *Tetrahedron Letters*, 40, 7855-7856, 1999.

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

OKADA, M.; NOZAKI, T. New insights into molecular mechanisms of phagocytosis in *Entamoeba histolytica* by proteomic analysis. *Archives of Medical Research*, 37, 244-252, 2006.

OTERA, J. Transesterication. *Chemical Reviews*, 93, 1449-1470, 1993.

PACHECO-YÉPEZ, J.; SHIBAYAMA, M.; CAMPOS-RODRÍGUEZ, R.; PETRI, W. A.; TSUTSUMI, V. *Archives of Medical Research*, 31, 231-233, 2000.

PERIASAMY, M.; THIRUMALAIKUMAR, M. Methods of enhancement of reactivity and selectivity of sodium borohydride for applications in organic synthesis. *Journal of Organometallic Chemistry*, 609, 137-151, 2000.

PONTICELLI, F.; TRENDAFILOVA, A.; VALOTI, M.; SAPONARA, S.; SGARAGLIB, G. Synthesis and antiperoxidant activity of new phenolic *O*-glycosides. *Carbohydrate Research*, 330, 459–468, 2001.

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

RAMASAMY, R.; WANNIARACHCHI, I. C.; SRIKRISHNARAJ, K. A.; RAMASAMY, M. S. Mosquito midgut glycoproteins and recognition sites for malaria parasites. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1361,114–122, 1997.

REISS, P.; BURNETT, D. A.; ZAKS, A. An enzymatic synthesis of glucuronides of azetidinone-based cholesterol absorption inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 7, 2199-2202, 1999.

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

ROY, R.; KIM, J. M. Cu(II)-Self-assembling bipyridyl-glycoclusters and dendrimers bearing the Tn-antigen cancer marker: synthesis and lectin binding properties. *Tetrahedron*, 59, 3881-3893, 2003.

RUTENBER, E.; KATZIN, B. J.; ERNST, S.; COLLINS, E. J.; MLSNA, D.; READY, M. P.; ROBERTUS, J. D. Crystallographic refinement of ricin to 2.5 A. *Proteins*, 10, 240, 1991.

SABESAN, S.; NEIRA, S. Synthesis of glycosylphosphates and azides . *Carbohydrate Research*, 223, 169-185, 1992.

SAUER, F. G.; MULVEY, M. A.; SCHILLING, J. D.; MARTINEZ, J. J.; HULTGREN, S. J. Bacterial pili: molecular mechanisms of pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology*, 3, 65–72, 2000.

SACKS, D. L.; HIENY, S.; SHER, A. Identification of cell surface carbohydrate and antigenic changes between noninfective and infective developmental stages of *Leishmania major* promastigotes during metacyclogenesis. *Journal of Immunology*, 135, 564–569, 1985.

SCHIMIDT, R. R.; KINZY, W. Anomeric-oxygen activation for glycoside synthesis: the trichloroacetimidate method. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 50, 21-124, 1994.

SCHMIDT, R. R.; MICHEL, J. Direct *O*-glycosyl trichloroacetimidate formation, nucleophilicity of the anomeric oxygen atom. *Tetrahedron Letters*, 25 (8), 821-824, 1984.

SCRIVEN, E. F. V.; TURNBULL, K. Azides: their preparation and synthetic uses. *Chemical Reviews*, 88, 297-368, 1988.

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

SHARON, N.; LIS, H. Carbohydrates in cell recognition. *Scientific American*, Jan., 74-80, 1993.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*, 14 (11), 53R–62R, 2004.

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

SHARON, N.; OFEK, I. Safe as mother's milk: carbohydrates as future anti-adhesion drugs for bacterial diseases. *Glycoconjugate Journal* , 17, 659-664, 2000.

SHIBATA, I.; MORIUCHI-KAWAKAMI, T.; TANIZAWA, D.; SUWA, T.; SUGIYAMA, E.; MATSUDA, H.; BABA, A. Chemoselective reductions of imino groups by dibutyltin chloride hydride complex. *Journal of Organic Chemistry*, 63, 383, 1998.

SILBER, A. M.; MARCIPAR, I. S.; ROODVELDT, C.; MECKERT, P. C.; LAGUENS, R.; MARCIPARA, A. J. Trypanosoma cruzi: identification of a galactose-binding protein that binds to cell surface of human erythrocytes and is involved in cell invasion by the parasite. *Experimental Parasitology*, 100, 217–225, 2002.

SINNOTT, M. L. β-Galactosidase-catalysed hydrolysis of β-D-galactopyranosyl azide. *Biochemical Journal*, 125, 717-719, 1971.

SPRING, M. M. A summary of the reactions of aldehydes with amines. *Chemical Reviews*, 26, 293-338, 1940.

STICK, R. V. Carbohydrates: the sweet molecules of life. London: Academic Press. 2001, p.29.

SUGIHARA, J. M.; TEERLINK, W. J.; MacLEOD, R.; DARRENCE, S. M.; SPRINGER, C. H. Direct synthesis of some ciano and nitro derivatives of carbohydrates by nucleofilic displacement. *Journal of Organic Chemistry*, 28, 2079-2082, 1963.

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

SWAIN, C. G.; BROWN, J. F. Concerted displacement reactions: polyfunctional catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 74, 2538-2543, 1952.

THIERING, S.; SOWA, C. E.; THIEM, J. Stereoselective photochemical transformations of hexopyranosyl imides to highly functionalised heterocycles. *Journal of Chemical Society, Perkin Transation,* 801-806, 2001.

TSUKINOKI, T.; MITOMA, Y.; NAGASHIMA, S.; KAWAJI, T.; HASHIMOTO, I.; TASHIRO, M. Organic reactions in water. Part 1. A convenient method for reduction of imines using zinc powder. *Tetrahedron Letters*, 39, 8873-8876, 1998.

TURNER, N. A.; EICHINGER, D. *Entamoeba invadens*: the requirement for galactose ligands during encystment. *Experimental Parasitology*, 116, 467-474, 2007.

TURTON, K.; NATESH, R.; THYAGARAJAN, N.; CHADDOCK, J. A.; ACHARYA, K. R. Crystal structures of *Erythrina cristagalli* lectin with bound *N*-linked oligosaccharide and lactose. *Glycobiology*, 14 (10), 923-929, 2004.

UKKONEN, P.; VARIS, K.; JERNFORS, M.; HERVA, E.; JOKINEN, J.; RUOKOKOSKI, E.; ZOPF, D.; KILPI, T. Treatment of acute otitis media with an antiadhesive oligosaccharide: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet,* 356, 1398–402, 2000.

VARIYAM, E. P. Luminal bacteria and proteases together decrease adherence of *entamoeba histolytica* trophozoites to Chinese hamster ovary epithelial cells: a novel host defense against an enteric pathogen. *Gut*, 39, 521-527, 1996.

VARMA, R. S.; DAHIYA, R.; KUMAR, S. Clay catalyzed synthesis of imines and enamines under solvent-free conditions using microwave irradiation. *Tetrahedron Letters,* 38 (12), 2039-2042, 1997.

VEKEMANS, J. A. J. M.; FRANKEN, J. M. A.; CHITTENDEN, J. F. G.; GODEFROI, E. F. An efficient synthesis of (*S*)-5-hydroxymethyl-2(5H)-furanone. *Tetrahedron Letters*, 28, 2299-2300, 1987.

VON ITZSTEIN, M.; PLEBANSKI, M.; COOKE, B. M.; COPPEL, R. L. Hot, sweet and sticky: the glycobiology of *Plasmodium falciparum*. *Trends in Parasitology*, 24 (5), 210-218, 2008.

WU, A. M.; WU, J. H.; TSAI, M.; YANG, Z.; SHARON, N.; HERP, A. Differential affinities of *Erythrina cristagalli* lectin (LEC) toward monosaccharides and polyvalent mammalian structural units. *Glycoconjugate Journal*, 24, 591-604, 2007.

WU. A. M.; LISOWSKA, E.; DUK, M.; YANG, Z. Lectins as tools in glycoconjugate research. *Glycoconjugate Journal*, 2008.

YI, D.; LEE, R. T.; LONGO, P.; BOGER, E. T.; LEE, Y. C.; PETRI Jr, W. A; SCHNAAR, R. L. Substructural specificity and polyvalent carbohydrate recognition by the *Entamoeba histolytica* and rat hepatic *N*-acetylgalactosamine/galactose lectins. *Glycobiology*, 8 (10) 1037–1043, 1998.

ZOPF, D.; ROTH, S. Oligosaccharide anti-infective agents. *The Lancet*, 347, 1017-1021, 1996.

APÊNDICE

ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

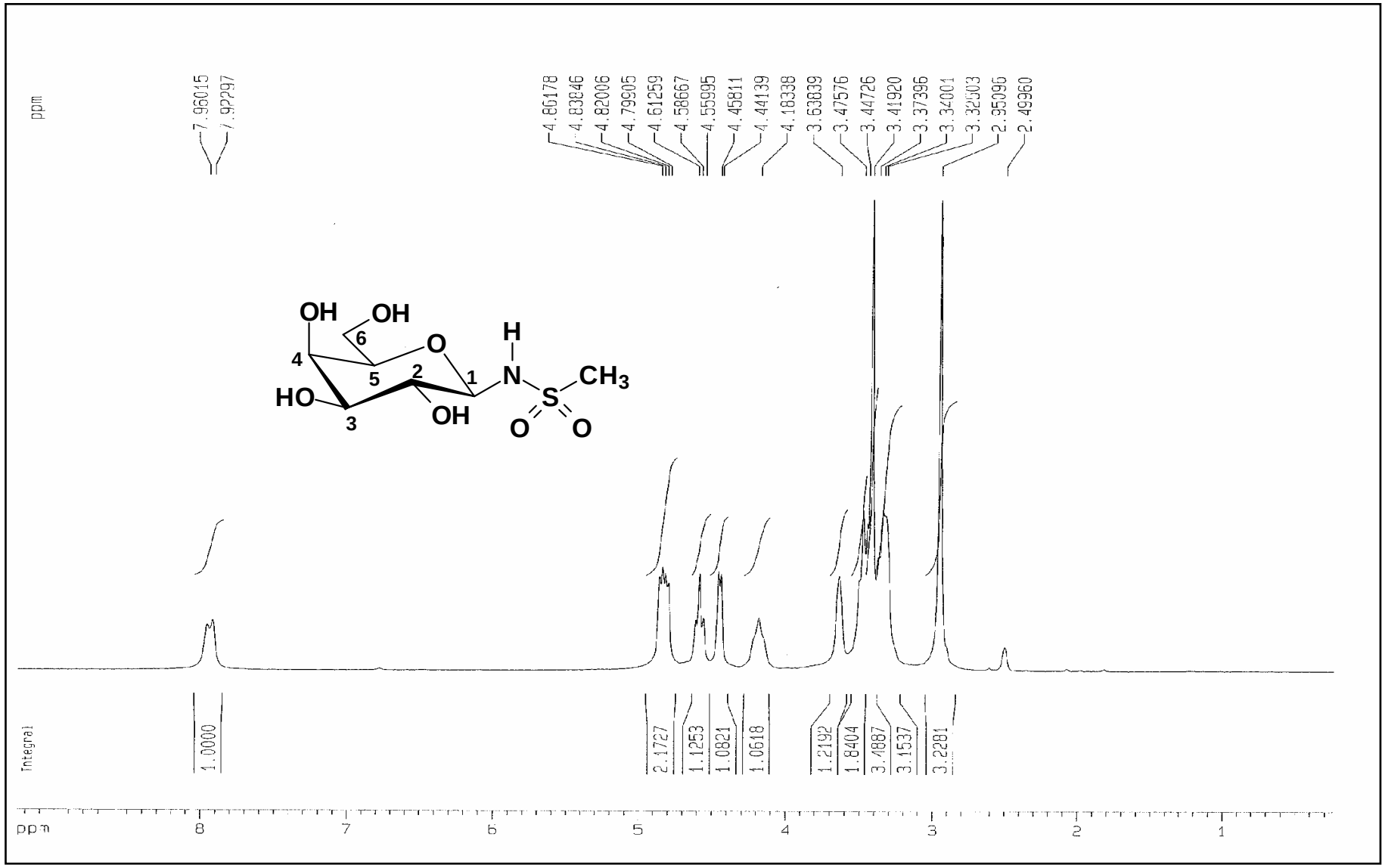


Figura 62: Espectro de RMN de ^{1}H de **14** (200 MHz, DMSO-d_6)

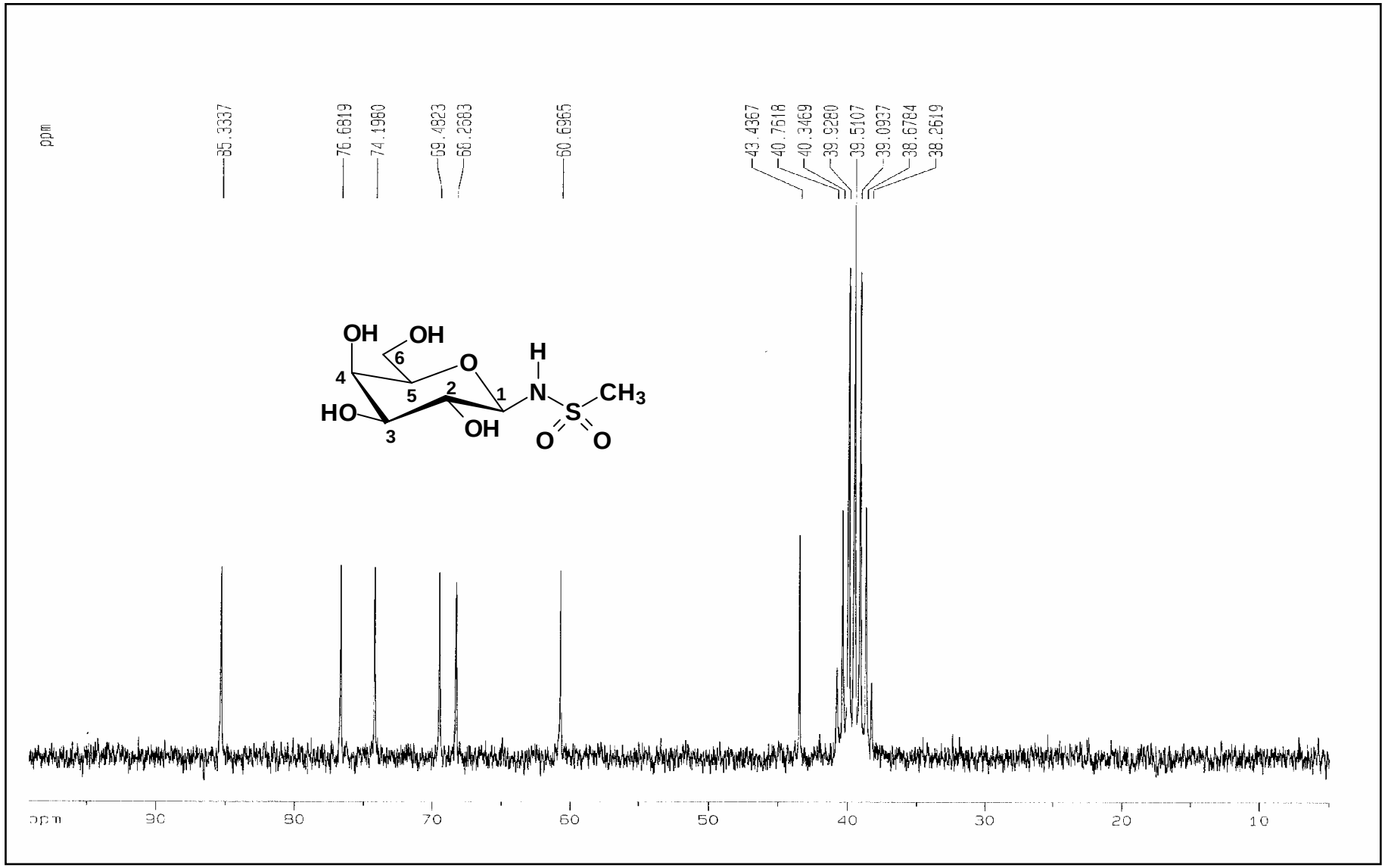


Figura 63: Espectro de RMN de ^{13}C de **14** (50 MHz, DMSO-d_6)

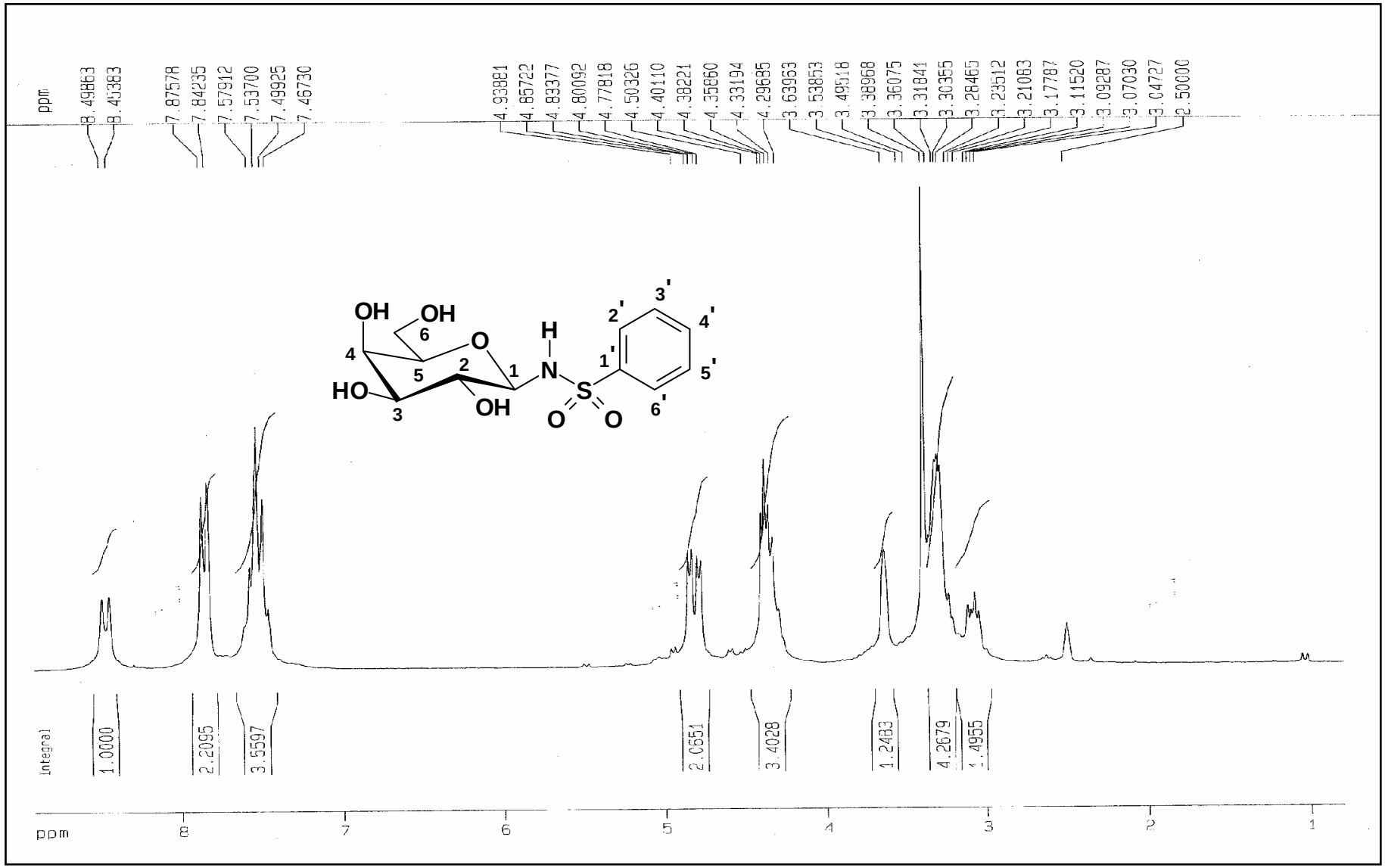


Figura 64: Espectro de RMN de ^{1}H de **15** (200 MHz, DMSO-d_6)

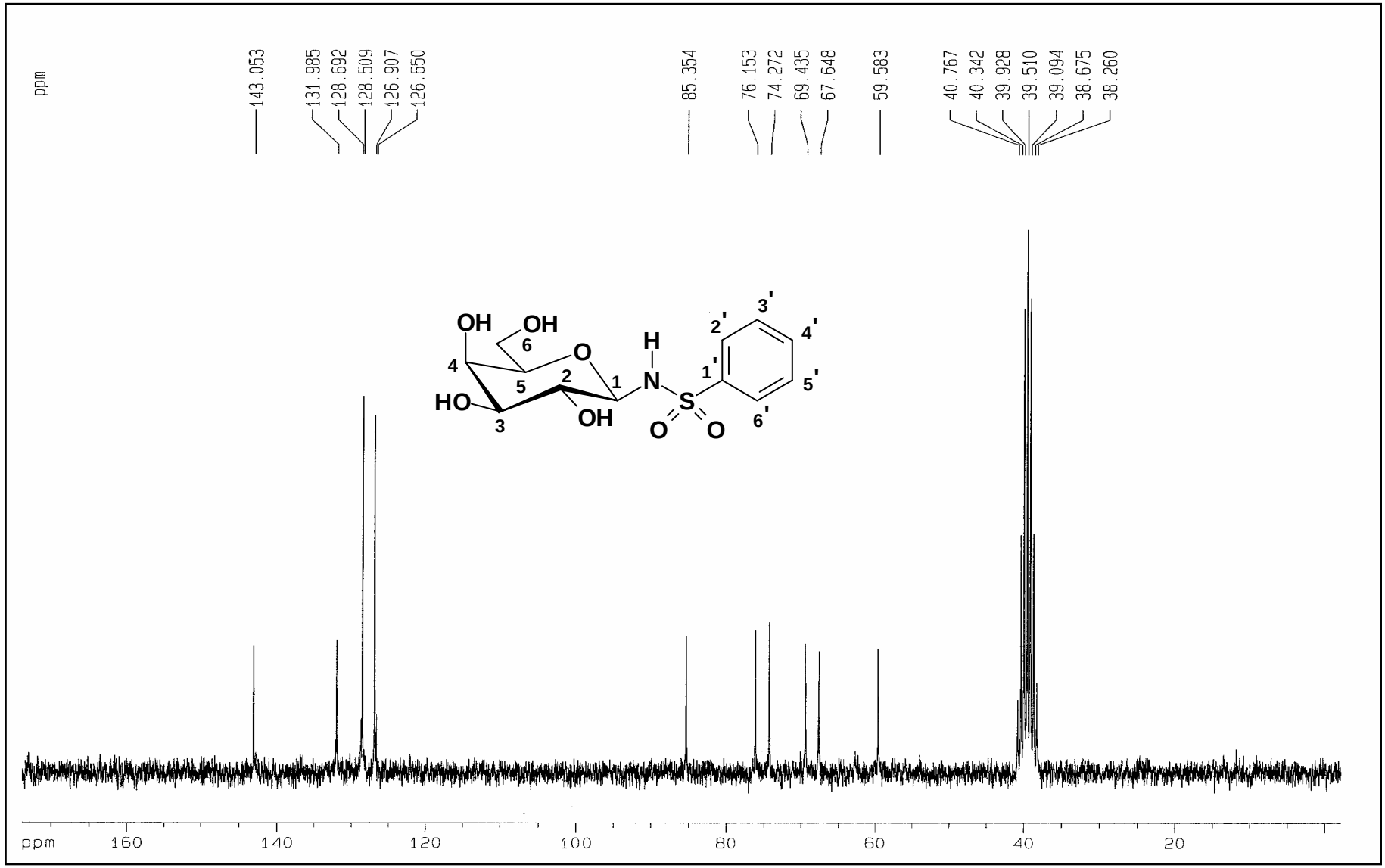


Figura 65: Espectro de RMN de ^{13}C de **15** (50 MHz, DMSO-d_6)

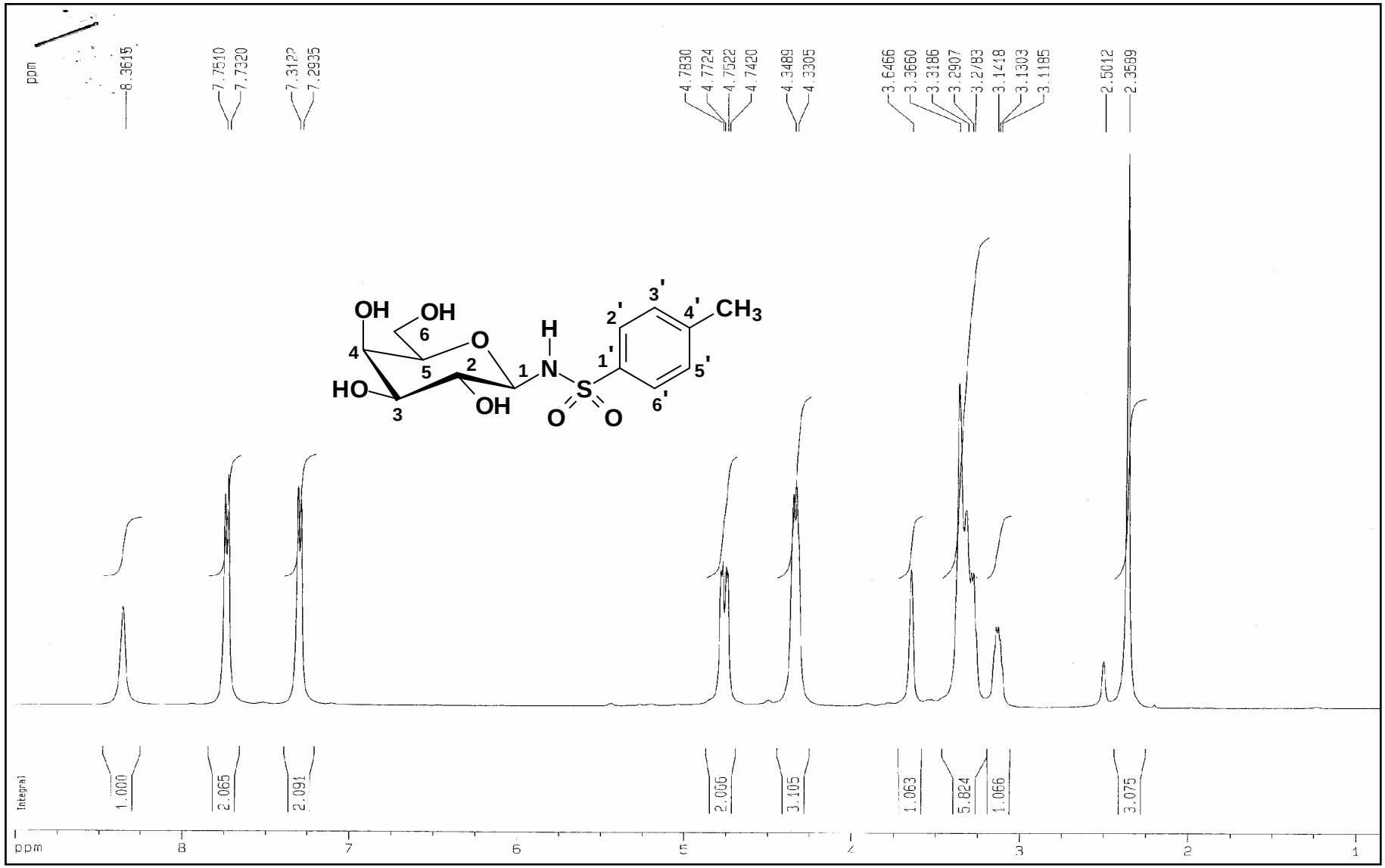


Figura 66: Espectro de RMN de ^{1}H de **16** (200 MHz, DMSO-d_6)

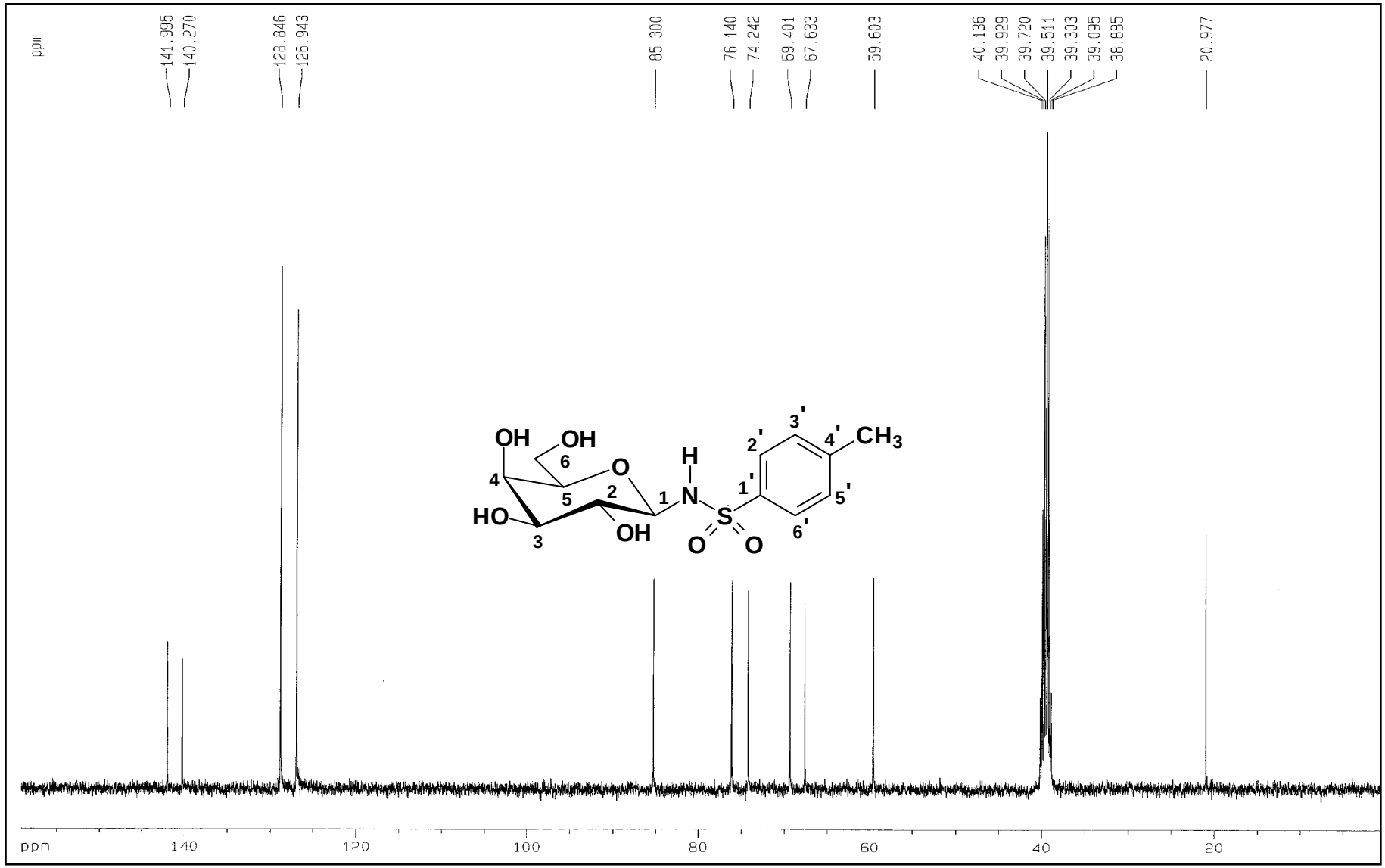


Figura 67: Espectro de RMN de ^{13}C de **16** (50 MHz, DMSO-d_6)

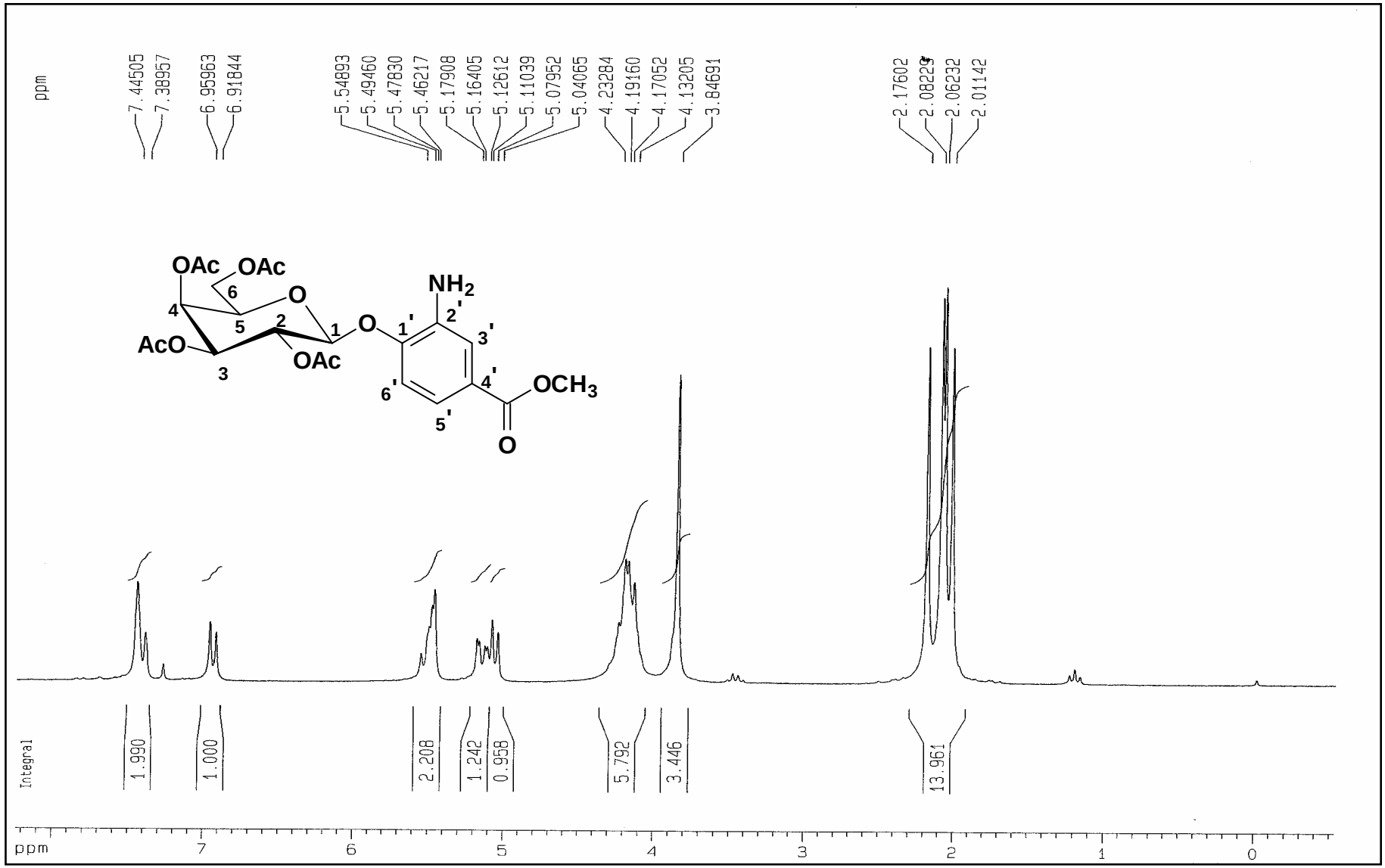


Figura 68: Espectro de RMN de ^{1}H de **23** (200 MHz, DMSO-d_6)

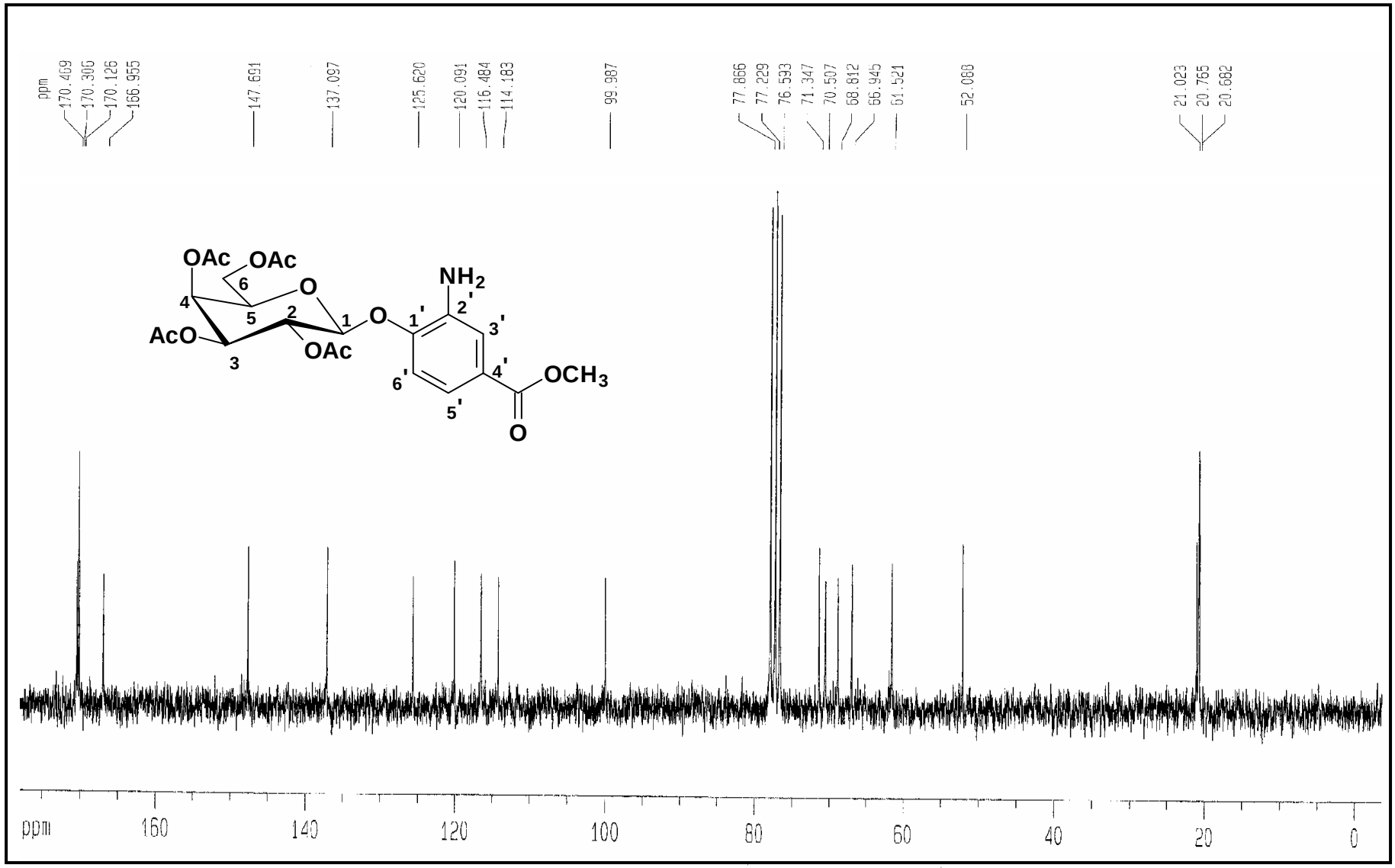


Figura 69: Espectro de RMN de ^{13}C de **23** (50 MHz, DMSO-d_6)

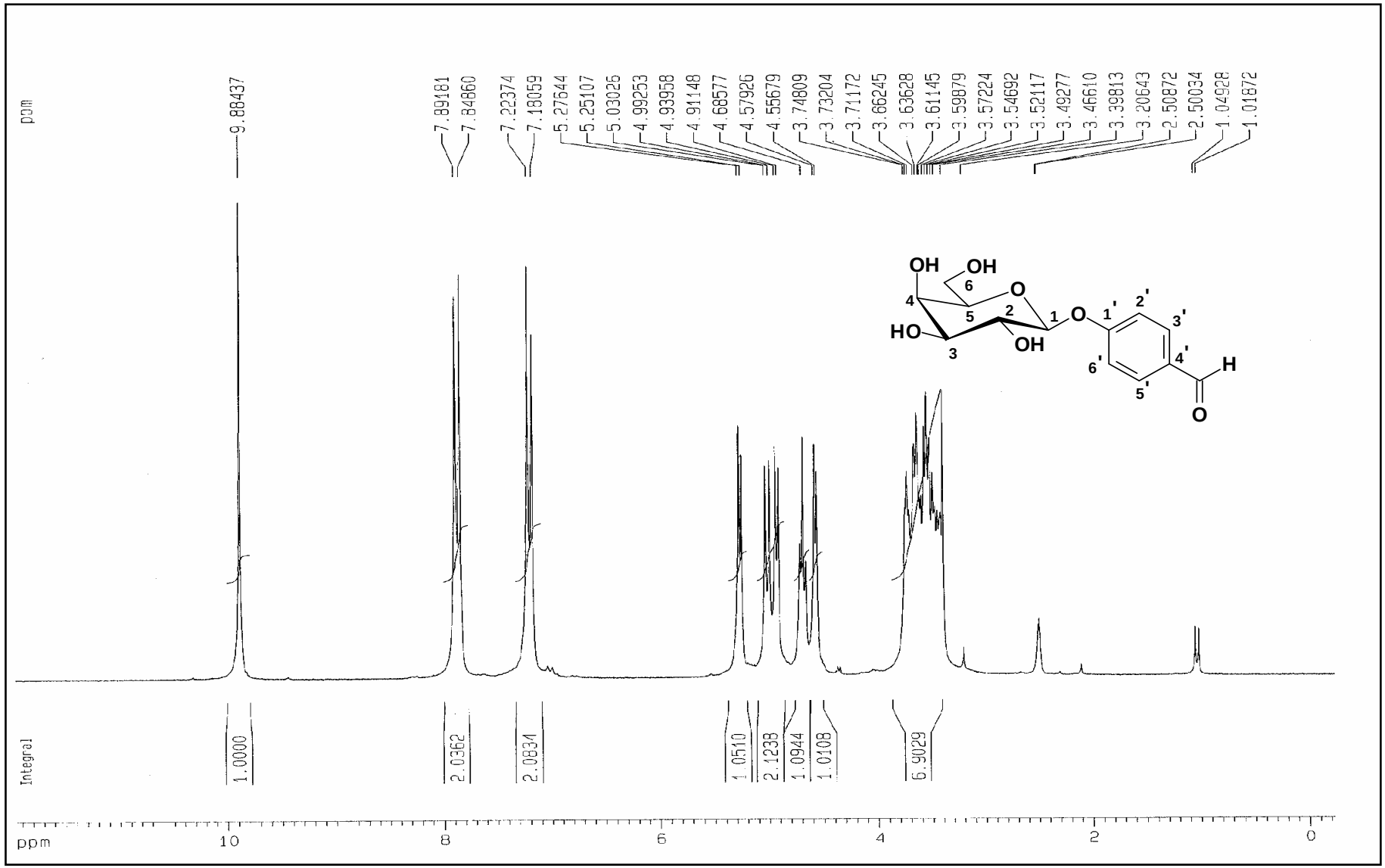


Figura 70: Espectro de RMN de ^{1}H de **28** (200 MHz, DMSO-d_6)

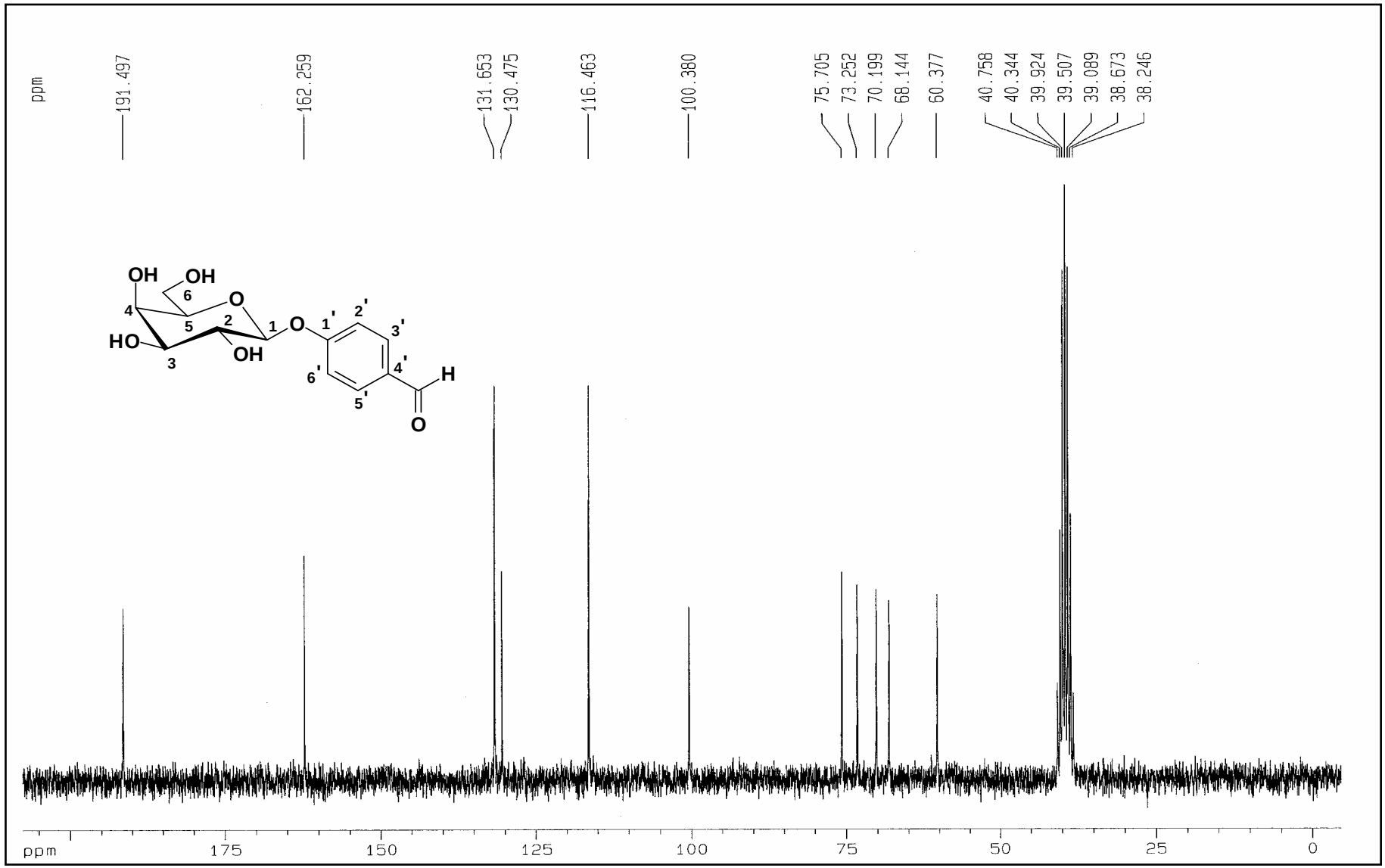


Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}Cde **28** (50 MHz, DMSO-d_6)

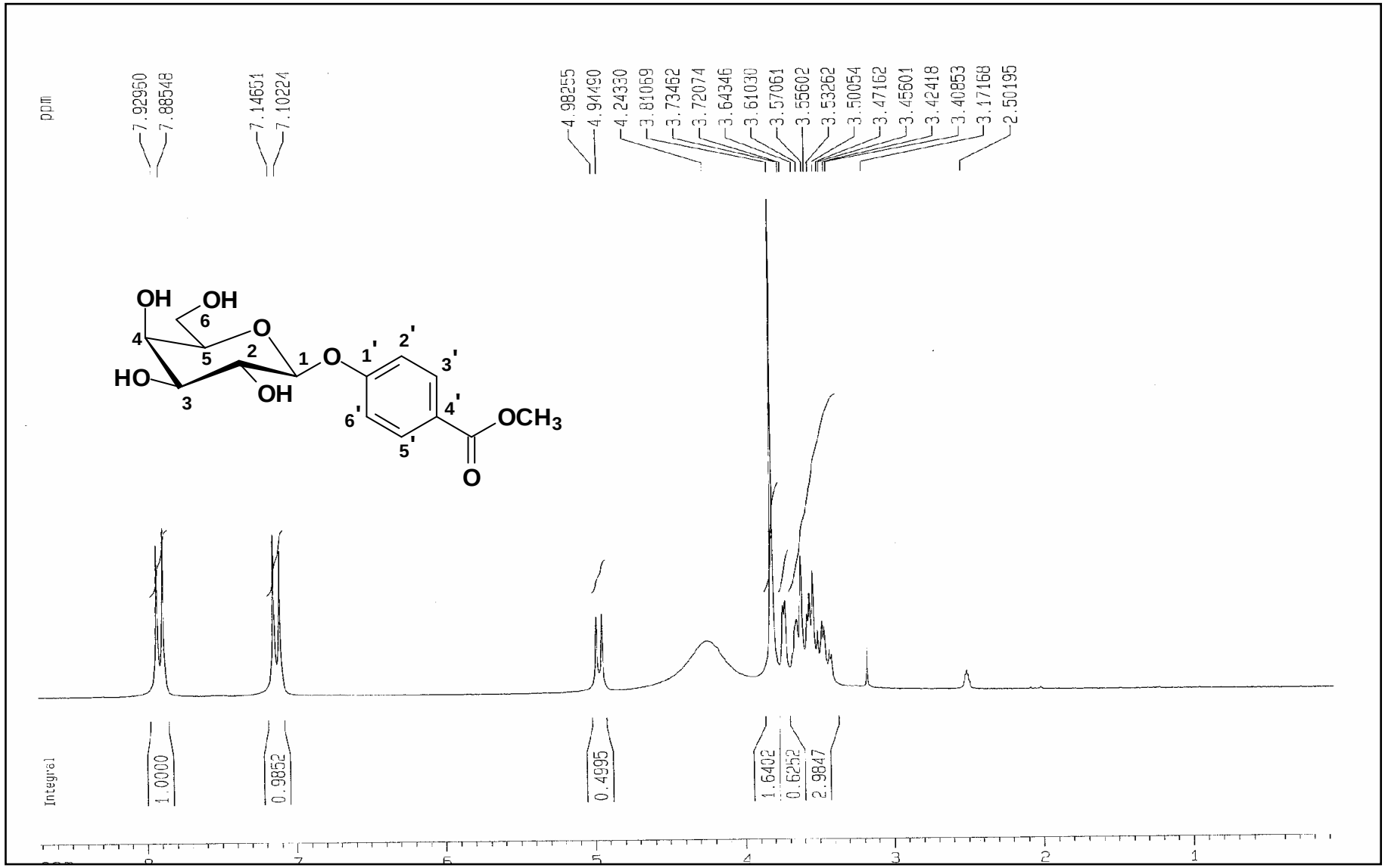


Figura 72: Espectro de RMN de ^{1}H de **29** (200 MHz, DMSO-d_6)

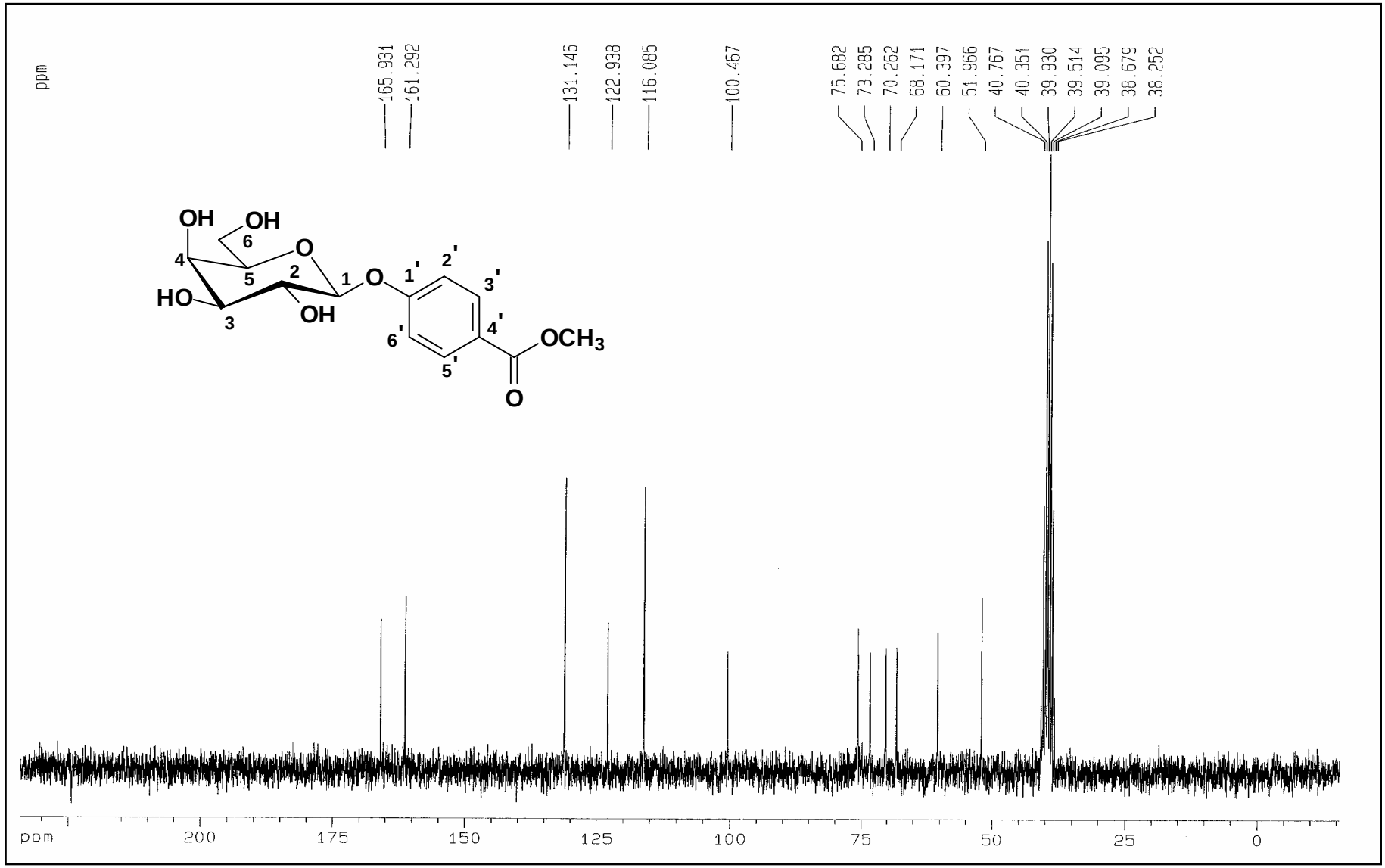


Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C de **29** (50 MHz, DMSO-d_6)

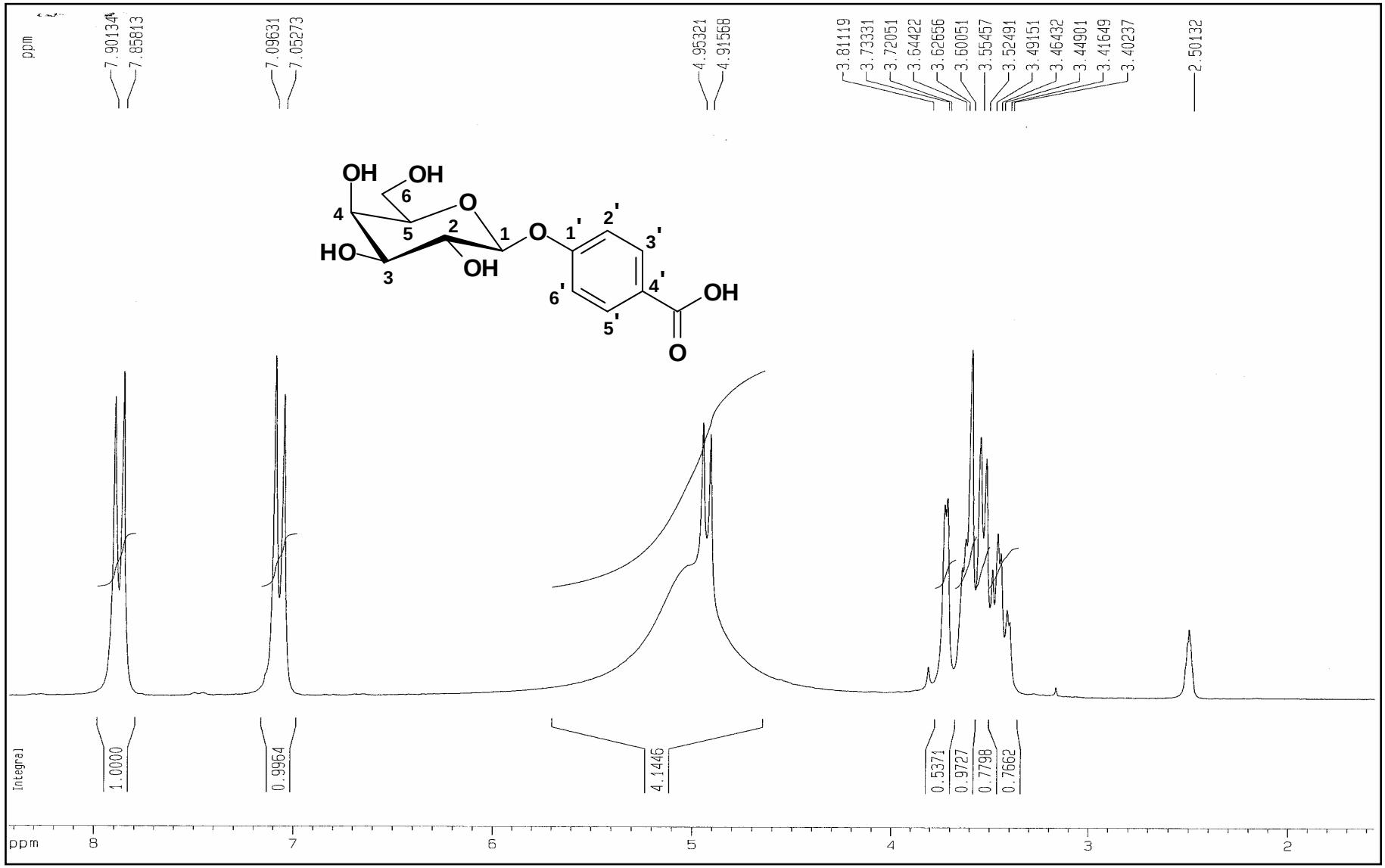


Figura 74: Espectro de RMN de ^{1}H de **39** (200 MHz, DMSO-d_6)

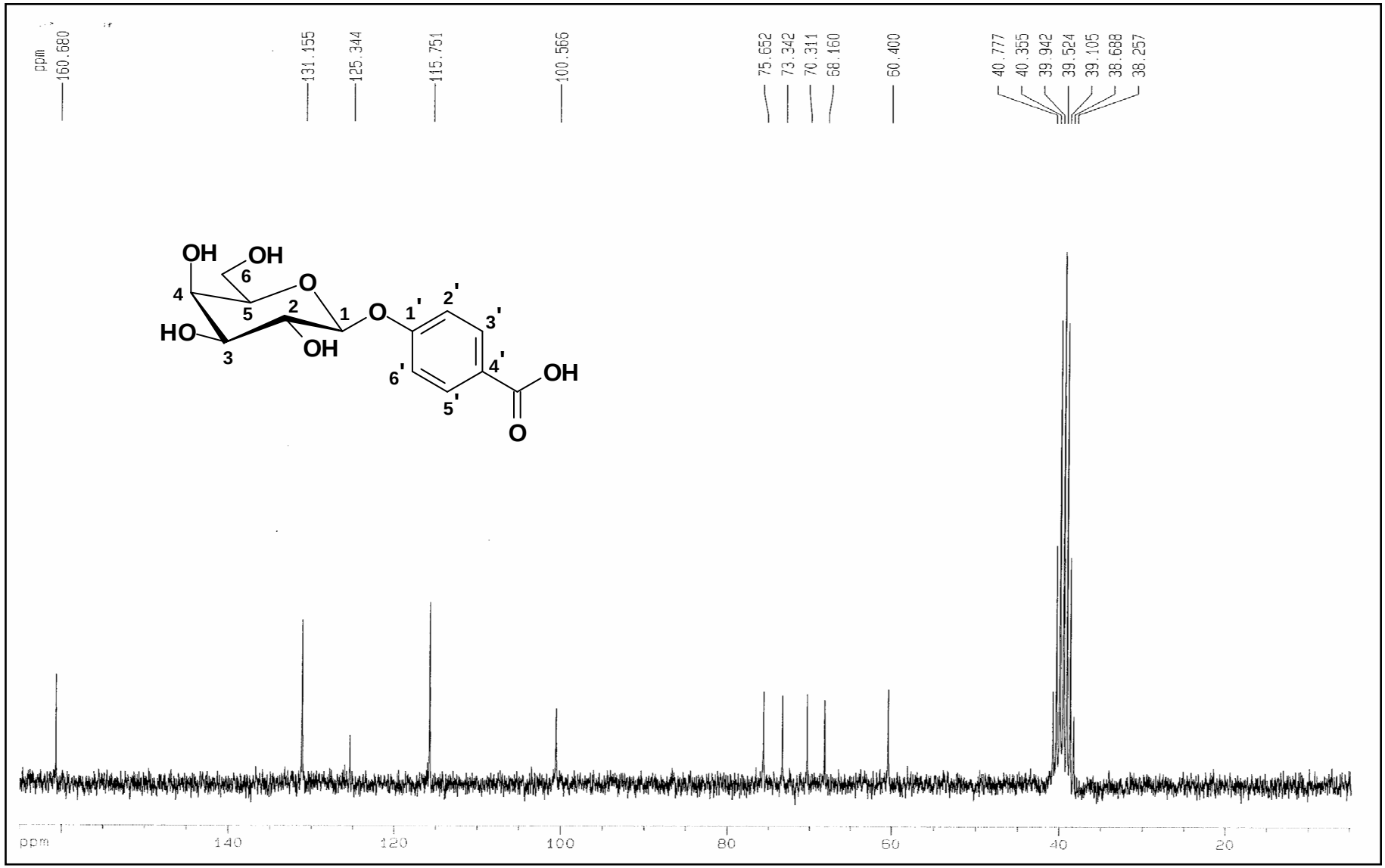


Figura 75: Espectro de RMN de ^{13}C de **39** (50 MHz, DMSO-d_6)

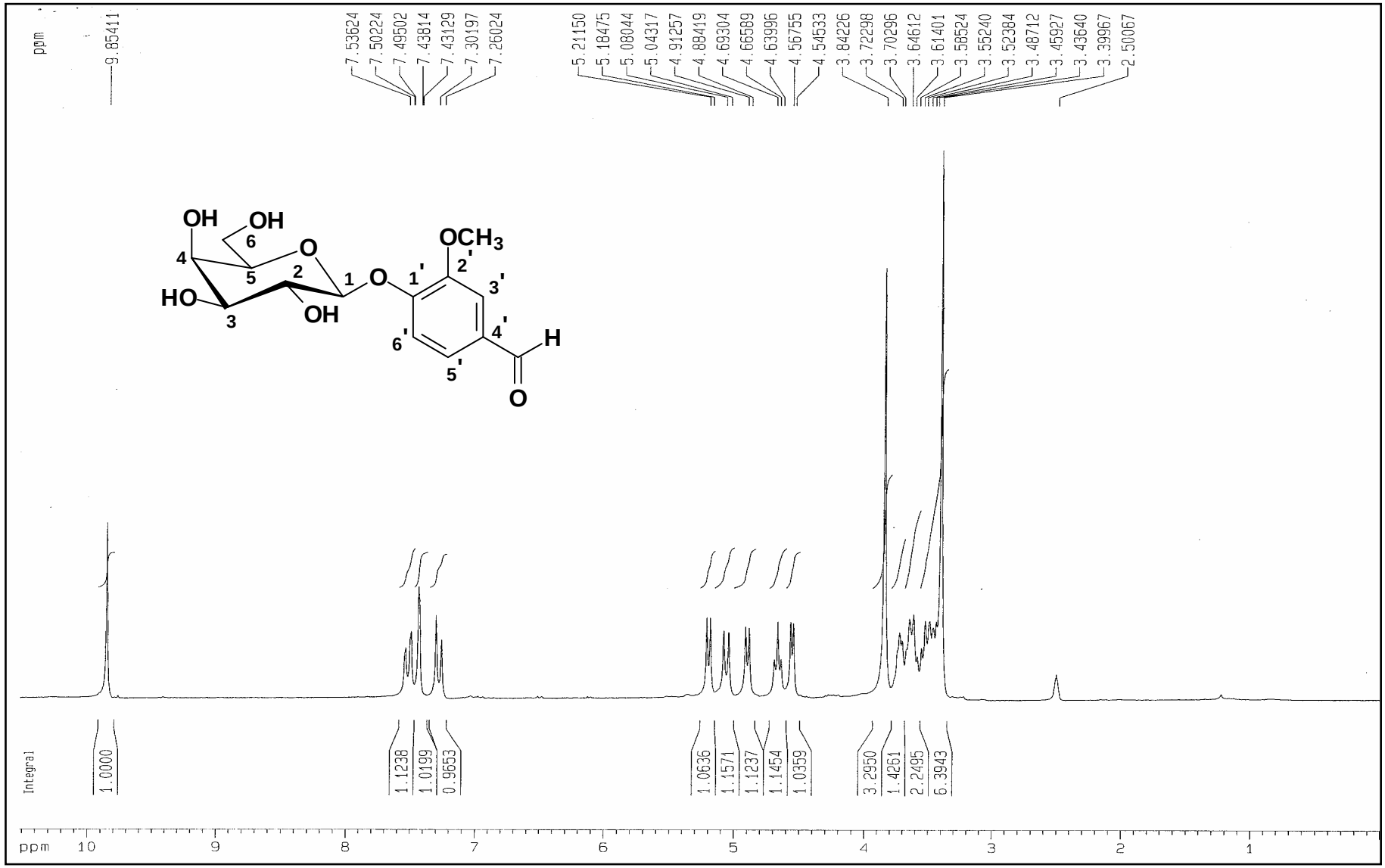


Figura 76: Espectro de RMN de ^{1}H de **30** (200 MHz, DMSO-d_6)

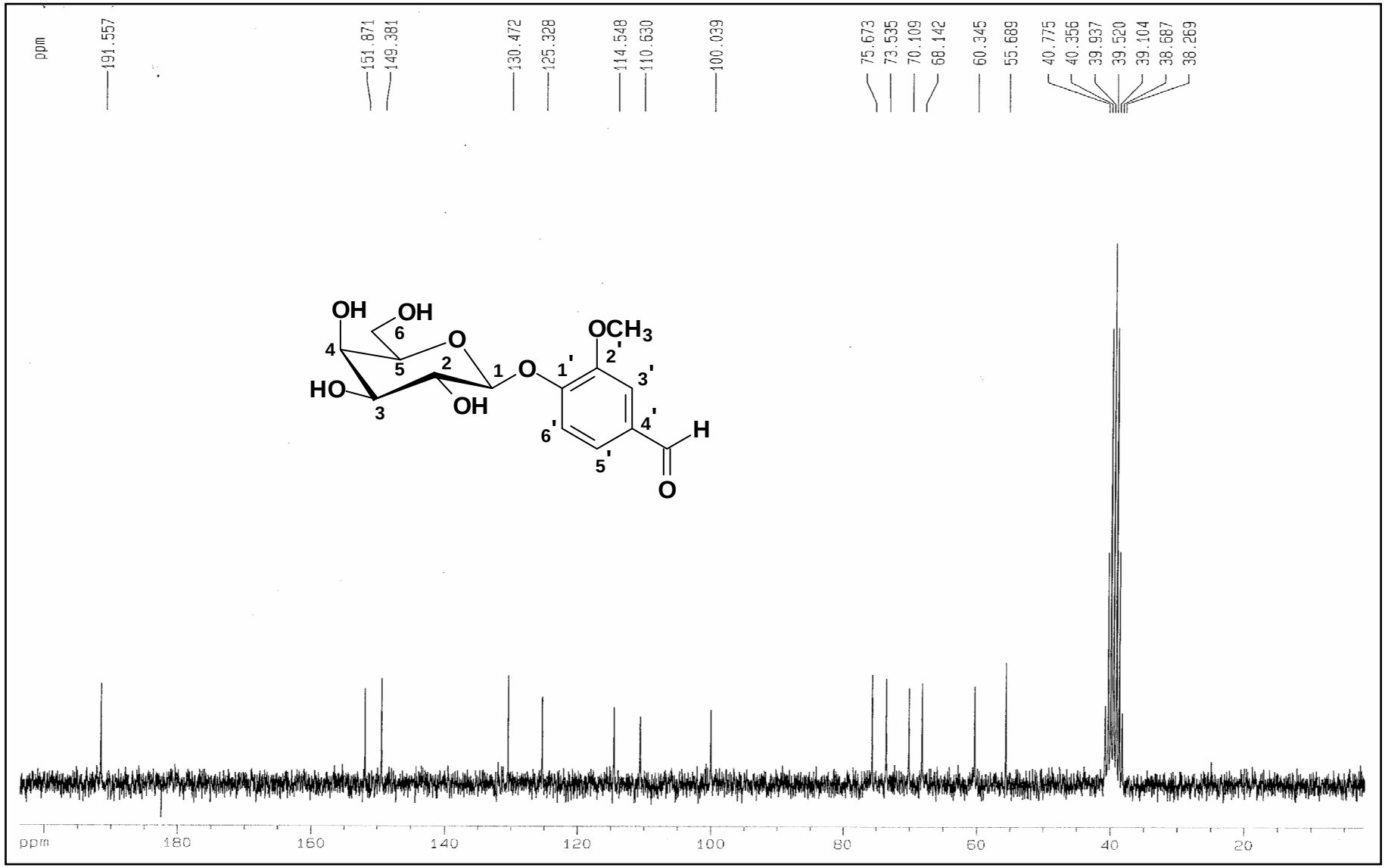


Figura 77: Espectro de RMN de ^{13}C de **30** (50 MHz, DMSO-d_6)

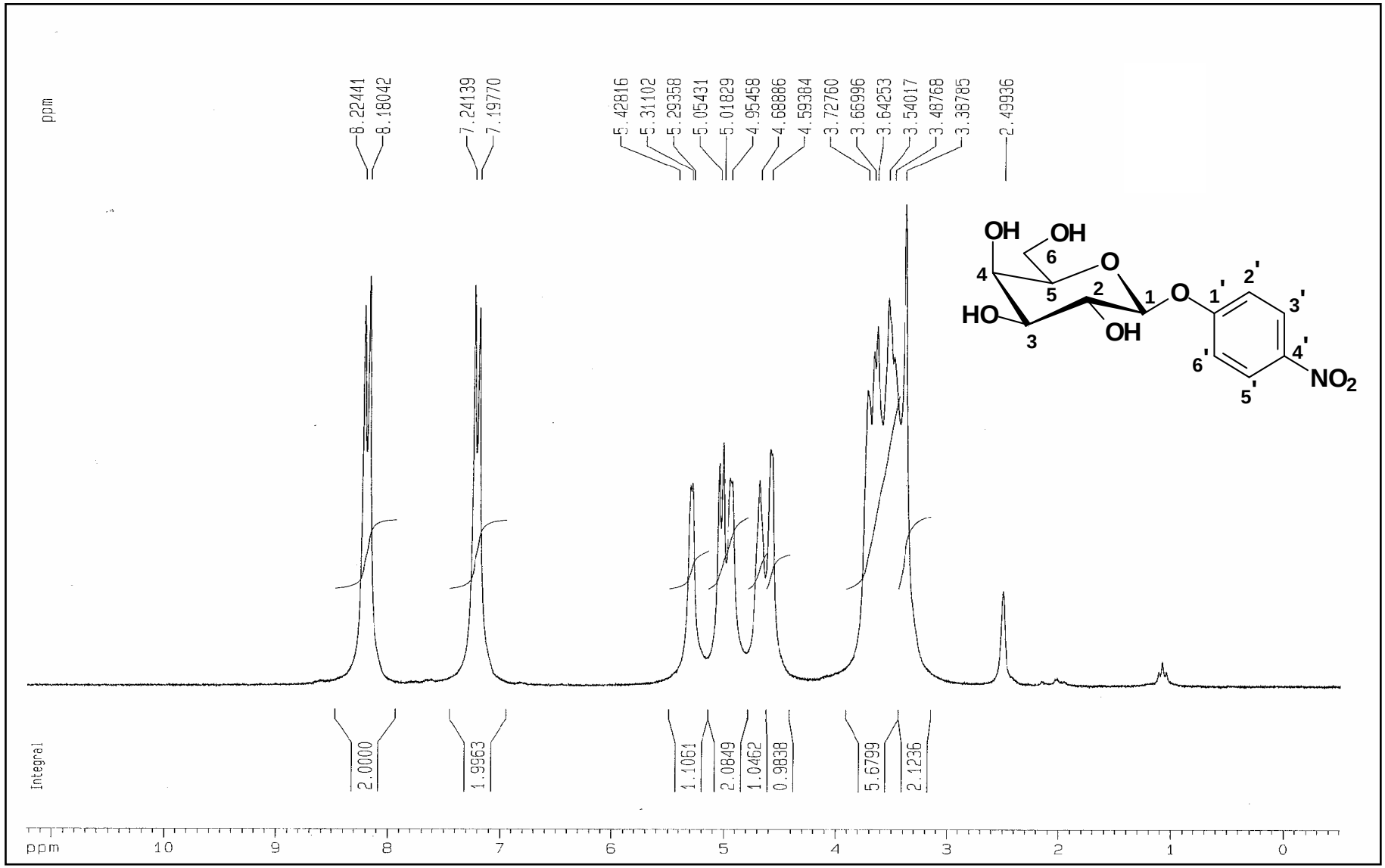


Figura 78: Espectro de RMN de ^{1}H de **31** (200 MHz, DMSO-d_6)

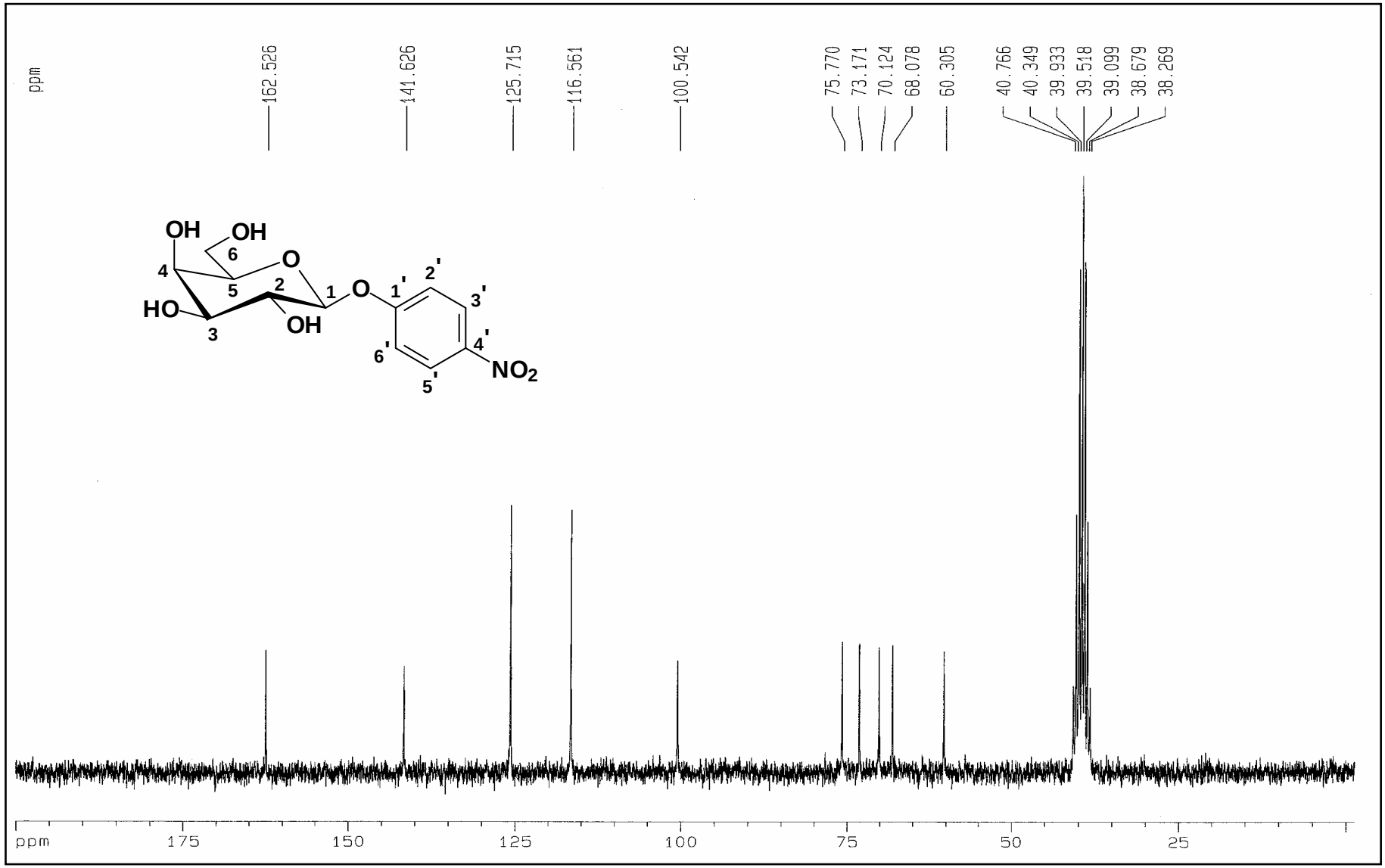


Figura 79: Espectro de RMN de ^{13}C de **31** (50 MHz, DMSO-d_6)

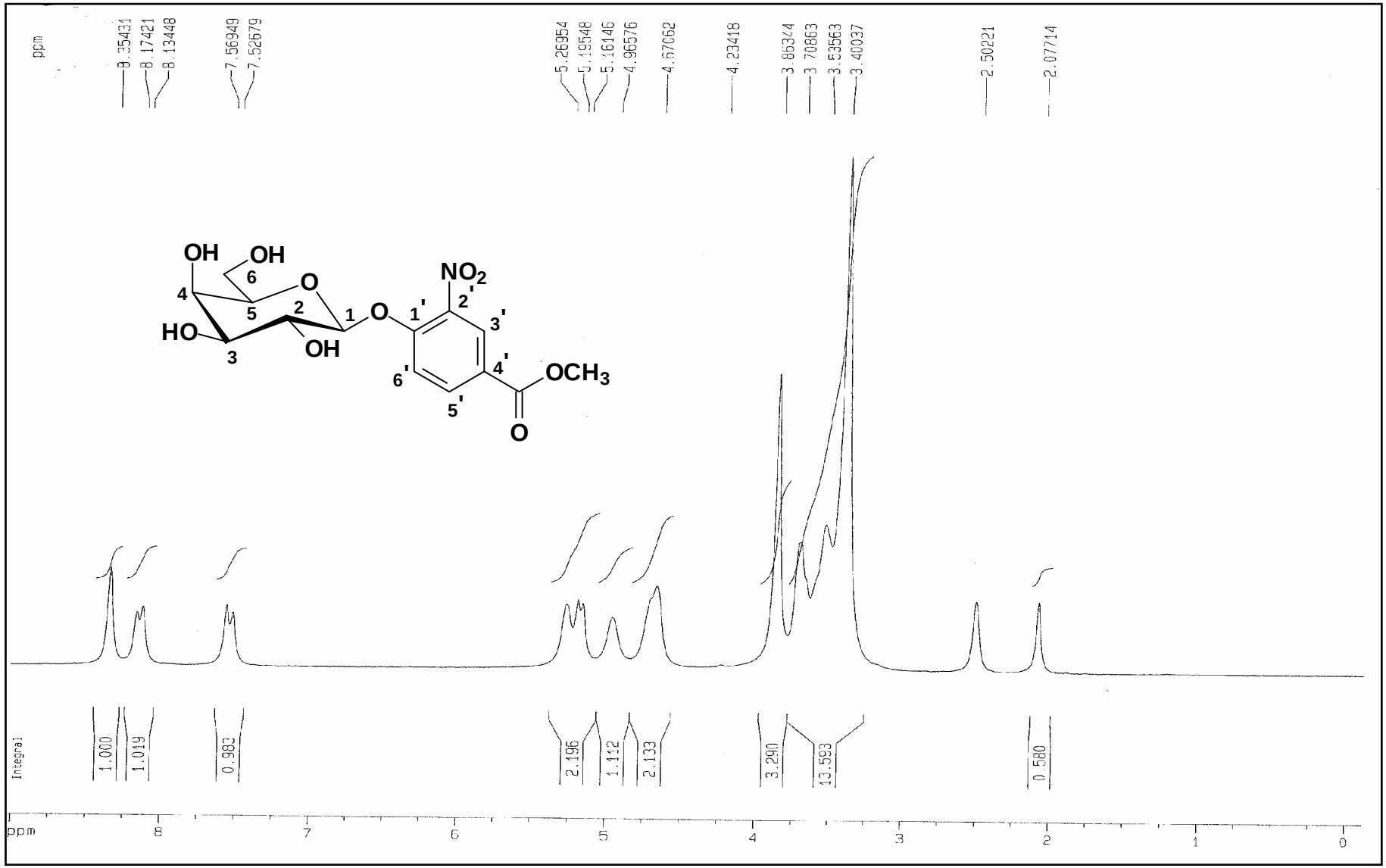


Figura 80: Espectro de RMN de ^{1}H de **32** (200 MHz, DMSO-d_6)

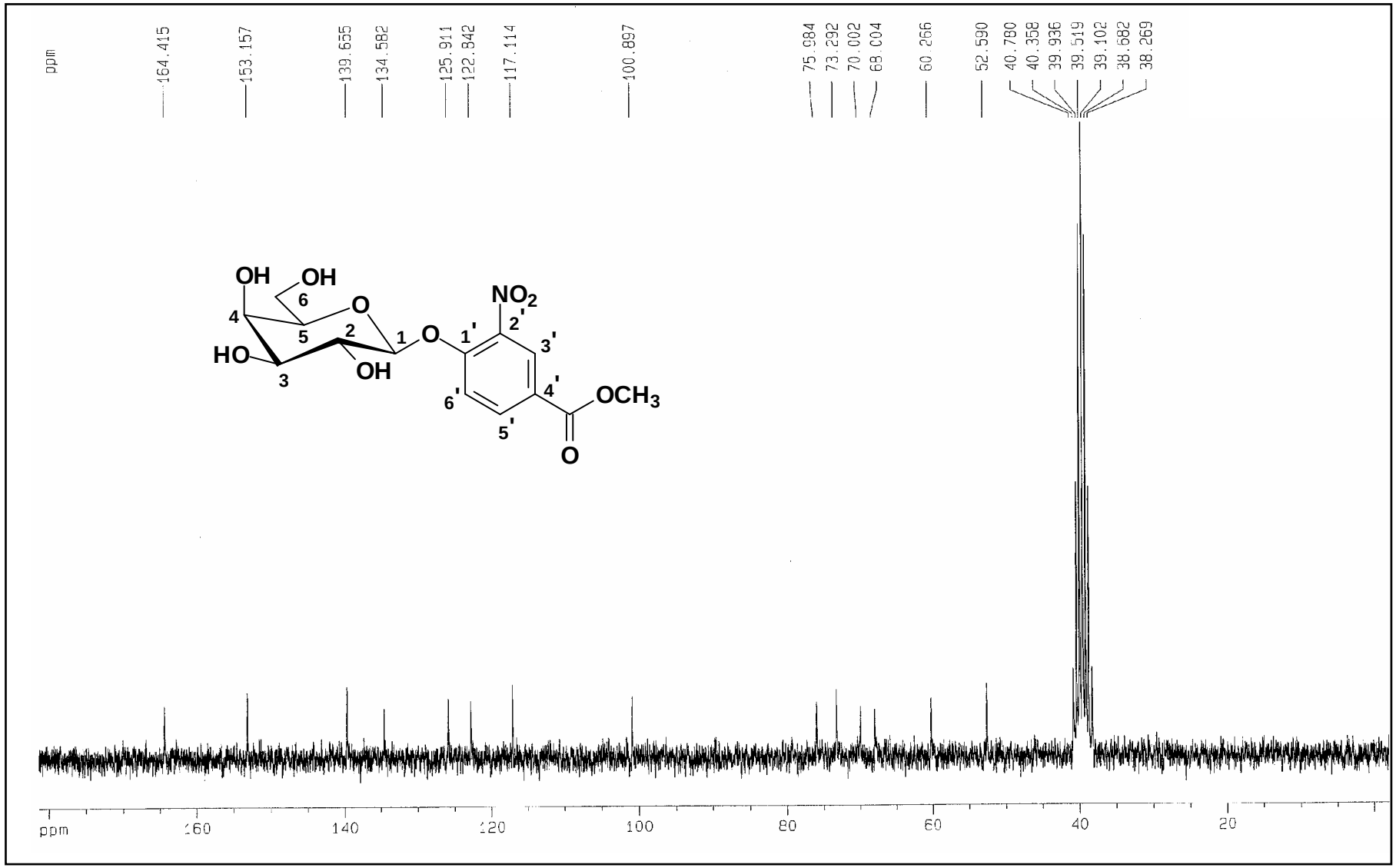


Figura 81: Espectro de RMN de ^{13}C de **32** (50 MHz, DMSO-d_6)

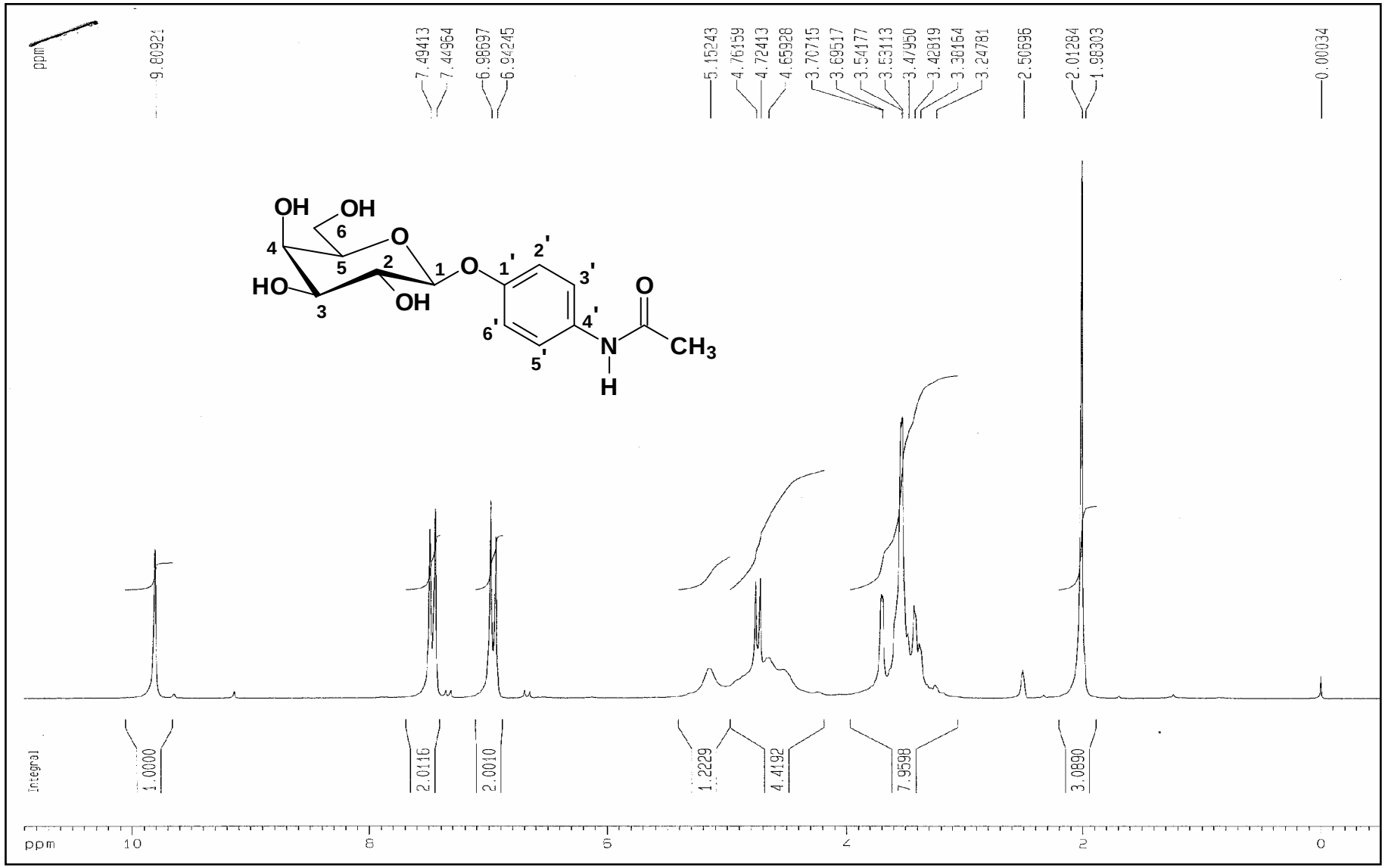


Figura 82: Espectro de RMN de ^{1}H de **33** (200 MHz, DMSO-d_6)

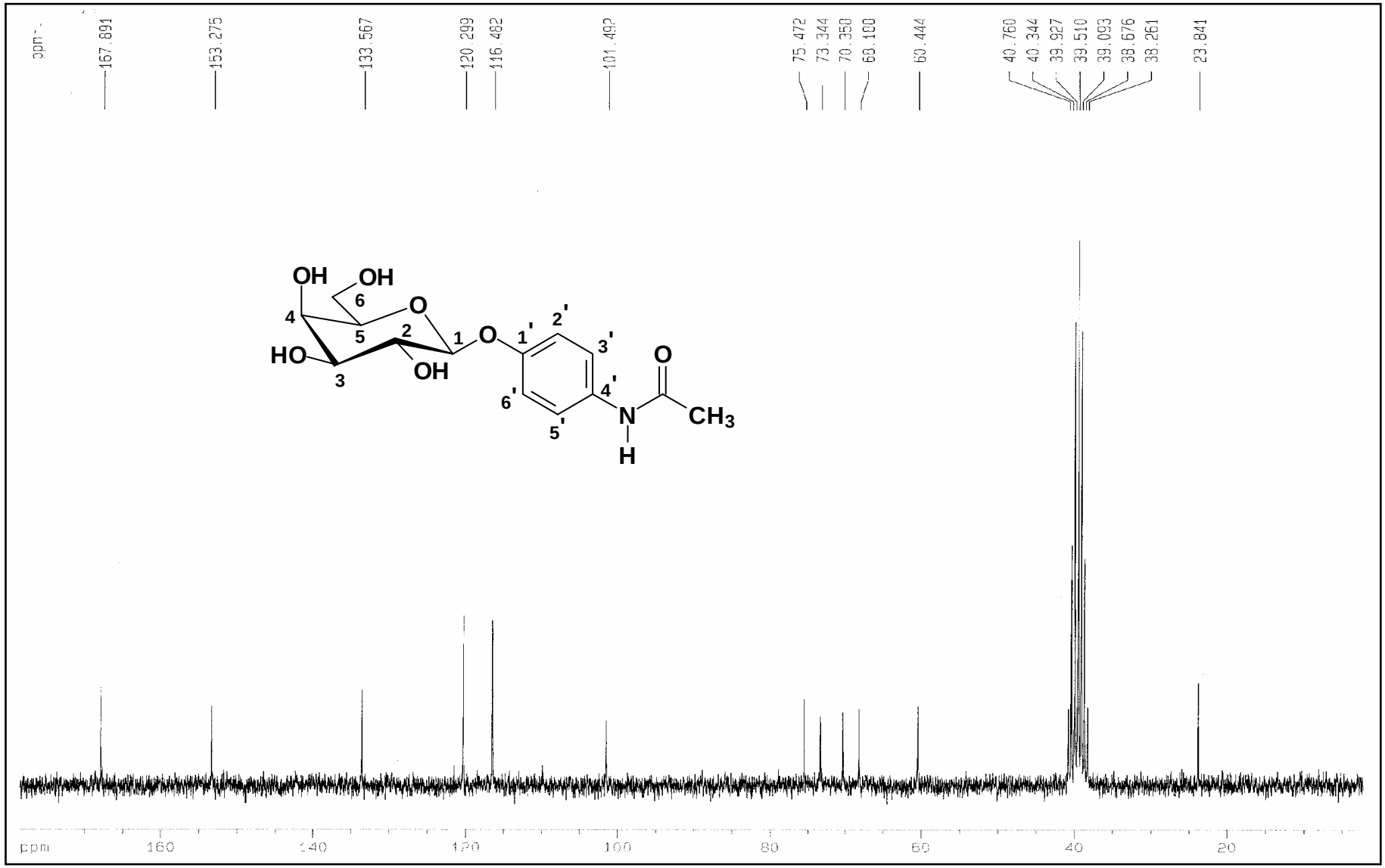


Figura 83: Espectro de RMN de ^{13}C de **33** (50 MHz, DMSO-d_6)

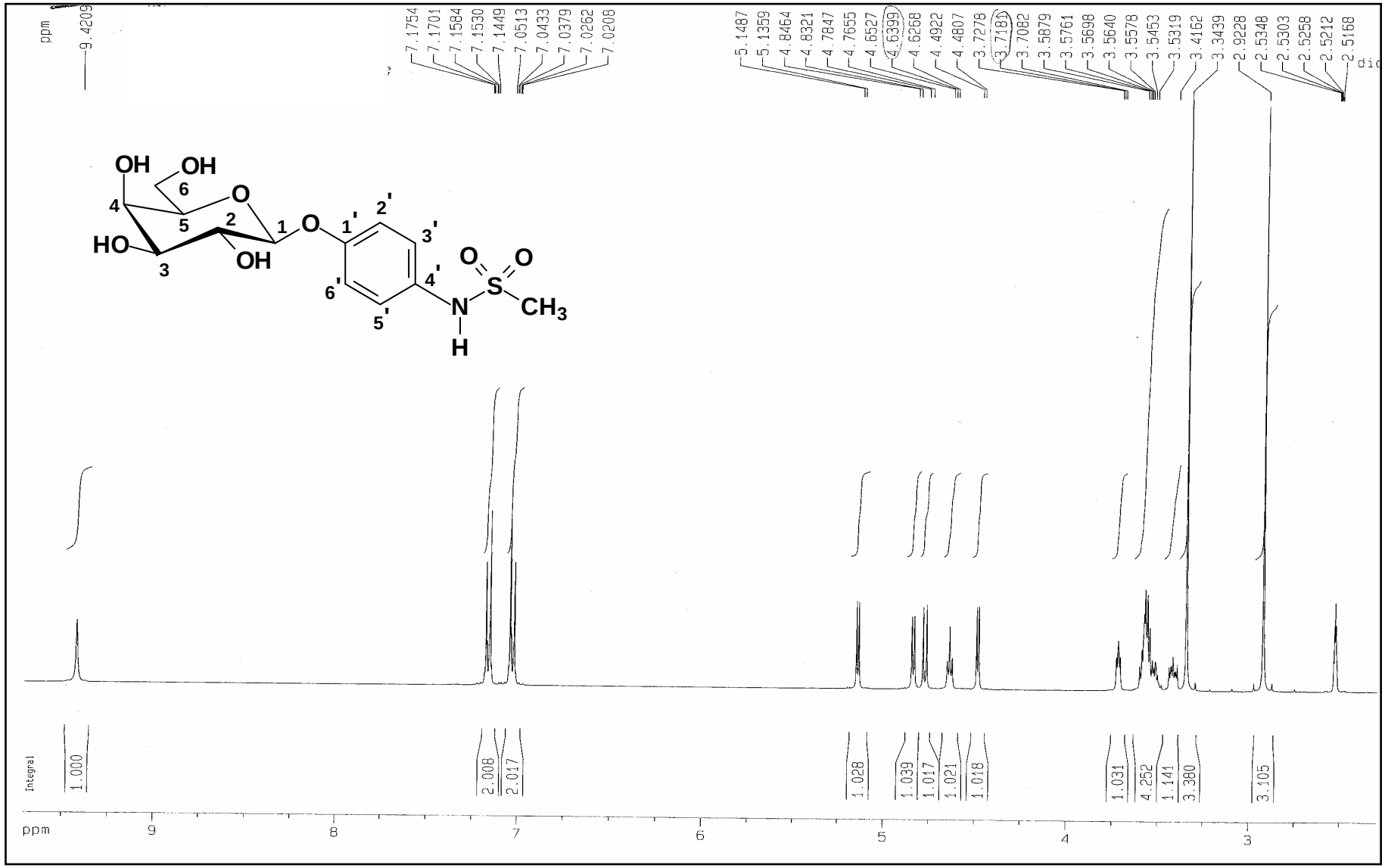


Figura 84: Espectro de RMN de ^{1}H de **36** (400 MHz, DMSO-d_6)

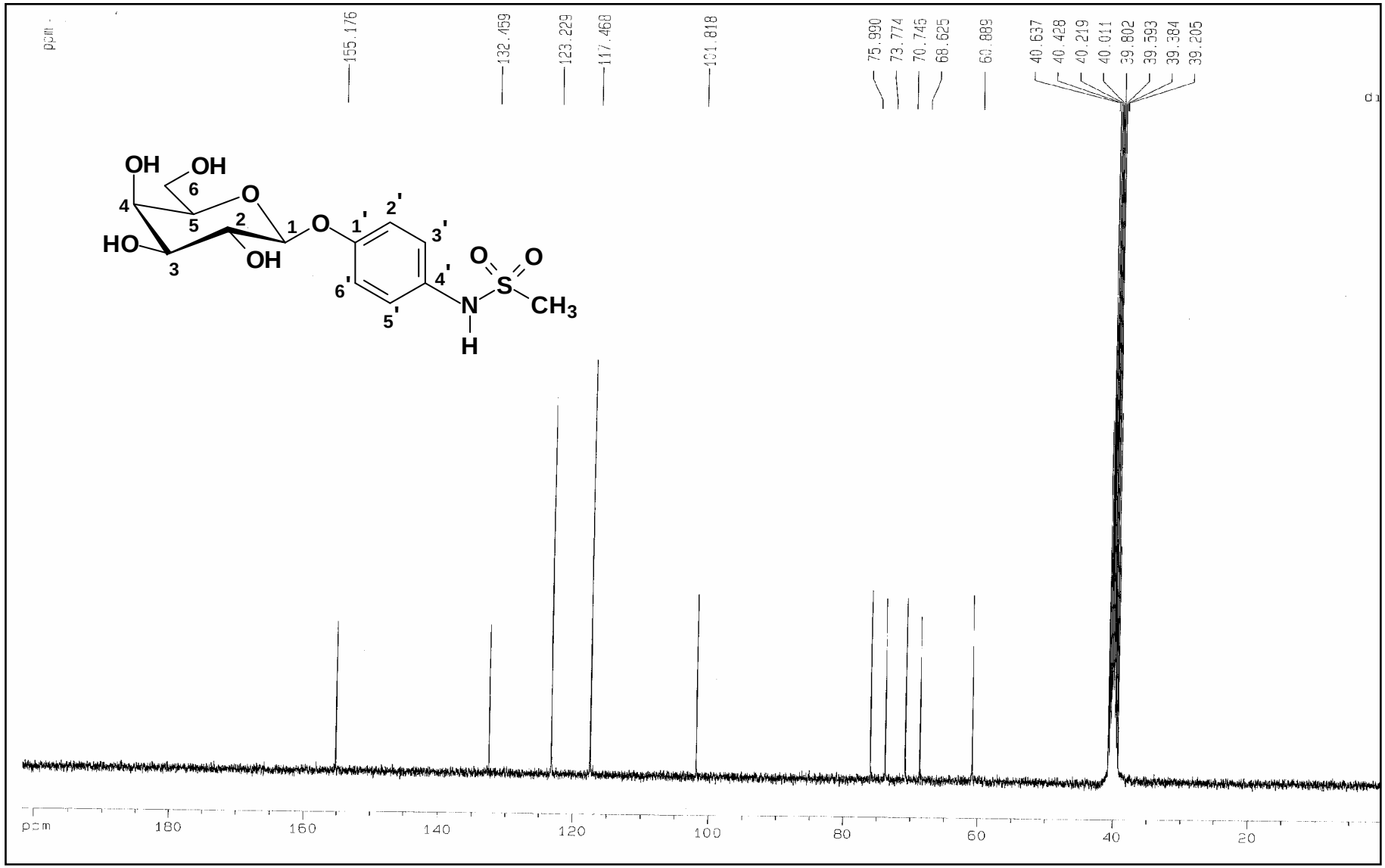


Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C de **36** (100 MHz, DMSO-d_6)

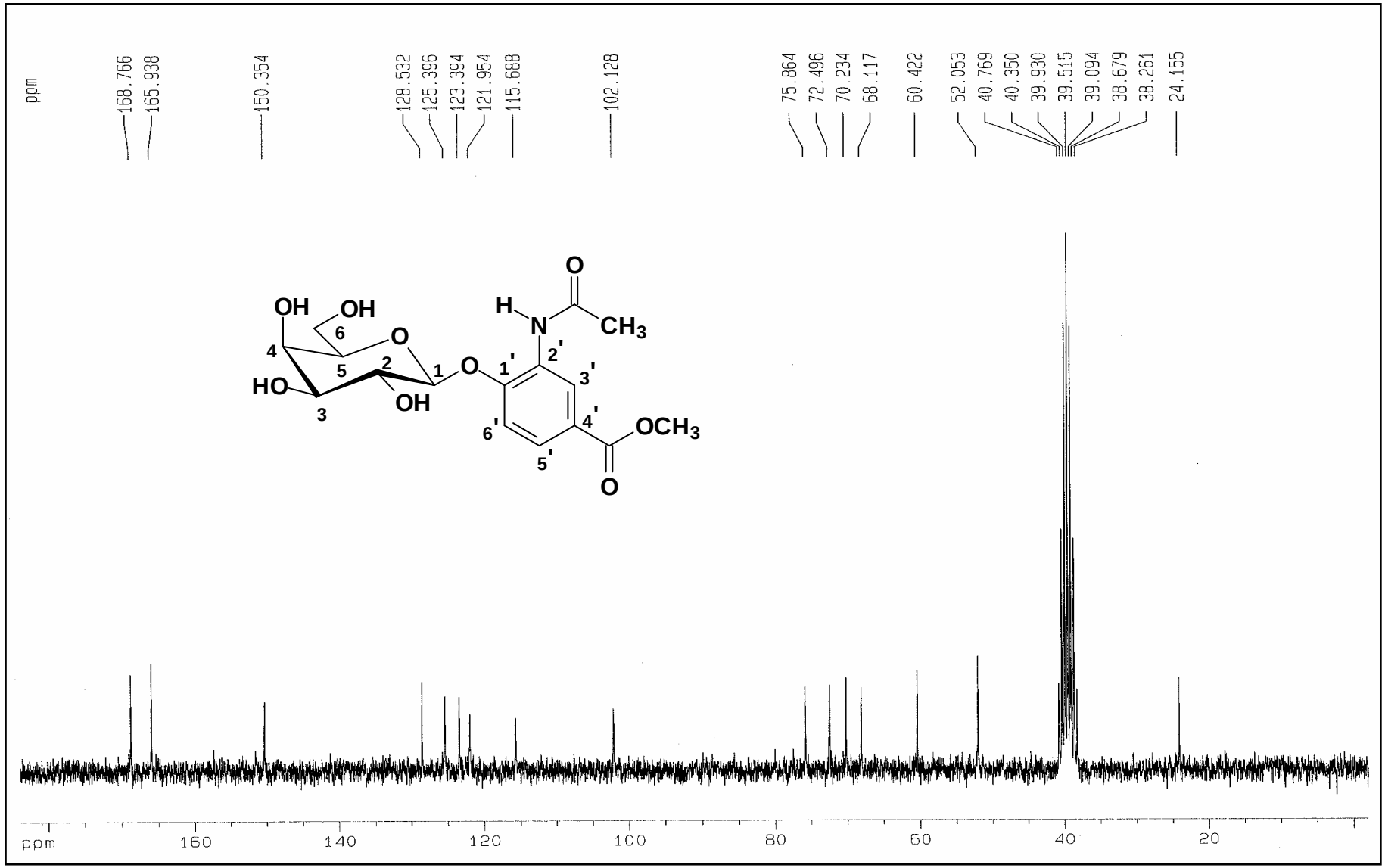


Figura 86: Espectro de RMN de ^{13}C de **37** (50 MHz, DMSO-d_6)

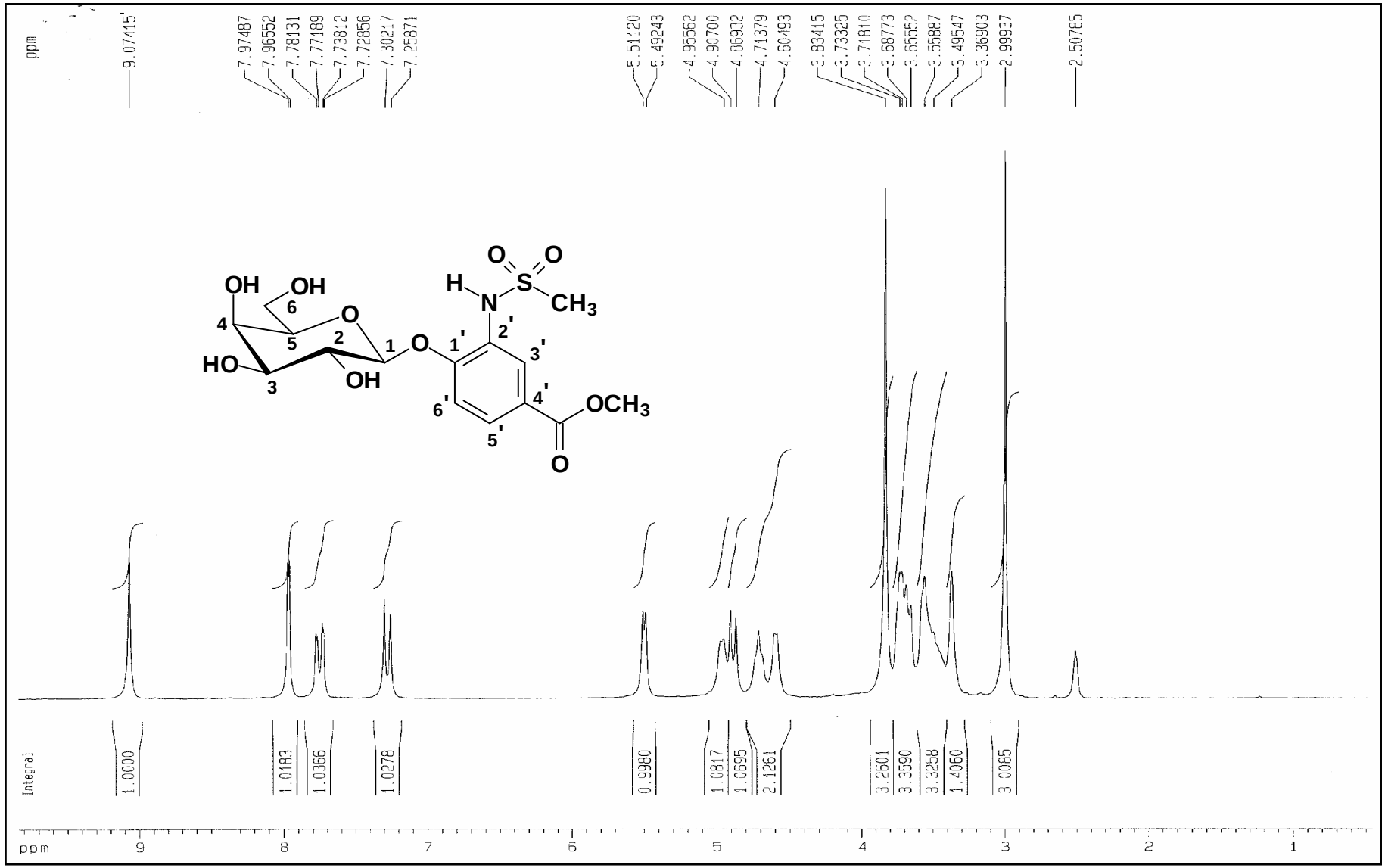


Figura 87: Espectro de RMN de ^{1}H de **38** (200 MHz, DMSO-d_6)

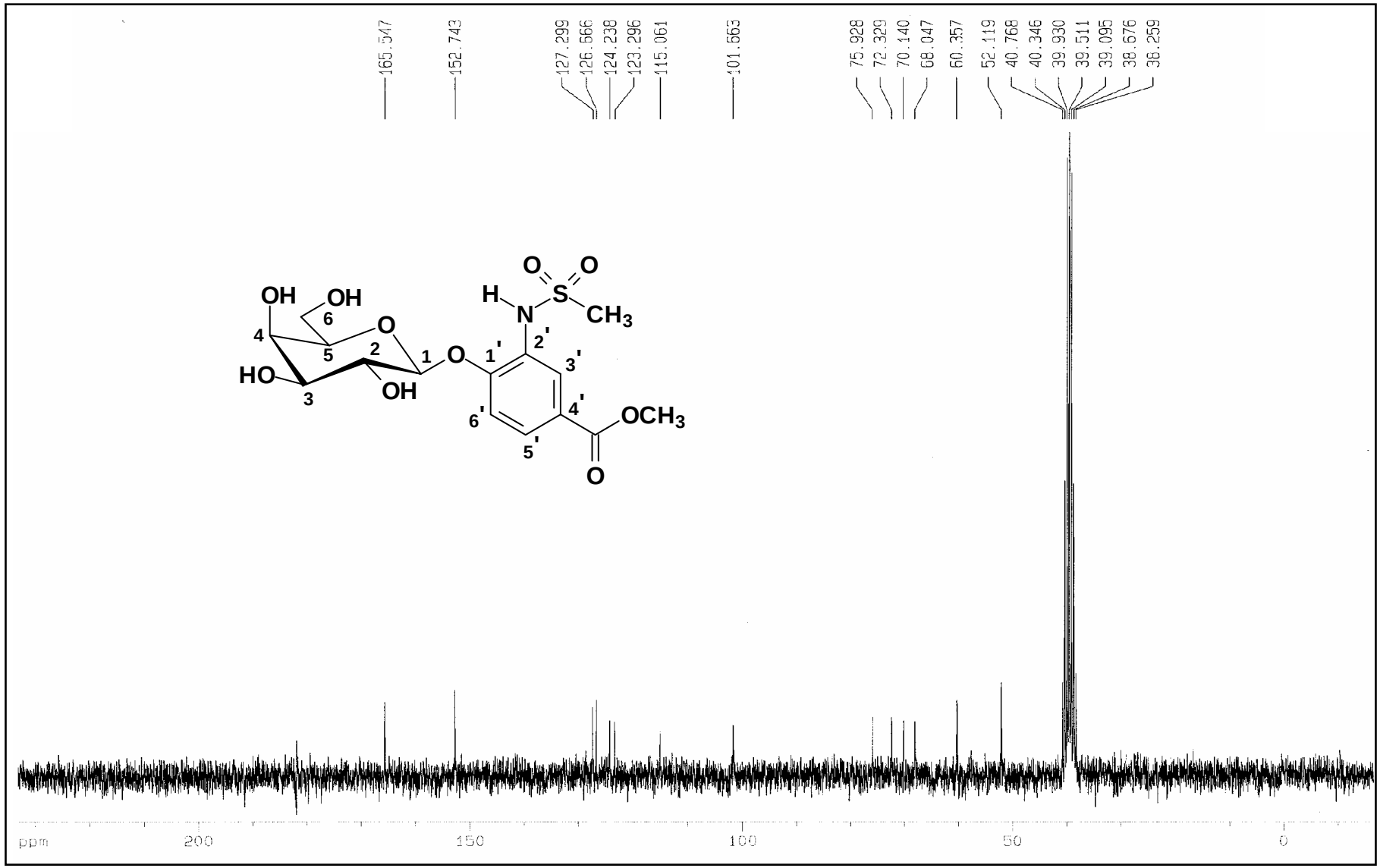


Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C de **38** (50 MHz, DMSO-d_6)

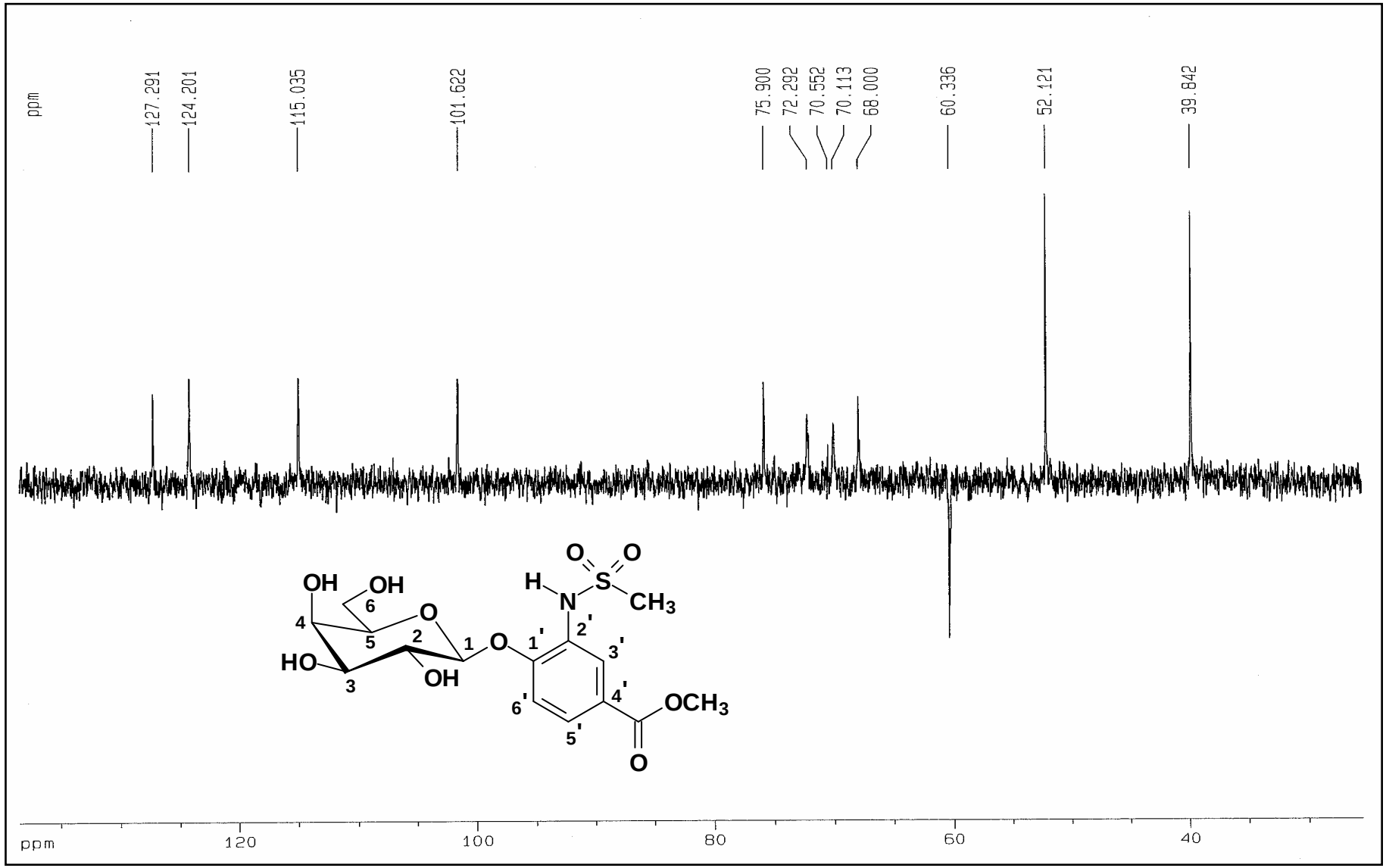


Figura 89: Subespectro DEPT-135 de **38** (50 MHz, DMSO-d_6)

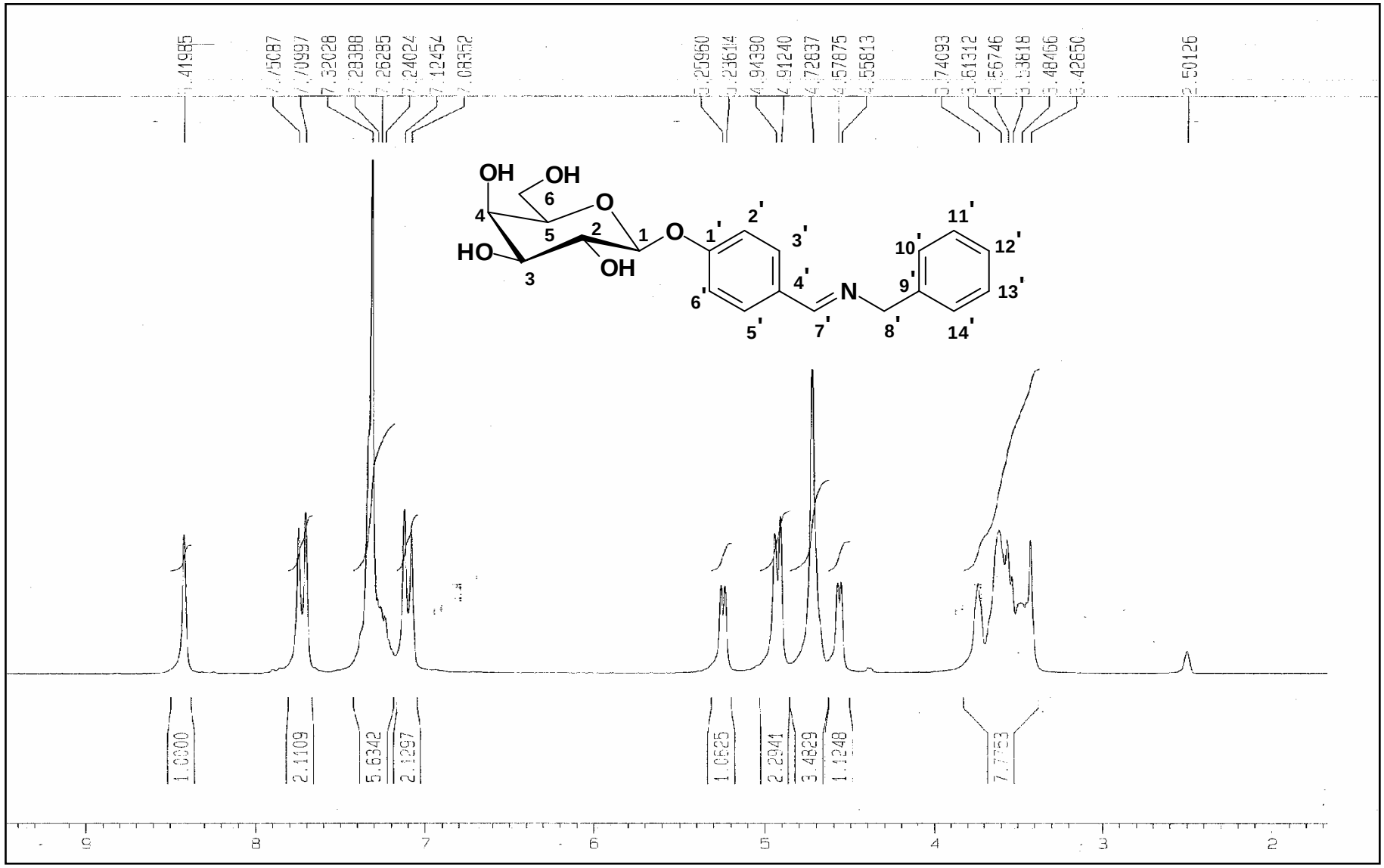


Figura 90: Espectro de RMN de ^{1}H de **48** (200 MHz, DMSO-d_6)

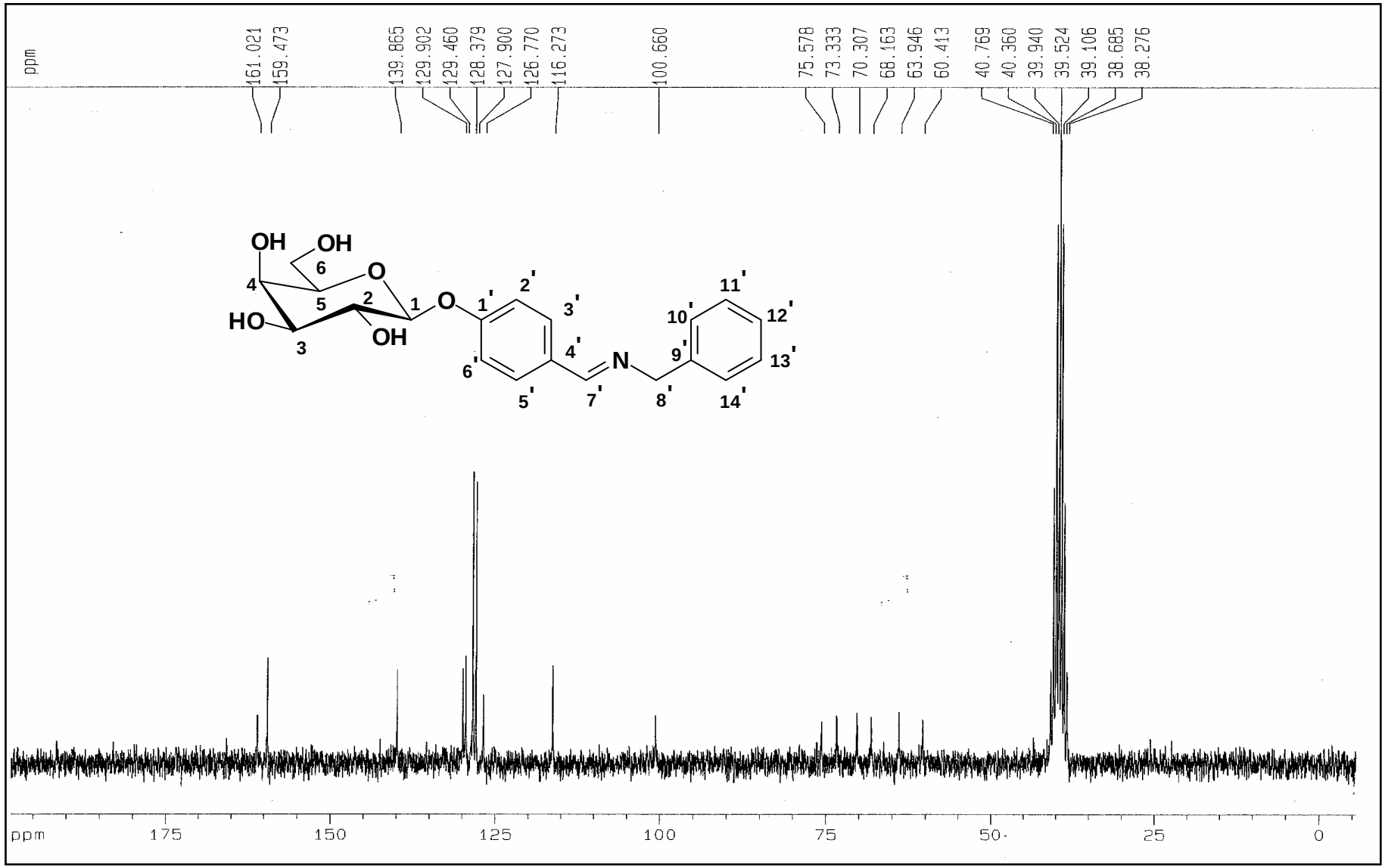


Figura 91: Espectro de RMN de ^{13}C de **48** (50 MHz, DMSO-d_6)

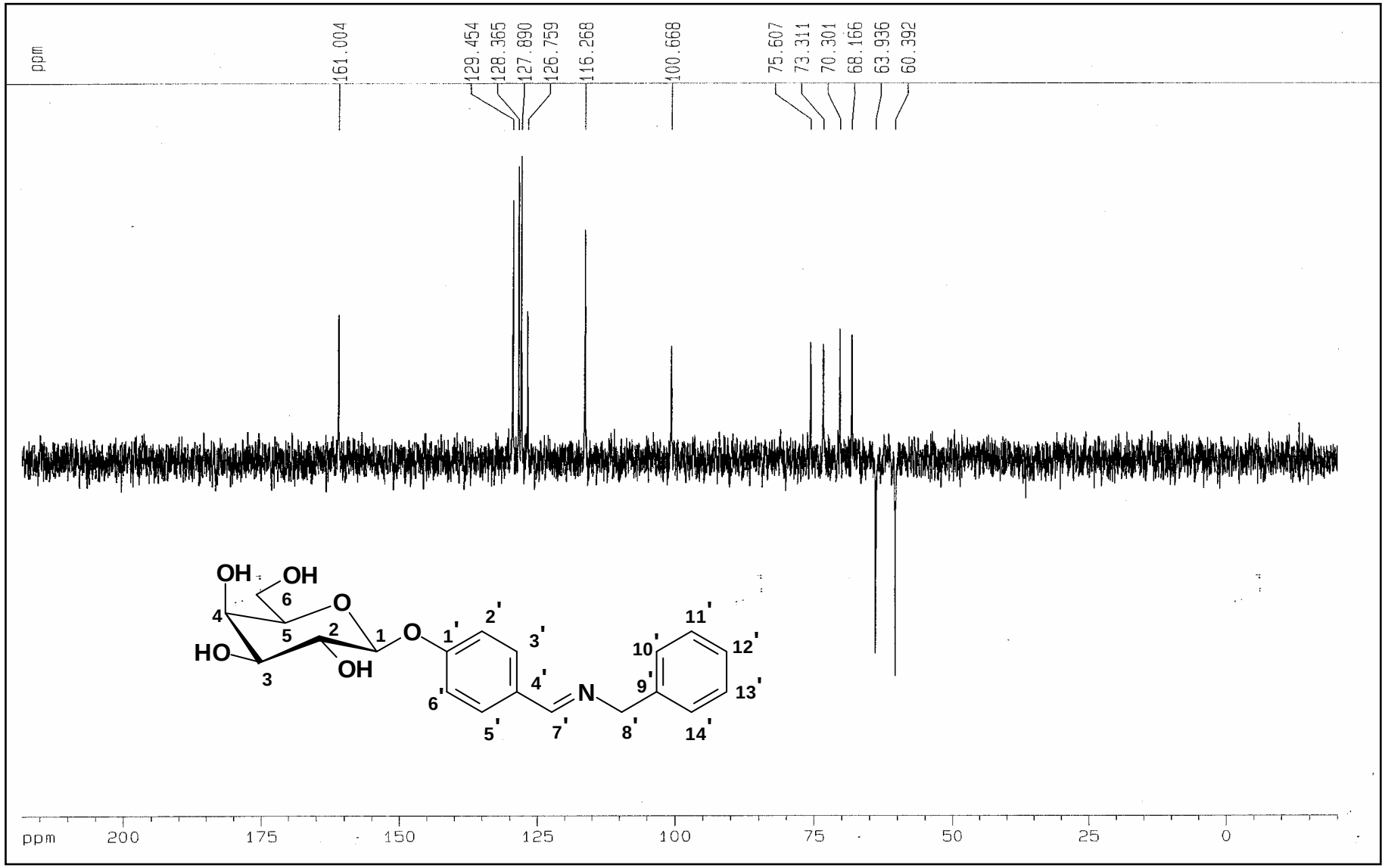


Figura 92: Subespectro DEPT-135 de **48** (50 MHz, DMSO-d_6)

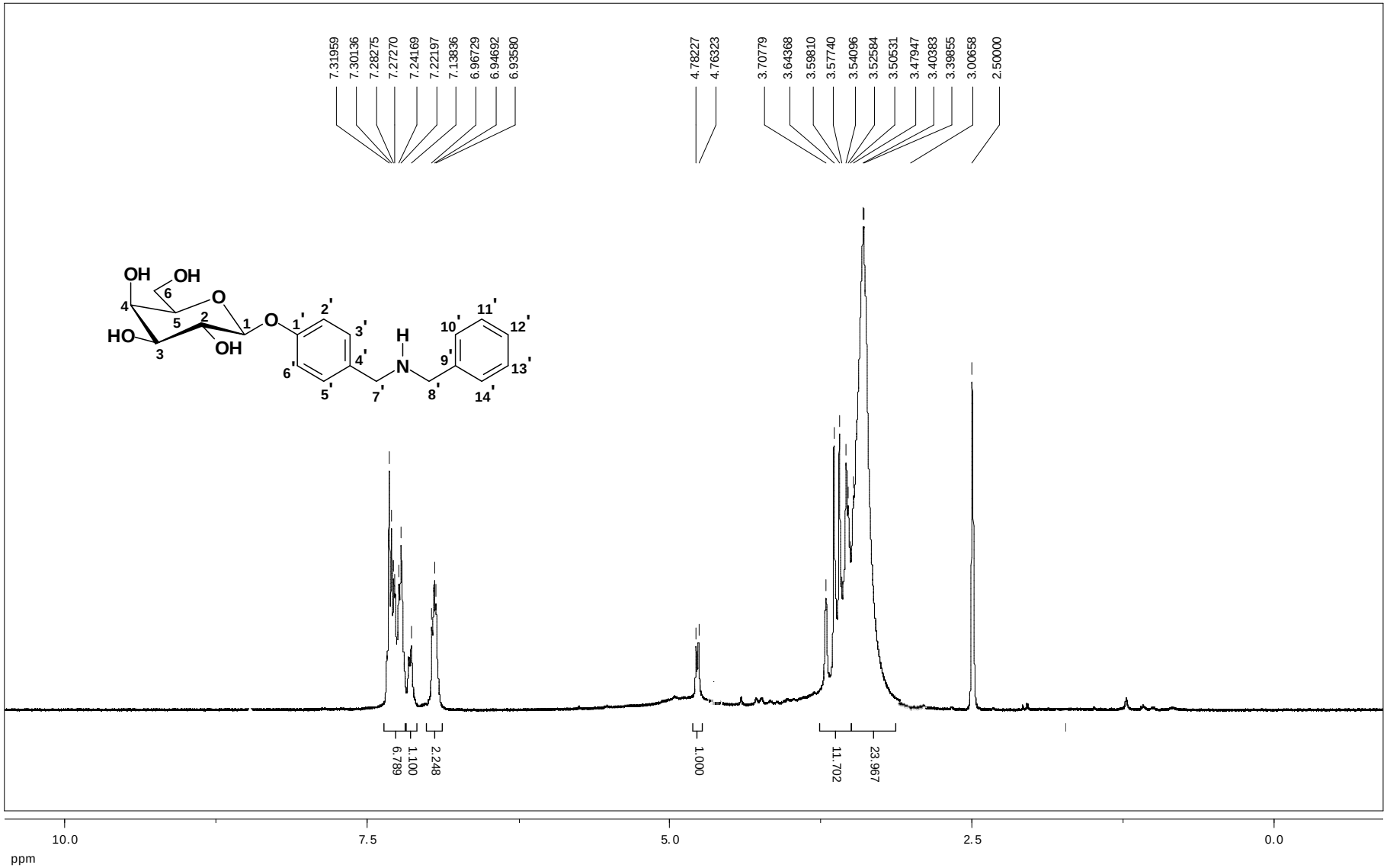


Figura 93: Espectro de RMN de ^{1}H de **44** (400 MHz, DMSO-d_6)

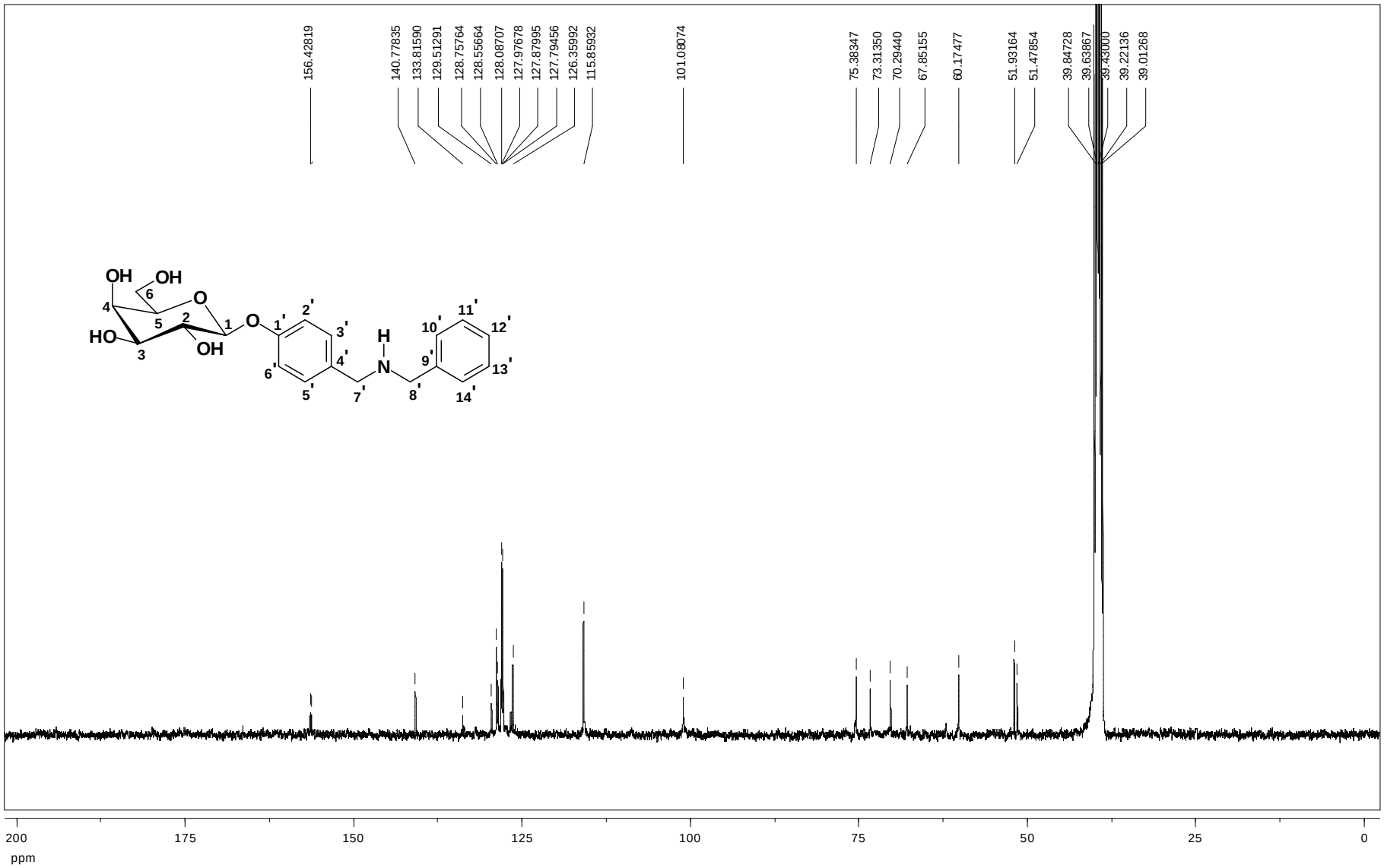


Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C de **44** (100 MHz, DMSO-d_6)

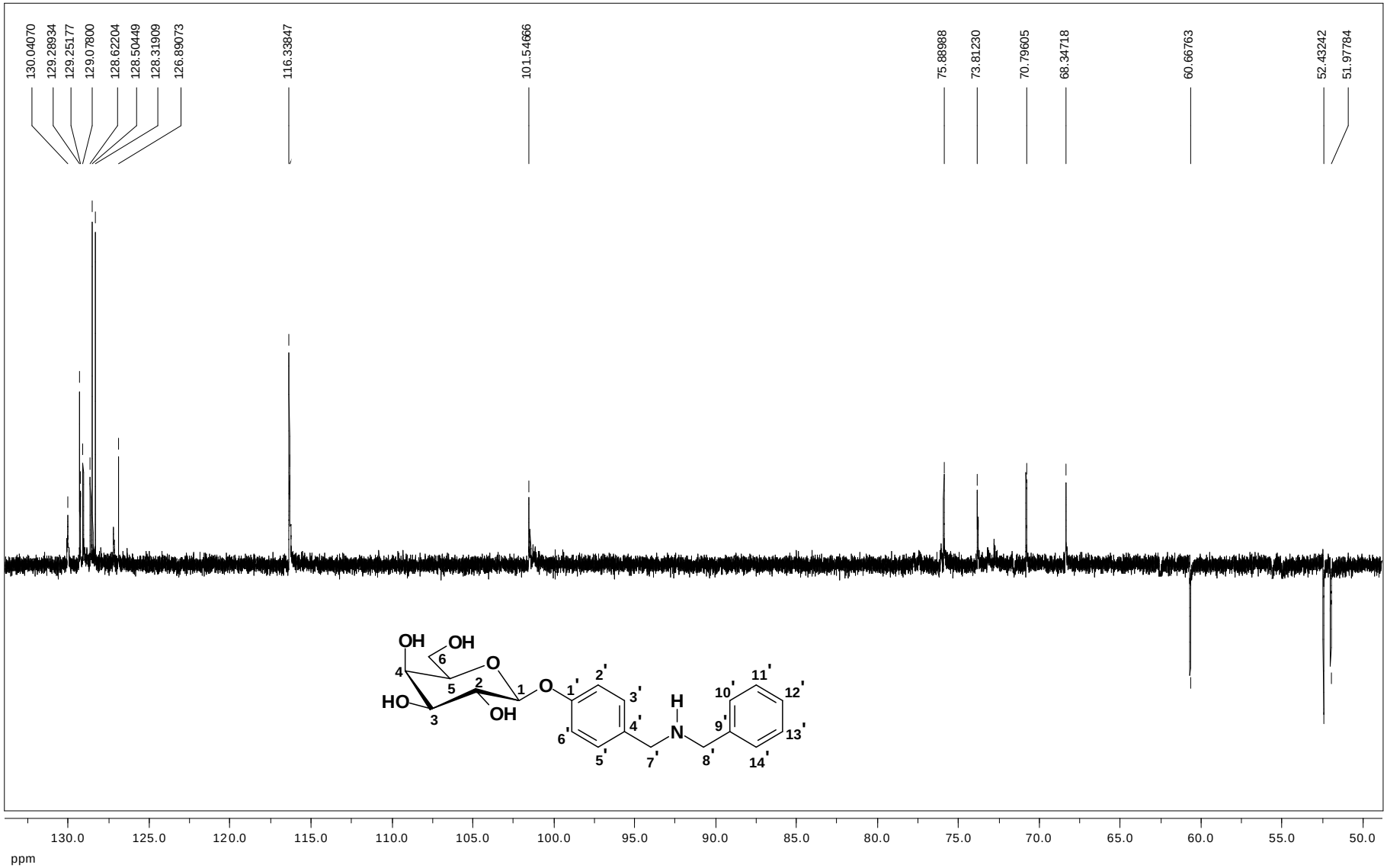


Figura 95: Subespectro DEPT-135 de **44** (100 MHz, DMSO-d_6)

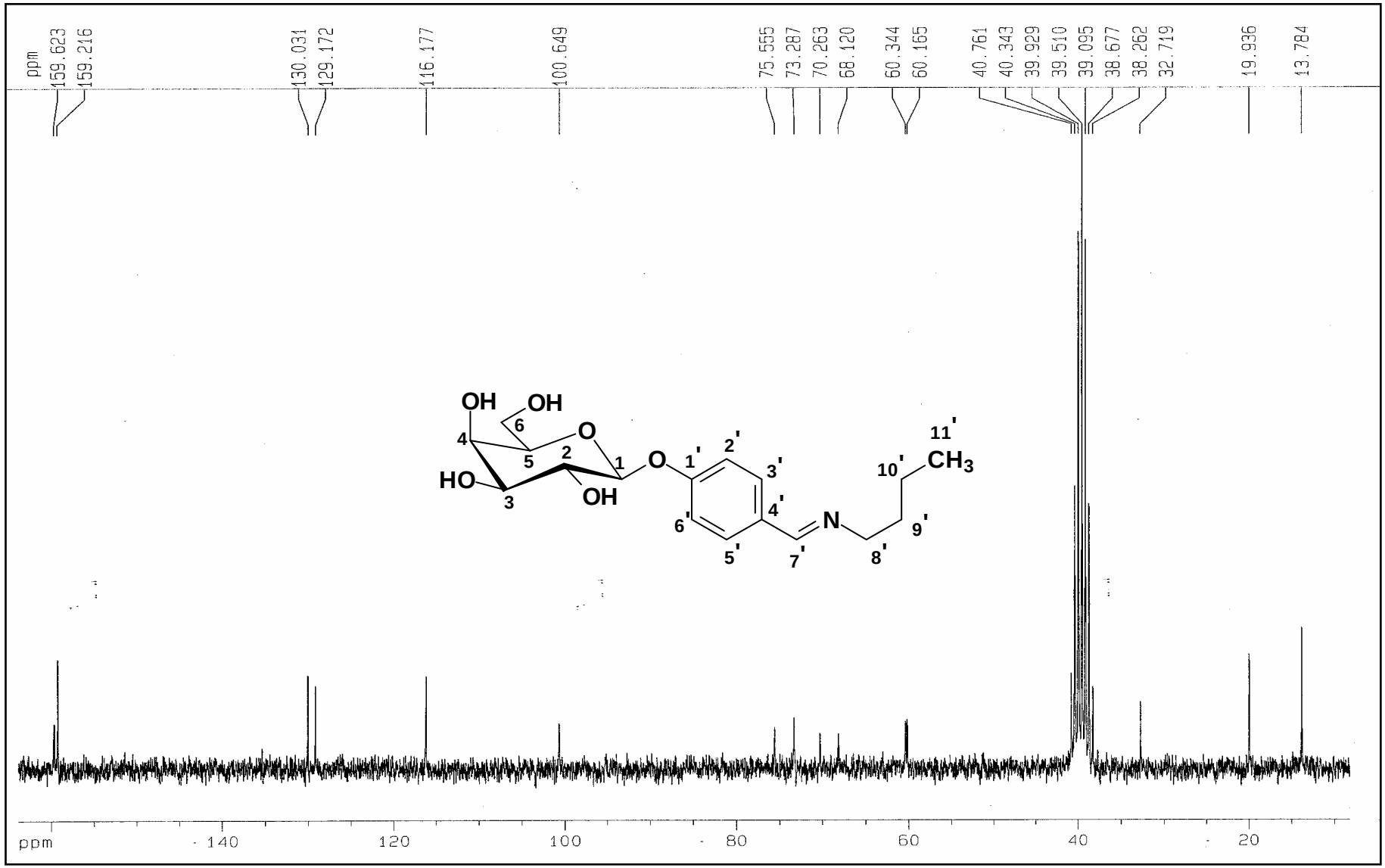


Figura 96: Espectro de RMN de ^{13}C de **49** (50 MHz, DMSO-d_6)

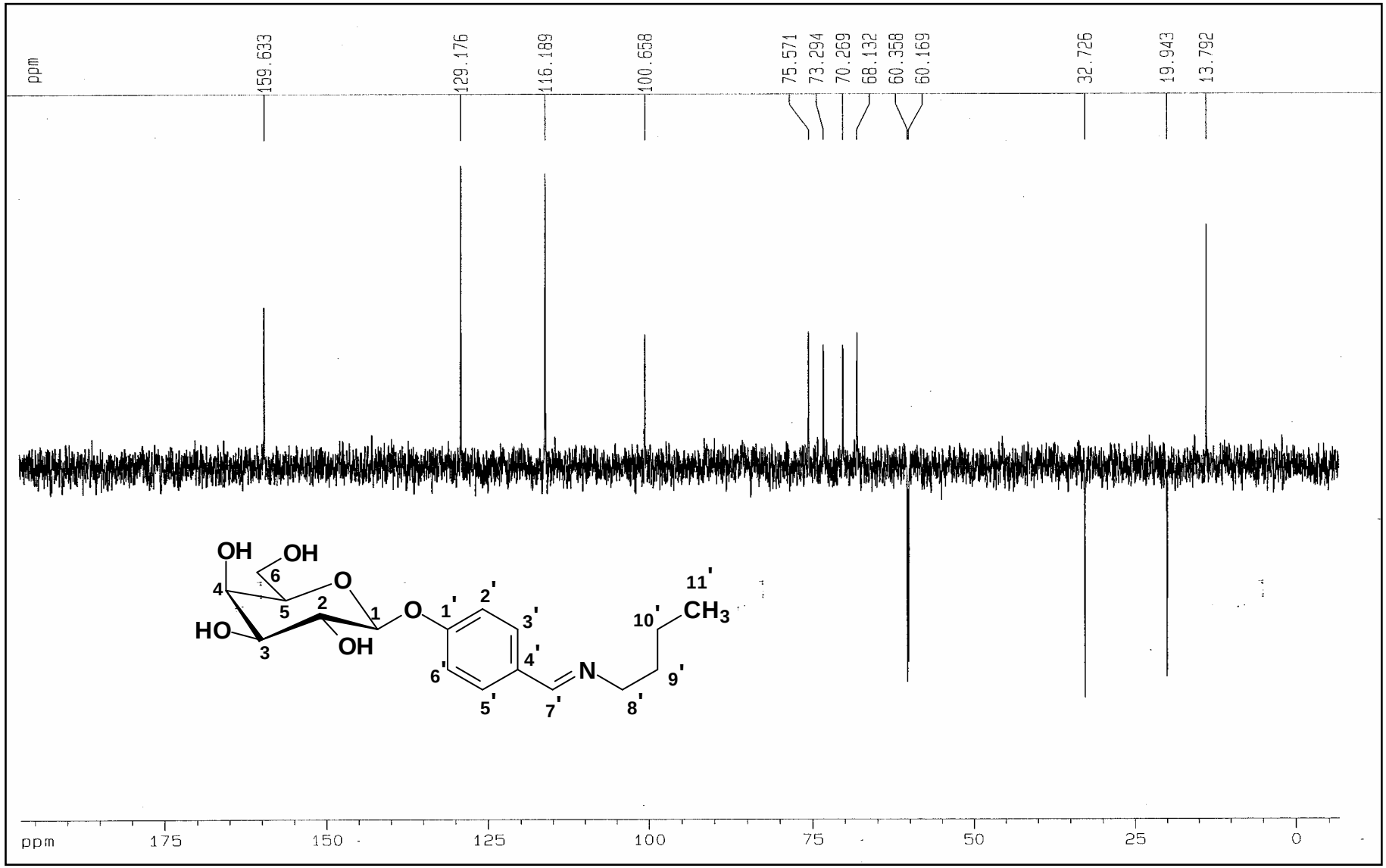


Figura 97: Subespectro DEPT-135 de **49** (50 MHz, DMSO-d_6)

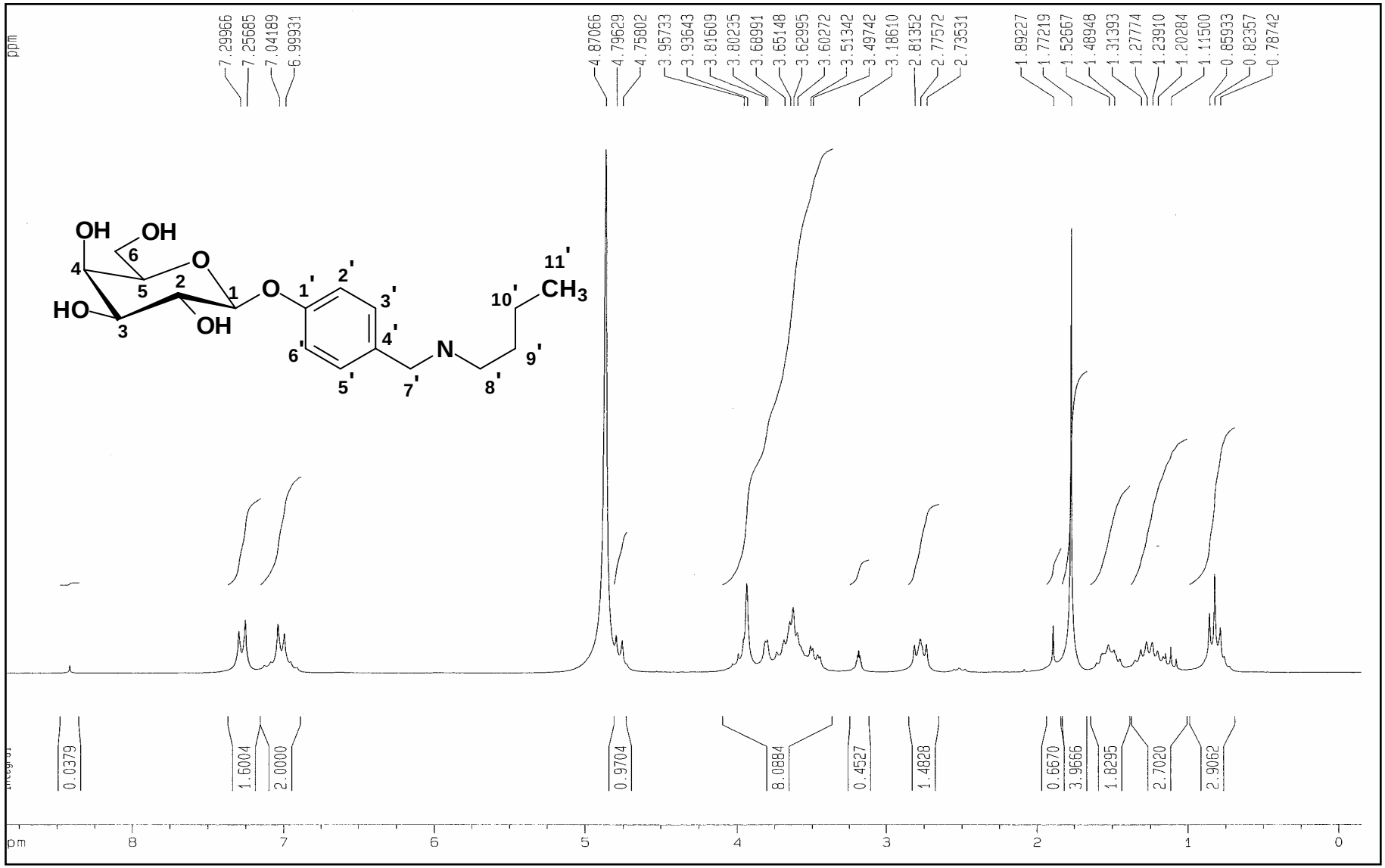


Figura 98: Espectro de RMN de ^{1}H de **45** (200 MHz, CD_3OD)

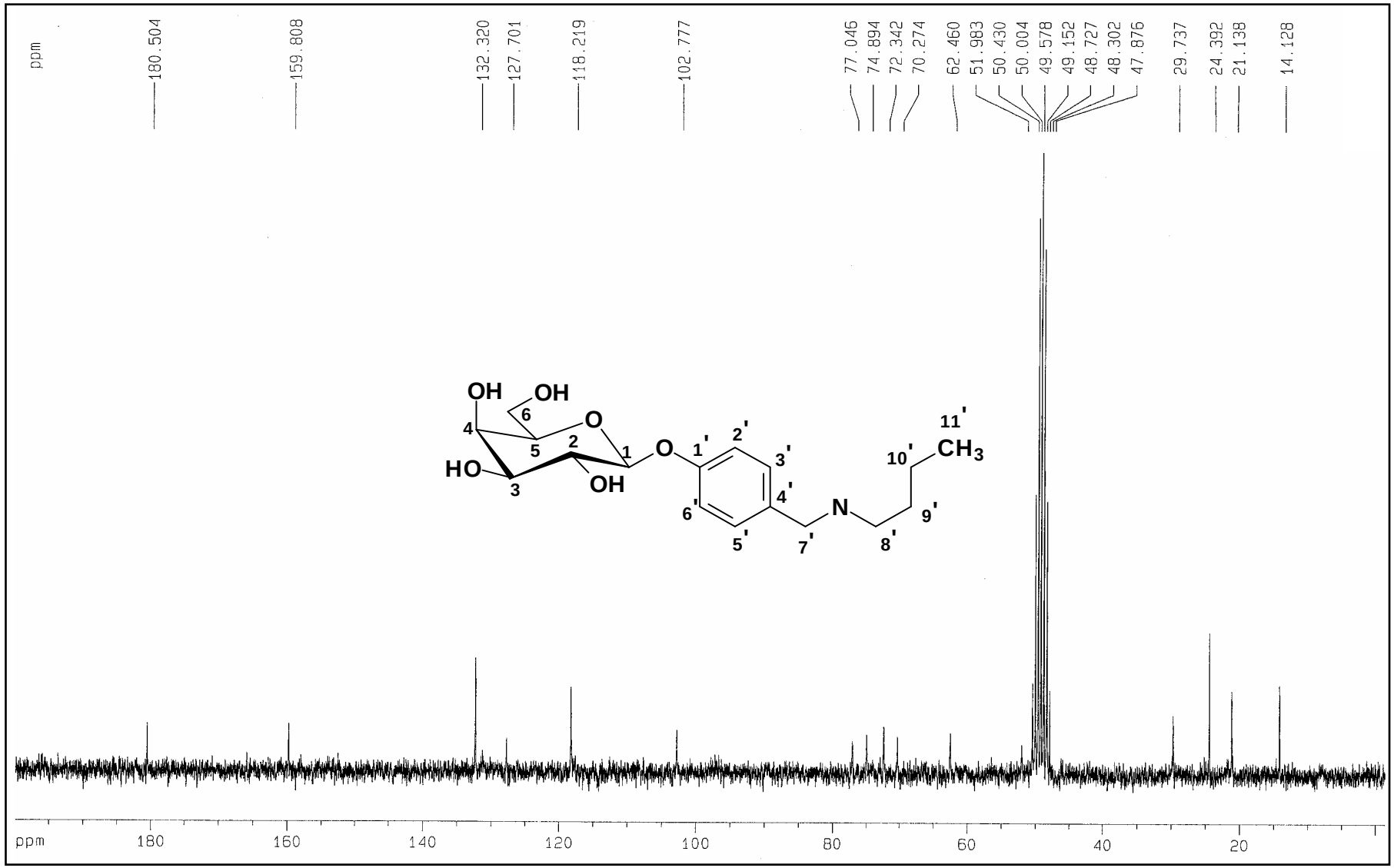


Figura 99: Espectro de RMN de ^{13}C de **45** (50 MHz, CD_3OD)

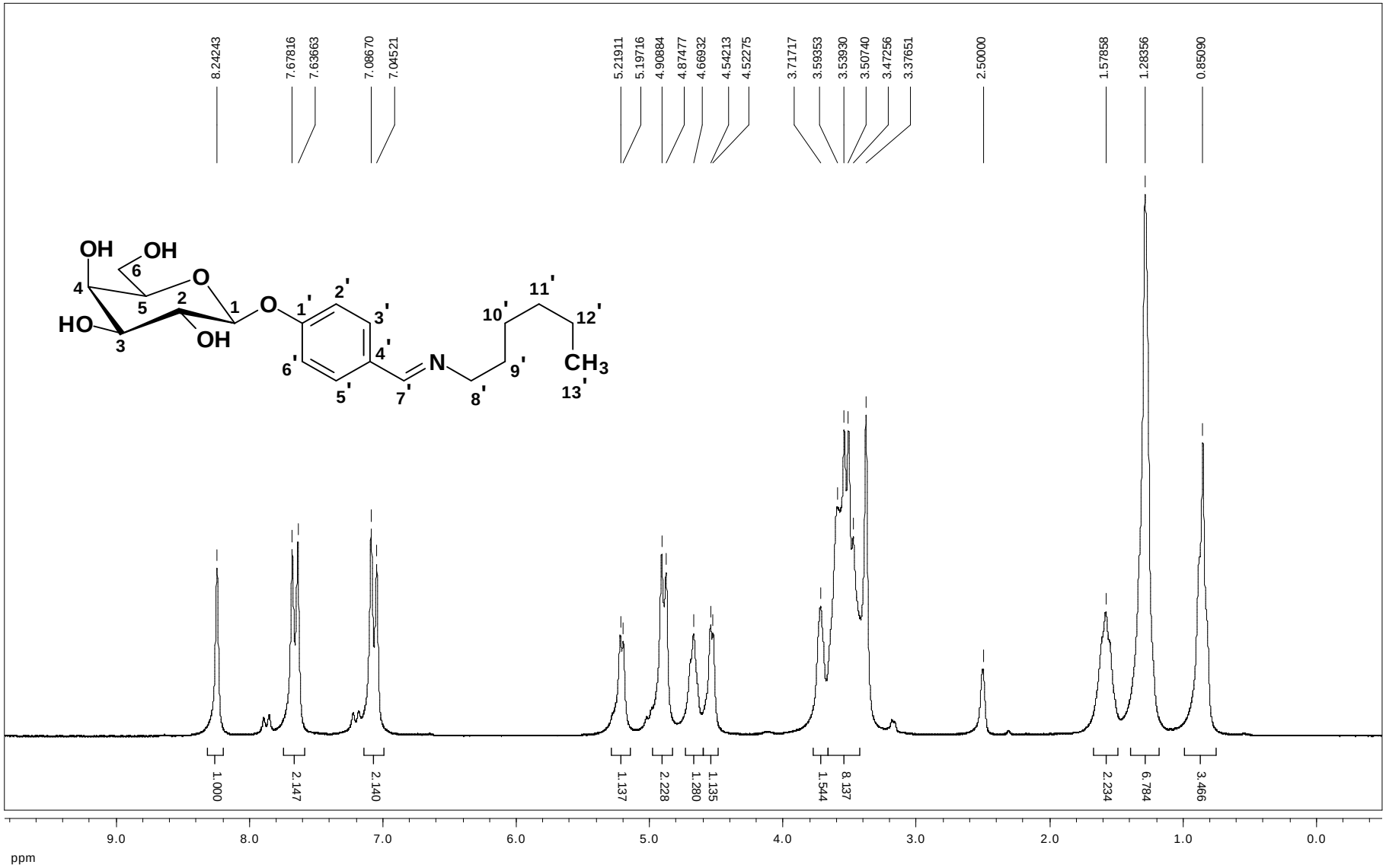


Figura 100: Espectro de RMN de ^{1}H de **50** (200 MHz, DMSO-d_6)

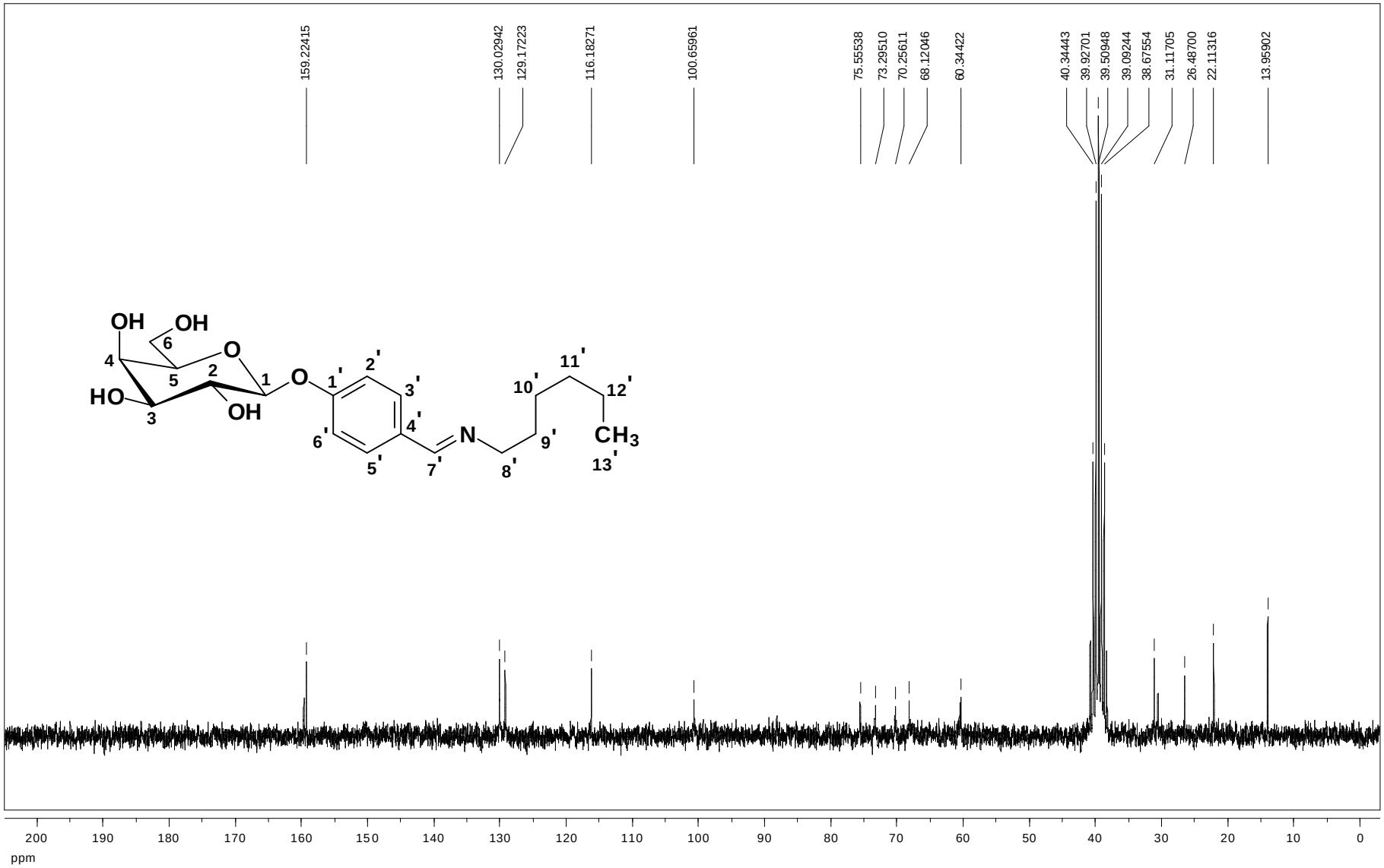


Figura 101: Espectro de RMN de ^{13}C de **50** (50 MHz, DMSO-d_6)

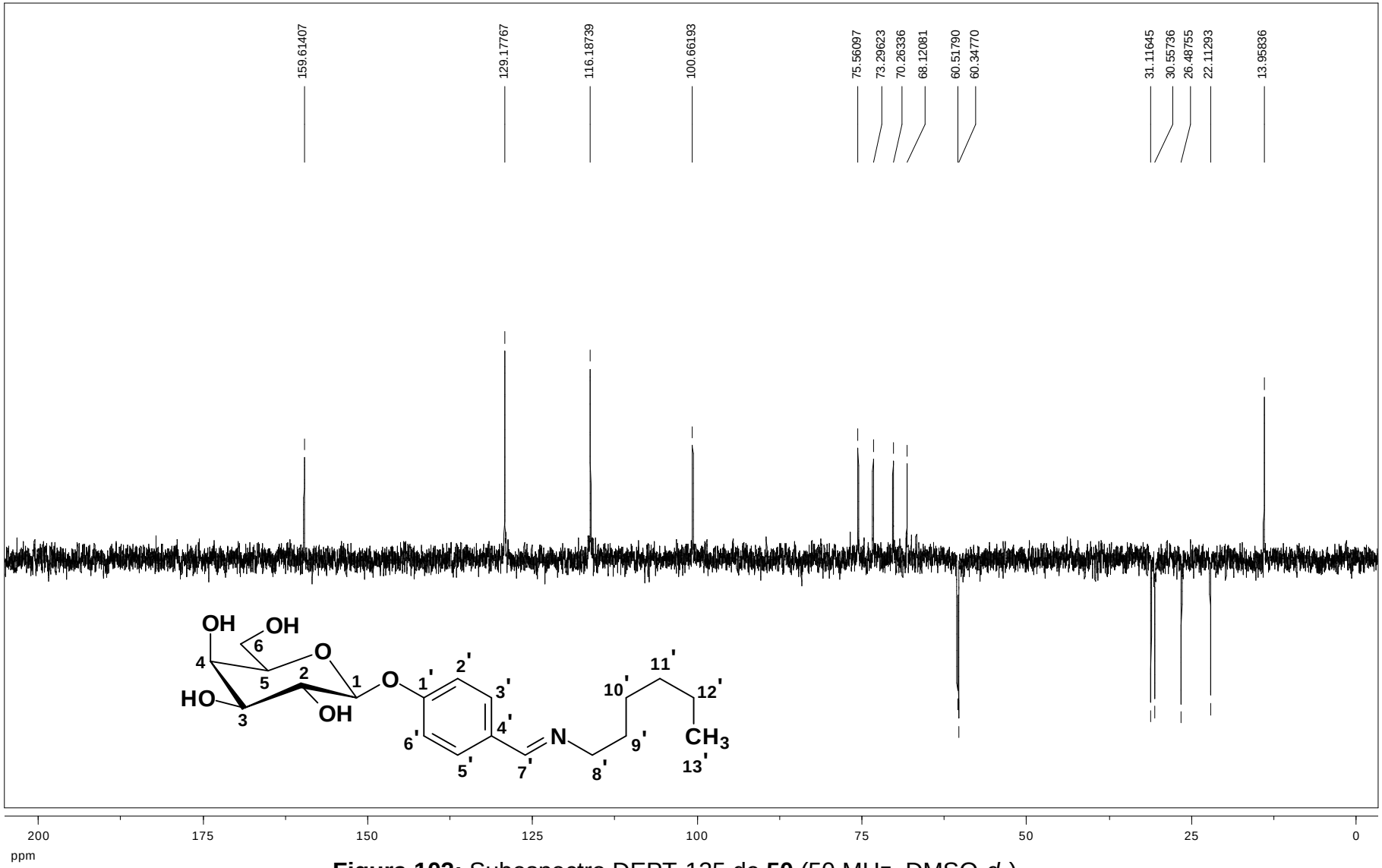


Figura 102: Subespectro DEPT-135 de **50** (50 MHz, DMSO-d_6)

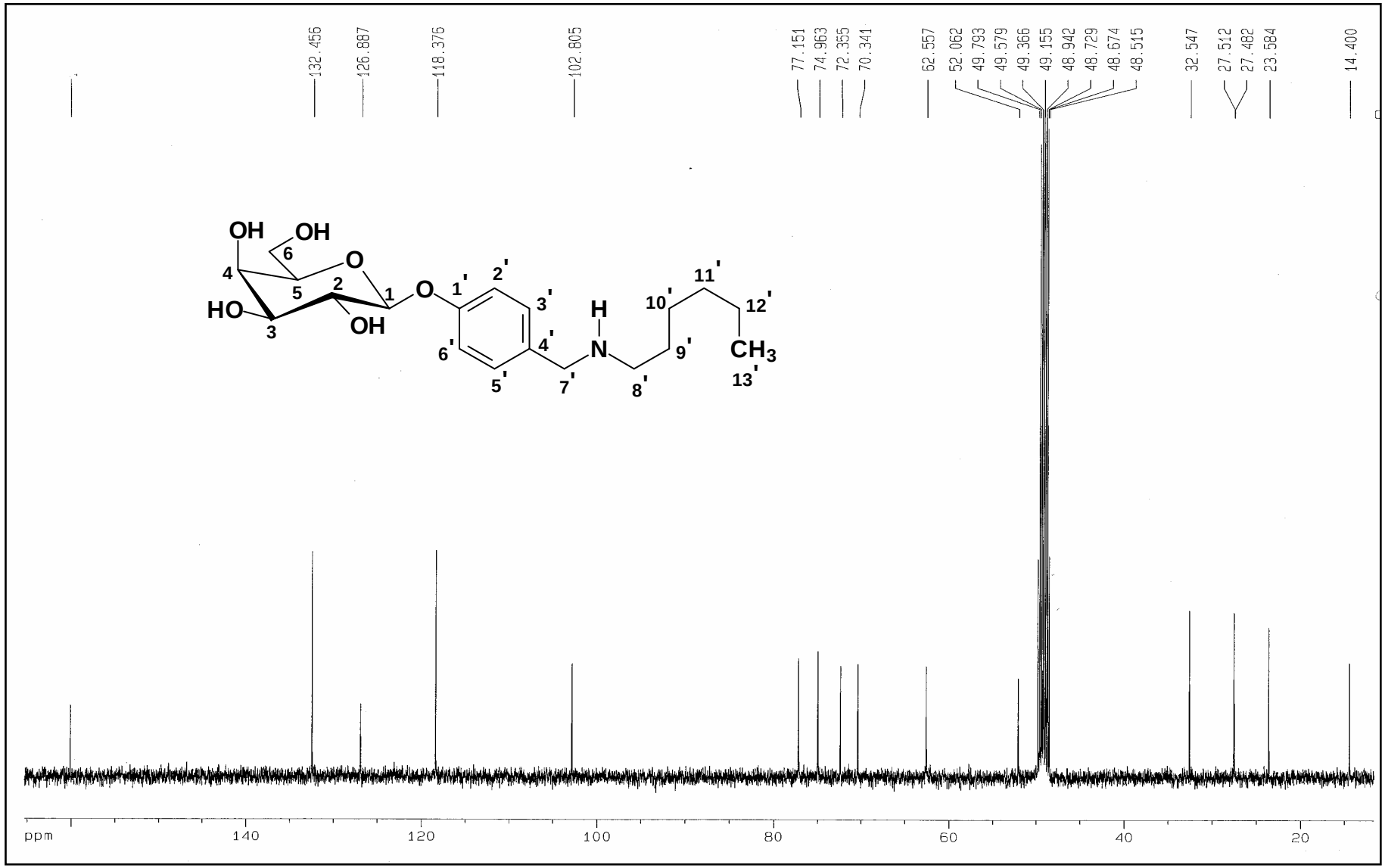


Figura 103: Espectro de RMN de ^{13}C de **46** (100 MHz, CD_3OD)

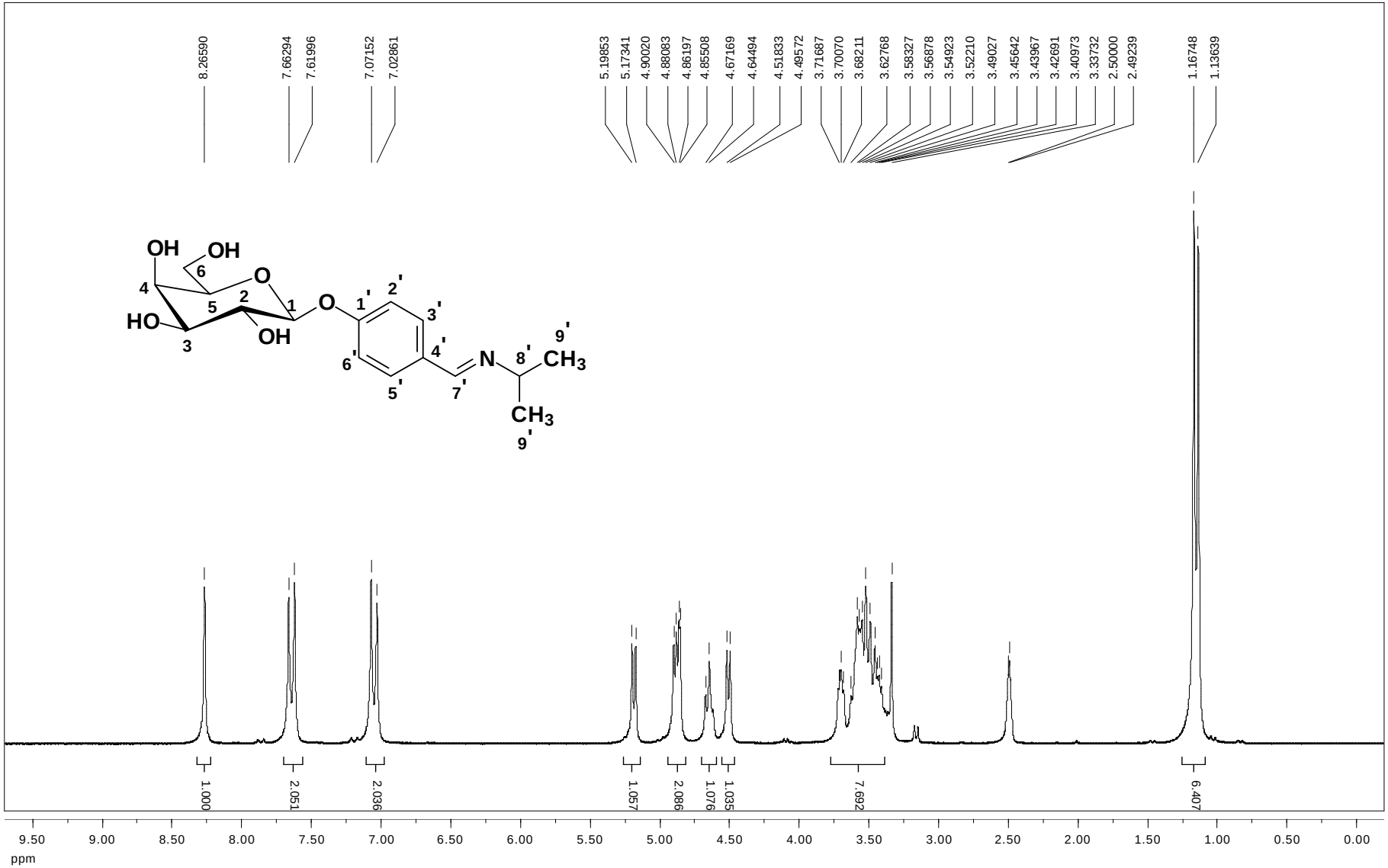


Figura 104: Espectro de RMN de ^{1}H de **51** (200 MHz, DMSO-d_6)

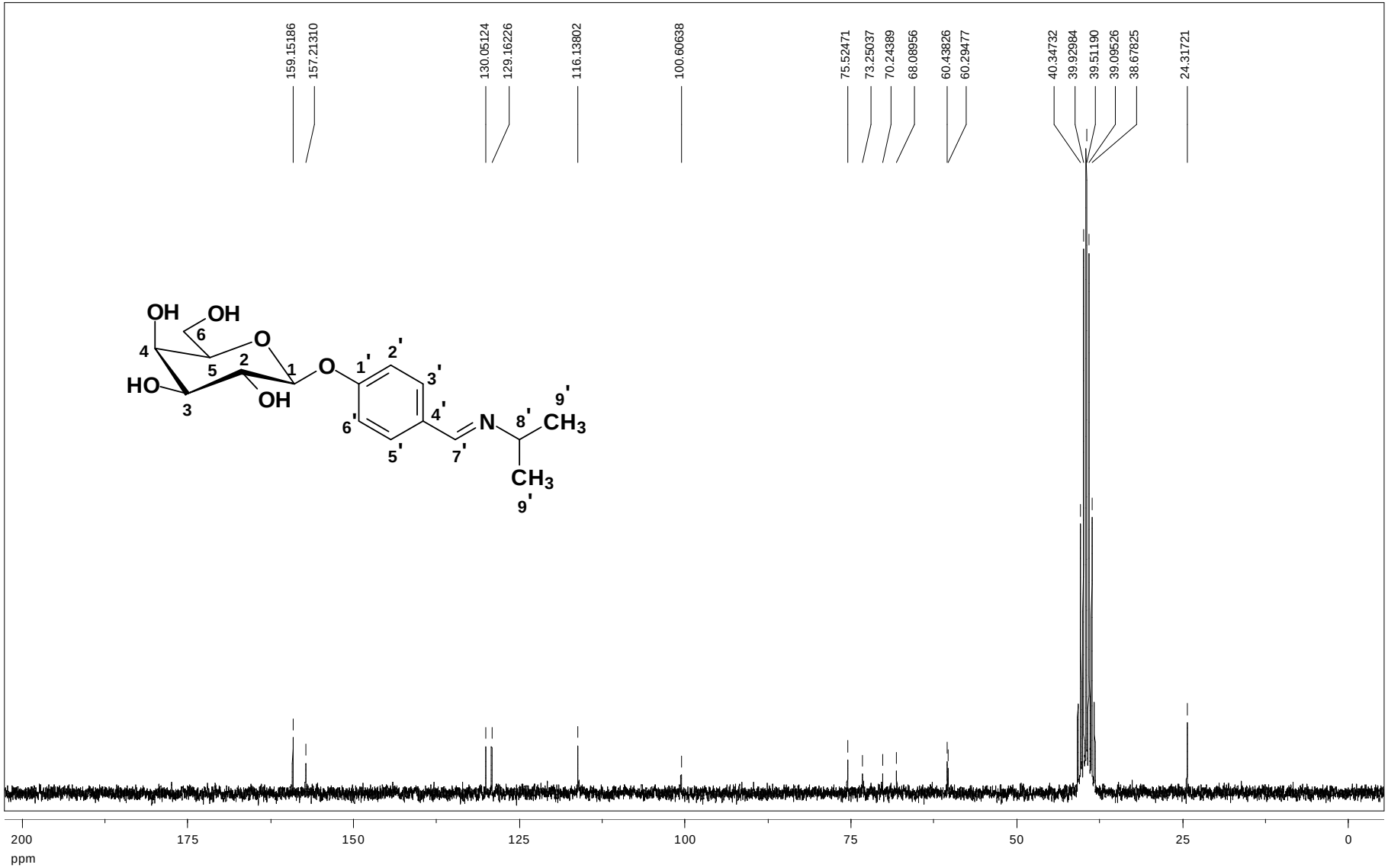


Figura 105: Espectro de RMN de ^{13}C de **50** (50 MHz, DMSO-d_6)

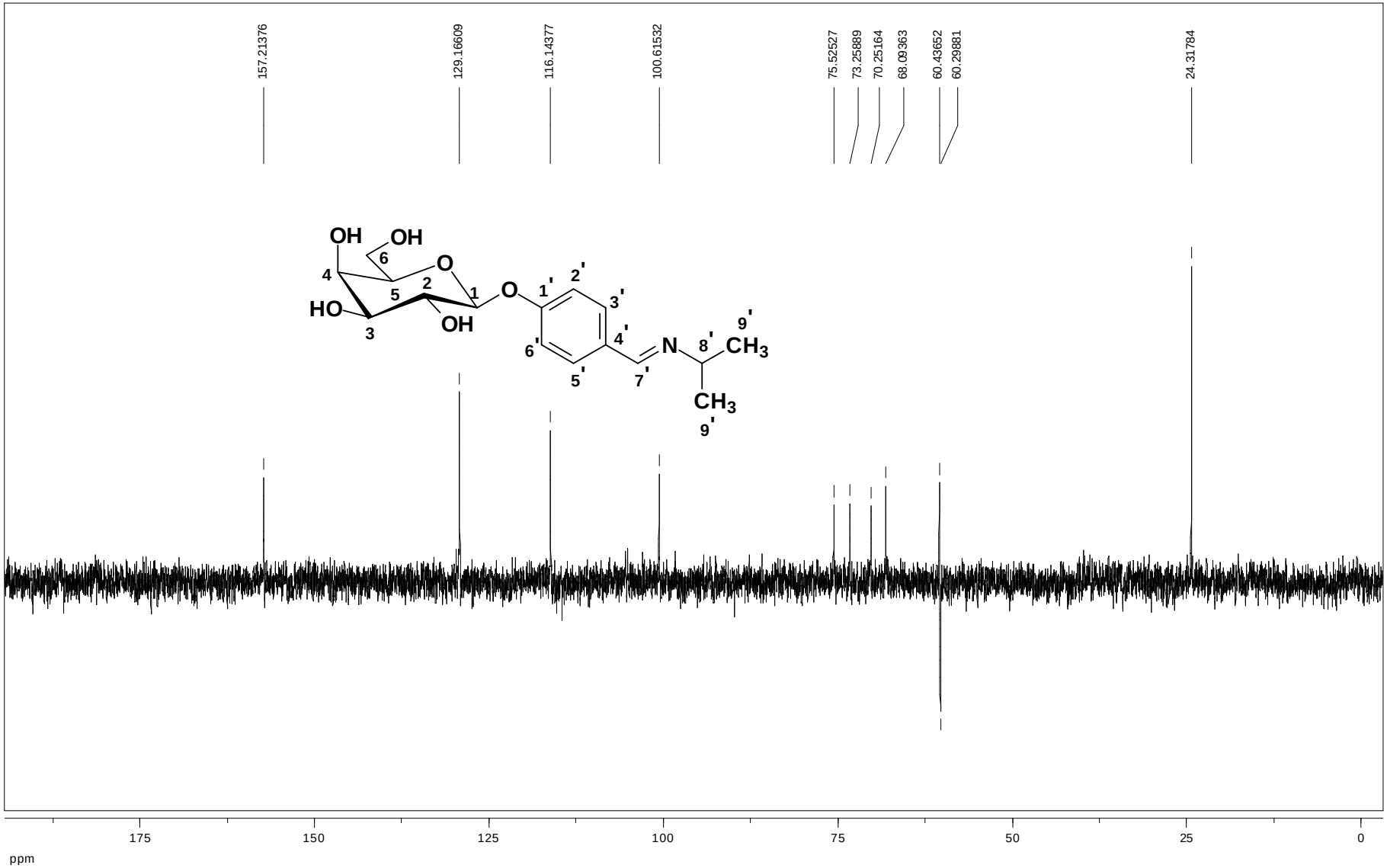


Figura 106: Subespectro DEPT-135 de **51** (50 MHz, DMSO-d_6)

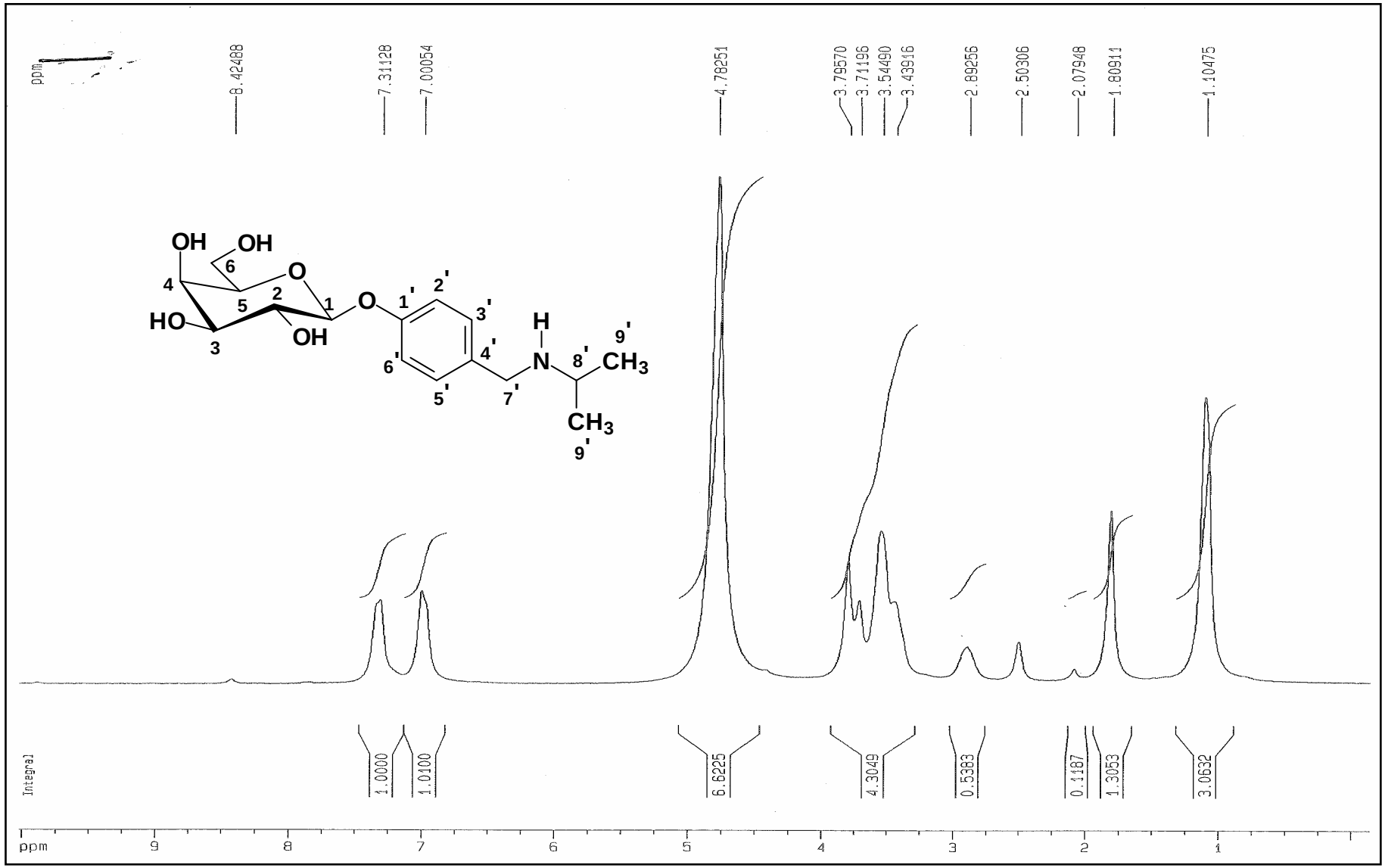


Figura 107: Espectro de RMN de ^{1}H de **47** (200 MHz, DMSO-d_6)

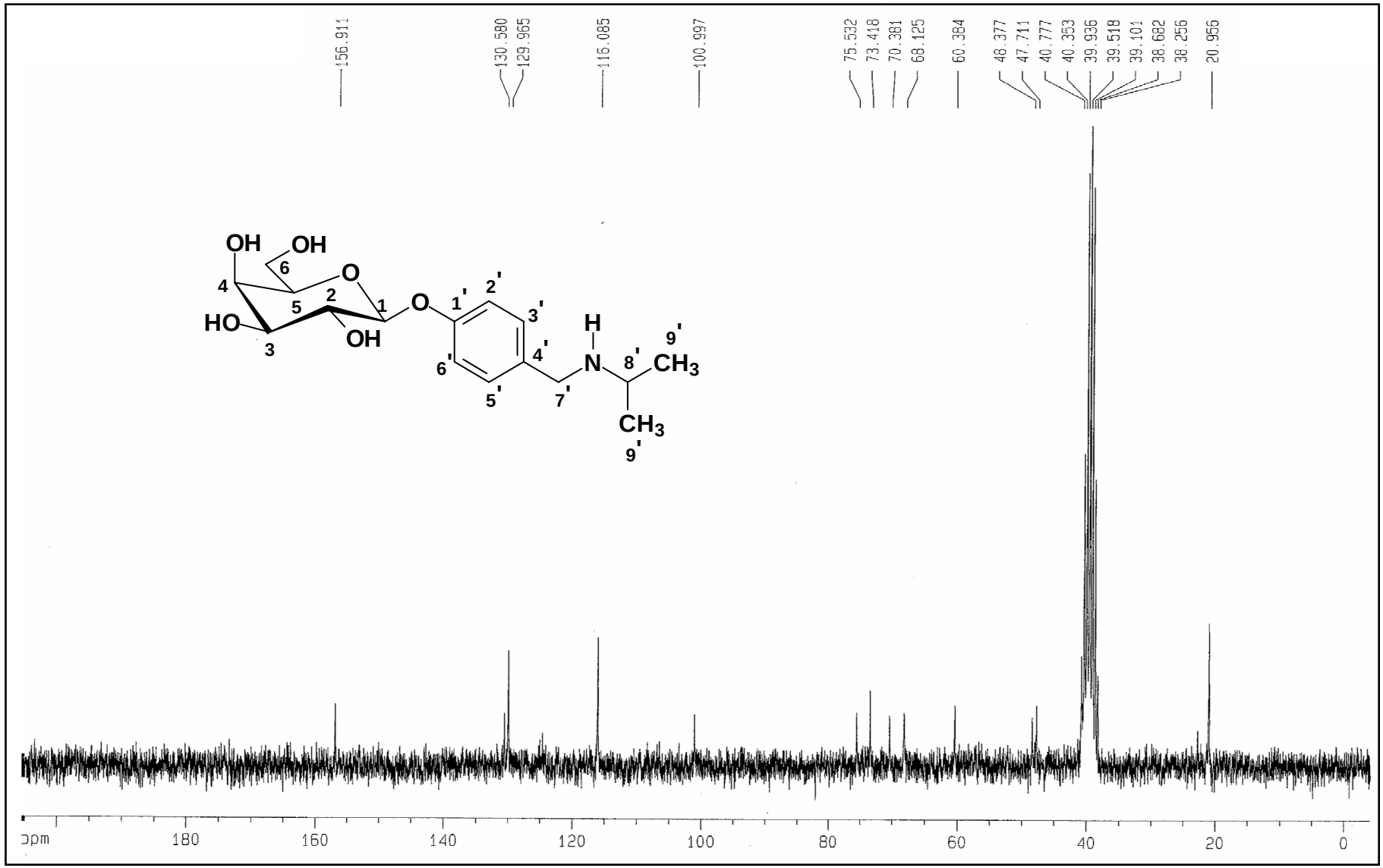


Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C de **47** (50 MHz, DMSO-d_6)

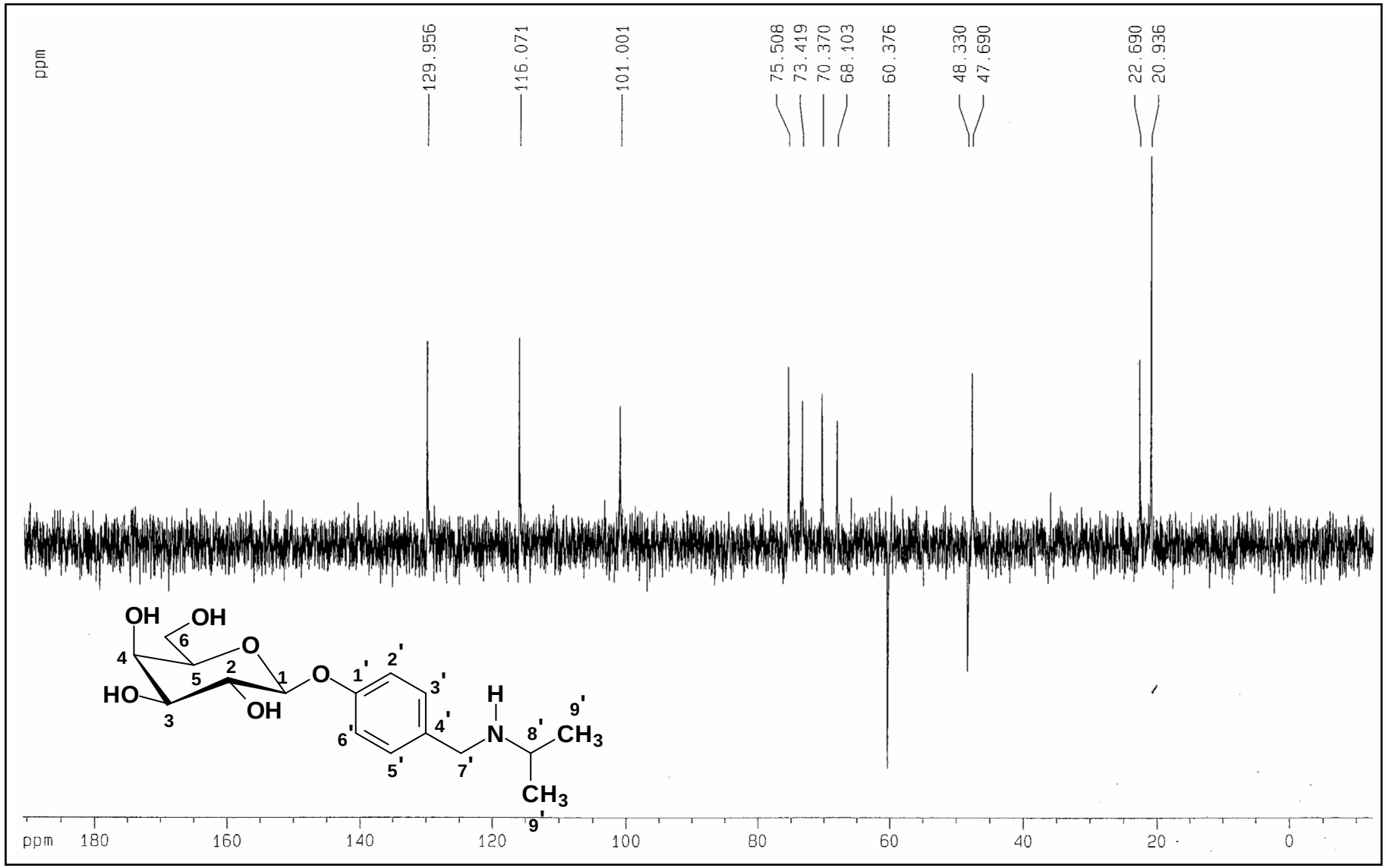


Figura 109: Subespectro DEPT-135 de **47** (50 MHz, DMSO-d_6)

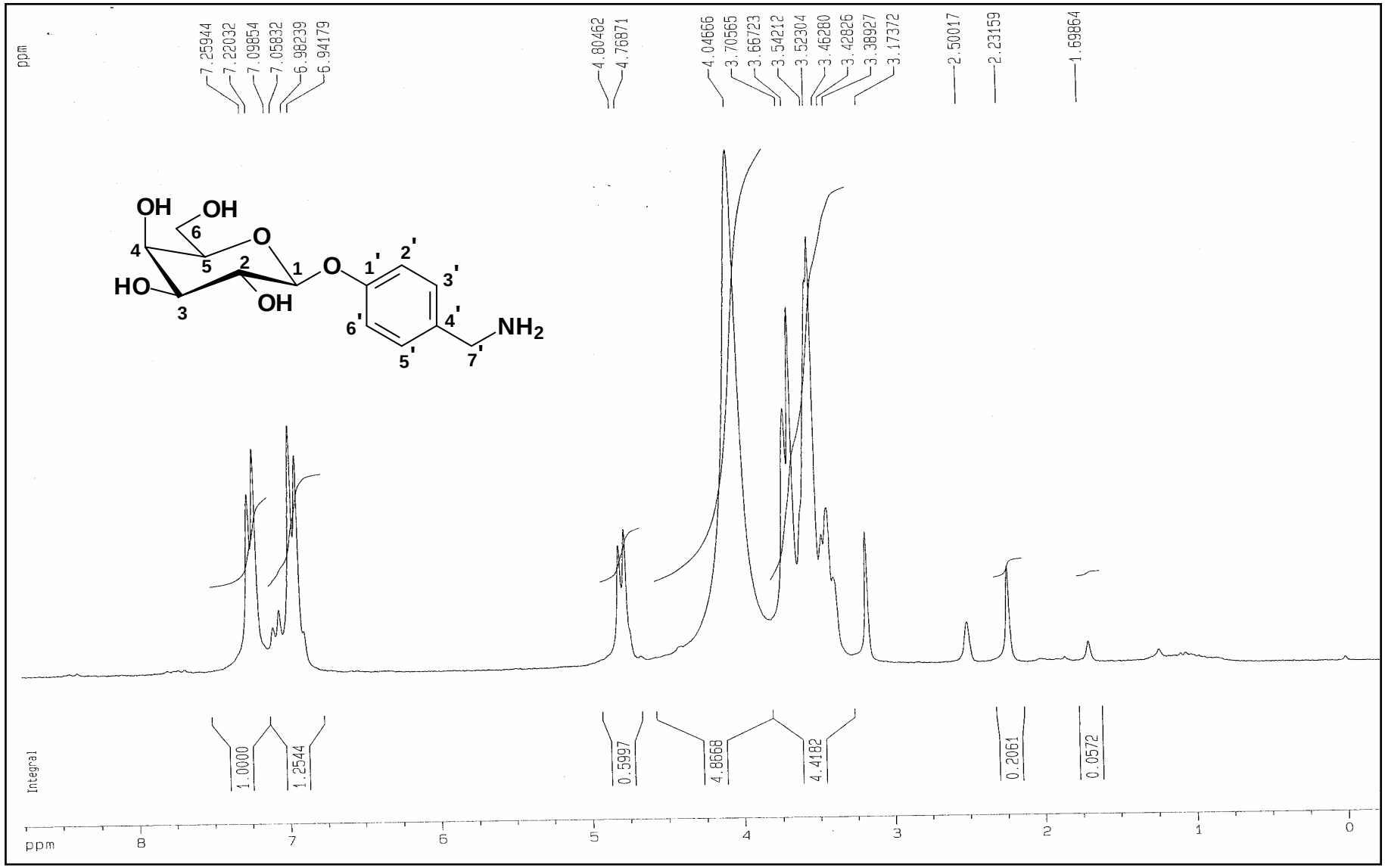


Figura 110: Espectro de RMN de ^{1}H de **52** (200 MHz, DMSO-d_6)

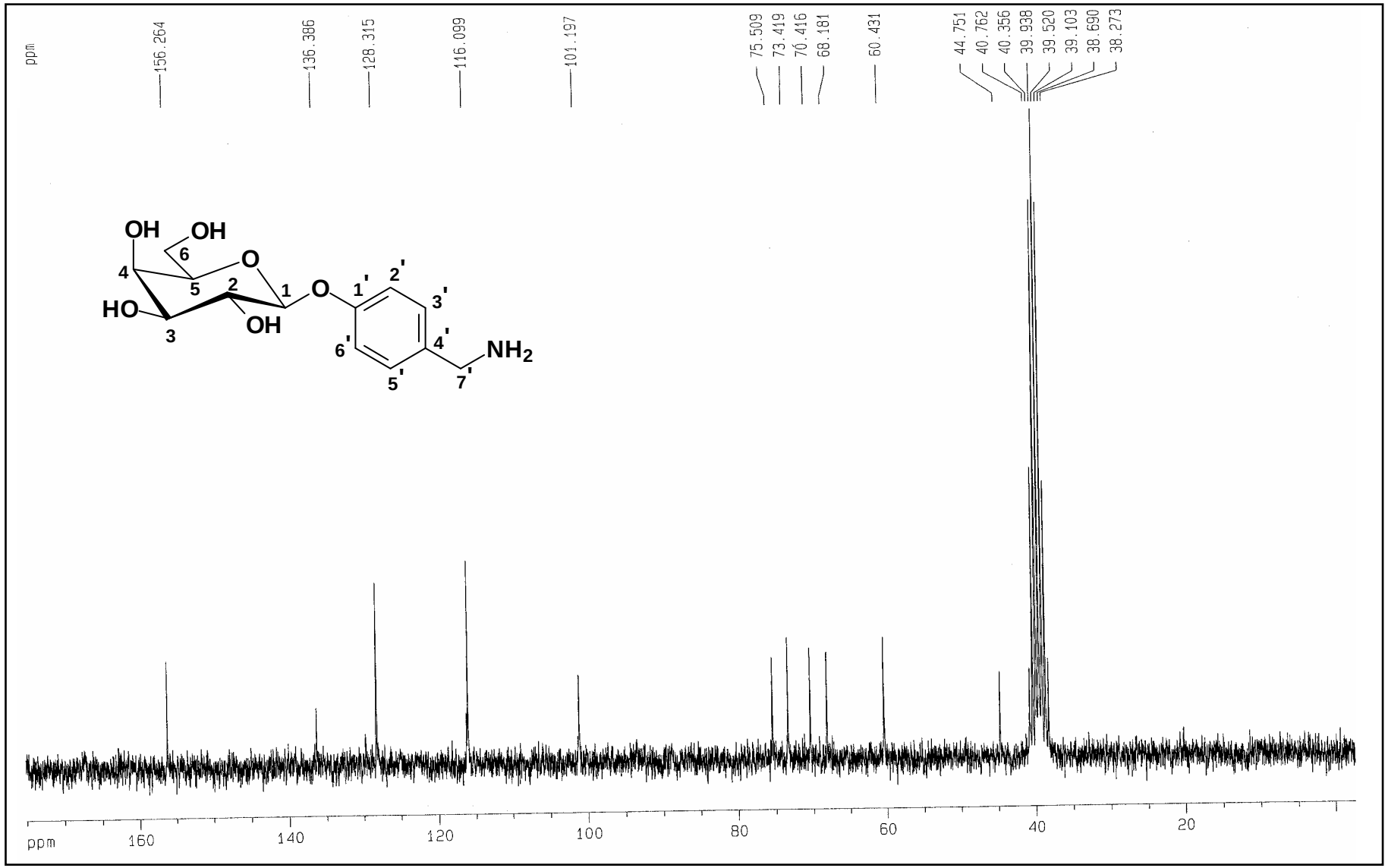


Figura 111: Espectro de RMN de ^{13}C de **52** (50 MHz, DMSO-d_6)

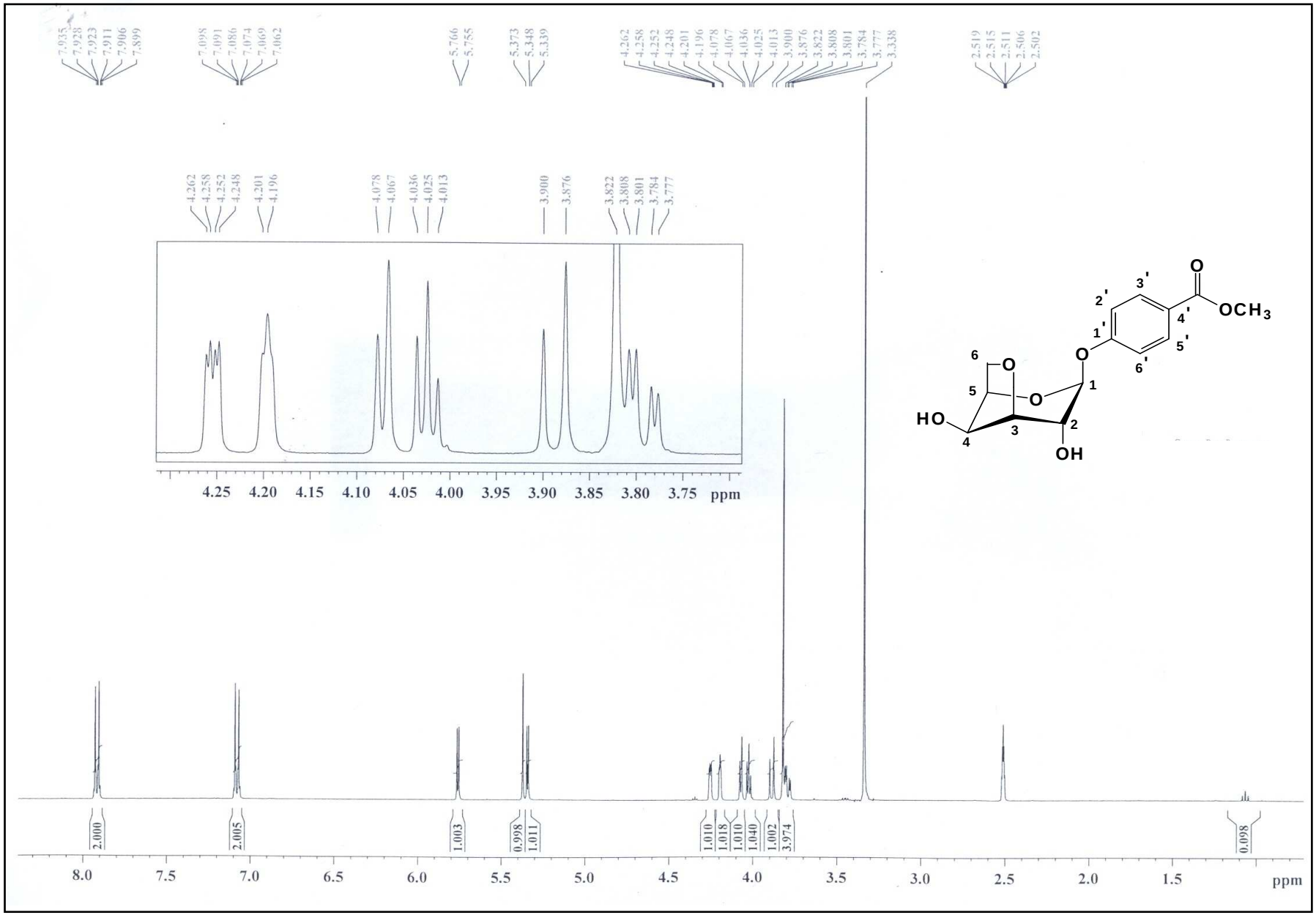


Figura 112: Espectro de RMN de ^{1}H de **53** (400 MHz, DMSO-d_6)

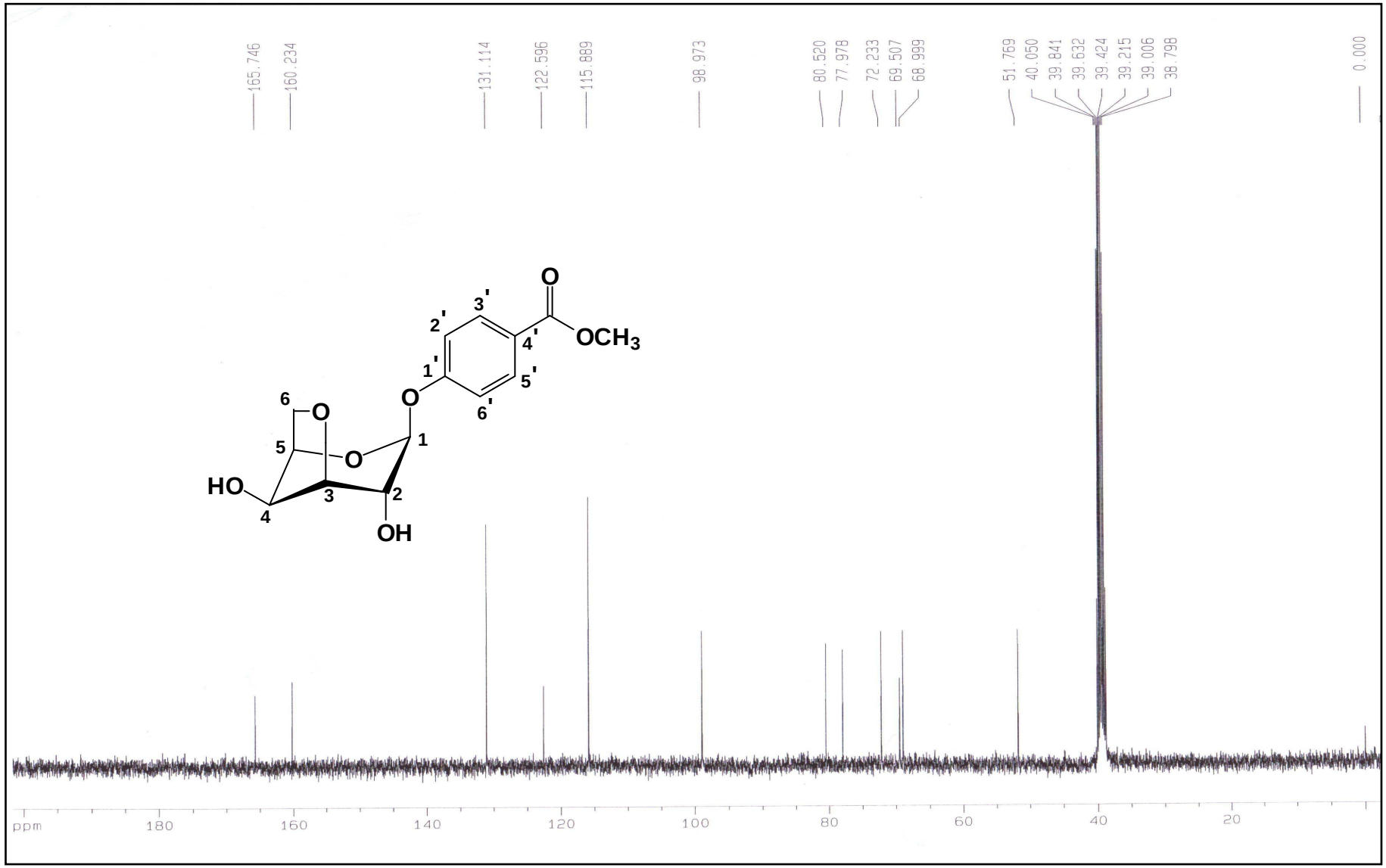


Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C de **53** (100 MHz, DMSO-d_6)

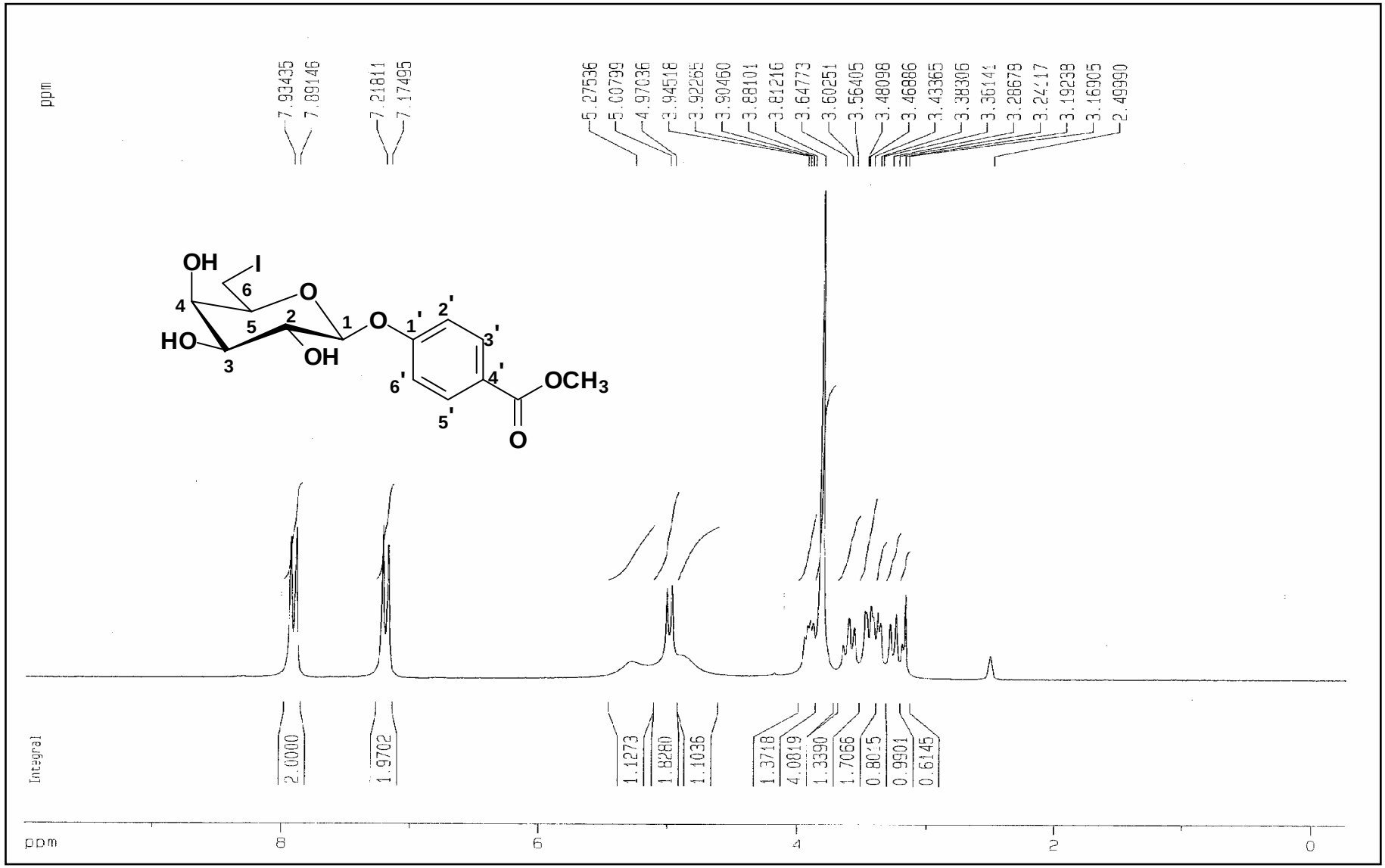


Figura 114: Espectro de RMN de ^{1}H de **58** (200 MHz, DMSO-d_6)

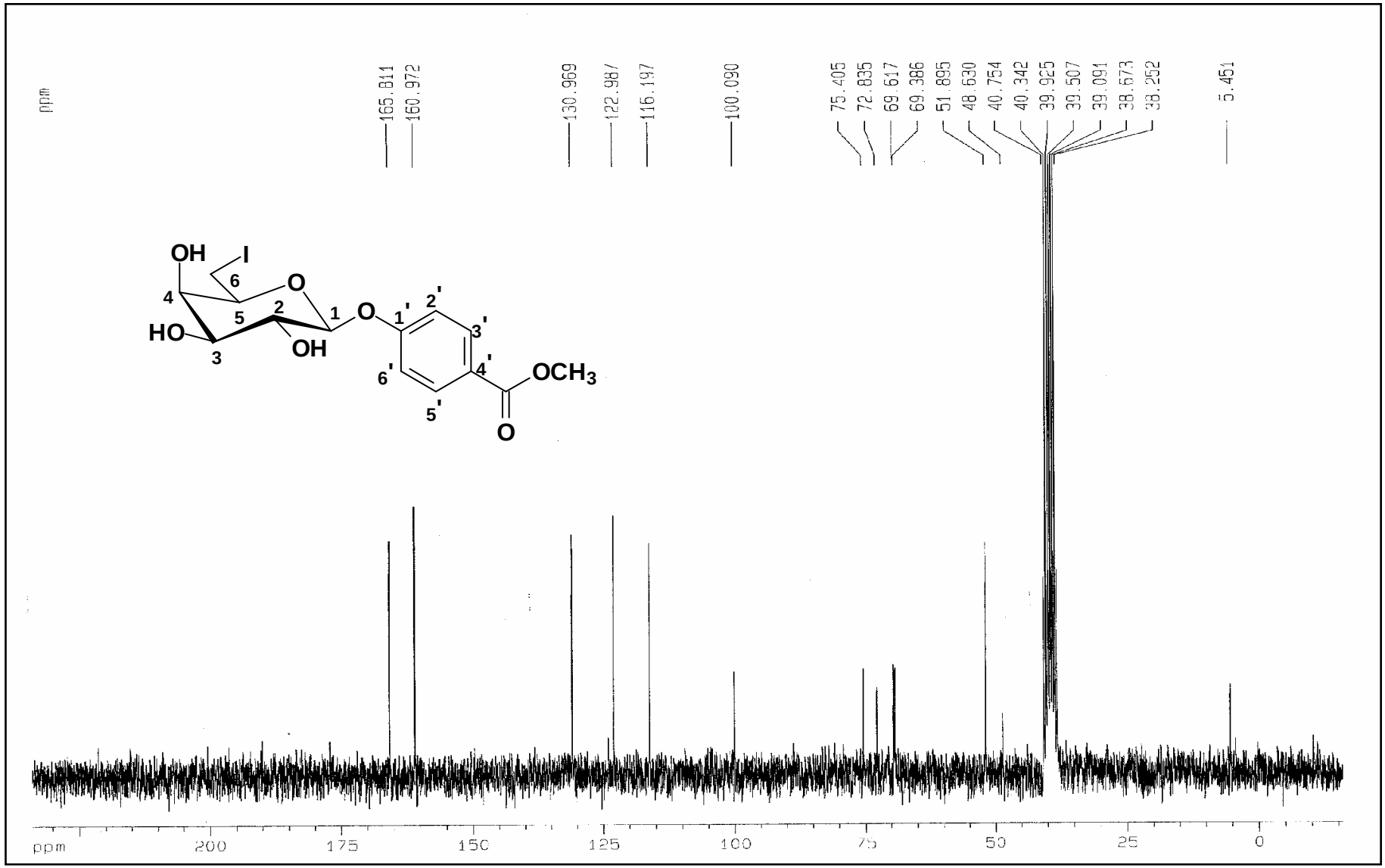


Figura 115: Espectro de RMN de ^{13}C de **58** (50 MHz, DMSO-d_6)

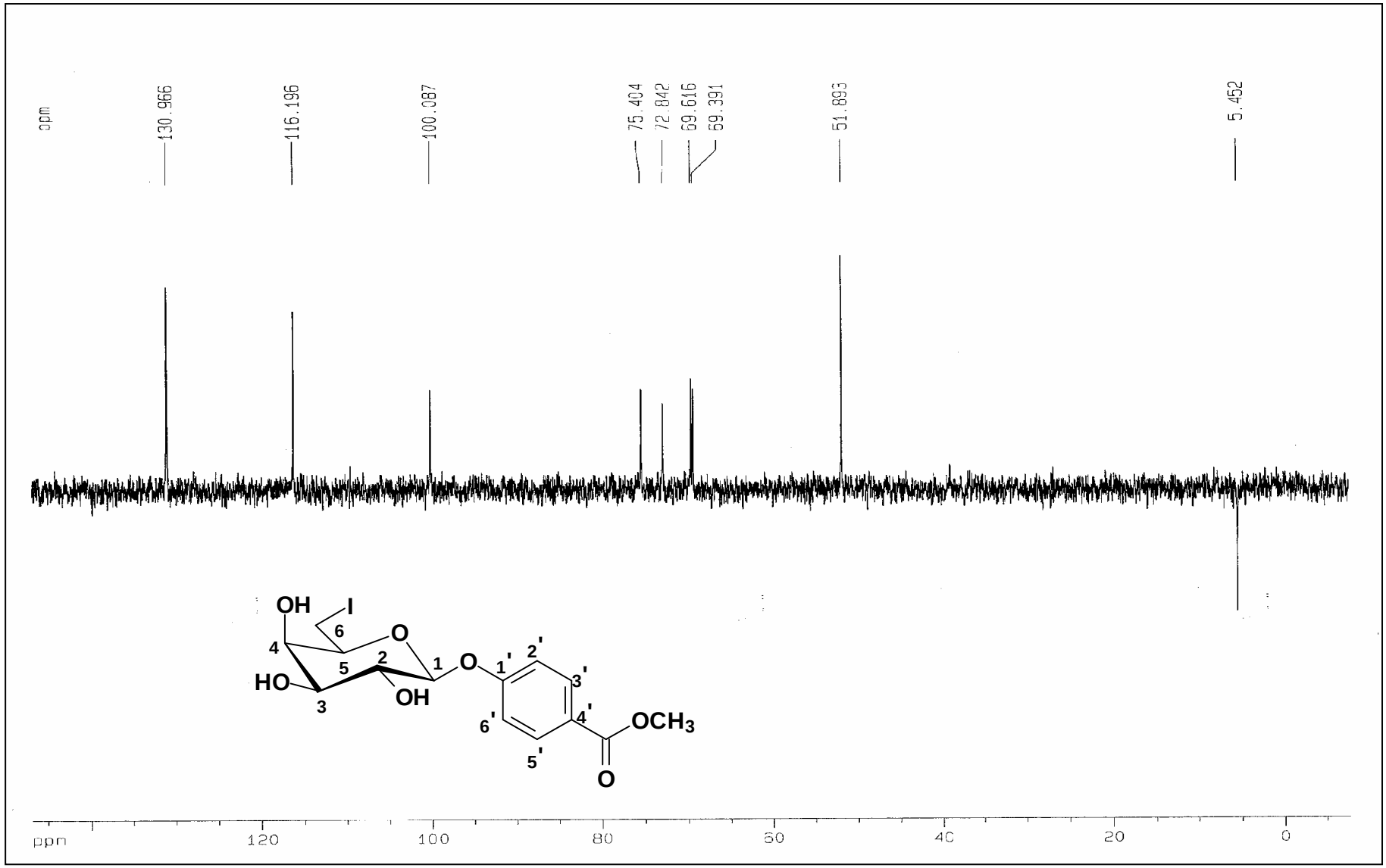


Figura 116: Subespectro DEPT-135 de **58** (50 MHz, DMSO-d_6)

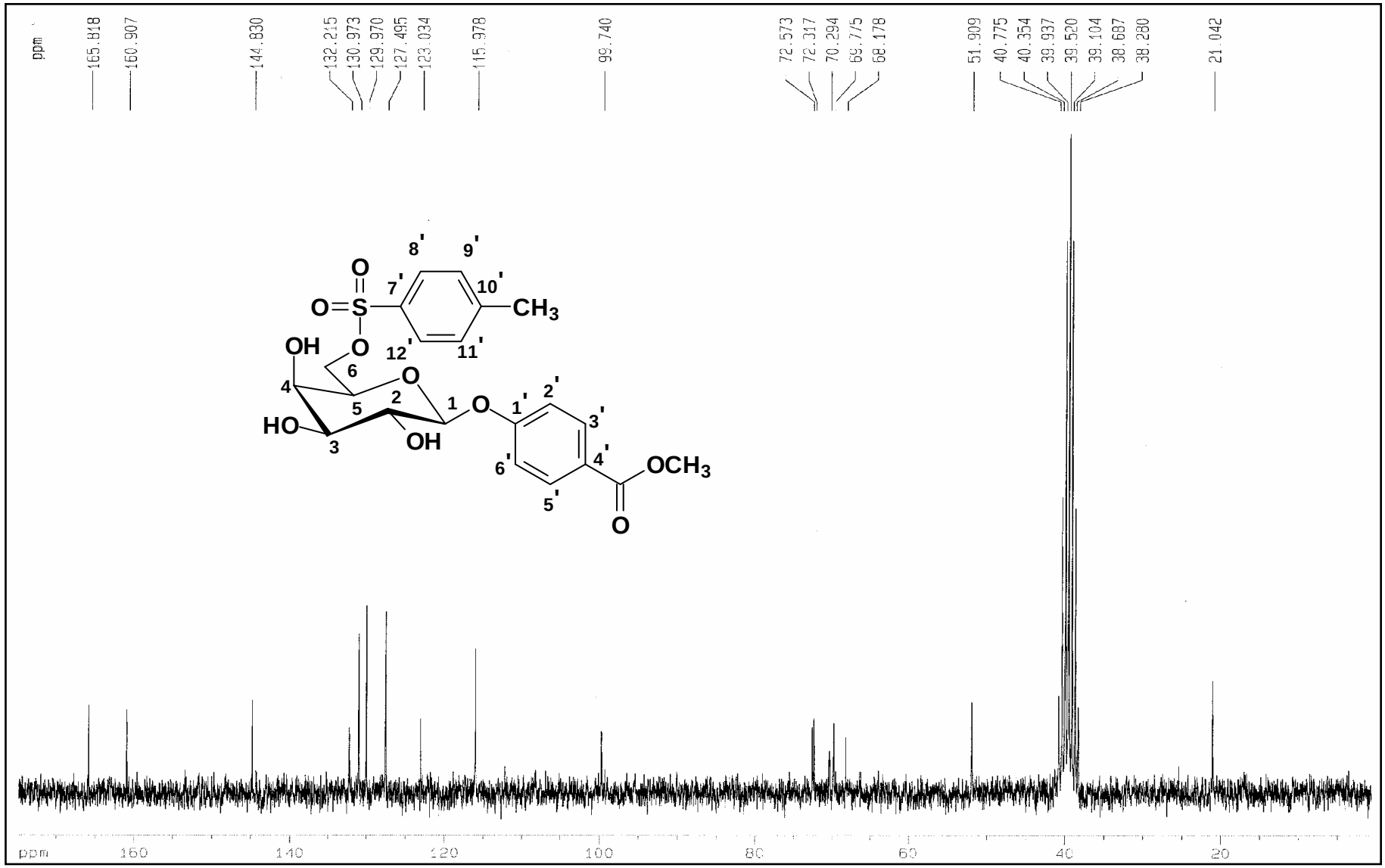


Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C de **54** (50 MHz, DMSO-d_6)

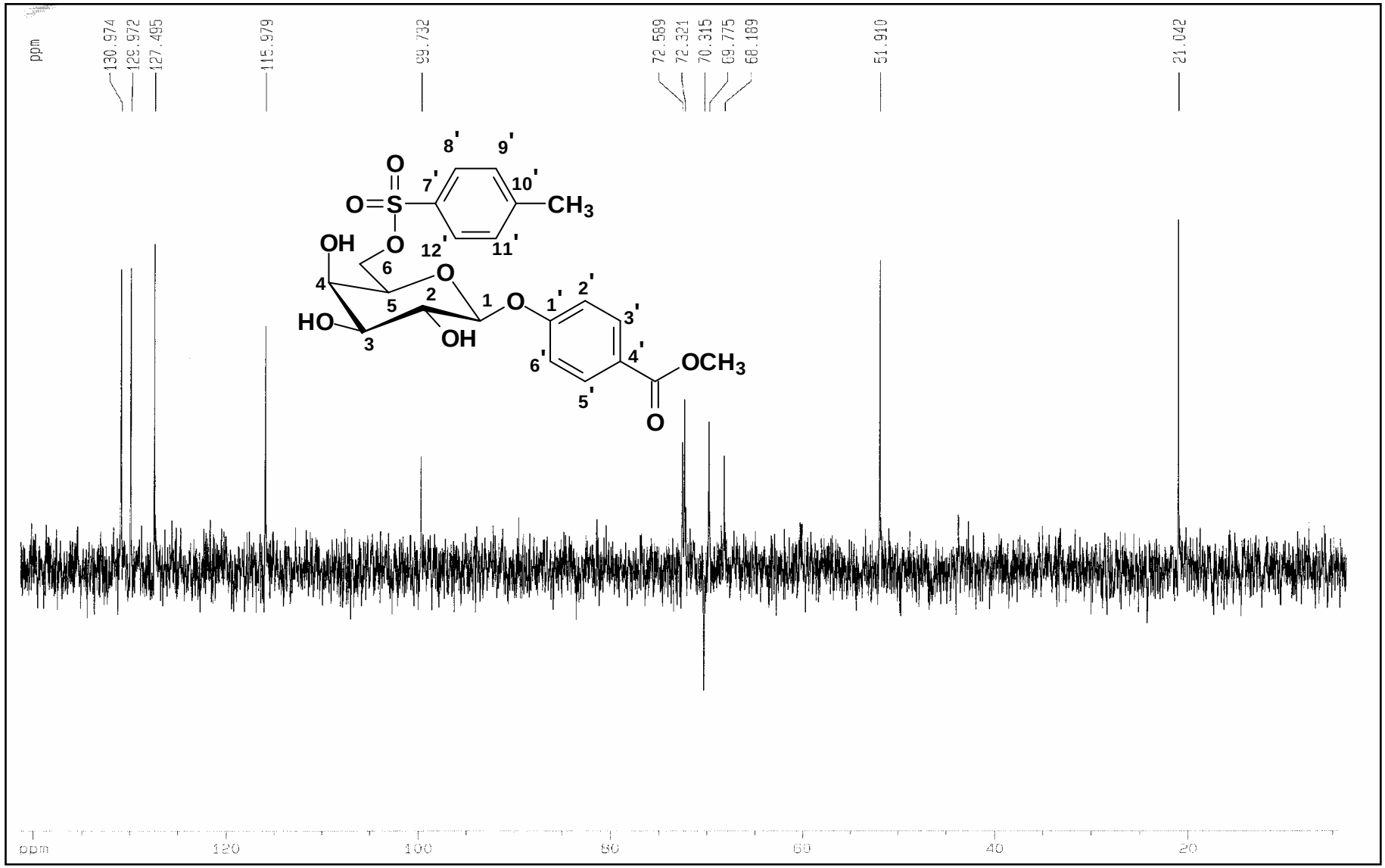


Figura 118: Subespectro DEPT 135 de **54** (50 MHz, DMSO-d_6)

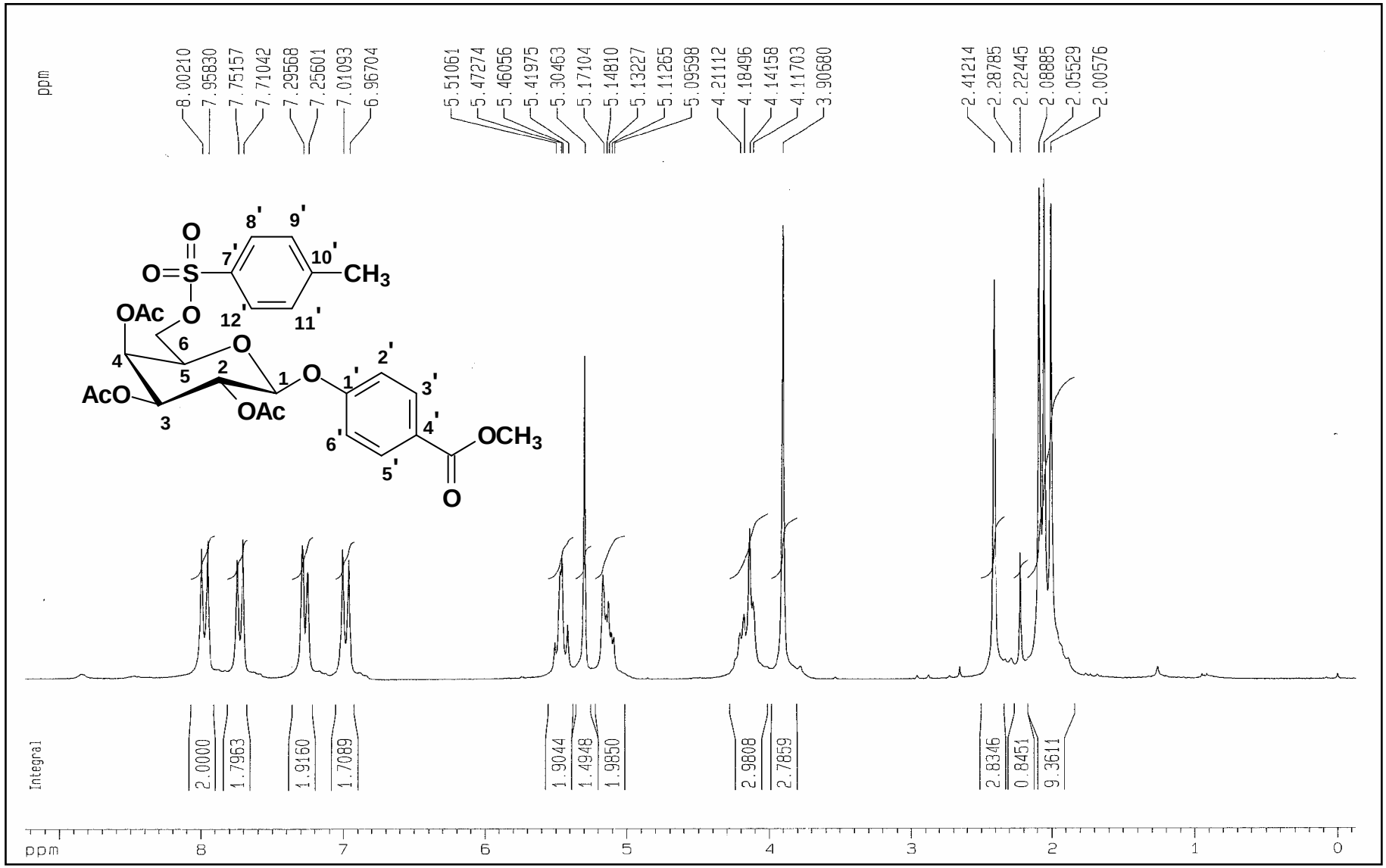


Figura 119: Espectro de RMN de ^{1}H de **55** (200 MHz, $CDCl_3$)

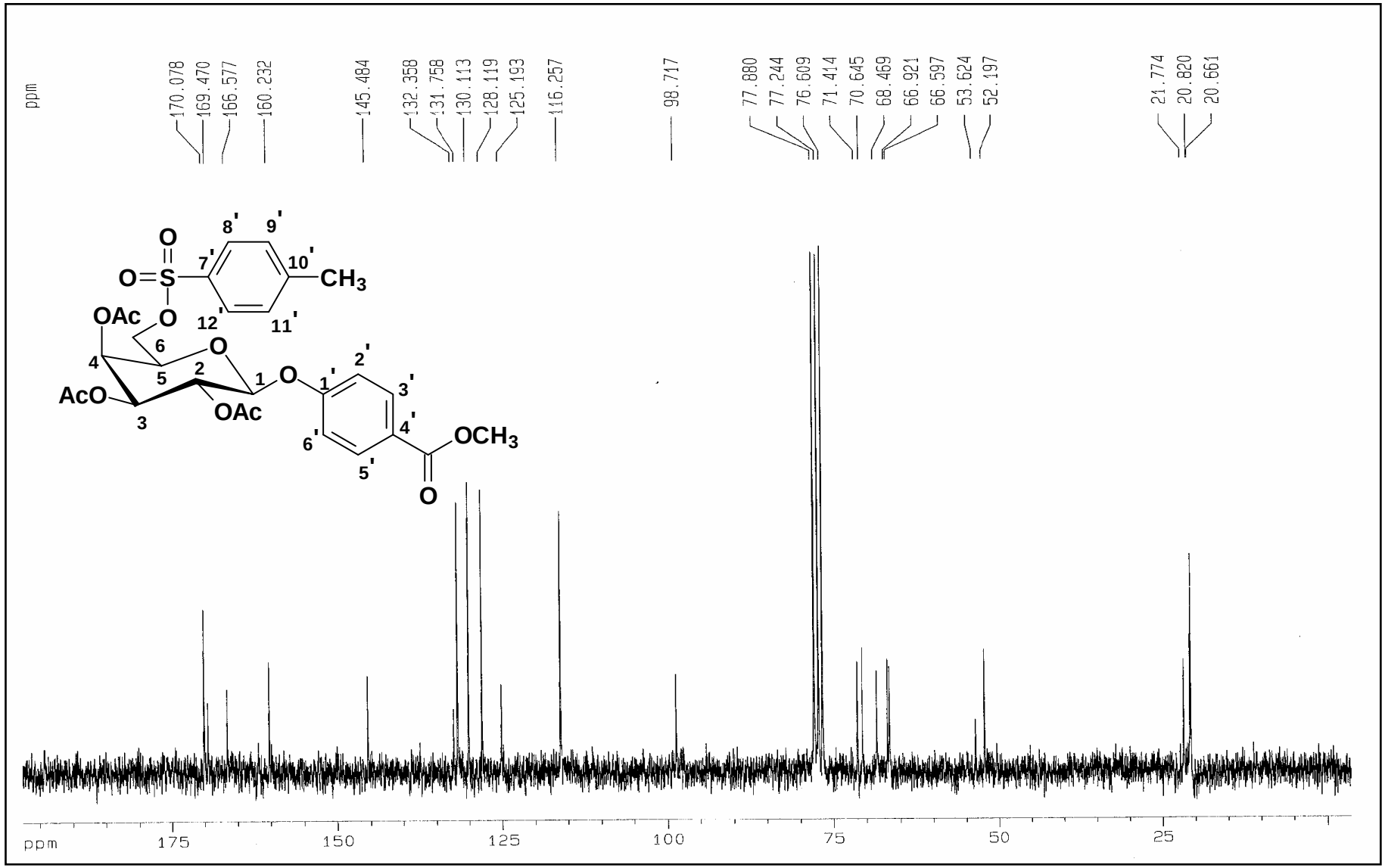


Figura 120: Espectro de RMN de ^{13}C de **55** (50 MHz, $CDCl_3$)

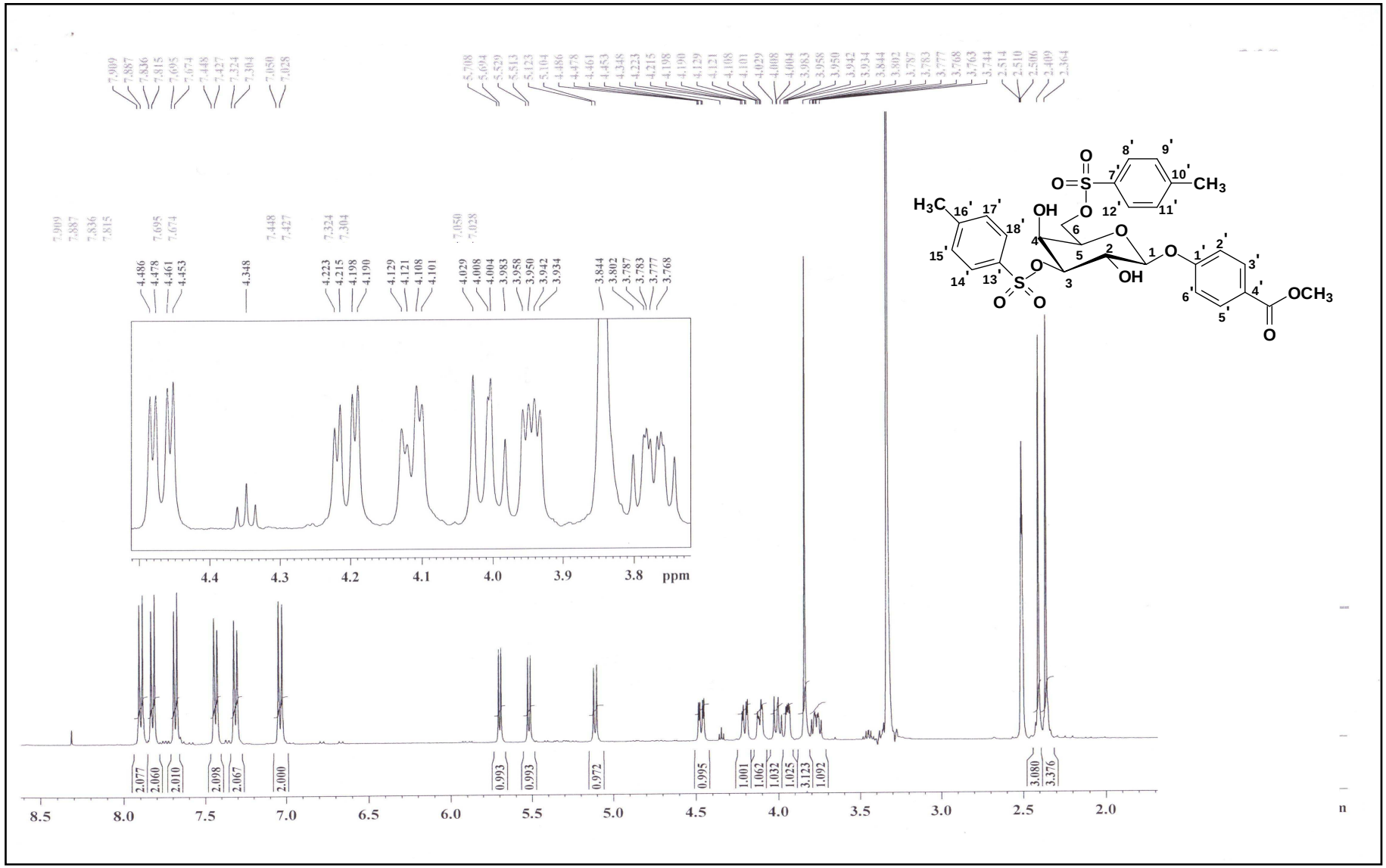


Figura 121: Espectro de RMN de ^{1}H de **55** (400 MHz, DMSO-d_6)

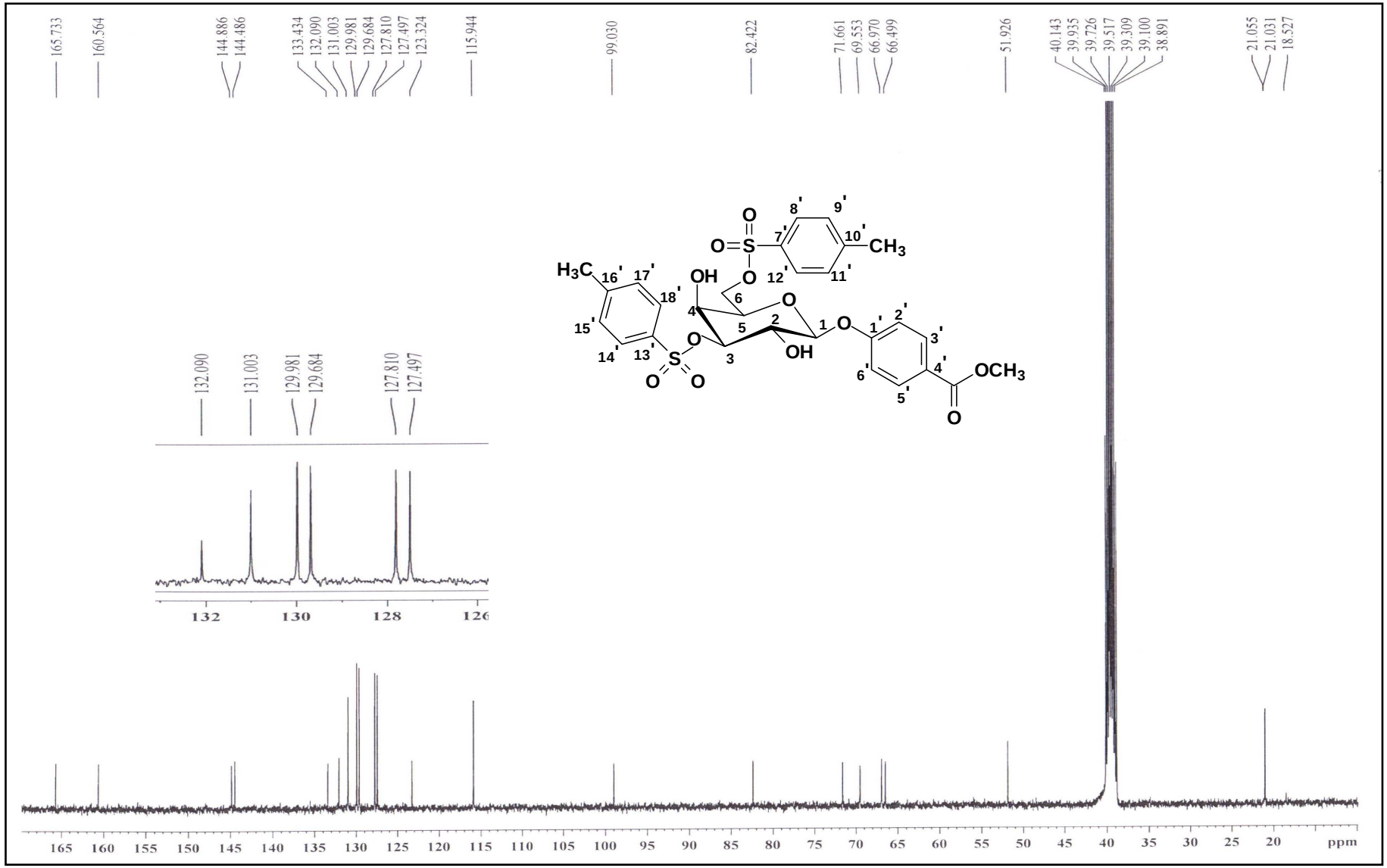


Figura 122: Espectro de RMN de ^{13}C de **55** (100 MHz, DMSO-d_6)

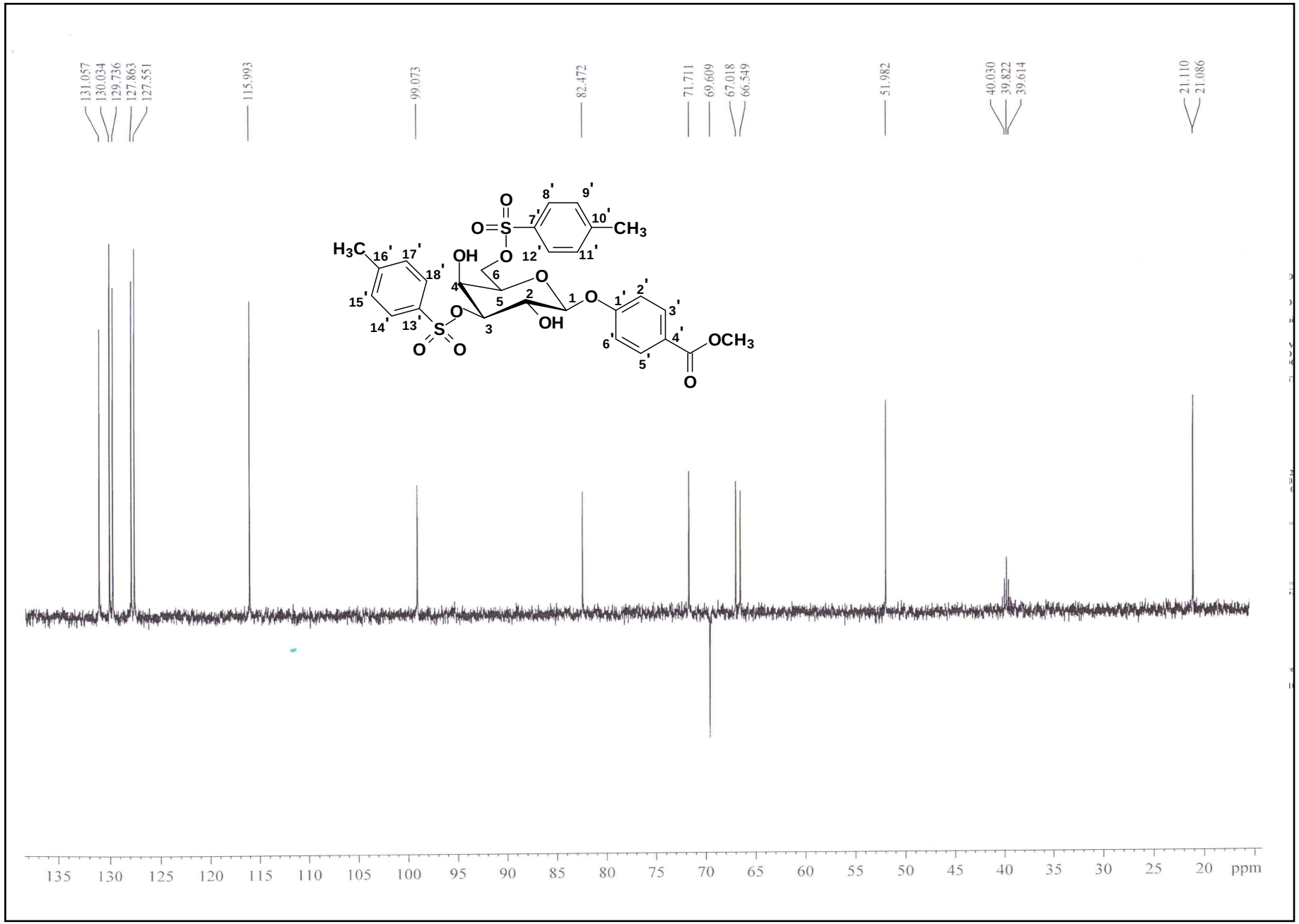


Figura 123: Subespectro DEPT-135 de **55** (100 MHz, DMSO-d_6)

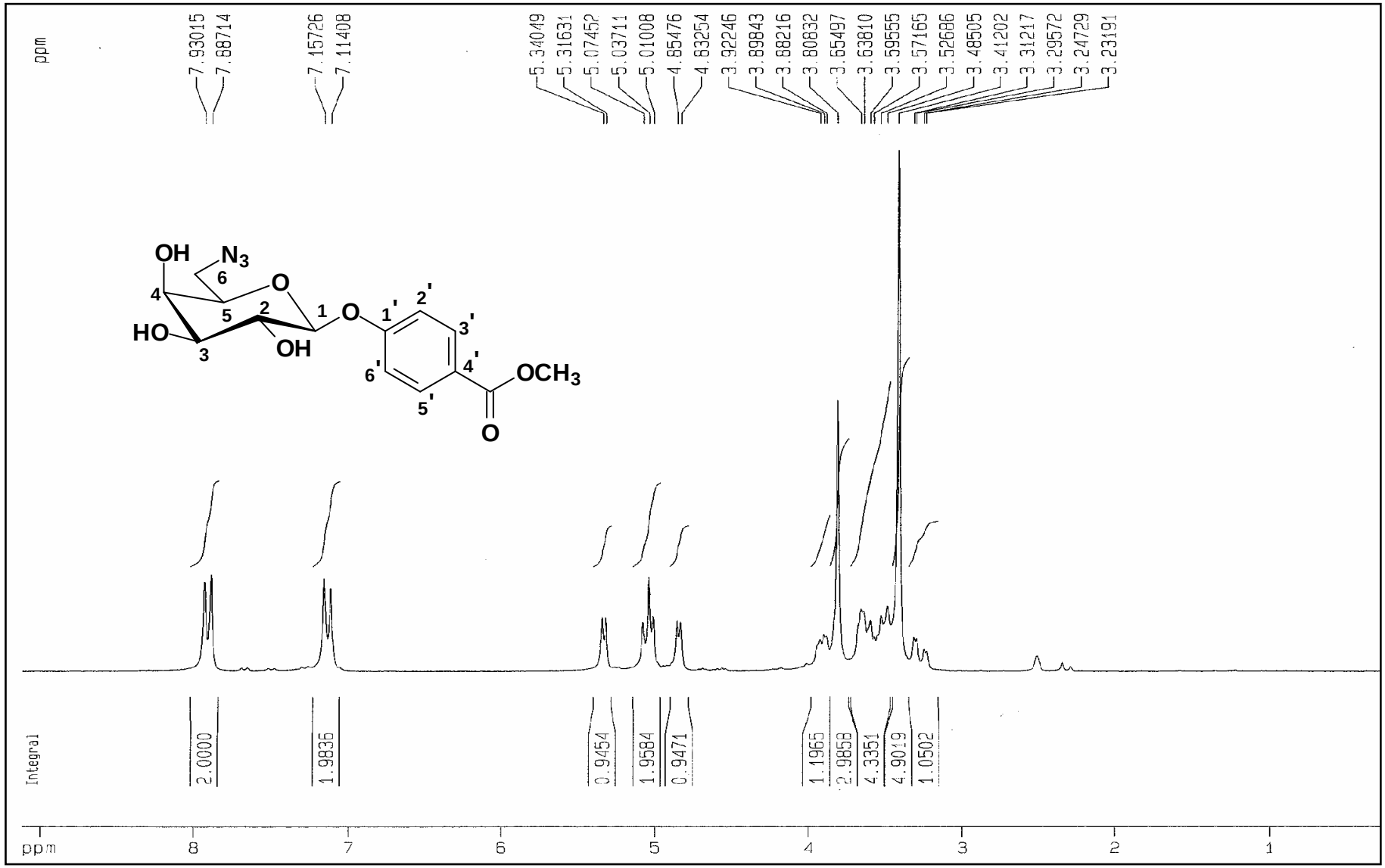


Figura 124: Espectro de RMN de ^{1}H de **62** (200 MHz, DMSO-d_6)

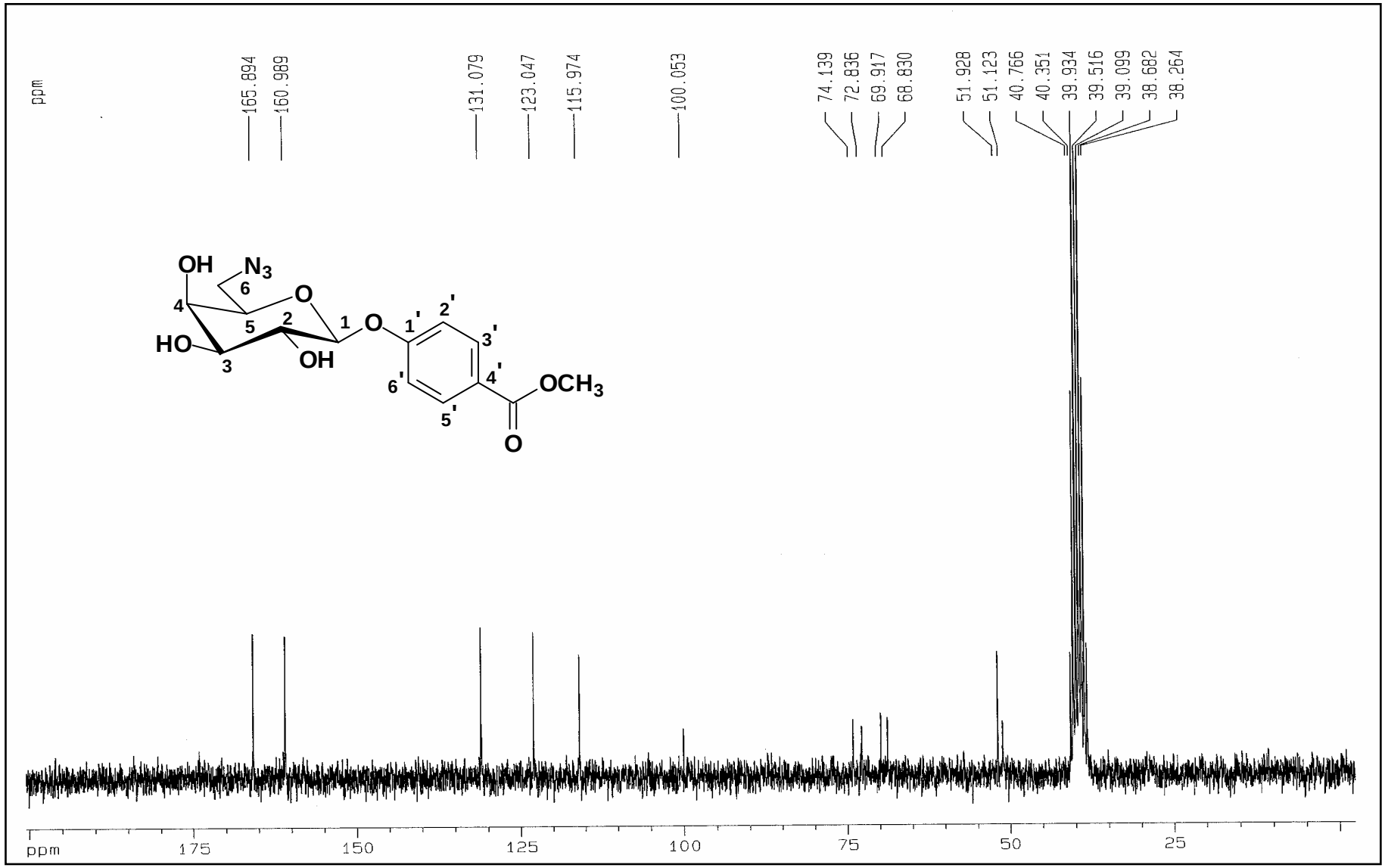


Figura 125: Espectro de RMN de ^{13}C de **62** (50 MHz, DMSO-d_6)

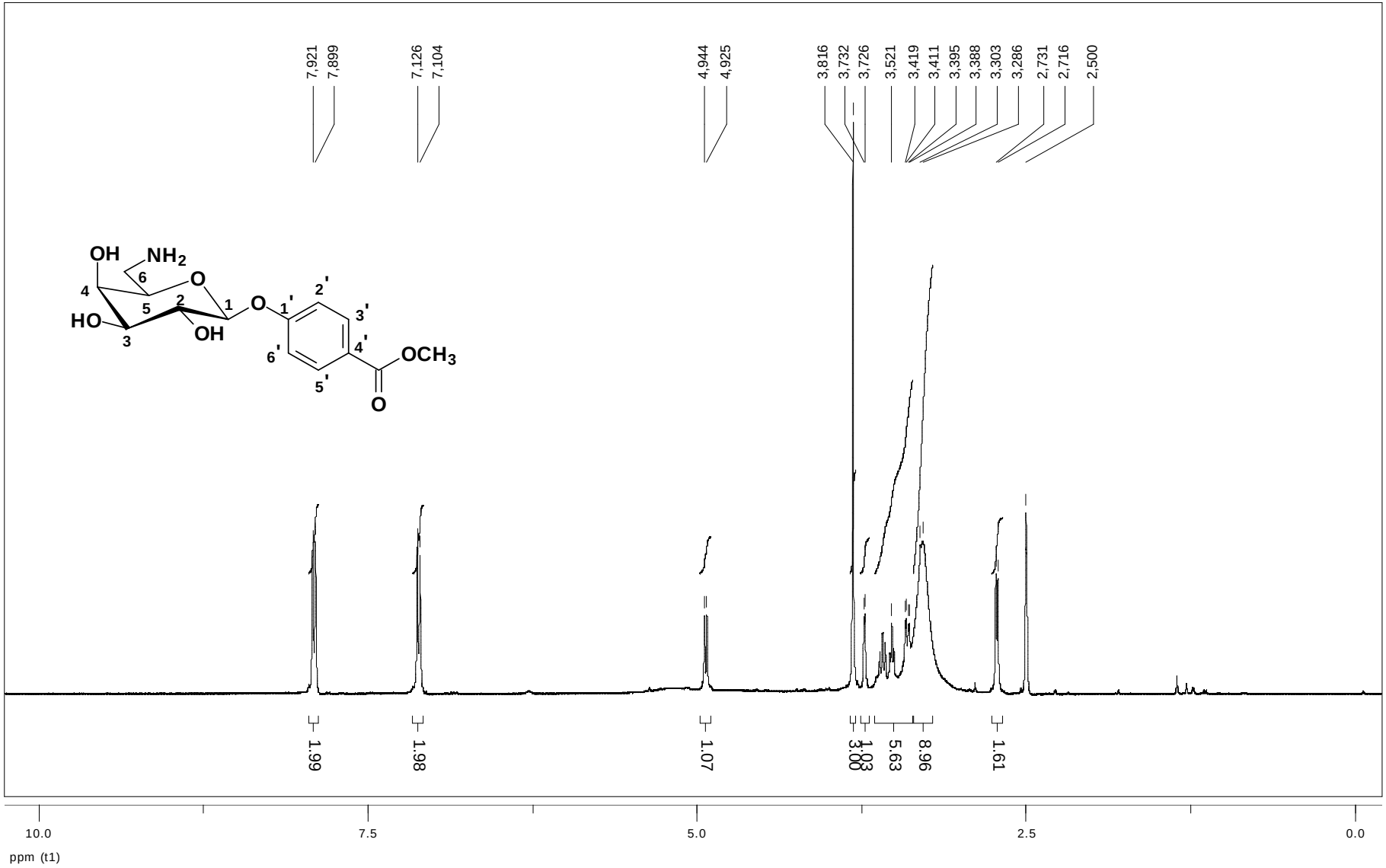


Figura 126: Espectro de RMN de ^{1}H de **63** (200 MHz, DMSO-d_6)

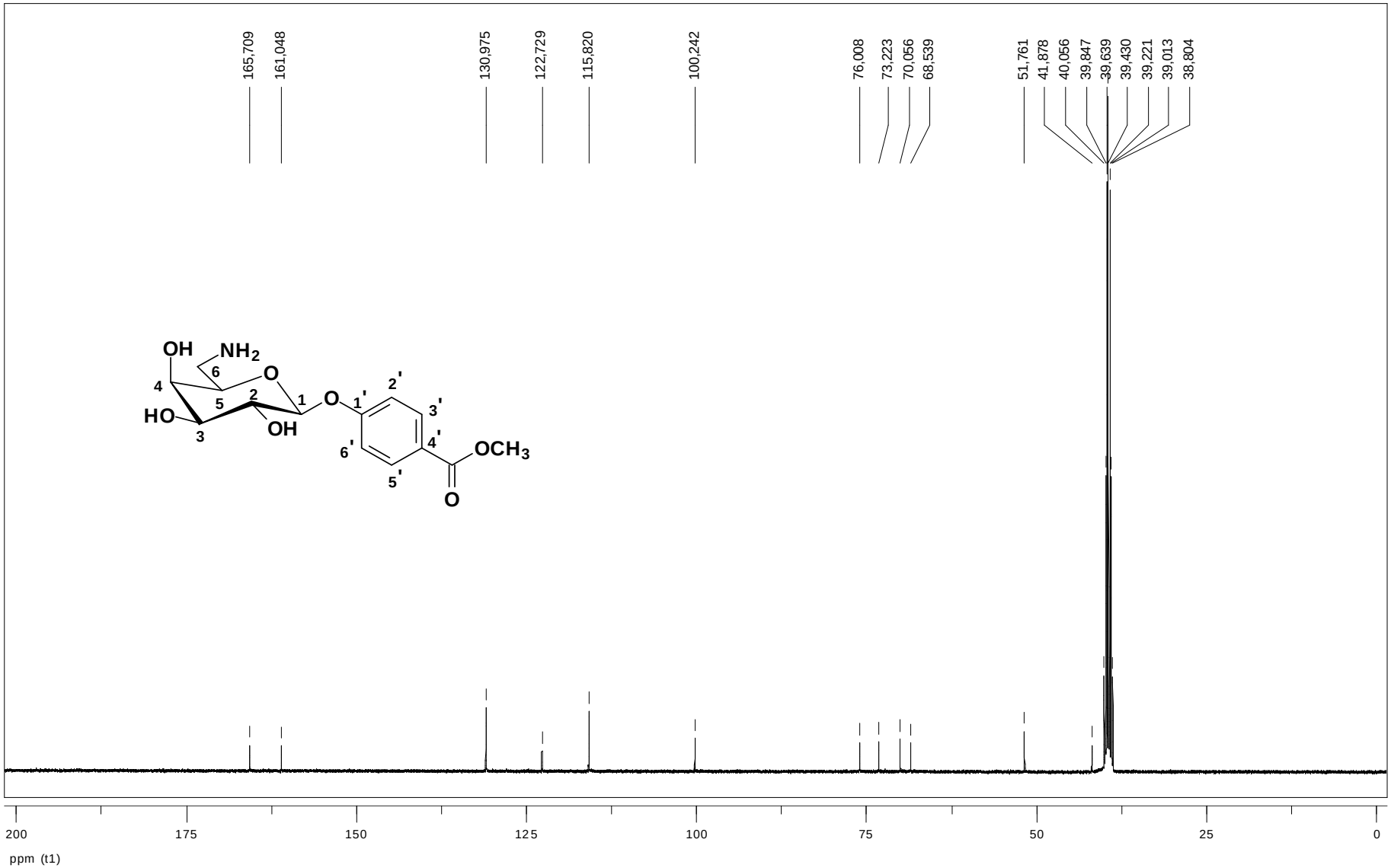


Figura 127: Espectro de RMN de ^{13}C de **63** (50 MHz, DMSO-d_6)

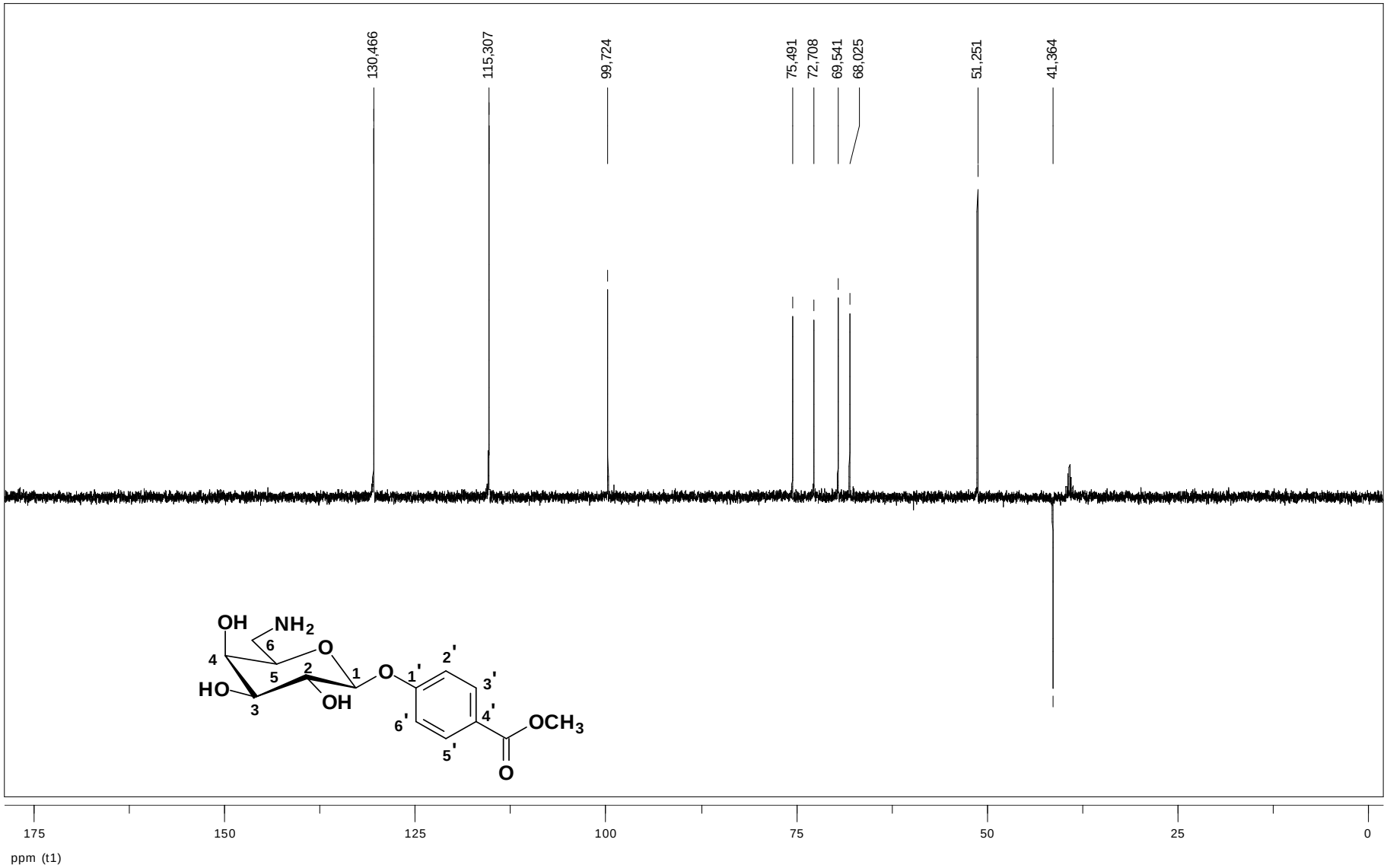


Figura 128: Subespectro DEPT-135 de **63** (50 MHz, DMSO-d_6)

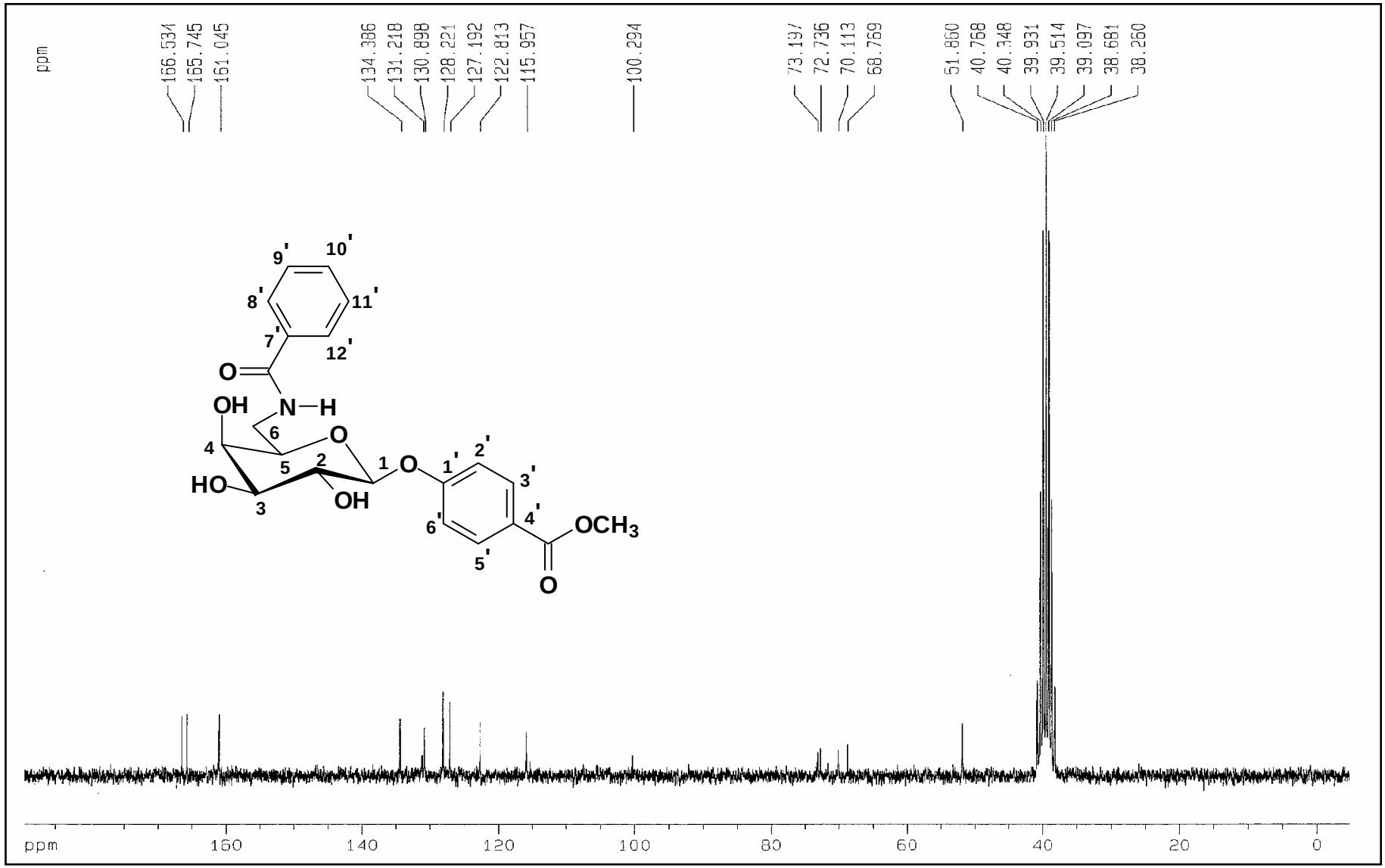


Figura 129: Espectro de RMN de ^{13}C de **64** (50 MHz, DMSO-d_6)

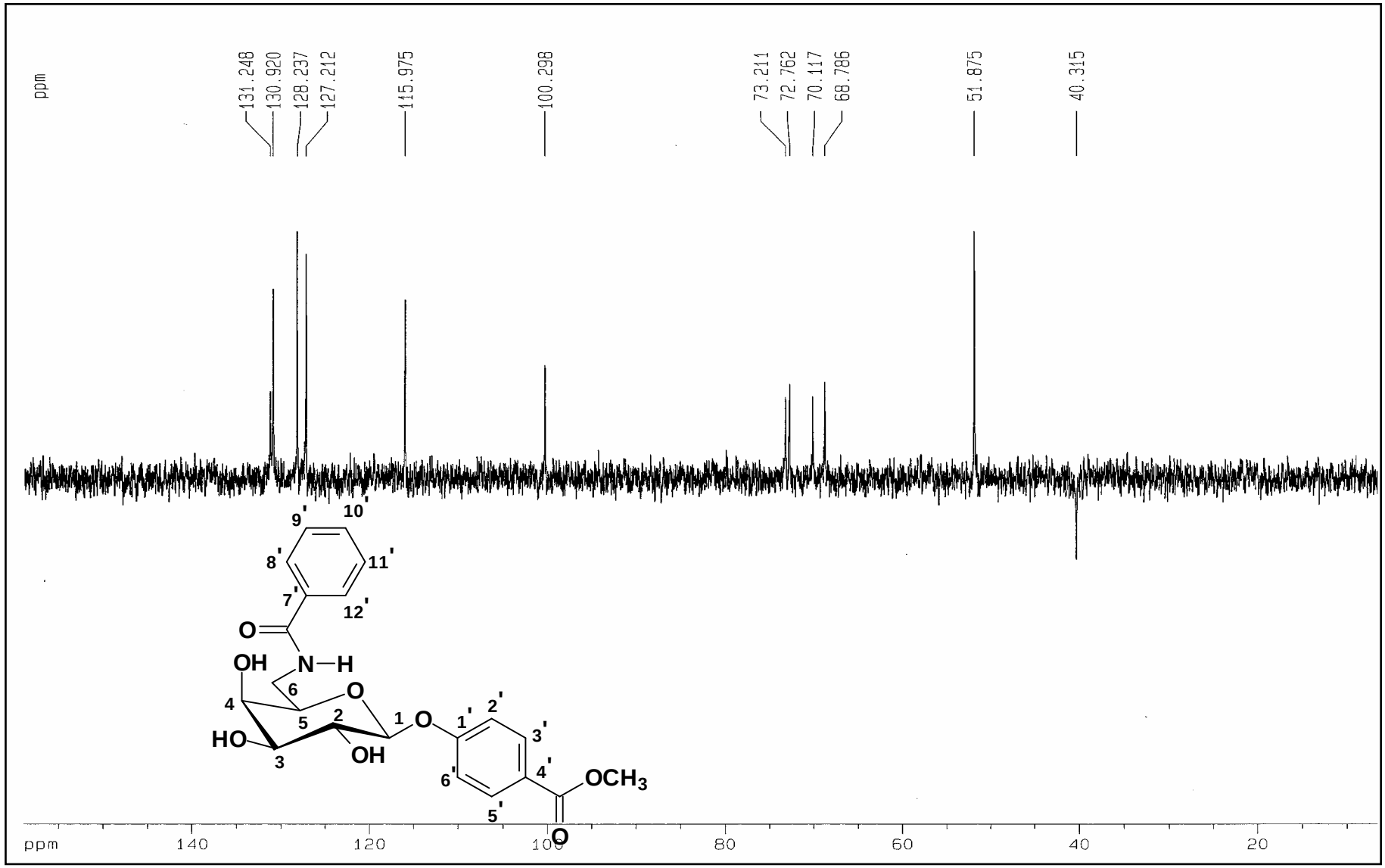


Figura 130: Subespectro DEPT 135 de **64** (50 MHz, DMSO-d_6)

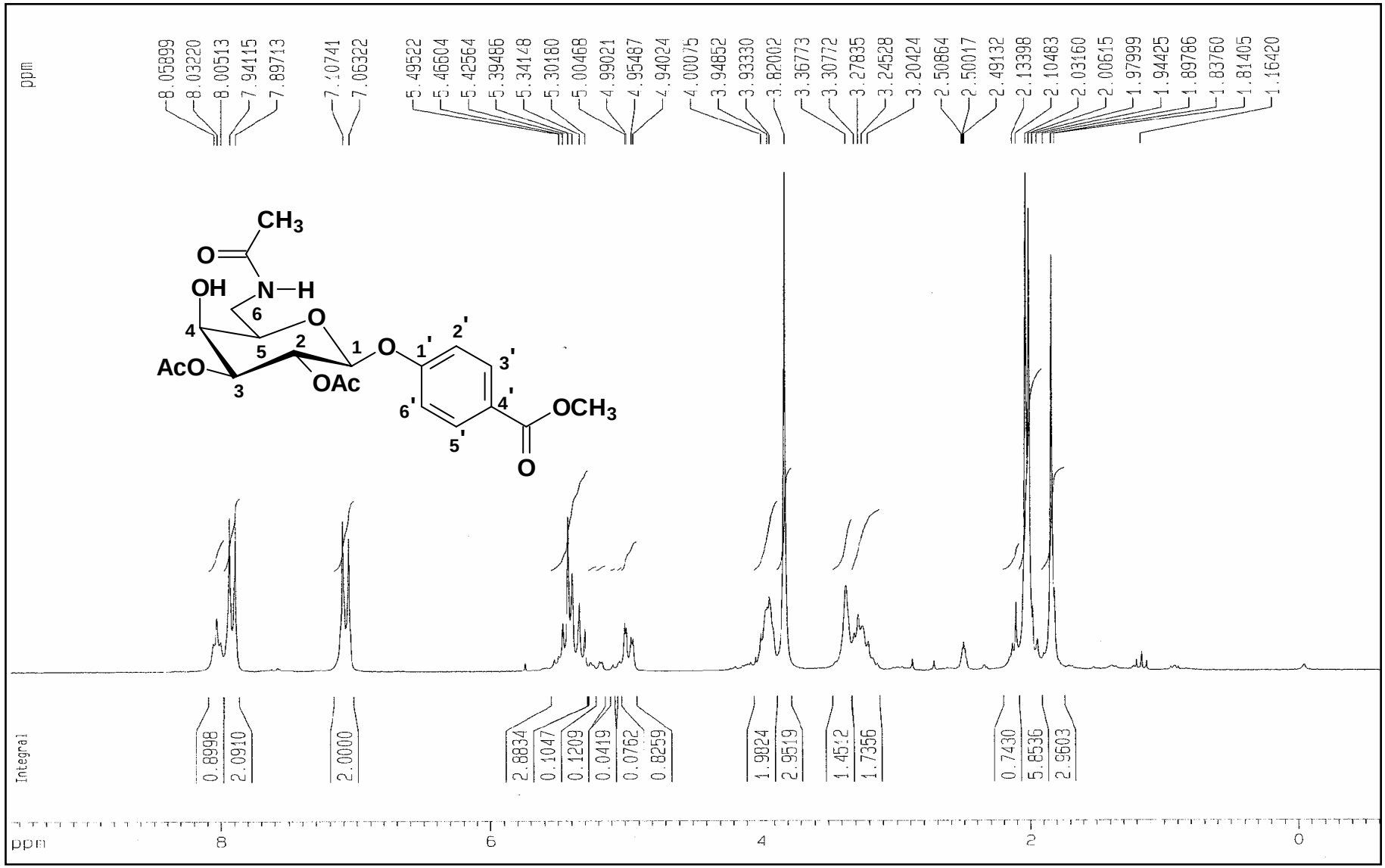


Figura 131: Espectro de RMN de ^{1}H de **60** (200 MHz, DMSO-d_6)

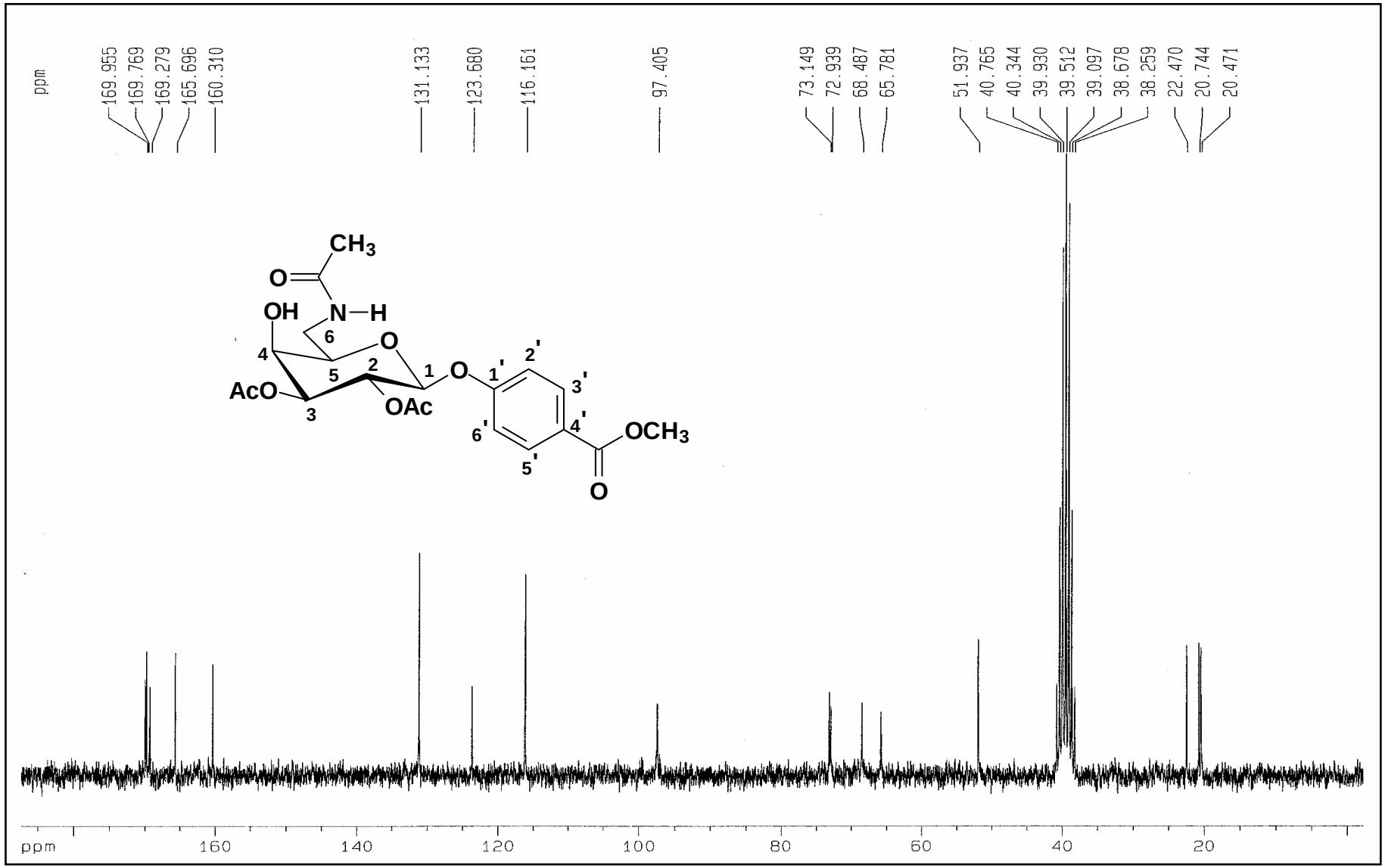


Figura 132: Espectro de RMN de ^{13}C de **60** (50 MHz, DMSO-d_6)

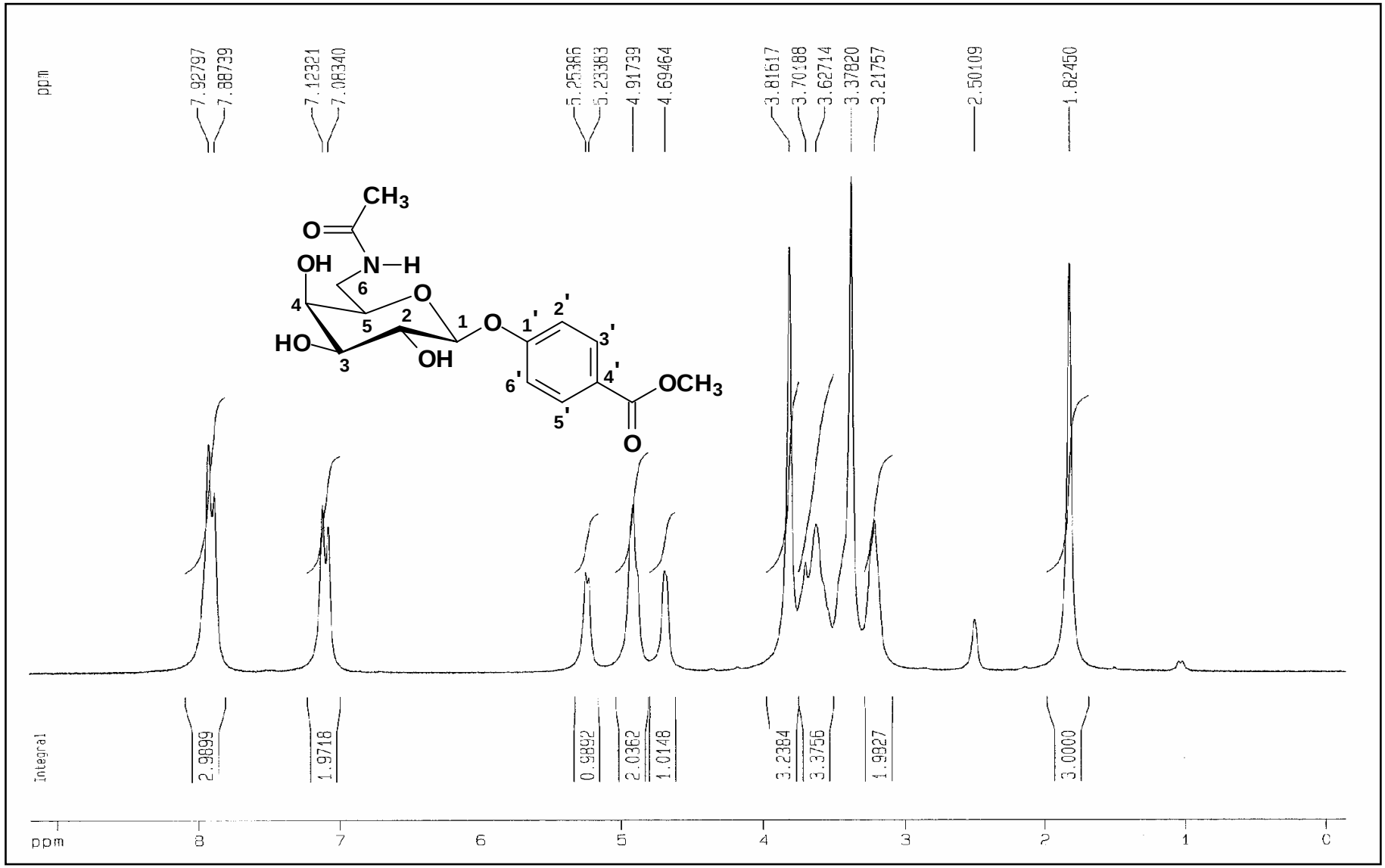


Figura 133: Espectro de RMN de ^{1}H de **61** (200 MHz, DMSO-d_6)

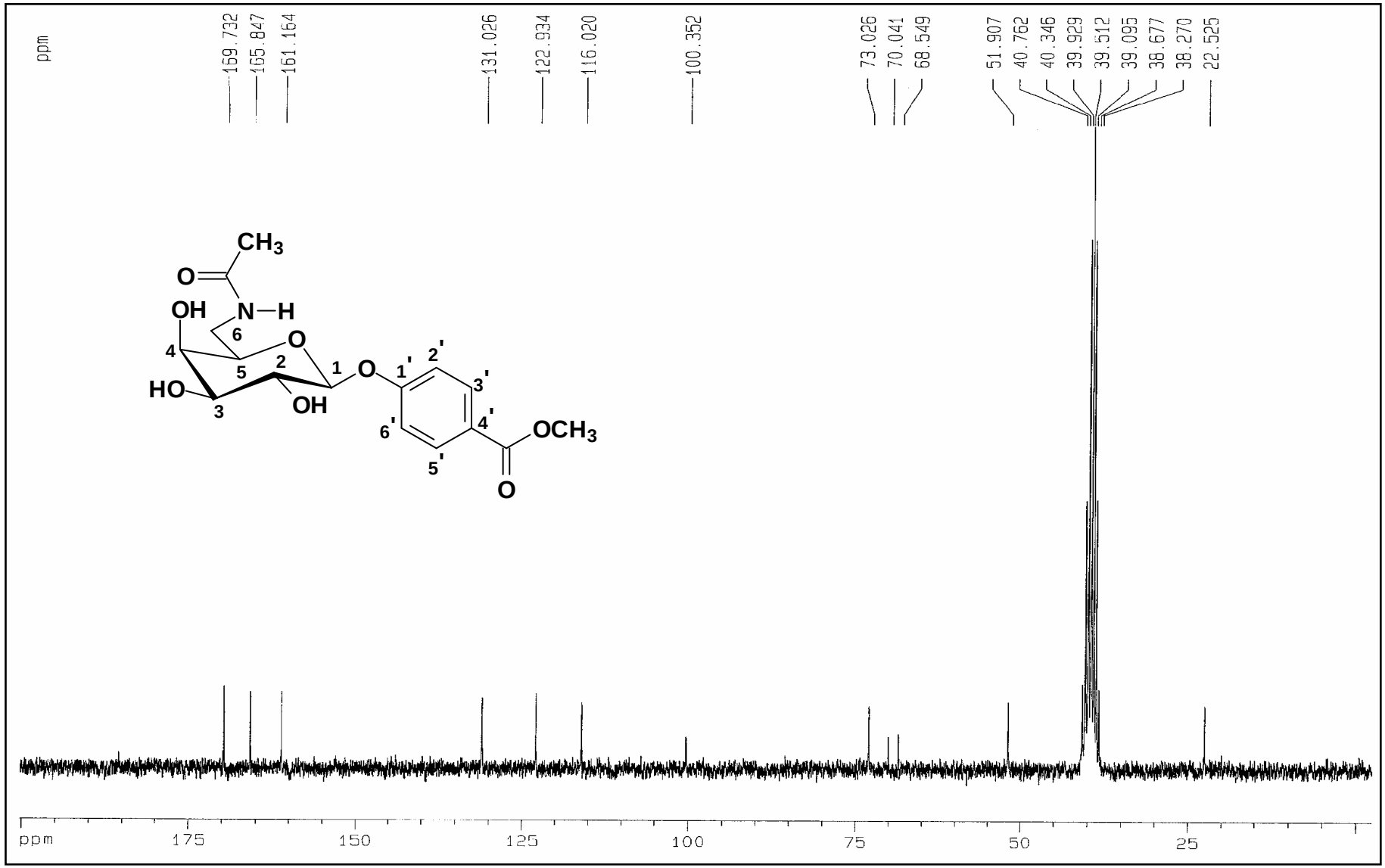


Figura 134: Espectro de RMN de ^{13}C de **61** (50 MHz, DMSO-d_6)

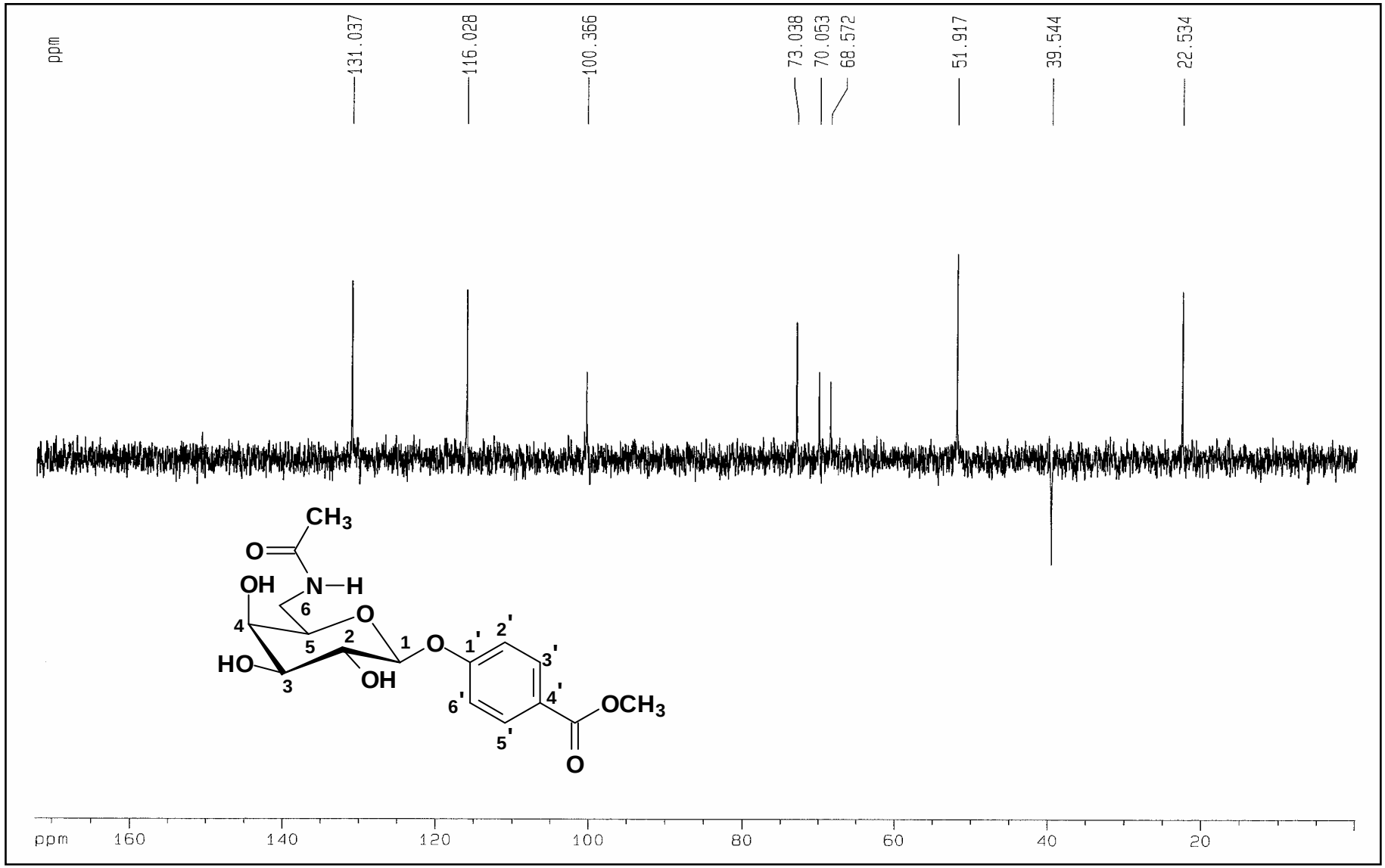


Figura 135: Subespectro DEPT 135 de **61** (50 MHz, DMSO-d_6)

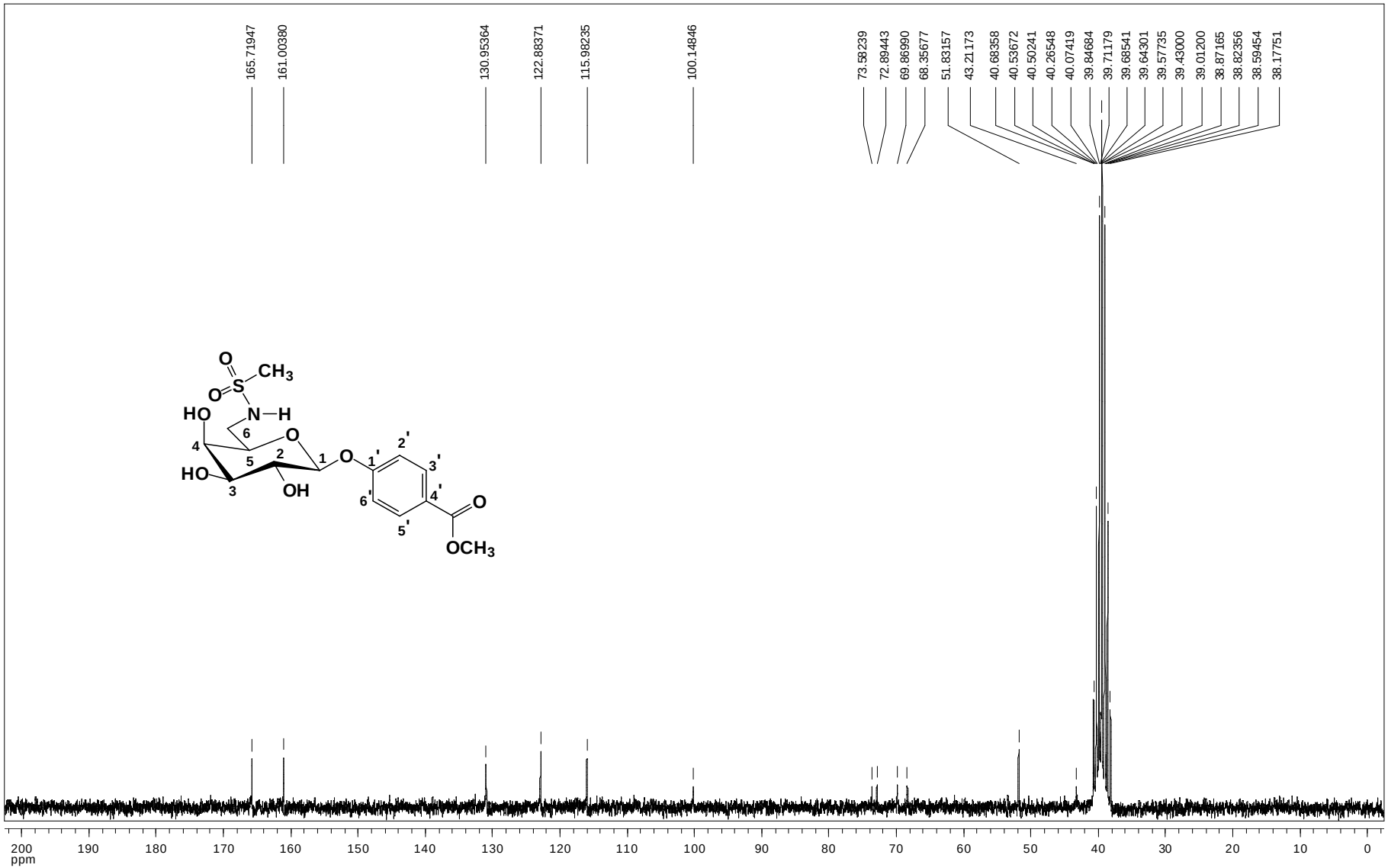


Figura 136: Espectro de RMN de ^{1}H de **66** (200 MHz, DMSO-d_6)

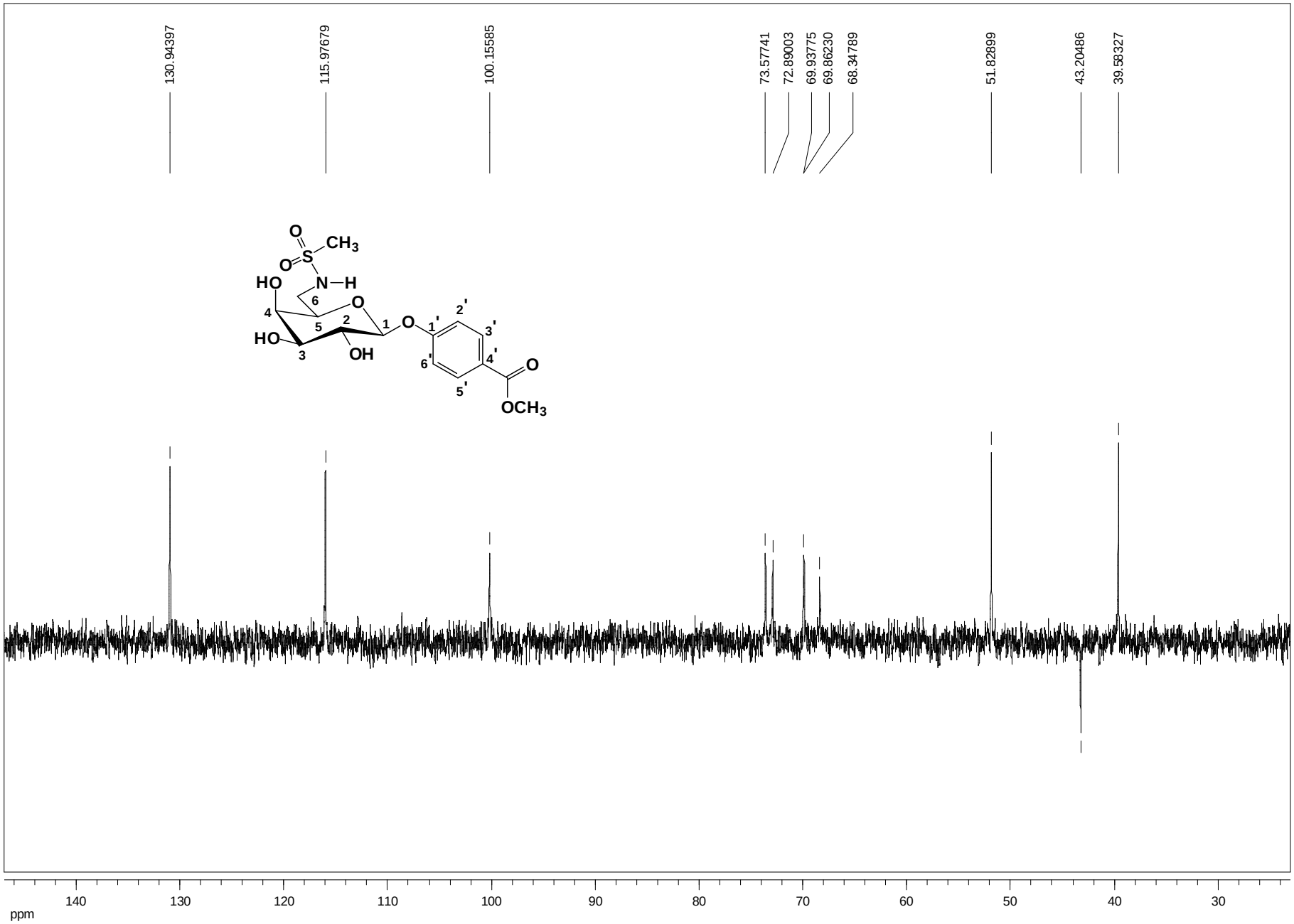


Figura 137: Espectro de RMN de ^{13}C de **66** (50 MHz, DMSO-d_6)

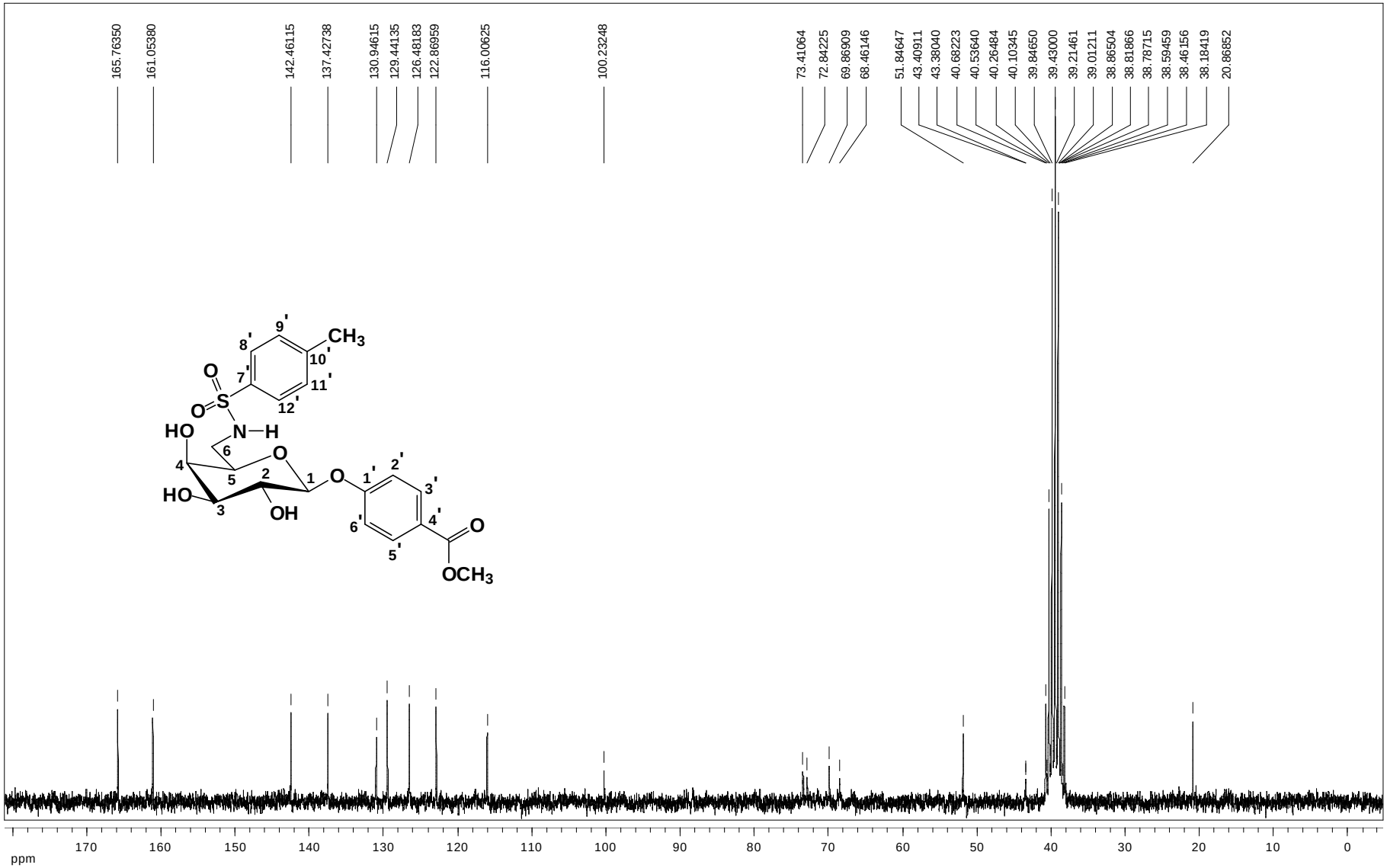


Figura 138: Espectro de RMN de ^{13}C de **65** (50 MHz, DMSO-d_6)

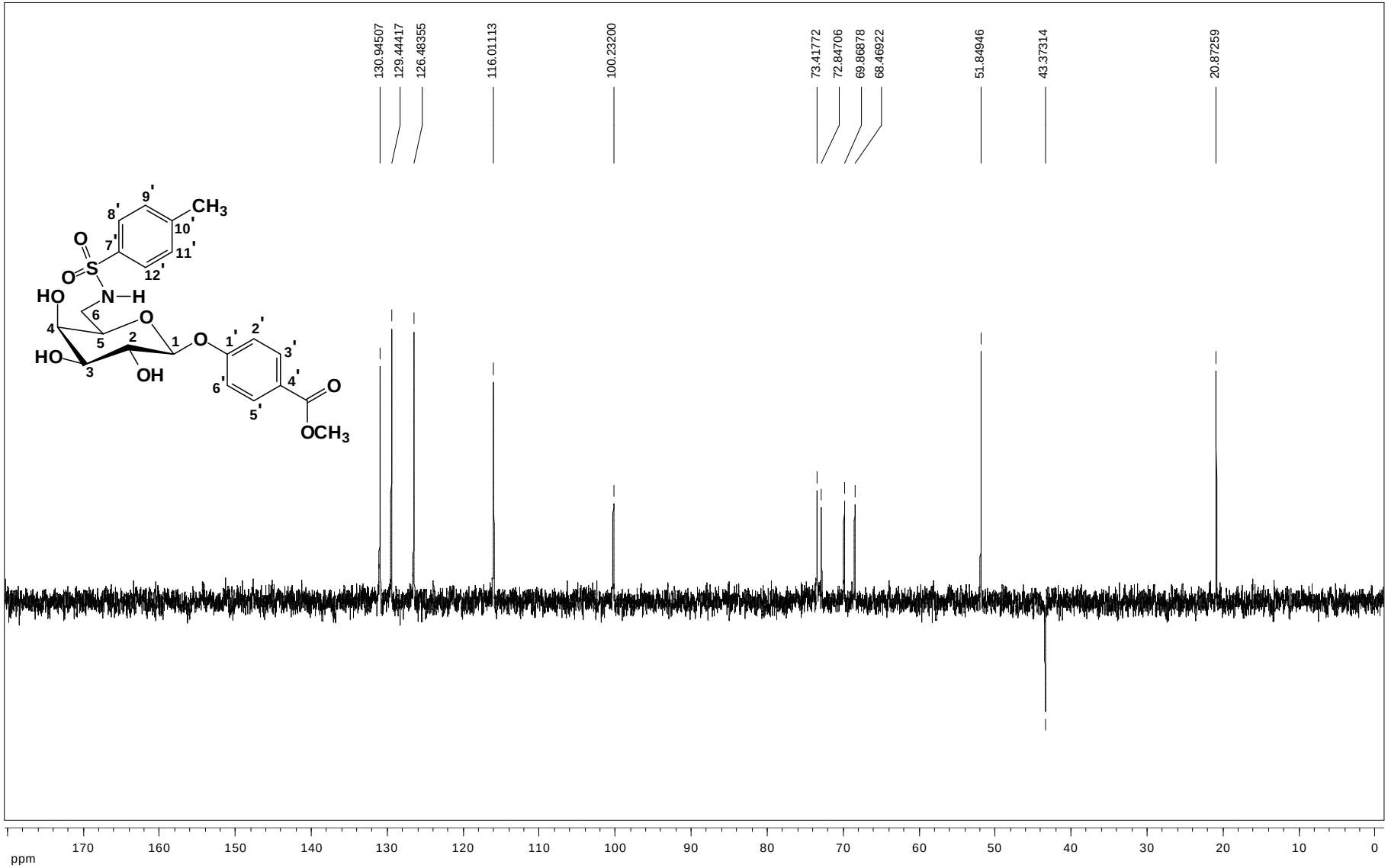


Figura 139: Subespectro DEPT-135 de **65** (50 MHz, DMSO-d_6)

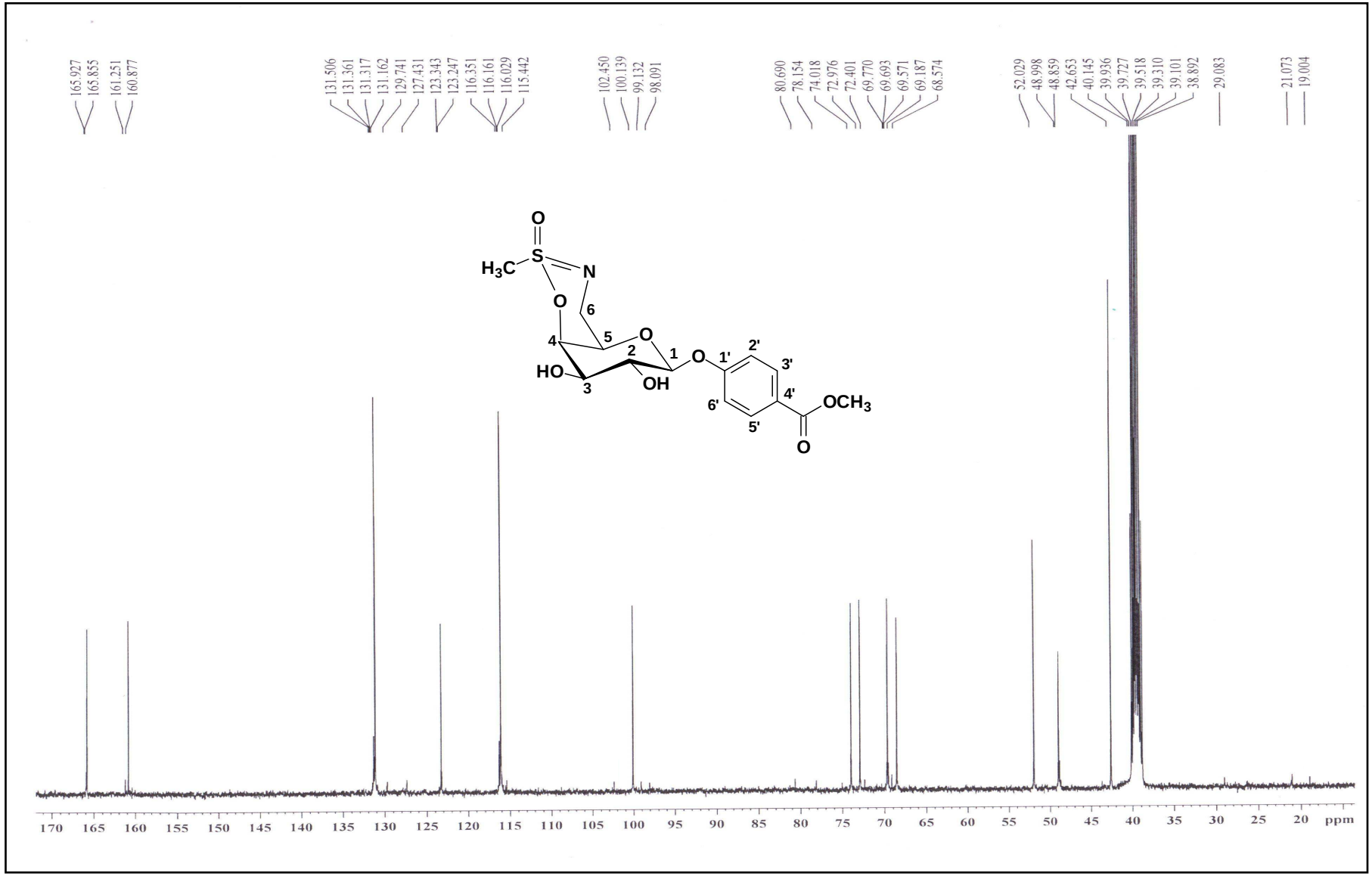


Figura 140: Espectro de RMN de ^{13}C de **67** (100 MHz, DMSO-d_6)

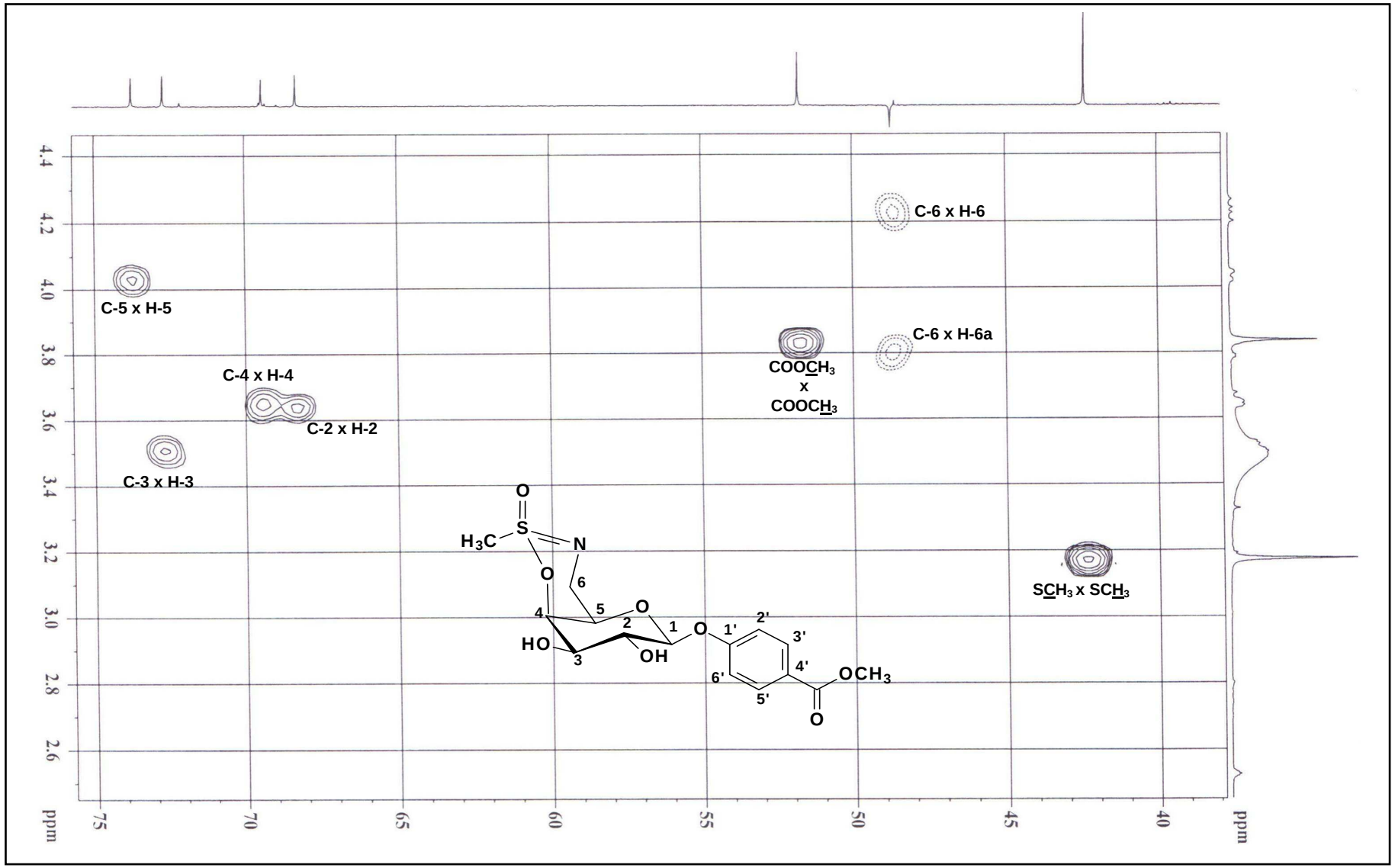


Figura 141: Mapa de contornos HSQC de **67** (100 MHz, DMSO-d_6)

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