

Renato Márcio Ribeiro Viana

SÍNTESE DE DERIVADOS DA D-ARABINOSE E
INVESTIGAÇÃO DA SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Belo Horizonte
2007

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Renato Márcio Ribeiro Viana

SÍNTESE DE DERIVADOS DA D-ARABINOSE E
INVESTIGAÇÃO DA SUA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obter o grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Ricardo José Alves

Belo Horizonte
2007

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Alvimar e Alfredina, pelo constante incentivo e dedicação que têm comigo ao longo de anos.

Agradeço ao Ricardo, pela orientação e amizade nesses dois anos.

Ao meu irmão Gustavo, com quem já trabalhei e também pela amizade e pelas conversas no dia-a-dia.

Aos professores da Química Farmacêutica, Thaís, Dora, Basílio pelas ajudas diárias e apoio ao trabalho.

A todos os alunos da Química Farmacêutica com quem convivi, tanto pelas discussões, como pela ótima convivência.

À professora Elzília e a aluna Michele pela realização dos ensaios biológicos.

Aos amigos da minha cidade pelos momentos indispensáveis de descontração nesses últimos anos.

À Paola pela cumplicidade, conversas, incentivos e todos os sentimentos positivos que me trouxe recentemente.

À Rute pela amizade, incentivo e dedicação comigo.

RESUMO

A glicosamina-6-fosfato sintase é a única enzima que catalisa a reação de conversão da D-frutose-6-fosfato a D-glicosamina-6-fosfato. Essa é a primeira reação na via bioquímica que leva à formação da forma ativada da *N*-acetil-D-glicosamina, a uridina-5'-difosfo-*N*-acetil-D-glicosamina. Esse nucleosídeo fornece a *N*-acetil-D-glicosamina para a biossíntese de lipopolissacarídeos, peptídeoglicanos em bactérias e quitina em fungos, insetos e crustáceos. Como uma enzima participante na biossíntese de componentes importantes da parede celular, a glicosamina-6-fosfato sintase é essencial para as células fúngicas e a sua importância para as essas foi demonstrada pela deleção de seu respectivo gene, que se mostrou letal. Nesse trabalho está descrita a síntese de derivados da D-arabinose, modificados em C-1 e fosforilados em C-5, como potenciais agentes antifúngicos. Esses foram planejados com base na estrutura do carboidrato no estado de transição da reação catalisada por essa enzima. Os compostos planejados 5-*O*-diestilfosforil-*E,Z*-D-arabinose oxima, bem como o 2-(D-*arabino*-1,2,3,4-tetra-hidroxiutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol não foram obtidos. O derivado contendo o anel tetrazólico em C-1 e fosforilado em C-5 foi obtido em cinco etapas. O composto 5-(D-*arabino*-4-dietilfosforiloxi-1,2,3-tri-hidroxiutil)tetrazol, bem como outros intermediários de síntese foram avaliados quanto às suas atividades antifúngicas e antibacterianas. Entretanto, nenhuma dessas substâncias exibiu atividade contra os fungos e bactérias testados.

Palavras chave: glicosamina-6-fosfato sintase, antifúngico, carboidrato.

ABSTRACT

The glucosamine-6-phosphate synthase is the enzyme that catalyses the conversion of D-fructose-6-phosphate to D-glucosamine-6-phosphate. This is the first step in the biochemical pathway leading to the formation of an activated form of *N*-acetyl-D-glucosamine, namely uridine 5'-diphospho-*N*-acetyl-D-glucosamine. This nucleoside provides *N*-acetyl-D-glucosamine for biosynthesis of lipopolysacharides, peptideoglycans in bacteria and chitin in fungi, insects and crustaceans. As an enzyme participating in biosynthesis of important cell wall components, the glucosamine-6-phosphate synthase is essential for the fungi cells, and its importance for these ones was demonstrated by the deletion of its gene, that proved to be lethal. In this work, it is described the synthesis of D-arabinose derivatives, modified in C-1 and phosphorylated in C-5, as potential antifungals agents. These were designed, based on the structure of the transition state of the reaction catalyzed by this enzyme. The compounds designed, 5-*O*-diethylphosphoryl-*E,Z*-D-arabinose oxime, as well as 2-(D-*arabino*-1,2,3,4-tetrahydroxybutyl)-5-metil-1,3,4-oxadiazole could not be achieved. The compound modified in C-1 with a tetrazole ring and phosphorylated in C-5 was achieved in five steps. The compound 5-(D-*arabino*-4-diethylphosphoryloxy-1,2,3-trihydroxybutyl)-tetrazole, as well as the others compounds synthesized were evaluated against fungi and bacteria, however neither of them were active against the microorganism tested.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$[\alpha]_D$	poder rotatório específico
δ	deslocamento químico
Ac	acetila
ADGP	2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato
APO	D-arabinose oxima 5-fosfato
CCD	cromatografia em camada delgada
CCS	cromatografia em coluna de sílica
COSY	<i>CO</i> rrelation <i>S</i> pectroscop <i>Y</i>
d	duplete
dd	duplete duplo
ddd	duplo duplete duplo
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
dl	duplete largo
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	N,N-dimetilformamida
FF	faixa de fusão
FM	fórmula molecular
GlcN-6-P	glicosamina-6-fosfato sintase
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
Hz	hertz
IV	infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento

m	multiplete
Py	piridina
ppm	parte por milhão
RMN de ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	simpleto
sl	simpleto largo
TEA	triethylamina
THF	tetrahydrofurano
tl	tripleto largo
TMS	tetrametilsilano
TBDMSCl	cloreto de terbutildimetilsilila

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação de célula fúngica e principais alvos moleculares dos fármacos utilizados na terapêutica	17
Figura 2 - Exemplos de estruturas de fármacos antifúngicos	18
Figura 3 – Proposta de interação entre anfotericina B e ergosterol (BAGINSKI, <i>et al.</i> , 2005).....	19
Figura 4 – Via biossintética do ergosterol.....	20
Figura 5 – Ativação metabólica da 5-FU e enibição da timidilato sintase	22
Figura 6 – Reação catalisada pela GlcN-6-P sintase (LELOIR; CARDINI, 1953)	24
Figura 7 – Biossíntese da UDP-GlcNAc em fungos (MILEWSKI; GABRIEL; OLCHOWY, 2006).....	25
Figura 8 – Representação dos domínios da GlcN-6-P sintase (CHITTUR, 2002; MILEWSKI, 2002)	25
Figura 9 – Estruturas de análogos da glutamina inibidores da GlcN-6-P sintase (MILEWSKI, 2002).....	27
Figura 10 – Exemplos análogos multissubstratos inibidores da GlcN-6-P sintase (CHITTUR; GRIFFITH, 2002)	27
Figura 11 – Estrutura de análogos bi-substratos inibidores da GlcN-6-P sintase (BADET-DENISOT <i>et al.</i> , 1995)	28
Figura 12 - Estados de transição da reação catalisada pela GlcN-6-P sintase (GOLINELLI-PIMPANEAU <i>et al.</i> , 1989,1991)	29
Figura 13 - Exemplos de inibidores da GlcN-6-P sintase que interagem com domínio isomerase (MILEWSKI, 2002)	29
Figura 14 – Estrutura do 2-amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato	30
Figura 15 – Derivados lipofílicos do ADGP e suas atividades <i>in vitro</i> e antifúngica (JANIAK <i>et al.</i> , 2003).....	31
Figura 16 – Estruturas dos derivados da D-arabinose propostos e do APO	34
Figura 17 - Comparação entre o grupo <i>cis</i> enolamina do estado de transição e as modificações em C-1 dos derivados propostos.....	35
Figura 18 - Rota sintética para obtenção de <u>28</u> , <u>29</u> e <u>30</u>	36
Figura 19 - Proposta de formação de oxima (SYKES, 1985).....	37
Figura 20 - Efeito de compressão estérica presente em aldooximas.	38
Figura 21 – Alguns métodos de introdução de éster de fosfato em um substrato.....	41

Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) de frações reunidas de CCS de tentativa de fosforilação de <u>32</u> (reação 1).....	43
Figura 23 – Espectro de DEPT135 (50 MHz, CD_3OD) de frações reunidas de CCS de tentativa de fosforilação de <u>32</u> (reação 1).	43
Figura 24 – Proposta de mecanismo para a formação do ditioacetal <u>33</u>	44
Figura 25 – Espectro no infravermelho do produto da reação de desproteção do ditioacetal com Br_2	48
Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) do produto de reação de desproteção do ditioacetal com Br_2	48
Figura 27 - Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) do produto da reação de desproteção do ditioacetal com Br_2	49
Figura 28 – Rota alternativa para obtenção da oxima fosforilada <u>28</u>	50
Figura 29 - Proposta de formação de nitrilas a partir de aldooximas (MARCH, 2001)	55
Figura 30 – Proposta para formação do anel tetrazol via cicloadição 1,3-dipolar (HIMO, <i>et al.</i> , 2002)	57
Figura 31 – Proposta de mecanismo de formação de anéis 1,3,4-oxadiazol a partir de tetrazóis (SAUER; HUISGEN; STURM, 1960).....	62
Figura 32 – Proposta de formação da hidrazida <u>44</u>	64
Figura 33 – Proposta de formação de derivado 1,4-iminolactona a partir de derivado 1,3,4-oxadiazol da D-galactose (EL KHADEM; SHARAM; NASSR. 1970).....	65
Figura 34 - Espectro no infravermelho após reação de <u>39</u> com metóxido de sódio/metanol a $-20\text{ }^\circ\text{C}$	66
Figura 35 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz, D_2O) de fração reunida de CCS da reação de desproteção de hidroxilas com $\text{THF}/\text{NH}_4\text{OH}$	68
Figura 36 – Sub-espectro de DEPT135 (200 MHz, D_2O) de fração reunida de CCS da reação de desproteção de hidroxilas com $\text{THF}/\text{NH}_4\text{OH}$	68
Figura 37 – Proposta de formação de γ -lactona a partir de carboidrato contendo grupo 1,3,4-oxadiazol em C-1 em meio ácido	70
Figura 38 – Espectro no IV de <u>32</u>	110
Figura 39 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, D_2O) de <u>32</u>	111
Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, D_2O) de <u>32</u>	112
Figura 41 – Espectro no IV de <u>33</u>	113
Figura 42 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de <u>33</u>	114

Figura 43 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) de <u>33</u>	115
Figura 44 – Mapa de contornos COSY (200 MHz, CD_3OD) de <u>33</u>	116
Figura 45 – Expansão do mapa de contornos COSY (200 MHz, CD_3OD) de <u>33</u> ...	117
Figura 46 – Mapa de contornos HMQC (200 MHz, CD_3OD) de <u>33</u>	118
Figura 47 – Expansão do mapa de contornos HMQC (200 MHz, CD_3OD) de <u>33</u> .	119
Figura 48 – Espectro no IV de <u>34</u>	120
Figura 49 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>34</u>	121
Figura 50 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de <u>34</u>	122
Figura 51 – Espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>34</u>	123
Figura 52 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>41</u>	124
Figura 53 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de <u>41</u>	125
Figura 54 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>41</u>	126
Figura 55 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>42</u>	127
Figura 56 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>42</u>	128
Figura 57 - Espectro no IV de <u>36</u>	129
Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>36</u>	130
Figura 59 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de <u>36</u>	131
Figura 60 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>36</u>	132
Figura 61 – Espectro no IV de <u>37</u>	133
Figura 62 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>37</u>	134
Figura 63 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de <u>37</u>	135
Figura 64 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>37</u>	136
Figura 65 – Espectro no IV de <u>38</u>	137
Figura 66 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, D_2O) de <u>38</u>	138
Figura 67 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, D_2O) de <u>38</u>	139
Figura 68 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, D_2O) de <u>38</u>	140
Figura 69 – Espectro no IV de <u>29</u>	141
Figura 70 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de <u>29</u>	142
Figura 71 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de <u>29</u>	143
Figura 72 – Sub-espectro de DEPT135 (100 MHz, CD_3OD) de <u>29</u>	144
Figura 73 – Espectro no IV de <u>39</u>	145
Figura 74 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <u>39</u>	146
Figura 75 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de <u>39</u>	147
Figura 76 – Sub-espectro de DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de <u>39</u>	148

Figura 77 – Espectro no IV de <u>44</u>	149
Figura 78 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}d_6$) de <u>44</u>	150
Figura 79 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}d_6$) de <u>44</u>	151
Figura 80 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, $\text{DMSO}d_6$) de <u>44</u>	152
Figura 81 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, $\text{DMSO}d_6$) de <u>44</u>	153
Figura 82 – Mapa de contornos HMBC (400 MHz, $\text{DMSO}d_6$) de <u>44</u>	154
Figura 83 – Expansão do mapa de contornos HMBC (400 MHz, DMSO,d_6) de <u>44</u> .	155
Figura 84 – Espectro no IV de <u>45</u>	156
Figura 85 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) de <u>45</u>	157
Figura 86 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) de <u>45</u>	158
Figura 87 – Mapa de contornos HMQC (400 MHz, D_2O) de <u>45</u>	159

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Potência dos análogos multisubstratos 8-13 em inibir GlcN-6-P sintase de <i>C. albicans</i> e suas respectivas distâncias entre carbono α e fosfato (CHITTUR; GRIFFITH, 2002)	28
Tabela 2 – Tentativas e condições da reação de fosforilação de oxima <u>32</u>	42
Tabela 3 – Tentativas e condições de fosforilação do tetrazol <u>38</u>	60
Tabela 4 - Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>32</u>	74
Tabela 5 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>32</u>	74
Tabela 6 – Dados do espectro de IV de <u>32</u>	74
Tabela 7 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>33</u>	77
Tabela 8 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>33</u>	77
Tabela 9 – Dados do espectro de IV de <u>33</u>	77
Tabela 10 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>34</u>	80
Tabela 11 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>34</u>	80
Tabela 12 – Dados do espectro de IV de <u>34</u>	80
Tabela 13 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>41</u>	83
Tabela 14 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>41</u>	83
Tabela 15 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>42</u>	85
Tabela 16 - Dados de Sub-espectro de DEPT135 de <u>42</u>	85
Tabela 17 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>36</u>	89
Tabela 18 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>36</u>	89
Tabela 19 – Dados do espectro de IV de <u>36</u>	89
Tabela 20 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>37</u>	91
Tabela 21 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>37</u>	91
Tabela 22 – Dados do espectro de IV de <u>37</u>	91
Tabela 23- Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>38</u>	93
Tabela 24 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>38</u>	93
Tabela 25 - Dados do espectro de IV de <u>38</u>	93
Tabela 26 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>29</u>	95
Tabela 27 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>29</u>	95
Tabela 28 – Dados do espectro de IV de <u>29</u>	95
Tabela 29 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>39</u>	97
Tabela 30 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>39</u>	97

Tabela 31 – Dados do espectro de IV de <u>39</u>	97
Tabela 32 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>44</u>	100
Tabela 33 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>44</u>	100
Tabela 34 – Dados do espectro de IV de <u>44</u>	100
Tabela 35 – Dados do espectro de RMN de ^1H de <u>45</u>	103
Tabela 36 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de <u>45</u>	103
Tabela 37 – Dados d espectro de IV de <u>45</u>	103

SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT	
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	33
3 JUSTIFICATIVAS	33
3.1 PROPOSTA DE TRABALHO.....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	71
5.1 MÉTODOS GERAIS	71
5.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS	73
5.2.1 Síntese de <i>E,Z</i> -D-arabinose oxima <u>32</u>	73
5.2.2 Tentativa de síntese de 5-O-dietilfosforil- <i>E,Z</i> -D-arabinose oxima <u>28</u>	75
5.2.3 Síntese de D-arabinose dietilditioacetal <u>33</u>	76
5.2.4 Síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetal <u>34</u>	78
5.2.5 Tentativa de síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose <u>35</u>	81
5.2.6 Síntese da 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-terbutildimetilsilil-D-arabinose dietilditioacetal <u>41</u>	82
5.2.7 Síntese do 2,3,4-tri-O-acetil-D-arabinose dietilditioacetal <u>42</u>	84
5.2.8 Tentativa de síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetal <u>43</u>	86
5.2.9 Síntese da 2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-arabinonitrila <u>36</u>	87
5.2.10 Síntese do 5-(D- <i>arabino</i> -1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)tetrazol <u>37</u>	90
5.2.11 Síntese do 5-(D- <i>arabino</i> -1,2,3,4-tetra-hidroxibutil)tetrazol <u>38</u>	92
5.2.12 Síntese do 5-(D- <i>arabino</i> -4-dietilfosforil-1,2,3- <i>tri</i> -hidroxibutil)tetrazol <u>29</u> ...94	
5.2.13 Síntese do 2-(D- <i>arabino</i> -1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol <u>39</u>	96
5.2.14 Tentativa de síntese de 2-(D- <i>arabino</i> -1,2,3,4-tetra-hidroxibutil)-5-metil- 1,3,4-oxadiazol <u>40</u>	98
5.2.14.1 Síntese da <i>N</i> -acetil hidrazida do ácido D-arabinonico <u>44</u>	98

5.2.14.2 Reação de <u>39</u> com amônia.....	101
5.2.14.3 Síntese de 1,4-D-arabinonolactona <u>45</u>	102
5.3 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	104
6 CONCLUSÃO.....	109
7 FIGURAS	110
8 REFERÊNCIAS.....	160

1 INTRODUÇÃO

As infecções sistêmicas por patógenos fúngicos são um problema grave na quimioterapia atual (JANIÁK *et al.*, 2003). O quadro se torna mais complicado devido ao rápido aumento do número de pacientes imunocomprometidos, como o aumento do número de pacientes em tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida, terapia com antineoplásicos e com imunossupressores e também com o crescente aumento de resistência fúngica aos medicamentos utilizados na terapêutica (SILVESTRI *et al.*, 2004).

Historicamente, os principais patógenos encontrados em pacientes hospitalizados são *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*, entretanto, entre os pacientes de alto-risco percebeu-se o surgimento de patógenos fúngicos emergentes. Desses, pode ser destacado *Candida glabrata*, por sua reduzida susceptibilidade aos antifúngicos em geral e por sua capacidade de desenvolver resistência ao fluconazol. Outras espécies podem ser citadas, como *Aspergillus terreus*, *Zygomycetes spp*, *Fusarium spp.*, e *Scedosporium spp.* (ROGERS, 2006).

Uma das dificuldades do tratamento de infecções fúngicas é a toxicidade apresentada pelos medicamentos disponíveis para uso. Essa toxicidade é atribuída ao fato de as células fúngicas serem eucariotas e por isso, compartilharem com as células dos mamíferos diversas vias metabólicas, assim aumentando os efeitos indesejados dos fármacos (ZACCHINO, 2001). Na figura 1, pode ser observado uma representação esquemática de uma célula fúngica com os alvos dos principais agentes antifúngicos usados na clínica atualmente.

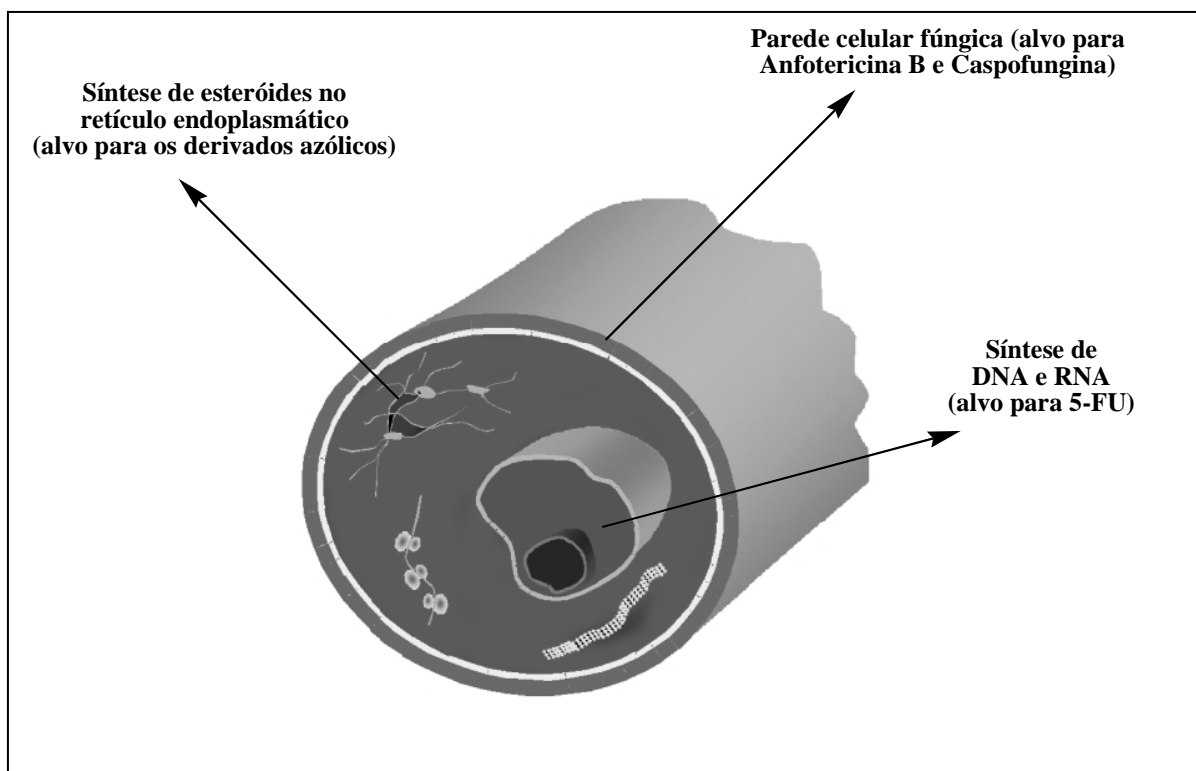


Figura 1 – Representação de célula fúngica e principais locais de ação dos fármacos utilizados na terapêutica.

(Fonte: ODDS; BROWN; GOW, 2003)

Nosso arsenal terapêutico dispõe atualmente de diversos medicamentos antifúngicos que, em sua maioria, têm sua atividade relacionada à interação direta com o ergosterol, constituinte da membrana plasmática do fungo, ou inibição de sua síntese, inibição da síntese do RNA/DNA, ligação aos microtúbulos e desestruturação da parede celular. Entretanto, para uso em infecções fúngicas sistêmicas estão disponíveis apenas os polienos (anfotericina B e nistatina), os derivados azólicos, os análogos de nucleosídeos e um derivado da classe das equinocandinas (ODDS; BROWN; GOW, 2003) (Figura 2).

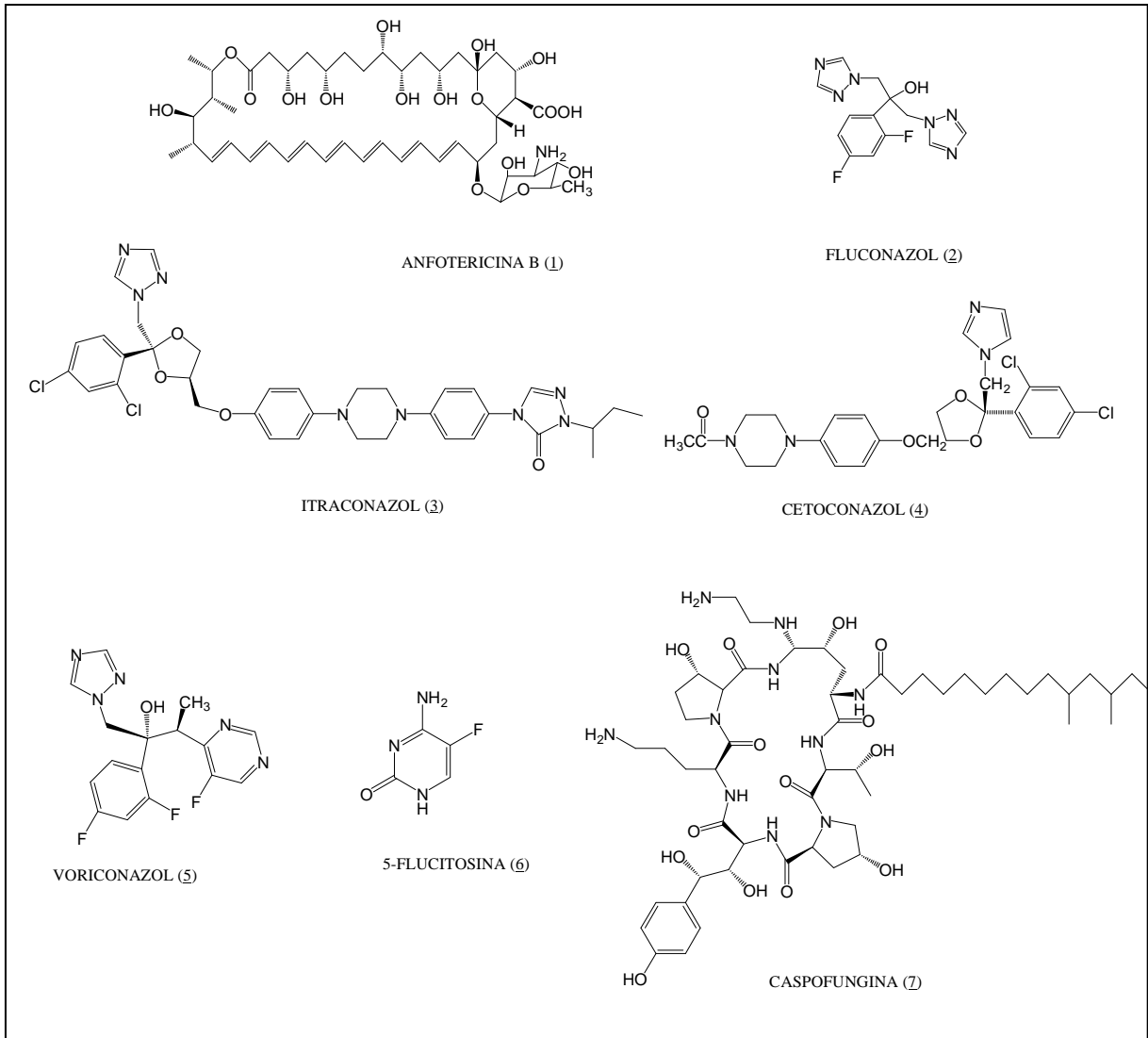


Figura 2 - Exemplos de estruturas de fármacos antifúngicos em uso clínico.

A anfotericina B (1) por muitos anos foi o único agente antifúngico poliênico a ser utilizado para tratar infecções viscerais. Seu modo de ação é atípico para uma molécula antimicrobiana. Ao invés de inibir uma enzima, ela se liga ao ergosterol, principal esteróide de membrana das células fúngicas, assim causando perturbação desta e morte celular. (ODDS; BROWN; GOW, 2003). O mecanismo de ação pode ser explicado pela interação de moléculas de anfotericina B com moléculas de ergosterol, formando um cilindro, de modo que no centro fique a porção hidrofílica, formando um canal na membrana, permitindo o fluxo de íons, com conseqüente extravasamento desses e morte celular (Figura 3) (BAGINSKI *et al.*, 2005).

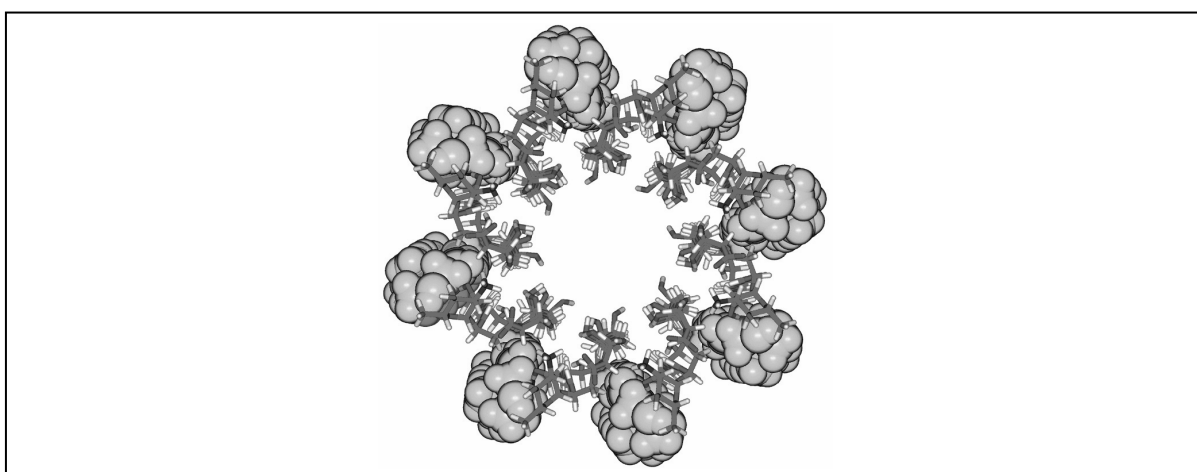


Figura 3 – Proposta de interação entre anfotericina B e ergosterol (BAGINSKI, *et al.*, 2005).

A anfotericina B é fungicida e possui amplo espectro de ação, incluindo diversas espécies, como *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides braziliensis*, *Aspergillus spp.*. Embora possua uma seletividade pelo ergosterol, ela também se liga ao colesterol, presente nas células humanas, causando assim efeitos tóxicos. O principal efeito tóxico é observado nos rins, a nefrotoxicidade. É observado algum grau de redução da função renal em mais de 80 % dos pacientes e embora haja

recuperação da função renal com o término do tratamento, algumas vezes permanece algum comprometimento da filtração glomerular (RANG, 2003).

Os derivados azólicos pertencem a uma classe extensa de agentes antifúngicos utilizados na prática clínica. Seu principal alvo molecular é a enzima 14- α -desmetilase, dependente do sistema citocromo P450. Essa enzima é responsável pela desmetilação do eburicol na via biossintética do ergosterol (Figura 4). Com a deficiência do ergosterol, a membrana fúngica passa a apresentar esteróides anormais. Desse modo, a fluidez e a permeabilidade da membrana são alteradas, o que afeta as enzimas envolvidas na síntese da parede celular (NAILOR; SOBEL, 2006).

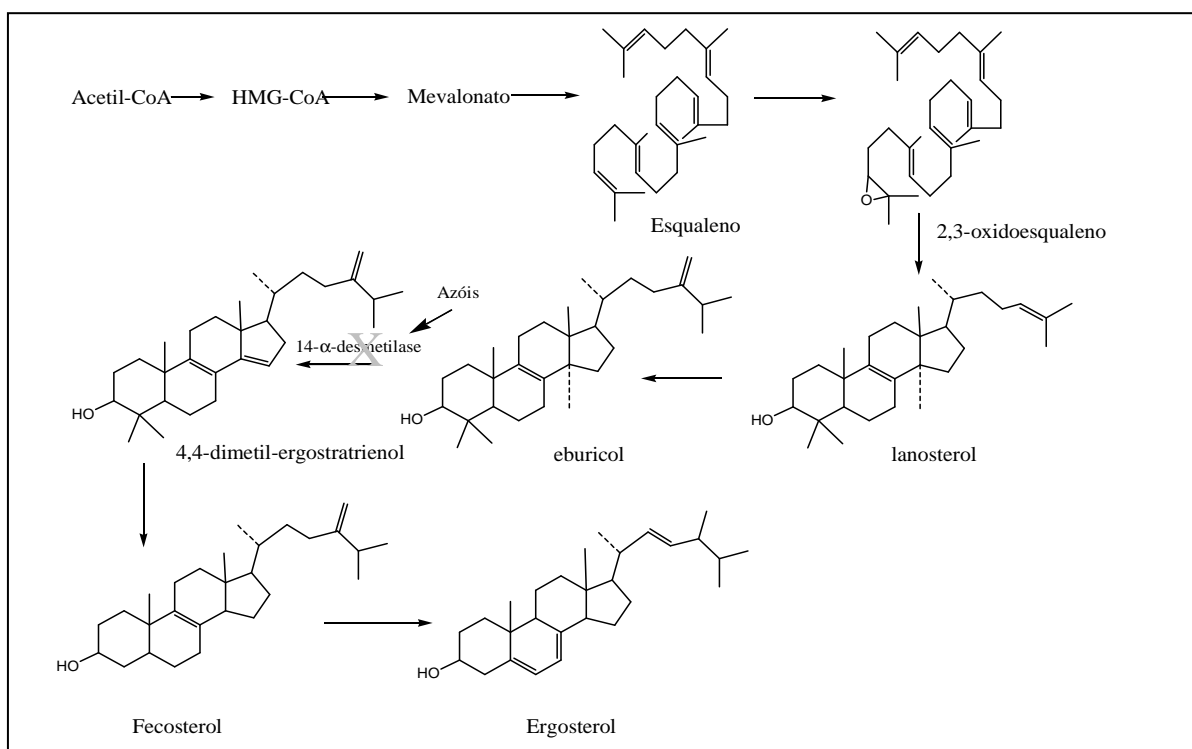


Figura 4 – Via biossintética do ergosterol.

Os principais fármacos disponíveis dessa classe são fluconazol (2), itraconazol (3) e cetoconazol (4) (Figura 2). Entretanto, os azóis apresentam algumas limitações, como a incompatibilidade entre os pacientes com SIDA que apresentam acloridria e

outros que fazem uso de antiácidos e/ou antagonistas H₂, com a necessidade de meio ácido para o cetoconazol e itraconazol (Figura 2, página 18) serem dissolvidos no estômago, o que leva problemas de absorção (WONG, 2000). Os azóis podem ser tóxicos para homem, visto que algumas etapas da síntese do ergosterol são comuns à do colesterol, o que leva a alterações na produção de hormônios sexuais, colesterol e outros esteróides dependentes dessa mesma via (ZACCHINO, 2001). O cetoconazol foi o primeiro derivado dos imidazóis a ser introduzido na terapêutica para o tratamento sistêmico de micoses invasivas (WONG, 2000), mostrando-se eficaz para vários tipos de fungos. Entretanto, sua toxicidade e resposta lenta na terapia (BENNET, 2003) fizeram com que cedesse lugar para outros agentes triazólicos de maior eficácia e tolerabilidade, como o itraconazol. (WONG, 2000; BENNET, 2003). O fluconazol (2) (Figura 2, página 18) é um bistriazol fluorado que é completamente absorvido pelo trato gastrointestinal e não sofre variação de biodisponibilidade por alimentos ou alteração de acidez gástrica. É ativo contra *Candida albicans* e no tratamento de criptococose e meningite coccidióidica, embora não seja eficaz no tratamento de aspergilose (BENNET, 2003). O voriconazol (5) (Figura 2, página 18) possui um amplo espectro de ação antifúngica e, como o itraconazol, é fungicida contra algumas espécies filamentosas isoladas. Além do mais, apresenta atividade contra as infecções por *Fusarium* e *Scedosporium*, que são de difícil tratamento. Entretanto, há uma longa lista de medicamentos com os quais o voriconazol interfere, destacando-se alguns imunossupressores. Essas interações medicamentosas representam um problema para os médicos no tratamento de pacientes em casos mais graves com medicação múltipla (ODDS; BROWN; GOW, 2003).

A flucitosina (6) (Figura 2, página 18), uma pirimidina fluorada, atua como agente antifúngico através da sua conversão a 5-fluoroacila (5-FU) dentro das células. Inicialmente, a 5-fluoroacila é metabolizada em monofosfato de 5-fluorouridina (5-FUMP). Essa pode ser incorporada ao RNA ou ser metabolizada em 5-fluorodesoxiuridina monofosfato (5-dFUMP), um potente inibidor da timidilato sintase, que inibe consequentemente a síntese de DNA (Figura 5). As células de mamíferos não convertem a flucitosina a 5-fluoroacila. Esse fato é crucial para a seletividade do fármaco. Entretanto, para o mecanismo de ação dessa ocorrer, a célula fúngica deve possuir enzimas e transportadores como a citosina permease, para internalizar a molécula de flucitosina, citosina desaminase, para convertê-la em 5-fluoroacila e a ribonucleotídeo redutase, para converter a 5-fluoroacila em substrato para síntese de ácido nucléico. Como muitos fungos filamentosos carecem de uma dessas enzimas e/ou transportadores, o seu espectro fica restrito aos fungos leveduriformes (ODDS; BROWN; GOW, 2003).

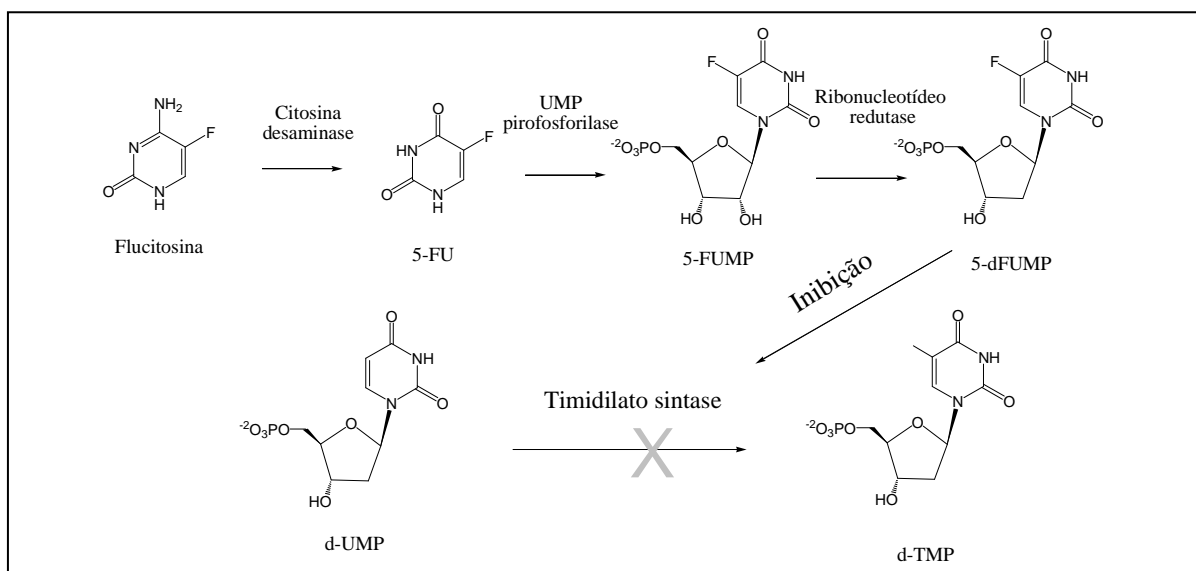


Figura 5 – Ativação metabólica da 5-FU e enibição da timidilato sintase.

A caspofungina (7) (Figura 2, página 18) é um fármaco lançado mais recente no mercado (ODDS *et al.*, 2003). É um representante da classe das equinocandinas

que possui como característica, inibir a síntese de 1,3- β -D-glicanos por inibição não-competitiva da enzima 1,3- β -glicano sintase. Os 1,3- β -D-glicanos são componentes da parede celular fúngica necessários para o crescimento e divisão celular desses. Em contraste com os azóis, possui atividade fungicida para *Cândida spp.* e fungistática para espécies de *Aspergillus* (NAILOR; SOBEL, 2006). É um fármaco importante, pois visa uma estrutura celular da qual os mamíferos são desprovidos.

Dentre as infecções fúngicas, as sistêmicas são um crescente problema na medicina atual, seja pela falta de seletividade e toxicidade dos fármacos disponíveis hoje na terapêutica ou pela crescente resistência dos fungos a esses. Esses fatos tornam necessário o desenvolvimento de análogos melhores dos fármacos já existentes ou moléculas com alvos diferentes (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005). A atenção dos pesquisadores tem se voltado para a parede celular dos fungos. O fato de as células fúngicas possuírem parede celular (necessária à sua vida), e as do homem não, faz com que todo o sistema enzimático relacionado com a sua biossíntese passe a ser considerado um alvo para a gênese de novos fármacos antifúngicos (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005; JANIÁK, 2002). Por essa razão, têm-se aumentado a atenção para a biossíntese de macromoléculas da parede celular como alvos moleculares, entre elas os β -glicanos, a quitina e as manoproteínas (ZACCHINO, 2001; FOSTEL, 2000).

A enzima glicosamina-6-fosfato sintase (GlcN-6-P sintase) tem sido estudada como um recente alvo molecular para agentes antifúngicos (CAMUS *et al.*, 1998 a,b; BOROWSKI, 2000; WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005; CHITTUR; GRIFFITH, 2002; JANIÁK, 2002; MILEWSKI, 2002). A reação catalisada por ela é complexa e envolve

a transferência de um grupo amino da L-glutamina para a D-frutose-6-fosfato, resultando em glicosamina-6-fosfato e L-glutamato (Figura 6) (LELOIR; CARDINI, 1953) e não utiliza amônia livre como doador de nitrogênio (MILEWSKI, 2002).

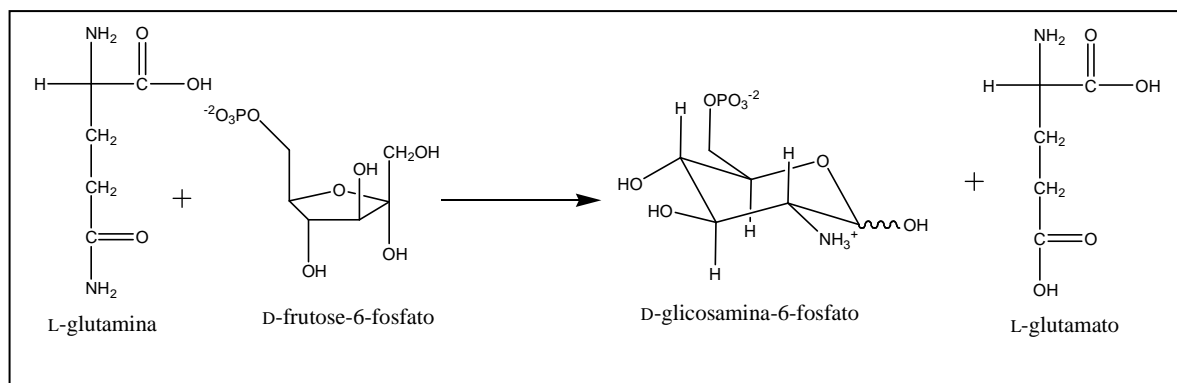


Figura 6 – Reação catalisada pela GlcN-6-P sintase (LELOIR; CARDINI, 1953)

Essa reação é o primeiro passo da via que leva à formação da uridina-5'-difosfo-N-acetil-D-glicosamina (UDP-GlcNAc), presente em todos organismos, mas utilizada em cada um de forma diferente (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005). A UDP-GlcNAc é sintetizada em quatro etapas (Figura 7, página 25) e é utilizada como doador de carboidrato na biossíntese da quitina, composto que constitui o exoesqueleto dos artrópodes e parede celular de fungos e dos peptídeoglicanos da parede celular bacteriana (MILEWSKI; GABRIEL; OLCHOWY, 2006).

A enzima GlcN-6-P sintase é vital para as células fúngicas, visto que a deleção de seu respectivo gene é letal para essas (WHELAN, BALLOU, 1975). Em contrapartida, a GlcN-6-P sintase em mamíferos se mostrou essencial, mas não letal quando inibida por pouco tempo, devido ao maior tempo de vida de suas células (BATES *et al.*, 1966).

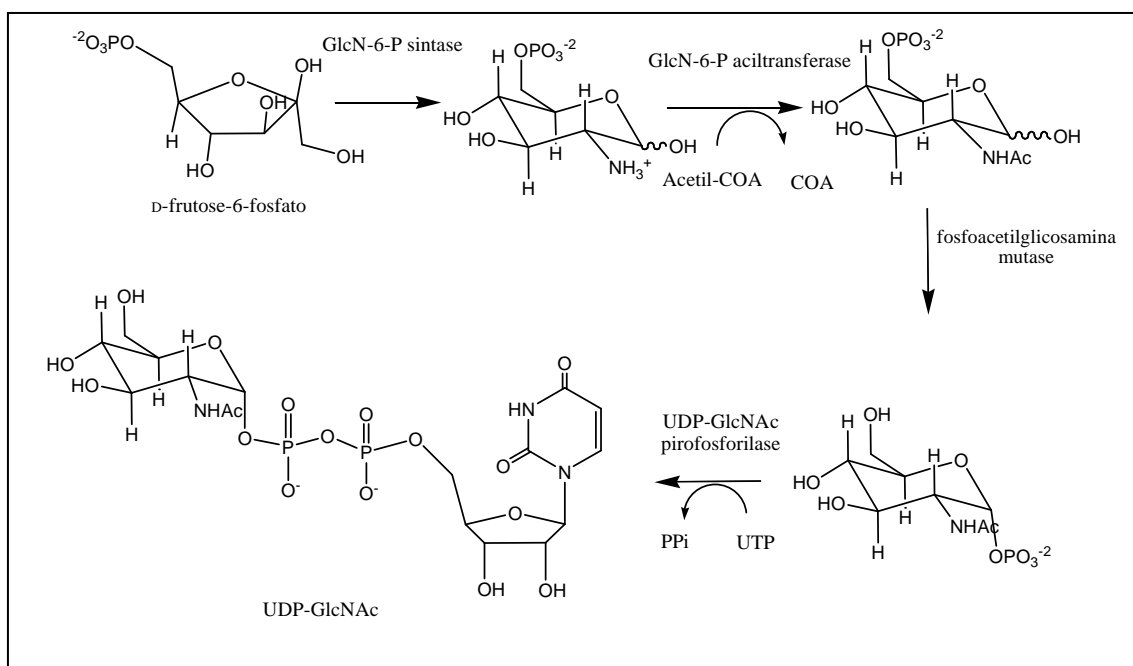


Figura 7 – Biossíntese da UDP-GlcNAc em fungos (MILEWSKI; GABRIEL; OLCHOWY, 2006).

A enzima possui dois domínios estruturais, um N-terminal que hidrolisa a glutamina a glutamato e amônia, e um C-terminal, ao qual se liga a frutose-6-fosfato e utiliza a amônia liberada para a síntese da glicosamina-6-fosfato (Figura 8) (DENISOT *et al.*, 1991).

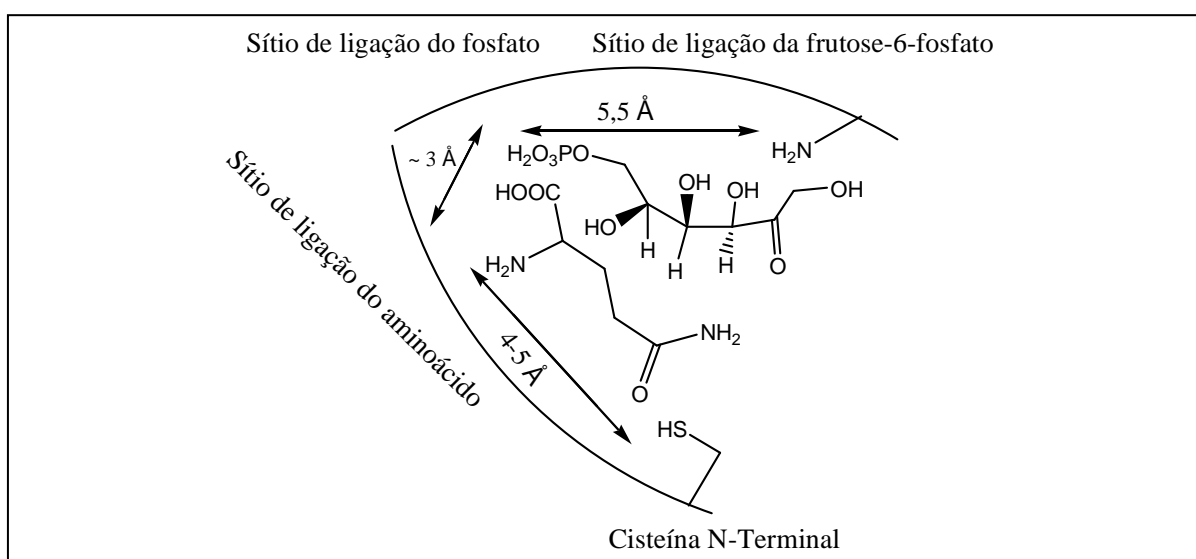


Figura 8 – Representação dos domínios da GlcN-6-P sintase (CHITTUR, 2002; MILEWSKI, 2002).

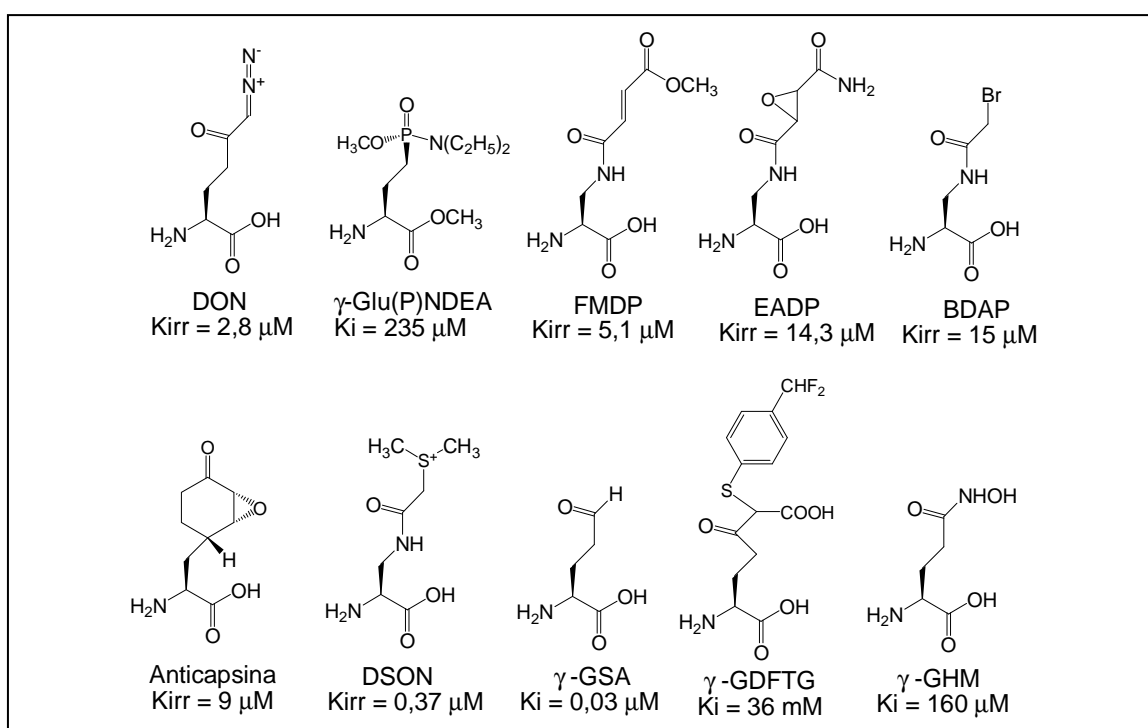
Tendo em vista os domínios enzimáticos, foram planejados e sintetizados três tipos de inibidores, os análogos da glutamina, os multisubstratos e os que mimetizam o estado de transição (CHITTUR, 2002; MILEWSKI, 2002).

Os análogos da glutamina (Figura 9, página 27) têm se mostrado inibidores seletivos, não afetando outras amidotransferases. Em sua maioria, são inibidores irreversíveis, ligando-se covalentemente à enzima (CHMARA *et al.*, 1984). São, portanto, agentes alquilantes, característica que os tornam potencialmente perigosos devido à possibilidade de interação com alvos moleculares indesejados, como DNA (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005). Dos análogos da glutamina, o mais estudado é o ácido N₃-(4-metoxifumaroil)-L-2,3-diaminopropanóico (FMDP) e seus análogos, devido a sua alta seletividade e potência como inibidor. Seus derivados são, na maioria, ésteres ou amidas de FMDP, ou di e tri polipeptídeos contendo FMDP em suas estruturas (ZGÓDKA *et al.*, 2001).

Análogos multisubstratos foram sintetizados por Chittur e Griffith (2002) (Figura 10, página 27). Com base na observação de que a GlcN-6-P sintase não utiliza a amônia exógena como fonte de nitrogênio, os autores postularam que isso exigiria uma proximidade entre o grupo amino da glutamina e o C-2 da frutose. Para verificar tal hipótese, sintetizaram inibidores potenciais que se ligariam ao mesmo tempo ao sítio de ligação do grupo fosfato do domínio isomerase e ao sítio de ligação do aminoácido do domínio transferase, variando-se a distância entre os grupos.

Observaram que o derivado com o menor comprimento de cadeia, apresentava melhor atividade inibitória (Tabela 1, página 28). Daí inferiram que a distância entre

os sítios de ligação do grupo fosfato do carboidrato e do grupo amino da glutamina era de aproximadamente 3 Å. O composto 13 (figura 10), apesar de ter uma distância maior entre os grupos funcionais do que o composto 9 (Tabela 1, página 28), por apresentar uma estrutura rígida, foi mais potente. Esse fato parece também indicar que o domínio transferase pode aceitar grupos volumosos e no caso, a natureza hidrofóbica do anel piperídínico contribuiu para a ligação à enzima (CHITTUR; GRIFFITH, 2002).



Ki = constante de inibição Kirr = constante de inibição irreversível

Figura 9 – Estruturas de análogos da glutamina inibidores da GlcN-6-P sintase (MILESWKI, 2002).

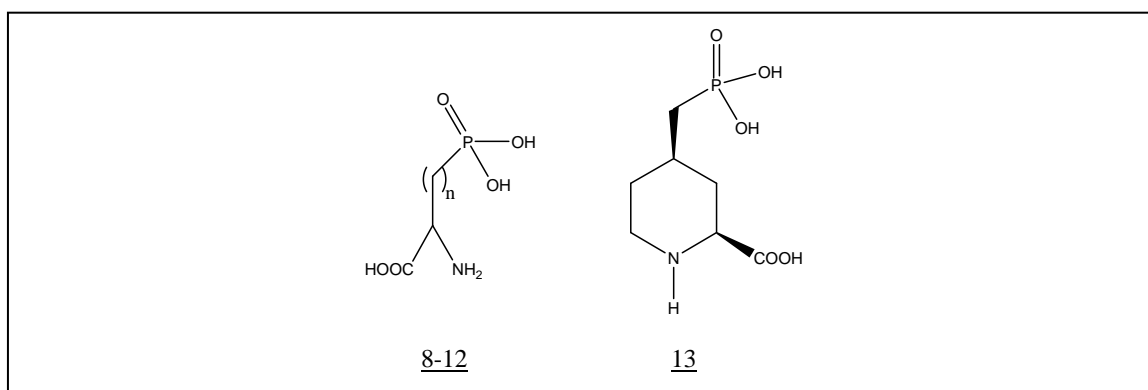


Figura 10 – Exemplos análogos multisubstratos inibidores da GlcN-6-P sintase (CHITTUR; GRIFFITH, 2002).

Tabela 1 – Potência dos análogos multisubstratos 8-13 em inibir GlcN-6-P sintase de *C. albicans* e suas respectivas distâncias entre carbono α e fosfato (CHITTUR; GRIFFITH, 2002)

Composto	n	Cl ₅₀ (μ M)	Distância C α - P (\AA)
<u>8</u>	1	0,01	2,87
<u>9</u>	2	10	4,25
<u>10</u>	3	210	5,38
<u>11</u>	4	250	6,73
<u>12</u>	5	270	7,94
<u>13</u>	-	0,4	-

Badet-Denisot e colaboradores (1995) sintetizaram análogos bisubstratos unindo um inibidor do sítio isomerase, 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato (ADGP), ao ácido glutâmico, (Figura 11), com a intenção de mimetizar o estado de transição em que o carboidrato (D-frutose-6-fosfato) se liga ao nitrogênio da L-glutamina. Entretanto, nenhum dos derivados inibiu significativamente a enzima até a concentração de 3 mM. Os autores sugeriram que a flexibilidade dos análogos bisubstratos impediria a orientação correta para entrarem nos sítios de ligação da enzima ao substrato.

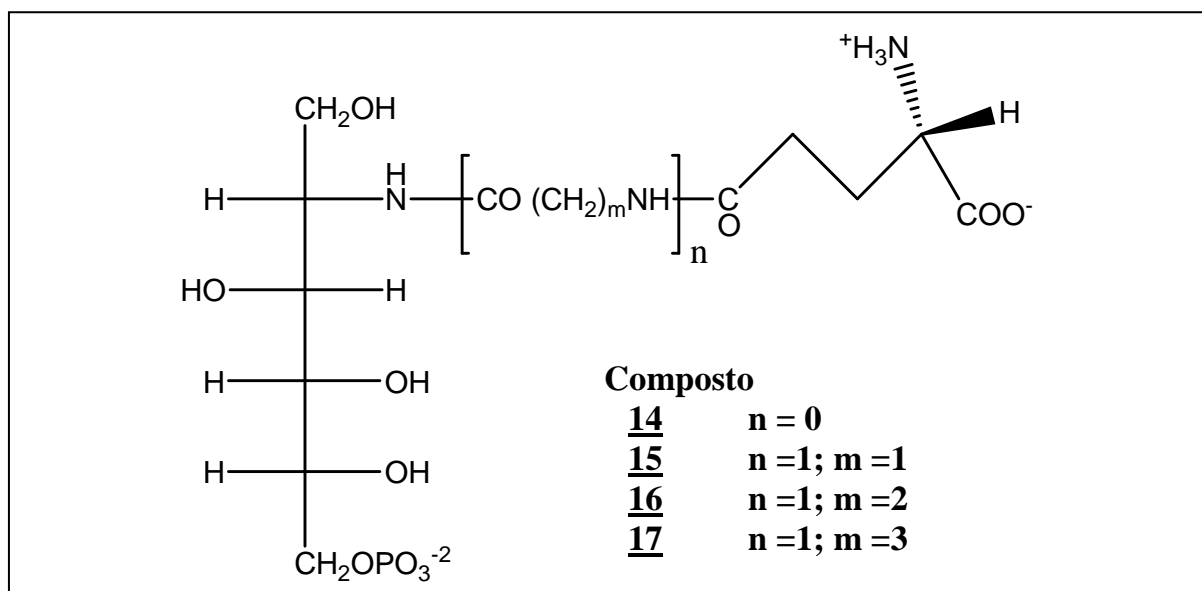


Figura 11 – Estrutura de análogos bisubstrato inibidores da GlcN-6-P sintase (BADET-DENISOT *et al.*, 1995).

Os análogos que mimetizavam o estado de transição, bem como o sítio de ligação da frutose-6-fosfato à enzima foram menos explorados que os análogos da glutamina e também o sítio de ligação do aminoácido. (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2005). Dois estados de transição são postulados durante a catálise, a *cis*-enolamina e a frutosimina-6-fosfato (Figura 12) (GOLINELLI-PIMPANEAU *et al.* 1989,1991). A oxima da D-arabinose-5-fosfato (APO), seu análogo metileno-fosfonato (AMPO), e o 2-amino-2-desoxi-D-glucitol-6-fosfato são exemplos dos análogos de transição do primeiro. O 5-metilfosfono-D-arabino-hidroximolactona (MPAH) mimetiza o último (Figura 13).

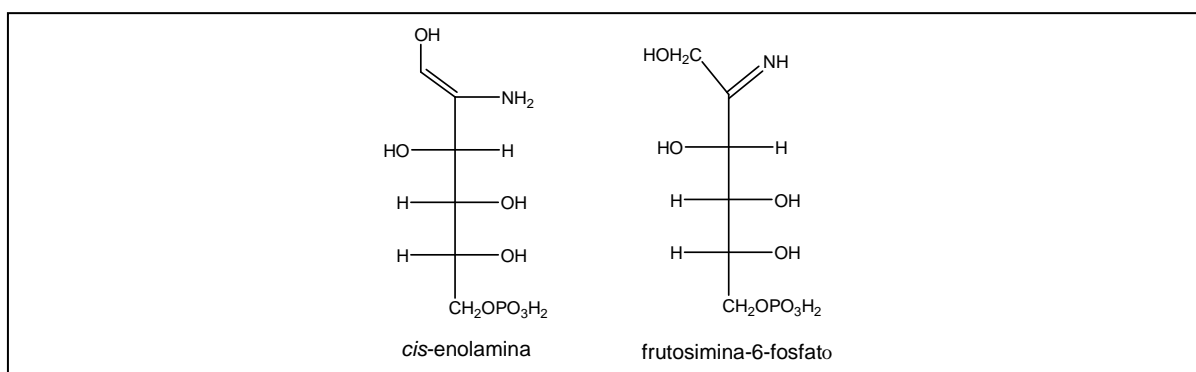
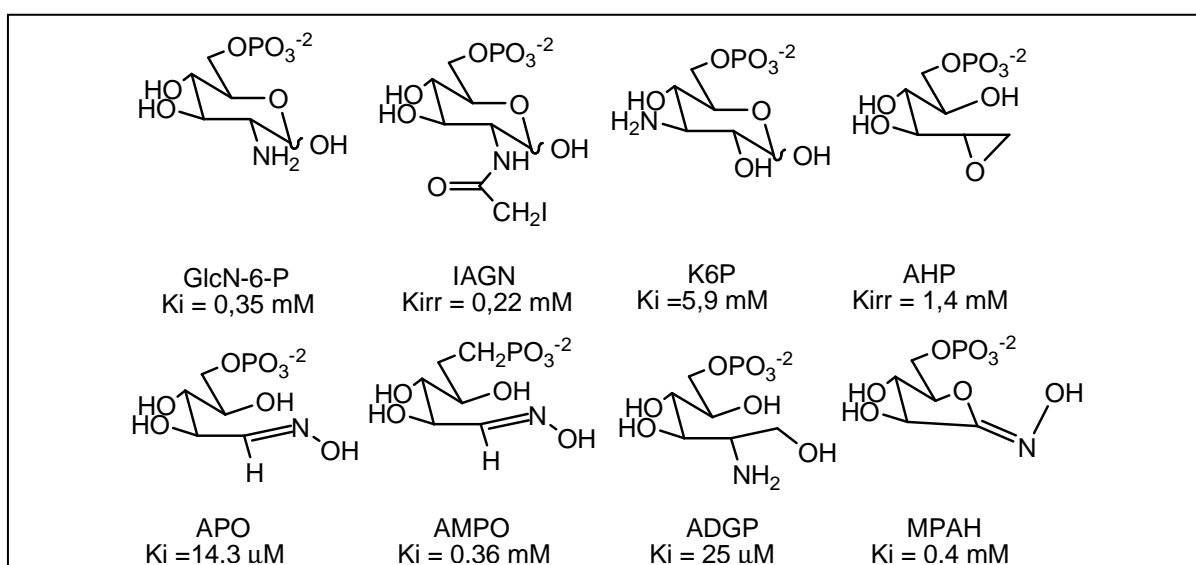


Figura 12 - Estados de transição da reação catalisada pela GlcN-6-P sintase (GOLINELLI-PIMPANEAU *et al.* 1989,1991).



Ki = constante de inibição Kirr = constante de inibição irreversível

Figura 13 - Exemplos de inibidores da GlcN-6-P sintase que interagem com domínio isomerase (MILESWKI, 2002).

Recentemente, Milewski, Janiak e Wojciechowski (2006) realizaram um estudo teórico a respeito das interações entre ADGP e a GlcN-6-P sintase, utilizando dados de cristalografia de raio X e experimentos de “*docking*”. Baseado nesses resultados, eles inferiram que a inversão de configuração de C-2, com a mudança da forma *glico* para *mano*, permitiria melhor posicionamento do grupo amino e interação mais favorável com resíduo de aminoácido glutamina 488 da enzima, responsável pela transferência de um hidrogênio entre C-1 e C-2 no estado de transição do substrato. Então, foi sintetizado o 2-amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato (Figura 14) e submetido a teste *in vitro* com a GlcN-6-P sintase. Esse novo composto apresentou um $K_i = 9$ μmol e passou a ser considerado o melhor inibidor de estado de transição até o momento, estando de acordo com a suposição dos pesquisadores.

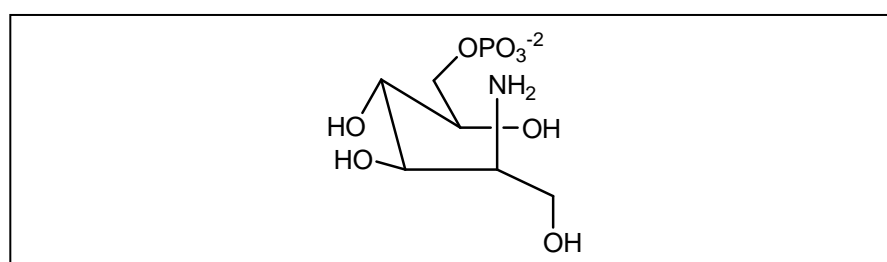


Figura 14 – Estrutura do 2-amino-2-desoxi-D-manitol-6-fosfato.

Foi demonstrado que a baixa atividade antifúngica do ADGP é limitada devido à ineficiência deste para penetrar na célula, seja por algum transportador ou por dificuldade em atravessar membrana por difusão simples, devido a sua alta polaridade (JANIAK *et al.*, 2002). Janiak e colaboradores (2003) sintetizaram derivados mais lipofílicos do ADGP que fossem capazes de se difundir pela membrana plasmática fúngica. Foram realizadas modificações no nitrogênio de C-2, com obtenção de amidas com tamanho de cadeias variadas e modificações no grupo fosfato em C-6, obtendo-se ésteres dimetílico, dietílico e monoetílico (Figura 15, página 31).

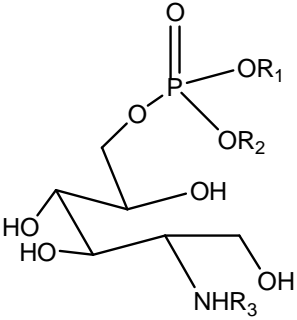
			CI ₅₀ (mM)	MIC (mg/mL)
			GlcN-6-P	<i>C. albicans</i>
ADGP	R ₁ =R ₂ =R ₃ =H		0,23	5
<u>18</u>	R ₁ =R ₂ =H	R ₃ =C(O)CH ₃	6,0	5
<u>19</u>	R ₁ =R ₂ =H	R ₃ =C(O)CH ₂ Cl	5,2	>10
<u>20</u>	R ₁ =R ₂ =H	R ₃ =C(O)CH ₂ I	>20	-
<u>21</u>	R ₁ =R ₂ =H	R ₃ =C(O)C ₄ H ₉	11	2,5
<u>22</u>	R ₁ =R ₂ =H	R ₃ =C(O)C ₆ H ₁₃	19	10
<u>23</u>	R ₁ =R ₂ =CH ₃	R ₃ =H	4,75	0,3
<u>24</u>	R ₁ =R ₂ =CH ₃	R ₃ =C(O)CH ₃	12	5
<u>25</u>	R ₁ =R ₂ =C ₂ H ₅	R ₃ =H	4,7	0,6
<u>26</u>	R ₁ =R ₂ =C ₂ H ₅	R ₃ =C(O)CH ₃	19	10
<u>27</u>	R ₁ =C ₂ H ₅ ; R ₂ =H	R ₃ =C(O)CH ₃	13	2,5

Figura 15 – Derivados lipofílicos do ADGP e suas atividades *in vitro* e antifúngica (JANIÁK *et al.*, 2003).

A maioria desses compostos apresentaram atividade inibitória da GlcN-6-P sintase reduzida, entretanto, alguns, os derivados 21, 23, 25 e 27 apresentaram atividade antifúngica superior à do protótipo (ADGP), confirmando a importância do caráter lipofílico para a penetração nas células. Estudos de metabolismo intracelular mostraram que os derivados N-acetil-ADGP e o éster dimetilico são transformados em ADGP, funcionando então como pró-fármacos (JANIÁK *et al.*, 2003).

Camus *et al.* (1998 a) prepararam derivados da D-arabinose visando de obter substâncias mais lipofílicas e em que a sensibilidade à hidrólise do grupo fosfato não fosse um problema. Substituindo-se o grupo fosfato do APO por metilenofosfonato obtiveram AMPO. Percebeu-se uma redução drástica na constante de inibição ($K_i = 14,3 \mu\text{M}$ para o APO, $K_i = 0,36 \text{ mM}$ para AMPO). De acordo com os autores, essa redução da afinidade pela enzima de 25 vezes em relação ao APO corresponde à perda de 2 kcal/mol de afinidade no sítio de ligação. Esse valor representa a perda de uma ligação de hidrogênio entre oxigênio do grupo fosfato, agora substituído por um grupo CH₂, e a enzima.

Fostel, J. M e Lartey P. A. (2000) chamaram a atenção para busca de novos fármacos antifúngicos, devido ao fato do aumento crescente de infecções fúngicas e resistência aos fármacos utilizados e defenderam a busca por novas classes e novos alvos moleculares, entre eles os inibidores de parede celular fúngica. Fica claro, com base no que foi exposto, a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos, mais ativos e menos tóxicos, e que a GlcN-6-P sintase é reconhecida como alvo molecular potencial importante que deve ser explorado para o desenvolvimento de agentes antifúngicos que apresentem um novo mecanismo de ação, comparados àqueles já disponíveis no arsenal terapêutico.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se nesse projeto a síntese de derivados da D-arabinose fosforilados em C-5 e modificados em C-1, para avaliação de sua atividade antifúngica *in vitro*.

3 JUSTIFICATIVAS

O arsenal terapêutico dispõe de número reduzido de fármacos antifúngicos, os quais apresentam efeitos tóxicos consideráveis, o que justifica o desenvolvimento de novos antifúngicos.

As substâncias cuja síntese foi proposta no projeto foram planejadas para inibir a glicosamina-6-fosfato sintase, alvo molecular sob recente avaliação para o desenvolvimento de novos antifúngicos. O desenvolvimento de fármacos que atuem em alvos moleculares distintos daqueles já estabelecidos para os fármacos clássicos é de relevância, pela baixa probabilidade do desenvolvimento de resistência cruzada.

3.1 PROPOSTA DE TRABALHO

A proposta inicial deste trabalho era a obtenção de três derivados da D-arabinose modificados em C-1 e fosforilados com um diéster de fosfato em C-5, a fim de se avaliar as suas atividades antifúngicas *in vitro*. Esses derivados tiveram como protótipo a 5-fosfato D-arabinose oxima (APO), substância sintetizada por Camus, Badet-Denisot e Badet (1998), que se apresentou como bom inibidor competitivo da enzima glicosamina-6-sintase fosfato ($K_i = 14,3 \mu\text{mol}$). Os derivados propostos estão apresentados na figura abaixo (Figura 16).

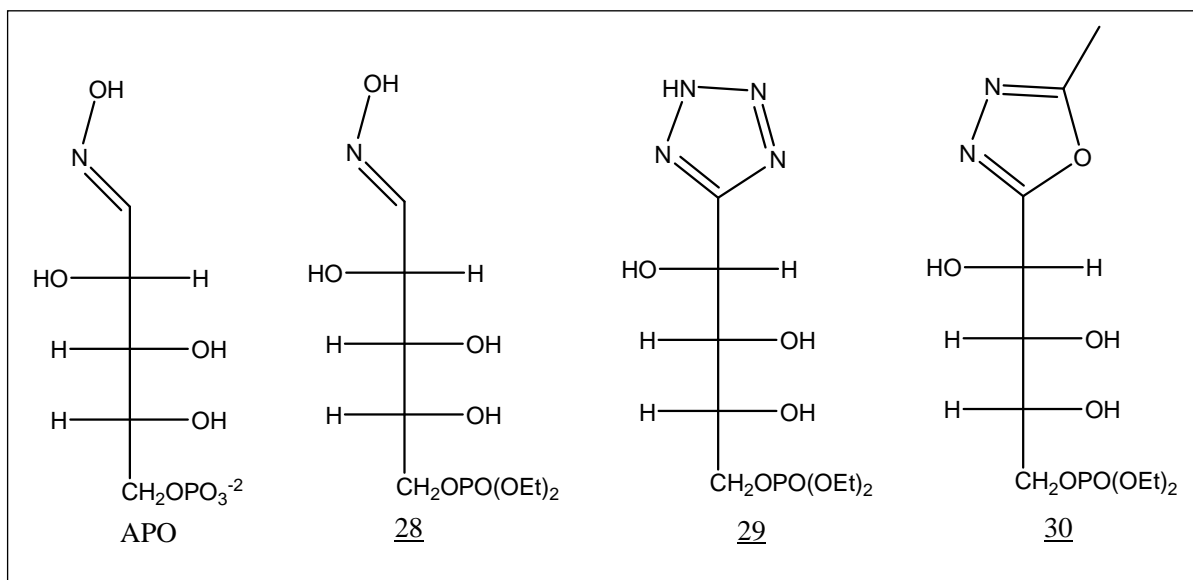


Figura 16 – Estruturas dos derivados da D-arabinose propostos e do próprio APO

As modificações realizadas em C-1 levaram em consideração as interações do substrato no seu estado de transição com a enzima. Teplyakov e colaboradores (1999) realizaram estudos de cristalografia de raio X utilizando o complexo enzima glicosamina-6-fosfato sintase de *E. Coli* ora com o produto da reação (glicosamina-6-fosfato), ora com um análogo de estado de transição (2-amino-2-desoxi-6-fosfato-D-glucitol), a fim de se entender melhor o mecanismo de catálise dessa. Foi

demonstrada, dentre outras interações, a importância dos resíduos de aminoácidos lisina 603 e 485, responsáveis pelas interações entre o sítio catalítico da enzima e o grupo amino de C-2 e a hidroxila de C-1, respectivamente.

Assim sendo, os compostos propostos 28, 29 e 30, contendo a oxima *E* e os anéis heterocíclicos tetrazol e 1,3,4-oxadiazol têm como objetivo manter as interações entre as substâncias e a enzima, para mimetizar então o estado de transição do substrato (*cis*-enolamina). (Figura 17).

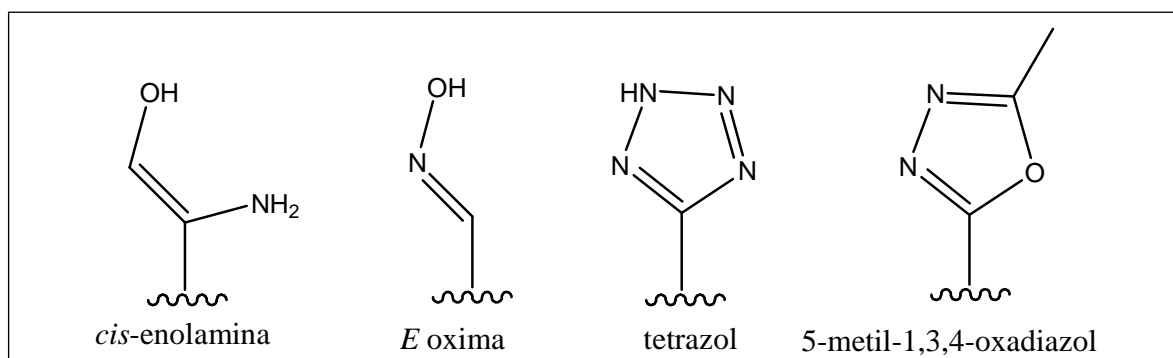


Figura 17 - Comparação entre o grupo *cis* enolamina do estado de transição e as modificações em C-1 dos derivados propostos.

Com o objetivo de que as substâncias apresentassem atividade antifúngica, foi escolhido o uso do éster dietílico de fosfato, baseado em dados prévios da literatura. Conforme relatado anteriormente, Janiak e colaboradores (2002 e 2003) demonstraram que um inibidor da GlcN-6-P na forma de um triéster de fosfato atravessaria a parede celular fúngica mais facilmente e depois era convertido no derivado 6-fosfato correspondente. Esse funcionou como pró-fármaco e apresentou maior atividade antifúngica *in vitro*. Assim, esperava-se que 28, 29 e 30 apresentassem comportamento semelhante.

Segue a seguir, a rota sintética dos compostos propostos neste trabalho (Figura 18).

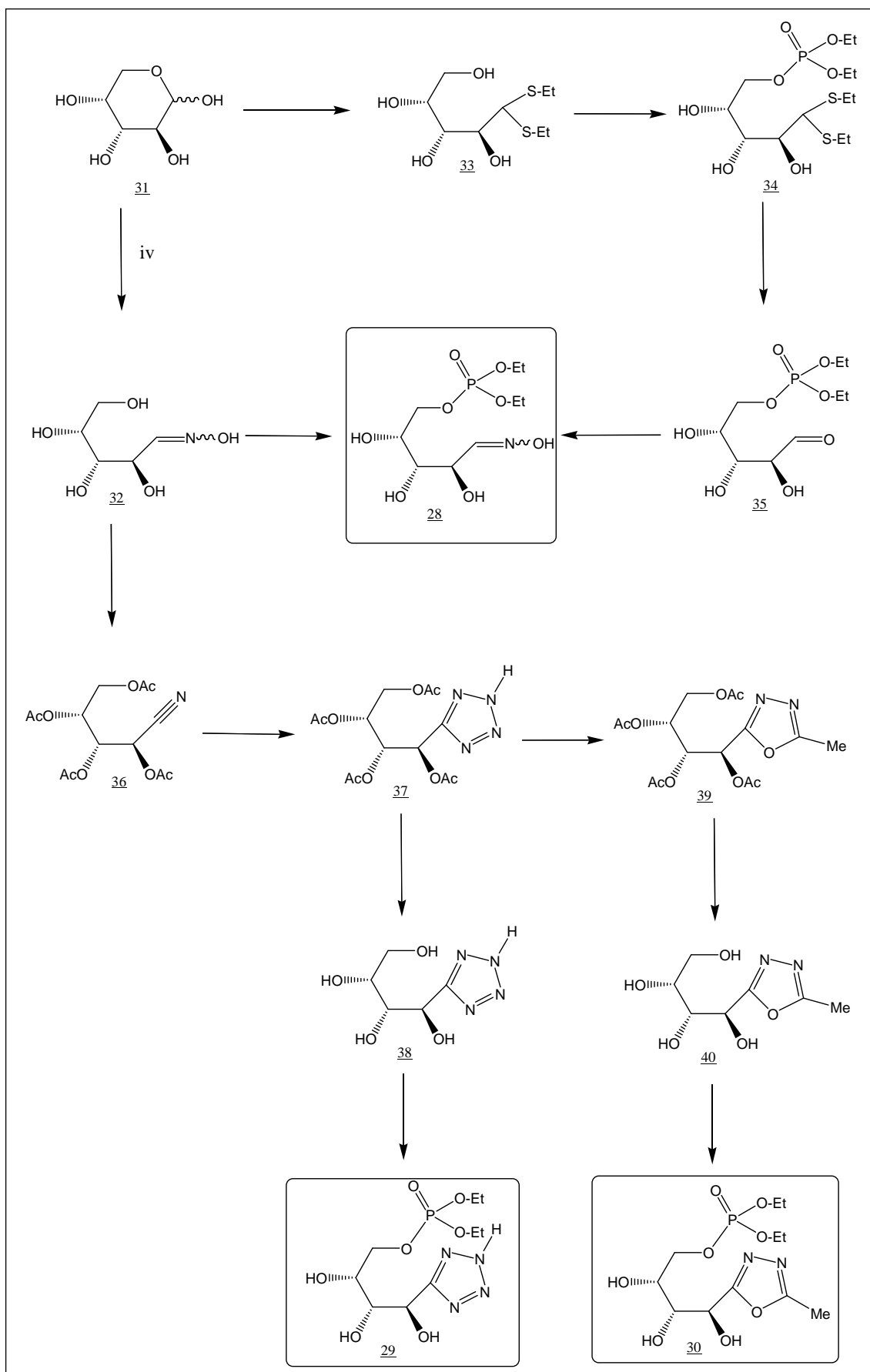


Figura 18 - Rota sintética proposta para obtenção de **28**, **29** e **30**.

4 Resultados e discussão

4.1 Síntese de *E,Z*-D-arabinose oxima 32

A primeira etapa da rota de síntese para a formação dos anéis heterocíclicos consistiu na obtenção da oxima a partir da D-arabinose (Figura 18, página 36). A oxima é um derivado importante nesse trabalho, visto que já apresenta a modificação em C-1 desejada, restando apenas ser fosforilada e é também um intermediário para a síntese dos anéis tetrazol e 1,3,4-oxadiazol. A sua síntese se deu pela reação entre o carboidrato e o cloridrato de hidroxilamina em uma solução de metóxido de sódio a 65 °C. Uma proposta de formação de oxima está representada na figura 19.

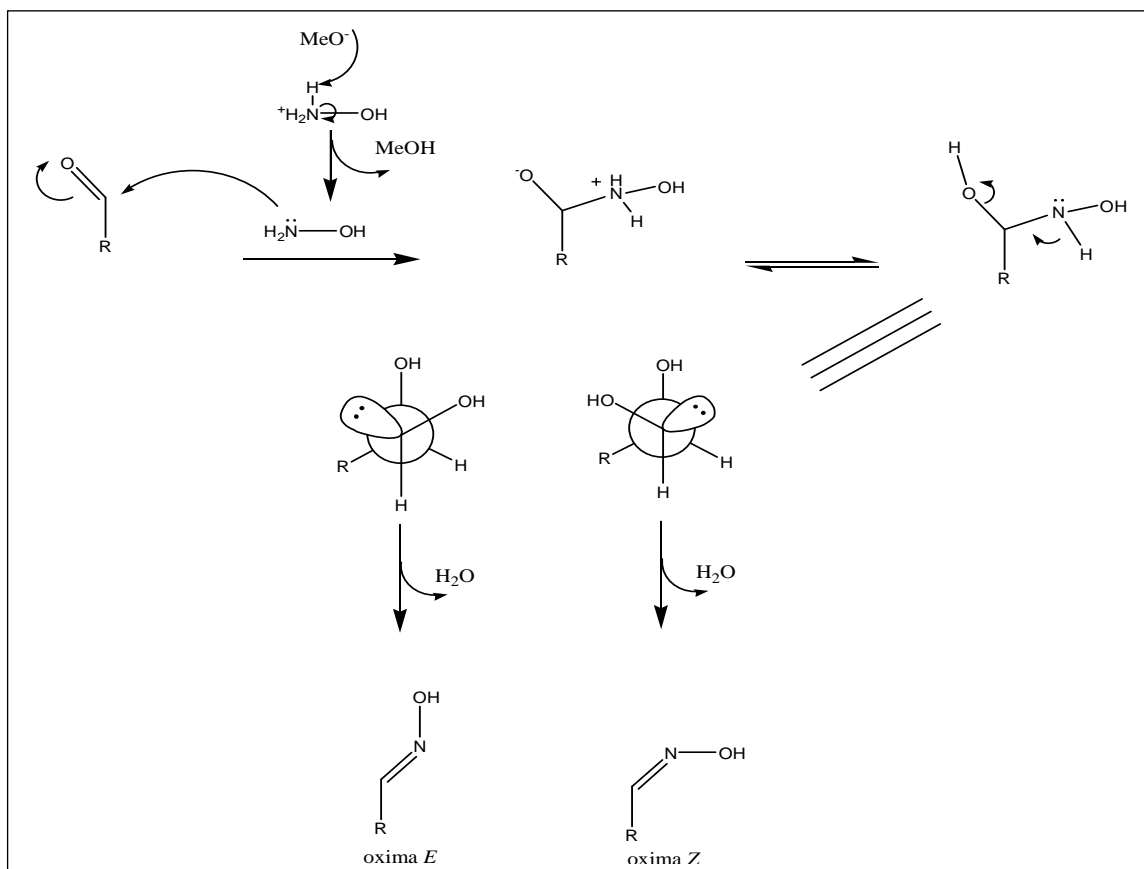


Figura 19 - Proposta de formação de oxima (SYKES, 1985).

Como se pode observar na figura anterior, há a formação de uma mistura diastereoisomérica de oximas de configuração *E* (*sin*) e *Z* (*anti*). Finch, e Merchant

(1975) demonstraram que a D-arabinose oxima existia em solução exclusivamente na forma acíclica e que era possível distinguir os diastereoisômeros *E* e *Z* por espectrometria de RMN de ^1H , baseando-se nos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-1. Nessa situação, os hidrogênios apresentam deslocamentos químicos diferentes devido a um efeito de compressão estérica da nuvem eletrônica da hidroxila da oxima sobre os hidrogênios H-1, para diastereoisômero *E* e também sobre H-2, para diastereoisômero *Z* (Figura 20).

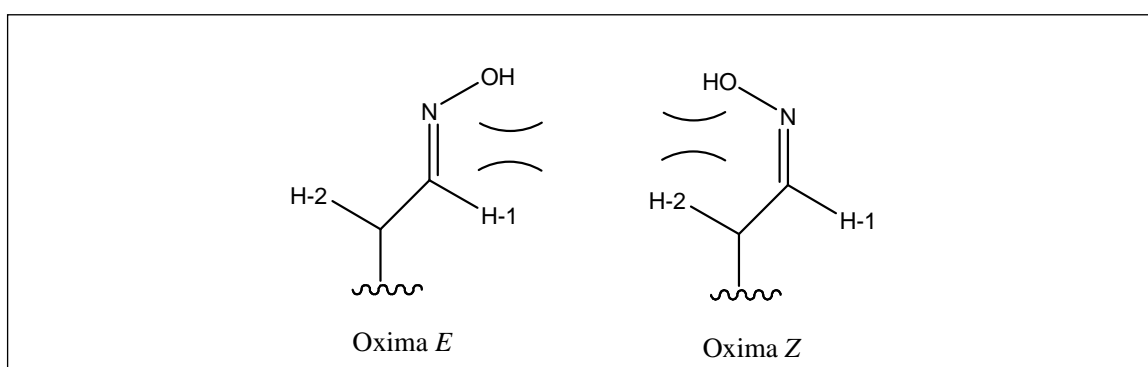


Figura 20 - Efeito de compressão estérica presente em aldoximas.

A compressão estérica faz com que a nuvem eletrônica do hidrogênio seja deslocada em direção ao respectivo carbono, desprotegendo o hidrogênio e protegendo o carbono a ele. Esse efeito torna possível a distinção entre os dois diastereoisômeros, bem como estimar sua proporção em solução. Pode ser observado na figura 20 que, para a oxima *E*, o efeito de compressão estérica desprotegerá H-1 da oxima *E*, em relação a H-1 da oxima *Z*, e protegerá C-1 da oxima *E*, em relação a C-1 da oxima *Z*. Efeito análogo ocorrerá para oxima *Z*. Haverá desproteção de H-2 da oxima *Z*, em relação a H-2 da oxima *E*, e proteção de C-2 da oxima *Z*, em relação a C-2 da oxima *E*.

A oxima 32 foi obtida com rendimento de 52 % e caracterizada com base nos seus espectros de RMN de ^1H (figura 39, página 111) e ^{13}C (figura 40, página 112) e

espectro no IV (figura 38, página 110). No espectro no infravermelho, podem ser destacadas, entre outras bandas, as em 3379 cm^{-1} e 3235 cm^{-1} , referentes ao estiramento O-H de hidroxila de álcool e oxima e as bandas em 1670 e 1638 cm^{-1} , referentes ao estiramento C=N das oximas. No espectro de RMN de ^1H , podem ser destacados os sinais em $\delta 7,6$, duplete, referente a H-1 da oxima *E*, em $\delta 6,9$, duplete, referente a H-1 da oxima *Z*, em $\delta 5,1$, duplete duplo, referente a H-2 da oxima *Z* e em $\delta 4,5$, duplete duplo, referente a H-2 da oxima *E*. Pode-se determinar a partir das integrais dos hidrogênios H-1, que os isômeros existiam em uma proporção de 3:2 (*E*:*Z*). Os demais sinais são referentes aos demais hidrogênios das cadeias dos dois diastereoisômeros. No espectro de RMN de ^{13}C , podem ser destacados, os sinais em $\delta 153,4$, referente a C-1 da oxima *Z*, em $\delta 152,5$, referente a C-1 da oxima *E*, em $\delta 68,5$, referente a C-2 da oxima *E* e em $\delta 64,5$, referente a C-2 da oxima *Z*. Os demais sinais são referentes aos demais carbonos dos dois diastereoisômeros.

4.2 Tentativa de síntese da 5-O-dietilfosforil-*E,Z*-D-arabinose oxima 28

Conforme o esquema de síntese mostrado na figura 18 (página 36), para a síntese do composto 28, oxima fosforilada, foram propostos dois caminhos: via o dietilditioacetal 33 e pela reação de fosforilação direta da oxima. A reação de fosforilação direta da oxima traz como principal vantagem tratar-se de apenas uma etapa de síntese. Em tese, mesmo havendo possibilidade de formação de mistura de produtos, o seu rendimento pode ser maior que o global da outra rota. Assim sendo, do ponto de vista químico farmacêutico, seria mais interessante.

Existem na literatura diversos métodos para se introduzir um grupo éster de fosfato em uma hidroxila. Há técnicas que descrevem a utilização de ésteres de fosfito com subsequente oxidação do produto a fosfato (NIFANTIEV; GRACHEV; BURMISTROV, 2000), fosforilação enzimática (FINCH; MERCHANT, 1979), uso de oxiclreto de fósforo (SOROKA, *et al.*, 2005) e introdução do grupo fosfato por deslocamento de um bom grupo abandonar via reação S_N2 (BATEY, *et al.*, 1975).

Uma outra técnica também muito utilizada consiste na reação entre um álcool e um cloreto de éster de fosfato (HIKISHIMA *et al.*, 2006). Entretanto, como esses reagentes são menos reativos, devem-se utilizar condições nas quais ele reaja, como através do uso de alcóxidos (USHIYAMA *et al.*, 1993), ou simplesmente por uso de bases, como piridina (HIKISHIMA *et al.*, 2006), trietilamina (HAMMERSCHIMIDT; HANBAUER, 2000). É também relatado o uso de catalisadores nucleofílicos como DMAP (SABESAN; NEIRA, 1992) e catálise por ácidos de Lewis (JONES *et al.*, 2003). Um resumo dos métodos citados pode ser visto na figura a seguir (Figura 21).

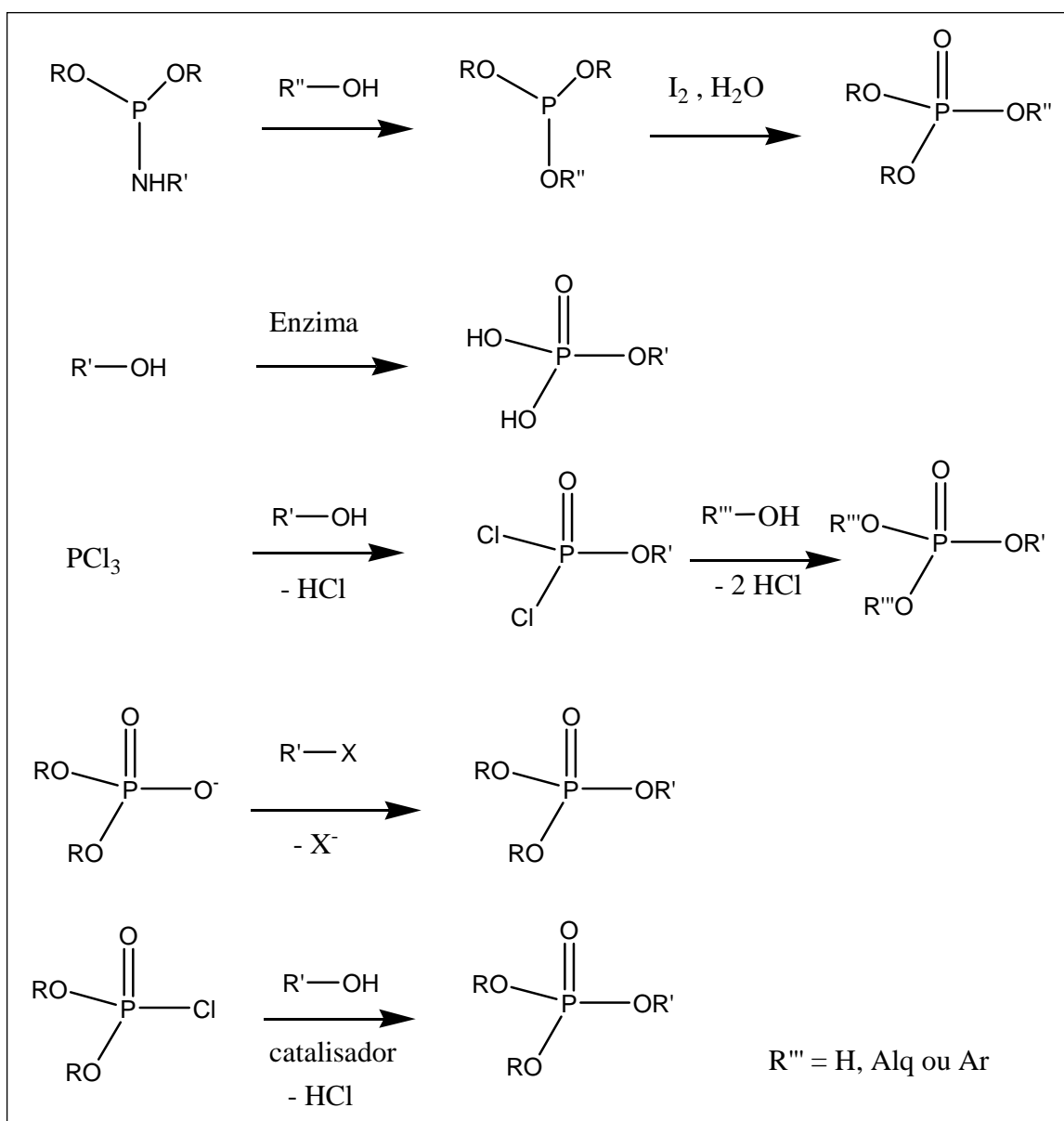


Figura 21 – Alguns métodos de introdução de éster de fosfato em um substrato.

A tentativa de fosforilação do composto 32 foi realizada utilizando-se cloreto de dietilfosforila, piridina e banho de gelo. Em algumas reações se utilizou também AgCN como catalisador. Um resumo das tentativas pode ser visto a seguir na tabela 2.

Tabela 2 – Tentativas e condições da reação de fosforilação da oxima 32

Reação	Oxima	(OEt ₂)POCl	Solvente	Catalisador	Resultado
1	1 eq	1,5	piridina	AgCN	9 % rendimento (mistura de produto com excesso do reagente fosforilante)
2	1 eq	2	piridina	-	20 % rendimento (mistura de produto com excesso do reagente fosforilante)
3	1 eq	1,5	piridina	-	Mistura de produto mais reagente fosforilante após cromatografia preparativa

Entretanto, o resultado em todas foi praticamente o mesmo. Após 17 horas de reação se observaram produtos com tempos de retenção (Rf) acima do material de partida, um produto com mesmo Rf desse e produtos com Rf abaixo daquele. A reação 1, conforme representado na tabela 2, foi a que apresentou o maior grau de pureza do produto, entretanto ainda havia excesso do reagente, visualizado por meio de espectrometria de RMN de ¹H e ¹³C. Pode-se observar nos seus espectros de RMN de ¹H (Figura 22) e de DEPT135 (Figura 23) que houve somente fosforilação da posição C-5 do carboidrato, evidenciado pela multiplicidade do sinal de C-5, um duplete em δ 16,5, devido ao acoplamento carbono fósforo. As tentativas de isolamento dos produtos das outras reações também foram infrutíferas. Sempre eram obtidas misturas, mesmo após recromatografia, de pelo menos dois produtos. É importante ressaltar que, durante o processo cromatográfico eram obtidas frações que aparentemente estavam puras, antes de serem reunidas e concentradas em evaporador rotatório. As frações reunidas de uma coluna cromatográfica foram

submetidas à cromatografia em placa preparativa. No entanto, foram observados sempre os dois mesmos produtos. Análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C da mistura levou à conclusão de tratarem-se de oxima fosforilada em C-5, algum outro derivado de carboidrato e ainda um excesso de produto de hidrólise do reagente fosforilante. Com base nesses resultados, essa tentativa de obtenção de 28 em duas etapas foi abandonada e foi avaliada outra tentativa para fosforilação da oxima.

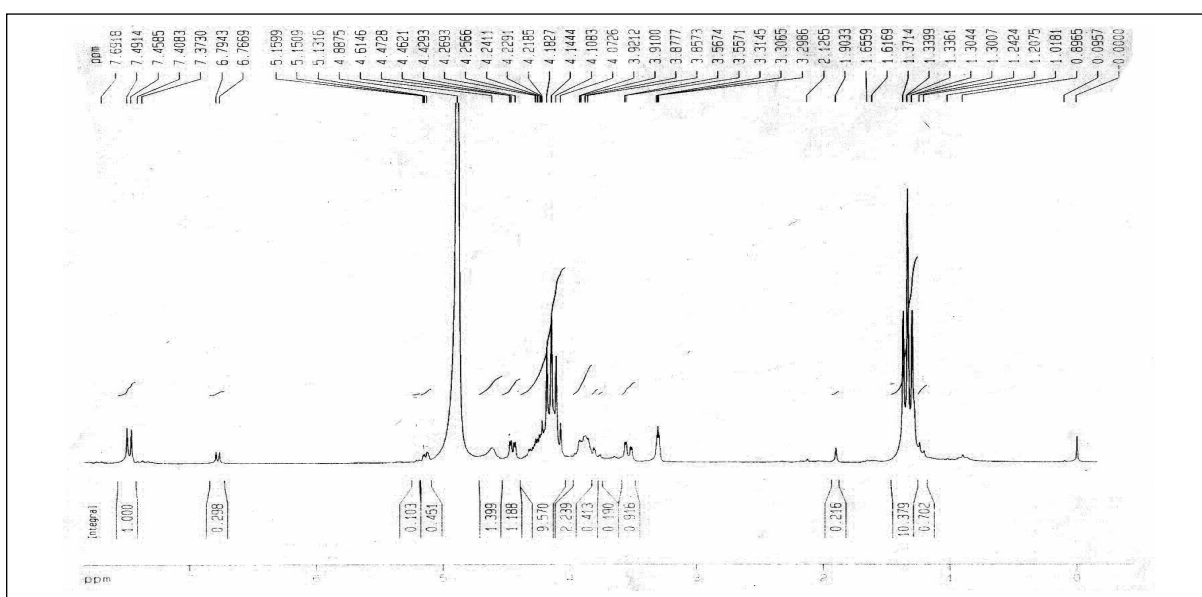


Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) de frações reunidas de CCS de tentativa de fosforilação de 32 (reação 1).

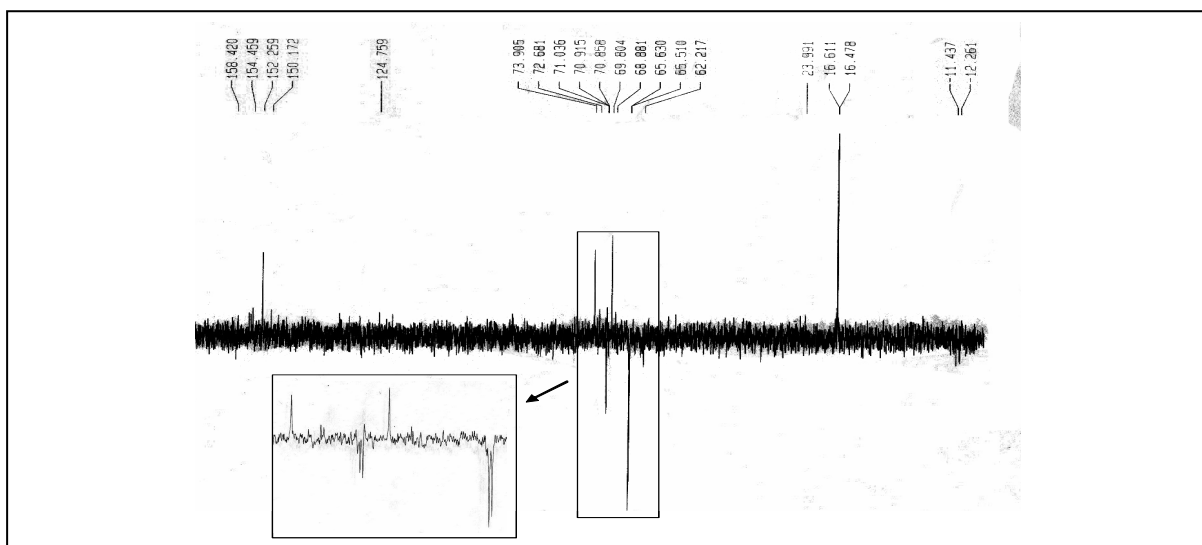


Figura 23 – Espectro de DEPT135 (50 MHz, CD_3OD) de frações reunidas de CCS de tentativa de fosforilação de 32 (reação 1).

4.3 Tentativa de síntese da oxima fosforilada 28 via D-arabinose dietilditioacetal 33

4.3.1 Síntese do D-arabinose dietilditioacetal 33

A obtenção de 33 tem como objetivo a proteção do aldeído do carboidrato a fim de obtê-lo na forma acíclica. Desta forma, seria possível a fosforilação da hidroxila de C-5, que na D-arabinose está envolvida em ligação hemiacetalica. Após a fosforilação, seria realizada a desproteção do ditioacetal e o derivado contendo a função aldeído seria convertido na oxima 28.

O uso de ditioacetais é de grande importância na química de carboidratos, visto que permite manter esse na sua forma acíclica e posteriormente manipular as demais hidroxilas (STICK, 2001). Nessa reação, geralmente, se utilizam um tiol alifático e o composto carbonílico em meio ácido, que por reação de adição à carbonila dá origem a um ditioacetal (Figura 24).

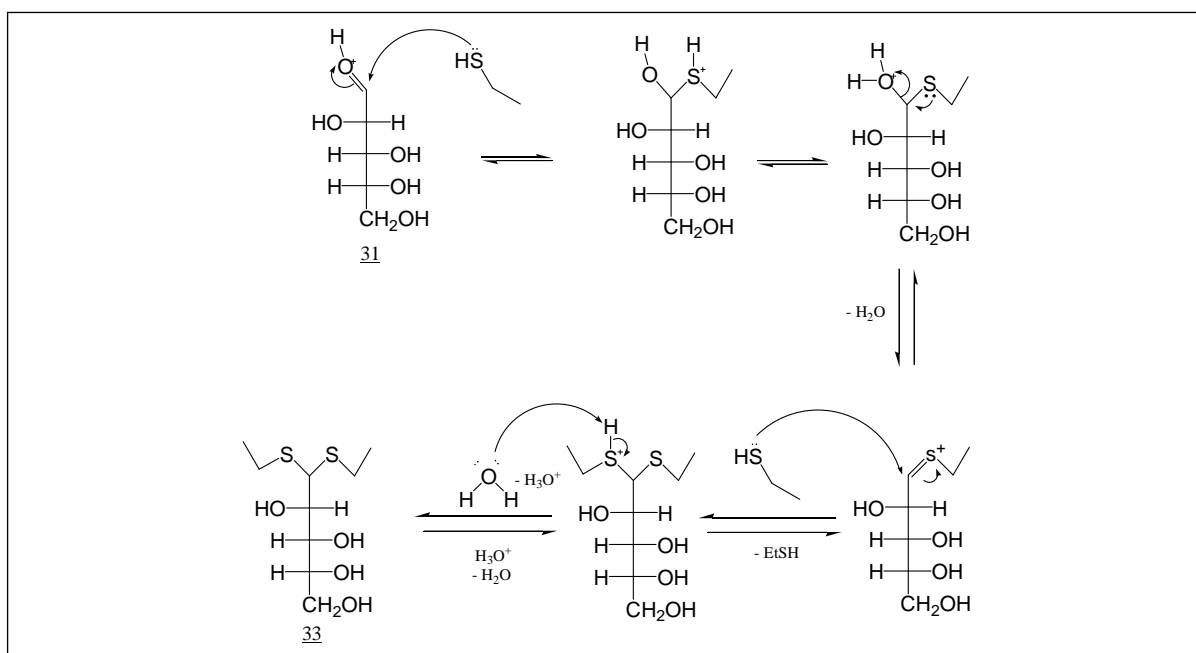


Figura 24 – Proposta de mecanismo para a formação do ditioacetal 33.

Para a síntese do derivado 33, foram utilizados o material de partida, D-arabinose, etanotiol e HCl 6 mol/L, obtendo-se, após filtração, o derivado 33 com 52 % de rendimento. O composto 33 foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 41, página 113), de RMN de ^1H (Figura 42, página 114) e de RMN de ^{13}C (Figura 43, página 115). No espectro no infravermelho, podem ser observadas as bandas em 3254 cm^{-1} , referente a estiramento de ligação O-H das hidroxilas do carboidrato, em 2943 , 2912 e 2869 cm^{-1} , referentes ao estiramento C-H alifático e em 1081 e 1024 cm^{-1} , referentes a estiramento C-O. No espectro de RMN de ^1H atribuiu-se primeiramente o duplete em δ 4,1, ao hidrogênio H-1. Os hidrogênios H-5 e H-5', sinais em δ 3,8 e δ 3,6, respectivamente, apareceram como dupletos duplos e foram atribuídos com base em experimento de HMQC, uma vez que se sabia qual sinal no espectro de RMN de ^{13}C se referia a C-5, utilizando-se para isso o espectro de DEPT135. Os demais sinais de hidrogênios, H-2, H-3 e H-4, foram atribuídos utilizando-se experimento de COSY90 (Figura 44, página 116). Os hidrogênios do grupo metileno do dietilditioacetal apresentaram um sinal na forma de multiplete entre δ 2,5 e δ 2,6. Os hidrogênios dos grupos metila do dietilditioacetal apresentaram dois sinais, um em δ 1,26 e outro em δ 1,25, na forma de tripletos. No espectro de RMN de ^{13}C o sinal em δ 25,5 foi atribuído aos carbonos metilênicos do dietilditioacetal e dois sinais em δ 15,0 e δ 14,9 aos carbonos metílicos do dietilditioacetal. Os demais carbonos do carboidrato foram atribuídos com base no espectro de HMQC (Figura 46, página 118).

4.3.2 Síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetal 34

Para a síntese do derivado fosforilado 34 (Figura 18, página 36) foram utilizadas duas técnicas. Em uma utilizou-se diclorometano como solvente, DMAP em quantidade catalítica e TEA como base e na outra, piridina como base e solvente e DMAP como catalisador, entretanto, esse na proporção de 1:1 com o reagente fosforilante. Essas tentativas foram realizadas com o objetivo de se estudar um pouco melhor as condições de fosforilação, visto que esse material de partida, derivado 33, era mais abundante que os outros a serem fosforilados. Foram realizadas outras tentativas também em piridina se utilizando catálise ácida, com ácidos de Lewis, como $ZnCl_2$ e $AlCl_3$, entretanto não se observou a formação de produtos após 24 horas de reação.

Após purificação em CCS, utilizando-se o primeiro método discutido anteriormente, o produto 34 foi obtido com rendimento de 35 %, ao passo que, utilizando-se o segundo método, esse foi obtido com 56 % de rendimento após CCS. Sua caracterização foi feita pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 48, página 120), de RMN de 1H (Figura 49, página 121) e de RMN de ^{13}C (Figura 50, página 122). No espectro no infravermelho pode ser destacada a banda de forte intensidade em 1016 cm^{-1} , referente ao estiramento P-O-C de ésteres alifáticos de fosfato. No espectro de RMN de 1H , foram observados um multipletto entre $\delta 4,4$ e $\delta 3,9$, referente aos seis hidrogênios da cadeia do derivado do carboidrato mais os quatro hidrogênios metilênicos do dietilfosfato, o simpleto em $\delta 3,8$, referente aos hidrogênios das três hidroxilas, o multipletto entre $\delta 2,8$ e $\delta 2,6$, referente aos quatro hidrogênios metilênicos do dietilditioacetal e o multipletto entre $\delta 1,4$ e $\delta 1,2$, referente

aos hidrogênios metílicos do dietilfosfato e dietilditioacetal. No espectro de RMN de ^{13}C , podem ser observados os sinais entre δ 71,4 e δ 69,8, referentes aos carbonos C-2, C-3, C-4 e C-5 da cadeia do derivado de carboidrato. Foram observados em δ 64,5, como duplete, devido ao acoplamento carbono-fósforo (^2J), os carbonos metilênicos do dietilfosfato, em δ 55,6, o sinal referente a C-1 do derivado de carboidrato, em δ 25,4 e δ 24,0 os sinais referentes aos carbonos metilênicos do dietilditioacetal, em δ 16,2, um duplete, devido ao acoplamento carbono-fósforo (^3J), referente aos carbonos metílicos do dietilfosfato e os sinais em δ 14,6 e δ 14,5, referentes aos carbonos metílicos do dietilditioacetal. No espectro de DEPT135, podem-se distinguir os sinais de C-5, em δ 64,5 e o sinal em δ 71,3 referente a C-4. Esses sinais, em especial os observados no espectro de DEPT135 nos permitiram confirmar a fosforilação regioseletiva da hidroxila de C-5.

4.3.3 Tentativa de síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose 35

Essa etapa tinha como objetivo a remoção do grupo dietilditioacetal, por meio de uma reação de oxidação com Br_2 , para posterior reação com cloridrato de hidroxilamina para formação da oxima 28. Entretanto, não se obteve 38, mas sim 0,071 g de resíduo oleoso. Por espectrometria no infravermelho (Figura 25, página 48), foram observadas bandas em 3324 cm^{-1} , referente ao estiramento O-H, em 2986 e 2941 cm^{-1} , referentes ao estiramento C-H alifático, e em 1012 cm^{-1} , referente ao estiramento P-O-C de ésteres alifáticos de fosfato. No espectro de RMN de ^1H (Figura 26, página 48), observaram-se sinais largos em δ 4,1 e δ 1,3 com integrais compatíveis com a da estrutura do produto esperado. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 27, página 49) observou-se um número considerável de sinais na região de

carbono de carboidratos com intensidade relativa menor do que os sinais correspondentes ao grupo dietilfosforila. Esses dados nos levam a especular que houve remoção do ditioacetal com posterior migração do éster de fosfato, gerando vários derivados O-fosforilados. Essa seqüência de síntese foi então interrompida.

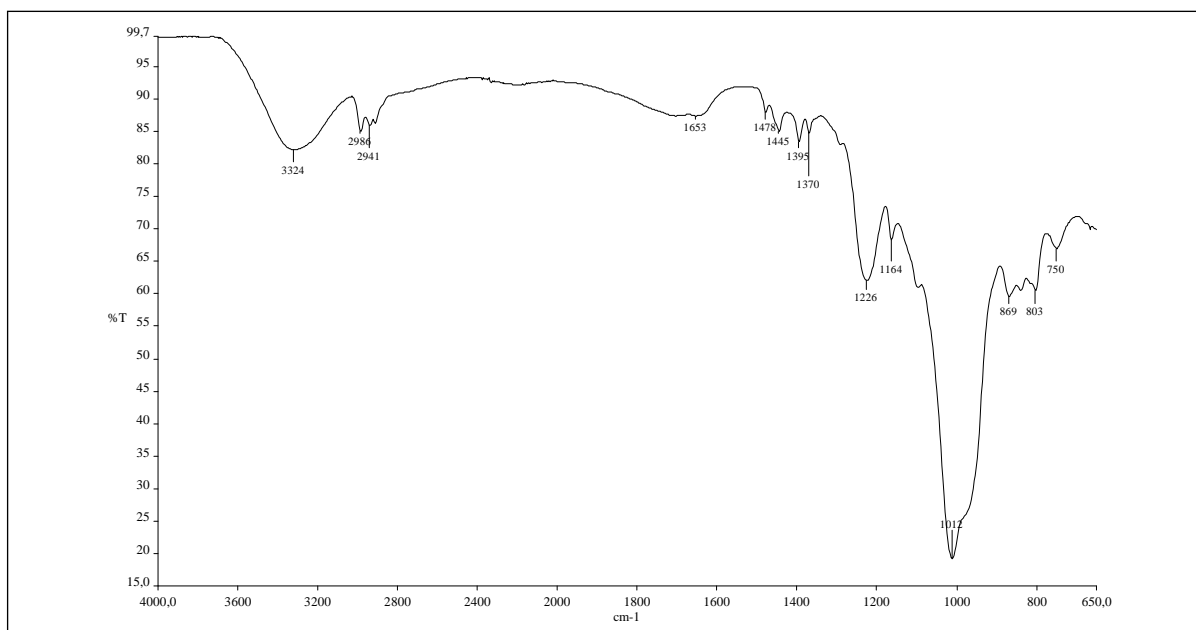


Figura 25 – Espectro no infravermelho do produto da reação de desproteção do ditioacetal com Br_2 .

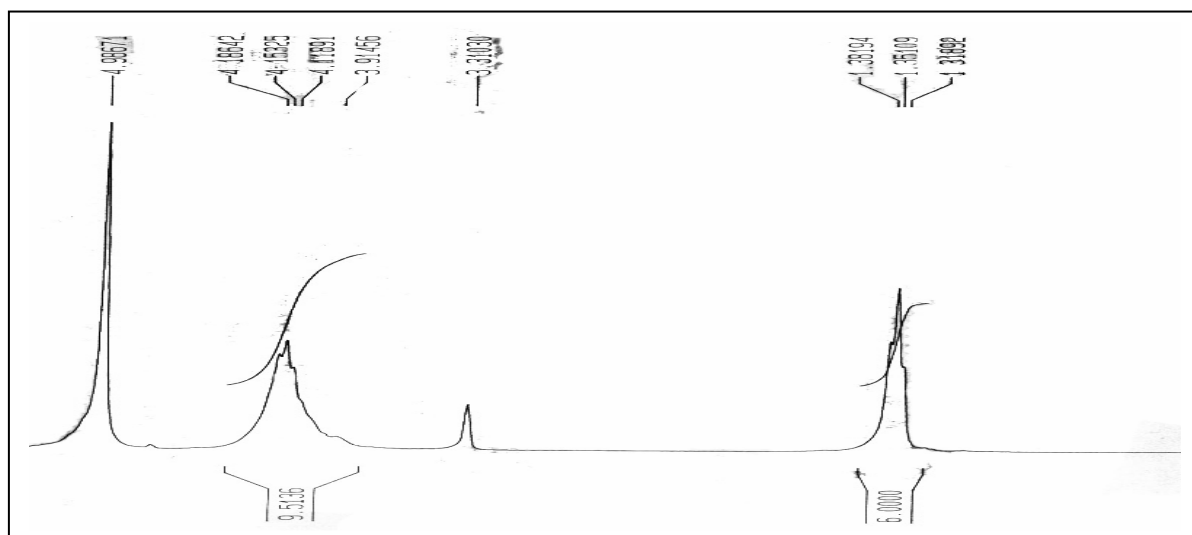


Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) do produto de reação de desproteção do ditioacetal com Br_2 .

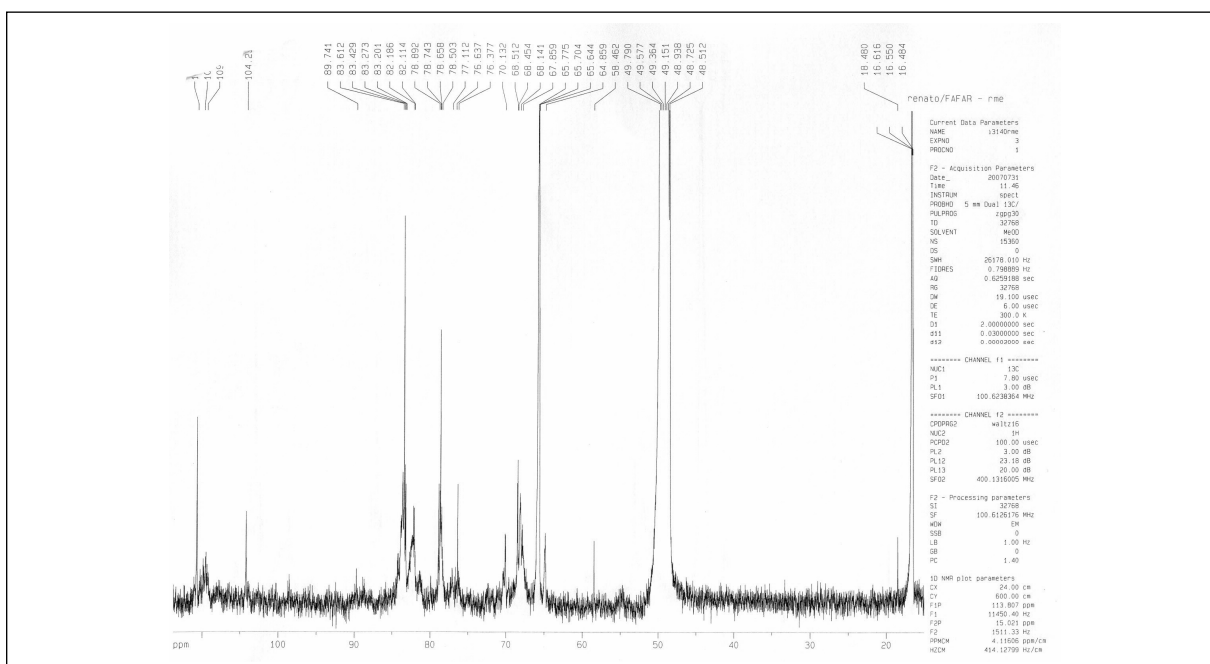


Figura 27 - Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) do produto da reação de desproteção do ditioacetal com Br_2 .

4.3.4 Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-terbutildimetilsilil-D-arabinose dietilditioacetal

41

Essa etapa teve como objetivo a proteção regioseletiva da hidroxila de C-5 com um derivado alifático de silício e proteção das demais hidroxilas com grupos acetila, a fim de se obter em posteriores etapas, a desproteção do grupo silila e tentativa de fosforilação, conforme figura 28.

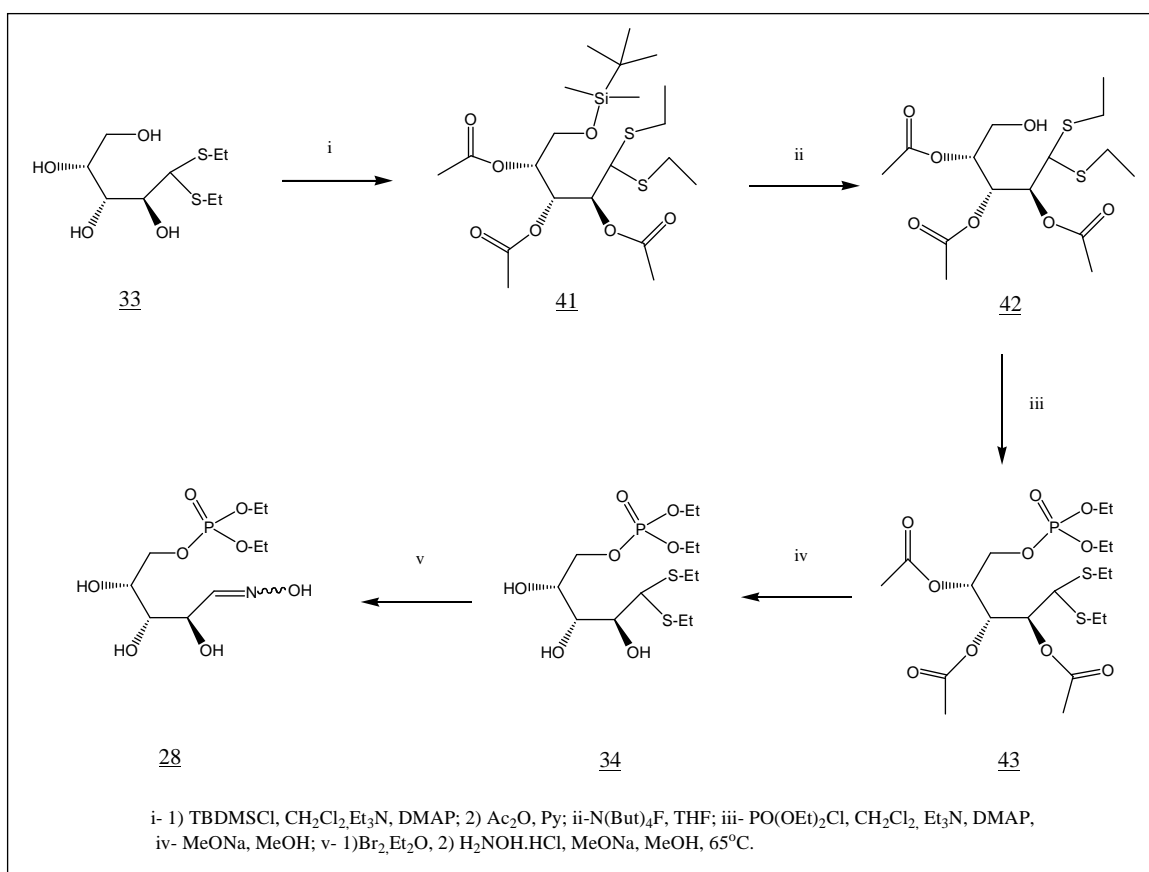


Figura 28 – Rota alternativa para obtenção da oxima fosforilada 28.

Essa seria uma alternativa à fosforilação regioseletiva da hidroxila de C-5, visto que agora teríamos apenas a hidroxila primária do derivado do carboidrato disponível para a reação, podendo-se então utilizar maior quantidade do reagente de fosforilação a fim de se obter rendimentos melhores para sintetizar o derivado 28, oxima fosforilada na hidroxila de C-5.

Os derivados volumosos de silício são de grande utilidade, em síntese de um modo geral, para se proteger seletivamente uma hidroxila primária (STICK, 2001). Nessa etapa foram utilizados cloreto de *ter*-butildimetilsilila, diclorometano, trietilamina e DMAP para se obter a proteção regioseletiva da hidroxila em C-5, hidroxila primária e mais reativa, e depois no mesmo balão, sem qualquer elaboração, submeter o

produto às condições de acetilação com piridina e anidrido acético em banho de gelo. Após elaboração, o produto foi obtido como um óleo com rendimento de 83 % e foi caracterizado pela análise de seus espectros de RMN de ^1H (figura 52, página 124) e de RMN de ^{13}C (figura 53, página 125). No espectro de RMN de ^1H podem ser observados sinais em δ 5,5 , duplete duplo, referente a H-3, em δ 5,3 , duplete duplo, referente a H-2, entre δ 5,1 e δ 5,0 , multiplete, referente a H-4, em δ 3,9 , duplete, referente a H-1 e δ 3,7 e δ 3,6 , dupletos duplos, referentes a H-5 e H-5', respectivamente. Os hidrogênios metilênicos do dietilditioacetil apresentaram um sinal entre δ 2,7 e δ 2,6, multiplete, enquanto os hidrogênios dos grupos metila apresentaram-se como dois tripletos parcialmente sobrepostos em δ 1,2139 e δ 1,2090. Os hidrogênios metílicos dos grupos acetila apresentaram sinal entre δ 2,1 e δ 2,0, como simpletos. Os hidrogênios metílicos do grupo *ter*-butila apareceram como um simpleto em δ 0,8 , enquanto os hidrogênios dos grupos metila ligados diretamente ao silício, apareceram em δ 0,1, como um simpleto. No espectro de RMN de ^{13}C , podem ser observados em δ 170,2 , δ 170,0 e δ 169,7 , os sinais dos carbonos das carbonilas dos grupos acetila. Em δ 71,6, δ 71,2 e δ 70,2 se observaram os sinais de C-2, C-3 e C-4 do carboidrato, em δ 61,9 , observou-se sinal do carbono C-5, assim atribuído com base no sub-espectro DEPT135 e em δ 52,2 o sinal de C-1. Os carbonos metilênicos do dietilditioacetil são observados em δ 25 e δ 24,9 , confirmado pelos sinais característicos no sub-espectro de DEPT135. Os sinais dos carbonos dos grupos metila do dietilditioacetil aparecem em δ 14,4 e δ 14,2. Os sinais dos carbonos metílicos dos grupos acetila são observados em δ 25,9 ppm, sendo os mais desprotegidos de todos os grupos metila. Isso ocorre em decorrência deles estarem ligados a uma carbonila e serem desprotegidos por efeito

indutivo. Os carbonos metílicos do grupo terbutila apresentaram sinais em δ 21,1 e δ 20,9, enquanto o carbono terciário ligado direto ao átomo de silício apresentou sinal em δ 18,4 , que pode ser confirmado pela sua ausência no experimento de DEPT135, visto que esse não é um carbono hidrogenado. Os carbonos metílicos ligados diretamente ao átomo de silício se apresentaram mais protegidos que aqueles do TMS, apresentando seu sinal em δ -5,36.

4.3.5 Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-D-arabinose dietilditioacetal 42

Nessa etapa foi realizada a desproteção seletiva da hidroxila de C-5 do composto 41 (Figura 28, página 50). Essa desproteção era necessária para se tentar a reação de fosforilação na próxima etapa sem influência de outras hidroxilas, que agora estavam protegidas por grupos acetila.

A desproteção regioseletiva de grupos hidroxila protegidos na forma de éteres de silício pode ser realizada utilizando-se fluoretos e é possível se obter seletividade, em uma condição suave sem ocorrer desproteção dos demais grupos protetores, devido ao alto valor de entalpia de formação da ligação F-Si (STICK, 2001).

Para se obter o derivado 42, foram utilizados fluoreto de tetrabutílamônio e THF, como solvente, e após elaboração, o produto foi obtido como um óleo com rendimento quantitativo e utilizado diretamente na etapa seguinte. O composto 42 foi caracterizado pela análise de seus espectros de RMN de ^1H (Figura 55, página 127) e do sub-espectro DEPT135 (Figura 56, página 128). No espectro de RMN de ^1H observam-se dois sinais largos em δ 5,1 e δ 4,9, referentes a H-2 e H-3, com as

atribuições intercambiáveis. Os hidrogênios de H-5, H-5' e H-4 se apresentaram todos juntos em um multipletto com integral igual a 3, observado entre δ 4,5 e δ 4,3. Em δ 4,1 observa-se um dupletto, referente a H-1 e em δ 3,2, observa-se um sinal largo referente à hidroxila de C-5. Observam-se três multiplettos entre δ 2,8 e δ 2,6, entre δ 2,1 e δ 2,0 e entre δ 1,3 a δ 1,2, referentes aos hidrogênios metilênicos do dietilditioacetal, hidrogênios metílicos do grupo acetila e hidrogênios metílicos do dietilditioacetal, respectivamente. No sub-espectro de DEPT135 observam-se três sinais em δ 71,6, δ 70,2 e δ 68,1 referentes aos carbonos C-2, C-3 e C-4, com suas atribuições intercambiáveis. Em δ 62,9, observa-se o sinal de C-5, em δ 52,1, o sinal de C-1 e os sinais em δ 25,0 e δ 24,5 atribuíram-se aos carbonos C_b. Os carbonos metílicos dos grupos acetila apresentam sinais em δ 20,9 e δ 20,8, enquanto os metilas do dietilditioacetal Ca apresentam sinais em δ 14,5 e δ 14,0.

4.3.6 Tentativa de síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetal 43

Essa tentativa visava à obtenção de um intermediário fosforilado sem que houvesse interferência de outras hidroxilas, podendo-se utilizar maior quantidade do reagente fosforilante, a fim de se obter rendimento adequado para se alcançar a oxima fosforilada em posteriores etapas.

A reação foi realizada utilizando-se cloreto de dietilfosforila, DMAP, trietilamina e CH₂Cl₂. Com o decorrer da reação, foi observada a formação de um produto de R_f inferior ao do material de partida. Após eliminação do solvente da reação em evaporador rotatório, a análise dos espectros em RMN de ¹H e ¹³C do produto bruto

permitiu concluir que o produto principal era na verdade o composto 33, a D-arabinose dietilditioacetil, obtida com rendimento quantitativo. Percebe-se que ocorreu a remoção dos grupos acetila e não fosforilação do derivado de carboidrato. Especulamos que a remoção dos grupos protetores acetila pode ser atribuída à formação de HCl *in situ* advindo do reagente fosforilante, o qual poderia remover os grupos acetila, ou mesmo ao uso de trietilamina, que é utilizada para promover desproteção de ésteres em presença de álcool ou umidade. Portanto, essa mesma umidade que pode ter removido os grupos acetila catalisado por trietilamina ou HCl, poderia consumir o reagente fosforilante e contribuir para a não formação do produto. Essa reação e o restante dessa rota alternativa para a síntese da oxima fosforilada 28 foi então interrompida.

4.4 Síntese da 2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-arabinonitrila 36

Retornou-se então o plano inicial para a obtenção de 2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-arabinonitrila (36), conforme representado na figura 18 (página 36), para obtenção dos outros dois compostos planejados, 5-(D-arabino-4-dietilfosforiloxi-1,2,3-tri-hidroxibutil)tetrazol 29 e 2-(D-arabino-4-dietilfosforiloxi-1,2,3-tetra-hidroxi)-5-metil-1,3,4-oxadiazol 30.

As nitrilas são intermediários úteis para a síntese de tetrazóis. Uma das metodologias de sínteses de nitrilas é a desidratação de aldoximas utilizando um agente desidratante (MARCH, 2001) (Figura 29). Nessa etapa foram utilizados anidrido acético a 100 °C, como agente desidratante, e piridina, ou ácido acético e acetato de sódio, obtendo-se a nitrila em C-1 e peracetilando as demais hidroxilas do carboidrato, com pequena variação entre os rendimentos das duas metodologias.

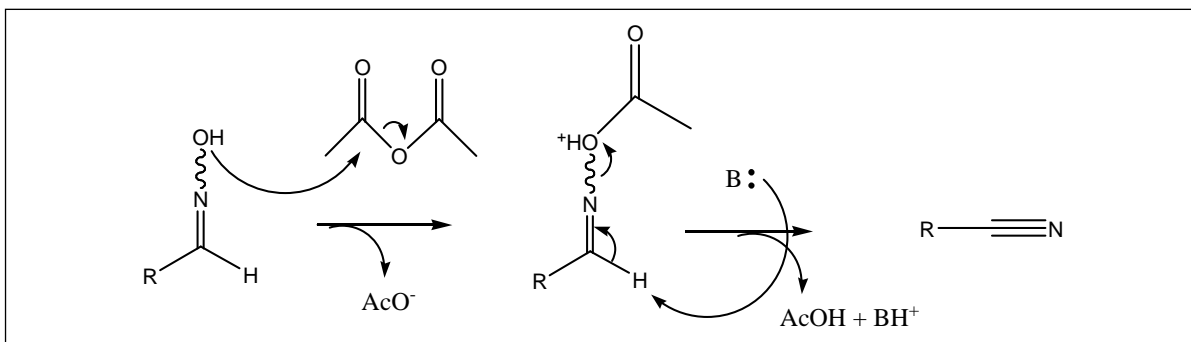


Figura 29 - Proposta de formação de nitrilas a partir de aldoximas (MARCH, 2001).

O composto 36 foi obtido com 36 %, utilizando-se piridina, e 40 % de rendimento, utilizando-se ácido acético e acetato de sódio e foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 57, página 129), de RMN de ^1H (Figura 58, página 130), de RMN de ^{13}C (Figura 59, página 131). No espectro no infravermelho chama a atenção, a ausência de bandas de hidroxila na região de 3300 cm^{-1} , a presença de bandas em 1752 e 1737 cm^{-1} , referentes a estiramento $\text{C}=\text{O}$ de éster e uma banda pouco intensa em 2323 cm^{-1} , típica de estiramento CN de nitrila alifática. No espectro de RMN de ^1H podem ser observados os sinais dos hidrogênios do carboidrato entre $\delta 5,7$ e $\delta 4,2$ e destaca-se o multiplete entre $\delta 2,2$ e $\delta 2,1$, com integral igual a 12, referente aos hidrogênios metílicos dos grupos acetila. Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C podem ser destacados, entre os demais sinais do carboidrato C-2, C-3, C-4 e C-5, compreendidos na região entre $\delta 68,0$ e $\delta 61,0$ os quatro sinais entre $\delta 170,5$ e $\delta 168,8$, referentes às quatro carbonilas dos grupos acetila, os sinais compreendidos entre $\delta 20,8$ e $\delta 20,2$, referentes aos carbonos metílicos dos grupos acetila e o sinal em $\delta 114,0$ referente a C-1, típico de nitrila. A análise desse conjunto de informações demonstrou que houve formação da nitrila e peracetilação do carboidrato.

4.5 Síntese de 5-(D-*arabino*-1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)tetrazol 37

Essa etapa teve como objetivo a formação do anel tetrazólico a partir da nitrila 36 (Figura 18, página 36). O tetrazol 37 é um intermediário importante nessa rota sintética, visto que após ter as hidroxilas desprotegidas, está a uma etapa de um composto final desejado, como também é intermediário para formação do outro heterociclo, o derivado contendo o anel 1,3,4-oxadiazol.

Existem várias metodologias para a síntese de anéis tetrazólicos relatadas na literatura, como a reação entre hidrazidas, 4-hidrazino-1,2,3-triazinas ou 3-hidrazino-1,2,4-triazinas com nitrito de sódio e ácido clorídrico (BOIVIN; HUSINEC; ZARD, 1995). Um dos métodos sintéticos mais comuns para sua síntese é a cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e nitrilas. A cicloadição 1,3-dipolar é um tipo de reação que ocorre entre um dipolo, neste caso a azida, e um dipolarófilo, neste caso a nitrila, para formação de um ciclo (Figura 30, página 57) (HIMO *et al.*, 2002). Para ser reativa, a azida deve estar na sua forma de ácido, ácido hidrazóico, que pode ser formado *in situ* pela adição conjunta de cloreto de amônio (HIMO *et al.*, 2002), ou ainda utilizar algum ácido de Lewis com $ZnBr_2$ (DEMKO; SHARPLESS, 2001) e também está descrito na literatura, a azida ligada a compostos de silício (WINTTERBERGER; DONNER, 1993) e estanho (DUNCIA; PIERCE; SANTELLA, 1991). É também uma reação endotérmica na qual, geralmente, se necessita do uso de temperaturas elevadas (HIMO *et al.*, 2002), apesar de ocorrer pequena decomposição do anel tetrazol em temperaturas altas (DUNCIA; PIERCE; SANTELLA; 1991).

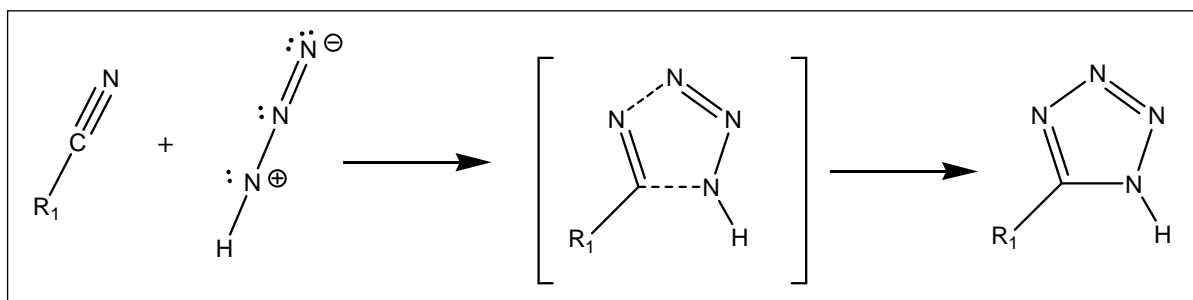


Figura 30 – Proposta para formação do anel tetrazólico via cicloadição 1,3-dipolar (HIMO *et al.*, 2002).

Para a síntese do anel tetrazólico do composto 37 foi utilizada a nitrila 36, azida de sódio, cloreto de amônio, mistura THF/H₂O e temperatura de 55 °C. Nessas condições, apesar do tempo longo de reação, 36 horas, foi possível obter o produto em grau de pureza elevado e com rendimento razoável, 43 %. Em outras condições, com o uso de outros solventes, como DMF, N-metil-2-pirrolidona e temperaturas maiores, como 100 °C, apesar dos tempos de reação serem menores e ser observada a formação do produto por espectrometria de RMN de ¹³C, dificuldades no processo de purificação impediram a obtenção do produto puro, seja por meio de cristalização ou CCS. Uma das dificuldades encontradas era a falta de resolução por cromatografia, provavelmente devido ao caráter ácido do grupo tetrazólico, que conferia manchas arrastadas em CCD. O composto 37 foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 61, página 133), de RMN de ¹H (Figura 62, página 134), de RMN de ¹³C (Figura 63, página 135). No espectro no infravermelho podem ser destacadas entre outras bandas, o desaparecimento da banda de nitrila alifática, na região de 2300 cm⁻¹, a presença de banda em 3551 cm⁻¹ relativa ao estiramento do hidrogênio do anel tetrazol, e as bandas em 1653 cm⁻¹ e 1551 cm⁻¹ relativas aos estiramentos N=N e C=N do anel tetrazólico, respectivamente. No espectro de RMN de ¹H, pode ser destacado o sinal largo entre δ 10,2 e δ 8,2, referente ao hidrogênio ácido ligado ao anel tetrazol. Os demais sinais

compreendidos na região entre δ 6,5 e δ 4,5 são referentes aos hidrogênios da cadeia do carboidrato e os sinais entre δ 2,3 e δ 1,9, com integral igual a 12, são referentes aos hidrogênios metílicos dos grupos acetila. No espectro de RMN de ^{13}C , podem ser destacado o sinal em δ 156,5, referente ao C-1 do carboidrato ou carbono do anel tetrazólico, com deslocamento típico desse. Os demais sinais presentes na região de δ 170 são referentes às carbonilas dos grupos acetila, os compreendidos entre δ 69,8 e δ 61,9 são referentes aos demais carbonos do derivado de carboidrato e os compreendidos na região de δ 20 são referentes aos carbonos metílicos dos grupos acetila.

4.6 Síntese de 5-(D-arabino-1,2,3,4-tetra-hidroxibutil)tetrazol 38

Nessa etapa de síntese foi realizada a desproteção das hidroxilas de 37 (Figura 18, página 36) para posterior fosforilação da hidroxila de C-5. Para promover a remoção dos grupos acetila, foi realizada uma transesterificação utilizando-se uma solução de metóxido de sódio/metanol em banho de gelo (CZIFRAK, *et al.*, 2006).

O composto 38 foi obtido com 93 % de rendimento e foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 65, página 137), de RMN de ^1H (Figura 66, página 138), de RMN de ^{13}C (Figura 67, página 139). No espectro no infravermelho, podem ser destacadas a presença de uma banda em 3300 cm^{-1} , referente ao estiramento N-H do anel tetrazólico, de uma banda larga referente ao estiramento O-H de hidroxila em 3121 cm^{-1} , de uma banda em 1555 cm^{-1} , referente ao estiramento C=N do anel tetrazol. Não foram observadas as bandas de carbonilas de éster na região de 1730 cm^{-1} , confirmando a desproteção das

hidroxilas. No espectro de RMN de ^1H podem ser observados os sinais dos 5 hidrogênios do derivado de carboidrato, dando destaque ao sinal em δ 5,4 referente a H-2, duplete, ao sinal em δ 3,9, duplete duplo, referente a H-3 e ao sinal entre δ 3,8 e 3,6, multiplete, referente aos hidrogênios H-4, H-5 e H-5'. No espectro de ^{13}C pode ser destacado o sinal em δ 160,4, referente ao carbono C-1 do carboidrato ou carbono do anel tetrazol, com deslocamento típico desse. Os demais sinais da cadeia do derivado do carboidrato se encontram na região entre δ 74 e δ 63. Deve ser ressaltado que no espectro não há sinais de carbonos de carbonila, nem sinais de carbonos metílicos, confirmando a desproteção de todas as hidroxilas.

4.7 Síntese de 5-(D-*arabino*-4-dietilfosforiloxi-1,2,3-*tri*-hidroxibutil)tetrazol 29

Nessa etapa de síntese foi introduzido o éster de fosfato na hidroxila de C-5 do derivado 38. Para tal, foram utilizados o derivado de carboidrato 38, cloreto de dietilfosforila e piridina como solvente e base da reação. Durante a reação houve formação de apenas um produto de Rf superior e diferente do material de partida. Entretanto, ao se submeter o bruto da reação, pós-lavagem com clorofórmio, a CCS, obteve-se apenas 7% de rendimento do produto 29 puro. O restante do material foi identificado com material de partida por espectrometria de RMN de ^1H e ^{13}C .

Outras tentativas foram realizadas objetivando-se melhorar o rendimento da reação. Uma tentativa de troca de solvente e base da reação por TEA mostrou-se infrutífera. Outras duas tentativas foram realizadas com objetivo de aumentar a rapidez e rendimento da reação. Para isso, uma tentativa foi efetuada utilizando-se piridina como solvente e aquecimento de 50 $^{\circ}\text{C}$ e outra se utilizando novamente piridina

como solvente e DMAP (1,5 equivalente), como catalisador nucleofílico. Entretanto, obtiveram-se sempre apenas traços do produto com recuperação do material de partida. O resumo das tentativas encontra-se na tabela logo abaixo (Tabela 3).

Tabela 3 – Tentativas e condições de fosforilação do tetrazol 38

Reação	Tetrazol 38	(OEt ₂)POCl	Solvente	Temperatura	Catalisador	Resultado
1	1 eq.	2	piridina	0 °C	-	7 % produto
2	1 eq.	1,5	TEA	TA	-	0 % (tetrazol 38 não foi solúvel)
3	1 eq.	1,5	piridina	50 °C	-	Traços de produto
4	1 eq.	1,5	piridina	0 °C	(1,5 eq) DMAP	Traços de produto

Esses resultados parecem indicar que o tetrazol 38 é pouco reativo para fosforilação com o cloreto de dietilfosforila, por razões desconhecidas.

O composto 29 foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 69, página 141), de RMN de ¹H (Figura 70, página 142) e de RMN de ¹³C (Figura 71, página 143). No seu espectro no infravermelho, pode ser destacada a banda forte em 1023 cm⁻¹, referente ao estiramento P-O-C de ésteres de fosfato alifático. Podem ser observadas também as bandas em 3259 cm⁻¹, referente ao estiramento O-H das hidroxilas e em 1660 e 1570 cm⁻¹, referentes aos estiramentos de N=N e C=N, respectivamente, do anel tetrazólico. No espectro de RMN de ¹H, podem ser destacados os sinais entre δ 4,2 e 4,1, multipletos, referente aos quatro hidrogênios metilênicos do grupo dietilfosforila que aparecem sobrepostos ao sinal de um hidrogênio do carboidrato e o multipletos entre δ 1,35 e 1,31, referente aos hidrogênios metílicos do grupo dietilfosforila. No espectro de RMN de ¹³C podem ser destacados os sinais em δ 65,6 e δ 16,5, ambos dupletos, referentes aos carbonos

metilênicos e metílicos do grupo dietilfosforila, respectivamente, o duplete em δ 70,9, atribuído, conforme análise do sub-espectro de DEPT 135, a C-5 e o duplete em δ 70,8, atribuído a C-4. Esses sinais aparecem na forma de duplete devido ao acoplamento C-P em distâncias em 2J e 3J , confirmando então a fosforilação regioseletiva da hidroxila de C-5. O sinal do carbono C-1 não pode ser observado devido ao seu maior tempo de relaxação, assim sendo, o tempo do experimento para quantidade de amostra não foi suficiente para que esse pudesse ser visto.

4.8 Síntese de 2-(D-*arabino*-1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol 39

Essa etapa tinha como objetivo a transformação do anel tetrazólico de 21 em 1,3,4-oxadiazol, composto que após a desproteção das hidroxilas da cadeia do carboidrato seria fosforilado em C-5 (Figura 18, página 36).

Há várias técnicas na literatura que descrevem a síntese de 1,3,4-oxadiazóis, como a condensação com conseqüente eliminação de água de mono- e di-hidrazidas, acilsemicarbazidas e ciclização oxidativa de hidrazonas (EL ASHRY *et al.*, 1980). Entretanto, um método muito conveniente é a formação do anel 1,3,4-oxadiazol a partir do anel tetrazólico (SELDES *et al.*, 1976). Essa reação ocorre entre 5-aril(alquil)-tetrazóis e um agente acilante, como cloretos de ácido ou anidridos alifáticos ou aromáticos (Figura 31, página 62).

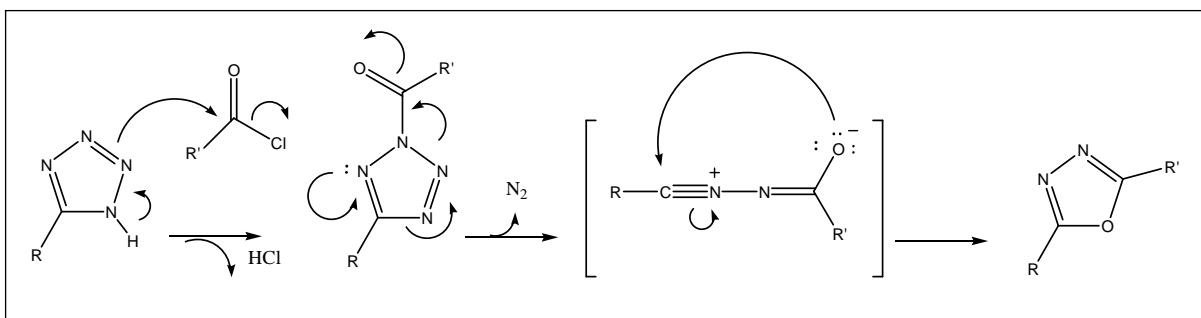


Figura 31 – Proposta de mecanismo de formação de anéis 1,3,4-oxadiazol a partir de tetrazóis (SAUER, J.; HUISGEN, R.; STURM, H. J, 1960).

Como se pode observar na figura 31, o tetrazol é N-acilado e numa etapa posterior há saída de $N_{2(g)}$ e formação de um intermediário hipotético N-acetilnitrilimina, o qual é imediatamente convertido no 1,3,4-oxadiazol (SAUER, J.; HUISGEN, R.; STURM, H., J., 1960).

Na síntese do derivado 39 foram utilizados o tetrazol 37 e anidrido acético a 120°C , obtendo-se o derivado 39 com 83% de rendimento. Esse foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 73, página 145), de RMN de ^1H (Figura 74, página 146), de RMN de ^{13}C (Figura 75, página 147). No espectro no infravermelho, podem ser destacadas as bandas em 1590 e 1570 cm^{-1} , referentes às bandas $\text{C}=\text{N}$ do anel 1,3,4-oxadiazólico. No espectro de RMN de ^1H observam-se os sinais entre $\delta 6,2$ e $\delta 4,2$ relativos aos cinco hidrogênios do derivado de carboidrato, três simpletos entre $\delta 2,18$ e $\delta 2,06$, referentes aos hidrogênios metílicos dos grupo acetila e destaca-se o sinal em $\delta 2,5$, simpleto, referente ao metila ligado ao anel 1,3,4-oxadiazólico. No espectro de RMN de ^{13}C podem ser observados quatro sinais entre $\delta 170,5$ e $\delta 169,4$, referentes às carbonilas dos grupos acetila, na região entre $\delta 68,8$ e $\delta 61,5$, os sinais dos carbonos C-2,C-3,C-4 e C-5, entre $\delta 20,8$ e $\delta 20,4$, os sinais relativos aos carbonos metílicos dos grupos acetila e podem ser destacados os dois sinais em $\delta 164,6$ e $\delta 161,8$, referentes aos carbonos do anel 1,3,4-

oxadiazólico e em δ 10,9, um sinal referente ao carbono metílico ligado ao anel 1,3,4-oxadiazólico.

4.9 Tentativas de síntese de 2-(D-*arabino*-1,2,3,4-hidroxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol 40

Essa etapa tinha como objetivo promover a desproteção das hidroxilas do composto 39 a fim de numa etapa posterior submeter o composto desprotegido 40 às condições de fosforilação regiosseletiva em C-5 (Figura 18, página 36).

A primeira tentativa de remoção dos grupos protetores de 39 foi em meio alcalino com metóxido de sódio em metanol, em banho de gelo. Foi obtido um óleo que após ser cristalizado, forneceu um sólido amarelado com rendimento de 28 %. Esse foi caracterizado pela análise de seus espectros no infravermelho (Figura 77, página 149), de RMN de ^1H (Figura 78, página 150), de RMN de ^{13}C (Figura 79, página 151) como um derivado de acetil hidrazida em C-1, composto 44. A formação de 44 foi interpretada como sendo o resultado da remoção dos grupos protetores acetila e da abertura do anel 1,3,4-oxadiazólico. Especulamos que essa abertura pode ter ocorrido por abertura de 1,4-iminolactona supostamente formada como descrito por El Khadem; Sharam; Nassr (1970) (Figura 32, página 64).

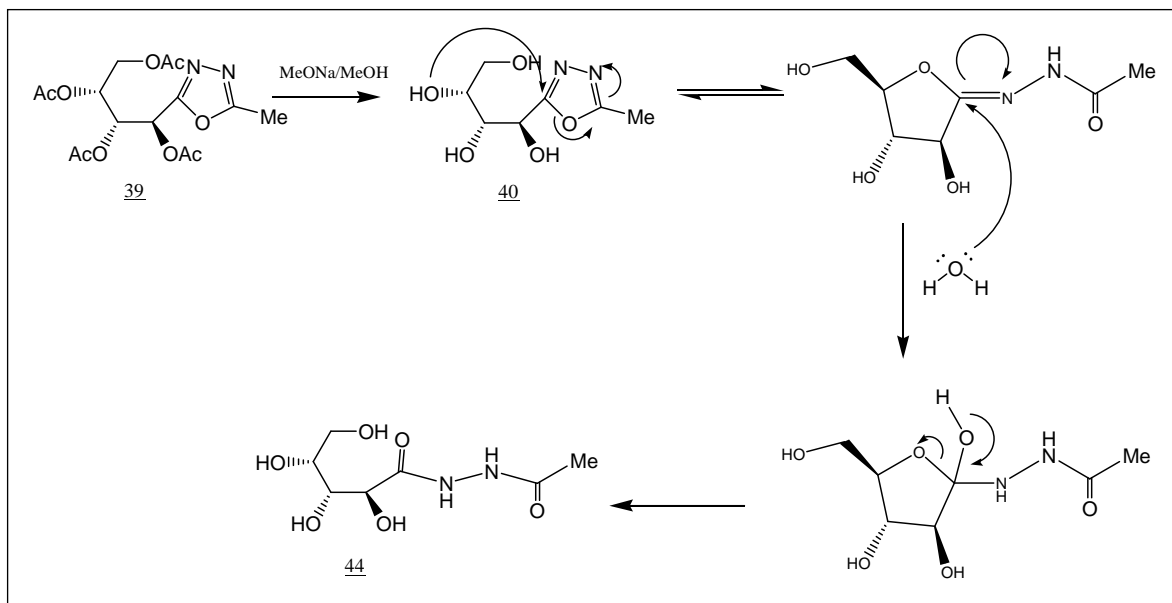


Figura 32 – Proposta de formação da hidrazida **44**.

No seu espectro no infravermelho não havia as bandas de C=N do anel 1,3,4-oxadiazólico e nem as bandas de C=O de éster, indicando que os grupos acetila foram removidos e houve também abertura do heterocíclo. Podem ser destacadas as bandas intensas em 1691 e 1651 cm^{-1} , típicas de estiramento C=O de amidas, ou hidrazidas, nesse caso. No espectro de RMN de ^1H , podem ser destacados os sinais em δ 9,9 e δ 9,4, simpletos largos, relativos aos hidrogênios ligados ao nitrogênio da hidrazida, os quatro sinais entre δ 5,3 e δ 4,3, referentes às quatro hidroxilas do carboidrato.

Com base nesses dados concluiu-se que o produto se encontrava na forma de cadeia aberta. O simpleto em δ 1,9 com integral igual a três, também indica que o anel 1,3,4-oxadiazólico foi aberto, visto que os hidrogênios metílicos ligado ao anel oxadiazólico tem deslocamento na faixa de δ 2,5. Em δ 4,3 está presente o sinal de H-2, duplete, entre δ 3,7 e δ 3,6, se encontra um multiplete, referente a H-3 e H-5 e entre δ 3,5 e δ 3,4, há outro multiplete referente a H-4 e H-5'. Os sinais dos

hidrogênios do carboidrato foram atribuídos com auxílio do mapa de contornos HSQC (Figura 81, página 153). No espectro de RMN de ^{13}C podem ser destacados os dois sinais em δ 171,1 e δ 167,5, relativos aos carbonos carbonílicos, que possuem deslocamentos não compatíveis com os do anel 1,3,4-oxadiazólico e compatíveis com carbonos de carbonilas de hidrazidas. O sinal em δ 20,4 foi atribuído ao carbono metílico da acetil hidrazida e também não possui deslocamento compatível com carbono metílico ligado ao anel 1,3,4-oxadiazólico, visto que esse se apresenta mais protegido, na região de δ 10. Esse conjunto de dados permitiu atribuir ao produto formado a estrutura da acetil-hidrazida 44.

Há relatos na literatura de um derivado de carboidrato de configuração *galacto*, com cadeia aberta e funcionalizado com anel 1,3,4-oxadiazólico em C-1, que, após sofrer desproteção das hidroxilas, com amônia/metanol, formava um composto diferente do esperado (EL KHADEM; SHARAM; NASSR, 1970 e 1972; EL ASHRY *et al.*, 1980). A esse composto foi atribuída a estrutura de 1,4-iminolactona (Figura 33).

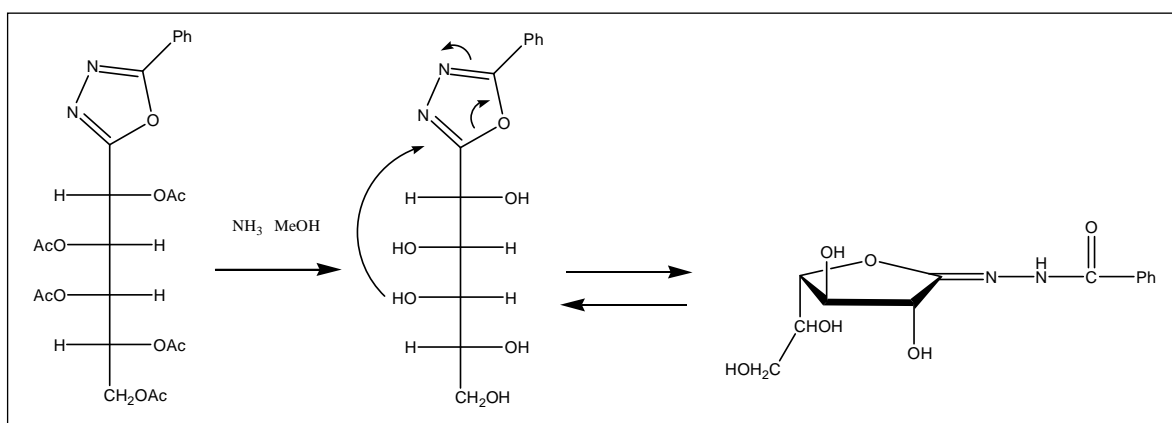


Figura 33 – Proposta de formação de derivado 1,4-iminolactona a partir de derivado 1,3,4-oxadiazol da D-galactose (EL KHADEM; SHARAM; NASSR. 1970)

Uma nova tentativa de desproteção dos grupos acetila utilizando metóxido de sódio em metanol foi realizada, entretanto, dessa vez a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando-se banho de acetato de butila e nitrogênio líquido. Após o término da reação e evaporação do solvente em cápsula, uma amostra do resíduo foi submetida à espectrometria no infravermelho. Na análise de seu espectro (Figura 34) não se observam bandas na região de 1730 cm^{-1} , referentes à carbonila de ésteres, demonstrando que o carboidrato teve as hidroxilas desacetiladas. Podem ser destacadas as bandas de intensidade média em 1596 e 1597 cm^{-1} , compatíveis com as bandas presentes no anel 1,3,4-oxadiazólico e a banda em 1647 cm^{-1} , compatível com banda de carbonila de amida ou hidrazida, presente no composto anteriormente descrito.

Entretanto, ao se submeter uma fração do bruto da reação à espectrometria de RMN de ^1H e ^{13}C , foram observados os mesmos sinais do composto 44, hidrazida. Novamente, ao se submeter o restante do resíduo conservado em cápsula no dessecador, à espectrometria na região do infravermelho, foram observadas as mesmas bandas do composto 44, hidrazida.

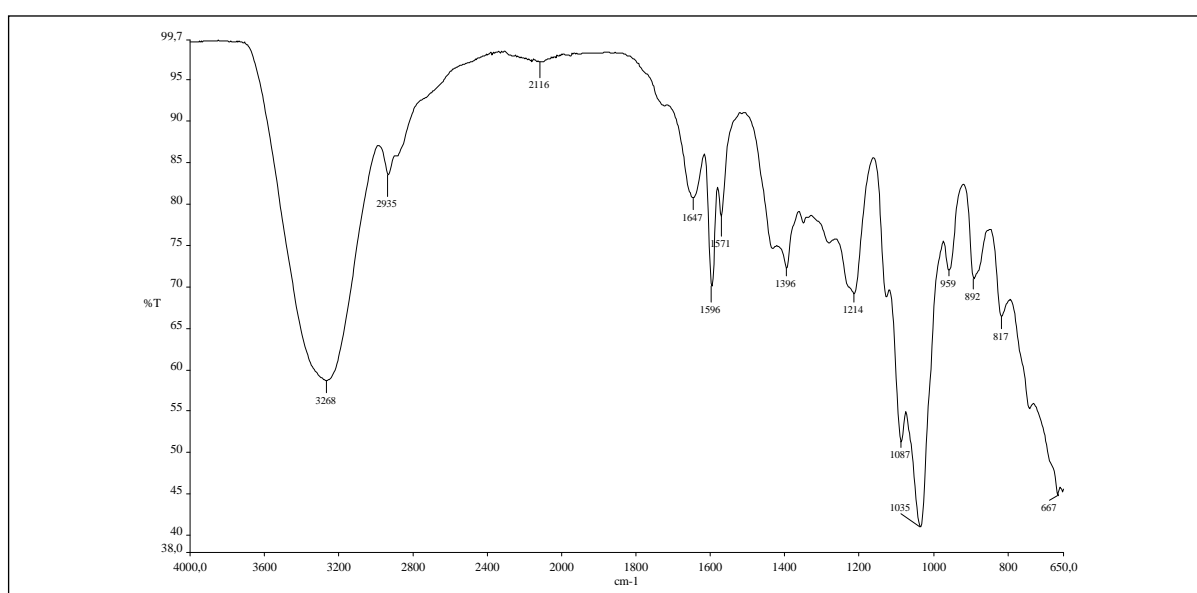


Figura 34 - Espectro no infravermelho após reação de 39 com metóxido de sódio/metanol a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

Com base nesses dados, especulamos que houve formação do derivado de carboidrato 40, 2-(D-arabino-1,2,3,4-hidroxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol. Entretanto, durante o tempo em que esse foi guardado em dessecador para ser submetido a análise por espectrometria de RMN, houve abertura do anel 1,3,4-oxadiazólico por entrada de água, mesmo em condições de estocagem do material em baixa umidade, provavelmente catalisada pelas hidroxilas do derivado de carboidrato.

Outra tentativa de desproteção em meio alcalino foi realizada com THF e solução de amônia. Ao término da reação, foi obtido um óleo, que foi submetido a CCS. Entretanto, foi obtida uma mistura complexa de produtos, na sua maioria, compostos que apresentaram espectros no infravermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C complexos que se pareciam com os do composto 44, acetil hidrazida. Foi observado em uma das frações da coluna cromatográfica, a qual continha quantidade pequena de uma mistura de compostos, sinais do grupo metila ligado ao anel heterocíclico por espectrometria de RMN de ^1H (Figura 35) e DEPT135 (Figura 36), compatíveis com os do derivado 1,3,4-oxadiazólico. Entretanto, como é possível a formação do anel 1,2,4-triazol a partir do 1,3,4-oxadiazol em meio contendo amônia como nucleófilo (HETZHEIM, A.; MOCKEL, K, 1970), pode-se então suspeitar que esses sinais pertençam a um possível derivado 1,2,4-triazol formado (SAVINI, L. *et al.*, 2001 e DEMIRBAS; UGURLUOGLU; DEMIRBAS, 2002) e não ao derivado 1,3,4-oxadiazol.

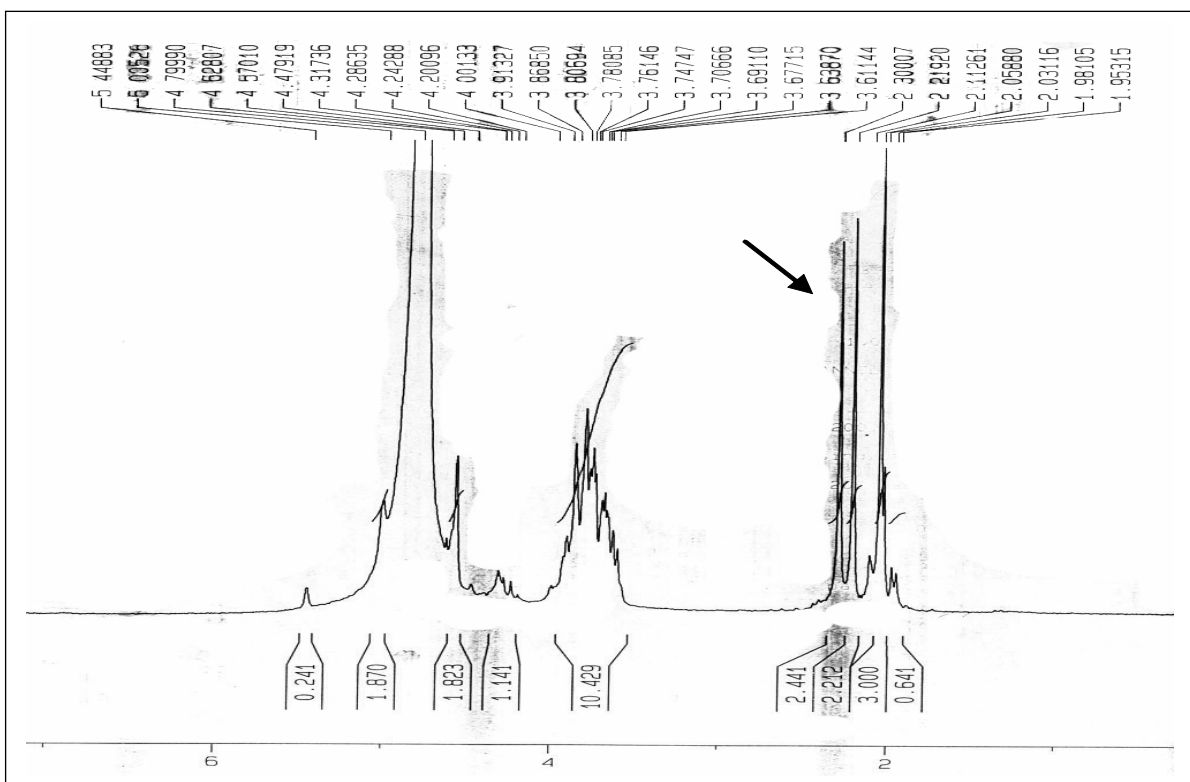


Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, D_2O) de fração reunida de CCS da reação de desproteção de hidroxilas com $\text{THF}/\text{NH}_4\text{OH}$.

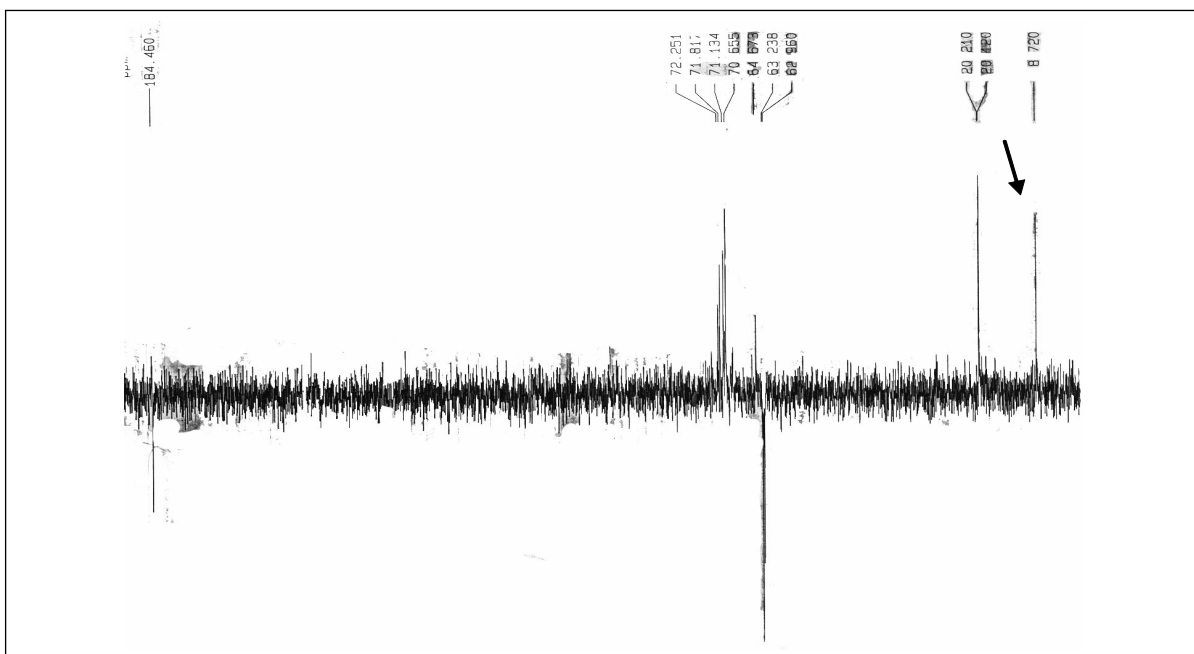


Figura 36 – Sub-espectro de DEPT135 (200 MHz, D_2O) de fração reunida de CCS da reação de desproteção de hidroxilas com $\text{THF}/\text{NH}_4\text{OH}$.

Foram realizadas também tentativas de desproteção dos grupos acetila em meio ácido. Uma primeira tentativa foi utilizando cloreto de acetila em metanol como

doador *in situ* de HCl. No processo de isolamento obteve-se um sólido branco e um óleo. O sólido foi identificado como cloridrato de hidrazina, por espectrometria no infravermelho e por formar um sólido branco ao se adicionar solução de nitrato de prata a uma solução aquosa do referido sal. O óleo obtido depois de purificação em CCS foi caracterizado como uma 1,4-lactona por espectrometria no infravermelho, de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C . Uma abordagem análoga foi realizada se utilizando catálise ácida em cuba com vapor de HCl. Essa tentativa visava uma condição mais branda de desproteção das hidroxilas. Entretanto, resultado semelhante à da desproteção com cloreto de acetila foi obtido por essa metodologia, apesar do tempo de reação ser maior. Após o término da reação, 22 horas, a mistura reagente foi submetida aos mesmos procedimentos descritos na reação acima e após purificação por CCS, foi obtido um do produto que foi também caracterizado como uma 1,4-lactona por espectrometria no infravermelho (Figura 84, página 156), de RMN de ^1H (Figura 85, página 157), de RMN de ^{13}C (Figura 86, página 158). No espectro no infravermelho, pode-se destacar, entre outras bandas, a presença de uma banda intensa em 1768 cm^{-1} , referente a estiramento C=O de lactona, com deslocamento superior aos de banda de éster, com valor próximo ao de γ -lactonas. Não foram observadas as bandas típicas do anel 1,3,4-oxadiazólico, nem as bandas na região de 1730 cm^{-1} , típicas de carbonila de éster, confirmando a remoção dos grupos protetores das hidroxilas. No espectro de RMN de ^1H podem ser observados os sinais entre $\delta 4,4$ e $\delta 3,3$ referentes aos hidrogênios do carboidrato. Não há sinal de hidrogênios metílicos do anel 1,3,4-oxadiazólico na região de $\delta 2,5$ ppm. No espectro de RMN de ^{13}C pode ser destacado o sinal em $\delta 176,5$, referente ao C-1, ou carbonila da lactona. Os demais sinais pertencem aos demais carbonos do carboidrato. Não há também sinal de carbono metílico na região de 10 ppm,

indicando a perda do anel 1,3,4-oxadiazólico. A partir da análise conjunta desses dados fornecidos por todos os espectros, além do valor obtido do poder rotatório específico comparado com o da literatura, pode-se concluir que houve abertura e ruptura do anel 1,3,4-oxadiazólico e formação da γ -lactona 45. Especulamos que as hidroxilas do carboidrato podem também catalisar o rompimento e degradação do anel 1,3,4-oxadiazólico, seja ela com catálise ácida para desproteção de éster e formando-se a lactona (Figura 37), como em catálise em meio alcalino para desproteção dos ésteres e formação da hidrazida, com entrada de umidade do ar pós reação. Concluímos isso devido a relatos na literatura de desproteção de carbamatos em meio ácido, mantendo-se o anel 1,3,4-oxadiazólico da estrutura do composto intacto (OHMOTO *et al.*, 2001).

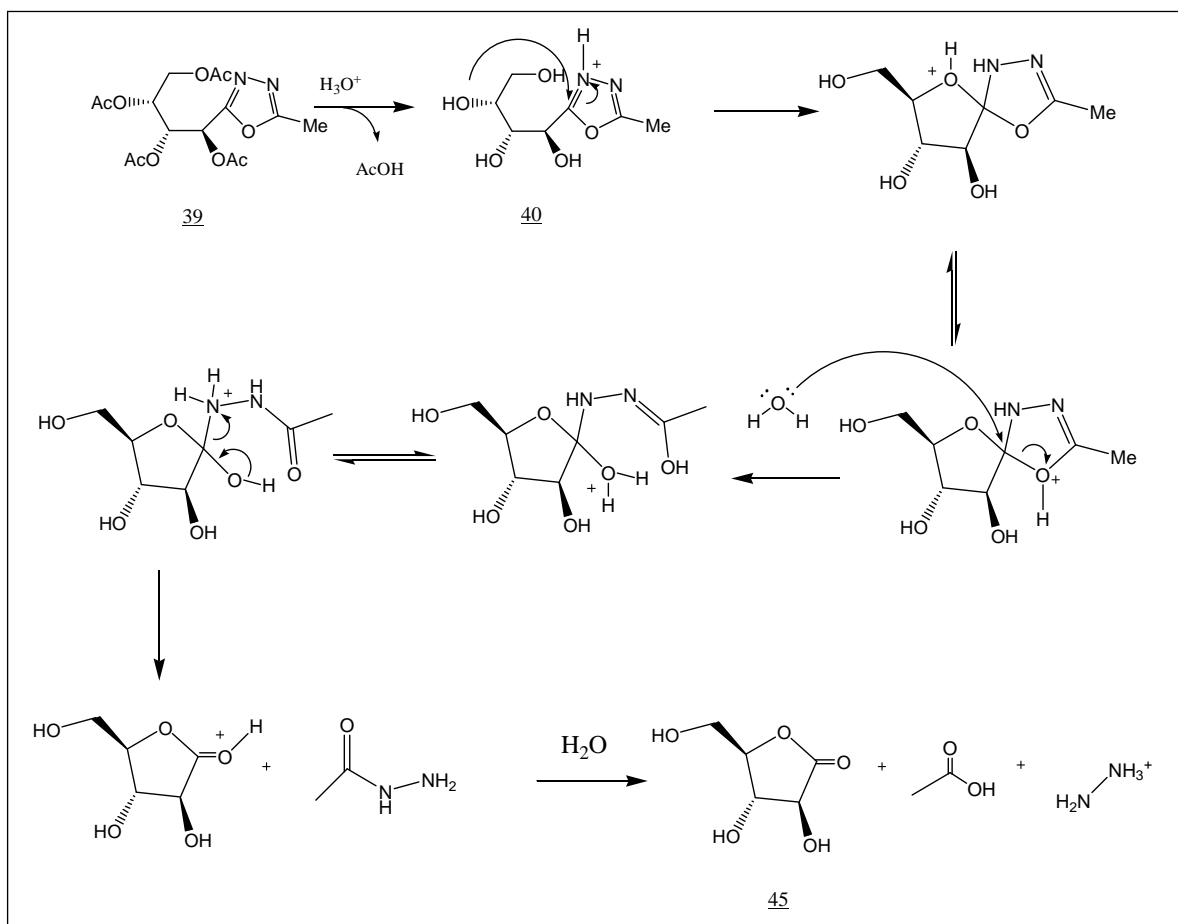


Figura 37 – Proposta de formação da γ -lactona 45 a partir de carboidrato contendo grupo 1,3,4-oxadiazol em C-1 em meio ácido.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MÉTODOS GERAIS

Os solventes e reagentes tratados foram obtidos a partir de equivalentes comerciais de acordo com procedimentos específicos. O metanol foi tratado com magnésio ativado pelo iodo sob refluxo e, então, foi destilado e acondicionado em frasco. A piridina foi deixada em contato com hidróxido de potássio por 24 horas, seguido de destilação utilizando coluna de Vigreux e estocagem em frasco contendo hidróxido de potássio. O diclorometano foi tratado com ácido sulfúrico concentrado por três vezes e separado em funil de separação, depois lavado com solução aquosa de bicarbonato de sódio saturada até pH 8 e lavado com água destilada até pH 5. O solvente foi deixado em contato com cloreto de cálcio por 24 horas, seguido de destilação utilizando coluna de Vigreux e estocagem em frasco contendo cloreto de cálcio.

Para acompanhar a evolução das reações empregou-se cromatografia em camada delgada obtida com sílica-gel 60 G MERCK. Os reveladores utilizados foram solução etanólica de ácido sulfúrico 15 % v/v e iodo sublimado.

Cromatografia em coluna foi empregada para purificação dos produtos obtidos, sendo utilizada sílica-gel 60, 0,063 a 0,200 mm da MERCK.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 foram obtidos em espectrômetro BRUKER *Avance* DPX 200 e BRUKER *Avance* DRX 400,

utilizando-se como padrão interno o tetrametilsilano. As constantes de acoplamento foram expressas em Hz.

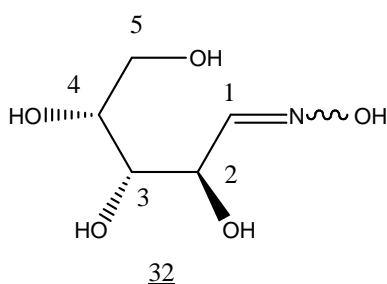
Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrômetro Spectrum One – Perkin Elmer do Laboratório de Química Farmacêutica da UFMG.

As faixas de fusão foram medidas em aparelho Microquímica MQAPF 301 do Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG e não foram corrigidos.

5.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS

5.2.1 Síntese de *E,Z*-D-arabinose oxima 32

Em um balão contendo 18 mL de metanol anidro acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 1,32 g (57 mmol) de sódio metálico sob agitação magnética. A mistura foi mantida sob controle por resfriamento do balão em banho de gelo. À solução resultante de metóxido de sódio foi adicionada uma solução de 4,031 g (58 mmol) de cloridrato de hidroxilamina em 10 mL de água. Durante a adição, manteve-se a mistura sob agitação magnética. Após 20 minutos, a mistura foi resfriada a 0 °C em banho de gelo e filtrada a vácuo para remover o cloreto de sódio formado. O sólido foi lavado com 18 mL de metanol anidro e o filtrado aquecido a 65 °C. Foi adicionada ao filtrado uma solução de 5 g de D-arabinose em 10 mL de uma solução 25% metanol/água aquecida. A mistura reagente foi mantida a 65 °C sob agitação magnética e a evolução da reação acompanhada por CCD, utilizando-se isopropanol/acetato de etila/água 7:2:1 como eluente. Após 2 horas da adição do material de partida, a mistura reagente foi concentrada em evaporador rotatório. O sólido obtido foi recristalizado em etanol. Foram obtidos 2,84 g de 21, com rendimento de 52 %.



FM: C₅H₁₁O₅N

MM: 165 g/mol

FF: 135,2-136,2 °C

FF: 136-137 °C (HOCKETT, 1939)

[α]_D - 84 a - 15 (c 2,05, H₂O)

[α]_D - 83 a - 13,5 (c 2,05, H₂O) (HOCKETT, 1939)

RMN de ¹H (D₂O, 200 MHz): tabela 4 (p.74)

RMN de ¹³C (D₂O, 50 MHz): tabela 5 (p.74)

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): tabela 6 (p.74)

Tabela 4 - Dados do espectro de RMN de ^1H de 32 (pagina 111, figura 39)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-1	7,6	d	5,92(J_{1-2})	1
H-1'	6,9	d	5,62($J_{1'-2'}$)	0,75
H-2'	5,1	dd	5,62($J_{2'-1'}$) 1,98($J_{2'-3'}$)	0,89
H-2	4,5	dd	5,92(J_{2-1}) 2,69(J_{2-3})	1,1
H-3,H-3',H-4,H-4' H-5a,H-5a',H-5b,H-5b'	3,9 – 3,6	m	-	8

Tabela 5 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 32 (pagina 112, figura 40)

δ/ppm	Atribuição
153,4	C-1(Z)
152,5	C-1(E)
72,2; 71,4; 70,7	C-3(E), C-3(Z), C-4(E), C-4(Z)*
68,5	C-2(E)
64,5	C-2(Z)
62,9; 62,7	C-5(E); C-5(Z)*

* δ e atribuições intercambiáveis na mesma linha

Tabela 6 – Dados do espectro de IV de 32 (pagina 110, figura 38)

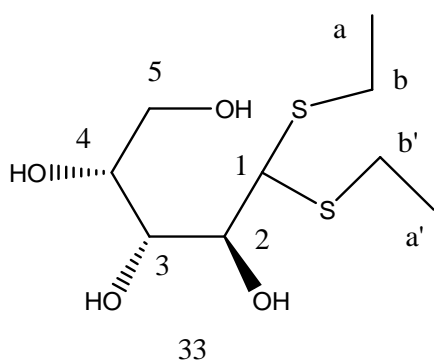
$\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	Atribuição
3379	Estiramento OH álcool
3235	Estiramento OH oxima
1670 e 1638	Estiramento C=N
2882	Estiramento CH alifático
1440	Estiramento C-H de CH_2
1100 e 1033	Estiramento C-O álcool
701	Deformação C-OH fora do plano

5.2.2 Tentativa de síntese de 5-O-diestilfosforil-*E,Z*-D-arabinose oxima 28

Em um balão contendo 3 mL de piridina anidra acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,1 g (0,6 mmol) de 32, 3 mg de AgCN e 0,14 mL (0,9 mmol) de cloreto de dietilfosforila sob agitação magnética em banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se utilizando diclorometano/metanol 8:2 como eluente. Após 17 horas de reação, foi observada a presença de produtos com valores de R_fs diferentes do material de partida, bem como o não consumo total desse. A mistura reagente foi transferida para cápsula de porcelana e o solvente foi evaporado em ar quente. O óleo resultante foi submetido à CCS (sílica flash), utilizando-se diclorometano/metanol 92:8 como eluente. Uma das frações reunidas, 38 mg, foi submetida novamente a CCS (sílica flash) se utilizando acetato de etila/metanol 96:4 Entretanto não se obteve o produto desejado, mas apenas uma mistura (16,8 mg) do que parecia ser a oxima fosforilada em C-5 com um excesso do reagente.

5.2.3 Síntese de D-arabinose dietilditioacetal 33

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 5 g (33 mmol) de D-arabinose, 50 mL de ácido clorídrico 6 mol/L e 4,9 mL (66 mmol) de etanotiol, gota a gota, por vinte minutos, sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se utilizando acetato de etila/metanol 8:2 como eluente. Após 3 horas de reação, a mistura reagente foi resfriada em banho de gelo e filtrada a vácuo. O sólido foi lavado com 50 mL de água destilada gelada e foram obtidos 6,07 g (24 mmol) do produto 33, com rendimento de 72%.



FM: C₉H₂₀O₄S₂
MM: 256,2 g/mol
FF: 123,8-125,7 °C
FF: 126 – 128 °C (HOEFFLER et al, 2002)
RMN de ¹H (CD₃OD, 400 MHz): tabela 7 (p.77)
RMN de ¹³C (CD₃OD, 50 MHz): tabela 8 (p.77)
IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 9 (p.77)

Tabela 7 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 33 (pagina 114, figura 42)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-1	4,1	d	9,12 (J_{1-2})	1
H-3	4,0	dd	8,48 (J_{3-4}) 1,33 (J_{3-2})	1
H-2	3,9	dd	9,12 (J_{2-1}) 1,33 (J_{2-3})	1
H-5	3,8	dd	11,04 ($J_{5-5'}$) 3,02 (J_{5-4})	1
H-4	3,7	ddd	8,48 (J_{4-3}) 5,85 ($J_{4-5'}$) 3,02 (J_{4-5})	1
H-5'	3,6	dd	11,04 ($J_{5'-5}$) 5,85 ($J_{5'-4}$)	1
H-b	2,57-2,64	m	-	4
H-a	1,26	t	7,44 (J_{a-b})	3
H-a'	1,25	t	7,44 ($J_{a'-b'}$)	3

Tabela 8 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 33 (página 115, figura 43)

δ/ppm	Atribuição
73,3	C-4
72,9	C-2
72,1	C-3
65,3	C-5
56,3	C-1
25,5	Cb
15	Ca
14,9	Ca'

Tabela 9 – Dados do espectro de IV de 33 (página 113, figura 41)

$\bar{\nu} \text{ cm}^{-1}$	Atribuição
3245	Estiramento OH álcool
2943, 2911 e 2869	Estiramento CH alifático
1081 e 1024	Estiramento C-O álcool
704	Deformação C-OH fora do plano

5.2.4 Síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetil 34

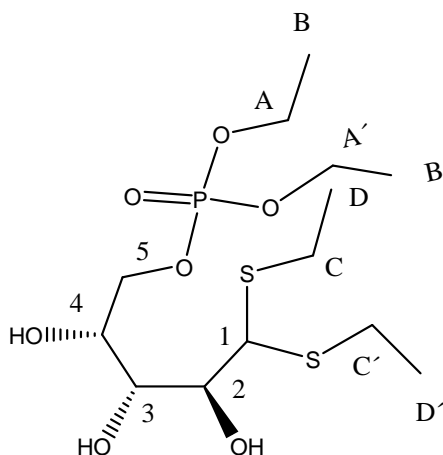
Método A

Em um balão contendo 10 mL de diclorometano anidro acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,2 g (0,78 mmol) de 33, 3 mg (0,002 mmol) de DMAP, 1 mL de trietilamina e 0,16 mL (1,2 mmol) de cloreto de dietilfosforila sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD utilizando diclorometano/metanol 9,5:0,5 como eluente. Após 6 horas de reação, foi observada a presença de produtos com valores de R_f diferentes do material de partida, bem como o não consumo total desse. A mistura reagente foi acondicionada em geladeira por 14 horas, e então, teve o solvente evaporado em ar comprimido. O óleo resultante foi submetido a CCS, utilizando-se diclorometano/metanol 98:2 como eluente. Foi obtido 0,103 g (0,26 mmol) do produto como um óleo, com rendimento de 34 %.

Método B

Em um balão contendo 5 mL de piridina anidra acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,1 g (0,4 mmol) de 33, 71 mg (0,58 mmol) de DMAP e 0,09 mL (0,58 mmol) de cloreto de dietilfosforila sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD utilizando diclorometano/metanol 9,5:0,5 como eluente. Após 4 horas de reação, foi observada a presença de produtos com valores de R_f diferentes do material de partida, bem como o não consumo total desse. A mistura reagente foi acondicionada em geladeira por 22 horas e então teve o

solvente evaporado em ar comprimido. O óleo resultante foi submetido a CCS (sílica flash), utilizando-se diclorometano/metanol 98:2 como eluente. Foi obtido 0,86 g (0,22 mmol) do produto como um sólido amorfo esverdeado, com rendimento de 56 %.



FM: $C_{13}H_{29}O_7PS_2$
MM: 392 g/mol
 $[\alpha]_D -52$ (c 1, $CHCl_3$)
RMN de 1H (CD_3OD , 200 MHz): tabela 10 (p.80)
RMN de ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz): tabela 11 (p.80)
IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}) tabela 12 (p.80)

Tabela 10 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 34 (pagina 121, figura 49)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H- 5', $\text{CH}_2\text{-O-P}$	4,4 – 3,9	m	-	10
OH-2, OH-3, OH-4	3,8	s	-	3
$\text{CH}_2\text{-S}$	2,8 – 2,6	m	-	4
$\text{CH}_3\text{-C-S}$, $\text{CH}_3\text{-C-O-P}$	1,4 – 1,2	m	-	12

Tabela 11 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 34 (página 122, figura 50)

δ/ppm	Atribuição	Multiplicidade	J (Hz)
71,3	C-4	d	4,9 ($J_{\text{C-4-P}}$)
70	C-3 ou C-2	s	-
69,8	C-5	d	6 ($J_{\text{C-5-P}}$)
69,8	C-3 ou C-2	s	-
64,5	$\text{CH}_2\text{-O-P}$	d	5,9 ($J_{\text{CH}_2\text{-P}}$)
55,6	C-1	s	-
16,2	$\text{CH}_3\text{-C-O-P}$	d	6,6 ($J_{\text{CH}_3\text{-P}}$)
14,6 e 14,5	$\text{CH}_3\text{-C-S}$	s	-

Tabela 12 – Dados do espectro de IV de 34 (pagina 120, figura 48)

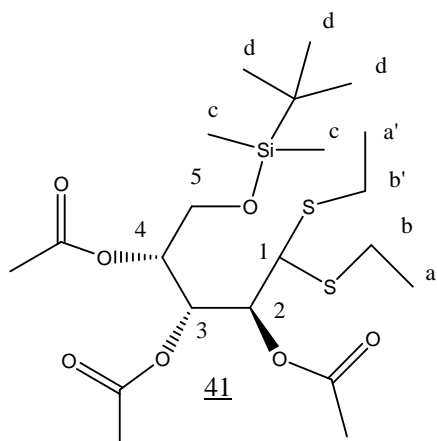
$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Atribuição
3387	Estiramento O-H
2973, 2929, 2871	Estiramento C-H
1445	Deformação C-H de CH_3
1016	Estiramento P-O-C

5.2.5 Tentativa de síntese de 5-O-dietilfosforil-D-arabinose 35

Em um balão acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,1 g (0,25 mmol) de 34, 5 mL de éter dietílico e 30 μ L de Br₂, gota a gota, em banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se utilizando diclorometano/metanol 95:5 como eluente. Obteve-se 71 mg de um resíduo oleoso.

5.2.6 Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-terbutildimetilsilil-D-arabinose dietilditioacetal 41

Em um balão acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,2 g (0,78 mmol) de 33, 3 (0,002 mmol) mg de DMAP, 1,1 mL de trietilamina, 0,182 g (1,2 mmol) de TBDMSCI e 10 mL de diclorometano. Com 27 horas de reação foram adicionados mais 0,13 g (0,9 mmol) de TBDMSCI e com 30 horas mais 0,13 g (0,09 mmol) desse reagente. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se utilizando acetato de etila como eluente. Com 48 horas de reação foi observado o consumo total do material de partida. O solvente foi eliminado em evaporador rotatório e foi obtido um óleo amarelado. Foram adicionados ao bruto da reação 4 mL de piridina anidra e 1,1 mL (12 mmol) de anidrido acético em banho de gelo e o balão foi acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio. A mistura de reagentes foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo por 2 horas e 30 minutos. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se utilizando hexano/acetato de etila 8:2 como eluente. Ao término da reação, o meio reagente foi acidificado com HCl 1 mol/L até pH 1 em banho de gelo. A mistura foi transferida para funil de separação e foram feitas 4 extrações (25 mL cada) com acetato de etila. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio até a fase aquosa apresentar pH 9. A fase orgânica foi lavada com água destilada até a fase aquosa apresentar pH 5. Foi acrescentada pequena quantidade de MgSO₄ na fase orgânica e essa foi mantida em repouso por 10 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada para um balão e o solvente do filtrado eliminado em evaporador rotatório. Foram obtidos 0,32 g (0,64 mmol) do produto 41 como óleo, com rendimento de 83 %.



FM: C₂₁H₄₀O₇S₂Si

MM: 496,9 g/mol

RMN de ¹H: (CDCl₃, 200 MHz): tabela 13 (p. 83)

RMN de ¹³C: (CDCl₃, 50 MHz): tabela 14 (p. 83)

Tabela 13 – Dados do espectro de RMN de ¹H de 41 (pagina 124, figura 52)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-3	5,7	dd	7,03 (<i>J</i> ₃₋₄) 2,5 (<i>J</i> ₃₋₂)	1
H-2	5,3	dd	8,18 (<i>J</i> ₂₋₁) 2,5 (<i>J</i> ₂₋₃)	1
H-4	5,1-5,0	m	-	1
H-1	3,9	d	8,18 (<i>J</i> ₁₋₂)	1
H-5	3,7	dd	11,02 (<i>J</i> _{5-5'}) 4,36 (<i>J</i> ₅₋₄)	1
H-5'	3,6	dd	11,02 (<i>J</i> _{5'-5}) 6,04 (<i>J</i> _{5'-4})	1
H-b	2,7-2,6	m	-	4
CH ₃ -acetila	2,1-2,0	m	-	9
H-a	1,2139	t	7,4 (<i>J</i> _{Ha-Hb})	3
H-a'	1,2090	t	6,7 (<i>J</i> _{Ha'-Hb'})	3
H-d	0,8	s	-	9
H-c	0,1	s	-	6

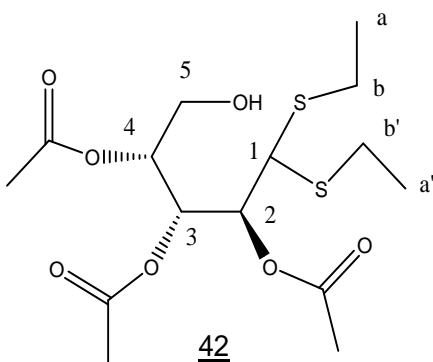
Tabela 14 – Dados do espectro de RMN de ¹³C de 41 (página 125, figura 53)

δ/ppm	Atribuição
170,2;170,0 e 169,7	C=O
71,6; 71,2 e 70,2	C-2,C-3 e C-4*
61,9	C-5
52,2	C-1
25,9	CH ₃ acetila
25,0 e 24,9	C-b
21,1 e 20,9	C-d
18,4	C terciário
14,4 e 14,2	C-a
-5,4	CH ₃ -Si

* δ e atribuições intercambiáveis

5.2.7 Síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-D-arabinose dietilditioacetal 42

Em um balão de 50 mL contendo 0,26 g (0,53 mmol) de 41, foram adicionados 0,28 g (1 mmol) de fluoreto de tetrabutilamônio e 3 mL de THF sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD se empregando hexano/acetato de etila 9:1 como eluente. Após 1 hora da adição dos reagentes foi observado o consumo do material de partida. A mistura reagente foi transferida para funil de separação e foram adicionados 15 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 25 mL) e a ela foi adicionada pequena quantidade de MgSO₄. A mistura foi mantida em repouso por 10 minutos e em seguida filtrada para balão. O solvente do filtrado foi eliminado em evaporador rotatório, sendo obtido 0,202 g (0,53 mmol) do produto 34 parcialmente puro como um óleo. O produto foi usado na etapa seguinte sem maior purificação.



FM: C₁₅H₂₆O₇S₂

MM: 382 g/mol

RMN de ¹H: (CDCl₃, 200 MHz): tabela 15 (p. 85)

DEPT: (CDCl₃, 50 MHz): tabela 16 (p. 85)

Tabela 15 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 42 (página 127, figura 55)

Atribuição	δ /ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2 ou H-3	5,1	sl	-	1
H-2 ou H-3	4,9	sl	-	1
H-5,H-5' e H-4	4,5-4,3	m	-	3
H-1	4,1	d	9,34(J_{1-2})	1
O-H	3,2	sl	-	1
Hb e Hb'	2,8-2,6	m	-	6
CH_3 acetila	2,1-2,0	m	-	11
Ha e Ha'	1,3-1,2	m	-	9

Tabela 16 - Dados do espectro de DEPT135 de 42 (página 128, figura 56)

δ /ppm	Atribuição
71,6; 70,2; 68,1	C-2, C-3 e C-4*
62,9	C-5
52,1	C-1
25; 24,5	C-b
20,9; 20,8	CH_3 acetila
14,5; 14,0	C-a

* δ e atribuições intercambiáveis

5.2.8 Tentativa de síntese de 2,3,4-tri-O-acetil-5-O-dietilfosforil-D-arabinose dietilditioacetal 43

Em um balão acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,145 g (0,38 mmol) de 42, 1,5 mg (0,01 mmol) de DMAP, 0,5 mL de trietilamina e 0,11 mL (0,76 mmol) de cloreto de dietilfosforila. A mistura da reação foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando hexano/acetato de etila 7:3 como eluente. Após 50 horas de reação evidenciou-se o consumo do material de partida e então a mistura reagente foi transferida para cápsula e o solvente foi evaporado com ar comprimido. O resíduo foi transferido para funil de separação e extraído com sistema água/acetato de etila por 4 vezes (25 mL cada). A fase orgânica foi secada com MgSO₄, filtrada para balão e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo amarelado, 108 mg, que após cristalização pela adição de éter dietílico, resultou em cristais que foram identificados como 33, por ponto de fusão, CCD e RMN de ¹H e ¹³C.

5.2.9 Síntese de 2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-arabinonitrila 36

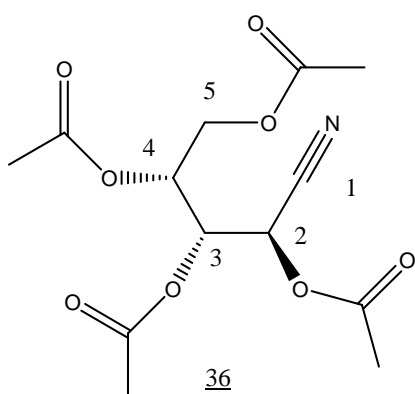
Método 1

Em um balão contendo 14 mL de piridina anidra e acoplado a um condensador de refluxo e tubo contendo cloreto de cálcio, foram adicionados 1g (6,06 mmol) de 32 e 14,31 mL (151 mmol) de anidrido acético. A mistura foi mantida a 100 °C sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD utilizando acetato de etila como eluente. Após 1 hora da adição dos reagentes, observou-se o consumo do material de partida e o balão contendo a mistura reagente foi retirado do banho de óleo. O balão foi transferido para banho de gelo e a mistura reagente foi acidificada com HCl 3 mol/L até pH 1, observando-se formação de cristais brancos. Deixou-se o balão em geladeira por 10 horas e filtrou-se a vácuo. O produto parcialmente puro foi recristalizado em etanol obtendo-se 679 mg (2,15 mmol) do produto desejado, rendimento de 36%.

Método 2

Em um balão acoplado a um condensador de refluxo e tubo contendo cloreto de cálcio, foram adicionados 5 g (30,3 mmol) de 32, 6,15 g (75 mmol) de acetato de sódio e 30 mL de ácido acético e 47 mL (490 mmol) de anidrido acético. A mistura foi mantida a 100 °C sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando acetato de etila como eluente. Após 1 hora e 30 minutos da adição dos reagentes foi observado o consumo do material de partida e

o balão contendo a mistura reagente foi retirado do banho de óleo. Foram adicionados 80 mL de água destilada ao meio reagente, observando-se a formação de cristais brancos. O balão foi mantido em geladeira por 10 horas e então, a mistura foi filtrada a vácuo. Foi obtido um sólido que, após recristalização em etanol, apresentou-se como cristais brancos, (3,87 g 12 mmol), com rendimento de 40 %.



FM: C₁₃H₁₇O₈N
MM: 315 g/mol
FF: 119-119,5 °C
FF: 120-121 °C (HOCKETT, 1939)
[α]_D = -2,1 (c 2,82, CHCl₃)
[α]_D = -3,3 (c 2,82, CHCl₃) (HOCKETT, 1939)
RMN de ¹H: (CDCl₃, 200 MHz): tabela 17 (p. 89)
RMN de ¹³C: (CDCl₃, 50 MHz): tabela 18 (p. 89)
IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 19 (p. 89)

Tabela 17 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 36 (pagina 130, figura 58)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	5,7	d	3,39 (J_{2-3})	1
H-3	5,6	dd	8,19 (J_{3-4}) 3,39 (J_{3-2})	1
H-4	5,2	ddd	8,19 (J_{4-3}) 4,52 ($J_{4-5'}$) 3,21 (J_{4-5})	1
H-5	4,3	dd	12,56 ($J_{5-5'}$) 3,21 (J_{5-4})	1
H-5'	4,2	dd	12,56 ($J_{5'-5}$) 4,52 ($J_{5'-4}$)	1
CH_3	2,2-2,1	m	-	12

Tabela 18 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 36 (página 131, figura 59)

δ/ppm	Atribuição
170,5;169,6;169,0 e 168,8	C=O
114,2	C-1
68,1;67,8 e 59,6	C-2,C-3 e C-4*
61,3	C-5
20,8;20,5 e 20,2	CH_3

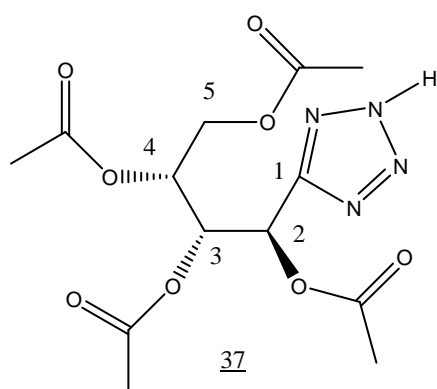
* δ e atribuições intercambiáveis

Tabela 19 – Dados do espectro de IV de 36 (pagina 129, figura 57)

$\bar{\nu}$ cm^{-1})	Atribuição
2969	Estiramento CH alifático
2323	Estiramento CN alifático
1752 e 1737	Estiramento C=O éster
1374	Estiramento C-H de CH_3
1210	Estiramento C-O-C éster
1036	Estiramento O-C-C éster

5.2.10 Síntese de 5-(D-arabino-1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)tetrazol 37

Em um balão acoplado a um condensador de refluxo foram adicionados 1,7 g (5,4 mmol) de 36, 4 g (75 mmol) de cloreto de amônio e 4,9 g (75 mmol) de azida de sódio em 5 mL de água e 6 mL de THF. A mistura reagente foi mantida em banho de óleo a 55 °C, sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando acetato de etila/hexano 8:2 como eluente. Após 36 horas da adição dos reagentes foi observado o consumo do material de partida. A mistura reagente foi transferida para cápsula e o solvente eliminado com ar comprimido. Em seguida, o meio foi acidificado como ácido clorídrico 1 mol/L até pH 1, em banho de gelo. A mistura obtida foi transferida para funil de separação e extraída com acetato de etila (3x 25 mL). Foi adicionada pequena quantidade de MgSO₄ à fase orgânica e, após 15 minutos de repouso, a mistura foi filtrada e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo que por cristalização com água forneceu 0,808 g (2,2 mmol) do produto como um sólido branco, com rendimento de 43%.



FM: C₁₃H₁₈O₈N₄
MM: 358 g/mol
FF: 75,8-77,1 °C
FF: 91-93 °C (SELDES *et al.*, 1975)
[α]_D -2 (c 1, CHCl₃)
[α]_D - 3,1(c 1, CHCl₃) (SELDES *et al.*, 1975)
RMN de ¹H: (CDCl₃, 200 MHz): tabela 20 (p. 91)
RMN de ¹³C: (CDCl₃, 50 MHz): tabela 21 (p. 91)
IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 22 (p. 91)

Tabela 20 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 37 (pagina 134, figura 62)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	6,5	d	3,06(J_{2-3})	1
H-3	5,7	dd	7,92(J_{3-4})	1
H-4	5,3	ddd	3,06(J_{3-2}) 7,92(J_{4-3}) 5,03($J_{4-5'}$) 2,70(J_{4-5})	1
H-5	4,3	dd	12,51($J_{5-5'}$) 2,70(J_{5-4})	1
H-5'	4,2	dd	12,51($J_{5'-5}$) 5,03($J_{5'-4}$)	1
CH_3	2,3-1,9	m	-	12

Tabela 21 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 37 (página 135, figura 63)

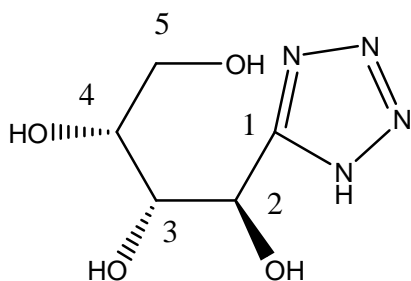
δ/ppm	Atribuição
171,3;170,3;170,2 e 169,9	C=O
156,5	C-1
69,9;68,5;64,9	C-2,C-3 e C-4*
61,9	C-5
20,9;20,9 e 20,6	CH_3

* δ e atribuições intercambiáveisTabela 22 – Dados do espectro de IV de 37 (pagina 133, figura 61)

$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Atribuição
3551	Estiramento N-H
2954 e 2868	Estiramento C-H alifático
1762 e 1738	Estiramento C=O éster
1653	Estiramento N=N
1551	Estiramento C=N
1214 e 1200	Estiramento C-O-C éster
1369	Estiramento C-H de CH_3
1042	Estiramento O-C-C éster

5.2.11 Síntese de 5-(D-arabino-1,2,3,4-tetra-hidroxitil)tetrazol 38

Em um balão contendo 40 mL de metanol anidro em banho de gelo e acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foi adicionado sódio metálico sob agitação magnética. Após o consumo do sódio, foi adicionado 1,78 g (4,9 mmol) de 37. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando acetato de etila como eluente. Após 50 minutos da adição do material de partida foi observado o consumo total deste. Foi adicionada, então, pequena quantidade de resina de troca catiônica IRA-120 e no momento em que o pH da mistura atingiu o valor 5, a mistura reagente foi filtrada em papel de filtro e o solvente do filtrado foi eliminado em evaporador rotatório. Obteve-se 0,875 g (4,6 mmol) de um sólido branco-amarelado correspondendo ao produto desejado, com rendimento de 93 %.



FM: C₅H₁₀O₄N₄
MM: 190 g/mol
FF: 204-205,5 °C
FF: 201-203 °C (SELDES et al., 1974)
[α]_D -20 (c 1, H₂O)
[α]_D - 24,5 (c 1, H₂O) (SELDES et al., 1974)
RMN de ¹H: (D₂O, 200 MHz): tabela 23 (p. 93)
RMN de ¹³C: (D₂O, 50 MHz): tabela 24 (p. 93)
IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 25 (p. 93)

Tabela 23- Dados do espectro de RMN de ^1H de 38 (pagina 138, figura 66)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	5,4	d	1,64 (J_{2-3})	1
H-3	3,9	dd	3,89 (J_{3-4})	1
			1,64 (J_{3-2})	
H-4, H-5, H-5'	3,8-3,6	m	-	3

Tabela 24 - Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 38 (página 139, figura 67)

δ/ppm	Atribuição
160,4	C-1
73,9	C-2 ou C-3 ou C-4
71,3	C-2 ou C-3 ou C-4
66,0	C-2 ou C-3 ou C-4
63,5	C-5

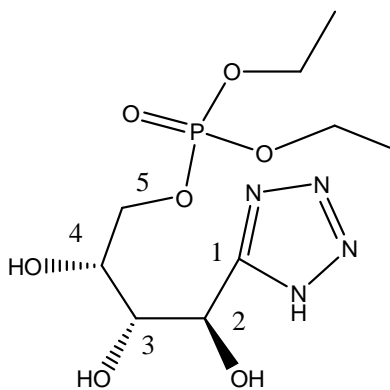
* δ e atribuições intercambiáveis

Tabela 25 - Dados do espectro de IV de 38 (pagina 137, figura 65)

$\bar{\nu}$ cm^{-1}	Atribuição
3300	Estiramento N-H
3121	Estiramento O-H
2980	Estiramento C-H
1660	Estiramento N=N
1555	Estiramento C=N
1046	Estiramento C-O

5.2.12 Síntese de 5-(*D*-arabino-4-dietilfosforil-1,2,3-*tri*-hidroxibutil)tetrazol 29

Em um balão contendo 2 mL de piridina anidra em banho de gelo e acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foram adicionados 0,05 g (0,26 mmol) de 38 e 0,1 mL (0,53 mmol) de cloreto de dietilfosforila sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando diclorometano/metanol 7,5:2,5 como eluente. Após 25 horas foi observada a formação de um produto com R_f diferente do material de partida, bem como o não consumo total deste. A mistura reagente foi transferida para cápsula e o solvente evaporado com ar quente. O resíduo foi lavado com clorofórmio e o óleo obtido na cápsula foi submetido a CCS (sílica flash), utilizando-se acetato de etila/metanol 95:5 e 93:7 como eluente. Foi obtido 6 mg (0,002 mmol) do produto desejado como óleo, com rendimento de 7%.



FM: C₉H₁₉N₄O₇P
MM: 326 g/mol
RMN de ¹H: (CD₃OD, 400 MHz): tabela 26 (p. 95)
RMN de ¹³C: (CD₃OD, 100 MHz): tabela 27 (p. 95)
IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 28 (p. 95)

Tabela 26 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 29 (pagina 142, figura 70)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	5,4	sl	-	1
H-3 ou H-4 ou H-5 ou H-5'	4,29-4,28	m	-	1
H-3 ou H-4 ou H-5 ou H-5' e $\text{CH}_2\text{-O-P}$	4,2-4,1	m	-	5
H-3 ou H-4 ou H-5 ou H-5'	3,96-391	m	-	1
H-3 ou H-4 ou H-5 ou H-5'	3,8	dl	-	1
$\text{CH}_3\text{-C-O-P}$	1,35-1,31	m	-	6

Tabela 27 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 29 (página 143, figura 71)

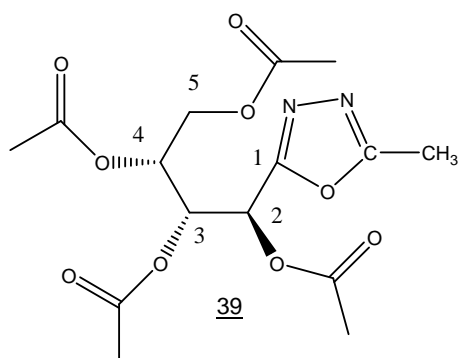
δ/ppm	Atribuição	Multiplicidade	J (Hz)
74,0	C-2 ou C-3	s	-
70,9	C-5	d	5,97 ($J_{\text{C-5-P}}$)
70,8	C-4	d	7,28 ($J_{\text{C-4-P}}$)
66,0	C-2 ou C-3	s	-
65,6	$\text{CH}_2\text{-O-P}$	d	5,98 ($J_{\text{CH}_2\text{-P}}$)
16,54	$\text{CH}_3\text{-C-O-P}$	d	6,78 ($J_{\text{CH}_3\text{-P}}$)

Tabela 28 – Dados do espectro de IV de 29 (pagina 141, figura 69)

$\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	Atribuição
3259	Estiramento O-H
2923	Estiramento C-H alifático
1660	Estiramento N=N
1570	Estiramento C=N
1444	Deformação C-H de CH_3
1023	Estiramento P-O-C

5.2.13 Síntese de 2-(D-arabino-1,2,3,4-tetra-acetoxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol 39

Em um balão acoplado a um condensador de refluxo e tubo contendo cloreto de cálcio, foram adicionados 1,282 g (3,6 mmol) de 37 e 18 mL de anidrido acético (170 mmol). A mistura reagente foi aquecida em banho de óleo a 120 °C . A evolução da reação foi acompanhada por CCD, empregando como eluente CHCl₃/MeOH 9,5:0,5. Após 6 horas e 30 minutos da adição dos reagentes foi observado o consumo total do material de partida. A mistura reagente foi transferida para cápsula de porcelana e eliminou-se o solvente com ar quente. Na seqüência, foram adicionados 5 mL de água destilada à cápsula e observou-se a formação de um sólido. Esse foi filtrado a vácuo e lavado com 2 mL de água destilada. Foram obtidos 1,1 g (3 mmol) do produto como um sólido amarelado, com rendimento de 83 %.



FM: C₁₅H₂₀N₂O₉

MM: 372 g/mol

FF: 95,1-96,1 °C

[α]_D + 5,5 (c 3, CHCl₃)

RMN de ¹H: (CDCl₃, 200 MHz): tabela 29 (p.97)

RMN de ¹³C: (CDCl₃, 50 MHz): tabela 30 (p. 97)

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 31 (p. 97)

Tabela 29 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 39 (pagina 146, figura 74)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	6,2	d	2,66 (J_{2-3})	1
H-3	5,6	dd	2,66 (J_{3-2})	1
H-4	5,3	ddd	8,9 (J_{3-4})	1
			2,78 (J_{4-5})	
			4,3 ($J_{4-5'}$)	
H-5	4,3	dd	8,9 (J_{4-3})	1
			2,78 (J_{5-4})	
			12,54 ($J_{5-5'}$)	
H-5'	4,2	dd	4,3 ($J_{5'-4}$)	1
			12,54 ($J_{5'-5}$)	
			-	
CH_3 (oxadiazol)	2,5	s	-	3
CH_3 acetila	2,18;2,09;2,07; 2,06	s	-	12

Tabela 30 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 39 (página 147, figura 75)

δ/ppm	Atribuição
170,5; 169,6; 169,5; 169,4	C=O
164,6; 161,8	N=C-O
68,8	C-3
68,0	C-4
64,3	C-2
61,5	C-5
20,8; 20,7; 20,5; 20,4	CH_3 acetila
10,9	CH_3 (oxadiazol)

Tabela 31 – Dados do espectro de IV de 39 (pagina 145, figura 73)

$\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	Atribuição
2984 e 2954	Estiramento C-H alifático
1740	Estiramento C=O éster
1590 e 1570	Estiramento C=N
1208	Estiramento C-O-C éster
1370	Estiramento C-H de CH_3
1033	Estiramento O-C-C éster

5.2.14 Tentativa de síntese de 2-(D-*arabino*-1,2,3,4-tetra-hidroxibutil)-5-metil-1,3,4-oxadiazol 40

5.2.14.1 Síntese da *N*-acetil hidrazida do ácido D-arabinonico 44

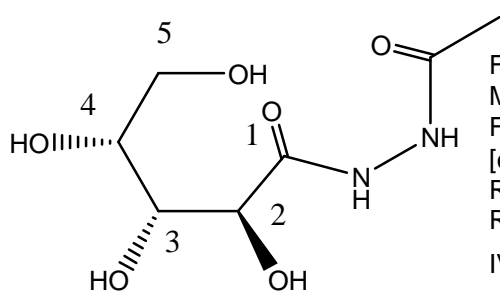
Método A

Em um balão contendo 30 mL de metanol anidro em banho de gelo e acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foi adicionado sódio metálico sob agitação magnética. Após o consumo do sódio, foi adicionado 0,943 g (2,5 mmol) de 39. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila como eluente. Após 50 minutos da adição do material de partida foi observado consumo total deste. Foi adicionada, então, pequena quantidade de resina de troca catiônica IRA-120 e no momento em que o pH da mistura atingiu o valor 7, a mistura reagente foi filtrada em papel de filtro e o solvente eliminado em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo marrom que foi solubilizado em etanol a quente e com resfriamento do solvente formaram-se cristais que foram recolhidos por filtração. Obteve-se 0,17 g (0,7 mmol) de um sólido amarelado, com rendimento de 28 %.

Método B

Em um balão contendo 20 mL de metanol anidro em banho de gelo e acoplado a um tubo contendo cloreto de cálcio foi adicionado sódio metálico em quantidade catalítica sob agitação magnética. Após o consumo do sódio, foi adicionado 0,133 g (0,3 mmol) de 39 em banho contendo acetato de butila e N_{2(L)} a -20 °C. A evolução

da reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila como eluente. Após 50 minutos da adição do material de partida foi observado consumo total deste. Foi adicionada, então, pequena quantidade de resina de troca catiônica IRA-120 e no momento em que o pH da mistura atingiu o valor 7, a mistura reagente foi filtrada em papel de filtro e o filtrado foi transferido para cápsula de porcelana e o solvente evaporado com ar quente. Foi obtido um óleo marrom claro que foi solubilizado em etanol a quente e após resfriamento do solvente formaram-se cristais que foram recolhidos por filtração. A água-mãe foi submetida à CCS utilizando-se com eluente CH₂Cl₂/MeOH 9:1 e 8,8:1,2, obtendo-se 17 mg do produto como sólido branco-amarelado, com rendimento de 23 %.



FM: C₇H₁₄N₂O₆
MM: 222 g/mol
FF: 81,9 – 83,9 °C
[α]_D – 53,3 (c 0,3, H₂O)
RMN de ¹H: (DMSO-d₆, 400 MHz): tabela 32 (p.100)
RMN de ¹³C: (DMSO-d₆, 100 MHz): tabela 33 (p. 100)
IV (ν̄, cm⁻¹) tabela 34 (p. 100)

44

Tabela 32 – Dados do espectro de RMN de ^1H de 44 (pagina 150, figura 78)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
N-H	9,9	sl	-	1
N-H	9,4	sl	-	1
O-H ₂	5,3	d	6,38 ($J_{\text{OH}_2\text{-H}_2}$)	1
O-H ₃	4,6	d	5,36 ($J_{\text{OH}_3\text{-H}_3}$)	1
O-H ₄	4,4	d	7,28 ($J_{\text{OH}_4\text{-H}_4}$)	1
O-H ₅	4,36	tl	5,24 ($J_{\text{OH}_5\text{-H}_5}$)	1
H-2	4,27	d	6,38 ($J_{\text{H}_2\text{-OH}_2}$)	1
H-3 e H-5	3,7 – 3,6	m	-	2
H-5' e H-4	3,5 – 3,4	m	-	2

Tabela 33 – Dados do espectro de RMN de ^{13}C de 44 (página 151, figura 79)

δ/ppm	Atribuição
171,1	C-1
167,5	C=O
72,1	C-3
70,7	C-2
70,6	C-4
63,4	C-5
20,5	CH ₃

Tabela 34 – Dados do espectro de IV de 44 (pagina 149, figura 77)

$\bar{\nu}$ cm ⁻¹	Atribuição
3326, 3273, 3227	Estiramento O-H e N-H
2973, 2939, 2891	Estiramento C-H alifático
1691, 1651	Estiramento C=O hidrazida
1548	Deformação angula N-H
1434	Estiramento C-N
1036	Estiramento C-O

5.2.14.2 Reação de 39 com amônia

Em um balão contendo 3 mL de THF foram adicionados 0,485 g (1,3 mmol) de 39 e 2 mL de uma solução saturada de $\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{aq})}$. O balão foi vedado com rolha e mantido em banho de gelo durante 2 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila como eluente. Após 19 horas da adição do material de partida foi observado consumo total deste. A mistura reagente foi transferida para cápsula de vidro e o solvente foi evaporado com ar comprimido. Foi obtido um óleo amarelado (336 mg), que foi submetido a CCS (sílica flash), utilizando-se como eluente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9,5:0,5 e 8:2. Entretanto foi obtido uma mistura complexa que não apresentou resolução satisfatória por CCS, e nenhum deles foi identificado como produto desejado após análise por RMN de ^1H e ^{13}C das frações reunidas.

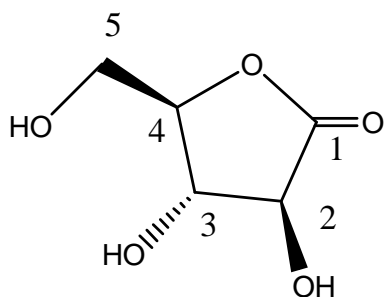
5.2.14.3 Síntese de 1,4-D-arabinonolactona 45

Método A

Em um balão contendo 30 mL de metanol anidro em banho de gelo e acoplado a um tubo com cloreto de cálcio foram adicionados 0,15 g (0,4 mmol) de 39 e 0,64 mL (9 mmol) de cloreto de acetila sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila como eluente. Após 4 horas, foi observado o consumo do material de partida. A mistura reagente foi filtrada a vácuo, a água-mãe foi transferida para cápsula, e o solvente foi evaporado com ar comprimido. Foi obtido 0,076 mg de um óleo que foi submetido a CCS, utilizando-se CH₂Cl₂/MeOH 92:8 como eluente, obtendo-se 0,032 g (0,2 mmol) de lactona 45, com rendimento de 53 %.

Método B

Em uma cuba de vidro com volume de aproximadamente 600 cm³ foi colocado um balão de 25 mL contendo 0,15 g (0,4 mmol) de 39, 10 mL de diclorometano e 2 mL de metanol, e um frasco de vidro pequeno contendo 8 mL de HCl 12 mol/L. A cuba de vidro foi mantida fechada com tampa e o meio reagente sob agitação magnética. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila como eluente. Após 22 horas da adição dos reagentes, foi observado o consumo do material de partida. A mistura reagente foi filtrada a vácuo e a água-mãe foi transferida para cápsula e o solvente foi evaporado com ar comprimido. Foi obtido um óleo (54 mg) que foi submetido a CCS, utilizando-se CH₂Cl₂/MeOH 92:8 como eluente, obtendo-se 0,017 g (0,2 mmol) de lactona 45, com rendimento de 28 %.



FM: C₅H₈O₅
 MM: 148 g/mol
 [α]_D + 64,3 (c 0,3, H₂O)
 [α]_D + 69,5 (c 0,88, H₂O) (HARDRE; SALMON, 1999)
 RMN de ¹H: (D₂O, 200 MHz): tabela 35 (p.103)
 RMN de ¹³C: (D₂O, 50 MHz): tabela 36 (p. 103)
 IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹) tabela 37 (p. 103)

45

Tabela 35 – Dados do espectro de RMN de ¹H de 45 (pagina 157, figura 85)

Atribuição	δ/ppm	Multiplicidade	J (Hz)	Integral
H-2	4,4	d	8,5 (<i>J</i> ₂₋₃)	1
H-3 e H-4	4,15 – 4,12	m	-	2
H-5	3,9	dd	1,4 (<i>J</i> ₅₋₄), 12,8 (<i>J</i> _{5-5'})	1
H-5'	3,7	dd	3,86 (<i>J</i> _{4-5'}), 12,8 (<i>J</i> _{5'-5})	1

Tabela 36 – Dados do espectro de RMN de ¹³C de 45 (página 158, figura 86)

δ/ppm	Atribuição
176,5	C-1
82,9	C-4
75,8	C-2
74,3	C-3
61,0	C-5

Tabela 37 – Dados do espectro de IV de 45 (pagina 156, figura 84)

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	Atribuição
3305	Estiramento O-H
2925, 2854	Estiramento C-H
1768	Estiramento C=O γ-lactona
1025	Estiramento C-O

5.3 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O tetrazol fosforilado 29 bem como os intermediários 34, 36, 37 e 39 foram avaliados em teste de atividade antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar (FARMACOPÉIA..., 1988) empregando-se os seguintes microorganismos.

Bactérias

Bacillus subtilis ATCC 6633
Micrococcus luteus ATCC 9341
Staphylococcus aureus ATCC 6538P
Escherichia coli ATCC 8739
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Salmonella enterica 14028
Staphylococcus epidermidis 12228

Leveduras

Saccharomyces cerevisiae ATCC 2601
Candida albicans ATCC 10231
Candida tropicalis ATCC 1641

Fungos filamentosos

Aspergillus niger ATCC 16404

O padrão utilizado para as bactérias, exceto *P. aeruginosa*, foi uma solução de cloranfenicol de 1mg/ml e cada disco foi impregnado com 10µl. Para a *P. aeruginosa* utilizou-se uma solução de gentamicina de 1mg/ml e cada disco foi impregnado com 10µl. Já o padrão utilizado para os fungos, foi uma solução de anfotericina B de 2mg/ml e cada disco impregnado com 10µl da solução. Como prova em branco, discos foram impregnados com os respectivos solventes das substâncias, 20 µl cada disco.

Os testes foram realizados no laboratório de Controle de Qualidade do Departamento de Produtos Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia, pela aluna Michele Cristina Vilaça, sob a orientação da professora Elzília de Aguiar Nunan.

5.3.1. PROCEDIMENTO

5.3.1.1 Preparo das culturas de microorganismos

5.3.1.1.1 Bactérias

Retirou-se uma pequena quantidade da cultura-filha com alça de platina e espalhou-se sobre o meio antibiótico nº 1 inclinado contido em tubos de ensaio. Incubou-se o tubo em estufa a $36,5 \pm 1,0$ °C por 24h;

5.3.1.1.2 Leveduras

Procedeu-se como no repique de bactérias, exceto pelo meio de cultura que é o ágar sabouraud dextrosado.

5.3.1.1.3 Fungos filamentosos

Procedeu-se como no repique de leveduras, exceto pelo tempo de incubação, que é de 3 dias.

5.3.1.2 Preparo dos padrões

5.3.1.2.1 Padrão para bactérias (exceto *P. aeruginosa*)

- Pesou-se 1 mg de cloranfenicol padrão Sigma e solubilizou-se em 0,1 ml de metanol. Diluiu-se para um volume final de 1,0 mL com água destilada. Impregnou-se cada disco com 10 µL da solução estoque.

5.3.1.2.2 Padrão para *P.aeruginosa*

- Pesou-se 1 mg de gentamicina, padrão Sigma e diluiu-se para um volume final de 1,0 mL com água destilada. Impregnou-se cada disco com 10 µL da solução estoque.

5.3.1.2.3 Padrão para fungos

Pesou-se o equivalente do pó a 2 mg de anfotericina B e diluiu-se para um volume final de 1,0 mL com DMSO. Impregnou-se cada disco com 10 µL da solução estoque

5.3.1.2.4 Substâncias a serem testadas

Pesou-se 5 mg das substâncias 29, 34, 36, 37 e 39 e diluiu-se para um volume final de 5,0 mL com água destilada (composto 29) ou acetona (34, 36, 37 e 39). Impregnou-se cada disco com 20 µL da solução final.

5.3.1.2.5 Branco

Impregnou-se cada disco com 20 µL do solvente utilizado.

OBS: Os discos foram secados em estufa a 36,5°C até completa evaporação do solvente orgânico.

5.3.1.3 Padronização do Inóculo

Retirou-se com auxílio da alça de platina uma pequena quantidade de microrganismos do tubo com meio inclinado, transferiu-se para um tubo contendo 10,0 mL de salina e homogeneizou-se o meio. Repetiu-se o procedimento até que o tubo apresentasse transmitância de $40 \pm 1\%$. Desse inóculo padronizado, pipetou-se 1,0 mL e transferiu-se para outro tubo contendo 9,0 mL de salina. Deste foi pipetado 125 µl e transferido para um erlenmeyer contendo 25 mL do meio de superfície.

OBS: Para o fungo *A. niger* e a bactéria *B.subtilis*, acrescentou-se Tween 80 à salina, na proporção 0,2% e pérolas de vidro.

5.3.1.4 Preparo das placas

Adicionou-se 20,0 mL de meio base às placas e após solidificação deste, 5,0 mL de meio de superfície contendo o microrganismo. Colocou-se cada disco impregnado com as substâncias a serem testadas na superfície da placa semeada com o inóculo. Acrescentaram-se também os discos contendo antibiótico para o controle positivo e o diluente para o controle negativo. Deixou-se difundir por 60 minutos e

posteriormente incubaram-se as placas na posição invertida à temperatura adequada (bactérias e leveduras: $36,5 \pm 1,0$ °C; fungos filamentosos: $25,0 \pm 1,0$ °C).

5.3.1.5 Leitura

Mediu-se o diâmetro do halo formado com auxílio de paquímetro digital e calculou-se a média dos halos de inibição e o respectivo desvio-padrão.

5.3.2 Instrumentos e materiais utilizados

Espectrofotômetro Spectrophotometer Coleman Junior® II Model 6/20 Illinois USA

Paquímetro Mitutoyo – Digimatic Caliper Suzhou – China Resolução: 0,01mm
Exatidão (erro instrumental): $\pm 0,02$ mm

Meios de cultura: Ágar Sabouraud dextrosado - Biobrás diagnósticos, Ágar soja tripticaseína - Biobrás diagnósticos.

Antibiótico nº1 (utilizado para cultivar as bactérias, como meio inclinado no tubo)
Himedia®

Padrões: Cloranfenicol, Anfotericina B e Gentamicina (Sigma-Aldrich).

Todas as substâncias foram inativas na concentração de 1 mg/mL.

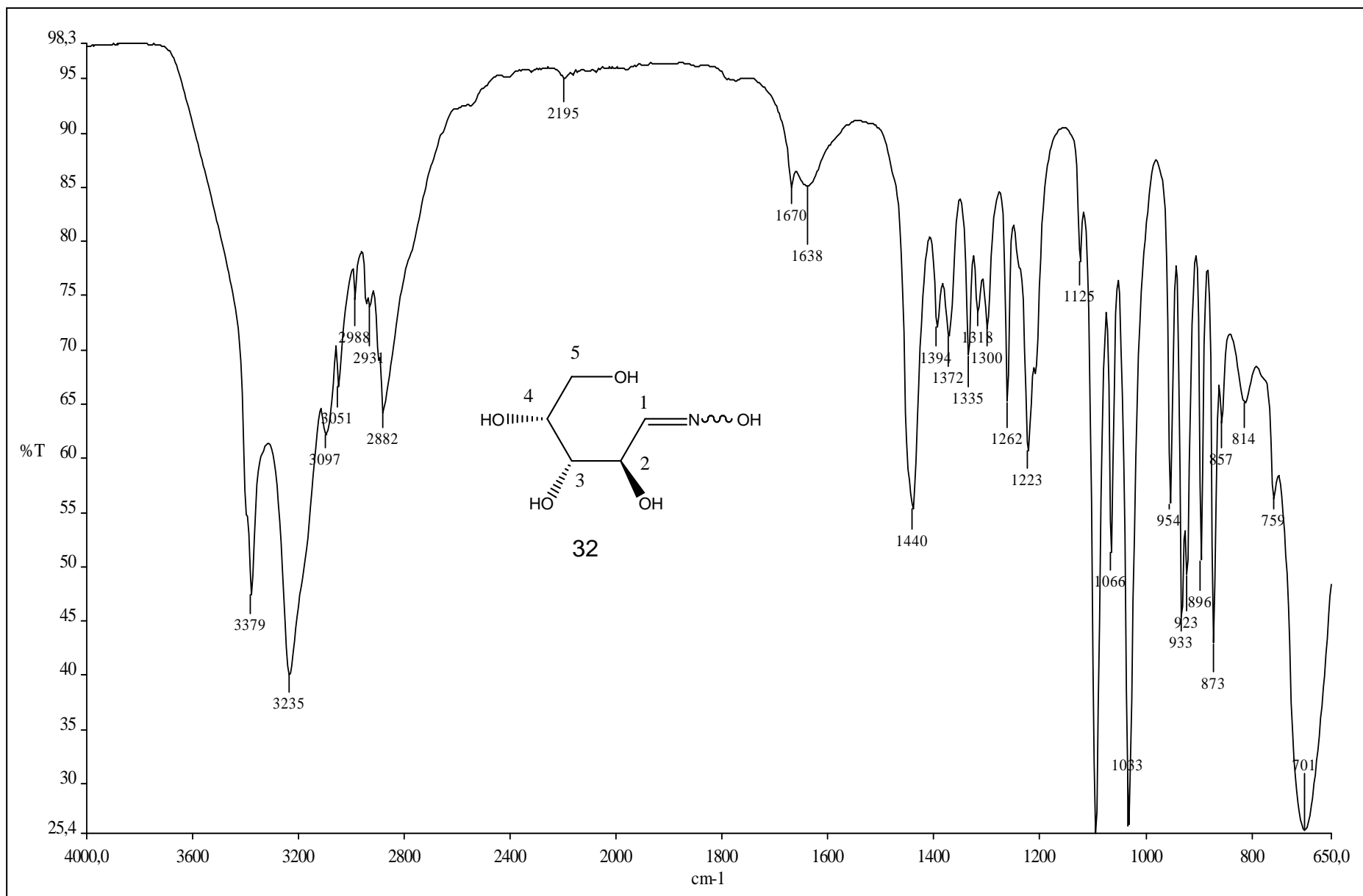
6 CONCLUSÃO

Durante a realização desse trabalho foi constatada uma grande dificuldade para obtenção dos compostos finais desejados, 28, 29 e 30, que faziam parte da proposta inicial do trabalho, obtendo-se apenas o composto 29, com rendimento de 7 %.

Percebeu-se que a reação de fosforilação se utilizando o reagente cloreto de dietilfosforila não ocorre facilmente, obtendo-se os melhores rendimentos para a síntese do derivado 34, com 56 % de rendimento.

A etapa de remoção dos grupos acetila das hidroxilas do derivado de carboidrato funcionalizado em C-1 com anel 1,3,4-oxadiazol 39 também contribuiu para a dificuldade geral da síntese de um dos derivados propostos, composto 30. Entretanto, foi de grande valia o estudo de reação dessa etapa, modificando-se as condições. Pôde-se constatar a labilidade do anel 1,3,4-oxadiazol frente a desproteção de grupos protetores acetila, seja em meio ácido ou alcalino, pelo menos em derivados de carboidrato de configuração *arabino*.

O tetrazol fosforilado 29 e os intermediários 34, 36, 37 e 39 foram inativos em teste de atividade antimicrobiana para *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella entérica*, *Staphylococcus epidermidis* e antifúngica para *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Aspergillus niger* pelo método de difusão em agar na concentração de 1 mg/mL.

Figura 38 – Espectro no IV de 32.

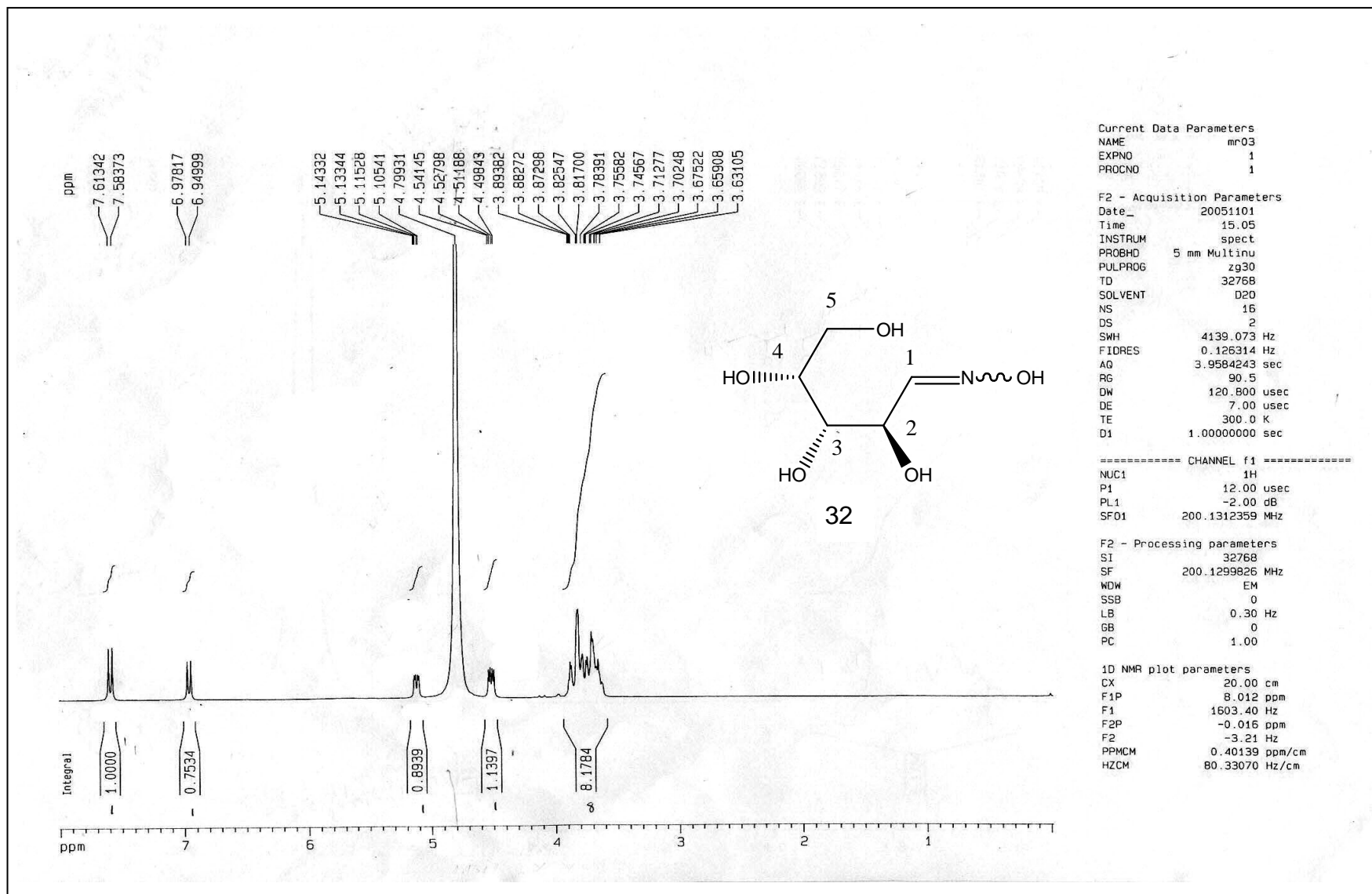


Figura 39 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, D_2O) de 32.

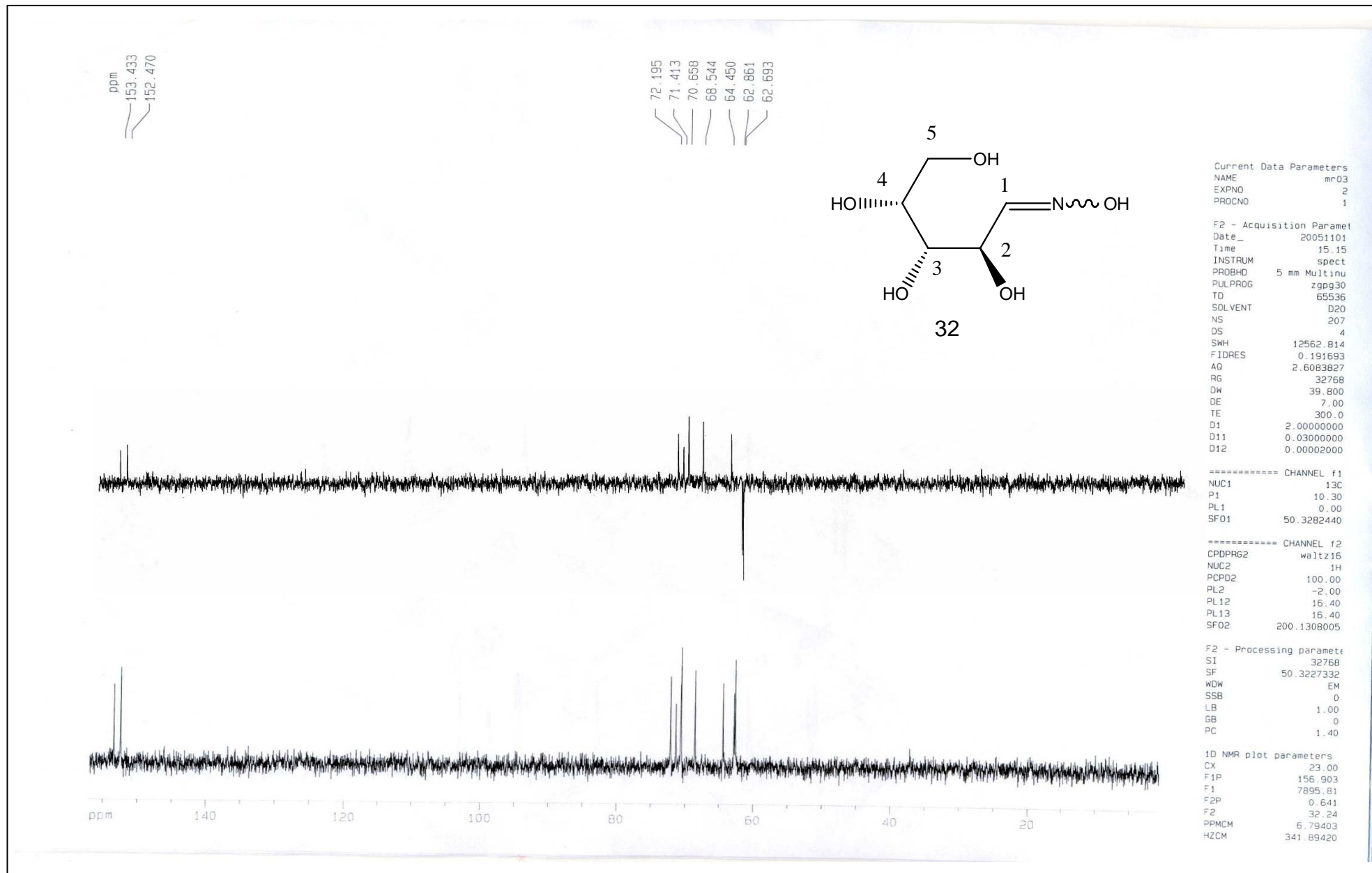


Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, D_2O) de 32.

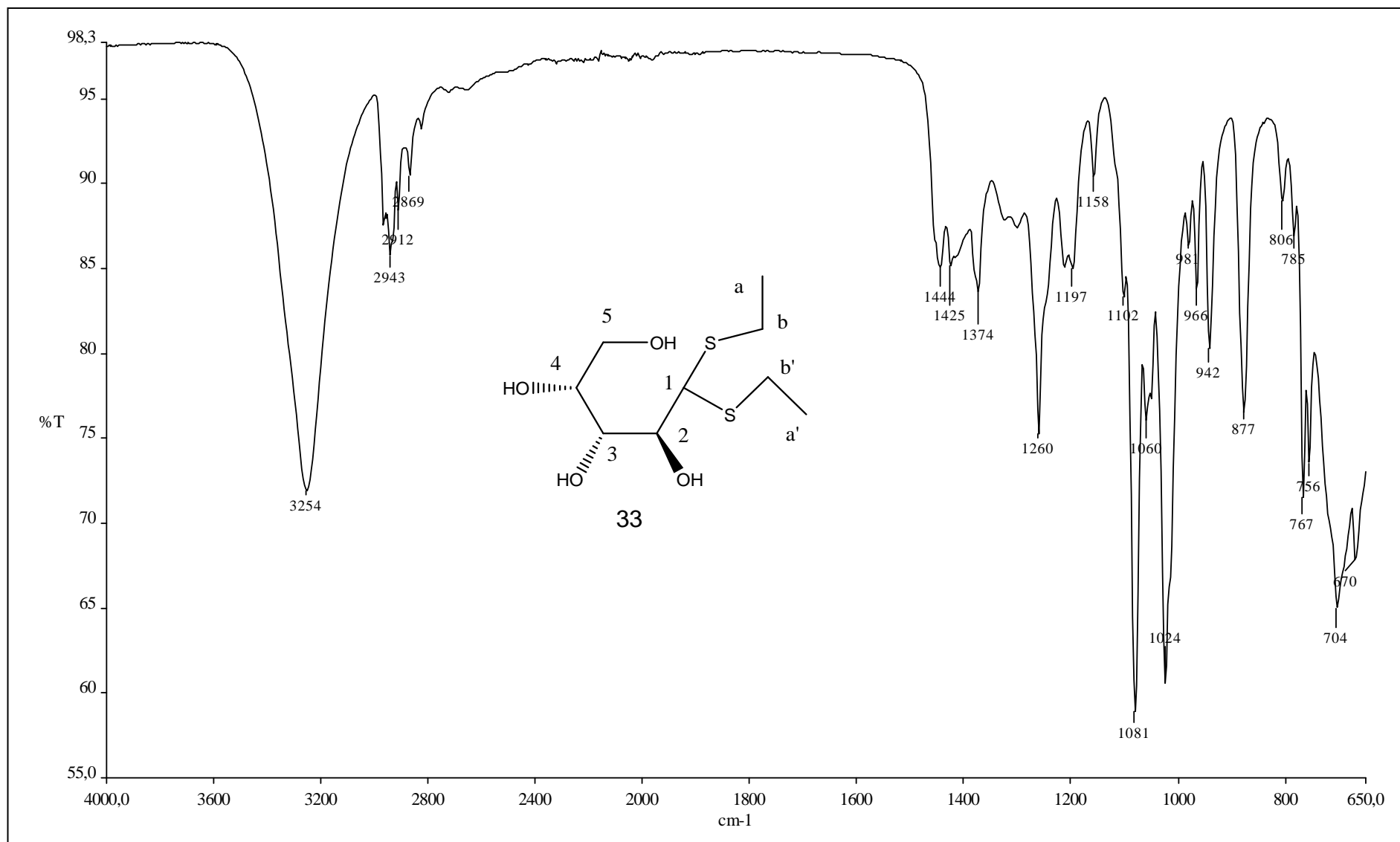


Figura 41 – Espectro no IV de 33.

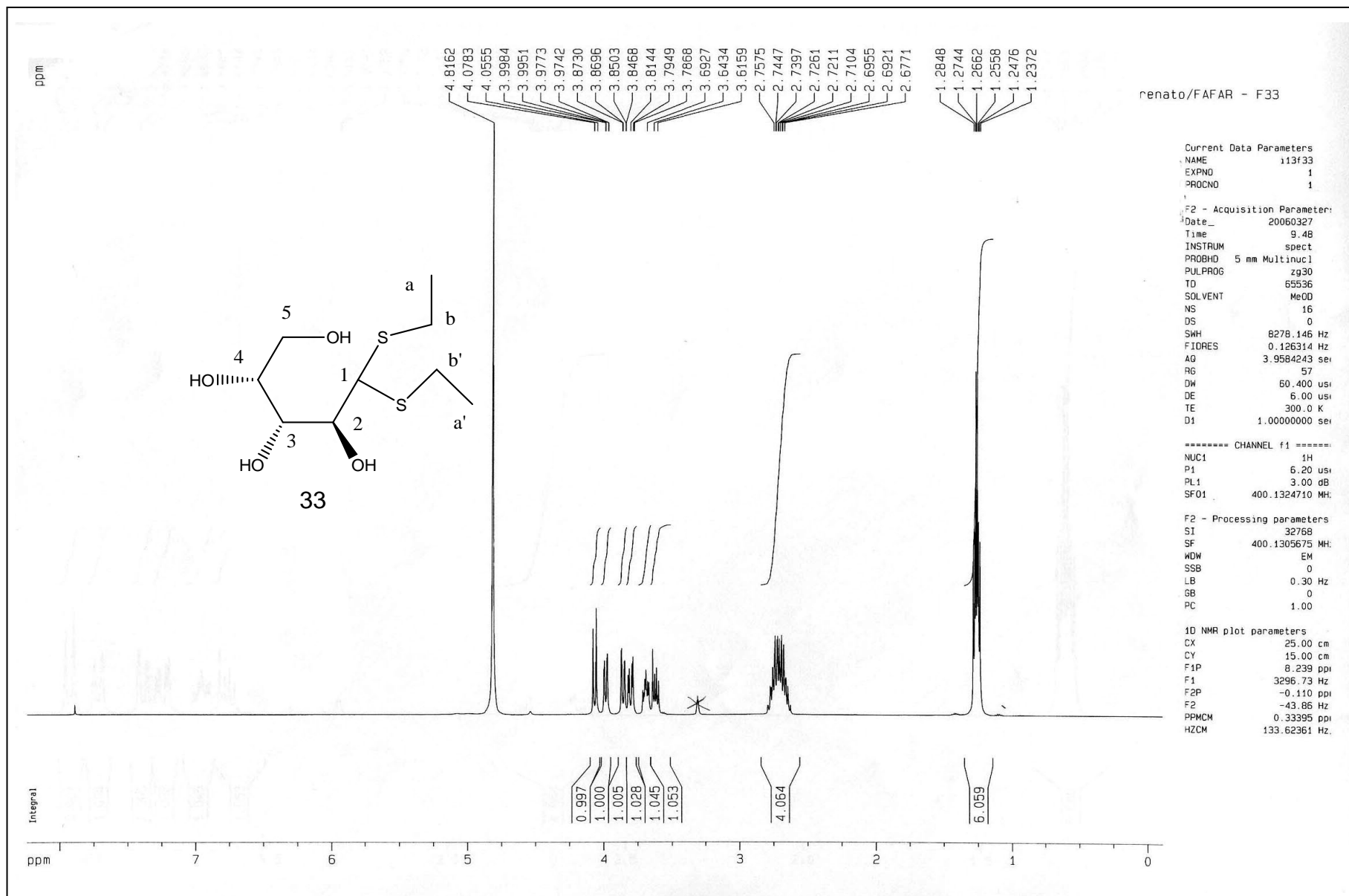


Figura 42 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de **33**.

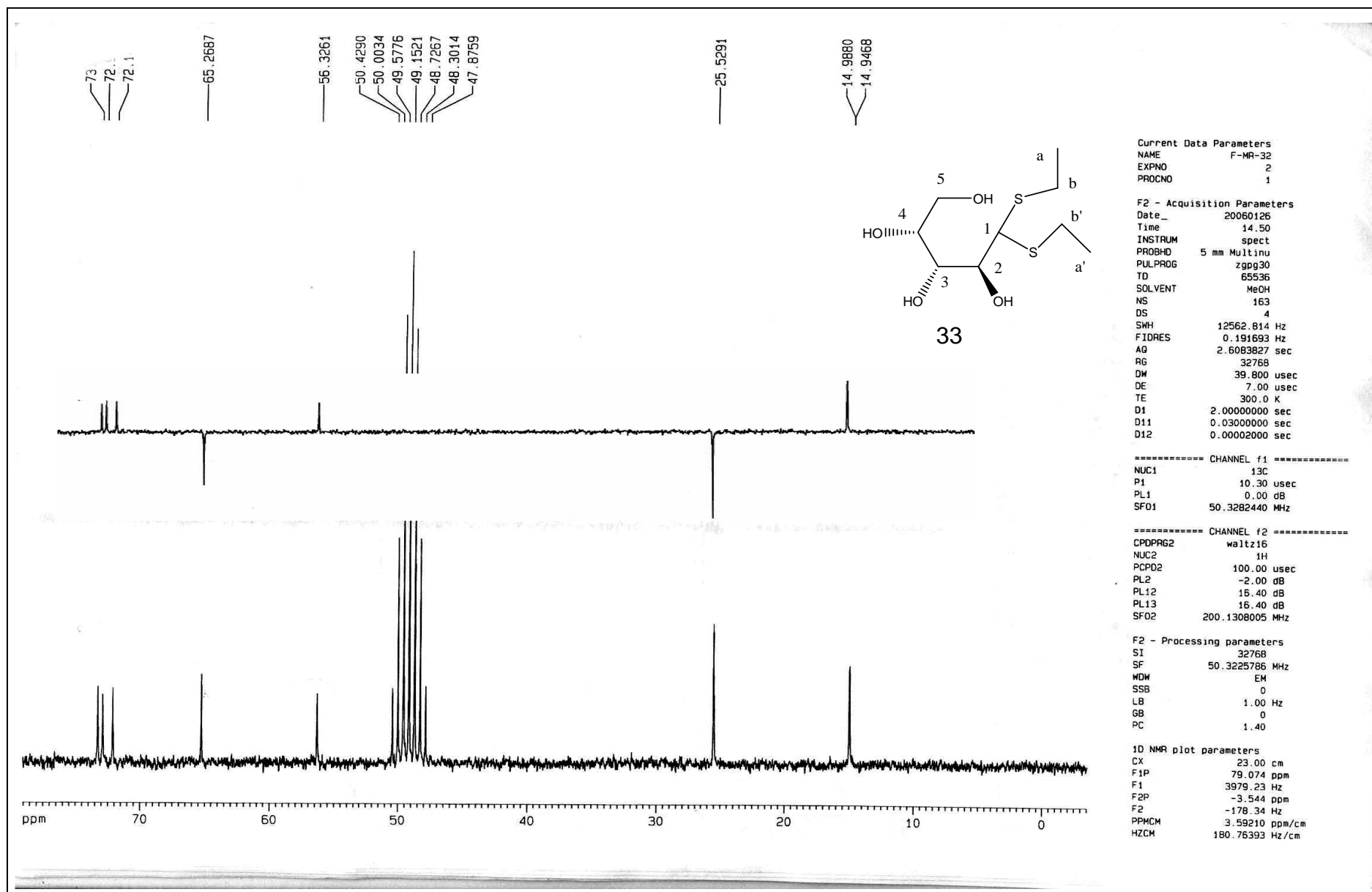


Figura 43 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) de 33.

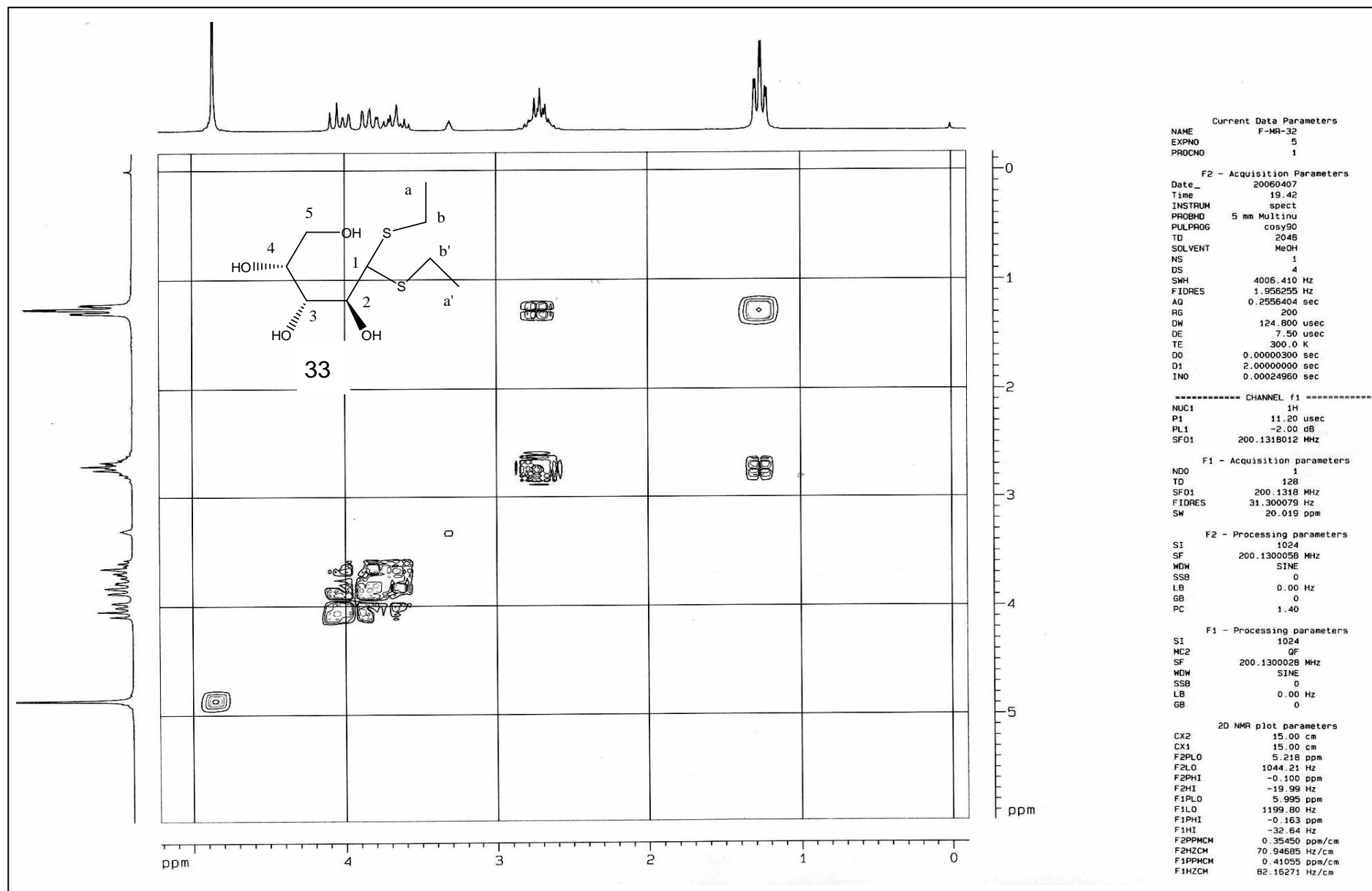


Figura 44 – Mapa de contornos COSY (200 MHz, CD₃OD) de 33.

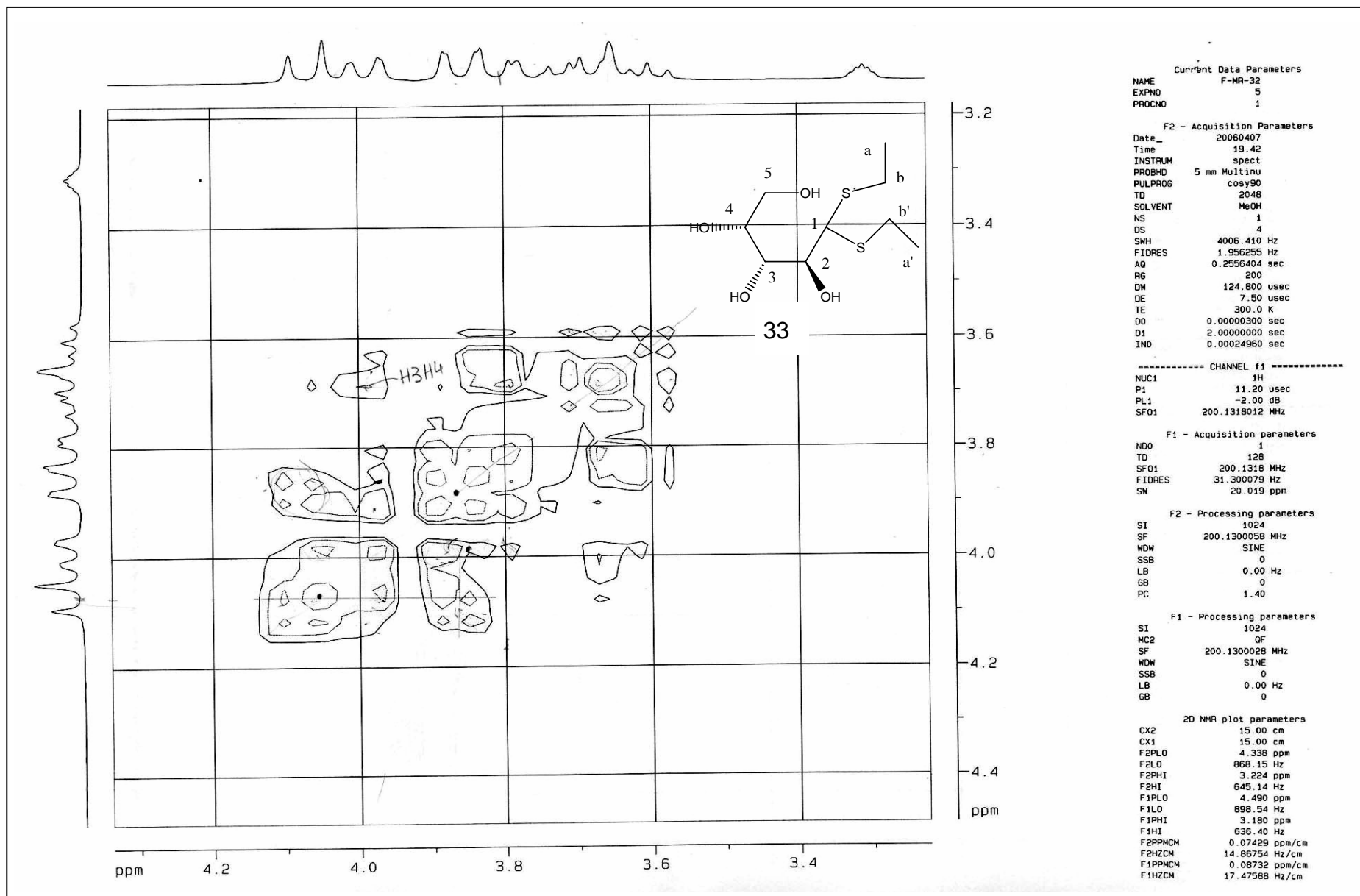


Figura 45 – Expansão do mapa de contornos COSY (200 MHz, CD₃OD) de 33.

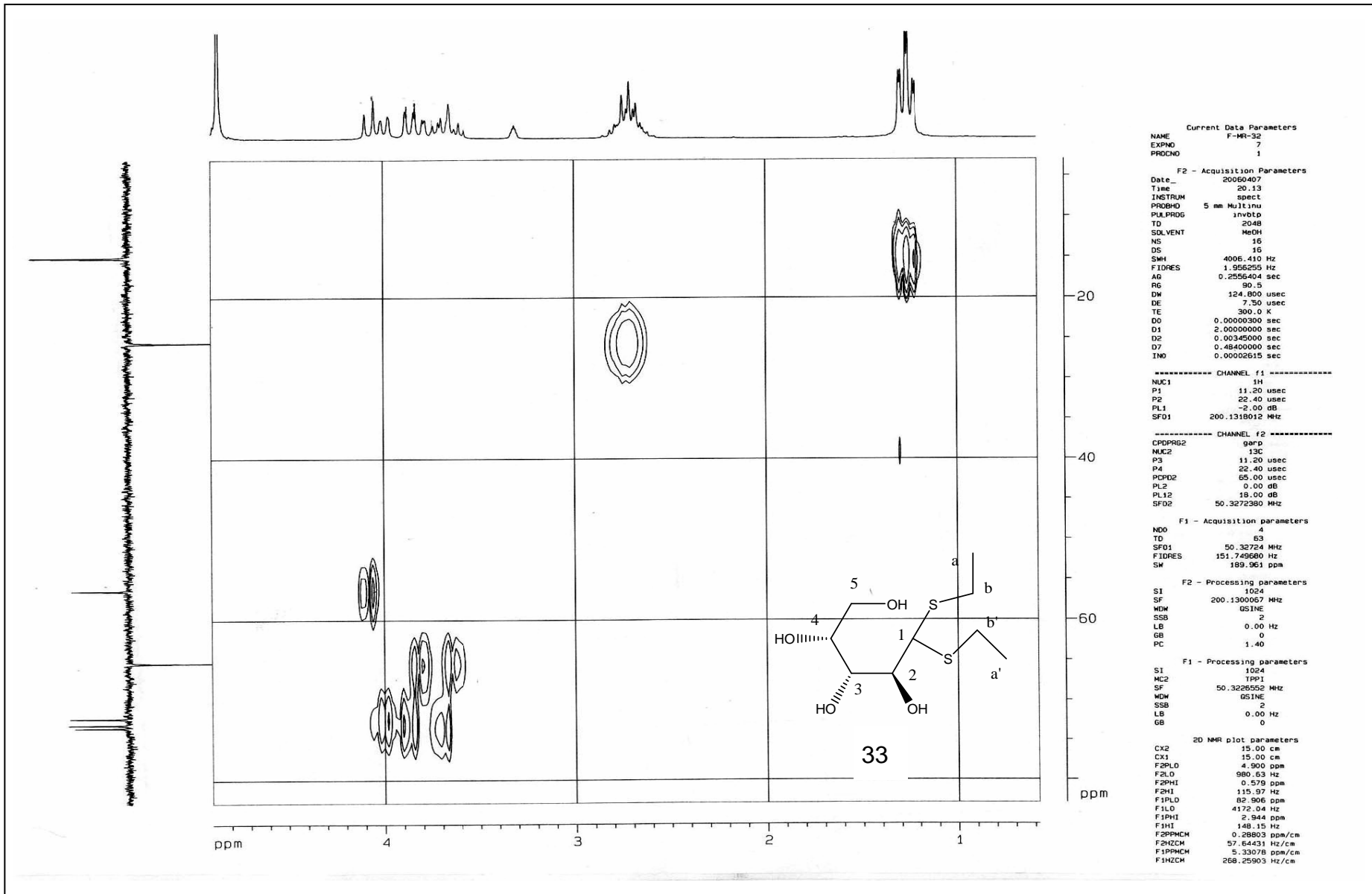


Figura 46 – Mapa de contornos HMQC (200 MHz, CD₃OD) de 33.

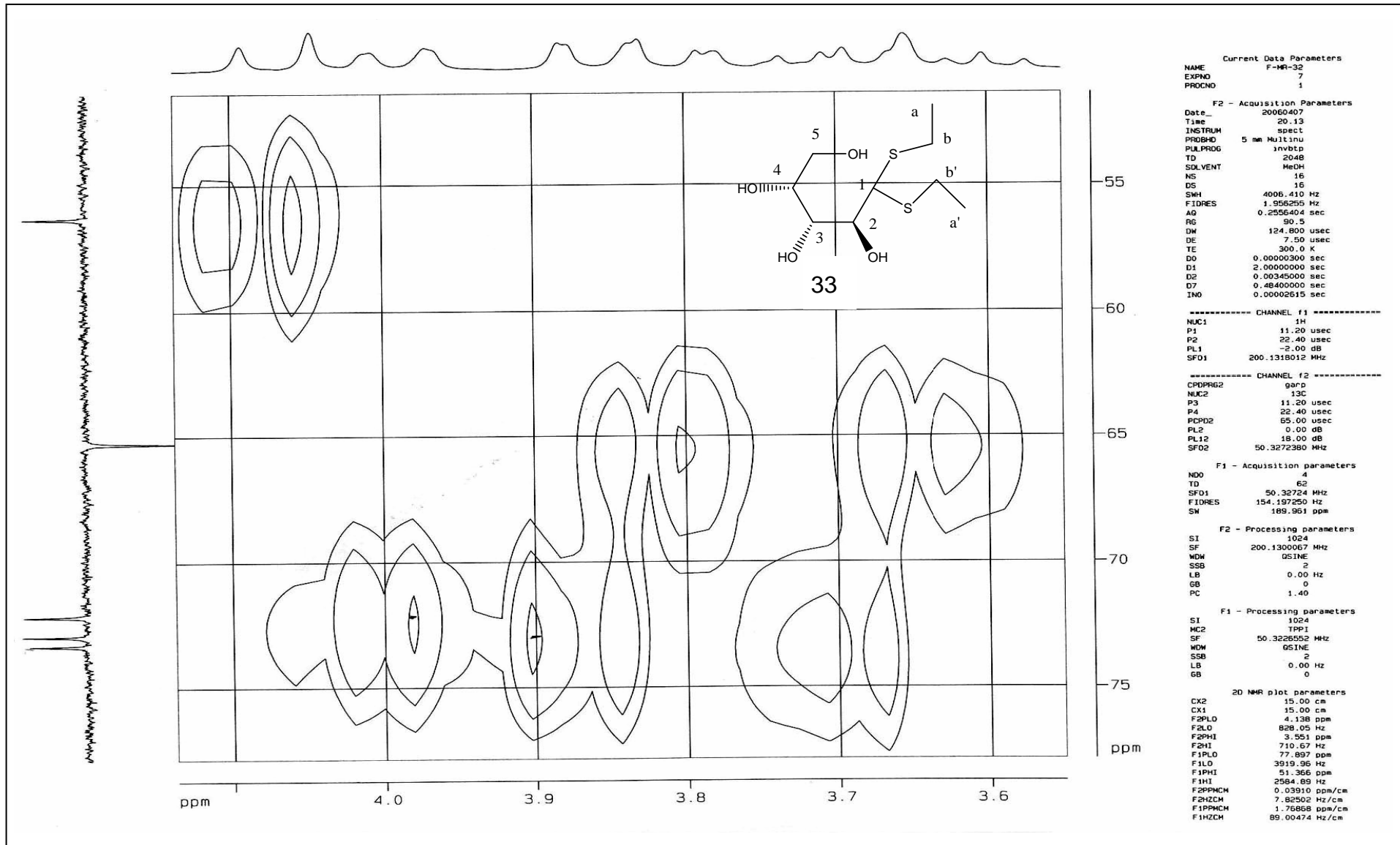


Figura 47 – Expansão do mapa de contornos HMQC (200 MHz, CD₃OD) de 33.

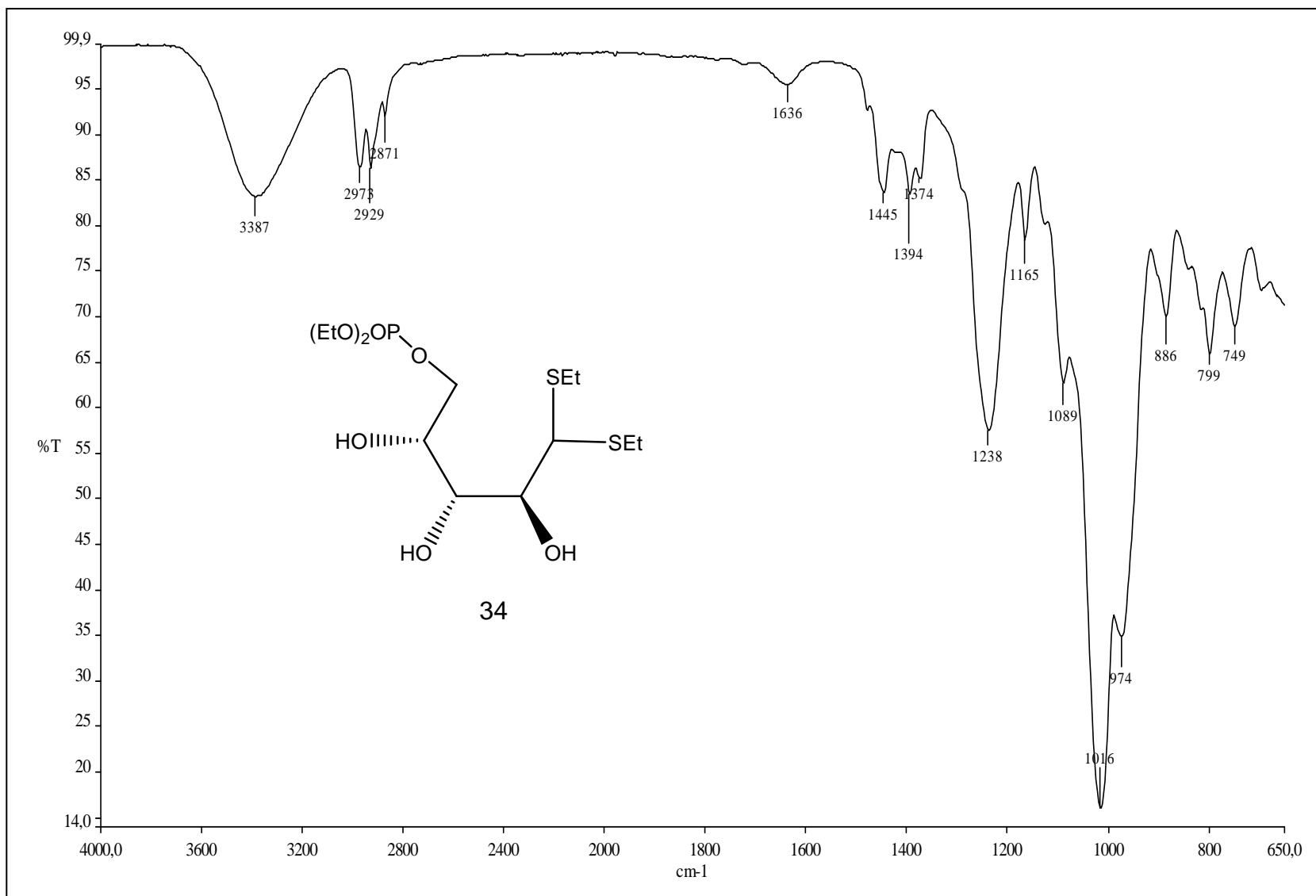


Figura 48 – Espectro no IV de 34.

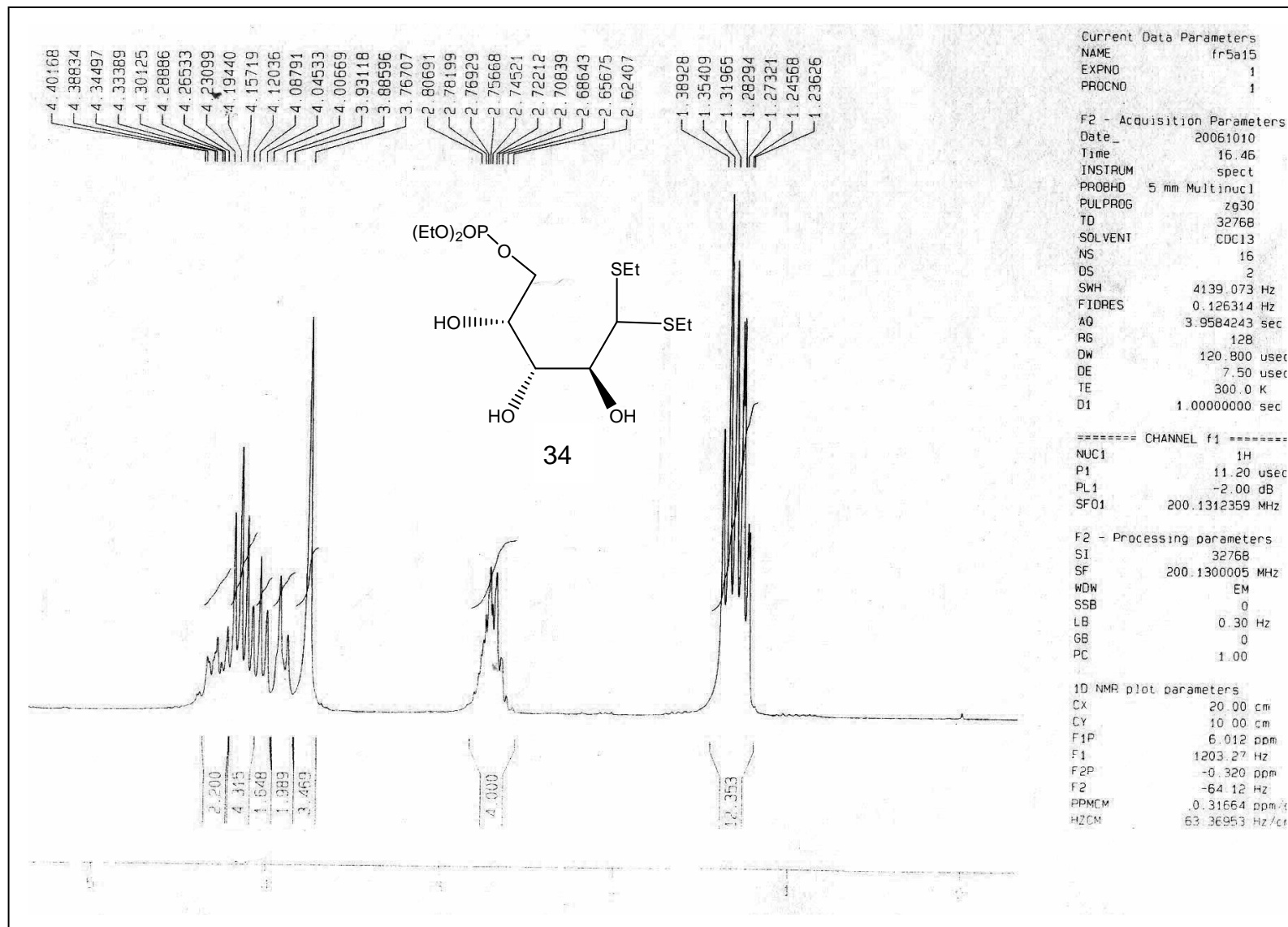


Figura 49 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **34**.

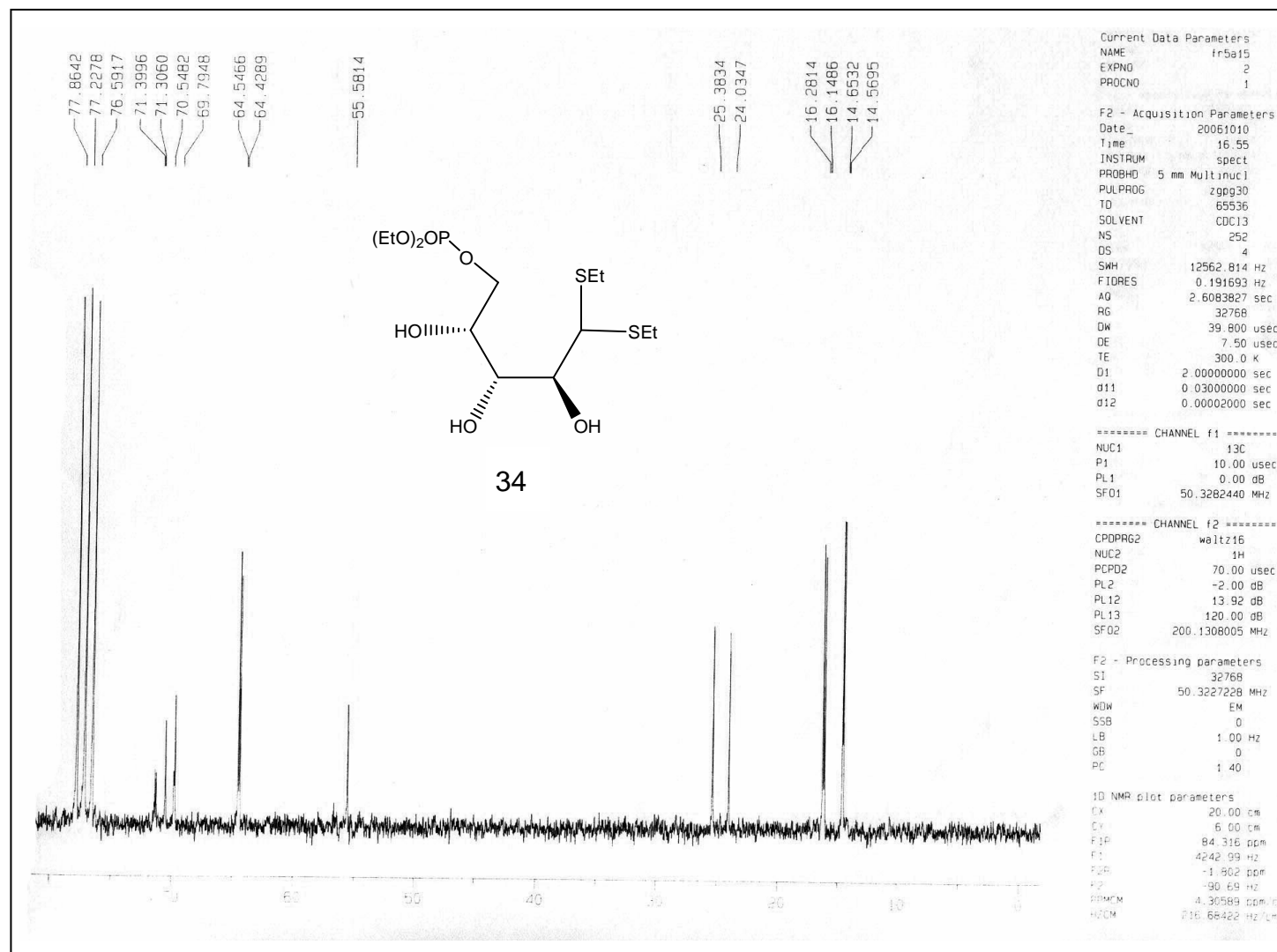


Figura 50 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 34.

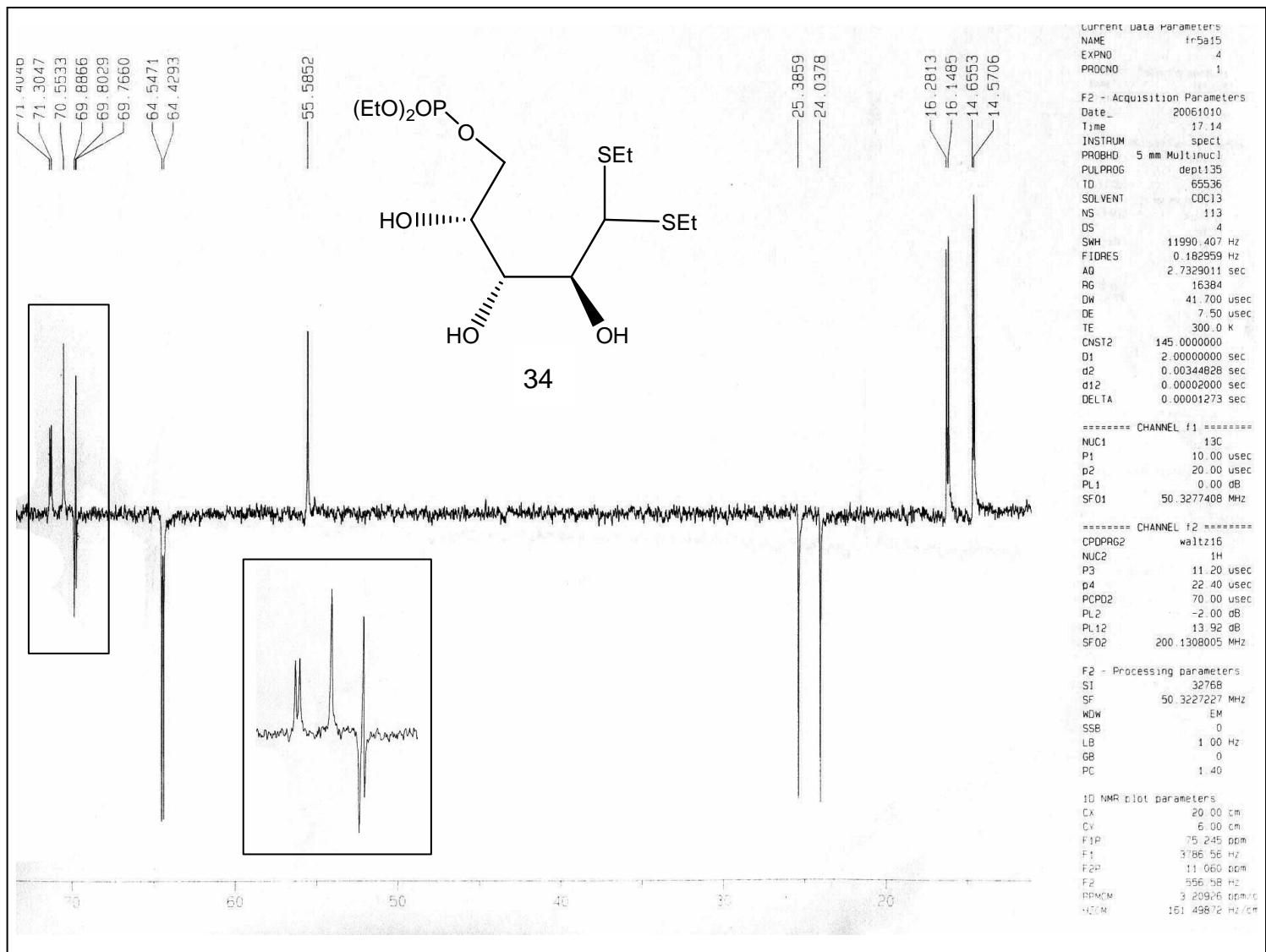


Figura 51 – Espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl₃) de **34**.

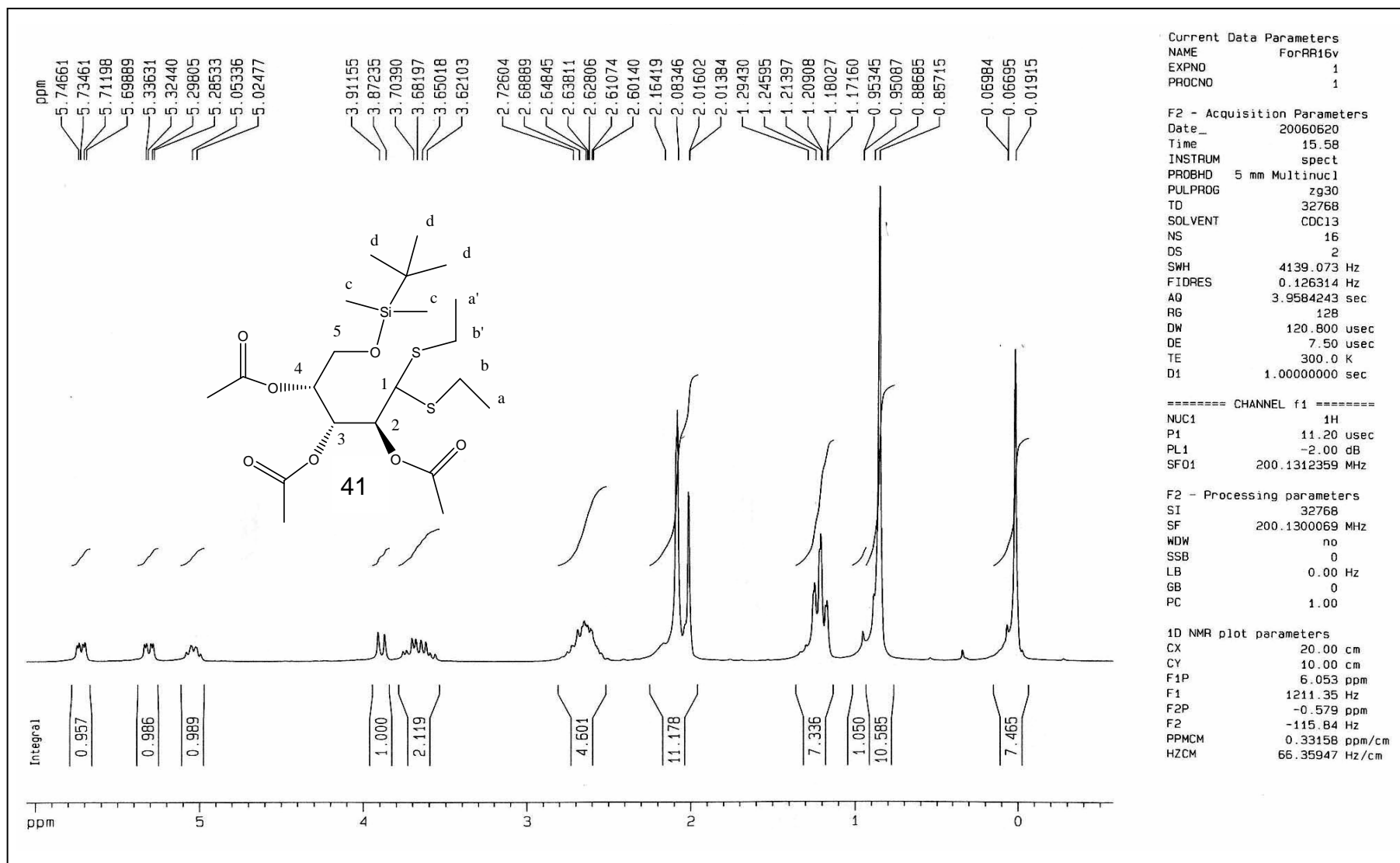


Figura 52 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 41.

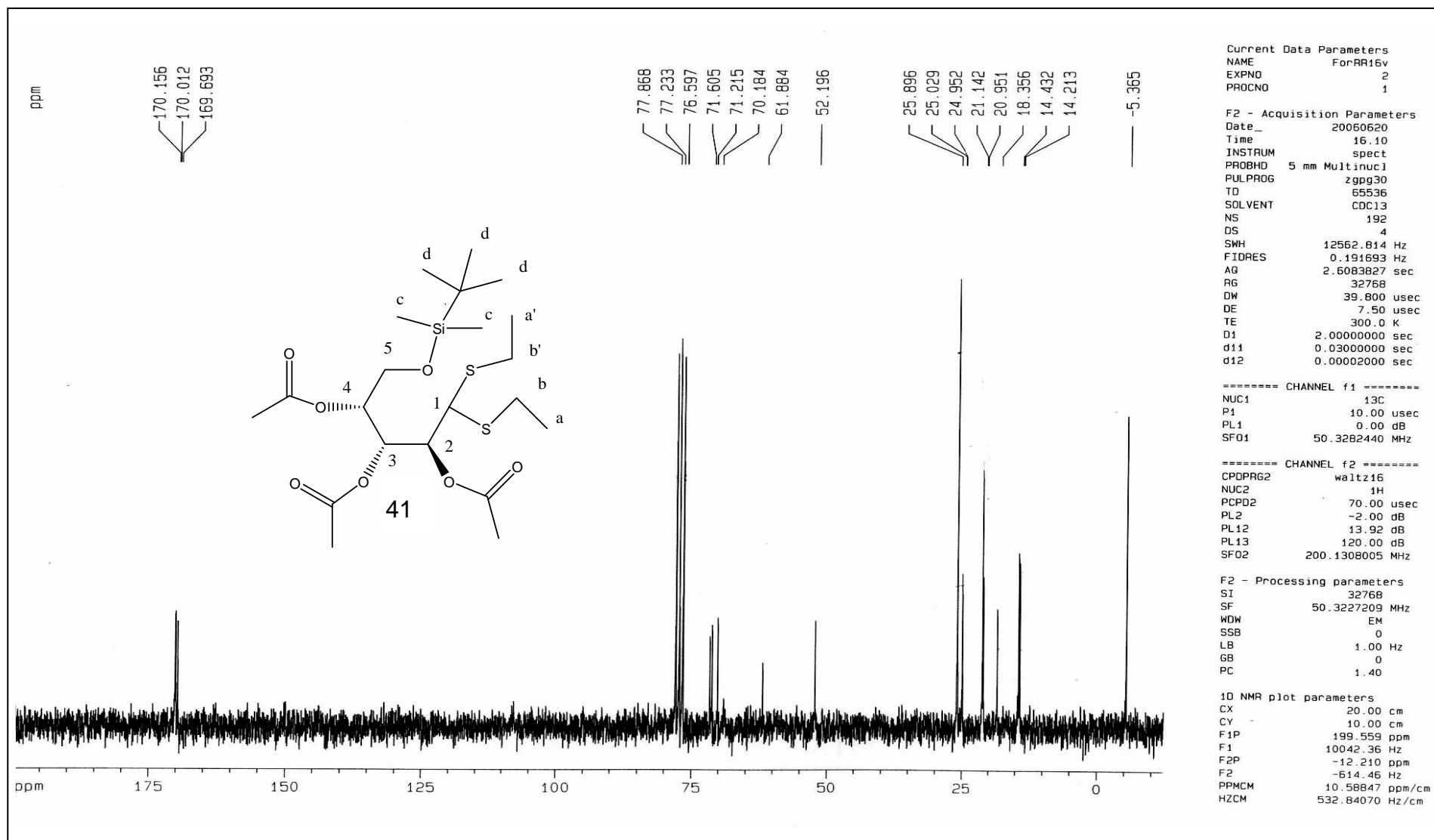


Figura 53 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 41.

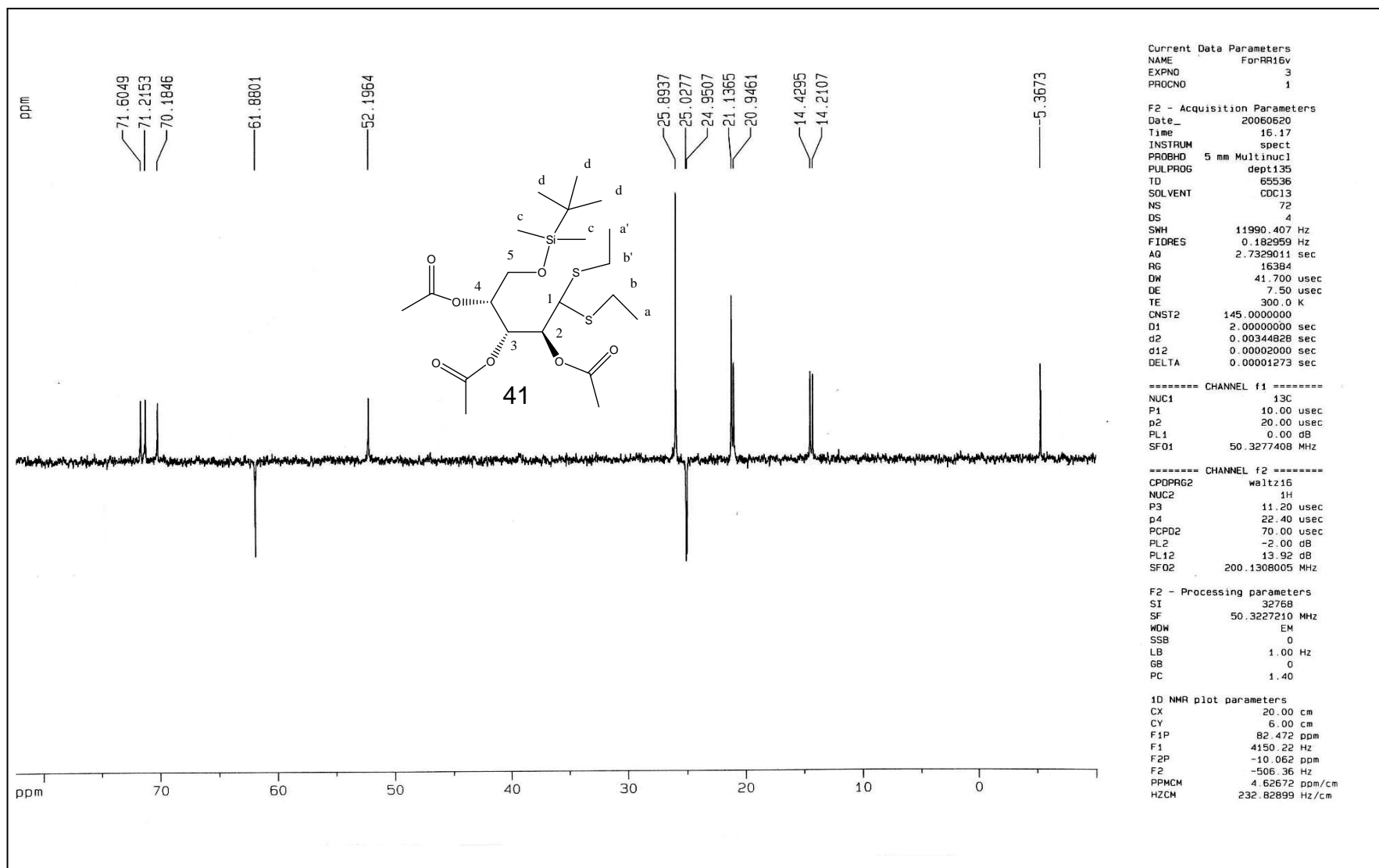


Figura 54 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de 41.

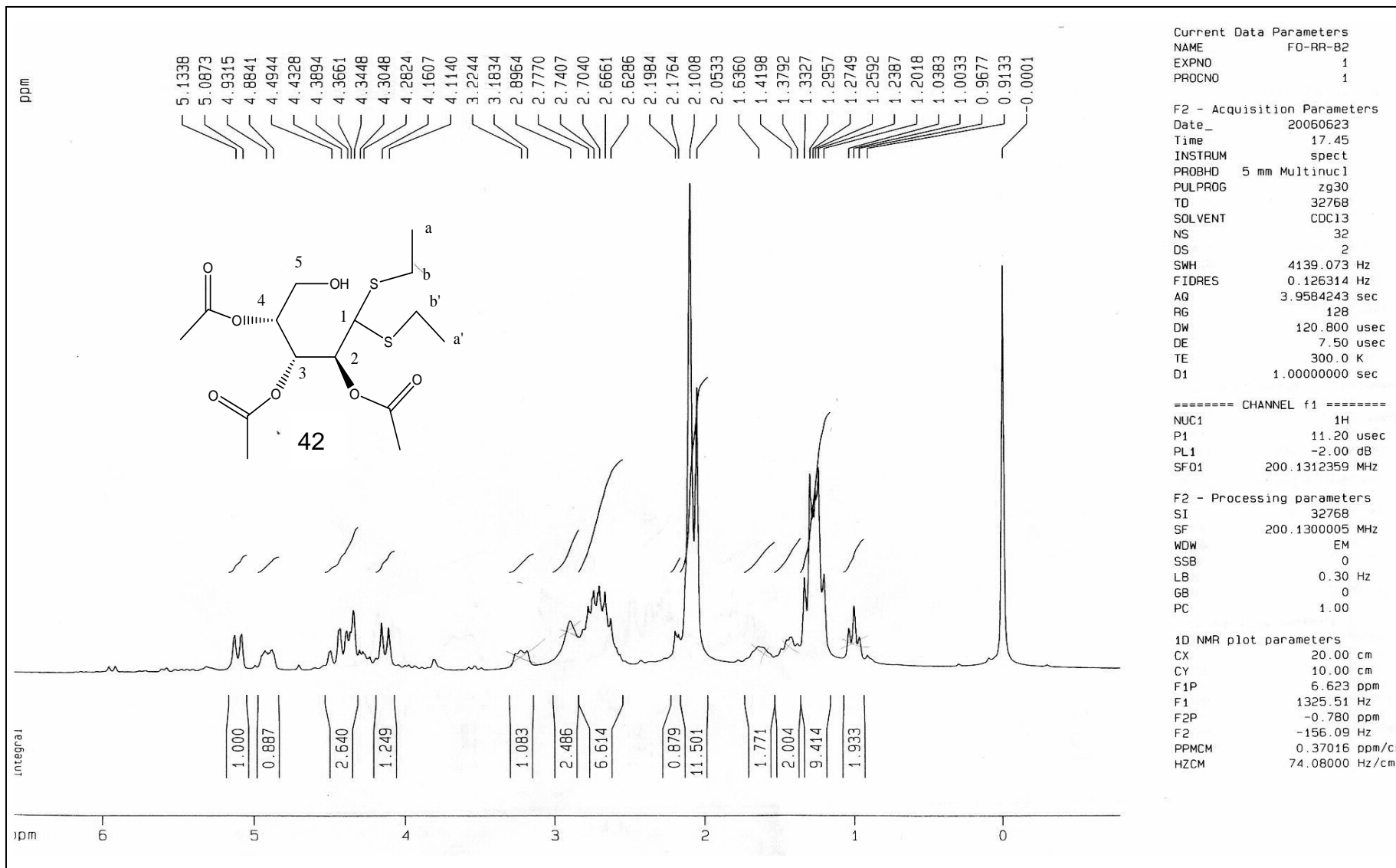


Figura 55 – Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de 42.

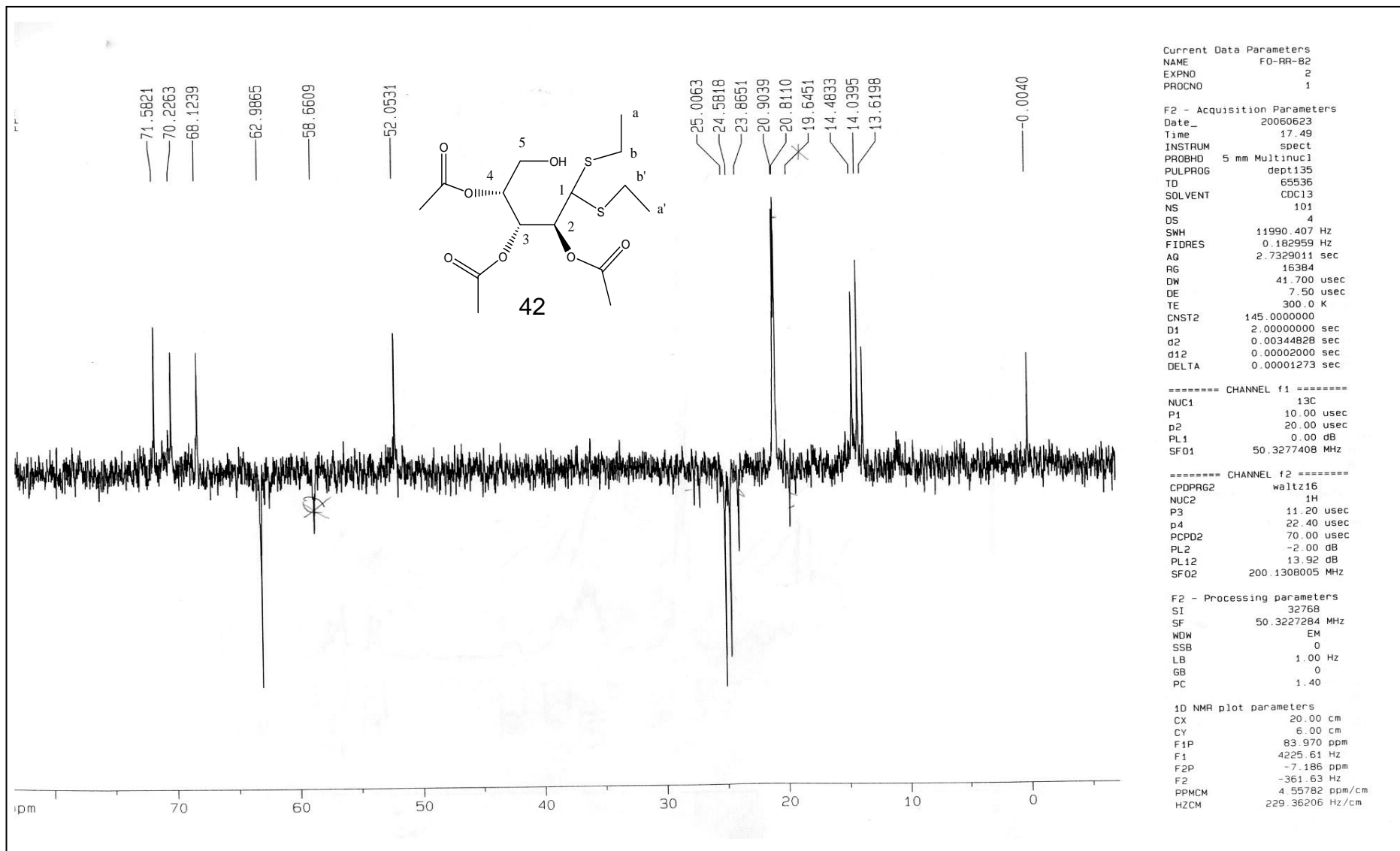


Figura 56 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl_3) de 42.

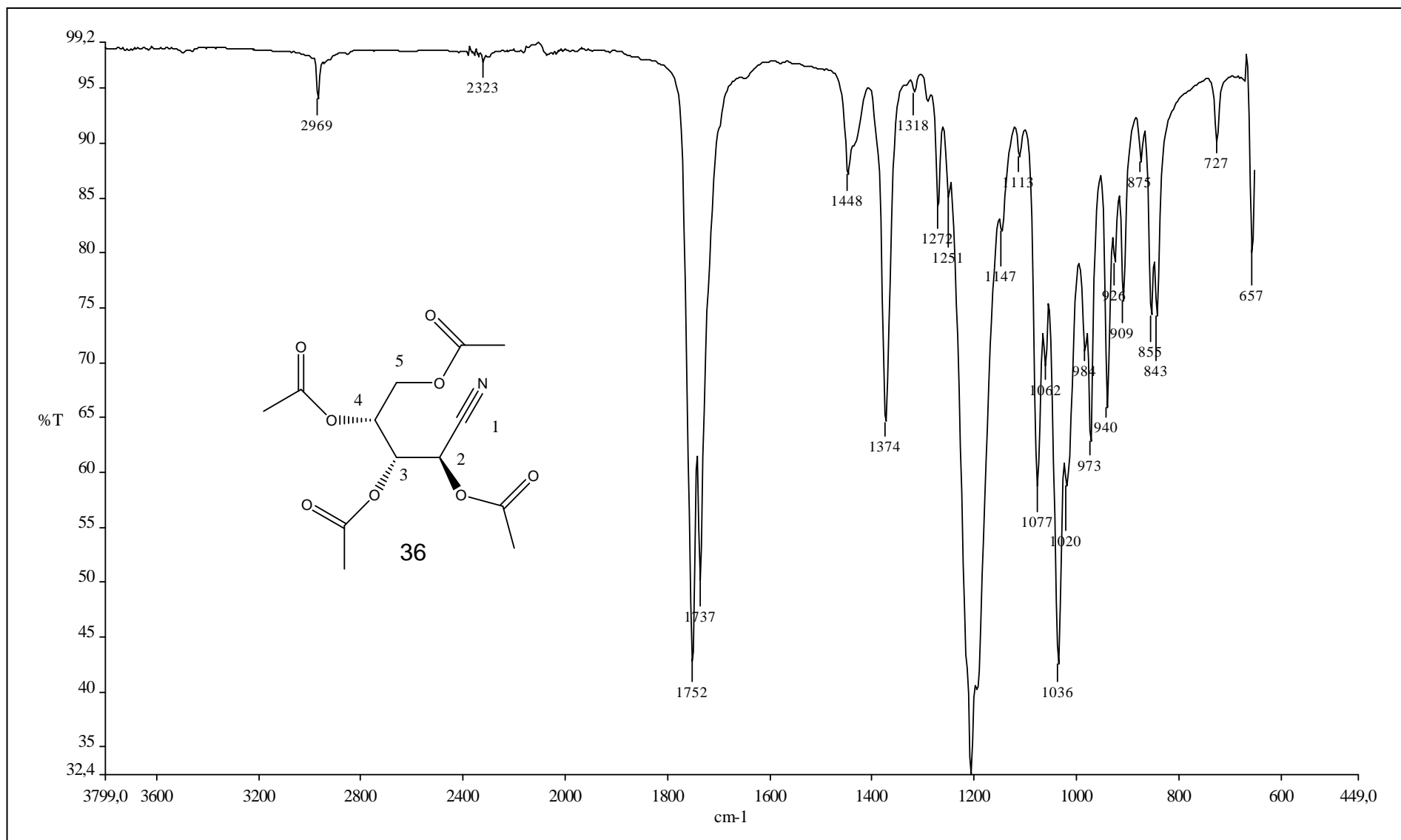


Figura 57 - Espectro no IV de 36.

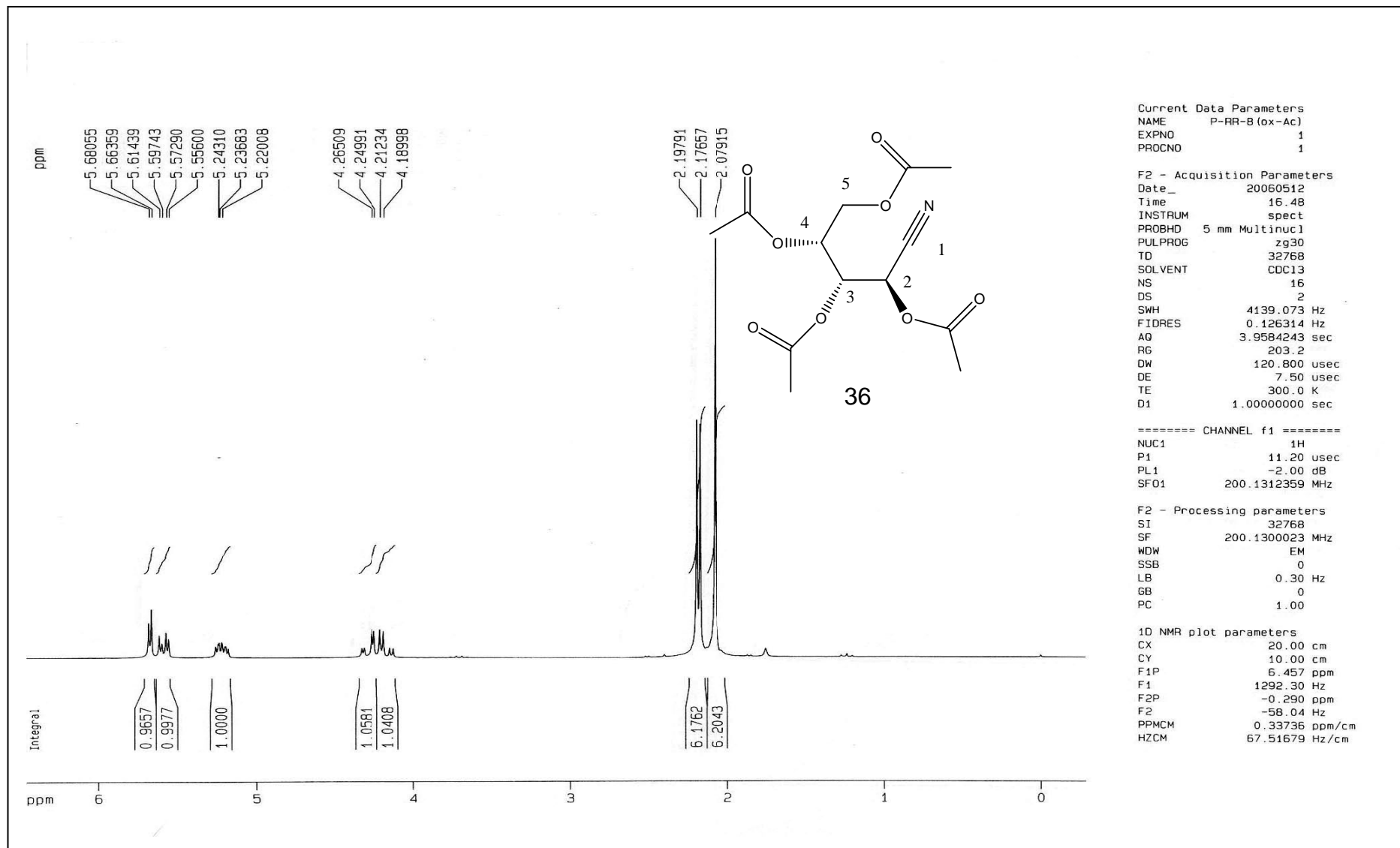


Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **36**.

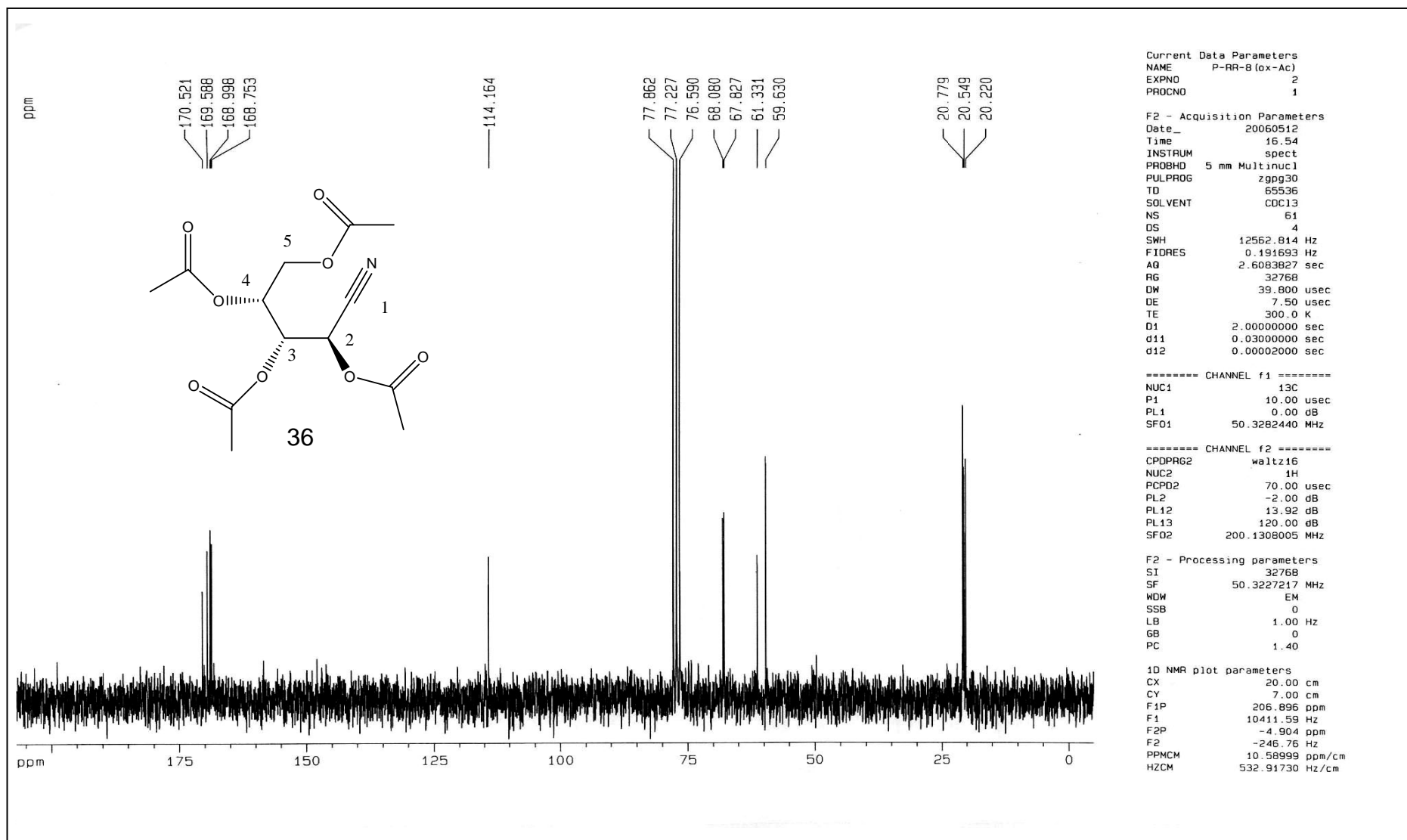


Figura 59 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 36.

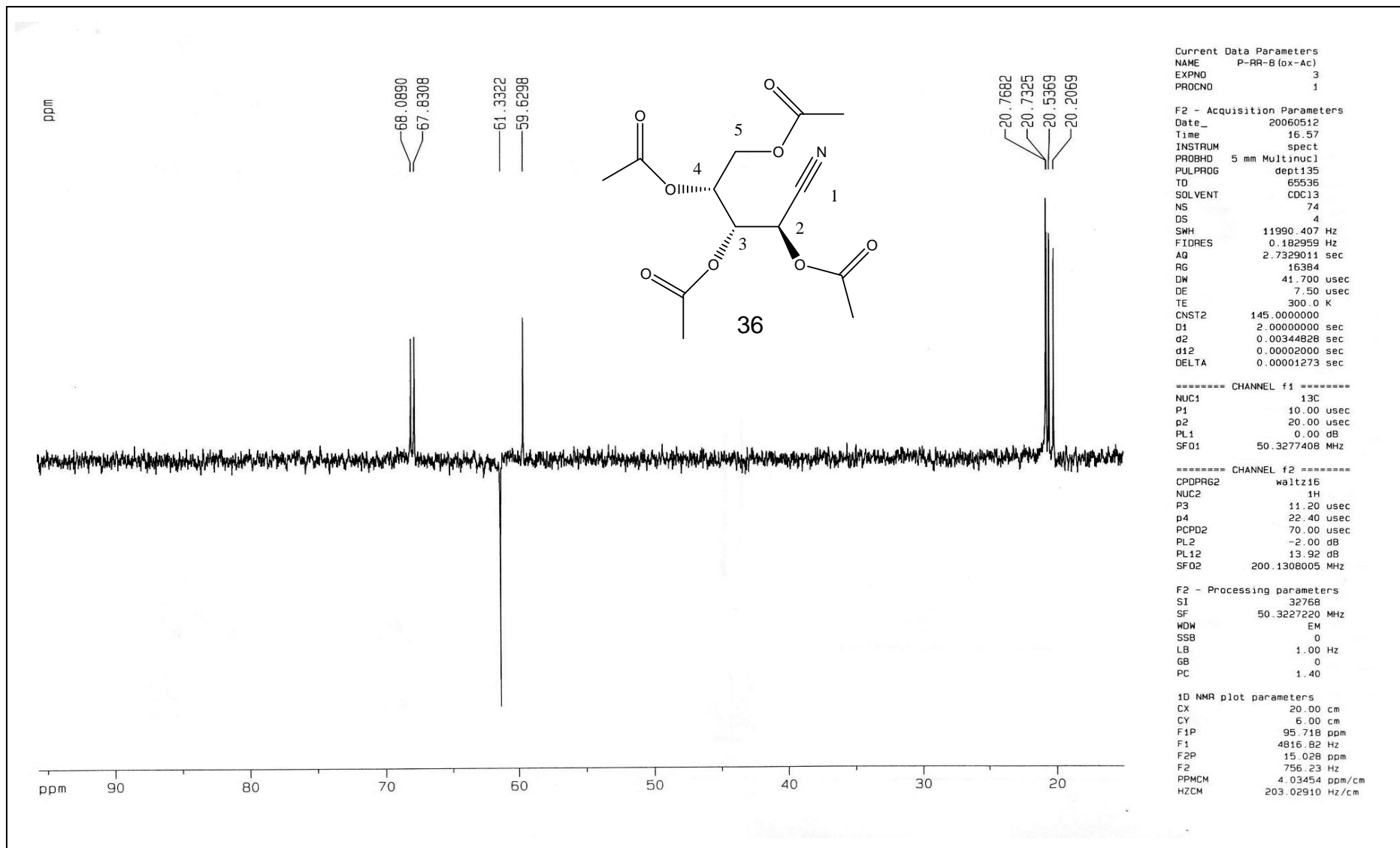


Figura 60 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl₃) de 36.

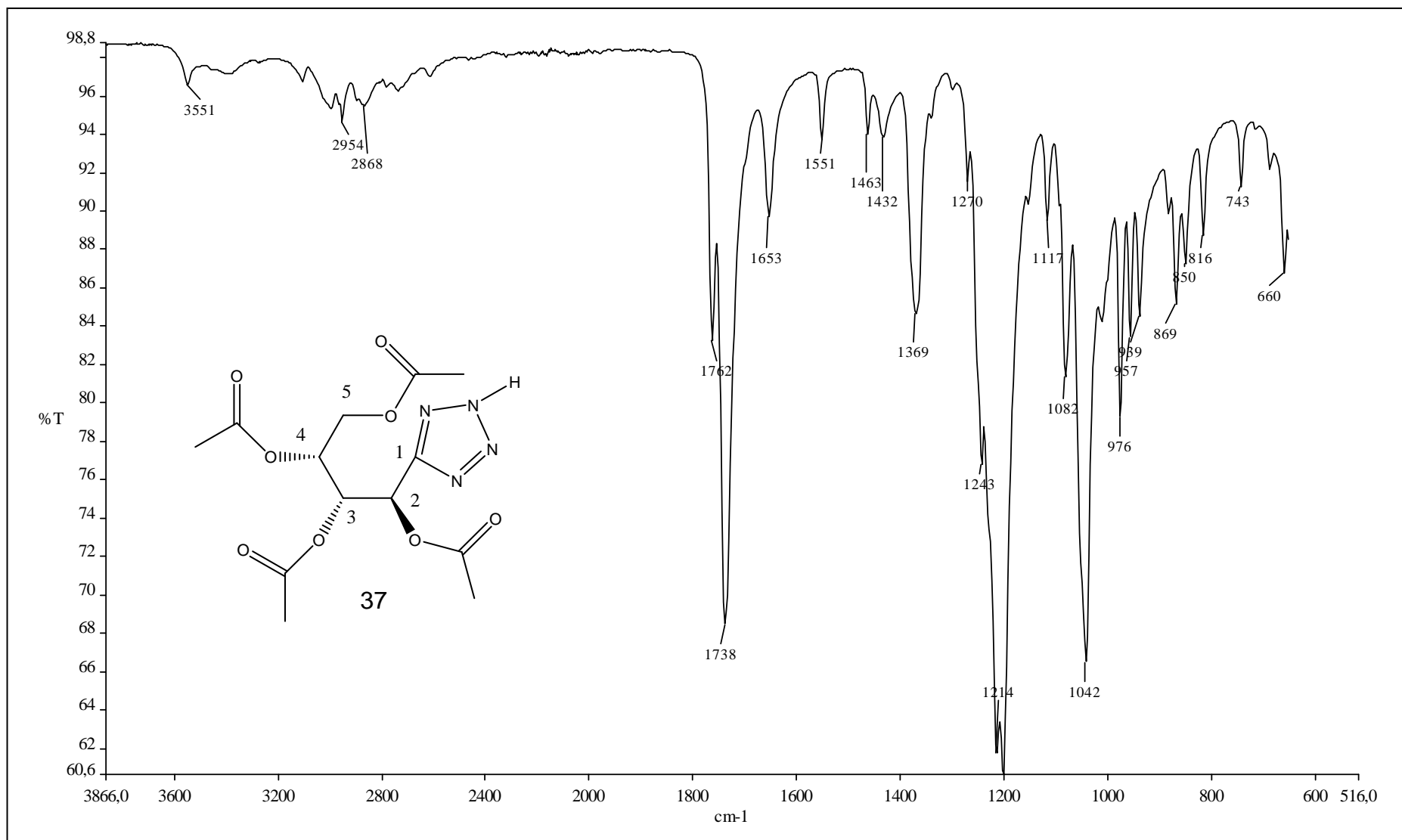


Figura 61 – Espectro no IV de 37.

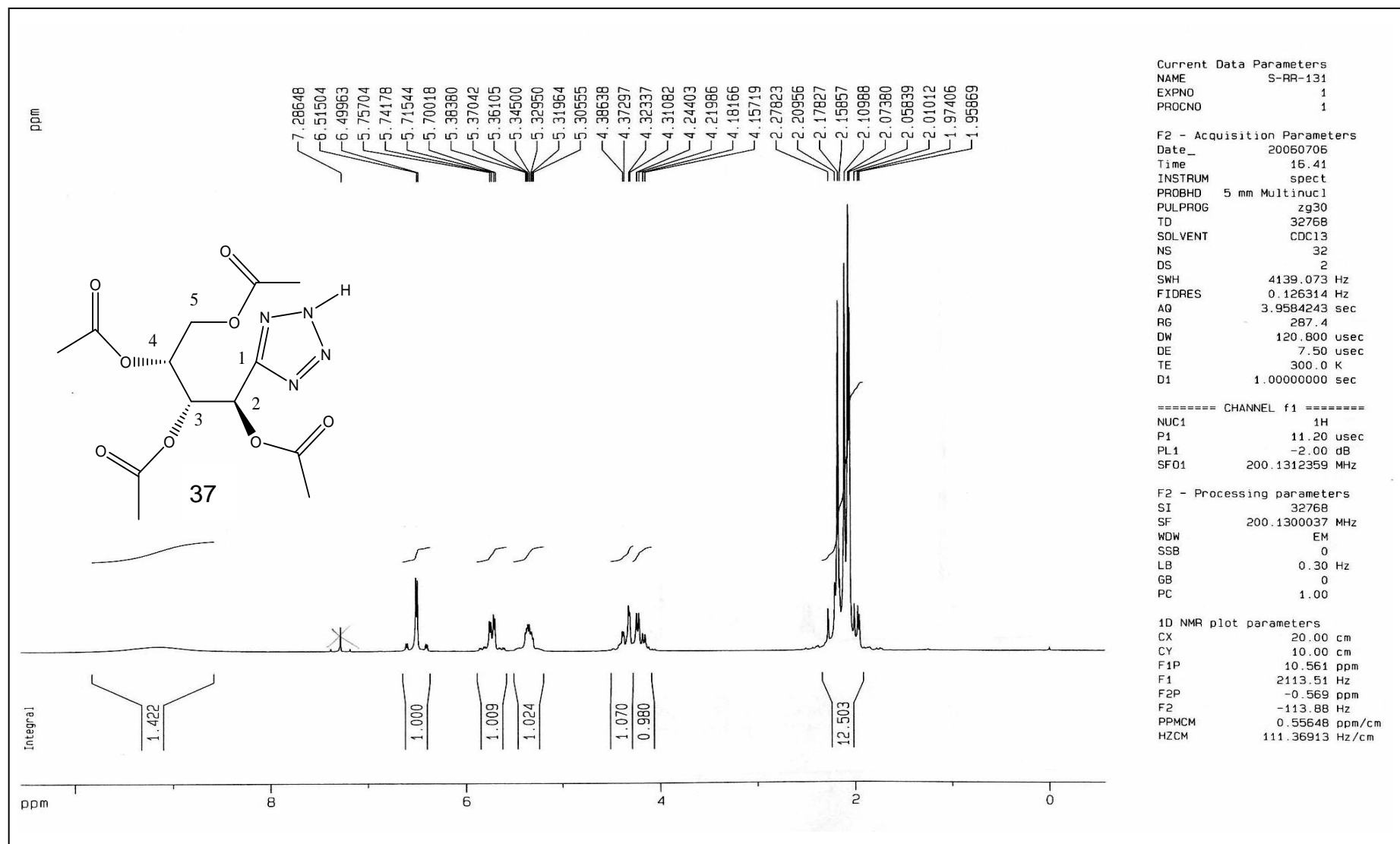


Figura 62 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 37.

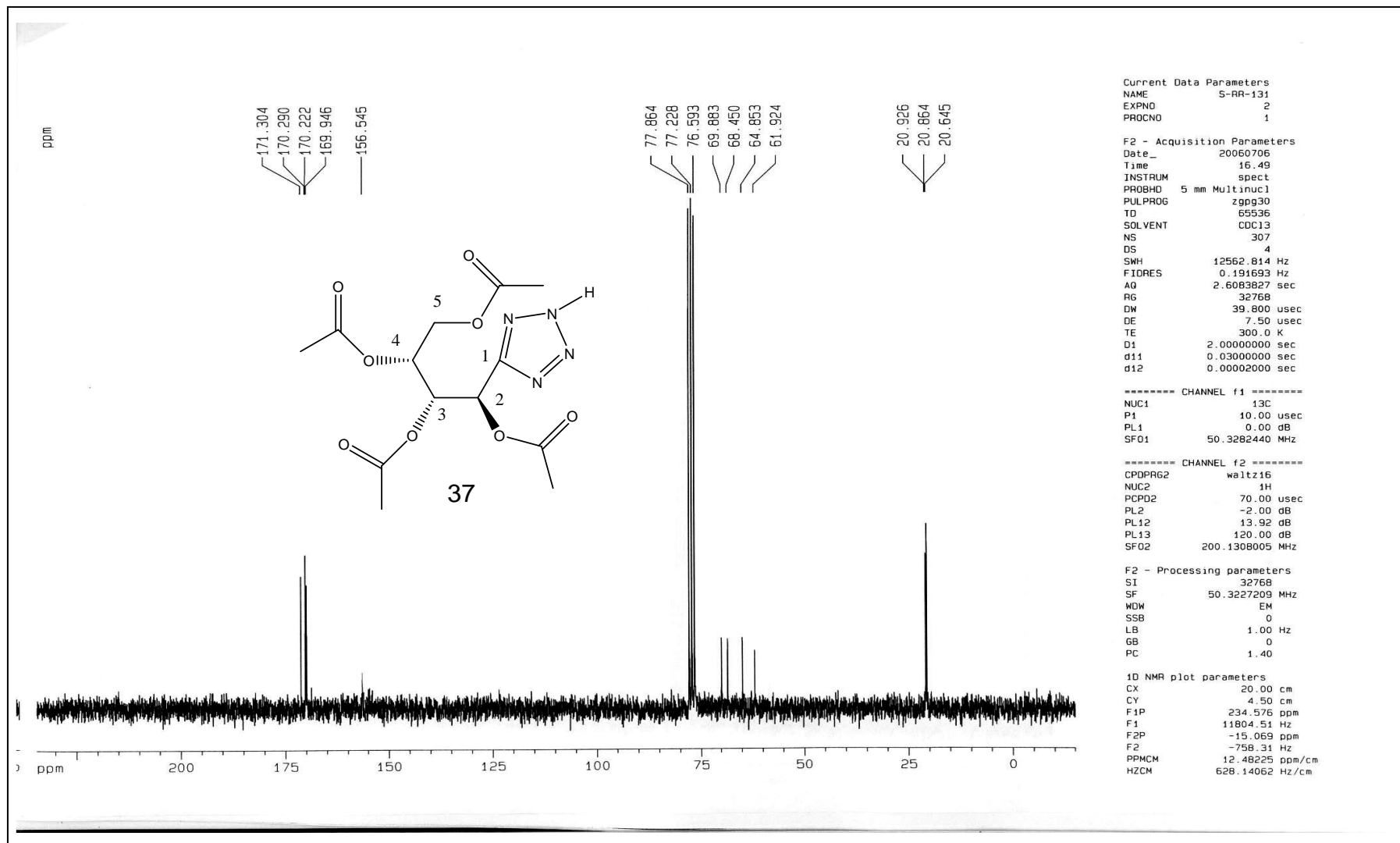


Figura 63 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 37.

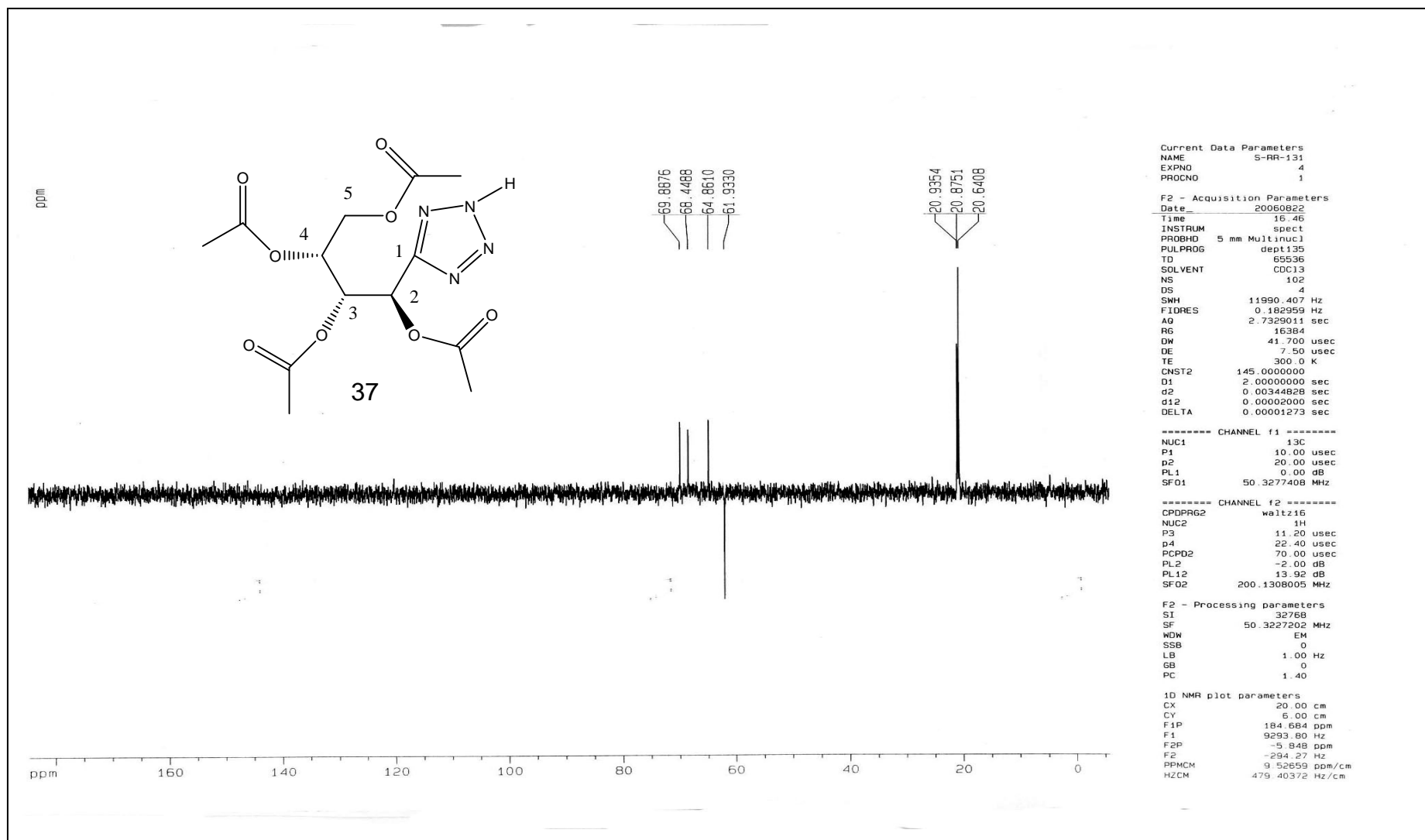


Figura 64 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl₃) de 37.

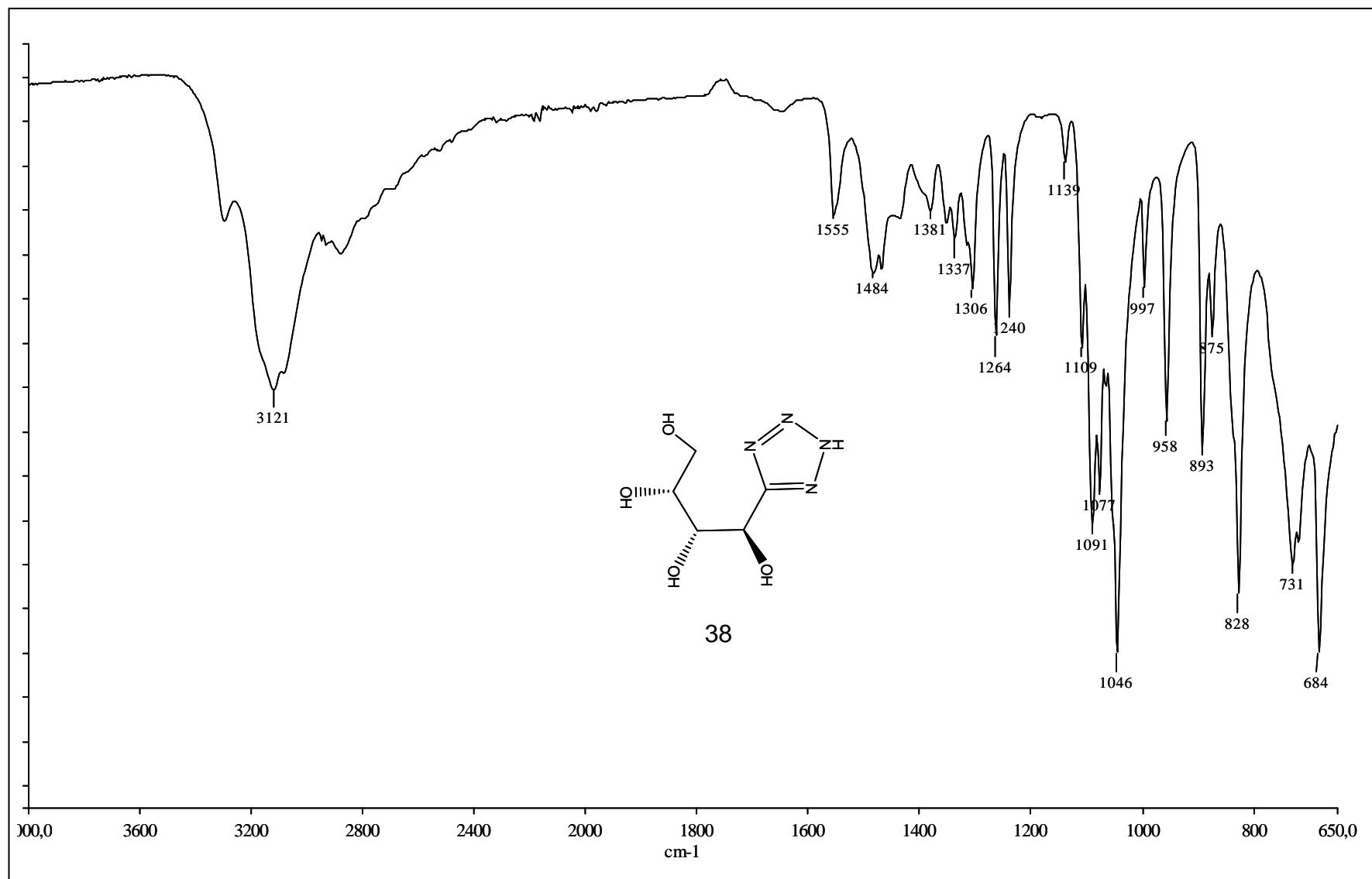


Figura 65 – Espectro no IV de 38.

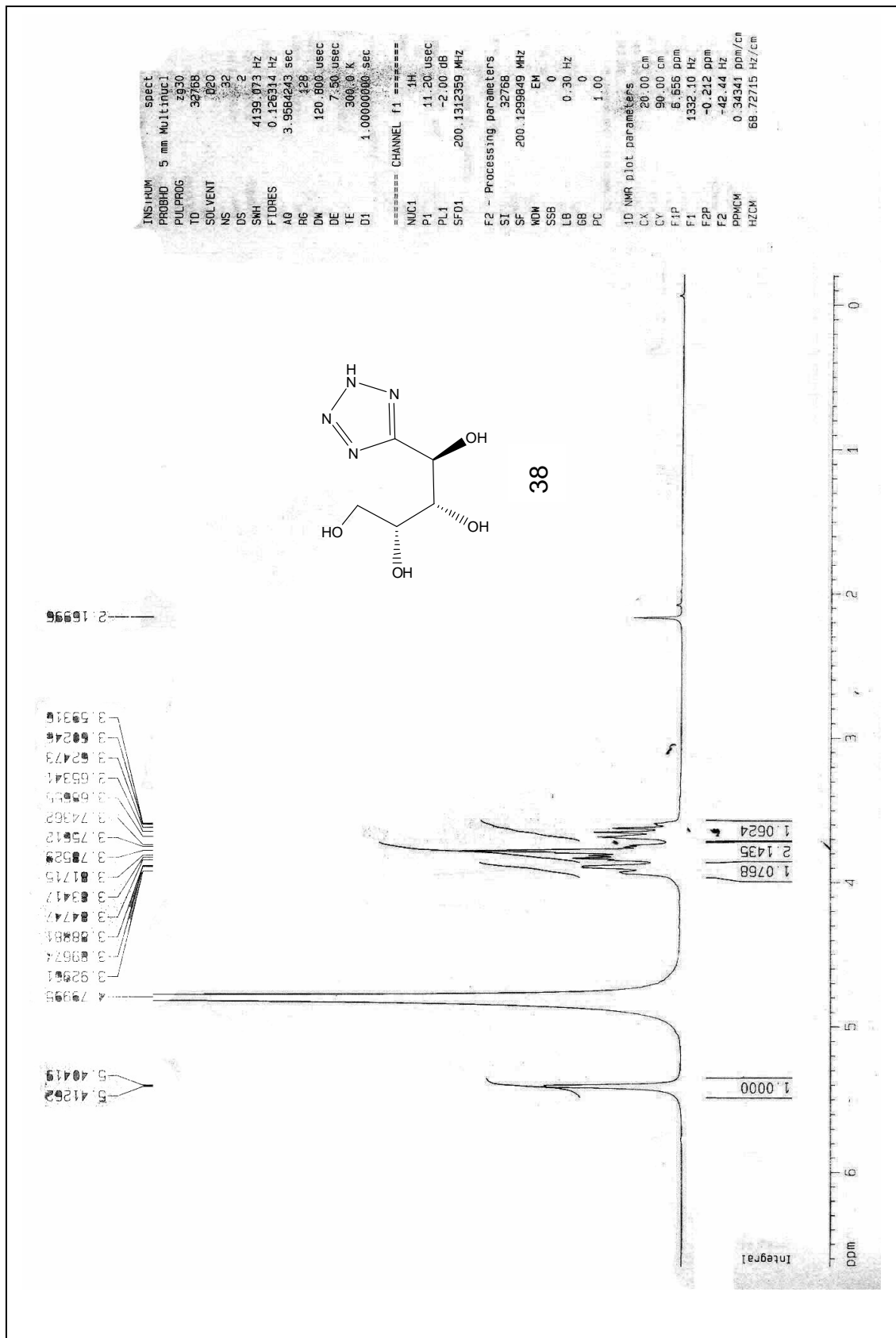


Figura 66 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, D_2O) de 38.

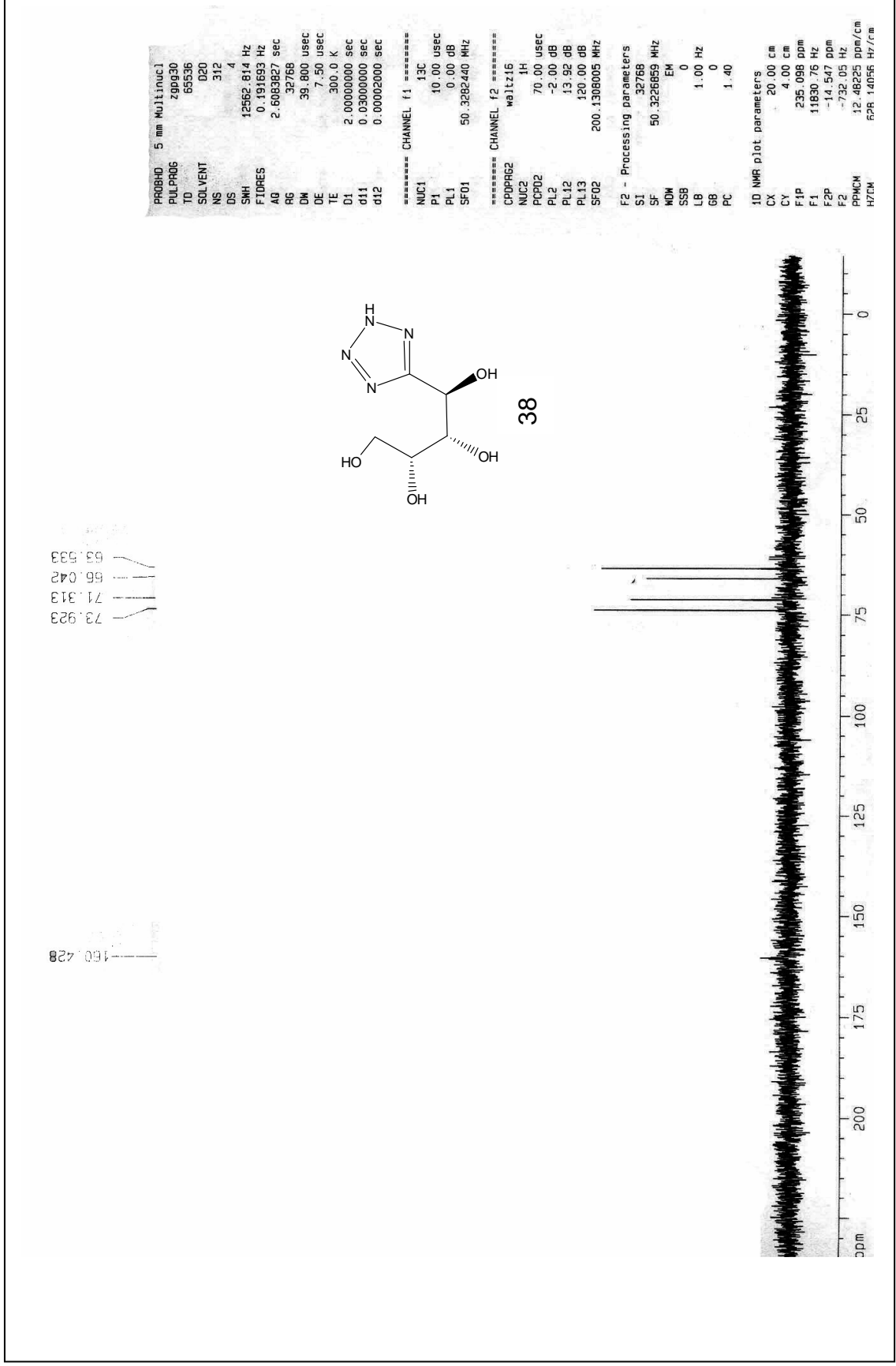


Figura 67 – Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, D₂O) de **38**.

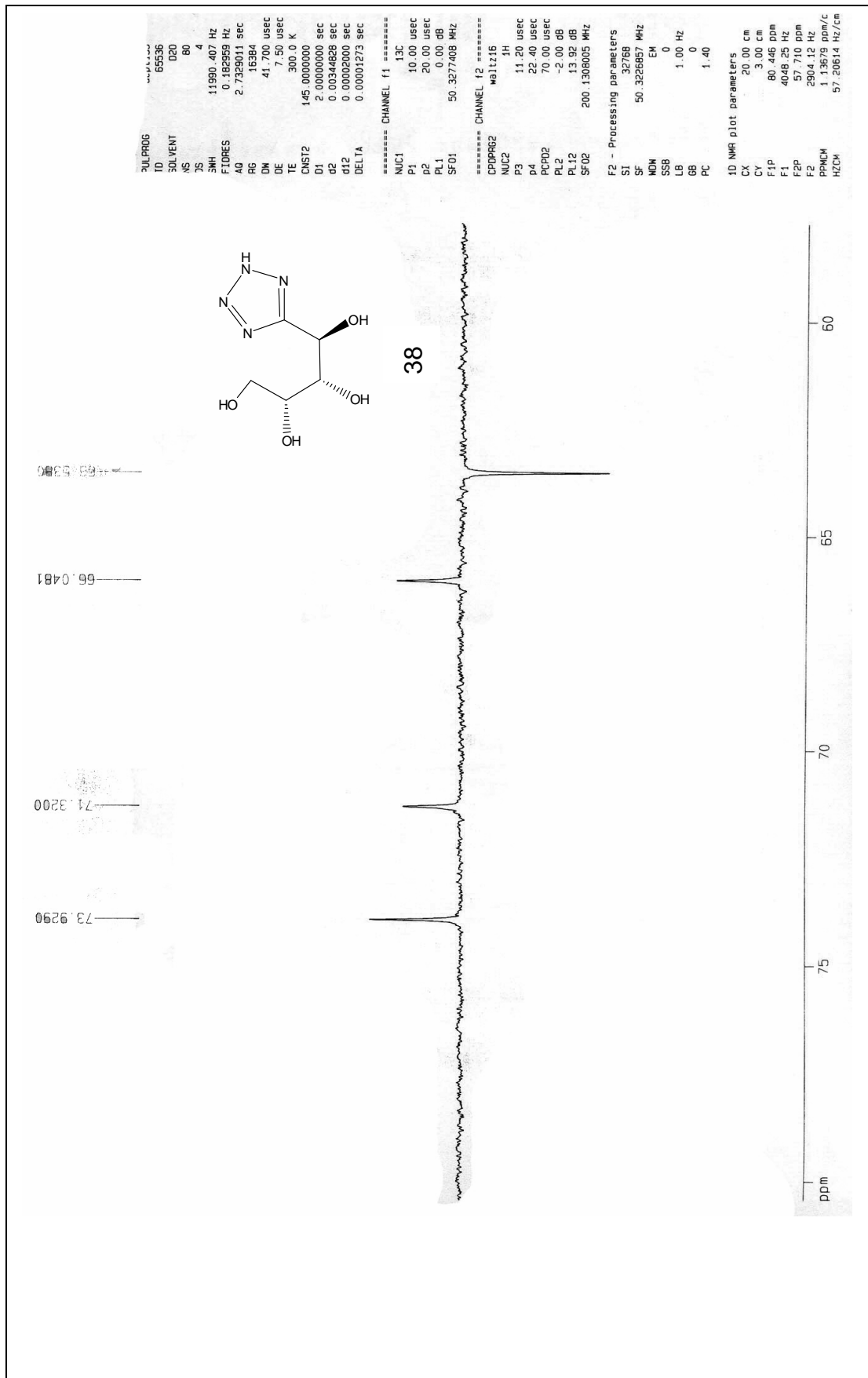


Figura 68 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, D₂O) de **38**.

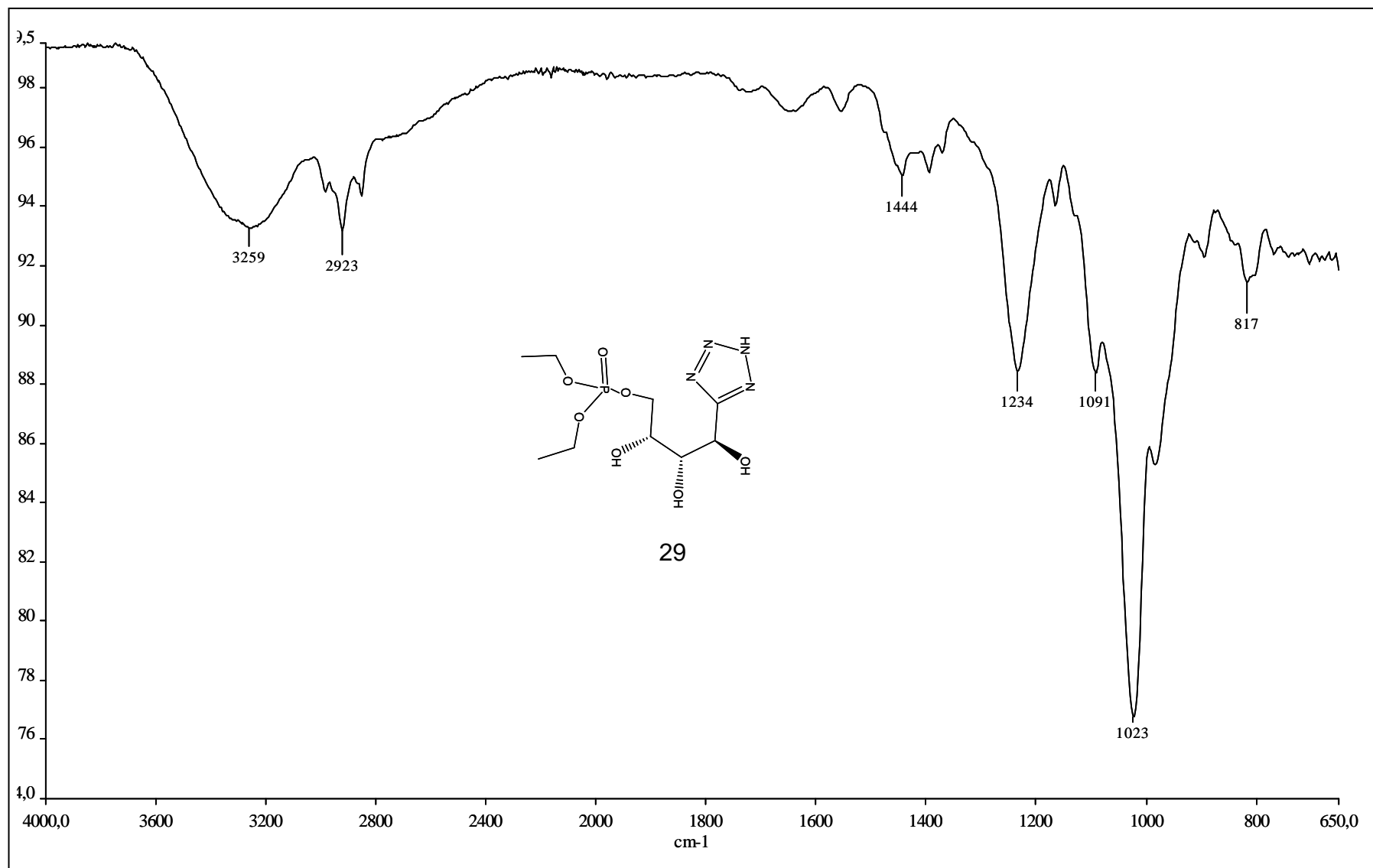


Figura 69 – Espectro no IV de 29.

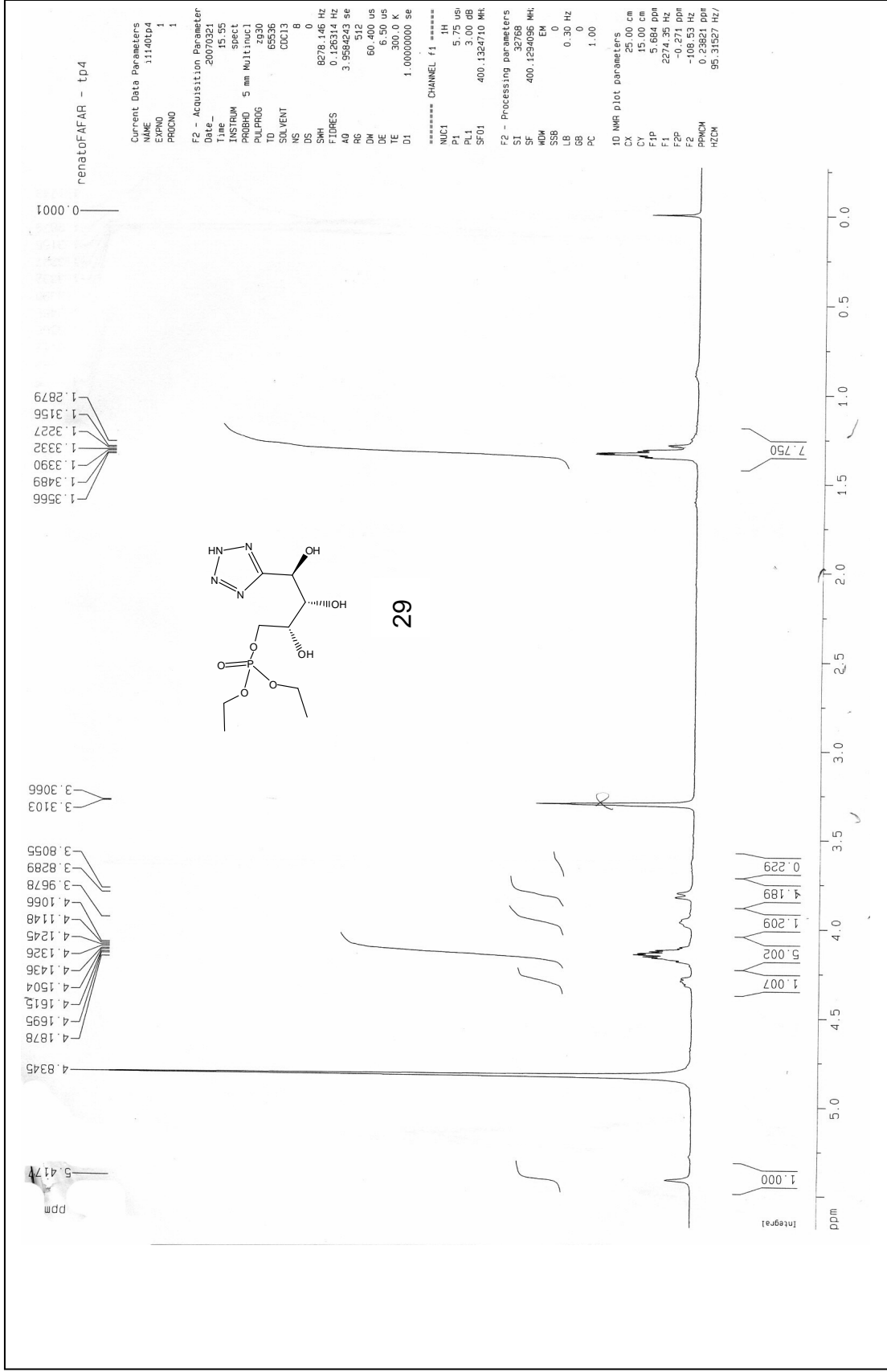


Figura 70 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) de 29.

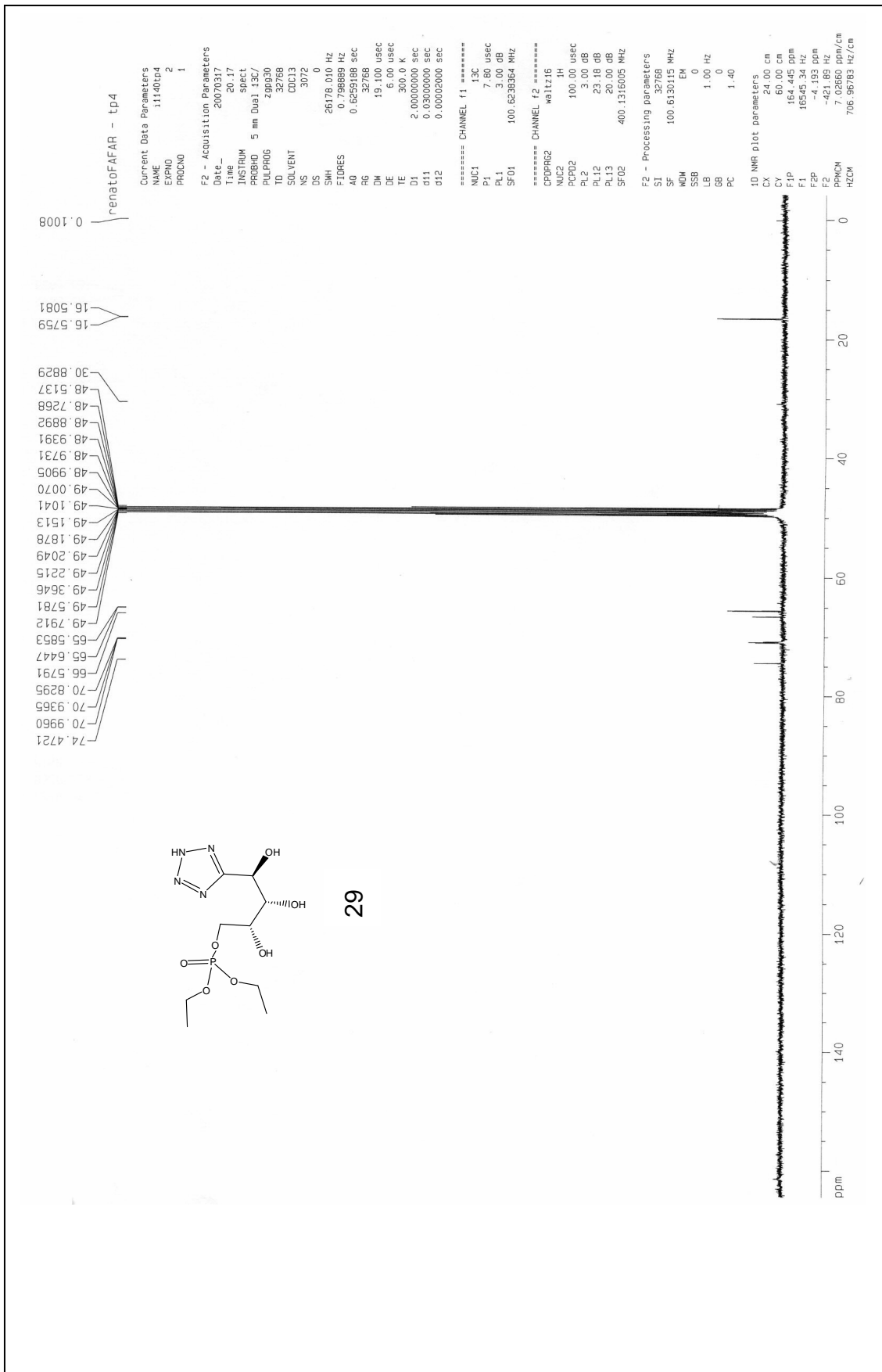


Figura 71 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de 29.

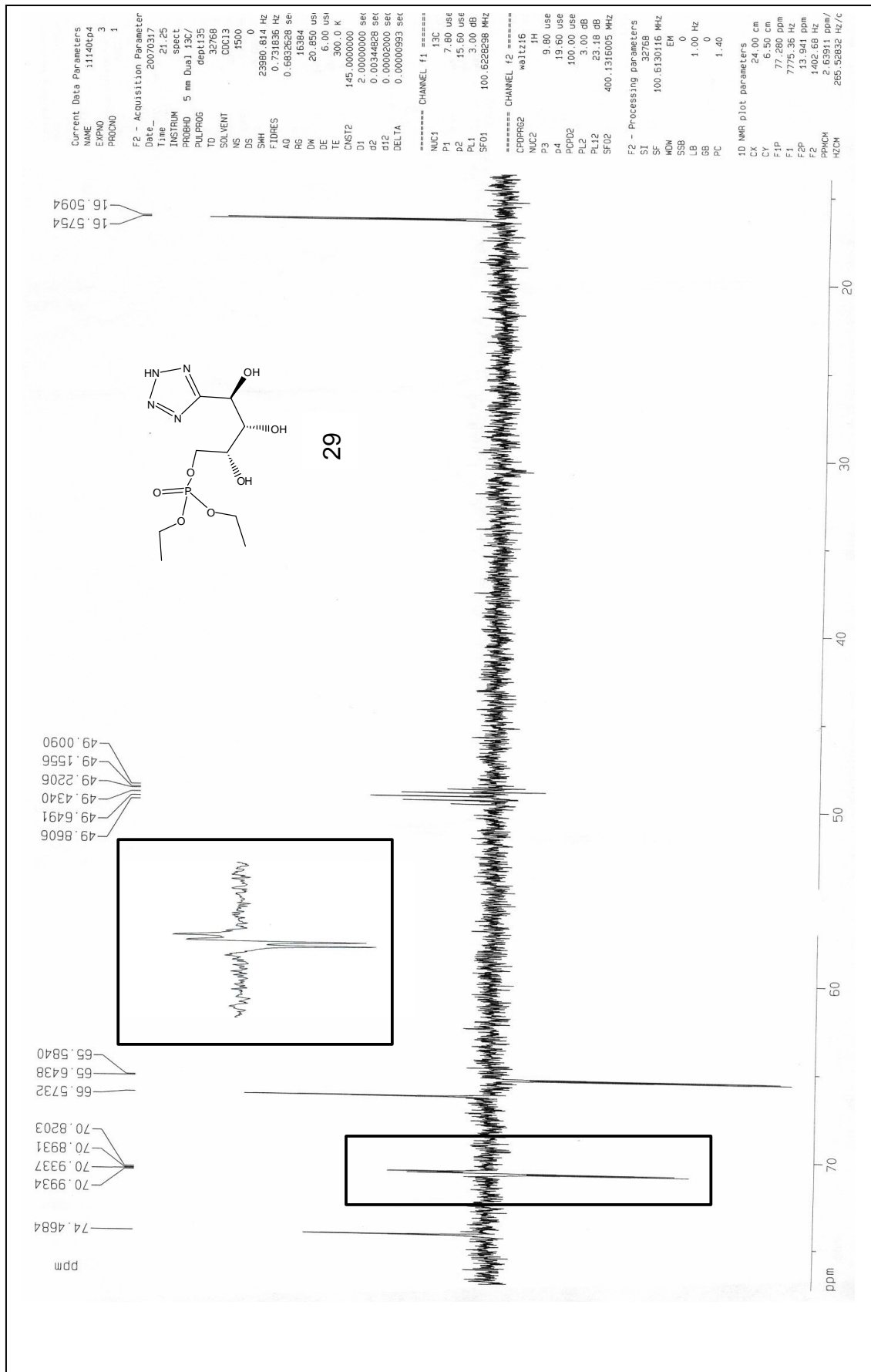


Figura 72 – Sub-espectro DEPT135 (100 MHz, CD₃OD) de 29.

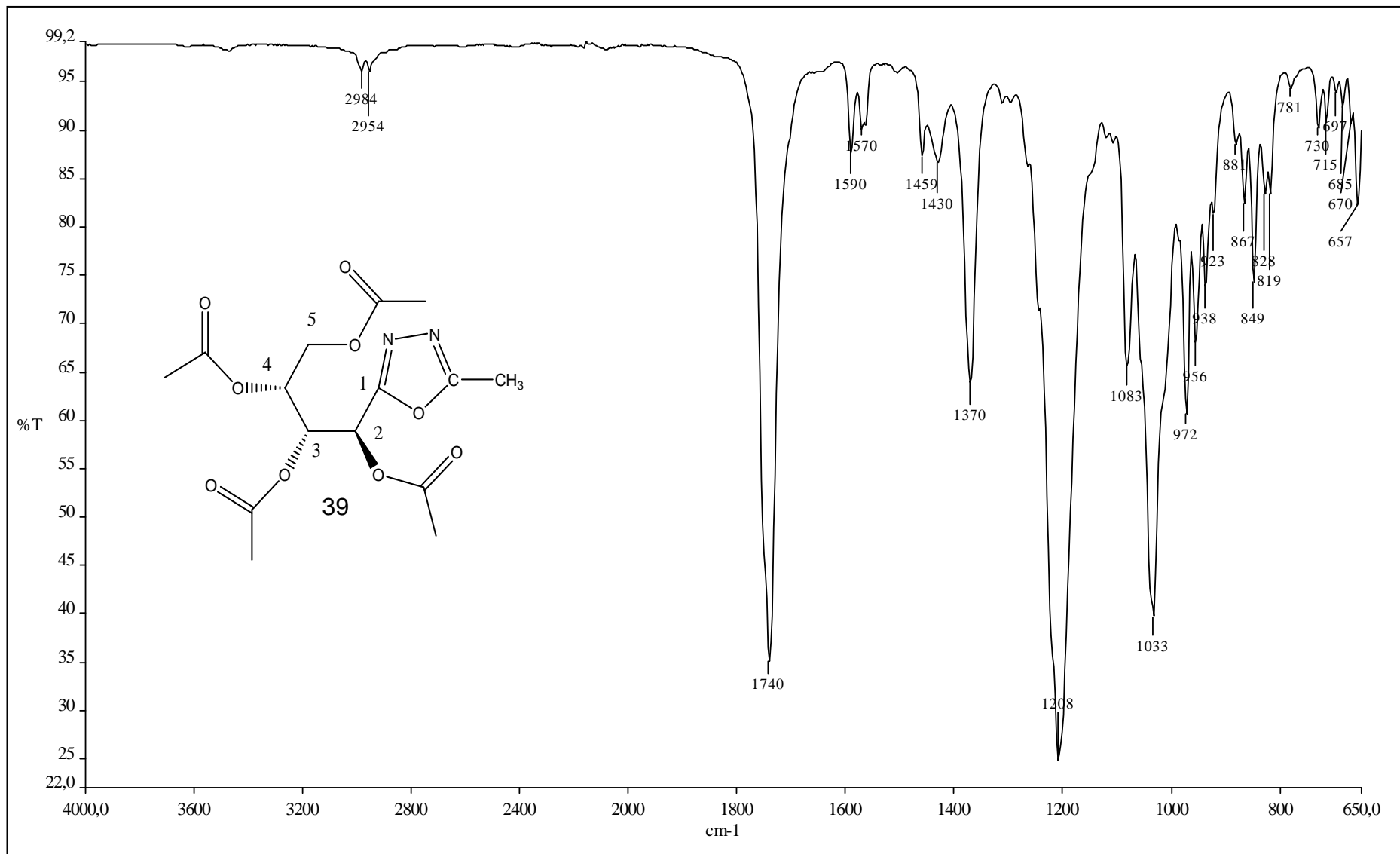


Figura 73 – Espectro no IV de 39.

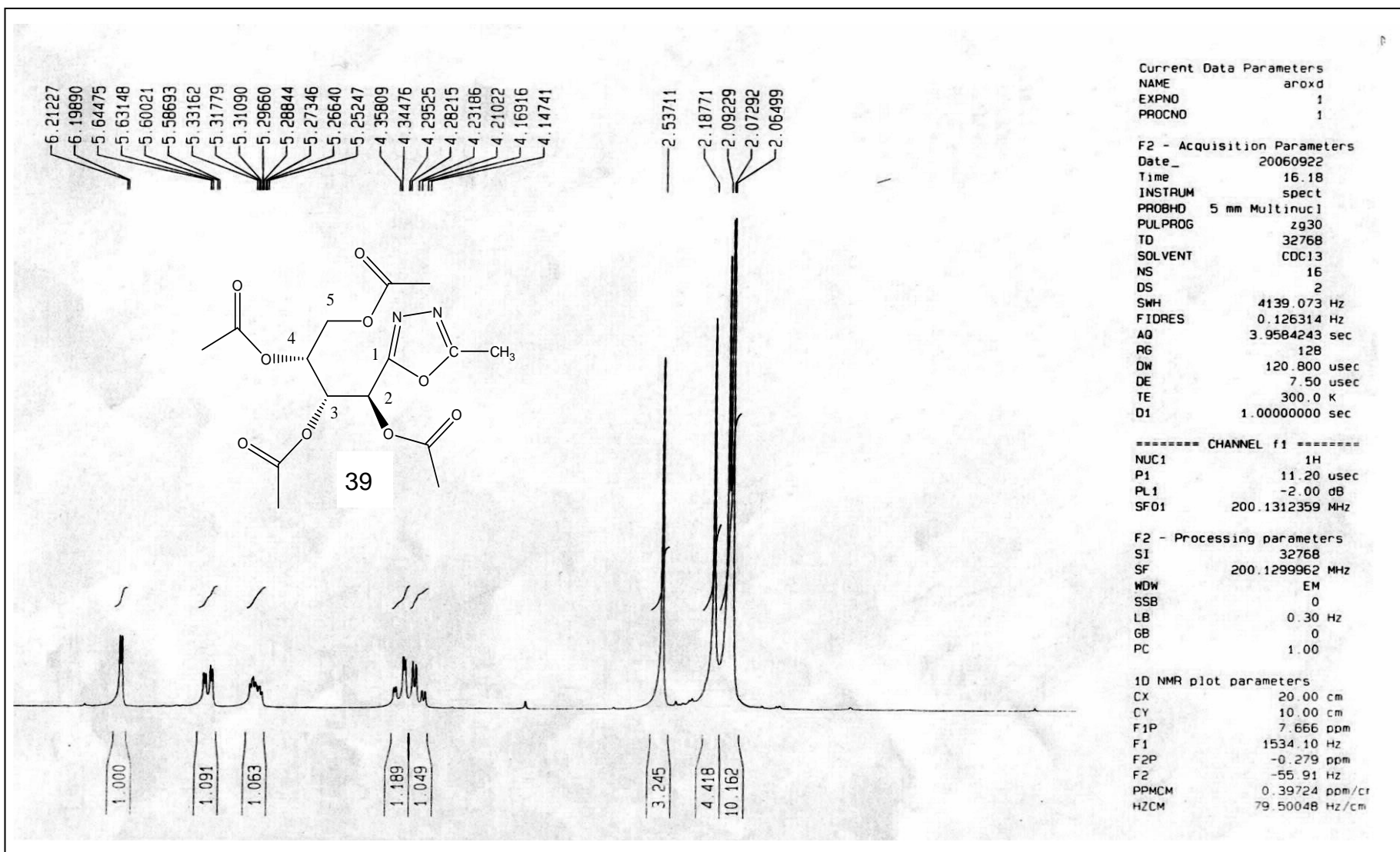


Figura 74 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **39**.

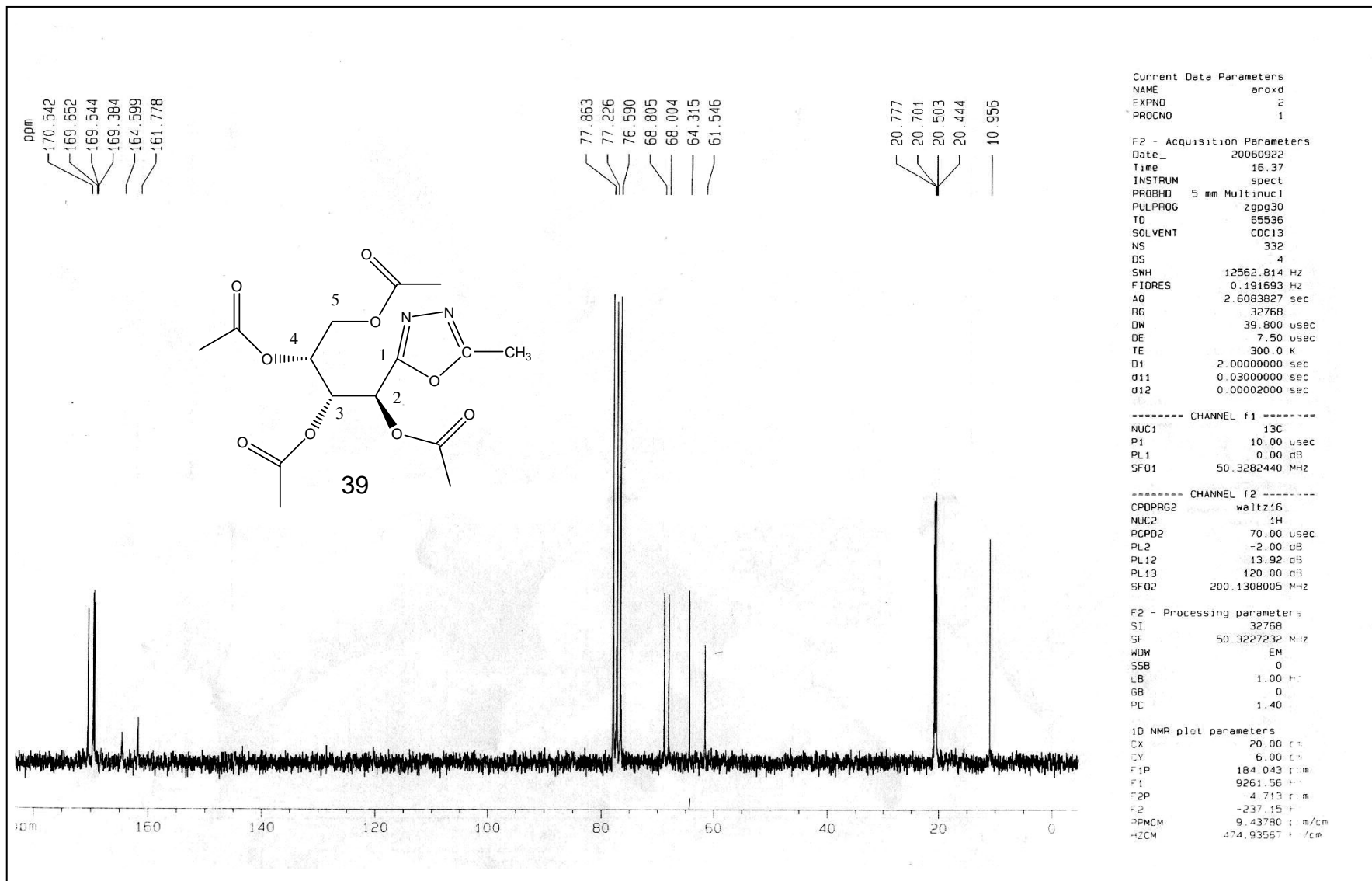


Figura 75 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 39.

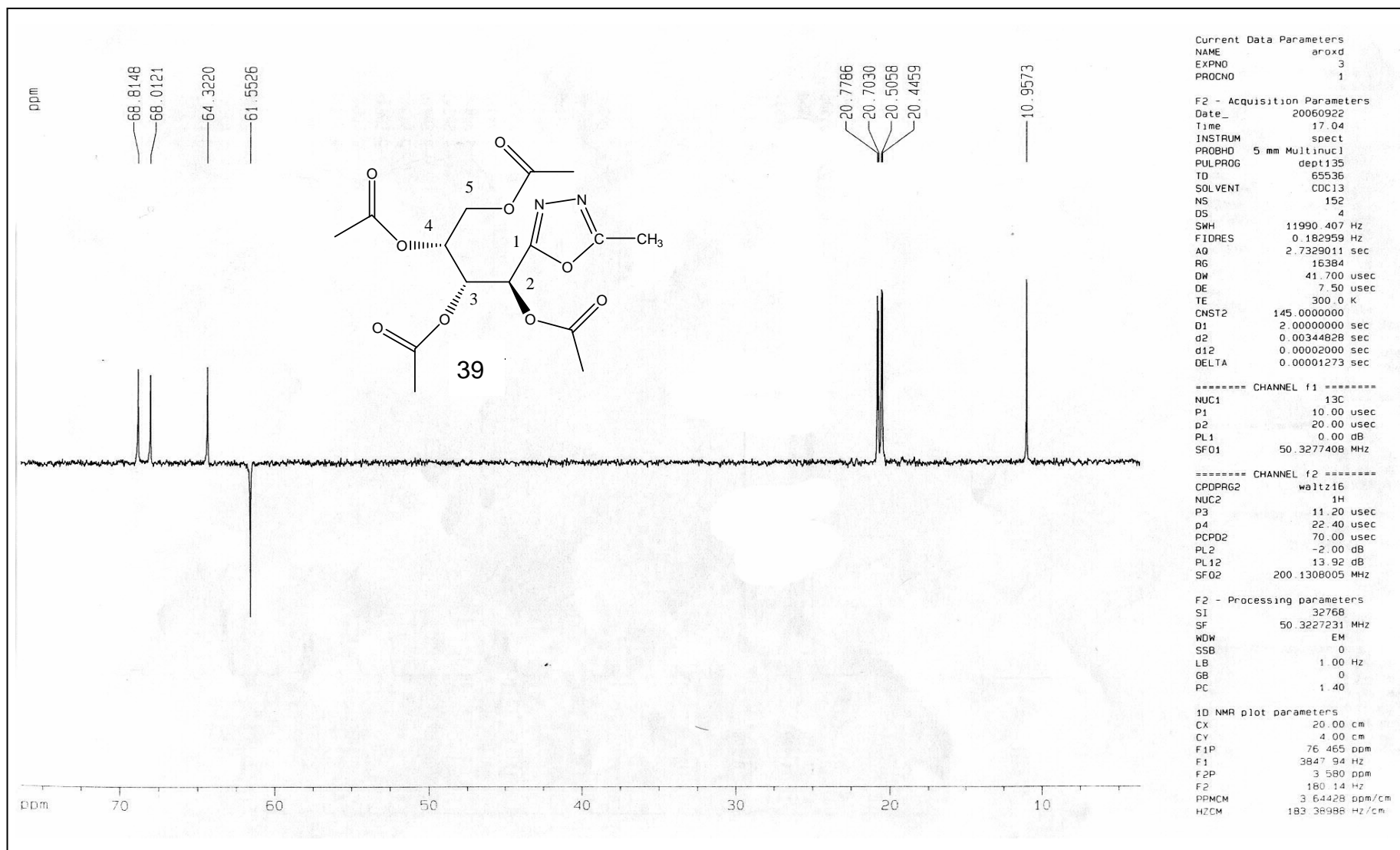


Figura 76 – Sub-espectro DEPT135 (50 MHz, CDCl₃) de 39.

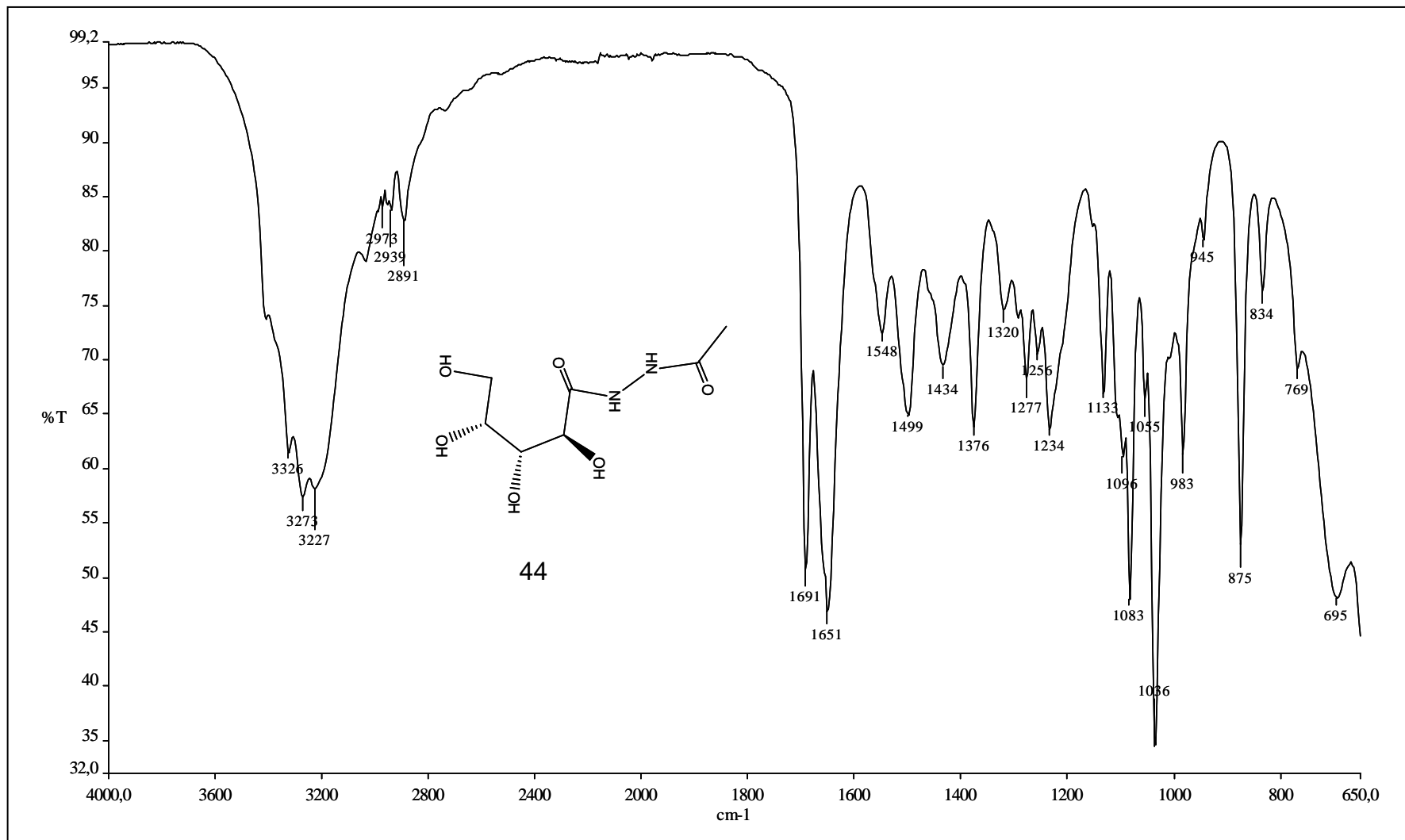


Figura 77 – Espectro no IV de 44.

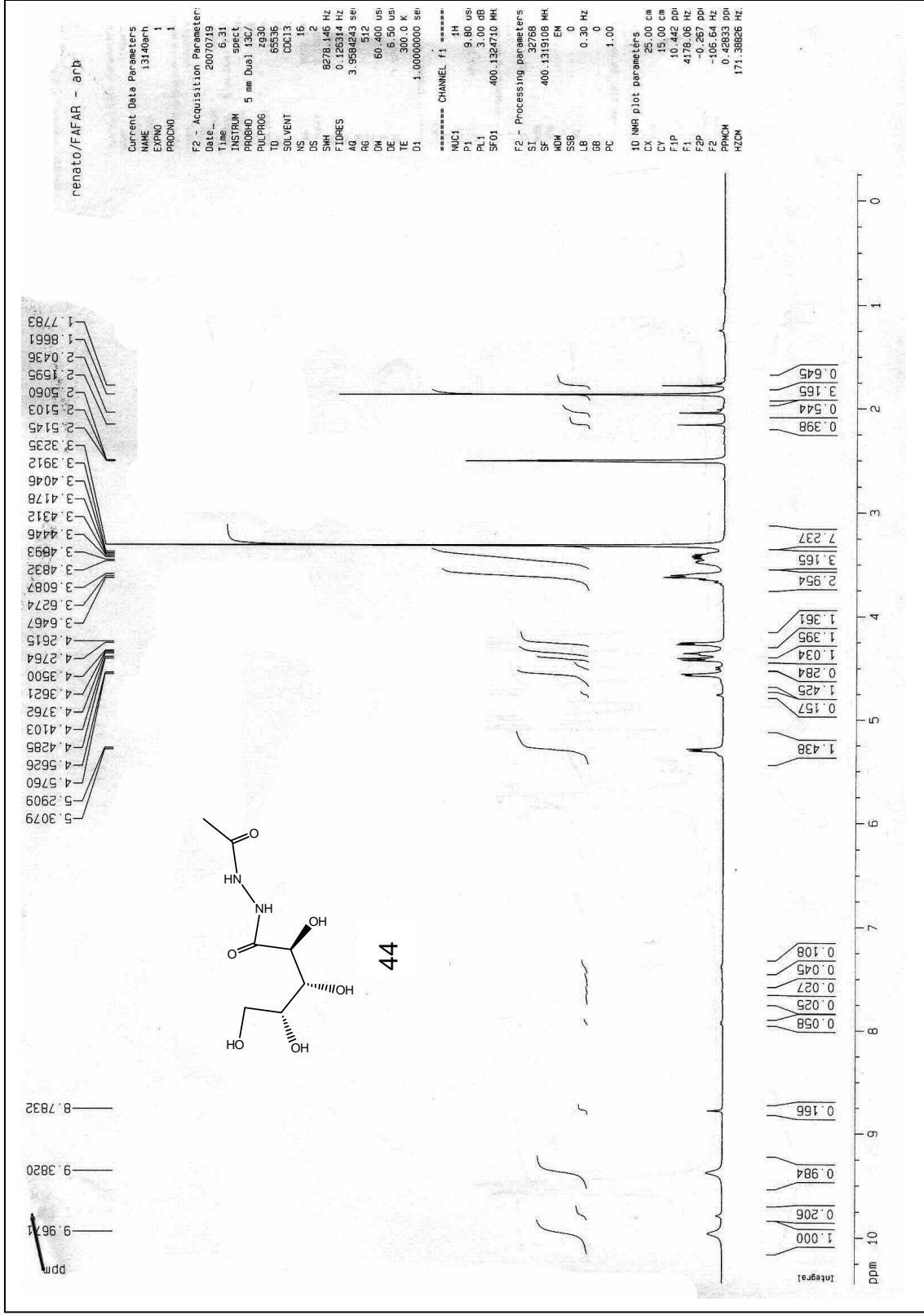


Figura 78 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO_d₆) de **44**.

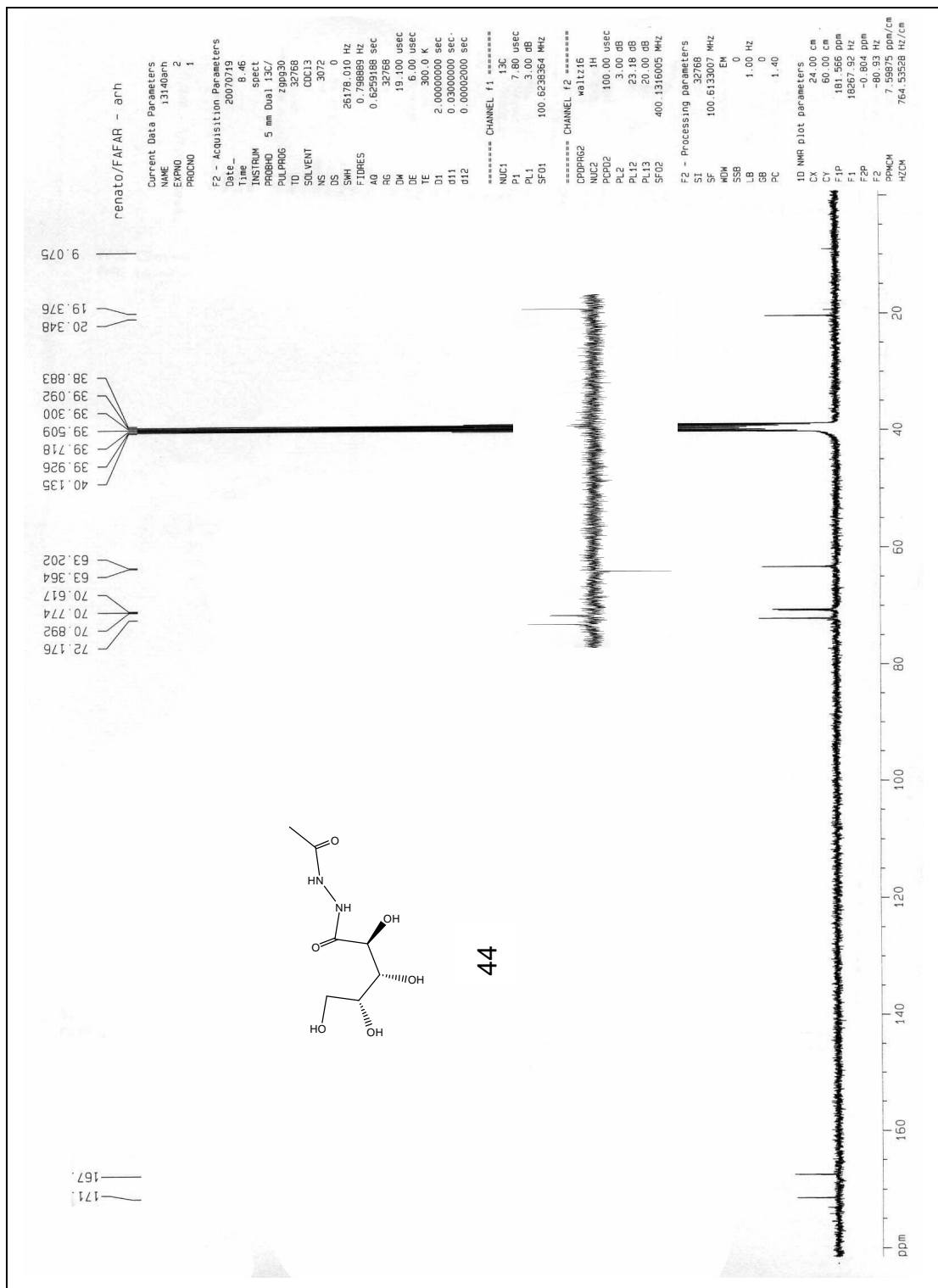


Figura 79 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) de 44.

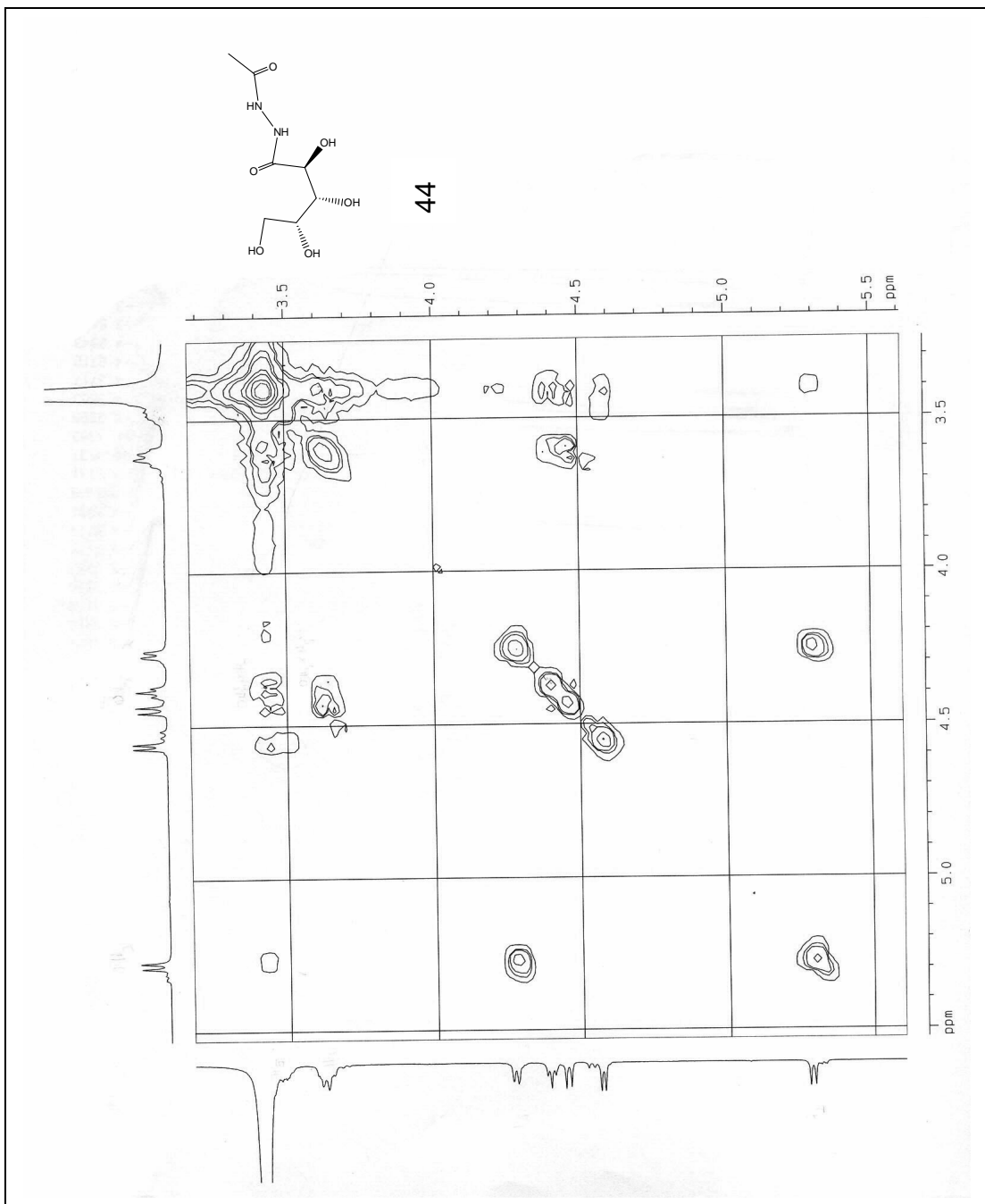


Figura 80 – Mapa de contornos COSY (400 MHz, DMSO_d₆) de 44.

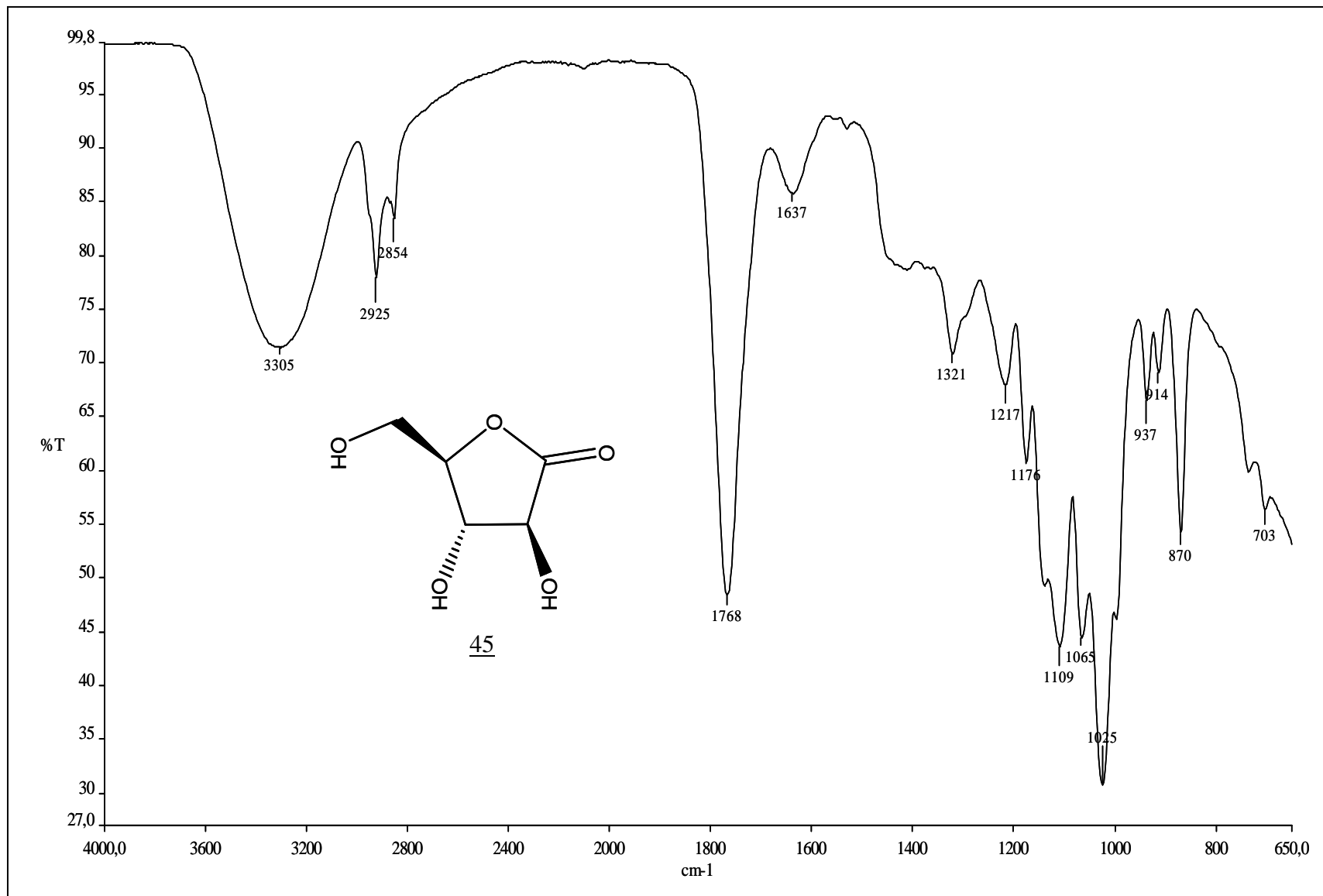


Figura 84 – Espectro no IV de 45.

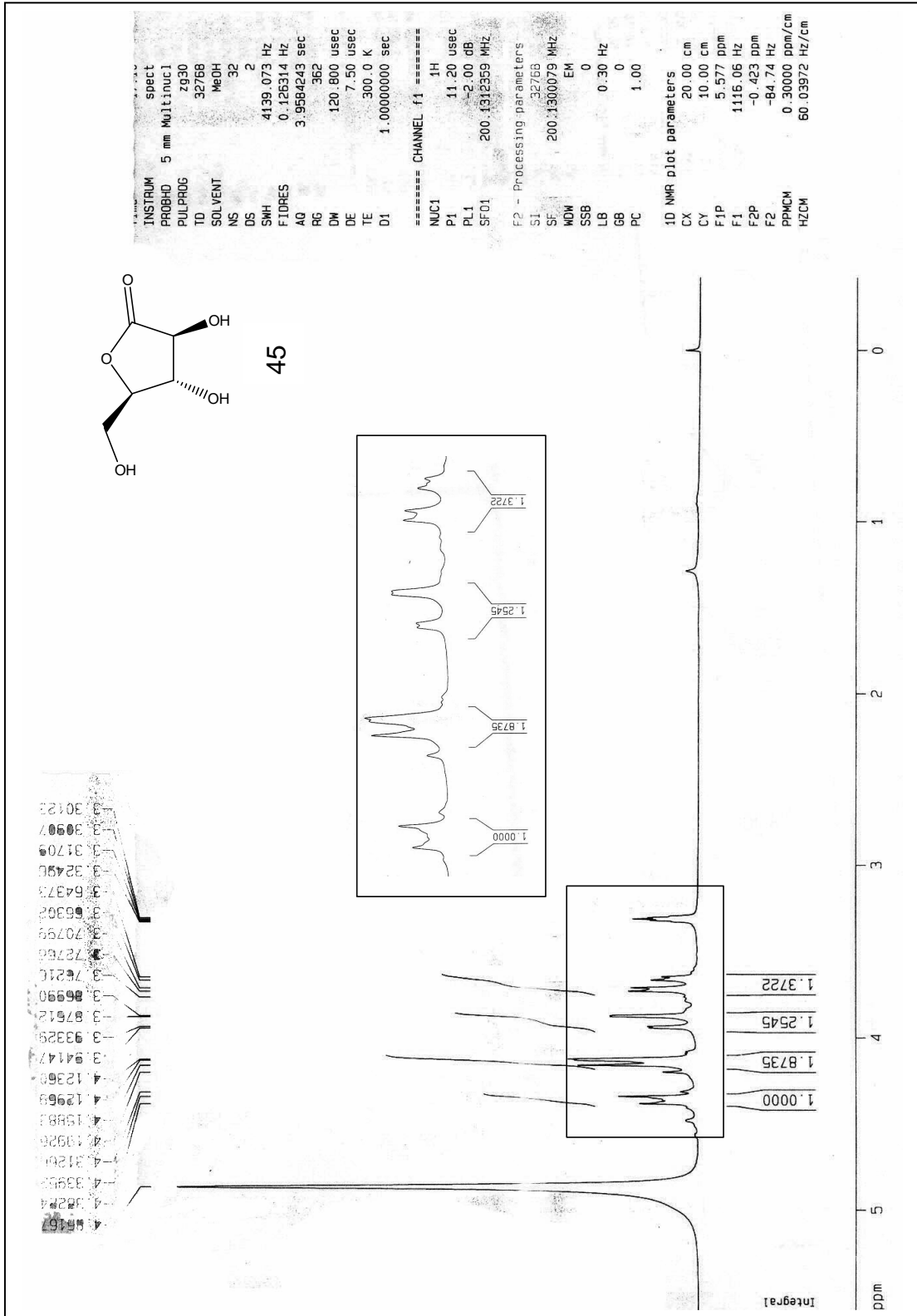


Figura 85 – Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CD₃OD) de 45.

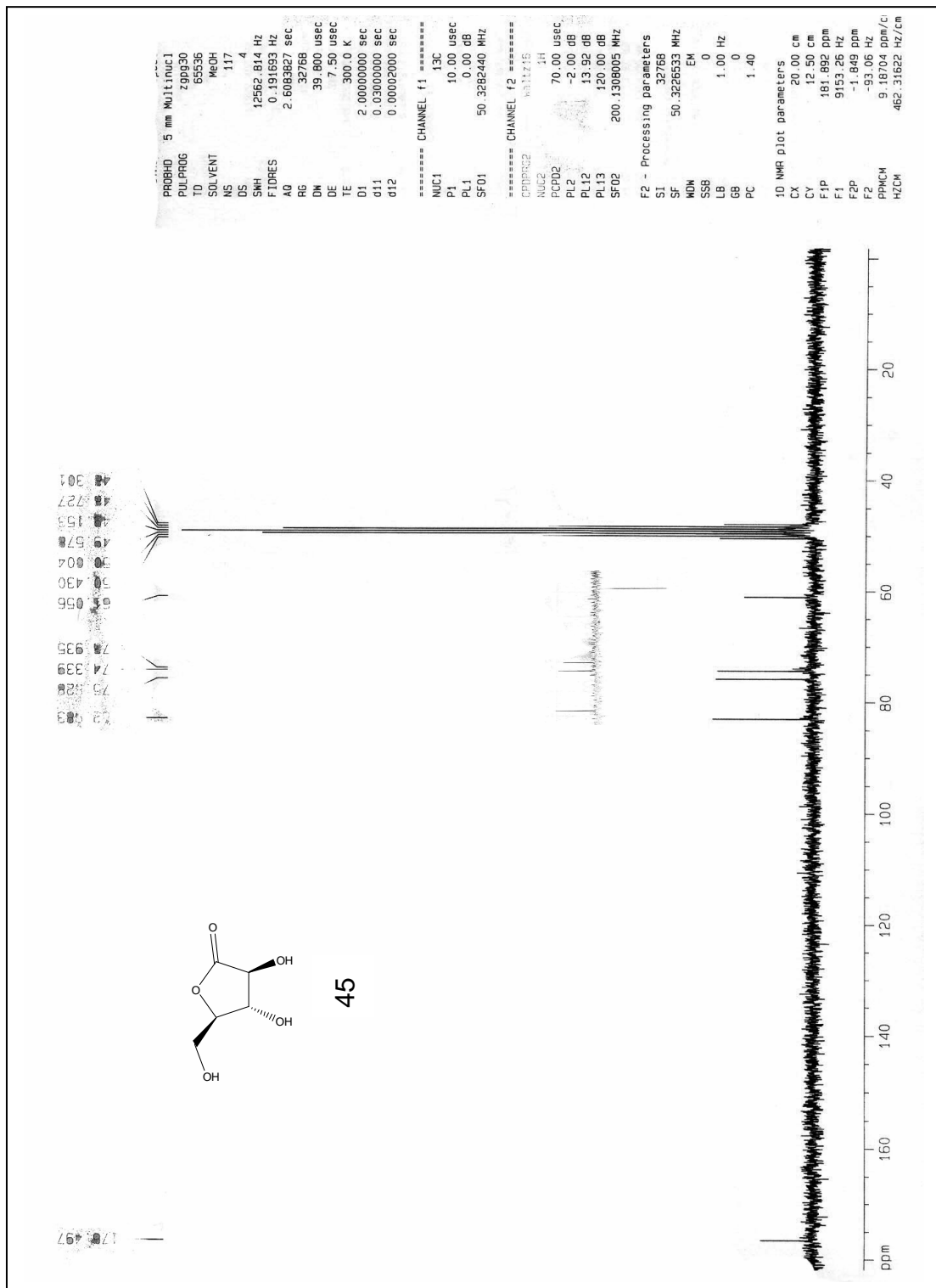


Figura 86 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) de 45.

8 REFERÊNCIAS

BAGINSKI, M. *et al.* Molecular modelling of membrane activity of amphotericin B, a polyene macrolide antifungal antibiotic. **Acta Biochimica Polonica**, v.52, p.655-658, 2005.

BADET-DENISOT, M. *et al.* Nitrogen Transfer in *E. Coli* Glucosamine-6-P Synthase. Investigations using substrate and bisubstrate analogs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v.5, n.8, p. 815-820, 1995.

BATES, C.J. *et al.* Control of the Formation of Uridine Diphospho-N-acetyl-hexosamine and Glycoprotein Synthesis in Rat Liver. **The Journal of Biological Chemistry**. v.241, n.8, p. 1705-1712, 1966.

BATEY, J., F., *et al.* The síntesis of D-xylo-hexos-4-ulose and some derivatives. **Carbohydrate research**, v.40, p.275-283, 1975

BENNETT, J.E. Agentes Antifúngicos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBRID,L.E.(ED.) **Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Mac GrawHill, 2003, cap.49, p.971-983.

BOIVIN, J.; HUSINEC, S.; ZARD, S., Z., A practical synthesis of 5-substituted tetrazoles. **Tetrahedron**, v.51, p.11737-11742, 1995.

BOROWSKI, E. Novel approaches in the rational design of antifungal agents of low toxicity. **II Farmaco**, Gdansk, v. 55, p.206-208, 2000.

CAMUS, C. *et al.* Arabinose-5-Phosphate Oxime vs its Methylene phosphonate Mimetic as High Energy Intermediate of Glucosamine-6P Synthase Catalyzed Reaction. **Tetrahedron Letters**. v.39, p-2571-2572, 1998.(a)

CAMUS, C. *et al.* Stereoselective Synthesis of 5-Methylphosphono-D-Arabinohydroxylactone, inhibitor of glucosamine-6-phosphate synthase and phosphoglucose isomerase. **Tetrahedron Letters**. v. 39, p. 287-288, 1998. (b)

CHMARA, H. *et al.* Inhibition of glucosamine-6-phosphate synthase from bacteria by anticapsin. **Journal Antibiotic**. v. 37, p.652-658, 1984.

CHITTUR, S.V.; GRIFFITH, R.K. Multisubstrate Analogue Inhibitors of Glucosamine-6-phosphate Synthase from *Candida albicans*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v.12, p.2639-2642, 2002.

CZIFRAK, k., *et al.* Synthesis of N-(D-glucopyranosyl) monoamides of dicarboxylic acids as potential inhibitors of glycogen phosphorylase. **Carbohydrate research**, v. 341, p.947-956, 2006

DEMIRBAS, N. UGURLUOGLU R.,DEMIRBAS, A. Synthesis of 3-Alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones and 3-Alkyl-4-alkylamino-4,5-

dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones as Antitumor Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.10, p.3717–3723, 2002.

DEMKO, Z., P; SHARPLESS, K., B. Preparation of 5-Substituted 1*H*-Tetrazoles from Nitriles in Water. **Journal of organic chemistry**, v.66, p.7945-7950, 2001

DENISOT, M.A.; LE GOFFIC, F.; BADET B. Glucosamine-6-phosphate synthase from *Escherichia coli* yields two proteins upon limited proteolysis: identification of the glutamine amidohydrolase and 2R ketose/aldose isomerase-bearing domains based on their biochemical properties. **Archives of biochemistry and Biophysics**. , v.288, n.1, p.255-30, 1991

DUNCIA, J., V.; PIERCE, M., E.; SANTELLA, J., B. Three Synthetic Routes to a sterically Hindered Tetrazole. A New ne-Step Mild Conversion of an Amide into a Tetrazole. **Journal of organic chemistry**, v. 56, p.2395-2400, 1991.

EL ASHRY, E., L., H., *et al*, Cyclization of hydrazides and hydrazones. **Carbohydrate research**, v. 82, p.149-153, 1980.

EL KHADEM, H., SHARAM, NASSR, M,. Heterocycles from saccharide hydrazones. **Carbohydrate research**, v.23, p.103-109, 1972.

EL KHADEM, H., SHARAM, NASSR, M,. Saccharide oxadiazoles. **Carbohydrate research**, v.13,p.470-471,1970.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. Parte 1. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FINCH, P., MERCHANT, Z. The structures of D-arabinose and D-glucose oximes. **Journal of chemical society perkin I**, p.1682-1686, 1975

FINCH, P., MERCHANT, Z, The substrate specificity of yeast hexokinase: reaction with D-arabinose oxime. **Carbohydrate Research**, v. 76, p.225-232, 1979.

FOSTEL, J.M.; LARTEY, P.A. Emerging novel antifungal agents. **Therapeutic Focus**. v.5, v.1, p.25-32, 2000.

GOLINELLI-PIMPANEAU,B.; BADET, B. Possible involvement of Lys603 from *Escherichia coli* glucosamine-6-phosphate synthase in the binding of its substrate fructose 6-phosphate. **European Journal of Biochemistry**. v.201, n.1, p.175-182, 1991.

GOLINELLI-PIMPANEAU, B; LE GOFFIC, F.; BADET, B. Glucosamine-6-phosphate synthase from *Escherichia coli*: Mechanism of the Reaction at the Fructose 6-Phosphate Binding Site. **Journal of the American Chemical Society**. v.111, p. 3029-3034, 1989.

HAMMERSCHMIDT, F., HANBAUER, M., Transformation of arylmethylamines into -aminophosphonic acids via metalated phosphoramidates: Rearrangement of partly

configurationally stable N-phosphorylated α -aminocarbanions. **Journal of organic chemistry**, v.65, p.6121-6131, 2000.

HARDRE,R., SALMON,L. Competitive inhibitors of yeast phosphoglucose isomerase: synthesis and evaluation of new types of phosphorylated sugars from the synthon - arabinonolactone-5-phosphate. **Carbohydrate Research**, v.318, p.110-115, 1999.

HETZHEIM, A.; MOCKEL, K. Recent Advances in 1,3,4-oxadiazole chemistry. **Advanced heterocyclic chemistry**, v. 7, p.183-224, 1970.

HIKISHIMA, S. *et al* Synthesis and biological evaluation of 9-(5',5'-difluoro-5'-phosphonopentyl)guanine derivatives for PNP-inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 1660-1670, 2006

HIMO, F. *et al*. Mechanisms of Tetrazole Formation by Addition of Azide to Nitriles, **Journal of The American Chemical Society**, v. 124, p. 12210-12216, 2002

HOCKETT,R.C.; MAYNARD,C.W. The chemistry of tetrose sugars. The structure of a methyl-D-erythro-side. The mutarotation of D-arabinose oxime. **Journal of the American Chemical Society**. Massachusetts, v. 61, p.2111-2115, 1939.

HOEFFLER,J. *et al*. Isoprenoid biosynthesis in higher plants and in *Escherichia coli* on the branching in the methylerythritol phosphate pathway and the independent biosynthesis of isopentenyl diphosphate and dimethylallyl diphosphate. Strasbourg, v.366, p.573-583, 2002.

JANIAK,A. M. *et al*. Facilitated diffusion of glucosamine-6-phosphate synthase inhibitors enhances their antifungal activity. **Acta Biochimica Polonica**. v.49, n.1, p.77-86, 2002.

JANIAK A.M. *et al*. Hydrophobic Derivatives of 2-amino-2-deoxy-D-glucitol-6-phosphate: A New Type of D-Glucosamine-6-phosphate Synthase Inhibitors with Antifungal Action. **Biorganic & Medicinal Chemistry**. v.11, p.1653-1662, 2003.

JONES, S., *et al.*, An improved method for lewis acid catalyzed phosphoryl transfer with $Ti(t-BuO)_4$. **Journal of organic chemistry**,v. 68, p.5211-5216, 2003.

LELOIR, L., CARDINI, C. The biosynthesis of glucosamine. **Biochimica Biophysica Acta**, v.12 p.15–22. 1953

MARCH, J. Addition to carbon-hetero multiple bonds. In:_____. **Advanced Organic Chemistry**. 5. ed. New York: Wiley-Interscience publication, 2001. Cap. 16, p. 1172-1298.

MILEWSKI, S., GABRIEL, I., OLCHOWY, J. Enzymes of UDP-GlcNAc biosynthesis in yeast. **Yeast**, v.23, p.1-14, 2006

MILEWSKI, S. Glucosamine-6-phosphate synthase – the multi-facets enzyme. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1597, p.173-192, 2002.

MILEWSKI, S., JANIĄK, A. E WOJCIECHOWSKI, M. Structural analogues of reactive intermediates as inhibitors of glucosamine-6-phosphate synthase and phosphoglucose isomerase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 450 , p.39-49, 2006.

NAILOR, M. D., SOBEL, D.J. Infectious diseases. **Drug discovery today: therapeutic strategies**, v.3, p.221-226, 2006.

NIFANTIEV, E. E., GRACHEV, M. K., BURMISTROV, S. Y. Amides of Trivalent Phosphorus Acids as Phosphorylating Reagents for Proton-Donating Nucleophiles. **Chemical Reviews**, v.100, p. 3755-3799, 2000.

ODDS, F. C., BROWN, A. J. P., GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends in microbiology**, v.11, p.272-279, 2003.

OHMOTO, K., *et al.* Development of orally active nonpeptidic inhibitors of human neutrophil elastase. **Journal of medicinal chemistry**, v. 44, p. 1268-1285, 2001.

RANG, H. P. *et al.* **Farmacologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001. 703p.

ROGERS, T. R. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact? **International journal of antimicrobial agents**, v.27, p.7-11, 2006.

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

SAUER, J., HUISGEN, R., STURM, H., J. Zur acylierung von 5-aryl-tetrazolen; ein duplikationsverfahren zur darstellung von polyarylen. **Tetrahedron**, v.11, p.241-251, 1960

SAVINI, L. *et al.* Synthesis and pharmacological activity of 1,2,4-triazolo[4,3-]quinolines. **El fármaco**, v. 56, p. 939–945, 2001

SELDES, A., M., *et al.* Synthesis and mass spectra of some 2-methyl and 2-phenyl-5-(polyacetoxyalkyl)-1,3,4-oxadiazoles and their conformations in solutions. **Carbohydrate Research**, v.49, p.49-56, 1976.

SELDES, A.M; THIEL, I.M.E; DEFERRARI, J.O. Synthesis of tetrazoles from some per-O-acetylalidonitriles. **Carbohydrate Research**, Buenos Aires, v.39, p.47-51, 1975

SILVESTRI, R., *et al.* Imidazole analogues of fluoxetine, a novel class of anti-*Candida* agents. **Journal of medicinal chemistry**, v.47, p.3924-3926, 2004.

STICK, R.V. Synthesis and protecting groups. In:_____. **Carbohydrates: the sweet molecules of life**. Salisbury: Mathematical Composition Setters Ltd, 2001. Cap. 17, p. 37-65.

Soroka, V. N., *et al.* Síntesis of arabinitol 1-phosphate and its use for characterization of arabinitol-phosphate dehydrogenase. **Carbohydrate Research**, v. 340, p.539-546, 2005.

SYKES, P. **A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry**, 6 ed, Longman Scientific e Technical, NY, 1985, cap 8, p.219

TEPLYAKOV, A. *et al.*The mechanism of sugar isomerization by glucosamine 6-phosphate synthase. **Protein Science**, v.8, p.596-602,1999

USHIYAMA, M., *et al*, O-Selective Phosphorylation of Nucleosides without N-Protection. **Journal of organic chemistry**, v. 58, p.373-379, 1993.

WHELAN, W.L.; BALLOU, C.E. Sporulation in D-glucosamine auxotrophs of *Saccharomyces cerevisiae*: meiosis with defective ascospore wall formation. **Journal of Bacteriology**, v.124, n.3, p.1545-1557, 1975

WINTTERBERGER, S., J.; DONNER, B., G.; Dialkyltin Oxide Mediated Addition of Trimethylsilyl Azide to Nitriles. A Novel Preparation of 5-Substituted Tetrazoles. **Journal of organic chemistry**, v. 58, p. 4139-4141, 1993.

WOJCIECHOWSKI *et al.* Glucosamine-6-phosphate synthase, a novel target for antifungal agents. Molecular modelling studies in drug design. **Acta Biochimica Polonica**. 2005. Disponível em <[http:// www.actabp.pl/pdf/3_2005/647.pdf](http://www.actabp.pl/pdf/3_2005/647.pdf)> Acesso em: 20 agosto 2005.

WONG, A. Micotic Infections. In: HERFINDAL,E.; GOURLEY, D.R (ED). **Textbook of Therapeutics: drug and disease management**. 7.ed. Philadelphia: Lippincot Willians e Wilkins, 2000. Cap.78, p.1609-1630

ZACCHINO, S. Estratégias Para A Descoberta de Novos Agentes Antifúngicos. In: CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A.(ED.). **Plantas medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos Editora Universitária,2001. Cap. 12, p.435-479.

ZGÓDKA, D.; MILEWSKI. S.; BOROWSKI, E. A diffusible analogue of N³-(4-methoxyfumaroyl)-L-2,3-diaminopropanoic acid with antifungals activity. **Microbiology**. , v.147, p. 1955-1959, 2001.

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](#)