



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACARELADO EM FARMÁCIA

RODRIGO RIBEIRO ALVES CAIANA

**GLICOSÍDEO 2,3-INSATURADO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTUDO
FÁRMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO *IN VITRO* E *IN SILICO***

CUITÉ – PB

2018

RODRIGO RIBEIRO ALVES CAIANA

**GLICOSÍDEO 2,3-INSATURADO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTUDO
FÁRMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO *IN VITRO* E *IN SILICO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Cuité – PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

C133g Caiana, Rodrigo Ribeiro Alves.

Glicosídeo 2,3-insaturado: síntese, caracterização estudo farmacológico e toxicológico *in vitro* e *in silico*. / Rodrigo Ribeiro Alves Caiana. – Cuité: CES, 2018.

51 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2018.

Orientador: Juliano Carlo Rufino de Freitas.

1. Química medicinal. 2. Carboidratos. 3. Rearranjo de Ferrier. 4. Artemia salina Leach. 5. Método in silico. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 577.1

RODRIGO RIBEIRO ALVES CAIANA

**GLICOSÍDEO 2,3-INSATURADO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTUDO
FÁRMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO *IN VITRO* E *IN SILICO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 14/10/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Orientador – UFCG

Prof^ª. Dr^ª. Júlia Beatriz Pereira de Souza

Membro – UFCG

Prof. Dr. Fernando de Sousa Oliveira

Membro – UFCG

Dedico este trabalho a minha maravilhosa esposa e a minha família, que sempre me deram todo o amor necessário para a minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Sou primeiramente grato a Deus, pois mesmo sem que eu entendesse, sem que eu esperasse ou até mesmo merecesse sempre me guiou e cuidou de mim, construindo tudo que eu tenho, embasando toda a minha vida e me proporcionando tantas maravilhas. Ao meu Deus não tenho nada a reclamar, apenas agradecer.

À minha esposa Tamires Ribeiro, que sempre me ajudou e não me deixou faltar nada em todos os âmbitos, estando sempre ao meu lado para ser ou fazer o que fosse necessário, não deixando faltar amor nos meus dias, sendo sempre a melhor companheira. Seremos sempre o “cordão de três dobras”.

Aos meus Pais, Fátima e Ronaldo, aos quais sou eternamente grato, que confiaram em mim e batalharam desde o meu nascimento para que eu pudesse chegar até aqui, me ensinando sobre a vida e guiando a construção da minha moral nos melhores alicerces. O que eles fazem por mim é inexplicável, melhor dizendo, é amor. Amo vocês.

À minha irmã Clarice, grande amiga que sempre compartilhou comigo a alegria dos bons momentos bem como a força necessária para passar pelos maus, cuidando de mim também e estando sempre presente.

À minha família como um todo: meus avós, tios, tias e primos, que me mostraram o significado de uma família unida e amorosa. Todos são muito importantes para mim, não poderia ter uma família melhor.

Ao meu professor Juliano Freitas, um grande amigo que admiro muito, que me ensinou não só sobre ciência, mas também sobre a vida, me ajudando a crescer como pessoa, sendo sempre bastante paciente, preocupado, prestativo e dedicado. Agradeço por acreditar em mim, por se preocupar com meu futuro e por ser mais que um professor.

Aos meus amigos, em especial F. Júnior, um grande irmão que encontrei e que me ajudou bastante na minha vida longe de casa, com quem sei que posso contar sempre que precisar, assim como meus amigos de turma, principalmente Felipe, Herbert e Tiago, que estavam sempre comigo nessa trajetória, e aos amigos que formei nos jogos de vôlei, uma grande família realmente. Todos são de grande importância na minha trajetória e me proporcionaram muitas alegrias.

A todos os professores do curso de farmácia por todos os ensinamentos e demais funcionários do Centro de Educação e Saúde. À Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelas análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e de Infravermelho (IV)

RESUMO

Os medicamentos e as tecnologias farmacêuticas desempenham um papel essencial na saúde mundial, por isso, seu processo de desenvolvimento e descoberta é amplamente necessário. Neste âmbito, uma classe de moléculas que vem atraindo a comunidade científica são os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, moléculas simples, derivadas de fontes naturais com interessantes atividades biológicas. Deste modo, o objetivo deste trabalho consistiu na síntese do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, avaliação sua toxicidade frente a *Artemia salina* Leach e o estudo teórico de suas propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas a partir de diferentes métodos *in silico*. Este *O*-glicosídeo 2,3-insaturado foi obtido com 91% de rendimento após 30 minutos de reação, sendo posteriormente caracterizado. A avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* resultou em uma CL_{50} de 779,503 $\mu\text{g/mL}$ nos limites de 683,246 a 883,730 $\mu\text{g/mL}$, classificada como levemente tóxica, resultado bastante promissor. Os métodos *in silico* apontaram que a molécula apresenta uma baixa probabilidade de apresentar efeitos tóxicos, boas características para se tornar um bom fármaco, um ótimo potencial de biodisponibilidade oral, e a probabilidade de desempenhar diferentes funções por diferentes mecanismos farmacológicos, destacando-se as ações antineoplásica, antibiótica, antialérgica, de inibição enzimática, entre outras. Em suma, o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo apresenta uma probabilidade comprovada de desencadear diferentes efeitos fisiológicos, podendo agir por diferentes vias com baixo risco de apresentar efeitos tóxicos e ainda com a possibilidade de administração oral. Além disso, esta molécula pode ser facilmente preparada e apresentou baixa toxicidade frente a *Artemia salina*, o que motiva os estudos experimentais das atividades da mesma bem como de seus derivados.

Palavras-chave: Química Medicinal, Carboidratos, Rearranjo de Ferrier, *Artemia salina* Leach, Métodos *in silico*.

ABSTRACT

Medicines and pharmaceutical technologies play a key role in global health, so its development and discovery process is widely needed. In this context, a class of molecules that has been attracting the scientific community are the 2,3-unsaturated *O*-glycosides, simple molecules, derived from natural sources with interesting biological activities. Thus, the objective of this work was to synthesis of *iso*-propyl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside, evaluation of its toxicity to *Artemia salina* Leach and the theoretical study of their pharmacodynamic, pharmacokinetic and toxicological properties from different *in silico* methods. This 2,3-unsaturated *O*-glycoside was obtained in 91% yield after 30 minutes of reaction and was further characterized. The evaluation of the toxicity to *Artemia salina* resulted in a LC₅₀ of 779,503 μ g/mL in the range of 683,246 to 883,730 μ g / mL, classified as slightly toxic, a very promising result. The *in silico* methods indicated that the molecule has a low probability of presenting toxic effects, good characteristics to become a good drug, an excellent oral bioavailability potential, and the probability of performing different functions by different pharmacological mechanisms, highlighting the actions antineoplastic, antibiotic, antiallergic, enzymatic inhibition, among others. In summary, *iso*-propyl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside has a proven probability of triggering different physiological effects, being able to act by different routes with low risk of toxic effects and the possibility of oral administration. In addition, this molecule can be easily prepared and presented low toxicity to *Artemia salina*, which motivates the experimental studies of the activities of the same as its derivatives.

Key words: Medicinal Chemistry, Carbohydrates, Ferrier Rearrangement, *Artemia salina* Leach, Methods *in silico*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da Adenosina trifosfato e da Celulose.....	15
Figura 2 - Estrutura molecular da vancomicina e teicoplanina.....	16
Figura 3 - Exemplos de O-glicosídeos naturais com ação farmacológica.....	17
Figura 4 - Diferentes tipos de glicosídeos.....	17
Figura 5 - Número de publicações (A) e citações (B) envolvendo sobre O-glicosídeos entre 2000-2018.....	18
Figura 6 - Exemplo de síntese do <i>O</i> -Glicosídeos 2,3-insaturados.....	19
Figura 7 - Imagem do microcústáceo <i>Artemia salina</i> Leach.....	20
Figura 8 - Síntese do <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo (3).....	30
Figura 9 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo.....	33
Figura 10 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo.....	33
Figura 11 - Distribuição dos valores de <i>drug-likeness</i> dos fármacos comerciais e das substâncias pertencentes ao catálogo Fluka®.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados espectrais do glicosídeo 2,3-insaturado.....	31
Tabela 2 -. Predição de toxicidade do <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo a partir do <i>software Osiris</i>	34
Tabela 3 - Predição do perfil farmacocinético baseado na “Regra dos cinco”.....	36
Tabela 4 - Predição de alvos farmacodinâmicos a partir do <i>software Molinspiration</i>	37
Tabela 5 - Atividades previstas para o <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo com uma probabilidade de atividade maior que 70%.....	38
Tabela 6 - Outras atividades previstas para o <i>iso</i> -propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesoxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

(Q)SAR	<i>(Quantitative) Structure-Activity Relationships</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CL₅₀	Concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados
cLogP	Coefficiente de partição
EtOH	Etanol
GPCR	<i>G protein-coupled receptors</i>
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
HMG-CoA	3-Hidroxi-3-metilglutatil-coenzima A
IV	Infravermelho
KBr	Brometo de potássio
LogS	Coefficiente de solubilidade
MeOH	Metanol
MM	Peso molecular
nALH	Número de aceptores de ligação hidrogênio
nDLH	Número de doadores de ligação hidrogênio
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
Pa	Probabilidade “de ser ativo”
PASS	Previsão do espectro de atividade para substâncias
Pi	Probabilidade “de ser inativo”
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RTECS	<i>Registry of Toxic Effects of Chemical Substances</i>
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Carboidratos	14
3.2 Glicosídeos	16
3.3 <i>Artemia salina</i> Leach	19
3.4 Análises <i>in silico</i>	21
4 METODOLOGIA	25
4.1 Materiais, solventes e reagentes	25
4.2 Síntese do iso-propil 4,6-di-<i>o</i>-acetil-2,3-didesoxi-α-<i>D</i>-eritro-hex-2-enopiranosídeo	25
4.3 Caracterização	26
4.4 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach	26
4.5 Análise estatística	27
4.6 Análises <i>in silico</i>	27
4.6.1 Osiris Property Explorer.....	28
4.6.2 Molinspiration Online Property Calculation Toolkit.....	28
4.6.3 PASS online.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos e as tecnologias farmacêuticas têm um papel essencial na saúde mundial, se mostrando como aspectos decisivos para o bom funcionamento das políticas de saúde pública (CORRÊA; RODRIGUES; CAETANO, 2018). Entretanto, cotidianamente surgem novos desafios, a citar, o aparecimento de agentes patogênicos resistentes aos fármacos comerciais, a necessidade de aperfeiçoamento dos tratamentos já existentes, o desenvolvimento de agentes que atuem no tratamento de doenças recém-identificadas e a produção de moléculas mais seguras pela redução ou remoção de seus efeitos adversos. Tais situações apontam, de maneira indubitável para a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos (THOMAS, 2012).

A necessidade de novos agentes terapêuticos, bem como o desenvolvimento de seu processo de descoberta faz com que se voltem às atenções para moléculas promissoras que possam vir a suprir os problemas relatados. Neste âmbito, uma classe de moléculas que vem atraindo a comunidade científica são os *O*-glicosídeos, moléculas simples, derivadas de fontes naturais com interessantes atividades já relatadas, e que compõem diversos produtos naturais (FREITAS et al., 2012; ALMEIDA, 2015).

O interesse por estes *O*-glicosídeos é intensificado pelo fato deles serem obtidos a partir de carboidratos simples e comuns presentes nos organismos vivos, como, por exemplo, a D-glicose e a D-galactose, o que pode implicar em uma maior biocompatibilidade e baixa toxicidade (DELBIANCO et al., 2016).

No entanto, para que estas moléculas se tornem fármacos e desempenhem seu papel na melhoria da saúde devem primeiramente passar por inúmeros testes clínicos, um processo que leva um longo tempo, apresenta um custo elevado, além da considerável utilização de animais, o que desperta uma busca por métodos alternativos que venham solucionar estes problemas (SANTOS, 2011).

Neste horizonte, o bioensaio com *Artemia salina* vem se destacando devido ser um teste simples, rápido, sensível e de baixo custo (RAJABI et al., 2015), consolidando-se cada vez mais como uma excelente ferramenta para a análise preliminar da toxicidade geral (ROCHA-FILHO et al., 2015).

Ao mesmo tempo, a química medicinal se empenha para oferecer ferramentas que possam facilitar o processo de descoberta de novos fármacos, merecendo destaque para as análises *in silico*, ferramentas que utilizam métodos computacionais e matemáticos

com comprovada efetividade para prever uma grande diversidade de características biológicas de uma molécula em um menor tempo e com custo reduzido (PAPA, 2017).

Estas metodologias inovadoras vêm se unindo a diferentes estratégias para a obtenção de novas moléculas, onde se destacam as modificações moleculares, uma vez que objetivam o desenvolvimento de agentes com características agradáveis de eficácia e segurança (LUCIO NETO, 2011).

Diante da crescente necessidade de novos fármacos, dos entraves notados no processo de pesquisa e desenvolvimento dos mesmos e das favoráveis características químicas, biológicas, toxicológicas e de biocompatibilidade dos carboidratos, o presente trabalho buscou a obtenção de moléculas que possam vir a suprir estas importantes necessidades, utilizando métodos simples e eficazes para colaborar com a descoberta de novos agentes com boas características farmacológicas e que sejam seguras para o homem e meio ambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho consiste em sintetizar o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-eno-piranosídeo, e avaliar sua toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, bem como realizar o levantamento teórico de suas propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas a partir de diferentes ferramentas de estudos *in silico*.

2.2 Objetivos específicos

- Promover a reação de glicosilação para a obtenção do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo;
- Caracterizar o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo através da espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 e rotação ótica;
- Determinar a toxicidade do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo frente a *Artemia salina* Leach;
- Realizar o levantamento teórico das características farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Carboidratos

O termo carboidrato foi primeiramente aplicado para classificar às moléculas que apresentavam fórmula geral $C_n(H_2O)_n$. No entanto, com o passar dos anos foram descobertas moléculas que pertencem a esta classe, mas que apresentam outros átomos diferentes de C, H e O, o que levou à ampliação desse conceito. Atualmente, os carboidratos podem ser definidos como poli-hidroxialdeídos e poli-hidroxiconas ou substância que liberam estes compostos por hidrólise (NOGUEIRA et al., 2009; NELSON; COX, 2014).

De acordo com o número de unidades sacarídicas, os carboidratos são divididos em três principais grupos: os monossacarídeos (açúcares simples), os oligossacarídeos (cadeias curtas de unidades monossacarídicas, sendo os mais importantes os dissacarídeos) e os polissacarídeos (polímeros com mais de 20 unidades monossacarídicas, podendo conter até centenas ou milhares destas unidades). Estes componentes podem estar unidos a moléculas de não-açúcares formando os glicoconjugados (NELSON; COX, 2014).

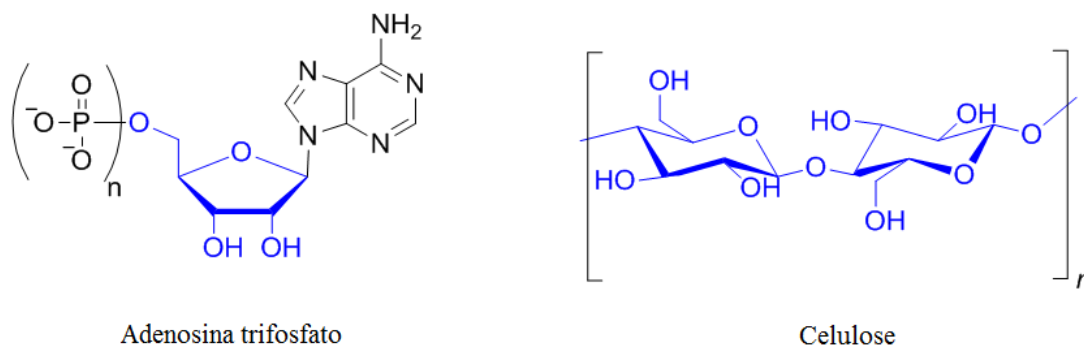
Este importante grupo de macromoléculas se apresenta como a maior classe de compostos de ocorrência natural, estando presente nos mais diversos organismos, desde aqueles mais simples até os mais complexos. Estima-se que a maior parte de toda a biomassa produzida no planeta é representada por estas moléculas (BANDERA et al., 2014; HAO et al., 2016).

Boa parte da nossa dieta é composta por integrantes desta classe, os quais auxiliam na manutenção da homeostasia por diferentes formas. Sua presença é imprescindível, uma vez que é a partir de sua ação e interação com outras biomoléculas que o corpo mantém a integridade celular, bem como o perfeito funcionamento e de todos os processos metabólicos, fisiológicos e genéticos (POMIN; MOURÃO, 2006; DELBIANCO et al., 2016).

Como exemplo de sua importância fisiológica pode-se citar desde ações já consagradas para esta classe de compostos, como é o caso do transporte e armazenamento de energia através da adenosina trifosfato (WU et al., 2015) e a função estrutural através da celulose (Figura 1) (RÖMLING; GALPERIN, 2015), até funções complexas de reconhecimento molecular desempenhadas por glicoconjugados presentes na superfície celular (BERA et al., 2015).

Além destas ações, a D-glicose é reconhecida há muito tempo como a principal fonte de energia da maioria dos organismos vivos, auxiliando na nutrição dos mesmos. É notado que, com exceção das vitaminas, aminoácidos e ácidos graxos, todos os metabólitos vitais podem ser obtidos a partir da glicose (GREENWAY, 2005).

Figura 1 - Estrutura da Adenosina trifosfato e da Celulose.



Fonte: Próprio autor.

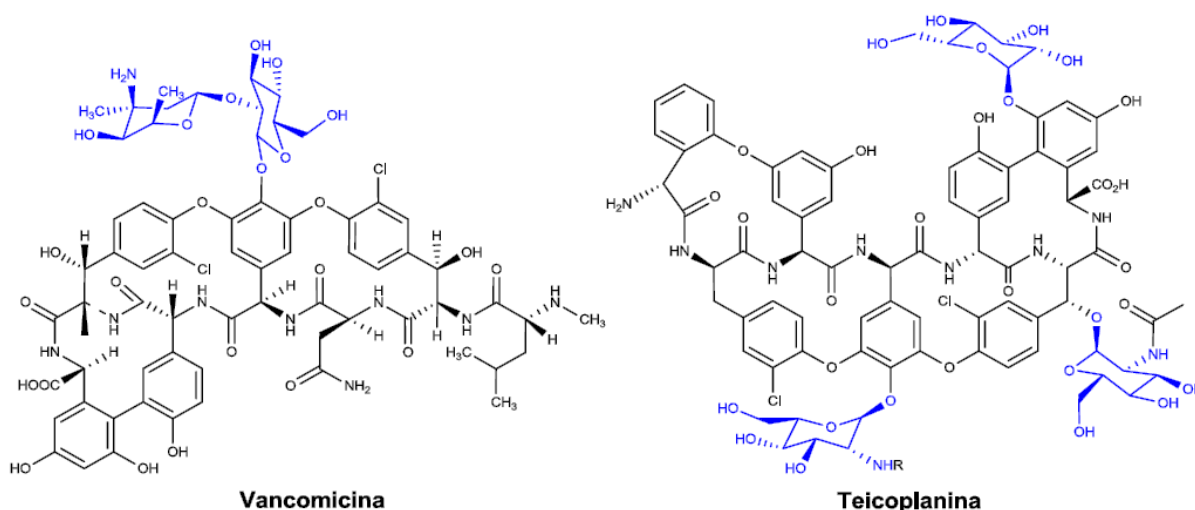
Polímeros de carboidratos têm ação essencial tanto como elementos estruturais quanto de proteção nas paredes celulares bacterianas, paredes vegetais e nos tecidos conjuntivos de animais. Além destes, outros polímeros desempenham seus papéis como participantes do processo de sinalização intracelular, como lubrificantes das articulações esqueléticas e como integrantes do processo de reconhecimento e coesão celular (NELSON; COX, 2014).

Além da sua intensa utilização fisiológica pelos mais diversos organismos, também são notadas diferentes moléculas pertencentes a esta classe que apresentam diferentes atividades biológicas, estando algumas já integradas ao atual arsenal farmacêutico, como é o caso da vancomicina e da teicoplanina (Figura 2), moléculas utilizadas como antibióticos extraídas das bactérias *Amycolatopsis orientalis* e *Actinoplanes teichomyceticus*, respectivamente (XAVIER; RAUTER, 2012; SILVA, 2015).

A sacarose e a D-glicose também apresentam importantes aplicações, sendo carboidratos de baixa massa molecular e economicamente atrativos justificando sua produção em larga escala. Estas duas moléculas são facilmente submetidas a modificações estruturais facilitando a produção de novos compostos importantes do ponto de vista industrial (FERREIRA; SILVA; FERREIRA, 2013).

Dentre os componentes desta classe, a D-glicose é o de maior destaque. Devido à sua abundância e propriedades únicas tanto do ponto de vista biológico quanto químico, esta molécula é constantemente utilizada nos mais variados setores industriais, como o farmacêutico, alimentício, cosmético, químico, dentre outros (SILVA; FREITAS FILHO; FREITAS, 2018).

Figura 2 - Estrutura molecular da vancomicina e teicoplanina.



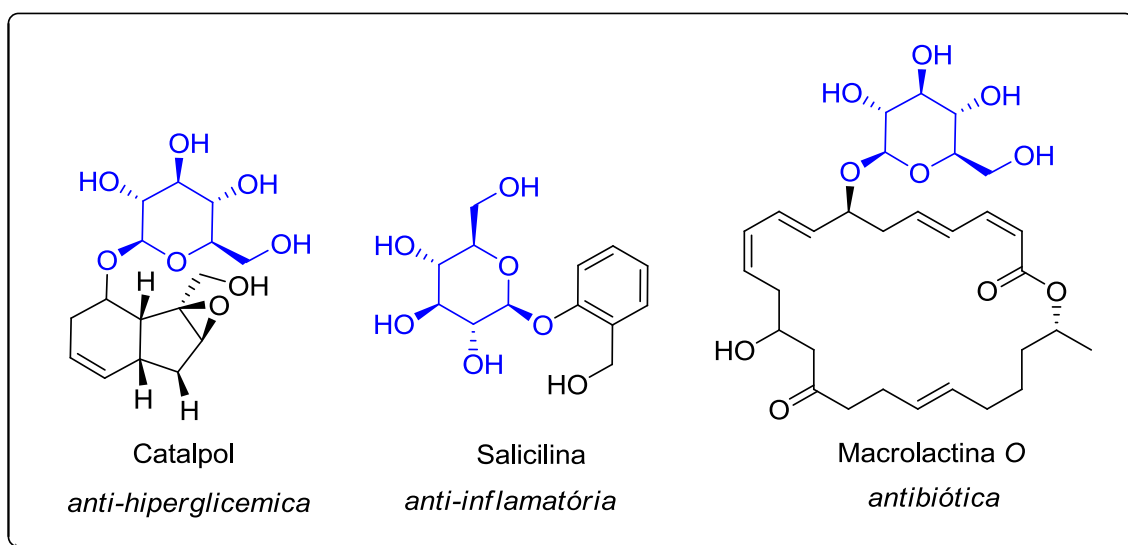
Fonte: próprio autor.

3.2 Glicosídeos

Os carboidratos apresentam características moleculares bem peculiares, como a capacidade que seus monômeros têm de se ligarem de diferentes maneiras, o que não é notado em outros grupos de biomoléculas (SACHETT; VERLI, 2011). Além disso, estas moléculas podem reagir com outros carboidratos (gliconas), ou moléculas de outra natureza (agliconas), através do seu carbono anomérico, formando assim as ligações glicosídicas. A partir destas reações uma infinidade de derivados pode ser sintetizada, dando origem a novas moléculas que podem apresentar ações amplificadas ou diversificadas (MATA, 2017).

A literatura relata um grande número de glicosídeos com importantes atividades farmacológicas, a saber: ação anti-inflamatória, antibiótica, antiviral, antitumoral, imunológica, anticoagulante e antiprotozoária (ALMEIDA, 2015). Estas estruturas também compõem diversos produtos naturais com atividades variadas, como o catalpol, a salicilina e a marolactina *O* (Figura 3) (FREITAS et al., 2012).

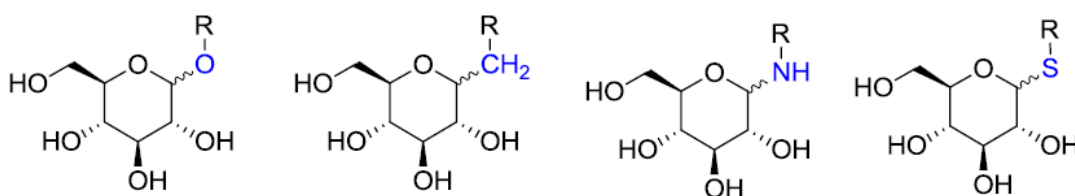
Figura 3 - Exemplos de *O*-glicosídeos naturais com ação farmacológica.



Fonte: Próprio autor.

Os glicosídeos podem ser classificados a partir do átomo responsável pela ligação ao carbono anomérico do carboidrato, podendo-se ser *O*-, *C*-, *N*- e *S*- glicosídeos (Figura 4), o que depende do agente nucleofílico empregado na sua obtenção (MATA, 2017).

Figura 4 - Diferentes tipos de glicosídeos.



Fonte: próprio autor.

Estudos apontam diversos *O*-glicosídeos sintéticos com atividades promissoras, como é o caso do trabalho de Cordeiro e colaboradores (2014), em que a porção aglicona da molécula é um produto natural isolado de plantas do gênero *Piper* spp., e os trabalhos de Goyard e colaboradores (2015) e Polakova e colaboradores (2015), nos quais os glicosídeos apresentam-se conjugados a fragmentos contendo anéis triazólicos.

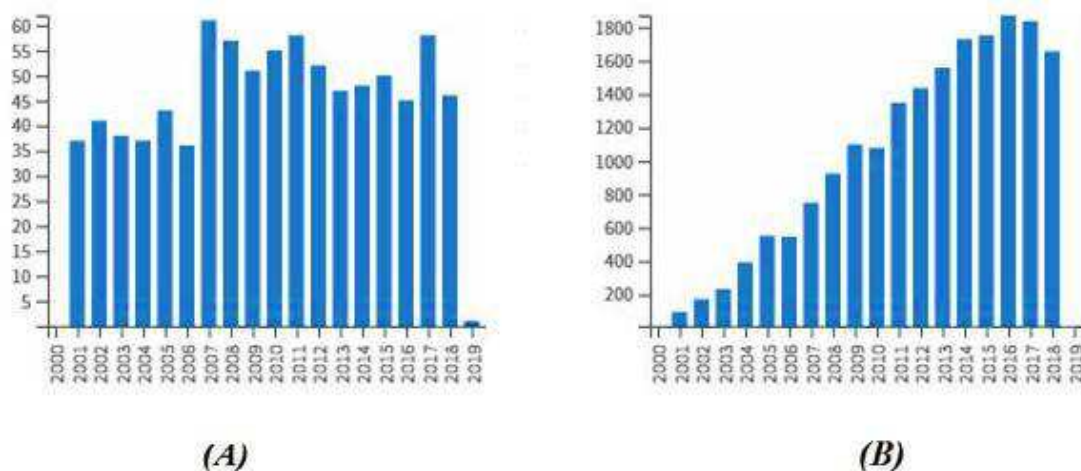
O trabalho de Kimura e colaboradores (2015) relata a ação inibitória de *O*-glicosídeos de flavonol com diferentes tipos de agliconas isoladas das folhas de Índigo sobre a atividade de HMG-CoA redutase, a principal enzima da biossíntese de colesterol.

Compostos promissores também são apontados no estudo de Chung e colaboradores (2014), em que três *O*-glicosídeos triterpênicos foram isolados da erva Ginseng vermelho (*Panax ginseng*) demonstrando atividade anti-inflamatória contra células da linhagem RAW 264,7 de macrófagos murínicos.

O trabalho de Xue e colaboradores (2015) chamou bastante atenção ao relatar por testes *in vitro* e *in vivo* a atividade antitumoral frente a células neoplásicas de pulmão de um *O*-glicosídeo cardíaco isolado das raízes de *Streptocaulon juvenus*, o TXA9, o qual demonstrou efeito inibitório semelhante ao do taxol sem apresentar efeitos adversos, sugerindo que o mesmo é bem tolerado pelo organismo.

Junto a isso, ao longo do tempo pode-se notar um intenso crescimento de estudos que envolvem esta classe de compostos, fato notado pela análise dos gráficos mostrados na Figura 5 formados por dados estatísticos de publicações indexadas na base de dados da *Web of Science* no período de 2000 a 2018, utilizando como palavra-chave *O*-glicosídeos, mostrando que 895 artigos foram publicados neste período e que o número de citações sobre o assunto cresceu consideravelmente (*Web of Science*, 2018).

Figura 5. Número de publicações (A) e citações (B) envolvendo sobre *O*-glicosídeos entre 2000-2018.

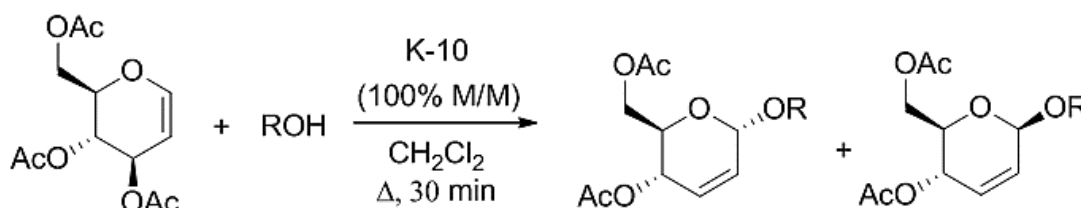


Fonte: *Web of Science*, 2018

Os *O*-glicosídeos podem ser obtidos sinteticamente a partir da reação de glicosilação, processo descrito pela primeira vez por Emil Fischer em 1893, obtendo-se moléculas que desde então vêm chamando atenção de diferentes segmentos científicos, uma vez que podem ser empregados como intermediários sintéticos, agir como protótipos para o desenvolvimento de novas moléculas e atuar como componentes estruturais de fármacos (FISCHER, 1893; FERRIER, 2001; NIGUDKAR; DEMCHENKO, 2015).

Desde os estudos de Fischer, muitos métodos foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar as reações de glicosilação, como é o caso da metodologia proposta por Toshima e colaboradores (1995) (Figura 6) na qual a Montmorillonita K-10 foi utilizada como catalisador, trazendo como benefícios a promoção da reação na presença de vários álcoois, o desenvolvimento reacional em condições brandas e uma alta estereoseletividade.

Figura 6 - Exemplo de síntese do *O*-Glicosídeos 2,3-insaturados.



Fonte: Próprio autor.

A estrutura dos *O*-glicosídeos permite que estas moléculas sejam facilmente submetidas a diferentes modificações estruturais como hidrólise, dihidroxilação, epoxidação assimétrica, hidrogenação catalítica e adições do tipo 1,2 ou 1,4 Michael, o que as tornam importantes ferramentas na síntese de novas moléculas biologicamente ativas (DANTAS, 2017).

Por serem derivados de moléculas naturais e comuns aos seres vivos, muitos destes glicosídeos 2,3-insaturados apresentam a expectativa de baixa toxicidade já que uma forma de se resolver os problemas de citotoxicidade consiste na utilização de substratos que apresentem compatibilidade com os sistemas biológicos (DELBIANCO et al., 2016).

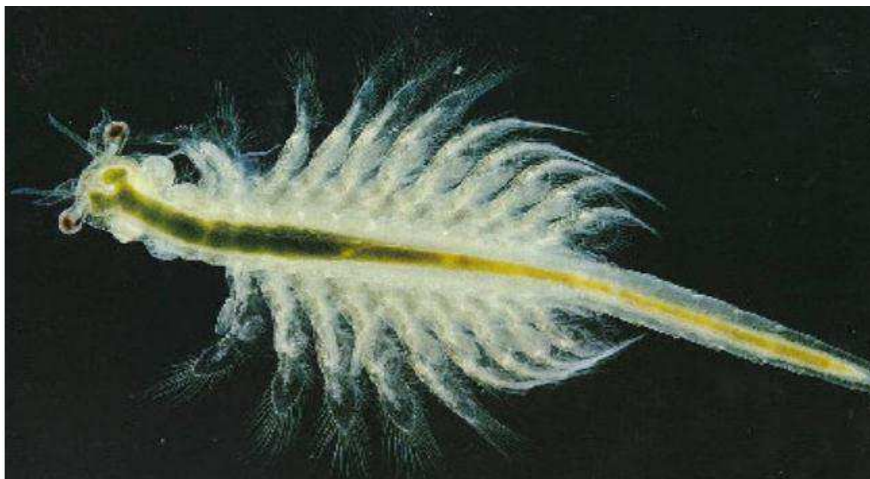
3.3 *Artemia salina* Leach

A *Artemia salina* (Figura 7) é um microcrustáceo da ordem Anostraca encontrado em águas salgadas e muito utilizado na alimentação de peixes, sendo facilmente obtido, armazenado e cultivado. Este microcrustáceo tem sido amplamente utilizado em ensaios biológicos por apresentar características que favorecem seu emprego (POMPILHO, MARCONDES; OLIVEIRA, 2014; ATES et al., 2016).

A literatura apresenta inúmeros trabalhos que usam esta metodologia frente a produtos e toxinas naturais, extratos de plantas e produtos sintéticos para a avaliação de

diferentes parâmetros biológicos, dentre eles: atividade antimicrobiana, tripanossomicida, parasiticida, larvicida, fototóxica, antioxidante, anticonvulsivante e antitumoral (BEDNARCZUK, 2010; CHOHAN et al., 2010; BAGHERI et al., 2010; SARAIVA et al., 2011).

Figura 7 - Imagem do microcústáceo *Artemia salina* Leach.



Fonte: Kribensis (2010) apud Pizzolotto (2010).

Entretanto, o emprego mais relevante deste ensaio é o seu uso em estudos toxicológicos, apresentando-se eficiente e com uma boa correlação de seus resultados. Ensaios de letalidade, como os desenvolvidos com a *Artemia salina*, proporcionam a avaliação da toxicidade geral de compostos com potencial atividade biológica, sendo considerados de grande importância na avaliação preliminar dos mesmos (BEDNARCZUK et al., 2010).

Seu uso já é bem disseminado, podendo-se notar uma diversidade de laboratórios de pesquisa que aplicam esta metodologia de forma bastante ampla para determinação da toxicidade de extratos vegetais e compostos promissores (PIMENTEL et al., 2011).

Desde o primeiro relato da aplicação deste bioensaio, no qual Michael, Thompson e Abramovitz (1956) avaliaram moléculas com ação pesticida, inúmeros artigos têm sido publicados até recentemente sobre estudos de diversos cunhos, avaliando produtos e toxinas naturais, além de extratos de plantas e produtos de síntese, validando, assim, este bioensaio como “*screening*” inicial para avaliação da toxicidade (FERRAZ-FILHA et al., 2012; ASAKAWA; LUDWICZUK; NAGASHIMA, 2013; ROCHA-FILHO et al., 2015).

No processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, o primeiro tipo de teste toxicológico que os protótipos são submetidos são os ensaios de toxicidade agudo-letal, os quais buscam avaliar os efeitos oriundos de uma exposição curta (de 24 a 48 horas) do produto testado com o organismo bioindicador, geralmente ratos ou coelhos. Entretanto, estes testes apresentam algumas desvantagens, como a utilização preocupante de animais, necessidade de grande quantidade de amostras e custos elevados (BAROSA, 2003; SANTOS, 2011).

Frente a estes problemas, o estudo de toxicidade aguda pelo bioensaio com *Artemia salina* se destaca, uma vez que apresenta como vantagem a rapidez e sensibilidade, além de um baixo custo. Além disso, não utiliza análises de tecidos animais maiores, como soro por exemplo, dispensando o uso destes durante o teste (RAJABI et al., 2015).

Esta técnica apresenta um modo de execução simplificado, uma vez que não requer métodos assépticos e nem de equipamentos especiais, favorecendo sua utilização rotineira no próprio laboratório (ANDRIOLLI et al., 2007).

Junto a isso, outro benefício notado é a simplicidade no monitoramento da resposta biológica, uma vez que os resultados são avaliados levando em conta apenas o parâmetro mortalidade ou perda de mobilidade dos indivíduos envolvidos no teste (MEYER et al., 1982; CASTELLO-BRANCO, 2009).

3.4 Análises *in silico*

A trajetória desde a descoberta de uma molécula promissora até a sua aplicação como produto farmacêutico é bastante longa e formada por diversas etapas. Durante a pesquisa e desenvolvimento de um novo fármaco, a molécula é submetida a inúmeros estudos *in vitro* e *in vivo* a fim de garantir sua efetividade e segurança (KNOP; MARIA, 2017).

Para alcançar este objetivo, o modelo animal vem sendo utilizado há bastante tempo por diversas áreas de desenvolvimento técnico-científico. Entretanto, esta prática vem sendo criticada por diversos segmentos da sociedade devido o sofrimento dos animais envolvidos, sendo exigido da comunidade científica e das autoridades testes alternativos à experimentação animal (VICTAL et al., 2014).

Adicionalmente, outros entraves são notados no processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, a citar: a grande demanda de tempo e um custo

bastante elevado. Por esse motivo, nota-se uma intensa busca por métodos alternativos que contornem estas dificuldades, destacando-se os modelos *in silico* (SANTOS, 2011).

Os modelos *in silico* são métodos executados em computador, ou através de simulação computacional, que surgiram como uma alternativa para os estudos já existentes, apresentando como vantagens um menor tempo de análise, a não utilização de animais, rapidez, reprodutibilidade, exatidão e custos infinitamente menores. Estes métodos baseiam-se em modelos biorreguladores humanos para gerar informações quanto às características farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas das moléculas testadas, além de outros possíveis usos (SANTOS, 2011; SRINIVAS et al., 2014).

Sabendo-se que a descoberta de um novo agente terapêutico depende da cooperação da ciência e de um pouco de “sorte”, estas ferramentas implementam conhecimento e racionalidade a cada etapa da pesquisa, aumentando assim a participação da ciência no processo e diminuindo a necessidade da “sorte” na descoberta de um novo agente terapêutico (THOMAS, 2012; BARREIRO; FRAGA, 2014).

Outro empecilho notado nos métodos atuais é o fato de que boa parte destes são agressivos ao meio ambiente, sendo notado bastante esforços no desenvolvimento de métodos que possam contornar esta dificuldade. As metodologias *in silico* seguem este novo pensamento indo de encontro aos princípios da Química Verde (SANGI, 2016).

Os métodos *in silico* utilizam de diferentes princípios metodológicos, ou da combinação destes princípios, para gerar seus resultados, princípios como: (Q)SAR– (*Quantitative*) *Structure-Activity Relationships*, formação de categoria, análise de tendência e métodos de extrapolação. Estes métodos já são aplicados em softwares de agências como a USEPA, OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) e Comissão Europeia (SANTOS; RODRIGUES, 2011).

Estes estudos têm sido empregados em pesquisas de diferentes cunhos que buscam avaliar diferentes propriedades de moléculas existentes ou hipotéticas, a fim de identificar características promissoras que fomentem o desenvolvimento de estudos mais avançados envolvendo as mesmas (SRINIVAS et al., 2014).

Um exemplo de sua aplicação é o seu uso em estudos farmacológicos das moléculas promissoras. A farmacologia tem como princípio básico explicar como os fármacos funcionam, buscando entender principalmente como as moléculas dos fármacos interagem com os compartimentos biológicos para desencadear sua ação

(farmacodinâmica) e como transitam por estes compartimentos antes e após sua interação com seus alvos (farmacocinética) (RANG et al., 2016).

A partir destes métodos computacionais é possível obter informações quanto às características farmacodinâmicas das moléculas. Estes resultados ajudam a entender como elas atuam, podendo-se assim modelar sua ação a fim potencializá-la e deixá-la mais segura ou mais específica (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Para que possa ser desenvolvida sua ação farmacodinâmica, a molécula do fármaco deve ser capaz de permear pelos compartimentos biológicos até exercer alguma influência química sobre um ou mais constituintes celulares, sendo esta capacidade de permeação regida por suas características farmacocinéticas (RANG et al., 2016). Os métodos *in silico* auxiliam no delineamento desta propriedade, permitindo entender como estes fatores influenciam na ação farmacológica e como podem ser modulados para evitar a eliminação de bons protótipos devido a características farmacocinéticas desfavoráveis (FOWLER et al., 2017).

Além da farmacologia, os estudos toxicológicos *in silico* também vêm demonstrando seu impacto, utilizando métodos computacionais e matemáticos com comprovada efetividade para prever possíveis efeitos tóxicos bem como entender como se desenvolvem, apresentando características que se encaixam perfeitamente nas necessidades industriais (TOROPOVA, 2017).

De acordo com Moda (2011), cerca de 80% das moléculas que iniciam as pesquisas para se tornarem novos fármacos não alcançam os estudos clínicos, das quais 50% têm insucesso devido suas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas. Isso nos mostra que, além de boa ação farmacodinâmica, deve existir um equilíbrio satisfatório entre as características farmacocinéticas e toxicológicas para que se sustente a utilização de uma molécula (SILVA, 2016).

Além disso, segundo Barreiro e Pinto (2010), as empresas farmacêuticas divulgam que de 10.000 moléculas pesquisadas, apenas uma transforma-se em medicamento, sendo necessário um investimento no processo que corresponde a cerca de 10% de seus faturamentos, demandando um tempo médio de 10 anos.

Nesse âmbito, os métodos *in silico* ajudam na identificação de candidatos não promissores, bem como na melhoria dos mesmos a partir de modificações estruturais, facilitando e otimizando o processo de descoberta de novos fármacos (RAYBURN et al., 2018).

Estes métodos também se mostram eficazes no manejo de dados e mapeamento das estruturas 3D de alvos moleculares e ligantes, auxiliando na identificação e modelagem de novos candidatos a fármacos de forma mais direcionada (RODRIGUES et al., 2012).

Desta forma, o emprego destas ferramentas permite um planejamento racional de novos fármacos, bem como a avaliação e síntese dos mesmos, proporcionando ainda a interpretação de seu modo de ação em nível molecular e a comparação do seu efeito biológico a partir do estudo de sua estrutura química (MAFUD et al., 2016)

Seu uso encontra-se em um patamar cada vez mais avançado, sendo uma ajuda de grande valia para pesquisadores de diferentes áreas, trazendo resultados importantes, exatos, reprodutíveis e concordantes com os estudos *in vitro* e *in vivo* (MARCHANT, 2012; SRINIVAS et al., 2014; AMPARO, 2016).

Sua aplicação tem sido estimulada pela legislação, uma vez que possibilita a obtenção de importantes resultados apresentando benefícios singulares, como a não utilização de animais (OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais, solventes e reagentes

O monitoramento das reações foi realizado através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F₂₅₄. Para visualização, as placas foram colocadas em solução ácida (EtOH/H₂SO₄, 95:5) ou solução de vanilina. A purificação foi realizada através da cromatografia líquida em coluna de vidro utilizando sílica-gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionária e sistemas hexano:acetato de etila como fase móvel em diferentes proporções.

Os solventes comerciais foram purificados de acordo com os protocolos descritos na literatura (PERRIN; AMAREGO, 1996). O hexano e o acetato de etila foram destilados individualmente, com coluna de *vigreux* e o diclorometano foi destilado sob hidreto de cálcio. Os reagentes tri-*O*-acetil-D-glucal e o álcool *iso*-propílico foram adquiridos da empresa Sigma Aldrich.

4.2 Síntese do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo

A síntese do glicosídeo 2,3-insaturado foi realizada através do protocolo de Toshima e colaboradores (1995), com algumas modificações. Deste modo, em um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL foram adicionados o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (0,27 g; 1 mmol), o álcool *iso*-propílico (0,70 g; 1,2 mmol) e diclorometano seco (20 mL). Em seguida, o balão foi resfriado a 0°C e mantido sob agitação por 5 minutos. Após este intervalo de tempo foi adicionado montmorillonita K-10 (0,27 g; 100% m/m) e um sistema de refluxo acoplado ao balão. A mistura reacional foi mantida sob agitação e aquecimento (50 ± 5°C) por cerca de 30 minutos. Após este intervalo de tempo o aquecimento foi interrompido e o término da reação verificado por cromatografia de camada delgada (CCD).

Em seguida, a solução contida no balão foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida utilizando evaporador rotativo. O produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando inicialmente hexano e terminando com um sistema de hexano:acetato de etila na proporção de 90:10.

4.3 Caracterização

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo *Unity Plus-300* utilizando como solvente o clorofórmio deuterado (CDCl_3). Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de ^1H e ^{13}C , e todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz). O espectro de infravermelho (IV) foi registrado em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier no *Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer* modelo PerkinElmer, sendo a amostra preparada como pastilhas de KBr, com número de *scans* de 16, resolução 4 e número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} . A rotação específica foi determinada em um polarímetro digital da marca JASCO® P-2000 equipado com a luz de sódio em comprimento de onda 589 nm. A amostra foi preparada em concentração de 1 m/v % (em MeOH) em uma cubeta de 1 mL. O ponto de fusão foi realizado no Electro-thermal série IA 9100 *Digital Melting Point*. A chapa de agitação com aquecimento e a manta aquecedora são da marca Fisaton modelo 754A e 102E, respectivamente. O solvente foi removido utilizando um evaporador rotativo da Büchi Rotavapor modelo R-114 conectado a uma bomba de vácuo modelo KNF Neuberger, e o solvente remanescente foi removido utilizando uma bomba de alto vácuo da Edwards modelo RV3. As estruturas dos compostos foram geradas através do *software* ChemBioUltra® versão 12.0.

4.4 Toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach

O teste de toxicidade frente as larvas de *Artemia salina* Leach foi realizado seguindo-se o protocolo descrito por Meyer e colaboradores (1982). Após sintetizado e caracterizado, o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foi utilizado para a obtenção de uma solução estoque utilizando como solvente água salina artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada em pH entre 8 e 9.

Desta solução foram retiradas alíquotas para a realização de diluições obtendo-se inicialmente as concentrações de 125, 250, 500, 750 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. Após este teste preliminar as concentrações foram ajustadas para novos testes envolvendo concentrações menores que 125 $\mu\text{g/mL}$ e maiores que 1000 $\mu\text{g/mL}$.

O dicromato de potássio foi utilizado como controle positivo ao passo que o solvente da solução estoque foi utilizado como controle negativo a fim de atestar a viabilidade do teste.

Os cistos do microcrustáceo foram incubados em água salina artificial sob iluminação também artificial por um período de 24 horas visando a eclosão dos metanúpilos (larvas). Este processo aconteceu em uma incubadora, que consiste em um recipiente retangular de vidro com uma divisória contendo furos de aproximadamente 0,02 cm de espessura e distribuídos uniformemente, formando-se assim dois lados distintos.

Os cistos foram depositados em um dos lados do recipiente, o qual foi recoberto com papel alumínio, para que as larvas, após a eclosão dos cistos, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, facilitando sua coleta e transferência para os tubos de ensaio. As larvas foram coletadas com auxílio de uma pipeta de *Pasteur*.

As larvas foram divididas em diferentes tubos de ensaio em grupos de 10 para cada tubo, sendo estas expostas aos controles positivo, negativo e às soluções de concentração crescente do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, sendo realizados inicialmente um total de cinco testes, todos em triplicata.

Os testes foram submetidos a iluminação artificial por um período de 24 horas, sendo posteriormente contabilizada a quantidade de indivíduos vivos e mortos para cada teste.

4.5 Análise estatística

Os valores da concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados (CL₅₀) foram obtidos através do software POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987).

4.6 Análises *in silico*

Diferentes análises foram realizadas para o glicosídeo 2,3-insaturado obtendo-se resultados quanto a suas características farmacocinéticas, farmacodinâmicas, a semelhança com outros fármacos e a probabilidade de atividade. Para isso, foram utilizadas três plataformas: os programas *Osiris Property Explorer*, *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* e Previsão do espectro de atividade para substâncias (PASS) *online*.

4.6.1 *Osiris Property Explorer*

A ferramenta *Osiris* é um *software online* capaz de gerar algoritmos preditivos de potencial risco toxicológico a partir da estrutura molecular estudada. Tal predição é baseada na comparação entre os fragmentos estruturais da molécula analisada com um conjunto de fragmentos do “Registro de Efeitos Tóxicos de Substâncias Químicas” (RTECS), do “Centro de controle e prevenção de doenças” (CDC), um órgão norte-americano, e com mais de três mil fármacos comerciais (BRITO, 2010).

Após a análise, o programa expressa probabilidade da molécula demonstrar mutagenicidade, tumorigenicidade, irritabilidade e interferência na reprodução humana através de cores, em que a cor vermelha indica alto risco, a cor amarela risco moderado e a cor verde sem risco.

4.6.2 *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit*

A ferramenta *Molinspiration* possibilita o cálculo de importantes propriedades físico-químicas da molécula. Estes parâmetros foram utilizados para avaliar o padrão de biodisponibilidade teórica do glicosídeo 2,3-insaturado baseando-se na “Regra dos Cinco” desenvolvida por Lipinski e colaboradores (1997).

Este *software* também foi utilizado para avaliar a probabilidade deste composto atuar em diferentes alvos farmacológicos gerando uma noção de suas características farmacodinâmicas. Foi avaliada a probabilidade da molécula agir como: ligante de receptores acoplados à proteína G (GPCR), modulador de canal iônico, inibidor de quinase, ligante de receptor nuclear, inibidor de protease e inibidor enzimático (ERTL; ROHDE; SELZER, 2000).

4.6.3 *PASS online*

A ferramenta *PASS online* foi projetada com o objetivo de avaliar o potencial biológico geral de uma molécula orgânica sobre o organismo humano. Esta ferramenta faz uso de uma abordagem de Relação Estrutura Atividade Quantitativa (*Quantitative structure-activity relationships* - QSAR) que se baseia na decomposição da molécula em descritores 2D e/ou 3D, seguida da geração de modelos obtidos de ligantes bioativos (MALGORZATA; GRIFFITH, 2013).

Mais de 3500 atividades biológicas potenciais são analisadas, incluindo os efeitos farmacológicos, mecanismos de ação, efeitos tóxicos e adversos, interação com enzimas metabólicas e transportadores, ação toxicológica para alguns organismos, tais como

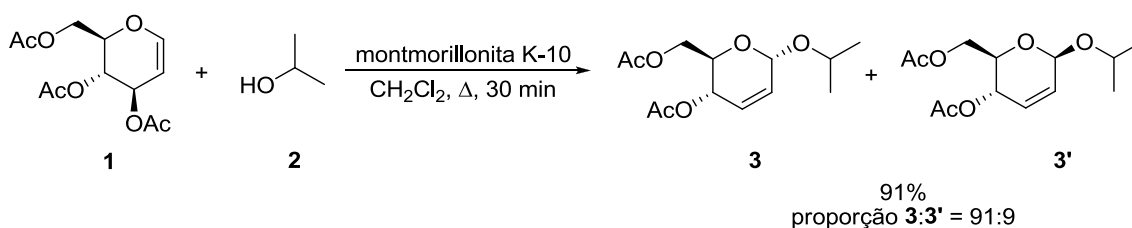
protozoários, micro-organismos e organismos terrestres e aquáticos relacionados a impacto ambiental, entre outras informações (OLIVEIRA, 2014).

O programa consulta um banco de dados e realiza a comparação entre a molécula estudada e outras moléculas com atividade biológica definida, fornecendo uma previsão das possíveis atividades que a molécula teste possa expressar. Os resultados são expressos em probabilidade da molécula ser ativa para determinada atividade biológica (P_a – probabilidade “de ser ativo”) e probabilidade da molécula ser inativa para determinada atividade biológica (P_i – probabilidade “de ser inativo”) (CHAND, 2011; KHURANA et al., 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**) a partir da reação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (**1**) e o álcool *iso*-propílico (**2**) empregando a montmorillonita K-10 como ácido de Lewis (Figura 8).

Figura 8 – Esquema para a síntese do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**).



Fonte: Próprio autor.

Nesta reação de glicosilação, também denominada de Rearranjo de Ferrier (FERRIER, 2001), o álcool *iso*-propílico (**2**) atua como agente nucleofílico e, dependendo da quantidade de montmorillonita K-10, o tempo pode variar significativamente. A fim de comprovar a influência da quantidade de K-10 no tempo de reação, optou-se por realizar a reação empregando 100% (m/m) de K-10 em relação ao reagente limitante 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (**1**), uma quantidade 3 vezes superior a empregada por Toshima e colaboradores (1995). Como resultado, o tempo reacional diminuiu de 60 minutos para 30 minutos sem variação significativa da proporção dos compostos **3** e **3'**. Esta redução drástica do tempo reacional pode ser atribuída ao aumento dos sítios ácidos na solução orgânica oriundos do aumento da quantidade de K-10.

O *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foi obtido na forma líquida com 91% de rendimento, sendo este valor superior ao obtido por Regueira e colaboradores (2016), que descreveram um novo método para síntese destes compostos empregando a irradiação ultrassom. Vale ressaltar que Santos e colaboradores (2017) utilizando outro método para a obtenção de diferentes glicosídeos 2,3-insaturados, entre eles o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, conseguiram reduzir o tempo reacional, porém, o rendimento foi de 83%.

Este glicosídeo 2,3-insaturado (**3**) foi caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas, conforme detalhado na Tabela 1, e os dados obtidos estão de acordo com os descritos na literatura (REGUEIRA et al., 2016).

De acordo com o espectro de RMN ^1H , constata-se que o somatório das áreas das integrais sob cada sinal foi igual a 20, valor igual ao número de átomos de hidrogênio que a substância apresenta. Com relação ao espectro de RMN ^{13}C , constata-se a presença de 14 sinais de carbonos quimicamente diferentes, mesmo número de carbonos que a substância apresenta.

Tabela 1 - Dados espectrais do glicosídeo 2,3-insaturado.

Estrutura	$[\alpha]_D^{20}$	RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3)	RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)	IV (filme)
<p style="text-align: center;">3</p>	+104,7 (<i>c</i>) 1,00 g/mL; MeOH)	δ 5,76 (<i>dl</i> , 1H, H-3, $J = 11,7$ Hz), 5,69 (<i>dt</i> , 1H, H-2, $J_{2,3} = 11,7$ Hz e $J_{2,1} = J_{2,4} = 1,8$ Hz), 5,19-5,15 (<i>m</i> , 1H, H-4), 5,02 (<i>sl</i> , 1H, H-1), 4,17-4,01 (<i>m</i> , 3H, H-5, H-6 e H-6'), 3,98-3,84 (<i>m</i> , 1H, - $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$), 1,98 (<i>s</i> , 3H, -OAc), 1,97 (<i>s</i> , 3H, -OAc), 1,14 (<i>d</i> , 3H, - $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$, $J = 6,3$ Hz), 1,07 (<i>d</i> , 3H, - $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$, $J = 6,0$ Hz)	δ 170,4; 169,9; 128,5; 128,2; 92,5; 70,4; 66,5; 65,1; 62,8; 23,2; 21,7; 20,7; 20,5.	ν_{max} 2971; 2902; 1745; 1450; 1372; 1234 cm^{-1}

Legenda: $[\alpha]$: rotação específica; RMN ^1H : ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN ^{13}C : ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; *c*: concentração comum; δ : deslocamento químico; *dl*: duplete largo; J : constante de acoplamento; *dt*: duplete largo; *m*: multiplete; *sl*: singleto largo; -OAc: grupo acetoxi; *s*: singleto; *d*: duplete; ν_{max} : número de ondas.

Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 1, constata-se que o ângulo de desvio óptico da solução metabólica do composto **3** foi positivo, corroborando a estereoquímica dos centros quirais do composto. Além disso, as bandas de vibração obtidas através do espectro de infravermelho, expressas em números de ondas foram de 2971; 2902; 1745; 1450; 1372; 1234 cm^{-1} sendo referentes às ligações $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ (deformação axial assimétrica, forte), $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-}$

H (deformação axial simétrica, forte), C=O (deformação axial, forte), C-H (deformação angular, fraca), C-O (deformação axial, forte) e C-O (deformação axial, forte) corroborando a estrutura proposta para o glicosídeo 2,3-insaturado sintetizado.

Adicionalmente, as imagens dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C (Figura 9 e 10) indicam os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono presentes na estrutura da molécula sintetizada.

Após sintetizado e caracterizado, o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**) foi submetido ao bioensaio com *Artemia salina* Leach a fim de avaliar sua toxicidade.

Foram realizados testes com concentrações que variaram de 500 $\mu\text{g/mL}$ a 1250 $\mu\text{g/mL}$ a fim de obter concentrações capazes de matar 5% e 95% dos indivíduos testados além de concentrações situadas entre estes dois pontos.

Através do *software* POLO-PC foi identificado com um intervalo de 95% de confiança que a concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados (CL_{50}) para a molécula estudada foi de 779,503 $\mu\text{g/mL}$ com intervalo de confiança nos limites de 683,246 a 883,730 $\mu\text{g/mL}$.

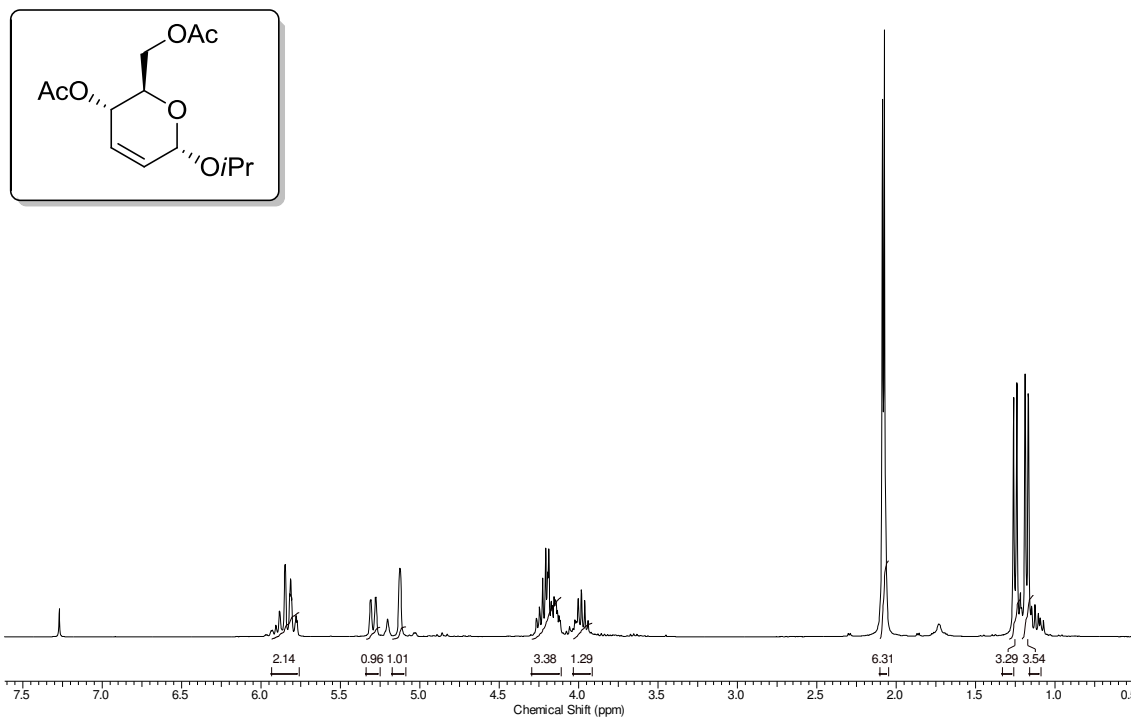
Nguta e colaboradores (2011), bem como Merino e colaboradores (2015), determinaram que amostras com valores de CL_{50} inferiores a 100 $\mu\text{g/mL}$ são considerados altamente tóxicas, valores entre 100 e 500 $\mu\text{g/mL}$ são moderadamente tóxicas, entre 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ são levemente tóxicas e acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$ possuem baixa toxicidade.

Partindo desta premissa, o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**) se apresenta como levemente tóxico frente ao bioensaio com *Artemia salina* Leach, concordando com a expectativa de baixa toxicidade por ser derivado de moléculas compatíveis e presentes numa grande diversidade de organismos.

Este valor de CL_{50} se mostra bem melhor do que o encontrado para outras moléculas, inclusive fármacos amplamente comercializados como a dipirona e o paracetamol, por exemplo. Utilizando o mesmo método, Garcez e colaboradores (2018) identificaram uma CL_{50} de 654,1 $\mu\text{g/mL}$ para a dipirona de referência, ao passo que Rego e colaboradores (2015) encontrou uma CL_{50} ainda mais baixa para o paracetamol, um valor de 298,34 $\mu\text{g/mL}$.

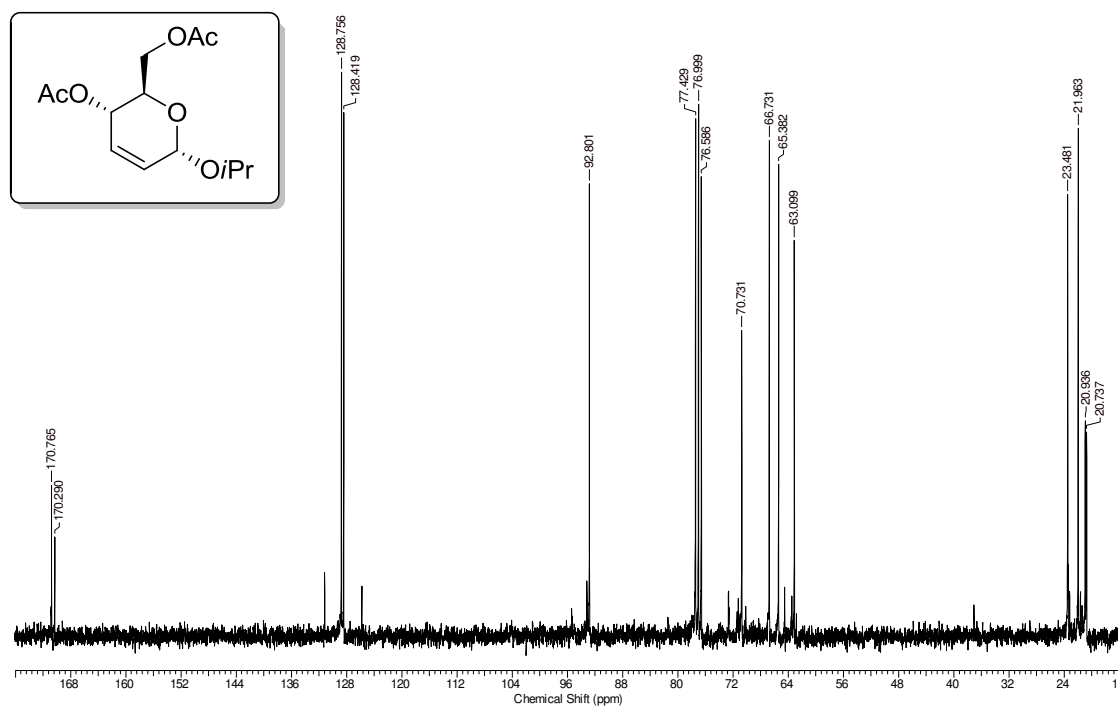
Diante deste resultado promissor de toxicidade, o notou-se a necessidade de ir além nos estudos a fim de explorar como essa molécula pode se comportar no meio biológico e quais ações são esperadas para a mesma, o que foi possível com o advento dos métodos *in silico*.

Figura 9 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**).



Fonte: Próprio autor.

Figura 10 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-dideoxy- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**).



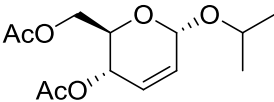
Fonte: Próprio autor.

O programa *Osiris Property Explorer*, foi utilizado para a realização das análises de toxicidade do glicosídeo. A análise foi realizada pela busca de fragmentos na estrutura da molécula testada que indiquem risco de toxicidade.

Conforme descrito pelo programa, uma análise realizada com 3.343 fármacos evidenciou que: 88% deles não apresentava risco de mutagenicidade; 92% não apresentava risco de causar efeitos irritantes; 94% não apresentava risco de tumorigenicidade; e 90% não apresentava risco de interferir na reprodução. Isso nos leva a concluir que o ideal é a ausência da possibilidade de risco na molécula analisada. Os resultados obtidos para o composto sintetizado encontram-se listados na Tabela 2.

A análise apontou a ausência de fragmentos estruturais indicadores de risco na molécula do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, resultando em uma baixa probabilidade desta molécula vir a apresentar efeitos tóxicos para os parâmetros avaliados.

Tabela 2 - Predição de toxicidade do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo a partir do *software Osiris*.

Glicosídeo 2,3- insaturado	Toxicidade			
	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Reprodução
 <p style="text-align: center;">3</p>	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco

Fonte: Próprio autor.

Estes resultados concordam com o bioensaio da *Artemia salina* Leach, indicando que este glicosídeo como uma molécula com baixa ação tóxica demonstrada a partir de estudos *in vitro* e *in silico*. Juntos estes achados corroboram com o que é descrito por Delbianco e colaboradores (2016), os quais defendem que a utilização de moléculas biocompatíveis para o desenvolvimento de novos fármacos é uma forma de resolver os problemas de citotoxicidade que muitas vezes inviabilizam a utilização de uma molécula como agente terapêutico.

A partir do *software Osiris* foi possível obter os valores de *drug-likeness* e *drug score*, os quais avaliam a probabilidade de uma molécula tornar-se um novo fármaco

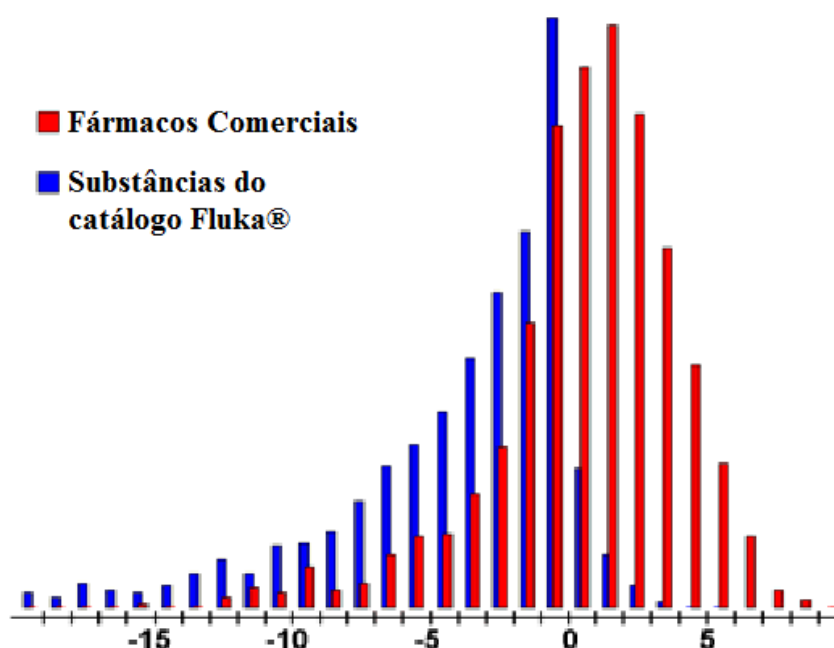
baseado em suas características físico-químicas e biológicas, bem como na sua semelhança com outras moléculas já em comercialização.

O valor de *drug-likeness* avalia a semelhança da molécula testada com uma lista criada a partir da fragmentação de 3.300 fármacos comerciais e 15.000 substâncias químicas não medicamentosas presentes no catálogo Fluka® resultando em uma lista completa com todos os fragmentos disponíveis (URSO et al., 2011).

Uma pontuação é gerada exprimindo a semelhança da molécula teste com o banco de dados indicando a probabilidade desta vir a se tornar um fármaco futuramente. Como mostrado na Figura 11, 80% dos fármacos apresenta um valor positivo de *drug-likeness*, ao passo que a grande maioria das substâncias não medicamentosas apresenta valores negativos, por isso, o ideal é que o candidato a novo fármaco apresente um valor de *drug-likeness* positivo.

O *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo apresentou um valor de *drug-likeness* positivo (0,45) de forma semelhante a 80% dos fármacos analisados pelo programa, indicando a semelhança entre eles e fomentando a possibilidade deste composto vir a apresentar as mesmas características estruturais que levaram os demais fármacos à comercialização.

Figura 11 - Distribuição dos valores de *drug-likeness* dos fármacos comerciais e das substâncias pertencentes ao catálogo Fluka®.



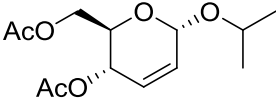
Fonte: [http:// www.organic-chemistry.org/prog/peo/druglikeness.html](http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/druglikeness.html)

O *drug score* é calculado combinando-se os resultados de *drug-likeness*, da lipofilicidade (cLogP), da solubilidade (LogS) e do risco de toxicidade, gerando um valor útil que pode ser usado para avaliar o potencial geral do composto para se tornar um medicamento.

Segundo os critérios estabelecidos, quanto mais próximo de 1 (um) for o resultado de *drug score*, maior é a probabilidade teórica dessa molécula vir a se tornar um bom fármaco. O *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo obteve uma pontuação de 0,76 indicando uma harmonia entre suas características moleculares e apontando uma elevada probabilidade de se tornar um bom fármaco.

O próximo passo foi realizar um levantamento dos parâmetros físico-químicos do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**3**) utilizando o programa *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit*, onde os resultados obtidos encontram-se listados na Tabela 3.

Tabela 3 - Predição do perfil farmacocinético baseado na “Regra dos cinco”.

Glicosídeo 2,3-insaturado	cLogP	MM	nDLH	nALH	Nº de Violações
 <p style="text-align: center;">3</p>	1,49	272,30	0	6	0

Legendas: cLogP: coeficiente de partição; MM: peso molecular; nDLH: doadores de ligação hidrogênio; nALH: aceptores de ligação hidrogênio.

Fonte: próprio autor.

Lipinski (2004) desenvolveu uma regra conhecida como a “Regra dos 5”, a qual determina que um fármaco apresentará uma boa biodisponibilidade oral quando satisfizer um conjunto de pré-requisitos, a saber:

- ✓ Apresentar massa molecular (MM) menor do que 500 Daltons;
- ✓ Coeficiente de partição (cLogP) menor que 5;
- ✓ Máximo de cinco grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH);
- ✓ Máximo de dez grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH).

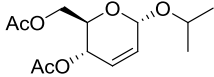
De acordo com a Tabela 3, os pré-requisitos de Lipinski (2004) para o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foram todos satisfeitos, indicando que a molécula apresenta um ótimo potencial de biodisponibilidade oral. Tal

gado é extremamente relevante, pois apesar de existir outras vias de administração, a via oral continua sendo preferencial devido aos benefícios como: conveniência, baixo custo, possibilidade de autoadministração, maior adesão ao tratamento e menores risco de desencadear infecções sistêmicas no usuário (GOLAN et al., 2014).

Ainda utilizando o *Molinspiration* foi avaliado o possível comportamento farmacodinâmico da molécula aqui estudada, sendo os resultados mostrados na Tabela 4.

Segundo Singh, Gupta e Verma (2013) existe uma probabilidade da molécula apresentar uma boa bioatividade quando sua pontuação for maior que 0,0 (valores positivos). Uma pontuação entre -5,00 e 0,0 demonstra a possibilidade de moderada bioatividade e uma pontuação menor que -5,00 é indicativo de inatividade.

Tabela 4 - Predição de alvos farmacodinâmicos a partir do software *Molinspiration*.

Glicosídeo 2,3-insaturado	Ligante GPCR	Modulador Canal Iônico	Inibidor Quinase	Ligante Receptor Nuclear	Inibidor Protease	Inibidor de Enzima
 3	0,05	0,03	-0,38	0,04	-0,24	0,25

Fonte: Próprio autor.

Sendo assim, o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo apresentou um bom potencial e pode se comportar como ligante de GPCR, modulador de canal iônico, ligante de receptor nuclear e inibidor enzimático, o que nos leva a observar o quão promissora se mostra a molécula testada. Sua atividade como inibidor de quinase e inibidor de protease se mostraram moderadas, porém muito próximas de um valor positivo.

A plataforma ainda ressalta, após a análise, as atividades que mais se destacam para a molécula teste. No estudo em questão a de inibidor enzimático se destacou, o que aumenta ainda mais o interesse pela molécula, uma vez que inúmeros processos bioquímicos importantes para o controle da homeostasia, bem como o tratamento de doenças envolvem a participação de enzimas no processo.

Utilizando-se a plataforma *PASS online* realizou-se um levantamento dos potenciais efeitos e alvos biológicos do *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-

eritro-hex-2-enopiranosídeo, resultando em valores percentuais que apontam a probabilidade da molécula ser ativa para determinada atividade biológica (Pa) e probabilidade da molécula ser inativa para determinada atividade biológica (Pi).

Este estudo apontou que o *iso-propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo* apresenta 19 possíveis atividades em que os valores de Pa são maiores que 70%, as quais encontram-se sumarizadas na Tabela 5. Estes resultados apontam atividades de extrema relevância, como a ação antineoplásica, antiprotozoária e antifúngica.

A análise da Tabela 5 também nos mostra que das 19 atividades citadas para o glicosídeo 2,3-insaturado 12 delas compreendem processos de inibição enzimática, o que corrobora o resultado anteriormente apontado pelo programa *Molinspiration* quando este ressalta a ação de inibidor enzimático como a mais pronunciável para esta molécula.

Tabela 5 - Atividades previstas para o *iso-propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo* com uma probabilidade de atividade maior que 70%.

Pa	Pi	Atividade
0,888	0,014	Agonista da integridade da membrana
0,861	0,002	Inibidor da Micotiol-S-conjugada amidase
0,841	0,010	Inibidor da Açúcar-fosfatase
0,831	0,009	Antineoplásico
0,826	0,007	Inibidor da permeabilidade de membrana
0,820	0,005	Inibidor da Ribulose-fosfate 3-epimerase
0,829	0,024	Inibidor da CDP-glicerol glicerofosfotransferase
0,804	0,005	Inibidor da UDP-N-acetilglicosamina 4-epimerase
0,808	0,016	Inibidor da Benzoato-CoA ligase
0,795	0,007	Antagonista da integridade da membrana
0,790	0,019	Inibidor da Alcenilglicerofosfocolina hidrolase
0,768	0,005	Inibidor da Metaloendopeptidase IgA-específica
0,760	0,006	Antiprotozoário (Leishmania)
0,742	0,009	Inibidor da Manganês peroxidase
0,745	0,027	Substrato da CYP2H
0,726	0,008	Antifúngico
0,722	0,015	Inibidor da Exoribonuclease II
0,711	0,014	Inibidor da Fucosterol-epóxido ligase
0,702	0,017	Imunossupressor

Legenda: Pa: Probabilidade “de ser ativo”; Pi: Probabilidade “de ser inativo”.

Fonte: Próprio autor.

O programa ainda aponta outras atividades bastante interessantes para o glicosídeo aqui estudado quando os valores de Pa são menores que 70%, as quais encontram-se listadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Outras atividades previstas para o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo.

Pa	Pi	Atividade
0,656	0,009	Antiviral (Influenza)
0,634	0,004	Antiviral (Rhinovirus)
0,598	0,009	Antibacteriano
0,573	0,007	Antiprotozoário
0,562	0,009	Anti-helmíntico (Nematoides)
0,495	0,021	Antimetastático
0,499	0,041	Antialérgico
0,421	0,005	Inseticida
0,441	0,025	Anticarcinogênico
0,425	0,044	Antitrombótico
0,421	0,093	Antinociceptivo

Legenda: Pa: Probabilidade “de ser ativo”; Pi: Probabilidade “de ser inativo”.

Fonte: Próprio autor.

Estes resultados apontam as principais atividades esperadas para o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, ajudando no direcionamento dos testes a serem desenvolvidos para o descobrimento e entendimento de suas possíveis ações farmacológicas.

6 CONCLUSÃO

O *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foi obtido em excelente rendimento (91%), baixo tempo reacional (um total de 30 minutos) e as adaptações realizadas na metodologia proporcionaram um aumento do rendimento quando comparados a outras metodologias descritas na literatura.

O composto sintetizado foi caracterizado por diferentes técnicas espectroscópicas, tais como, infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e rotação específica, em que os dados encontrados confirmam sua estrutura e estão de acordo com os descritos na literatura.

O ensaio de toxicidade *in vitro* pelo bioensaio com *Artemia salina* Leach apontou que o *iso*-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo apresenta-se como levemente tóxico, com uma CL_{50} de 779,503 $\mu\text{g/mL}$ nos limites de 683,246 a 883,730 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados obtidos com o advento das ferramentas *in silico* enalteceraam o potencial deste glicosídeo 2,3-insaturado, apresentando uma probabilidade comprovada de desencadear diferentes efeitos farmacológicos, podendo agir por diferentes vias sem apresentar efeitos tóxicos se tendo ainda a probabilidade de administração oral.

Estas ferramentas ainda apontam uma elevada probabilidade deste glicosídeo 2,3-insaturado desempenhar atividades farmacológicas de extrema relevância, podendo atuar principalmente como antineoplásico, antibiótico contra diversos organismos, antialérgico, inseticida, antitrombótico, antinociceptivo e inibidor enzimático.

Pode-se concluir que tais resultados são suficientes para que se fomente o desenvolvimento de mais estudos que visem explorar as atividades que esta molécula e seus derivados possam expressar, buscando identificá-las, entendê-las e moldá-las, cooperando para o processo de desenvolvimento de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. L. A. **Planejamento sintético e avaliação antitumoral de carboidratos enônicos**. 2015. Monografia (Licenciatura em química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, Cuité. 2015.
- AMPARO, T. R. **Análise fitoquímica e bioprospecção para atividade antimicrobiana de *Protium spruceanum* (Benth) Engler**. 2016. Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. 2016.
- ANDRIOLLI, A. C.; SANTOS, D. Da S.; TEIXEIRA, S. C. G.; TEIXEIRA, L. R. BERALDO, H. ZIOLLI, R. L. Avaliação do potencial citotóxico de 2-piridiniformamida tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe(III) utilizando *Artemia salina*. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 8, n. 2, p. 19-23, 2007.
- ASAKAWA, Y.; LUDWICZUK, A.; NAGASHIMA, F. Phytochemical and biological studies of bryophytes. **Phytochemistry**. v. 91, p. 52-80, 2013.
- ATES, M.; DEMIR, V.; ARSLAN, Z.; CAMAS, M.; CELIK, F. Toxicity of engineered nickel oxide and cobalt oxide nanoparticles to *Artemia salina* in seawater. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 3, p. 70, 2016.
- BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal Ferula species. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.
- BANDERA, D.; SAPKOTA, J.; JOSSET, S.; WEDER, C.; TINGAUT, P.; GAO, X.; FOSTER, E. J.; ZIMMERMANN, T. Influence of mechanical treatments on the properties of cellulose nanofibers isolated from microcrystalline cellulose. **Reactive and Functional Polymers**, v. 85, p. 134-141, 2014.
- BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B. e SOUZA, I. Teste de toxicidade de cobre para *Artemia salina*. **Poluição e ecotoxicologia marinha**, Nov. 2003.
- BARREIRO, E. J. L.; PINTO, A. C. Como chegar aos fármacos verde-amarelos? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 775, 2010.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O.G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v.11, n. 2, p.44, 2010.

BEDNARCZUK, V.O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 43-50, 2010.

BERA, S.; MONDAL, D.; MARTIN, J. T.; SINGH, M. Potential effect of ultrasound on carbohydrates. **Carbohydrate Research**, v. 410, p. 15-35, 2015.

BRITO, M. A. Avaliação de propriedades farmacológicas de fármacos *in silico* no curso experimental de química medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 17, n. 4, p. 22-29, 2010.

CASTELLO BRANCO, A. C. S. **Avaliação da toxicidade crônica pré-clínica de *Foeniculumvulgare* mill**. 2009. 136f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2009.

CHAND, B. Structure – Bioactivity – Relation ships and crystallographic analysis of secondary interactions in Pregnane-BasedSteroids. **Journal Chemical Crystallography**, v. 41, n. 12, p. 1901-1926, 2011.

CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.

CHUNG, I.; KIM, Y.; ALI, M.; KIM, S.; PARK, I.; KIM, E.; YANG, Y.; PARK, H.; SON, E.; AHMAD, A. Triterpene glycosides from red ginseng marc and their anti-inflammatory activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 17, p. 4203-4208, 2014.

CORDEIRO, K. C. F. A.; REZENDE, K. R.; VAZ, B. G.; ROMÃO, W.; LIAO, L. M. GIL, E. S.; DE OLIVEIRA, V. Biosynthesis and antioxidant activity of 4-NCR- β -glycoside. **Tethaedron Letters**, v. 54, n. 48, p. 6656-6659, 2014.

- CORRÊA, M. C. D. V.; RODRIGUES, P. H. A.; CAETANO, R. Os medicamentos como uma questão estratégica para a viabilidade do Sistema Único de Saúde. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 28, n. 1, 2018.
- DANTAS, C. R. **Síntese estereoseletiva e caracterização estrutural de compostos Z-enínicos acoplados a pseudoglicosídeos**. 2017. Dissertação (mestrado em química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2017.
- DELBIANCO, M.; BHARATE, P.; VARELA-ARAMBURU, S.; SEEBERGER, P. H. Carbohydrates in Supramolecular Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 4, p. 1693-1752, 2016.
- ERTL, P.; ROHDE, B.; SELZER, P. Fast calculation of molecular polar surface area (PSA) as a sum on fragment-based contributions and its application to the predictions of drug transport properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 3714-3717, 2000.
- FERRAZ-FILHA, Z. S.; LOMBARDI, J. A.; GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lynchnophoriopsis candelabrum* and diferente *Lynchnophora* species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 358-361, 2012.
- FERREIRA, V. F.; SILVA, F. C.; FERREIRA, P. G. Carboidratos como fonte de compostos para a indústria de química fina. **Química nova**, v. 36, n. 10, p. 1514-1519, 2013
- FERRIER, R. J. Substitution-with-Allylic-Rearrangemetn reactions of glycal derivates. **Topics in Current Chemistry**, v. 215, p. 153-175, 2001.
- FISCHER, H. E. Ueber die glycoside der alkohole. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellscharft**, v. 26, n.3, p. 2400-2412, 1893.
- FOWLER, S.; MORCOS, P.N.; CLEARY, Y.; MARTIN-FACKLAM, M.; PARROTT, N.; GERTZ, M.; YU, L. Progress in Prediction and Interpretation of Clinically Relevant Metabolic Drug-Drug Interactions: a Minireview Illustrating Recent Developments and Current Opportunities. **Current Pharmacology Reports**, v. 3, n. 1, p. 36-49, 2017.
- FREITAS, J. C. R.; COUTO, T. R.; PAULINO, A. A. S.; FREITAS FILHO, J. R.; MALVESTITI, I.; OLIVEIRA, R. A.; MENEZES, P. H. Stereoselective synthesis of

pseudoglycosides catalysed by TeCl₄ under mild conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 68, p. 8645-8654. 2012

GARCEZ, B. B. D.; CARREIRO, E.; NOGUEIRA, M. C.; MACÊDO, N. S.; NASCIMENTO, S. L. S.; SOLVA, J. N.; MAQUES, R. B. Toxicidade aguda da dipirona sódica in vitro utilizando o bioindicador de toxicidade *Artemia salina* Leach. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 11, n. 02, p. 114-119, 2018.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN JUNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

GOYARD, D.; DOCSA, T.; GERGELY, P.; PRALY, J. P.; VIDAL, S. Synthesis of 4-amidomethyl-1-glucosyl-1,2,3-triazoles and evaluation as glycogen phosphorylase inhibitors. **Carbohydrate research**, v. 402, p. 245-251, 2015.

GREENWAY, S. C. **Functional Metabolism: Regulation and Adaptation**, in STOREY, K. B.; Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Revista Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010.

HAO, N.; NERANON, K.; RAMSTROM, O.; YAN, M. Glyconanomaterials for biosensing applications. **Biosensors and bioelectronics**, v. 76, p. 113-130, 2016.

KHURANA, N. I.; MOHAN, P. S.; GAJBHIYE, A.; GOEL, R. K. PASS assisted prediction and pharmacological evaluation of novel nicotinic analogs for nootropics activity in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 662 n. 1-3, p. 22-30, 2011.

KIMURA, H.; TOKUYAMA, S.; ISHIHARA, T.; OGAWA, S.; YOKOTA, K. Identification of new flavonol O-glycosides from indigo (*Polygonum tinctorium* Lour) leaves and their inhibitory activity against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 108, p. 102-112, 2015.

KNOP, L. B.; MARIA, D. A. Métodos substitutivos e a experimentação animal: um enfoque inovador. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 4, n. 2, p. 101-114, 2017.

LIPINSKI, C. A. Lead and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. Drug discovery today: **Technologies**, v. 1, n.1, p. 337-341, 2004.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 4-25, 1997.

LÚCIO NETO, M. P. **Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica do composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil) – imidazolidina-2,4-diona em células eucarióticas**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Piauí, Teresina. 2011.

MAFUD, A. C.; FERREIRA, L. G.; MASCARENHAS, Y. P.; ANDRICOPULO, A. D.; MORAES, J. Discovery of novel antischistosomal agentes by molecular modeling approaches. **Trends in Parasitology**, v. 32, p. 874-886, 2016.

MALGORZATA, N.D.; GRIFFITH, R. Combination of ligand- and structure based methods in virtual screening. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 10, n. 3, p. 395-401, 2013.

MARCHANT, C. A. Computacional toxicology: a tool for all industries. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 2, n. 1, p. 424-434, 2012.

MATA, M. M. S. **1,2,4-oxadiazóis e O e S-glicosídeos-2,3-insaturados: síntese e caracterização estrutural**. 2017. Dissertação (mestrado em química) – Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife. 2017.

MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE A.; KULIK J.; MIGUEL M.; MIGUEL O. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ, M. *Artemia salina* as a test organism for bioassay. **Science**, v. 123, p. 464, 1956.

- MODA, T. L. **Modelagem In silico de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos**. 2011. Tese (Doutorado em Ciência) – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2011.
- MOURA, A. L.; LIMA, L. M. A.; BEZERRA, G. B.; DE FREITAS, J. J. R.; BELAIN, M. F.; RAMOS, C. S.; AVELINO, R. A.; FREITAS FILHO, J. R. O-Glicosídeos 2,3-insaturados: aplicações, rearranjo de ferrier e reações. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 550-566, 2018.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- NGUTA, J M; MBARIA, J M; GAKUYA, D W; GATHUMBI, P K; KABASA, J D; KIAMA, S G. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.2, p.458-478, 2011.
- NIGUDKAR, S. S.; DEMCHENKO, A. V. Stereocontrolled 1,2-*cis* glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. **Chemical Science**, v. 6, p. 2687-2704, 2015.
- NOGUEIRA, C. M.; PARMANHAN, B. R.; FARIAS P. P.; CORRÊA, A. G. A. Importância Crescente dos Carboidratos em Química Medicinal. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n.2, p. 149-159, 2009.
- OJALA, T.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. **Planta Medica**, v. 65, n. 8, p. 715-718, 1999.
- OLIVEIRA FILHO, A. A.; FERNANDES, H. M. B.; ASSIS, T. J. C. F.; MEIRELES, D. R. P.; LIMA, E. O.; PESSO, H. L. F. Pharmacological and toxicological analysis of flavonoid 5,7,4'-Trimethoxyflavone: an *in silico* approach. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 7, n. 3, p. 431-434, 2015.
- OLIVEIRA, M. L. G. **Avaliação in silico do potencial farmacológico e toxicológico de friedelanos, lupanos e derivados**. 2014. Tese (doutorado em ciências – química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2014.

PAPA, E. ARNOD, J. A.; SANGION, A.; GRAMATICA, P. In Silico Approaches for the Prediction of In Vivo Biotransformation Rates. In: ROY, K. **Advances in QSAR Modeling**. Springer International Publishing, v. 24, p. 425-451, 2017.

PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F. **Purifications of laboratory chemicals**. 3 ed., Pergamon Press: Oxford, 1996.

PIMENTEL, M. F.; SILVA JÚNIOR F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O Uso de *Artemia sp.* como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

PIZZOLOTTO, G. Avaliação da atividade tóxica e antimicrobiana *in vitro* dos extratos metanólicos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) visitadas e protegidas de insetos. 2010. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma. 2010.

POLAKOVA, M.; STANTON, R.; WILSON, I. B. H.; HOLKOVÁ, I.; SESTÁK, S.; MACHOVÁ, E.; JANDOVÁ, Z.; KONA, J. ‘Click chemistry’ synthesis of 1-(α -d-mannopyranosyl)-1,2,3-triazoles for inhibition of α -mannosidases. **Carbohydrate Research**, v. 406, p. 34-40, 2015.

POMIN, V. H.; MOURÃO, P. A. S. Carboidratos. **Ciência Hoje**, v. 39, n. 233, p. 24, 2006.

POMPILHO, W. M.; MARCONDES, H. C.; OLIVEIRA, T. T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 473-480, 2014.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJIDARU, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RAYBURN, E. R.; GAO, L.; DING, J.; DING, H.; SHAO, J.; LI, H. FDA-approved drugs that are spermatotoxic in animals and the utility of animal testing for human risk prediction. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 35, n. 2, p. 191-212, 2018.

REGO S. C.; DA MATA A. M. O. F.; ROSA M. S. P. S.; ALENCAR M. V. O. B.; JÚNIOR A. L. G.; JÚNIOR A. A. A.; PAZ M. F. C. J.; CAVALCANTE A. A. C. M. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. **Boletim Informativo Geum**, v. 6, n. 2, p. 7-14, 2015.

REGUEIRA, J. L. L. F.; DANTAS, C. R.; DE FREITAS, J. J. R.; DA SILVA, A. J. F. S.; FREITAS FILHO, J. R.; MENEZES, P. H.; FREITAS, J. C. R. Stereoselective synthesis of 2,3-unsaturated pseudoglycosides promoted by ultrasound. **Synthesis**, v. 48, p. 1069-1078, 2016.

RIOS, F. J. B. **Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia sp.*** 1995. Dissertação (mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1995.

ROCHA-FILHO, C. A. A.; ALBUQUERQUE, L. P.; SILVA, L. R. S.; SILVA, P. C. B.; COELHO, L. B. B.; NAVARRO, D. M. A. F.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; MELO, A. M. M. A.; NAPOLEÃO, T. H.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G. Assessment of toxicity of *Moringa oleífera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; DE ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H. P. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.

RÖMLING, U.; GALPERIN, M. Y. Bacterial cellulose biosynthesis: diversity of operons, subunits, products, and functions. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 9, p. 545-557, 2015.

SACHETT, L. G.; VERLI, H.: O papel de carboidratos na função proteica: o caso das PGHS. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 275-285, 2011.

SANGI, D. P. Estratégia de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada. **Química nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.

SANTOS, C. E. M. Toxicologia *in silico*: uma nova abordagem para análise do risco químico. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 47-63, 2011.

SANTOS, C. E. M.; RODRIGUES, A. S. Toxicologia *in silico*: contexto de aplicação e o modelo de custo-efetividade nos testes alternativos. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, p. 92-113, 2011.

SANTOS, J. A. M.; SANTOS, C. S.; ALMEIDA, C. L. A.; SILVA, T. D. S.; FREITAS FILHO, J. R.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, T. G.; DA CRUZ, C. H. B.; FREITAS, J. C. R.; MENEZES, P. H. Structure-based design, synthesis and antitumoral evaluation of enulosides. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 128, p. 192-201, 2017.

SARAIVA, A.; CASTRO, R.; CORDEIRO, R.; SOBRINHO, T.; CASTRO, V.; AMORIM, E.; et al. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SILVA, D. F. **Avaliação da atividade biológica do β -citroneol sobre *Candida albicans***. 2016. Dissertação (mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2016.

SILVA, R. L. **Estudo de uma nova série de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados: síntese, caracterização e atividade antitumoral**. 2015. Dissertação (mestrado em química) – Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife. 2015.

SILVA, R. O.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. C. R. D-Glicose, uma biomolécula fascinante: História, propriedades, produção e aplicação. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 875-891, 2018.

SINGH, S.; GUPTA, A.K.; VERMA, A. Molecular properties and bioactivity score of *Aloe vera* antioxidant compounds-in order to lead finding. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 876-881, 2013.

- SRINIVAS, N.; SANDEEP, K. S.; ANUSHA, Y.; DEVENDRA, B. N. *In vitro* cytotoxic evaluation and detoxification of monocrotaline (Mct) alkaloid: an *in silico* approach. **International Invention Journal Biochemistry Bioinformatics**. 2014.
- THOMAS, G. **Química medicinal: uma introdução**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- TOROPOVA, M. A. Drug Metabolism as an object of computational analysis by the Monte Carlo method. **Current drug metabolism**, v. 18, n. 12, p. 1123-1131, 2017.
- TOSHIMA, K.; ISHIZUKA, T.; MATSUO, G.; NAKATA, M. Practical glycosidation method of glycals Montmorillonite K-10 as an environmentally acceptable and inexpensive industrial catalyst. **Chemical Reviews**, v. 4, p. 306-308, 1995.
- URSO, O.; RAYAN, A.; GOLDBLUM, A.; OPREA, T. I. Understanding drug-likeness. **Wiley Interdisciplinary Reviews**, v. 1, n. 5, p. 760-781, 2011.
- VICTAL, J. C.; VALÉRIO, L. B.; OSHIRO, M. C.; BAPTISTA, S. C.; PINHEIRO, F. Métodos alternativos *in vitro* e *in silico*: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 36-57, 2014.
- Web of Science. Disponível em: <http://apps- webofknowledge.ez292.periodicos.capes.gov.br/CitationReport.do?product=WOS&search_mode=CitationReport&SID=7B9vW6MnBjylbJJUej2&page=1&cr_pqid=3&viewType=summary>. Acesso em 25 out. 2018.
- WU, J.; KWON, B.; LIU, W.; ANSLYN, E. V.; WANG, P.; KIM, J. S. Chromogenic/Fluorogenic Ensemble Chemosensing Systems. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 15, p. 7893, 2015.
- XAVIER, N. M.; RAUTER, A. P. Environmentally friendly approaches to the synthesis of new antibiotics from sugars. **Pure and Applied Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 803-816, 2012.
- XUE, R.; HAN, N.; XIA, M.; YE, C.; HAO, Z.; WANG, L.; WANG, Y.; YANG, J.; SAIKI, I.; YIN, J. TXA9, a cardiac glycoside from *Streptocaulon juvenas*, exerts a potent anti-tumor activity against human non-small cell lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Steroids**, v. 94, p. 51-59, 2015.