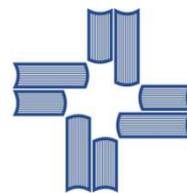




UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE EDUCAÇÃO
LICENCIATURA EM QUÍMICA



CLÁUDIA LAÍS ARAÚJO ALMEIDA

**PLANEJAMENTO SINTÉTICO E AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE
CARBOIDRATOS ENÔNICOS**

Cuité – PB

2015

CLÁUDIA LAÍS ARAÚJO ALMEIDA

**PLANEJAMENTO SINTÉTICO E AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE
CARBOIDRATOS ENÔNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande como parte integrante do requisito para obtenção do grau de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Cuité-PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

A447p Almeida, Cláudia Laís Araújo.

Planejamento sintético e avaliação antitumoral de carboidratos enônicos. / Cláudia Laís Araújo Almeida. – Cuité: CES, 2015.

91 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientador: Juliano Carlo Rufino de Freitas.

1. Carboidratos enônicos. 2. O-glicosídeos 2,3-insaturado. 3. Atividade antitumoral. I. Título.

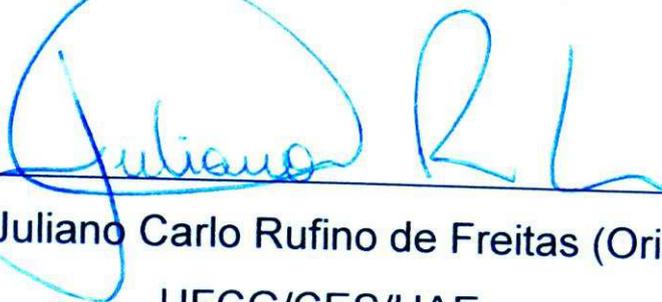
CDU 54

CLÁUDIA LAÍS ARAÚJO ALMEIDA

PLANEJAMENTO SINTÉTICO E AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE
CARBOIDRATOS ENÔNICOS

Aprovado em 05/02/2015

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas (Orientador)
UFCG/CES/UAE



Prof.^a Dr.^a Jacqueline do Carmo Barreto
UFCG/CES/UAE



Prof.^a Dr.^a Ana Regina Nascimento Campos
UFCG/CES/UAE

CUITÉ – PB

2015

Dedico este trabalho a base da minha vida: a minha maravilhosa mãe, Maria do Rosário, e ao meu amado noivo, Jonh Anderson, que sempre acreditaram em mim e com todo carinho e paciência não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida, que mesmo não sabendo eles são os meus motivos para estar aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus que permitiu que tantas coisas boas acontecesse em cada momento da minha vida, por ter me dado saúde, força e perseverança, por ter me dado a oportunidade de conhecer e conviver com pessoas tão maravilhosas.

Ao meu noivo por ser tão presente, atencioso, companheiro, leal a todas as ideias que tenho e por ser minha testemunha de vida, por estar ao meu lado em cada momento, seja eles ruim ou bom, e por notar cada detalhe da minha existência, por eu ter sempre com quem contar e viver.

À minha querida mãe pelo seu amor incondicional, por seu meu modelo de guerreira que têm me dado, por todo seu apoio e incentivo nas horas mais difíceis e pela alegria compartilhada nos momentos bons.

Agradeço ao meu pai e meu irmão por estarem presentes e me fortalecerem e me auxiliarem nas escolhas da minha vida.

Ao professor Juliano Carlo, pela orientação, paciência, compreensão e dedicação inigualável, o qual compartilhou suas experiências e conselhos para que minha formação em química fosse também um aprendizado de vida e agradeço muito por acreditar em mim.

À professora Ladjane por nos incentivar a amar a docência, sendo ela junto com o professor Juliano incentivadores de sonhos e ideias, são modelos de humildade, paciência, compreensão e competência. Agradeço pelos ensinamentos das lições do ofício e de semearem em mim a vontade de seguir em frente e ir além da graduação. Agradeço pelo modelo de profissionalismo, por se importarem com nossos temores, por se preocuparem, por nos aconselharem, pela amizade e por serem mais que professores e amigos, serem da família, já que construíram uma, a família LASO.

Agradeço por ter conhecido tantos profissionais que servem como exemplo de profissionalismo, que nos ensinaram tanto. Agradeço pelas contribuições de Paulo Sérgio, Cláudia, Marta e Renato, como também, das contribuições acadêmicas e pessoais dos professores Jacqueline, Ana Regina, Joana e Marciano, estes que para mim que são modelos a ser seguidos e amados, mais

que professores, são nossos amigos, sempre no propósito de auxiliar. Agradeço por todos os ensinamentos.

Agradeço a minha família: aos avós, avôs, tias e tios, primas e primos. Em especial a vó Zefinha por ser minha segunda mãe, obrigada por sempre cuidar de mim.

Agradeço aos meus amigos-irmãos que encontrei nas aulas, nos laboratórios, principalmente, no grupo LASO: Déborah, Felipe, Neto, Akeline, Thayanne, Francisco, Jadson, Cláudio, Cosme, Cylla, Taíse e Iêlda. Agradeço a todos por me escutarem, por respeitar meu silêncio, por incentivar risos e gargalhadas e por enxugarem minhas lágrimas.

Aos amigos que proporcionaram tantos momentos bons de conversas e risos, Eldamira, Renally, Thaysinha, Daniel, Jakeline, Alzeni, Eudes, Verônica, Adlla, Douglas, Aline, Yuan, Bruno, Gustavo, Kaic, Milena, Iraizi, e tantos outros, sei que estas amizades durarão a vida toda.

Agradeço a Thayanne por me auxiliar em todas as etapas da pesquisa, por está presente de dia a noite sempre que podia, enfim, muito obrigada, e espero que eu possa ter contribuído no seu futuro como você contribuiu com o meu.

À minha irmã Carolzinha, por está do meu lado, me apoiando, me escutando, me animando e acalmando e que mesmo na distância sei que sempre posso contar com ela, que mesmo não sendo filhas dos mesmos pais é como se fosse minha irmã de sangue, amo muito.

Ao seu Vital, à dona Lindaci e à minha prima Islâne, que são os funcionários mais alegres e simpáticos da universidade que conheço, é sempre bom ser recebido na universidade com sorrisos e saudações.

Agradeço a Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelas análises espectroscópicas de Ressonância Magnética de Hidrogênio (RMN¹H), Ressonância Magnética de Carbono (RMN ¹³C) e Infravermelho (IV).

Agradeço as professoras Gardênia Carmen Gadelha Militão e Teresinha Gonçalves da Silva do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco pelas atividades antitumorais.

Agradeço aqueles que de uma forma ou de outra me ajudou a crescer e contribuiu diretamente ou indiretamente para esse trabalho. Agradeço a todos.

RESUMO

Os carboidratos são as macromoléculas mais abundantes da terra, e estima-se que cerca de 70% de toda biomassa é composta de carboidratos. Dentre os diferentes tipos de carboidratos uma classe que se destaca são os glicosídeos. Os glicosídeos apresentam inúmeras aplicações biológicas e tecnológicas, além de serem versáteis *synthons* aplicados na química sintética, devido a essas características e outras funções, o objetivo do trabalho foi sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antitumoral de carboidratos enônicos obtidos a partir de sucessivas transformações da D-glicose. Neste sentido, a metodologia consistiu em sintetizar o tri-*O*-acetil-D-glucal a partir da D-glicose, depois promover a reação de glicosidação, seguida da reação de hidrólise e da reação de oxidação. Todos os produtos da reação de oxidação foram submetidos a atividade antitumoral frente a quatro linhagens de células tumorais humanas, sendo elas, NCI-H292 (carcinoma de pulmão), MCF (câncer de mama), HEP (carcinoma do colo do útero) e HL60 (leucemia promielocítica). Como resultado o tri-*O*-acetil-D-glucal foi obtido na forma de um sólido branco amorfo com rendimento de 90%. A reação de glicosidação por meio do rearranjo de Ferrier com diferentes álcoois levaram aos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados com rendimentos que variaram de 89-95% em tempos reacionais de 45-80 minutos. A hidrólise básica dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados levaram aos respectivos *O*-glicosídeos hidrolisados com rendimentos que variaram de 85-98% de forma rápida e seletiva. A reação de oxidação utilizando o dióxido de manganês dos *O*-glicosídeos hidrolisados levaram aos carboidratos enônicos em excelentes rendimento 85-92% em tempos reacionais que não ultrapassaram 3h. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por diferentes técnicas espectrométricas (IV, RMN ^1H e ^{13}C) e os carboidratos enônicos apresentaram elevada atividade citotóxica frente às quatro linhagens de células testadas apresentando CL_{50} variando de 1,0-5,6 $\mu\text{g/mL}$. Tais resultados demonstram a eficiência das metodologias empregadas na síntese dos carboidratos enônicos que apresentam promissora atividade antitumoral.

Palavras-chave: Carboidratos enônicos, *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, atividade antitumoral

ABSTRACT

Sugars are the most abundant macromolecules of the earth, and it is estimated that about 70% of all biomass consists of sugars. Among the different types of sugars a class that stands out is the glycosides. The glycosides present numerous biological and technological applications, in addition to being versatile synthons applied in synthetic chemistry, because of these features and other functions, the objective of this work was to synthesize, characterize and evaluate the antitumor activity of enones sugars obtained from successive transformations of D-glucose. In this sense, the methodology consisted of synthesizing tri-O-acetyl-D-glucal from the D-glucose, then promoting the glycosidation reaction, followed by hydrolysis reaction and the oxidation reaction. All oxidation reaction products were subjected to anti-tumor activity against four strains of human tumor cells, which were, NCI-H292 (lung carcinoma), MCF (breast cancer), HEP (cervical carcinoma) and HL60 (promyelocytic leukemia). As a result tri-O-acetyl-D-glucal was obtained as an amorphous white solid in 90% yield. The glycosidation reaction by Ferrier rearrangement with different alcohols led to the 2,3-unsaturated *O*-glycosides with yields ranging from 89-95% in reaction times of 45-80 minutes. Basic hydrolysis of 2,3-unsaturated *O*-glycosides led to their hydrolyzates *O*-glycosides in a yield varying from 85-98% quickly and selectively. The oxidation reaction using manganese dioxide of hydrolyzed *O*-glycosides led to enones sugars excellent yields 85-92% in reaction times which do not exceed 3 h. All synthesized compounds were characterized by different spectrometric techniques (IR, ¹H and ¹³C NMR) and enones sugars were highly cytotoxic activity against the four cell lines tested showing IC₅₀ ranging from 1.0 to 5.6 μg/mL. These results demonstrate the efficiency of the methodologies used in the synthesis of enones sugars that have promising antitumor activity.

Keywords: Enones sugars, 2,3-unsaturated *O*-glycosides, antitumor activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura de trifosfato de adenosina (ATP)	4
Figura 2: Adenosina Difosfato (ADP).	5
Figura 3: Estruturas da galactose, manose, frutose e glicose, respectivamente.....	7
Figura 4: Representação de monossacarídeos acíclicos pela projeção de Fisher.....	7
Figura 5: Estruturas da sacarose e lactose, respectivamente.	9
Figura 6: Exemplos de glicosídeos 2,3-insaturados	11
Figura 7: Estruturas gerais dos glicosídeos cardíacos.....	13
Figura 8: Tiazol com atividade antiviral.....	17
Figura 9: Primeira vacina comercial de carboidrato sintético.....	18
Figura 10: Estreptomicina (<i>Streptomyces griseus</i>)	19
Figura 11: Vancomicina (<i>Streptomyces orientalis</i>).....	20
Figura 12: Derivado da antrose.....	21
Figura 13: Transformação de uma célula normal em célula cancerosa.....	22
Figura 14: Glicosídeo com atividade imunoestimuladora.	24
Figura 15: Nucleosídeos com atividade antitumoral.	24
Figura 16: Espectro de IV do tri-O-acetil-D-glucal (pastilha de KBr).....	34
Figura 17: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do tri-O-acetil-D-glucal.	35
Figura 18: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) do O-glicosídeos 2,3-insaturados, 4a.	38
Figura 19: Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 300 MHz) do O-glicosídeos 2,3-insaturados, 4a.	39
Figura 20: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do O-glicosídeo hidrolisado 5a	42
Figura 21: Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) do O-glicosídeo hidrolisado 5a.	43
Figura 22: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do carboidrato enônico 6a.	47
Figura 23: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do carboidrato enônico 6a.	48

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Equação geral para o processo de fotossíntese.....	5
Esquema 2: Formas acetálicas dos anéis de cinco e seis membros.	8
Esquema 3: Reação de glicosidação de Fischer.	11
Esquema 4: Rearranjo de Ferrier do tri-O-acetil-D-glucal catalisada pelo $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	12
Esquema 5: Síntese do tri-O-acetil-D-glucal, 2.	31
Esquema 6: Proposta mecanística para acetilação da D-glicose.....	32
Esquema 7: Proposta mecanística para bromação da D-glicose pentaacetilação.....	32
Esquema 8: Proposta mecanística de Somsák, Madaj e Wisniewski para a síntese do tri-O-acetil-D-glucal.	33
Esquema 9: Síntese dos O-glicosídeos 2,3-insaturados.	36
Esquema 10: Reação de oxidação do O-glicosídeo hidrolisado 5a.....	45
Esquema 11: Proposta mecanística para a oxidação do O-glicosídeos hidrolizados.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados 4a-e a partir do tri-O acetil D-glucal 2 e diferentes álcoois 3a-e	36
Tabela 2: Síntese de compostos 5a-e a partir da hidrólise quimiosseletiva dos compostos 4a-e.....	41
Tabela 3: Síntese dos carboidratos enônicos, 6a-e, a partir da oxidação dos O-glicosídeos hidrolisados, 5a-e.	45
Tabela 4: Percentual de inibição de crescimento celular dos carboidratos enônicos 6b e 6c em duas linhagens de células tumorais na dose fixa 25 µg/mL.....	49
Tabela 5: Determinação do IC50 (µg/mL) dos carboidratos enônicos 6b e 6c.	50

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
δ	Deslocamento químico
ADP	Disfosfato de Adenosina
ATP	Trifosfato de Adenosina
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
DCM	Cloreto de metileno
dd	Duplo de Dupleto
ddd	Duplo Dupleto de Dupleto
dl	Dupleto largo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dt	Duplo de Tripleto
H	Hora
HEP	Carcinoma de colo do útero
Hib	Haemophilus influenzae tipo b
HIV	Vírus de imunodeficiência humana
HL 60	Leucemia humana
HSV-1	Vírus herpes simplex do tipo 1
HSV-2	Vírus herpes simplex do tipo 2
HTP	Hematoporfirínicos
Hz	Hertz
IC50	Inibição de crescimento de 50%
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
K-10	Montmorilonita
KLH	Hemocianina da lapa californiana
M	Mega

m	Multipleto
m/z	Massa/Carga
Min	Minutos
NCI	Instituto Nacional do Câncer
°C	Graus Celsius
PF	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
PSP	Polissacaripeptídeo
q	Quarteto
qui	Quinteto
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RNA	Ácido ribonucleico
s	Simpleto
SIDA	Síndrome da imunodeficiência humana
sl	Simpleto largo
t	Triplete
t.a	Temperatura ambiente
TACA	Tumor associado à carboidrato antígeno

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1 Carboidratos	4
3.1.1 Os monossacarídeos.....	6
3.1.2 Os oligossacarídeos	8
3.1.2.1 Os dissacarídeos	8
3.1.4 Polissacarídeos	9
3.2 Glicosídeos	9
3.2.1 Reação de Glicosidação	11
3.2.2 Glicosídeos Naturais.....	12
3.3 Atividade biológica dos Carboidratos	13
3.3.1 Atividade Antiviral.....	15
3.3.2 Atividade Antibacteriana e Atividade Antibiótica	17
3.3.3. Atividade imunológica	20
3.3.4 O câncer e a atividade antitumoral.....	21
4 PARTE EXPERIMENTAL	26
4.1 Materiais e Métodos	<i>Erro! Indicador não definido.</i>
4.2 Procedimento Experimental	27
4.2.1 Preparação do tri-O-acetil-D-glucal 2.....	27
4.2.2 Preparação dos Glicosídeos 2,3-insaturados 4 a-e.....	28
4.2.3 Preparação dos O-glicosídeos hidrolisados 5a-e	28
4.2.4 Preparação dos carboidratos enonas 6a-e	29
4.3 Atividade Farmacológica	29
4.3.1 Determinação da atividade antitumoral	29
5 RESULTADOS	31
5.1 Síntese do Tri-O-Acetil-D-Glucal 2	31
5.2 Síntese dos glicosídeos	35
5.3. Síntese de compostos hidrolisados 5a-e	40
5.4. Síntese dos carboidratos enônicos	44
5.5 Estudo da Atividade Antitumoral	48
6 CONCLUSÃO	52
7 REFERÊNCIAS	53
8 APÊNDICE	67

1 INTRODUÇÃO

Os carboidratos pertencem ao grupo mais abundante de compostos encontrados em fontes naturais, estando presentes em plantas e em animais. Assim como as proteínas, os lipídios e os ácidos nucleicos, os carboidratos são macromoléculas com estrutura polifuncional também conhecidos como glicídios, sacarídeos ou açúcares (FERREIRA, ROCH E SILVA, 2009). O termo carboidratos denota hidratos de carbono, designação oriunda da fórmula geral $(CH_2O)_n$ apresentada pela maioria dessas moléculas. Sua oxidação é o principal meio de abastecimento energético da maioria das células não fotossintéticas. Além de serem suprimento energético, os carboidratos atuam como elementos estruturais da parede celular dos vegetais, passando pelo envolvimento em mecanismos muito específicos de reconhecimento molecular, como aqueles associados a respostas imunológicas e como sinalizadores no organismo, preservação das proteínas com o papel de manutenção e reparo e no crescimento dos tecidos corporais, proteção contra corpos cetônicos. Adicionalmente, os carboidratos são combustíveis do sistema nervoso central, sendo essenciais para o funcionamento do cérebro (FRANCISCO JUNIOR, 2008; LEHNINGER, 1985; NOGUEIRA et al, 2009; STICK, 2001).

Devido a essas e outras funções é justificável o crescente aumento de artigos científicos, livros e grupos de pesquisas estudando a química dos carboidratos. Vale ressaltar que a maioria dos artigos científicos trata das aplicações tecnológicas e novas estratégias sintéticas dos carboidratos, além disso, nos últimos 100 anos o estudo de suas atividades tem aumentado de forma surpreendente, principalmente com relação à suas aplicações biológicas (NOGUEIRA et al, 2009). Neste sentido, a literatura, relata a aplicação dos carboidratos como antibacteriano, inseticida (PUTERKA et al, 2003), antiviral, ativador imunológico, antineoplásico (BRADNER et al, 1958), antiprotozoário, antifúngico, anti-inflamatório, e anticoagulante (TOSIN et al, 2012).

O avanço científico permitiu conhecer de modo mais detalhado as propriedades físico-químicas dos carboidratos e seus derivados, resultando na exploração dessas características em diversos processos industriais, como nas áreas alimentícia e síntese farmacêutica. No tocante, a área sintética e

farmacêutica com o desenvolvimento de fármacos com maior eficácia e menores efeitos adversos contra algumas patologias, como o câncer.

O câncer é definido como uma enfermidade multicausal crônica, caracterizada pelo crescimento descontrolado das células. Para a destruição seletiva de células tumorais, geralmente, utiliza-se a quimioterapia combinada, usando fármacos que atuam em diferentes partes dos processos metabólicos da célula. Algumas moléculas naturais e sintéticas podem ser utilizadas como antineoplásicos que são quimioterápicos usados no tratamento do câncer. Algumas dessas biomoléculas já se encontram na literatura com grande atividade antitumoral (YANG et al, 2004).

Ciente das várias atividades biológicas dos carboidratos, no presente trabalho foi avaliada a atividade de diferentes alquil 2,3-didesoxi- α -D-*glicero*-hex-2-enopiranosideo-4-ulose-6-il (*carboidratos* enônico) frente a diferentes linhagens de células tumorais.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo Geral*

Este trabalho tem como foco central o planejamento sintético, a caracterização e avaliação antitumoral dos carboidratos enônicos obtidos a partir de sucessivas transformações da D-glicose.

2.2 *Objetivos Específicos*

- * Sintetizar e caracterizar o tri-*O*-acetil-D-glucal;
- * Sintetizar através do Rearranjo de Ferrier os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados utilizando a montmorillonita K-10 como ácido de Lewis;
- * Promover a hidrólise básica dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados;
- * Sintetizar os carboidratos enônicos através da oxidação utilizando dióxido de manganês;
- * Caracterizar os carboidratos enônicos através das técnicas (Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C);
- * Realizar os testes de atividade antitumoral *in vitro* dos carboidratos enônicos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Carboidratos

Os carboidratos são uma das substâncias orgânicas mais conhecidas. Emil Fischer junto com o seu grupo de pesquisa elucidaram a estrutura de alguns carboidratos (KRISHNASWAMY, 2011; STICK, 2001). Os carboidratos apresentam inúmeras aplicações como, por exemplo, na síntese de moléculas quirais - indução da quiralidade (HOLLINGSWORTH e WANG, 2000), na síntese de quimioterápicos (FUKUDA et al, 2003), na síntese de materiais avançados, como os biossensores, e estão presentes em vários processos biológicos que são essenciais para seres vivos, a saber:

- I. Principal fonte de energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 1) utilizadas nas reações bioquímicas pelas células;

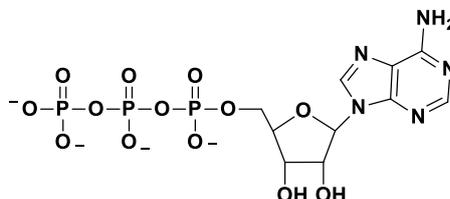


Figura 1: Estrutura de trifosfato de adenosina (ATP)

- II. Contribui no efeito na saciedade e esvaziamento gástrico;
- III. Controle da glicose sanguínea e metabolismo da insulina e coagulação sanguínea;
- IV. Estão presentes na molécula dos nucleotídeos que por sua vez formam os ácidos nucleicos que são macromoléculas que controlam precisamente a síntese das proteínas e transferência de informação genética (LEHNINGER, 1998; BOISSON-DERNIER, 2011; DOORES et al, 2006);
- V. Metabolismo do colesterol e dos triglicerídeos, desidroxilação de ácidos biliares, fermentação, trânsito intestinal e modulação da microflora intestinal (STICK, 2001);
- VI. São moléculas que atuam sobre o sistema imunológico (BALZARINI et al, 2007; WERZ e SEEBERGER, 2005);

- VII. Mecanismo de glicosilação das proteínas, fundamentais para estrutura, estabilidade e funções protéicas;
- VIII. Reserva energética - tanto os vegetais como os animais possuem polímeros de glicose que atuam como reserva energética, o glicogênio é a reserva dos animais e o amido é a dos vegetais;
- IX. Estrutural - os carboidratos estão presentes na parede celular dos vegetais como um polímero conhecido por celulose e também está presente nas carapaças dos insetos que contém quitina que fornece ao exo-esqueleto resistência. Como também está presente na membrana plasmática das células e no citoplasma no difosfato de adenosina (ADP) na Figura 2 (DU e YAREMA, 2010; LEHNINGER, 1998);

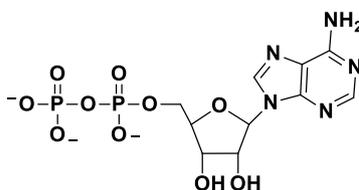
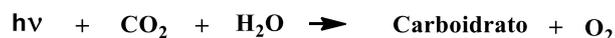


Figura 2: Difosfato de Adenosina (ADP).

A principal fonte destas substâncias são os vegetais, que as produzem pelo processo da fotossíntese (Esquema 1). Os vegetais absorvem a energia solar e a transforma em carboidratos



Esquema 1: Equação geral para o processo de fotossíntese

Os animais consomem esse carboidrato e faz o processo reverso da fotossíntese formando dióxido de carbono, água e energia.

Os carboidratos são formados fundamentalmente de átomos de carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O), por isso recebem a denominação de hidratos de carbono que segue a fórmula $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_n$, entretanto, essa denominação não é adequada devido a existência das aminohexoses ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_5\text{N}$), como é o caso da

quitina, que possui átomos de nitrogênio em sua arquitetura molecular (HECHT, 1999).

Os carboidratos compõem as estruturas dos ácidos nucléicos (RNA e DNA), sob a forma de ribose e desoxirribose, que são monossacarídeos com cinco átomos de carbono em sua fórmula. O amido, um tipo de polissacarídeo energético, é a principal substância de reserva energética em plantas e fungos. Para os seres humanos a substância que atua como a reserva energética é conhecida como glicogênio, que fica armazenado no fígado e nos músculos. Quando o corpo necessita de energia, o glicogênio é hidrolisado em moléculas de glicose, que são carboidratos mais simples, com apenas seis átomos de carbono. O glicogênio é resultado da união de milhares de moléculas de glicose, assim como a celulose.

Os carboidratos podem ser classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos.

3.1.1 Monossacarídeos

Os monossacarídeos, também chamados de açúcares simples, apresentam apenas uma unidade de poliidroxialdeído ou poliidroxicetona que possuem fórmula geral $(CH_2O)_n$. Eles existem normalmente em várias formas isoméricas, tanto cíclicas como acíclicas. A maioria dos isômeros cíclicos pode ser isolada na forma pura. O monossacarídeo mais abundante é o açúcar de seis carbonos denominado de D-glicose. A D-glicose é o principal combustível para a maioria dos organismos e o monômero primário básico dos polissacarídeos mais abundantes, tais como o amido e a celulose.

A classificação dos monossacarídeos também pode ser baseada no número de carbonos de suas moléculas; assim, as trioses (3 carbonos) são os monossacarídeos mais simples, seguidos das tetroses (4 carbonos), pentoses (5 carbonos), hexoses (6 carbonos), heptoses (7 carbonos), etc. Destes, os mais

importantes estão as pentoses e as hexoses. As pentoses mais importantes são a ribose, a arabinose e a xilose. As hexoses mais importantes são a galactose (açúcar encontrado no leite), manose (açúcar encontrado nos legumes) e a glicose (açúcar encontrado no sangue). A estrutura das hexoses mais importantes é mostrado na Figura 3.

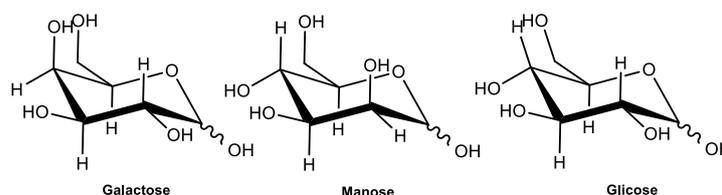


Figura 3: Estruturas da galactose, manose, frutose e glicose, respectivamente.

A fórmula de projeção de Fisher é bastante utilizada para representar as estruturas dos monossacarídeos acíclicos, na qual a cadeia da substância é arranjada verticalmente com o grupo de aldose (o grupo carbonila é um aldeído) no topo e a cetose (grupo carbonila for uma cetona) mais próxima possível do topo (HECHT, 1999; HUDSON, 1948; STODDART, 1971) como mostrado na Figura 4.

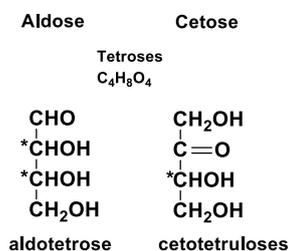
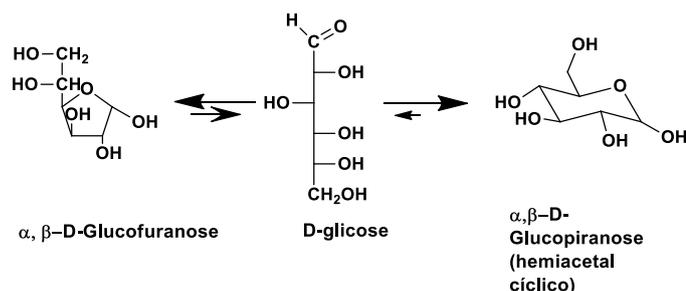


Figura 4: Representação de monossacarídeos acíclicos pela projeção de Fisher

O grupo aldeído ou cetona do monossacarídeo de cadeia aberta reage reversivelmente com a hidroxila do átomo de carbono (C-5 na hexose) e (C-4 na pentose) produzindo um hemiacetal ou hemicetal, com seis ou cinco membros, contendo um átomo de oxigênio entre dois átomos de carbono. Os anéis com seis e cinco átomos em sua forma cíclica são chamados de piranose e furanose, respectivamente, e eles existem em equilíbrio com a forma aberta (Esquema 2).



Esquema 2: Formas acetálicas dos anéis de cinco e seis membros.

O carbono anomérico dos piranosídeos ao ser substituído por substituintes alcoxi e halogênios tendem a ocupar a posição axial (EDWARD, 1966).

3.1.2 Oligossacarídeos

Os oligossacarídeos são substâncias contendo de 2 à 10 monossacarídeos. Polímeros com mais de 10 unidades são conhecidas por polissacarídeos. De acordo com o número de unidades de monossacarídeos, os oligossacarídeos podem ser classificados como di-, tri- e tetrassacarídeos, que podem ser subdivididos em homo-oligossacarídeos, constituído de apenas um tipo de monossacarídeo, ou hetero-oligossacarídeos, constituído de mais de um tipo de monossacarídeo (VOET et al 2014).

3.1.2.1 Dissacarídeos

Os dissacarídeos são as substâncias poliméricas mais comuns dos oligossacarídeos. Muitos ocorrem como produtos de hidrólise de moléculas maiores. No entanto, dois dissacarídeos são importantes. A lactose (Figura 5), por exemplo, ocorre naturalmente apenas no leite (LEHNINGER, 1985). O nome sistemático para a lactose é o *O-β-D-galactopiranosil-(1→4)-D-glicopiranosose*, específica para seus monossacarídeos, seu tipo de anel e o modo pelo qual eles são ligados. O símbolo (1→4) combinado com β no prefixo indica que a ligação glicosídica liga o C1 do anômero β da galactose ao O4 da glicose. A lactose tem um carbono anomérico livre no seu resíduo de glicose, sendo por isso um açúcar redutor (VOET et al, 2014).

A sacarose (Figura 5) é o dissacarídeo mais abundante, a principal forma pela qual os carboidratos são transportados nas plantas. O nome sistemático para sacarose, é O- α -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosídeo, indica que o carbono anomérico de cada açúcar (C1 na glicose e C2 na frutose) participa na ligação glicosídica e, por isso, a sacarose é um açúcar não redutor (VOET et al, 2014).

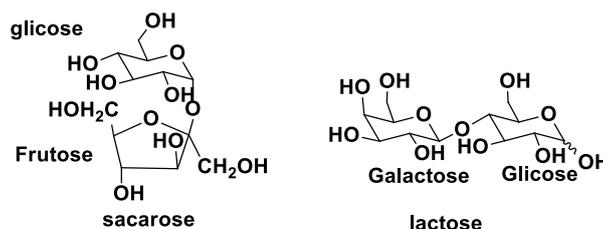


Figura 5: Estruturas da sacarose e lactose, respectivamente.

3.1.4 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são polímeros compostos por mais de 10 monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas. Podem ser classificados por homopolissacarídeos ou heteropolissacarídeos quando consistem em um ou mais tipos de monossacarídeos (ASPINALL, 1982).

Os polissacarídeos, ao contrário das proteínas e dos ácidos nucleicos, formam polímeros ramificados e lineares. Isso ocorre porque as ligações glicosídicas podem ser formadas por qualquer grupo hidroxila de um monossacarídeo. A maioria dos polissacarídeos é linear, e aquele que se ramificam o faz em apenas poucas formas bem-definidas.

3.2 Glicosídeos

Os dissacarídeos são carboidratos ditos glicosídeos, pois são formados a partir da ligação de dois monossacarídeos através de ligações especiais denominadas “ligações glicosídicas”. A ligação glicosídica ocorre entre o carbono anomérico de um monossacarídeo e qualquer outro carbono do monossacarídeo

seguinte, através de suas hidroxilas e com a saída de uma molécula de água. Os glicosídeos podem ser formados também pela ligação de um carboidrato a uma estrutura não-carboidrato, como uma proteína, por exemplo.

Por meio da conformação das estruturas dos isômeros, os nomes são dados da seguinte maneira: o termo "ose" indica um açúcar, e "piranose" um açúcar ter uma estrutura cíclica de seis membros, caso tenha cinco membros é chamado de furanose. O termo " α " e " β " referem-se em particular o carbono 1, também denominado de carbono anomérico (diastereoisômero, epímero), para aldoses.

Os glicosídeos podem ser ligados pelo carbono anomérico pelo átomo de oxigênio (*O*-glicosídeo), nitrogênio (glicosamina), enxofre (tioglicosídeo) ou carbono (*C*-glicosídeo) por uma reação chamada de glicosidação, método importante quando se deseja unir duas moléculas de açúcar ou uma de açúcar e uma aglicona por meio da ligação de glicosidação como a Figura 6. A glicosidação de um carbono com o carbono 1 é a principal responsável pela viabilização da química dos carboidratos, pois não é uma ligação facilmente hidrolisável.

Em geral, as proteínas contêm oligossacarídeos na sua arquitetura molecular, e assim, são chamadas de glicoproteínas. O resíduo sacarídico é covalentemente ligado à proteína como um *N*-glicosídeo, via aspargina ou *O*-glicosídeo, via serina, treonina, tirosina ou hidroxilisina. A porção sacarídica tem grande influência nas propriedades físico-químicas e conformacional das proteínas, sendo a importância biológica dependente da interação entre o elemento peptídico e o sacarídico (HERZNER et al, 2000).

O uso de tecnologia em síntese orgânica tem sido relatada numa variedade de áreas, como por exemplo, nos carboidratos por apresentarem um vasto campo para a exploração de reatividade química (KARDOS e LUCHE, 2001). A biossíntese é um dos processos básicos e um dos mais importantes em vários processos biológicos. Os monossacarídeos são as biomoléculas fundamentais para a construção de polissacarídeos, sendo parte constitucional dos

glicolípídeos, glicoproteínas e outros gliconjugados essenciais para o processo básico da vida, tais como, diferenciação e regulação de células, mecanismos de reconhecimento em processos imunológicos, virologia, câncer e ação antibiótica, fazendo parte também da energética química do sistema ADP/ATP (JUNG et al, 2000; STEINBORN e JUNICKE, 2000).

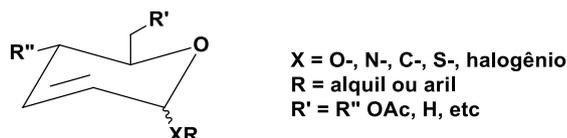
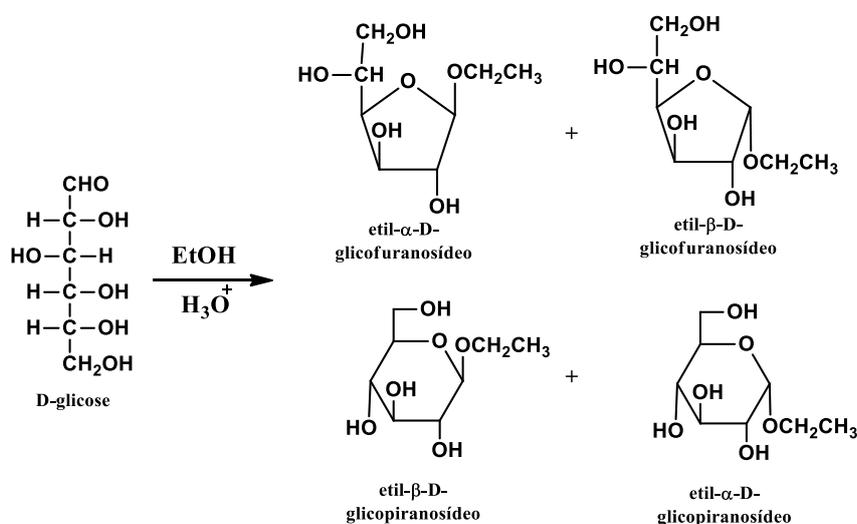


Figura 6: Exemplos de glicosídeos 2,3-insaturados

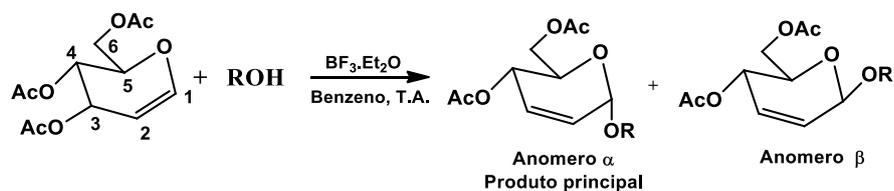
3.2.1 Reação de Glicosidação

A transformação de glicais em derivados glicosídeos 2,3-insaturados consiste em uma das reações mais importantes na química de carboidratos (NAGARAJ e RAMESH, 2009). A primeira reação de glicosidação foi realizada por Fischer em 1893. Fischer preparou os glicosídeos ao tratar a D-glicose com diversos álcoois alifáticos em meio ácido (HCl) (Esquema 3). A glicosidação de Fischer, como ficou conhecido essa proposta sintética, mostrou ser limitada, uma vez que produzia uma mistura de compostos piranosídicos e furanosídicos, além de formar os anômeros α e β .



Esquema 3: Reação de glicosidação de Fischer

Algumas décadas mais tarde, Ferrier e Prasad (1969) em um trabalho pioneiro, relatou a preparação de glicosídeos 2,3-insaturados pela reação entre o tri-*O*-acetil-D-glucal com diversos alcoóis catalisada pelo $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Essa reação é formalmente considerada como uma substituição nucleofílica com um rearranjo alílico, a qual é atualmente conhecida como rearranjo de Ferrier. Esse rearranjo consiste na migração da dupla ligação do C-1 para o C-2 seguido da saída do grupo acetóxi localizado no C-3 produzindo os glicosídeos 2,3-insaturados e, sendo o anomero α o produto majoritário (Esquema 4).



Esquema 4: Rearranjo de Ferrier do tri-*O*-acetil-D-glucal catalisada pelo $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Uma grande variedade de catalisadores tem sido empregados no rearranjo de Ferrier, tais como: $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (FERRIER E PRASAD, 1969), SnCl_4 (GRYNKIEWIEZ; PRIEBE; ZAMOJSKI, 1979), FeCl_3 (MASSON; SOTO; BESSODES, 2000), InCl_3 (BABU; BALASURAMANIAN, 2000), BiCl_3 (RAGHVENDRA e VENKATESWARLU, 2002), $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ (MOHAMED; ADEL; RICHARD, 2001), ZnCl_2 (BETTADIAH e SRINIVAS, 2003), ZrCl_4 (SNITHA e REDDY, 2004), montmorillonita K-10 (FREITAS FILHO et al, 2001) e TeCl_4 (FREITAS et al, 2012) os quais atuam como ácidos de Lewis. Adicionalmente, novas condições reacionais para a glicosidação vêm sendo desenvolvidas a fim de eliminar o uso de solventes orgânicos.

3.2.2 Glicosídeos Naturais

Os glicosídeos cardíacos compreende uma grande família de compostos de origem natural, encontradas em plantas e animais. Estas substâncias são caracterizadas por apresentarem em sua estrutura um núcleo esteroidal substituído na posição 17 e 3 por uma lactona e uma porção sacarídica, respectivamente (Figura 7). Os membros desta família já vêm sendo utilizados há muito tempo no tratamento de doenças do coração, principalmente em pacientes

acometidos por insuficiência cardíaca e arritmia atrial. O seu mecanismo de ação envolve a inibição da proteína transmembranar Na^+/K^+ -ATPase resultando em um efeito inotrópico positivo, estando bem caracterizado na literatura.

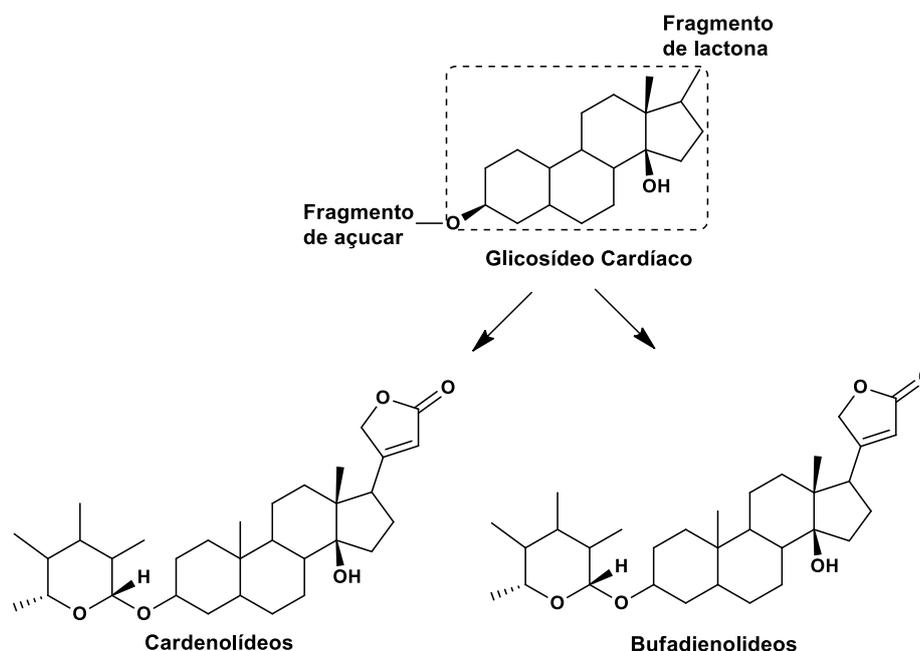


Figura 7: Estruturas gerais dos glicosídeos cardíacos.

Recentes descobertas sugeriram modos adicionais de sinalização da ação da proteína Na^+/K^+ -ATPase, implicando glicosídeos cardíacos na regulação de diversos processos celulares importantes e com destaque para as novas potenciais funções terapêuticas destes compostos em várias doenças. Notadamente, o aumento da susceptibilidade das células cancerosas a estes compostos apoia seu uso em potencial na terapia contra o câncer, sendo que a primeira geração de drogas anticâncer baseado em glicosídeos cardíacos estão atualmente em ensaios clínicos (PRASSAS e DIAMANDIS, 2008; HEASLEY, 2012).

3.3 Atividade biológica dos Carboidratos

Os carboidratos apresentam uma vasta aplicação farmacológica (IMBERTY e PÉRES, 2000). Essas substâncias se destacam como substâncias precursoras

de comunicação entre as células (BOISSON-DERNIER et al, 2011), são bioativas, atuando como antibiótico, antibactericida e adesão bacteriana (COHN, Z.A, 1978; KILLINY et al, 2010; KUNTTU et al, 2011), antiviral (LI et al, 2011; TALARICO et al, 2004; THOULOZE E ALCOVER, 2011), antitumoral (BEROIS et al, 2006; FREIRE, 2006; ITOH, 1993; RAGUPATHI, 2006), ativador imunológico (KUDUC, 1998; RAGUPATHI, 2006), anticoagulante, antiprotozoária (MITTAL et al, 1998; NOLETO et al., 2002), antifúngica, entre outras, relatadas na literatura.

Na literatura, podemos observar o quanto os carboidratos contribuíram para investigações biológicas, bioquímicos e biofísicos, direcionadores nas estratégias terapêuticas, como também para a descoberta de medicamentos. Alguns fármacos derivados de carboidratos (naturais e sintéticos) já foram introduzidos no mercado, como é o caso do antiviral fosfato de oseltamivir (Tamiflu, Roche ®), do antidiabético acarbose Glucobay, Bayer ®), do antitrombótico heparina e dos antibióticos aminoglicosídeos (DOORES et al, 2006; HOLEMANN e SEEBERGER, 2004; SEEBERGER e WERZ, 2005).

A funcionalidade dos carboidratos é uma das suas propriedades mais importantes fornecendo diferentes posições de acoplamento do monossacarídeo adjacente o que possibilita ramificações diversas da cadeia. A descoberta de novos métodos de síntese glicosídeos estereoseletivos tem sido fundamental para a área de Glicociência (BONGAT e DEMCHENKO, 2007).

Os pseudoglicosídeos podem ser utilizados como blocos de construção na síntese de produtos naturais, glicopéptidos (LÓPES e PLUMET, 2011), oligossacarídeos e nucleosídeos. Além disso, os carboidratos estão presentes como em unidades de vários produtos naturais tais como salicina, catalpol e macrolactina, as quais apresentam uma larga gama de atividades biológicas.

Dessa forma, a seguir é apresentada algumas das diversas atividades biológicas que enfatizam a importância dos carboidratos como substâncias

bioativas, destacando as atividades antibacterianas, antivirais, antineoplásicas, antiprotozoárias, antifúngicas, entre outras, relatadas recentemente na literatura.

3.3.1 Atividade Antiviral

A maioria das doenças infecciosas que afeta o homem e o animal é causada por vírus e ainda representam um risco à saúde pública apesar de todo progresso na medicina (KAZIYAMA et al, 2012).

Agentes antivirais são substâncias empregadas no tratamento e profilaxia de doenças causadas por vírus. A quimioterapia antiviral se confronta com dois grandes obstáculos: a falta de seletividade, pois na maioria das vezes os agentes antivirais são igualmente tóxicos ao vírus e ao hospedeiro; e o diagnóstico tardio de muitas doenças virais, pois frequentemente os primeiros sintomas só aparecem no estágio final da multiplicação do vírus (NOGUEIRA, 2009)

Um dos primeiros medicamentos descoberto com atividade antiviral foi o aciclovir em 1974 que impulsionou a pesquisa e desenvolvimentos de novos compostos com esse tipo de atividade. Alguns anos depois, a descoberta do vírus de imunodeficiência humana (HIV) e a síndrome da imunodeficiência humana (SIDA) fizeram com que novos fármacos antivirais se tornassem prioridade para alguns pesquisadores, entretanto, atualmente ainda não há meios de controlar totalmente as doenças virais (MENDONÇA JÚNIOR, 2007).

Alguns carboidratos sulfatados de alta massa molecular apresentam atividade contra várias viroses, agindo na etapa de adsorção viral. Estas substâncias apresentam-se praticamente isentos de toxicidade e, na maioria dos casos, são de fácil obtenção (CHU et al, 1995). Os polissacarídeos sulfatados exibem seu espectro de ação frente a vários vírus envelopados, tais como: HSV-1, HSV-2 (vírus herpes simplex do tipo 1 e 2, respectivamente), citomegalovírus, togavírus, arenavirus, rabdovirus, vírus Influenza A e vírus sincicial respiratório (WITVROUW e DE CLERCQ, 1997). Alguns trabalhos existem na literatura com

compostos glicosídicos e seus derivados sintetizados contra alguns vírus como o HIV-1 (FÉRIR et al, 2014).

Os Polissacarípeptídeo (PSP) foi isolado a partir da comestível cogumelo *Coriolus versicolor* foi testado por Collins e Bun Ng (1997) para determinar o seu potencial como um anti-vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) composto de uma série de ensaios in vitro. Juntamente com a sua elevada solubilidade em água, estabilidade térmica e baixa citotoxicidade, torná-lo um composto útil para estudos posteriores sobre a sua possível utilização como um agente anti-viral in vivo.

O grupo de pesquisa de Barradas (2008) realizou um estudo para relacionar a estrutura com a atividade antiviral de 1,3,4-oxadiazóis, 1,2,4-triazolil-3-tionas e imidazo[2,1-b]tiazóis substituídos com derivados de carboidratos e grupo halofenila. A escolha do anel heterociclo substituído foi baseada no aumento da atividade biológica, reportada na literatura quando na presença de centros assimétricos e/ou halogênios. A atividade antiviral dos novos compostos foi testada contra dois vírus com o genoma RNA, o vírus Junin e o vírus da dengue tipo 2. Esses vírus foram escolhidos por serem agentes patogênicos humanos de doenças graves como a dengue, dengue hemorrágica e a febre hemorrágica da Argentina, e também porque não existe uma terapia antiviral específica nesses casos. Após a realização dos testes, foi observado que o tiazol Figura 8 inibiu a replicação de ambos os vírus com concentrações relativamente pequenas frente aos vírus Junin e dengue tipo 2, respectivamente.

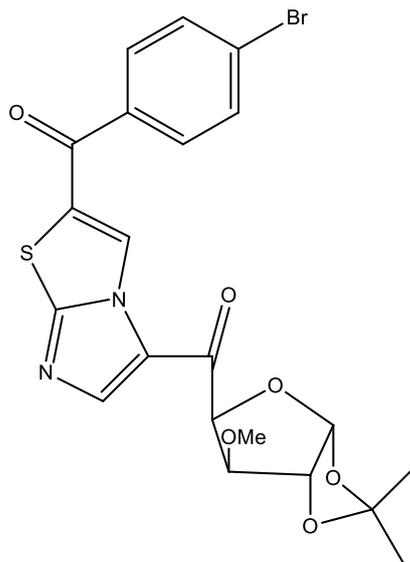


Figura 8: Tiazol com atividade antiviral

3.3.2 Atividade Antibacteriana e Atividade Antibiótica

Bactérias são microrganismos unicelulares de estrutura simples presentes em diversos locais incluindo pele, boca, vias respiratórias, intestino e órgãos genitais entre outros. Raramente provocam infecções, a não ser que ocorra um enfraquecimento nas defesas do organismo. A maioria dessas infecções é causada por bactérias patogênicas que invadem o organismo e se multiplicam, utilizam toxinas, enzimas, fatores de virulência, os quais afetam as células e provocam doenças, para invadir e se manterem no organismo.

Os antibacterianos são agentes com toxicidade seletiva contra esses microrganismos. O antibacteriano ideal é aquele que interfere na função vital da bactéria sem comprometer as células do hospedeiro (PATRICK, 2005). Além disso, deve ter boa distribuição pelos tecidos e líquidos orgânicos, não sofrer destruição por enzimas, não causar alergia, irritação ou ser tóxico ao hospedeiro e, sobretudo, não induzir o desenvolvimento de bactérias resistentes.

Há uma necessidade constante de descoberta de novos agentes antimicrobianos que possam ser empregados no tratamento de doenças diversas, causadas por microrganismos resistentes às terapias convencionais utilizadas (BARBOSA et al, 2010).

Diversos estudos estão sendo realizados para a busca de novas moléculas bioativas como alternativas terapêuticas. Compostos pertencentes a diferentes classes funcionais, como peptídeos, furanonas e terpenos, têm sido isolados de organismos marinhos (algas, esponjas, etc). Esses compostos apresentaram atividade biológica diversificada, sendo observada significativa atividade antimicrobiana na maioria dos casos (WUNDER, 2004).

As vacinas glicoconjugadas, cujo carboidrato da superfície de um microorganismo está covalentemente ligado a uma proteína carreadora, vêm sendo consideradas como efetivas para gerar respostas imunes que previnem um grande número de doenças. A tecnologia é genérica e aplicável a vários patógenos, se os anticorpos contra os carboidratos de superfície forem capazes de proteger contra a infecção. Três vacinas contra *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) que causa pneumonia e meningite Figura 11, principalmente em crianças, *Neisseria meningitidis* Grupo C e sete sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* já foram licenciadas e muitas outras estão em desenvolvimento (JONES, 2005)

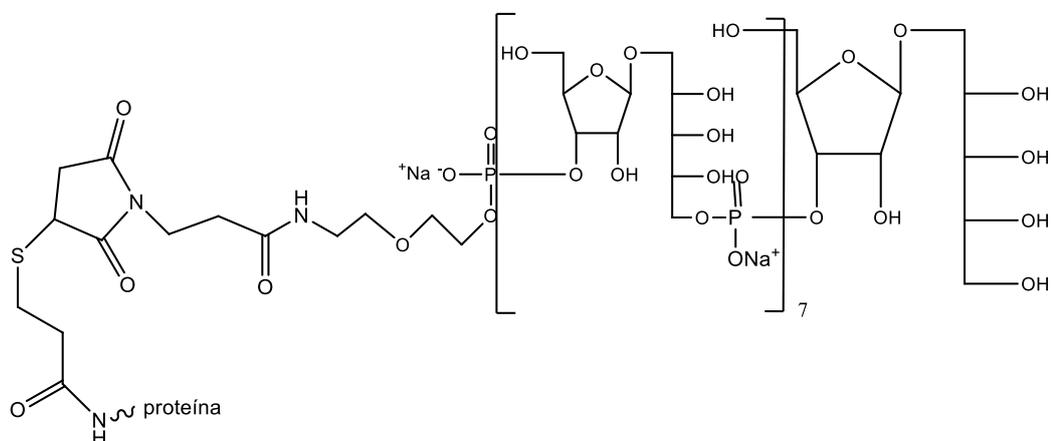


Figura 9: Primeira vacina comercial de carboidrato sintético

Os antibióticos aminoglicosídeos são uma grande família de moléculas, catiônicos solúveis em água que apresentam amplo espectro antimicrobiano. Estes são parte importante do arsenal terapêutico antibacteriano desde seu descobrimento, na década de 40 (BALZARINI et al, 2007; WRIGHT, 1998; OLIVEIRA et al, 2006). São utilizados no tratamento de muitas infecções bacterianas causadas por ambos os organismos Gram-positivos e Gram-negativos, e são geralmente administrados por injeção ou por via intravenosa,

como um resultado da sua relativamente fraca absorção oral (EDSON E TERRELL, 1991).

Há muitos anos os aminoglicosídeos vêm sendo investigados e utilizados como antibióticos. Seu sucesso e uso contínuo podem ser atribuídos a vários fatores, incluindo rápido efeito dependente da concentração bactericida, o sinergismo com antibióticos beta-lactâmicos, eficácia clínica, uma baixa taxa de resistência e baixo custo. Os aminoglicosídeos permanecem fármacos de escolha em muitas circunstâncias como septicemia, infecções graves causadas por bacilos Gram negativos, e endocardite bacteriana (BEGG & BARCLAY, 1995).

Entre os anos 1940-1960 vários antibióticos foram descobertos através de triagens de produtos naturais microbianos, sendo a maioria deles eficazes para o tratamento de bactérias Gram positivo, como o caso dos aminoglicosídeos (estreptomicina) na Figura 10, peptídeos (vancomicina) na figura 11 (FERNANDES, 2006).

A estreptomicina foi isolada em 1944 de *Streptomyces griseus*, um microrganismo de solo. Os aminoglicosídeos apresentam atividade melhorada em pH levemente alcalino, em torno de 7,4, onde estão positivamente carregados, facilitando a penetração em bactérias Gram negativo (PATRICK, 2005).

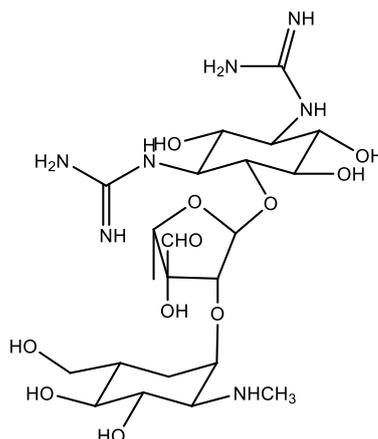


Figura 10: Estreptomicina (*Streptomyces griseus*)

Os antibióticos glicopeptídicos, vancomicina e teicoplanina têm se tornado os fármacos de primeira linha no tratamento de infecções por bactérias Gram positivo com resistência a diversos antibióticos (PACE e YANG, 2006). A vancomicina, o primeiro antibiótico glicopeptídico introduzido na prática clínica em

1959, foi isolada de amostras de solo de *Streptomyces orientalis* (reclassificado como *Amycolatopsis orientalis*). A vancomicina apresenta uma conformação rígida importante para a atividade. Eles são restritos para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram positivo por serem incapazes de penetrar nas membranas de bactérias Gram negativo (PACE e YANG, 2006; VON NUSSBAUM *et al*, 2006). A vancomicina em geral é o antibiótico de última escolha frente a patógenos Gram positivo resistentes, em particular contra espécies de *Enterococcus*.

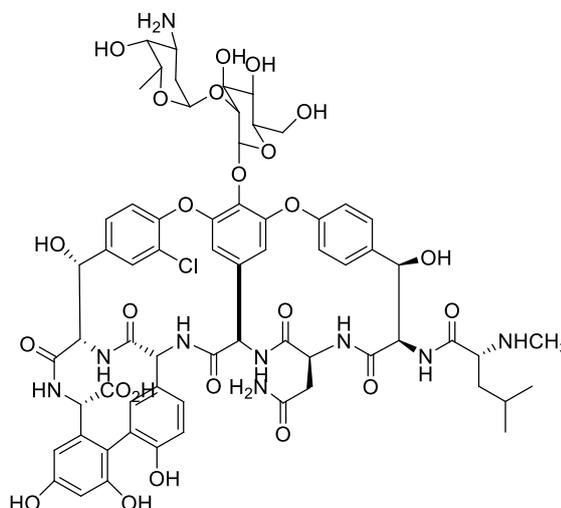


Figura 11: Vancomicina (*Streptomyces orientalis*)

3.3.3. Atividade imunológica

O sistema imunológico auxilia no combate a estes agentes externos que podem causar danos, fazendo com que essas agressões não causem danos permanentes. Então, a função primária do sistema imunológico é eliminar os agentes infecciosos e minimizar o dano que estes possam causar ao organismo (ROITT *et al*, 1999). Para isso é necessário o reconhecimento do patógeno. Cada patógeno exige um tipo de resposta imunológica específica. Pesquisadores como Artursson *et al* (1987), identificou polissacarídeos que apresentam ação que ativa células tornando-as capazes de inativas células tumorais.

Materiais a base de carboidratos são sintetizados em prol de ter vacinas eficientes e/ou obterem métodos para detecção de microrganismos, como é o caso de derivados de antroses que podem ser ligados a uma proteína de

transporte da Hemocianina da lapa californiana (KLH), para a obtenção de anticorpos tendo bons resultados, e assim, apresentando uma forte atividade imunogênica da antrose (Figura 12) associada à KLH (DHÉNIN et al, 2008).

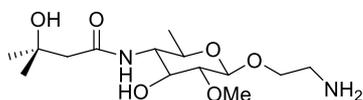


Figura 12: Derivado da antrose.

3.3.4 O câncer e a atividade antitumoral

Segundo o Instituto Nacional do Câncer - INCA (2015) e Almeida et al (2005), o câncer ou o neoplasma maligno é o nome dado a um conjunto de mais de 200 doenças que tem em comum o crescimento desordenado de células malignas que invadem os sistemas de células, os quais podem invadir tecidos e órgãos, podendo espalha-se pelo corpo do indivíduo (KATZUNG, 1994). Apesar de todos os avanços científicos e tecnológicos alcançados na Medicina, o câncer ainda é uma doença estigmatizante, ainda é uma doença associada à possibilidade de sofrimento físico, emocional e morte (CAVALCANTI, 2005). Atualmente a definição científica de câncer refere-se a neoplasia, especificamente aos tumores malignos devido a divisão e acumulação sucessivas destas células neoplásicas malignas. O câncer é uma das doenças que mais causam temor na sociedade, por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor (ALMEIDA *et al*, 2005; INCA, 2015).

Os fatores de risco de câncer podem ser encontrados no meio ambiente ou podem ser hereditários (ALMEIDA et al, 2005; CHABNER E LONGO, 1996; INCA, 2015). Sabe-se que mais de 50% dos casos de câncer ocorrem com a participação de hábitos nocivos, tais como tabagismo, sedentarismo, contatos com carcinógenos ambientais, alimentação inadequada contendo excesso de nitrosaminas, de gordura animal, corantes e conservantes.

As alterações que causam as neoplasias podem ocorrer em genes especiais denominados protooncogenes, que a princípio são inativos em células normais. Quando ativados, os protooncogenes transformam-se em oncogenes, responsáveis pela malignização (transformação) das células normais como mostrado na figura de ALMEIDA, 2005:

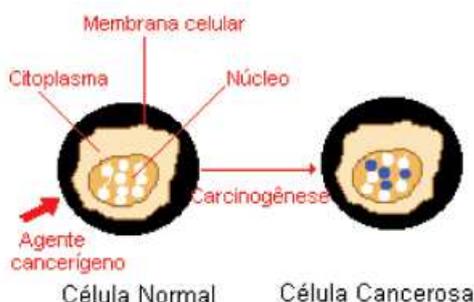


Figura 13: Transformação de uma célula normal em célula cancerosa.

Fonte: ALMEIDA et al, 2005.

Estas células diferentes são, então, denominadas cancerosas, ou melhor, tumorais. Devido a modificação das células, estas então se comportam anormal, multiplicando-se desordenadamente. Com a constante multiplicação celular, há a necessidade de que novos vasos sanguíneos sejam formados para que haja a nutrição destas células, em um processo denominado angiogênese. A manutenção e o acúmulo de massa dessas células formam os tumores malignos e elas também podem adquirir a capacidade de se desprenderem do tumor e de migrarem, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos, podendo chegar ao interior de um vaso sanguíneo ou linfático e, através destes, disseminarem-se, chegando a órgãos distantes do local onde o tumor se iniciou, formando as metástases. As células cancerosas são, geralmente, menos especializadas nas suas funções que as suas correspondentes normais. Conforme as células cancerosas vão substituindo as normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções (ALMEIDA, 2005; CHABNER e LONGO, 1996; FOYE e SENGUPTA, 1996; INCA, 2015).

Para o tratamento para o câncer existe três métodos comuns: cirurgia (remoção do tecido lesado e seus arredores), radioterapia e quimioterapia (ALMEIDA, 2005; FOYE e SENGUPTA, 1996; MURAD e KATZ, 1996). Mais

recentemente tem-se usado a terapia de fotorradiação com derivados hematoporfirínicos –HTP- (MACHADO, 2000) e a imunoterapia (SALMON e SARTORELLI, 2003), sendo que o objetivo de cada um destes tratamentos é erradicar o câncer, normalmente por meio da terapia combinada, onde é associado mais que um tipo de tratamento.

O desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos para o tratamento de câncer é necessário com urgência e na busca de novas substâncias naturais ou sintéticas que exibem esta atividade continua a ser um desafio para a ciência médica (CARDOSO, 2013).

Imunoglobulinas naturais contra antígenos tumorais não são, em geral, encontradas em indivíduos com câncer devido ao caráter próprio das células cancerígenas, o que dificulta a escolha de alvos para o desenvolvimento de vacinas. Dentre os antígenos tumorais já conhecidos, os carboidratos são considerados o meio mais apropriado e clinicamente relevante para indução de imunidade ativa (KEDING, 2003; SLOVIN et al, 2005).

Um dos trabalhos pioneiros envolvendo carboidratos em respostas biológicas foi realizado por BRADNER e colaboradores (1958), apresentando uma atividade antitumoral promovida por carboidratos estruturados na parede celular da *Saccharomyces cerevisiae*. Diante desta pesquisa, diversos trabalhos em seguida foram realizados. Cada nova possibilidade terapêutica traz esperança de maior tempo de sobrevida e de melhor qualidade de vida aos pacientes por meio de utilização de compostos biologicamente ativos.

Carboidrato antígenos associados a tumor TACAs (*Tumores Associados a Carboidratos Antígenos*) constituem poderosas ferramentas como marcadores tumorais e como alvos para anticancerígeno imunoterapia (FREIRE, 2006). No trabalho de SLOVIN et al (2005), inclui definir o antígeno associado a um tumor correspondente, e com sucesso sintetizar o antígeno para imitar a molécula original, induzindo uma resposta imune, e, subseqüentemente, aumentando a

reatividade imunológica de modo que todos os componentes possam trabalhar em conjunto. Trabalhos como o de Bay et al (1997), que utiliza glicosídeos como forma de ativar respostas imunitárias específicas para determinados tipos de carcinomas. O glicopeptídeo antígeno múltiplo MAG (Glicopeptídeos de Antígenos Múltiplos) oferece como vantagem a imunogenicidade do núcleo de polilisina e possui definição química exata.

Alguns trabalhos a partir de derivado C-glicosídeo Figura 14 b apresentaram atividade frente a células de melanoma B16 que ataca os pulmões e se mostrando 100 vezes mais ativo que o O-glicosídeo Figura 14 a. Além disso, também apresentou atividade contra malária, sendo 1000 vezes mais ativo do que O-glicosídeo (YANG et al, 2004).

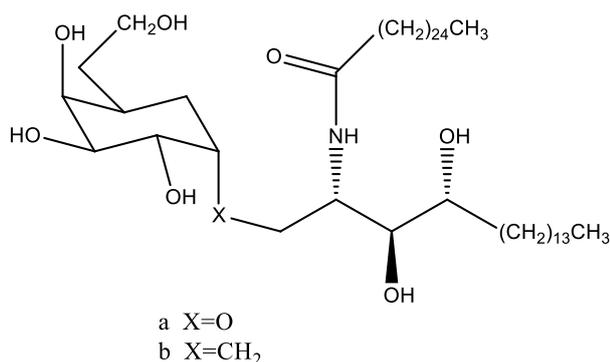


Figura 14: Glicosídeo com atividade imunoestimuladora.

Em estudos de Abdou et al (2004), os nucleosídeos derivados do pirazol apresentaram uma boa atividade antitumoral, sendo que o produto Figura 15 apresentou melhor atividade *in vitro* com relação à leucemia humana (HL 60).

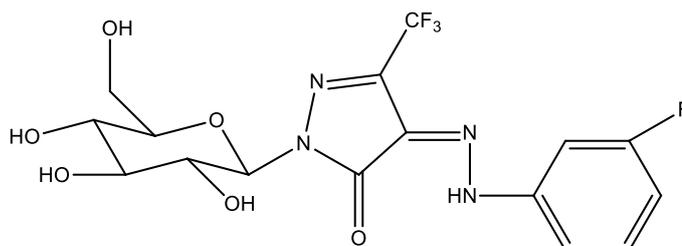


Figura 15: Nucleosídeos com atividade antitumoral.

3.4 Métodos para Determinação da Atividade Farmacológica

A análise da citotoxicidade pelo método de MTT vem sendo utilizada no programa de *screening do National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano. É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mossman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1996).

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais e Métodos

Os experimentos de síntese dos compostos, em geral, foram realizados no Laboratório de Síntese Orgânica (LASO) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), do Campus CES-Cuité.

Os reagentes utilizados foram obtidos na forma comercial para análise (P.A.), sem a necessidade da prévia purificação. Os solventes utilizados foram purificados e secos conforme os protocolos Perrin e Armarego (1996), assim, o hexano e o acetato de etila foram destilados através de coluna de Vigreux antes do uso em coluna, enquanto que o diclorometano foi destilado sob hidreto de cálcio e mantido sob cloreto de cálcio.

4.1.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD). Para o acompanhamento dessas reações, foi utilizado uma solução alcoólica ácida com posterior aquecimento das placas para a revelação. Os produtos: tri-O-acetil-D-glucal, os O-glicosídeos 2,3-insaturados, os O-glicosídeos hidrolisados e carboidratos enônicos foram purificados através da cromatografia em coluna, onde o material utilizado foi uma coluna de vidro, sílica gel 60 (70-230 mesh-Merck) como fase estacionária, e como eluente, um solvente, como por exemplo, o acetato de etila, ou por uma mistura de solventes, geralmente, hexano/acetato com diferentes proporções que variam de 7:3; 9:1 e 4:6.

Os solventes foram evaporados em um Evaporador rotativo Fisatom conectado a uma bomba de vácuo modelo New Pums Sparmaz.

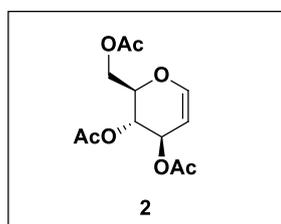
4.1.2 Técnicas Espectroscópicas

As técnicas espectroscópicas foram realizadas na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os espectros de ressonância magnética nuclear foram registrados em um espectrômetro *Varian Unity Plus* de 300 MHz ou em um espectrômetro *Varian URMNS* de 400 MHz. Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm (partes por milhão) em relação

ao pico residual do clorofórmio (7,258 ppm) para os espectros de hidrogênio, em relação ao pico central do CDCl_3 (77,0 ppm) para os espectros de carbono. Todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz). Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas como filmes finos ou pastilhas de KBr.

4.2 Procedimento Experimental

4.2.1 Preparação do tri-O-acetil-D-glucal **2**

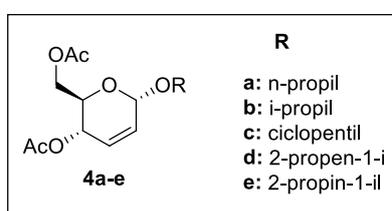


Para a síntese do produto **2** utilizou-se o método de Shull et al (1996). Em um balão de fundo redondo preparou-se uma suspensão do carboidrato D-glicose **1** (1,0 g; 5,55 mmol) em anidrido acético (3,61 g; 7,0 mol equivalente), posteriormente foi adicionado 1,0 g de uma solução de 31% HBr/ácido acético (0,5 mL de ácido bromídrico 48% em 2,0 mL de anidrido) à temperatura ambiente sob forte agitação durante 1 hora. Após esse tempo, adicionou-se 6,0 g solução 31% HBr/AcOH (3,0 mL de HBr 48% em 12,0 mL de anidrido) foi acrescentada a mistura reacional e manteve-se à temperatura ambiente sob agitação durante 6 horas.

Passado esse tempo foi adicionado acetato de sódio anidro (2,0 g) para a neutralização do excesso de HBr e a mistura reacional foi agitada por 30 minutos. Após a neutralização, foi adicionado à essa mistura reacional uma suspensão preparada em um segundo balão, composta de água (10 mL), acetato de sódio tri-hidratado (9,45 mL; 115 mmol), ácido acético (15,0 mL), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,315 g; 1,3 mmol) e zinco sólido (12,6 g; 200 mmol), sendo esta suspensão mantida sob

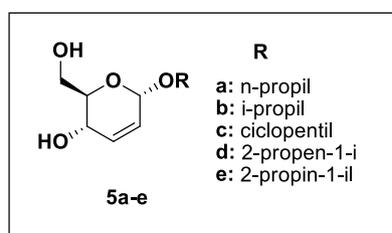
agitação vigorosa a temperatura ambiente por 1,5 horas. A parte sólida foi removida por filtração a vácuo, sendo lavada com acetato de etila (100 mL) e depois com água (100 mL). A fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com soluções saturadas de NaHCO_3 (100 mL), e NaCl (50 mL), sendo posteriormente seca com MgSO_4 . O solvente teve seu volume reduzido pela utilização de um evaporador rotativo, sendo o produto final **2**, o tri-*O*-acetil-D-glucal, podendo ser purificado por cromatografia em coluna usando o sistema de solventes hexano/acetato de etila (90:10).

4.2.2 Preparação dos Glicosídeos 2,3-insaturados 4 a-e



Em um balão, adicionou-se o tri-*O*-acetil-D-glucal (0,272g; 1 mmol) dissolvido em diclorometano seco com MgSO_4 (20 mL), posteriormente foi adicionado o álcool apropriado **3a-e** (1,2 mmol) e a montmorillonita conhecida como K-10 (0,1632 g; 60% M/M). O balão deve ser acoplado a um sistema de refluxo e foi deixado sob aquecimento. Após o término da reação, comprovado por cromatografia de camada delgada (CCD), a reação foi filtrada e seca com MgSO_4 . O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, utilizando um sistema de solvente hexano:acetato de etila (9:1), levando aos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados **4a-e**.

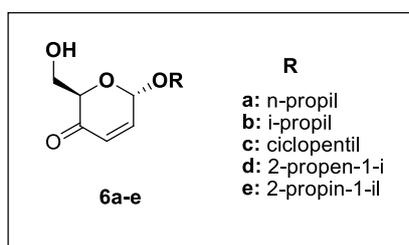
4.2.3 Preparação dos *O*-glicosídeos hidrolisados 5a-e



Os compostos 4,6-Dióis 2,3-Didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeos **5a-e** foram sintetizados a partir da hidrólise do *O*-glicosídeo 2, 3 insaturado em meio

básico. O O-glicosídeo 2,3-insaturado **4a-i** apropriado (0,25 mmol) foi transferido para um tubo de ensaio, em seguida adicionou-se metanol (1,0 mL). A esta solução foi adicionado o sal básico K_2CO_3 (69,0 mg; 0,5 mmol) e então, a água (0,3 mL). O sistema reacional foi mantido sob agitação durante 5 minutos e sem aquecimento. A reação foi acompanhada por CCD, sendo que o sistema de eluição utilizado foi acetato-hexano (6-4). Após o término da reação, a mistura reacional foi transferida para um balão e foi adicionado acetato de etila e sulfato de sódio anidro. Na sequência foi realizada uma filtração simples e o filtrado foi coletado em um segundo balão, o qual foi evaporado sob pressão reduzida para retirada do solvente. Cabe salientar que alguns hidrolisados foram extraídos com diclorometano. Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna fornecendo correspondentes hidrolisados com rendimentos que variaram de 85,23 a 97,84% de rendimento.

4.2.4 Preparação dos carboidratos enonas por meio de uma oxidação alílica **6a-e**



Em um tubo, foi adicionado 0,25 mmol do composto hidrolisado 5a-e, 10 mL de diclorometano (DCM), 20 mmol equivalentes do óxido de manganês. A reação foi realizada em temperatura ambiente e sob agitação contínua. O término da reação foi verificado por CCD utilizando o sistema hexano-acetato de etila (6-4) na eluição das placas de CCD.

4.3 Atividade Farmacológica

4.3.1 Determinação da atividade antitumoral

Uma vez sintetizados e caracterizados os carboidratos enônicos, os compostos foram enviados para o Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), que funciona sob a supervisão da

Prof.^a Dr.^a Gardênia Carmen Gardelha Militão, como intuito de avaliar a atividade antitumoral frente a quatro linhagens de células tumorais humanas: Células NCI-H292 (carcinoma de pulmão), MCF (câncer de mama), HEP (carcinoma do colo do útero) e HL60 (leucemia promielocítica) pelo Método MTT (Microcultura de Tetrazolium).

Para determinação da atividade antitumoral, primeiramente, as células foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO (dimetilsulfóxido) foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100 μ L/poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 μ L da solução de MTT (microcultural de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa no comprimento de 595 nm.

4.3.2 Método de análise dos resultados

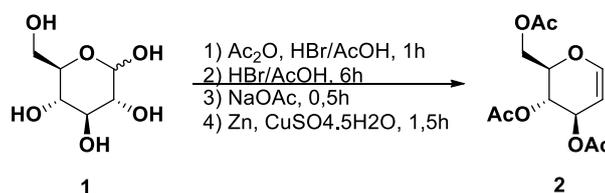
Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. As amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70% e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvios no programa *Graphpad Prism*, feitas também pelo laboratório de Departamento de Fisiologia e farmacologia da UFPE. Cada amostra foi testada em duplicata.

5 RESULTADOS

5.1 Síntese do Tri-O-Acetil-D-Glucal **2**

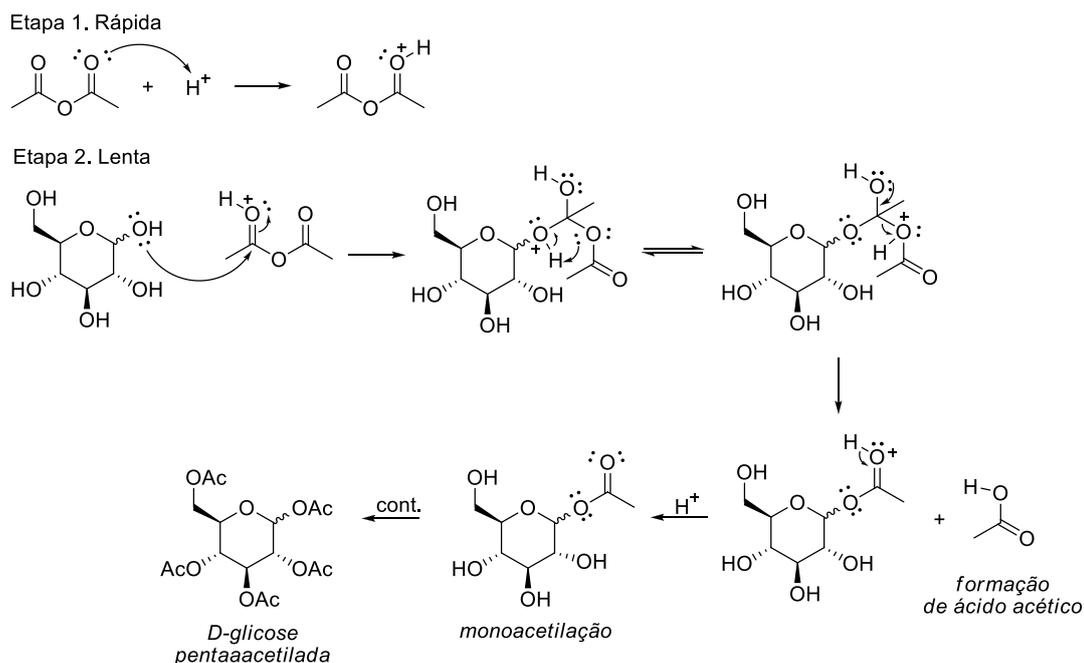
O trabalho foi iniciado com a síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal, **2**, a partir de sucessivas transformações da D-glicose utilizando o protocolo de Shull, Wu e Korreda (1996), conforme o Esquema 5.



Esquema 5: Síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal, **2**.

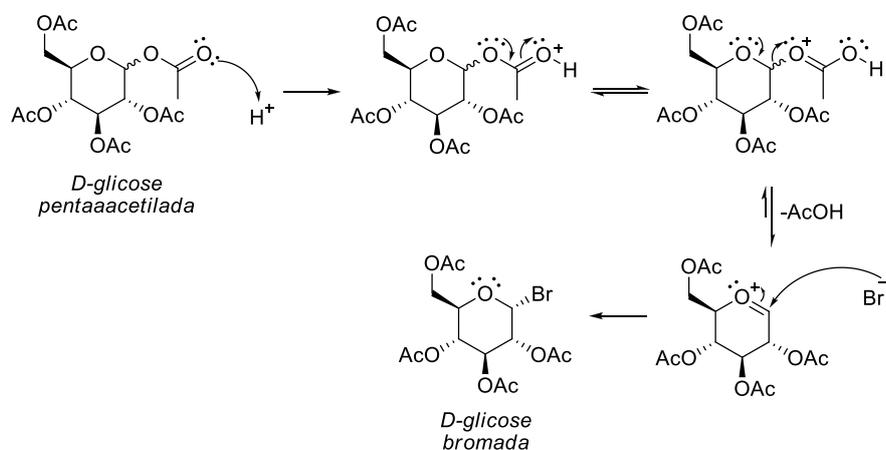
Através desse protocolo, do tipo *one pot*, a D-glicose passou por três reações distintas para levar ao composto **2** com um rendimento de 90% na forma de um sólido amorfo branco. As reações em que a D-glicose foi submetida foram: acetilação, bromação e eliminação.

No tocante, a reação de acetilação o mecanismo associado é semelhante ao da esterificação em meio ácido (SOLOMONS E FRYHLE, 2009), onde o hidrogênio ácido é capturado pelo par eletrônico do oxigênio da carbonila do anidrido acético. Isto eleva a densidade de carga positiva do carbono da carbonila, tornando-o suscetível ao ataque do par eletrônico do oxigênio do grupo hidróxido presente na D-glicose, como mostra o Esquema 6, após vários rearranjos há a eliminação do ácido acético e restauração do hidrogênio ácido que inicia outra vez a catálise.



Esquema 6: Proposta mecanística para acetilação da *D*-glicose.

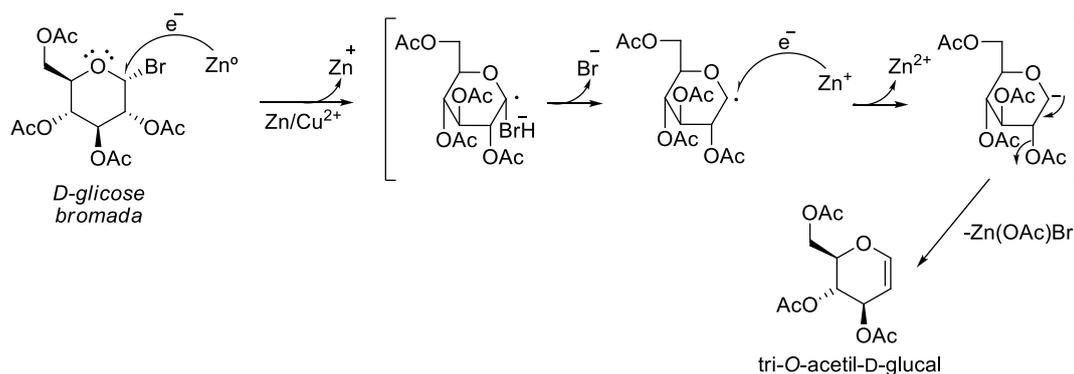
Uma vez que, a *D*-glicose foi pentaacetilada inicia-se a bromação do carbono anomérico, utilizando uma grande quantidade de ácido bromídrico. Esta reação de bromação é mais lenta quando comparada a reação de acetilação, e isso pode ser justificado pela baixa nucleofilicidade do íon brometo. Esta baixa nucleofilicidade está associada ao volume desse ânion (SOLOMONS E FRYHLE, 2009), porém devido ao grande excesso de ácido bromídrico o equilíbrio é deslocado no sentido dos produtos (ATKINS E JONES). A proposta mecanística da bromação segue no Esquema 7.



Esquema 7: Proposta mecanística para bromação da *D*-glicose pentaacetilação.

Concluída a reação de bromação a etapa seguinte foi promover a neutralização do meio adicionando acetato de sódio, uma vez que o pH do meio reacional estava baixo devido a grande quantidade de ácido bromídrico utilizado. Por fim a última reação envolve a eliminação radicalar do bromo da D-glicose bromada através do sistema Zn/Cu²⁺ afim de obtemos o 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal.

Este mecanismo da eliminação envolvendo espécies radicalares foi proposto por Somsák, Madaj e Wisniewski em 1997. Neste trabalho Somsák e colaboradores propuseram que o átomo de Zn transfere um elétron para o carbono anomérico, seguido da quebra da ligação C-Br levando a formação do radical glicosídico e liberando íon brometo. O radical glicosídico sofre redução capturando outro elétron da espécie Zn(I) levando ao ânion glicosídico. Este ânion glicosídico por sua vez sofre a perda do íon acetato para levar ao produto tri-O-acetil-D-glucal, ou seja, composto **2** (Esquema 8).



Esquema 8: Proposta mecanística de Somsák, Madaj e Wisniewski para a síntese do tri-O-acetil-D-glucal.

Todas as reações as quais a D-glicose foi submetida foram acompanhadas por CCD, a fim de otimizar o tempo reacional e evitar a formação de subprodutos. Como comentado na parte experimental o tri-O-acetil-D-glucal foi purificado através de cromatografia em coluna e sua caracterização foi feita utilizando diferentes técnicas espectroscópicas, tais como: IV, RMN de ¹H e ¹³C e rotação específica.

De acordo com o espectro de IV é possível observar a ausência da banda referente a deformação axial da ligação O-H (~3300 cm⁻¹), a presença da banda referente a deformação axial da ligação C=O (1737 cm⁻¹), além da presença das

bandas da deformação da ligação sp^2C-H (3060 cm^{-1}) e da ligação $C=C$ (1648 cm^{-1}), indicando a formação do tri-*O*-acetil-*D*-glucal (Figura 16).

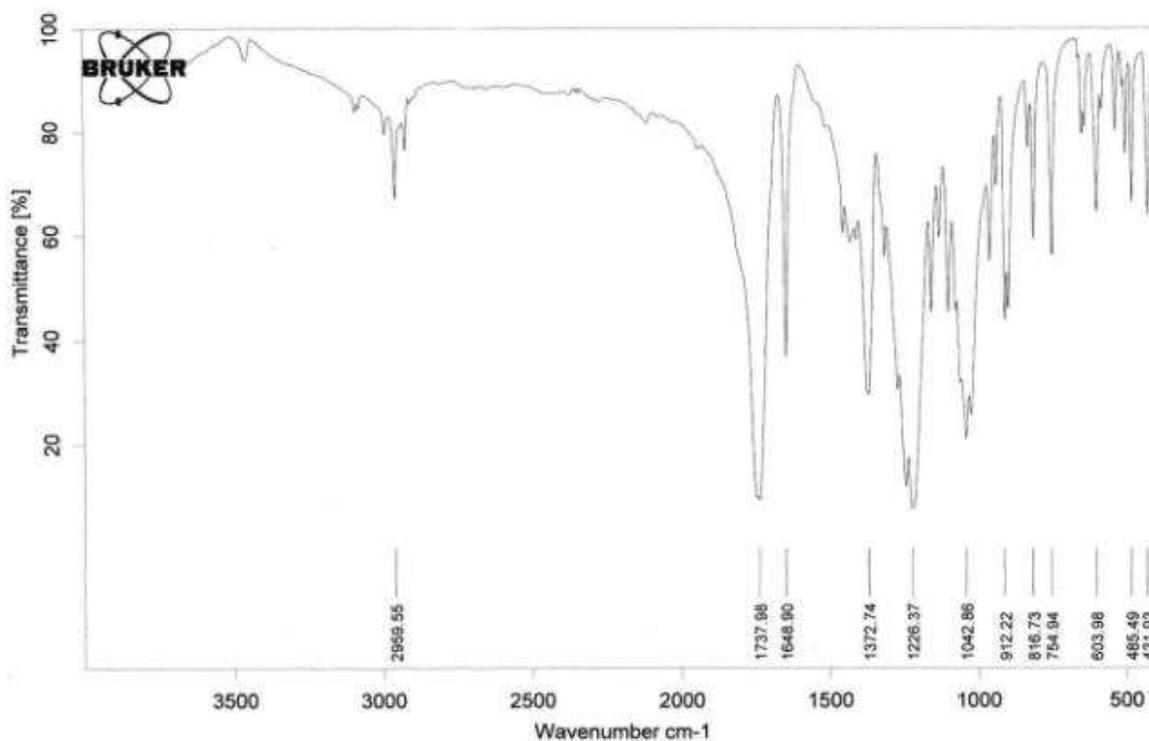


Figura 16: Espectro de IV do tri-*O*-acetil-*D*-glucal (pastilha de KBr).

No tocante ao espectro de RMN 1H , na Figura 17, foi possível observar que o somatório das integrais das áreas de cada sinal no espectro é igual ao total de hidrogênios que o tri-*O*-acetil-*D*-glucal apresenta, ou seja, 16 (Figura 17). Outra informação importante são os três sinais em campo alto referente aos hidrogênios do grupo acetila do tipo singleto entre 2,00-2,25 ppm.

(Tri-O-acetil-D-glucal) 10715_9 H.esp

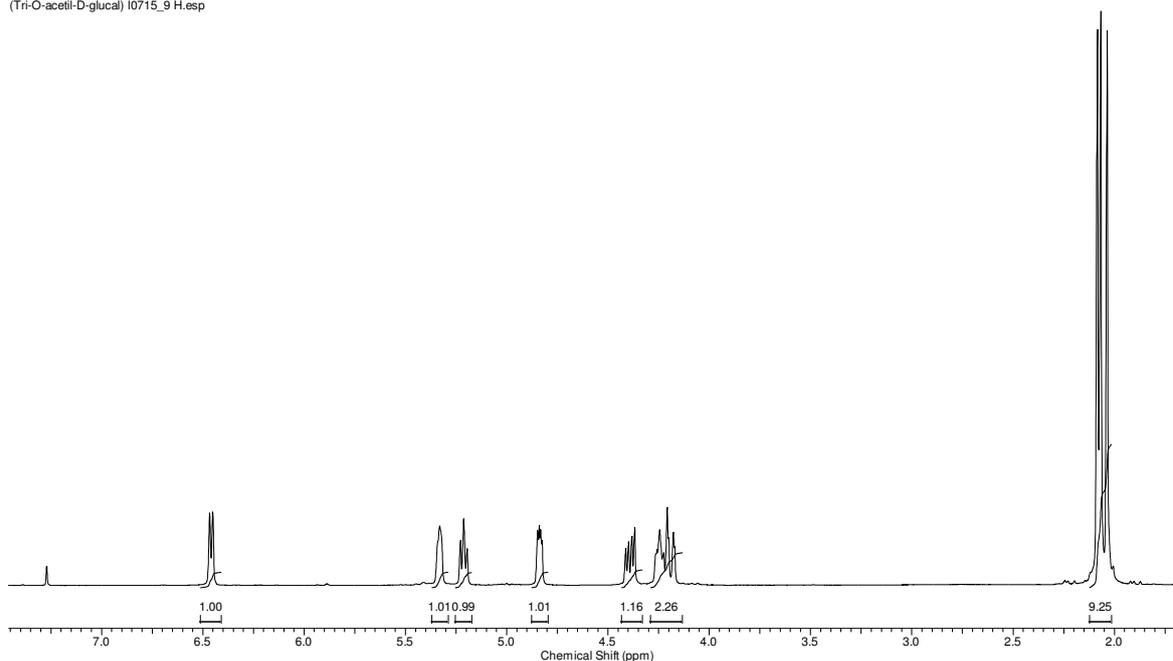
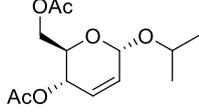
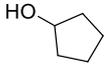
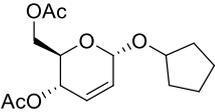
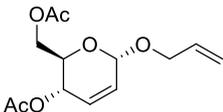
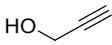
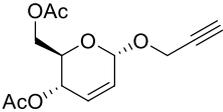


Figura 17: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do tri-*O*-acetil-D-glucal.

3,4,6-Tri-*O*-acetil-D-Glucal 2: Sólido branco (90%); pf: 54-55°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 10.4 (c 1.00, MeOH); IV (pastilha de KBr) ν_{max} 2959, 1738, 1649, 1373, 1226, 1043 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6,45 (*d*, $J_{1-2} = 6,0$ Hz, 1H, H-1), 5,32 (*sl*, 1H, H-2), 5,20 (*t*, $J_{3-2} = J_{3-4} = 5,7$ Hz, 1H, H-3), 4,84-4,81 (*m*, 1H, H-5), 4,38 (*dd*, $J_{4-3} = 5,7$ Hz, 1H, H-4), 2,5-4,16 (*M*, 2H, H-6, H-6'), 2,07 (*s*, 3H, OAc), 2,06 (*s*, 3H, OAc), 2,02 (*s*, 3H, OAc); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,5; 170,4; 169,5; 145,6; 98,9; 73,8; 67,4; 67,1; 61,3; 20,9; 20,7; 20,7. HRMS (ESI) m/z $[\text{M}^+\text{Na}]^+$ calcd para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{Na}$ 295,0794, encontrado 295,0829.

5.2 Síntese dos glicosídeos

Uma vez sintetizado e caracterizado o tri-*O*-acetil-D-glucal, **2**, a próxima etapa do trabalho foi sintetizar os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a-e**. Neste sentido, foram colocados para reagir o tri-*O*-acetil-D-glucal, **2**, diferentes álcoois, **3a-e**, e a montmorilonita K-10 (que atuou como ácido de Lewis) em diclorometano para levar aos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (Esquema 9).

2		3b		4b	80	89
3		3c		4c	45	94
4		3d		4d	60	94
5		3e		4e	60	95

^aRendimento do produto isolado.

De acordo com a Tabela 1, o aumento do grau de insaturação dos alcoóis utilizados não influenciou significativamente no rendimento e no tempo reacional. Outro ponto que merece ser ressaltado foi a completa caracterização dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a-e**, pelos métodos espectroscópicos usuais (IV, RMN ¹H e ¹³C e rotação específica). Assim, utilizando para demonstração de caracterização o *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a**, observa-se através do espectro de RMN ¹H que o somatório das integrais das áreas de cada sinal no espectro é igual ao total de hidrogênios presentes neste composto, ou seja, 20. Outra informação importante é a diminuição da integral na reação entre 2,00-2,25 ppm para 6, indicando a ausência de um dos singletos referente ao grupo acetila e a presença dos quatro sinais da porção aglicona (do álcool *n*-propílico), ou seja, os dois multipletos na região 3,25-3,75 ppm (hidrogênios H-7), o sexteto em ~1,70 ppm (hidrogênios H-8) e o tripleto em ~0,90 ppm (hidrogênios H-9), conforme mostra a Figura 18.

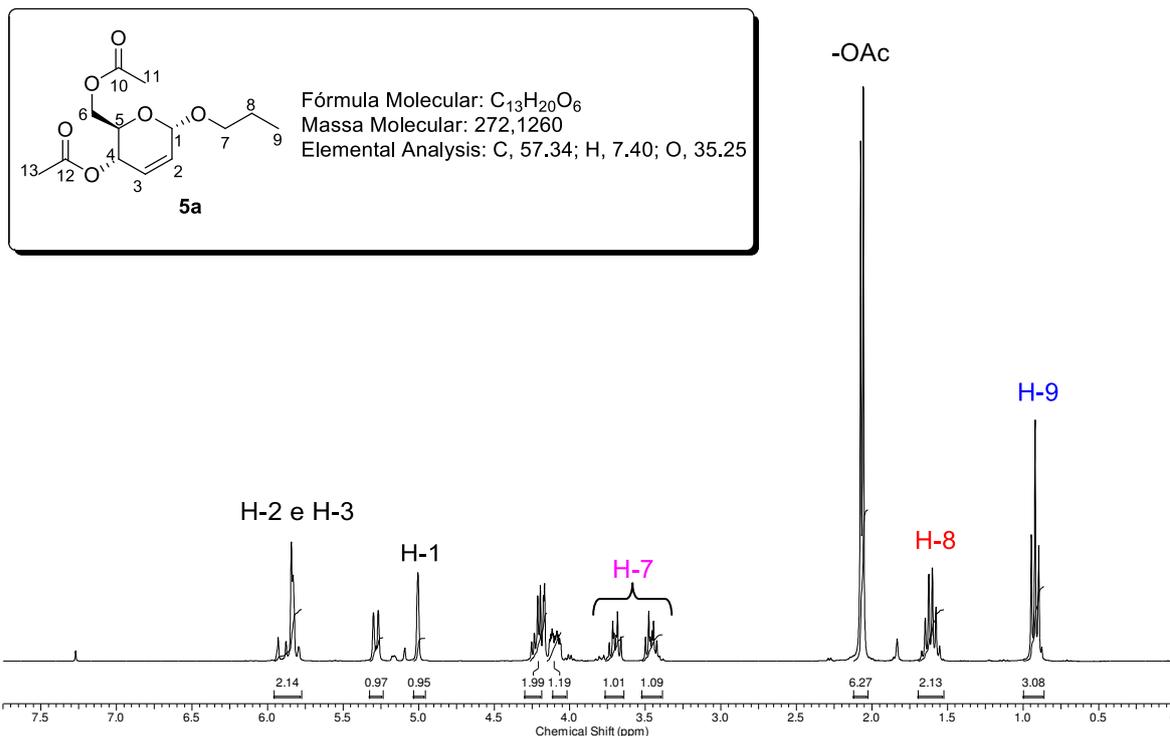


Figura 18: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a**.

Com relação ao espectro de RMN ¹³C do *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a**, foi possível observar a presença de dois sinais 170,2 e 169,7 ppm referentes aos carbonos carbonílicos do grupo acetila, o que confirma que houve o rearranjo alílico, pois o composto de partida, ou seja, o tri-*O*-acetil-D-glucal, **2**, apresentava três grupos acetilas. Adicionalmente, foi possível notar que a quantidade de carbonos quimicamente diferentes é igual a 13, número esse igual a quantidade

de carbonos presentes no O-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a** (Figura 19).

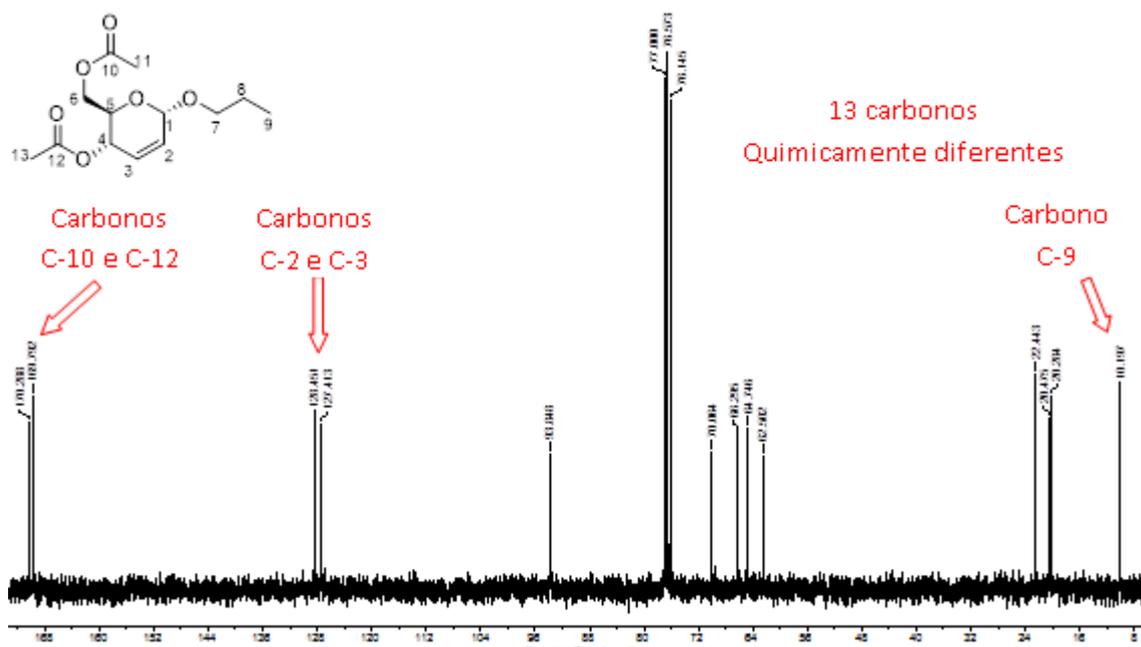


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 300 MHz) do O-glicosídeo 2,3-insaturado, **4a**.

***n*-propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo **4a**:**

0,23 g (91%), óleo incolor, IV (filme) ν_{max} 2964, 2881, 1747, 1450, 1371, 1234, 1182, 1105 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,92-5,78 (m, 2H, H-2, H-3), 5,29-5,25 (m, 1H, H-4), 4,99 (sl, 1H, H-1), 4,21 (dd, 1H, H-6, $J_{6,6'} = 12,0$ Hz e $J_{6,5} = 5,4$ Hz), 4,14 (dd, 1H, H-6', $J_{6,6} = 12,0$ Hz e $J_{6',5} = 2,1$ Hz), 4,08 (ddd, 1H, H-5, $J_{5,4} = 9,6$ Hz, $J_{5,6} = 5,1$ Hz e $J_{5,6'} = 2,1$ Hz), 3,68 (dt, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 9,6$ Hz e $J = 7,5$ Hz), 3,45 (dt, 1H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 9,6$ Hz e $J = 7,5$ Hz), 2,07 (s, 3H, -OAc), 2,05 (s, 3H, -OAc), 1,61 (qui, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,5$ Hz), 0,91 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,5$ Hz); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,7; 170,2; 128,9; 127,8; 94,2; 70,5; 66,7; 65,2; 62,9; 22,9; 20,9; 20,7; 10,6.

***Iso*-Propil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo **4b**:**

0,25 g (89%), óleo incolor, IV (filme) ν_{max} 2971, 2902, 1745, 1450, 1372, 1317, 1233, 1184, 1127 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,76 (dl, 1H, H-3, $J = 11,7$ Hz), 5,69 (dt, 1H, H-2, $J_{2,3} = 11,7$ Hz e $J_{2,1} = J_{2,4} = 1,8$ Hz), 5,19-5,15 (m, 1H, H-4), 5,02 (sl, 1H, H-1), 4,17-4,01 (m, 3H, H-5, H-6 e H-6'), 3,98-3,84 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$), 1,98 (s, 3H, -OAc), 1,97 (s, 3H, -OAc), 1,14 (d, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$, J

= 6,3 Hz), 1,07 (*d*, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$, $J = 6,0$ Hz); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) 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.

Ciclopentil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 4c:

0,25 g (94%), óleo incolor, IV (filme) ν_{max} 2940, 2861, 2673, 2137, 1746, 1456, 1373, 1234, 1039 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,81 (*dl*, 1H, H-3, $J = 10,5$ Hz), 5,74 (*dt*, 1H, H-2, $J_{2,3} = 10,5$ Hz e $J_{2,1} = J_{2,4} = 2,4$ Hz), 5,23 (*dd*, 1H, H-4, $J_{4,5} = 9,6$ Hz e $J_{4,3} = 1,2$ Hz), 5,04 (*sl*, 1H, H-1), 4,20 (*dd*, 1H, H-6, $J_{6,6'} = 12,0$ Hz e $J_{6,5} = 5,4$ Hz), 4,12 (*dd*, 1H, H-6', $J_{6,6} = 12,0$ Hz e $J_{6,5} = 2,4$ Hz), 4,06 (*ddd*, 1H, H-5, $J_{5,4} = 9,6$ Hz, $J_{5,6} = 5,4$ Hz e $J_{5,6'} = 2,4$ Hz), 2,04 (*s*, 3H, -OAc), 2,02 (*s*, 3H, -OAc), 1,76-1,47 (*m*, 9H, $\text{OCH}(\text{CH}_2)_4$ e $\text{OCH}(\text{CH}_2)_4$); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,6; 170,2; 128,5; 128,3; 93,5; 80,5; 66,6; 65,2; 62,9; 33,4; 32,2; 23,4; 23,0; 20,8; 20,7.

Prop-2-en-1-il 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 4d:

0,23 g (94%), óleo incolor, IV (filme) ν_{max} 2920, 1743, 1642, 1371, 1235, 1039 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,98-5,83 (*m*, 3H, H-2, H-3 e $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,30-5,13 (*m*, 3H, H-4 e $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,05 (*sl*, 1H, H-1), 4,26-4,01 (*m*, 5H, H-5, H-6,), 2,07 (*s*, 3H, -OAc), 2,05 (*s*, 3H, -OAc); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,7; 170,2; 134,0; 129,2; 127,6; 117,5; 93,5; 69,2; 66,8; 65,1; 62,8; 20,9; 20,7.

Prop-2-in-1-il 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 4e:

(95%, 0,25 g); Sólido branco; P.F. 58-59°C; IV (KBr) ν_{max} 3281, 2935, 2893, 2129, 1742, 1375, 1239, 1030; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5,90 (*dl*, 1H, H-3, $J_{3,2} = 10,2$ Hz), 5,82 (*dt*, 1H, H-2, $J_{2,3} = 10,2$ Hz), 5,33 (*ddd*, 1H, H-4, $J_{4,5} = 9,6$; $J_{4,3} = 3,0$ Hz e $J_{4,2} = 1,5$ Hz), 5,22 (*sl*, 1H, H-1), 4,29 (*d*, 2H, OCH_2 , $J = 2,4$ Hz), 4,25 (*dd*, 1H, H-6, $J_{6,6'} = 12,4$ e $J_{6,5} = 5,4$ Hz), 4,16 (*dd*, 1H, H-6', $J_{6,6} = 12,4$ e $J_{6,5} = 2,4$ Hz), 4,07 (*ddd*, 1H, H-5, $J_{5,4} = 9,6$; $J_{5,6} = 5,4$ e $J_{5,4} = 2,4$ Hz), 2,07 (*t*, 1H, $\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$, $J = 2,4$ Hz), 2,09 (*s*, 3H, OAc), 2,07 (*s*, 3H, OAc); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,7; 170,2; 129,7; 127,1; 92,7; 78,9; 74,8; 67,1; 65,0; 62,7; 55,0; 20,9; 20,7.

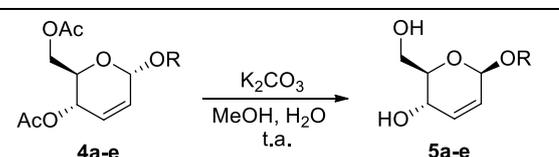
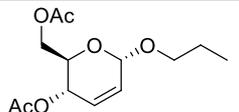
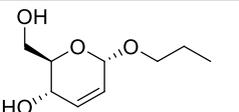
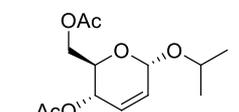
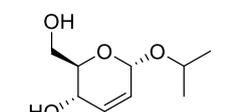
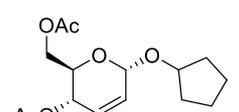
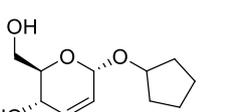
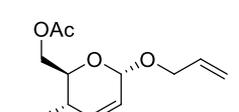
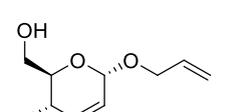
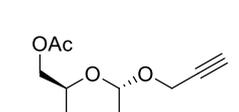
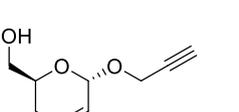
5.3. Síntese de compostos hidrolisados 5a-e

A hidrólise dos O-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a-e**, foi realizada em meio básico utilizando um sistema desenvolvido por nosso grupo de pesquisa e que

está descrito no trabalho de SANTOS (2014), Neste trabalho, o melhor sistema para promover a reação de hidrólise foi $K_2CO_3/MeOH/H_2O$, onde a função do carbonato de potássio foi utilizado para alcalinizar o meio, do metanol solubilizar os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a-e**, e o da água a fonte doadora de hidrogênio.

Esta reação de hidrólise foi então repetida para os cinco *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **4a-e**, sintetizados e seus resultados estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2: Síntese de compostos 5a-e a partir da hidrólise quimiosseletiva dos compostos 4a-e.

		R a: <i>n</i> -propil b: <i>iso</i> -propil c: ciclopentil d: alil e: propargil	
Glicosídeo	Produto	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
1  4a	 5a	6	86
2  4b	 5b	5	98
3  4c	 5c	5	95
4  4d	 5d	5	95
5  4e	 5e	5	93

^a Rendimento do produto isolado.

De acordo com a Tabela 2 independentemente do substituinte ligado ao carbono anomérico o tempo não ultrapassou 6 min e todos os rendimentos foram superiores a 80%. Adicionalmente, a reação demonstrou ser quimiosseletiva, uma vez que, não foi observada a quebra da ligação glicosídica, o que ocorre quando

a hidrólise é realizada em meio ácido. Esta afirmação a respeito da quimiosseletividade foi corroborada pelo espectro de RMN ^1H dos *O*-glicosídeos hidrolisados, **5a-e**. Neste sentido, observando o RMN ^1H do composto **5a** (Figura 20), verifica-se o sinal em 3,46 ppm referente aos prótons H-7 (multiplicidade do tipo multipeto), o sinal em 1,62 ppm referente aos prótons H-8 (multiplicidade do tipo sexteto) e o sinal em 0,94 ppm referente aos prótons H-9 (multiplicidade do tipo tripleto), onde todos esses sinais pertencem ao grupo *n*-propil unidade ligada ao carbono anomérico.

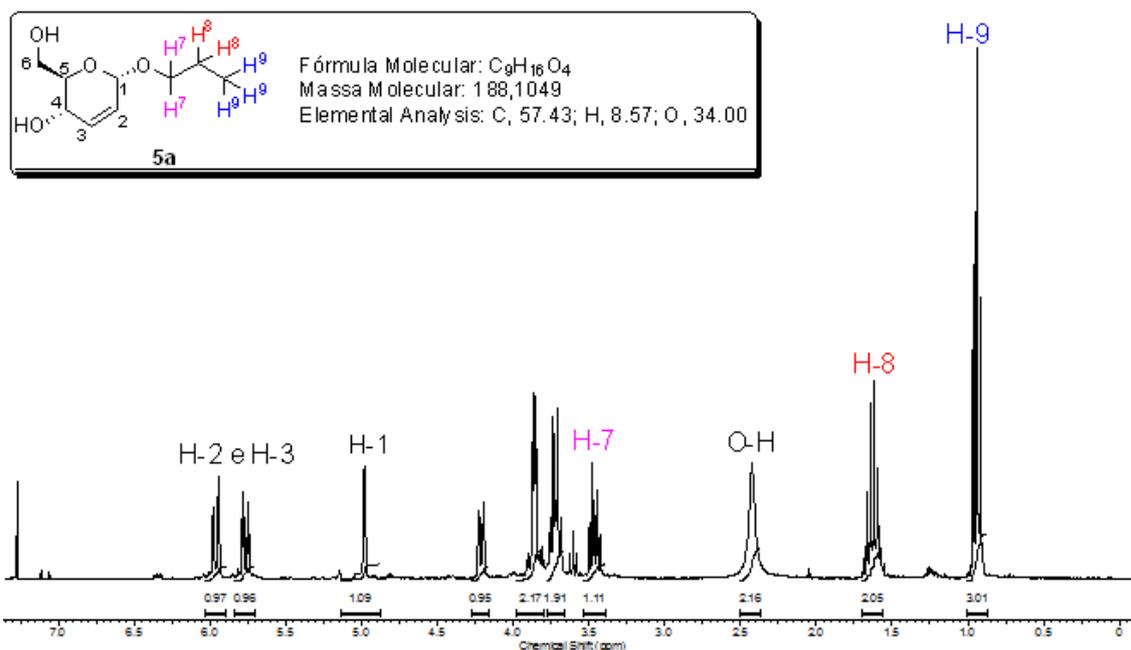


Figura 20: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do *O*-glicosídeo hidrolisado **5a**

Continuando a análise do espectro do *O*-glicosídeo hidrolisado **5a** nota-se em 5,96 e 5,77 ppm os sinais dos hidrogênios H-2 e H-3, onde este deslocamento químico, em campo baixo, deve-se ao efeito anisotrópico da dupla ligação que promove a desblindagem desses hidrogênios (Figura 20). Por fim, o somatório das integrais obtidas no espectro RMN ^1H (Figura 20) foi de 16 igual à quantidade de hidrogênios presentes no composto **5a**.

A partir da interpretação do espectro de RMN ^{13}C do composto **5a** foi possível observar a presença de 9 carbonos quimicamente diferentes, onde os sinais em 133,2 e 126,3 ppm referem-se aos carbonos olefínicos C-3 e C-2, e o

sinal em 94,2 ppm refere ao carbono anomérico C-1 (Figura 21). Adicionalmente, a ausência dos sinais em ~170 ppm (presentes no espectro do composto **4a** – Figura 19) corrobora o sucesso da hidrólise e formação do composto **5a**.

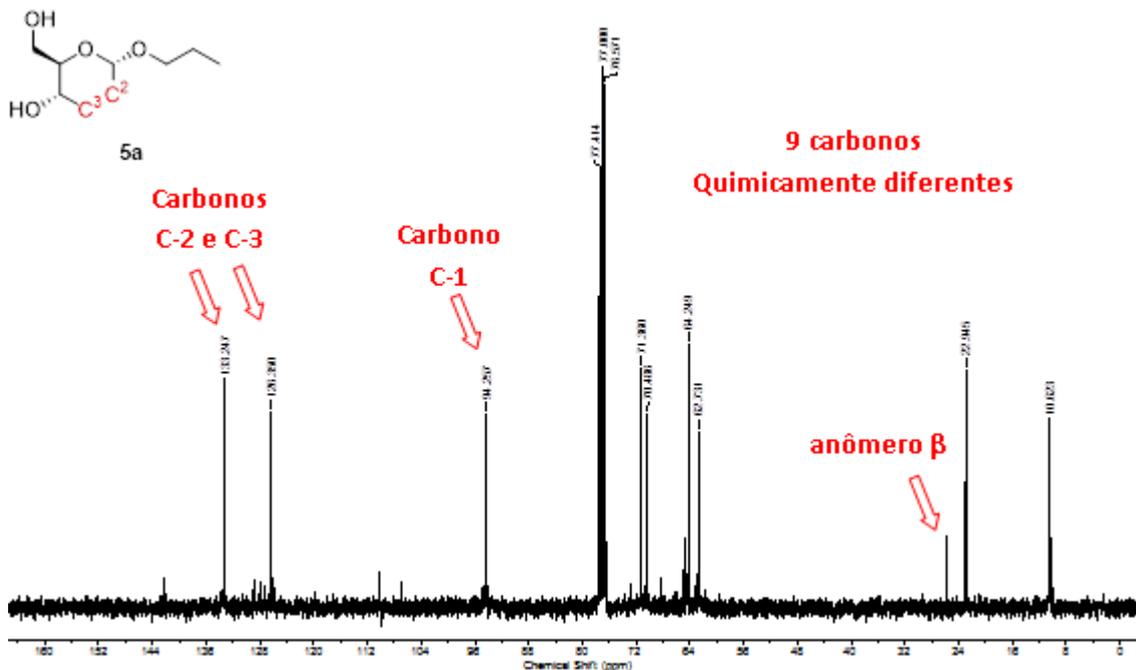


Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do O-glicosídeo hidrolisado **5a**.

Com relação ao aspecto físico dos O-glicosídeos hidrolisados, **5a-e**, os mesmos foram obtidos na forma de óleo (composto **5a** e **5b**), de semissólido (compostos **5d** e **5e**) e sólido (composto **5c**), no qual esta tendência pode ser justificada pelo aumento da cadeia carbônica.

Iso-propil 2, 3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 5b: isolado na forma de óleo, 1,74 g (98%); R_f 0,18 (9:1 CH_2Cl_2 - EtOAc); IV (KBr): 3391 cm^{-1} (ν OH); RMN^1H (400Hz, CDCl_3); δ 5,94 (d, 1H, $J_{3,2}$ 10Hz, H-3), 5,70 (dt, 1H, $J_{2,3}$ 10, H-2), 7,07 (Bs, 1H, H-1), 4,19 (d, 1H, $J_{8,4}$ 8.4Hz, H-4), 3,96 (q, 1H, $J_{6,0}$ 6,0 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3, 85-3, 83 (m, 2H, H-6 e H-6'); 3, 75-3, 70 (m, 1H, H-5), 2, 71 (bs, 1H, 1OH), 2, 42 (bs, 1H, 1 OH), 1, 23 (d, 3H, $J_{6,0}$ 6Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1, 17(d, 3H, $J_{6,0}$ 6Hz $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). RMN^{13}C (100 MHz CDCl_3), δ 133,17, 126, 784; 92, 55; 71, 26; 71, 26; 70, 43; 64, 24; 62, 68;; 23, 64; 21, 84; (MeOH: H_2O) calculado para $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 211, 2180, encontrado 211, 1024.

n-Propil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 5c:

isolado na forma de óleo, 1,74 g (98%); R_f 0,20 (9:1 CH_2Cl_2 - EtOAc); IV (KBr): 3384 cm^{-1} (ν OH); RMN¹H (400Hz, CDCl_3); δ 5,95 (d, 1H, $J_{3,2}$ 10Hz, H-3), 5,76 (d, 1H, $J_{2,3}$ 10, H-2), 4,97 (Bs, 1H, H-1), 4, 20 (bd, 1H, $J_{8,4}$ Hz. H-4), 3,86 (bs, 2H, H-6, H-6'), 3, 73-3,70 (m, 2H, H-5 E O- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). RMN ¹³C (100 MHz CDCl_3), δ 133,28, 126, 34; 94, 29; 71, 39; 70, 50; 64, 22; 62, 70; 12, 94; 20, 61; (MeOH: H_2O) analiticamente calculado para $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 211, 2180, encontrado 211, 1024.

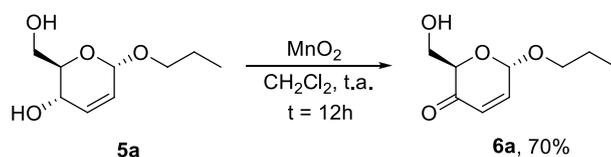
Ciclopentil 2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo 5e: 1,74 g (95%); R_f 0,16 (9:1 CH_2Cl_2 - EtOAc); $[\alpha]_D^{25} + 54^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); IV (KBr): 3404 cm^{-1} (ν OH); RMN¹H (300Hz, CDCl_3); δ 5,95 (d, 1H, $J_{3,2}$ 10.2Hz, H-3), 5,70 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10,2, $J_{2,4}$ 2,4 Hz, H-2), 5,04 (Bs, 1H, H-1), 4, 23 (M, 1H, OCH), 4,21 (bd, J 4,5 9.3 Hz, 1H, H-4), 3, 87 (bd, 2H, $J_{6,5}$ 3.7. Hz, H-6, H-6'), 3, 70 (dt, $J_{5,4}$ 9.4, $J_{6,5}$ 3.7 Hz, 1H, H-5), 2, 33 E 2,22 (muda para 2H, 2 OH), 183-1,51 (m, 8H, 4 CH_2). Analiticamente calculado para for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (214.12): C, 6170; H 8, 47. Encontrado: C, 61, 28; H, 8,37.

5.4. Síntese dos carboidratos enônicos

Devido à versatilidade dos glicosídeos é possível submetê-los a diferentes tipos de reações, tais como bis-hidroxilação, redução, epoxidação e oxidação. No tocante, na reação de oxidação, diferentes reagentes podem ser utilizados (SOLOMONS e GRAHAM, 2009), contudo alguns reagentes podem levar à decomposição dos glicosídeos. Para evitar a formação indesejada de subprodutos e até mesmo a possível decomposição dos O-glicosídeos hidrolisados um sistema de oxidação suave foi utilizado neste trabalho. Assim, os O-glicosídeos hidrolisados, **5a-e**, foram submetidos a reação de oxidação utilizando o óxido de manganês em diclorometano.

Devido a literatura apresentar poucas referências sobre a oxidação de glicosídeos 2,3-insaturados utilizando o óxido de manganês, inicialmente foi realizado um teste utilizando 20 equivalente do óxido de manganês para a oxidação do O-glicosídeo hidrolisado **5a**, conforme mostra o esquema 10. No

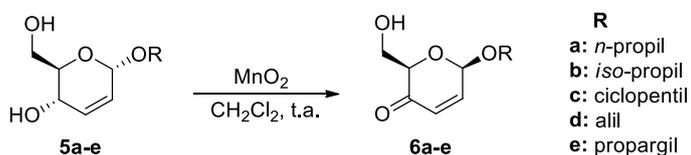
entanto, mesmo após 12 horas a reação não se completou e o carboidrato enônico foi obtido com 70 % de rendimento.



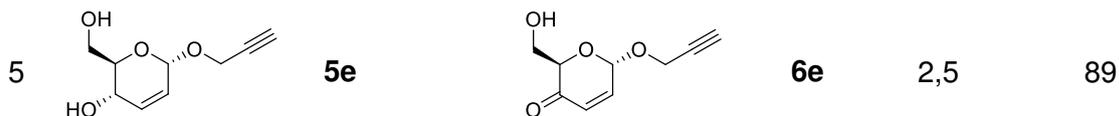
Esquema 10: Reação de oxidação do O-glicosídeo hidrolisado 5a.

Diante deste fato foi avaliada a influência da quantidade de óxido de manganês nesta oxidação. A conclusão da pesquisa foi que a quantidade necessária para deslocar o equilíbrio a favor dos produtos e por consequência diminuir o tempo reacional é a utilização de 27 equivalentes. O uso de 27 equivalentes de óxido de manganês diminui para 4 vezes o tempo reacional, ou seja, a reação ocorreu completamente em 3 horas. Uma vez otimizado a condição reacional os outros O-glicosídeos hidrolisados, **5a-e**, foram submetidos a essa reação de oxidação e seus resultados estão sumarizados na tabela 3.

Tabela 3: Síntese dos carboidratos enônicos, 6a-e, a partir da oxidação dos O-glicosídeos hidrolisados, 5a-e.

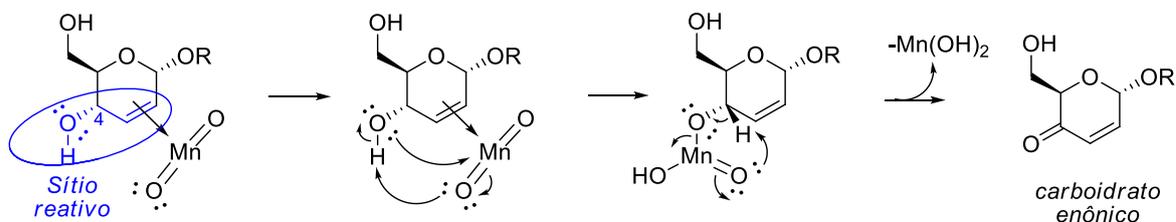


	Glicosídeo	Produto	Tempo (h)	Rendimento (%) ^a
1	5a	6a	3	84
2	5b	6b	2,3	86
3	5c	6c	2	89
4	5d	6d	2	92



^a Rendimento do produto isolado

De acordo com a Tabela 3 o substituinte ligado ao carbono anomérico não influenciou no tempo e no rendimento desta reação, uma vez que estão muito distantes do sítio reativo, ou seja, da dupla ligação e do grupo hidróxido ligado ao carbono 4 (Esquema 11). Essa oxidação é conhecida como oxidação alílica (SOLOMONS e GRAHAM, 2009) e só acontece quando o grupo hidróxido está no carbono β da dupla ligação. Uma proposta mecanística para essa oxidação está descrita no esquema 11.



Esquema 11: Proposta mecanística para a oxidação do O-glicosídeos hidrolizados.

Todos os carboidratos enônicos, **6a-e**, foram obtidos na forma de um sólido branco amorfo e suas estruturas foram confirmada pelos métodos espectroscópicos usuais (IV, RMN ¹H e ¹³C e rotação específica). Assim, analisando o carboidrato enônico, **6a**, foi possível observar no espectro de RMN ¹H uma mudança nos deslocamentos químico dos hidrogênios quando comparado com o espectro do O-glicosídeo hidrolisado, **5a** (Figura 20), bem como a redução da integral referente ao hidrogênio ligado ao grupo hidroxila de 2 para 1, conforme mostra a figura 22. Adicionalmente, neste espectro observa-se que o hidrogênio H-2 tem uma multiplicidade bem definida do tipo dubleto de dubleto (*dd*) em 6,90 ppm devido ao acoplamento dele com os hidrogênios H-3 e H-1 (Figura 22), tal multiplicidade não é observada no espectro do O-glicosídeo hidrolisado, **5a**.

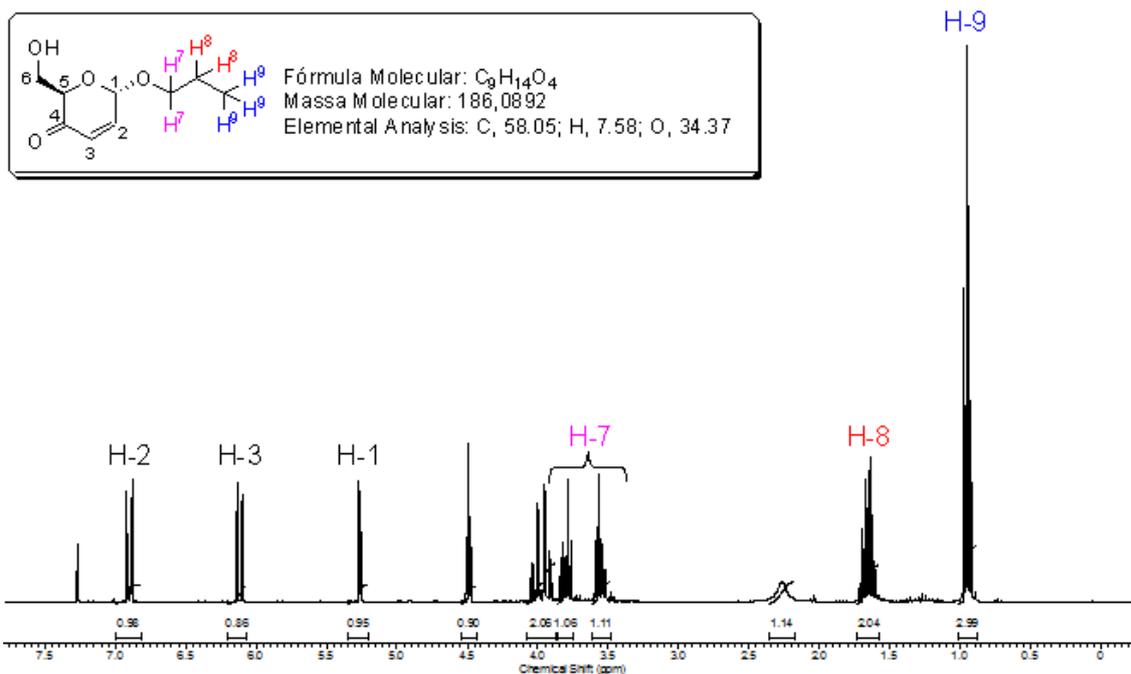


Figura 22: Espectro de RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) do carboidrato enônico **6a**.

A partir da interpretação do espectro de RMN ^{13}C do carboidrato enônico **6a** foi possível observar a presença de 9 carbonos quimicamente diferentes, semelhante ao *O*-glicosídeo hidrolisado, **5a**, contudo, na região de 196,4 ppm observa-se o sinal do carbono carbonílico C-4, enfatizando que a oxidação aconteceu. Além deste sinal foi possível observar os sinais em 144,6 e 128,0 ppm referentes aos carbonos olefínicos C-3 e C-2, e o sinal em 93,5 ppm que refere-se ao carbono anomérico C-1 (Figura 23).

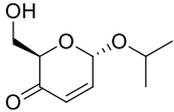
encontrado C, 57,30; H,8,74.

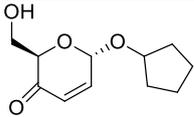
Ciclopentil 2,3-didesoxi-2-enopiranosid-4-ulose (6c): Isolado na forma de um líquido viscoso amarelo, (1,0 g, 4.67mmol); 0, 79 (76%); mp 76,4-77,0 °C; R_f 0,39 (9:1 CH₂Cl₂- EtOAc); [α]_D²⁵ + 30° (c 0,92, CHCl₃); IV (KBr): 3457 cm⁻¹ (ν OH); 1692 cm⁻¹ (νC=O); RMN¹H (300Hz, CDCl₃); δ6,85 (dd, 1H, J_{3,2} 10.2Hz, J_{2,1} 3,6 Hz, H-2), 6,09 (d, 1H, J_{2,3} 10,2, H-3), 5,32(d, 1H, J_{1,2} 3,6 Hz, H-1), 4,49 (dd, 1H, J_{5,6} 4,5, J_{5,6'} 4,5Hz, H-5); 4, 34 (m, 1H, OCH), 4, 01(dd, J_{6,6'} 11,7, J_{6,5} 4,5 Hz, H-6); 3, 91 (dd, J_{6,6'} 11, 7, J_{6,5} 4,5 Hz, H-6'), 2,27 (mudou para 1H, OH);187-1,55 (m, 8H, 4CH₂). Analiticamente calculado para C₁₁H₁₈O₄ (212.24): C, 62,25; H 7, 59. Encontrado: C, 62, 15; H, 7,39.

5.5 Estudo da Atividade Antitumoral

Como mencionado foram sintetizados cinco carboidratos enônicos, 6a-e, para análise da atividade antitumoral, porém, até o momento apenas dois dos carboidratos enônicos tinham sido analisados, sendo eles os compostos 6b e 6c. Assim, inicialmente os compostos 6b e 6c foram “*screened*” contra duas linhas de células humanas NCI-H292 e HEP utilizando uma concentração inicial fixada em 25 µg/mL e os resultados encontram-se resumidos na Tabela 4. Os resultados são dados em percentagem de crescimento celular em comparação com o não tratado as células de controle (DMSO a 0,1%).

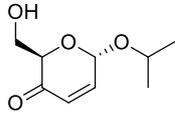
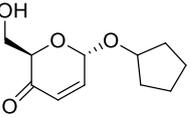
Tabela 4: Percentual de inibição de crescimento celular dos carboidratos enônicos 6b e 6c em duas linhagens de células tumorais na dose fixa 25 µg/mL.

Composto	NCI-H292 (%)	Desvio da NCI-H292	HEP (%)	Desvio da HEP
 6b	96,6	± 1,0	87,7	± 18,0

 6c	96,9	± 3,3	101,4	± 2,2
--	------	-------	-------	-------

De acordo com a Tabela 4 é possível observar que o percentual de inibição foi superior a 80% para os dois carboidratos enônicos 6b e 6c. Diante deste resultado o próximo passo foi determinar o valor de IC₅₀ desses compostos tanto para as duas linhagens inicialmente testadas quanto para as linhagens MCF-7 e HL-60. O resultado do IC₅₀ dos carboidratos enônicos 6b e 6c estão sumarizadas na Tabela 5.

Tabela 5: Determinação do IC₅₀ (µg/mL) dos carboidratos enônicos 6b e 6c.

Composto	NCI-H292	MCF-7	HL60	HEP
	IC ₅₀ (Intervalo de Confiança)			
 6b	3,5 (2,4 - 5,7)	5,1 (4,1 - 6,5)	1,6 (1,1 - 2,4)	5,6 (5,1 - 6,4)
 6c	1,1 (0,8 - 1,6)	2,5 (1,5 - 4,2)	1,0 (0,8 - 1,2)	4,0 (3,8 - 5,2)

De acordo com a Tabela 5 os carboidratos enônicos 6b e 6c exibiram uma elevada citotoxicidade contra todas as linhagens de células testadas, em especial contra as células HL-60 cujos valores foram de 1,6 µg/mL e 1,0 µg/mL, respectivamente. Uma possível explicação para essa atividade citotóxica mais acentuada frente a linhagem HL-60 é devido a este tipo de célula ser mais sensível ao estresse oxidativo, portanto, apresentando baixo nível de defesa (Barros et al., 2014).

Estes resultados indicam o quão promissor são estes carboidratos enônicos como novos quimioterápicos e estimula o nosso grupo de pesquisa na

modificação estrutural dos mesmos. Vale ressaltar que a escolha para a síntese desses carboidratos enônicos bem como a busca por realizar essa atividade antitumoral *in vitro* não foi aleatória, em alguns artigos da literatura o grupo enônico atua como aceptor de Michael facilitando a interação do composto com os sítios das células (Barros et al., 2014).

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- ✓ O tri-*O*-acetil-D-glucal **2** foi obtido com um rendimento de 90% na forma de um sólido branco amorfo a partir de sucessivas reações na D-glicose utilizando um protocolo do tipo *one pot*.
- ✓ Foram sintetizados cinco *O*-glicosídeos 2,3-insaturados **4a-e** através da reação de glicosidação com tempos reacionais de 45 a 80 minutos e rendimentos de 89 a 95%.
- ✓ A reação de hidrólise dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados **4a-e** foi promovida através do sistema $K_2CO_3/MeOH/H_2O$ levando aos *O*-glicosídeos hidrolisados **5a-e** com rendimentos que variam de 85 a 98%.
- ✓ Os carboidratos enônicos **6a-e** foram sintetizados utilizando o dióxido de manganês com rendimentos que variam de 85 a 92%.
- ✓ Foi observado que a quantidade necessária de dióxido de manganês para promover a oxidação em baixos tempos reacionais foi de 27 equivalentes.
- ✓ Os carboidratos enônicos **6b** e **6c** apresentaram muita atividade antitumoral frente às quatro linhagens de células tumorais testadas, onde os valores de LC_{50} variaram entre 1,0 a 5,6 $\mu g/mL$.

7 REFERÊNCIAS

ABDOU, I.M.; SALEH, A.M. ZOHDI, H.F. **Synthesis and antitumor activity of 5-trifluoromethyl-2,4-dihydropyrazol-3-one-nucleosides**. *Molecules*, 9, 109-116, 2004.

ADUB, A.P.R. **Atividade biológica de diversos carboidratos sobre macrófagos “in vitro”**. Curitiba: UFPR, 41p, 2002.

ALMEIDA, V.L.; LEITÃO, A.; REINA, L.D.C.B.; MONTANARI, C.A.; DONNICI, C.L.; LOPES, M.T.P. **Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução**. *Quím. Nova*. 2005, vol.28, n.1, pp. 118-129. ISSN 0100-4042.

ARTURSSON, P.; EDMAN, P.; ERICSSON, J.L.E. **Macrophage stimulation with some structurally related polysaccharides**. *Scand. J. Immunol.* V. 25, n.3, p.245-254, 1987.

ASPINALL, G. O. **The polysaccharides**. Academic Press, New York, 1982.

ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de Química: questionando a vida moderna o meio ambiente**. 3 ed. Guanabara Koogan, 2006

AURELI, P.; FERRINI, A. M.; MANNONI, V.; HODZIC, S.; WEDELL-WEERGAARD, C.; OLIVA, B.; *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 83, 325.

BABU, B. S.; BALASURAMANIAN, K. K. **Indium trichloride catalyzed glycosidation. An expeditious synthesis of 2,3-unsaturated glycopyranosides**. *Tetrahedron Lett.*, vol. 4111, p. 1271, 2000.

BALZARINI, J.; LAETHEM, K.V.; DAELEMANS, D.; HATSE, S.; BUGATTI, A.; RUSNATI, M.; IGARASHI, Y.; OKI, T.; SCHOLS, D. **Pradimicin A, a carbohydrate-binding nonpeptidic lead compound for treatment of infections with viruses with highly glycosylated envelopes, such as human immunodeficiency virus**. *J Virology*. 2007, v.81, p.362-373.

BARBOSA, L.C. A; MALTHA,C.R.A.; DEMUNER, A.J.; PINHEIRO, P.F.; VAREJÃO, J.O.S.; MONTANARI, R.M.; ANDRADE, N. J. **Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de furanonas halogenadas e de compostos análogos aos nostoclídeos**. *Quím. Nova*. 2010, vol.33, n.10, pp. 2020-2026. ISSN 0100-4042.

BARRADAS, J. S.; ERREA, M. I.; D'ACCORSO, N. B.; SEPÚLVEDA, C. S.; TALARICO, L. B.; DAMONTE, E. B. *Carbohydr. Res.* 2008, 343, 2468.

BARROS, A.E.B.; FREITAS, J.C.R.; OLIVEIRA, J.N.; CRUZ, C.H.B.; DA SILVA, P.B.N.; DE ARAÚJO, L.C.C.; MILITÃO, G.C.G.; DA SILVA, T.G.; OLIVEIRA, R.A.; MENEZES, P.H. **Synthesis and evaluation of(-)-Massoialactone and analogues as potential anticâncer and anti-inflammatory agentes**. *Eur. J. Med. Chem.* v. 76, 291-300 p, 2014.

BARROS, C. J. P.; DE SOUZA, Z. C.; DE FREITAS, J. J. R.; DA SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, T. G.; FREITAS, J. C. R.; DE FREITAS FILHO, J. R. **A convenient synthesis and cytotoxic activity of 3-aryl-5-pentyl-1,2,4-oxadiazoles from carboxylic acid esters and arylamidoximes under solvent-free conditions**. *J. Chil. Chem. Soc.* 59(1), 2359-2362 ,2014.

BAY,S.; LO-MAN, R.; OSINAGA, E.; NAKADA, H.; LECLERC, C.; CANTACUZENE, D. **Preparation of a multiple antigen glycopeptide (MAG) carrying the Tn antigen. A possible approach to a synthetic carbohydrate vaccine**. *The Journal of Peptide Research.* v. 49, n.6, p.620-625, 1997.

BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M.H. **Bioquímica médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

BEGG, E. J.; BARCLAY, M. L. **Aminoglycosides – 50 years on**. *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, v.39, p.597-603, 1995.

BEROIS, N.; MAZAL, D.; UBILLOS, L.; TRAJTENBERG, F.; NICOLAS, A.; SASTRE-GARAU, X.; MAGDELENAT, H.; OSINAGA, E. **UDP-N- acetil-D-galactosamine: polypeptide N- acetulgalactosaminyltransferase-6 as a new**

immunohistochemical breast câncer marked. J. Histochem. Cytochem. v. 54, n.3, p. 317-328, 2006.

BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. **The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts.** Biochemica, 4: 14-19, 1996.

BETTADIAH, B.K.; SRINIVAS. P. **ZnCl₂-catalyzed Ferrier reaction; synthesis of 2,3-unsaturated 1-O-glucopyranosides of allylic, benzylic and tertiary alcohols.** *Tetrahedron Lett.* vol. 44, p. 7257, 2003.

BINDSCHADLER, P.; ADIBEKIAN, A.; GRUNSTEIN, D.; SEEBERGER, P.H. **De novo synthesis of differentially protected 1-iduronic acid glycosylating agentes.** Carbohydrate Research. v. 345, n. 7, p. 948-955, 2010.

BOISSON-DERNIER, A.; KESSLER,S.A.; GROSSNIK, U.J. *Experimental Botany.* 2011, 62, 1581.

BONGAT, A.F.G.; DEMCHENKO, A.V. **Recent trends in the synthesis of O-glycosides of 2-amino-2-deoxysugars.** Carbohydrate Research, v. 342, n. 3-4, p. 374-406, 2007.

BRADNER, W.T.; CLARKE, D.A.; STOCK, C.C. **Stimulation of host defense against experimental cancer. I. Zymosan and Sarcoma 180 in mice.** Cancer Res., 19,673-678,1958.

CARDOSO, Mariana F. C. et al. **A new approach for the synthesis of 3-substituted cytotoxic *nor*- β -lapachones.** *J. Braz. Chem. Soc.* 2013, vol.24, n.1, pp. 12-16. ISSN 0103-5053.

CAVALCANTI, D.R. **Comunicação do diagnóstico de doença grave (câncer) ao Paciente: Quem? Quando? Como? Por quê?.** Pan-American Family Medicine Clinics. 2005;1:41-5.

CHABNER, B. A.; LONGO, D. L. **Em Cancer chemotherapy and biotherapy;** 2^a ed., Lippincott-Raven: Filadélfia, 1996.

CHU, C.K.; MA, T.; SHANMUGANATHAN, K.; WANG, C.; XIANG, Y.; PAI, S.B.; YAO, G.Q.; SOMMADOSSI, J.P.; CHENG, Y.C. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995 vol. 39 n^o. 4, 979-981.

COHN, Z.A. **The activation of mononuclear phagocytes: Fact, fancy, and future.** *The Journal of Immunology.* v. 121, n.3, p.813-816, 1978.

COLLINS, R.A.; BUN NG, TZI. **Polysaccharopeptide from *Coriolos versicolor* has potential for use against human immunodeficiency virus type 1 infection.** *Life Science,* v. 60, n.25, p.383-387, 1997.

da SILVA, F. C.; CECÍLIA, M. B. V. S.; FRUGULHETTI, I. I. P.; CASTRO, H. C.; SOUZA, S. L. O.; SOUZA, T. M. L.; RODRIGUES, D. I. Q.; SOUZA, A. M. T.; ABREU, P. A.; PASSAMANI, F.; RODRIGUES, C. R.; FERREIRA, V. F.; *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 373.

da SILVA, G. B.; GUIMARÃES, B. M.; ASSIS, S. P. O.; LIMA, V. L. M.; DE OLIVEIRA, R. N. **Ultrasound-assisted synthesis of 1-N- β -D-glucopyranosyl-1H-1,2,3-triazole benzoheterocycles and their anti-inflammatory activities.** *J. Braz. Chem. Soc.* 2013, 24, p.914-921.

DHÉNIN, S. G. Y.; MOREAU, V.; MOREL, N.; NEVERS, M.; VOLLAND, H.; CRÉMINON, C.; DJEDAINI-PILARD, F. *Carbohydr. Res.* 2008, 343, 2101.

DIAS, R. L. A.; CORRÊA, A. G. **Aplicações da química combinatória no desenvolvimento de fármacos.** *Quim. Nova,* v. 24, n. 2, p. 236-242, 2001.

DOORES, K.J.; GAMBLIN, D.P. DAVIS, B.G. **Exploring and exploiting the therapeutic potential of glycoconjugates.** *Chemistry- A European Journal,* v. 12, n.3, p.656-665, 2006.

DU, J.; YAREMA, K.J. **Carbohydrate engineered cells for regenerative medicine.** *Advanced Drug Delivery Reviews.* v. 62, n. 7-8, p. 671-682, 2010.

EDSON, R.S.; TERRELL, C.L. **The aminoglycosides,** *Mayo. Clin. Proc.* 66:1158–1164, 1991.

EDWARD, J.T. *Chem. Ind.* 1966, p.1102-1104

FARACO, R.F. P.; PIRES, M. C.; ROCHA, A. P. C.; PRADO, M. A. F. **Macrolactamas bioativas e síntese de macrociclos por reação de carbociclização radicalar mediada por hidreto de tri-*n*-butilestanho.** *Quím. Nova.* 2008, vol.31, n.6, pp. 1499-1513. ISSN 0100-4042.

FÉRIR, G.; GORDTS, S.C.; SCHOLS, D. HIV-1 and its resistance to peptidic carbohydrate-binding agentes (CBAs): na overview. *Molecules*, 2014. 19, 21085-21112.

FERNANDES, P.; *Nat. Biotechnol.* 2006, 24, 1497.

FERREIRA, V. F.; **Carboidratos Abundantes em Síntese Orgânica.** *Quim. Nova.* 1995, 18, 267.

FERREIRA, V. Francisco; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. **Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares.** *Quím. Nova.* 2009, vol.32, n.3, pp. 623-638. ISSN 0100-4042.

FERRIER, R. J.; PRASAD, N. **Unsaturated carbohydrates .9. Synthesis of 2,3-dideoxy-alpha-d-erythro-hex-2-enopyranosides from tri-o-acetyl-d-glucal.** *Journal of the Chemical Society C-Organic.* p. 570, 1969.

FERRIER, R.J. *Top. Curr. Chem.* **2001**, 215, 153.

FERRIER, R.J.; COLLINS, P.M.; **Monosaccharide Chemistry**; Penguin Books, Australia, 1972.

FLECK,J. CALEGARO,M.I.C. **Importância do índice glicêmico para pacientes com diabetes mellitus.** *Rev Bras Nutr Clin* 2005; 20(2):95-100

FOYE, W. O.; SENGUPTA, S. K. **Principles of Medicinal Chemistry**; Foye, W. O.; Lemke, T. L.; Williams, D. A., eds.; Williams & Wilkins: Baltimore, 1996, p. 822-845.

FRANCISCO JUNIOR, W.; E. **Carboidratos: estrutura, propriedades e funções.** *Química Nova na Escola.* Nº 29, agostos de 2008.

FREIRE, T.; BAY, S.; VICHIER-GUERRE, S.; LO-MAN, R.; LECLERC, C. **Carbohydrate Antigens: Synthesis Aspects and Immunological Applications in Cancer.** *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 6, n.12, p. 1357-1373, 2006.

FREITAS FILHO, J. R.; SRIVASTAVA, R.M.; SORO, Y. COTTIER, L.; DESCOTES, G. **Synthesis of new 2,3-unsaturated O-glycosides through ferrier rearrangement.** *Carbohydr. Chem.* vol. 20, p. 561, 2001.

FREITAS, J. C. R. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

FREITAS, J. C. R.; COUTO, T. R.; PAULINO, A. A. S.; FREITAS FILHO, J. R.; MALVESTITI, I.; OLIVEIRA, R. A.; MENEZES, P. H. *Tetrahedron*. 2012, 68, 10611.

FREITAS, J. C. R.; FREITAS, J.R.; MENEZES, P. H. **Stereoselective synthesis of 2,3-unsaturated-O-Glycosides promoted by TeBr₄.** *J. Braz. Chem. Soc.* 2010, vol.21, n.11, pp. 2169-2172. ISSN 0103-5053.

FUKUDA, T.; ITO, H.; MUKAINAKA, T.; TOKUDA, H.; HOYOKU, N; YOSHIDA, T. *Biol. Pharm. Bull.* 2003, v.26, n.2, p. 271-273.

GRYNKIEWIEZ, G.; PRIEBE, W.; ZAMOJSKI, A. *Carbohydr. Res.*, 1979, 68, 33.

GUIMARAES, D.O.; MOMESSO, L.S.; PUPO, M. T. **Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** *Quím. Nova.* 2010, vol.33, n.3, pp. 667-679. ISSN 0100-4042.

HAGER, C.; MIETHCHEN, R.; REINKE, H.; *J. Fluorine Chem.* 2000, 104, 135.

HEASLEY, B. **Chemical Synthesis of the Cardiotonic Steroid Glycosides and Related Natural Products.** *Chem. Eur. J.* vol. 18, pag. 3092-3120, 2012.

HECHT, S.M. *Bioorganic Chemistry –Carbohydrates.* Oxford University Press, 1999. P.1-55.

HERZNER, H.; REIPEN, T.; SCHULTZ, M.; KUNZ, H. *Chem. Rev.*, 2000, 100, 4495.

HOLEMANN, A.; SEEBERGER, P.H. **Carbohydrate diversity: synthesis of glycoconjugates and complex carbohydrates.** *Current Opinion in Biotechnology*. V.15, n.6. p.615-622, 2004.

HOLLINGSWORTH, R.I.; WANG, G. *Chem. Rev.* 2000, v.100, p. 4267-4282.

HOOPER, I.R. **Aminoglycoside Antibiotics**, *Springer. New York, 1982.*

HORTON, D.; WANDER, J.D.; PIGMAN, W.

HORTON, D.; PIGMAN, W. **The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry.** Academic Press, New York, 217-1099, 1970.

HUDSON, C.S. **“Historical aspects of Emil Fischer”s fundamental conventions for writing stereo-formulas in a plane”.** *Adv. Carbohyd. Chem.*, 3, 1-22, 1948.

IMBERTY, A.; PÉRES, S. *Chem. Rev.*, 2000, 100, 4567.

INCA. **Tipos de câncer.** Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home> Acesso: 02 fev. 2015.

ITOH, H.; NODA, H.; AMANO, H.; ZHUAUG, C.; MIZUNO, T. **Antitumor activity and immunological properties of marine algal polysaccharides, especially fucoidan, prepared from Sargassum thunbergii of Phaeophyceae.** *Anticancer Research*, v.12, n.6, p.2045-2052, 1993.

JONES, Christopher. **Vaccines based on the cell surface carbohydrates of pathogenic bacteria.** *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2005, vol.77, n.2, pp. 293-324. ISSN 0001-3765.

JUNG, K.; MULLER, M.; SCHMIDT, R.R. *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 4423.

KARDOS, N.; LUCHE, J.-L.; *Carbohydr. Res.* **2001**, 332, 115.

KATZUNG, B. C.; **Farmacologia Básica e Clínica**, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1994, p. 579.

KAZIYAMA, V.M.; FERNANDES, M.J.B. SIMONI, I.C.. **Atividade antiviral de extratos de plantas medicinais disponíveis comercialmente frente aos herpesvírus suíno e bovino.** *Rev. bras. plantas med.* 2012, vol.14, n.3, pp. 522-528. ISSN 1516-0572.

KEDING, S.J. ENDO,A.; DANISHEFSKY, S.J. Synthesis of non-natural glycosylamino acids containig tumor-associated carbohydrate antigens. **Tetrahedron.** V. 59, n. 35, p. 7023-7031, 2003.

KENNEDY, J. F.; WHITE, C.A. **Bioactive Carbohydrates in Chemistry, Biochemistry and Biology;** Ellis Horwood: Chichester, UK, 1983.

KENNEDY, J. F. **"Carbohydrate Chemistry"**. Oxford University Press, New York, 1990.

KILLINY, N. RASHED,A.; ALMEIDA, R.P.P. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 78, 638-643.

KOVACEVIC, M.; BARISIC, L.; RIBIC, R.; PEROKOVIC, V.P. TOMIC, S.; RAPIC, V. *App. Organomet. Chem.* 2012, 26, 74-79.

KRISHNASWAMY, N.R. *Resonance.* 2011,16, 620.

KUDUC, S.D.; SCHWARZ, J.B.; CHEN, X.; GLUNZ, P.W.; SAMES,D.; RAGUPATHI, G.; LIVINGSTON, P.O.; DANISHEFSKY, S.J. **Synthetic and immunological studies on clustered modes of mucin-related Tn and TF O-linked antigens: the preparation of a glycopeptide-based vaccine for clinical trials against prostate cancer.** *Journal of the American Chemical Society*, v.120, n.48, p. 12474-12485, 1998.

KUNTTU, H.M.T.; JOKINEN, E.I. VALTONEN, E.T. SUNDBERG L-R. *J. App.Microbiology.* **2011**,111, 1319-1326.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica.** São Paulo: Savier, 1985.

LI, X.; WU, P.; GAO, G.F. CHENG, S. *Biomacromolecules.* 2011,12, 3962-3969.

LÓPEZ, J.C.; PLUMET, J. **Metathesis reactions of carbohydrates: recent highlights in alkyne metathesis.** European Journal of Organic Chemistry. v. 2011, n.10, p. 1803-1825, 2011.

LUO, Y.; BARBAULT, F.; GOURMALA, C.; ZHANG, Y.; MAUREL, F.; HU, Y.; FAN, B.T. *J. Mol. Model.* 2008, 14, 901-910.

MACHADO, A. E. D.; *Quim. Nova* 2000, 23, 237.

MANTILLA, S. P. S. R.; FRANCO, M.; OLIVEIRA, L. A. T.; SANTOS, E. B.; GOUVÊA, R.; *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2008, 45, 116.

MASSON, C.; SOTO, J.; BESSODES, M. *Synlett.* 2000, 9, 1281.

MENDONÇA JÚNIOR, F.J.P. **Síntese de glicopiranosídeos 2,3-insaturados acoplados a heterocíclicos em C-4. Funcionalização da posição C-5 de glicoheterociclos 4' -(5-halo-uracil-1-il) através de reações catalisadas por Pd (0).** 2007. 147p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

Ministério da Saúde. **Mensagem aos médicos. Câncer Fundamentos,** Secretária de Assistência Médica-Divisão Nacional de Câncer; Brasília, 1971, p. 7-47.

MITTAL N, GUPTA N, SAKSENA S, GOYAL N, ROY U, RASTOGI AK. **Protective Effect of picroliv from Picrorhiza kurroa against Leishmania donovani Infections in Mesocricetus auratus.** Life Sci 1998; 63(20):1823-34

MOHAMED, T.; ADEL, A. A. R.; RICHARD, R. S. **Yb(OTf)(3)-catalyzed C-glycosylation: highly stereoselective synthesis of C-pseudoglycals.** TETRAHEDRON LETTERS. vol. 42, p. 4053, 2001.

MONTELLI, A. C.; SADATSUNE, T.; **Antibioticoterapia para o clínico, Sociedade Brasileira de Microbiologia:** Rio de Janeiro, 2001, p. 7-53.

MOSSMAN, T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.** J. Immunol. Methods, 65: 55-63, 1983.

MURAD, A.M.; KATZ, A.; **Oncologia Bases Clínicas do Tratamento**; Guanabara Koogan; Rio de Janeiro, p. 41, 1996.

NAGARAJ, P.; RAMESH, N. G. **Direct Ferrier rearrangement on unactivated glycals catalyzed by indium(III) chloride**. *Tetrahedron Letters*. vol. 50, p. 3970–3973, 2009.

NISHINO, T.; AIZU, Y.; NAGUMO, T. **The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia kurome***. *Agriol.Biol.Chem.* v. 55, n.3, p. 791-796, 1991.

NOGUEIRA, C.M. PARMANHAN, B. R. FARIAS, P. P. CORRÊA, A. G. **“A importância crescente dos carboidratos em química medicinal,”** *Revista Virtual de Química*, vol. 1, no. 2, p. 149, 2009.

NOLETO, G. R.; MERCÊ, A. L. R.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; OLIVEIRA, M. B. M. **Yeast mannan-vanadium (IV) complexes and their effects on peritoneal macrophages**. *Carbohydr. Polym.*, v. 57, p. 113-122, 2004.

OLIVEIRA, João Fernando P.; CIPULLO, José Paulo and BURDMANN, Emmanuel A.. **Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos**. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2006, vol.21, n.4, pp. 444-452. ISSN 0102-7638.

OLIVEIRA, R.B.; ALVES, R. J. **Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos**. *Quím. Nova.* 2002, vol.25, n.6a, pp. 976-984. ISSN 0100-4042.

PAGE, J. L.; YANG, G.; *Biochem. Pharmacol.* **2006**, 71, 968.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**, Oxford University Press: New York, 2005, cap.16.

PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F. **Purification of Laboratory Chemicals**, Pergamon Press: Oxford, 1996.

POMIN, V.H. MOURÃO,P.A.S. **Carboidratos: de adoçantes a medicamentos.** Ciência Hoje, Rio de Janeiro, p. 24 – 31.

PRASSAS, I.; DIAMANDIS, E. P. **Novel therapeutic applications of cardiac glycosides.** Nature Reviews Drug Discovery. Vol. 7, pg. 926-937, 2008.

PUTERKA, G. J.; FARONE, W.; PALMER, T.; BARRINGTON, A. **Structure-Function Relationships Affecting the Insecticidal and Miticidal Activity of Sugar Esters.** Journal of Economic Entomology. v. 96, p. 636-644, 2003.

RAGHVENDRA, S. N.; VENKATESWARLU, A. *Synthesis*, 2002, 598.

RAGUPATHI, G.; KOIDE, F.; LIVINGSTON, P.O.; SHIN CHO, Y.; ENDO, A.; WAN,Q.; SPASSOVA, M.K.; KEDING, S.J.; ALLEN, J. OUERFELLI, O.; WILSON, R.M.; DANISHEFSKY, S.J. **Preparation and evaluation of unimolecular pentavalent and hexavalent antigenic constructs targeting prostate and breast cancer: A synthetic route to anticancer vaccine candidates.** J. Am. Chem. Soc, v. 128, n.8, p. 2715-2725, 2006.

ROITT, I.M; BROSTOFF, J. MALE,D.K. **Imunologia.** 5ª Edição. Editora Manole, 1999.

SALMON, S. E.; SARTORELLI, A. C. **Quimioterapia do câncer.** In: KATZUNG, B. G. (Ed.) *Farmacologia básica e clínica.* 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2003. cap. 55, p. 803-832.

SANTOS, C.S. **Desenvolvimento de uma nova metodologia sintética para a hidrólise quimiosseletiva de O-glicosídeos 2,3-insaturados.** 2014, 70 f. Monografia (Licenciatura em Química). Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB. 2014.

SEEBERGER, P.H.; WERZ, D.B. **Automated synthesis of oligosaccharides as a basis for drug Discovery.** *Nature*, 4. 2005, 751-763.

SHULL, B. K.; WU, Z.; KORREDA, M. **A Convenient Highly Efficient One-Pot Preparation of Peracetylated Glycals From Reducing Sugars.** Journal of Carbohydrate Chemistry, v. 15, p. 955-964, 1996.

SILVA, N.C.S. **Funcionalização do 3,4,6- tri-O-acetil-D-glucal com sais de organotrifluoroboratos de potássio, e reação de *click chemistry* para a geração e funcionalização de triázóis.** Dissertação (Mestrado).

SKEHAN , P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. **New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening.** J. Natl. Cancer Inst., 82(13): 1107-1112, 1990.

SLOVIN,S.F.; KEDING, S.J.; RAGUPATHI, G. **Carbohydrate vaccines as immunotherapy for cancer.** Immunology and Cell Biology. v. 83, n.4, p. 418-428, 2005.

SNITHA, G.; REDDY, C.S. *Synthesis*, 2004, 6, 834.

SOLOMONS, T. W. Graham; Fryhle, Craig B. **Química Orgânica**, vol. 1 e 2. 9 ed. LTC, 2009.

SOMSÁK, L.; MADAJ, J.; WISNIEWSKI, A. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1997**, 16, 1075–1087.

SRIVASTAVA, R. ; SOUZA, A.M.A.; SILVA, L.P.S.; FREITAS FILHO, J.R.; HALWASS,F.; DOBOSZEWSKI, B. **Synthesis of Cyclohexyl 6-O-Trityl- α -D-Threo-Hexopyranosid-4-ulo-(2,3:3',4')-2-Pyrazoline.** *J. Braz. Chem. Soc.* 2002, vol.13, n.2, pp. 158-164. ISSN 0103-5053.

STEINBORN,D.; JUNICKE, H. *Chem Rev.*, 2000, 100, 4283.

STICK,R. V. **Carbohydrates:The Sweet Molecules of Life**, Academic Press, 2001.

STODDART, J.F. **Stereochemistry of Carbohydrates.** Wiley-Interscience New York, 1971.

TALARICO, L. B.; ZIBETTI, R. G. M.; FARIA, P. C. S.; SCOLARO, L. A.;DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D.; PUJOL, C. A.; DAMONTE, E. B. **Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red seaweeds *Gymnogongrus***

griffithsiae and Cryptonemia crenulata. Intern. J. Biol. Macromol., v. 34, p. 63-71, 2004.

THOULOZE, M.I.; ALCOVER, A. Trends in Microbiology. **2011**, 19, 257-262.

TOSHIMA, K.; TATSUTA, K. *Chem. Rev*, **1993**, 93, 1503.

TOSIN, F.F.S.; ADUB, A.P.R.; OLIVEIRA, C.C.; GORIN, P.A.J. SASSAKI, G.L. BUCHI, D.F. IACOMINI, M. **Polysaccharides from peach pulp: structure and effects on mouse peritoneal macrophages.** Food Chemistry, v. 134, p. 2257-2260, 2012.

VICHIER-GUERRE, S.; LO-MAN, R.; HUTEAU, V.; DERIAUD, E.; LECLERC, C.; BAY, S. **Synthesis and immunological evaluation of an antitumor neoglycopeptide vaccine bearing a novel homoserine Tn antigen.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v.14, n.13, p. 3567-3570, 2004.

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. **Fundamentos de Bioquímica: a vida em nível molecular**, 4ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2014.

VON NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HÄBICH, D.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, 45, 5072.

WALSH, C. *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*, ASM Press: Washington, 2003.

WERZ, D.B.; SEEBERGER, P.H. **Carbohydrates as the next frontier in Pharmaceutical Research.** *Chemistry- A European Journal*, v.11, n.11, p. 3194-3206, 2005.

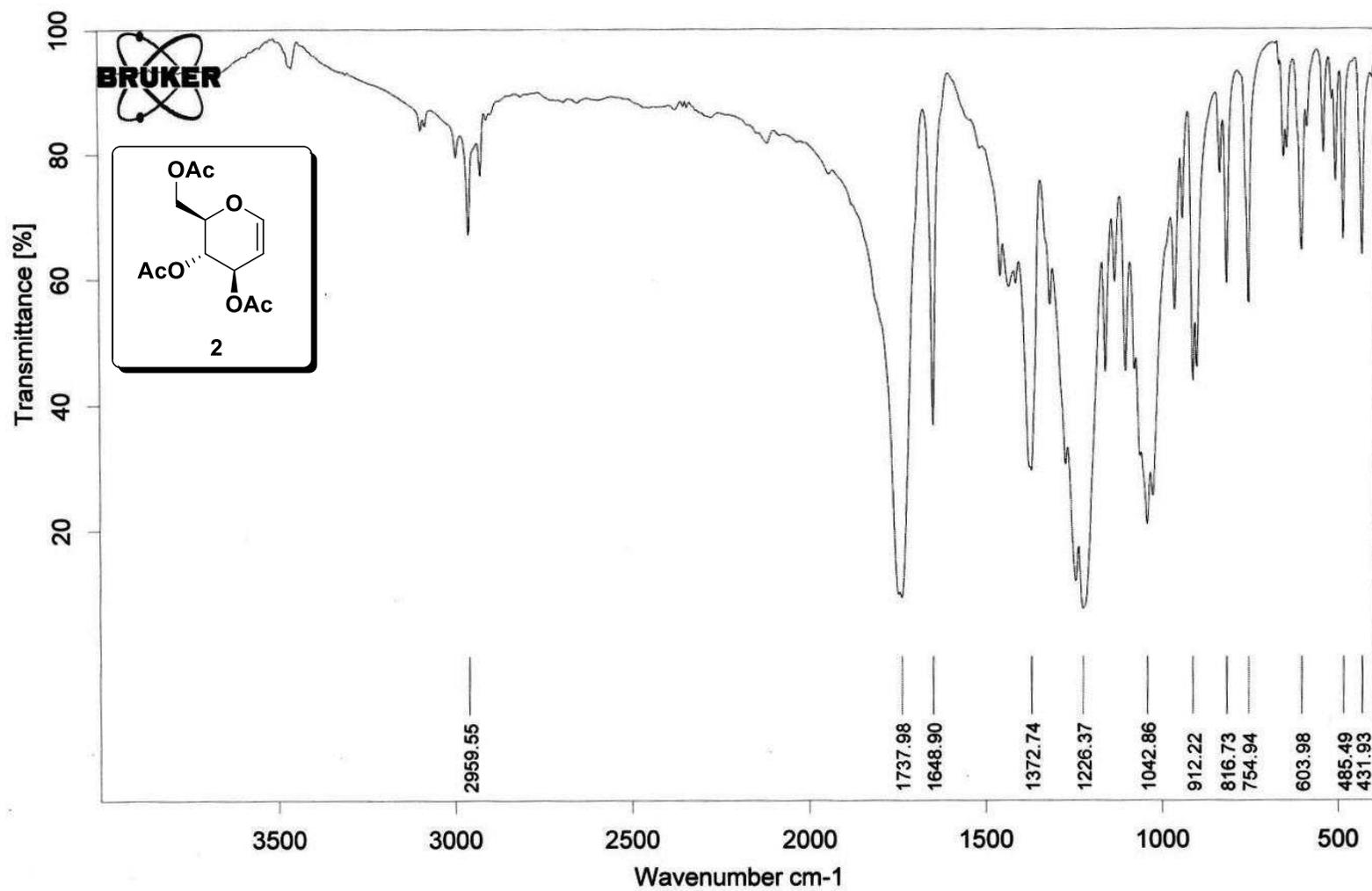
WITVROUW, M.; DE CLERCQ, E. **Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs.** General Pharmacology. 29: 497-511, 1997

WRIGHT, G.D.; BERGHUIS, A.M.; MOBASHERY, S. **Aminoglycoside Antibiotics.** *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Volume 456, 1998, p-27-69.

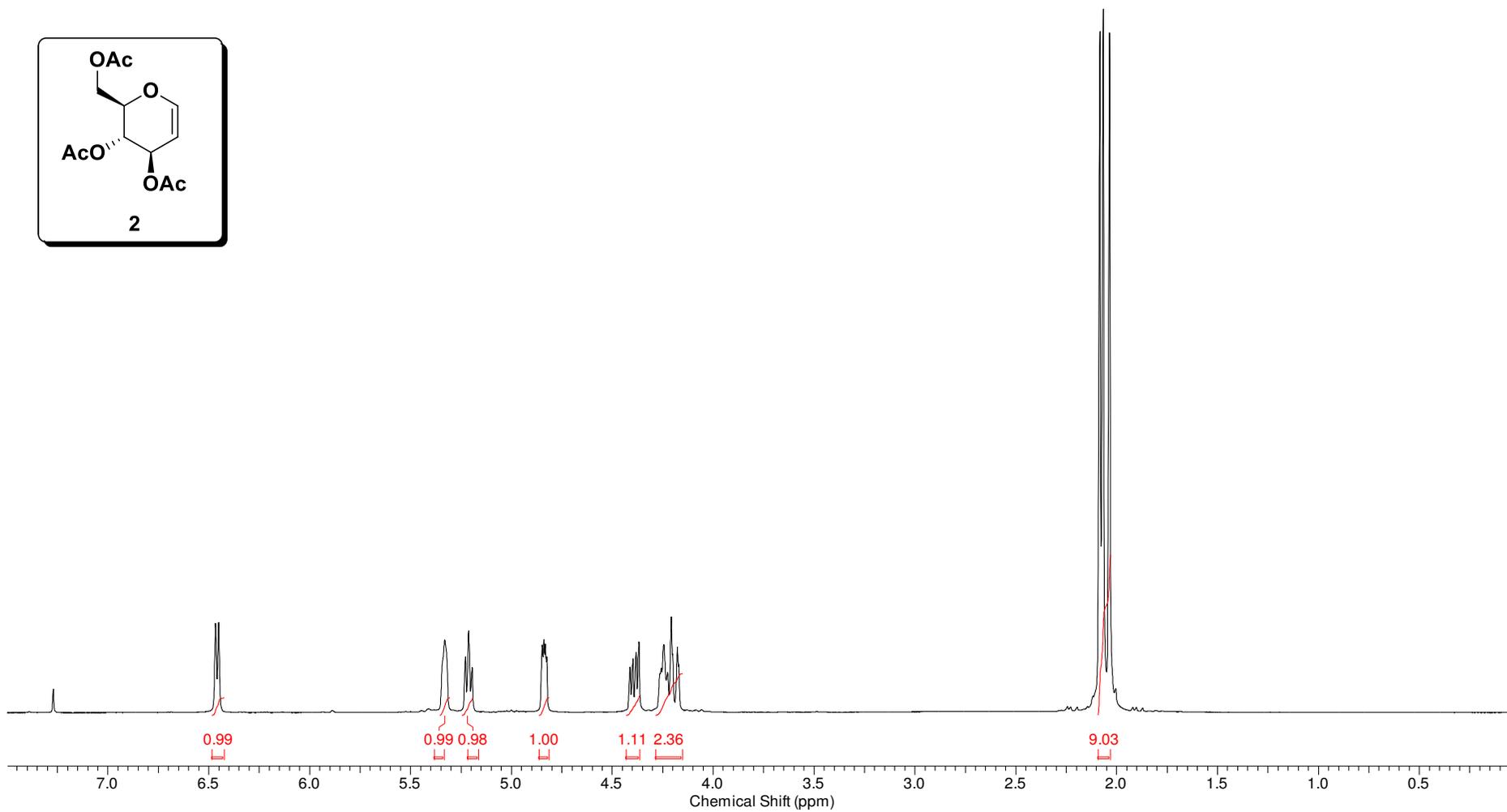
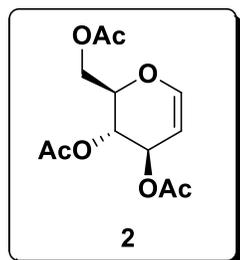
WUNDER, R. S.; Arq. Bras. Med. Naval, 2004, 65, 7.

YANG, G.; SCHMIENG, J.; TSUJI, M.; FRANCK, R. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3818.

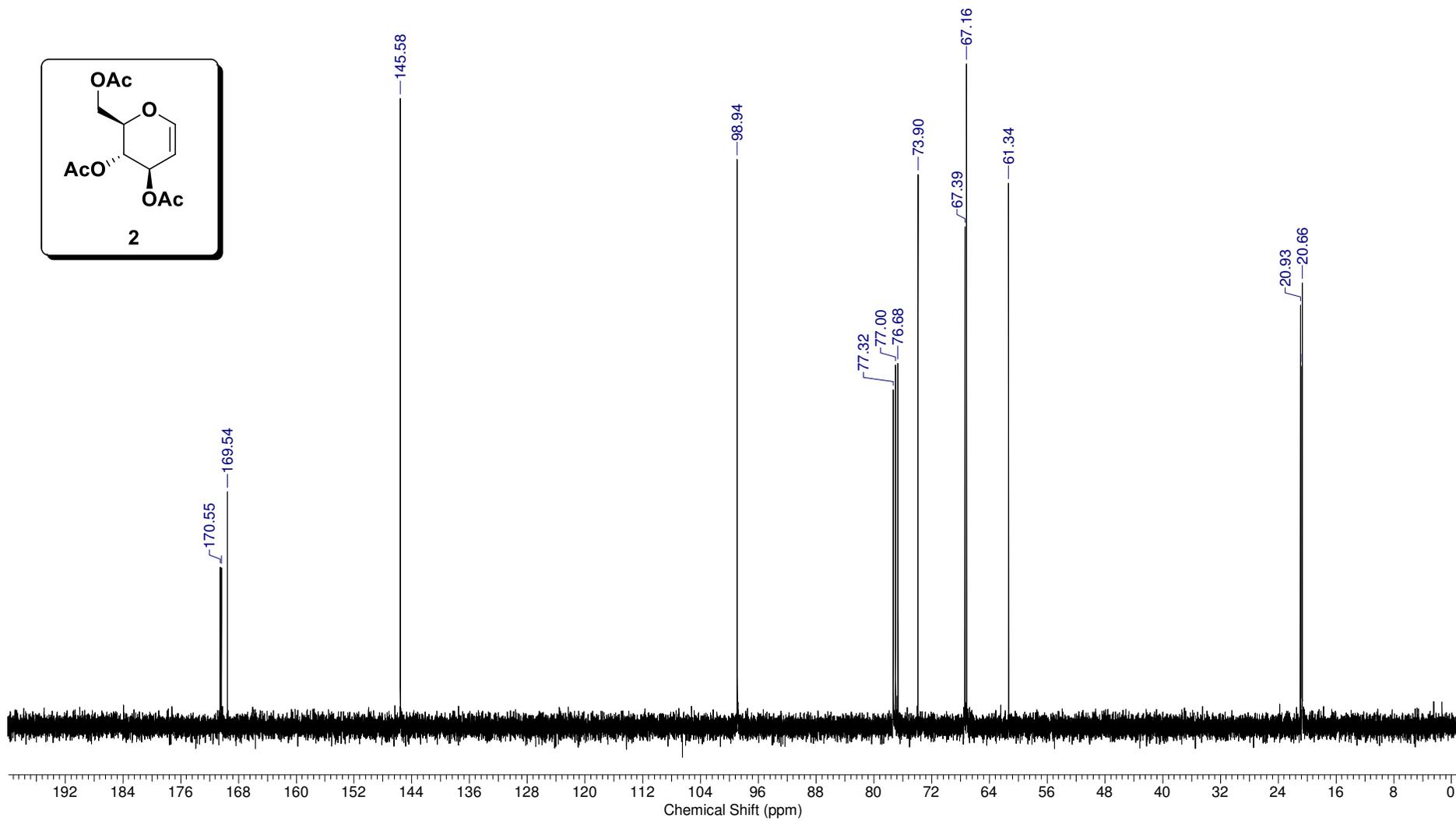
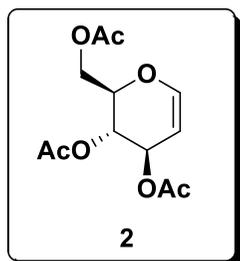
8 APÊNDICE



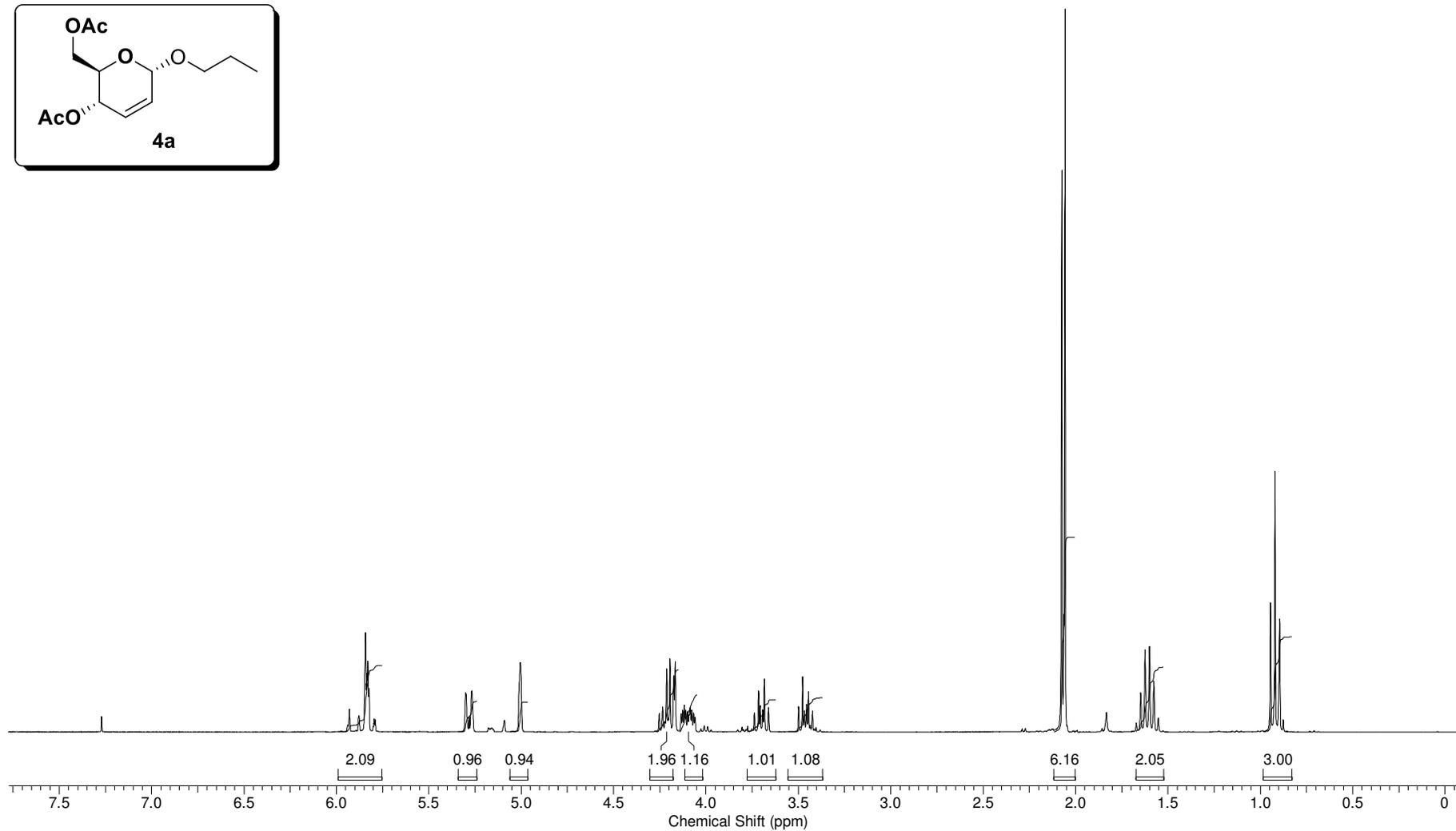
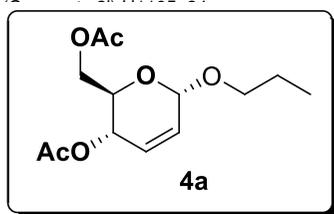
Espectro de IV do tri-*O*-acetil-D-glucal, 2, em pastilha de KBr.



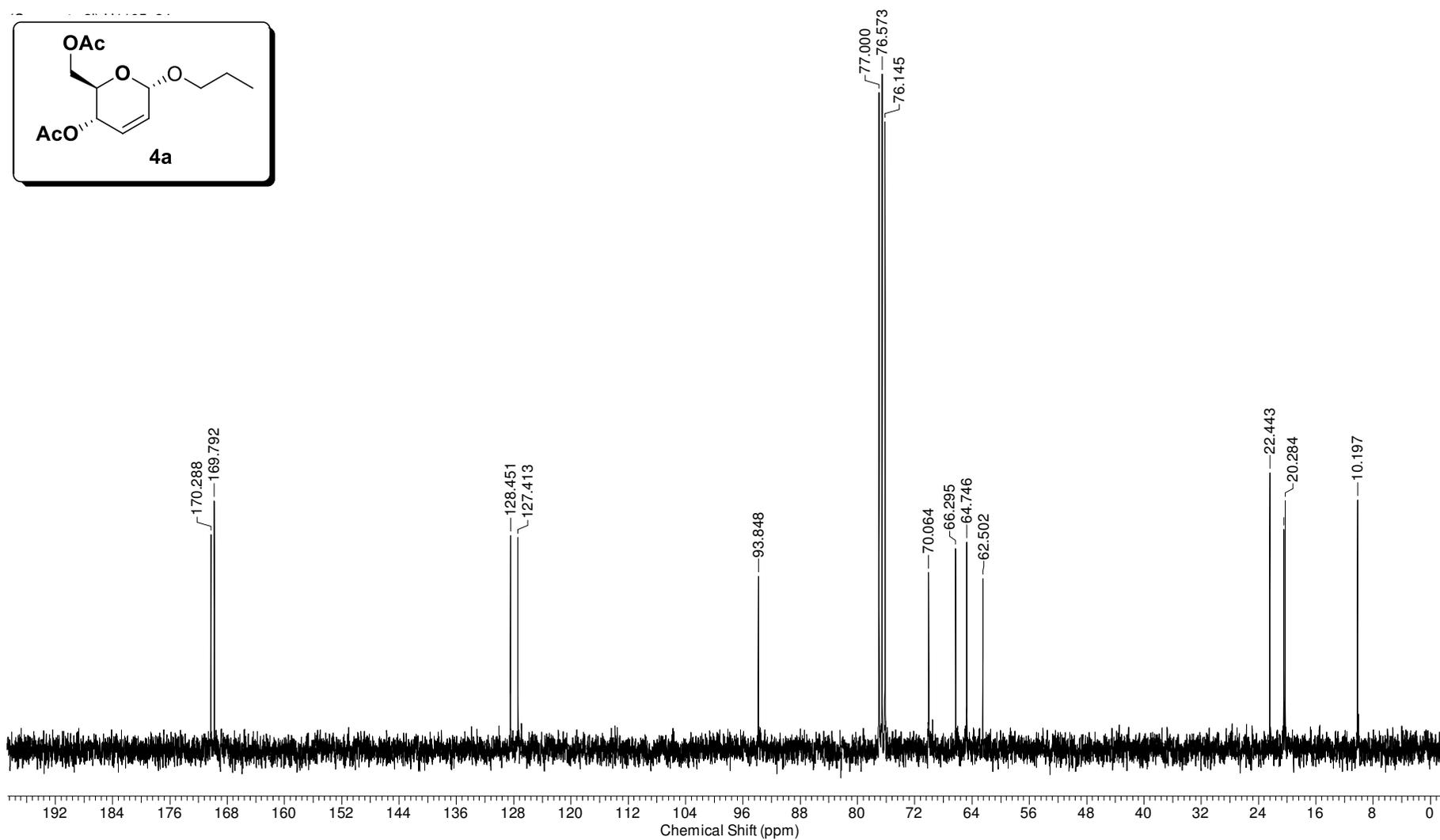
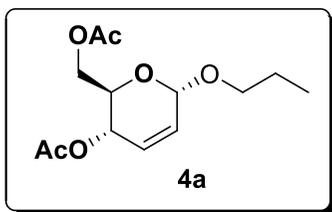
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do tri-O-acetil-D-glucal, **2**.



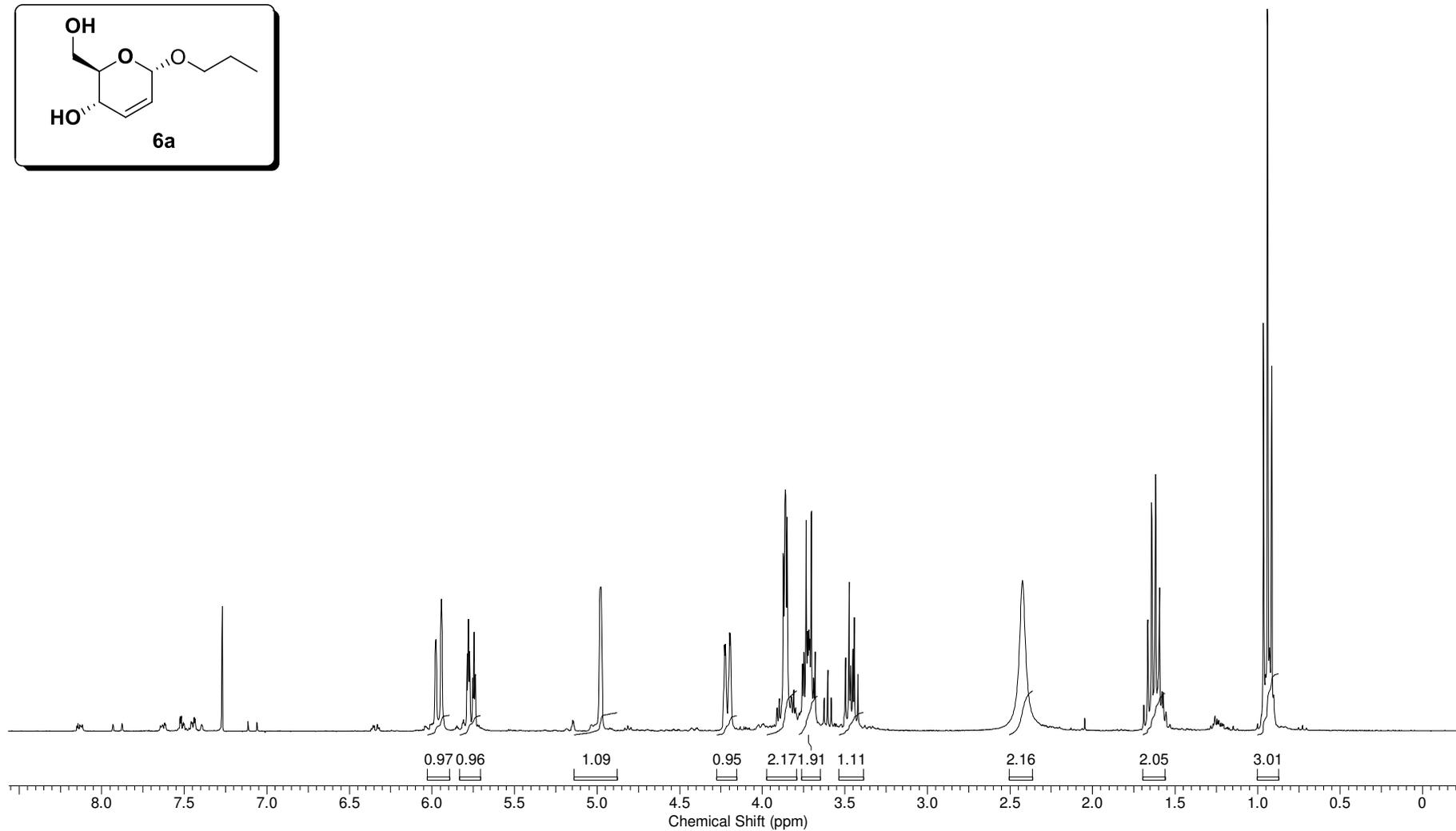
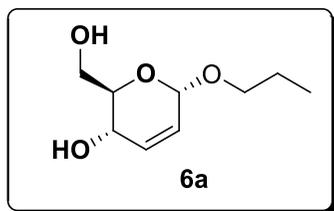
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do tri-O-acetil-D-glucal, **2**.



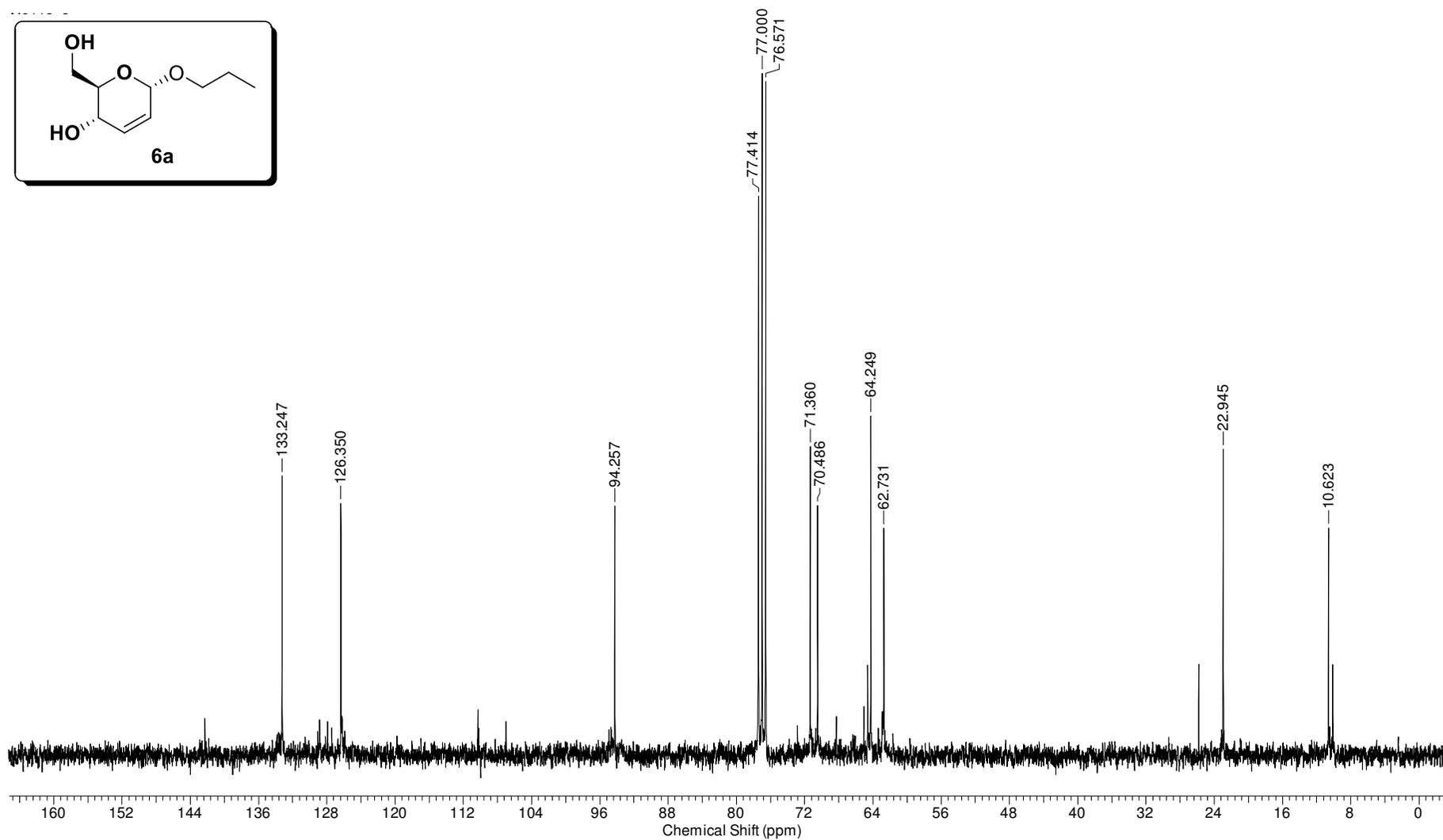
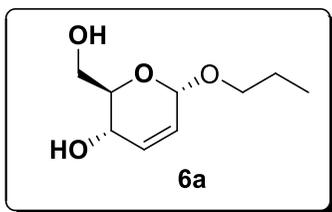
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado, **4a**.



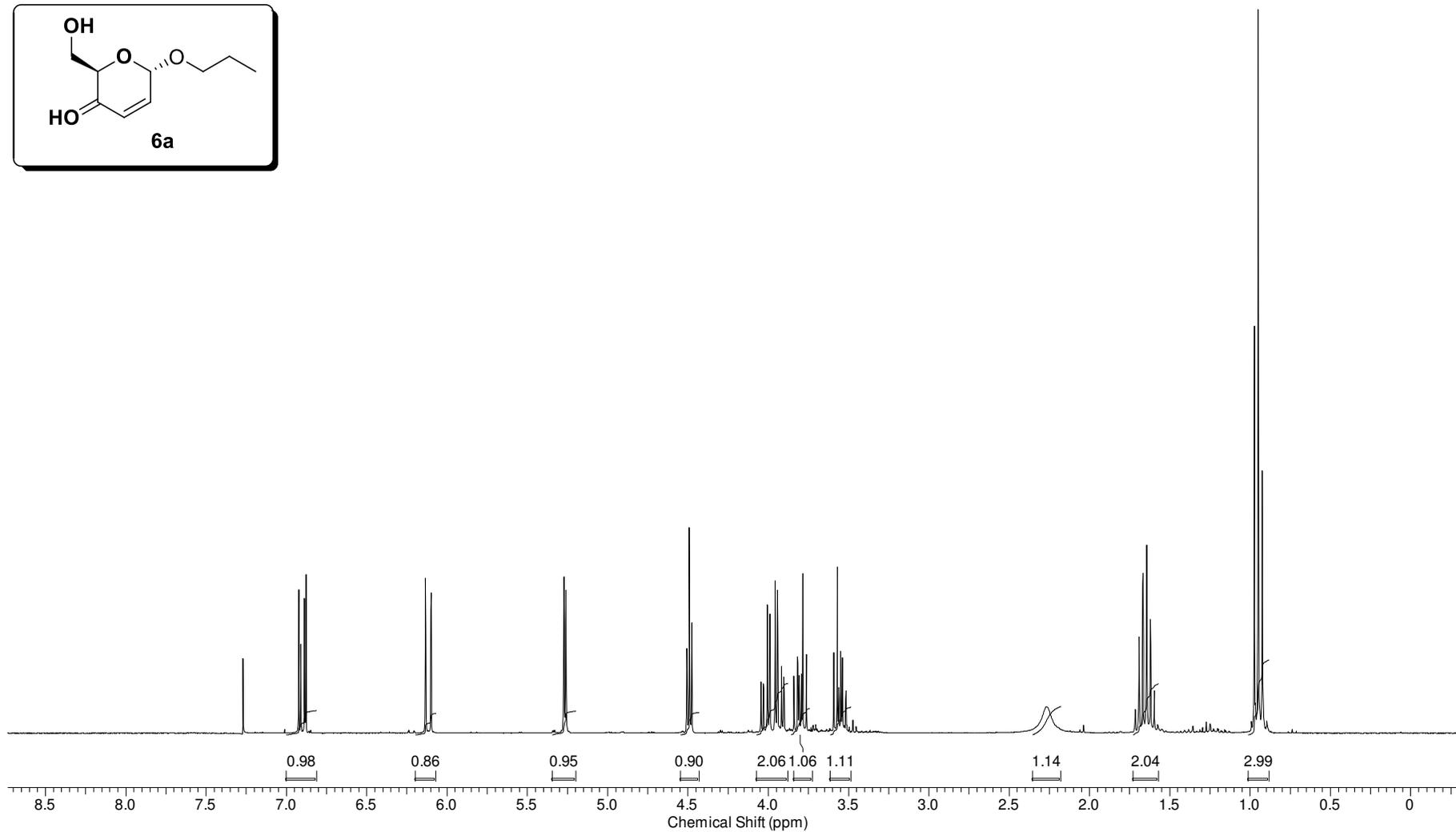
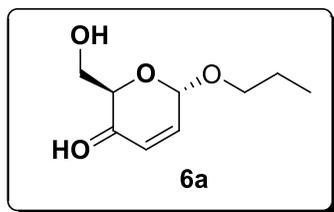
Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do *O*-glicosídeo 2,3-insaturado, **4a**.



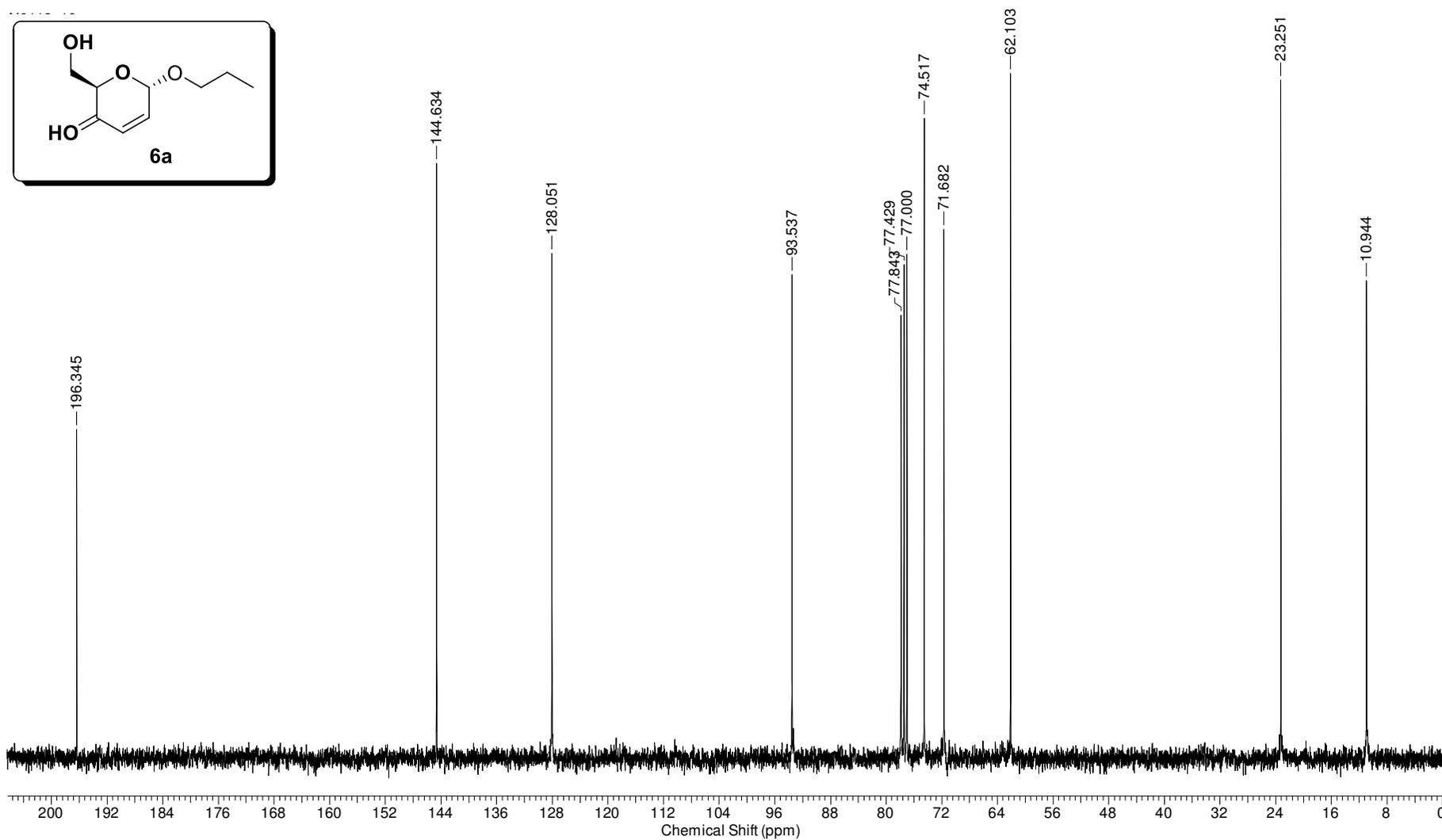
Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do *O*-glicosídeo hidrolisado, **5a**.



Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do *O*-glicosídeo hidrolisado, **5a**.



Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do carboidrato enônico, **6a**.



Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do carboidrato enônico, **6a**.