



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CAMPINA GRANDE



Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Centro de Educação e Saúde – CES

Unidade Acadêmica de Saúde – UAS

Curso de Bacharelado em Farmácia



**SÍNTESE DO TRI-O-ACETIL-D-GLUCAL UTILIZANDO IRRADIAÇÃO DE  
ULTRASSOM E BIOENSAIO FRENTE À *ARTEMIA SALINA* LEACH DE O-  
GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS**

Claudio Roberto Dantas

Cuité/PB

2015

Claudio Roberto Dantas

**SÍNTESE DO TRI-O-ACETIL-D-GLUCAL UTILIZANDO IRRADIAÇÃO DE  
ULTRASSOM E BIOENSAIO FRENTE À *ARTEMIA SALINA* LEACH DE O-  
GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 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 Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

D192s      Dantas, Claudio Roberto.

Síntese do Tri-O-Acetil-D-Glucal utilizando irradiação de ultrassom e bioensaio frente à *Artemia Salina* Leach de O-glicosídeos 2, 3 - insaturados. / Claudio Roberto Dantas. – Cuité: CES, 2015.

80 fl.

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

Orientador: Juliano Carlo Rufino de Freitas.

1. Carboidratos. 2. Tri-O-Acetil-D-Glucal. 3. *Artemia Salina* Leach. 4. Irradiação de ultrassom. I. Título.

CDU 577.1

Claudio Roberto Dantas

**SÍNTESE DO TRI-O-ACETIL-D-GLUCAL UTILIZANDO IRRADIAÇÃO DE  
ULTRASSOM E BIOENSAIO FRENTE À *ARTEMIA SALINA* LEACH DE O-  
GLICOSÍDEOS 2,3-INSATURADOS**

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof. Dr. Wellington Sabino Adriano  
UFCG/CES/UAS

---

Profa. Dra. Ladjane Pereira da Silva Rufino de Freitas  
UFCG/CES/UAE

Cuité/PB

2015

Dedico este trabalho a Deus, por me conceder saúde e a dádiva da vida, aos meus pais Inácio Medeiros e Maria da Guia, por todo empenho dedicado, e ao meu irmão Diógenes Medeiros Dantas (*in memória*).

“Começar foi fácil;  
Continuar é difícil;  
Chegar ao fim... será gratificante.”  
(Chico Xavier)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que sempre esteve comigo durante esta jornada, por toda a força e paciência que me concedeu, por estar sempre presente e, principalmente, por levantar-me quando, muitas vezes, tropecei, agradeço por mais esta vitória.

A Maria da Guia e Inácio Medeiros que em nenhum momento mediram esforços ou colocaram empecilho para a realização desse sonho. Guiando-me pelos caminhos corretos, ensinando a fazer as melhores escolhas e mostrando que a honestidade e o respeito, são essenciais à vida. Devo a eles toda gratidão pela pessoa que me tornei e tenho muito orgulho de poder chamá-los de mãe e pai, meus amores e bens mais preciosos.

Agradeço também as minhas irmãs Régia e Iris por todo apoio e as minhas amadas sobrinhas Yrla, Yrian e Isabela por serem motivos de imensa alegria em nossas vidas.

Não esquecendo do meu irmão Diógenes Medeiros Dantas (*in memoria*) que sempre me incentivou a nunca desistir dos meus objetivos e mesmo não estando presente fisicamente eu sei que sempre me acompanha e me guia.

Por todo apoio dos demais familiares, avós (*in memoria*), tios, primos que sempre estão presentes quando necessário.

A minha namorada Josicleide, pela compreensão e paciência durante os momentos mais difíceis. Te amo!

Ao professor Juliano C. Rufino, pelo profissionalismo, competência, paciência, dedicação, compreensão e esforço. E a professora Ladjane Pereira que em conjunto constituíram a família LASO a qual tenho a honra de integra-la. Agradeço a ambos pelos muitos ensinamentos compartilhados e por acreditarem em mim.

A todos os demais professores que tive a oportunidade de encontrar ao longo do curso, estes que muito me ensinaram, reconheço a importância e admiro o profissionalismo que apresentam. Especialmente, ao professor Marciano Henrique e a professora Jaqueline Barreto pela orientação durante os períodos de monitoria, foram sem dúvidas momentos de muito aprendizado. A professora Maria Emília pelas práticas das ações sociais, momentos únicos e gratificantes de integração e troca de conhecimento com a população. Aos professores Wellington Adriano e Fernando Oliveira pela colaboração, incentivo e compreensão, muito obrigado a todos.

Aos meus companheiros do laboratório LASO, Jonh, Cosme, Claudia, Jadson, Akeline, Thayanne, Mislene, Elinalda, Verônica, Adla e Douglas por toda ajuda durante o projeto e pelos nossos momentos compartilhados.

Aos meus amigos Thiago (Bocão), Idailma, Joelson (Grão, Cabeção), Hérica, Fabiano (Poivinha), João Roberto (Carocha), Vandro (Dinha, Véi), Vitoriano (Totoró), André (Thé-thé), Robson Valério (Shrek), Joelma e Fátima por me receberem de braços abertos sempre que retorno a minha amada cidade e por acreditarem no meu potencial.

A Rodrigo, Diego e Marcinho por me acolherem na chegada a Cuité. Assim como as minhas “inquilinas”: Juliana de Souza (Jú), Ingrid (Iguinha), Jussiara (Jujubinha), Larissa (Larô), Letícia (Lety), Mylla (Mylosca) e Jéssica pelos vários momentos juntos compartilhados.

Aos meus colegas de curso, da Turma 2010.1 de Farmácia, e as várias pessoas que a cidade de Cuité me apresentou: Michael, Igo, Danilo (Dani-boy), Robenaldo (Robens), Ramon (Xandão), Paulo (Chéi), “Guilhermes” (Boró e Guilhermim), Natália (Fadinha, Leãozim), Aline (Moça), Emília (Baiana), entre outros, agradeço pela amizade e companheirismo.

Aos meus supervisores durante os períodos de estágio Dona Cida, Allana Louisi e Anderson Elias pela oportunidade de colocar em prática todos os ensinamentos teóricos adquiridos durante o curso. Não esquecendo de todos os funcionários das Farmácias Zé Lula e ALS-Farma, do Laboratório de Análises Clínicas ALS (na cidade de Barra de Santa Rosa/PB) e da Farmácia de Manipulação Farmativos (na cidade de Currais Novos/RN) que contribuíram bastante durante o estágio, obrigado a todos pelo carinho com que me receberam.

Agradeço também ao Sr. Vital, Jardel, os vigias da guarita e dos blocos laboratoriais da universidade e os funcionários da biblioteca do CES pelo profissionalismo e educação que sempre me receberam.

A Central Analítica da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) pelas análises espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e IV. E aos integrantes do LAPEQ e do Laboratório de Eletroquímica, ambos do CES, por toda ajuda.

E por fim, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para minha evolução acadêmica e pessoal e realização desse trabalho.



## RESUMO

Os carboidratos em associação com outras macromoléculas realizam importantes funções para a manutenção da vida. Devido suas diversas funções biológicas, tecnológicas e industriais, o número de grupos de pesquisa que exploram a química dos carboidratos vem crescendo e os *O*-glicosídeos são uma classe que vem ganhando destaque, pois são importantes estruturas utilizadas como precursores na síntese de moléculas biologicamente ativas. Em paralelo, o uso da irradiação por ultrassom surgiu como uma alternativa para aperfeiçoar reações através da redução do tempo reacional e em alguns casos com o aumento do rendimento. Além disso, a literatura descreve o uso das larvas da *Artemia salina* Leach como um bom teste preliminar para avaliar a toxicidade de compostos devido a sua simplicidade, reprodutividade, baixo custo e por apresentar correlações dos seus resultados quando comparados a outras atividades toxicológicas, biológicas e farmacológicas. Tendo em vista esses argumentos, este trabalho propõe descrever uma nova metodologia para síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal através da irradiação de ultrassom. Depois promover a reação entre o tri-*O*-acetil-D-glucal com diferentes álcoois, catalisada por montmorillonita K-10 para a obtenção dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados através do rearranjo de Ferrier. E por fim realizar a avaliação toxicológica frente à *Artemia salina* Leach dos compostos obtidos. Como resultado o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal foi obtido com um rendimento de 95% em um tempo reacional quatro vezes menor quando comparado com a metodologia descrita na literatura. Os *O*-glicosídeos 2,3-insaturados foram obtidos em rendimentos que variam de 79 a 96%. E os bioensaios demonstraram que cinco compostos apresentaram baixas toxicidades ( $LC_{50} > 1000$  ppm) e três compostos moderadas toxicidades ( $LC_{50} < 1000$  ppm) frente as larvas da *Artemia salina* Leach.

**Palavras-chave:** Carboidratos; tri-*O*-acetil-D-glucal; *O*-glicosídeos 2,3-insaturados; irradiação de ultrassom; *Artemia salina* Leach.

## ABSTRACT

Sugars in combination with other macromolecules perform important functions for the maintenance of life. Because its diverse biological functions, technology and industry, the number of research groups exploring the chemistry of sugars is growing and *O*-glycosides are a class that has been gaining attention because they are important structures used as precursors in the synthesis of biologically active molecules. In parallel, the use of the ultrasound irradiation is an alternative to improve the reaction by reducing the reaction time and in some cases with increased yield. In addition, the literature describes the use of the larvae of *Artemia salina* Leach as a good preliminary test to evaluate the toxicity of compounds due to their simplicity, reproducibility, low cost and to present the results of the correlations compared to other toxicological activity, biological and pharmacological. Considering these arguments, this paper proposes to introduce a new method for the synthesis of 3,4,6-tri-*O*-acetyl-D-glucal by ultrasonic irradiation. After promote the reaction between 3,4,6-tri-*O*-acetyl-D-glucal with different alcohols catalyzed by montmorillonite K-10 to obtain the 2,3-unsaturated *O*-glycosides by Ferrier rearrangement. Finally carry out the assessment toxicological on *Artemia salina* Leach of the compounds obtained. As a result of the 3,4,6-tri-*O*-acetyl-D-glucal was obtained in 95% yield in a reaction time four times lower when compared to the methodology described in the literature. 2,3-Unsaturated *O*-glycosides were obtained in yields ranging from 79-96%. And bioassays showed that five compounds showed low toxicity ( $LC_{50} > 1000$  ppm) and three moderate toxicities compounds ( $LC_{50} < 1000$  ppm) against the larvae of *Artemia salina* Leach.

**Keywords:** Sugars; 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-D-glucal; 2,3-Unsaturated *O*-glycosides; Ultrasound irradiation; *Artemia salina* Leach

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Exemplos de carboidratos biologicamente importantes .....	1
<b>Figura 2.</b> Produtos da reação de glicosidação de Emil Fischer .....	2
<b>Figura 3.</b> Equilíbrio dos conformeros $\alpha$ (axial) e $\beta$ (equatorial) .....	10
<b>Figura 4.</b> Composição básica de um glicosídeo .....	11
<b>Figura 5.</b> Classificação dos glicosídeos 2,3 insaturados. ....	12
<b>Figura 6.</b> Vacina comercial a base de carboidrato sintético .....	16
<b>Figura 7.</b> Estruturas dos derivados do 1H-1,2,3-triazóis com atividade antiviral .....	16
<b>Figura 8.</b> Derivados glicosídeos com atividade imunoestimuladora .....	17
<b>Figura 9.</b> Nucleosídeos ativos frente à enzima gGAPDH de <i>T. cruzi</i> .....	18
<b>Figura 10.</b> Glicosamina com atividade antifúngica .....	18
<b>Figura 11.</b> Derivados de sacarose com ação inseticida .....	19
<b>Figura 12.</b> Imagem da <i>Artemia salina</i> Leach .....	21
<b>Figura 13.</b> Utilização do ultrassom na síntese do tri-O-acetil-D-glucal .....	27
<b>Figura 14.</b> Incubadora das Artemias salinas.....	30
<b>Figura 15.</b> Tubos com artemias .....	31
<b>Figura 16.</b> Imagem da CCD da reação de formação da D-glicose pentaacetilada ...	34
<b>Figura 17.</b> CCD da reação de bromação .....	35
<b>Figura 18.</b> CCD da eliminação radicalar do bromo e formação da tri-O-acetil-D-glucal .....	37
<b>Figura 19.</b> Espectro de infravermelho da glicose (a) e do tri-O-acetil-D-glucal (b). ...	38
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300Mhz, $\text{CDCl}_3$ ) do 3,4,6-tri-O-aceteil-D-glucal. ...	39

<b>Figura 21.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal.....	40
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>4</b> .. .....	57
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>4</b> .....	57
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6a</b> .....	58
<b>Figura 25.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6a</b> .....	58
<b>Figura 26.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6b</b> .....	59
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6b</b> .....	59
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6c</b> . .....	60
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6c</b> .....	60
<b>Figura 30.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6d</b> . .....	61
<b>Figura 31.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6d</b> .....	61
<b>Figura 32.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6e</b> .....	62
<b>Figura 33.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6e</b> . .....	62
<b>Figura 34.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6f</b> .....	63
<b>Figura 35.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6f</b> .....	63
<b>Figura 36.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6g</b> .....	64
<b>Figura 37.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>6g</b> .....	64

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Reação de glicosidação proposta por R.J. Ferrier.....	3
<b>Esquema 2.</b> Produção da glicose pelo processo de fotossíntese.....	7
<b>Esquema 3.</b> Hidrolise da sacarose .....	7
<b>Esquema 4.</b> Diastoismeros $\alpha$ e $\beta$ do glicopiranosídeo e do glicofuranosídeo.....	9
<b>Esquema 5.</b> Glicosidação realizada por Emil H. Fischer. ....	13
<b>Esquema 6.</b> Síntese de <i>O</i> -glicosídeos 2,3 insaturados pelo Rearranjo de Ferrier. ...	13
<b>Esquema 7.</b> Parâmetros de estudo de Ferrier e Prasad.. ....	14
<b>Esquema 8.</b> Síntese de <i>O</i> -glicosídeos 2,3 insaturados utilizando microondas.....	14
<b>Esquema 9.</b> Síntese de <i>O</i> -glicosídeos 2,3 insaturados catalisada por $\text{TeCl}_4$ . ....	15
<b>Esquema 10.</b> Acetilação da D-glicose mediada por irradiação de ultrassom. ....	20
<b>Esquema 11.</b> Síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil -D-glicose (4) .....	24
<b>Esquema 12.</b> Fluxograma das etapas de síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal (4)..	25
<b>Esquema 13.</b> Etapa I - Acetilação da D-glicose.....	27
<b>Esquema 14.</b> Etapa II - Bromação.....	28
<b>Esquema 15.</b> Etapa IV - Eliminação .....	28
<b>Esquema 16.</b> Síntese dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3 insaturados .....	29
<b>Esquema 17.</b> Síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal (4) .....	32
<b>Esquema 18.</b> Etapas reacionais da síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal (4) .....	32
<b>Esquema 19.</b> Mecanismo proposto para a acetilação da D-glicose. ....	33
<b>Esquema 20.</b> Mecanismo proposto para a bromação da D-glicose. ....	35

<b>Esquema 21.</b> Mecanismo da eliminação radicalar da D-glicose bromada proposto por Somsák, Madaj e Wisniewski (1997). .....	36
<b>Esquema 22.</b> Síntese dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados ( <b>6a-g</b> ) utilizando a montmorillonita como ácido de Lewis.....	41
<b>Esquema 23.</b> Proposta de mecanismo dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados ( <b>6a-g</b> ) ...	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Tempos reacionas dos Métodos A e B para síntese do composto <b>4</b> .....	37
<b>Tabela 2.</b> Síntese de <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados ( <b>6a-g</b> ) promovida por montmorilonita K-10 .....	42
<b>Tabela 3.</b> Bioensaio do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal ( <b>4</b> ) e dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados ( <b>6a-g</b> ) frente as larvas da <i>Artemia salina</i> Leach .....	46

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<b>AcOEt</b>	Acetato de etila
<b>NaOAc</b>	Acetato de sódio anidro
<b>NaOAc.3H<sub>2</sub>O</b>	Acetato de sódio anidro tri-hidratado
<b>OAc</b>	Acetila
<b>AcOH</b>	Ácido acético
<b>HBr</b>	Ácido bromídico
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>Ac<sub>2</sub>O</b>	Anidrido acético
<b>Δ</b>	Aquecimento
<b>KBr</b>	Brometo de potássio
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio delterado
<b>LC<sub>50</sub></b>	Concentração letal média
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CG</b>	Cromatografia gasosa
<b>δ</b>	Deslocamento químico
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	Diclorometano
<b>d</b>	Dupleto
<b>dd</b>	Duplo de Dupleto
<b>dl</b>	Dupleto largo
<b>dt</b>	Duplo de Triplete
<b>ddd</b>	Duplo Dupleto de Dupleto
<b>NOe</b>	Efeito Nuclear <i>Overhauser</i>
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>MHz</b>	Hertz x 10 <sup>6</sup>
<b>CaH<sub>2</sub></b>	Hidreto de cálcio
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>)))</b>	Irradiação de ultrassom
<b>ppm</b>	Partes por milhão



<b>PF</b>	Ponto de Fusão
<b>pH</b>	Potencial de hidrogênio
<b>q</b>	Quarteto
<b>qui</b>	Quinteto
<b>mmol</b>	Milimol
<b>m</b>	Multiplete
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<b>s</b>	Simpleto
<b>sl</b>	Simpleto largo
<b>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O</b>	Sulfato de cobre penta-hidratado
<b>t.a.</b>	Temperatura ambiente
<b>t</b>	Triplete
<b>W</b>	Watts
<b>Zn</b>	Zinco

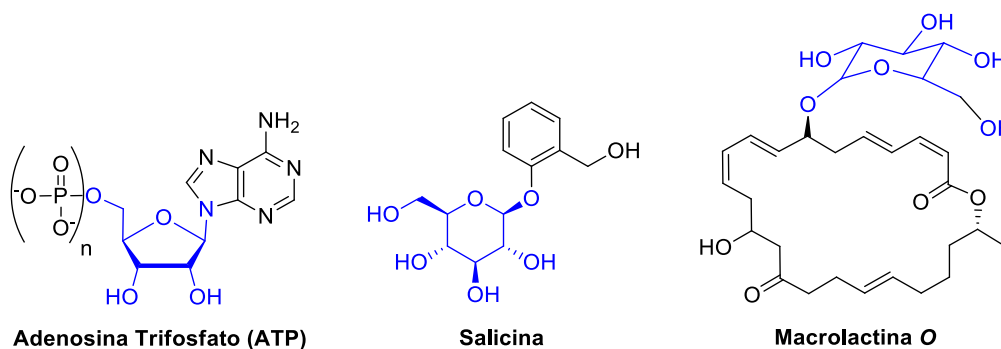
## Sumário

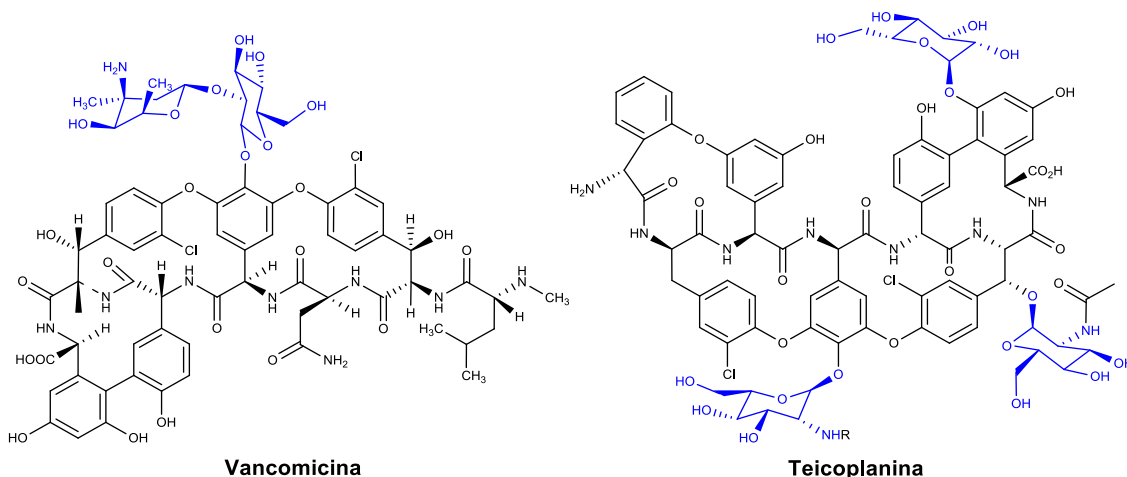
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos Específicos.....	5
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
3.1 Carboidratos: Generalidades.....	6
3.2 Glicosídeos.....	10
3.3 Reação de Glicosidação.....	12
3.4 Atividades biológicas e Farmacológicas dos carboidratos.....	15
3.5 Aplicação da irradiação de ultrassom na síntese de carboidratos.....	19
3.5 Bioensaio com <i>Artemia salina</i> Leach.....	20
4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	22
4.1 Locais de Pesquisa.....	22
4.2 Materiais e equipamentos.....	22
4.2.1 Síntese e purificação.....	22
4.2.2 Caracterização.....	23
4.2.3 Preparação para eclosão da <i>Artemia salina</i> Leach.....	23
4.3 Procedimento experimental.....	24
4.3.1 Síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal (4).....	24
4.3.1.1 Metodologia clássica (Método A).....	25
4.3.1.2 Nova metodologia utilizando irradiação de ultrassom (Método B).....	26
4.3.1.3 Dados espectrométricos do tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal.....	28
4.3.2 Síntese dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados (6a-g).....	29
4.3.2.1 Dados espectrométricos dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados.....	29
4.4 Bioensaio frente à <i>Artemia salina</i> Leach.....	31
5. RESULTADOS.....	34
5.1 Síntese do 3,4,6-tri- <i>O</i> -acetil-D-glucal (4).....	34
5.2 Síntese dos <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturados (6a-g).....	42
5.3 Testes com <i>Artemias salina</i> Leach.....	45
6. CONCLUSÃO.....	47
7. REFERÊNCIAS.....	48
8. APÊNDICES.....	56

## 1. INTRODUÇÃO

Os carboidratos são as macromoléculas mais abundantes na natureza e estima-se que a maior parte de toda biomassa produzida no planeta, cerca de 90%, é constituída desses compostos naturais poli-funcionais (OLIVEIRA, 2002; FERREIRA, 1994). Certos carboidratos são a base da dieta de uma grande parcela da população e a sua oxidação é a principal via metabólica fornecedora de energia na maioria das células não-fotossintéticas. Alguns polissacarídeos insolúveis apresentam diversas funções de elementos estruturais e de proteção tanto nas paredes celulares bacterianas e vegetais quanto nos tecidos conjuntivos dos animais. Os polissacarídeos também podem agir como lubrificantes das articulações esqueléticas e participam do reconhecimento e coesão entre as células (LEHNINGER; DAVID; MICHAEL, 2007). Além disso, a associação dos carboidratos com outras macromoléculas, tais como: ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos, permite a integridade da célula e de todos os processos metabólicos, fisiológicos e genéticos, importantes funções para a manutenção da vida dos organismos vivos (POMIM; MOURÃO, 2006).

Como exemplos de moléculas importantes biologicamente apresentando uma ou mais unidade de carboidratos podemos citar a adenosina trifosfato – ATP, responsável pelo armazenamento e transporte de energia, (KLINGENBERG, 2008), a salicina, anti-inflamatório largamente utilizado, (AKAO et al., 2002), a macrolactina O, um potente antiviral, (ZHENG et al., 2007) e a vancomicina e a teicoplanina, principais fármacos usados contra infecções causadas por bactérias Gram-positivas, (XAVIER; RAUTER, 2012) (Figura 1).

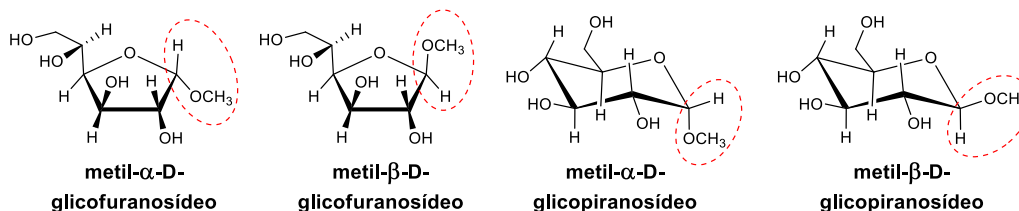




**Figura 1.** Exemplos de carboidratos biologicamente importantes

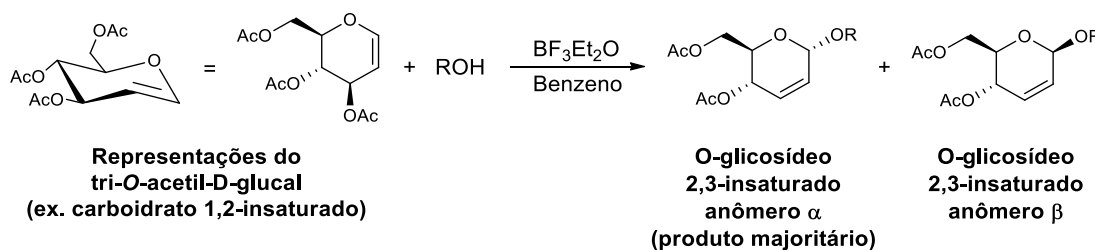
Devido sua grande importância é justificável o crescente número de artigos, citações científicas e grupos de pesquisa explorando a química dos carboidratos. Seguindo as novas estratégias sintéticas envolvendo essas macromoléculas, uma que se destaca é a transformação de carboidratos simples, como a D-glicose, em glicosídeos através da reação de glicosidação, levando aos *O*-glicosídeos (como a salicina e a macrolactina *O*) também denominados de acetais de carboidratos. Estes compostos são constituídos por uma unidade sacarídica ligada através do carbono anomérico a outra unidade que pode ser sacarídica ou não (ALLINGER et al., 1976; SANTOS, 2014).

Os *O*-glicosídeos foram sintetizados pela primeira vez por Emil Fischer em 1893 por meio de uma reação denominada glicosidação, porém sua metodologia não se mostrou seletiva, levando a formação dos *O*-glicosídeos de cinco e seis membros além dos seus diastereoisômeros  $\alpha$  e  $\beta$  (FISCHER, 1893) (Figura 2).



**Figura 2.** Produtos da reação de glicosidação de Emil Fischer

Diferentemente da metodologia proposta por Emil Fischer, atualmente a literatura relata a síntese esterosselativa, não só dos O-glicosídeos, mais também dos (N,S,C,X)-glicosídeos catalisada por diferentes ácidos, ou agentes oxidantes, utilizando distintas formas de energia com curtos tempos reacionais e excelentes rendimentos (FERRIER; PRASAD, 1969; TOSHIMA et al., 1993; LÓPEZ et al., 1995; NAGARAJ; RAMESH, 2009; DEELERTPAIBOON et al., 2009; FREITAS; MENEZES, 2010; FREITAS et al., 2012; CHEN; LIN, 2013). Este avanço na síntese dos glicosídeos, em parte, foi devido a inúmeras pesquisas de Robert John Ferrier (GOMEZ et al., 2013). Devido as contribuições desse pesquisador, a reação de glicosidação envolvendo carboidratos 1,2-insaturados com diferentes nucleófilos (exemplo, ROH) catalisado por ácido de Lewis para levar aos O-glicosídeos 2,3-insaturados (Esquema 1) (FERRIER; PRASSAD, 1969), ficou conhecida como rearranjo de Ferrier conforme enfatiza Gomez e colaboradores (2013).



**Esquema 1.** Reação de glicosidação proposta por R.J. Ferrier

Estes O-glicosídeos 2,3-insaturados são importantes estruturas utilizados na síntese de moléculas biologicamente ativas, pois permite diferentes modificações estruturais, tais como: hidrólise, diidroxilação e epoxidação assimétrica, hidrogenação catalítica, adições do tipo 1,2 ou 1,4-Michael entre outras (LIU et al., 1999, SRIVASTAVA et al., 2001; FREITAS FILHO et al., 2003; KIM; MEN; LEE, 2004; DING; WILLIAM; LIU, 2013).

Adicionalmente, a aplicação da irradiação por ultrassom na síntese dos glicosídeos (KARDOS; LUCHE, 2001; SILVA et al., 2013) e de heterocíclicos (CELLA; STEFANI, 2009) vem ganhando destaque na química sintética por favorecer em vários casos, um aumento no rendimento e uma redução do tempo reacional.

Em paralelo, a literatura descreve o uso das larvas da *Artemia salina* Leach como um bom teste preliminar para avaliar a toxicidade de extratos de plantas e de compostos de origem sintética, devido a sua simplicidade, reprodutividade, baixo custo e por apresentar correlações dos seus resultados quando comparados a outras atividades toxicológicas, biológicas e farmacológicas (MOREIRA, 2003; COSTA et al., 2009; FERRAZ FILHA et al., 2012).

Tendo em vista todos esses pressupostos este trabalho propõe uma nova metodologia para síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal, utilizando a irradiação do ultrassom como fonte de energia, posterior obtenção de *O*-glicosídeos, reagindo o tri-*O*-acetil-D-glucal com diferentes álcoois, caracterização, através de espectros de infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ), e avaliação toxicológica frente à *Artemia Salina* Leach das substâncias obtidas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- O trabalho tem como principal objetivo sintetizar o tri-*O*-acetil-D-glucal através da irradiação do ultrassom, além de sintetizar, caracterizar e avaliar a toxicidade de *O*-glicosídeos 2,3-insaturados frente as larvas da *Artemia salina* Leach.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Estudar as condições reacionais de síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**) utilizando a irradiação do ultrassom;
- Sintetizar diferentes *O*-glicosídeos 2,3 insaturados (**6a-g**) obtidos a partir da reação de glicosidação entre o tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**) e diferentes álcoois (**5a-g**) utilizando a montmorillonita K-10 como ácido de Lewis;
- Caracterizar por diferentes métodos espectrométricos (IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) o tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**) e os *O*-glicosídeos 2,3 insaturados (**6a-f**);
- Avaliar a atividade toxicológica do tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**) frente às larvas da *Artemia salina* Leach;
- Avaliar a atividade toxicológica dos *O*-glicosídeos 2,3 insaturados (**5a-f**) frente às larvas da *Artemia salina* Leach.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

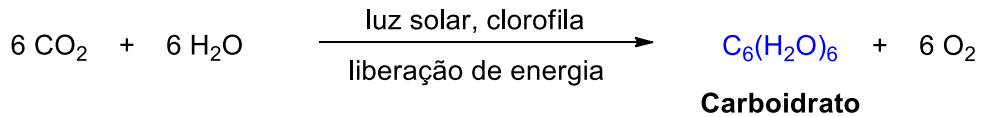
#### 3.1 Aspectos Gerais dos Carboidratos

Os carboidratos podem ser chamados de açúcares, glicídios, sacarídeos ou hidratos de carbono, essa última nomenclatura é devido a sua fórmula empírica  $C_n(H_2O)_n$ , sendo que alguns compostos também apresentam nitrogênio, fósforo ou enxofre em sua composição (LEHNINGER; DAVID; MICHAEL, 2007). Quimicamente podem ser definidos como poli-hidroxi aldeídos ou poli-hidroxi cetonas, pois ao se hidrolisar eles formam aldeídos ou cetonas poli-hidroxiadas (FREITAS, 2008).

Os carboidratos são compostos que estão presentes no nosso cotidiano como fonte de alimentos, sendo um dos principais elementos da nossa dieta, e de diversas outras formas, pois eles compõem o algodão das roupas, a madeira que utilizamos para fabricar móveis e outros utensílios além de auxiliar na manutenção da vida dos seres vivos realizando várias funções biológicas, de forma isolada ou em associação com outras biomoléculas como as proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (POMIM; MOURÃO, 2006).

A principal forma de produção dos carboidratos ocorre por um processo chamado fotossíntese. Os vegetais e algumas bactérias são os únicos detentores da capacidade de converter dióxido de carbono em carboidratos. Isso acontece devido a presença do pigmento clorofila, que catalisa a conversão do dióxido de carbono e água em açúcares (LEHNINGER; DAVID; MICHAEL, 2007). A reação é termodinamicamente desfavorável, mas ocorre porque a energia necessária é fornecida pela luz solar (Esquema 2). Já os animais degradam os carboidratos em dióxido de carbono e água. Os animais comem as plantas e combinam os carboidratos com o oxigênio do ar para executar a reação inversa da fotossíntese. A oxidação dos carboidratos dá ao animal a energia necessária para manter os processos vitais e regenera o dióxido de carbono que a planta utilizará na fotossíntese (ALLINGER et al., 1976).



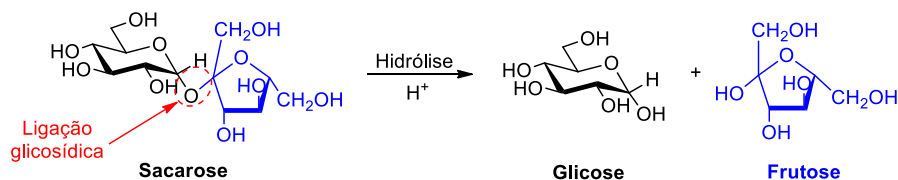


**Esquema 2.** Produção da glicose pelo processo de fotossíntese

Os carboidratos se classificam em três classes principais de acordo com o tamanho e composição de sua estrutura: os monossacarídeos, os oligossacarídeos e os polissacarídeos. O sufixo sacarídeo é derivado do grego *sakcharon*, que significa açúcar o que remete a uma das nomeações dos carboidratos.

Os monossacarídeos, ou açúcares simples, apresentam uma única unidade de poli-hidroxialdeído ou poli-hidroxicetona, não podendo ser hidrolisado em unidades mais simples. Como exemplos podemos citar a glicose, presente no sangue, sendo umas das principais fontes de energia do organismo animal, e a ribose, fundamental na composição estrutura do ATP e dos ácidos nucleicos. (MURRAY et al., 2007; CAREY, 2011). Os monossacarídeos podem se interligar, formando açúcares mais complexos, através de ligações específicas denominadas ligações glicosídicas (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009).

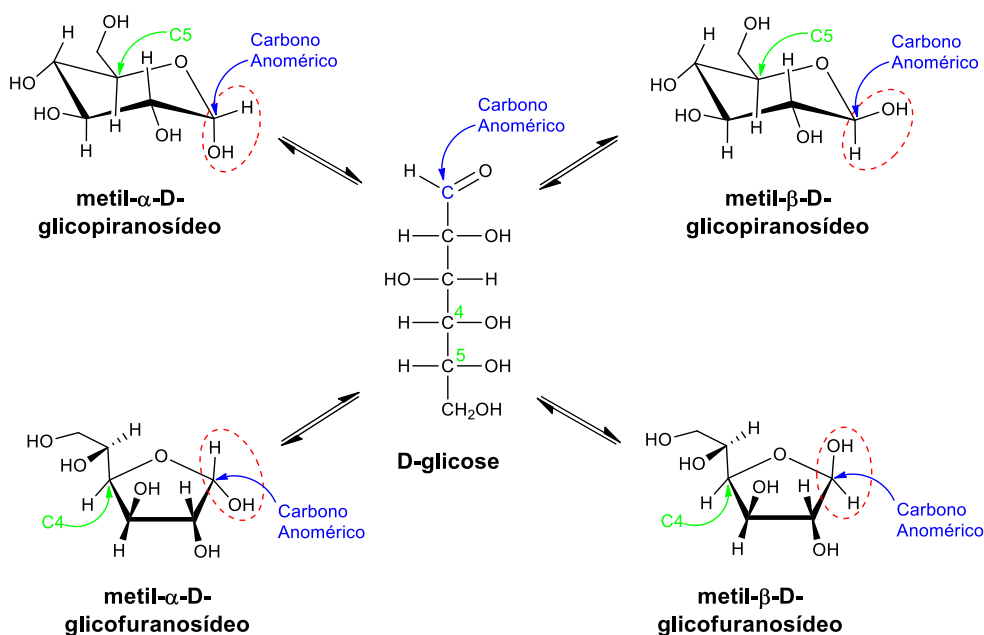
Os oligossacarídeos apresentam cadeias curtas de unidades monossacarídicas, unidas através das ligações glicosídicas. Os exemplos mais abundantes são os dissacarídeos, formados por dois monossacarídeos, como a sacarose, derivado da cana de açúcar e bastante utilizado como adoçante, sua hidrólise fornece a glicose e a frutose (FERREIRA; SILVA; PERRONE, 2001) (Esquema 3).



**Esquema 3.** Hidrólise da sacarose

Por fim temos os polissacarídeos que são polímeros de carboidratos de cadeias longas que apresentam geralmente mais de 10 unidades monossacarídicas. Como exemplo podemos citar o amido e a celulose, polímeros de glicose presentes nas plantas que diferem entre si no tipo de ligação glicosídica, conferindo propriedades e funções diferentes. Cabendo ao amido a função de fonte energética vegetal e a celulose de fornecer rigidez e estabilidade celular e estrutural à planta, além de ambos serem bastante utilizados pelo homem e outros animais. Outro polissacarídeo muito conhecido é o glicogênio que, assim como o amido nas plantas, serve de reserva energética para as células animais, sendo importante para a manutenção dos níveis glicêmicos nos intervalos das refeições (MURRAY et al., 2007; MOTTA, 2009).

Segundo Vollhardt e Schore (2004) os monossacarídeos podem ser encontrados predominantemente na forma de anéis de cinco ou seis membros, onde o monossacarídeo de seis membros é chamado de piranose, nome derivado do éter cíclico de seis átomos (o pirano), enquanto que o de cinco membros é denominado de furanose, nome derivado do éter cíclico de cinco átomos (o furano). Adicionalmente, Silva (2011) menciona que durante o processo de ciclização, o átomo de carbono que apresentava o grupo carbonila (C1) transforma-se em um novo centro quiral e recebe o nome de carbono anomérico, devido à formação de dois diastereoisômeros com configurações de anômeros  $\alpha$  e  $\beta$ . Um bom exemplo é a D-glicose, na qual a carbonila pode reagir com a hidroxila ligada ao carbono 4 ou 5, formando, respectivamente, um hemiacetal furanosídico ou piranosídico, conforme Esquema 4.



**Esquema 4.** Diastoismeros  $\alpha$  e  $\beta$  do glicopiranosídeo e do glicofuranosídeo

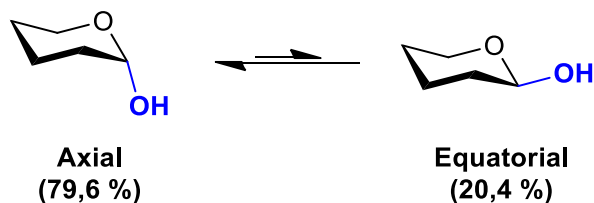
Este centro, denominado de anomérico, é extremamente importante para a reatividade dos carboidratos, pois é onde ocorre a abertura do anel, produzindo assim uma carbonila, que é um grupo funcional importante em muitas reações químicas. É importante ressaltar que vários estudos mostraram que, sob temperatura ambiente, uma solução aquosa de glicose apresenta 99,6% de moléculas na forma piranosídica, 0,39% na forma furanosídica e 0,01% em formas acíclicas (SILVA, 2011).

Em alguns anéis piranosídicos o anomero  $\beta$  tem preferência sobre o anomero  $\alpha$ , devido o grupo hidroxila do C-1 está na posição equatorial. Contudo nem sempre essa configuração é mais estável, devido ao efeito anomérico que tem sua origem proveniente da hiperconjugação (ROMERS, et al., 1969) e de interações de ordem eletrostáticas (ELIEL; GIZA, 1968).

Segundo Sege (2005) a posição axial é favorecida quando o carbono anomérico está associado a substituintes eletronegativos, como os halogênios. Esta preferência deve-se a influência das interações do tipo  $2p-\sigma^*$  e ao tamanho das ligações do C-6-H. Como o comprimento da ligação é maior na posição axial do que

na posição equatorial, com valores de 109,5 a 109,3 nm respectivamente, isso ocasiona uma repulsão eletrostática menor.

Booth e colaboradores (1985) constataram, através da RMN  $^{13}\text{C}$ , que o anel piranosídico do 2-metiltetraidropirano sob temperatura de 143 K (-130 °C) apresenta o anomero  $\alpha$  em maior proporção (Figura 3).



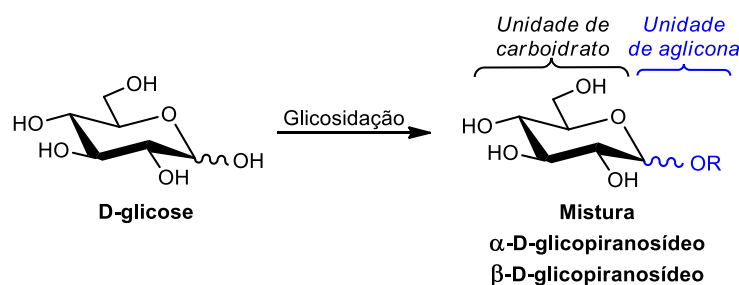
**Figura 3.** Equilíbrio dos conformeros  $\alpha$  (axial) e  $\beta$  (equatorial)

Assim, os carboidratos apresentam diversas linhas de estudos, destacando sua estereoquímica que em associação com seu efeito anomérico facilita a compreensão dos produtos formados em posteriores reações e modificações em sua estrutura. Tomando como exemplo a D-glicose que, com exceção do carbono anomérico, apresentam quatro estereocentros definidos, podemos aproveitar essa característica para o desenvolvimento de moléculas biologicamente ativas (FREITAS, 2010).

### 3.2 Glicosídeos

A busca de biomoléculas que atuem em alvos específicos, no geral, envolve a participação de vários pesquisadores de diferentes áreas. No planejamento e desenvolvimento dessas moléculas, alguns dos desafios para o químico sintético é superar a construção de estereocentros com estereoquímica definida, e uma maneira de contornar isso é partir de fragmentos que já possuam essa definição estrutural. Em meio a isso a química da glicosidação surge como um desafio, onde o primeiro obstáculo é obter um produto de forma enantiomericamente puro (FREITAS, 2010). Atualmente, a síntese de glicosídeos 2,3-insaturados vem despertando o interesse de grupos de pesquisa na área da química dos carboidratos, pois esses compostos são importantes intermediários na síntese de vários produtos naturais com atividade biológica, compondo também as estruturas dos ácidos nucleicos e de muitos antibióticos (SURYAKIRAN, 2008).

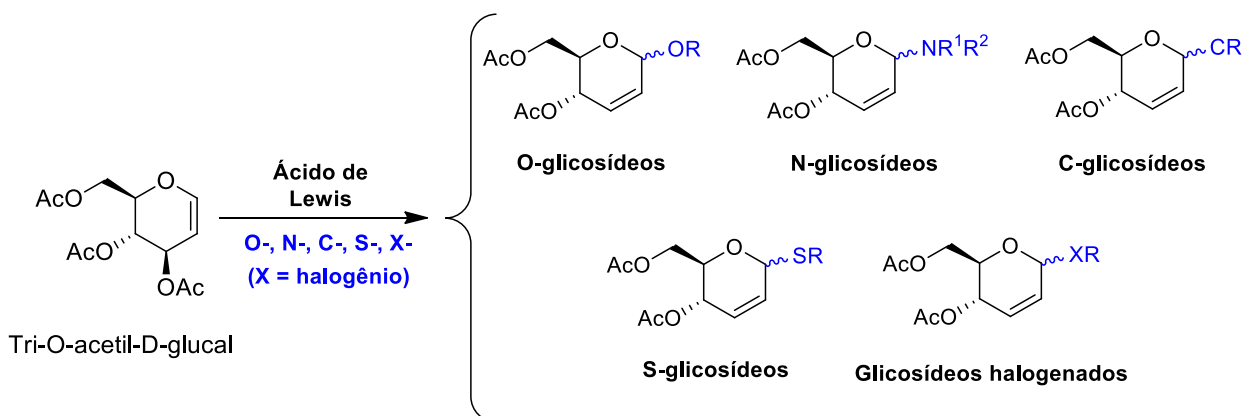
Os glicosídeos, também denominadas de acetais de carboidratos, são constituídos basicamente de duas unidades, onde a unidade ligada ao carbono anomérico é denominada de aglicona, que pode ser ou não sacarídica, proveniente da reação de glicosidação (SANTOS, 2014) (Figura 4).



**Figura 4.** Composição básica de um glicosídeo

Os glicosídeos são nomeados substituindo a terminação “e” do nome do açúcar pelo sufixo “ídeo”, dessa forma, um glicosídeo da glicose é denominado de “glicosídeo”, já um glicosídeo da galactose é um “galactosídeo” e assim por diante. Caso as designações piranose ou furanose sejam usadas, os glicosídeos da glicose, por exemplo, serão chamados de glicopiranosídeos ou glicofuranosídeos, seguindo a mesma regra para os demais açúcares (BRUICE, 2006).

Eles são sintetizados através da reação de glicosidação, onde a molécula do tri-*O*-acetil-D-glucal sofre um rearranjo alílico em presença de um ácido de Lewis (catalisador) e um agente nucleófilo (O-, N-, C-, S-, X-), obtendo diferentes tipos de glicosídeos, classificados nos seguintes grupos: *O*-glicosídeos, *N*-glicosídeos, *C*-glicosídeos, *S*-glicosídeos e glicosídeos halogenados (FERRIER; PRASSAD, 1969; OLIVEIRA, 2002) (Figura 5).

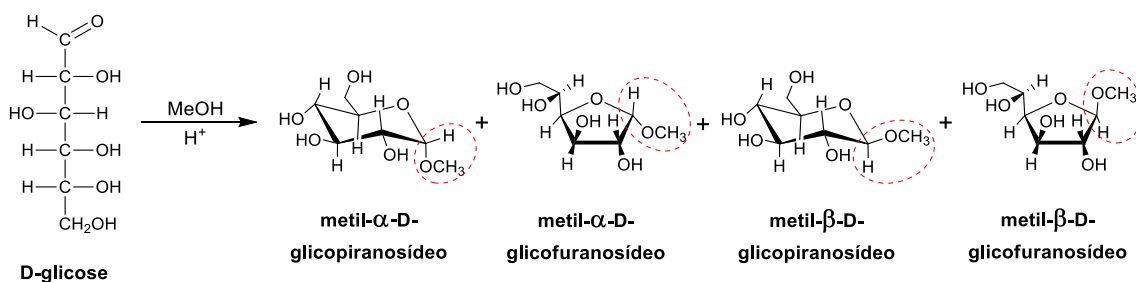


**Figura 5.** Classificação dos glicosídeos 2,3 insaturados

Essa reação de glicosidação foi estabelecida por R. J. Ferrier e atualmente é conhecido como Rearranjo de Ferrier. Dentre estes diversos tipos de glicosídeos o nosso trabalho terá como foco os O-glicosídeos 2,3-insaturados, pois eles apresentam estruturas biologicamente ativas e tem sido destacado em vários estudos.

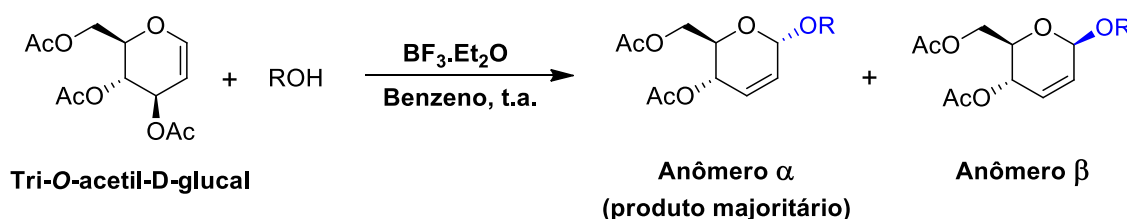
### 3.3 Reação de Glicosidação

A primeira reação de glicosidação foi realizada por Emil Hermann Fischer em 1883. Sua proposta consistia na reação da D-glicose com um álcool na presença de um ácido, como catalizador, para formação de novos glicosídeos substituídos. Contudo, a glicosidação de Fischer não se mostrou eficiente, pois durante a ciclização houve a formação de anéis de cinco e seis membros além dos diastereoisômeros  $\alpha$  e  $\beta$ , conforme o Esquema 5 (FREITAS, 2010). Seus estudos sobre a composição, configuração, natureza e síntese dos açúcares rendeu a Emil Fisher o Prêmio Nobel de Química em 1902 pelo conjunto de seus trabalhos, sendo reconhecido até hoje como um dos químicos mais importantes nessa área (NOGUEIRA, 2009).



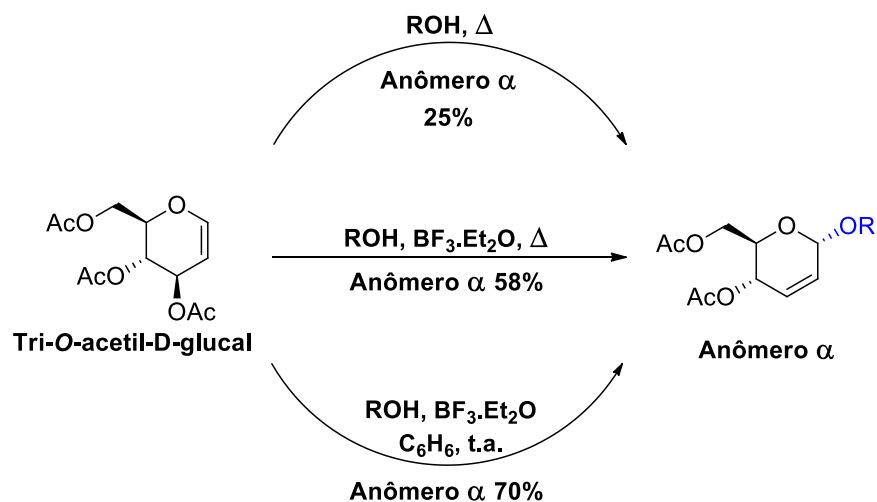
**Esquema 5.** Glicosidação realizada por Emil H. Fischer

Em 1969, Ferrier e Prasad observaram que a reação catalisada por um ácido de Lewis, especificamente o trifluoreto de boro em éter dietílico ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ), entre o tri-O-acetil-D-glucal e diferentes álcoois levava a uma reestruturação molecular, o qual foi denominado Rearranjo de Ferrier. Esse rearranjo consistia na migração da dupla ligação do C-1 para o C-2 seguido da saída do grupo acetóxi localizado em C-3 produzindo os respectivos O-glicosídeos correspondentes ao álcool utilizado, onde o anômero  $\alpha$  era o produto majoritário (Esquema 6).



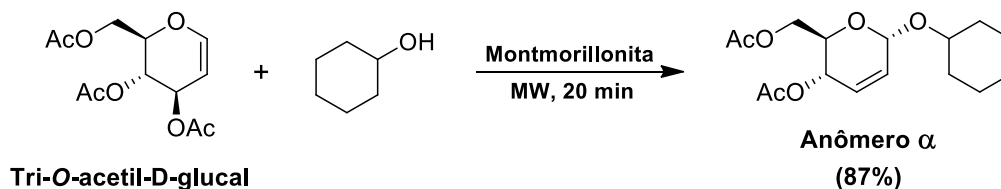
**Esquema 6.** Síntese de O-glicosídeos 2,3 insaturados pelo Rearranjo de Ferrier

Uma das explicações para a metodologia de Ferrier e Prasad apresentar uma melhor estereoseletividade quando comparada com a de Emil Fischer foi os parâmetros que os dois estudaram sistematicamente, tais como: o tipo de solvente, a temperatura e o catalisador empregado. Isto proporcionou analisar a proporção de formação dos anômeros alfa e beta. Com isso eles aperfeiçoaram a síntese dos O-glicosídeos 2,3-insaturados favorecendo a formação majoritária do anômero  $\alpha$  (Esquema 7) (FREITAS, 2010).



**Esquema 7.** Parâmetros de estudo de Ferrier e Prasad.

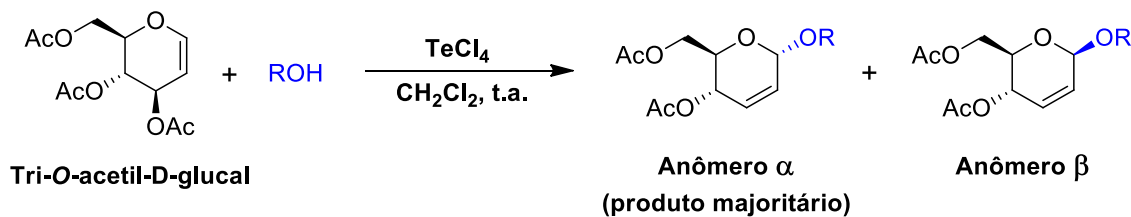
Em 2002, Srivastava e colaboradores, buscando por novas metodologias para a preparação de *O*-glicosídeos 2,3 insaturados, sugeriram a utilização de radiação de microondas como fonte de energia. Utilizando esta metodologia os autores obtiveram diferentes *O*-glicosídeos em intervalos de tempo entre 10-20 minutos. Nesta reação eles utilizaram a montmorillonita (K10) como ácido de Lewis, obtendo a formação preferencial do anômero  $\alpha$  (Esquema 8).



**Esquema 8.** Síntese de *O*-glicosídeos 2,3 insaturados utilizando microondas

Em 2012, Freitas e colaboradores relataram a síntese de diferentes glicosídeos utilizando o tetracloreto de telúrio ( $\text{TeCl}_4$ ) como catalizador. Nesta metodologia os autores sintetizaram 22 glicosídeos 2,3-insaturados excelentes rendimentos e com tempos reacionais que variam de 3 a 20 minutos (Esquema 9).



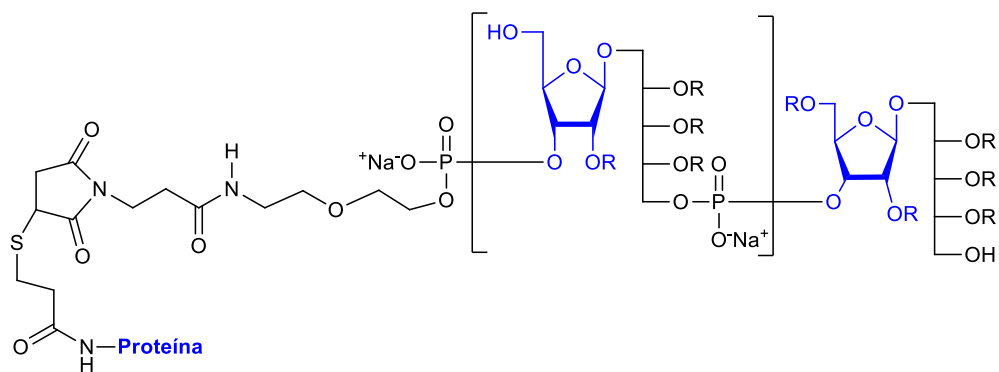


**Esquema 9.** Síntese de O-glicosídeos 2,3 insaturados catalisada por  $\text{TeCl}_4$

### 3.4 Atividades biológicas e farmacológicas dos carboidratos

Por muito tempo os estudos com carboidrato estavam relacionados as suas funções energéticas (POMIM, MOURÃO, 2009) e a sua importância devido a participação em um grande número de ciclos bioquímicos (NOGUEIRA, 2009). Porém nos últimos anos o estudo de suas atividades tem crescido de forma surpreendente, principalmente com relação aos glicosídeos devido à diversidade de aplicações biológicas como antibacterianas (VERES-BENCOMO et al, 2004), antivirais (DA SILVA et al., 2009; FRANÇOIS; BALZARINI, 2012), antineoplásicas (YANG et al., 2004), antiprotozoárias (LEITÃO et al., 2004), antifúngicas (MUHIZI; COMA; GRELIER, 2008), entre outras (PUTERKA et al., 2003).

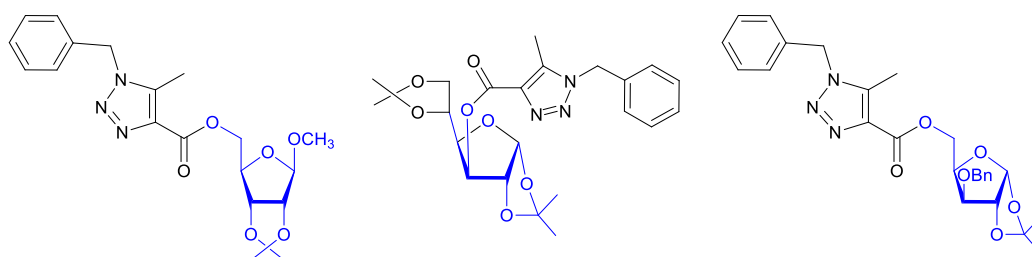
Veres-Bencomo e colaboradores (2004) relataram a síntese de glicoconjugado, o desenvolvimento farmacológico e a avaliação clínica da primeira vacina comercial derivada de um carboidrato sintético (Figura 7). A qual se mostrou eficaz e a bactéria *Haemophilus influenzae* do tipo b (Hib) que provoca pneumonia e meningite, principalmente em crianças. O resultado desse estudo tornou-se muito importante, pois até o momento não havia nenhuma vacina obtida sinteticamente à base de carboidratos, além de fornecer uma base para o desenvolvimento de abordagens semelhantes para outros patógenos humanos (SANTOS, 2014).



**Figura 6.** Vacina comercial a base de carboidrato sintético.

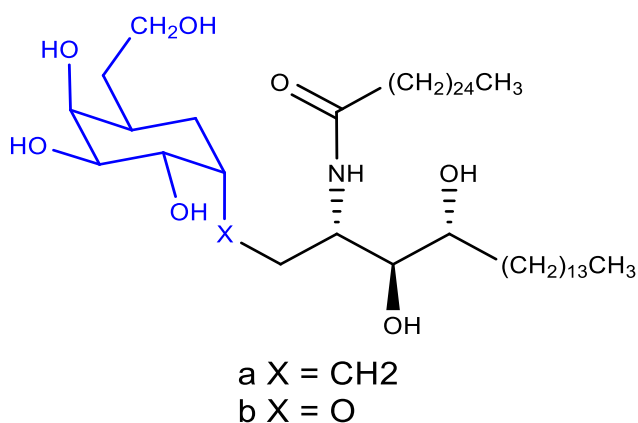
Os carboidratos simples podem servir de partida para a síntese de novas moléculas com potencial antiviral. Porém, agentes antivirais se confrontam com dois grandes obstáculos: a falta de seletividade, pois na maioria das vezes os agentes antivirais são igualmente tóxicos ao vírus e ao hospedeiro, e o diagnóstico tardio de muitas doenças virais (NOGUEIRA et al., 2009)

Na busca de um tratamento eficiente, o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tem sido estudado por vários grupos de pesquisa. Silva e colaboradores (2009) utilizaram vários carboidratos para sintetizar uma série de 1-benzil-1H-1,2,3-triazóis e analisaram seus desempenhos na inibição da transcriptase reversa do HIV-1, apresentando resultados satisfatórios, pois as novas classes de triazóis sintetizados (Figura 8) apresentaram atividade de inibição da transcriptase reversa do HIV-1 com baixas citotoxicidades. As novas classes de triazóis são consideradas como moléculas promissoras para uma maior exploração sintética e biológica visando a geração de novos compostos anti-HIV-RT. Recentemente François e Balzarini (2012) também relatam o potencial de agentes ligados a carboidratos para o tratamento do vírus.



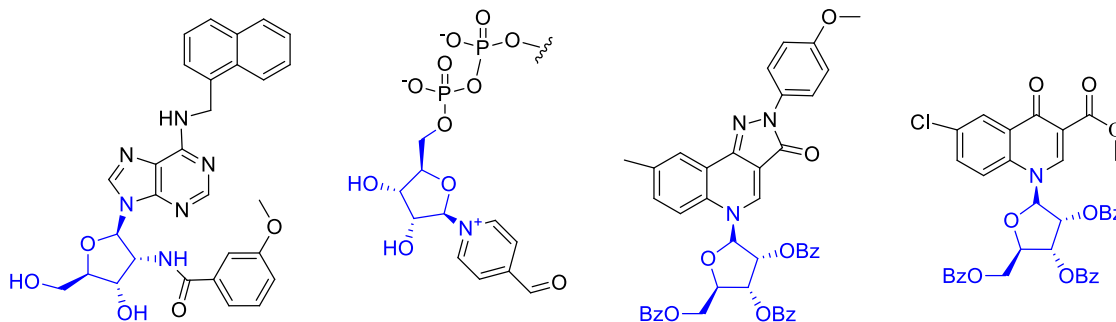
**Figura 7.** Estruturas dos derivados do 1H-1,2,3-triazóis com atividade antiviral

Outra importante aplicação dos carboidratos e que tem sido foco de vários estudos, é a de obtenção de moléculas bioativas com potencial antitumoral. Yang e colaboradores estudou a ação de vários extratos da esponja *Agelas mauritianus* em cobaias. Sendo observada uma potente atividade antitumoral, que está relacionada aos glicolípideos chamados agelasfinas. Estudos de relação estrutura-atividade mostraram que um análogo mais simples destes glicolípideos foram realizados e foi observado que o derivado C-glicosídeo (Figura 8a) apresentou atividade frente a células de melanoma B16 que ataca os pulmões, se mostrando 100 vezes mais ativo do que seu análogo O-glicosídeo (Figura 8b). Além disso, também apresentou atividade contra malária sendo 1000 vezes mais ativo do que O-glicosídeo.



**Figura 8.** Derivados glicosídeos com atividade imunoestimuladora

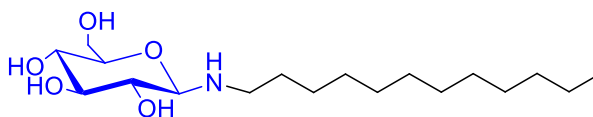
A atividade antiprotozoária desempenhada por nucleosídeos derivados de carboidratos tem sido relatada. Devido à ineficácia das drogas atualmente empregadas e cientes da seriedade da infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, que chega a afetar 18 milhões de pessoas, existe uma necessidade crítica de novos fármacos com diferentes mecanismos de ação para o tratamento da doença de Chagas (SANTOS, 2014). A enzima glicosomal gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (gGAPDH) é um excelente alvo para o desenvolvimento de novos agentes antitripanossomatídeos (NOGUEIRA, 2009). Ciente do mencionado, Leitão e colaboradores (2004) relataram compostos (Figura 10) que atuam na inibição da gGAPDH do *Trypanosoma cruzi*.



**Figura 9.** Nucleosídeos ativos frente à enzima gGAPDH de *T. cruzi*

Agentes antifúngicos têm ampla aplicação na clínica humana e veterinária, além de serem utilizados no tratamento de plantas, sementes, solos, pinturas, conservadores de produtos industriais etc. A síntese e avaliação das atividades biológicas de diferentes glicosilaminas são de grande interesse, pois além de apresentarem baixa toxicidade, a associação de compostos amino com carboidratos facilitam a interação com o microorganismo aumentando a solubilidade dos produtos em água, melhorando dessa forma, a atividade biológica.

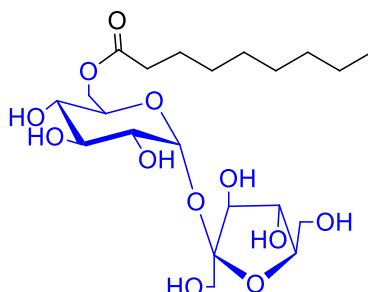
Muhizi e colaboradores (2008) obtiveram uma série de glicosaminas a partir da glicose, dentre as quais foi confirmada que a glicosilamina com o grupo dodecila (Figura 11) apresentou inibição fúngica de 94 e 100% com uma concentração  $1,0 \times 10^{-5}$  mol/mL e  $0,75 \times 10^{-5}$  mol/mL para *Coriolus versicolor* e *Poria placenta*, respectivamente. Para as outras glicosilaminas foram necessárias concentrações maiores para inibição dos fungos.



**Figura 10.** Glicosamina com atividade antifúngica

Estudos recentes apresentam outras aplicações dos glicosídeos como inseticidas, herbicidas, arcaricidas, etc. Seguindo esse raciocínio derivados da sacarose com ação inseticida, como o octanoato da sacarose (Figura 12),

mencionado por Puterka e colaboradores (2003), se mostrou efetivo em baixas concentrações, contra algumas pragas como a *Cacopsylla pyricola* da pêra, a *Myzusnicotianae* sp. do tabaco e a *Tetranychus urticae* da maçã.



**Figura 11.** Derivados de sacarose com ação inseticida

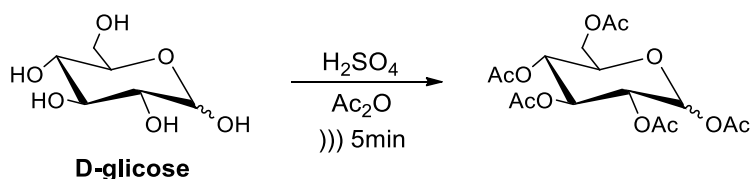
### 3.5 Aplicação da irradiação de ultrassom na síntese de carboidratos

A descoberta do ultrassom ocorreu em 1880 por Curie estudando o efeito piezelétrico durante o lançamento de mísseis, sendo verificada a geração de uma fonte vibracional que causava implosão e/ou cavidades na água, a essa vibração foi atribuído o nome de cavitação. Em 1912, Langevin desenvolveu um aparelho capaz medir a profundidade do mar, atualmente conhecido como SONAR (Sound Navigation And Ranging), que funciona através da transmissão de um pulso de ultrassom para o fundo do mar, de onde o mesmo é refletido para um detector junto ao transmissor, determinando a profundidade do local de acordo com o tempo entre o envio e o recebimento do pulso. Materiais piezoelétricos respondem a aplicação de campo elétrico, com potencial alternado com alta frequência, convertendo energia elétrica em energia mecânica de vibração (MARTINES, et al., 2000).

Seguindo esse contexto, a irradiação do ultrassom pode ser definida como um fenômeno físico fundamentado na capacidade de criar, aumentar e implodir cavidades de vapor de gases em meio líquido. Neste processo, transformações químicas e físicas podem ocorrer devido à interação da irradiação de ultrassom com a matéria, conseqüentemente favorecendo efeitos de ativação em várias reações químicas. Durante as últimas décadas, a utilização da irradiação de ultrassom em

síntese orgânica tornou-se uma metodologia útil devido a algumas vantagens, dentre as quais podemos destacar a redução do tempo reacional, economia dos reagentes, aumento do rendimento, seletividade e favorecimento de algumas reações que, em condições normais, não aconteciam (NEVES FILHO; OLIVEIRA, 2002).

Cabe ressaltar que a literatura relata o uso da irradiação de ultrassom em várias reações orgânicas como, por exemplo, na acetilação (DENG, et al., 2006) (Esquema 10), alquilação (MARTINES et al., 2000) entre outras.



**Esquema10.** Acetilação da D-glicose mediada por irradiação de ultrassom

### 3.6 Bioensaio com *Artemia salina* Leach

A *Artemia salina* é um microcrustáceo (Figura 12), que tem sido utilizado como objeto de muitos estudos levando a publicação de vários artigos nos últimos anos. A letalidade desse camarão de água salgada ensaio é considerada uma das ferramentas mais úteis para na avaliação preliminar da toxicidade geral, sendo considerado como um seguro, prático, eficiente e econômico além de requerer uma pequena quantidade de amostra. A simplicidade desse teste, que não necessita de métodos assépticos nem de equipamentos especiais, favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido facilmente (ARCANJO et al., 2012; FERRAZ FILHA, et al. 2012).



**Figura 12.** *Artemia salina* Leach

Fonte da imagem: <http://sprezi.comejee9dyalfydartemia-presentation>

A principal razão desses microcrustáceos de água salgada ser amplamente utilizado para testes de toxicidade é devido a sua disponibilidade comercial na forma de ovos (cistos), que podem permanecer viáveis por muitos anos, sendo utilizados como alimentos vivos para peixes jovens vivos. No entanto, um inconveniente do teste é que o meio salino ideal para a eclosão das larvas pode diminuir a solubilidade de algumas substâncias (ANDRIOLLI, 2007).

Mesmo com o avanço tecnológico, esta técnica tem perdurado nas publicações científicas. Apesar de ser relativamente simples, este ensaio tem a capacidade de gerar informações de grande utilidade de forma rápida, econômica e com reprodutibilidade. Devido á estas características, esta metodologia vem sendo empregada não só na linha de pesquisa em produtos naturais, mais também vem sendo observada sua aplicabilidade em áreas como síntese de medicamentos, farmacologia, neurologia, química, meio ambiente, ecologia, *screening* biológico e outros (HIROTA et al, 2012).

## 4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### 4.1 Locais da pesquisa

Os processos de síntese, purificação e ponto de fusão (P.F.) de todos os compostos foram realizados no Laboratório de Síntese Orgânica (LASO), as avaliações de atividade toxicológica frente à *Artemia salina* Leach foram desenvolvidas no Laboratório de Pesquisas em Educação Química (LAPEQ), ambos os laboratórios estão localizados no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité. Já os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e carbono ( $^{13}\text{C}$ ), os espectros de infravermelho (IV) das substâncias avaliadas foram realizados na Central Analítica da Universidade Federal do Pernambuco – Campus Recife.

### 4.2 Materiais e equipamentos

#### 4.2.1 Síntese e purificação

De maneira geral utilizou-se reagentes e solventes dos fornecedores Aldrich, Vetec, Dinâmica, Neon e Cinética. Os solventes foram destilados para uma purificação adicional de acordo com os dados descrito na literatura (PERRIN, AMAREGO, 1996). O hexano e acetato de etila foram destilados através de destilação fracionada utilizando um sistema de coluna de Vigreux, já o diclorometano foi destilado sob hidreto de cálcio ( $\text{CaH}_2$ ).

A síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal foi realizada em um aparelho de irradiação de ultrassom, Ultracleaner 1400A com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência ultrassônica 135 W, seu temporizador marca de 0 a 30 minutos e aquecimento de até 60°C.

Antes do seu uso a montmorillonita K-10  $[(\text{Na,Ca})_{0,3}(\text{Al,Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}]$  foi calcinada em uma mufla a 400 °C durante 1 hora e resfriada no dissecador contendo sílica em gel azul numa atmosfera isenta de umidade.

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para o acompanhamento das reações, para tanto foram empregados sistemas



diclorometano/acetato de etila (9:1), (8:2), e hexano/ acetato de etila (5:5) A visualização dos compostos deu-se através da imersão da placa cromatográfica em um sistema H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/EtOh (9,5:0,5) e posterior queima sob chapa de aquecimento. A purificação dos compostos foi realizada por cromatografia em coluna, seguindo o método descrito por Still e colaboradores (1997), sendo utilizada sílica- gel 60 (0,063-0,2 mm/70-230 mesh ASTM) e sistemas distintos de hexano/acetato de etila, com concentrações variáveis de acordo com o composto a ser purificado.

Os solventes das soluções contendo os compostos foram evaporados em um rotaevaporador conectado a uma bomba de vácuo New Pums Sparmaz.

#### **4.2.2 Caracterização**

Os espectros de RMN 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 delterado (CDCl<sub>3</sub>), com pico em 7,258 ppm para os espectros de hidrogênio e pico central do CDCl<sub>3</sub> em 77,0 ppm para os espectros de carbono. Todas as constantes de acoplamento (*J*) foram descritas em hertz (Hz).

Os espectros de IV foram registrados em um espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier por meio do instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas como filmes finos ou pastilhas de KBr.

O P.F. dos compostos foi obtido com o Electro-thermal série IA 9100 Digital Melting Point.

#### **4.2.3 Preparação para eclosão da *Artemia salina* Leach**

Os cistos da *Artemia salina* foram adquiridos em uma loja de produtos marinhos, sendo armazenadas sob resfriamento de 5 °C até a execução dos experimentos. As larvas da *Artemia salina* foram utilizadas para determinar a Concentração Letal Média (CM<sub>50</sub>) como parâmetro de avaliação de atividade toxicológica (LOPES et al., 2002).

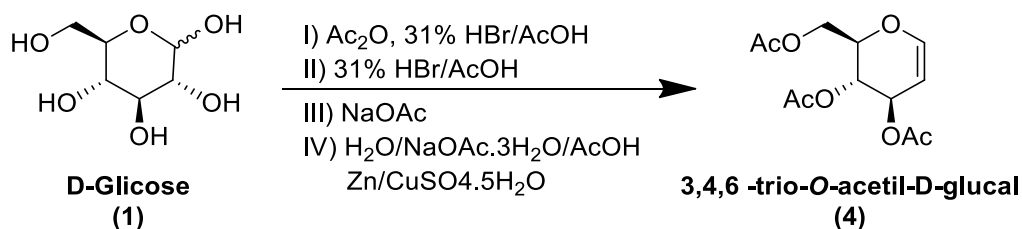
A água do mar artificial, para criação das larvas, foi preparada pela dissolução de 38 g de sal marinho (Natural Ocean<sup>®</sup>), adquirido em loja de produtos marinhos, em 1 litro de água destilada (MEYER, 1982). O pH da água salina foi verificado através de um pHmetro e foi constatado o valor de 7,92 sendo que a literatura relata um valor entre 7,5 a 8,4 indicando um caráter levemente básico da água marinha como condição favorável (SOMESB, 2007).

Para eclosão dos cistos da *Artemia salina* utilizou-se uma cuba retangular de vidro (10x15x5 cm) com uma divisória contendo vários furos de 2 mm obtendo-se dois compartimentos na cuba.

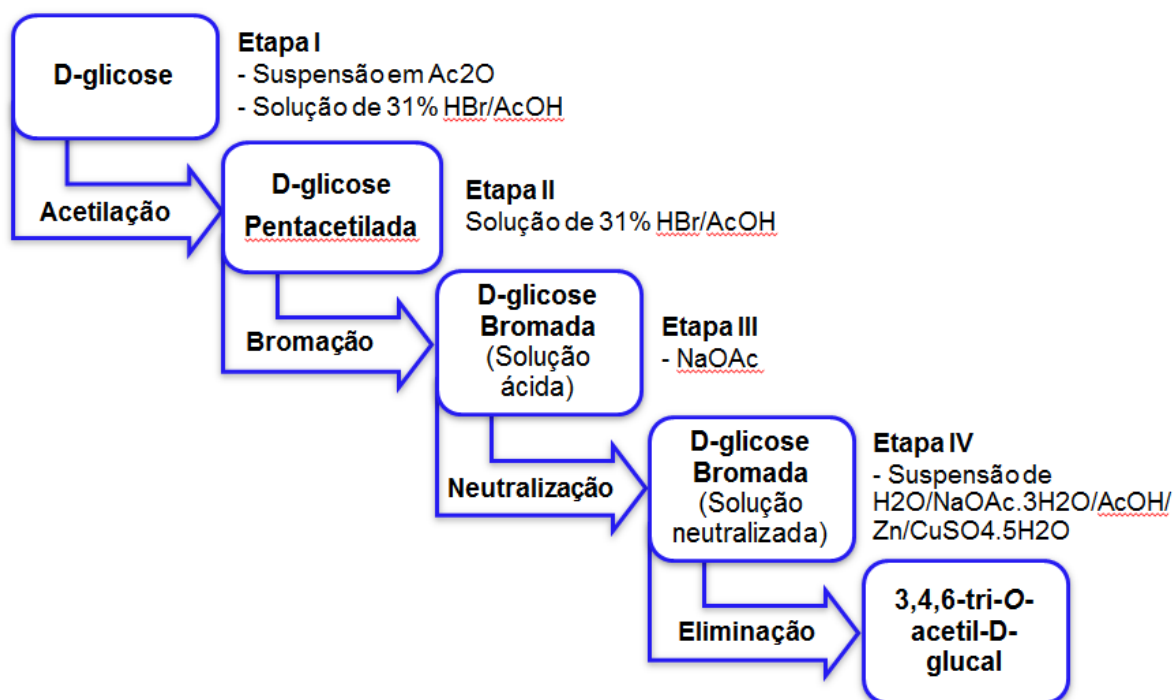
### 4.3 Procedimento experimental

#### 4.3.1 Síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4)

O 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal é um importante precursor para a síntese dos O-glicosídeos 2,3 insaturados. Porém sua preparação (SHULL, et al., 1996) se mostra de grande dificuldade principalmente devido as diversas etapas necessárias (Esquema 11) para chegar ao produto final o que acarreta em um elevado tempo reacional, o que pode causar polimerização e hidrólise do carboidrato. Buscando aperfeiçoar essas condições reacionais através da irradiação de ultrassom, a D-glicose foi submetida a sucessivas reações do tipo “one pot” (em um único frasco): acetilação (I), bromação (II), neutralização (III) e eliminação (IV) (Esquema 12).



**Esquema 11.** Síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil -D-glicose (4)



**Esquema 12.** Fluxograma das etapas da síntese do 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal (4)

#### 4.3.1.1 Metodologia clássica (Método A)

Na metodologia clássica, Shull e colaboradores utilizam a D-glicose como substrato para chegar ao 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal utilizando agitação a temperatura ambiente de acordo com a metodologia descrita a seguir.

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 500 mL preparou-se uma suspensão de D-glicose (5,0 g; 27,8 mmol) em anidrido acético (18,06 g; 16,72 mL; 7,0 mmol equiv.), posteriormente foi adicionado uma solução de 31% HBr/AcOH (2,5 mL de HBr 48% em 10,0 mL de Ac<sub>2</sub>O) na temperatura ambiente sob forte agitação durante 1 hora.

Após esse tempo, mais solução 31% HBr/AcOH (15,0 mL de HBr 48% em 60,0 mL de Ac<sub>2</sub>O) foi acrescida a mistura reacional e manteve-se à temperatura ambiente sob agitação durante 8 horas.

Passado esse tempo foi adicionado acetato de sódio anidro (10 g; 121,9 mmol) e a mistura reacional foi agitada por 30 minutos. Após a neutralização, foi adicionado a essa mistura reacional uma suspensão preparada em um segundo

balão, composta de água (50,0 mL), acetato de sódio tri hidratado (47,25 g; 347,3 mmol), ácido acético (75,0 mL),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1,575 g; 6,31 mmol) e zinco sólido (50 g; 765 mmol), sendo esta suspensão mantida sob agitação vigorosa a temperatura ambiente por 1 hora e 30 minutos.

A parte sólida foi removida por filtração a vácuo, sendo lavada com acetato de etila (200 mL) e depois com água (200 mL). A fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com soluções saturadas de  $\text{NaHCO}_3$  (150 mL), e  $\text{NaCl}$  (100 mL), sendo posteriormente seca com  $\text{MgSO}_4$ . O solvente foi filtrado e rota evaporado, sendo o produto final purificado por cromatografia em coluna usando o sistema de solventes hexano/acetato de etila (9:1) obtendo um rendimento de 98% de produto puro.

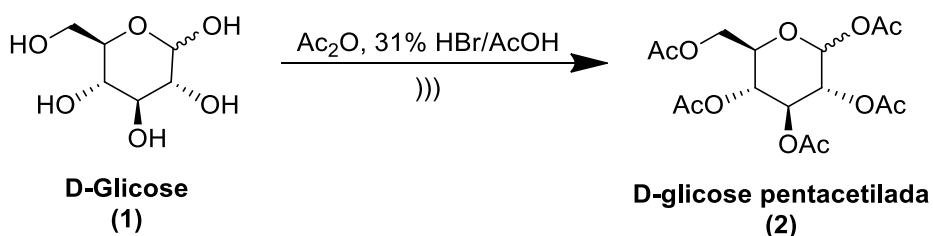
#### **4.3.1.2 Nova metodologia utilizando irradiação de ultrassom (Método B)**

Na nova metodologia desenvolvida não há alterações nos componentes da reação ou em suas quantidades. Sendo alterada apenas a fonte de energia, que nesse caso será a irradiação de ultrassom e o tipo de preparação que passa a ser *one pot* (Figura 6).



**Figura 13.** Utilização do ultrassom na síntese do tri-*O*-acetil-D-glucal

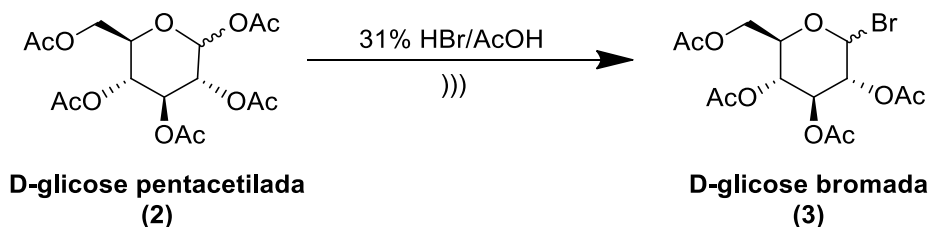
Em um balão de fundo redondo com capacidade para 500 mL preparou-se a suspensão de D-glicose (5,0 g; 27,8 mmol) em  $\text{Ac}_2\text{O}$  (18,06 g; 16,72 mL; 7,0 mmol equiv.), posteriormente foi adicionado uma solução de 31% HBr/AcOH (2,5 mL de HBr 48% em 10,0 mL de  $\text{Ac}_2\text{O}$ ) sob irradiação de ultrassom a temperatura ambiente durante 30 minutos para realizar a acetilação do carboidrato (Esquema 12).



**Esquema 13.** Etapa I - Acetilação da D-glicose

Passado esse período, outro equivalente da solução 31% HBr/AcOH (15,0 mL de HBr 48% em 60,0 mL de  $\text{Ac}_2\text{O}$ ) foi acrescentada a mistura reacional a qual foi

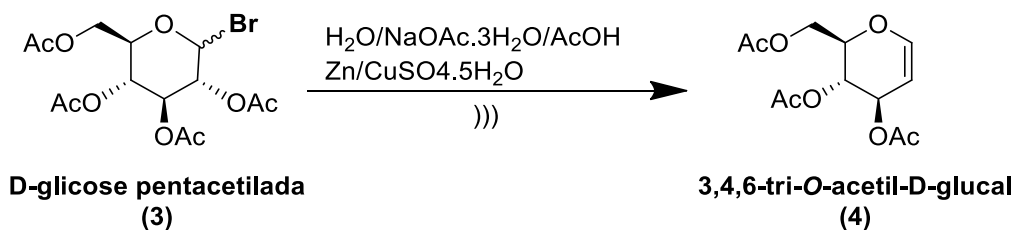
mantida sob a irradiação de ultrassom por 1 hora e 15 minutos como tempo para se obter a bromação do carbono anomérico do glicosídeo (Esquema 13).



**Esquema 14.** Etapa II - Bromação

Após esse processo é necessário neutralizar o meio ácido da solução, para isso foi adicionado NaOAc (10 g; 121,9 mmol) e a mistura reacional foi irradiada no ultrassom por 15 minutos.

Posteriormente a neutralização, foi adicionado a essa mistura reacional, no mesmo balão, H<sub>2</sub>O (50,0 mL), NaOAc.3H<sub>2</sub>O (47,25 g; 347,3 mmol), AcOH (75,0 mL), Zn em pó (50 g; 765 mmol) e CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (1,575 g; 6,31 mmol), sendo esta suspensão mantida sob irradiação de ultrassom a temperatura ambiente por 1 hora para realizar-se o processo de eliminação do bromo (Esquema 14).



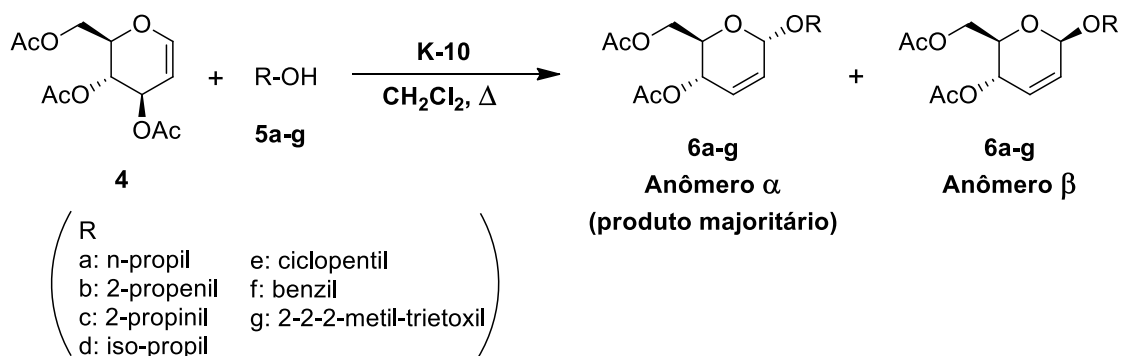
**Esquema 15.** Etapa IV - Eliminação

A parte sólida contida no balão foi removida por filtração a vácuo, sendo lavada com acetato de etila (200 mL) e depois com H<sub>2</sub>O (200 mL). A fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com soluções saturadas de NaHCO<sub>3</sub> (150 mL), e NaCl (100 mL), sendo posteriormente seca com MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi filtrado e rota evaporado, sendo o produto final purificado por

cromatografia em coluna usando o sistema de solventes hexano/acetato de etila (8,5:1,5) o produto puro foi então armazenado sob refrigeração a 5 °C.

#### 4.3.2 Síntese dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (6a-g)

Os *O*-glicosídeos 2,3 insaturados (6a-g) são obtido a partir da reação do tri-*O*-acetil-D-glucal (4) com diferentes álcoois (5a-g) na presença de um ácido de Lewis (k-10) de acordo com a metodologia de Ferrier e Prasad, 1969 (Esquema 15).



**Esquema 16.** Síntese dos *O*-glicosídeos 2,3 insaturados

Em um balão de fundo redondo de 100 mL o tri-*O*-acetil-D-glucal (4) (0,272g; 1 mmol) foi dissolvido em diclorometano seco (20 mL), posteriormente foi adicionado o álcool apropriado 5a-g (1,2 mmol) e a montmorillonita, K-10 (0,1632 g; 60% M/M). Depois o balão foi acoplado a um sistema de refluxo sob aquecimento (45-60 °C) e agitação constante, sendo a reação acompanhada com o auxílio da cromatografia de camada delgada (CCD) para estimar seu tempo de acordo com o álcool utilizado. Após o término da reação, a solução foi filtrada e seca com MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi removido sob pressão reduzida no rota-evaporador e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, utilizando um sistema de solvente hexano:acetato de etila (concentrações de acordo com cada composto), levando aos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados 6a-g (Tabela 1). Todos os compostos foram armazenados sob refrigeração a 5 °C após sua purificação através da cromatografia em coluna utilizando diferentes concentrações do sistema de solventes hexano/acetato de etila de acordo com cada glicosídeo.

#### 4.4 Bioensaio frente às larvas da *Artemia salina* Leach

O ensaio de toxicidade frente as *Artemia salina* Leach seguiu a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982).

Primeiramente é necessário realizar a eclosão e selecionar larvas de *Artemia salina* aptas ao teste de toxicidade. Para isso foi preparado um meio salino, com pH 7,92 (similar a água do mar) em uma cuba específica com uma divisória. Os cistos foram postos em um lado da divisória o qual foi coberto para resguardar da luz. O lado oposto permaneceu sob iluminação através de uma lâmpada incandescente (40 W) por 48 horas (Figura 7). Por serem fototrópicas, as larvas mais resistentes migram em direção à luz através dos orifícios da divisória, sendo essas aptas ao teste.



**Figura 14.** Incubadora das *Artemias salinas* Leach

Após 48 horas necessárias para eclosão e seleção das larvas de *Artemia salina* hábeis para o teste de toxicidade, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, são coletadas 10 artemias para diferentes tubos de ensaio previamente identificados. Nos quais foram colocadas diferentes concentrações dos compostos a serem



testados em duplicata-triplicata, tendo também um grupo controle. Em seguida a cada tubo foi adicionado o meio salino preparado até completar 2 ml de solução.

Os tubos foram deixados sob irradiação da luz incandescente (Figura 8) e após 24 horas foi realizada a leitura dos naúplios. Foram consideradas larvas mortas todas as que não apresentavam qualquer movimento normal após alguns segundos de observação e foi realizada a contagem de artemias mortas e vivas em cada tubo. A determinação da toxicidade foi realizada através do percentual de mortalidade das larvas em  $LC_{50}$ .

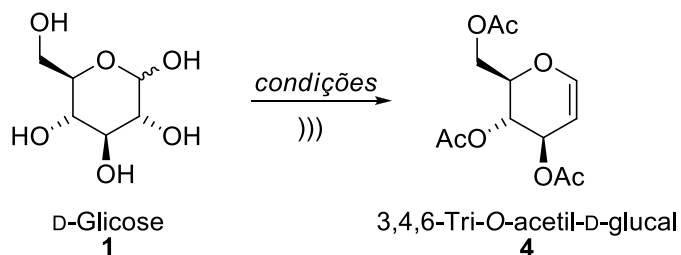


**Figura 15.** Tubos com artemias

## 5. RESULTADOS

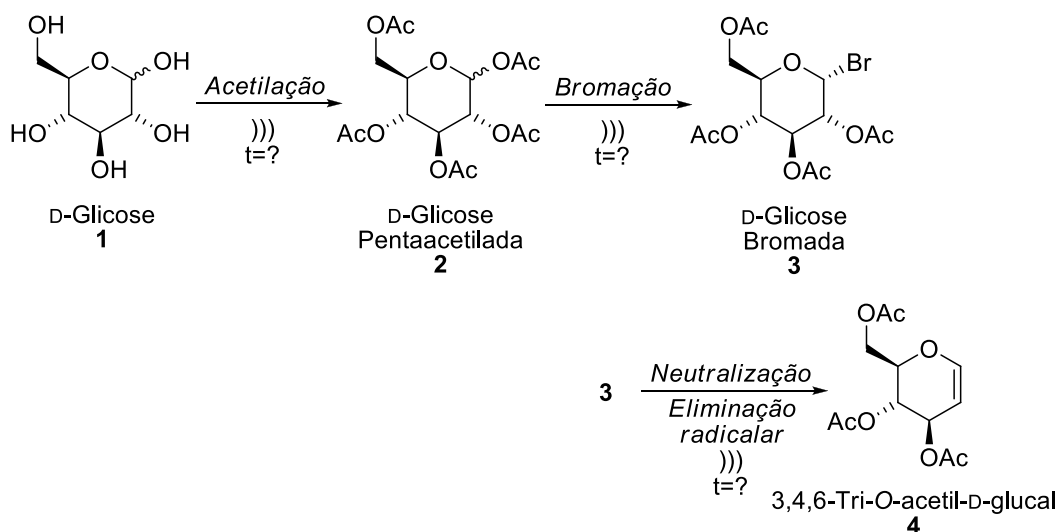
### 5.1 Síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4)

A primeira parte do trabalho consistiu no desenvolvimento de uma nova proposta sintética para a preparação do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4) utilizando a irradiação do ultrassom (Esquema 16).



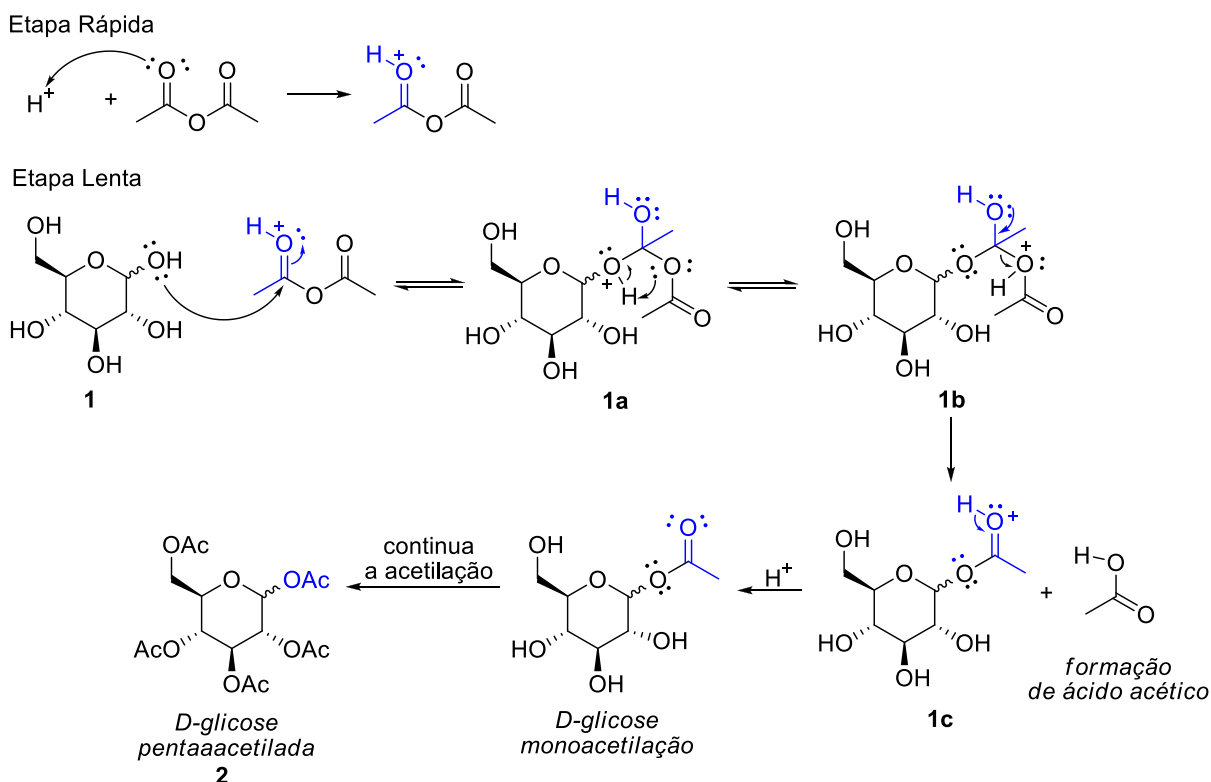
**Esquema 17.** Síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4)

Está nova proposta utilizando a irradiação do ultrassom foi baseada na metodologia desenvolvida por Shull, Wu e Koreeda (1996), e em ambas as metodologias, quatro etapas reacionais aconteceram de maneira “*one pot*”, sendo elas as reações de acetilação, bromação, neutralização e eliminação radicalar. Assim, o primeiro parâmetro que foi investigado na metodologia utilizando a irradiação do ultrassom foi o tempo reacional que cada etapa reacional levou para acontecer (Esquema 17).



**Esquema18.** Etapas reacionais da síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4)

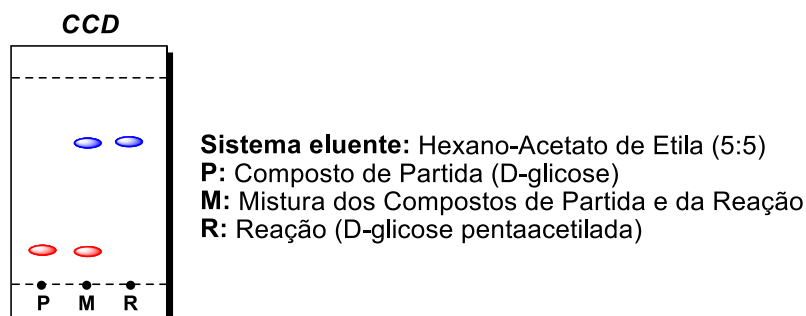
Neste sentido, o tempo mínimo para conclusão da primeira etapa, ou seja, para promover a acetilação da D-glicose (**1**) foi de 30 minutos e o mecanismo desta reação assemelhasse a reação esterificação catalisada por ácido, na qual inicialmente a carbonila do anidrido acético abstrai o próton ácido da solução (etapa rápida) tornando-a mais reativa e suscetível ao ataque do par eletrônico do oxigênio da D-glicose (**1**) levando ao intermediário **1a**. O intermediário **1a**, por sua vez, sofre um ataque intramolecular do par eletrônico do oxigênio do grupo anidrido, o que levar ao intermediário **1b**, que outra vez sofre uma reorganização intramolecular da posição do hidrogênio levando a formação do intermediário **1c** e a eliminação de ácido acético. Por fim, o intermediário **1c** é desprotonado levando a D-glicose monoacetilação, que após mais quatro reações similares levar a D-glicose pentaacetilada (Esquema 18).



**Esquema 19.** Mecanismo proposto para a acetilação da D-glicose

Vale ressaltar que em tempos inferiores à 30 min a reação de acetilação não foi completa, a não ser quando o modo aquecimento do ultrassom era ativo. Contudo, notamos que apesar da diminuição do tempo (na ordem de 50%) com o aquecimento ativo havia a formação de subproduto provavelmente fruto da abertura do anel glicopiranosídeo.

Uma vez constatada através da cromatografia de camada delgada (CCD) a formação da D-glicose pentaacetilada através do sistema eluente hexano-acetato de etila (5:5), de acordo com a Figura 15, a próxima etapa reacional foi a reação de bromação.

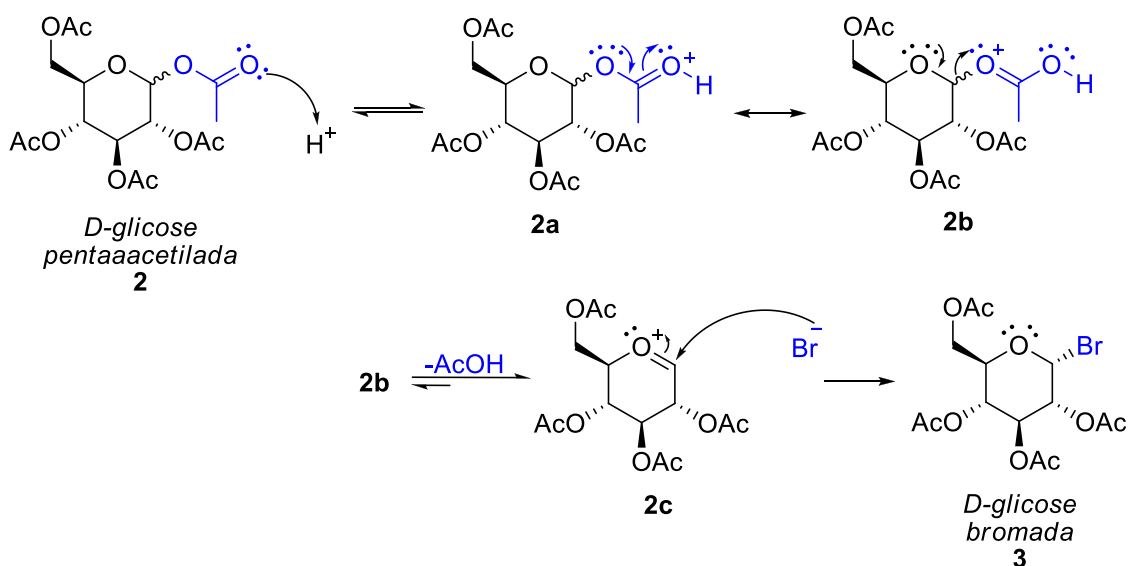


**Figura 16.** Imagem da CCD da reação de formação da D-glicose pentaacetilada

A reação de bromada da D-glicose pentaacetilada requereu o uso de uma grande quantidade de ácido bromídrico, uma vez que a função desse ácido não era catalisar a reação e sim atuar como reagente no fornecimento do átomo de bromo. Devido a isso alguns cuidados extras foram tomados envolvendo sua manipulação e a adição no sistema reacional.

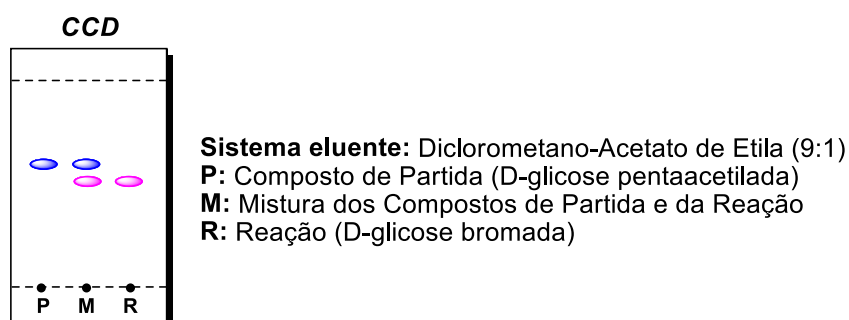
De acordo com a metodologia de Shull, Wu e Koreeda (1996), a etapa bromação é a mais lenta, de todo o processo, levando uma noite completa para acontecer “*overnight*” e como era previsto o uso da irradiação do ultrassom nesta etapa diminuiu o tempo para 1 h e 30 min. O mecanismo proposto para essa reação de bromação segue abaixo, onde o par de elétrons do grupo acila do anel glicopiranosídeo abstrai um próton da solução levando a formação do intermediário **2a**, que este por sua vez está em ressonância com intermediário **2b**. O par eletrônico do oxigênio do anel glicopiranosídeo, presente no intermediário **2b**, leva a

formação do intermediário **2c** e a eliminação do ácido acético. O cátion **2c** então sofre o ataque do íon brometo levando a formação da D-glicose bromada **3** (Esquema 19).



**Esquema 20.** Mecanismo proposto para a bromação da D-glicose

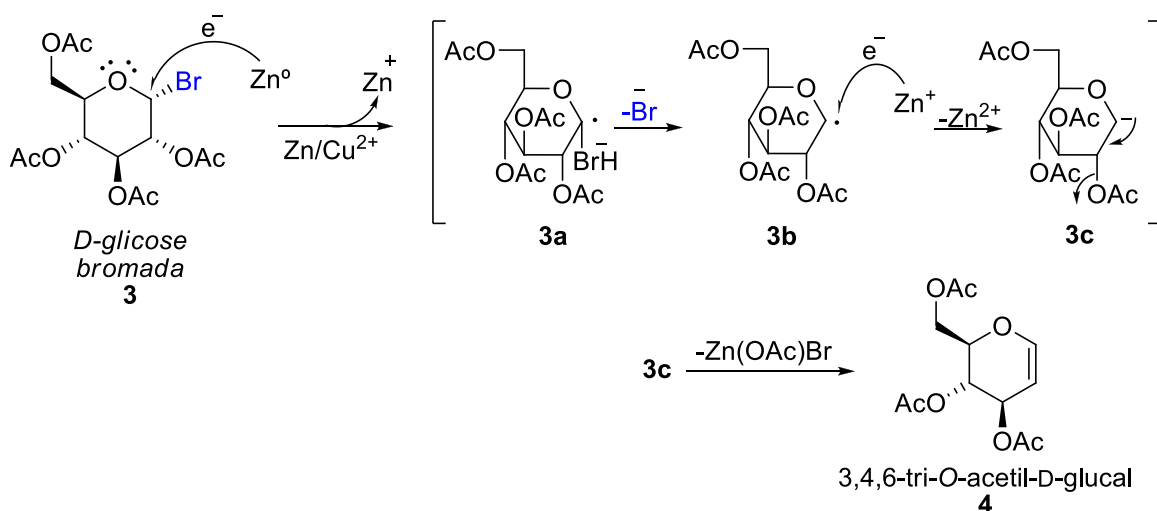
Assim, o uso da irradiação do ultrassom apenas nas etapas de acetilação e de bromação reduziu o tempo reacional, quando comparado com a metodologia de Shull, Wu e Koreeda (1996), em torno de quatro a cinco vezes, ou seja de 8 h para 1,5 h. No mais, o término da reação da bromação foi constatada com o uso da CCD (Figura 16), utilizando um sistema eluente de diclorometano-acetato de etila (9:1), pois não foi possível separar a D-glicose pentaacetilada da D-glicose bromada no sistema eluente hexano-acetato de etila (5:5).



**Figura 17.** CCD da reação de bromação

Para neutralizar o pH ácido da mistura reacional foi adicionado o sal básico acetato de sódio (NaOAc) que leva a formação de uma solução tampão de AcOH/H<sub>2</sub>O/NaOAc. Após a adição deste sal básico a mistura reacional foi colocada para irradiação sônica por um intervalo de tempo de 15 min, este baixo tempo devesse ao fato da reação de neutralização ser uma reação rápida. Em seguida, foi promovida a última etapa reacional, a eliminação radicalar, através da adição de Zn(em pó)/Cu<sup>2+</sup> para levar ao 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**).

A necessidade do uso de zinco em pó foi justificada, em 1997, através do mecanismo idealizado proposto por Somsák, Madaj e Wisniewski (Esquema 20) Neste mecanismo Somsák, Madaj e Wisniewski (1997) descreve que o papel do Zn<sup>0</sup>, que foi transferi um elétron para o carbono anomérico da D-glicose bromada **3** levando a formação do glicopiranosídeo radicalar **3a**, o qual em seguida, perder um íon brometo para gerar glicopiranosídeo radicalar **3b**. Este sofre uma reação de redução com Zn<sup>+</sup> gerando o intermediário **3c**, o qual, sofre perda de um íon acetato complexado com zinco para levar ao 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4**.

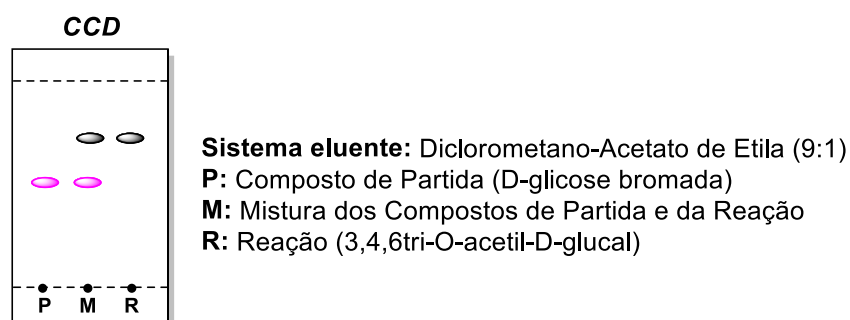


**Esquema 21.** Mecanismo da eliminação radicalar da D-glicose bromada proposto por Somsák, Madaj e Wisniewski (1997)

Adicionalmente, a literatura descreve que reações heterogênicas apresentam problemas de reprodutividade, sendo a qualidade do metal empregado um fator determinante para a eficiência de reações que envolvam transformações

organometálicas. Por causa disso, foi adicionado o  $\text{Cu}(\text{SO}_4) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ao zinco em pó afim de aumentar sua reatividade, e por consequência, aumentar o rendimento da síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4**.

A conclusão da reação de eliminação radicalar foi constatada com o uso da CCD (Figura 17), utilizando um sistema eluente de diclorometano-acetato de etila (9:1), havendo a separação da D-glicose bromada e do tri-*O*-acetil-D-glucal.



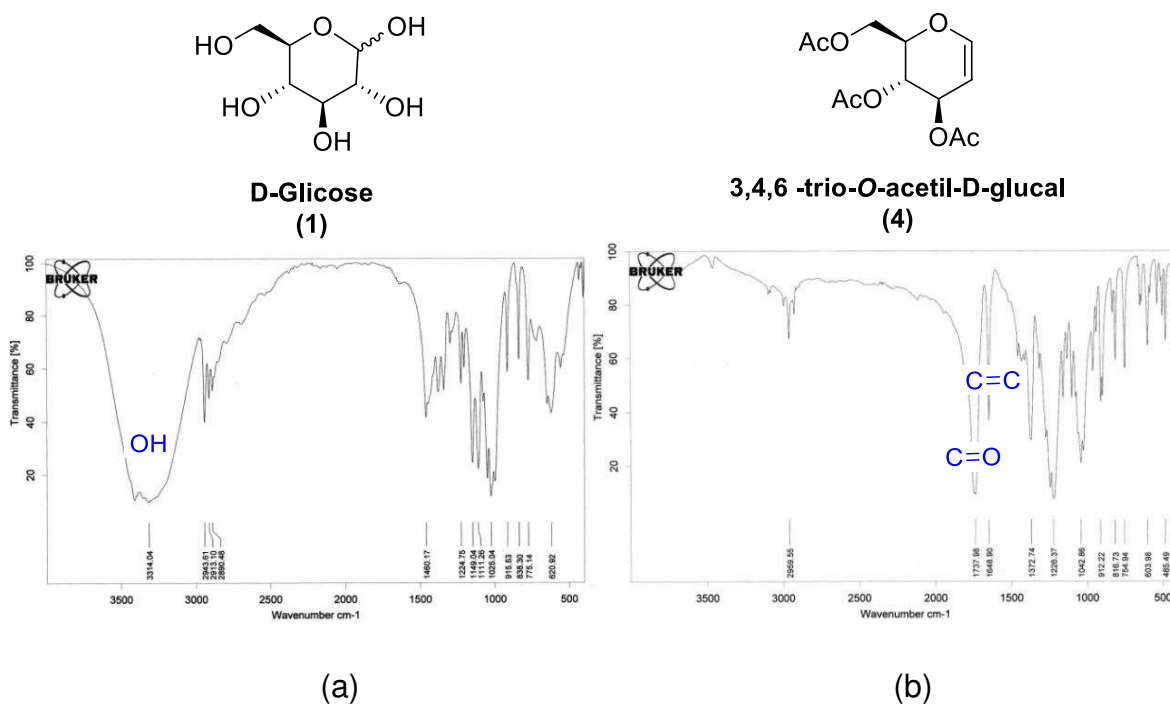
**Figura 18.** CCD da eliminação radicalar do bromo e formação do tri-*O*-acetil-D-glucal

Assim, a etapa de eliminação radicalar utilizando a irradiação de ultrassom levou 1 hora para acontecer, onde somando o tempo de todas as etapas envolvidas na reação de preparação do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** foi de aproximadamente 3 h, o que representa uma redução do tempo reacional de aproximada de 4 vezes quando comparasse a metodologia de Shull, Wu e Koreeda (1996) com a desenvolvida neste trabalho (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tempos reacionais dos Métodos A e B para síntese do composto **4**

Etapas da Reação	Tempo relativo a cada etapa	
	Método A	Método B
<b>Etapa I - Acetilação</b>	1 h	30 min
<b>Etapa II - Bromação</b>	8 h	1 h e 15 min
<b>Etapa III - Neutralização</b>	30 min	15 min
<b>Etapa IV - Eliminação</b>	1h e 30 min	1 h
<b>TEMPO TOTAL</b>	<b>11 h</b>	<b>3 h</b>

O 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** foi obtido, utilizando a irradiação do ultrassom, com 95% de rendimento e caracterizado pelos métodos espectrométricos usuais. Comparando os espectros de IV da D-glicose e do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (Figura 17), foi possível observar, no espectro de IV da D-glicose, uma deformação axial em  $3314\text{ cm}^{-1}$ , sendo está uma região típica do grupo  $\text{-OH}$ , em contrapartida, no espectro do composto **4** não observamos esse deformação axial, indicando que o mesmo não possui mais os grupos  $\text{-OH}$ . Outro ponto importante foi a visualização da deformação axial em  $1737\text{ cm}^{-1}$ , típica do grupo carbonila, onde tais carbonilas estão apenas presentes nos grupos  $\text{-OAc}$  do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4**.

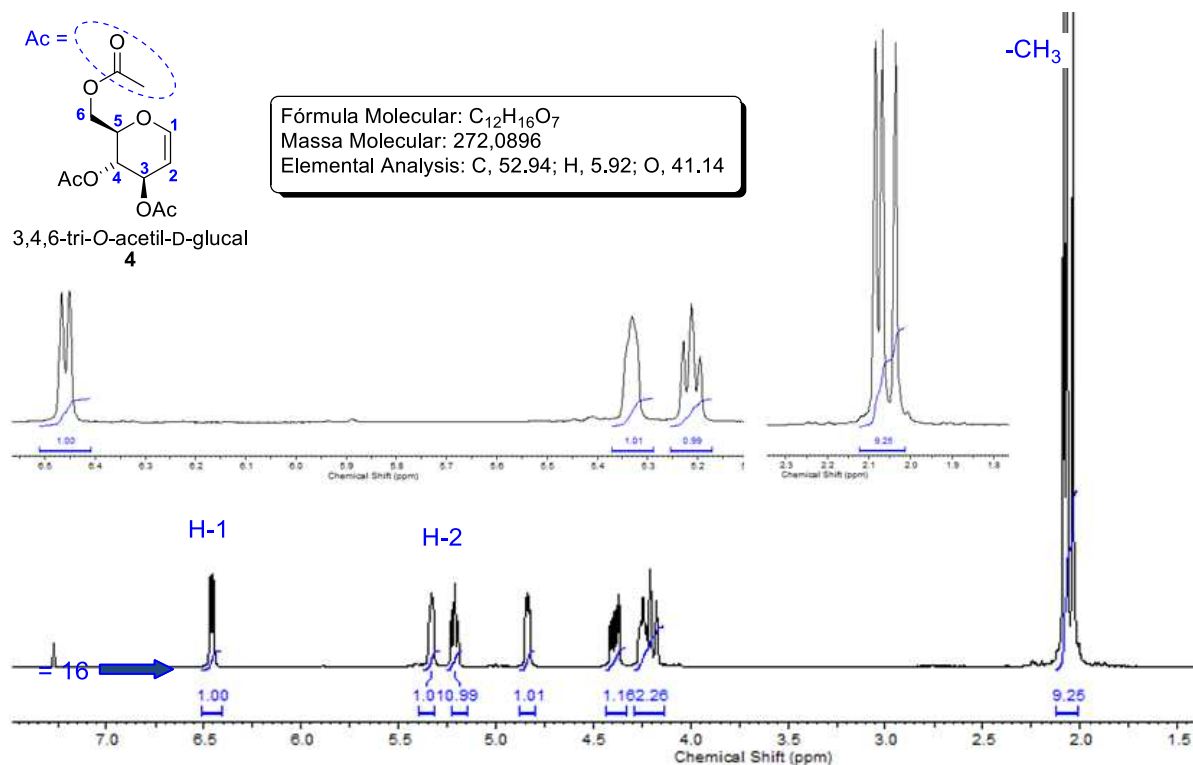


**Figura 19.** Espectro de infravermelho da glicose (a) e do tri-*O*-acetil-D-glucal (b)

Analisando o espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** (Figura 18) é possível destacar duas regiões, uma referente aos hidrogênios metílicos do grupo  $\text{OAc}$  e os hidrogênios vinílicos. Assim, na região entre 2,08-2,03 ppm observa-se os três singletos com um valor de integral relativo a nove hidrogênios, referentes aos hidrogênios dos grupos metilas presentes em  $\text{-OAc}$ . Nas regiões de 6,46 ppm e 5,21 ppm aparecem um dubleto e um triplesse



respectivamente e ambas com integral de área relativa a um hidrogênio e podemos associá-los os hidrogênios vinílicos dos carbonos 1 e 2, no qual o dubleto se refere ao hidrogênio do C-1 e o tripleto se refere ao hidrogênio do C-2. No mais, constatasse que somatório das integrais das áreas de cada sinal no espectro é igual ao total de hidrogênio que o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** apresenta, ou seja, 16.



**Figura 20.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300Mhz, CDCl<sub>3</sub>)do 3,4,6-tri-*O*-aceteil-D-glucal

No espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN <sup>13</sup>C) do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** foi possível notar que existe 12 carbonos com deslocamentos químicos diferentes. Na região situada entre 171-169 ppm observa-se os três sinais referentes aos carbonos carbonílicos (C=O), o que enfatiza a conversão dos grupos hidroxilas do composto de partida (D-glicose) ao acetato correspondente (Figura 19).

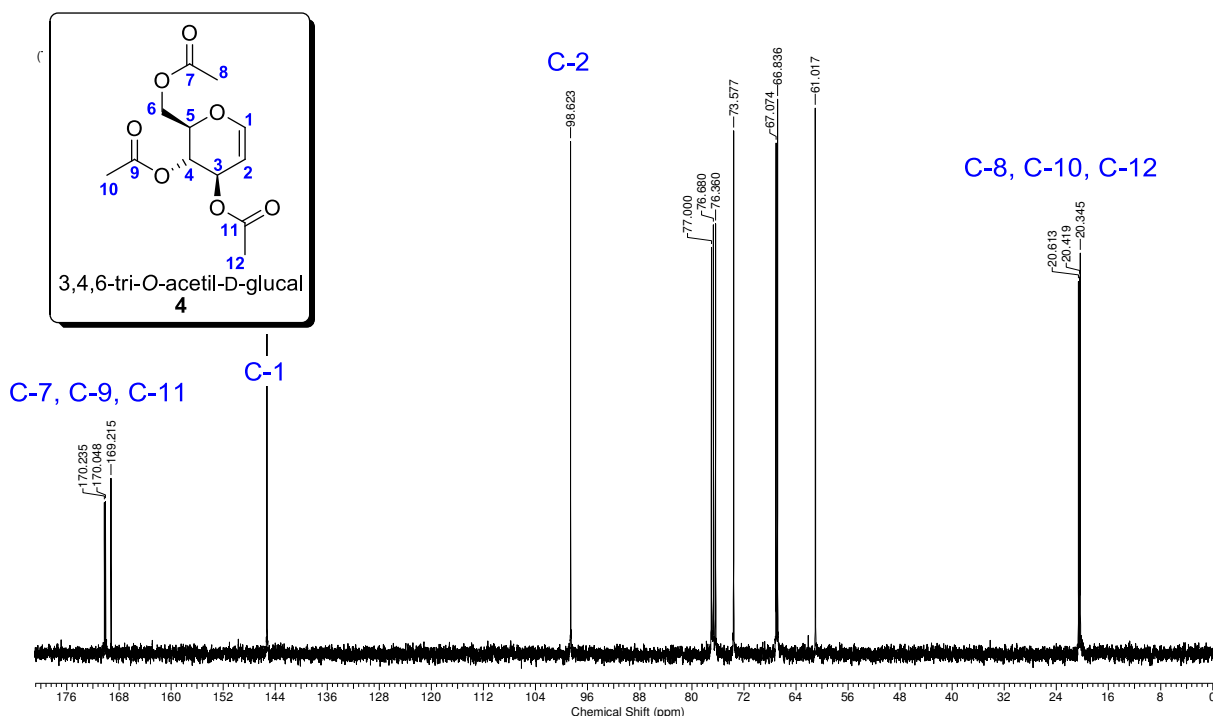
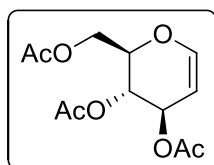


Figura 21. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal

### 5.1.2 Dados espectrométricos do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (4)

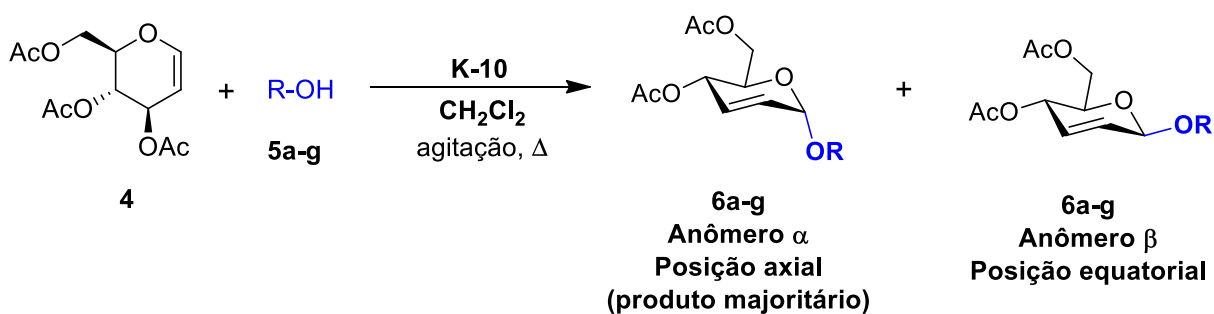


3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (**1**): 7,09 g (95%); Sólido branco amorfo; P. F. 53-54 °C [literatura (Franz et al., 2002) 52-53°C]; IGC-Pureza (99,9%);  $[\alpha]_D^{20}$  -10,4 (*c* 1,00; MeOH) [literatura (Franz et al., 2002)  $[\alpha]_D^{25}$  -59.0 (*c* 1,00; EtOH)]; IV (Pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}$  2959, 1738, 1649, 1373, 1226, 1043  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,45 (*d*, 1H, H1, *J* = 6,0 Hz), 5,32 (*sl*, 1H, H2), 5,20 (*t*, 1H, H3, *J* = 5,7 Hz), 4,84-4,81 (*m*, 1H, H5), 4,38 (*dd*, 1H, H4, *J* = 12,0 e 5,7 Hz), 4,25-4,16 (*m*, 2H, H6 e H6'), 2,07 (*s*, 3H, OAc), 2,06 (*s*, 3H, OAc), 2,02 (*s*, 3H, OAc); RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170,5; 170,4; 169,5; 145,6; 98,9; 73,8; 67,4; 67,1; 61,3; 20,9; 20,7; 20,7.

## 5.2 Síntese dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (6a-g)

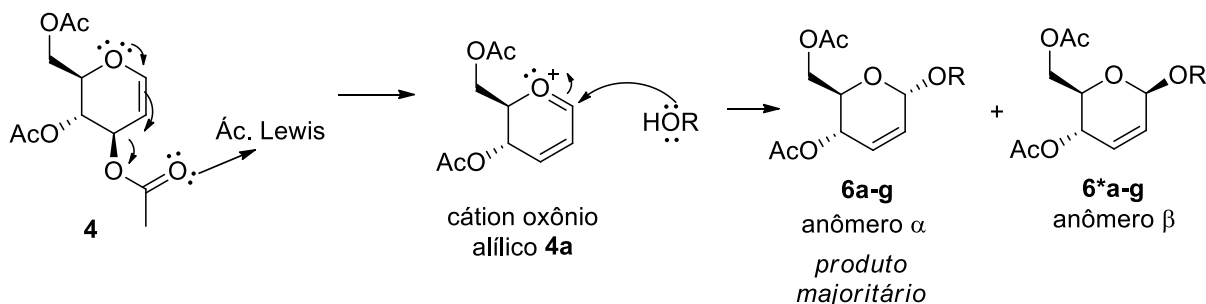
Uma vez sintetizado o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** o próximo passo foi realizar a síntese dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados **6a-g** através da catálise heterogênea utilizando a montmorillonita K-10 como ácido de Lewis. Nesta reação denominada de glicosidação ou Rearranjo de Ferrier, o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal **4** pode levar a

formação de dois diastereoisômeros, ou seja, o anômero  $\alpha$  (onde o substituinte do C-1 está na posição axial) e o anômero  $\beta$  (onde o substituinte do C-1 está na posição equatorial) conforme mostra o Esquema 21. Contudo, o anômero  $\alpha$  é o produto majoritário devido a vários fatores, tais como: i. Efeito anomérico; ii. Tipo do nucleófilo; iii. Assistência anquimérica; iv. Impedimento estérico; v. outros.



**Esquema 22.** Síntese dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (**6a-g**) utilizando a montmorillonita como ácido de Lewis

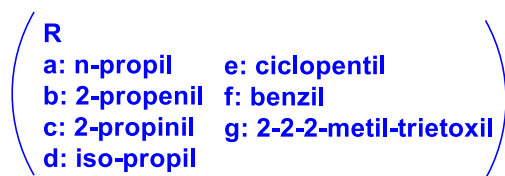
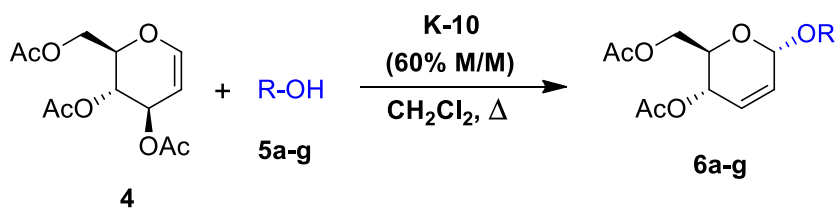
Nesta reação de glicosidação a presença do ácido de Lewis é fundamental, uma vez que o mesmo tem função de favorecer a saída do grupo acetil presente no C-3, levando a formação do cátion oxônio alílico **4a**, onde este é mais suscetível ao ataque nucleofílico do álcool (Esquema 22).



**Esquema 23.** Proposta de mecanismo dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (**6a-g**)

O K-10 tem coloração inicial bege, mas com a evolução da reação sua coloração aos poucos se modifica para um tom de cinza escuro. Este fenômeno visual além de ser um indicativo que a reação está acontecendo salienta a formação do complexo K-10(OAc) que pode ser facilmente removido da reação por simples filtração. Outro ponto importante que foi observado, foi que dependendo do álcool utilizado os tempos reacionais variaram de 45-80 min conforme mostra a Tabela 1.

**Tabela 2.** Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados (**6a-g**) promovida por montmorilonita K-10

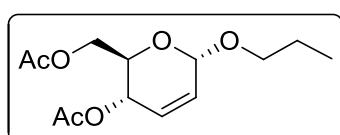


	ROH	Produto	Tempo (min)	Rendimento (%) <sup>*</sup>
1	<b>5a</b>		60	91%
2	<b>5b</b>		45	93%
3	<b>5c</b>		60	95%
4	<b>5d</b>		80	89%
5	<b>5e</b>		45	93%
6	<b>5f</b>		120	94%
7	<b>5g</b>		600	79%

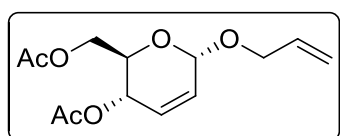
\* Rendimento do produto isolado

Analisando a tabela 1, foi possível constatar que o tipo de álcool (saturado ou insaturado, aromático e alifático) utilizados não influenciou significativamente no rendimento e no tempo reacional, com exceção do álcool **2g** que apresentou um elevado tempo reacional, associado possivelmente a fatores estéricos e eletrônicos. Outro ponto que merece ser ressaltado foi a completa caracterização dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, **6a-g**, pelo métodos espectroscópicos usuais (IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , ponto de fusão, rotação específica e massas de alta resolução), conforme descrito na parte experimental.

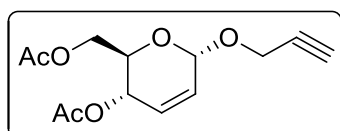
### 5.2.1 Dados Espectrométricos dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados (6a-g)



*n*-Propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-dideoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6a**: 0,252 g (93%); óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%); IV (filme)  $\nu_{\text{max}}$  2964, 2881, 1747, 1450, 1371, 1234, 1182, 1105  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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,  $-\text{OAc}$ ), 2,05 (*s*, 3H,  $-\text{OAc}$ ), 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  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.

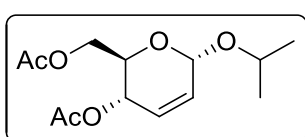


Prop-2-en-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-dideoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6b**: 0,242 g (96%); óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%); IV (filme)  $\nu_{\text{max}}$  2920, 1743, 1642, 1371, 1235, 1039  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,98-5,83 (*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,  $-\text{OAc}$ ), 2,05 (*s*, 3H,  $-\text{OAc}$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.

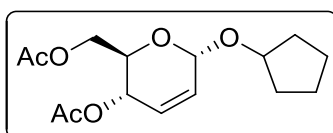


Prop-2-in-1-il 4,6-di-*O*-acetil-2,3-dideoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6c**: 0,246 g (95%); Sólido branco; P.F. 58-

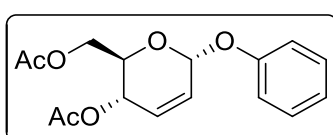
59°C; IGC-Pureza (99,9%);  $[\alpha]_D^{20} +138,6$  (c 1,00; MeOH); IV (KBr)  $\nu_{\max}$  3296, 3058, 2918, 2129, 1741, 1373, 1235, 1038, 966, 907, 737  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,90 (*dl*, 1H, H3,  $J = 10,2$  Hz), 5,82 (*dt*, 1H, H2,  $J = 10,2$  e 1,5 Hz), 5,33 (*ddd*, 1H, H4,  $J = 9,6; 3,0$  e 1,5 Hz), 5,22 (*sl*, 1H, H1), 4,29 (*d*, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J = 2,4$  Hz), 4,25 (*dd*, 1H, H6,  $J = 12,4$  e 5,4 Hz), 4,16 (*dd*, 1H, H6',  $J = 12,4$  e 2,4 Hz), 4,07 (*ddd*, 1H, H5,  $J = 9,6; 5,4$  e 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  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.



*Iso-Propil* 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6d**: 0,251 g (91%); óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%); IV (filme)  $\nu_{\max}$  2971, 2902, 1745, 1450, 1372, 1317, 1233, 1184, 1127  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.

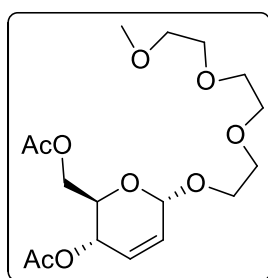


*Ciclopentil* 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6e**: 0,256 g (93%); óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%); IV (filme)  $\nu_{\max}$  2940, 2861, 2673, 2137, 1746, 1456, 1373, 1234, 1039  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.



*Benzil* 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo **6f**: 0,271 g (90%); óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%); IV (filme)  $\nu_{\max}$  3030, 2899, 1745, 1656,

1490, 1451, 1371, 1234, 1042, 696  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,34-7,24 (*m*, 5H,  $\text{H}_{\text{aromático}}$ ), 5,88 (*dl*, 1H, H-3,  $J_{3,2} = 10,5$  Hz), 5,86-5,82 (*m*, 1H, H-2), 5,35-5,31 (*m*, 1H, H-4), 5,10 (*sl*, 1H, H-1), 4,78 (*d*, 1H,  $\text{OCH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)$ ,  $J = 12,0$  Hz), 4,56 (*d*, 1H,  $\text{OCH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)$ ,  $J = 12,0$  Hz), 4,25 (*dd*, 1H, H-6,  $J_{6,6'} = 11,8$  Hz e  $J_{6,5} = 5,4$  Hz), 4,16 (*dd*, 1H, H-6',  $J_{6',6} = 11,8$  Hz e  $J_{6',5} = 2,4$  Hz), 4,13 (*ddd*, 1H, H-5,  $J_{5,4} = 12,3$  Hz,  $J_{5,6} = 5,4$  Hz e  $J_{5,6'} = 2,4$  Hz), 2,09 (*s*, 3H, -OAc), 2,07 (*s*, 3H, -OAc); RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170,8; 170,3; 137,6; 129,3; 128,5; 128,0; 127,9; 127,8; 93,6; 70,3; 67,1; 65,3; 62,9; 20,9; 20,8.



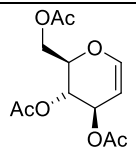
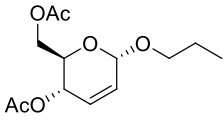
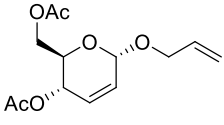
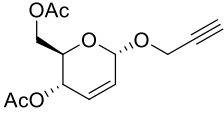
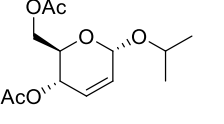
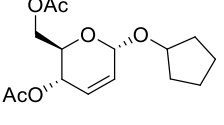
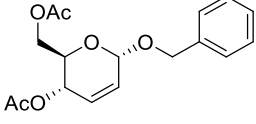
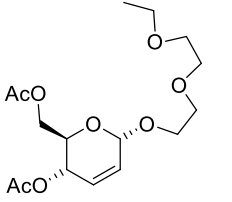
2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etanol 4,6-di-O-acetil-2,3-dideoxi- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo **6g**: 0,328 g (79 %); aspecto gelatinoso a 5 °C e a t.a. apresenta-se como um óleo incolor; IGC-Pureza (99,9%);  $[\alpha]_D^{20} +61,3$  (c 1,00, MeOH); IV (Pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}$  2878, 1743, 1453, 1371, 1237, 1048  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$

(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,86 (*sl*, 2H, H-2, H-3), 5,31 (*dl*,  $J_{4-5} = 9,6$  Hz, 1H, H-4), 5,07 (*sl*, 1H, H-1), 4,25 (*dd*,  $J_{6-6'} = 12,0$  Hz,  $J_{6-5} = 5,1$  Hz, 1H, H-6), 4,16 (*dd*,  $J_{6'-6} = 12,0$  Hz,  $J_{6'-5} = 2,1$  Hz, 1 H, H-6'), 4,10 (*ddd*,  $J_{5-4} = 9,6$  Hz,  $J_{5-6} = 5,1$  Hz,  $J_{5-6'} = 2,1$  Hz, 1H, H-5), 3,74-3,61 (*m*, 10H,  $\text{OCH}_2$ ), 3,55-3,52 (*m*, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 3,34 (*s*, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,09 (*s*, 3H, OAc), 2,07 (*s*, 3H, OAc); RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170,8, 170,3, 129,1, 127,7, 94,6, 71,9, 70,6, 70,5, 70,3, 67,8, 66,8, 65,2, 62,9, 58,9, 20,9, 20,8; HRMS (ESI, MeOH:H<sub>2</sub>O) calcd para  $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{Na}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 399, 1631; encontrado 399, 1476.

### 5.3 Testes com *Artemias salina* Leach

Uma vez sintetizados o 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal **4** e os O-glicosídeos 2,3-insaturados, **6a-g**, o que totaliza oito compostos o próximo passo foi avaliar sua toxicidade frente as larvas da *Artemia Salina* Leach. Esse bioensio foi utilizado devido sua simplicidade e custo de operação, além de fornecer subsídios sobre a viabilidade de realizar outros testes, tais como: fungicida e acaricida desses compostos. Assim, na Tabela 2 estão sumarizados a faixa em que se encontra o  $\text{LC}_{50}$  dos compostos testados.

**Tabela 3.** Bioensaio do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal (**4**) e dos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados, (**6a-g**) frente as larvas da *Artemia salina* Leach

	<b>Compostos</b>	<b>LC<sub>50</sub>(ppm)*</b>
1	 <b>4</b>	1250-1500
2	 <b>6a</b>	1000-1500
3	 <b>6b</b>	3000-4000
4	 <b>6c</b>	700-800
5	 <b>6d</b>	1250-1500
6	 <b>6e</b>	500-1000
7	 <b>6f</b>	300-400
8	 <b>6g</b>	2500-2750

\*ppm = partes por milhão



De acordo com a Tabela 2 os compostos que apresentaram uma maior toxicidade frente as larvas da *Artemia Salina* Leach foram os O-glicosídeos 2,3-insaturados **6c**, **6e** e **6f**, enquanto que o menos citotóxico foi o O-glicosídeos 2,3-insaturados **6b**.

Como perspectiva será realizado a determinação exata do LC<sub>50</sub> desses compostos.

## 6. CONCLUSÃO

Em suma, a partir dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- O 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal foi sintetizado com 95% de rendimento na forma de um sólido amorfo utilizando a irradiação do ultrassom e o tempo necessário para sintetiza-lo foi aproximadamente quatro vezes menor quando comparado com a metodologia descrita na literatura;
- Semelhantemente a metodologia descrita na literatura para a síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal o novo método utilizando a irradiação do ultrassom foi do tipo *one pot*, onde aconteceram sucessivamente as reações de acetilação, bromação, neutralização e eliminação radicalar;
- Foram sintetizados sete *O*-glicosídeos 2,3-insaturados a partir da reação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal e diferentes alcoóis utilizando como ácido de Lewis montmorilonita K-10, onde os mesmos foram obtidos com rendimentos que variaram de 79 a 95% e tempos reacionais na ordem de 45 min a 10 horas;
- E os bioensaios demonstraram que cinco compostos apresentaram baixas toxicidades ( $LC_{50} > 1000$  ppm) e três compostos moderadas toxicidades ( $LC_{50} < 1000$  ppm) frente as larvas da *Artemia salina* Leach.

## 7. REFERÊNCIAS

- AKAO, T.; et al. Evaluation of Salicin as an Antipyretic Prodrug that does not Cause Gastric Injury. **Planta Medica**, v. 68, p. 714-718, 2002.
- ALLINGER, N. L. et al. Química Orgânica, 2<sup>a</sup> ed., Guanabara dois, Rio de Janeiro, 1976.
- ANDRIOLLI, A. C. et al.; Avaliação do potencial citotóxico de 2-piridiniformamida tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe(III) utilizando *Artemia salina*; Revista Saúde e Ambiente / **Health and Environment Journal**, v. 8, nº 2, 2007.
- ARCANJO, D. D. R. et al.; Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine; **Braz. J. Biol.**, vol. 72, no. 3, p. 505-509, 2012.
- BABU, B. S.; BALASUBRAMANIAN, K. K. Lithium tetrafluoroborate catalyzed Ferrier rearrangement - Facile synthesis of alkyl 2,3-unsaturated glycopyranosides **Synthetic Communications**. V. 29, p. 4299-4305, 1999.
- BOOTH, H.; KHEDHAIR, K. A. *Endo*-Anomeric and *exo*-anomeric effects in 2-substituted tetrahydropyrans. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 8, p. 467-468, 1985.
- BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. Pearson Prentice Hall, 4<sup>a</sup> ed., vol. 2, São Paulo, 2006.
- CAREY, F.A.; Química Orgânica, vol 1, 7<sup>a</sup> ed., Bookman, Porto Alegre, 2011.
- CELLA, R.; STEFANI, H.A.; Ultrasound in Heterocycles Chemistry. **Tetrahedron**, v.65, p.2619-2641, 2009.
- CHAMPE, PC; HARVEY, R; FERRIER, DR. Bioquímica ilustrada. 4<sup>a</sup>. edição Porto Alegre: Artmed, 2007.

CHEN, P.; LIN, L.; RuCl<sub>3</sub>•3H<sub>2</sub>O as catalyst for Ferrier rearrangement: an efficient procedure for the preparation of pseudoglycosides. **Tetrahedron**, v. 69, p. 10045-10051, 2013.

COSTA, D. A. et al.; First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L.(Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 1, 48-50, 2009

DEELERTPAIBOON, P. et al.; Efficient synthesis of alkyl 2,3-unsaturated glucopyranosides from glycols mediated by ytterbium(III) triflate–trialkyl aluminum **Tetrahedron Letters**. Bangkok, v. 50, p. 6233-6235, 2009.

DENG, S.; GANGADHARMATH, U.; CHANG, C.-W. T.; Sonochemistry: A Powerful Way of Enhancing the Efficiency of Carbohydrate Synthesis. **J. Org.Chem.**, v.71, p.5179-5185, 2006.

DING, F.; WILLIAM, R.; LIU, X.-W.; Ferrier-Type N-Glycosylation: Synthesis of N-Glycosides of Enone Sugars. **The Journal of organic chemistry**. Singapore, v.78, p. 1293-1299, 2013.

ELIEL, E. L.; GIZA, C. A. Conformational analysis. XVII. 2-Alkoxy- and 2-alkylthiotetrahydropyrans and 2-alkoxy-1,3-dioxanes. Anomeric effect. **The Journal of the Organic Chemistry**. Notre Dame, v. 33, p. 3754-3758,1968.

FERAZ FILHA, Z.S. et al.; Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lychnophoriopsis candelabrum* and different *Lychnophora* species; **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.2, p.358-361, 2012.

FERREIRA, V. F. Carboidratos Abundantes em Síntese Orgânica. **Quim. Nova** 18(2), 267-273, 1994.

FERREIRA, V. F.; SILVA, F. C.; PERRONE, C. C. Sacarose no Laboratório de Química Orgânica de Graduação. **Química Nova. Rio de Janeiro**, v. 24, n. 6, p. 905-907, 2001.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D.R.; SILVA F. C.; Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares; **Quím. Nova**; vol. 32, nº 3 , pag. 623-638, 2009; ISSN 0100-4042.

FERRIER, R. J.; PRASAD, N. Unsaturated Carbohydrates. Part IX. Synthesis of 2,3-Dideoxy- $\alpha$ -D-erythro-hex-2-enopyranosides from Tri-O-acetyl-D-glucal. **Journal of the Chemical Society C: Organic**. Malet Street, p. 570-575, 1969.

FISCHER, E. H. Über die Glucoside der Alkohole. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**. v. 26, p. 2400, 1893.

FRANÇOIS, O. K.; BALZARINI, J.; Potential of Carbohydrate-Binding Agents as Therapeutics Against Enveloped Viruses. **Medicinal Research Reviews**. Leuven, v, 32, p. 349-387, 2012.

FREITAS FILHO, J. R. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco. **2001**.

FREITAS FILHO, J. R.; SRIVASTAVA R. M.; SILVA W. J. DA; COTTIER, L.;SINOUE, D. Synthesis of new branched-chain amino sugars **Carbohydrate Research**, Recife, v. 338, p. 673-680, 2003.

FREITAS, J. C. R; Síntese de glicosídeos e dissacarídeos 2,3-insaturados via rearranjo de Ferrier - Monografia de Graduação, **2008**.

FREITAS, J. C. R; Aplicação de reagentes de telúrio na síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados e da (+/-)-massoialactona – Dissertação de Mestrado, **2010**.

FREITAS, J. C. R.; et al. Stereoselective synthesis of pseudoglycosides catalyzed by TeCl<sub>4</sub> under mild conditions. **Tetrahedron**, Recife, v. 68, p. 10611-10620, 2012.

FREITAS, J. C. R.; FREITAS, J. R. DE; MENEZES, P. H. Stereoselective Synthesis of 2,3-unsaturated-O-Glycosides promoted by TeBr<sub>4</sub> **Journal of the Brazilian Chemical Society**., v. 21, n. 11, p. 2169-2172, 2012.

GOMEZ, A. M.; LOBO, F.; URIEL, C.; LÓPEZ, J. C.. Recent Developments in the Ferrier Rearrangement. **European Journal of Organic Chemistry**, Madrid, p. 7221-7262, 2013.

HIROTA, B. C. K. et al.; Toxicity evaluation *in vitro*: applicability of brine shirimp *Artemia salina* lethality assay; **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.13, n.2, Abr. - Jun./2012 - ISSN 1518-5192

KARDOS, N.; LUCHE, J.-L.; Sonochemistry of carbohydrate compounds; **Carbohydr. Research**; vol 332, pag. 115 -131, 2001.

KIM, H.; MEN, H.; LEE, C. Stereoselective Palladium-Catalyzed O-Glycosylation Using Glycals. **Journal of the American Chemical Society**, New Jersey, v. 126, p. 1336-1237, 2004.

KLINGENBERG, M. The ADP and ATP transport in mitochondria and its carrier. **Biochimica et Biophysica Acta**. München, v. 1778, p. 1978-2021, 2008.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M.M. Princípios de Bioquímica. 4 ed., Sarvier, São Paulo, 2007.

LEITÃO, A.; et al. Structure-activity relationships of novel inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. Belo Horizonte, v. 14, p.2199-2204, 2004.

LIU, Z. J. et al.; Syntheses of 5'-O-glycosylnucleosides. **Tetrahedron Asymmetry**, Beijing, v. 10, p. 2119-2127, 1999.

LÓPEZ, J. C. et al.; Rearrangement under Nonacidic Conditions Based on Iodonium-Induced Rearrangements of Allylic n-Pentenyl Esters, n-Pentenyl Glycosides, and Phenyl Thioglycosides. **The Journal of organic chemistry**. Madrid, v. 60, p. 3851-3858, 1995.

MARTINES, M.A.U; DAVOLOS, M.R; JÚNIOR, M.J.; O Efeito do Ultra-Som em Reações Químicas. **Quim. Nova**, v.23, p.251-256, 2000.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, n.5, p.31-4, 1982.

MUHIZI, T.; COMA, V.; GRELIER, S. Synthesis and evaluation of N-alkyl- $\beta$ -D-glucosylamines on the growth of two wood fungi, *Coriolus versicolor* and *Poria placenta*. **Carbohydrate Research**. France, v. 343, p. 2369-2375, 2008.

MOTTA, V. T.; Bioquímica Clínica para o Laboratório; 5ª ed. Editora Medbook, Rio de Janeiro, 2009.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K. G.; MAYES, P. A.; V. W. H.; Harper - Bioquímica ilustrada. 27. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Brasil, 2007.

MOREIRA, F. P. A. et al.; Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* – Bioatividade sobre *Artemia salina*; **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 3, 309-311, 2003.

NAGARAJ, P.; RAMESH, N. G. Direct Ferrier rearrangement on unactivated glycals catalyzed by indium (III) chloride. **Tetrahedron Letters**. New Delhi, v. 39, p. 3970-3973, 2009.

NAIK, P. U. et al.; Metal nitrates catalysed O-glucosylation using acetyl glucal in organic solvents and ionic liquids: A comparative investigation. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. India, v. 234, p. 35-43, 2005.

NGUEFACK; J.-F, BOLITT, V.; SINOU, D. Palladium-Mediated Cyclization on Carbohydrate Templates. 2. Synthesis of Enantiopure Tricyclic Compounds. **The journal of organic chemistry**. France, v. 62, 682, 1997.

NEVES FILHO, R.A.W.; DE OLIVEIRA, R.N. Application of Ultrasound Irradiation in Carbohydrate Synthesis. **Org. Chem. Highlights**, 2009.

NOGUEIRA C. M.; et al. A importância crescente dos carboidratos em química medicinal. **Revista Virtual Química**. Rio de Janeiro, v.1, n. 2, p. 149-159, 2009.

OLIVEIRA, R. N. de. **Síntese Mediada por Microondas de Glicosídeos Contendo Diversas Agliconas e de 1,2,4-Oxadiazóis**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2002.

OLIVEIRA, R. N.; FREITAS FILHO, J. R.; SRIVASTAVA, R. N. Microwave-induced synthesis of 2,3-unsaturated O-glycosides under solvent-free conditions. **Tetrahedron Letters**. Recife, v. 43, p. 2141-2143, 2002.

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

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

PUTERKA, G. J. et al.; Structure-Function Relationships Affecting the Insecticidal and Miticidal Activity of Sugar Esters. **Journal of Economic Entomology**. v. 96, p. 636-644, 2003.

ROMERS, C. et al.; Geometry and conformational properties of some five- and six-membered heterocyclic compounds containing oxygen or sulfur. **Topics in Stereochemistry**, v. 4, p. 39-97, 1969.

SANTOS, C. S.; Desenvolvimento de uma nova metodologia sintética para a hidrólise quimiosseletiva de O-glicosídeos 2,3-insaturados; Trabalho de Conclusão de Curso, **2014**.

SEGE, D.; **The evidence for an anomeric effect of the proton; *Carbohydr. Res.*, 340, 2569-2572, 2005.**

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, C. O. da. Efeito Anomérico em Carboidratos: Fatos e Hipóteses. **Revista Virtual Química**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 4, p. 235-246, 2011.

SILVA, F. C. DA; et. al. Synthesis, HIV-RT inhibitory activity and SAR of 1-benzyl-1H-1,2,3-triazole derivatives of carbohydrates. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Rio de Janeiro, v. 44, p. 373-383, 2009.



SILVA, G. B. da; et al.; Ultrasound-assisted synthesis of 1-*N*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-1*H*-1,2,3-triazole benzoheterocycles and their anti-inflammatory activities; **Journal of the Brazilian Chemical Society**; vol. 24, pag. 914 – 921, 2013.

SOMESB (Sociedade Mantenedora de Educação Superior da Bahia S/C Ltda); Biologia marinha; 1<sup>a</sup> ed, FTC – EaD; Salvador; 2007.

SOMSÁK, L.; MADAJ, J.; WISNIEWSKI, A.; Zinc-n-base mediated synthesis of pyranoid glycals mechanistic studies; **Journal of Carbohydrate Chemistry**, 16, 1075–1087, 1997.

SRIVASTAVA, R. M. et al.; Synthesis and hypolipidemic activity of *N*-phthalimidomethyl tetra-*O*-acyl-D-Dmannopyranosides. **Carbohydrate Research**, v. 332, p. 335-340, 2001.

Suryakiran N. et al.; Mild and Highly Efficient Stereoselective Synthesis of 2,3-Unsaturated Glycopyranosides using La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>· 6H<sub>2</sub>O as a Catalyst: Ferrier Rearrangement; **Synth Commun.**, 38: 170-176, 2008.

TOSHIMA, K. et al.; Glycosidation of Glycals by 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-pbenzoquinone (DDQ) as a Catalytic Promoter. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, Yokohama, p. 704-706, 1993.

TOSHIMA, K. et al.; Practical Glycosidation Method of Glycals Using Montmorillonite K-10 as an Environmentally Acceptable and Inexpensive Industrial Catalyst. **Synlett**, Yokohama, v. 4, p. 306-308, 1995.

VERES-BENCOMO, V. et al.; A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against Haemophilus Influenzae Type b. **Science**. v. 305, p. 522-525, 2004.

VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. “Química Orgânica Estrutura e Função”. trad. Bicca, R.A. Bookman, Porto Alegre, p. 913-914, 2004.

XAVIER, N. M.; RAUTER, A. P. Environmentally friendly approaches to the synthesis of new antibiotics from sugars. **Pure Applied Chemistry**. Lisboa, v. 84, n. 3, p. 803-816, 2012.

YANG, G.; SCHEMING, J.; TSUJI, M.; Franck, R. W.; The C-glycoside analogue of the immunostimulant alpha-galactosylceramide (KRN7000): synthesis and striking enhancement of activity. **Angew. Chem. Int.**; Ed. 43, 3818-3822, 2004.

ZHENG, C-J. et al.; Macrolactins O–R, Glycosylated 24-Membered Lactones from *Bacillus* sp. AH159-1. **Journal of natural products**. Pohang, v. 70, p. 1632-1635, 2007.

## 8. APÊNDICES

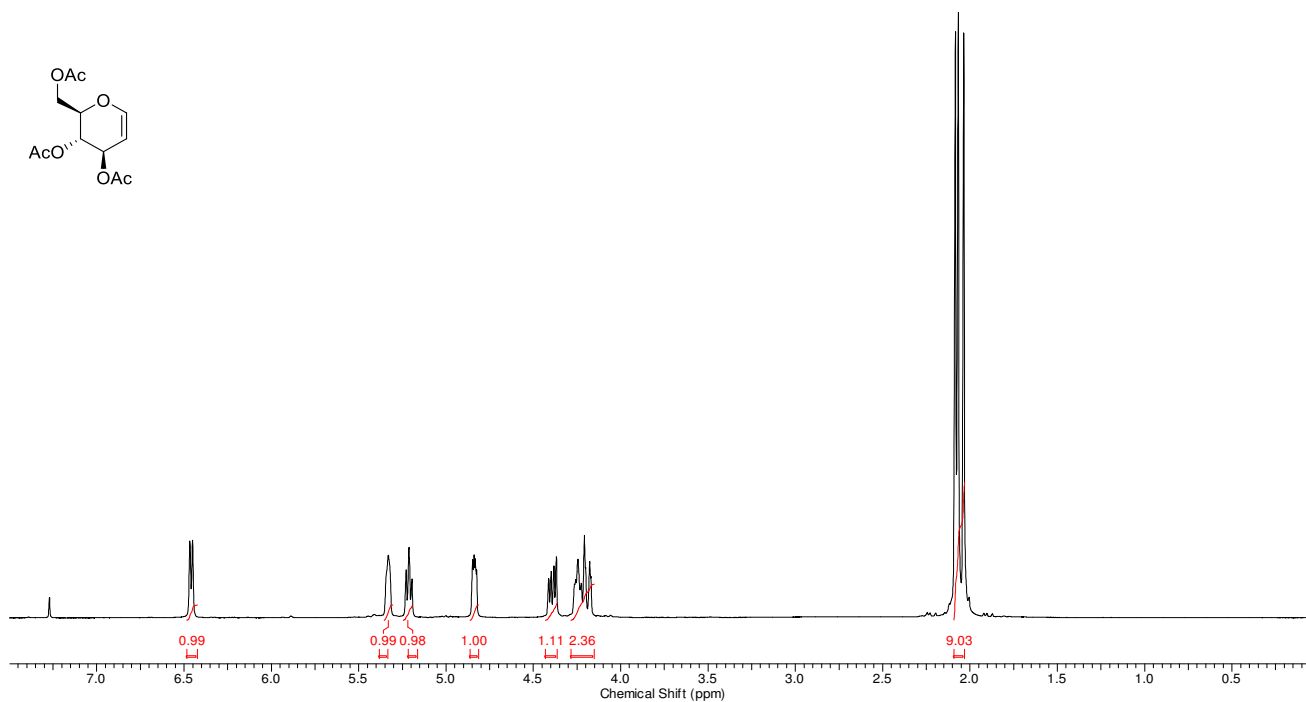


Figura 22. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 4

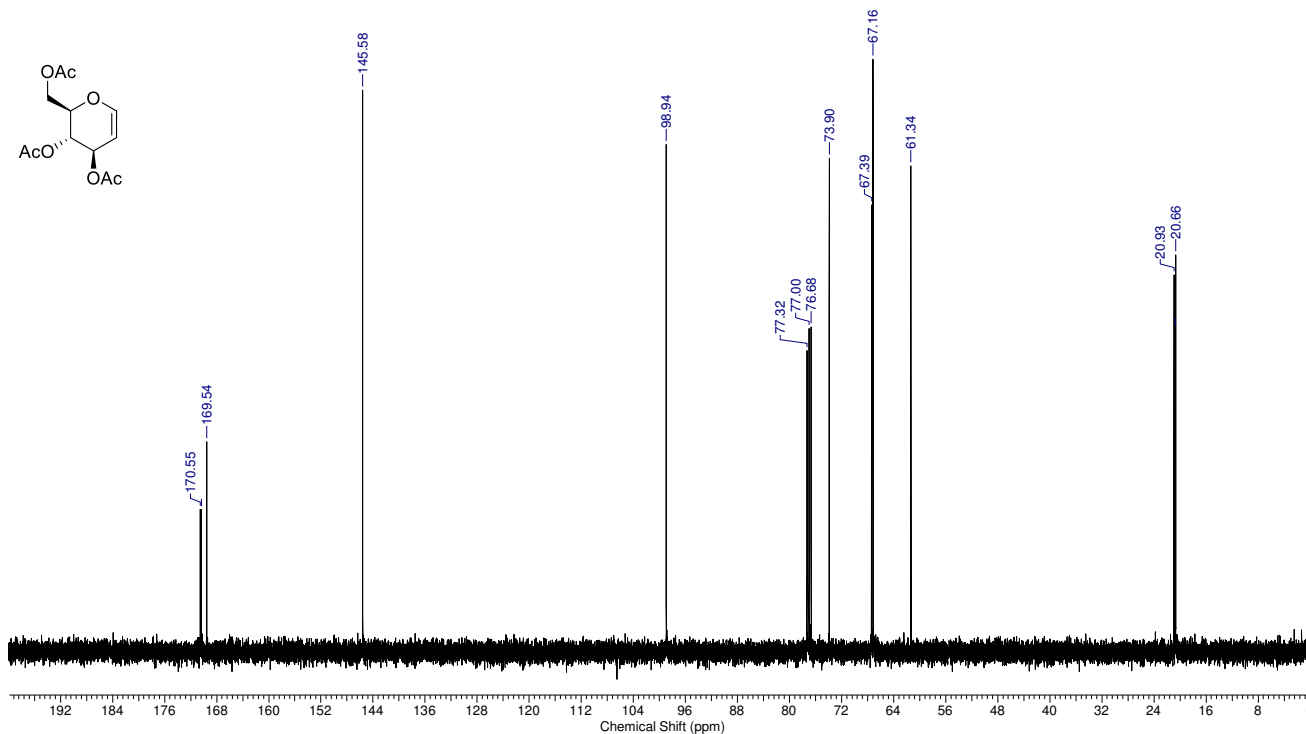


Figura 23. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 4

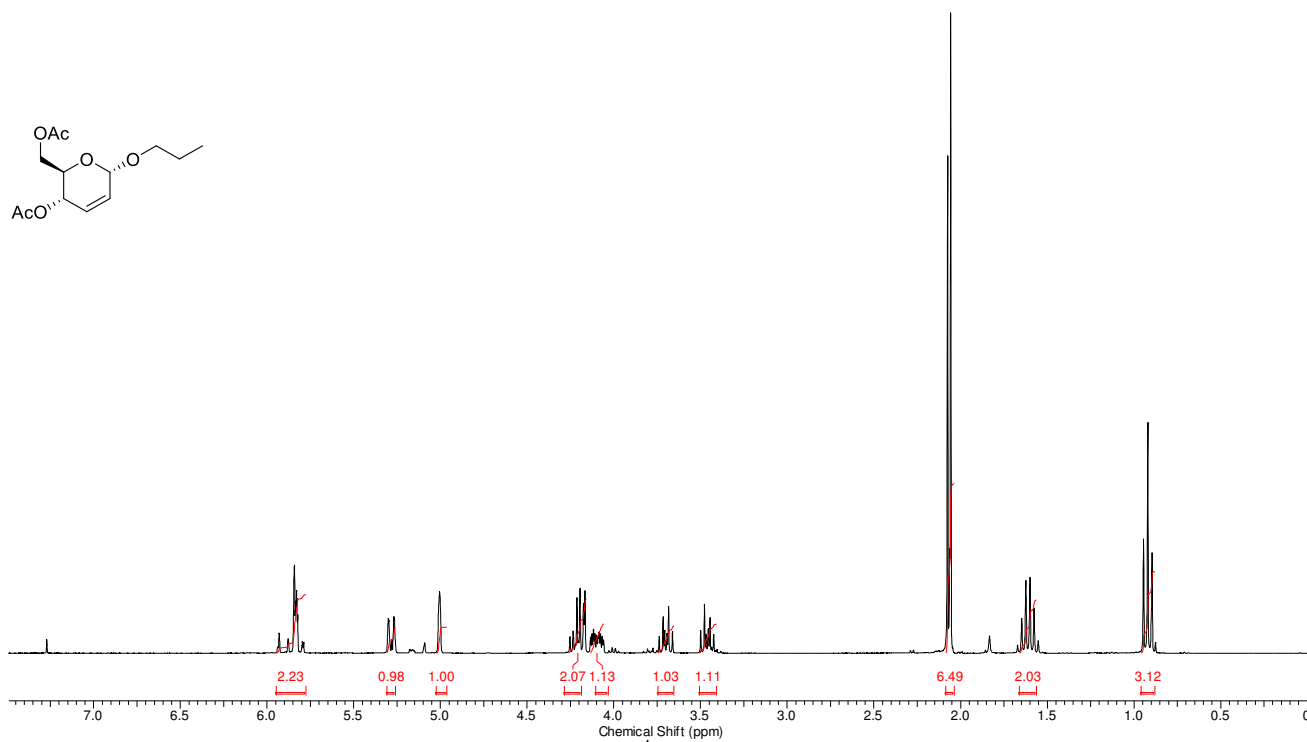
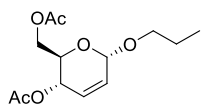


Figura 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **6a**

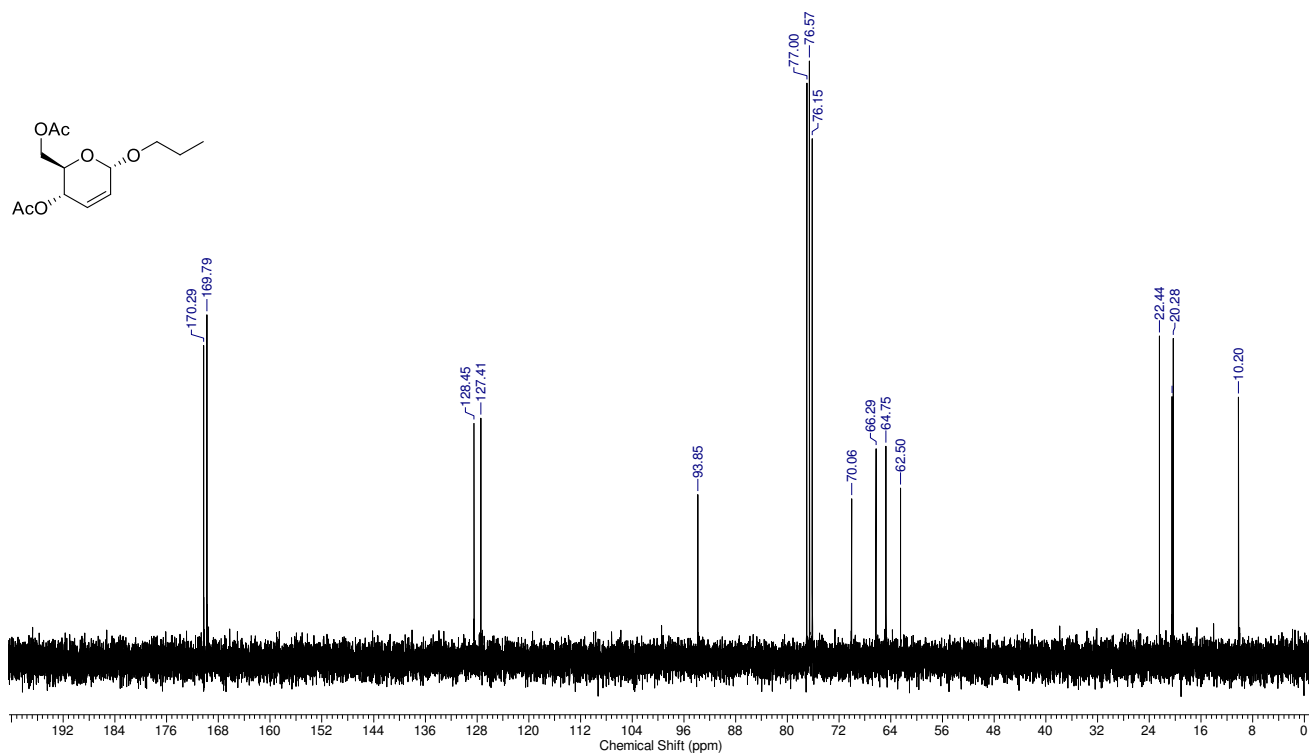
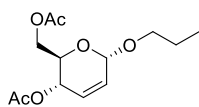


Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **6a**

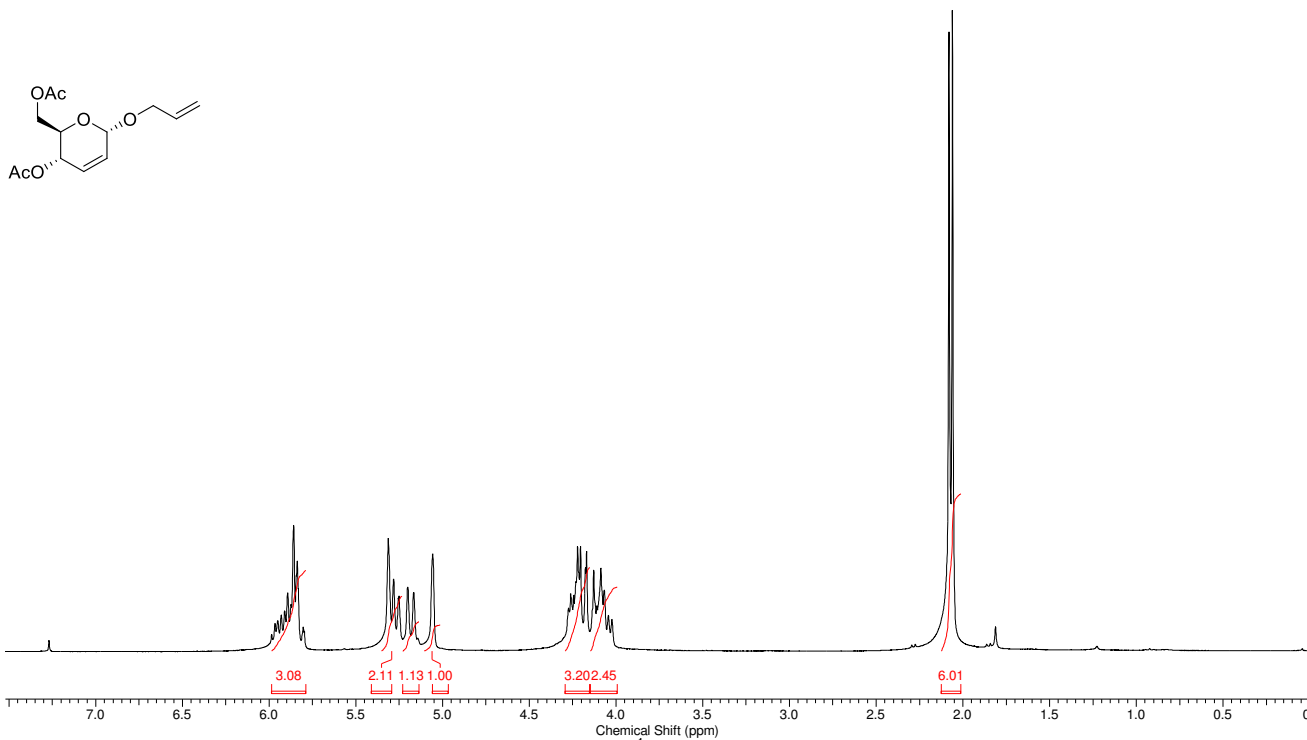


Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **6b**

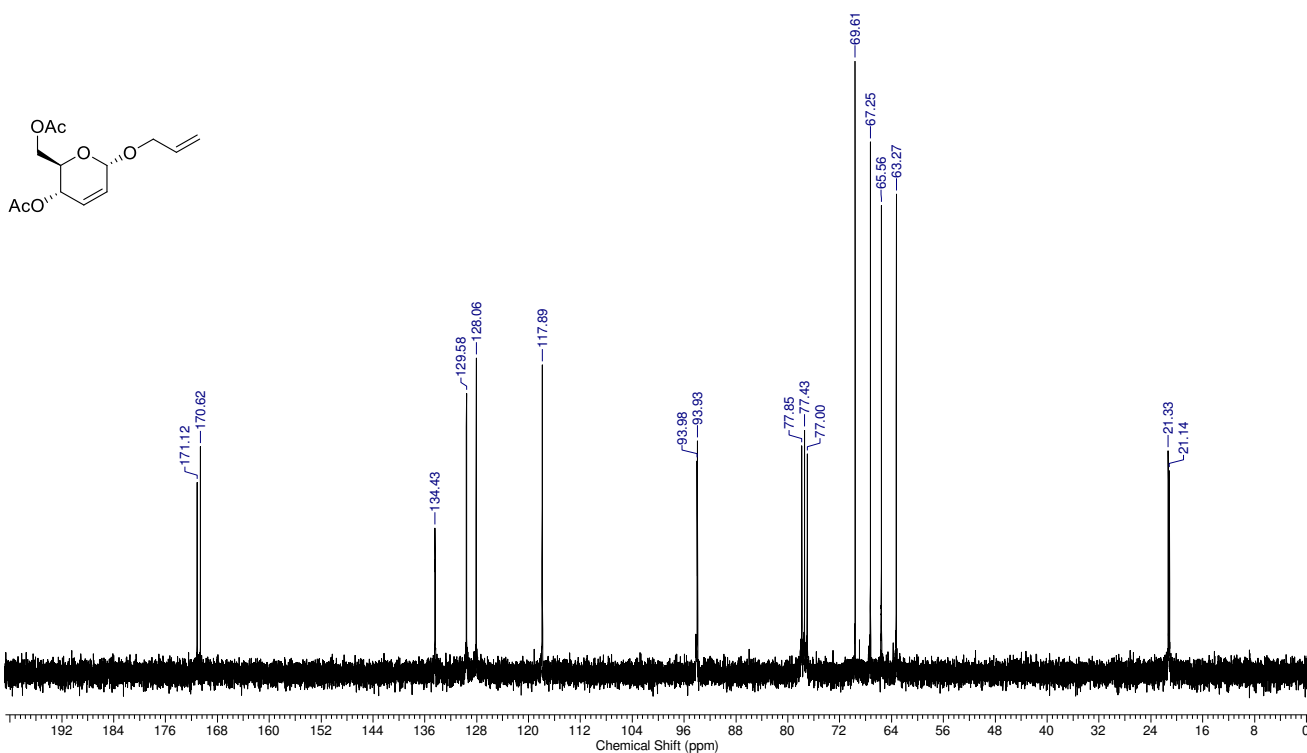
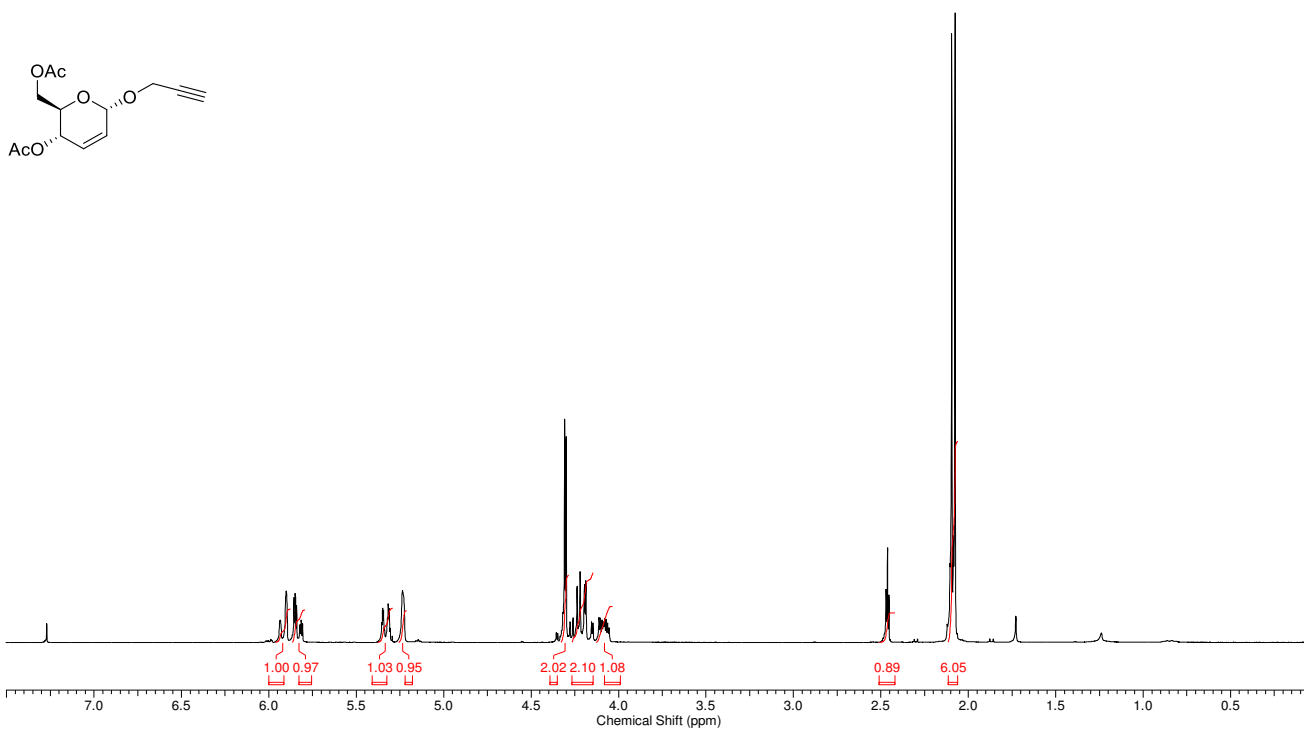
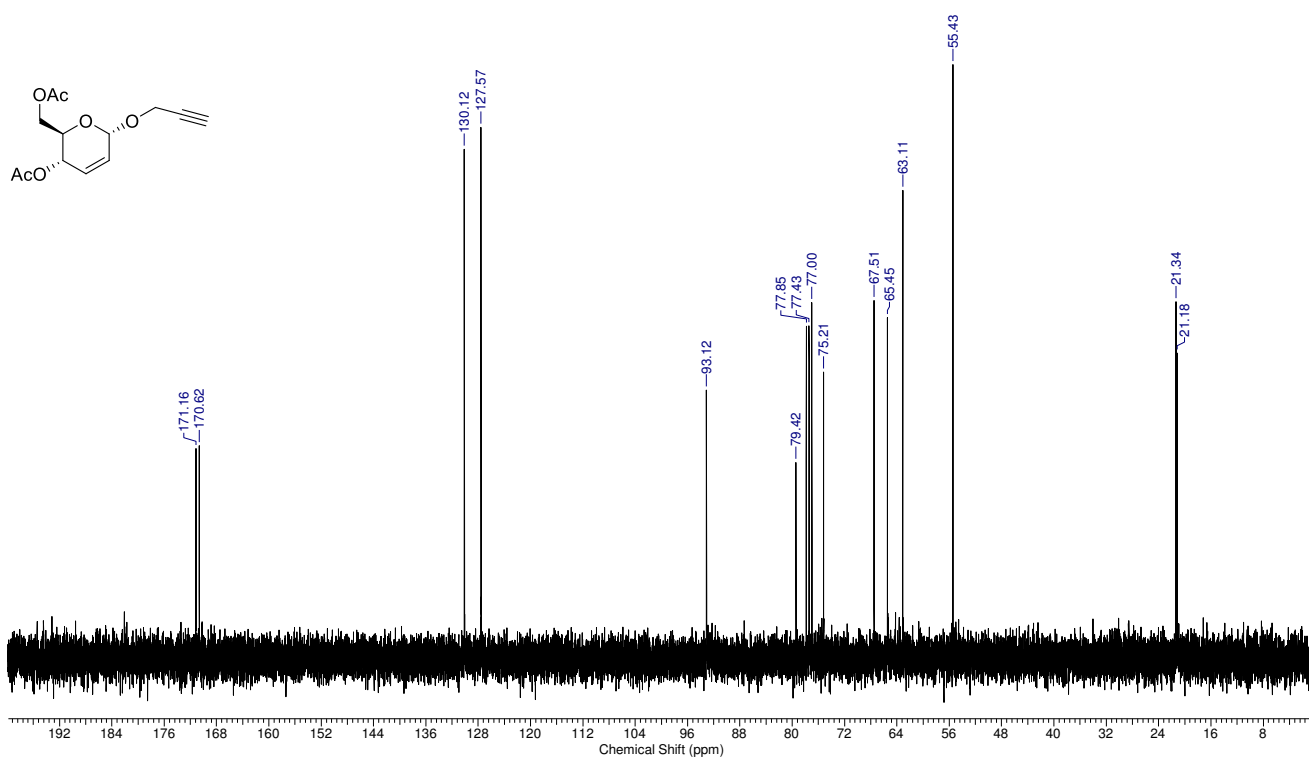


Figura 27. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **6b**



**Figura 28.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **6c**



**Figura 29.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **6c**

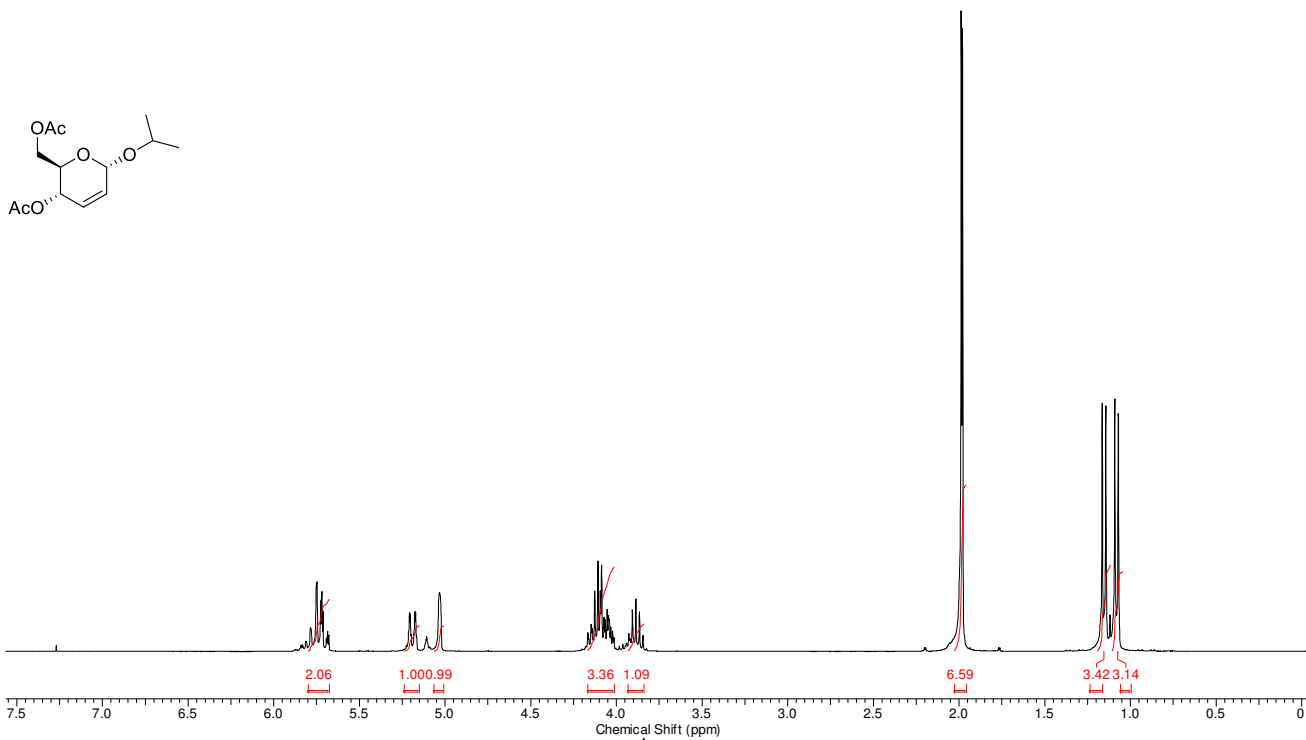


Figura 30. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 6d

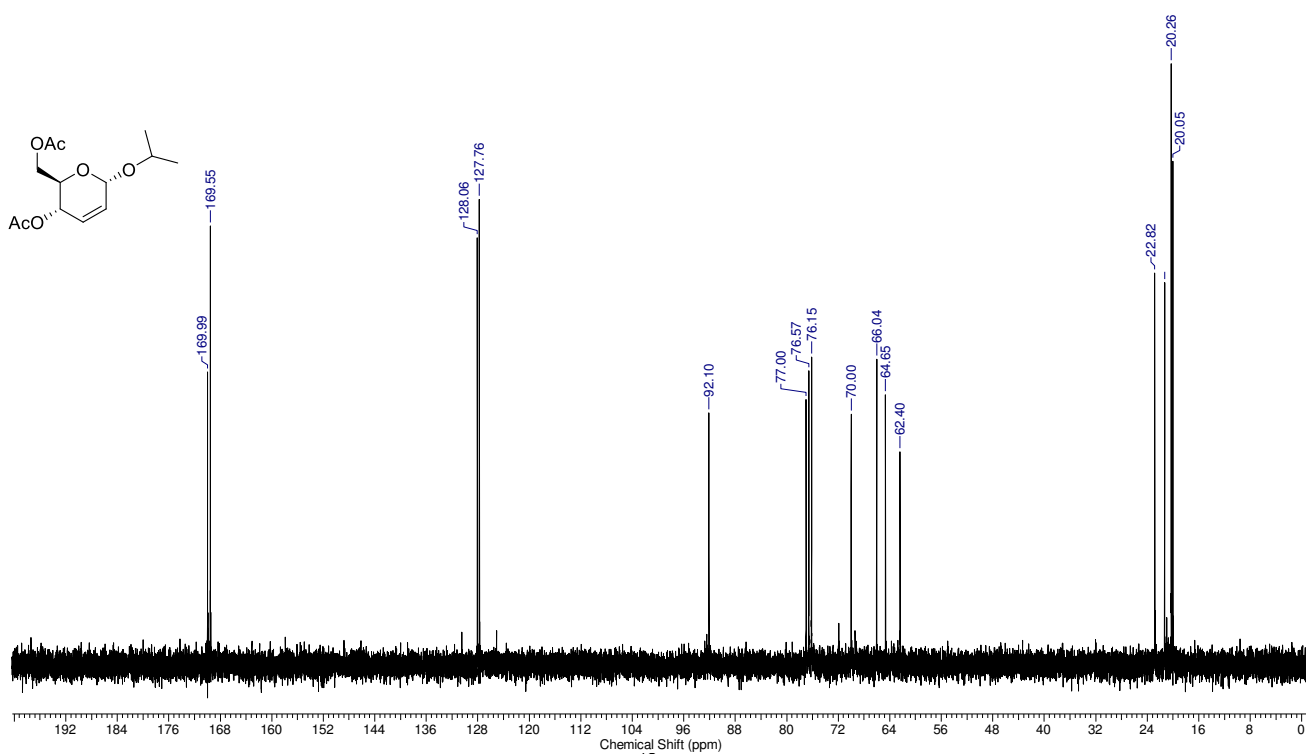
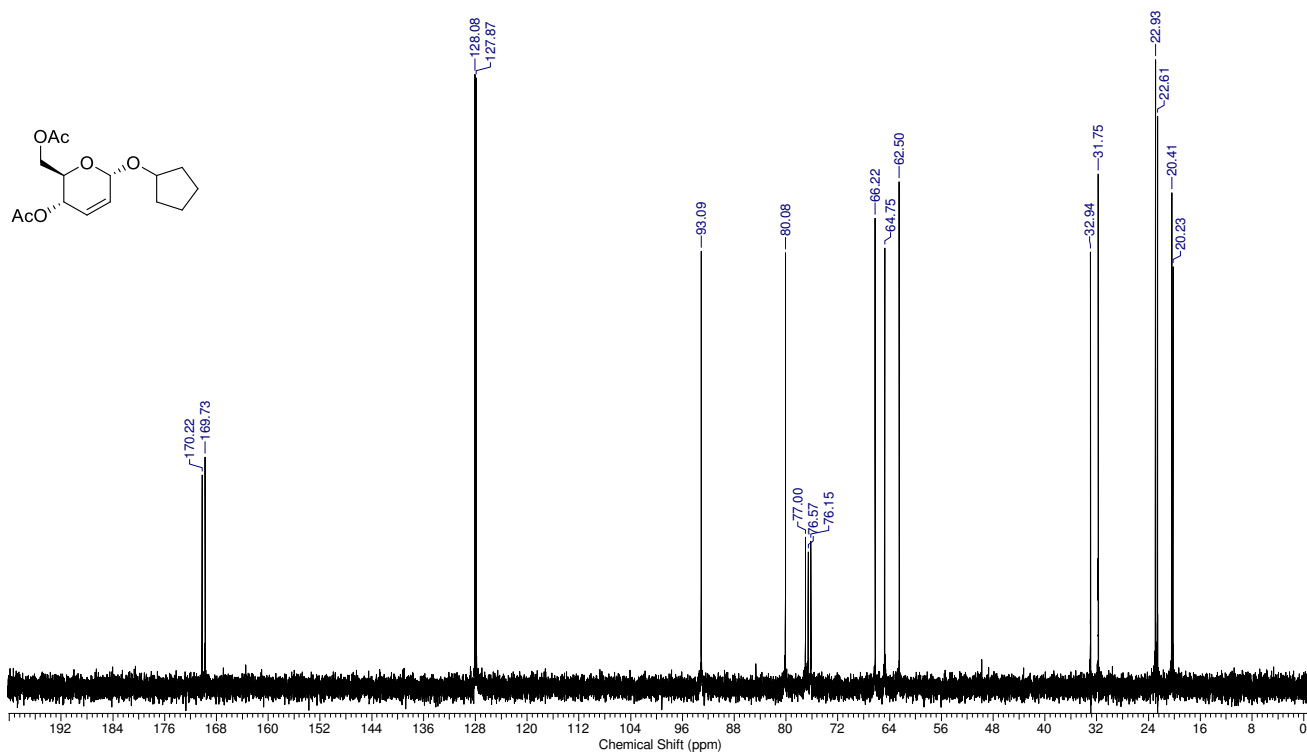
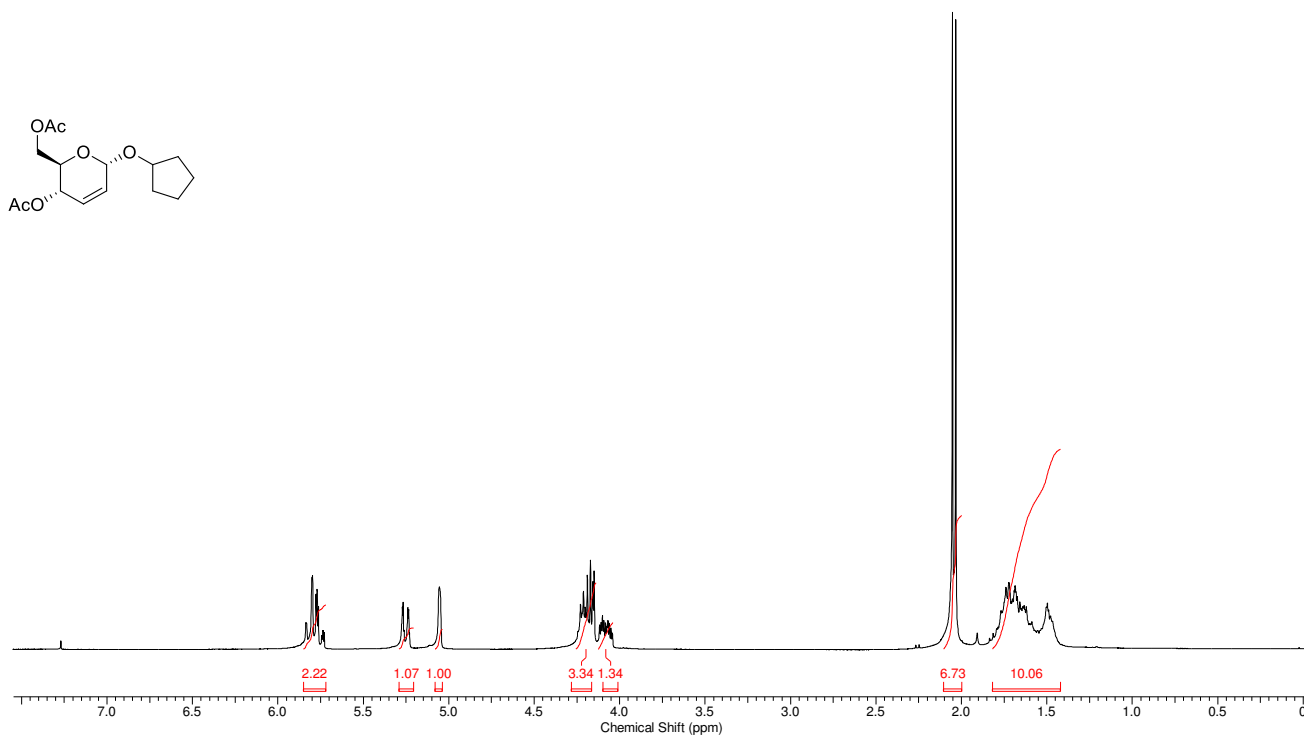


Figura 31. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 6d





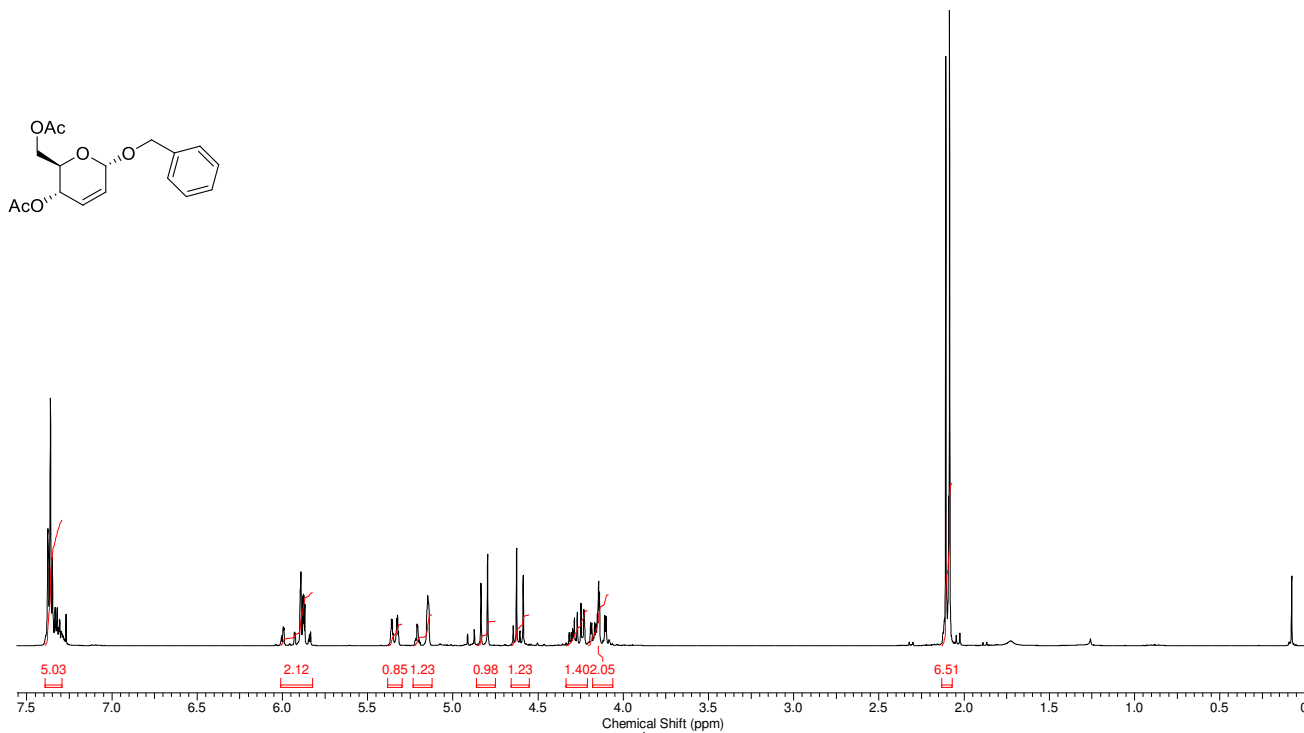


Figura 34. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **6f**

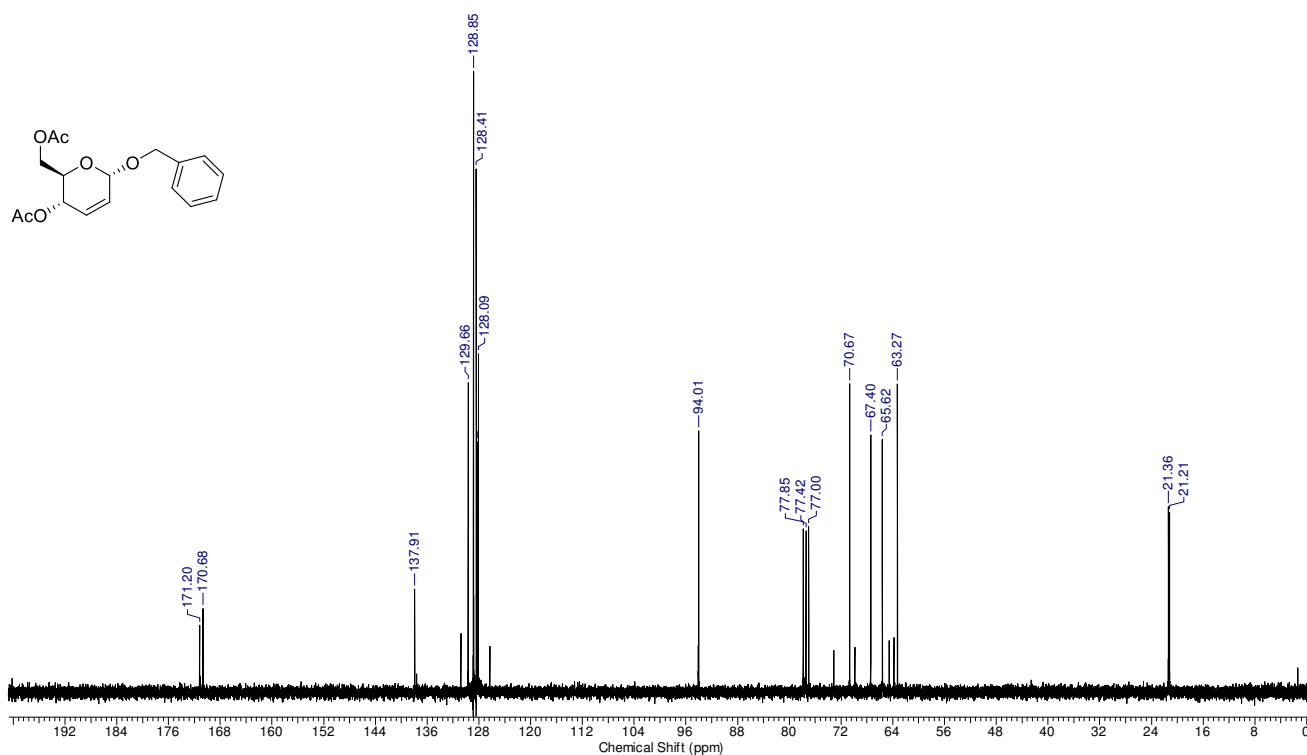


Figura 35. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **6f**

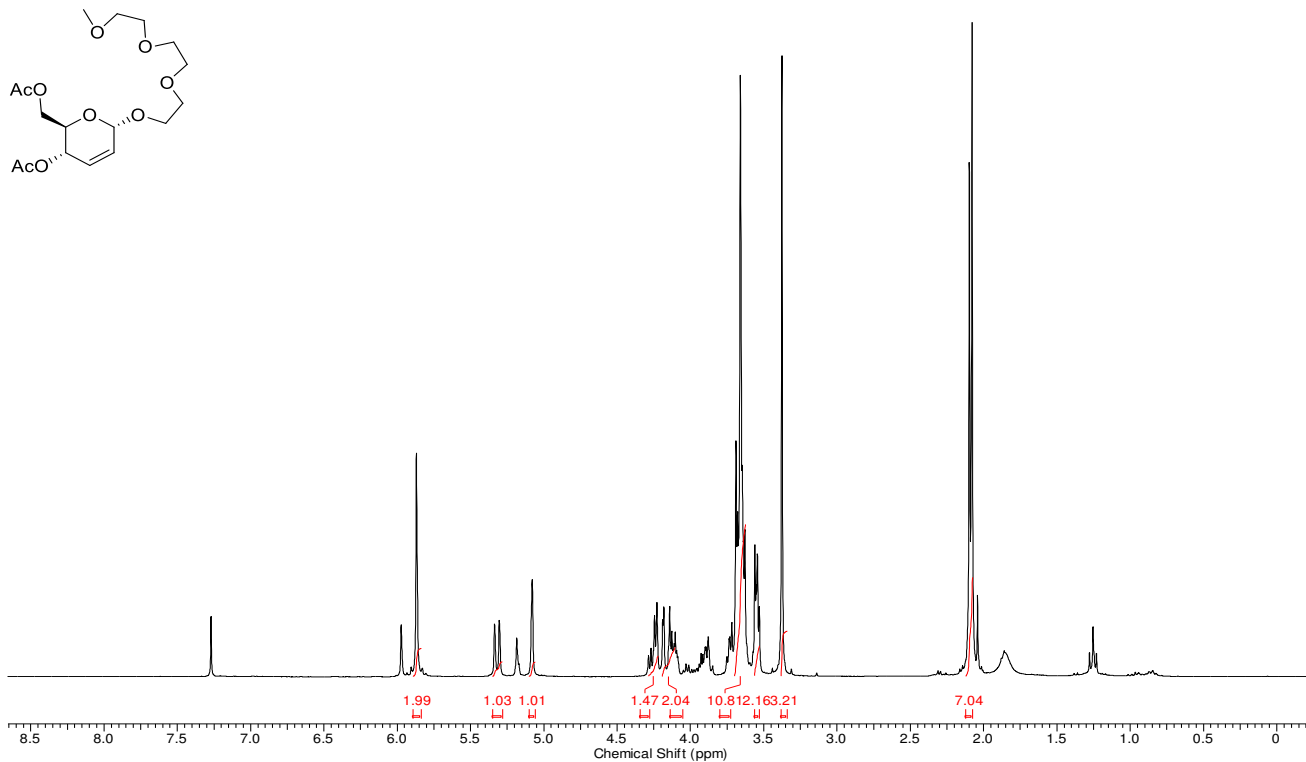


Figura 36. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 6g

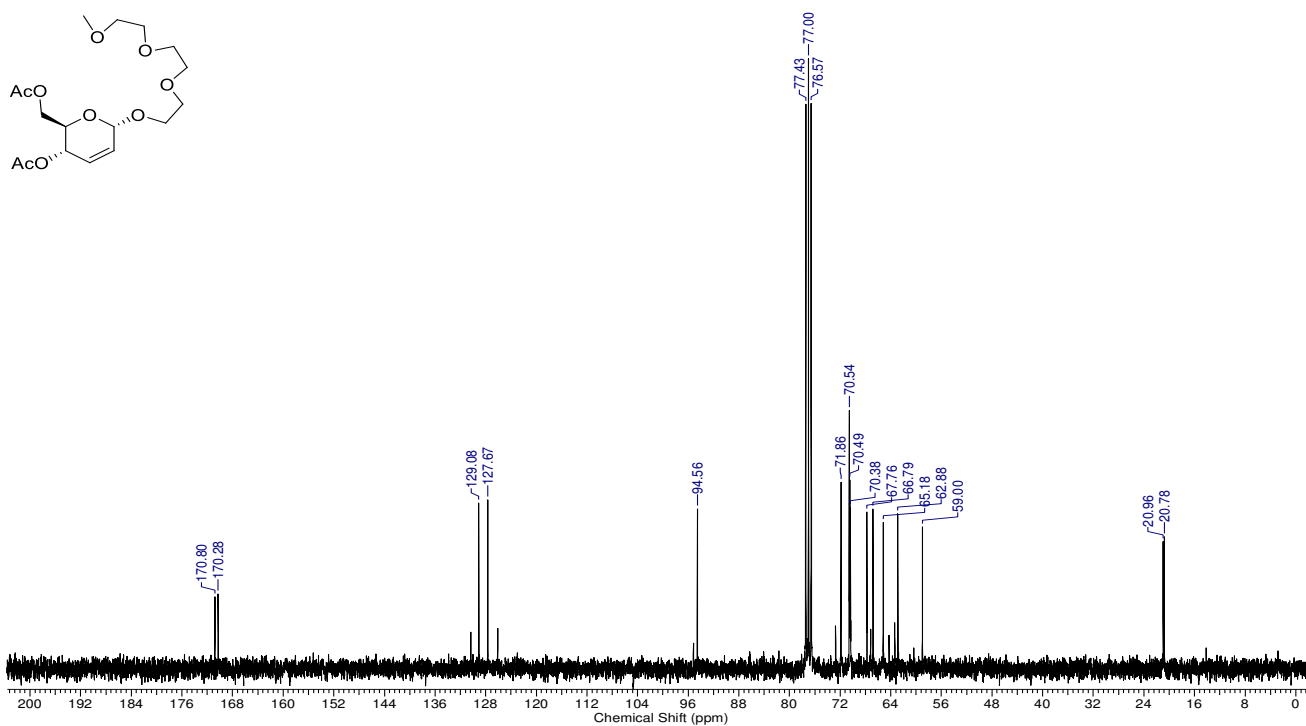


Figura 37. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 6g