



Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Tese de Doutorado

“Síntese de Derivados do 2-Mercaptobenzotiazol, do 2-Mercaptobenzimidazol, da Isoniazida e da Etionamida, Candidatos a Novos Agentes Antimicrobianos”

e

“Estudos Visando a Síntese da Alloenduracididina”.

Silvia Helena Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida

Juiz de Fora, 11 de julho de 2008.

Dedicatória

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Aparecida e José Maria,
aos meus irmãos,
Wagner e Waldiney
e a minha avó Clara.*

Se podes sonhar...podes consegui-lo

... "Assim, depois de muito esperar, um dia como qualquer outro decidi triunfar.

Decidi não ficar à espera das oportunidades e fui procurá-las.

Decidi ver cada problema como a oportunidade de encontrar uma solução.

Decidi ver cada deserto como a oportunidade de encontrar um oásis.

Decidi ver cada noite como um mistério a resolver.

Decidi ver cada dia como a oportunidade de ser Feliz.

Naquele dia descobri que o meu único rival eram apenas as minhas debilidades e que estas são a única e melhor forma de me superar.

Naquele dia deixei de ter medo de perder e comecei a ter medo de não ganhar.

Descobri que não era o melhor e que talvez nunca o tenha sido.

Deixou de me importar quem ganhara ou quem perdera.

Agora simplesmente me importa ser melhor que ontem.

Aprendi que o difícil não é chegar ao topo, mas sim nunca deixar de subir.

Aprendi que o maior sucesso que posso alcançar é ter o direito de chamar a alguém de "AMIGO".

Descobri que o amor é mais do que uma simples paixão. O amor é uma filosofia de vida.

Naquele dia deixei de ser o reflexo dos meus poucos sucessos alcançados e comecei a ser a luz do meu próprio presente.

Aprendi de que nada serve ser luz, se não for para iluminar também o caminho da Humanidade.

Naquele dia decidi mudar tanta coisa.

Aprendi que os sonhos são apenas para transformar em realidade e desde esse dia que não durmo para descansar. Agora apenas durmo para sonhar".

Walt Disney

Agradecimentos

Agradeço ...

... à Deus pela minha vida,

*... aos meus familiares pelo apoio e por compreenderem que a distância muitas vezes é
necessária,*

... à minha avó Clara que tornou o meu sonho possível,

... ao professor Mauro, exemplo de profissional, pela amizade, dedicação e confiança.

Muito obrigada, por acreditar em mim!

*... aos Drs. Marcus Vinícius e Mireille Le Hyaric pela ajuda preciosa e, por sua amizade e
confiança,*

*... ao Dr. Robert H. Dodd por me acolher em seu laboratório aos Drs. Josiane Thierry e
Philippe Dauban pelas preciosas discussões que contribuíram para minha formação,*

*... as amigas Hérika e Daniella por incontáveis momentos de alegria e pelo apoio
incondicional,*

especialmente ao João Vitor pelas contribuições no decorrer desse trabalho,

aos amigos Giovanni, Alexandre, Gustavo e Clebinho (Bingo) pela convivência e amizade,

... a todos os colegas do laboratório, indistintamente, pelos muitos bons momentos vividos,

nunca os esquecerei ... Maurício, Aline, Simone, Mara, Joana, Taís, Patrícia, Lucas,

Débora,

aos colegas de outros laboratórios, Marisa, Bruno Faria, Inácio, Cadu, Geógia, Léo,

Heveline, Cristiane, Roberta, Camila, Isabela, Lippy, Heber, Charlane, Vanessa, Arturene,

Rafael, Luciano, Vanda, Betinho, Elgte e tantos outros que passaram pela UFJF ao longo desses anos,

as amigas Meryem e Lucimar pelo grande apoio durante minha passagem pela França,

aos colegas dos laboratórios 312 e 313 no ICSN pelo acolhimento e paciência durante meu aprendizado de francês.

... especialmente ao Marcelo, pelo apoio e paciência, nos muitos momentos difíceis e, por sua alegria e carinho cotidianos.

... A Simone, secretária da pós-graduação e a todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF. Obrigada pela contribuição valiosa em minha formação como profissional e pessoa,

ao ICSN-CNRS pela oportunidade e,

a CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro.

De antemão, gostaríamos de agradecer aos membros da comissão examinadora por terem aceitado avaliar esse trabalho e pelas contribuições dadas à redação final da tese.

Enfim, à todos o meu Muito Obrigada !!!

Resumo

O presente trabalho explorou, num primeiro momento, a síntese de derivados do 2-mercaptobenzotiazol, do 2-mercaptobenzimidazol e da isoniazida condensados com carboidratos e a preparação de análogos da etionamida ligados à amino álcoois, potenciais agentes antimicrobianos. Em um segundo capítulo foi realizado um estudo sintético visando a obtenção do α -aminoácido não proteínogênico, a alloenduracididina.

A primeira parte do capítulo 1 consistiu na síntese e avaliação das propriedades antimicrobianas dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos. Para tal foram sintetizados 10 compostos inéditos, a saber: quatro derivados do 2-mercaptobenzotiazol, três derivados do 2-mercaptobenzimidazol e três derivados poli-hidroxilados em rendimentos satisfatórios (47-85%). Os compostos **15**, **17** e **20** foram submetidos à avaliação “*in vitro*” das propriedades antibacterianas e antifúngicas contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* na Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF. Os resultados mostraram que apenas um dos derivados do 2-mercaptobenzimidazol (composto **20**) apresentou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* com valor de MIC igual a 145 $\mu\text{g/mL}$. Os derivados benzotiazólicos **15** e **17** também foram testados contra *Mycobacterium tuberculosis* “*in vitro*” no Laboratório de Bacteriologia (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz FioCruz-RJ. Todavia, tais compostos não se mostraram ativos contra esse microorganismo.

A segunda parte do capítulo 1 visou a síntese e a avaliação da atividade antituberculosa de 13 derivados da isoniazida (**26-38**), dos quais 10 são inéditos, obtidos em rendimento de (20-75%) e de 5 novos derivados da etionamida (**44-48**), obtidos em rendimentos de baixo a moderados (20-60%). Dentre os análogos da etionamida, a estrutura do composto **46** pode ser confirmada por difração de raio X. Os análogos da INH, foram testados quanto a sua atividade antibacteriana contra *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294) utilizando-se o método MABA no IPEC-FioCruz-RJ. Vários compostos exibiram atividade contra *M. tuberculosis* H₃₇Rv em concentrações entre 0,31-3,12 $\mu\text{g/mL}$ quando comparados com os fármacos de primeira escolha isoniazida e rifampicina. Os resultados obtidos sugerem que os derivados da isoniazida, sintetizados neste trabalho, apresentam importantes informações para a obtenção de novos fármacos no combate à tuberculose. Os derivados da

etionamida, também estão sendo avaliados quanto as suas propriedades antituberculosas.

Como parte do estágio de doutorando na França, o capítulo 2 desse trabalho consistiu no desenvolvimento de uma metodologia para a preparação do α -aminoácido não proteinogênico, a alloenduracididina. No decorrer do trabalho foram testadas 3 metodologias e 2 estratégias sintéticas diferentes visando a obtenção desse aminoácido. A metodologia desenvolvida permitiu a preparação do composto **150a**, a partir do *N*-Boc-(*R*)-alilglicinato de etila, em 8 etapas, utilizando-se o método de diidroxilação assimétrica de Sharpless. Um trabalho de otimização ainda deve ser realizado a fim de melhorar a diastereoseletividade da etapa de diidroxilação assimétrica e será necessária uma melhor caracterização do composto **150a** pois, até o momento, apenas análises preliminares foram realizadas. A configuração do centro assimétrico C-4 em **150a** ainda permanece desconhecida, a determinação dessa configuração nos permitiria afirmar se o aminoácido **150a** obtido trata-se da alloenduracididina de configuração (*2R,4R*) ou do seu isômero (*2R,4S*). A aplicação da metodologia desenvolvida no decorrer do trabalho à substratos adequados também permitiria a preparação de outros α -aminoácidos contendo a função guanidina.

Abstract

The present work explored, in a first part, the synthesis of 2-mercaptobenzothiazole, 2-mercaptobenzimidazole and isoniazid derivatives condensed with carbohydrates, and the preparation of ethionamide analogues linked to amino alcohols, all potential antimicrobial agents. In a second chapter was realized a synthetic study aimed at the obtention of the non-proteinogenic α -amino acid alloenduracidine.

The first part of chapter 1 relates of the synthesis and evaluation of antimicrobial properties of 2-mercaptobenzothiazole and 2-mercaptobenzimidazole derivatives condensed with carbohydrates. Ten compounds were synthesized: four derivatives of 2-mercaptobenzothiazole, three derivatives of 2-mercaptobenzimidazole and three polyhydroxylated derivatives, in satisfactory yields (47-85%). Compounds **15**, **17** and **20** were submitted for evaluation of antibacterial and antifungal properties at Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF. The results showed that only one derivative of 2-mercaptobenzimidazole (compound **20**) displayed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with a MIC value equal to 145 $\mu\text{g/mL}$. Benzothiazole derivatives **15** and **17** were also tested against *Mycobacterium tuberculosis* “*in vitro*” at Laboratório de Bacteriologia (IPEC) of FioCruz-RJ. However, these compounds did not appear active against this microorganism.

The second part of chapter 1 is aimed at the synthesis and evaluation of antitubercular activity of 13 derivatives of isoniazid (**26-38**), obtained in yields (20-75%), and 5 new ethionamide derivatives (**44-48**), obtained in low to moderate yields (20-60%). Among the analogues of ethionamide, the structure of compound **46** could be confirmed by X-ray diffraction. Analogues of INH were tested for their antibacterial activity against *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294) using the MABA method at IPEC-FioCruz-RJ. Several compounds exhibited activity between 0.31-3.12 $\mu\text{g/mL}$ against these bacteria when compared to first choice drugs isoniazid and rifampicin. The results obtained suggest that the isoniazid derivatives synthesized in this work provide important information for the obtention of more active compounds useful for the treatment of tuberculosis. The derivatives of ethionamide synthesized are also being evaluated for their antitubercular properties.

As part of a Ph.D traineeship, the chapter 2 of this work describes work performed in France concerning the development of a methodology for the preparation of the non proteinogenic α -amino acid alloenduracidine. During this project three methodologies and two synthetic strategies were tested for the obtention of this amino acid. The methodologies developed permitted the preparation of compound **150a** from ethyl *N*-Boc-(*R*)-allylglycinate in eight steps using the Sharpless asymmetric dihydroxylation method. Optimization of the purification procedure for compound **150a** must still be performed in order to allow its complete characterization. The configuration of the asymmetric centre C-4 of **150a** still remains unknown. Determination of this configuration will allow us to confirm whether if the obtained amino acid **150a** is alloenduracidine (*2R,4R*) or its isomer (*2R,4S*). Application of the methodology developed during the course of this study to appropriate substrates will also allow the preparation of other naturally-occurring α -amino acids containing the guanidine function.

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos durante a iniciação científica e doutorado

- 1- De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Hyaric, M. Le; Amarante, G. W.; Cardoso, S. H.; Método de Preparação e Atividade Biológica do Ácido Quinolínico e Derivados. *Quím. Nova*, **2003**, *26*, 694-698.
- 2- De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Cardoso, S. H.; Alves, T. R.; Fluorquinolones: An important class of Antibiotics. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 455-464.
- 3- De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Cardoso, S. H.; De Assis, J. V.; Synthesis of 2-mercaptobenzothiazole and 2-mercaptobenzimidazole derivatives condensed with carbohydrates as a potential antimicrobial agents. *J. Sulfur Chem.* **2007**, *28*, 17-22.
- 4- De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; Barbosa, N. R.; Silva, F.P.; Synthesis and antimicrobial activity of pyridine derivatives substituted at C-2 and C-6 positions. *Lett. Drug Des. Discovery* **2007**, *4*, 149-153.
- 5- De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Amarante, G. W.; Cardoso, S. H.; Ferreira, A. P.; Teixeira, H. C.; Alves, C. C. S.; Mattos, A. M.; Teixeira, F. M.; Synthesis of Thalidomide Analogs From Diamines. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 223-226.
- 6- Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; De Assis, J. V.; Diniz, R.; De Souza, M. V. N.; Spezialib, N. L.; Synthesis and characterization of *n*-hydroxyalkyl and oxazolinyl ethionamide derivatives. *J. Sulfur Chem.* **2008**, *29*, 1-6.
- 7- Cardoso, S. H.; De Souza, M. V. N.; De Assis, J. V.; De Almeida, M. V.; Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R. C.; Synthesis and antitubercular activity of isoniazid condensed with carbohydrates derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, submetido.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

Ferreira, A. P.; Teixeira, H. C.; Alves, C. C. S.; Mattos, A. M.; Teixeira, F. M.; Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Study of Novel Thalidomide Analogs From Diamines as Inhibitors of TNF-alfa Production. XXXI Meeting of the Brazilian Society of Immunology, 2006, Buzios.

Trabalhos resumidos publicados em anais de congressos

- 1- Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Preparação de 4-cloro-2-picolinamidas. XV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2001, Belo Horizonte.
- 2- Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Preparação de Análogos da Talidomida a Partir de Aminas Piridínicas. XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2002, Viçosa.
- 3- Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Preparação de Análogos da Talidomida Contendo Duas Unidades Ftalimídicas. XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2002, Viçosa.
- 4- Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Síntese de Análogos da Talidomida. 25º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2002, Poços de Caldas.
- 5- Cardoso, S. H.; Amarante, G. W.; De Almeida, M. V.; De Souza, M. V. N.; Síntese de Análogos da Talidomida Com Duas Unidades Nitroftalimídicas. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2003, Poços de Caldas.
- 6- Taveira, A. F.; Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; Síntese de Novos Ligantes Derivados de α -ceto-ácidos. 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2004, Salvador.
- 7- Cardoso, S. H.; De Souza, M. V. N.; De Almeida, M. V. Síntese de Derivados do 2-Mercaptobenzotiazol e do 2-Mercaptobenzimidazol. 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2005, Poços de Caldas.
- 8- De Assis, J. V.; Cardoso, S. H.; De Souza, M. V. N.; De Almeida, M. V.; Neves Junior, I. Síntese e Avaliação da Atividade Biológica de Derivados da Isoniazida Condensados com Carboidratos, Potenciais Agentes Antituberculares. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2006, Águas de Lindóia.
- 9- Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; De Assis, J. V.; Diniz R; De Souza, M. V. N.; Spezialib, N. L. Synthesis and characterization of *n*-hydroxyalkyl and oxazolinyl ethionamide derivatives. Journées de Chimie Organique (JCO), 2007, Palaiseau, França.

Participação em eventos

- 1- XV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2001.
- 2- XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2002.
- 3- 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002.
- 4- 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003.
- 5- 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004.
- 6- 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
- 7- 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006.
- 8- 43º International Meeting on Medicinal Chemistry, 2007.
- 9- XIº Symposium " Chimie et Produits Naturels", 2007.
- 10- Journées de Chimie Organique (JCO), 2007.

Sumário.....	xiii
Abreviaturas.....	xvi
Índice Geral	xvii
Índice de Esquemas.....	xviii
Índice de Figuras.....	xx
Índice de Tabelas.....	xxiv

Capítulo 1 - Síntese de Derivados do 2-mercaptobenzotiazol, do 2-mercaptobenzimidazol, da Isoniazida e da Etionamida, Candidatos a Novos Agentes Antimicrobianos.....6

1.1. Introdução Geral.....	1
1.2. Tuberculose	2
1.2.1. Histórico	2
1.2.2. Estrutura da micobactéria	4
1.2.3. Tratamento.....	7
1.2.4. Tuberculose Resistente (TB-MDR ou TB-XDR).....	9
1.2.5. Perspectivas	10
1.2.6. Compostos promissores no combate à tuberculose em fase de testes clínicos.....	10
<i>1.3- Parte I – Síntese de compostos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos.....</i>	<i>16</i>
1.3.1. Introdução.....	16
1.3.2. Exemplos de métodos de preparação de compostos benzotiazólicos e benzimidazólicos descritos na literatura.....	21
1.3.3. Plano de síntese dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos.....	23
1.3.4. Resultados e discussões	26
1.3.5. Conclusões.....	81
<i>1.4. Parte II – Síntese de análogos de isoniazida condensados com carboidratos e de análogos da etionamida condensados com amino-álcoois.</i>	<i>83</i>

1.4.1. A Isoniazida.....	83
1.4.1.1. Objetivos.....	85
1.4.1.2. Plano de síntese	86
1.4.1.3. Resultados e discussões	87
1.4.1.4. Avaliação biológica	93
1.4.2. A Etionamida.....	95
1.4.2.1. Objetivos.....	97
1.4.2.2. Plano de síntese	98
1.4.2.3. Resultados e discussões	98
1.4.3. Conclusão	105
Capítulo 2 - Estudos Visando a Síntese da Alloenduracididina.....	106
2.1. Introdução.....	107
2.1.1. As Manopeptimicinas.....	107
2.1.2. Alloenduracididina e a Enduracididina	108
2.2. Vias de acesso descritas na literatura	109
2.2.1. Síntese da enduracididina 54 pela degradação do L-histidinato de metila.....	109
2.2.2. Construção de guanidinas cíclicas.....	111
2.2.3. Obtenção de α -aminoácidos com duas funções na cadeia lateral.	113
2.2.4. Preparação e separação enzimática da alilglicina 83	114
2.3. Síntese da alloenduracididina à partir do <i>N</i> -(Boc)-alilglicinato de etila 74.	116
2.3.1. Reação de Aziridinação	117
2.3.2. Reação de epoxidação	131
2.3.3. Reação de dihidroxilação de alcenos.....	134
2.3.4. Tentativa de determinação da configuração absoluta de C-4.	159
2.4. Conclusão e Perspectivas	164
Capítulo 3 - Parte Experimental.....	165
3.1. Materiais e Métodos	166
3.2. Preparação dos compostos do capítulo 1.....	168
3.2.1. Sínteses de derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol.....	168
3.2.2. Metodologia geral para a síntese dos compostos derivados da isoniazida 26 à 38 . .	184

3.2.3. Metodologia Geral para a síntese dos compostos derivados da etionamida 44 à 48 .	191
3.3. Preparação dos compostos do capítulo 2.....	195
3.3.1. Estudos visando a síntese da alloenduracidina.....	195

Abreviaturas

AcOEt: acetato de etila	DME: 1,2-dimetoxietano
AD: dihidroxilação assimétrica	DMF: <i>N,N</i> -dimetilformamida
ADN: ácido desoxiribonucleico	DMSO: dimetilsulfóxido
AMA: ácido antrilmetoxiacético	DOTS: Tratamento diretamente
APT: Teste do hidrogênio ligado	Observado de Curta Duração
ARN: ácido ribonucleico	DPPA: difenilfosforilazidato
BK: bacilo de Koch	EMB: etambutol
Bn: benzila	equiv.: equivalente(s)
Boc: <i>tert</i> -butoxicarbonila	ESI-MS: <i>Electron-Spray ionization Mass Spectrometry</i>
Boc ₂ O: di- <i>tert</i> -butila-dicarbonato	ETA: etionamida
CAN: nitrato cérico de amônio	EthA: flavina monooxigenase
Cbz: benziloxicarbonila	FF: faixa de fusão
CCD: Cromatografia em Camada	HetCOR: <i>2D Heteronuclear Chemical-Shift Correlation</i>
Delgada	HMQC: <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
CCS: Cromatografia em coluna de sílica-gel	HMRS: <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
COSY: <i>2D Homonuclear Chemical-Shift Correlation</i>	Imz: imidazol
DBU: 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-eno	INH: isoniazida
DCC: dicianobenzodimetilimida	IV: infravermelho
DDQ: 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona	Kat-G: catalase-peroxidase
DEPT: <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>	Lit.: literatura
(DHQ) ₂ PHAL: diidroquininil ftalazina	MABA: <i>Microplate Alamar Blue Assay</i>
(DHQD) ₂ PHAL: diidroquinidinil ftalazina	mAGP: ácido micólico-arabinogalactana-peptidoglicana
DIAD: diazocarboxilato de diisopropila	<i>m</i> -CPBA: ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
DMAP: 4-dimetilaminopiridina	min.: minutos

MDR : <i>Multiple-Drug Resistant</i>	RMN de ^1H : Ressonância Magnética
MIC : <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>	Nuclear de Hidrogênio
MPA: ácido metoxifenilacético	RPM: rifampicina
Ms: mesila	Ses: β -trimetilsililametanossulfonila
MsCl: cloreto de mesila	t.a: temperatura ambiente
MTPA: ácido metoxitri fluorfenilacético	TB: tuberculose
NAD: nicotinamida adenina	TBAF: fluoreto de tetrabutílamônio
dinucleotídeo	TBDMSCl: cloreto de <i>terc</i> -
NMO: óxido de <i>N</i> -metilmorfolina	butildimetilsilila
Ns: Nosila	TBS: <i>terc</i> -butildimetilsilila
PAS: ácido <i>p</i> -amino-salicílico	<i>t</i> Bu: <i>terc</i> -butila
PHAL: ftalazina	TEA: trietilamina
PhF: fenilfluorenila	TFA: ácido trifluoracético
Pht: ftaloíla	THF: tetraidrofurano
PPD: derivado de proteína purificado	TMS: trimetilsilano
(teste de Mantoux)	Ts: tosila
PZA: pirazinamida	TsCl: cloreto de tosila
<i>R</i> _f : fator de retenção	UV: ultravioleta
RMN de ^{13}C : Ressonância Magnética	v: número de onda
Nuclear de Carbono 13	

Símbolos e abreviações usados nas atribuições dos espectros de RMN.

s : simpleto	q : quarteto
sl : simpleto largo	quint : quinteto
d : duplete	m : multiplete
dl : duplete largo	<i>J</i> : constante de acoplamento
dd : duplete duplo	ppm : partes por milhão
ddd : duplo duplete duplo	δ : deslocamento químico
t : tripleto	Hz : Hertz
td: tripleto duplo	

Considerações Gerais

O trabalho que será aqui apresentado foi dividido em dois capítulos. No capítulo 1 descreveremos a síntese de candidatos a novos agentes antimicrobianos, em particular agentes antituberculosos, e no capítulo 2 discutiremos os estudos que foram realizados visando a preparação da alloenduracididina

Capítulo 1 - Síntese de Derivados do 2-mercaptobenzotiazol, do 2-mercaptobenzimidazol, da Isoniazida e da Etionamida, Candidatos a Novos Agentes Antimicrobianos.

Apresentação

O capítulo 1 será subdividido em partes I e II. Na parte I (seções 1.1, 1.2 e 1.3) será relatada a síntese de análogos do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos. Na seção 1.1, desse capítulo, discutiremos de maneira geral sobre a importância dos agentes antimicrobianos no tratamento de doenças e, mais precisamente no tratamento da tuberculose que é o alvo principal do interesse desse trabalho. Neste contexto, a descrição da tuberculose se faz necessária sob o ponto de vista do seu agente etiológico, do seu modo de infecção, sintomas e tratamentos, que serão abordados na seção 1.2. Na seção 1.3 será feita uma introdução sobre a importância biológica dos compostos heterocíclicos derivados de benzotiazóis e benzimidazóis, sobretudo, no que diz respeito as suas potencialidades como agentes antibacterianos, principalmente antituberculosos e antifúngicos. Serão descritos, ainda, alguns métodos de preparação de compostos benzotiazólicos e benzimidazólicos presentes na literatura, os objetivos e planos de síntese propostos para os análogos que serão sintetizados, bem como os resultados obtidos nessa parte do trabalho.

Na parte II, seção 1.4, será discutida a preparação de análogos da isoniazida condensados com carboidratos (seção 1.4.1) e a síntese dos análogos da etionamida condensados com amino álcoois (seção 1.4.2). Nessas seções também serão abordados os aspectos históricos e mecanísticos desses dois fármacos, bem como os objetivos e planos de síntese propostos para os derivados que foram preparados e, os resultados obtidos nessa segunda parte do trabalho.

1.1. Introdução Geral

Mesmo antes do estabelecimento das bases microbianas das doenças infecciosas, o homem já empregava determinadas substâncias químicas na tentativa de regredir quadros de malária, com o extrato de cinchona (quinino), e de amebíases pela raiz de ipecacuanha (emetina).^{1a} Contudo, foi somente no final dos século XIX e início do século XX que os pesquisadores começaram a estabelecer possíveis relações entre moléculas específicas e o controle de microrganismos. Desde então, a pesquisa de antimicrobianos centrou-se

principalmente na busca de novas moléculas e na possibilidade de se alterar tais moléculas, tornando-as mais eficazes.

No que concerne aos avanços no uso de antimicrobianos no tratamento da tuberculose, muitos fármacos foram testados sem sucesso como, por exemplo, a penicilina. No entanto, em 1944, Waksman pela primeira vez empregou a estreptomicina (SM) no tratamento da doença e, após 61 anos, houve uma revolução na medicina. À partir dessa descoberta, novos quimioterápicos foram então adicionados à terapia ao longo dos anos eliminando o germe sem matar as pessoas infectadas: a isoniazida (INH), em 1952, o ácido para-amino-salicílico (PAS), em 1964, a rifampicina, em 1965, o etambutol (EMB), em 1968 e a pirazinamida (PZA), que embora tenha sido descoberta em 1936 foi utilizada contra a tuberculose somente a partir da década de 70 do século XX.^{1b}

Muitos avanços foram conseguidos no tratamento da tuberculose, contudo a resistência bacteriana ainda é um dos maiores desafios a serem vencidos na atualidade. Sob esse ponto de vista, uma discussão mais aprofundada das possíveis causas do retorno da tuberculose e das estratégias a serem adotadas para o controle da doença se faz necessária.

1.2. Tuberculose

1.2.1. Histórico

A tuberculose (TB) é uma doença contagiosa grave, com relatos de médicos da Grécia e na Roma antiga e, atualmente, acredita-se que esta doença já era conhecida também no antigo Egito, já que pesquisadores encontraram lesões de tuberculose em múmias. No entanto, somente em 1882 a bactéria responsável pela doença, o *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 1.1) foi isolado pelo cientista alemão Robert Koch e, em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK).²

¹a) <http://www.medstudents.com.br>, acessada em março de 2008 b) <http://www.medio.com.br>, acessada em abril de 2008.

² Bloomfield S. F.; *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* **2002**, 31,144S.

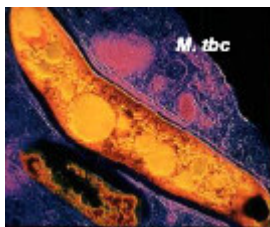


Figura 1.1. Foto utilizando aparelho de microscopia eletrônica de transmissão do *Mycobacterium tuberculosis*.

A TB é transmitida basicamente pelo ar e pode atingir todos os órgãos do corpo, porém como o BK se reproduz e se desenvolve rapidamente em áreas do corpo com muito oxigênio, o pulmão é o principal órgão atingido pela doença. O espirro ou tosse de uma pessoa infectada joga no ar cerca de dois milhões de bacilos que permanecem em suspensão durante horas. Os sintomas da tuberculose, geralmente, são tosse crônica, febre, suor noturno, dor no tórax, anorexia (perda de apetite) e adinamia (falta de disposição).^{3,4} Os exames usados na tentativa do diagnóstico de certeza são a baciloscopia do escarro, a radiologia do tórax, o teste tuberculínico (PPD), que evidencia o contato prévio com o bacilo e a cultura do escarro ou outros líquidos em meio apropriado.^{3,4}

Atualmente, a TB é um grave problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento onde as desigualdades sociais são mais acentuadas e as condições sanitárias são muitas vezes ineficientes.

Um dos fatores que contribuem para que a tuberculose se torne uma doença ainda mais perigosa é o fato de que os focos pulmonares e/ou extrapulmonares desta doença podem se reavivar a qualquer momento, mesmo depois de vários períodos de latência.

A partir da década de 80, do século XX, com o aparecimento da AIDS, a tuberculose, que teve perspectivas de ser erradicada na década anterior, ressurge com dados alarmantes, como consequência da associação entre TB-HIV (vírus da imunodeficiência humana) e ocorrência de resistência bacteriana à fármacos usados no tratamento desta doença (isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida).^{5,6} Segundo a Organização

³ De Souza, M. V. N.; Vasconcelos, T. R. A.; *Quím. Nova* **2005**, 28, 678.

⁴ Rossetti, M. L. R.; Valim, A. R. M.; Silva, M. S. N.; Rodrigues, V. S.; *Rev. de Saúde Pública* **2002**, 36, 525.

⁵ Barry, C. E.; *Biochem. Pharmacol.* **2000**, 59, 221.

Mundial de Saúde (OMS), existem cerca de 9 milhões de novos casos de TB no mundo a cada ano.⁷ Estima-se que cerca de 2 bilhões de indivíduos em todo mundo estejam infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis*, o que corresponde a cerca de 32% da população mundial, sendo que a estimativa do número de óbitos em 2007 foi de 1,6 milhões de pessoas (Figura 1.2).⁷

De acordo com os dados do Ministério da Saúde, o Brasil ocupa o 16º lugar no ranking dos 22 países que concentram 80% dos casos de tuberculose no mundo. No Brasil existem atualmente cerca de 50 milhões de pessoas infectadas pelo BK, que não desenvolveram a doença, com contaminação de mais de 1 milhão de pessoas a cada ano pelo contato com os doentes. Anualmente ocorrem em nosso país cerca de 6 mil mortes.³

ESTIMATIVA DO NUMERO DE CASOS DE TUBERCULOSE EM 2005.

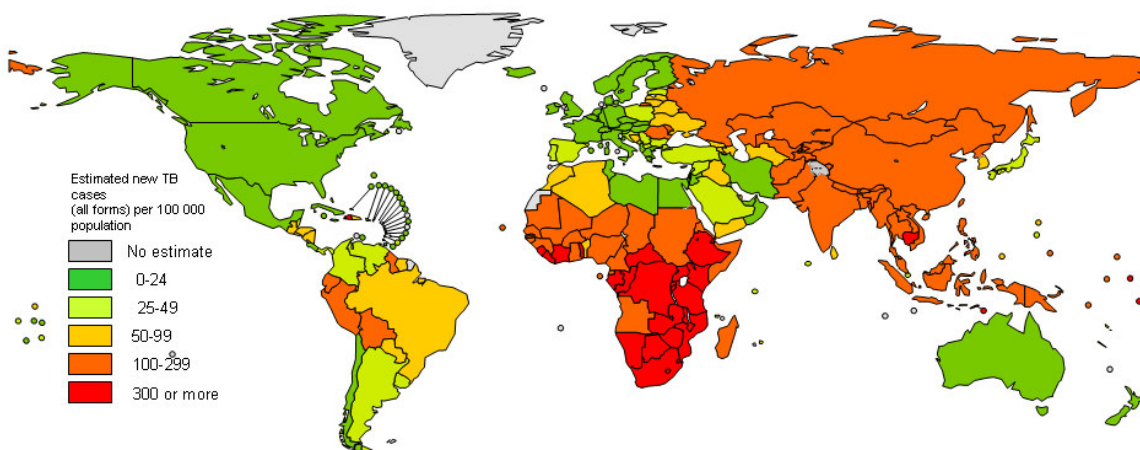


Figura 1.2. Estimativas da incidência de casos de tuberculose mundial em 2005.⁷

1.2.2. Estrutura da micobactéria

As bactérias são geralmente classificadas em dois grandes grupos, as bactérias Gram-positivas e as Gram-negativas. As principais diferenças estão apresentadas abaixo (Tabela 1.1).

⁶ Rando, D. G.; Sato, D. N.; Siqueira, L.; Malvezzi, A.; Leite, C. Q. F.; Do Amaral, A. T.; Ferreira, E. I.; Tavares, L. C.; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *10*, 557.

⁷ <http://www.who.int/en/>, acessada em abril de 2008.

Tabela 1.1. Diferenças existentes entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Zanini e Oga, 1985).

Propriedades	Bactérias Gram-positivas	Bactérias Gram-negativas
Espessura da parede celular	Espessa	Delgada
Composição da parede celular	60% de mucopolissacarídeos, ácidos teicóicos e ribonucleato de magnésio.	10% de mucopolissacarídeos, lipopolissacarídeos e lipoproteínas.
Pressão osmótica no interior do citoplasma	20-30 atm	5-10 atm

As micobactérias, como o *M. tuberculosis*, caracterizam-se por serem bacilos aeróbicos, Gram-positivos, imóveis e álcool-ácido resistentes (BAAR). Isso se refere ao fato de que, após as células serem coradas, dificilmente são decoloradas com solução de álcool-ácida. Essa resistência é atribuída a certos lipídios de alto peso molecular, denominados ácidos micólicos, encontrados em sua parede celular (Figura 1.3).

A célula da micobactéria possui estrutura complexa, contendo três classes de polímeros que compõem a parede celular: as peptidoglicanas, as arabinogalactanas e as lipoarabinomananas. A estrutura básica da parede celular do *M. tuberculosis* é conhecida desde a década de 60, mas os processos biossintéticos envolvidos na sua construção só começaram a ser determinados recentemente.

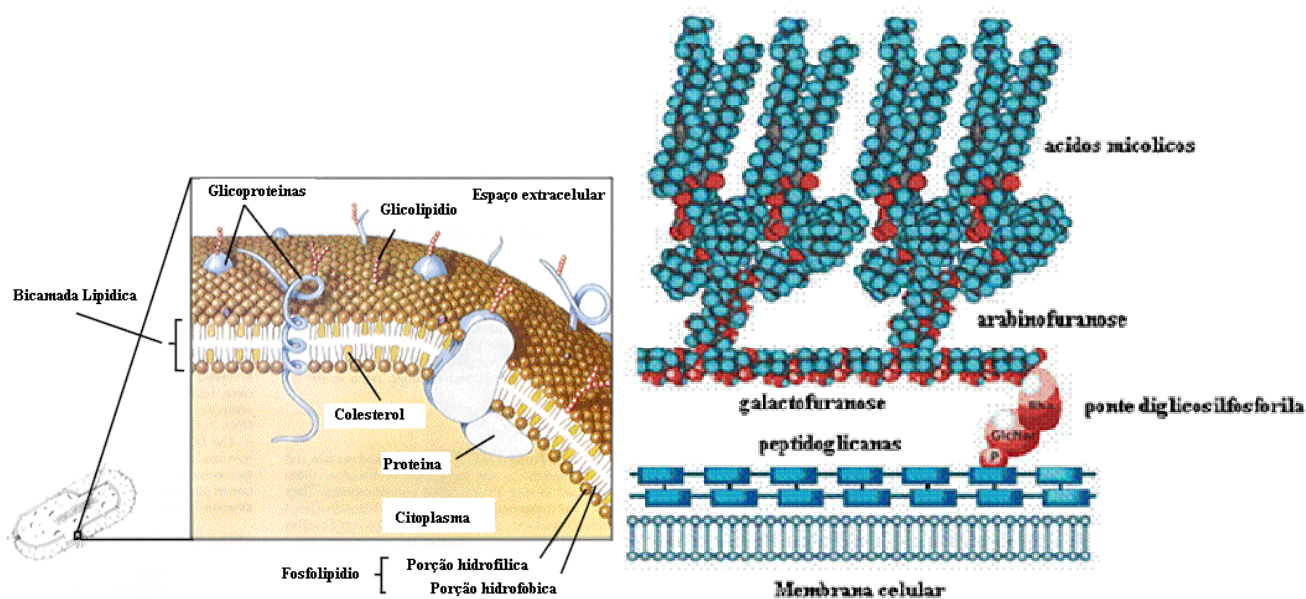
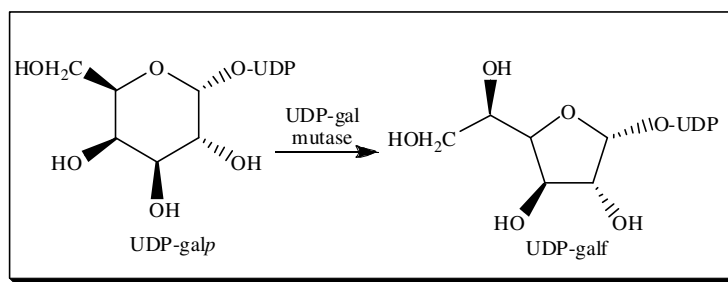


Figura 1.3. Estrutura da parede celular das micobactérias.

As peptidoglicanas (Figura 1.3) do *M. tuberculosis* são similares as encontradas em outras bactérias e consistem em cadeias lineares de polissacarídeos, unidas em toda a sua extensão por pequenos peptídeos por ligação cruzada. Essas estruturas estão ligadas ao próximo polímero da parede celular, a arabinogalactana, por uma única ponte de diglicosilfosforila, contendo ramnose e *N*-acetil-glicosamina.

A arabinogalactana é formada por um esqueleto de galactose com ramificações de arabinose e sua estrutura é incomum, uma vez que tanto a arabinose como a galactose encontram-se na forma furanosídica (Figura 1.3). Estudos “*in vitro*” têm mostrado que a uridina 5'-difosfogalactofuranose (UDP-D-Galf) é formada pela contração do anel da 5'-difosfogalactopiranosose (UDP-D-Galp), catalisada pela UDP-gal-mutase (Esquema 1.1).

As micobactérias são os únicos microorganismos conhecidos que contêm galactofuranose e arabinofuranose em sua estrutura celular.⁸



Esquema 1.1. Contração do anel piranosídico pela UDP-gal-mutase no *M. tuberculosis*.

Os ácidos micólicos (Figura 1.3) são ácidos graxos β -hidroxilados e alquilados na posição α contendo cerca de 60 a 90 átomos de carbono ligados covalentemente a arabinogalactanas. Esses ácidos não possuem uma estrutura única assumindo, portanto, várias formas. Os ácidos micólicos fazem parte do complexo mAGP (ácido micólico-arabinogalactana-peptidoglicana) que compõem a parede celular da bactéria e são alvo em potencial das drogas contra a tuberculose.⁹ O conhecimento de seu processo de biossíntese, bem como as enzimas envolvidas nesse processo, consistem em um dos maiores desafios nas áreas de genética e bioquímica de agentes patogênicos. A elucidação quase total dos

⁸ Silva, T. C.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2000.

⁹ Brennan, P. J.; *Tuberculosis* **2003**, 83, 91.

genes responsáveis pela síntese das cadeias de ácidos micólicos foi feita recentemente por Slayden e colaboradores.¹⁰

Sabe-se igualmente, que as glicosil-transferases, micolil-transferases e D-alanina-racemase, além de outras enzimas, estão envolvidas no processo de biossíntese do complexo mAGP. Muitos fármacos que atuam na inibição da atividade dessas enzimas são conhecidos e mostram-se eficazes contra a tuberculose.⁸⁻¹¹

O *Mycobacterium tuberculosis* contém substâncias relacionadas com a inibição da resposta imunológica do hospedeiro, como as arabinomananas. No caso do bacilo de Koch, essa função é exercida pela lipoarabinomanana, que permite que a bactéria sobreviva, mesmo quando ingerida pelas células de defesa do hospedeiro.⁸

Portanto, a busca por fármacos que atuem interrompendo a síntese da parede celular do bacilo de Koch representa uma das principais linhas de pesquisa da atualidade nesta área. Por incorporar um grande número de açúcares, como a L-manose, a D-arabinofuranose e a D-galactofuranose, que não se encontram equivalentes em células de mamíferos, supõe-se que drogas que possam atuar na inibição da biossíntese desses carboidratos possam vir a ser inovações promissoras ao tratamento da tuberculose.

1.2.3. Tratamento

Os fármacos empregados no tratamento da tuberculose podem ser divididos em duas principais categorias: os fármacos de primeira e de segunda escolha. Os fármacos de “primeira escolha”, que são a linha de frente no tratamento da TB, podem ser exemplificados pela rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (Figura 1.4). Esses compostos se mostram eficazes no tratamento da maioria dos pacientes. Os fármacos de “segunda escolha” são uma alternativa ao tratamento da TB a partir do surgimento da resistência bacteriana, que normalmente ocorre pela não adesão do paciente ao tratamento completo. Os fármacos de segunda escolha são: etionamida, ácido para-amino-salicílico, cicloserina, amicacina, canamicina, capreomicina, tioacetazona e ofloxacina, esta última recentemente incluída nessa lista (Figura 1.5).¹²

¹⁰ Slayden, R. A.; Barry, C. E.; *Microbes and Infection* **2000**, 2, 659.

¹¹ Katiyar, D.; Tewari, N.; Tiwari, V. K.; Verma, S. S.; Chaturvedi, V.; Srivastava, A.; Gaikwad, A.; Sinha, S.; Srivastava, R.; Srivastava, B. S.; Tripathi, R. P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2005** 40, 351.

¹² De Souza, M. V. N.; Vasconcelos, T. R. A.; De Almeida, M. V.; Cardoso, S. H.; *Curr. Med. Chem.* **2006**, 13, 455.

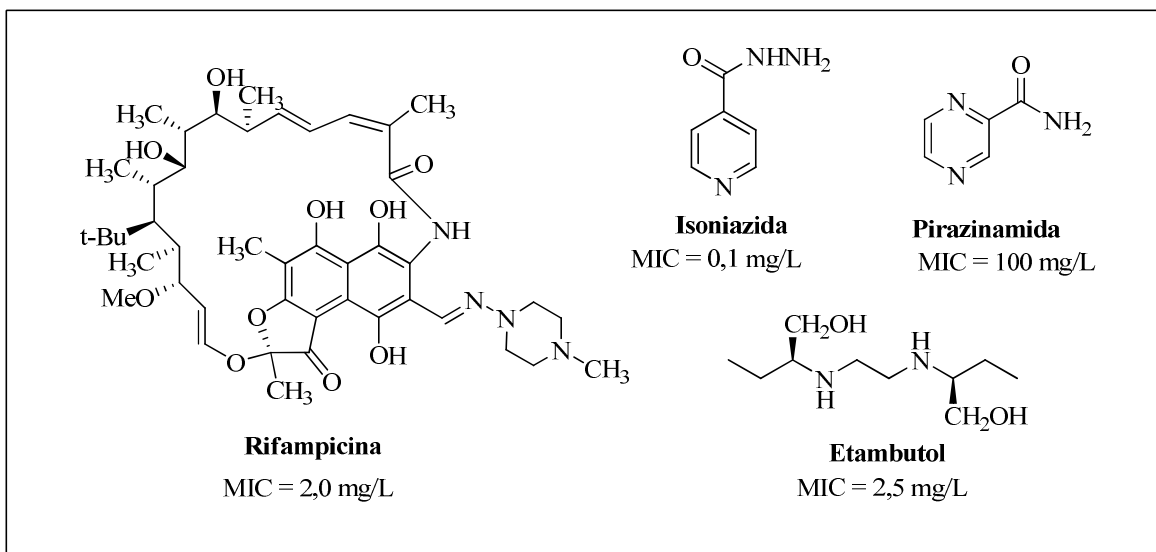


Figura 1.4. Estrutura de fármacos de 1ª Linha usados no tratamento da TB.

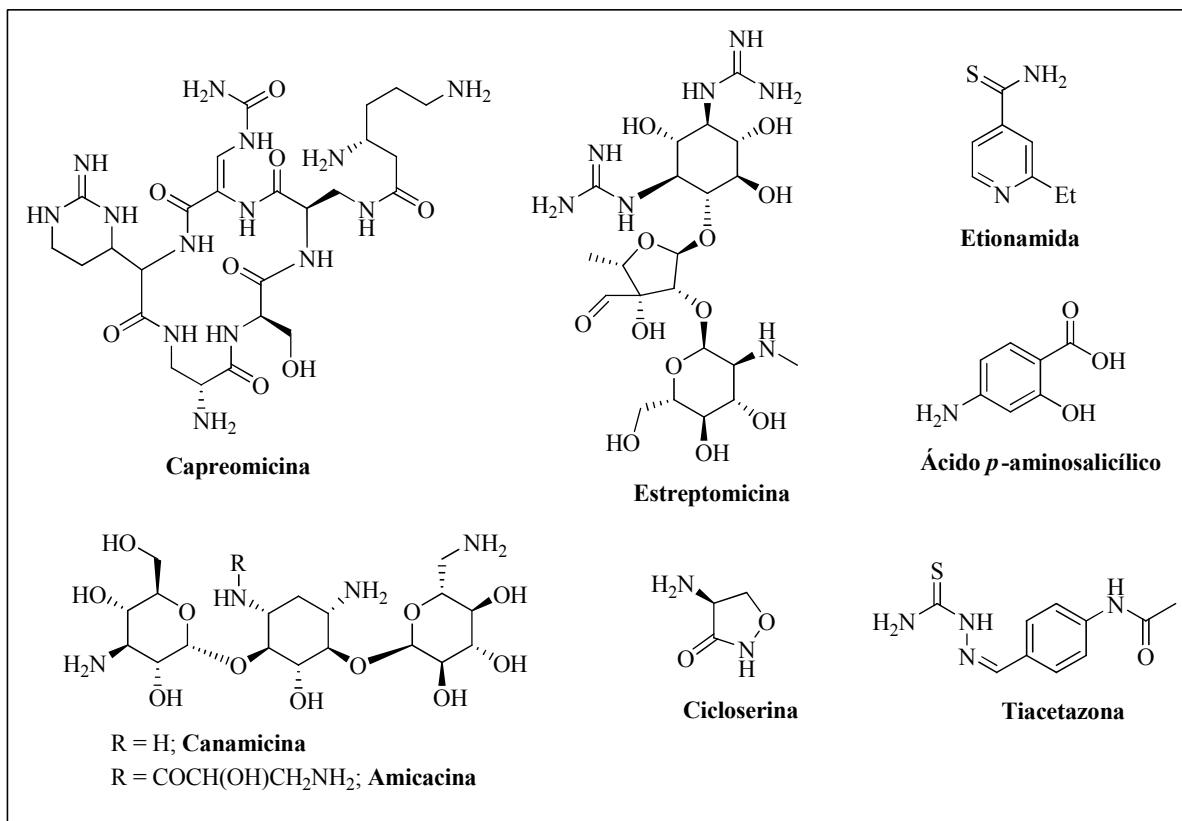


Figura 1.5. Estrutura de fármacos de 2ª linha usados no tratamento da TB.

O tratamento preferencial, inclusive padronizado no Brasil, é baseado na combinação da isoniazida, pirazinamida e rifampicina, que são utilizados por um período de 6 à 8 meses. Nos primeiros 2 meses, o esquema terapêutico inclui os 3 fármacos, seguidos da utilização da rifampicina e isoniazida nos últimos 4 meses. Esse tratamento, quando utilizado da forma recomendada, é capaz de curar mais de 95% dos pacientes. Apesar do tratamento da tuberculose ser eficaz e barato custando entre US\$ 10 e 20 por um período de 6 meses, dependendo do país, a taxa de abandono ao tratamento é muito elevada. Isto se deve, principalmente, aos efeitos colaterais como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica, cegueira e à falta de informação e de acompanhamento aos pacientes.^{12,13}

Tendo em vista as altas taxas de abandono do tratamento pelos pacientes, a partir dos anos 90 do século XX, a Organização Mundial de Saúde implantou o tratamento diretamente observado de curta duração (DOTS). A estratégia do DOTS consiste na administração direta do medicamento por uma segunda pessoa, que entrega, observa e registra a ingestão de cada dose da medicação. O DOTS pode detectar e curar até 95% dos pacientes infectados, inclusive nos países mais pobres. Contudo, as despesas com deslocamento dos pacientes e manutenção da equipe médica, que tem de estar presente diariamente, fazem com que os governos dos países pobres não possam pagar pelo serviço e somente 17% dos pacientes com TB ativa são atendidos pelo programa em todo mundo.¹⁴

1.2.4. Tuberculose Resistente (TB-MDR ou TB-XDR)

O aumento no número de linhagens resistentes TB-MDR (resistentes à INH e PZA) e TB-XDR (TB-MDR e ainda resistente a fluoroquinolonas e a uma das drogas anti-TB injetáveis: amicacina, canamicina ou capreomicina), tem causado muita preocupação dentre os especialistas em saúde pública pois contribui para o aumento do número de mortes por tuberculose que, frequentemente, está associado à infecção com o HIV. Estima-se que existam atualmente cerca de 90.000 casos de TB-MDR em 81 países.

¹³ De Souza, M. V. N.; *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discov.* **2006**, *1*, 33.

¹⁴ Mukherjee, J. S.; Rich, M. L.; Soggi, A. R.; Joseph, J. K.; Virú, F. A.; Shin, S. S.; Furin, J. J.; Becerra, M. C.; Barry, D. J.; Kim, J. Y.; Bayona, J.; Farmer, P.; Fawzi, M. C. S.; Seung, K. J.; *The Lancet* **2004**, *363*, 474.

No início de 2008, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que seriam necessários 4,8 bilhões de dólares para o controle efetivo da tuberculose, sendo 1 bilhão destinado ao tratamento da TB-MDR e TB-XDR. Contudo, o financiamento total, hoje, destinado a causa, é de apenas 2,5 bilhões de dólares, incluindo 500 mil para o tratamento das formas resistentes.⁷

1.2.5. Perspectivas

A busca por novos agentes eficazes contra TB visa não somente reduzir os efeitos colaterais e o número de doses e/ou tempo de tratamento, mas principalmente atender aos pacientes portadores de bacilos multirresistentes. O crescimento de infecções oportunistas causadas por outras bactérias e vírus, como o *mycobacterium avium complex*, a ineficiência no tratamento de pacientes com HIV e a complexidade dos regimes terapêuticos atuais reforçam essa necessidade.

Portanto, a busca por agentes terapêuticos que se baseiem em modificações de fármacos já conhecidos ou na descoberta de novas classes de compostos é de importância crucial, em particular novos métodos para facilitar a entrada dos fármacos na parede celular do bacilo, uma vez que esta é uma das principais dificuldades na atuação dos medicamentos já utilizados.

Uma outra fonte alternativa na descoberta de novos medicamentos para o combate à tuberculose é o reconhecimento, isolamento e uso de princípios ativos de plantas, assim como o uso da genética, que pode auxiliar na busca por produtos que tenham a propriedade de gerar anticorpos contra o bacilo (vacina química).

1.2.6. Compostos promissores no combate à tuberculose em fase de testes clínicos.

Tendo em vista a evidente necessidade pela busca de novos fármacos no combate à tuberculose, faremos aqui uma breve discussão das principais classes de compostos promissoras no combate a essa doença (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Compostos em fase de testes clínicos contra TB.

Composto	Classe	Companhia	Fase Clínica
Rifalazil	Macrolídeo	Kaneka Corporation	Fase II
Rifametano	Macrolídeo	Societa Prodotti Antibiotici	Fase I
Moxifloxacina	Quinolona	Bayer	Fase III
Gatifloxacina	Quinolona	Bayer	Fase III
Sitafloxacina	Quinolona	Daiichi Pharmaceutical	Pré-clínica
Gemifloxacina	Quinolona	LG Chem-SmithKline Beecham	Pré-clínica
Linezolida	Oxazolidinona	Pharmacia Corporation Peapack, NJ	Pré-clínica
PA-824	Imidazol	PathoGenesis Inc	Fase II

1.2.6.1. Derivados das Rifamicinas

As rifamicinas constituem um grupo de antibióticos macrocíclicos, estruturalmente relacionados, obtidos a partir do *Streptomyces mediterranei*. A rifampicina (RMP, Figura 1.4) é um derivado semi-sintético da rifamicina SV e possui atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A rifampicina se tornou um poderoso agente antibacteriano devido a sua ação esterilizante, sendo capaz de reduzir consideravelmente o tempo de tratamento dos pacientes com tuberculose. Ela atua por um mecanismo de ação que se baseia na inibição da ARN-polimerase, que codifica o ADN bacteriano, bem como outras proteínas da bactéria.

A rifapentina e a rifabutina (Figura 1.6 e 1.7) são derivados da rifampicina lançados recentemente no mercado. Esses derivados mostraram ser cerca de 4 a 5 vezes mais potentes que a rifampicina, sendo ativos também contra as cepas resistentes de *M. tuberculosis*.

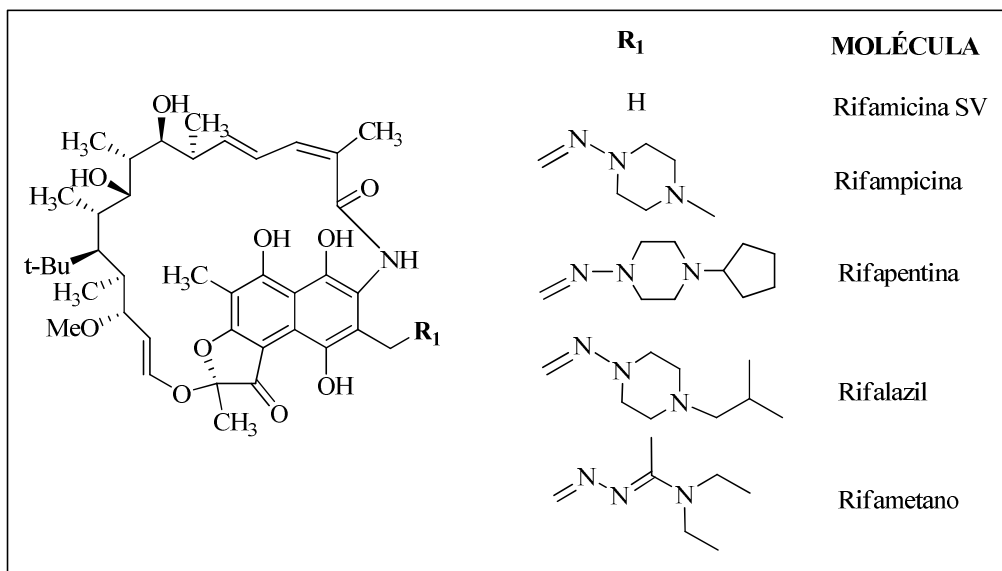


Figura 1.6. Derivados da rifamicina.

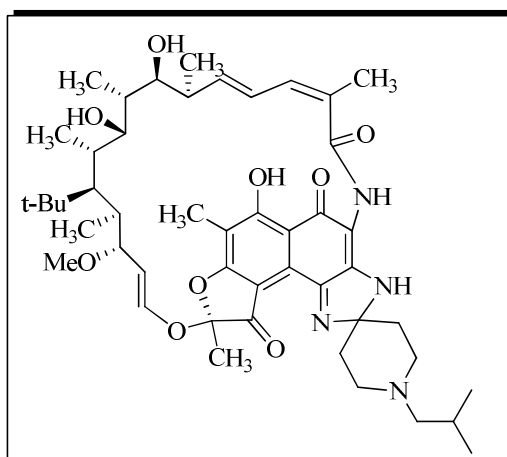


Figura 1.7. LM 427 (Rifabutina)

1.2.6.2. Fluorquinolonas

As primeiras gerações de fluorquinolonas foram obtidas a partir da descoberta da norfloxacin, em 1980, incluindo ciprofloxacina, ofloxacina, enofloxacina, sparfloxacina, levofloxacina e lomefloxacina (Figura 1.8).

Atualmente, as fluorquinolonas de quarta geração (moxifloxacina, gatifloxacina, trovafloxacina, sitafloxacina e gemifloxacina, entre outras) (Figura 1.8) têm apresentado resultados de estudos clínicos promissores contra TB. A moxifloxacina e a gatifloxacina, com valores de MIC₉₀ de 0,03 µg/mL e 0,12 µg/mL, respectivamente, podem se tornar os

primeiros novos anti-TB incorporados ao tratamento nos últimos 30 anos. As fluorquinolonas de quarta geração buscam combinar um melhor perfil farmacocinético (diminuição dos efeitos tóxicos) com um maior poder esterilizante.

Investigações sobre o mecanismo de ação antimicrobiana das fluorquinolonas contra vários tipos de bactérias indicam que a capacidade de inibição de duas enzimas envolvidas na replicação, transcrição e reparação do ADN bacteriano: a ADN-girase (topoisomerase II) e a topoisomerase IV são responsáveis pela atividade biológica de tal classe de compostos.^{12,13,15}

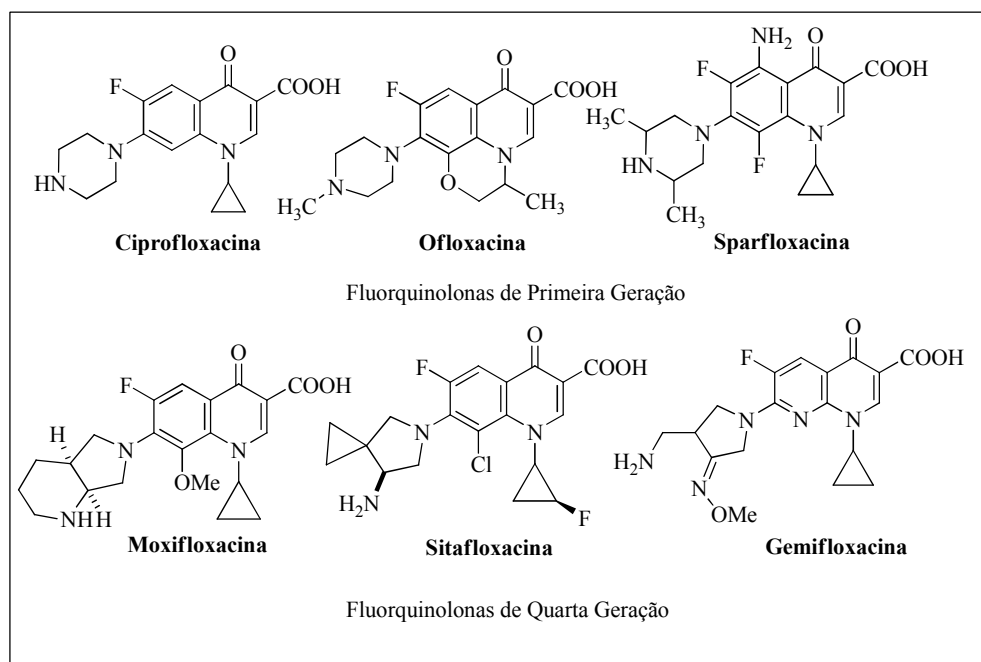


Figura 1.8. Estrutura de fluorquinolonas, uma nova geração de fármacos contra TB.

1.2.6.3. Oxazolidinonas

As oxazolidinonas são uma nova classe de potentes agentes antibacterianos, descobertas na década de 70 do século passado, que possuem atividade contra bactérias Gram-positivas e anaeróbicas. As oxazolidinonas mostraram promissora atividade contra *M. tuberculosis*, especialmente para o tratamento de cepas resistentes (MDR-TB) com

¹⁵ Duncan, K.; Barry III, C. E.; *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, 7, 460.

MIC₉₀ *in vitro* de 0,5-2,0 mg/L. O Zyvox[®] (linezolida; Figura 1.9), aprovado pelo FDA em 2000, é o primeiro medicamento desta classe de compostos que vem sendo utilizado nos EUA no tratamento de infecções graves provocadas por bactérias Gram-positivas que não foram sensíveis à penicilina ou a vancomicina. Segundo Rodrigues e colaboradores a combinação de linezolida com fluorquinolonas foi capaz de combater, de maneira eficaz, cepas resistentes do *M. tuberculosis*, em baixas concentrações.^{12,13}

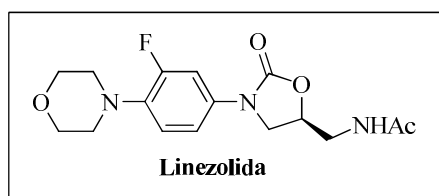


Figura 1.9. Estrutura do Zyvox[®] (linezolida).

1.2.6.4. Nitroimidazol

Os nitroimidazóis são uma classe de compostos descoberta recentemente que pode exercer sua atividade antibacteriana através da inibição da síntese de proteínas e lipídios da parede bacteriana, a partir de sua ativação por um flavonóide denominado cofator F-420.

O composto PA-824 (Figura 1.10), o mais promissor dessa classe, foi desenvolvido pela TB Alliance e encontra-se em fase II de testes clínicos, possuindo potente atividade contra o *M. tuberculosis* com valores de MIC iguais a 0,03-0,2 µg/mL. Esse composto mostrou excelente atividade antibacteriana e nenhuma toxicidade nos modelos testados até o momento. Outra vantagem apresentada por este composto é o fato dele ser ativo também contra cepas resistentes e latentes do *M. tuberculosis*, o que poderia contribuir para a redução do tempo de tratamento, já que a introdução deste fármaco à terapia permitiria o controle absoluto de todas as formas do *M. tuberculosis*, inclusive as inativas.^{13,16}

¹⁶ Stover, K.; Warren, P.; VanDevanter, D. R.; Sherman, D. R.; Arain, T. M.; Langhorne, M. H.; Anderson, S. W.; Towell, J. A.; Ying Y.; McMurray, D. N.; Kreiswirth, B. N.; Barry C. E.; Baker, W. R.; *Nature* **2000**, *405*, 982.

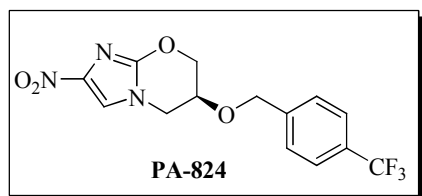


Figura 1.10. Estrutura do PA-824.

1.2.6.5. Produtos Naturais: micotiol e dioproteína B

O micotiol (1-D-1-O-(2-[N-acetil-L-cisteinil]-amino-2-desoxi- α -D-glicopiranosil)-*myo*-inositol (Figura 1.11) é um tiol encontrado em micobactérias como o *M. tuberculosis*, sendo isolado a partir do *Streptomyces sp.* AJ9463^{17,18} e sintetizado pela primeira vez, em 2004, por Rosazza e colaboradores.¹⁹ Acredita-se que o micotiol possui propriedades antioxidantes semelhantes a glutationa e que, devido a essas propriedades, seja um bom modelo para síntese de novos fármacos no combate à tuberculose.

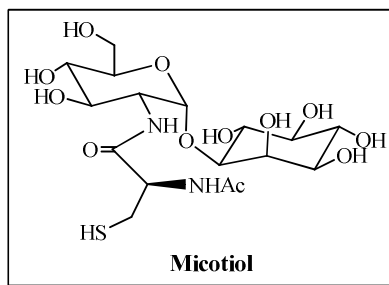


Figura 1.11. Estrutura do Micotiol.

A dioproteína B (Figura 1.12), assim como o micotiol, é um produto natural. Foi isolada de fungos e apresentou uma potente atividade contra o *M. tuberculosis* com uma concentração mínima inibitória de 3,1 $\mu\text{g/mL}$.³

¹⁷ Nicholas, G. M.; Kovac, P.; Bewley, C. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3492.

¹⁸ Gillespie, S. H.; Mchugh, T.D.; *Trends Microbiol.* **1997**, *5*, 337.

¹⁹ Lee, S.; Rosazza, J. P. N.; *Org. Lett.* **2004**, *6*, 365.

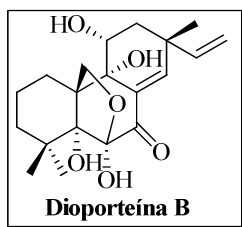


Figura 1.12: Estrutura da Dioproteína B.

Tendo em vista nosso interesse por novos antimicrobianos, em especial que possam atuar como agentes antituberculosos e antifúngicos, na seção 1.3 será mostrada a preparação de compostos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos, a fim de investigar suas propriedades antimicrobianas.

1.3- Parte I – Síntese de compostos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos.

1.3.1. Introdução

Os compostos heterocíclicos contendo núcleos benzotiazólicos ou benzimidazólicos possuem um amplo interesse devido ao seu espectro de atividade biológica. Estas subunidades heterocíclicas estão presentes em diversas moléculas como, por exemplo, o omeprazol,²⁰ (Figura 1.13) fármaco usado no tratamento de úlceras gástricas; o Mintezol® (tiabendazol),²¹ um poderoso parasiticida; a procaína, base orgânica empregada na preparação de penicilinas e ainda, o riluzol,²² usado no tratamento da doença de Charcot (esclerose lateral amiotrófica).

²⁰ Diaz, D.; Fabre, I.; Daujat, M.; Saint Aubert, B.; Bories, P.; Michel, H.; Maurel, P.; *Gastroenterology* **1990**, *99*, 737.

²¹ Backlund, M.; Weidolf, L.; Ingelman-Sundberg, M.; *Eur. J. Biochem.* **1999**, *261*, 66.

²² <http://www.drugs.com>, acessada em julho de 2006.

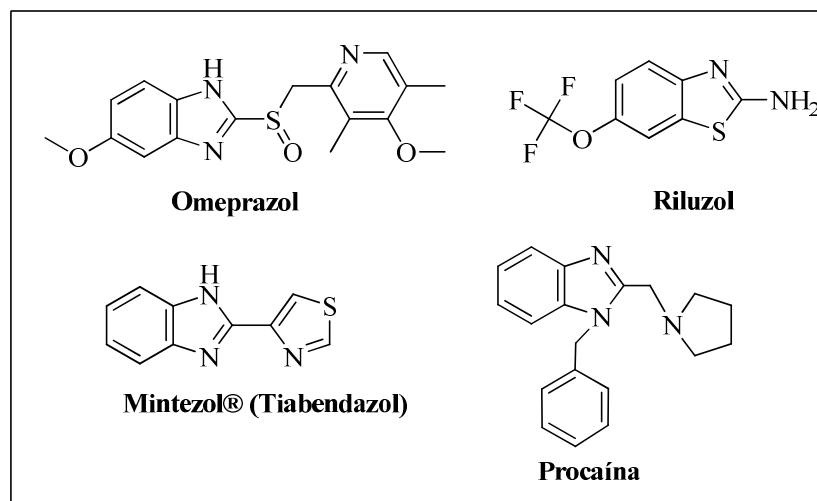


Figura 1.13. Compostos bioativos derivados benzotiazolínicos e benzoimidazolínicos.

As propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antitumorais de benzotiazóis têm sido avaliadas, mostrando que esses compostos possuem ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, *Candida albicans* e ainda enterobactérias *Pseudomonas aeruginosa*.²³ As propriedades dos derivados benzotiazólicos também têm sido testadas em relação a sua atividade antitumoral, os derivados substituídos do 2-fenil-benzotiazol, em especial o 2-(4-aminofenil)-benzotiazol **3** (Figura 1.14), assim como os derivados halogenados no anel aromático de benzotiazóis apresentaram resultados bastante relevantes quando testados “*in vitro*” em células de carcinoma humano. Dados da literatura²⁴ mostram que já existem 17 benzotiazóis substituídos sendo testados contra câncer de mama, laringe e adenocarcinoma cervical. Dentre os derivados benzotiazólicos, o 2-mercaptobenzotiazol **1** (Figura 1.14) é um potente antifúngico usado como padrão nos testes biológicos contra *Cândida albicans*, sendo ainda usado como quimioterápico de uso externo.²⁵

²³ Zitouni, G. T.; Demirayak, S.; Ozdemir, A.; Kaplancikli, Z. A.; Yildiz, M. T.; *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 39, 267.

²⁴ Caleta, I.; Gradisa, M.; Mrvos-Sermek, D.; Cetina, M.; Tralic-Kulenovic, V.; Pavelic, K.; Karminski-Zamola, G.; *il Farmaco* **2004**, 59, 297.

²⁵ Bujdaková, H.; Kuchta, T.; Sidóova, E.; Gvozdjaková, A.; *Microb. Lett.* **1993**, 112, 329.

Os benzimidazóis, assim como os benzotiazóis, possuem inúmeras aplicações, tanto biológicas como em outras áreas, como por exemplo, em química de novos materiais.²⁶ Os derivados do 2-mercaptobenzimidazol **2** (Figura 1.14) possuem considerável atividade antimicrobiana. Dados da literatura mostram que o derivado 4,6-dibromo-2-mercaptobenzimidazol **4** (Figura 1.14) apresentou excelentes resultados como agente antibacteriano,²⁷ sendo que os derivados alquilsulfanilados com anel piridínico foram testados contra *M. tuberculosis* e outros tipos de bactérias como *M. kansasii* e *M. avium* e apresentaram valores de MIC comparáveis aos fármacos utilizados como padrão no tratamento da tuberculose.^{28,29}

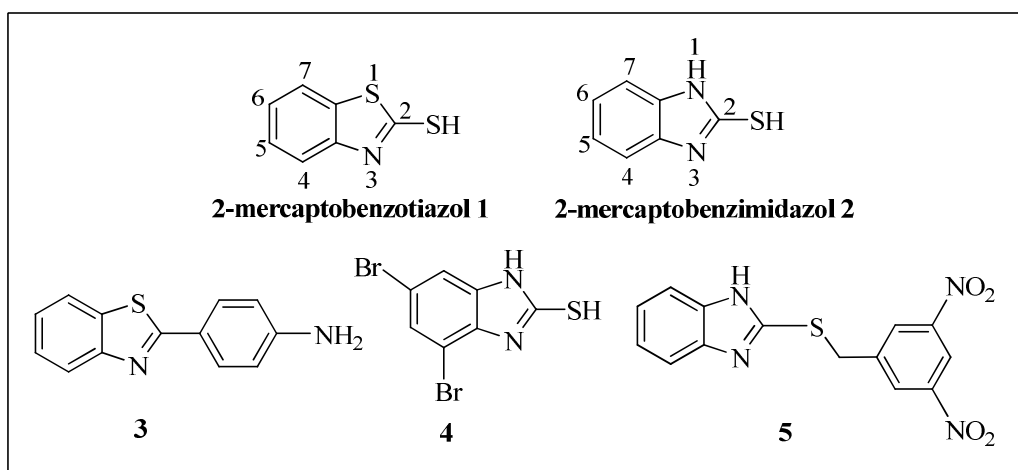


Figura 1.14. Análogos de benzotiazóis e benzimidazóis.

A comparação dos dados de atividade antibacteriana do 2-mercaptobenzimidazol **2** e de derivados benzimidazólicos substituídos, como por exemplo o 2-(3,5-dinitrobenziltio)-mercaptobenzimidazol **5**,²⁹ indicam que a atividade antimicrobiana destes compostos pode estar relacionada à substituições no grupo tiol ligado à posição 2 do anel benzimidazólico. Assim sendo, a substituição do átomo de hidrogênio do grupo SH por cadeias alquila ou

²⁶ a) Rowan, S. J.; Beck, B. J.; *Faraday Discuss.* **2005**, 128, 43. b) Persson, J. C.; Jannasch, P.; *Chem. Mater.* **2006**, 18, 3096.

²⁷ Andrzejewska, M.; Yepez-Mulia, L.; Cedillo-Rivera, R.; Tapia, A.; Vilpo, L.; Vilpo, J.; Kazimierzczuk, Z.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 973.

²⁸ Klimesová, V.; Koci, J.; Pour, M.; Stachel, J.; Waissner, K.; Kaustová, J.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 409.

²⁹ Klimesová, V.; Svoboda, M.; Waissner, K.; Kaustová, J.; Buchtá, V.; Kralová, K.; *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, 34, 433.

arila poderia contribuir para o aumento da atividade biológica de tais compostos (Figura 1.15).

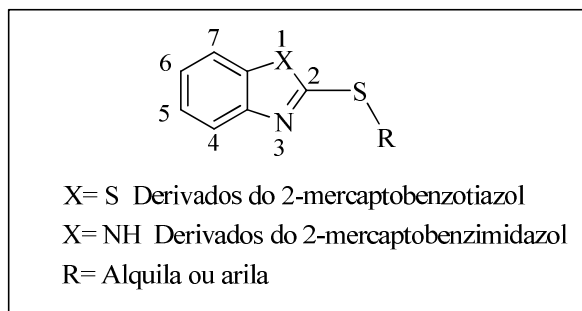
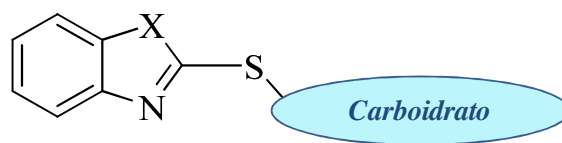


Figura 1.15. Representação de compostos derivados do 2- mercaptobenzotiazol e do 2- mercaptobenzimidazol.

A partir da década de 80, do século XX, com o retorno da epidemia de tuberculose associada à “Síndrome da Imunodeficiência Adquirida” (AIDS) e o aparecimento de resistência aos antibacterianos utilizados, como penicilinas, tetraciclina e cloranfenicol, o interesse na atividade antimicrobiana de benzotiazóis e benzimidazóis, em especial contra o *M. tuberculosis*, vem aumentando.^{28,29} Considerando a presença fundamental de carboidratos, como peptidoglicanas e arabinogalactanas, na constiuição da parede celular do *M. tuberculosis* um dos objetivos de nosso trabalho é a preparação de novos antibacterianos, principalmente agentes antituberculosos, e antifúngicos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol pela condensação com carboidratos (Figura 1.16).



X = S, Derivados do 2-mercaptobenzotiazol.
 X = NH, Derivados do 2-mercaptobenzimidazol.

Figura 1.16. Derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos.

A vantagem de se introduzir carboidratos de baixo peso molecular está no fato de que eles apresentam: grande disponibilidade, baixo custo e ainda poderem aumentar a

hidrossolubilidade dos compostos obtidos. Além disso, três dos fármacos de segunda linha usados no tratamento da tuberculose possuem carboidratos em sua estrutura (estreptomicina, amicacina e canamicina, Figura 1.5).

Alguns compostos que possuem açúcares em sua estrutura, como os glicosil amino ésteres e galactopiranosil amino álcoois, recentemente descritos na literatura,^{11,30} também mostraram-se capazes de inibir certas enzimas envolvidas no processo de biossíntese da parede bacteriana do *M. tuberculosis*.

Nosso grupo já desenvolveu a síntese de compostos furânicos condensados com carboidratos, visando a obtenção de agentes antimicrobianos e tripanocidas.³¹ Ampliando essa linha de pesquisa foi proposta a síntese de derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com a D-galactose, a D-frutose e a D-glicose.

Outro aspecto interessante pode estar relacionado à permeabilidade da parede bacteriana a esses compostos, uma vez que está descrito na literatura que substâncias hidrofílicas, como a glicose, somente podem atravessar a membrana celular através de canais específicos denominados "*porins*". Essa suposição pôde ser confirmada, recentemente, em estudo realizado por Stephan e colaboradores que relata que a passagem de pequenas moléculas hidrofílicas, com tamanho inferior à 600 Da, para o interior do bacilo, é realizada através de microporos.³²

Com o intuito de conhecermos um pouco mais sobre a química de benzotiazóis e benzimidazóis, principalmente dos análogos 2-substituídos, apresentaremos na seção 1.3.2 alguns exemplos de métodos de preparação, descritos na literatura, para tais compostos.

³⁰ Tewari, N.; Tiwari, V. K.; Tripathi, R. P.; Chaturvedi, V.; Srivastava, A.; Srivastava, R.; Shukla, P. K.; Chaturvedi, A. K.; Gaikwad, A.; Sinha, S.; Srivastava, B. S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 329.

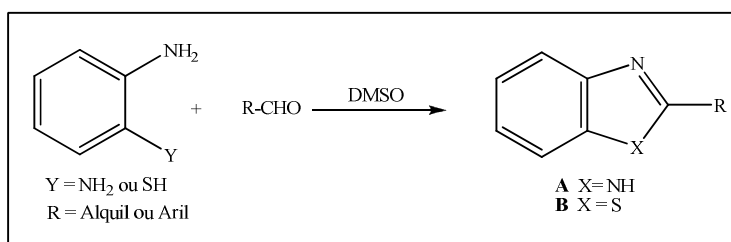
³¹ De Almeida, M. V.; Le Hyaric, M.; Siqueira, L. J. A.; Pinto, L. D.; Valle, M. S.; Alves, W. A.; *Molecules* **2001**, *6*, 728.

³² Stephan, J.; Mailaender, C.; Etienne, G.; Daffé, M.; Niederweis, M.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 4163.

1.3.2. Exemplos de métodos de preparação de compostos benzotiazólicos e benzimidazólicos descritos na literatura.

1.3.2.1. Preparação de derivados 2-substituídos de benzotiazóis e benzimidazóis.

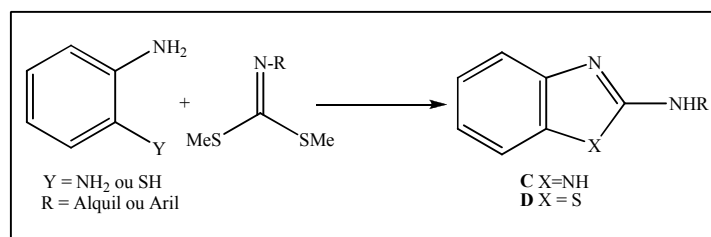
O método mais geral para a síntese de benzotiazóis e benzimidazóis consiste na ciclização de benzenos 1,2-di-substituídos, como aminotiofenol ou 1,2-fenilenodiamina, com reagentes eletrofílicos. A reação de alquil ou aril aldeídos com 1,2-aminotiofenol ou 1,2-fenilenodiamina, em dimetilsulfóxido fornece os correspondentes derivados **A** e **B** 2-alquil ou 2-aril-substituídos (Esquema 1.2).³³



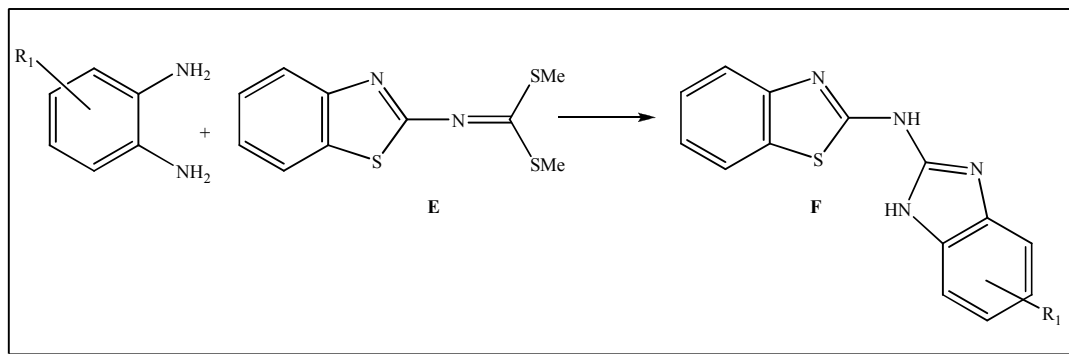
Esquema 1.2. Preparação de compostos 2-alquil ou 2-aril-substituídos derivados de benzotiazóis e benzimidazóis.

A preparação de derivados 2-amino-substituídos de benzotiazóis e benzimidazóis tem sido realizada a partir de reações de condensação de ditiocarbamatos de alquila ou arila com aminotiofenol ou 1,2-fenilenodiamina para fornecer os compostos **C** e **D**, respectivamente, em rendimentos moderados (Esquema 1.3). Este tipo de reação também tem sido empregado na obtenção dos compostos bis-heterocíclicos **E** e **F** como é apresentado no Esquema 1.4.³³

³³ Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V.; *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Elsevier Science Ltda, 1996.

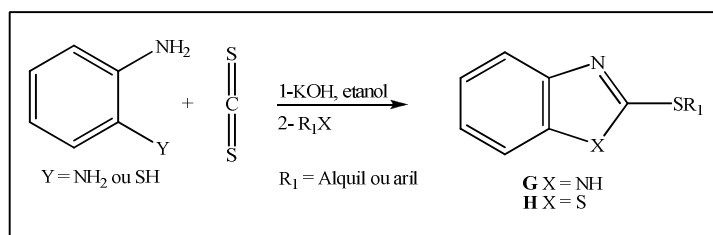


Esquema 1.3. Preparação de compostos 2-*N*-substituídos derivados de benzotiazóis e benzimidazóis.



Esquema 1.4. Preparação de compostos 2-*S*-substituídos derivados de benzotiazóis e benzimidazóis.

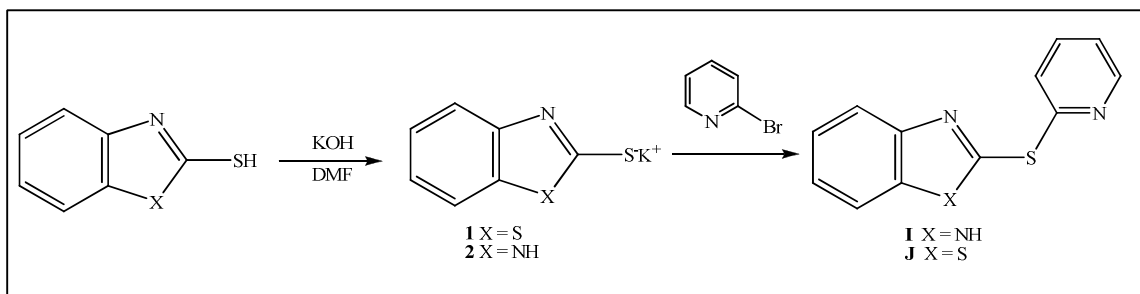
A síntese de compostos 2-*alquil* ou 2-*aril*-sulfanilados derivados de benzotiazóis e benzimidazóis pode ser feita à partir da reação de benzenos 1,2-di-substituídos com dissulfeto de carbono em presença de hidróxido de potássio, com posterior adição do haleto desejado (Esquema 1.5).^{28,33}



Esquema 1.5. Síntese de compostos 2-*alquil* ou 2-*aril*-sulfanilados derivados de benzotiazóis e benzimidazóis.

Os derivados 2-*S*-substituídos possuem maior importância dentro das perspectivas deste trabalho, portanto mostraremos um exemplo da preparação de compostos 2-*S*-*aril*-substituídos, como **I** e **J**, que foram obtidos através da reação da 2-bromopiridina com os

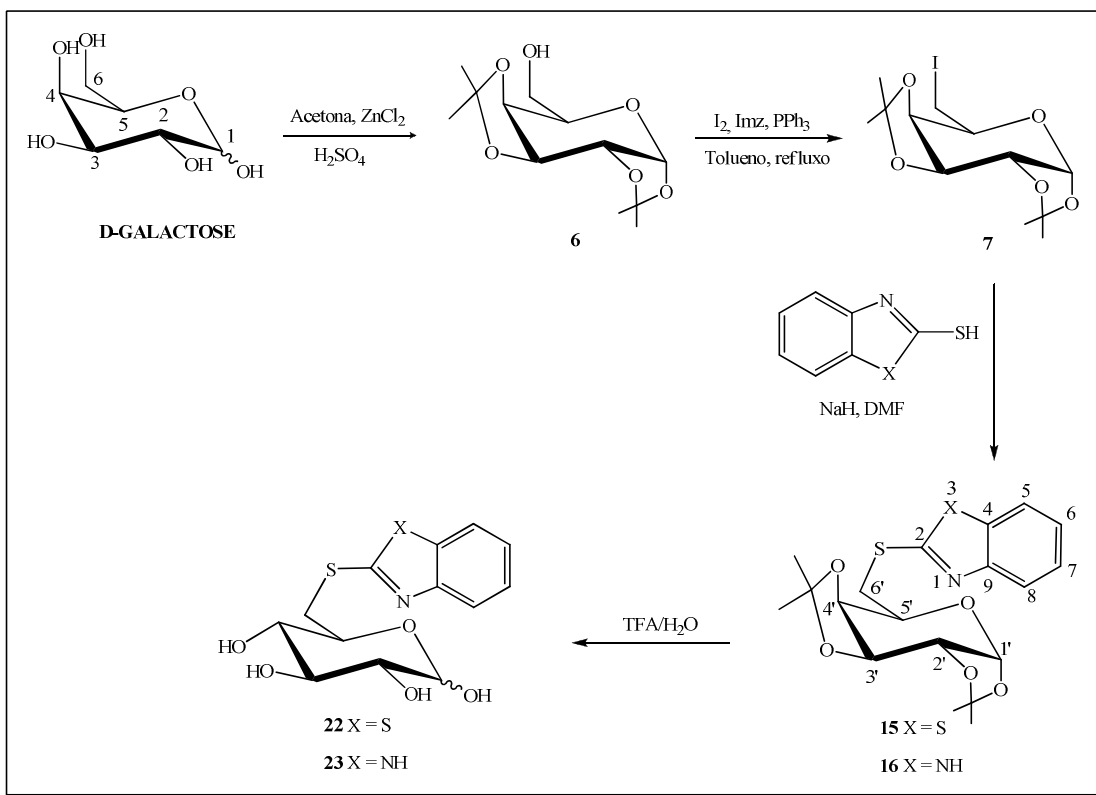
respectivos sais de potássio derivados do 2-mercaptobenzotiazol **1** e do 2-mercaptobenzimidazol **2** (Esquema 1.6).³³



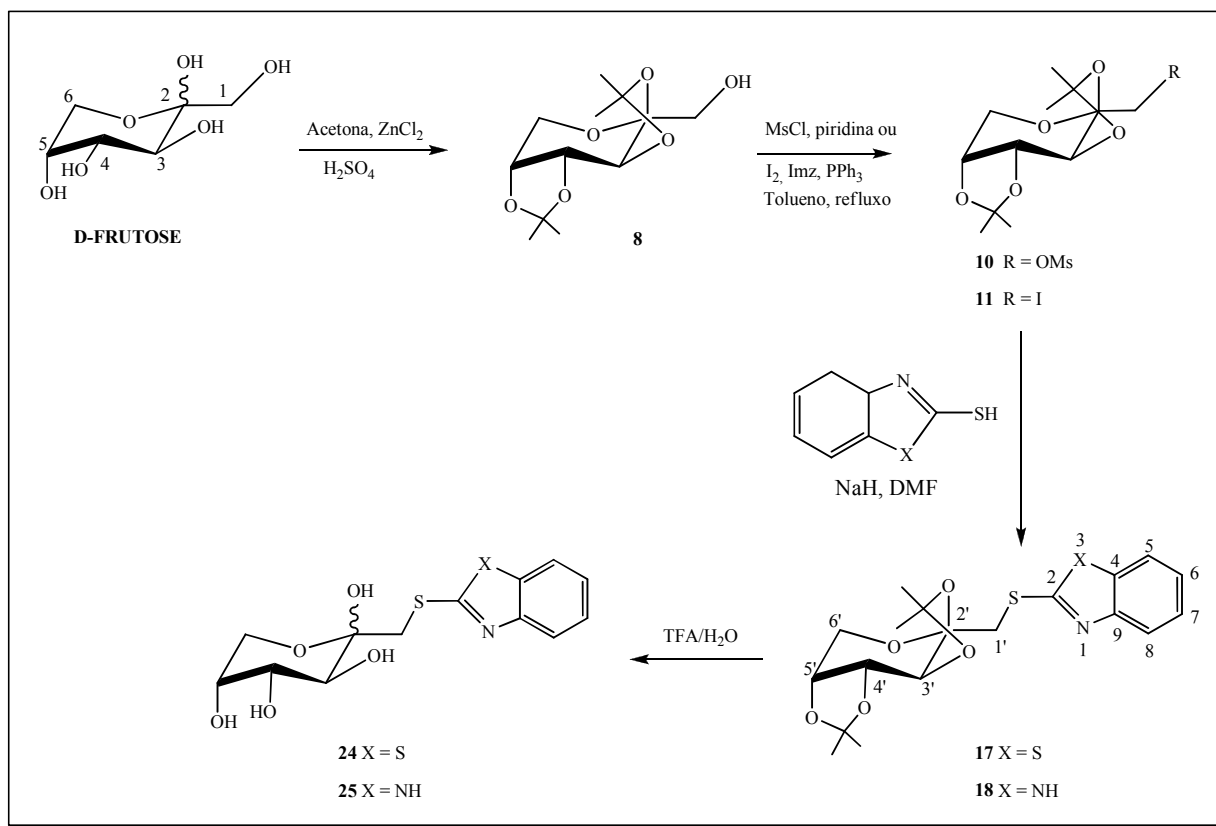
Esquema 1.6. Síntese dos derivados 2-S-aryl-substituídos I e J.

1.3.3. Plano de síntese dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com carboidratos

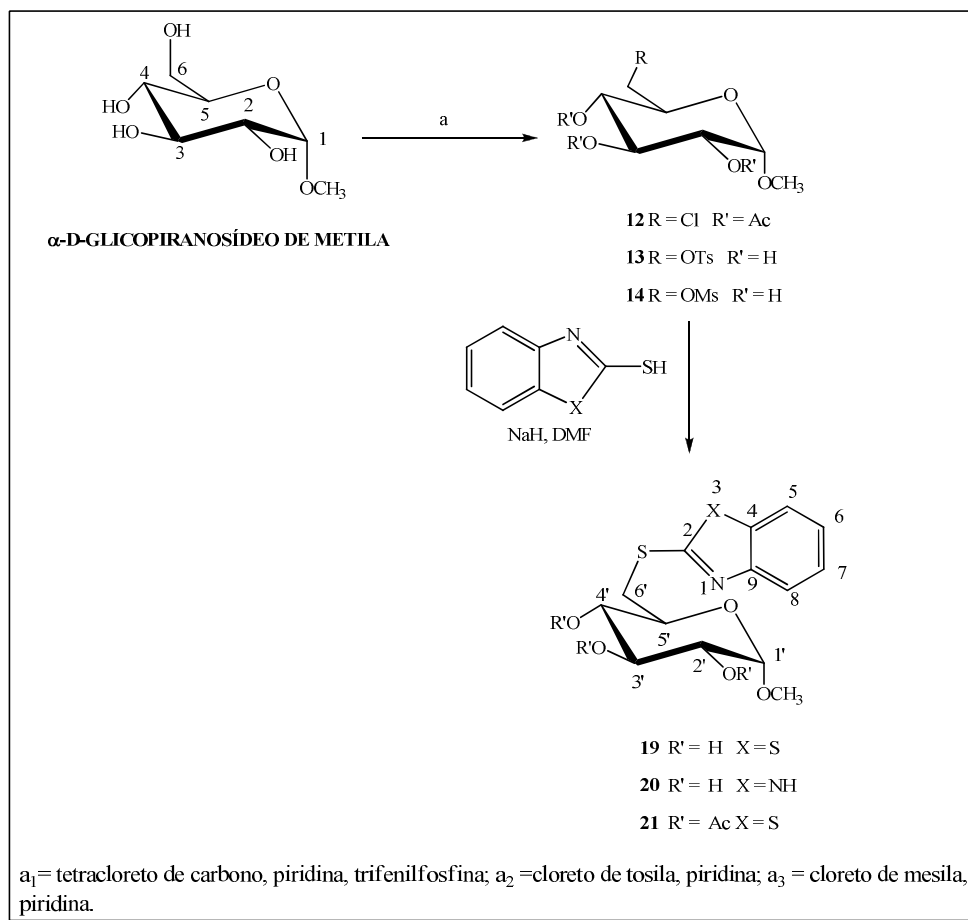
Para a síntese dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol **1** e do 2-mercaptobenzimidazol **2** foi planejado inicialmente a transformação da hidroxila primária do carboidrato em um grupo de saída (halogênio ou sulfonato). Em seguida, seria realizada a condensação desses derivados com o sal de sódio de **1** e **2** e posterior desproteção dos grupos isopropilídenos, via hidrólise ácida, quando necessário (Esquemas 1.7 a 1.9).



Esquema 1.7. Rota sintética para a preparação dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com a D-galactose.



Esquema 1.8. Rota sintética para a preparação dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com a D-frutose.

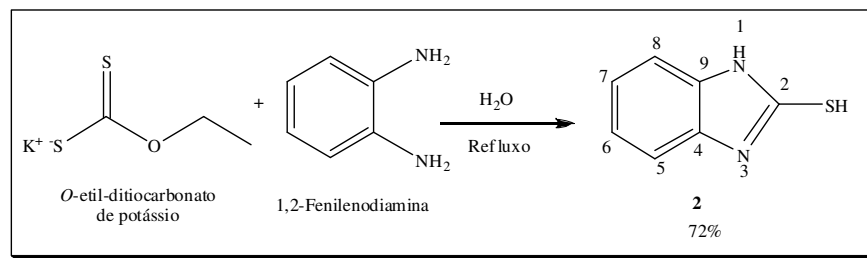


Esquema 1.9. Rota sintética para a preparação dos derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol condensados com a α -D-glicopiranosídeo de metila.

1.3.4. Resultados e discussões

1.3.4.1. Síntese e caracterização do 2-mercaptobenzimidazol 2

A síntese do 2-mercaptobenzimidazol **2** foi realizada a partir da prévia preparação do *O*-etil-ditiocarbonato de potássio (xantonato de etila), obtido pela reação do etóxido de potássio com dissulfeto de carbono, empregando-se como solvente etanol, em rendimento quantitativo. O *O*-etil-ditiocarbonato de potássio foi previamente solubilizado em água e à solução adicionou-se 1,2-fenilenodiamina. A reação permaneceu sob agitação magnética em refluxo por aproximadamente 3 horas. O meio reacional foi filtrado e o composto **2** foi obtido em 72% de rendimento (Esquema 1.10). Sua caracterização foi realizada através da análise da faixa de fusão, análise de seu espectro na região do infravermelho e RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.10: Preparação do 2-mercaptobenzimidazol.

A faixa de fusão encontrada para o composto **2** foi de 300-304°C, o valor encontrado na literatura é de 303-304°C.³⁴

No espectro na região do infravermelho de **2** (Figura 1.17) verificou-se a presença de uma banda larga de absorção entre 3500-3116 cm⁻¹, que foi atribuída ao estiramento da ligação N-H do núcleo benzimidazólico. Puderam ser observadas também bandas de absorção em 2575 cm⁻¹, 919 e 713 cm⁻¹ que correspondem ao estiramento da ligação S-H da molécula, confirmando a presença deste grupo.

Através da análise dos espectros de RMN de ¹H de **2** (Figura 1.18) foi possível verificar a presença de dois multipletos em δ 7,22 e 7,38 que correspondem respectivamente, aos hidrogênios H-5 = H-8 e H-6 = H-7.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 1.19) notou-se a presença de três sinais em δ 110,3, 123,0 e 134,1 referentes aos carbonos do anel aromático (C-5=C-8; C-6=C-7 e C-4=C-9) e ainda um sinal em δ 171,1 ppm, que foi atribuído ao carbono quaternário ligado ao átomo de enxofre (C-2).

³⁴ The Merck Index, *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, & Biologicals*, 18ª ed., Wiley, 1989.

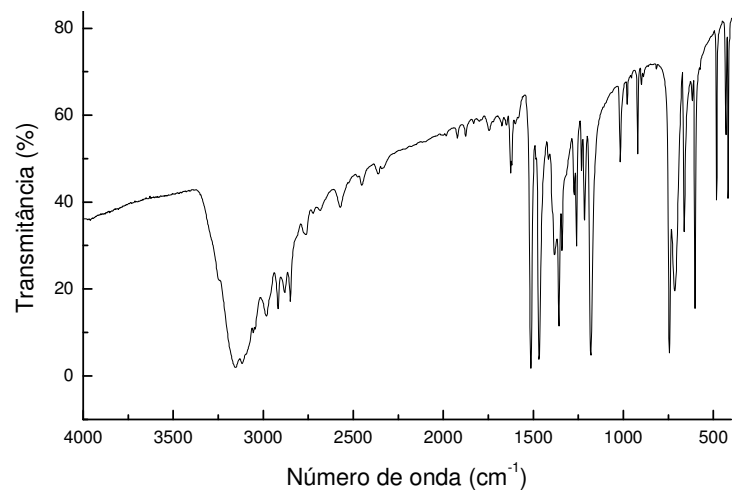


Figura 1.17. Espectro de Infravermelho de **2**.

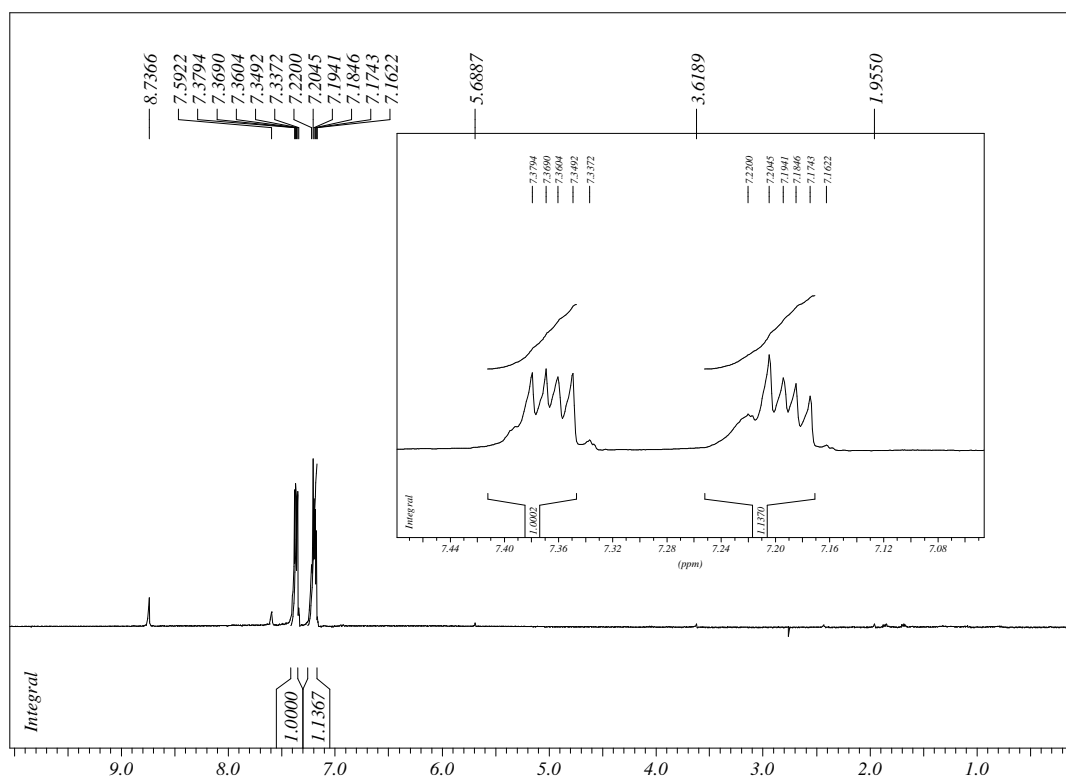


Figura 1.18. Espectro de RMN de ^1H de **2** em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (300 MHz).

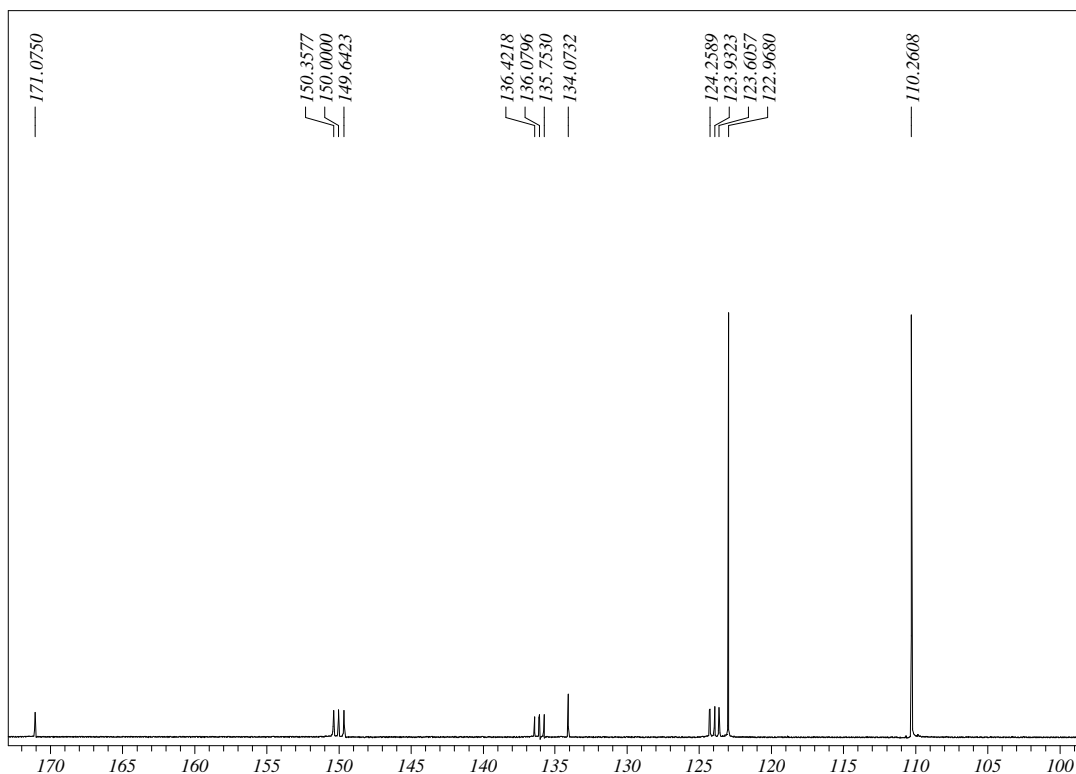


Figura 1.19. Espectro de RMN de ^{13}C de **2** em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (75 MHz).

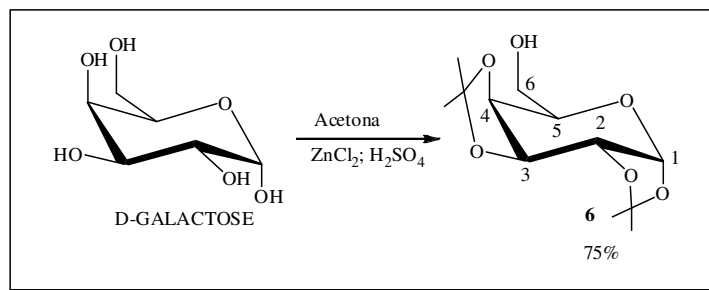
1.3.4.2. Transformação da hidroxila primária do açúcar em um grupo de saída.

Nesta parte do trabalho será apresentada a preparação de vários carboidratos intermediários, pela transformação da hidroxila primária em grupo de saída (sulfonatos ou haletos). Esses intermediários foram utilizados, em seguida, na condensação com o 2-mercaptobenzotiazol e o 2-mercaptobenzimidazol.

Síntese e caracterização da 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **6**

A reação de proteção das hidroxilas em C-1, C-2, C-3 e C-4 da D-galactose foi realizada pelo tratamento da mesma com acetona anidra, cloreto de zinco anidro e ácido sulfúrico concentrado durante 4 horas à temperatura ambiente³⁵ (rend. 75%) (Esquema 1.11).

³⁵ a) Schmidt, O. T.; *Methods in Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 318. b) Perrone, C.; Ferreira, M. L. G.; Valverde, A. L.; Costa, P. R. R.; De Souza, M. C. B. V.; Pinheiro, S.; Ferreira, V. F.; *An. Ressonância. Mag. Nucl.* **1999**, 6, 61.



Esquema 1.11. Preparação do composto **6**.

O intermediário **6** (óleo) foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila 8:2) e caracterizado pela análise de seus espectros de IV e RMN de ^1H e de ^{13}C .

No espectro de infravermelho de **6** (Figura 1.20) verificou-se a presença de uma banda larga de absorção em 3483 cm^{-1} , correspondente ao estiramento da ligação O-H bem como a banda de absorção entre $1380\text{-}1385\text{ cm}^{-1}$ que foi atribuída ao estiramento das ligações C-H correspondente às metilas geminais, característica de acetonídeos. A banda intensa em 1070 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do carboidrato.

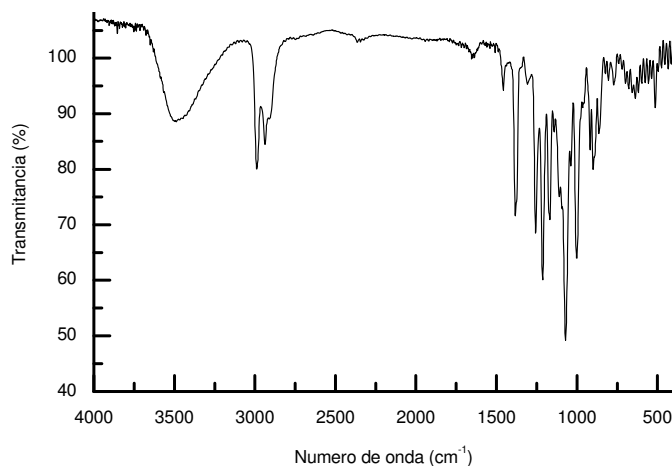


Figura 1.20. Espectro de Infravermelho de **6**.

Antes de começarmos a análise dos espectros de RMN de ^1H dos carboidratos, faremos aqui um breve relato sobre a importância da relação entre as constantes de acoplamento de hidrogênios vicinais e a estrutura química da molécula, que permite, por

exemplo, atribuir o sinal de H-1 como sendo do anômero α ou do anômero β . Essa correlação entre as constantes de acoplamento vicinal J_{H-H} e o ângulo de diedro ϕ , de acordo com Karplus e Conroy, é representada na Figura 1.21 abaixo.

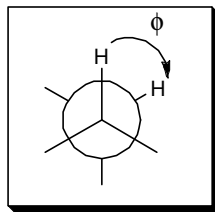


Figura 1.21. Ângulo de diedro ϕ entre ligações C-H vicinais

A equação seguinte pode ser usada para obter a curva de Karplus-Conroy:

$$J^3 = A + B \cos\phi + C \cos 2\phi$$

com as constantes $A= 4,22$, $B= -0,5$ e $C= 4,5$ resultando no gráfico abaixo indicado (Figura 1.22).

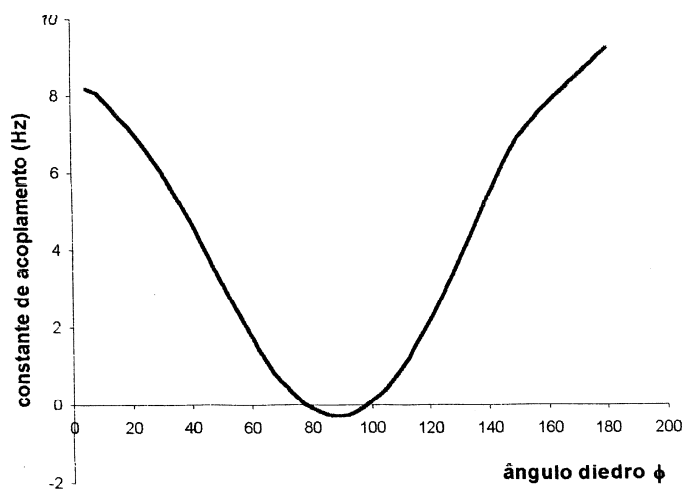


Figura 1.22. Curva de Karplus-Conroy e relação da constante de acoplamento vicinal J_{H-H} com ângulo de diedro ϕ .³⁶

A constante de acoplamento do hidrogênio anomérico depende das orientações de H-1 e de H-2. A constante de acoplamento de dois hidrogênios vicinais de um cicloexano,

³⁶ Gunther, H.; *La spectroscopie de RMN: principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du próton et du carbone 13 in chimie*, Paris, Masson, 1994.

com substituintes como O-H ou outro grupo, é bem maior para hidrogênios que estejam em posições trans-diaxiais, do que entre dois hidrogênios em posições equatoriais, ou ainda entre um hidrogênio axial e um equatorial ($J_{aa} \gg J_{ee} \sim J_{ae}$).³⁷ Esse é um critério importante para análise conformacional dos derivados do cicloexano bem como de açúcares, conforme é mostrado na Figura 1.23.³⁵

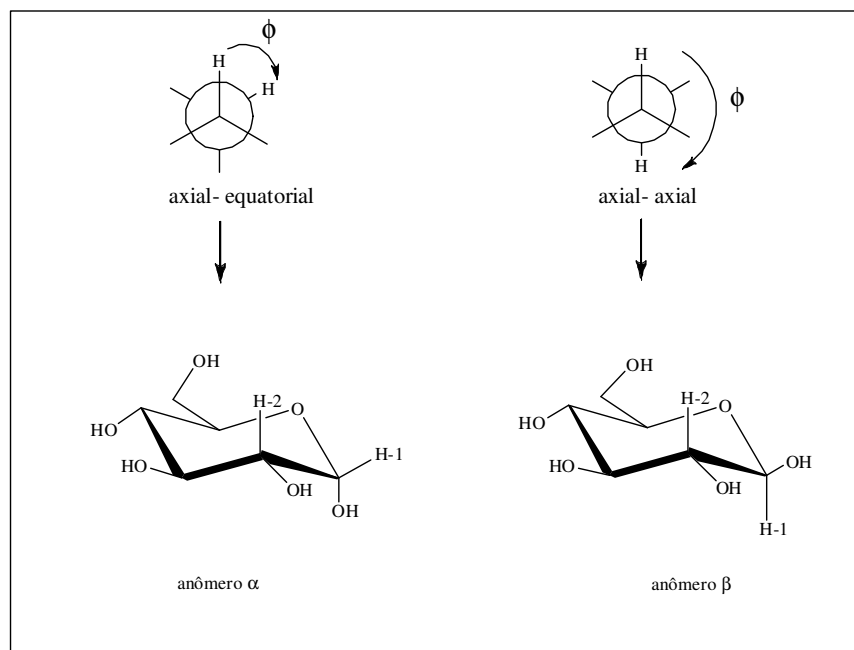


Figura 1.23. Conformação e ângulo de diedro dos anômeros α e β em piranose, comparando com as projeções de Newman.

Portanto, de acordo com o modelo de Karplus-Conroy, os compostos sintetizados neste trabalho serão investigados sob o ponto de vista de sua estrutura conformacional. Para tanto, os valores das constantes de acoplamento vicinais entre os hidrogênios do açúcar serão calculadas de modo a sugerir que este se encontre na conformação mais estável, sendo esta α ou β . É importante salientar que outros fatores, como a eletronegatividade dos substituintes, os ângulos de ligação θ e os comprimentos de ligação, além da dependência angular ϕ , podem influenciar os valores das constantes de acoplamento, de modo que estes também devem ser levados em consideração na determinação da estrutura molecular. Vale

³⁷ Hall, L. D.; *Nuclear Magnetic Resonance Advances in Carbohydrate Chemistry*, **1994**, 19, 88.

ressaltar ainda que as deduções de ângulos diedros a partir das constantes de acoplamento medidas só são confiáveis quando a comparação é feita entre compostos semelhantes como é o caso dos carboidratos.³⁸

De posse destas informações e pela verificação da constante de acoplamento entre H-1 e H-2, da ordem de 5,1 Hz, foi possível inferir que o intermediário **6** possui conformação α . Pôde-se observar também no espectro de RMN de ^1H de **6** (Figura 1.24), a presença de três simpletos (12H) entre δ 1,32 e 1,52 correspondentes aos hidrogênios CH_3 do grupo isopropilideno, evidenciando, desta maneira, a ocorrência da reação de proteção desejada.

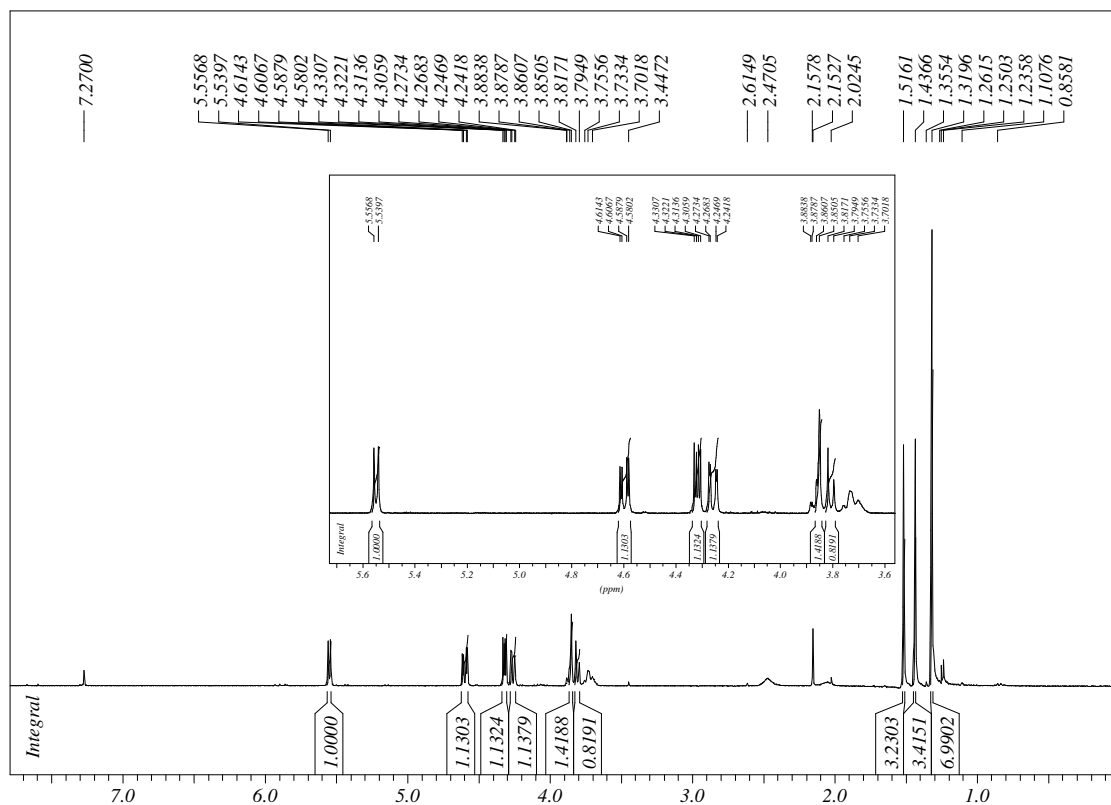


Figura 1.24. Espectro de RMN de ^1H de **6** em CDCl_3 (300MHz).

³⁸ Silverstein, R. M.; Bassle, G. C.; Morrill, T. C.; (Tradução) De Alencastro, R. B.; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 5ª ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1994.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.25) pode-se observar quatro sinais entre δ 24,5 e 26,2, que foram atribuídos aos carbonos metílicos dos grupos isopropilideno e dois sinais em δ 108,9 e 109,6 referentes aos carbonos quaternários dos mesmos. Em ambos os espectros foram verificados, igualmente, os sinais correspondentes aos hidrogênios e carbonos do anel piranosídico nas regiões esperadas.

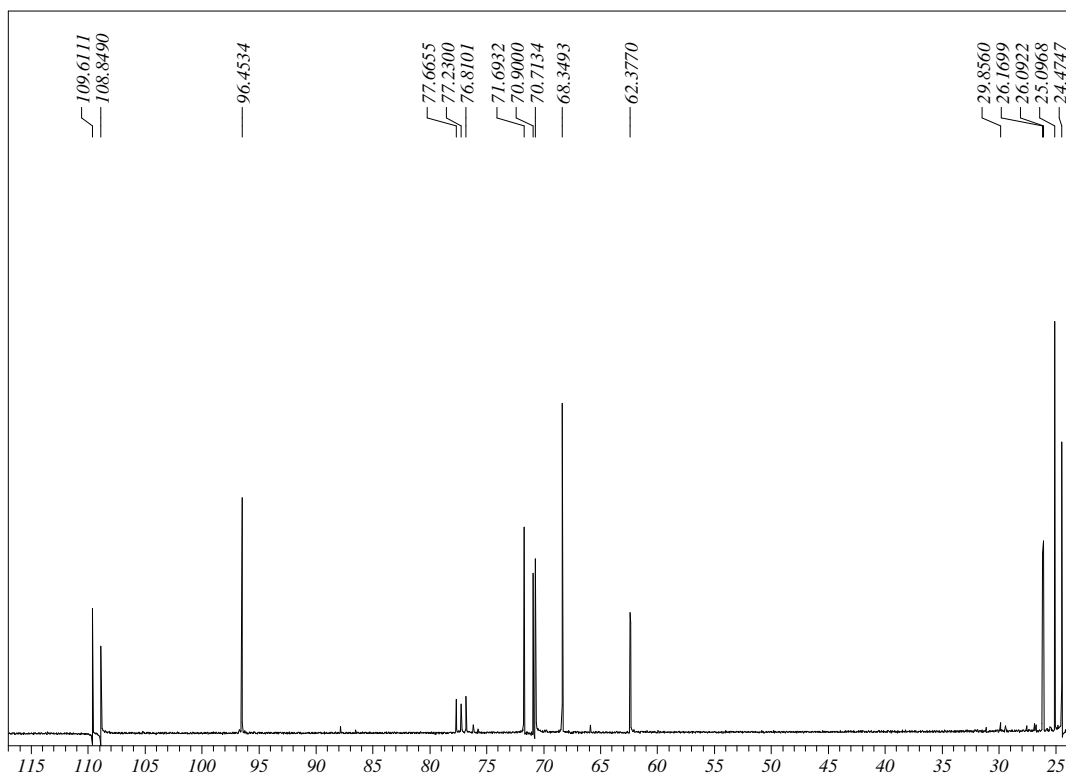
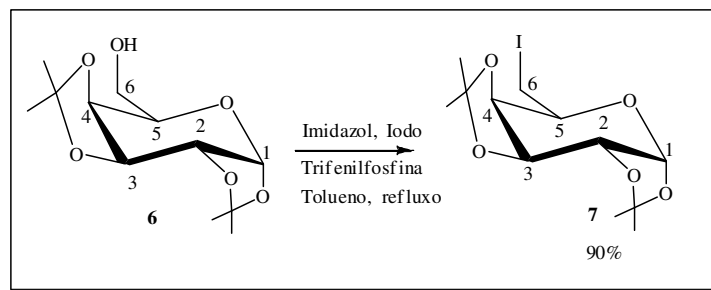


Figura 1.25. Espectro de RMN de ^{13}C de **6** em CDCl_3 (75MHz).

Síntese e caracterização da 6-desoxi-6-iodo-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **7**.

A síntese de **7** foi realizada a partir do intermediário protegido **6** pela substituição da hidroxila da posição C-6 do açúcar por iodo. Para tal transformação a reação foi feita utilizando-se trifetilfosfina, imidazol e iodo em tolueno sob refluxo³⁹ por 16 horas (rend. 90%) (Esquema 1.12).

³⁹ Garegg, P. J.; *Pure Appl. Chem.* **1984**, *56*, 845.



Esquema 1.12. Preparação do composto 7

O intermediário 7 foi purificado por coluna cromatográfica, utilizando-se como eluente a mistura hexano/acetato de etila, e caracterizado pela análise de seus espectros de IV, ponto de fusão e RMN de ^1H e de ^{13}C .

Ponto de Fusão de 7: 72°C ; Literatura:³⁹ $72^\circ\text{-}73^\circ\text{C}$

O espectro na região do IV do composto 7 (Figura 1.26) mostrou a ausência da banda larga de absorção relativa ao estiramento da ligação O-H, evidenciando a substituição da hidroxila pelo átomo de iodo. As demais absorções esperadas encontram-se presentes.

Análise do espectro de RMN de ^1H do composto 7 (Figura 1.27) mostrou o deslocamento para região mais próxima do TMS dos dois dupletos duplos referentes à H-6a e H-6b de δ 3,88 para δ 3,23, pela substituição da hidroxila ligada a CH_2 por iodo.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.28) verificou-se a presença de um sinal em δ 2,5 referente ao carbono da posição C-6 ligado ao átomo de iodo, anteriormente em δ 62,4 ppm. Esta forte blindagem provocada pelo átomo de iodo pode ser explicada pelo tamanho de sua nuvem eletrônica quando comparada com a do oxigênio.

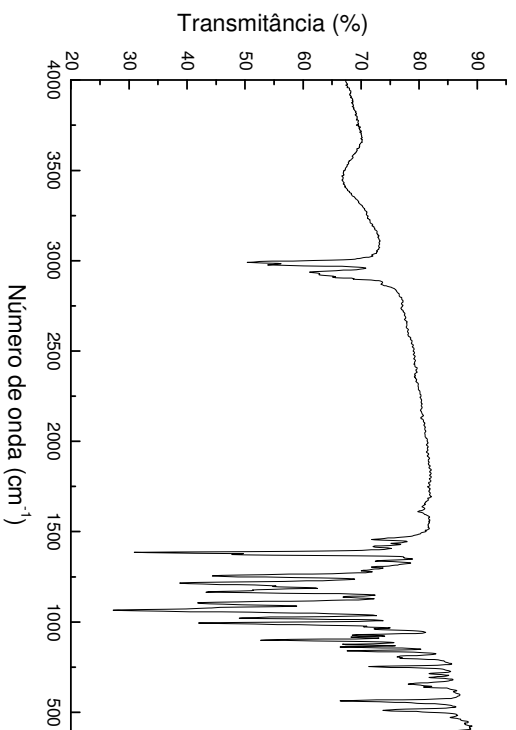


Figura 1.26. Espectro de Infravermelho de 7.

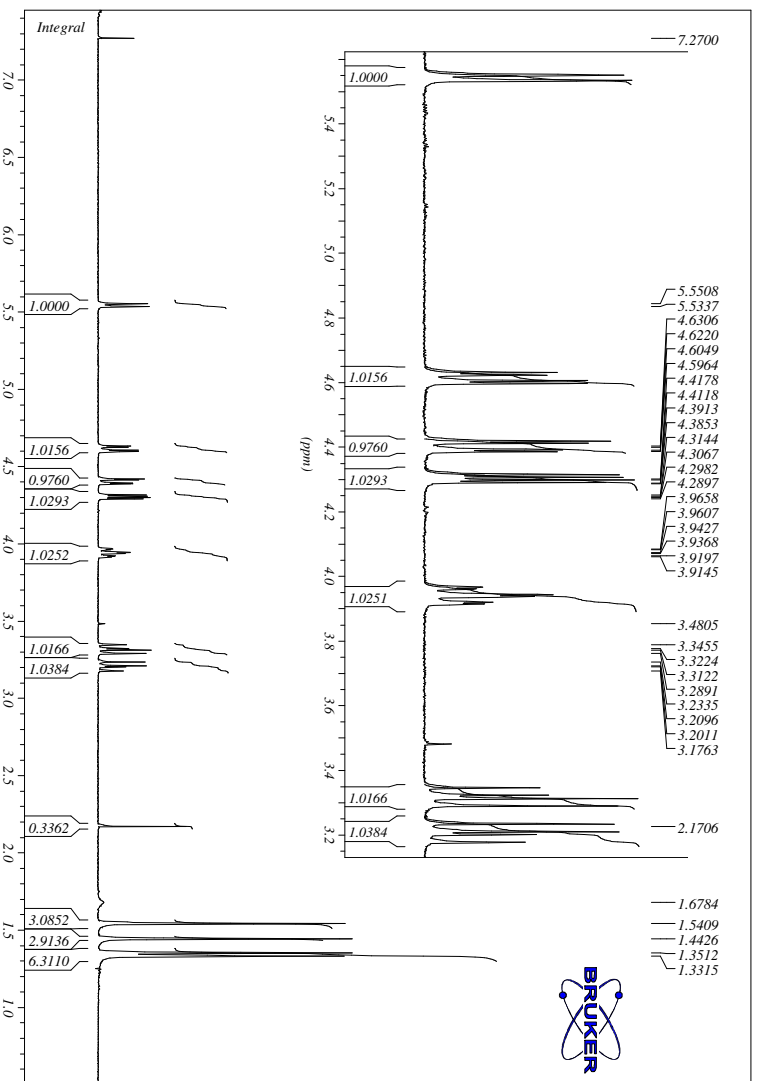


Figura 1.27. Espectro de RMN de ¹H de 7 em CDCl₃ (300MHz).

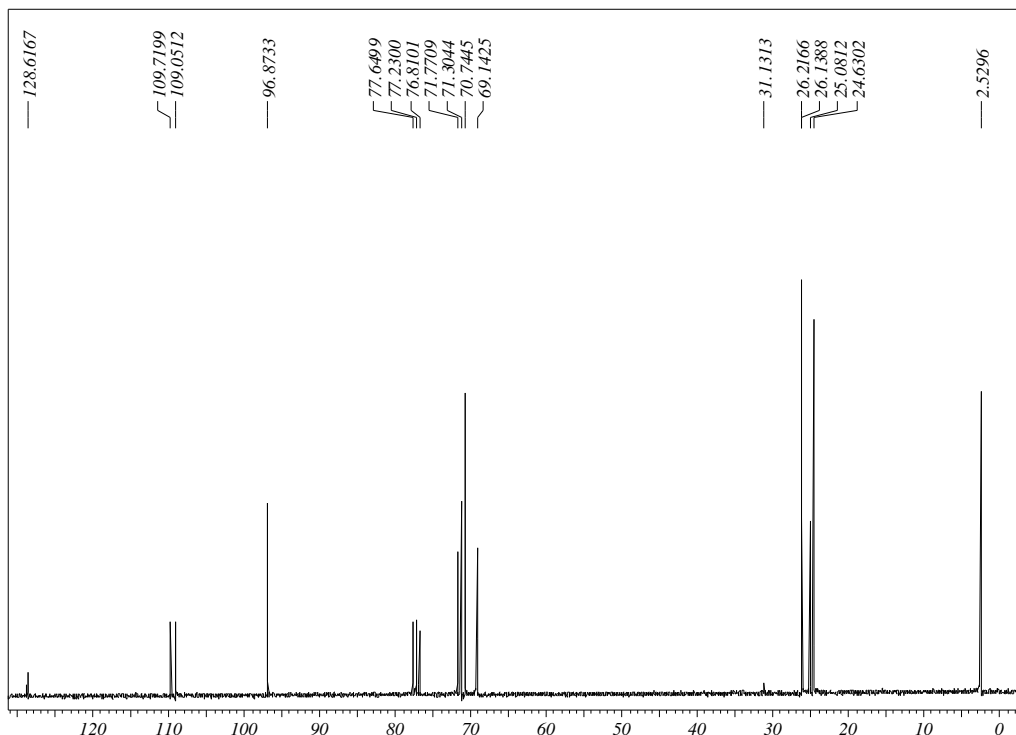


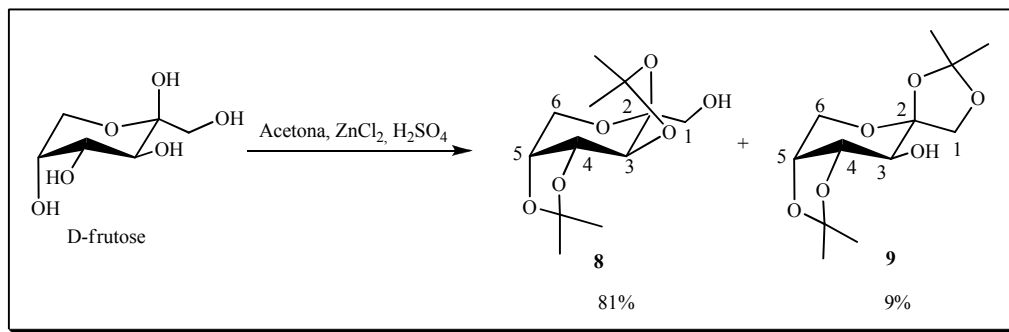
Figura 1.28. Espectro de RMN de ^{13}C de **7** em CDCl_3 (75MHz).

Síntese e caracterização da 2,3:4,5-di-*O*-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **8**.

A síntese do diacetal **8** foi realizada utilizando-se duas metodologias descritas a seguir:

1ª Metodologia: após o tratamento da D-frutose com acetona anidra (previamente tratada), 2,2-dimetoxi-propano e ácido tosílico, por 24 horas à temperatura ambiente, foi possível obter uma mistura dos compostos **8** e **9** numa proporção de 6:4, respectivamente. Essa proporção foi calculada por RMN de ^1H e esses compostos não foram isolados utilizando-se esta metodologia.

2ª Metodologia: Reação da D-frutose com acetona anidra, ZnCl_2 e ácido sulfúrico em presença de peneira molecular 4Å, por aproximadamente 6 horas.³⁵ Essa metodologia forneceu os isômeros **8** e **9** em 90% de rendimento na proporção de 9:1, respectivamente (Esquema 1.13). Nessa metodologia os compostos **8** e **9** foram separados por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila) sendo o composto **8** obtido como produto majoritário em 81% de rendimento e o composto **9** em 9%.



Esquema 1.13. Preparação dos compostos **8** e **9**.

A análise dos pontos de fusão de **8** e **9**, em comparação com os dados obtidos na literatura, confirma as respectivas atribuições.

Faixa de Fusão de **8**: 92-95°C; Literatura:^{40a} 92°C.

Faixa de Fusão de **9**: 118-119 °C; Literatura: 119 °C.^{40b}

A análise dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C de **8** e **9** (Figura 1.29, espectro de RMN de ¹H de **8**) não nos permitiu fazer a diferenciação entre os compostos **8** e **9**. Portanto, para uma inequívoca identificação desses compostos foi proposta a mesilação de ambos e posterior comparação dos espectros de RMN.

⁴⁰ a) López, M. G.; Gruenwedel, D. W.; *Carbohydr. Res.* **1991**, *212*, 37. b) Brady, R. F.; *Carbohydr. Res.* **1970**, *15*, 35.

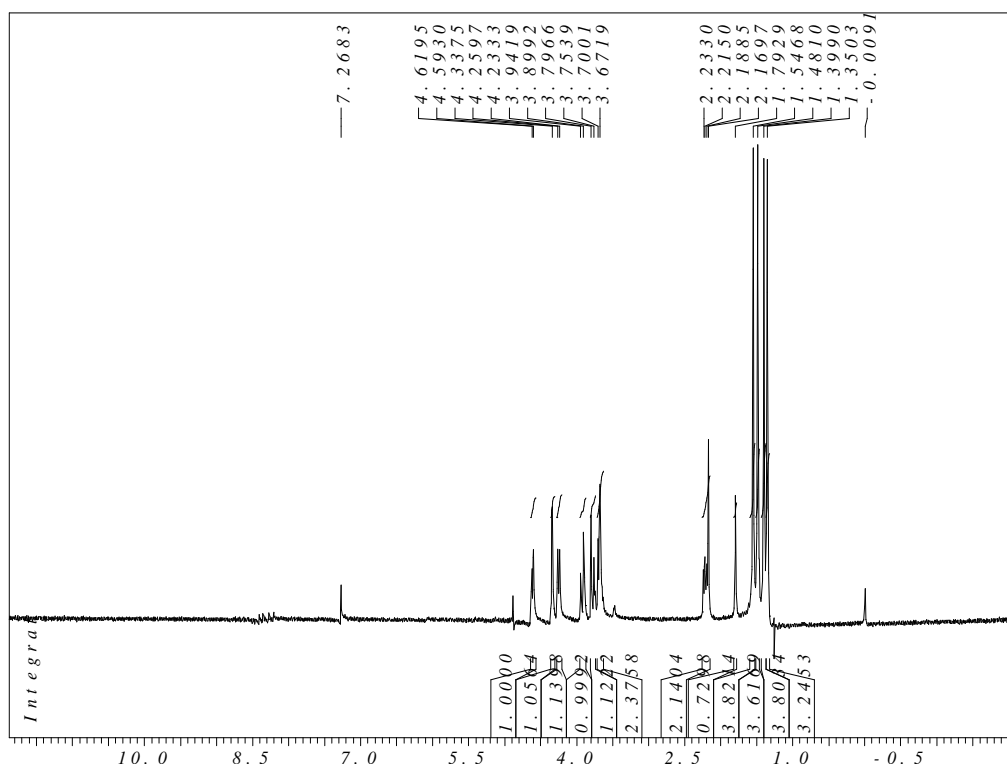


Figura 1.29. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **8** em CDCl_3 (300MHz).

Síntese e caracterização do 2,3:4,5-di-*O*-isopropilideno-1-*O*-metanossulfonil- β -D-frutopiranosose **10**.

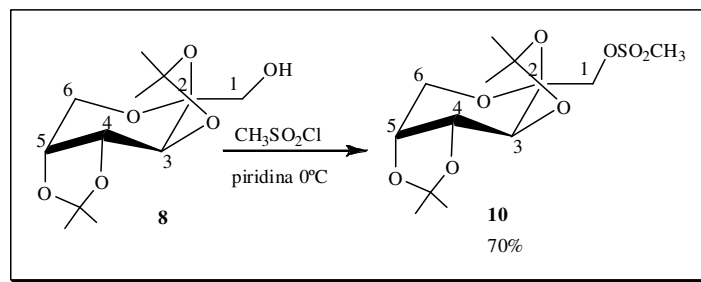
As sínteses dos intermediários **10** (mesilato) e **11** (iodeto) foram realizadas com o intuito de investigar qual seria o melhor grupo de saída, situado na posição C-1, nas reações de acoplamento da D-frutose com o 2-mercaptobenzotiazol ou 2-mercaptobenzimidazol.

A síntese do intermediário **10** foi realizada a partir da reação do composto **8** com cloreto de metanossulfonila em piridina à 0°C ⁴¹ (Esquema 1.14). O mesilato **10** foi obtido em 70% de rendimento e purificado por coluna cromatográfica, sendo posteriormente recristalizado com a mistura de solventes hexano/acetato de etila. Os cristais obtidos foram caracterizados pela análise da faixa fusão e dos espectros de infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C .

Faixa de fusão encontrada para o composto **10**: 124°C ; Literatura $121\text{-}122^\circ\text{C}$.⁴²

⁴¹ Sato, K.; Miyama, D.; Akai, S.; *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 1523.

⁴² Barnett, J. E. G.; Atkins, G. R. C.; *Carbohydr. Res.* **1972**, 25, 511.



Esquema 1.14. Preparação do composto **10**.

Através da análise do espectro de IV do composto **10** (Figura 1.30) foi observada, além das bandas referentes ao açúcar, a banda de deformação axial das ligações ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$), em 1174 cm^{-1} , relativa ao grupo mesila da molécula.

No espectro de RMN de ^1H de **10** (Figuras 1.31 e 1.32) verificou-se a presença de um simpleto (3H) em δ 3,20 correspondente aos hidrogênios do grupo mesilato, bem como os sinais característicos do carboidrato e dos grupos isopropilideno. A confirmação das posições protegidas pelos grupos isopropilideno pôde ser feita pela mesilação do grupamento hidroxila livre. Quando o grupo mesilato se encontra ligado a C-1, os sinais de H-1a e H-1b, ambos dupletos ($J_{1a,1b}=10,9\text{ Hz}$), puderam ser observados em δ 4,23 e 4,32, respectivamente. O espectro de RMN de ^1H de **10** mostrou o deslocamento, para região mais distante do TMS, dos sinais dos hidrogênios H-1a e H-1b em relação ao seu precursor **8** em δ 3,67-3,70 (Figura 1.29), indicando um efeito de desblindagem provocado pelo grupo mesila nesta posição.

No espectro de APT de **10** (Figura 1.33) observou-se um sinal em δ 37,5, que pode ser atribuído ao carbono do grupo CH_3 do mesilato, além dos sinais referentes aos grupos isopropilideno em δ 23,9 e 26,4 ppm e todos os sinais pertinentes à porção carboidrato.

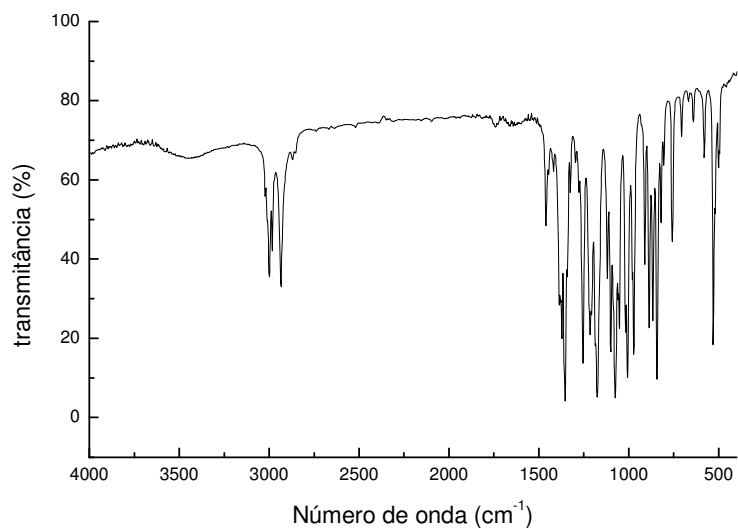


Figura 1.30. Espectro de Infravermelho de **10**.

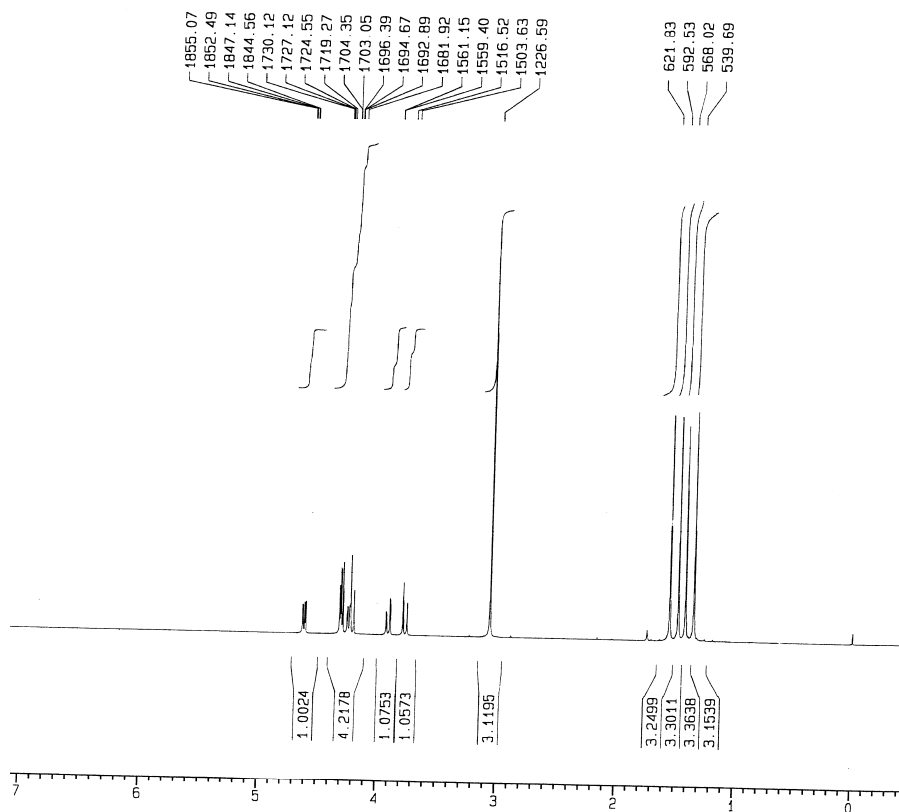


Figura 1.31. Espectro de RMN de ¹H de **10** em CDCl₃ (400MHz).

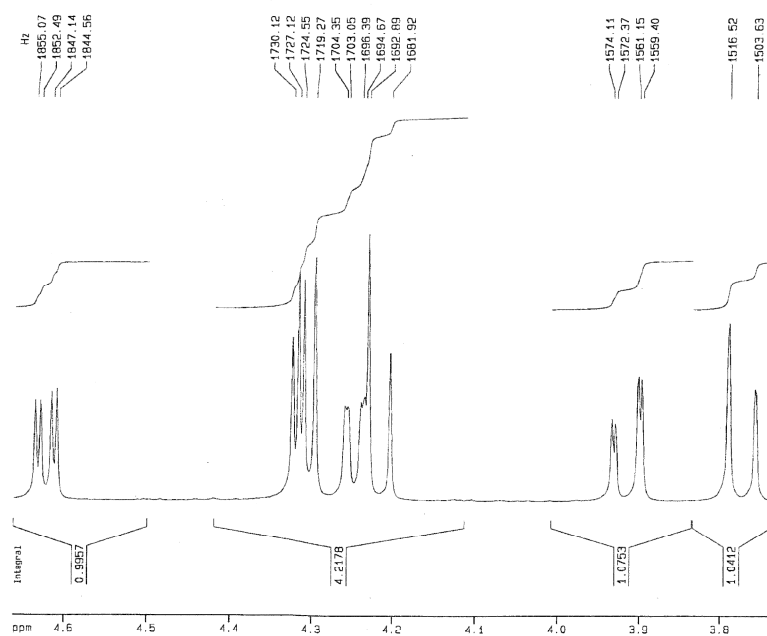


Figura 1.32. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **10** em CDCl_3 (400MHz).

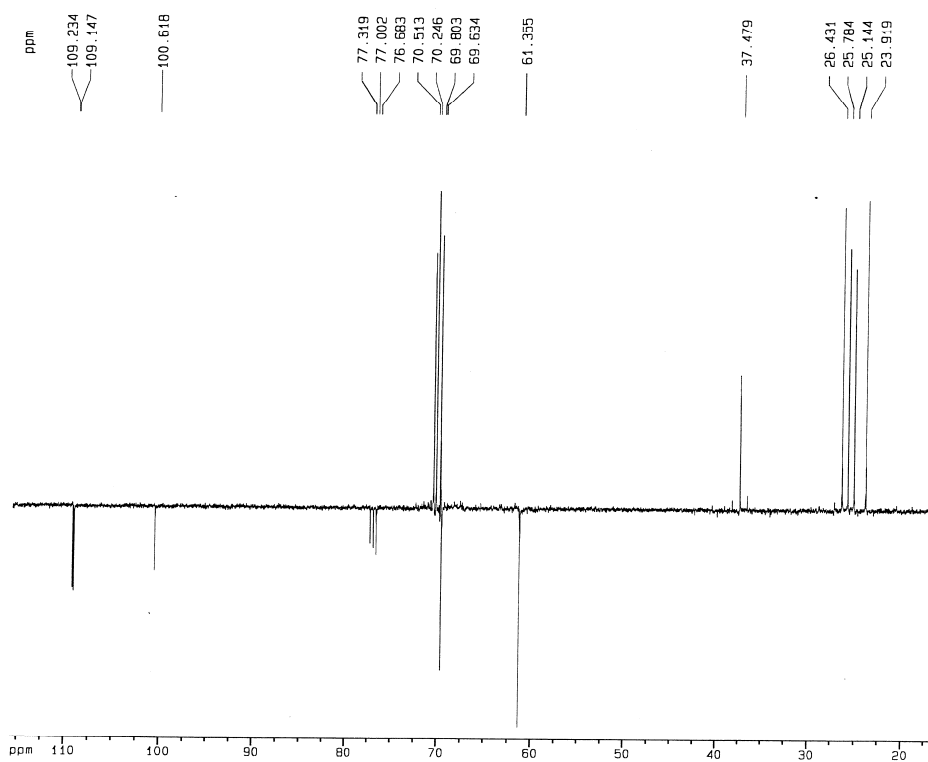
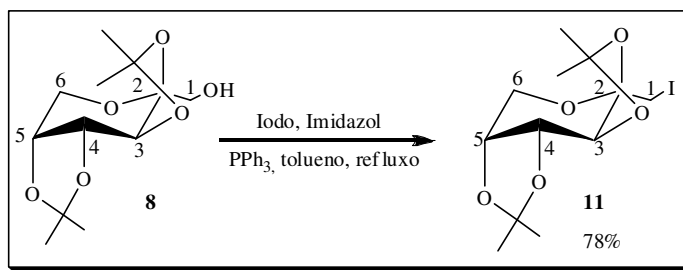


Figura 1.33. Espectro de APT de **10** em CDCl_3 (100MHz).

Síntese e caracterização do 1-desoxi-1-iodo-2,3:4,5-di-*O*-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **11**.

A síntese de **11** foi efetuada através da substituição da hidroxila da posição C-1 de **8** por iodo. A reação foi feita utilizando-se trifenilfosfina, imidazol e iodo em tolueno³⁹ sob refluxo por 12 horas (rend. 78%) (Esquema 1.15).



Esquema 1.15. Preparação do composto **11**.

O intermediário **11** foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura hexano/acetato de etila e caracterizado pela análise dos seus espectros de IV, de RMN de ^1H e de ^{13}C .

No espectro de IV deste composto (Figura 1.34) observou-se a ausência da banda larga de absorção correspondente ao estiramento da ligação O-H, evidenciando a substituição da hidroxila pelo átomo de iodo. As demais absorções esperadas encontram-se presentes.

No espectro de RMN de ^1H de **11** (Figura 1.35) observou-se a presença de dois dupletos, respectivamente em δ 3,44 e 3,68, que foram atribuídos a H-1a e H-1b ($J_{1a,1b}=10,7$ Hz). Notou-se, ainda, que a substituição da hidroxila de C-1 por um átomo de iodo provocou o deslocamento dos sinais dos hidrogênios deste carbono para regiões mais próximas ao TMS com relação ao seu precursor **8**. Para elucidação dos acoplamentos entre os hidrogênios e carbonos foi feito o mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HetCOR) do composto **11**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.36) verificou-se a presença de um sinal de absorção em δ 10,8 ppm referente a C-1 ligado ao átomo de iodo. Este sinal encontrava-se em δ 65,5 no material de partida **8**, além dos demais sinais referentes ao açúcar.

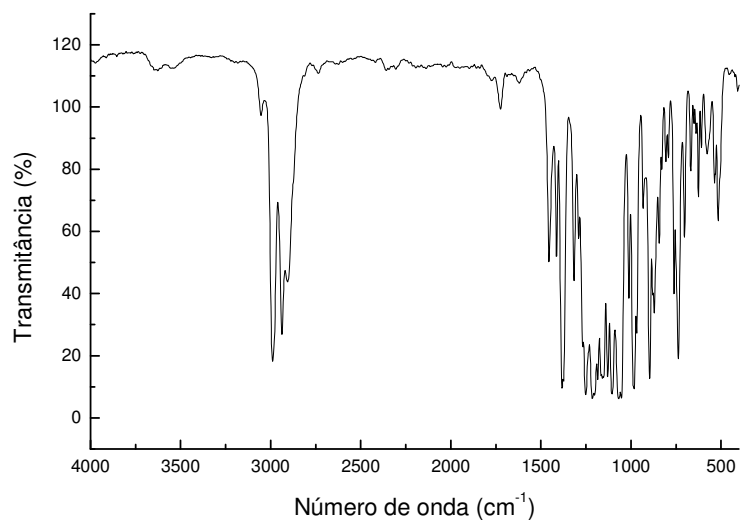


Figura 1.34. Espectro de Infravermelho de **11**.

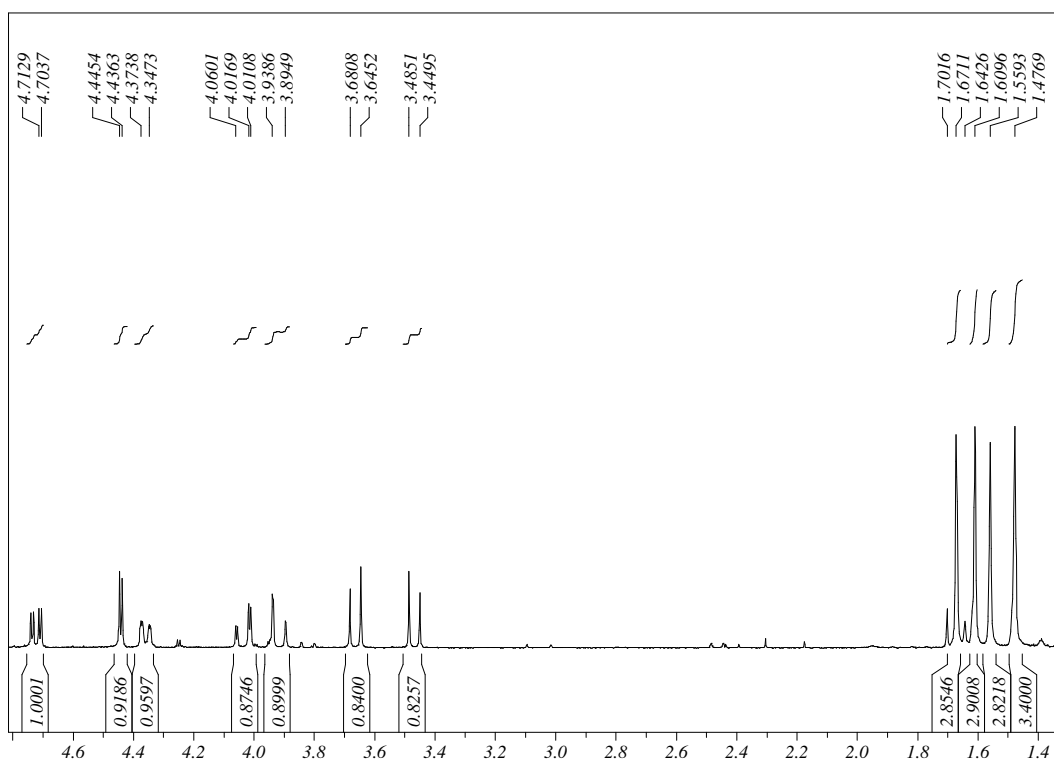


Figura 1.35. Espectro de RMN de ¹H de **11** em CDCl₃ (300MHz).

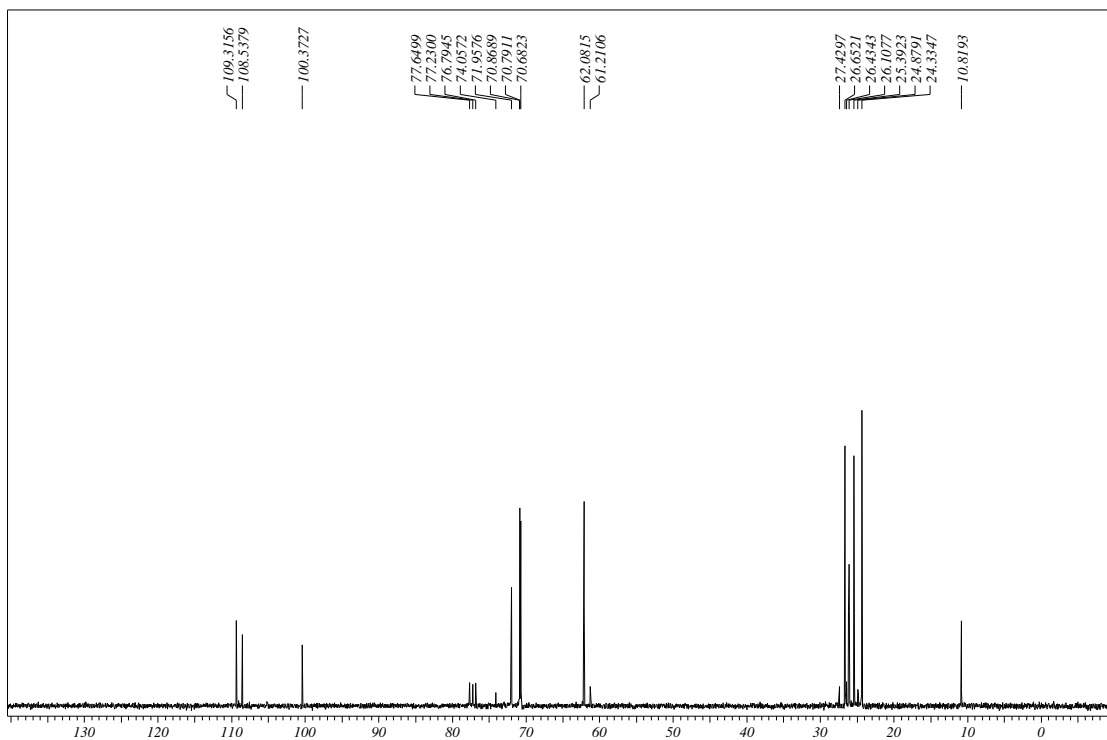
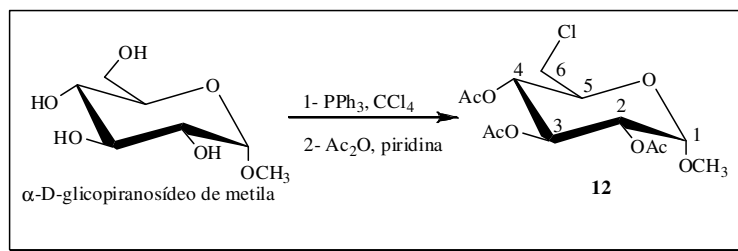


Figura 1.36. Espectro de RMN de ^{13}C de **11** em CDCl_3 (75MHz).

Caracterização do 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-cloro-6-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila **12**

O esquema 1.16 mostra a metodologia sintética para a preparação do cloreto **12** a partir do α -D-glicopiranosídeo de metila, esse composto foi preparado por Machado e colaboradores.⁴³



Esquema 1.16. Preparação do composto **12**.

⁴³ Machado, A. S.; *Thèse de Doctorat*, Université Paris-Sud, França, 1985.

O composto **12** foi caracterizado pela análise de seus espectros de IV e RMN de ^1H e de ^{13}C .

No espectro de infravermelho de **12** (Figura 1.37) verificou-se a ausência da banda de absorção entre 3600 a 3200 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H do material de partida e o surgimento de uma banda intensa em 1743 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento C=O de éster. Não foi possível observar o estiramento referente à ligação C-Cl, abaixo de 400 cm^{-1} , devido a utilização de KBr como suporte no experimento.

No espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura 1.38) observou-se a presença de três simples (9H) entre δ 1,96 e 2,03 correspondentes aos hidrogênios dos grupos acetila, confirmando, desta forma, a proteção das hidroxilas. Observou-se, também, a presença de um simpleto em δ 3,39, que pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila (OCH_3) e, ainda, a presença de dois dupletos duplos em δ 3,54 e 3,61 ppm referentes a H-6a e H-6b ($J_{6a,6b} = 12,0\text{ Hz}$).

No espectro de RMN ^{13}C de **12** (Figura 1.39) pode-se observar um sinal em δ 43,5 correspondente ao carbono C-6 ligado ao átomo de cloro; um sinal em δ 55,7 referente ao carbono do grupo metoxila, e ainda os sinais correspondentes as carbonilas dos grupos acetatos em aproximadamente δ 170,1. Em ambos os espectros foram igualmente verificados a presença dos sinais correspondentes aos outros hidrogênios e carbonos do anel piranosídico.

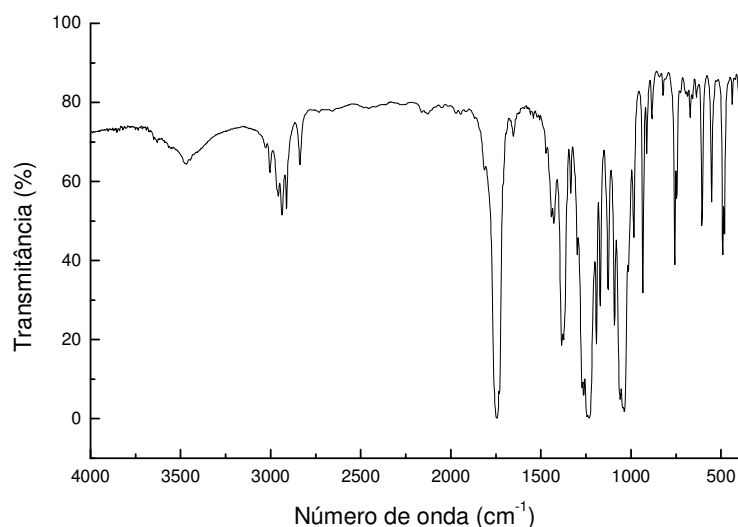


Figura 1.37. Espectro de Infravermelho de **12**.

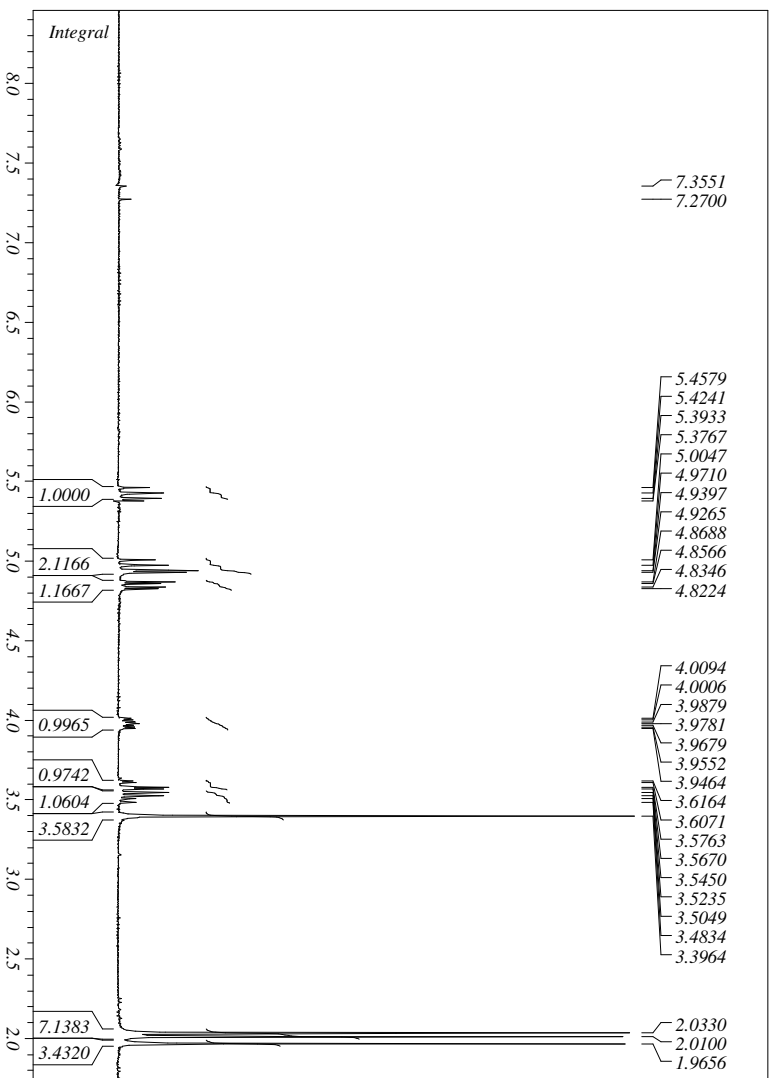


Figura 1.38. Espectro de RMN de ^1H de **12** em CDCl_3 (300MHz).

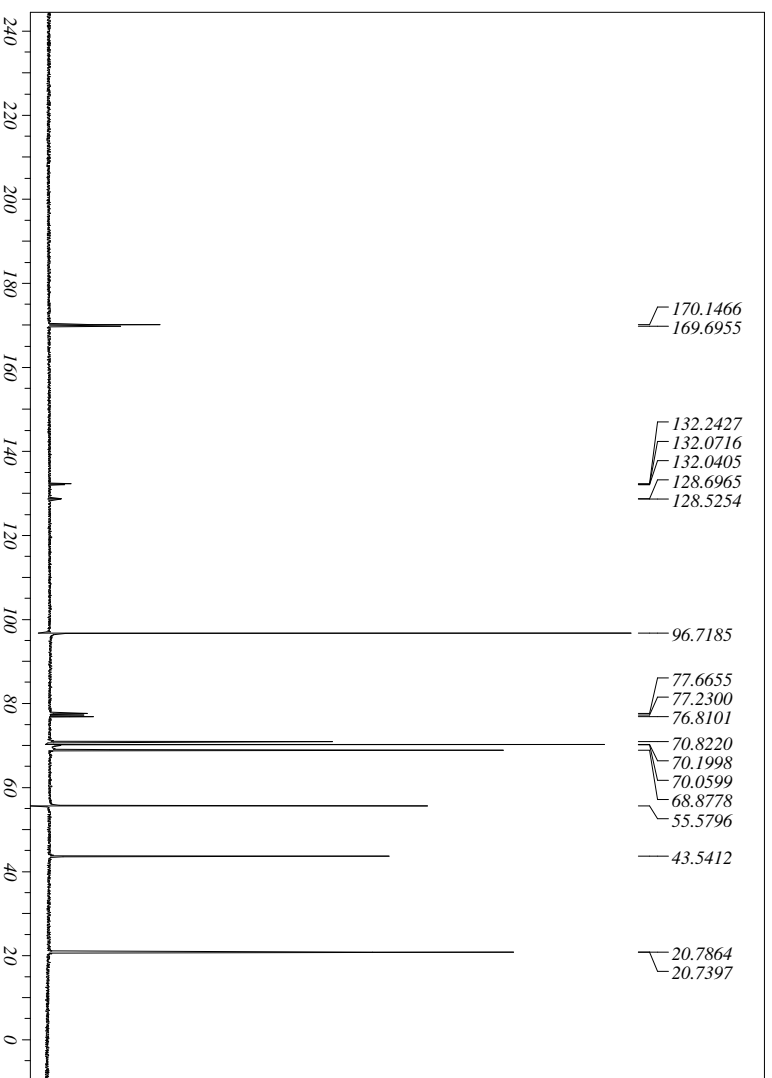
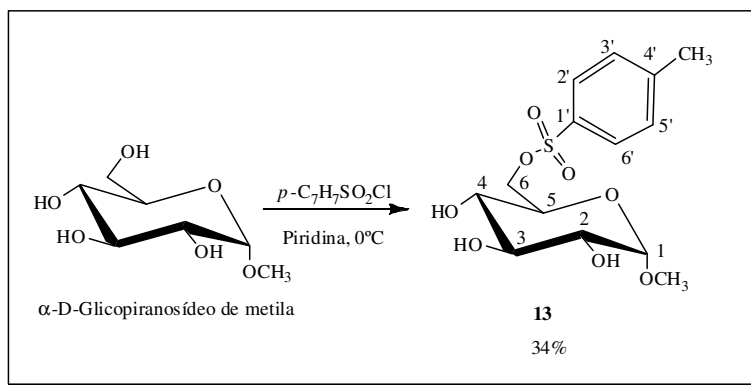


Figura 1.39. Espectro de RMN de ^{13}C de **12** em CDCl_3 (75MHz).

Síntese e caracterização do 6-*O*-(4-toluenossulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de metila **13**

As sínteses dos intermediários **13** (6-*O*-tosil) e **14** (6-*O*-mesil) foram realizadas com o intuito de se avaliar qual seria, na série glico, o grupo de saída mais adequado, situado na posição C-6, para posterior substituição. Além disso, avaliou-se igualmente a regioseletividade na sulfonação da hidroxila em C-6 e os rendimentos obtidos.

A síntese do intermediário tosilado **13** foi realizada a partir da reação do α -D-glicopiranosídeo de metila com cloreto de tosila (1 mol/equiv.) em piridina anidra a 0°C⁴¹ (rend. 34%) (Esquema 1.17).



Esquema 1.17. Preparação do composto **13**.

O intermediário **13** foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente acetato de etila/metanol e caracterizado por IV, faixa de fusão, RMN de ^1H e de ^{13}C . A faixa de fusão encontrada para o composto **13** foi de 121-123°C, enquanto na literatura o valor é de 122-124°C.⁴⁴

No espectro vibracional na região do infravermelho do intermediário **13** (Figura 1.40) verificou-se a presença do estiramento da ligação O-H entre 3370-3000 cm^{-1} . Observou-se, ainda, a presença de bandas de absorção intensas em 1355 e em 1170 cm^{-1} , características do estiramento do grupo R-SO₂-OR.

No espectro de RMN de ^1H de **13** (Figuras 1.41 e 1.42) observou-se a presença de um simpleto (3H) em δ 2,41 correspondente aos hidrogênios do grupo CH₃ ligado ao anel

⁴⁴ Timell, T. E.; Enterman, W.; Spencer, F.; Soltes, E. J.; *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 2295.

aromático e um simpleto (3H) em δ 3,29 correspondente aos hidrogênios do grupo metoxila. Observou-se, também, a presença de dois dupletos em δ 7,33 e δ 7,79 ($J= 8,1$ Hz) correspondente aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **13** (Figura 1.43) observou-se um sinal em δ 21,8 correspondente ao carbono do grupo $\text{Ph}\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ e um sinal característico em δ 55,5 ppm correspondente ao carbono do grupo metoxila. Estiveram ainda presentes os sinais correspondentes aos carbonos quaternários do anel aromático em δ 132,8 e 145,2, respectivamente, bem como outros sinais referentes aos hidrogênios e carbonos do anel piranosídico.

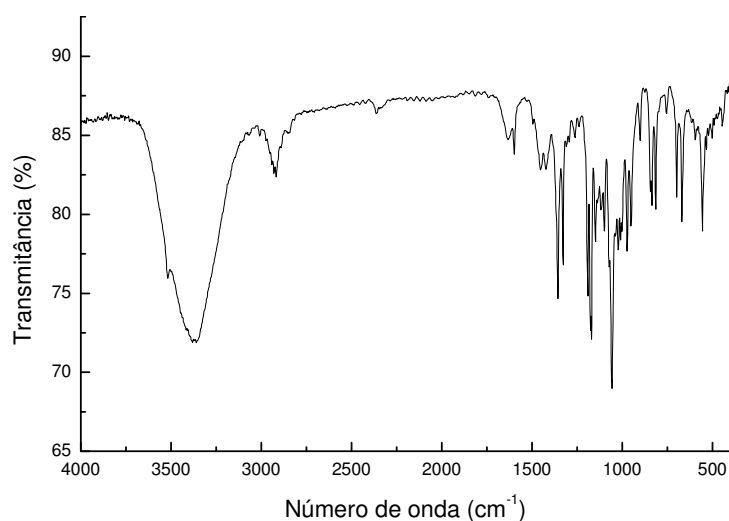


Figura 1.40. Espectro de Infravermelho de **13**.

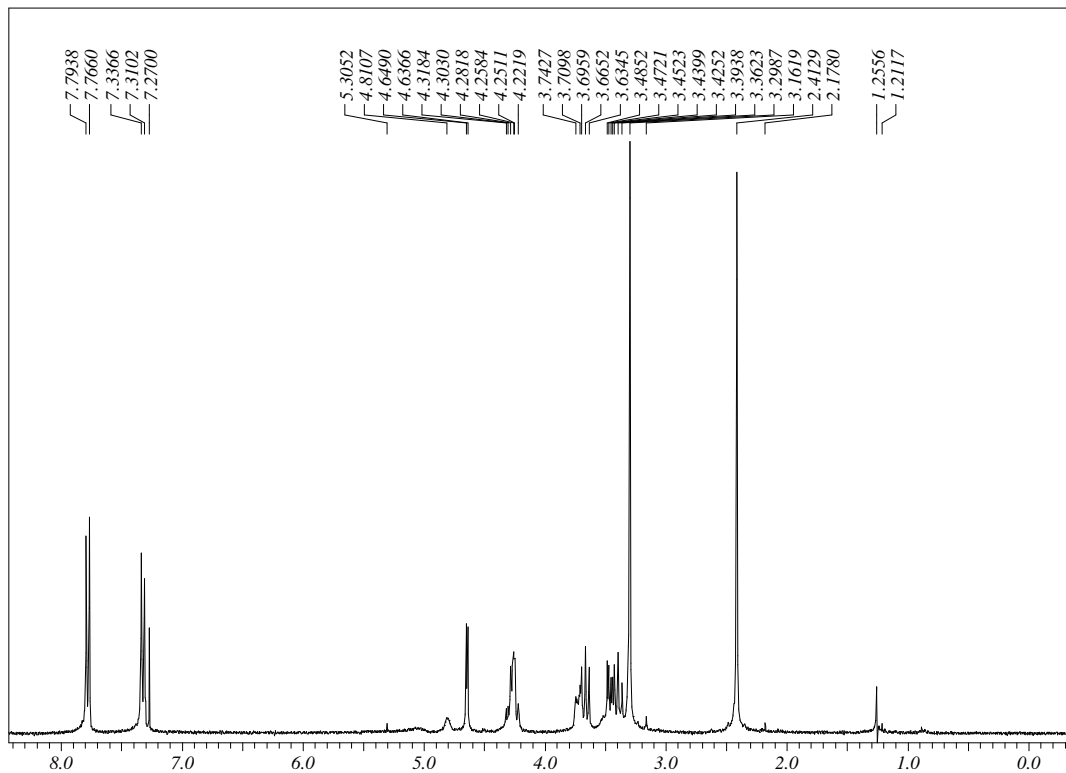


Figura 1.41. Espectro de RMN de ^1H de **13** em CDCl_3 (300MHz).

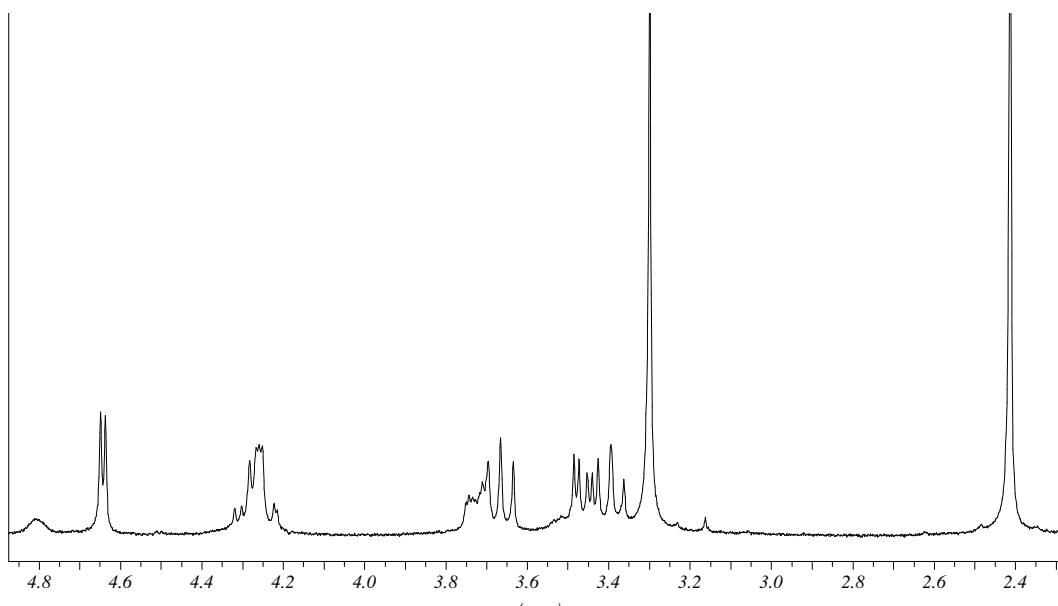


Figura 1.42. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **13** em CDCl_3 (300MHz).

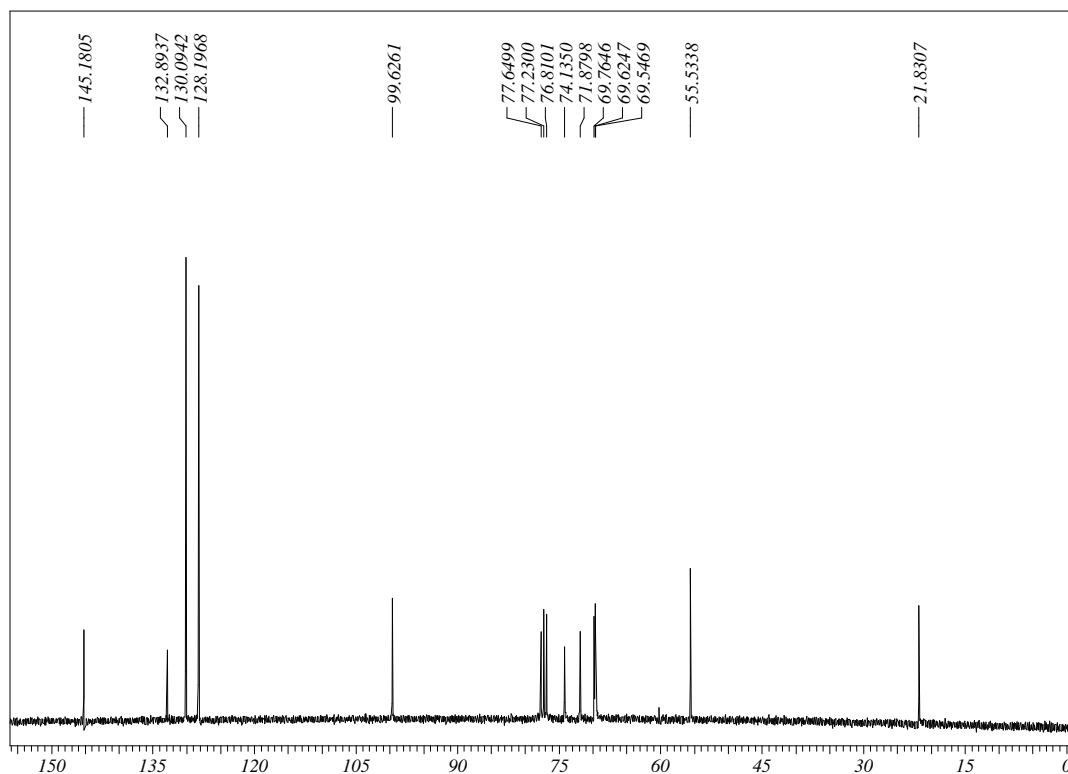
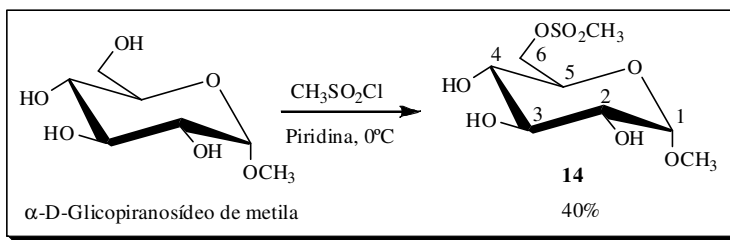


Figura 1.43. Espectro de RMN de ^{13}C de **13** em CDCl_3 (75 MHz).

Síntese e caracterização do 6-*O*-metanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila **14**.

Essa etapa da síntese consistiu na mesilação da hidroxila ligada ao carbono C-6 através da reação do α -D-glicopiranosídeo de metila com 1 mol/equivalente de cloreto de metanossulfonila em piridina à 0°C ⁴¹ (rend. 40%) (Esquema 1.18). A adição do cloreto de mesila ao açúcar foi feita lentamente e a baixa temperatura, no intuito de que a reação fosse regioseletiva e não ocorresse a formação do produto dimesilado ou outros subprodutos. No entanto, o que se observou experimentalmente foi que, mesmo usando as condições reacionais mencionadas, ocorreu a formação de produtos dimesilados. Tal fato pôde ser evidenciado através do acompanhamento da reação por placa de cromatografia em camada fina, que mostrou a formação do produto desejado **14** e de outros compostos menos polares, além do material de partida.



Esquema 1.18. Preparação do composto **14**.

O intermediário **14** foi obtido com 40% de rendimento, após purificação por coluna cromatográfica usando-se como eluente acetato de etila/metanol, e caracterizado por faixa de fusão, IV, RMN de ^1H e de ^{13}C . A faixa de fusão encontrada para o composto **14** foi de 98-101 °C, enquanto na literatura o valor é 99-101 °C.⁴⁵

No espectro vibracional na região do infravermelho do intermediário **14** (Figura 1.44) verificou-se a presença da banda de absorção referente ao estiramento das ligações O-H entre 3529-3017 cm^{-1} . Observou-se, ainda, a presença de bandas de absorção intensas em 1349 e em 1174 cm^{-1} características do grupo R-SO₂-OR.

No espectro de RMN de ^1H de **14** (Figuras 1.45 e 1.46) observou-se a presença de um simpleto (3H) em δ 2,07 correspondente aos hidrogênios do grupo O-H, um simpleto (3H) em δ 3,11 correspondente aos hidrogênios do grupo metoxila e um simpleto (3H) em δ 3,35 correspondente aos hidrogênios do grupo mesilato ($\text{CH}_3\text{-SO}_2$). A mesilação da hidroxila em C-6 pôde ser confirmada através da comparação dos espectros de RMN de ^1H do material de partida e do produto formado. No material de partida os sinais de absorção referentes aos hidrogênios H-6a e H-6b podem ser observados entre δ 3,50 e 3,79; enquanto que no produto formado **14** estes sinais deslocam-se para δ 4,39 e 4,50 ($J_{6a,6b} = 11,0$ Hz, $J_{6a,5} = 1,9$ Hz e $J_{6b,5} = 5,5$ Hz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **14** (Figura 1.47) observa-se um sinal correspondente ao carbono do grupo mesilato em δ 37,3 e um sinal correspondente ao carbono do grupo metoxila em δ 55,6. Outros sinais referentes aos carbonos do anel piranosídico também foram observados. Como o derivado mesilato **14** foi obtido em melhor rendimento do que o

⁴⁵ Chalk, R. C.; Ball, D. H.; Long, L.; *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1509.

tosilato **13**, optamos pelo uso do mesmo nas reações de condensação com o 2-mercaptobenzotiazol e com o 2-mercaptobenzimidazol.

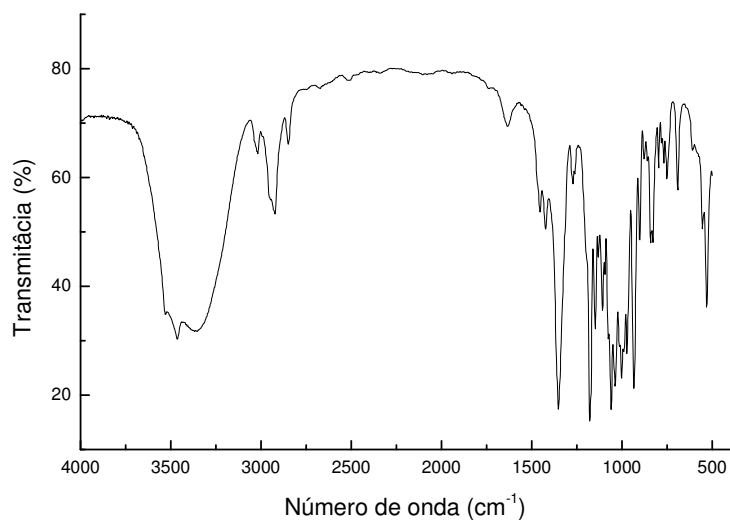


Figura 1.44. Espectro de infravermelho de **14**.

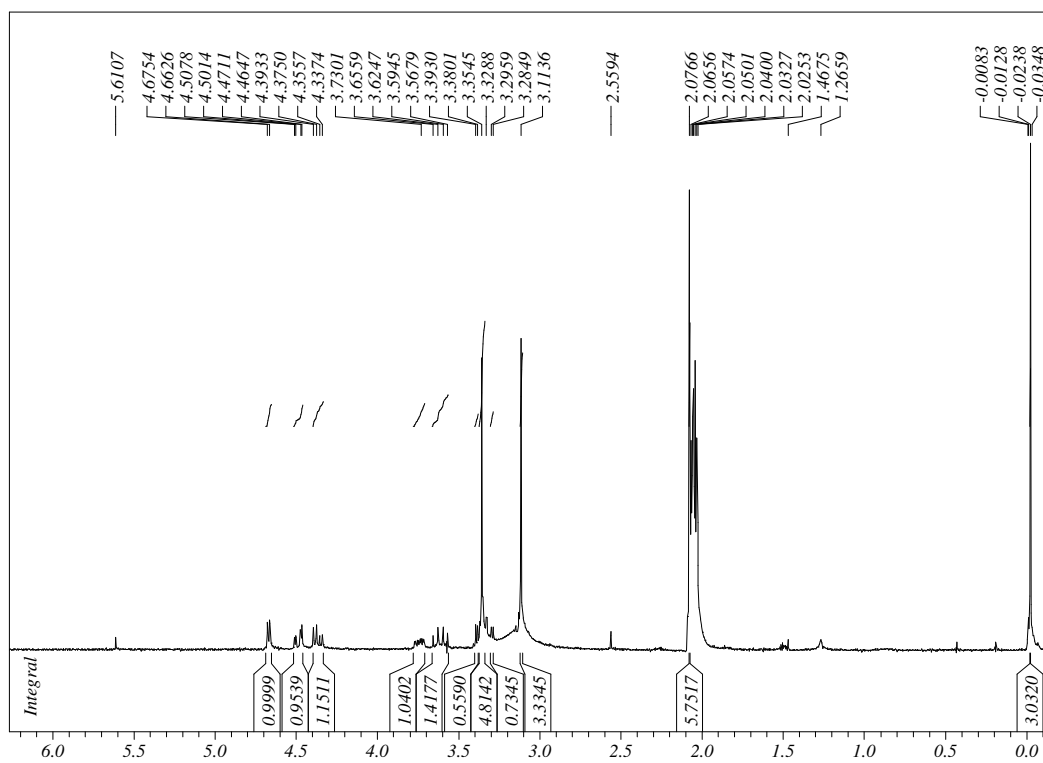


Figura 1.45. Espectro de RMN de ^1H de **14** em acetona *d*-6 (300MHz).

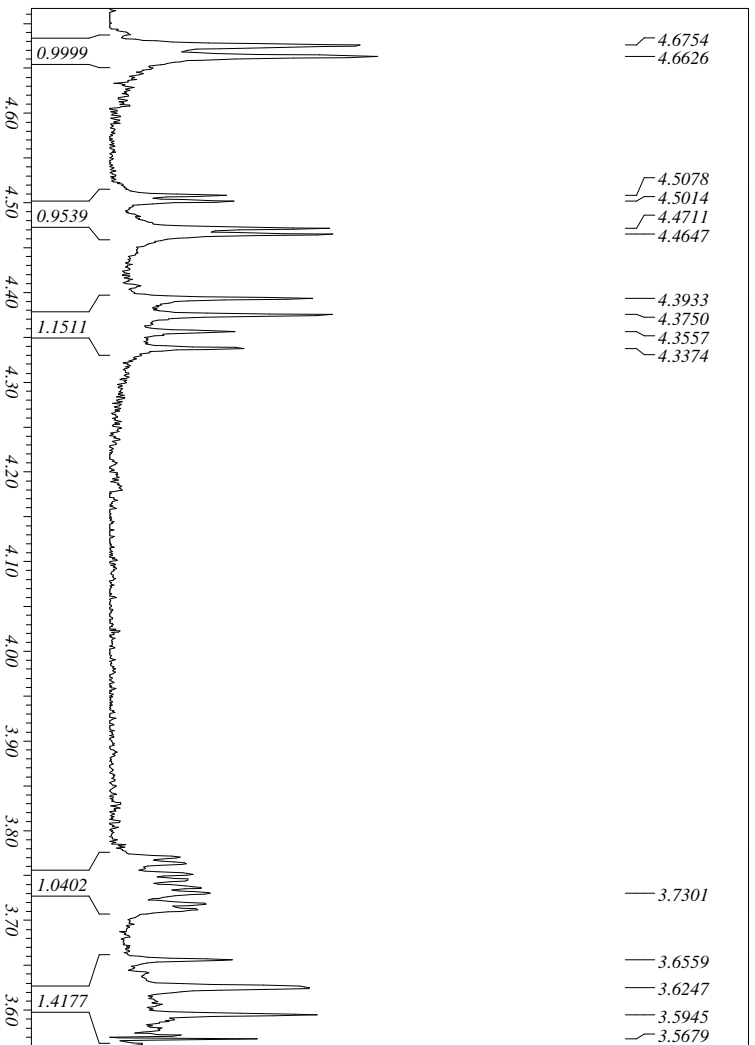


Figura 1.46. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **14** (300MHz).

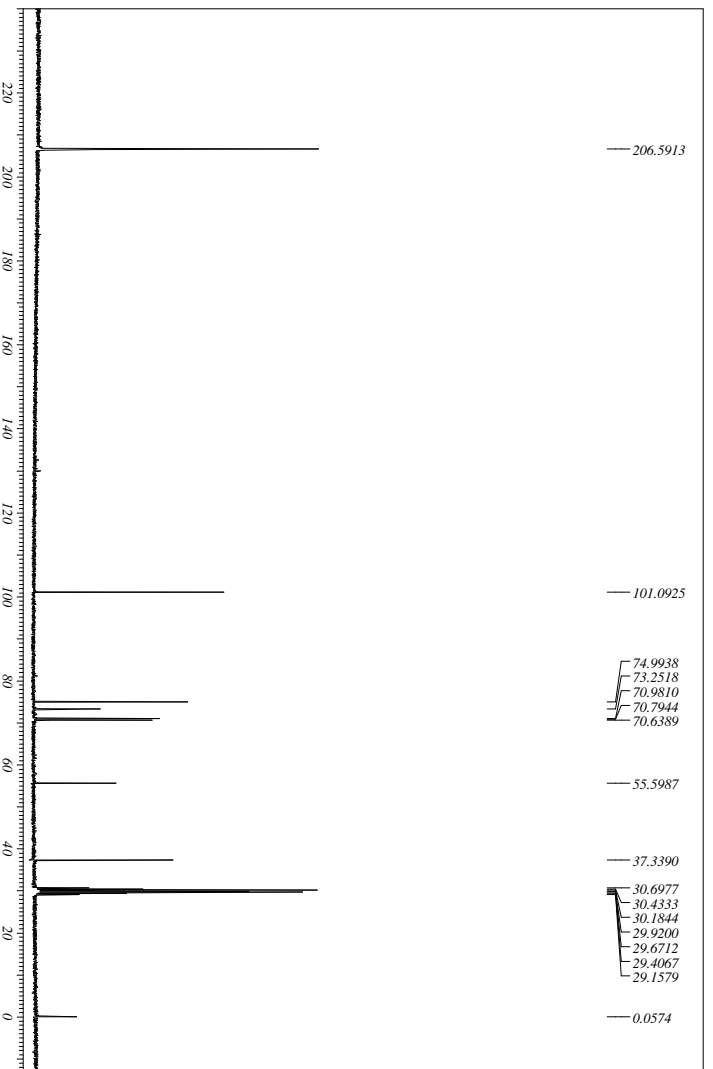
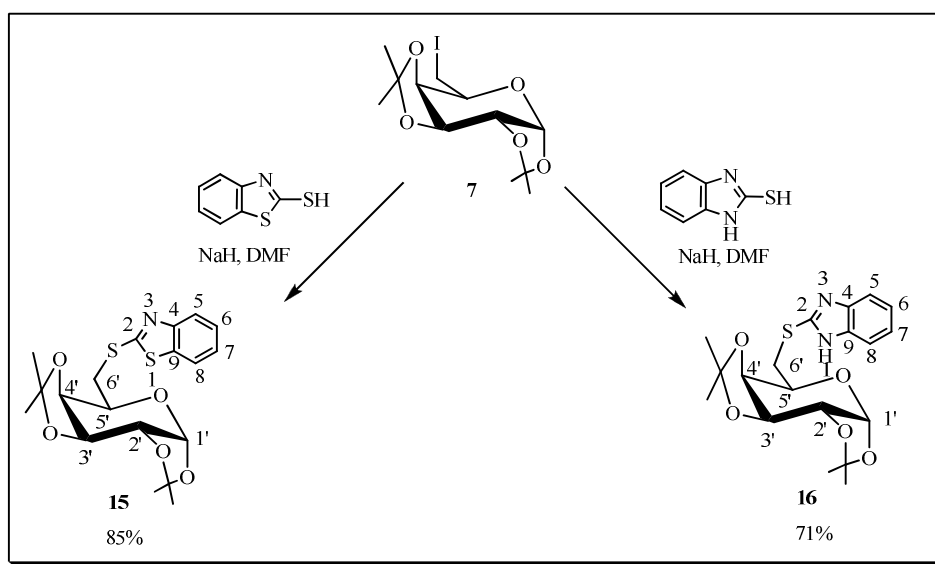


Figura 1.47. Espectro de RMN de ^{13}C de **14** em acetona d_6 (75 MHz).

1.3.4.3. Condensação dos carboidratos intermediários com o 2-mercaptobenzotiazol **1** e com o 2-mercaptobenzimidazol **2**.

Síntese e caracterização do 1',2':3',4'-di-O-isopropilideno-6'-desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzotiazol)- α -D-galactopiranosose **15** e do 1',2':3',4'-di-O-isopropilideno-6'-desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzimidazol)- α -D-galactopiranosose **16**.

A síntese dos compostos **15** e **16** foi realizada a partir da reação de condensação do 2-mercaptobenzotiazol **1** e do 2-mercaptobenzimidazol **2** com o iodeto **7** usando-se como base hidreto de sódio. As reações foram mantidas sob agitação à 120°C em DMF por 24 horas⁴⁶ (Esquema 1.19).



Esquema 1.19. Preparação dos compostos **15** e **16**.

Os compostos **15** e **16** foram purificados por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila) e caracterizados pela análise de seus espectros de IV, RMN de ¹H e de ¹³C e análise elementar. Os rendimentos obtidos para os compostos **15** e **16** foram de 85% e 71%, respectivamente.

No espectro de infravermelho de **15** (Figura 1.48) verificou-se a presença de bandas de absorção em 3061 cm⁻¹ e 2986-2907 cm⁻¹ correspondentes aos estiramentos das ligações C-H aromático e alifático, respectivamente, além de uma banda de absorção intensa em

⁴⁶ Cardoso, S. H.; Assis, J. V.; De Almeida, M. V.; Souza, M. V. N.; *J. Sulfur Chem.* **2007**, 28, 17.

1068 cm^{-1} correspondente ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do anel piranosídico do carboidrato.

No espectro de RMN de ^1H de **15** (Figuras 1.49 e 1.50) observou-se a presença de quatro simpletos (12H) entre δ 1,27 e 1,41, correspondentes aos hidrogênios CH_3 do grupo isopropilideno. Observou-se, também, um duplete em δ 5,49 que pôde ser atribuído a H-1' ($J_{1,2'} = 5,0$ Hz). Puderam ser ainda observados dois dupletos duplos em δ 4,34-4,37 e 4,55-4,58 correspondentes a H-4' ($J_{4',5'} = 1,7$ Hz e $J_{4',3'} = 7,9$ Hz) e H-3' ($J_{3',2'} = 2,4$ Hz e $J_{3',4'} = 7,9$ Hz), respectivamente, um multiplete correspondente a H-2' e H-5' entre δ 4,24 e 4,28 e um duplete em δ 3,49 correspondente a H-6'a e H-6'b ($J_{6'a,6'b} = 13,5$ Hz). Foi possível também observar a presença de dois duplos dupletos duplos em δ 7,17 e 7,33 atribuídos a H-6 e H-7 ($J_{7,5} = 1,1$, $J_{7,6} = 7,3$, $J_{7,8} = 8,0$ Hz, H₇) e outros dois duplos dupletos duplos em δ 7,64 e 7,76 atribuídos a H-5 ($J_{5,8} = 0,6$ Hz, $J_{5,7} = 1,3$ Hz, $J_{5,6} = 8,0$ Hz) e H-8.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.51) pode-se observar quatro sinais entre δ 24,2 e 26,5, correspondentes aos carbonos metílicos do grupo isopropilideno, um sinal em δ 41,3 atribuído a C-6' ligado ao átomo de enxofre, quatro sinais entre δ 61,2 e 74,1 correspondentes aos carbonos (C-2', C-3', C-4' e C-5') do carboidrato; além do sinal em δ 102,6 corresponde a C-1'. Os quatro sinais entre δ 121,1 e 126,0 podem ser atribuídos aos carbonos C-5, C-6, C-7 e C-8 do anel aromático e os outros três sinais com valores de δ acima de 135,0 são referentes a C-2, C-4 e C-9.

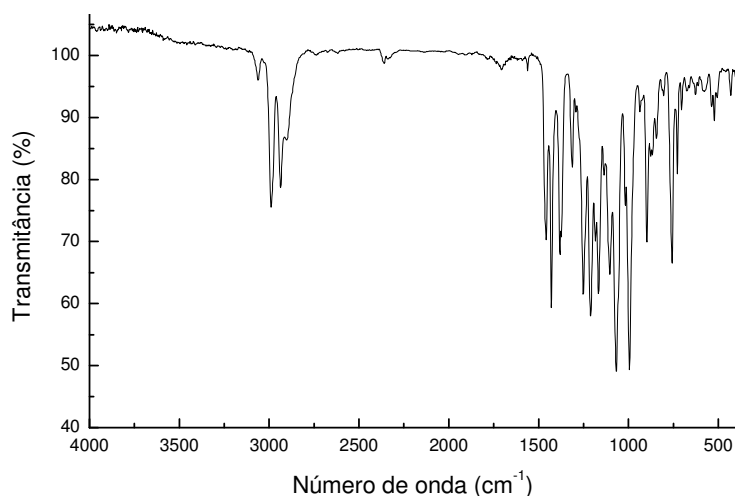


Figura 1.48. Espectro de Infravermelho de **15**.

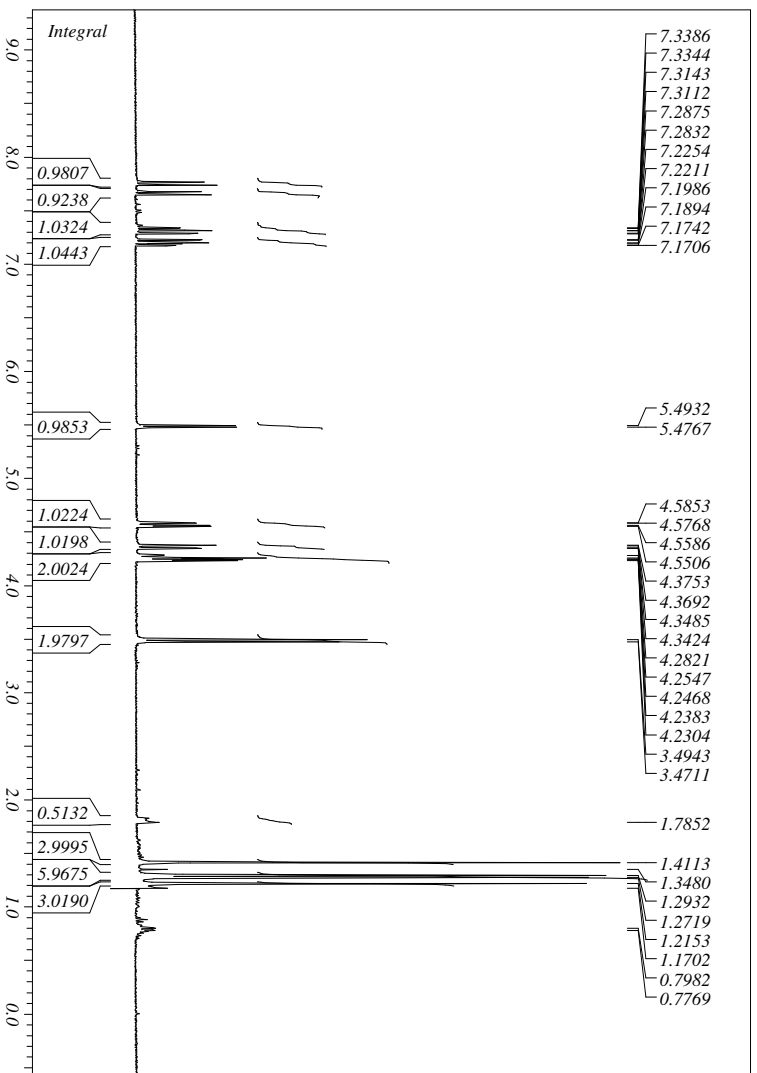


Figura 1.49. Espectro de RMN de ^1H de **15** em CDCl_3 (300MHz).

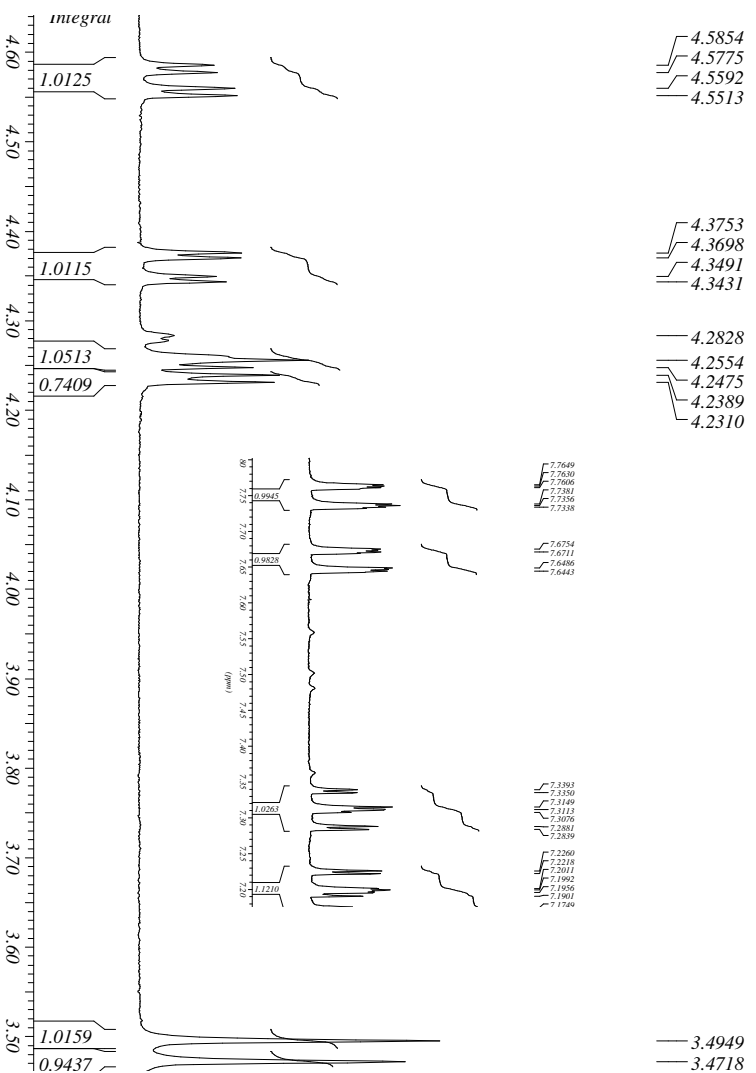


Figura 1.50. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **15** (300MHz).

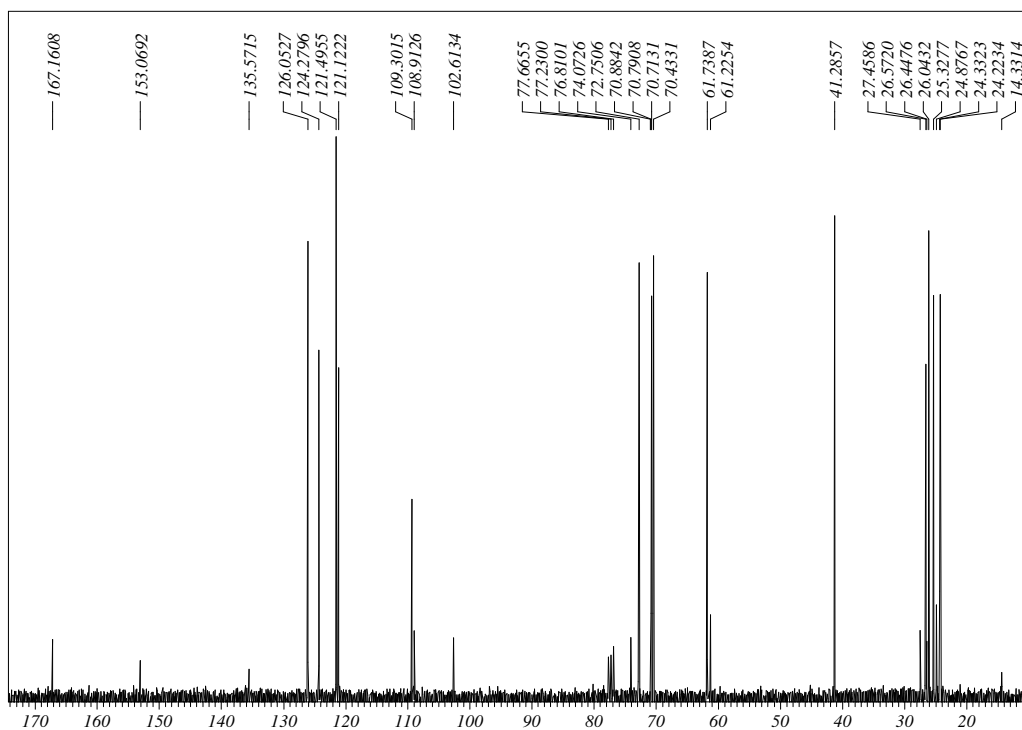


Figura 1.51. Espectro de RMN de ^{13}C de **15** em CDCl_3 (75MHz).

No espectro de infravermelho de **16** (Figura 1.52) verificou-se a presença de bandas de absorção em 3066 cm^{-1} e $2935\text{-}2904\text{ cm}^{-1}$ correspondentes aos estiramentos das ligações C-H de aromático e alifático, respectivamente, e uma banda de absorção intensa em 1070 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do anel piranosídico do carboidrato.

No espectro de RMN de ^1H de **16** (Figuras 1.53 e 1.54) observou-se a presença de quatro simpletos (12H) entre δ 1,26 e 1,56 correspondentes aos hidrogênios CH_3 dos grupos isopropilídenos. Também pode ser observada a presença de um dupletos em δ 5,56 atribuído a H-1' ($J_{1',2'} = 5,0\text{ Hz}$). Os hidrogênios H-2' ($J_{2',3'} = 2,4\text{ Hz}$ e $J_{2',1'} = 5,0\text{ Hz}$), H-4' ($J_{4',5'} = 1,7\text{ Hz}$ e $J_{4',3'} = 8,0\text{ Hz}$) e H-3' ($J_{3',2'} = 2,4\text{ Hz}$ e $J_{3',4'} = 8,0\text{ Hz}$) aparecem como dupletos duplos em δ 4,34, δ 4,42 e δ 4,65 respectivamente. O multipletos em δ 4,22 pode ser atribuído a H-5' e os dois dupletos duplos em δ 3,45 e 3,55 são correspondentes a H-6'a e H-6'b ($J_{6'a,6'b} = 14,0\text{ Hz}$). Os dois duplos dupletos duplos correspondentes aos hidrogênios do anel aromático encontram-se entre δ 7,16 e δ 7,54.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.55) pode-se observar quatro sinais entre δ 24,5 e 26,2 correspondentes aos carbonos do grupo isopropilideno, um sinal em δ 32,9 atribuído a C-6' ligado ao átomo de enxofre, quatro sinais entre δ 67,5 e 71,8 correspondentes aos carbonos C-2', C-3', C-4' e C-5' e um sinal em δ 96,8 atribuído a C-1'. Os sinais entre δ 114,3 e 138,9 (C-4 = C-9; C-5 = C-8; C-6 = C-7) podem ser atribuídos aos carbonos do anel aromático, bem como o sinal em δ 150,0 que corresponde ao carbono quaternário do heterociclo (C-2).

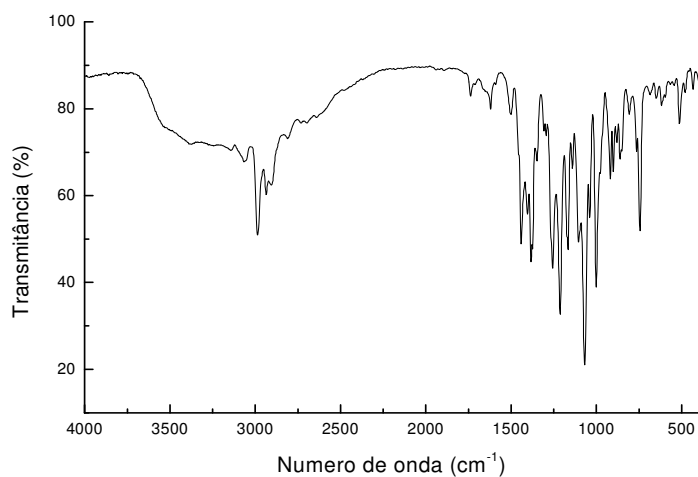


Figura 1.52. Espectro de Infravermelho de **16**.

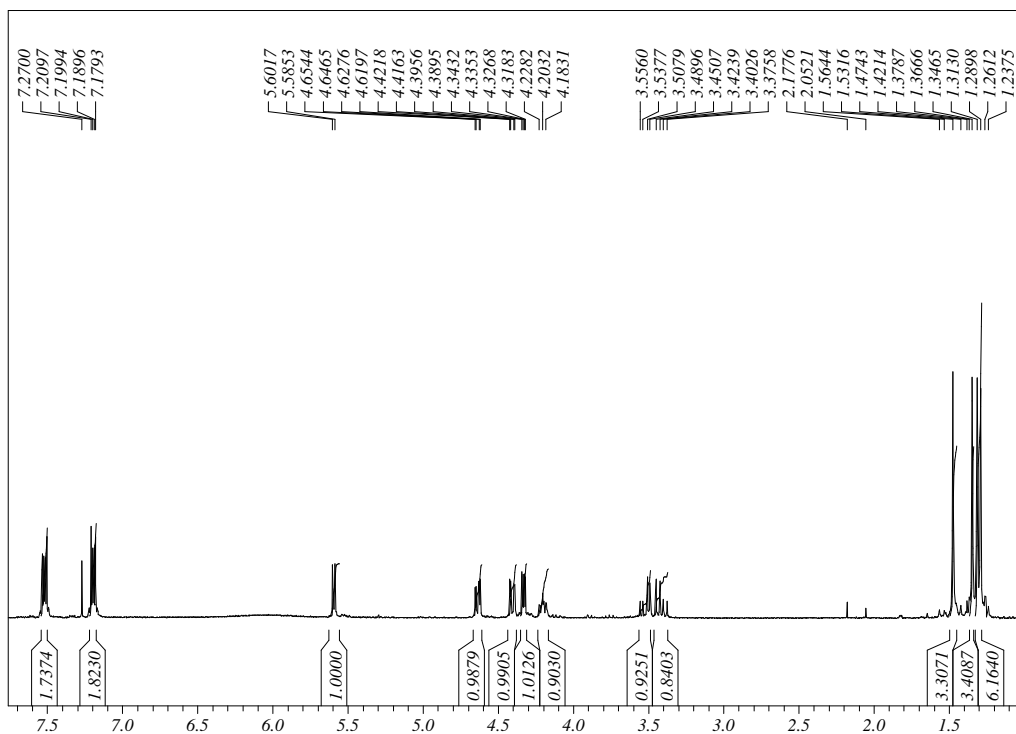
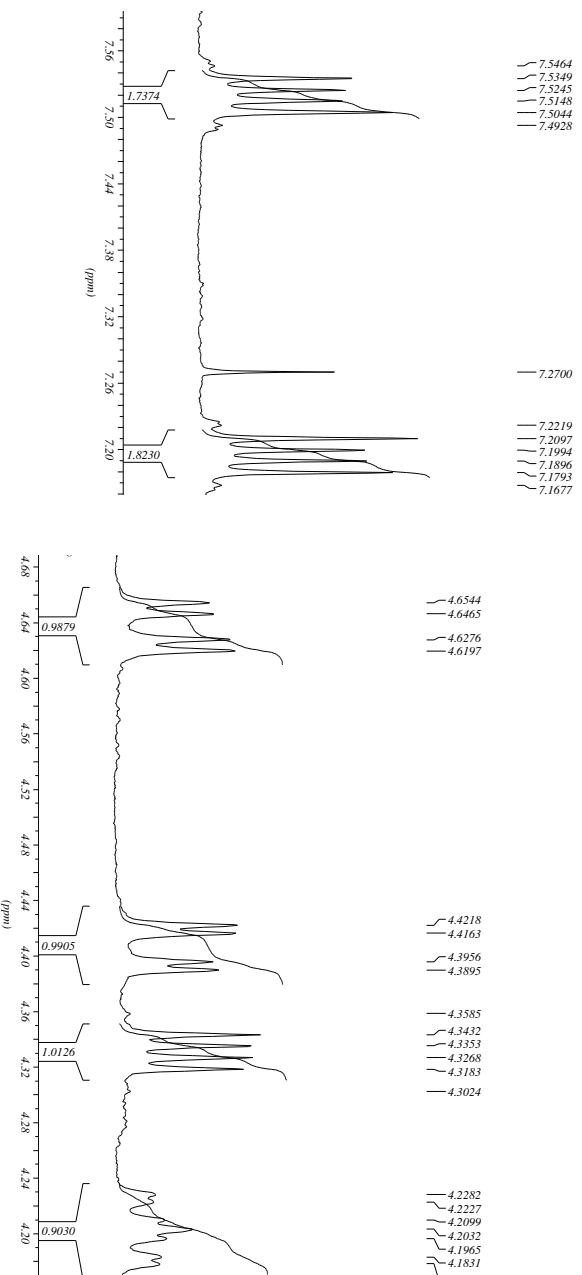


Figura 1.53. Espectro de RMN de ^1H de **16** em CDCl_3 (300MHz).



Figuras 1.54. Expansões do espectro de RMN de ^1H de **16** (300MHz).

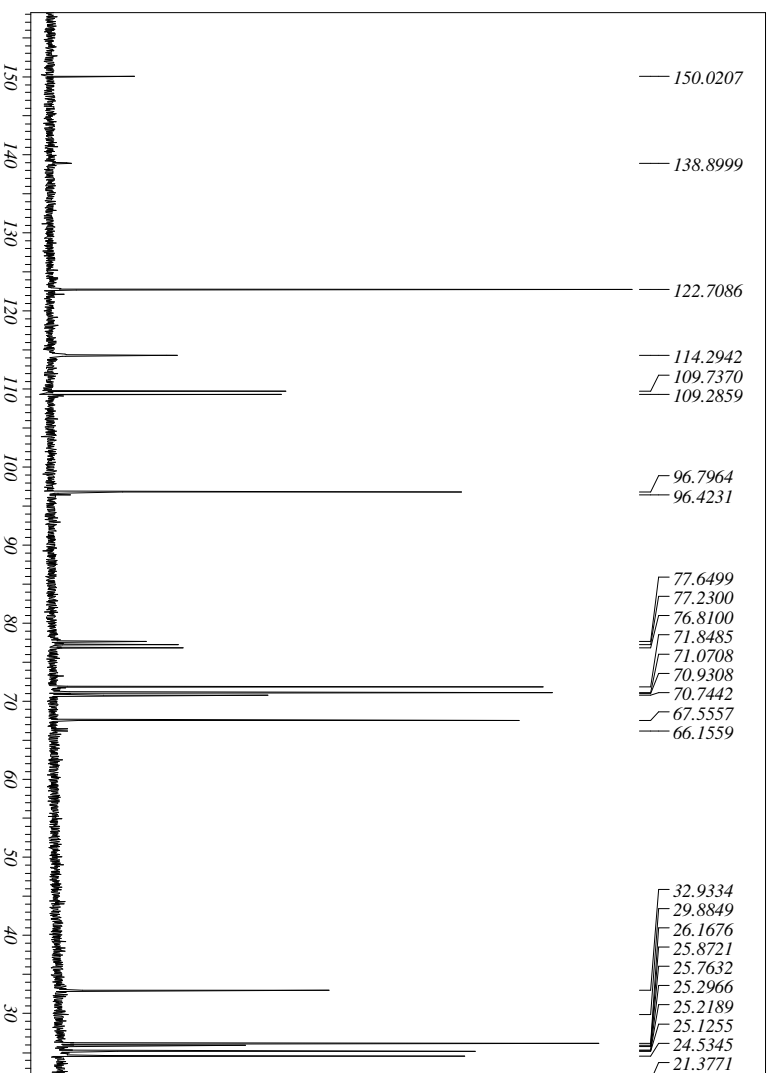


Figura 1.55. Espectro de RMN de ^{13}C de **16** em CDCl_3 (75MHz).

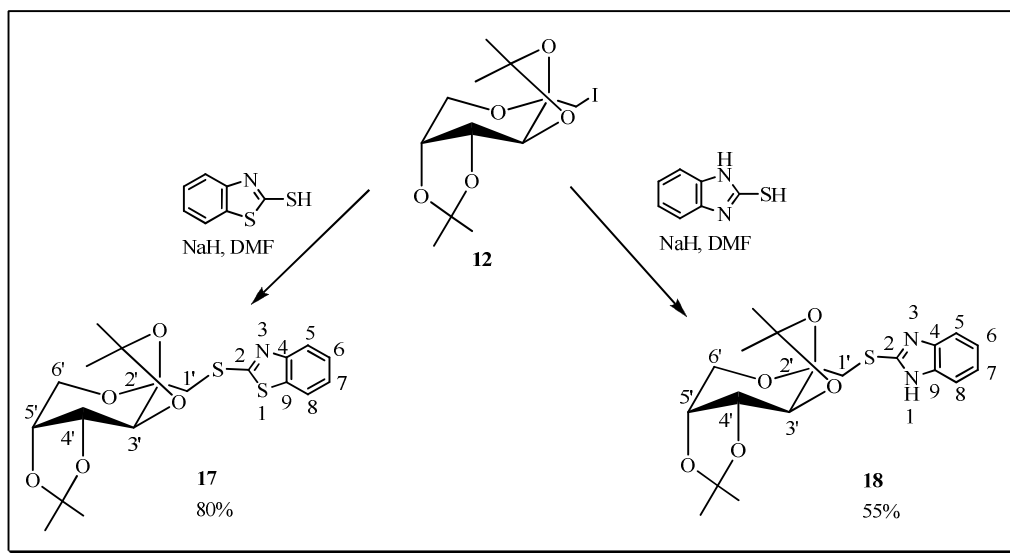
Os dados de análise elementar para os derivados **15** e **16** são condizentes com as fórmulas mínimas propostas para estes compostos (Tabela 1.3).

Tabela 1.3. Dados de análise elemental para os compostos **15** e **16**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
15	55,72	55,99	5,66	5,97	3,42	3,25
16	58,15	58,35	6,16	5,90	7,14	7,24

Síntese e caracterização do 1'-desoxi-1'-S-(2-mercaptopbenzotiazol)-2',3':4',5'-di-O-isopropilideno-β-D-frutopiranosose **17** e 1'-desoxi-1'-S-(2-mercaptopbenzimidazol)-2',3':4',5'-di-O-isopropilideno-β-D-frutopiranosose **18**.

Para a síntese dos compostos **17** e **18** inicialmente foi efetuada a reação do 2-mercaptopbenzotiazol **1** e do 2-mercaptopbenzimidazol **2** com hidreto de sódio em DMF anidro durante 10 min. para que seus respectivos sais sódicos fossem formados. O iodeto **12** foi então adicionado as reações e essas foram mantidas sob agitação magnética e refluxo em DMF por 24 horas⁴⁶ (Esquema 1.20).



Esquema 1.20. Preparação dos compostos **17** e **18**.

Os derivados **17** e **18** foram purificados por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila) e caracterizados através da análise de seus espectros de IV, RMN

de ^1H e de ^{13}C . Os rendimentos obtidos para os compostos **17** e **18** foram de 80% e 55%, respectivamente.

No espectro vibracional de infravermelho de **17** (Figura 1.56) pode-se observar a presença de bandas de absorção em 3062 e 2988-2935 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos das ligações C-H de aromático e alifático e uma banda de absorção intensa em 1067 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do carboidrato.

No espectro de RMN de ^1H de **17** (Figura 1.57) constatou-se a presença de quatro simpletos (12H) entre δ 1,29 e 1,56 correspondentes aos hidrogênios CH_3 dos grupos isopropilídenos. Foram observados também os sinais correspondentes aos hidrogênios do anel piranosídico, a saber: um multipletto entre δ 3,78 e 3,98 correspondente a H-1'a, H-1'b, H-6'a e H-6'b, um dupletto atribuído a H-3' ($J_{3',2'} = 2,5$ Hz) em δ 4,39, dois dupletos duplos em δ 4,26 e 4,63 correspondentes a H-5' ($J_{5',6'a} = 2,5$ Hz, $J_{5',4'} = 7,8$ Hz) e H-4' ($J_{4',3'} = 2,5$ Hz e $J_{4',5'} = 7,8$ Hz), respectivamente. Evidenciou-se também a presença de dois duplos dupletos duplos em δ 7,68 e 7,76 atribuídos a H-8 ($J_{8,5} = 0,7$ Hz, $J_{8,6} = 1,3$ Hz, $J_{8,7} = 8,0$ Hz) e H-5 ($J_{5,8} = 0,7$ Hz, $J_{5,7} = 1,3$ Hz, $J_{5,6} = 8,0$ Hz) bem como outros dois duplos dupletos duplos em δ 7,23 e 7,35 atribuídos a H-7 e H-6. Para elucidação dos acoplamentos entre os hidrogênios e, conseqüentemente, a atribuição dos mesmos, foi feito um mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY) do composto **17** (Figura 1.58).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 1.59) pode-se observar quatro sinais entre δ 24,5 e 26,7 correspondentes aos carbonos metílicos dos grupos isopropilídenos, um sinal em δ 41,5 atribuído a C-1' ligado ao átomo de enxofre, cinco sinais entre δ 121,3 e 153,3 atribuídos aos carbonos do anel aromático e ainda um sinal em δ 167,4 correspondente a C-2. Foram observados igualmente os sinais correspondentes aos carbonos do anel piranosídico e os carbonos quaternários dos grupos isopropilídeno.

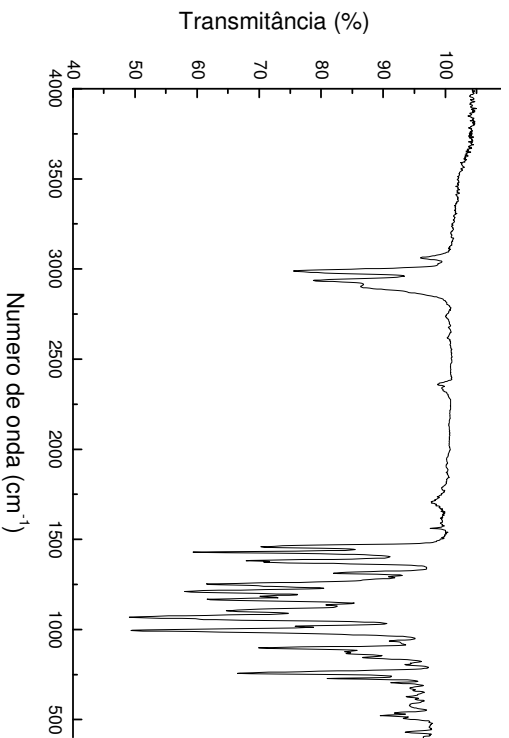


Figura 1.56. Espectro de Infravermelho de **17**.

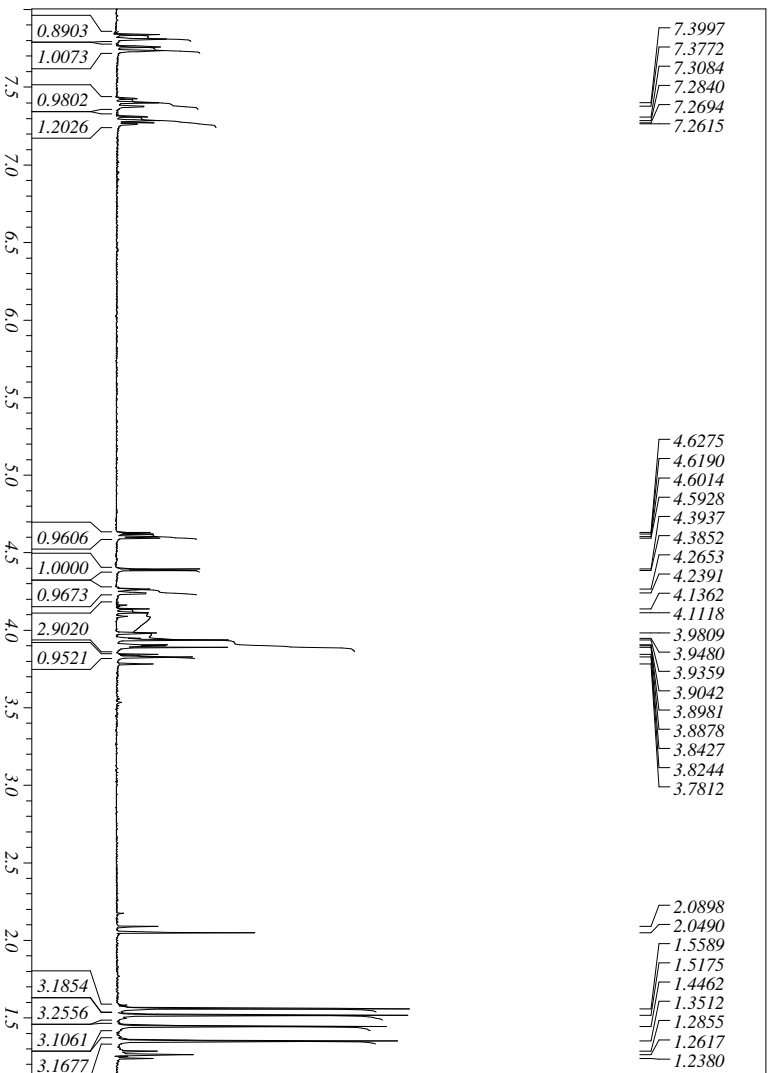


Figura 1.57. Espectro de RMN de ¹H de **17** em CDCl₃ (300MHz).



Figura 1.58. Mapa de contornos COSY de **17** em CDCl_3 (300MHz).

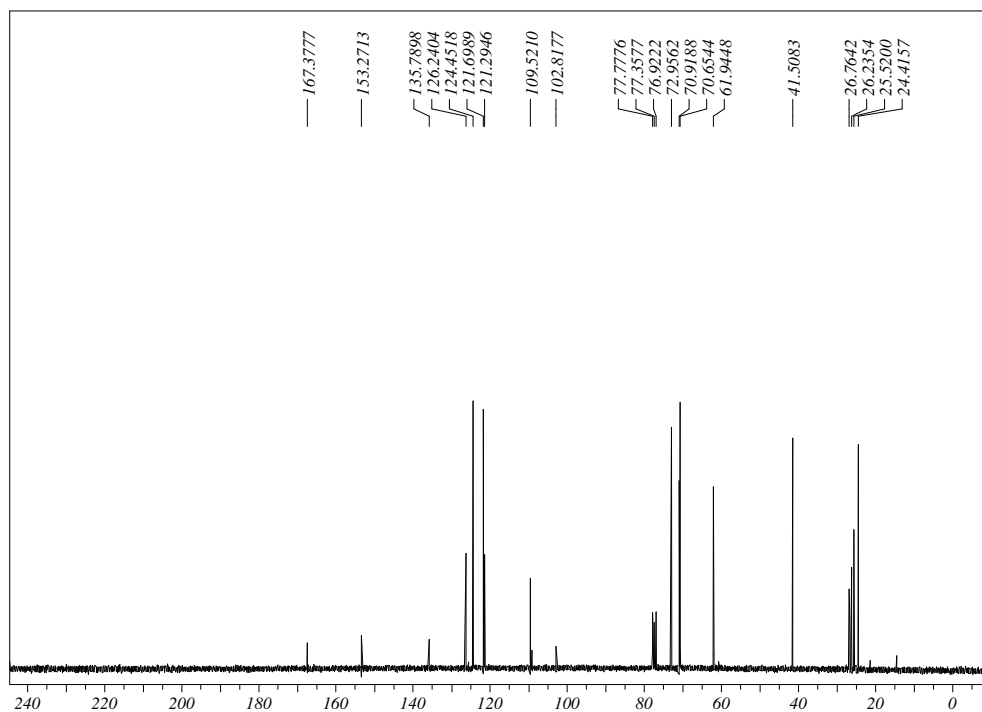


Figura 1.59. Espectro de RMN de ^{13}C de **17** em CDCl_3 (75MHz).

No espectro vibracional de infravermelho de **18** (Figura 1.60) pode-se verificar a presença de bandas de absorção em 3052 e 2987-2937 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos das ligações C-H de aromático e alifático, respectivamente, além de uma banda de absorção intensa em 1067 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do açúcar.

No espectro de RMN de ^1H de **18** (Figura 1.61) observou-se a presença de quatro simpletos (12H) correspondentes aos hidrogênios metilênicos entre δ 1,38 e 1,56. Puderam também ser observados os sinais correspondentes aos hidrogênios do anel piranosídico: dois dupletos em δ 3,48 e 3,67 correspondentes aos hidrogênios H-1'a e H-1'b ($J_{1'a,1'b}=14,8$ Hz), dois dupletos duplos em δ 3,94 e 4,07 correspondentes a H-6'a e H-6'b ($J_{6'b,5} < 1,0$, $J_{6'a,5} = 2,4$ e $J_{6'a,6'b}=13,0$ Hz), um duplete em δ 4,33 atribuído a H-3' ($J_{3',2'} = 2,4$ Hz), dois dupletos duplos em δ 4,31 e 4,67 correspondentes a H-5' ($J_{5',6'a} = 2,4$ Hz, $J_{5',4'} = 7,9$ Hz) e H-4' ($J_{4',3'} = 2,4$ Hz, $J_{4',5'} = 7,9$ Hz) respectivamente. Os dois multipletos em δ 7,21 e 7,51 foram atribuídos a H-5, H-8, H-6 e H-7.

No espectro de RMN de ^{13}C deste composto (Figura 1.62), dentre outros sinais de absorção, foi constatada a presença de quatro sinais entre δ 19,0 e 21,4 correspondente aos carbonos CH_3 dos grupos isopropilidenos, um sinal em 36,7 atribuído a C-1' ligado ao átomo de enxofre, além de quatro sinais entre δ 104,1 e 145,5 atribuídos aos carbonos do anel benzimidazólico.

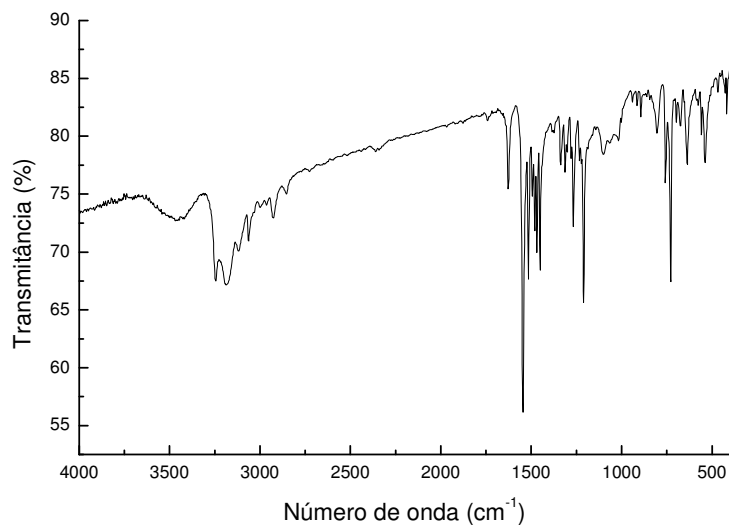


Figura 1.60. Espectro de Infravermelho de **18**.

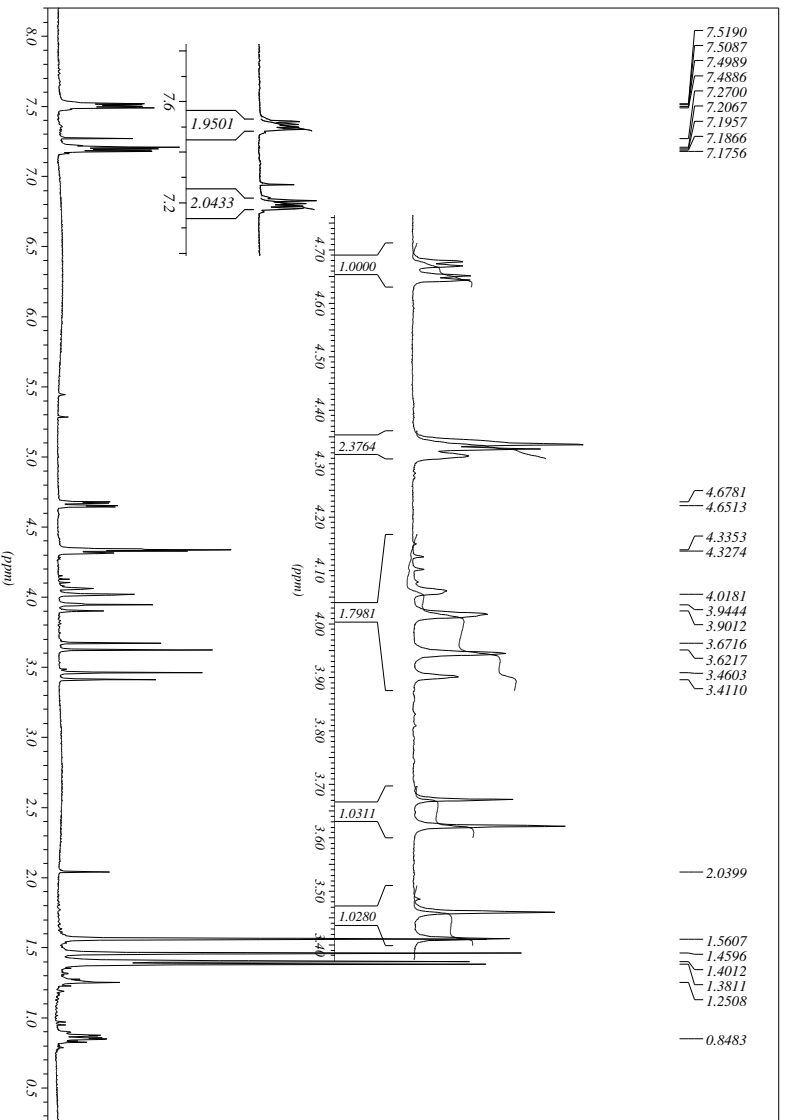


Figura 1.61. Espectro de RMN de ^1H de **18** em CDCl_3 (300MHz).

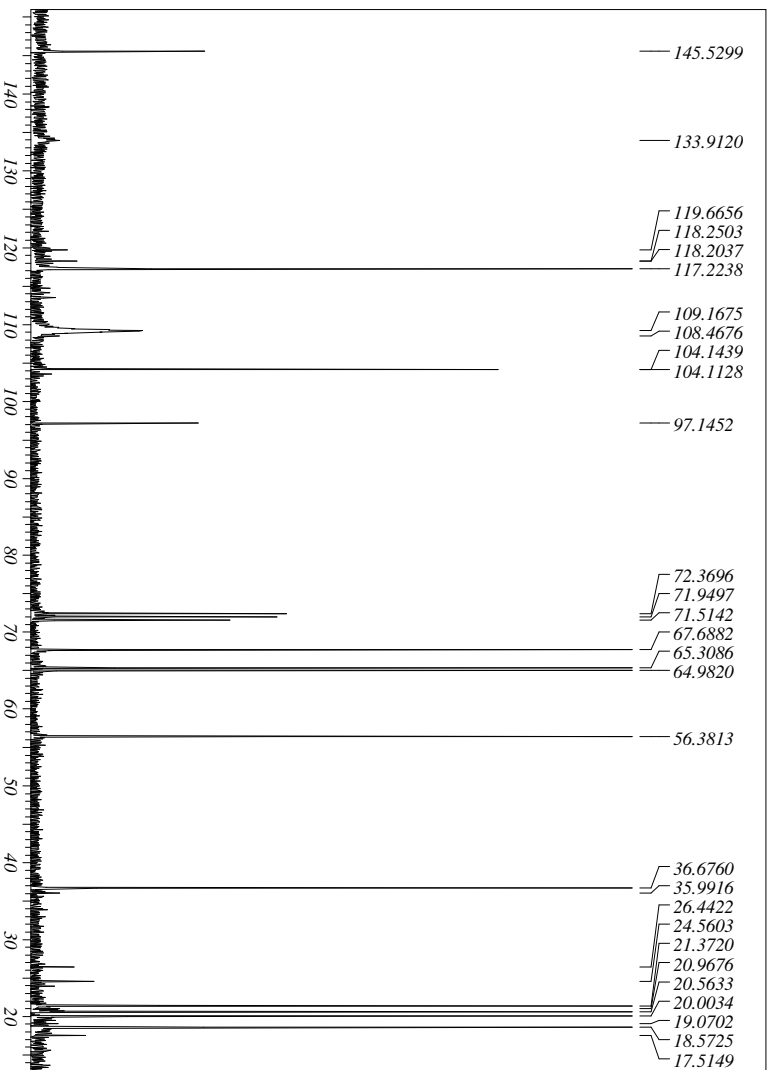
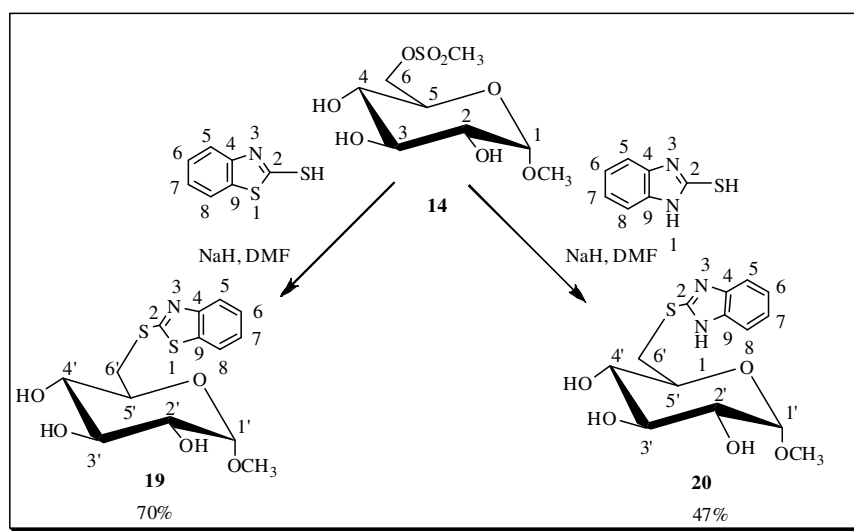


Figura 1.62. Espectro de RMN de ^{13}C de **18** em CDCl_3 (75MHz).

Síntese e caracterização do 6'-desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzotiazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **19** e 6'-desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzimidazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **20**.

A síntese dos compostos **19** e **20** (Esquema 1.21) foi realizada mediante a reação de condensação do monomesilato **14**, obtido em melhores rendimentos, com 2-mercaptobenzotiazol **1** ou 2-mercaptobenzimidazol **2** conforme descrito anteriormente para a síntese de **17** e **18** (Esquema 1.20).⁴⁶



Esquema 1.21. Preparação dos compostos **19** e **20**.

Os compostos **19** e **20** foram purificados por coluna cromatográfica e obtidos em rendimentos de 70% e 47%, respectivamente. Suas caracterizações foram realizadas pela análise dos espectros de IV, RMN de ^1H e de ^{13}C e faixa de fusão e espectro de massa de alta resolução para **20**.

Faixa de fusão de **19**: 99-102°C.

Faixa de fusão de **20**: 106-108°C.

No espectro vibracional de infravermelho de **19** (Figura 1.63) pode-se observar a presença de uma banda larga de absorção em $3471\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ que foi atribuída ao estiramento da ligação O-H. Observou-se, ainda, a presença de bandas em $2917\text{-}2844\text{ cm}^{-1}$ correspondentes aos estiramentos das ligações C-H alifático, uma banda de grande intensidade em 1426 cm^{-1} correspondente ao estiramento de C-H aromático e uma banda de

absorção intensa em 1046 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do anel piranosídico.

No espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura 1.64) observou-se a presença de um duplete em δ 4,69 correspondente a H-1' ($J_{1',2'} = 3,6\text{ Hz}$). Verificou-se também a presença de um duplete duplo em δ 3,34 e um triplete em δ 3,68 que foram atribuídos a H-3' ($J_{3',4'} = 8,9$ e $J_{3',2'} = 9,5\text{ Hz}$) e H-4' ($J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9,1\text{ Hz}$), respectivamente, um duplete duplo em δ 3,49 atribuído a H-2' ($J_{2',1'} = 3,6\text{ Hz}$ e $J_{2',3'} = 9,6\text{ Hz}$) e um simpleto em δ 3,42 referente aos hidrogênios do grupo metoxila, além de outros sinais pertinentes aos hidrogênios H-5', H-6'a e H-6'b do anel piranosídico. Foram também observados entre δ 7,34 e 7,86 os sinais de absorção dos hidrogênios da porção aromática (H-5, H-6, H-7 e H-8).

No espectro de RMN de ^{13}C de **19** (Figura 1.65) pode-se observar um sinal em δ 36,9 correspondente ao carbono metilênico ligado ao enxofre (C-6'), um sinal em δ 55,8 referente ao grupo metoxila e quatro sinais entre δ 71,8 e 75,0 atribuídos aos carbonos C-2', C-3', C4' e C-5' do anel piranosídico, respectivamente. O sinal em δ 101,4 pode ser atribuído a C-1' e os sinais entre δ 122,2 e 154,2 podem ser relacionados aos carbonos do anel aromático (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 e C-9). O sinal em δ 169,9 refere-se ao carbono quaternário do heterociclo (C-2).

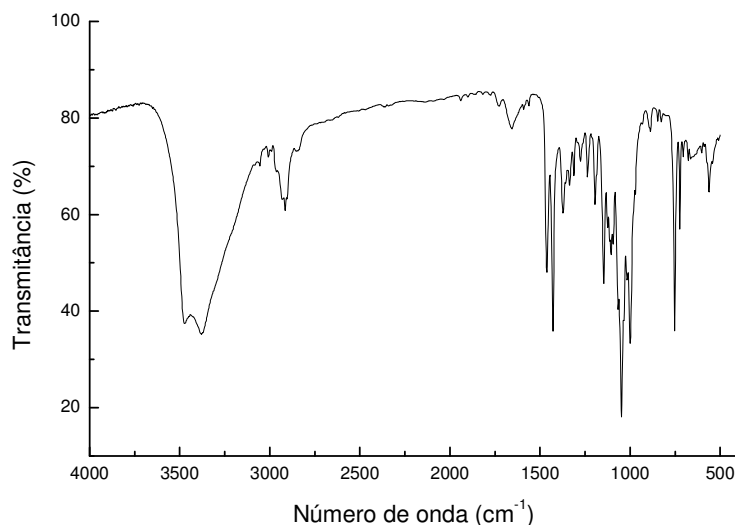


Figura 1.63. Espectro de Infravermelho de **19**.

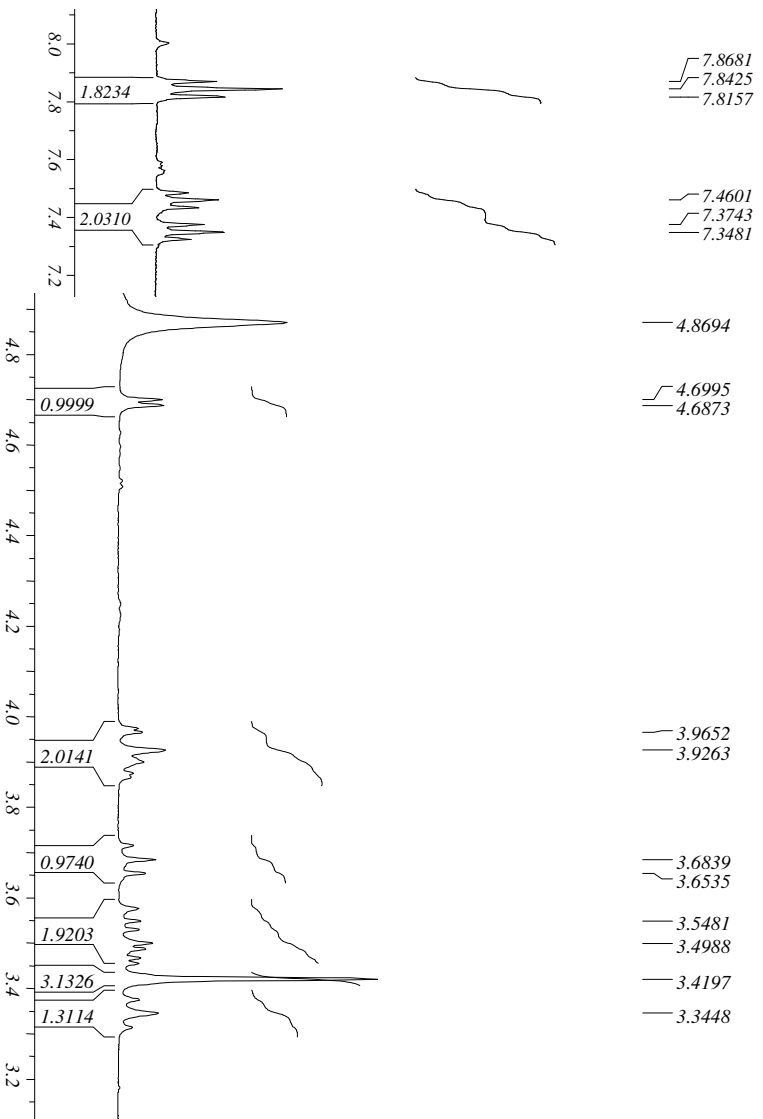


Figura 1.64. Expansões do espectro de RMN de ^1H de **19** em CD_3OD (300MHz).

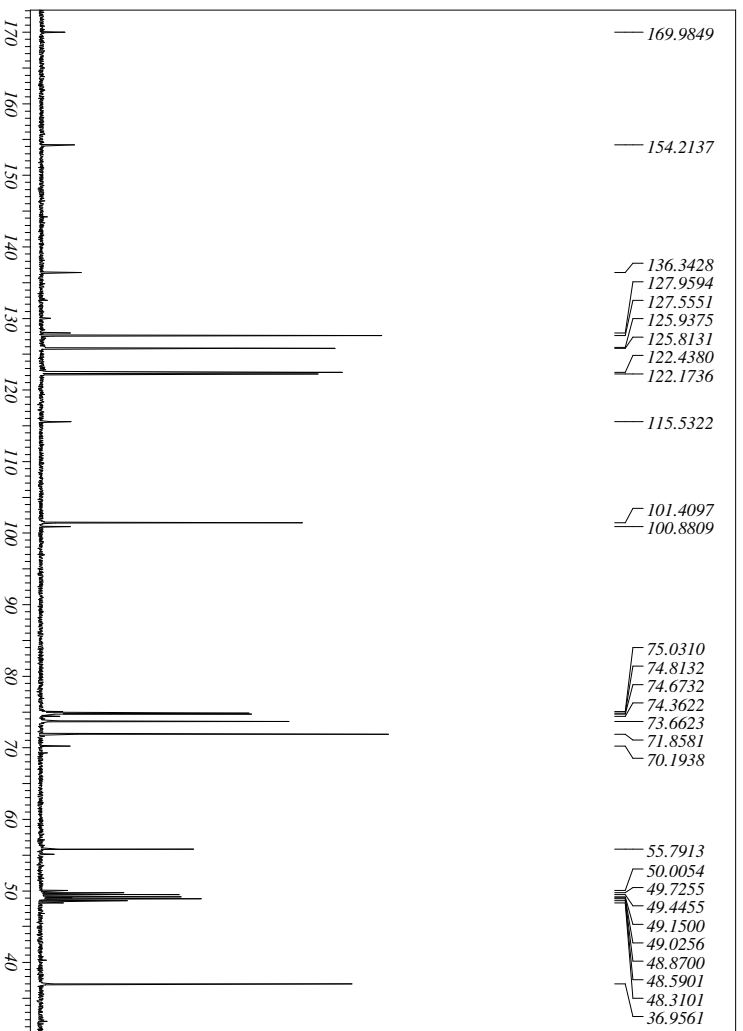


Figura 1.65. Espectro de RMN ^{13}C de **19** em CD_3OD (75MHz).

No espectro vibracional de IV de **20** (Figura 1.66) foi possível observar a presença de uma banda larga de absorção em 3381 cm^{-1} que pôde ser atribuída ao estiramento da ligação O-H. Observou-se também, a presença de bandas de absorção em $2929\text{-}2838\text{ cm}^{-1}$, correspondentes aos estiramentos das ligações C-H alifático e uma banda de absorção intensa em 1049 cm^{-1} relacionada ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do anel piranosídico.

No espectro de RMN de ^1H de **20** (Figura 1.67) observou-se a presença de um duplete em $\delta\ 4,57$ que pode ser atribuído a H-1' ($J_{1,2}= 3,6\text{ Hz}$), confirmando se tratar de um anômero α . Verificou-se, também, a presença de um duplete duplo em $\delta\ 3,45$ correspondente a H-2' ($J_{2,1}= 3,6\text{ Hz}$ e $J_{2,3}= 9,6\text{ Hz}$) e um multipeto entre $\delta\ 3,24\text{-}3,35$ atribuído a H-6'b. Um multipeto referente a H-4' em $\delta\ 3,74$ e um simpleto largo (4H) em $\delta\ 3,20$, correspondente aos hidrogênios do grupo metoxila e a H-3', puderam também ser observados. A análise deste espectro possibilita ainda a observação dos dois multipetos correspondentes aos hidrogênios da porção aromática em $\delta\ 7,10$ e $7,31$. Para a elucidação dos acoplamentos entre os hidrogênios e carbonos e, conseqüentemente, melhor atribuição dos mesmos, foi feito um mapa de contorno $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HetCOR) do composto **20** (Figura 1.68).

No espectro de RMN de ^{13}C de **20** (Figura 1.69) pode-se observar um sinal em $\delta\ 36,3$ correspondente ao carbono metilênico ligado ao enxofre (C-6'), um sinal em $\delta\ 57,5$ referente ao carbono metoxílico e quatro sinais entre $\delta\ 72,7$ e $74,8$ atribuídos aos carbonos C-2', C-3', C4' e C-5' do anel piranosídico. O sinal em $\delta\ 101,8$ pôde ser atribuído a C-1'. O sinal em $\delta\ 153,1$ é referente ao carbono quaternário do heterociclo (C-2) e os outros sinais acima de $\delta\ 116,3$ são correspondentes aos carbonos do anel aromático (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8 e C-9).

No espectro de massas de alta resolução do composto **20** (Figura 1.70) foi encontrado o pico de massa $349,0822$ que corresponde à fórmula mínima $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]. O valor da massa esperada para tal composto foi de $349,0834$ [$\text{M} + \text{Na}^+$].

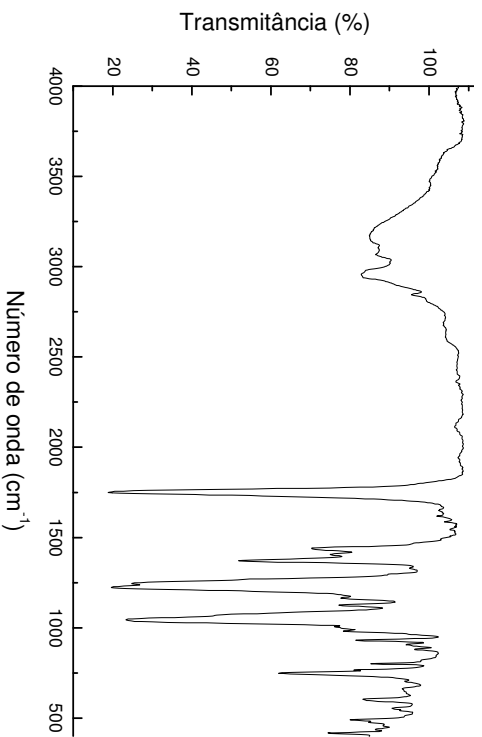


Figura 1.66. Espectro de Infravermelho de **20**.

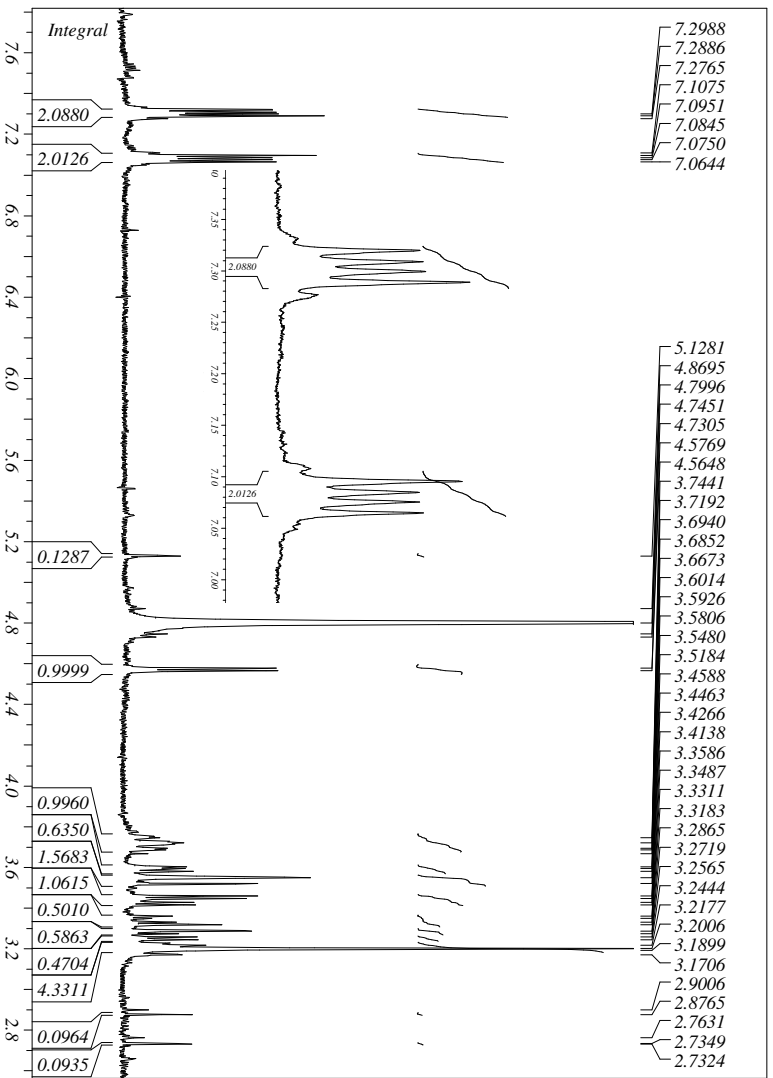


Figura 1.67. Espectro de RMN de ¹H de **20** em D₂O (300MHz).

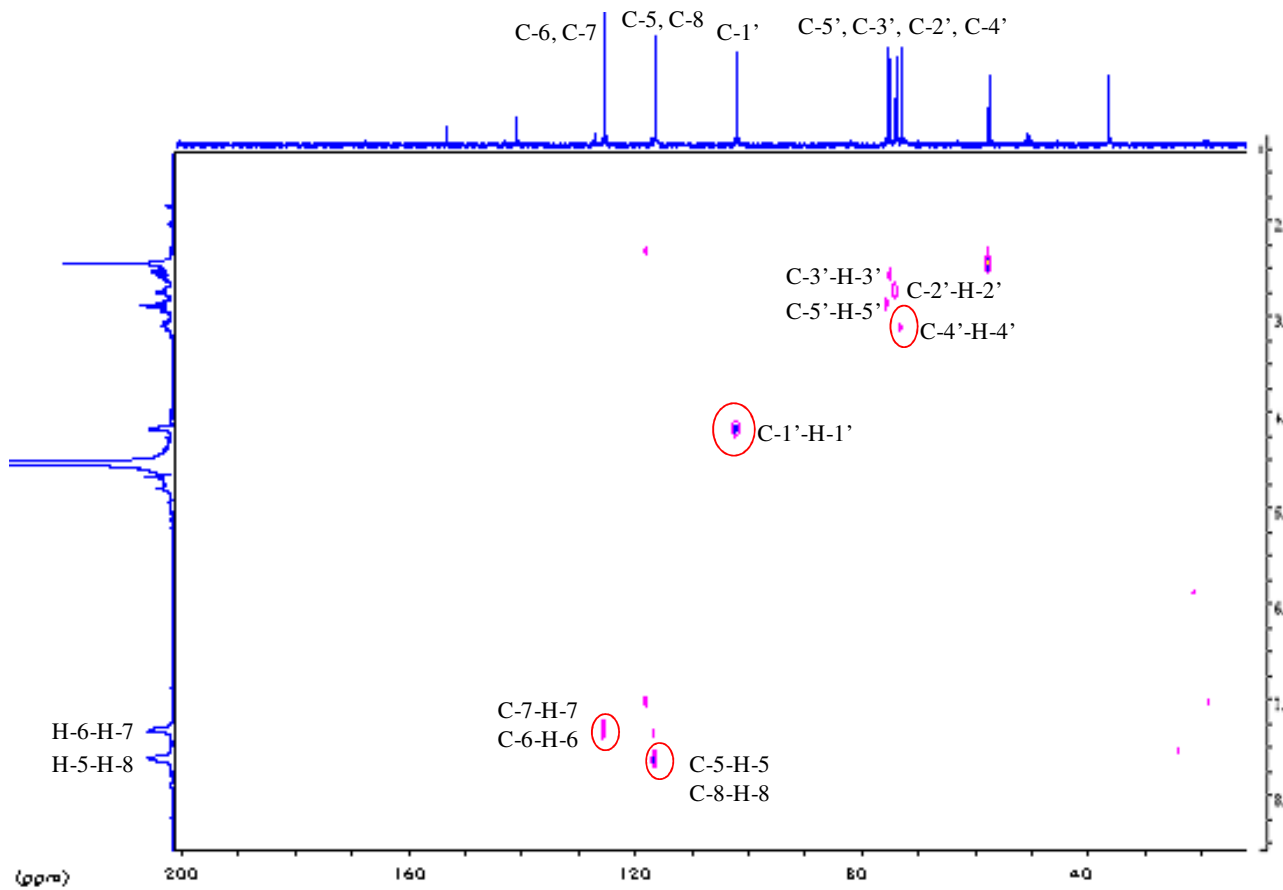


Figura 1.68. Espectro de HetCOR de **20** em D₂O (300MHz).

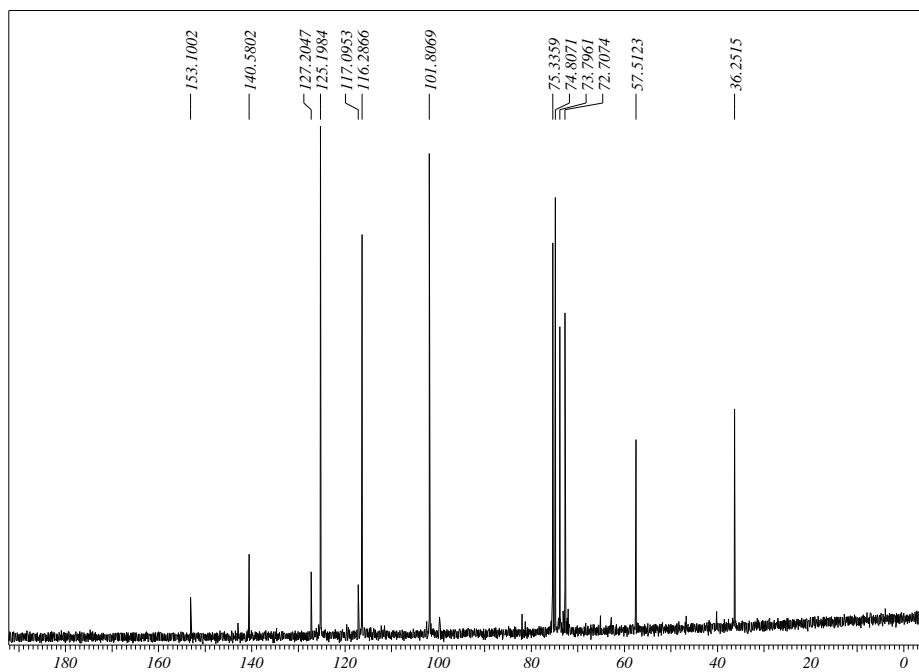
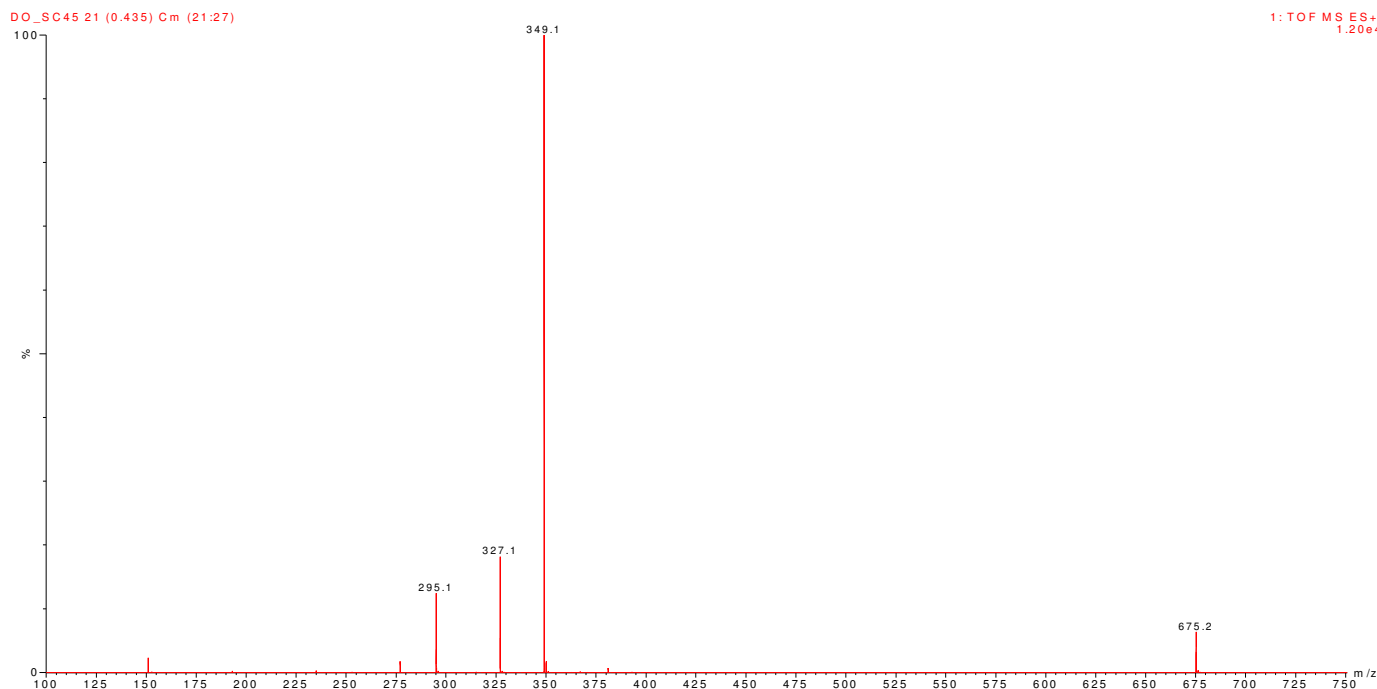


Figura 1.69. Espectro de RMN de ¹³C de **20** em D₂O (75MHz).



Elemental Composition Report

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
 Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

97 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

Minimum:	20.00				-1.5		
Maximum:	100.00	200.0	5.0	50.0			
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
349.0822	100.00	349.0834	-1.2	-3.5	6.5	1	C14 H18 N2 O5 Na S

Figura 1.70. Espectro de massas de **20**.

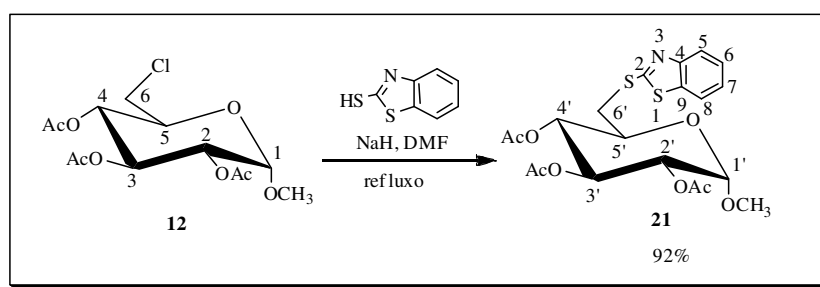
Os dados de análise elementar para os compostos **19** e **20** estão de acordo com as fórmulas mínimas propostas para estes compostos (Tabela 1.4).

Tabela 1.4. Dados de análise elementar para os compostos **19** e **20**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
19	48,96	47,65	4,99	4,77	4,08	4,08
20 · 2H₂O	46,40	47,26	6,12	5,51	7,73	7,29

Síntese e caracterização do 2',3',4'-tri-*O*-acetil-6'-desoxi-6'-*S*-(2-mercaptopentotiazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **21**

A preparação do composto **21**, a partir do cloreto **12**, foi efetuada com o intuito de se avaliar a facilidade de substituição do átomo de cloro pelo ânion tiolato, derivado do 2-mercaptopentotiazol, objetivando assim a obtenção do produto final em melhores rendimentos. Contudo, é sabido que uma etapa a mais será acrescentada no processo. A síntese do composto **21** foi realizada a partir da reação do 2-mercaptopentotiazol **1** com hidreto de sódio em DMF anidro por 10 min. com posterior adição do sal formado ao cloreto **12**. A reação foi mantida sob refluxo em DMF por 24 horas⁴⁶ (Esquema 1.22).



Esquema 1.22. Preparação do derivado peracetilado **21**.

O composto **21** foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila), sendo obtido em 92% de rendimento e caracterizado pela análise dos espectros de IV, RMN ¹H e de ¹³C, faixa de fusão, análise elementar e espectro de massa.

Faixa de fusão de **21**: 125-126 °C.

No espectro vibracional de infravermelho de **21** (Figura 1.71) pode-se observar a presença de bandas de absorção em 2951 e 2846 cm⁻¹ que puderam ser atribuídas ao estiramento das ligações C-H alifáticas, uma banda de grande intensidade em 1752 cm⁻¹ correspondente ao estiramento da ligação C=O de éster e uma banda de absorção intensa entre 1100-1000 cm⁻¹ correspondente ao estiramento assimétrico das ligações C-O-C do anel piranosídico.

No espectro de RMN de ¹H de **21** (Figura 1.72) observou-se a presença de três simpletos (9H) entre δ 2,14 e 2,24 correspondentes aos hidrogênios dos grupos acetila. Foram observados, também, os sinais dos hidrogênios do anel piranosídico: dois dupletos duplos em δ 3,64 e 3,93 correspondentes a H-6'a ($J_{6'a,5'}=2,9$ Hz e $J_{6'a,6'b}=14,0$ Hz) e H-6'b

($J_{6'b,5'}=8,0$ Hz e $J_{6'b,6'a}=14,0$ Hz), um duplete em δ 5,08 correspondente a H-1' ($J_{1',2'}=3,5$ Hz) e H-2', dois tripletos em δ 5,21 e 5,65, correspondentes a H-3' ($J_{3',2'}=J_{3',4'}=9,6$ Hz) e H-4' ($J_{4',3'}=J_{4',5'}=9,4$ Hz), respectivamente, além de um multiplete em δ 4,28 atribuído a H-5'. Observou-se, também, um simpleto em δ 3,52 evidenciando a presença dos hidrogênios do grupo metoxila. Na região entre δ 7,44 e 7,95 podem ser observados os sinais das absorções referentes aos hidrogênios aromáticos (H-5 e H-6, H-7 e H-8).

No espectro de RMN de ^{13}C de **21** (Figura 1.73) pode-se observar um sinal em δ 20,8 correspondentes aos grupos acetila (COCH_3), um sinal em δ 34,3 correspondente ao carbono ligado ao enxofre (C-6'), um sinal em δ 55,4 atribuído ao carbono metoxílico e quatro sinais entre δ 68,1 e 76,8 atribuídos aos carbonos C-2', C-3', C-4' e C-5' do anel piranosídico. O sinal em δ 96,5 pode ser atribuído a C-1', enquanto que os sinais entre δ 121,4 e 126,1 foram atribuídos aos carbonos C-5, C-6, C-7 e C-8 do anel aromático. O sinal em δ 165,9 corresponde ao carbono quaternário do heterociclo (C-2). Os outros dois sinais entre δ 135,2 e 152,9 foram atribuídos aos carbonos quaternários (C-4 e C-9) do anel aromático enquanto os três sinais entre δ 169,9 e 170,1 correspondem aos carbonos carbonílicos.

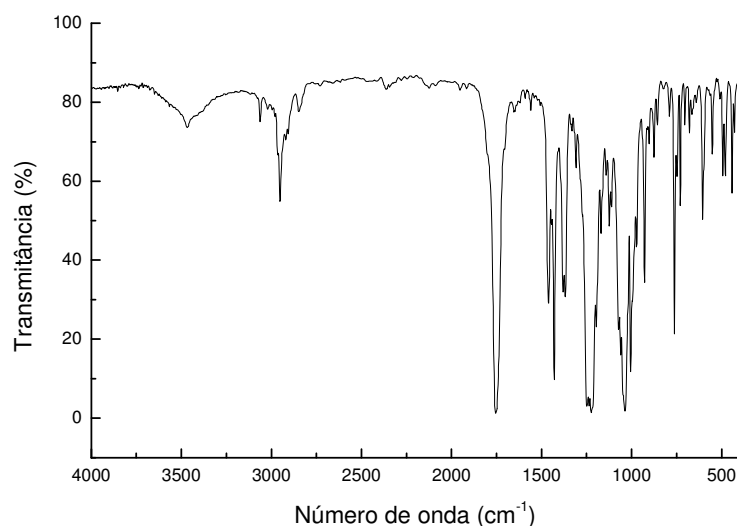


Figura 1.71. Espectro de Infravermelho de **21**.

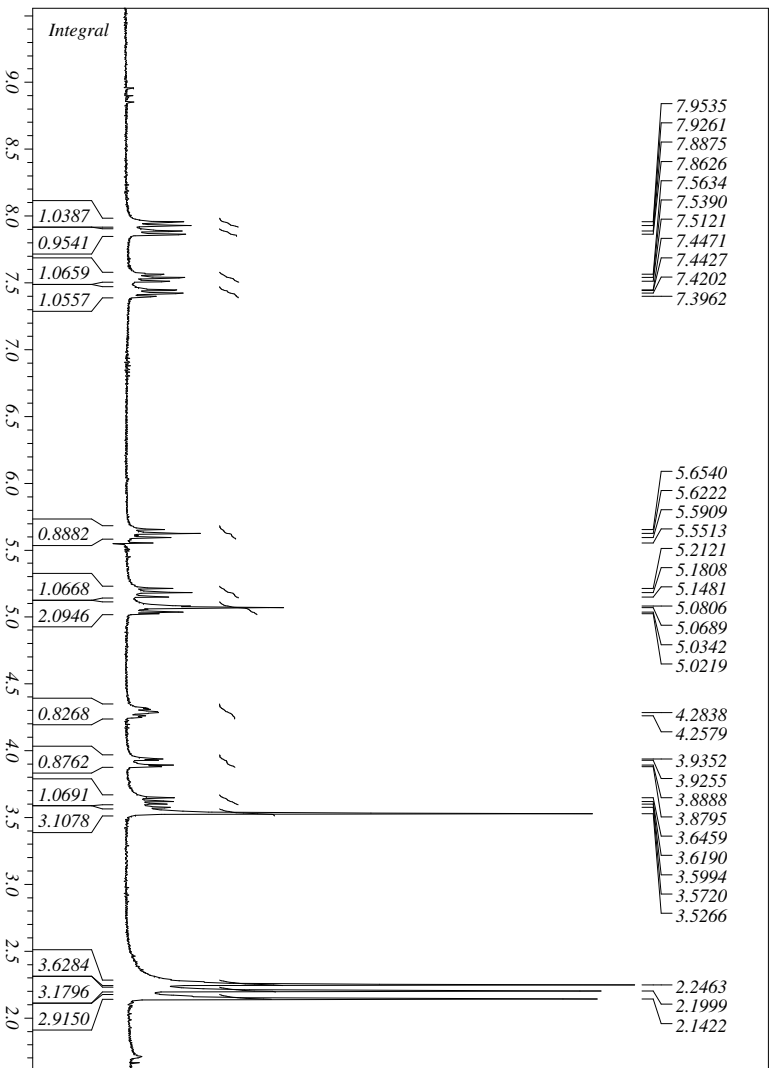


Figura 1.72. Espectro de RMN de ^1H de **21** em CDCl_3 (300MHz).

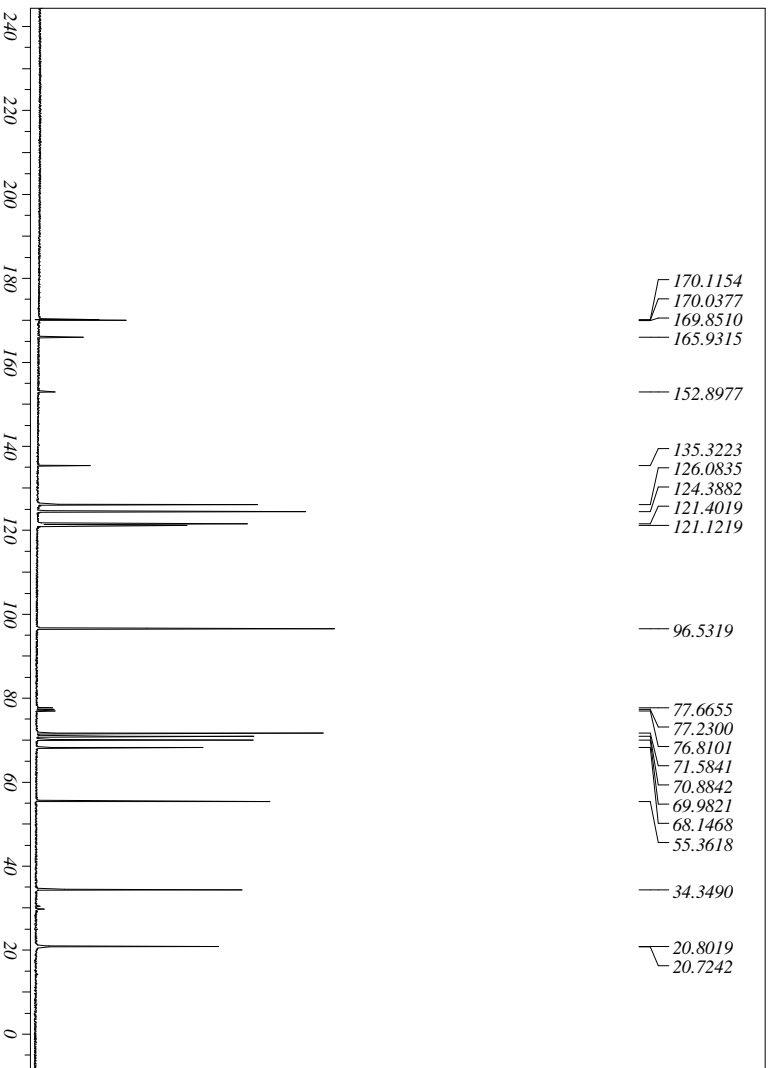
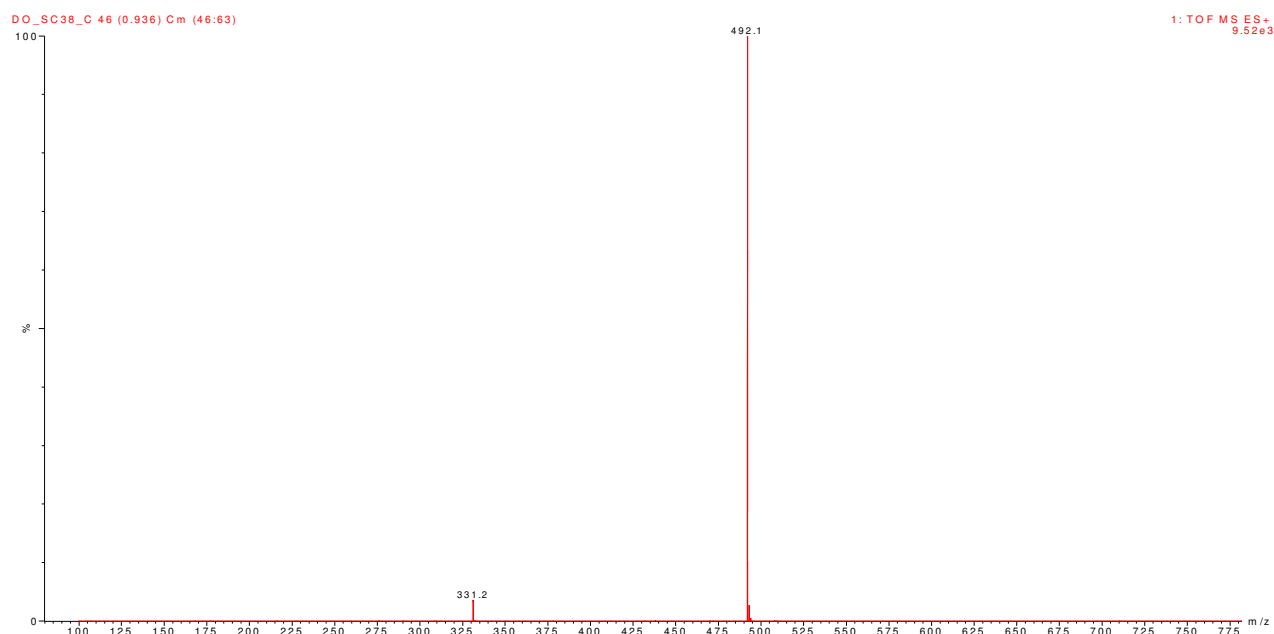


Figura 1.73. Espectro de RMN de ^{13}C de **21** em CDCl_3 (75MHz).

No espectro de massas de alta resolução do composto **21** (Figura 1.74) verificou-se a presença do pico de massa 492,0768 que corresponde a fórmula mínima $C_{20}H_{23}NO_8S_2Na$ $[M + Na^+]$. O valor da massa esperada para tal composto foi de 492,0763 $[M + Na^+]$



Elemental Composition Report

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
 Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
 164 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

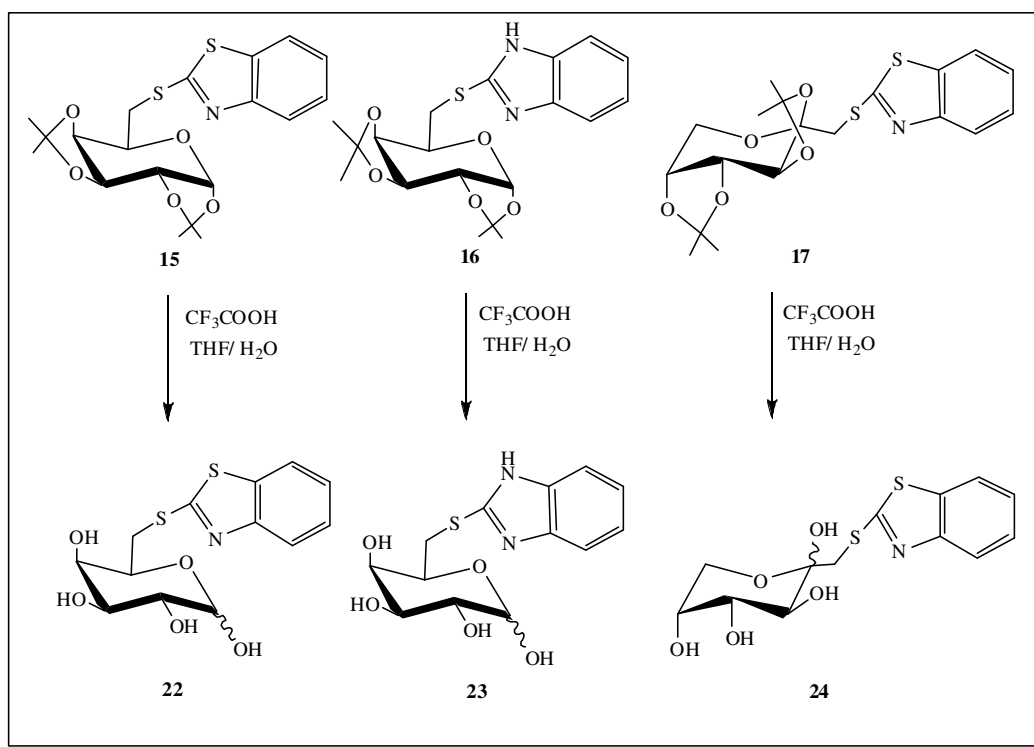
Minimum:	20.00				-1.5		
Maximum:	100.00	200.0	5.0	50.0			
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
492.0768	100.00	492.0763	0.5	1.1	9.5	1	C20 H23 N O8 Na S2

Figura 1.74. Espectro de massas de **21**.

1.3.4.4. Síntese e caracterização dos compostos poli-hidroxilados **22**, **23** e **24**

As reações de desproteção dos grupos isopropilídeos dos compostos **15**, **16** e **17** foram feitas a partir da adição de uma solução de ácido trifluoroacético/água 9:1 v/v às soluções desses compostos em tetraidrofurano. As soluções foram mantidas sob agitação magnética durante 72 horas à temperatura ambiente, no caso dos compostos **15** e **16**, e a 60° C para o composto **17**. Através desta metodologia foi possível obter os respectivos compostos **22**, **23** e **24**, sob a forma de mistura anomérica ($\alpha + \beta$) em bons rendimentos (79-81%) (Esquema 1.23).

No decorrer do trabalho foram testados outros métodos de desproteção dos grupos isopropilideno. Dentre eles podemos citar: ácido clorídrico em THF/H₂O e trifluoreto de boro eterato de metila (BF₃.OMe₂) em uma solução de diclorometano/acetonitrila. Estas condições reacionais se mostraram muito drásticas na desproteção destes compostos, acarretando, além da remoção dos grupos isopropilideno, a clivagem indesejável da ligação CH₂-S.



Esquema 1.23. Síntese dos compostos **22**, **23** e **24**.

Os compostos **22** a **24** foram purificados por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano/metanol) e devidamente caracterizados pela análise de seus espectros de infravermelho, RMN de ¹H e de ¹³C e análise elementar para o composto **22** (Tabela 1.4).

Nos espectros vibracionais na região de infravermelho dos compostos poli-hidroxilados puderam ser observadas bandas de absorção na região de 3500-3200 cm⁻¹ referentes ao estiramento da ligação O-H, bandas de absorção em torno de 2930-2800 cm⁻¹ referentes aos estiramentos da ligação C-H alifático, bandas intensas de absorção na região de 1450 cm⁻¹ correspondentes aos estiramentos das ligações C-H do anel aromático, bem

como os estiramentos das ligações C-C-O e C-O-C, em torno de $1100-1000\text{ cm}^{-1}$, do anel piranosídico (Figura 1.75, espectro de IV de **22**).

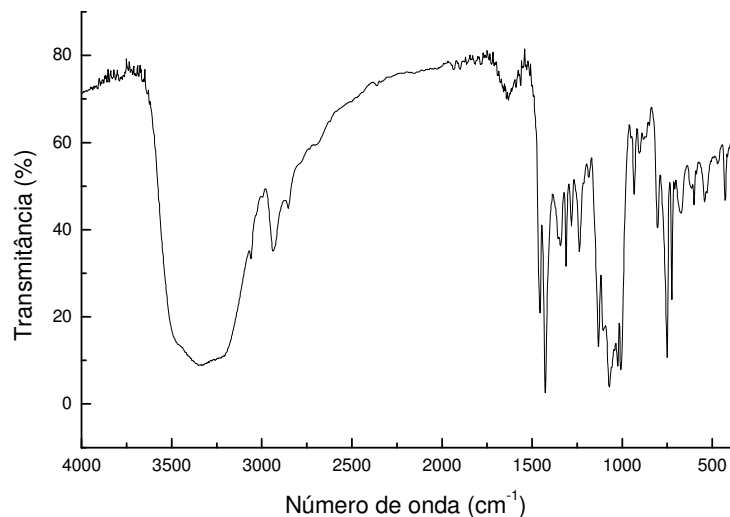


Figura 1.75. Espectro de Infravermelho de **22**.

Nos espectros de RMN de ^1H dos compostos **22** a **24** (Figura 1.76, espectro de RMN de ^1H de **22**) verificam-se, em relação ao material de partida, o desaparecimento dos sinais referentes aos grupos isopropilideno.

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos poliidroxilados (Figura 1.77, espectro de RMN de ^{13}C de **22**) observou-se os sinais referentes ao heterociclo e ao anel piranosídico, bem como a ausência dos sinais correspondentes aos carbonos dos grupos isopropilideno. Os sinais dos carbonos aparecem duplicados devido à presença dos anômeros α e β . As atribuições dos carbonos foram feitas por comparação com dados obtidos na literatura para os anômeros α e β desses carboidratos.^{33,41}

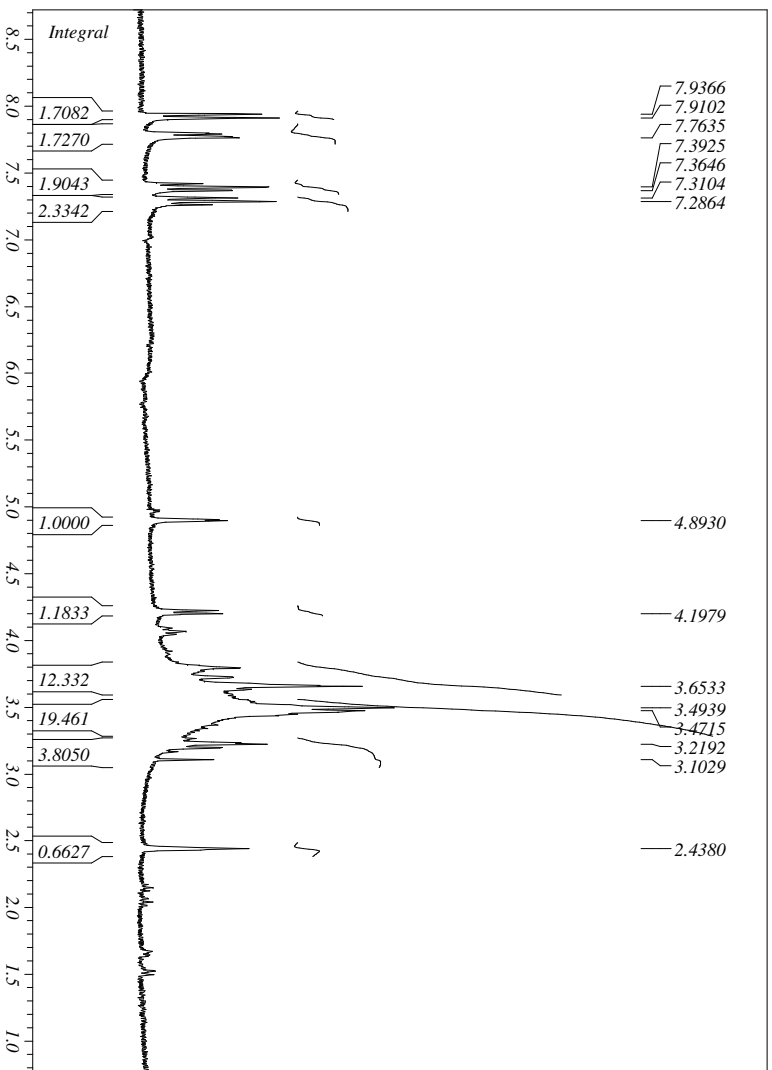


Figura 1.76. Espectro de RMN de ^1H de **22**, em $\text{DMSO } d\text{-}6$ (300MHz).

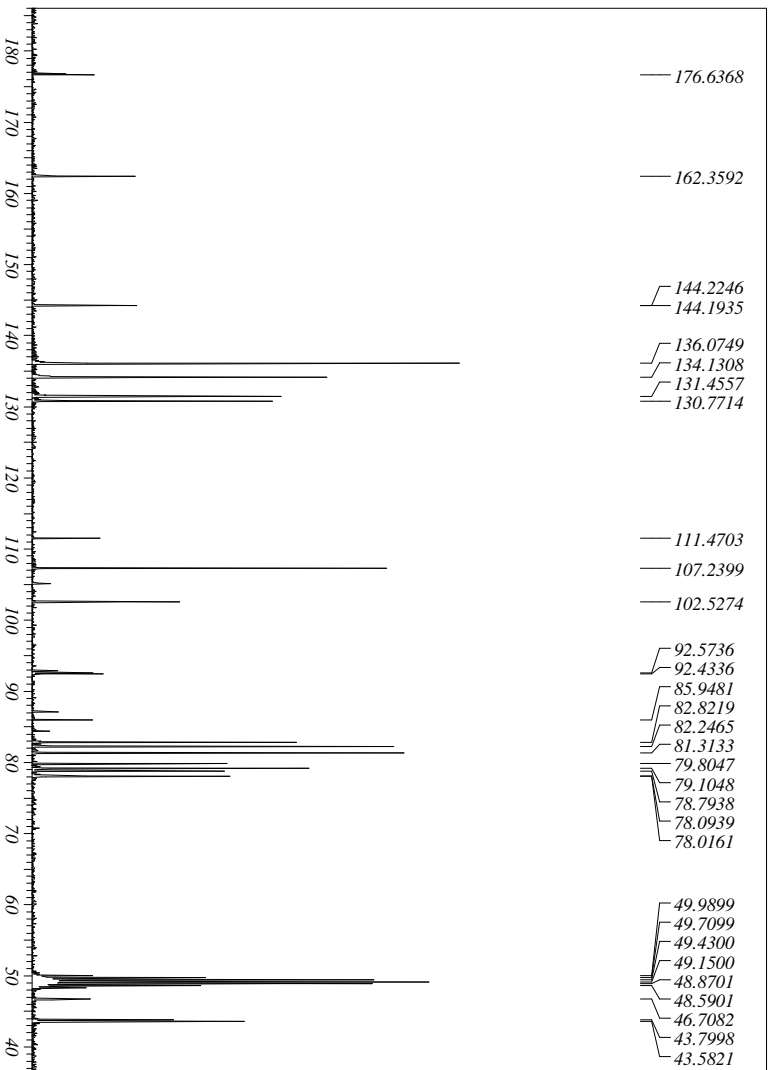


Figura 1.77. Espectro de RMN de ^{13}C de **22**, em $\text{DMSO } d\text{-}6$ (75MHz)

Os dados de análise elementar para o derivado **22** estão de acordo com a fórmula mínima proposta para este composto (Tabela 1.5).

Tabela 1.5. Dados de análise elementar para o composto **22**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
22 . H ₂ O	44,94	45,75	4,93	3,89	4,03	4,16

1.3.5. Conclusões

Nesta primeira parte do capítulo 1 descrevemos a síntese de 10 compostos inéditos, a saber: quatro derivados do 2-mercaptobenzotiazol (**15**, **17**, **19** e **21**), três derivados do 2-mercaptobenzimidazol (**16**, **18** e **20**) e três derivados poliidroxilados (**22**, **23** e **24**). Sintetizamos também o composto de partida 2-mercaptobenzimidazol **2**, 2 intermediários iodeto (**7** e **11**), além de seus precursores diacetal (**6** e **8**) e 3 derivados sulfonatos (**10**, **13** e **14**).

Os derivados **15** a **20** foram obtidos em rendimentos moderados a satisfatórios à partir do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol. Nas reações de obtenção de tais compostos foram usados excessos dos respectivos compostos de partida **1** e **2**, com o intuito de se minimizar a formação de subprodutos.

Como foi proposto, o derivado peracetilado **21** foi obtido em um melhor rendimento (92%) que os outros respectivos derivados do 2-mercaptobenzotiazol.

Observou-se, durante o decorrer deste trabalho, que os derivados do 2-mercaptobenzotiazol foram obtidos em melhores rendimentos que aqueles derivados do 2-mercaptobenzimidazol. Acredita-se que tais resultados sejam devido a possibilidade de formação de subprodutos como por exemplo o produto de abstração do hidrogênio imidazólico pela base, no 2-mercaptobenzimidazol.

Os compostos poliidroxilados **22** a **24** foram obtidos em rendimentos satisfatórios (79-81%) através da hidrólise ácida dos grupos isopropilideno, utilizando-se duas metodologias diferentes: na primeira o composto protegido foi tratado com trifluoreto de boro eterato de metila (BF₃.OMe₂) e ácido clorídrico e na segunda com solução de ácido trifluoracético em água (9:1 v/v). A segunda metodologia mostrou-se mais eficiente, pois

permitiu a desproteção dos grupos isopropilideno sem que ocorresse o rompimento indesejado da ligação carbono-enxofre.

Os compostos obtidos neste trabalho foram caracterizados através de técnicas espectroscópicas adequadas e tiveram seus poderes rotatórios avaliados.

Os compostos **15**, **17** e **20** foram submetidos à avaliação das propriedades antibacterianas e antifúngicas na Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF. Os resultados obtidos mostraram que apenas o derivado do 2-mercaptobenzimidazol (composto **20**) possui atividade antibacteriana, sendo um agente bacteriostático contra *Staphylococcus aureus* com valor de MIC igual a 145 µg/ mL.

Os compostos **15** e **17** também foram testados quanto a sua atividade antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* “*in vitro*” usando-se a metodologia Alamar Blue no Laboratório de Bacteriologia (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz FioCruz-RJ. Todavia, tais compostos não se mostraram ativos contra tal microorganismo.

1.4. Parte II – Síntese de análogos de isoniazida condensados com carboidratos e de análogos da etionamida condensados com amino álcoois.

Conforme visto na seção 1.2 desse capítulo, a tuberculose vem se tornando um grave problema de saúde pública em todo o mundo. Tendo em vista o nosso interesse no desenvolvimento de novos compostos antituberculosos, nessa parte do trabalho será descrita a síntese de análogos de isoniazida condensados com carboidratos e de análogos da etionamida condensados com amino álcoois. Portanto, inicialmente será feito um breve relato sobre a importância da isoniazida e da etionamida no tratamento dessa doença.

1.4.1. A Isoniazida

A observação de que a nicotinamida possuía atividade contra o *M. tuberculosis* estimulou a busca por novas moléculas que possuíssem estruturas correlatas. Desta forma, por volta de 1950, esses estudos levaram a descoberta da atividade antibacteriana da isoniazida e a identificação da atividade de outras moléculas com estruturas semelhantes a da nicotinamida, como a pirazinamida e a etionamida¹⁰ (Figura 1.78).

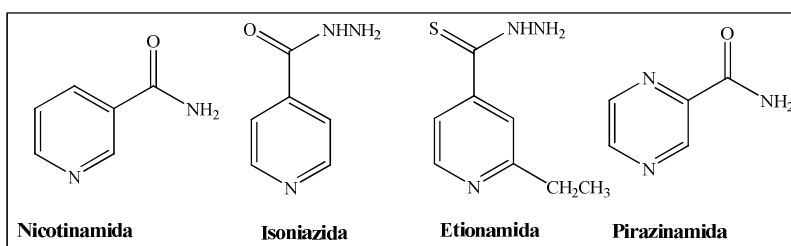


Figura 1.78. Estrutura da nicotinamida e de compostos correlatos.⁹

A isoniazida ou hidrazida do ácido isonicotínico (INH) é o fármaco sintético mais efetivo usado no tratamento da tuberculose, sendo reconhecido como um potente agente contra o *M. tuberculosis*. A INH é um dos principais quimioterápicos de primeira escolha no tratamento desta doença, como já foi citado anteriormente na seção 1.2, possuindo um valor de concentração mínima inibitória (MIC) bastante baixo (0,1-0,7 μ M) e uma alta especificidade contra o *Mycobacterium tuberculosis*.⁴⁷

⁴⁷ Scior, T.; Garcés-Eisele, S. J.; *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2205.

Após mais de 50 anos do uso da isoniazida como um agente antituberculoso de primeira escolha, a eficácia deste fármaco no tratamento da tuberculose vem diminuindo consideravelmente, principalmente pelo surgimento de cepas resistentes à droga. Tal fato tem despertado grande preocupação dos órgãos envolvidos no controle da tuberculose devido à possibilidade desta doença vir a se tornar novamente uma epidemia mundial.

O mecanismo de ação da isoniazida ainda não está completamente elucidado, várias propostas acerca deste mecanismo têm sido feitas e, apesar dos resultados não serem conclusivos, acredita-se que a isoniazida atue inibindo a enzima enoil-ACP-redutase (*InhA*). Esta enzima está envolvida na síntese dos ácidos micólicos que compõem a parede celular do *M. tuberculosis*. Acredita-se que o mau funcionamento da *InhA* pode provocar alterações na estrutura constitucional dos ácidos micólicos pela diminuição do seu caráter hidrofóbico. Essa diminuição leva a uma perda de integridade da parede celular no *M. tuberculosis* que tem como consequência a ruptura celular ou o aumento da susceptibilidade desta aos agentes antibacterianos.^{9,10,48}

Atualmente, a parede celular do *M. tuberculosis*, bem como as enzimas envolvidas na sua construção, são os principais alvos dos fármacos contra a tuberculose, como já foi mencionado anteriormente, sendo que a isoniazida pode ainda interferir na biossíntese de muitas outras macromoléculas do *M. tuberculosis*.

Vários estudos presentes na literatura mostram que a isoniazida é uma pró-droga que precisa ser ativada (formação de ânion ou radical acila) no meio intracelular antes de exercer seu efeito citotóxico. Esta ativação é realizada por uma outra enzima chamada catalase-peroxidase (Kat-G).^{10,49} Estudos mostram que a formação do aduto entre o NAD e a isoniazida (acilpiridina-NAD, Figura 1.79), no sítio de reconhecimento da *InhA*, é responsável pela ação antibacteriana da INH contra o *M. tuberculosis*.⁵⁰

⁴⁸ Mohamed, S.; Ibrahim, P.; Sadikun, A.; *Tuberculosis* **2004**, *84*, 56.

⁴⁹ a) Lei, B.; Wei, C. J.; Tu, S. C. J.; *Biol. Chem.* **2000**, *275*, 2520. b) Ghiladi, R. A.; Medzihradzky, K. F.; Rusnak, F. M.; Ortiz de Montellano, P. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13428.

⁵⁰ a) Janin, Y. L.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2479. b) Pasqualoto, K. F. M.; Ferreira, E. I.; Santos-Filho, O. A.; Hopfinger, A. J.; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3755.

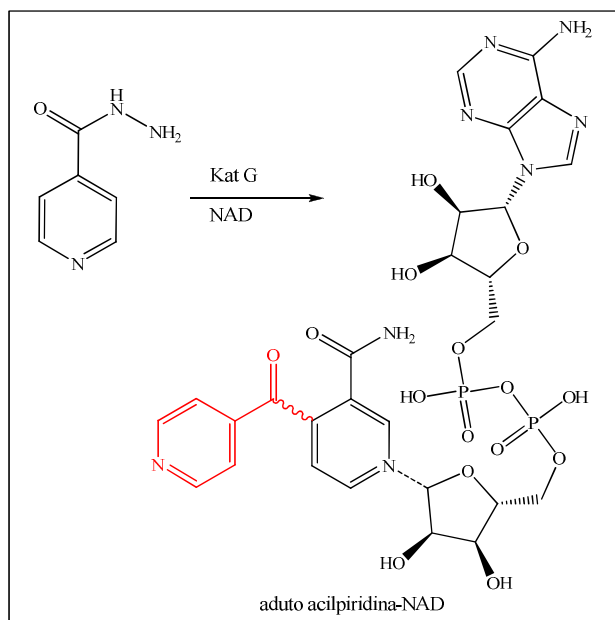


Figura 1.79. Aduto entre a isoniazida-NADH.

Recentemente, estudos mostraram que a resistência à INH no *M. tuberculosis* esta diretamente ligada à alteração na atividade da catalase-peroxidase Kat-G.^{10,50} A resistência a este fármaco sempre é acompanhada por diminuição da atividade desta enzima.

Em 1993, Zhang e colaboradores⁵¹ demonstraram que a eficácia da isoniazida poderia ser restaurada pela introdução de genes que restabeleceriam a integridade genética da catalase-peroxidase (Kat-G) em cepas de *M. tuberculosis* resistentes a INH. A elucidação do mecanismo de atuação da Kat-G na ativação da isoniazida tem sido alvo de muitas discussões, principalmente no que diz respeito à presença de íons de metais, em especial íons Mg^{+2} , que estariam envolvidos neste processo. A compreensão do papel desses íons metálicos consiste atualmente em um dos desafios acerca do metabolismo da INH, sendo, portanto, alvo de muitos trabalhos discutidos na literatura.^{9,10}

1.4.1.1. Objetivos

Nos últimos anos, cerca de 3000 compostos análogos da isoniazida foram sintetizados.^{50a} Destes, cerca de 2000 são hidrazonas (ex: furonazida, opioniazida e sulfoniazida, Figura 1.80) que possuem atividade contra o *M. tuberculosis*. Neste contexto, a busca racional por novas moléculas derivadas da isoniazida que possam ter um espectro de

⁵¹ Zhang, Y.; Garbe, T.; Young, D.; *Mol. Microbiol.* **1993**, 8, 521.

atividade semelhante a esta, sem provocar efeitos colaterais indesejáveis, passa a ser de grande importância na área de pesquisa em química medicinal.

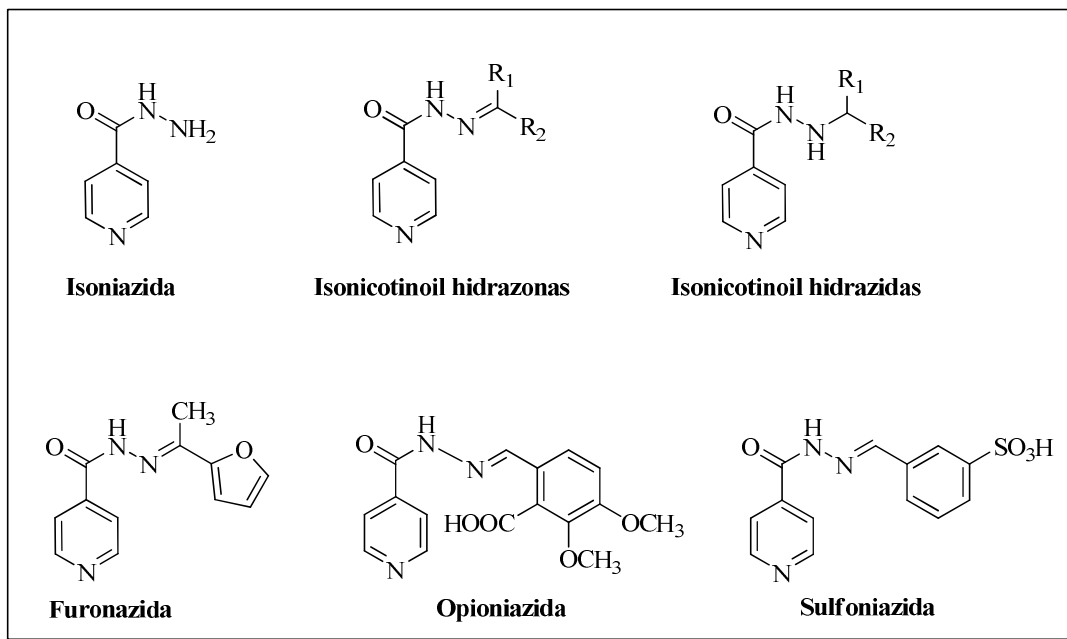
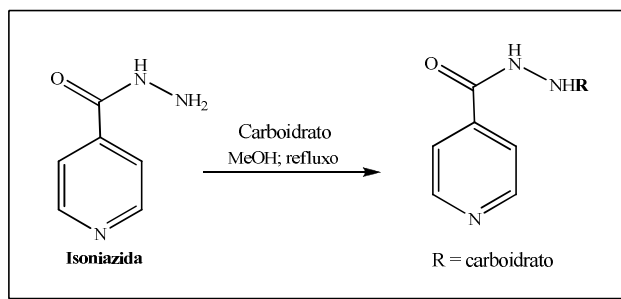


Figura 1.80. Estrutura dos derivados da isoniazida.

Considerando a presença fundamental de carboidratos, como peptidoglicanas e arabinogalactanas, na constituição da parede celular do *Mycobacterium tuberculosis* e a reação entre a INH e aldeídos (glicose e lactose) em formulações farmacêuticas. Nesta segunda parte do trabalho, o nosso objetivo foi a preparação e a avaliação biológica de análogos da isoniazida condensados com carboidratos. O uso de carboidratos como *N*-substituintes da isoniazida pode ser justificado pela obtenção de derivados na forma de pró-drogas (hidrazida ou hidrazona) que seriam clivados no meio biológico para fornecer a espécie bioativa da isoniazida.

1.4.1.2. Plano de síntese

Para a síntese dos derivados da isoniazida **26** a **38** foi planejada a condensação direta dos carboidratos D-glicose, D-galactose, D-lactose, D-manose, *N*-acetil-D-glicosamina, *N*-acetil-D-manosamina, D-arabinose, L-ribose, L-ramnose, L-fucose, L-xilose e L-arabinose com a isoniazida (Esquema 1.24). Desta forma, foi proposta a utilização de carboidratos com diferentes tipos estruturais: piranoses, furanoses e aminoaçúcares, pertencentes às séries D e L, além de um dissacarídeo, a fim de se avaliar a importância da estrutura do carboidrato na ação antituberculosa dos compostos.



Esquema 1.24. Rota sintética dos derivados da isoniazida condensados com carboidratos.

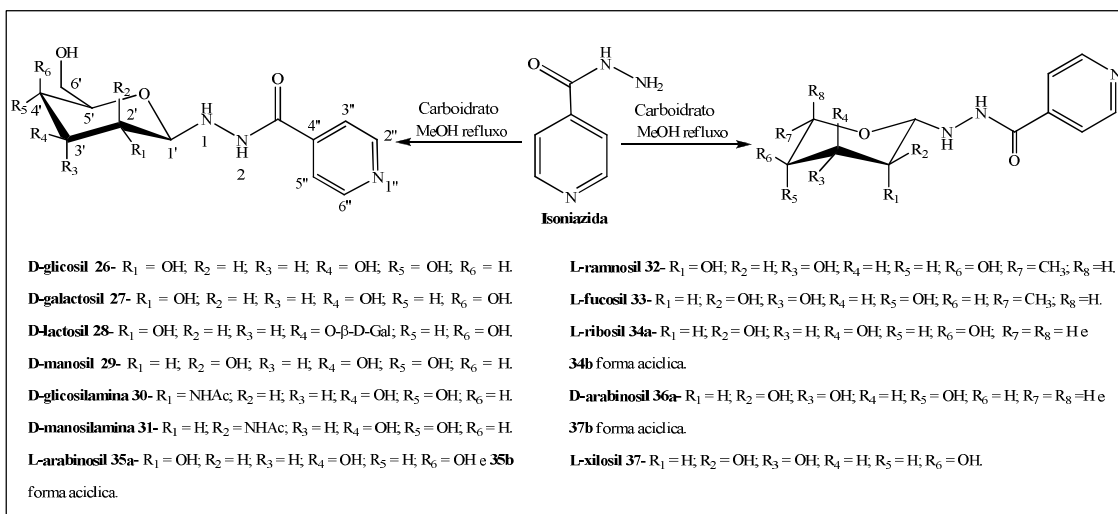
1.4.1.3. Resultados e discussões

A síntese dos compostos **26-38** foi realizada a partir da reação da isoniazida com os respectivos carboidratos em metanol à 60° C por 24h.⁵² Os derivados **26-28** já haviam sido sintetizados anteriormente por Fox e colaboradores em 1953.^{52a} Contudo, os dados de RMN e de atividade biológica de tais compostos não foram reportados pelos autores.

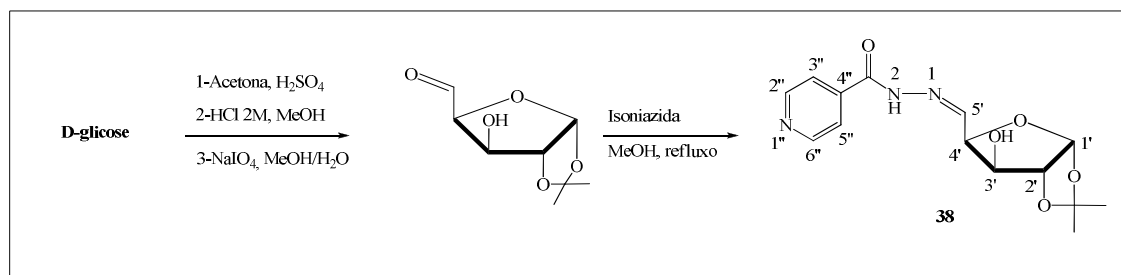
Para os análogos **26, 27, 28, 32, 33, 35** e **36** os sólidos obtidos foram filtrados diretamente do meio reacional sendo, em seguida, recristalizados com uma mistura de metanol/água. Os compostos **29, 30, 31, 34** e **37** foram obtidos a partir da evaporação do meio reacional seguido da purificação dos resíduos por cromatografia, utilizando-se como eluente uma mistura de acetato de etila/metanol (Esquema 1.25). Os derivados **26-38** foram obtidos entre 20 à 75% de rendimento.

A hidrazona **38** foi preparada em 4 etapas (Esquema 1.26) sendo obtida após recristalização (acetato de etila/metanol) em um rendimento global de 20% a partir da D-glicose.

⁵² a) Fox, H. H.; *J. Org. Chem.* **1953**, *18*, 990 b) Cardoso, S. H.; De Assis, J. V.; Lourenço, M. C. S.; Vicente, F. R. C.; De Souza, M. V. N.; De Almeida, M. V., *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, submetido.



Esquema 1.25. Preparação dos compostos **26-37**.



Esquema 1.26. Preparação da hidrazona **38** a partir da D-glicose.

Todos os compostos foram caracterizados pela análise de seus espectros de IV, RMN de ^1H e de ^{13}C . Em alguns casos a análise dos dados espectroscópicos mostrou a existência de um composto majoritário com a presença de 1 à 3 picos adicionais no RMN (exceto para **38**). Esses sinais adicionais foram atribuídos à forma acíclica e ao anômero correspondente. A separação desses isômeros não foi possível devido a mutarotação.

Nos espectros na região do infravermelho destes compostos (Figura 1.81, espectro de IV de **26**) pode-se observar na região de 3500 e 3000 cm^{-1} uma banda larga e intensa de absorção característica de compostos poliidroxilados. Na região de 1660 cm^{-1} pode-se verificar uma absorção intensa que foi atribuída ao estiramento das ligações $\text{C}=\text{O}$ do grupo hidrazido. Esta absorção foi particularmente interessante, pois evidenciou o caráter de dupla ligação apresentado pelo nitrogênio hidrazido ligado ao carbono hibridizado sp^2 do grupo acila, assim como nas amidas. Outros sinais que puderam ser observados entre 1100 e 1000 cm^{-1} são referentes aos estiramentos assimétricos $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ e $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ da porção carboidrato destas moléculas.

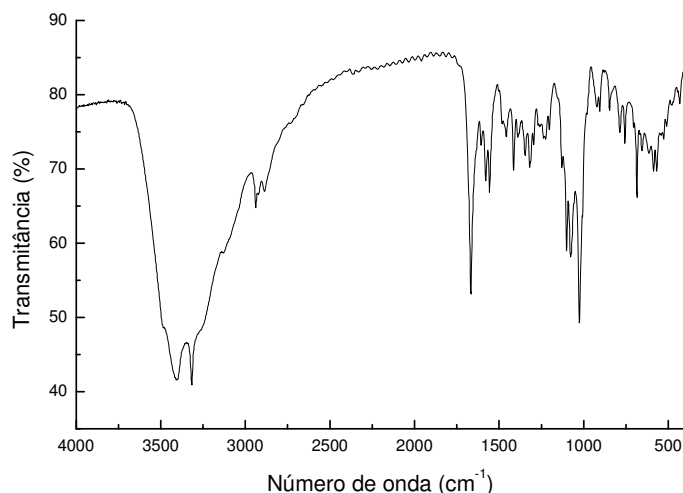


Figura 1.81. Espectro de Infravermelho de **26**.

Para a análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos derivados da isoniazida condensados com carboidratos foi adotado o sistema de numeração descrito nos Esquemas 1.25 e 1.26. A análise dos espectros de RMN de hidrogênio dos derivados **26** à **37** mostrou a presença dos sinais correspondentes à porção carboidrato entre δ 3,20 e 4,63 e da porção aromática entre δ 7,65 e 8,65. Foi possível observar que os hidrogênios ligados à posição anomérica H-1' encontram-se entre δ 4,00-4,63. Os dados espectrais indicam a presença de conformações diferentes ($^4\text{C}_1$ e $^1\text{C}_4$)⁵³ ou, como no caso da arabinose, foi possível observar também a forma acíclica. As conformações foram atribuídas baseadas na constante J de acoplamento entre os hidrogênios H-1' e H-2' do anel piranosídico e no deslocamento químico de H-1', no caso dos compostos cíclicos. Para as formas cíclicas, foi observado que o grupo 2-isonicotinoilhidrazino orienta-se preferencialmente na posição equatorial (β) e que a forma piranosídica é predominante. As D-hexoses tendem a adotar a forma piranosídica de conformação $^4\text{C}_1$, como por exemplo no derivado **27** (Figura 1.82) onde somente a forma β -piranosídica foi observada. A conformação $^4\text{C}_1$ pode ser verificada através do cálculo da constante de acoplamento $J_{1',2'}$ que é de 8,8Hz. O valor de $J_{1',2'}$ indica que os hidrogênios H-1' e H-2' em **27** encontram-se em posição transdial axial somente possível com a adoção da conformação $^4\text{C}_1$.

Nas desoxi-hexoses da série L, derivados **32** e **33**, observamos que a conformação $^1\text{C}_4$ foi predominante. O valor de $J_{1',2'} = 9,0\text{Hz}$ em **33** (Figura 1.83) indica que H-1' e H-2', assim

⁵³ a) Bendiak, B.; *Carbohydr. Res.* **1997**, 304, 85 b) Bailey, K.; Butterfield, A.; *Can. J. Chem.* **1981**, 59, 641.

como H-2' e H-3', são transdiaxiais ($J_{2,3'} = 9,6\text{Hz}$) o que evidencia o posicionamento em equatorial do grupo 2-isonicotinoilhidrazino. O posicionamento dos hidrogênios H-1', H-2' e H-3' em axial define a conformação 1C_4 em **33**.

Na série das pentoses foi possível verificar que os derivados da L-ribose **34** e L-xilose **37** adotaram preferencialmente a forma α -piranosídica com conformação 1C_4 . O composto **36**, análogo da D-arabinose, foi obtido como uma mistura de anômeros α e β , além da forma acíclica. Para esta mistura foi observado que o isômero majoritário adotou preferencialmente a forma α -piranosídica (conformação 1C_4), com a orientação em equatorial do grupo 2-isonicotinoilhidrazino e das hidroxilas OH-2 e OH-3. A partir do J entre H-1' e H-2' do isômero majoritário derivado da L-arabinose **35** foi possível concluir que esse composto se encontra na forma β -piranosídica de conformação 4C_1 .

A análise do RMN de ${}^1\text{H}$ da hidrazona **38** (Figura 1.84) mostrou a presença de dois simpletos (6H) entre δ 1,26 e 1,58 correspondentes aos dois CH_3 isopropilidênicos, além de um multiplete entre δ 4,52-4,96 correspondente a H-2', H-3' e H-4'. O duplete em δ 6,17 corresponde a H-1' ($J_{1,2'} = 3,6\text{ Hz}$). Em δ 7,78 puderam ser observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H-3'' e H-5'', bem como o sinal do hidrogênio H-5' da hidrazona e, em δ 8,72 foram observados os sinais referentes aos hidrogênios H-2'' e H-6''.

Os espectros de RMN de ${}^{13}\text{C}$ dos compostos **26** à **37** apresentam os sinais correspondentes aos carbonos da porção carboidrato entre δ 60,0 à 90,0, sendo que o sinal correspondente ao carbono anomérico C-1' pode ser observado entre δ 85,0-90,0. O deslocamento do sinal correspondente a C-1' para região mais próxima ao TMS confirma a substituição da hidroxila anomérica do carboidrato pelo grupo 2-isonicotinoilhidrazino, uma vez que o sinal de C-1' no material de partida encontra-se entre δ 100,0-105,0. Os sinais correspondentes aos carbonos do anel piridínico da isoniazida (C-3''=C-5'', C-4'' e C-2''=C-6'') encontram-se acerca de δ 122,0, 140,0 e 150,0 respectivamente, bem como o sinal referente a carbonila do grupo acilhidrazino, que aparece na região de δ 167,0 ppm.

A análise detalhada do espectro de RMN de ${}^{13}\text{C}$ de **32** (Figura 1.85) mostra a presença de um sinal em δ 16,9 referente ao grupo metila ligado à C-5'. Os sinais dos carbonos C-2', C-3', C-4' e C-5', foram observados entre δ 66,6-73,5, assim como o carbono ligado à posição anomérica C-1' em δ 87,4. Os sinais dos carbonos da porção aromáticos foram observados em δ 121,8-121,9 (C-3'', C-5''), δ 140,8 (C-4'') e δ 149,0 (C-2'', C-6''). O sinal referente a carbonila foi observado em δ 167,4 (C=O).

No espectro de RMN de ^{13}C da hidrazona **38** verificou-se a presença dos sinais referentes aos grupos metila entre δ 25,0 e 25,6. Os sinais correspondentes aos carbonos do anel furanosídico C-3', C-2', C-4' e C-1' foram observados em δ 75,6; 80,0; 84,6 e 104,8; respectivamente, enquanto que os sinais referentes aos carbonos aromáticos foram observados entre δ 122,0-149,6, assim como aquele correspondente ao carbono C-5' (CH=NH) em δ 150,0.

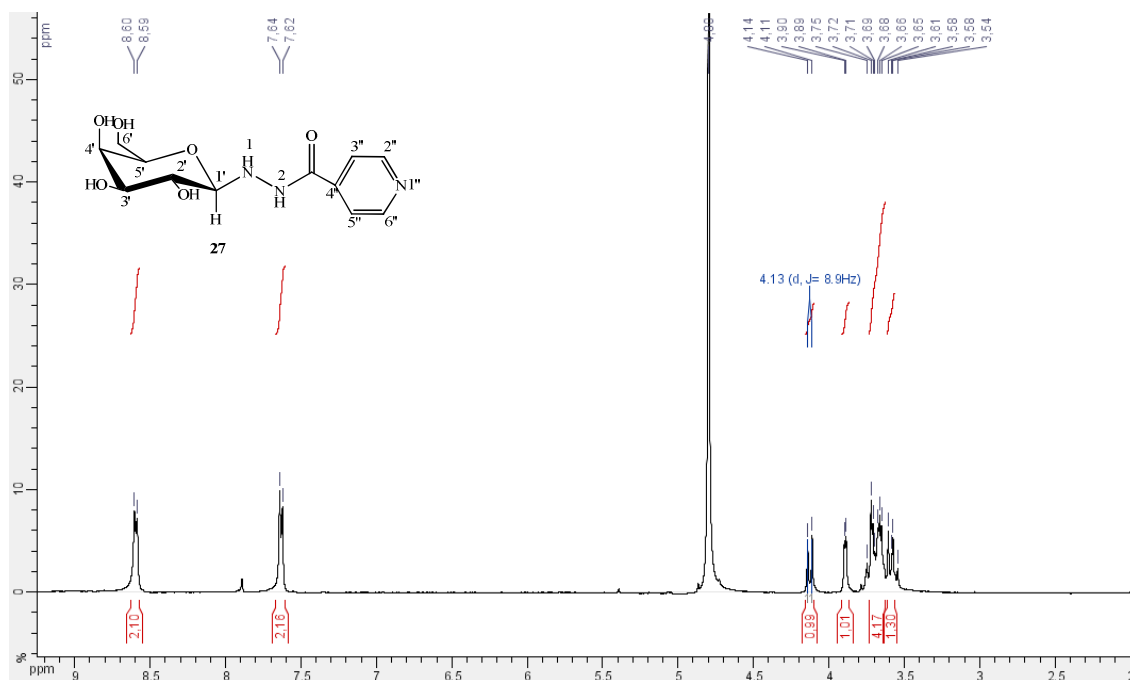


Figura 1.82. Espectro de RMN de ^1H de **27** em D_2O (300MHz).

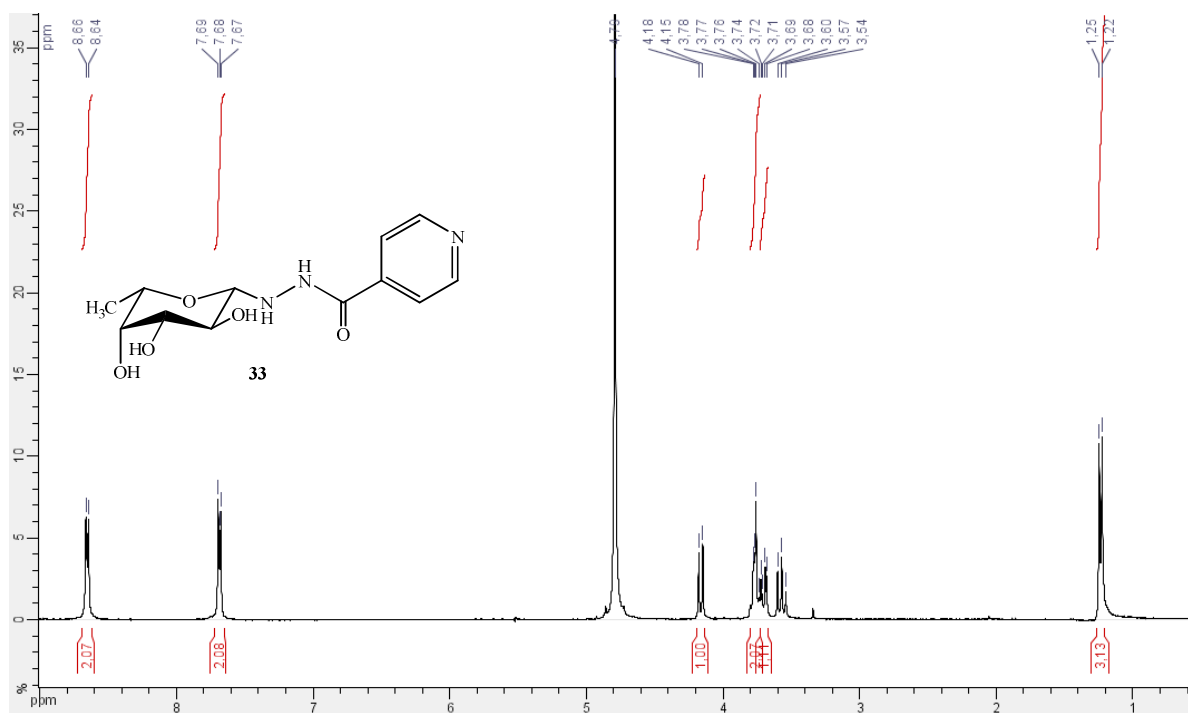


Figura 1.83. Espectro de RMN de ^1H de **33** em D_2O (300MHz).

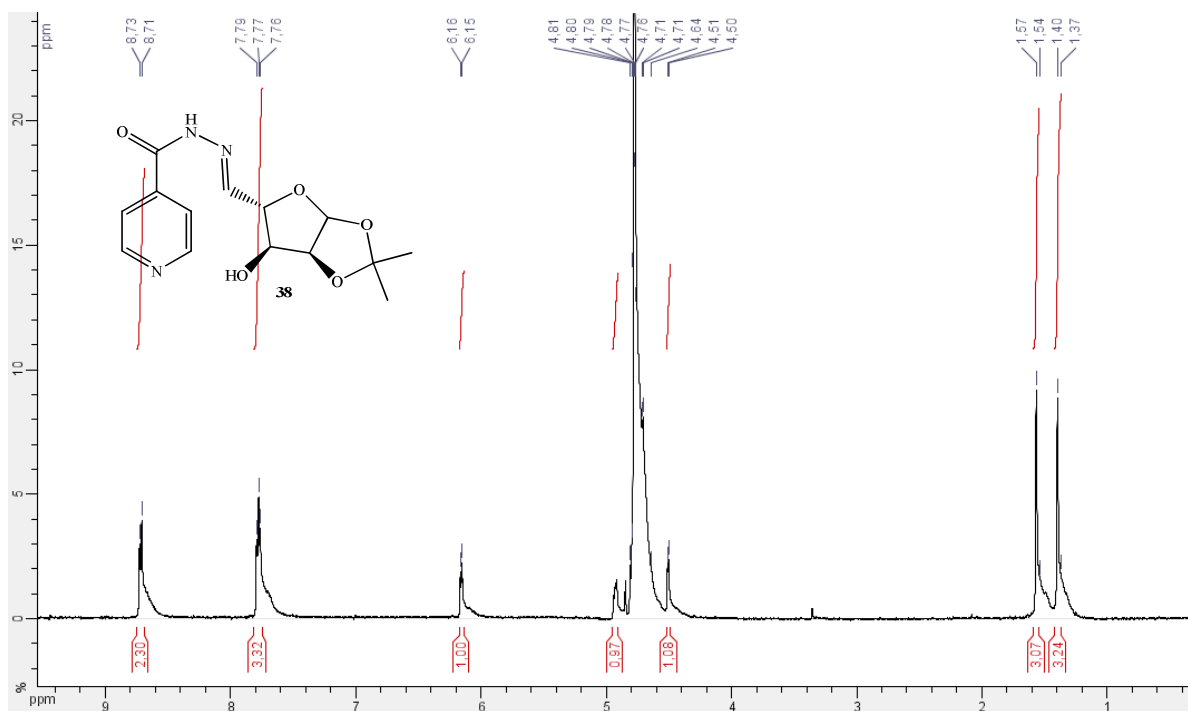


Figura 1.84. Espectro de RMN de ^1H de **38** em D_2O (300MHz).

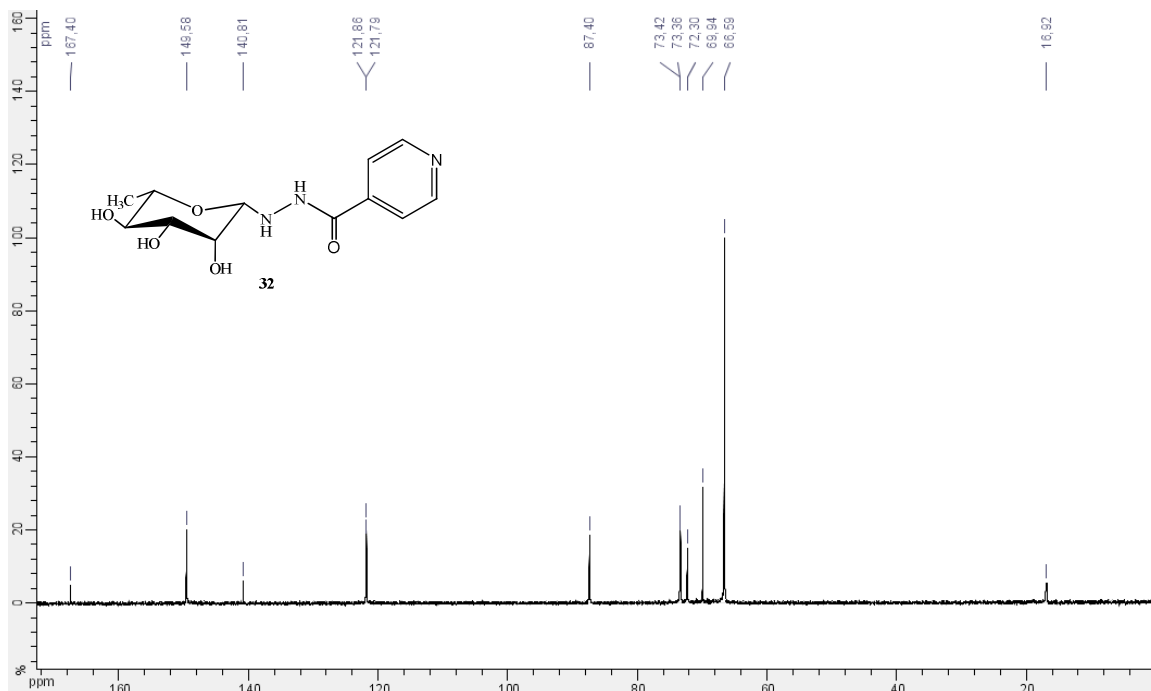


Figura 1.85. Espectro de RMN de ^{13}C de **32** em D_2O (75MHz).

1.4.1.4. Avaliação biológica

As atividades antimicrobianas dos compostos **26-38** foram avaliadas “*in vitro*” contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATTC 27294, utilizando-se o método colorimétrico Alamar Blue (MABA) para a determinação da concentração mínima inibitória (MIC₉₀) (Tabela 1.6) no IPEC-FioCruz em colaboração com a pesquisadora Maria Cristina S. Lourenço. A utilização do MABA nos pareceu conveniente pois esse método é não tóxico, termicamente estável e possui uma boa correlação com o método radiométrico BACTEC. O MIC pôde ser definido como a menor concentração da droga capaz de inibir 90% do crescimento bacteriano, o que impede a mudança de coloração de azul para rosa.

Os resultados mostraram que vários compostos exibiram significativa atividade contra o *M. tuberculosis*. O melhor resultado foi obtido com a mistura de tautômeros **35a** e **35b** que exibiu um MIC₉₀ de 0,31µg/mL (Tabela 1.6). Os compostos **26**, **27**, **28**, **29**, **32**, **33**, **37** e **38** mostraram atividade entre 0,62 e 3,12 µg/mL utilizando-se os fármacos de primeira escolha isoniazida (INH) e rifampicina (RIP) como referência.

Tabela 1.6. Dados da atividade antibacteriana contra *M. tuberculosis* H₃₇Rv dos compostos 26 a 38.

Composto	Carboidrato	Rdt (%)	MIC ₉₀ (µg/mL)
26	D-Glicose	73	1,25
27	D-Galactose	75	0,62
28	D-Lactose	63	2,5
29	D-Manose	65	3,12
30	<i>N</i> -Acetil-D-glicosamina	30	>100
31	<i>N</i> -Acetil-D-manosamina	22	>100
32	L-Ramnose	51	0,62
33	L-Fucose	50	0,62
34a + 34b	L-Ribose	50	>100
35a + 35b	L-Arabinose	36	0,31
36a + 36b	D-Arabinose	67	>100
37	L-Xilose	63	3,12
38	D-Xilose	20	0,62
INH	Isoniazida	-	0,2
RIP	Rifampicina	-	1,00

A partir do acoplamento da isoniazida com carboidratos, substâncias não tóxicas, espera-se que os derivados **26-38** sintetizados aqui não sejam tóxicos para a célula hospedeira nas concentrações efetivas de inibição do crescimento do *M. tuberculosis*.

Em relação aos resultados dos testes biológicos foi observado que os compostos **26, 27, 28, 29, 32, 33, 35a + 35b, 37 e 38** exibiram significativa atividade contra o *M. tuberculosis* (MIC₉₀ = 0,31-3,12 µg/mL) quando comparados com os fármacos de primeira escolha isoniazida (INH, MIC₉₀ = 0,2 µg/mL) e rifampicina (RIP, MIC₉₀ = 1,0 µg/mL) e a outros derivados nitroaromáticos da isoniazida⁵⁴ (Figura 1.86). Esses resultados também sugerem que os compostos sintetizados devem inibir seletivamente o crescimento do *M. tuberculosis* considerando que os mesmos não são substâncias tóxicas.

⁵⁴ Lourenço, M. C.; De Souza, M.V. N.; Pinheiro, A. C.; Ferreira, M. L.; Gonçalves, R. S. B.; Nogueira, T. C. M.; Peralta, M.A.; *Arkivoc* **2007**, xv, 181.

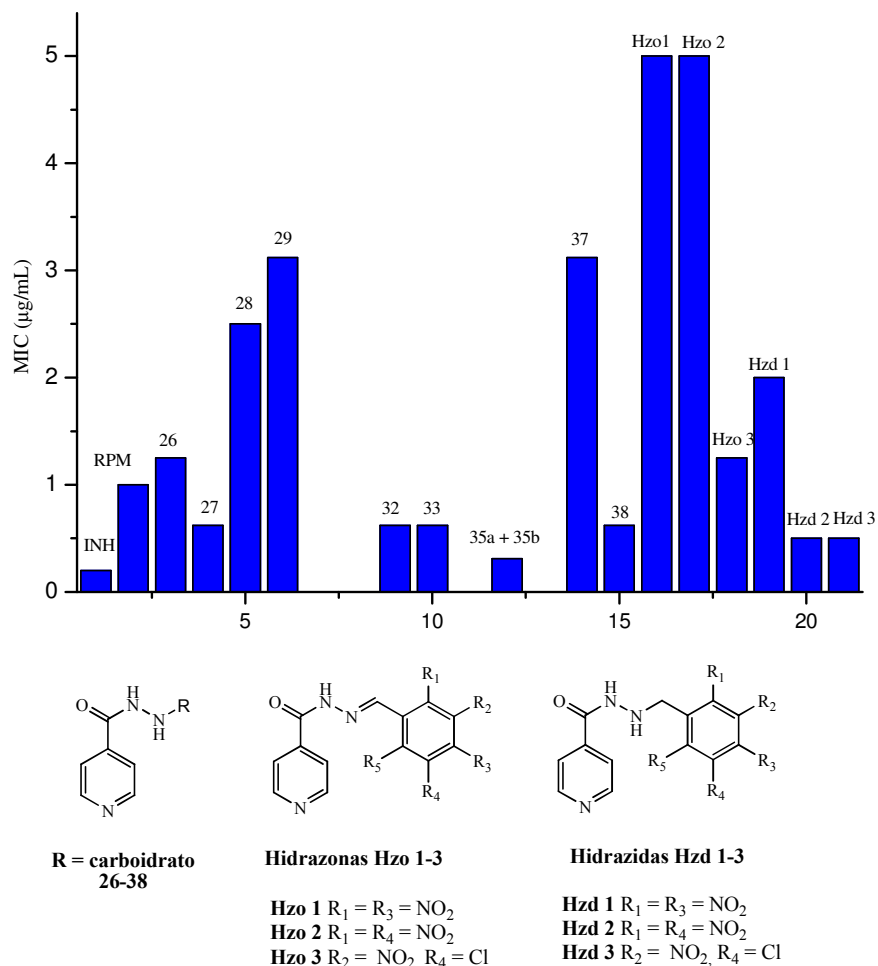


Figura 1.86. Comparação entre os dados de atividade biológica dos derivados da isoniazida.

Considerando os estudos envolvendo estrutura, metabolismo e atividade *in vitro* contra o *M. tuberculosis* dos derivados da isoniazida, em geral, esses compostos podem ser considerados como pró-drogas pois quando hidrolisados são capazes de gerar o ácido isonicotínico que é a forma bioativa da isoniazida. Portanto, os resultados obtidos indicam que os derivados da INH, sintetizados nesta parte do trabalho, possuem uma faixa de concentração inibitória mínima promissora ($MIC_{90} \leq 6,0 \mu\text{g/mL}$) para a continuação de estudos objetivando a obtenção de novos fármacos no combate à tuberculose.

1.4.2. A Etionamida

A etionamida (ETA, Figura 1.87) é um análogo da isoniazida descoberto em 1966, sendo utilizada atualmente como fármaco de segunda-escolha no tratamento de pacientes com

TB-MDR. Assim como a INH, a ETA é uma pró-droga que precisa ser convertida à sua forma ativa por enzimas do *M. tuberculosis* para exercer seu efeito citotóxico.⁵⁵

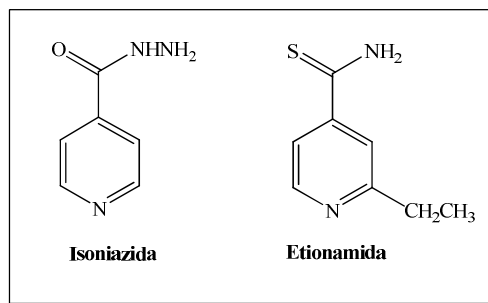


Figura 1.87. Analogia entre as estruturas da isoniazida e da etionamida.

Nos últimos 6 anos foi confirmado que a ativação da ETA é feita por uma flavoproteína da classe das monooxigenases denominada EthA.⁵⁵⁻⁵⁷ Contudo, o mecanismo de ação deste fármaco ainda não foi elucidado. Estudos recentes, realizados por DeBarber⁵⁶ e Baulard,⁵⁷ demonstraram que o gene *ethA* (Rv3854c), extraído do *M. tuberculosis*, é responsável por codificar a enzima EthA que atua na ativação da etionamida. Estudos clínicos mostraram que a resistência à etionamida está associada ao mal funcionamento da EthA, provocados por mutações no gene *ethA*. A transcrição do correspondente gene *ethA* é controlada por um repressor transcripcional, o Rv3855. Portanto, o Rv3855 é indiretamente responsável pela diminuição da ativação da ETA pela EthA, o que contribui para o aumento da resistência a esse fármaco no *M. tuberculosis*.

É sabido que ambas, ETA e INH, atuam interrompendo a biossíntese da parede celular bacteriana e, portanto, possuem um alvo em comum a enoil-ACP-redutase (*inhA*). Apesar de possuírem a *inhA* como alvo em comum, a INH e a ETA são ativadas por mecanismos diferentes, pois estudos mostram que não é observada resistência-cruzada entre esses dois antibióticos.⁵⁸

⁵⁵ Vannelli, T. A.; Dykman, A.; Ortiz de Montellano, P. R.; *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 12824.

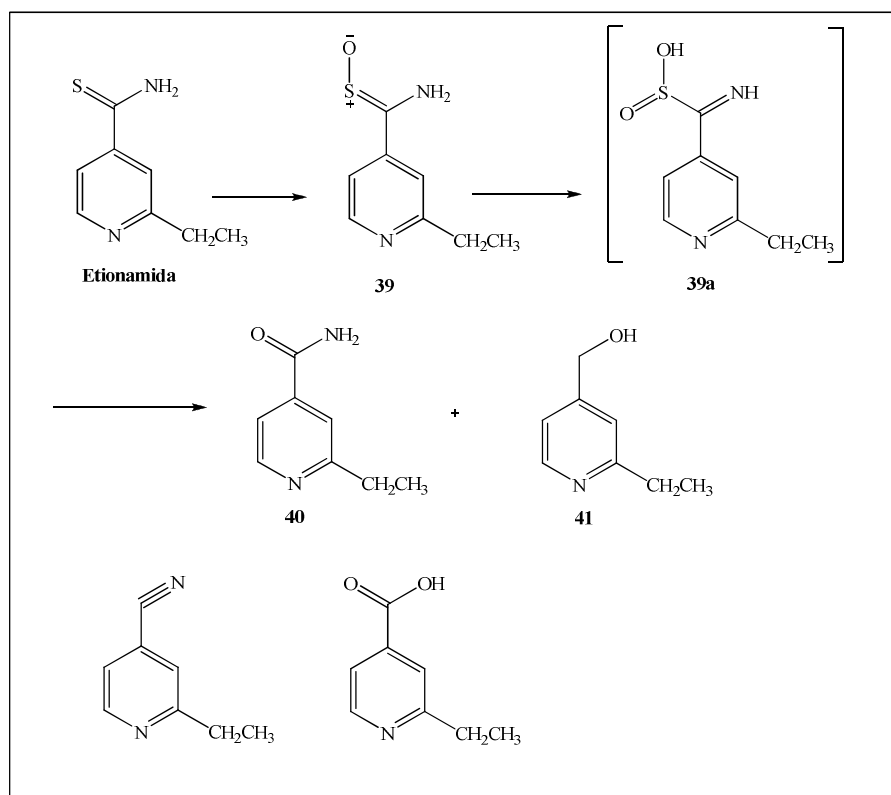
⁵⁶ DeBarber, A. E.; Mdluli, K.; Bosman, M.; Bekker, L-G.; Barry, C. E.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, 97, 9677.

⁵⁷ Baulard, A. R.; Betts, J. C.; Engohang-Ndong, J.; Quan, S.; McAdams, R. A.; Brennan, P. J.; Loch, C.; Besra, G. S.; *J. Biol. Chem.* **2000**, 36, 28326.

⁵⁸ Frenois, F.; Baulard, A. R.; Villereta, V.; *Tuberculosis* **2006**, 86, 110.

Proposta de mecanismo de ação da etionamida

Em 2002, Vanelli e colaboradores⁵⁵ mostraram que a EthA transforma a etionamida em um produto de S-oxidação, a etionamida-S-óxido, ETA-SO **39** (Esquema 1.27). Contudo, o produto **39** não é diretamente responsável pelo efeito citotóxico no *M. tuberculosis*. Segundo os mesmos autores, o ETA-SO sofre ainda sucessivas reações, cujos produtos ainda não foram completamente elucidados, que geram a espécie tóxica e tem como produtos finais a amida **40** e o álcool **41**. No entanto, a amida não possui atividade antituberculosa, o que indica que a espécie tóxica chave deste mecanismo é um composto instável entre o ETA-SO **39** e a 2-etil-4-carboxamido-piridina **40**. Outros produtos como a nitrila e o ácido 2-etil-4-carboxipiridina também já foram isolados.



Esquema 1.27. Possível mecanismo de ação da etionamida

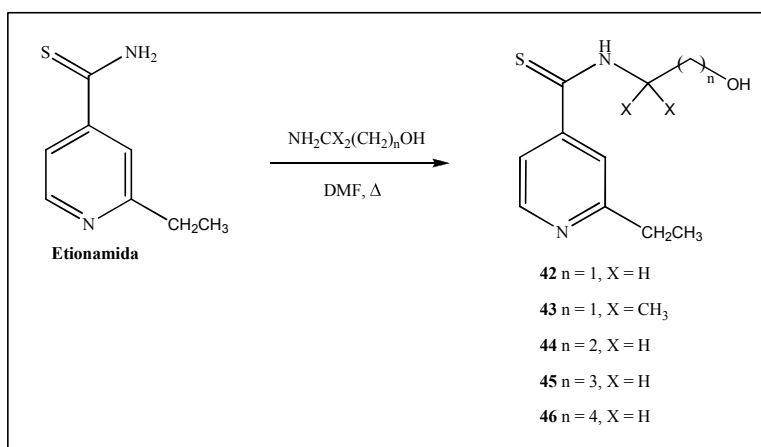
1.4.2.1. Objetivos

Considerando a importância da etionamida no tratamento da TB-MDR, nesta parte do trabalho nosso objetivo é a síntese de análogos da ETA condensados com amino álcoois. A escolha de introduzir a porção amino álcool na estrutura da ETA foi motivada por trabalhos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa que mostraram que derivados de amino álcoois

condensados com carboidratos possuem propriedades antituberculosas.^{59,60} Além disso, o etambutol é um amino álcool utilizado no tratamento da tuberculose.

1.4.2.2. Plano de síntese

Para a preparação dos derivados **42** à **46** foi proposto a condensação direta da etionamida com os amino álcoois 1,2-etanolamina, 2,2-dimetil-etanolamina, 1,3-propanolamina 1,4-butanolamina, 1,5-pentanolamina, utilizando-se como solvente DMF sob aquecimento (Esquema 1.28). Dessa forma poderíamos avaliar a influência do espaçador (grupo alquila entre os átomos de N e O) e de grupos metila próximos ao átomo de nitrogênio na atividade biológica.



Esquema 1.28. Proposta sintética para a obtenção dos derivados da etionamida.

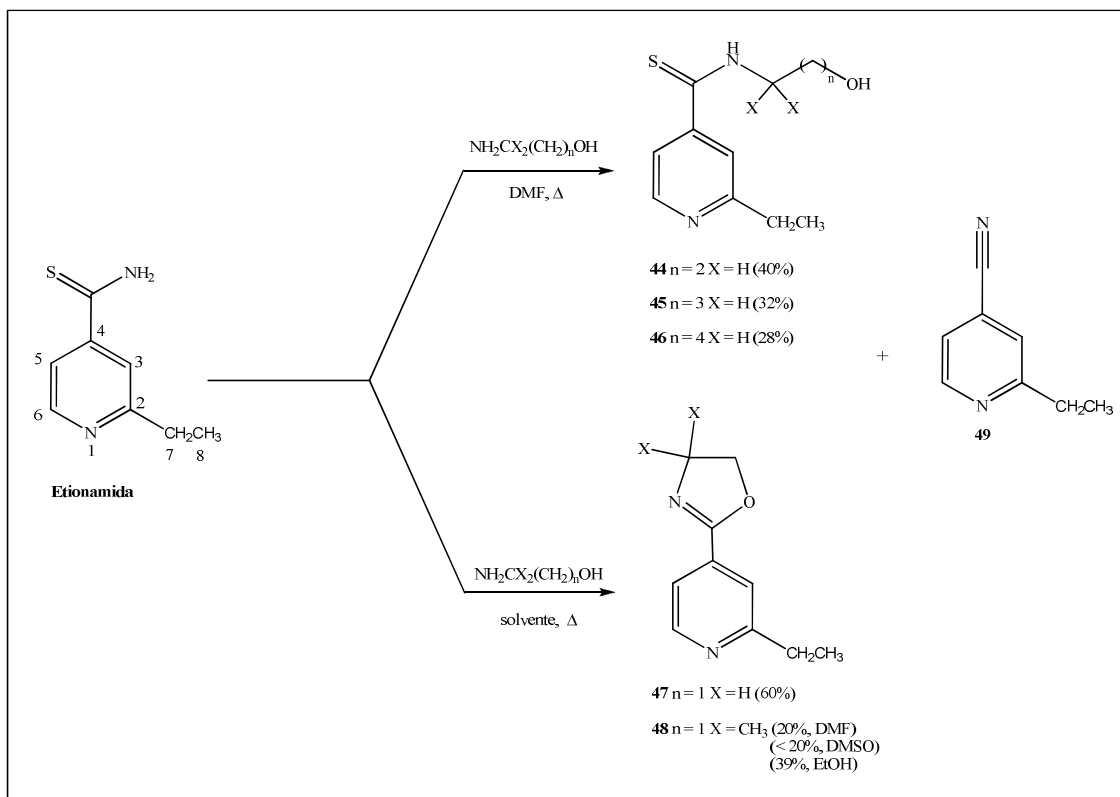
1.4.2.3. Resultados e discussões

As reações foram efetuadas pelo tratamento da ETA com 5 equivalentes dos respectivos amino álcoois em diferentes solventes por 24 h à 80-100 °C (Esquema 1.29).⁶¹

⁵⁹ Taveira, A. F.; Le Hyaric, M.; Reis, E. F. C.; Araújo, D. P.; Ferreira, A. P.; De Souza, M. A.; Alves, L. L.; Lourenço, M. C. S.; Rodrigues, F. C. V.; De Almeida, M. V.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7789.

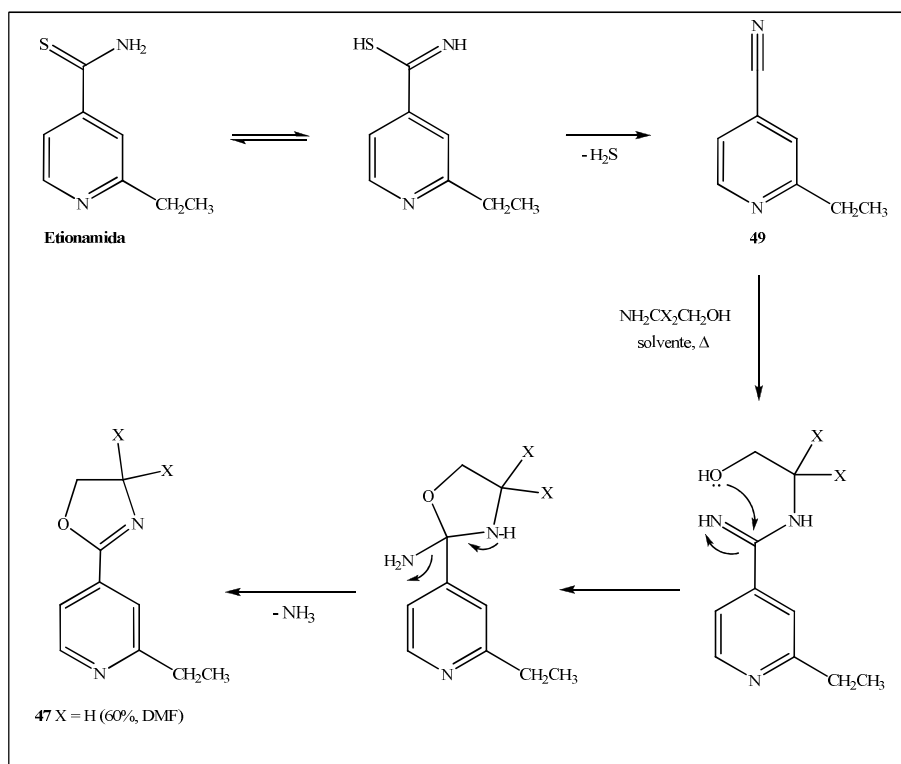
⁶⁰ De Almeida, M. V.; Le Hyaric, M.; Amarante, G. W.; Lourenço, M. C. S.; Brandão, M. L. L.; *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1076.

⁶¹ Cardoso, S. H.; De Almeida, M. V.; De Assis, J. V.; Diniz, R.; Speziali, N. L.; De Souza, M. V. N.; *J. Sulfur Chem.* **2008**, *29*, 1.



Esquema 1.29. Síntese dos derivados da etionamida **44-48**.

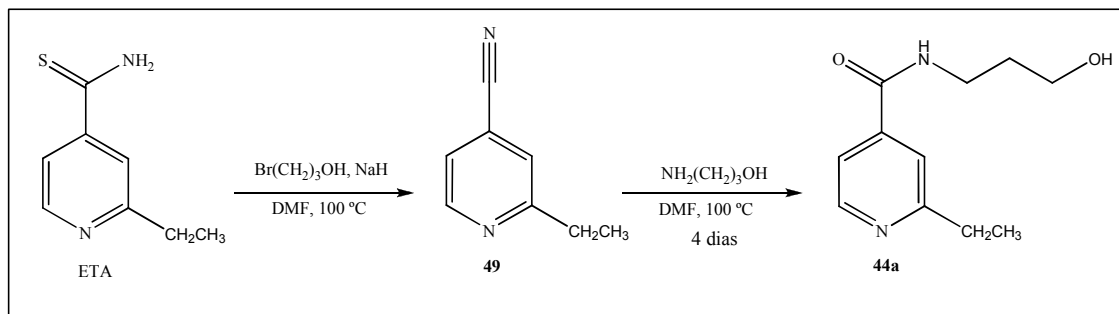
Nas reações envolvendo os amino álcoois 1,2-etanolamina e o 2,2-dimetil-etanolamina não foram isolados os derivados almejados **42** e **43** mas as oxazolinas **47** e **48**, igualmente interessantes. A obtenção, neste caso, do produto de ciclização foi surpreendente, uma vez que esperávamos uma simples reação de 'trans-tioamidação'. A obtenção de **47**, a partir da ETA, sugere que o intermediário nitrila **49** esteja sendo primeiramente formado no meio reacional pela degradação da ETA pois foi observado o odor característico do desprendimento de H_2S nas reações. A nitrila **49** então, estaria reagindo com o amino álcool para fornecer o produto ciclizado **47** com liberação de NH_3 (Esquema 1.30). A obtenção da oxazolina a partir do intermediário nitrila pôde ser evidenciada pelo tratamento de **49** com 1,2-etanolamina em DMF à 100°C que conduziu a formação exclusiva do composto **47**.



Esquema 1.30. Mecanismo proposto para a obtenção das oxazolinas **47**.

Durante a preparação das tioamidas **44-46** (28-40%) foi observado a formação das correspondentes amidas como subprodutos.

Com o intuito de melhorar o rendimento do composto **44** foi proposta a reação de condensação direta entre a ETA e o 3-bromo-1-propanol em presença de hidreto de sódio em DMF à temperatura ambiente (Esquema 1.31). Durante esta tentativa obtivemos apenas a nitrila **49** como produto. O tratamento da nitrila **49** com 3-amino-1-propanol em DMF à 100 °C durante 4 dias (Esquema 1.31), forneceu a amida correspondente **44a**, cuja estrutura foi determinada pelos espectros de RMN. Os resultados obtidos sugerem que a nitrila **49** poderia ser também um intermediário na formação das correspondentes amidas à partir de tioamidas.



Esquema 1.31. Reação entre a ETA e 3-bromo-1-propanol.

A reação entre a ETA e o amino álcool mais impedido 2,2-dimetil-etanolamina em DMF à 100 °C conduziu a formação da nitrila **49** como produto majoritário (50% de rendimento) e a oxazolina **48** em apenas 20% de rendimento. O uso de outros solventes como DMSO e etanol também foi testado com o objetivo de se obter o composto **48** em melhores rendimentos (Esquema 1.29). Foi possível observar que a utilização do DMSO como solvente à 100°C durante 24h não alterou significativamente o rendimento na formação do produto. A utilização de etanol como solvente conduziu ao produto desejado **48** com melhora de rendimento (39%). O moderado rendimento obtido em todos os casos para este composto pode ser explicado pela presença de dois grupos metila geminais no amino álcool que, por impedimento estérico, dificultariam a formação do produto ciclizado em rendimento semelhante ao obtido na formação de **47**.

Nos espectros na região do infravermelho dos compostos **44-48**, (Figura 1.88, espectro e IV de **47**) pode-se observar entre 2900-2800 cm^{-1} os sinais de absorção das ligações C-H característicos da presença de cadeias alquila. Na região de 1650-1550 cm^{-1} foi possível observar as absorções correspondentes ao estiramento das ligações C=N das oxazolininas (**47** e **48**) e do anel piridínico. O estiramento da ligação N-C=S nas tioamidas foi observado em 950 cm^{-1} .

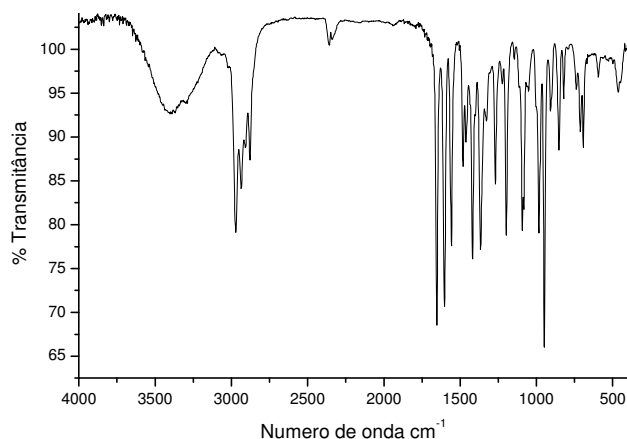


Figura 1.88. Espectro de IV de **47**.

A análise dos espectros de RMN de hidrogênio das oxazolininas **47** e **48** (Figura 1.89, espectro de **47**) mostrou a presença dos sinais correspondentes ao grupo etila ligado ao anel piridínico entre δ 1,24-1,30 (CH_3) e δ 2,78-2,92 (CH_2), assim como os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos (CH_2O , CH_2N) entre δ 3,99 e 4,43. Os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H-5, H-3 e H-6 foram observados em δ 7,51, 7,61 e 8,54, respectivamente.

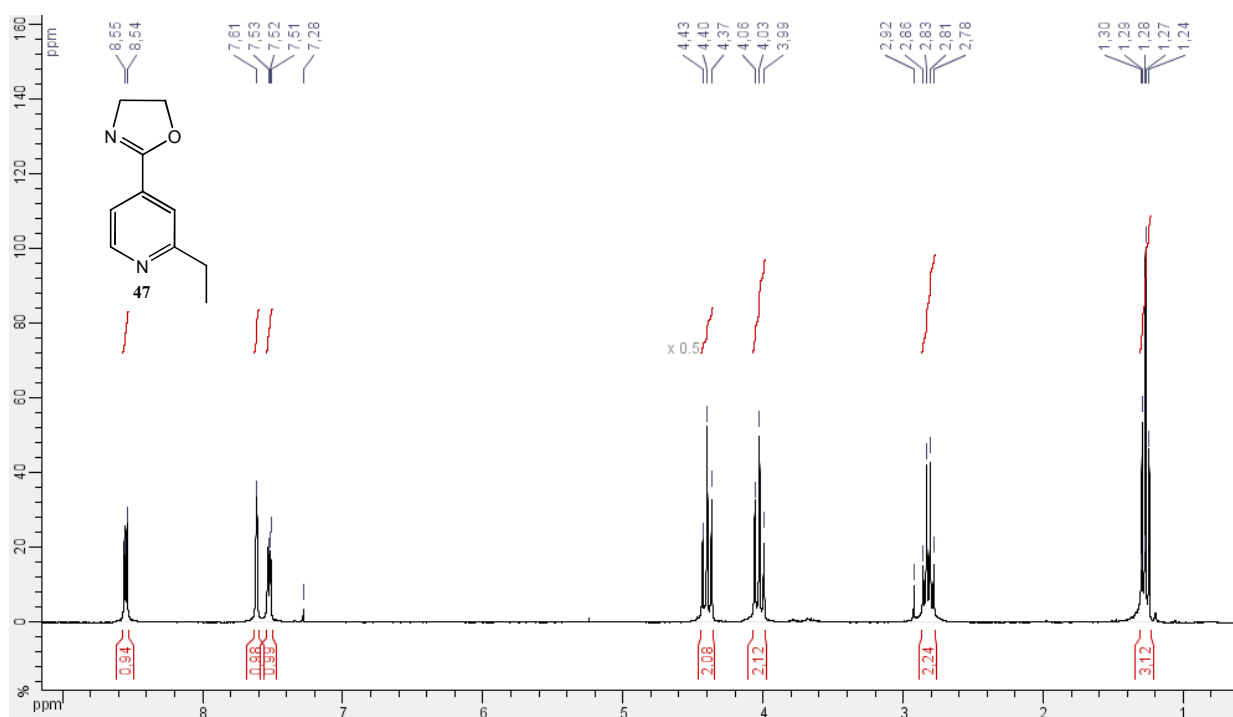


Figura 1.89. Espectro de RMN de ¹H de **47** em CDCl₃ (300MHz).

Nos espectros de RMN de ¹H das tioamidas **44-46** (Figura 1.90, espectro de **44**), além dos sinais referentes aos hidrogênios da cadeia carbônica lateral (amino álcool) e aos do anel piridínico, verificamos também a presença de sinais correspondentes ao hidrogênio N-H da tioamida entre δ 8,60-10,0 ppm.

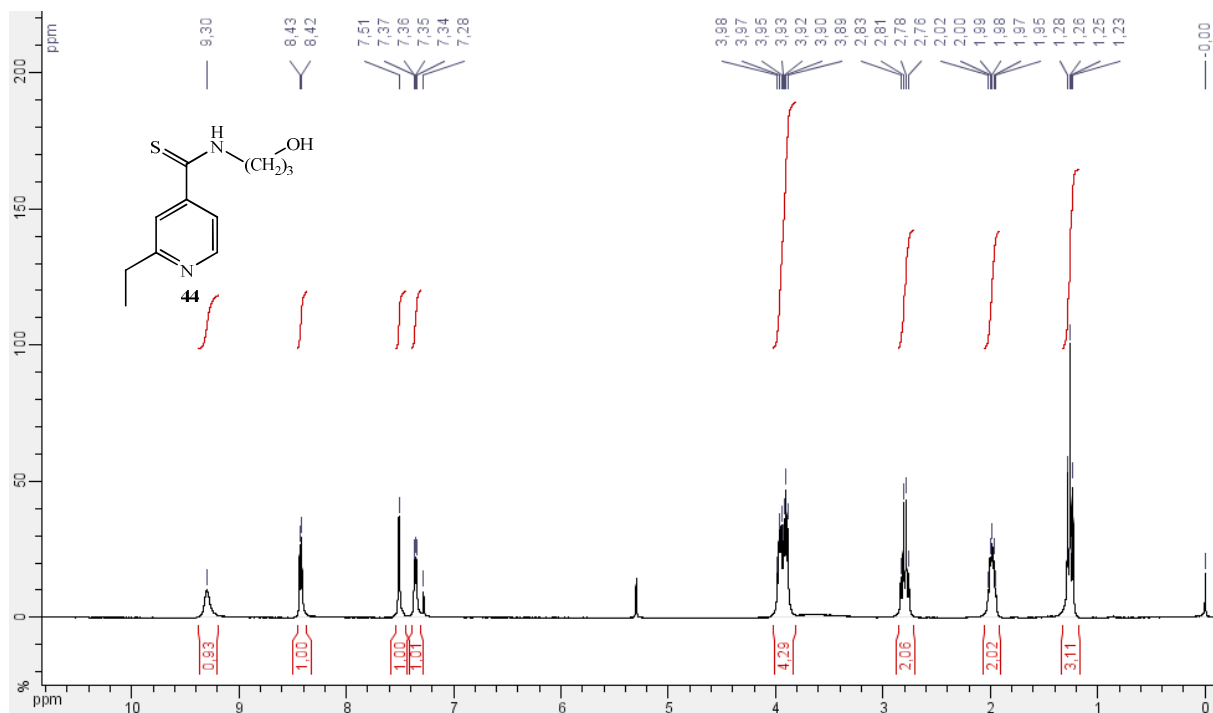


Figura 1.90. Espectro de RMN de ^1H de **44** em CDCl_3 (300MHz).

Os espectros de RMN de ^{13}C dos compostos **44** à **48** apresentam os sinais correspondentes aos "carbonos alifáticos" entre δ 25,1 e 62,4, bem como os sinais referentes aos carbonos do anel piridínico acerca de δ 117,8-120,3 (C-3 e C-5), δ 148,3-150,1 (C-4 e C-6) e δ 163,0 (C-2), além do sinal referente ao grupo tiocarbonila que aparece na região de δ 195,0 ppm (compostos **44-46**). A análise detalhada do espectro de RMN de ^{13}C de **45** (Figura 1.91) mostra a presença de um sinal em δ 13,9 referente ao grupo metila (C-7). Os sinais referentes aos carbonos pertencentes à cadeia alifática C-10, C-11, C-9 e C-12 foram observados em δ 29,7; 31,8; 46,5 e 61,9, respectivamente. Os sinais correspondentes carbonos da porção aromática foram observados em δ 117,9-119,8 (C-3, C-5), δ 149,3 (C-4 e C-6) e δ 164,3 (C-2), enquanto que o sinal referente ao grupo tiocarbonil foi observado em δ 196,1 (C=S).

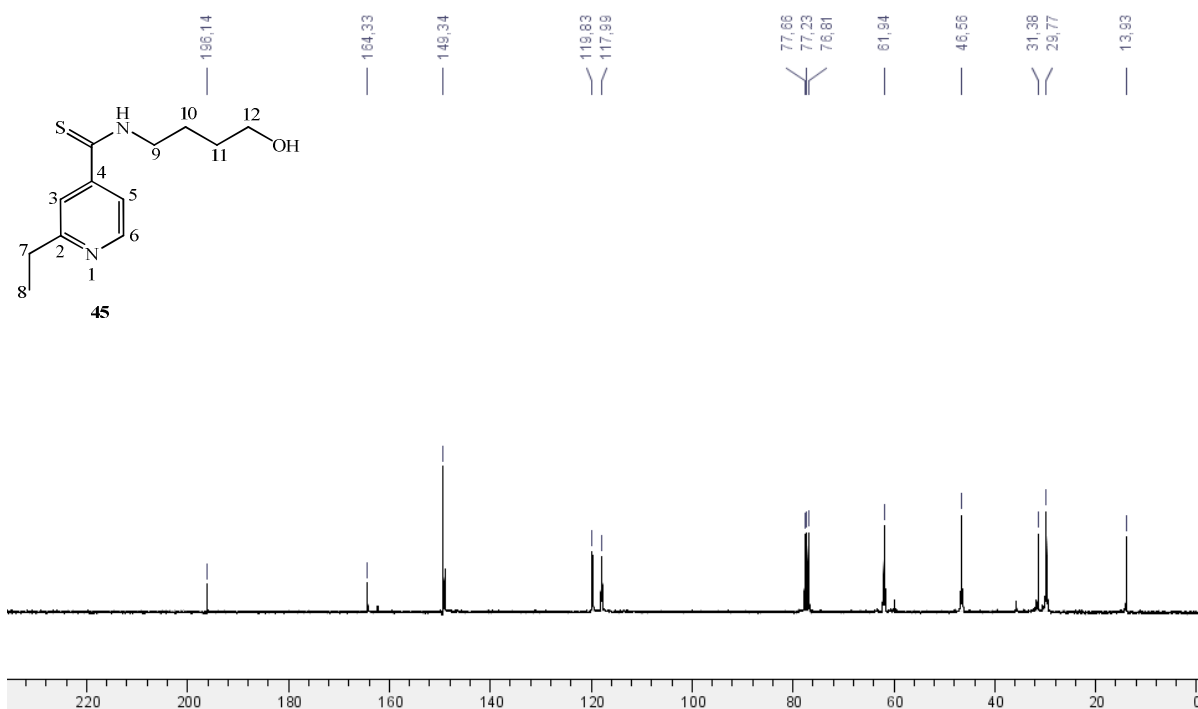


Figura 1.91. Espectro de RMN de ^{13}C de **45** em CDCl_3 (75MHz).

A estrutura do composto **44** pode ser confirmada por difração de raio X (Figura 1.92) realizada no Departamento de Física da UFMG pela prof^a. Dra. Renata Diniz do Departamento de Química da UFJF. Na estrutura deste cristal foi observada uma desordem no grupo metila terminal, sendo que C-8 pode estar localizado em duas posições diferentes. Pode ser observado que a distribuição ocupacional não é equivalente (fator ocupacional de 0,55). O grupo hidroxila está envolvido em ligações de hidrogênio médias (HB) com moléculas adjacentes, e é um receptor de HB para o grupo NH (distância de O–N de 2,814 (3) Å) e um doador para o átomo de nitrogênio do anel aromático (distância de O–N de 2,843 (3) Å). Estas interações dão forma a um arranjo espacial unidimensional paralelo ao eixo cristalográfico **a**, como pode ser visto na Figura 1.92b.

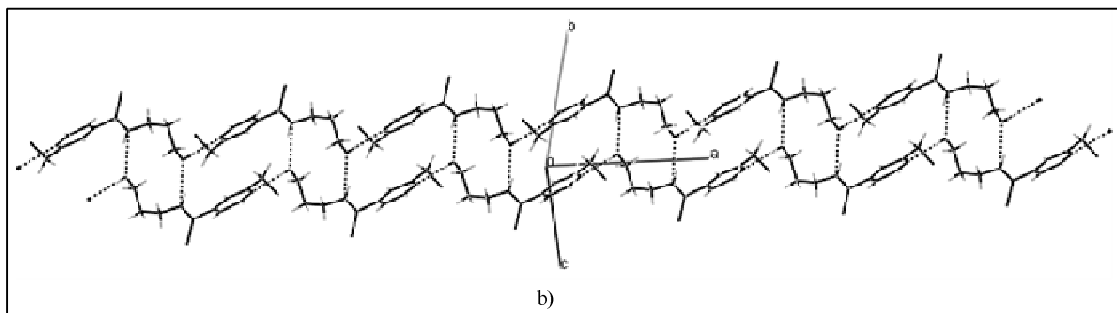
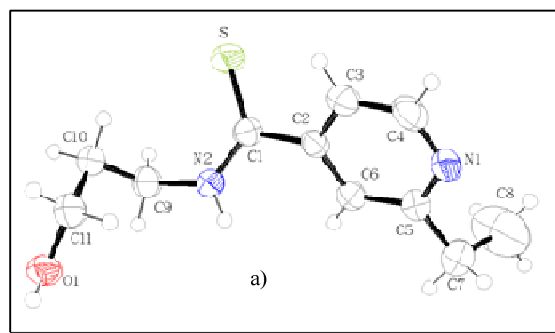


Figura 1.92 (a) Estrutura do cristal e (b) Arranjo espacial unidimensional formado por ligações de hidrogênio em **44**.

1.4.3. Conclusão

Nesta segunda parte do capítulo 1 descrevemos a síntese de 18 compostos, 13 derivados da isoniazida condensados com carboidratos (**26-38**), sendo 10 inéditos. Sintetizamos também o aldeído precursor da hidrazona **38**, em três etapas, a partir da D-glicose e 5 novos derivados da etionamida (**44-48**).

Os compostos **26-38**, análogos da INH, foram testados quanto a sua atividade antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv utilizando-se a metodologia Alamar Blue no Laboratório de Bacteriologia (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz FioCruz-RJ. Os compostos **26, 27, 28, 29, 32, 33, 35, 37** e **38** exibiram atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294) em concentrações entre 0,31-3,12 µg/mL quando comparados com os fármacos de primeira escolha isoniazida e rifampicina. Os resultados obtidos sugerem que os derivados da INH, sintetizados neste trabalho, apresentam uma faixa de concentração mínima inibitória interessante para a continuação de estudos objetivando a obtenção de novos fármacos no combate à tuberculose

Dentre os análogos da ETA, a estrutura do composto **44** pode ser confirmada por difração de raio X e os compostos **44-48** estão sendo avaliados quanto as suas propriedades antituberculosas no Laboratório de Bacteriologia (IPEC) da FioCruz.

Capítulo 2 - Estudos Visando a Síntese da Alloenduracididina

Apresentação

No capítulo 2 será relatada a busca por uma metodologia eficiente para a síntese da alloenduracididina, bem como a preparação desse α -aminoácido complexo a partir da alilglicina. Na seção 2.1 discutiremos as semelhanças estruturais entre alloenduracididina e as manopeptimicinas α - ϵ , uma nova família de antibióticos, e o importante desafio sintético que representam essas moléculas.

Nas seções 2.2 e 2.3 serão abordadas as vias de acesso, descritas na literatura, à alloenduracididina e aos seus isômeros a partir de α -aminoácidos, sobretudo no que diz respeito a utilização da alilglicina como material de partida. Na seção 2.4 estão apresentados os nossos resultados, onde serão discutidas as várias metodologias testadas no decorrer do trabalho visando a obtenção de alloenduracididina. Na seção 2.5 descreveremos a tentativa de determinação da configuração absoluta do composto obtido.

O trabalho realizado neste capítulo foi desenvolvido sob a orientação do Dr. Robert H. Dodd, no Institut de Chimie des Substances Naturelles em Gif-sur-Yvette-França no período de 12 meses (Programa de doutorado sandwich).

2.1. Introdução

2.1.1. As Manopeptimicinas

As manopeptimicinas, uma nova família de antibióticos, têm sido alvo do interesse de muitos grupos de pesquisa por serem ativas contra cepas resistentes de bactérias Gram-positivas, incluindo de *Staphylococcus aureus*.⁶² Esses antibióticos glicopeptídicos foram isolados de *Streptomyces hygroscopicus*, em 1950, como uma mistura complexa de 5 componentes, as manopeptimicinas α - ϵ , tendo sua estrutura sido elucidada apenas recentemente (Figura 2.1, manopeptimicina α **52**).⁶³ Um fator particular na estrutura desses compostos é a presença de ambos isômeros do aminoácido raro, a β -hidroxi-enduracididina **51** (Figura 2.1 em azul e vermelho), um dos quais está ligado à manose por uma ligação *N*-glicosídica.

⁶² Singh, M. P.; Petersen, P. J.; Weiss, W. J.; Janso, J. E.; Luckman, S. W.; Lenoy, E. B.; Bradford, P. A.; Testa, R. T.; Greenstein, M.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 62.

⁶³ He, H.; Williamson, R. T.; Shen, B.; Graziani, I. E.; Yang, Y. H.; Sakya, M. S.; Petersen, P. J.; Carter, T. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9729.

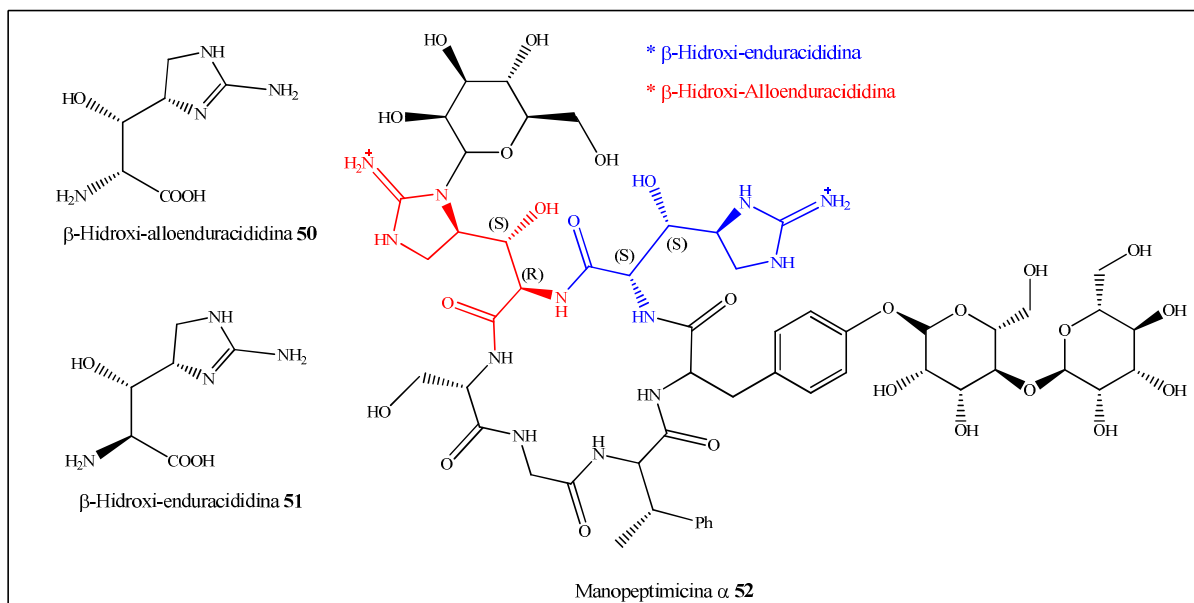


Figura 2.1. Correlação estrutural entre as β -hidroxi-enduracididinas **50** e **51** e a manopeptimicina α **52**.

A preparação de cada um desses aminoácidos, essencial para a atividade antibiótica das manopeptimicinas, bem como a síntese total da manopeptimicina α **52**, representa um importante desafio sintético.

2.1.2. Alloenduracididina e a Enduracididina

A alloenduracididina **53** (Figura 2.2) é um α -aminoácido não-proteinogênico que possui uma função guanidina. Ela se trata do ácido 3-(2-amino-4,5-diidro-1H-imidazol-4-il)-2-aminopropanóico e possui dois centros assimétricos de configuração absoluta (2R, 4R). A alloenduracididina possui um diastereoisômero, a enduracididina **54**, que possui configuração (2S, 4R). Ambas **53** e **54** foram isoladas em 1968 a partir de *Streptomyces fungicidicus* como parte de um ciclopeptídeo, a enduracidina, que possui atividade antibiótica.^{64,65}

⁶⁴ Horii, S.; Kameda, Y.; *J. Antibiotic*. **1968**, *21*, 665.

⁶⁵ L. Sanière, *Thèse de Doctorat*, Université Louis Pasteur, Strasbourg, França, 2001.

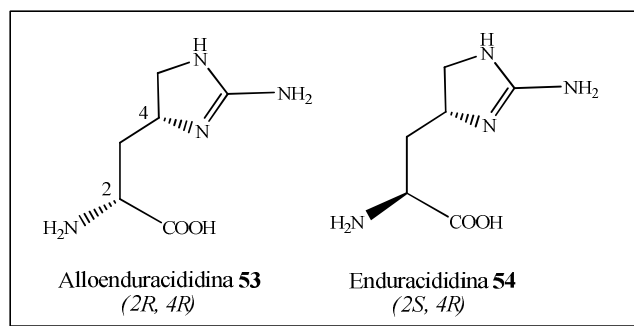


Figura 2.2. Estrutura da alloenduracididina **53** e da enduracididina **54**.

Tendo em vista a dificuldade sintética apresentada por tais moléculas, esse capítulo do trabalho tem por objetivo a busca e o desenvolvimento de uma metodologia para a síntese da alloenduracididina **53** e de seu diastereoisômero, enduracididina **54**, que são a versão não hidroxilada da unidade presente nas manopeptimicinas. A preparação dos compostos **53** e **54** nos pareceu interessante pois esses são análogos semi-rígidos da arginina, sendo ainda substâncias de origem natural.⁶⁴

No que concerne ao trabalho, outro ponto interessante é a possibilidade de aplicação da mesma metodologia à síntese dos análogos hidroxilados de **53** e **54**, as β -hidroxi-alloenduracididina **50** e β -hidroxi-enduracididina **51**, que estão presentes na estrutura da mannopeptimicina α **52** (Figure 2.1).

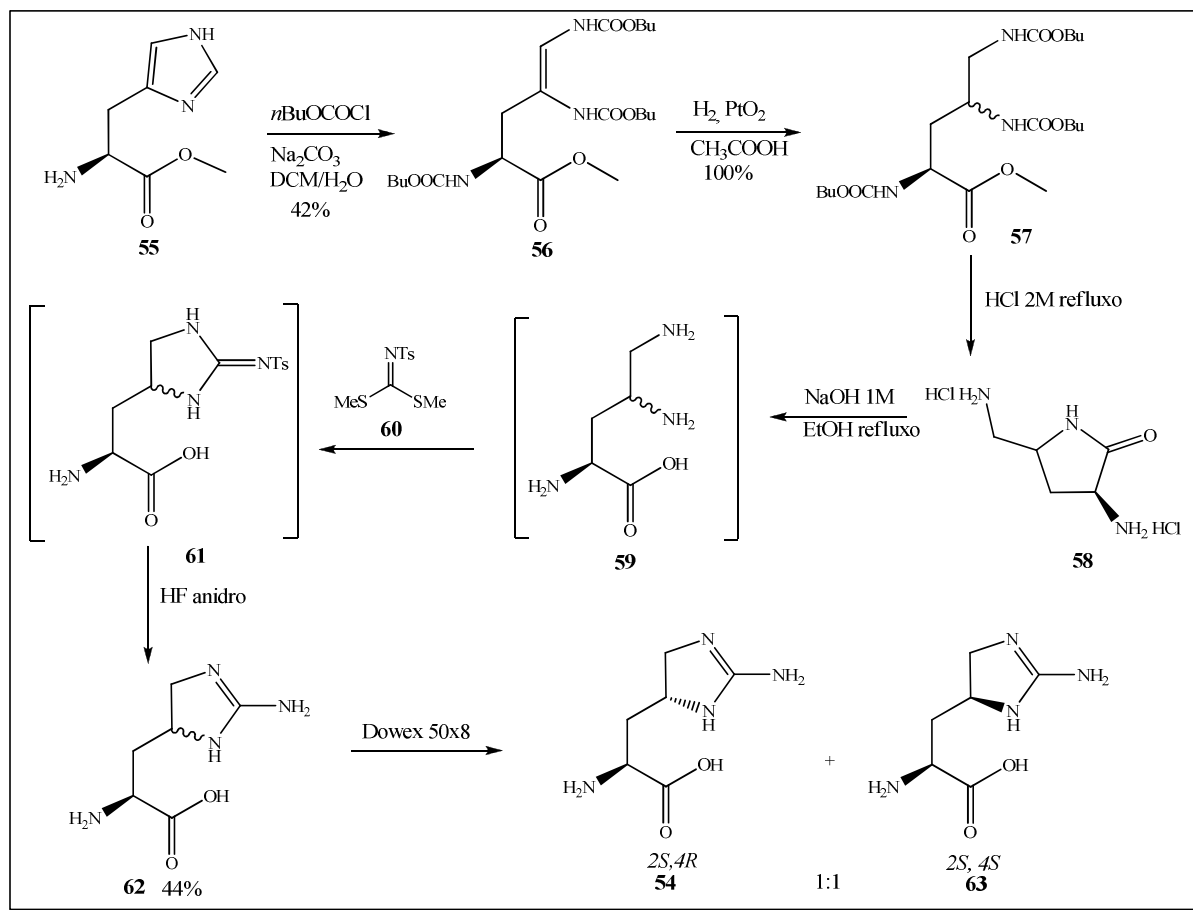
2.2. Vias de acesso descritas na literatura

2.2.1. Síntese da enduracididina **54** pela degradação do *L*-histidinato de metila.

Não foi encontrado na literatura nenhuma síntese da alloenduracididina **53** mas a síntese do seu isômero **54** foi realizada por Tsuji e colaboradores.⁶⁶ Esta síntese é baseada na clivagem do anel imidazólico da (*L*)-histidina através de uma reação de Bamberger⁶⁷ (Esquema 2.1).

⁶⁶ Tsuji, S.; Kusumoto, S.; Shiba, T.; *Chem. Lett.* **1975**, *11*, 1281.

⁶⁷ a) Bamberger, E.; Berlé, B.; *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1893**, *273*, 342 b) Heath, H.; Lawson, A.; Rimington, C.; *J. Chem. Soc.* **1951**, *36*, 2215.



Esquema 2.1. Síntese da enduracidina **54** descrita por Tsuji e colaboradores.

Nesta síntese, o (*L*)-histidinato de metila **55** foi submetido à ação do cloroformiato de *n*-butila em meio básico fornecendo **56**. A dupla ligação do composto **56** foi reduzida pelo tratamento com hidrogênio e óxido de platina (IV) conduzindo à **57** como uma mistura de diastereoisômeros em proporções iguais, que não puderam ser separados por cromatografia. A hidrólise dos carbamatos em meio ácido não conduziu à formação da diamina **59** desejada, uma vez que o produto sofre ciclização espontânea que leva à formação da lactama **58**. Essa deve ser novamente aberta em meio básico para gerar a diamina **59**, que é condensada, sem ser isolada, com *S,S'*-dimetil-*N*-tosil-iminoditiocarbonylimidato **60**. A imidazolina **61** obtida é instável e, portanto, submetida sem purificação à reação com ácido fluorídrico anidro, com o intuito de clivar o grupo toсила. A mistura **62** de diastereoisômeros (proporção 1:1) foi separada por resina de troca iônica. A enduracidina **54** e o composto **63**, isômero da alloenduracidina, foram obtidos com um rendimento de 44 % (**54** + **63**) calculados à partir de **55**.

Os mesmos autores relatam um ponto de fusão e um poder rotatório para **54** diferente daquele obtido para a enduracididina natural. Eles sugerem que uma epimerização parcial do centro C-2 pode ter ocorrido durante a hidrólise básica da lactama **58**. Por outro lado, a ausência de grupos protetores nas diferentes funções não permite que os intermediários sejam isolados e induz a reações secundárias (lactamização e instabilidade do intermediário **61**).

Tendo fixado como objetivo inicial a síntese da alloenduracididina **53**, nosso interesse é de fazê-lo utilizando uma metodologia que tenha o maior campo de aplicações possíveis, uma vez que a síntese de análogos de **53** e de **54** (homólogos superiores) nos parece interessante. É por esse motivo que, planejou-se desenvolver um acesso mais amplo à cadeias laterais duplamente funcionalizadas de α -aminoácidos.

2.2.2. Construção de guanidinas cíclicas

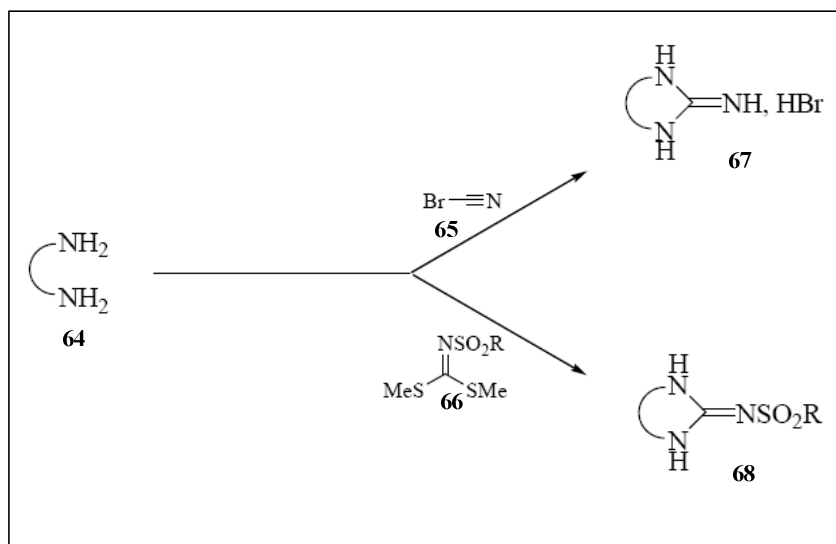
Uma das etapas-chave na síntese da alloenduracididina **53** é a construção do anel 2-aminoimidazolina. Vários métodos de preparação de tal ciclo foram descritos na literatura,^{66,68,69} dois deles estão descritos abaixo.

a) Condensação de diaminas com um 1,1-dieletrófilo

De maneira geral, a condensação de diaminas com um 1,1-dieletrófilo é mais amplamente utilizada. O princípio é a ciclocondensação do dinucleófilo (diamina) com um centro duas vezes eletrofílico como o brometo de cianogênio **65** ou com os *S,S'*-dimetil-*N*-arilsulfoniliminoditiocarbonimidatos **66** (Esquema 2.2). O uso do brometo de cianogênio pode gerar alguns problemas devido à sua grande toxicidade e a formação de uma guanidina não-protetida, catiônica e, portanto, de difícil manipulação pelos métodos clássicos de purificação em síntese orgânica.

⁶⁸ Rodricks, J. V.; Rapoport, H.; *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 46.

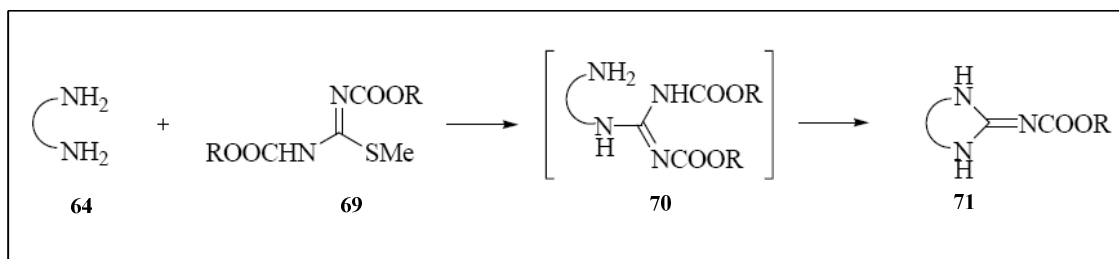
⁶⁹ a) Matier, W. L.; Owens, D. A.; Comer, W. T.; Deitchman, D.; Ferguson, H. C.; Seidehamel, R. J.; Young, J. R.; *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 901 b) Ishikawa, F.; Kosayama, A.; Nakamura, S.; Konno, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 3657 c) Cordi, A. A.; Lacoste, J. M.; Descombes, J. J.; Courchay, C.; Vanhoutte, P. M.; Laubie, M.; Verbeuren, T. J.; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4056.



Esquema 2.2. Obtenção de guanidinas cíclicas a partir de diaminas.

b) Ciclocondensação de diaminas com bis(alcoxicarbonil)guanidinas

De maneira similar, Weinhardt e colaboradores,⁷⁰ à partir de diaminas, utilizaram a *S*-metil-*N,N'*-bis(alcoxicarbonil)isotiouréia **69** (Esquema 2.3). Essa reação é semelhante a descrita anteriormente no Esquema 2.2. Contudo, a partir dessa via de acesso as 2-aminoimidazolininas é possível obter a guanidina monoprotetida por uma função do tipo carbamato, o que nos permite a purificação do produto sem maiores dificuldades e evita, ainda, reações intramoleculares secundárias.

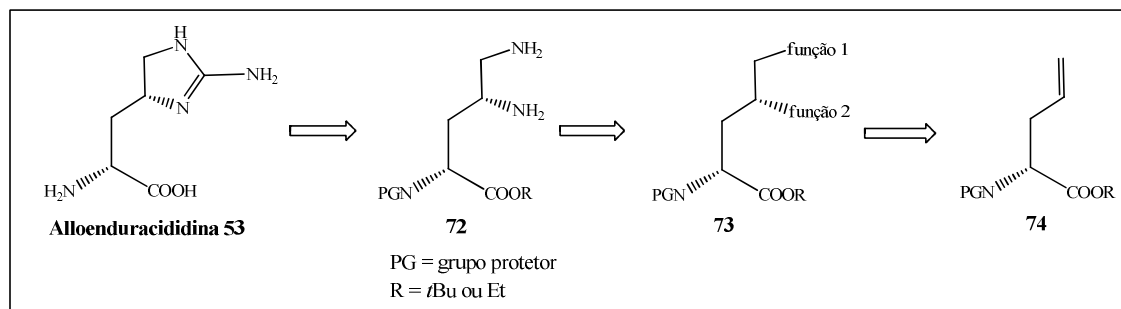


Esquema 2.3. Obtenção de guanidinas cíclicas protegidas.

Em nosso projeto, a síntese do núcleo 2-aminoimidazolina da alloenduracididina poderia ser realizada a partir da diamina **72** (Esquema 2.4) utilizando-se a ciclocondensação do dinucleófilo (diamina) sob um centro duas vezes eletrofílico, como descrito anteriormente.

⁷⁰ a) Weinhardt, K.; Beard, C. C.; Dvorak, C.; Marx, M.; Patterson, J.; Roszkowski, A.; Schuler, M.; Unger, S. H.; Wagner, P. J.; Wallach, M. B.; *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 616 b) Weinhardt, K.; Wallach, M. B.; Marx, M.; *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 694.

No entanto, nos restaria resolver a questão de como introduzir uma segunda função sobre a cadeia lateral de um α -aminoácido opticamente puro.



Esquema 2.4. Construção da 2-aminoimidazolina a partir de aminoácidos.

2.2.3. Obtenção de α -aminoácidos com duas funções na cadeia lateral.

Como a alloenduracididina é capaz de fornecer uma dupla função (diamina) em sua cadeia lateral apenas pela clivagem da porção 2-aminoimidazolina, discutiremos abaixo como é possível se obter duas funções na cadeia lateral de um α -aminoácido.

A maneira mais simples de se obter uma cadeia lateral funcionalizada é pela modificação química das funções presentes nas cadeias laterais de α -aminoácidos proteinogênicos. Esses últimos apresentam as vantagens de terem a quiralidade do centro C-2 definida e de serem comercialmente disponíveis à baixo custo. Muitas sínteses enantioespecíficas de heterociclos já foram realizadas⁷¹ a partir de α -aminoácidos funcionalizados como lisina, serina, cisteína e os ácidos glutâmicos e aspártico (Figura 2.3).

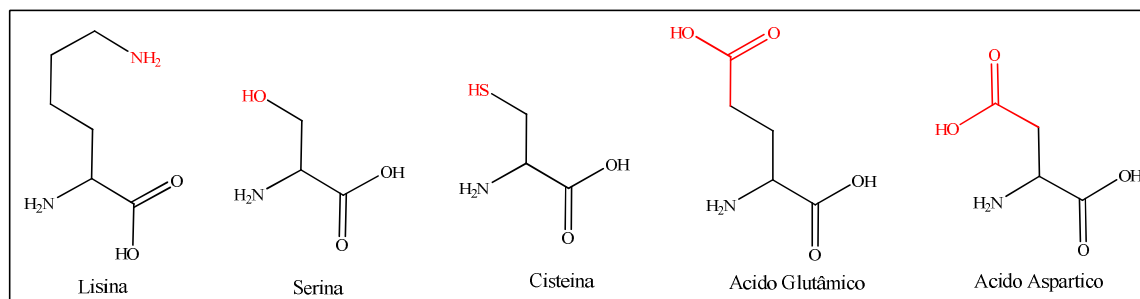
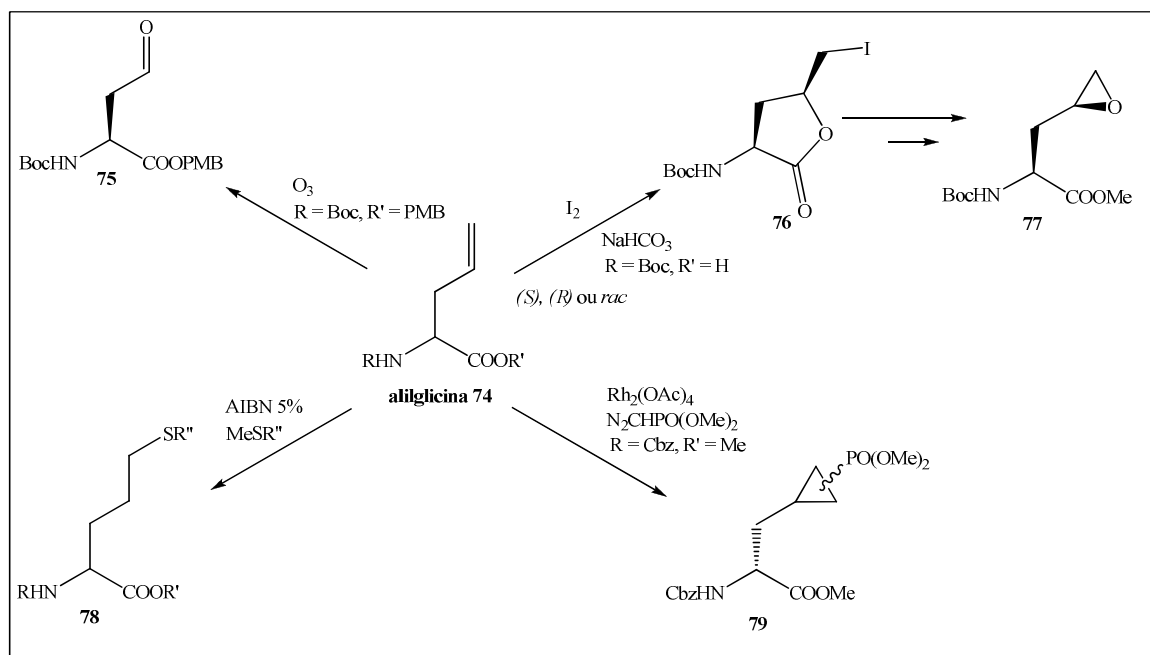


Figura 2.3. Estrutura de α -aminoácidos que contém um grupo funcional na cadeia lateral.

Contudo, não existem α -aminoácidos naturais que possuam duas funções em sua cadeia lateral, com exceção da histidina que por clivagem do anel imidazólico é capaz de

⁷¹ Sardina, F. J.; Rapoport, H.; *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1825

fornecer uma diamina como vimos anteriormente na seção 2.2.1. Recentemente, a utilização de α -aminoácidos não-proteinogênicos, com a finalidade de se obter cadeias laterais funcionalizadas, vem se tornando cada vez mais frequente. Em particular, Rutjes, Wolf e Schoemaker⁷² revisaram as muitas aplicações sintéticas da alilglicina **74** (Esquema 2.5) e da homoalilglicina. Esses dois aminoácidos possuem uma insaturação em sua cadeia lateral e, portanto, oferecem inúmeras possibilidades, uma vez que existem muitos métodos de funcionalização de olefinas, dentre eles: aziridinação, epoxidação, diidroxilação ou aminoidroxilação. Reações radiculares de oxidação (ozonólise) e de halogenação da dupla ligação na alilglicina **74** (Esquema 2.5) já foram realizadas com sucesso, assim como reações catalisadas por metais de transição (catálise com ródio), o que indica que a utilização de catalisadores metálicos é compatível com as funções amino-ácido.



Esquema 2.5. Funcionalização da alilglicina.

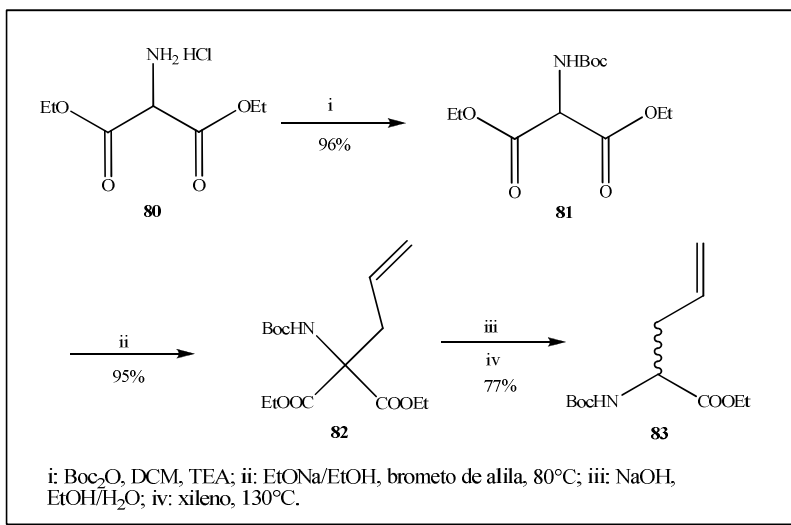
2.2.4. Preparação e separação enzimática da alilglicina **83**

a) Síntese da alilglicina **83**

A preparação da alilglicina racêmica foi realizada por Sanière.⁶⁵ A rota sintética seguida por esse autor para a síntese de **83** utilizou como material de partida o éster malônico **80** (Esquema 2.6). O método utilizado por Sanière foi inicialmente descrito por Schneider e

⁷² Rutjes, F. P. J. T.; Wolf, L. B.; Schoemaker, H. E.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **2000**, 96, 1825.

colaboradores,⁷³ e é de fácil realização uma vez que evita reações secundárias durante a etapa de alquilação. O cloridrato **80** é protegido por um grupo *tert*-butoxicarbonila (Boc). O ânion do malonato é gerado pela adição de 1 equivalente de etóxido de sódio em etanol e a alquilação é realizada em excelentes rendimentos. Em seguida, ocorre a saponificação seletiva de um dos ésteres de **82**, e uma descarboxilação é realizada pelo aquecimento do ácido formado em xileno à refluxo. Essa última etapa conduz ao éster etílico da *N*-(Boc)-alilglicina racêmica **83** em 70% de rendimento global.



Esquema 2.6. Síntese da alilglicina **83**.

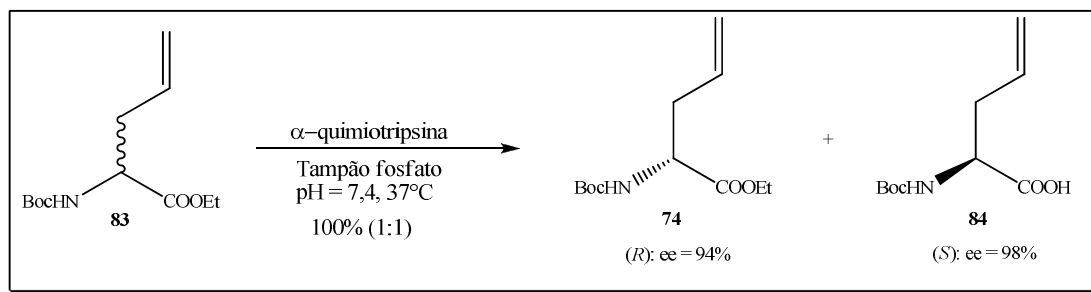
b) Separação enzimática da alilglicina **83**

A alilglicina racêmica **83** é submetida a uma reação enzimática que transforma apenas o enantiômero (*S*), o único que é reconhecido pela enzima. As esterases hidrolisam somente o éster de configuração absoluta (*S*), enquanto seu isômero (*R*) permanece intacto.

No caso da separação enzimática de uma mistura racêmica, os critérios de escolha da enzima são: sua seletividade, capacidade de transformação de apenas um dos dois enantiômeros e capacidade de realizar uma transformação completa deste enantiômero para que a parte não transformada seja ela também enantiomericamente pura. Schricker e colaboradores publicaram os resultados dos seus trabalhos relativos a escolha da enzima mais adequada para a separação de α -aminoácidos não-proteinogênicos racêmicos, como a

⁷³ Schneider, H.; Sigmund, G.; Schricker, B.; Thirring, K.; Berner, H.; *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 683.

alilglicina e outros derivados olefínicos.⁷⁴ Os resultados mostram que a α -quimiotripsina fornece os melhores resultados, em especial para a alilglicina. Portanto, a separação da *N*-(Boc)-alilglicina racêmica **83** foi realizada com a α -quimiotripsina (Esquema 2.7). A separação pode ser realizada em uma escala de 10 g de substrato racêmico, necessitando apenas de uma centena de miligramas da enzima. A reação foi feita à 37°C em tampão fosfato (pH entre 7,4 e 7,8). Os excessos enantioméricos de **74** e **84** foram determinados por HPLC após simples lavagem ácido-básica do material.



Esquema 2.7. Separação da alilglicina racêmica pela α -quimiotripsina.

2.3. Síntese da alloenduracididina a partir do *N*-(Boc)-alilglicinato de etila **74**.

Como já foi mencionado, o (*R*)-éster derivado da alilglicina **74** foi obtido em grandes quantidades (≥ 10 g) e em 94% de excesso enantiomérico a partir da separação enzimática realizada em trabalho anterior no laboratório.⁶⁵ Tendo em vista a disponibilidade desse material e o nosso interesse pela analogia que pode ser feita entre a alloenduracididina **53** e o fragmento presente na manopeptimicina α (em vermelho, Figura 2.4), o éster derivado da (*R*)-alilglicina foi utilizado nesse trabalho como material de partida para a síntese da alloenduracididina **53**.

⁷⁴ Schricker, B.; Thirring, K.; Berner, H.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 387.

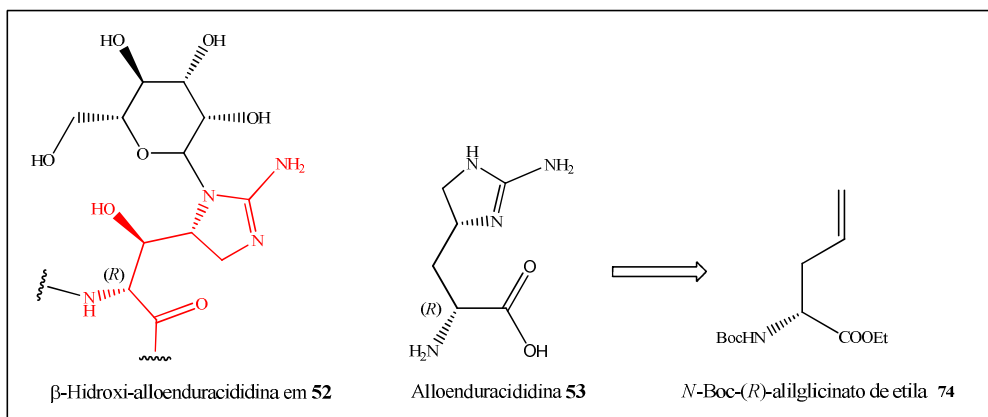


Figura 2.4. Analogia entre o fragmento da manopeptimicina α **52** e a alloenduracididina **53**.

Nesses últimos anos, a equipe do Dr. Robert Dodd, no ICSN, vem adquirindo experiência no domínio das aziridinas e, mais recentemente, na preparação destas por aziridinação direta de olefinas.⁷⁵ As aziridinas são precursoras de dupla funcionalidade pois a abertura do heterociclo pode ser realizada por um nucleófilo. Portanto, em um primeiro momento, foi proposto que a diamina necessária a preparação da alloenduracididina **53** seria preparada através da reação de aziridinação direta da dupla ligação presente na (*R*)-alilglicina (Esquema 2.4).

2.3.1. Reação de Aziridinação

Muitos métodos são descritos na literatura para a preparação de aziridinas.⁷⁶ De maneira geral, é possível obter esse heterociclo a partir de amino álcoois, azirinas, iminas, e alcenos. Como foi mencionado anteriormente, as aziridinas podem ser precursoras de dupla funcionalidade a partir da abertura do heterociclo por um nucleófilo (Esquema 2.8).

a) Aziridinação de olefinas via nitrenos.

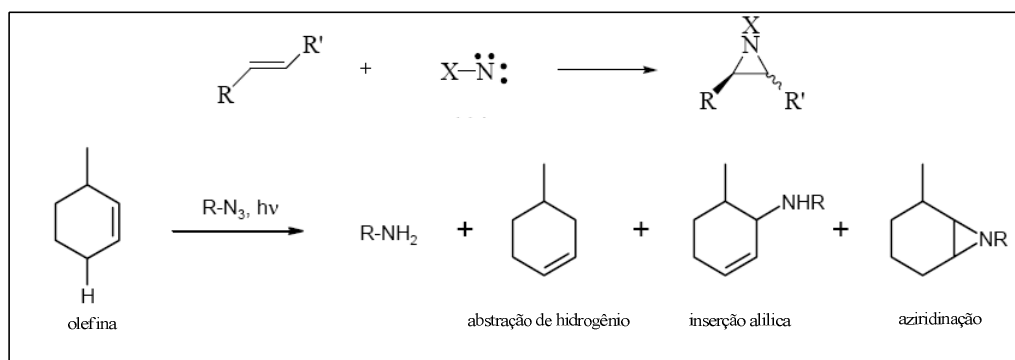
Existem várias metodologias para a preparação de aziridinas a partir de olefinas descritos na literatura. No que concerne a esse trabalho, nos ateremos apenas em comentar sobre o método de preparação de aziridinas a partir de olefinas, via nitrenos, uma vez que, do

⁷⁵ a) Dauban, P.; Dodd, R. H.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5304 b) Dauban, P.; Dodd, R. H.; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5739.

⁷⁶ a) Tanner, D.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 599 b) Osborn, H.; Sweeney, J.; *Tetrahedron: Asym.* **1997**, *8*, 1693 c) Sweeney, J.; *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 247.

ponto de vista da síntese da alloenduracididina **53** utilizando-se o (*R*)-éster derivado da alilglicina **74** como material de partida, este método nos pareceu mais adequado.

A formação de aziridinas é realizada pela adição fotoquímica ou térmica de nitrenos à olefinas. Contudo, essas reações normalmente possuem baixos rendimentos devido a ocorrência de reações secundárias (abstração de hidrogênio, inserção alílica, etc) (Esquema 2.8).⁷⁷



Esquema 2.8. Obtenção de aziridinas via nitrenos.

Por analogia às reações de epoxidação e de ciclopropanação catalisadas por metais de transição e a fim de evitar reações secundárias, ocorridas com a utilização de nitrenos gerados por via fotoquímica ou térmica, os estudos de aziridinação direta de alcenos por transferência de nitrenos foram iniciados a partir de 1980.

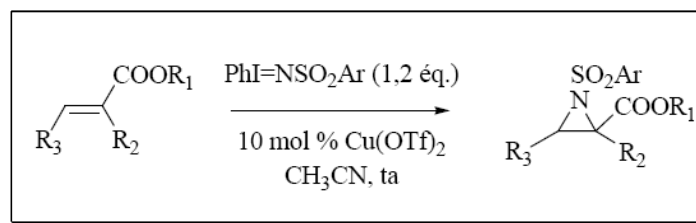
Durante a década de 1990, Evans e colaboradores⁷⁸ realizaram importantes trabalhos que permitiram estabelecer o uso de sais de cobre I e II como catalisadores em reações de aziridinação direta de olefinas. Esses catalisadores aumentaram a eficácia da reação, que pode ser aplicada à diversos substratos, evitando ainda as indesejadas reações secundárias. Do ponto de vista metodológico, Evans e colaboradores aplicaram a reação de aziridinação catalisada por de sais de cobre II, com a sulfonamida (PhI=NTs) à diversas olefinas funcionalizadas. As respectivas tosiaziridinas foram obtidas em rendimentos que variam de 51 à 92%.

No laboratório, o método desenvolvido por Evans foi aplicado à olefinas com o intuito de se preparar α e β -aminoácidos substituídos (Esquema 2.9).⁷⁹

⁷⁷ Lwowski, W.; *Azides and nitrene, reactivity and utility*; Scriven, EVF: New-York, 1984; Vol. 205-246.

⁷⁸ a) Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T.; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6744 b) Evans, D. A.; Faul, M. M.; Bilodeau, M. T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2742.

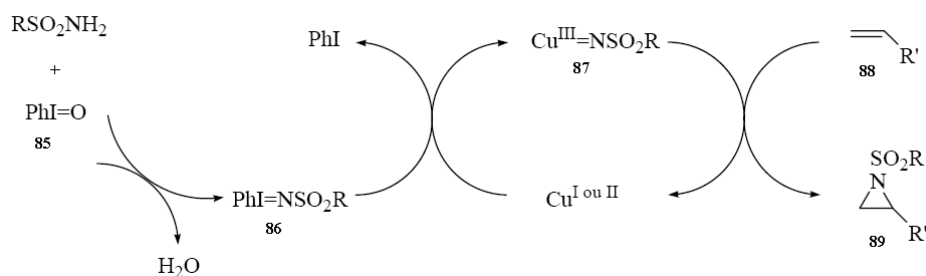
⁷⁹ Dauban, P.; Dodd, R. H.; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5739.



Esquema 2.9. Preparação de aziridinas a partir de acrilatos.

b) Reação de aziridinação pela geração *in situ* de iminoiodanos

A fim de aumentar a performance do método descrito anteriormente e evitar inconvenientes, como a dificuldade de isolar os iminoiodanos de maneira reprodutível, com boa pureza e bons rendimentos, em particular no caso dos compostos [*N*-(*p*-metoxibenzenosulfonil)iminofeniliodano (PhI=NSO₂PMB) ou [*N*-(2-(trimetilsilil)etanosulfonil)iminofeniliodano (PhI=NSes),⁸⁰ o grupo do Dr. Dodd desenvolveu um novo protocolo experimental que implica na geração *in situ* de iminoiodanos.⁸¹ O método demonstrou que é possível a utilização do iodosilbenzeno PhI=O **85** na presença de uma sulfonamida (Esquema 2.10). A originalidade do método consiste na formação *in situ* do reativo de iodo hipervalente (III), que é responsável pela transferência do nitreno a dupla ligação. O mecanismo proposto para essa reação implica na formação *in situ* do iminoiodano e de um equivalente de água a partir da sulfonamida e do PhI=O **85**. Assim que a água é capturada pela peneira molecular, o iminoiodano **86** reage com o sal de cobre para gerar o composto nitrenóide **87** com a eliminação redutiva de iodobenzeno. O nitrenóide formado é em seguida capturado por uma olefina **88** para formar a aziridina **89** correspondente.



Esquema 2.10. Formação de aziridinas pela geração *in situ* de iminoiodanos.

⁸⁰ Dauban, P.; Dodd, R. H.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5304.

⁸¹ Dauban, P.; Sanière, L.; Tarrade, A.; Dodd, R. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7707.

Do ponto de vista sintético existem poucos exemplos de reações de aziridinação de olefinas funcionalizadas catalisadas por cobre. No que concerne a alilglicina, existem apenas os trabalhos desenvolvidos no grupo do Dr. Dodd que ainda precisam ser aprofundados.

2.3.1.1. Estudo da reação de aziridinação catalisada por cobre a partir de derivados protegidos da (R)-alilglicina.

Um dos aspectos importantes para o sucesso da reação de aziridinação de olefinas funcionalizadas catalisada por cobre, como a alilglicina, é a escolha de bons grupos protetores para as funções amino-ácido. Portanto, serão descritos abaixo alguns critérios importantes para a escolha desses grupos.

2.3.1.1.1. Proteção da (R)-alilglicina

A proteção da função amina da (R)-alilglicina deve ser feita por grupos que sejam capazes de diminuir o caráter nucleofílico do nitrogênio da amina, de modo a impedir que esse interfira na reação de aziridinação catalisada pelo cobre. É sabido que cobre I ou II possuem uma grande afinidade pelo nitrogênio e a complexação do nitrogênio poderia bloquear o processo catalítico de transferência de nitrenos à dupla ligação em **74**. Portanto, grupos protetores que possam provocar um "impedimento" suficiente em torno do nitrogênio e, sobretudo, um empobrecimento eletrônico do mesmo, a fim de limitar ao máximo seu poder de complexação com o Cu, são interessantes.

Assim como a amina, o ácido carboxílico presente em **74** deve ser protegido adequadamente. Do ponto de vista da reação de aziridinação, esta função não deve provocar grandes problemas. Portanto, uma simples proteção sob a forma de éster (*tert*-butílico ou etílico) ou ainda na forma cíclica (oxazolidina ou oxazolidinona) nos parece conveniente.

2.3.1.1.2. Trabalhos anteriores desenvolvidos no grupo

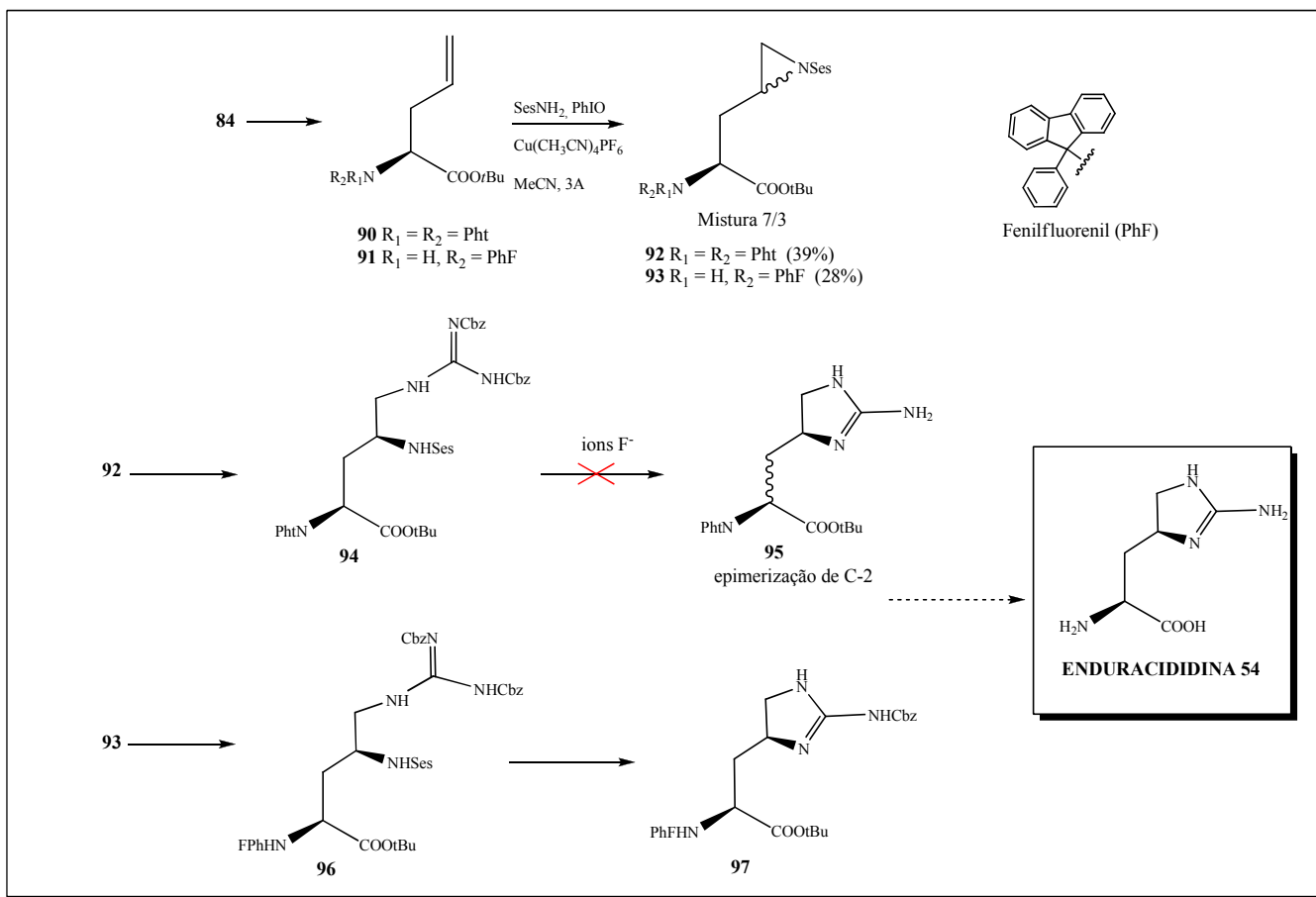
*Tentativas de síntese da enduracididina **54***

Durante a primeira tentativa de síntese da enduracididina **54**, realizada por Sanière⁶⁵ (Esquema 2.11), a proteção das funções amina e ácido carboxílico na (S)-alilglicina foi realizada pelos grupos ftaloila (Pht) e éster *tert*-butílico, respectivamente. A rota sintética proposta contou com a formação da aziridina **92**, seguida da abertura desta por azida de sódio, redução do intermediário formado à amina e reação com *S*-metil-*N,N'*-bis(alcoxicarbonila)isotiouréia que conduziu ao composto **94** (Esquema 2.11). As tentativas

de desproteção do grupo Ses (2-trimetilsililetanosulfonila) que conduziram ao produto ciclizado **95** utilizando íons fluoreto mostraram-se infrutíferas, uma vez que foi observada a epimerização do centro C-2 durante a etapa de ciclização. Portanto, o uso do grupo ftaloíla como protetor da função amina em **90** não se mostrou adequado, pois o forte caráter eletroretirador deste grupo torna o hidrogênio α muito ácido, o que levou à epimerização do centro C-2. A utilização do grupo *tert*-butoxicarbonila (Boc) e do éster *tert*-butílico como protetores das função amino-ácido também foi testada por Sanière.⁶⁵ Neste caso, durante a reação de aziridinação foi observado que o uso do grupo Boc não se mostrou compatível com as condições de aziridinação catalisadas por cobre, uma vez que os rendimentos obtidos foram inferiores aos obtidos com o grupo ftaloíla.

A partir dos resultados obtidos anteriormente por Sanière, Leman utilizou a mesma via sintética na preparação do derivado protegido da enduracididina **97** (Esquema 2.11).⁸² Durante a realização deste trabalho os resultados mostraram que a utilização do grupo fenilfluorenila (PhF), assim como o grupo ftaloíla, como grupamento protetor da função amina na (*S*)-alilglicina, são compatíveis com as condições de aziridinação de olefinas catalisada por cobre. No entanto, sua utilização deve ser evitada, pois durante a etapa final de obtenção de **54** o grupo fenilfluorenila não pôde ser removido, após a aplicação exaustiva das condições de clivagem descritas na literatura.

⁸² Sanière, L.; Leman, L.; Bourguignon, J. J. ; Dauban, P.; Dodd, R. H.; *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5889.



Esquema 2.11. Tentativas de síntese da enduracidina 54.

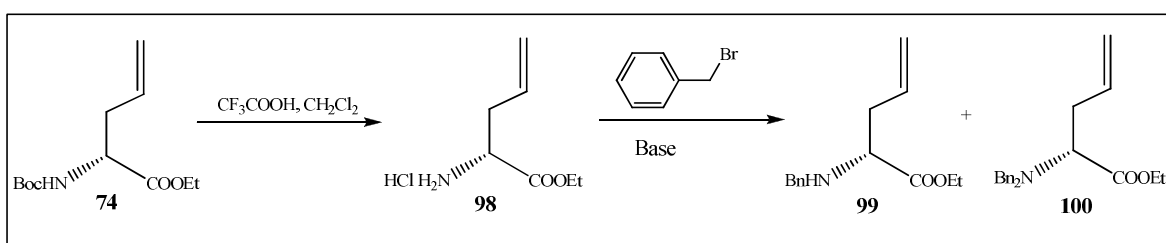
Tendo em vista os resultados supracitados, nos pareceu que grupos protetores do tipo alquila poderiam ser adequados para reduzir consideravelmente a acidez do hidrogênio α . Além disso, esses grupos podem ser facilmente clivados pela ação do DDQ.⁸³ No que concerne a química de peptídeos, as *N*-proteções do tipo alquila (benzila ou tritila) são pouco utilizadas, por esse motivo foi proposta a utilização do grupo benzila na proteção da função amina do éster derivado da (*R*)-alilglicina 74. A proteção da função amina com um ou dois grupamentos benzílicos nos permitiria investigar a compatibilidade desse grupo com as condições de aziridinação catalisada por cobre.

⁸³ Bull, S. D.; Davies, S. G.; Fenton, G.; Mulvaney, A. W.; Prasad, R. S.; Smith, A. D.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 3765.

2.3.1.2. *Preparação da (R)-alilglicina protegida e aplicação das condições de aziridinação catalisadas por cobre.*

2.3.1.2.1. Síntese do *N*-benzil-(*R*)-alilglicinato de etila **99**.

Para a proteção do grupo amino com o grupamento benzila, o grupo *tert*-butoxicarbonila de **74** foi inicialmente clivado pela ação de uma solução de ácido trifluoroacético, em diclorometano (Esquema 2.12). Em seguida, o cloridrato do alilglicinato de etila **98** obtido foi submetido a reação com brometo de benzila em meio básico, de acordo com a Tabela 2.1, para conduzir ao composto desejado **99**, juntamente com o derivado dibenzilado **100**.



Esquema 2.12. Preparação do *N*-benzil-(*R*)-alilglicinato de etila **99**.

Tabela 2.1. Otimização das condições de benzilação de **98**.

Teste	Substrato	Condições	Rendimento
1	98	K ₃ PO ₄ , MeNO ₂ , t.a → 40° C.	99 < 5% + 98
2	98	Et ₃ N, éter etílico, 0° C → t.a → 40° C.	99 (10%) + 98
3	98	Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , t.a → 40° C.	99 (13%) + 98
4	98	Na ₂ CO ₃ , EtOH/H ₂ O/CH ₂ Cl ₂ , 40 °C.	99 (40%) + 100 (20%) + 98
5	98	NaH, DMF, 0°C → t.a	99 (57%) + 100 (11%)

De acordo com os dados da Tabela 2.1 foi possível verificar que as condições de benzilação clássicas conduziram à formação do composto monobenzilado **99** em baixos rendimentos (testes 1, 2, 3). A fim de melhorar esses rendimentos foram propostas algumas mudanças nas condições reacionais:

Temperatura: a tentativa de variação de temperatura não conduziu a mudanças significativas no rendimento da reação (testes 2 e 3).

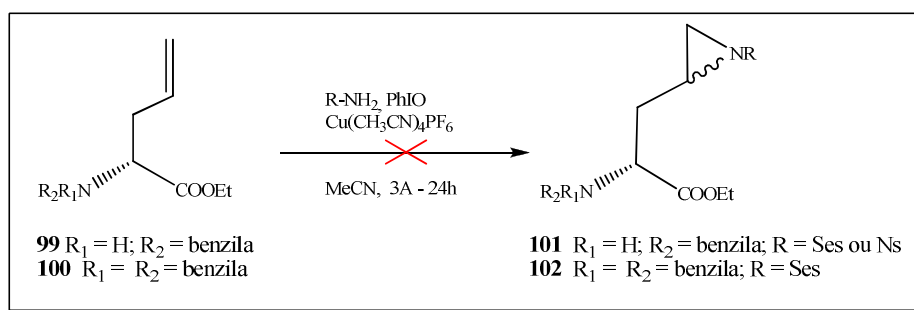
Base: a mudança da base também foi investigada (testes 1-5). Neste caso, foi verificado um aumento no rendimento da reação com a obtenção de **99** em 57% de rendimento (teste 5). No

entanto, a utilização de hidreto de sódio conduziu a esperada perda de seletividade da reação com a formação do composto dibenzilado **100** em 11% de rendimento.

Tendo em vista a obtenção dos derivados mono e dibenzilados **99** e **100**, foi proposta a investigação do comportamento desses dois compostos frente a reação de aziridinação de olefinas catalisada por cobre.

2.3.1.2.2. Aplicação das condições de aziridinação catalisada por cobre à *N*-(benzil)-(*R*)-alilglicinato de etila **99** e *N,N'*-(dibenzil)-(*R*)-alilglicinato de etila **100**.

As condições de aziridinação de olefinas catalisada por sais de cobre foram aplicadas aos substratos **99** e **100** (Esquema 2.13). De acordo com os resultados dos experimentos realizados, não foi possível obter as aziridinas **101** e **102** esperadas. A substituição da (trimetilsilil)etanosulfonamida (SesNH₂) por *p*-nitro-sulfonilsulfonamida (NsNH₂) também foi investigada, utilizando-se como material de partida o derivado **99**. Contudo, a variação da sulfonamida neste caso não provocou alteração nos resultados já obtidos. Durante os experimentos, cerca de 50-60% da sulfonamida e apenas parte do material de partida foram recuperados, o que sugere uma complexação de **99** e **100** com o sal de cobre.

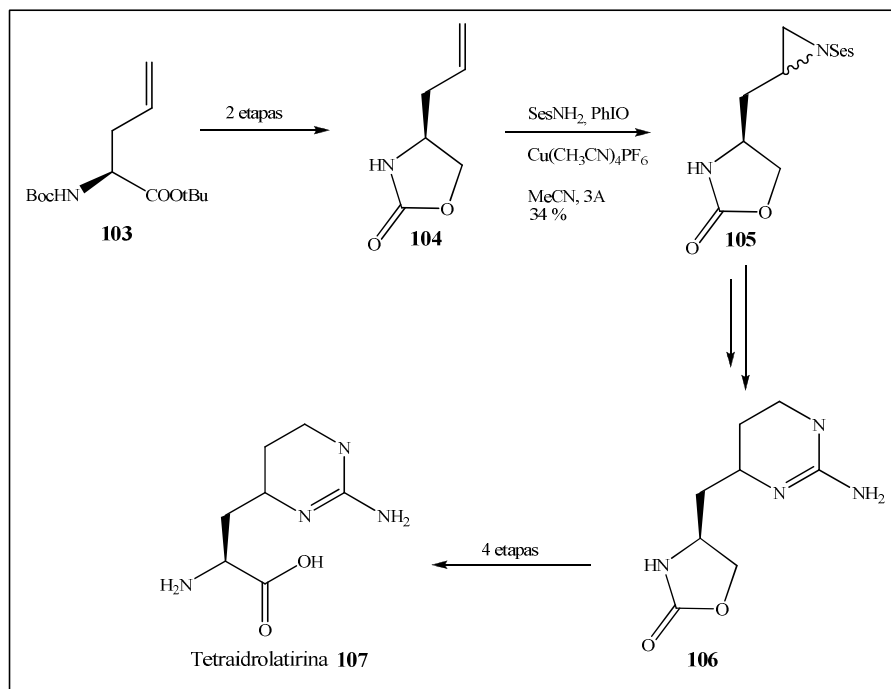


Esquema 2.13. Tentativas de preparação dos compostos **101** e **102**.

Os resultados obtidos anteriormente indicam que os grupos alquilbenzeno (benzila e dibenzila) utilizados não se mostraram compatíveis com as condições de aziridinação empregadas. Como foi mencionado, os resultados sugerem que a presença de um ou dois grupos benzílicos não foi capaz de impedir de maneira eficaz a complexação do nitrogênio do aminoácido com o sal de cobre. A hipótese da complexação pôde ser evidenciada pela recuperação de apenas parte das olefinas de partida e cerca de 60% da sulfonamida utilizada.

Para continuarmos a síntese de **53** fez-se necessário encontrar um grupo protetor adequado para o grupo amina da (*R*)-alilglicina. No entanto, em paralelo a esse trabalho, outros estudos desenvolvidos no grupo culminaram na síntese da tetraidrolatirina **107**, um

homólogo superior da enduracididina **54** (Esquema 2.14). Essa síntese foi realizada a partir do éster *tert*-butílico derivado da *N*-(Boc)-(*S*)-alilglicina **103**, pela formação do intermediário 1,3-oxazolidin-2-ona **104** que foi submetido às condições de aziridinação de olefinas pela geração *in situ* de iminoiodanos, catalisada por cobre.^{65,82}



Esquema 2.14. Preparação da tetraidrolatirina **107** realizada no grupo.

Durante a síntese da tetraidrolatirina **107**, Benhoud (tese de doutorado em andamento) mostrou que a proteção simultânea da função aminoácido pôde ser efetuada de maneira eficaz utilizando-se a 1,3-oxazolidin-2-ona. A utilização desse tipo de grupamento protetor possui a vantagem de ser bastante estável e apropriado à síntese de produtos naturais derivados de aminoácidos e mostrou-se compatível com as condições de aziridinação catalisada por sais de cobre. No entanto, a utilização da 1,3-oxazolidin-2-ona possui certos inconvenientes. A etapa de transformação de **106** em **107** (Esquema 2.14) somente pôde ser realizada após o "enfraqüecimento" do heterociclo, através da introdução de um grupo retirador de elétrons, como o *tert*-butoxicarbonila (Boc). Portanto, 4 etapas a mais foram necessárias para a obtenção da tetraidrolatirina **107**: ativação, clivagem, oxidação e desproteção.

Tendo em vista a similaridade estrutural existente entre a tetraidrolatirina e a alloenduracididina **53**, uma outra opção que nos pareceu viável, evitando assim os problemas de desproteção e de etapas suplementares descritos anteriormente na preparação de **107** foi

utilizar o *N,O*-acetal 1,3-oxazolidina (Figura 2.5) como grupamento protetor da função aminoácido em **74**.

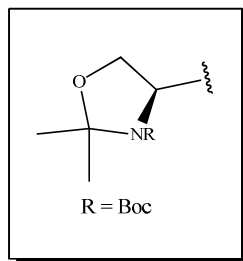
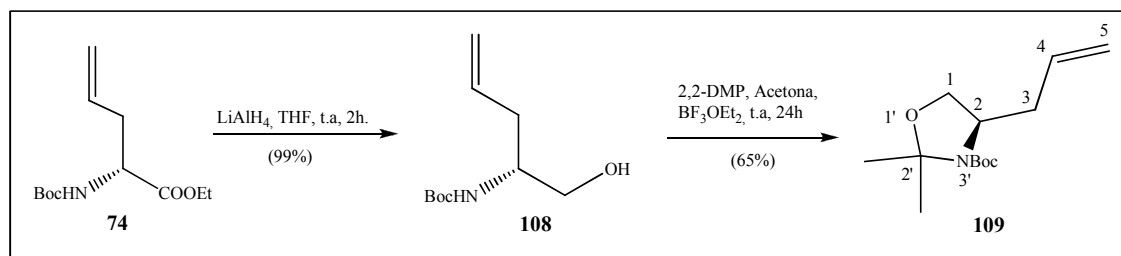


Figura 2.5. Estrutura do heterociclo *N,O*-acetal-1,3-oxazolidina.

Para a síntese de **53**, a escolha nos pareceu apropriada, uma vez que seria possível a proteção simultânea do aminoácido, com a vantagem de que a 1,3-oxazolidina poderia ser hidrolisada facilmente em meio ácido.

2.3.1.2.3. Preparação da (2*R*)-2-Alil-3'-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **109**

A síntese da 1,3-oxazolidina **109** foi realizada a partir do éster derivado da (*R*)-alilglicina **74**. Primeiramente, o grupo éster de **74** foi reduzido com LiAlH₄ em THF para fornecer o amino álcool **108** em 99% de rendimento. Em seguida, o amino álcool foi protegido sob a forma de *N,O*-acetal isopropilideno pelo tratamento com 2,2-dimetoxi propano em acetona, conduzindo à 1,3-oxazolidina **109** (64% de rendimento, em 2 etapas) (Esquema 2.15).



Esquema 2.15. Preparação da 1,3-oxazolidina derivada da alilglicina **109**.

A análise do RMN de ¹H do composto **108** (Figura 2.6) mostrou a presença de um simpleto (9H) em δ 1,43 correspondentes aos três CH₃ do grupo *tert*-butoxicarbonila, além de um multipletto entre δ 2,18-2,36 correspondente aos hidrogênios da cadeia lateral do aminoácido H-3a e H-3b. O multipletto entre δ 3,54-3,67 pode ser atribuído à superposição

dos sinais de H-1a, H-1b e H-2. Em δ 4,83 pode-se observar um sinal referente ao hidrogênio do grupo OH. Em δ 5,08-5,15 e δ 5,73-5,79 puderam ser observados os sinais referentes aos hidrogênios olefínicos H-5a, H-5b e H-4, respectivamente.

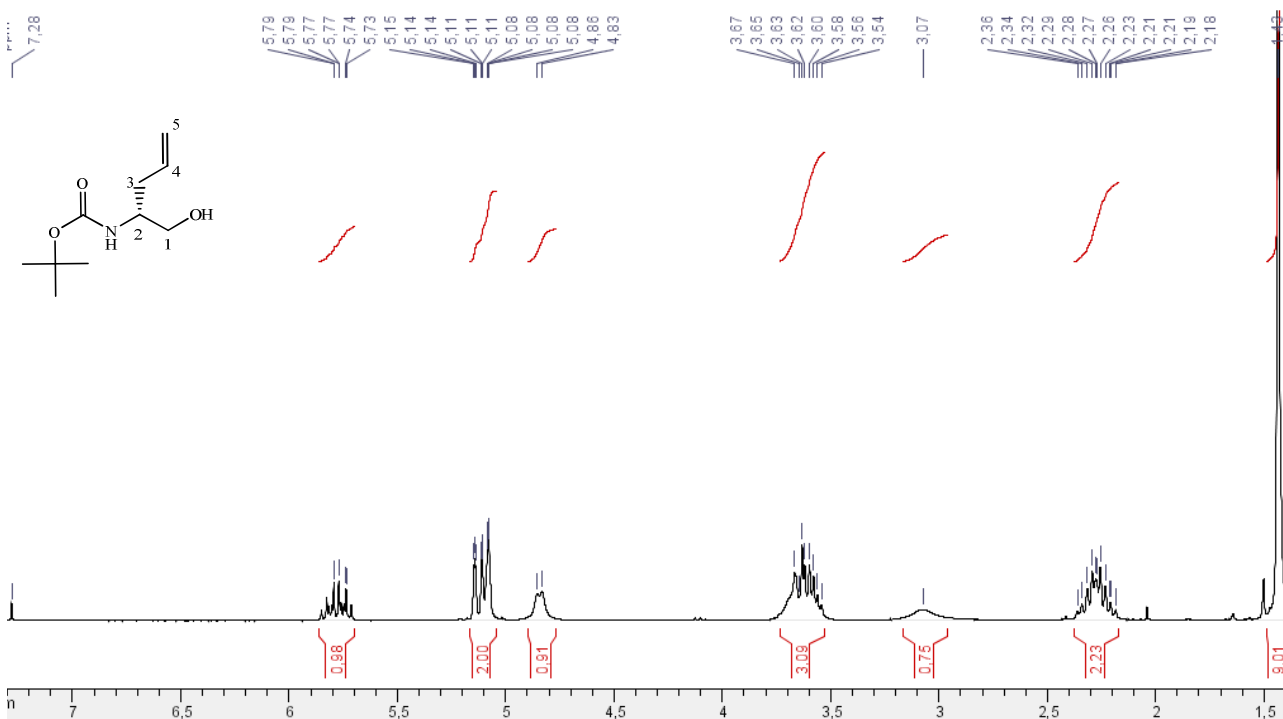


Figura 2.6. Espectro de RMN de ^1H de **108** em CDCl_3 (300MHz).

No que concerne a nomenclatura dos compostos contendo o heterociclo *N,O*-acetal 1,3-oxazolidina, segundo a IUPAC, o heterociclo deve ser considerado como a cadeia principal e os demais substituintes como ramificações. Assim o nome oficial dado ao composto **109** seria (4*R*)-4-Alil-3-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-oxazolidina (Figura 2.7a). A fim de facilitar a análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos derivados da *N,O*-oxazolidina, adotaremos aqui um sistema de numeração, não oficial, no qual a porção derivada do aminoácido foi considerada como cadeia principal (Figura 2.7b).

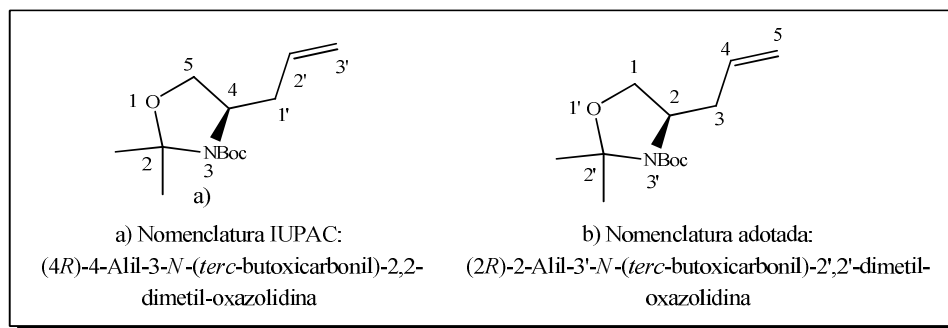


Figura 2.7: Nomenclatura de *N,O*-acetal-1,3-oxazolidinas.

No espectro de RMN de ^1H de **109** (Figura 2.8) observou-se a presença de três simpletos (15H) entre δ 1,46-1,59. A ligeira variação de deslocamento químico do sinal referente ao grupo Boc e o surgimento de sinais correspondentes a outros dois grupos CH_3 na região de δ 1,50 ppm, quando compara-se os espectros de RMN de ^1H de **108** e **109**, evidenciaram a formação do heterociclo oxazolidínico almejado.

No que concerne a estabilidade conformacional do composto **109**, o *N,O*-acetal formado é um ciclo de cinco membros sendo, portanto, flexível e capaz de assumir conformações diferentes. Esta mobilidade conformacional, juntamente com a presença de rotâmeros, fazem com que a molécula co-exista em vários estados de equilíbrio. A mobilidade conformacional influencia, na maioria dos casos, na forma dos sinais obtidos no espectro de RMN, que se apresentam como multipletos complexos.

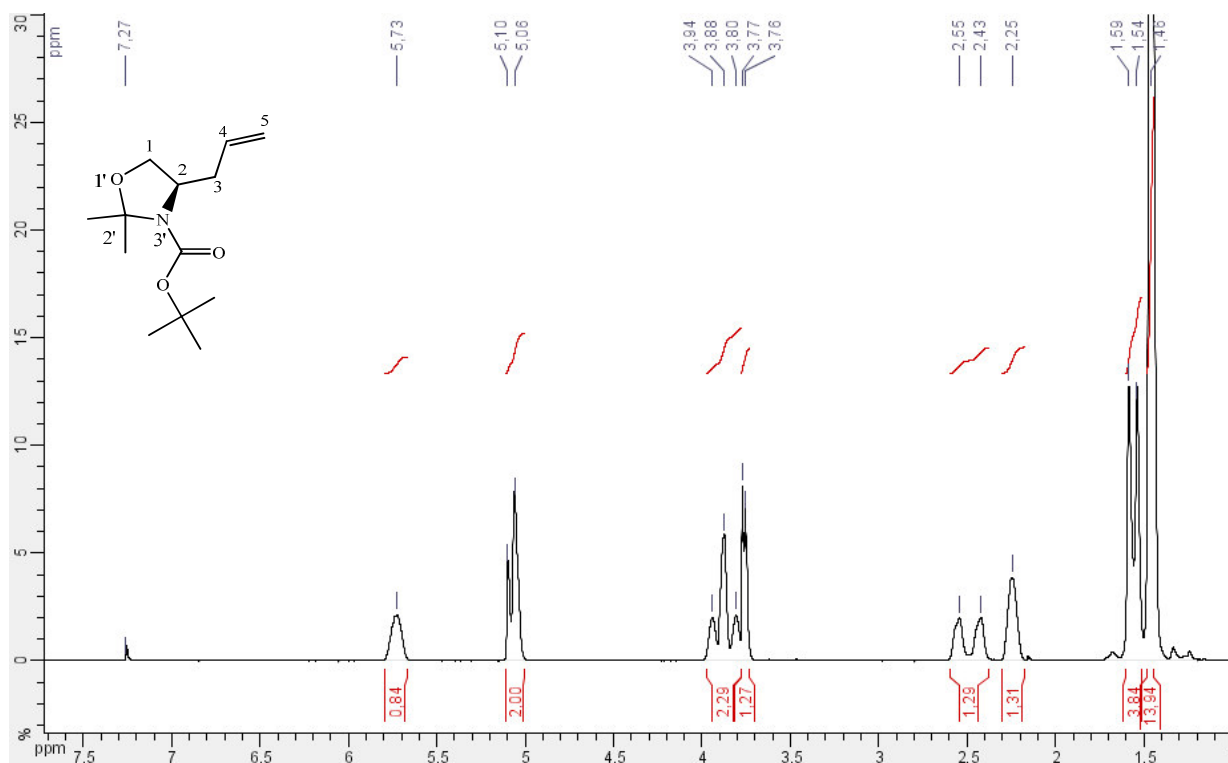
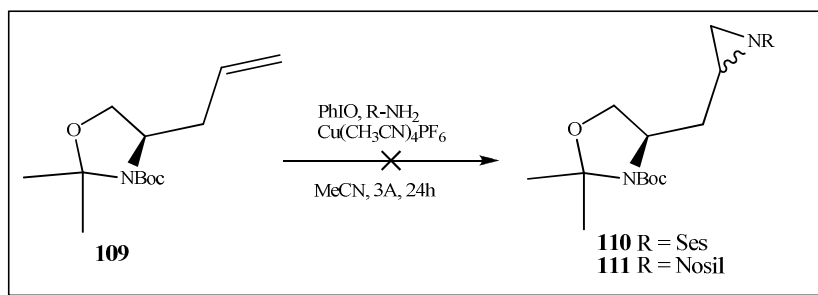


Figura 2.8. Espectro de RMN de ^1H de **109** em CDCl_3 (500MHz).

Tendo sido estabelecida a proteção, o próximo passo envolveria a transformação da dupla ligação de **109**, para a qual foi proposta a utilização da reação de aziridinação por iminoiodanos de olefinas funcionalizadas, catalisada por cobre, com o intuito de investigar a compatibilidade desse novo grupo protetor às condições da reação.

2.3.1.2.4. Aplicação das condições de aziridinação catalisada por cobre à oxazolidina **109**.

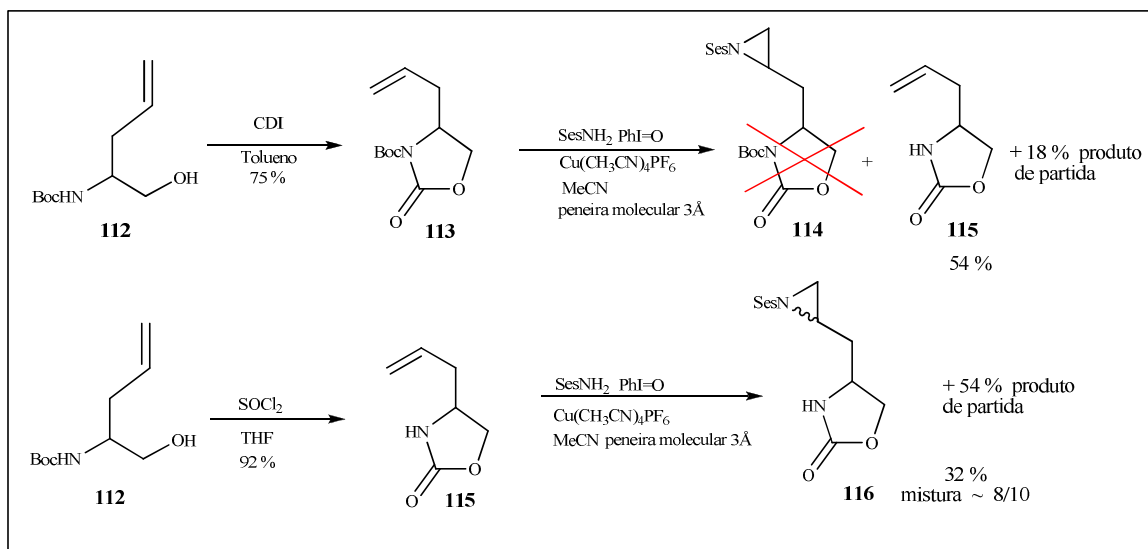
A reação de aziridinação foi testada no derivado **109** segundo as condições padrões estabelecidas.^{65,84} Para 1 equivalente de olefina foram utilizados 1,3 equivalentes de sulfonamida, 1,3 equivalentes de iodosilbenzeno, em presença de 25% molar de sal de cobre (I), utilizando-se como solvente acetonitrila destilada (Esquema 2.16). Após 24h, uma mistura complexa de produtos foi obtida e as frações isoladas foram analisadas por RMN. No entanto, nenhum dos espectros obtidos indicou a formação do produto de aziridinação desejado. Uma vez mais, foi testada a mudança da sulfonamida SesNH₂ para NsNH₂. Contudo, essa modificação não contribuiu para a formação do produto desejado.



Esquema 2.16. Tentativa de obtenção das aziridinas **110** e **111**.

Outros resultados obtidos no laboratório,⁸⁴ utilizando-se a 1,3-oxazolidin-2-ona **113**, (Esquema 2.17) mostraram que o grupo ligado ao nitrogênio na 1,3-oxazolidin-2-ona pode influenciar na formação do produto de aziridinação. A hipótese mais provável seria que grupos volumosos como *tert*-butoxicarbonila podem provocar um impedimento estérico capaz de impedir a formação da aziridina. No Esquema 2.17 pode ser observado que a aziridina **116** somente pode ser formada à partir do intermediário **115** cujo grupo Boc havia sido anteriormente removido.⁸⁴

⁸⁴ Leman. L.; *Thèse de Doctorat*, ICSN/CNRS, Gif-sur-Yvette, França, 2004.



Esquema 2.17. Influência do grupo Boc na reação de aziridinação.

2.3.1.2.5. Tentativa de clivagem seletiva do grupo Boc em **109**

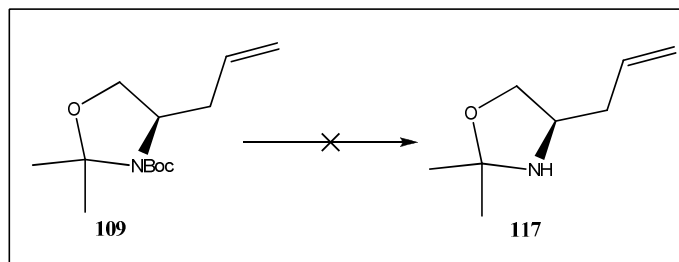
Com o intuito de se obter um intermediário 1,3-oxazolidina menos impedido estericamente, onde o método de aziridinação pudesse ser aplicado, algumas tentativas de hidrólise seletiva do grupo *tert*-butoxicarbonila foram realizadas partindo-se de **109**, visando a obtenção do composto **117** (Esquema 2.18).

Condições ácidas: (BF₃·OEt₂ 1M em diclorometano)

Condições básicas: (TBAF 1M em THF e Na₂CO₃ em DME/H₂O).

Condições Oxidantes: (NH₄)₂Ce(NO₃)₆ em MeCN.

No entanto, em nenhum dos casos foi possível obter a desproteção seletiva do grupo Boc em rendimentos satisfatórios. Durante os experimentos observou-se a formação dos produtos *N*-Boc-alilglicinol **108** e alilglicinol.



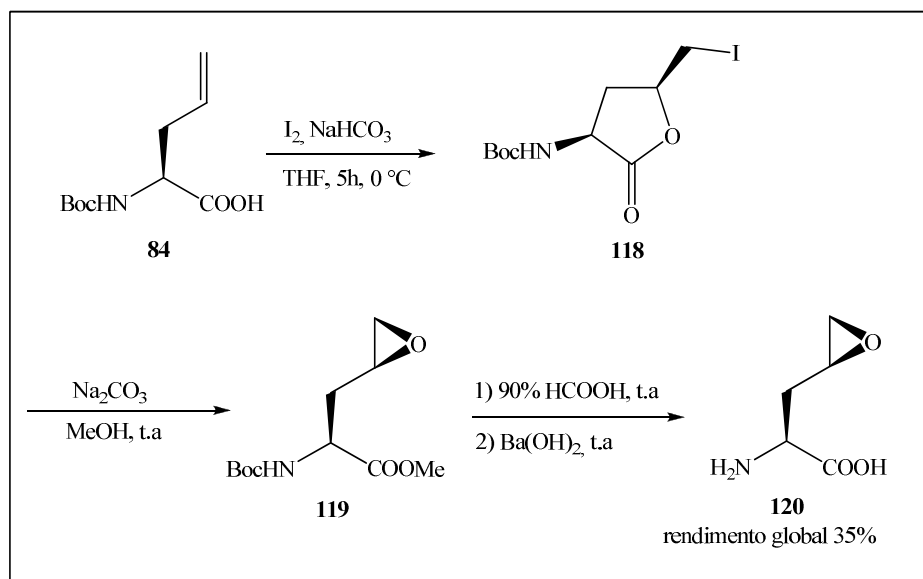
Esquema 2.18. Tentativa de hidrólise seletiva do grupo Boc.

Tendo em vista nossos resultados infrutíferos obtidos com a reação de aziridinação e as tentativas de hidrólise seletiva do grupo Boc em **109**, optou-se por abandonar essa

estratégia sintética. Para a síntese da alloenduracidina **53** fez-se necessário estabelecer a proteção da função aminoácido, para a qual outras metodologias de transformação da dupla ligação seriam testadas. Nesse momento, optou-se pela manutenção da proteção sob a forma de *N,O*-acetal oxazolidina. Portanto, a partir do composto **109** foram testadas outras vias de acesso para a obtenção da dupla funcionalidade desejada na cadeia lateral da alilglicina.

2.3.2. Reação de epoxidação

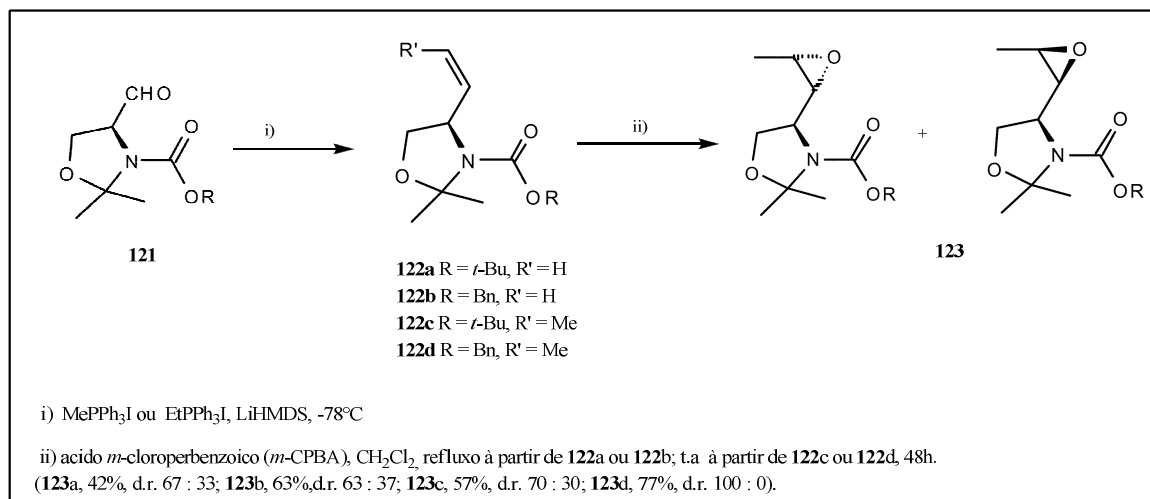
Como já foi mencionado na seção 2.2.2, existem muitos métodos de transformação de duplas ligações que foram aplicados com sucesso à alilglicina. Rutjes e colaboradores⁸⁵ mostraram que o produto de epoxidação diastereoseletiva da alilglicina pode ser obtido através de iodolactonização de **84**, seguido da abertura da lactona e subsequente ciclização à epóxido, utilizando-se Na₂CO₃ em metanol (Esquema 2.19). Em recente trabalho, Casado-Bellver e colaboradores⁸⁶ mostraram o uso do *m*-CPBA na epoxidação direta de alquenil-oxazolidinas preparadas a partir do aldeído de Garner (Esquema 2.20). No entanto, não existem exemplos no que concerne à obtenção direta de epóxi-oxazolidinas a partir da alilglicina.



Esquema 2.19. Obtenção do epóxido **120** por iodolactonização de **84**.

⁸⁵ Rutjes, F. P. J. T.; Wolf, L. B.; Schoemaker, H. E.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 4197.

⁸⁶ Casado-Bellver, F. J.; González-Rosende, M. E.; Asensio, A.; Jordá-Gregori, J. M.; Alvarez-Sorolla, A.; Sepúlveda-Arques, J.; Orena, M.; Galeazzi, R.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2002**, 1650.

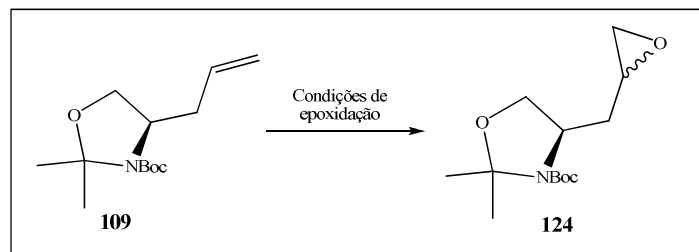


Esquema 2.20. Preparação de epóxi-oxazolidinas à partir do aldeído **121** derivado da L-serina.

Algumas condições de epoxidação direta de olefinas, inclusive a citada anteriormente no Esquema 2.20, foram aplicadas ao substrato **109**. Contudo, no que diz respeito a diastereoseletividade da reação, seria esperado a formação de uma mistura de diastereoisômeros, pois o composto **109** não possui substituintes ligados à dupla ligação que possam induzir qualquer seletividade à reação. Seria esperado também que o rendimento da reação fosse moderado, uma vez que o precursor **109** trata-se de uma olefina terminal e, portanto, bastante desativada (vide transformação de **122a** em **123a**, Esquema 2.20).

2.3.2.1. Preparação da (2*R*)-3'-*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-oxiranil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **124**

O substrato **109** foi submetido às condições clássicas de epoxidação de olefinas descritas na literatura (Esquema 2.21).⁸⁷ Os resultados podem ser vistos na Tabela 2.2.



Esquema 2.21. Preparação do epóxido **124**.

⁸⁷ Claiden, J.; Warren, S.; Greeves, N.; Wothers, P.; *Organic Chemistry*, 1ª ed., Oxford University Press: New York, 2001.

Tabela 2.2. Resultados dos experimentos de epoxidação de **109**.

Teste	Composto	Condições	Resultados
1	109	MMPP* (4 eq.), CH ₂ Cl ₂ /MeOH, t.a, 48h.	recuperação de 109
2	109	H ₂ O ₂ , NaOH, MeOH, 0°C- t.a, 24h.	recuperação de 109
3	109	<i>m</i> -CPBA 70-75% (1,5 eq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a - refluxo 24h.	degradação de 109 + traços de 124
4	109	<i>m</i> -CPBA 70-75% (2,5 eq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a - refluxo 24h.	degradação de 109 + traços de 124
5	109	<i>m</i> -CPBA 70-75% (3 eq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a - refluxo 24h.	degradação de 109 + traços de 124
6	109	<i>m</i> -CPBA 70-75% (1,5 eq.), NaHCO ₃ (2 eq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a – 4-5h.	124 (30-40%)

* MMPP: peroxifitalato de magnésio

Nos testes 1 e 2 o material de partida foi recuperado sem que houvesse formação do produto desejado. A utilização de *m*-CPBA conduziu à formação de traços do produto **124** no meio reacional. Neste caso, variações na temperatura e no número de equivalentes foram realizadas (testes 3, 4 e 5). Porém, essas mudanças não contribuíram para a formação do produto desejado. Durante os experimentos foram isolados produtos de abertura do epóxido pelo ácido *m*-clorobenzóico. Somente após a adição de 2 equivalentes de NaHCO₃ ao meio reacional (neutralização do ácido *m*-clorobenzóico) é que o epóxido **124** pode ser obtido em rendimentos de 30-40% (teste 6, Tabela 2.2).

O epóxido **124** foi preparado a partir de **109** como uma mistura inseparável de diastereoisômeros. O baixo rendimento nessa reação pode ser explicado pela formação de vários subprodutos de degradação, inclusive subprodutos de abertura do epóxido pelo ácido *m*-clorobenzóico, no meio reacional. Os experimentos mostraram que o epóxido formado se degrada facilmente no meio reacional, sendo dificilmente isolado com rendimentos superiores à 30%. Tendo em vista o baixo rendimento e a instabilidade do epóxido **124** essa via sintética foi abandonada, pois concluiu-se que o precursor **124** não nos parecia adequado a continuação da síntese de **53**.

2.3.3. Reação de dihidroxilação de alcenos⁸⁸

a) Histórico

A oxidação de olefinas é um poderoso método de incorporação de grupos funcionais em compostos orgânicos. A necessidade de se promover o controle estereoquímico dessas reações contribuiu para o desenvolvimento de protocolos assimétricos de reações de dihidroxilação. Os métodos mais comuns de dihidroxilação de alcenos são baseados em processos catalisados por metais de transição, onde ligantes quirais são utilizados para aumentar a estereoseletividade da reação. Em 1979, Sharpless e Hentges^{88a} desenvolveram um método de obtenção enantioselectiva de dióis vicinais pela dihidroxilação direta de olefinas.

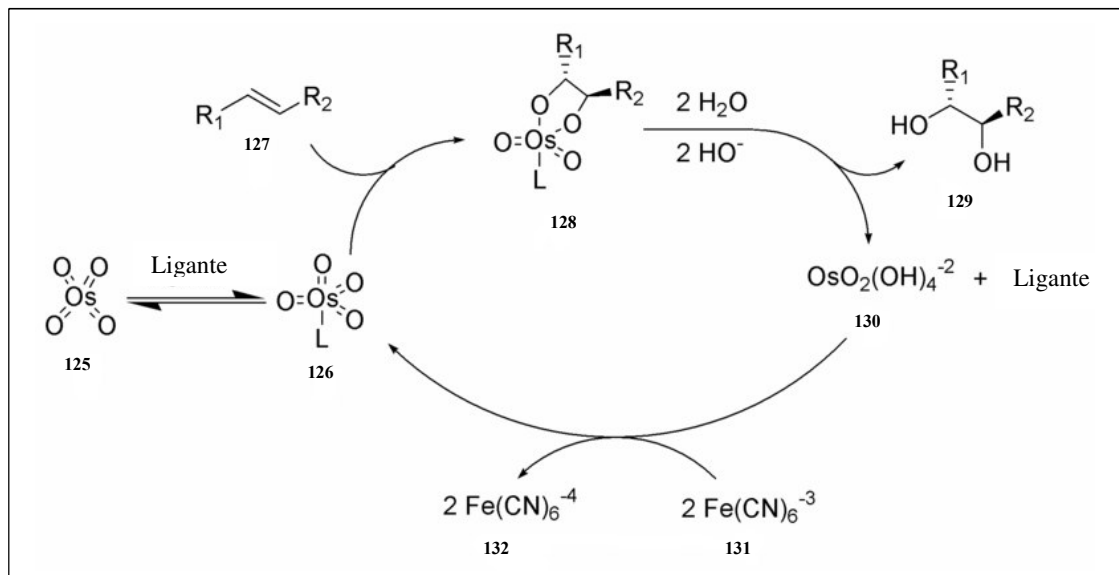
Nas reações de dihidroxilação de olefinas catalisadas por ósmio dois protocolos diferentes podem ser adotados dependendo do co-oxidante e da mistura de solventes utilizada. No protocolo de Upjohn^{88b} o óxido de *N*-metilmorfolina (NMO) é usado como co-oxidante do ósmio (OsO₄) e a reação se passa em uma mistura de acetona/água. O protocolo de dihidroxilação assimétrica desenvolvido e aperfeiçoado por Sharpless consiste no uso de tetróxido de ósmio, um ligante quiral, normalmente um derivado da cinchona, um co-oxidante, o hexacianoferrato de potássio (K₃[Fe(CN)₆]) e K₂CO₃. A reação ocorre em um sistema de solventes heterogêneo (*tert*-butanol/água) onde a osmiação da olefina e as etapas de re-oxidação do ósmio são realizadas em diferentes fases do sistema. Aperfeiçoamentos no método possibilitaram a utilização do K₂[OsO₂(OH)₄] , ao invés do OsO₄ (extremamente tóxico e caro), em quantidades catalíticas, juntamente com o co-oxidante K₃[Fe(CN)₆]. Essas modificações trouxeram melhorias para performance do método de dihidroxilação assimétrica, uma vez que foram reduzidas as interferências do segundo ciclo catalítico presentes no processo.

b) Mecanismo

O modo de interação entre tetróxido de ósmio e a olefina levando à formação do intermediário ósmio-glicolato **128** (Esquema 2.22) tem sido alvo de controvérsias ao longo do tempo. A proposta de um mecanismo "concertado" através de cicloadição [3+2] entre os reagentes é a mais aceita.^{88c} Na primeira etapa do ciclo catalítico o complexo tetróxido de ósmio-ligante **126** reage com a olefina **127** para gerar o intermediário ósmio-glicolato **128**. Esse complexo sofre reoxidação de Os(VI) para Os(VIII) glicolato e, em seguida, é

⁸⁸ a) Hentges, S. G.; Sharpless, K. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4263 b) Schneider, W. P.; McIntosh, A. V. Jr.; *US Pat. Appl.* 2769824, **1956**. (CA 51:8822e) c) Zaitzev, A. B.; Adolfsson, H.; *Synthesis* **2006**, *11*, 1725.

hidrolisado ao diol **129** desejado. Quando o co-oxidante $K_3[Fe(CN)_6]$ é utilizado na diidroxilação assimétrica a reação se passa em um sistema bifásico (normalmente *t*-butanol-água), onde a osmiação da olefina e a reoxidação do ósmio ocorrem em fases diferentes. A reação entre o complexo **126** e a olefina **127** ocorre na fase orgânica. A hidrólise do intermediário **128** é responsável por liberar o diol **129** e espécies derivadas de ósmio(VI), que são solúveis em água. A reoxidação para Os(VIII), que completa o ciclo catalítico, ocorre em meio aquoso básico onde o OsO_4 formado pode ser reciclado.



Esquema 2.22. Ciclo catalítico da diidroxilação assimétrica.

c) Ligantes Quirais

Os ligantes quirais usados na reação de diidroxilação são em sua maioria substâncias derivadas da Cinchona (Figura 2.9). Ligantes como diidroquininil ftalazina $(DHQ)_2PHAL$ e diidroquinidinil ftalazina $(DHQD)_2PHAL$ foram sintetizados e utilizados na diidroxilação de diversos tipos de olefinas, a fim de aumentar a enantioseletividade da reação de diidroxilação. Deve ser ressaltado que atualmente a utilização de ligantes de segunda geração (aqueles que possuem um grupo espaçador entre as porções alcalóides) pode ser determinante para a seletividade da reação. Uma compilação de dados de compatibilidade do substrato olefínico com o tipo de ligante quiral pode ser encontrada na Tabela 2.3.

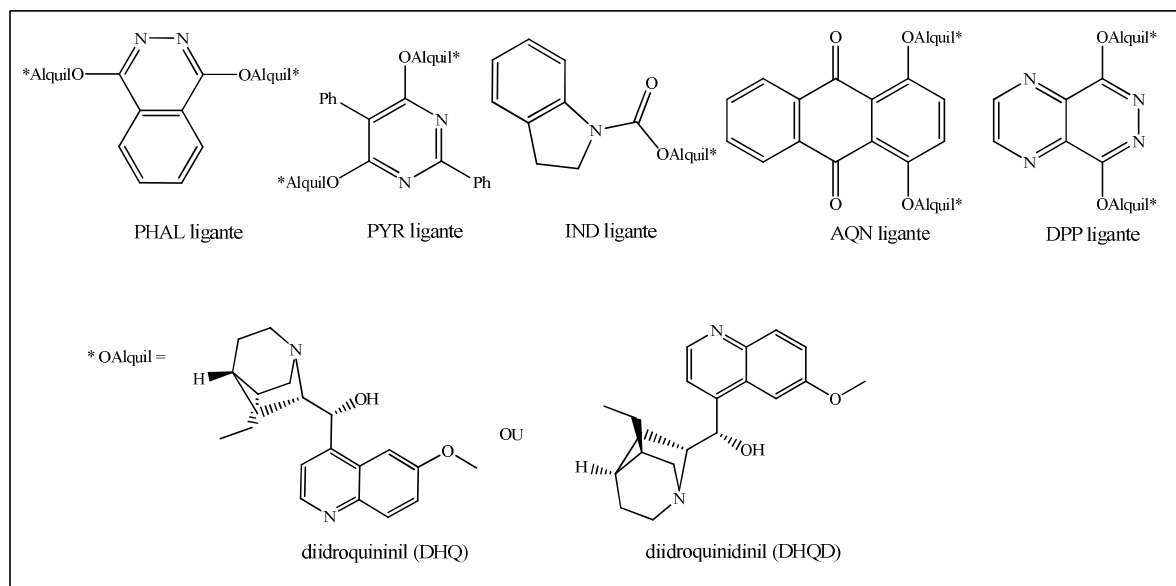


Figura 2.9. Ligantes derivados da Cinchona.

Tabela 2.3. Compatibilidade do substrato olefínico com os diferentes tipos de ligantes quirais.

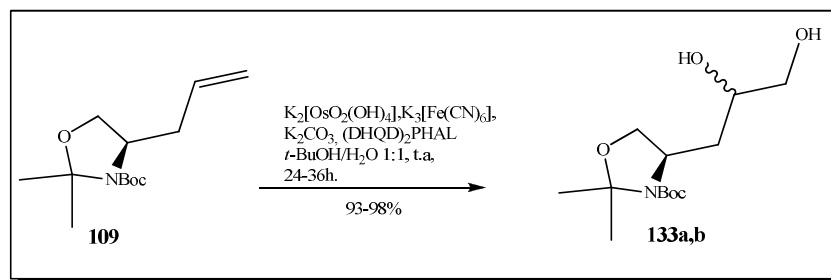
Tipo de Olefina						
Ligante preferido	Aromático: DPP, PHAL	Aromático: DPP, PHAL	Acíclico: IND	Aromático: DPP, PHAL	DPP, PHAL, AQN	PYR, PHAL
	Alifático: AQN	Alifático: AQN	Cíclico: PYR, DPP, AQN	Alifático: AQN		
	Ramificado: PYR	Ramificado: PYR				

2.3.3.1. Síntese do (2*R*)-3'-*N*-(*terc*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-diidroxiopropil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **133**.

O intermediário **109** foi submetido às condições de dihidroxilação assimétrica de Sharpless.⁸⁹ Para 1 equivalente de olefina foram utilizados 3 equivalentes de $K_3[Fe(CN)_6]$, 3 equivalentes de K_2CO_3 , 0,4 mol % do ligante diidroquinidinil ftalazina (DHQD)₂PHAL e 1 mol % de $K_2[OsO_2(OH)_4]$ em uma mistura heterogênea de *t*-butanol/água (1/1) (Esquema

⁸⁹ Katsuki T.; *Asymmetric Oxidation Reaction: a practical approach in chemistry*; 1ªed., Oxford University Press: New York, 2001.

2.23). Após cerca de 24-36h o respectivo composto dihidroxilado **133** foi obtido em 93-98% de rendimento como uma mistura (54:46) de diastereoisômeros, determinada por CG/MS.



Esquema 2.23. Reação de dihidroxilação aplicada ao substrato **109**.

Foi observado durante a preparação de **133** a partir de **109** que a escala máxima de trabalho para fornecer em rendimentos de 93-98% foi de 1,0-1,5 g. Durante essa etapa da síntese a mistura de diastereoisômeros de **133** (Esquema 2.23) foi separada através de sucessivas purificações em coluna cromatográfica para fornecer os compostos **133a** e **133b**.

Por questões de simplificação serão mostrados os espectros de RMN do diastereoisômero majoritário **133a**. A partir da análise do espectro de RMN de ^1H do diastereoisômero **133a** (Figura 2.10) pode-se observar a presença de dois simpletos (16H) entre δ 1,50-1,60 correspondentes aos hidrogênios dos grupos metila da oxazolidina e do Boc, bem como a superposição do hidrogênio H-3a da cadeia lateral. Foram observados, também, dois dupletos duplos entre δ 3,46-3,52 e δ 3,57-3,62 correspondentes a H-5a ($J_{5a,4}=7,5\text{Hz}$ e $J_{5a,5b}=11,1\text{Hz}$) e H-5b ($J_{5b,4}=2,9\text{Hz}$ e $J_{5b,5a}=11,1\text{Hz}$), respectivamente. Um multipletto entre δ 3,65-3,69 correspondente a H-1a e H-4, um dupletto duplo em δ 4,01 correspondente à H-1b ($J_{1b,2}=5,3\text{Hz}$ e $J_{1b,1a}=8,7\text{Hz}$), além de um multipletto entre δ 4,21-4,27 que pode ser atribuído à H-2.

No espectro de RMN de ^{13}C de **133a** (Figura 2.11) pode-se observar três sinais entre δ 24,5-28,5 correspondentes aos grupos metila da oxazolidina e do Boc, um sinal em δ 39,1 correspondente à C-3, um sinal em δ 54,2 atribuído ao carbono ligado ao nitrogênio C-2, bem como três sinais entre δ 66,6 e 68,6 que foram atribuídos aos carbonos C-1, C-5 e C-4, respectivamente. A correta atribuição dos sinais de C-1, C-5 e C-4 pode ser realizada à partir do espectro de DEPT 135 do composto **133a** (Figura 2.12) que mostrou a presença do sinal referente ao carbono metínico (C-H, C-4) em δ 68,6. Os sinais correspondentes aos dois carbonos quaternários $\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$ e $\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$ (Figura 2.13) podem ser vistos em δ 81,5 e 94,0 respectivamente, assim como o sinal da carbonila do grupo *terc*-butoxicarbonila em δ 154,4.

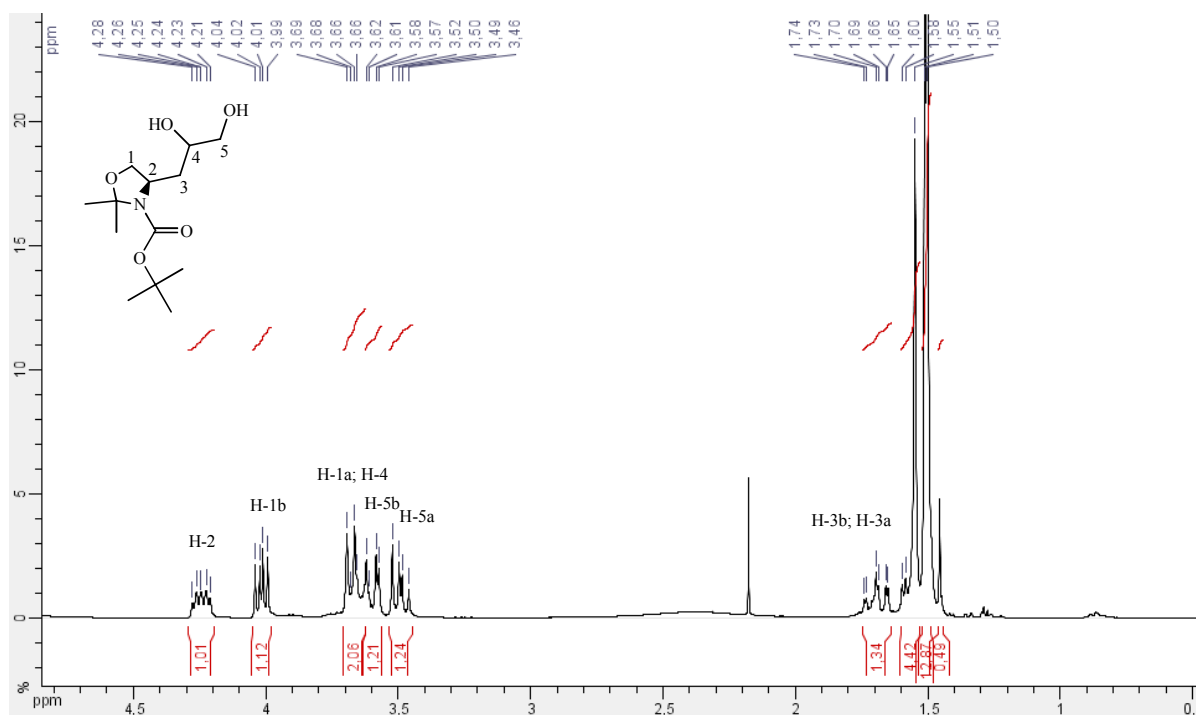


Figura 2.10. Espectro de RMN de ^1H do diastereoisômero **133a** em CDCl_3 (300MHz).

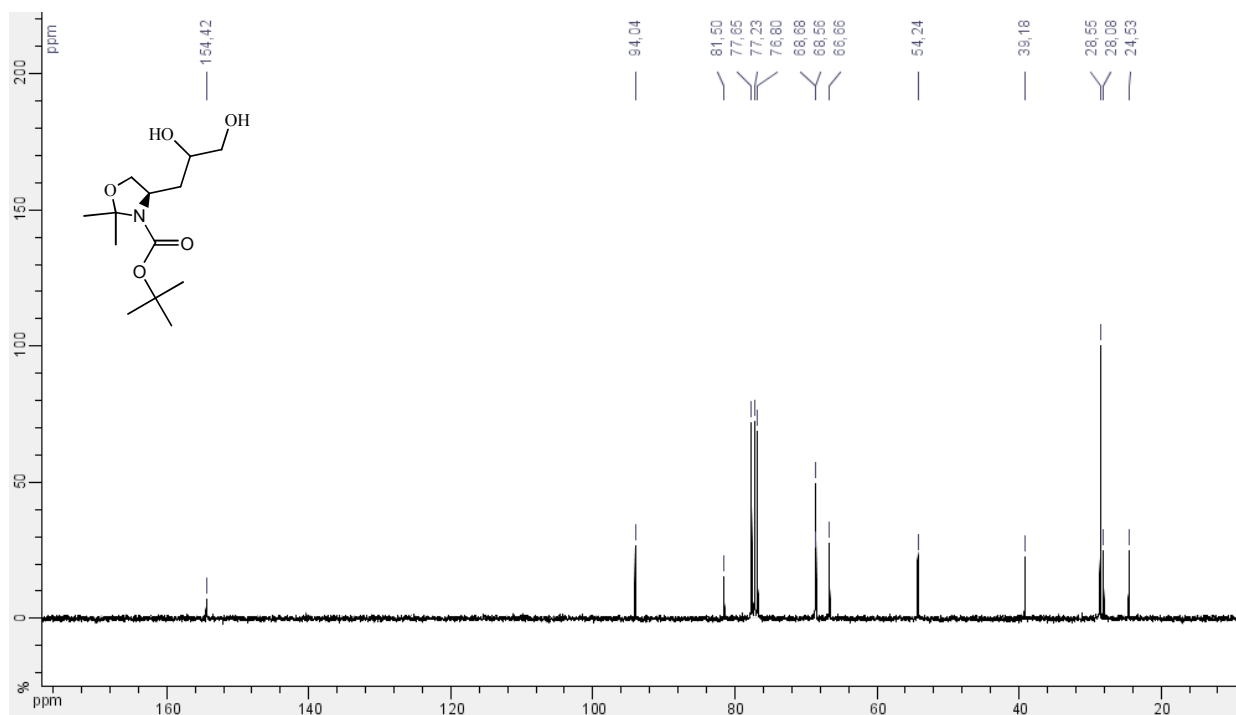


Figura 2.11. Espectro de RMN de ^{13}C de **133a** em CDCl_3 (75MHz).

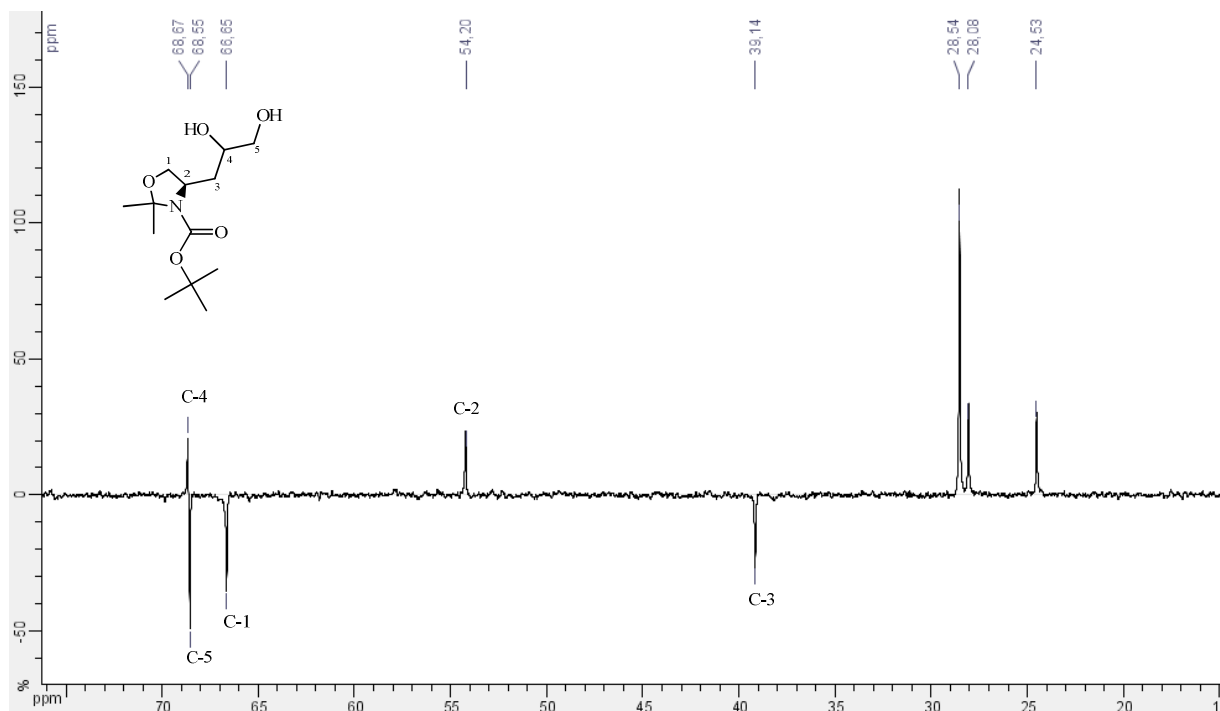


Figura 2.12. Espectro de RMN de DEPT 135 de **133a** em CDCl₃ (75MHz).

Com o intuito de se melhorar a diastereoseletividade da reação, foi investigada a modificação do ligante quiral [(DHQD)₂PHAL, AD-mix β para (DHQ)₂PHAL, AD-mix α] utilizando-se as mesmas condições descritas anteriormente. A partir dos experimentos, pode-se concluir que a mudança do ligante não promoveu alteração na diastereoseletividade da reação de diidroxilação. Foram observadas apenas pequenas variações no rendimento das reações sendo que o sistema AD-mix β conduziu aos melhores resultados.

Sobre a baixa seletividade do método de diidroxilação assimétrica de Sharpless de **109**, empregando-se o sistema AD mix β foi possível supor que sua interação com o complexo **126** (Esquema 2.22) ocorreria pela face β. Contudo, a aproximação por ambas as direções (Sul ou Norte) é possível como pode ser previsto pelo modelo mnemônico proposto por Sharpless (Figura 2.13). O impedimento provocado pelos substituintes M e S é que determina a seletividade da reação. No composto **109** os substituintes M e S são hidrogênios, grupos pequenos e, portanto, incapazes de induzir qualquer seletividade à reação de diidroxilação.

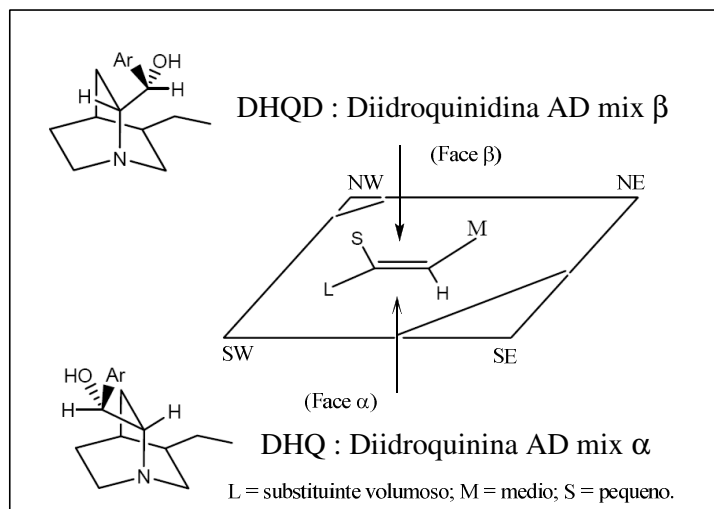
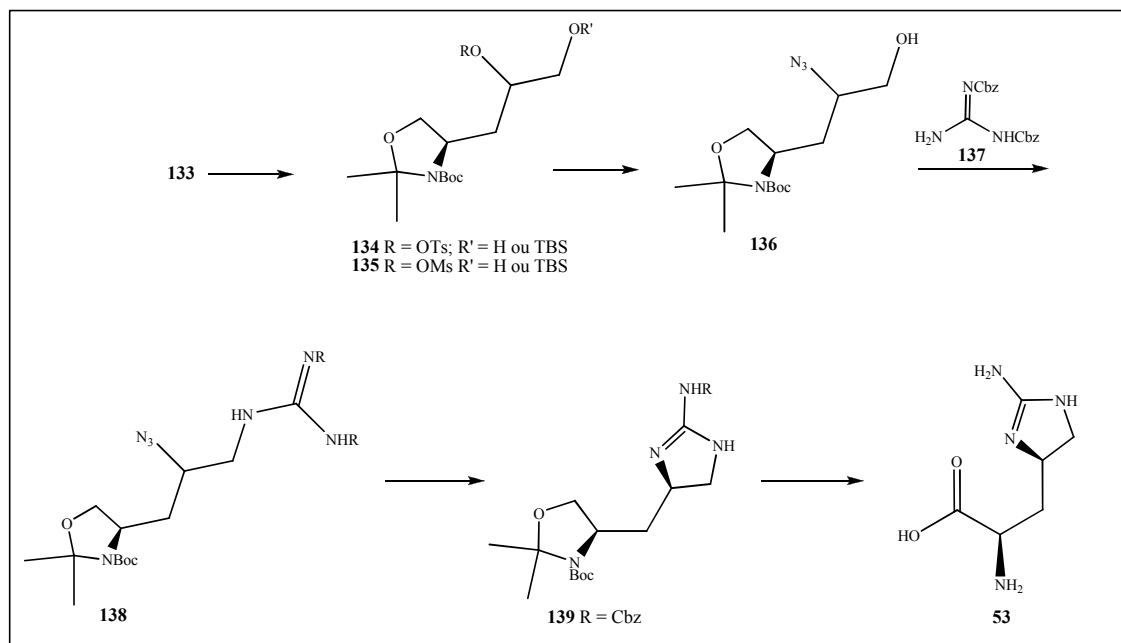


Figura 2.13. Modelo mnemônico usado na previsão da seletividade da reação de dihidroxilação.

2.3.3.2. Funcionalização das hidroxilas do composto **133**

a) Primeira Estratégia Sintética

Tendo em vista a obtenção do intermediário dihidroxilado **133** em bons rendimentos, a primeira estratégia proposta para a síntese de **53** consistiria na obtenção do composto azido álcool que poderia ser acoplado, via reação de Mitsunobu, com a *N,N'*-di-Cbz-guanidina. A redução do grupo azido, seguida da ciclização intramolecular do intermediário obtido nos permitiria obter a porção guanidina protegida, evitando assim problemas durante as etapas de purificação. Finalmente, as etapas de desproteção da oxazolidina e oxidação do amino álcool formado conduziriam à **53** (Esquema 2.24).



Esquema 2.24. Plano de síntese para a obtenção da guanidina protegida **139** a partir de **133**.

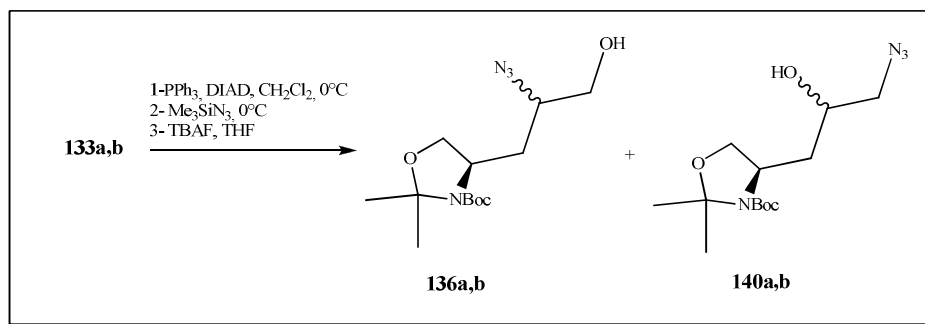
2.3.3.2.1. Tentativas de preparação do azido álcool **136**

Para a síntese do composto **136** partindo-se do diol **133** (mistura de diastereoisômeros) foram testadas condições que nos permitissem obter regioseletivamente o derivado azido álcool em que grupo azido estivesse ligado ao átomo de carbono secundário C-4.

1ª Tentativa

A metodologia "one pot" de azidação regioseletiva de 1,2-dióis utilizando-se azidotrimetilsilano (Me_3SiN_3) via reação de Mitsunobu foi aplicada ao substrato **133** segundo protocolo descrito por He e colaboradores⁹⁰ (Esquema 2.25). Para 1 equivalente do diol **133** foram utilizados 1,3 equiv. de trifetilfosfina (PPh_3), 1,5 equiv. de diazocarbonylato de diisopropila (DIAD) e 1,3 equiv. de Me_3SiN_3 . A mistura de **133** e PPh_3 foi agitada em diclorometano à 0 °C durante 40 minutos. Em seguida DIAD foi adicionado gota à gota e a reação permaneceu sob agitação durante 3h quando o azido-trimetilsilano foi adicionado e a reação permaneceu sob agitação durante 1 noite.

⁹⁰ He, L.; Wanunu, M.; Byun, H. S.; Bittman, R.; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6049.



Esquema 2.25. Tentativa de obtenção do derivado azido álcool **136a,b**.

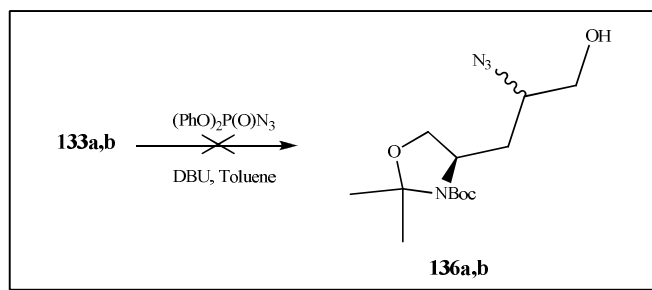
Durante a realização do experimento "one pot" houve a recuperação de material de partida como produto majoritário e de uma mistura inseparável dos 4 possíveis produtos **136a,b** e **140a,b**, após a etapa de hidrólise do produto com TBAF. A etapa de purificação tornou-se bastante laboriosa pois a hidrazinadicarboxilato de diisopropila, formada como subproduto da reação de Mitsunobu, sempre era detectada como contaminante dos produtos recuperados. Para contornar os problemas com a purificação dos produtos formados foi tentada a purificação do intermediário sililado em uma "plog de sílica" (sucessivas lavagens com mistura de heptano/AcOEt), antes da etapa final de hidrólise com TBAF. Mais uma vez, o diol de partida foi recuperado como produto majoritário (30%), juntamente com traços dos produtos **136a,b** e **140a,b**, contaminados com a hidrazina (~28%). A partir destes resultados, supõe-se que possa ter havido degradação dos intermediários sililados durante a etapa de purificação por coluna de sílica, uma vez que a instabilidade de intermediários sililados frente a purificações por coluna de sílica já foi relatada na literatura.

2ª Tentativa

Um segundo experimento foi realizado utilizando-se as condições estabelecidas por Thompson e colaboradores⁹¹ onde o difenilfosforazidato [(PhO)₂P(O)N₃, DPPA] foi utilizado como alternativa às condições de Mitsunobu descritas anteriormente (Esquema 2.26).

A mistura de dióis **133a,b** e o DPPA (1,2 equiv.) foram dissolvidos em tolueno. À mistura foram adicionados 1,2 equivalentes de DBU e a reação permaneceu sob agitação durante 24h à temperatura ambiente e 5h à 80°C. Após tratamento e purificação 90% do diol de partida foi recuperado.

⁹¹ Thompson, A. S.; Humphrey, G. R.; DeMarco, A. M.; Mathre, D. J.; Grabowski, E. J. J.; *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5886.

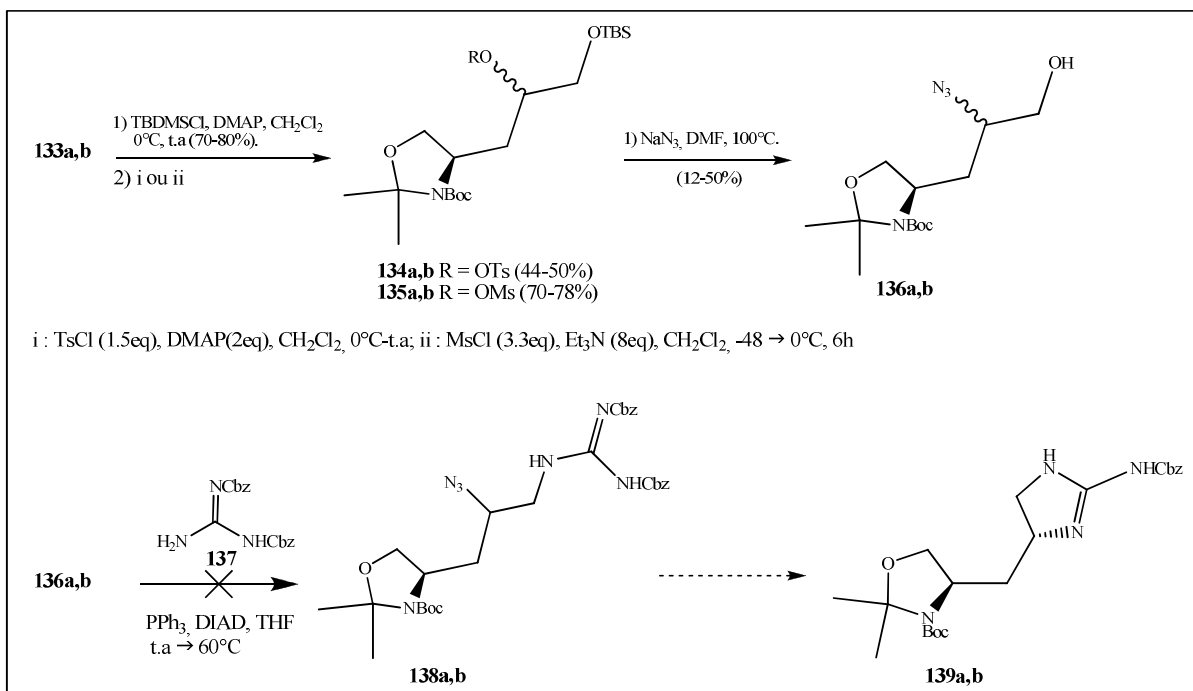


Esquema 2.26. Segunda tentativa de preparação de **136a,b**.

Como as tentativas de obtenção direta dos compostos **136a,b** não nos conduziram aos resultados desejados, optamos por realizar primeiramente a proteção da hidroxila primária em **133a,b** e, através de sucessivas transformações, obter o grupo azido na posição secundária. Sob nosso ponto de vista, essa estratégia, apesar de mais longa, nos permitiria obter **136a,b** sem maiores problemas.

Os intermediários sulfonatos **134a,b** e **135a,b** foram preparados a partir da mistura de diastereoisômeros de **133**. Inicialmente foi realizada a proteção da hidroxila primária utilizando-se cloreto de *tert*-butildimetilsilila (TBDMSCl), DMAP em diclorometano (Esquema 2.27). Durante as reações posteriores de substituição nucleofílica de **134a,b** e **135a,b** por azida, foi observada a desproteção do grupo TBS sob as condições utilizadas, sendo o composto azido álcool **136a,b** obtido em rendimentos de 12-50%. Tendo preparado o intermediário azido álcool, a reação-chave de acoplamento entre **136a,b** e o derivado *N,N'*-di-Cbz-guanidina **137** foi testada (Esquema 2.28). Primeiramente, o intermediário **136a,b** foi submetido às condições de Mitsunobu,⁹² sendo o intermediário **137** adicionado lentamente ao meio reacional à 0°C. Após 12 h à temperatura ambiente, o material de partida foi recuperado e nenhum traço do produto **138a,b** desejado foi observado.

⁹² Feichtinger, K.; Sings, H. L.; Baker, T. J.; Matthews, K.; Goodman, M.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8432.

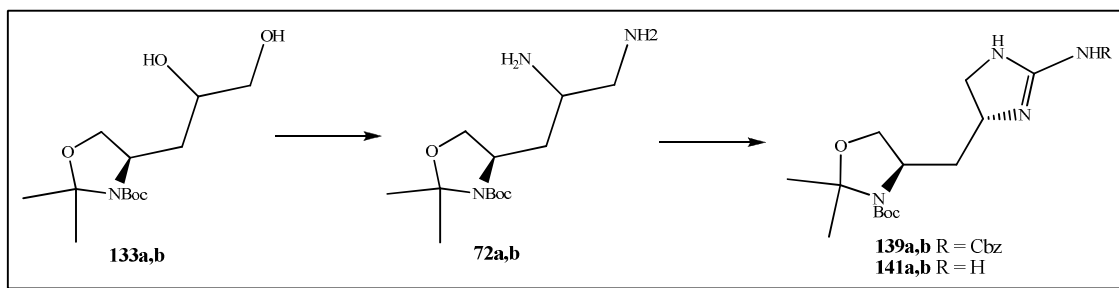


Esquema 2.27. Tentativa de obtenção de **138a,b**.

Os resultados infrutíferos obtidos durante a etapa-chave de acoplamento entre o composto **136a,b** e o intermediário **137** nos levaram a planejar uma nova estratégia sintética partindo-se de **133a,b**.

b) Segunda Estratégia Sintética

A partir de **133a,b**, uma segunda estratégia foi proposta para a síntese de **53**. Essa estratégia consistiria na transformação concomitante das funções presentes na cadeia lateral de **133a,b** para a obtenção de um intermediário diaminado **72a,b** (Esquema 2.28). Nessa proposta um precursor disulfonato (dimesilato ou ditosilato) seria preparado a partir do diol **133a,b**. Em seguida, a substituição de ambos os grupos sulfonato por azida forneceria o intermediário diazida que, posteriormente, seria reduzido conduzindo ao composto diaminado **72a,b**. A etapa-chave desta estratégia consistiria na formação da porção 2-aminoimidazolino a partir da ciclocondensação de um dieletrófilo como *S*-metil-*N,N'*-bis(alcoxicarbonil)isotiuréia ou brometo de cianogênio, sobre a diamina **72a,b**, para formar a guanidinas **139a,b** ou **141a,b** desejadas (Esquema 2.29). Em um primeiro momento, teve-se como objetivo obter a porção guanidina protegida a fim de evitar os problemas de purificação já mencionados anteriormente. Finalmente, as etapas de desproteção e oxidação do amino álcool conduziriam à alloenduracididina **53**.

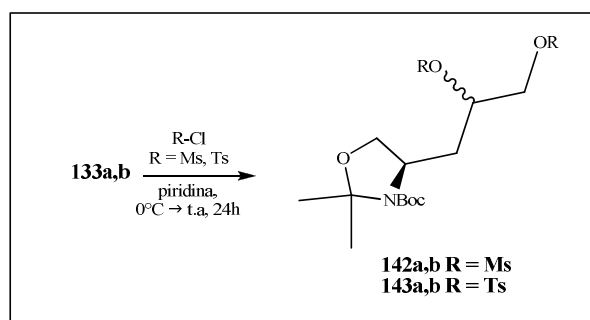


Esquema 2.28. Estratégia sintética proposta para a obtenção dos compostos **139** e **141**.

2.3.3.2.2. Preparação dos derivados sulfonatos **142a,b** e **143a,b**

A síntese dos intermediários **142a,b** e **143a,b** (Esquema 2.29) foi realizada com o intuito de se investigar qual seria o melhor grupo de saída, nas posições C-4 e C-5, para as reações posteriores de substituição pelo grupo azido.

A síntese do intermediário dimesilado **142a,b** foi realizada a partir da reação de **133a,b** com cloreto de metanossulfonila em piridina à 0°C → temperatura ambiente durante 24h (Esquema 2.29). Durante a realização dos experimentos foi observado que um largo excesso (10 equiv.) de cloreto de mesila foi necessário para a obtenção do composto **142a,b** em apenas 17% de rendimento, como uma mistura inseparável de diastereoisômeros. Acredita-se que o intermediário dimesilato, por ser muito reativo, sofre degradação ainda no meio reacional, o que não permitiu seu isolamento em rendimentos satisfatórios. Como o intermediário **142a,b** foi obtido em baixos rendimentos, o composto **143a,b** também foi preparado a partir de **133a,b** utilizando-se cloreto de tosila, DMAP (5 equiv.) em diclorometano à 0°C por 4h (Esquema 2.29). A mistura de diastereoisômeros **143a,b** foi obtida em 86% de rendimento.



Esquema 2.29. Síntese dos intermediários sulfonatos **142a,b** e **143a,b**.

Tendo sido obtido os melhores rendimentos na preparação do intermediário ditosilato **143a,b** as condições estabelecidas anteriormente para a mistura foram aplicadas a cada diastereoisômero individualmente.

Os intermediários **143a** e **143b** foram obtidos em rendimentos de moderados a satisfatórios (85% e 58%) a partir dos compostos **133a** e **133b** respectivamente, por reação com cloreto de tosila e DMAP em diclorometano à 0°C (Esquema 2.30).⁹³

No espectro de RMN de ¹³C de **143a** observou-se a duplicação dos sinais, que foi atribuída a presença de rotâmeros, devido à rotação do grupo *terc*-butoxicarbonila em torno da ligação C-N. O aparecimento de um sinal em δ 21,7, atribuído ao grupo metila ligado ao anel aromático (Ar-CH₃) e os sinais na região de carbono aromático entre δ 127,8-145,1 (C-2'' e C-6'', C-3'' e C-5'', C-4'' e C-1'') evidenciaram a substituição das duas hidroxilas por grupos tosila. Os sinais referentes aos carbonos da cadeia lateral puderam ser observados entre δ 34,7-69,8, bem como os sinais referentes aos carbonos quaternários pertencentes à oxazolidina e ao Boc em 80,1 e 80,4 (C-(CH₃)₃) e 93,0 e 93,5 (C-(CH₃)₂), respectivamente. O espectro de DEPT 135 possibilitou a inequívoca distinção entre os carbonos C-4 e C-5 em **143a** (Figura 2.14).

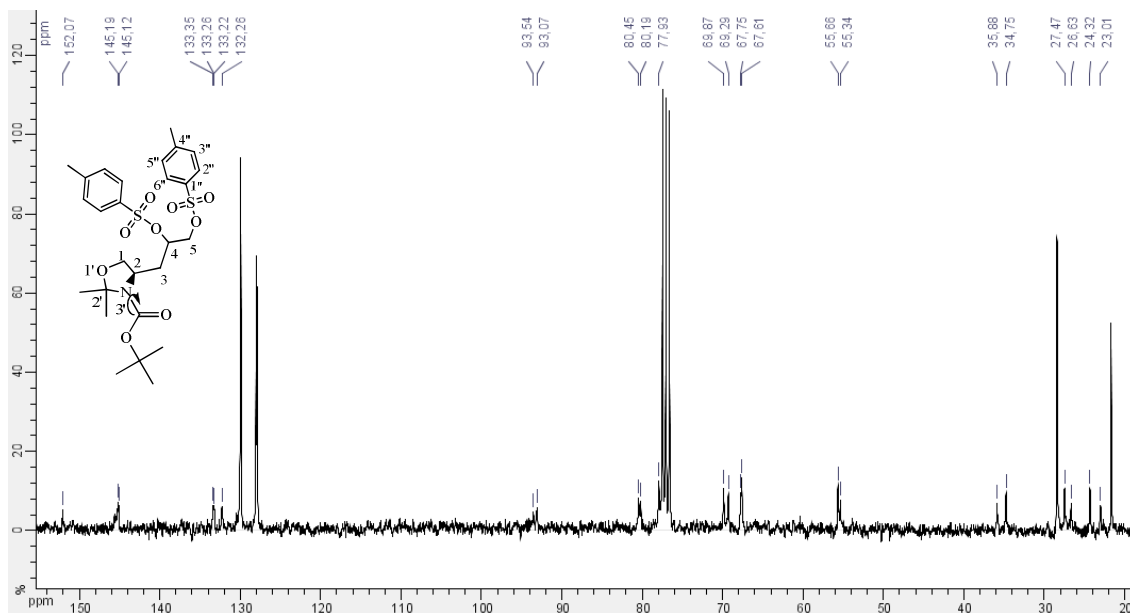


Figura 2.14. Espectro de RMN de ¹³C de **143a** em CDCl₃ (75MHz).

⁹³ El-Essawy, F. A.; *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2005**, *24*, 1265.

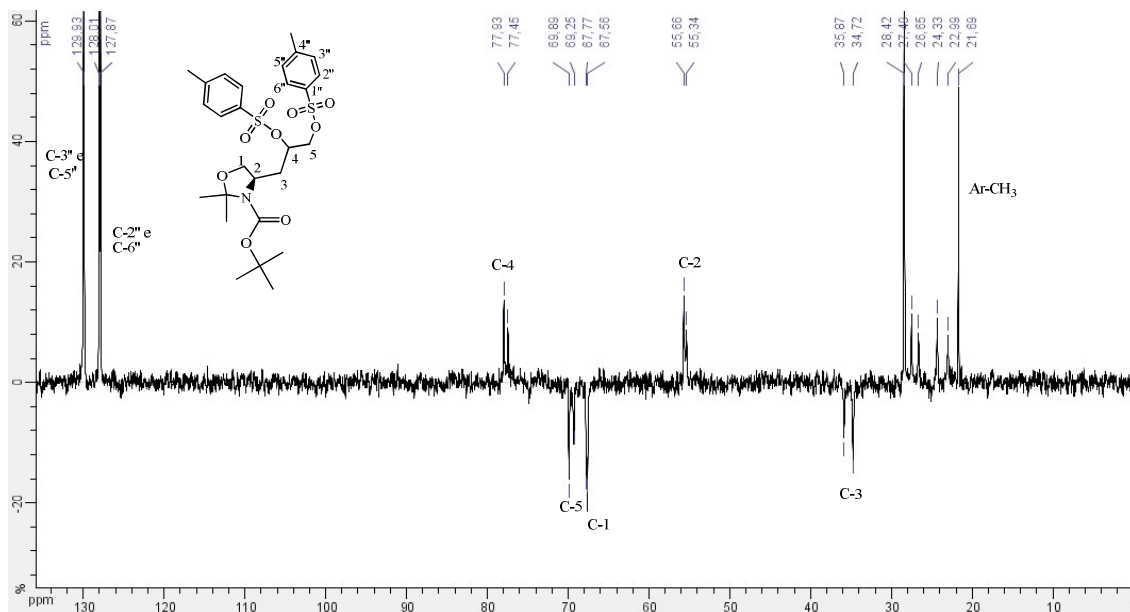
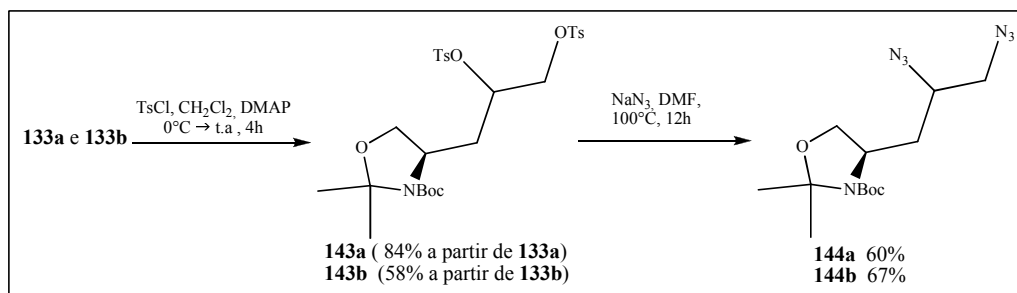


Figura 2.15. Espectro de DEPT 135 de **143a** em CDCl_3 (75MHz).

2.3.3.2.3. Preparação das diazidas **144a** e **144b**

A preparação das diazidas **144a** e **144b** foi realizada pelo tratamento dos ditosilados **143a** e **143b** com 3 equivalentes de azida de sódio em DMF à 100°C por 12 h. As diazidas **144a** e **144b** foram assim obtidas em 60% e 67%, de rendimento, respectivamente (Esquema 2.30).⁹³



Esquema 2.30. Preparação das diazidas **144a** e **144b**.

A partir da análise do espectro de IV dos compostos **144a** e **144b** (Figura 2.16) foi possível observar a substituição dos grupos tosilato por azido devido ao surgimento de uma banda forte de absorção em 2099 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento assimétrico das ligações $\text{N}=\text{N}^+=\text{N}^-$.

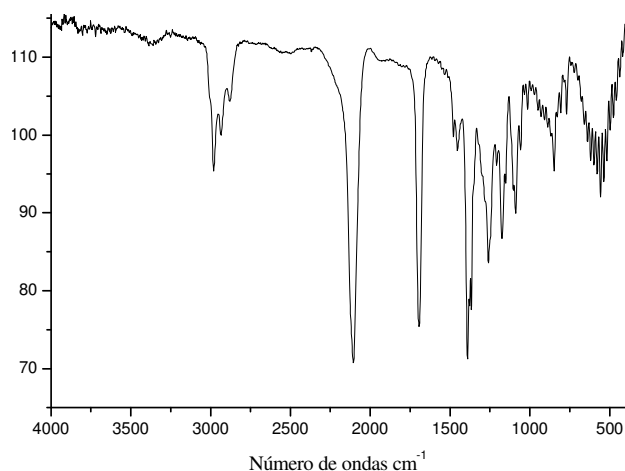


Figura 2.16. Espectro de Infravermelho de **144a**.

2.3.3.2.4. Preparação dos intermediários diaminados **145a** e **145b** por redução das diazidas.

A fim de encontrar as melhores condições para reduzir as diazidas **145a** e **145b** os experimentos descritos na Tabela 2.4 foram realizados a partir da mistura de diastereoisômeros de **144a,b**.

Tabela 2.4. Condições reacionais testadas para a redução das diazidas **144a,b**.

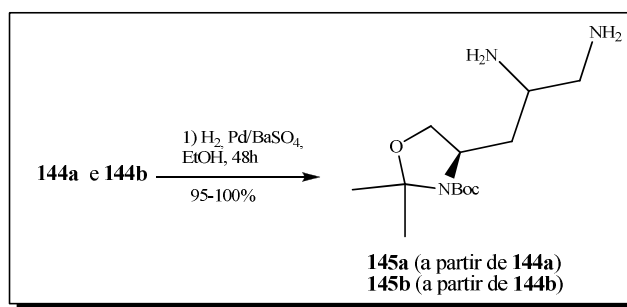
Teste	Substrato	Condições	Resultados
1	144a,b	H ₂ , Pd/C, MeOH, 48h	144a,b
2	144a,b	PPh ₃ , piridina, solução de NH ₃ , H ₂ O, 3h	145a,b * e PPh ₃ =O
3	144a,b	PPh ₃ , MeCN, H ₂ O, 3hs	145a,b * + PPh ₃ =O
4	144a,b	Pd/BaSO ₄ (80 mol %), etanol 48h (Balão de H ₂)	145a,b *
5	144a,b	Pd/BaSO ₄ (25mol %), etanol, 12h Aparelho de Paar (3Bar)	145a,b *

*Reduções quantitativas.

A partir dos dados da Tabela 2.4 foi possível verificar que tanto as condições de Staudinger (testes 2 e 3) como o uso de H₂ gasoso adsorvido em Pd/BaSO₄ (testes 4 e 5) mostraram-se eficientes para completa redução de **144a,b** à **145a,b**. Sob ponto de vista da manipulação e purificação, a reação de Staudinger, apesar de eficiente, é mais trabalhosa e gera grande quantidade do subproduto óxido de trifenilfosfina (PPh₃=O). A completa eliminação do PPh₃=O só foi possível pela purificação da mistura por coluna cromatográfica,

e, sendo a mistura de diaminas **145a,b** bastante polar foram observadas perdas do material durante a etapa de purificação.

Portanto, as diazidas **144a** e **144b** foram reduzidas com hidrogênio gasoso, utilizando-se Pd/BaSO₄ em etanol (Esquema 2.31). Durante os experimentos as respectivas diaminas **145a** e **145b** foram obtidas por simples filtração em "plog de celite" e submetidas à etapa seguinte, a fim de evitar perdas e degradações.



Esquema 2.31. Obtenção dos intermediários diaminaos **145a** e **145b**.

2.3.3.2.5. Preparação de guanidinas

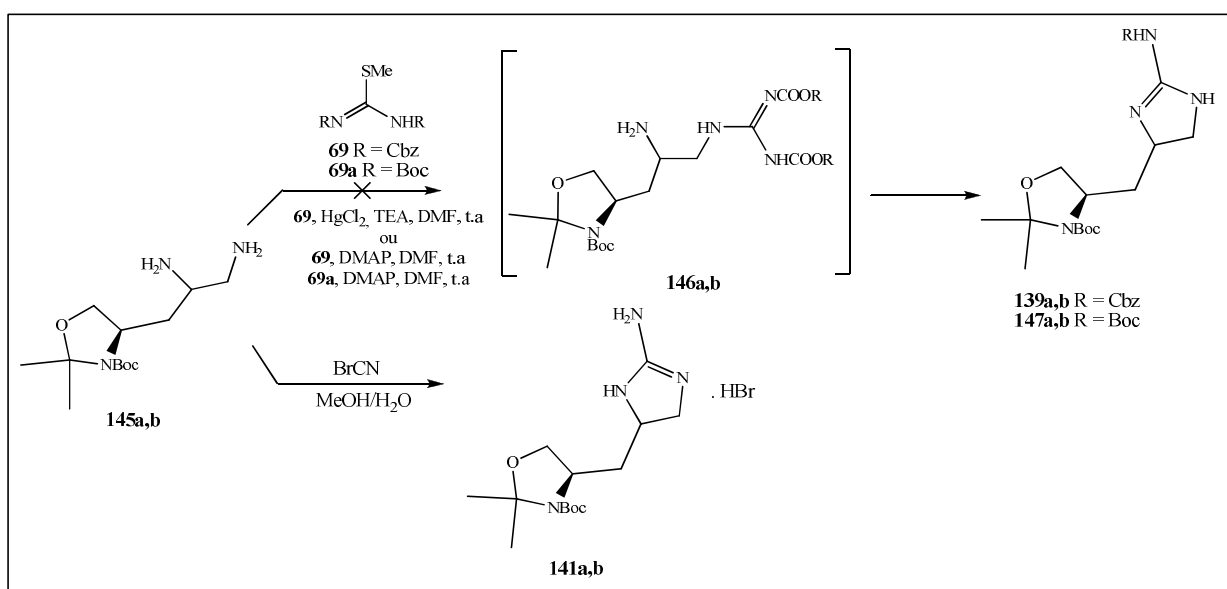
A etapa-chave da síntese da alloenduracididina **53** consiste na formação do heterociclo 2-aminoimidazolina. Dentre os métodos de transformação de 1,2-diaminas em guanidinas descritos na literatura,⁶⁸⁻⁷⁰ dois reagentes são utilizados na maioria dos casos, a *S*-metil-*N,N'*-bis(alcoxicarbonila)isotiouréia **69** e o brometo de cianogênio (BrCN). Esses dois reagentes permitem a guanidilação eficiente de 1,2-diaminas, como foi descrito na seção 2.2.2 (Esquemas 2.2 e 2.3).

No que concerne a síntese da alloenduracididina, em um primeiro momento as diaminas **145a,b** (mistura de diastereoisômeros) foram submetidas à reação com 1,1-1,5 equivalentes do derivado protegido da isotiouréia **69** (testes 1, 2 e 3, Tabela 2.5). O monitoramento das reações por CCD mostrou o consumo das diaminas de partida **145a,b** e a formação de produtos de *Rf* compatíveis com o do produto desejado. Contudo, em nenhum dos três experimentos foi possível isolar o produto **146a,b** esperado (Esquema 2.32). Durante o tratamento e purificação dos brutos reacionais, apenas subprodutos derivados da tiouréia foram isolados. Acreditamos que o produto **146a,b** seja instável e tenha se degradado durante as tentativas de purificação por sílica-gel. Portanto, não tendo sido possível obter a porção guanidina protegida, a condição de guanidilação de diaminas utilizando-se BrCN foi testada no substrato **145a,b** (teste 4, Tabela 2.5). Neste caso, o produto cíclico desejado **141a,b** foi obtido em bons rendimentos (70-90%) após 36-48h de reação (Esquema 2.32). A purificação

da guanidina livre foi realizada através de coluna de fase reversa utilizando-se uma mistura de água/metanol como eluente.

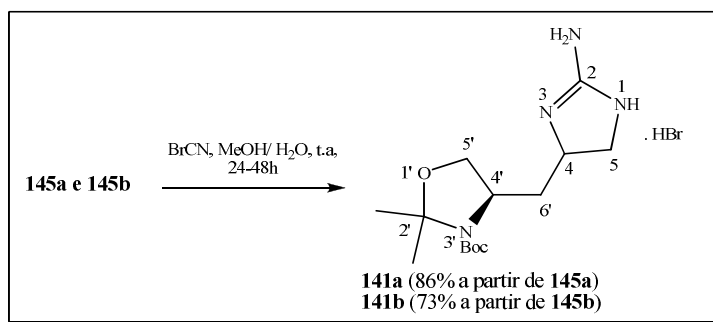
Tabela 2.5. Preparação de guanidinas.

Teste	Substrato	Condições	Resultados
1	145a,b	isotiuréia-Cbz 69 (1,1 equiv.), HgCl ₂ (1,1 equiv.), TEA (3 equiv.), DMF, t.a, 3h.	Degradação
2	145a,b	isotiuréia-Cbz 69 (1,5 equiv), DMAP (0,5 equiv), DMF, t.a (24h) → 60°C (4h).	Degradação
3	145a,b	isotiuréia-Boc 69a (1,5 equiv), DMAP (0,5 equiv.), DMF, t.a, 24h.	Degradação
4	145a,b	BrCN, MeOH/H ₂ O, pH = 11, t.a, 36-48h	141a,b (70-90%)



Esquema 2.32. Formação do anel 2-aminoimidazolina.

As condições de guanidinação com BrCN foram aplicadas separadamente aos diastereoisômeros isolados de **145a,b** e, após duas etapas, as respectivas guanidinas **141a** e **141b** foram obtidas em bons rendimentos (84% e 73%, Esquema 2.33).



Esquema 2.33. Obtenção dos intermediários guanidilados **141a** e **141b**.

Análise detalhada dos espectros de RMN 1D e 2D e a obtenção do espectro de massa de alta resolução dos compostos **141a** e **141b** evidenciam a formação da porção 2-aminoimidazolina.

A partir da incorporação da porção guanidina à *N,O*-oxazolidina se fez necessário redefinir o sistema de numeração a fim de analisarmos os espectros de RMN.

No espectro de RMN de ^1H de **141a** (Figura 2.17) constatou-se a presença de sinais referentes aos grupos CH_3 pertencentes à oxazolidina e ao grupo Boc em δ 1,47 e 1,55. Foram observados também os seguintes sinais: um multipletto entre δ 1,87 e 2,02 correspondente a H-6'a e H-6'b, um multipletto atribuído a H-5a em δ 3,39-3,47 e outros dois multiplettos em δ 3,77-3,92 (2H) e 3,99-4,09 (3H) correspondentes à H-5'b e H-5b e H-5'a, H-4' e H-4, respectivamente. A incorporação da porção guanidina pode ser verificada pela mudança de deslocamento químico dos sinais referentes aos hidrogênios H-4, H-5a e H-5b de δ 2,39-2,75 na diamina **145a**, para δ 3,39-4,07 em **141a**. Evidenciou-se também a presença de dois sinais largos em δ 7,41 e 7,85 que foram atribuídos aos hidrogênios NH e NH_2 da porção guanidina. Para elucidação dos acoplamentos entre os hidrogênios e, conseqüentemente, a atribuição dos mesmos, foi feito um mapa de contorno $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY) do composto **141a** (Figuras 2.18 e 2.19).

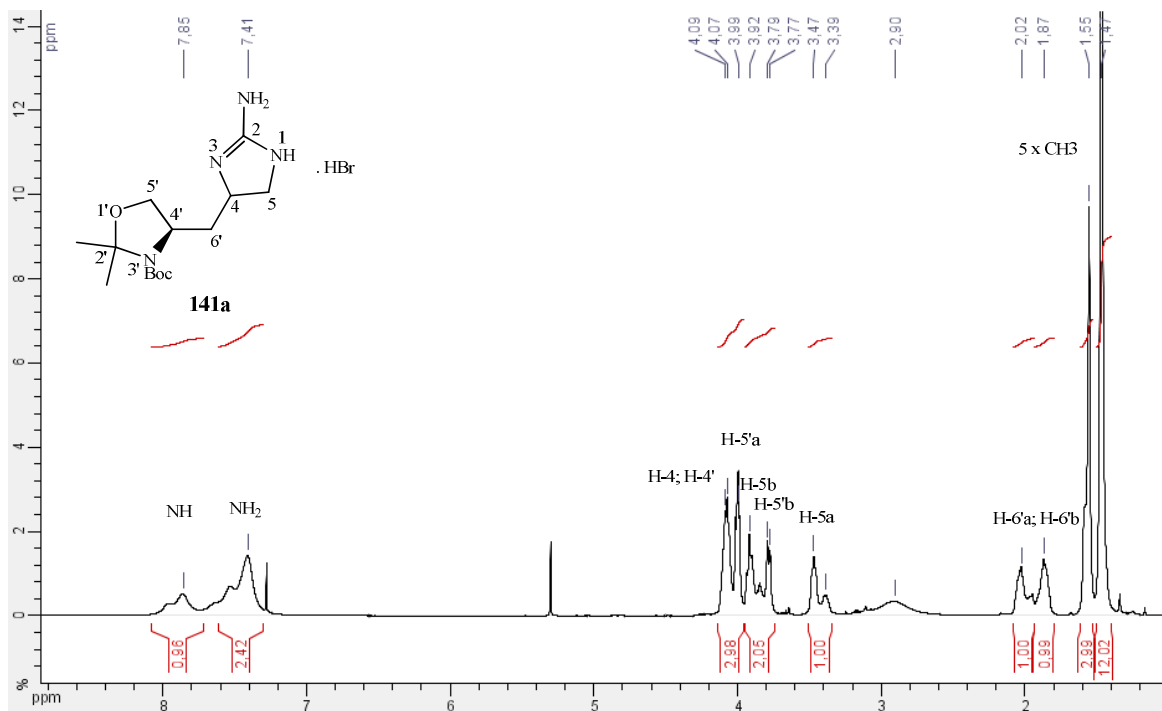


Figura 2.17. Espectro de RMN de ^1H de **141a** em CDCl_3 (500MHz).

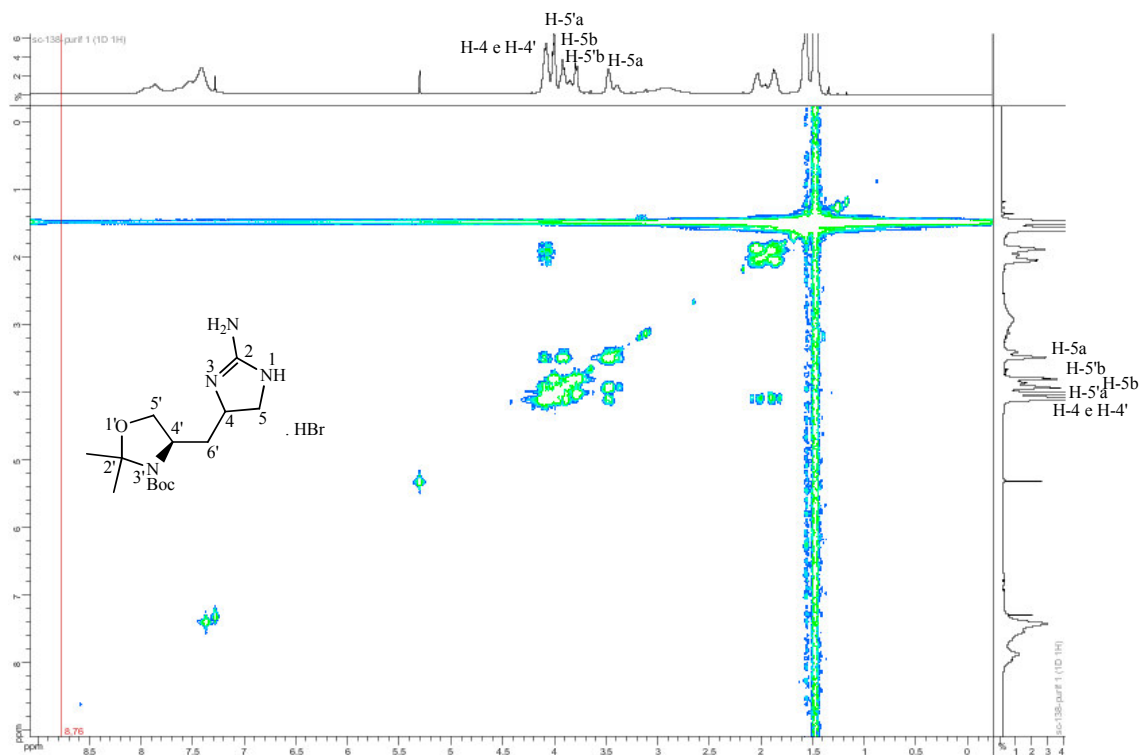


Figura 2.18. Mapa de contornos COSY de **141a** em CDCl_3 (300MHz).

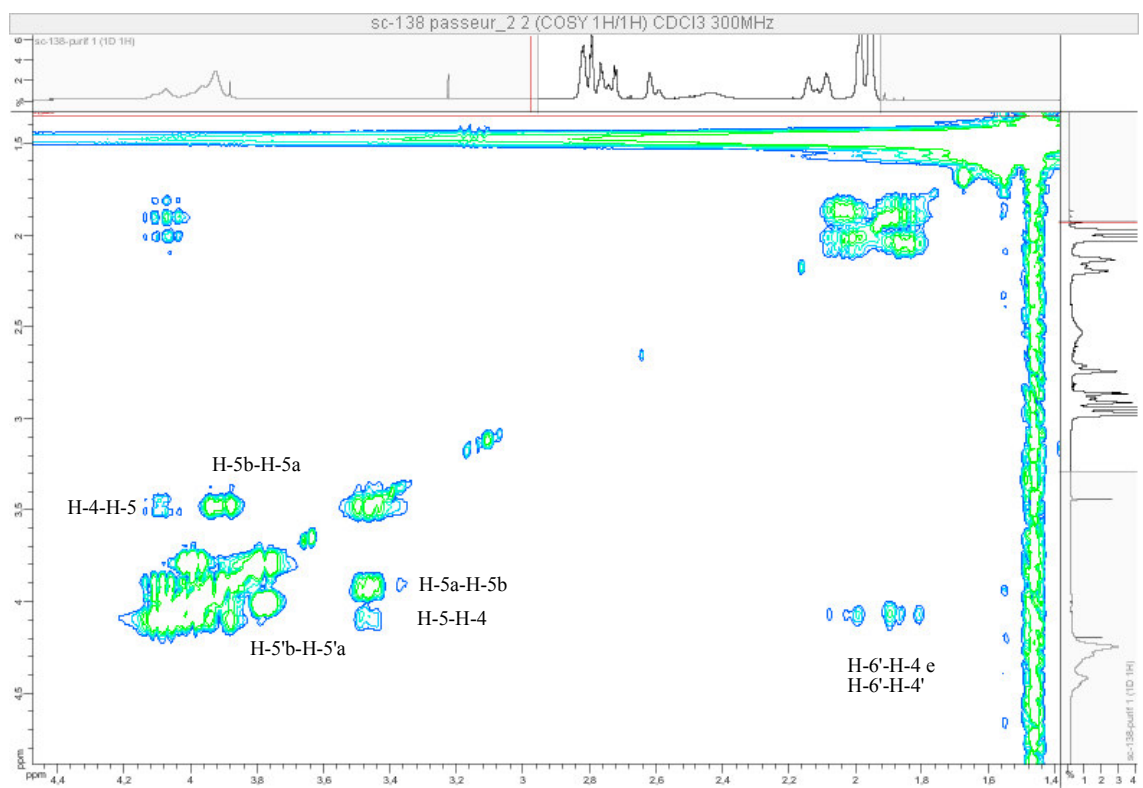


Figura 2.19. Expansão do COSY de **141a** em CDCl_3 (300MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C de **141a** (Figura 2.20) pode-se observar três sinais entre δ 24,4 e 28,6, correspondentes aos carbonos metílicos dos grupos oxazolidina e Boc, um sinal em δ 39,3 atribuído a C-6', quatro sinais entre δ 48,5 e 67,3 correspondentes aos carbonos C-5, C-4, C-4' e C-5', além do sinal em δ 159,8 correspondente ao carbono do anel guanidínico (C-2, N-C=NH). A partir do espectro de DEPT 135 de **141a** (Figura 2.21) foi possível distinguir os carbonos guanidínicos C-4 e C-5, bem como confirmar as atribuições feitas aos carbonos do heterociclo oxazolidínico C-4' e C-5'.

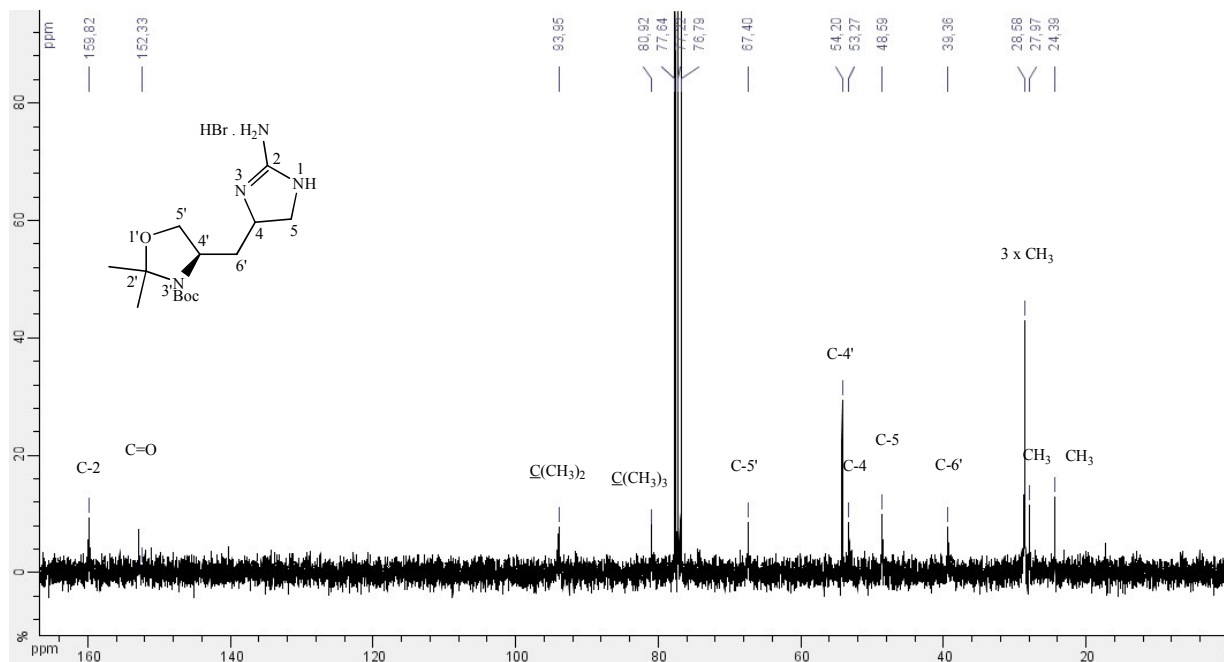


Figura 2.20. Espectro de RMN de ^{13}C de **141a** em CDCl_3 (125MHz).

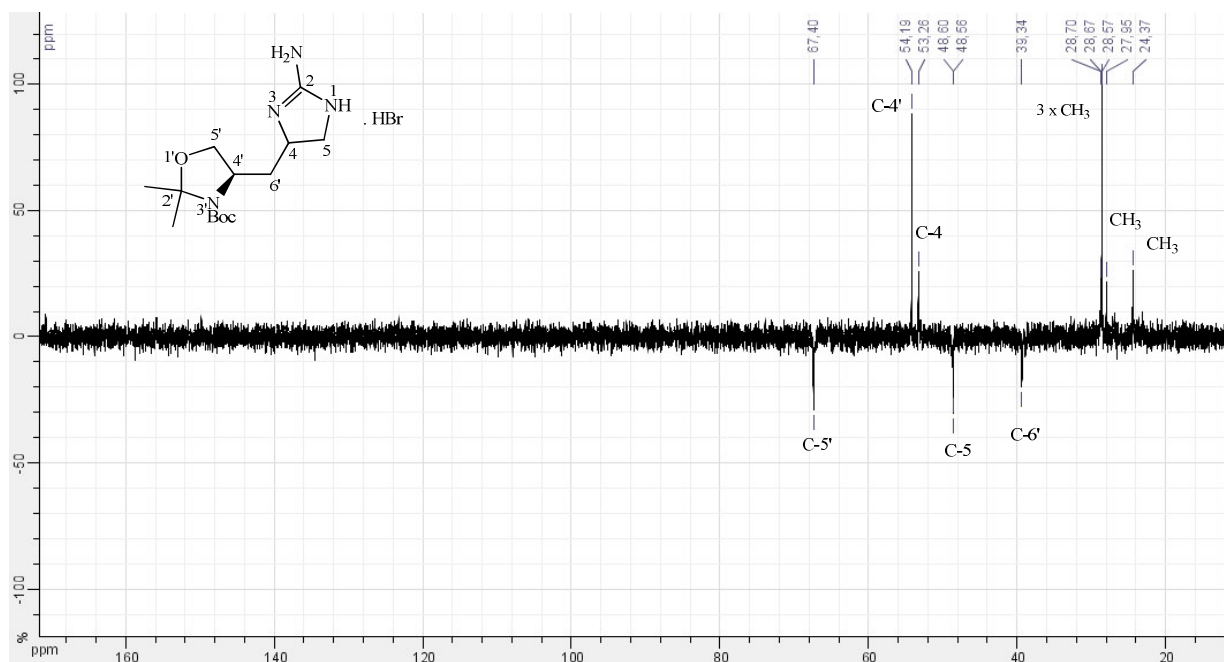


Figura 2.21. Espectro de DEPT 135 de **141a** em CDCl_3 (125MHz).

Após 7 etapas, os intermediários guanidilados **141a** e **141b** foram obtidos em rendimentos satisfatórios a partir de **133a** e **133b**, utilizando-se a segunda estratégia, sugerindo que esta metodologia é eficaz para a síntese da alloenduracidina **53**. Contudo, nos restaria fazer a hidrólise dos grupos protetores e a oxidação do respectivo amino álcool obtido à amino-ácido.

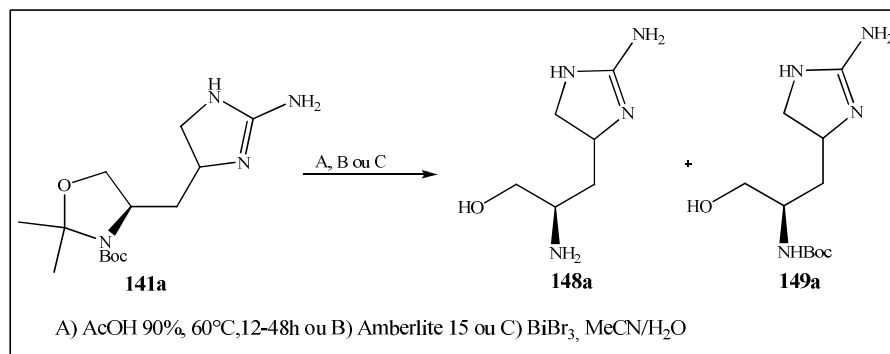
2.3.3.2.6. Hidrólise da *N,O*-acetal-1,3-oxazolidina e oxidação do álcool à ácido carboxílico.

A hidrólise da oxazolidina e do grupo *tert*-butoxicarbonila podem ser realizadas sob condições ácidas. Contudo, existem exemplos na literatura⁹⁴ onde a clivagem quimioseletiva do *N,O*-acetal isopropilideno pode ser realizada utilizando-se sais de bismuto (III), resinas e ácidos fracos (AcOH e TsOH).

A obtenção de um intermediário *N*-Boc-amino álcool nos parece apropriada para a realização da etapa posterior de oxidação, pois o grupo amino ligado à C-4' poderia sofrer uma indesejável oxidação, caso estivesse livre.

⁹⁴ a) Cong, X.; Hu, F.; Liu, K. G.; Liao, Q. J.; Yao, Z. J.; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4514 b) Hu, F.; Zang, Y. H.; Yao, Z. J.; *Tetrahedron. Lett.* **2007**, *48*, 3511.

Três condições de hidrólise seletiva da oxazolidina foram aplicadas ao substrato **141a** como pode ser visto no Esquema 2.34. A utilização de ácido acético à 60°C conduziu exclusivamente ao produto **148a** como sal diacetato. A utilização da resina ácida não se mostrou eficiente, uma vez que o produto não pôde ser recuperado. Por fim, o uso do sal de bismuto conduziu a uma mistura dos produtos **141a**, **148a** e **149a**, sendo **141a** majoritário. Sobre os resultados dos experimentos, acreditou-se que a basicidade da porção guanidina (pKa ~ 11-13) poderia estar influenciando nas reações de hidrólise seletiva da oxazolidina.

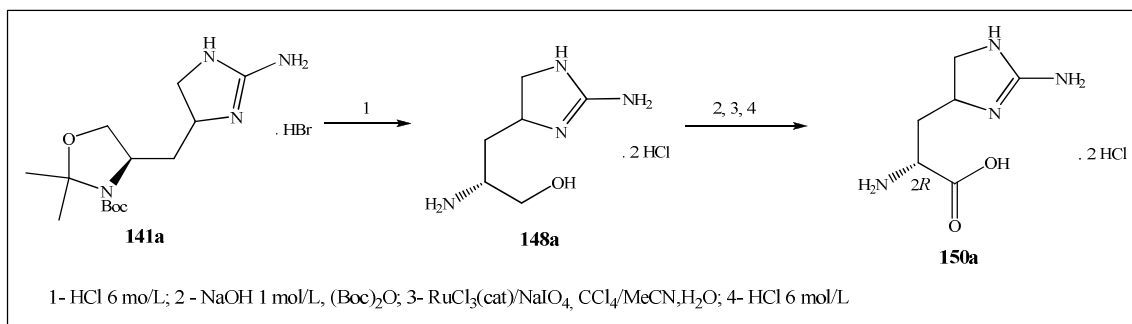


Esquema 2.34. Hidrólise do *N,O*-acetal-1,3-oxazolidina.

Recentemente, durante a síntese da capreomicidina,⁹⁵ Jackson e colaboradores realizaram um protocolo "one pot" de obtenção do aminoácido a partir de um intermediário oxazolidina contendo uma porção guanidina. Segundo o protocolo descrito pelos autores supracitados, a hidrólise total dos grupos Boc e da oxazolidina foi realizada pela ação de uma solução de HCl 6 mol/L. O bruto reacional foi redissolvido em uma solução 1 mol/L de NaOH, sendo a mistura resfriada à 4°C para a adição de uma solução de Boc₂O em dioxano. A oxidação do amino álcool *N*-protegido foi realizada pela utilização de KMnO₄ à temperatura ambiente e o filtrado obtido, após a remoção do MnO₂, foi acidificado novamente para remoção dos grupos Boc. Após 4 etapas, partindo-se de 150 mg do intermediário oxazolidina contendo a porção guanidina, obteve-se 18 mg da [¹³C]capreomicidina marcada.

De acordo com nossos interesses, o protocolo descrito anteriormente foi modificado pela substituição do KMnO₄, usado em quantidades estequiométricas, pela utilização de cloreto de rutênio (RuCl₃) em quantidades catalíticas e periodato de sódio (NaIO₄). A mesma sequência de reações foi aplicada ao composto **141a**, como pode ser observado no Esquema 2.35.

⁹⁵ Jackson, M. D.; Gould, S. J.; Zabriskie, T. M.; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2934.



Esquema 2.35. Obtenção do composto **150a**.

A partir do composto **141a** (isômero majoritário) os grupos protetores foram hidrolisados pela utilização de uma solução HCl 6 mol/L durante 4h, fornecendo o respectivo composto desprotegido **148a** sob a forma de cloridrato. O espectro de RMN de ¹H, evidenciando a hidrólise completa dos grupos protetores oxazolidina e Boc, pode ser visto na Figura 2.22. Nesse espectro observa-se a ausência dos sinais referentes aos grupos protetores oxazolidina e Boc, anteriormente entre δ 1,47-1,55. A não observância de rotâmeros permitiu a devida interpretação dos acoplamentos entre os hidrogênios em **148a**.

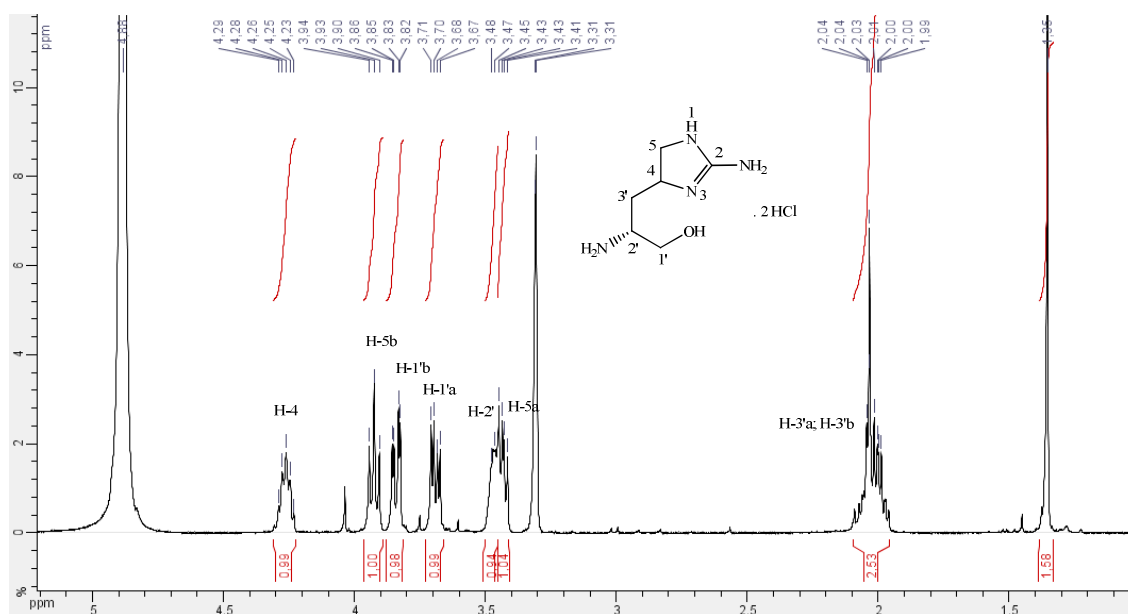


Figura 2.22. Espectro de RMN de ¹H de **148a** em CD₃OD/D₂O (500MHz).

Dando continuidade, o solvente do cloridrato **148a** foi removido e a mistura foi redissolvida em uma solução 1 mol/L de NaOH. A mistura foi resfriada à 0°C e 3,7 equivalentes de Boc₂O dissolvidos em dioxano foram adicionados à reação. A mistura foi

agitada por uma noite e extraída com CH_2Cl_2 /solução saturada de NaCl. As fases orgânicas recolhidas foram evaporadas à secura e o bruto obtido foi redissolvido em uma mistura de tetracloreto de carbono/acetonitrila/água na proporção de 2:2:3. À solução foram adicionados 3 equivalentes de NaIO_4 e 2 mol % de RuCl_3 . Após 6 horas à temperatura ambiente, a mistura foi extraída com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ e as fases orgânicas obtidas foram purificadas por simples filtração em coluna de sílica ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) para retenção dos sais. As frações recolhidas foram reunidas, evaporadas e submetidas à ação de uma solução de HCl 6 mol/L durante 2 horas. O uso desta metodologia permitiu a obtenção de 45 mg (62% de rendimento) da mistura de compostos (**150a** como produto majoritário e **148a**).

Tendo em vista o término do período de estágio no exterior e a necessidade de retornar à UFJF, a mistura de compostos obtida anteriormente não foi purificada. As análises de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massa foram realizadas a partir do bruto reacional de **150a** que, ao que tudo indica, contém o composto desejado **150a**, além do derivado **148a** como contaminante.

De acordo com o espectro de RMN de ^1H (Figura 2.23) foi possível evidenciar a presença do aminoácido **150a** desejado, juntamente com uma menor quantidade do amino álcool não oxidado **148a**. Através da comparação dos espectros de RMN ^1H de **148a** e **150a** foi possível verificar o deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H-2', de aproximadamente δ 3,50 no amino álcool para δ 4,10. A mudança de deslocamento químico de H-2' para campo mais baixo em relação ao TMS evidencia a oxidação do carbono C-1' a ácido carboxílico.

No espectro de RMN de ^{13}C de **150a** foi possível verificar a presença do sinal referente a carbonila de ácido em δ 169,9, além dos sinais referentes aos carbonos C-2' e C-4, que acredita-se estarem sobrepostos em δ 51,9 (Figura 2.24).

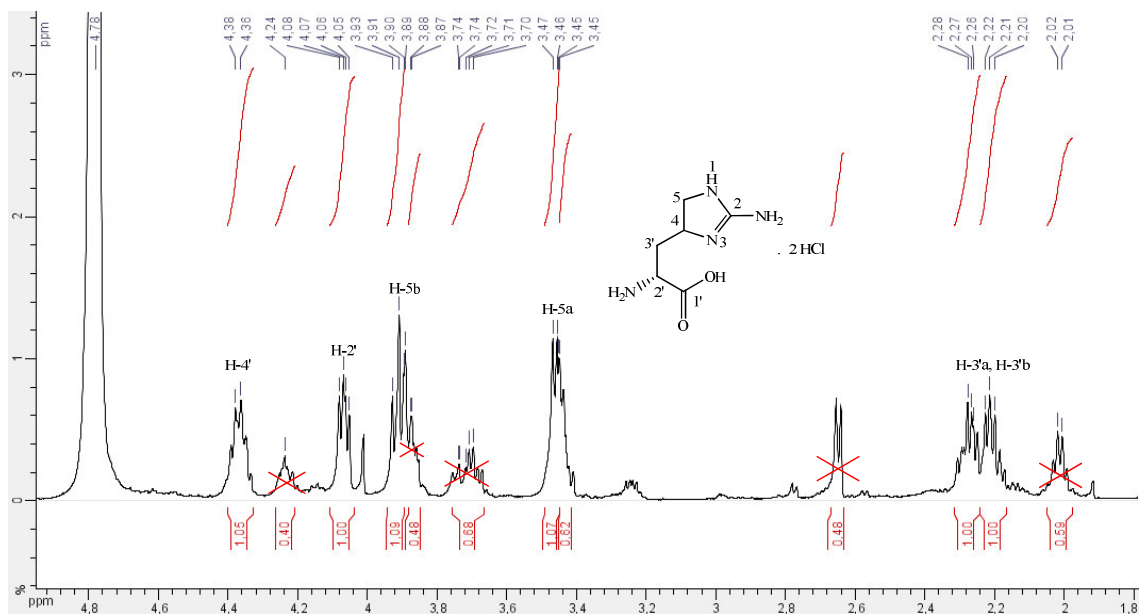


Figura 2.23. Espectro de RMN de ^1H de **150a** em D_2O (500MHz).

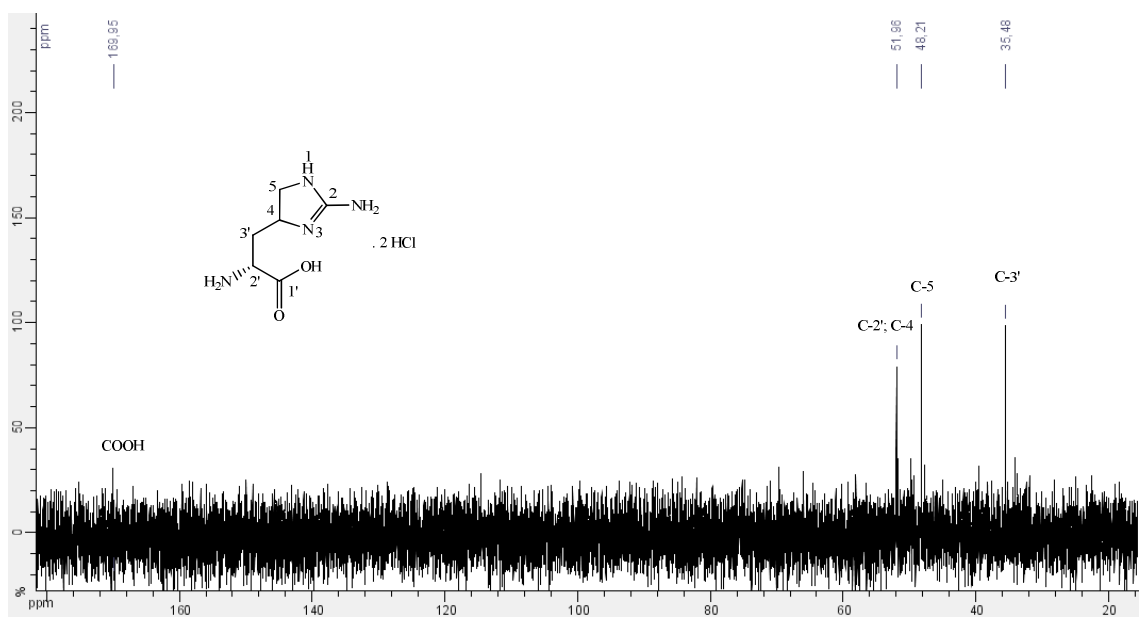


Figura 2.24. Espectro de RMN de ^{13}C de **150a** em D_2O (125MHz).

O espectro de massas de **150a** mostra a presença do pico base de massa 173,1 que pode ser atribuído a massa do aminoácido acrescida de um próton $[\text{M} + \text{H}^+]$ (Figura 2.25). O valor da massa esperada para tal composto foi de 173,1 $[\text{M} + \text{H}^+]$.

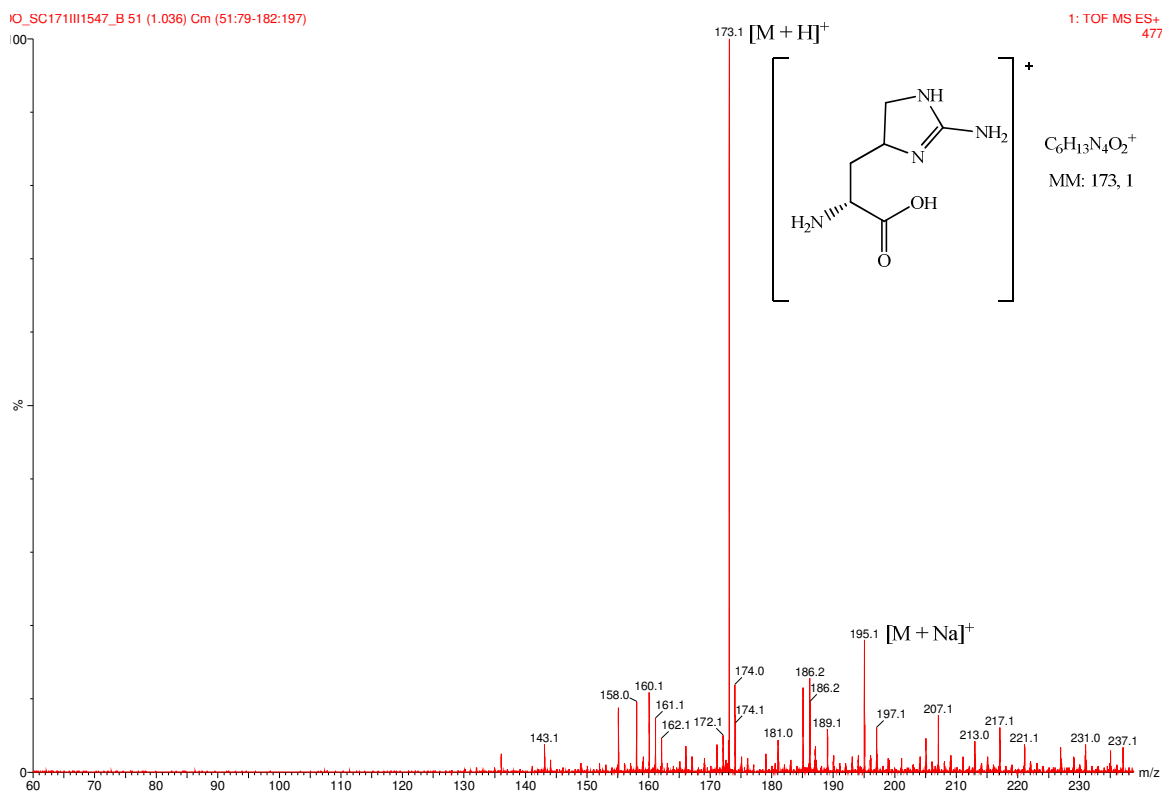


Figura 2.25. Espectro de massa de **150a**.

As análises realizadas até o momento nos permitem inferir que o composto **150a** foi obtido com sucesso após 8 etapas a partir do *N*-Boc-(*R*)-alilglicinato de etila **74**.

Tendo sido atingido o objetivo de se encontrar uma metodologia adequada a síntese de α -aminoácidos guanidilados, semelhante a alloenduracidina **53**, nosso interesse se voltou para fazer a determinação da configuração absoluta do centro assimétrico presente em C-4, até o momento desconhecida.

2.3.4. Tentativa de determinação da configuração absoluta de C-4.

A determinação da configuração absoluta muitas vezes pode ser realizada a partir de experimentos de espectroscopia de RMN, através do método de Mosher.⁹⁶ Esse método consiste na derivatização do substrato, normalmente um álcool ou amina, com os enantiômeros (*R*) ou (*S*) de um reagente auxiliar quiral (Figura 2.26) e a comparação dos espectros de RMN de ¹H dos respectivos ésteres ou amidas obtidos.

⁹⁶ (a) Mosher, H. S.; Sullivan, G. R.; Dalle, J. A.; *J. Org. Chem.* 1973, 38, 2143 b) Seco, J. M.; Quinoa, E.; Riguera, R.; *Chem. Rev.* 2004, 104, 17 c) (b) Freire, F.; Seco, J. M.; Quinoa, E.; Riguera, R.; *Org. Lett.* 2005, 7, 4855.

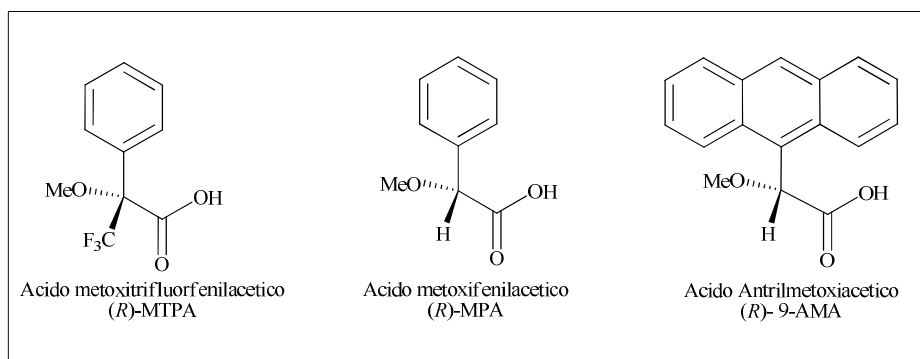


Figura 2.26. Auxiliares quirais utilizados no método de Mosher.

O método se baseia no efeito de "proteção" produzido em cada derivado pelo anel aromático do reagente auxiliar quiral sobre os substituintes L_1 e L_2 de álcoois no confôrmero majoritário. Se o substituinte L_1 , por exemplo, estiver mais protegido no éster (R)-MPA que no (S)-MPA, enquanto que o L_2 estiver mais protegido no (S)-MPA que no (R)-MPA, a diferença entre os deslocamentos químicos dos sinais de L_1 e L_2 de ambos os ésteres ($\Delta\delta^{R,S}$) no espectro de RMN de ^1H é então avaliada.

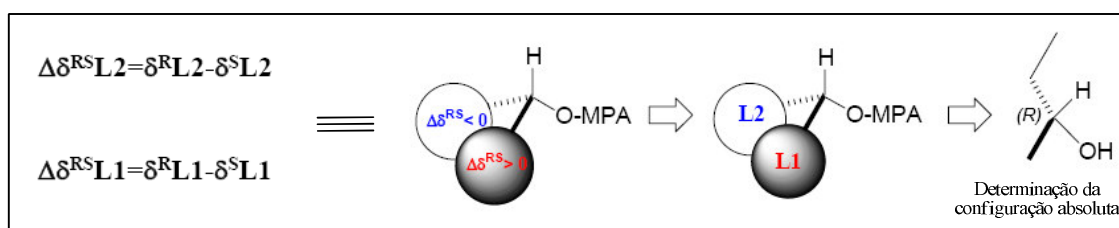


Figura 2.27. Determinação da configuração absoluta pela análise do $\Delta\delta^{R,S}$.

Apesar da abundância dos dados experimentais publicados na literatura, erros na atribuição conformacional podem ser cometidos, pois os valores de $\Delta\delta^{R,S}$ devem preencher duas condições essenciais:

- 1- Estar acima do erro experimental característico do RMN;
- 2- Assumir valores positivos de um lado do centro estereogênico (L_2) e negativos do outros (L_1).

Existem muitas alternativas para tentar aumentar os valores de $\Delta\delta^{R,S}$. Algumas delas utilizam as técnicas de obtenção de espectros à baixa temperatura ($\Delta\delta^{T1,T2}$) ou a adição de sais de bário à amostra, com a grande vantagem, neste caso, de ser necessário apenas um dos derivados ésteres.

Por questão de praticidade, o protocolo experimental descrito por Riguera e colaboradores⁹⁷ para a determinação da configuração absoluta de 1,2-dióis terminais à baixa temperatura, foi escolhido na tentativa de se descobrir a configuração do centro C-4 no diol **133a**, que por dedução nos permitiria inferir a configuração absoluta do composto **150a**.

A determinação da configuração absoluta de 1,2-dióis terminais, como **133a**, muitas vezes pode ser realizada pela inspeção do espectro de RMN de ¹H do seu respectivo derivado éster o bis-(*R*)-MTPA **151a** (Esquema 2.36). Tal análise consiste na observação da variação de deslocamento químico sofrida pelos hidrogênios metilênicos (em vermelho e azul, figura 2.28) a partir de uma variação de temperatura.

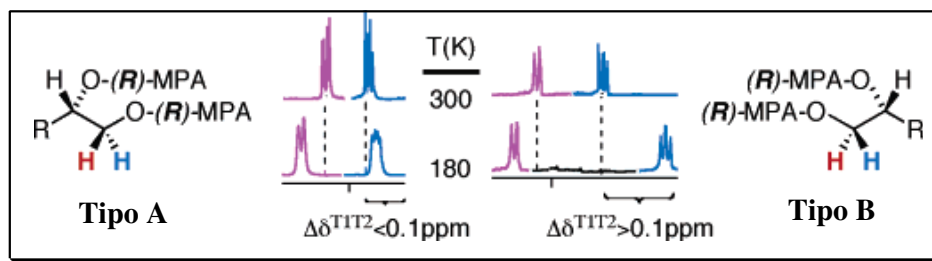


Figura 2.28. Método de determinação da configuração absoluta de bis-ésteres-MPA, derivados de 1,2-dióis, pela variação da temperatura.

Cálculos teóricos (AM1, HF) e dados experimentais (RMN à baixas temperaturas e estudos de dicroísmo circular) mostram que os bis-ésteres-MPA derivados de 1,2-dióis existem em solução como dois conformeros em equilíbrio. Portanto, para um derivado bis-éster do tipo A, dois conformeros sp-I e ap-I podem ser observados (Figura 2.29a). O mesmo ocorre para o bis-éster do tipo B onde sp-II e ap-II estão presentes (Figura 2.29b).

A influência exercida pelo grupo carbonila (desblindagem) e pelos anéis aromáticos (blindagem) em cada um dos hidrogênios metilênico, denominados aqui de pro(*S*) e pro(*R*), pode ser avaliada pela variação do deslocamento químico no espectro de RMN de ¹H do conformero majoritário à temperatura ambiente e à baixa temperatura ($\Delta\delta^{T1,T2}$).

⁹⁷ Freire, F.; Calderon, F.; Seco, J. M.; Fernandez-Mayoralas, A.; Quinoa, E.; Riguera, R.; *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2297.

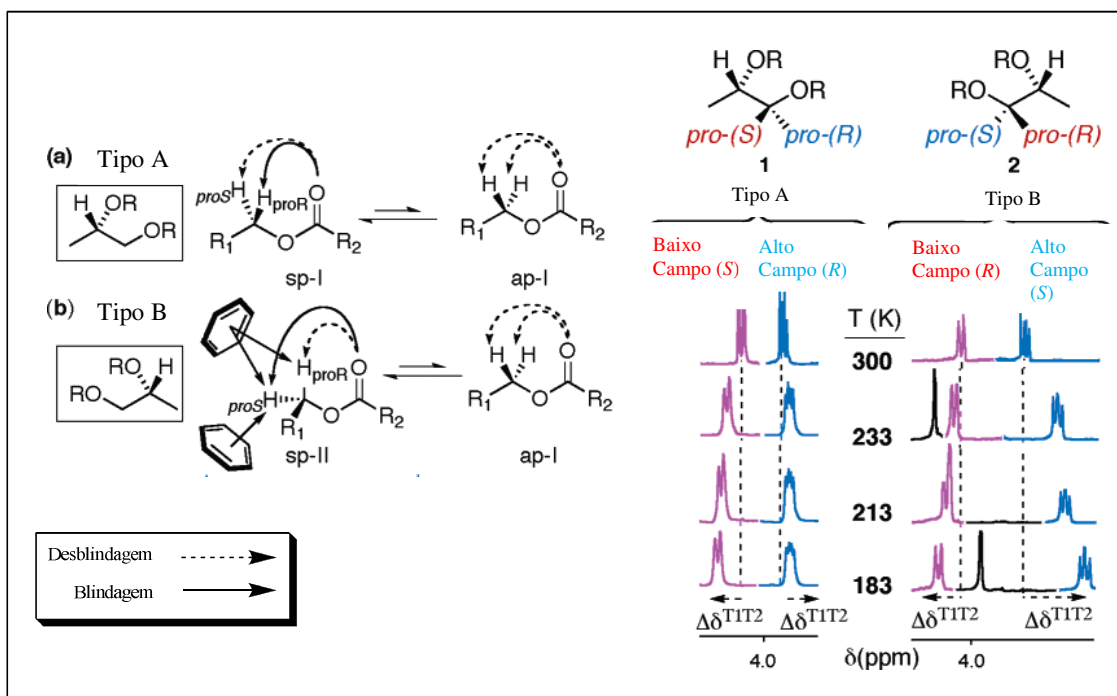


Figura 2.29. Tipos de conformeros e o efeito da blindagem nos bis-ésteres-MPA derivados de 1,2-dióis do tipo A e B (a e b). Evolução com a temperatura da variação dos sinais no RMN de ^1H .

De maneira geral o método segue os seguintes passos:

- Preparação do éster derivado (bis-*R*-MPA ou bis-*S*-MPA ou qualquer outro agente de derivatização).
 - Comparação dos seus espectros de RMN de ^1H à temperatura ambiente e à baixa temperatura, prestando especial atenção nos sinais dos hidrogênios metilênicos.
 - Cálculo dos valores de Δ^{T1T2} para o hidrogênio metilênico que aparece em campo alto e para o hidrogênio metilênico que aparece em campo baixo.
 - Se o éster preparado for derivado do bis-*R*-MPA e o valor de Δ^{T1T2} para o hidrogênio em campo alto (azul, Figura 2.29) for menor que 0,10 ppm, então a configuração absoluta do diol é representada pelo tipo A, enquanto que se o valor de Δ^{T1T2} for maior do que 0,10 ppm (0,20-0,30 ppm), então a configuração absoluta é representada pelo tipo B.
 - A determinação da configuração absoluta do composto em análise pode ser então, obtida pela comparação com dados presentes na literatura para outros 1,2-dióis.
- Ex. Os dióis **1**, **3-9** (Figura 2.30) são do tipo A e possuem configuração absoluta *S*. Os dióis **2**, **10-13** são do tipo B e apresentam configuração absoluta *R*.⁹⁷

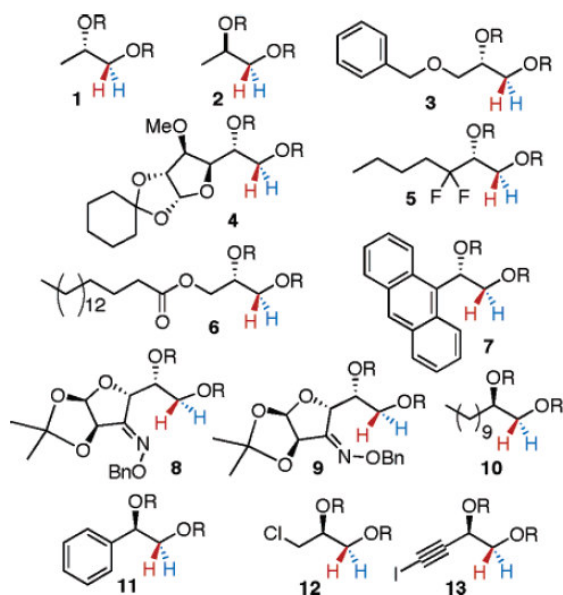
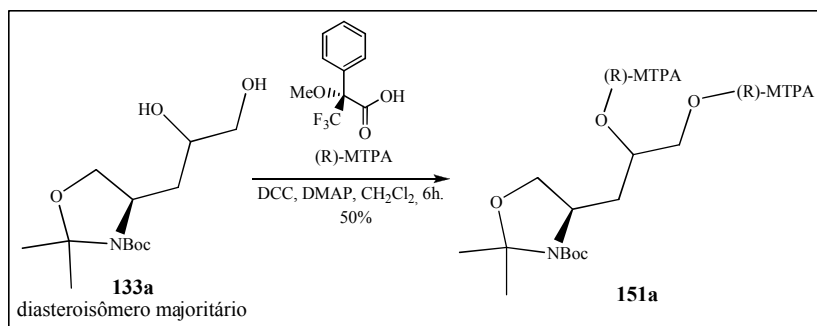


Figura 2.30. 1,2-dióis do tipo A e B descritos na literatura e suas configurações absolutas.

2.4.4.1. Preparação do (*R*)-bis-MTPA-éster derivado de **133a**

Para a preparação de **151a** seguiu-se uma variante do protocolo desenvolvido por Riguera e colaboradores pelo tratamento de **133a** com DCC, DMAP em diclorometano à 0°C seguido da adição de (*R*)-MTPA (Esquema 2.36).^{95,97}



Esquema 2.36. Derivatização do diol **133a**.

Os espectros de RMN de ^1H de **151a** foram obtidos nas temperaturas de 300K, 273K e 223K e comparados. No entanto, logo percebeu-se que os sinais de interesse estavam confusos devido a presença de rotâmeros e que os resultados de $\Delta\delta^{\text{T1,T2}}$ não eram coerentes com os esperados (ambos $\Delta\delta^{\text{T1,T2}} > 0$). Sobre essa incoerência nos resultados obtidos, Riguera e colaboradores relatam que valores de $\Delta\delta^{\text{T1,T2}}$ inconsistentes podem ser explicados pela ação nos hidrogênios metilênicos de apenas um dos grupos fenila e não de dois (Figura 2.29). A

magnitude do efeito provocado pode ser quantitativamente a mesma do efeito anisotrópico do grupo carbonila do éster⁹⁶ e, portanto, neste caso, a configuração absoluta não pôde ser determinada.

2.4. Conclusão e Perspectivas

A partir do *N*-Boc-(*R*)-alilglicinato de etila **74** foi desenvolvida uma metodologia para a síntese total da alloenduracididina **53**. A sequência sintética aqui utilizada permitiu a síntese do aminoácido **150a**, em 8 etapas. A aplicação da metodologia validada à substratos adequados nos permitirá, sem dúvidas, preparar, além da enduracididina **54**, os análogos β -hidroxi-alloenduracididina **50** e β -hidroxi-enduracididina **51**, que estão presentes na estrutura da manopeptimicina α **52**.

Um trabalho de otimização deve ser realizado a fim de melhorar a diastereoseletividade da etapa de dihidroxilação assimétrica de Sharpless. Neste caso, pode-se imaginar que a utilização de ligantes quirais de nova geração possa induzir alguma melhoria na seletividade da reação.^{88c}

Até o momento a configuração absoluta do centro assimétrico C-4 em **150a** permanece desconhecida. A determinação da configuração é indispensável para que se possa afirmar se o aminoácido **150a** obtido trata-se da alloenduracididina **53** de configuração (*2R*, *4R*) ou do seu isômero (*2R*, *4S*).

Outros estudos serão realizados com o intuito de se obter a configuração do centro C-4. A obtenção de um derivado rígido que possa ser analisado por RMN, ou de um composto cristalino, que possa ser difratado, parece promissor para tal finalidade.

Capítulo 3 - Parte Experimental

3.1. *Materiais e Métodos*

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono 13 foram adquiridos através do aparelho BRUKER AVANCE ACX300 (300MHz para ^1H e 75MHz para ^{13}C) no Departamento de Química da UFJF ou para os espectros obtidos no ICSN-CNRS em Gif-sur-Yvette-França, em um espectrofotômetro BRUKER AC300 ou AC500 (500MHz para ^1H e 125MHz para ^{13}C). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão e referenciados pelo TMS ($\delta = 0$).

Os pontos de fusão apresentados neste trabalho foram medidos em aparelho digital MQAPF-Microquímica no Departamento de Química, ICE, UFJF e em aparelho Buchi B-540 com aparato capilar para ponto de fusão no ICSN (França).

As análises elementares foram executadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Os poderes rotatórios específicos $[\alpha]_D$ foram medidos em um polarímetro PERKIN ELMER Polarimeter 341, caminho ótico de 1,0 dm, temperatura interna 20°C no Departamento de Química, ICEx, UFMG ou para os compostos obtidos no ICSN (França) em um polarímetro JASCO P-1010.

Os espectros de Infravermelho foram registrados em espectrofotômetro BOMEM-FT-IR MB-120 no Departamento de Química da UFJF ou para os espectros obtidos no ICSN (França) através dos aparelhos Nicolet 205 FT-IR ou Fourier Perkin–Elmer 1600 FT-IR.

Os espectros de massa de alta resolução (ESI-HRMS) foram obtidos no ICSN (França) com um aparelho Kratos MS-80 *spectrometer* por injeção direta das amostras e os de baixa resolução, adquiridos por impacto eletrônico (IE) e ionização química (IQ), foram obtidos em espectrômetro AEI MS-50 e AEI MS-9, respectivamente.

O acompanhamento das reações foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD). Na UFJF utilizou-se sílica-gel 60G MERCK, contendo revelador para ultravioleta (UV), disposta sobre lâminas de vidro e na França as placas estavam disponíveis como cromatofolhas com sílica gel 60F₂₅₄ suportada em placa de alumínio, contendo revelador para UV.

Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna usando sílica gel 60G 0,063-0,200mm (70-230 mesh ASTM) e 0,2-0,5mm MERCK, na UFJF e para a purificação

dos compostos obtidos no ICSN utilizou-se a técnica sugerida por Still denominada cromatografia *flash*.⁹⁸ Como reveladores foram utilizados vapores de iodo, vaporização com solução etanólica de ácido sulfúrico à 20% v/v, solução etanólica de ninidrina a 30% p/v e lâmpada ultravioleta (UV).

Os solventes orgânicos foram utilizados sem tratamento prévio ou foram destilados após o tratamento com agentes dessecantes, seguindo os seguintes procedimentos:

Acetona: refluxo em presença de sulfato de sódio anidro sob atmosfera de argônio, seguido de destilação fracionada e estocagem em frasco com peneira molecular 4Å.

Etanol e Metanol: refluxo em presença de magnésio em pó e iodo catalítico seguido de destilação fracionada e estocagem em frasco com peneira molecular 4Å.

Dimetilformamida e Piridina: destilação fracionada em presença de KOH e estocagem em frasco com peneira molecular 4Å.

Tetraidrofurano (THF): Destilação sob sódio metálico na presença de benzofenona.

Acetonitrila e diclorometano: destilação sob CaH₂.

Nos procedimentos de purificação, por extração ou coluna cromatográfica, foram usados solventes P.A.

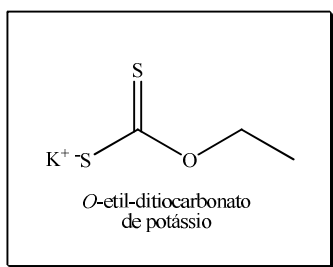
⁹⁸ Still, W. C.; Kalm, M.; Mitra, A.; *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923.

3.2. Preparação dos compostos do capítulo 1

3.2.1. Sínteses de derivados do 2-mercaptobenzotiazol e do 2-mercaptobenzimidazol.

3.2.1.1. Síntese do *O*-etil-ditiocarbonato de potássio

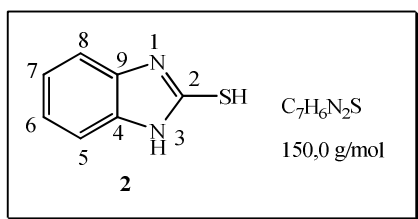
Em um balão de fundo redondo adicionou-se 5,8 mL (100 mmol) de álcool etílico anidro, 5,6 g (100 mmol) de hidróxido de potássio e pequenos pedaços de potássio metálico (0,015 g). Após 10 minutos foram adicionados à mistura reacional 7,6 mL (100 mmol) de dissulfeto de carbono. A reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 24 horas e esta se tornou uma solução amarelada. O volume da solução foi reduzido à metade em evaporador rotatório sob pressão reduzida, ocorrendo a formação de um sólido amarelo. Esse sólido foi filtrado e lavado com pequenas porções de etanol e éter etílico.



PF: 215°C; Lit.:³⁴ 215°C.

3.2.1.2. Síntese do 2-mercaptobenzimidazol **2**

Foram pesados 3,7 g (23 mmol) de *O*-etil-ditiocarbonato de potássio preparado acima em um balão de fundo redondo de 250 mL e a ele foram adicionados 50 mL de água. A mistura reacional foi aquecida à temperatura de 70°C e, após a completa solubilização do *O*-etil-ditiocarbonato de potássio, adicionou-se 1,9 g (18 mmol) de 1,2-fenilenodiamina. A reação foi deixada sob agitação magnética e refluxo sendo acompanhada por CCD, usando-se como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila 7:3. Após 4 horas de reação, verificou-se a formação de um precipitado que foi filtrado do meio reacional. O sólido obtido (2-mercaptobenzimidazol) foi lavado com água (3 x 50 mL) e seco em dessecador. Foram obtidos 1,9 g (12,7 mmol) do 2-mercaptobenzimidazol **2** (rend. 72%).



RMN ¹H (300MHz, C₆D₆): 7,17-7,22 (m, 2H, H-6 e H-7); 7,33-7,38 (m, 2H, H-5 e H-8).

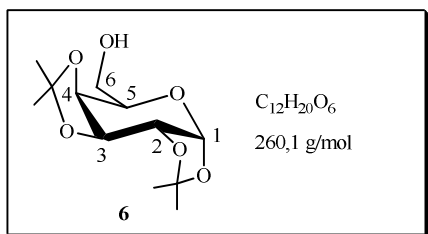
RMN ^{13}C (75MHz, C_6D_6): 110,3 (C-5 e C-8) ; 122,9 (C-6 e C-7); 134,1 (C-4 e C-9); 171,0 (C-2).

IV (v, KBr): 3500-3116, 2983, 2880, 2575, 1514, 1357 e 1177 cm^{-1} .

FF: 300-304 $^{\circ}\text{C}$ Lit.³⁴ 303-304 $^{\circ}\text{C}$.

3.2.1.3. 1,2:3,4-Di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **6**

A um balão de fundo redondo de 500 mL foram adicionados 24,0 g (176 mmol) de cloreto de zinco anidro (previamente seco sob aquecimento em bico de Bunsen) e 300 mL de acetona anidra. Em seguida, foram adicionados à solução 18,0 g (100 mmol) de D-galactose e 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado.³⁵ A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por 10 horas. O acompanhamento da reação foi feito por CCD, utilizando-se como eluente acetato de etila/metanol 8:2 e hexano/acetato de etila 8:2. Após o término da reação adicionou-se uma solução saturada de carbonato de cálcio, sob agitação magnética, até a completa neutralização. Em seguida, o meio reacional foi filtrado e a solução foi concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por CCD (hexano/acetato de etila) e foram obtidos 19,5 g (75 mmol) do produto protegido **6** (rend. 75%).



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,35, 1,43 e 1,52 (3s, 12H, 4 CH_3); 3,70-3,88 (m, 3H, H_5 , H_{6a} e H_{6b}); 4,27 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,5$ e $J_{4,3} = 8,0\text{Hz}$, H_4); 4,33 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$ e $J_{2,1} = 5,1\text{Hz}$, H_2); 4,61 (dd, 1H, $J_{3,2} = 2,4$ e $J_{3,4} = 8,0\text{Hz}$, H_3); 5,55 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,1\text{Hz}$, H_1).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 26,2-24,5 (4 CH_3); 62,4 (C-6); 68,3 (C-2); 70,7 (C-3); 70,9 (C-4); 71,7 (C-5); 96,5 (C-1); 109,6 e 108,9 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$).

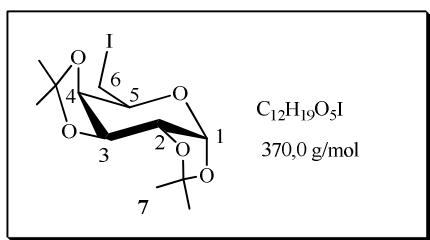
IV: (v, KRS-5) 3483, 2987, 2936, 1070 cm^{-1} .

Característica de **6**: óleo

3.2.1.3. 6-Desoxi-6-iodo-1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- α -D-galactopiranosose **7**

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 10,0 g (38,5 mmol) de **6** juntamente com 300 mL de tolueno, 16,2 g (62 mmol) de trifetilfosfina, 4,2 g (62 mmol) de imidazol e, por último, 15,7 g (62 mmol) de iodo.³⁹ A mistura reacional foi mantida sob

agitação magnética e refluxo a 100°C por 24 horas. A evolução da reação foi acompanhada por placa cromatográfica, utilizando-se como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila 9:1. Após a constatação do término da reação, a mesma foi tratada com uma solução aquosa saturada de bissulfito de sódio e, em seguida, extraída com acetato de etila (3 x 100 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O produto bruto foi submetido à purificação por CCS usando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila. Foram obtidos 12,8 g (34,6 mmol) do produto **7**, que foi cristalizado em *n*-hexano (rend. de 90%).



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 1,33, 1,35, 1,44 e 1,54 (4s, 12H, 4 CH₃); 3,23 (dd, 1H, *J*_{6a,5} ou *J*_{6b,5} = 7,1 e *J*_{6a,6b} = 9,8Hz, H_{6a} ou H_{6b}); 3,34 (dd, 1H, *J*_{6a,5} ou *J*_{6b,5} = 7,1 e *J*_{6a,6b} = 9,8Hz, H_{6a} ou H_{6b}); 3,93 (dt, 1H, *J*_{5,6a} ou *J*_{5,6b} = 7,1 e *J*_{5,4} = 1,8Hz, H₅); 4,31 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 2,4 e *J*_{2,1} = 5,0Hz, H₂); 4,41 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 1,8 e *J*_{4,3} = 7,8Hz, H₄); 4,62 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 2,4 e *J*_{3,4} = 7,8Hz, H₃); 5,54 (d, 1H, *J*_{1,2} = 5,1Hz, H₁).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃): 26,2-24,6 (4 CH₃); 62,5 (C-6); 69,1 (C-2); 70,7 (C-3); 71,3 (C-4); 71,7 (C-5); 96,9 (C-1); 109,0 e 109,7 (C_{quaternário}).

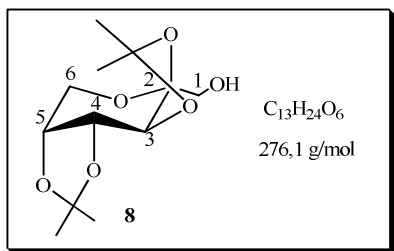
IV: (ν, KRS-5): 2993, 2929, 1064 cm⁻¹.

FF: 72-73 °C; Lit.³⁹ 72 °C.

3.2.1.4. 2,3:4,5-Di-*O* isopropilideno-β-D-frutopiranosose **8**

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 24,0 g (176 mmol) de cloreto de zinco seco e 300 mL de acetona anidra. Em seguida, adicionou-se 18,0 g (100 mmol) de D-frutose e, lentamente, 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado.³⁵ A mistura foi deixada sob agitação magnética vigorosa por 24 horas e esta se tornou uma solução amarelada. A reação foi acompanhada por CCD usando-se como eluente a mistura de solvente hexano/acetato de etila 7:3. Após o término da reação, adicionou-se uma solução saturada de carbonato de cálcio e esta permaneceu sob agitação por mais 1 hora até sua completa neutralização. O meio reacional foi filtrado e o sólido obtido (ZnCO₃) foi lavado com acetona anidra. O filtrado foi evaporado sob pressão reduzida até a secura. O resíduo obtido foi purificado por CCS

(hexano/acetato de etila), fornecendo 21,0 g (81 mmol) do produto **8** (rend. 81%) e 2,3 (9 mmol) do 1,2:4,5-Di-*O*-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **9** (rend. 9%).



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,35, 1,39, 1,48 e 1,54 (4s, 12H, 4 CH_3); 3,70 (m, 2H, H_{1a} e H_{1b}); 3,79 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 2,0\text{Hz}$, $J_{6b,6a} = 13,0\text{Hz}$, H_{6b}); 3,94 (dd, 1H, $J_{6a,5} < 1,0\text{Hz}$, $J_{6a,6b} = 13,0\text{Hz}$, H_{6a}); 4,26 (m, 1H, $J_{5,6a} < 1,0\text{Hz}$, $J_{5,4} = 7,4\text{Hz}$, H_5); 4,34 (d, 1H, $J_{3,4} = 2,1\text{Hz}$, H_3); 4,62 (dd, 1H, $J_{4,3} = 2,1$ e $J_{4,5} = 7,4\text{Hz}$, H_4).

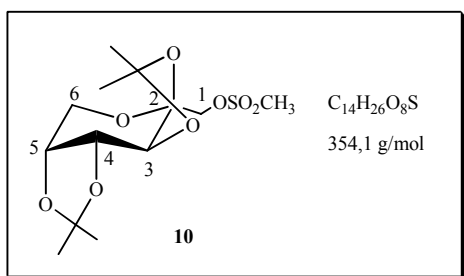
RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 26,6-24,1 (4 CH_3); 61,4 (C-6); 65,5 (C-1); 70,4 (C-3); 70,9 (C-5); 71,1 (C-4); 103,0 (C-2); 108,7 e 109,3 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$).

IV: (v, KBr): 3296, 2987, 2897, 1068 cm^{-1} .

FF. de **8**: 92-95 $^\circ\text{C}$; Lit.^{40a} 92 $^\circ\text{C}$.

3.2.1.5. 2,3:4,5-Di-*O*-isopropilideno-1-*O*-metanossulfonil- β -D-frutopiranosose **10**

Foram pesados 0,260 g (1 mmol) do intermediário **8** em um balão de fundo redondo e a ele foram adicionados 5 mL de piridina anidra (previamente destilada). Após a completa solubilização de **8** adicionou-se à mistura, à 0°C , 0,2 mL (1,5 mmol) de cloreto de metanossulfonila. A reação foi mantida sob agitação magnética por 6 horas à temperatura ambiente e foi acompanhada por CCD usando-se como eluente hexano/acetato de etila 8:2. Após a evaporação do solvente a pressão reduzida, o resíduo formado foi submetido à extração com acetato de etila e água. A fase orgânica foi evaporada à secura e o produto bruto obtido foi cristalizado usando a mistura de solventes hexano/acetato de etila fornecendo 0,237 g (0,7 mmol) do composto **10** (rendimento 70%).



RMN ^1H (400MHz, CDCl_3): 1,34, 1,42, 1,48 e 1,55 (4s, 12H, 4 CH_3); 3,20 (s, 3H, OCH_3); 3,79 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 1,3$ e $J_{6b,6a} = 13,0\text{Hz}$, H_{6b}); 3,93 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 1,7$ e $J_{6a,6b} = 13,0\text{Hz}$, H_{6a}); 4,23 (d, 1H, $J_{1b,1a} = 10,9\text{Hz}$, H_{1b}); 4,26 (ddd, 1H, $J_{5,6b} = 1,3$, $J_{5,6a} = 1,7$, $J_{5,4} = 7,9\text{Hz}$, H_5); 4,31 (d, 1H, $J_{3,4} = 2,6\text{Hz}$, H_3); 4,32 (d, 1H, $J_{1a,1b} = 10,9\text{Hz}$, H_{1a}); 4,63 (dd, 1H, $J_{4,3} = 2,6$ e $J_{4,5} = 7,9\text{Hz}$, H_4).

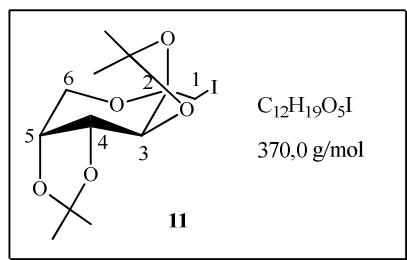
RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3): 26,4-23,9 (4 CH_3); 37,5 (CH_3SO_2), 61,3 (C-6); 69,6 (C-1); 69,8 (C-5); 71,2 (C-4); 70,5 (C-3); 100,6 (C-2); 109,1 e 109,2 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$).

IV: (v, KBr): 2999, 2932, 1351, 1174, 1068 cm^{-1} .

PF: 124 $^\circ\text{C}$; Lit.⁴² 121-122 $^\circ\text{C}$

3.2.1.6. 1-Desoxi-1-iodo-2,3:4,5-di-*O*-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **11**

Em um balão de fundo redondo foram dissolvidos 10,0 g (38,4 mmol) do diacetal **8** em 200 mL de tolueno. Em seguida, foram adicionados à mistura reacional 3,1 g (46,2 mmol) de imidazol, 12,1 g (46,2 mmol) de trifetilfosfina e 11,7 g (46,2 mmol) de iodo.³⁹ A reação foi deixada sob agitação magnética e refluxo por 48 horas, sendo acompanhada por CCD usando-se o como eluente hexano/acetato de etila 9:1. Após verificar o término da reação, todo o tolueno foi evaporado sob pressão reduzida. Ao resíduo foi adicionada uma solução aquosa de bissulfito de sódio e foi feita uma extração com diclorometano (3 x 100 mL). As fases orgânicas recolhidas foram secas com sulfato de sódio anidro e evaporadas sob pressão reduzida obtendo-se um óleo amarelado. O produto bruto foi purificado por CCS utilizando-se como eluente a mistura hexano/acetato de etila 9:1, fornecendo 11,0 g (30 mmol) do produto **11** (rend. 78%).



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,47, 1,59, 1,60 e 1,67 (4s, 12H, 4 CH_3); 3,44-3,48 (d, 1H, $J_{1b,1a} = 10,7\text{Hz}$, H_{1b}); 3,64-3,68 (d, 1H, $J_{1a,1b} = 10,7\text{Hz}$, H_{1a}); 3,89-4,06 (2dd, 2H, $J_{5,6b} = 1,1$, $J_{5,6a} = 1,8$ e $J_{6a,6b} = J_{6b,6a} = 13,0\text{Hz}$, H_{6a} e H_{6b}); 4,35 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 1,1$, $J_{5,4} = 7,9\text{Hz}$, H_5); 4,44 (d, 1H, $J_{3,4} = 2,7\text{Hz}$, H_3); 4,71 (dd, 1H, $J_{4,3} = 2,7$ e $J_{4,5} = 7,9\text{Hz}$, H_4).

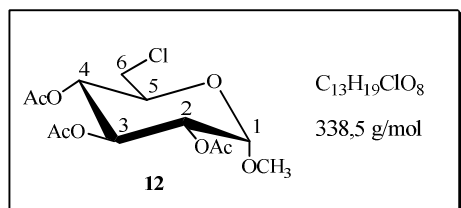
RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 10,8 (C-1); 24,3-26,6 (4 CH_3); 62,1 (C-6); 70,7 (C-5); 70,8 (C-4); 70,9 (C-3); 100,3 (C-2); 108,5 e 109,3 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$).

IV: (v, KRS-5): 2989, 2936, 1249, 1216, 1068 cm^{-1} .

Característica de **11**: óleo

3.2.1.7. 2,3,4-Tri-*O*-acetil-6-cloro-6-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila **12**

Neste item será descrita a caracterização do 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-cloro-6-desoxi- α -D-glicopiranosídeo de metila **12** utilizado na reação de acoplamento com o 2-mercaptobenzotiazol. Tal composto foi preparado por Machado.⁴³



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,96, 2,01 e 2,03 (3s, 9H, OCOCH_3); 3,39 (s, 3H, OCH_3); 3,54 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 6,5$ e $J_{6b,6a} = 12,0\text{Hz}$, H_{6b}); 3,61 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 2,8$ e $J_{6a,6b} = 12,0\text{Hz}$, H_{6a}); 4,00 (m, 1H, H_5); 4,84 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,8$ e $J_{2,3} = 9,9\text{Hz}$, H_2); 4,94 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8\text{Hz}$, H_1); 5,00 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,3\text{Hz}$, H_4); 5,45 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9,3$ e $J_{3,2} = 9,9\text{Hz}$, H_3).

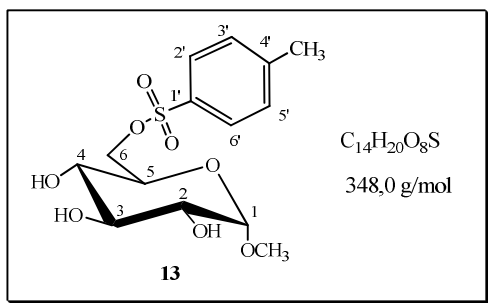
RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 20,8 (3 COCH_3); 43,5 (C-6); 55,7 (OCH_3); 68,8 (C-4); 70,0 (C-2); 70,1 (C-5); 70,8 (C-3); 96,7 (C-1); 169,7 e 170,1 (3 $\text{C}=\text{O}$).

IV: (v, KBr): 2956, 2837, 1743, 1060 e 1037 cm^{-1} .

FF: 94-96 $^\circ\text{C}$; Lit.⁴³ 92-93 $^\circ\text{C}$.

3.2.1.8. 6-*O*-(4-Toluenossulfonil)- α -D-glicopiranosídeo de metila **13**

A uma solução de 5,8 g (30 mmol) de α -D-glicopiranosídeo de metila em piridina anidra (30 mL) foi adicionado lentamente, à 0°C , 7,6 g (40 mmol) de cloreto de p-toluenossulfonila.⁴¹ A reação foi mantida sob agitação magnética por 24 horas à temperatura de $0-5^\circ\text{C}$ e acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila/metanol 9:1). Tendo verificado o término da reação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo bruto obtido foi purificado por CCS (eluente acetato de etila/metanol). O sólido obtido foi recristalizado utilizando-se a mistura de solventes acetato de etila/éter etílico, sendo obtidos 3,5 g (10,1 mmol) do produto **13** (rend. 34%).



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 2,41 (s, 3H, ArCH_3); 3,29 (s, 3H, OCH_3); 3,39 (t, 1H, $J_{4,5} = J_{4,3} = 9,4$ Hz, H_4); 3,48 (dd, 1H, $J_{2,1} = 3,7$ e $J_{2,3} = 9,9$ Hz, H_2); 3,69 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{2,3} = 9,2$ Hz, H_3); 3,70-3,74 (m, 1H, H_5); 4,21-4,31 (m, 2H, H_{6a} e H_{6b}); 4,64 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, H_1); 7,31-7,33 (d, 1H, $J_{3',2'} = J_{5',6'} = 8,1$ Hz, $\text{H-3}'$ e $\text{H-5}'$); 7,76-7,79 (d, 1H, $J_{2',3'} = J_{6',5'} = 8,1$ Hz, $\text{H-2}'$ e $\text{H-6}'$).

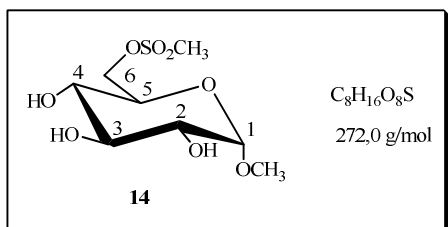
RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 21,8 (ArCH_3); 55,5 (OCH_3); 69,5 (C-4); 69,6 (C-6); 69,8 (C-2); 71,9 (C-5); 74,1 (C-3); 96,6 (C-1); 128,2 (C-2' e C-6'); 130,1 (C-3' e C-5'); 132,9 (C-4');

IV: (v, KBr): 3370, 2918, 1355, 1170, 1056 cm^{-1} .

FF: 121-123 $^\circ\text{C}$; Lit.⁴⁴ 122-124 $^\circ\text{C}$.

3.2.1.8. 6-O-Metanossulfonil- α -D-glicopiranosídeo de metila **14**

A uma solução de 2,5 g (13 mmol) de α -D-glicopiranosídeo de metila em 10,0 mL de piridina, foi adicionado lentamente, à 0°C , 1,0 mL (13 mmol) de cloreto de metanossulfonila.⁴¹ A reação permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 24 horas, sendo acompanhada por CCD (eluente: acetato de etila /metanol 9:1). Durante a evolução da reação foram adicionados mais duas vezes 0,25 equivalentes (0,25 mL; 3,25 mmol) de cloreto de metanossulfonila. Após o consumo de grande parte do material de partida, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por CCS (eluente acetato de etila /metanol). Foram obtidos 1,4 g (5,2 mmol) do produto mesilado **14** (rend. 40%). Esta reação forneceu uma mistura de outros isômeros mono e dimesilados, os quais não foram isolados.



RMN ¹H (300MHz, Acetona *d*-6): 2,07 (s, 3H, OH); 3,11 (s, 3H, SO₂CH₃); 3,39 (m, 5H, H₃, H₂ e OCH₃); 3,65 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9,2\text{Hz}$, H₄); 3,71-3,77 (m, 1H, H₅); 4,39 (dd, 1H, $J_{6b,5} = 5,5$ e $J_{6b,6a} = 11,0\text{Hz}$, H_{6b}); 4,50 (dd, 1H, $J_{6a,5} = 1,9$ e $J_{6a,6b} = 11,0\text{Hz}$, H_{6a}); 4,67 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8\text{Hz}$, H₁).

RMN ¹³C (75MHz, Acetona *d*-6): 37,3 (SO₂CH₃); 55,6 (OCH₃); 70,6 (C-4); 70,8 (C-2); 71,0 (C-6); 73,3 (C-5); 74,9 (C-3); 101,0 (C-1).

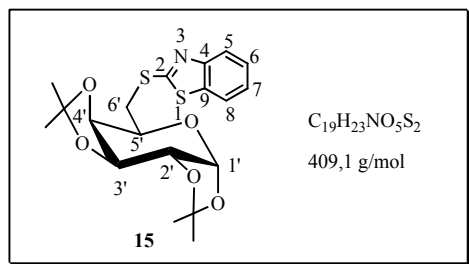
IV: (v, KBr): 3529, 3017, 2921, 2846, 1339, 1056 cm⁻¹.

FF: 98-101 °C; Lit.⁴⁵ 99-101 °C

3.2.1.9. 1',2':3',4'-Di-*O*-isopropilideno-6'-desoxi-6'-*S*-(2-mercaptobenzotiazol)-α-D-galactopiranosose **15**

Foram adicionados 0,45 g de 2-mercaptobenzotiazol e 0,11 g de hidreto de sódio em 3,0 mL de DMF anidra. Essa mistura foi deixada sob agitação magnética por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico assim formado foi adicionado a uma solução de 1,0 g (2,7 mmol) do iodeto de galactose **7** em 3,0 mL de DMF. A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética à 120°C.⁴⁶ A reação foi acompanhada por placa cromatográfica (CCD) usando-se como eluente hexano/acetato de etila 8:2 e como reveladores I₂, UV e solução de ácido sulfúrico. Após 24 horas foi feita uma extração utilizando-se éter etílico/água. A fase orgânica foi seca usando-se sulfato de sódio anidro, e em seguida, evaporada à secra sob pressão reduzida. O produto bruto obtido, um óleo amarelado, foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila 8:2 sendo obtidos 0,93 g (2,3 mmol) do produto **15** (rend. 85%).

Quantidades adicionais do produto **15** foram obtidas usando-se este mesmo procedimento (2,0 g, 70%).



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 1,27, 1,29, 1,34 e 1,41 (4s, 12H, 4 CH₃); 3,47-3,49 (dd, 2H, $J_{6'a,5'} = 6,8$ e $J_{6'a,6'b} = 13,5$, H_{6'a} e H_{6'b}); 4,24 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 2,4$ e $J_{2',1'} = 5,0\text{Hz}$, H_{2'}); 4,28 (m, 1H, H_{5'}); 4,37 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 1,7$ e $J_{4',3'} = 7,9\text{Hz}$, H_{4'}); 4,58 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 2,4$ e $J_{3',4'} = 7,9\text{Hz}$, H_{3'}); 5,49 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5,0\text{Hz}$, H_{1'}); 7,17 (ddd, 1H, $J_{7,5} = 1,1$, $J_{7,6} = 7,3$ $J_{7,8} = 8,0\text{Hz}$,

H₇); 7,33 (ddd, 1H, $J_{6,8} = 1,3$, $J_{6,7} = 7,1$, $J_{6,5} = 7,3$ Hz, H₆); 7,64 (ddd, 1H, $J_{8,5} = 0,6$, $J_{8,6} = 1,3$, $J_{8,7} = 8,0$ Hz, H₈); 7,76 (ddd, 1H, $J_{5,8} = 0,6$, $J_{5,7} = 1,3$, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, H₅).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃): 24,0-26,5 (4 CH₃); 41,3 (C-6'); 61,2 (C-2'); 70,4 (C-3'); 70,8 (C-4'); 72,7 (C-5'); 102,6 (C-1'); 108,9 e 109,3 (C_{quaternário}); 121,1 e 121,4 (C-5 e C-8); 124,3 e 126,0 (C-6 e C-7); 136,0 (C-9); 153,0 (C-4); 167,0 (C-2).

IV: (v, KRS-5): 3061, 2985, 2936, 1068 cm⁻¹.

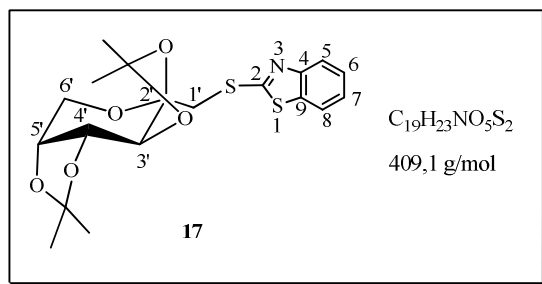
$[\alpha]^D = -72,4$ (c 1,0; CH₂Cl₂).

Característica de **15**: óleo

3.2.1.10. 1'-Desoxi-1'-S-(2-mercaptobenzotiazol)-2',3':4',5'-di-O-isopropilideno-β-D-frutopirranose **17**

Foi adicionado 0,77 g (4,6 mmol) de 2-mercaptobenzotiazol e 0,18 g (4,6 mmol) de hidreto de sódio em 3,0 mL de DMF anidra. Essa mistura foi deixada sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico assim formado foi adicionado a uma solução de 0,85 g (2,3 mmol) do iodeto de frutose **11** em 5,0 mL de DMF. A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética à 120°C⁴⁶ e foi acompanhada por CCD, usando-se eluente hexano/acetato de etila 8:2 e como reveladores I₂, UV e solução de ácido sulfúrico. Após 48 horas foi feita uma extração usando-se acetato de etila/água. A fase orgânica foi seca e evaporada sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica usando-se como eluente a mistura hexano/acetato de etila. Foram obtidos 0,75 g (1,84 mmol) do composto **17** (rend. 80%).

Quantidades adicionais do produto (1,0 g; 75%) foram obtidas usando-se o mesmo procedimento.



RMN ¹H (300MHz, DMSO *d*-6): 1,35, 1,41, 1,44 e 1,55 (4s, 12H, 4 CH₃); 3,78-3,98 (m, 4H, H_{6'a}, H_{6'b}, H_{1'a} e H_{1'b}); 4,26 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 2,5$ e $J_{5',4'} = 7,8$ Hz, H_{5'}); 4,39 (d, 1H, $J_{3',4'} = 2,5$ Hz, H_{3'}); 4,63 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 2,5$ e $J_{4',5'} = 7,8$ Hz, H_{4'}); 7,23 (ddd, 1H, $J_{7,5} = 1,3$, $J_{7,6} = 7,0$, $J_{7,8} = 7,9$ Hz, H₇); 7,35 (ddd, 1H, $J_{6,8} = 1,3$, $J_{6,7} = 7,0$, $J_{6,5} = 7,9$ Hz, H₆); 7,68 (ddd, 1H, $J_{8,5} = 0,7$, $J_{8,6} = 1,3$, $J_{8,7} = 8,0$ Hz, H₈); 7,76 (ddd, 1H, $J_{5,8} = 0,7$, $J_{5,7} = 1,3$, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, H₅).

RMN ^{13}C (75MHz, DMSO *d*-6): 24,0-26,5 (4 CH_3); 41,5 (C-1'); 61,9 (C-6'); 70,6 (C-4') e (C-5'); 72,9 (C-3'); 102,8 (C-2'); 109,5 ($\text{C}_{\text{Quaternário}}$); 121,3 (C-8); 121,7 (C-5); 124,4 (C-7); 126,2 (C-6); 135,8 (C-9); 153,3 (C-4); 167,4 (C-2).

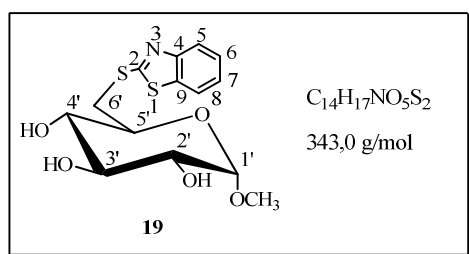
IV: (v, KRS-5): 3062, 2988, 2935, 1067, 992 cm^{-1} .

$[\alpha]_{\text{D}} = -7,1$ (c 2,0; CH_2Cl_2).

Característica de **17**: óleo

3.2.1.11. 6'-Desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzotiazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **19**

Foram adicionados 0,50 g (2,9 mmol) de 2-mercaptobenzotiazol e 0,95 g (2,9 mmol) de hidreto de sódio em 4,0 mL de DMF anidra. Essa mistura reacional foi deixada sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico formado foi adicionado a uma solução de 0,55 g (2,4 mmol) do mesilato **14** em 5,0 mL de DMF.⁴⁶ A reação foi acompanhada por CCD usando-se como eluente diclorometano/metanol 9:1 e como reveladores I_2 , UV e solução de ácido sulfúrico. Após 48 horas sob agitação magnética à 120°C, foi feita uma extração usando-se diclorometano/água. A fase orgânica foi seca e evaporada sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por CCS usando como eluente a mistura hexano/acetato de etila 9:1. Foram obtidos 0,57 g (1,7 mmol) do composto **19** (rend. 70%).



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 3,34 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 8,9$ e $J_{3',2'} = 9,5\text{Hz}$, $\text{H}_{3'}$); 3,42 (s, 3H, OCH_3); 3,49 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 3,3$ e $J_{2',3'} = 9,6$, $\text{H}_{2'}$); 3,54 (m, 1H, $\text{H}_{5'}$); 3,68 (t, 1H, $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9,1\text{Hz}$, $\text{H}_{4'}$); 3,86-3,97 (m, 2H, $\text{H}_{6'a}$ e $\text{H}_{6'b}$); 4,69 (d, 1H, $J_{1',2'} = 3,6\text{Hz}$, $\text{H}_{1'}$); 7,34-7,46 (2t, 2H, $J = 7,9$, H_6 e H_7); 7,86 (dd, 2H, $J = 7,7$, $J = 8,0\text{Hz}$, H_5 e H_8).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 36,9 (C-6'); 55,8 (OCH_3); 71,8 (C-4') 73,6 (C-2'); 74,8 (C-5'); 75,0 (C-3'); 101,4 (C-1'); 122,1 (C-5); 122,4 (C-8); 125,9 (C-6); 127,5 (C-7); 136,3 (C-9); 154,2 (C-4); 169,9 (C-2).

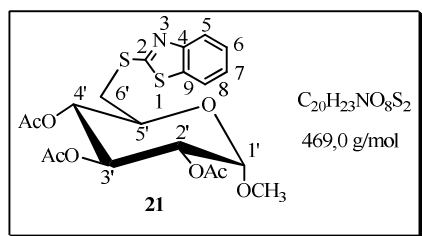
IV: (v, KBr): 3471, 2917, 2944, 1426, 1046 cm^{-1} .

$[\alpha]_{\text{D}} = +98,3$ (c 1,0; MeOH)

FF: 106-108 °C.

3.2.1.12. 2',3',4'-Tri-*O*-acetil-6'-desoxi-6'-*S*-(2-mercaptobenzotiazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **21**

Foram adicionados 0,12 g (0,7 mmol) de 2-mercaptobenzotiazol e 0,03 g (0,7 mmol) de hidreto de sódio em 3,0 mL de DMF anidra. Essa mistura foi deixada sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico formado foi adicionado a uma solução de 0,20 g (0,6 mmol) do cloreto **12** em 3,0 mL de DMF.⁴⁶ A reação foi acompanhada por (CCD) usando-se como eluente hexano/acetato de etila 8:2 e como reveladores I₂, UV e solução de ácido sulfúrico. Após 24 horas sob agitação magnética à 120°C foi feita uma extração utilizando-se éter etílico/água. A fase orgânica foi seca utilizando-se sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura de solvente hexano/éter etílico 8:2, fornecendo 0,26 g (0,55 mmol) do produto **21** (rend. 92%).



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 2,14, 2,19 e 2,24 (3s, 3H, COCH₃); 3,52 (s, 3H, OCH₃); 3,64 (dd, 1H, $J_{6'b,5'} = 8,0$ e $J_{6'b,6'a} = 14,0$ Hz, H_{6'b}); 3,93 (dd, 1H, $J_{6'a,5'} = 2,9$ e $J_{6'a,6'b} = 14,0$ Hz, H_{6'a}); 4,28 (m, 1H, H_{5'}); 5,03 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 3,6$ e $J_{2',3'} = 9,5$ Hz, H_{2'}); 5,08 (d, 1H, $J_{1',2'} = 3,6$ Hz, H_{1'}); 5,21 (t, 1H, $J_{4',3'} = 9,3$ e $J_{4',5'} = 9,8$ Hz, H_{4'}); 5,65 (t, 1H, $J_{3',2'} = 9,5$ e $J_{3',4'} = 9,3$ Hz, H_{3'}); 7,39-7,44 (m, 1H, $J_{7,5} = 1,3$, $J_{7,6} = 7,3$ e $J_{7,8} = 7,9$ Hz, H₇); 7,50-7,56 (m, 1H, $J_{6,8} = 1,3$, $J_{6,7} = 7,3$ e $J_{6,5} = 7,3$ Hz, H₆); 7,85-7,88 (dl, 2H, $J_{8,7} = 7,9$ Hz, H₈); 7,92-7,95 (dl, 2H, $J_{5,6} = 8,2$ Hz, H₅).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃): 20,7-20,8 (COCH₃), 34,3 (C-6'); 55,4 (OCH₃); 68,1 (C-4') 70,8 (C-2'); 71,6 (C-5'); 76,8 (C-3'); 96,5 (C-1'); 121,1 (C-5); 121,4 (C-8); 124,4 (C-6); 126,1 (C-7); 135,2 (C-9); 152,9 (C-4); 165,9 (C-2); 169,9-170,1 (3 C=O).

IV: (v, KBr): 3062, 2951, 2846, 1752, 1100 cm⁻¹.

HRMS (ES+, m/z): calculada: 492.0757 (M+Na+).

encontrada: 492.0768 (M+Na+).

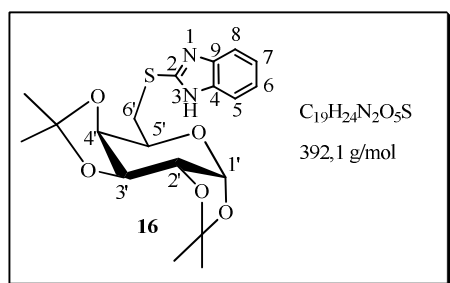
FF: 125-127 °C.

Tabela 3.1. Dados de análise elementar de **15** e **19**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
15	55,72	55,99	5,66	5,97	3,42	3,25
19	48,96	47,65	4,99	4,77	4,08	4,08

3.2.1.13. 1',2':3',4'-Di-*O*-isopropilideno-6'-desoxi-6'-*S*-(2-mercaptobenzimidazol)- α -D-galactopiranosose **16**

Foram adicionados 0,53 g (3,5 mmol) de 2-mercaptobenzimidazol e 0,14 g (3,5 mmol) de hidreto de sódio em 5,0 mL de DMF anidra. Essa mistura foi deixada sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico formado foi adicionado a uma solução de 1,0 g (2,9 mmol) do iodeto de galactose **7** em 3,0 mL de DMF.⁴⁶ A reação foi acompanhada por (CCD) usando-se como eluente hexano/acetato de etila 6:4 e como reveladores I₂, UV e solução de ácido sulfúrico. Após 60 horas sob agitação magnética à 120°C foi feita uma extração utilizando-se acetato de etila/água. A fase orgânica foi seca usando-se sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura de solvente hexano/acetato de etila 6:4 sendo obtidos 0,75 g (1,9 mmol) do produto **16** (rend. 71%).



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 1,26, 1,31, 1,38 e 1,56 (4s, 12H, 4 CH₃); 3,45 (dd, 1H, $J_{6'a,5'}$ ou $J_{6'b,5'} = 8,0$ e $J_{6'a,6'b} = 14,0$ Hz, H_{6'a} ou H_{6'b}); 3,55 (dd, 1H, $J_{6'a,5'}$ ou $J_{6'b,5'} = 5,5$ e $J_{6'b,6'a} = 14,0$ Hz, H_{6'a} ou H_{6'b}); 4,22 (m, 1H, H_{5'}); 4,34 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 2,4$ e $J_{2',1'} = 5,0$ e Hz, H_{2'}); 4,42 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 1,7$ e $J_{4',3'} = 8,0$ Hz e, H_{4'}); 4,65 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 2,4$ e $J_{3',4'} = 8,0$ Hz, H_{3'}); 5,56 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5,0$ Hz, H_{1'}); 7,16-7,22 (m, 2H, H₆ e H₇); 7,49-7,54 (m, 2H, H₅ e H₈).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃): 24,5-26,2 (4 CH₃); 32,9 (C-6'); 67,5 (C-2') 70,7 (C-3'); 70,9 (C-4'); 71,8 (C-5'); 96,8 (C-1'); 121,1 (C-5); 109,3 e 109,7 (C_{quaternário}); 114,3 (C-5 e C-8); 122,7 (C-6 e C-7); 138,9 (C-4 e C-9); 150,0 (C-2).

IV: (v, KBr): 3600-3200, 3066, 2935, 2904, 1070 cm⁻¹.

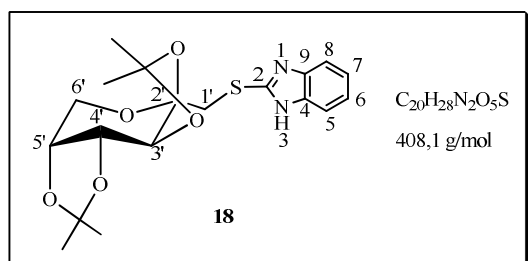
$[\alpha]_D = -71,9$ (c 1,1; CH_2Cl_2)

FF: 90-93 °C.

3.2.1.14. 1'-Desoxi-1'-S-(2-mercaptobenzimidazol)-2',3':4',5'-di-O-isopropilideno- β -D-frutopiranosose **18**

Foram adicionados 0,40 g (3,3 mmol) de 2-mercaptobenzimidazol **3** e 0,11 g (3,3 mmol) de hidreto de sódio em 3 mL de DMF anidra. Essa mistura foi deixada sob agitação por 10 minutos à temperatura ambiente e o sal sódico formado foi adicionado a uma solução de 1,2 g (3,3 mmol) do iodeto de frutose **12** em 5,0 mL de DMF.⁴⁶ A reação foi acompanhada por (CCD) usando-se como eluente hexano/acetato de etila 7:3 e como reveladores I_2 , UV e solução de ácido sulfúrico. Após 96 horas sob agitação magnética em refluxo à 120°C foi feita uma extração utilizando-se acetato de etila/água. A fase orgânica foi seca usando-se sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura de solvente hexano/acetato de etila 7:3, fornecendo 0,69 g (1,8 mmol) do produto **18** (rend. 55%).

Quantidades adicionais do produto (0,8 g 40-50%) foram obtidas usando-se o mesmo procedimento.



RMN ^1H (400MHz, CDCl_3): 1,38, 1,40, 1,45 e 1,56 (4s, 12H, 4 CH_3); 3,46-3,67 (2d, 2H, $J_{1'a,1'b} = J_{1'b,1'a} = 14,8\text{Hz}$, $\text{H}_{1'a}$ e $\text{H}_{1'b}$); 3,94-4,06 (2dd, 2H, $J_{6'a,5} = 2,5$, $J_{6'b,5'} < 1,0\text{Hz}$ e $J_{6'a,6'b} = J_{6'b,6'a} = 13,0\text{Hz}$, $\text{H}_{6'a}$ e $\text{H}_{6'b}$); 4,31 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 2,4$ e $J_{5',4'} = 7,9\text{Hz}$, $\text{H}_{5'}$); 4,33 (d, 1H, $J_{3',4'} = 2,5\text{Hz}$, $\text{H}_{3'}$); 4,67 (dd, 1H, $J_{4',3'} = 2,4$ e $J_{4',5'} = 7,9\text{Hz}$, $\text{H}_{4'}$); 7,16-7,21 (m, 2H, H_6 e H_7); 7,47-7,51 (m, 2H, H_5 e H_8).

RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3): 19,0-21,4 (4 CH_3); 36,7 (C-1'), 56,4 (C-6'); 65,0 (C-5'); 65,3 (C-4'); 67,7 (C-3'); 97,1 (C-2'); 109,5 (C_{quaternário}); 104,1 (C-5 e C-8); 117,2 (C-6 e C-7); 134,0 (C-4 e C-9); 145,5 (C-2).

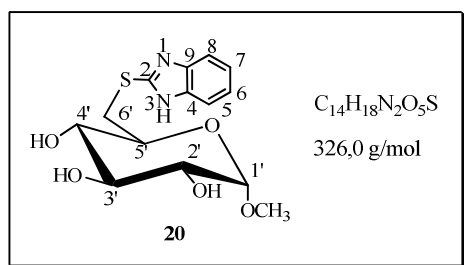
IV: (v, KRS-5): 3052, 2987, 2937, 1067 cm^{-1} .

Característica de **18**: óleo.

3.2.1.15. 6'-Desoxi-6'-S-(2-mercaptopbenzimidazol)- α -D-glicopiranosídeo de metila **20**

Foram adicionados 0,50 g (3,3 mmol) de 2-mercaptopbenzimidazol **3** e 0,10 g (3,3 mmol) de hidreto de sódio em 3 mL de DMF anidra. Após agitação por 10 minutos à temperatura ambiente o sal sódico assim formado foi adicionado a uma solução de 0,72 g (2,6 mmol) do mesilato **14** em 4 mL de DMF.⁴⁶ A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética à 110°C e acompanhada por CCD usando-se como eluente acetato de etila/metanol 9:1 e como reveladores I₂, UV e solução de ácido sulfúrico. Após 48 horas, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente a mistura de solventes acetato de etila/metanol 9,5:0,5. Foram obtidos 0,40 g (1,2 mmol) do produto **20** (rend. 47%).

Quantidades adicionais do produto foram obtidas através da repetição da reação sob as mesmas condições (0,5 g; rend 40%).



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,20 (sl, 4H, H_{3'} e OCH₃); 3,24-3,35 (t, 1H, J_{4',5'} = J_{4',3'} = 9,5 Hz, H_{6'b}); 3,41-3,45 (dd, 1H, J_{2',1'} = 3,7 e J_{2',3'} = 9,6Hz, H_{2'}); 3,51-3,60 (m, 2H, H_{5'} e H_{6'a}); 3,74 (m, 1H, H_{4'}); 4,74 (d, 1H, J_{1',2'} = 3,6Hz, H_{1'}); 7,06-7,10 (m, 2H, H₆ e H₇); 7,28-7,31 (m, 2H, H₅ e H₈).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 36,3 (C-6'); 57,5 (OCH₃); 72,7 (C-4'); 73,8 (C-2'); 74,8 (C-3'); 75,3 (C-5'); 101,8 (C-1'); 116,3 (C-5 e C-8); 124,2 (C-6 e C-7); 140,6 (C-4 e C-9); 153,1 (C-2).

IV: (v, KBr): 3381-3000, 2929, 2838, 1440, 1408, 1049 cm⁻¹.

[α]^D = +38,6 (c 1,1; MeOH)

FF: 106-108 °C.

HRMS (ES+, m/z): calculada: 349,0834 (M+Na)⁺.

encontrada: 349,0822 (M+Na)⁺.

Tabela 3.2. Dados de análise elementar de **16**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
16	58,15	58,35	6,16	5,90	7,14	7,24

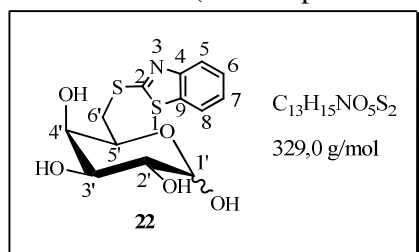
3.2.1.16. Metodologia Geral para a síntese dos compostos polioidroxilados **22**, **23** e **24**.

Às soluções dos derivados protegidos **15**, **16** ou **17** (1,0 mmol) em 5 mL de tetraidrofurano foram adicionados lentamente 2 mL de uma solução de ácido trifluoracético/água destilada 9:1 v/v. As misturas dos compostos **15** e **16** permaneceram sob agitação magnética à temperatura ambiente por 96 horas, enquanto a mistura do composto **17** foi mantida sob agitação à 60° C por 12 horas. As reações foram acompanhadas por CCD usando-se como eluente as misturas de solventes hexano/acetato de etila 8:2 e diclorometano/metanol 9:1. Após o término das reações o solvente foi evaporado a secura e o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano/metanol). Os compostos obtidos e seus respectivos rendimentos estão dispostos na tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Rendimentos das reações de desproteção.

Composto polioidroxilado	Rendimento
22	81%
23	84%
24	79%

6'-Desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzotiazolil)-D-galactopiranosose **22**



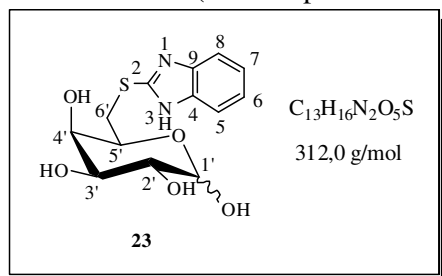
RMN ¹H (300MHz, DMSO *d*-6): 3,10-3,65 (m, 18H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a} e H_{6'b} (α + β) e OH); 4,19 (d, 1H, J_{1'β,2'} = 6,8Hz, H_{1'β}); 4,89 (d, 1H, J_{1'α,2'} = 2,8Hz, H_{1'α}); 7,31-7,39 (m, 4H, J = 7,0 e J = 7,4Hz, H_{6α}, H_{6β}, H_{7α} e H_{7β}); 7,76-7,93 (m, 4H, J = 2,0 e J = 7,7Hz, H₅ e H₈).

RMN ^{13}C (75MHz, DMSO *d*-6): 43,6 e 43,8 (C-6' α e C-6' β); 79,8 e 81,3 (C-5' α e β); 78,0 (C-4' α e β); 78,7 e 79,1 (C-2' α e β); 82,2 e 82,8 (C-3' α e β); 102,5 (C-1' α); 107,2 (C-1' β); 130,7 e 131,4 (C-5 e C-8); 134,1 e 136,0 (C-6 e C-7); 144, 2 (C-9); 162,3 (C-4); 176,6 (C-2).

IV: (v, KBr): 3347, 2935, 2852, 1456, 1427, 1067, 1003 cm^{-1} .

FF: 185-189 $^{\circ}\text{C}$.

6'-Desoxi-6'-S-(2-mercaptobenzimidazol)-D-galactopiranosose **23**



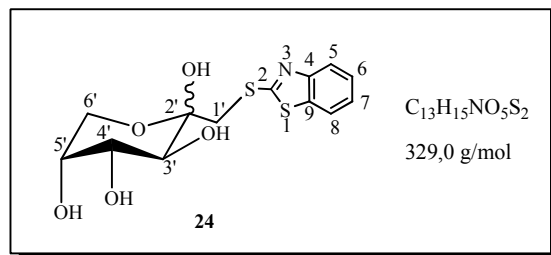
RMN ^1H (300MHz, CD_3OD): 2,0 (s, 8H, OH); 3,24-4,17 (m, 12H, H_2' , H_3' , H_4' , H_5' , $\text{H}_{6'a}$ e $\text{H}_{6'b}$ (α + β); 4,87 (sl, 1H, $\text{H}_{1'\beta}$); 5,12 (d, 1H, $J_{1'\alpha, 2'} = 3,0$, $\text{H}_{1'\alpha}$); 7,10-7,13 (m, 4H, $\text{H}_{6\alpha}$, $\text{H}_{6\beta}$, $\text{H}_{7\alpha}$ e $\text{H}_{7\beta}$); 7,38-7,41 (m, 4H, $\text{H}_{6\alpha}$, $\text{H}_{6\beta}$, $\text{H}_{7\alpha}$ e $\text{H}_{7\beta}$).

RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD): 36,1 (C-6' α e C-6' β); 79,8 e 81,3 (C-5' α e β); 78,0 (C-4' α e β); 78,7 e 79,1 (C-2' α e β); 82,2 e 82,8 (C-3' α e β); 102,5 (C-1' α); 107,2 (C-1' β); 130,7 e 131,4 (C-5 e C-8); 134,1 e 136,0 (C-6 e C-7); 142, 0 (C-4 e C-9); 150,8 (C-2).

IV: (v, CsI): 3600-3200, 2929, 2852, 1441, 1390, 1100 cm^{-1} .

Característica de **23**: óleo

1'-Desoxi-1'-S-(2-mercaptobenzotiazol)-D-frutopiranosose **24**



RMN ^1H (300MHz, CD_3OD): 3,23-3,96 (m, 14H, $\text{H}_{1'a\beta}$, $\text{H}_{1'b\beta}$, $\text{H}_{2'\beta}$, $\text{H}_{3'\beta}$, $\text{H}_{5'\beta}$, $\text{H}_{6'a\beta}$ e $\text{H}_{6'b\beta}$); 4,87 (1H, $\text{H}_{4'\beta}$); 7,28-7,39 (m, 2H, $\text{H}_{6\beta}$ e $\text{H}_{7\beta}$); 7,73-7,80 (m, 2H, $\text{H}_{5\beta}$ e $\text{H}_{8\beta}$).

RMN ^{13}C (75MHz, CD_3OD): 43,6 e 43,8 (C-6' α e C-6' β); 79,8 e 81,3 (C-5' α e β); 78,0 (C-4' α e β); 78,7 e 79,1 (C-2' α e β); 82,2 e 82,8 (C-3' α e β); 102,5 (C-1' α); 107,2 (C-1' β); 130,7 e 131,4 (C-5 e C-8); 134,1 e 136,0 (C-6 e C-7); 144, 2 (C-9); 162,3 (C-4); 176,6 (C-2).

IV: (v, CsI): 3663, 2922, 2852, 1100 cm^{-1} .

Característica de **24**: óleo.

Tabela 3.4. Dados de análise elementar de **22**.

Composto	% C		% H		% N	
	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.	Teórico	Experim.
22 . H ₂ O	44,94	45,75	4,93	3,89	4,03	4,16

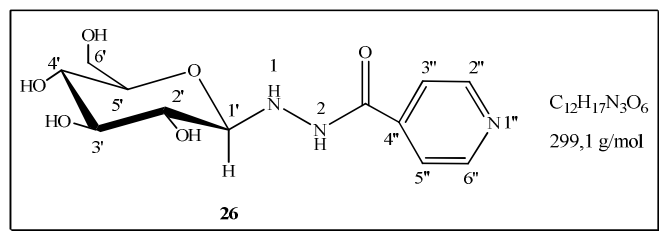
3.2.2. Metodologia geral para a síntese dos compostos derivados da isoniazida **26** à **38**.

A uma solução de isoniazida (4,2 mmol, 1,5 equiv.) em 20 mL de metanol à 60°C foram adicionados 2,8 mmol dos respectivos carboidratos (Tabela 3.5). A mistura reacional foi mantida sob agitação à 60 °C por 24h. Os sólidos formados foram filtrados e lavados com metanol à quente e a seguir recristalizados com uma mistura de metanol/água para fornecer os compostos **26**, **27**, **28**, **32**, **33**, **35**, **36** e **38**. Para os compostos **29**, **30**, **31**, **34** e **37** o resíduo obtido à partir da evaporação do solvente foi purificado por cromatografia usando como eluente uma mistura de acetato de etila/metanol.⁵²

Tabela 3.5. Rendimentos do compostos **26** à **38**

Composto	Rendimento
26	73%
27	63%
28	75%
29	65%
30	30%
31	22%
32	51%
33	50%
34	50%
35	37%
36	67%
37	63%
38	20%

3.2.2.1. 1-(1'-β-D-Glicopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina^{52a} **26**



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,29-3,42 (m, 3H, H_{2'}, H_{5'}, H_{4'}); 3,47-3,53 (t, 1H, *J* = 8,7 e *J* = 9,7Hz, H_{3'}); 3,63-3,71 (dd, 1H, *J*_{6'b,5'} = 5,6 e *J*_{6'b,6'a} = 12,8Hz, H_{6'b}); 3,83-3,87 (dl, 1H, *J*_{6'a,6'b} = 12,8Hz, H_{6'a}); 4,16-4,19 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 8,9Hz, H_{1'}); 7,62-7,65 (dl, 2H, *J* = 6,2Hz, H_{3''} e H_{5''}); 8,60-8,62 (dl, 2H, *J* = 5,3Hz, H_{2''} e H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O) δ 62,8 (C-6'); 71,5 (C-4'); 72,7 (C-2'); 78,2 (C-5'); 78,8 (C-3'); 91,7 (C-1'); 123,7 (C-3'', C-5''); 142,6 (C-4''); 152,4 (C-2'', C-6''); 169,9 (C=O).

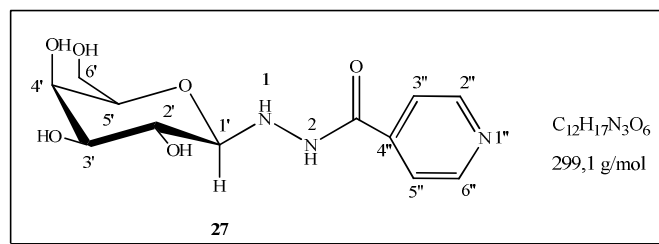
IV (ν, KBr): 3483, 2929, 2884, 1664, 1548, 1100 e 1024 cm⁻¹;

HRMS (ES+, *m/z*): calculada: 322,1010 (M+Na+).

encontrada: 322,1021(M+Na+).

FF: 162-163 °C; Lit.:^{52a} 160 °C.

3.2.2.2. 1-(1'-β-D-Galactopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina^{52a} **27**



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,54-3,89 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a} e H_{6'b}); 4,11-4,14 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 8,8, H_{1'}); 7,62-7,64 (dl, 2H, *J* = 6,2Hz, H_{3''} e H_{5''}); 8,58-8,60 (dl, 2H, *J* = 5,3Hz, H_{2''} e H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O) δ 61,5 (C-6'); 68,5 (C-4'); 68,9 (C-3')*; 73,4 (C-2')*; 76,3 (C-5'); 91,7 (C-1'); 123,7 (C-3'', C-5''); 142,6 (C-4''); 152,4 (C-2'', C-6''); 169,9 (C=O).

IV (ν, KBr): 3420, 2936, 2856, 1658, 1552, 1104 e 1041 cm⁻¹.

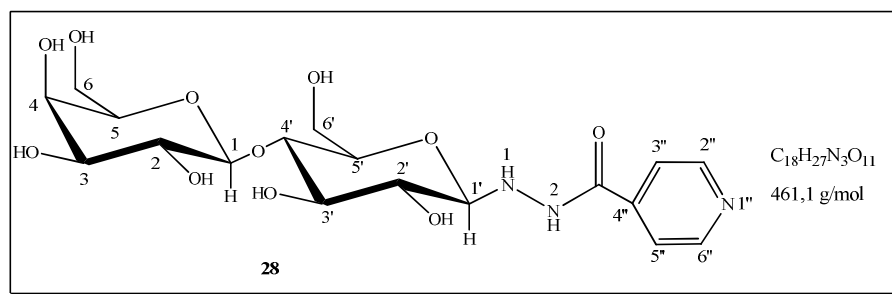
HRMS (ES+, *m/z*): calculada: 322,1010 (M+Na+).

encontrada: 322,1021(M+Na+).

FF: 163-166°C; Lit.:^{52a} 156°C.

* atribuições intercambiáveis

3.2.2.3. 1-(1'-β-D-Lactosil)-2-isonicotinoil-hidrazina^{52a} **28**



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,45-4,03 (m, 12H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'a}, H_{6'b}, H₂, H₃, H₄, H₅, H_{6a} e H_{6b}); 4,30-4,33 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9,0\text{Hz}$, H_{1'}); 4,48-4,50 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,5\text{Hz}$, H₁); 7,74-7,76 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 5,5\text{Hz}$, H_{3''} e H_{5''}); 8,72-8,60 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 5,2\text{Hz}$, H_{2''} e H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O) δ 61,1 (C-6'); 61,9 (C-6); 69,5 (C-4); 71,5 (C-2'); 71,9 (C-2); 73,5 (C-3); 75,9 (C-5'); 76,3 (C-5); 76,8 (C-3'); 79,3 (C-4'); 92,4 (C-1'); 105,7 (C-1); 124,6 (C-3'', C-5''); 143,5 (C-4''); 152,4 (C-2'', C-6''); 170,9 (C=O).

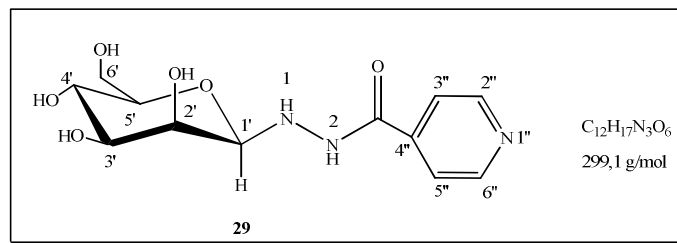
IV (ν, KBr): 3528-3109, 2914, 2871, 1661, 1567 e 1029 cm⁻¹;

HRMS (ES+, m/z): calculada: 484,1646 (M+Na+).

encontrada: 484, 1535(M+Na+).

FF: 212-213°C, Lit.:^{52a} 204°C.

3.2.2.4. 1-(1'-β-D-Manopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **29**



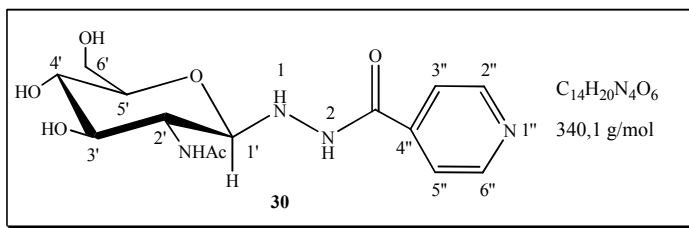
RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,54-3,61 (t, 1H, $J_{4',3'} = 9,3\text{Hz}$, H_{4'}); 3,66-3,75 (m, 2H, $J_{3',4'} = 9,3$ e $J_{5',6'b} = 7,0\text{Hz}$, H_{3'}, H_{6'b}); 3,93-3,96 (m, 1H, H_{6'a}); 4,14 (dd, 1H, H_{2'}, $J_{2',3'} = 3,4$ and $J_{2',1'} \leq 1,0\text{Hz}$); 4,41 (d, 1H, H_{1'}, $J_{1',2'} \leq 1,0\text{Hz}$); 7,69 (m, 2H, H_{3''} e H_{5''}); 8,67 (m, 2H, H_{2''} e H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 61,4 (C-6'); 67,3 (C-4'), 69,9 (C-2'); 73,6 (C-3'); 77,4 (C-5'); 87,6 (C-1'); 122,0 (C-3'', C-5''); 141,0 (C-4''); 149,6 (C-2'', C-6''); 167,9 (C=O).

IV (ν, CsI): 3480, 2930, 2884, 1664, 1548 e 1100 cm⁻¹.

Característica de **29**: óleo

3.2.2.5. 1-(1'-β-D-2'-Acetamido-2'-desoxi-glicopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **30**



RMN ^1H (300MHz, D_2O): 2,03 (CH_3), 3,32 (NH); 3,42-3,44 (m, 2H, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{6'a}$); 3,51-3,61 (m, 1H, $\text{H}_{5'}$); 3,71-3,76 (dd, 1H, $J_{6'b,5'} = 4,4$, $J_{6'a,6'b} = 11,0\text{Hz}$, $\text{H}_{6'b}$); 3,86-3,93 (m, 2H, $J = 9,6\text{Hz}$, H_2 e H_3); 4,33 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9,6\text{Hz}$, $\text{H}_{1'}$); 7,65 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 5,4\text{Hz}$, $\text{H}_{3''}$, $\text{H}_{5''}$); 8,64 (sl, 2H, $\text{H}_{2''}$, $\text{H}_{6''}$).

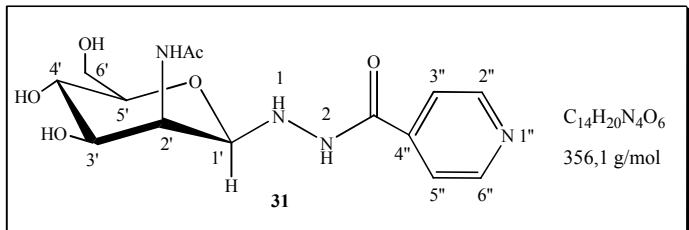
RMN ^{13}C (75MHz, D_2O): 22,2 (CH_3); 52,1 ($\text{C}-2'$); 60,7 ($\text{C}-6'$); 69,8 ($\text{C}-4'$); 74,7 ($\text{C}-3'$); 77,0 ($\text{C}-5'$); 88,3 ($\text{C}-1'$); 122,0 ($\text{C}-3''$, $\text{C}-5''$); 141,2 ($\text{C}-4''$); 149,2-149,3 ($\text{C}-2''$, $\text{C}-6''$); 167,3 ($\text{C}=\text{O}$); 174,6 ($\text{C}=\text{O}$ acetil).

IV (v, CsI): 3463, 3322, 3077, 2922, 1628, 1554 e 1048cm^{-1}

Característica de **30**: óleo

3.2.2.6. (1'- α/β -D-2'-Acetamido-2'-desoxi-manopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **31**

(mistura $\alpha + \beta$)



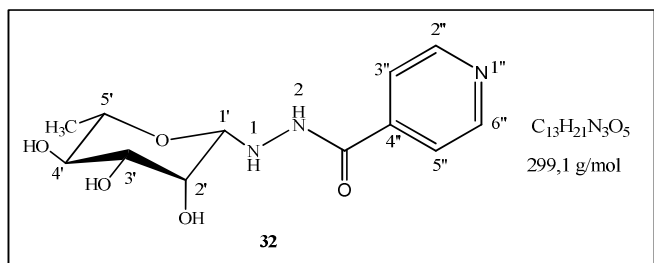
RMN ^1H (300MHz, D_2O): 2,00-2,06 (CH_3), 3,30-4,47 (11H, H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , $\text{H}_{6'a}$, $\text{H}_{6'b}$), 4,45 (d, 1H, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} \leq 1,0\text{Hz}$), 7,65 (m, 3H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 4,6\text{Hz}$, $\text{H}_{3''}$, $\text{H}_{5''}$), 8,64 (m, 3H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 4,6\text{Hz}$, $\text{H}_{2''}$, $\text{H}_{6''}$).

RMN ^{13}C (75MHz, D_2O): 22,2 (CH_3), 52,2 ($\text{C}-2'\alpha$), 52,3 ($\text{C}-2'\beta$), 60,5 ($\text{C}-6'\alpha$), 60,9 ($\text{C}-6'\beta$), 67,1 ($\text{C}-4'\alpha$ e $\text{C}-4'\beta$), 69,7 ($\text{C}-3'\alpha$), 70,2 ($\text{C}-3'\beta$); 72,7 ($\text{C}-5'\beta$), 73,2 ($\text{C}-5'\alpha$); 80,3 ($\text{C}-1'\alpha$); 87,3 ($\text{C}-1'\beta$), 121,9-122,1 ($\text{C}-3''$, $\text{C}-5''$), 140,9 ($\text{C}-4''$), 149,6 ($\text{C}-2''$, $\text{C}-6''$), 168,0 e 168,1 ($\text{C}=\text{O}$), 174,7 e 175,7 ($\text{C}=\text{O}$ acetil).

IR (CsI) 3393, 2935, 1660, 1551 e 1067cm^{-1} .

Característica de **31**: óleo.

3.2.2.7. 1-(1'-β-L-Ramnopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina⁹⁹ **32**



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 1,26 (d, 3H, $J_{5',CH_3} = 5,5$ Hz, CH₃); 3,31-3,39 (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}), 3,56 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 3,3$ e $J_{3',4'} = 9,0$ Hz, H_{3'}), 4,08 (d, 1H, $J_{2',3'} = 3,3$ Hz, H_{2'}) 4,36 (sl, 1H, H_{1'}) 7,65-7,68 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 6,3$ Hz, H_{3''} e H_{5''}), 8,66-8,64 (d, 2H, $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 6,6$ Hz, H_{2''} e H_{6''}).

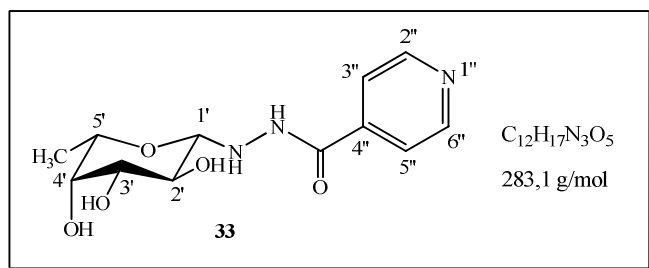
RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 16,9 (CH₃), 69,9 (C-5'), 72,3 (C-3'), 73,3-73,4 (C-2' e C-4'), 87,4 (C-1'), 121,8-121,9 (C-3'', C-5''), 140,8 (C-4''), 149,6 (C-2'', C-6''), 167,4 (C=O).

IV (ν, KBr): 3480, 3240, 2915, 2862, 1634, 1552 e 1074 cm⁻¹.

Análise elementar: encontrada C 50,47; H 5,78; N 14,25; C₁₂H₁₇N₃O₅ calculada C 50,88; H 6,05; N 14,83.

FF: 187-188 °C.

3.2.2.8. 1-(1'-β-L-Fucopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina⁹⁹ **33**



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 1,20-1,25 (CH₃); 3,54 (dd, 1H, $J_{2',1'} = 9,0$ e $J_{2',3'} = 9,6$ Hz, H_{2'}); 3,69 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,3$ e $J_{3',2'} = 9,6$ Hz H_{3'}); 3,76-3,81 (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}); 4,15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9,0$ Hz, H_{1'}); 7,68 (d, 2H, $J_{3'',2''} = J_{5'',6''} = 6,3$ Hz, H_{3''} e H_{5''}); 8,65 (d, 2H $J_{2'',3''} = J_{6'',5''} = 6,7$ Hz, H_{2''} e H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 15,1 (CH₃ isopr.), 67,6 (C-2'); 71,0 (C-5'); 71,4 (C-3'); 72,9 (C-4'); 89,5 (C-1'); 121,2-121,3 (C-3'', C-5''); 140,1 (C-4''); 149,0 (C-2'', C-6''); 167,3 (C=O).

IR (ν, KBr): 3419, 3285, 3089, 2998, 2888, 1621, 1550, 1078 e 1041cm⁻¹.

⁹⁹ IUPAC-IUBMB Carbohydrate Nomenclature, *Carbohydr. Res.* **1997**, 297, 1.

HRMS (ES+, m/z): calculada: 306,1066 (M+Na+).

encontrada: 306,1072 (M+Na+).

Análise elementar: encontrada C 50,69; H 6,12; N 15,12; C₁₂H₁₇N₃O₅ calculada C 50,88; H 6,05; N 14,83.

FF: 170-171 °C.

3.2.2.9. 1-(1'-L-Ribosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **34** (Mistura de isômeros)

RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,59-4,18 (m, 12H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'a}, H_{5'b}); 4,42 (d, 1H, H_{1'}, J_{1',2'} = 8,6Hz); 7,62-7,83 (m, 4H, H_{3''}, H_{5''}); 8,64-8,68 (m, 4H, H_{2''}, H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 60,8-72,8 (C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'); 82,4-93,8 (C-1'); 121,1 (C-3, C-5); 139,6 (C-4), 148,8 (C-2, C-6); 153,1 (HC=N forma acíclica); 167,2 (C=O).

IR (CsI): 3376, 2926, 1669, 1551, 1065 e 1048 cm⁻¹.

Característica de **34**: óleo.

A análise de RMN de **34** mostrou uma mistura complexa de produtos derivados da L-ribose, sendo as formas acíclica e α-piranosídica de conformação ¹C₄ majoritárias.

3.2.2.10. 1-(1'-L-Arabinosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **35** (Mistura de isômeros)

RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,59-4,01 (m, 12H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'a}, H_{5'b}), 4,08 (d, 1H J_{1',2'} = 8,3Hz, H_{1'}), 7,63 (m, 4H, H_{3''}, H_{5''}), 8,64 (m, 4H, H_{2''}, H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 61,4-77,9 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 82,5-94,2 (C-1'), 122,0 (C-3'', C-5''), 140,7(C-4''), 149,7 (C-2'', C-6''), 155,1 (HC=N), 167,5 (C=O).

IV (ν, KBr): 3490, 3066, 2943, 1664, 1644, 1553, 1091 e 1044 cm⁻¹.

FF: 154-157 °C.

A análise de RMN de **35** mostrou uma mistura complexa de produtos derivados da L-arabinose (forma acíclica e forma β piranosídica de conformação ⁴C₁)⁵³ em proporções desiguais.

3.2.2.11. 1-(1'-D-Arabinosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **36**

RMN ¹H (300MHz, D₂O): 3,59-4,63 (m, 12H, H_{1'}, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'a}, H_{5'b}) 7,62-7,83 (m, 4H, H_{3''}, H_{5''}), 8,64-8,68 (m, 4H, H_{2''}, H_{6''}).

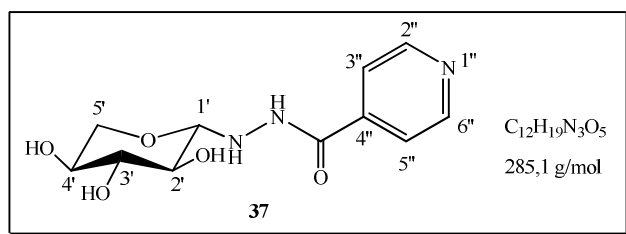
RMN ^{13}C (75MHz, D_2O): 61,3-77,9 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 82,4-94,2 (C-1'), 122,7-122,4 (C-3'', C-5''), 140,4-140,8 (C-4''), 149,7 (C-2'', C-6''), 155,3 (HC=N forma acíclica), 167,5-167,9 (C=O).

IV (ν , KBr): 3488, 3217, 3071, 2943, 1664, 1644, 1555, 1090 e 1043 cm^{-1} .

FF: 165-170 $^\circ\text{C}$.

A análise de RMN de **36** mostrou uma mistura complexa de produtos derivados da D-arabinose (forma acíclica e formas α e β piranosídicas de conformação $^1\text{C}_4$)⁵³ em proporções desiguais.

3.2.2.12. 1-(1'- α -L-Xilopiranosil)-2-isonicotinoil-hidrazina **37**



RMN ^1H (300MHz, D_2O): 3,09-3,23 (m, 2H, $J_{2',3'} = 8,9$, $J_{5'b,5'a} = 11,0\text{Hz}$, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{5'b}$), 3,29-3,35 (dd, 1H, $J_{3',2'} = 8,9$ e $J_{3',4'} = 8,7\text{Hz}$, $\text{H}_{3'}$), 3,46-3,49 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3,76-3,81 (dd, 1H, $J_{5'a,4'} = 5,3$, $J_{5'a,5'b} = 11,0\text{Hz}$, $\text{H}_{5'a}$), 4,00-4,03 (d, 1H, $J_{1',2'} = 8,8\text{Hz}$, $\text{H}_{1'}$), 7,53 (m, 2H, $\text{H}_{3''}$, $\text{H}_{5''}$), 8,51 (m, 2H, $\text{H}_{2''}$, $\text{H}_{6''}$).

RMN ^{13}C (75MHz, D_2O): 66,7 (C-5'), 69,4 (C-4'), 70,9 (C-2'), 76,6 (C-3'), 90,8 (C-1'), 122,0 (C-3'', C-5''), 140,9 (C-4''), 149,7 (C-2'', C-6''), 168,1 (C=O).

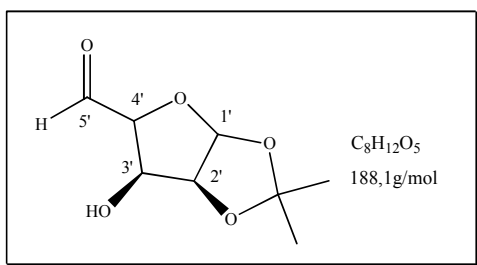
IV (ν , CsI): 3388, 2924, 2855, 1667, 1553 e 1048 cm^{-1} .

Característica de **37**: óleo.

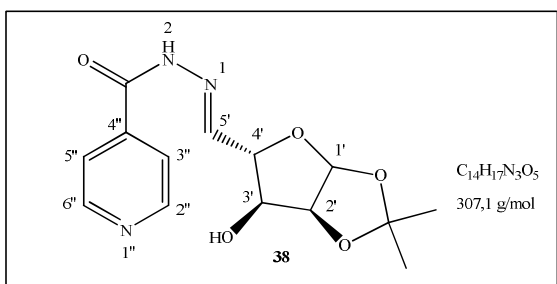
3.2.2.13. 1',2'-O-Isopropilideno- α -D-xilo-pentodialdo-1',4'-furanose

O aldeído precursor do composto foi preparado em três etapas à partir da D-glicose.¹⁰⁰

¹⁰⁰ a) Schaffer, R.; Isbell, H. S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 3864 b) Iwadare, K.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1941**, 16, 40 c) Monrad, R. N; Madsen R.; *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 9782.



3.2.2.14. 1',2'-O-Isopropilideno- α -D-xilo-pentodialdo-1',4'-furanose-1-isonicotinoil-hidrazona **38**.



RMN ¹H (300MHz, D₂O): 1,26-1,58 (2s, 6H, 2 CH₃); 4,52-4,96 (m, 3H, H_{2'}, H_{3'}, H_{4'}); 6,17 (d, 1H, J_{1',2'}= 3,6Hz, H_{1'}); 7,78 (m, 3H, H_{3''}, H_{5''} e H_{5''}); 8,72 (m, 2H, H_{2''}, H_{6''}).

RMN ¹³C (75MHz, D₂O): 25,0-25,6 (CH₃); 75,6 (C-3'), 80,0 (C-2'); 84,6 (C-4'); 104,8 (C-1'); 113,1 (C_{quaternário}); 122,0 (C-3'', C-5''); 140,2 (C-4''); 149,6 (C-2'', C-6''); 150,0 (CH=NH).

IV (ν, KBr): 3449, 3255, 2989, 2937, 1660, 1548, 1074 e 1016 cm⁻¹.

HRMS (ES+, m/z): calculada: 330,1646 (M+Na+).

encontrada: 330,1068 (M+Na+).

Análise elementar: encontrada C 41,61; H 5,48; N 10,84; C₁₄H₁₇N₃O₅ calculada C 42,31; H 6,85; N 10,57 (**38** 5 H₂O).

FF: 157-160 °C.

3.2.3. Metodologia Geral para a síntese dos compostos derivados da etionamida **44** à **48**.

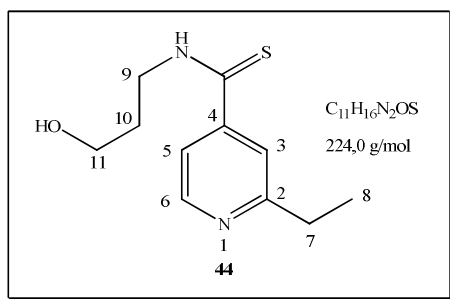
À uma solução de etionamida (1,0 mmol) em 3 mL do solvente apropriado foram adicionados 5,0 mmol, (5 equiv.) dos respectivos amino álcoois (Tabela 3.6). A mistura reacional foi mantida sob agitação à 80-100 °C por 24h quando a CCD mostrou o consumo do material de partida. Ao bruto reacional foram adicionados 5 mL de água destilada e 5mL de diclorometano. A mistura foi extraída e as fases orgânicas recolhidas foram lavadas com uma

solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (CH₂Cl₂/MeOH).⁶¹

Tabela 3.6. Derivados da etionamida e rendimentos.

Produto	Amino álcool	Solvente	Rendimento
42	NH ₂ (CH ₂) ₂ OH	DMF	-
43	NH ₂ CH(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	DMF	-
44	NH ₂ (CH ₂) ₃ OH	DMF	40%
45	NH ₂ (CH ₂) ₄ OH	DMF	32%
46	NH ₂ (CH ₂) ₅ OH	DMF	28%
47	NH ₂ (CH ₂) ₂ OH	DMF	60%
48	NH ₂ CH(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	DMF	20%
48	NH ₂ CH(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	DMSO	< 20%
48	NH ₂ CH(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	EtOH	39%

3.2.3.1. 2-Etil-4-[carbotoioamida-*N*-(3-hidroxiopropil)]-piridina **44**



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃): 1,23-1,28 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,7\text{Hz}$, CH₃); 1,94-2,02 (m, 2H, CH₂, H_{10a} e H_{10b}); 2,76-2,84 (dd, 2H, $J_{7a,8} = J_{7b,8} = 7,8$, $J_{7a,7b} = 15,3\text{Hz}$, CH₂, H_{7a} e H_{7b}); 3,88-3,98 (m, 4H, CH₂N e CH₂O, H_{9a} e H_{9b} e H_{11a} e H_{11b}); 7,35-7,37 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0\text{Hz}$, H₅); 7,51 (s, 1H, H₃); 8,41-8,43 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0\text{Hz}$, H₆); 9,30 (sl, NH).

RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃): 13,9 (CH₃); 29,7 (CH₂, C-10); 31,3 (CH₂, C-7); 46,5 (CH₂N); 61,9 (CH₂O) 117,8 (C-3); 119,8 (C-5); 148,3 (C-4, C-6); 164,3 (C-2); 196,1 (C=S).

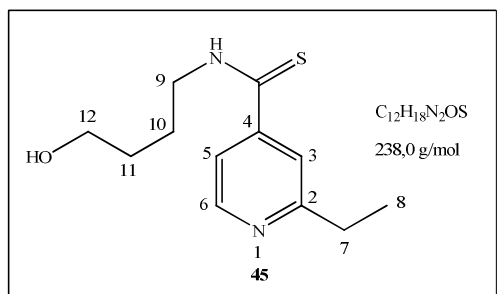
IV (v, CsI): 3194, 2925, 2872, 1604, 1553 e 817 cm⁻¹.

HRMS (ES+, m/z): calculada: 225,0983 (M+H)⁺.

encontrada: 225,1053 (M+H)⁺.

FF: 104-105 °C.

3.2.3.2. 2-Etil-[4-carbotioamida-*N*-(4-hidroxiutil)]-piridina **45**



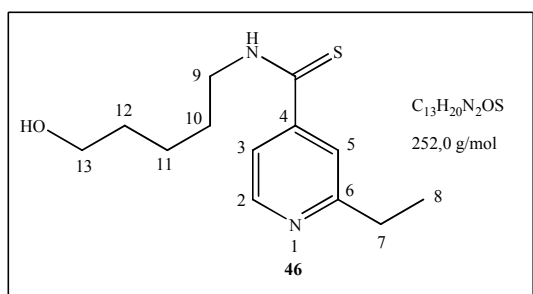
RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,21-1,25 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,7\text{Hz}$, CH_3); 1,74-1,82 (m, 2H, CH_2 , H_{10a} e H_{10b}); 1,90-1,94 (m, 2H, CH_2 , H_{11a} e H_{11b}); 2,64-2,72 (dd, 2H, $J_{7a,8} = J_{7b,8} = 7,8$ e $J_{7a,7b} = 15,3\text{Hz}$, CH_2 , H_{7a} e H_{7b}); 3,74-3,79 (m, 4H, CH_2N e CH_2O , H_{9a} e H_{9b} e H_{12a} e H_{12b}); 7,27-7,28 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0\text{Hz}$, H_5), 7,50 (s, 1H, H_3); 8,08-8,10 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0\text{Hz}$, H_6); 10,08 (sl, NH).

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 13,8 (CH_3); 25,1-29,9 (2 CH_2); 31,3 (CH_2); 47,3 (CH_2N); 61,7 (CH_2O); 118,2 (C-3); 120,3 (C-5); 148,6-150,1 (C-4, C-6); 163,7 (C-2); 195,8 (C=S).

IV (ν , CsD): 3206, 2922, 2852, 1602, 1544 e 816 cm^{-1} .

Característica de **47**: óleo.

3.2.3.3. 2-etil-[4-carbotioamida *N*-(5-hidroxiutil)]-piridina **46**



RMN ^1H (300MHz, CDCl_3): 1,25-1,30 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,7\text{Hz}$, CH_3); 1,43-1,61 (m, 4H, CH_2); 1,77-1,82 (m, 2H, CH_2); 2,76-2,83 (dd, 2H, $J_{7a,8} = J_{7b,8} = 7,8$ e $J_{7a,7b} = 15,3\text{Hz}$, CH_2 , H_{7a} e H_{7b}); 3,64-3,67 (m, 2H, CH_2N , H_{9a} e H_{9b}); 3,77-3,83 (q, 2H, $J_{13,12a} = J_{13,12b} = 6,9$ e $J_{13a,13b} = 12,5\text{Hz}$, CH_2O , H_{13a} e H_{13b}); 7,28-7,30 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0\text{Hz}$, H_5); 7,53 (s, 1H, H_3); 8,40-8,42 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0\text{Hz}$, H_6); 8,60 (sl, NH).

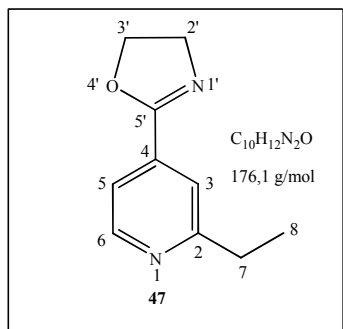
RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 13,3 (CH_3); 26,3-31,8 (3 CH_2); 46,9 (CH_2N); 62,4 (CH_2O); 118,0 (C-3); 119,7 (C-5); 149,3-149,5 (C-4, C-6); 163,3 (C-2); 197,0 (C=S).

IV (CsD) 3225, 2930, 2852, 1601, 1551 e 814 cm^{-1} ;

HRMS (ES+, m/z): calculada: 253,1296 ($\text{M}+\text{H}^+$); encontrada: 253,1369 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Característica de **46**: óleo.

3.2.3.4. 2-Etil-4-(2',3'-diidro-oxazol-5')-piridina **47**



RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$): 1,24-1,30 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,8$ Hz, CH_3); 2,78-2,86 (dd, 2H, $J_{7a,8} = J_{7b,8} = 7,8$, $J_{7a,7b} = 15,3$ Hz, CH_2 , H_{7a} e H_{7b}); 3,99-4,06 (t, 2H, $J_{2',3'} = 9,6$ Hz, CH_2N , $H_{2'a}$ e $H_{2'b}$); 4,37-4,43 (t, 2H, $J_{3',2'} = 9,6$ Hz, CH_2O , $H_{3'a}$ e $H_{3'b}$); 7,51-7,53 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0$ Hz, H_5); 7,61 (s, 1H, H_3), 8,54-8,56 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0$, H_6).

RMN ^{13}C (75MHz, $CDCl_3$): 13,7 (CH_3 , C-8); 31,3 (C-7); 55,0 (C-2'); 67,9 (C-3'); 119,2 (C-3); 120,3 (C-5); 135,4 (C-4); 149,6 (C-6); 163,3 (C-2); 164,2 (C-5', O-C=N).

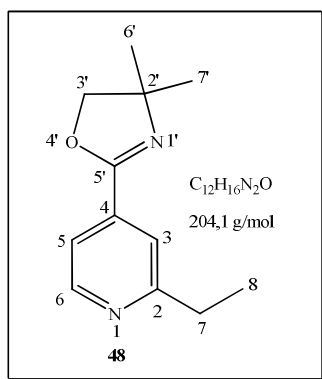
IV (v, CsI): 3404, 2970, 2877, 1652, 1602, 1555 e 820 cm^{-1}

HRMS (ES+, m/z): calculada: 177,0950 (M+H) $^+$.

encontrada: 177,1028 (M+H) $^+$.

Característica de **47**: óleo.

3.2.3.5. 2-Etil-4-(2',3'-diidro-2',2'-dimetil-oxazol-5')-piridina **48**



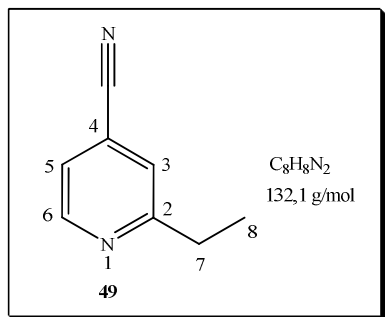
RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$): 1,24-1,31 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,7$ Hz, CH_3); 1,34 (s, 6H, CH_3); 2,82-2,89 (dd, 2H, $J_{7a,8} = J_{7b,8} = 7,8$, $J_{7a,7b} = 15,3$ Hz, CH_2 , H_{7a} e H_{7b}); 4,12 (s, 2H, CH_2O , $H_{3'a}$ e $H_{3'b}$); 7,55-7,56 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0$ Hz, H_5); 7,66 (s, 1H, H_3); 8,58-8,59 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0$ Hz, H_6),

RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3): 14,0 (CH_3 , C-8); 27,4 (2 CH_3 , C-6' e C-7'); 31,5 (C-7); 68,1 (C-2'); 79,3 (C-3'); 119,4 (C-3); 120,5 (C-5); 135,9 (C-4); 149,8 (C-6); 160,9 (C-2); 164,4 (C-5', O-C=N),

IV (ν , CsI): 3438, 2969, 2895, 1652, 1602, 1556 e 848 cm^{-1} .

Característica de **48**: óleo.

3.2.3.6. 2-Etil-4-ciano-piridina **49**



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,31-1,36 (t, 3H, $J_{8,7a} = J_{8,7b} = 7,7\text{Hz}$, CH_3), 2,86-2,94 (q, 2H, $J = 7,7\text{Hz}$, CH_2 , H_{7a} e H_{7b}), 7,35-7,37 (d, 1H, $J_{5,6} = 5,0\text{ Hz}$, H_5), 7,53 (s, 1H, H_3), 8,70-8,72 (d, 1H, $J_{6,5} = 5,0\text{Hz}$, H_6).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 13,4 (CH_3), 31,2 (CH_2), 116,8 (CN), 122,3-122,4 (C-3, C-5), 150,1 (C-4, C-6), 165,1 (C-2).

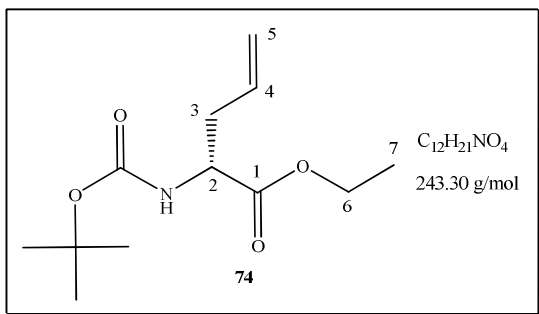
IV (ν , CsI): 3057, 2937, 2878, 2236, 1594, 1550 e 842 cm^{-1} .

3.3. Preparação dos compostos do capítulo 2

3.3.1. Estudos visando a síntese da alloenduracididina

3.3.1.1. (2R)-2-N-(*tert*-Butoxicarbonil)aminopent-4-enoato de etila **74**

O composto (2R)-2-N-(*tert*-butoxicarbonil)aminopent-4-enoato de etila **74** foi obtido por separação enzimática à partir do N-(Boc)-alilglicinato de etila racêmico utilizando-se a α -quiomiotripsina, como foi descrito na seção 2.3 do capítulo 2.⁶³



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,29 (t, 3H, $J_{6,7} = 7,1\text{Hz}$, CH_3); 1,44 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$); 2,42-2,61 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 4,08-4,26 (m, 2H, H_{6a} e H_{6b}); 4,31-4,41 (m, 1H, H_2); 5,06 (d, 1H, $J_{\text{NH},\text{H}_2} = 8,4\text{Hz}$, NH); 5,09-5,17 (m, 2H, H_{5a} , H_{5b}); 5,70 (ddt, 1H, $J = 17,0$, $J = 9,8$, $J = 7,2\text{Hz}$, H_4).

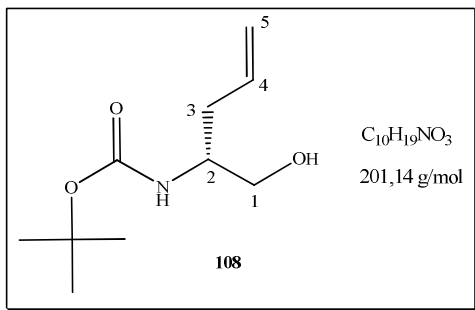
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 14,4 (C-7, CH_3); 28,4 $(\text{CH}_3)_3$; 37,0 (C-3); 53,0 (C-2); 61,5 (C-6); 80,0 $(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$; 119,2 (C-5); 132,5 (C-4); 153,4 (NC=O); 172,2 (COO).

MS (ES+, m/z): calculada: 266.1 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

encontrada: 266.1 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

3.3.1.2. (2R)-2-N-(terc-Butoxicarbonil)aminopent-4-en-1-ol **108**

5,2 g (21,3 mmol) de (*R*)-**74** foram dissolvidos sob atmosfera de argônio em 20 mL de THF. À mistura foram adicionados, à 0°C , 1,22 g (32,0 mmol) de LiAlH_4 . Após agitação da mistura reacional à 0°C por 15 minutos e à temperatura ambiente durante 1h, foram adicionados à reação 5 mL de uma solução de NaOH 1 mol/L. A agitação foi prolongada por 1h $\frac{1}{2}$, o meio reacional foi filtrado sob celite usando acetato de etila como eluente e evaporado à seco. O bruto obtido foi purificado por cromatografia flash (heptano/acetato de etila 6:4) fornecendo 4,3 g (99%) do composto **108** sob a forma de um óleo claro.



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,43 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$); 2,18-2,36 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,07 (d, 1H, $J_{\text{NH},\text{H}_2} = 8,4\text{Hz}$, NH); 3,54-3,66 (m, 3H, H_{1a} , H_{1b} e H_2); 4,83-4,86 (d, 1H, $J = 3,0\text{Hz}$, OH); 5,08-5,15 (m, 2H, H_{5a} e H_{5b}); 5,73-5,79 (m, 1H, H_4).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 28,4 (CH_3)₃; 35,9 (C-3); 52,1 (C-2); 64,9 (C-1); 79,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 117,9 (C-5); 134,2 (C-4); 156,4 ($\text{NC}=\text{O}$).

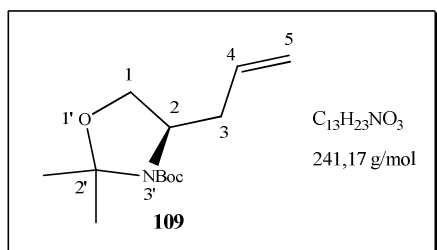
IV (v, film): 3342, 2930, 1681, 1365 e 1164 cm^{-1} .

MS (ES+, m/z) : calculada: 224,1($\text{M}+\text{Na}^+$).

encontrada: 224,1 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

3.3.1.3. (2R)-2-Alil-3'-N-(*tert*-butoxicarbonil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **109**

2,44 g (12,1 mmol) de (**R**)-**108** foram dissolvidos sob atmosfera de argônio em 20 mL de acetona previamente destilada. Em seguida, foram adicionados à solução 7,5 mL (60,6 mmol) de 2,2-dimetóxi-propano e 76,8 μL (0,05 equiv.) de BF_3OEt_2 . A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por 24h e, em seguida, evaporada à seco. O resíduo foi extraído com acetato de etila/ H_2O . As fases orgânicas recolhidas foram secas com sulfato de sódio anidro e o bruto obtido foi purificado por cromatografia flash utilizando-se como eluente a mistura heptano/acetato de etila 8:2. Foram obtidos 1,83 g (64%) do produto **109** sob a forma de um óleo claro.



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , Rotâmetros): 1,46-1,59 (sl, 15H, (CH_3)₃); (CH_3)₂); 2,25-2,55 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,76-3,94 (m, 3H, H_{1a} , H_{1b} e H_2); 5,06-5,10 (m, 2H, H_{5a} e H_{5b}); 5,73 (m, 1H, H_4).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 23,4-27,6 (CH_3)₂); 28,6 (CH_3)₃); 37,6 e 38,2 (C-3); 57,0 (C-2); 66,2 e 66,4 (C-1); 79,6 e 80,2 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$); 93,5 e 94,0 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 117,8 (C-5); 134,8 (C-4); 151,9 e 152,3 ($\text{NC}=\text{O}$).

IV (v, film) : 2977, 2934, 1692, 1384, 1363 e 1189 cm^{-1} .

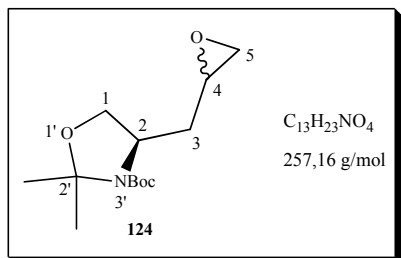
MS (ES+, m/z) : calculada: 296,1 ($\text{M}+\text{Na}^+$) + MeOH.

encontrada : 296,1 ($\text{M}+\text{Na}^+$) + MeOH.

3.3.1.4. (2R)-3'-N-(*tert*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-oxiranil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **124**

100 mg (0,4 mmol) da olefina **109** foram dissolvidos, sob atmosfera de argônio, em 2 mL de diclorometano destilado. À solução foram adicionados 69,6 mg (0,8 mmol) de

NaHCO₃ e a mistura foi agitada durante 10 minutos à temperatura ambiente. O meio reacional foi resfriado à 0 °C seguido da adição de 143 mg (0,62 mmol) de *m*-CPBA 70-75%. A reação foi agitada durante 15 minutos à 0 °C e 4 h à temperatura ambiente, quando a CCD mostrou o consumo total do material de partida. A mistura foi evaporada à seco e extraída com uma solução saturada de Na₂SO₃ e CH₂Cl₂. O bruto obtido foi purificado por cromatografia flash utilizando-se como eluente a mistura heptano/acetato de etila 9:1. Foram obtidos 31 mg (30%) de **124** como uma mistura de diastereoisômeros que não foram separados.



RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, Rotâmeros): 1,50-1,63 (sl, 16H, (CH₃)₃); (CH₃)₂, H_{3a}); 1,88-2,03 (m, 1H, H_{3b}); 2,47-2,53 (m, 1H, H_{5a}); 2,76-2,78 (m, 1H, H_{5b}); 2,96-3,00 (m, 1H, H₄); 3,88-4,03 (m, 3H, H_{1a}, H_{1b} e H₂).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 23,1 e 24,5 (CH₃); 27,8 e 27,5 (CH₃); 28,5 (CH₃)₃; 36,3 e 36,4 (C-3); 46,4 e 46,6 (C-4); 50,3 (C-5); 55,7 e 56,0 (C-2); 67,1 e 67,4 (C-1); 79,8 e 80,2 (C-(CH₃)₃); 93,0 (C-(CH₃)₂); 151,9 e 152,3 (C=O).

IV (ν, film): 2977, 2931, 1691, 1384, 1363, 1253, 1206, 1083, 855 cm⁻¹.

MS (ES+, m/z) : calculado: 280,1 (M+Na⁺).

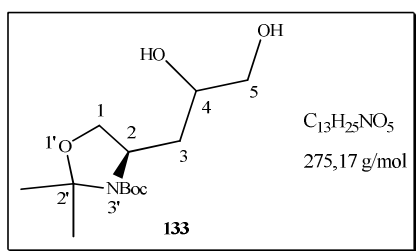
encontrado: 280,1 (M+Na⁺).

3.3.1.5. (2*R*)-3'-*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-diidroxipropil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **133**

4,1 g (12,4 mmol) de K₃[Fe(CN)₆] e 1,72 g (12,4 mmol) de K₂CO₃ foram dissolvidos em 5 mL de água destilada. À mistura foram adicionados 3 mL de *t*-BuOH, 20 mg do ligante quiral diidroquinidínil ftalazina (DHQD)₂PHAL e, em seguida, 15,3 mg (41,4 μmol) de K₂[OsO₂(OH)₄]. Esta mistura foi agitada durante 20 min. à temperatura ambiente, o meio reacional foi resfriado à 0 °C e foi adicionado lentamente 1 g (4,1 mmol) da olefina **109** em 2 mL de *t*-BuOH. Esta mistura foi mantida em agitação por 48 h à temperatura ambiente (mudança de coloração: marron-alaranjado para amarelo) quando a CCD (AcOEt/Hept 6:4) mostrou o consumo do material de partida. Foram adicionados ao meio reacional 10 mL de uma solução saturada de Na₂SO₃ sendo a mistura agitada durante 1h e, em seguida, extraída

exaustivamente com acetato de etila. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia flash (AcOEt/Hept 8:2) uma primeira vez fornecendo a mistura dos diastereoisômeros desejados em 93% de rendimento.

Posteriormente, os diastereoisômeros foram separados por passagens repetidas da mistura por coluna cromatográfica (AcOEt/Hept) até a obtenção de uma separação satisfatória dos diastereoisômeros **133a** e **133b**.



Diastereoisômero majoritário **133a** (Rotâmeros)

$$[\alpha]_D^{24} = +9,9 \text{ (c=1,0, CHCl}_3\text{)}$$

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,50-1,55 (sl, 15H, $(\text{CH}_3)_3$, $(\text{CH}_3)_2$); 1,55-1,59 e 1,65-1,74 (2m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,46-3,52 (dd, 1H, $J = 7,5\text{Hz}$, H_{5a}); 3,57-3,62 (dl, 1H, H_{5b}); 3,65-3,69 (m, 2H, H_{1a} e H_4); 3,99-4,04 (dd, 1H, $J_{1a,2} = 5,3$ e $J_{1a,1b} = 8,7\text{Hz}$, H_{1b}); 4,21-4,27 (m, 1H, H_2).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 24,5 e 28,0 $(\text{CH}_3)_2$; 28,5 $(\text{CH}_3)_3$; 39,1 (C-3); 54,2 (C-2); 66,6 (C-1); 68,5 (C-5); 68,6 (C-4); 81,5 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$); 94,0 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 154,4 (C=O).

Diastereoisômero minoritário **133b** (Rotâmeros)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,46-1,50 (sl, 15H, $(\text{CH}_3)_3$; $(\text{CH}_3)_2$); 1,58 e 1,84 (2m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,50-3,52 (m, 1H, H_{5a}); 3,59 (sl, 2H, H_{5b}); 3,65-3,69 (m, 2H, H_{1a} e H_4); 3,79-3,86 (m, 2H, H_{1b}); 4,10-4,24 (m, 1H, H_2).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 25,9 e 27,1 $(\text{CH}_3)_2$; 28,5 $(\text{CH}_3)_3$; 35,5 (C-3); 50,3 e 50,5 (C-2); 65,3 e 65,5 (C-1); 66,8 (C-5); 69,4 (C-4); 81,4 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$); 93,9 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 156,5 (C=O).

IV (v, film) : 3403, 2933, 1692, 1665, 1446, 1375, 1101, 840, 768 cm^{-1} .

MS (ES+, m/z): calculado: 298,1 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

encontrado: 298,1 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

CG/MS:

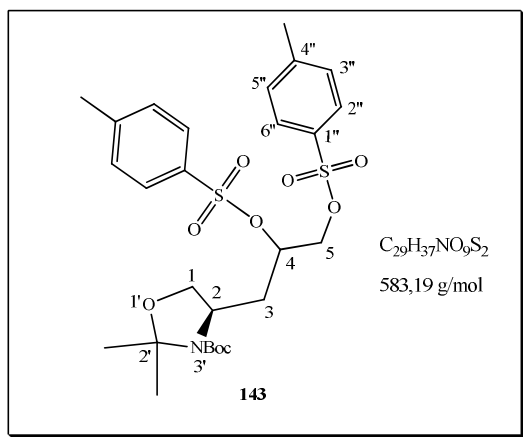
tR1 = 10,7 min – 46,4%.

tR2 = 11,0 min – 53,6%.

3.3.1.6. (2R)-3'-N-(*tert*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-bis(tosiloxi)propil)-2',2'-dimetil-oxazolidina

143

0,5 g (1,8 mmol) do diol **133a** foram dissolvidos em 6 mL de diclorometano. À solução foram adicionados 1,1 g (9,0 mmol, 5 equiv.) de 4-dimetilamino piridina (DMAP) à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados a reação 1,03 g (5,46 mmol, 3 equiv.) de cloreto de tosila (TsCl) à 0 °C. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por 4 h e evaporada à seco. O bruto reacional foi redissolvido em acetato de etila e extraído com água e em seguida, com uma solução saturada de NaHCO₃. As fases orgânicas obtidas foram secas com sulfato de sódio anidro e evaporadas à secura. O resíduo obtido foi filtrado sob "plog de sílica" para fornecer 1,08 g (88%) do composto **143a** sob a forma de um óleo incolor.



Diastereoisômero **143a** (Rotâmeros)

$$[\alpha]_D^{24} = - 8,0 \text{ (c= 0,65, CHCl}_3\text{)}$$

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,42-1,45 (sl, 15H, (CH₃)₃, (CH₃)₂); 1,91 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 2,48 (sl, 6H, Ar-CH₃); 3,68-3,83 (m, 3H, H_{1a}, H_{1b} e H₂); 3,95-4,07 (m, 2H, H_{5a} e H_{5b}); 4,70-4,80 (m, 1H, H₄); 7,33-7,35 (sl, 4H, 2H_{3''} e 2H_{5''}); 7,71 (sl, 4H, 2H_{2''} e 2H_{6''}).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 21,7 (Ar-CH₃); 23,0-24,3 e 26,6-27,5 (CH₃)₂; 28,4 (CH₃)₃; 34,7 e 35,9 (C-3); 55,3 e 55,7 (C-2); 67,6 e 69,8 (C-1, C-5); 77,4 e 77,9 (C-4); 80,1 e 80,5 (C-(CH₃)₃); 93,1 e 93,5 (C-(CH₃)₂); 128,0 (C-2'' e C-6''); 129,9 (C-3'' e C-5''); 132,2-133,3 (C-1''); 145,2 (C-4''); 152,1 (C=O).

Diastereoisômero **143b** (Rotâmeros)

0,245 g (0,9 mmol) do diol **133b** foram dissolvidos em 3 mL de diclorometano. À solução foram adicionados 0,54 g (4,4 mmol, 5 equiv.) de DMAP à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados a reação 0,509 g (2,67 mmol, 3 equiv.) de TsCl à 0 °C. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por 4 h e evaporada à seco. O resíduo foi

redissolvido em acetato de etila e extraído com água e em seguida, com uma solução saturada de NaHCO₃. As fases orgânicas obtidas foram secas com sulfato de sódio anidro e evaporadas à secura. O resíduo obtido foi filtrado sob "plog de sílica" para fornecer 0,305 g (58 %) do composto **143b** sob a forma de um óleo incolor.

$$[\alpha]_D^{24} = -9,1 \text{ (c=0,97, CHCl}_3\text{)}$$

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1,43-1,48 (sl, 15H, (CH₃)₃, (CH₃)₂); 1,96-2,06 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 2,48 (sl, 6H, Ar-CH₃); 3,65-3,67 (d, 1H, J_{1a,1b}= 9,5Hz, H_{1a}); 3,88-3,91 (m, 2H, H_{1b} e H₂); 4,06-4,38 (m, 2H, H_{5a} e H_{5b}); 4,63 (m, 1H, H₄); 7,31-7,36 (sl, 4H, 2H_{3''} e 2H_{5''}); (sl, 4H, 2H_{2''} e 2H_{6''}).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 21,6 (Ar-CH₃); 23,0-24,4 e 26,9-27,1 (CH₃)₂; 28,5 (CH₃)₃; 34,7 e 35,7 (C-3); 53,7 (C-2); 67,6 e 67,7 e 69,3 e 69,9 (C-1, C-5); 77,4 e 77,9 (C-4); 80,3 e 80,6 (C-(CH₃)₃); 93,8 e 93,9 (C-(CH₃)₂); 127,9 e 128,1 (C-2'' e C-6''); 129,9 (C-3'' e C-5''); 133,2-133,3 (C-1''); 145,1 e 145,2 (C-4''); 152,1 (C=O).

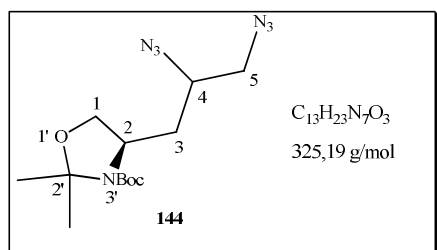
IV (ν, film): 2977, 2933, 1692, 1365, 1175, 814, 666 cm⁻¹.

HRMS (ES+, m/z): calculado: 606,1807 (M+Na⁺).

encontrado: 606,1807 (M+Na⁺).

3.3.1.7. (2R)-3'-N-(*tert*-Butiloxicarbonil)-2-(4,5-diazidopropil)-2',2'-dimetil-oxazolidina **144**

0,9 g (1,5 mmol) de **143a** foram dissolvidos em 4 mL de DMF e, em seguida, foram adicionados 0,30 g (4,7 mmol, 3 equiv.) de NaN₃. O meio reacional foi aquecido à 100 °C sob atmosfera de argônio durante 1 noite quando a CCD (Hept/AcOEt 8:2) mostrou o consumo do material de partida. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo obtido purificado por cromatografia *flash* (Hept/AcOEt 7:3) para fornecer 300 mg (60 %) de **144a** como um óleo claro.



Diastereoisômero **144a** (Rotâmeros)

$$[\alpha]_D^{24} = -32,8 \text{ (c=1,1, CHCl}_3\text{)}$$

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1,42-1,53 (2sl, 15H, (CH₃)₃, CH₃)₂; 1,66-1,83 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,37-3,48 (m, 3H, H_{5a}, H_{5b} e H₄); 3,72 (sl, 1H, H_{1a}); 3,92-4,13 (m, 2H, H_{1b} e H₂).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 23,7-24,3 e 25,8-27,7 (CH₃)₂; 28,4 (CH₃)₃; 35,4 (C-3); 53,8 (C-2); 54,9-55,0 (C-5); 59,4 (C-4); 66,5-66,9 (C-1); 80,1 e 80,4 (C-(CH₃)₃); 93,5 e 93,8 (C-(CH₃)₂); 152,4 e 152,3 (C=O).

Diastereoisômero **144b**

0,275 g (1,5 mmol) de **143b** foram dissolvidos em 1,5 mL de DMF e, em seguida, foram adicionados 0,091 g (1,4 mmol, 3 equiv.) de NaN₃. O meio reacional foi aquecido à 100 °C sob atmosfera de argônio durante 1 noite quando a CCD (Hept/AcOEt 8:2) mostrou o consumo do material de partida. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo obtido purificado por cromatografia *flash* (Hept/AcOEt 7:3) para fornecer 102 mg (66 %) de **144b** como um óleo claro.

$[\alpha]_D^{24} = 12,6$ (c= 0,75, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1,50-1,53 (2sl, 15H, (CH₃)₃, (CH₃)₂); 1,67-1,92 (m, 2H, H_{3a} e H_{3b}); 3,37-3,63 (m, 3H, H_{5a}, H_{5b} e H₄); 3,84 (d, 1H, $J_{1a,1b} = 8,6\text{Hz}$, H_{1a}); 4,01 (dd, 1H, $J_{1b,2} = 5,3$ e $J_{1b,1a} = 8,6\text{Hz}$, H_{1b}); 4,07 (m, 1H, H₂).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 24,4 e 27,7 (CH₃)₂; 28,4 (CH₃)₃; 36,5 (C-3); 55,5 (C-2 e C-5); 60,4 (C-4); 67,8 (C-1); 80,1 e 80,5 (C-(CH₃)₃); 93,4 (C-(CH₃)₂); 152,5 (C=O).

IV (v, film): 2977, 2099, 1691, 1365, 1255, 1170, 848, 769 cm⁻¹.

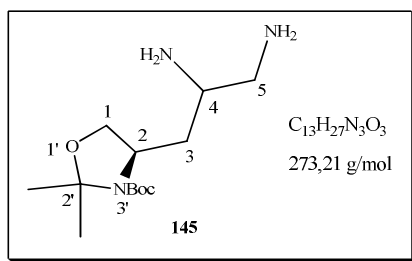
MS (ES+, m/z) : calculada: 348,1 (M+Na⁺).

encontrada: 348,1 (M+Na⁺).

3.3.1.8 (2R)-3-N-(*terc*-Butoxicarbonil)-2-(4,5-diaminopropil)-2',2'-dimetiloxazolidina **145**

0,29 g (0,9 mmol) da diazida **144a** foram dissolvidos em 3 mL de etanol. À solução foram adicionados 174 mg (0,60 mmol, 0,6 equiv.) de Pd/BaSO₄. A mistura reacional foi agitada por 48 h à temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio quando a CCD (Hept/AcOEt 8/2; CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 7:3:0,1) mostrou o consumo do material de partida. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo filtrado em "plog de celite" (lavagem com MeOH) para fornecer 0,22 g (93 %) do composto **145a** sob a forma de um óleo claro que pôde ser utilizado sem posterior purificação.

OBS: O resíduo também foi purificado por cromatografia em sílica (CH₂Cl₂/MeOH) onde observou-se perdas de rendimento.



Diastereoisômero **145a** (Rotâmeros)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,39-1,58 (sl, 17H, $(\text{CH}_3)_3$, $(\text{CH}_3)_2$, H_{3a} e H_{3b}); 2,39-2,44 (m, 1H, H_{5a}); 2,59-2,75 (m, 2H, H_{5b} e H_4); 3,67-3,70 (d, 1H, $J_{1a,1b} = 8,7\text{Hz}$, H_{1a}); 3,84-3,89 (dd, 1H, $J_{1b,2} = 5,4$ e $J_{1b,1a} = 8,7\text{Hz}$, H_{1b}); 3,98-4,05 (m, 1H, H_2).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 23,1-27,7 $(\text{CH}_3)_2$; 28,4 e 28,5 $(\text{CH}_3)_3$; 38,5 e 39,2 (C-3); 48,9 e 49,5 (C-5); 51,2 (C-4); 54,9 e 55,0 (C-2); 67,1 (C-1); 79,6 e 80,1 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$); 93,2 e 93,6 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 151,5 e 152,0 (C=O).

IV (v, film): 3353, 2975, 2932, 1686, 1681, 1387, 1375, 1253, 1171, 841 cm^{-1} .

MS (ES+, m/z): calculada: 274,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

encontrada: 274,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Diastereoisômero **145b**

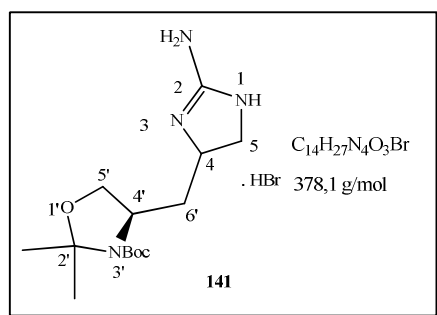
0,100 g (0,3 mmol) da diazida **144b** foram dissolvidos em 1 mL de etanol. À solução foram adicionados 60 mg (0,18 mmol, 0,6 equiv.) de Pd/BaSO₄. A mistura reacional foi agitada por 48 h à temperatura ambiente sob atmosfera de hidrogênio quando a CCD (Hept/AcOEt 8/2; CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 7:3:0,1) mostrou o consumo do material de partida. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo filtrado em "plog de celite" (lavagem com MeOH) para fornecer 0,081 g (96 %) do composto **145b** sob a forma de um óleo claro que pôde ser utilizado sem posterior purificação.

IV (film): 3359, 2977, 2933, 1682, 1386, 1366, 1249, 1170, 846 cm^{-1} .

3.3.1.9. Bromidrato de (4'*R*)-3'-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-4'-[(2-amino-4,5-diidro-1*H*-imidazol-4-il)-metil]-2',2'-dimetil-oxazolidina **141**

0,20 g (0,73 mmol) da diamina **145a** foram dissolvidos em uma mistura de água/metanol 1:1 (3 mL), na qual a mistura reacional foram acrescentados 0,43 mL (8 equiv.) de uma solução 3 mol/L de brometo de cianogênio em diclorometano (durante a adição do brometo de cianogênio, o pH da solução foi mantido entre 9-11 com uma solução de NaOH 1 mol/L). A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 48 h quando a CCD (*n*-

BuOH/H₂O/AcOH 4:2:1) mostrou o consumo do material de partida. O volume da solução foi reduzido à 1/3 do volume total e a solução aquosa foi passada por uma coluna strata-X 33µm Polymeric Reversed Phase, 200 mg/3mL, usando como eluente: H₂O, H₂O/MeOH 5%, H₂O/MeOH 10%, H₂O/MeOH 20%, H₂O/MeOH 30%, H₂O/MeOH 40%, H₂O/MeOH 50% e enfim, MeOH 100%. As frações contendo o produto desejado foram recuperadas e liofilizadas por 24 h fornecendo 0,232g (84%) do produto **141a** na forma de bromidrato.



Diastereoisômero **141a** (Rotâmeros)

$$[\alpha]_D^{24} = (c = - 5,0, \text{MeOH})$$

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1,47-1,55 (sl, 15H, (CH₃)₃, (CH₃)₂); 1,87-2,02 (m, 2H, H_{6'a}, H_{6'b}); 3,39-3,47 (m, 1H, H_{5'a}); 3,77-3,92 (m, 2H, H_{5'a}, H_{5'b}); 3,99-4,09 (sl, 3H, H_{5'b}, H_{4'}, H₄).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): 24,3 27,9 (CH₃)₂; 28,6 (CH₃)₃; 39,4 (C-6'); 48,6 (C-5); 53,2 (C-4)*; 54,2 (C-4')*; 67,4 (C-5'); 80,9 (C-(CH₃)₃); 93,9 (C-(CH₃)₂); 152,3 (C=O); 159,8 (C-2, C=N).

* atribuições intercambiáveis

Diastereoisômero **141b**

0,081 g (0,3 mmol) do bruto reacional **145b** foram dissolvidos em uma mistura de água/metanol 1:1 (1 mL), a qual mistura reacional foram acrescentados 170 µL (8 equiv.) de uma solução 3 mol/L de brometo de cianogênio em diclorometano. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 48 h quando a CCD (*n*-BuOH/H₂O/AcOH 4:2:1) mostrou o consumo do material de partida. O volume da solução foi reduzido à 1/3 do volume total e a solução aquosa foi passada por uma coluna strata-X 33µm Polymeric Reversed Phase, 200 mg/3mL, usando como eluente: H₂O, H₂O/MeOH 5%, H₂O/MeOH 10%, H₂O/MeOH 20%, H₂O/MeOH 30%, H₂O/MeOH 40%, H₂O/MeOH 50% e enfim, MeOH 100%. As frações contendo o produto desejado foram recuperadas e liofilizadas por 24 h fornecendo 0,064 g (73 %) do produto **141b** na forma de bromidrato.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,41-1,47 (sl, 15H, $(\text{CH}_3)_3$, $(\text{CH}_3)_2$); 1,78-1,89 (m, 2H, $\text{H}_{6'a}$, $\text{H}_{6'b}$); 3,27-3,32 (dd, 1H, $J_{5a,4} = 6,5$ e $J_{5a,5b} = 9,4\text{Hz}$, H_{5a}); 3,61-3,65 (d, 1H, $J_{5'a,5'b} = 8,4\text{Hz}$, $\text{H}_{5'a}$); 3,76-3,82 (t, 1H, $J_{5b,5a} = 9,4\text{Hz}$, H_{5b}); 4,01-4,09 (m, 3H, $\text{H}_{5'b}$, $\text{H}_{4'}$, H_4).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 24,4-28,2 ($(\text{CH}_3)_2$); 28,6 ($(\text{CH}_3)_3$); 41,0 (C-6'); 48,8 (C-5); 53,4 (C-4)*; 54,3 (C-4')*; 68,1 (C-5'); 81,3 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$); 94,1 ($\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 153,5 (C=O); 159,6 (C-2, C=N).

IV (v, film): 3292, 2979, 1680, 1581, 1391, 1365, 1253, 1171, 843 cm^{-1} .

MS (ES+, m/z): calculado: 299,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

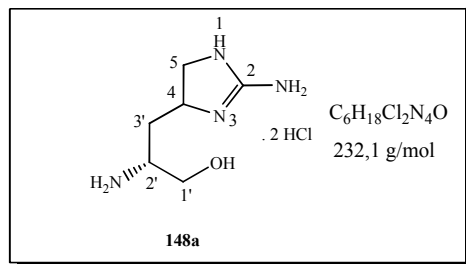
encontrado: 299,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

* atribuições intercambiáveis

3.3.1.10. Cloridrato de (2'R)-2'-amino-3'-(2-amino-4,5-diidro-1H-imidazol-4-il)-propanol-1')

148a

50 mg (0,13 mmol) do bromidrato **141a** foram dissolvidos em 1 mL de uma solução 6mol/L de HCl e a solução foi agitada por 2 h à temperatura ambiente. Após esse período, o solvente foi removido à secura sob pressão reduzida fornecendo 30 mg (98%) do cloridrato **148a** na forma de um sólido branco.



RMN ^1H (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$): 1,97-2,03 (m, 2H, $\text{H}_{3'a}$ e $\text{H}_{3'b}$); 3,40-3,43 (dd, 1H, $J_{5a,4} = 5,9$ e $J_{5a,5b} = 7,9$ Hz, H_{5a}); 3,45 (m, 1H, $\text{H}_{2'}$); 3,67 (dd, 1H, $J_{1'b,2} = 5,4$ e $J_{1'b,1'a} = 12,0$ Hz, $\text{H}_{1'b}$); 3,82 (dd, 1H, $J_{1'a,2} = 3,4$ e $J_{1'a,1'b} = 12,0$ Hz, $\text{H}_{1'a}$); 3,91 (t, 1H, $J_{5b,4} = 5,4$ Hz, H_{5b}); 4,22-4,28 (m, 1H, H_4).

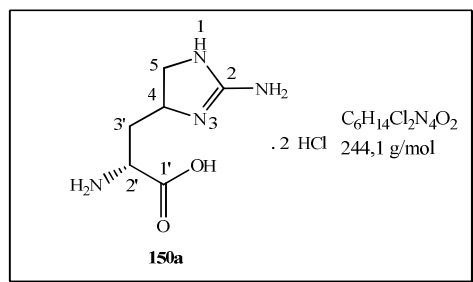
RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): 36,8 (C-3'); 50,5 (C-5); 52,1 (C-4); 54,2 (C-2'); 62,2 (C-1'); 161,8 (C-2, NH-C=N).

IV (v, film): 3172, 1683, 1537, 1402, 1364, 1252, 1164 cm^{-1} .

3.1.1.11. Cloridrato do ácido (2'R)-2'-amino-3'-(2-amino-4,5-diidro-1H-imidazol-4-il)-propiónico **150a**

Procedimento "one pot":

0,086 g (0,2 mmol) do composto **141a** foram dissolvidos em 3 mL de uma solução 6 mol/L de HCl. Após 4h à temperatura ambiente, o solvente foi evaporado à secura e o sólido branco obtido foi redissolvido em 2 mL de uma solução 1 mol/L de NaOH. A mistura foi resfriada à 0°C e 3,7 equivalentes de (Boc)₂O, previamente solubilizados em 2 mL de dioxano, foram adicionados à reação. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por uma noite quando a CCD (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) indicou a formação de uma mistura de produtos mono, di e tri protegidos com o grupo Boc. Após a remoção do solvente, a mistura foi extraída com CH₂Cl₂/H₂O. As fases orgânicas recolhidas foram evaporadas e o resíduo obtido foi redissolvido em uma mistura CCl₄/MeCN/H₂O (2:2:3). Foram adicionados 3 equivalentes de NaIO₄ e 2 mol% de RuCl₃ à reação (coloração verde-amarronzado). Após 6 horas à temperatura ambiente, a mistura foi extraída com CH₂Cl₂/H₂O e a fase orgânica obtida foi purificada por filtração em coluna de sílica utilizando-se uma mistura de CH₂Cl₂/MeOH. As frações recolhidas foram reunidas, evaporadas e submetidas à ação de uma solução 6 mol/L de HCl. O procedimento "one pot" permitiu a obtenção de 45 mg de uma mistura de **150a** (majoritário) + **148a** em 62% de rendimento.



RMN ¹H (500 MHz, D₂O): 2,20-2,28 (m, 2H, H_{3'a} e H_{3'b}); 3,45-3,47 (m, 1H, H_{5a}); 3,89-3,93 (m, 1H, H_{5b}); 4,05-4,08 (dd, 1H, $J_{2',3'a}=8,3$ e $J_{2',3'b}=5,5$ Hz, H_{2'}); 4,33-4,39 (m, 1H, H₄).

RMN ¹³C (125 MHz, D₂O): 35,5 (C-3'); 48,2 (C-5); 51,9 (C-2' e C-4); 169,9 (COOH).

MS (ES+, m/z): calculado: 173,1 (M+H⁺).

encontrado: 173,1(M+H⁺).