

ESTUDOS VISANDO A SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES
PIPERIDÍNICOS COMO POTENCIAIS INIBIDORES DE α E
 β -GLICOSIDASES

RODRIGO NOGUEIRA AGUM

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

JULHO de 2009

ESTUDOS VISANDO A SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES
PIPERIDÍNICOS COMO POTENCIAIS INIBIDORES DE α E
 β -GLICOSIDASES

RODRIGO NOGUEIRA AGUM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciência e Tecnológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais.

Orientador: Carlos Roberto Ribeiro Matos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

JULHO de 2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCT / UENF
42/2009

Agum, Rodrigo Nogueira

Estudos visando a síntese de aza-açúcares piperidínicos como potenciais inibidores de α e β -glicosidases / Rodrigo Nogueira Agum. – Campos dos Goytacazes, 2009.

xxii,142 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) --Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Ciências Químicas. Campos dos Goytacazes, 2009.

Orientador: Carlos Roberto Ribeiro Matos.

Área de concentração: Síntese.

Bibliografia: f. 138-142.

1. Aza-açúcares 2. Desoxinojirimicina 3. Glicosidase D-glicose 4. D-xilose 5. L-lisina I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia.

ESTUDOS VISANDO A SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES
PIPERIDÍNICOS COMO POTENCIAIS INIBIDORES DE α E
 β -GLICOSIDASES

RODRIGO NOGUEIRA AGUM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciência e Tecnológica da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais.

Apresentada em 17 de julho de 2009.

Comissão examinadora:

Professor Edmilson José Maria (Doutor, Química Orgânica) – UENF

Professora Leda Mathias (Doutora, Química de Produtos Naturais) – UENF

Professor Roberto Pereira Santos (Doutor, Química Orgânica) – IFES

Orientador: Prof. Carlos Roberto R. Matos (Doutor, Química Orgânica) - UENF

Ao meu filho, meus pais e meus irmãos

AGRADECIMENTOS

Ao professor Carlos Matos pela sua dedicação como orientador e amigo, conseguindo dividir seu tempo entre os vários orientados.

Aos professores Edmilson, Cristina, Ivo, Leda, Paulo Miranda, Paulo Nagipe e Wilson, pelo acompanhamento da minha formação acadêmica.

Aos meus companheiros de laboratório: Ana Cristina, Carlos Eduardo, Gisele, Luis Maurício e Marcos Paulo.

Aos meus companheiros do Laboratório Municipal de Macaé, principalmente ao Farmacêutico João Carlos, pela compreensão da importância desse trabalho para minha formação.

Aos meus grandes amigos, Daniel, Denise, Fábio, Flavio e Luciana. Aos meus irmãos escoteiros e a todos os meus alunos.

A todos os professores que contribuíram para minha formação, no ensino fundamental, médio, técnico e superior.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
RESUMO GRÁFICO	x
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ESQUEMAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xv
ABREVIATURAS	xx
LISTA DE MOLÉCULAS SINTETIZADAS	xxii

ESTUDOS VISANDO A SÍNTESE DE AZA-AÇÚCARES PIPERIDÍNICOS COMO POTENCIAIS INIBIDORES DE α E β -GLICOSIDASES

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Aza-açúcares	1
1.2. Aza-açúcares como produtos naturais	3
1.3. Biossíntese de aza-açúcares	5
1.4. Glicosidases	7
1.5. Biossíntese de Glicoproteínas	8
1.6. Aplicações Biológicas dos Inibidores de Glicosidases Tipo Aza-açúcar	10
1.6.1. Atividade Antitumoral	10
1.6.2. Atividade Antiviral	11
1.6.3. Atividade Antidiabetes	12
1.6.4. Doenças Decorrentes da Degradação de Esfingolípídeos e do Armazenamento de Lipídeos	14
1.7. Algumas Propostas Sintéticas para obtenção da DNJ e derivados	16
1.7.1. Síntese de DNJ e derivados	16
2. OBJETIVO	24

3. ESTRATÉGIA DE SÍNTESE	25
4. SEÇÃO EXPERIMENTAL	29
4.1. Procedimentos gerais	29
4.2. Síntese de aza-açúcares derivados da D-Xilose	31
4.2.1. Síntese da D-xilofuranosídeo de metila	31
4.2.2. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo	32
4.2.3. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	33
4.2.4. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	34
4.2.5. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	35
4.3. Síntese de aza-açúcares derivados da D-Glicose e L-lisina	37
4.3.1. Síntese da N-benzilideno-L-lisina	37
4.3.2. Síntese da L-lisina etil ester	38
4.3.3. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	39
4.3.4. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	40
4.3.5. Síntese do 1,5-di-triflúormetanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil- D-glucitol	41
4.3.6. N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina	41
4.4 – Inserção do grupo amina diretamente no açúcar	43
4.4.1. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-D-deoxiglucitol	43
5. DISCUSSÃO:	44
5.1. Síntese de aza-açúcar proveniente de D-xilose	44
5.1.1. Síntese da D-xilopiranosídeo de metila	44
5.1.2. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo	59
5.1.3. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	69
5.1.4. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	73
5.1.5. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	83
5.1.6. Oxidação de Swern do D-xilitol	91
5.2. Síntese aza-açúcar proveniente da D-glicose e da L-lisina	98
5.2.1. Síntese do N-benzilideno-L-lisina	98
5.2.2. Síntese da L-lisina etil ester	102
5.2.3. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	109

5.2.4. Tentativa de síntese do aza-açúcar com retenção de configuração	114
5.2.5. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	117
5.2.6. Substituição do grupo mesilato pela L-lisina esterificada	121
5.2.7. Tentativa de inserção do grupo tosila no D-glucitol	122
5.2.8. Inserção do Grupo Triflato no D-glucitol	122
5.2.9. Síntese do N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina	123
5.3 – Inserção do grupo amina diretamente no açúcar	129
5.3.1. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-D-deoxiglucitol	129
5.3.2. Reação de oxidação da oxima	136
6. CONCLUSÃO	137
7. BIBLIOGRAFIA	138

RESUMO

Neste trabalho foi estudado a síntese de aza-açúcares piperidínicos derivados da D-xilose e D-glicose, utilizando duas metodologias: oxidação de Swern seguido de hidrogenação de intermediários iminas cíclicos e substituição nucleofílica empregando como reagente nitrogenado a n-butilamina e o aminoácido L-lisina.

Na molécula D-xilose foram feitas proteções, levando a formação dos intermediários; metil-D-xilopiranosídeo (**66**), 2,3,5-tri-O-benzil-xilopiranosídeo (**68**) e 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (**70**). A partir do composto **70** foram feitos estudos visando a formação de aza-açúcares.

No estudo feito com a D-glicose, partiu-se do produto comercial; 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glicopiranosídeo (**34**) e utilizou-se como nucleófilo o aminoácido; L-lisina. Para esse sistema foram feitas reações no intuito de conduzir a formação de aza-açúcares com retenção de configuração e com inversão de configuração.

Também com a glicose foi realizada a síntese da oxima; 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**), no intuito de obter-se o aza-açúcar; 1-deoxinojirimicina (**2**).

ABSTRACT

In this work was studied the synthesis of aza-sugars piperidines derivatives of D-xylose and D-glucose, using two methodologies: Swern oxidation followed of hydrogenation of intermediate imines cyclical and substitution nucleophilic employing as reagent nitrogen the n-butylamine and the amino acid L-lysine.

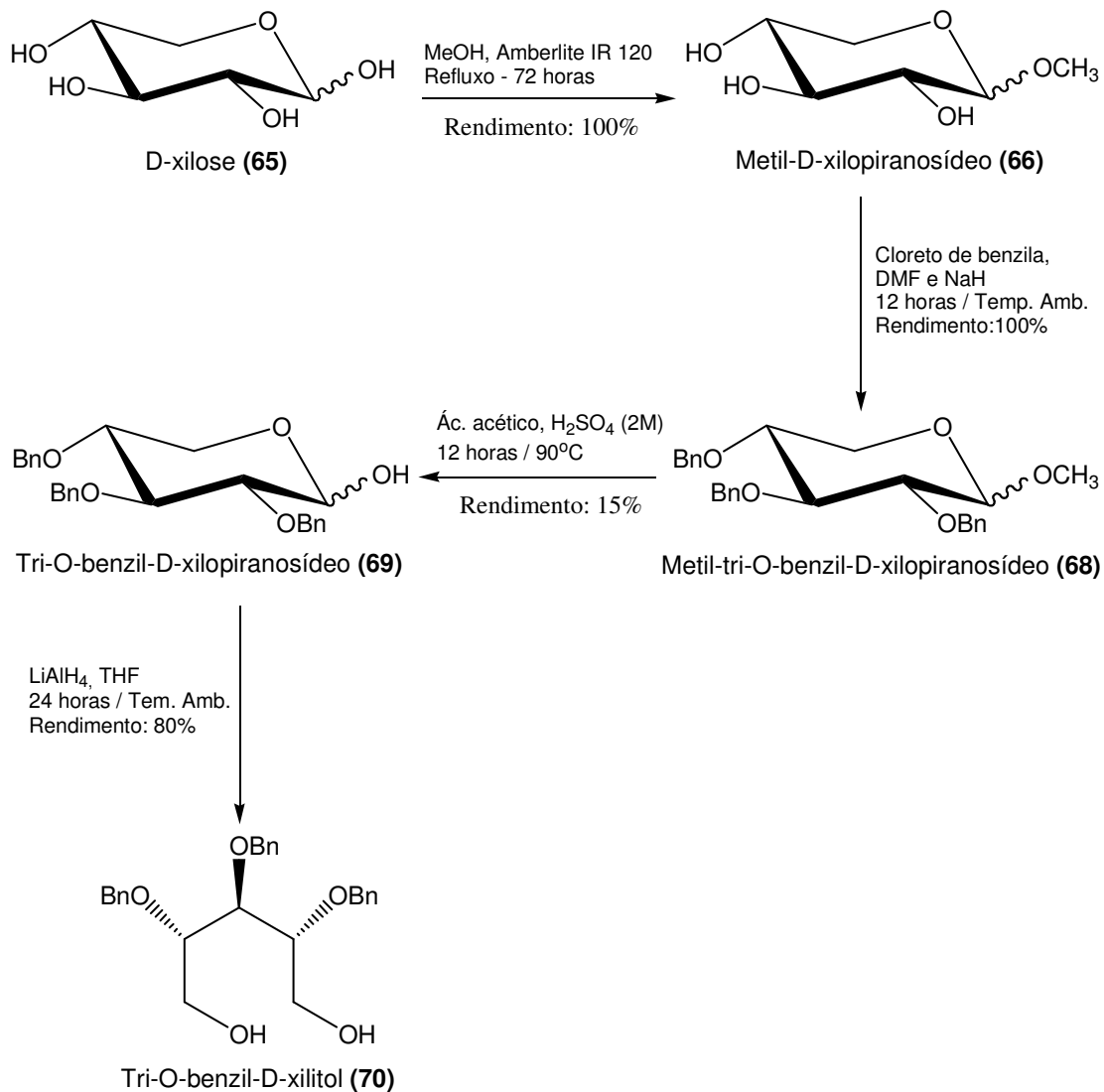
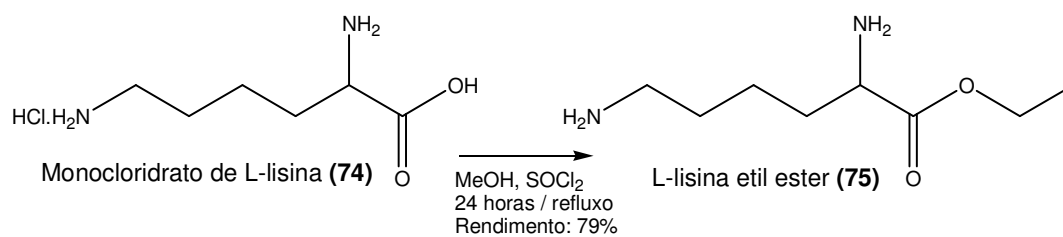
In molecule D-xylose were made protections, leading the formation of intermediaries; methyl-D-xylopyranosideo (66), 2,3,5-tri-O-benzyl-xylopyranosideo (68) and 2,3,5-tri-O-benzyl-D-xylitol (70). From the compound 70 studies were made order the formation of aza-sugars.

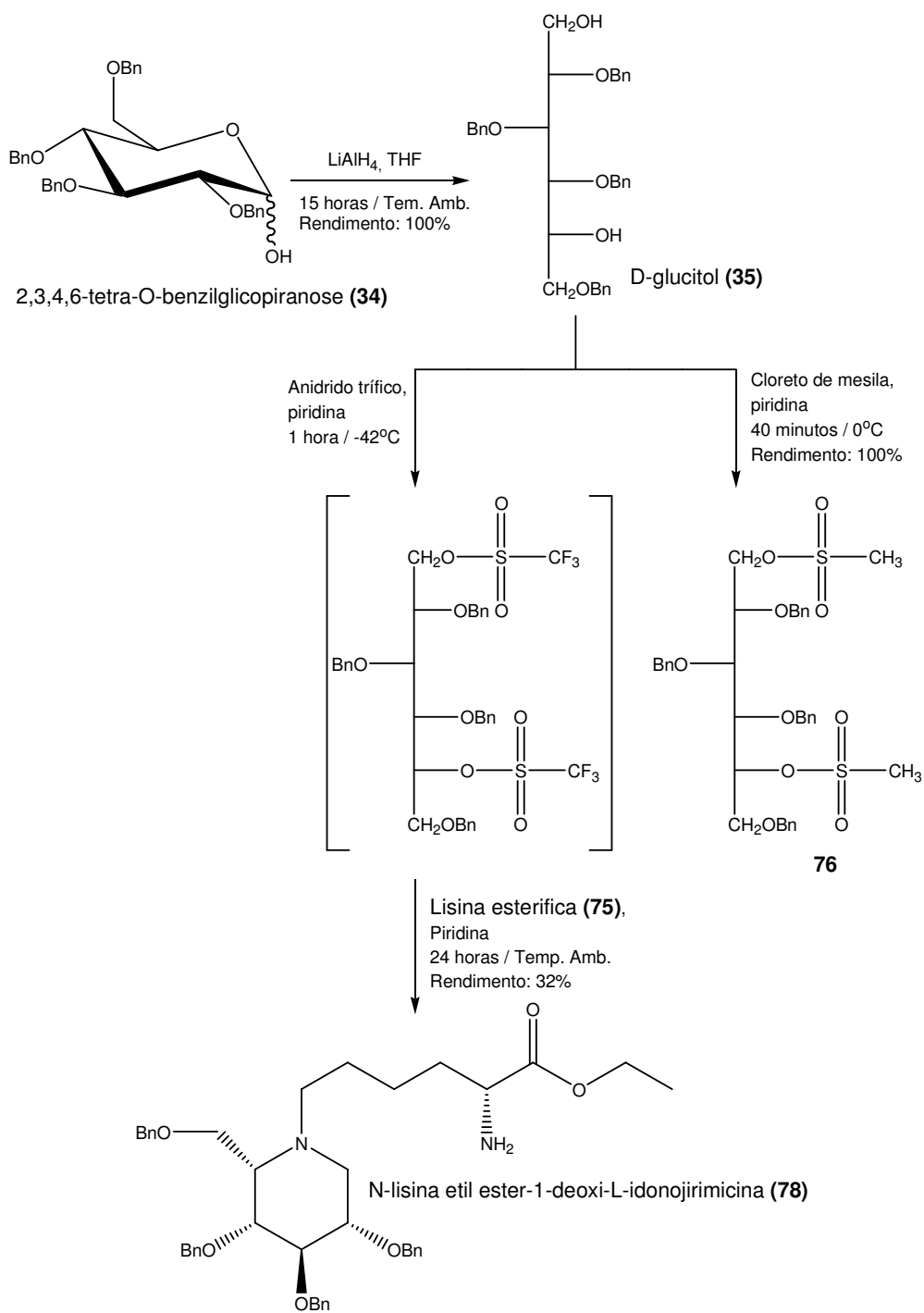
In the study done with D-glucose, broke the commercial product, 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-glucopyranoside (34) and used as nucleophilic the amino acid; L-lysine. For this system reactions were made in order of conduct the training of aza-sugars with retention of configuration and with inversion of configuration.

Also with the glucose was performed the synthesis of oxime, 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1-oxime-1-deoxiglucitol (79), in order to obtain the aza-sugar; 1-Deoxynojirimycin (2).

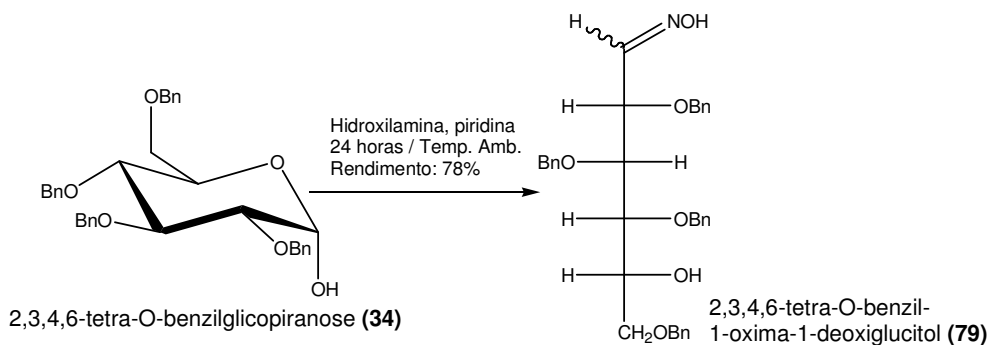
RESUMO GRÁFICO

■ Primeira parte: Síntese de aza-açúcar proveniente de D-xilose:

■ Segunda parte: reações com derivados da D-glicose (**6**)



■ Terceira parte: Inserção do grupo amina diretamente no açúcar:



LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Inibição de α - β -glucosidade - (IC_{50})	3
Tabela 2	Inibição do BVDV - (IC_{50})	12
Tabela 3	Deslocamento químico dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila	48
Tabela 4	Deslocamento químico dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo	62
Tabela 5	Deslocamento químico dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	76
Tabela 6	Deslocamento químico do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	85
Tabela 7	Deslocamento químico e integração de H^1 da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	93
Tabela 8	Deslocamento químico do L-lisina etil ester	103
Tabela 9	Dados de RMN ^{13}C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	111
Tabela 10	Integração dos sinais do espectro de RMN 1H da N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina	125

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Biossíntese da 1-desoxinojirimicina em Bacilli	5
Esquema 2	Biossíntese da 1-desoxinojirimicina em <i>C. communis</i>	6
Esquema 3	Formação do Carbocátion (A) e o íon (B) durante a clivagem de ligação glicosídica pela ação de glicosidases	7
Esquema 4	Mecanismo de ação da DNJ com a α -glucosidase no estado de transição	8
Esquema 5	Processamento de Glicoproteínas	9
Esquema 6	Degradação de Esfingolípídeo a Ácido Graxo	14
Esquema 7	Primeira rota sintética proposta para DNJ	18
Esquema 8	Confôrmers do anel piperidínico	18
Esquema 9	Síntese DNJ	19

Esquema 10	Síntese DNJ e NB-DNJ	19
Esquema 11	Síntese do Miglitol	20
Esquema 12	Síntese enzimática da DNJ	21
Esquema 13	Síntese da 1-desoximanojirimicina	22
Esquema 14	Síntese de aza-açúcar derivado da galactose	22
Esquema 15	Síntese do 6-desoxi-homo-DMDP seu epímero em C(5)	23
Esquema 16	Síntese do 1,4-didesoxi-1,4-imino-D-arabinitol	24
Esquema 17	Retroanálise do aza-açúcar	25
Esquema 18	Retroanálise do aza-açúcar	26
Esquema 19	Retroanálise do aza-açúcar	27
Esquema 20	Retroanálise do aza-açúcar	28
Esquema 21	Síntese da D-xilopiranosídeo de metila	31
Esquema 22	Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo	32
Esquema 23	Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	33
Esquema 24	Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	34
Esquema 25	Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	35
Esquema 26	Síntese da N-benzilideno-L-lisina	37
Esquema 27	Síntese da L-lisina etil ester	38
Esquema 28	Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	39
Esquema 29	Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	40
Esquema 30	Inserção do grupo triflato no D-glucitol	41
Esquema 31	Síntese do aza-açúcar N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina	41
Esquema 32	Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol	43
Esquema 33	Síntese da D-xilopiranosídeo de metila	44
Esquema 34	Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo	59
Esquema 35	Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	69
Esquema 36	Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	73
Esquema 37	Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	83
Esquema 38	Oxidação de Swern do D-xilitol	91
Esquema 39	Proposta de mecanismo para ativação do DMSO com anidrido trifluoracético	91

Esquema 40	Proposta de mecanismo para oxidação de Swern no D-glucitol	92
Esquema 41	Proposta de mecanismo para adição intramolecular a carbonila, seguido de desidratação	93
Esquema 42	Síntese da N-benzilideno-L-lisina	98
Esquema 43	Síntese da L-lisina etil ester	102
Esquema 44	Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	109
Esquema 45	Síntese do composto dicarbonilado	114
Esquema 46	Tentativa de síntese do aza-açúcar com retenção de configuração	114
Esquema 47	Proposta de mecanismo para oxidação de Swern no D-glucitol	115
Esquema 48	Proposta de mecanismo para condensação intramolecular do composto dicarbonilado	115
Esquema 49	Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	117
Esquema 50	Tentativa de inserção do grupo tosila no D-glucitol	122
Esquema 51	Inserção do grupo triflato no D-glucitol	122
Esquema 52	Síntese do N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina	123
Esquema 53	Proposta para reação de dupla reação de substituição nucleofílica	123
Esquema 54	Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol	129
Esquema 55	Oxidação da oxima	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Nojirimicina e 1-Desoxinojirimicina	1
Figura 2	N-butil-1-desoxinojirimicina e Miglitol	2
Figura 3	Desoxinojirimicinas glicosiladas sintetizadas por Asano, Yoshikuni e seus colaboradores	2
Figura 4	1-desoximanojirimicina	3
Figura 5	DMDP, 6-desoxi-homo-DMDP seu epímero em C(5), DRB N- hidroxietil-DAB e 6-deoxi-DMDP	4
Figura 6	N-pentil-1-desoxi-L-idonojirimicina	10
Figura 7	NB-DNJ e Castanospermina	11
Figura 8	N-nonil-1-desoxinojirimicina	12
Figura 9	D-AB1, isofagomine e fagomine	13
Figura 10	Espectro de Infravermelho da D-xilopiranosídeo de metila	45
Figura 11	Parte do espectro de RMN ^1H do metil-D-xilopiranosídeo (expansão da região entre 3,6 – 5,0 ppm)	46
Figura 12	Correlação $^3J_{\text{CH}}$ em carbonos C1 e C5 e hidrogênios H5 e H1 da α e β -metil-D-xilopiranosídeo	47
Figura 13	Anômeros α e β da metil-D-xilofuranosídeo	48
Figura 14	Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	49
Figura 15	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	50
Figura 16	Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	51
Figura 17	Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	52
Figura 18	Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	53
Figura 19	Espectro de RMN ^1H do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	54
Figura 20	Espectro de RMN ^{13}C do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	55

Figura 21	Espectro de RMN COSY do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	56
Figura 22	Espectro de RMN HMQC do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	57
Figura 23	Espectro de RMN HMBC do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila - CD_3OD	58
Figura 24	Espectro de Infravermelho da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo	60
Figura 25	Isômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo	62
Figura 26	Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo – CD_3Cl_3	63
Figura 27	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo - CD_3Cl_3	64
Figura 28	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (expansão entre 55,0 – 74,0 ppm) - CD_3Cl_3	65
Figura 29	Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo - CD_3Cl_3	66
Figura 30	Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo – CDCl_3	67
Figura 31	Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo – CDCl_3	78
Figura 32	Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – CDCl_3	70
Figura 33	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – CDCl_3	71
Figura 34	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (expansão entre 71,0 – 81,0 ppm) – CDCl_3	72
Figura 35	Espectro de Infravermelho do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	74
Figura 36	Anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo	76
Figura 37	Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – CDCl_3	77

Figura 38	Espectro de RMN C^{13} (APT) da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	78
Figura 39	Espectro de RMN C^{13} (APT) da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (expansão entre 74,0 – 85,0 ppm) – $CDCl_3$	79
Figura 40	Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	80
Figura 41	Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	81
Figura 42	Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	82
Figura 43	Espectro de Infravermelho do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	83
Figura 44	Plano de simetria do D-xilitol	84
Figura 45	2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol	85
Figura 46	Espectro de RMN 1H da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol – $CDCl_3$	86
Figura 47	Espectro de RMN C^{13} (APT) da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol – $CDCl_3$	87
Figura 48	Espectro de RMN C^{13} (APT) da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (expansão entre 61,0 – 81,0 ppm) – $CDCl_3$	88
Figura 49	Espectro de RMN HMQC da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol – $CDCl_3$	89
Figura 50	Espectro de RMN HMBC da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol – $CDCl_3$	90
Figura 51	1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo	93
Figura 52	Espectro de RMN 1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	94
Figura 53	Espectro de RMN 1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (expansão entre 3,3 – 5,0 ppm) – $CDCl_3$	95
Figura 54	Espectro de RMN 1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (expansão entre 3,4 – 4,0 ppm) – $CDCl_3$	96
Figura 55	Espectro de RMN C^{13} da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo – $CDCl_3$	97

Figura 56	Espectro de RMN ^1H da N-benzilideno-L-lisina – D_2O	99
Figura 57	Espectro de RMN ^{13}C (PENDANT) da N-benzilideno-L-lisina – D_2O	100
Figura 58	Espectro de RMN HMQC da N-benzilideno-L-lisina – D_2O	101
Figura 59	L-lisina etil ester	103
Figura 60	Espectro de RMN ^1H da L-lisina etil ester – CD_2OD	104
Figura 61	Espectro de RMN ^{13}C (APT) da L-lisina etil ester – CD_2OD	105
Figura 62	Espectro de RMN COSY da L-lisina etil ester – CD_2OD	106
Figura 63	Espectro de RMN HMQC da L-lisina etil ester – CD_2OD	107
Figura 64	Espectro de RMN HMBC da L-lisina etil ester – CD_2OD	108
Figura 65	Espectro de Infravermelho do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol	110
Figura 66	Parte do espectro de RMN ^{13}C (APT) do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol (expansão ente 60,0 – 81,0 ppm) – CDCl_3	111
Figura 67	Espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol – CDCl_3	112
Figura 68	Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol – CDCl_3	113
Figura 69	Espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glicopirranose – CDCl_3	116
Figura 70	Espectro de RMN ^1H do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol – CDCl_3	118
Figura 71	Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol – CDCl_3	119
Figura 72	Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol (expansão entre 69,0 – 83,0 ppm) – CDCl_3	120
Figura 73	Espectro de Infravermelho da N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina	124
Figura 74	N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina	125
Figura 75	Parte do espectro de RMN ^1H da N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina (expansão da região entre 0,86 – 4,57 ppm) – CDCl_3	126
Figura 76	Parte do espectro de RMN ^1H da N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina (expansão da região entre 0,86 – 7,45 ppm)	127

	– CDCl ₃	
Figura 77	Parte do espectro de RMN ¹ H da N-lisina etil ester-1-desoxi-L-idonojirimicina (expansão entre 1,5 – 4,8 ppm) – CDCl ₃	128
Figura 78	Espectro de Infravermelho do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol	130
Figura 79	Parte do espectro de RMN ¹ H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol (expansão entre 6,0 – 7,5 ppm) – CDCl ₃	131
Figura 80	Espectro de RMN ¹ H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol – CDCl ₃	132
Figura 81	Espectro de RMN ¹³ C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol – CDCl ₃	133
Figura 82	Espectro de RMN ¹³ C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol (expansão entre 67,0 – 92,0 ppm) – CDCl ₃	134
Figura 83	Espectro de RMN HMQC do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol – CDCl ₃	135

ABREVIATURAS

δ – Deslocamento químico

Ac – grupo acetila

APT – Attachement Proton Test

Bn – Benzila

CCD - Cromatografia em camada delgada

CCFP – Cromatografia de camada fina preparativa

COSY – Correlated Spectroscopy

d – sinal duplo

dd – duplo sinal duplo

DMF – N,N-dimetilformamida

DMSO – Sufóxido de metila

DNJ – 1-deoxinojirimicina

DMJ – 1-deoximanojirimicina

Et – grupo etila

HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC - Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

IV – infravermelho

J - Constante de acoplamento

m - sinal múltiplo

Me – grupo metila

Ms – grupo mesila

NJ – nojirimicina

PENDANT - Polarization enhanced during attached nucleus testing

p.f. – ponto de fusão

Ph – grupo fenila

ppm – parte por milhão

q – sinal quadruplo

RMN ¹³C – Ressonância magnética nuclear carbono 13

RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s – sinal simples

t – sinal triplo

THF – tatraidrofurano

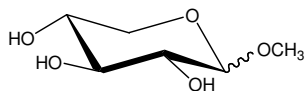
Tf – grupo triflato

Ts – grupo tosilato

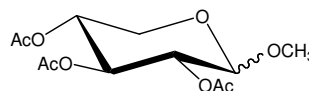
TrCl – cloreto de tritila

LISTA DE MOLÉCULAS SINTETIZADAS

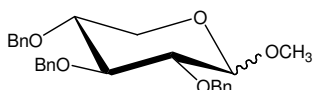
■ Derivadas da D-xilose (65):



Metil-D-xilopiranosídeo (66)



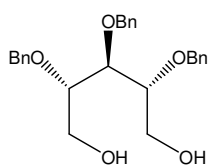
Metil-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (67)



Metil-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (68)

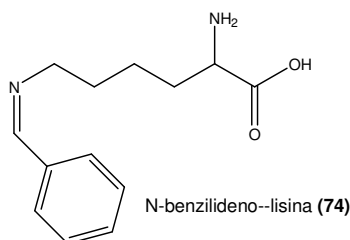


Tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (69)

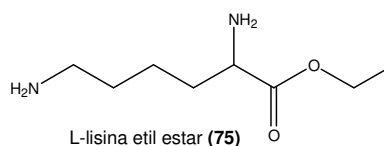


Tri-O-benzil-D-xilitol (70)

■ Derivadas do monoclóridato de L-lisina (74):

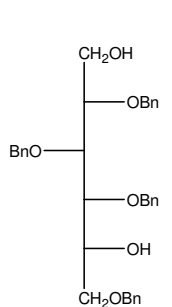


N-benzilideno-L-lisina (74)

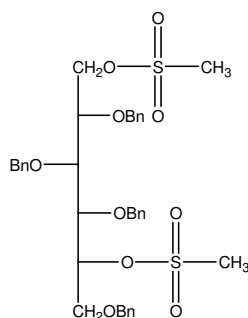


L-lisina etil éster (75)

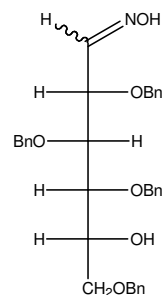
■ Derivados da D-glicose (6):



D-Glucitol (35)

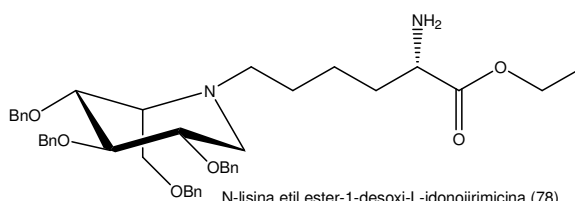


1,5-di-metanosulfanil-D-glucitol (76)



1-oxima-1-desoxiglucitol (79)

■ Aza-açúcar:



N-lisina etil éster-1-desoxi-L-idonójirimicina (78)

1. INTRODUÇÃO:

1.1. Aza-açúcares

Os aza-açúcares, piperidinas e pirrolidinas poliidroxiladas, são substâncias similares aos açúcares, onde o oxigênio heterocíclico é substituído pelo nitrogênio. Eles fazem parte de uma classe maior de compostos, os açúcares aaminados.

O primeiro aza-açúcar a ser descoberto foi a nojirimicina **(1)** (**figura 1**) em 1966, sendo inicialmente isolado de várias espécies de *Streptomyces*, demonstrando ser um potente inibidor das enzimas α - e β -glicosidase (Inoue *et al*, 1966). Mas devido ao grupo hidroxila localizado no carbono C-1 (carbono anomérico) ser muito instável, dificultando os ensaios biológicos, ele foi reduzido a substância 1-desoxinojirimicina (DNJ) **(2)** (**figura 1**), um aza-açúcar mais estável. A redução foi feita em presença de NaBH_4 (boroidreto de sódio) ou por hidrogenação catalítica (Asano, 2003).

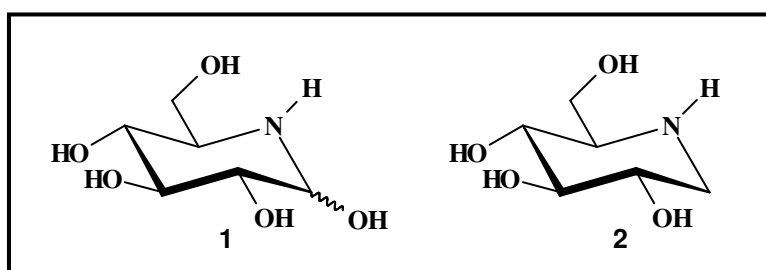


Figura 1. Nojirimicina (1) e 1-Desoxinojirimicina (2).

A 1-desoxinojirimicina (DNJ) **(2)** (**figura 1**) foi posteriormente isolada de folhas de *Morus alba* (folhas de amore) e larva de *Bombyx mori* (bicho-da-seda) (Kim *et al*, 2003). Ela também demonstrou bons resultados em testes *in vitro* frente às glicosidases, mas apenas moderada atividade *in vivo* (Asano, 2003). Com isso, a síntese de derivados de DNJ **(2)** tornou-se um objetivo de alguns químicos sintéticos, tendo em vista sua grande variedade estrutural, podendo fornecer um grande número de epímeros e outras estruturas substituindo os hidrogênios por outros grupos.

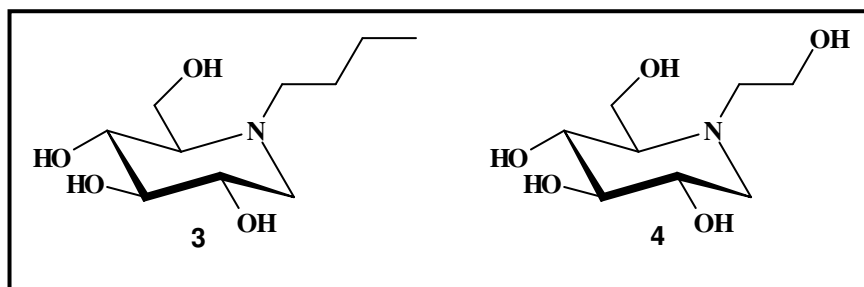


Figura 2. N-butil-1-desoxinojirimicina (**3**) e Miglitol (**4**).

A N-butil-1-desoxinojirimicina (NB-DNJ) (**3**) e o miglitol (**4**) (**figura 2**) são os grandes destaques entre os aza-açúcares, mas há uma gama de moléculas, derivadas da DNJ (**2**) (**figura 1**) que foram sintetizadas e avaliadas frente às glicosidases. Um exemplo foi o estudo feito por Asano, Yoshikuni e colaboradores com a molécula de D-glicose substituindo as hidroxilas nas posições C-2, C-3 e C-4, conforme ilustrada na **figura 3**. Depois de sintetizadas estas moléculas foram estudadas quanto a atividade frente a α - e β -glucosidase (Asano *et al*, 1994) (Yoshikuni *et al*, 1989).

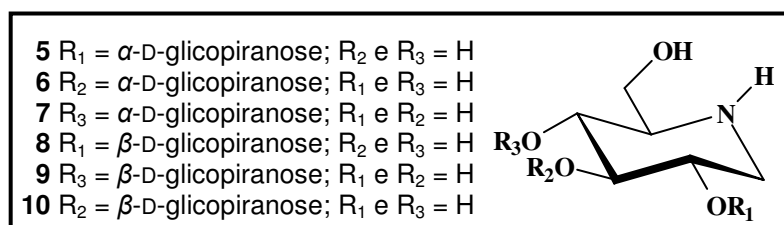


Figura 3. Desoxinojirimicinas glicosiladas sintetizadas por Asano, Yoshikuni e seus colaboradores.

Os ensaios biológicos foram feitos com α -glucosidase da maltase intestinal de ratos e β -glucosidase extraídas de amêndoa doce. Como pode ser observada na tabela 1 a glicosidação das hidroxilas da DNJ (**2**) reduzem sua atividade inibitória.

Tabela 1. Inibição de α - β -glucosidade (IC_{50}), concentração dos inibidores em μ M. (Asano et al, 1994) (Yoshikuni et al, 1989)

Substância	α -glucosidase $IC_{50}(\mu$ M)	β -glucosidase $IC_{50}(\mu$ M)
Nojirimicina (1)	1,7	-
1-Desoxinojirimicina (2)	0,36	153
2-O- α -D-glicopiransil-1-DNJ (5)	24	1000
3-O- α -D-glicopiransil-1-DNJ (6)	5,2	NI
4-O- α -D-glicopiranosil-1-DNJ (7)	2,3	80
2-O- β -D-glicopiranosil-1-DNJ (8)	4,0	NI
3-O- β -D-glicopiranosil-1-DNJ (9)	24	NI
4-O- β -D-glicopiranosil-1-DNJ (10)	1,7	NI

1.2. Aza-açúcares como produtos naturais:

Além da NJ (1) e da DNJ (2) outros aza-açúcares foram extraídos de produtos naturais. Um exemplo é o epímero da DNJ (2) o alcalóide 1-desoximanojirimicina (11) (figura 4), que foi inicialmente isolado de plantas do gênero *Lonchocarpus* (*L. sericeus* e *L. costaricensis*) (Raadt e Stütz, 1992).

Kite e colaboradores, também isolaram em pequenas quantidades 1-desoximanojirimicina (11) (figura 4) e DNJ (2) (figura 1) de duas espécies de mariposas (*Alcides metaurus* e *Lyssa macleayi*), essas mariposas adquirem esses alcalóides alimentando-se de plantas da família das Euphorbiaceae: *Omaphalea queenslandiae* e *Endospermum medullossum* (Kite *et al* 1991).

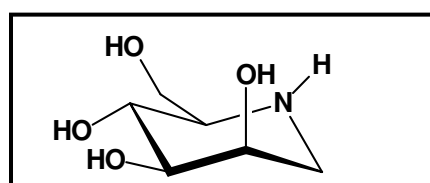


Figura 4. 1-desoximanojirimicina (11).

Aza-açúcares com anel de cinco membros, também foram extraídos de fontes naturais, tais como; DMDP (2R, 3R, 4R, 5R)-2,5-bis(hidroximetil)-3,4-diidroxipirrolidinico (12) (figura 5) obtido da *Derris elliptica*, 6-desoxi-homoDMDP (13) e seu epímero em C(5) (14) (figura 5) extraído de *Hyacinthus orientalis* (Behr e Guillerm, 2002).

Yasuda e colaboradores extraíram de *Angylocalyx pynaertii* uma série de alcalóides pirrolidínicos, entre eles; 1,4-didesoxi-1,4-imino-D-ribitol (DRB) (**15**), n-hidroxi-etil-1,4-didesoxi-1,4-imino-D-arabinitol (N-hidroxi-etil-DAB) (**16**) e o 2,5-imino-1,2,5-tridesoxi-D-manitol (6-deoxi-DMDP) (**17**) (**figura 5**). (Yasuda et al, 2002)

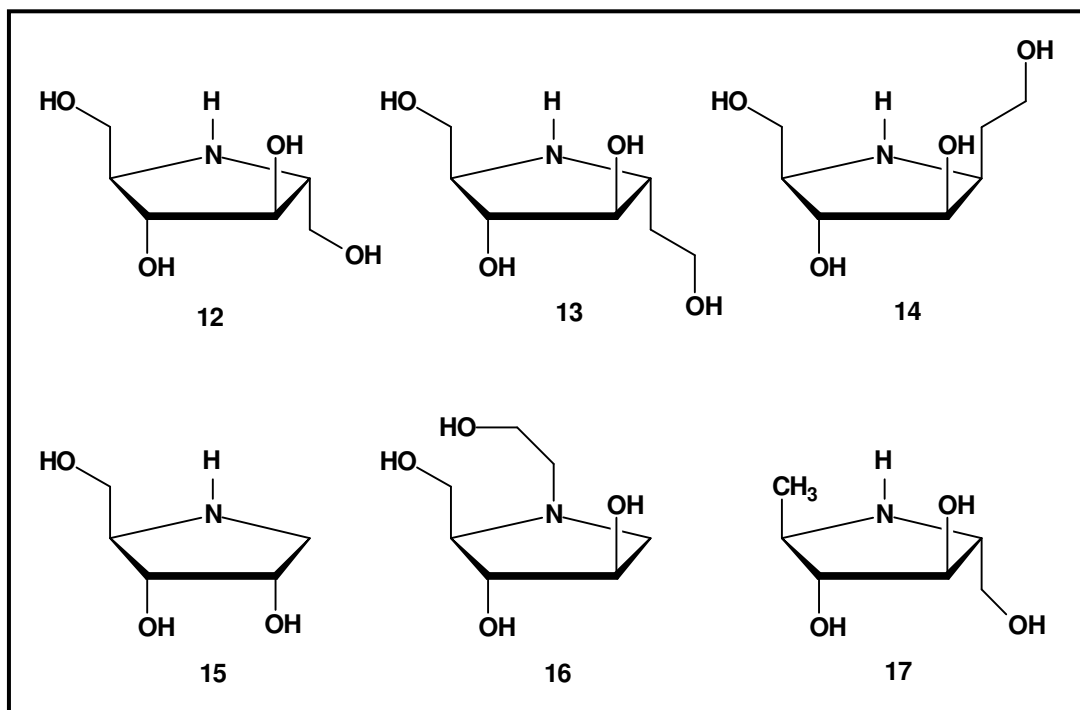
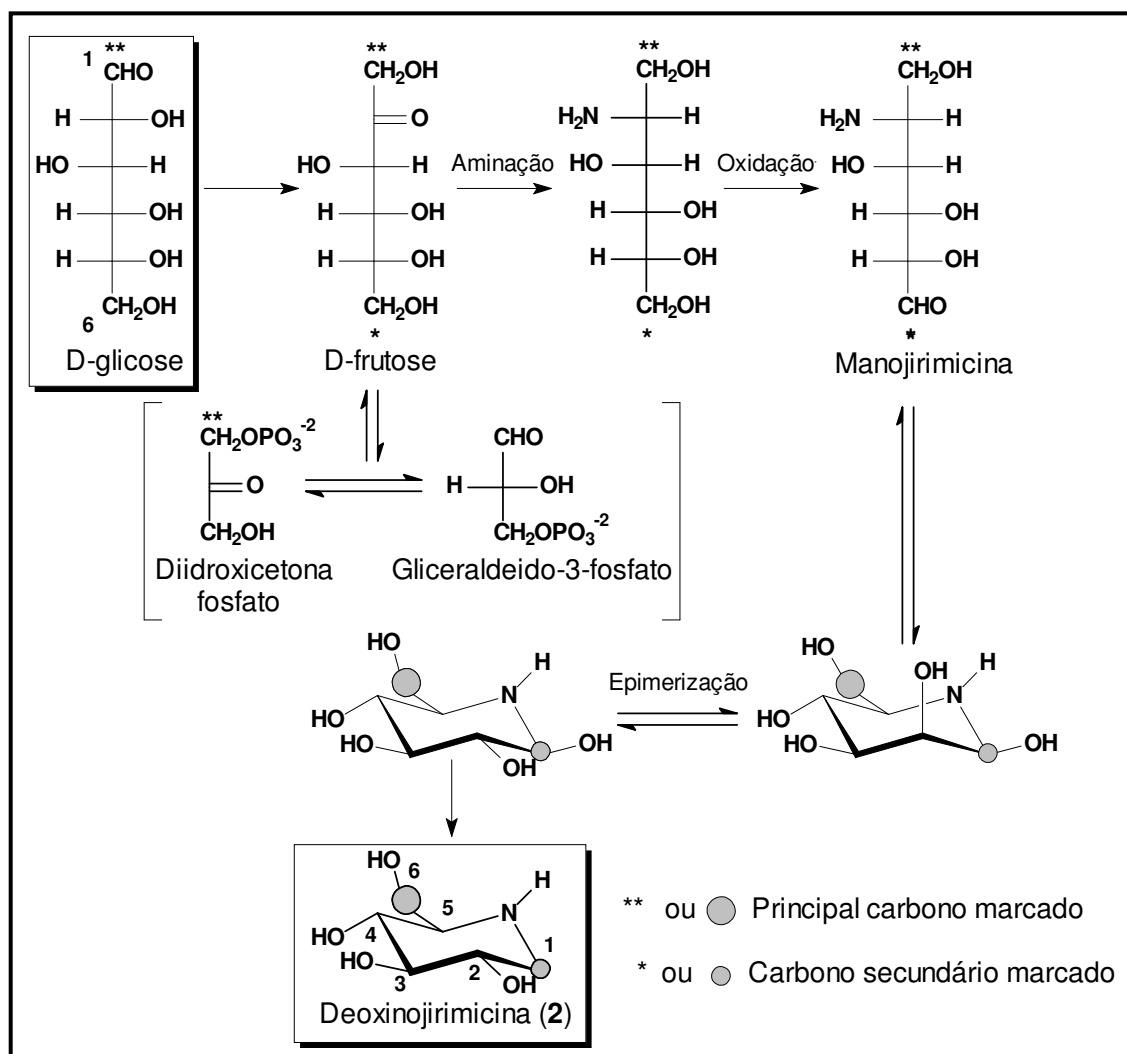


Figura 5. DMDP (**12**), 6-desoxi-homo-DMDP (**13**) seu epímero em C(5) (**14**), DRB (**15**), N- hidroxi-etil-DAB (**16**) e 6-desoxi-DMDP (**17**).

1.3. Biossíntese de aza-açúcares:

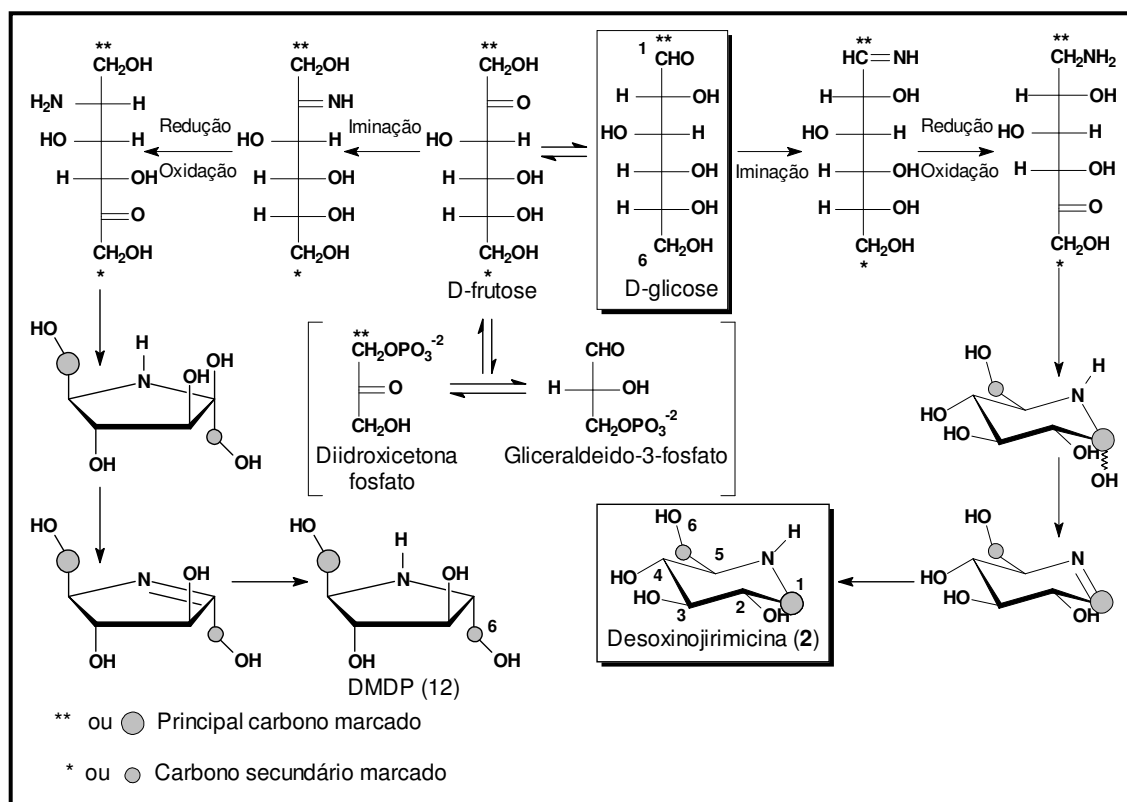
A biossíntese da 1-desoxiojirimicina (**2**) foi inicialmente estudada em microorganismo (*Streptomyces* e *Bacillus subtilis var niger*) e recentemente elucidada em plantas.

No **esquema 1** é descrito a rota biosintética da DNJ (**2**) em *Bacillus subtilis var Níger*. A ciclização com inserção do átomo de nitrogênio ocorre entre C2/C6 da glicose. Os resultados foram baseados em dados experimentais, usando a glicose marcada com o isótopo ^{13}C em C1. Na DNJ (**2**) o carbono marcado foi detectado em C2 (Hardick e Htchinson, 1993).



Esquema 1. Biossíntese da 1-desoxiojirimicina (2) em Bacilli. (Hardick e Htchinson, 1993)

No **esquema 2** é mostrada a biossíntese dos alcalóides poliidroxilados DNJ (**2**) e (2R, 3R, 4R, 5R) 2,5-(bis)-hidroximetil 3,4-dihidroxipirrolidina (DMDP) (**12**), estudada em *Commelina communis* (família *Commelinaceae*) em um meio de cultura contendo ^{13}C glicose. Os resultados sugerem que na formação da DNJ (**2**) ocorre aminação redutiva em C1 da glicose e oxidação da hidroxila em C5 (Shibano et al, 2004)



Esquema 2. Biossíntese da 1-desoxinojirimicina (**2**) em *C. communis*. (Shibano et al, 2004)

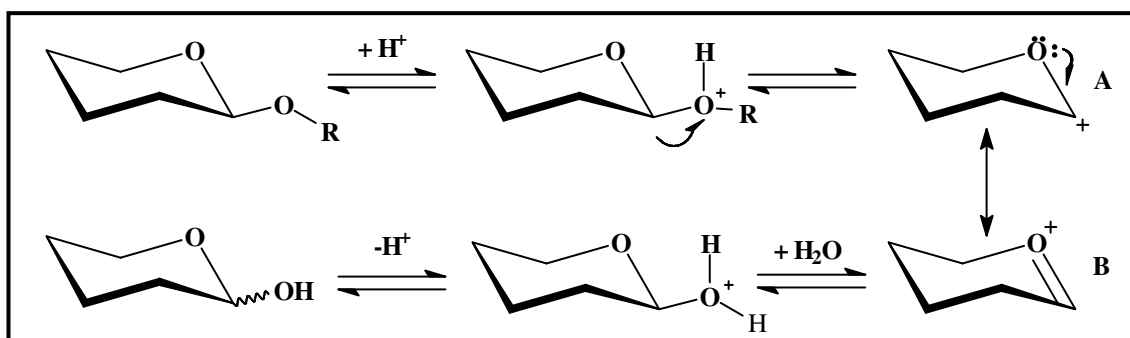
A principal diferença encontrada entre as duas rotas biosintéticas para formação de DNJ (**2**), está na ciclização da molécula de glicose. Em plantas ocorre entre os carbonos C1/C5 e em bacilos entre os carbonos C2/C6.

Na formação da DMDP ocorre aminação redutiva em C2 da frutose e posterior ciclização em C5.

1.4. Glicosidases:

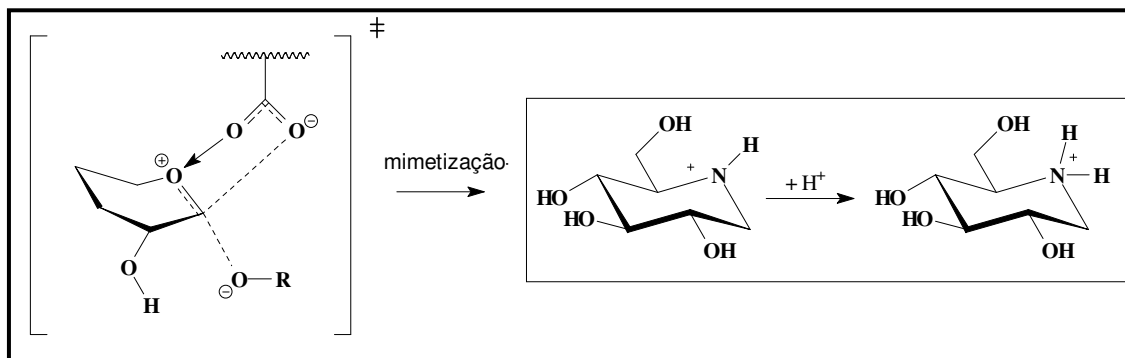
Glicosidases são enzimas que catalisam a clivagem de ligações glicosídicas em oligossacarídeos ou glicoconjugados. Muitas glicosidases são específicas para clivagem de ligações glicosídicas dependendo do número, posição e configuração do grupo hidroxila em moléculas de açúcar. Assim, α e β -glicosidases são capazes de catalisar a quebra das ligações glicosídicas envolvendo glicose terminal conectado ao sítio da clivagem, respectivamente, por α e β -ligações com o centro anomérico. Sua atividade é fundamental para vários processos bioquímicos, tais como; degradação dos polissacarídeos provenientes da dieta, fornecendo unidades monossacarídeas, catabolismo de glicoconjugados lisossomal e biossíntese das unidades de oligossacarídeo em glicoproteínas ou glicolípídeos.

Pesquisas evidenciam que o mecanismo de hidrólise de oligossacarídeos passa pela formação do carbocátion (**A**) e do íon oxocarbênio (**B**) no estado de transição, sugerindo um mecanismo S_N1 (**esquema 3**) (Melo *et al*, 2006 - a).



Esquema 3. Formação do Carbocátion (A) e o íon (B) durante a clivagem de ligação glicosídica pela ação de glicosidases (Melo *et al*, 2006 - a)

O mecanismo de inibição dessas enzimas por aza-açúcares processa-se de forma competitiva e acredita-se estar relacionado com a protonação do nitrogênio do anel piperidínico no pH biológico, e assim mimetizando eletronicamente o estado de transição, íon oxocarbênio (**B**), envolvido na modificação glicosídica enzimática. Acredita-se que a dependência do pH está relacionada com a interação iônica com um íon carboxilado, presente no sítio ativo da enzima, o qual é responsável pela estabilização do íon oxônio de alta energia, durante a hidrólise normal (**esquema 4**) (Liu, 1987) (Johnson *et al*, 1997).



Esquema 4. Mecanismo de ação da DNJ (2) com a α -glucosidase no estado de transição. (Melo *et al*, 2006 - a)

A inibição dessas enzimas tem efeitos marcantes na maturação, transporte e secreção de glicoproteínas, podendo alterar o processo de reconhecimento célula-célula ou célula-vírus. Este princípio é a base para o uso potencial de inibidores de glicosidase em infecção viral, crescimento tumoral e metástase, diabetes, doença de Gaucher e outras síndromes associadas ao armazenamento lisossomal de glicoesfingolípídeos. (Asano, 2003)

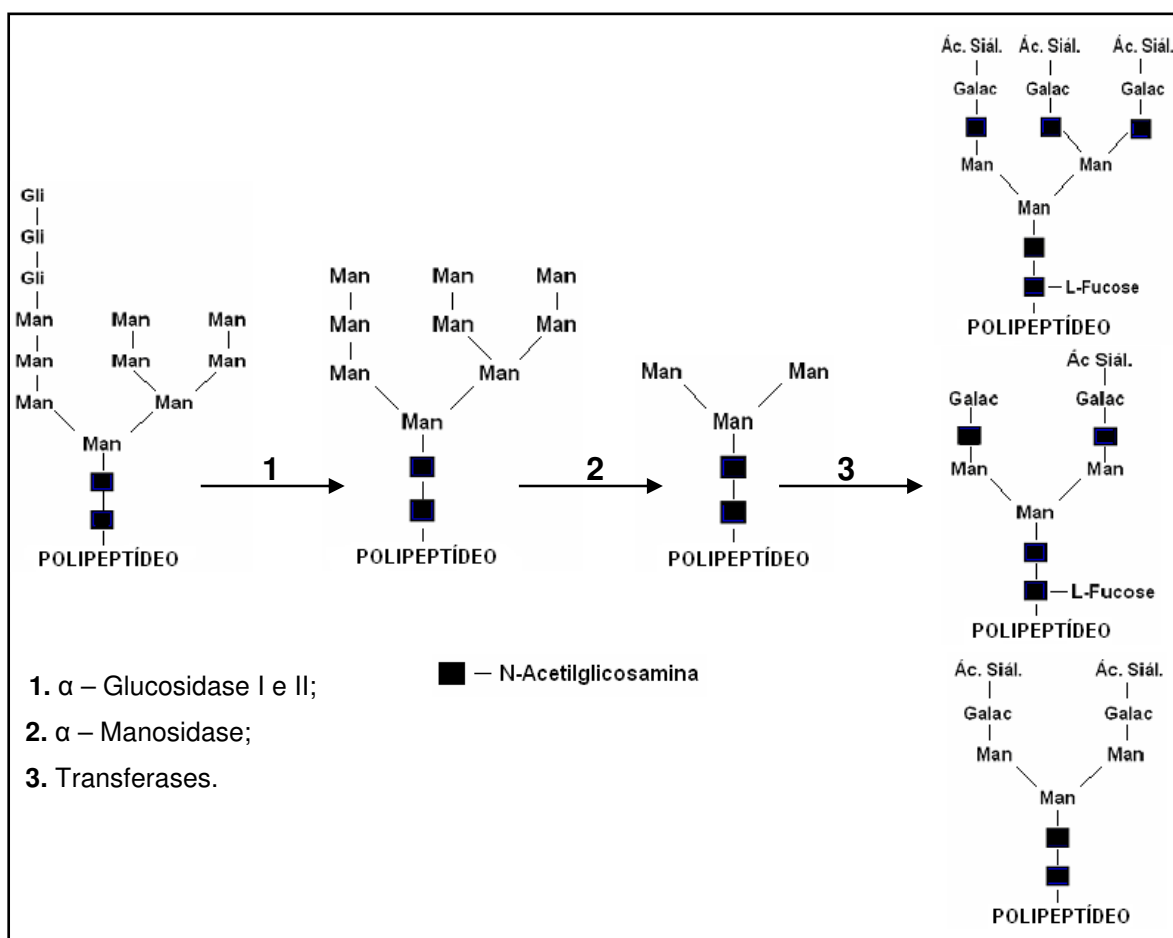
Recentemente, esta classe de compostos atraiu mais atenção devido à descoberta de que eles agem em mais de um alvo biológico, sendo capazes de inibir outras enzimas como; glicosiltransferase, glicogênio fosforilase, nucleosídeo fosforilase e açúcar-nucleotídeo mutase. (Melo *et al*, 2006 - a)

1.5. Biossíntese de Glicoproteínas:

Um exemplo típico da importância das enzimas glicosidases é observada na biossíntese de glicoproteínas. As proteínas que contêm oligossacarídeos N-ligados normalmente são glicosiladas e, em seguida, processadas por estas enzimas. Essa rota foi elucidada em grande parte, por Stuart Kornfeld. (Voet *et al*, 2002)

A biossíntese das glicoproteínas prevê uma fase inicial de incorporação de um oligossacarídeo, comum a todas as glicoproteínas. Inicialmente, um oligossacarídeo contendo nove resíduos de manose, três resíduos de glicose e dois resíduos de N-acetilglicosamina (GlcNAc) é acoplado a um nitrogênio da asparagina (Asn) na cadeia polipeptídica. Alguns açúcares são removidos durante o processamento, essa apragem enzimática é obtida pela ação de glicosidases e

de manosidases. Resíduos de monossacarídeos adicionais, incluindo GlcNAc, galactose, fucose e ácido siálico são adicionados posteriormente pela ação de glicosil-transferases (**esquema 5**) (Voet *et al*, 2002). Portanto a inibição das glicoproteínas conduz a formação de glicoproteínas imaturas.



Esquema 5. Processamento de Glicoproteínas. (Voet *et al*, 2002)

1.6. Aplicações Biológicas dos Inibidores de Glicosidases Tipo Aza-açúcar:

A inibição das glicosidases tem muitos efeitos benéficos como agentes terapêuticos, podendo atuar com: antitumoral, antidiabetes, antivirótico e agentes terapêuticos para algumas desordens genéticas.

1.6.1. Atividade Antitumoral:

Uma estratégia para o tratamento do câncer é através da inibição de enzimas do tipo gangliosídeo sintase. Os gangliosídeos são os tipos mais complexos de glicoesfingolípídeos, constituídos de ceramidas ligadas a oligossacarídeos que incluem pelo menos um resíduo de ácido siálico. Existem evidências consideráveis de que os gangliosídeos são determinantes no reconhecimento célula-célula, exercendo provavelmente uma função importante na carcinogênese. Portanto, a inibição da enzima gangliosídeo sintase em célula cancerígena, diminui seu conteúdo de gangliosídeo, podendo impedir a progressão do tumor. (Voet *et al*, 2002) (Weiss *et al*, 2003)

Um aza-açúcar de interesse é o N-pentil-1-desoxi-L-idonojirimicina (**18**) (**figura 6**). Trabalhos realizados por Weiss *et al* demonstraram, através de ensaios *in vitro*, que o aza-açúcar **18** (**figura 6**), patenteado como OGT2378, tem um potente efeito inibidor sobre o crescimento do tumor em células cancerígenas, os testes foram feitos mais especificamente sobre culturas de células MEB4 Esfingolípídeo Sintase. (Weiss *et al*, 2003)

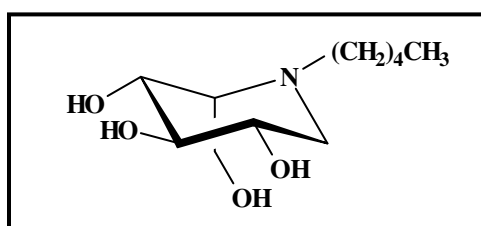


Figura 6. N-pentil-1-desoxi-L-idonojirimicina (**18**).

1.6.2. Atividade Antiviral:

As atividades antivirais dos aza-açúcares foram estudadas para uma série de vírus, como: HIV e hepatite C (HCV), hepatite B (HBV) e BVDV.

A atividade anti-HIV está relacionada a uma nova abordagem na estratégia de combate à capacidade de replicação do HIV no organismo e são denominados “inibidores de fusão (IsF).

Para que o vírus HIV complete o seu ciclo reprodutivo, necessita se fundir com um linfócito T, onde deposita a sua informação genética, dando origem a novos vírus. Bloqueando a interação da glicoproteína 120, principal componente da superfície do vírus, com células CD4 dos linfócitos T4, o vírus não consegue penetrar nos linfócitos, impedindo o início da infecção. (Souza, 2003)

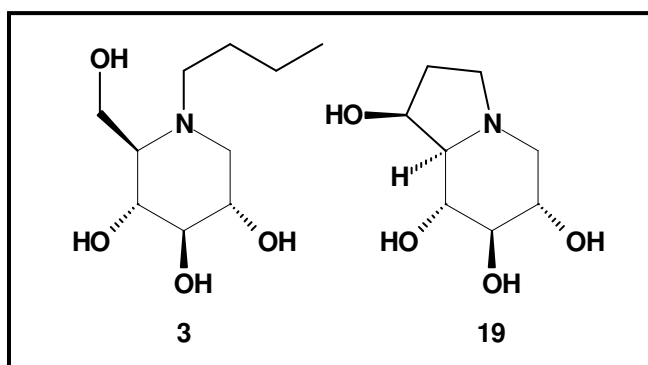


Figura 7. NB-DNJ (**3**) e Castanospermina (**19**)

Os aza-açúcares que se destacam nessa estratégia é o N-butil-1-desoxinojirimicina (**3**) e a castanospermina (**19**) (figura 7), capazes de bloquear a atividade do vírus HIV *in vitro*, provavelmente por induzir à produção de gp 120 imperfeitas que se tornariam incapazes de efetuar sua interação a membrana celular do linfócito T4 hospedeiro nos primeiros estágios da infecção. (Melo *et al*, 2006 - b).

O aza-açúcar NB-DNJ (**3**) (figura 7) também demonstrou uma boa atividade *in vitro* para o vírus da diarreia bovina (BVDV). Ouzounov e colaboradores realizaram ensaios *in vitro* com vírus da diarreia bovina (BVDV) com NB-DNJ (**3**) na presença e na ausência de α -interferon, demonstrando que sua associação com o α -interferon produz maior efeito antivirótico (tabela 2).

Segundo os mesmos autores resultados similares devem ser observados com o vírus da hepatite C (HCV), visto que estes possuem estrutura genômica e estratégias de reduplicação similares (Ouzounov *et al*, 2002).

Tabela 2. Inibição do BVDV (Ouzounov *et al*, 2002)

Inibidores	IC ₅₀ (IU/ml)
NB-DNJ (3)	240
Interferon α -2b	3
NB-DNJ (3) + Interferon α -2b	0,056

Mehta *et al* estudou um tratamento para a infecção crônica provocada pelo vírus da hepatite B (HBV) com o inibidor de glicosidase N-nonil-1-deoxinojirimicina (NN-DNJ) **(20)** (**figura 8**), demonstrando uma boa atividade *in vivo*. Em uma concentração de 70 mmol/L foi desativado 47% das células contaminadas (Mehta *et al*, 2001).

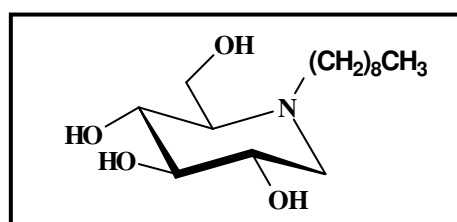


Figura 8. N-nonil-1-deoxinojirimicina **(20)**.

1.6.3. Atividade Antidiabetes:

A diabetes mellitos tipo II, responsável por mais de 90% dos casos diagnosticados e afeta 18% da população com mais de 65 anos, ocorre, usualmente, em indivíduos obesos e com predisposição genética. Esses indivíduos apresentam níveis de insulina normais ou bastante aumentados. Os sintomas podem começar a partir de uma escassez de receptores de insulina nas células normalmente responsivas ao hormônio. Tais células não respondem à insulina e são, por isso, denominadas resistentes à insulina. Como consequência, as concentrações sanguíneas de glicose são muito mais elevadas do que o normal, particularmente após uma refeição. (Voet *et al*, 2002)

O miglitol (**4**) (**figura 2**), um inibidor de glicosidase utilizado no tratamento da diabetes mellitus tipo II (não dependente de insulina) foi introduzido no mercado alemão como glyset[®] no ano de 1999.

A administração oral de **4** (**figura 2**), antes das refeições, inibe α -glicosidases, especificamente, sacarase, maltase e glucoamilase, presentes no trato gastrointestinal, retardando a digestão de carboidratos e, conseqüentemente, promovendo melhor controle nas concentrações da glicose pós prendial (Asano, 2003).

Uma estratégia alternativa para o tratamento da diabetes mellitos tipo II é a inibição da Glicogênio-fosforilase. Esta enzima é responsável pela liberação de glicose do glicogênio armazenada em células hepáticas. Nesse tipo de diabetes a liberação de glicose do fígado para a corrente sanguínea é aumentada (Voet *et al*, 2002). Portanto uma forma de evitar a hiperglicemia é inibindo a Glicogênio-fosforilase hepática. Os aza-açúcares que vem se destacando na inibição dessa enzima são; 1,4-didesoxi-1,4-amino-D-arabinitol (D-AB1) (**21**), (3R, 4R, 5R)-5-hidroxi metilpiperidina-3,4-diol (isofagomine) (**22**) e (2R, 3R, 4R)-5-hidroxi metilpiperidina-3,4-diol (fagomine) (**23**) (**figura 9**) (Asano, 2003).

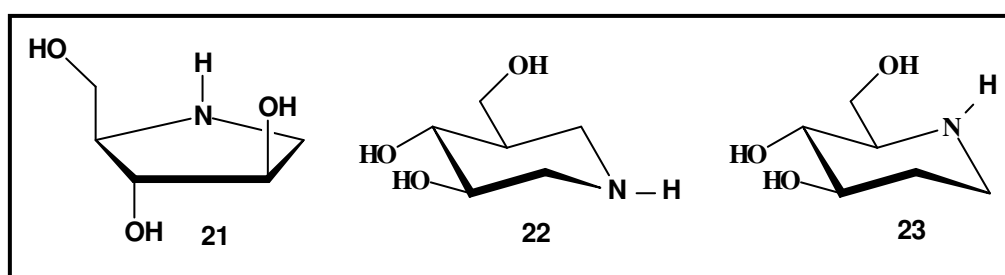


Figura 9. D-AB1 (**21**), isofagomine (**22**) e fagomine (**23**).

1.6.4. Doenças Decorrentes da Degradação de Esfingolipídeos e do Armazenamento de Lipídeos:

Os esfingolipídeos são degradados nos lisossomos por uma série de reações hidrolíticas mediadas por enzimas (**esquema 6**). Defeitos hereditários em uma dessas enzimas resultam doenças de armazenamento de lipídeos.

O substrato para a enzima ausente ou defeituosa é, portanto, acumulado, freqüentemente com conseqüências desastrosas. Em muitos casos, os indivíduos afetados sofrem de retardo mental e morrem cedo na infância (Voet *et al*, 2002).



Esquema 6. Degradação de Esfingolipídeo a Ácido Graxo (Voet *et al*, 2002)

Uma estratégia para tratamento destas doenças é a modulação da biossíntese dos glicosfingolípídeo. O inibidor de glicosidase, N-butil-1-deoxinojirimicina (NB-DNJ) **(3) (figura 2)**, inibe a enzima glicosilceramida sintase, responsável pela primeira etapa da biossíntese da maioria dos glicosfingolípídeos, diminuindo assim, sua taxa nos tecidos (Platt *et al*, 1994).

Pelled e colaboradores estudaram o uso terapêutico de NB-DNJ **(3) (figura 2)**, para a prevenção da doença de Sandhoff. Doença hereditária autossômica causada pela deficiência da enzima hexosaminidase A e B, levando ao acúmulo de gangliosídeo G_{M2} e globosídeo esfingolípídeo em neurônios e outros órgãos. O estudo foi feito em testes *in vivo* com ratos (Pelled *et al*, 2003).

Também utilizando ratos como modelos experimentais, o aza-açúcar **3 (figura 2)** foi estudado para a doença de Tay-Sachs, também uma doença autossômica, só que essa causada para deficiência da enzima hexosaminidase A (Voet *et al*, 2002).

Para a deoença de Gaucher tipo I, um distúrbio de ordem genética, causada pela deficiência da enzima glucocerebrosidase, responsável pela degradação do glicosfingolípídeo glicosilceramida, o aza-açúcar NB-DNJ **(3) (figura 2)** é utilizada como medicamento, comercializado com o nome de Zavesca[®] (Haper *et al*, 1982).

1.7. Algumas Propostas Sintéticas para obtenção da DNJ (2) e derivados:

A grande dificuldade na elaboração de uma rota sintética vantajosa para a DNJ (2) (figura 1, pg. 1) é a possibilidade de formação de outros quinze isômeros, portanto, o controle da estereoquímica torna-se indispensável. Em algumas sínteses a falta de seletividade em etapas importantes torna todo o processo desvantajoso, devido à dificuldade de separação dos diastereoisômeros formados.

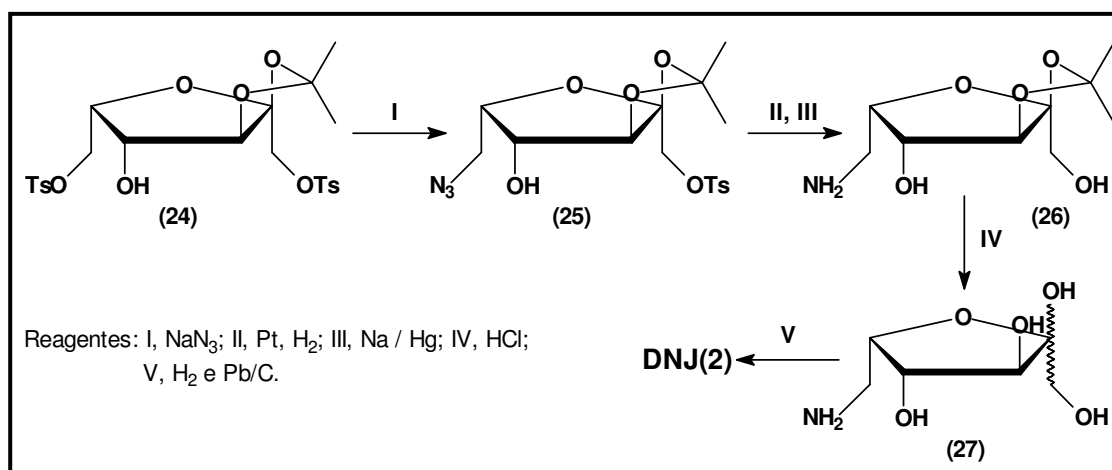
Uma das estratégias mais utilizadas para suprimir essa dificuldade estereoquímica é a utilização da D-glicose ou derivados como material de partida, pois esse substrato é estruturalmente similar a DNJ (2). Assim três dos centros quirais requeridos para construção de 2 já estão presentes na molécula de partida, faltando apenas introduzir o átomo de nitrogênio em C-5, com retenção de configuração, e a formação do anel piperidínico.

A formação do anel piperidínico é outro desafio sintético, as principais estratégias baseiam-se na hidrogenação de intermediários iminos cíclicos ou na utilização da reação nucleofílica empregando reagentes nitrogenados.

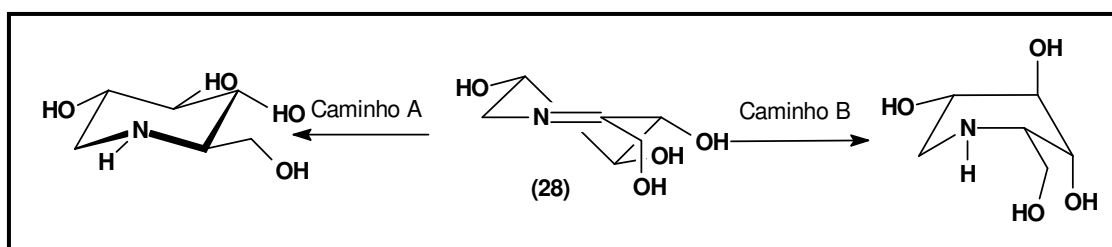
1.7.1. Síntese de DNJ (2) e derivados:

A primeira síntese de DNJ (2) foi relatada por Pausen e colaboradores em 1967, quando investigaram a formação de anéis piperidínicos, empregando como material de partida a L-sorbofuranose. A síntese foi realizada em cinco etapas com rendimento de 13%, a partir da L-sorbofuranose protegida (24) (esquema 7). O derivado 24 sofreu uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), empregando o nucleófilo azida, deslocando o grupamento tosilato de menor impedimento estérico, fornecendo através desta abordagem a azida desejada 25. Esta substância foi reduzida a amina correspondente, e após remoção dos grupos de proteção obteve-se a substância 27, que por sua vez foi submetida a um processo de hidrogenação catalítica formando a DNJ (2). A ciclização do anel piperidínico e a formação do centro quiral são efetuadas pela hidrogenação estereoespecífica do intermediário imino cíclico 28. O hidrogênio adiciona-se pela face de baixo da molécula exclusivamente (esquema 8), (caminho a), para

fornecer o confôrmero mais estável, sob a forma de cadeia, contendo todas as hidroxilas na posição equatorial, evitando as tensões e interações estéricas que poderiam ocorrer no estado de transição relacionado no ataque alternativo, (**caminho B**). (Paulsen *et al*, 1967)

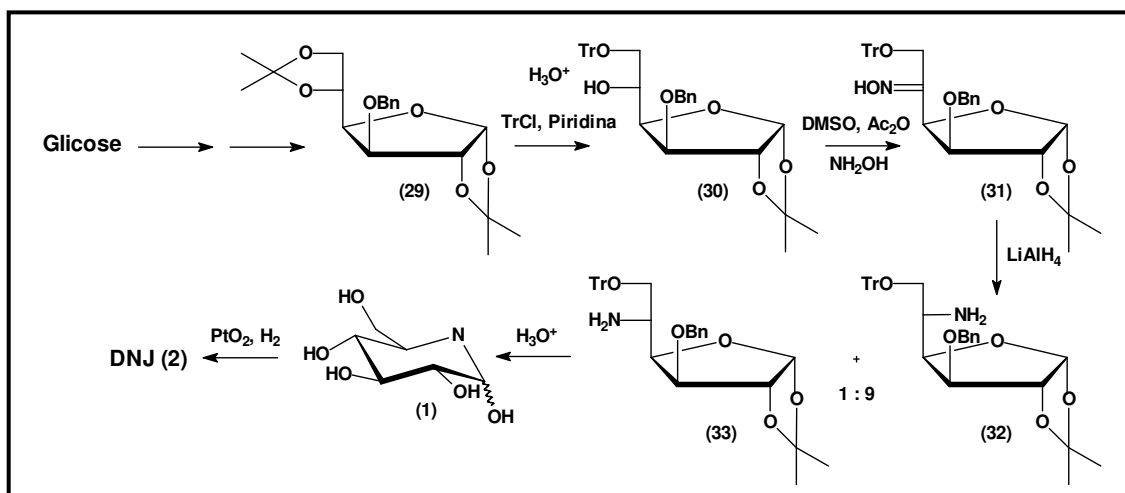


Esquema 7. Primeira rota sintética para DNJ (2) (Paulsen *et al*, 1967).



Esquema 8. Confôrmeros do anel piperidínico. (Paulsen *et al*, 1967)

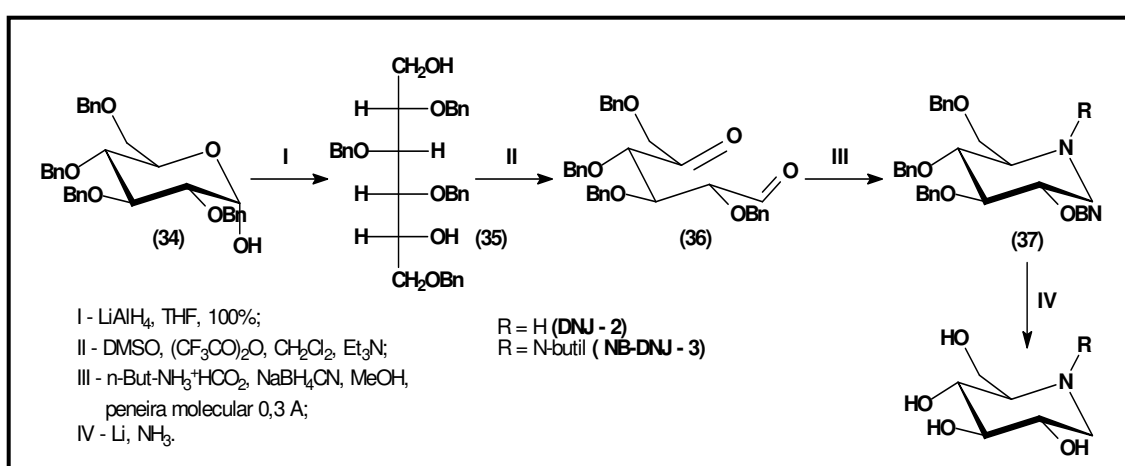
Inouye e colaboradores, sintetizaram **2** via hidrogenação da NJ (**1**), utilizando um catalisador de platina derivado de PtO₂ (**esquema 9**). O material de partida empregado neste trabalho foi um derivado protegido da glicose, o dicetoídeo (**29**). A síntese foi finalizada em nove etapas, com rendimento global de 11% a partir de **29**. Neste trabalho o derivado **29**, foi transformado em **30** via uma reação de hidrólise regioseletiva do cetonídeo, seguido da proteção da hidroxila primária com cloreto de tritila. A hidroxila livre em C-5 foi oxidada e transformada na oxima **31**. Esta última sofreu uma reação de redução estereosseletiva, fornecendo as aminas **32** e **33** na proporção 9: 1, a desproteção de **33** seguida de uma ciclização espontânea forneceu a NJ (**1**). (Inouye *et al*, 1968)



Esquema 9. Síntese DNJ (2) (Inouye et al, 1968).

Matos e colaboradores sintetizaram (2) (figura 1, pg. 1) e seu derivado N-butil-deoxinojirimicina (3) (figura 2, pp. 2) a partir do 2,3,4,6-tetra-O-benzil- α -glicopiranosose (34) em quatro etapas (esquema 10). Iniciou-se a reação pela redução da substância 34 com excesso de hidreto de lítio e alumínio em THF. O 1,5 – diol (35) obtido foi submetido a uma oxidação do tipo Swern, obtendo (36).

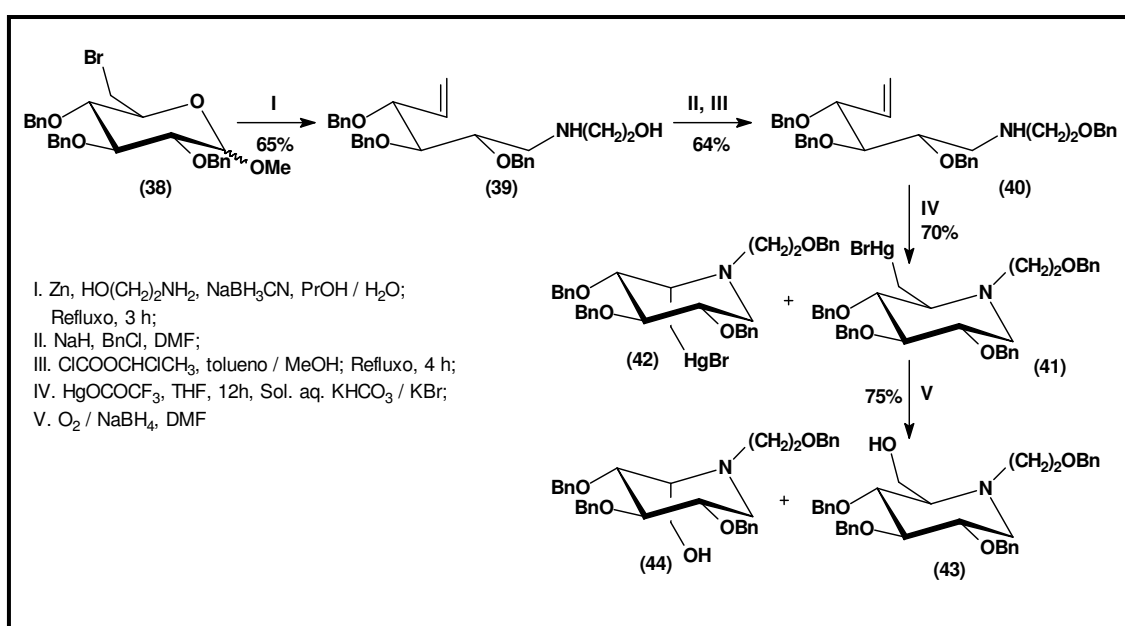
O composto dicarbonilado 36 foi submetida a uma reação de dupla aminação redutiva com formiato de amônio ou formiato de n-butilamônio na presença de NaBH_3CN , fornecendo, após retirada do grupo de proteção, respectivamente DNJ (2) em 73% e NB-DNJ (3) em 72% de rendimento (Matos *et al*, 1998).



Esquema 10. Síntese DNJ (2) e NB-DNJ (3) (Matos *et al*, 1998).

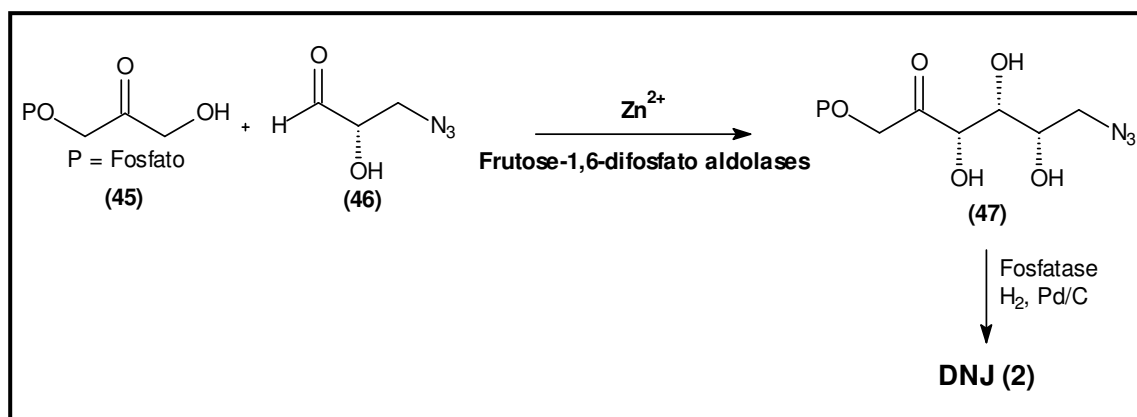
Fouace e seus colaboradores descreveram uma rota sintética rápida para a preparação do Miglitol (**4**) (**figura 2, pg. 2**).

A partir do derivado da D-glicose **38**, em cinco etapas, foi obtido o composto desejado **4** com rendimento de 75%. Na primeira etapa da reação através de uma redução em presença de zinco metálico, foi introduzido um grupamento amina, gerando o composto **39**. A hidroxila livre do grupo amina foi protegida, obtendo **40**, que logo em seguida o anel foi fechado gerando dois diastereoisômeros **41** e **42** com proporção de 1:2, que foram separados antes da transformação nos compostos **43** e **44** (**esquema 11**) (Fouace *et al*, 2000).



Esquema 11. Síntese do Miglitol (**4**) (Fouace *et al*, 2000).

Osten e colaboradores sintetizaram **2** (**figura 1, pg. 1**) utilizando a enzima, aldolase do músculo de coelho e da bactéria *Escherichia coli*, numa reação de condensação entre o fosfato de diidroxiacetona (**45**) com o aldeído (**46**). O produto desta reação enzimática foi o aldol **47**, este intermediário foi hidrogenado na presença de Pd/C, formando a DNJ (**2**) com 64% de rendimento (**esquema 12**) (Osten *et al*, 1989).

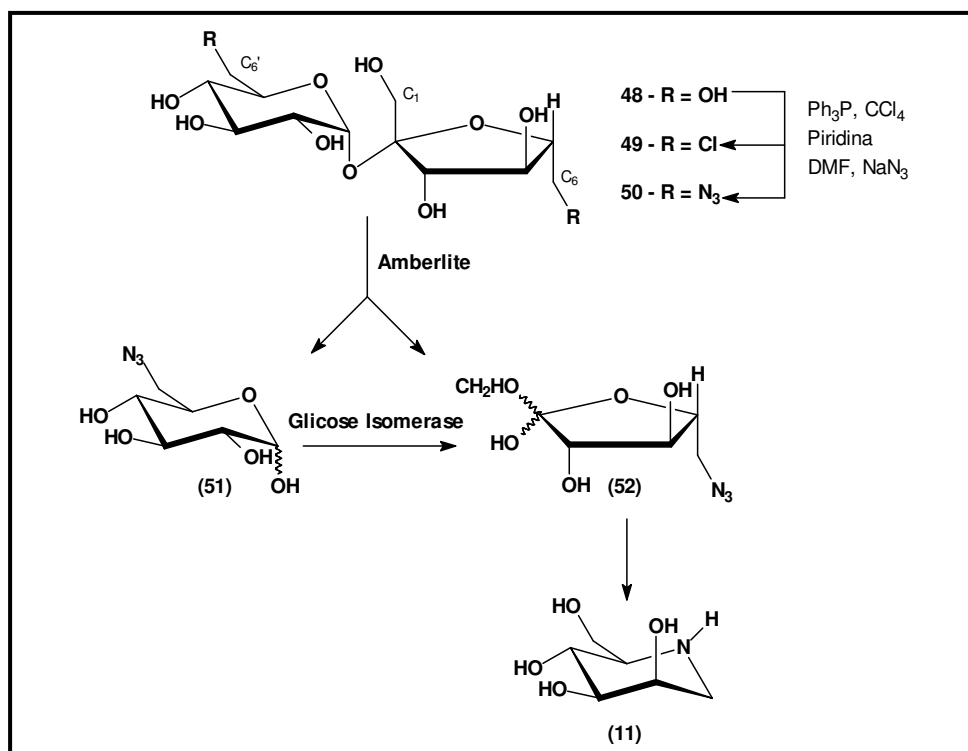


Esquema 12. Síntese enzimática da DNJ (2) (Oster *et al*, 1989).

A síntese da 1-desoximanojirimicina (**11**) (**figura 5, pg. 3**) tem como principal rota sintética a utilização dos carboidratos; D-manose e D-glicose como material de partida, também são citados na literatura outros precursores como: L-gulonolactona, ácido (S)-piroglutamico e L-serina.

Partindo da sacarose (**48**) Raadt e colaboradores sintetizaram 1-desoximanojirimicina (**11**). A síntese foi realizada em quatro etapas e com um rendimento global de 27% (**esquema 13**).

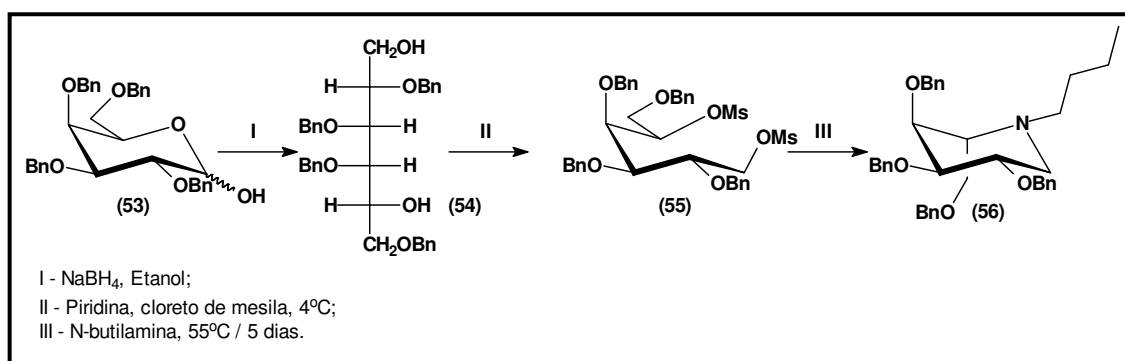
Inicialmente as duas hidroxilas primárias da sacarose (**48**), ligadas a C6, são substituídas pelo cloro em presença de trifetilfosfina e tetra cloreto de carbono, formando o intermediário **49**. Os dois cloros primários formados tornam-se bons grupos de saída, sendo substituídos pelo nucleófilo azida em uma reação tipo S_N2. O intermediário **50** é hidrolisado na presença da resina de troca iônica Amberlite IR 120 [H⁺] em água, dando uma mistura de 6-azido-6-deoxi-D-glicose (**51**) e 6-azido-6-deoxi-D-frutofuranose (**52**). Quantidades adicionais de **52** podem ser obtidas pelo emprego da enzima glicose isomerase. O intermediário **52** foi reduzido e ciclizado através de hidrogenação catalítica com uma mistura de metanol/água em presença de paládio suportado em carbono, obtendo o 1-desoximanojirimicina (**11**) (**esquema 13**). (Raadt *et al*, 1992)



Esquema 13. Síntese da 1-desoximanojirimicina **(11)** (Raadt *et al*, 1992).

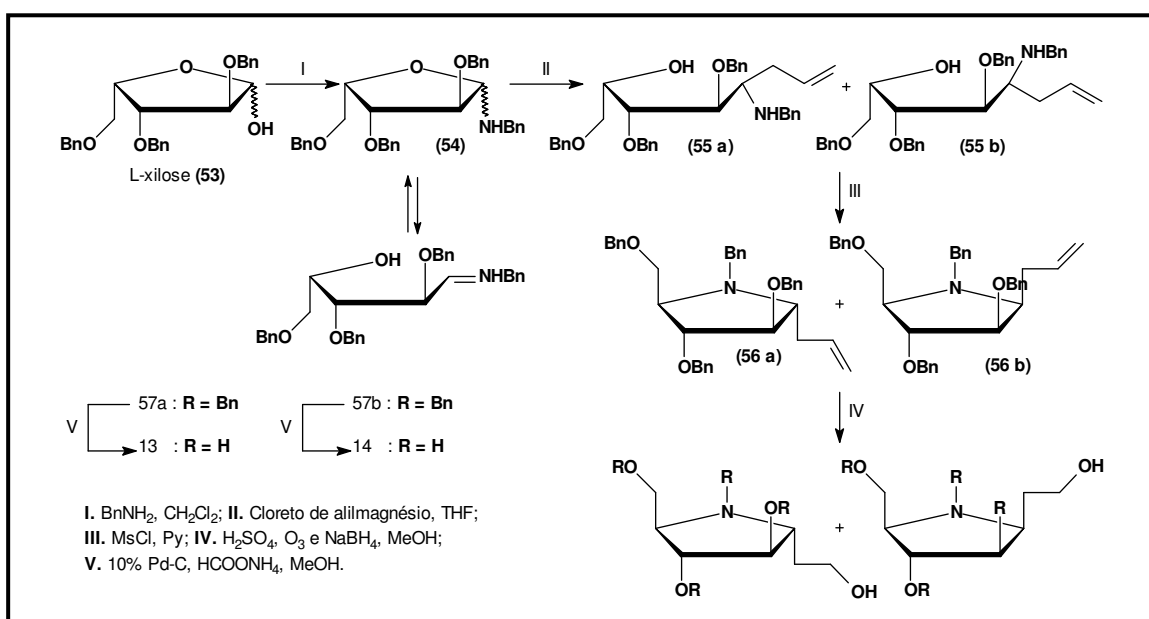
Buters e colaboradores sintetizaram **(56)**, epímero em C4 e C5 da n-butil-1-desoxinojirimicina **(3)** (**figura 2**) a partir do derivado da D-galactose **53**. A reação ocorre em três etapas, obtendo **56** com um rendimento global de 41%.

Na primeira etapa o açúcar protegido **53** é reduzido em presença de sódio boro hidreto (NaBH₄) ao diol **54**. A síntese prossegue com a dupla reação de substituição nucleofílica, tipo S_N2 do derivado di-mesilato **55** com n-butilamina, obtendo o produto **56** (**esquema 14**). (Buters *et al*, 2002).



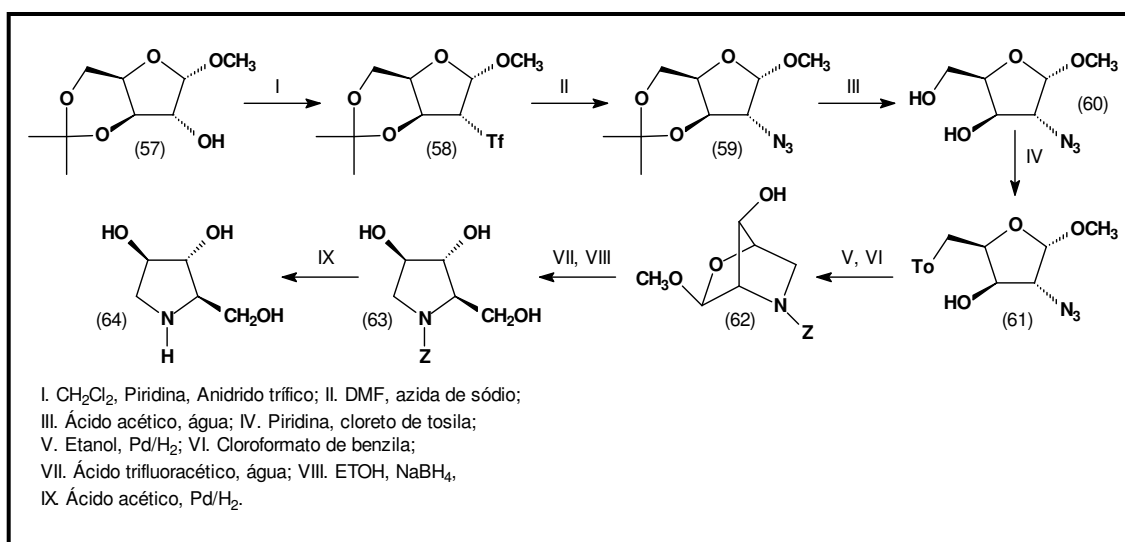
Esquema 14. Síntese de aza-açúcar derivado da galactose **(56)** (Buters *et al*, 2002).

Para a síntese dos aza-açúcares 6-desoxi-homo-DMDP (**13**) seu epímero em C(5) (**14**) (**figura 6**), Behr e seus colaboradores inicialmente protegeram a L-xilose, formando **53**. O composto **53** sofreu aminação no carbono anomérico, obtendo **54**, que assim como o açúcar **53**, fica em equilíbrio entre a forma cíclica e a forma acíclica. Após tratamento com o composto de Grignard, um grupo alquil é adicionado no açúcar, deslocando o equilíbrio para a forma acíclica e formando a mistura de enantiômeros **55a e 55b**, com uma proporção de 1:2. A ciclização de **55** ocorre através da inserção do grupo mesilato na hidroxila livre, com posterior substituição nucleofílica intramolecular pela amina, formando **56a e 56b**. A dupla ligação do grupo alquil é oxidado por ozonólise, formando **57a e 57b**. Os aza-açúcares **13** e **14** são finalmente obtidos pela remoção dos grupos de proteção benzílicos, através de redução catalítica com um rendimento final de 40% (**esquema 15**) (Behr e Guillerm, 2002).



Esquema 15. Síntese do 6-desoxi-homo-DMDP (**13**) seu epímero em C(5) (**14**) (Behr e Guillerm, 2002).

Fleet e colaboradores sintetizaram o aza-açúcar 1,4-didesoxi-1,4-imino-D-arabinitol (**64**) em 9 (nove) etapas, partindo da D-xilose protegida **57**. Inicialmente foi introduzido na hidroxila livre um grupo triflato que foi posteriormente substituído por uma azida, formando o composto **60**. Após redução do grupo azida e proteção da amina formada com cloroformato de benzila, ocorre espontaneamente substituição nucleofílica intermolecular do grupo amino pelo triflato, formando o biciclo **62**. O grupo acetal é removido por hidrólise ácida e logo em seguida reduzido com sódio boroidreto, levando ao anel pirrolidínico **63**, que após desproteção da amina formou o aza-açúcar desejado 1,4-dideoxi-1,4-imino-D-arabinitol (**64**) com rendimento total de 23% (**esquema 16**) (Fleet e Smith, 1986).



Esquema 16. Síntese do 1,4-dideoxi-1,4-imino-D-arabinitol (**64**) (Fleet e Smith, 1986)

2. OBJETIVO:

2.1. Objetivos Gerais:

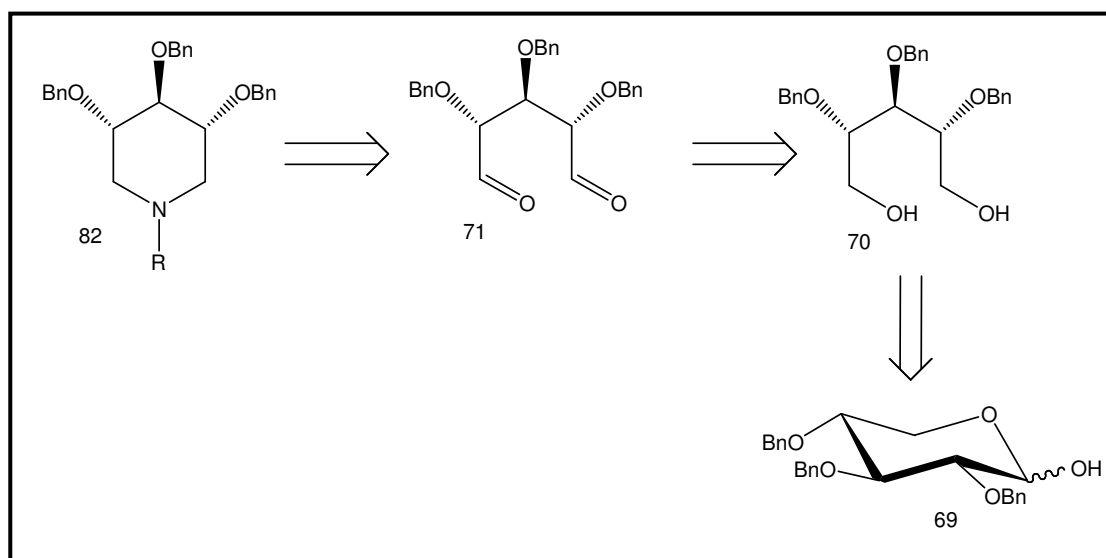
- O presente trabalho tem como objetivos: estudar a síntese de aza-açúcares derivados da D-xilose (**65**) e da D-glicose (**6**).
- Estudar a síntese do 2,3,4-tri-O-benzil-1,5-didesoxi-1,5-iminoxilitol via aminação redutiva.
- Sintetizar derivado do híbrido de aza-açúcar e do aminoácido, L-lisina, via redução aminativa e via substituição nucleofílica.
- Caracterizar todos os intermediários e os produtos finais propostos, por métodos físicos de análise do tipo infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H), ressonância magnética nuclear de carbono (RMN¹³) e técnicas bidimensionais de análise, como; COSY, HMQC e HMBC.

2.2. Objetivos Específicos:

- Adaptar metodologia descrita na literatura para situações concretas encontradas em laboratório.
- Aprendizado de técnicas de síntese orgânica e de técnicas usuais de purificação e identificação de substâncias orgânicas. Uso de equipamentos básicos de laboratórios.

3. ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE:

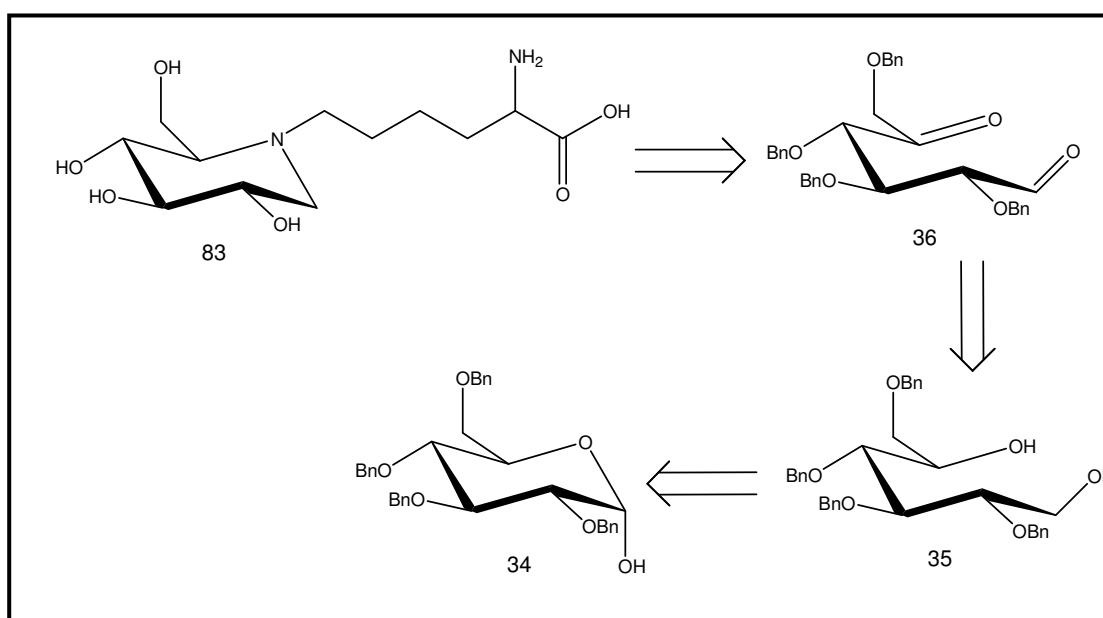
O primeiro planejamento sintético delineado na retroanálise abaixo (**esquema 17**) apresenta a preparação do aza-açúcar **82** via redução aminativa do intermediário **71**. Esta pode ser preparada via oxidação do xilitol **70**.



Esquema 17. Retroanálise do aza-açúcar (**82**).

Um segundo planejamento sintético desse trabalho foi a formação de aza-açúcares derivados da D-glicose contendo a L-lisina. Na literatura é descrito que vários derivados n-alkilados possuem atividade biológica, entretanto derivados contendo aminoácidos são pouco explorados.

Na retroanálise abaixo (**esquema 18**) é apresentado a proposta de síntese do aza-açúcar (**83**) com retenção de configuração, em relação a glicose, para isso utilizando a metodologia proposta por Matos de colaboradores para formação da n-butil-desoxinojirimicina (**3**) (Matos *et al*, 1999)

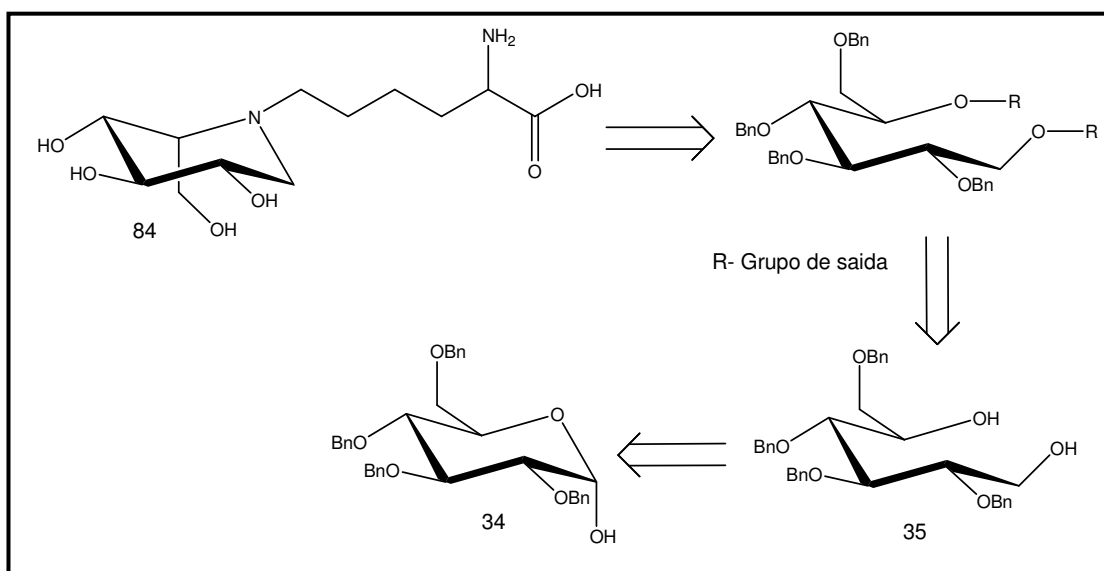


Esquema 18. Retroanálise do aza-açúcar **83**.

A etapa final dessa síntese passa pela adição inicial da L-lisina (**73**) a uma das carbonilas, seguida pela adição intramolecular a segunda carbonila, formando um intermediário imino cíclico, que é posteriormente reduzido.

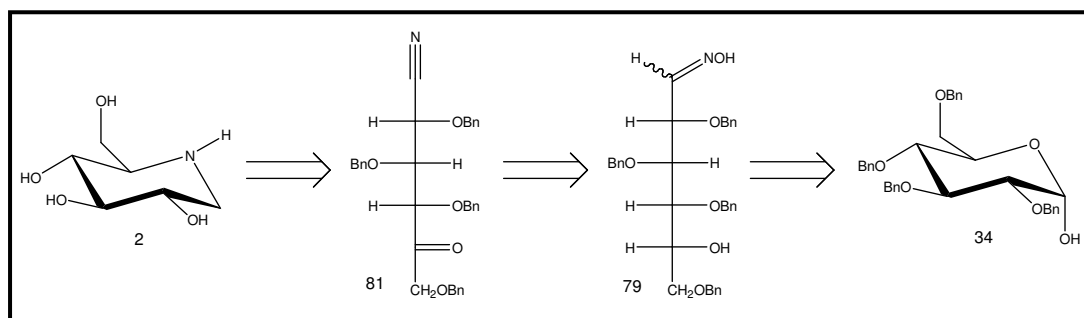
Outra proposta de interesse do ponto de vista sintético é a metodologia descrita por Buters e colaboradores, assim como a proposta feita por Matos e colaboradores, utilizam as mesmas proteções iniciais do açúcar e as etapas seguintes são poucas e de bom rendimento.

Nessa proposta também será utilizando como produtos de partida a D-glicose e a L-lisina, levando a sintetize do aza-açúcar com inversão de configuração (**84**), para isso, utilizando a metodologia proposta por Buters e colaboradores para síntese de n-pentil derivados (**esquema 19**) (Buters *et al*, 2002).



Esquema 19. Retroanálise do aza-açúcar (**84**).

Uma terceira proposta sintética, descrita na retrosíntese abaixo, é a inserção direta de um grupo amino no açúcar **(34)**, utilizando a proposta de Vasella e colaboradores, para síntese de oximas, seguido pela oxidação de Swern (**esquema 20**). (Vasella, 1982)



Esquema 20. Retroanálise do aza-açúcar **(2)**.

Essa metodologia, inédita na literatura, propõe a síntese da desoxinojirimicina **(2)** em poucas etapas e com a possibilidade de gerar intermediários estáveis. O desafio sintético está na hidrogenação regioseletiva do grupo azida, pois para que forme o anel piperidínico a redução tem que acontecer apenas na função nitrila.

4. SEÇÃO EXPERIMENTAL:

4.1. Procedimentos gerais:

Em todas as reações sensíveis à presença de umidade, a vidraria foi previamente seca em estufa pelo menos por 4 horas a 130°C, protegida com septos e em seguida resfriada à temperatura ambiente sob fluxo de argônio.

A agitação do meio reacional foi efetuada através de barra magnética recoberta com teflon.

A remoção dos solventes foi realizada em evaporador rotativo Fisatom, submetendo o material resultante a um sistema acoplado à bomba de alto-vácuo para remoção do solvente residual.

Reagentes e solventes

A maioria dos reagentes e solvente de grau p.a. foram utilizados sem prévia purificação.

Os solventes utilizados para reações anidras foram previamente secos utilizando as seguintes técnicas:

- Tetraidrofurano foi destilado em aparelhagem própria, sob atmosfera de argônio, na presença de sódio metálico e benzofenona.
- Diclorometano, trietilamina, piridina, sulfóxido de metila e dimetilformamida, foram destilados na presença de hidreto de cálcio.
- Metanol e etanol, foram destilados em aparelhagem própria, sob atmosfera de argônio na presença de fitas de Mg⁰ e pedras de iodo.

Resina

- Resina Amberlite IR-120 AR, foi submetida ao tratamento com solução aquosa de ácido clorídrico 6M e posteriormente, seca em um dessecador contendo cloreto de cálcio.

Cromatografia

As análises por cromatografia em camada fina (CCF) foram efetuadas em cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck), com espessura de 0,2 mm. As manchas foram visualizadas por radiação com luz ultravioleta, tratamento com solução etalólica de ácido sulfúrico a 40%, seguida de aquecimento em torno de 150°C, ou pelo tratamento com solução etanólica de ninidrina a 20%.

Utilizamos para purificação de amostras sintetizadas a cromatografia de coluna, empregando gel de sílica 60 Merck (70-230 mesh), ou placa preparativa gel de sílica 60 Merck (70-230 mesh).

Dados físicos

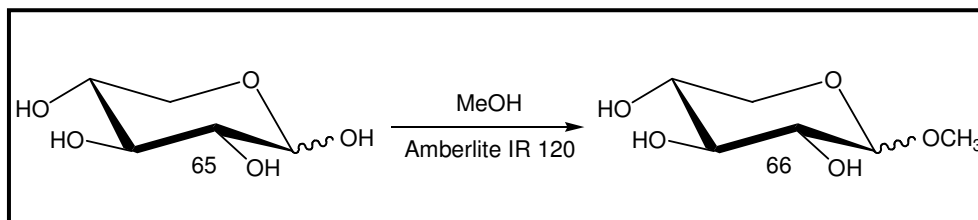
As tomadas de ponto de fusão (p.f.) foram realizadas em aparelho MQAPF – 301 (Microquímica).

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em Espectrômetro SHIMADZU FTIR - 8300, utilizando pastilhas de solução sólida da substância cloreto de potássio (1%) ou filme sobre pastilha de cloreto de potássio e os valores para as absorções foram referidos em número de onda, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos em um espectrômetro JEOL Eclipse+ de 9,4 T e com radiofrequência de 400 MHz para RMN ¹H. A amostra foi dissolvida em clorofórmio deuterado (CDCl₃), metanol deuterado (CD₃OD) e água deuterada (D₂O). Os deslocamentos químicos (δ) foram apresentados em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz. As seguintes abreviaturas foram utilizadas para a multiplicidade do spin:

4.2. Síntese de aza-açúcares derivados da D-Xilose (65):

4.2.1. Síntese da D-xilofuranosídeo de metila (66):



Esquema 21. Síntese da D-xilopiranosídeo de metila (**66**)

Em um balão adaptado com condensador de refluxo e septo, foi adicionado uma solução de 4,000g D-xilose em metanol anidro e 1,000g de amberlite IR-120 (forma ácida). Essa mistura ficou sob refluxo por 72 horas. Ao término da reação a resina foi filtrada e o solvente evaporado, obtendo 4,400g de um óleo branco caracterizado pela mistura dos anômeros α e β -D-xilopiranosídeo de metila (**66**) (100% de rendimento). O óleo formado foi diluído na menor parte possível de metanol e levado a geladeira por 24 horas, formando 0,900g (21% de rendimento) de um precipitado na forma de cristais brancos caracterizado pela forma β -D-xilopiranosídeo de metila (**66**).

I.V. (filme, cm^{-1}) ν_{max} 602, 1041, 1358, 1343, 2083, 2939, 3387.

■ β -D-xilopiranosídeo de metila:

Pf. 154-155°C

RMN¹H (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ (ppm) 3,14 (1H, m); 3,18 (2H, m); 3,30 (1H, t, $J = 8,8$); 3,46 (1H, m); 3,47 (3H, s); 3,86 (2H, dd, $J = 5,3$ e $11,7$); 4,10 (1H, d, $J = 7,6$).

RMN¹³C (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ (ppm) 56,76 (CH₃); 66,76 (CH₂); 70,70 (CH); 74,33 (CH); 77,27 (CH); 105,58 (CH).

■ **α -D-xilofuranosídeo de metila:**

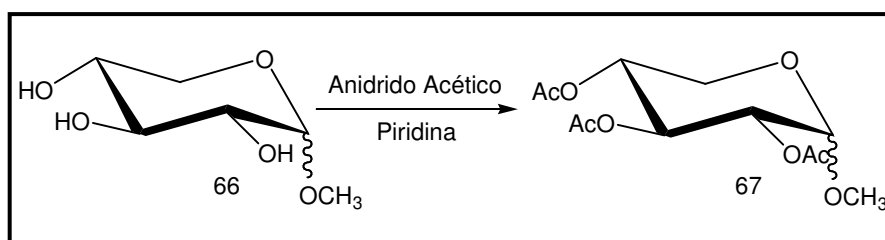
RMN¹H (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ (ppm) 3,32 (2H, m); 3,36 (1H, m); 3,37 (3H, s); 3,52 (1H, m); 3,54 (1H, m); 3,55 (1H, m) ; 4,60 (1H, d, $J = 3,50$).

RMN¹³C (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ (ppm) 55,21 (CH₃); 62,41 (CH₂); 71,07 (CH); 73,16 (CH); 74,80 (CH); 101,13 (CH).

4.2.2. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (67)



Esquema 22. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**).

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi dissolvido 0,400g do D-xilopiranosídeo de metila (**66**) em 10mL de piridina seca e 1,0mL de anidrido acético, em atmosfera de argônio. A mistura ficou sob agitação magnética por 12 horas. A reação foi lavada sucessivamente com solução saturada de CuSO₄ e posteriormente com uma solução saturada de NaCl, seca com MgSO₄ anidro e concentrado em roto-evaporador, fornecendo 0,7g de um óleo amarelo (100% de rendimento), referente ao metil-2,3,5-tri-O-acetil-D-xilose (**67**).

I.V. (filme, cm⁻¹) ν_{\max} 602, 733, 903, 933, 1049, 1126, 1227, 1373, 1435, 1736, 2847, 2939.

■ **β-metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo:**

RMN¹H (400MHz, CDCl₃ 25°C)

δ(ppm) 2,0 (3H, m); 3,42 (3H, s); 4,08 (2H, dd, *J* = 4,7 e 11,7); 4,35 (1H, d, *J* = 7,0); 4,79 (1H, m); 4,91 (1H, m); 5,11 (1H, t, *J* = 8,8).

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ(ppm) 21,70 (CH₃); 57,62 (CH₃); 62,98 (CH₂); 69,94 (CH); 71,76 (CH); 72,48 (CH); 102,57 (CH); 171,00 (C).

■ **α-metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo:**

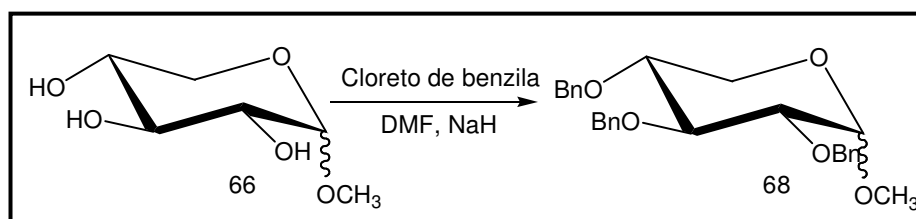
RMN¹H (400MHz, CDCl₃ 25°C)

δ(ppm) 2,0 (3H, m); 3,35 (3H, s); 3,54 (2H, t, *J* = 11,0); 3,74 (2H, dd, *J* = 6,4 e 11,1); 4,77 (1H, m); 4,83 (1H, d, *J* = 3,5); 4,85 (1H, m); 5,42 (1H, t, *J* = 10,0).

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ(ppm) 21,70 (CH₃); 56,35 (CH₃); 59,15 (CH₂); 70,33 (CH); 70,54 (CH); 72,00 (CH); 97,83 (CH); 171,00 (C).

4.2.3. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (68):



Esquema 23. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**).

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi adicionado 3,000g de D-xilopiranosose de metila (**66**) e 5,000g de NaH com 70% de óleo mineral em 25mL de DMF. A suspensão formada foi resfriada a 0°C e adicionada lentamente 2,2ml de cloreto de benzila. Após 12 horas sob agitação magnética em temperatura ambiente, a reação foi novamente resfriada a 0°C e adicionado lentamente água, para destruir o excesso de NaH. O produto foi lavado e

extraído com éter etílico, posteriormente o solvente foi evaporado e mantido sob auto vácuo por 30 minutos, obtendo 7,9g do 1-metil-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**), um xarope de cor amarelada (100% de rendimento).

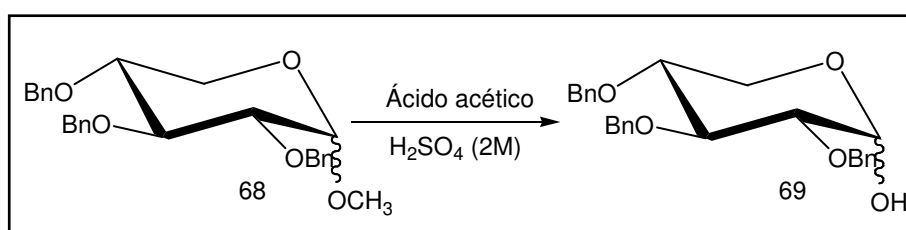
RMN¹H (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ(ppm) 3,37 – 3,64 (10H, m); 3,38 (3H, s); 3,55 (3H, s); 4,27 (1H, d, *J*=7,6); 4,54 (1H, d, *J*=3,5); 4,58 – 4,96 (12H, m); 7,25 – 7,40 (30H, m).

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ(ppm) 55,28 (CH₃); 57,10 (CH₃); 59,96 (CH₂); 63,99 (CH₂); 72,23 (CH₂); 73,47 (CH₂); 73,61 (CH₂); 74,94 (CH₂); 75,69 (CH₂); 75,92 (CH₂); 78,03 (CH); 78,20 (CH); 79,72 (CH); 81,57 (CH); 82,08 (CH); 83,78 (CH); 98,45 (CH); 105,39 (CH); 127,69 – 128,57 (CH_{aromático}); 138,99 – 139,81 (C_{aromático}).

4.2.4. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**):



Esquema 24. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**).

O produto benzilado **68** foi dissolvido em 40ml de ácido acético em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética. A reação foi aquecida a uma temperatura de 90°C e logo em seguida adicionada 20ml de uma solução 2M de H₂SO₄. A temperatura foi mantida e a reação ficou sob agitação magnética por 12 horas. O hidrolisado foi vertido em 100ml de água e mantido na geladeira por três dias, formando 1,100g do 2,3,5-tri-O-benzil-α-D-xilopiranosídeo (**69**), um precipitado na forma de um sólido branco (15% de rendimento).

Pf. 130-132°C

I.V. (filme, cm⁻¹) *u*_{max} 478, 621, 694, 899, 1072, 1119, 1362, 1454, 2924, 3063, 3348.

■ **β -2,3,5-tribenzil-D-xilopiranosídeo:**

RMN¹H (400MHz, CDCl₃ 25°C)

δ (ppm) 3,28 (2H, m); 3,34 (1H, m); 3,62 (1H, m); 3,64 (1H, m); 3,92 (2H, m); 4,62 (1H, m); 4,63 – 4,90 (2H); 7,34 (1H, m)

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) 61,47 (CH₂); 74,37 – 76,67 (CH₂); 78,75 (CH); 83,57 (CH); 84,43 (CH); 98.93 (CH); 129,16-129,53 (CH_{aromático}), 138,99 – 139,81 (C_{aromático}).

■ **α -2,3,5-tribenzil-D-xilopiranosídeo:**

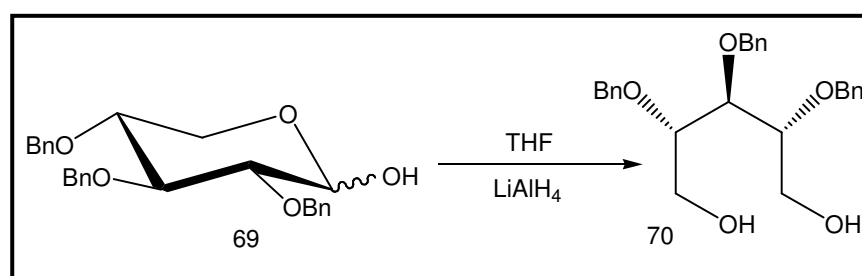
RMN¹H (400MHz, CDCl₃ 25°C)

δ (ppm) 3,54 (1H, m); 3,64 (1H, m); 3,66 (2H, m); 3,82 (2H, m); 3,92 (1H, m); 4,63 – 4,90 (2H, m); 5,12 (1H, d, $J = 2,9$); 7,34 (1H, m).

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) 74,37 – 76,67 (CH₂); 78,75 (CH); 80,65 (CH); 81,66 (CH); 92,58 (CH); 129,16 – 129,53 (CH_{aromático}); 138,99 – 139,81 (C_{aromático}).

4.2.5. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (70):



Esquema 25. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (70).

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi dissolvido 500mg da substância 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**) em 20mL de THF anidro. Foi adicionando de forma cautelosa em banho de 0°C, 1,000g de LiAlH₄. A suspensão formada ficou sob agitação magnética por 24 horas a temperatura ambiente. A mistura foi novamente resfriada a 0°C e adicionado acetato de etila

para destruir o excesso de LiAlH_4 . Um volume adicional de acetato de etila foi adicionado, e a mistura foi lavada com uma solução aquosa 2 molar de HCl. A fase orgânica foi separada, lavada sucessivamente com solução saturada de NaHCO_3 e solução saturada de NaCl, seca com MgSO_4 anidro e concentrado em rotoevaporador. Obteve-se 400mg do xilitol (**70**) como um óleo transparente (80% de rendimento).

I.V. (filme, cm^{-1}) ν_{max} 733, 1065, 1265, 1396, 1458, 1651, 1720, 2924, 3063, 3433.

RMN¹H (400MHz, CD_3OD , 25°C)

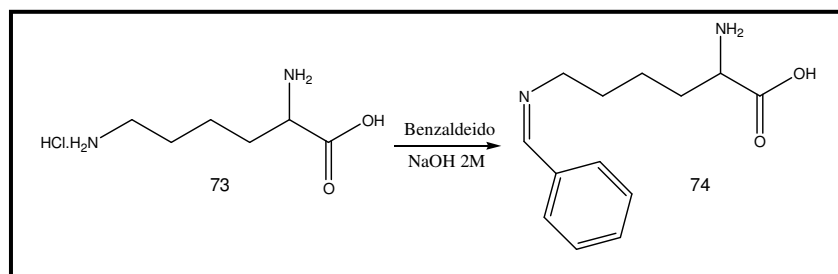
δ (ppm) 3,63 (2H, dd, $J = 4,7$ e $11,7$); 3,70 (2H, m); 3,80 (2H, dd, $J = 5,3$ e $10,6$); 3,81 (1H, m); 4,64 (4H, s); 4,71 (2H, s); 7,26 – 7,33 (15H, m).

RMN¹³C (400MHz, CD_3OD , 25°C)

δ (ppm) 62,22 (CH_2); 73,50 (CH_2); 75,20 (CH_2); 79,70 (CH); 80,0 (CH); 128,59 (CH); 128,70 (CH); 129,17 (C); 129,13 (C); 138,53 (CH); 138,60 (CH).

4.3. Síntese de aza-açúcares derivados da D-Glicose (6) e L-lisina (73):

4.3.1. Síntese da N-benzilideno-L-lisina (74):



Esquema 26. Síntese da N-benzilideno-L-lisina (74)

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética foi dissolvido 2,000g de monoclóridato de L-lisina (**73**) em 5,0mL de NaOH (2N). Em seguida foi adicionado 1,0ml de benzaldeído em um banho de gelo, formando imediatamente um precipitado branco. O produto da reação foi levado à geladeira e após 24 horas foi filtrado e lavado com metanol gelado, fornecendo 1,440g (56% de rendimento) de um pó amarelo identificado por N-benzilideno-L-lisina (**74**).

Pf. 230-235 °C

I.V. (pastilha, cm^{-1}) ν_{max} 532, 694, 748, 856, 1026, 1072, 1157, 1327, 1412, 1582, 2137, 2361, 2932.

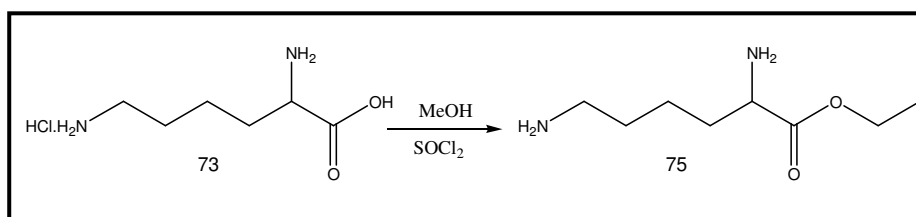
RMN¹H (400MHz, D₂O, 25°C)

δ (ppm) 2,95 (4H, m); 3,33 (2H, m); 4,48 (2H, m); 5,11 (2H, m); 8,90 (2H, m); 9,10 (1H, m); 9,21 (1H, m); 9,40 (1H, m); 9,84 (1H, m); 11,44 (1H, s).

RMN¹³C(400MHz, D₂O, 25°C)

δ (ppm) 23,40 (CH₂); 28,44 (CH₂); 28,57 (CH₂); 40,84 (CH₂); 61,60 (CH); 129,65 – 130,75 (C_{aromático}); 165,41 (CH); 169,67 (CH₀).

4.3.2. Síntese da L-lisina etil ester (75):



Esquema 27. Síntese da L-lisina etil ester (75).

Em um balão de fundo redondo adaptado com condensador de refluxo e septo foi preparada uma solução de 2,000g do monoclóridato de L-lisina (73) em 50mL de etanol, depois lentamente foi adicionado 6,0mL de SOCl₂. A mistura ficou sob refluxo e após 24 horas o solvente foi evaporado obtendo um óleo verde. O produto foi recristalizado em metanol e éter etílico, fornecendo 2,5g de cristais brancos identificados como dicloridrato de L-lisina etil ester (75). Os cristais foram dissolvidos em água e adicionado uma solução saturada de NaHCO₃ até atingir pH de aproximadamente 8,0. Após basificação do meio foram feitas várias extrações com n-butanol. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e concentrando em rota-evaporador, fornecendo 1,5g de um óleo amarelo correspondendo a L-lisina etil ester (75) (79% de rendimento).

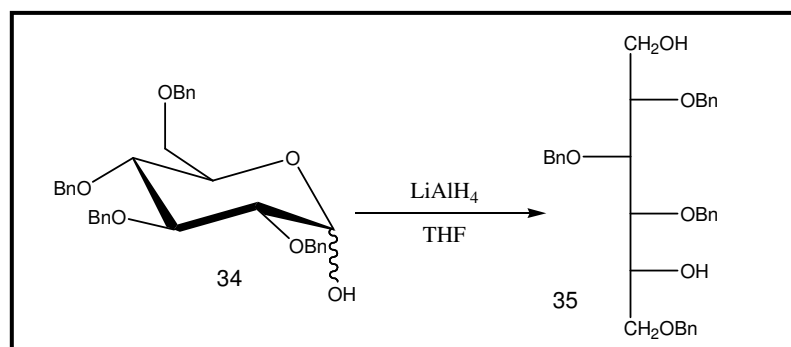
RMN¹H (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ(ppm) 1,32 (3H, t, *J* = 7,0); 1,55 (2H, m); 1,75 (2H, m); 1,97 (2H, m); 2,97 (2H, t, *J* = 7,6); 4,06 (1H, t, *J* = 6,5); 4,30 (2H, q, 7,0).

RMN¹³C (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ(ppm) 14,24 (CH₃); 22,95 (CH₂); 27,72 (CH₂); 30, 76 (CH₂); 40,21 (CH₂); 53,60 (CH); 63,55 (CH₂); 170,12 (C).

4.3.3. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (35):



Esquema 28. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (35)

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi dissolvido em 15mL de THF anidro 1,000g da substância 2,3,4,6-tetra-O-benzilglicopiranoose (34). Em seguida foi adicionado de forma cautelosa em banho a 0°C, 252mg de LiAlH₄. A suspensão formada ficou sob agitação magnética por 15 horas a temperatura ambiente. A mistura foi novamente resfriada a 0°C e adicionado acetato de etila para destruir o excesso de LiAlH₄. Um volume adicional de acetato de etila foi adicionado, e a mistura foi lavada com uma solução de HCl (2 molar). A fase orgânica foi separada, lavada sucessivamente com solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl, seca com MgSO₄ anidro e concentrado em roto-evaporador. O 2,3,4,6-tetra-O-benzil-sorbitol (35) foi obtido como um óleo transparente com 100% de rendimento.

I.V. (filme, cm⁻¹) ν_{\max} 627, 696, 905, 1088, 1327, 1362, 1452, 1605, 1948, 2922, 3063, 3371.

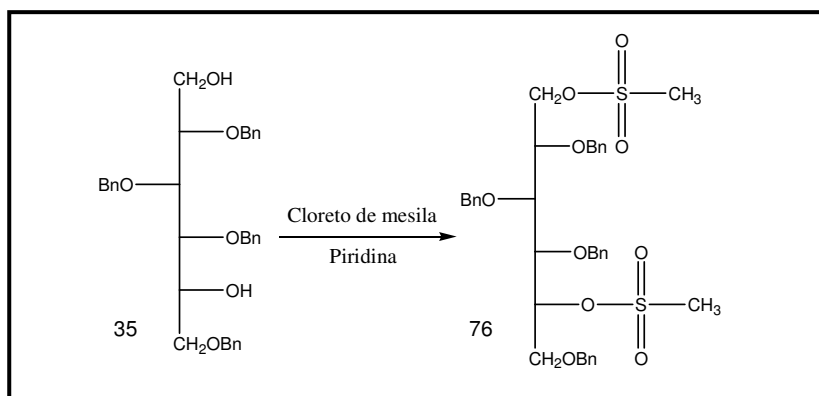
RMN¹H (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) 3,59 (1H, m); 3,66 (2H, m); 3,78 (3H, m); 3,90 (2H, m); 4,54 (1H, m); 4,55 (1H, m); 4,57 (1H, m); 4,59 (1H, m); 4,66 (1H, m); 4,67 (1H, m); 4,69 (1H, m); 4,72 (1H, m).

RMN¹³C (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ (ppm) 61,94 (CH₂); 70,82 (CH); 71,26 (CH₂); 73,21 (CH₂); 73,38 (CH₂); 73,58 (CH₂); 74,64 (CH₂); 77,52 (CH); 79,20 (CH); 79,62 (CH); 127,91 – 128,57 (CH_{aromático}); 138,00 – 138,28 (C_{aromático}).

4.3.4. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**):



Esquema 29. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**)

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi dissolvido 210mg do glucitol (**35**) em 2,0mL de piridina anidra. Em seguida foi adicionado cuidadosamente sob banho de gelo (0°C) uma solução de 0,1ml de CH₃SO₂Cl em 1,0mL de piridina anidra. A mistura ficou sob agitação magnética e em atmosfera de argônio a uma temperatura de 0°C por 40 minutos. A reação foi lavada sucessivamente com solução saturada de CuSO₄ e posteriormente com uma solução saturada de NaCl (80 ml), seca com MgSO₄ anidro e concentrado em roto-evaporador. O produto 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**) foi obtido como um óleo amarelo com 100% de rendimento.

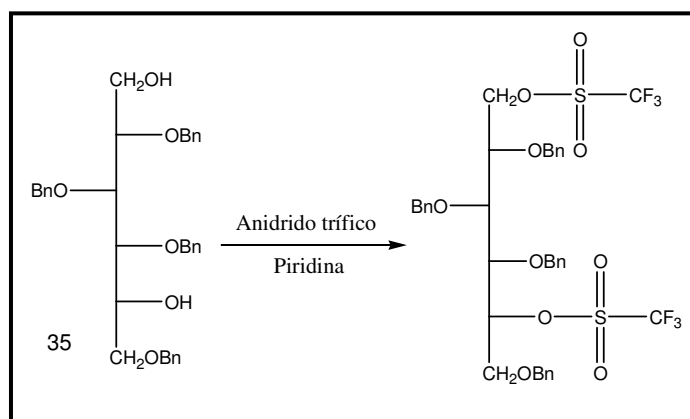
RMN¹H (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ(ppm) 2,83 (3H, s); 2,94 (3H, s); 3,69 – 4,27 (7H, m); 4,44 – 4,76 (8H, m); 5,03 (1H, m); 7,23 – 7,41 (20H, m).

RMN¹³C (400MHz, CD₃OD, 25°C)

δ(ppm) 37,06 (CH₃); 38,50 (CH₃); 69,04 (CH₂); 70,29 (CH₂); 73,51 (CH₂); 73,67 (CH₂); 74,35 (CH₂); 74,72 (CH₂); 78,03 (CH); 79,20 (CH); 81,22 (CH); 83,07 (CH); 127,72 – 128,63 (C_{aromático}); 138,00 – 138,28 (C_{aromático})

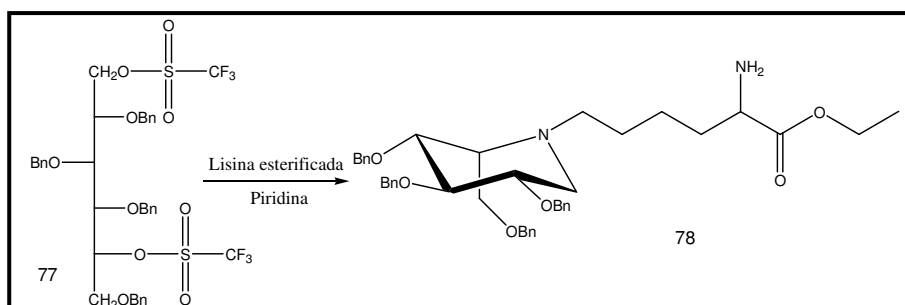
4.3.5. Síntese do 1,5-di-triflúormetanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol:



Esquema 30. Inserção do grupo triflato no sorbitol (**35**).

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi preparada uma solução de 100mg do glucitol (**35**) em 1,0mL de piridina, essa solução foi resfriada a uma temperatura de -42°C e mantida durante toda reação (banho de acetonitrila com N_2 líquido), a essa mistura foi adicionado uma solução 0,1mL de anidrido trífico em 3,0mL de diclorometano. A reação ficou sob agitação magnética por 1 hora. A reação foi lavada sucessivamente com solução saturada de CuSO_4 e posteriormente com uma solução saturada de NaCl , seca com MgSO_4 anidro e concentrado em roto-evaporador, obtendo um óleo amarelo, referente ao composto **77**, que foi imediatamente levada a próxima reação.

4.3.6. N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (**78**):



Esquema 31. Síntese do aza-açúcar N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (**78**)

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi preparada uma solução de 45,0mg L-lisina esterificada (**75**) em 1,0mL de piridina anidra sob aquecimento de 70°C e agitação magnética até total solubilização. A mistura foi

resfriada a temperatura ambiente e adicionado em seguida uma solução do 100mg do ácido 1,5-di-trifluórometanosulfônico-2,3,4,6-tetra-O-benzil-sorbitol (**77**) em 2,0mL de piridina, ficando sob agitação magnética por 24 horas a temperatura ambiente. A reação foi lavada sucessivamente com solução saturada de CuSO_4 e posteriormente com uma solução saturada de NaCl , seca com MgSO_4 anidro e concentrado em roto-evaporador. Foi obtida uma mistura de produtos que foram separadas por cromatografia de coluna (sílica gel) utilizando éter de petróleo/acetato de etila (4:1), obteve-se 40,0mg (rendimento de 32%) de um óleo amarelo correspondente ao provável aza-açúcar N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (**78**).

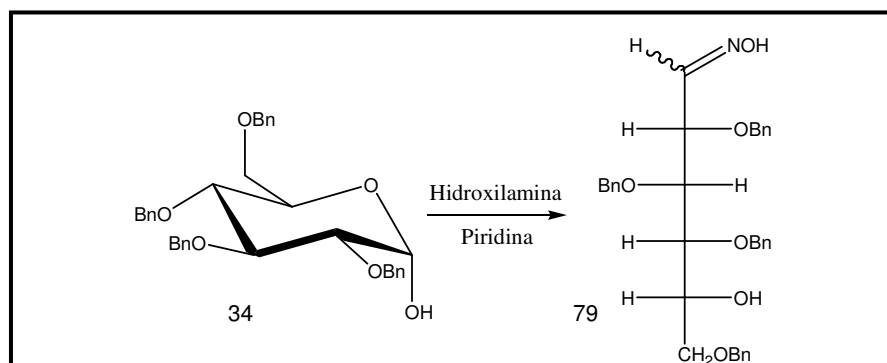
I.V. (filme, cm^{-1}) ν_{max} 702, 1095, 1265, 1450, 1720, 2924, 3063, 3433.

RMN¹H (400MHz, CDCl_3 , 25°C)

δ (ppm) 0,88 (3H, t, $J = 7,0$); 1,29 (2H, m); 1,68 (2H, m); 2,04 (2H, m), 2,32 (2H, m); 3,54 – 3,88 (7H, m); 4,07 (1H, m); 4,30 – 4,72 (11H, m); 7,23 – 7,32 (20H, m).

4.4 – Inserção do grupo amina diretamente no açúcar:

4.4.1. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (79):



Esquema 32. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**)

Em um balão de fundo redondo, munido de barra magnética e septo foi dissolvido 500mg do 2,3,4,6-tetra-O-benzilglicopiranosose (**34**) em 5,0mL de piridina anidra e adicionado em seguida 300mg de hidroxilamina. A mistura ficou sob agitação magnética em atmosfera de argônio por 24 horas. A mistura foi lavada sucessivamente com solução 10% de ácido cítrico e posteriormente com uma solução saturada de NaCl, seca com MgSO₄ anidro e concentrado em roto-evapordor. Foi obtida uma mistura de produtos que foi separada por cromatografia de coluna (sílica gel) utilizando hexano/acetato de etila (3:2), obteve-se 400mg (rendimento de 78%) de um óleo branco correspondente ao 2,3,4,6-tetra-O-benzilglicopiranosose oxima (**79**).

I.V. (filme, cm⁻¹) ν_{\max} 609, 698, 1095, 1211, 1350, 1454, 1605, 1755, 2870, 3032, 3479.

RMN¹H (400MHz, CDCl₃, 25°C)

δ (ppm) 3,54 – 3,80 (12H, m); 4,48 – 4,89 (16H, m); 6,94 (1H, d, $J = 6,4$); 7,21 – 7,31 (40H, m); 7,47 (1H, d, $J = 7,6$).

RMN¹³C (400MHz, CDCl₃, 25°C)

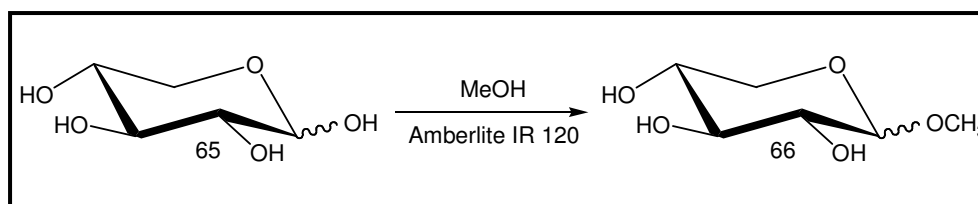
δ (ppm) 70,41; 70,98; 71,08; 71,43; 73,36; 73,51; 74,43; 77,65; 79,56; 128,34 – 128,42 (CH_{aromático}); 137,58 – 138,06 (C_{aromático}); 149, 80 (CH).

5. DISCUSSÃO:

PRIMEIRA PARTE: Reação com a D-xilose (**65**)

5.1. Síntese de aza-açúcar proveniente de D-xilose (**65**)

5.1.1. Síntese da D-xilopiranosídeo de metila (**66**):



Esquema 33. Síntese da D-xilopiranosídeo de metila (**66**)

Em conformidade com a rota sintética proposta nesse trabalho, o primeiro intermediário - D-xilopiranosídeo de metila (**66**) - foi preparado a partir do composto comercial D-xilose (**65**). Nessa primeira etapa a hidroxila anomérica do produto de partida foi protegida com um grupamento metila. Para tanto, **65** reagiu com metanol em presença de resina ácida - amberlite IR120 - em temperatura de refluxo por 72 horas. No final, foi obtido o produto **66** em uma mistura dos anômeros α e β .

Essa reação foi padronizada a partir da metodologia proposta por Cadote e colaboradores para a síntese de várias substâncias tipos metil-piranosídeos, entre elas metil-xilopiranosídeo (**66**). O trabalho relata a síntese do anômeros β -metil-xilopiranosídeo, com 9,0% de rendimento e com um ponto de fusão na faixa de 150-157°C. (Cadote *et al*, 1952)

Para as etapas seguintes não era necessário a separação dos isômeros α e β , pois há perda da posição anomérica em uma reação posterior. Mas para melhor caracterizar esse intermediário, o anômeros β foi recristalizado em metanol, com rendimento de 21% e com ponto de fusão na faixa de 154-156°C,

resultado compatível com o descrito na literatura (Cadote *et al*, 1952). Na água mãe restou uma mistura de anômeros α e β .

Foi possível evidenciar a formação da substância **66** e a cristalização do anômero β analisando os espectros de Infravermelho e os de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN ^1H e ^{13}C) e suas correlações através de técnicas bidimensionais de interação hidrogênio-hidrogênio (COSY), carbono-hidrogênio a uma ligação (HMQC) e carbono-hidrogênio a mais de uma ligação (HMBC).

Observou-se no espectro de I.V. uma banda em 2839 cm^{-1} , indicando a presença de grupo metínico ($-\text{CH}_3$) e a banda larga em 3387 cm^{-1} referente deformação axial da ligação (O-H) do açúcar (**figura 10**).

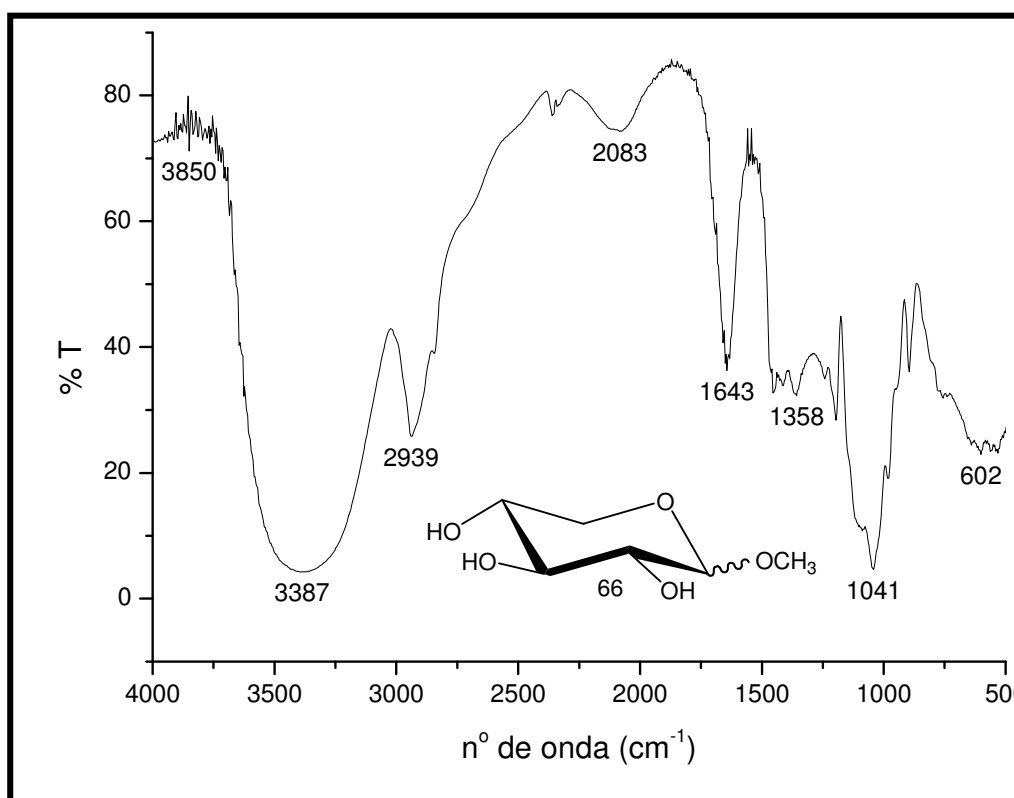


Figura 10. Espectro de Infravermelho da D-xilopiranosídeo de metila (**66**)

Para o espectro de RMN os principais sinais que caracterizam a entrada do grupo metínico e o sinal simples referente a metila do anômero β em 3,47 ppm no espectro de RMN ^1H e o sinal em 56,76 ppm no espectro de ^{13}C (RMN ^{13}C) e para a metila α em 3,37 ppm no espectro de ^1H (RMN ^1H) e o sinal em 55,21 ppm no espectro de ^{13}C (RMN ^{13}C). (figura 14 e 15, pg. 49 e 50).

Também foi possível evidenciar a mistura dos isômeros β e α , na proporção de 10:7, respectivamente. Essa determinação foi obtida pela integração dos sinais duplos referentes ao hidrogênio ligado ao carbono anomérico; em 4,19 ppm ($J=7,6$ Hz) para forma β e 4,60 ($J = 3,52$ Hz) para forma α , como pode ser observado na parte do espectro abaixo. (figura 14, pg. 49)

Pela análise dos sinais duplos também é possível evidenciar a cristalização da forma β , onde não é observada a mistura de sinais e uma constante de acoplamento compatível com o hidrogênio ligado ao carbono anomérico ($J = 7,6$) (figura 19, pg. 54).

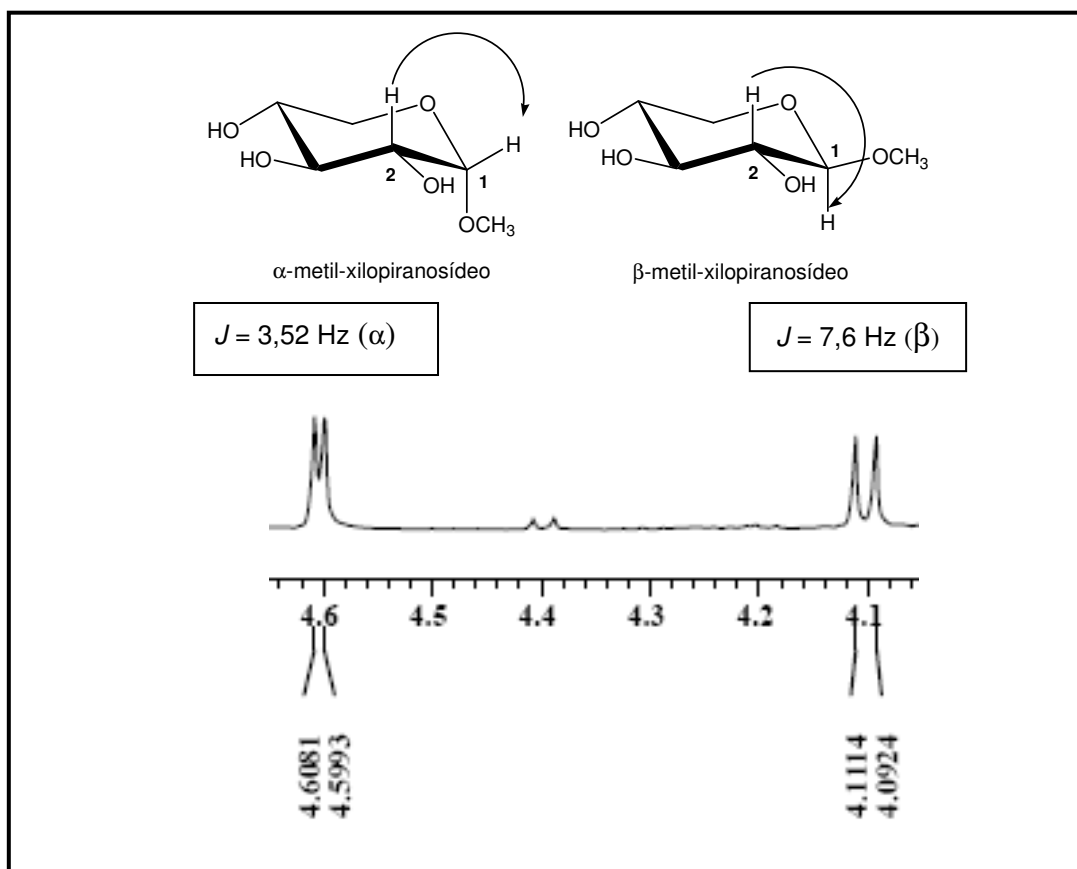


Figura 11. Parte do espectro de RMN H^1 do metil-xilopiranosídeo (66) (figura 14, pg. 49) (expansão da região entre 3,6 – 5,0 ppm)

A formação do anel piranosídico é evidenciado pela correlação a três ligações entre carbono 1 (C1) e o hidrogênio ligado ao carbono 5 (H5) (${}^3J_{CH}$). A correlação inversa também é observado, entre o carbono C5 e o hidrogênio ligado ao carbono 1 (H1) (${}^3J_{CH}$). Essa verificação foi observada no mapa de correlação heteronuclear HMBC (figura 18 e 23, pg. 53 e 58).

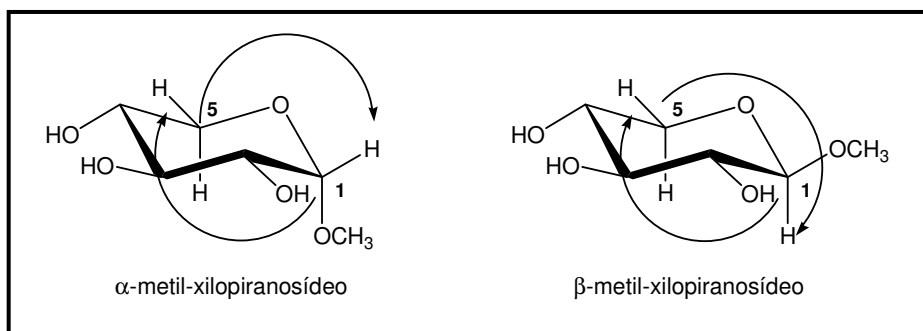


Figura 12. Correlação ${}^3J_{CH}$ em carbonos C1 e C5 e hidrogênios H5 e H1 da α e β -metil-xilopiranosídeo.

Os demais sinais dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ${}^1\text{H}$ e ${}^{13}\text{C}$ (RMN ${}^1\text{H}$ e ${}^{13}\text{C}$) para as moléculas α -metil-xilopiranosídeo e β -metil-xilopiranosídeo e suas devidas correlações a uma, duas e três ligações (${}^1J_{CH}$, ${}^2J_{CH}$ e ${}^3J_{CH}$) estão dispostos na tabela 3, evidenciando definitivamente a formação do intermediário **66**.

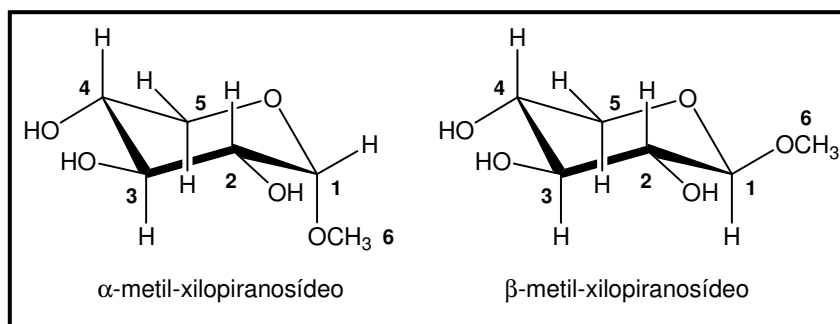


Figura 13. Anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**).

Tabela 3. Deslocamento químico dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**):

	HMQC		HMBC	
	δ_c	δ_H	${}^2J_{CH}$	${}^3J_{CH}$
β-D-xilofuranosídeo de metila				
CH				
1	105,58	4,10 (d, J = 7,6)	H-2	H-5 e H-6
2	74,33	3,14 (m)	H-3	
3	77,27	3,30 (t, J = 8,8)	H-2	H-5 e H-5'
4	70,70	3,46 (m)	H-5' e H-3	-
CH₂				
5	66,40	3,86 (dd, J = 5,3 e 11,7) e 3,18 (m)	-	H-1
CH₃				
6	56,76	3,47 (s)	-	H-1
α-D-xilofuranosídeo de metila				
CH				
1	101,13	4,60 (d 3,5)	-	H-3, H-5 e H-6
2	74,80	3,52 (m)	H-1	-
3	71,07	3,54 (m)	-	H-5 e H-1
4	73,16	3,36 (m)	-	-
CH₂				
5	62,41	3,55 (m) e 3,32 (m)	-	H-1
CH₃				
6	55,21	3,37 (s)	-	-

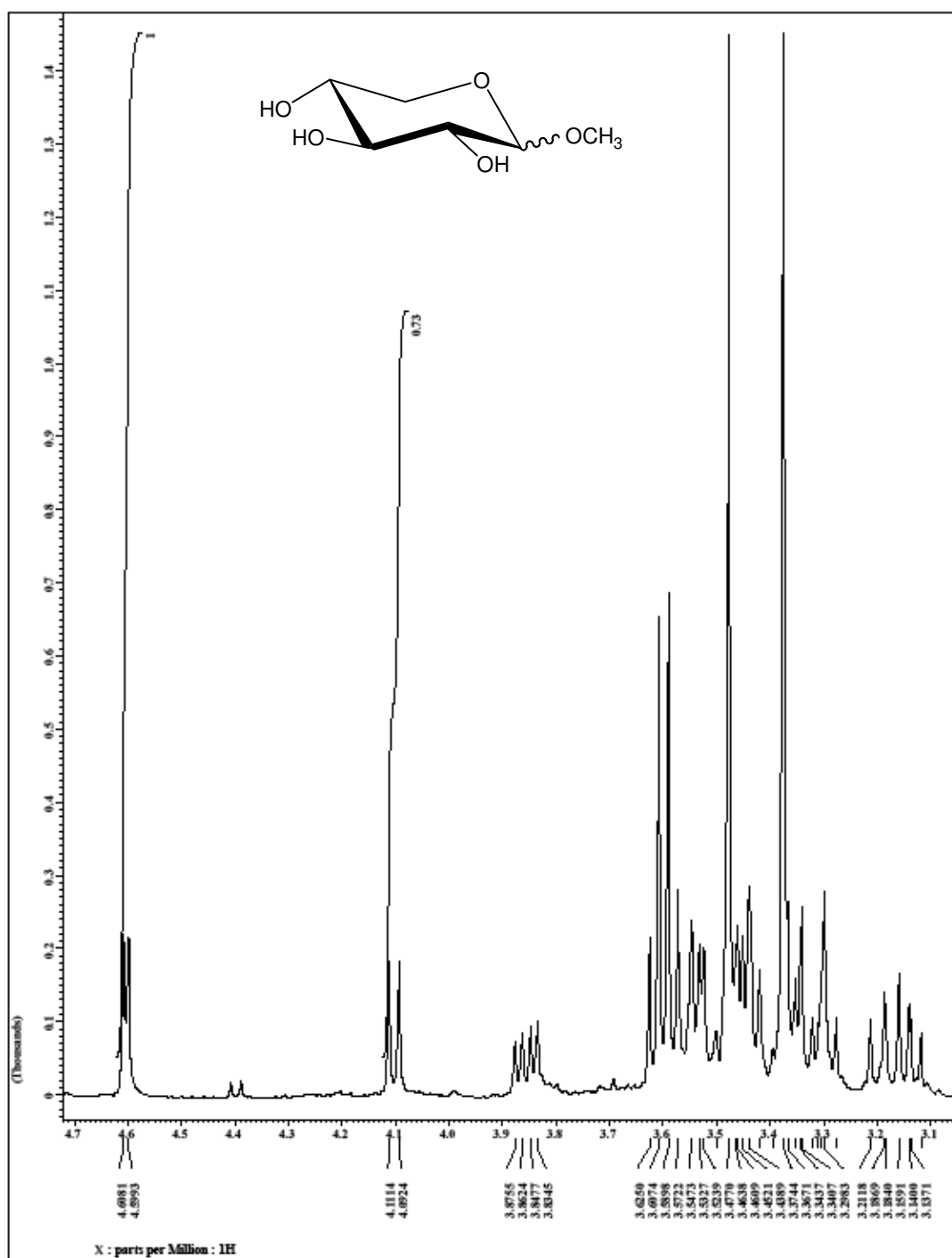


Figura 14. Espectro de RMN¹H da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (66) - CD₃OD

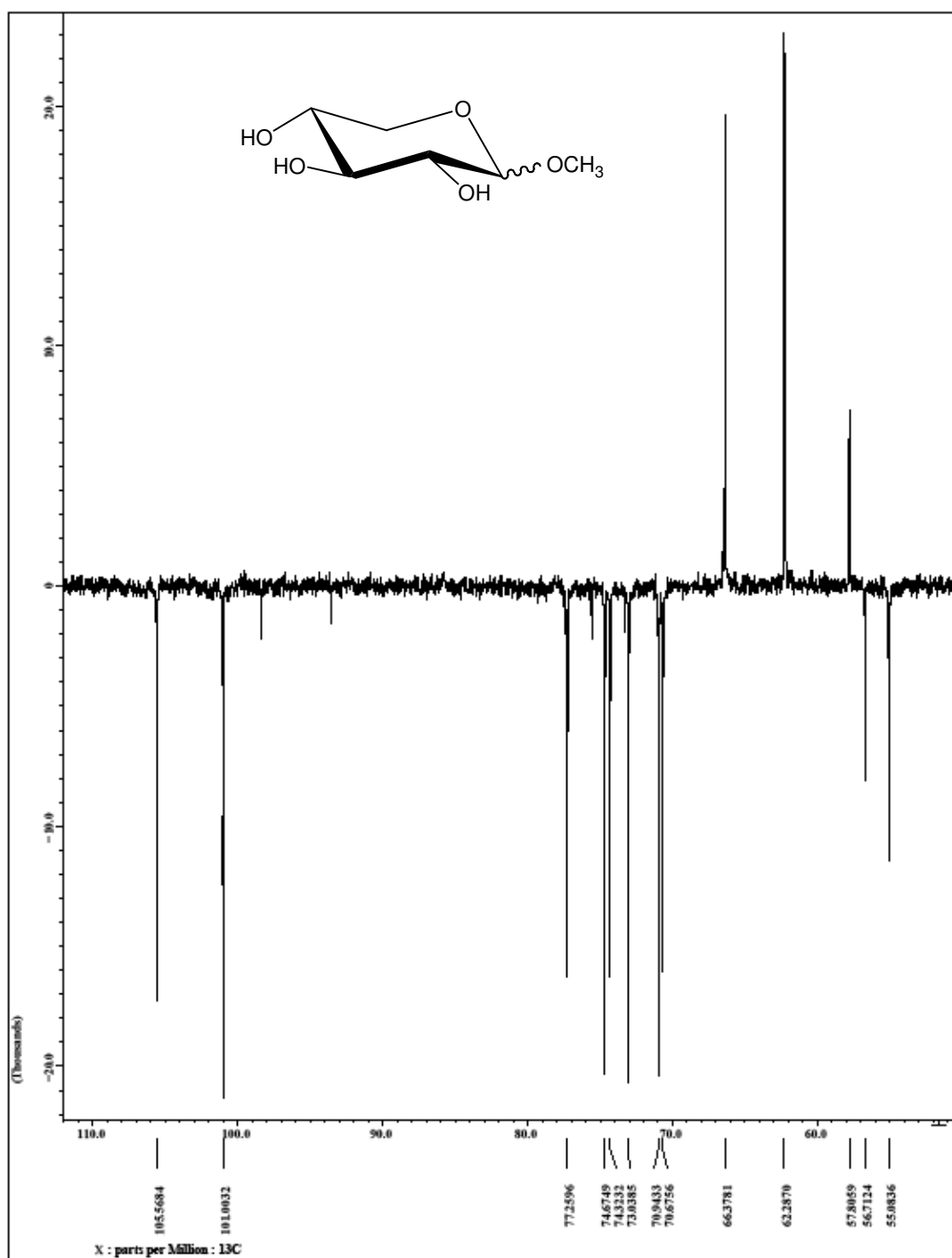


Figura 15. Espectro de RMN¹³C (APT) da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (66) - CD₃OD

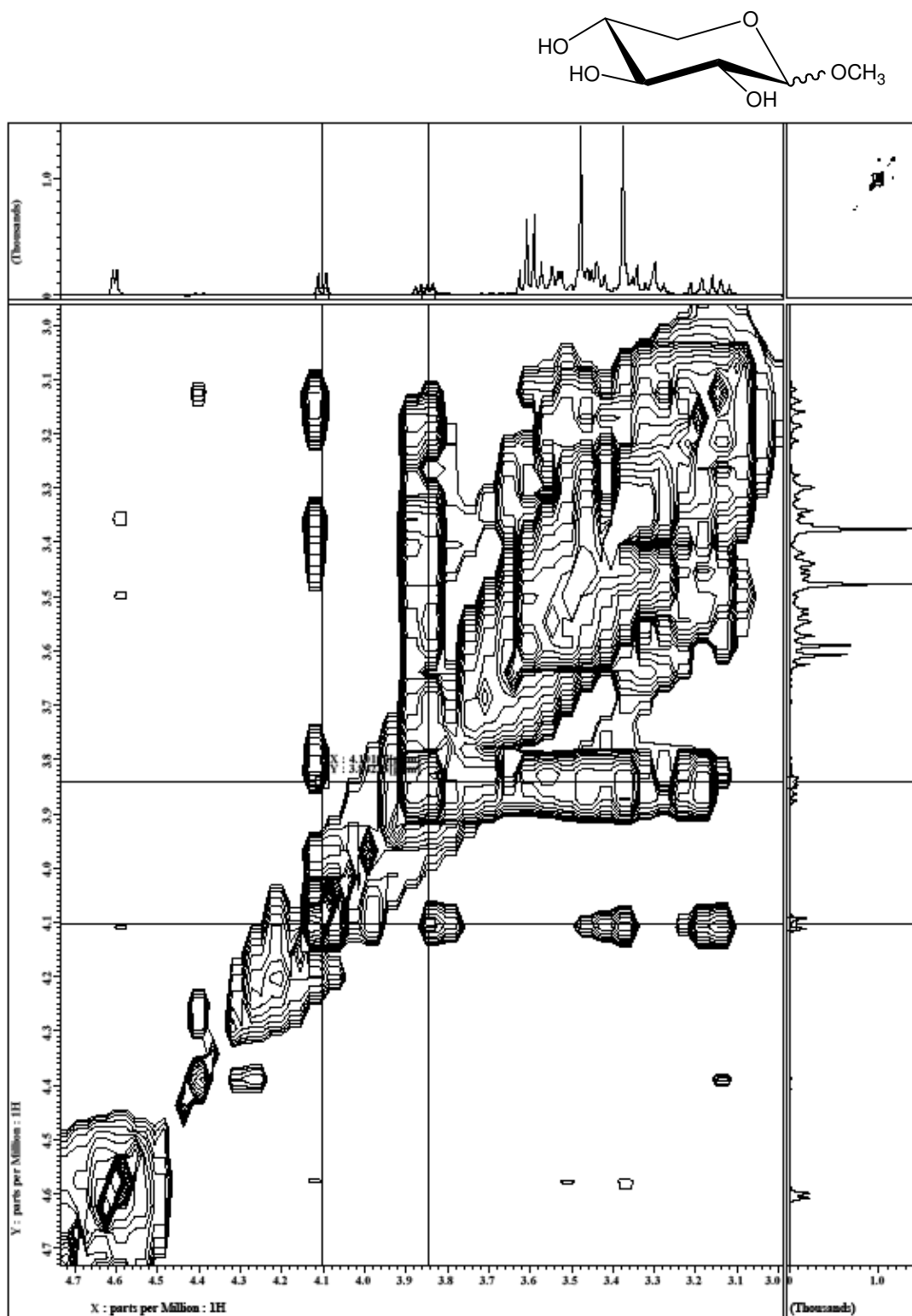


Figura 16. Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**) - CD_3OD

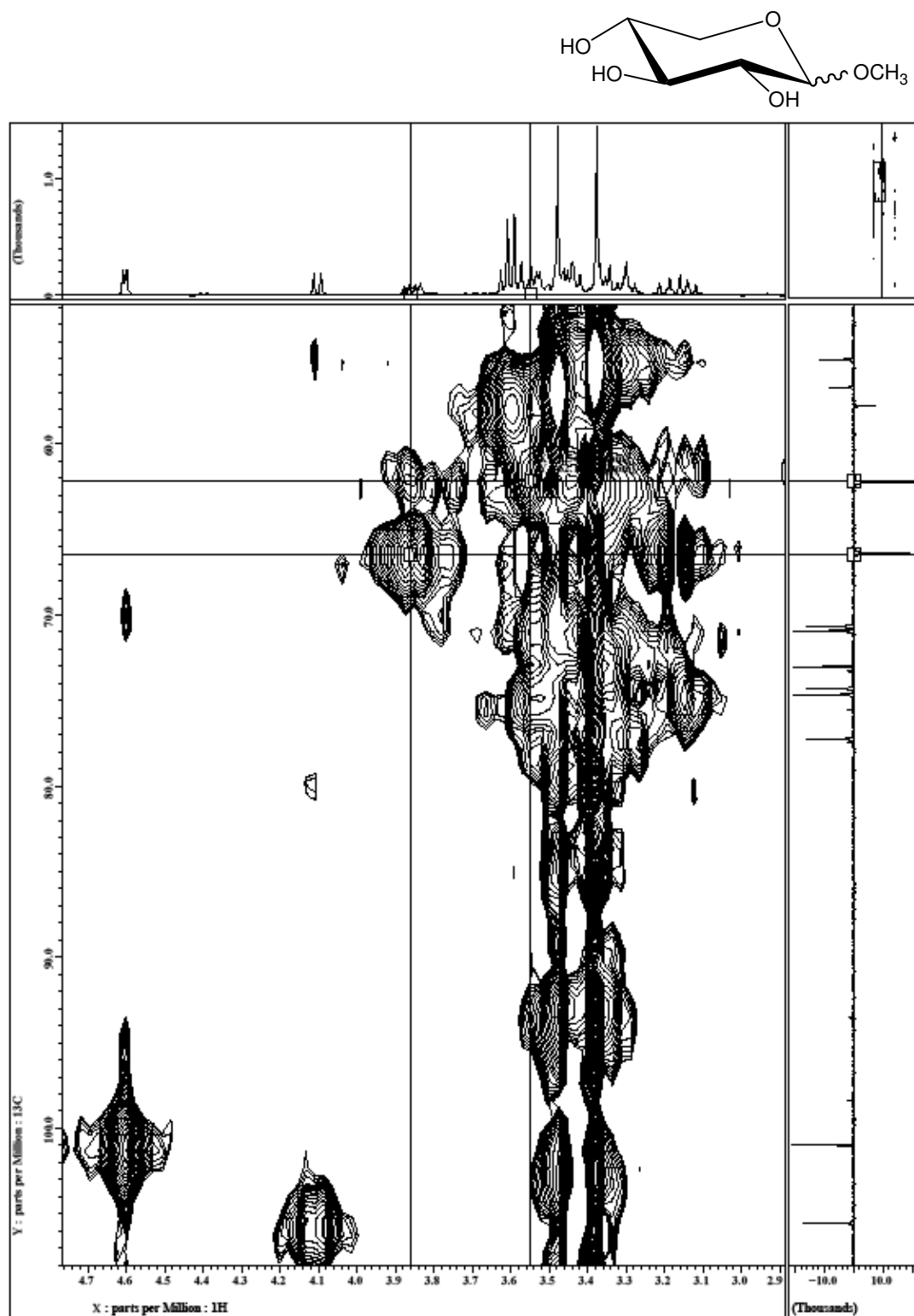


Figura 17. Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (66) - CD_3OD

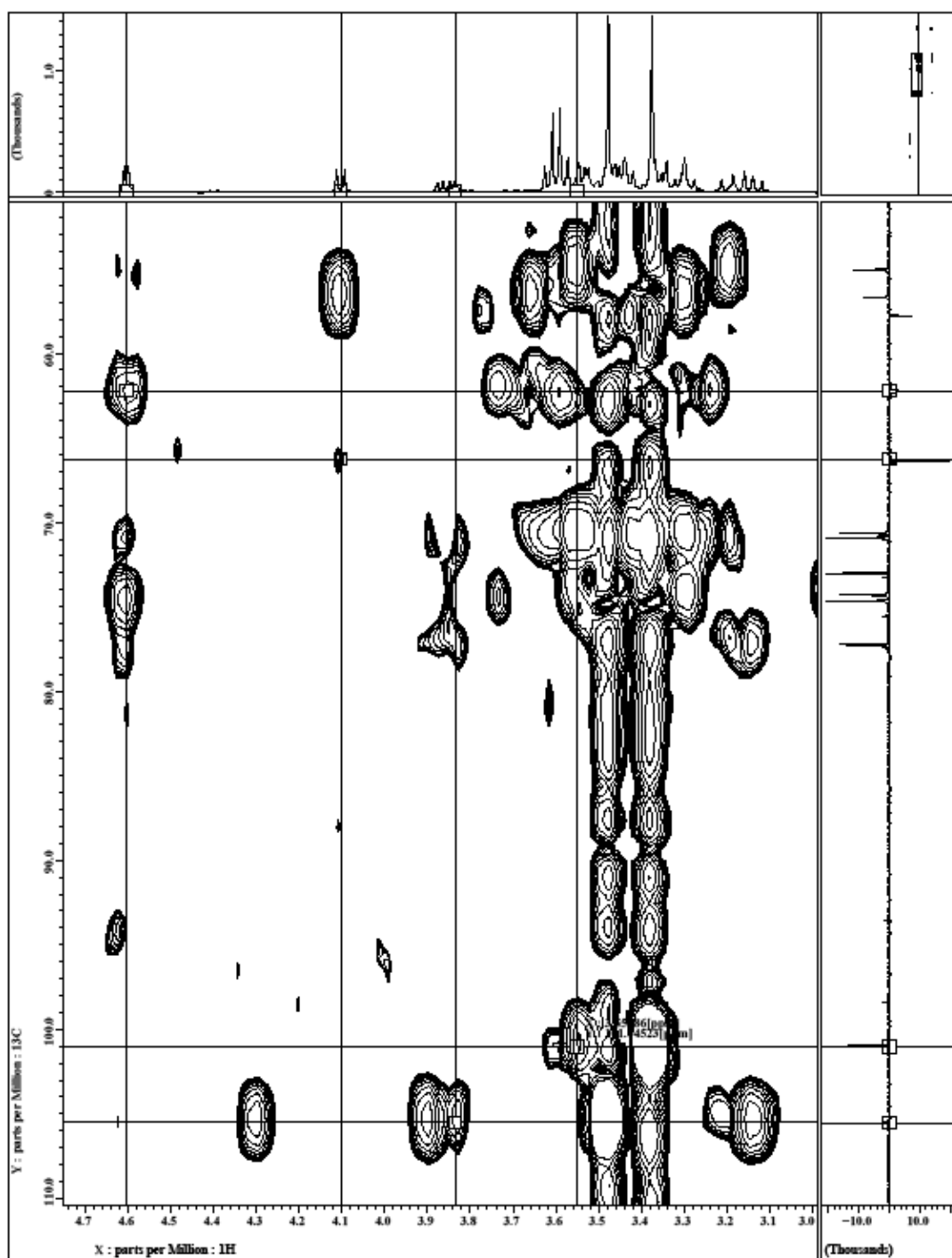
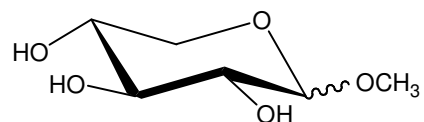


Figura 18. Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**) - CD_3OD

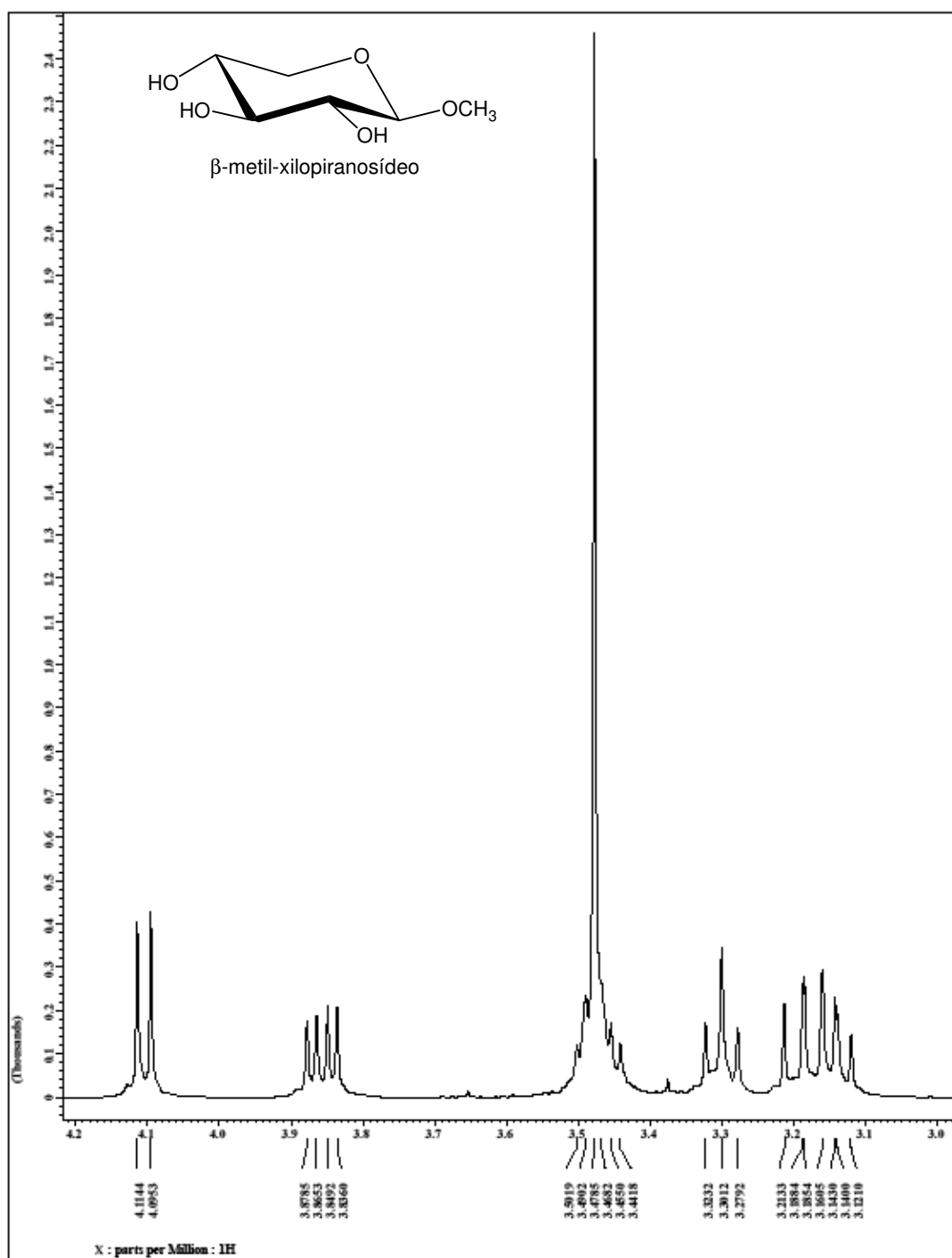


Figura 19. Espectro de RMN ^1H do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**) - CD_3OD

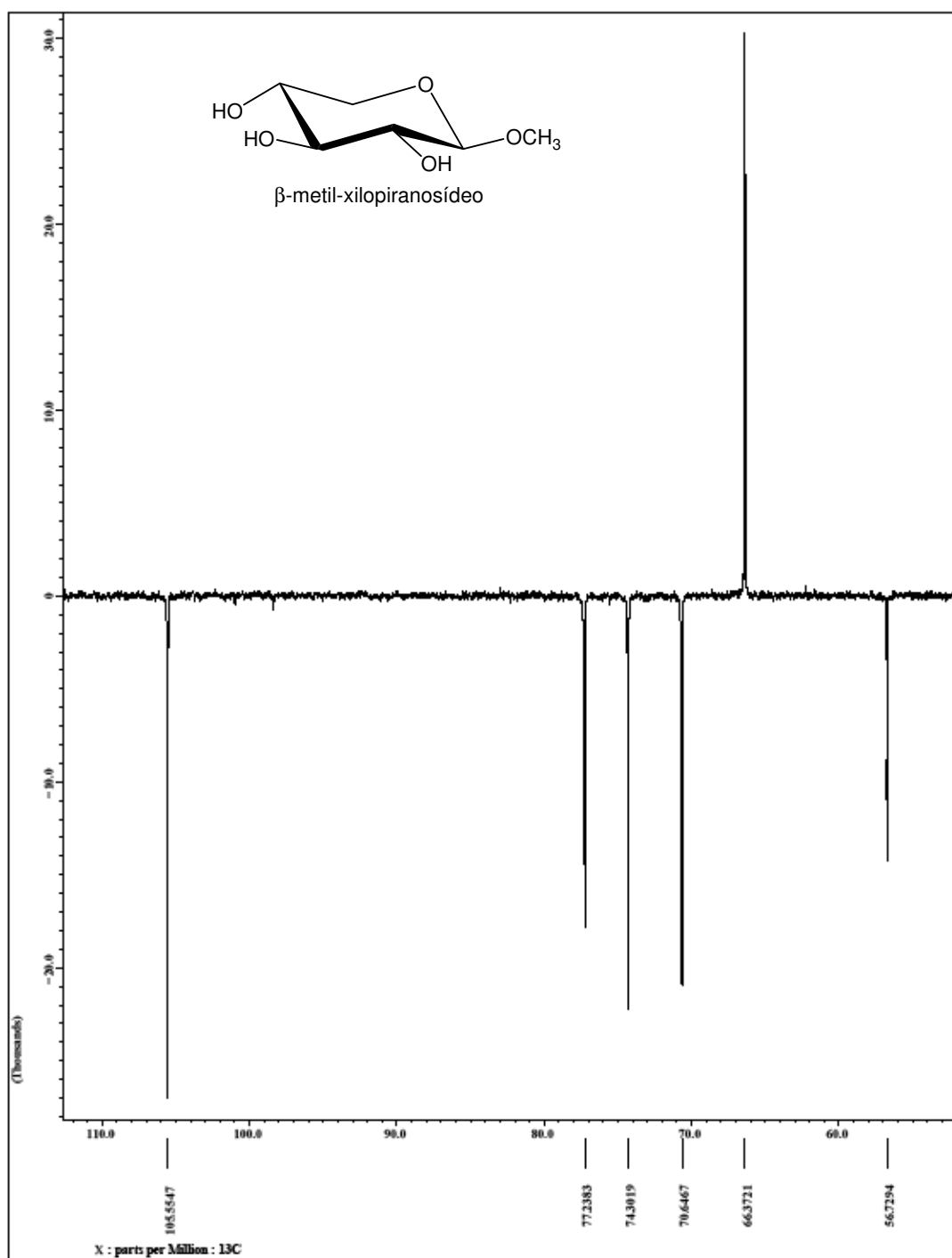


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila (66) - CD_3OD

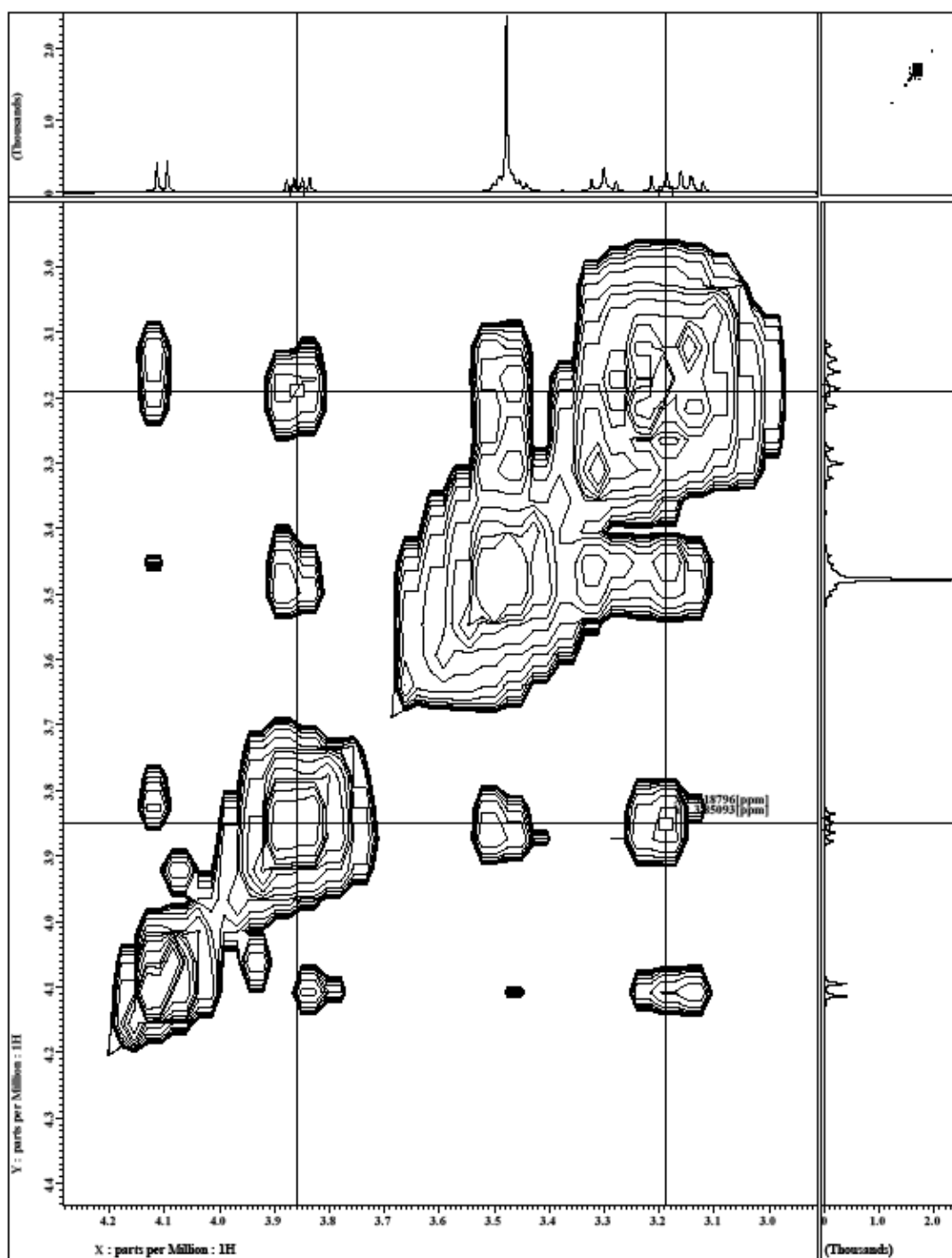
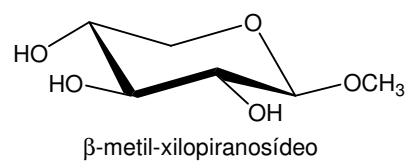


Figura 21. Espectro de RMN COSY do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila (66) - CD₃OD

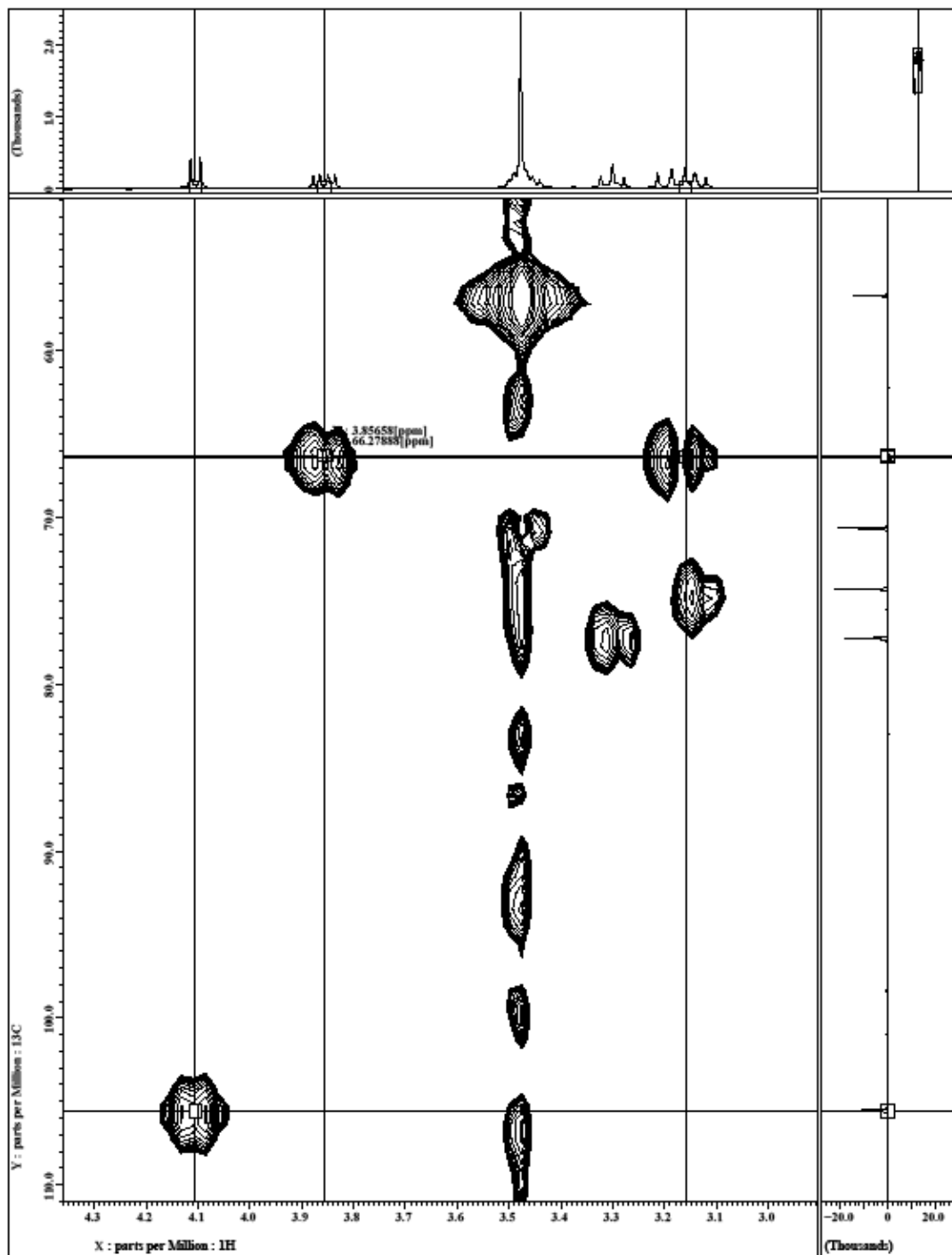
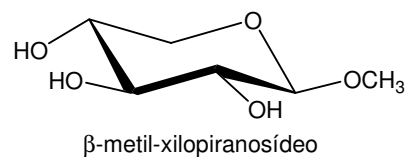


Figura 22. Espectro de RMN HMQC do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**) - CD₃OD

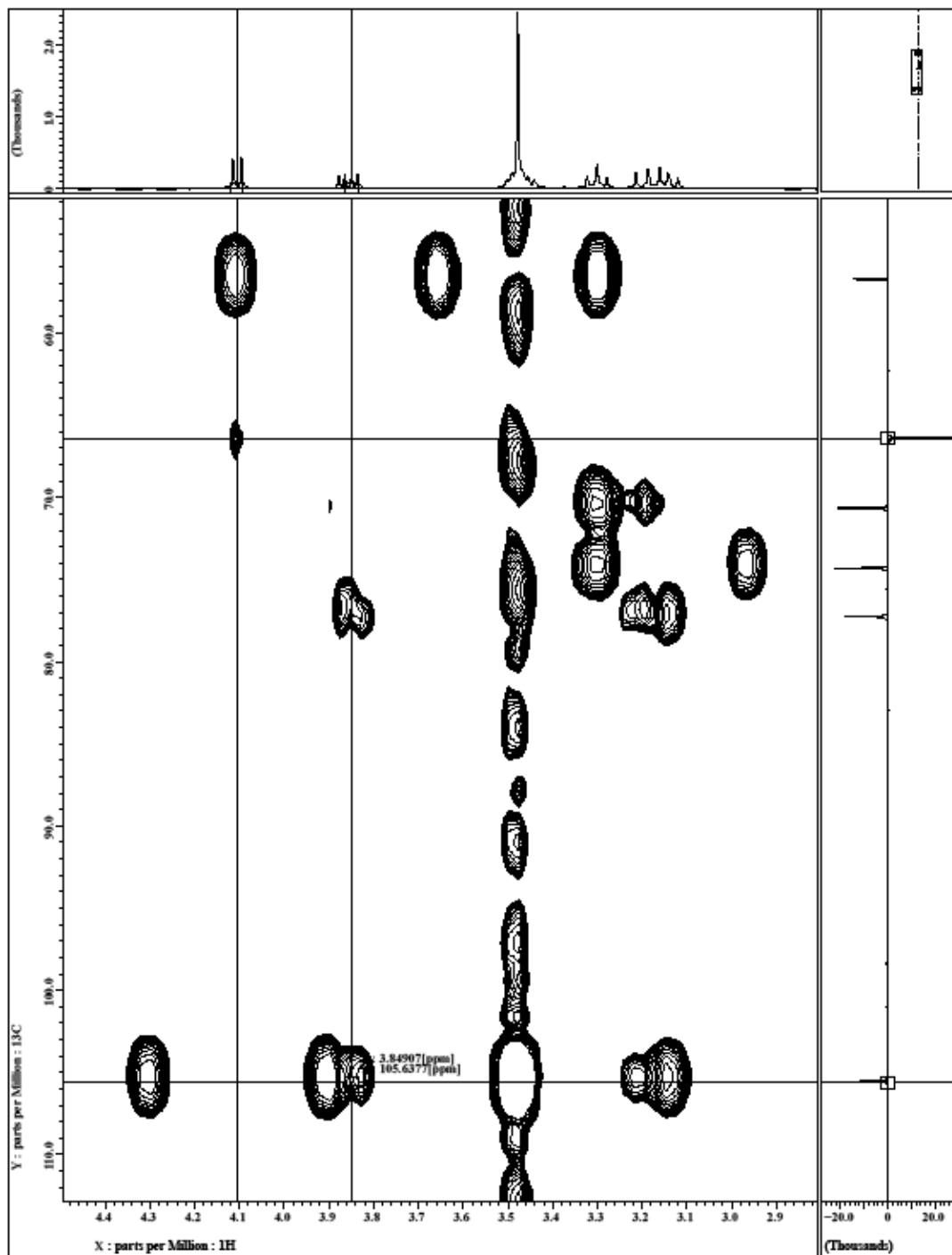
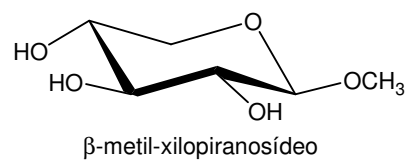
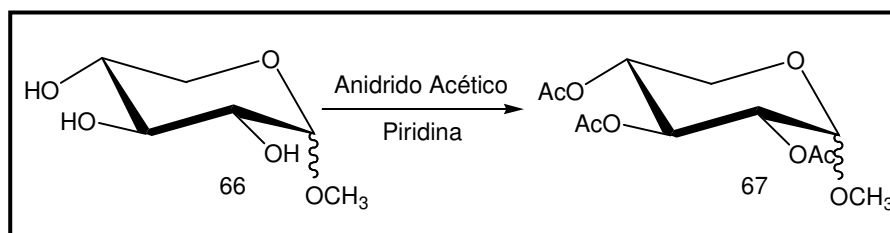


Figura 23. Espectro de RMN HMBC do anômero β da D-xilofuranosídeo de metila (**66**) - CD_3OD

5.1.2. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (67):



Esquema 34. Síntese da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (67).

Também no intuito de melhorar a caracterização do intermediário **66**, foi realizada acetilação da D-xilopiranosídeo de metila (**66**), em presença de anidrido acético e piridina tratada como solvente. Após 12 horas de reação, foi observado através de cromatografia de camada fina, que todo produto de partida havia sido consumido, levando a formação produto metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**).

A acetilação do açúcar forneceu a um espectro de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio mais resolvido, facilitando a visualização de alguns acoplamentos importantes, podendo evidenciar definitivamente a formação do anel piranosídeo.

No espectro de IV é observado, principalmente, uma banda em 1736 cm^{-1} correspondente a deformação axial da ligação C=O da carbonila, caracterizando a entrada dos grupos acetil nas hidroxilas livres do açúcar. Outra evidência da completa acetilação das hidroxilas do açúcar é a ausência da banda larga em 3387 cm^{-1} referente deformação axial da ligação (O-H). Também é verificada a presença da banda em 2939 cm^{-1} referente ao sinal metílico ($-\text{CH}_3$).

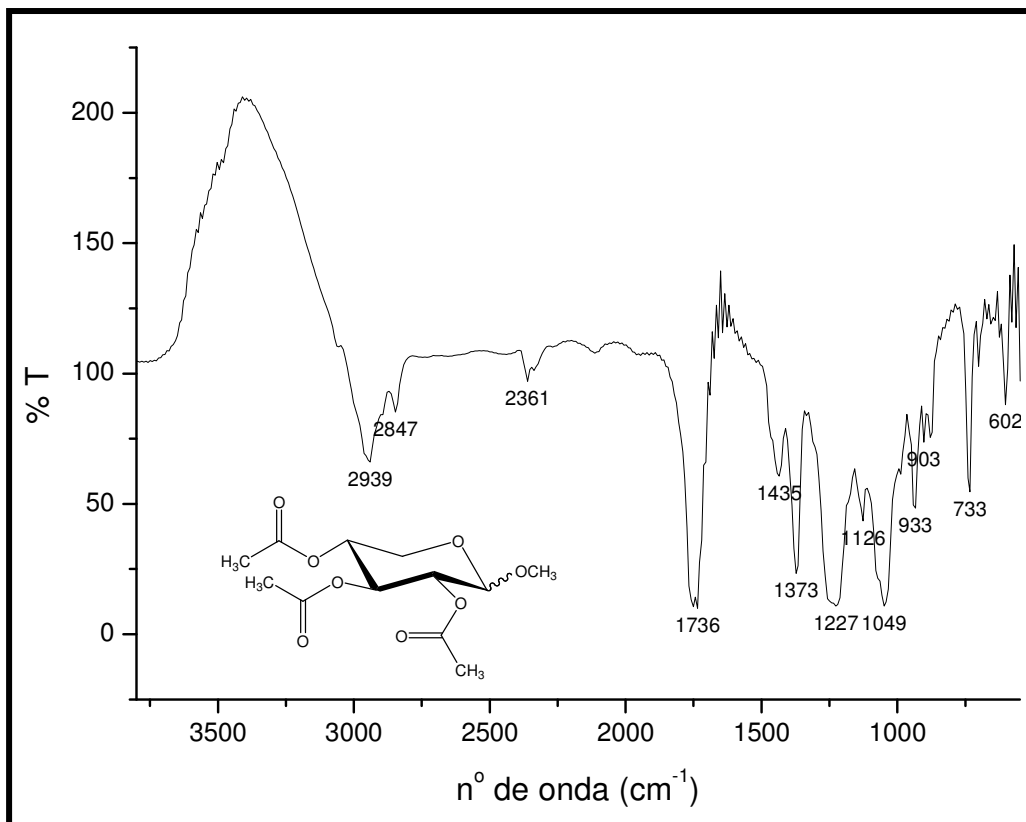


Figura 24. Espectro de Infravermelho da metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**).

Foram observados no espectro de RMN ^{13}C os sinais correspondentes aos carbonos carbonílicos, na faixa de 171,0 – 171,19 ppm. Também foi verificado um espectro de hidrogênio mais resolvido. Os hidrogênios H1, H2 e H3 encontram-se mais desblindados em relação ao reagente de partida, devido a influencia da carbonila (**figura 26 e 27, pg. 63 e 64**).

Com auxílio de técnicas bidimensionais, como COSY, HMQC e HMBC, evidenciamos a manutenção do anel piranosídeo durante a inserção da metila (**figuras 29 a 31, pg. 66 a 68**).

Assim como no espectro da metil-xilopiranosídeo (**66**), foi observado as correlações a três ligações entre o carbono 1 (C1) e os hidrogênios ligados ao carbono 5 (H5) e a correlação inversa, carbono C5 e hidrogênio ligado ao carbono 1 (H1) ($^3J_{CH}$) (**figura 31, pg. 68**).

Foi possível verificar, de forma mais resolvida, a diferença no ambiente químico dos hidrogênios ligados ao carbono C5, tanto para o anômero α quanto para β . Um dos hidrogênios fornece um duplo-dublete a δ 4,08 ppm ($J = 4,7$ e $11,7$) para o anômero β e δ 3,74 ($J = 6,4$ e $11,1$) para α . Esse padrão de acoplamento é justificado pela interação entre o hidrogênio ligado ao carbono C4 e o outro hidrogênio ligado ao carbono C5.

Para o H3 é verificado a formação de tripletos a δ 5,11 ppm ($J = 8,8$) e 5,42 ($J = 10,0$), para as formas β e α , respectivamente. Esses padrões são possíveis devido ao acoplamento com o hidrogênio em C2 e um dos hidrogênios em C5, onde as constantes de acoplamento são iguais (**figura 26, 29, 30 e 31; pg. 63, 66, 67 e 68**).

Analisando as técnicas bidimensionais, foi possível resolver os demais sinais dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN ^1H e ^{13}C) para a mistura dos isômeros α e β -metil-2,3,5-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) e suas devidas correlações a uma, duas e três ligações ($^1J_{CH}$, $^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$). Esses resultados estão disponíveis na tabela abaixo (**tabela 4**), caracterizando absolutamente a formação do composto **67**.

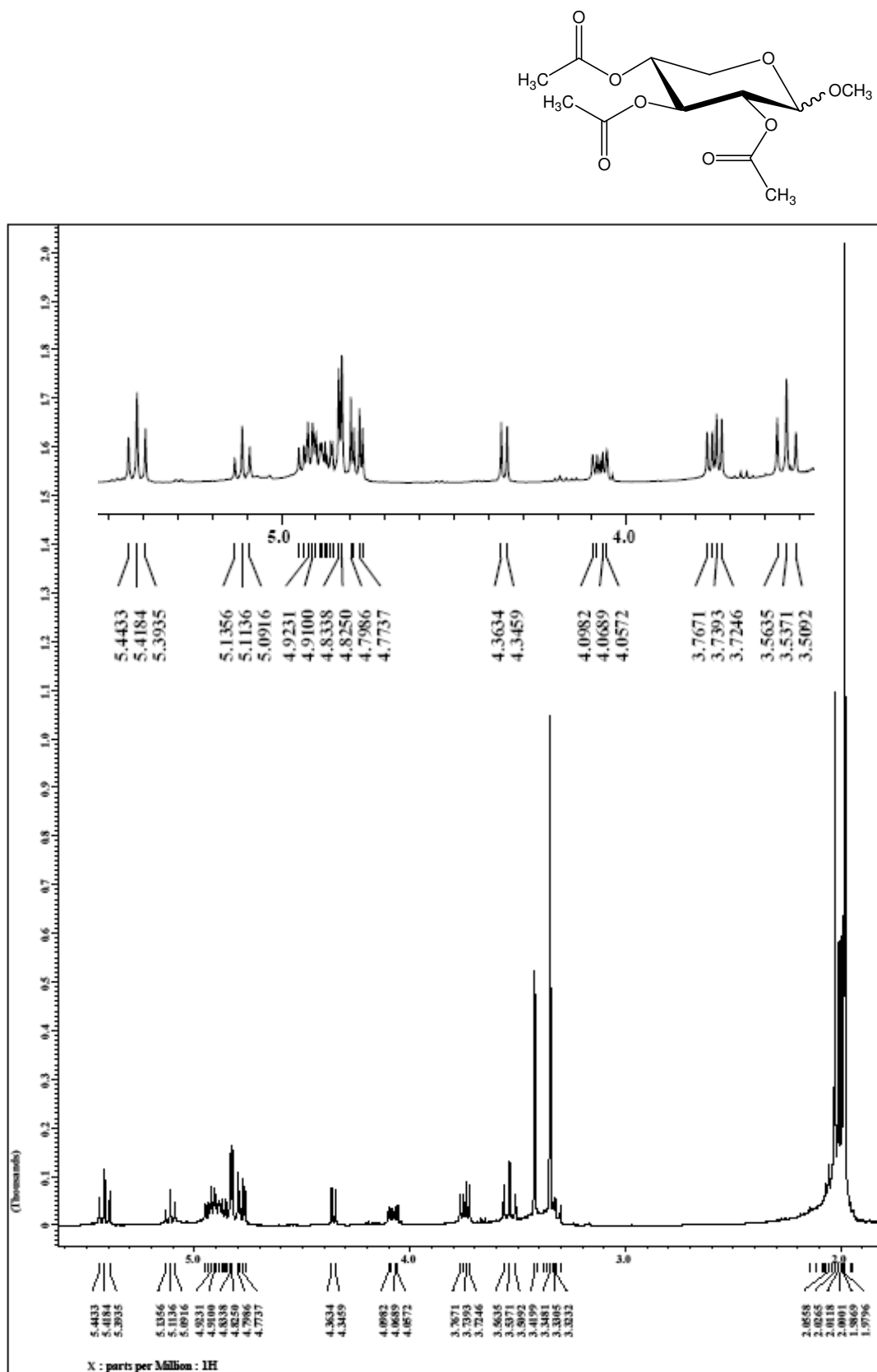


Figura 26. Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) - CD_3Cl_3

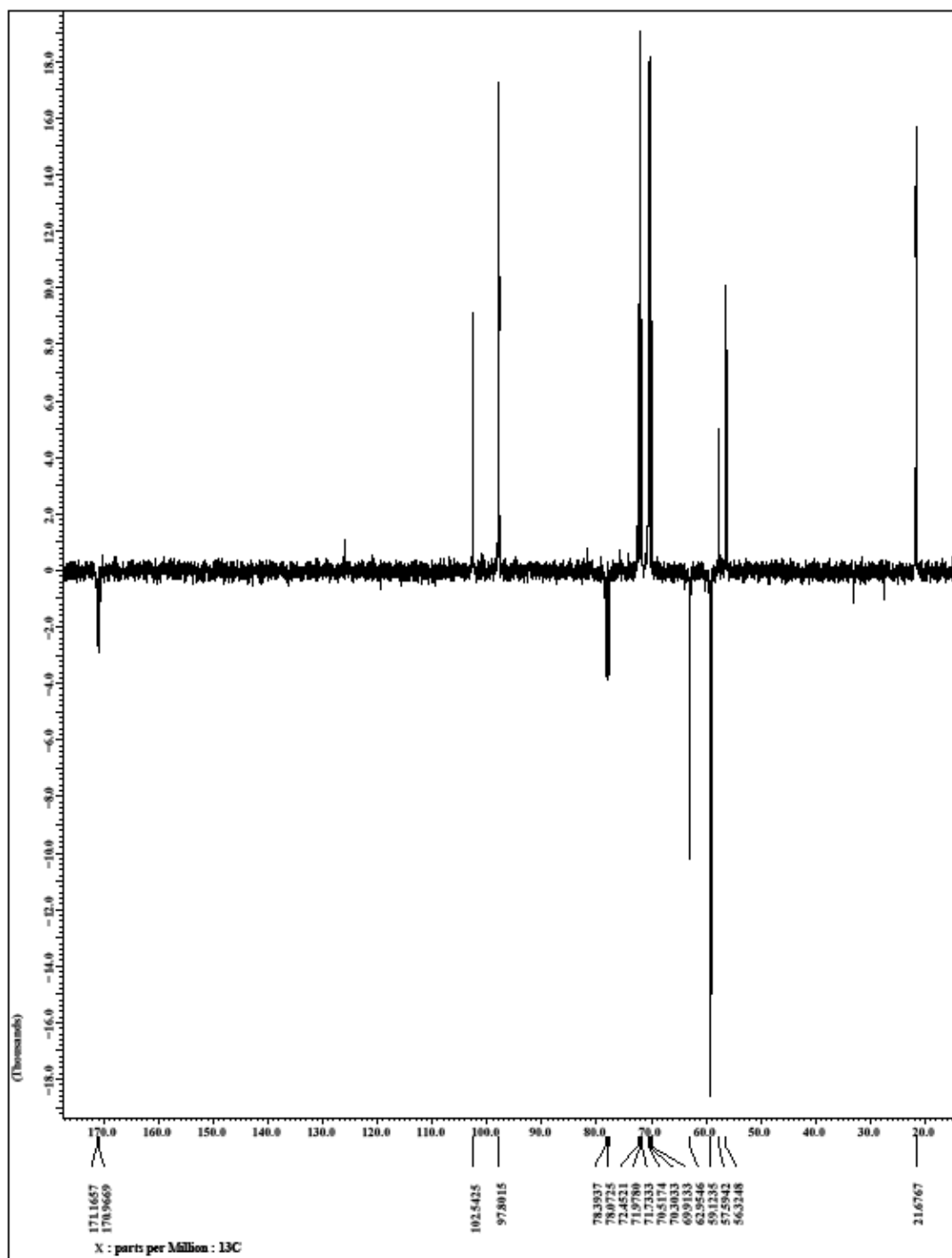
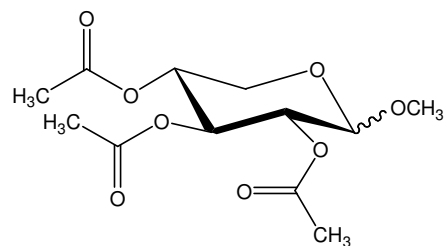


Figura 27. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) - CD_3Cl_3

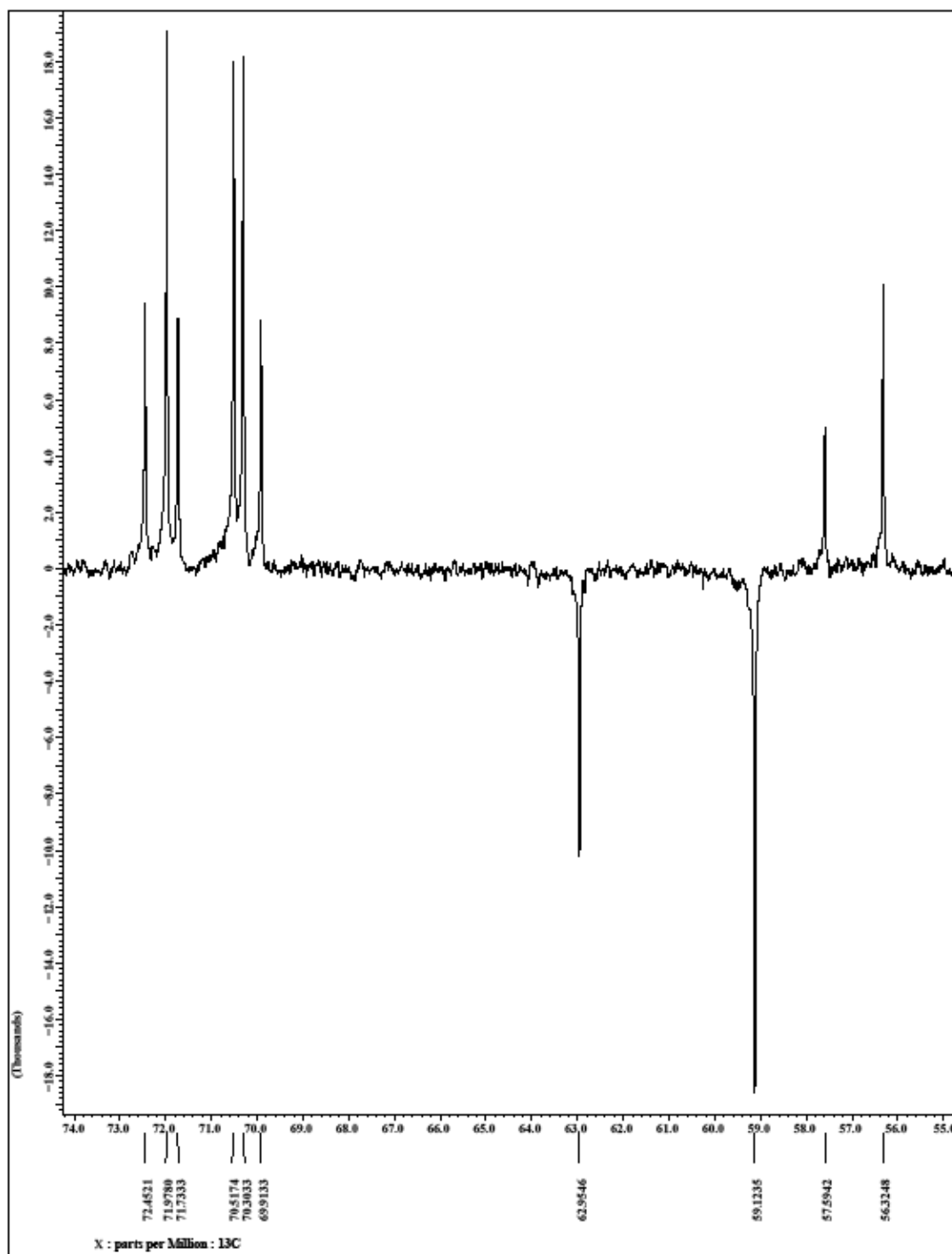
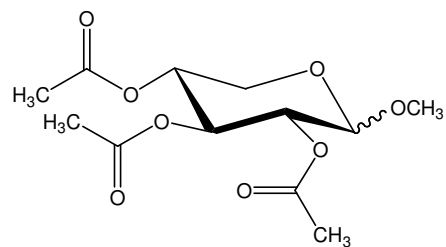


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) (expansão entre 55,0 – 74,0 ppm) - CD_3Cl_3

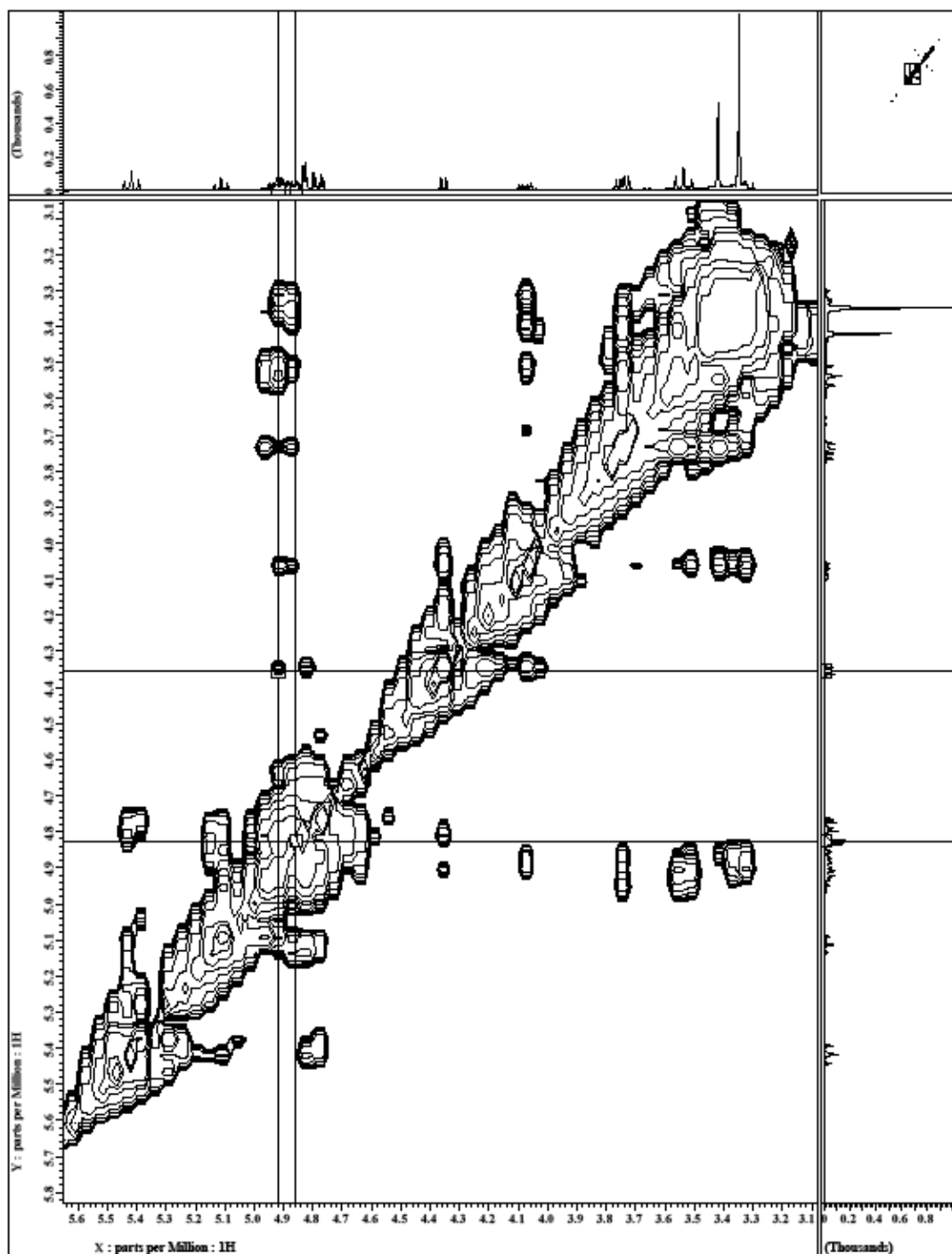
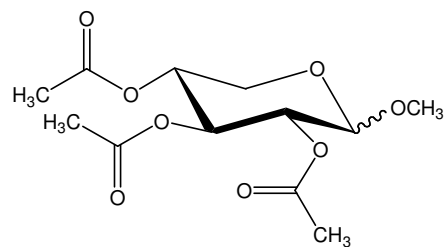


Figura 29. Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) - CD_3Cl_3

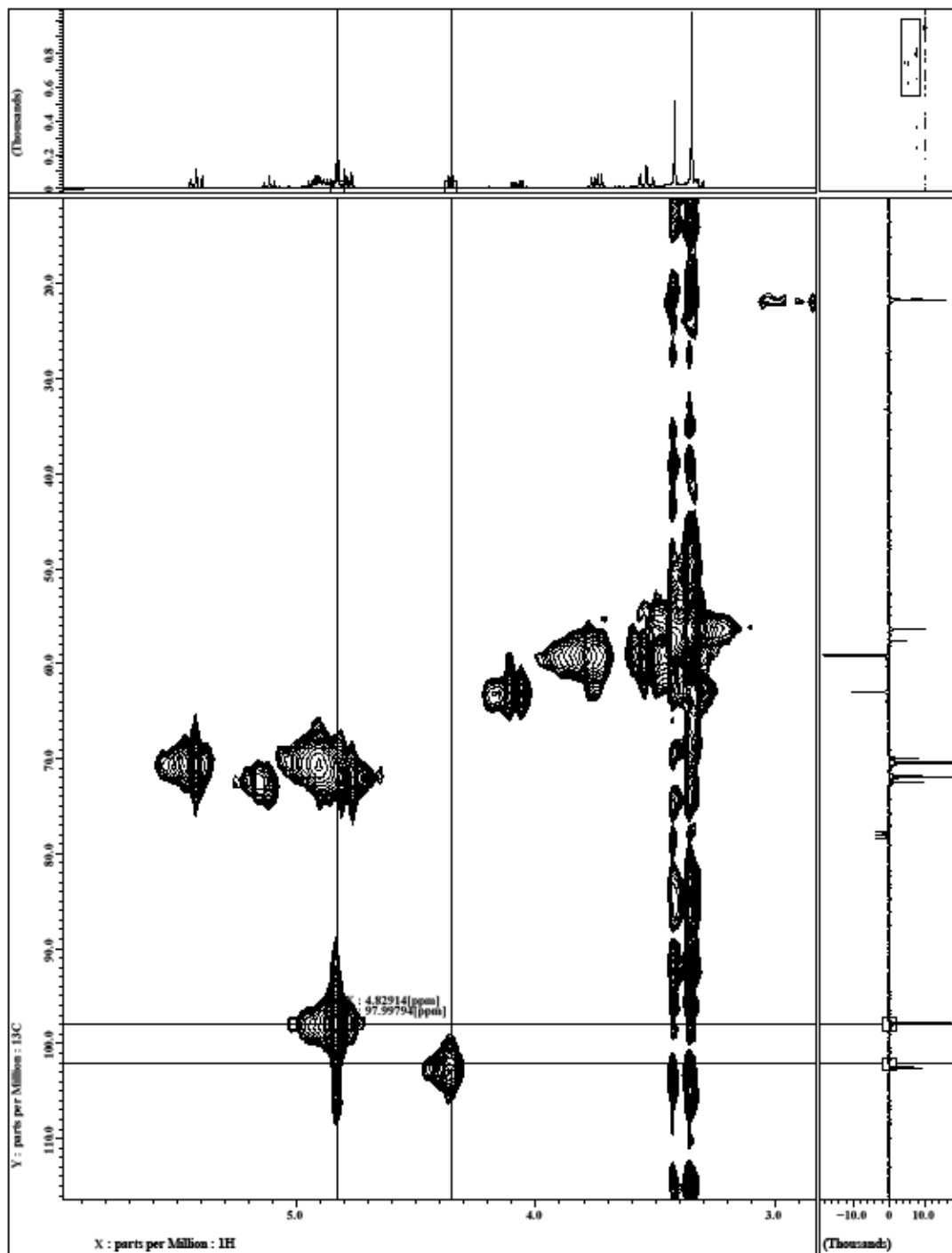
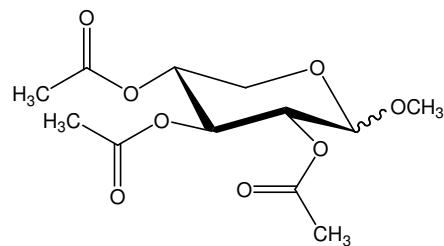
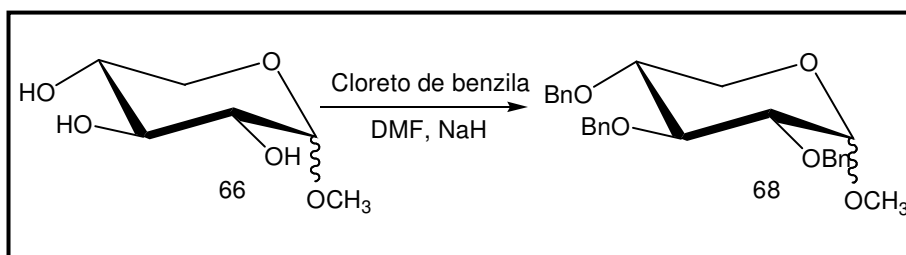


Figura 30. Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) – CDCl_3



Figura 31. Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-acetil-D-xilopiranosídeo (**67**) – CDCl_3

5.1.3. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-xilopiranosídeo (68):



Esquema 35. Síntese da metil-2,3,5-tri-O-benzil-xilopiranosídeo (68).

A próxima reação, objetivando a síntese de aza-açúcar, foi a proteção das hidroxilas livres com grupos benzil. Para isso, a mistura de enantiômeros α e β -metil-D-xilopiranosose (66) foi tratada com cloreto de benzila em presença de hidreto de sódio e DMF, como solvente, obtendo os isômeros α e β -metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (68).

O produto foi caracterizado por RMN ^1H e ^{13}C , podendo ser observado a presença de sinais em 7,34 ppm referentes aos hidrogênios benzílicos e no espectro de RMN ^{13}C os sinais na faixa de 128,0 ppm (CH) e 138 ppm (C), típicos de anel benzênico. (figura 32 e 33, pg. 70 e 71).

Foram também observados no espectro de RMN ^1H os hidrogênios ligados aos CH_2 benzílico, no envelope de sinais entre 4,54 – 4,93 ppm e para RMN ^{13}C os 6 sinais dos CH_2 benzílicos, três para cada anômeros; α e β . Além da manutenção dos sinais metínicos (figura 32 e 34, pg. 70 e 72).

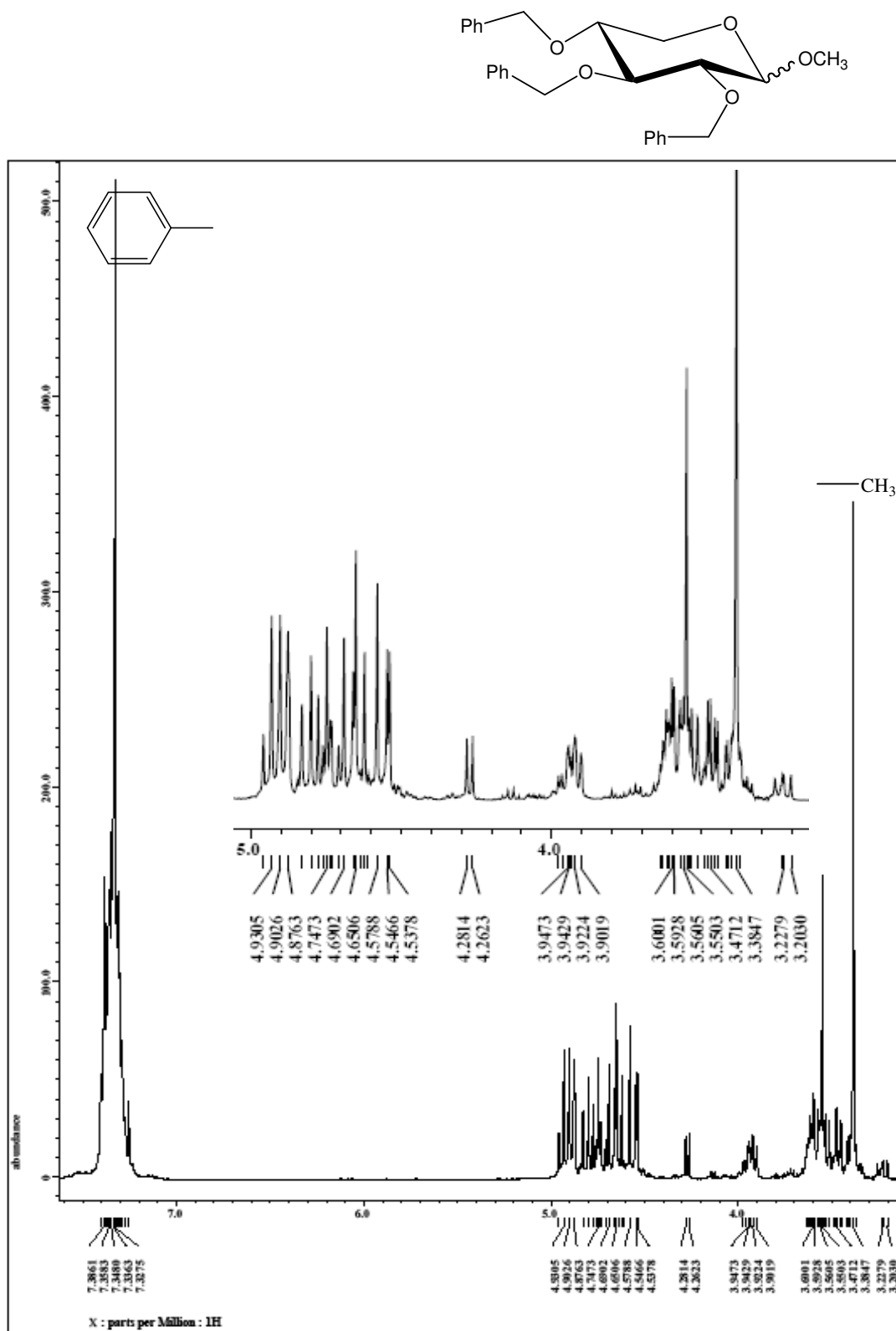


Figura 32. Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl₃

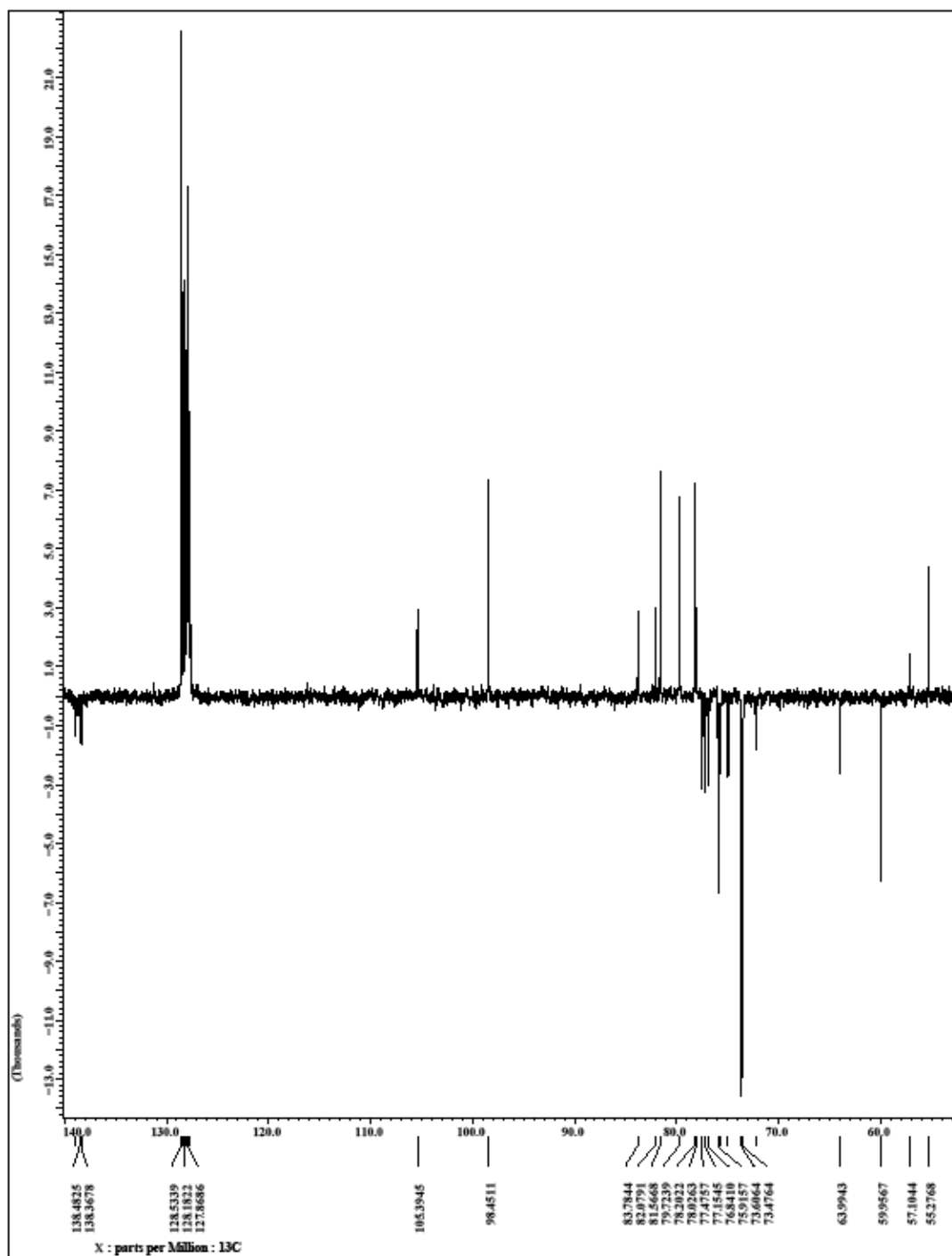
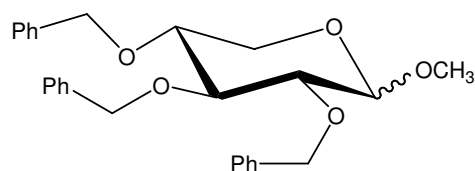


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

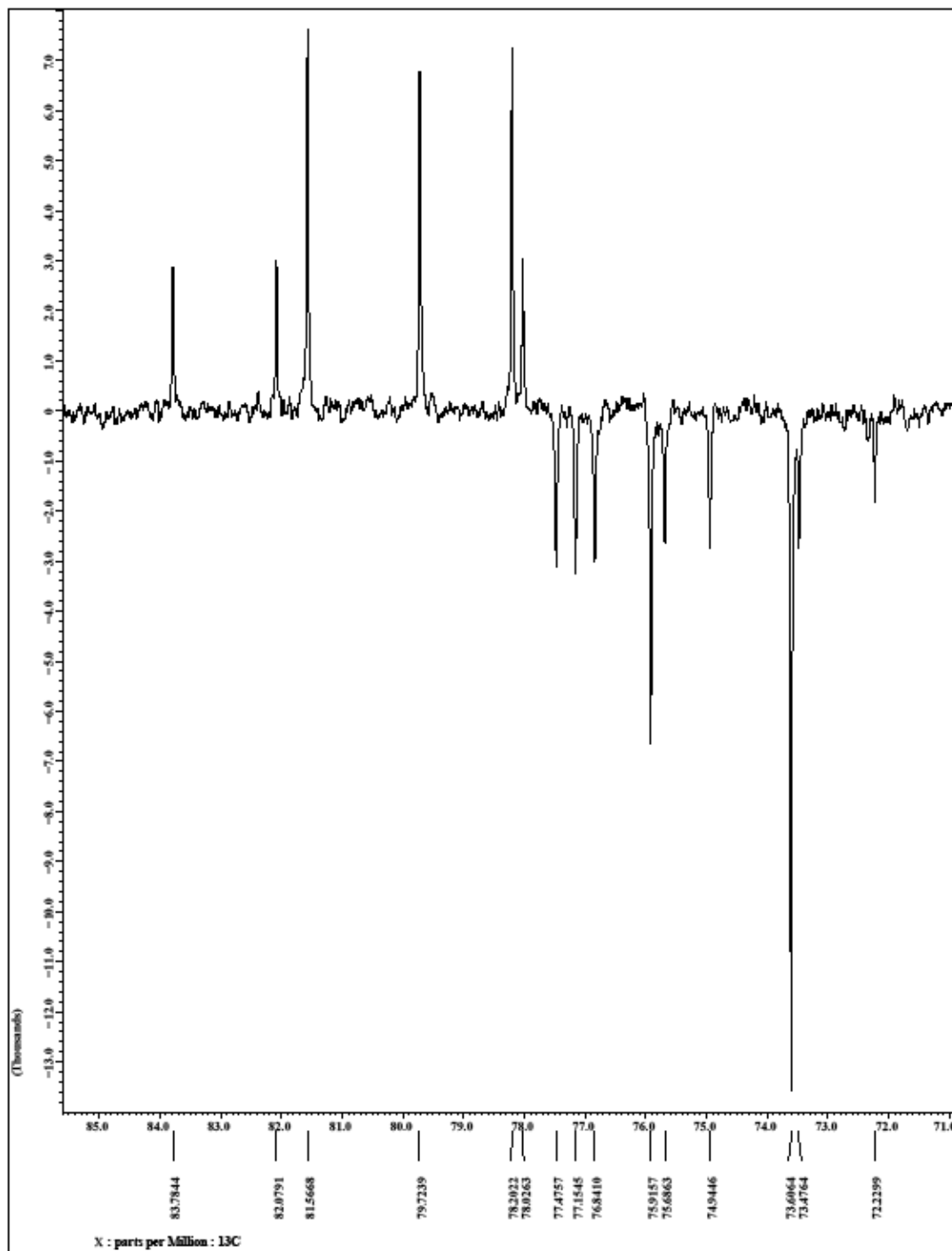
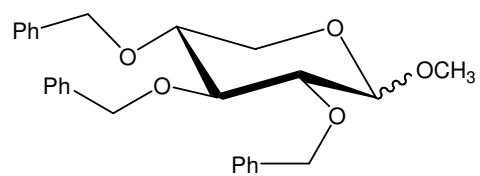
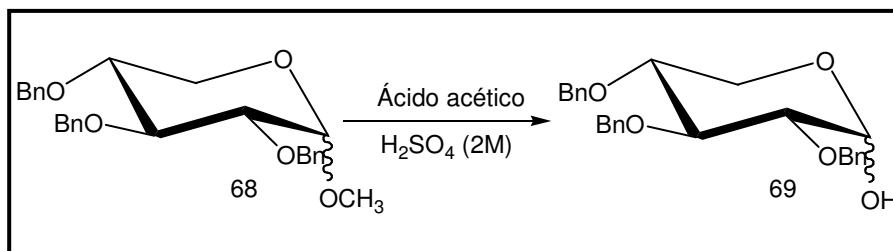


Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) (Expansão entre 71,0 – 81,0 ppm) – CDCl_3

5.1.4. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**):



Esquema 36. Síntese da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**).

Logo em seguida a inserção dos grupos benzílicos, procedeu-se a hidrólise do grupo metílico. Essa reação foi feita em presença de ácido acético e ácido sulfúrico 2M a uma temperatura de 90°C. O produto da hidrólise foi cristalizado em água e recristalizado em éter etílico, obtendo o intermediário 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**) como cristais brancos típicos, que apresentaram ponto de fusão na faixa de 130 -132°C em um rendimento de 15%.

Essa síntese apresentou alguns problemas quanto ao rendimento. Afim de otimizar a reação foram realizadas em condições diferentes, entre elas, a hidrólise em presença de ácido trifluoroacético e também em solução concentrada de ácido clorídrico, seguindo propostas descritas na literatura (Fleet e Smith, 1986). Mas onde obtivemos o melhor resultado foi nas condições citadas acima (**esquema 36**).

O produto dessa reação foi devidamente caracterizado por espectros de infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN de ^1H e ^{13}C), também por técnicas bidimensionais de análise, como; COSY, HMQC e HMBC. Evidenciando a desmetilação de **68**.

Pode ser observado no espectro de I.V. o aparecimento de uma banda larga em 3348 cm^{-1} correspondente a deformação axial da ligação (O-H), caracterizando a hidrólise do grupo metil. Também pode ser verificada absorção em 3061 cm^{-1} (deformação axial $\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$ e em 2924 cm^{-1} (deformação axial assimétrica CH_2) além das absorções características de anel aromático monosubstituídos (deformação angular no plano e fora em 733 e 694 cm^{-1}). As absorções fortes em 1072 e 1019 cm^{-1} podem ser atribuídas à deformação axial simétrica C-O-C da função éter ou deformação axial assimétrica C-O da função alcoólica.

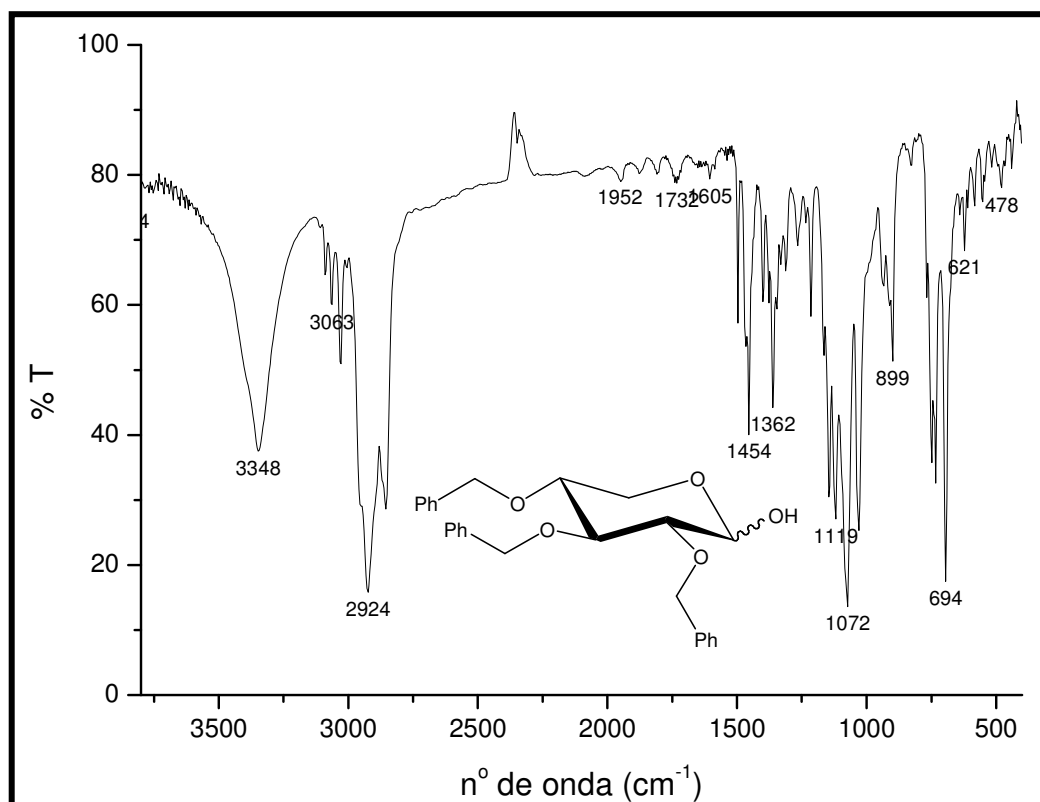


Figura 35. Espectro de Infravermelho do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**).

A principal evidência para desmetilação no espectro de ressonância (RMN de ^1H e ^{13}C) é o desaparecimento do sinal da metila. Os sinais referentes ao açúcar e aos grupos benzílicos são mantidos, podendo ressaltar no RMN ^1H o envelope de sinais entre δ 3,34 – 3,92 ppm dos hidrogênios do açúcar e o envelope em δ 4,63 – 4,90 ppm dos CH_2 benzílicos. Nesse espectro os padrões de acoplamento não são evidentes, devido à quantidade de sinais acoplados na mesma região, provocados pela mistura dos anômeros α e β . O único sinal destacado é o dubleto em δ 5,12 ppm ($J = 2,9$) do hidrogênio ligado ao carbono anomérico para forma α , o outro hidrogênio anomérico fica dentro de envelope de sinais do CH_2 benzílicos em aproximadamente δ 4,62 ppm, essa atribuição foi obtida pelo espectro bidimensional HMQC, onde pode ser observado a correlação do C1 em δ 98.93 ppm, com o H1 δ 4,62 ppm) (**figuras 37, 38, 40 e 41; pg. 77, 78, 80 e 81**).

Os sinais esperados em RMN ^{13}C foram observados em pares, devido a mistura do enantiômeros α e β . Entre eles, oitos sinais de CH e dois de CH_2 do açúcar e seis sinais de CH_2 das benzilas (**figura 39, pg. 79**).

As correlações entre o carbono C1 e o hidrogênio C5 continuam sendo observadas. Essas evidenciam a formação do anel piranosídico e foram observadas pelo espectro bidimensional HMBC (**figura 42, pg. 82**).

Os demais sinais estão resumidos nas tabelas abaixo, onde pode ser observado todas as correlações possíveis entre carbono e hidrogênio a uma, duas e três ligações ($^1J_{\text{CH}}$, $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$), caracterizando absolutamente a formação do intermediário **69** como uma mistura de isômeros α e β (**tabela 5**).

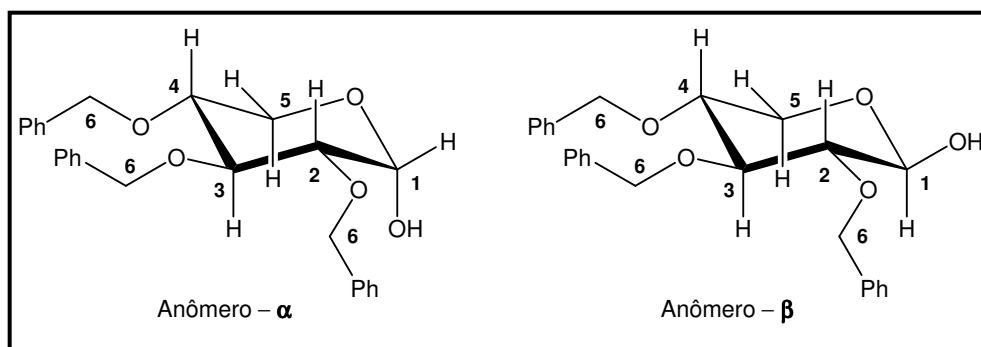


Figura 36. Anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (69).

Tabela 5. Deslocamento químico dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (69):

	δ_H	HMQC δ_C	HMBC $^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
β 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo				
CH				
1	4,62 (m)	98,93	-	H-3
2	3,34 (m)	83,57	-	-
3	3,62 (m)	84,43	H-2	-
4	3,64 (m)	78,75	H-5	-
CH₂				
5	3,28 (m) e 3,92 (m)	61,47	-	H-1
6	4,63 – 4,90	74,37 – 76,67	H-7	-
C_{aromáticos}				
CH	7,34 (m)	129,16 – 129,53	H-6	-
CH ₀	-	138,99 – 139,81	-	-
α 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo				
CH				
1	5,12 (d, J = 2,9)	92,58	-	H-3
2	3,54 (m)	80,65	-	-
3	3,92 (m)	81,66	H-4	H-1
4	3,64 (m)	78,75	H-5	-
CH₂				
5	3,66 (m) e 3,82 (m)	61,54	-	H-1
6	4,63 – 4,90	74,37 – 76,67	H-7	-
C_{aromáticos}				
CH	7,34 (m)	129,16 – 129,53	H-6	-
CH ₀	-	138,99 – 139,81	-	-

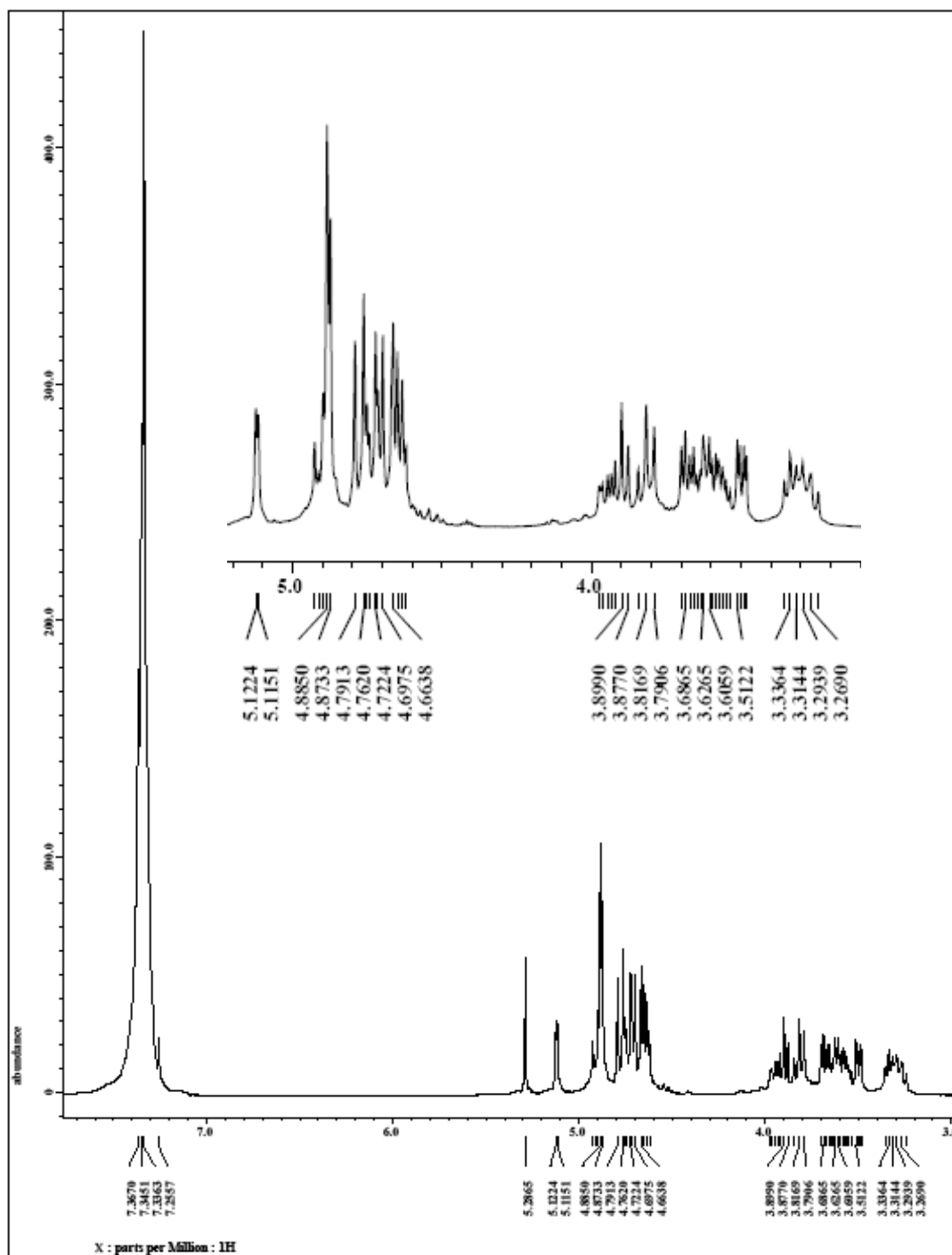
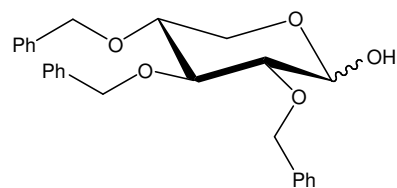


Figura 37. Espectro de RMN ^1H da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

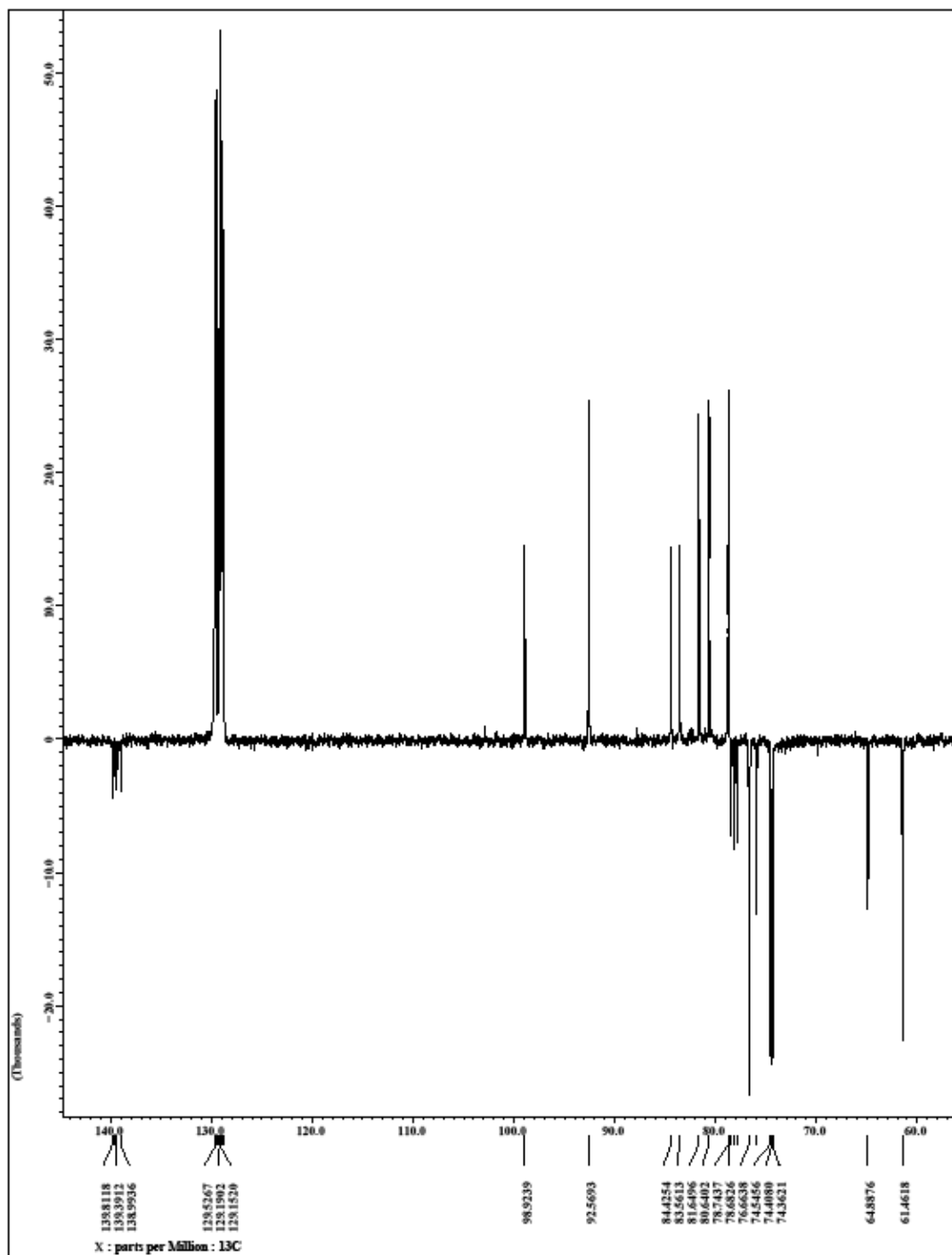
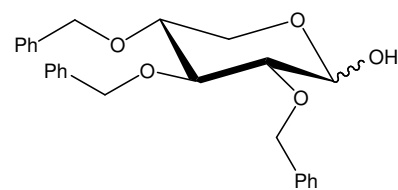


Figura 38. Espectro de RMN C^{13} (APT) da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – $CDCl_3$

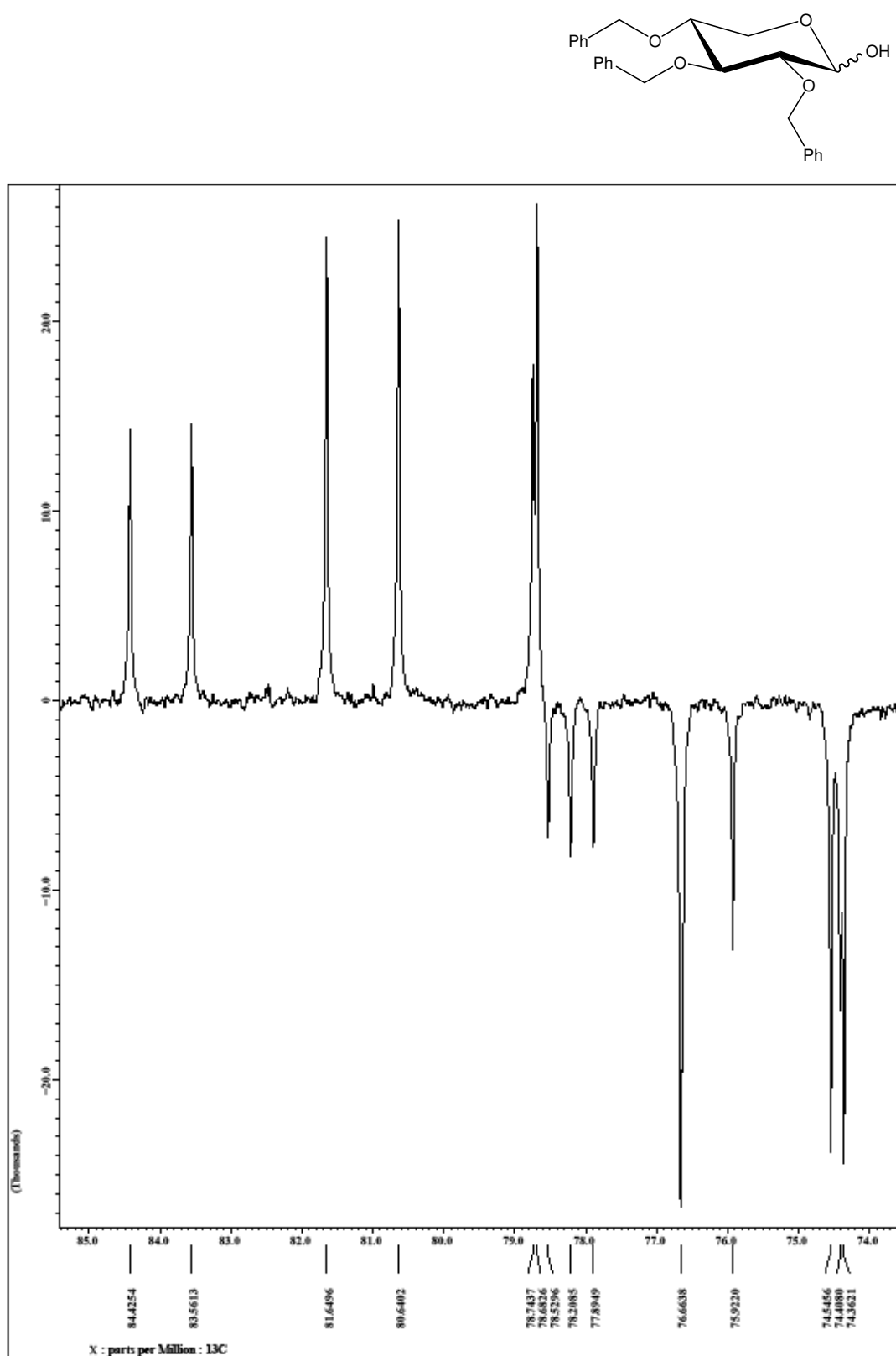


Figura 39. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) (expansão entre 74,0 – 85,0 ppm) – CDCl_3

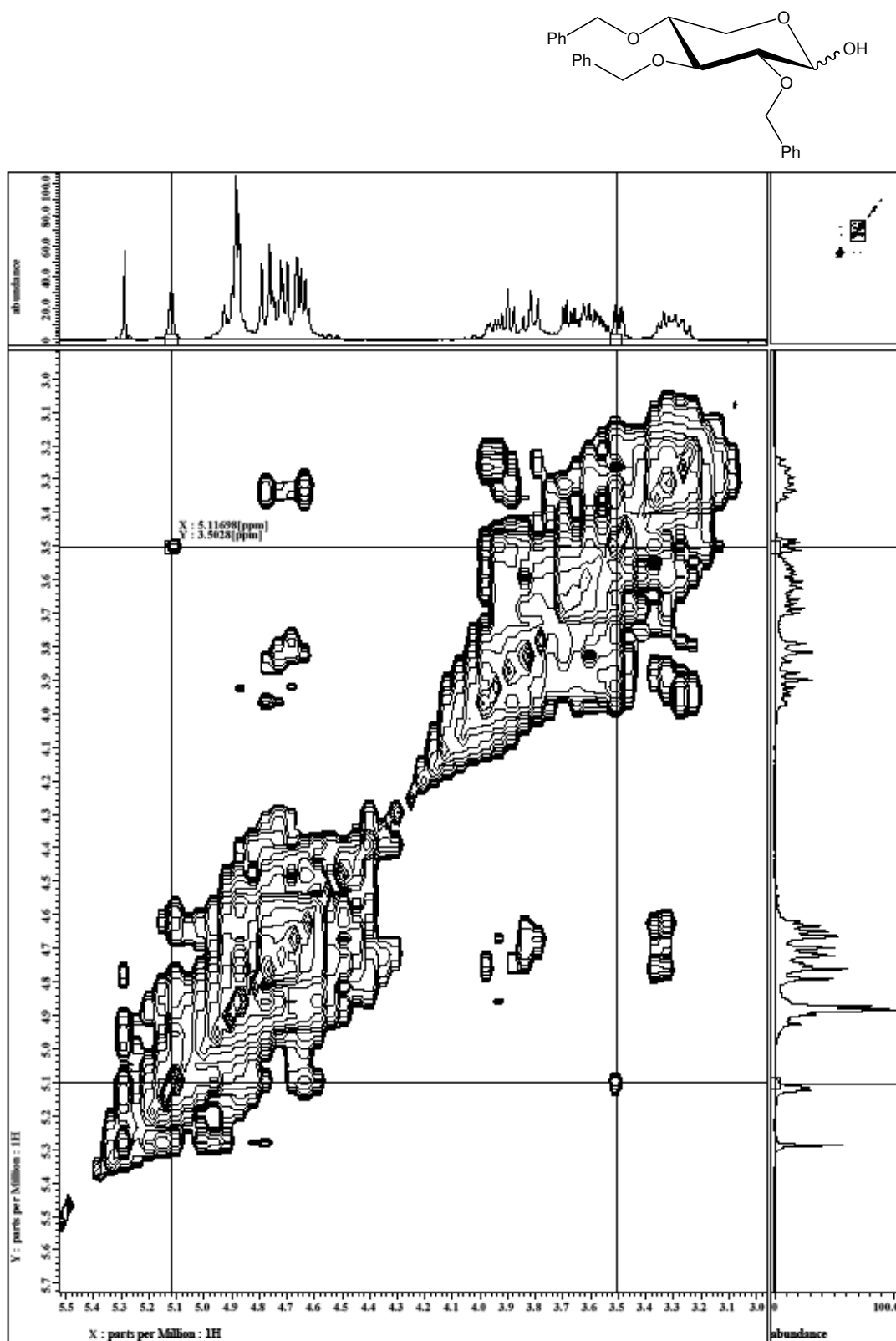


Figura 40. Espectro de RMN COSY da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

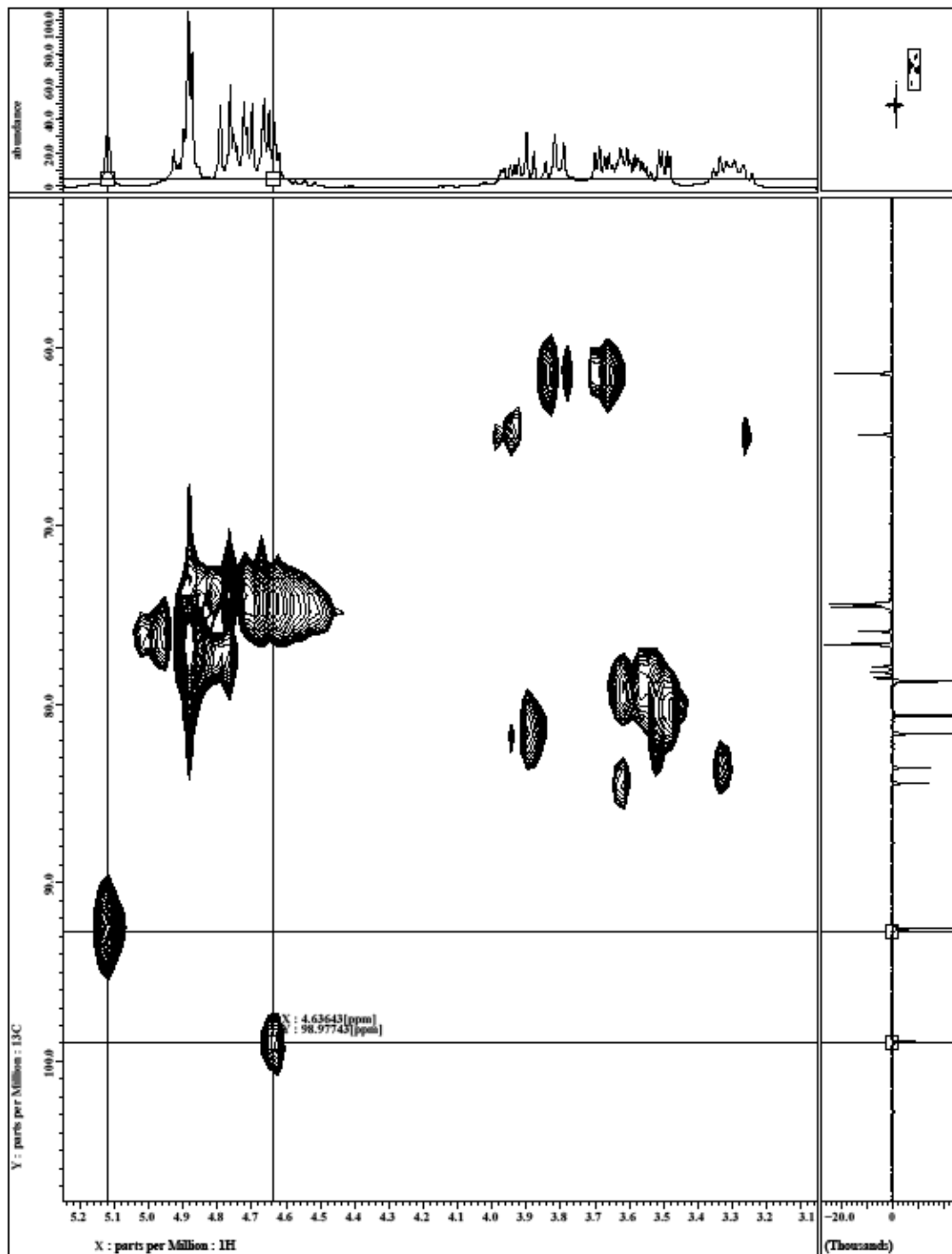
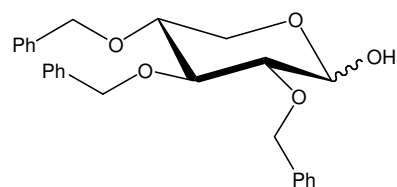


Figura 41. Espectro de RMN HMQC da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

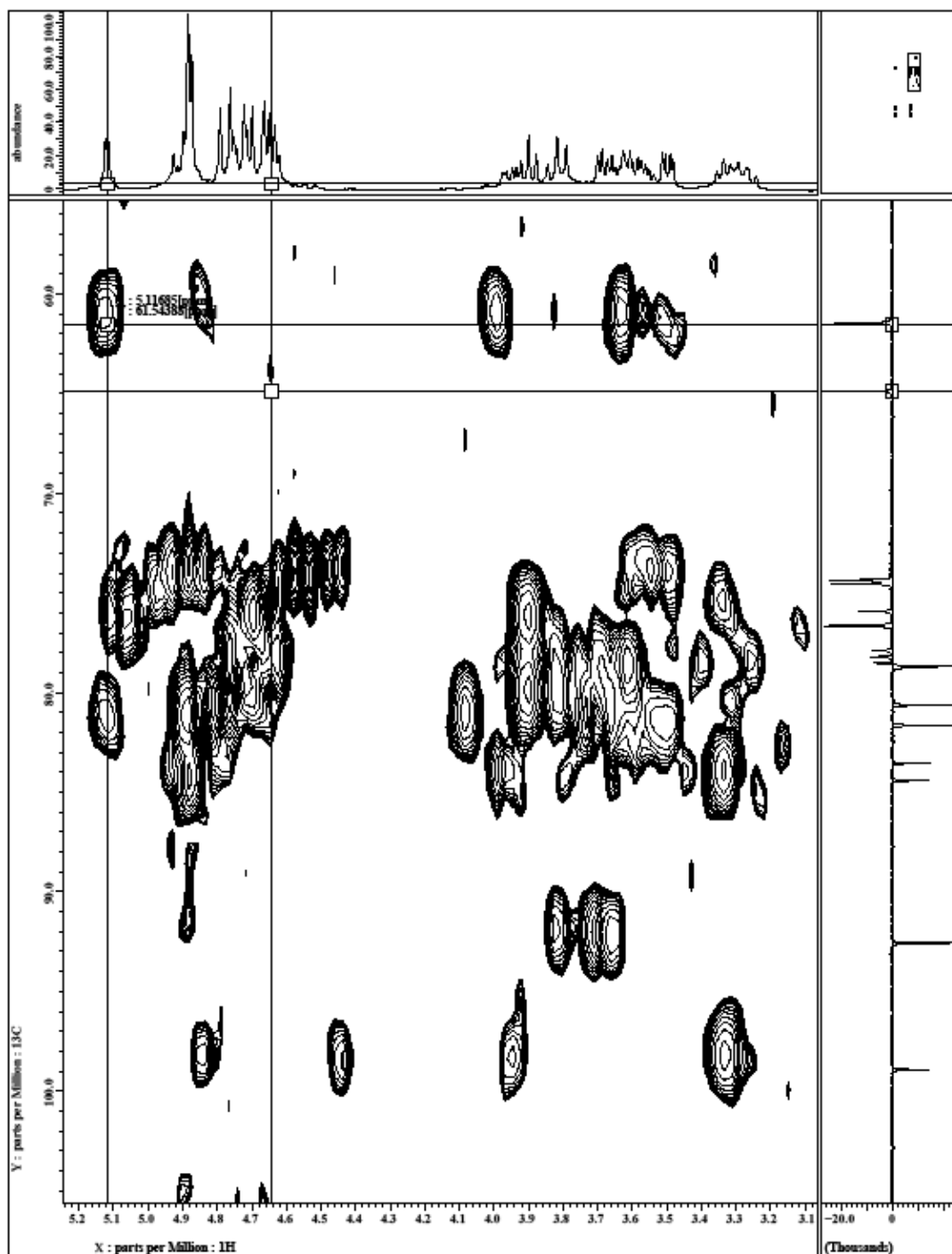
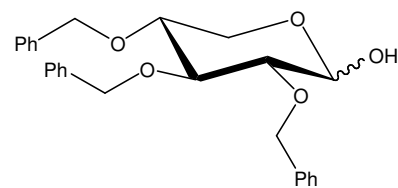
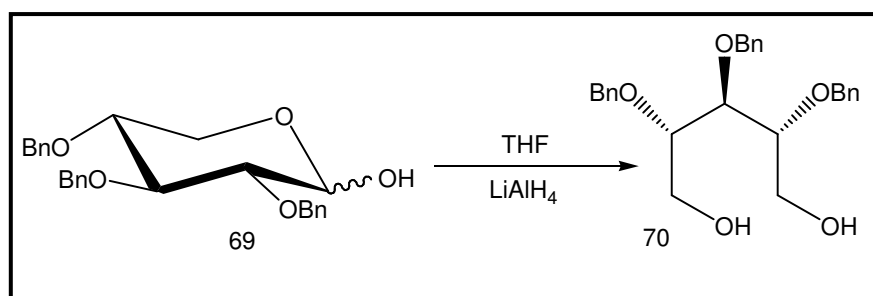


Figura 42. Espectro de RMN HMBC da mistura dos anômeros α e β da 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

5.1.5. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (70):



Esquema 37. Síntese do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (70).

A substância 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**69**) foi submetido a uma reação de redução com excesso de hidreto de lítio alumínio, utilizando como solvente o THF anidro. O produto 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (**70**), foi obtido com um rendimento de 80%.

Pode ser observado no espectro de I.V. a intensificação da banda larga em 3433 cm^{-1} , em relação ao produto da hidrólise **69**. Essa banda é referente à deformação axial das duas ligações (O-H) do diol **70**.

Também é verificado a banda em 2924 cm^{-1} dos CH_2 benzílico e a manutenção das bandas em 694 e 733 cm^{-1} , características do anel aromático monosubstituído (deformação angular no plano e fora do plano de ligações C-H).

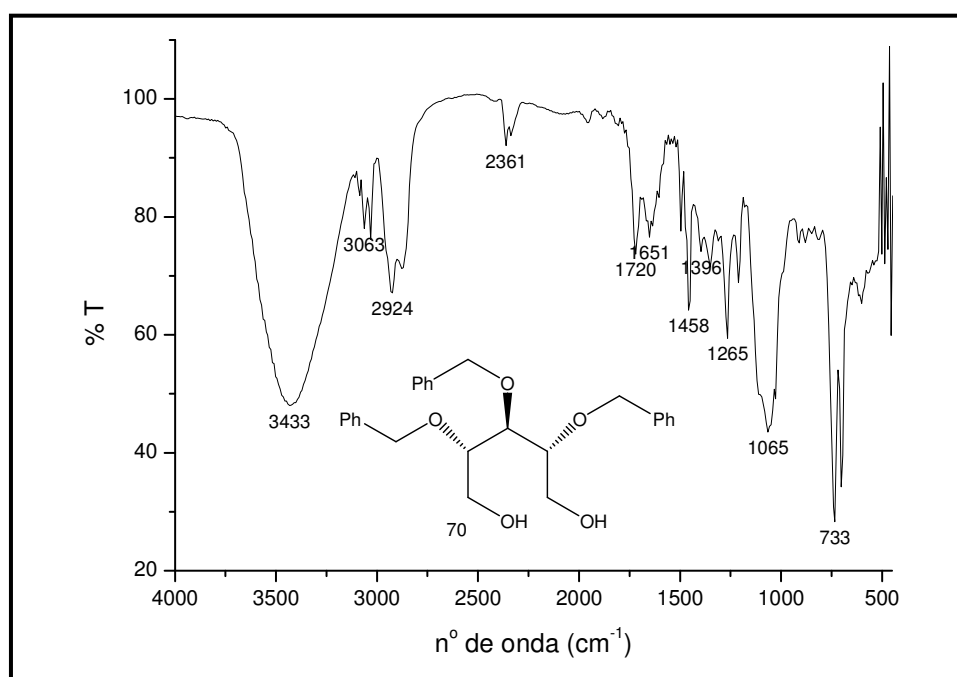


Figura 43. Espectro de Infravermelho do 2,3,5-tri-O-benzil-D-xilitol (70).

A principal característica dessa reação é a formação de um composto, onde os sinais de RMN são simplificados. Esse fenômeno deve-se a perda da posição anomérica, evidenciado pelo desaparecimento do sinal duplo correspondente ao hidrogênio ligado ao carbono anomérico e principalmente pela geração de um composto com plano de simetria, com isso os hidrogênios simétricos aparecem com o mesmo deslocamento químico.

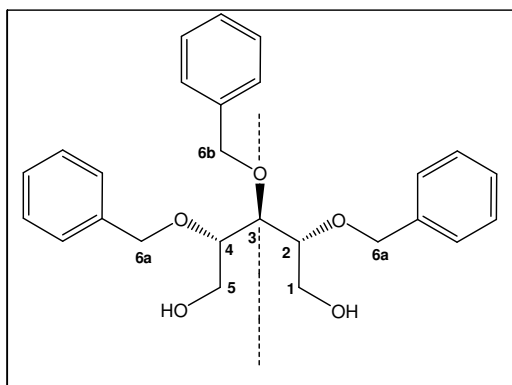


Figura 44. Plano de simetria do xilitol **70**.

Para os hidrogênios do CH₂ benzílicos, um singlete em δ 4,64 ppm referente aos quatro hidrogênios 6a e outro singlete em δ 4,71 ppm dos dois hidrogênios 6b (**figura 46 e 49, pg. 86 e 89**). No espectro de RMN ¹³C o efeito do plano de simetria é o mesmo, encontramos apenas um sinal em δ 62,22 ppm referente aos carbonos C1 e C5 (CH₂), e um sinal dos carbonos C2 e C4 em δ 79,70 ppm (CH) (**figuras 47 a 49, pg. 87 a 89**).

As demais atribuições estão resumidas na tabela abaixo e foram feitas através da análise do mapa de correlação heteronuclear HMQC e HMBC, caracterizando absolutamente a formação da substância **70 (tabela 6)**.

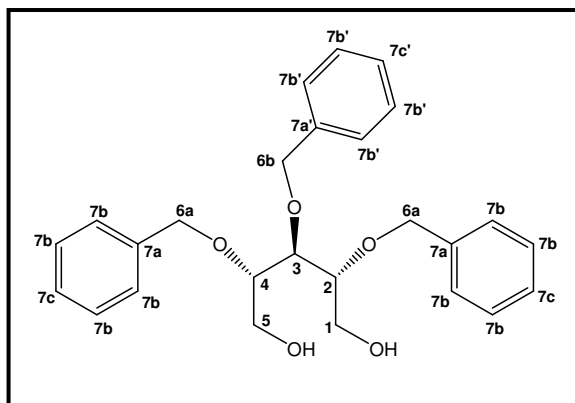


Figura 45. 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (70).

Tabela 6. Deslocamento químico do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (70):

	δ_c	HMQC	δ_H	$^2J_{CH}$	HMBC	$^3J_{CH}$
CH						
2	79,7		3,70 (m)	-	H-6 ^a	
3	80,0		3,80 (m)	-	H-6b	
4	79,7		3,70 (m)	-	H-6 ^a	
CH₂						
1	62,22		3,63 (dd. 4,7 e 11,7)	-	H-3	
5	62,22		3,80 (dd. 5,3 e 10,6)	-	-	
6 ^a	73,50		4,64 (s)	-	-	
6b	75,20		4,71 (s)	-	H-3	
C_{aromático}						
7a	138,60		7,26 – 7,33 (m)	-	-	
7a'	138,53		7,26 – 7,33 (m)	-	-	
7b	129,17		7,26 – 7,33 (m)	-	-	
7b'	129,13		7,26 – 7,33 (m)	-	-	
7c	128,70		7,26 – 7,33 (m)	-	-	
7c'	128,59		7,26 – 7,33 (m)	-	-	

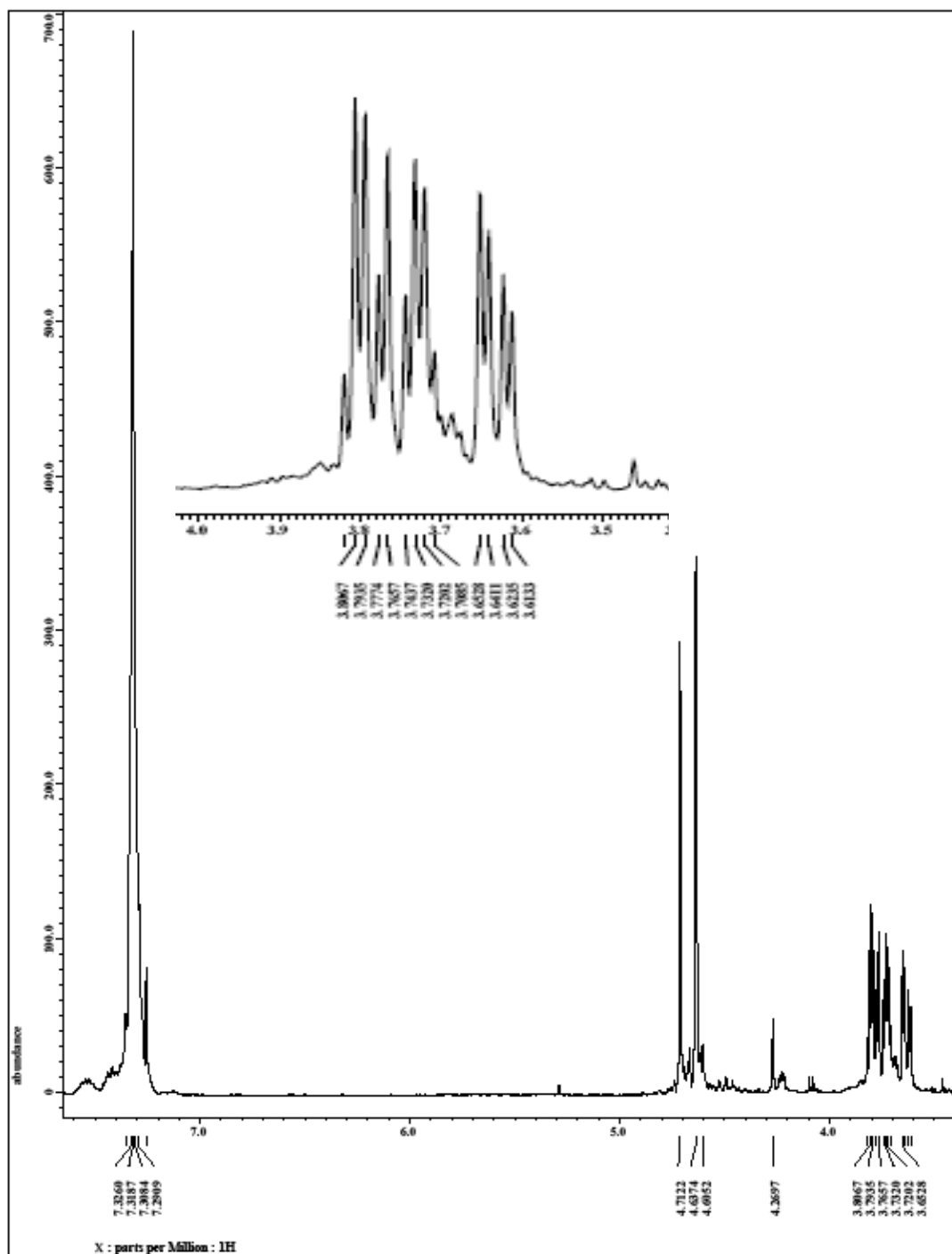
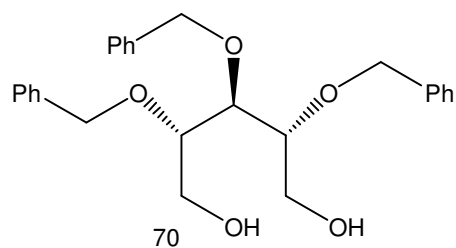


Figura 46. Espectro de RMN ^1H da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (**70**) – CDCl_3

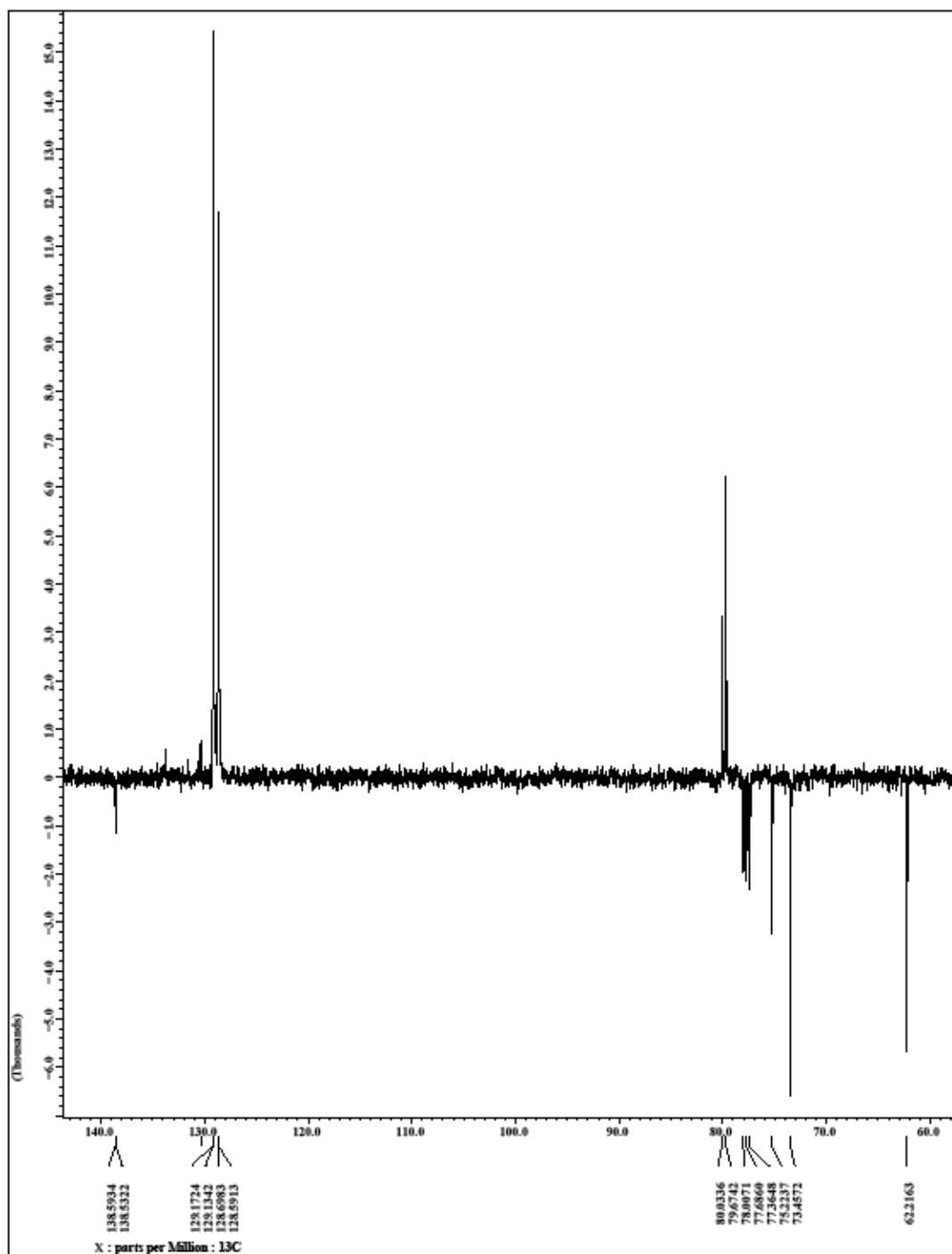
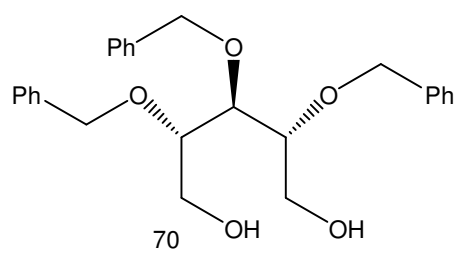


Figura 47. Espectro de RMN ^{13}C (APT) da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (**70**) – CDCl_3

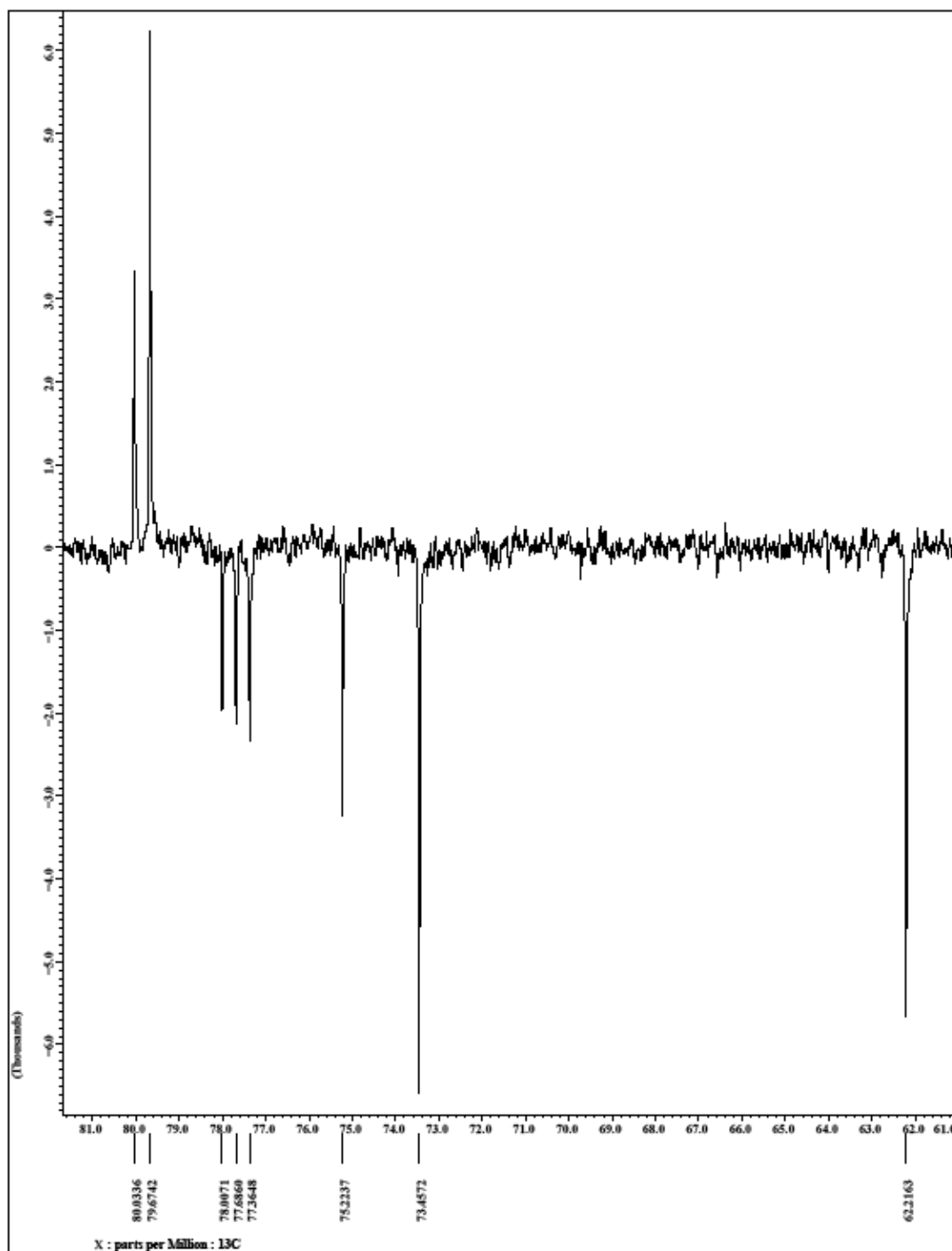
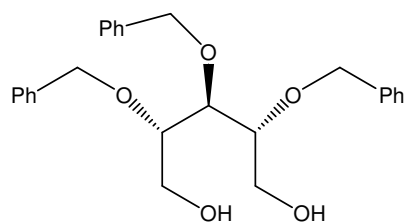


Figura 48. Espectro de RMN ¹³C (APT) da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (**70**) (expansão entre 61,0 – 81,0 ppm) – CDCl₃

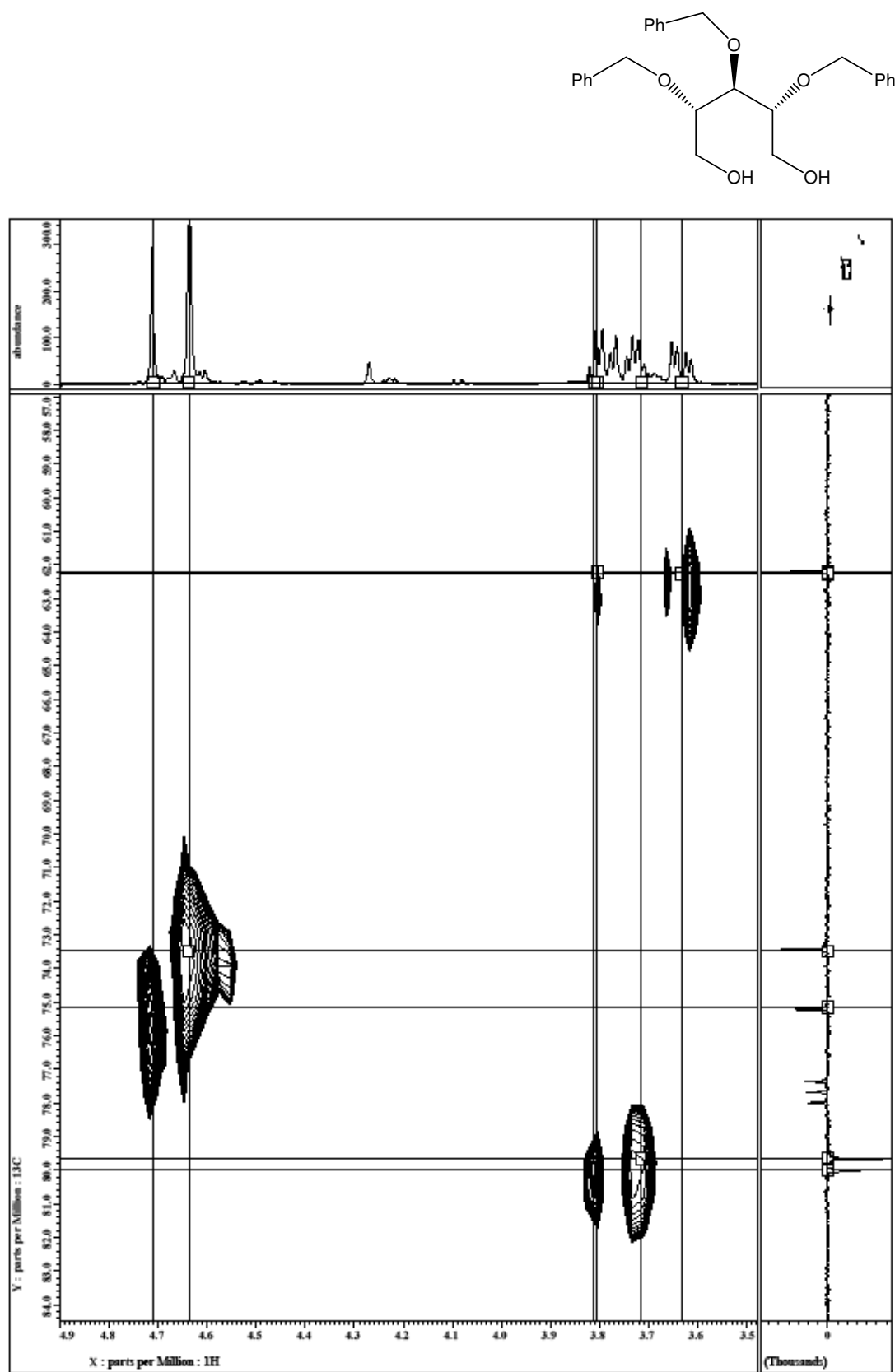


Figura 49. Espectro de RMN HMQC da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (70) – CDCl_3

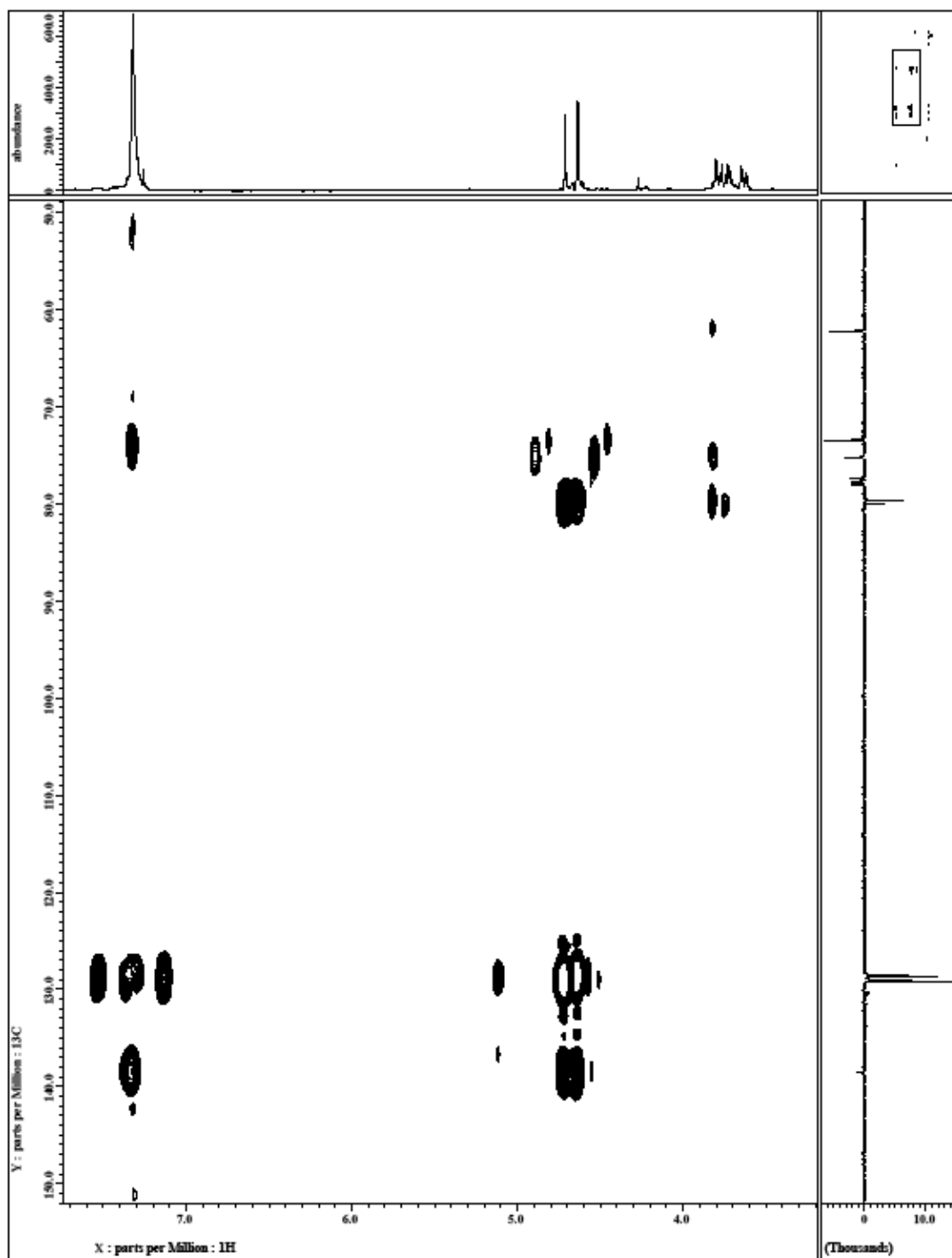
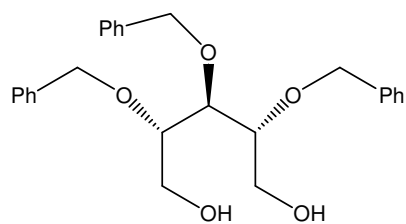
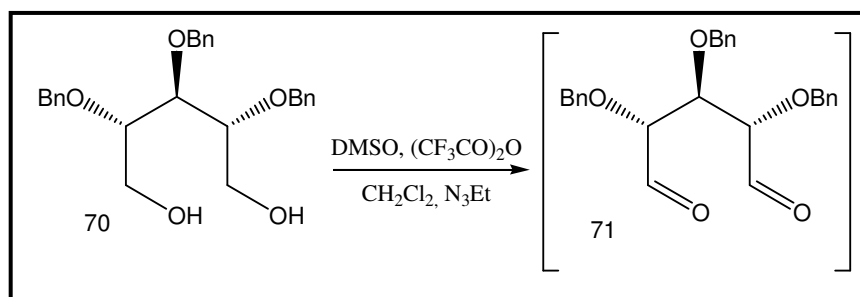


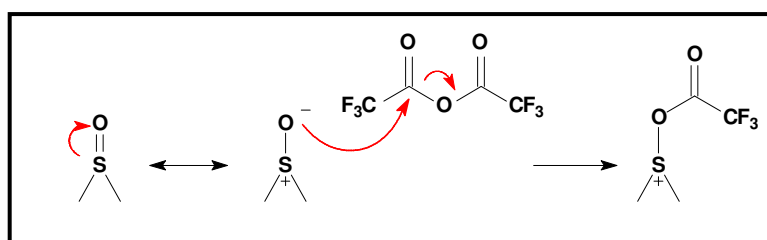
Figura 50. Espectro de RMN HMBC da mistura do 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol (70) – CDCl₃

5.1.6. Oxidação de Swern do xilitol (70):



Esquema 38. Oxidação de Swern do xilitol (70).

O xilitol (70) foi submetido a uma reação de oxidação de Swern em presença de DMSO ativado com anidrido trifluoracético, nas condições descritas por Matos e colaboradores em 1999. A reação de ativação do DMSO gera um excelente grupo de saída sulfurado, como é representado no **esquema 39**.

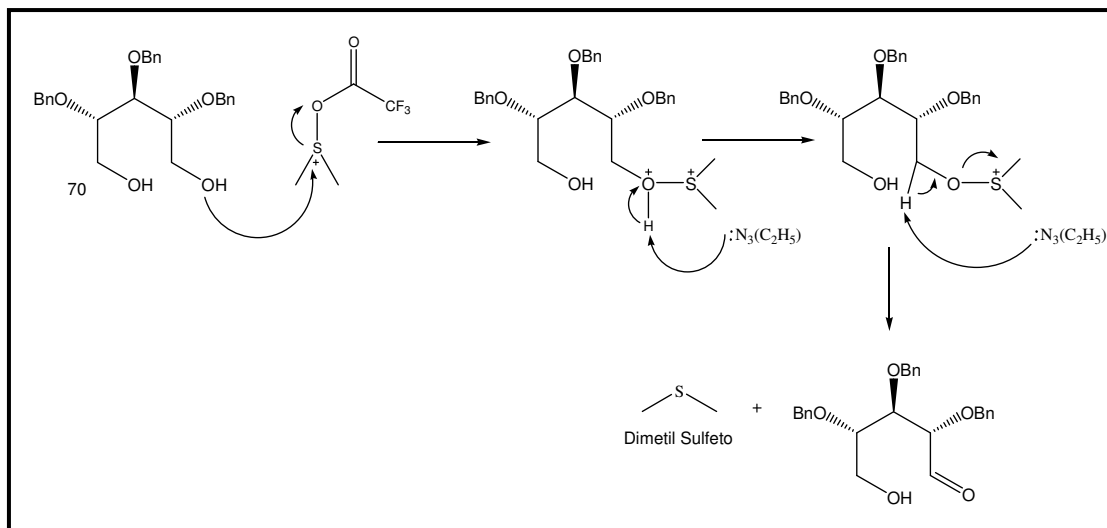


Esquema 39. Proposta de mecanismo para ativação do DMSO com anidrido trifluoracético.

A reação foi realizada a uma temperatura de -78°C (banho de N_2) e acetato de etila e após ser ativado a mistura DMSO e $(\text{CF}_3\text{CO})_2$ (**esquema 39**) reagimos com o produto da oxidação de Swern **71** utilizando diclometano como solvente. A reação foi finalizada pela adição de trietilamina.

O intermediário dicarbonilado **71** após ser obtido é extremamente instável, tendendo a reações de condensação aldólica intramolecular. Por esse motivo não foi purificado, apenas evaporado o solvente e encaminhado a próxima reação.

Através da proposta de mecanismo demonstrado no esquema abaixo há liberação de dimetil-sulfeto como subproduto de reação. Esse produto sulfurado tem um odor característico, o que foi observado durante a síntese (**esquema 40**).



Esquema 40. Proposta de mecanismo para oxidação de Swern no glucitol (**70**).

Como foi descrito na etapa acima o intermediário **71**, foi prontamente submetida à reação com o nucleófilo, N-butilamina, seguindo ainda a proposta sintética feita por Matos e colaboradores. (Matos *et al*, 1999)

O produto da reação descrita no **esquema 38** (pag. 91) foi prontamente posto em reação com n-butilamina em presença do redutor NaBH₃CN e ácido fórmico, utilizando como solvente metanol. Essa reação foi feita sob atmosfera de argônio e utilizando no meio, peneira molecular, para que a água produzida seja absorvida e a reação se desloque no sentido de formação do aza-açúcar.

Pela análise de RMN ¹H do produto formado não foi evidenciado a formação do aza-açúcar objetivado, mas também não é observado a recuperação de produto de partida, xilitol (**70**), nem o 2,3,5-tri-O-benzil-xilopiranosídeo (**69**) (pg. 74) e nem produtos possíveis de condensação aldólica intramolecular.

No entanto os sinais encontrados no espectro de RMN ¹H, remetem ao isômero α do açúcar; 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**) (pg. 70). As principais evidências são os sinais em 3,36 ppm referente a metila, o dubleto do hidrogênio ligado ao carbono anomérico em 4,52 ppm (*J* = 3,5), com uma constante de acoplamento compatível com a forma α. Os restantes dos sinais

equivalem ao açúcar **68** (figura 52, pg. 94). Para o espectro de RMN ^{13}C o principal sinal é da metila em 29,70 ppm (figura 55, pg. 97).

Os valores de integração também são condizentes com o açúcar 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil-D-xilopiranosídeo (**68**). Estes dados estão disponíveis na tabela (7) abaixo.

Tabela 7. Deslocamento químico e integração de H^1 da substância **68**:

Hidrogênios	δ_{H}	Integração
1	4,52 (d. 3,5)	1
2, 3, 4 e 5	3,42-3,59 (m)	4
5	3,89 (dd. 8,2 e 9,4)	1
6	4,49-4,93 (m)	6
7	3,36 (s)	3
Aromáticos	7,26-7,32	15

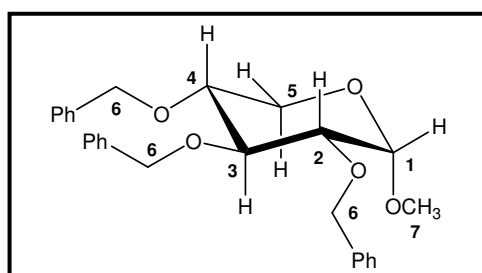
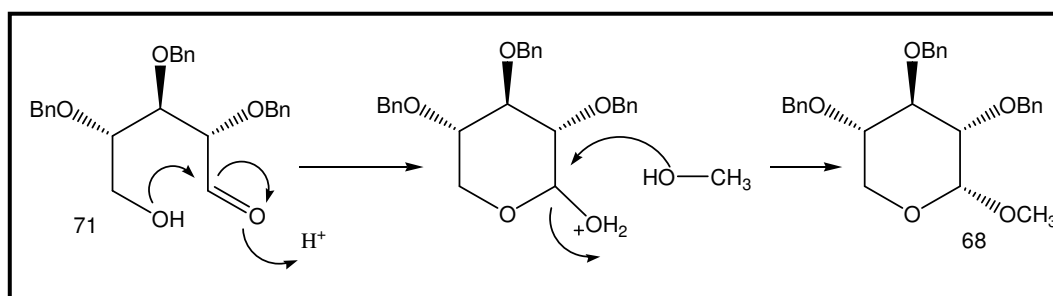


Figura 51 - 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (**68**)

Considerando a formação da carbonila em apenas um lado da molécula, podemos justificar a obtenção de **68**, pela adição intramolecular a carbonila, seguido de adição do metanol, seguido de uma desidratação, formando apenas o isômero α de **68** (mecanismo 3).



Esquema 41. Proposta de mecanismo para adição intramolecular a carbonila, seguido de desidratação.

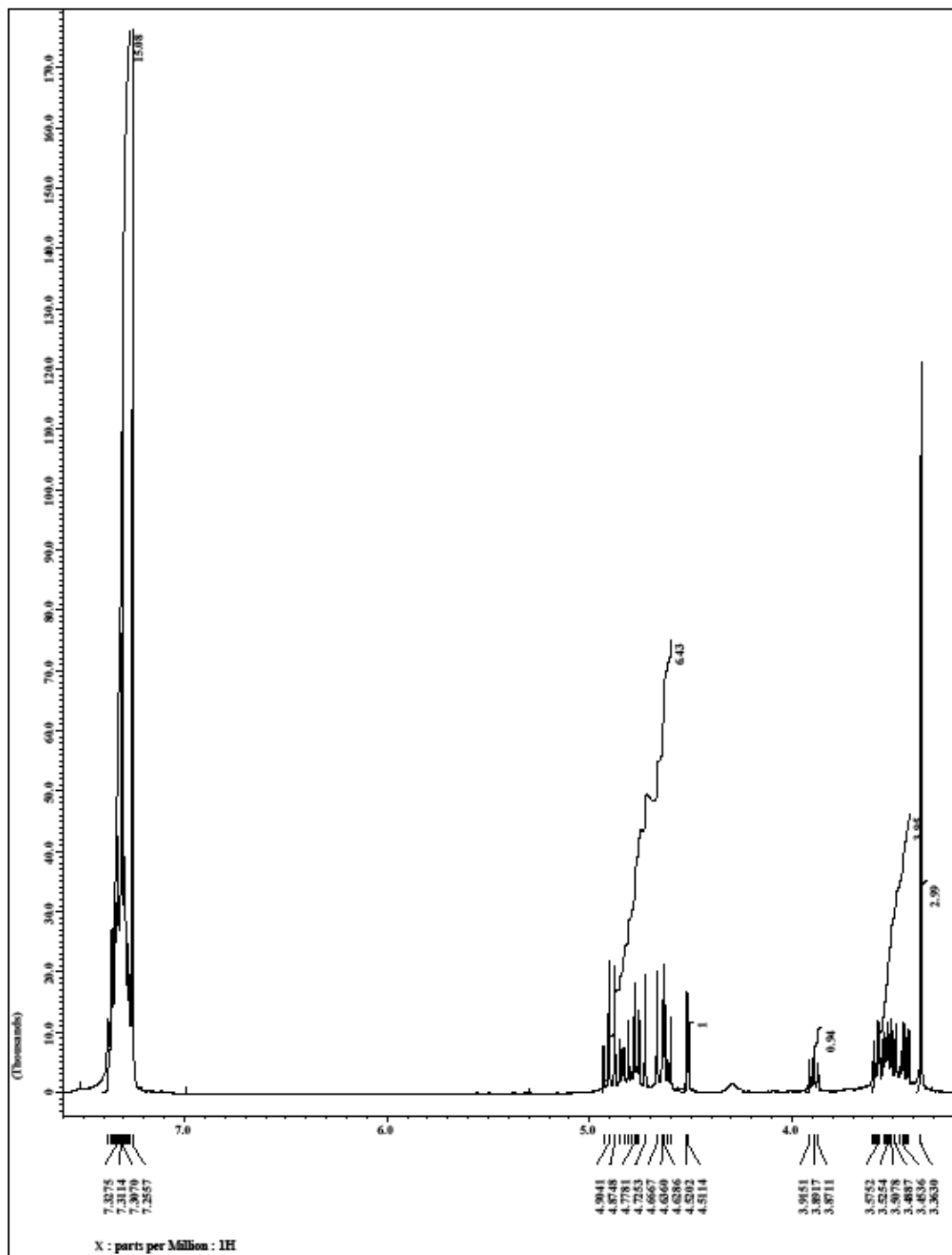
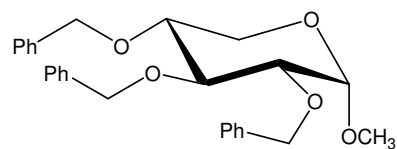


Figura 52. Espectro de RMN ^1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

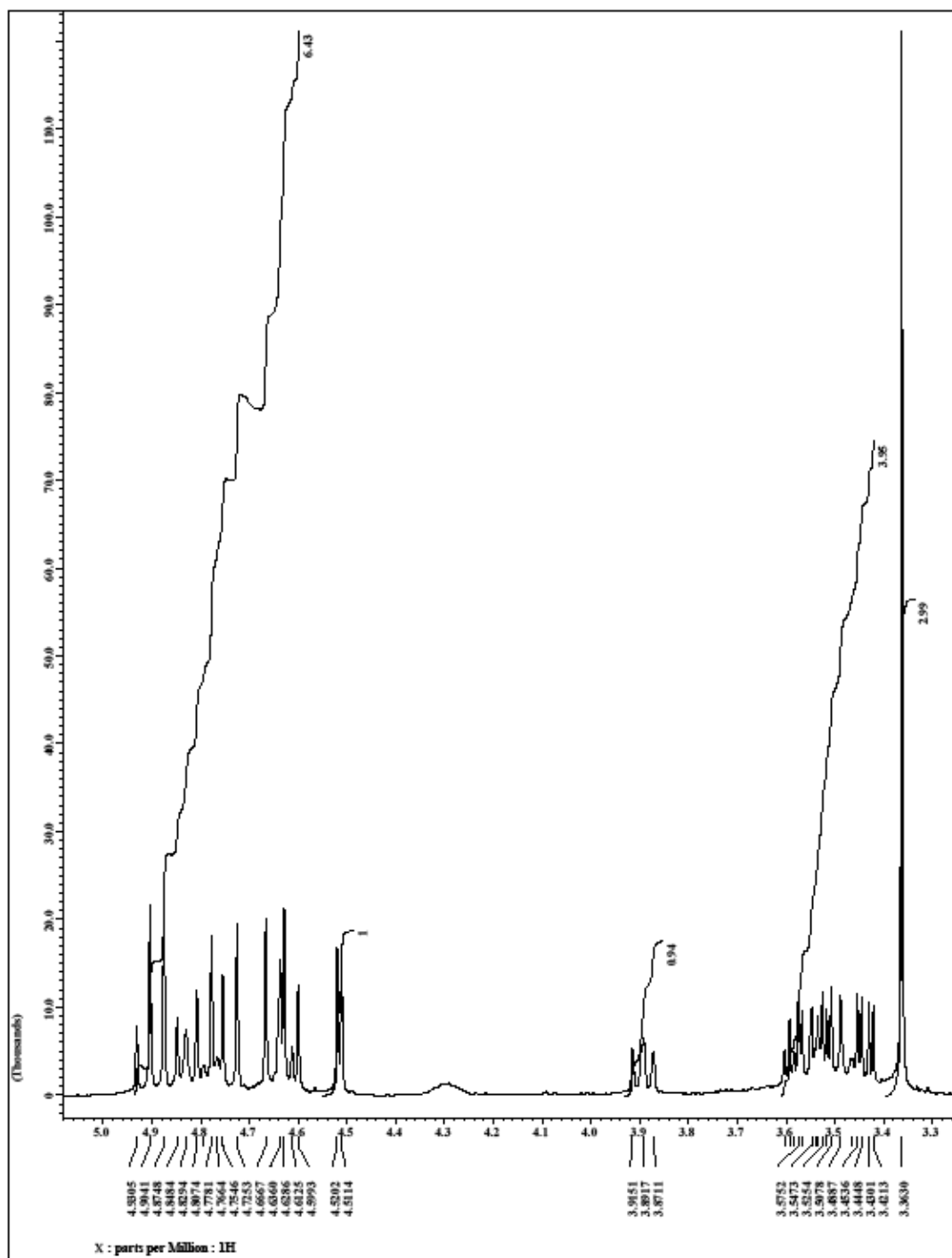
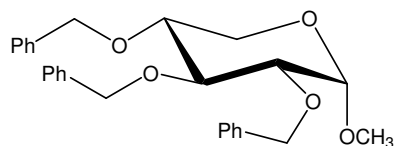


Figura 53. Espectro de RMN ^1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (**68**) (expansão entre 3,3 – 5,0 ppm) – CDCl_3

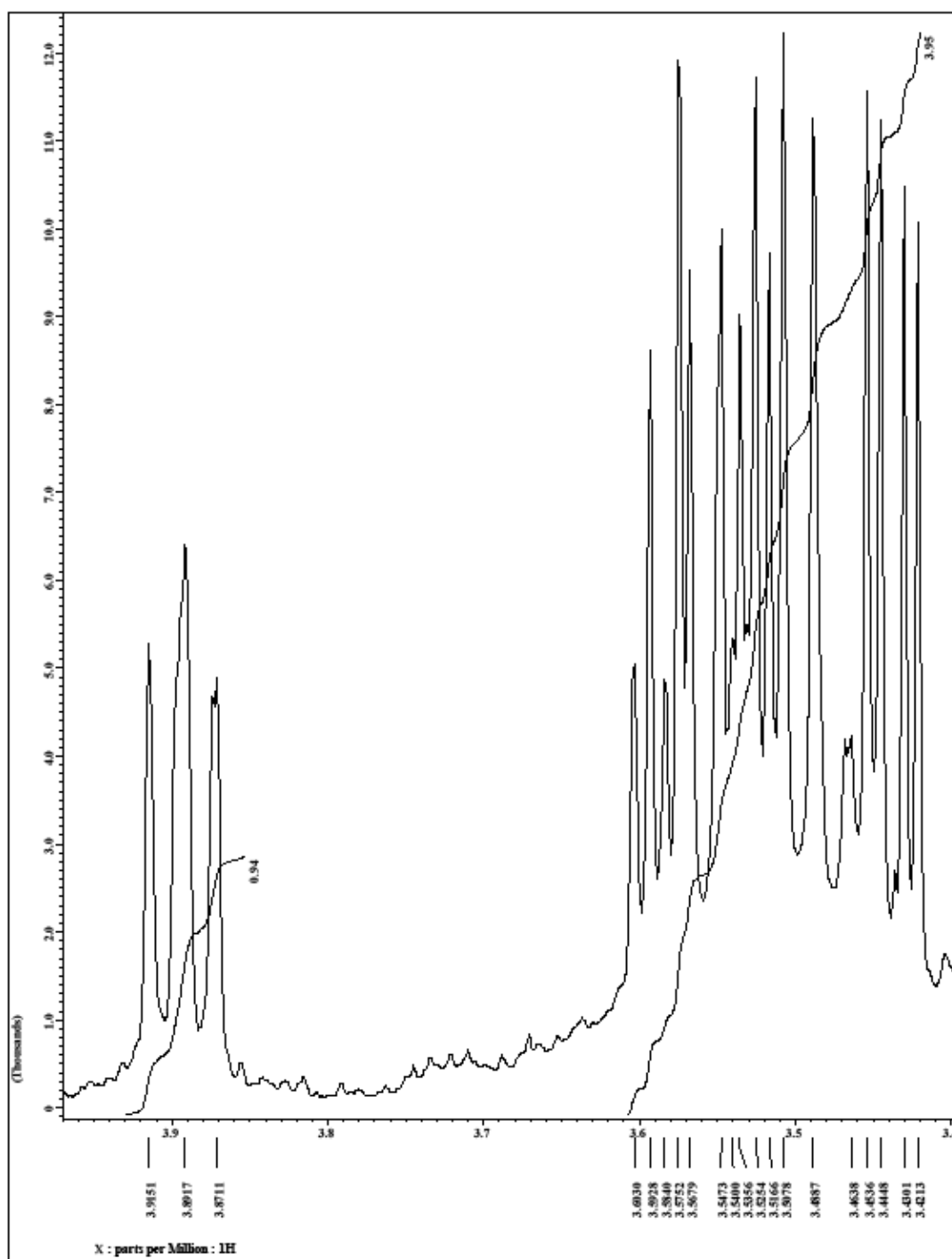
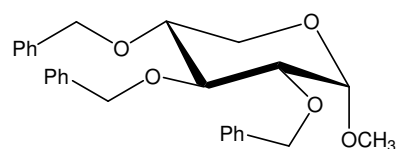


Figura 54. Espectro de RMN ^1H da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (**68**) (expansão entre 3,4 – 4,0 ppm) – CDCl_3

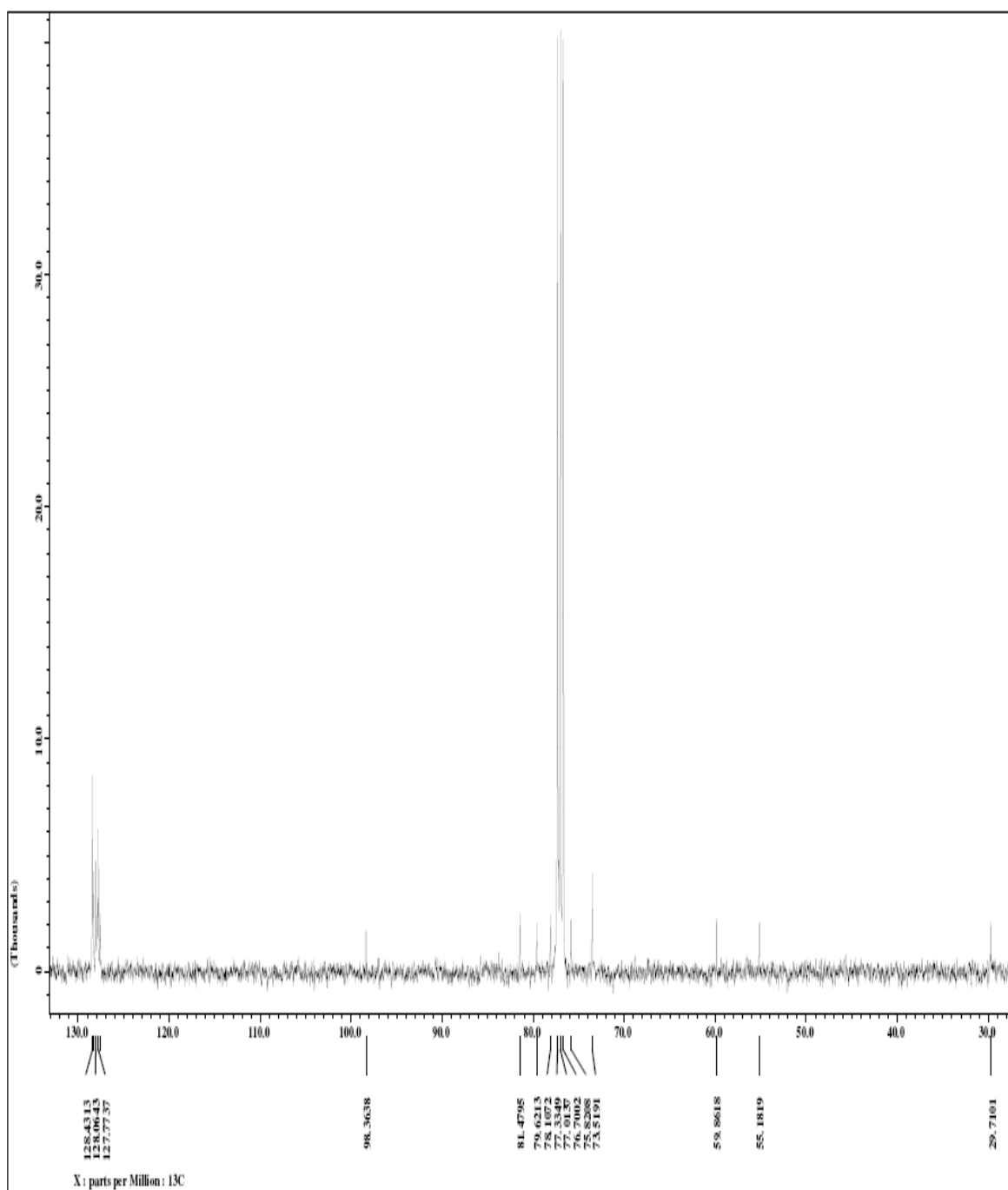
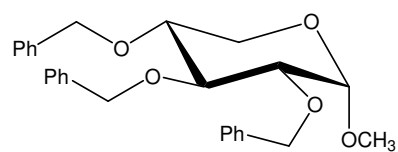
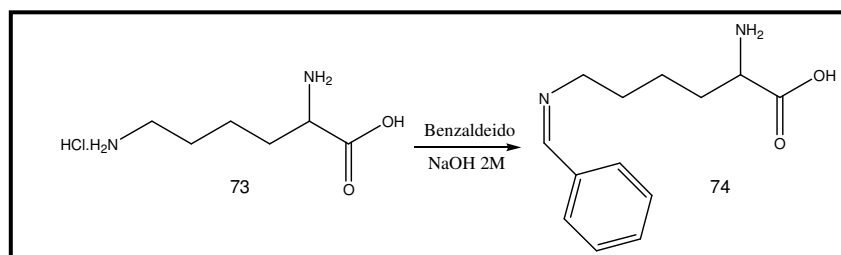


Figura 55. Espectro de RMN ^{13}C da 1-metil-2,3,5-tri-O-benzil- α -D-xilopiranosídeo (**68**) – CDCl_3

SEGUNDA PARTE: Reações com derivados da D-glicose (6)

5.2. Síntese aza-açúcar proveniente da D-glicose e da L-lisina:

5.2.1. Síntese do N-benzilideno-L-lisina (74):



Esquema 42. Síntese da N-benzilideno-L-lisina (74).

A reação do monocloridrato de L-lisina (**73**) com benzaldeído foi feita em meio básico (NaOH – 2M), obtendo o N-benzilideno-L-lisina (**74**) com rendimento de 56%.

Com essa reação, foi confirmada a maior reatividade da amina ligada ao carbono primário, um efeito já esperado, pois a amina ligada ao carbono secundário está próxima a carboxila, deixando os elétrons não ligantes do nitrogênio menos disponíveis para reação. Também foi observado que não houve a formação de sub-produtos durante a reação, o pequeno rendimento obtido deve-se a não reação da L-lisina (**73**) com benzaldeído.

Apesar da sua pouca solubilidade nos solventes deuterados disponíveis, conseguimos obter os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C, mas com baixa resolução, evidenciando a formação do composto **74**, principalmente pela presença do sinal referente ao carbono sp² da imina em 9,8 ppm e os sinais referentes aos hidrogênios do anel benzênico entre 9,0 – 9,4 ppm (**figura 56, pg. 99**).

O objetivo da escolha dessa rota sintética deve-se a labilidade do grupo benzilideno, podendo em seguida reagir a amina desprotegida com outro grupo mais resistente a reações de hidrogenação. Mas devido às dificuldades encontradas na etapa seguinte, que seria a benzilação do outro nitrogênio livre, resolveu-se não investir nessa rota sintética, optando apenas em tornar o aminoácido mais solúvel em solventes orgânicos.

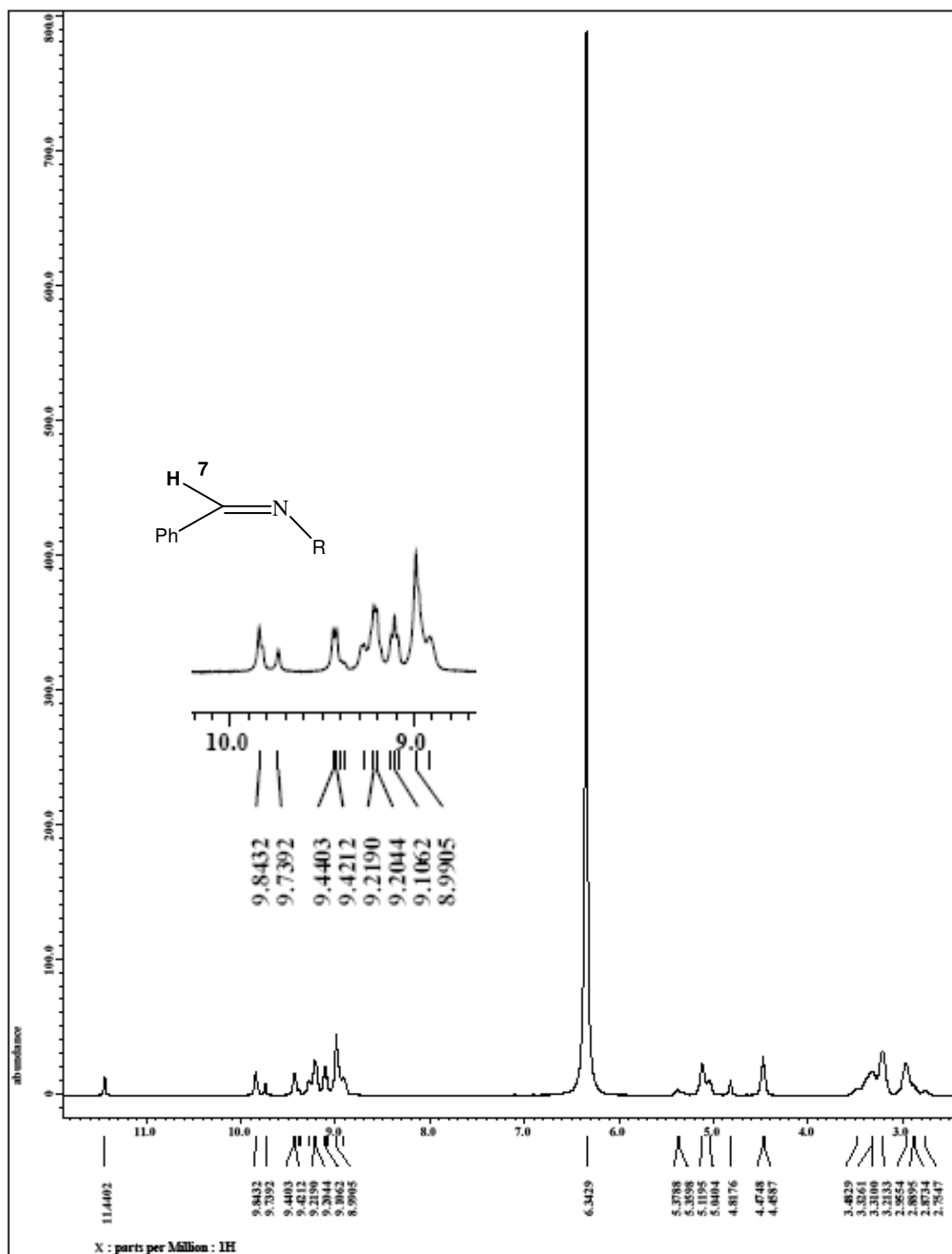
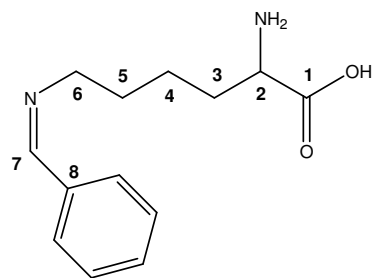


Figura 56. Espectro de RMN ^1H da N-benzilideno-L-lisina (74) – D_2O

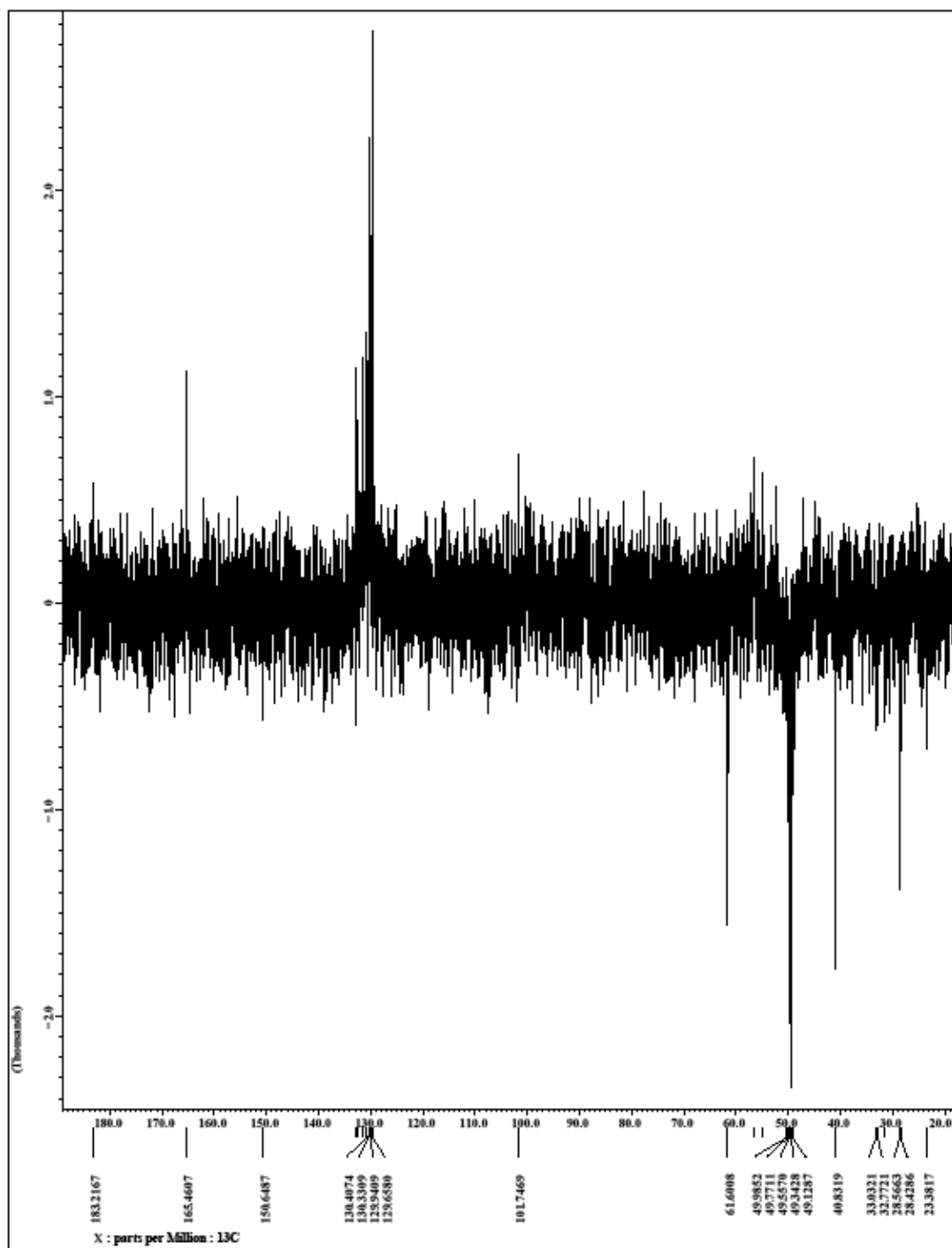
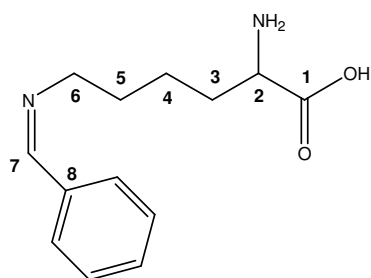


Figura 57. Espectro de RMN ¹³C (PENDANT) da N-benzilideno-L-lisina (74) – D₂O

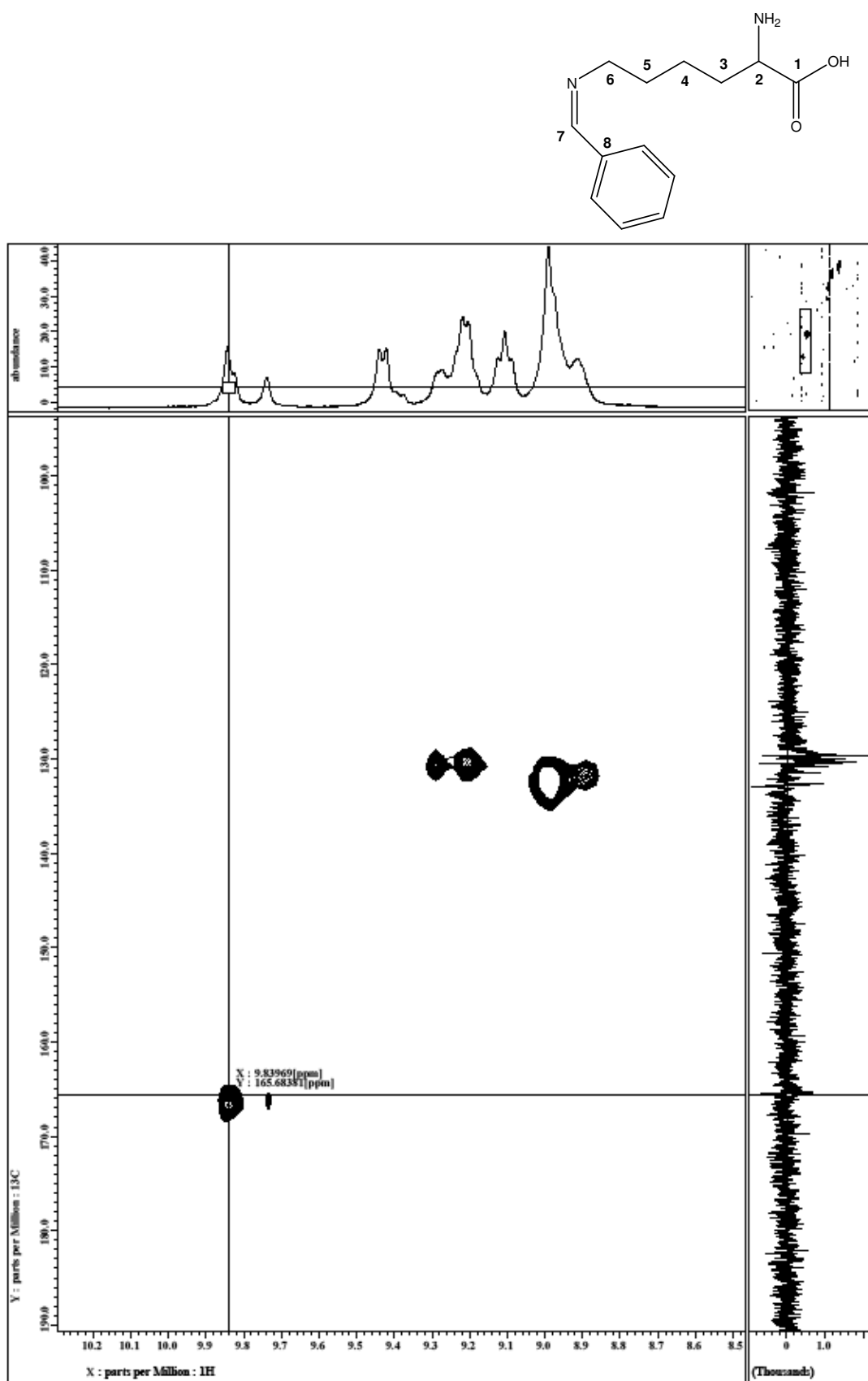
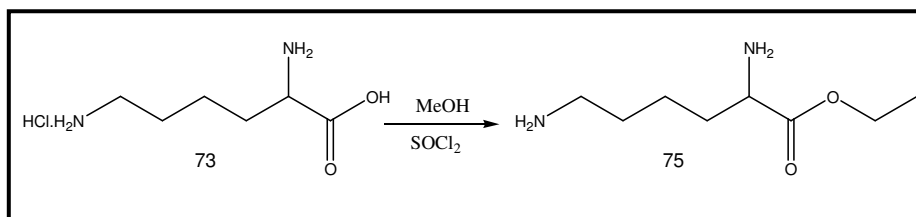


Figura 58. Espectro de RMN HMQC da N-benzilideno-L-lisina (74) – D_2O

5.2.2. Síntese da L-lisina etil ester (75):



Esquema 43. Síntese da L-lisina etil ester (75).

Com objetivo de deixar a L-lisina mais solúvel em solventes orgânicos, foi feita a reação do monocloridrato de L-lisina (**73**) com SOCl_2 em presença de etanol em condições de refluxo. Obtendo no final da reação a L-lisina esterificada (**75**) na forma de dicloridrato. No intuito de remover o produto da forma de sal orgânico, disponibilizando a amina para as próximas reações, os cristais formados foram dissolvidos em água e o pH foi aumentada com uma solução de bicarbonato de sódio (10%), procedendo em seguida extrações sucessivas com n-butanol.

Durante as primeiras remoções do produto de esterificação (**75**) da forma de cloridrato, os rendimentos obtidos foram abaixo de 40%. Foi percebido que a dificuldade estava na adição do bicarbonato de sódio, pois os ésteres são sensíveis a pH básico, portanto, nas extrações seguintes o pH foi acertado em aproximadamente 8,0 e logo em seguida foram feitas várias extrações com n-butanol, com isso, o rendimento da reação foi aumentada para 79%.

O produto da esterificação **75** foi caracterizado por técnicas de RMN ^1H e RMN ^{13}C , onde pode ser destacado no espectro de RMN ^1H , o sinal triplo da metila em δ 1,33 ppm ($J = 7,0$) e o sinal quadruplo em δ 4,30 ppm ($J = 7,0$), atribuídos respectivamente à metila e metileno do grupo carboetixi. No espectro de RMN ^{13}C e sinal da metila e do metileno deste grupo aparece a δ 14,24 ppm e δ 63,55 ppm respectivamente (**figuras 60 e 63, pg. 104 e 107**). Também foi possível verificar a conectividade do grupo etoxila através da correlação a longa distância do carbono da carbonila C1 ($\delta = 170,12$ ppm) com os átomos de

hidrogênio do metileno H7 ($\delta = 4,30$ ppm) no mapa de correlação HMBC (**figura 64, pg. 108**).

Os demais sinais dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN ^1H e ^{13}C) para a molécula L-lisina etil ester (**75**) e suas devidas correlações a uma, duas e três ligações ($^1J_{\text{CH}}$, $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) está disposto na tabela abaixo, evidenciando definitivamente a formação do intermediário **75 (tabela 11)**. Essas correlações foram feitas através de técnicas bidimensionais de correlação hidrogênio-hidrogênio (COSY), carbono-hidrogênio a uma ligação (HMQC) e carbono-hidrogênio a mais de uma ligação (HMBC).

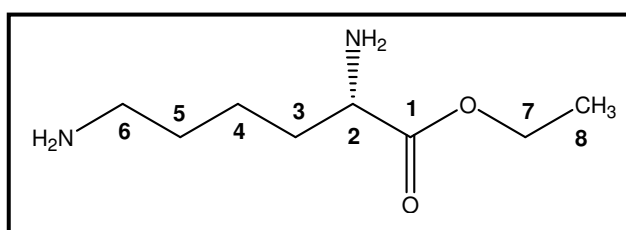


Figura 59. L-lisina etil ester (**75**)

Tabela 8. Deslocamento químico do L-lisina etil ester (**75**):

	δ_c	HMQC		HMBC	
		δ_H	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
C					
1	170,12	-	H-2	H-3 e H-7	
CH					
2	53,60	4,06 (t. 6,5)	H-3	-	
CH₂					
3	30,76	1,97 (m)	C-2	C-5	
4	22,95	1,55 (m)	C-5 e C-3	C-2	
5	27,72	1,75 (m)	C-6	C-3	
6	40,21	2,97 (t. 7,6)	C-5	-	
7	63,55	4,30 (q. 7)	C-8	-	
CH₃					
8	14,24	1,32 (t. 7)	C-7	-	

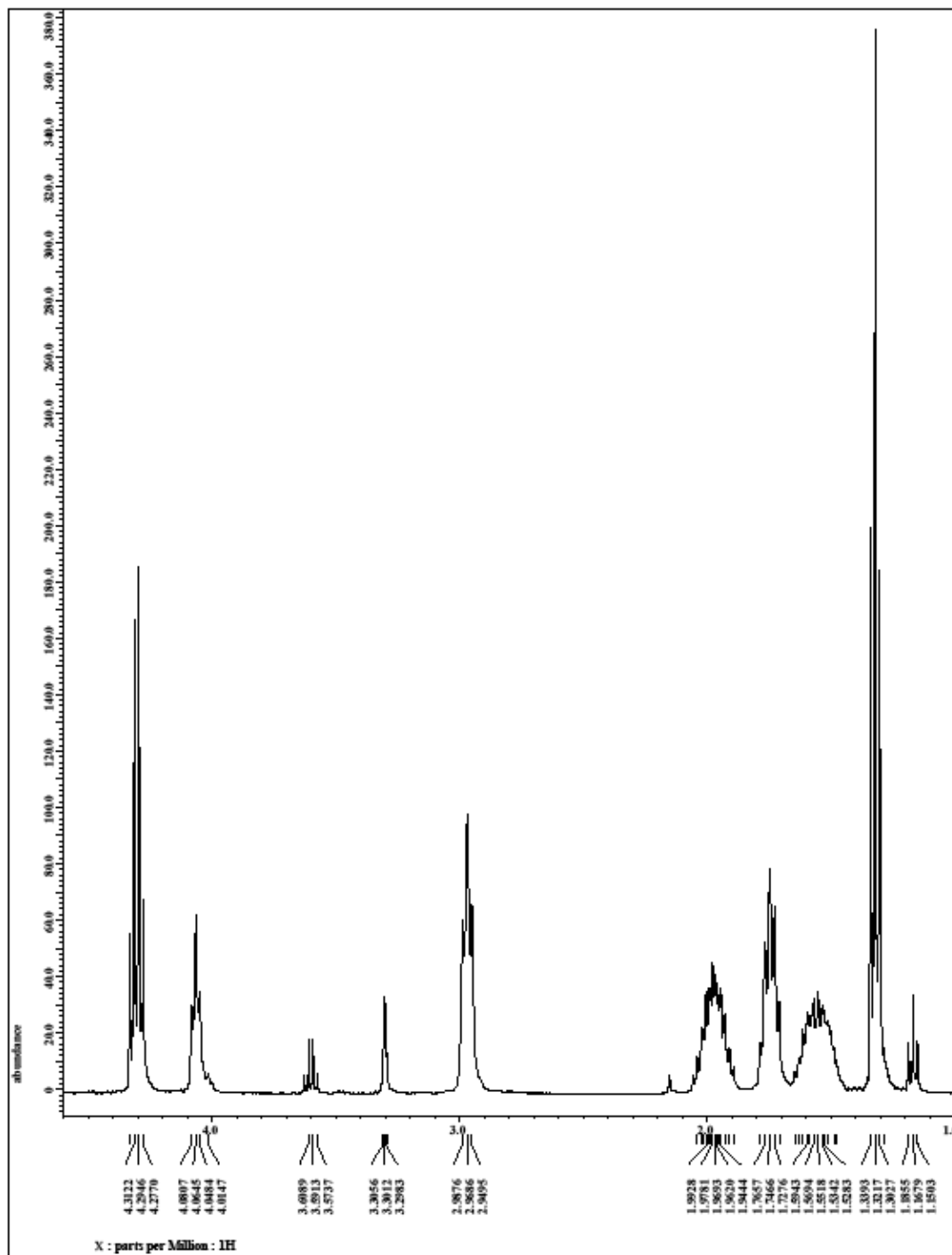
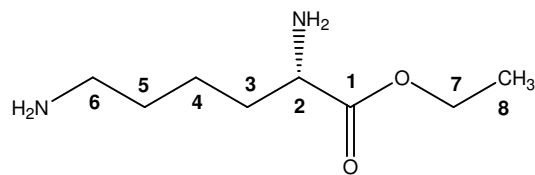


Figura 60. Espectro de RMN ^1H da L-lisina etil ester (75) – CD_2OD

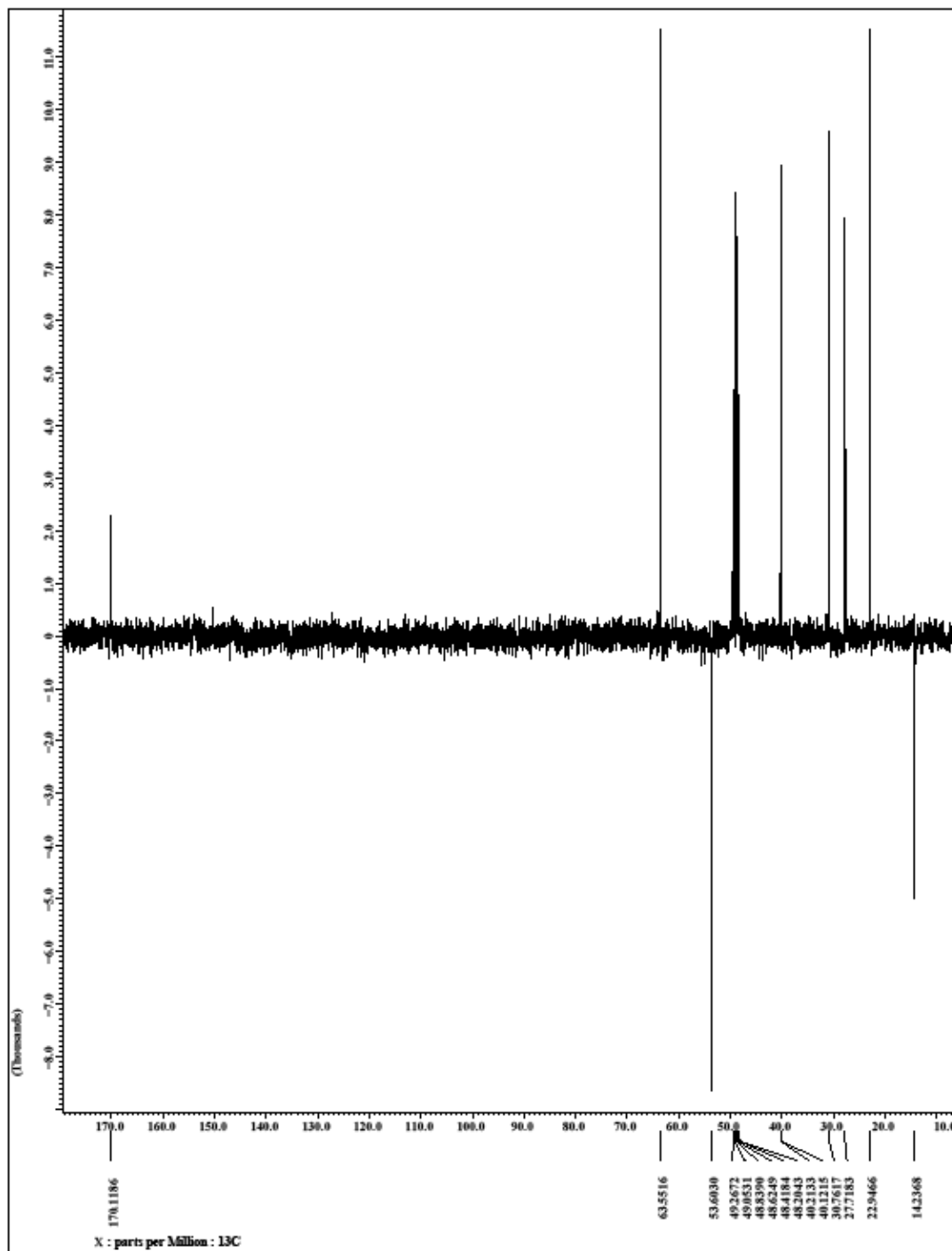
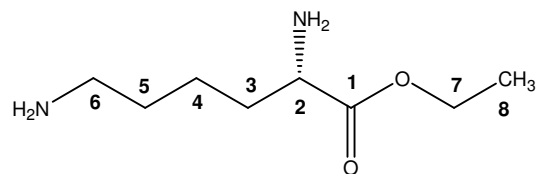


Figura 61. Espectro de RMN ¹³C (APT) da L-lisina etil ester (75) – CD₂OD

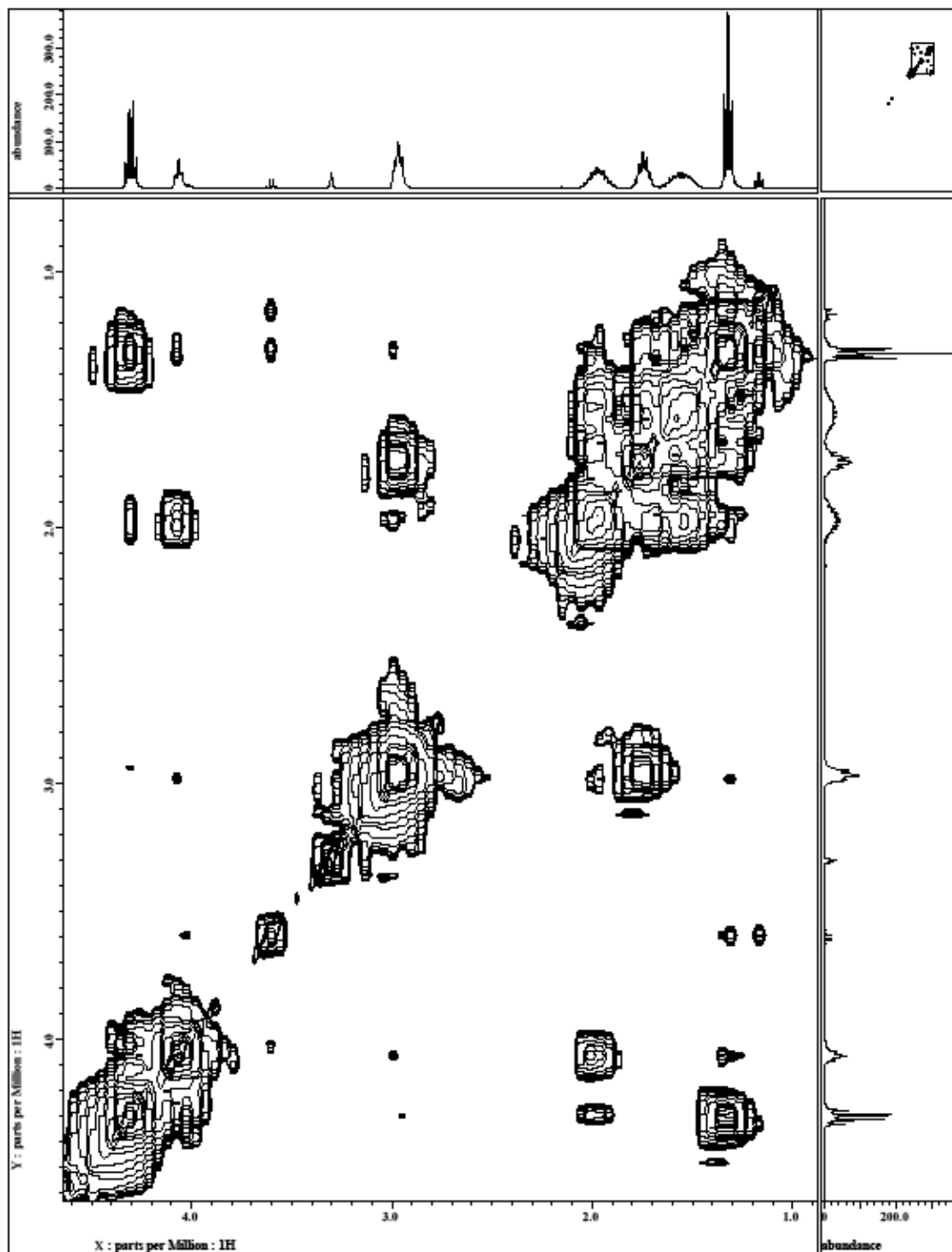
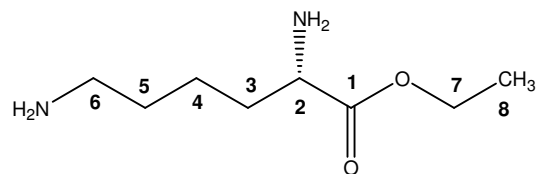


Figura 62. Espectro de RMN COSY da L-lisina etil ester (75) – CD₂OD

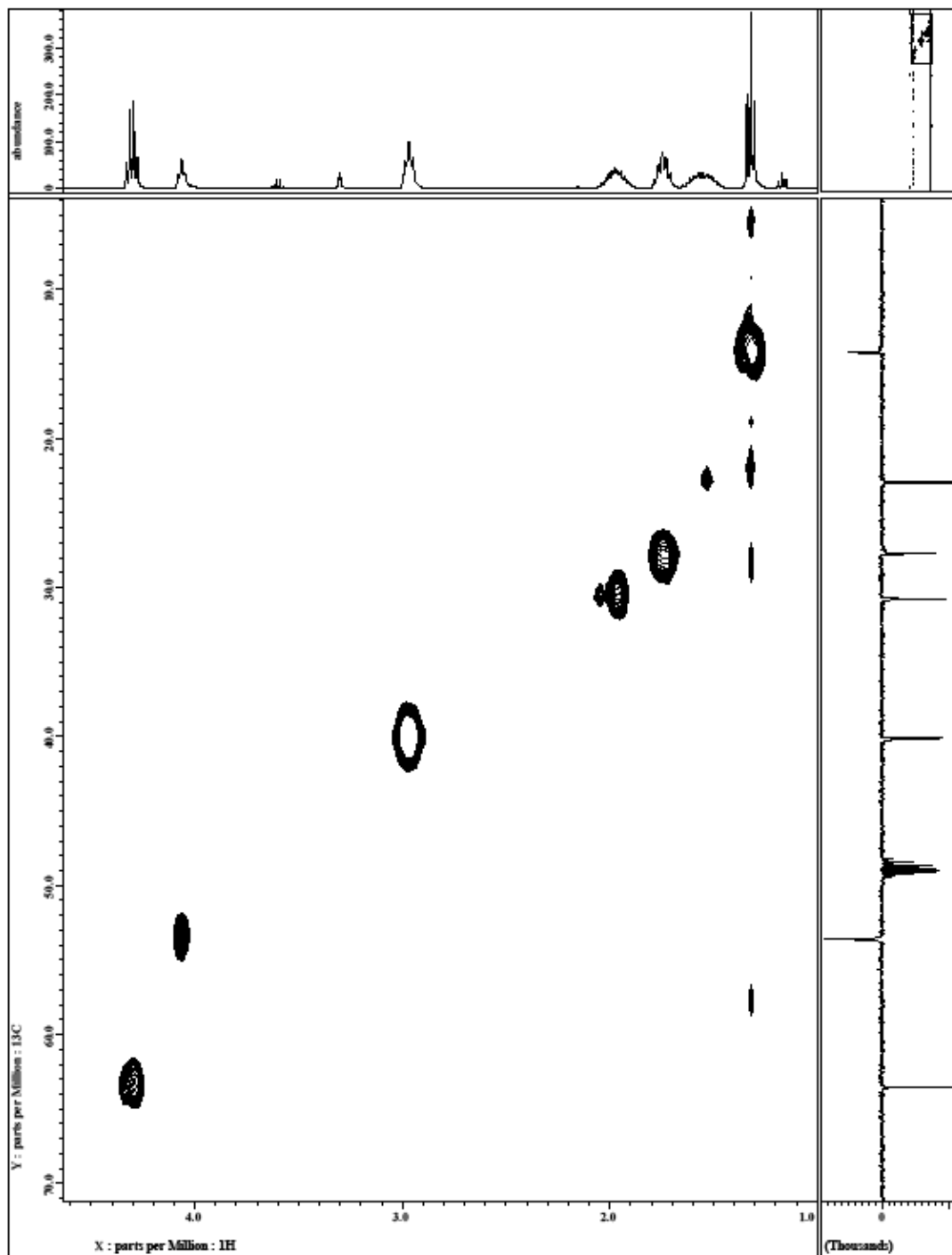
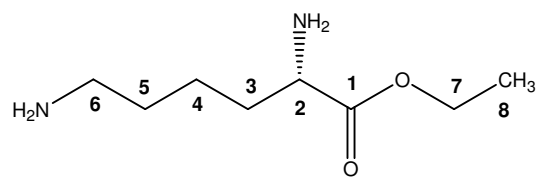


Figura 63. Espectro de RMN HMQC da L-lisina etil ester (75) – CD₂OD

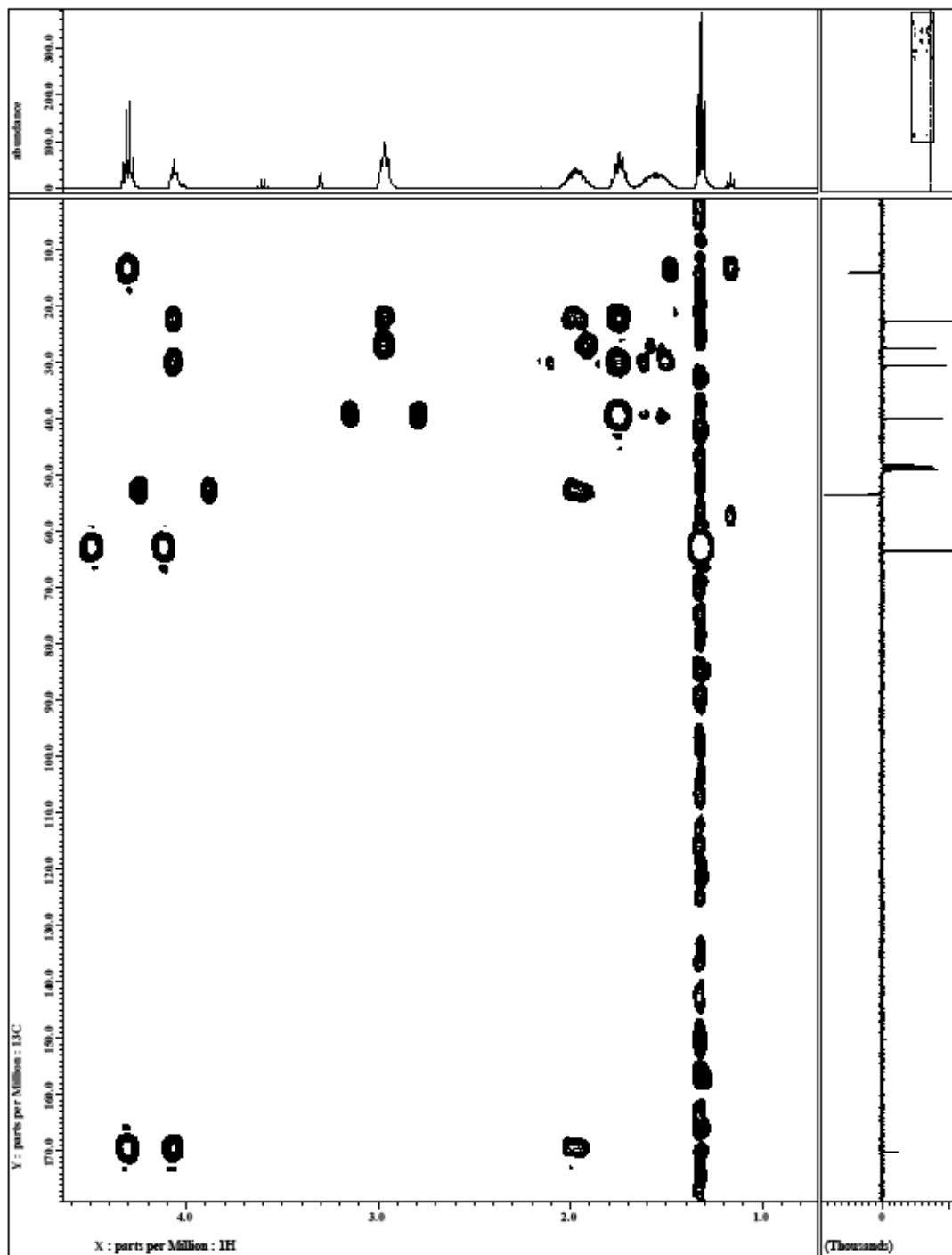
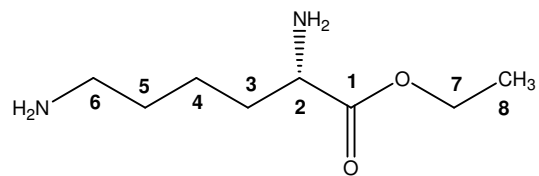
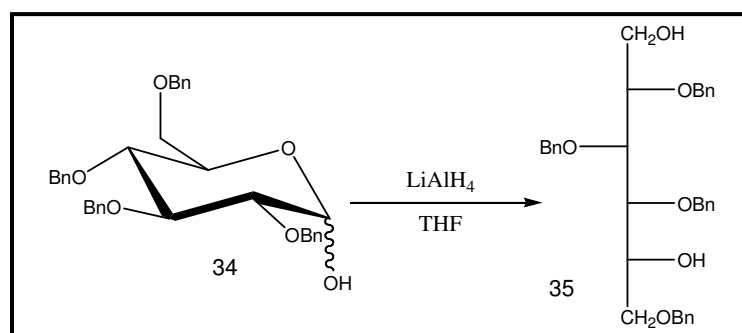


Figura 64. Espectro de RMN HMBC da L-lisina etil ester (75) – CD₂OD

5.2.3. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (35):



Esquema 44. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (35)

Essa reação foi realizada com o composto comercial 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glicopiranosose (**34**), sendo submetido a uma reação de redução com excesso de hidreto de lítio alumínio, utilizando como solvente o THF anidro. Após 12 horas de reação a temperatura ambiente foi obtido o 2,3,4,6-tetra-O-benzil-D-glucitol (**35**) em rendimento quantitativo.

O óleo obtido foi devidamente caracterizado por técnicas de I.V. e ressonância magnética nuclear de carbono e hidrogênio (RMN ^1H e ^{13}C). Os dados obtidos foram comparados com dados da literatura, confirmando a formação do diol (**35**).

Pode ser observada no espectro de I.V. uma banda em 3371 cm^{-1} referente à deformação axial das duas ligações (O-H) do diol **70**.

Também é verificada a banda em 2924 cm^{-1} dos CH_2 benzílico e as bandas em 696 e em aproximadamente 730 cm^{-1} , características do anel aromático monosubstituído (deformação angular no plano e fora do plano de ligações C-H) (**figura 65**).

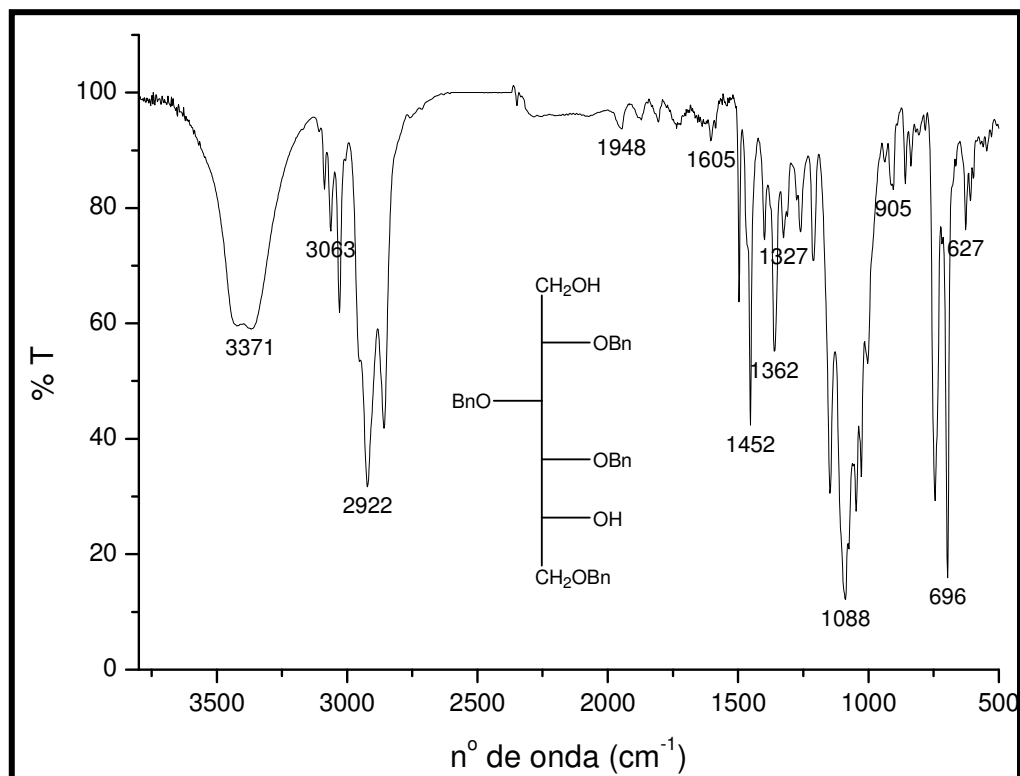


Figura 65. Espectro de Infravermelho do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**35**).

O espectro de RMN ^1H dessa substância evidenciou o desaparecimento do sinal duplo correspondente ao próton do carbono anomérico, quando comparado ao reagente **34** (**figura 67**, **pg. 112**). O espectro de RMN ^{13}C mostra a presença de 6 metilenos, vale destacar o sinal em 61,94 ppm, referente ao metileno C-1 (CH_2OH), confirmando a formação do glucitol (**35**) (**figura 68**, **pg. 113**). Os valores disponíveis na literatura também reportam a sinais idênticos aos encontrados para diol (**35**) (**tabela 9**).

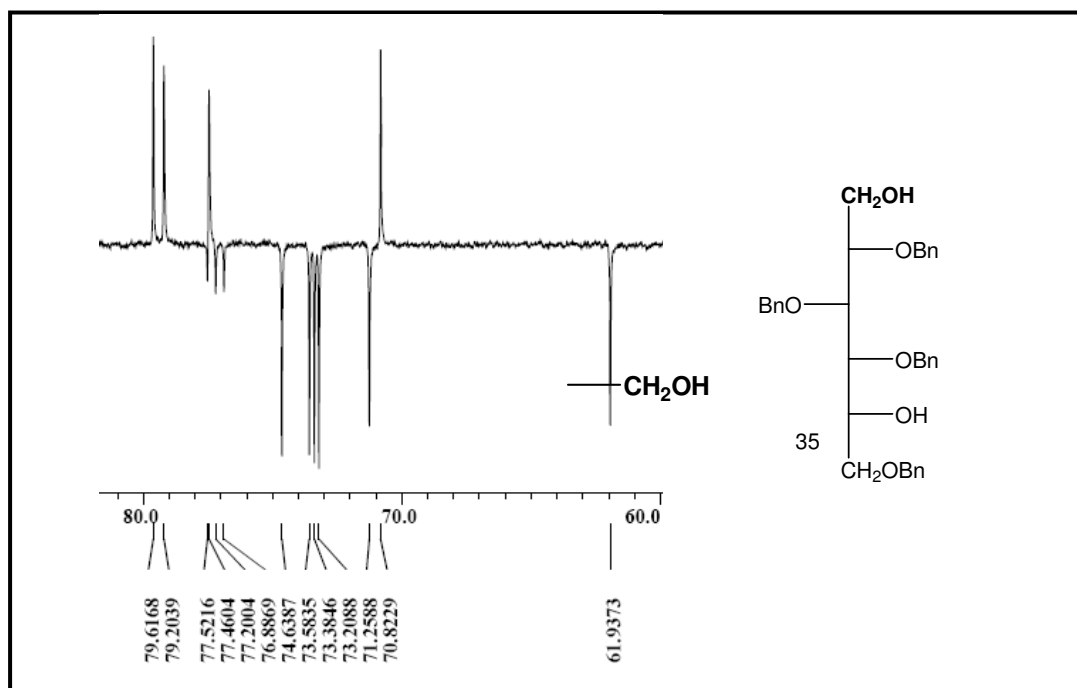


Figura 66. Parte do espectro de RMN ^{13}C (APT) do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**35**) (expansão ente 60,0 – 81,0 ppm) – CDCl_3

Tabela 9. Dados de RMN ^{13}C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**35**) (Matos, 1999):

	Dados Experimentais δ_c (ppm)	Dados da Literatura δ_c (ppm)
CH	70,82	70,84
	77,52	77,47
	79,20	79,22
	79,62	79,62
CH₂	61,94	61,95
	71,26	71,27
	73,21	73,23
	73,38	73,41
	73,58	73,60
	74,64	74,66

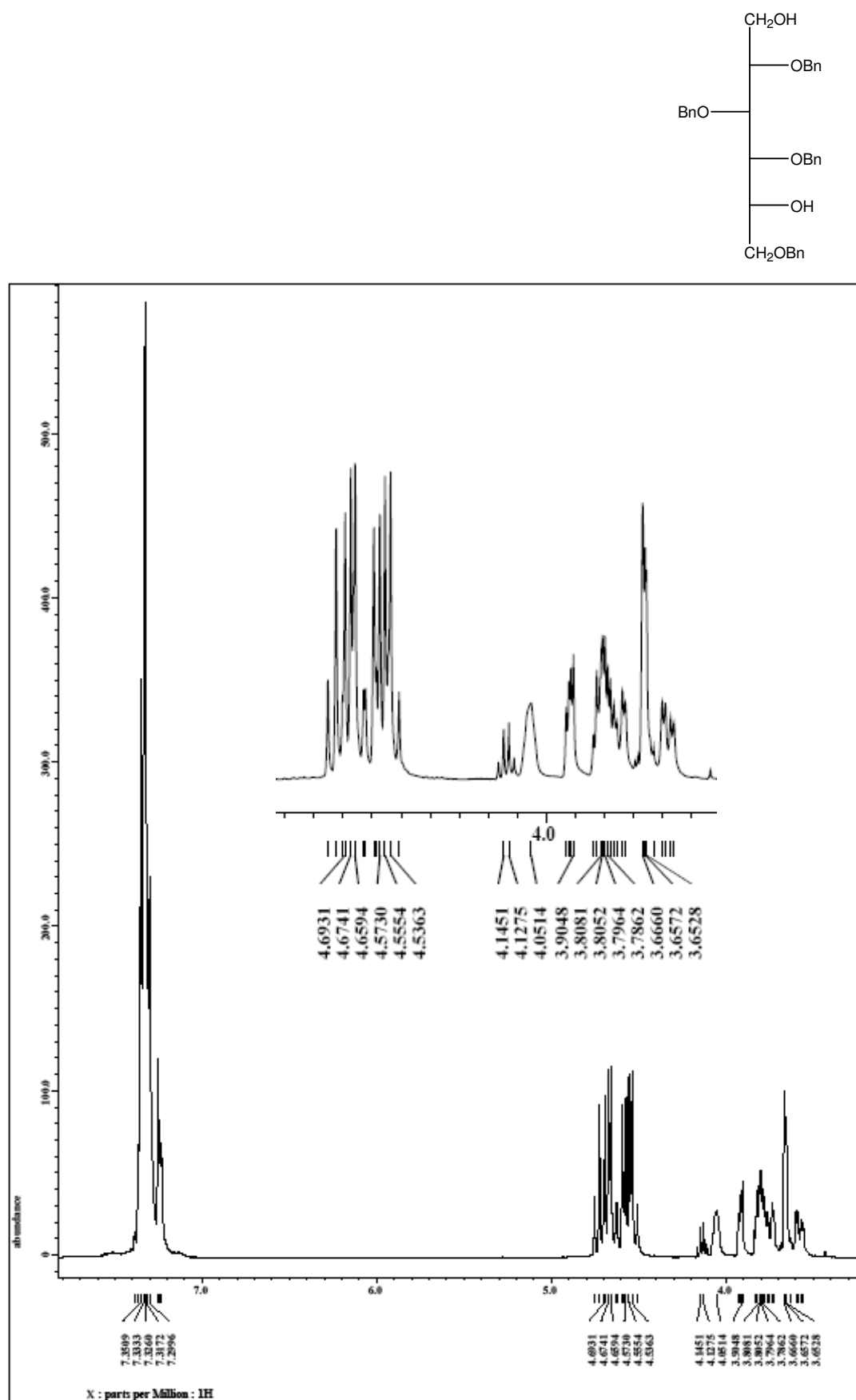


Figura 67. Espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (35) – CDCl₃

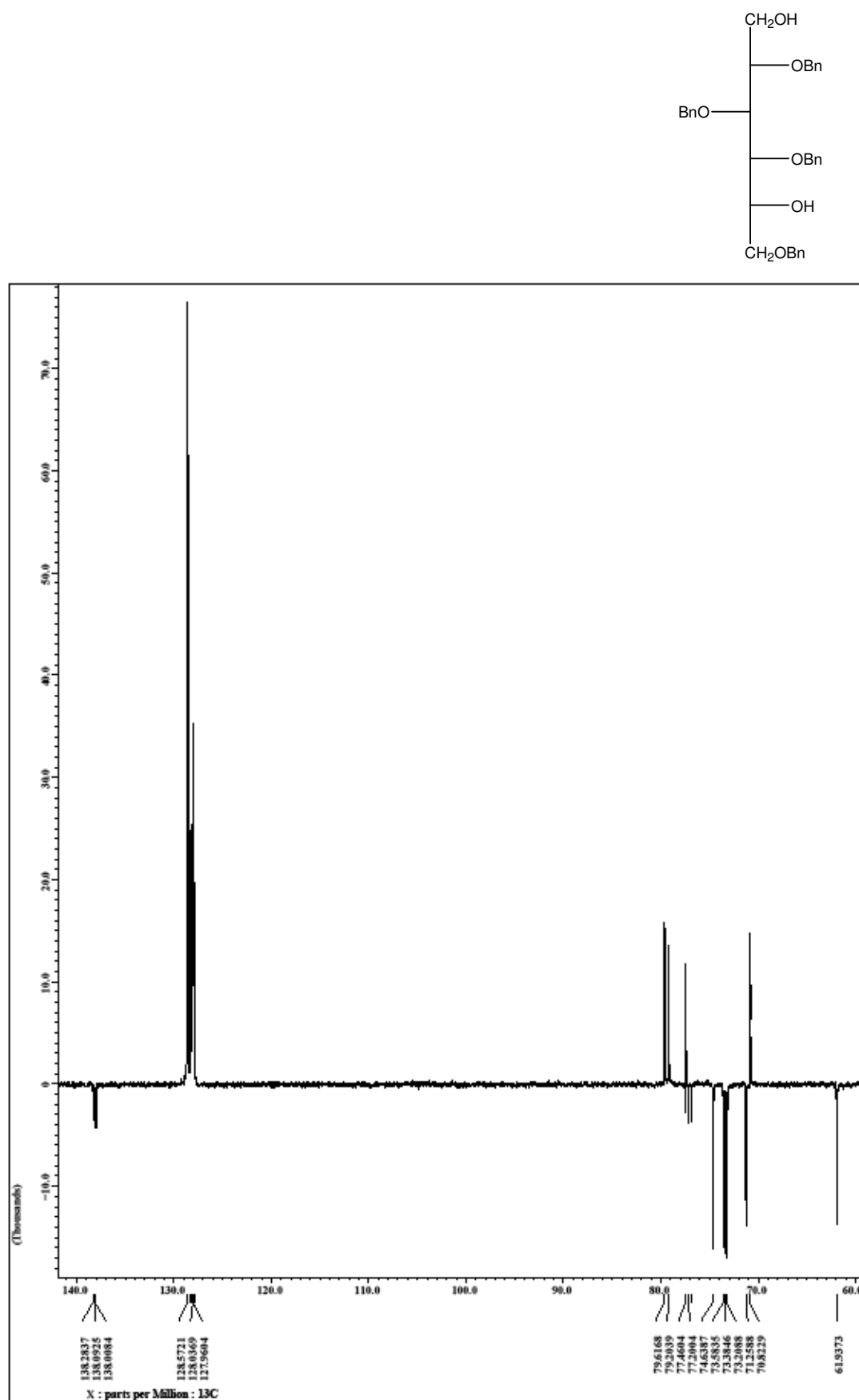
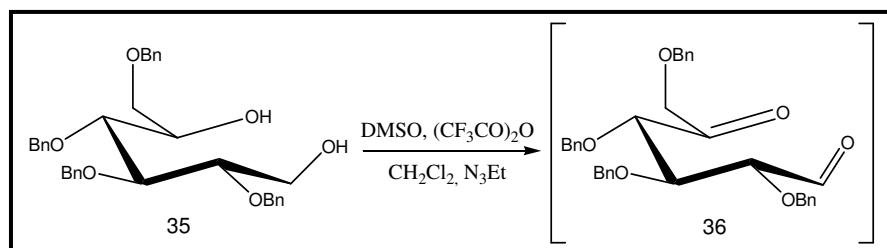


Figura 68. Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**35**) – CDCl_3

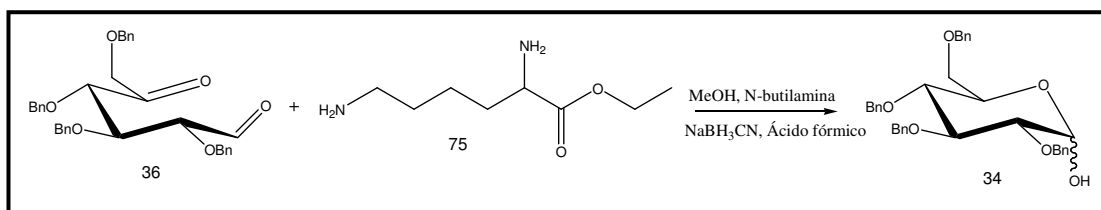
5.2.4. Tentativa de síntese do aza-açúcar com retenção de configuração:



Esquema 45. Síntese do composto dicarbonilado (**36**).

Seguindo a proposta delineada na retroanálise (**esquema 18, pp. 26**) o glucitol (**35**) foi submetido a uma oxidação de Swern.

A reação foi realizada a uma temperatura de -78°C , onde ativamos o DMSO em presença de $(\text{CF}_3\text{CO})_2$ (**esquema 39, pp. 91**), após preparação do grupo de saída, foi adicionado o diol **35**, utilizando diclorometano como solvente. A reação foi finalizada pela adição de trietilamina. O produto dessa síntese, a substância dicarbonilada (**36**), foi imediatamente levada à reação seguinte devido a instabilidade desse intermediário.



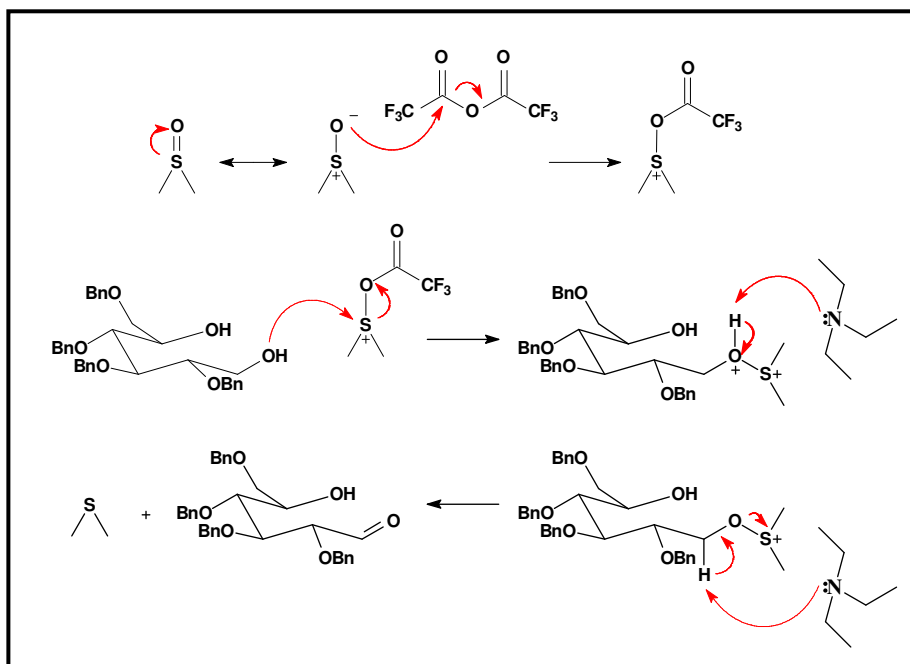
Esquema 46. Tentativa de síntese do aza-açúcar com retenção de configuração.

O produto dicarbonilado **36** foi adicionado a lisina esterificada (**75**) em presença do redutor NaBH_3CN , ácido fórmico e peneira molecular, utilizando como solvente metanol. Essa reação foi feita sob atmosfera de argônio.

Há indícios que a substância dicarbonilada (**36**) foi obtida, mas não houve formação do aza-açúcar objetivado. A evidência para essa afirmação deve-se a formação do composto 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glicopiranosídeo (**34**) após reação com o aminoácido protegido (**75**). O açúcar recuperado **34** foi devidamente caracterizado por RMN ^1H , onde podemos observar o sinal em δ 5,28 ppm característico do hidrogênio ligado ao carbono anomérico. Além desse sinal característico, o restante

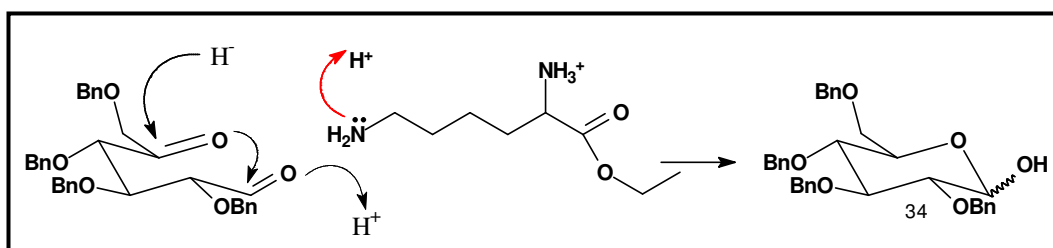
do espectro é equivalente ao produto comercial **34** (figura 69, pg. 116).

Outra constatação é o desprendimento do gás dimetil-sulfeto, sub-produto da formação de **36**, como podemos observar no mecanismo proposto abaixo (esquema 47). Esse gás tem um odor característico, sentido após da inserção da trietilamina.



Esquema 47. Proposta de mecanismo para oxidação de Swern no glucitol (**35**).

Uma explicação condizente para a não formação do aza-açúcar é a provável protonação do aminoácido (**75**) no meio reacional, indisponibilizando o nitrogênio amínico para o ataque nucleofílico, com isso, favorecendo o fechamento do açúcar pelo ataque intramolecular de um dos oxigênios carbonílicos, levado a formação do composto 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glicopiranosose (**34**) (esquema 48).



Esquema 48. Proposta de mecanismo para condensação intramolecular do composto dicarbonilado (**36**)

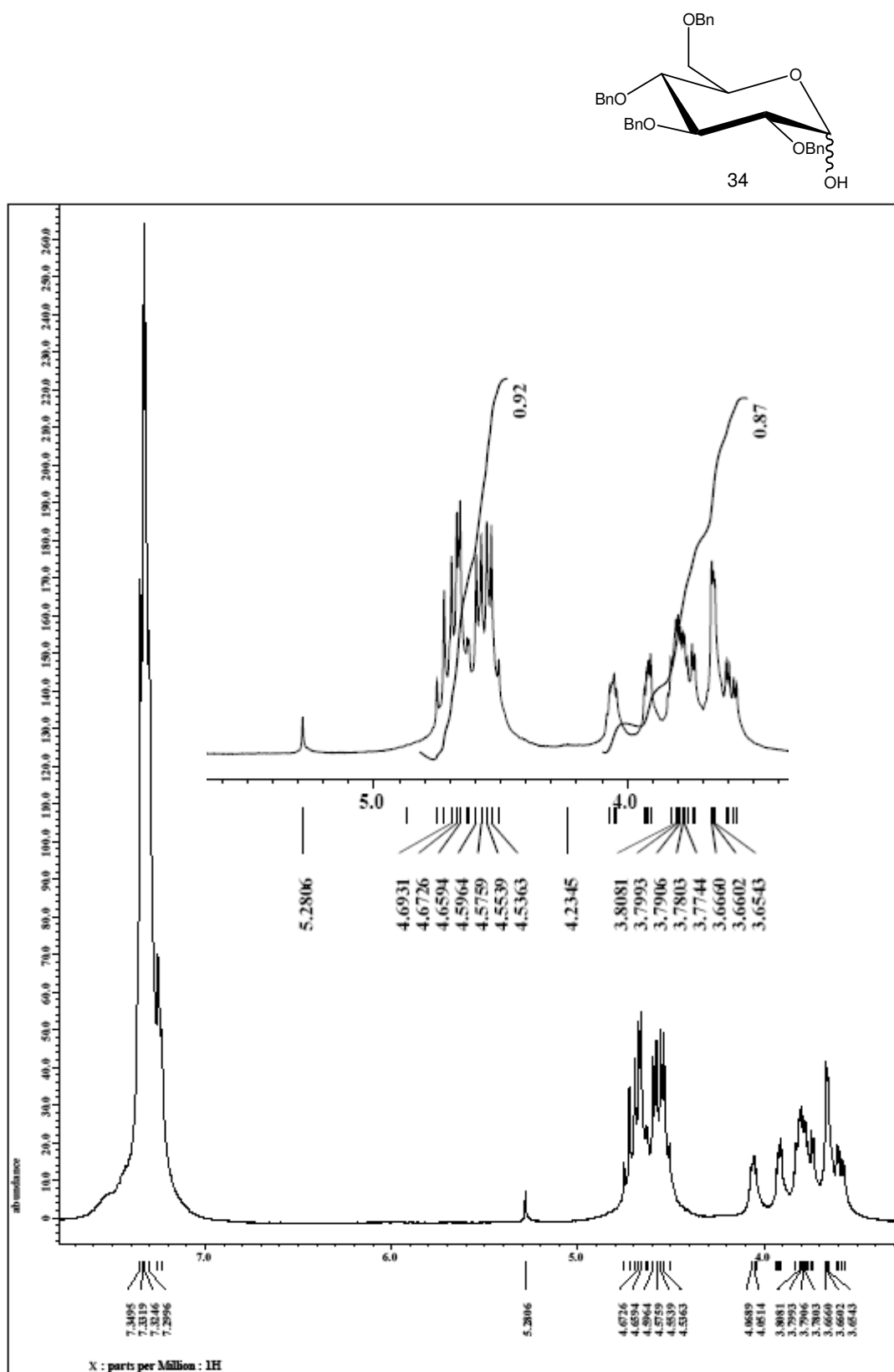
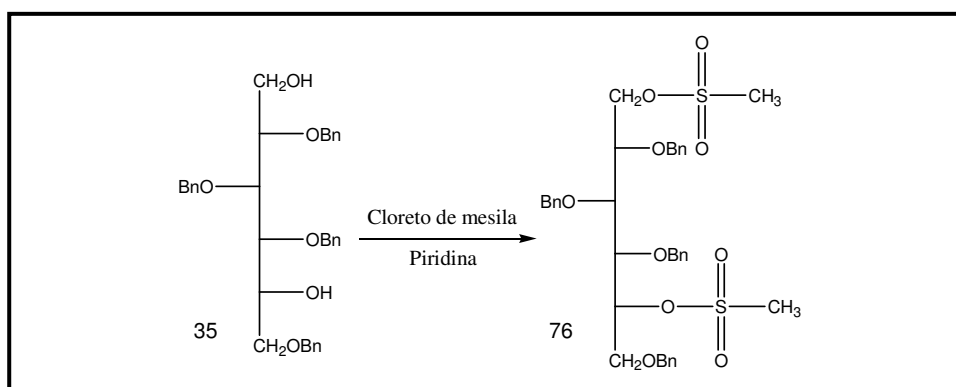


Figura 69. Espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glicopiranoze (**34**) – CDCl_3

5.2.5. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**):



Esquema 49. Síntese do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**)

A fim de obter aza-açúcares com a configuração em C5 invertida em relação a glicose. Nas hidroxilas livres do sorbitol (**35**) foram inseridos grupos de saída mesílatos. Essa reação foi feita em presença de cloreto de mesila e piridina, em banho de 0°C, obtendo o 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**).

Pode-se observar através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio e carbono (RMN ¹H e ¹³C), sinais referentes às duas metilas do grupo mesílat de **76**. No espectro de hidrogênio (RMN ¹H) esses sinais simples aparecem em; 2,81 e 2,95 ppm (**figura 70, pg. 118**) e no espectro de carbono (RMN ¹³C) os sinais são observados em, 37,06 e 38,50 ppm.

Os outros sinais de RMN ¹H e RMN ¹³C são compatíveis com o restante da molécula, caracterizando a formação do intermediário **76** (**figuras 70 e 71, pg. 118 e 119**).

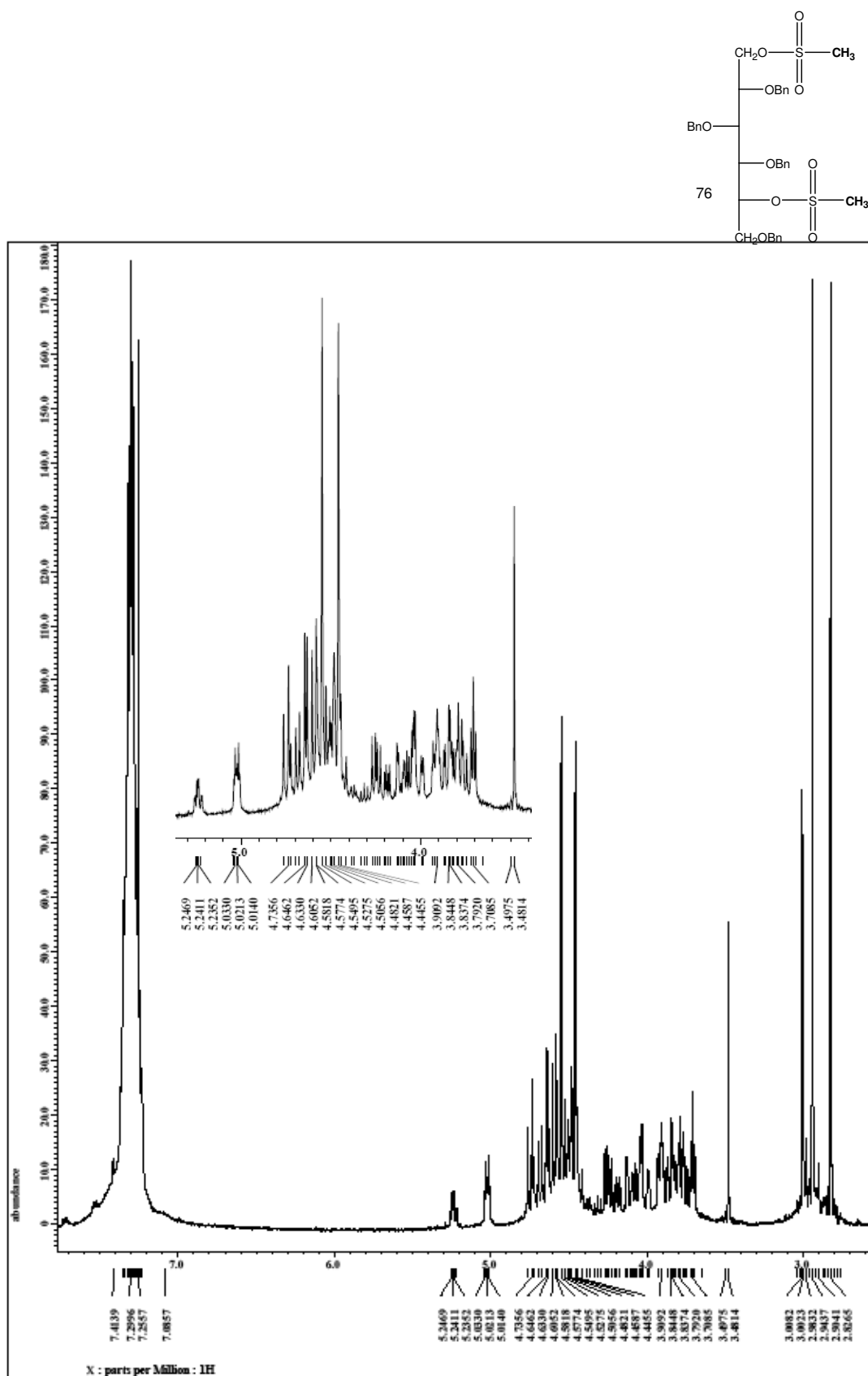


Figura 70. Espectro de RMN ^1H do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**) – CDCl_3

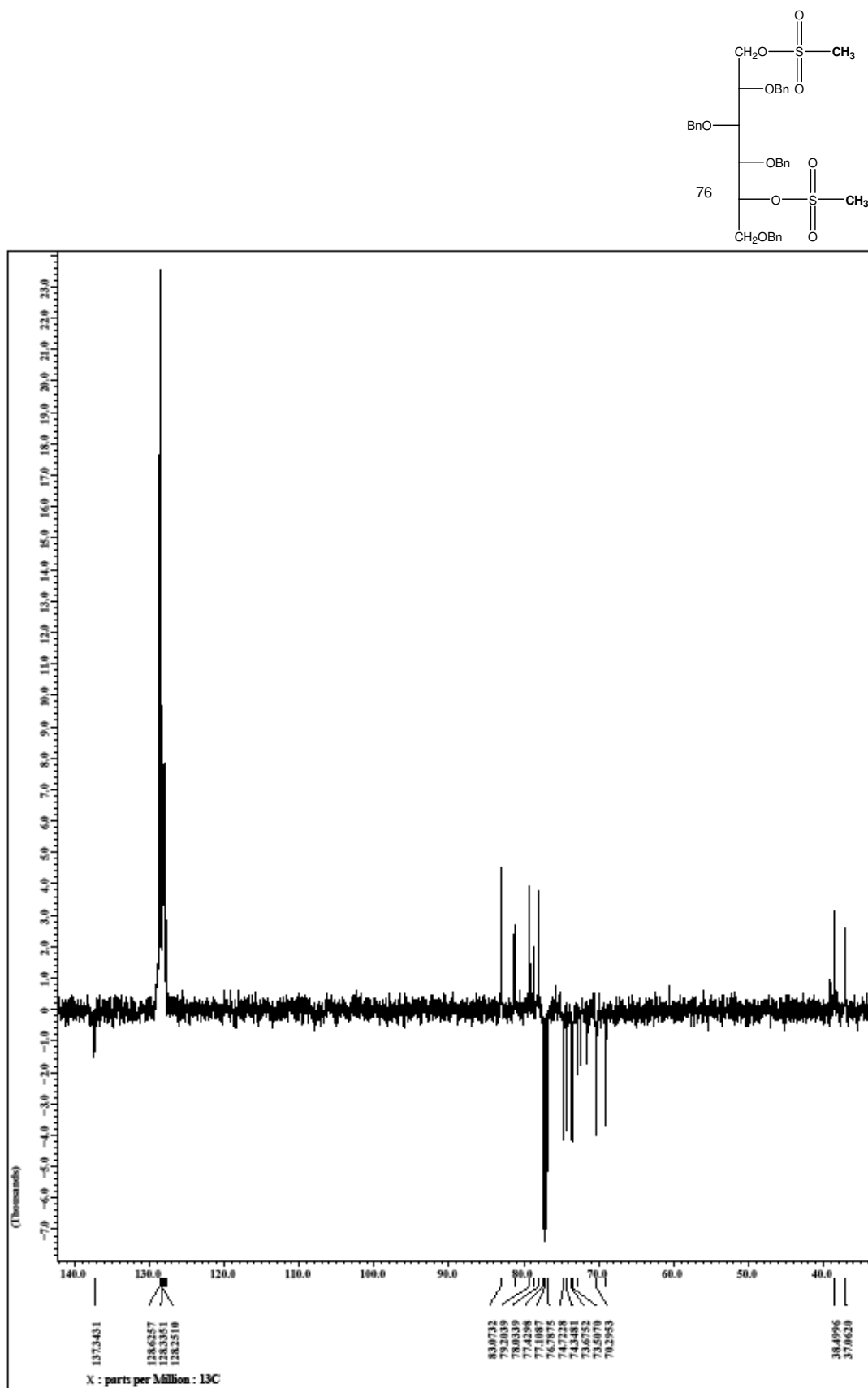


Figura 71. Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (**76**) – CDCl_3

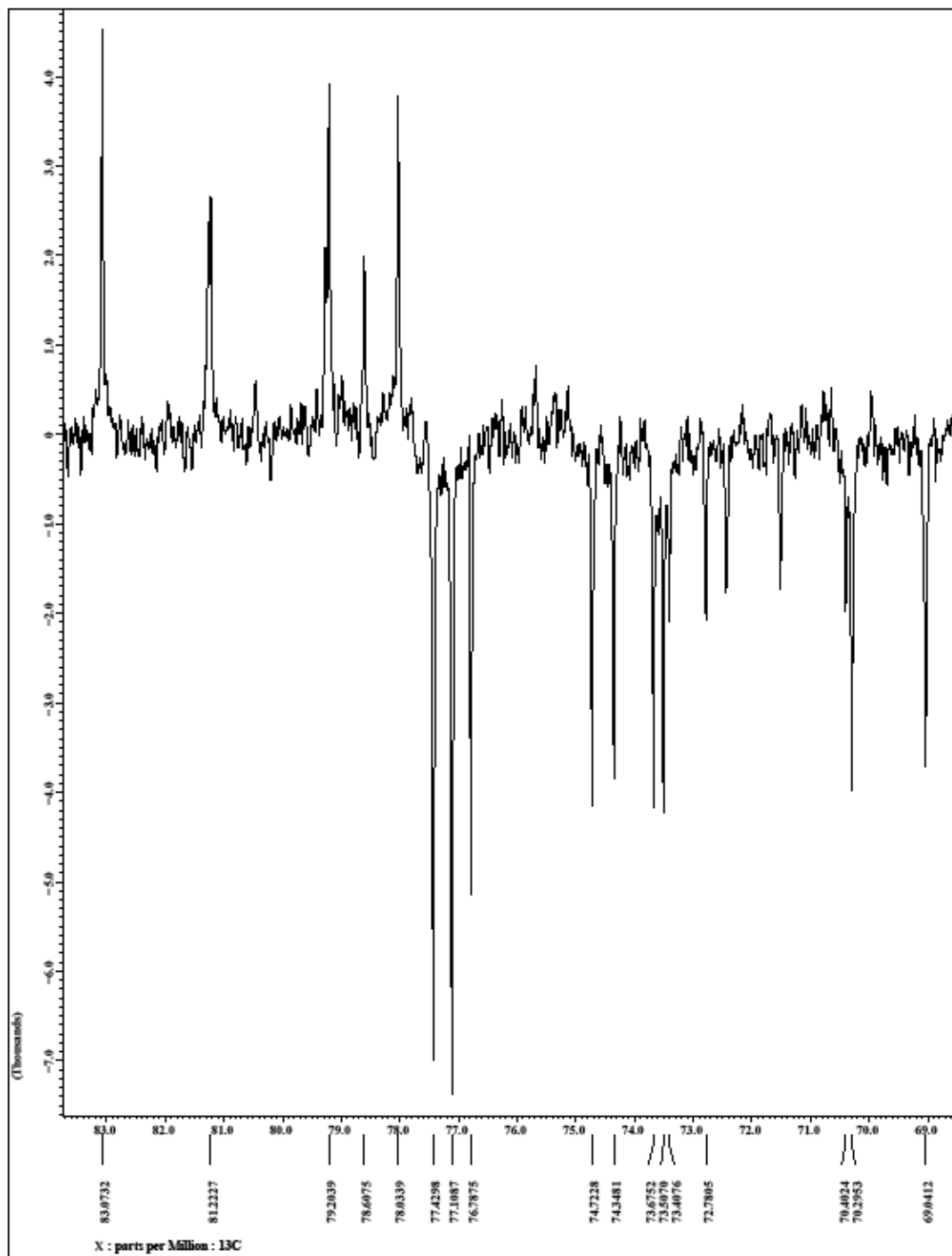
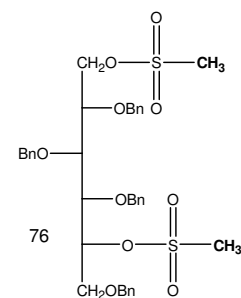


Figura 72. Espectro de RMN ^{13}C (APT) do 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol (expansão entre 69,0 – 83,0 ppm) (**76**) – CDCl_3

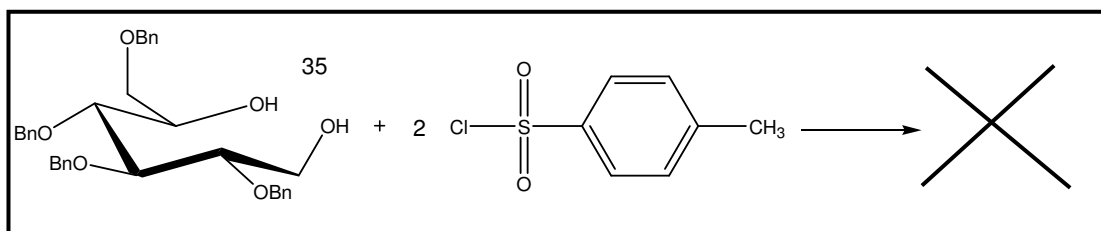
5.2.6. Substituição do grupo mesilato pela L-lisina esterificada (75):

Após a inserção do grupo de saída mesilato no sorbitol (**35**), a próxima etapa do planejamento de síntese era fazer uma dupla substituição nucleofílica da lisina esterificada (**75**) pelos grupos mesilatos, com isso fechar o anel piperidínico invertendo a configuração inicial do açúcar.

Assim sendo o composto **76** foi tratada com L-lisina etil ester (**35**). Inicialmente a reação foi conduzida a temperatura ambiente e monitorada por cromatografia de camada fina (CCF), Após 24 horas de reação a temperatura ambiente não foi observado o consumo do produto de partida. Nas 124 horas seguintes aumentando a temperatura para 60°C, durante esse tempo controlamos a reação até a verificação de que todo o sorbitol mesilado (**76**) foi consumido, gerando no final uma mistura de produtos.

Infelizmente ao submeter as frações à análise por RMN ^1H não foi verificado sinais referentes ao aminoácido L-lisina. Provavelmente ocorreu reação de eliminação, visto que nos espectros de RMN ^1H não era observado os sinais característicos do grupo mesila.

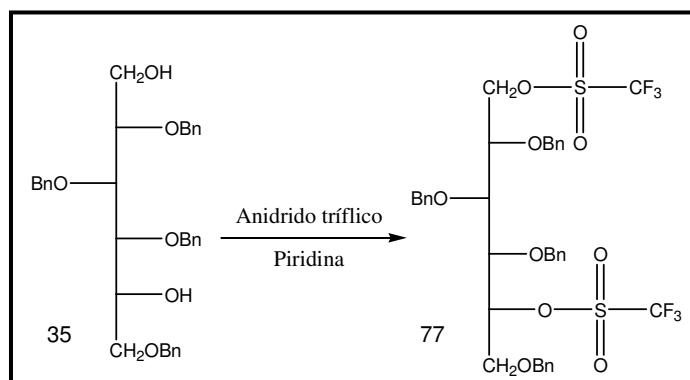
5.2.7. Tentativa de inserção do grupo tosila no glucitol (35):



Esquema 50. Tentativa de inserção do grupo tosila no glucitol (35).

Com objetivo de investigar essa reação com outros grupos de saída, o glucitol (35) foi submetido à reação com grupo tosila em presença de piridina tratada e DMAP em várias tentativas e em condições experimentais diferentes. Após essas reações não sucedidas, concluímos que a inserção de grupamentos tosila no sorbitol (35) é improvável devido ao impedimento estérico dos grupos benzílicos ligados ao açúcar.

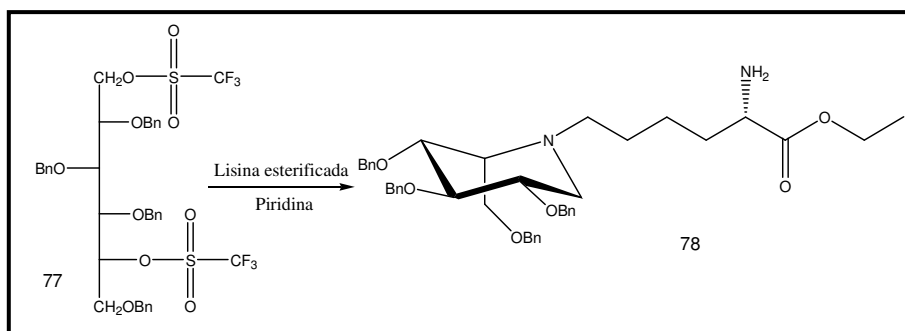
5.2.8. Inserção do Grupo Triflato no glucitol (35):



Esquema 51. Inserção do grupo triflato no glucitol (35).

Após o insucesso das reações anteriores decidiu-se inserir no glucitol (35) o grupo de saída triflato. Para isso, 35 foi posto a reação com anidrido trifílico, utilizando como solvente piridina e diclorometano sob uma temperatura de -42°C . O produto dessa reação foi verificado por cromatografia em camada fina (CCFA), apresentando consumo total do produto de partida 35 e gerando aparentemente apenas um produto de reação. Devido à instabilidade do sorbitol ligado a grupos de saída triflato o composto 77 foi imediatamente levado a reação seguinte, impossibilitando a caracterização desse intermediário.

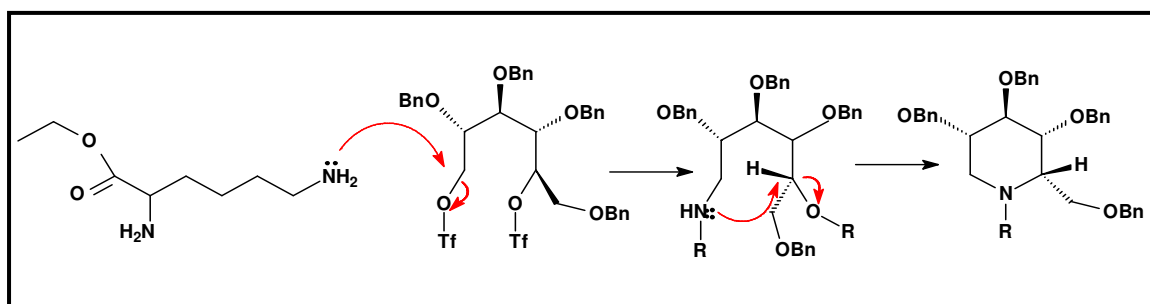
5.2.9. Síntese do N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (78):



Esquema 52. Síntese do N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (78)

Após inserção do grupo saída triflato, foi feita a reação de **77** com a lisina esterificada (**75**), na presença de piridina. O produto foi purificado em placa preparativa de sílica (CCFP), utilizando como eluente; acetato de etila/hexano 30%. A fração revelada com solução de ninidrina (5%) foi caracterizada através de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e espectro de infravermelho, mostrando a provável formação do aza-açúcar; N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (**78**).

Essa reação acontece como dupla substituição nucleofílica tipo S_N2, onde inicialmente há uma substituição do triflato ligado ao carbono secundário, seguido de uma substituição intramolecular do outro grupo triflato, gerando o aza-açúcar com inversão de configuração (**mecanismo 6**).



Esquema 53. Proposta para reação de dupla reação de substituição nucleofílica.

Os principais valores do espectro de I.V. que caracterizam a formação do aza-açúcar (**78**), são as bandas em 1720 cm^{-1} correspondente a deformação axial da ligação C=O da carbonila e em 3433 cm^{-1} , característico da deformação axial de amins secundárias.

Também pode ser observado sinal em 702 cm^{-1} característicos de anel aromático monosubstituídos (deformação angular das ligações C-H) e a absorção forte em 1265 cm^{-1} que podem ser atribuídas à deformação axial simétrica C-O-C da função ester (**figura 73**).

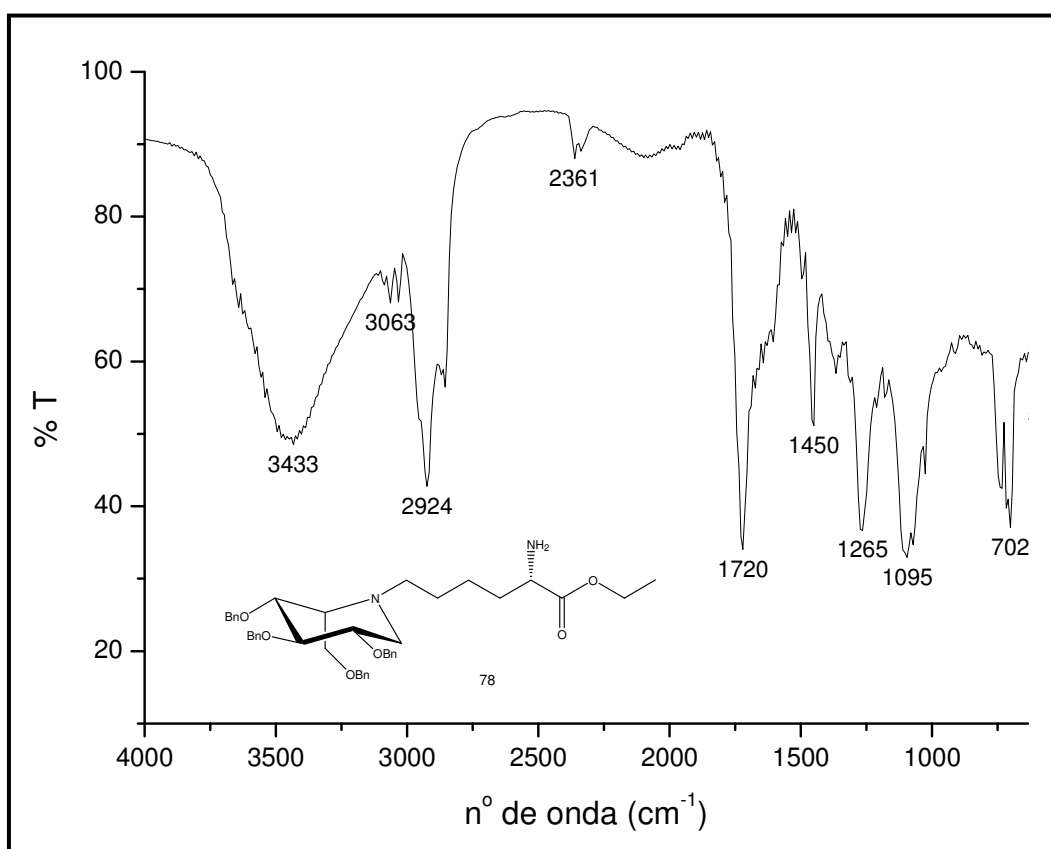


Figura 73. Espectro de Infravermelho da N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idonojirimicina (**78**).

Foi observado no espectro de RMN ^1H os sinais referentes a porção do carboidrato e do aminoácido estavam presentes, principalmente o sinal triplo da metila em $0,88\text{ ppm}$ ($J = 7,0\text{ Hz}$), devido ao acoplamento com o CH_2 adjacente. Essa constante de acoplamento é idêntica ao encontrada na lisina esterificada (**75**) (**figura 76, pg. 127**).

A integração dos sinais do espectro de RMN ^1H , reportam as quantidades de hidrogênio esperados na molécula, como o tripleto em 0,88 ppm, leva a um valor de integração de três hidrogênios. As demais integrações estão disponíveis na tabela abaixo:

Tabela 10. Integração dos sinais do espectro de RMN ^1H (**figura 76**).
Referencia: hidrogênios do anel benzênico (20 hidrogênios)

Região do Espectro (ppm)	Hidrogênios Relacionados	Integração	Nº de Hidrogênios Encontrados
0,88	H8	0,12	3
1,60-2,8	H3, H4 e H5	0,27	6
3,47-5,57	H _{benzilicos} , H _{açúcar} , H1, H6 e H7.	1	21
7,31-7,45	H _{aromáticos}	0,96	20

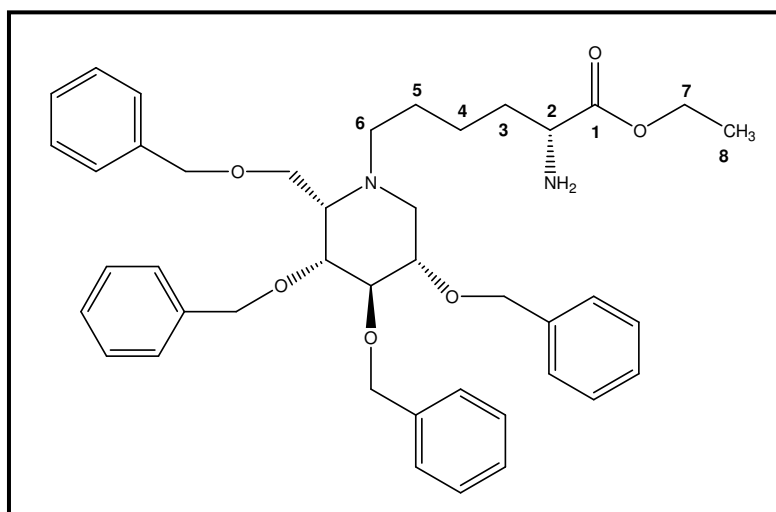


Figura 74. N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idojirimicina (**78**).

A relação entre o deslocamento químico e os hidrogênios relacionados ao possível aza-açúcar (**78**) foi feita pela análise dos espectros de RMN ^1H do glucitol (**35**) e da lisina esterificada (**75**) (**figuras 60 e 67, pg. 104 e 112**).

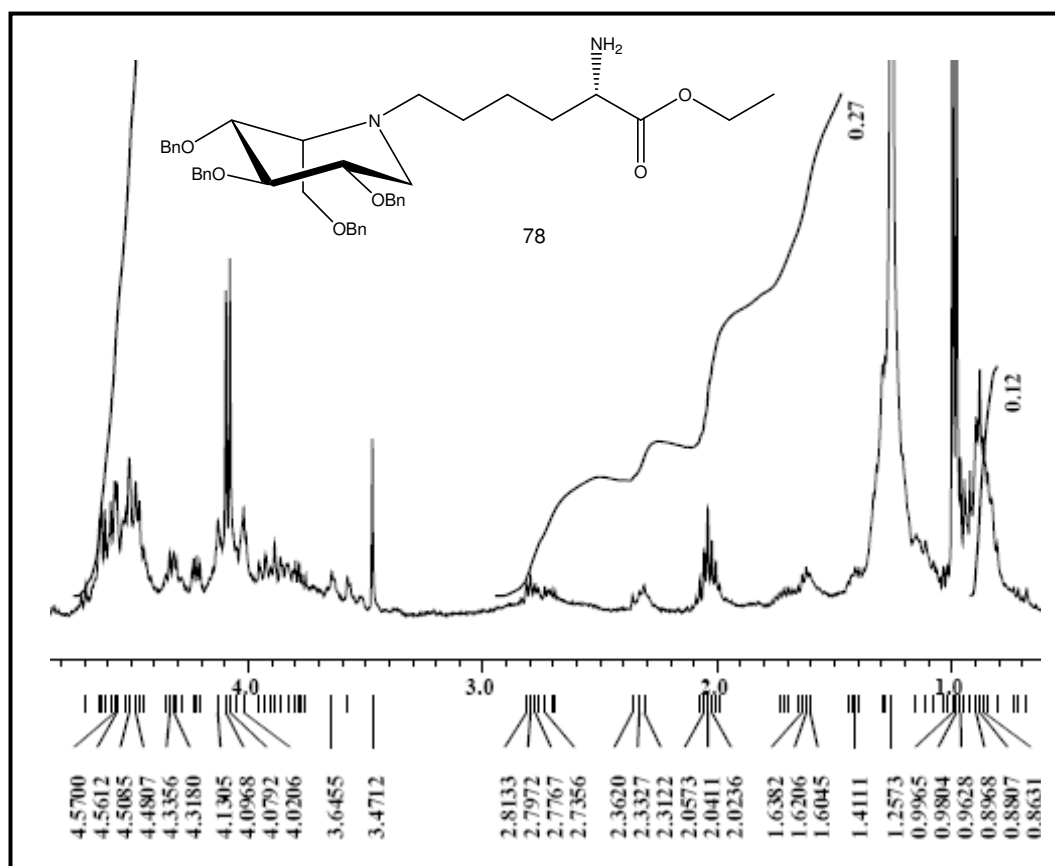


Figura 75. Parte do espectro de RMN ^1H da N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idojirimicina (**78**) (expansão da região entre 0,86 – 4,57 ppm) – CDCl₃

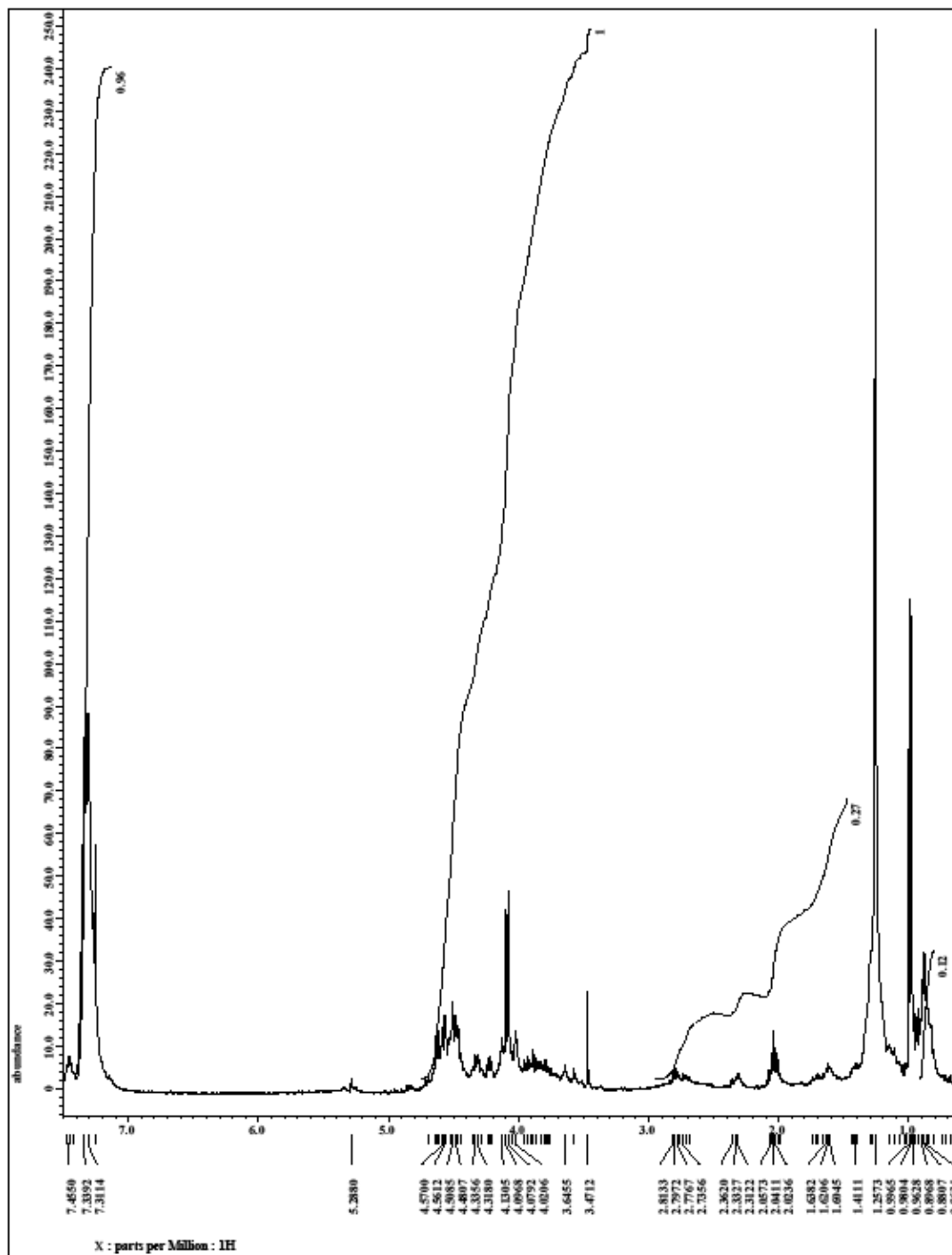
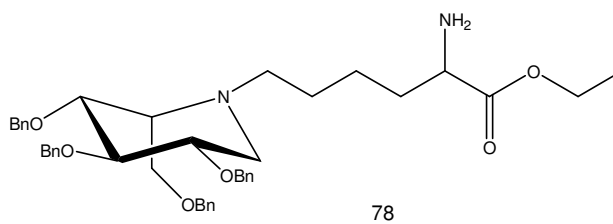


Figura 76. Parte do espectro de RMN ^1H da N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idojirimicina (**78**) (expansão da região entre 0,86 – 7,45 ppm) – CDCl_3

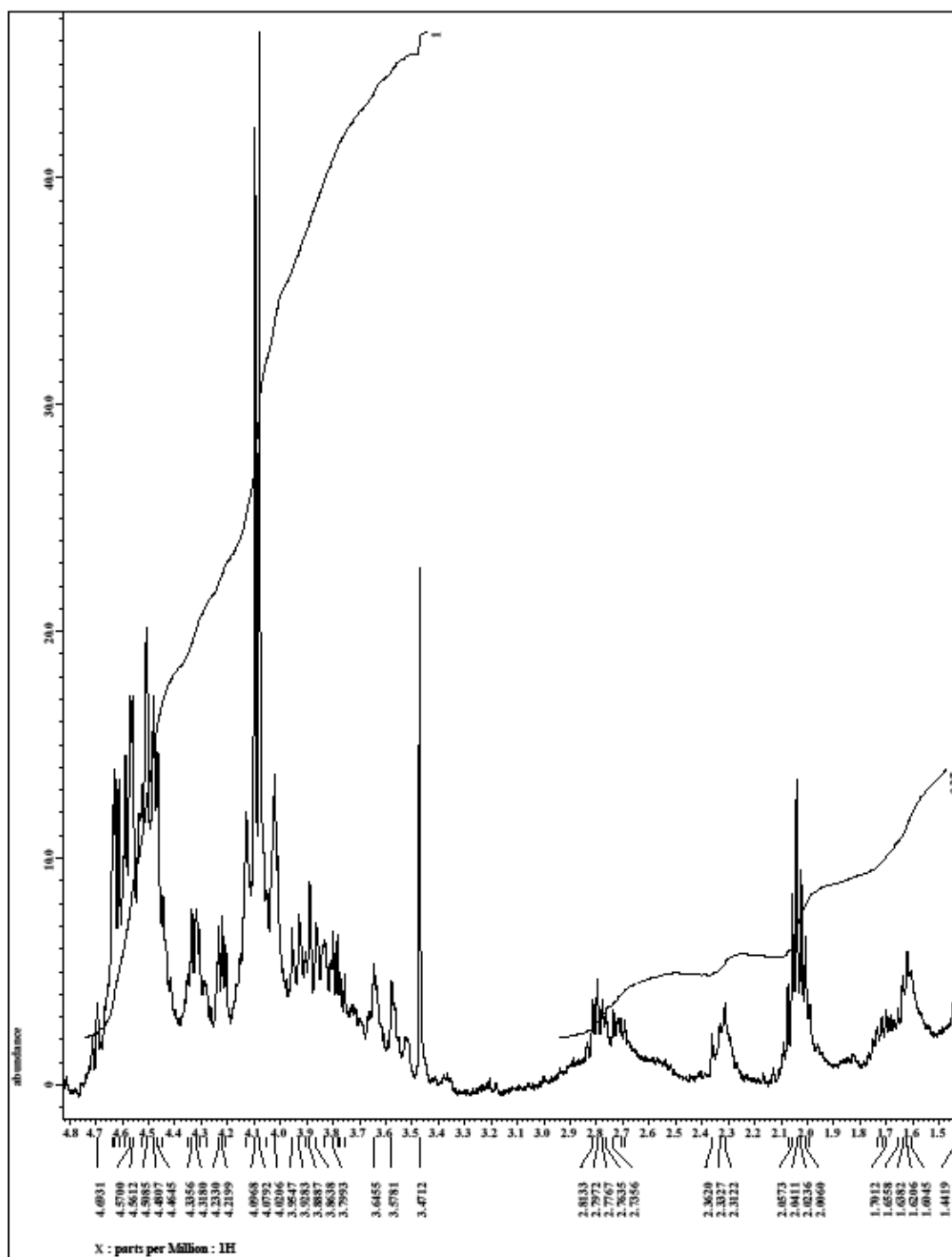
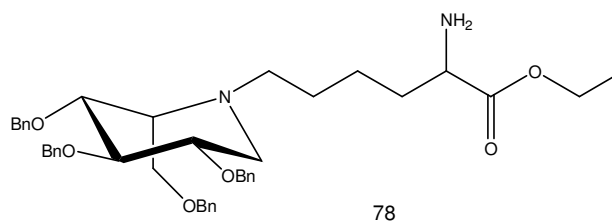
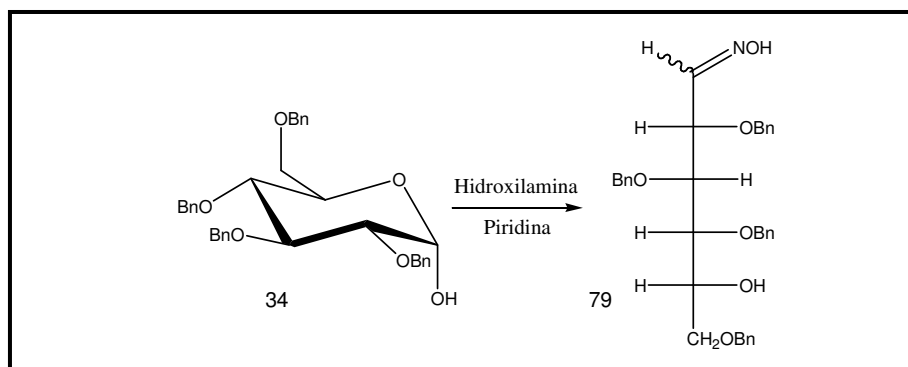


Figura 77. Parte do espectro de RMN ^1H da N-lisina etil ester-1-deoxi-L-idojirimicina (**78**) (expansão entre 1,5 – 4,8 ppm) – CDCl_3

5.3 – Inserção do grupo amina diretamente no açúcar:

5.3.1. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-desoxiglucitol (79):



Esquema 54. Síntese do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**).

Como foi mencionado no planejamento de síntese (**pag. 31**) uma outra rota de síntese se baseia na formação da oxima **79**. Reação de oxidação da oxima e da hidroxila livre de **79** conduzindo na formação de uma substância com função ceto e nitrila. A redução seletiva da função nitrila a amina, poderá levar a formação de amina cíclica.

Buscando atingir estes objetivos o 2,3,4,6-tetra-O-benzilglicopiranosose (**34**) foi tratado com hidroxilamina utilizando a metodologia proposta por Vasella e colaboradores para preparação de oximas. (Vasella, 1982)

Após reação do açúcar protegido **34** com hidroxilamina, foi obtido a oxima (**79**) que foi devidamente caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e Espectroscopia no Infravermelho (IV).

No espectro de I.V. pode-se observar principalmente a banda em 1454 cm^{-1} referente ao estiramento da oxima (C=NOH). Também é observada a banda em 3479 cm^{-1} do estiramento axial da ligação hidroxila (OH). Também é observada uma banda em 2870 cm^{-1} característico de carbonos alifáticos e a banda dos anéis aromáticos em 698 cm^{-1} .

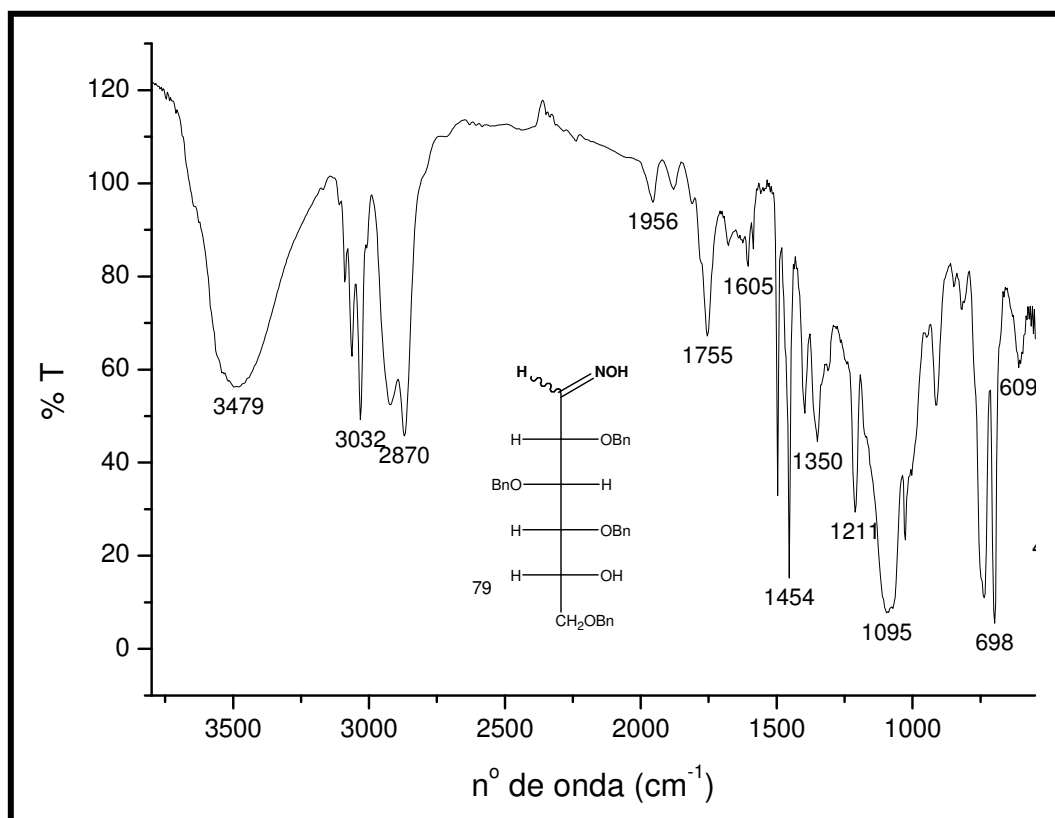


Figura 78. Espectro de Infravermelho do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**).

No espectro de RMN ^1H pode-se verificar a presença dos isômeros E e Z, na proporção de 4:1, respectivamente. Essa determinação foi possível pela integração dos dubletos em δ 7,47ppm ($J = 7,7$ Hz) e δ 6,9ppm ($J = 7,0$ Hz) referente ao hidrogênio metínico da oxima (**79**) (**figura 80**). Outra observação importante é a ausência do sinal referente ao hidrogênio anomérico do produto de partido. Para o espectro de RMN ^{13}C observa-se, principalmente, o sinal do carbono ligado a oxima em δ 149,80 ppm (**figura 80**). Também é verificado através do espectro bidimensional HMQC a conexão direta entre o carbono ligado a oxima e o hidrogênio metínico da oxima (**figura 80**)

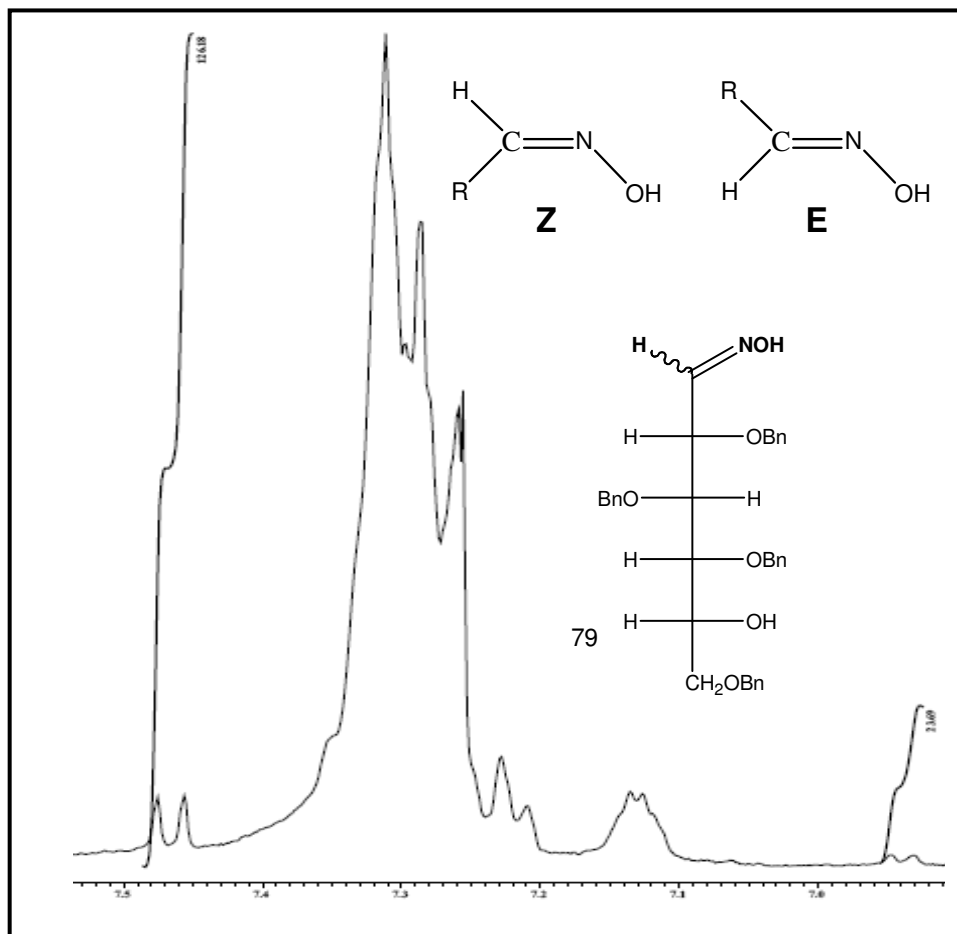


Figura 79. Parte do espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**) (expansão entre 6,0 – 7,5 ppm) – CDCl_3

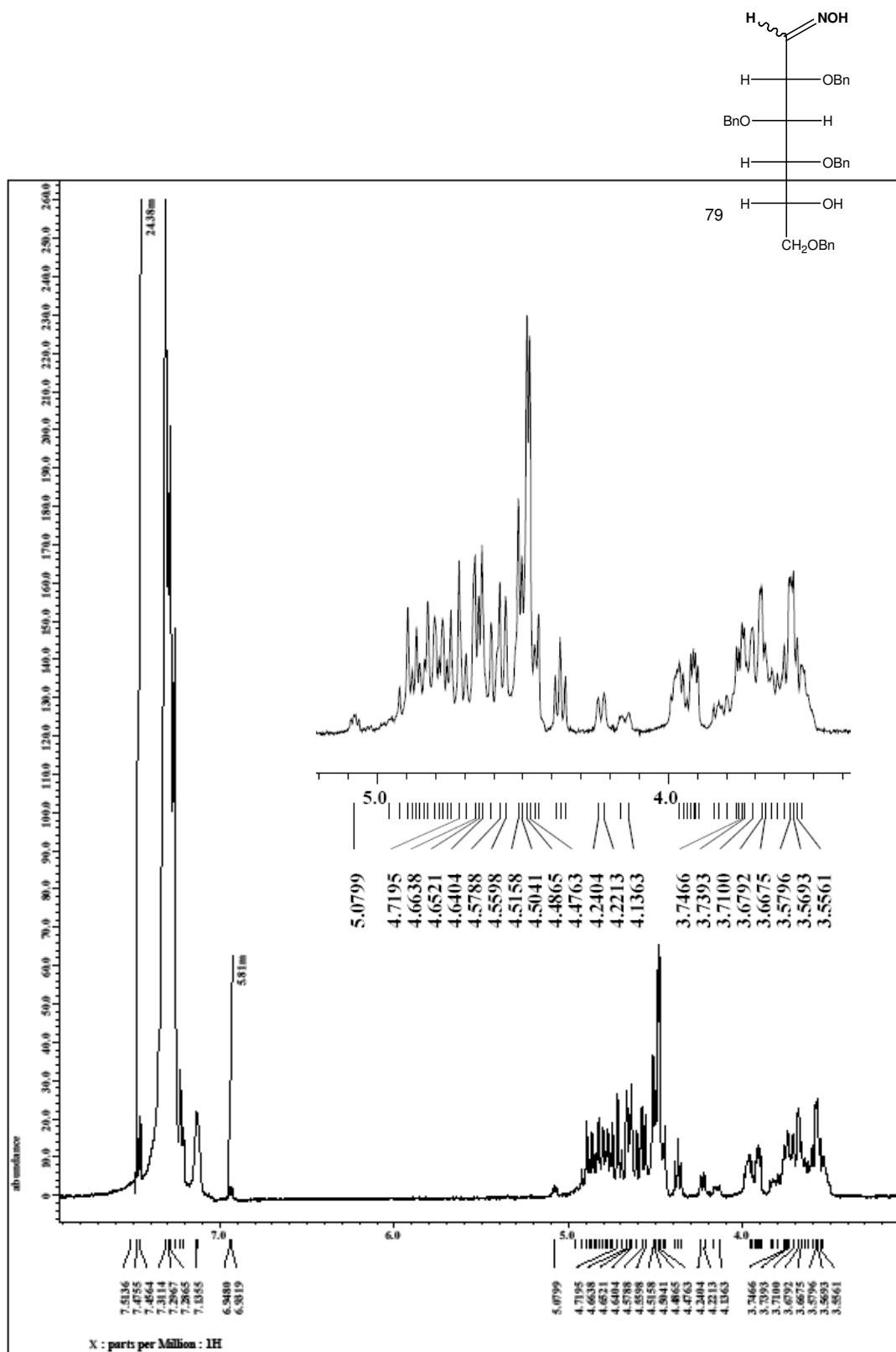


Figura 80. Espectro de RMN ^1H do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**) – CDCl₃

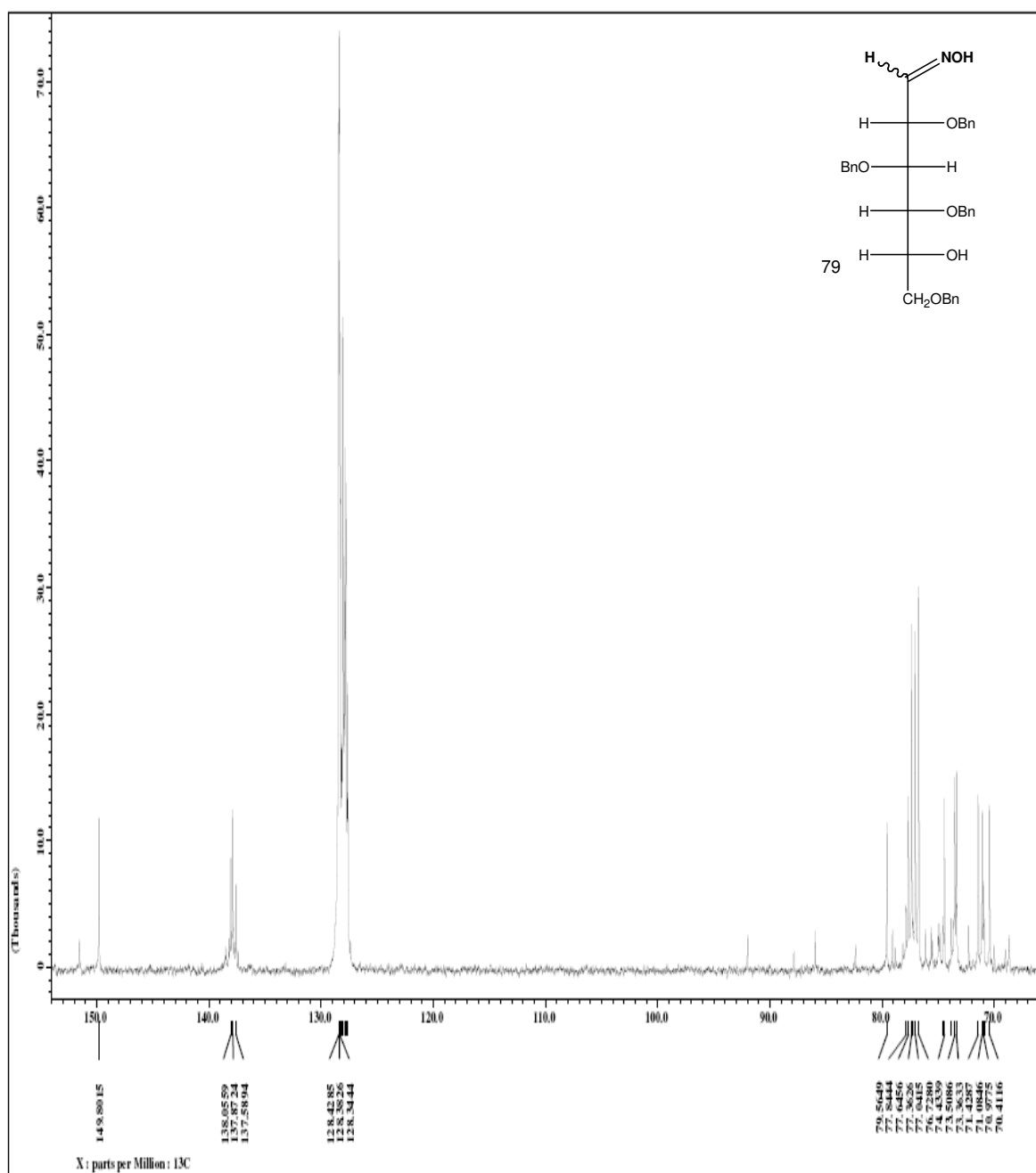


Figura 81. Espectro de RMN ^{13}C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**) – CDCl_3

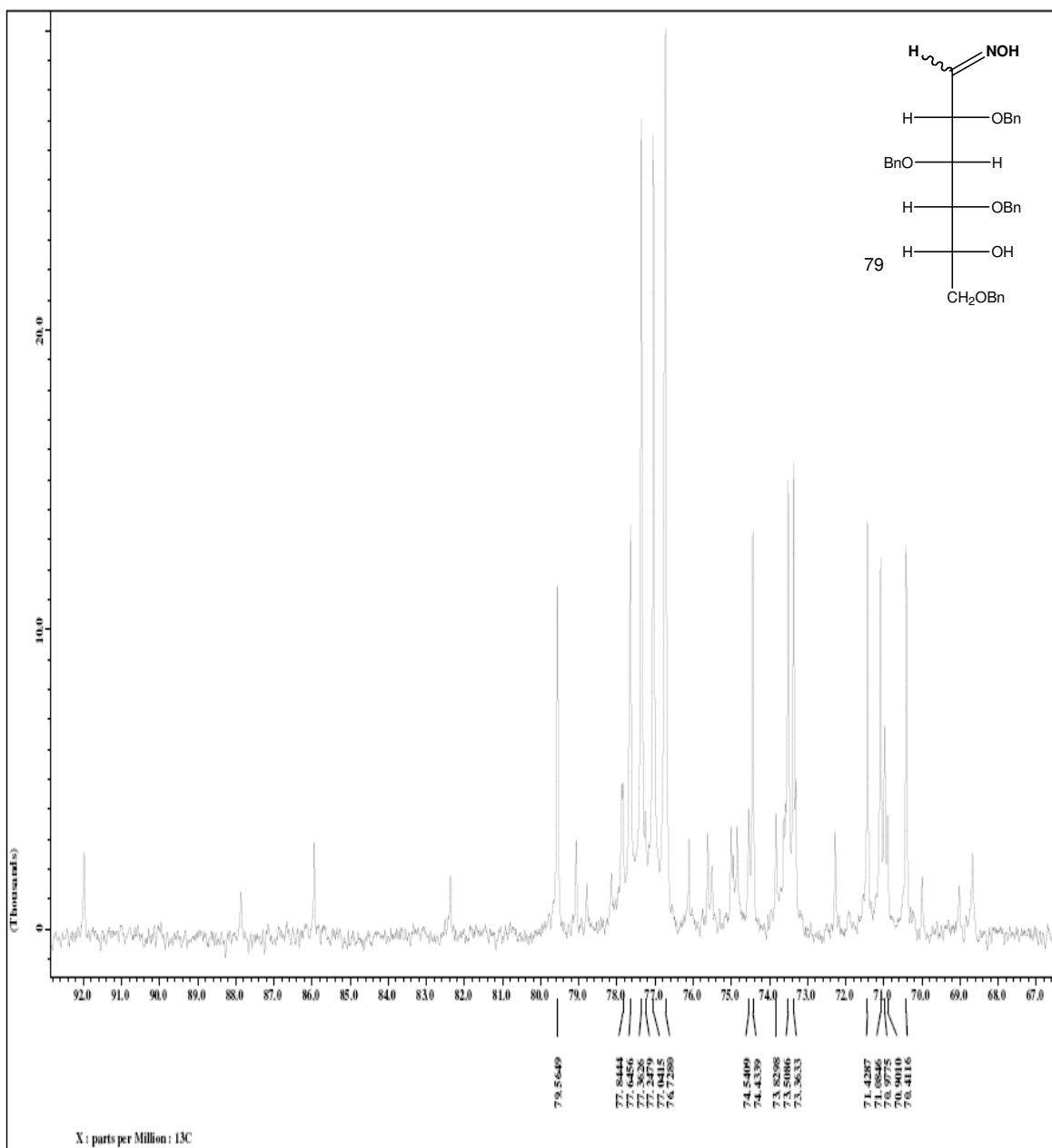


Figura 82. Espectro de RMN ¹³C do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**) (Expansão entre 67,0 – 92,0 ppm) – CDCl₃

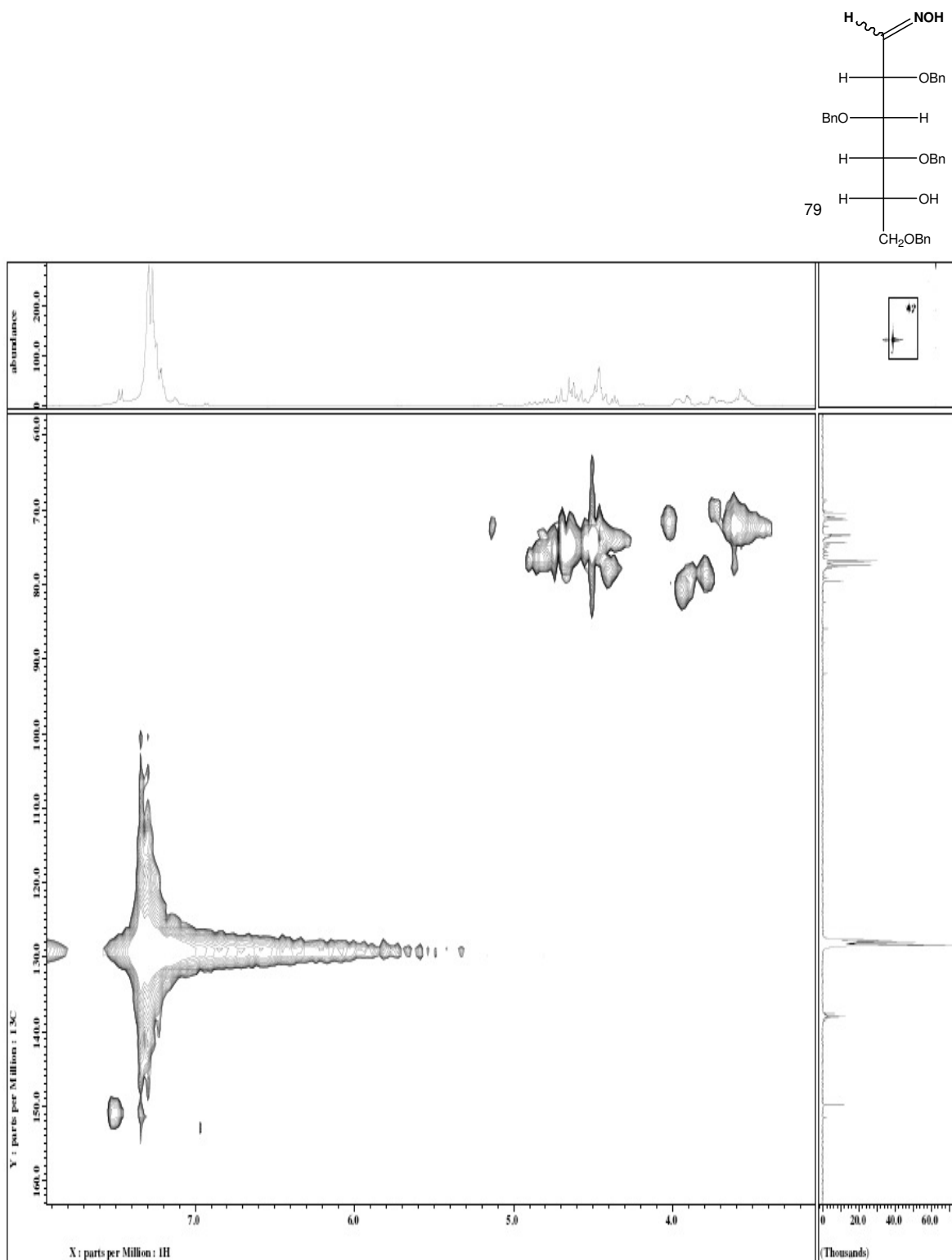
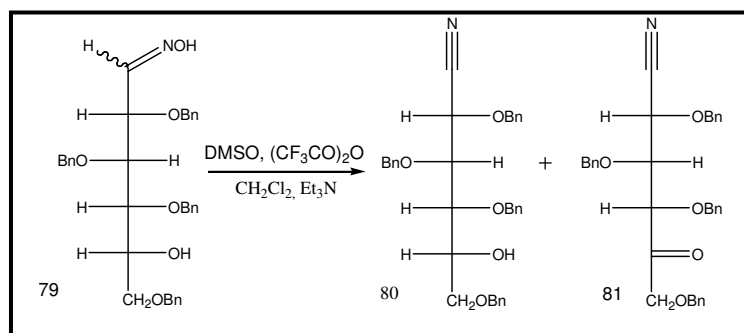


Figura 83. Espectro de RMN HMQC do 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-1-deoxiglucitol (**79**) – CDCl_3

5.3.2. Reação de oxidação da oxima (79):



Esquema 55. Oxidação da oxima (79).

A oxima 79 foi submetida a reação de Swern utilizando para ativar o sulfóxido de metila os reagentes anidrido trifluoracético ou cloreto de oxila. Nas condições empregadas os produtos obtidos formaram uma mistura da 2,3,4,6-tetra-O-benzil-5-hidroxi-hexanitrila (**80**) e 2,3,4,6-tetra-O-benzil-5-oxo-hexanitrila (**81**).

Sendo assim esta reação terá que ser otimizada para ser submetida a próxima etapa.

6. CONCLUSÃO:

Após o levantamento na literatura das aplicações farmacológicas dos aza-açúcares já sintetizados e testados *in vivo*, pode-se observar sua grande importância terapêutica, e mesmo não obtendo dados que confirmem inequivocamente a síntese total dos aza-açúcares objetivados, julgamos como importante os resultados discutidos nesse trabalho de dissertação, servindo como base de dados para pesquisas futuras.

Os intermediários de síntese (metil-D-xilopiranosídeo **(66)**, 2,3,5-tri-O-benzil-xilopiranosídeo **(68)**, 2,3,5-tri-O-benzil-xilitol **(70)**, L-lisina etil ester **(75)**, 2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol **(35)**, 1,5-di-metanosulfanil-2,3,4,6-tetra-O-benzil-glucitol **(76)** e 2,3,4,6-tetra-O-benzil-1-oxima-deoxiglucitol **(79)**) foram obtidos em bons rendimentos e devidamente caracterizados por técnicas de RMN ^1H e ^{13}C e por técnicas bidimensionais mostrando a importância dessas técnicas.

Nas reações de dupla oxidação seguida de aminação redutiva do xilitol **(70)** não foi obtido o aza-açúcar desejado, provavelmente este é instável e sofre reação intramolecular com posterior metilação do carbono anomérico.

Nas reações com derivados de L-lisina com o 2,3,4,6-tetra-O-benzilglucitol **(35)** foi observado que na estratégia de dupla oxidação com posterior aminação redutiva o derivado da lisina não mostrou-se suficientemente nucleofílico.

Já na reação de dupla substituição nucleofílica, tendo os grupamentos triflato como grupo de saída, mostrou-se promissora.

7. BIBLIOGRAFIA:

ASANO, Naoki. (2003). Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use. *Glycobiology*, v. 13: 93 - 104.

ASANO, N.; OSEKI, K.; KANEKO, E.; MATSUI, K. (1994). Enzymic synthesis of α - and β -glucosidase of 1-deoxynojirimycin and their glycosidase inhibitory activities. *Carbohydrate Research*, v.258: 255 - 266.

BEHR, Jean-Bernard; GUILLERM, Georges (2002). Synthesis of 6-deoxy-homoDMDP and its C(5)-epimer: absolute stereochemistry of natural products from *Hyacinthus orientalis*. *Tetrahedron Asymmetry*, v.13: 111-113.

BEZAS, Basiliki; ZERVAS, Leonidas (1961). On the Peptides of L-Lysine. *Journal of the American Chemical Society*, v. 83: 719 -722.

BUTTERS, T. D.; DWEK, R. A.; FLEET, G.; ORCHARD, M. G.; PLSTT, F. M. (2002). Preparation of pharmaceutically active aza-sugar piperidine derivatives as inhibitors of galactosidase and glucosylceramide synthase. *PCT Int. Appl.* 38.

CADOTTE, J. E.; SMITH, F.; SPRIESTERSBACH, D. (1952). A New Synthesis of Glycosides. *Journal of the American Chemical Society*, v.74: 1501 – 1504.

DECOSTER, Eliana; LACOMBE, Jean-Michel; STREBLER, Jean-Louis; FERRARI, Bernard; PAVIA, André (1983). Une Autre Approche A La Synthese De Derives Benzyles Des Monosaccharides Reducteurs. Etude Des Equilibres Pyranose-Furannose Par R.M.N. Du Carbone-13. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, v. 2: 239 – 342.

FUACE, Sandra; THERISOD, Michel. Lipophilic prodrugs of 1-deoxinojirimicina derivatives. *Tetrahedron Letters*, v. 41: 7313 - 7315.

- FLEET, George W. J.; SMITH, Paul W. (1986). The Synthesis from D-Xylose of the Potent and 1,4-Dideoxy-1,4-imino-L-arabinitol. *Tetrahedron*, v. 42: 5685 - 5692.
- HARDICK, D. J.; HUTCHINSON, D. W. (1993). The Biosynthesis of 1-deoxynojirimycin in *Bacillus subtilis* var *niger*. *Tetrahedron*, v. 49: 6707 - 6716.
- HAPER, H. A., RODWELL, V.W., MAYES, P.A. (1982). *Manual de Química Fisiológica*, 5^a ed. Atheneu: 354 - 356.
- HUDSON, C. S. (1925). Relations Between Rotatory Power and Structure in the Sugar Group. VI. The Rotatory Powers of the Alpha and Beta Forms of Methyl d- Xyloside and of Methyl 1-Arabinoside. *Journal of the American Chemical Society*, v. 47: 265 - 268.
- INOUE, S.; TSURUOKA, T.; ITO, T.; NILDA, N. (1968). Structure and Synthesis of Nojirimycin. *Tetrahedron*. v. 24: 2125 - 2144.
- JOHNSON, C. R.; JOHNS, B. A. (1997). Glycomimetics: A Versatile de Novo Synthesis of β -1-C-Aryl-deoxymannojirimycin Analogues. *Journal of Organic Chemistry*. v. 62: 6046 - 6050.
- KIM, Jin-Won; KIM, Soo-Un; LEE, Heui Sam; KIM, Iksoo; AHN, Mi Young; RYU; Kang Sun. (2003). Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 1002: 93 - 99.
- KITE, G. C., FELLOWS, L. E., LEES, D. C., KITCHEN, D., MONTEITH, G. B. (1991). Alkaloidal Glycosidase inhibitors in nocturnal and diurnal Uraniine moths and their respective foodplant genera, Endospermum and Omphalea. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 19: 441 - 445.

- LIU, Paul S. (1987). 2,6-Dideoxy-2,6-imino-7-O- β -D-glucopyranosyl-D-glycero-L-gulo-hepitol Hydrochloride: A Potent Inhibitor of α -Glucosidases. *Journal of Organic Chemistry*, v. 52: 4717 - 4721.
- MARCOS-FERNÁNDEZ, A; ABRAHAM, G. A.; VALENTÍN, J. L.; ROMÁN, J. S. (2006). Synthesis and characterization of biodegradable non-toxic poly(ester-urethane-urea)s based on poly(3-caprolactone) and amino acid derivatives. *Polymer*, v. 47: 785 – 798.
- MATOS, C., LOPES, R., LOPES, C. (1999). Synthesis of 1-Deoxynojirimycin and N-Butyl-1-deoxynojirimycin. *Synthesis*, nº 4: 571 - 573.
- MELO, Eduardo Borges; GOMES, Adriane da Silveira; CARVALHO, Ivone. (2006). α - e β - Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, v. 62: 10227 - 10302.
- MELO, Eduardo Borges; CARVALHO, Ivone. α - e β - Glucosidase Como Alvos Moleculares para Desenvolvimento de Fármacos. *Química Nova*, v. 29, nº: 840 - 843.
- MEHTA, Anand; CARROUÉE, Sandra; CONYERS, Bertha; JORDAN, Robert; BUTTERS, Terry; DWEK, Raymond A.; BLOCK, Timothy M. (2001). Inhibition of Hepatitis B Virus DNA Replication by Imino Sugars Without the Inhibition of the DNA Polymerase: Therapeutic Implications. *Hepatology*, v. 33: 1488 – 1495.
- OSTEN, C. H.; SINSKEY, A.J.; BARBAS, C. F.; PEDERSON, R. L.; WANG, Y. F. WONG, C. H. (1989). Use of a Recombinant Bacterial Fructose- 1,6 diphosphate Aldolase in Aldol Reactions: Preparative Syntheses of 1 - Deoxynojirimycin, 1 -Deoxymannojirimycin, 1,4-Dideoxy-1,4imino-D-arabinitol and Fagomine. *Journal of the American Chemical Society*. v.111: 3924 - 3927.

- OUZOUNOV, Serguey; METHA, Anand; DWEK, Raymond A.; BLOCK, Timothy M.; JORDAN, Robert. The combination of interferon α -2b and n-butyl deoxynojirimycin has a greater than additive antiviral effect upon production of infectious bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in vitro: implications for hepatitis C virus (HCV) therapy. *Antiviral Research*, v. 55: 425 - 435.
- PAULSEN, H; SANGSTER, I; HEYNS, K. (1967). *Chemisch Berichte*, v. 89: 5505.
- PELLED, Dori; LLOYD-EVANS, Emyr; RIEBELING, Christian; JEYAKUMAR, Mylvagnam; PLATT, Frances M.; FUTERMAN, Anthony H. (2003). Inhibition of Calcium Uptake via the Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} - ATPase in a Mouse Model of Sandhoff Disease and Prevention by Treatment with N-butyldeoxynojirimycin. *Biological Chemistry*, v. 278: 29496 - 29501.
- PLATT, F. M.; REINKENSMEIER, G.; DWEK, R. A.; BUTTERS, T. D. (1997). Extensive Glycosphingolipid Depletion in the Liver and Lymphoid Organs of Mice Treated with N-Butyldeoxynojirimycin. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 272: 19365 – 19372.
- RAADT, Anna, STÜTZ, Arnoldo. (1992). A Simple Convergent Synthesis of the Mannosidase Inhibitor 1- Deoxymannonojirimycin from Sucrose. *Tetrahedron Letters*, v. 33: 189 -192.
- SHIBANO, Makio; FUJIMOTO, Yuka; KUSHINO, Keiko; KUSANO, Genjiro; BABA, Kimiye. (2004). Biosynthesis of 1-deoxynojirimycin in *Commelina communis*: a difference between the microorganisms and plants. *Phytochemistry*, v. 65: 2661 - 2665.
- SOUZA, Marcos V. Nora (2003). Drogas Anti-VIH: Passado, Presente e Perspectivas Futuras. *Química Nova*, v. 26: 366 - 372.
- VASELLA, Andrea; VOEFFRAY, Robert (1982). Totalsyntheses von Nojirimycin. *Helvetica Chimica Acta*, v. 65: 1134 – 1144.

VOET, Donald, VOET, Judith G., PRATT, Charlotte W (2002). Fundamentos de Bioquímica. Artmed. 1^a ed.: 227.

YASUDA, Kayo; KIZU, Haruhisa; YAMASHITA, Toru; KAMEDE, Yukihiko; KATO, Atsushi; NASH, Robert J.; FLEET, George W. J.; MOLYNEUX, Russell J.; ASANO, Naoki (2002). New Sugar-Mimic Alkaloids the Pods of *Angylocalyx pynaertii*. *Journal of Natural Products*, v. 65: 198 – 202.

YOSHIKUNI, Y.; EZURE, Y.; SETO, T.; MORI, K.; WATANABE, M.; ENOMOTO, H (1989). Synthesis and α -glucosidase – Inhibiting Activity of a New α – Glucosidase Inhibitor, 4 O- α -D-glucopyranosylmoranoline and Its N-substituted Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37: 106 - 109.

WEISS, M., HETTMER, S., SMITH, P., LADISCH, S. (2003). Inhibition of Melanoma Tumor Growth by a Novel Inhibitor of Glucosylceramide Synthase. *Cancer Research*, v. 63: 3654 - 3658.