



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
NÍVEL MESTRADO

CAMILA VEIGA GARCIA

SÍNTESE DE COMPOSTOS *O*-GLICOSILADOS DE DERIVADOS ISOXAZÓLICOS

FLORIANÓPOLIS - SC

2021

Camila Veiga Garcia

Síntese de compostos *O*-glicosilados de derivados isoxazólicos

Dissertação submetida ao Programa de pós-graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Lílian Sibelle Campos Bernardes.

Florianópolis - SC

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Garcia, Camila
Síntese de compostos O-glicosilados de derivados
isoxazólicos / Camila Garcia ; orientador, Lillian Sibelle
Campos Bernardes, 2021.

p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Doença de Chagas. 3. O-glicosídeos. 4.
Derivados isoxazólicos. 5. Glicosilação. I. Campos
Bernardes, Lillian Sibelle. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. III.
Título.

Camila Veiga Garcia

Síntese de compostos *O*-glicosilados de derivados isoxazólicos

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Ricardo José Alves, Dr.

UFMG, Belo Horizonte, MG.

Profa. Miriam de Barcellos Falkenberg, Dra.

UFSC, Florianópolis, SC.

Profa. Lara Almida Zimmermann, Dra.

UNISOCIESC, Jaraguá do Sul, SC.

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmácia.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof.(a) Lilian Sibelle Campos Bernardes, Dr.(a)

Orientador(a)

Florianópolis – SC

2021

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós-graduação em Farmácia (PPGFar) pela oportunidade de realização do mestrado e a CAPES pelo apoio financeiro através da bolsa de mestrado concedida.

Aos meus pais, familiares e amigos, por todo amor, dedicação e apoio necessários para realização deste trabalho.

À minha orientadora, Lílian, pela oportunidade de realização deste trabalho, pelos ensinamentos de trabalho e de vida compartilhados, pelo apoio e confiança, pelas palavras de motivação e por toda dedicação.

Aos meus colegas Luiz, Rafael e Lucas, às conversas e discussões sobre o trabalho que contribuíram enormemente, por toda a ajuda necessária para o desenvolvimento deste trabalho e aos momentos de descontração.

Aos demais colegas de laboratório de Química Farmacêutica e Medicinal da UFSC, Daniel, Pâmela, Victor, Suellen, Cássio, Filipe e a técnica Carol, pelos auxílios durante o desenvolvimento deste trabalho, pela amizade e por todos os conhecimentos e momentos de descontração.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite de avaliar e contribuir para a melhoria deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A doença de Chagas é uma infecção parasitária, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, endêmica em diversos países da América Latina. É considerada uma doença tropical negligenciada pela Organização Mundial da Saúde e representa uma ameaça à saúde de cerca de 1 bilhão de pessoas mundialmente. Os fármacos disponíveis atualmente para o tratamento da doença de Chagas apresentam severas limitações de eficácia e toxicidade. Diante da necessidade de desenvolvimento de novas opções terapêuticas, em um trabalho anterior desenvolvido em nosso grupo de pesquisa, o composto sintético 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-hidroximetilfenil)isoxazol (**6**) foi identificado como protótipo, apresentando atividade promissora frente às formas amastigotas de *T. cruzi* (IC₅₀: 5,26 µM). No entanto, esse composto apresentou baixa hidrossolubilidade, o que pode levar a problemas com a realização de ensaios de atividade biológica. Na busca por um composto com melhor perfil de hidrossolubilidade, este trabalho teve como objetivo a síntese de derivados *O*-glicosilados do composto **6**, contendo as unidades monossacarídicas D-glicose e D-galactose. Os glicosídeos **15** e **16** foram analisados por meio de espectroscopia de RMN e por espectrometria de massas, porém não foram obtidos com rendimentos satisfatórios. Os rendimentos dos glicosídeos identificados serão futuramente otimizados, e estes compostos serão utilizados em ensaios biológicos para a avaliação de sua atividade tripanocida, bem como avaliação de suas propriedades físico-químicas.

Palavras-chave: Doença de Chagas, *O*-glicosídeos, derivados isoxazólicos, glicosilação.

ABSTRACT

Chagas disease is a parasitic infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, endemic in several Latin American countries. It is considered a neglected tropical disease by the World Health Organization and represent a threat to the health of approximately 1 billion people worldwide. The medicines currently available for the treatment of Chagas disease have severe limitations in terms of efficacy and toxicity. Give the need to develop new therapeutic options, in a previous work developed in our research group, the synthetic compound 3-(3,4-methylenedioxyphenyl)-5-(4-hydroxymethylphenyl)isoxazole (**6**) was identified as an prototype with promising activity against amastigote forms of *T. cruzi* (IC₅₀: 5.26 μM). However, this compound apresented low water solubility, which can lead to problems with the performance of biological activity tests. In the search for a compound with the best water solubility profile, this work aimed to synthesize *O*-glycosylated derivatives of compound **6**, containing the monosaccharide units D-glucose and D-galactose. The compounds **15** and **16** were analysed by NMR spectroscopy and by mass spectrometry, but were not obtained with satisfactory yields. The yields of glycosides will be optimized in the future, and these compounds will be used in biological assays to evaluate their trypanocidal activity, as well as evaluating their physical-compound properties.

Keywords: Chagas disease, *O*-glycosydes, isoxazolics derivatives, glycosylation.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Ciclo de vida do parasito <i>Trypanossoma Cruzi</i> , agente causador da doença de Chagas..... | 16 |
| Figura 2: Estrutura química dos fármacos benznidazol 1 e nifurtimox 2 empregados na quimioterapia da doença de Chagas..... | 17 |
| Figura 3: Estrutura química das lignanas 3 e 4 e violeta de genciana 5 | 18 |
| Figura 4: Estrutura química do composto 6 com atividade tripanocida (a) e representação da substituição bioisostérica de anéis realizada (b)..... | 19 |
| Figura 5: Espectros de RMN do composto 6 : (a) espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), (b) espectro de RMN ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), 75 MHz)..... | 36 |
| Figura 6a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 11 | 41 |
| Figura 6b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 11 | 42 |
| Figura 6c: Expansão da região δ 6,40 – 6,20 do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 11 , evidenciando a constante de acoplamento ($J_{\text{H1-H2}}$) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero..... | 42 |
| Figura 7a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 12 | 43 |
| Figura 7b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 12 | 43 |
| Figura 7c: Expansão da região δ 6,30 – 6,40 do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 12 , evidenciando a constante de acoplamento ($J_{\text{H1-H2}}$) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero..... | 44 |
| Figura 8a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 13 | 47 |
| Figura 8b: Expansão da região δ 6,80 – 6,20 dos espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) dos compostos 11 e 13 , evidenciando a constante de acoplamento ($J_{\text{H1-H2}}$) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero..... | 47 |
| Figura 8c: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 13 | 48 |
| Figura 9a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 20 | 51 |
| Figura 9b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 20 | 52 |

| | |
|---|----|
| Figura 10: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 21 | 53 |
| Figura 11: Espectro de massas do composto 15 | 56 |
| Figura 12: Espectro de massas do composto 16 | 57 |
| Figura 13: Espectro de massas do composto 16 | 58 |
| Figura 14: Espectro de massas do composto 16 | 58 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|---|----|
| Esquema 1: Mecanismo da reação de glicosilação de Koenigs-Knorr..... | 21 |
| Esquema 2: Rota sintética proposta para obtenção dos derivados <i>O</i> -glicosilados do composto 6 | 31 |
| Esquema 3: Rota sintética de síntese do composto 6 , representada em duas etapas..... | 32 |
| Esquema 4: Mecanismo de formação do composto 10 | 33 |
| Esquema 5: Mecanismo de formação do composto 17 | 34 |
| Esquema 6: Mecanismo de formação do composto 6 | 35 |
| Esquema 7: Mecanismo de ciclo-adição para formação do anel isoxazol..... | 37 |
| Esquema 8: Esquema de obtenção dos doadores glicosídicos em duas etapas..... | 38 |
| Esquema 9: Reação de per- <i>O</i> -acetilação de açúcares sob catálise de iodo..... | 39 |
| Esquema 10: Mecanismo de acetilação catalisada por iodo..... | 40 |
| Esquema 11: Reação de per- <i>O</i> -acetilação de açúcares sob sonocatálise..... | 40 |
| Esquema 12: Reação de síntese de doadores bromados 13 e 14 | 45 |
| Esquema 13: Mecanismo de formação dos brometos de glicosila acetilados..... | 45 |
| Esquema 14: Efeito anomérico A) alinhamento dos vetores B) interação entre orbitais..... | 46 |
| Esquema 15: Síntese dos derivados <i>O</i> -glicosilados 15 e 16 através da reação de Koenigs-Knorr..... | 49 |
| Esquema 16: Proposta de mecanismo para formação dos compostos 20 e 21 | 54 |
| Esquema 17: Síntese dos derivados <i>O</i> -glicosilados 15 e 16 através da reação de Koenigs-Knorr envolvendo um co-promotor ácido..... | 56 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Condições reacionais testadas nas reações de Koenigs-Knorr..... | 49 |
| Tabela 2: Dados obtidos <i>in silico</i> referentes aos parâmetros físico-químicos dos compostos avaliados..... | 60 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac: Grupo acetila

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

δ : deslocamento químico em partes por milhão em relação ao trimetilsilano (TMS = 0 ppm)

d: duplete

dd: duplo duplete

DABCO: 1-4-diazabicyclo[2.2.2]octano

DCM: Diclorometano

DMF: Dimetilformamida

FM: Fórmula Molecular

Hz: Hertz

IC₅₀: metade da concentração inibitória máxima

J: constante de acoplamento

logP: Logaritmo do coeficiente de partição

MM: Massa Molecular

m: multiplete

N₂: nitrogênio gasoso

Rf: Fator de retenção

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

s: simpleto

t: tripleto

TMSOTf: Trimetilsililtrifluormetanosulfonato

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 OBJETIVOS | 22 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL: | 22 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:..... | 22 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS:..... | 23 |
| 3.1 MATERIAIS | 23 |
| 3.2 MÉTODOS | 24 |
| 3.2.1 Síntese do acceptor glicosídico | 24 |
| 3.2.2 Síntese dos doadores de unidade monossacarídica..... | 25 |
| 3.2.3 Reação de <i>O</i>-glicosilação (SINGH; DEMCHENKO, 2019) | 28 |
| 3.2.4 Avaliação <i>in silico</i> das propriedades físico-químicas | 30 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 31 |
| 4.1 SÍNTESE DO ACCEPTOR..... | 32 |
| 4.2 SÍNTESE DOS DOADORES GLICOSÍDICOS | 38 |
| 4.2.1 Reação de <i>per-O</i>-acetilação | 38 |
| 4.2.2 Reação de funcionalização de C-1..... | 44 |
| 4.3 REAÇÕES DE <i>O</i> -GLICOSILAÇÃO..... | 48 |
| 4.4 ALIAÇÃO <i>IN SILICO</i> DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS | 59 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 61 |

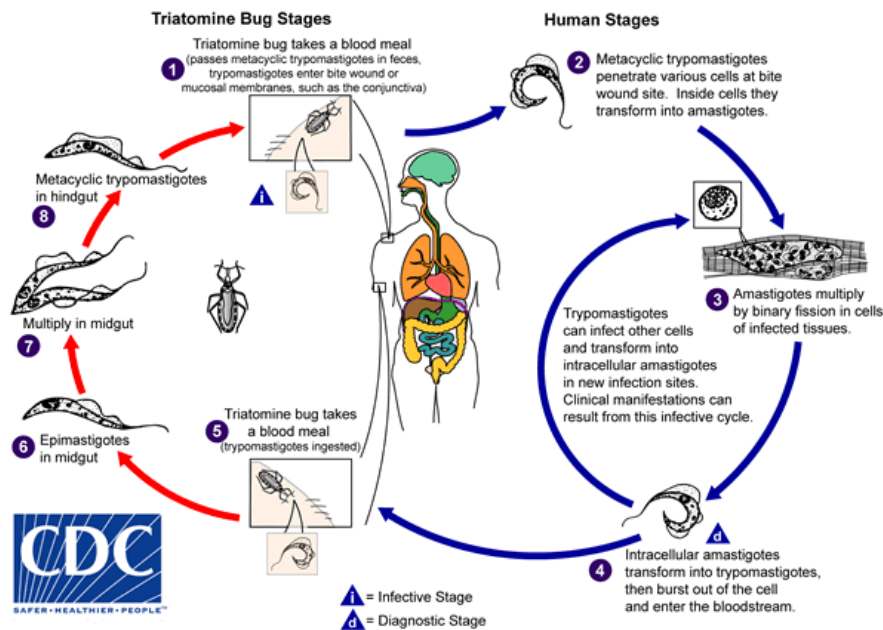
1 INTRODUÇÃO

São reconhecidas pela Organização Mundial da Saúde como doenças tropicais negligenciadas, um grupo heterogêneo de 20 doenças causadas por diferentes patógenos. Essas doenças afetam principalmente populações que vivem em situação de pobreza e ocorrem com maior frequência em regiões de clima tropical e subtropical. São endêmicas em regiões da África, Ásia e América Latina e afetam mais de um bilhão de pessoas em todo mundo (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021; WHO, 2021). Entre estas, a doença de Chagas, ou também conhecida como tripanossomíase americana, tem representado uma importante ameaça à saúde pública e ao desenvolvimento social e econômico destas populações (WHO, 2021).

Descrita pela primeira vez pelo médico brasileiro Carlos Chagas, em 1909, essa doença possui como agente etiológico o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909). Segunda a Organização Mundial da Saúde (2021), é possível que entre 6 e 7 milhões de pessoas possam estar infectadas com o parasito causador da doença em todo mundo.

Este parasito utiliza insetos hematófagos pertencentes a subfamília Triatominae para infectar seus hospedeiros vertebrados, e possui um ciclo de vida heteroxênico, apresentando-se sob diferentes formas evolutivas no inseto vetor e no hospedeiro vertebrado (figura 1) (CHATELAIN, 2015; COURA, 2007; STEVENS *et al.*, 2001). Embora o mecanismo vetorial seja a principal via de transmissão, ela também pode ocorrer por transfusão de sangue, transplante de órgãos, transmissão congênita e através da ingestão de alimentos contaminados com fezes de triatomíneos, sendo essa uma das principais causas de surtos de doença de Chagas aguda no Brasil (GALVÃO, 2014; MONCAYO; SILVEIRA, 2009).

Figura 1: Ciclo de vida do parasito *Trypanosoma Cruzi*, agente causador da doença de Chagas.

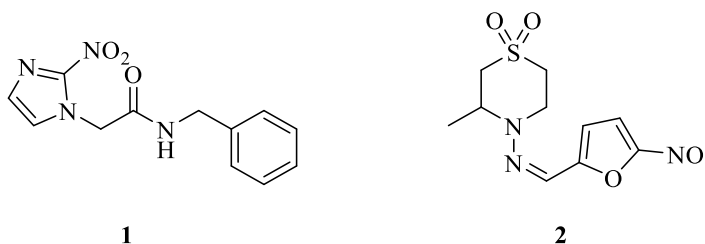


FONTE: (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2015)

Clinicamente, a doença de Chagas pode ser dividida em três fases distintas. Na fase aguda, o paciente apresenta parasitemia elevada e sintomas inespecíficos, como febre, mal-estar, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia e inflamação no local da picada (chagoma), com duração de 4 a 8 semanas. As respostas imunes controlam a infecção e a doença progride para fase indeterminada. No entanto, 10 a 20 anos após a infecção, 30% a 40% dos pacientes apresentam complicações da fase crônica, com o comprometimento do sistema digestivo, cardíaco ou em ambos (BESTETTI; MUCCILLO, 1997; CHATELAIN, 2015; LEON; WANG; ENGMAN, 2003; LEPESHEVA, 2013).

Desenvolvidos há mais de meio século, os quimioterápicos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas limitam-se aos fármacos benznidazol **1** e nifurtimox **2** (Figura 2) (BOCK; GÖNNERT; HABERKORN, 1969; RICHLE, 1973). Por volta da década de 80, o nifurtimox **2** teve sua comercialização descontinuada no Brasil, Argentina, Chile e Uruguai devido a severidade de seus efeitos adversos, sendo o benznidazol **1** o único fármaco disponível atualmente para o tratamento da doença de Chagas no Brasil (RAMOS JÚNIOR; SOUSA, 2018).

Figura 2: Estrutura química dos fármacos benznidazol **1** e nifurtimox **2** empregados na quimioterapia da doença de Chagas.

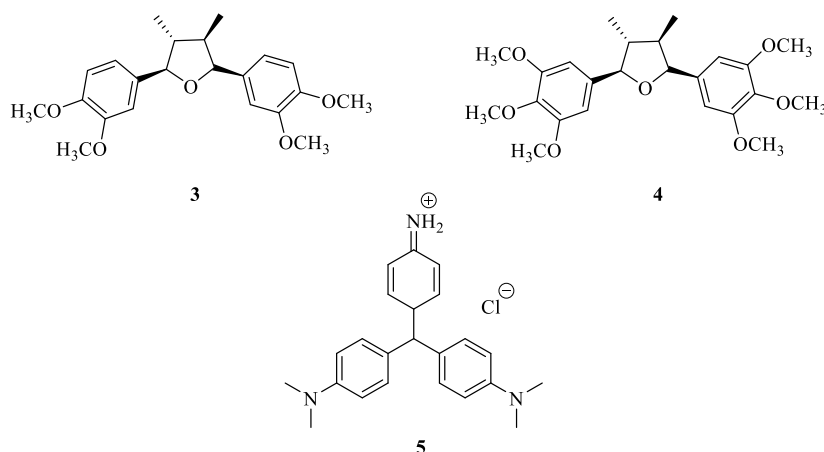


FONTE: Elaborado pelo autor.

Diversas limitações são atribuídas a estes fármacos, como baixa eficácia, severos efeitos adversos e também longos períodos de administração (60-90 dias) comprometem muitas vezes a adesão a estes tratamentos (LEAL *et al.*, 2013). Entre os efeitos adversos mais frequentemente observados estão: dermatites alérgicas, neuropatia periférica, anorexia, vômito, cefaleia, depressão do sistema nervoso central, entre outros (MAYA *et al.*, 2007; RASSI; DE REZENDE, 2012). Além disso, problemas como ciclo biológico complexo do parasito e o surgimento de cepas de *T. cruzi* resistentes, tornam a situação ainda mais desafiadora (COURA; DE CASTRO, 2002; LEAL *et al.*, 2013).

A busca por novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas através da triagem de produtos naturais tem se mostrado um importante suporte para a descoberta de novas opções terapêuticas. Considerando que o Brasil possui a maior diversidade vegetal do mundo, os metabólitos secundários de plantas representam uma importante fonte destes compostos (DIAS, 1996; IZUMI *et al.*, 2011; MOLONEY, 2016; SANTOS *et al.*, 2020; TEMPONE *et al.*, 2005). Duas lignanas tetra-hidrofurânicas isoladas de *Virola surinamensis* e *Piper solmsianum*, veraguensina **3** e grandisina **4** (Figura 3), foram descritas apresentando atividade tripanocida *in vitro* (100% de lise parasitária em concentração de 5 µg/mL), sendo esta atividade 40 vezes superior ao agente quimioprolático violeta de genciana **5** (100% de lise parasitária em concentração de 250 µg/mL) (LOPES *et al.*, 1998).

Figura 3: Estrutura química das lignanas **3** e **4** e violeta de genciana **5**.



FONTE: Elaborado pelo autor.

Diante das limitações encontradas no uso de compostos obtidos de fontes naturais, como dificuldades na obtenção de quantidades suficientes, bem como complexidade do processo de avaliação e caracterização, a síntese representa uma alternativa viável para obtenção destes compostos (KINGSTON, 2011; STROHL, 2000). A aplicação de estratégias de modificação e simplificação molecular para obtenção de análogos de produtos naturais menos complexos, tem fornecido resultados promissores na síntese e avaliação tripanocida *in vitro* de análogos sintéticos das lignanas **3** e **4**, com propriedades físico-químicas melhoradas (BERNARDES *et al.*, 2006; NIHEI; KONNO; BERNARDES, 2004; SZYCHOWSKI; TRUCHON; BENNANI, 2014).

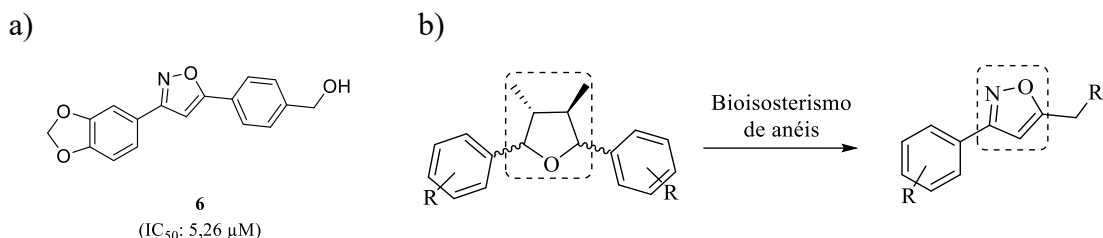
O bioisosterismo de anéis representa uma abordagem especial para obtenção de compostos heterocíclicos análogos bioisostéricos de produtos naturais. O grande interesse em compostos heterocíclicos está frequentemente relacionado com sua presença em moléculas com notável atividade biológica e capacidade de fornecer propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas melhoradas (BROUGHTON; WATSON, 2004; DUA1 *et al.*, 2011; WELSCH; SNYDER; STOCKWELL, 2010; WU, 2012). Resultados promissores tem sido descritos na investigação de compostos heterocíclicos naturais, sintéticos e semissintéticos com atividade tripanocida (DA ROSA *et al.*, 2017; KRYSHCHYSHYN *et al.*, 2014; PACHECO *et al.*, 2009; PAGLIERO *et al.*, 2017; ZIMMERMANN *et al.*, 2018).

Reações de cicloadição catalisadas por cobre são amplamente descritas na obtenção de compostos heterocíclicos. Comumente conhecidas como reações de “click”, estas abordagens

sintéticas envolvem reações termodinamicamente favoráveis, com altos rendimentos e de fácil aplicação, além de levar a formação de isômeros regioseletivos, formação de subprodutos de fácil remoção e a utilização de solventes atóxicos, contribuindo diretamente com os princípios de química verde (ANASTAS; EGHBALI, 2010; HIMO *et al.*, 2005; ROSTOVTSEV *et al.*, 2002).

Em um trabalho desenvolvido em nosso grupo de pesquisa, é descrita a síntese do composto protótipo 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-hidroximetilfenil)isoxazol (**6**) com notável atividade *in vitro* contra as formas amastigotas de *T. cruzi* IC₅₀: 5,26 µM (figura 4a). Este composto foi obtido através da substituição do anel tetrahydrofurano central das lignanas **3** e **4** pelo seu bioisostero isoxazol (figura 4b). Porém, apesar de sua boa atividade, esse composto apresentou baixa solubilidade aquosa, o que dificulta a realização dos ensaios de atividade biológica (DA ROSA *et al.*, 2017).

Figura 4: Estrutura química do composto **6** com atividade tripanocida (a) e representação da substituição bioisostérica de anéis realizada (b).



FONTE: Elaborado pelo autor.

A identificação de compostos com solubilidade inadequada é um problema recorrente e representa um importante desafio no desenvolvimento de novas moléculas, podendo levar à obtenção de dados enganosos e problemas com a realização de ensaios de atividade biológica, bem como diminuição da atividade *in vivo* (DI; KERNS, 2016; SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012; WILLIAMS *et al.*, 2013). Diante disso, se torna necessário otimizar os parâmetros relacionados à farmacodinâmica e/ou farmacocinética, como por exemplo, a solubilidade aquosa (KERNS; DI, 2008).

Entre as diferentes estratégias empregadas na otimização de propriedades físico-químicas, destacam-se a adição de grupos polares, como por exemplo a introdução de unidades

de açúcar. Esse tipo de estratégia tem sido descrita no aumento da solubilidade de compostos, bem como em uma melhor resposta biológica dos compostos otimizados (KERNS; DI, 2008; OSBORN *et al.*, 2004; SILVERMAN; HOLLADAY, 2015).

O envolvimento dos carboidratos em diversos processos biológicos relevantes é amplamente descrito e seu potencial na medicina já foi reconhecido através do desenvolvimento de vacinas e tratamentos para diversas doenças, como câncer, diabetes, AIDS, influenza, infecções bacterianas e artrite reumatoide (BERTOZZI; KIESSLING, 2001; OSBORN *et al.*, 2004; WONG, 2003).

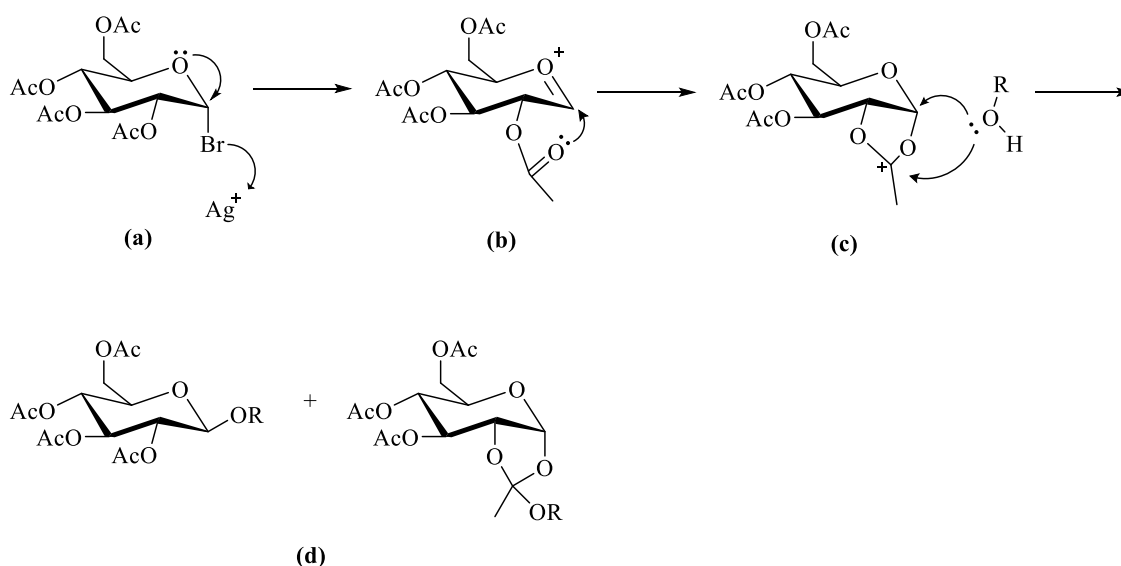
Com relação às unidades monossacarídicas mais abundantes na natureza e de maior relevância biológica, destacam-se D-glicose, D-galactose e D-manose, compreendendo mais de 75% de todas as unidades monossacarídicas presentes em estruturas celulares especialmente em mamíferos (FINCH, 1999; WERZ *et al.*, 2007). A introdução de unidades de açúcares a moléculas aceptoras, podendo ser estas, aromáticas ou alifáticas, ocorre por meio de reações de glicosilação. Estas reações envolvem o acoplamento via ligação *O*-, *S*-, *N*- ou *C*-glicosídica entre um doador glicosídico e um aceptor, na presença ou não de um agente promotor (BENNETT, 2017; BRITO-ARIAS, 2007; MILJKOVIC, 2009; RANADE; DEMCHENKO, 2013).

Os doadores de unidade monossacarídica podem ser empregados diretamente na reação ou, então, podem ser submetidos às etapas de proteção e ativação. Do ponto de vista sintético, uma seleção criteriosa deve ser levada em consideração na escolha apropriada de grupos protetores e grupos de saída, uma vez que estes participam ativamente na efetividade das reações, além de influenciar na regio e estereosseletividade das ligações glicosídicas (HUNG; ZULETA, 2016; LEVY; FUGEDI, 2006).

Diversos protocolos estão disponíveis atualmente para a realização de reação de glicosilação, envolvendo diferentes reagentes e condições reacionais (DAS; MUKHOPADHYAY, 2016). Em relação aos métodos mais atuais, muitos avanços foram alcançados no desenvolvimento de processos e reagentes mais sustentáveis (FARRÁN *et al.*, 2015; NAZOR; LIU; HUISMAN, 2021). Métodos clássicos, como por exemplo a reação de Koenigs e Knorr ainda são amplamente descritos na obtenção de glicosídeos. Este protocolo de glicosilação envolve doadores haletos de glicosila e álcoois aromáticos ou alifáticos, na presença de promotores eletrofílicos de prata que auxiliam a clivagem da ligação carbonohalogênio na posição anomérica e ativação do doador (KOENIGS; KNORR, 1901).

De modo geral, a ativação do grupo abandonador está frequentemente relacionado com o início da reação (esquema 1), em que, a saída deste grupo é auxiliada por um promotor **(a)**, levando à formação do intermediário carbocátion. O oxigênio endocíclico estabiliza o carbocátion formado, por ressonância, levando a formação do íon oxocarbênio **(b)**. Na presença de um grupo acetila em C-2, esse interage com o íon oxocarbênio levando a formação do íon mais estável aciloxônio **(c)**. Na sequência, ocorre o ataque nucleofílico do acceptor glicosídico ao carbono anomérico **(c)**, levando à formação estereosseletiva de um β -glicosídeo e/ou um intermediário ortoéster **(d)** (DAS; MUKHOPADHYAY, 2016; HUNG; ZULETA, 2016; RANADE; DEMCHENKO, 2013).

Esquema 1: Mecanismo da reação de glicosilação de Koenigs-Knorr.



FONTE: (DAS; MUKHOPADHYAY, 2016)

Diante do exposto, em continuidade ao trabalho de Da Rosa (2017), este trabalho descreve a síntese de derivados *O*-glicosilados do composto **6**, envolvendo um protocolo de glicosilação de Koenigs-Knorr catalisado por ácido. Além disso, em função das dificuldades encontradas neste período de pandemia, prejudicando a realização de atividades em laboratório, neste período foi realizada a escrita de um artigo de revisão intitulado “Aplicação da química verde na síntese de carboidratos”.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Sintetizar e caracterizar os derivados *O*-glicosilados do composto **6** que apresentem melhor perfil de hidrossolubilidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Sintetizar o acceptor glicosídico **6**;
- Sintetizar os doadores glicosídicos a partir das unidades monossacarídicas: D-glicose **7** e D-galactose **8**;
- Sintetizar os derivados *O*-glicosilados de **6**, contendo as unidades monossacarídicas **7** e **8**;
- Caracterizar as estruturas dos glicosídeos sintetizados utilizando técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C e espectroscopia de massas;
- Avaliar *in silico* das propriedades físico-químicas dos compostos sintetizados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS:

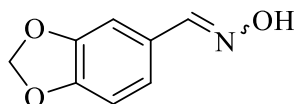
3.1 MATERIAIS

- Os espectros de RMN foram adquiridos em Espectrômetro Bruker Fourier 300 MHz (Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina);
- Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetros modelo Xevo G2-S Q-Tof Waters operando em modo positivo/negativo em arranjo de massas de 100 a 1500 Da (Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina);
- Reações realizadas sob irradiação de micro-ondas foram realizadas em um reator Discovery - CEM Explorer com sistemas de controle de pressão e resfriamento.;
- As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram realizadas em folhas de sílica gel G60 com suporte de alumínio SILICYCLE®, com indicador de fluorescência F-254 e agentes cromogênicos para detecção: solução ácida de cério molibdênio (cério molibdênio 1% e ácido molibídico 1,5% diluídos em ácido sulfúrico concentrado 10% (v/v) em água qsp.) e anisaldeído sulfúrico (0,5 mL de anisaldeído e 5mL de ácido sulfúrico em 10mL de ácido acético glacial e 85mL de metanol).
- As purificações por cromatografia em coluna foram realizadas em sílica gel com tamanhos de partícula 40-63 e 63-200 μm (Sigma Aldrich);
- As purificações por extração em fase sólida foram realizadas em Manifold à vácuo e cartuchos de SPE de fase reversa;
- A peneira molecular de 4Å utilizada foi ativada em mufla à 400° C e os promotores Ag₂O (PF: 280 °C) e Ag₂CO₃ (PF: 210° C) foram secos em estufa (~ 100° C) antes do uso;
- Solventes e reagente foram tratados e purificados quando necessário, conforme métodos descritos na literatura (ARMAREGO; PERRIN, 1997).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Síntese do acceptor glicosídico

(*E*), (*Z*)-1,3-benzodioxol-5-aldoxima (**10**)

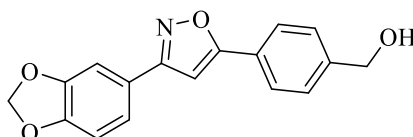


10

Foram adicionados em um gral piperonal **9** (0,50 g; 3,30 mmol), cloridrato de hidroxilamina (0,23 g; 3,30 mmol) e DABCO (0,37 g; 3,30 mmol), e macerados com auxílio de um pistilo até a formação de uma pasta branca. A verificação do consumo completo do material de partida e formação do produto desejado foi acompanhada por CCD. Ao final da reação, a mistura foi diluída em diclorometano (15 mL) e extraída com solução saturada de NaCl (3 x 15 mL). Ao final da extração, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O composto **10** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 82% (0,45 g; 2,71 mmol).

F.M.: C₈H₇NO₃; **P.M.:** 165,15 g mol⁻¹; **Rf:** 0,59 [Hex:AcOEt, 6:4 (v/v)].

3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-hidroximetilfenil)isoxazol (**6**)



6

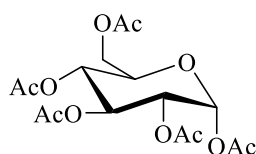
Em um tubo de micro-ondas foram adicionados o composto **10** (0,55 g; 3,31 mmol), DMF (2 mL) e por último *N*-clorosuccinimida (0,46 g; 3,47 mmol) foi adicionada lentamente para evitar aquecimento. O tubo foi selado e submetido à irradiação de micro-ondas (30 °C, 150 W). A reação foi acompanhada por CCD a cada 1 minuto, até a verificação do consumo completo do material de partida. Na sequência, foram adicionados ao tubo álcool 4-etinilbenzílico (0,45 g; 3,47 mmol), sulfato de cobre (II) (0,01 g; 0,09 mmol/%), ascorbato de

sódio (0,09 g; 0,50 mmol%), água (2 mL) e por último bicarbonato de sódio (1,20 g, 14,33 mmol). O tubo foi selado novamente e submetido à irradiação de micro-ondas por 10 minutos (30 °C, 150 W). Após verificar a formação do produto esperado, a reação foi diluída com solução saturada de NaCl (15 mL) e extraída com AcOEt (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O produto bruto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel como fase estacionária e hex:AcOEt (6:4) como fase móvel. O composto **6** foi obtido como um sólido branco-amarelado com rendimento de 29% (0,28 g; 0,98 mmol).

F.M.: C₁₇H₁₃NO₄; **P.M.:** 295,29 g mol⁻¹; **Rf:** 0,4 [Hex:AcOEt 6:4 (v/v)]; **RMN ¹H (300 MHz CDCl₃)** δ 7,82 (2H, d, *J* = 8,3 Hz); 7,49 (2H, d, *J* = 8,3 Hz); 7,38 (1H, d, *J* = 1,6 Hz); 7,34 (1H, dd, *J* = 1,6 Hz, *J* = 8,0); 6,90 (1H, d, *J* = 8,0 Hz); 6,74 (1H, s, isoxazol); 6,04 (2H, s, OCH₂O); 4,77 (2H, s, CH₂OH). **RMN ¹³C (75 MHz (CD₃)₂CO)** δ 170,12; 162,48; 149,28; 148,40; 145,13; 127,03; 126,03; 125,47; 123,21; 121,07; 108,56; 106,46; 101,73; 97,45; 63,24.

3.2.2 Síntese dos doadores de unidade monossacarídica

1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- α -D-glicopirranose (**11**)



11

METODOLOGIA 1 (KARTHA; FIELD, 1997)

A D-glicose **7** (1,00 g; 5,55 mmol) foi suspensa em anidrido acético (5 mL) e, em seguida, a suspensão foi tratada com iodo molecular (0,05 g; 0,47 mmol). A mistura ficou sob agitação à temperatura ambiente, e à medida que a reação ocorria, o açúcar se solubilizava e a solução adquiria coloração castanho escuro. A reação foi monitorada por CCD, e após cerca de 2 horas o material de partida foi completamente consumido. A solução foi diluída em diclorometano (15 mL) e tratada com solução de Na₂S₂O₃ 5% (3 x 15 mL). Em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução saturada de Na₂CO₃ (3 x 15 mL), seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. A mistura bruta foi purificada por meio de

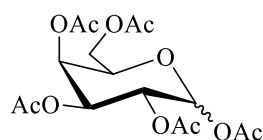
recristalização com etanol, sendo obtido o composto **11**, obtido como um sólido branco com rendimento de 42% (0,92 g; 2,36 mmol).

METODOLOGIA 2 (DENG; GANGADHARMATH; CHANG, 2006)

A D-glicose **7** (1,00 g; 5,55 mmol) e anidrido acético (10 mL) foram adicionados em um balão de fundo redondo e, em banho de gelo, foi adicionado ácido sulfúrico (1 mL). A mistura foi submetida a irradiação de ultrassom em temperatura ambiente, sendo acompanhada por CCD até a verificação do consumo completo do material de partida e formação do produto esperado. Após cerca de 4 horas de reação, a mistura reacional foi vertida em funil e lavada com solução saturada de Na₂HCO₃ (2 x 15 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O material bruto foi obtido como um produto viscoso branco, e este foi purificado por meio de recristalização com etanol, levando à obtenção do composto **11** sob a forma de um sólido branco, com rendimento de 57% (1,24 g; 3,19 mmol).

F.M.: C₁₆H₂₂O₁₁ **P.M.:** 390,34 g mol⁻¹ **Rf:** 0,72 [Hex:AcOEt 1:1 (v/v)]. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ 6,33 (1H, d, *J* = 3,6 Hz; H-1); 5,47 (1H, t, *J* = 9,9 Hz; H-3); 5,16 (1H, d, *J* = 9,9; H-4); 5,10 (1H, dd, *J* = 3,7 Hz; 10,3 Hz; H-2); 4,27 (1H, dd, *J* = 4,3 Hz; 12,7 Hz); 4,11 (2H, m); 2,18 – 2,02 (15H, s, CH₃). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ 170,64; 170,23; 169,66; 169,40; 168,76; 89,05; 69,81; 69,18; 67,87; 61,44; 20,87; 20,69; 20,66; 20,56; 20,44.

1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-D-galactopiranosose (**12**)

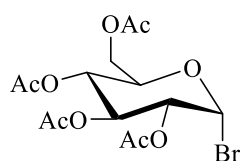


12

O composto **12** pode ser obtido através das metodologias 1 e 2, a partir da D-galactose **8** (1,00 g; 5,55 mmol) obtida comercialmente. O composto **12** foi obtido como uma mistura de ânômeros com rendimento quantitativo.

F.M.: C₁₆H₂₂O₁₁ **P.M.:** 390,34 g mol⁻¹ **Rf:** 0,76 [Hex:AcOEt, 1:1 (v/v)]. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ 6,38 (1H, d, *J* = 1,5 Hz); 5,50 (1H, m); 5,34 (1H, m); 4,34 (1H, t, *J* = 6,8 Hz); 4,10 (2H, dd, *J* = 2,3 Hz; 6,7 Hz); 2,16 - 2,00 (15H, s, CH₃). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ 170,38; 170,15; 169,89; 168,94; 89,71; 68,75; 67,41; 67,35; 66,43; 61,24; 20,88; 20,66; 20,64; 20,61; 20,54.

Brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-actil- α -D-glicopiranosila (**13**)

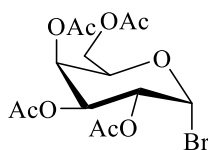


13

Em um balão de fundo redondo o composto **11** (1 g; 2,56 mmol) foi dissolvido em diclorometano (5 mL), e após a dissolução completa, foi adicionado anidrido acético (11 mL). A mistura foi em banho de gelo para a adição lenta de ácido bromídrico 48% (2,60 mL), e depois deixada sob agitação em temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD até a verificação do consumo completo de material de partida. Após cerca de 2 horas de reação foi possível observar o consumo completo do material de partida. Ao final da reação, foi adicionado ao balão gelo picado e deixada sob agitação por 20 minutos. A mistura foi vertida em funil e extraída com diclorometano (3 x 25 mL). A fase orgânica foi tratada com solução de K₂CO₃ 8% (2 x 30 mL) e água (2 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O material bruto foi obtido como um produto viscoso amarelo claro, sendo este o composto **13**, com rendimento de 86% (0,90 g; 2,20 mmol).

F.M.: C₁₄H₁₉BrO₉ **P.M.:** 411,20 g mol⁻¹ **Rf:** 0,79 [Hex:AcOEt, 7:3 (v/v)]. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ 6,61 (1H, d, *J* = 4,0 Hz); 5,56 (1H, t, *J* = 9,7 Hz); 5,16 (1H, t, *J* = 9,9 Hz); 4,84 (1H, dd, *J* = 4,0 Hz; 9,9 Hz); 4,31 (2H, m); 4,13 (1H, m); 2,10 - 2,03 (12H, s, CH₃). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)** δ 170,48; 169,83; 169,77; 169,45; 86,56; 72,11; 70,56; 70,13; 67,13; 60,92; 20,63; 20,60; 20,53.

Brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosila (**14**)

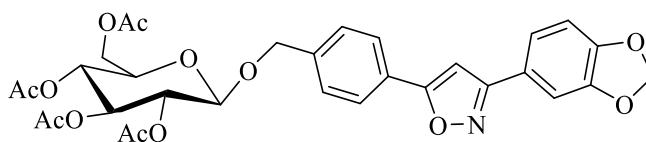
**14**

O composto **14** foi obtido através da mesma metodologia utilizada para a obtenção do composto **13**, a partir do composto **12** (0,35 g; 0,91 mmol). O material bruto foi obtido como um produto viscoso amarelo claro, sendo este o composto **14**, com rendimento de 74,5% (0,28 g; 0,68 mmol).

F.M.: C₁₁H₁₅BrO₇ **P.M.:** 339,14 g mol⁻¹ **Rf:** 0,63 [Hexano:AcOEt, 7:3 (v/v)].

3.2.3 Reação de *O*-glicosilação (SINGH; DEMCHENKO, 2019)

6-*O*-[(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glicopiranosil)-5-metilfenil]-3-(3,4-metilenodioxifenil)isoxazol (**15**)

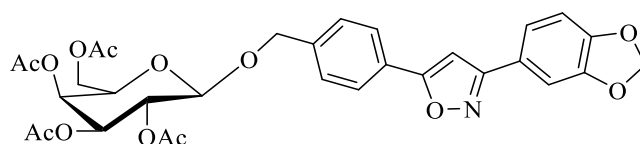
**15**

Em um balão de duas bocas, o doador **13** (0,06 g; 0,16 mmol) e o aceptor **6** (0,03 g; 0,13 mmol), juntamente com a peneira molecular 4Å, foram deixados sob agitação em diclorometano (4 mL) sob atmosfera de argônio por 1 hora, em temperatura ambiente. Na sequência, promotor Ag₂O (0,01 g; 0,08 mmol) foi adicionado, e a mistura ficou sob agitação por mais 5 minutos. A mistura foi colocada em banho de gelo para a adição do co-promotor TMSOTf (0,01 g; 0,05 mmol) e agitada vigorosamente em temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD e após cerca de 20 horas, a reação foi finalizada com uma gota de trietilamina. A mistura foi filtrada em celite e os sólidos lavados com diclorometano. A fase orgânica coletada foi tratada com água (2 x 15 mL) e posteriormente seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada em rotaevaporador.

O material bruto foi aplicado em cromatografia de camada delgada preparativa, a fase móvel empregada foi composta por hex:AcOEt (1:1), levando a obtenção do composto **15**.

F.M.: $C_{31}H_{31}NO_{13}$ **P.M.:** 625,58 g mol⁻¹ **LC-MS *m/z* (modo negativo):** Calculada para $C_{31}H_{31}NO_{13}Cl^-$: 660,1484; encontrado: 660,1488 [M + Cl]⁻.

6-*O*-[(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-5-metilfenil]-3-(3,4-metilenodioxifenil)isoxazol (16**)**



16

Em um balão de duas bocas, o doador **14** (0,09 g; 0,22 mmol) e o acceptor **6** (0,02 g; 0,09 mmol), juntamente com peneira molecular 4Å, foram deixados sob agitação em diclorometano (4 mL) sob atmosfera de argônio por 1 hora, em temperatura ambiente. Na sequência, promotor Ag₂O (0,01 g; 0,06 mmol) foi adicionado, e a mistura ficou sob agitação por mais 5 minutos. A mistura foi colocada em banho de gelo para a adição do co-promotor TMSOTf (0,01 g; 0,04 mmol) e deixada sob agitação vigorosa à temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD e após cerca de 40 horas a reação foi finalizada com uma gota de trietilamina. A mistura foi filtrada em celite e os sólidos lavados com diclorometano. A fase orgânica coletada foi tratada com água (2 x 15 mL) e posteriormente seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O material bruto foi submetido a extração em fase sólida em cartuchos de SPE C-18 e MeOH:H₂O como fase móvel nas seguintes proporções: 5 mL (H₂O); 5 mL (5% MeOH); 5 mL (10% MeOH); 5 mL (20% MeOH); 5 mL (30% MeOH); 5 mL (40% MeOH); 5 mL (50% MeOH); 5 mL (60% MeOH); 5 mL (70% MeOH); 5 mL (80% MeOH); 5 mL (90% MeOH); 5 mL (100% MeOH). O produto **16** foi identificado nas frações eluídas com 80% de metanol aquoso.

F.M.: $C_{31}H_{31}NO_{13}$ **P.M.:** 625,58 g mol⁻¹ **LC-MS *m/z* (modo positivo):** Calculada para $C_{31}H_{32}NO_{13}^+$: 626,1868; encontrado: 626,1876 [M + H]⁺. Calculada para $C_{31}H_{31}NO_{13}Na^+$: 648,1688; encontrado: 648,1667 [M + Na]⁺. **(modo negativo):** Calculada para $C_{33}H_{34}NO_{15}^-$: 684,1934; encontrado: 684,1913 [M + AcO]⁻.

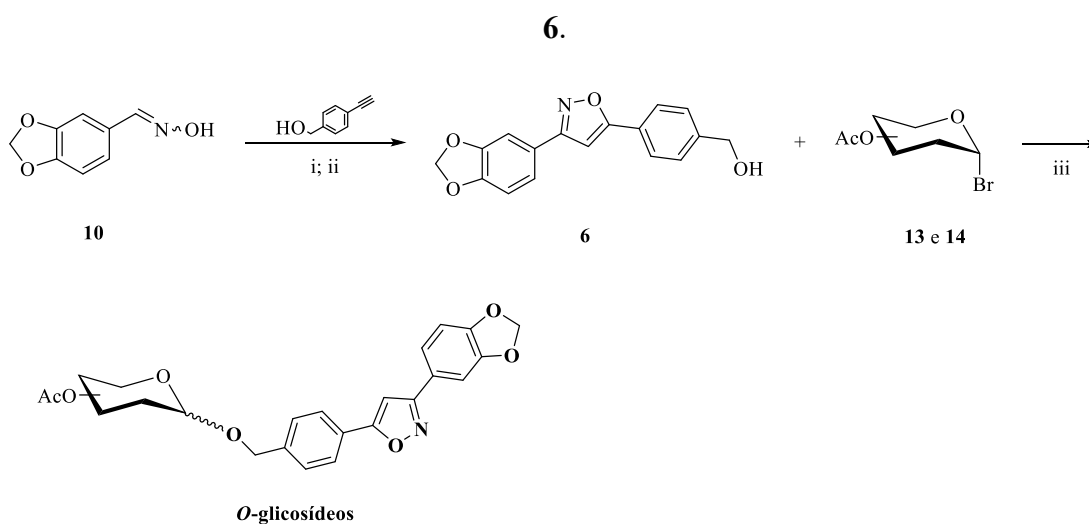
3.2.4 Avaliação *in silico* das propriedades físico-químicas

A estruturas químicas das moléculas avaliadas foram criadas no programa ChemDraw® e os cálculos das propriedades físico-químicas dos análogos glicosilados **15** e **16** foram realizados utilizando o software de acesso livre “Osiris DataWarrior” (SANDER *et al.*, 2015). Os parâmetros avaliados foram: peso molecular (PM), logP, número de doadores de ligação de hidrogênio (nDLH), número de aceptores de ligação de hidrogênio (nALH), área de superfície polar (ASP) e número de ligações rotacionáveis (nLR) (LIPINSKI *et al.*, 1997; VEBER *et al.*, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A síntese dos análogos glicosilados do composto **6** com melhor perfil de solubilidade envolveu a introdução das unidades monossacarídicas D-glicose **7** e D-galactose **8** via ligação *O*-glicosídica. A rota sintética proposta, apresentada no esquema 2, envolveu a obtenção do acceptor **6** a partir da reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre, entre um alcino e óxido de nitrila. Na sequência, procedeu-se com o preparo dos doadores de unidade monossacarídica, com proteção dos grupos funcionais, e, posteriormente, a funcionalização do C-1, com a introdução de um grupo de saída na posição anomérica. Finalmente, a conexão entre o açúcar e o acceptor **6** é realizada via ligação *O*-glicosídica na presença de promotores apropriados.

Esquema 2: Rota sintética proposta para obtenção de derivados *O*-glicosilados do composto



- i) NCS, DMF, MW (30 °C, 150 W), 1 min;
 ii) NaHCO₃, C₆H₇NaO₆, CuCO₄, H₂O, MW (30 °C, 150 W) 10 min;
 iii) Promotor, solvente, peneira molecular 4Å, N₂.

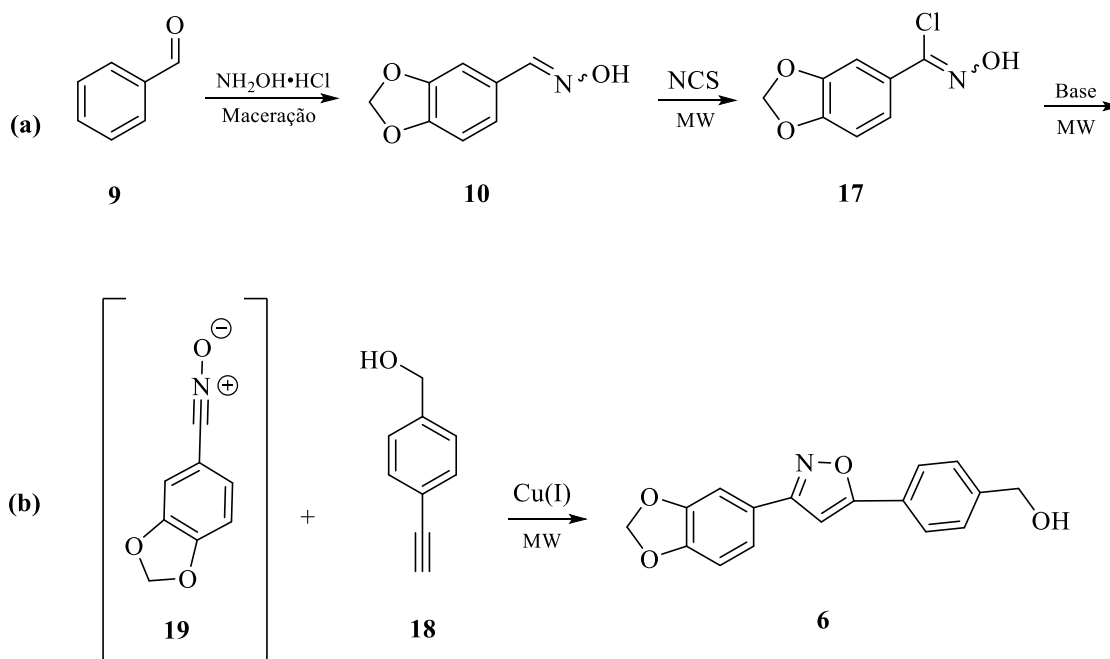
FONTE: Elaborado pelo autor.

4.1 SÍNTESE DO ACCEPTOR

O composto **6** foi obtido por meio da clássica reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por Cu(I), sendo esta, amplamente conhecida como uma reação de “click”. Abordagens sintéticas envolvendo “química de click” são caracterizadas pela conexão relativamente simples entre duas moléculas através de uma reação termodinamicamente favorável, e estão frequentemente relacionadas com processos e condições simples, envolvendo reações estereoespecíficas, altos rendimentos e geração apenas subprodutos inofensivos e de fácil remoção (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001).

A proposta sintética para síntese do acceptor glicosídico **6** envolve duas etapas (esquema 3): síntese de cloreto de imidoíla (**a**) e cicloadição (**b**) (HIMO *et al.*, 2005), e foi realizada sob aquecimento não convencional em reator micro-ondas, de acordo com protocolo padronizado em nosso grupo de pesquisa (DA ROSA *et al.*, 2017).

Esquema 3: Rota sintética para a síntese do composto **6**, representada em duas etapas.

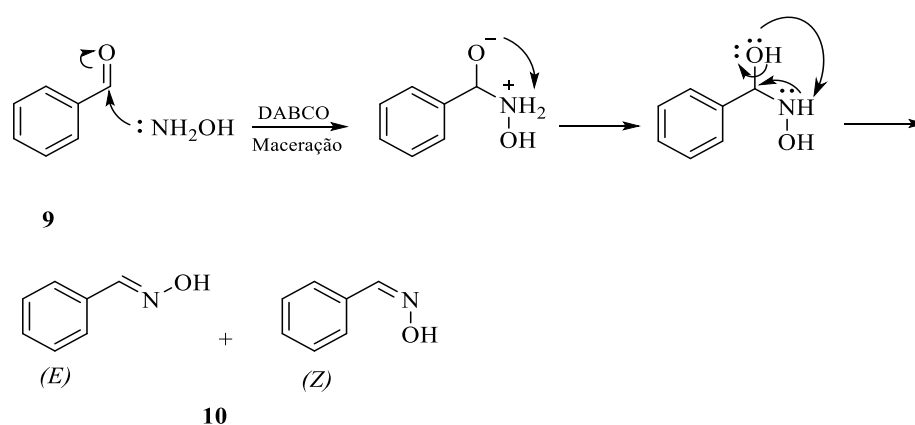


Fonte: (HIMO *et al.*, 2005)

Na primeira etapa, obteve-se inicialmente o composto **10** através da reação entre o aldeído aromático **9** adquirido comercialmente, cloridrato de hidroxilamina e DABCO, de acordo com metodologia convencional já descrita na literatura (HAJIPOUR; RAFIEE; RUOHO, 2010). A reação foi monitorada por CCD, em que foi possível observar a formação de um produto com caráter mais polar em relação ao material de partida, sendo este o composto **10** obtido com rendimento de 82%. A confirmação do mesmo se deu através de comparação do valor de $R_f = 0,75$, com já descrito na literatura (ZIMMERMANN, 2014).

O mecanismo reacional proposto para obtenção de **10** envolve o ataque nucleofílico da hidroxilamina ao grupo carbonila do aldeído de partida **9**, levando a obtenção do composto **10** (esquema 4) (HAJIPOUR; RAFIEE; RUOHO, 2010). A literatura descreve a formação de uma mistura de isômeros (*E*) e (*Z*), sendo o primeiro formado em maior proporção, devido à sua maior estabilidade termodinâmica (CAREY; SUNDBERG, 2007).

Esquema 4: Mecanismo de formação do composto **10**.

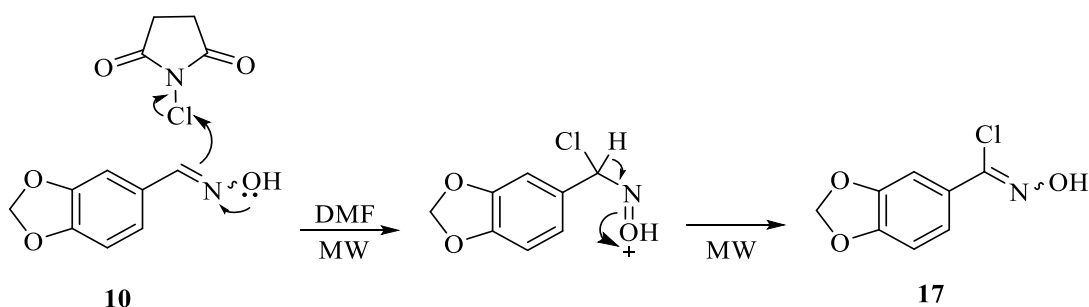


FONTE: (HAJIPOUR; RAFIEE; RUOHO, 2010).

Na sequência, a reação entre o composto **10** e o agente oxidante *N*-clorosuccinimida em DMF sob irradiação de micro-ondas, levou à formação do intermediário **17** através da substituição do átomo de hidrogênio pelo átomo de cloro (esquema 5). A reação foi monitorada por CCD, até a verificação do consumo completo do material de partida e a formação de um produto com caráter menos polar, sendo este o composto clorado **17**. A confirmação do mesmo se deu através de comparação do valor de $R_f = 0,83$ obtido com resultados já descrito na literatura (ZIMMERMANN, 2014) e também através da observação da mudança de cor de

incolor para marrom-claro da mancha correspondente a **17** após revelação da placa de CCD com solução de anisaldeído.

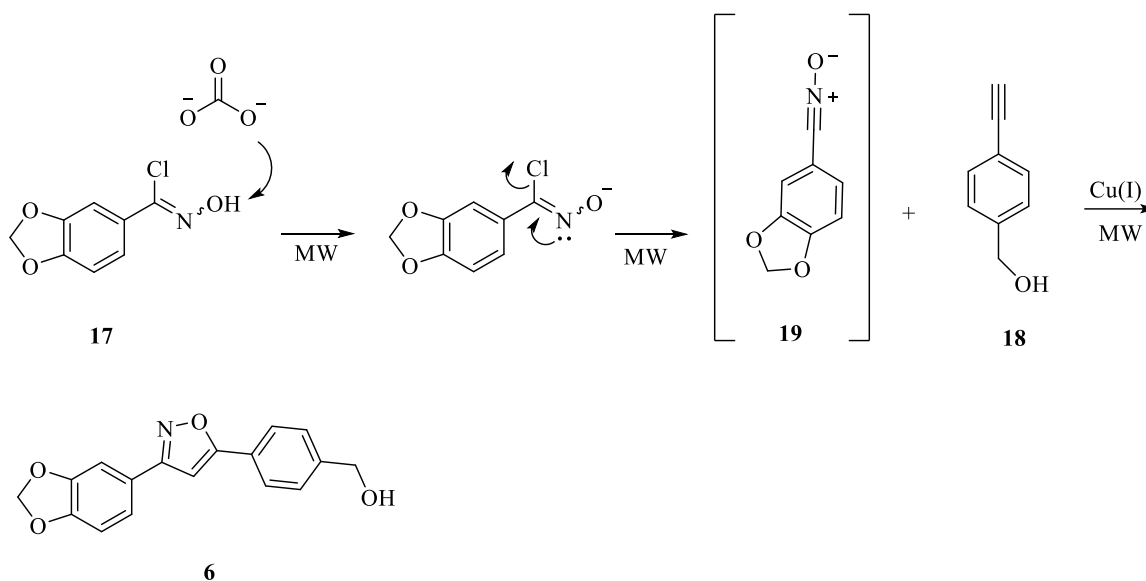
Esquema 5: Mecanismo de formação do composto **17**.



FONTE: (HIMO *et al.*, 2005).

Na segunda etapa, a mistura reacional contendo **17** foi empregada diretamente na reação de cicloadição catalisada por cobre (I) para a formação do anel isoxazol (esquema 6). Ao recipiente contendo **17**, foram adicionados o alcino álcool 4-etinilbenzílico **18**, a base bicarbonato de sódio, sulfato de cobre (II), ascorbato de sódio e água, e esta mistura foi submetida a irradiação por micro-ondas em recipiente fechado. Nesta etapa, composto **17** reage com a base levando à formação *in situ* do óxido de nitrila **19**, e este reage com o alcino **18** sob a catálise de cobre (I), levando a formação do composto **6**. O catalisador cobre (I) é obtido *in situ* através da redução de cobre (II) por um agente redutor, sendo este catalisador responsável pela formação regioselectiva do anel isoxazol 3,5-dissubstituído (HIMO *et al.*, 2005; ROSTOVTSEV *et al.*, 2002).

Esquema 6: Mecanismo de formação do composto 6.

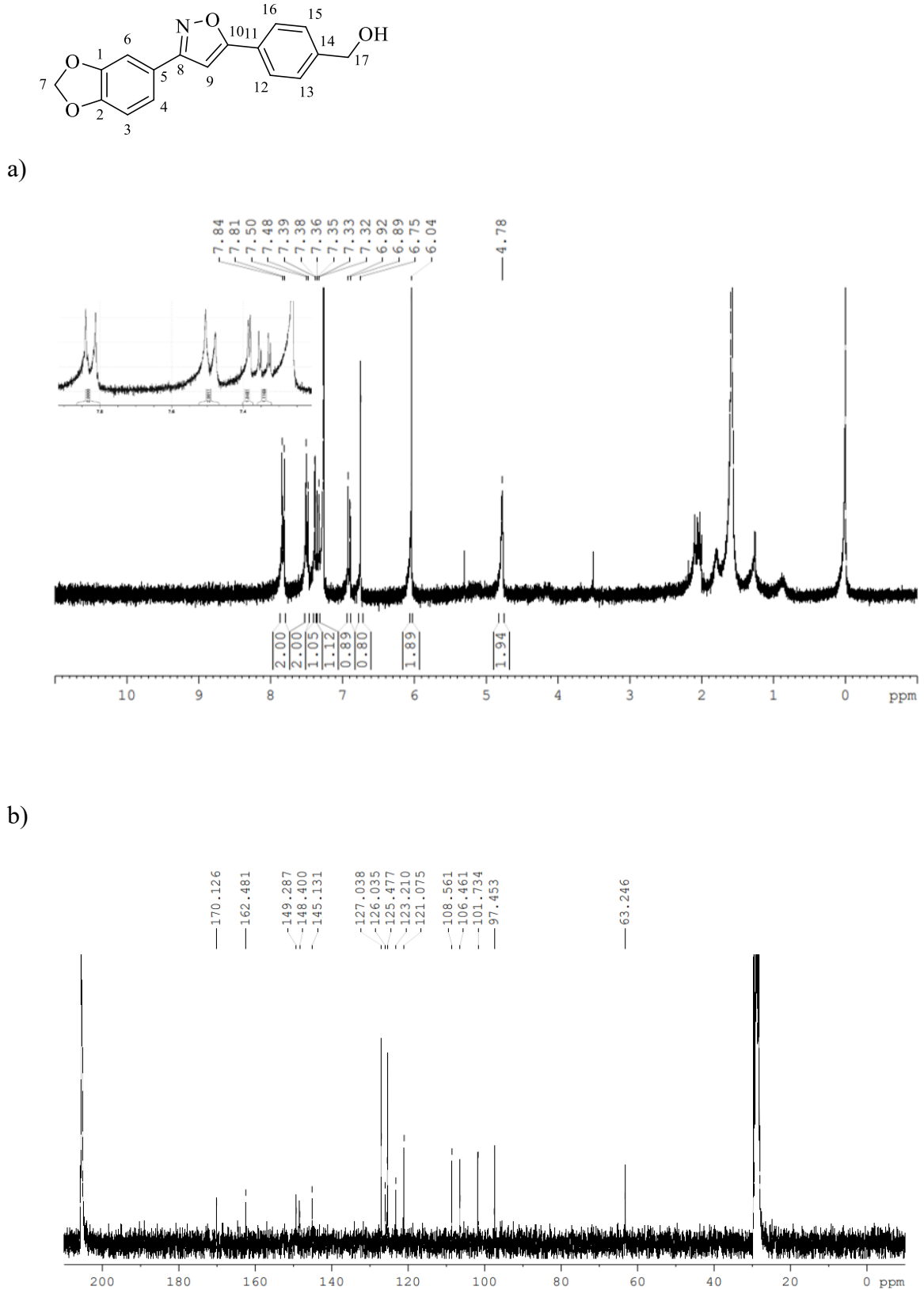


FONTE: (HIMO *et al.*, 2005).

Por meio de análise de CCD foi possível observar que o composto **6** apresentou característica mais polar em relação aos materiais de partida, e foi obtido com rendimento de 29%. A mistura reacional foi purificada por cromatografia em coluna de sílica gel e o composto 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-hidroximetilfenil)isoxazol (**6**) foi caracterizado por meio de análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos, sendo estes dados comparados com resultados descritos na literatura (DA ROSA *et al.*, 2017).

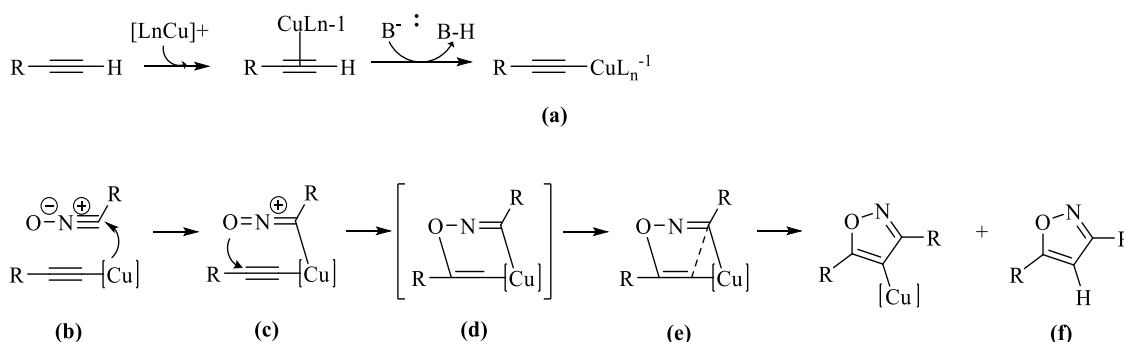
No espectro de RMN ^1H (figura 5a) é possível observar sinais característicos como um simpleto em δ 6,74, integrando para 1 hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio do anel isoxazol, um simpleto em δ 6,04, integrando para 2 hidrogênios, referentes ao $-\text{CH}_2-$ do grupo metilenodioxi ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), e um simpleto em δ 4,77, integrando para 2 hidrogênios referentes ao $-\text{CH}_2$ benzílico. Além de sinais na região de δ 6,0 - 8,5, característicos de hidrogênios aromáticos, referentes aos 7 hidrogênios dos dois anéis aromáticos presentes na molécula, bem como sinais presentes no espectro de RMN ^{13}C (figura 5b).

Figura 5: Espectros de RMN do composto **6**: (a) espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), (b) espectro de RMN ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), 75 MHz).



Em 2005, Himo e colaboradores comprovaram que o mesmo tipo de catálise, bem como, a mesma proposta mecanística envolvida na reação de cicloadição entre alcinos e azidas 1,4-dissubstituídos, proposta inicialmente por Rostovtsev e Sharpless (2002), também poderiam ser aplicadas na síntese de isoxazóis 3,5-dissubstituídos. O mecanismo simplificado proposto para estas reações inicia com a substituição do hidrogênio terminal do alcino por um ligante de Cu(I) e a formação de um intermediário acetileno de Cu(I) reativo **(a)**. Na sequência, o acetileno de metal se complexa ao carbono ligado ao nitrogênio do dipolo **(b)**, favorecendo o ataque seletivo do oxigênio ao C-2 do acetileno **(c)**, levando a formação de um intermediário instável de seis membros **(d)**. Finalmente, a contração do anel **(e)** e protonólise da ligação com cobre leva a formação do isoxazol 3,5-dissubstituído **(f)** (esquema 7) (HIMO *et al.*, 2005; ROSTOVITSEV *et al.*, 2002).

Esquema 7: Mecanismo de ciclo-adição para formação do anel isoxazol.



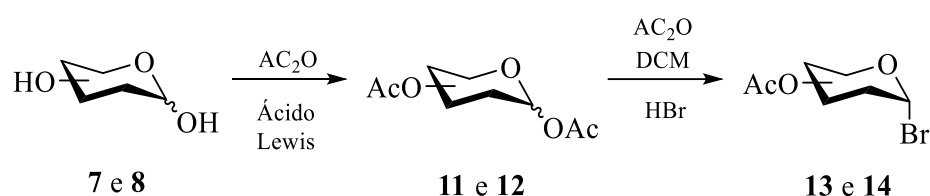
FONTE: (HIMO *et al.*, 2005).

Com exceção da reação de síntese do composto de partida **9**, todas as demais etapas foram realizadas em reator de micro-ondas, através de adaptações ao convencional método de Himo (DA ROSA *et al.*, 2017; HIMO *et al.*, 2005). O uso de aquecimento não convencional por micro-ondas é amplamente descrito em procedimentos de síntese orgânica com reduções consideráveis no tempo reacional, altos rendimentos e reações relativamente limpas. Essas reações frequentemente apresentam um melhor controle estereoquímico e podem ser realizadas em quantidades mínimas de solvente, ou até mesmo livre de solvente, contribuindo diretamente com os princípios da química verde (BANIK; BANIK, 2012).

4.2 SÍNTESE DOS DOADORES GLICOSÍDICOS

Diversos autores descrevem o uso de açúcares desprotegidos direto na reação, sem o envolvimento de qualquer etapa de proteção e desproteção ou mesmo de ativação. Isso se mostra vantajoso, dentro do contexto de processos mais sustentáveis, porém, para estes processos, muitas vezes são relatados problemas com regio e estereoquímica, o que muitas vezes interfere dramaticamente na efetividade da reação. Dessa maneira, optamos pelo uso de doadores protegidos e ativados, que podem ser obtidos em duas etapas reacionais relativamente simples, envolvendo procedimentos clássicos e de fácil manuseio (esquema 8).

Esquema 8: Esquema de obtenção dos doadores em duas etapas.



FONTE: Elaborado pelo autor.

4.2.1 Reação de per-*O*-acetilação

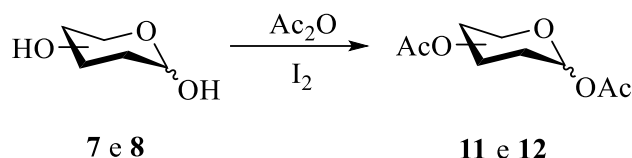
A proteção dos grupos funcionais dos açúcares D-glicose **7** e D-galactose **8**, adquiridos comercialmente, foi realizada inicialmente por meio de reações de peracetilação em anidrido acético sob a catálise de iodo molecular. Esta abordagem, proposta por Kartha e Field (1997), emprega reagentes baratos e de fácil manuseio, como alternativa aos métodos clássicos que envolvem reagentes tóxicos e condições perigosas (KARTHA; FIELD, 1997; WOLFROM; THOMPSON, 1963). A utilização de diferentes unidades monossacarídicas visa avaliar a influência destas sobre a atividade biológica e propriedades físico-química do acceptor **6**.

Os acetatos e benzoatos estão entre os grupos de proteção mais empregados na química de carboidratos (COLLINS; FERRIER, 1995). A prevalência de acetatos como grupos protetores se deve à sua facilidade de introdução e remoção, além de serem obtidos em altos

rendimentos e em reações realizadas em temperatura ambiente (HUNG; ZULETA, 2016; LEVY; FÜGEDI, 2005).

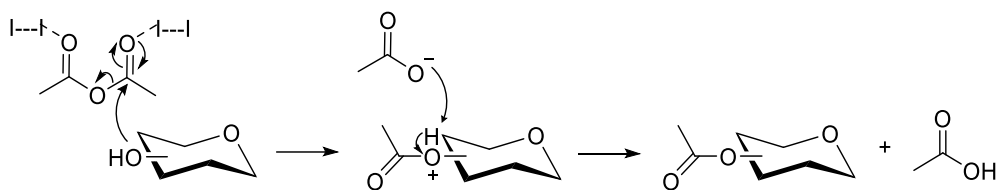
A reação de proteção dos grupos funcionais do açúcar é realizada em uma única etapa (esquema 9), em que a solubilização completa do material de partida após tratamento com anidrido acético e iodo molecular em temperatura ambiente, sugere a formação do produto de interesse. As reações foram monitoradas por CCD, até a verificação da formação de um produto com caráter menos polar em relação ao material de partida, indicando a formação dos compostos peracetilados **11** e **12**. Tais condições reacionais conduzem a obtenção do α -anômero com rendimentos de 42% e 10%, respectivamente, sendo que pequenas quantidades de β -anômero formada são removidas após recristalização com etanol (OSBORN, 2003).

Esquema 9: Reação de per-*O*-acetilação de açúcares **7** e **8** sob catálise de iodo.



FONTE: Elaborado pelo autor.

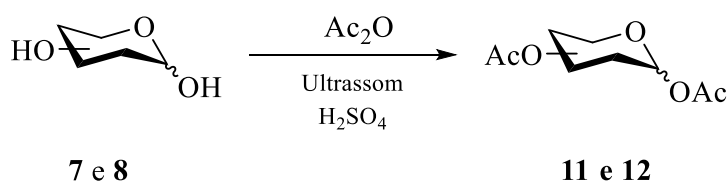
Uma variedade de protocolos e reagentes são descritos para o preparo de doadores monossacarídicos, no entanto, o uso de iodo molecular como catalisador tem representado uma alternativa bastante versátil na química de carboidratos. Por apresentar características de ácidos de Lewis, o iodo apresenta orbitais σ^* livres, capazes de interagir com elétrons do solvente promovendo a ativação da carbonila do anidrido acético. Essa interação leva ao aumento do caráter eletrofílico da carbonila do anidrido, potencializando desta maneira o ataque nucleofílico das hidroxilas do açúcar promovendo desta maneira reações de acilação (esquema 10) (KARTHA; FIELD, 1997; OSBORN, 2003).

Esquema 10: Mecanismo de acetilação catalisada por iodo.

FONTE: (KARTHA; FIELD, 1997)

Posteriormente, frente a uma perspectiva mais sustentável, optamos por realizar as reações de proteção empregando uma metodologia sob irradiação ultrassônica. Essa abordagem é descrita na obtenção de doadores peracetilados com excelentes resultados, além de promover reações de proteção, desproteção e migração regioespecífica de grupos acila em apenas alguns minutos (DENG; GANGADHARMATH; CHANG, 2006).

Este método simples também é realizado em uma única etapa, em que uma mistura contendo o açúcar desprotegido e ácido sulfúrico em anidrido acético, é submetida a irradiação de ultrassom em temperatura ambiente (esquema 11). As reações foram monitoradas por CCD até a verificação da formação dos produtos peracetilados **11** e **12**. O composto **11** foi obtido com rendimento de 57% do α -anômero após recristalização com metanol, porém, não foi possível realizar recristalização do composto **12**, sendo este obtido como uma mistura de anômeros. Embora a metodologia utilizada descreva a obtenção dos doadores peracetilados em apenas 10 minutos, o mesmo não foi observado, e os compostos **11** e **12** foram obtidos após cerca de 4 horas de reação.

Esquema 11: Reação de per-*O*-acetilação de açúcares sob sonocatálise.

FONTE: Elaborado pelo autor.

Embora o procedimento envolvendo sonocatálise não tenha ocorrido no tempo esperado, o que favoreceria um menor consumo de energia, esta abordagem ainda oferece vantagens em relação ao método de Kartha e Field, como o uso de reagentes de baixo custo e menos danosos ao meio ambiente.

Os intermediários peracetilados **11** e **12** obtidos foram caracterizados através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C em comparação com dados descritos na literatura (MOROTTI, 2014; VIEIRA, 2020). Para ambos os produtos peracetilados **11** e **12**, foi possível observar nos espectros de RMN ^1H (figuras 6a e 7a) sinais característicos como 5 simpletos na região de δ 2,0, integrando para 15 hidrogênios, sendo estes sinais característicos de hidrogênios metílicos dos grupos acetila, além dos sinais referentes aos 7 hidrogênios do esqueleto do açúcar. Já nos espectros de ^{13}C (figuras 6b e 7b), a presença de 5 sinais em δ 170, bem como 5 sinais em δ 20, sendo estes representados pelos carbonos das carbonilas e metilas dos grupos acetila, respectivamente, confirmam a obtenção dos açúcares peracetilados. Ainda, é possível comprovar a obtenção exclusiva do anômero α , após recristalização do composto **11**, através da medida de constante de acoplamento entre o H-1 e H-2, do duplete em δ 6,33 ($J_{1-2} = 3,6$ Hz), indicando orientação axial-equatorial para o hidrogênio da posição anomérica (figuras 6c e 7c).

Figura 6a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **11**.

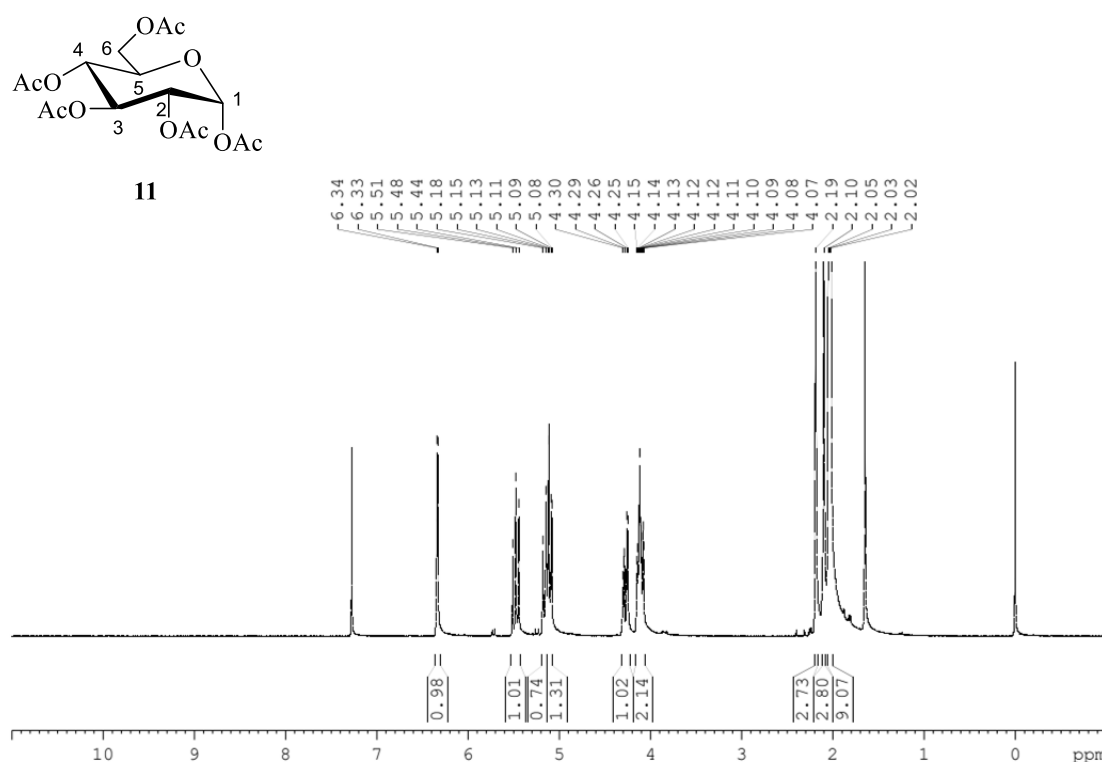


Figura 6b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto **11**.

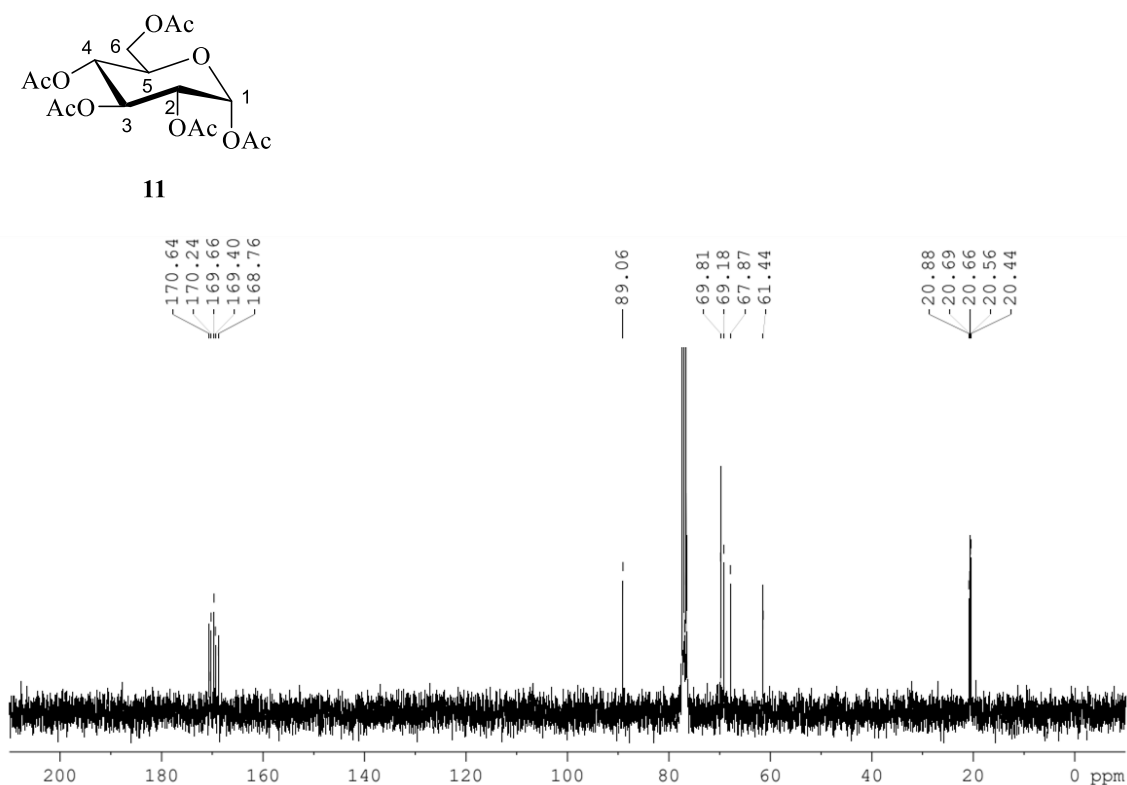


Figura 6c: Expansão da região δ 6,40 – 6,20 do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **11**, evidenciando a constante de acoplamento (J) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero.

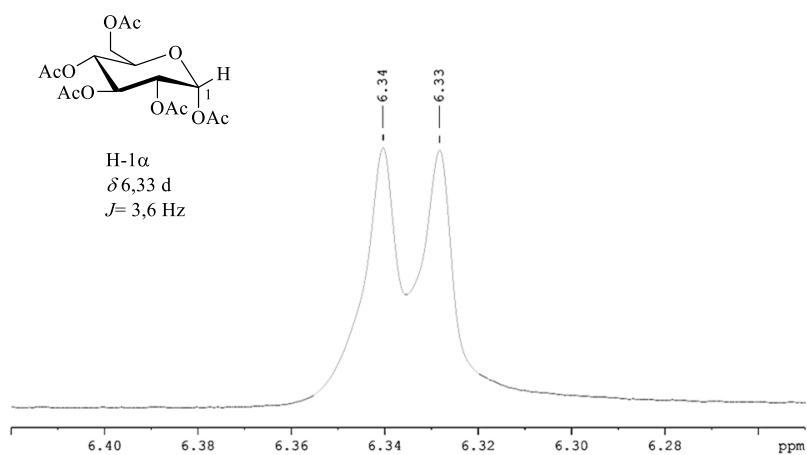


Figura 7a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **12**.

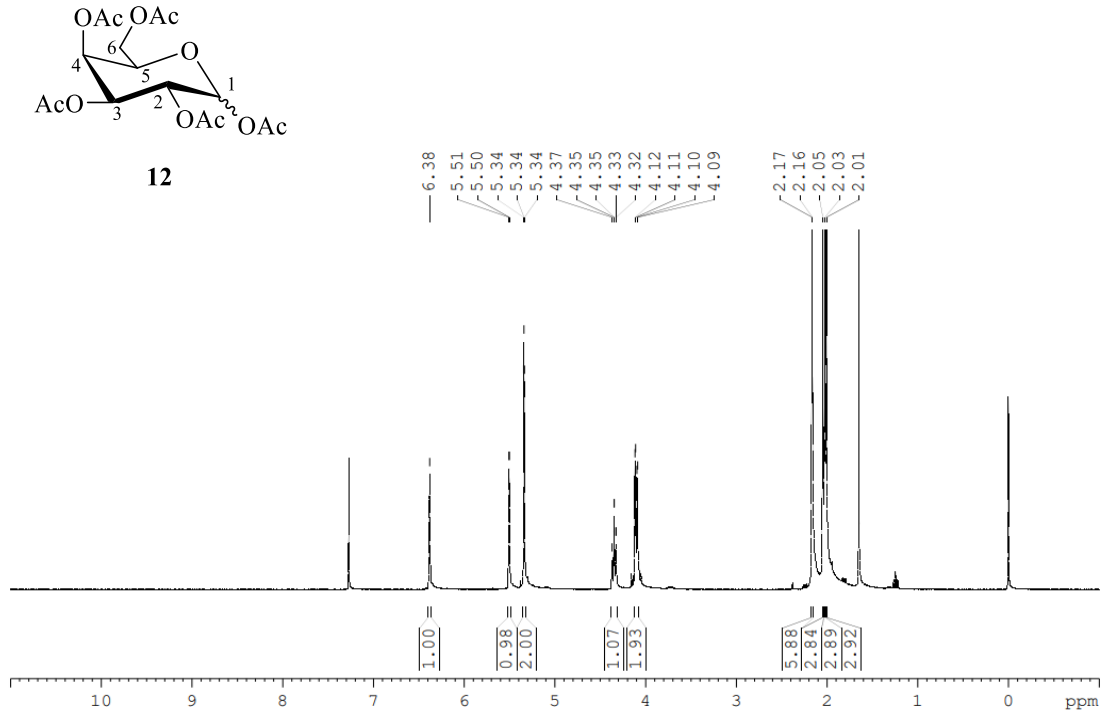


Figura 7b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto **12**.

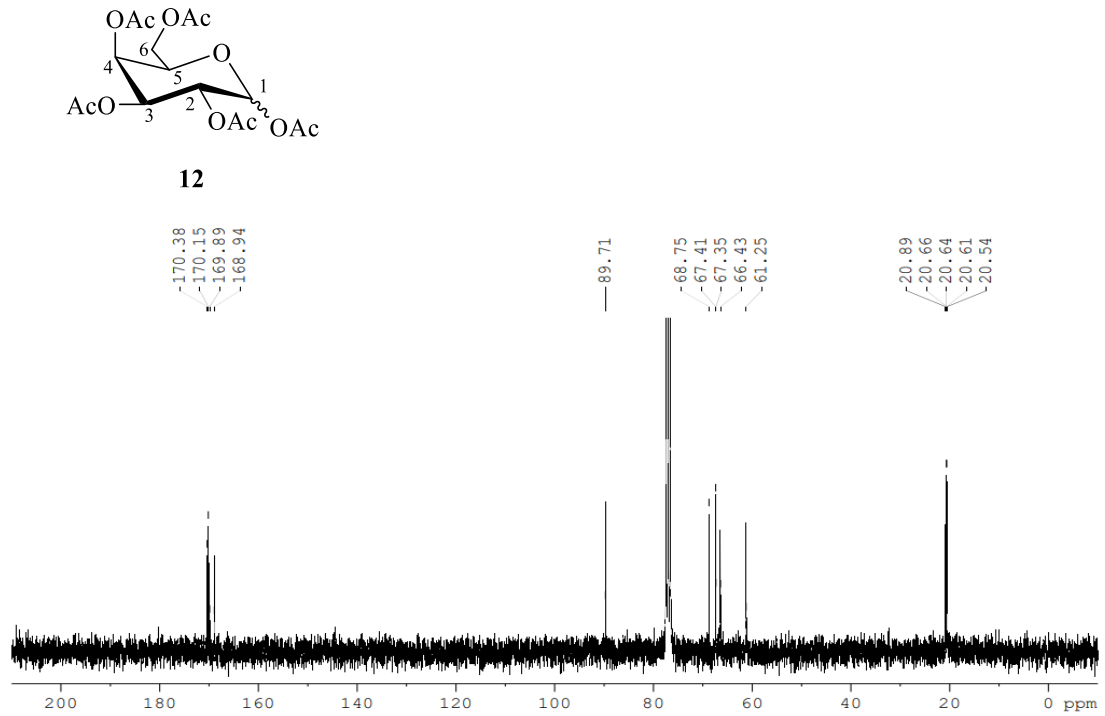
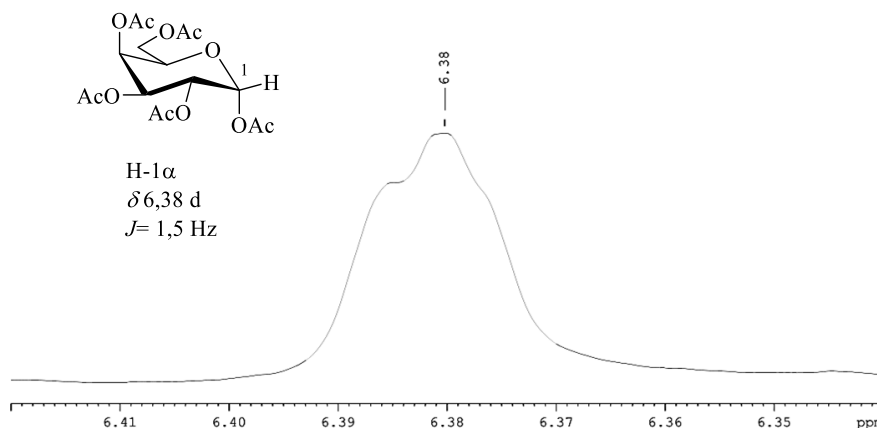


Figura 7c: Expansão da região δ 6,30 – 6,40 do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **12**, evidenciando a constante de acoplamento (J) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero.



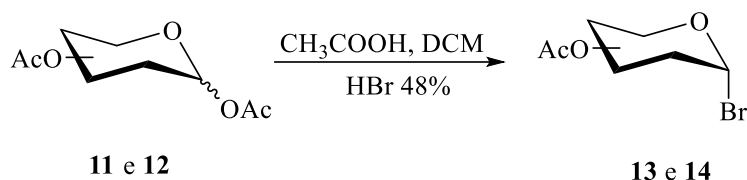
4.2.2 Reação de funcionalização de C-1

A segunda etapa de funcionalização dos intermediários peracetilados **11** e **12** envolve a substituição do grupo acetila da posição anomérica pelo halogênio bromo, exercendo este, a função de grupo de saída (PIGMAN, 1972). Estes doadores possuem notável importância na química de carboidratos devido sua fácil obtenção e por possuir reatividade relativamente alta em comparação com outros halogênios, como por exemplo, o cloro e o flúor (COLLINS; FERRIER, 1995). No entanto, a combinação de alta reatividade com estabilidade razoável, leva a necessidade de utilização logo após o seu preparo (DAS; MUKHOPADHYAY, 2016; YANG; ZHANG; YU, 2015).

Os intermediários peracetilados **11** e **12**, dissolvidos em diclorometano, foram tratados com ácido bromídrico 48%, e após cerca de 4 horas sob agitação em temperatura ambiente, foi possível observar, por meio de análise de CCD, a formação dos produtos esperados **13** e **14** com caráter menos polar em relação ao material de partida, bem como a formação de subprodutos mais polares (esquema 12). Estes subprodutos podem ser resultado da degradação do material de partida causada pelo calor gerado durante a reação, bem como a presença de água residual no meio reacional. Os doadores bromados **13** e **14** foram obtidos na forma de um

produto viscoso incolor, com rendimento de 75% e 86%, respectivamente, e foram utilizados diretamente na próxima etapa sem purificação adicional (HAYNES; NEWTH, 1955).

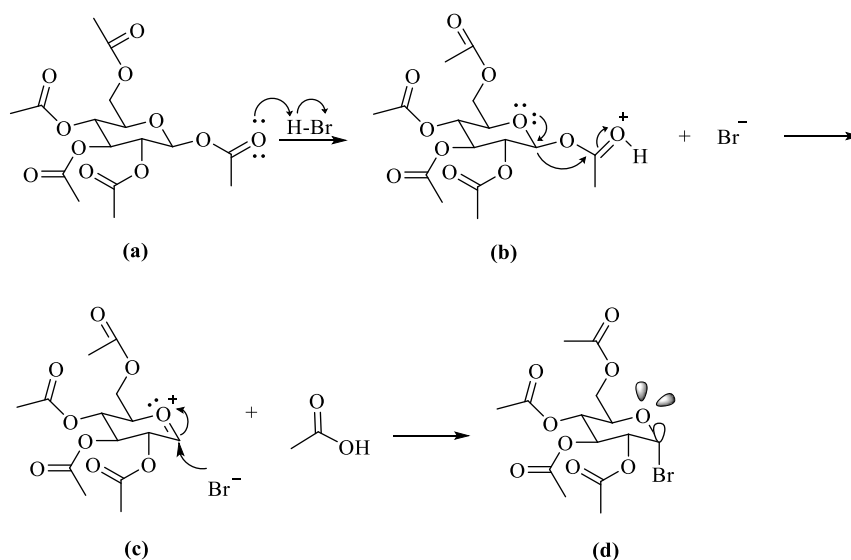
Esquema 12: Síntese de doadores bromados **13** e **14**.



FONTE: Elaborado pelo autor.

A introdução de halogênios na posição anomérica de carboidratos ocorre pela simples troca do acetato anomérico pelo halogênio mais reativo (DAVIS; FAIRBANKS, 2002; PIGMAN, 1972). A protonação do grupo acetato em condição ácida **(a)**, leva à partida deste grupamento da posição anomérica **(b)** e formação de ácido acético, e posteriormente o ataque do bromo ao íon oxocarbênio formado **(c)**, leva a formação do doador brometo de glicosila **(d)** (esquema 13) (COLLINS; FERRIER, 1995).

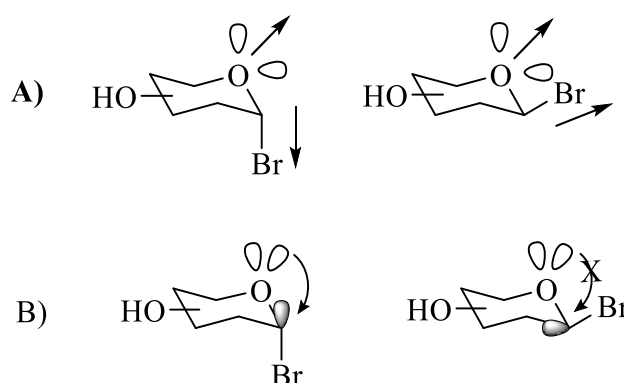
Esquema 13: Mecanismo de formação de brometo de glicosila acetilado.



FONTE: (COLLINS; FERRIER, 1995)

É descrita uma maior tendência na formação de haletos com orientação axial, em relação à orientação equatorial, devido a uma maior estabilidade termodinâmica descrita para o anômero α . Este fenômeno é descrito como efeito anomérico, e diversos fatores podem estar envolvidos na sua ocorrência, no entanto, as interpretações mais aceitas são o alinhamento dos vetores e interação entre orbitais (esquema 14) (DAVIS; FAIRBANKS, 2002; HUNG; ZULETA, 2016).

Esquema 14: Efeito anomérico A) alinhamento dos vetores B) interação entre orbitais.



FONTE: (DAVIS; FAIRBANKS, 2002; HUNG; ZULETA, 2016).

A caracterização do doador acetobromoglicosila **13** foi realizada através de análise do espectro de RMN ^1H e ^{13}C (figura 8a e 8c) em comparação com dados descritos na literatura (VIEIRA, 2020). Através do espectro de RMN ^1H é possível observar um maior deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H-1 δ 6,60, em comparação com o intermediário acetilado (figura 8b), indicando a presença de um átomo mais eletronegativo na posição anomérica. Além disso, a formação do α -anômero foi confirmada através da constante de acoplamento $J_{\text{H-1};\text{H-2}} = 4,00$ Hz. Também pode ser observado a presença de 4 simpletos na região de δ 2,0, integrando para um total de 12 hidrogênios, sendo estes sinais característicos de grupos acetila, bem como os sinais característicos no espectro de RMN ^{13}C .

Figura 8a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **13**.

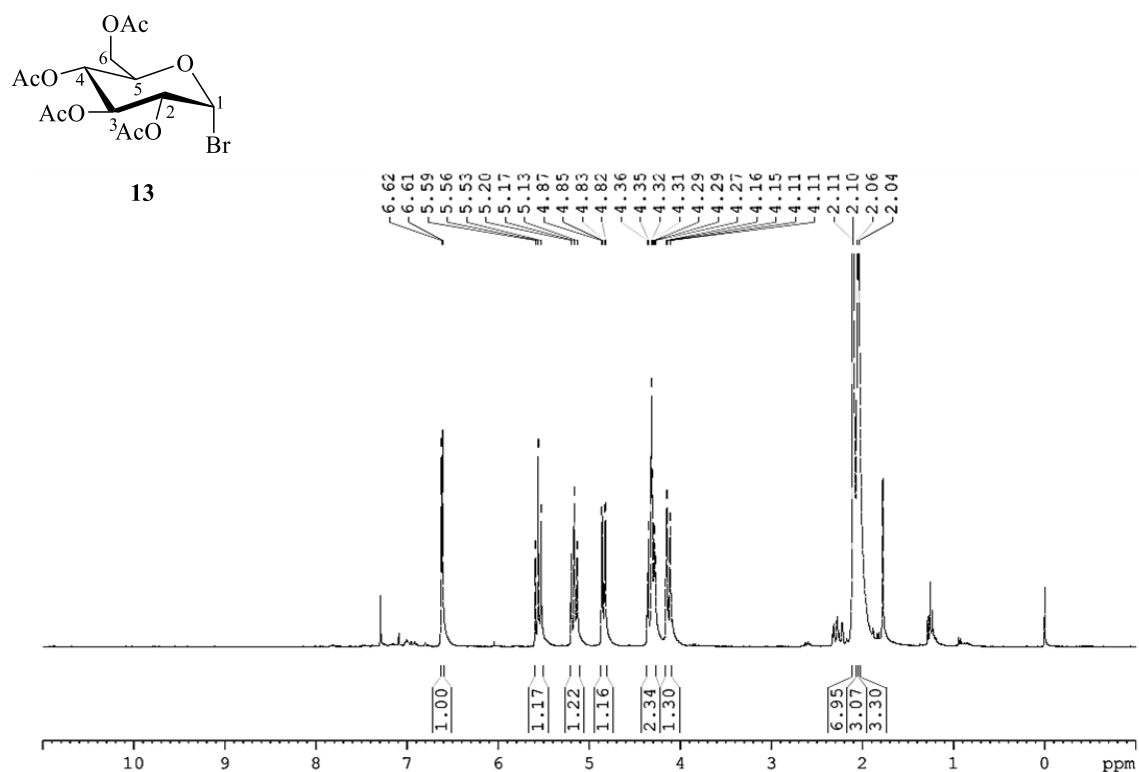


Figura 8b: Expansão da região δ 6,80 – 6,20 dos espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) dos compostos **11** e **13**, evidenciando a constante de acoplamento (J) do hidrogênio anomérico (H-1) do α -anômero.

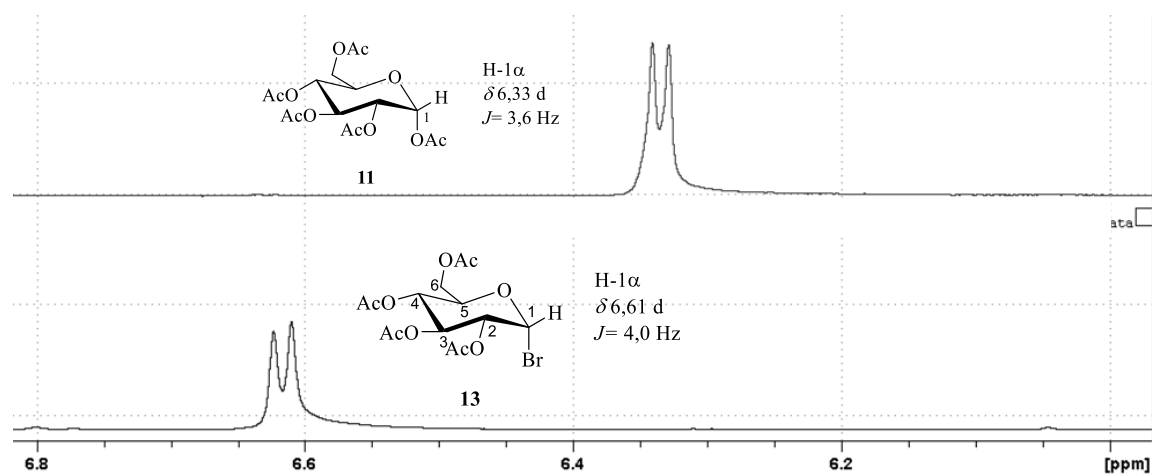
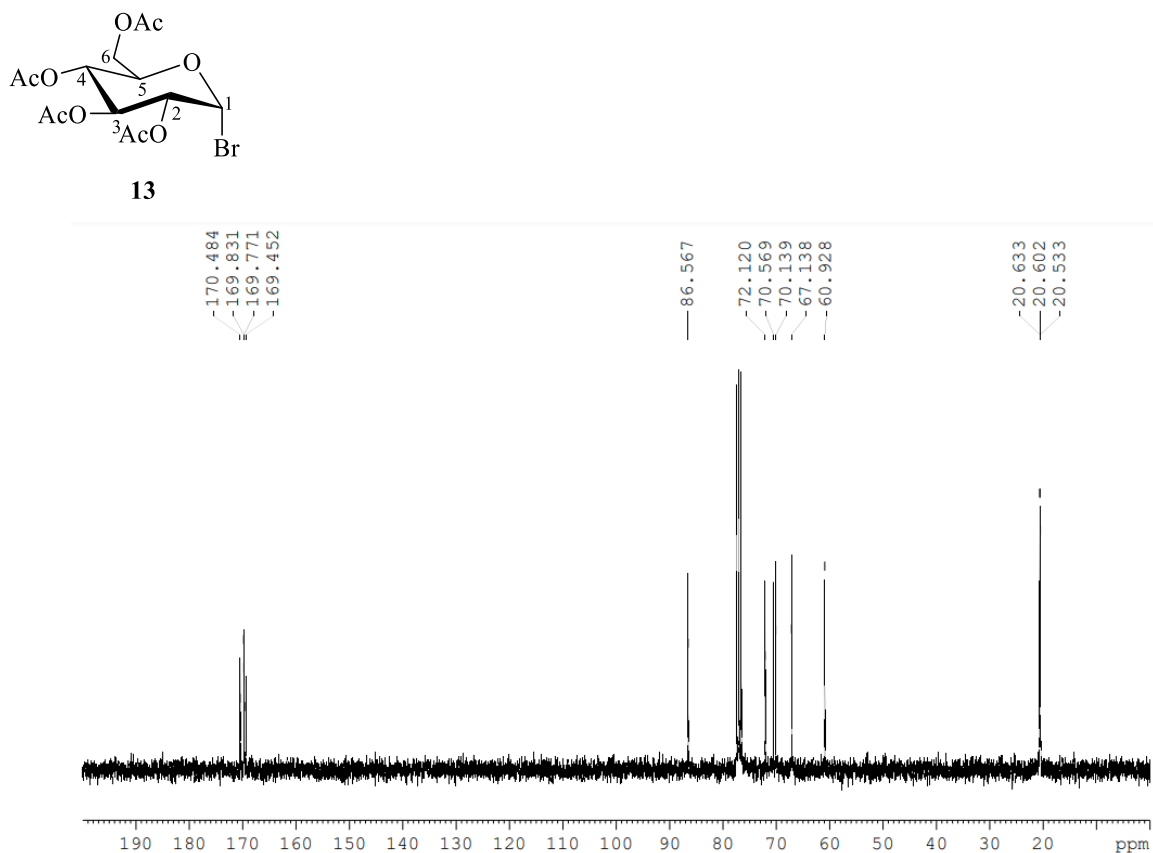


Figura 8c: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto **13**.

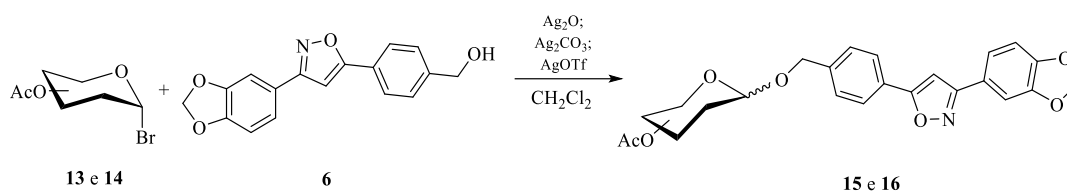


4.3 REAÇÕES DE *O*-GLICOSILAÇÃO

As tentativas iniciais de glicosilação do aceitador glicosídico **6** envolveram a clássica reação de Koenigs-Knorr, amplamente descrito na literatura na obtenção de arila e alquila glicosídeos. Este protocolo emprega doadores halletos de glicosila acetilados e promotores eletrofílicos de prata Ag_2O e Ag_2CO_3 que auxiliam a partida do grupo de saída da posição anomérica por meio de complexação (KOENIGS; KNORR, 1901).

Após a obtenção de **6** e dos respectivos doadores halletos de glicosila peracetilados **13** e **14**, estes foram submetidos a reação de glicosilação (esquema 15), em que os promotores Ag_2O , Ag_2CO_3 e AgTOF foram testados, bem como diferentes proporções dos reagentes em diferentes tempos reacionais (tabela 1).

Esquema 15: Síntese dos derivados *O*-glicosilados **15** e **16** através da reação de Koenigs-Knorr.



FONTE: Elaborado pelo autor.

Tabela 1: Reagentes e condições reacionais aplicados nas reações de Koenigs-Knorr.

| Entrada | Doador / eq. | Aceptor / eq. | Promotor / eq. | Tempo |
|---------|--------------|---------------|-------------------------------------|-------|
| 1 | 14 / 1 | 6 / 1,72 | Ag ₂ O / 1 | 42 h |
| 2 | 14 / 1 | 6 / 2 | Ag ₂ CO ₃ / 1 | 48 h |
| 3 | 14 / 1 | 6 / 1 | Ag ₂ CO ₃ / 2 | 48 h |
| 4 | 14 / 2 | 6 / 1 | Ag ₂ CO ₃ / 3 | 70 h |
| 5 | 14 / 2 | 6 / 1 | Ag ₂ O / 2 | 42 h |
| 6 | 14 / 2 | 6 / 1 | Ag ₂ O / 1 | 20 h |
| 7 | 14 / 3 | 6 / 1 | Ag ₂ O / 1 | 26 h |
| 8 | 13 / 3 | 6 / 1 | AgOTf / 1 | 24 h |
| 9 | 13 / 1 | 6 / 0,7 | Ag ₂ CO ₃ / 1 | 17 h |
| 10 | 13 / 3 | 6 / 1 | Ag ₂ CO ₃ / 2 | 41 h |
| 11 | 13 / 3 | 6 / 1 | Ag ₂ O / 3 | 26 h |

FONTE: Elaborada pelo autor.

Notas: Todas as reações foram realizadas em diclorometano como solvente, temperatura ambiente, ao abrigo de luz, sob atmosfera de argônio na presença de peneiras moleculares 4Å.

As reações envolvendo os promotores Ag₂O e Ag₂CO₃ proporcionaram um perfil mais limpo em CCD, em que, em grande parte das reações somente os materiais de partida eram observados, mesmo após longos períodos reacionais. Em alguns casos, um produto levemente menos polar que **6** foi observado. Este produto foi de difícil separação através de coluna cromatográfica de fase normal. É possível sugerir que este produto seja o ortoéster amplamente

observado em reações do tipo Koenigs-Knorr (IGARASHI, 1977), e também pelo fato de este produto não ter sido observado em condições reacionais ácidas, como por exemplo, na presença do promotor AgOTf. Por outro lado, o emprego deste promotor mais ácido levou a obtenção de uma mistura reacional mais complexa, com a presença de diferentes produtos de difícil separação.

Devido a ineficácia de purificação de produtos com polaridade muito próximas aos subprodutos dos açúcares em coluna cromatográfica de fase normal, optamos por otimizar a separação dos constituintes das misturas complexas combinando diferentes técnicas de extração e purificação, com o objetivo de identificar, mesmo em pequenas quantidades, o produto glicosilado de interesse. A técnica de extração em fase sólida em sílica de fase reversa foi empregada em uma etapa de pré-tratamento, através de um *manifold* à vácuo.

O material bruto dissolvido foi carregado diretamente no cartucho pré-condicionado. Este cartucho foi lavado com fase móvel, composta por proporções crescentes de metanol em água, até que 100% de metanol fosse alcançado. As lavagens iniciais, contendo maiores proporções de água, permitiram a remoção de subprodutos altamente polares, como produtos de degradação do doador, sugerindo uma separação em fase reversa convencional, restando apenas produtos de menor polaridade nas frações finais. As frações de interesse foram reunidas e submetidas a uma segunda etapa de purificação por meio de cromatografia em coluna de sílica gel.

Extração em fase sólida é uma abordagem amplamente descrita na simplificação de misturas complexas, e apresenta vantagens como curto tempo de processamento, podendo ser realizada em não mais que 30 minutos, substituição de solventes orgânicos por quantidades mínimas de solventes verdes e redução considerável de materiais de sorção, podendo estes, em alguns casos, serem reutilizados. Os solventes frequentemente aplicados nesta técnica são água, metanol, acetonitrila, entre outros, sendo estes, portanto, de baixo custo e menos tóxicos (PŁOTKA-WASYLKA *et al.*, 2016; SANTRA *et al.*, 2017; TAIWO *et al.*, 2021).

Esta otimização no processo de purificação proporcionou o isolamento de dois produtos, além dos materiais de partida. Estes produtos foram caracterizados por meio de análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Um destes produtos apresentou característica menos polar (Rf: 0,80) em relação ao composto **6** (Rf: 0,72) e sinais, em ambos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , característicos do doador e do aceptor (figura 9a e 9b). Dessa maneira, foi possível isolar e caracterizar o ortoéster **20**, comparando dados obtidos nos espectros de RMN com já descritos

na literatura (LEGENTIL *et al.*, 2017; MACHADO, 2011). A presença de um duplete em δ 5,71 ($J_{H-1; H-2} = 5,3$ Hz) característico de hidrogênio anomérico de ortoéster, associado a um carbono em δ 97,5, bem como 3 simpletos na região de δ 2,0, integrando para um total de 9 hidrogênios e também outro simpleto integrando para 3 hidrogênios em δ 1,81, representando a metila da posição 8' do ortoéster. A medida da constante de acoplamento $J_{H-1; H-2} = 5,3$ Hz indica configuração 1,2-cis. Além disso, o espectro de RMN ^{13}C mostrou um carbono em δ 121,5 atribuído a um carbono quaternário que não estava presente nos espectros do doador e do acceptor. Devido à baixa quantidade de amostra obtida não foi possível obter os espectros de RMN bidimensionais para confirmar correlações entre hidrogênios e carbonos.

Figura 9a: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **20**.

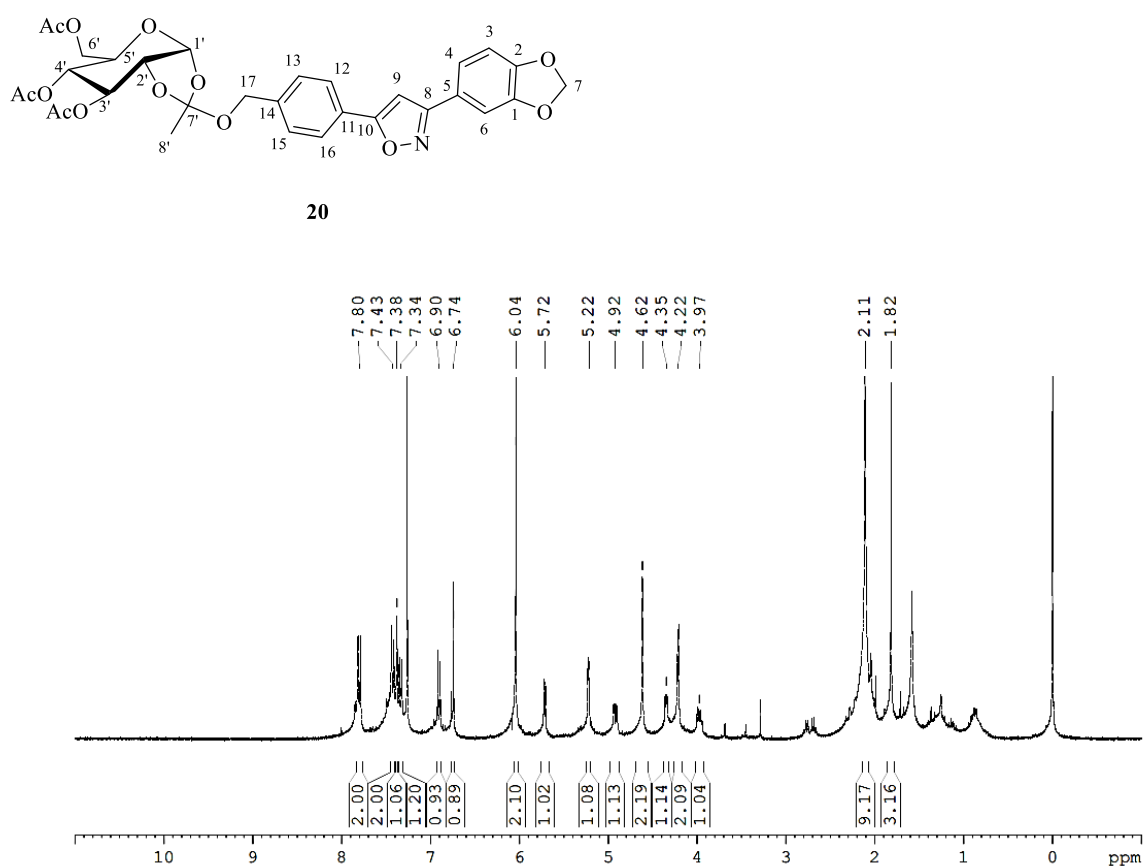
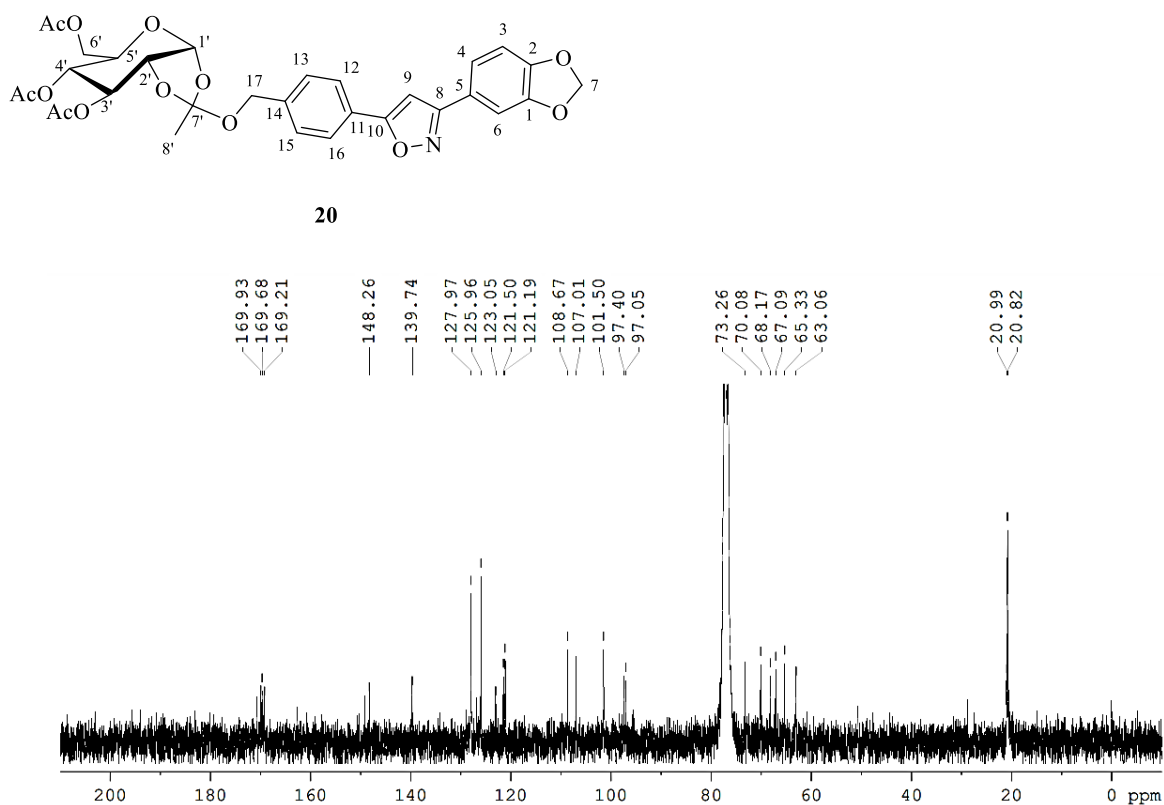
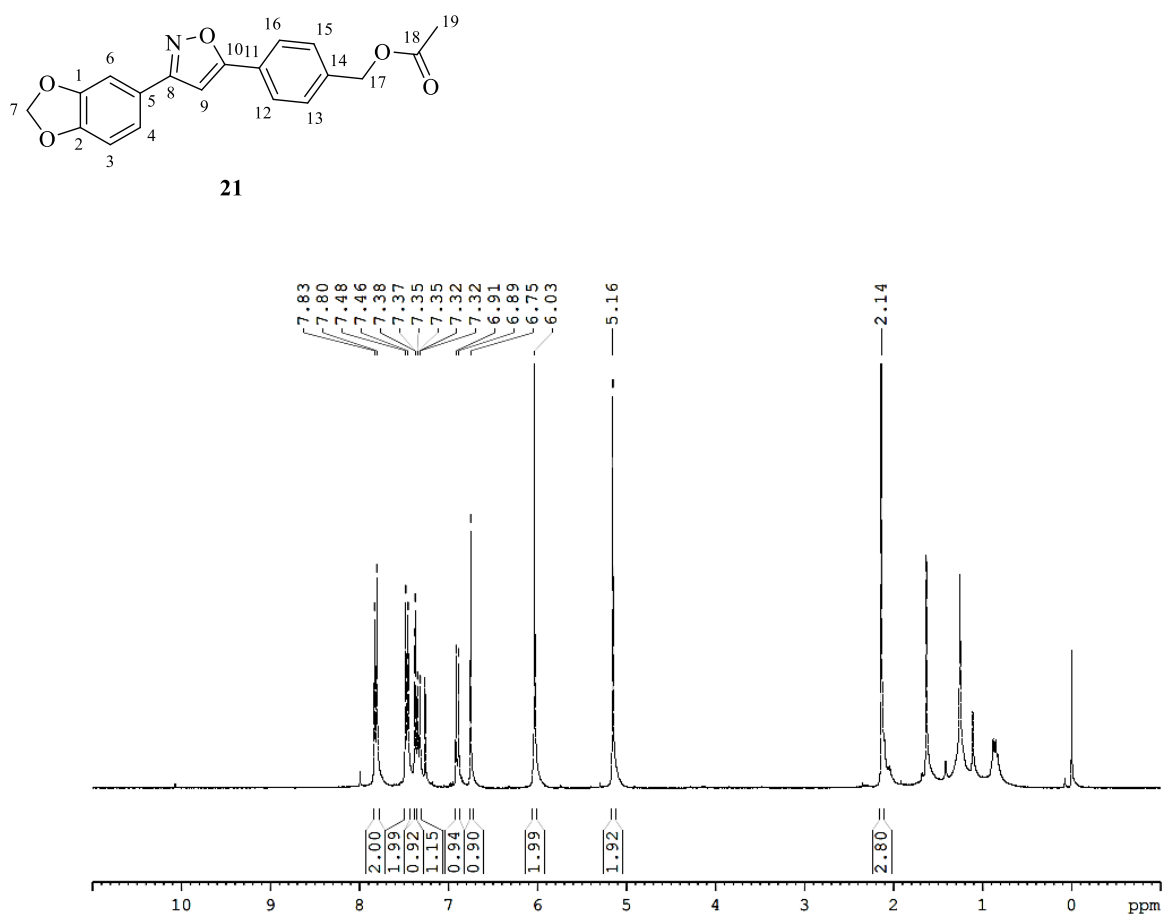


Figura 9b: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto **20**.



O outro produto de baixa polaridade (R_f : 0,82) isolado, apresentou sinais no espectro de RMN ^1H característicos do composto **6**, no entanto, o simpleto referente ao CH_2 benzílico apresentou um maior deslocamento químico em δ 5,15, em comparação com o composto **6** (δ 4,77), e a presença de um simpleto na região de δ 2,00, integrando para três hidrogênios, sendo este sinal característico de grupo acetila, sugere a formação de um intermediário acetilado **21** do composto **6** (figura 10) (ROSA, 2016). Devido a pequena quantidade obtida deste produto, não foi possível obter os espectros de RMN ^{13}C e bidimensionais.

Figura 10: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **21**.

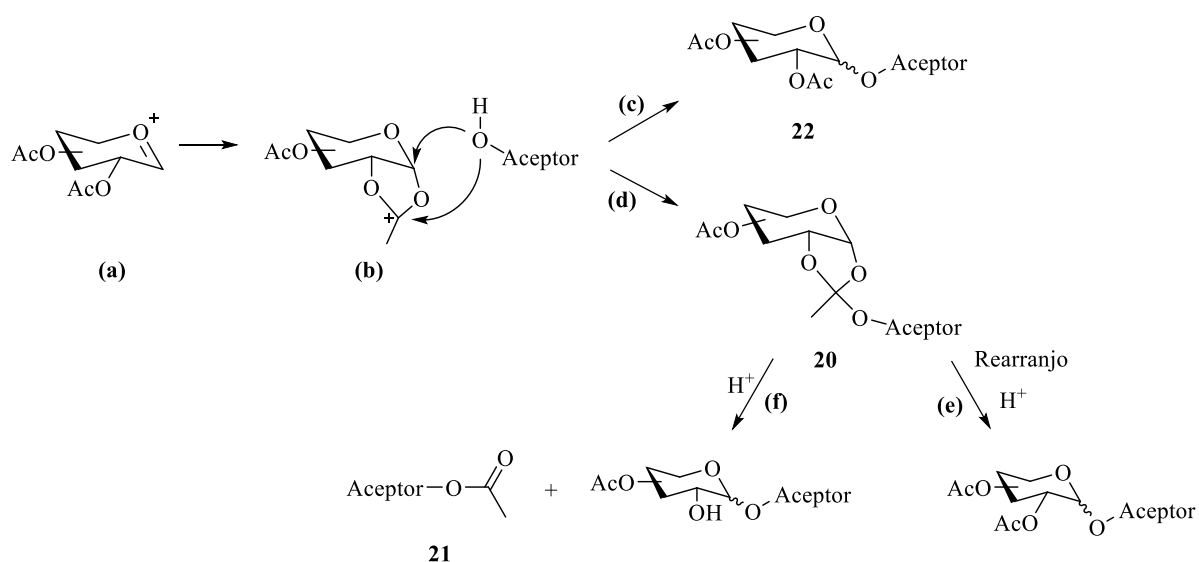


Diversas vias de reação são descritas para formação de glicosídeos e/ou produtos intermediários a partir da reação de Koenigs-Knorr. A obtenção do intermediário **21** pode estar associada a migração de grupos acetila do doador para a molécula aceptora, sendo que isto já foi observada anteriormente em reações de glicosilação, ocorrendo a formação de um intermediário acetilado, em que, em alguns casos, este é obtido como único produto ao final da reação e conseqüentemente levando a falha completa da reação (MURAKAMI *et al.*, 2007; SAMPEI; ARAI; ISHIBASHI, 2018).

Resumidamente, as vias envolvidas na obtenção de ambos intermediários **20** e **21** são descritas no esquema 16. Inicialmente, a estabilização do íon oxocarbênio, formado logo após a partida do grupo de saída em C-1 (a), promovida pelo grupo acetila em C-2, leva a formação do íon mais estável dioxolênio (b). O ataque nucleofílico do aceptor ao centro anomérico levaria a formação do 1,2-transglicosídeo **22** (c), porém, o ataque nucleofílico ao íon dioxolênio levaria a formação do ortoéster **20** (d). É descrito, portanto, uma forte tendência na formação do

composto **20** na ausência de condições ácidas. Sob condições ácidas, a partir do composto **20**, um rearranjo levaria a formação de uma mistura de anomêros (**e**). Ainda sob condições ácidas, a clivagem da ligação C-1 – O-1 do ortoéster **20** e o posterior ataque nucleofílico do acceptor ao C-1, levaria a formação de **21** e um glicosídeo desprotegido em C-2 de configuração anomérica mista (**f**) (CMOCH *et al.*, 2014; KONG, 2007; KUCZYNSKA; PAKULSKI, 2015; MURAKAMI *et al.*, 2007).

Esquema 16: Proposta de mecanismo para formação dos compostos **20** e **21**.



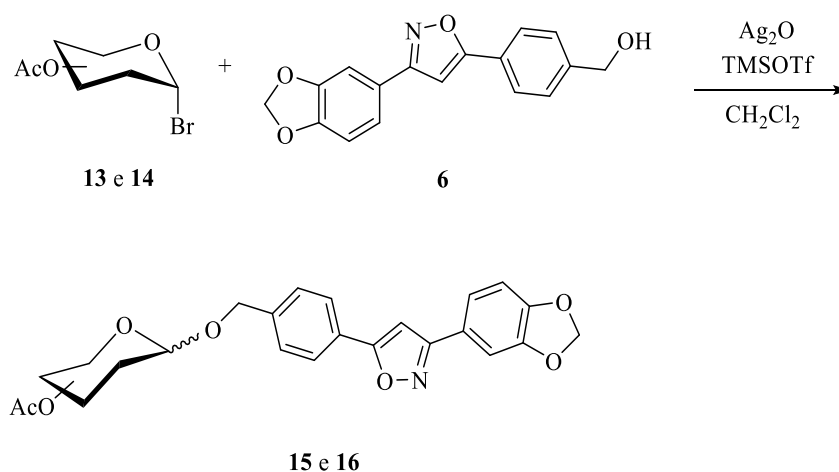
FONTE: Elaborado pelo autor.

A utilização de ácidos de Lewis auxilia na diminuição destas reações colaterais e formação de produtos indesejado. Entretanto, alguns autores promovem a substituição dos grupos dos proteção acetila e também a substituição do solvente para resolução destes problemas (CMOCH *et al.*, 2014; KONG, 2007; KUCZYNSKA; PAKULSKI, 2015).

Dada a facilidade de obtenção e o baixo custo dos doadores peracetilados, e também controle estereoquímico da reação de glicosilação, estes permanecem vantajosos em relação as demais estratégias de proteção de açúcares. Dessa maneira, optou-se pela utilização de abordagens sintéticas envolvendo pequenas quantidades de ácido, com o objetivo de minimizar a formação de produtos indesejados.

Singh e Demchenko (2019) demonstraram recentemente excelentes resultados em reações de glicosilação envolvendo condições reacionais de Koenigs-Knorr, sob a catálise de Ag_2O e co-promotor TMSOTf. Estas reações foram significativamente aceleradas na presença de vários ácidos de Lewis/Bronsted. Diante disto, as tentativas de glicosilação do composto **6** foram direcionadas para o emprego deste protocolo envolvendo dois promotores e diclorometano como solvente. Esta redução considerável no tempo reacional é justificada pela disponibilidade de um aditivo catalítico, neste caso TMSOTf, capaz de auxiliar na dissociação do complexo AgBr , o que levaria mais tempo somente na presença de Ag_2O menos reativo (esquema 17) (SINGH; DEMCHENKO, 2019).

Esquema 17: Síntese dos derivados *O*-glicosilados **15** e **16** através da reação de Koenigs-Knorr envolvendo um co-promotor ácido.



FONTE: Elaborado pelo autor.

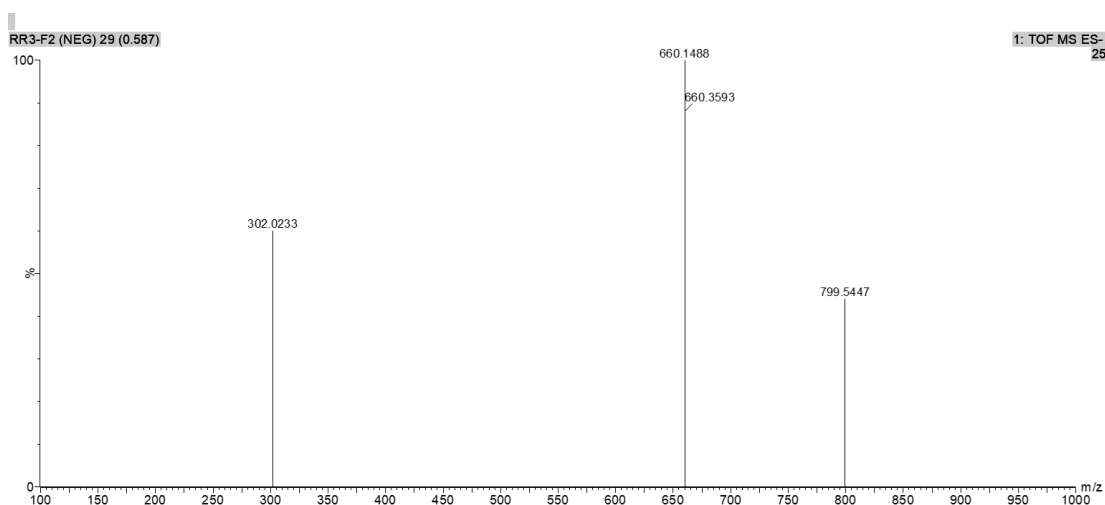
Na primeira tentativa, a reação apresentou um perfil cromatografia em CCD muito semelhante as reações sem a presença do co-promotor. Curiosamente, mesmo após 20 horas sob agitação vigorosa, a reação foi finalizada com a presença de pequenas quantidades de material de partida. Embora os autores descrevam a realização destas reações em apenas alguns minutos, o mesmo não foi observado. Também foi possível observar uma mudança gradual na cor da mistura reacional, de cinza escuro para cinza mais claro, o que indicaria a conversão de Ag_2O , e conseqüentemente do doador bromado, em AgBr .

Devido a pequena quantidade de material bruto obtido ao final da reação, realizou-se separação dos compostos através de CCD preparativa, em que foi possível obter três bandas distintas, sendo estas F1, F2 e F3. As três bandas apresentaram revelação com UV, porém somente as frações F1 e F2 apresentaram revelação em solução ácida.

Cada fração foi caracterizada através de análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . A fração menos polar (F1) isolada apresentou sinais nos espectros de RMN característicos do ortoéster **22** descrito anteriormente. A fração mais polar (F3) isolada, apresentou apenas sinais característicos ao acceptor **6**. A fração de polaridade intermediária (F2), apresentou sinais de ambos, doador e acceptor, e um sinal característico de ligação glicosídica, sendo este um duplete em δ 4,60, integrando para 1 hidrogênio, correlacionado com o carbono δ 99,7. Ainda, a medida da constante de acoplamento deste duplete ($J_{\text{H-1};\text{H-2}} = 7,80$) indica um glicosídeo de configuração 1,2-trans.

A F2, no entanto, apresentou um excesso de acceptor (doador 1:4 acceptor), e devido a pequena quantidade de produto obtido, uma purificação adicional deste não seria possível. A confirmação da presença do produto glicosilado em nesta fração se deu através de espectrometria de massa, em que foi identificado no espectro de íons negativos um pico em m/z 660,1488 ($[\text{M} + \text{Cl}]^-$ calculado para a formula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{NO}_{13}\text{Cl}^-$) (figura 11).

Figura 11: Espectro de massas do composto **15**.



Motivados por estes resultados, outra tentativa foi realizada, empregando as mesmas condições e reagentes descritos anteriormente. A reação foi deixada sob agitação por cerca de

40 horas, e a mistura bruta obtida no final da reação foi purificada por meio da técnica de SPE em fase reversa. O perfil cromatográfico em CCD das duas reações foram semelhantes, no entanto, a purificação em SPE, quando comparada com as reações sem a presença de um co-promotor, mostrou a formação de novos produtos. Entre estes, três produtos com polaridade muito próximas ao composto **6** puderam ser observados, além de um com característica menos polar. Devido à dificuldade de separação destes compostos, apenas duas frações aparentemente puras foram obtidas e caracterizadas. Estas três frações foram analisadas separadamente e foi possível observar que conforme a concentração de metanol na fase móvel foi aumentando, a proporção de açúcar nas frações foram diminuindo, sendo que na última, somente sinais do acceptor foram identificados.

Na fração em que foram observados sinais característicos do doador e do acceptor, também foi identificado um sinal característico de ligação glicosídica em δ 4,40, sendo este um duplete com constante de acoplamento de $J_{H-1;H-2} = 7,0$, integrando para 1 hidrogênio. Através da análise do espectro de massa de íons positivos e negativos foi possível observar picos de baixa intensidade em m/z 626,1868 ($[M + H]^+$ calculado para $C_{31}H_{32}NO_{13}^+$) (figura 12); m/z 648,1667 ($[M + Na]^+$ calculado para $C_{31}H_{31}NO_{13}Na^+$) (figura 13) e m/z 684,1913 ($[M + AcO]^-$ calculado para $C_{33}H_{34}NO_{15}^-$) (figura 14).

Figura 12: Espectro de massas do composto **16**.

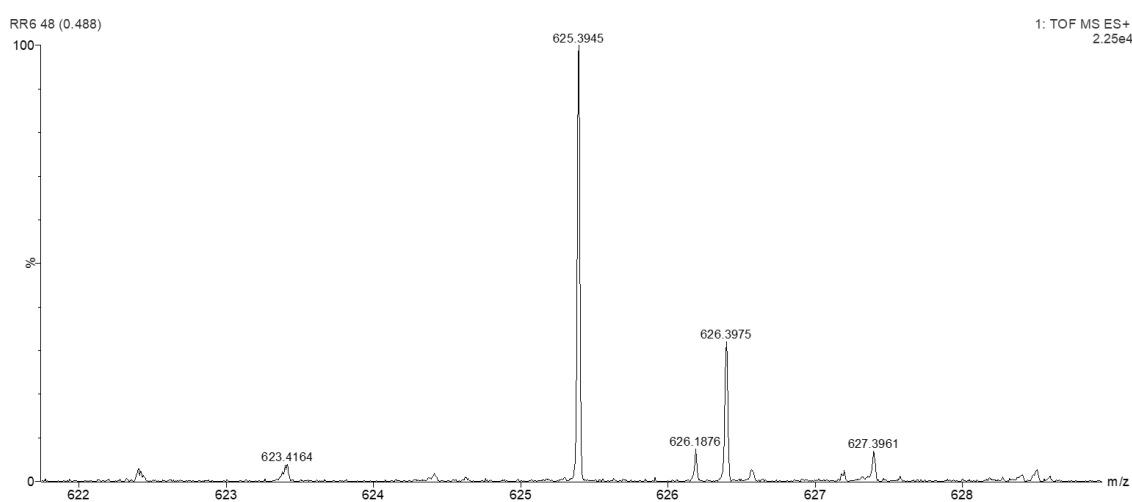
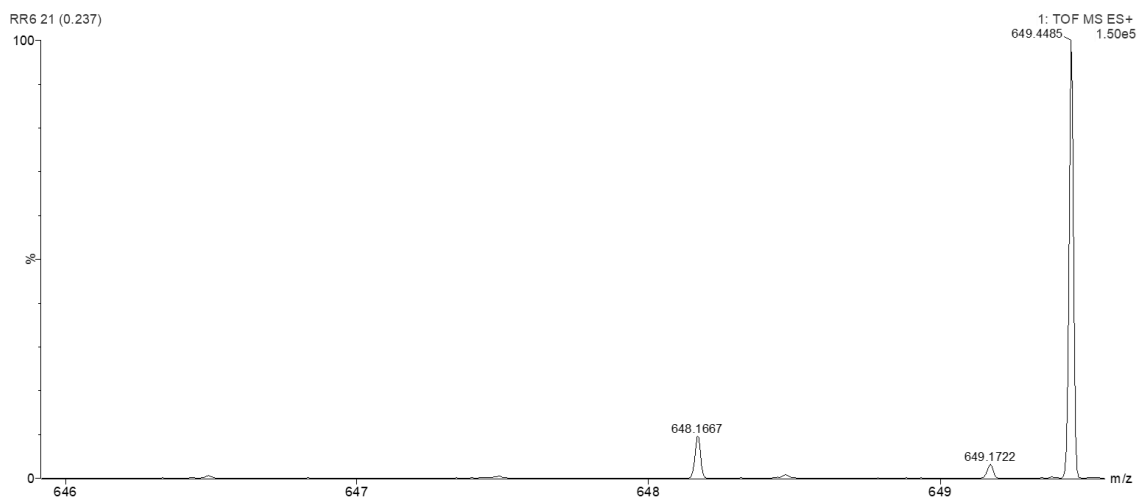
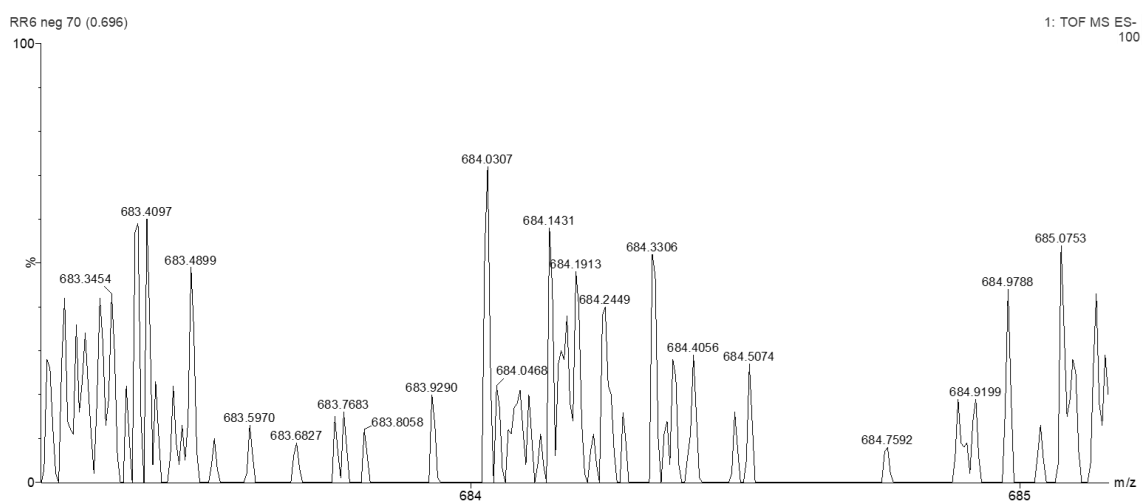


Figura 13: Espectro de massas do composto **16**.**Figura 14:** Espectro de massas do composto **16**.

Mesmo que as reações não tenham sido realizadas no tempo descrito pelos autores, esta nova abordagem possibilitou a identificação dos produtos glicosilados **15** e **16** de interesse. Além disso, o intermediário acetilado **21** não foi identificado nas reações empregando co-promotor TMSOTf, sugerindo uma redução na formação de produtos indesejados sob condições reacionais ácidas.

A otimização das técnicas de purificação das misturas também favoreceu a identificação dos produtos glicosilados, bem como dos intermediários **20** e **21**, proporcionando uma melhor resolução e compreensão dos produtos obtidos ao final das reações, além de contribuir grandemente com o envolvimento de processos mais sustentáveis.

É possível atribuir a baixa eficácia na obtenção dos derivados glicosilados de **6** à diversos fatores. Além da interferência dos produtos indesejados descrito nas tentativas envolvendo somente promotores de prata, a baixa solubilidade do acceptor **6** no solvente diclorometano pode ser outro fator a ser considerado. O uso de solventes polares facilitaria a solubilização do acceptor **6** e também dos promotores de prata. Por outro lado, a solvatação dos cátions de prata representaria uma desvantagem na interação do promotor com o halogênio anomérico, dificultando a ativação dos brometos de glicosila e conseqüentemente na efetividade da reação (SINGH; DEMCHENKO, 2019).

4.4 ALIAÇÃO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Dada a importância no desenvolvimento de novos fármacos com solubilidade e biodisponibilidade oral adequada, torna-se cada vez mais necessária a compreensão suficiente de propriedades moleculares que possam vir a limitar tais propriedades. Diante disso, uma avaliação prévia do composto **6**, dos derivados *O*-glicosilados protegidos **15** e **16**, e também dos derivados *O*-glicosilados desprotegidos **22** e **23** foi realizada, utilizando o software de acesso livre “Osiris DataWarrior”. Este software fornece informações relacionadas a propriedades como solubilidade e predição de biodisponibilidade oral, por meio resultados obtidos *in silico*, com base em cálculos teóricos (SANDER *et al.*, 2015).

Sete descritores foram avaliados, sendo estes: peso molecular (MM); clogP; número de doadores de ligações de hidrogênio: soma de O-H e N-H (nDLH); número de aceptores de ligações de hidrogênio: soma de N e O (nALH), ligações rotacionáveis (nLR), área de superfície polar (ASP) e logS (LIPINSKI *et al.*, 1997; VEBER *et al.*, 2002).

Tabela 2: Resultado dos cálculos das propriedades físico-químicas dos compostos **6**, **15**, **16**, **22** e **23**, obtidos no software Osiris DataWarrior.

| Composto | MM (≤500) | log P (≤ 5) | log S (>-4) | nDLH (≤ 5) | nALH (≤ 10) | ASP (≤ 140 Å²) | nLR (≤ 10) |
|-----------------|----------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| 6 | 295.29 | 3.08 | -4.86 | 1 | 5 | 64.72 | 3 |
| 15 | 625.58 | 3.18 | -6.20 | 0 | 14 | 168.15 | 14 |
| 16 | 625.58 | 3.18 | -6.20 | 0 | 14 | 168.15 | 14 |
| 22 | 457.43 | 1.24 | -4.56 | 4 | 10 | 143.87 | 6 |
| 23 | 457.43 | 1.24 | -4.56 | 4 | 10 | 143.87 | 6 |

FONTE: Elaborado pelo autor.

Com base nos dados obtidos *in silico*, apresentados na tabela 2, é possível observar que os glicosídeos protegidos **15** e **16**, contendo grupos de proteção acetila nas hidroxilas dos açúcares, violam cinco dos sete parâmetros avaliados, porém, os dados obtidos *in silico* não desqualificam estes compostos para a realização de testes experimentais. Os glicosídeos desprotegidos **22** e **23**, não violam nenhum dos sete parâmetros avaliados, e também é possível observar um aumento no valor de logS em relação ao valor encontrado para o acceptor **6**, sendo este um indicativo de um melhor perfil de solubilidade aquosa dos derivados glicosilados, bem como, é possível sugerir um bom perfil de solubilidade e biodisponibilidade oral *in silico* para estes compostos.

5 CONCLUSÃO

O composto **6**, identificado como protótipo em um trabalho realizado em nosso grupo de pesquisa, foi sintetizado por meio de reação de cicloadição catalisada por cobre, realizada em reator de micro-ondas, sendo obtido com rendimentos moderados 20-29%. Embora este tenha apresentado atividade promissora contra às formas amastigotas de *T. cruzi* (IC₅₀: 5,26 μM), o mesmo apresentou baixa solubilidade aquosa.

Diante disso, o composto **6** foi submetido a reações de *O*-glicosilação com o objetivo de otimizar suas propriedades de hidrossolubilidade. A introdução de unidades de açúcares a moléculas complexas é amplamente descrita na obtenção de compostos com propriedades físico-químicas e atividade biológica melhoradas. Os protocolos reacionais empregados na obtenção de doadores glicosídicos e reações de glicosilação envolveram procedimentos relativamente simples, e as tentativas de acoplamento entre as unidades de açúcar D-glicose e D-galactose e o acceptor **6** possibilitaram a identificação dos derivados *O*-glicosídeos **15** e **16**.

Diferentes estratégias de purificação das misturas complexas obtidas ao final das reações de glicosilação foram testadas, devido a difícil separação dos constituintes da mistura. Foram aplicadas técnicas de CCD preparativa para o isolamento de compostos com R_f muito próximos, bem como extração em fase sólida em cartucho SPE C-18 para remoção de subprodutos altamente polares, porém as frações de interesse caracterizadas apresentavam sinais dos glicosídeos de interesse, e também um excesso do acceptor **6**.

Devido a pequena quantidade de amostra obtida dos compostos glicosilados **15** e **16**, sua caracterização por espectroscopia de RMN e espectrometria de massas não foi conclusiva, porém, sinais característicos aos compostos **15** e **16** foram identificados. É possível que os subprodutos identificados possam interferido na obtenção de melhores rendimentos dos glicosídeos de interesse.

Para resolução destes problemas, sugere-se o emprego de doadores mais estáveis e/ou promotores mais reativos para a obtenção de melhores rendimentos e também para uma melhor compreensão dos produtos formados. Também é possível que o emprego de diferentes solventes, ou até mesmo o emprego de sistemas de co-solventes promovam uma melhor solubilização dos constituintes da reação.

Diante disto, este trabalho tem como perspectiva uma investigação mais aprofundada de diferentes protocolos de glicosilação que possibilitem a obtenção dos derivados glicosilados do composto **6** com melhores rendimentos, para assim, proceder com sua caracterização completa e também avaliação de sua potência tripanocida, bem como avaliação de suas propriedades físico-químicas.

REFERÊNCIAS

ANASTAS, P.; EGHBALLI, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.

ARMAREGO, Wilfred LF. Purification of laboratory chemicals. **Butterworth-Heinemann**, 2017. E-book.

BANIK, I.; BANIK, B. K. Synthesis of β -lactams and their chemical manipulations via microwave-induced reactions. In: β -Lactams: Unique Structures of Distinction for Novel Molecules. **Springer, Berlin, Heidelberg**, 2012. p. 183-221. E-book.

BENNETT, C. S. Selective Glycosylation: Synthetic Methods and Catalysts. **John Wiley & Sons**, 2017. E-book.

BERNARDES, L. S. C. et al. Synthesis and trypanocidal activity of 1,4-bis-(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-1,4-butanediol and 1,4-bis-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-butanediol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 21, p. 7075–7082, 2006.

BERTOZZI, C. R.; KIESSLING, L. L. Chemical glycobiology. **Science**, v. 291, n. 5512, p. 2357–2364, 2001.

BESTETTI, R. B.; MUCCILLO, G. Clinical course of chagas' heart disease: A comparison with dilated cardiomyopathy. **International Journal of Cardiology**, v. 60, n. 2, p. 187–193, 1997.

BOCK, M.; GÖNNERT, R.; HABERKORN, A. Studies with Bay 2502 on animals. **Boletín Chileno de Parasitología**, v. 24, n. 1, p. 13–19, 1969.

BRITO-ARIAS, M. Synthesis and Characterization of Glycosides. New York, NY: USA: **Springer**, 2007. E-book.

BROUGHTON, H. B.; WATSON, I. A. Selection of heterocycles for drug design. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 23, n. 1, p. 51–58, 2004.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. *Advanced Organic Chemistry*.: Springer Science & Business Media, 2007. E-book.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Neglected Tropical Diseases**. 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/>. Acesso em: 19 out. 2020.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 159–218, 1909.

CHATELAIN, E. Chagas disease drug discovery: Toward a new era. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 20, n. 1, p. 22–35, 2015.

CMOCH, P. et al. Synthesis of lupane-type saponins containing an unusual a-D-idopyranoside fragment as potent cytotoxic agents. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2014, n. 19, p. 4089–4098, 2014.

COLLINS, P. M.; FERRIER, R. J. *Monosaccharides - Their Chemistry and Their Roles in Natural Products*.: John Wiley & Sons, 1995. E-book.

COURA, J. R. Chagas disease: What is known and what is needed - A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 113–122, 2007.

COURA, J. R.; DE CASTRO, S. L. A critical review on chagas disease chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 3–24, 2002.

DA ROSA, R. et al. Design and synthesis of a new series of 3,5-disubstituted isoxazoles active against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 128, p. 25–35, 2017.

DAS, R.; MUKHOPADHYAY, B. Chemical O-Glycosylations: An Overview. **ChemistryOpen**, v. 5, n. 5, p. 401–433, 2016.

DAVIS, B. G.; FAIRBANKS, A. J. *Carbohydrate Chemistry*.: Oxford University Press: New York, 2002. E-book.

DE OLIVEIRA FREITAS, L. B. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: Aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791–1804, 2011.

DENG, S.; GANGADHARMATH, U.; CHANG, C. W. T. Sonochemistry: A powerful way of enhancing the efficiency of carbohydrate synthesis. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 14, p. 5179–5185, 2006.

DI, L.; KERNS, E. H. Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization.: **Elsevier**, 2016. E-book.

DIAS, B. F. S. A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades. Campinas: André Tosello, 1996.

DUA, R.; et al. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: A Review. **Advances in Biological Research**, v. 5, n. 3, p. 120–144, 2011.

FARRÁN, A. et al. Green Solvents in Carbohydrate Chemistry: From Raw Materials to Fine Chemicals. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 14, p. 6811–6853, 2015.

FINCH, P. Carbohydrates: Structures, Syntheses and Dynamics.: **Springer Science & Business Media**, 1999. E-book.

GALVÃO, C. Vetores da Doença de Chagas. 2014. E-book.

HAIPOUR, A. R.; RAFIEE, F.; RUOHO, A. E. A rapid and convenient method for the synthesis of aldoximes under microwave irradiation using in situ generated ionic liquids. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 7, n. 1, p. 114–118, 2010.

HEIN, J.; FOKIN, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper (I) acetylides. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 4, p. 1302–1315, 2010.

HIMO, F. et al. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 1, p. 210–216, 2005.

HUNG, S. C.; ZULETA, M. M. L. Glycochemical Synthesis: Strategies and Applications.: **John Wiley & Sons**, 2016. E-book.

IGARASHI, K. The Koenigs-Knorr Reaction. In: *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*.: **Academic Press**, 1977. p. 243–283. E-book.

IZUMI, E. et al. Natural products and Chagas' disease: A review of plant compounds studied for activity against *Trypanosoma cruzi*. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 4, p. 809–823, 2011.

KARTHA, K. P. R.; FIELD, R. A. Iodine?: A versatile reagent in carbohydrate chemistry IV. Per-O-Acetylation, regioselective acylation and acetolysis. **Tetrahedron**, v. 53, n. 34, p. 11753–11766, 1997.

KERNS, E. H.; DI, L. *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods*.: **Elsevier**, 2008. E-book.

KINGSTON, D. G. I. Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity conservation. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 3, p. 496–511, 2011.

KOENIGS, W.; KNORR, E. Derivatives of grape sugar and galactose. **Chemische Berichte**, v. 34, p. 957–981, 1901.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 40, n. 11, p. 2004–2021, 2000.

KONG, F. Recent studies on reaction pathways and applications of sugar orthoesters in synthesis of oligosaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 3–4, p. 345–373, 2007.

KRYSHCHYSHYN, A. et al. Trends in research of antitrypanosomal agents among synthetic heterocycles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 85, p. 51–64, 2014.

KUCZYNSKA, K.; PAKULSKI, Z. Synthesis of lupane saponins from acetylated glycosyl donors by acetonitrile directed glycosylation. **Tetrahedron**, v. 71, n. 19, p. 2900–2905, 2015.

LEAL, S. M. et al. In Vitro Antileishmanial, Trypanocidal, and Mammalian Cell Activities of Diverse N,N'-Dihetaryl Substituted Diamines and Related Compounds. **Scientia Pharmaceutica**, v. 81, n. 1, p. 43–56, 2013.

- LEGENTIL, L. et al. Regioselective Galactofuranosylation for the Synthesis of Disaccharide Patterns Found in Pathogenic Microorganisms. **Journal of Organic Chemistry**, v. 82, n. 14, p. 7114–7122, 2017.
- LEON, J. S.; WANG, K.; ENGMAN, D. M. Captopril ameliorates myocarditis in acute experimental Chagas disease. **Circulation**. v. 107, n. 17, p. 2264–2269, 2003.
- LEPESHEVA, G. I. Design or screening of drugs for the treatment of Chagas disease: What shows the most promise; **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 8, n. 12, p. 1479–1489, 2013.
- LEVY, D. E.; FÜGEDI, P. The Organic Chemistry of Sugars. 1.ed.: **CRC Press**, 2005. p. 89–180. E-book.
- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3–26, 1997.
- LOPES, N. P. et al. Flavonoids and lignans from *Virola surinamensis* twigs and their in vitro activity against *Trypanosoma cruzi*. **Planta Medica**, v. 64, n. 7, p. 667–669, 1998.
- MAYA, J. D. et al. Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 146, n. 4, p. 601–620, 2007.
- MILJKOVIC, M. Carbohydrates: Synthesis, Mechanisms, and Stereoelectronic Effects. New York, NY: **Springer New York**, 2009. E-book.
- MOLONEY, M. G. Natural Products as a Source for Novel Antibiotics. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 37, n. 8, p. 689–701, 2016.
- MONCAYO, Á.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 17–30, 2009.
- MURAKAMI, T. et al. Efficient synthesis of β -mercaptoalkyl 1,2-trans-glycosides from sugar peracetates. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 8, p. 1009–1020, 2007.

NAZOR, J.; LIU, J.; HUISMAN, G. Enzyme evolution for industrial biocatalytic cascades. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 69, p. 182–190, 2021.

NIHEI, K. I.; KONNO, K.; BERNARDES, L. S. C. Synthesis of trypanocidal tetrahydrofuran lignans. **Arkivoc**, v. 6, p. 112–126, 2004.

OSBORN, H. M. I. Carbohydrates. : **Elsevier**, 2003. E-book.

OSBORN, H. M. I. et al. Carbohydrate-based therapeutics. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 691–702, 2004.

PACHECO, M. G. O. et al. Trypanosoma cruzi: Activity of heterocyclic cationic molecules in vitro. **Experimental Parasitology**, v. 123, n. 1, p. 73–80, 2009.

PAGLIERO, R. J. et al. Lead selection of antiparasitic compounds from a focused library of benzenesulfonyl derivatives of heterocycles. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 17, p. 3945–3949, 2017.

PIGMAN, W. The carbohydrates: Chemistry and biochemistry.: **Academic Press**, 1972. E-book.

PLOTKA-WASYLKA, J. et al. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 23–43, 2016.

RAMOS JÚNIOR, A. N.; SOUSA, A. S. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas em doença de Chagas: perspectivas e desafios para o Brasil. **Revista de Medicina da UFC**, v. 58, n. 4, p. 6, 2018.

RANADE, S. C.; DEMCHENKO, A. V. Mechanism of chemical glycosylation: Focus on the mode of activation and departure of anomeric leaving groups. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 1–43, 2013.

RASSI, A.; DE REZENDE, J. M. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 275–291, 2012.

RICHLE, R. Chemotherapy of experimental acute Chagas disease in mice: beneficial effect of Ro-71051 on parasitemia and tissue parasitism. **Le Progres Medical**, p. 101–282, 1973.

ROSA, R. **Síntese e avaliação antitripanossomatídeos de derivados isoxazóis 3,5-dissubstituídos**, 2016. - Universidade Federal de Santa Catarina - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Florianópolis, 2016.

ROSTOVTSEV, V. V. et al. A stepwise huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie**, v. 41, n. 14, p. 2596–2599, 2002.

SAMPEI, M.; ARAI, M. A.; ISHIBASHI, M. Total syntheses of schizandriside, saracoside and (±)-isolariciresinol with antioxidant activities. **Journal of Natural Medicines**, v. 72, n. 3, p. 651–654, 2018.

SANDER, T. et al. DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 55, n. 2, p. 460–473, 2015.

SANTOS, S. S. et al. Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 4, p. 105906, 2020.

SANTRA, A. et al. Highly efficient chemoenzymatic synthesis and facile purification of a-Gal pentasaccharyl ceramide Gala3nLc4βCer. **Chemical Communications**, v. 53, n. 59, p. 8280–8283, 2017.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceutics**, v. 2012, 2012.

SILVERMAN, R. B.; HOLLADAY, M. W. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action.: **Academic Press**, 2015. E-book.

SINGH, Y.; DEMCHENKO, A. V. Defining the Scope of the Acid-Catalyzed Glycosidation of Glycosyl Bromides. **Chemistry - A European Journal**, v. 26, n. 5, p. 1042–1051, 2019.

STEVENS, J. et al. The molecular evolution of trypanosomatidae. In: *Advances in Parasitology*.: **Elsevier**, 2001. v. 48p. 1–53. E-book.

STROHL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 2, p. 39–41, 2000.

SZYCHOWSKI, J.; TRUCHON, J. F.; BENNANI, Y. L. Natural products in medicine: Transformational outcome of synthetic chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 9292–9308, 2014.

TAIWO, B. J. et al. Isolation and Characterisation of Two Quercetin Glucosides with Potent Anti-Reactive Oxygen Species (ROS) Activity and an Olean-12-en Triterpene Glucoside from the Fruit of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. **Chemistry and Biodiversity**, v. 18, n. 1, 2021.

TEMPONE, A. G. et al. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 382–390, 2005.

VEBER, D. F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, 2002.

VIEIRA, L. F. O. **Semissíntese de derivados de O-metil-olivetol isolado de Eugenia Catarinae O. Berg.** 2020. - Universidade Federal de Santa Catarina - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Florianópolis, 2020.

WELSCH, M. E.; SNYDER, S. A.; STOCKWELL, B. R. Privileged scaffolds for library design and drug discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, n. 3, p. 347–361, 2010.

WERZ, D. B. et al. Exploring the structural diversity of mammalian carbohydrates (“glycospace”) by statistical databank analysis. **ACS Chemical Biology**, v. 2, n. 10, p. 685–691, 2007.

WHO. WHO | World Health Organization. 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).

Acesso em: 10 jun. 2020.

WILLIAMS, H. D. et al. Strategies to address low drug solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 315–499, 2013.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation in: Methods Carbohydrate Chemistry.: **Academic Press**, 1963. E-book.

WONG, C. H. Carbohydrate-Based Drug Discovery.: **Wiley - VCH, Weinheim**, 2003. E-book.

WU, Y. J. Heterocycles and Medicine. A Survey of the Heterocyclic Drugs Approved by the U.S. FDA from 2000 to Present. In: IN: Progress in Heterocyclic Chemistry.: **Elsevier**, 2012. p. 1–53. E-book.

YANG, Y.; ZHANG, X.; YU, B. O-Glycosylation methods in the total synthesis of complex natural glycosides. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 9, p. 1331–1355, 2015.

ZIMMERMANN, L.A. **Síntese de derivados heterocíclicos com potencial atividade antitripanossomatídeos**. 2014. Universidade Federal de Santa Catarina - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Florianópolis, 2014.