

SÍNTESE DE AMIDAS E SULFONAMIDAS DE β -D-GALACTOPIRANOSILAMINA E β -LACTOSILAMINA E AVALIAÇÃO DE SUAS INTERAÇÕES COM LECTINAS DE *Erythrina cristagalli* E DE *Ricinus communis*

Anna Paola Butera e José Dias de Souza Filho

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Diogo Teixeira Carvalho, Rute Cunha Figueiredo, Luiz Carlos Alves de Faria, Maria Angélica Nunes, Maria Auxiliadora Fontes Prado e Ricardo José Alves*

Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Milton Hércules Guerra de Andrade e Karina Taciana Santos Silva

Departamento de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Rua Diogo de Vasconcelos, 122, 35400-000 Ouro Preto – MG, Brasil

Recebido em 5/10/06; aceito em 18/12/06; publicado na web em 17/7/07

SYNTHESIS OF AMIDES AND SULFONAMIDES OF β -D-GALACTOPYRANOSYLAMINE AND β -LACTOSYLAMINE AND EVALUATION OF THEIR INTERACTIONS WITH THE LECTINS FROM *Erythrina cristagalli* AND *Ricinus communis*. We report herein the synthesis of some β -D-galactopyranosylamine and β -lactosylamine amides and sulfonamides. The interactions of these compounds with lectins from the seeds of *Erythrina cristagalli* (LEC) and *Ricinus communis* (RCA120) were evaluated in a hemagglutination inhibitory activity assay. D-Galactose and lactose were used as reference compounds. The β -lactosylamine amides and sulfonamides were nearly as active as lactose in inhibiting LEC mediated hemagglutination and were less active against RCA120 agglutinin. The β -D-galactopyranosylamine amides and sulfonamides were, with one exception, considerably less active than D-galactose in the assay with both lectins.

Keywords: carbohydrates; plant lectins; amides.

INTRODUÇÃO

Lectinas são proteínas desprovidas de atividade enzimática que se ligam de maneira reversível e específica a carboidratos. Distinguem-se das imunoglobulinas, que reconhecem especificamente antígenos, eventualmente sacarídicos, seja estruturalmente, seja porque estas últimas dependem de estímulo antigênico para serem sintetizadas. Essa classe de proteínas estruturalmente diversificada é amplamente distribuída na natureza e, em geral, está relacionada a processos de reconhecimento celular mediados por suas interações com carboidratos¹⁻⁴. É reconhecida a participação destas interações em processos fisiológicos e patológicos importantes, tais como no controle do tráfego intracelular de glicoproteínas, na adesão de agentes infecciosos à célula hospedeira, nas interações do sistema imune e na metástase de tumores⁵. A seletividade das interações entre lectinas e carboidratos teve notável importância histórica pela contribuição na descoberta dos grupos sanguíneos humanos⁶. Em vista do exposto, as lectinas têm sido consideradas potenciais alvos moleculares de substâncias com atividades antitumoral e anti-parasitária^{7,8}. Denota-se a seletividade pela distinção, por parte da lectina, entre ligantes monossacarídeos, sendo comum a classificação das lectinas de acordo com o monossacarídeo pelo qual exibe maior afinidade, normalmente aqueles presentes em células eucarióticas: D-manose, D-galactose/N-acetil-D-galactosamina, N-acetil-D-glicosamina, L-fucose e ácido N-acetil-D-neuramínico⁵.

O ensaio de hemaglutinação apresenta-se como uma das técnicas mais simples de avaliação das interações entre carboidratos e lectinas. Seu vasto emprego deve-se à facilidade de obtenção dos

eritrócitos do tecido sangüíneo e à riqueza qualitativa dos resíduos sacarídicos que são expressos em suas superfícies. Existem diversos estudos em que a propriedade aglutinante das lectinas é utilizada para a obtenção de dados da composição sacarídica da superfície de outros tipos celulares, como por ex., de células tumorais^{9,10}. A aglutinação celular promovida por lectinas é possível, uma vez que, estas, em sua maioria, são oligoméricas e multivalentes. As lectinas vegetais e as galectinas, lectinas animais específicas para D-galactose, são particularmente aglutinantes por apresentarem os sítios de interação com carboidratos posicionados nas extremidades opostas dos oligômeros⁵.

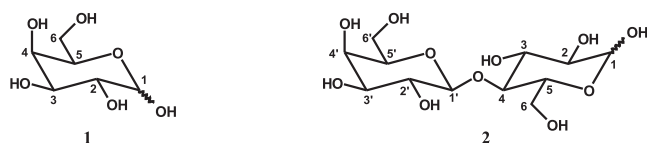
As lectinas vegetais foram as primeiras a serem descobertas e seu fácil isolamento, comparado ao de outras fontes, faz com que, ainda hoje, sejam muito estudadas e caracterizadas em grande número⁴. As lectinas isoladas de espécies vegetais são especialmente utilizadas como sistema modelo para o estudo das bases moleculares do reconhecimento lectina-carboidrato pois, apesar da semelhança da estrutura primária destas proteínas, suas especificidades a carboidratos podem ser diferentes. Até o momento, as estruturas tridimensionais de cerca de 60 lectinas vegetais foram elucidadas por cristalografia de raios X, nas formas livres e complexadas com uma variedade de compostos ligantes^{11,12}.

A lectina isolada das sementes de *Erythrina cristagalli* (LEC) apresenta seletividade pelos monossacarídeos D-galactose e N-acetil-D-galactosamina¹³. Como ocorre em outras lectinas de fabáceas, o sítio de ligação a carboidratos apresenta-se como uma depressão na superfície molecular. Esta lectina apresenta estrutura homodimérica, sendo que cada domínio contém um sítio de ligação a carboidrato, além de dois sítios de interação para íons, um para Ca²⁺ e um para Mn²⁺, ambos necessários para interação com carboidratos¹⁴.

*e-mail: ricardodylan@farmacia.ufmg.br

Das sementes de *Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*) são isoladas a ricina, proteína com fraca atividade hemaglutinante, altamente citotóxica, também denominada RCA60 (60 kDa), e a aglutinina RCA120 (120 kDa), não citotóxica. A RCA60 é constituída por duas cadeias polipeptídicas interligadas por ponte dissulfeto. A cadeia A é uma RNA-N-glicosidase capaz de inibir o processo de síntese protéica em células de mamíferos, ao remover um resíduo de adenina do RNA ribossomal. Já a cadeia B é uma lectina, que tem seletividade por β -D-galactosídeos. É responsável pelos processos de adesão celular da toxina e de sua translocação citoplasmática até os ribossomos. A aglutinina RCA120 é um tetrâmero composto por duas cadeias A' e B'. As cadeias polipeptídicas de RCA60 e RCA120 são estruturalmente relacionadas. Apresentam 93% e 84% de homologia entre as seqüências primárias das cadeias A e B, respectivamente. No entanto, as lectinas apresentam especificidades diferentes para a ligação com monossacarídeos, oligossacarídeos e glicopeptídeos. Assim como LEC, as lectinas de *R. communis* apresentam afinidade pelo dissacarídeo lactose superior à da D-galactose^{14,15}.

No presente trabalho é relatada a síntese de derivados de D-galactose (**1**) e de lactose (**2**) e a investigação das diferenças nas interações destes derivados com lectinas isoladas das sementes de *Erythrina cristagalli* (LEC) e de *Ricinus communis*, especificamente a aglutinina RCA120, pela comparação da capacidade inibitória da hemaglutinação desses derivados em relação a **1** e **2**.



Teve-se como objetivo central a identificação de ligantes sintéticos, monovalentes, com maior afinidade por essas lectinas, com vistas ao desenvolvimento de inibidores de suas interações com ligantes naturais. Sabe-se que, de modo geral, as constantes de associação individuais entre lectinas e monossacarídeos não são muito elevadas¹⁶. A afinidade é potencializada nas interações com oligossacarídeos, para as quais os valores de constantes de associação são até mil vezes maiores que para os monossacarídeos⁵. O planejamento de ligantes monovalentes foi fundamentado na modificação de C-1, com a introdução de substituintes contendo grupos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, além de grupos hidrofóbicos. Tais substituintes poderiam interferir nos processos de solvatação e dessolvatação dos ligantes e de seu sítio de interação, aumentando a afinidade carboidrato-lectina¹⁷. Essa posição é de fácil manipulação química, além de ser bastante utilizada para a síntese de ligantes mono- e polivalentes de lectinas¹. Assim, utilizando-se reações clássicas da química de carboidratos foram sintetizados cinco derivados da D-galactose (**13a-e**) e quatro derivados da lactose (**14a-d**) que contêm grupos amido e sulfonamido ligados ao carbono anomérico (C-1) (Figura 1).

É importante ressaltar que os grupos amido e sulfonamido dos compostos planejados preservam a capacidade de formar ligações

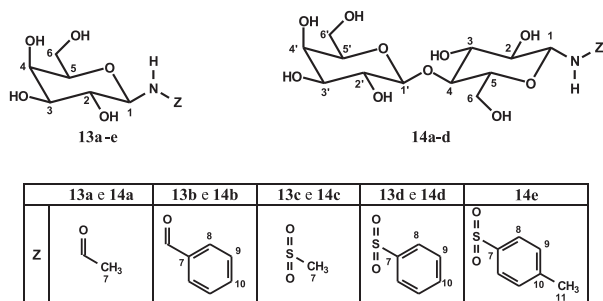


Figura 1. Derivados da D-galactose e da lactose sintetizados

de hidrogênio com o sítio de interação das lectinas, mas não apresentam a instabilidade indesejada de glicosilaminas¹⁸. As glicosilaminas são reconhecidamente instáveis, susceptíveis a reações de anomerização e de hidrólise¹⁷, que envolvem a formação de um intermediário imínio (Figura 2). A formação do íon imínio é menos favorecida nas amidas e sulfonamidas anoméricas, devido a menor basicidade do nitrogênio nesses compostos.

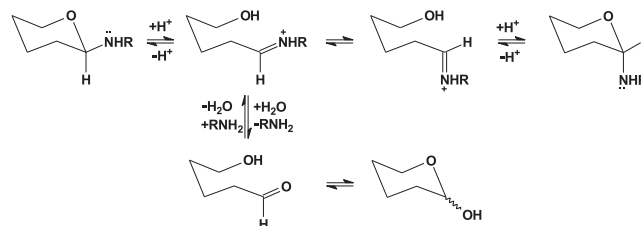


Figura 2. Reações de anomerização e hidrólise de glicosilaminas

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese

As amidas e sulfonamidas **13a-e** e **14a-d** foram sintetizadas empregando-se metodologias clássicas da química de carboidratos, de acordo com o esquema de síntese mostrado na Figura 3.

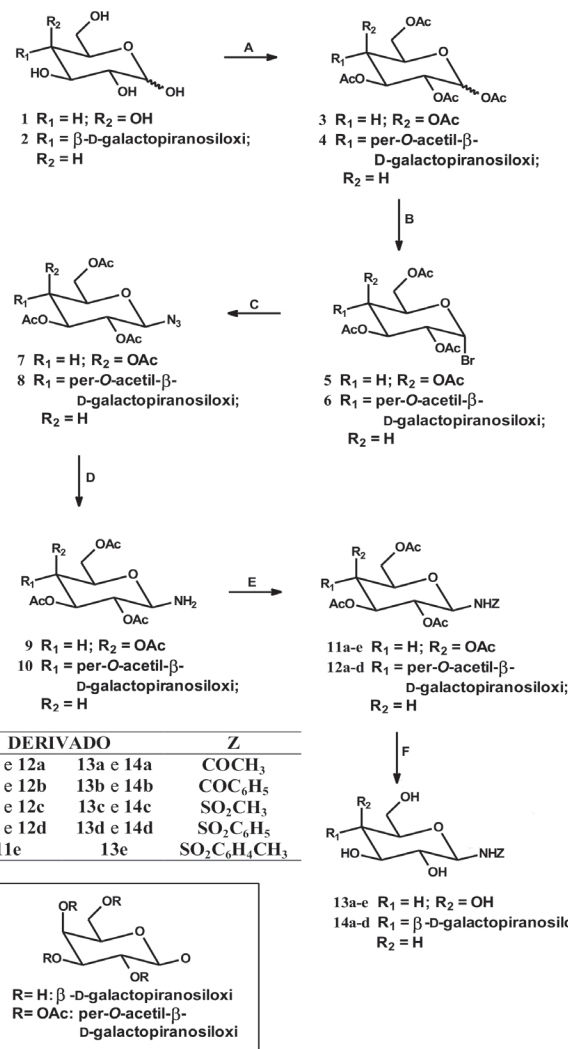


Figura 3. Esquema de síntese para obtenção das amidas e sulfonamidas 3-11

Tabela 1. Dados das reações de obtenção de **11a-e** e **12a-d**

Glicosilamina/Reagente (relação molar)	Tempo de reação (min)	Produto desejado	Método de purificação	Rend. [§] (%)
9 /(CH ₃ CO) ₂ O(1:5,5)	120	11a	-	80
9 /C ₆ H ₅ COCl(1:4,6)	60	11b	-	88
9 /CH ₃ SO ₂ Cl(1:4,5)	150	11c	Recristalização (isopropanol)	73
9 /C ₆ H ₅ SO ₂ Cl(1:2)	80	11d	Recristalização (água)	78
9 /4-CH ₃ -C ₆ H ₄ SO ₂ Cl(1:2)	140	11e	-	69
10 /(CH ₃ CO) ₂ O(1:25)	180	12a	-	97 [¥]
10 /C ₆ H ₅ COCl(1:4)	90	12b	Cromatografia em coluna	60 [*]
10 /CH ₃ SO ₂ Cl(1:3)	60	12c	Cromatografia em coluna	30
10 /C ₆ H ₅ SO ₂ Cl(1:2)	60	12	Cromatografia em coluna	19

[§] Rendimentos calculados a partir de **7e 8**; [¥] Mistura **12a** e anômero α 12:1; ^{*}Mistura **12b** e anômero α 6:1

A D-galactose (**1**) e a lactose (**2**) foram submetidas à peracetilação e os derivados peracetilados (**3** e **4**) foram transformados nos brometos de glicosila correspondentes, **5** e **6**^{19,20}. Em seguida foram obtidos os intermediários **7** e **8**, com rendimentos de 58 e 70%, respectivamente, pela substituição do bromo em C-1 pelo grupo azido^{21,22}. As glicosilaminas **9** e **10** foram preparadas a partir dos derivados 1-azido-1-desoxi correspondentes (**7** e **8**), por reação de hidrogenação catalítica do grupo azido. Glicosilaminas são reconhecidamente instáveis, susceptíveis à anomerização e a reações de hidrólise^{17,23}. Em vista disto, as glicosilaminas **9** e **10**, logo que obtidas, foram prontamente convertidas nas amidas e sulfonamidas **13a-e** e **14a-d**, sem purificação prévia, pela reação com os agentes acilantes e sulfonilantes adequados. Mesmo tomando-se o cuidado de se utilizar nas reações subsequentes as glicosilaminas **9** e **10** logo que preparadas, eventualmente, foram observados como produtos destas reações misturas anoméricas de amidas e sulfonaminas. Da preparação de duas amidas e de uma sulfonamida, os anômeros β **11a**, **11b** e **11e** foram obtidos puros, conforme evidenciado pela observação dos dupletos referentes a H-1 nos espectros de RMN de ¹H, com constantes de acoplamento escalar ($J_{1,2}$ 9,0-9,8) características de acoplamentos entre hidrogênios antiperiplanares em anéis piranosídicos. Das outras reações foram obtidas misturas anoméricas com proporções variadas, sempre com predominância do anômero de configuração β . Utilizando-se cromatografia em coluna de sílica, foi possível obter os anômeros β **12c** e **12d** e por meio de recristalização foram obtidos os anômeros β **11c** e **11b**. Da reação de acilação de **10**, que levaria à amida **12a**, de configuração β , foi obtida uma mistura de proporção aproximada de β/α de 12:1 (as proporções entre os anômeros foram determinadas por RMN de ¹H). Mesmo sendo difícil a separação dos anômeros por cromatografia, obteve-se uma pequena quantidade de **12a** pura, suficiente para sua caracterização espectroscópica. O produto bruto obtido da síntese da benzamida desejada **12b**, após purificação por cromatografia em coluna de sílica, conduziu à mistura dos epímeros β (**12b**) e α na proporção 6/1. Na Tabela 1 estão relatadas as relações molares entre as glicosilaminas **9** e **10** e os reagentes acilantes ou sulfonilantes, os tempos de cada reação, assim como os procedimentos de purificação e os rendimentos dos produtos obtidos.

As amidas **12a-b**, juntamente com os seus anômeros α , e as que foram obtidas como epímeros β puros (**11a-e** e **12c-d**) foram submetidas à reação de transesterificação com metóxido de sódio em metanol²⁴. As amidas e sulfonamidas desprotegidas resultantes **13a-e** e **14a-d**, obtidas com rendimentos de 49-98%, foram purificadas, quando necessário, por recristalização (Tabela 2).

Com a finalidade de se avaliar se as amidas e sulfonamidas seriam susceptíveis à anomerização durante o processo de sua obtenção, a sulfonamida **12c** pura foi colocada nas condições empregadas para sua preparação. A formação do anômero α não foi observada enquanto a mistura reagente foi deixada em banho de gelo,

Tabela 2. Tempo de reação e solventes empregados na recristalizações de **13a-e** e **14a-d**

Produto	Tempo de reação (min)	Solvente de recristalização	Rend. (%)
13a	30	-	98
13b	60	-	95
13c	60	-	87
13d	60	isopropanol	92
13e	90	-	91
14a	60	isopropanol/água 4:1	60
14b	60	metanol	78
14c	60	metanol	49
14d	90	metanol/água 9:1	53

quando aquecida até 60 °C por 24 h. Isto evidenciou que as amidas e sulfonamidas de configuração α foram, possivelmente, formadas a partir da glicosilamina de mesma configuração, resultante da anomerização parcial das glicosilaminas **9** e **10**, o que pode ter ocorrido na reação de sua formação ou durante as reações de acilação e sulfonilação.

Ensaio de inibição de hemaglutinação

A afinidade das amidas e sulfonamidas **13a-e** e **14a-d** por LEC e RCA120 foi avaliada em ensaio de inibição de hemaglutinação mediado por estas lectinas²⁵. As potências relativas à inibição promovida pela D-galactose (**1**), para cada um dos derivados e para lactose (**2**), estão mostradas na Tabela 3.

Tabela 3. Potência relativa dos derivados **13a-e** e **14a-d** quanto à inibição da hemaglutinação mediada por LEC e RCA120, em relação à D-galactose (**1**)

Substância	Potência Relativa	
	LEC	RCA120
1	1	1
2	4	6
13a [*]	0,25	0,5
13b [*]	0,25	1
13c [*]	0,25	0,25
13d [*]	0,5	0,5
13e [*]	0,5	0,5
14a [#]	3	4
14b [#]	4	4
14c [#]	4	4
14d [#]	4	2

^{*}derivados de D-galactose; [#]derivados de lactose

As modificações efetuadas em **1** e **2** não contribuíram para aumentar a afinidade de **13a-e** e **14a-d** por LEC e RCA120. As amidas **14a** e **14b** e as sulfonamidas **14c** e **14d**, derivadas da lactose (**2**), apresentaram, praticamente, a mesma afinidade que esta em relação à LEC, e foram, de forma geral, um pouco menos eficientes em relação à RCA120. Já as amidas **13a** e **13b** e as sulfonamidas **13c-e**, derivadas da D-galactose (**1**), apresentaram, à exceção de **13b**, afinidade nitidamente inferior a esta, em relação às duas lectinas. A afinidade da lactose (**2**), quatro vezes maior pela LEC e seis vezes pela RCA120, em relação à do monossacarídeo D-galactose, pode ser explicada pelas possibilidades de interações das lectinas com grupos hidroxila do resíduo de glicose, mediadas por moléculas de água^{26,27}. A introdução dos grupos amido e sulfonamido na posição anomérica não promoveu o aumento das interações com as lectinas. Espera-se que a diminuição da afinidade por ambas lectinas tenha sido decorrente de uma rede de solvatação mais eficiente do ligante, favorecida por ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos amido e sulfonamido destes derivados, o que levaria a um aumento da energia de dessolvatação e conseqüente diminuição da interação desses carboidratos com as lectinas²⁸.

CONCLUSÕES

Foram sintetizados nove derivados de carboidratos, os quais foram avaliados quanto as suas interações com as lectinas LEC e RCA120, em ensaio de inibição de hemaglutinação. A substituição das hidroxilas anoméricas por grupos amido e sulfonamido não resultou em aumento da afinidade destes compostos pelas lectinas estudadas.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos gerais

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho Microquímica MQAs 301 e não foram corrigidas. Os valores de poder rotatório específico, $[\alpha]_D$, foram medidos em polarímetros ADP220 Bellinghan + Stanley Ltd. ou Perkin Elmer 341, a 20 °C. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram registrados em espectrômetros Bruker Avance DPX-200 ou DRX-400. Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano. Os espectros no IV foram registrados em aparelho Spectrum One, Perkin-Elmer. A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando-se como revelador solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol e aquecimento da placa em estufa. As purificações por cromatografia em coluna de sílica foram realizadas com sílica gel 60, 70-230 mesh (Merck). As lectinas vegetais (LEC e RCA120) empregadas nos ensaios de hemaglutinação foram isoladas e purificadas segundo técnicas descritas na literatura²⁹. Para as atribuições dos sinais nos espectros de RMN, adotou-se a seguinte convenção: para os derivados da D-galactose, os átomos do açúcar foram numerados de 1 a 6. Para os derivados da lactose, o resíduo de D-glicose foi numerado de 1 a 6 e o de D-galactose, de 1' a 6'. Os substituintes aromáticos em C-1, foram numerados de 7 a 10 (carbono ligado aos grupos carbonila/sulfonila, posições *orto*, *meta* e *para*, respectivamente).

Os compostos **3-6** foram preparados conforme procedimentos descritos na literatura²¹.

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-galactopiranosilose (7)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 14 g (33,98 mmol) de **5** e 80 mL de acetona, seguido de 2,86 g (44,00 mmol) de azida de sódio dissolvidos em 40 mL de água

destilada. Deixou-se a mistura sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 6 h. Após o término da reação, a mistura reagente foi vertida em cápsula de porcelana e a acetona evaporada sob ventilação. O resíduo aquoso obtido foi extraído com diclorometano (3 x 30 mL) e a fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado em evaporador rotatório, fornecendo um óleo que foi pré-purificado por filtração em coluna de sílica com acetato de etila. O filtrado foi concentrado em evaporador rotatório e o sólido obtido foi recristalizado com álcool isopropílico. Foram obtidos 8,4 g (22,5 mmol; 66%) de **7**. Sólido branco cristalino. Tf: 91,5-93,0 °C (lit.: 91-92 °C³⁰). $[\alpha]_D$ -4,8 (c 1, CHCl₃) (lit.: $[\alpha]_D$ -8,0, c 1, CHCl₃³¹). IV ($v_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 2126, 1737, 1211, 1054.

2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil)-1-azido-1-desoxi-β-D-glicopiranosilose (8)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram dissolvidos 10 g (14,32 mmol) de **6** em 70 mL de acetona. Foi adicionada uma solução de 4 g (61,53 mmol) de azida de sódio em 40 mL de água destilada. O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e a solução reagente foi deixada sob agitação magnética, a 45 °C, por 3 h. Após o término da reação, a solução reagente foi vertida em uma cápsula de porcelana e a acetona foi evaporada sob ventilação. O resíduo aquoso foi extraído com diclorometano (3 x 25 mL). As camadas orgânicas foram reunidas, extraídas com água destilada (2 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado em evaporador rotatório. Foi obtido um óleo transparente que quando triturado com éter de petróleo solidificou. O sólido branco foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (1:1 v/v). Foram obtidos 6,6 g (9,97 mmol; 70%) de **8**. Sólido branco amorfo. Tf: 62,8-63,7 °C (lit.: 69-70 °C³²). $[\alpha]_D$ -91,6 (c 0,52, CHCl₃) (lit.: $[\alpha]_D$ -26,8, c 1,13, CHCl₃³³; $[\alpha]_D$ -18; c 0,64, CHCl₃³⁴). IV ($v_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 2119, 1740, 1211, 1043.

2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosilamina (9) e 2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosil)-β-D-glicopiranosilamina (10)^{32,35}

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram colocados 50 mg de paládio-carvão 10%, 5 mL de metanol anidro e 1 g de **7** ou **8** (2,67 e 1,51 mmol, respectivamente) dissolvido em 10 mL de metanol anidro. O balão foi fechado com septos de borracha, eliminou-se o ar passando-se nitrogênio gasoso e a mistura deixada sob agitação magnética, à temperatura ambiente e sob atmosfera de gás hidrogênio. Após o término da reação, o catalisador foi removido por filtração e a solução recolhida foi concentrada em evaporador rotatório a 40 °C. As glicosilaminas foram obtidas como sólidos brancos e utilizadas nas reações subsequentes, imediatamente, sem purificação prévia.

Síntese das amidas e sulfonamidas

Síntese de **11a-e** e **12a-d**: procedimento geral

Em balão de fundo redondo, imerso em banho de gelo, a glicosilamina **9** ou **10** foi dissolvida em 5 mL de piridina. O agente acilante ou sulfonilante foi adicionado gota a gota, a mistura reagente foi agitada à temperatura ambiente por 60-180 min. Após o término da reação, a solução reagente foi vertida em gelo pilado e submetida à extração com diclorometano (3 x 15 mL). As camadas orgânicas reunidas foram lavadas com solução de ácido clorídrico 1 mol/L (5 x 10 mL) e, em seguida, com água destilada até a

fase aquosa da última extração apresentar pH igual a 6. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado em evaporador rotatório. As relações molares de glicosilaminas e de reagentes acilantes ou sulfonilantes, os tempos de reação, os procedimentos de purificação e os rendimentos dos produtos encontram-se relatados na Tabela 1.

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-acetilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (11a)

Foram obtidos 0,83 g de **11a** (2,14 mmol; 80% a partir de **7**). Sólido branco. Tf: 169,6-170,8 °C (lit.: 173 °C³⁶). $[\alpha]_D +33,0$ (c 2, CHCl₃) (lit.: $[\alpha]_D +34,7$ (c 2, CHCl₃)³⁶). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3200, 1756, 1737, 1666, 1223, 1050. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 200 MHz): 6,50 (d; $J_{\text{NH},1}$ 8,9 Hz; NH); 5,45 (d; 1H; J 1,7 Hz); 5,30-5,05 (m; 3H); 4,17-4,02 (m; 3H); 2,15 (s; NHCOCH₃); 2,07 (s; OCOCH₃); 2,15 (s; OCOCH₃); 2,04 (s; OCOCH₃); 1,99 (s; OCOCH₃); RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 50 MHz): 171,26, 170,45, 170,09, 169,80 (4C; OCOCH₃); 169,8 (NHCOCH₃); 78,57 (C-1); 72,50 (C-3); 70,99 (C-5); 68,44 (C-2); 67,34 (C-4); 61,32 (C-6); 23,37 (NHCOCH₃); 20,81, 20,75, 20,65, 20,59 (4C; OCOCH₃).

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-benzoilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (11b)

Foram obtidos 1,06 g de **11b** (2,35 mmol; 88% a partir de **7**). Sólido branco. Tf: 142,5-144,5 °C (lit.: 148-149 °C³⁷). $[\alpha]_D +6,0$ (c 2, CHCl₃) (lit.: $[\alpha]_D +4,9$, c 1, CHCl₃)³⁷). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3324, 1736, 1677, 1605, 1212, 1055. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 200 MHz): 7,78 (d; $J_{8,9}$ 7 Hz; H-8); 7,58-7,41 (m; H-9 e H-10); 7,12 (d; $J_{\text{NH},1}$ 8,89 Hz; NH); 5,49-5,23 (m; 4H); 4,18-4,09 (m; 3H); 2,15 (s; OCOCH₃); 2,11 (s; OCOCH₃); 2,04 (s; OCOCH₃); 2,02 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 50 MHz): 171,90, 170,50, 170,17, 169,91 (4C; OCOCH₃); 167,19 (NHCO); 132,99 (C-7); 132,50 (C-10); 128,87 (C-8); 127,36 (C-9); 79,32 (C-1); 72,48 (C-3); 72,48 (C-5); 70,93 (C-2); 68,69 (C-4); 67,40; 61,25 (C-6); 20,91, 20,79, 20,72 (4C; OCOCH₃).

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi-1-metanossulfonilamino- β -D-galactopiranosil (11c)

O produto bruto da reação foi recristalizado com isopropanol. Foram obtidos 0,83 g de **11c** (1,95 mmol; 73% a partir de **7**). Sólido branco. Tf: 187-188 °C. $[\alpha]_D +31,8$ (c 1, CHCl₃). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3188, 1754, 1738, 1713, 1333, 1215, 1152, 1035. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 200 MHz): 8,46 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,9 Hz; NH); 5,26 (m; 2H); 5,0 (t; $J_{1,\text{NH}} = 9,8$ Hz; H-1); 4,85 (t; $J_{2,1}$ 8,9 Hz; H-2); 4,32-4,26 (m; H-3); 4,11-4,04 (m; 2H); 2,95 (s; SO₂CH₃); 2,10 (s; OCOCH₃); 2,02 (s; OCOCH₃); 1,98 (s; OCOCH₃); 1,91 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 50 MHz): 169,91, 169,43, 169,17 (4C; OCOCH₃); 82,23 (C-1); 71,23 (C-3); 70,83 (C-5); 67,42 (C-2 e C-4); 61,49 (C-6); 42,82 (SO₂CH₃); 20,53, 20,48, 20,35 (4C; OCOCH₃).

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (11d)

O produto bruto da reação foi recristalizado com água. Foram obtidos 1,01 g de **11d** (2,08 mmol; 78% a partir de **7**). Sólido branco. Tf: 112,5-114,0 °C. $[\alpha]_D +23,9$ (c 1, CHCl₃). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3133, 1751, 1717, 1485, 1447, 1331, 1159, 1210, 1046. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 200 MHz): 7,89 (d; $J_{8,9}$ 6,8 Hz; H-8); 7,58-7,46 (m; H-9 e H-10); 5,81 (d; $J_{\text{NH},1} = 9,7$ Hz; NH); 5,38 (d; J 1,9 Hz; H-4); 5,09-5,00 (m; 2H); 4,87-4,77 (m; 1H); 4,01-3,80 (m; 3H); 2,09 (s; OCOCH₃); 2,01 (s; OCOCH₃); 1,97 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 50 MHz): 171,08, 170,44, 170,12, 169,92 (4C; OCOCH₃); 141,50 (C-7); 133,02 (C-10); 129,06 (C-8); 127,18 (C-9); 83,32 (C-1); 72,30 (C-3); 70,89 (C-5); 67,80 (C-2); 67,02 (C-4); 61,05 (C-6); 20,77, 20,72, 20,67, 20,62 (4C; OCOCH₃).

2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)- β -D-galactopiranosil (11e)

Foram obtidos 0,92 g de **11e** (1,84 mmol; 69% a partir de **7**). Sólido branco. Tf: 153,8-154,7 °C. $[\alpha]_D +11,9$ (c 1, CHCl₃). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3185, 1751, 1720, 1595, 1480, 1434, 1341, 1213, 1047. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 200 MHz): 7,76 (d; $J_{8,9}$ 8,2 Hz; H-8); 7,28 (d; $J_{9,8}$ 8 Hz; H-9); 5,78 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,8 Hz; NH); 5,38 (sl; H-4); 5,08-5,05 (m; 2H); 4,81 (t; 1H; J 8,46 Hz); 3,99-3,84 (m; H-5; H-6a e H-6b); 2,41 (s; ArCH₃); 2,09 (s; OCOCH₃); 2,02 (s; OCOCH₃); 1,97 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 50 MHz): 171,05, 170,44, 170,14, 169,94 (4C; OCOCH₃); 143,85 (C-7); 138,55 (C-10); 129,60 (C-8); 127,23 (C-9); 83,29 (C-1); 72,23 (C-3); 70,9 (C-5); 67,78 (C-2); 67,06 (C-4); 61,04 (C-6); 21,64, 20,73, 20,67 (5C; ArCH₃ e OCOCH₃).

2,3,6-tri-O-acetil-1-acetilamino-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-1-desoxi- β -D-glicopiranosil (12a)

A acetamida **12a** (anômero β) foi obtida em mistura com seu isômero α , na proporção de 12:1 (0,99 g; 1,47 mmol; 97% a partir de **8**). Esta mistura foi utilizada na reação de transesterificação seguinte, sem purificação prévia. Para fins de caracterização, foram purificados 400 mg da mistura de anômeros por cromatografia em coluna de sílica gel (elução em gradiente hexano/acetato de etila). Foram obtidos 124 mg (0,18 mmol) de **12a** puro. Sólido branco amorfo. Tf: 100,1-102,1. (lit.: 131-132 °C³⁸). $[\alpha]_D +11,9$ (c 1, CHCl₃) (lit.: $[\alpha]_D +11,7$, c 1, CH₂Cl₂)³⁸). IV (ν_{\max} , cm⁻¹): 3323, 1744, 1681, 1214, 1038. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 400 MHz): 6,26 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,3 Hz; NH); 5,35 (dd; $J_{4',5'}$ 0,9 Hz; $J_{4',3'}$ 3,4 Hz; H-4'); 5,29 (t; $J_{3,2'} = J_{3,4}$ 9,3 Hz; H-3); 5,20 (t; $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2}$ 9,3 Hz; H-1); 5,10 (dd; $J_{2',3'}$ 10,4 Hz; $J_{2',1'}$ 7,8 Hz; H-2'); 4,95 (dd; $J_{3',4'}$ 3,4 Hz; $J_{3',2'}$ 10,4 Hz; H-3'); 4,82 (t; $J_{2,1} = J_{2,3}$ 9,3 Hz; H-2); 4,47 (d; $J_{1',2'}$ 7,8 Hz; H-1'); 4,43 (dd; $J_{6a,5}$ 1,3 Hz; $J_{6a,6b}$ 12,1 Hz; H-6a); 4,17-4,12 (m; 2H; H-6b e H-6a'); 4,07 (dd; $J_{6b,5'}$ 7,3 Hz; $J_{6b,6a'}$ 11,1 Hz; H-6b'); 3,87 (tl; $J_{5',6'}$ = $J_{5',4'}$ 7,3 Hz; H-5'); 3,79-3,72 (m; 2H, H-4 e H-5); 2,15 (s; OCOCH₃); 2,11 (s; OCOCH₃); 2,07 (s; OCOCH₃); 2,05 (s; OCOCH₃); 2,04 (s; OCOCH₃); 1,98 (s; OCOCH₃); 1,96 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 100 MHz): 171,32 (NHCOCH₃); 170,37, 170,30, 170,16, 170,09, 169,34, 169,00 (7C; OCOCH₃); 100,89 (C-1'); 78,09 (C-1); 75,97 (C-4); 74,50 (C-5); 72,42 (C-3); 71,02; 71,00 (C-2 e C-3'); 70,76 (C-5'); 69,05 (C-2'); 66,68 (C-4'); 62,03 (C-6); 60,89 (C-6'); 23,36 (C-7); 20,86, 20,77, 20,69, 20,63, 20,60, 20,50 (7C; OCOCH₃).

2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-1-benzoilamino-1-desoxi- β -D-glicopiranosil (12b)

O material bruto obtido da síntese da benzamida **12b** (0,90 g) foi submetido à cromatografia em coluna de sílica (hexano/acetato de etila 4:6). A partir de 300 mg do produto bruto, foram obtidos 224 mg (0,30 mmol; 60% a partir de **8**) de um sólido branco caracterizado como uma mistura do anômero β (**12b**) e seu isômero α na proporção de 6:1. Foi possível fazer a atribuição dos sinais de hidrogênio e de carbono-13 do produto predominante na mistura **12b**. RMN de ¹H (δ ; CDCl₃; 400 MHz): 7,74 (d; $J_{8,9}$ 7,4 Hz; H-8 e H-8'); 7,55-7,49 (m; H-10); 7,44 (t; $J_{9,10} = J_{9,10}$ 7,4 Hz; H-9 e H-9'); 6,98 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,0 Hz; NH); 5,45-5,36 (m; H-1, H-3 e H-4'); 5,12 (dd; $J_{2',1'}$ 7,8 Hz; $J_{2',3'}$ 10,4 Hz; H-2'); 4,99-4,94 (m; H-2 e H-3'); 4,48 (d; $J_{1',2'}$ 7,8 Hz; H-1'); 4,46 (d; $J_{6a,6b}$ 12,4 Hz; H-6a); 4,19-4,13 (m; H-6b e H-6a'); 4,09 (dd; $J_{6b,5'}$ 7,1 Hz; $J_{6b,6a'}$ 11,1 Hz; H-6b'); 3,89 (t; $J_{5',6'}$ = $J_{5',4'}$ 7,1 Hz; H-5'); 3,84-3,80 (m; H-4 e H-5); 2,17 (s; OCOCH₃); 2,16 (s; OCOCH₃); 2,15 (s; OCOCH₃); 2,11 (s; OCOCH₃); 2,10 (s; OCOCH₃); 2,09 (s; OCOCH₃); 2,08 (s; OCOCH₃); 2,07 (s; OCOCH₃); 2,05 (s; OCOCH₃); 2,03 (s; OCOCH₃); 2,02 (s; OCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; CDCl₃; 100 MHz): 171,75 (NHCOCH₃); 170,34, 170,15, 170,07, 169,32, 168,99,

167,04 (7C; OCOCH_3); 132,89 (C-7); 132,37 (C-10); 128,75 (C-8); 127,21 (C-9); 101,30 (C-1'); 78,79 (C-1); 76,04 (C-4); 74,55 (C-5); 72,25 (C-3); 71,20; 71,04 (C-2 e C-3'); 70,94 (C-5'); 69,06 (C-2'); 66,69 (C-4'); 62,0 (C-6); 60,93 (C-6'); 20,86, 20,80, 20,74, 20,64, 20,62, 20,50 (7C; OCOCH_3).

2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-1-desoxi-1-metanossulfonilamino- β -D-glicopiranosil (12c)

O material bruto obtido da síntese da sulfonamida **12c** foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (hexano/acetato de etila 4:6). A partir de 890 mg do material bruto, foram obtidos 337 mg do anômero β **12c** (0,42 mmol; 30% a partir de **8**). Sólido branco. Tf: 99,1-103,2 °C. $[\alpha]_D +11,9$ (c 2, CHCl_3). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 1740, 1368, 1333, 1212, 1038. RMN de ^1H (δ ; CDCl_3 ; 400 MHz): 5,53 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,1 Hz; NH); 5,35 (d; $J_{4',3'}$ 3,2 Hz; H-4'); 5,28 (t; $J_{3,2}=J_{3,4}$ 9,1 Hz; H-3); 5,11 (dd; $J_{2',1'}$ 7,9 Hz; $J_{2',3'}$ 10,4 Hz; H-2'); 4,98 (dd; $J_{3',4'}$ 3,2 Hz; $J_{3',2'}$ 10,4 Hz; H-3'); 4,82 (t; $J_{2,1}=J_{2,3}$ 9,1 Hz; H-2); 4,76 (t; $J_{1,\text{NH}}=J_{1,2}$ 9,1 Hz; H-1); 4,59 (dd; $J_{6a,5}$ 1,7 Hz; $J_{6a,6b}$ 10,4 Hz; H-6a); 4,51 (d; $J_{1',2'}$ 7,9 Hz; H-1'); 4,14 (dd; $J_{6b',5'}$ 6,6 Hz; $J_{6b',6a'}$ 11,1 Hz; H-6b'); 4,11-4,05 (m; H-6b e H-6a'); 3,89 (t; $J_{5',6'}$ 6,6 Hz; H-5'); 3,76-3,67 (m; H-4 e H-5); 3,05 (s; H-7); 2,15 (s; OCOCH_3); 2,11 (s; OCOCH_3); 2,08 (s; OCOCH_3); 2,06 (s; OCOCH_3); 2,05 (s; OCOCH_3); 2,04 (s; OCOCH_3); 1,97 (s; OCOCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; CDCl_3 ; 100 MHz): 170,99, 170,37, 170,16, 170,13, 170,09, 169,30, 168,95 (7C; OCOCH_3); 100,89 (C-1'); 82,71 (C-1); 75,99 (C-4); 74,45 (C-5); 72,23 (C-3); 70,95; 70,82 (C-3' e C-5'); 70,23 (C-2); 69,13 (C-2'); 66,66 (C-4'); 61,19 (C-6); 60,87 (C-6'); 43,55 (C-7); 2,15, 2,11, 2,08, 2,06, 2,05, 2,04, 1,97 (7C; OCOCH_3).

2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-1-benzenossulfonilamino-1-desoxi- β -D-glicopiranosil (12d)

O material bruto obtido da síntese da sulfonamida **12d** foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (clorofórmio/metanol 98:2). A partir de 489 mg do material bruto foram isolados 105 mg do anômero β **12c** (0,13 mmol; 19% a partir de **8**). Tf: 105,5-106,1 °C. $[\alpha]_D +14,8$ (c 2, CHCl_3). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 1744, 1437, 1367, 1218, 1039. RMN de ^1H (δ ; CDCl_3 ; 400 MHz): 7,88-7,86 (m; H-8 e H-8'); 7,60-7,56 (m; H-10); 7,52-7,48 (m; H-9 e H-9'); 5,68 (m; NH); 5,34 (dd; $J_{4',5'}$ 0,9 Hz; $J_{4',3'}$ 3,4 Hz; H-4'); 5,25 (m; H-3); 5,09 (dd; $J_{2',1'}$ 7,8 Hz; $J_{2',3'}$ 10,4 Hz; H-2'); 4,95 (dd; $J_{3',4'}$ 3,4 Hz; $J_{3',2'}$ 10,4 Hz; H-3'); 4,81-4,75 (m; H-1 e H-2); 4,44 (d; $J_{1',2'}$ 7,8 Hz; H-1'); 4,30 (dd; $J_{6a,5}$ 1,9 Hz; $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz; H-6a); 4,13 (dd; $J_{6a',6b'}$ 6,4 Hz; $J_{6a',6b'}$ 11,1 Hz; H-6a'); 4,07 (dd; $J_{6b',5'}$ 7,2 Hz; $J_{6b',6a'}$ 11,1 Hz; H-6b'); 4,00 (dd; $J_{6b,5}$ 4,8 Hz; $J_{6b,6a}$ 12,0 Hz; H-6b); 3,86 (t; $J_{5',4'}$ 0,9 Hz; $J_{5',6b'}$ 7,2 Hz; H-5'); 3,71 (t; $J_{4,3}=J_{4,5}$ 9,9 Hz; H-4); 3,62 (ddd; $J_{5,6a}$ 1,9 Hz; $J_{5,6b}$ 4,8 Hz; $J_{5,4}$ 9,9 Hz; H-5); 2,15 (s; OCOCH_3); 2,07 (s; OCOCH_3); 2,06 (s; OCOCH_3); 2,05 (s; OCOCH_3); 2,04 (s; OCOCH_3); 1,99 (s; OCOCH_3); 1,94 (s; OCOCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; CDCl_3 ; 100 MHz): 170,87, 170,33, 170,12, 170,10, 170,04, 169,34, 168,95 (7C; OCOCH_3); 141,28 (C-7); 132,86 (C-10); 128,94 (C-8); 126,96 (C-9); 100,81 (C-1'); 82,62 (C-1); 75,69 (C-4); 74,35 (C-5); 72,25 (C-3); 70,94; 70,75 (C-3' e C-5'); 70,49 (C-2); 69,06 (C-2'); 66,65 (C-4'); 61,67 (C-6); 60,67 (C-6'); 20,76, 20,68, 20,58, 20,45 (7C; OCOCH_3).

Síntese de 13a-e e 14a-d: procedimento geral

Em balão de 100 mL, imerso em banho de gelo, os derivados per-O-acetilados foram dissolvidos em 20 mL de solução metanólica de metóxido de sódio, preparada pela dissolução de um pequeno cubo de sódio metálico (entre 100-150 mg) em metanol anidro. A mistura reagente foi deixada à temperatura ambiente e sob agitação magnética por 60-90 min. Ao término da reação, a solução

metanólica foi neutralizada com resina de troca catiônica Amberlite IRA-120. A resina foi removida por filtração e o solvente destilado em evaporador rotatório. Quando necessário, o sólido obtido foi recristalizado em solvente apropriado. O tempo de reação, rendimento e os solventes utilizados na recristalização dos produtos desacetilados são mostrados na Tabela 2.

1-acetilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (13a)

A partir de 1 g de **11a** (2,56 mmol), foram obtidos 556 mg de **13a** (2,50 mmol; 98%). Sólido branco. Tf: 234,1-235,2 °C (lit.: 233 °C³⁸). $[\alpha]_D +8,0$ (c 2, H_2O) (lit.: +9,8, c 2, H_2O ³⁸). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3383, 3311, 3270, 1670, 1548, 1084, 1044. RMN de ^1H (δ ; DMSO; 200 MHz): 8,36 (d; $J_{\text{NH},1}$ 9,1 Hz; NH); 4,76 (d; J 4; 2 Hz; OH); 4,69-4,53 (m; 5H); 4,4 (d; J 3; 2 Hz; OH); 3,66 (sl; 1H); 3,45-3,33 (m; 5H); 1,81 (s; COCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO; 50 MHz): 169,78 (COCH_3); 79,94 (C-1); 76,64 (C-3); 74,23 (C-5); 69,70 (C-2); 68,28 (C-4); 60,54 (C-6); 22,92 (COCH_3).

1-benzoilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (13b)

A partir de 1,7 g de **11b** (3,76 mmol), foram obtidos 1,01 g de **13b** (3,60 mmol; 95%). Sólido branco. Tf: 117-119 °C (lit.: 114-118 °C³⁷). $[\alpha]_D +38,0$ (c 2, H_2O) (lit.: +25,0, c 0,02, H_2O ³⁹). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3305, 1639, 1602, 1578, 1542, 1492, 1448, 1077. RMN de ^1H (δ ; DMSO; 200 MHz): 8,86 (d; $J_{\text{NH},1}$ 8,8 Hz; NH); 7,93 (d; $J_{8,9}$ 6,6 Hz; H-8); 7,53-7,42 (m; H-9 e H-10); 4,94 (t; $J_{1,\text{NH}}$ 8,9 Hz; H-1); 4,81 (sl; 1H); 4,62 (sl; 1H); 4,45 (sl; 1H); 3,74-3,46 (m; H-5; H-6a e H-6b). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO; 50 MHz): 166,79 (NHCO); 134,21 (C-7); 131,53 (C-10); 128,24 (C-8); 127,73 (C-9); 80,88 (C-1); 76,99 (C-3); 74,33 (C-5); 69,43 (C-2); 68,45 (C-4); 60,66 (C-6).

1-desoxi-1-metanossulfonilamino- β -D-galactopiranosil (13c)

A partir de 1,2 g de **11c** (2,82 mmol), foram obtidos 630 mg de **13c** (2,4 mmol; 87%). Sólido branco. Tf: 97,5-98,5 °C. $[\alpha]_D +14,1$ (c 1; CH_3OH). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3542, 3316, 3125, 1302, 1142, 1035. RMN de ^1H (δ ; DMSO; 200 MHz): 7,94 (d; $J_{\text{NH},1}$ 7,4 Hz; NH); 4,86-4,79 (m; 2H); 4,58 (t; J 5,2 Hz; H-4); 4,45 (d; 1H; J 3,34 Hz); 4,18 (t; 1H); 3,47-3,32 (m; 6H); 2,95 (s; 3H; SO_2CH_3). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO; 50 MHz): 85,33 (C-1); 76,68 (C-3); 74,19 (C-5); 69,48 (C-2); 68,26 (C-4); 60,69 (C6); 43,43 (SO_2CH_3).

1-benzenossulfonilamino-1-desoxi- β -D-galactopiranosil (13d)

A partir de 1,6 g de **11d** (3,28 mmol), foram obtidos 960 mg de **13d** (3,00 mmol; 92%), após recristalização com isopropanol. Sólido branco cristalino. Tf: 143,5-145,0 °C. $[\alpha]_D +16,0$ (c 1, CH_3OH). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3380, 3228, 1584, 1477, 1459, 1448, 1335, 1152, 1032. RMN de ^1H (δ ; DMSO; 200 MHz): 8,47 (d; $J_{\text{NH},1}$ 8,96 Hz; NH); 7,85 (d; $J_{8,9}$ 6,8 Hz; H-8); 7,57-7,46 (m; H-9 e H-10); 4,85-4,77 (m; 2H); 4,40-4,29 (m; 3H); 3,63 (s; 1H); 3,36-3,17 (m; 4H); 3,11-3,04 (m; 1H). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO; 50 MHz): 143,03 (C-7); 131,94 (C-10); 128,47 (C-8); 126,88 (C-9); 85,32 (C-1); 76,11 (C-3); 74,25 (C-5); 69,39 (C-2); 67,59 (C-4); 59,52 (C-6).

1-desoxi-1-(4-metilbenzenossulfonilamino)- β -D-galactopiranosil (13e)

A partir de 1 g de **11e** (2,00 mmol), foram obtidos 600 mg de **13e** (1,80 mmol; 91%). Sólido branco amorfo. Tf: 171,8-173,1 °C. $[\alpha]_D +11,9$ (c 1, CH_3OH). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3411, 3246, 1629, 1599, 1496, 1457, 1403, 1336, 1156, 1037, 815. RMN de ^1H (δ ; DMSO; 200 MHz): 8,36 (s; NH); 7,74 (d; $J_{8,9}$ 7,6 Hz; H-8); 7,30 (d; $J_{9,8}$ 7,5 Hz; H-9); 4,78-4,74 (m; 2H); 4,34-4,33 (m; 3H); 3,64 (sl; 1H); 3,36-3,27 (m; 5H); 3,14-3,11 (m; 1H); 2,35 (s; ArCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO; 50 MHz): 141,99 (C-7); 140,27 (C-10); 128,84 (C-8); 126,94 (C-9); 85,30 (C-1); 76,14 (C-3); 74,24 (C-5); 69,40 (C-2); 67,63 (C-4); 59,60 (C-6); 20,97 (ArCH_3).

1-acetilamino-1-desoxi-4-O-(β -D-galactopiranosil)- β -D-glicopiranosil (14a)

A partir de 680 mg de **12a** (1,00 mmol), foram obtidos 213 mg de **14a** (0,55 mmol; 60%), após recristalização com isopropanol/água 4:1. Cristal incolor. Tf: 158,5-161,5 °C; 237,9-241,5 °C (o cristal funde a 158,5-161,5 °C, solidifica a 167 °C e volta a fundir e com decomposição entre 237,9-241,5 °C) (lit.: 246-248 °C, com decomposição⁴⁰). $[\alpha]_D^{25} +1,0$ (c 2,5, H₂O) (lit.: $[\alpha]_D^{25} +1,5$, c 1, H₂O⁴⁰). IV ($v_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3336, 3278, 1642, 1543. RMN de ¹H (δ ; DMSO; 400 MHz): 8,40 (d; $J_{\text{NH},1} = 9,0$ Hz; NH); 5,08 (d; $J = 4,0$ Hz; OH); 5,00 (d; $J = 5,3$ Hz; OH); 4,75-4,70 (m; OH); 4,71 (d; $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 9,0$ Hz; H-1); 4,64 (t; $J = 4,9$ Hz; OH); 4,52 (t; $J = 5,9$ Hz; OH); 4,49 (d; $J = 4,5$ Hz; OH); 4,20 (d; $J_{1,2} = 7,0$ Hz; H-1'); 3,70 (ddl; $J_{6a,5} = 5,4$ Hz; $J_{6a,6b} = 11,4$ Hz; H-6a); 3,61-3,44 (m; 5 H); 3,31 (sl; 1H); 3,11 (dt; $J_{2,\text{OH}} = 5,60$ Hz; $J_{2,1} = J_{3,3} = 8,8$ Hz; H-2); 1,84 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ , DMSO, 100 MHz): 169,86 (NHCOCH₃); 103,79 (C-1'); 80,56 (C-4); 79,23 (C-1); 76,41, 75,71, 75,54 (C-2, C-3, C-5 e C-5'); 73,23 (C-2' ou C-3'); 72,13 (C-2); 70,58 (C-2' ou C-3'); 68,18 (C-4'); 60,45 e 60,36 (C-6 e C-6'); 22,85 (C-7).

1-benzoilamino-1-desoxi-4-O-(β -D-galactopiranosil)- β -D-glicopiranosil (14b)⁴¹

A partir de 410 mg de **12b** (0,55 mmol), foram obtidos 185 mg de **14b** (0,42 mmol; 76%), após recristalização com metanol. Sólido branco. Decompõe-se, sem fundir, a 211,7 °C. $[\alpha]_D^{25} +1,0$ (c 2,5, H₂O). IV ($v_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3551, 3467, 3368, 3254, 1655, 1538. RMN de ¹H (δ , DMSO, 400 MHz): 8,87 (d; $J_{\text{NH},1} = 8,7$ Hz; NH); 7,91 (d; $J_{8,10} = 7,4$ Hz; H-8 e H-8'); 7,56 (m; H-10); 7,48 (t; $J_{9,8} = J_{9,10} = 7,4$ Hz; H-9 e H-9'); 5,10 (d; $J = 4,3$ Hz; OH); 5,07 (d; $J = 5,2$ Hz; OH); 5,01 (tl; $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 8,7$ Hz; H-1); 4,76 (2 d; OH (2H)); 4,66 (t; $J = 5,0$ Hz; OH); 4,55 (t; $J = 6,0$ Hz; OH); 4,50 (d; $J = 4,6$ Hz; OH); 4,25 (d; $J_{1,2} = 7,0$ Hz; H-1'); 3,75 (ddl; $J_{6a,5} = 5,6$; $J_{6a,6b} = 11,0$ Hz; H-6a); 3,65-3,35 (m; 11H). RMN de ¹³C (δ ; DMSO; 100 MHz): 166,76 (NHCOCH₃); 134,05 (C-7); 131,51 (C-10); 128,20 (C-8); 127,57 (C-9); 103,81 (C-1'); 80,69 (C-1); 80,09 (C-4); 76,66, 75,78, 75,53 (C-2, C-3, C-5 e C-5'); 73,23 (C-2' ou C-3'); 71,67 (C-2); 70,89 (C-2' ou C-3'); 68,18 (C-4'); 60,44 (C-6 e C-6').

1-desoxi-4-O-(β -D-galactopiranosil)-1-metanossulfonilamino- β -D-glicopiranosil (14c)

A partir de 350 mg de **12c** (0,49 mmol), foram obtidos 101 mg de **14c** (0,24 mmol; 49%), após recristalização com metanol. Sólido branco. Tf: 169,4-171,0 °C. $[\alpha]_D^{25} +10,47$ (c 0,53, H₂O). IV ($v_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3359, 3246, 1462, 1317, 782. RMN de ¹H (δ , DMSO, 400 MHz): 8,05 (d; $J_{\text{NH},1} = 8,8$ Hz; NH); 5,14 (d; $J = 5,8$ Hz; OH); 5,07 (d; $J = 3,8$ Hz; OH); 4,74 (s; OH (2H)); 4,64 (t; $J = 5,0$ Hz; OH); 4,54 (t; $J = 5,6$ Hz; OH); 4,52 (d; $J = 4,5$ Hz; OH); 4,28 (tl; $J_{1,\text{NH}} = J_{1,2} = 8,8$ Hz; H-1); 4,20 (d; $J_{1,2} = 6,6$ Hz; H-1'); 3,79 (ddl; $J_{6a,5} = 4,5$ Hz; $J_{6a,6b} = 10,8$ Hz; H-6a); 3,61 (sl; H-4'); 3,56-3,40 (m; 4H); 3,20 (dd; $J_{6,5}$ ou $J_{6,5'}$ = 4,5 Hz; J_{gem} = 10,8 Hz; H-6b ou H-6a'); 3,12 (dt; $J_{2,\text{OH}} = 6,2$ Hz; $J_{2,1} = J_{2,3} = 8,6$ Hz; H-2); 2,97 (s; H-7). RMN de ¹³C (δ ; DMSO; 100 MHz): 103,77 (C-1'); 84,45 (C-1); 80,66 (C-4); 76,25 (C-5); 75,68, 75,52 (C-3 e C-5'); 73,24 (C-2' ou C-3'); 72,00 (C-2); 70,52 (C-2' ou C-3'); 68,15 (C-4'); 60,56, 60,40 (C-6 e C-6'); 43,32 (C-7).

1-benzenossulfonilamino-1-desoxi-4-O-(β -D-galactopiranosil)- β -D-glicopiranosil (14d)

A partir de 450 mg de **12d** (0,58 mmol), foram obtidos 200 mg de **14d** (0,31 mmol; 53%), após recristalização com metanol. Cristal branco. Tf: 244,9-245,8 °C. $[\alpha]_D^{25} +37,7$ (c 1,25, H₂O). RMN de ¹H (δ ; DMSO; 400 MHz): 8,52 (sl; NH); 7,83 (d; $J_{8,9} = 7,3$ Hz; H-8 e H-8'); 7,57 (t; $J_{10,9} = 7,3$ Hz; H-10); 7,50 (t; $J_{9,8} = J_{9,10} = 7,3$ Hz; H-9 e H-9'); 5,21-5,19 (m; 2H; OH); 4,84 (t; $J = 5,1$ Hz; OH); 4,80 (s; OH);

4,78 (d; $J = 1,4$ Hz; OH); 4,57 (d; $J = 4,7$ Hz; OH); 4,39-4,34 (m; 2H; OH); 4,17 (m; H-1); 3,81-3,68 (m; H-1'); 3,60 (d; $J_{4,3} = 3,6$ Hz; H-4'); 3,51-3,20 (m; 7H); 3,09 (m; H-2). RMN de ¹³C (δ ; DMSO; 100 MHz): 142,60 (C-7); 133,76 (C-10); 129,96 (C-8); 127,66 (C-9); 104,10 (C-1'); 85,17 (C-1); 79,74 (C-4); 76,44, 76,29, 73,64, 72,64, 71,54, 71,10 (C-2, C-3, C-5, C-2', C-3' e C-5'); 69,20 (C-4'); 61,60 (C-6); 60,70 (C-6').

Ensaio de inibição de hemaglutinação²⁵

Os ensaios de hemaglutinação foram realizados em poços de placa de microtitulação em um volume final de 150 μ L. Foram adicionados, em poços diferentes, 50 μ L de solução dos carboidratos **1** e **2** e de seus derivados **13a-e** e **14a-d** em diluições seriadas 1:2 a partir de 0,2 mol/L. Em cada poço foram adicionados 50 μ L de solução de lectina, com a menor concentração capaz de promover hemaglutinação. Após 30 min, à temperatura ambiente, foram adicionados 50 μ L de suspensão de eritrócitos tipo O humanos 4% v/v, em 0,15 mol/L de cloreto de sódio, 5 mmol/L de cloreto de cálcio e 5 mmol/L de cloreto de manganês. Após 1 h, à temperatura ambiente, foi feita a leitura da hemaglutinação a olho nu (considera-se a menor concentração capaz de inibir a hemaglutinação). O experimento foi realizado em triplicata. A atividade inibitória da hemaglutinação mediada por lectina foi expressa em valores de inibição relativa à inibição promovida pela D-galactose.

REFERÊNCIAS

- Liener, I. E.; Sharon, N.; Goldstein, I. J.; *The Lectin: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine*, Orlando: Academic Press, Inc., 1986.
- Sharon, N.; Lis, H.; *Science* **1989**, *246*, 227.
- Loris, R.; *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1572*, 198.
- Rüdiger, H.; Gabius H. J.; *Glycoconjugate J.* **2001**, *18*, 589.
- Lis, H.; Sharon, N.; *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637.
- Sharon, N.; Lis, H.; *Glycobiology* **2005**, *14*, 53R.
- Pyz, E.; Marshall, A. S. J.; Gordon, S.; Brown, G. D.; *Ann. Med.* **2006**, *38*, 242.
- Pieters, R. J.; *Chembiochem.* **2006**, *7*, 721.
- Taylor, M.; Drickamer, K.; *Introduction to Glycobiology*, Oxford University Press, 2003.
- Corbell J. B.; Lundquist, J. J.; Toone, E. J.; *Tetrahedron: Asymmetry.* **2000**, *11*, 95.
- <http://www.cermav.cnrs.fr/lectins>, acessada em Agosto 2006.
- Svensson, C.; Teneberg, S.; Nilsson, C. L.; Kjellberg, A.; Schwarz, N.; Krenzel, U.; *J. Mol. Biol.* **2002**, *321*, 69.
- Iglesias, J. I.; Lis, H.; Sharon, N.; *Eur. J. Biochem.* **1982**, *123*, 247.
- Turton, K.; Natesh, R.; Thiagarajan, N.; Chaddock, J. A.; Acharya, K. R.; *Glycobiology* **2004**, *14*, 923.
- Solís, D.; Fernández, P.; Díaz-Mauriño, T.; Jiménez-Barbero, J.; Martín-Lomas, M.; *Eur. J. Biochem.* **1993**, *214*, 677.
- Peacock, J. S.; Colsky, A. S.; Pinto, V. B.; *J. Immun. Methods* **1990**, *126*, 140.
- Gabius, H. J.; *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 23.
- Smiataczowa, K.; Kosmalkski, J.; Nowacki, A.; Czaja, M.; Warnke, Z.; *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1439.
- Hudson, C. S.; Kuns, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1925**, *47*, 2052.
- Conchie, J.; Levvy, G. A.; Marsch, C. A.; *Adv. Carbohydr. Chem.* **1957**, *12*, 157.
- Tropper, F. D.; Anderson, F. O.; Braum, S.; Roy, R.; *Synthesis* **1992**, 618.
- Sinnott, M. L.; *Biochem. J.* **1971**, *125*, 717.
- Lubineau, A.; Augé, J.; Drouillard, B.; *Carbohydr. Res.* **1995**, *266*, 211.
- Czifrak, K.; Hadady, Z.; Docsa, T.; Gergely, P.; Schmidt, J.; Wessjohann, L.; Somsak, L.; *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 947.
- Konozy, E. H.; Bernardes, E. S.; Rosa, C.; Faça, V.; Greene, L. J.; Ward, R. J.; *Arch. Biochem. Biophys.* **2003**, *410*, 222.
- Svensson, C.; Teneberg, S.; Nilsson, C. L.; Kjellberg, A.; Schwarz, F. P.; Sharon, N.; Krenzel, U.; *J. Mol. Biol.* **2002**, *321*, 69.
- Rutenber, E.; Katzin, B. J.; Ernst, S.; Collins, E. J.; Mlsna, D.; Ready, M. P.; Robertus, J. D.; *Proteins* **1991**, *10*, 240.

28. Dawson, R. M.; Alderton, M. R.; Wells, D.; Hartley, P. G.; *J. Appl. Toxicol.* **2006**, *26*, 247.
29. Lis, H.; Joubert, F. J.; Sharon, N.; *Phytochemistry* **1985**, *34*, 2803; Lin, T. T. S.; Li, Steven S. L.; *Eur. J. Biochem.* **1980**, *105*, 453.
30. Jarrappour, A. A.; Shekarriz, M.; Taslimi, A.; *Molecules* **2004**, *9*, 29.
31. Sabesan, S.; Neira, S.; *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 169.
32. Zhang, F. X.; Kuang, D. Z.; Feng, Y. L.; Wang, J. Q.; Xu, Z. F.; *Youji Huaxue* **2003**, *23*, 361.
33. Kamitakahara, H.; *Cellulose (Dordrecht, Netherlands)* **2005**, *12*, 209.
34. Peto, C.; *Lieb. Ann. Chem.* **1991**, *5*, 505.
35. Maier, M. A.; Yannopoulos, C. G.; Mohamed, N.; Roland, A.; Fritz, H.; Mohan, V.; Just, G.; Manoharan, M.; *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 18; Sansone, F.; Chierici, E.; Casnati, A.; Ungaro, R.; *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1802.
36. Frush, H. L.; Isbell, H. S.; *J. Res. Natl. Bur. Standards* **1951**, *47*, 239.
37. Kovács, L.; Psz, E.; Domokos, V.; Holzer, W.; Györgydeák, Z.; *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4609.
38. Priya, K.; Loganathan, D.; *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1119.
39. Savel'ev, A. N.; Ibatyllin, F. M.; Eneyskaya, E. V.; Kachurin A, M.; Neustroev, K. N.; *Carbohydr. Res.* **1996**, *296*, 261.
40. Kuhn, R.; Krüger, G.; *Chem. Ber.* **1954**, *87*, 1544.
41. Deferrari, J. O.; Thiel, I. M. E.; Cadenas, R. A.; *Carbohydr. Res.* **1973**, *29*, 141. Estes autores descrevem a obtenção desta benzamida, sem a especificação de sua configuração anomérica. A benzamida foi descrita como um sólido amorfo higroscópico, com $[\alpha]_D +63,3$ (c 0,9, H₂O).