

SÍNTESE DE β -N-ACETILGLUCOSAMINÍDEOS DE ARILA MODIFICADOS EM C-6 COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Rozângela Magalhães Manfrini e José Dias de Souza Filho

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

Rute Cunha Figueiredo, Allison Fabiano D'Angelis, Maria Auxiliadora Fontes Prado, Elzília de Aguiar Nunan, Gabriela Aires Martins e Ricardo José Alves*

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

Recebido em 12/3/07; aceito em 10/8/07; publicado na web em 26/2/08

SYNTHESIS OF ARYL β -N-ACETYLGLUCOSAMINIDES MODIFIED AT C-6 AS POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENTS.

We report herein the synthesis of aryl β -N-acetylglucosaminides containing azido, amino and acetamido groups at C-6 as potential antimicrobial agents. It was expected that these compounds could interfere with the biosynthesis and/or biotransformation of N-acetylglucosamine in fungi and bacteria. None of the compounds showed antimicrobial activity against bacteria (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), filamentous fungus (*Aspergillus niger*) and yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*), at the concentration of 1 mg/mL in agar diffusion assay.

Keywords: N-acetylglucosamine derivatives; antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A N-acetilglucosamina (2-acetamido-2-desoxi-D-glicose) é um monossacarídeo de ocorrência ubíqua na Natureza, fazendo parte da constituição de diversas biomoléculas (e.g., quitina¹, ácido murâmico², glicosaminoglicanas³, glicolipídios⁴), além de ser precursora biossintética do ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico)⁵, carboidrato terminal da maioria das glicoproteínas presentes nos seres vivos. A quitina é um polímero linear de N-acetilglucosamina, as quais são unidas por ligações glicosídicas do tipo β -1,4. A quitina entra na constituição, por exemplo, do exoesqueleto de diversos insetos⁶ e da parede celular de fungos⁷. O ácido murâmico é constituinte da parede celular de bactérias, sendo indispensável para a manutenção da parede celular desses organismos⁸. As glicoproteínas e glicolipídios são expressos na superfície de praticamente todas as células, desempenhando importante papel nos processos de reconhecimento e adesão celulares⁹. A interferência nos processos de utilização da N-acetilglucosamina na biossíntese dessas biomoléculas resulta na alteração de suas estruturas e funções e tem sido uma estratégia utilizada no estudo de sua importância biológica e na busca de novos agentes terapêuticos. Por exemplo, o sulfato de condroitina é uma glicosaminoglicana importante na constituição de ossos e cartilagens¹⁰. Em casos de osteoartrite e artrite reumatóide, a biossíntese dessa glicoproteína está alterada. O sulfato de glucosamina é utilizado para tratamento dessas enfermidades. No organismo essa substância é convertida em N-acetilglucosamina, que é o substrato para a biossíntese da cadeia de glicosaminoglicanas^{10,11}. Diversos derivados oligossacarídeos da N-acetilglucosamina são descritos na literatura como potenciais inseticidas¹², antifúngicos¹³, antibacterianos¹⁴ e antitumorais¹⁵.

Neste trabalho relata-se a síntese de β -N-acetilglucosaminídeos de arila modificados em C-6 por grupos azido, amino e acetamido

(Figura 1), para avaliação de sua atividade antifúngica e antibacteriana. A substituição de grupos hidroxila por grupos azido ou amino em carboidratos e análogos tem resultado em substâncias de interesse biológico e terapêutico¹⁶⁻¹⁹. A utilização de agliconas aromáticas fundamenta-se em relatos na literatura do interesse biológico de glicosídeos aromáticos de N-acetilglucosamina²⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese

Os glicosídeos de arila derivados de N-acetilglucosamina modificados em C-6 por grupos azido (**7** e **13**), amino (**8** e **14**) e acetamido (**9** e **15**) foram preparados conforme o esquema de síntese mostrado na Figura 1.

Inicialmente o sulfato de glucosamina (**1**) foi convertido na N-acetilglucosamina (**2**), com rendimento de 95%, pela reação com anidrido acético, na presença de metóxido de sódio, em metanol²¹. O cloreto de glicosila (**3**) foi, então, obtido a partir de **2**, com 69% de rendimento, pela reação com cloreto de acetila. Nessas condições, forma-se, inicialmente, o derivado peracetilado correspondente que, por reação com cloreto de hidrogênio, produzido *in situ* fornece **3**²². Em seguida, **3** foi convertido nos glicosídeos **4** e **10**, por reação com o fenol correspondente, na presença de hidróxido de sódio, em condições de transferência de fase²³, com rendimentos de 39 e 60%, respectivamente. Os glicosídeos **5** e **11** foram obtidos a partir de **4** e **10** por reação de transesterificação com metóxido de sódio em metanol²⁴, ambos com rendimento quantitativo. A tosilção regioselectiva de C-6 dos glicosídeos **5** e **11** forneceu os tosilações correspondentes **6** e **12**, com rendimentos de 62 e 76%, respectivamente²⁵, os quais, por reação subsequente com azida de sódio em DMF forneceram os derivados 6-azido correspondentes **7** e **13**, com rendimentos de 99 e 94%, respectivamente²⁶. As aminas **8** e **14** foram preparadas por hidrogenação catalítica do grupo azido²⁷ de **7** e **13**, com ren-

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

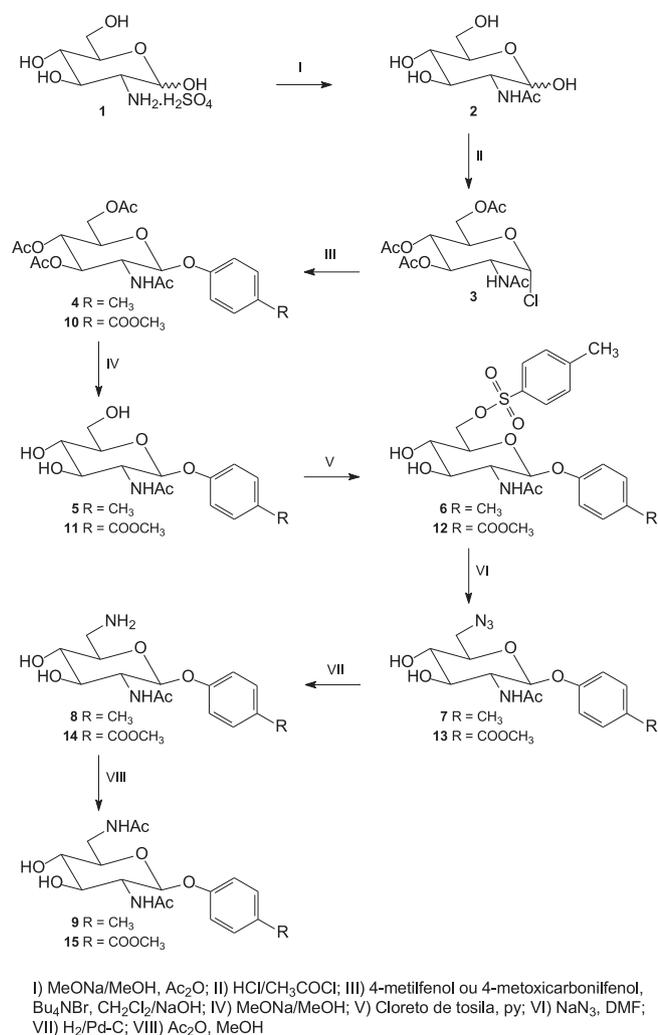


Figura 1. Esquema de síntese de β -N-acetilglicosaminídeos de arila derivados de N-acetilglicosamina modificados em C-6 por grupos azido (7 e 13), amino (8 e 14) e acetamido (9 e 15)

dimentos de 94 e 98%, respectivamente. Finalmente, a acetilação de 7 e 13 (anidrido acético em metanol)²⁸ conduziu aos derivados acetamido 9 e 15, ambos com rendimento quantitativo.

Teste de atividade antimicrobiana

Os glicosídeos modificados em C-6 com grupos tosilato (6 e 12), azido (7 e 13), amino (8 e 14) e acetamido (9 e 15) foram avaliados contra bactérias (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), fungo filamentosso (*Aspergillus niger* ATCC 16404) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601, *Cândida albicans* ATCC 10231 e *Cândida tropicalis* ATCC 1641), na concentração de 1 mg/mL, em teste de difusão em ágar²⁹.

CONCLUSÃO

A síntese de oito novos β -N-acetilglicosaminídeos de arila modificados em C-6 foi efetuada e a atividade antimicrobiana dessas substâncias foi avaliada. Nenhuma das substâncias apresentou atividade, na concentração utilizada.

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 infravermelho foram registrados em aparelho Spectrum One, Perkin-Elmer. A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica (CCDS), utilizando-se, como reveladores, solução de ácido sulfúrico 15% v/v em etanol ou solução a 0,5% p/v de ninidrina 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). Para as atribuições dos sinais nos espectros de RMN, adotou-se a seguinte convenção: para os derivados da N-acetilglicosamina, os átomos do açúcar foram numerados de 1 a 6. Os substituintes aromáticos em C-1 foram numerados de 7 a 10 (a partir do carbono ligado ao oxigênio anomérico por uma ligação glicosídica) e os substituintes aromáticos em C-6 foram numerados de 11 a 14 (a partir do carbono ligado ao átomo de enxofre).

Método geral para a preparação dos glicosídeos 6 e 12²⁵

A uma mistura do derivado desprotegido²⁴ 5 ou 11 em piridina foi adicionado cloreto de *p*-toluenossulfonila e a mistura reagente foi mantida em freezer até o término da reação, conforme avaliado por CCDS (eluente: acetato de etila/metanol 3%; reveladores: iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% e aquecimento a 120 °C). A mistura reagente foi vertida em gelo pilado sob agitação magnética, acidificada (sol. HCl 1:3) até pH 1 e o material extraído com diclorometano (3x40 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada e resfriada de bicarbonato de sódio e, em seguida, com água destilada resfriada, até pH 7, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotatório. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente: acetato de etila/hexano 1:1, 2:8, acetato de etila 100%).

2-Acetamido-2-desoxi-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)- β -D-glicopiranosídeo de 4-metilfenila (6)

Foram obtidos 1,17 g (2,51 mmol), 62% de rendimento a partir de 1,22 g (3,92 mmol) de 5, 37 mL de piridina e 2,24 g (11,77 mmol) de cloreto de *p*-toluenossulfonila em 48 h de reação. Sólido branco. F.F.: 146,7-147,8 °C (literatura: 143,3-144,5 °C)³⁰. $[\alpha]_D$ -17,3 (c 1, MeOH). IV ($\nu_{\text{máx}}$, cm⁻¹): 3350 (OH), 1650 (C=O), 1540 (NH), 1510 (NH), 1180 (SO₂). RMN de ¹H (δ ; DMSO-d₆; 200 MHz): 7,83 (d; $J_{\text{NH,2}}$ 8,4 Hz; N-H); 7,73 (d; $J_{12,13}$ 8 Hz; H-12); 7,36 (d; $J_{13,12}$ 8 Hz; H-13); 7,07 (d; $J_{9,8}$ 8 Hz; H-9); 6,79 (d; $J_{8,9}$ 8 Hz; H-8); 4,91 (d; $J_{1,2}$ 8,4 Hz; H-1); 4,28 (dd largo; $J_{6e,6a}$ 10 Hz; H-6e); 4,09 (dd; $J_{6a,6c}$ 10 Hz; $J_{6a,5}$ 6 Hz; H-6a); 3,68-3,51 (m; H-2 e H-5); 3,37 (t; $J_{3,2}$ 9 Hz; H-3); 3,12 (t; $J_{4,3}$ 9 Hz; H-4); 2,36 (s; SO₂C₆H₄CH₃); 2,24 (s; C₆H₄CH₃); 1,80 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ ; DMSO-d₆; 50 MHz): 169,3 (NHCOCH₃); 155,1 (C-7); 144,90 (C-11); 132,1 (C-14); 131,1 (C-10); 130,0 (C-13); 129,7 (C-9); 127,5 (C-12); 116,5 (C-8); 99,1 (C-1); 73,6 (C-3); 73,4 (C-5); 69,8 (C-4); 69,7 (C-6); 55,3 (C-2); 22,0 (NHCOCH₃); 21,0 (SO₂C₆H₄CH₃); 20,1 (C₆H₄CH₃).

2-Acetamido-2-desoxi-6-O-(4-metilbenzenossulfonil)- β -D-glicopiranosídeo de 4-metoxycarbonilfenila (12)

Foram obtidos 0,51 g (0,98 mmol), 76,8% de rendimento a

partir de 0,46 g (1,35 mmol) de **11**, 17 mL de piridina e 0,9 g (4,73 mmol) de cloreto de *p*-toluenossulfonila em 60 h de reação. Sólido branco. F.F.: 168,3-169,2 °C. $[\alpha]_D - 24,9$ (*c* 1, MeOH). IV ($v_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3350 (OH), 1710 (C=O_{arom}), 1640 (C=O), 1600 (C=C), 1180 (SO₂). RMN de ¹H (δ; DMSO-d₆; 200 MHz): 7,88 (d; $J_{9,8}$ 8,5 Hz; H-9); 7,90-7,82 (m, NH); 7,70 (d; $J_{12,13}$ 8 Hz; H-12); 7,30 (d; $J_{13,12}$ 8 Hz; H-13); 7,00 (d; $J_{8,9}$ 8,5 Hz; H-8); 5,47 (d; $J_{\text{OH-4}}$ 5,5 Hz; O-H); 5,24 (d; $J_{\text{OH-3}}$ 5,5 Hz; OH); 5,13 (d; $J_{1,2}$ 8 Hz; H-1); 4,29 (dl; $J_{6a,6c}$ 10 Hz; H-6e); 4,13 (dd; $J_{6a,6c}$ 10 Hz; $J_{6a,5}$ 6 Hz; H-6a); 3,82 (s; CH₃O); 3,69-3,61 (m; H-2, H-5); 3,48-3,37 (m; H-3); 3,23-3,12 (m; H-4); 2,32 (s; SO₂C₆H₄CH₃); 1,80 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ; DMSO-d₆; 50 MHz): 169,4 (NHCOCH₃); 165,7 (C₆H₄COOCH₃); 160,6 (C-7); 144,8 (C-11); 132,1 (C-14); 131,0 (C-9); 129,9 (C-12); 127,5 (C-13); 123,3 (C-10); 116,0 (C-8); 97,8 (C-1); 73,5 (C-5; C-3 ou C-4); 69,7 (C-4 ou C-3); 69,5 (C-6); 55,1 (C-2); 51,9 (CH₃O); 23,0 (NHCOCH₃); 21,0 (SO₂C₆H₄CH₃).

Método geral para a preparação dos glicosídeos **7** e **13**²⁶

A um balão foi adicionado o derivado tosilado²⁵ **6** ou **12** e azida de sódio em DMF anidra. O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e a mistura reagente mantida a 60 °C em banho de óleo, com agitação magnética. Após o término da reação, observada por CCDS (eluente: acetato de etila/metanol 9:1; reveladores: iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% e aquecimento a 120 °C) a mistura reagente foi concentrada por destilação a pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente: acetato de etila 100%, acetato de etila/metanol 7:3, 6:4).

2-Acetamido-6-azido-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metilfenila (**7**)

Foram obtidos 0,36 g (1,07 mmol), 99,7% de rendimento a partir de 0,5 g (1,07 mmol) de **6**, 21 mL de DMF anidra e 0,49 g (7,54 mmol) de azida de sódio em 16 h de reação. Sólido branco. F.F.: 242,3-243,7 °C. $[\alpha]_D - 57,1$ (*c* 1, MeOH). IV ($v_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3375 (OH), 2100 (N₃), 1640 (C=O), 1525 (NH), 1510 (NH). RMN de ¹H (δ; DMSO-d₆; 400 MHz): 7,84 (d; $J_{\text{NH,2}}$ 8,8 Hz; N-H); 7,08 (d; $J_{9,8}$ 8 Hz; H-9); 6,84 (d; $J_{8,9}$ 8 Hz; H-8); 5,36 (d; $J_{\text{OH,4}}$ 5,5 Hz; O-H); 5,16 (d; $J_{\text{OH,3}}$ 5,5 Hz; O-H); 4,95 (d; $J_{1,2}$ 8,8 Hz; H-1); 3,65 (q; $J_{2,\text{NH}}=J_{2,1}=J_{2,3}$ 8,8 Hz; H-2); 3,51-3,41 (m; H-3, H-5, H-6a e H-6e); 3,15 (dt; $J_{4,3}=J_{4,5}$ 8,5 Hz; $J_{4,\text{OH}}$ 5,5 Hz; H-4); 2,22 (s; C₆H₄CH₃); 1,81 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ; DMSO-d₆; 50 MHz): 169,3 (NHCOCH₃); 155,2 (C-7); 131,1 (C-10); 129,8 (C-9); 116,5 (C-8); 99,5 (C-1); 75,2 (C-5); 73,5 (C-3); 71,1 (C-4); 55,4 (C-2); 51,3 (C-6); 23,0 (NHCOCH₃); 23,1 (C₆H₄CH₃).

2-Acetamido-6-azido-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metoxycarbonilfenila (**13**)

Foram obtidos 0,29 g (0,76 mmol), 76,3% de rendimento a partir de 0,51 g (1,0 mmol) de **12**, 21 mL de DMF anidra e 0,46 g (7,07 mmol) de azida de sódio em 119 h de reação. Sólido branco. F.F.: 217,9-218,8 °C. $[\alpha]_D - 77,6$ (*c* 1, MeOH). IV ($v_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3325 (OH), 2100 (N₃), 1720 (C=O_{arom}), 1640 (C=O), 1600 (C=C). RMN de ¹H (δ; DMSO-d₆; 400 MHz): 7,91 (d; $J_{9,8}$ 8,5 Hz; H-9); 7,86 (d; $J_{\text{NH,2}}$ 9 Hz; N-H); 7,08 (d; $J_{8,9}$ 8,5 Hz; H-8); 5,42 (d; 5,5 Hz; O-H); 5,21 (d; $J_{1,2}$ 9 Hz; H-1); 5,20 (d; 5 Hz; O-H); 3,82 (s; CH₃O); 3,74 (q; $J_{2,\text{NH}}=J_{2,1}=J_{2,3}$ 9 Hz; H-2); 3,64 (ddd; $J_{5,4}$ 9 Hz; $J_{5,6a}$ 6,5 Hz; $J_{5,6c}$ 2,5 Hz; H-5); 3,52 (dd; $J_{6a,6c}$ 13 Hz; $J_{6c,5}$ 2,5 Hz; H-6e); 3,51-3,40 (m; H-3 e H-6a); 3,20 (dt; $J_{4,3}=J_{4,5}$ 9 Hz; $J_{4,\text{OH}}$ 5,5 Hz; H-4); 1,82 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ; DMSO-d₆; 100 MHz): 169,4 (NHCOCH₃); 165,7 (C₆H₄COOCH₃); 160,6 (C-7); 131,0 (C-9); 123,2 (C-10); 116,0 (C-8); 98,0 (C-1); 75,3 (C-5); 75,3 (C-3); 70,9

(C-4); 55,1 (C-2); 51,8 (CH₃O); 51,1 (C-6); 22,9 (NHCOCH₃).

Método geral para a preparação dos glicosídeos **8** e **14**²⁷

Em um balão de fundo redondo foi adicionado o derivado azido²⁶ **7** ou **13** e o paládio/carvão (10%) em metanol anidro. O balão foi fechado com septo de borracha e mantido sob agitação magnética. Gás nitrogênio foi introduzido no sistema. Em seguida, introduziu-se gás hidrogênio, permitindo-se a saída do nitrogênio por agulha de escape. A mistura reagente foi mantida sob atmosfera de hidrogênio, com agitação magnética. Após o término da reação, observada por CCDS (eluente: metanol 100%; reveladores: iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% em aquecimento a 120 °C), o catalisador foi removido por filtração e o filtrado foi concentrado em evaporador rotatório.

2-Acetamido-6-amino-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metilfenila (**8**)

Foram obtidos 0,38 g (1,22 mmol), 94% de rendimento a partir de 0,44 g (1,32 mmol) de **7**, 12 mL de metanol anidro e 0,047 g de Pd/C (10%) em 15 h de reação. Sólido branco. F.F.: 214,8-216,5 °C. $[\alpha]_D - 1,2$ (*c* 1, MeOH). IV ($v_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3288 (NH), 1654 (C=O), 1613 (C=C), 1542 (C=C). RMN de ¹H (δ; DMSO-d₆; 200 MHz): 7,81 (d; $J_{\text{NH,2}}$ 8,8 Hz; N-H); 7,08 (d; $J_{9,8}$ 8 Hz; H-9); 6,83 (d; $J_{8,9}$ 8 Hz; H-8); 4,91 (d; $J_{1,2}$ 8,8 Hz; H-1); 3,64 (q; $J_{2,\text{NH}}=J_{2,1}=J_{2,3}$ 8,8 Hz; H-2); 3,40 (t; $J_{3,4}=J_{3,2}$ 9 Hz; H-3); 3,16-3,07 (m; H-4; H-5; 2OH); 2,89 (dl; $J_{6c,6a}$ 12 Hz; H-6e); 2,62 (dd; $J_{6a,5}$ 5,5 Hz; $J_{6a,6c}$ 12 Hz; H-6a); 2,22 (s; C₆H₄CH₃); 1,80 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ; DMSO-d₆; 50 MHz): 169,2 (NHCOCH₃); 155,3 (C-7); 130,9 (C-10); 129,8 (C-9); 116,3 (C-8); 99,4 (C-1); 77,1 (C-5); 73,9 (C-3); 72,0 (C-4); 55,5 (C-2); 43,1 (C-6); 23,1 (NHCOCH₃); 20,1 (C₆H₄CH₃).

2-Acetamido-6-amino-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metoxycarbonilfenila (**14**)

Foram obtidos 0,21 g (0,59 mmol), 98% de rendimento a partir de 0,17 g (0,57 mmol) de **13**, 7 mL de metanol anidro e 0,015 g de Pd/C (10%) em 18 h de reação. Sólido branco. F.F.: 199,4-200,6 °C. $[\alpha]_D - 4,9$ (*c* 1, MeOH). IV ($v_{\text{máx}}$, cm^{-1}): 3200 (OH), 1710 (C=O_{arom}), 1640 (C=O), 1600 (C=C). RMN de ¹H (δ; DMSO-d₆; 200 MHz): 7,90 (d; $J_{9,8}=J_{\text{NH,2}}$ 8,6 Hz; H-9 e NH); 7,07 (d; $J_{8,9}$ 8,5 Hz; H-8); 5,12 (d; $J_{1,2}$ 8,6 Hz; H-1); 4,53 (sl, 2OH, NH₂); 3,80 (s; CH₃O); 3,70 (q; $J_{2,1}=J_{2,3}=J_{2,\text{NH}}$ 8,6 Hz; H-2); 3,49-3,39 (m; H-3 e H-5); 3,16 (t; $J_{4,3}=J_{4,5}$ 9 Hz; H-4); 2,99 (ddl; $J_{6c,6a}$ 12 Hz; H-6e); 2,71 (dd; $J_{6a,6c}$ 12 Hz; $J_{6a,5}$ 7 Hz; H-6a); 1,80 (s; NHCOCH₃). RMN de ¹³C (δ; DMSO-d₆; 100 MHz): 169,4 (NHCOCH₃); 165,8 (C₆H₄COOCH₃); 160,9 (C-7); 131,2 (C-9); 123,2 (C-10); 116,0 (C-8); 98,4 (C-1); 76,2 (C-3 ou C-5); 73,6 (C-5 ou C-3); 71,8 (C-4); 55,3 (C-2); 51,9 (CH₃O); 42,1 (C-6); 23,0 (NHCOCH₃).

Método geral para a preparação dos glicosídeos **9** e **15**²⁸

A um balão de fundo redondo de 25 mL contendo o derivado amino²⁷ **8** ou **14** em metanol foi adicionado anidrido acético. O balão foi tampado com septo de borracha e a mistura de reação mantida sob agitação magnética em banho de gelo. Após o término da reação, observada por CCDS (eluente: metanol 100%; reveladores: iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico 15% e aquecimento a 120 °C) adicionou-se solução de metóxido de sódio em metanol recém-preparada, até pH = 10. A mistura reagente foi deixada em agitação por 5 min e neutralizada com resina amberlite IRA-120, filtrada a vácuo e concentrada em evaporador rotatório.

2,6-Diacetamido-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metilfenila (9)

Foram obtidos 0,63 g (1,8 mmol), 100% de rendimento a partir de 0,56 g (1,8 mmol) de **8**, 15 mL de metanol e 0,43 mL (4,63 mmol) de anidrido acético em 20 min de reação. Sólido bege. F.F.: 217,0-218,8 °C. $[\alpha]_D - 10,3$ (c 1, MeOH). IV (ν_{\max} , cm^{-1}): 3294 (NH), 1653 (C=O), 1615 (C=C), 1547 (C=C). RMN de ^1H (δ ; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 7,99 (t; $J_{\text{NH},6a} = J_{\text{NH},6e}$ 5,5 Hz; N-H); 7,92 (d; $J_{\text{NH},2}$ 8,7 Hz; N-H); 7,06 (d; $J_{9,8}$ 8 Hz; H-9); 6,81 (d; $J_{8,9}$ 8 Hz; H-8); 5,69 (sl; OH); 4,82 (d; $J_{1,2}$ 8,7 Hz; H-1); 3,65 (q; $J_{2,1} = J_{2,3} = J_{2,\text{NH}}$ 8,7 Hz; H-2); 3,50-3,31 (m; H-3, H-5, H-6e e OH); 3,19-2,99 (m; H-6a e H-4); 2,22 (s; $\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$); 1,83 (s; NHCOCH_3); 1,79 (s; NHCOCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO- d_6 ; 50 MHz): 169,7 (NHCOCH_3); 169,2 (NHCOCH_3); 155,4 (C-7); 130,8 (C-9); 129,7 (C-10); 116,3 (C-8); 99,6 (C-1); 74,4 (C-3 ou C-5); 73,5 (C-5 ou C-3); 72,1 (C-4); 55,4 (C-2); 40,2 (C-6); 23,0 (NHCOCH_3); 22,5 (NHCOCH_3); 20,1 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$).

2,6-Diacetamido-2,6-didesoxi-β-D-glicopiranosídeo de 4-metoxicarbonilfenila (15)

Foram obtidos 0,16 g (0,40 mmol), 95,8% de rendimento a partir de 0,15 g (0,42 mmol) de **14**, 3 mL de metanol e 0,1 mL (1,08 mmol) de anidrido acético em 20 min de reação. Sólido bege. F.F.: 202,1- 203,1 °C. $[\alpha]_D - 12,7$ (c 1, MeOH). IV (ν_{\max} , cm^{-1}): 3200 (OH), 1710 ($\text{C}=\text{O}_{\text{arom}}$), 1630 (C=O), 1540 (NH). RMN de ^1H (δ ; DMSO- d_6 ; 200 MHz): 7,97 (d; $J_{\text{NH},2} = J_{\text{NH},6a} = J_{\text{NH},6e}$ 8,7 Hz; 2N-H); 7,89 (d; $J_{9,8}$ 8,7 Hz; H-9); 7,03 (d; $J_{8,9}$ 8,7 Hz; H-8); 5,76 (sl; OH); 5,04 (d; $J_{1,2}$ 8,7 Hz; H-1); 3,81 (s; CH_3O); 3,69 (q; $J_{2,1} = J_{2,3} = J_{2,\text{NH}}$ 8,97 Hz; H-2); 3,48-3,39 (m; H-3, H-5, H-6e e OH); 3,17-3,02 (m; H-6a e H-4); 1,82 (s; NHCOCH_3); 1,79 (s; NHCOCH_3). RMN de ^{13}C (δ ; DMSO- d_6 ; 50 MHz): 169,8 (NHCOCH_3); 169,3 (NHCOCH_3); 165,8 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{COOCH}_3$); 161,0 (C-7); 131,1 (C-9); 123,1 (C-10); 116,0 (C-8); 98,5 (C-1); 74,6 (C-3 ou C-5); 73,4 (C-5 ou C-3); 71,9 (C-4); 55,2 (C-2); 51,9 (OCH_3); 40,1 (C-6); 23,0 (NHCOCH_3); 22,4 (NHCOCH_3).

Testes biológicos

Os glicosídeos modificados em C-6 com grupos tosilato (**6** e **12**), azido (**7** e **13**), amino (**8** e **14**) e acetamido (**9** e **15**) foram avaliados contra bactérias (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), fungo filamentoso (*Aspergillus niger* ATCC 16404) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601, *Cândida albicans* ATCC 10231 e *Cândida tropicalis* ATCC 1641), na concentração de 1 mg/mL, em teste de difusão em ágar²⁹.

O padrão utilizado nos testes com fungo e leveduras foi solução de anfotericina B, na concentração de 2 mg/mL de água destilada, armazenada sob refrigeração, no prazo máximo de uma semana. Para os testes de atividade antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* utilizou-se como padrão solução de gentamicina, na concentração de 1 mg/mL. Para as demais bactérias o padrão utilizado foi solução de cloranfenicol, na concentração de 1 mg/mL. No momento dos testes, discos de papel foram impregnados com 10 μL da solução padrão de anfotericina B, 10 μL da solução padrão de gentamicina ou 20 μL da solução padrão de cloranfenicol. As substâncias a serem testadas foram utilizadas na concentração de 1 mg/mL do solvente adequado e o disco impregnado com 20

μL da solução a ser testada. Como branco foi utilizado disco impregnado com 20 μL do solvente utilizado para cada substância a ser testada. Após incubação a 37 °C por 24 h (bactérias), 72 h (*Aspergillus niger*) e 48 h (leveduras), mediu-se o halo de inibição com auxílio de paquímetro.

Todos os testes foram feitos em triplicata.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG, CAPES e ao CNPq por auxílio financeiro e concessão de bolsas de iniciação científica (A. F. D'Angelis e G. A. Martins), de pós-graduação (R. M. Manfrini e R. C. Figueiredo) e de produtividade em pesquisa (M. A. F. Prado e R. J. Alves).

REFERÊNCIAS

- Chapman, T.; Kinsman, O.; Houston, J.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 1909.
- Eschenburg, S.; Priestman, M. A.; Abul-Latif, F. A.; Delachaux, F. F.; Schönbrunn, E.; *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 14070.
- Hartman, M. C. T.; Coward, J. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10036.
- Fried, C. H.; Lochnit, G.; Zähringer, U.; Bahr, U.; Geyer, R.; *Biochem. J.* **2003**, *369*, 89.
- Saxon, E.; Luchansky, S. J.; Hang, H. C.; Yu, C.; Lee, S. C.; Bertozzi, C. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14893.
- Merzendorfer, H.; Zimoch, L.; *J. Ex. Biol.* **2003**, *206*, 4393.
- Duo-Chuan, L.; *Mycopathologia* **2006**, *161*, 345.
- Hesek, D.; Lee, M.; Morio, K.; Mobashery, S.; *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2137.
- Nimrichter, L.; Gargir, A.; Gortler, M.; Altstock, R. T.; Shtevi, A.; Weisshaus, O.; Fire, E.; Dotan, N.; Schnaar, L.; *Glycobiology* **2004**, *14*, 197.
- Reginster, J. Y.; Tancredi, A.; Rabenda, V.; *Osteoarthritis* **2003**, *57*.
- Chou, M. M.; Vergnolle, N.; McDougall, J. J.; Wallace, J. L.; Marty, S.; Teskey, V.; Buret, A. G.; *Exp. Biol Med.* **2005**, *230*, 255.
- Spindler-Barth, M.; Blattner, R.; Vorgis, C. E.; Spindler, K. D.; *Pestic. Sci.* **1999**, *52*, 47.
- Behr, J. B.; *Curr. Med. Chem. Anti-Infec. Agents* **2003**, *2*, 173.
- Baizman, E. R.; Brandston, A. A.; Longley, C. B.; Allanson, N.; Sofia, M. J.; Gange, D.; Goldman, R. C.; *Microbiology* **2000**, *146*, 3129.
- Okamura, A.; Yazawa, S.; Nishimura, T.; Tanaka, S.; Takai, I.; Kudo, S.; Asao, T.; Kuwano, H.; Matta, K. L.; Akamatsu, S.; Kochibe, N.; *Clinical and Experimental Metastasis* **2000**, *18*, 37.
- Camerman, A.; Mastropaolo, D.; Camerman, N.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 8239.
- Field, R. A.; Neville, D. C. A.; Smith, R. W.; Ferguson, A. J.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 391.
- Lu, P.; Hindsgaul, O.; Li, H.; Palcic, M. M.; *Carbohydr. Res.* **1997**, *303*, 283.
- Magalhães, R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2002.
- Neville, D. C. A.; Field, R. A.; Ferguson, M. A. J.; *Biochem. J.* **1995**, *307*, 791.
- Inoue, Y.; Onodera, K.; Kitaoka, S.; Kirri, T.; *Bull. Inst. Chem. Res.* **1955**, *33*, 270.
- Horton, D.; *Org. Synth.* **1966**, *46*, 1.
- Roy, R.; Tropper, F. D.; *Can. J. Chem.* **1991**, *69*, 817.
- Vocadlo, D.; Withers, S. G.; *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 379.
- Teranishi, K.; *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 613.
- McDonnell, C.; López, O.; Murphy, P.; Bolaños, F.; Hazell, R.; Bols, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12374.
- Milkereit, G.; Morr, M.; Thiem, J.; Vill, V.; *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *127*, 47.
- Kruger, H. G.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2002**, *577*, 281.
- Gavin, J. J.; *Appl. Microbiol.* **1957**, *5*, 25.
- Figueiredo, R. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2000.