

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ANA LUÍSA MALACO MOROTTI

**SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOSÍDEOS DA DI-
HIDROCUCURBITACINA B**

Florianópolis
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Ana Luísa Malaco Morotti

**SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOSÍDEOS DA DI-
HIDROCUCURBITACINA B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Lílian Sibelle Campos Bernardes
Coorientador: Prof^º. Dr. Eloir Paulo Schenkel

Florianópolis
2014

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

Morotti, Ana Luísa Malaco
Síntese de derivados glicosídeos da Di-hidrocucurbitacina
B / Ana Luísa Malaco Morotti ; orientadora, Lílian Sibelle
Campos Bernardes ; coorientador, Eloir Paulo Schenkel. -
Florianópolis, SC, 2014.
202 p.

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

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Glicosídeos de cucurbitacinas. 3. Reações
de O-glicosilação. 4. Click Chemistry. 5. Reação 1,3-
dipolar. I. Bernardes, Lílian Sibelle Campos. II.
Schenkel, Eloir Paulo. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

Aos meu pais José Mario Morotti e
Telma Regina Morotti.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina, ao Programa de Pós-graduação em Farmácia e à capes pelo suporte financeiro e espaço físico para a realização desse trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pelas análises de RMN e ESI-TOF realizadas. Em especial aos técnicos Luis Otávio Zamoner (FCFRP), Vinicius (FCFRP), Tomaz (FCFRP) e à Prof^a Ivone Carvalho, por todo auxílio.

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

À todos os alunos e professores do Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais e Sintéticos (GEPRONAS), pelo aprendizado, pelas risadas e boa convivência durante todos esses anos. Também às técnicas Solange e à Claudinha por toda ajuda no laboratório.

À Vanessa por toda paciência, atenção, companheirismo, ensinamentos e por me contagiar com sua paixão pela pesquisa e pelos carboidratos. À Karen, pelos ensinamentos, por todo apoio e incentivo, pela amizade e por todos os momentos durante quase 3 anos de convivência. E aos meus queridos amigos do Laboratório de Química Farmacêutica: Lara, Rafael e Fernanda, pelas risadas, pelos bons papos e momentos de descontração, por estarem sempre ao meu lado e por toda ajuda. Tudo se torna melhor e mais divertido com a presença de vocês!

Aos meus orientadores, Prof^a Lílian, pela amizade, confiança, incentivo e pelos ensinamentos para a vida e para minha formação profissional. E Prof^o Eloir, pela confiança, pelo apoio, motivação, por toda ajuda e ensinamentos. Sou muito grata pelos cuidados de vocês!

À minha família: Meus pais e maiores exemplos, José Mario e Telma; meus irmãos André e Gustavo; meus avós Virginia, Eglahyr e José; tios e primos, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e me dando forças. Amo vocês. Palavras não explicam o que vocês significam para mim. Também ao Joey, um anjinho em forma de cachorro que enche minha vida de alegria.

Aos amigos maravilhosos que Floripa me deu: Ju Theodora, Marina, Daiane, Bruna, Andressa, Drika, Dariani e Pâmela. Obrigada por toda parceria e por estarem sempre presentes nos momentos bons e ruins. Amizade como a de vocês é para guardar por toda vida.

Aos amigos de infância: Chris, Silvia, Éder, Fabi, Nanda, Estela, Juli, Gui Benthien, Belisa e Verônica. Vocês (juntamente com meus pais) são as melhores

peessoas do mundo. Obrigada por todos os anos de amizade que, apesar da distância, só se fortalece!

Ao meu namorado Paulo Sérgio, pela paciência, compreensão e companheirismo. Por se fazer tão presente, todos os dias, mesmo distante. E por dividir comigo dias minhas alegrias e tristezas. Amo você.

A Deus, pela vida e por me rodear de pessoas tão especiais.

"Há mais pessoas que desistem do que pessoas que fracassam."

(Henry Ford)

RESUMO

As cucurbitacinas são moléculas naturais para as quais são atribuídas diversas atividades biológicas. Na busca de um composto com potencial atividade antitumoral, este trabalho foi direcionado para a obtenção de derivados glicosilados de di-hidrocucurbitacina B (DHB). Nesse sentido, estratégias utilizadas na química medicinal, tais como modificação de grupos funcionais e extensão de cadeia foram utilizadas. Através de reação seletiva de oxidação em C-16, obteve-se o derivado de DHB **2**, o qual foi submetido à reação de *O*-glicosilação com doadores monossacarídicos derivados de D-glicose (**a**), D-galactose (**b**), D-manose (**c**) e L-arabinose (**d**). Foram utilizadas diversas metodologias de *O*-glicosilação descritas na literatura, dentre elas, metodologias clássicas como Koenigs-Knorr, Helferich e Schmitd. O derivado galactosídeo **15** de DHB foi obtido com 3% de rendimento, através de reação do composto **2** e o doador monossacarídico tricloroacetimidato de galactose **9b**, utilizando TMSOTf como promotor. O derivado azida de DHB **3** foi obtido em duas etapas, a partir do composto **2**. Este produto, por sua vez, foi submetido à reação de cicloadição, para formação do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído, com as séries de monossacarídeos contendo alcino terminal **10a-d** e **18a-d**. Os produtos **16a-d** e **19a-d** foram obtidos utilizando a estratégia de "Click Chemistry", cuas estruturas foram confirmadas por espectroscopia de RMN, IV, e por espectrometria de massas de alta resolução (ESI-TOF). Os produtos **15**, **16a-d** e **19a-d** são compostos inéditos e serão enviados para teste de atividade citotóxica frente à três linhagens de células tumorais.

Palavras-chave: Glicosídeos de cucurbitacina; reação de *O*-glicosilação; Click Chemistry; reação de cicloadição 1,3-dipolar.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF GLYCOSIDIC DERIVATIVES OF DIHYDROCUCURBITACIN B

Cucurbitacins are natural molecules to which are attributed many biological activities. In a search for a compound with potential antitumor activity, this work aims to obtain glycosylated derivatives of dihydrocucurbitacina B (DHB). Thus, Medicinal Chemistry strategies, such as modification of functional groups and chain extension were used. DHB derivative **2** was obtained by selective oxidation reaction at C-16 position. *O*-glycosylation of **2** with the monosaccharidic donors derived from D-glucose (**a**) D-galactose (**b**) D-mannose (**c**) and L-arabinose (**d**) were performed. Different methodologies described in the literature, such as classical Koenigs-Knorr, Helferich and Schmitd reactions were tested. The galactoside DHB derivative **15** was obtained with 3% yield by reaction of compound **2** and trichloroacetimidate monosaccharidic donor **9b**, using TMSOTf as promoter. DHB azide derivative **3** was obtained in two steps from **2**. The azide derivative were used for cycloaddition reaction to the formation of the 1,2,3-triazole ring ,1,4-disubstituted, with the series of monosaccharides containing terminal alkyne **10a-d** and **18a-d**. The products **16a-d** and **19a-d** were obtained using "Click Chemistry" strategy, and confirmed by NMR spectroscopy, IR and high resolution mass spectrometry (ESI-TOF). The products **15**, **16a-d** and **19a-d** are novel compounds and will be evaluated for their cytotoxic activity against three tumor cell lines.

Keywords: cucurbitacin glycosides; *O*-glycosylation reaction; Click Chemistry; 1,3-dipolar cycloaddition.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
1.1. Cucurbitacinas	28
1.1.1.atividade citotóxica de cucurbitacinas.....	29
1.1.2.glicosídeos de cucurbitacinas.....	33
1.2. Química medicinal e estratégias de modificação molecular	36
2. OBJETIVOS	41
2.1. Objetivo geral	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.1 síntese de aceptores derivados de di-hidrocucurbitacina b.	43
3.2 . Síntese de doadores monossacarídicos.....	51
3.2.1. Síntese de derivados funcionalizados com bromo em c-1	53
3.2.3. Síntese de derivados monossacarídicos contendo alcino terminal	59
3.3. Reações de <i>o</i> -glicosilação direta	62
3.3.1. Reação de köenigs-knorr	63
3.3.2. Reação de helferich	64
3.3.3. Reação com montmorilonita k10	65
3.3.4. Reação em meio básico	68
3.3.5. Reações utilizando bf_3oet_2	70
3.3.6. Reações com triflatos	72
3.4. Reações de cicloadição para formação do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído	75
4. MATERIAIS E MÉTODOS	83
4.1. Materiais	83
4.1.1. Aparelhagem analítica	83
4.1.2. Aparelhagem laboratorial	83

4.1.3. Outros materiais.....	83
4.2. Métodos.....	84
4.2.1. Preparação dos aceptores.....	85
4.2.2. Preparação de doadores de unidades monossacarídicas - glicose.....	87
4.2.3. Preparação de doadores de unidades monossacarídicas - galactose.....	91
4.2.4. Preparação de doadores de unidade monossacarídica- manose.....	94
4.2.5. Preparação de doadores de unidade monossacarídica- arabinose.....	96
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	109
6. REFERÊNCIAS.....	115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fármacos anticâncer obtidos de fontes naturais.	27
Figura 2: Esqueleto cucurbitano e a primeira cucurbitacina descrita (elaterina-cucurbitacina E).	28
Figura 3: Exemplos de diversidade estrutural de cucurbitacinas.	29
Figura 4: Algumas cucurbitacinas com atividade citotóxica relatada.	32
Figura 5: Exemplos de estruturas de glicosídeos de cucurbitacinas.	33
Figura 6: Exemplos de datiscosídeos.	34
Figura 7: Glicosídeos de cucurbitacinas com atividade biológica relatada.	35
Figura 8: Cayaponosídeos isolados de <i>Cayaponia tayuya</i>	36
Figura 9: Exemplos de produtos naturais glicosilados com atividade biológica: Digoxina, QS-21 e OSW-1.	37
Figura 10: Anéis heterocíclicos encontrados em fármacos.	38
Figura 11: Derivados triazóis com atividade citotóxica/antiploriferativa.	39
Figura 12: Estruturas da DHB em 2D e 3D com destaque para hidroxilas em C-2, C-16 e C-20.	43
Figura 13: Produtos formados na reação de oxidação com PCC.	44
Figura 14: Espectros de RMN ¹ H completos comparando material de partida 1 (500 MHz, CDCl ₃) e produto 2 (400 MHz, CDCl ₃).	45
Figura 15: Espectro de RMN ¹ H do produto (CDCl ₃ ; 300 MHz) em comparação com material de partida (CDCl ₃ ; 400 MHz).	47
Figura 16: Espectro de RMN ¹ H, comparando material de partida 5 e produto 3. Em destaque, o blindamento do tripleto referente ao metileno C-4'.	49
Figura 17: Espectro infravermelho do composto 3.	50
Figura 18: Espectro completo de RMN ¹³ C do material de partida 5 (75 MHz, CDCl ₃), e produto 3 (100 MHz, CDCl ₃), mostrando o desblindamento do carbono C-4' de δ C 32,5 para δ C 50,4 ppm.	50
Figura 19: Unidades monossacarídicas utilizadas como doadores.	51
Figura 20: Espectro de RMN ¹ H do composto 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- α - β -D-glicopiranosose (6a). Em destaque, os sinais para H ligados em C-1 dos anômeros α e β e os simpletos dos 5 grupamentos acetilas.	52
Figura 21: Espectro de RMN ¹ H completo do material de partida 6a e produto 7a. Em destaque, o desblindamento de H-1 do produto em relação ao H-1 do composto 6a.	54
Figura 22: Espectros de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) comparando o produto 8a e o precursor 6a. Em destaque, o blindamento de H-1 α em relação ao material de partida e os quatro simpletos referentes aos grupamentos acetilas.	56
Figura 23: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz). Comparação entre precursor 8a e produto 9a.	58
Figura 24: Espectro de infravermelho do derivado 10d.	60
Figura 25: Espectro de RMN ¹ H do derivado 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-1-propargil- β -L-arabinopiranosídeo (10d).	60
Figura 26: Espectro do composto 2,3,4,6- <i>O</i> -acetil-1-propargil- α - β -D-manopiranosídeo (10c).	61

Figura 27: Glicosídeos obtidos por <i>O</i> -glicosilação através da metodologia de Königs-Knorr (MACHADO, 2011).	63
Figura 28: Espectros de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) comparando material de partida (2) e produto obtido (13). Em destaque, o multipletto de H-24 e o desblindamento das metilas 26 e 27.....	67
Figura 29: Compostos obtidos por Lang (2012) os quais possuem o mesmo perfil de insaturação na cadeia lateral que o composto 13.....	68
Figura 30: Interação intramolecular entre o hidrogênio de hidroxila com carbonila ligada ao carbono vizinho em precursor da síntese do Resokaempferol- 3-β-D-glicosídeo.....	69
Figura 31: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) comparando material de partida 2 e produto 4	70
Figura 32: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) comparando material de partida 2 e produto 14 Em destaque, a ausência do sinal referente à acetila terciária em δ 1,99 na cadeia lateral da DHB.....	72
Figura 33: Espectro de RMN do composto 15 em comparação com material de partida 2. Em destaque, sinais dos hidrogênios referentes ao monossacarídeo e 5 grupamentos acetila.	74
Figura 34: Espectro de massas [M + Na] ⁺ e [M + K] ⁺ do composto 15.....	75
Figura 35: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) do produto 16b.....	76
Figura 36: Espectro de massas [M + Na] ⁺ (modo positivo) do produto 16b.....	77
Figura 37: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz; CDCl ₃ e MeOD, respectivamente) dos produtos obtidos pela reação de desproteção com NaOMe.....	78
Figura 38: Espectro de infra-vermelho do derivado 1-propargil-β-D-glicopiranosídeo (18a).	79
Figura 39: Espectro de RMN ¹ H do derivado 18a. Em destaque, os sinais correspondentes à H- 1, H-7a,b e H-8 (C≡CH).....	80
Figura 40: RMN ¹ H do composto 19b, com destaque para o hidrogênio aromático do anel triazol e a acetila da cadeia lateral da DHB.....	81
Figura 41: Espectro de massas [M + Na] ⁺ (modo positivo) do produto 19b.....	82
Figura 42: Derivados glicosilados de DHB obtidos por nosso grupo de pesquisa (MACHADO, 2011).	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Metodologias testadas para <i>O</i> -glicosilação.....	62
Tabela 2 - Condições reacionais testadas para reação de Königs-Knorr.....	64
Tabela 3 - Condições reacionais testadas para reação de Helferich.....	65

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Rota sintética para síntese de aceptores de unidade monossacarídica	44
Esquema 2: Mecanismo de oxidação com PCC de C-16 da DHB.....	46
Esquema 3: Estabilização da 1,2-dicetona cíclica para a forma diosfenólica.....	46
Esquema 4: Síntese do derivado azida 3 a partir do derivado da DHB oxidada em C-16 (2), aplicando estratégia de extensão de cadeia 5.....	47
Esquema 5: Mecanismo de reação de acilação com haleto de acila e DMAP.	48
Esquema 6: Síntese do derivado 3.	48
Esquema 7: Reação de peracetilação das unidades monossacarídicas.	51
Esquema 8: Mecanismo de reação de acetilação catalisada por iodo.	52
Esquema 9: Síntese de derivados funcionalizados com bromo em C-1.	53
Esquema 10: Transferência de um par de elétrons de O5 para o orbital antiligante σ^*	55
Esquema 11: Repulsão no confômero β pelo alinhamento dos vetores de momentos dipolo das ligações O/ C-1/ X.	55
Esquema 12: Mecanismo de reação proposto para desproteção da hidroxila anomérica com acetato de hidrazina.....	57
Esquema 13: Mecanismo de reação de formação do grupamento tricloroacetimidato utilizando DBU.....	58
Esquema 14: Síntese dos derivados contendo alcino terminal.....	59
Esquema 15: Mecanismo de reação de glicosilação promovido por TMSOTf. ...	62
Esquema 16: Reação de <i>O</i> -glicosilação do derivado 2 via metodologia de Köenigs-Knorr.	63
Esquema 17: Estabilização do íon <i>oxacarbenium</i> por efeito do grupo vizinho. Mecanismo proposto para reação de glicosilação de Köenigs-Knorr.	64
Esquema 18: Diferentes metodologias utilizando sais de mercúrio para reação de <i>O</i> -glicosilação de Helferich.	65
Esquema 19: Mecanismo de reação de glicosilação e rearranjo de Ferrier utilizando glicol como doador e ácido de Lewis como catalisador.	66
Esquema 20: Metodologias de <i>O</i> -glicosilação testadas utilizando Mont K10 como promotor.	66
Esquema 21: Metodologia de reação de <i>O</i> -glicosilação em meio básico.....	69
Esquema 22: Enolização em C-2 da di-hidrocurbitacina B em meio básico, gerando o padrão do anel A encontrado na cucurbitacina natural di-hidrocurbitacina E.	70
Esquema 23 Metodologia de <i>O</i> -glicosilação utilizando o promotor BF_3OEt_2	71
Esquema 24: Reação utilizando o derivado tricloroacetimidato como doador e BF_3OEt_2 como promotor.	72
Esquema 25: Reação utilizando o derivado tricloroacetimidato como doador e triflatos, como promotor.....	73
Esquema 26: Reação de <i>O</i> -glicosilação utilizando metodologia de imidatos com promotor TMSOTf.....	73

Esquema 27: Reação de cicloadição para obtenção do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído por Click Chemistry.	76
Esquema 28: Mecanismo de reação simplificado da formação do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído.	77
Esquema 29: Reação para obtenção do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído utilizando alcinos desprotegidos.	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt: Acetato de etila
CCD: Cromatografia em camada delgada
-CH₃: Grupamento metila
-C≡CH: Grupamento alcino terminal
 δ_H e δ_C : Deslocamento químico em partes por milhão em relação ao trimetilsilano (TMS= 0 ppm)
d: Duplete
dd: Duplo duplete
ddd: Duplo duplo duplete
DBU: 1,8-diazobicyclo[5,4,0]undec-7-eno
DCE: 1,2-dicloroetano
DCM: Diclorometano
DHB: Di-hidrocucurbitacina B
DMAP: Dimetilaminopiridina
DMF: Dimetilformamida
Et₃N: Trietilamina
FM: Fórmula molecular
Gli: Glicose
Galac.: Galactose
Hex: Hexano
Hz: Hertz
IV: Infravermelho
J: Constante de acoplamento
MM: Massa molecular
m: Multiplete
Me: Grupamento metila
MeCN: Acetonitrila
MeNO₂: Nitrometano
MeOH: Metanol
Mont K10: Montmorilonita K10
MW: Reator de micro-ondas
-OCOCH₃: Grupamento acetila
PF: Ponto de fusão
PCC: Clorocromato piridínio
Py: Piridina
Rf: Índice de retenção
RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s: simpleto

t: tripleto

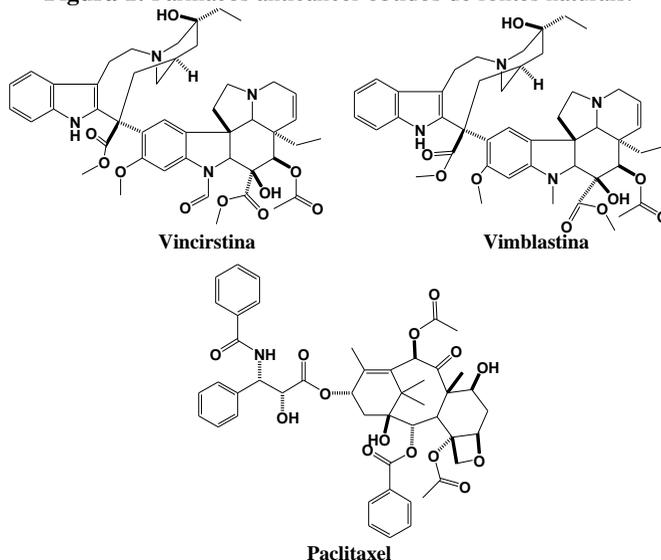
TMSOTf: Trimetilsililtrifuormetanosulfonato

1. INTRODUÇÃO

A química dos produtos naturais continua sendo influente no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos, visto que a natureza é fonte de uma infinidade de moléculas com as mais variadas estruturas, as quais desempenham atividades biológicas diversas. Nesse sentido, diversos fármacos já foram desenvolvidos a partir de metabólitos de plantas, e muitas moléculas ativas provenientes de fontes naturais são utilizadas como protótipo para semissíntese de compostos com atividade aprimorada (HARVEY, 2008; KINGSTON; NEWMAN, 2009; NEWMAN; CRAGG, 2012).

De forma sucinta, pode-se considerar que, no cenário dos fármacos antitumorais, milhares de plantas têm sido investigados em busca de novas moléculas para tratamento do câncer. Muitos compostos têm apresentado sucesso nesse contexto, e são utilizados atualmente como agentes quimioterápicos. Como exemplo, pode-se mencionar a vincristina, a vimblastina e o paclitaxel (Figura 1). O histórico de agentes quimioterápicos provenientes de fontes naturais sugere que muitas moléculas, com potencial para se tornarem fármacos antitumorais, ainda serão descobertas (WERMUTH, 2008).

Figura 1: Fármacos anticâncer obtidos de fontes naturais.



A seguir, é apresentada uma revisão concisa sobre os tópicos abordados no trabalho, especificamente: cucurbitacinas, glicosídeos de cucurbitacinas e algumas estratégias de modificação estrutural.

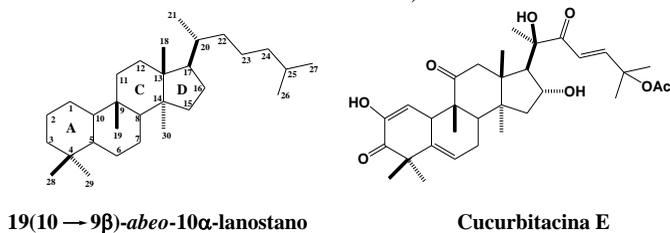
1.1. CUCURBITACINAS

Cucurbitacinas são triterpenóides tetracíclicos altamente oxigenados encontrados predominantemente em plantas da família Cucurbitaceae, embora possam ser encontradas em outras famílias de plantas e até mesmo fungos. As plantas que possuem cucurbitacinas podem contê-las em qualquer órgão vegetal, desde raízes até frutos e sementes (MIRÓ et al., 1995; CHEN et al., 2004).

As cucurbitacinas possuem um esqueleto cucurbitano 19(10→9β)-*abeo*-10α-lanostano e apresentam grande variedade estrutural, sendo classificadas estruturalmente de acordo com suas funcionalidades no anel A, cadeia lateral e condições estereoquímicas (Figura 2) (LAVIE; GLOTTER, 1971; VALENTE, 2004).

A primeira cucurbitacina descrita foi isolada de frutos de *Eballium elaterium*, em 1831 e, então, denominada elaterina (atualmente cucurbitacina E; figura 2). No entanto, sua estrutura só veio a ser totalmente elucidada em 1971, por Lavie e Glotter, através de análises mais precisas baseadas em Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (VALENTE, 2004).

Figura 2: Esqueleto cucurbitano e a primeira cucurbitacina descrita (elaterina-cucurbitacina E).

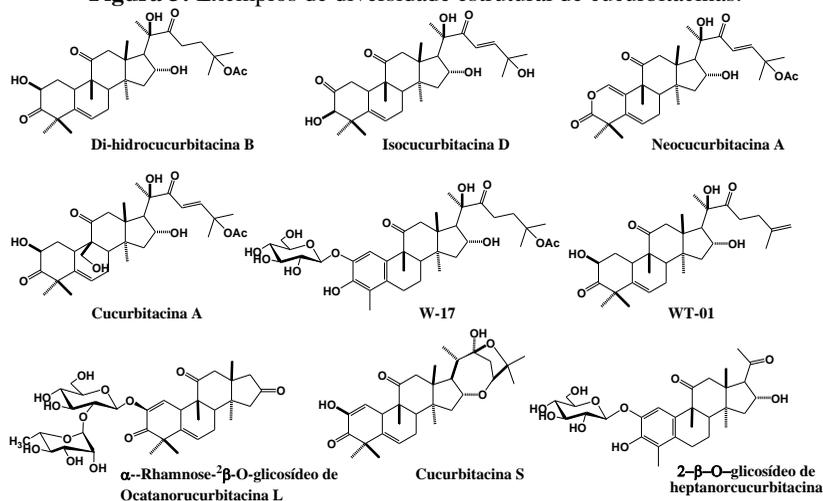


Há 17 tipos moleculares de cucurbitacinas nomeadas de A a T e centenas de derivados evidenciados a partir destas (CHEN et al., 2005; LEE; IWANSKY; THOENNISSSEN, 2010). Insaturações são comuns entre C-1 e C-2 no anel A, e entre C-23 e C-24 na cadeia lateral. Todas as cucurbitacinas possuem insaturação entre C-5 e C-6 no anel B. O padrão de oxigenação inclui possibilidades de grupamentos hidroxila, carbonila e acetilas nos carbonos 2, 3, 7, 11, 16, 19, 20, 22 e 25

(ZANDER; WIGFIELD, 1970; VALENTE, 2004). Elas também podem apresentar modificações em seu esqueleto, tais como as encontradas nas norcucurbitacina, em que o anel A é aromático, e as neocucurbitacinas (CHEN et al., 2004; VALENTE et al. 2004; RÍOS et al., 2005).

Algumas cucurbitacinas não possuem parte da cadeia lateral, tais como hexanor, heptanor e octanorcucurbitacinas (Figura 3) (VALENTE, 2004; CHEN et al., 2005). Podem ser encontradas nas formas livres ou glicosiladas, embora acredita-se que o isolamento de formas glicosiladas seja dificultado pela ação das β -glicosidases presentes no vegetal (LAVIE & GLOTTER, 1971; MIRÓ, 1995; DINAN; HAMARTHA; LAFONT, 2001).

Figura 3: Exemplos de diversidade estrutural de cucurbitacinas.



Muitas atividades biológicas, tais como laxativa, anti-inflamatória, hepatoprotetora, foram atribuídas às cucurbitacinas (MIRÓ, 1995; JAYAPRAKASAM et al, 2003; CHEN et al, 2005). Porém, a atividade que mais desperta interesse para a química medicinal é a citotóxica e potencial anticâncer (CHEN et al, 2005). Por essa razão, restringiu-se a abordagem aqui apresentada à esta atividade.

1.1.1. Atividade Citotóxica de Cucurbitacinas

As cucurbitacinas são os compostos responsáveis pela toxicidade de algumas plantas e foram utilizadas por muitos anos na medicina

tradicional popular, chegando a despertar interesse por parte da indústria farmacêutica na década de 1960, pela atividade citotóxica. No entanto, a importância desses compostos decaiu nas décadas seguintes, devido ao fato de possuírem toxicidade elevada e falta de seletividade para as células tumorais (DAVID; VALLANCE, 1955; GEISSMANN, 1964; CHEN et al; 2005; LEE; IWANSKY; THOENNISSSEN, 2010).

Ainda assim, a atividade citotóxica e possivelmente anticâncer dessa classe de compostos continua sendo a mais investigada (CHEN et al., 2005). Diversos estudos *in vitro* e *in vivo* apresentam atividade citotóxica de cucurbitacinas frente às células tumorais, sendo que tal atividade, muitas vezes é obtida em concentrações na ordem de nanomolar (DUNCAN; DUNCAN, 1997).

As cucurbitacinas provocam diferentes alterações morfológicas em células tumorais. Algumas destas alterações podem ser explicadas pelo desequilíbrio na homeostase do citoesqueleto de actina, o que provoca variações nos formatos celulares. Alguns estudos mostraram que estas alterações eram provocadas por diversas cucurbitacinas, tais como cucurbitacinas B, E e I (Figura 4) (DUNCAN; DUNCAN, 1997; HARITUNIANS et al., 2008; WAKIMOTO et al., 2008; KNECHT et al, 2010). Outra alteração morfológica relatada é a multinucleação, evento que pode ocorrer devido à interrupção do ciclo celular. Alguns estudos indicam que as cucurbitacinas bloqueiam o ciclo celular, induzindo a célula à apoptose. A fase G2/M é a mais relatada, embora outras fases, tais como a fase S também já tenha sido reportada por alguns grupos de pesquisa (YIN, et al., 2008; HARITUNIANS et al., 2008; THOENNISSSEN et al., 2009).

Os mecanismos moleculares pelos quais as cucurbitacinas interrompem o ciclo celular e induzem a apoptose estão relacionados com algumas vias de sinalização oncogênicas, as quais desempenham papéis importantes na sobrevivência e proliferação celular. São consideradas como "alvos", as vias JAK-STAT, Akt-PKB, e MAPK (LEE; IWANSKI; THOENNISSSEN, 2010). Entretanto, nem todas as cucurbitacinas, embora semelhantes estruturalmente, atuam em todas essas vias. Por exemplo, a cucurbitacina I é potente inibidora da via JAK-STAT, porém, ela não afetou as vias Akt-PKB e MAPK (BLASKOVICH et al., 2003; SUN et al., 2005; SU et al., 2008). Seguindo o mesmo raciocínio, outros estudos mostram que a cucurbitacina B e R não estão apenas envolvidas na inibição das vias JAK-STAT, como também inibiram a MAPK (ESCANDELL et al., 2008; CHAN et al., 2009). Por fim, estudos realizados por Tannin-Spitz

sugerem que derivados da cucurbitacina B e E possam interferir na via Akt-PKB (TANNIN-SPITZ et al., 2007).

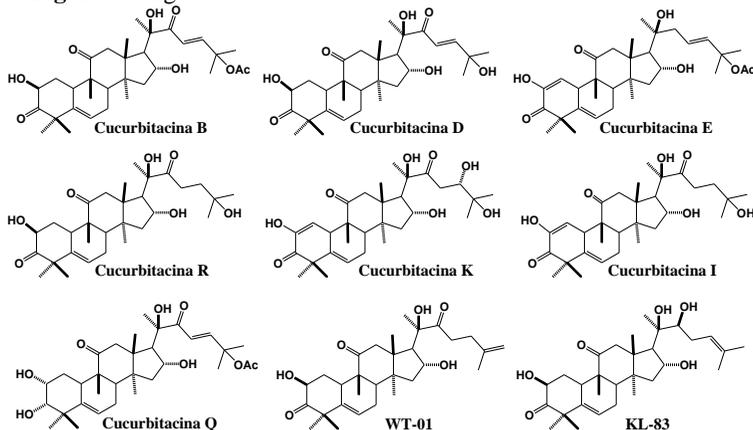
Durante a inflamação, a interleucina 6 (IL-6) é liberada por células T e macrófagos. Esta citocina é capaz de induzir a fosforilação de STAT3, que por sua vez, induz a síntese de Bcl-2 e Bcl-xL. Tais proteínas são antiapoptóticas, possuindo um papel importante no desenvolvimento tumoral. Sendo assim, alguns autores sugerem que a atividade anti-inflamatória promovida pelas cucurbitacinas podem apresentar direta relação com suas atividades anticâncer, visto que muitas cucurbitacinas inibem a STAT3 (LIN; KARIN, 2007; ABDELWAKAB et al., 2012).

Na clínica, muitos fármacos quimioterápicos são utilizados em combinações, não apenas para melhorar a eficácia do tratamento, mas também para evitar a resistência de células tumorais. Além disso, certas combinações de fármacos mostram um forte sinergismo que ajuda a atingir o mesmo efeito terapêutico com uma dose mais baixa e, por consequência, menor toxicidade. Algumas cucurbitacinas apresentam efeito sinérgico quando administradas com agentes quimioterápicos conhecidos. Estudos mostraram que cucurbitacina E promove o acúmulo de doxorubicina no interior das células cancerígenas, tanto por facilitar o influxo do fármaco, quanto pela prevenção de efluxo, o que implica efeitos sinérgicos dos dois compostos (SADZUKA et al., 2008). O efeito sinérgico de cucurbitacina B com gemcitabina em câncer de pâncreas foi relatado por Thoennissen e colaboradores (2009). O trabalho mostrou que cucurbitacina B apresentou sinergismo quando administrada com gemcitabina em estudo *in vitro* e *in vivo*. Neste mesmo estudo, a atividade da cucurbitacina B foi também avaliada *in vivo*, utilizando ratos acometidos com câncer de pâncreas. Os resultados mostram que a cucurbitacina não induziu toxicidade aparente, sendo administrada como um agente único, a uma dose de 1,0 mg/kg. Apesar dos animais terem apresentado uma discreta redução de peso, nenhuma toxicidade foi observada durante as 7 semanas de tratamento. O efeito sinérgico da cucurbitacina B com metotrexato foi avaliado em cultura de células de osteocarcinoma (LEE et al, 2011). Os resultados obtidos mostraram que o sinergismo entre as duas substâncias foram eficazes contra crescimento de sete linhagens de células de osteocarcinoma humano, utilizando pequenas doses dos dois compostos (0,5 mg/Kg de cucurbitacina B e 150,0 mg/Kg de metotrexato).

As cucurbitacinas apresentam atividade citostática nas mais variadas linhagens celulares. Em 1984, Witkowski e colaboradores relataram que as cucurbitacinas B, D, I (Figura 4) e tetra-

hidrocucurbitacina I inibiram a proliferação celular de células HeLa-S3, em concentrações que variaram de 0,01 a 1,4 μM . As cucurbitacinas B (Figura 4) e di-hidrocucurbitacina B (figura 3) apresentaram atividade antitumoral frente a linhagem de célula de câncer de mama (Bcap37), em concentrações de 1,8 e 3,6 μM , respectivamente. (YANG et al, 2007). Wakimoto e colaboradores administraram uma dose de 1,0 mg/kg (i.p.) de cucurbitacina B em ratos acometidos de câncer de mama. Estes ratos obtiveram uma redução de cerca de 55% do tumor em seis semanas de tratamento, em comparação com um grupo de ratos que não foram tratados com a cucurbitacina (WAKIMOTO et al, 2008). Dakeng e colaboradores avaliaram o efeito citotóxico de cucurbitacina B em células de câncer de mama SKBR-3 E MCF-7. O estudo mostrou que a cucurbitacina em questão inibiu o crescimento celular em doses de 4,60 e 88,7 $\mu\text{g/mL}$ (DAKENG et al, 2012). Siqueira, em 2007, relatou redução de até 83,5% dos tumores em ratos acometidos com melanoma, os quais foram tratados por 12 dias com di-hidrocucurbitacina B. A cucurbitacina D apresentou inibição da expressão das proteínas antiapoptóticas Bcl-xL e Bcl-2 em leucemia de células T, a partir de seis horas de incubação, em uma concentração de 1,0 $\mu\text{g/mL}$. (DING et al, 2010).

Figura 4: Algumas cucurbitacinas com atividade citotóxica relatada.



Ação inibitória frente à linhagens celulares de câncer de próstata foi conferida às cucurbitacinas B, E, I, K e Q (Figura 4) (DUNCAN, 1997; DANTAS et al, 2006). Lang e colaboradores (2011) relataram novas cucurbitacinas para o gênero *Wilbrandia*. Dentre elas as estruturas WT-

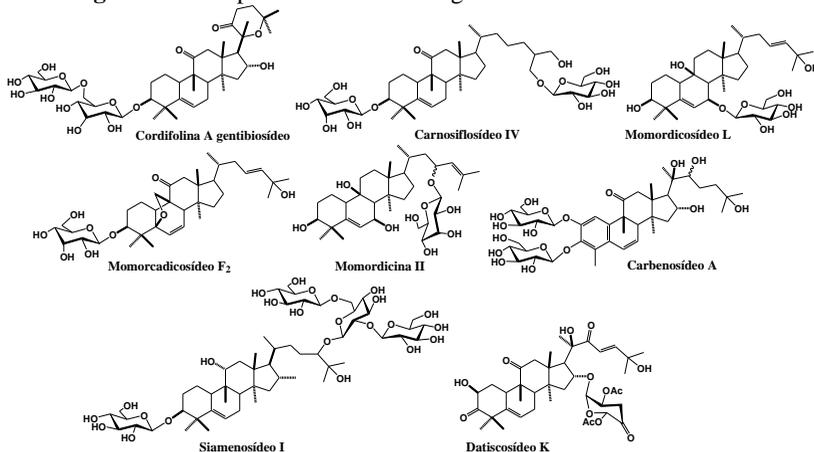
1 e KL-83 (Figura 4) apresentaram boa atividade citotóxica em quatro linhagens de células tumorais de pulmão, pele, músculo estriado e cólon (A549, KB, RD, HCT-8, respectivamente), em doses variando de 2,06 a 5,09 μM (LANG ET AL, 2011).

1.1.2. Glicosídeos de Cucurbitacinas

A literatura relata uma grande variedade de glicosídeos de cucurbitacinas, sendo, em sua totalidade, *O*-glicosídeos. As unidades de açúcar variam desde açúcares comuns, como glicose, xilose, rhamnose, gentiobiose até açúcares mais raros, tais como ulose e alose. Os glicosídeos se apresentam como unidades monossacarídicas ou oligossacarídeos. Os açúcares podem apresentar padrões de modificação estrutural, tais como oxidação, acetilação e desoxigenação (CHEN et al., 2005).

As posições mais frequentemente ligadas à *O*-glicosídeos nas cucurbitacinas são C-2, C-3, C-16 e C-25, no entanto, pode haver moléculas de açúcar ligadas às posições C-7, C-23 e C-24, como mostrado na figura 5.

Figura 5: Exemplos de estruturas de glicosídeos de cucurbitacinas.

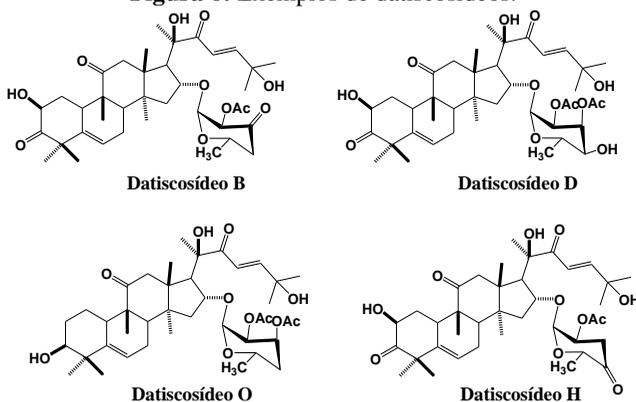


As cucurbitacinas conferem o sabor amargo de alguns alimentos e plantas. Alguns autores relatam que glicosídeos de cucurbitacinas são tão amargos quanto suas agliconas (METCALF; METCALF, RHODES, 1980; OKABE; MIYAHARA; YAMAUCHI, 1982; HUTT; HERRINGTON, 1985). No entanto, na década de 1980, um glicosídeo

de cucurbitacina, potencialmente doce, foi isolado de *Siraitia grosvenori* (Cucurbitaceae) (KASAI et al., 1989). O composto denominado Siamenosídeo I (Figura 5) poderia ser alternativa de adoçante para diabéticos (MATSUMOTO et al., 1990).

Daticosídeos são cucurbitacinas análogas da cucurbitacina D, nas quais os açúcares estão ligados na posição C-16. A figura 6 mostra alguns exemplos de daticosídeos. Sasamori e colaboradores descrevem a atividade citostática de daticosídeos contra linhagens celulares de carcinoma nasofaríngeo. Os compostos testados inibiram em 50% o crescimento celular em dose de 0,05mg/mL (SASAMORI et al., 1983). Ademais, estudos mais recentes apontam que alguns daticosídeos isolados de *Datisca glomerata* apresentaram atividade antiparasitária. O daticosídeo K (Figura 5) foi o composto mais ativo contra *Plasmodium falciparum* em uma dose de 7,7 μM , no entanto, não foi observada atividade contra *Leishmania tarentolae* em dose menor que 20,0 μM .

Figura 6: Exemplos de daticosídeos.



Nesse mesmo estudo, os daticosídeos isolados foram testados contra células tumorais de músculo estriado de rato (L6) e células tumorais ovarianas de rato chinês (CHO). O daticosídeo K apresentou melhor atividade contra L6 na dose de 0,11 μM . Nenhum daticosídeo apresentou atividade citotóxica nas células CHO. Tais dados são interessantes, tanto para a atividade antiparasitária quanto para atividade citotóxica, pois sugerem que os daticosídeos possuem alguma seletividade para *P. falciparum* e células L6 (GRAZIOSE et al., 2013).

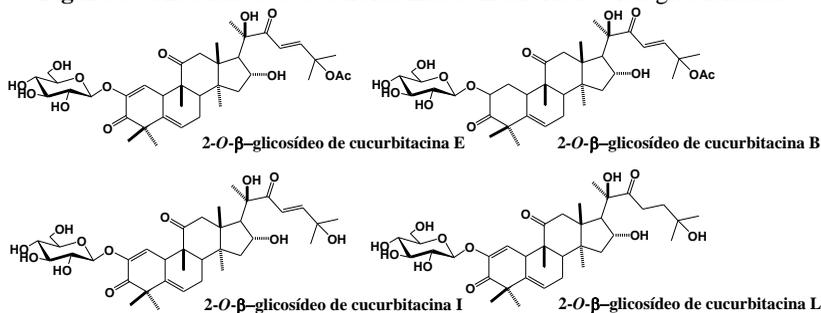
Há poucas referências na literatura sobre atividade citotóxica de glicosídeos de cucurbitacinas. Em 2007, Tannin-Spitz e colaboradores avaliaram a atividade contra linhagens celulares de câncer de mama

(ER⁺ MCF-7 e ER⁻ MDA-MB-231), utilizando glicosídeos de cucurbitacina B e E (Figura 7), em esquema de terapia combinada, na proporção de 1:1. A combinação dos dois glicosídeos, em uma concentração de 20,0 μM , apresentou atividade citostática, provocando um acúmulo de células entre as fases G₂/M do ciclo celular, além de provocar alterações morfológicas, sugerindo a desestabilização dos filamentos de actina do citoesqueleto (TANNIN-SPITZ et al., 2007). Em 2008, Tannin-Spitz e colaboradores realizaram uma patente com a elaboração de uma fórmula farmacêutica contendo glicosídeo de cucurbitacina isolado de *Citrullus colocynthis*, para o uso como quimioterápico (TANNIN-SPITZ et al., 2008).

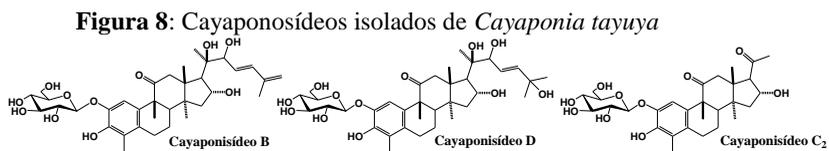
Outro estudo avaliou a atividade citotóxica promovida pelo 2-O- β glicosídeo de cucurbitacina L (Figura 7) em células de câncer de cólon (HT-29) em uma dose de 79,0 $\mu\text{g/mL}$. Ademais, o estudo mostrou que o glicosídeo não se mostrou tóxico para células hepáticas não tumorais humanas (WRL-68) e macrófagos (XAW2647), em doses até 200,0 $\mu\text{g/mL}$. (ABDELAWAB et al., 2012).

Ayyad e colaboradores realizaram estudo *in vitro* da atividade citotóxica de glicosídeos de cucurbitacinas E e I (Figura 7) em células HepG2 (hepatoma). O estudo apontou que ambos os glicosídeos apresentaram potente atividade inibitória em concentrações de 3,5 e 2,8 nmol.mL^{-1} , respectivamente. O mesmo trabalho avaliou atividade *in vivo* com estes compostos. Camundongos acometidos com carcinoma abdominal de Ehrlich foram tratados com ambos os glicosídeos, nas doses de 50, 25 e 12,5 mg/Kg/dia . Os resultados mostraram que houve aumento da sobrevida (dose-dependente) nos animais tratados, além de diminuição do tumor. Os parâmetros bioquímicos dos ratos tratados se apresentaram normais (AYYAD et al., 2012).

Figura 7: Glicosídeos de cucurbitacinas com atividade biológica relacionada.



Um estudo *in vivo* testou 24 glicosídeos de norcucurbitacinas isoladas de *Cayaponia tayuya*. Os glicosídeos denominados cayaponosídeos B, D e C₂ (Figura 8) reduziram 60%, 25% e 55% respectivamente, o número de papilomas em ratos induzidos com TPA para carcinoma de pele (KONOSHIMA et al., 1995). Esse estudo foi realizado anteriormente pelo mesmo grupo de pesquisa, com outros glicosídeos de cucurbitacina. Os resultados mostraram que o glicosídeo de cucurbitacina F diminuiu em 40% o número de papilomas nos ratos tratados (KONISHIMA, et al., 1994).



1.2. QUÍMICA MEDICINAL E ESTRATÉGIAS DE MODIFICAÇÃO MOLECULAR

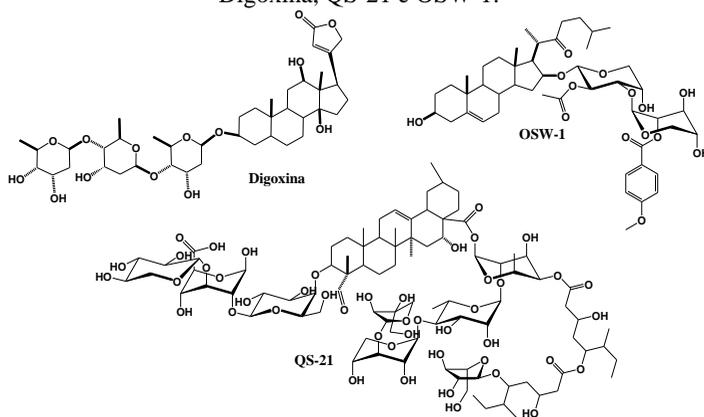
Alguns compostos ativos, isolados de fontes naturais, apresentam características “drug like” adequadas para serem utilizados diretamente como fármacos. Porém, a grande maioria apresenta baixa atividade e/ou propriedades farmacocinéticas/farmacodinâmicas inadequadas, tornando-se necessário fazer modificações estruturais, visando a obtenção de novos análogos com propriedades desejadas para se tornarem potenciais fármacos (WERMUTH, 2008; PATRICK, 2009). Neste contexto, a química medicinal dispõe de diversas estratégias de planejamento molecular, dentre as quais a variação de grupos funcionais e extensão de cadeia do composto protótipo.

A variação de grupos funcionais é uma das ferramentas mais utilizadas para estudos de relação estrutura-atividade de uma classe de compostos e consiste na modificação de pequenos grupos substituintes na molécula precursora. Dentre os exemplos de variação, pode-se citar metilação, acetilação/acilação, oxidação, etc. (WERMUTH, 2008).

A variação no tamanho de cadeias alquílicas é um aspecto importante a ser avaliado na síntese de análogos. Um mínimo alongamento ou encurtamento de uma cadeia pode determinar grande mudança na atividade farmacológica e na potência de um composto; ademais, pode provocar mudanças no caráter farmacocinético, na rigidez molecular e também alteração da força de interação entre o composto e o respectivo alvo biológico (WILLIAMS; LEMKE, 2002).

Atualmente, muitos produtos naturais são glicosilados, visto que os açúcares participam de uma variedade de funções biológicas. Estudos de relação estrutura-atividade deste tipo de compostos têm chamado atenção significativa (NOGUEIRA et al., 2009). Um exemplo de fármaco de sucesso é a digoxina (Figura 9), um glicosídeo primeiramente isolado de *Digitalis lanata*, amplamente utilizado no tratamento de cardiopatias. OSW-1 (Figura 9) é um glicosídeo colestano isolado de *Ornithogalum saundersiae*, o qual exibe potencial atividade citotóxica frente a diversas linhagens de células tumorais. QS-21 (Figura 9), um glicosídeo triterpeno purificado a partir de *Quillaja saponaria* e algumas espécies de *Ilex* spp., está atualmente sob investigação clínica como adjuvante em vacina (SILVEIRA et al., 2011; GU; ZHAO; GUO, 2013).

Figura 9: Exemplos de produtos naturais glicosilados com atividade biológica: Digoxina, QS-21 e OSW-1.

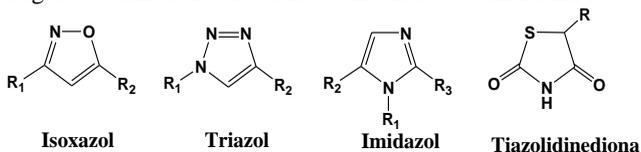


Dados os exemplos anteriores, pode-se dizer que produtos naturais glicosilados podem apresentar potencial farmacológico, o que os torna fortes candidatos para o desenvolvimento de fármacos (Figura 9) (GU; ZHAO; GUO, 2013).

Anéis heterocíclicos estão amplamente presentes nas mais diversas classes de fármacos, mundialmente conhecidos. A figura 10 mostra exemplos destes anéis. Alguns estudos de relação estrutura-atividade (REA) mostram a importância de compostos heterocíclicos, os quais apresentam atividades farmacológicas diversas, tais como anti-hipertensiva, antiviral, antitumoral, antifúngica, anti-inflamatória,

antidepressiva, analgésica e antimicrobiana (MELO et al, 2006; KUMAR et al, 2011).

Figura 10: Anéis heterocíclicos encontrados em fármacos

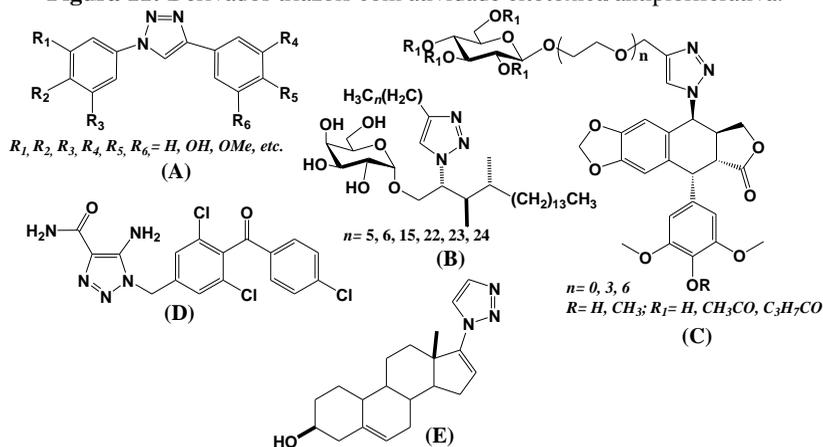


Anéis triazóis são estruturas heteroaromáticas, pertencentes à classe dos azóis (anéis heterocíclicos nitrogenados). São de origem exclusivamente sintética, e, até o momento, não há relatos de anéis triazóis encontrados na natureza (KOLB; SHARPLESS, 2003; MELO et al, 2006).

No cenário de compostos com potencial atividade anticâncer, alguns trabalhos na literatura apresentam síntese e atividade citotóxica e/ou antiproliferativa de alguns derivados triazóis, sendo eles derivados semi-sintéticos ou obtidos por síntese total, glicosilados ou não. Pagliai e colaboradores (2006) obtiveram, por síntese total, derivados triazóis do resveratrol (composto A, figura 11), utilizando a química combinatória como estratégia para a obtenção de variadas moléculas (PAGLIAI et al, 2006). Alguns compostos apresentaram moderada atividade antiproliferativa em concentrações acima de 100,0 nM. Outro trabalho desenvolvido por Lee e colaboradores (2007) mostrou a síntese de derivados triazóis de α -galactosilceramida (composto B, figura 11), um agonista de linfócitos T killer. Estes linfócitos liberam citocinas tais como INF- γ e interleucina-4 (IL-4), as quais acredita-se serem importantes na atividade antitumoral. Os derivados obtidos foram capazes de ativar a liberação de IL-4 em concentrações de 32,0 ng/mL (LEE et al., 2007). Zi e colaboradores (2013) obtiveram compostos análogos à podofilotoxina (compostos C, figura 11), os quais exibiram boa atividade citotóxica contra 5 linhagens de células tumorais. O composto mais ativo da série apresentou atividade em doses que variaram de 0,59 à 2,90 μ M (ZI et al, 2013). O composto carboxiamidotriazol (composto D, figura 11) está em fase clínica I de teste e apresenta atividades antimetastática, antiangiogênica e antiproliferativa (KOHN; LIOTTA, 1990; KOHN; SANDEEN; LIOTTA, 1992; SOLTIS et al., 1996). O composto E (Figura 11) foi sintetizado após planejamento racional, e apresenta atividade

antitumoral com alta seletividade para células neoplásicas de próstata (MELO et al., 2006).

Figura 11: Derivados triazóis com atividade citotóxica/anti-proliferativa.



Dentre as diferentes metodologias descritas para a síntese do anel triazol, destaca-se a "Click Chemistry"; uma reação estereoespecífica de cicloadição entre um alcino terminal e uma azida orgânica catalisada por sais de cobre, com formação de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (KOLB & SHARPLESS, 2003; ARAGÃO-LEONETI et al, 2010; KUMAR et al, 2011). A "click chemistry" tem se destacado como uma nova estratégia sintética para a conjugação de moléculas funcionalizadas e na preparação de bibliotecas de compostos (KOLB; SHARPLESS, 2003; TAYLOR; MACCOSS; LAWSON, 2013). Sua aplicação tem sido explorada em todos os aspectos da descoberta de novos fármacos, desde a busca por protótipos pelo uso de química combinatória ou de moléculas específicas, até em pesquisas envolvendo proteômica e DNA, pelo uso de reações de bioconjugação (KOLB; SHARPLESS, 2003; KOSIOVA; KOVACKOVA; KOIS, 2007).

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido trabalhos centrados na obtenção de novos derivados de cucurbitacinas, de origem natural ou obtidos por modificação molecular. Recentemente, foi descrita a atividade citotóxica em linhagens tumorais de cucurbitacinas obtidas de *W. ebracteata*, bem como de análogos sintetizados através de modificações moleculares realizadas principalmente, nas posições 2 e 16 da di-hidrocurcubitacina B (MACHADO, 2011; LANG, et al, 2011; LANG, et al, 2012).

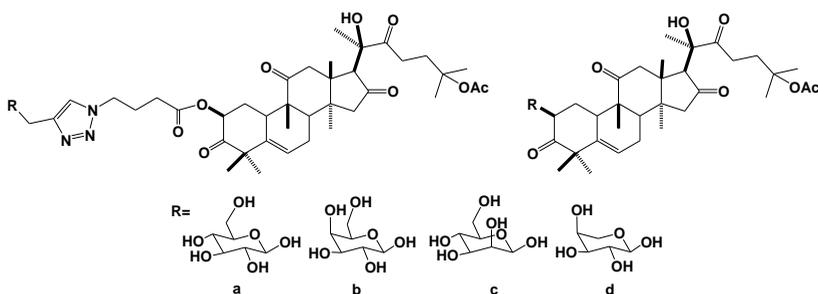
Dentre os compostos sintetizados foi possível observar que a atividade citotóxica estava diretamente relacionada com o grupo substituinte na posição C-2 da di-hidrocurbitacina B. Grupamentos tais como derivados aminotiazóis, bromo e amina aumentaram a atividade citotóxica, enquanto grupo acetila e carbamato diminuiu a atividade. Com base nestes resultados, uma avaliação mais detalhada dos substituintes em C-2 deve ser realizada para melhorar os estudos de relação estrutura-atividade dessa classe de compostos.

Derivados glicosilados inéditos também foram obtidos através de reações clássicas de *O*-glicosilação por Machado e colaboradores (2014), no entanto, os derivados foram obtidos em baixo rendimento, supostamente pela baixa nucleofilicidade da hidroxila em C-16. Tendo em vista estes resultados e também na busca por glicosídeos de cucurbitacinas, este trabalho se direcionou para a obtenção de derivados glicosilados contendo um grupamento espaçador entre as unidades monossacarídicas e a posição C-2 da di-hidrocurbitacina B. Além disso, em continuidade ao trabalho de Machado, foram propostos novos *O*-glicosídeos de di-hidrocurbitacina B. Em sequência a esses trabalhos, é nosso interesse dar continuidade à investigação do comportamento das cucurbitacinas, frente às reações de glicosilação, bem como a obtenção de novos derivados glicosilados, contendo um grupamento espaçador entre o anel cucurbitano e a unidade monossacarídica. Neste contexto, a obtenção de novos derivados triazóis, análogos à di-hidrocurbitacina B, se torna interessante na busca de compostos que venha a se tornar “composto líder” para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial atividade citotóxica e antitumoral.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Construir uma série de derivados semissintéticos de di-hidrocurbitacina B, aplicando, sistematicamente, diferentes estratégias de modificação molecular, na busca por um composto com potencial atividade citotóxica para células tumorais.



2.1.1 Objetivos específicos

- Obter derivados de di-hidrocurbitacina B contendo unidades monossacarídicas (glicose, galactose, manose e arabinose) diretamente ligados à posição 2.
- Obter derivados contendo unidades monossacarídicas (galactose, glicose), a partir da di-hidrocurbitacina B, utilizando o anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído, como grupo espaçador entre a unidade monossacarídica e a di-hidrocurbitacina B.
- Avaliar os compostos obtidos frente à atividade citotóxica sobre diferentes linhagens de células tumorais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

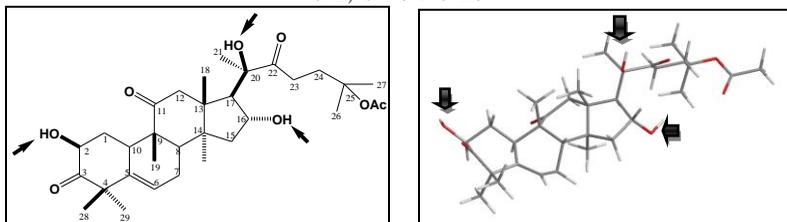
Com a perspectiva de avaliar a atividade citotóxica de glicosídeos de cucurbitacinas, o presente trabalho foi direcionado para a preparação de derivados glicosilados de di-hidrocurbitacina B contendo diferentes unidades monossacarídicas, via glicosilação direta ou com adição de um grupo espaçador. As reações de *O*-glicosilação ocorrem com a participação de três componentes essenciais: Um *doador* de unidade monossacarídica, o qual contém um grupo de saída na posição anomérica, e sofrerá um ataque por um *aceptor* dessa unidade, ou seja, uma molécula que possui uma hidroxila que promoverá o ataque nucleofílico. O *aceptor*, então, receberá o *doador*, formando assim um *O*-glicosídeo. As reações de glicosilação dependem essencialmente de *promotores*, que facilitam a saída do grupo abandonador e o ataque nucleofílico por parte do *aceptor*.

Nesse sentido, esta seção foi dividida em: (i) síntese de aceptores derivados da di-hidrocurbitacina B; (ii) síntese de doadores de unidade monossacarídica; (iii) reações de *O*-glicosilação e (iv) síntese de derivados triazóis glicosilados.

3.1 SÍNTESE DE ACEPTORES DERIVADOS DE DI-HIDROCUCURBITACINA B.

O material de partida, di-hidrocurbitacina B (DHB), foi isolado de raízes dessecadas de *Wilbrandia ebracteata* de acordo com metodologia descrita (LANG et al., 2011). As raízes foram adquiridas comercialmente pela empresa Lohmann Ltda. estabelecida no município de Nova Petrópolis/RS.

Figura 12: Estruturas da DHB em 2D e 3D com destaque para hidroxilas em C-2, C-16 e C-20.

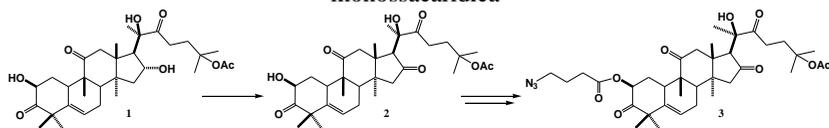


A DHB é um triterpeno composto de 32 carbonos, 8 oxigênios e 46 hidrogênios, dos quais 3 são ácidos (hidroxílicos). Destas hidroxilas,

uma encontra-se ligada a um carbono quartenário (C-20) enquanto as duas restantes estão localizadas no anel A (C-2) e anel D (C-16) (Figura 12). A hidroxila em C-20 não é passiva de realizar ataque nucleofílico, possivelmente pela presença de uma metila ligada ao mesmo carbono, a qual promove um impedimento estérico (SMITH; MARCH, 2007).

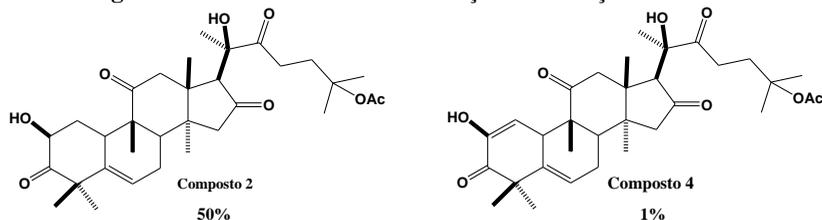
Considerando o objetivo de obter glicosídeos em C-2, tanto via glicosilação direta, quanto pelo uso de um grupo espaçador, foram preparados dois diferentes derivados aceptores de DHB (Esquema 1).

Esquema 1: Rota sintética para síntese de aceptores de unidade monossacarídica



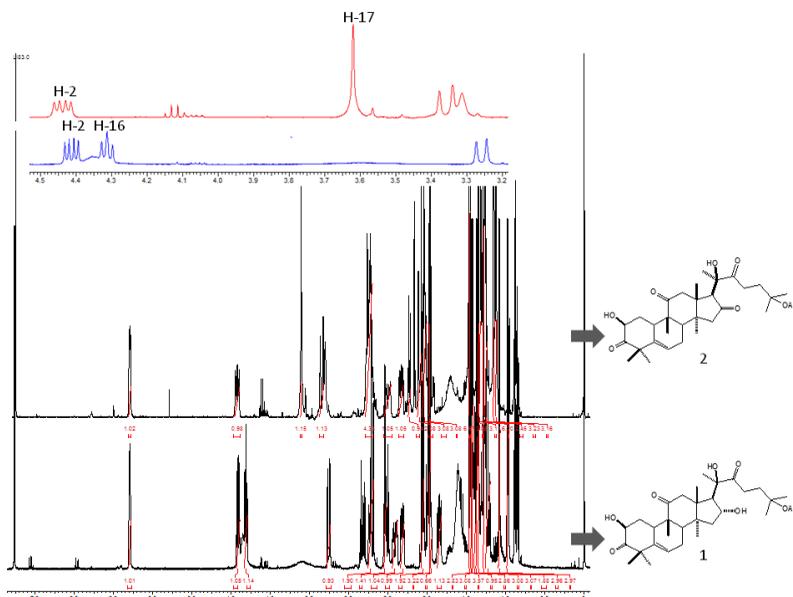
Inicialmente foi preparado o composto **2**, o qual foi utilizado nas reações de glicosilação direta. Assim, a DHB foi submetida à reação de oxidação na presença de clorocromato de piridínio (PCC) e BaCO₃ como tampão, à temperatura ambiente por 3 horas (LANG et al. 2012). A reação foi acompanhado por CCD, a partir da qual, após três horas de reação, foi possível observar a formação de dois compostos e completo desaparecimento do material de partida. Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna utilizando gel de sílica (40-63 µm). O composto majoritário obtido foi a di-hidrocurbitacina B oxidada seletivamente na posição C-16 (composto **2**), com rendimento de 50%. Como subproduto, obteve-se o derivado diosfenol **4**, com rendimento de 1%, produto decorrente da oxidação da hidroxila em C-2 (Figura 13).

Figura 13: Produtos formados na reação de oxidação com PCC.

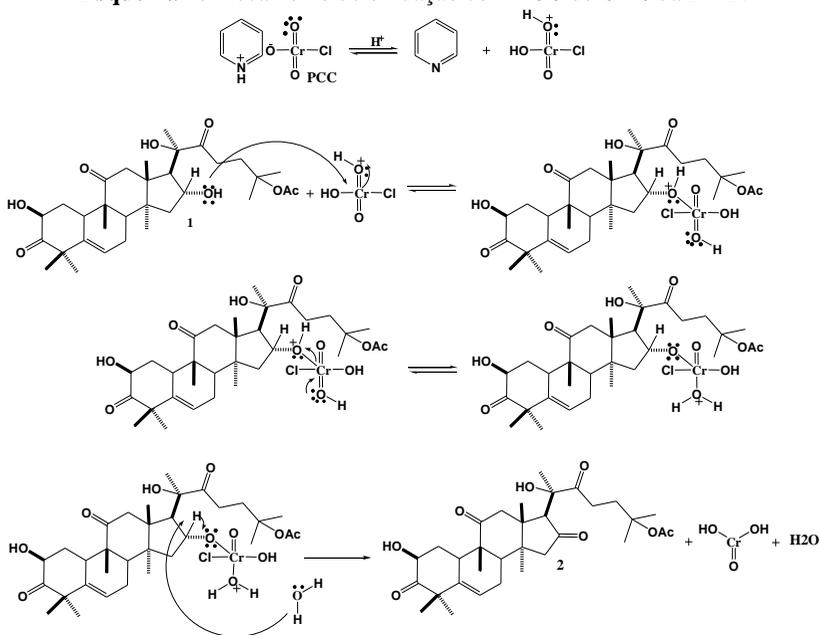


O composto **2** foi confirmado pelo espectro de RMN ^1H , o qual observou-se a ausência do sinal em δ 4,31 do pseudo-triplete correspondente ao hidrogênio em C-16, o qual apresentava uma constante de acoplamento $J = 7$ Hz com H-17. O sinal do hidrogênio em C-17 é observado no espectro como um simpleto em δ 3,62 no produto oxidado, já que não acopla mais com o hidrogênio vizinho em C-16 (Figura 14). O composto **4** foi confirmado por co-cromatografia com amostra autêntica e com a utilização de diferentes agentes de revelação, dentre os quais o cloreto férrico, que permite visualizar a presença de hidroxila enólica (LANG, 2012).

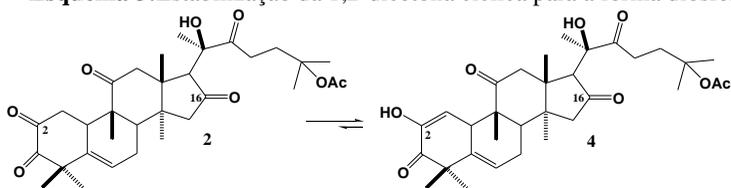
Figura 14: Espectros de RMN ^1H completos comparando material de partida **1** (500 MHz, CDCl_3) e produto **2** (400 MHz, CDCl_3).



O mecanismo de reação ocorre com a formação de um intermediário éster de cromato que com posterior reação com o álcool e eliminação do hidrogênio, leva a formação do grupamento cetona (Esquema 2). Dentre os subprodutos da reação, encontra-se o ácido crômico, o qual é neutralizado com BaCO_3 (TOJO; FERNANDES, 2006).

Esquema 2: Mecanismo de oxidação com PCC de C-16 da DHB.

O α -cetol do anel A da di-hidrocurbitacina B também é passível de oxidação, com formação de uma 1,2-dicetona cíclica, a qual é mais estável na forma de diosfenol (Esquema 3) (TROST; DONG; VANCE, 2010).

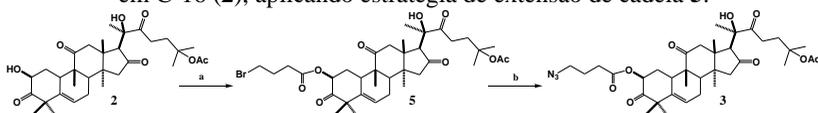
Esquema 3: Estabilização da 1,2-dicetona cíclica para a forma diosfenólica.

Na sequência, o derivado azida **3**, contendo uma extensão de cadeia em C-2, foi preparado em duas etapas de síntese, tendo como material de partida o composto **2** (Esquema 4).

A primeira etapa envolve a reação de acilação do derivado **2** na presença de cloreto de 4-bromobutirila, N, N, dimetilaminopiridina (DMAP) e piridina (LANG et al., 2012). A reação ocorreu à temperatura ambiente por três horas, acompanhada por CCD, onde é possível

observar a formação de um produto mais apolar. Após o desaparecimento completo do material de partida, a piridina e o DMAP foram eliminados do meio reacional através de extração com solução de HCl 0,1 N, e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto **5** foi purificado através de cromatografia em coluna de gel de sílica, com rendimento de 61%.

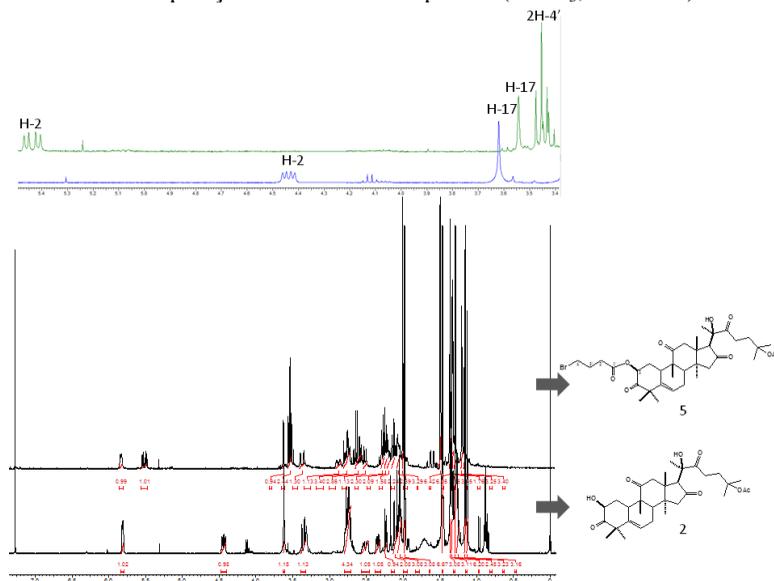
Esquema 4: Síntese do derivado azida **3** a partir do derivado da DHB oxidada em C-16 (**2**), aplicando estratégia de extensão de cadeia **5**.



- a) Cloreto de 4-bromobutirila, py, DMAP, DCM, rt, 3 horas.
b) NaN_3 , DMF, MW, 7'; P= 150W; 70°C

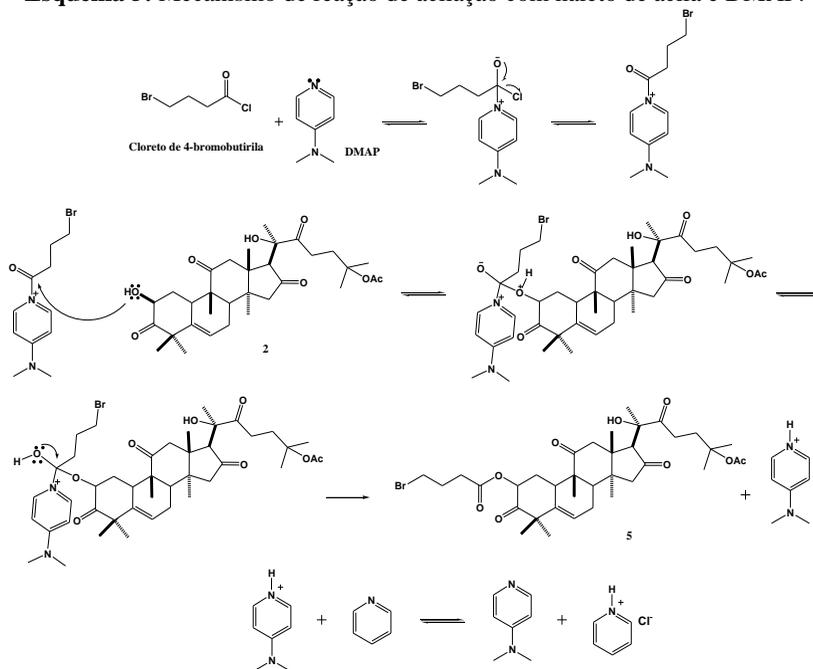
O espectro de RMN ^1H do produto mostra o deslocamento do duplo duplete referente ao hidrogênio geminal ao éster formado em C-2, de δ 4,44 para δ 5,45. Também é possível observar o tripleto do metileno ligado ao átomo de bromo em δ 3,45 ppm além dos sinais dos outros metilenos da cadeia butirila entre δ 2 e 3 (Figura 15).

Figura 15: Espectro de RMN ^1H do produto (CDCl_3 ; 300 MHz) em comparação com material de partida (CDCl_3 ; 400 MHz).



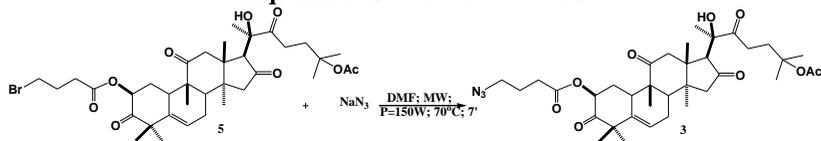
O mecanismo se dá conforme demonstrado no esquema 5. O DMAP, o qual possui um grupo N, N-dimetilamino, atua como doador de elétrons para a porção piridínica, aumentando a nucleofilicidade desta. Ao término da reação, a piridina atua como base auxiliar, desprotonando e regenerando o catalisador (XU, et al., 2005).

Esquema 5: Mecanismo de reação de acilação com haleto de acila e DMAP.



O bromo na posição terminal da cadeia adicionada em C-2 atua como um bom grupo abandonador, o qual pode ser facilmente substituído por uma azida quando submetido a reação com azida de sódio (Esquema 6).

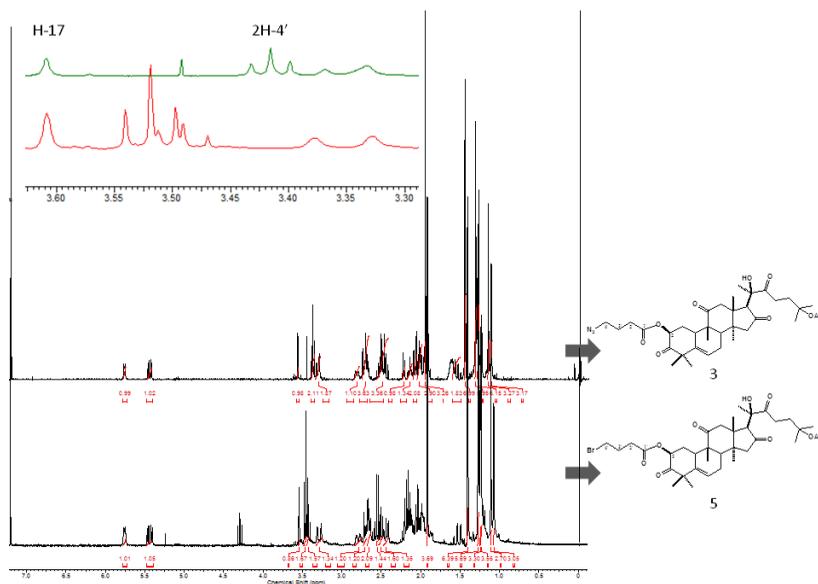
Esquema 6: Síntese do derivado 3.



A reação ocorreu em tubo reacional com frasco fechado e selado, sendo irradiada em de reator micro-ondas por sete minutos, a 70°C na potência máxima de 150W (ODLO; HOYDAHL; HANSEN, 2007). No perfil cromatográfico, observou-se que mesmo após três irradiações de sete minutos, o produto permanecia com o mesmo Rf do material de partida, gerando dúvida quanto ao sucesso da reação. Ainda assim, o produto foi extraído com acetato de etila e purificado em coluna de gel de sílica, para a remoção do sal de azida de sódio. O rendimento do composto puro foi de 78%.

O espectro de RMN ^1H não apresentou mudança significativa em relação ao material de partida, exceto pelo deslocamento do tripleto referente ao metileno C-4', de δ 3,52 para δ 3,42, no espectro do produto (Figura 16).

Figura 16: Espectro de RMN ^1H , comparando material de partida 5 e produto 3. Em destaque, o blindamento do tripleto referente ao metileno C-4'.



A formação da azida foi confirmada por infravermelho e por RMN ^{13}C do produto. No espectro de IV, evidenciou-se uma banda forte em 2098 cm^{-1} (BARBOSA, 2007) (Figura 17). Além do aparecimento da banda característica de azida no espectro de infravermelho, foi possível observar o deslocamento do carbono C-4' ligado à azida, (δ_{C}

50,4) no produto, em relação ao material de partida (δ_C 32,5), no qual ele se encontrava ligado ao bromo, através do espectro de RMN ^{13}C (Figura 18).

Figura 17: Espectro infravermelho do composto **3**.

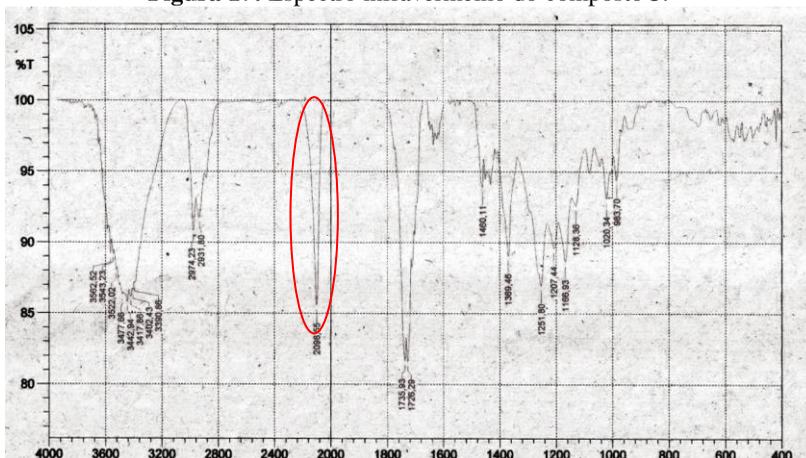
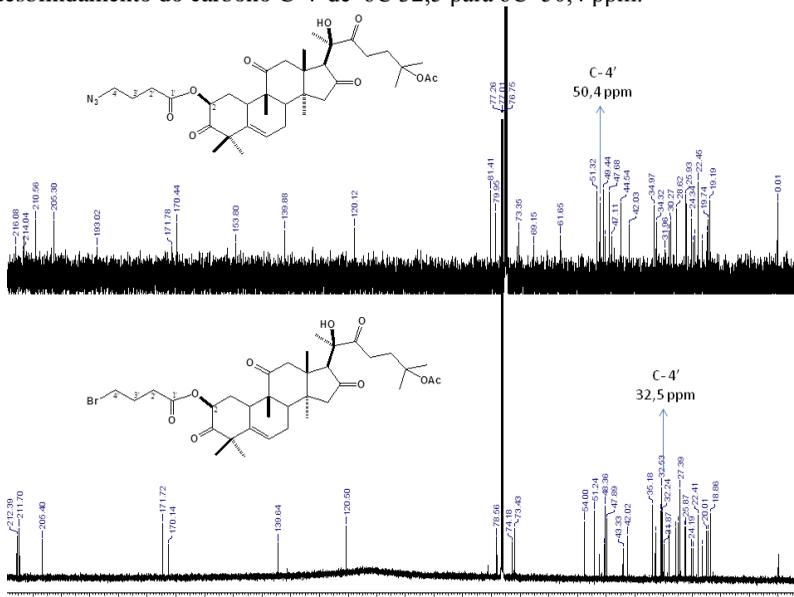


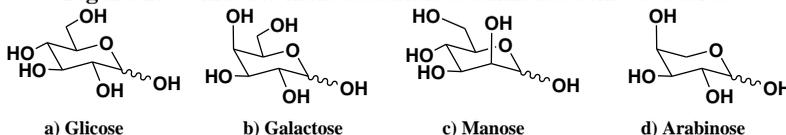
Figura 18: Espectro completo de RMN ^{13}C do material de partida **5** (75 MHz, $CDCl_3$), e produto **3** (100 MHz, $CDCl_3$), mostrando o desblindamento do carbono C-4' de δ_C 32,5 para δ_C 50,4 ppm.



3.2 . SÍNTESE DE DOADORES MONOSSACARÍDICOS

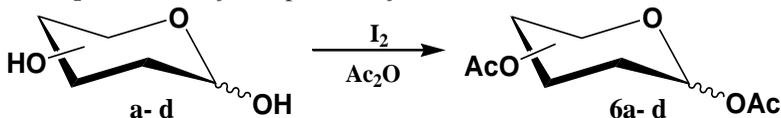
Para as reações de glicosilação, foram selecionadas diferentes unidades monossacarídicas com o objetivo de avaliar a influência das mesmas sobre a atividade biológica. Nesse sentido, foram preparados doadores monossacarídicos a partir de D-glicose, D-galactose, D-manose e L-arabinose (Figura 19). A preparação dos doadores teve em vista a funcionalização em C-1 nos derivados brometos e tricloroacetimidato, para reações de *O*-glicosilação, e com alcino terminal, para reações de cicloadição.

Figura 19: Unidades monossacarídicas utilizadas como doadores.



Inicialmente, os materiais de partida D-glicose, D-galactose, D-manose e L-arabinose, obtidos comercialmente, foram submetidos à reação de proteção com anidrido acético, catalisada por iodo molecular, à temperatura ambiente por três horas (Esquema 7).

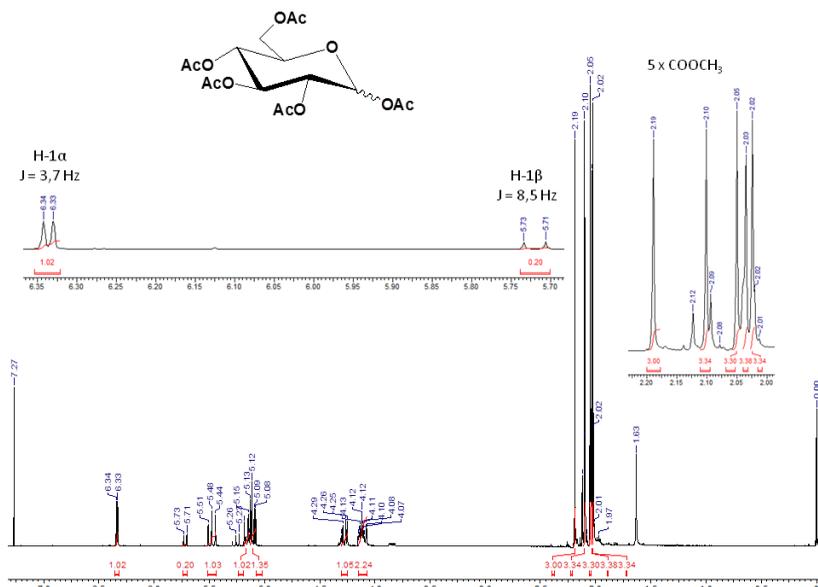
Esquema 7: Reação de peracetilação das unidades monossacarídicas.



Em um primeiro momento, a reação é caracterizada por uma suspensão de cor castanha clara, pelo fato do material de partida não se solubilizar em anidrido acético. A medida que o produto peracetilado é formado, a solução apresenta coloração castanha escura. Através da análise da CCD, foi possível observar o completo desaparecimento do material de partida e a formação de apenas um produto.

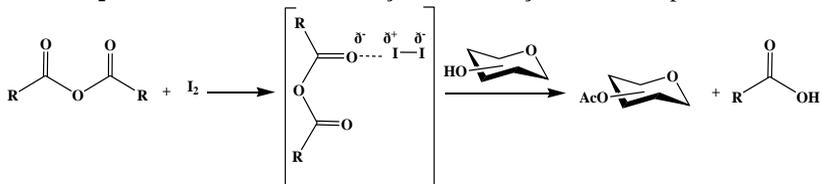
O produto formado foi confirmado por RMN¹H, o qual evidencia a presença de 5 simpletos, para glicose, galactose e manose, e 4 simpletos para arabinose, na região de δ 2,0 ppm. Os simpletos possuem integração para 3 hidrogênios, evidenciando as metilas dos grupamentos acetilas (Figura 20). Ainda pelo espectro, com base na integração dos sinais, é possível observar a presença de ambos os anômeros α e β , em uma proporção de 5:1, no caso da glicose.

Figura 20: Espectro de RMN ^1H do composto 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- α - β -D-glicopirranose (**6a**). Em destaque, os sinais para H ligados em C-1 dos anômeros α e β os simples dos 5 grupamentos acetilas.



O uso de iodo molecular apresenta algumas vantagens ao ser empregado como catalisador de reações de acetilação, como baixo custo e toxicidade, quando comparado com outros promotores amplamente utilizados, como, por exemplo, a piridina. O mecanismo de acetilação se dá pelas características de polarizabilidade do iodo, que por ser um átomo volumoso e pouco eletronegativo, interage com centros ricos em elétrons do anidrido acético (Esquema 8).

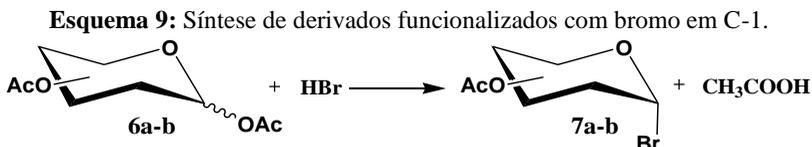
Esquema 8: Mecanismo de reação de acetilação catalisada por iodo.



Os derivados **6a-d** foram obtidos em rendimentos quase quantitativos, não sendo necessária a purificação, facilitando as próximas etapas da síntese. Estes derivados acetilados são intermediários-chave para a preparação tanto dos doadores contendo bromo na posição anomérica, quanto para a síntese dos derivados tricloroacetimidato.

3.2.1. Síntese de derivados funcionalizados com bromo em C-1

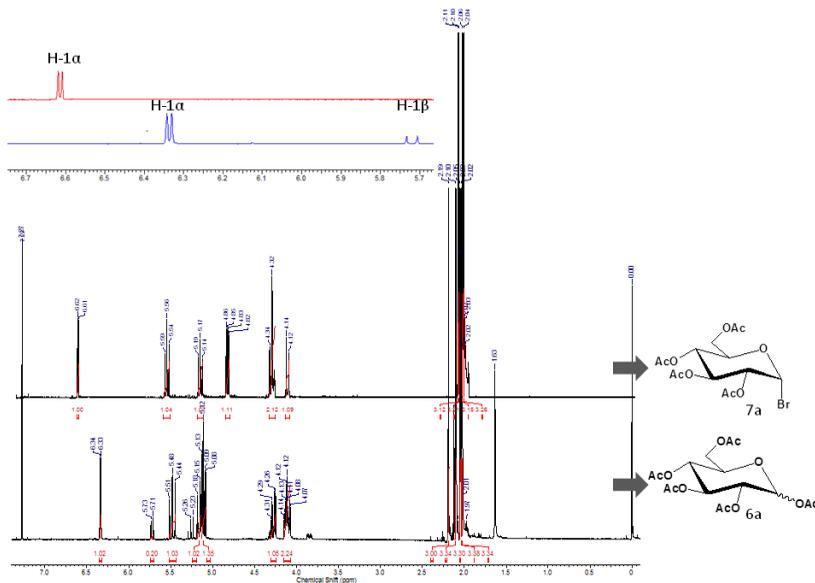
A síntese dos doadores contendo bromo em C-1 **7a** e **7b** foi realizada apenas com os intermediários de glicose e galactose (**6a-b**), através de reação com excesso de HBr (33% em ácido acético), utilizando ácido acético glacial como solvente, à temperatura ambiente (Esquema 9). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, onde foi possível observar a formação de um produto majoritário mais apolar em relação ao material de partida após quatro horas de reação, além de outros subprodutos. Este composto foi isolado em coluna cromatográfica de gel de sílica, com rendimentos entre 70% para o derivado de glicose e 60% para o derivado de galactose.



A estrutura do produto foi confirmado por RMN ¹H (Figura 21), o qual observou-se o desblindamento do hidrogênio anomérico de δ 6,33 para δ 6,62 em relação ao precursor. A constante de acoplamento $J_{1,2} = 3,9$ Hz evidenciou a formação apenas do isômero α [valor de acoplamento vicinal para hidrogênios axial-equatorial: 1-7 Hz (geralmente entre 2 e 3 Hz) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007)], que pode ser explicado pelo efeito anomérico.

A reação de bromação na posição anomérica ocorre por meio de simples troca ou deslocamento, na qual o bromo, mais reativo, desloca o acetato da posição anomérica, resultando em dois produtos: ácido acético e o brometo de 2,3,4,6-penta-*O*-acetil- α -piranose (DAVIS; FAIRBANKS, 2002).

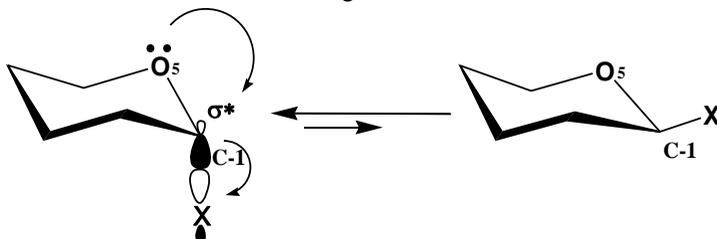
Figura 21: Espectro de RMN ^1H completo do material de partida **6a** e produto **7a**. Em destaque, o desblindamento de H-1 do produto em relação ao H-1 do composto **6a**.



Diversos fatores podem explicar a preferência pelo isômero α , quando um átomo eletronegativo (Br^- , Cl^-) ocupa a posição C-1 do carboidrato. É verdadeiro afirmar que a estabilidade termodinâmica do isômero α é maior que a do isômero β . Também é possível dizer que a distância das ligações O5/C-1 e C-1/X são mais curtas, quando comparados com os comprimentos das ligações C/O encontradas em éteres comuns. No entanto, a ligação O5/C-1 é mais curta no anômero α que no β . Esse comportamento é independente de solvente (SILVA, 2011).

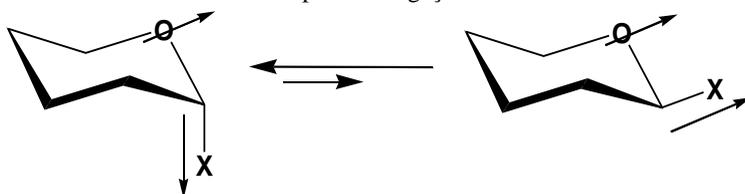
Uma das hipóteses mais aceitas para a explicação do efeito anomérico é a da hiperconjugação, a qual pares de elétrons isolados de O5 são deslocados para o orbital antiligante $\sigma^*\text{C-1/X}$, por conta do átomo eletronegativo X atrair para si o par de elétrons da ligação química entre C-1 e X. Este movimento seria melhor favorecido na posição axial do que na equatorial, como mostra o esquema 10 (SILVA, 2011; DAVIS; FAIRBANKS, 2002).

Esquema 10: Transferência de um par de elétrons de O5 para o orbital antiligante σ^* .



Outra hipótese bastante plausível é a da repulsão entre os vetores dos momentos dipolo entre O5 e X no carbono anomérico. A repulsão é reduzida quando o átomo eletronegativo está na posição axial em relação à equatorial, sendo assim, mais estável (Esquema 11) (SILVA, 2011; DAVIS; FAIRBANKS, 2002). De qualquer forma, as duas hipóteses seguem no mesmo sentido.

Esquema 11: Repulsão no confômero β pelo alinhamento dos vetores de momentos dipolo das ligações O/ C-1/ X.



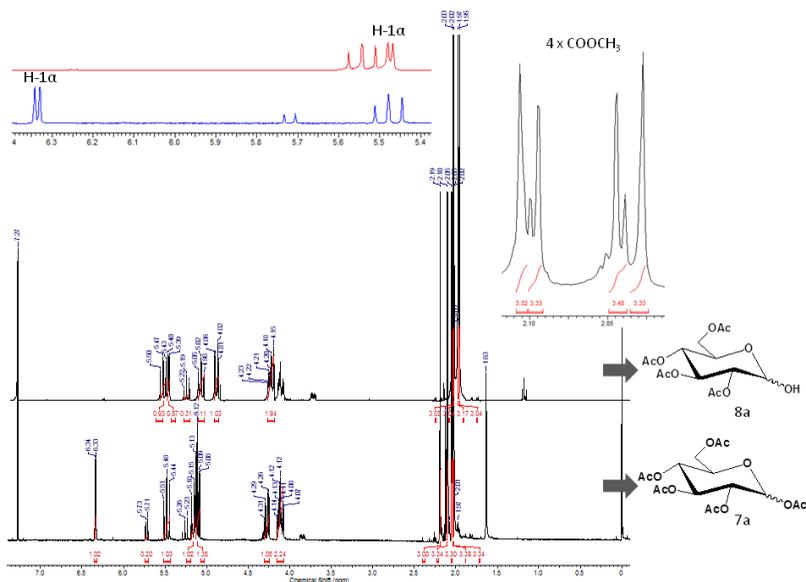
3.2.2. Síntese de derivados funcionalizados com tricloroacetimidato em C-1

Os derivados tricloroacetimidato foram preparados com as unidades monossacarídicas a, b, c e d (Figura 19) partindo dos derivados peracetilados descritos anteriormente (**6a-d**). Estes derivados foram descritos inicialmente por Schimdt e Kinzy e passaram a ser utilizados amplamente a partir da década de 90, visto que possuem melhor estabilidade em relação aos doadores funcionalizados com bromo e cloro, além de proporcionarem bons rendimentos nas reações de glicosilação (SCHMIDT; KINZY, 1992). Primeiramente, a hidroxila anomérica foi desprotegida seletivamente com acetato de hidrazina, em DMF, à temperatura ambiente. A reação foi mantida sob agitação por 16 horas. O perfil cromatográfico apresentou dois produtos mais polares em

relação ao material de partida; este, por sua vez, não foi totalmente consumido. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica e foram obtidos com rendimentos de 79% para o derivado **8a**, 60% para **8b**, 66% para **8c** e 90% para **8d**.

A confirmação do intermediário foi realizada por RMN ^1H (Figura 22). No caso do derivado glicose, foi possível observar 4 simpletos na região de δ 2,0 para derivados de glicose, galactose e manose e três simpletos na mesma região, para o derivado de arabinose, confirmando a perda de um grupamento acetila. Os sinais em δ 5,40 e 4,82 (sobreposto) correspondem aos hidrogênios da posição anomérica, os quais se tornaram mais blindados em relação ao precursor. A integração dos sinais mostra a formação de isômeros do intermediário, com proporção $\alpha:\beta$ de 3:1, no caso da glicose. Os isômeros não foram purificados, sendo utilizados em mistura na próxima etapa.

Figura 22: Espectros de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) comparando o produto **8a** e o precursor **6a**. Em destaque, o blindamento de H-1 α em relação ao material de partida e os quatro simpletos referentes aos grupamentos acetilas.



Escoffier e colaboradores (1975), acompanhou a reação de desproteção da posição anomérica por espectroscopia de RMN, pela qual foi possível observar que o primeiro grupamento acetato eliminado

no carboidrato é o da posição anomérica. Acredita-se que o grupo amino livre do acetato de hidrazina atue como um nucleófilo, que ataca o carbono carbonílico do grupo acetila da posição anomérica, seguindo da formação do hemiacetal, conforme apresentado no esquema 12 (ESCOFFIER; GAGNAIRE; UTILLE, 1975).

Esquema 12: Mecanismo de reação proposto para desproteção da hidroxila anomérica com acetato de hidrazina.

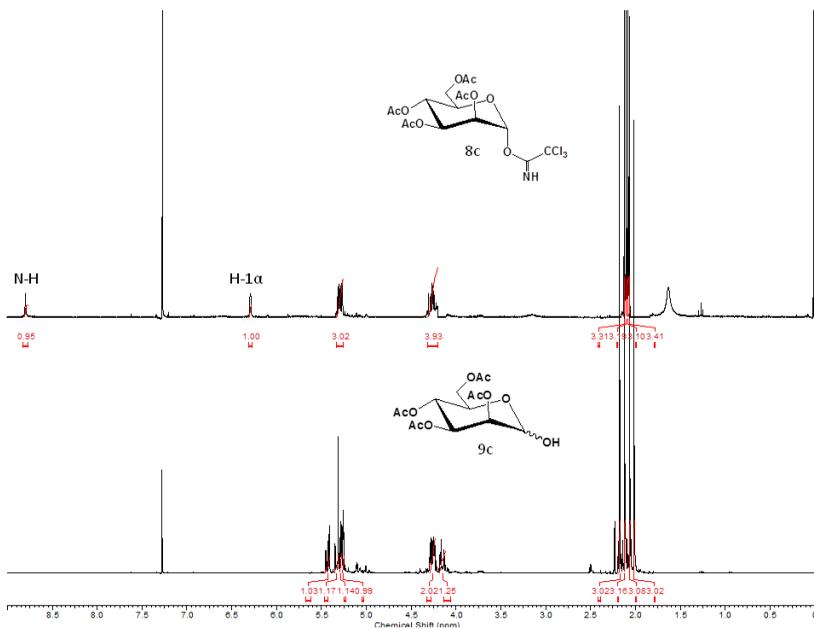


Os intermediários obtidos (**8a-d**), por sua vez, foram submetidos à reação com tricloroacetnitrila e base DBU, em banho de gelo e sob atmosfera inerte, para a obtenção dos doadores contendo o grupo abandonador tricloroacetimidato. Após uma hora de reação, foi possível observar a formação de um produto mais apolar em relação ao material de partida. Os produtos **9a-d** foram purificados por cromatografia em coluna e foram obtidos com rendimentos em torno de 80% para **9a** e **9b** e 30% para **9c** e **9d**.

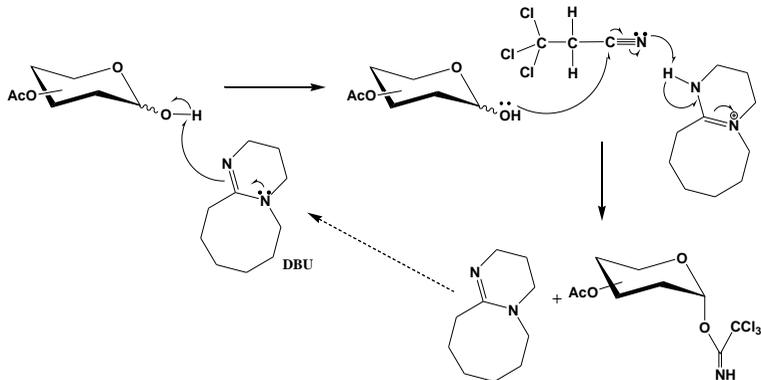
No espectro de RMN ^1H (Figura 23), é possível observar a presença de um simpleto na região de δ 8,59 atribuído ao hidrogênio ligado ao nitrogênio, presente no grupo tricloroacetimidato. Além disso, o sinal correspondente ao hidrogênio da posição anomérica se torna mais desblindado em relação ao material de partida. O valor da constante de acoplamento $J_{1,2} = 1,5$ Hz indica a formação apenas do isômero alfa, fato que pode ser explicado pela base utilizada na reação. Bases fortes, tais como DBU levam à formação do produto α , termodinamicamente mais estável, enquanto bases fracas induzem a formação do produto β , cinético (MILJKOVIC, 2009).

A reação ocorre conforme esquema 13, utilizando DBU, uma base forte, que retira próton do grupo hidroxila do açúcar, favorecendo o ataque nucleofílico ao reagente tricloroacetnitrila. Uma vez que o álcool ataca o carbono da nitrila, o DBU protonado cede seu próton para este grupo, formando o tricloroacetimidato (MILJKOVIC, 2009).

Figura 23: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz). Comparação entre precursor **8a** e produto **9a**

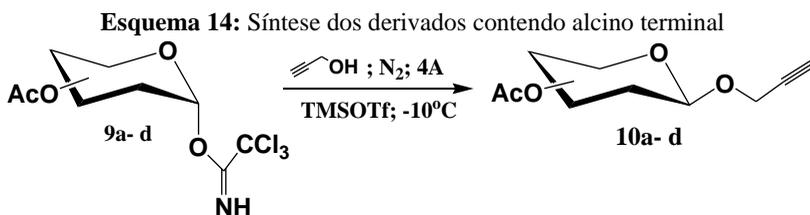


Esquema 13: Mecanismo de reação de formação do grupamento tricloroacetimidato utilizando DBU.



3.2.3. Síntese de derivados monossacarídicos contendo alcino terminal

Os derivados contendo alcino terminal também foram preparados a partir das unidades monossacarídicas **a-d** (Figura 19). Os compostos **10a-d** foram obtidos reagindo os precursores **9a-d** com álcool propargílico na presença do promotor TMSOTf, a -10°C (Esquema 14). A reação ocorreu em meio inerte por uma hora, quando o perfil cromatográfico apresentou um produto mais apolar em relação ao precursor. Mesmo deixando a reação por mais tempo, o material de partida não se convertia totalmente em produto. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica. Os rendimentos variaram entre 80-94% entre os derivados **10a, b e d**, exceto o derivado de manose (**10c**), o qual o rendimento foi de 70%.



A confirmação da estrutura dos produtos foi realizada através RMN ^1H e infravermelho. O espectro de infravermelho (Figura 24) apresentou uma banda em 2117 cm^{-1} correspondente à ligação $\text{C}\equiv\text{C}$ e uma banda em 3273 cm^{-1} , que corresponde à ligação C-H do alcino terminal [(PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

Através do espectro de RMN de ^1H , é possível observar um duplete em δ 4,40 com integração para 2 hidrogênios, correspondente ao metileno C-7 e um triplete em δ 2,49 correspondente ao hidrogênio do alcino terminal. A constante de acoplamento $J_{1,2} = 6,8\text{ Hz}$ do hidrogênio em C-1 mostra a formação de β -glicosídeo (Figura 25). Não se observou formação de α glicosídeos no caso da glicose, galactose e arabinose.

Figura 24: Espectro de infravermelho do derivado **10d**.

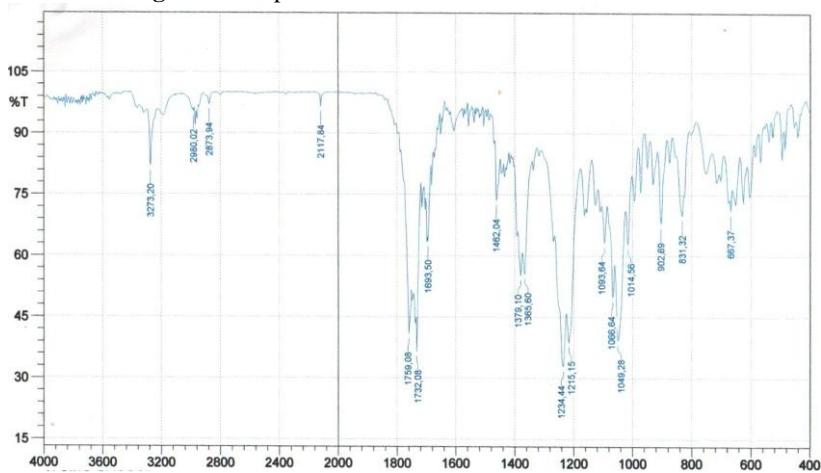
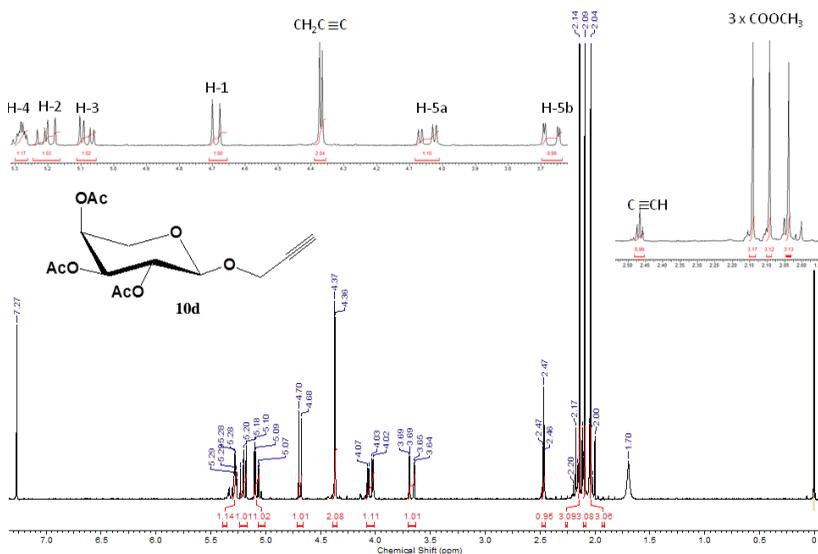


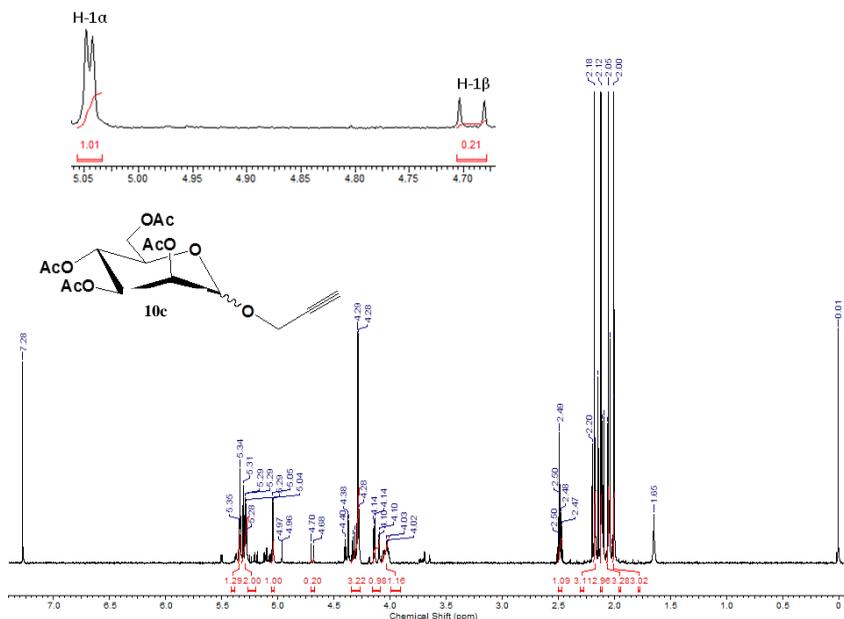
Figura 25: Espectro de RMN ¹H do derivado 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-propargil-β-*L*-arabinopiranosídeo (**10d**).



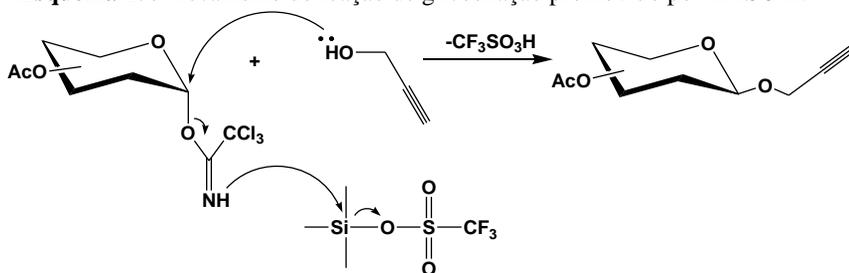
A manose apresentou tanto o isômero α quanto o β , na proporção de 5:1 respectivamente, evidenciados pelas constantes de

acoplamento $J_{1,2} = 1,8$ e $J_{1,2} = 6,8$ Hz (Figura 26). Acredita-se que a formação dos dois anômeros no derivado de manose tenha ocorrido pela preferência de assumir a posição α ao invés de β , como observado nos outros açúcares, pois β -manosídeos são termodinamicamente desfavoráveis, em parte devido à repulsão da configuração 1,2-cis e parte pelo efeito anomérico (TOSHIMA; TATSUTA, 1993). Além disso, não há participação do grupo vizinho de C-2 na manose, como ocorre nos outros monossacarídeos utilizados neste trabalho.

Figura 26: Espectro do composto 2,3,4,6-*O*-acetil-1-propargil- α - β -D-manopiranosídeo (**10c**).



O mecanismo da reação envolve a retirada de elétrons do grupo de saída do açúcar pelo TMSOTf, favorecendo o ataque da hidroxila do álcool propargílico na posição anomérica (Esquema 15) (KALIKANDA; LI, 2011).

Esquema 15: Mecanismo de reação de glicosilação promovido por TMSOTf.

3.3. REAÇÕES DE *O*-GLICOSILAÇÃO DIRETA

Uma vez devidamente preparados os doadores e aceptores o trabalho se direcionou para um estudo de reações de glicosilação direta em C-2. A literatura descreve diferentes estratégias para a obtenção de *O*-glicosídeos de forma sintética. As metodologias utilizadas neste trabalho estão listadas na tabela 1:

Tabela 1: Metodologias testadas para *O*-glicosilação.

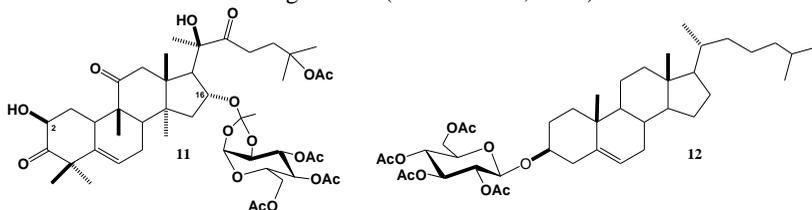
Metodologia	Promotor	Referência
1) Reação de Köenigs-Knorr	Ag ₂ O	ATOPKINA; DENISENKO, 2009; 2011
2) Reação de Helferich	Hg(CN) ₂ ; HgBr ₂	KLINOTOVA et al., 1997; CARVALHO et al., 2003; GAUTHIER, et al., 2011 SHANMUNGASUNDARAM;
3) Reação com glugal	Montmorilonita K10	BOSE; BALASUBRAMANIAN, 2002
4) Reação de <i>O</i> -glicosilação de Michael	NaH	REN et, 2011
5) Reação com açucares peracetilados	BF ₃ OEt ₂	SALVADOR et al.1995; KEYARI; POLT, 2010;
6) Reação com Imidatos	BF ₃ OEt ₂ ; AgOTf; TMSOTf	KLUGE; SICKER, 1996; CHENG et al., 2005

Fonte: Elaborada pelo autor

3.3.1. Reação de Koenigs-Knorr

Dentre as metodologias mais antigas, e ainda assim, mais utilizadas para a glicosilação de produtos naturais, destaca-se a metodologia descrita por Wilhelm Koenigs e Eduard Knorr (1901), conhecida com Koenigs-Knorr. A metodologia consiste no uso de doadores glicosídicos funcionalizados em C-1 com haletos (Br e Cl são os mais utilizados) e catalisados por sais ou óxido de prata (Ag_2O ; $AgOTf$; Ag_2CO_3 , etc.). Resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa (MACHADO, 2011), através de glicosilação em C-16 da di-hidrocurcubitacina **11**, e glicosilação do colesterol **12** (Figura 27), encorajaram o uso desta metodologia para a *O*-glicosilação em C-2.

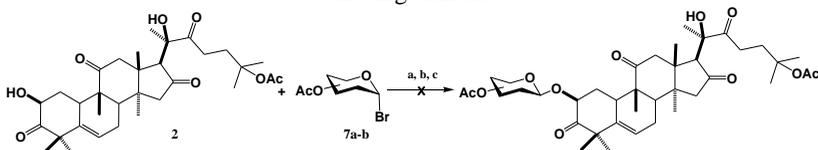
Figura 27: Glicosídeos obtidos por *O*-glicosilação através da metodologia de Koenigs-Knorr (MACHADO, 2011).



Fonte: Adaptado de MACHADO, 2011.

Nesse sentido, os doadores bromados de glicose e galactose **7a** e **7b** foram utilizados como doadores e o derivado **2** foi o aceptor. Conforme a metodologia empregada, o aceptor **2** foi submetido a agitação com doador **7a** ou **7b** e o promotor Ag_2O em 1,2-dicloroetano, ao abrigo da luz, atmosfera inerte e à temperatura ambiente (Esquema 15) (ATOPKINA; DENISENKO, 2009; 2011).

Esquema 16: Reação de *O*-glicosilação do derivado 2 via metodologia de Koenigs-Knorr.



As reações conservavam o mesmo perfil cromatográfico por muitas horas, sendo, muitas vezes, deixadas sob agitação por alguns dias. Como consequência disso, produtos de degradação do doador

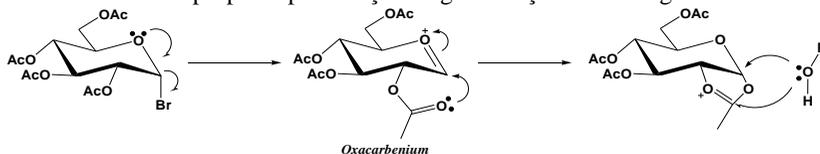
monossacarídico eram observados na análise cromatográfica, em consequência da umidade do meio reacional, mesmo sob atmosfera de N_2 e com uso de peneira molecular. Ainda que alterações de relações equivalentes de doador e promotor, bem como tempo de reação tenham sido realizadas, não houve êxito na formação da ligação glicosídica (Tabela 2).

Tabela 2: Condições reacionais testadas para reação de Koenigs-Knorr:

	Condição	Doador/ Equivalentes	Promotor/ Equivalentes	Tempo (horas)
a)	$C_2H_4Cl_2$; N_2	gli/galac/3	Ag_2O /3	41
b)	$C_2H_4Cl_2$; N_2	galac/3	Ag_2O /6	48
c)	$C_2H_4Cl_2$; N_2	galac/6	Ag_2O /6	24

No mecanismo de reação proposto para a Koenigs-Knorr, quando a posição C-2 do carboidrato está protegida com acetila, este grupo participa na estabilização do íon *oxacarbenium*, o qual é formado logo após a saída do grupo abandonador em C-1 (Esquema 17). O nucleófilo pode atacar então por ambas as faces. Os resultados obtidos anteriormente por nosso grupo de pesquisa (MACHADO; 2011) em relação à glicosilação do colesterol e da posição 16, via formação do ortoéster, e a não obtenção de glicosídeos em C-2 sugerem que possa haver um impedimento na hidroxila em C-2, possivelmente pela presença da cetona em C-3.

Esquema 17: Estabilização do íon *oxacarbenium* por efeito do grupo vizinho. Mecanismo proposto para reação de glicosilação de Koenigs-Knorr.



3.3.2. Reação de Helferich

Em vista da não obtenção de derivados glicosilados de DHB utilizando metodologia de Koenigs-Knorr, optou-se por utilizar a reação de glicosilação de Helferich. Descrita em 1933 por Burckhardt Helferich e Ernst Schmitz-Hillebrecht, ela consiste em uma modificação da reação de Koenigs-Knorr. Nesta metodologia, faz-se uso de solventes mais polares e de promotores contendo mercúrio, sendo $Hg(CN)_2$ e

HgBr₂ os mais utilizados. Nesse contexto, os doadores **7a** e **7b** foram novamente utilizados, sendo submetidos à reação com o aceptor **2** e o promotor Hg(CN)₂ (KLINOTOVA et al., 1997; GAUTHIER, et al., 2011). Novamente, conforme esquema 18 e tabela 3, diferentes condições foram testadas, dentre elas diferentes relações equivalentes dos reagentes, solvente, sob resfriamento, aquecimento convencional e por irradiação em reator micro-ondas. Porém, nenhuma das tentativas levaram à formação dos *O*-glicosídeos desejados.

Diante das dificuldades apresentadas, optou-se por utilizar outro sal de mercúrio como promotor. O doador **7a** foi então submetido à reação com HgBr₂ em 1,2-dicloroetano, sob refluxo (82-84°C) (CARVALHO et al., 2003). O perfil cromatográfico era de difícil visualização, apresentando arraste, mesmo após extração da reação com solução aquosa de EDTA 3%. O doador monossacarídico degradava com facilidade, sendo necessário adicionar mais quantidade deste ao longo da reação. As reações foram interrompidas após degradação persistente dos doadores e a não visualização de alteração no perfil cromatográfico em relação ao aceptor. A presença de diversos produtos dificultou o isolamento de quantidade significativa dos produtos.

Esquema 18: Diferentes metodologias utilizando sais de mercúrio para reação de *O*-glicosilação de Helferich.

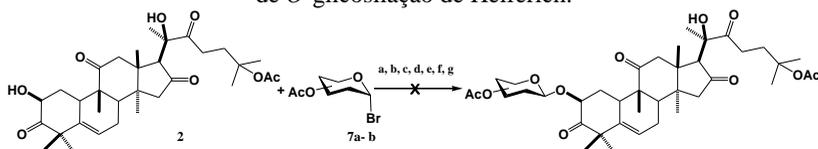


Tabela 3: Condições reacionais para reação de Helferich com Hg(CN)₂:

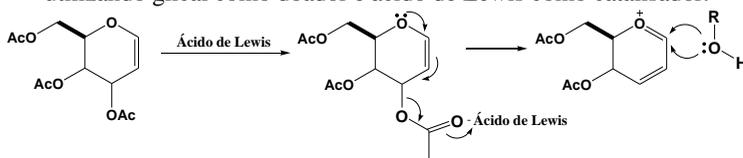
	Condição	Doador/ Equivalente	Promotor/ Equivalente	Tempo (Horas)
a)	-10 ⁰ C, MeCN, N ₂	galac/3	Hg(CN) ₂ /3	24
b)	Refluxo, MeCN	gli/5,46	Hg(CN) ₂ /2,25	24
c)	Refluxo, MeNO ₂	gli/1	Hg(CN) ₂ /1	17
d)	MW, MeNO ₂ , N ₂	gli/1,34	Hg(CN) ₂ /1	1/2
e)	MW, MeNO ₂	gli/1,34	Hg(CN) ₂ /1	1/2
f)	C ₂ H ₄ Cl ₂ , refluxo	gli/2,0	HgBr ₂ /2,2	2
g)	C ₂ H ₄ Cl ₂ , refluxo	gli/2,0	HgBr ₂ /2,5	48

3.3.3. Reação com Montmorilonita K10

Diante das dificuldades em sintetizar os compostos desejados a partir dos doadores e promotores anteriormente abordados, foram realizadas tentativas de glicosilação utilizando o derivado 3,4,6- Tri-*O*-acetil-D-glicol, obtido comercialmente. Nessa metodologia, utiliza-se o promotor Montmorilonita K10 (Mont K10), o qual é uma argila modificada, de caráter ácido, amplamente utilizada na Química Verde. As montmorilonitas possuem diferentes formas de atuação, tanto como ácido de Lewis quanto ácido de Bronsted, com a possibilidade de catalisar os mais variados tipos de reação, tais como condensação, eliminação, adição, formação de éteres, etc. (KAUR; KISHORE, 2012).

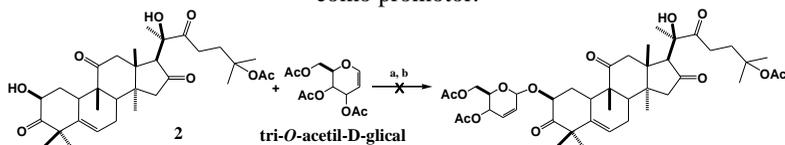
A *O*-glicosilação utilizando glicol e Mont K10 ocorre através de rearranjo de Ferrier, conforme esquema 19. Após o rearranjo, o nucleófilo é capaz de atacar íon *oxacarbenium* formado (FERRIER; ZUBKOV, 2004).

Esquema 19: Mecanismo de reação de glicosilação e rearranjo de Ferrier utilizando glicol como doador e ácido de Lewis como catalisador.



A metodologia escolhida primeiramente fez uso de irradiação por reator de micro-ondas, em frasco aberto, utilizando tolueno como solvente, a 70°C (SHANMUNGASUNDARAM; BOSE; BALASUBRAMANIAN, 2002). Foram realizadas algumas irradiações de cinco minutos até não se observar alteração no perfil cromatográfico. A reação foi testada também em aquecimento convencional (esquema 20). Ambas as reações apresentaram perfil cromatográfico complexo, onde foi possível observar grande quantidade de subprodutos provenientes da degradação do doador.

Esquema 20: Metodologias de *O*-glicosilação testadas utilizando Mont K10 como promotor.

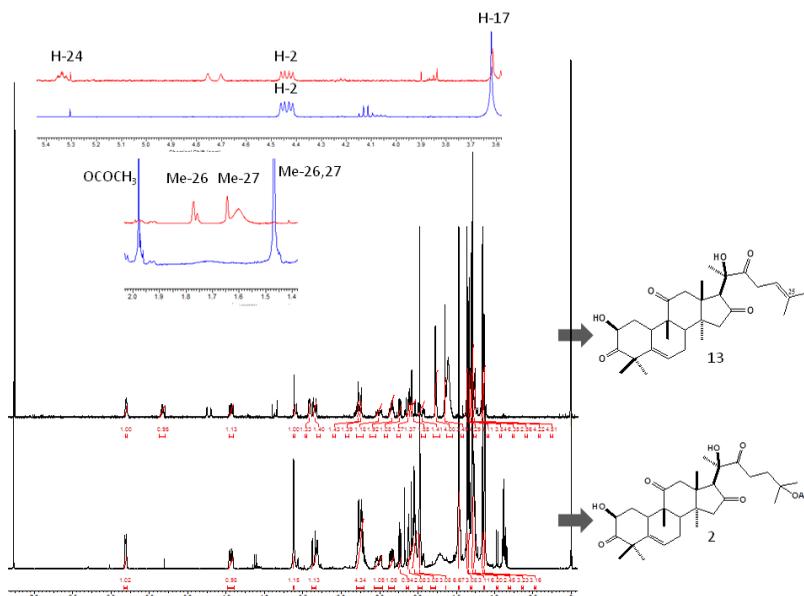


a) MW (frasco aberto), tolueno, 70°C, 4x 5', depois 3x 10', P=150W.

b) Refluxo, DCM, 53 horas.

Um produto foi isolado em pequena quantidade e, após análise do espectro de RMN ^1H (Figura 28), observou-se que se tratava de um derivado do aceptor. O espectro não apresentou sinais característicos de açúcar, porém alguns sinais se mostraram diferentes em comparação com o espectro do material de partida. A análise mais detalhada do espectro mostrou um multipletto em δ 5,34 com integração para um hidrogênio e ausência do simpleto em δ 1,99 referente à metila da acetila terciária da cadeia lateral. Os simpletos das metilas ligadas geminalmente a C-25 aparecem mais desblindadas, em δ 1,77 e 1,64 em relação ao material de partida, onde estas mesmas metilas são encontradas em δ 1,47.

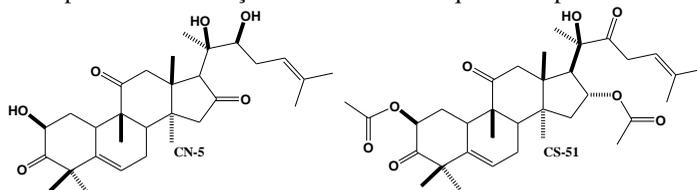
Figura 28: Espectros de RMN ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz) comparando material de partida (2) e produto obtido (13). Em destaque, o multipletto de H-24 e o desblindamento das metilas 26 e 27.



Ainda analisando o espectro, observou-se o simpleto em δ 3,60 referente ao hidrogênio em C-17, mostrando que a hidroxila em C-16 permanecia oxidada. A comparação dos dados espectrais deste produto com os sinais de compostos obtidos anteriormente em nosso grupo de pesquisa (LANG, 2012) mostraram que o multipletto em δ 5,34 possui a mesma multiplicidade aparente encontrada para o composto natural

CN-5 e o derivado semi-sintético CS-51 (Figura 29), localizados em δ 5,21 e 5,34, respectivamente. Este multipletto é referente à insaturação entre C-23 e C-24 da cadeia lateral.

Figura 29: Compostos obtidos por Lang (2012) os quais possuem o mesmo perfil de insaturação na cadeia lateral que o composto **13**.



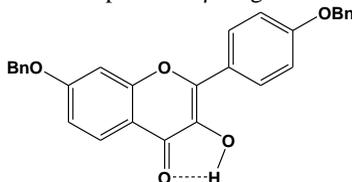
Dessa forma, foi possível deduzir que o produto obtido nas reações com Mont K10 foi proveniente da eliminação da acetila do acceptor **2**. A literatura relata reações de eliminação de acetilas terciárias catalisadas por montmorilonita K10, porém, estas ocorrem a temperaturas acima de 150°C (PALOMBI et al., 1998; KISHORE, 2012). Da mesma forma que ocorre a deacetilação da aglicona, é possível que ocorra deacetilação no glucal, o que explicaria a formação dos diversos produtos de degradação.

3.3.4. Reação em meio básico

As metodologias de Köenigs-Knorr e Helferich, anteriormente testadas, são reações clássicas utilizadas por muitos autores para a obtenção de glicosídeos de compostos naturais, inclusive triterpenóides (KLINOTOVA et al., 1997; ATOPKINA; DENISENKO, 2009; 2011; GAUTHIER et al., 2011).

Diante dos resultados anteriormente apresentados e ainda na busca por uma metodologia para *O*-glicosilação, procurou-se entender a reatividade da hidroxila em C-2 do acceptor **2**. Ren e colaboradores (2011), na tentativa de realizar a síntese total de um flavonol (Resokaempferol- 3- β -D-glicosídeo), relata não ter obtido sucesso utilizando as metodologias de Köenigs-Knorr e triflatos. O artigo sugere que os baixos rendimentos, ou a não obtenção de glicosídeos utilizando promotores ácidos, poderia ser devido à uma forte interação intramolecular entre o hidrogênio do álcool e a carbonila vizinha em um intermediário da síntese do flavonol, representado na figura 30.

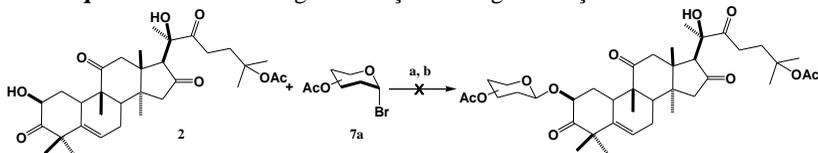
Figura 30: Interação intramolecular entre o hidrogênio de hidroxila com carbonila ligada ao carbono vizinho em precursor da síntese do Resokaempferol- 3- β -D-glicosídeo.



Fonte: Adaptado de REN et al, 2011.

Visto que o anel A da di-hidrocurcubitacina B possui o α -cetol, realizou-se uma metodologia de *O*-glicosilação em meio básico, de forma a tentar melhorar a reatividade da hidroxila em C-2. A reação ocorreu utilizando o doador **7a**, o aceptor **2** e NaH como promotor. A metodologia foi testada na presença e ausência de atmosfera inerte, em ambas, os reagentes ficaram sob agitação entre 18- 20°C por 12 horas (Esquema 21). O perfil cromatográfico mostrou a formação de muitos produtos e o aceptor não foi totalmente consumido.

Esquema 21: Metodologia de reação de *O*-glicosilação em meio básico



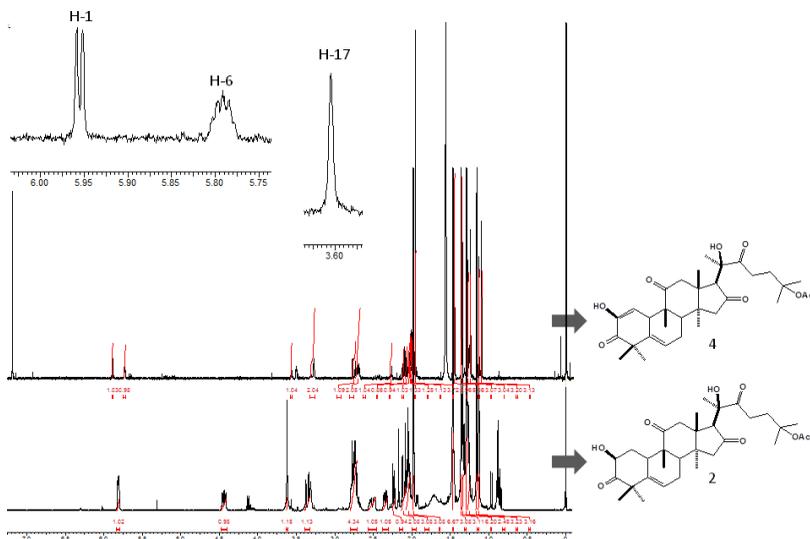
a) NaH, N₂, 18-20°C, DMF, 12 horas.

b) NaH, 18-20°C, DMF, 12 horas.

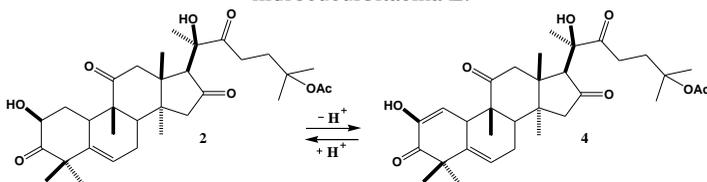
O isolamento de um produto mais apolar que o aceptor **2** foi analisado por RMN ¹H. O espectro não apresentou sinais característicos de açúcar, porém, apresentou um duplete em δ 5,95 com constante de acoplamento de 2,5 Hz, referindo-se ao hidrogênio ligado em C-1. O sinal referente ao hidrogênio ligado a C-2 não era observado no espectro. A posição C-16 continuou protegida, como pôde-se observar pelo simpleto do hidrogênio ligado a C-17 (Figura 31). O composto em questão possui o sistema diosfenol do anel A (composto **4**, esquema 3), o qual contém uma insaturação entre C-1 e C-2, tratando-se de um derivado da di-hidrocurcubitacina E, a qual também é isolada, porém em pequena quantidade, das raízes de *W. ebracteata*. Este produto foi obtido em função do meio básico da reação, o qual promoveu a perda do

hidrogênio ácido da hidroxila de C-2, e sua consequente enolização (Esquema 22). Frente a estes resultados, optou-se por não realizar outras metodologias de reação de *O*-glicosilação em meio básico.

Figura 31: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) comparando material de partida **2** e produto **4**



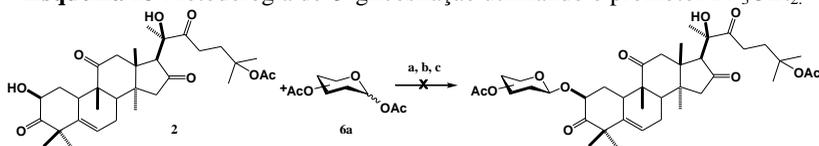
Esquema 22: Enolização em C-2 da di-hidrocurbitacina B em meio básico, gerando o padrão do anel A encontrado na cucurbitacina natural di-hidrocurbitacina E.



3.3.5. Reações utilizando BF_3OEt_2

A metodologia seguinte testada utilizou o intermediário da síntese dos doadores monossacarídicos, o composto **6a** para tentativa de *O*-glicosilação utilizando o promotor trifluoreterato de boro (Esquema 23).

Esquema 23 Metodologia de *O*-glicosilação utilizando o promotor BF_3OEt_2 .



- a) BF_3OEt_2 , N_2 , rt, DCM, 48 horas
 b) BF_3OEt_2 , N_2 , MeNO_2 ; 2,5', MW, 40°C; P=150 W
 c) BF_3OEt_2 , Et_3N , N_2 , rt, DCM, 24 horas

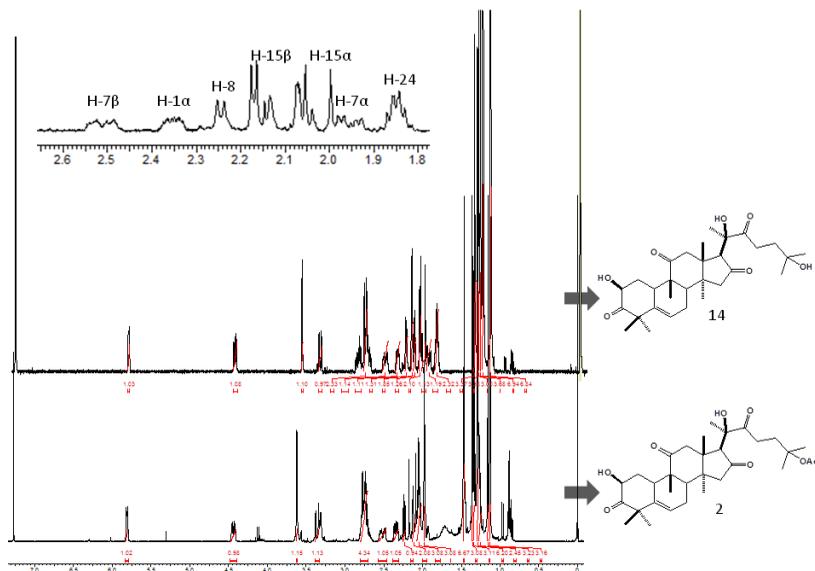
A reação ocorreu utilizando glicose peracetilada **6a** e o aceptor **2** em diclorometano, a temperatura ambiente e atmosfera inerte (Salvador et al., 1995). A reação permaneceu sob agitação por 48 horas não sendo evidenciado a formação de nenhum produto por CCD.

Esta mesma reação também foi realizada em reator micro-ondas, utilizando nitrometano como solvente. Irradiou-se por 2,5 minutos à 40°C, conforme Keyari e Polt (2010). Na análise do perfil da reação por CCD, foi possível observar alguns produtos, além do aceptor. Foi isolado uma pequena quantidade de um composto mais polar que o aceptor através de coluna cromatográfica de gel de sílica. No espectro de RMN ^1H , foi possível observar que o perfil dos sinais se mantinham iguais aos do precursor, exceto pela ausência da metila na região de 2,0 referente ao grupamento acetil em C-25 do aceptor **2** (Figura 32). A hidrólise da acetila pode ter ocorrido devido ao meio ácido da reação, promovido pelo catalisador. O composto obtido seria um derivado da cucurbitacina R.

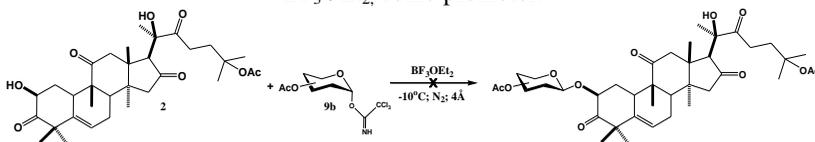
Lee e colaboradores (2001) relataram a obtenção de β -D-glicosídeos utilizando 2,5 equivalente de BF_3OEt_2 e 0,5 equivalentes de trietilamina. A metodologia foi então testada em diclorometano à temperatura ambiente e atmosfera de N_2 . A reação permaneceu por agitação por 24 horas, porém, não foi observado formação de nenhum produto.

Em uma última tentativa de *O*-glicosilação utilizando BF_3OEt_2 , optou-se por utilizar o doador **9b** seguindo a metodologia descrita por Kluge e Sicker em 1996 (Esquema 24). A reação ficou sob agitação, sob atmosfera inerte, por 40 horas, sendo que nas primeiras horas, esta foi resfriada a -10°C e depois deixada à temperatura ambiente. O produto observado novamente foi a cucurbitacina R oxidada em C-16.

Figura 32: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz) comparando material de partida **2** e produto **14**. Em destaque, a ausência do sinal referente à acetila terciária em δ 1,99 na cadeia lateral da DHB.



Esquema 24: Reação utilizando o derivado tricloroacetimidato como doador e BF_3OEt_2 como promotor.

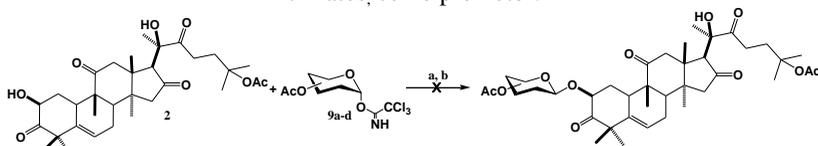


3.3.6. Reações com Triflatos

A reação com imidatos foi realizada a partir dos doadores **9a-d** e o aceptor **2**, utilizando sais de triflato como promotor. Primeiramente, utilizou-se TMSOTf como promotor (variando o número de equivalentes entre 0,46 a 1), a -10°C em diclorometano e atmosfera inerte. Quando o número de equivalentes do promotor foi superior a 0,86 foi possível observar na análise de CCD, a presença de alguns subprodutos de degradação do doador e novamente da cucurbitacina R oxidada em C-16 (composto **13**). Os produtos eram de difícil separação e não foi evidenciado o aparecimento dos derivados glicosilados desejados.

Em um outro momento, utilizou-se AgOTf (0,5 equivalentes) como promotor, como uma alternativa mais suave de catalisador. Porém, não ocorreu reação, mesmo tomando os cuidados necessários para a reação, como meio anidro, abrigo da luz e mesmo aumentando a equivalência de promotor para 1 e 1,5 equivalentes (Esquema 25).

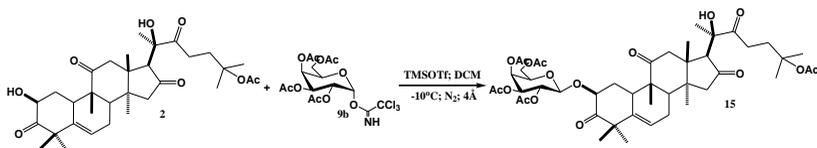
Esquema 25: Reação utilizando o derivado tricloroacetimidato como doador e triflato, como promotor.



- a) AgOTf, -10°C , 24h, N_2 , abrigo da luz, DCM
b) TMSOTf, -10°C , 24h, N_2 , abrigo da luz, DCM

Schmidt e Toepfer, em 1991 relataram sobre doadores mais reativos utilizando o "procedimento inverso" dos descritos para as reações de *O*-glicosilação com imidatos. Nesta referência, o acceptor é deixado sob agitação com o promotor, para posterior adição do doador glicosídico. Assim, realizou-se o procedimento conforme a referência em questão: o acceptor **2** foi colocado sob agitação com o promotor TMSOTf a -10°C e em atmosfera inerte por 30 minutos, antes da adição do doador **9b** (Esquema 26).

Esquema 26: Reação de *O*-glicosilação utilizando metodologia de imidatos com promotor TMSOTf.

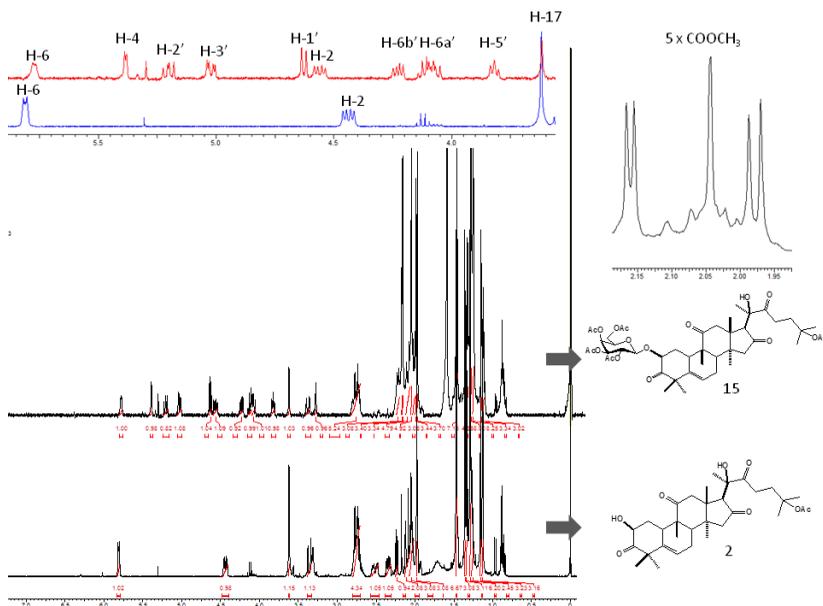


A reação ficou sob agitação por três horas quando foi possível observar por CCD o aparecimento de um produto mais apolar em relação ao precursor **2**. O composto foi então isolado por cromatografia em coluna contendo sílica fina e obtido como um sólido branco com 3% de rendimento.

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 33) revelou que o produto possuía 5 acetilas, conforme os sinais em δ 2,0. O sinal em δ 4,63 é atribuído ao hidrogênio do carbono anomérico, o qual possui uma

constante de acoplamento $J = 7,8$ Hz, indicando ser um β -glicosídeo. A integração dos sinais mostraram a presença de apenas uma unidade monossacarídica. Ainda analisando o espectro, observou-se que o simpleto em δ 3,60 indicando que a posição C-16 continuou oxidada. A reação foi repetida com os doadores **9a**, **9c**, e **9d**, porém, não houve formação de derivados glicosilados.

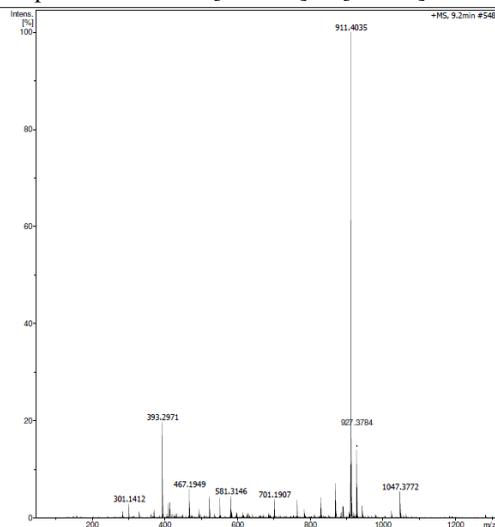
Figura 33: Espectro de RMN do composto **15** em comparação com material de partida **2**. Em destaque, sinais dos hidrogênios referentes ao monossacarídeo e 5 grupamentos acetila.



A confirmação da estrutura se deu também através de espectrometria de massas (ESI-TOF), a qual apontou, no espectro de íons positivos, um pseudo-íon molecular $[M + Na]^+$ de massa m/z 911,4035 para a fórmula $C_{46}H_{64}O_{17}Na$, com desvio de $-0,620$ mmu, indicando a fórmula molecular do composto $C_{46}H_{64}O_{17}$ (Figura 34)¹.

¹ Os espectros no modo negativo encontram-se no Apêndice.

Figura 34: Espectro de massas $[M + Na]^+$ e $[M + K]^+$ do composto **15**.



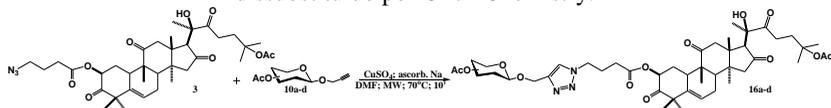
3.4. REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO PARA FORMAÇÃO DO ANEL 1,2,3-TRIAZOL-1,4-DISSUBSTITUÍDO

Com o objetivo de se obter os derivados contendo o grupo espaçador, o derivado azida de DHB (**3**) e derivados monossacarídeos contendo alcino terminal na posição anomérica (**10a-d**) foram submetidos a reação de cicloadição. Nesse sentido, a inserção de um anel triazol torna promissor visto que apresenta propriedades interessantes do ponto de vista químico, biológico e farmacológico. Ele não atua exclusivamente como um ligante passivo, mas também interage com alvos biológicos, através de ligação de hidrogênio e interações dipolo (KOLB; SHARPLESS, 2003).

A metodologia escolhida para a obtenção dos produtos em questão faz parte de um conjunto de reações conhecidas como "Click Chemistry": um termo introduzido em 2011 por Karl B. Sharpless, o qual propõe reações estereoespecíficas, simples, rápidas, que utilizam pouco solvente e proporcionam bons rendimentos do produto esperado. Nesse sentido, a formação do anel 1,2,3-triazol,1,4-dissubstituído ocorre através de uma cicloadição entre um alcino e uma azida terminal, sob irradiação por reator micro-ondas e catalizados por sal de cobre. (KOLB & SHARPLESS, 2003; ARAGÃO-LEONETTI et al, 2010; ODLO; HOYDAHL; HANSEN, 2007).

De acordo com a metodologia escolhida, realizou-se a cicloadição entre o derivado azida (**3**) e os derivados alcinos terminais (**10a-d**) na presença de ascorbato de sódio e sulfato de cobre, em DMF (Esquema 27). As reações ocorreram sob irradiação micro-ondas em tubo selado e fechado, por 10 minutos.

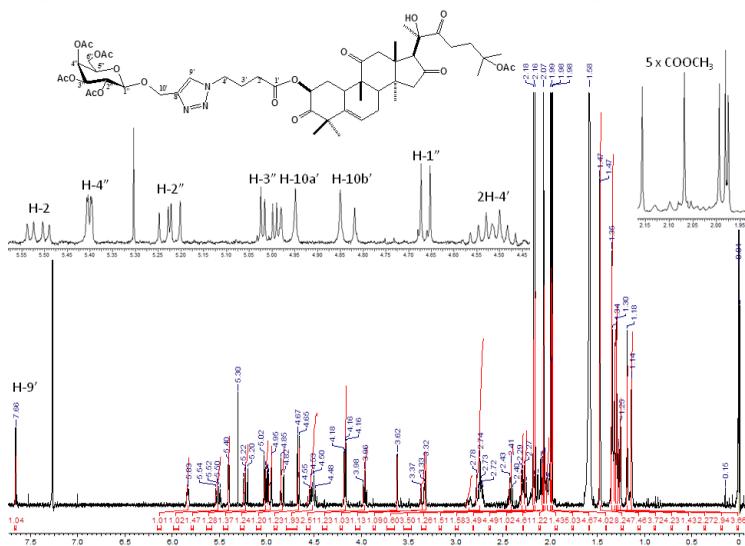
Esquema 27: Reação de cicloadição para obtenção do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído por Click Chemistry.



O perfil cromatográfico evidenciou a formação de um produto mais polar em relação aos materiais de partida. Após extração e secagem da fase orgânica, o produto predominante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica fina. Os produtos foram obtidos com rendimentos de 31% (**16a**, glicose), 38% (**16b**, galactose), 54% (**16c**, manose) e 15% (**16d**, arabinose).

Para todos esses derivados, o espectro de RMN ^1H (Figura 35) evidenciou o aparecimento de um simpleto na região de δ 7,66 com integração para 1. Este sinal corresponde ao hidrogênio presente no anel triazol.

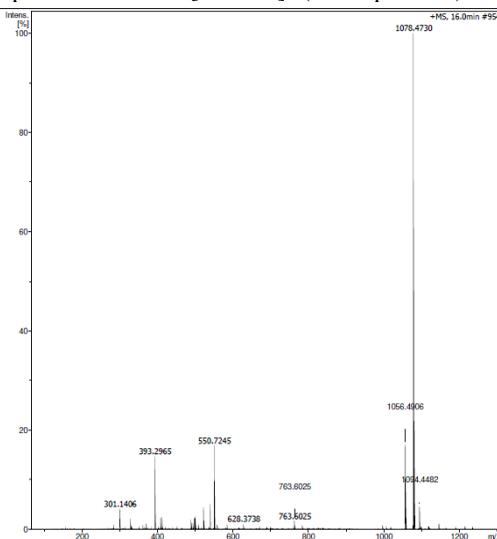
Figura 35: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz) do produto **16b**.



As constantes de acoplamento de H-1 (~7,5 Hz) das unidades monossacarídicas indicou a formação de β glicosídeos, com exceção do derivado de manose, o qual foram obtidos isômeros α e β .

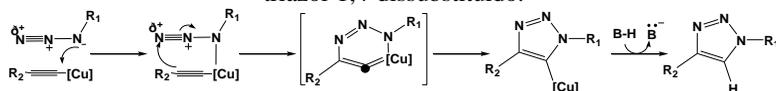
O espectro de massas de íons positivos apontou um pseudo-íon molecular $[M + Na]^+$ m/z 1078, 4730 para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Na$, com desvio de -0,597 mmu, indicando a fórmula molecular $C_{53}H_{73}N_3O_{19}$ (Figura 36).

Figura 36: Espectro de massas $[M + Na]^+$ (modo positivo) do produto **16b**.



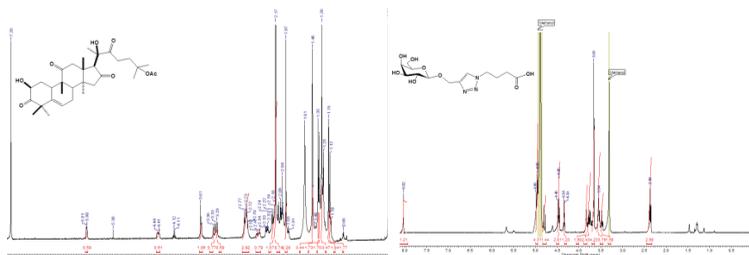
Embora o mecanismo de reação da formação do anel triazol não esteja totalmente elucidado, um mecanismo simplificado possibilita a explicação de etapas sequenciais. O cobre [Cu(I)] e o alcino terminal formam o acetileto de cobre, o qual forma um complexo com o nitrogênio nucleofílico da azida. O ataque do carbono do tipo β -vinilidênico do acetileto de cobre ao nitrogênio eletrofílico terminal da azida, forma a primeira ligação C-N, gerando um metalociclo instável. A contração do anel resulta na formação da triazolila de cobre, a qual sofre protonólise para formação do 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído (Esquema 28) (FREITAS et al., 2011).

Esquema 28: Mecanismo de reação simplificado da formação do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído.



Após a obtenção dos derivados triazóis peracetilados **16a-d**, seria necessário realizar a desproteção dos glicosídeos obtidos. Algumas metodologias foram testadas para a desproteção, ainda que a molécula apresentasse outros grupamentos acetato, além daqueles que protegiam a unidade monossacarídica. Primeiramente, optou-se por realizar desproteção através de tratamento com metóxido de sódio (1Mol.L^{-1}) em metanol até que a reação atingisse pH 9. A reação apresentou dois produtos cromatograficamente, os quais foram analisados por RMN ^1H , após interromper a reação com resina de troca iônica DOWNEX 50WX8-200 e separação por cromatografia em coluna. Os espectros mostraram que houve a quebra do éster da cadeia lateral em C-2, além da desproteção dos acetatos do monossacarídeo, gerando os compostos **2** e **17**. Não houve desacetilação da posição 25 da DHB (Figura 37).

Figura 37: Espectro de RMN ^1H (400 MHz; CDCl_3 e MeOD, respectivamente) dos produtos obtidos pela reação de desproteção com NaOMe.

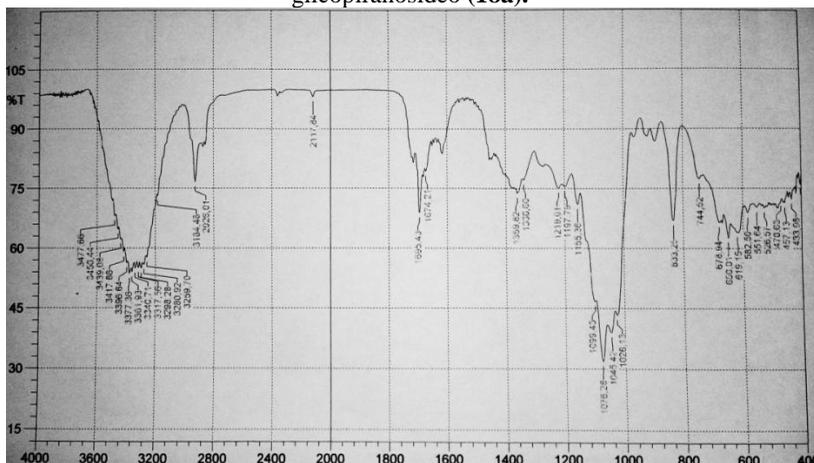


Frente a este resultado, foi necessário buscar por outras opções mais brandas para desproteção. Dessa forma, optou-se por realizar amonólise, utilizando solução de amônia (28-30%) e metanol na proporção de 1:1, porém, em poucos minutos de reação, houve formação dos produtos **2** e **17** citados anteriormente. Outras tentativas foram realizadas alterando a concentração de amônia em metanol: Soluções a 10%, 0,5% e 0,03% foram utilizadas, sendo que apenas a última não provocou a quebra do éster em C-2, no entanto, o material de partida se manteve intacto, mesmo após **3** dias de reação.

Visto que as reações de desproteção em meio básico não foram bem sucedidas, considerou-se utilizar uma solução de metanol contendo 0,1% de HCl concentrado. A reação permaneceu sob agitação por 24 horas, quando o perfil cromatográfico indicou a ausência de material de partida e a formação de diversos produtos de difícil separação.

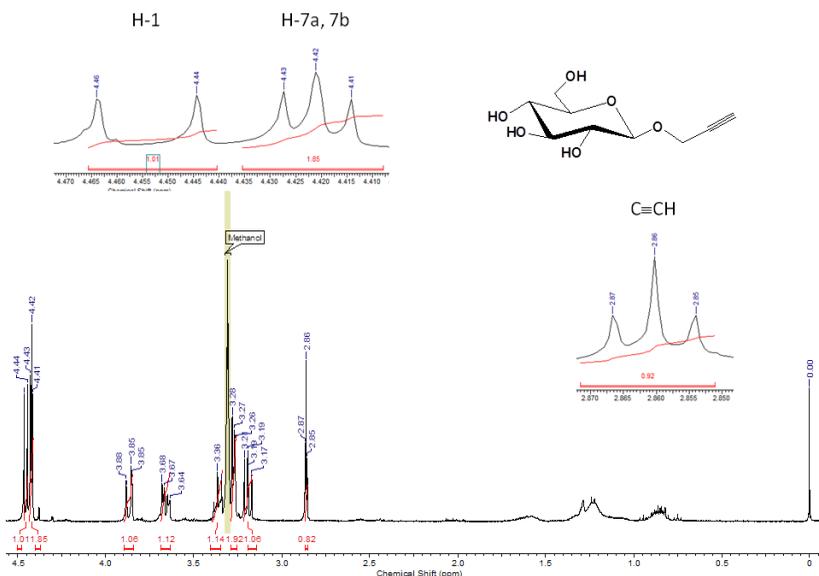
Os derivados glicosilados de DHB, contendo o anel triazol possuem outras regiões passíveis de hidrólise, o que poderia estar dificultando a obtenção dos derivados desprotegidos (uma vez que ocorre a quebra do éster em C-2). Portanto, na tentativa de contornar essa dificuldade, optou-se por desproteger os derivados contendo alcino terminal 10a-d antes de efetuar a reação de cicloadição. Nesse sentido, utilizou-se metóxido de sódio 1 Mol.L⁻¹ em MeOH (pH 9), como já discutido anteriormente. A reação permaneceu sob agitação “overnight” quando foi evidenciado o total consumo do material de partida. O espectro de infravermelho (Figura 38) não apresentou bandas na região de carbonilas. Em adição, a banda na região de 2117 cm⁻¹, representando a ligação C≡C, assim como a banda 2928 cm⁻¹ referente à ligação ≡C – H permaneceram no espectro do produto (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

Figura 38: Espectro de infra-vermelho do derivado 1-propargil-β-D-glicopiranosídeo (**18a**).



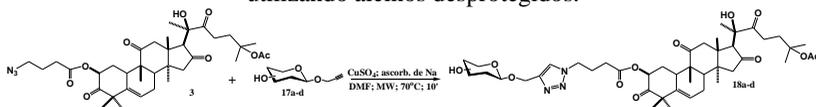
No espectro de RMN ¹H (Figura 39) foi possível observar o desaparecimento dos simpletos na região de δ 2,0 referentes aos grupamentos acetilas. O hidrogênio ligado a C-1 corresponde a um duplete em δ 4,45 com *J* = 7,8 Hz, mostrando estar na configuração β. Ainda analisando o espectro, é possível observar um tripleto em δ 4,42 com integração para 2 hidrogênios e *J* = 2,5 Hz, correspondente aos hidrogênios geminais do acetileno. Pode-se observar também, um tripleto em δ 2,86 ppm, o qual corresponde ao hidrogênio ligado diretamente ao alcino.

Figura 39: Espectro de RMN ^1H do derivado **18a**. Em destaque, os sinais correspondentes à H-1, H-7a,b e H-8 ($\text{C}\equiv\text{CH}$).



A reação de cicloadição foi então realizada com os derivados **18a-d** e o derivado de DHB **3** sob mesmas condições já discutidas para a obtenção do anel triazol (Esquema 29).

Esquema 29: Reação para obtenção do anel 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído utilizando alcinos desprotegidos.

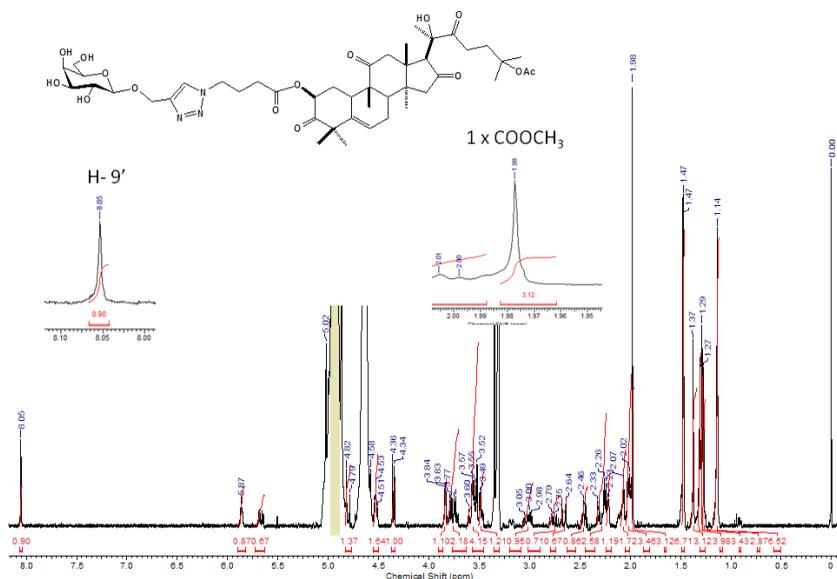


O derivado azida **3** e os alcinos desprotegidos **18a-d** foram adicionados em tubo reacional na presença de ascorbato de sódio e sulfato de cobre, utilizando DMF como solvente. O tubo foi fechado e selado e foram realizadas duas irradiações de 10 minutos, a 70°C , potência máxima de 150W. As reações foram acompanhadas por CCD, as quais mostraram um produto majoritário mais polar em relação aos alcinos, além de alguns subprodutos. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando Sephadex LH-20 como fase

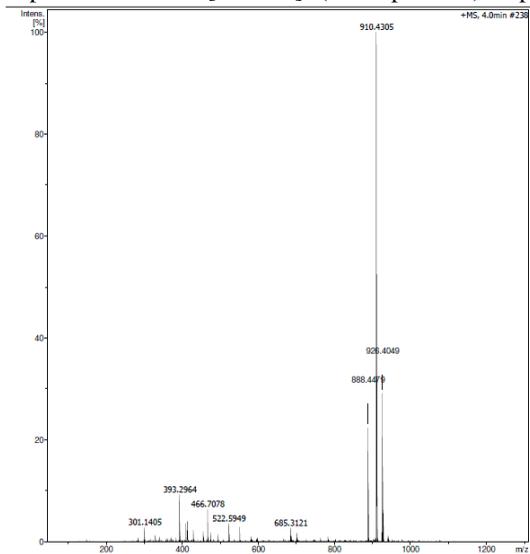
estacionária. Os rendimentos obtidos para os derivados **19a-d** variaram de 14 a 39%.

O espectro de RMN ^1H (composto **19b**, figura 40) apresentou simpleto em δ 8,05 correspondente ao hidrogênio aromático do anel triazol H-9'. É possível observar também a ausência das acetilas correspondente à unidade galactosídica, restando apenas um simpleto na região de δ 2,0 referente à acetila da cadeia lateral da DHB. Entre δ 4,0 e 3,0 pode-se observar os hidrogênios referentes à unidade monossacarídica.

Figura 40: RMN ^1H do composto **19b**, com destaque para o hidrogênio aromático do anel triazol e a acetila da cadeia lateral da DHB.



Através do espectro de massas de íons positivos foi possível observar um pseudo-íon molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ m/z 910,4305 para $\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{N}_3\text{O}_{15}\text{Na}$, com desvio de -0,838 mmu, indicando a fórmula molecular $\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{N}_3\text{O}_{15}$ (Figura 41).

Figura 41: Espectro de massas $[M + Na]^+$ (modo positivo) do produto **19b**.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. Aparelhagem Analítica

- Espectrofotômetro Infra-Vermelho FT-IR Shimadzu-Prestige 21
- Aparelho medidor de Ponto de Fusão MICROQUÍMICA MQAPF-301
- Ressonância Magnética Nuclear Bruker Advance DPX 400 MHz (Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto) e Varian Oxford AS-400 (Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina).
- Espectrômetro de massas ESI-TOF Bruker micrOTOF Q II (Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto).

4.1.2. Aparelhagem Laboratorial

- Reator micro-ondas Discovery - CEM Explorer, com sistema de resfriamento, pressão e adição de gás.
- Evaporadores rotatórios BUCHI modelo R-210 e R-210 com condensador dedo frio.
- Evaporador rotatório IKA- RV 10 digital
- Reator-multi Atlas Orbit 12, série 53784- SYRRIS.
- Balanças analíticas e semi-analíticas: AND, modelo GR-202; DENVER modelo APX-200; BIOPRECISA modelo FA2104N
- Agitadores magnéticos IKA-C MAG HS7 com placa de aquecimento.

4.1.3. Outros Materiais

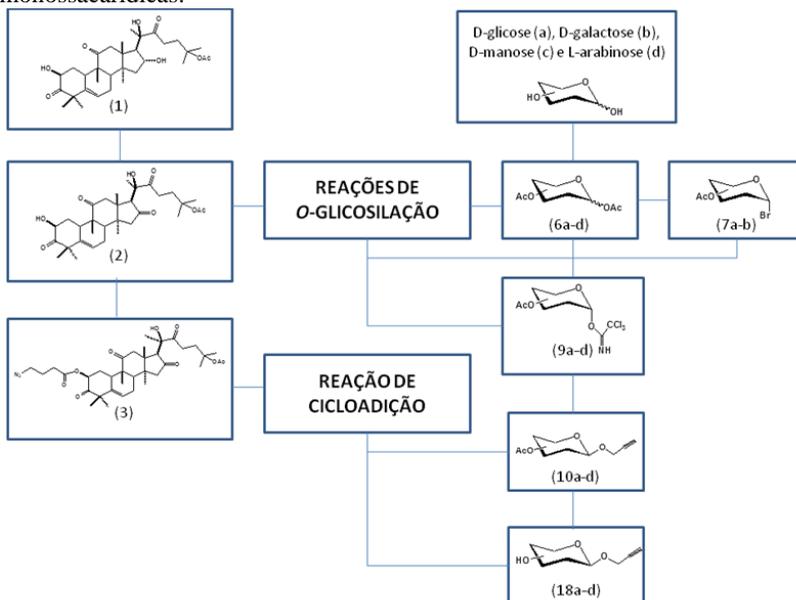
- Os solventes e alguns reagentes foram tratados e purificados de acordo com métodos descritos na literatura (PERRIN; AMAREGO; PERRIN, 1996).
- As cromatografias em camada delgada foram realizadas em cromatoplasas de gel de sílica G60 SILICYCLE®, com indicador de fluorescência F-254.

- As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando gel de sílica com granulometrias: 40-63 μm e 63-200 μm (Sigma Aldrich).
- A separação de compostos polares foi realizada através de coluna cromatográfica com resina Sephadex LH-20 (GE-Healthcare- Life Sciences).
- Agentes cromogênicos para detecção: Vanilina Fosfórica (2,5 g de vanilina em 50 mL de etanol e 12,5 mL de ácido ortofosfórico 85%); Solução Ácida de Cério Molibdênio (cério molibdênio 1%, ácido molibídico 1,5% diluídos em ácido sulfúrico concentrado 10%(v/v) em água qsp.); Anisaldeído Sulfúrico (0,5mL de anisaldeído e 5mL de ácido sulfúrico em 10mL de ácido acético glacial e 85mL de metanol).

4.2. MÉTODOS

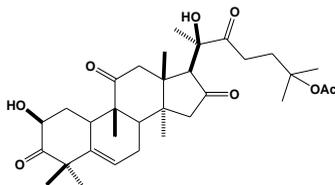
Os derivados de DHB e de unidades monossacarídicas foram preparados para as reações de *O*-glicosilação direta e de cicloadição, conforme esquema 27.

Esquema 27: Preparação dos derivados de DHB e de unidades monossacarídicas.



4.2.1. Preparação dos aceptores

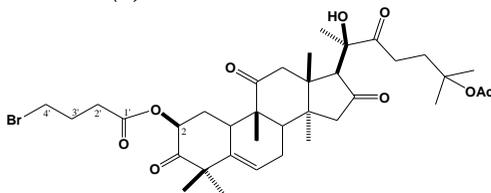
2,20R-di-hidroxi-25-acetloxi-10 α ,17 α -cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (2).



Em um tubo reacional contendo 2 mL de diclorometano, adicionou-se PCC (232,0 mg; 1,42 mmol) e BaCO₃ (281,0 mg; 1,42 mmol). A suspensão ficou sob agitação e, após cinco minutos, uma solução de di-hidrocurbitacina B (200,0 mg; 0,35 mmol), em diclorometano seco, foi adicionada lentamente à mistura reacional. Após 3 horas, a reação foi interrompida adicionando-se éter etílico. A mistura, então, foi vertida em um funil sinterizado contendo Florisil® e eluída com fase móvel hexano/acetato de etila 1:1 (50 mL) e, em seguida, 150 mL de hexano/acetato de etila 4:6. As frações foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. O produto final foi purificado por cromatografia em coluna [hexano/acetato de etila (1:1)] e obtido como um cristal branco, com rendimento de 50% (100,0 mg; 0,18 mmol).

Dados do composto: MM: 558,0 g/mol. FM: C₃₂H₄₅O₈. PF: 114-117,7°C (108-109°C). Rf= 0,4 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **IV:** 1730; 1712; 1697; 1369; 1251941 cm⁻¹. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 500 MHz): δ 5.81 (1H, m, H-6), 4.44 (1H, dd, *J* 13 Hz, *J* 6.0 Hz, H-2), 3.61 (1H, s, H-17), 3.36 (1H, d, *J* 15.4 Hz, H-12 α), 2.77 (1H, m., H-10), 2.74 (2H, m., H-12 β , H-23), 2.52 (1H, m, H-7 β), 2.34 (1H, ddd, *J* 3.4 Hz, *J* 6.0 Hz, *J* 13.0 Hz, H-1 α), 2.24 (1H, d, *J* 7.8 Hz, H-8), 2.13 (2H, d, *J* 18.0 Hz, H-15 β), 2.05 (2H, m, H-24), 1.99 (3H, s, -OCOCH₃), 1.28 (1H, m, H-1 β), 1.47 (6H, 2s, Me-26, Me-27), 1.47(6H, 2s, Me-26, Me-27), 1.36 (3H, s, Me-28), 1.34 (3H, s, Me-30), 1.24 (6H, 2s, Me-21, Me-29), 1.16 (3H, s, Me-19), 1.14 (3H, s, Me-18).

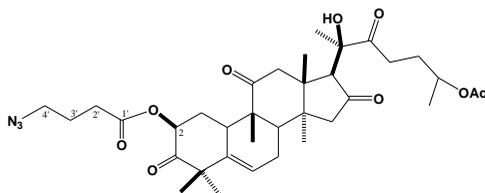
2β-(4-bromo)-butiriloxi-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (5)



Em banho de gelo, uma solução do composto **2** (100,0 mg; 0,18 mmol) em diclorometano, foi submetida à agitação. A esta solução, adicionou-se piridina (30,0 mg; 0,034 mmol) pelas paredes do balão, uma ponta de espátula de DMAP e, por fim, cloreto de 4-bromobutirila (315,0 mg; 1,7 mmol). Após 15 minutos, o banho de gelo foi retirado e a reação ocorreu por 3 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi, então, extraída com HCl 1Mol.L.⁻¹, seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada sob pressão reduzida. Após purificação em coluna cromatográfica, o produto final foi obtido como um óleo esverdeado, com rendimento de 61% (77,0 mg; 0,10 mmol).

Dados do composto: **MM:** 706,0 g/mol. **FM:** C₃₆H₅₀BrO₉ **Rf=** 0,69 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **IV:** 1730; 1714; 1693; 1249; 1128; 1018; 983 cm⁻¹. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 5.79 (1H, m, H-6), 5.48 (1H, dd, *J* 13.6 Hz, *J* 5.5 Hz, H-2), 3.60 (1H, s, H-17), 3.52 (2H, t, *J* 6.4 Hz, H-4'), 3.25 (1H, d, *J* 14.7 Hz, H-12α), 2.80 (1H, m, H-10), 2.75 (1H, d, *J* 14.7 Hz, H-12β), 2.72 (1H, d, *J* 7.6 Hz, H-23), 2.65 (2H, m, H-2'), 2.57 (1H, m, H-7β), 2.36 (1H, dd, *J* 4.0 Hz, *J* 7.4 Hz, H-8), 2.22 (3H, m, H-3'), 2.18 (1H, m, H-1α), 2.13 (2H, m, H-15) 2.03 (2H, m, H-24), 1.99 (3H, s, -OCOCH₃), 1.95 (1H, m, H-7β), 1.54 (1H, dd, *J* 13.0 Hz, H-1β) 1.40 (6H, 2s, Me 26, Me-27), 1.27 (6H, 2s, Me-28, Me-30), 1.24 (3H, s, Me-21), 1.23 (3H, s, Me-29), 1.11 (3H, s, Me-18), 1.07 (3H, s, Me-19).

2-O-β-(4-azido)-butiriloxi-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (3)

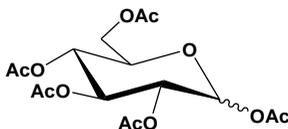


Em um tubo reacional, o composto **5** (50,0 mg; 0,075 mmol) juntamente com NaN_3 (48,0 mg; 0,75 mmol), em DMF (0,2 mL), foram submetidos à irradiação por micro-ondas nas seguintes condições: Potência= 150W; Temperatura= 70°C, por 7 minutos. O DMF da reação foi evaporado sob pressão reduzida e, posteriormente, a mistura reacional foi ressuspensa e extraída com acetato de etila e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e concentrada sob pressão reduzida. Após separação em coluna cromatográfica, obteve-se um óleo amarelado com rendimento de 78% (38,0 mg; 0,058 mmol).

Dados do composto: MM: 668,1g/mol. FM: $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_9$. IV: 2098; 1730; 1714; 1693; 1251; 1128; 1020; 983 cm^{-1} . Rf= 0,69 [tolueno/acetato de etila 7:3 (v/v)]. δ_{H} (ppm) (CDCl_3 ; 400 MHz): 5.82 (1H, m, H-6), 5.50 (1H, dd, J 13.6 Hz, J 5,8 Hz, H-2), 3.60 (1H, s, H-17), 3.42 (2H, t, J 6.5 Hz, H-4'), 3.35 (2H, d, J 14.1 Hz, H-12 α , H-12 β), 2.86 (1H, m, H-10), 2.74 (3H, m, H-23), 2.52 (3H, m, H-2', H-7), 2.25 (1H, m, H-8), 2.20 (1H, ddd, J 5.5 Hz, J 3.7 Hz, H-1 α), 2.10 (2H, m, H-15), 2.04 (2H, m, H-24), 1.98 (3H, s, $-\text{OCOCH}_3$), 1.96 (1H, m, H-7 β), 1.58 (1H, dd, J 12.8 Hz, H-1 β), 1.47 (6H, 2s, Me-26, Me-27), 1.36 (3H, s, Me-28), 1.34 (3H, s, Me-30), 1.24 (6H, 2s, Me-21, Me-29), 1.16 (3H, s, Me-19), 1.14 (3H, s, Me-18).

4.2.2. Preparação de Doadores de Unidades Monossacarídicas - Glicose

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

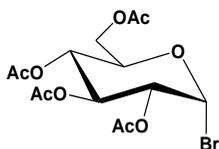


D-glicose (1,0 g; 5,5 mmol) foi ressuspensa em 5 mL de anidrido acético e adicionou-se iodo molecular como catalisador (50,0 mg; 0,47 mmol). A mistura ficou sob agitação, à temperatura ambiente. A suspensão se tornava castanha escura à medida que o produto se formava e se solubilizava no anidrido acético. A reação foi acompanhada por CCD [hexano/acetato de etila 1:1(v/v)], observando-se a formação de apenas um produto. Após 3 horas a mistura reacional foi diluída em diclorometano e extraída com solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 5% e gelo. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de Na_2CO_3 , seca

com Na_2SO_4 anidro e evaporada sob pressão reduzida, fornecendo um produto puro na forma de cristal branco, com rendimento de 90% (1,75 g; 4,5 mmol).

Dados do composto: MM= 390,34 g/mol. FM: $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$. IV: 1741; 1732; 1714; 1382; 1371; 1236; 1226; 1070; 1037 cm^{-1} . PF: 102,9-105,3°C. Rf= 0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_{H} (ppm) (CDCl_3 ; 300 MHz): 6.33 (1H, d, J 3.7 Hz; H-1), 5.48 (1H, t, J 10.3 Hz, H-3), 5.15 (1H, d, J 10.3 Hz; H-4), 5.10 (1H, dd, J 10.3 Hz, J 3.7 Hz, H-2), 4.29 (1H, m H-6b), 4.12 (2H, m, H-5; H-6a), 2.19-2.02 (15H- 5s, 5 - OCOCH_3).

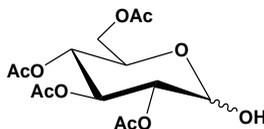
Brometo de 2,3,4,6-tetra-*O*-*D*-glicopiranosila (7a)



Uma solução de glicose peracetilada **6a** (1,0 g; 2,56 mmol) em ácido acético glacial (5 mL) foi submetida a agitação por 4 horas com ácido bromídrico 33% em excesso (4 mL). A mistura reacional foi mantida em geladeira durante a noite. A solução reacional foi diluída em diclorometano e utilizou-se NaHCO_3 5% para extração. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e concentradas sob pressão reduzida. O produto bruto formou um óleo amarelo, o qual foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. O composto puro foi precipitado com éter etílico e hexano, formando um sólido branco de rendimento de 70% (730,0 g; 1,8 mmol).

Dados do composto: MM: 411,20g/mol. FM: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{Br}$. IV: 1741; 1382; 1369; 1226; 1213; 555 cm^{-1} . PF: 90-91,7°C (Literatura: 88°C). Rf= 0,83 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_{H} (ppm) (CDCl_3 ; 400 MHz): 6.49 (1H, d, J 3.9 Hz, H-1), 5.44 (1H, t, J 9.5 Hz, H-3), 5.04 (1H, dd, J 10.1 Hz; J 9.5, H-4), 4.72 (1H, dd, J 10.1 Hz, J 9.9 Hz, J 3.9 Hz, H-2), 4.19 (2H, m, H-5a, H-6a), 4.02 (1H, dd, J 1.9 Hz, J 12.5 Hz, H-6b), 2.11- 2.04 (12H, 4s, $-\text{OCOCH}_3$).

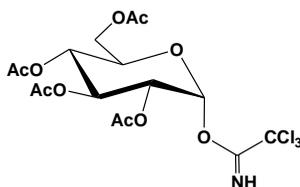
2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glicopiranosose (8a)



O intermediário **6a** (1,0 g; 2,56 mmol) em DMF (5 mL) foi submetido à agitação com acetato de hidrazina (220 mg; 2,43 mmol) por 16 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi extraída com acetato de etila e solução saturada de NaCl. Extraui-se a fase aquosa com acetato de etila e as frações orgânicas foram secas com Na₂SO₄ e concentradas em evaporador rotatório. Purificou-se o produto por cromatografia em coluna [hexano/ acetato de etila 1:1 (v/v)] obtendo-se um óleo transparente com rendimento de 79% (700,0 mg; 2,0 mmol).

Dados do composto: MM: 348,3 g/mol. FM: C₁₄H₂₀O₁₀. IV: 3300; 1745; 1732; 1714; 1371; 1230; 1051 cm⁻¹. Rf= 0,37 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] δ_H (ppm) (CDCl₃; 300 MHz): 5.54 (1H, t, *J* 10.0 Hz, H-3), 5.47 (1H, d, *J* 3.7 Hz, H-1), 5.09 (1H, dd, *J* 10.0 Hz, H-4), 4.91 (1H, dd, *J* 3.7 Hz, *J* 10.3 Hz, H-2), 4.27 (m, H-5, H-6a), 4.16 (m, H-6b), 2.11-2.03 (12H, 4s, -OCOCH₃).

Tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-glicopiranosila (9a)

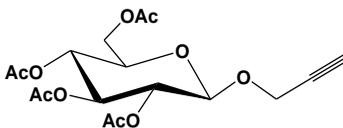


Uma solução de **8a** (0,5 g; 1,43 mmol) foi submetida à agitação com tricloroacetona (825,0 mg; 5,72 mmol) e DBU (63,0 mg; 0,41 mmol), em banho de gelo, sob atmosfera inerte. Após 2 horas de reação, a mistura reacional foi filtrada em funil sinterizado e concentrada sob pressão reduzida. O produto **9a** foi purificado por coluna cromatográfica [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] e foi obtido como um óleo transparente, com rendimento de 81% (570,0 mg; 1,15 mmol).

Dados do Composto: MM: 492,69g/mol. FM: C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀. IV: 3294; 2972; 1747; 1732; 1371; 1224 cm⁻¹. Rf= 0,8 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] δ_H (ppm) (CDCl₃; 300 MHz): 8.58 (1H, s, NH), 6.66

(1H, d, J 3.5 Hz, H-1), 5.67 (1H, t, J 10.0 Hz, H-3), 5.19 (2H, m, H-2, H-4), 4.30 (1H, dd, J 12.3 Hz, J 3.9 Hz, H-6a), 4.11 (2H, m, H-5, H-6b), 2.17-2.02 (12H, 4s, 5 -OCOCH₃).

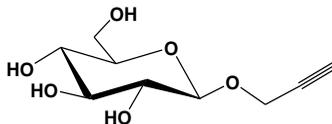
2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -*D*-glicopiranosil propargila (10a)



Em atmosfera inerte, uma solução de **9a** (100,0 mg; 0,20 mmol) em diclorometano foi submetida a agitação por 2 horas com álcool propargílico (110,0 mg; 2,03 mmol), utilizando TMSOTf (10,0 mg; 0,04 mmol) como catalisador. Após 1h30min de reação, adicionou-se Et₃N, e a mistura reacional ficou sob agitação por mais 10 minutos. Em seguida, a reação foi filtrada em funil sinterizado com celite e concentrada sob pressão reduzida. O produto final foi obtido como um sólido amarelado após purificação em coluna cromatográfica. O rendimento foi de 94% (72,0 mg; 0,18 mmol).

Dados do Composto: MM: 386,34 g/mol. FM: C₁₇H₂₂O₁₀. PF: 88,2-89,9°C (Literatura: 102-104°C). IV: 3273; 2117; 1759; 1732; 1234; 1215 cm⁻¹. R_f=0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_{H} (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 5.27 (1H, t, J 9.5 Hz, H-3), 5.12 (1H, t, J 9.5 Hz, H-4), 5.04 (1H, dd, J 8.0 Hz J 9.5 Hz, H-2), 4.80 (1H, d, J 8.0 Hz, H-1), 4.40 (2H, d; J 2.5 Hz, H-7a, H-7b), 4.30 (1H, dd, J 4.5 Hz, J 12.3 Hz, H-6b), 4.14 (1H, dd, J 2.2 Hz, J 12.3 Hz, H-6a), 3.75 (1H, m, H-5); 2.11-2.03 (12H, 4s, -OCOCH₃).

β -*D*-glicotopiranosil propargila (18a)



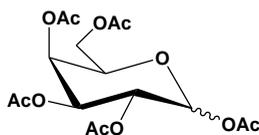
Uma solução de **10a** (100,0 mg; 0,25 mmol) em metanol (1,0 mL) foi submetida à agitação com NaOMe 1Mol.L⁻¹ até atingir pH 9. A reação foi mantida "overnight" até o completo desaparecimento do material de partida. A reação foi resfriada à 0°C para adição de resina de troca iônica Dowex 50WX8-200 para neutralização da mistura reacional

até pH 7. A mistura foi filtrada em funil sinterizado. O produto **17a** foi obtido com rendimento de 99% de rendimento (54 mg; 0,24 mmol), não sendo necessária purificação.

Dados do composto: MM: 218,22 g/mol. **FM:** C₉H₁₄O₆. **IV:** 3184; 2926; 2117; 1695; 1099; 1076; 1045; 1026 cm⁻¹. **Rf**= 0,33[acetato de etila/metanol 4:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 400 MHz): 5.27 (1H, t, *J* 9.5 Hz, H-3), 5.12 (1H, t, *J* 9.5 Hz, H-4), 5.04 (1H, dd, *J* 8.0 Hz, *J* 9.5 Hz, H-2), 4.80 (1H, d, *J* 8.0 Hz, H-1), 4.40 (2H, d; *J* 2.5 Hz, H-7a, H-7b), 4.30 (1H, dd, *J* 4.5 Hz, *J* 12.3 Hz, H-6b), 4.14 (1H, dd, *J* 2.2 Hz, *J* 12.3 Hz, H-6a), 3.75 (1H, m, H-5).

4.2.3. Preparação de Doadores de Unidades Monossacarídicas - Galactose

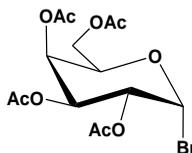
1,2,3,4,6-penta-O-acetil-β-D-galactopiranosose (6b)



O composto **6b** foi obtido utilizando a mesma metodologia empregada para a obtenção do produto 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-β-D-glicopiranosose **6a**, a partir de D-Galactose (1,0 g; 5,5 mmol), obtida comercialmente. O produto final **6a** foi obtido como um pó cristalino branco em um rendimento de 93% (2,0 g; 5,1 mmol).

Dados do composto: MM: 390, 34 g/mol. **FM:** C₁₆H₂₂O₁₁. **IV:** 1750; 1745; 1714; 1371; 1244; 1224 cm⁻¹. **PF:** 88,5-89,7°C (Valor literatura 143-144 C). **Rf**= 0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 400 MHz): 5.70 (1H, d, *J* 8.4 Hz, H-1), 5.44 (1H, dd, *J* 3.3 Hz, *J* 0.7 Hz, H-4), 5.34 (1H, dd, *J* 8.4 Hz, *J* 10.6 Hz, H-2), 5.08 (1H, dd, *J* 10.2 Hz, *J* 3.3 Hz, H-3), 4.15 (2H, m; H-5; H-6a), 4.05 (1H, m, H-6b), 2.17-2.00 (15H, 4s, -OCOCH₃).

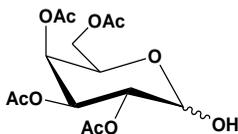
Brometo de 2,3,4,6-tetra-O-α-D-galactopiranosila (7b)



O produto **7b** foi desenvolvido conforme a metodologia empregada para obtenção do derivado **7a**, porém, partindo de **6b** (1,0 g; 2,56 mmol). O composto **7b** foi purificado por cromatografia em coluna [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] e obtido como um sólido branco, com rendimento de 60% (630,0 mg; 1,53 mmol).

Dados do composto: **MM:** 411,20g/mol. **FM:** $C_{14}H_{19}O_9Br$. **IV:** 1741; 1382; 1371; 1244; 1228; 1213; 555 cm^{-1} . **PF:** 86- 90,1°C (Valor literatura: 84-85°C). **Rf=** 0,83 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** ($CDCl_3$; 400 MHz): 6.70 (1H, d, J 3.8 Hz, H-1), 5.52 (1H, dd, J 3.11 Hz, J 1.0 Hz, H-4), 5.41 (1H, dd, J 10.4 Hz, J = 3.3 Hz, H-3), 5.05 (1H, dd, J 10.6 Hz; J 3.8 Hz, H-2), 4.49 (1H, m, H-5), 4.19 (1H, dd, J 6,7 Hz, J 11,4 Hz, H-6a), 4.12 (1H, dd, J 6.7 Hz, J 11.4 Hz, H-6b), 2.16-2.02 (15H, 5s, -OCOCH₃).

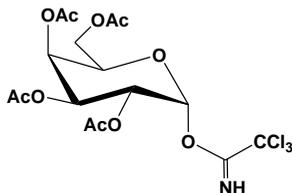
2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranoose (8b)



O produto foi preparado utilizando a mesma metodologia para a síntese do derivado **8a**, no entanto, partindo de **6b** (1,0 g; 2,56 mmol). O composto **8b** foi obtido como um óleo transparente, com rendimento de 60% (530,0 mg; 1,53 mmol).

Dados do composto: **MM:** 348,3g/mol. **FM:** $C_{15}H_{20}O_{10}$. **IV:** 3442; 1747; 1732; 1714; 1371; 1228 cm^{-1} . **Rf=** 0,37 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] **δ_H (ppm)** ($CDCl_3$; 400 MHz): 5.51 (1H, dd, J 3.9 Hz, H-1), 5.42 (1H, dd, J 10.5 Hz, J 3.1 Hz, H-2), 5.14 (1H, dd, J 10.5 Hz, J 3.5 Hz, H-3), 4.48 (1H, m, H-4), 4.15 (m, H- 5), 4.10 (2H, dd, J 7.0 Hz, J 2.3 Hz, H-6a, H-6b), 2.11-2.00 (12H, 4s, -OCOCH₃).

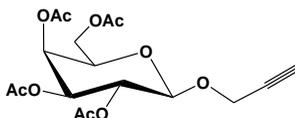
Tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -galactopiranosila (9b)



O produto foi obtido de acordo com a metodologia utilizada para a síntese de **9a**, porém, partindo de **8b** (0,5 g; 1,43 mmol). O composto **9b** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 74% (520,0 mg; 1,05 mmol).

Dados do Composto: **MM:** 492,69g/mol. **FM:** C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀. **IV:** 3288; 1745; 1732; 1678; 1371; 1222 cm⁻¹. **PF:** 78,3-82,9°C. **Rf=** 0,8 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃;400 MHz): 8.67 (1H, s, N-H), 6.61 (1H, d, *J* 3.3 Hz, H-1), 5.57 (1H, dd, *J* 3.1 Hz; *J* 1.3 Hz, H-4), 5.43(1H, dd, *J* 11.0 Hz; 3.1 Hz, H-3), 5.37 (1H, dd, *J* 3.5 Hz, *J* 11.0 Hz, H-2), 4.45 (1H, dd, *J* 6.6 Hz, *J* 0.7 Hz, H-5), 4.17 (1H, dd, *J* 11.3 Hz, *J* 6.6 Hz, H-6a), 4.09 (1H, dd, *J* 11.3 Hz, *J* 6.6 Hz, H-6b), 2.18-2.02 (12H, 4s, -OCOCH₃).

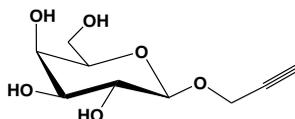
2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-*D*-galactopiranosil propargila (**10b**)



O derivado **10b** foi sintetizado utilizando a mesma metodologia de preparação do composto 10a, porém, partindo de **9b** (100,0 mg; 0,2 mmol). O produto formado foi obtido como um óleo transparente com rendimento de 84% (65,0 mg; 0,17 mmol).

Dados do Composto: **MM:** 386, 16g/mol. **FM:** C₁₇H₂₂O₁₀. **IV:** 3273; 2117; 1759; 1732; 1379; 1365; 1234; 1215; 1066; 1049 cm⁻¹. **Rf=** 0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (MeOD; 400 MHz): 5.38 (1H, dd, *J* 3.1 Hz, *J* 3.4 Hz, H-4), 5.15 (1H, ddd, *J* 3.1 Hz, *J* 3.4 Hz, *J* 10.3 Hz, H-3), 5.09 (1H, dd, *J* 7.4 Hz; *J* 10.3 Hz, H-2). 4.83 (1H, d, *J* 7.4 Hz, H-1), 4.13 (3H, m, *J* 3.4 Hz, H-5, H-6a, H-6b), 4.36 (2H, d, *J* 2.1 Hz, H-7a, H-7b), 2.94 (1H, t, *J* 2.1Hz, H-8), 2.12-1.94 (12H- 4s, 4 - OCOCH₃)

β-*D*-galactopiranosil propargila (**18b**)

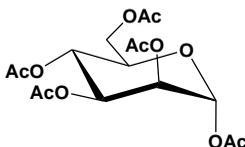


O mesmo procedimento para a obtenção de **17a** foi realizado para a preparação de **17b**, porém, partindo de **10b** (100,0 mg; 0,25 mmol). O produto **17b** foi obtido com rendimento de 99% de rendimento (54 mg; 0,24 mmol).

Dados do composto: MM: 218,22 g/mol. **FM:** C₉H₁₄O₆. **IV:** 2929; 2117; 1130; 1072; 1058; 1029; 1006 cm⁻¹. **Rf**= 0,33 [acetato de etila/metanol 4:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 400 MHz): 4.42 (3H, m, H-1, H-7a, H-7b), 3.82 (1H, dd, *J* 3.0 Hz, *J* 1.0 Hz), 3.76 (1H, dd, *J* 7.0 Hz, *J* 11.3 Hz, H-6a), 3.71 (1H, dd, *J* 5.3 Hz; *J* 11.3 Hz, H-6b), 3.47 (1H, dd, *J* 9.0 Hz, *J* 3.0 Hz, H-3), 2.85 (1H, t, *J* 2.5 Hz, H-8).

4.2.4. Preparação de doadores de unidade monossacarídica- Manose

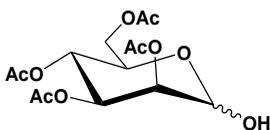
1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- α -D-manopiranosose (**6c**)



O composto **6c** foi sintetizado a partir de D-manose (1,0 g; 5,5 mmol), obtida comercialmente, seguindo a mesma metodologia utilizada para a obtenção do derivado **6a**. O produto **6c** foi obtido como um óleo amarelo com rendimento de 90% (1,7 g; 4,5 mmol).

Dados do composto: MM: 390,34g/mol. **FM:** C₁₆H₂₂O₁₁. **IV:** 1741; 1714; 1379; 1371; 1249; 1226 cm⁻¹. **Rf**= 0,63 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 6.10 (1H, d, *J* 1.8 Hz, H-1), 5.37-5.33 (2H, m, H-3, H-4), 5.27 (1H, m, H-2), 4.30 (1H, m, H-6a), 4.15 (1H, dd, *J* 2.5 Hz, *J* 12.0 Hz, H-6b), 4.07 (1H, m, H-5), 2.19-2.02 (15H, 5s, -OCOCH₃).

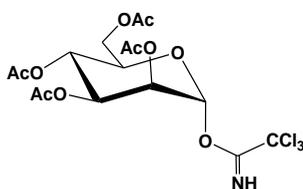
2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-D-manopiranosose (**8c**)



O produto **8c** foi preparado segundo metodologia para a síntese do derivado **8a** partindo de **6c** (1,0 g; 2,56 mmol). O composto foi obtido como um óleo transparente com rendimento de 66% (588,0 mg; 1,68 mmol).

Dados do composto: **MM:** 348,3g/mol. **FM:** C₁₅H₂₀O₁₀. **IV:** 1740; 1732; 1714; 1371; 1234; 1153; 1126; 1053 cm⁻¹. **Rf=** 0,36 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 5.43 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 10.0 Hz, H-3), 5.34 (1H, d, *J* 10.5 Hz; H-4), 5.28 (1H, dd, *J* 1.8 Hz; *J* 3.5 Hz, H-2), 5.26 (1H, d, *J* 1.8 Hz, H-1), 4.25 (2H, m, H-5, H-6b), 4.15 (1H, m, H- 6a), 2.18-2.01 (12H, 4s, -OCOCH₃).

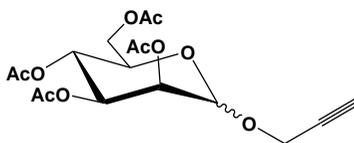
Tricloroacetimidato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-manopiranosil (9c)



O derivado **9c** foi obtido utilizando **8c** (0,5 g; 1,43 mmol) como material de partida, e com o mesmo procedimento descrito para o derivado **9a**. O composto **9c** foi obtido como um óleo transparente com 28% de rendimento (190,0 mg; 0,4 mmol).

Dados do Composto: **MM:** 492,69g/mol. **FM:** C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀. **IV:** 3321; 3305; 1740; 1732; 1643; 1371; 1228 cm⁻¹. **Rf=** 0,8 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 8.80 (1H, s, N-H), 6.30 (1H, d, *J* 1.5 Hz, H-1), 5.32-5.27 (3H, m, H-3, H-4, H-2), 4.31- 4,24(3H, m, H-5, H-6a, H-6), 2.12- 2.07 (12H, 4s, -OCOCH₃).

2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manopiranosil propargila (10c)

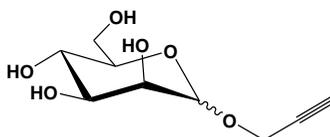


O composto **10c** foi obtido a partir do intermediário **9c** (100,0 mg; 0,2 mmol), seguindo o mesmo procedimento para a preparação de

10a. O produto foi obtido como um sólido branco com 70% de rendimento (54,0 mg; 0,14 mmol).

Dados do Composto: MM: 386, 16g/mol. FM: C₁₇H₂₂O₁₀. IV: 3269; 2119; 1747; 1371; 1226 cm⁻¹. PF: 84-88,9°C (Literatura: 102-103°C). Rf= 0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 300 M Hz): 5.34 (1H, dd, *J* 1.25 Hz, *J* 8.81 Hz, H-3), 5.31-5.28 (2H, m, H-2, H-4), 5,05 (1H, d, *J* 1.8 Hz, H-1), 4.33-4.28 (3H, m, H-6b), 4.28 (2H, d, *J* 2.5 Hz, H-7a, H-7b), 4.12 (1H, dd, *J* 2.5 Hz, *J* 12.1 Hz, H-6a), 4.03 (1H, m, H-5), 2.49 (1H, t, *J* 2.5 Hz, H-8), 2.18- 2.00 (12H- 4s, 4 - OCOCH₃).

D-manopiranosil propargila (18c)

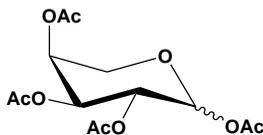


O mesmo procedimento para a obtenção de **17a** foi realizado para a preparação de **17c**, porém, partindo de **10c** (100,0 mg; 0,25 mmol). O produto **17c** foi obtido com rendimento de 99% (54 mg; 0,24 mmol).

Dados do composto: MM: 218,22 g/mol. FM: C₉H₁₄O₆. IV: **2927; 2117; 1130; 1072; 1029; 1008** cm⁻¹. Rf= 0,33[acetato de etila/metanol 4:1 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 4.95 (1H, d, *J* 1.5 Hz, H-1), 4.27 (2H, d, *J* 2.5 Hz, H-7a, H-7b), 3.83 (1H, dd, *J* 2.2 Hz, *J* 11.8 Hz, H-6a), 3.72-3.57 (4H, m, H-2, H-3; H-4, H-5), 3.53 (1H, dd, *J* 2.0 Hz, *J* 12.0 Hz, H-6b), 2.85 (1H, t, *J* 2.7 Hz, H-8).

4.2.5. Preparação de doadores de unidade monossacarídica-Arabinose

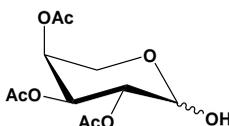
1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-L-arabinopiranosose (6d)



O produto **6d** foi obtido conforme metodologia descrita para o derivado **6a**, porém, utilizando L-arabinose obtida comercialmente (1,0 g; 6,67 mmol). O composto **6d**, em forma de óleo amarelado, foi obtido com rendimento de 93% (1,97 g; 6,19 mmol).

Dados do composto: MM: 318, 28g/mol. FM: C₁₃H₁₈O₉. IV: 1747; 1371; 1224 cm⁻¹. Rf= 0,68 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 300 MHz): 6.29 (1H, d, *J* 3.1 Hz, H-1); 5.33- 5.29 (3H, m, H-2, H-3, H-4); 4,00 (1H, dd, *J* 13.4 Hz; *J* 1.9 Hz, H-5a); 3.76 (1H, dd, *J* 13.4 Hz; *J* 2.0 Hz, H-5b); 2.10-1.97 (12H, 4s, -COOCH₃).

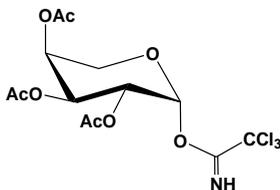
2,3,4-tri-*O*-acetil-L-arabinopiranosose (**8d**)



A partir do intermediário **6d** (1,0 g; 3,14 mmol), foi realizado o mesmo procedimento para a síntese do composto **6a**. O produto **8c** foi obtido como um óleo transparente com rendimento de 91% (78,0 mg; 2,85 mmol).

Dados do composto: MM: 276, 24g/mol. FM: C₁₁H₁₆O₈. IV: 1741; 1732; 1714; 1371; 1230; 1082; 1060; 1022 cm⁻¹. Rf= 0,35 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 300 MHz): 5.49 (1H, d, *J* 3.4 Hz, H- 1), 5.42 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 10.2 Hz, H- 2), 5.35 (1H, m, H-4), 5.20 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 10.3 Hz, H-3), 4.20 (1H, dd, *J* 1.2 Hz, *J* 13.1 Hz, H-5a), 3.72 (1H, dd, *J* 2.5 Hz, *J* 13.1 Hz, H-5b), 2.15-2.03 (12H, 3s, -OCOCH₃).

Tricloroacetimidato de 2,3,4-tri-*O*-acetil-α-L-arabinopiranosil (**9d**)

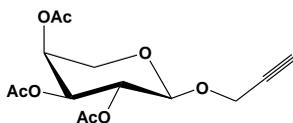


A partir do intermediário **8d** (0,5 g; 1,81 mmol), foi realizado o mesmo procedimento para a síntese do composto **8a**. O produto **9c** foi

obtido como um sólido branco com rendimento de 30% (220,0 mg; 0,54 mmol).

MM: 420,24g/mol. **FM:** C₁₃H₁₆Cl₃NO₈. **IV:** 3450; 1755; 1747; 1697; 139; 1226 cm⁻¹. **PF:** 68-70,3°C. **Rf=** 0,65 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)] **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 5.49 (1H, d, *J* 3.43 Hz, H-1), 5.42 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 10.2 Hz, H-2), 5.35 (1H, m, H-4), 5.20 (1H, dd, *J* 3.4Hz, *J* 10.3 Hz, H-3), 4.20 (1H, dd, *J* 1.2 Hz, *J* 13.1 Hz, H-5a), 3.72 (1H, dd, *J* 2.5 Hz, *J* 13.1 Hz, H-5b), 2.15-2.03 (12H, 3s, -OCOCH₃).

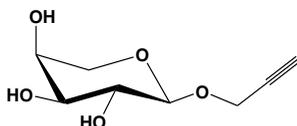
2,3,4-tri-*O*-acetil-β-*L*-arabinopiranosil propargila (**10d**)



A mesma metodologia empregada para a preparação do composto **10a** foi utilizada para a síntese do produto **10d** porém, partindo do derivado **9d** (100,0 mg; 0,23 mmol). O composto **10d** foi obtido como um pó branco cristalino, com rendimento de 80% (60,0 mg; 0,19 mmol).

Dados do composto: **MM:** 314, 24 g/mol. **FM:** C₁₄H₁₈O₈. **IV:** 3273; 2119; 1745; 1371; 1249; 1224 cm⁻¹. **PF:** 68,3-68,5°C. **Rf=** 0,67 [hexano/acetato de etila 1:1 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 5.28 (1H, ddd, *J* 1.5 Hz, *J* 3.4 Hz, *J* 9.3 Hz, H-4), 5.20 (1H, dd, *J* 9.3 Hz, *J* 6.8 Hz, H-2), 5.08 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 9.3 Hz, H-3), 4.69 (1H, d, *J* 6.8 Hz, H-1), 4.36 (2H, d, *J* 2.5 Hz, H-6a, H-6b), 4.06 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 12.7 Hz, H-5a), 3.66 (1H, dd, *J* 1.5 Hz, *J* 13.1 Hz, H-5b), 2.49 (1H, t, *J* 2.5 Hz, H-7), 2.14- 2.04 (9H, 3s, -OCOCH₃).

β-*L*-arabinopiranosil propargila (**18d**)

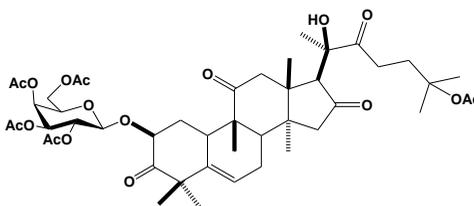


O mesmo procedimento para a obtenção de **17a** foi realizado para a preparação de **17d**, porém, partindo de **10d** (100,0 mg; 0,31 mmol). O produto **17d** foi obtido com rendimento de 99% de rendimento (57mg; 0,30 mmol).

Dados do composto: MM: 188,2 g/mol. FM: C₈H₁₂O₅. IV: 2914; 2872; 2117; 1132; 1070; 1008 cm⁻¹. Rf= 0,35[acetato de etila/metanol 4:1 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 4.41 (1H, d, *J* 6.8 Hz, H-1), 4.35 (2H, dd, *J* 2.5 Hz, *J* 5.3 Hz, H-6a, H-6b), 3.86 (1H, dd, *J* 3.5 Hz, *J* 12.3 Hz, H-5a), 3.59- 3.52 (4H, m, H-2, H-3, H-4, H-5b), 2.85 (1H, t, *J* 2.5 Hz, H-7).

4.3. Preparação de derivados glicosilados

2-O-β-D-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-galactopiranosil)-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (15)

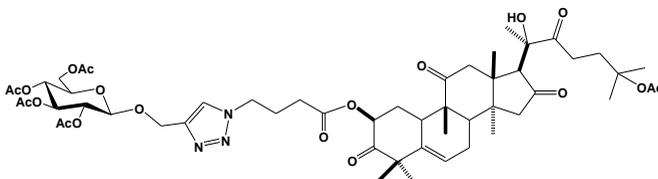


Um balão reacional contendo o aceptor **2** (50,0 mg; 0,08mmol), peneira molecular e diclorometano (2 mL) foi resfriado a -10°C para adição do catalisador TMSOTf (4,0 mg; 0,017mmol), em atmosfera inerte. A reação permaneceu sob agitação sob as condições citadas anteriormente por 30 minutos. O doador 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -galactopiranosil tricloroacetimidato (**9b**), solubilizado em diclorometano, foi gotejado à mistura reacional, a qual continuou sob agitação por mais três horas. A reação foi neutralizada com trietilamina, filtrada em funil sinterizado contendo celite e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Após separação em coluna cromatográfica, obteve-se o produto como um sólido branco com rendimento de 3% (2,5 mg; 0,002 mmol).

Dados do composto: MM: 889,0 g/mol. FM: C₄₆H₆₅O₁₇. IV: 1750; 1697; 1371; 1249; 1226; 1178; 1018 cm⁻¹. Rf= 0,82 [acetato de etila/tolueno 7:3 (v/v)]. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 5.79 (1H, m, H-6), 5.39 (1H, dd, *J* 0.9 Hz, *J* 3.4 Hz, H-4'), 5.21 (1H, dd, *J* 7.8 Hz, *J* 10.6 Hz, H-2'), 5.05 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 10.6 Hz, H-3'), 4.63 (1H, d, *J* 7.8 Hz, H-1'), 4.56 (1H, dd, *J* 5.6 Hz, *J* 13.1 Hz, H-2), 4.25 (1H, dd, *J* 5.9 Hz, *J* 11.2 Hz, H6b'), 4.11 (1H, dd, *J* 7.6 Hz, *J* 11.2 Hz, H-6a'), 3.84 (1H, m, H-5'), 3.63 (1H, s, H-17), 3.38 (1H, dd, *J* 1.0 Hz, *J* 14.6 Hz, H-12 α), 2.83 (1H, m, H-10), 2.78 (1H, m, H-12 β), 2.74 (2H, m, H-23),

2.50 (1H, m, H-7 β), 2.23 (1H, m, H-1 α), 2.11 (2H, m, H-15), 1.98 (3H, s, -OCOCH₃), 1.51 (1H, m, H-1 β), 1.47 (6H, s, Me-27, Me-26), 1.41 (1H, m, H-7 α), 1.34 (3H, s, Me-21), 1.29 (6H, s, Me-28, Me-29), 1.26 (3H, s, Me-30), 1.15 (3H, s, Me-19), 1.13 (3H, s, Me-18); 2.18-1.96 (15H, 5s, -OCOCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 214.2 (C-16), 212.9 (C-22), 209.8 (C-11), 205.6 (C-3), 170.3 (C-OAc), 170.3 (C-OAc), 170.4 (C-OAc), 170.6 (C-OAc), 139.9 (C-5), 119.4 (C-6), 99.6 (C-1'), 81.4 (C-25), 80.0 (C-20), 75.4 (C-2), 70.7 (C-5'), 70.4 (C-3'), 69.0 (C-2'), 67.0 (C-4'), 61.6 (C-17), 60.6 (C-6'), 51.0 (C-4), 49.5 (C-9), 49.8 (C-15), 47.2 (C-12), 42.1 (C-8), 36.5 (C-24), 34.4 (C-10), 33.9 (C-1), 30.1 (C-23), 28.6 (C-28), 25.9 (C-27), 25.8 (C-26), 22.2 (C-29), 20.0 (C-19), 19.7 (C-18), 19.2 (C-30). **ESI-TOF** *m/z* (modo positivo): calculado para C₄₆H₆₄O₁₇Na 911,4041; obtido 911, 4035 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₄₆H₆₄O₁₇Cl 923,8674; obtido 923, 3827 [M + Cl]⁻.

2 β [8 -(1-O-metil-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil)-4-triazoil]-20R-hidroxi-25-acetoxi-10 α ,17 α -cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (16a)

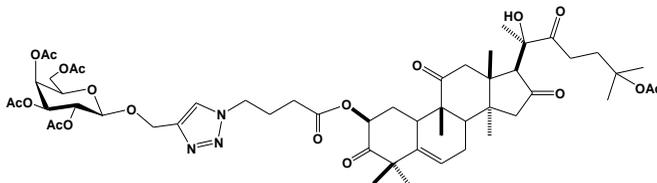


Em um tubo reacional, contendo o derivado **3** (50,0 mg ; 0,075 mmol), e o alcino terminal **10a** (55,0 mg; 0,15 mmol), adicionou-se ascorbato de sódio (4,0 mg; 0,0018 mmol) e sulfato de cobre em solução aquosa (66,0 mg; 0,037 mmol). Os reagentes foram solubilizados em DMF (0,2 mL). O tubo reacional foi fechado e submetido à irradiação por micro-ondas (Potência= 150W; Temperatura= 70°C) por dez minutos. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação e extraída com acetato de etila e solução concentrada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Após separação do produto bruto em coluna cromatográfica de sílica, o composto **16a** foi obtido como um sólido branco, com rendimento de 31% (2,4 mg; 0,023 mmol).

Dados do composto: **MM:** 1056,77 g/mol. **FM:** C₅₃H₇₇N₃O₁₉. **IV:** 1755, 1732; 1714; 1693, 1371; 1222; 1045 cm⁻¹. **PF:** 130,3- 133,8 °C.

Rf= 0,45 [acetato de etila/hexano 8:2 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 7.6 (1H, s, H-9'), 5.8 (1H, m, H-6), 5.5 (1H, dd, *J* 5.5 Hz, *J* 13.6 Hz, H-2), 5.19 (1H, t, *J* 9.6 Hz, H-3''), 5.10 (1H, t, *J* 9.6 Hz, H-4''), 4.92 (1H, d, *J* 12.6 Hz, H-10a'), 4.82 (1H, d, *J* 12.6 Hz, H-10b''), 4.69 (1H, d, *J* 8.0 Hz, H-1''), 4.52 (2H, m, H-4'); 4.27 (1H, dd, *J* 4.8 Hz, *J* 12.3 Hz, H-6a''), 4.16 (1H, dd, *J* 2.2 Hz; *J* 12.3 Hz, H-6b''), 3.75 (1H, m, H-5''), 3.62 (1H, s, H-17), 3.37 (2H, d, *J* 13.0 Hz, H-12 α), 2.86 (1H, m, H-10), 2.74 (4H, m, H-8, H-12 β , H-23), 2.53 (1H, m, H-7 β), 2.41 (2H, t, *J* 6.5 Hz, H-2'), 2.29 (2H, dd, *J* 6.5 Hz, *J* 12.8 Hz, H-3'), 2.25 (1H, m, H-8), 2.21 (1H, m, H-1 α), 2.15 (2H, m, H-15), 1.57 (1H, m, H-1 β), 1.47 (6H, s, Me-26, Me-27), 1.35 (6H, s, Me-21, Me-30), 1.34 (3H, s, Me-28), 1.30 (3H, s, Me-29), 1.18 (3H, s, Me-19), 1.14 (3H, s, Me-18), 2.10-1.98 (15H, 5s, 5-OCOCH₃). **^{13}C NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 216.0 (C-16), 213.8 (C-22), 210.5 (C-11), 205.5 (C-3), 171.1 (C-1'), 170.7 (C-OAc), 170.4 (C-OAc), 170.2 (C-OAc), 169.4 (C-OAc), 143.8 (C-8'), 139.7 (C-5), 123.6 (C-9'), 120.2 (C-6), 99.6 (C-1''), 81.4 (C-25), 79.9 (C-20), 73.6 (C-2), 72.8 (C-5''), 71.8 (C-3''), 71.1 (C-2''), 68.2 (C-4''), 62.7 (C-6''), 61.6 (C-17), 51.3 (C-4), 49.4 (C-4'), 48.9 (C-15), 47.6 (C-14), 47.1 (C-12), 44.5 (C-13), 42.0 (C-8), 34.9 (C-24), 34.4 (C-10), 31.9 (C-1), 30.3 (C-2''), 30.2 (C-23), 38.5 (C-28), 25.9 (C-26), 25.8 (C-27), 25.6 (C-3'), 24.1 (C-21), 23.4 (C-27), 22.4 (CH₃-CO), 21.2 (C-29), 20.8 (CH₃-CO), 20.6 (CH₃-CO), 20.6 (CH₃-CO), 20.1 (C-19), 19.7 (CH₃-CO), 19.1 (C-30). **ESI-TOF *m/z*** (modo positivo): calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Na 1078,4735; obtido 1078,4730 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Cl 1090,9368; obtido 1090,4521 [M + Cl]⁻.

2 β [8 -(1-O-metil-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-4-triazolil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10 α ,17 α -cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (16b)

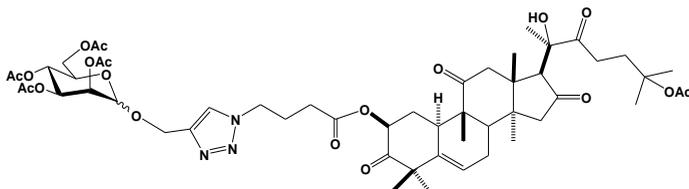


O mesmo procedimento descrito para a síntese do composto **16a** foi utilizado para a obtenção do composto **16b** porém, utilizando o alcino **10b** (55,0 mg; 0,15 mmol) e azida **3** (50,0 mg ; 0,075 mmol). O

produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 38% (30,0 mg; 0,028 mmol).

Dados do composto: MM: 1056,77 g/mol. **FM:** C₅₃H₇₇N₃O₁₉. **IV:** 1745; 1730; 1714; 1693; 1371; 1249; 1224 cm⁻¹. **PF=** 138,3- 140,4°C. **Rf=** 0,45 [acetato de etila/hexano 8:2 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 75 MHz): 7.66 (1H, s, H-9'), 5.83 (1H, m, H-6), 5.51 (1H, dd, *J* 5.8 Hz, *J* 13.8 Hz, H-2), 5.40 (1H, dd, *J* 1.0 Hz, *J* 3.4 Hz, H-4''), 5,22 (1H, dd, *J* 7.8 Hz, *J* 10.3 Hz, H-2''), 5.02 (1H, dd, *J* 3.4, *J* 10.3, H-3''), 4,96 (1H, d, *J* 12.3 Hz, H-10a'), 4.83 (1H, d, *J* 12.3 Hz, H-10b''), 4.66 (1H, d, *J* 7.8 Hz, H-1''), 4.16 (2H, dd, *J* 1.2 Hz, *J* 12.3 Hz, H-6''), 3.96 (1H, m, H-5''), 3.62 (1H, s, H-17), 3.37 (2H, d, *J* 13.0 Hz, H-12α), 2.85 (1H, m, H-10), 2.74 (4H, m, H-8, H-12β, H-23), 2.41 (1H, t, *J* 6.5 Hz; H-2'), 2.27 (2H, m H-3'), 2.13 (2H, m, H-15), 1.47 (6H, 2s, Me-26, Me-27), 1.35 (3H, s, Me-21), 1.34 (3H, s, Me-30), 1.32 (3H, s, Me-28), 1.30 (3H, s, Me-29), 1.18 (3H, s, Me-19), 1.14 (3H, s, Me-18), 2.16-1.98 (15H, 5s, 5-OCOCH₃). **¹³C NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 216.0 (C-16), 214.4 (C-22), 210.0 (C-11), 205.7 (C-3), 170.4 (C-1'), 170.3 (C-OAc), 170.2 (C-OAc), 170.1 (C-OAc), 170.0 (C-OAc), 148.1 (C-8'), 139.5 (C-5), 123.4 (C-9'), 119.6 (C-6), 99.9 (C-1''), 81.4 (C-25), 80.6 (C-20), 73.7 (C-2), 71.1 (C-5''), 70.7 (C-3''), 69.1 (C-2''), 67.2 (C-4''), 61.4 (C-6''), 61.7 (C-17), 50.8 (C-4), 49.2 (C-4'), 48.9 (C-15), 47.7 (C-14), 47.1 (C-12), 44.7 (C-13), 42.0 (C-8), 35.5 (C-24), 34.3 (C-10), 31.7 (C-1), 30.4 (C-2''), 30.2 (C-23), 28.8 (C-28), 26.0 (C-26), 25.5 (C-27), 25.0 (C-3'), 24.1 (C-21), 23.5 (C-7), 22.4 (CH₃-CO), 21.1 (C-29), 20.8 (CH₃-CO), 20.8 (CH₃-CO), 20.7 (CH₃-CO), 20.6 (CH₃-CO), 19.8 (C-19), 19.2 (C-30). **ESI-TOF *m/z*** (modo positivo): calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Na 1078,4735; obtido 1078,4730 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Cl 1090,9368; obtido 1090,4522 [M + Cl]⁻.

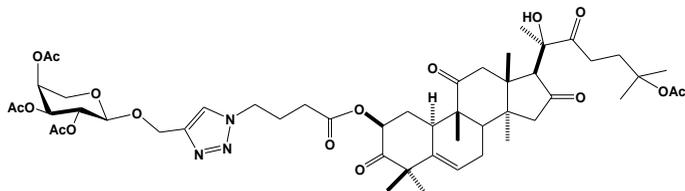
2 β [8 -(1-O-metil-2,3,4,6-tetra-O-aceti-D-manopiranosil)-4-triazolil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (16c)



O produto **16c** foi sintetizado de acordo com o procedimento para a preparação do composto **16a**, porém, utilizando o alcino **10c** (55,0 mg; 0,15 mmol) e azida **3** (50,0 mg ; 0,075 mmol). O produto foi obtido com rendimento de 54%, como um sólido branco (42,0 mg; 0,04 mmol).

Dados do composto: **MM:** 1056,77 g/mol. **FM:** C₅₃H₇₇N₃O₁₉. **PF:** 126,6- 130-9°C. **IV:** 1743; 1714; 1693; 1371; 1247; 1224; 1134 cm⁻¹. **Rf=** 0,45 [acetato de etila/hexano 8:2 (v/v)]. **δ_H (ppm)** (CDCl₃; 300 MHz): 7.72 (1H, s, H-9'), 5.82 (1H, m, H-6), 5.51 (1H, dd, *J* 5.9 Hz, *J* 13.7 Hz, H-2), 5.30 (1H, m, H-4''), 5.29 (1H, m, H-2''), 5.24 (1H, m, H-3''), 4.96 (1H, d, H-1''), 4.83 (1H, d, *J* 12.1 Hz, H-10a'), 4.67 (1H, d, *J* 12.1 Hz, H-10b'), 4.51 (2H, m, H-4'), 4.30 (1H, dd, *J* 4.9 Hz, *J* 12.1 Hz, H-6a''), 4.10 (1H, m, H-6''), 4.08 (1H, m, H-5''), 3.60 (1H, s, H-17), 3.35 (1H, d, *J* 14.9, H-12α), 2.89 (1H, m, H-10), 2.75 (4H, m, H-8; H-12β, H-23), 2.51 (1H, m, H-7β), 2.44 (2H, m, H-2'), 2.29 (2H, m, H-3'), 2.16 (1H, m, H-1α), 2.09 (2H, m, H-15), 1.55 (1H, m, H-1β), 1.46 (3H, s, Me-26), 1.34 (6H, 2s, Me-24; Me-28), 1.31 (3H, s, Me-29), 1.30 (3H, s, Me-30), 1.28 (3H, s, Me-21), 1.17 (3H, s, Me-19), 1.13 (3H, s, Me-18), 2.15-1.97 (15H, 4s, 5-OCOCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 215.8 (C-16), 213.7 (C-22), 210.4 (C-11), 205.3 (C-3), 171.3 (C-1'), 170.6 (C-OAc), 170.3 (C-OAc), 170.0 (C-OAc), 169.8 (C-OAc), 169.7 (C-OAc), 143.2 (C-8'), 139.8 (C-5), 123.6 (C-9'), 120.2 (C-6), 99.8 (C-1''), 81.3 (C-25), 79.9 (C-20), 73.6 (C-2), 69.4 (C-3''), 69.0(C-2''), 68.6 (C-5''), 66.1 (C-4''), 62.4 (C-6''), 61.6 (C-17), 51.3 (C-4), 49.4 (C-4'), 49.0 (C-15), 47.6 (C-14), 47.1 (C-12), 44.5 (C-13), 42.0 (C-8), 34.9 (C-24), 34.3 (C-10), 31.8 (C-1), 30.4 (C-2''), 30.2 (C-23), 28.6 (C-28), 25.9 (C-26), 25.8 (C-27), 25.6 (C-3'), 24.0 (C-21), 23.4 (C-7), 22.3 (CH₃-CO), 21.2 (C-29), 20.8 (CH₃-CO), 20.7 (CH₃-CO), 20.6 (CH₃-CO), 20.5 (CH₃-CO), 19.6 (C-19), 19.1 (C-30). **ESI-TOF** *m/z* (modo positivo): calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Na 1078,4735; obtido 1078,4734 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Cl 1090,9368; obtido 1090,4521 [M + Cl]⁻.

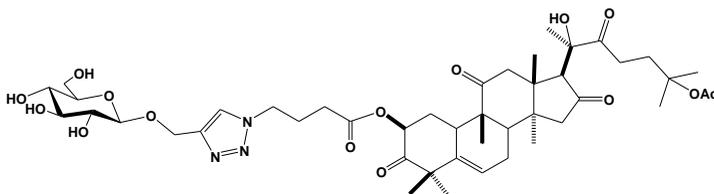
2β [8 -(1-O-metil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-L-arabinopiranosil)-4-triazolil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (16d)



O composto **16d** foi preparado utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese de **16a**, porém, utilizando o alcino **10d** (47,0 mg; 0,15 mmol) e azida **3** (50,0 mg ; 0,075 mmol). O produto foi obtido como um sólido branco, com rendimento de 15% (10,0 mg; 0,011 mmol).

Dados do composto: **MM:** 984,11 g/mol. **FM:** C₅₀H₆₈N₃O₁₇. **PF:** 103,4- 105,5°C. **IV:** 1745; 1712; 1697; 1371; 1249; 1224; 1178; 1022 cm⁻¹. **Rf**= 0,46 [acetato de etila/hexano 8:2 (v/v)]. **δ_H** (ppm) (CDCl₃; 300 MHz): 7.68 (1H, s, H-9'), 5.82 (1H, m, H-6), 5.51 (1H, dd, *J* 5.3 Hz, *J* 13.0 Hz, H-2), 5.27 (1H, m, H-4''), 5.20 (1H, dd, *J* 7.1 Hz *J* 9.3, H-2''), 5.03 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 9.3 Hz, H-3''), 4.94 (1H, d, *J* 12.4 Hz, H-10a'), 4.84 (1H, d, *J* 12.4 Hz, H-10b'), 4.60 (1H, d, *J* 7.1 Hz, H-1), 4.53 (2H, m, H-4'), 4.06 (1H, dd, *J* 3.4 Hz, *J* 13.4 Hz, H-5a''), 3.71 (1H, dd, *J* 1.5 Hz, *J* 13.4 Hz, H-5b''), 3.60 (1H, s, H-17), 3.35 (1H, d, *J* 14.0, H-12α), 2.85 (1H, m, H-10), 2.75 (1H, d, *J* 14.0, H-12β), 2.42 (2H, m, H-2'), 2.26 (3H, m, H-8; H-3'), 2.16 (1H, m, H-1α), 2.10 (2H, m, H-15), 1.46 (3H, s, Me-26), 1.34 (3H, s, Me-27), 1.33 (3H, s, Me-28), 1.32 (3H, s, Me-29), 1.31 (3H, s, Me-30), 1.29 (3H, s, Me-21), 1.15 (3H, s, Me-19), 1.14 (3H, s, Me-18), 2.18-2.01 (12H, 4s, 5-OCOCH₃). **¹³C NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 215.8 (C-16), 213.7 (C-22), 210.4 (C-11), 205.3 (C-3), 171.3 (C-1'), 172.1 (C-OAc), 170.3 (C-OAc), 170.2 (C-OAc), 143.8 (C-8'), 138.9 (C-5), 123.6 (C-9'), 120.2 (C-6), 99.8 (C-1''), 81.3 (C-25), 79.9 (C-20), 73.6 (C-2), 69.9 (C-3''), 69.5(C-2''), 67.1 (C-4''), 63.2 (C-5''), 62.0 (C-10'), 61.6 (C-17), 51.3 (C-4), 49.4 (C-4'), 49.1 (C-15), 47.6 (C-14), 47.1 (C-12), 44.5 (C-13), 42.0 (C-8), 34.9 (C-24), 34.3 (C-10), 31.9 (C-1), 30.4 (C-2'), 30.2 (C-23), 28.6 (C-28), 25.9 (C-26), 25.8 (C-27), 25.6 (C-3'), 23.5 (C-21), 23.3 (C-7), 22.2 (CH₃-CO), 21.2 (C-29), 20.7 (CH₃-CO), 20.0 (CH₃-CO), 19.8 (C-19), 19.4 (C-30). **ESI-TOF** *m/z* (modo positivo): calculado para C₅₀H₆₉N₃O₁₇Na 1006,4524; obtido 1006,4517 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₅₃H₇₃N₃O₁₉Cl 1018,8157; obtido 1018,4310 [M + Cl]⁻.

2β [8 -(1-O-metil-β-D-glicopiranosil)-4-triazoil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10a,17a-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (19a)

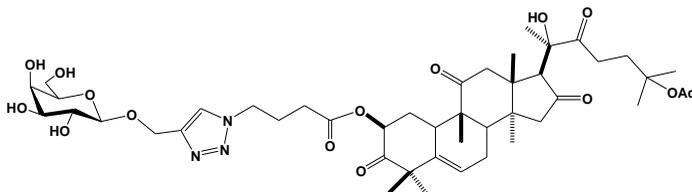


Em um tubo reacional, contendo o aceptor **3** (20,0 mg ; 0,03 mmol), e o alcino terminal **18a** (13,0 mg; 0,059 mmol), adicionou-se ascorbato de sódio (1,0 mg; 0,007 mmol) e sulfato de cobre em solução aquosa (2,0 mg; 0,015 mmol). Os reagentes foram solubilizados com 0,2 mL de DMF e submetidos à irradiação por reator micro-ondas (Potência= 150W; Temperatura= 70°C; 10 minutos). A mistura reacional foi seca sob pressão reduzida, O produto foi purificado por Sephadex LH- 20, e obtido como um óleo transparente com rendimento de 39% (13,0 mg; 0,014 mmol).

Dados do composto: MM: 888,02 g/mol. FM: C₄₅H₆₅N₃O₁₅. IV: 1737; 1732; 1714; 1384; 1371 cm⁻¹. Rf= 0,37. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 8.05 (1H, s, H-9'), 5.86 (1H, m, H-6), 5.66 (1H, dd, J 5.3 Hz, J 13.1 Hz, H-2), 4.80 (1H, d, J 12.6 Hz, H-10a'), 4.53 (1H, m, H-4'), 4.40 (1H, d, J 7.0 Hz, H-1"), 3.68 (1H, dd, J 5.0 Hz, J 12.0 Hz, H-6a), 3.51 (1H, s, H-17), 3.46 (1H, dd, J 3.5 Hz, J 9.6 Hz, H-2"), 3.15 (1H, m, H-10), 3.02 (1H, m, H-2'), 2.77 (2H, m, H-3'), 2.65 (1H, d, J 14.0 Hz, H-12β), 1.98 (3H, s, OCOCH₃), 1.47 (6H, 2s, Me-27, Me-26), 1.37 (3H, s, Me-21), 1.31 (3H, s, Me-30), 1.28 (3H, s, Me-28), 1.27 (3H, s, Me-29), 1.14 (3H, s, Me-19, Me-18). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ 216.6 (C-16), 215.7 (C-22), 209.6 (C-11), 208.2 (C-3), 166.6 (C-1'), 165.1 (C-OAc), 146.1 (C-8'), 142.2 (C-5), 136.4 (C-9'), 120.1 (C-6), 101.4 (C-1"), 83.8 (C-25), 80.5 (C-20), 77.0 (C-2), 73.6 (C-6"), 71.4 (C-3"), 72.3 (C-2"), 64.2 (C-4"), 60.0 (C-5"), 57.1 (C-17), 56.5 (C-4), 55.4 (C-4'), 54.8 (C-15), 51.3 (C-14), 51.0 (C-12), 46.4 (C-13), 41.8 (C-8), 39.5 (C-24), 39.1 (C-10), 38.6 (C-1), 34.8 (C-2'), 32.4 (C-23), 28.7 (C-28), 27.7 (C-26), 27.4 (C-27), 26.4 (C-3'), 26.2 (C-21), 25.8 (C-7), 24.6 (CH₃-CO), 24.3 (C-18), 22.2 (C-19), 19.0 (C-30). **ESI-TOF** m/z (modo positivo): calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Na 910,4313; obtido 910,4307 [M + Na]⁺.

Modo negativo: calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Cl 922,8946; obtido 922,4109 [M + Cl]⁻.

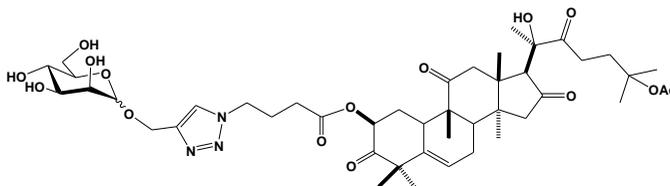
2β [8 -(1-O-metil-β-D-galactopiranosil)-4-triazoil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10a,17a-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (19b)



O mesmo procedimento para a obtenção do composto 19a foi utilizado para a preparação de 19b, porém, partindo do alcino desprotegido 18b. O produto foi obtido como um óleo transparente com 12% de rendimento (4,0 mg; 0,004 mmol).

Dados do composto: MM: 888,02 g/mol. FM: C₄₅H₆₅N₃O₁₅. IV: 1732; 1714; 1693; 1371; 1265; 1251 cm⁻¹. Rf= 0,37. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 8.05 (1H, s, H-9'), 5.86 (1H, m, H-6), 5.67 (1H, dd, *J* 5.3 Hz, *J* 13.1 Hz, H-2), 4.80 (1H, d, *J* 12.6 Hz, H-10a'), 4.53 (2H, m, H-4'), 4.35 (1H, d, *J* 7.5 Hz, H-1''), 3.84 (1H, dd, *J* 3.0 Hz, *J* 0.7 Hz, H-4''), 3.79 (1H, dd, *J* 11.0 Hz, *J* 7.0 Hz, H-6a'), 3.76 (1H, dd, *J* 11.1 Hz, *J* 5.3 Hz, H-6b'), 3.60-3.52 (4H, m, H-12α, H-17, H-2'', H-5''), 3.46 (1H, dd, *J* 3.5 Hz, *J* 9.6 Hz, H-3''), 3.15 (1H, m, H-10), 3.01 (1H, m, H-2'), 2.74 (2H, m, H-23), 2.67 (1H, d, *J* 14.0 Hz, H-12β), 2.45 (1H, m, H-2'), 2.30 (1H, d, *J* 14.9, H-12α), 2.22 (1H, m, H-8), 2.03 (2H, m, H-24), 1.98 (3H, s, OCOCH₃), 1.47 (3H, s, Me-26), 1.47 (3H, s, Me-27), 1.37 (3H, s, Me-21), 1.31 (3H, s, Me-30), 1.29 (3H, s, Me-28), 1.27 (3H, s, Me-29), 1.14 (3H, s, Me-19, Me-18). ¹³C NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 218.3 (C-16), 216.5 (C-22), 213.7 (C-11), 208.1 (C-3), 173.2 (C-1'), 172.1 (C-OAc), 141.3 (C-8'), 140.2 (C-5), 130.4 (C-9'), 121.5 (C-6), 104.2 (C-1''). 83.2 (C-25), 81.5 (C-20), 76.8 (C-2), 74.9 (C-5''), 72.4 (C-3''), 72.3 (C-2''), 64.2 (C-4''), 63.5 (C-6''), 63.0 (C-17), 62.6 (C-4), 52.4 (C-4'), 50.7 (C-15), 50.3 (C-14), 50.0 (C-12), 45.7 (C-13), 43.4 (C-8), 35.4 (C-24), 34.8 (C-10), 33.4 (C-1), 32.2 (C-2'), 31.4 (C-23), 29.0 (C-28), 26.7 (C-26), 26.4 (C-27), 26.2 (C-3'), 24.9 (C-21), 24.5 (C-7), 22.3 (CH₃-CO), 20.5 (C-18), 20.1 (C-19), 19.0 (C-30). **ESI-TOF** *m/z* (modo positivo): calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Na 910,4305; obtido 910,4307 [M + Na]⁺. Modo negativo: calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Cl 922,8946; obtido 922,4098 [M + Cl]⁻.

2β [8 -(1-O-metil-D-manopiranosil)-4-triazoil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (19c)

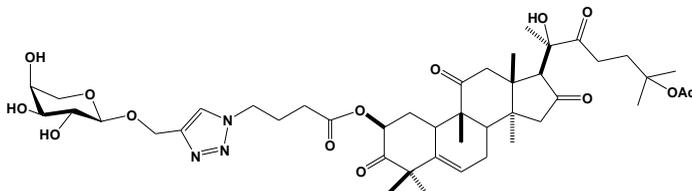


O mesmo procedimento para a obtenção do composto **19a** foi utilizado para a preparação de **19c**, porém, partindo do alcino desprotegido **18c**. O produto foi obtido como um óleo transparente com 15% de rendimento (5,0 mg; 0,005 mmol).

Dados do composto: MM: 888,02 g/mol. FM: C₄₅H₆₅N₃O₁₅. IV: 1730; 1714; 1703 cm⁻¹. Rf= 0,37. δ_H (ppm) (CDCl₃; 400 MHz): 8.06 (1H, s, H-9'), 5.86 (1H, m, H-6), 5.68 (1H, dd, *J* 5.8 Hz, *J* 13.6 Hz, H-2), 4.85 (1H, d, *J* 12.3 Hz, H-10'), 4.52 (2H, m, H-4'), 3.85 (1H, dd *J* 2.5 Hz, *J* 10.5, H-3''), 3.79 (1H, m, H-6a'), 3.72 (1H, dd, *J* 11.3Hz, *J* 5.0 Hz, H-6b'), 3.60-3.53 (3H, m, H-2'', H-4'', H-5''), 3.51 (1H, s, H-17), 3.20 (1H, m, H-10), 2.99 (2H, m, H-2'), 1.97 (3H, s, OCOCH₃), 1.47 (6H, 2s, Me-26), 1.46 (3H, s, Me-27), 1.37 (3H, s, Me-21), 1.30 (3H, s, Me-30), 1.29 (3H, s, Me-28), 1.27 (3H, s, Me-29), 1.13 (6H, s, Me-19, Me 18). ¹³C NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 218.5 (C-16), 216.4 (C-22), 213.8 (C-11), 207.9 (C-3), 172.9 (C-1'), 172.4 (C-OAc), 145.4 (C-8'), 141.3 (C-5), 125.5 (C-9'), 121.6 (C-6), 100.8 (C-1''), 83.2 (C-25), 81.5 (C-20), 75.3 (C-2), 74.9 (C-5''), 72.5 (C-3''), 72.0 (C-2''), 68.6 (C-4''), 63.5 (C-6''), 62.9 (C-17), 60.7 (C-4), 52.6 (C-4'), 50.7 (C-15), 50.3 (C-14), 50.0 (C-12), 45.7 (C-13), 43.4 (C-8), 35.4 (C-24), 34.8 (C-10), 33.4 (C-1), 32.2 (C-2'), 31.4 (C-23), 29.0 (C-28), 26.7 (C-26), 26.5 (C-27), 26.2 (C-3'), 24.9 (C-21), 24.5 (C-7), 22.3(CH₃-CO), 20.5 (C-30), 20.1 (C-19), 19.4 (C-18). **ESI-TOF** *m/z* (modo positivo): calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Na 910,4302; obtido 910,4307 [M + Na]⁺.

Modo negativo: calculado para C₄₅H₆₅N₃O₁₅Cl 922,8946; obtido 922,4099 [M + Cl]⁻.

2β [8 -(1-O-metil-β-L-arabnopiranosil)-4-triazoil]-20R-hidroxi-25-acetloxi-10α,17α-cucurbit-5-en-3,11,16,22-tetraona (19d)



O mesmo procedimento para a obtenção do composto **19a** foi utilizado para a preparação de **19d**, porém, partindo do alcino desprotegido **18d**. O produto foi obtido como um óleo transparente com 14% de rendimento (1,8 mg; 0.002 mmol).

Dados do composto: **MM:** 857,99 g/mol. **FM:** $C_{44}H_{63}N_3O_{14}$. **IV:** 1732; 1714; 1384; 1371 cm^{-1} . **Rf=** 0,37. **δ_H (ppm) ($CDCl_3$; 400 MHz):** 8.07 (1H, s, H-9'), 5.86 (1H, m, H-6), 5.66 (1H, dd, J 5.8 Hz, J 13.6 Hz, H-2), 4.53 (2H, m, H-4'), 4.30 (1H, d, J 6.6 Hz, H-1''), 3.88 (1H, dd, J 12.6 Hz, H-5a''), 3.81 (1H, s, H-17), 3.60-3.51 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5b''), 3.20 (1H, m, 10), 3.01 (2H, m, H-2'), 2.76 (2H, m, H-3), 2.66 (1H, d, J 14.8 Hz, H-12 β), 2.50 (1H, m, H-7 β), 2.32 (1H, d, J 7.8 Hz, H-8), 1.97 (3H, s, $OCOCH_3$), 1.47 (6H, 2s, Me-26), 1.46 (3H, s, Me-27), 1.37 (3H, s, Me-21), 1.30 (3H, s, Me-30), 1.28 (3H, s, Me-28), 1.27 (3H, s, Me-29), 1.13 (6H, s, Me-19, Me-18). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** δ 218.6 (C-16), 215.2 (C-22), 212.5 (C-11), 208.0 (C-3), 170.4 (C-1'), 165.9 (C-OAc), 148.2 (C-8'), 146.1 (C-5), 135.3 (C-9'), 121.1 (C-6), 101.0 (C-1''), 84.4 (C-25), 80.4 (C-20), 76.3 (C-2), 72.8 (C-5''), 6.4 (C-3''), 66.2 (C-2''), 64.5 (C-4''), 64.4 (C-17), 61.7 (C-4), 56.2 (C-4'), 52.9 (C-15), 51.0 (C-14), 48.7 (C-13), 47.4 (C-8), 38.6 (C-24), 35.7 (C-10), 32.5 (C-1), 31.8 (C-2'), 31.4 (C-23), 29.8 (C-28), 29.4 (C-26), 28.2 (C-27), 25.4 (C-3'), 24.9 (C-21), 22.3 (CH_3-CO), 20.5 (C-18), 20.8 (C-19), 19.1 (C-30). **ESI-TOF m/z (modo positivo):** calculado para $C_{44}H_{63}N_3O_{14}Na$ 880,4207; obtido 880,4205 [$M + Na$]⁺. **Modo negativo:** calculado para $C_{44}H_{63}N_3O_{14}Cl$ 892,8840; obtido 892,4102 [$M + Cl$]⁻.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O propósito deste trabalho provém de resultados promissores frente à atividade citotóxica apresentados por cucurbitacinas naturais e seus análogos semissintéticos, entre os quais podem ser citados trabalhos desenvolvidos nessa Universidade (SIQUEIRA et al., 2009; LANG et al, 2011; LANG et al., 2012). Entretanto, alguns autores destacam a inviabilidade no avanço do estudo da atividade citotóxica de cucurbitacinas devido à sua baixa seletividade em relação às células normais (CHEN et al., 2005). Nesse sentido, o trabalho foi direcionado para a obtenção de análogos através da modificação molecular, afim de melhorar propriedades fundamentais para viabilizar a utilização desta classe de compostos como potencial agente quimioterápico, eventualmente com menor toxicidade. A obtenção de derivados glicosilados de di-hidrocurcubitacina B utilizando diferentes unidades monossacarídicas visa avaliar a influência de cada monossacarídeo frente à atividade citotóxica. Ademais, os novos derivados obtidos contribuem para a enriquecer os estudos de relação estrutura-atividade desta classe de compostos.

A literatura traz poucos trabalhos envolvendo semissíntese de cucurbitacinas. Em sua totalidade, os trabalhos envolvem reações de acetilação, eliminação, oxidação, redução, formação de ésteres e éteres, etc (BARTALIS; HALAWEISH, 2005; 2011; LANG et al., 2012). Um trabalho de Jung e Liu (2010) mostra síntese total da cucurbitacina B e D, em uma rota sintética de 16 etapas. Porém, não há relatos de síntese de derivados glicosilados. Tendo em vista que o isolamento de glicosídeos naturais de di-hidrocurcubitacina B é dificultado pelas β -glicosidases, o presente trabalho objetivou tanto a preparação de glicosídeos diretamente ligados à DHB, quanto a síntese de novos derivados glicosilados, contendo um grupo espaçador (anel triazol) entre a cucurbitacina e a unidade monossacarídica.

Alguns resultados apresentados na literatura encorajaram a síntese de glicosídeos de cucurbitacina. Atualmente, diversos estudos apontam triterpenóides e esteróides naturais, glicosilados sinteticamente ou não, os quais apresentaram atividade biológica. Dentre os exemplos, podem ser citadas alguns glicosídeos de clorogenina (saponina), os quais mostraram atividade citotóxica em linhagens de células de leucemia CCRF e H2-20. O estudo sugere ainda que o trissacarídeo ligado à saponina (chacotriose) possui relação com a atividade em questão (WANG et al., 2013). Kim e colaboradores isolaram dois esteróides de

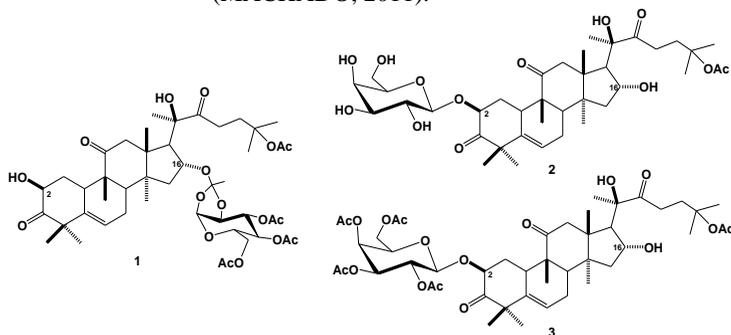
Cynanchum paniculatum denominados Cianosídeos A e B. Ambos apresentaram-se seletivamente tóxicos contra células de melanoma SK-MEL-2, com valores de 17 e 36 μM , respectivamente (KIM et al, 2013). Ali e colaboradores isolaram esteróides do tipo colestano de *Dioscorea villosa* com potencial atividade antifúngica. Os compostos, então chamados Dioscoreavilosídeos, apresentavam maior ou menor atividade dependendo da sequência e tipos de açúcares ligados à sua aglicona (ALI; SMILLIE; KHAN, 2013).

Nosso grupo de pesquisa tem trabalhado com duas fontes vegetais: *Wilbrandia ebracteata* cogn. e *Luffa operculata* (L.) cogn., das quais os extratos diclorometânico e etanólico, respectivamente, são ricos em cucurbitacinas. A di-hidrocurcubitacina B, juntamente com a cucurbitacina R são isoladas de raízes *Wilbrandia ebracteata* com cerca de 45% a partir do extrato diclorometânico (SCHENKEL et al, 1992; FARIAS et al, 1993). O bom rendimento juntamente com bons resultados apresentados na atividade citotóxica e anti-inflamatória da DHB viabilizaram a realização deste trabalho. Cabe ressaltar que é de grande valia a obtenção de derivados glicosilados de outras cucurbitacinas.

Em um trabalho previamente realizado por nosso grupo de pesquisa, foram obtidos glicosídeos na posição C-2 ou C-16 da di-hidrocurcubitacina B, com rendimentos moderados (~17%), utilizando metodologias de triflatos ou Köenigs Knorr, respectivamente (Figura 42) (MACHADO, 2011). Não foram obtidos derivados glicosilados em ambas as posições, embora as duas hidroxilas estivessem livres. A proteção através de oxidação de C-16 da di-hidrocurcubitacina B foi realizada neste trabalho visando a obtenção, de glicosídeos apenas em C-2, com o intuito de obter-se derivados inéditos e também possíveis melhoras nos rendimentos. Nesse sentido, a preparação do acceptor de unidade monossacarídica foi realizada conforme metodologia previamente padronizada por nosso grupo de pesquisa (LANG, 2012), com rendimento de 50%.

Os doadores monossacarídicos utilizados neste trabalho foram sintetizados a partir de D-glicose, D-galactose, D-manose e L-arabinose obtidos comercialmente. Doadores funcionalizados em C-1 com bromo foram sintetizados em dois passos, utilizando glicose e galactose. Doadores funcionalizados em C-1 com tricloroacetimidato foram sintetizados com todas as unidades monossacarídicas, em três passos. Em geral, os doadores monossacarídicos foram obtidos em bons rendimentos.

Figura 42: Derivados glicosilados de DHB obtidos por nosso grupo de pesquisa (MACHADO, 2011).



Fonte: Adaptado de MACHADO, 2011.

Para as reações de *O*-glicosilação direta, diversas metodologias foram utilizadas, alterando doador de unidade monossacarídica e promotores. A metodologia de Koenigs-Knorr foi selecionada com base nos resultados obtidos anteriormente por nosso grupo de pesquisa. As reações foram realizadas utilizando óxido de prata (Ag_2O) como promotor e os doadores bromados derivados de glicose e galactose (**7a-b**). No entanto não houve formação de derivados glicosilados do aceptor. O resultado anteriormente obtido com a DHB foi de um glicosídeo em C-16, não havendo glicosilação em C-2, sendo que a mesma se apresentava livre para reação. Ademais, foi obtido um glicosídeo derivado do colesterol, o qual a única hidroxila presente na molécula não apresenta impedimento significativo, sugerindo que a metodologia não é eficaz para glicosilação na posição C-2 da DHB.

Em virtude da não obtenção dos resultados desejados com a metodologia anteriormente descrita, o trabalho se direcionou para tentativas de *O*-glicosilação de Helferich. Esta metodologia nada mais é que uma modificação da Koenigs-Knorr, substituindo sal ou óxido de prata por sal de mercúrio. Neste trabalho foram testados os sais de $\text{Hg}(\text{CN})_2$ e HgBr_2 como promotores. Os doadores monossacarídicos foram derivados bromados de glicose e galactose (**7a-b**). As reações foram submetidas conforme algumas metodologias, variando condições reacionais. O perfil cromatográfico de difícil visualização dos meios reacionais além da não obtenção de quantidade significativa de nenhuma das frações isoladas desencorajou a continuação da utilização deste método.

Uma tentativa de *O*-glicosilação foi realizada utilizando catalisador básico. O sal de NaH foi então utilizado como promotor. A

reação ocorreu com o doador bromado e o acceptor derivado oxidado em C-16 da DHB em DMF. Reações tanto em atmosfera inerte quanto em atmosfera normal ocorreram ao mesmo tempo, porém, o mesmo perfil cromatográfico foi visualizado para as duas reações. O composto **4** proveniente da enolização da hidroxila de C-2 do acceptor foi isolado e identificado por RMN. O resultado obtido por este método levou a crer que metodologias em meio básico não seriam interessantes para *O*-glicosilação da DHB, visto que o meio básico promove a formação do subproduto acima citado, além da não obtenção do glicosídeo desejado.

A reação utilizando glicol foi promovida por Mont K10, tanto em aquecimento convencional quanto por irradiação em micro-ondas. O perfil cromatográfico das reações apresentaram diversos subprodutos. O isolamento de um produto (**13**) derivado do acceptor (**2**) mostrou que houve a eliminação da acetila terciária ligada a C-25 da DHB como subproduto. Não foram obtidos glicosídeos.

A reação com BF_3OEt_2 , inicialmente foi realizada com doadores peracetilados de glicose e galactose. Metodologias com adição de base juntamente com o promotor também foram feitas. A não obtenção de glicosídeos levou à alternativa de experimentar os doadores glicosídicos contendo grupo de saída tricloroacetimidato. A acidez do meio reacional em ambas as tentativas levaram à formação de um derivado da cucurbitacina R, mantendo a posição C-16 oxidada. A obtenção deste derivado ocorreu pela hidrólise da acetila terciária localizada em C-25 do derivado da DHB (**2**).

Tanto as reações com glicol, catalisada por Mont K10 quanto com BF_3OEt_2 apresentaram produtos colaterais (produtos **13** e **14**) com baixos rendimentos e nenhum glicosídeo foi obtido. Os resultados mostram que os ácidos de Lewis então utilizados como promotores não foram ideais para a glicosilação do acceptor derivado de DHB (**2**). Uma alternativa para o problema encontrado seria utilizar novos ácidos de Lewis como promotores. Outros grupos protetores podem ser explorados no doadores, assim como solventes do meio reacional.

As reações com triflatos foram testadas com AgOTf e TMSOTf . A reação utilizando AgOTf não apresentou produtos além de degradações do doador, enquanto reações utilizando TMSOTf em uma relação equivalente maior que 0,8 em relação ao acceptor proporcionou o aparecimento do derivado da cucurbitacina R anteriormente descrito para as reações com BF_3OEt_2 . A mudança no procedimento reacional, em que o acceptor foi deixado em contato com promotor (0,2 equivalentes) previamente à adição do doador promoveu a glicosilação com galactose, com rendimento de 3%. O baixo rendimento da reação

não possibilitou a desproteção das hidroxilas do glicosídeo, e sugere que ainda é necessário a otimização da metodologia. Como perspectiva futura, o trabalho foi direcionado para obtenção de glicosídeos com todas as unidades glicose, manose e arabinose.

Neste trabalho, não foram testados alguns parâmetros para a melhoria dos resultados de *O*-glicosilação direta. A principal mudança entre as metodologias foram os promotores das reações. Os solventes foram alterados conforme os métodos seguidos, embora eles possam ser alterados dentro de cada metodologia, visando estudar a influência destes sobre as reações.

Grupos protetores dos carboidratos também podem ser explorados. Os grupamentos acetilas, utilizados como grupos protetores nos carboidratos neste trabalho possuem algumas vantagens. Dentre elas, a fácil obtenção de açúcares peracetilados, fácil desproteção destes, participação durante o mecanismo de reação, influenciando na conformação do produto (melhores proporções de isômeros β). No entanto, grupos protetores ativadores podem ser utilizados, como por exemplo grupos benzila, para melhorar a reatividade dos carboidratos, embora os efeitos sobre a configuração dos glicosídeos sejam perdidos.

A influência da carbonila em C-3 da di-hidrocurbitacina B sobre a reatividade da hidroxila em C-2 ainda não é clara. A avaliação da reatividade desta hidroxila frente as reações de *O*-glicosilação poderia ser estudada realizando a proteção da carbonila em C-3. Porém, é necessário cuidado ao proteger a carbonila em C-3, tendo em vista que a DHB possui outros grupamentos carbonílicos.

Em uma outra abordagem, visando a preparação de novos glicosídeos, foram obtidos derivados de DHB contendo diferentes unidades monossacarídicas ligados a um anel triazol a partir da reação de cicloadição. Para isso, o derivado da DHB oxidado em C-16 (**2**) foi utilizado para a obtenção do derivado azida, em duas etapas. Os doadores monossacarídicos contendo grupamento tricloroacetimidato em C-1 foram utilizados para a *O*-glicosilação com álcool propargílico, para a obtenção das unidades monossacarídicas contendo alcino terminal.

A reação de cicloadição foi realizada através da estratégia de "Click Chemistry". Os produtos desta reação foram obtidos com rendimentos variáveis, de 15% a 54%. Os produtos obtidos são inéditos e serão enviados para teste frente a atividade citotóxica em três linhagens de células tumorais: A549 (câncer de pulmão), RD (rabdomiossarcoma) e HCT-8 (câncer de cólon intestinal).

Algumas tentativas de desproteção das hidroxilas dos derivados triazóis foram realizadas, porém, não foi obtido êxito, em virtude da quebra da cadeia adicionada em C-2 da DHB. A alternativa encontrada para a obtenção dos derivados contendo açúcares desprotegidos foi desproteger as hidroxilas das unidades monossacarídicas contendo alcino terminal. A desproteção foi realizada com NaOMe 1Mol.L⁻¹ em metanol. Os derivados desprotegidos foram obtidos em rendimentos quantitativos.

A reação de cicloadição foi realizada novamente entre os derivados alcino desprotegidos (**18a-d**) e derivado azida da DHB (**2**). Assim, foi possível obter os derivados triazóis de DHB contendo unidades monossacarídicas desprotegidas (compostos **19a-d**) com rendimentos de 14 a 39%.

O trabalho possui perspectivas de continuidade, tanto na otimização da metodologia de *O*-glicosilação direta, e obtenção de glicosídeos de DHB com outras unidades monossacarídicas, quanto com a avaliação da atividade citotóxica dos derivados obtidos. São previstos também, um estudo mais detalhado da posição C-2 da DHB frente à carbonila em C-3 e a síntese de derivados triazóis, ou derivados diretamente glicosilados de outras cucurbitacinas.

6. REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, S. I.; HASSAN, L. E. A.; ABDULMAJID A. M. S.; YAGI S. M. A.; TAHA, M. E.; AHMAD, S.; CHUEN, C. S.; NARRIMA, P.; SYAM, R. M. S.; ABDULKARIMMOHARAM, B. A., HADI. H. A. Cucurbitacin L 2-*O*- β -Glucoside Demonstrates Apoptogenesis in Colon Adenocarcinoma Cells (HT-29): Involvement of Reactive Oxygen and Nitrogen species Regulation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 12; p. 1-8, 2012.

ALI, Z.; SMILLIE, T. J.; KHAN, I. A. Cholestane steroid glycosides from the rhizomes of *Dioscorea villosa* (wild yam). **Carbohydrate Research**, v.370, p. 86–92, 2013.

ARAGÃO-LEONETI, V.; CAMPO, V.L.; GOMES, A.S.; FIELD, R.A.; CARVALHO, I. Application of copper(I)-catalyzed azide/alkyne cycloaddition (CuAAC) click chemistry' in carbohydrate drug and neoglycopolymer synthesis. **Tetrahedron**, v.66, p.9475-9492, 2010.

ATOPKINA, L. N.; DENISENKO, V. A. Synthesis of panaxatriol glucosides. **Chemistry of Natural Compounds**. v. 45, n. 5, p. 664-672, 2009.

ATOPKINA, L. N.; DENISENKO, V. A. Glycosylation of panaxadiol. **Chemistry of Natural Compounds**. v. 46, n. 6, p. 892-896, 2011.

AYYAD S.; N.; ABDEL- LATEFF, A.; ALARIF, W. L.; PATAACCHIOLI, F. P.; BADRIA, F. A.; EZMIRLY, S. T. In vitro and in vivo study of cucurbitacins-type triterpene glucoside from *Citrullus colocynthis* growing in Saudi Arabia against hepatocellular carcinoma. **Environmental toxicology and pharmacology**. v. 33, p.245–251, 2012.

BARTALIS, J.; HALAWEISH, F. T. Relationship between cucurbitacins reversed-phase high-performance liquid chromatography hydrophobicity index and basal cytotoxicity on HepG2 cells. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**. v. 818, n. 2, p. 159-166, 2005.

BARTALIS, J.; HALAWEISH, F. T. In vitro and QSAR studies of cucurbitacins on HepG2 and HSC-T6 liver cell lines. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. v. 19, n. 8, p. 2757-2766, 2011.

BLASKOVICH, M. A.; SUN, J. Z.; CANTOR, A.; TURKSON, J.; JOVE, R.; SEBTI, S. M. Discovery of JSI-124 (Cucurbitacin I), a Selective Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Signaling Pathway Inhibitor with Potent Antitumor Activity against Human and Murine Cancer Cells in Mice. **Cancer Research**. v.63, p.1270-1279, 2003.

BOGA, S. B.; BALASUBRAMANIAN, K. K. Indium trichloride catalyzed Ferrier rearrangement – facilesynthesis of 2,3-unsaturated glycosides. **ARKIVOC**, v. VIII, p. 87-102, 2004.

LI K.; LIU, S. L.; CHU, K. H.; TOH, M.; XIE, W. D. Cucurbitacin B inhibits STAT3 and the Raf/MEK/ERK pathway in leukemia cell line K562. **Cancer Letters**, v. 289, p.46-52, 2010.

CHEN, J. C.; CHIU, M. H.; NIE, R. L.; CORDEL, G. A.; QIU, S. X. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. **Natural Product Reports**. v. 22, n. 3, p. 386-399, 2005.

CHENG, H.; CAO, X.; XIAN, M.; FANG, L.; CAI, T. B.; JI, J. J.; TUNAC, J. B.; SUN, D.; WANG, P. G. Synthesis and enzyme-specific activation of carbohydrate-geldanamycin conjugates with potent anticancer activity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 48, n. 2, p. 645-652, 2005.

DAKENG, S.; DUANGMANO, S.; JIRATCHARIYAKUL, W.; U-PRATYA, Y.; BÖGLER, O.; PATMASIRIWAT, P. Inhibition of Wnt signaling by cucurbitacin B in breast cancer cells: reduction of Wnt-associated proteins and reduced translocation of galectin-3-mediated β -catenin to the nucleus. **Journal of Cellular Biochemistry**. v.113, p. 49–60, 2012.

DAVID, A. AND VALLANCE, D.K. 1955. Bitter principles of cucurbitaceae. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v.7, p. 295-296, 1955.

DAVIS, B. G.; FAIRBANKS, A. J. **Carbohydrate Chemistry**. Ed. Oxford, New York, 2002.

DINAN, L.; HARMATHA, J.; LAFONT, R. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. **Journal of Chromatography A**. v. 935, n. 1-2, p. 105-123, 2001.

DING, N.; YAMASHITA, U.; MASUIKA, H.; TSUTOMU, S.; JUNICHI, T.; JUNKO, N.; YASHIHIRO, Y. Apoptosis induction through proteasome inhibitory activity of cucurbitacin D in human T-cell leukemia. **Cancer**, v.117, p.2735-2746, 2011.

DUNCAN, K. L. K.; DUNCAN, M. D.; ALLEY, M. C.; SAUSVILLE, E. A. Cucurbitacin E-induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate carcinoma cells. **Biochemical Pharmacology**. v. 52, n. 10, p. 1553-1560, 1996.

ESCANDELL, J. M.; KALER, P.; RECIO, M. C.; SASAZUKI, T.; SHIRASAWA, S.; AUGENLICHT, L.; RIÏ•OS, J. L.; KLAMPFER, L. Activated kRas protects colon cancer cells from cucurbitacin-induced apoptosis: The role of p53 and p21. **Biochemical Pharmacology**. v. 76, n. 2, p. 198-207, 2008.

FARIAS, M. R. **Análise de Cucurbitacinas em Espécies de Cucurbitaceae conhecidas popularmente como Taiuiá**. 1986. Programa de Pós- Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1986.

FARIAS, M. R. **Cucurbitacine aus *Wilbrandia ebracteata* Cogn (*Cucurbitaceae*)**. Pharmazeutische Chemie, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn, 1991.

FARIAS, M. R.; SCHENKEL, E. P.; MAYER, R.; RUCKER, G. Cucurbitacins as constituents of *Wilbrandia ebracteata*. **Planta Medica**. v. 59, n. 3, p. 272-275, 1993.

FARIAS, M. R.; SCHENKEL, E. P.; VIANNA, R. M. J.; DOS SANTOS, R. I. Identificação de amostras comerciais de raiz de Taiuiá como *Wilbrandia ebracteata* Cogn. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 1, n. 2, 1986.

FERRIER, R. J.; ZUBKOV O. A. Transformation of Glycals into 2,3-Unsaturated Glycosyl Derivatives. **Organic Reactions**, v. 62, p.569-736, 2004.

FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A. PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; SANTOS, L. J.; FREITAS, R. P. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**. v. 34, p. 1791-1804, 2011

GAUTHIER, C.; LEGAULT J.; GAUTHIER., M. P.; PICHETTE, A. Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupane-type triterpenoid saponins. **Phytochemistry Review**, v. 10, p. 521–544, 2011.

GEISSMAN, T.A. New substances of plant origin. *Annual. Review of Pharmacology*,.v. 4, p. 305–316, 1964

GRAZIOSE, R.; GRACE, M. H.; RATHINASABAPATHY, T.; ROJAS-SILVA, P.; DEKOCK, C.; POULEV, A.; LILA, M. A.; SMITH; P.; RASKIN I. Antiplasmodial activity of cucurbitacin glycosides from *Datisca glomerata* (C. Presl) Baill. **Phytochemistry**, v. 87, p.78–85, 2013.

GU, G.; ZHAO Y.; GUO, Z. Synthesis of Leonosides E and F derived from *Leonurus japonicas* Houtt. **Carbohydrate Research**, v. 380, p.174–180, 2013

HARITUNIANS, T.; GUELLER, S.; ZHANG, L.; BADR, R.; YIN, D.; XING H. Cucurbitacin B induces differentiation, cell cycle arrest, and actin cytoskeletal alterations in myeloid leukemia cells. **Leukemia Research**. V.32, p.1366–1373, 2008.

HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**. v. 13, n. 19-20, p. 894-901, 2008.

HELFERICH, B.; SCHMITZ-HILLEBRECHT, E. Eine neue Methode zur Synthese von Glykosiden der Phenole. **Chemische Berichte**. v. 66, n. 3, 1933.

HUTT, T.F.; HERRINGTON, M. E. The determination of bitter principles in zucchinis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 36, p.1107–1112, 1985.

JACOBSSON, M.; MALMBERG, J.; ELLERVIK, U. Aromatic *O*-glycosylation. **Carbohydrate Research**. v. 341, n. 10, p. 1266-1281, 2006.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. **Cancer Letters**. v. 189, n. 1, p. 11-16, 2003.

JUNG, M. E.; LUI, R. M. Studies toward the total syntheses of cucurbitacins B and D. **Journal of Organic Chemistry**. v. 75, n. 21, p. 7146-7158, 2010.

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.

KAUR, N.; KISHORE, D. Montmorillonite: An efficient, heterogeneous and green catalyst for organic synthesis. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 4, p. 991-1015, 2012.

KNECHT, D.A.; LAFLEUR, R.A.; KAHSAI, A.W.; ARGUETA, C.E.; BESHIR, A.B.; FENTEANY, G. Cucurbitacin I inhibits cell motility by indirectly interfering with actin dynamics. **Plos One**, v.5, e14039, 2010.

KIM C. S.; OH, J. Y.; CHOI, S. U.; LEE, K. R. Chemical constituents from the roots of *Cynanchum paniculatum* and their cytotoxic activity. **Carbohydrate Research**, v. 381, p.1–5, 2013.

KINGSTON, DAVID G. I.; NEWMAN, DAVID J. Natural Products as anticancer agents. **Wiley Encyclopedia of Chemical Biology**. v.3, p. 249-260, 2009.

KLINOTOVA, E.; KRECEK, V.; KLINOT, J.; ENDOVA, M.; EISENREICHOVA, J.; BUDESINSKY, M.; STICHA, M. Glycosylation of triterpene alcohols and acids of the lupane and a-

secolupane series. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 62, p. 1776-1798, 1997.

KÖENIGS, W.; KNORR, E. Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose. **Chemische Berichte**. v. 34, 1901.

KOHN, C.; LIOTTA, L. A. A novel antiproliferative and antimetastasis agent. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 82, p.54-60, 1990.

KOHN C.; SANDEEN, M. A.; LIOTTA, L. A.. In vivo efficacy of a novel inhibitor of selected signal transduction pathways including calcium, arachidonate, and inositol phosphates. **Cancer Research**. v. 52, p. 3208-3212, 1992.

KONOSHIMA, T.; TAKASAKI, M.; TATSUMOTO, T.; KOZUKA, M.; KASAI, R.; TANAKA, O.; NIE, R. L.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; IWASHIMA, A. Inhibitory effects of cucurbitane triterpenoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumors. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v. 17, n. 5, p. 668-671, 1994.

KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B. "The growing impact of click chemistry on drug discovery, **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 24, p. 1128-1137, 2003.

KOSIOVA, I.; KOVACKOVA, S.; KOIS, P. Synthesis of coumarin-nucleoside conjugates via Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition. **Tetrahedron**, v. 63, p. 312-320, 2006.

KUMAR, K. K. ; SEENIVASAN, S. P.; KUMAR, V.; DAS, T. M. Synthesis of quinoline coupled [1,2,3]-triazoles as a promising class of antituberculosis agents. **Carbohydrate Research**, v.346, p 2084-2090, 2011.

LANG, K. L.; DA ROSA GUIMARÃES, T.; ROCHA MACHADO, V.; ZIMMERMANN, L. A.; SILVA, I. T.; TEIXEIRA, M. R.; DURÃN, F. J.; PALERMO, J. A.; SIMÕES, C.; CARO, M.; SCHENKEL, E. P. New Cytotoxic Cucurbitacins from *Wilbrandia ebracteata* Cogn. **Planta Medica**. v. 77, p. 1648-1651, 2011.

LANG, K. L. **Obtenção de cucurbitacinas a partir de plantas nativas e modificações estruturais visando à síntese de compostos bioativos.** Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

LANG, K. L.; SILVA, I. T.; ZIMMERMANN, L. A.; MACHADO V. R.; TEIXEIRA, M. R.; GALETTI, M. A.; PALERMO, J. A.; CABRERA, G. M.; BERNARDES, L. S. C.; SIMÕES, C. O.; SCHENKEL, E. P.; CARO, M. S. B.; DURÁN, F. J. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of dihydrocucurbitacin B and cucurbitacin B derivatives. **Bioorganic Medicinal Chemistry**. v. 20, p. 3016-3030, 2012.

LAVIE, D.; GLOTTER, E. The cucurbitanes, a group of tetracyclic triterpenes. **Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe**. v. 29, p. 307-362, 1971.

LAVIE, D.; SHVO, Y.; GOTTLIEB, O. R.; GLOTTER, E. Constitution of the Cucurbitacins. **Tetrahedron Letters**. v. 2, n. 18, p. 615-623, 1961.

LEE, T.; CHO, M.; KO, S.-Y.; YOUN, H.-J.; BAEK, D. J.; CHO, W.-J.; KANG, C.-Y.; KIM, S. **Journal of Medicinal Chemistry**. v 50, p. 585 – 589. 2007,

LEE, D. H.; IWANSKI, G. B.; THOENNISSSEN, N. H. Cucurbitacin: Ancient compound shedding new light on cancer treatment. **The Scientific World Journal**. v. 10, p. 413-418, 2010.

LEE, D. H.; THOENNISSSEN, N. H.; GOFF, C.; IWANSKI, G. B.; FORSCHER, C.; DOAN, N. B.; SAID, J. W.; PHILLIP KOEFFLER, H. Synergistic effect of low-dose cucurbitacin B and low-dose methotrexate for treatment of human osteosarcoma. **Cancer Letters**. v. 306, n. 2, p. 161-170, 2011.

LEMIEUX, R. U.; LINEBACK, R. Chemistry of the carbohydrates. **Annual review of biochemistry**. v. 32, p. 155-184, 1963.

LIN, W.W.; KARIN, M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. **Journal of Clinical Investigation**. v. 117, p. 1175–118, 2007.

MACHADO V. R.; **Semissíntese de derivados glicosilados de Di-hidrocurbitacina B**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

MATSUMOTO, K.; KASAI, R.; OHTANI, K.; TANAKA, O. Minor cucurbitane-glycosides from fruits of *Siraitia grosvenori* (Cucurbitaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v. 38, n. 7, p. 2030-2032, 1990.

MELO, J.O.F.; DONNICI, C.L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V.F.; SOUZA, M.C.B.V. ; FERREIRA, M.L.G.; CUNHA, A.C. 1,2,3-Triazolic heterocycles: history, preparations, applications and pharmacological activities. **Química Nova**, v.29, n.3, p.569-579, 2006.

METCALF, R. L.; METCALF, R.; A.; RHODES, A.; M. Cucurbitacins as kairomones for diabroticite beetles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 77, p. 3769-3772, 1980.

MIRÓ, M. Cucurbitacins and their pharmacological effects. **Phytotherapy Research**. v. 9, n. 3, p. 159-168, 1995.

MILJKOVIC, M. **Carbohydrates: Synthesis, Mechanisms, and Stereoelectronic Effects**. New York: Springer, 2009.

MUTHANA, S.; YU, H.; HUANG, S.; CHEN, X. Chemoenzymatic Synthesis of Size-Defined Polysaccharides by Sialyltransferase-Catalyzed Block Transfer of Oligosaccharides. **American Chemical Society**, v. 129, p. 11918-11919, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v.23, p. 311-335, 2012.

NOGUEIRA, C. M.; PARMANHAN, B. R.; FARIAS, P. P.; CORRÊA, A. G. A importância crescente dos carboidratos em química medicinal. **Revista Virtual de Química**, v.1; 149-159, 2009.

ODLO, K.; HOYDAHL, HANSEN, T. V. One-pot synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles from terminal acetylenes and in situ generated azides. **Tetrahedron Letters**, v. 48. p. 2097-2099, 2007.

OKABE, H.; MIYAHARA, Y.; YAMAUCHI, T.; MIYAHARA, K.; KAWASAKI, T.; Studies on the constituents of *Momordica charantia* L. I. Isolation and characterization of momordicosides A and B, glycosides of a pentahydroxy-cucurbitane triterpene. **Chemical & pharmaceutical bulletin.**, v.28, p. 2753-2762, 1980.

PAGLIAI, F.; PIRALI, P.; GROSSO E. D.; BRISCO, R. D.; TRON, G. C.; SORBA, g.; GENAZZANI, A. A. **Journal of Medicinal Chemistry.** v. 49, p. 467 –470, 2006.

PALOMBI, L.; BONADIES, F.; PAZIENZA, A.; SCETTRI A. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 9, p.1817-1822, 1998.

PATRICK, G. L. **An introduction to medicinal chemistry.** 4. ed. New York: Oxford University Press, 2009.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy.** 3^a ed. EUA: Thomson Learning, 2001.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L.; PERRIN, D. R. **Purification of Laboratory Chemicals.** 4^a ed. EUA: Elsevier, 1996.

REN, T.; ZHANG, G.; LIU, D. Synthesis of bifunctional cationic compound for gene delivery. **Tetrahedron Letters.** v. 42, n. 6, p. 1007-1010, 2001.

RÍOS, J. L.; ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; . **New insights into the bioactivity of cucurbitacins.** 5. ed., v 32. Karachi: Elsevier, 2005.

SADZUKA, Y.; HATAKEYAMA, H.; DAIMON, T.; SONOBE, T. Screening of biochemical modulator by tumor cell permeability of doxorubicin. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 354, n. 1-2, p. 63-69, 2008.

SASAMORI, H.; REDDY, K. S.; KIRKUP, M. P.; SHABANOWITZ, J.; LYNN, D. G.; HECHT, S. M.; WOOD, K. A.; BRYAN, R. F.; CAMPBELL, J.; LYNN, W. S.; EGERT, E.; SHELDRIK, G. M. New cytotoxic principles from *Datisca glomerata*. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1.** v., p. 1333-1347, 1983.

SCHENKEL, E. P.; FARIAS, M. R.; MAYER, R.; BREITMAIER, E.; RÜCKER, G. Cucurbitacins from *Wilbrandia ebracteata*. **Phytochemistry**. v. 31, n. 4, p. 1329-1333, 1992.

SCHMIDT, R. R.; KINZY, W. Anomeric-oxygen activation for glycoside synthesis: The trichloroacetimidate method. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**. v. 50, p. 21-123, 1992.

SHANMUGASUNDARAM, B.; BOSE, A. K.; BALASUBRAMANIAN K., K. Microwave-induced, Montmorillonite K10-catalyzed Ferrier rearrangement of tri-*O*-acetyl-D-galactal: mild, eco-friendly, rapid glycosidation with allylic rearrangement. **Tetrahedron letters**, v. 43, p. 6795-6798, 2002.

SILVA, C. O. Efeito Anomérico em Carboidratos: Fatos e Hipóteses. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 235-246, 2011.

SILVEIRA, F.; ROSSI, S.; FERNÁNDEZ, C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.; FERREIRA, F. Alum-type Adjuvant Effect of Non-haemolytic Saponins Purified from *Ilex* and *Passiflora spp.* **Phytotherapy research**. Wiley Online Library, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7^a ed. LTC, 2006.

SIQUEIRA JR, J. M.; PETERS, R. R.; GAZOLA, A. C.; KREPSKY, P. B.; FARIAS, M. R.; RAE, G. A.; DE BRUM-FERNANDES, A. J.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Anti-inflammatory effects of a triterpenoid isolated from *Wilbrandia ebracteata* Cogn. **Life Sciences**. v. 80, n. 15, p. 1382-1387, 2007.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure**. 6. ed. New Jersey: Wiley, 2007.

SOLTIS, M. J.; YEH, H. J.; COLE, K. A.; WHITTAKER, N.; WERSTO, R. P.; KOHN, E. C. **Drug Metabolism and Disposition**. v.24, p. 799 – 806, 1996.

SU, Y.; LI, G.; ZHANG, X.; GU, J.; ZHANG, C.; TIAN, Z.; ZHANG, J. JSI-124 inhibits Glioblastoma multiforme cell proliferation through G(2)/M cell cycle arrest and apoptosis augment. **Cancer Biololy and Therapy**, v.7, p.1243–1249, 2008.

SUN, J.; BLASKOVICH, M.A; JOVE, R.; LIVINGSTON, S.K; COPPOLA, D.; SEBTI, S.M. Cucurbitacin Q: A selective STAT3 activation inhibitor with potent antitumor activity. **Oncogene** v.24, p.3236–3245, 2005.

TANNIN-SPITZ, T.; GROSSMAN, S.; DOVRAT, S.; GOTTLIEB, H. E.; BERGMAN, M. Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. **Biochemical Pharmacology**. v. 73, n. 1, p. 56-67, 2007.

TANNIN-SPITZ, T.; GROSSMAN, S.; BERGMAN, M.; DOVRAT S. Cucurbitacin glucoside for preparing pharmaceutical composition useful in treating tumor, is isolated from *Citrullus colocynthis*. **UNIV BAR-ILAN (UYBA-Non-standard)**, 2008.

TAYLOR, R. D.; MACCOSS, M.; LAWSON, A. D. G. Ring In Drugs. **Journal of Medicinal Chemistry**. 2013

THOENNISSSEN N. H.; IWANSKI, GB, EN-GAL S, OKAMOTO R, LIN P, ABBASSI S. Cucurbitacin B induces apoptosis by inhibition of the *JAK/STAT* pathway and potentiates antiproliferative effects of gemcitabine on pancreatic cancer cells. **Cancer Research**. v.;69, p. 5876–5884, 2009.

TOJO, G.; FERNANDEZ, M. **Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones Basic Reactions in Organic Synthesis**, v.1; Springer Science-BusinessMedia, New York, 2006.

TOSHIMA, K.; TATSUTA, K. Recent Progress In *O*-Glycosylation Methods and its Application to Natural Products Synthesis. **Chemical reviews**, v.93, p. 1503-1531, 1993.

TROST, B. M.; DONG, G., VANCE, J. A. **Chemistry- A European Journal**, v.16, n.21, p. 6265-77, 2010.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacins and their main structural characteristics. **Química Nova**. v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.

WAKIMOTO, N.; YIN, D.; O'KELLY, J.; HARITUNIANS, T.; KARLAN, B.; SAID, J.; XING, H.; KOEFFLER, H. P. **Cancer Science**, v.99, n 9, p.1793-1797, 2008.

WANG, Y.; YEH, H.; WANG, H.; YU, C.; GUH J.; LIU, D; LIANG P. Synthesis of a chlorogenin glycoside library using an orthogonal protecting group strategy. **Carbohydrate Research**, v. 375, p. 118–135, 2013.

WERMUTH, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**, 3a. ed., Elsevier, 2008.

WILLIAMS, D. A.; LEMKE, T. L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5^a Edição, Baltimore/ Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

WITKOWSKI, A.; WOYNAROWSKA, B.; KONOPA, J. Inhibition of the biosynthesis of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and protein in HeLa S3 cells by cucurbitacins, glucocorticoid-like cytotoxic triterpenes. **Biochemical Pharmacology**, v.33, p. 995–1004, 1984.

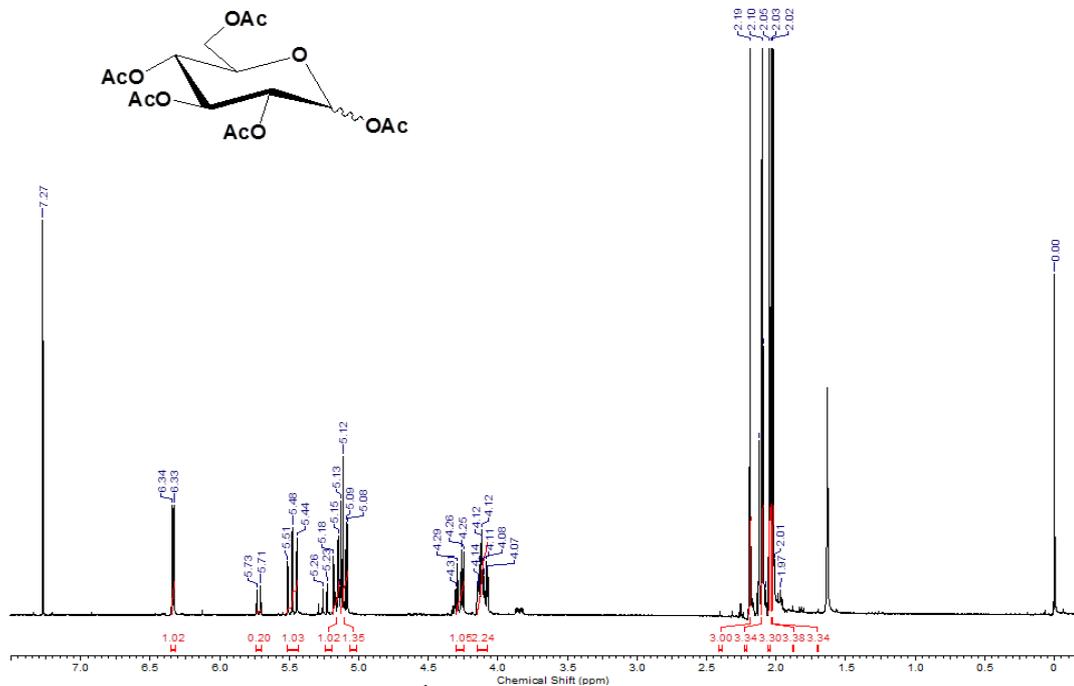
YANG, L.; WU, S.; ZHANG, Q.; LIU, F.; WU, P. 23,24-dihydrocucurbitacin B induces G2/M cell-cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis in human breast cancer cells (Bcap37) **Cancer Letters** v.256, p.267–278, 2007.

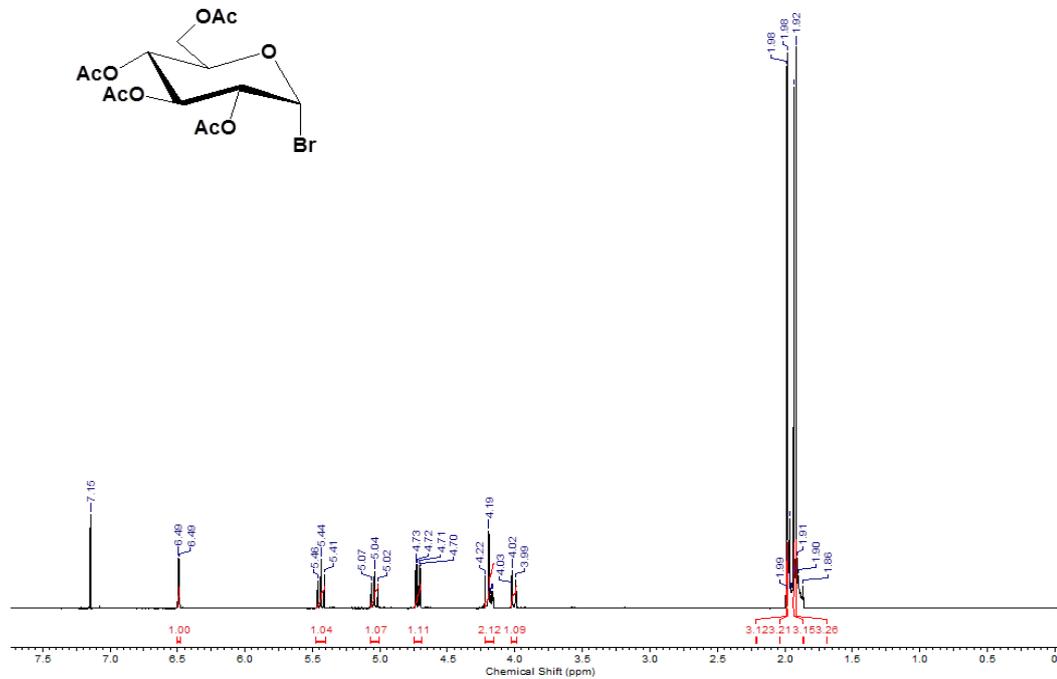
YIN D.; WAKIMOTO N.; XING H.; LU D.; HUYNH T.; WANG X. Cucurbitacin B markedly inhibits growth and rapidly affects the cytoskeleton in glioblastoma multiforme. **International Journal of Cancer**. v.23, p.1364–1375, 2008.

ZANDER, J. M.; WIGFIELD, D. C. Biosynthesis of cucurbitacin B. **Chemical Communications**, v. 23; p. 1599-1600, 1970.

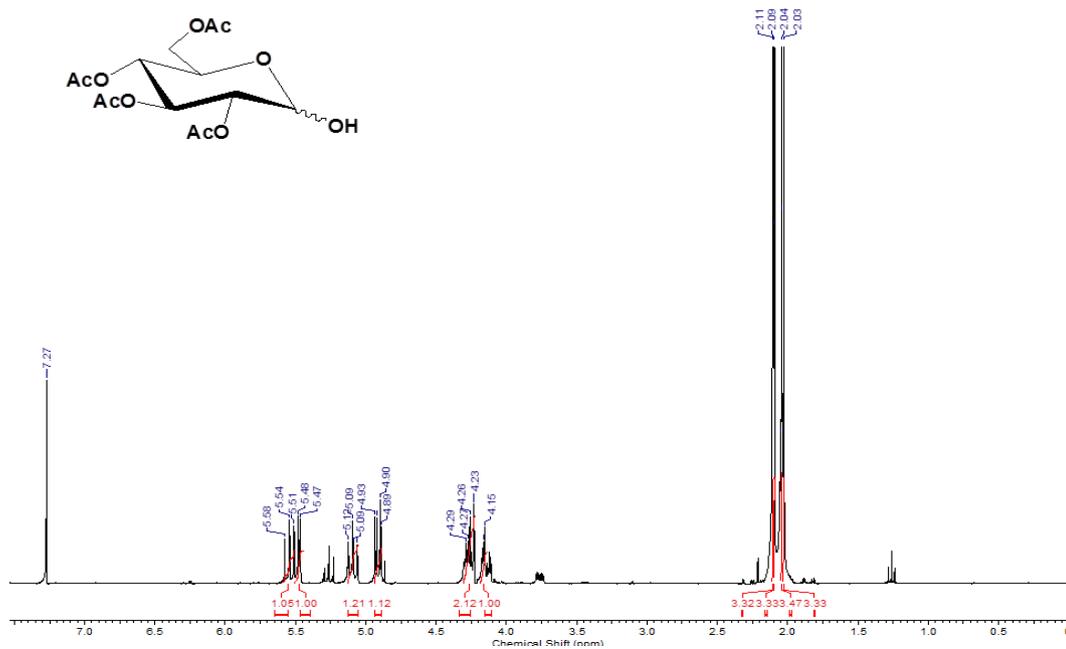
ZI, C.; XU, F.; LI, G.; LI, Y.; DING, Z.; ZHOU, J.; JIANG, J.; HU, J.

Synthesis and Anticancer Activity of Glucosylated Podophyllotoxin Derivatives Linked via 4 β -Triazole Rings. **Molecules**. v. 18, p. 13992-14012, 2013.

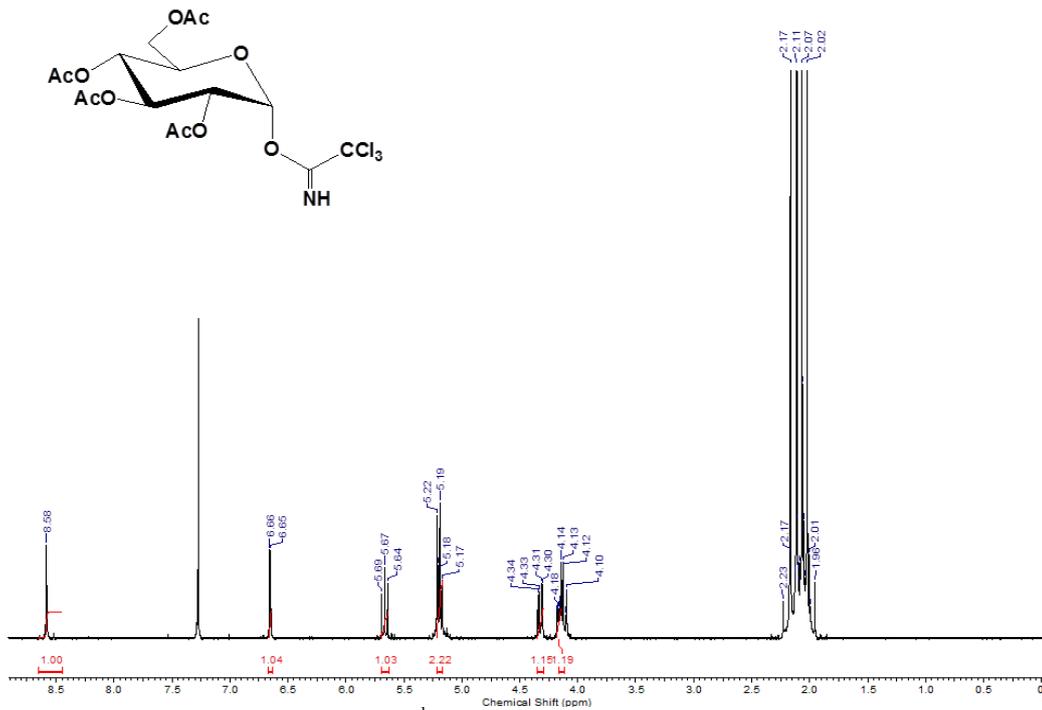
Espectro RMN ^1H do composto **6a** (CDCl_3 ; 300 MHz).



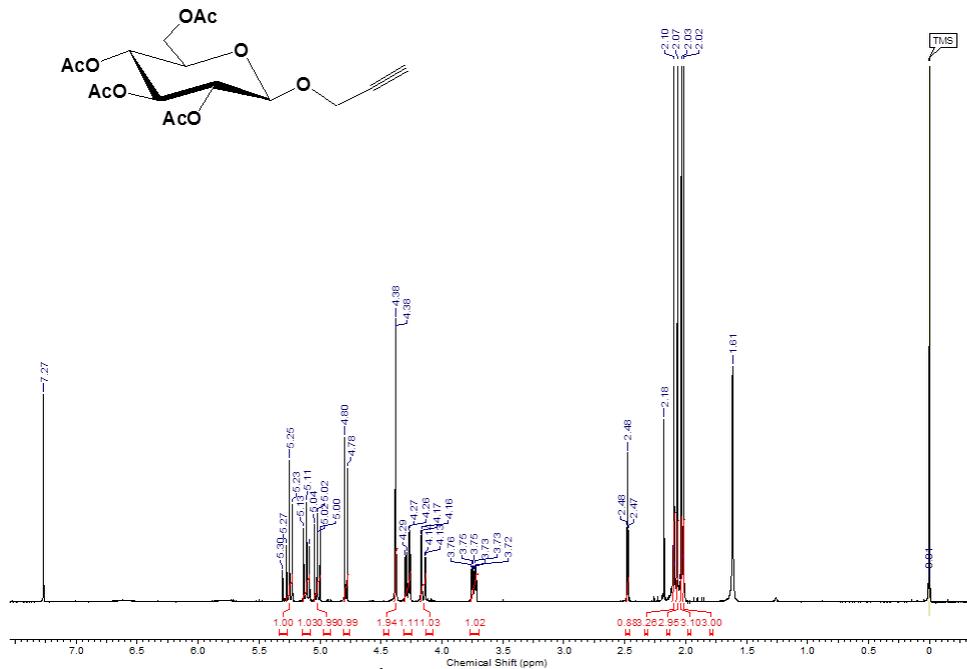
Espectro de RMN ^1H do composto 7a (CDCl_3 ; 400 MHz)



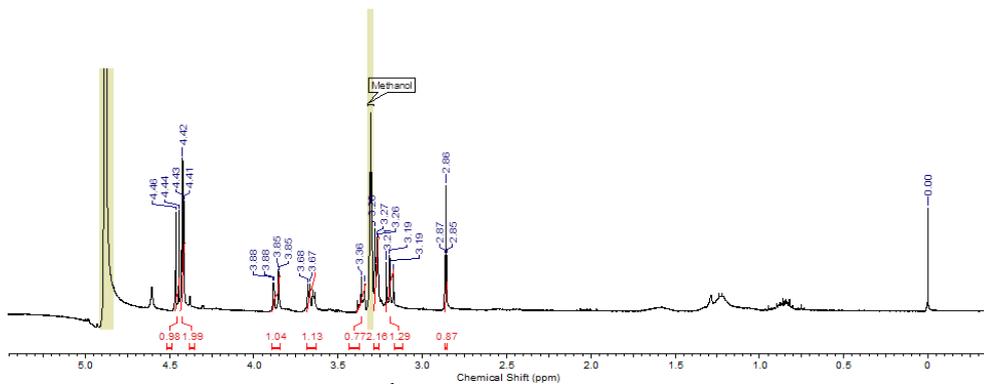
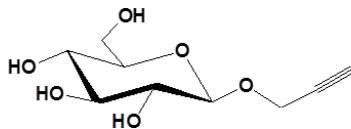
Espectro de RMN ^1H do composto 8a (CDCl_3 ; 300 MHz).



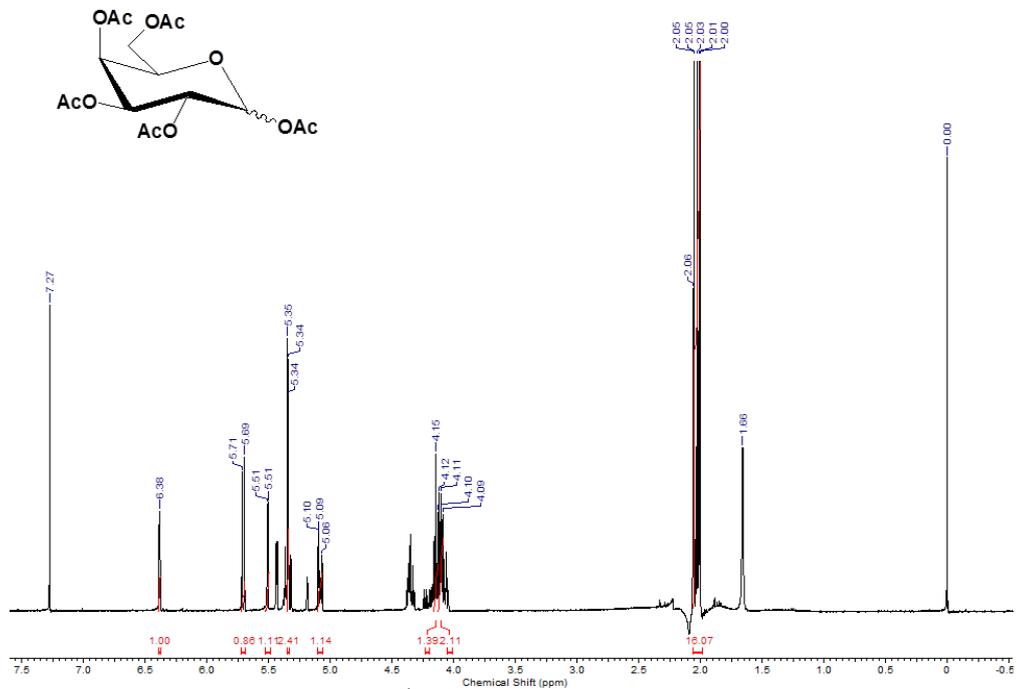
Espectro de RMN ¹H do composto 9a (CDCl₃; 300 MHz).



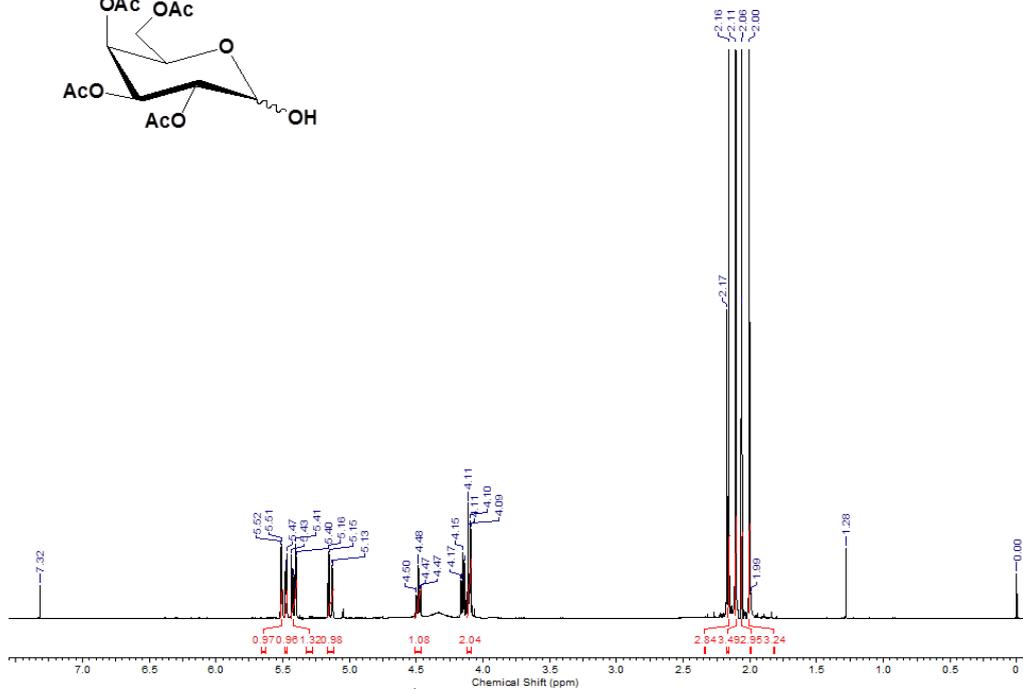
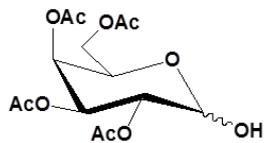
Espectro de RMN ^1H do composto 10a (CDCl_3 ; 300 MHz).



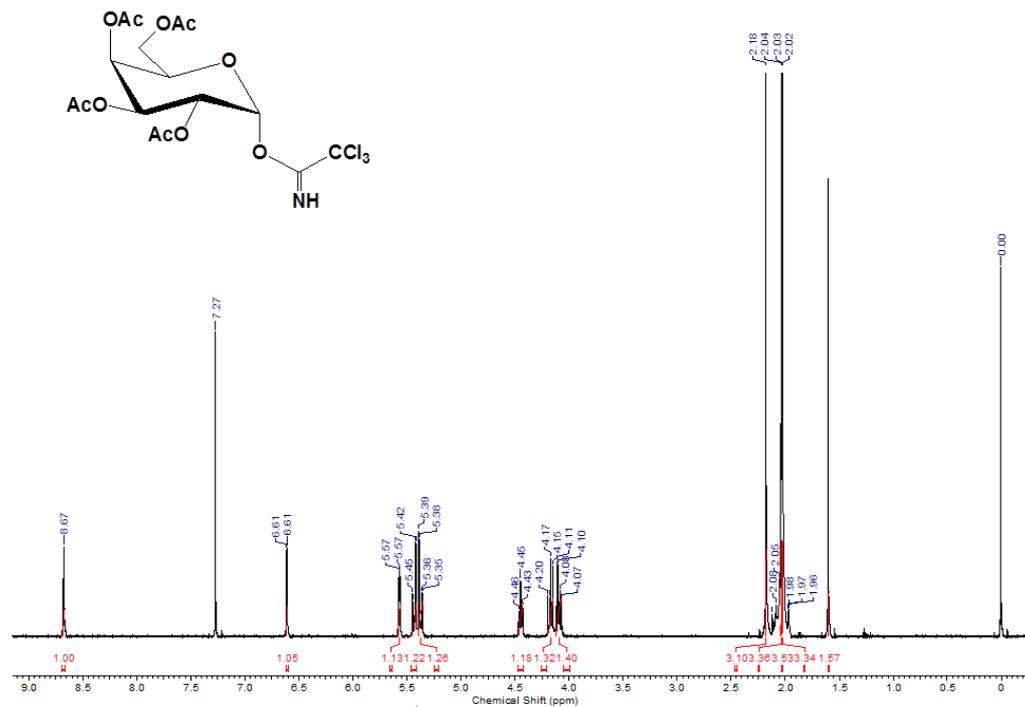
Espectro de RMN ^1H do composto 18a (CDCl_3 ; 300 MHz).



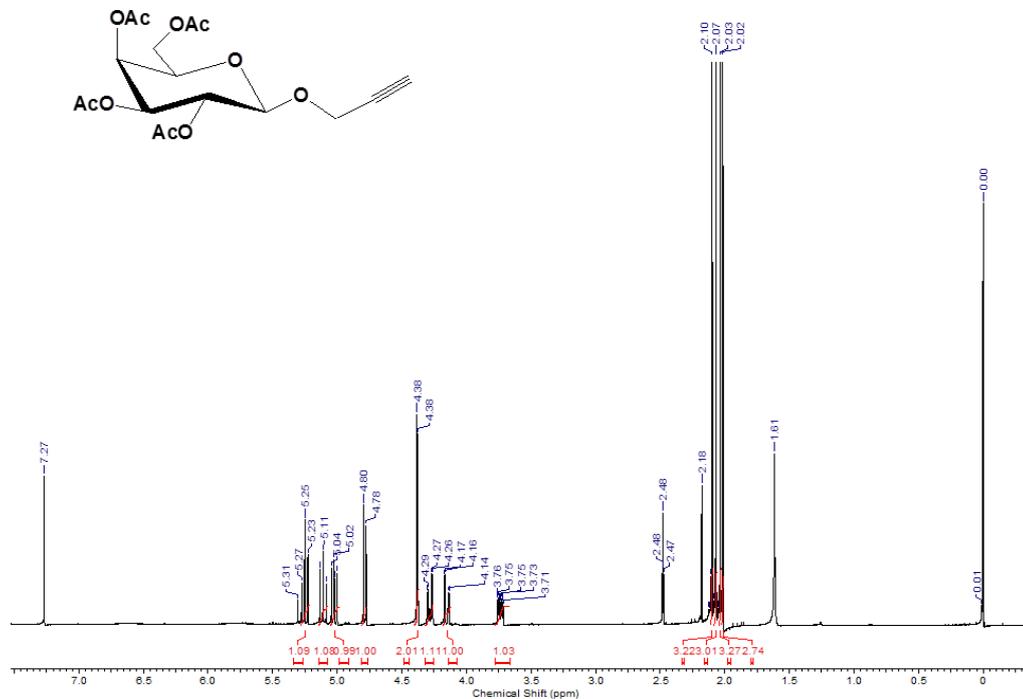
Espectro de RMN ^1H do composto 6b (CDCl_3 ; 300 MHz).



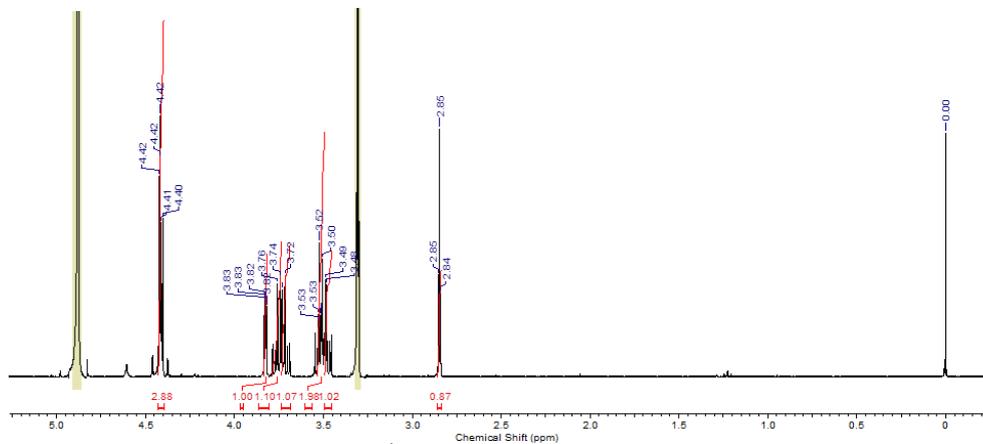
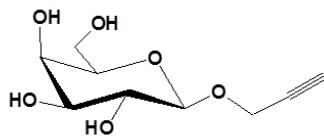
Espectro de RMN ^1H do composto 8b (CDCl_3 ; 300 MHz).



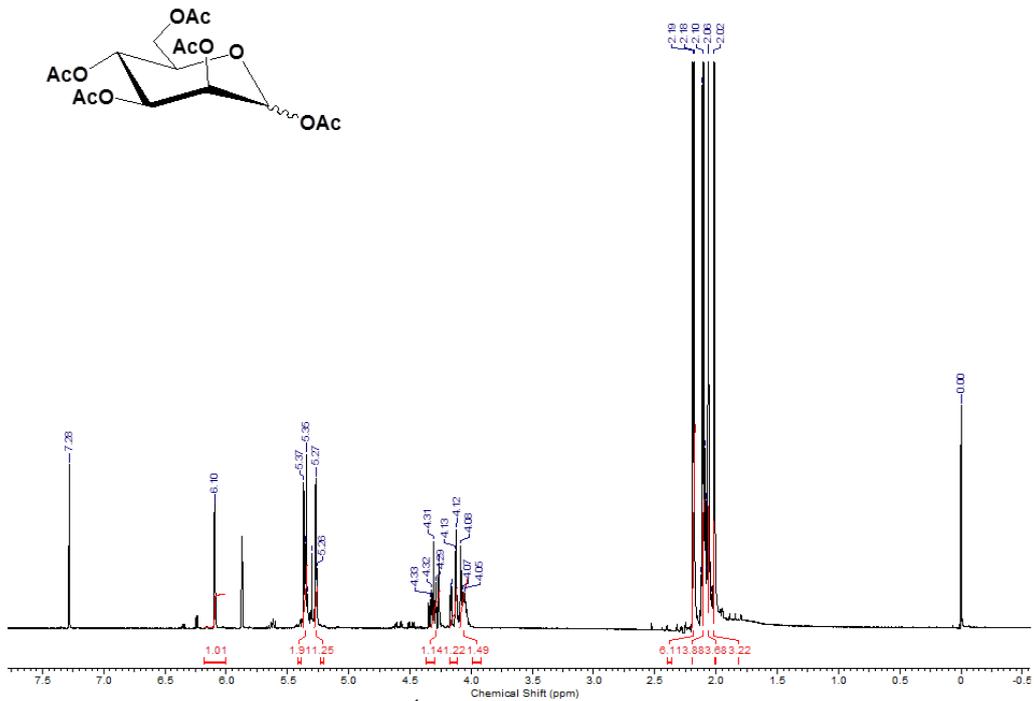
Espectro de RMN ^1H do composto 9b (CDCl_3 ; 300 MHz).



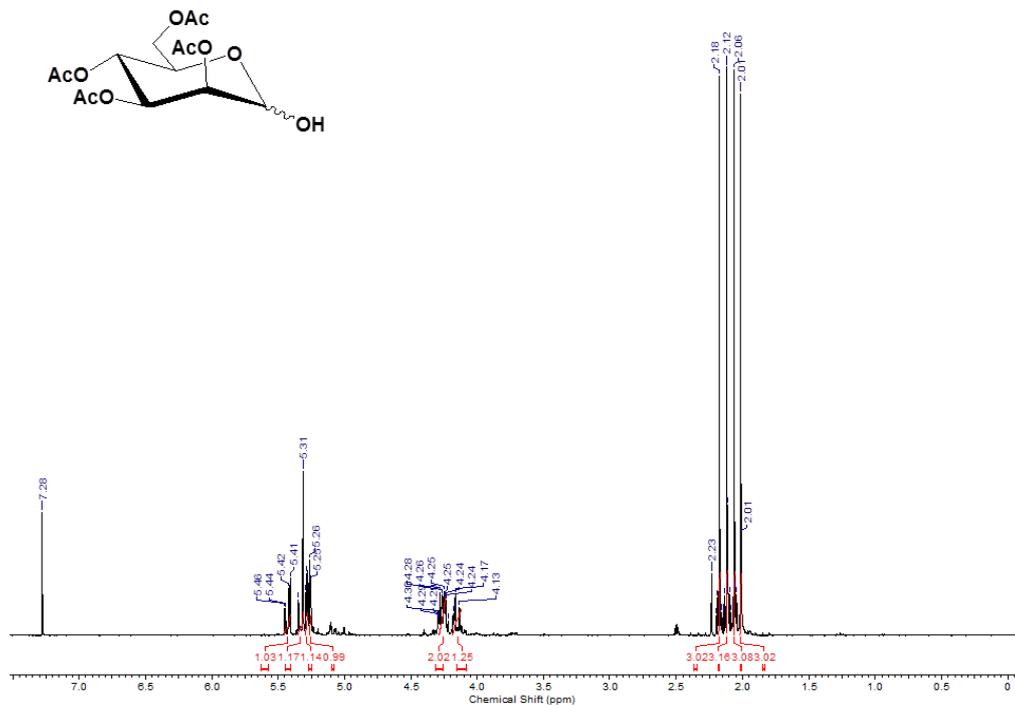
Espectro de RMN ^1H do composto 10b (CDCl₃; 400 MHz).



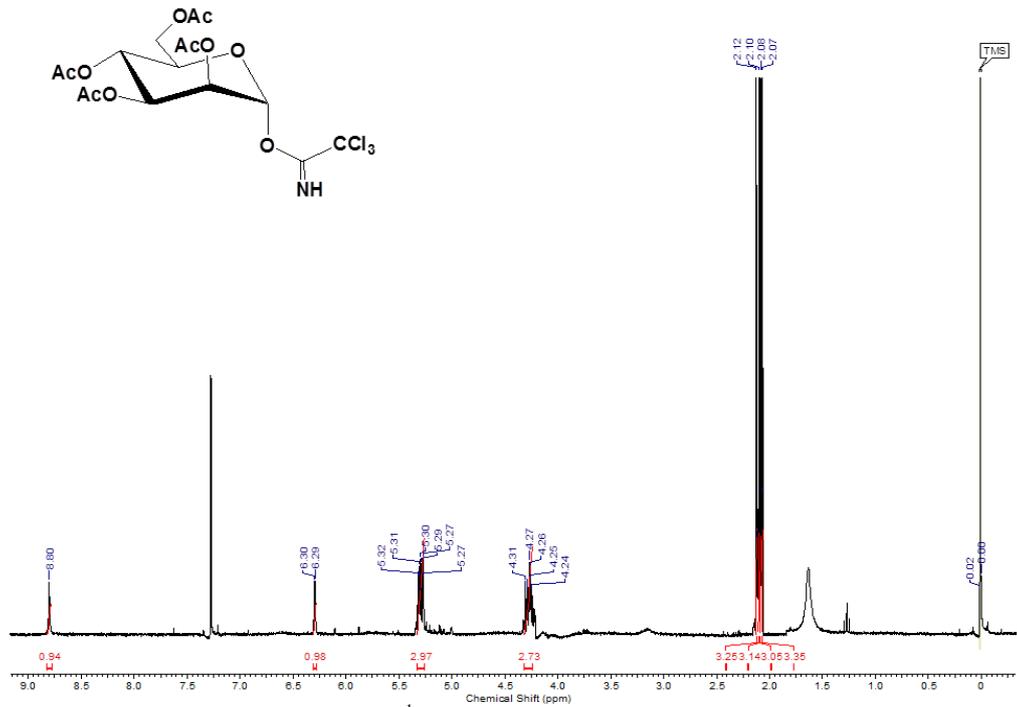
Espectro de RMN ¹H do composto 18b (CDCl₃; 300 MHz).



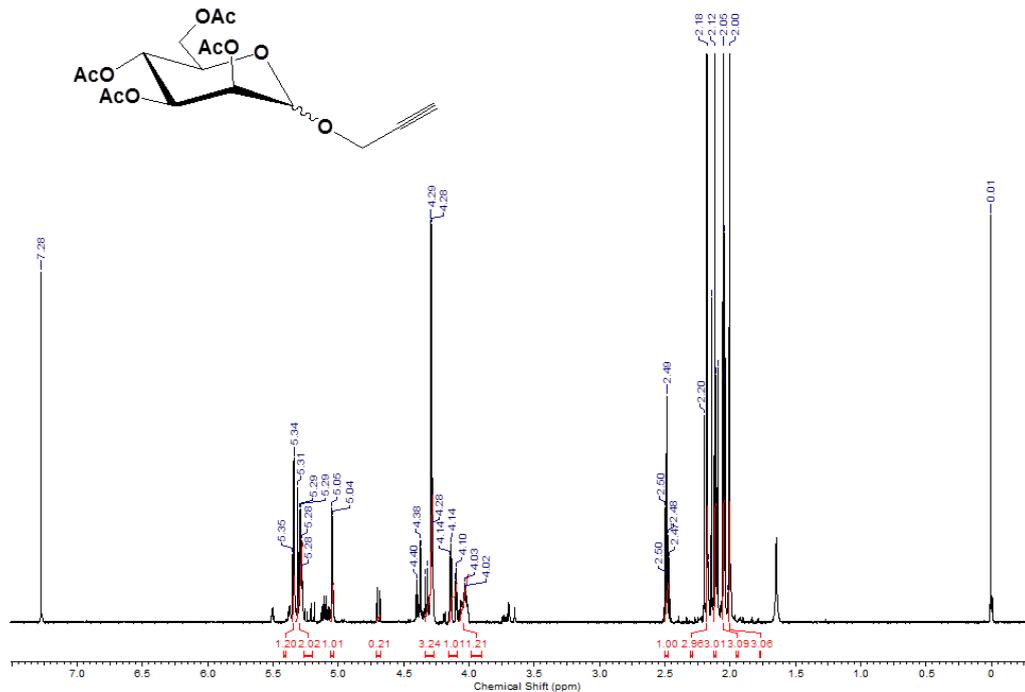
Espectro de RMN ¹H do composto 6c (CDCl₃; 300 MHz).



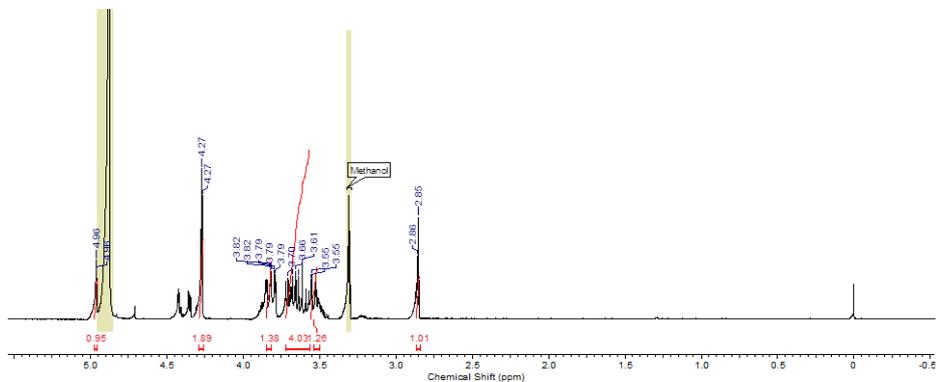
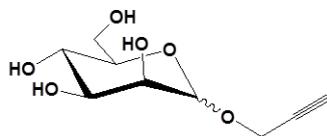
Espectro de RMN ^1H do composto 8c (CDCl₃; 300 MHz).



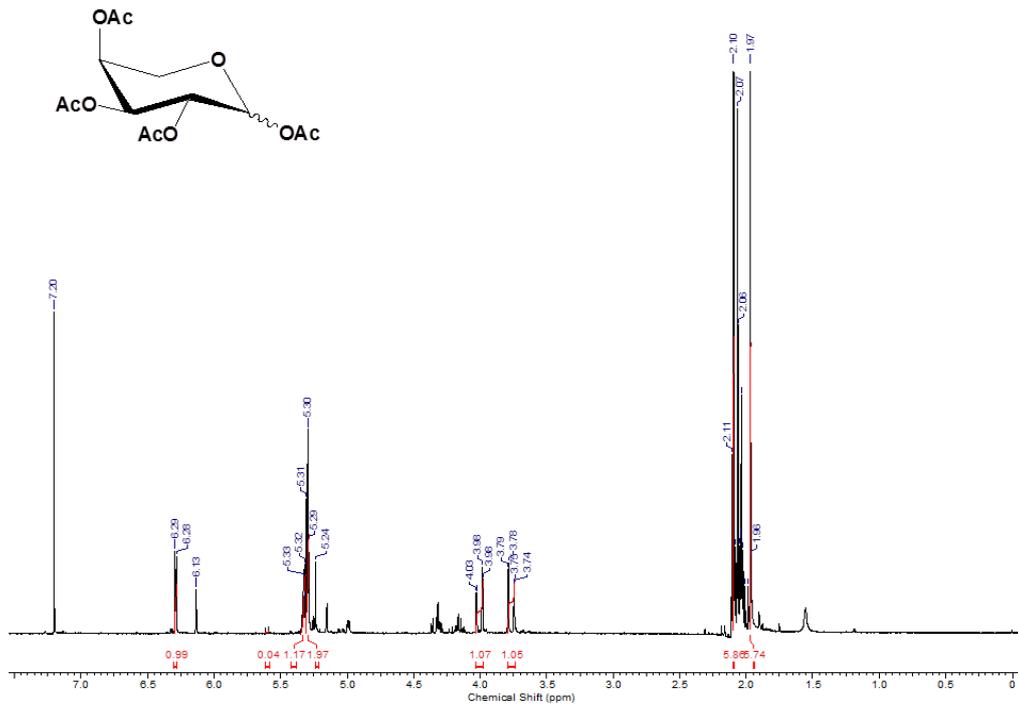
Espectro de RMN ¹H do composto 9c (CDCl₃; 300 MHz).



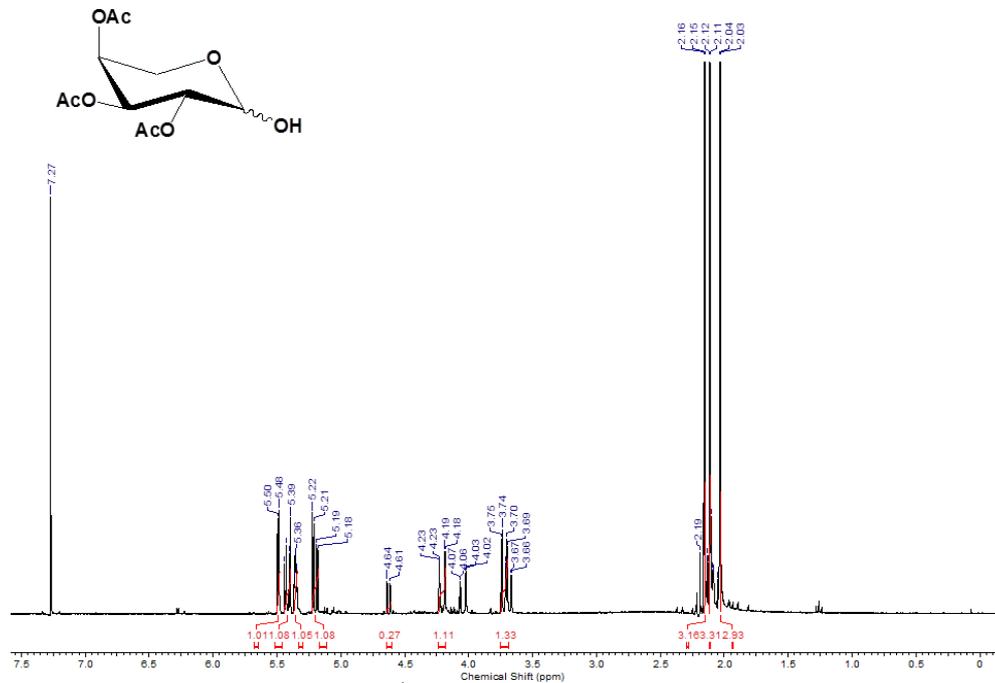
Espectro de RMN ^1H do composto 10c (CDCl_3 ; 300 MHz).



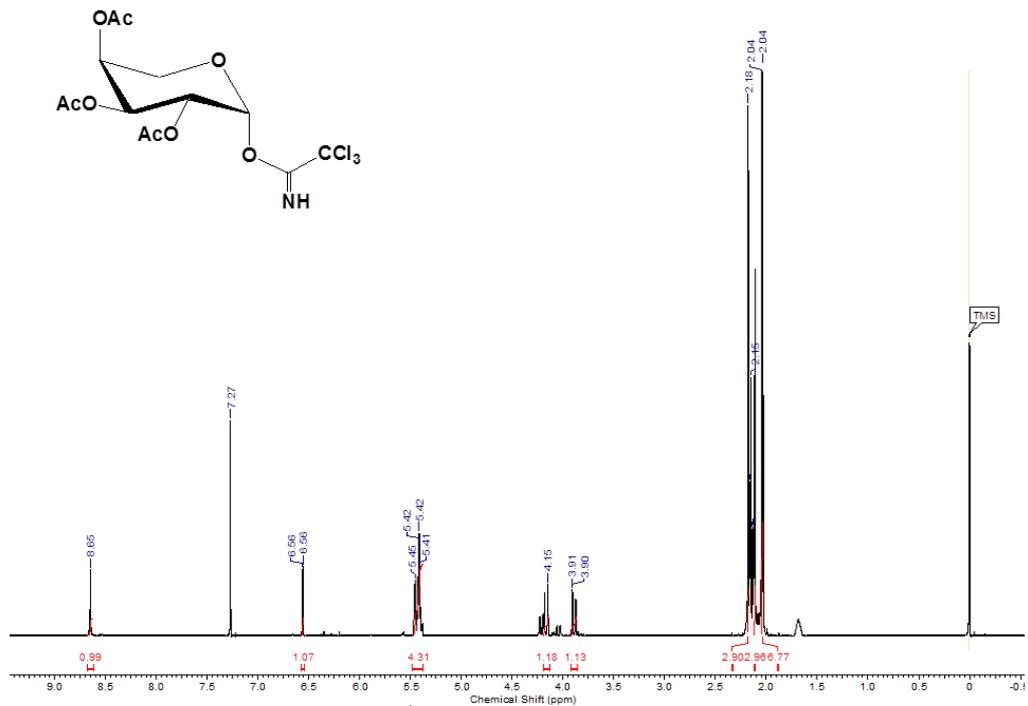
Espectro de RMN ¹ H do composto 18c (CDCl₃; 300 MHz).

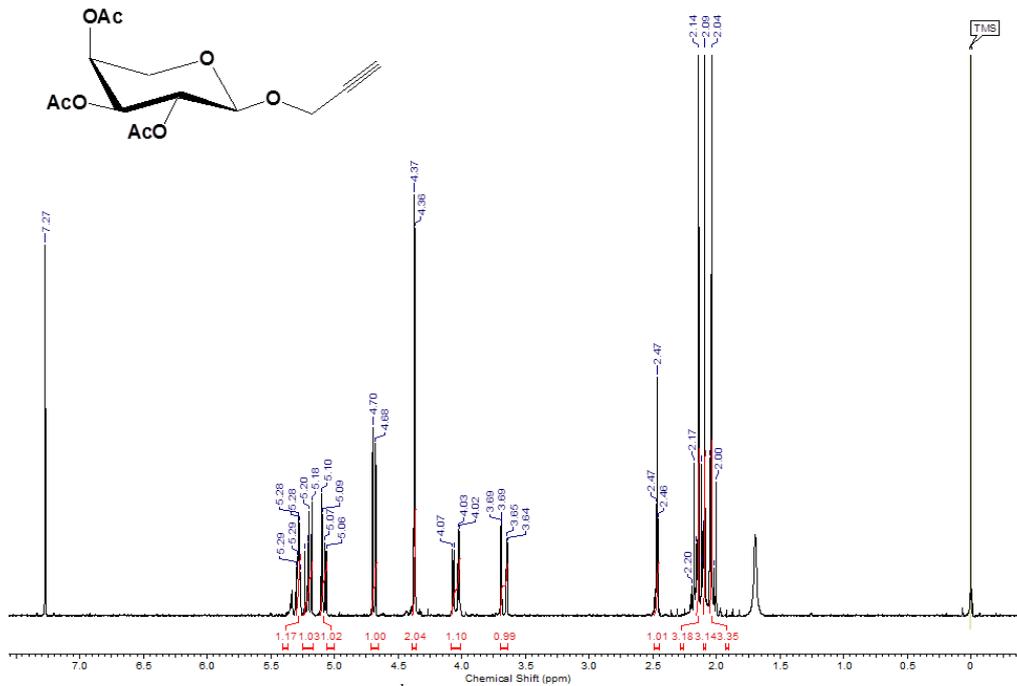


Espetro de RMN ^1H do composto **6d** (CDCl_3 ; 300 MHz).

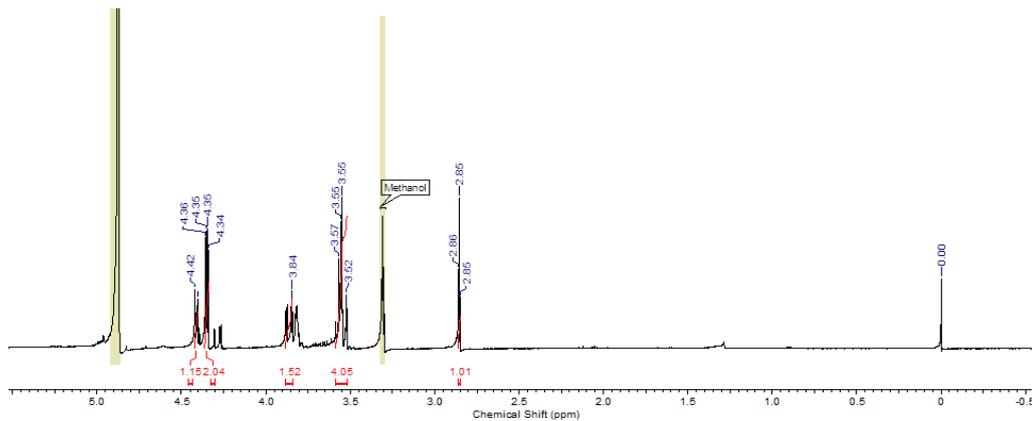
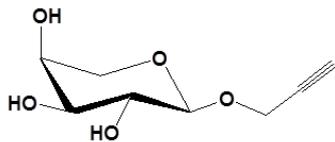


Espectros de RMN ^1H do composto 8d (CDCl₃; 300 MHz).

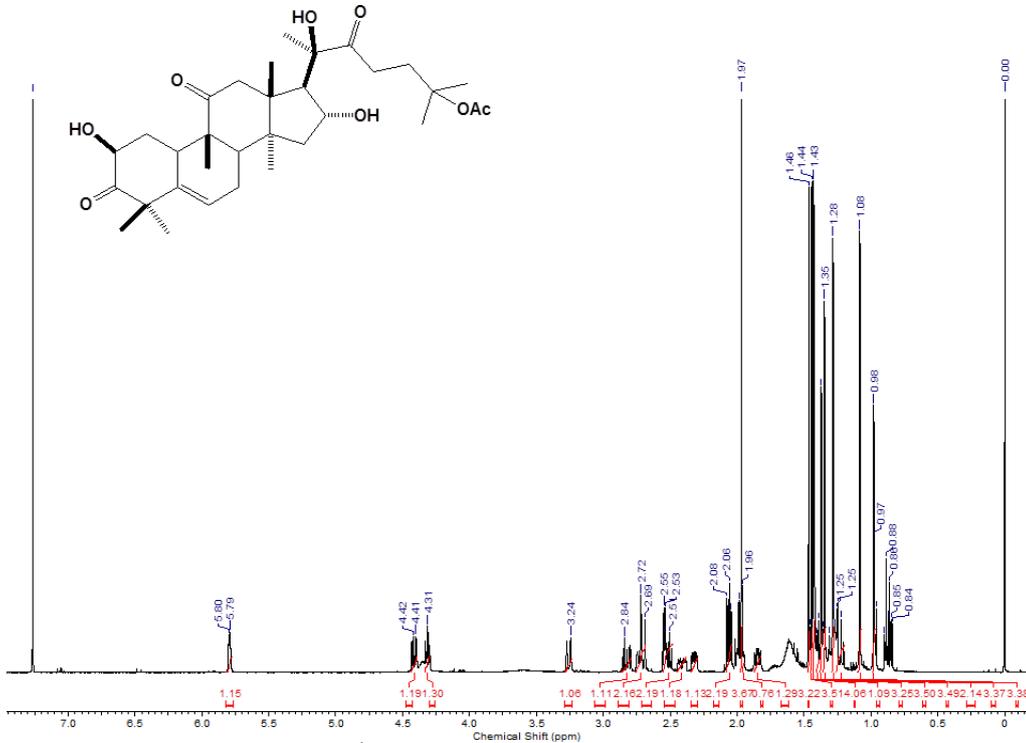
Espectro de RMN ^1H do composto 9d (CDCl₃; 300 MHz).



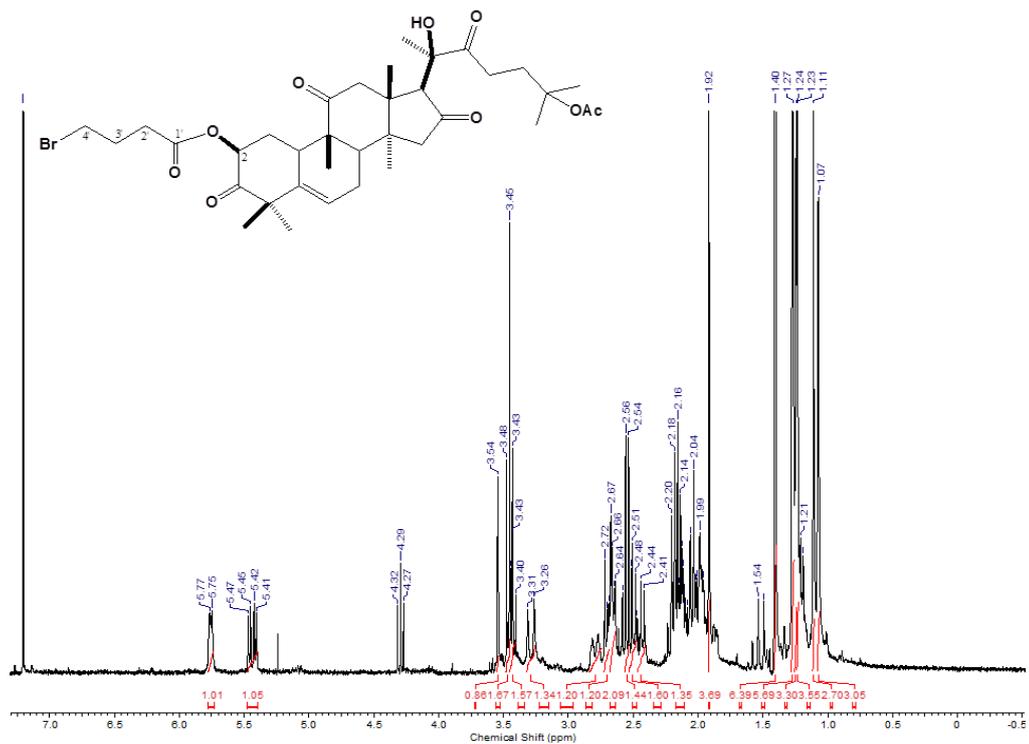
Espectro de RMN ^1H do composto 10d (CDCl_3 ; 300 MHz).



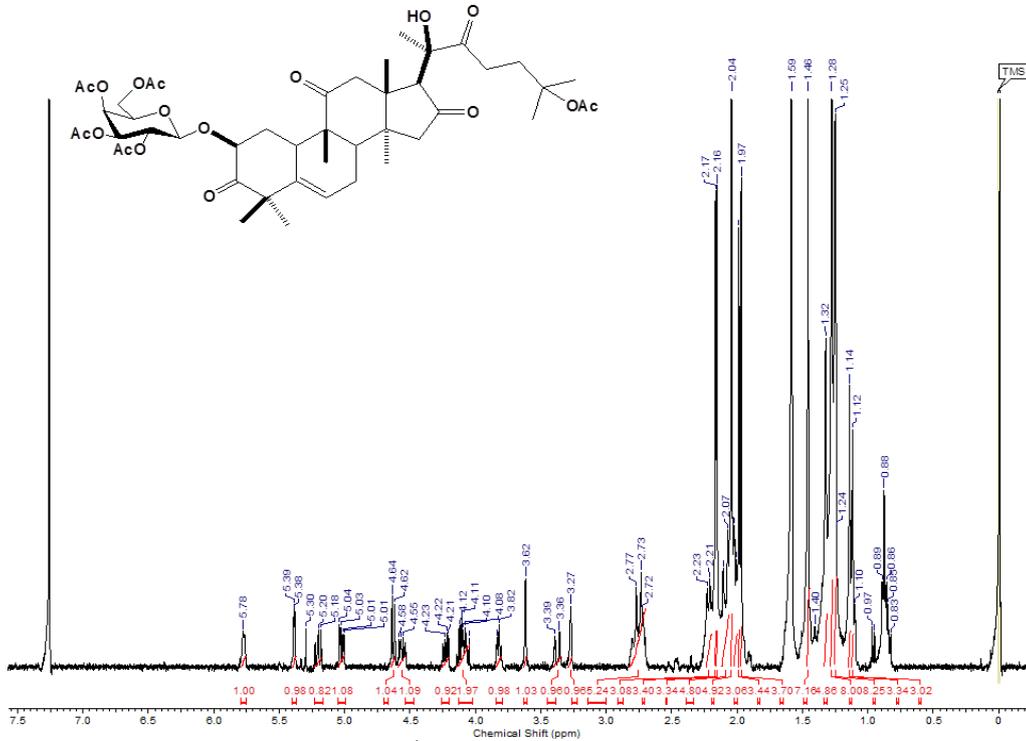
Espectro de RMN ¹H do composto 18d (CDCl₃; 300 MHz).



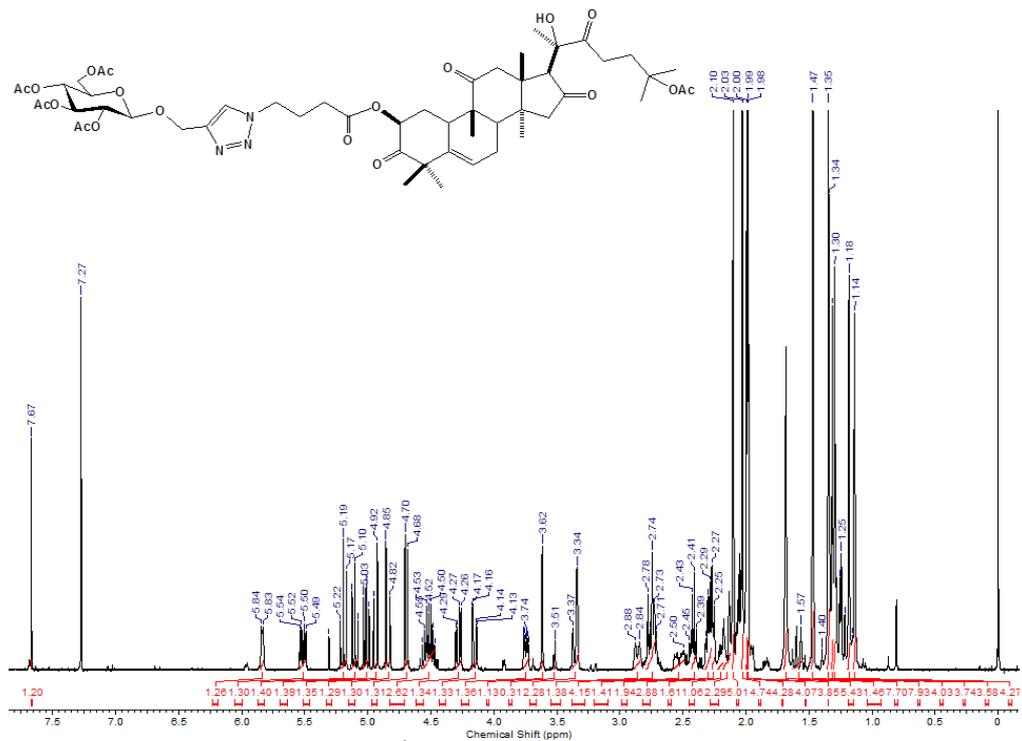
Espectro de RMN ^1H da di-hidrocurbitacina B (CDCl_3 ; 500 MHz).

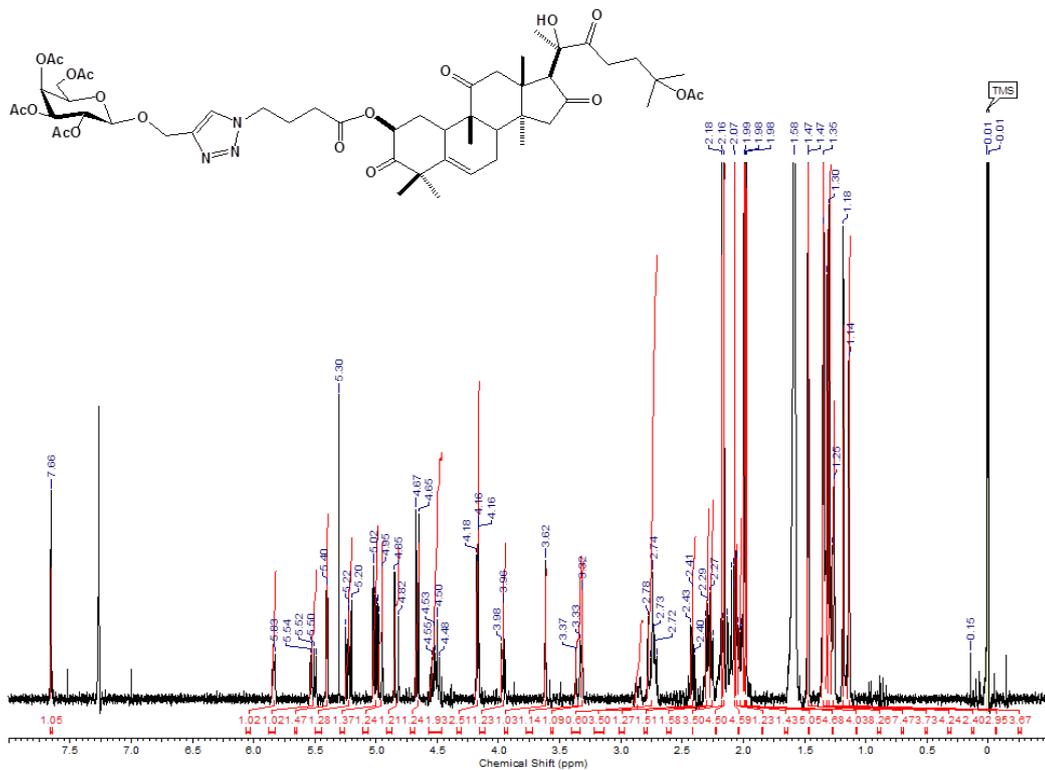


Espectro de RMN ¹H do composto 5 (CDCl₃; 300 MHz)..

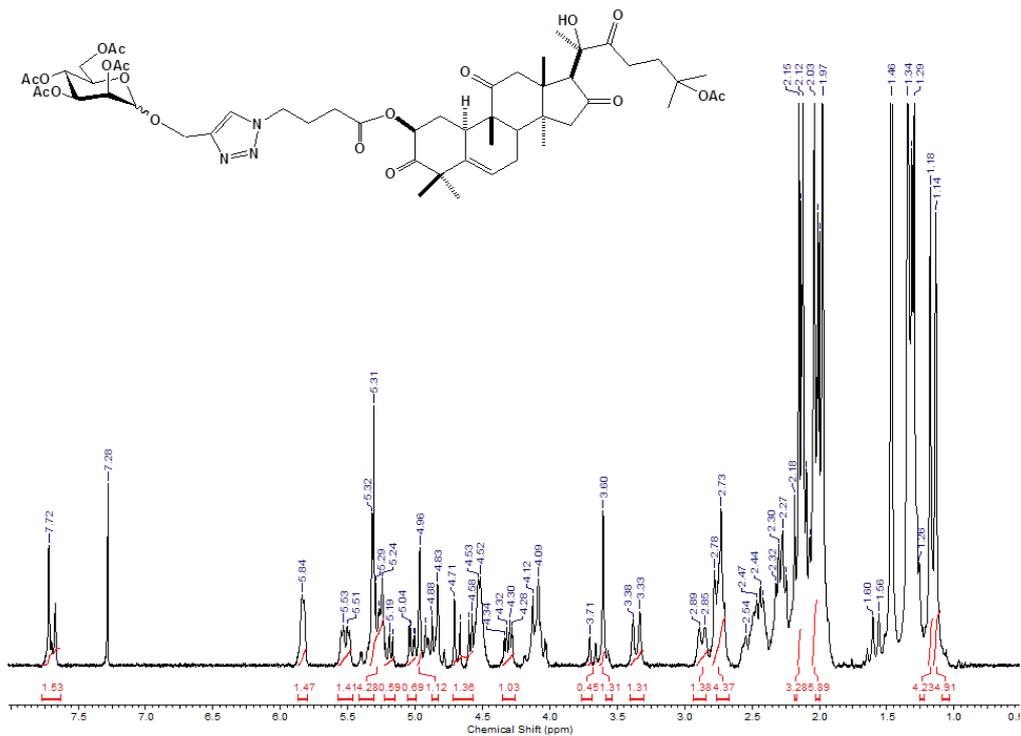


Espectro de RMN ^1H do composto 15 (CDCl_3 ; 300 MHz).

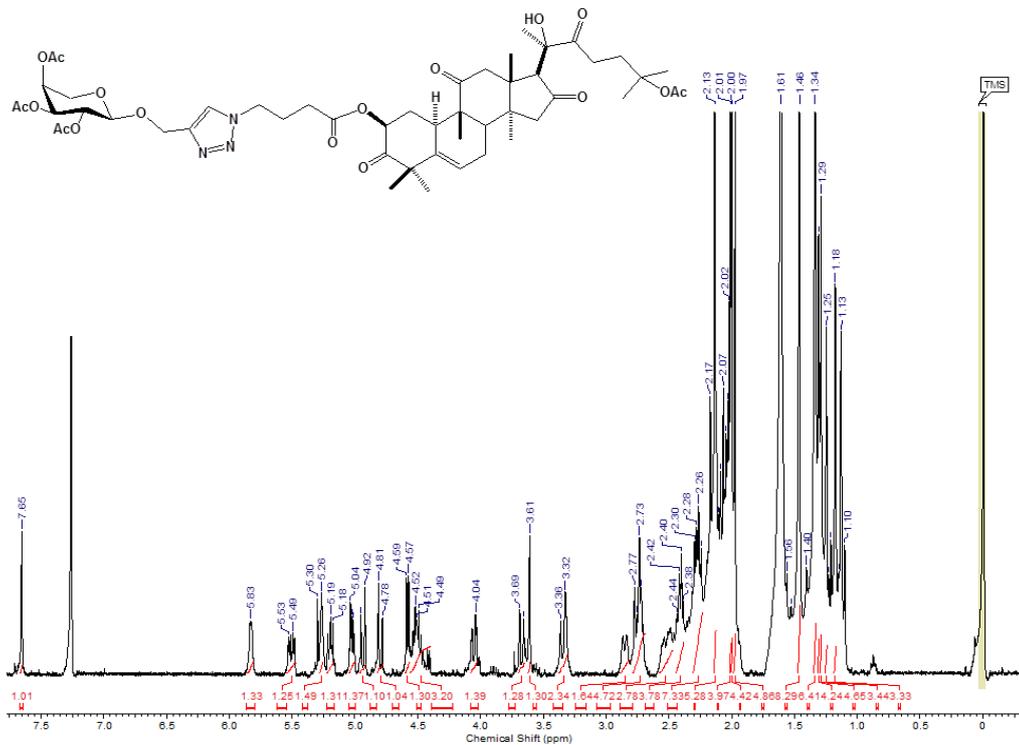
Espectro de RMN ^1H do composto 16a (CDCl_3 ; 400 MHz).



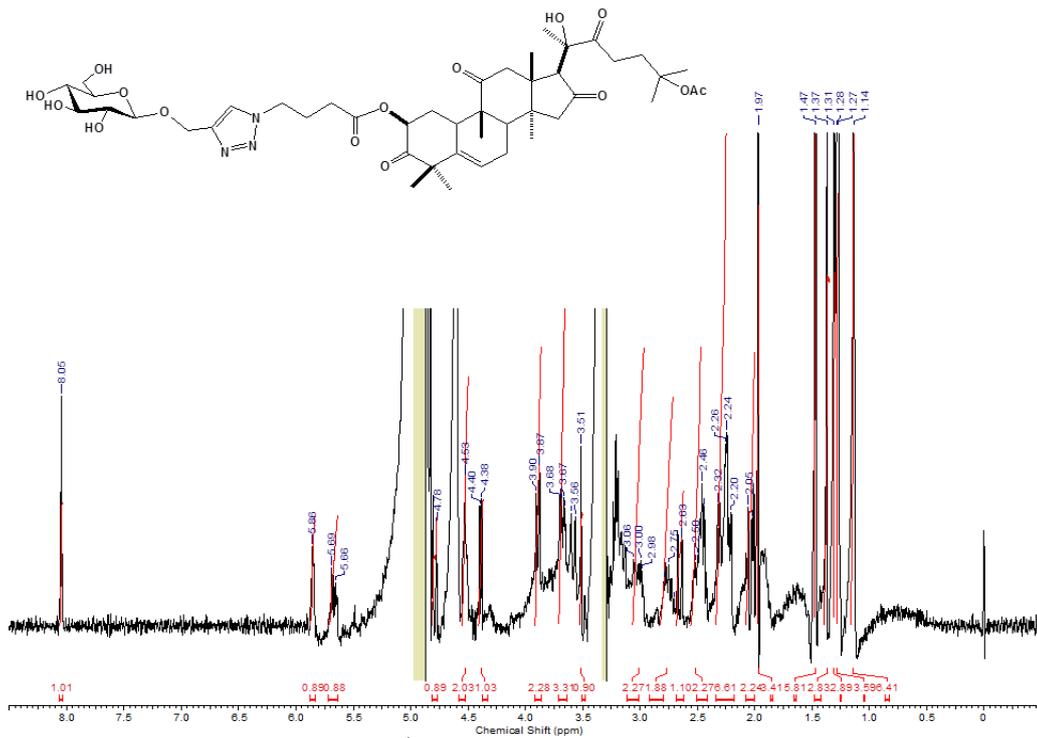
Espectro de RMN ^1H do composto 16b (CDCl₃; 300 MHz)..



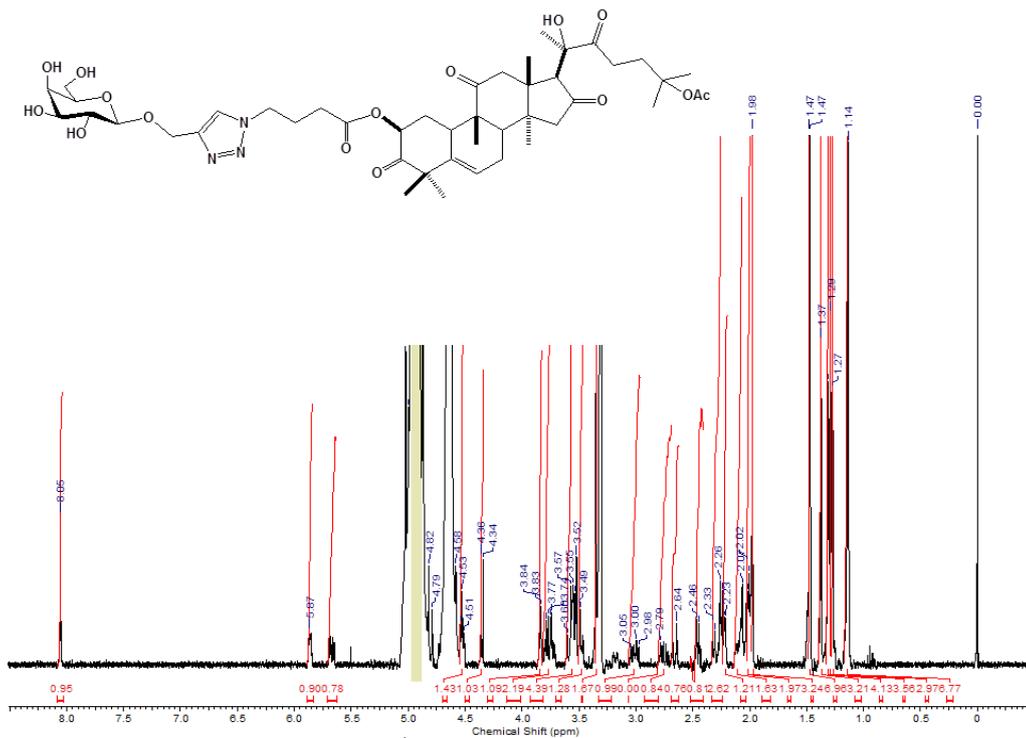
Espectro de RMN ¹H do composto 16c (CDCl₃; 300 MHz)..



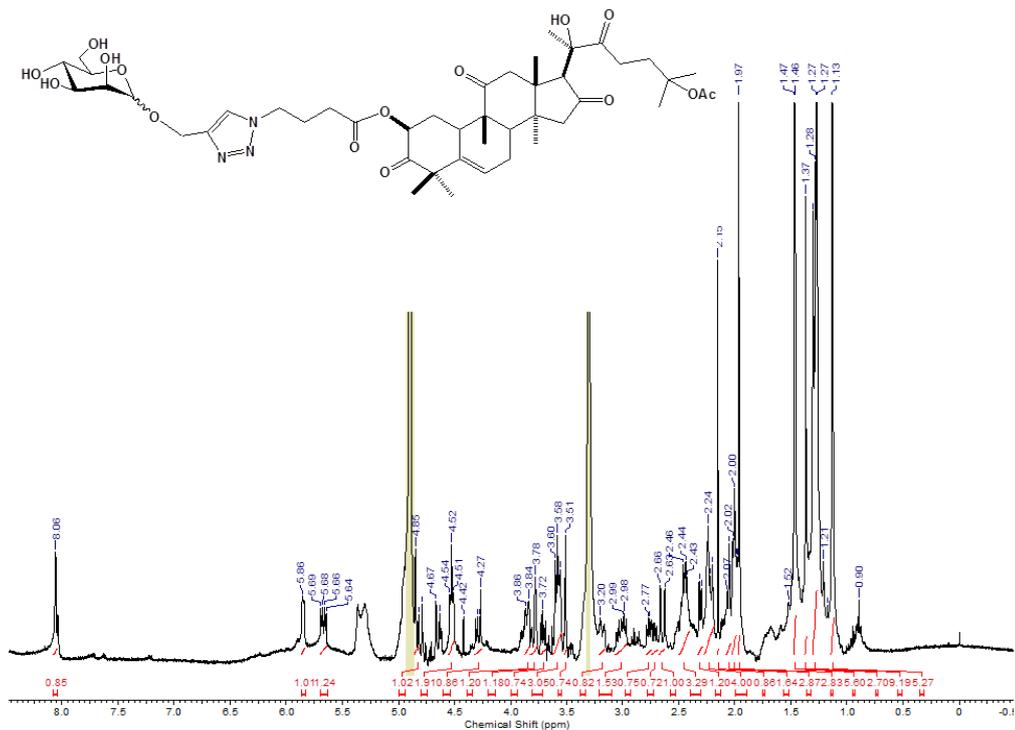
Espectro de RMN ^1H do composto 16d (CDCl₃; 300 MHz).



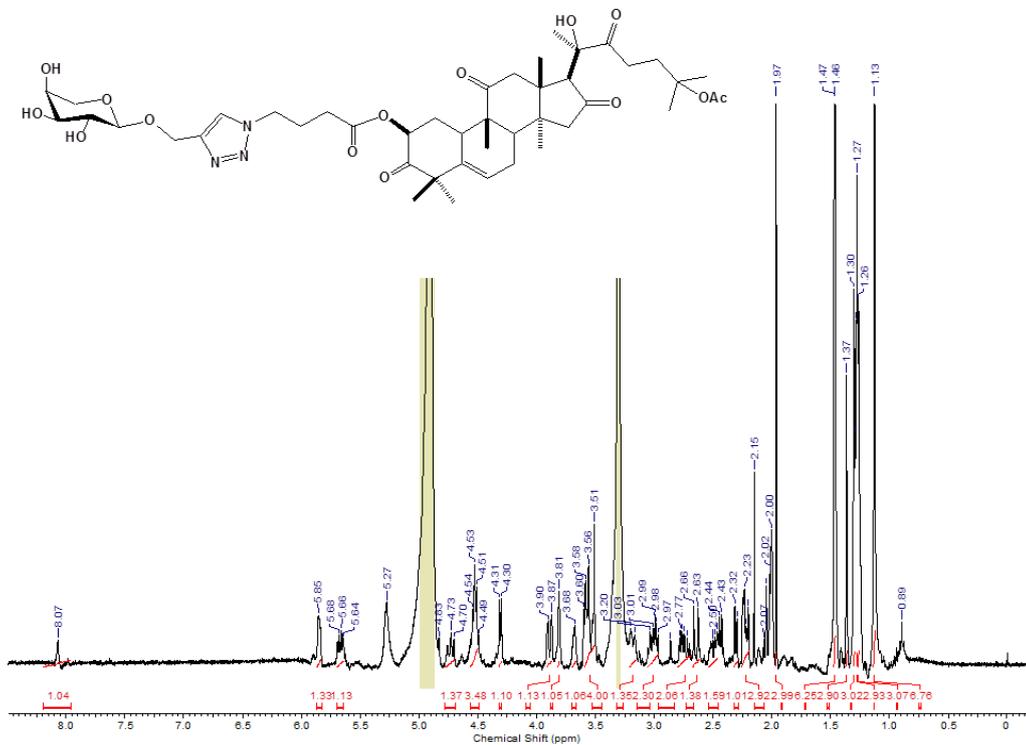
Spectro de RMN ^1H do composto 19a (MeOD_3 ; 300 MHz).



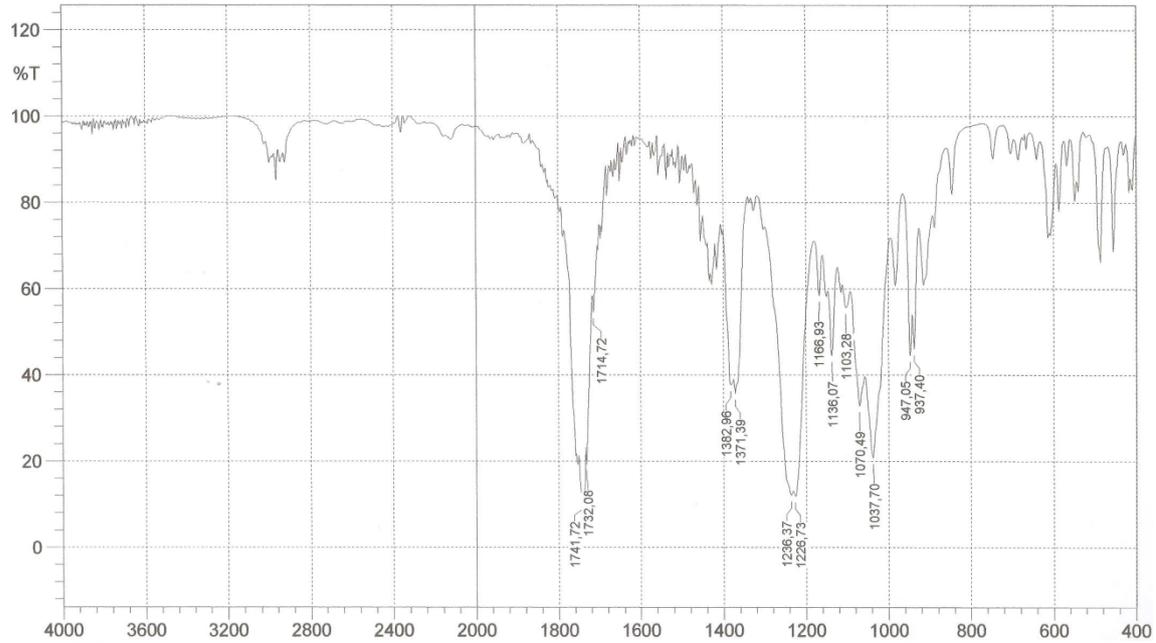
Espectro de RMN ^1H do composto 19b (MeOD₃; 300 MHz).



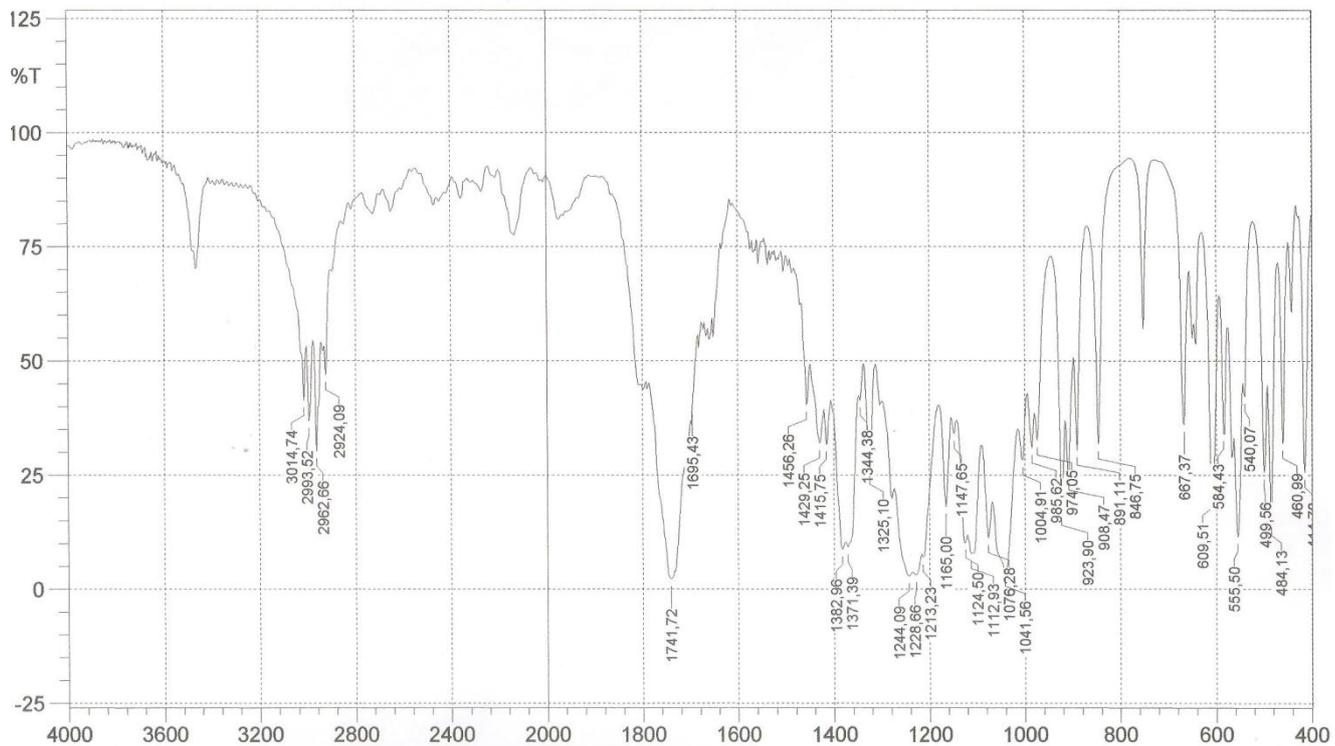
Espectro de RMN ^1H do composto 19d (MeOD_3 ; 400 MHz).



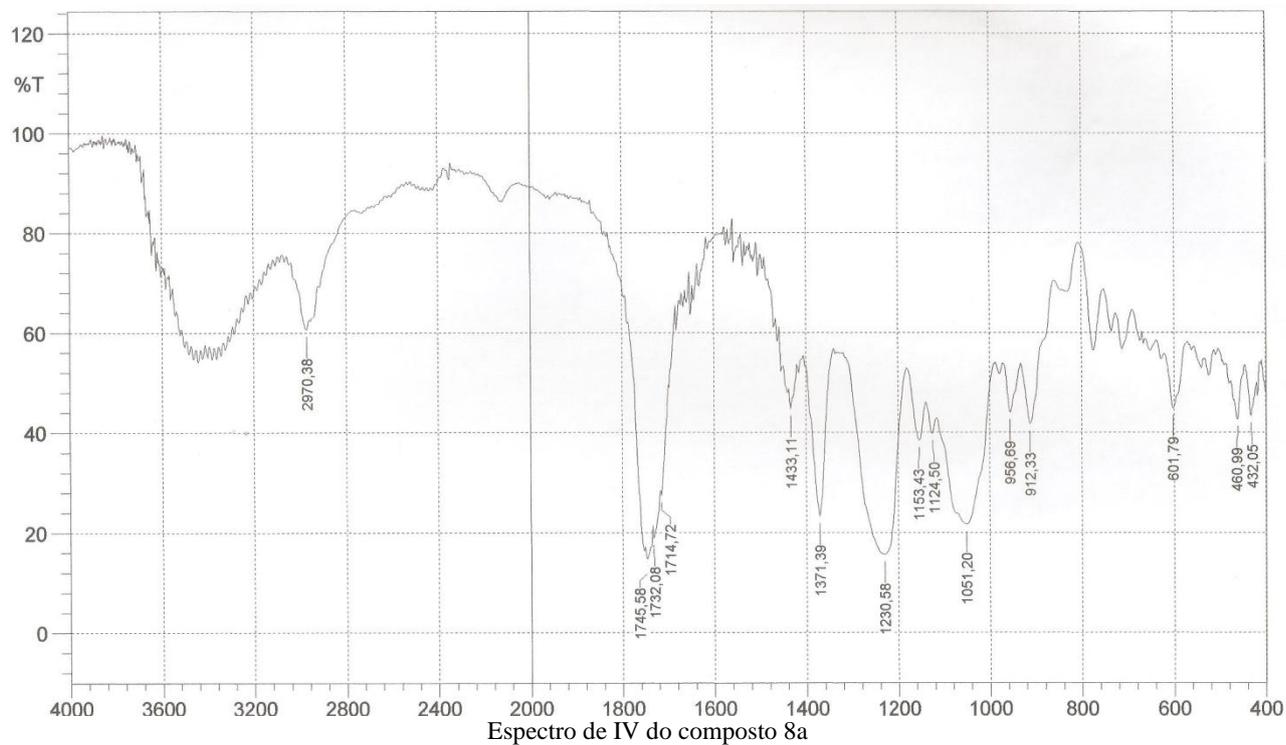
Espectro de RMN ^1H do composto 19d (MeOD_3 ; 400 MHz).

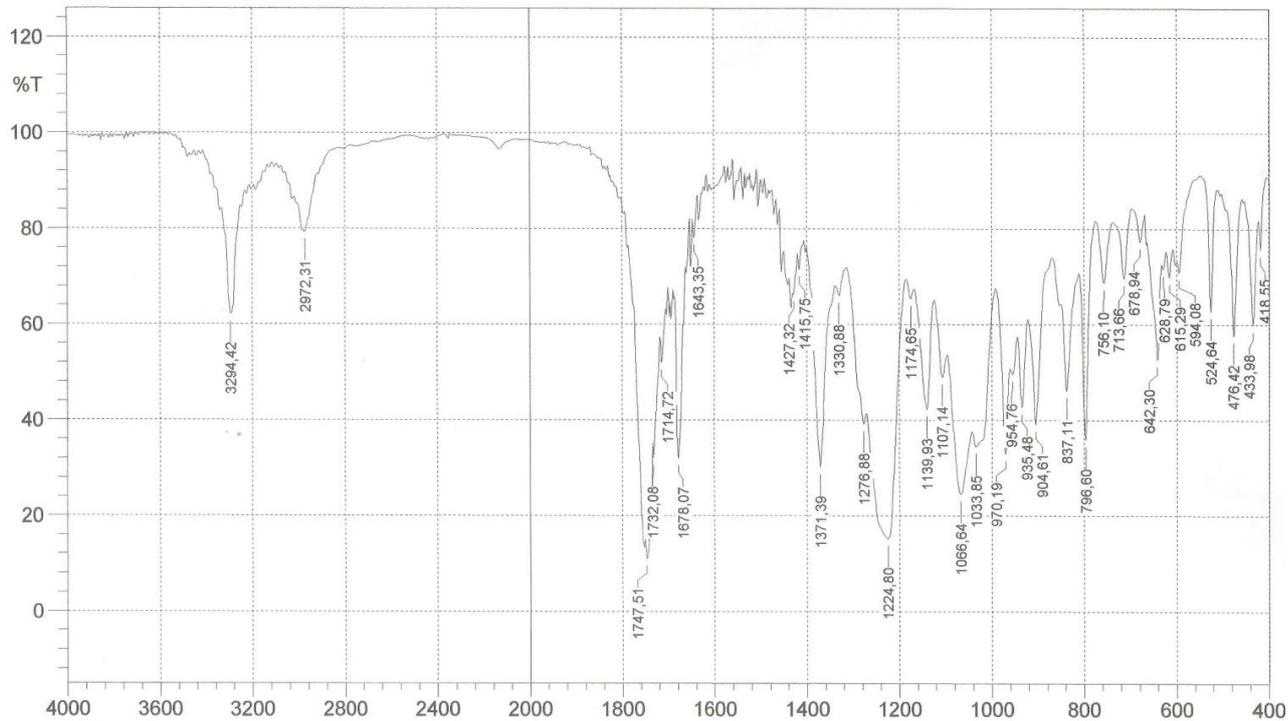


Espectro de IV do composto 6a

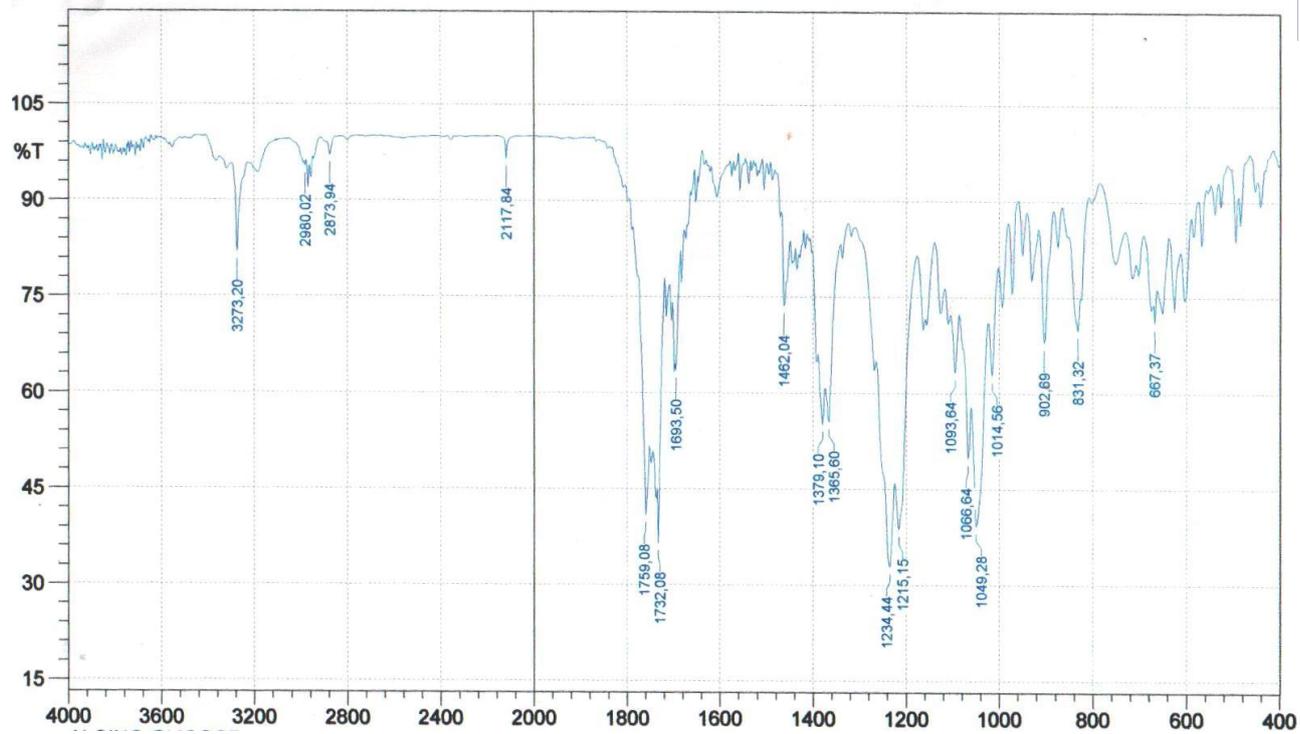


Espectro de IV do composto 7a

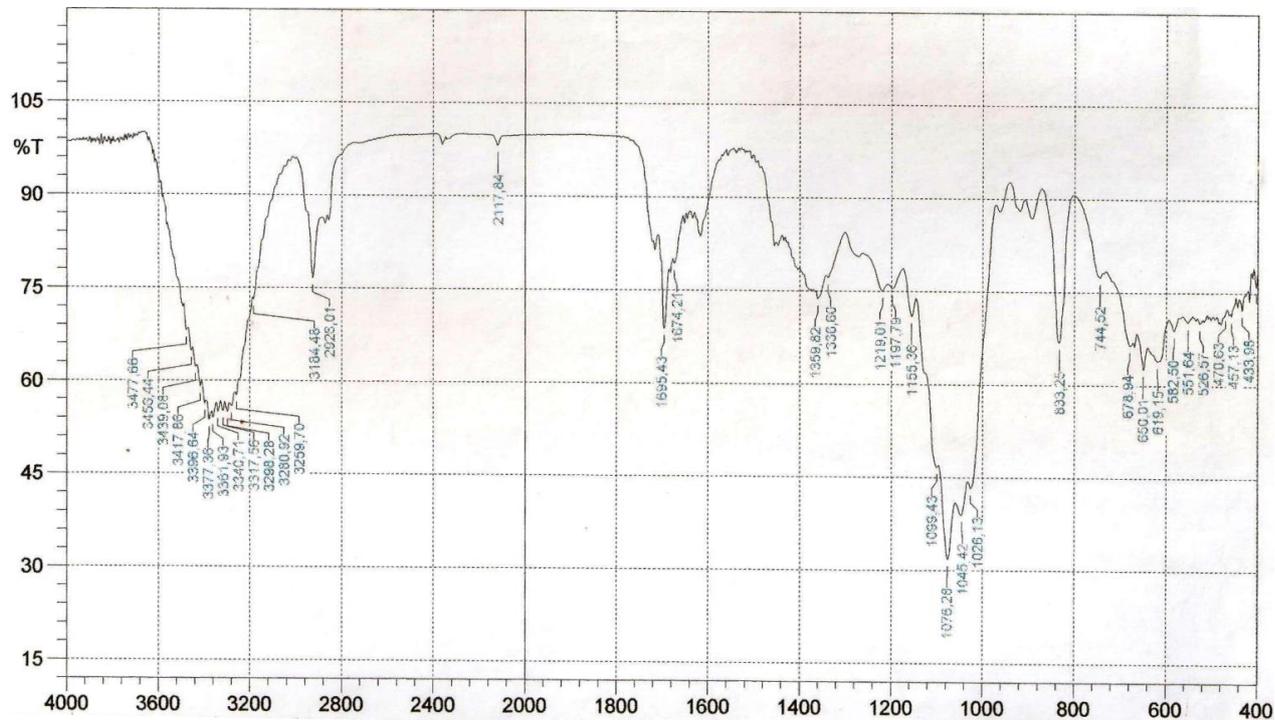




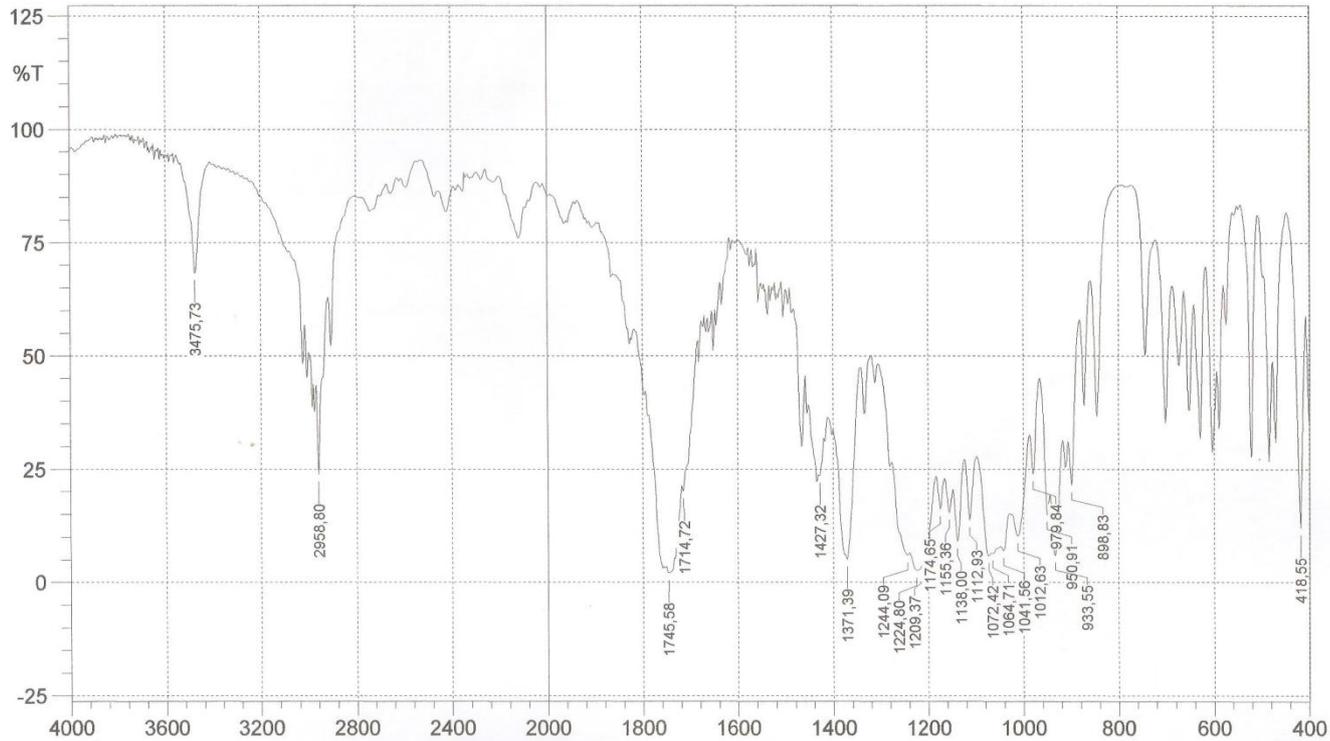
Espectro IV do composto 9a



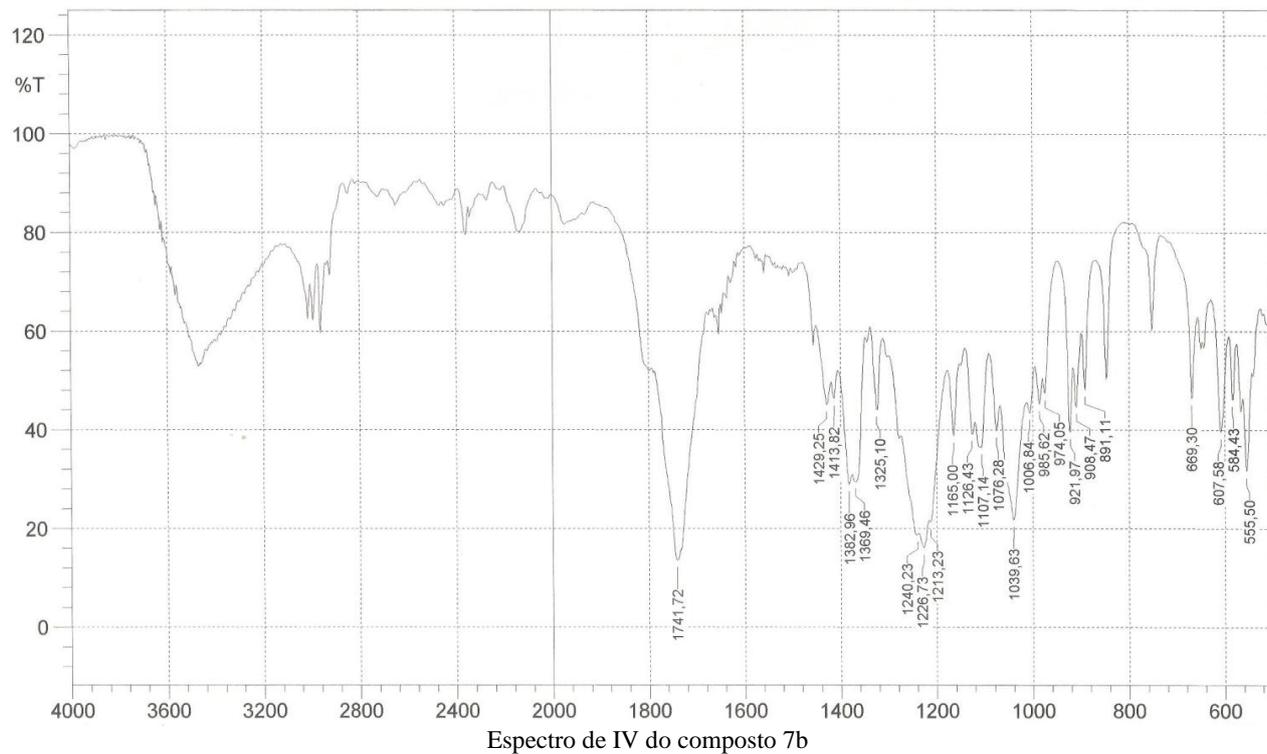
Espectro de IV do composto 10a

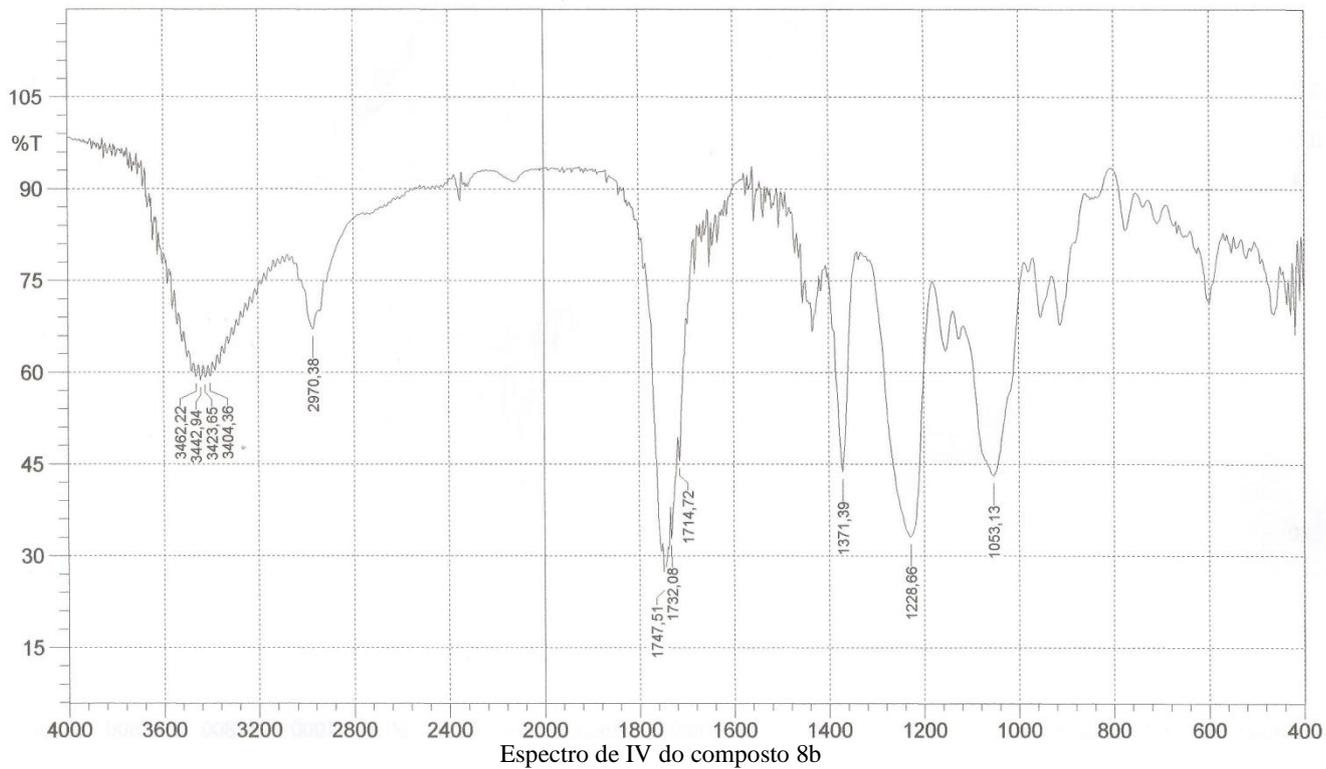


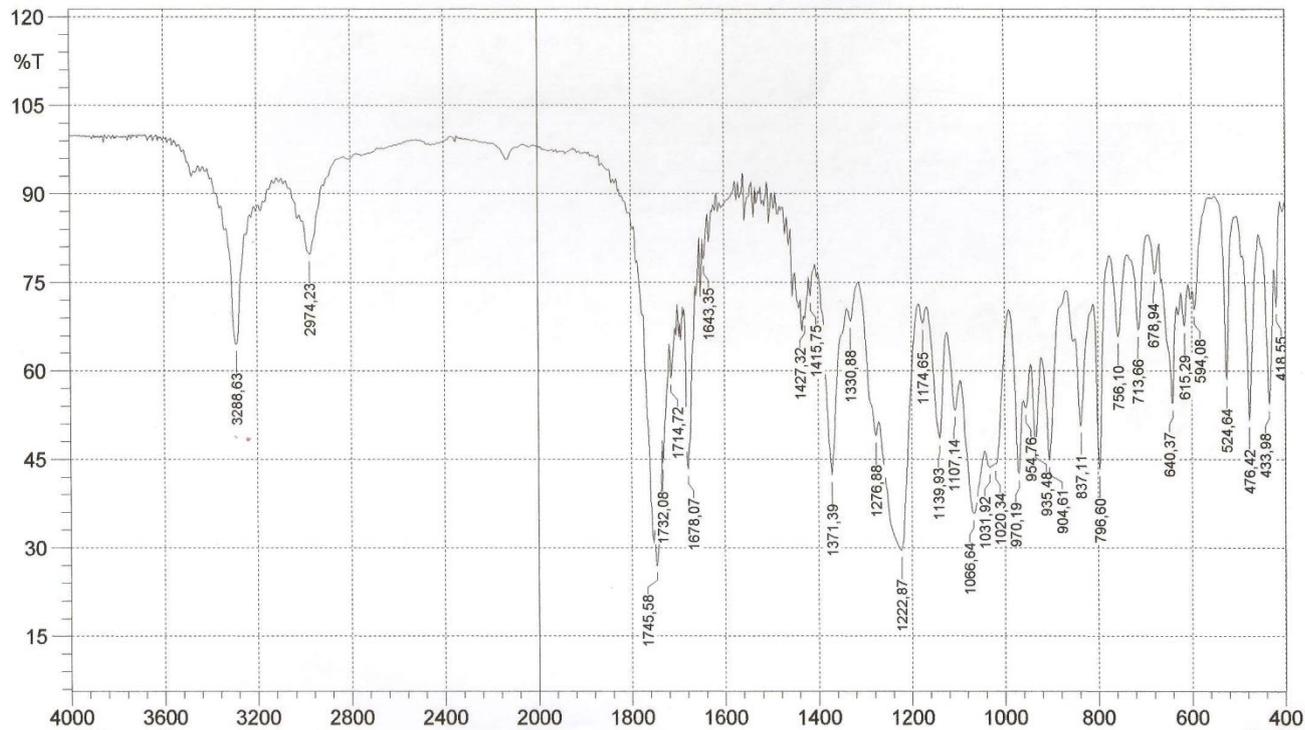
Espectro de IV do composto 18a



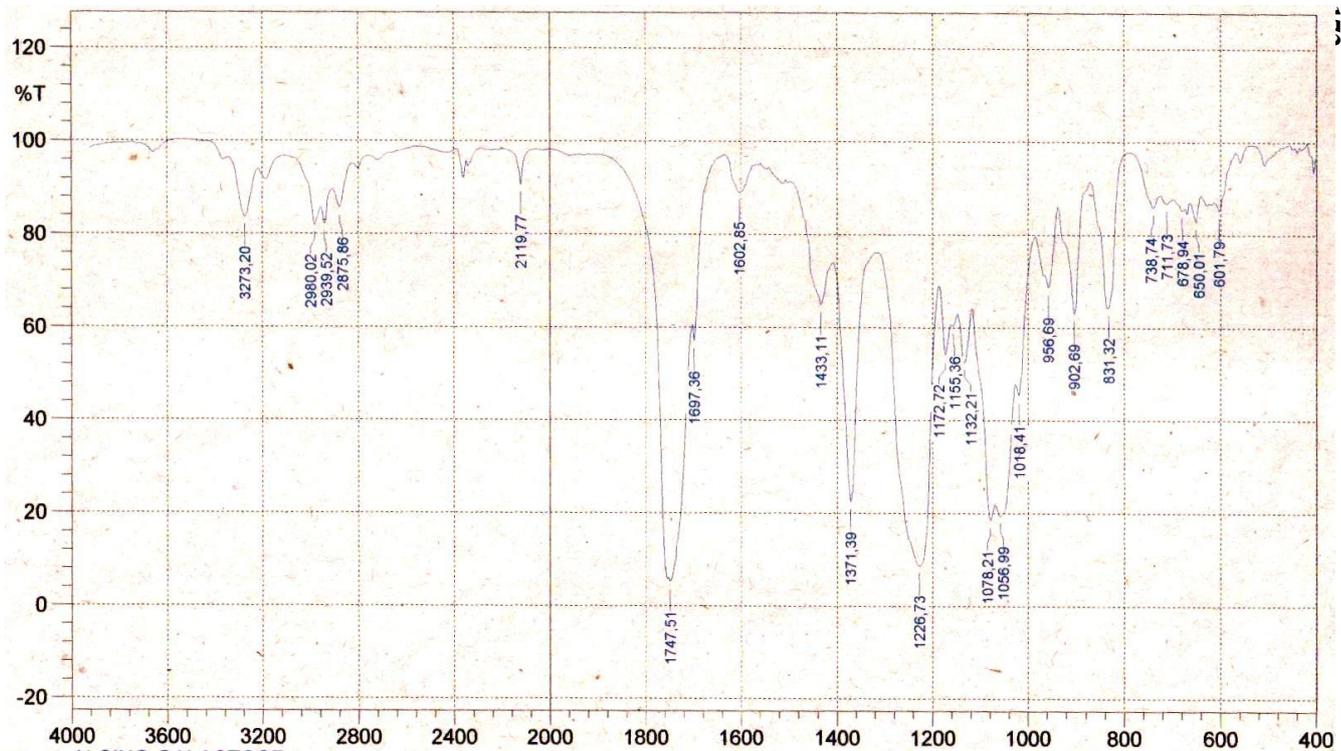
Espectro de IV do composto 6b.



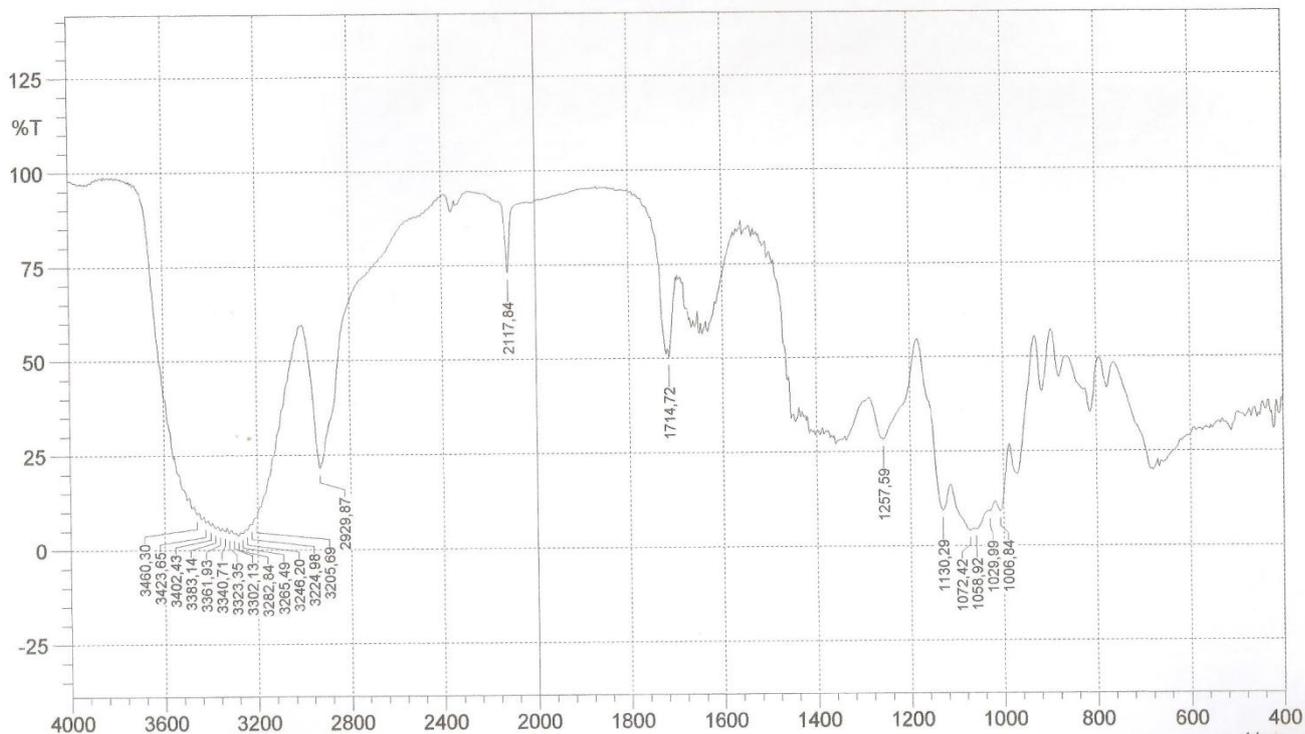




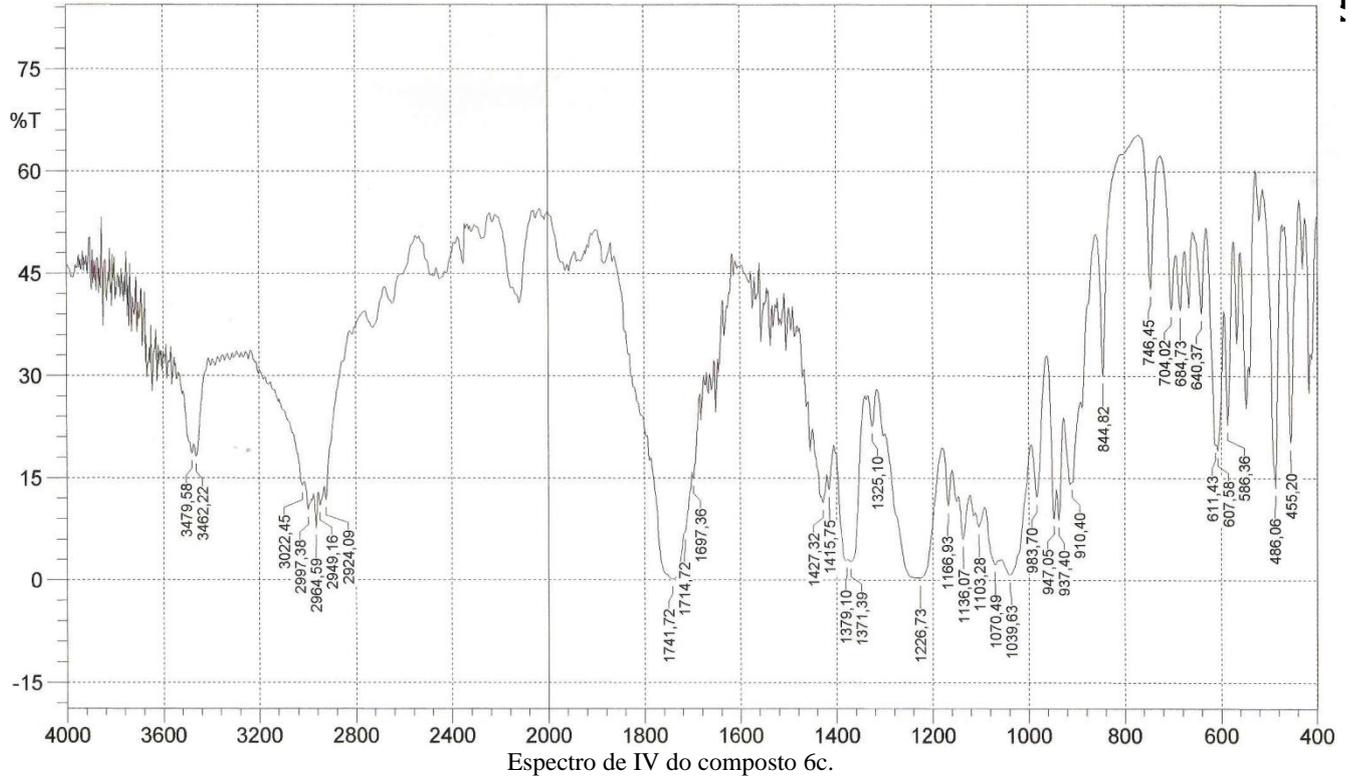
Espectro de IV do composto 9b.

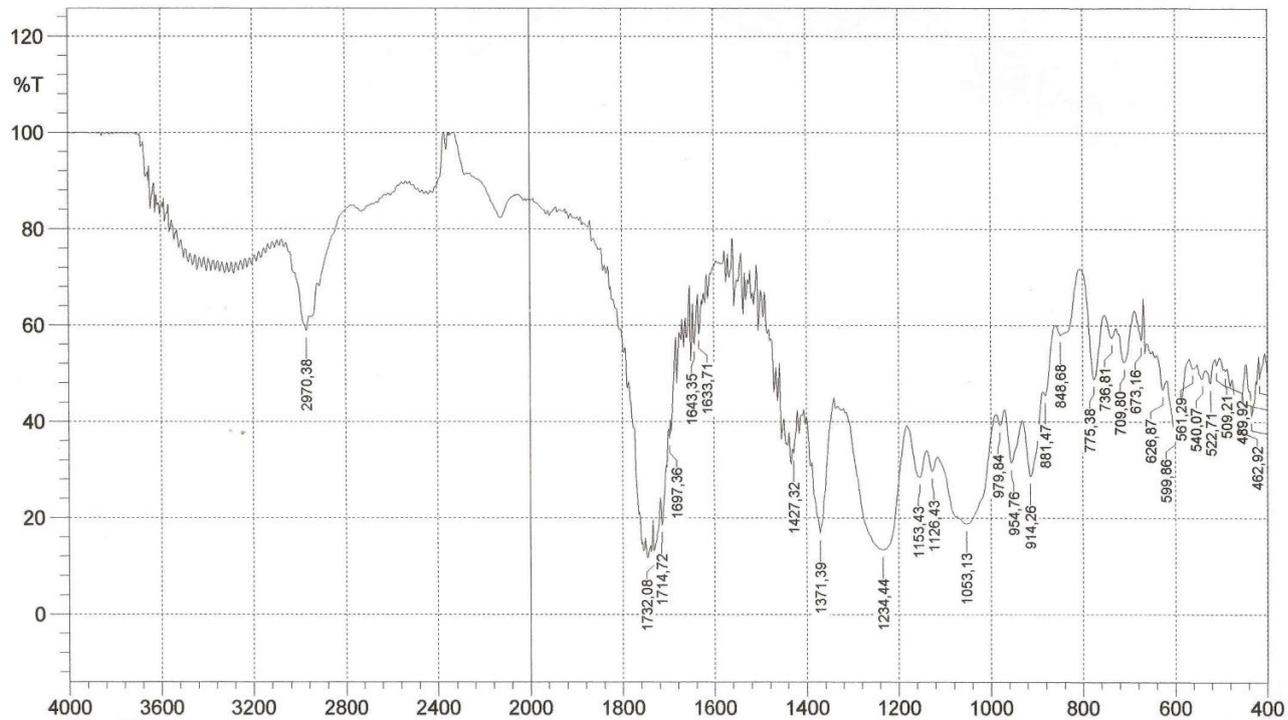


Espectro de IV do composto 10b.

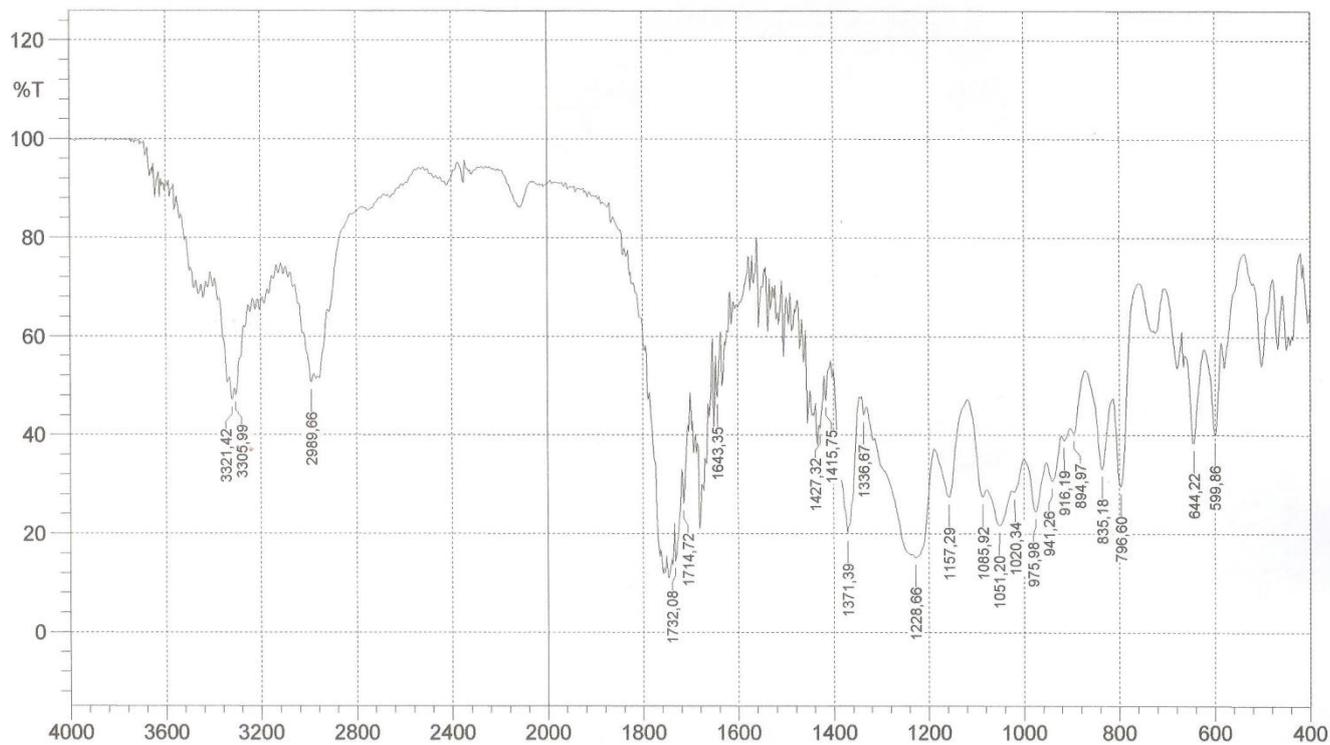


Espectro de IV do composto 18b.

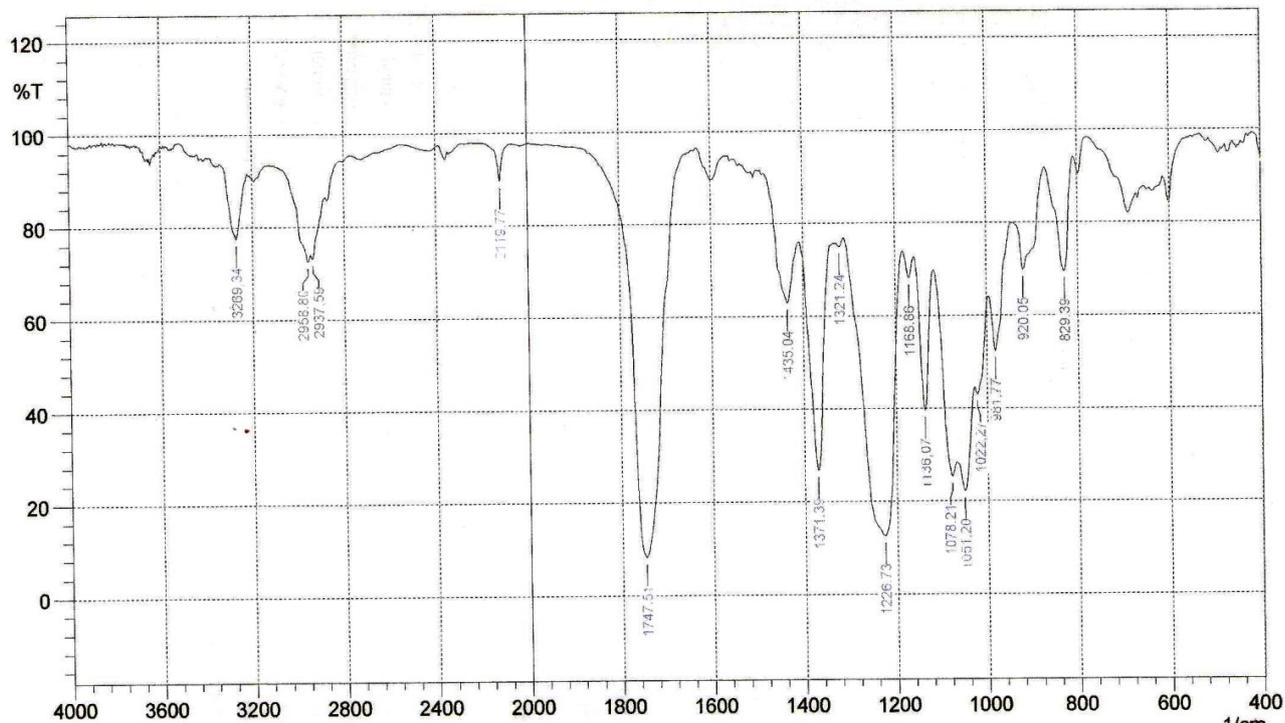




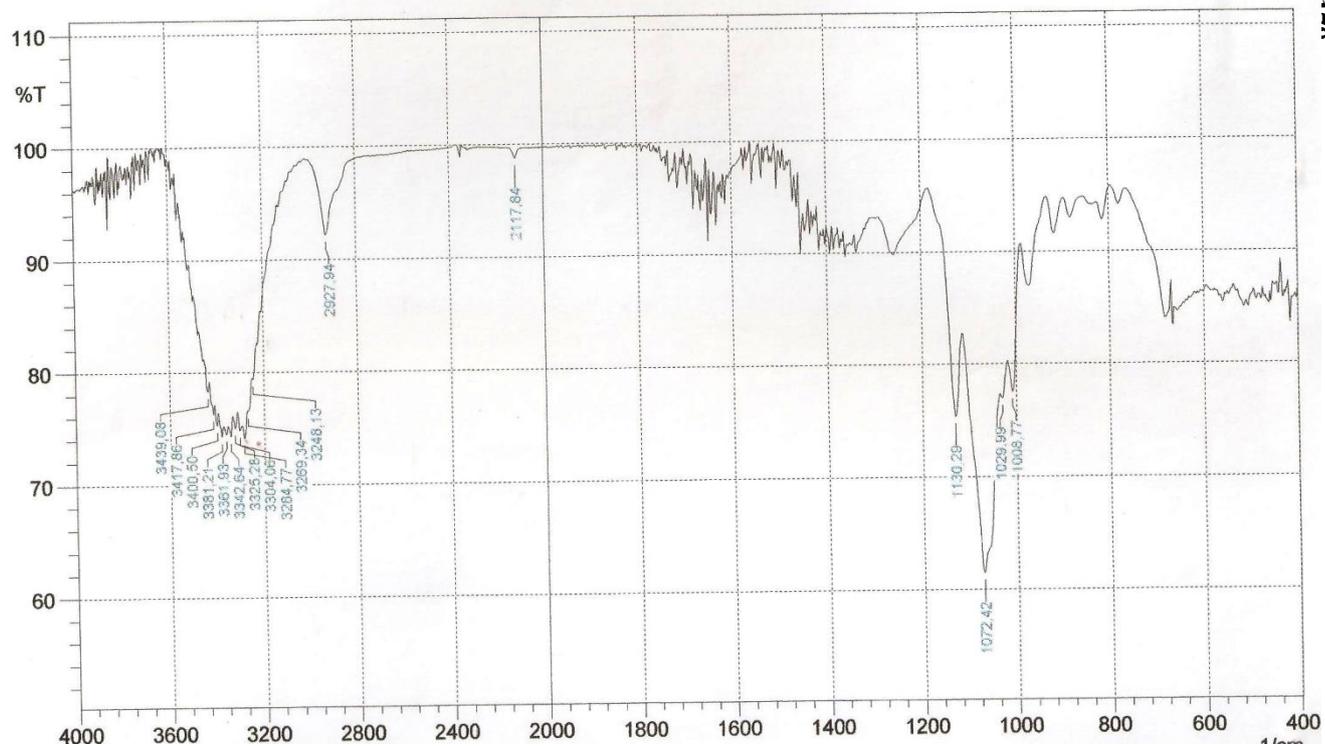
Espectro de IV do composto 8c.



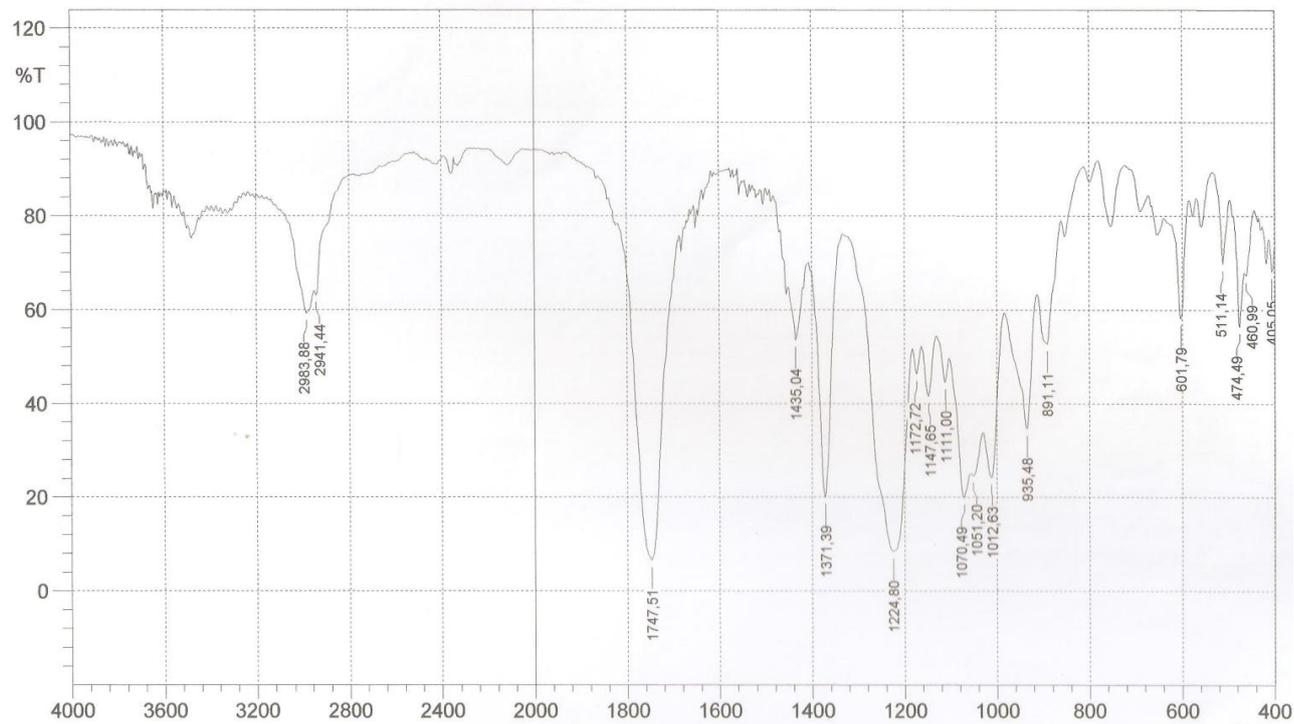
Espectro de IV do composto 9c.



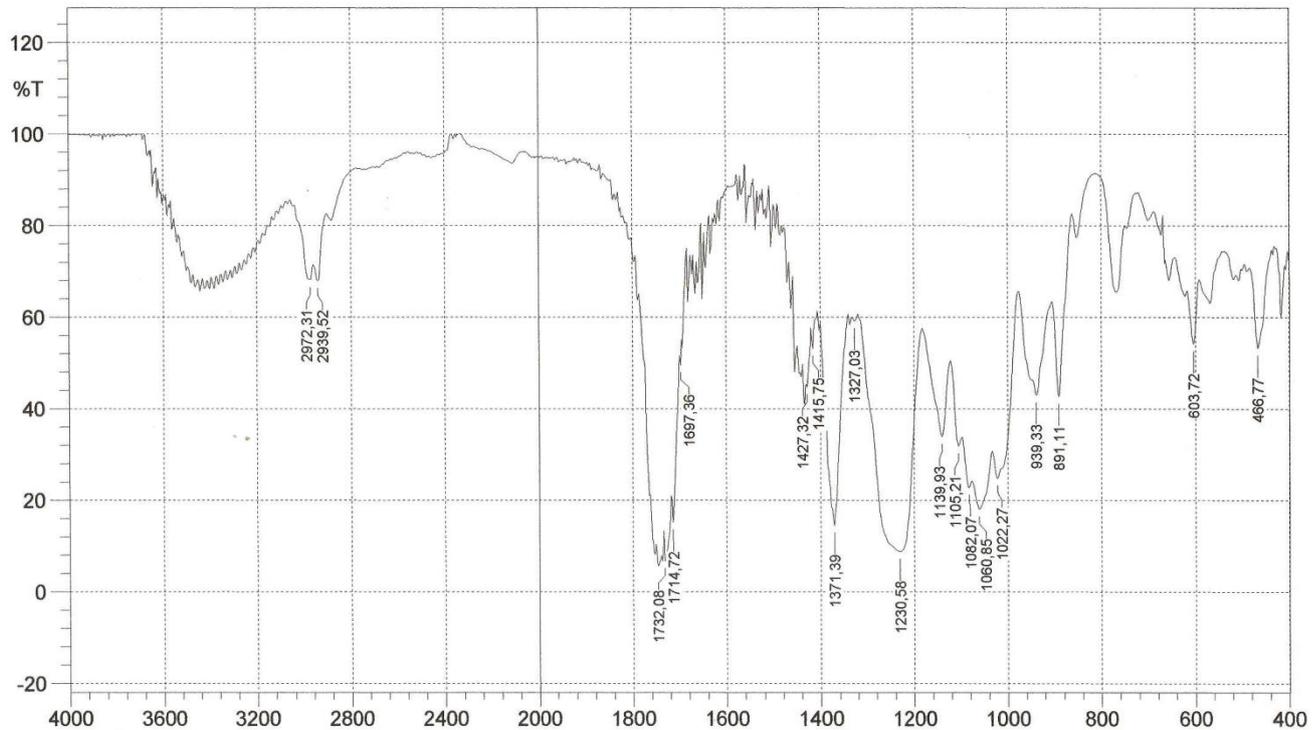
Espectro de V do composto 10c.



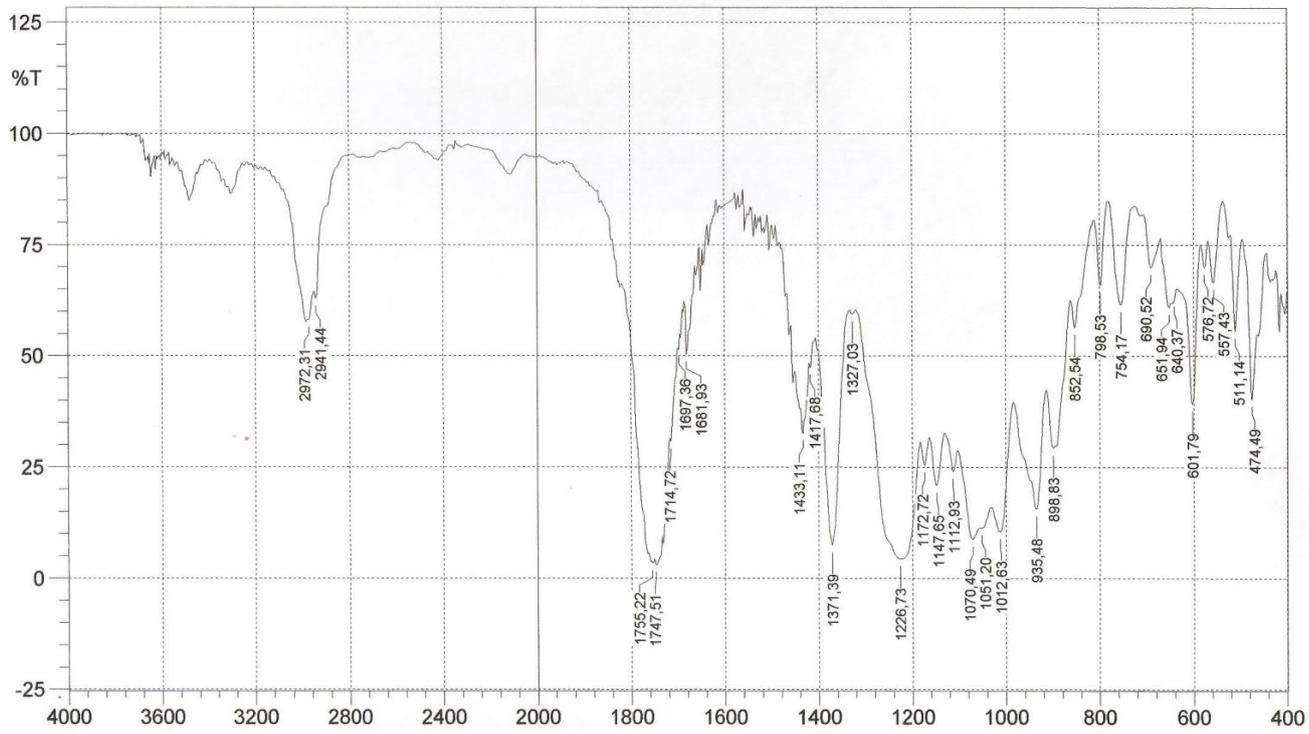
Espectro de IV do composto 18c.



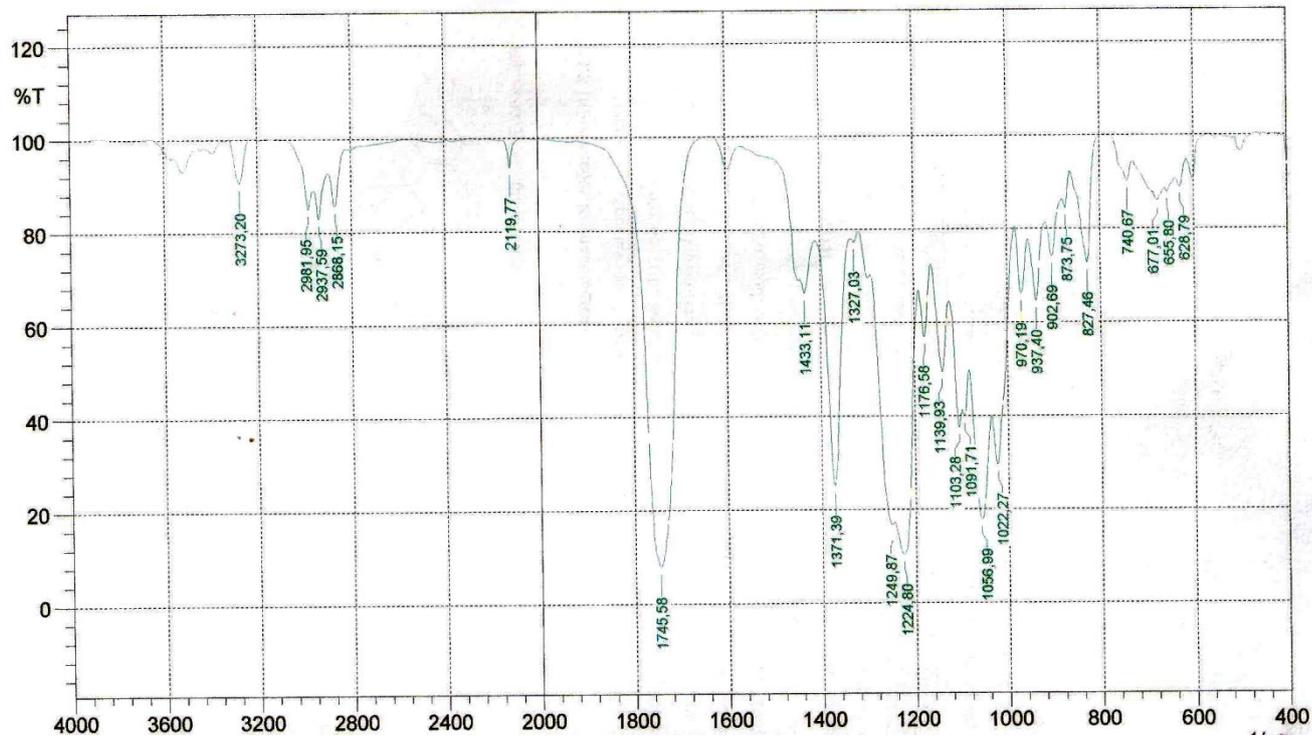
Espectro de IV do composto 6d.



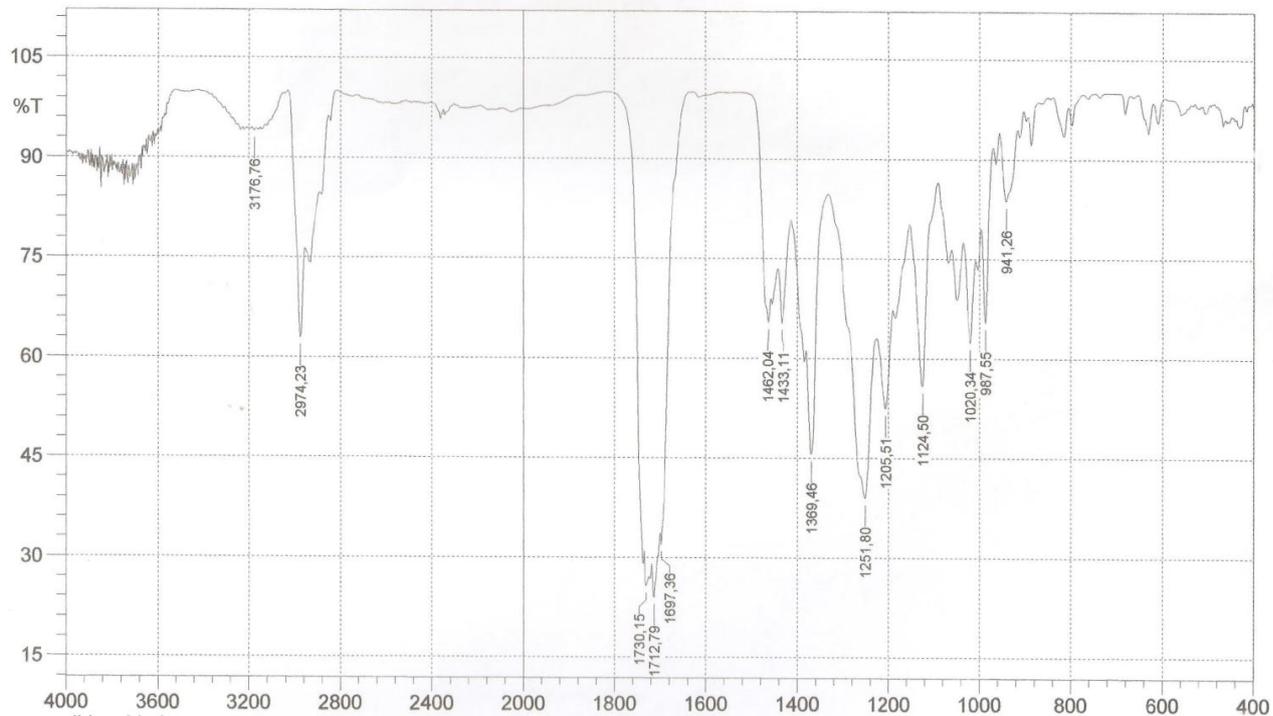
Espectro de IV do composto 8d.



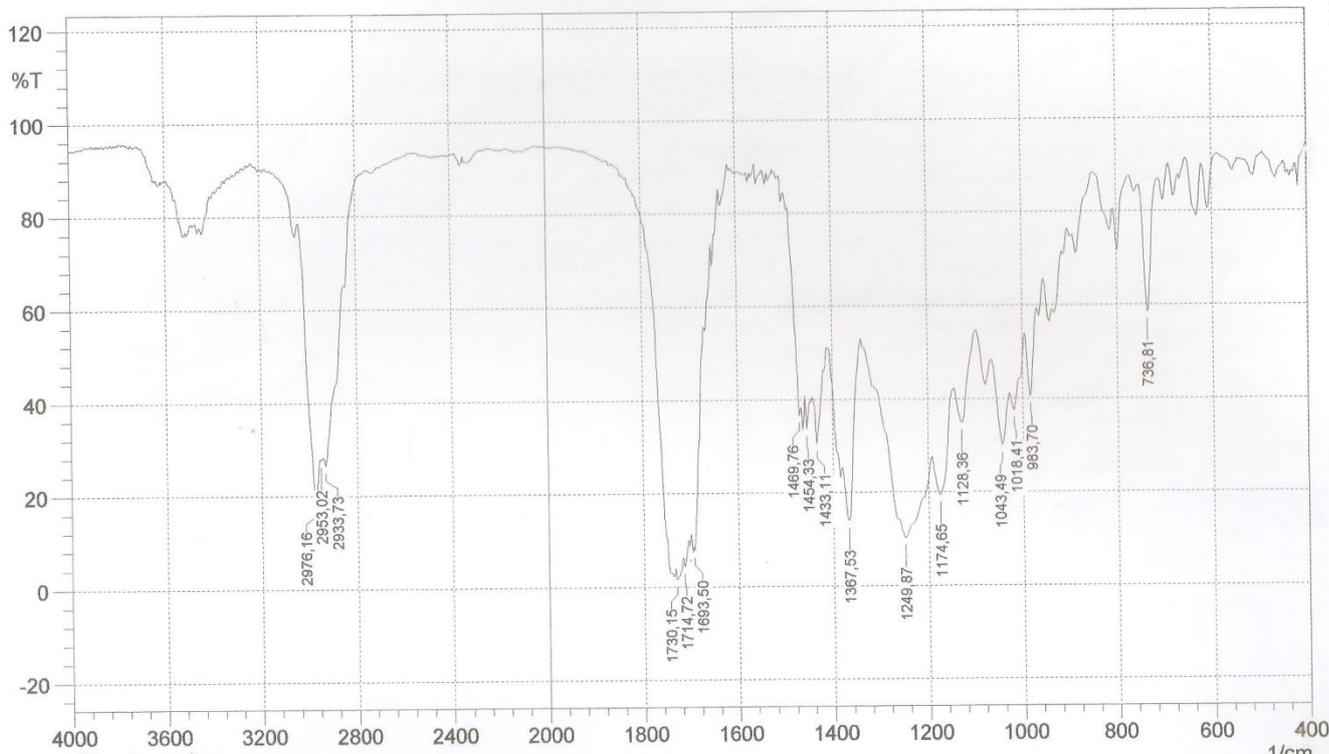
Espectro de IV do composto 9d.



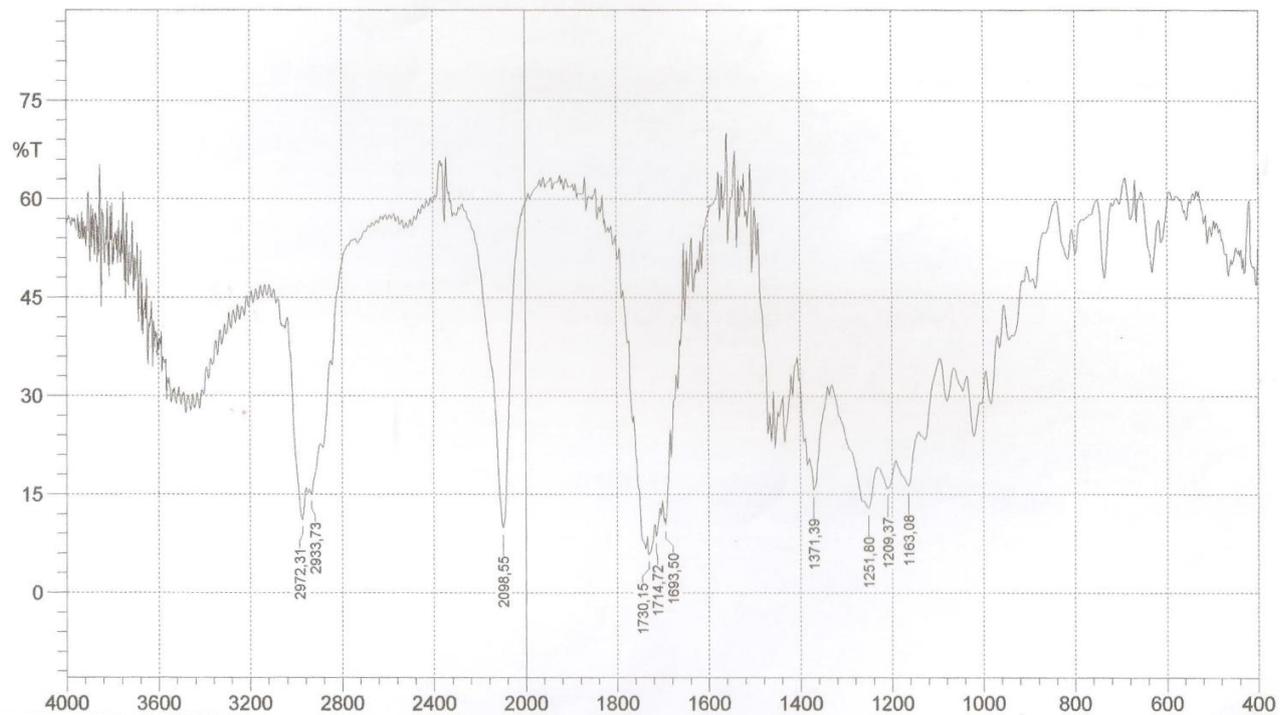
Espectro de IV do composto 18d.



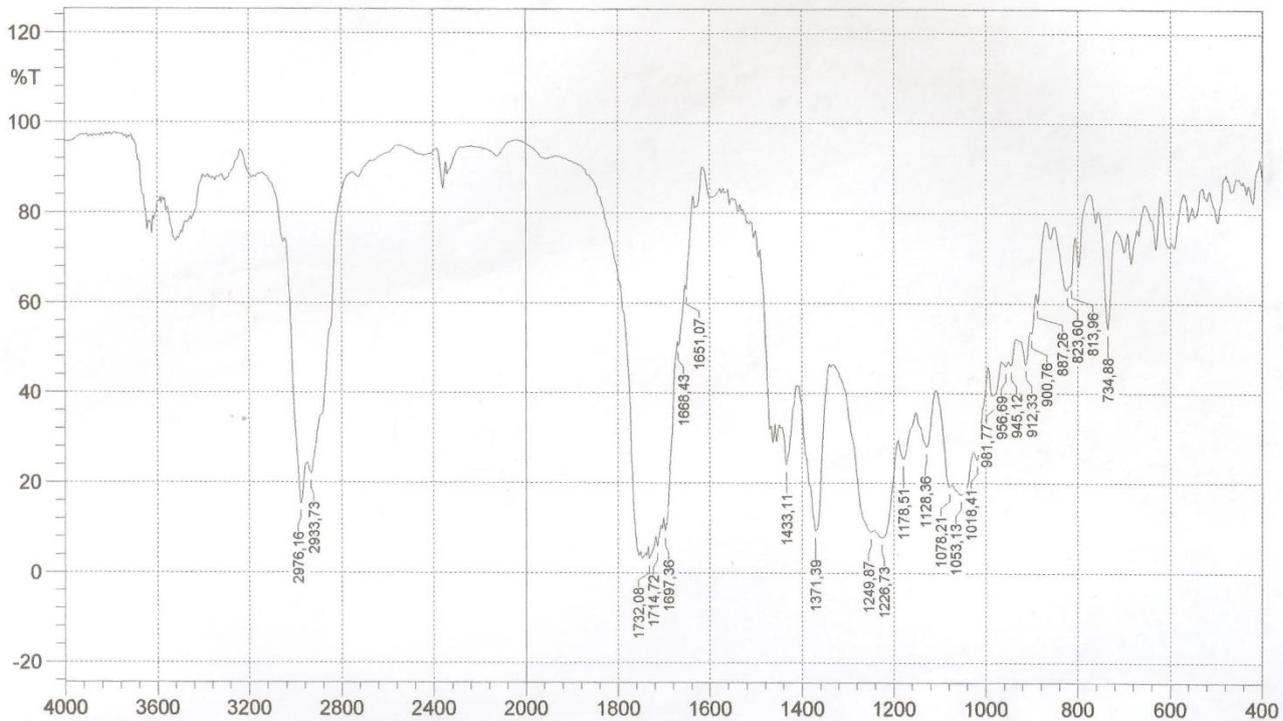
Espectro de IV do composto 2.



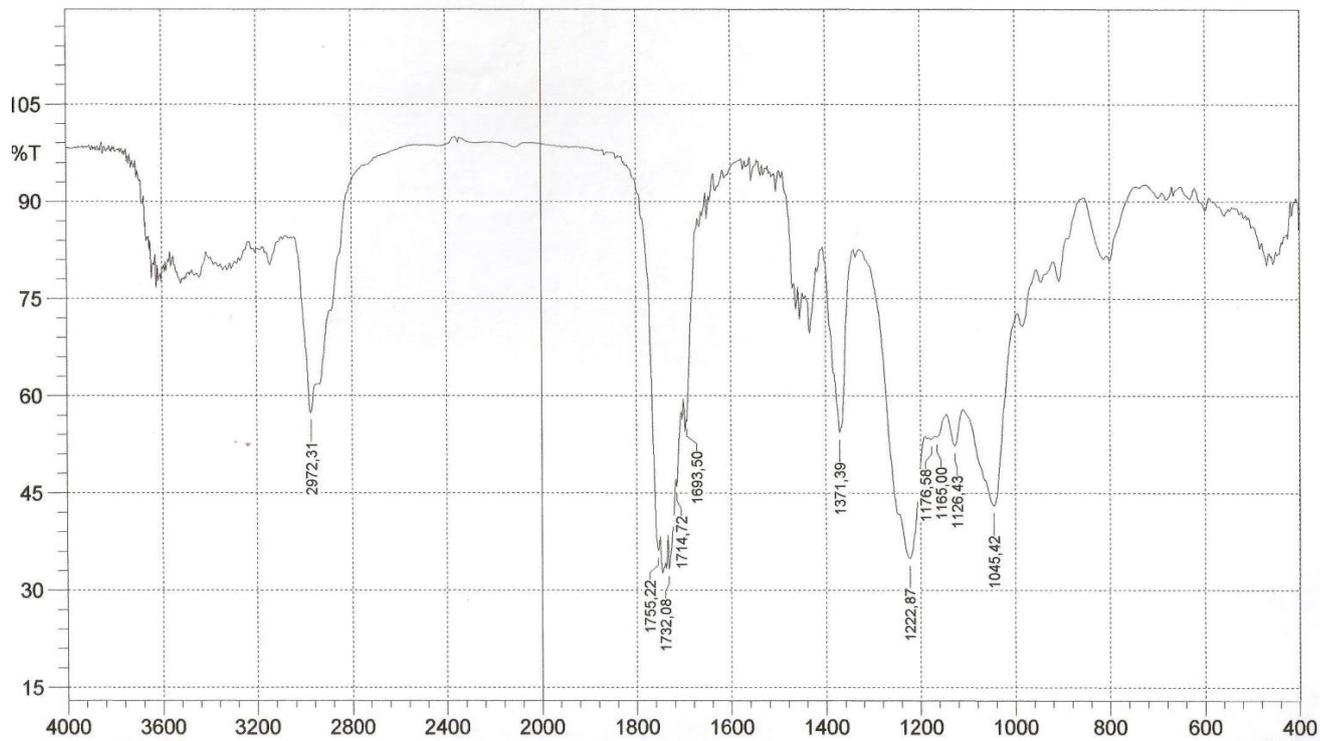
Espectro de IV do composto 5.



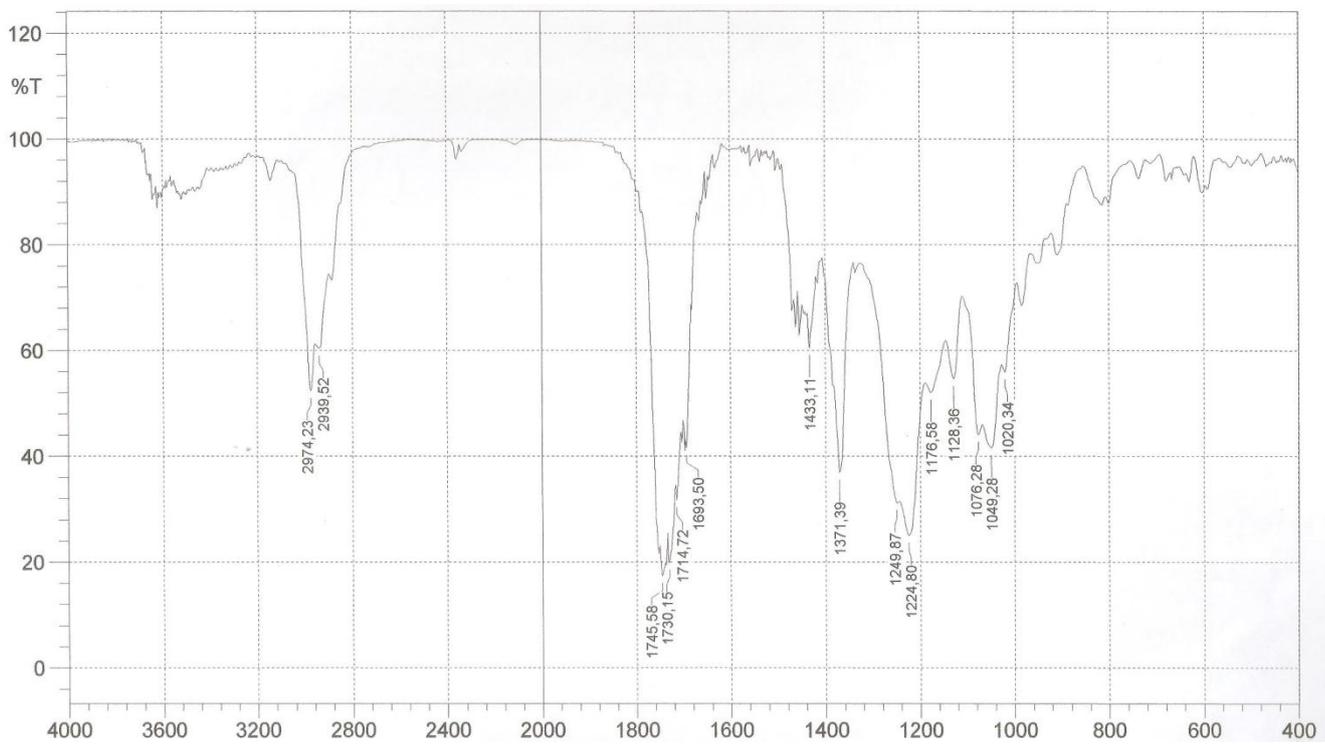
Espectro de IV do composto 3.



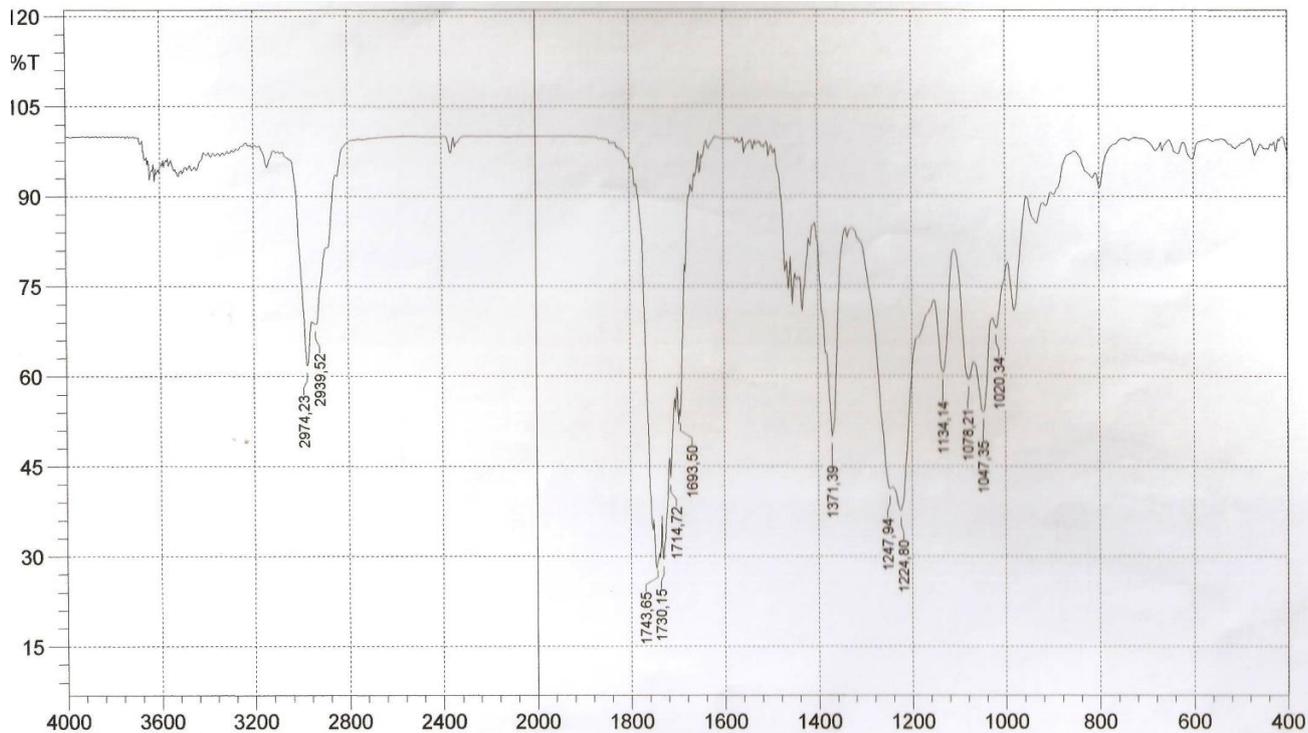
Espectro de IV do composto 15.



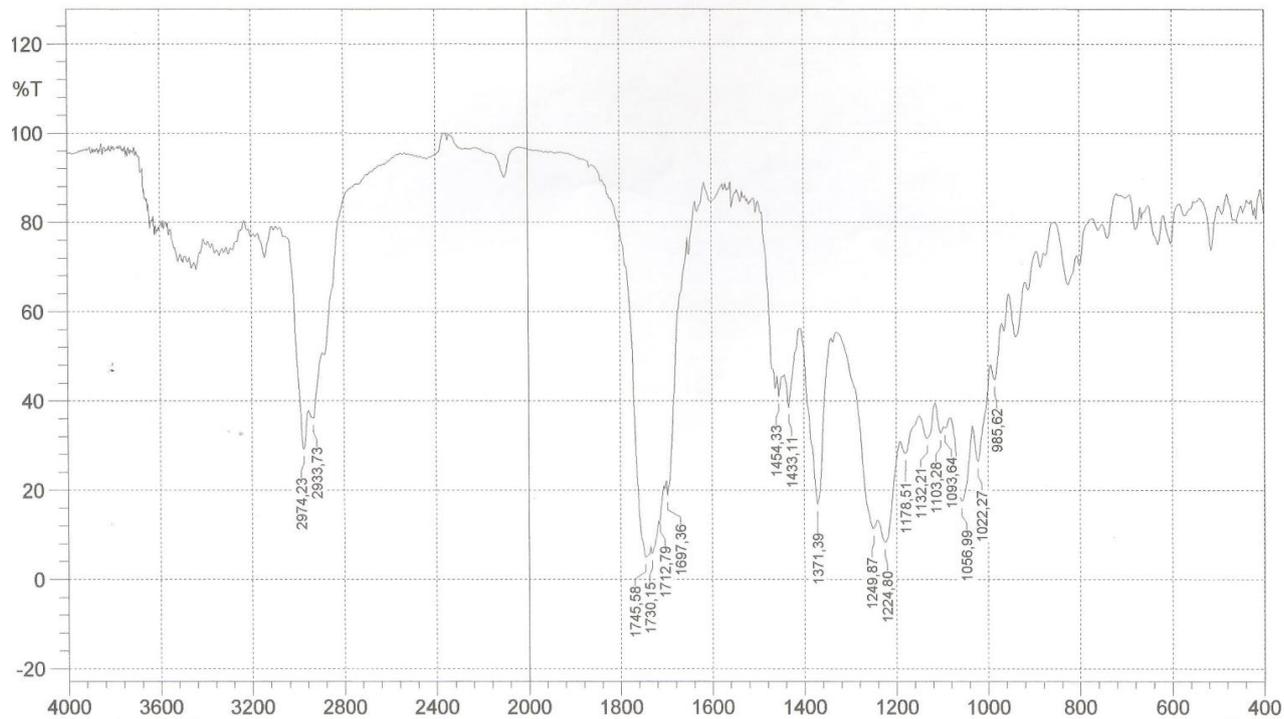
Espectro de IV do composto 16a



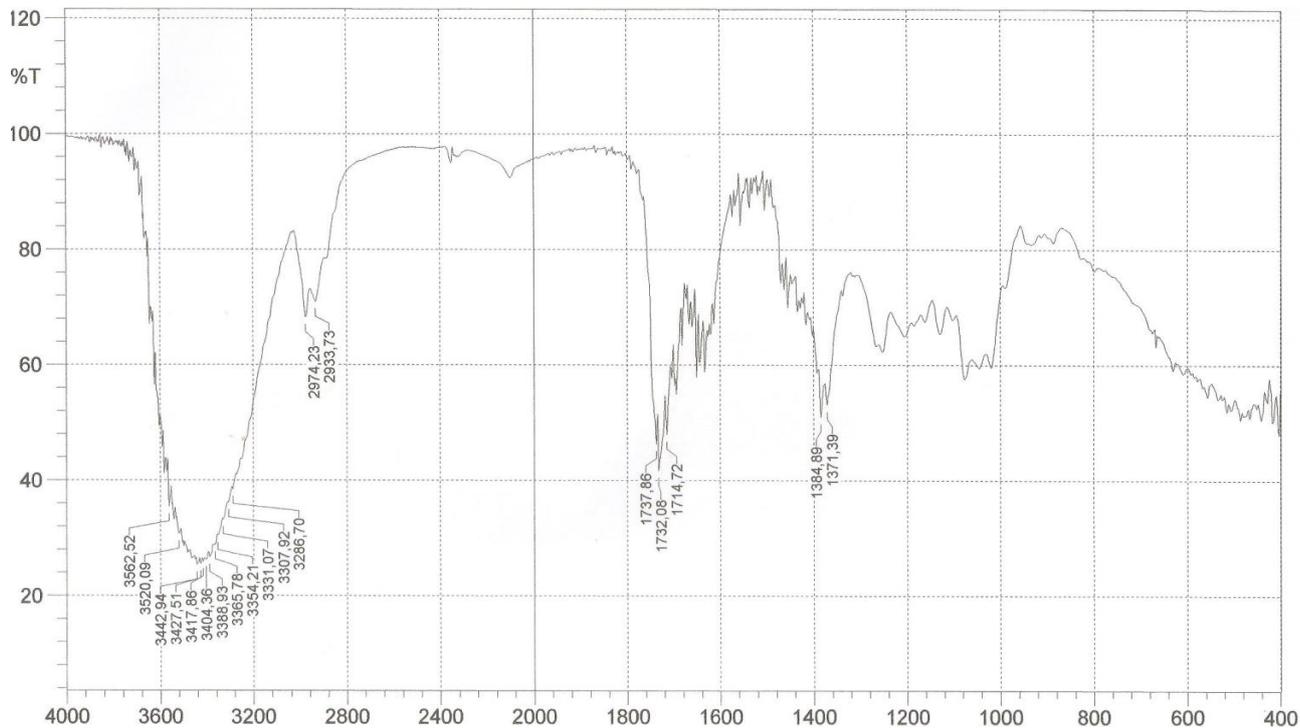
Espectro de IV do composto 16b.



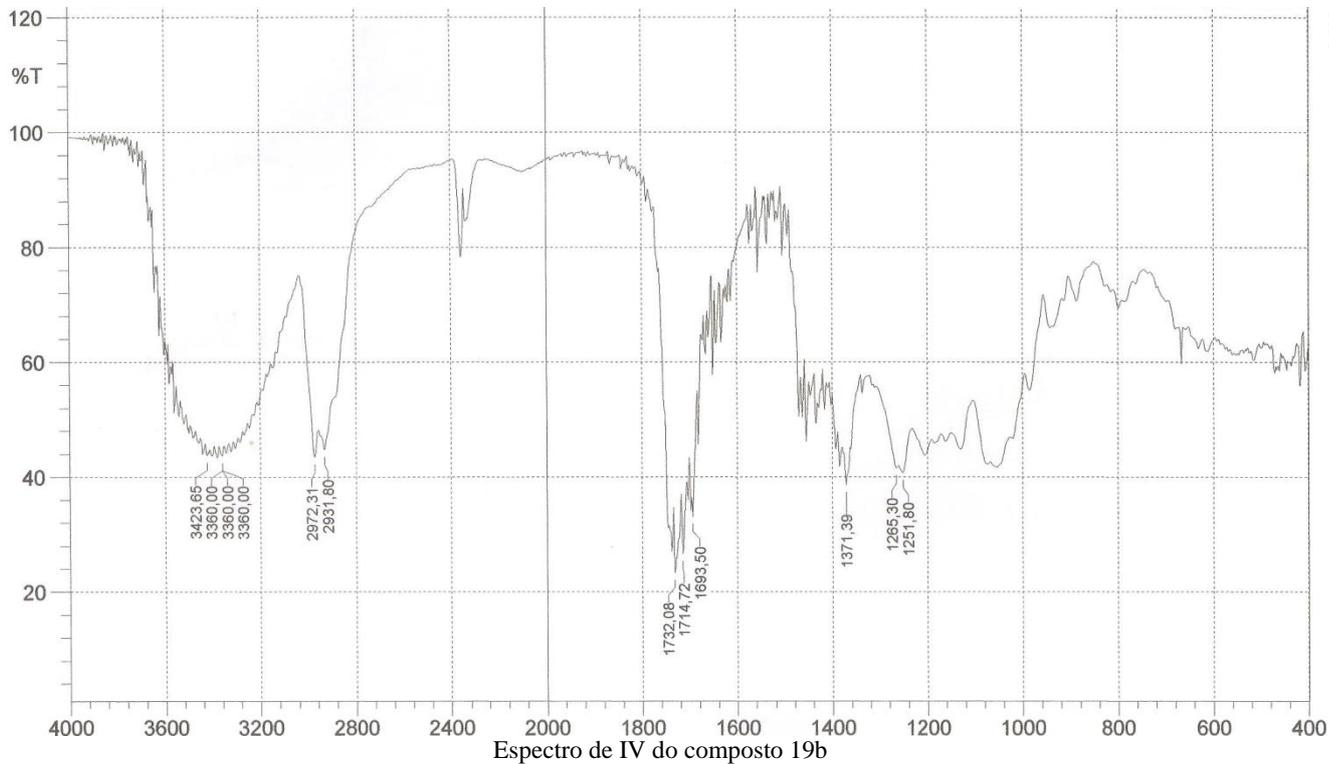
Espectro de IV do composto 16c.

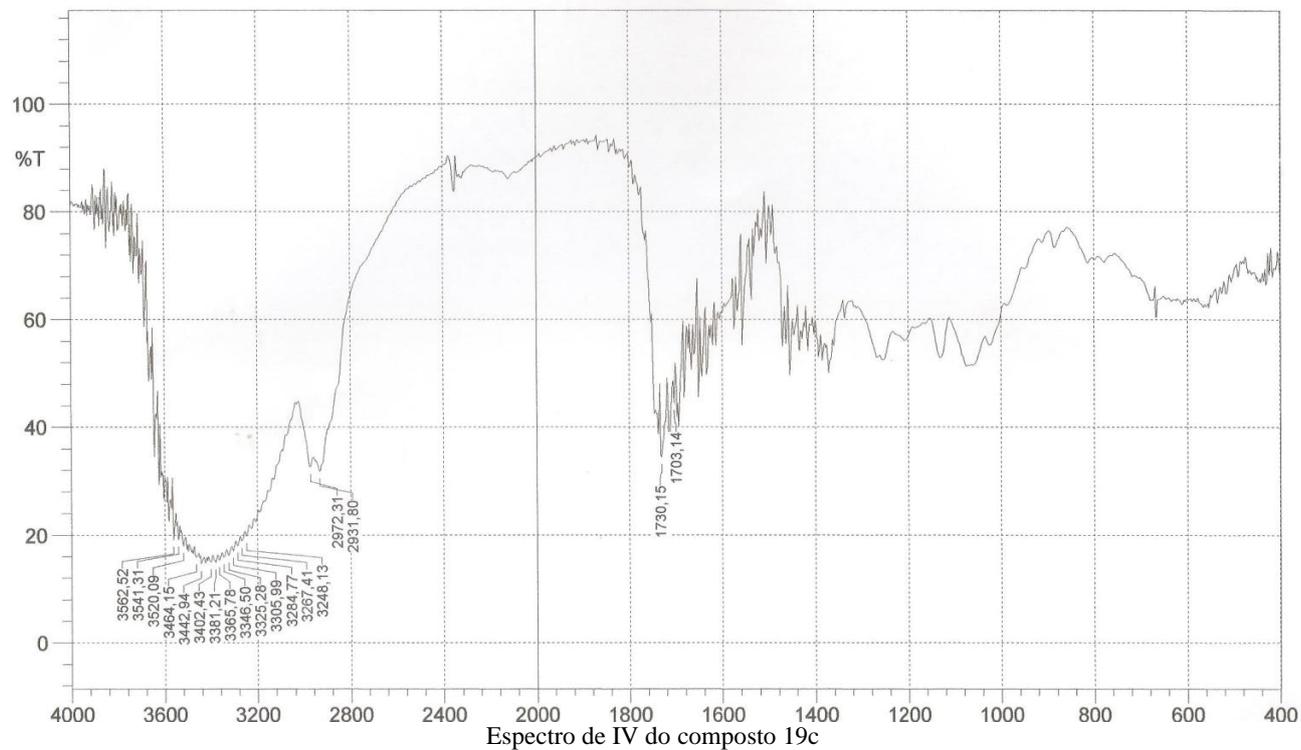


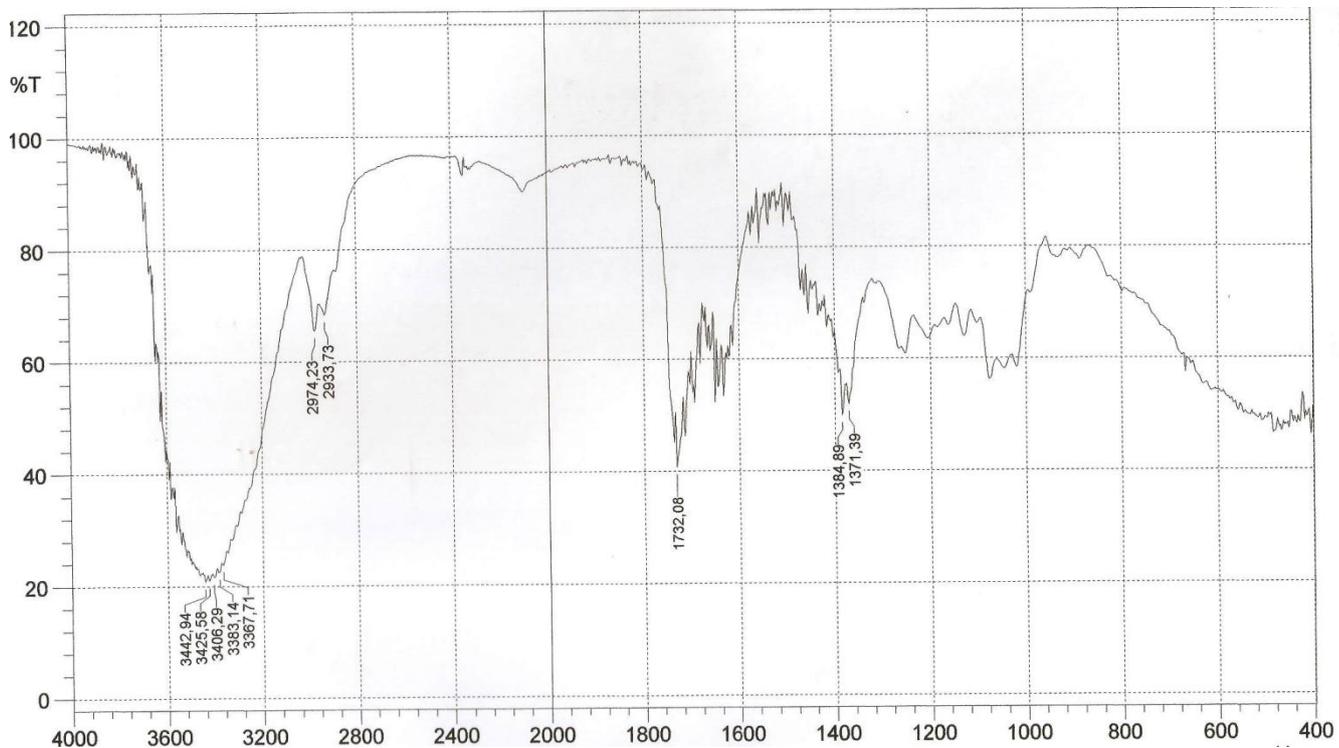
Espectro de IV do composto 16c.



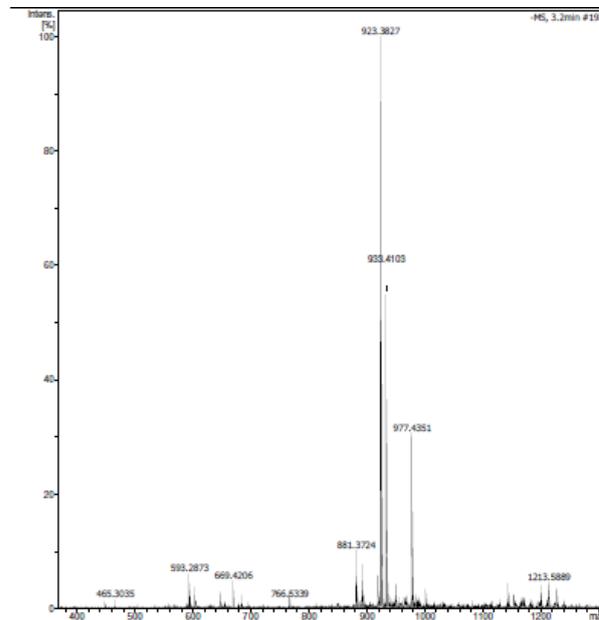
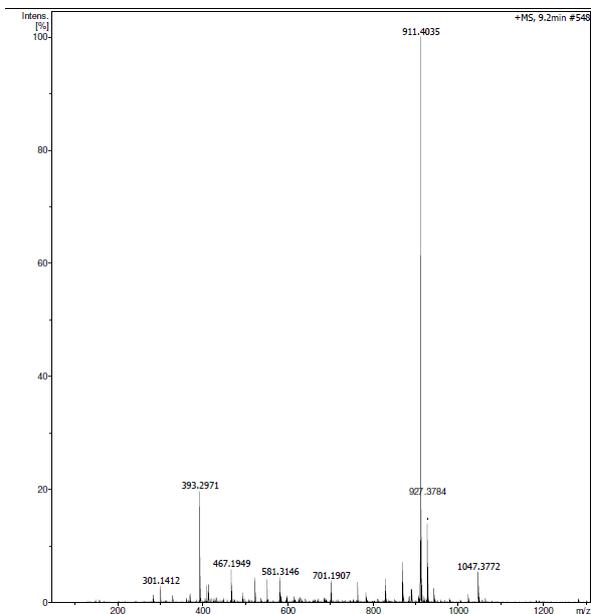
Espectro de IV do composto 19a



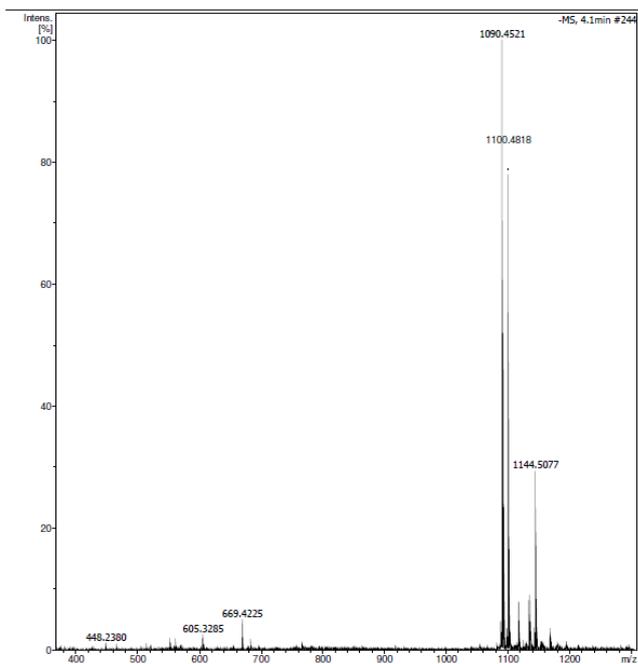
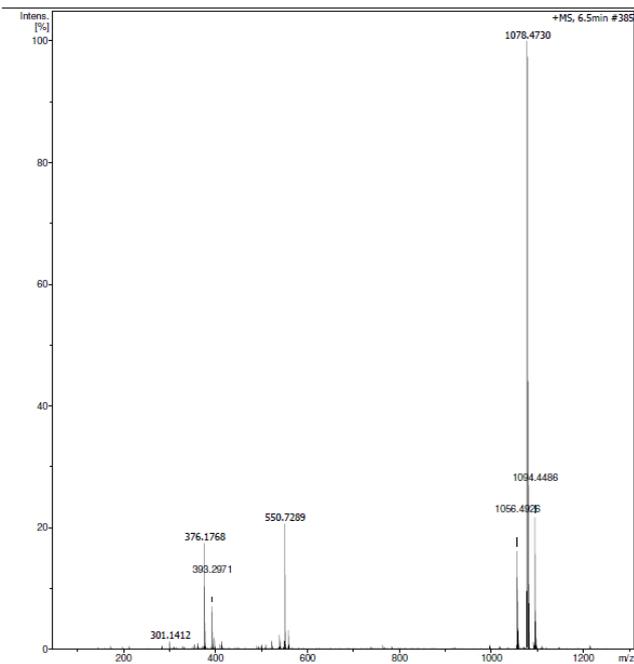




Espectro de IV do composto 19d.



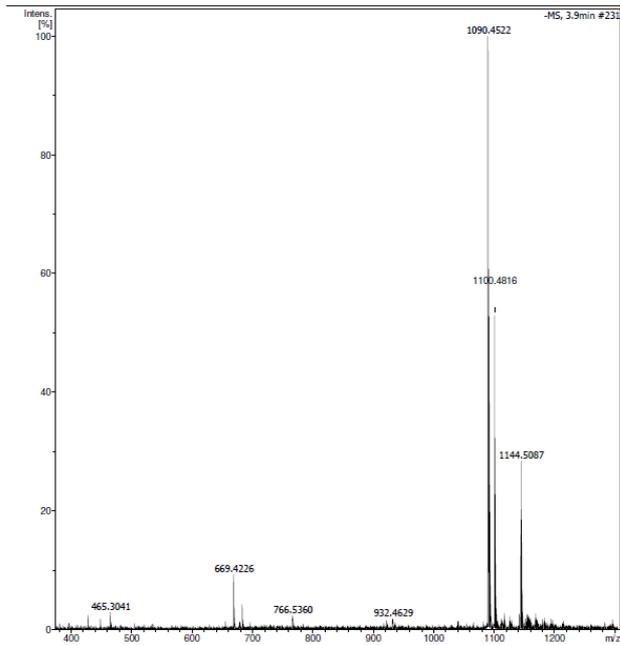
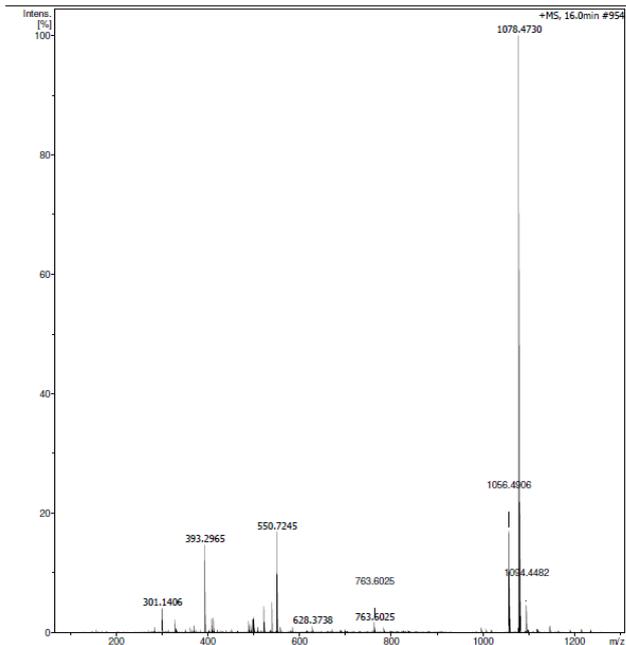
Espectros de massas do composto 15 (modo positivo e negativo).
 m/z (modo positivo): calculado para $C_{46}H_{64}O_{17}Na$ 911,4041; obtido 911, 4035 $[M + Na]^+$.
 Modo negativo: calculado para $C_{46}H_{64}O_{17}Cl$ 923,8674; obtido 923, 3827 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 16a (modo positivo e negativo)

m/z (modo positivo): calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Na$ 1078,4735; obtido 1078,4730 $[M + Na]^+$.

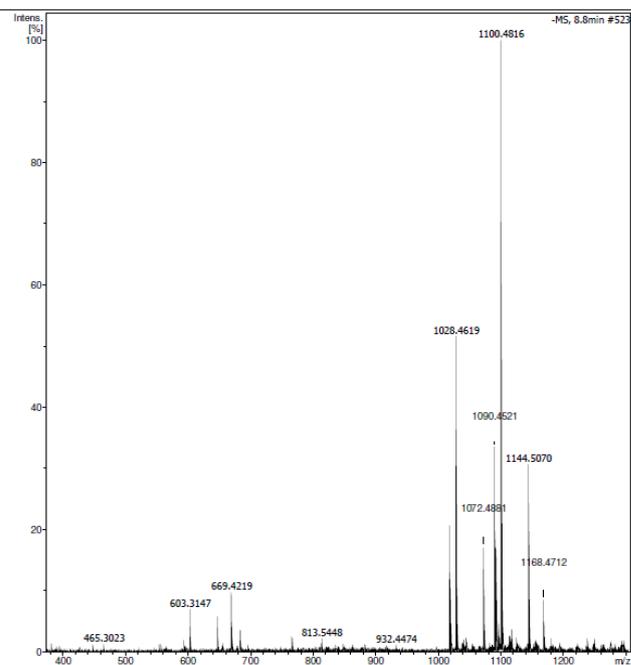
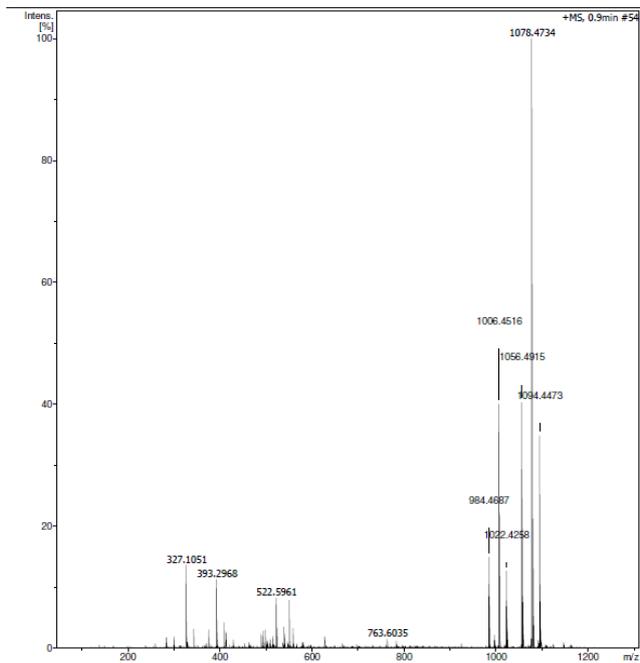
Modo negativo: calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Cl$ 1090,9368; obtido 1090,4521 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 16b (modo positivo e negativo)

m/z (modo positivo): calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Na$ 1078,4735; obtido 1078,4730 $[M + Na]^+$.

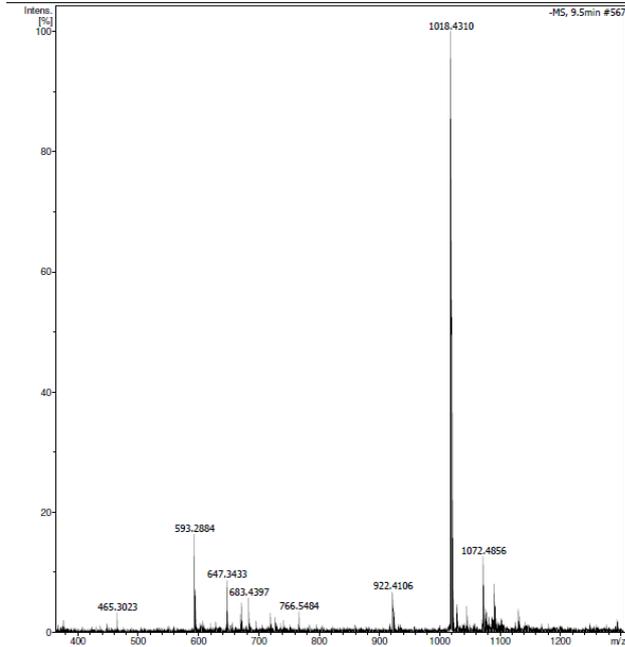
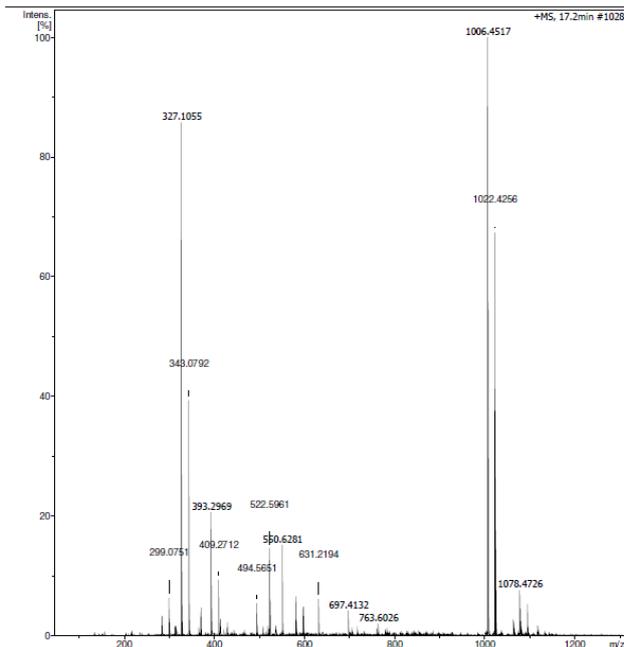
Modo negativo: calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Cl$ 1090,9368; obtido 1090,4522 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 16c (modo negativo e positivo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Na$ 1078,4735; obtido 1078,4734 $[M + Na]^+$.

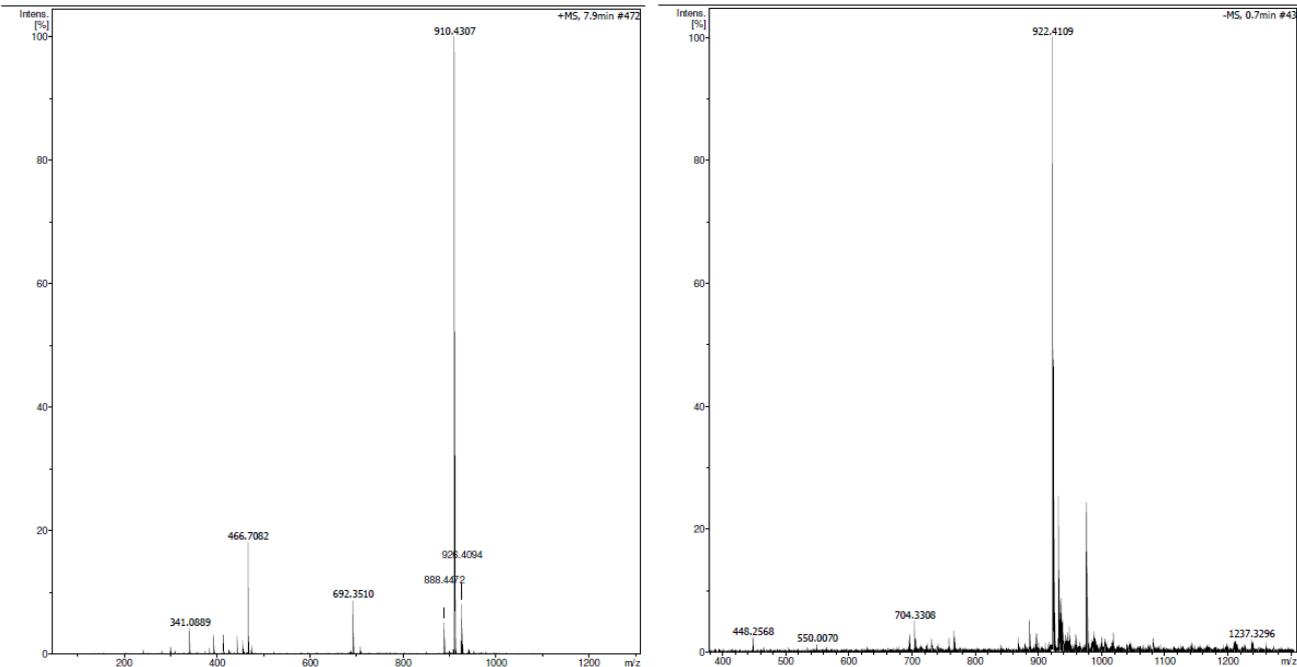
Modo negativo: calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Cl$ 1090,9368; obtido 1090,4521 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 16d (modo positivo e negativo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{50}H_{69}N_3O_{17}Na$ 1006,4524; obtido 1006,4517 $[M + Na]^+$.

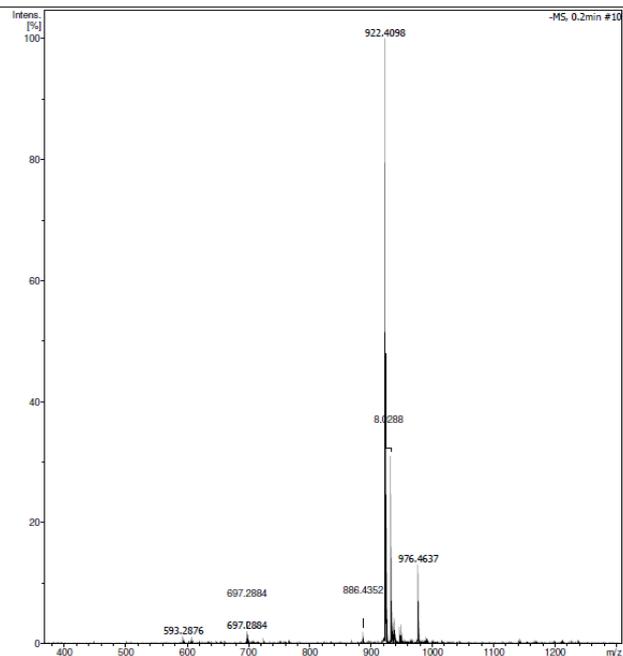
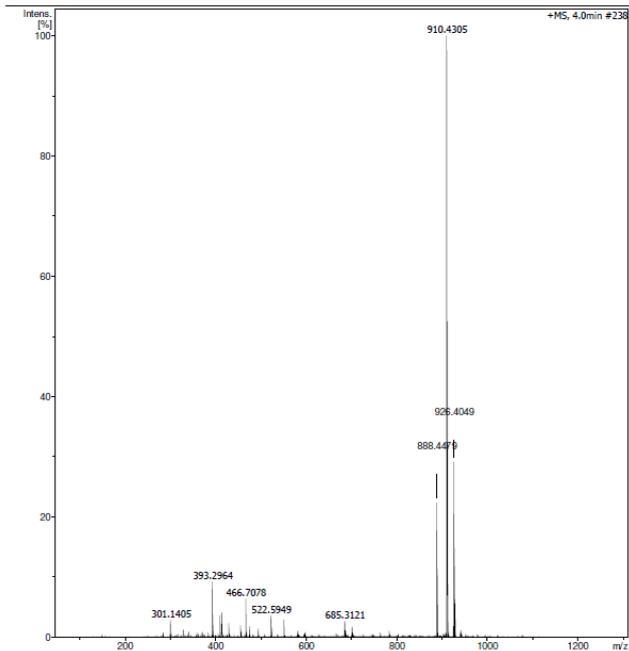
Modo negativo: calculado para $C_{53}H_{73}N_3O_{19}Cl$ 1018,8157; obtido 1018,4310 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 19a (modo positivo e negativo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Na$ 910,4313; obtido 910,4307 $[M + Na]^+$.

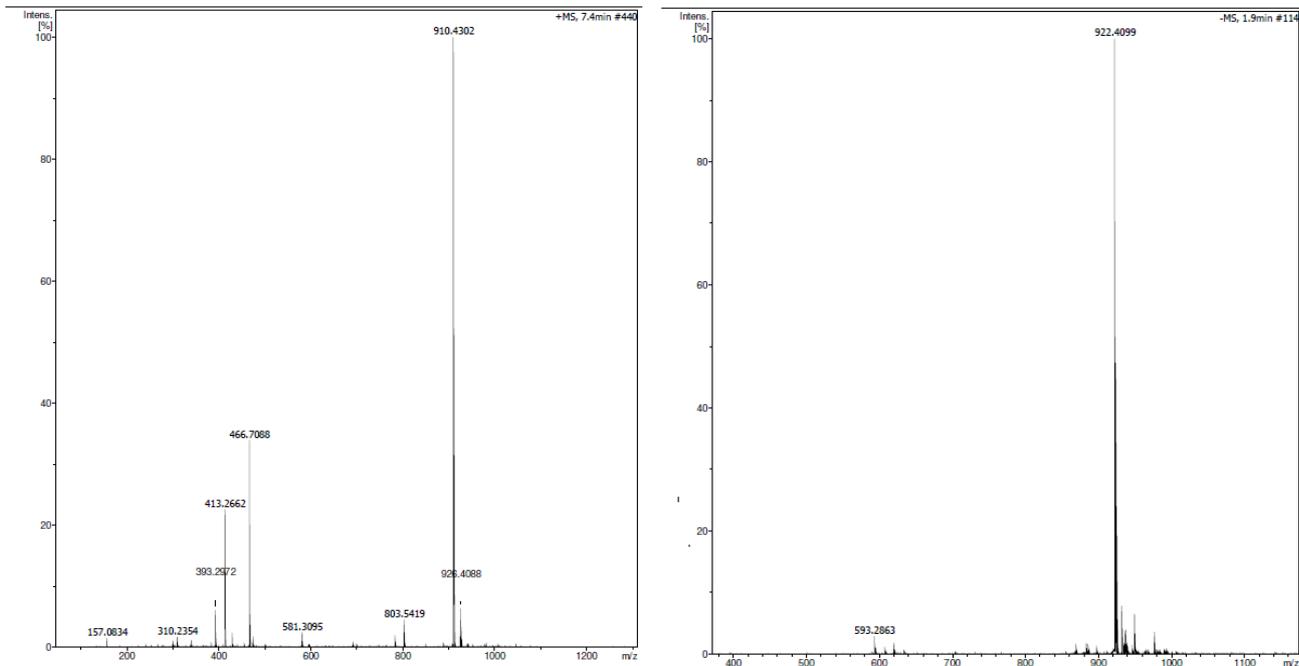
Modo negativo: calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Cl$ 922,8946; obtido 922,4109 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 19b (modo positivo e negativo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Na$ 910,4305; obtido 910,4307 $[M + Na]^+$.

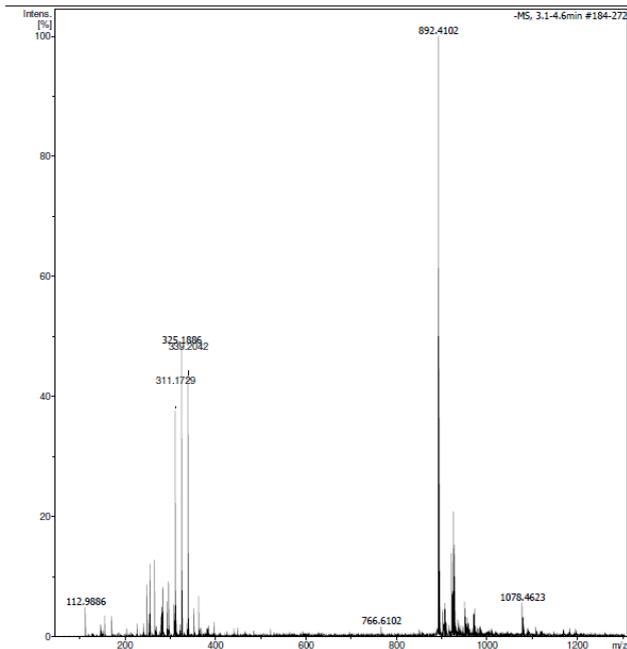
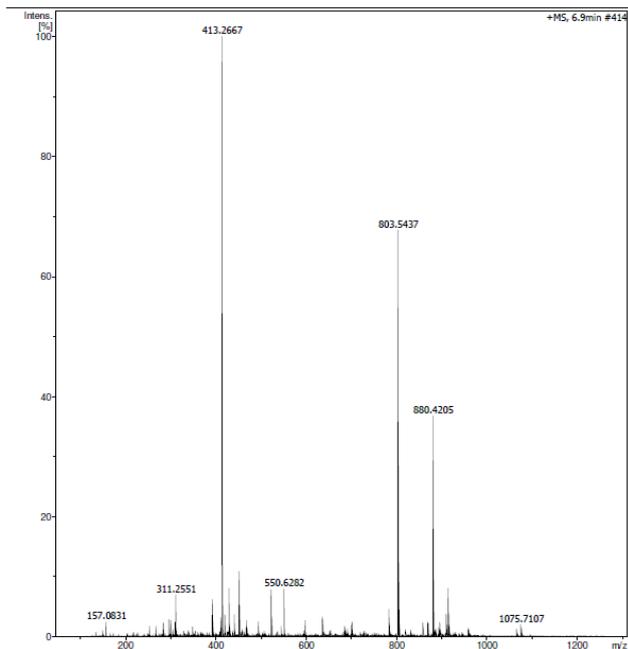
Modo negativo: calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Cl$ 922,8946; obtido 922,4098 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 19c (modo positivo e negativo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Na$ 910,4302; obtido 910,4307 $[M + Na]^+$.

Modo negativo: calculado para $C_{45}H_{65}N_3O_{15}Cl$ 922,8946; obtido 922,4099 $[M + Cl]^-$.



Espectros de massas do composto 19d (modo positivo e negativo).

m/z (modo positivo): calculado para $C_{44}H_{63}N_3O_{14}Na$ 880,4207; obtido 880,4205 $[M + Na]^+$.

Modo negativo: calculado para $C_{44}H_{63}N_3O_{14}Cl$ 892,8840; obtido 892,4102 $[M + Cl]^-$.