UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese e atividade biológica da
2-desoxiestreptamina**

Pedro Alves Bezerra Moraes

RIBEIRÃO PRETO - SP
2008

Pedro Alves Bezerra Moraes

**Síntese e atividade biológica da
2-desoxiestreptamina**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas para obtenção
do Título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.**

**Área de concentração: Produtos
Naturais e Sintéticos.**

Orientado: Pedro Alves Bezerra Moraes

Orientadora: Prof^a. Dra. Ivone Carvalho

**RIBEIRÃO PRETO - SP
2008**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Alves Bezerra Moraes, Pedro

Síntese e atividade biológica da 2-desoxiestreptamina. Ribeirão Preto, 2008.

91 p. : il. ; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientadora: Carvalho, Ivone.

1. Antibióticos Aminoglicosídeos. 2. Doença de Meniere. 3. 2-desoxiestreptamina.

Folha de Aprovação

Pedro Alves Bezerra Moraes

Síntese e atividade biológica da 2-desoxiestreptamina

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador (a): Ivone Carvalho

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Asssinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Asssinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Asssinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado aos meus pais Vicente e Jovita, e aos meus irmãos Paulo e Paloma.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre me acompanha e conduz aos melhores caminhos. Ele, como verdadeiro Pai, ensinou-me a não esquivar dos obstáculos mas aprender a conviver com estes. Ele protegeu-me durante o desenvolvimento deste trabalho e me abençoou com esta oportunidade.

Agradeço à minha família, meu maior motivo de orgulho. “Vô”, “Minha Lôra”, “Minha (minha paixão)” e “meu Doutor”, só Deus sabe o que eu sentiria se não houvesse vocês em minha vida.

Agradeço à minha noiva, Liliana, pelo amor, dedicação, companheirismo e por tanto me escutar, mesmo sem conseguir entender sobre o que se tratava o meu trabalho.

Agradeço ao meu padrinho, Pe. Enemias, um homem de muita fé, por toda oração, dedicação e palavras, para comigo e minha família.

Agradeço a “Dona Cida” e Tamara por todo apoio e orações.

Agradeço à professora doutora Ivone Carvalho a orientação durante todo este tempo, as oportunidades que me deu, o conhecimento que me agregou e a confiança que depositou em mim ao desenvolver esse trabalho.

Agradeço aos técnicos, José Carlos Tomaz e Luís Otávio Zamoner, e técnicas, Cláudia Castania e Virgínia Betarello, todo apoio e disposição em ajudar ao longo desses dois anos.

Agradeço aos amigos do laboratório de química farmacêutica Kawano, Príncipe Omelete, Mom's Lílian, Dri, Vinícius, Maristela, Samanta, Luciano, Denise, Fernanda, a convivência agradável e prontidão em ajudar uns aos outros. Em especial, ao Peterson (Petão) pela amizade, lições e soluções.

Agradeço à professora Msc. Elizabeth Pizzamiglio Vieira pelo grande apoio quando, no início, esta conquista de hoje era apenas dúvidas e incertezas.

Agradeço aos meus verdadeiros amigos, “Salgado”, João Paulo “careca” e Welber, por todas as histórias e bons momentos que preencheram a melhor época de minha vida.

Agradeço ao ministério da educação pela concessão da bolsa CAPES, sem a qual não poderia ter trabalhado em tempo integral neste projeto.

**Apenas abra a tua boca quando tuas palavras forem tão suaves quanto o
silêncio.**

RESUMO

MORAIS, P. A. B. **Síntese e atividade biológica da 2-desoxiestreptamina**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Os antibióticos aminoglicosídeos adquiriram uma posição relevante no cenário terapêutico devido ao interesse na regulação da síntese protéica bacteriana em nível de RNA, uma vez que são ligantes inespecíficos para diversos tipos de RNA bacterianos, como RNA mensageiro, RNA transportador e RNA ribossômico. Esta classe de antibióticos apresenta amplo espectro de ação, particularmente contra bactérias Gram-negativas. Recente abordagem estende o uso dos antibióticos aminoglicosídeos como agentes antivirais devido a sua afinidade de ligação ao RRE-, “Rev Responsive Element”, e TAR-, “*Trans-Acting Responsive sequence*” HIV RNA. Por conseguinte, há uma inibição competitiva envolvendo seus correspondentes ligantes naturais, as proteínas *Rev* e *Tat*, interrompendo a replicação, do vírus HIV-tipo 1. Em virtude da importância de derivados simplificados dos antibióticos aminoglicosídeos na busca por derivados vestibulo-tóxico seletivos ou RNA-ligantes, o presente trabalho propõe a síntese do amino- e carba-açúcar 2-desoxiestreptamina, **16**, a qual apresenta um desafio sintético interessante devido à presença de cinco centros estereogênicos contínuos com substituintes em relação *trans* no anel e pode ser utilizada na construção de moléculas mais complexas. A estratégia sintética proposta para preparação do composto *meso* 2-desoxiestreptamina (**16**), envolve metodologia inédita e foi desenvolvida em duas rotas sintéticas: (i) preparação do carba-açúcar precursor **46** e (ii) preparação de **16** propriamente dito.

Palavras-chave: 1. Antibióticos Aminoglicosídeos. 2. Doença de Meniere. 3. Síntese 2-desoxiestreptamina.

ABSTRACT

MORAIS, P. A. B. **Synthesis and biological activity of 2-deoxyestreptamine**. 2008. 91 p. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Aminoglycoside antibiotics received a relevant position in the therapeutic scenario due to the interest in the regulation of bacterial protein synthesis at the RNA-level, since they are a unspecific ligands to several bacterials RNA types, such as mRNA, tRNA and rRNA. These types of antibiotics show a broad spectrum of activity, particularly against gram negative bacteria. New approach extends the use of aminoglycosides as antiviral agents owing to their binding affinity to RRE- *Rev* Responsive Element and TAR- *Trans*-Acting Responsive sequence of HIV RNA. Thus, there is a competitive inhibition involving their corresponding natural ligands *Rev* and *Tat* proteins, disrupting the HIV-1 virus replication. Regarding the importance of simplified aminoglycoside antibiotics in the search for selective vestibule-toxic derivatives or RNA-ligands, this work focuses on the synthesis of the amino- and carba-sugar 2-desoxiestreptamina, **16**, which has an interesting synthetic challenge related to the presence of five continuous stereogenic centre with substituents in *trans* disposition in the ring, and may be employed in the construction of more complex molecules. The synthetic strategy proposed to prepare *meso* 2-deoxyestreptamine (**16**) involves a new methodology and was performed in two synthetic routes: (i) the synthesis of precursory carba-sugar (**46**) and (ii) the synthesis of (**16**) properly.

Keyword: 1. Aminoglycosides antibiotics. 2. Meniere Disease. 3. Synthesis of 2-deoxyestreptamine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt – Acetato de etila
NaN₃ – Azido de sódio
PhCH(OMe)₂ – benzaldeído dimetil acetal
NaHCO₃ – Bicarbonato de sódio
NaBH₄ – Borohidreto de sódio
K₂CO₃ – Carbonato de potássio
J – Constante de acoplamento
AlCl₃ – Cloreto de alumínio
BnCl – Cloreto de benzila
MsCl – Cloreto de metanosulfonila
NaCl – Cloreto de sódio
TBDSiCl – Cloreto de *tert*-butildimetilsilila
CDCl₃ – Clorofórmio deuterado
CCD – Cromatografia em camada delgada
CCDP – Cromatografia em camada delgada preparativa
CCC – Cromatografia em coluna clássica
δ_H – Deslocamento químico do hidrogênio
DBU – 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM – Diclorometano
DHP – 2,3-Diidropirano
DMF – Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
d – Dubleto
dd – Duplo dubleto
ddd – Duplo duplo dubleto
EtOEt – Éter etílico
Ph – fenil
Hz – Hertz
HMPA – Hexametilfosforamida
LiAlH₄ – Hidreto de lítio alumínio
KOH – Hidróxido de potássio
KI – Iodeto de potássio
IV – infravermelho
I₂ – Iodo
ESI – Ionização por Electrospray
MeOH – metanol
MHz – mega-Hertz
CD₃OD – Metanol deuterado
m – multiplete
N₂ – nitrogênio gasoso
ppm – partes por milhão
RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s – singleto
MgSO₄ – Sulfato de magnésio
TOF – tempo de voo
THF – Tetrahidrofurano
Na₂S₂O₃ – Tiosulfato de sódio
PPh₃ – Trifenilfosfina

$(\text{CF}_3\text{CO}_2)_2\text{Hg}$ – Trifluoroacetato de mercúrio
t – tripleto

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Estrutura Química dos Antibióticos Aminoglicosídeos	2
1.2 Mecanismo de ação dos antibióticos aminoglicosídeos.....	5
1.3 Relação estrutura-atividade (REA).....	7
1.4 Relação estrutura-toxicidade (RET)	13
1.5 Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos aminoglicosídeos	16
1.6 Anátomo-fisiologia da orelha e a Doença de Meniere.....	18
1.7 Sínteses da 2-desoxiestreptamina (16) anteriormente descritas	21
1.8 Aspectos químicos relevantes para o desenvolvimento do trabalho.....	25
1.8.1 Estereoquímica de compostos <i>meso</i>	25
1.8.2 Síntese orgânica assistida por radiação em microondas	26
1.8.3 Reatividade e competição entre reações de substituição versus eliminação	27
2. OBJETIVOS	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1 Síntese de (3/2,4,5)-2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-5-hidroxi-cicloexanona (46)	50
4.2 Síntese da 2-desoxiestreptamina (16)	57
4.2.1 Síntese de derivado tetraidropirano (63)	59
4.2.2 Síntese de (1,3,5/2,4)-1,5-di-azido-2,3,4-tri- <i>O</i> -benzil-cicloexano (61).....	60
5. CONCLUSÕES.....	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXOS.....	81

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Diversas espécies de microorganismos são produtoras de antibióticos, dentre elas, bactérias e fungos. No entanto, o uso comum do termo antibiótico leva a sua utilização para os agentes antibacterianos sintéticos, como as sulfonamidas e as quinolonas. Os antibióticos, presentes em centenas, estão entre as medicações mais prescritas, sendo muitos desses, ferramentas valiosas na terapia de doenças infecciosas¹.

Em muitos casos a utilidade clínica dos antibióticos naturais tem sido aumentada através de modificações moleculares das estruturas originais, desta forma, ampliando o espectro de ação, aumentando a potência, diminuindo a toxicidade, facilitando a administração, etc¹.

Um grupo de antibióticos de grande importância para o tratamento de diversas infecções bacterianas graves é o dos aminoglicosídeos os quais em sua maioria é produzida por microorganismos (gêneros *Streptomyces* e *Actinomyces*). Contudo, trabalhos de síntese resultaram na descoberta de novos aminoglicosídeos semi-sintéticos. O primeiro antibiótico aminoglicosídeo utilizado em terapêutica foi estreptomicina (**14**), em 1944. Logo em seguida, surgiu uma série de substâncias similares, como a neomicina (**1**), canamicinas (**3** e **4**), paromomicina (**2**), tobramicina (**5**) e a gentamicinas (**8-11**). Entretanto, devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana, em 1970, introduziu-se em terapêutica os antibióticos semi-sintéticos; netilmicina (**13**), dibecacina (**6**), sisomicina (**12**) e amicacina (**7**)¹.

Durante o desenvolvimento dos aminoglicosídeos, a obtenção das gentamicinas (**8-11**) foi considerada um marco na história dos antibióticos aminoglicosídeos, devido a razoável tolerabilidade e atividade contra diversas espécies de bactérias, dentre elas, *Pseudomonas aeruginosa*. O seu sucesso clínico

tornou-se um grande incentivo para procura de agentes similares como a sisomicina (12) e tobramicina (5), dentre outros, sendo que apenas estes foram utilizados em terapêutica². As aplicações terapêuticas de alguns desses antibióticos aminoglicosídicos estão apresentadas abaixo na **tabela 1**.

Tabela 1: Aplicação terapêutica de alguns antibióticos aminoglicosídeos².

Aminoglicosídeos	Aplicação terapêutica
Estreptomicina (14)	Tuberculose, tularemia, peste.
Neomicina (1)	Queimaduras, ferimentos, úlceras e dermatites.
Paromomicina (2)	Desinteira amebiana.
Espectinomicina (15)	Gonorréia.
Gentamicinas (8-11), Amicacina (7), Netilmicina (13).	Meningite, pneumonia e sepse.

Os antibióticos aminoglicosídicos em virtude de sua polaridade são formulados como sais. Além disso, sua polaridade revela uma baixa absorção quando administrados oralmente e uma dificuldade de penetração em ossos, tecido adiposo, tecido conjuntivo e Sistema Nervoso Central³.

1.1 Estrutura Química dos Antibióticos Aminoglicosídeos

O ponto estrutural de maior significado é a presença de um ciclohexitol na estrutura dos diversos aminoglicosídeos. Além da funcionalidade conservada dos grupamentos 1,3-diamino, o cicloexitol contém três hidroxilas, denominado 2-desoxiestreptamina (16), ou quatro, estreptamina (17), (**Figura 1**). A 2-desoxiestreptamina e a estreptamina diferem quanto a sua origem biossintética, uma vez que, a primeira é derivada de glicose 6-fosfato e a outra de mio-inositol⁴.

Figura 1: Estrutura química dos grupos 1,3 diamino-inositol formadores do grupo farmacofórico dos antibióticos aminoglicosídeos.

Os aminoglicosídeos são formados por um anel aminociclitol ligado a um ou mais aminoaçúcar através de ligação glicosídica. Na maioria destes compostos com utilidade clínica, o grupo aminociclitol é representado pela 2-desoxi-estreptamina, que pode ser dissubstituída na posição 4 e 5, ou 4 e 6. A classificação mais usada refere-se ao anel **I** como sendo o aminoaçúcar que se liga na posição 4 de 2-desoxiestreptamina. O anel **II** é o grupo aminociclitol central 2-desoxiestreptamina, enquanto que o anel **III** refere-se ao aminoaçúcar que está ligado à posição 5 ou 6 de 2-desoxiestreptamina. No caso da neomicina e paromomicina o anel **III** está ligado a um anel derivado furano, que se liga, por sua vez, à posição 5 de 2-desoxiestreptamina (**Figura 2**)⁵.

Figura 2: Estrutura química dos principais antibióticos aminoglicosídeos da classe das 2-desoxiestreptaminas. **3-7** são do grupo das 4,6 dissustituídos, assim como **8-13**.

Contudo existem aminoglicosídeos que não se enquadram nesta classificação como, por exemplo, a estreptomicina (**14**) que possui como aminociclitol a estreptidina (**II'**); e a espectinomicina (**15**), que consiste em três anéis fundidos, onde o anel aminociclitol é a espectinamina (**II''**) (**Figura 3**)^{5,6}.

Figura 3: Antibióticos cujo anel derivado ciclitol não está relacionado a 2-desoxiestreptamina (**16**).

Observando a estrutura dos aminoglicosídeos (**Figura 2 e 3**) podemos compreender suas propriedades químicas. Eles são compostos básicos, fortemente polares e são positivamente carregados (catiônicos) em pH fisiológico. Sua atividade antimicrobiana é privilegiada em ambientes básicos, como, por exemplo, a paromomicina (**2**), que tem alta atividade contra parasitas no intestino⁶.

1.2 Mecanismo de ação dos antibióticos aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são bactericidas devido a uma combinação de efeitos tóxicos. Eles ligam-se ao sítio-A bacteriano da região decodificadora, localizado no interior da hélice 44, da subunidade 16S da fração 30S do RNA ribossomal.

Este sítio bacteriano é representado pelas bases pareadas U1495-U1406, C1409-G1491 e as bases não-pareadas A1408, A1492, A1493, estas são deslocadas durante a ligação do aminoglicosídeo gerando uma alteração conformacional na estrutura helicoidal.

O mecanismo molecular compreende interações, através de ligações de hidrogênio, entre o potencial eletrostático negativo do RNA, em razão dos grupos

fosfatos, e os grupos amino protonados e hidroxilas presentes nos aminoglicosídeos, como mostrado no complexo entre a paromomicina (**2**) e o sítio-A bacteriano (**Figura 4**)⁷.

Figura 4: **A.** Estrutura tridimensional do complexo formado entre a paromomicina (**2**) e o sítio-A bacteriano, código PDB **1J7T**. **B.** Principais interações entre a paromomicina (**2**) e o subdomínio 16S do RNAr. Indicado o número dos nucleotídeos, homólogo ao ribossomo de *E. coli*, e o correspondente grupo funcional do nucleotídeo⁷.

Conseqüentemente, ocorre uma tradução defeituosa da seqüência de RNA modelo e seleção de forma errônea dos aminoácidos o que leva a formação de proteínas ditas *nonsense*. A maioria dessas proteínas anômalas está envolvida na interferência das funções da membrana bacteriana. A presença daquelas destrói a semipermeabilidade da membrana o que, sem a biossíntese protéica *de novo* programada, gera um grande prejuízo. A entrada desses aminoglicosídeos nas células bacterianas, apesar de sua alta polaridade, é um processo ATP dependente e ocorre através da ligação com lipopolissacarídeos presentes na face externa da membrana, se difundindo para o interior em pequenas quantidades. Tal processo é inibido pela presença de íons Mg^{2+} e Ca^{2+} ⁸.

É bem conhecido que os aminoglicosídeos se ligam ao ribossomo bacteriano e inibem a síntese protéica, porém o mecanismo preciso de sua atividade antimicrobiana ainda é objeto de estudo. O ribossomo é uma estrutura complexa que compreende três moléculas de RNA e mais de 50 proteínas⁶.

1.3 Relação estrutura-atividade (REA)

Os estudos de relação estrutura atividade (REA) apresentam conclusões formuladas a partir da comparação entre as estruturas de ocorrência natural dos aminoglicosídeos, os compostos originados por modificações moleculares e a descoberta dos sítios de inativação pelas enzimas bacterianas⁹.

O anel I é de fundamental importância para a atividade de amplo espectro e também é o principal alvo para as enzimas inativantes bacterianas. As funções amino em C-6' e C-2' são particularmente importantes como na canamicina B (4) (C-6'-amino, C-2'-amino) que é mais ativa que a canamicina A (3) (C-6'-amino, C-2'-hidroxil), que por sua vez é mais ativa que a canamicina C (C-6'-hidroxil, C-2'-amino). A metilação nas posições 6' ou 2' não diminui em grande extensão a atividade antibacteriana e conferem resistência a acetilação enzimática do grupo amino em C-6'. A remoção da hidroxila em C-3' ou em C-4' ou em ambas posições nas canamicinas (3 e 4) não reduz a potência antibacteriana. As gentamicinas (9-11) também não têm funções com oxigênio nestas posições, assim como sisomicina (12) e netilmicina (13), que também possuem uma dupla ligação entre as posições C-4' e C-5'. Nenhum desses últimos derivados é inativado pela enzima fosfotransferase, que fosforila a hidroxila da posição C-3'. Evidentemente os derivados fosforilados em C-3' têm menor afinidade pelo sítio ativo no ribossomo bacteriano⁹.

Poucas modificações são possíveis no anel **II**, já que este é o grupo principal envolvido na ligação do antibiótico ao receptor. Contudo, o grupo amino na posição C-1 de canamicina A (**3**) pode ser acilado, como ocorre em amicacina (**7**), por exemplo, sem perder a atividade. Netilmicina (**13**), com grupo *N*-etil, conserva a potência antibacteriana da sisomicina (**12**) sendo resistente a várias enzimas bacterianas⁹.

Os grupos funcionais do anel **III** parecem ser menos sensíveis às modificações estruturais quando comparado com o anel **I** ou **II**. Embora as 2"-desoxi-gentamicinas serem significativamente menos ativas em relação às 2" hidroxil-, os derivados 2"-amino são mais ativos. O grupo amino em C-3" das gentamicinas (**8-11**) pode ser primário ou secundário com alta potência antibacteriana. Além disso, a hidroxila em C-4" pode ser axial ou equatorial com pequena mudança na potência⁹.

Interações eletrostáticas são as mais importantes forças na ligação entre RNA-aminoglicosídeos. Embora os grupos amino presentes no antibiótico possuam diferentes valores de pKa (5,7-8,8), os aminoglicosídeos estão predominantemente protonados no pH fisiológico. Conseqüentemente, aminoglicosídeos que possuem maior número de grupos amino se ligam mais fortemente ao RNA do que seus análogos com menor carga. Por exemplo, paromomicina (**2**), demonstra menor afinidade para numerosos alvos no RNA quando comparado a neomicina B (**1**), que possui grupo amino adicional. De forma semelhante, "amino-amino-glicosídeos" (uma família de derivados sintéticos onde um único grupo hidroxil é substituído por um grupo amino primário) demonstra maior afinidade relativa ao RNA quando comparado com seus análogos naturais (**Figura 5**).

Figura 5: Exemplos de aminoglicosídeos demonstrando grupos hidroxila substituídos por grupos amino.

A baixa (e muitas vezes confusa) afinidade da canamicina B (**4**) em relação a tobramicina (**5**) (seu 3'-desoxi derivado) gerou dúvidas em relação a contribuição dos grupos hidroxil para a atividade. Uma série de aminoglicosídeos foi sistematicamente desoxigenada e estudada (**Figura 6**). Os derivados sintéticos 4'-, 2''- e 4''-desoxi-tobramicina (**21-23**) foram todos ligantes mais potentes para RNA do que a tobramicina (**5**), enquanto que o derivado 6''-desoxi (**24**) mostrou menor afinidade ao RNA. Foi proposto que aumentando a basicidade dos grupos amino através da remoção dos grupos hidroxil vizinhos, gera, também, um aumento na carga total dos aminoglicosídeos e em sua capacidade de se ligar ao RNA. Esta observação demonstra o papel crucial das interações eletrostáticas na ligação entre RNA-aminoglicosídeos e sugerem que alterações no pKa dos grupos amino são um possível mecanismo para modulação na afinidade de ligação ao RNA¹⁰.

- 5** Tobramicina; $R_1=OH$, $R_2=OH$, $R_3=OH$, $R_4=OH$
21 4'-desoxi-Tobramicina; $R_1=H$, $R_2=OH$, $R_3=OH$, $R_4=OH$
22 2''-desoxi-Tobramicina; $R_1=OH$, $R_2=H$, $R_3=OH$, $R_4=OH$
23 4''-desoxi-Tobramicina; $R_1=OH$, $R_2=OH$, $R_3=H$, $R_4=OH$
24 6''-desoxi-Tobramicina; $R_1=OH$, $R_2=OH$, $R_3=OH$, $R_4=H$

Figura 6: Tobramicina e seus derivados desoxigenados.

Devido ao surgimento crescente de cepas resistentes ao tratamento com aminoglicosídeo, vários trabalhos têm descrito a síntese de novos aminoglicosídeos com atividade antimicrobiana¹¹⁻¹³. Recentemente, uma nova classe promissora de aminoglicosídeos foi relatada como tendo atividade antimicrobiana adequada contra linhagens de *S. aureus* e *P. aeruginosa*¹². Esta nova classe consiste em um fármaco duplo, contendo duas unidades de neamina, como farmacóforo, conectadas através de um *linker* diamina (**25**) (**Figura 7**). Acredita-se que esta molécula possa interagir com o alvo 16S RNAr de forma bivalente. Além disso, esses novos aminoglicosídeos apresentaram inibição em concentração nanomolar de algumas enzimas modificadoras de aminoglicosídeos^{12,13}.

Figura 7: Estrutura do OPT-11, um aminoglicosídeo bivalente¹³. Adaptado.

Recente abordagem estende o uso dos antibióticos aminoglicosídeos como agentes antivirais devido a sua afinidade de ligação ao RRE-, Rev Responsive

Element, e TAR-, Trans-Acting Responsive sequence, HIV RNA . Por conseguinte, há uma inibição competitiva dos seus correspondentes ligantes naturais, as proteínas *Rev* e *Tat*, interrompendo a replicação, em culturas de células contendo vírus HIV-tipo 1. Os sítios ligantes das proteínas *Rev* e *Tat* são pequenos fragmentos compostos de 47 e 31 nucleotídeos, respectivamente, enquanto que os ligantes correspondentes do domínio compreendem apenas 17 e 9 aminoácidos⁷.

Uma porção da estrutura do RNA do HIV-1 funciona como um grampo que inicialmente impede que uma transcrição completa ocorra. A porção do RNA anterior àquela é transcrita e codifica a proteína *Tat*. A *Tat* liga-se à Cdk9/CycT e a os fosforila, ajudando a alterar sua forma e a eliminar o efeito da estrutura de grampo do RNA. Conseqüentemente, há um aumento na taxa de transcrição, fornecendo um ciclo de feedback positivo. Isso permite que o HIV tenha uma resposta explosiva, uma vez que uma grande quantidade de *Tat* é produzida, uma ferramenta útil na defesa à resposta do organismo¹⁴.

A proteína viral *Rev* permite que fragmentos do RNAm do HIV que contém uma Unidade de Resposta a *Rev* (RRE) sejam exportados do núcleo ao citoplasma. Na ausência da *Rev*, a maquinaria de splicing do RNA no núcleo rapidamente cliva o RNAm tornando-o inútil. Na presença da *rev*, o RNAm é exportado do núcleo antes de ser clivado. Mais uma vez, esse mecanismo permite um feedback positivo e ao HIV derrotar as defesas do hospedeiro¹⁴.

Dentre os antibióticos aminoglicosídeos, a neomicina (**1**) demonstrou a maior afinidade ao complexo RRE RNA. Os resíduos de açúcar dos antibióticos, responsáveis pela ligação ao complexo RRE IIB RNA, são muito similares e estão relacionados aos seus, estruturalmente simples, segmentos de neamina. O

entendimento do mecanismo de ação e o desenvolvimento de inibidores seletivos da replicação do HIV-1 foi possível por essa estratégia⁷.

Peptídeos básicos ricos em lisina e arginina são um fato comum do reconhecimento ao RNA por proteínas e há evidências mostrando que, uma sequência rica em arginina, presente nas proteínas *Tat* e *Rev*, está envolvida na interação com o RNA viral. Em virtude disto, estratégias sintéticas para formação de derivados arginina-aminoglicosídeos apontaram uma alta atividade inibitória contra HIV-1, uma vez que os grupamentos de guanidina presentes na cadeia lateral da arginina conferem uma superfície ligante altamente básica e planar quando comparada aos grupos amônio naturais aos aminoglicosídeos⁷.

Foi observado que a HIV-RRE possui sítios que podem ser considerados como alvos importantes para interação com agentes intercalantes, como por exemplo, sistemas aromáticos planares. Postulou-se, então, que a adição de agentes intercalantes a aminoglicosídeos poderia produzir novos ligantes com alta afinidade por estes sítios. Acridina, um reconhecido agente intercalante, foi conjugado na posição 5'' de neomicina B (**1**) através de um pequeno espaçante. O conjugado obtido, nomeado como neo-acridina (**26**) (**Figura 8**), exibiu afinidade extremamente alta para a RRE. O conjugado **26** é um dos mais fortes inibidores competitivos da ligação entre Rev-RRE já relatado. Entretanto estudos apontam que neo-acridina (**26**) possui uma seletividade muito menor que o peptídeo Rev ao RRE. Esta seletividade pode ser aumentada através do uso de um espaçante mais curto entre o aminoglicosídeo e o agente intercalante. Assim, neo-*N*-acridina (**27**), embora apresente uma afinidade ligeiramente menor ao RRE em relação à neo-acridina (**26**), exibe uma maior seletividade¹⁰.

Figura 8: Aminoglicosídeos conjugados com intercalantes: neo-acridina e neo-*N*-acridina¹⁰.

1.4 Relação estrutura-toxicidade (RET)

As manifestações tóxicas agudas, sub-agudas ou crônicas dependem da dose, velocidade de administração e duração da terapia. A intoxicação aguda, a qual pode se desenvolver uma falência respiratória e cardiovascular repentina, é oriunda da administração intravenosa ou intraperitoneal em condições acima da terapêutica. A toxicidade sub-aguda, em condições terapêuticas de uso, revela-se em efeitos nefro-tóxicos os quais surgem entre o 10º e o 15º dia de tratamento. A intoxicação crônica ocorre pelo uso prolongado dos aminoglicosídeos (30 dias ou mais) e possui como característica surdez progressiva e irreversível e vertigem com distúrbio do equilíbrio, provenientes, respectivamente, de uma disfunção do tecido coclear e alteração do tecido vestibular¹⁵.

Os estudos sobre relação entre estrutura e toxicidade são restritos e as conclusões apresentadas são gerais. Em termos de DL₅₀, neomicina (**1**) é cerca de cinco vezes mais tóxica que canamicina A (**3**), enquanto o derivado *N*-acetilado de canamicina A é trinta vezes menos tóxico que o correspondente composto com grupo amino livre. Adicionalmente, os estudos realizados por Owada em cobaias,

envolvendo produtos de hidrólise de canamicina A, mostram que 2-desoxiestreptamina (**16**) possui alta toxicidade aguda, semelhante as canamicinas (**3** e **4**), enquanto as unidades 6-aminoglicose e 3-aminoglicose produzem efeitos letais apenas em doses bem mais elevadas¹⁶.

Há evidências de uma certa seletividade entre os diversos fármacos embora todos afetem ambas as funções coclear e vestibular. Em cultura de células cocleares, foram testados os efeitos ototóxicos dos aminoglicosídeos. O antibiótico que apresentou maior capacidade de provocar danos às células cocleares foi a neomicina (**1**), seguida pelas gentamicinas (**8-11**), diidroestreptomicina (derivado hidrogenado de estreptomicina), amicacina (**7**), neamina (produto de fragmentação da neomicina) e espectinomicina (**15**)¹⁷.

Até o momento, o mecanismo relacionado com esta seletividade (vestibulotóxica ou cocleotóxica) é desconhecido. Embora várias publicações descrevam os danos vestibulares e cocleares provocados pelos aminoglicosídeos, existem poucos experimentos comparativos (**Tabela 2**)¹⁸.

Um dos poucos estudos realizados comparou a administração sistêmica e trans-timpânica de aminoglicosídeos em relação aos seus efeitos vestibulares correspondentes. Observou-se que nas duas vias estudadas ocorreram alterações histopatológicas semelhantes no vestíbulo. A maior alteração foi observada para a estreptomicina (**14**), seguida pelas gentamicinas (**8-11**), amicacina (**7**) e netilmicina (**13**)¹⁹.

Tabela 2: Estudos comparativos entre o vestibulo e cocleotoxicidade de aminoglicosídeos (KM: canamicina; TOB: tobramicina; GM: gentamicina; DKB: dibecacina; AMK: amicacina; NTL: netilmicina; ABK: arbecacina).

Autores	Toxicidade estudada	Ranking
Govarts et al ³⁶ .	Vestibulotoxicidade Cocleotoxicidade	KM = TOB = GM > DKB = AMK > NTL DBK > ABK = AMK
Akiyoshi et al ³⁷ .	Vestibulotoxicidade Cocleotoxicidade	DKB > AMK > ABK GM > TOB = DKB
Aran et al ³⁸ .	Vestibulotoxicidade Cocleotoxicidade	GM > TOB > DKB GM > DKB > AMK > TOB > NTL
Bamonte et al ³⁹ .	Vestibulotoxicidade Cocleotoxicidade	KM > AMK > GM > TOB > DKB > NTL

Um dos poucos estudos relatados sobre relação estrutura-toxicidade de aminoglicosídeos concluiu que a cocleotoxicidade está diretamente relacionada com o número de grupamentos amino ionizáveis presentes nas porções glicosídicas ligadas ao anel de 2-desoxiestreptamina (**16**)²⁰.

São descritos diversos estudos de mecanismos que correlacionam o uso de antibióticos aminoglicosídeos com a ototoxicidade. Entre eles podemos citar a ativação do antibiótico aminoglicosídeo com correspondente formação de complexo de ferro, responsável pela geração de radicais livres. De fato, o emprego de substâncias capazes de quelar ferro ou seqüestrar radicais livres, atenuam a ototoxicidade destes antibióticos²¹.

Outro mecanismo envolvido na ototoxicidade por aminoglicosídeo está relacionado com fatores genéticos. Há desenvolvimento de hipersensibilidade causada por mutação na posição 1555 do gene 12S do RNAr mitocondrial. Aparentemente os aminoglicosídeos promovem uma falha na tradução do gene que codifica o complexo I mitocondrial, levando a um aumento na produção de radical superóxido mitocondrial seguido de dano oxidativo e morte celular. Mais de um terço

dos pacientes que apresentam ototoxicidade devido a aminoglicosídeo possuem essa mutação²².

1.5 Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos aminoglicosídeos

Objeto de vários estudos genéticos e bioquímicos, os mecanismos de resistência bacteriana aos amionoglicosídeos^{23,24} podem envolver a diminuição da permeação do antibiótico, a baixa afinidade do fármaco ao ribossomo bacteriano (devido a alterações no sítio ligante ribossômico) ou a inativação do fármaco por enzimas microbianas. Este último mecanismo é nitidamente a explicação mais importante para a resistência encontrada na prática clínica^{1,5}.

Uma das causas de resistência intrínseca ou adquirida pode ser a redução na concentração de aminoglicosídeos no interior da célula alvo, pela diminuição da penetrabilidade do fármaco e/ou ativação do efluxo do fármaco, a qual afeta a suscetibilidade da cepa a todas as classes de compostos aminoglicosídeos. Visto que o mecanismo exato de penetração dos aminoglicosídeos permanece desconhecido, é aceito que o processo é realizado em três etapas consecutivas^{25,26}. A primeira etapa consiste na adsorção do aminoglicosídeo (composto catiônico) à superfície da bactéria através de interações eletrostáticas com os lipopolissacarídeos, carregados negativamente, da membrana externa das bactérias Gram-negativas. As duas etapas seguintes são dependentes do potencial de transmembrana proveniente da cadeia respiratória, o qual eleva a taxa de penetração do fármaco. Portanto, bactérias anaeróbicas são naturalmente resistentes aos aminoglicosídeos pela impermeabilidade²⁷, bem como, cepas contendo mutações funcionais em suas ATP *sintases* ou cadeias respiratórias mutantes²⁵. Infecções com

E. coli, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, causadoras de endocardites clínicas ou experimentais, permitem o isolamento desses mutantes^{5,28}. A mutação do alvo ribossômico na resistência aos aminoglicosídeos é clinicamente relevante apenas para a estreptomicina no *M. tuberculosis*.

Contudo, a inativação por enzimas bacterianas intracelulares é a maior causa de resistência aos aminoglicosídeos⁶. Em virtude de diferenças estruturais um dado aminoglicosídeo pode não ser inativado pelas mesmas enzimas que inativam um outro, como exemplo, a amicacina (**7**) e a gentamicina (**8-11**). Observa-se, nesse caso, uma menor incidência de resistência no uso da amicacina (**7**)²⁹.

As aminoglicosídeo-acetil-transferases (AACs) catalisam a acetilação regioseletiva de um dos grupos amino do antibiótico aminoglicosídeo (**Esquema 1**), e reduz a afinidade destes compostos pelo seu alvo (subunidade 30S do ribossomo) na ordem de até quatro vezes³⁰.

Esquema 1: Modificação na molécula de canamicina A promovida pela enzima bacteriana Aminoglicosídeo-acetil-transferase AAC(6').

As aminoglicosídeo-nucleotidil-transferases (ANTs), catalisam a reação entre Mg-ATP e aminoglicosídeo para formar O-adenilato aminoglicosídeo (**29**) e quelato de magnésio de fosfatase inorgânica (**Esquema 2**). Aminoglicosídeos importantes na clínica tais como gentamicinas (**8-11**) e tobramicina (**5**) são modificados por essas enzimas⁶.

Esquema 2: Modificação na estrutura de canamicina A promovida pela enzima bacteriana aminoglicosídeo-nucleotidiltransferase ANT(4').

A fosforilação do antibiótico resulta em um dramático efeito em sua capacidade de ligar em seu alvo no sítio A do ribossomo. Aminoglicosídeos fosfotransferases (APHs) catalisam a transferência régio-específica do grupo γ -fosforil do ATP para uma das hidroxilas substituintes presentes no aminoglicosídeo (**Esquema 3**). Aminoglicosídeos fosfotransferases (APHs) incluem um grande número de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos e são as mais relevantes para resistência clínica aos aminoglicosídeos pelos organismos Gram-positivos³¹.

Esquema 3: Modificação na estrutura de canamicina A promovida pela enzima bacteriana aminoglicosídeo-fosfotransferase APH (3').

1.6 Anátomo-fisiologia da orelha e a Doença de Meniere.

A doença de Meniere é um distúrbio da orelha interna (**Figura 9**) a qual causa episódios de vertigem, zumbido nas orelhas, um sentimento de pressão na orelha e uma perda flutuante da audição. A área da orelha afetada é o labirinto inteiro, ou órgão vestibular, o qual inclui os canais semicirculares³².

A opinião mais prevalente com relação à causa de um ataque agudo da doença de Meniere é a de que há uma pressão flutuante do fluido no interior da orelha. Um sistema de membranas, chamado membranas do labirinto, contém um fluido, a endolinfa. Essas membranas tornam-se dilatadas na forma de um balão quando há um aumento de pressão (**Figura 10**). Esse acontecimento é dito hidropsia. Um modo para que isso ocorra é quando o sistema de drenagem, bolsa ou ducto endolinfático, é bloqueado. Em alguns casos, o ducto endolinfático pode ser obstruído por um tecido fibroso, ou pode ser estreito de origem, ou ainda, pode haver uma secreção abundante de fluido pela estria vascular ^{33,34}.

Figura 9: Desenho anatômico da orelha. Tímpano (1), Martelo (2), Bigorna (3), Estribo (4), Canais semicirculares (5), Nervo auditivo (6), Nervo facial (7), Nervo vestibular (8), Cóclea (9) e Trompa de Eustáquio ³⁵.

Figura 10: Ilustração da orelha demonstrando a membrana do labirinto no seu estado normal (A) e dilatado por hidropsia na doença de Meniere (B) ³⁵.

Freqüentemente o tratamento destrutivo do labirinto, seja por labirintectomia ou secção do nervo vestibular, é o único modo de resolver esse problema^{36,37}. Em casos extremamente severos de vertigem esse tratamento é realizado pela injeção intratimpânica de gentamicina, capaz de promover a destruição química labirinto³⁸.

Todavia, a ototoxicidade dos antibióticos aminoglicosídeos, dano de maior impacto, ocorre devido à interação desses com receptores fosfolipídios da membrana carregados negativamente, os polifosfoinositídeos, presentes nas células ciliadas da orelha interna³⁹. Essa interação produz efeitos inibitórios nos receptores das membranas, bloqueando os canais de cálcio e causando lesões no órgão de Corti, localizado na região coclear, preferencialmente nas células ciliadas externas (Figura 11 e 12)⁴⁰.

Figura 11: Órgão de Corti com células ciliadas externas, células ciliadas internas e células suportes normais⁴¹.

Figura 12: Órgão de Corti com lesão nas células ciliadas externas causadas por antibiótico aminoglicosídeo⁴¹.

A gentamicina, por exemplo, possui a capacidade de quelar ferro formando um complexo com propriedades oxidativas⁴², os quais podem provocar a formação de radicais livres oxidantes de uma grande variedade de substâncias como proteínas, lipídios de membranas, DNA. Estes provocam lesões ototóxicas nas células ciliadas, especialmente às externas do órgão de Corti³⁹.

Considerando a importância dos antibióticos aminoglicosídeos, a busca de moléculas simplificadas e mais seletivas, desprovidas de atividade coclear, como a observada para neomicina, e obter uma maior atividade, a exemplo da estreptomicina, serve como razão para síntese da 2-desoxiestreptamina ou, em amplo sentido, moléculas RNA-ligantes. Do ponto de vista químico, a 2-desoxiestreptamina (**16**) oferece um interessante desafio sintético devido aos seus cinco centros estereogênicos contínuos. Sendo assim, a síntese tem a grande vantagem de não só permitir a completa flexibilidade no planejamento, como também, preparação de novas estruturas tipo aminoglicosídicas⁴.

1.7 Sínteses da 2-desoxiestreptamina (**16**) anteriormente descritas

Os esforços na obtenção do composto **16** se concentram em quatro vertentes; degradação da neomicina B (**1**), a mais empregada e com melhor rendimento, síntese *De Novo*, dessimetrização e derivados protegidos *meso*-2-desoxiestreptamina enantiomericamente puros⁴³.

O método mais simples de obtenção de **16** é, ainda, por degradação hidrolítica de um aminoglicosídeo natural, a neomicina B trissulfatada, proveniente da fermentação por *Streptomyces*⁴⁴. A neomicina B (**1**) é tratada com ácido sulfúrico originando um composto intermediário conhecido como neamina⁴⁵, que após

tratamento com solução aquosa de HBr, rendimento de 50% ⁴⁶, ou por aquecimento em ácido clorídrico 6N⁴⁷, origina a 2-desoxiestreptamina (**esquema 4**). Este processo, no entanto, apresenta o inconveniente do descarte da estrutura restante da neomicina.

Esquema 4: Obtenção de **16** por degradação da Neomicina B.

Utilizando-se a síntese *De Novo*, os materiais de partida mais empregados são: 1,2-anidroconduritól-E⁴⁸⁻⁵⁰, epi-inositol⁵¹, 1,4-ciclohexadieno⁵²⁻⁵⁴, ciclopentadieno e *p*-benzoquinona⁵⁵.

Busscher *et al.*⁵⁵, iniciam a síntese a partir do aduto de Diels-Alder do ciclopentadieno e *p*-benzoquinona. A redução sob condições de Luche levou o composto **31** ao diol **32** o qual foi convertido em enona **33** por uma migração 1,4-hidrogênio catalisada por paládio. A epoxidação nucleofílica de **33** ao epóxido **34** (rendimento de 83%), seguido por uma redução de Luche a -78°C resultou no álcool **35** com 80% de rendimento. A seguir, a retro-Diels-Alder por uma termólise flash a vácuo resultou na formação do epóxi-álcool **36**. Posteriormente, a hidroxila foi protegida com um grupo *tert*-butildimetilsilila e o epóxido aberto com azido de sódio para gerar o azido álcool **38**. A epoxidação eletrofílica da dupla ligação com *m*-CPBA originou o *trans*-epóxido **39** de forma estereosseletiva. Finalmente, a quelação controlada por $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ e catalisada por azidólise do oxirano forneceu o diazidociclitol protegido **40**, com rendimento total de 18% (**esquema 5**).

Esquema 5: Síntese do derivado diazidociclitol **40** proposto por Busscher, *et al.*

Em virtude de **16**, ser um composto meso pela presença de um plano interno de simetria, utiliza-se o processo de dessimetrização o qual envolve mais comumente a resolução via enzimática ou química. Assim, se a estrutura **16** for utilizada como esqueleto para incorporação em um aminoglicosídeo enantiopuro análogo, um variante desimetrizado é necessário para evitar a formação de mistura de isômeros⁵⁶.

A primeira resolução do composto **16**, realizada por Orsat *et al.*⁵⁷, compreendeu a sua conversão no composto **41** pela ação combinada de uma catalase, subtilisina BPN, e um dialil carbonato, como mostrado no **esquema 6**. O produto foi obtido com uma seletividade de 99% e um rendimento de 76%.

Esquema 6: Formação do enantiopuro **41** proposto por Orsat, *et al.*

Mais recentemente, Wong *et al.*⁵⁸ descreveu a dessimetrização de derivado diazido de **16** também por uma via enzimática (**esquema 7**). Assim, **16** foi convertida no derivado diazido triacetilado **42**, por uma diazotransferência catalisada por Cu^{2+} com trifilil azido, seguido do tratamento com anidrido acético. A resolução enzimática de **42**, envolvendo desacetilação enantioselectiva e usando uma lipase imobilizada em resina, Novozym 435 (*Candida antarctica* imobilizada), forneceu **43** com 71% de rendimento.

Esquema 7: Dessimetrização por via enzimática.

No processo de preparação de derivados enantiomericamente puros da 2-desoxiestreptamina, utilizam-se como materiais de partida compostos quirais como a neomicina^{59,60}, *N*-acetil-D-glicosamina⁶¹, D-manose⁶², D-glicose⁶³ e D-alil glicina⁶⁴.

Da Silva *et al.*^{63,65} desenvolveu uma rota a qual parece ter sido inspirada na biosíntese de **16** a partir da D-glicose^{63,65}. A oxima **47** foi obtida a partir do metil glicosídeo **44**, via rearranjo de *Ferrier*. A benzilação do grupo oximino e posterior redução com hidreto de lítioaluminio (LiAlH_4), levaram a uma mistura de aminas epiméricas. Realizou-se a acetilação do epímero *trans* **48**, seguida pela conversão a

mesilato e reação com azido de sódio, levou ao azido protegido da 2-desoxiestreptamina **50**. Pela reação com trifenilfosfina originou-se o derivado protegido **51** com um rendimento total de 4,9%, partindo do metil glicosídeo **44**, como mostrado no **esquema 8**.

Esquema 8: Preparação de derivado enantiomericamente puro de **16** por Da Silva, *et al.*

1.8 Aspectos químicos relevantes para o desenvolvimento do trabalho

1.8.1 Estereoquímica de compostos *meso*

Compostos que reúnem átomos assimétricos, mas, no entanto, possuem um plano de simetria, são aquirais e denominados de estruturas *meso*. Esta situação ocorre sempre que pares de centros estereogênicos estão dispostos na molécula de tal forma a criar um plano de simetria. Um exemplo clássico é o ácido tartárico onde os três substituintes de um dos carbonos estereogênicos são idênticos aos três

substituintes do outro carbono estereogênico. Conseqüentemente, o ácido tartárico possui apenas três estereoisômeros, **figura 13**, e aquele que apresenta um plano de simetria, o isômero *meso*, é opticamente inativo.

Figura 13: Estereoisômeros do Ácido Tartárico.

1.8.2 Síntese orgânica assistida por radiação em microondas

Desde a metade da década de 90, o número de publicações com a utilização de microondas em síntese orgânica tem aumentado significativamente. As principais razões para esse aumento incluem a viabilidade do equipamento de microondas comercial com uso em química orgânica, o desenvolvimento de técnicas livres de solvente, as quais têm melhorado os aspectos de segurança, e, principalmente, o grande interesse na redução dos tempos de reação⁶⁶.

As técnicas de aquecimento tradicionais são um tanto lentas. Além disso, um superaquecimento local pode levar a uma decomposição de produto, substratos e

reagentes. No aquecimento por microondas, a radiação passa através das paredes do recipiente aquecendo apenas os reagentes e solventes, e aumentando a temperatura uniformemente⁶⁶.

Os protocolos para síntese de oligossacarídeos são freqüentemente tediosos, devido a extensas rotas sintéticas e duração das reações. Todavia, a eficiência, segurança, economia e uma maior facilidade no “work-up” das reações (química verde), envolvidos na utilização de microondas, podem contornar esses problemas e, além disso, também melhorar a reatividade e seletividade durante o processo⁶⁷.

1.8.3 Reatividade e competição entre reações de substituição versus eliminação

A substituição nucleofílica bimolecular, S_N2 , ocorre pela aproximação do nucleófilo ao substrato pelo lado oposto ao grupo abandonador (LG_N) por um processo de única etapa, sem intermediários. A evidência mais convincente da existência do mecanismo S_N2 é dada pela sua estereoquímica a qual promove uma inversão de configuração no carbono α em que ocorre a substituição. Esta inversão de configuração é conhecida como inversão de Walden.

Assim como observado para as reações S_N2 , as reações E2 ocorrem em apenas uma etapa e, freqüentemente, competem com as reações S_N2 porque o reagente nucleofílico, utilizado nesta última, possui também caráter de base, de forma que poderá realizar a remoção do hidrogênio vizinho ao carbono α (E2) ou, dependendo de diversos fatores, poderá ser adicionado como nucleófilo ao carbono α (S_N2), ambos envolvendo a saída do grupo abandonador (nucleófugo). A competição entre as reações S_N2 e E2 aumenta quando são empregados substratos

com carbono secundário, uma vez que a velocidade da reação S_N2 é menor em carbono secundário e a de E2 é semelhante, quando comparados a carbono primário.

Em contrapartida, nas reações $S_N1/E1$ ocorre a geração de um carbocátion na primeira etapa (mais lenta) e somente na segunda etapa de estabilização do carbocátion será definido se a reação sofrerá substituição ou eliminação (**figura 14**).

Figura 14: Representação das reações S_N2 , $S_N1/E1$ e E2 nos correspondentes estados de transição.

As reações de substituição e eliminação são influenciadas por diversos fatores que alteram a velocidade das reações e podem favorecer a formação de um produto desejado, minimizando a existência de possíveis reações paralelas. Os principais fatores que influenciam a velocidade destas reações e conduzem a um controle cinético na geração dos produtos podem ser exemplificados pelas características químicas do substrato, nucleófilo e nucleóforo, além do meio reacional.

Com relação ao substrato, a presença de ramificação, insaturação ou substituição no carbono α ou no carbono β (vizinho ao carbono α) alteram as reações S_N2 . Por exemplo, a presença de ramificações, tanto nos carbonos α quanto β diminui a velocidade da reação devido ao congestionamento estérico no estado de transição, uma vez que o carbono α possui cinco grupos diretamente

“ligados” e a aproximação do nucleófilo pode ser prejudicada. Ainda, o nucleófilo/base geralmente enfrenta maior obstrução para atacar um carbono do que um hidrogênio, geralmente mais acessível no substrato. Por esta razão, deve-se também considerar o volume da base para não agir como mau nucleófilo em reações S_N2 . Ao contrário, as reações S_N1 e $E1$ são mais rápidas quando há ramificações, devido à possível estabilização do carbocátion no estado de transição por estes grupos substituintes.

Uma das estratégias sintéticas mais usadas aplicadas para a introdução de uma função nitrogenada, grupamento azido ou amino, como nucleófilo, em uma molécula de carboidrato envolve a substituição nucleofílica bimolecular de um grupo éster sulfonato ou um átomo de halogênio por nucleófilos nitrogenados carregados ou neutros. A velocidade da reação é controlada por fatores estéreo-eletrônicos que afetam a formação e transformação do estado de transição da reação. O aumento da força de um nucleófilo ou base pode favorecer o mecanismo $S_N2/E2$ em detrimento do $S_N1/E1$, avaliado normalmente pela aceleração da velocidade da reação (controle cinético) de grupos classificados em ordem de nucleofilicidade de uma mesma fila ou coluna da tabela periódica⁶⁸⁻⁷⁰.

As reações de substituição de ésteres sulfonados primários e derivados halogenados, como grupos abandonadores/nucleófugos (LG_N), com menor impedimento estérico, podem ser realizadas facilmente na ausência de substituinte adjacente em posição cis-axial. No entanto, a substituição de grupos abandonadores semelhantes em posição secundária, observado em derivados cíclicos de carboidratos, é algumas vezes lenta, e as reações são geralmente incompletas.

A eficiência do grupo abandonador está fortemente associada a sua basicidade, ou seja, grupo com características de base fraca tem uma maior

possibilidade de sofrer estabilização como entidade livre, como por exemplo, observado para o íon iodeto.

Os fatores estéreo-eletrônicos, os quais afetam o estado de transição e influenciam negativamente, em grande proporção, as reações de substituição nucleofílica em carbono secundário de sistema hexopiranosídeo, estão relacionados às presenças de um grupo eletronegativo no carbono adjacente β em posição axial e de um substituinte situado em posição *trans*-axial em relação 1,3, sendo ambas as situações em relação ao grupo abandonador. Frequentemente, as dificuldades encontradas nestas reações de substituição são contornadas pelo emprego de grupos abandonadores mais reativos, como trifluorometanosulfonato, solvente aprótico de caráter dipolar ou ainda de condições mais vigorosas. Alternativamente, reações de substituição que dificilmente incorporam o grupo azido negativamente ionizado, podem ser efetuadas mais facilmente pelo emprego de nucleófilos neutros de nitrogênio, como amônia e hidrazina, com possível emprego de condições ácidas para protonação do grupo abandonador que facilitam a sua saída⁷¹⁻⁷⁴.

Vale destacar, a influência do meio reacional sobre estas reações normalmente efetuadas em solventes próticos e apróticos. O aumento da polaridade do solvente poderá aumentar a velocidade da reação se houver a necessidade de estabilização de cargas no estado inicial (reagentes) ou de transição, mas não deverá causar grande alteração em reações envolvendo apenas a dispersão de cargas.

Haberfield, *et al*⁶⁹ relata que a influência dos solventes dipolares apróticos na velocidade das reações nucleofílicas de segunda ordem, e catalisadas por bases, pode ser explicada pela redução da energia de ativação causada pelo aumento da solvatação do estado de transição. Em seu estudo comparativo utilizando metanol,

solvente prótico, e dimetilformamida, aprótico, revelou que a diferença de entalpia de transferência dos reagentes, entre os solventes, é mínima, enquanto que no estado de transição a diferença se torna acentuada. Entretanto, se for estabelecida uma condição de pseudo-primeira ordem, na qual, por exemplo, o íon azido como nucleófilo, está presente em excesso, a velocidade das reações nucleofílicas será influenciada, também, pela solubilidade do azido de sódio no solvente dipolar aprótico.

Objetivos

2. OBJETIVOS

Síntese estereosseletiva do aminociclitol *meso* 2-desoxiestreptamina (**16**), utilizando como precursor um carba-açúcar (**46**), obtido a partir do reagente comercial α -D-glicopiranosídeo de metila (**52**), e determinação de sua atividade biológica. A estratégia sintética proposta para preparação de **16** envolve metodologia inédita e vantajosa, em virtude da sua importância na pesquisa de antibióticos aminoglicosídeos vestibulo-tóxico seletivo, assim como o seu emprego como bloco de construção quiral na síntese de moléculas mais complexas.

Retrossíntese simplificada do *meso* 2-desoxiestreptamina (**16**)

Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Aparelhagem analítica

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) foram registrados a 400 MHz, 500 MHz e a 300 MHz em espectrômetro Bruker Advance DRX-400, Bruker Advance DRX-500 e Bruker Advance DPX-300, respectivamente, enquanto os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN de ^{13}C) e os bidimensionais, COSY e HMQC, foram registrados a 125 MHz em espectrômetro Bruker Advance DRX-500. Os deslocamentos químicos (δ), estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno, colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s= singleto, sl= singleto largo, d= dubleto, t= tripleto, q= quadrupeto, quin= quintupeto, dd= duplo dubleto, ddd= duplo duplo dubleto, dt= duplo tripleto, m= multipeto), a constante de acoplamento (J) em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

Os espectros de Massas foram registrados por espectrômetro ultrOTOF-Q - ESI-TOF Bruker Daltonics de alta resolução, sendo o modo de detecção positivo ou negativo para as amostras.

Os espectros de absorção no infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro IVFT - Nicollet Modelo Protege 460, em celas de KBr para líquidos (filme) ou em pastilhas de KBr para sólidos.

Aparelhagem laboratorial

- Agitador magnético: Corning PC-320
- Balanças: Mettler PE 400/ Sartorius BP 121S
- Banho termostaticado: Tecnal TE-184
- Bomba de alto vácuo: Precision Model D 150
- Evaporador rotatório: Büchi RE121
- Evaporador rotatório com destilador de dedo frio: Büchi
- Luz ultravioleta: Spectroline CM-10
- Reostato: Powersat 3PN116C
- Mufla: Thermolyne 47900
- Reator Discovery – Irradiação por Microondas CEM

Solventes, reagentes e outros materiais

- Os solventes e reagentes comerciais foram convenientemente purificados, conforme métodos usuais descritos na literatura (PERRIN; ARMAREGO, 1988).
- As Cromatografias em Camada Delgada (CCD) foram realizadas utilizando placas de sílica-gel 60 GF₂₅₄ da MERCK®.
- As Cromatografias em Camada Delgada Preparativa (CCDP) foram realizadas utilizando placas de sílica-gel 60 PF₂₅₄, contendo gesso, da MERCK®.

- As Cromatografias em Coluna Clássica (CCC) foram realizadas utilizando sílica-gel 60 “Flash” (40-63 μm) ou “Comum” (63-200 μm), ambas da MERCK®.
- Acetato de etila, grau HPLC (AcOEt) - Mallinckrodt
- Acetona, grau HPLC - Mallinckrodt
- Acetonitrila, grau HPLC - Mallinckrodt
- Ácido *p*-toluenossulfônico monohidratado, 98,5% - Aldrich
- Ácido acético glacial p.a. – Synth
- Azido de sódio, 99,0% - Aldrich
- Benzaldeído dimetil acetal, 95,0% - Aldrich
- Bicarbonato de sódio, p.a. (NaHCO_3) – Merck
- Borohidreto de sódio, 98,0% (NaBH_4) – Aldrich
- Carbonato de potássio, p.a. (K_2CO_3) – J. T. Baker
- Cloreto de alumínio, 98,5% (AlCl_3) - Aldrich
- Cloreto de benzila, 99,0% (BnCl) – Aldrich
- Cloreto de metanossulfonila, 98,0% (MsCl) – Aldrich
- Cloreto de sódio, p.a. (NaCl) – Merck
- Cloreto de *terc*-butildimetilsilila, 97,0% (TBDSCl) - Aldrich
- Clorofórmio (CHCl_3) - Mallinckrodt
- Clorofórmio deuterado, 99,8% (CDCl_3) - Acrós Organics
- α -D-Glicopiranosídeo de metila, 99,0% - Sigma
- 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno, 98,0% (DBU) – Aldrich
- 1,4-Dioxano, p.a. – Mallinckrodt
- 2,3-Dihidropirano, 97,0% (DHP) – Aldrich
- Diclorometano (DCM) – Mallinckrodt

- N,N-Dimetilformamida, 99,8% (DMF) – ACS
- Dimetilsulfóxido, 99,6% (DMSO) - Aldrich
- Etanol, p.a. - Mallinckrodt
- Éter etílico, p.a. (EtOEt) – Mallinckrodt
- Hexametilfosforamida, 99,0% (HMPA) – Aldrich
- Hexano, grau HPLC - Mallinckrodt
- Hidreto de lítio alumínio, 95,0% (LiAlH_4) – Aldrich
- Hidróxido de potássio, p.a. (KOH) - Merck
- Imidazol, 99,0% - Aldrich
- Iodeto de potássio, p.a. (KI) – Merck
- Iodo, (I_2) - Merck
- Metanol, p.a. (MeOH) - Mallinckrodt
- Metanol deuterado, 99,8% (CD_3OD) - Acrós Organics
- 2-Metoxietanol anidro, 99,8% - Sigma-Aldrich
- Piridina, 99,0% - Aldrich
- Sulfato de magnésio, 97,0% (MgSO_4) - Acrós Organics
- Tetrahidrofurano, grau HPLC (THF) - J. T. Baker
- Tiosulfato de sódio, p.a. ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) - Mallinckrodt
- Tolueno - Mallinckrodt
- Trietilamina, p.a. - Merck
- Trifenilfosfina, 99,0% - Aldrich
- Trifluoroacetato de mercúrio (II), 98,0% ($(\text{CF}_3\text{CO}_2)_2\text{Hg}$) – Aldrich

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese do carba-açúcar (46)

4,6-O-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (53)

Uma mistura de α -D-glicopiranosídeo de metila (**52**) (0,50 g; 2,57 mmol), benzaldeído dimetil acetal (1,95 mL; 12,88 mmol), ácido *p*-toluenossulfônico (0,025 g; 0,13 mmol) e acetonitrila (4,0 mL) foi agitada durante 10 minutos, a temperatura ambiente. A seguir, a mistura reacional foi levada às microondas durante 5 minutos a 200W e 170 °C. O produto obtido foi purificado por CCC, utilizando sílica comum (63-200 μ m) e mistura de AcOEt:hexano (8:2). Rendimento 81% (0,588 g; 2,09 mmol). P.F. 166-168 °C. Rf 0,38 (AcOEt).

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 3,42 (3H, s, OCH_3); 3,44 (1H, dd, $J_{3,4}$ 9,3 Hz, $J_{4,5}$ 5,3 Hz, H-4); 3,50 (1H, dd, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, $J_{2,3}$ 9,3 Hz, H-2); 3,68-3,78 (2H, m, H-6_{ax} e H-5); 3,80 (1H, t, J 9,3 Hz, H-3); 4,20 (1H, dd, $J_{5,6\text{eq}}$ 3,2 Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}}$ 8,5 Hz, H-6_{eq}); 4,71 (1H, d, J 3,7 Hz, H-1); 5,58 (1H, s, H-7); 7,30-7,37 (3H, m, H-Ar); 7,45-7,52 (2H, m, H-Ar).

2,3-di-O-benzil-4,6-O-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (54)

Hidróxido de potássio (0,4 g; 7,1 mmol), previamente pulverizado em gral, foi adicionado à mistura de 4,6-O-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (**53**) (0,5 g; 1,77 mmol) em cloreto de benzila (1,65 mL; 14,1 mmol). A suspensão resultante foi agitada por 10 minutos, entretanto não ocorreu completa solubilização de **53** e de hidróxido de potássio. Levou-se a mistura às microondas por 5 minutos a 200 W e 150 °C. A massa obtida foi solubilizada em mistura de éter etílico/água e vertida em um funil de separação. A fase etérea foi extraída e a fase aquosa lavada com éter etílico (3 x 12,0 ml). Por fim as fases etéreas foram reunidas e lavadas com água por diversas vezes, até que o papel indicador de pH indicasse pH neutro; a fase orgânica foi, ainda, lavada com solução saturada de NaCl e concentrada em evaporador rotatório com destilador de dedo frio. Foi obtido o produto bruto com grande quantidade de BnCl, que foi removido por CCC, utilizando sílica comum (63-200 μ m) e mistura de hexano:AcOEt (7:3). O produto desejado foi obtido como sólido branco. Rendimento 77% (0,633 g; 1,37 mmol). P.F. 94-96 °C. Rf 0,48 (hexano:AcOEt, 7:3).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3,42 (3H, s, OCH_3); 3,56 (1H, dd, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, $J_{2,3}$ 9,3 Hz, H-2); 3,61 (1H, t, J 9,3 Hz, H-4); 3,70 (1H, t aparente, J 10,1 Hz, H-6ax); 3,84 (1H, ddd, $J_{4,5}$ 9,3 Hz, $J_{5,6\text{eq}}$ 4,8 Hz, $J_{5,6\text{ax}}$ 10,1 Hz, H-5); 4,06 (1H, t, J 9,3 Hz, H-3); 4,27 (1H, dd, $J_{6\text{eq},5}$ 4,8 Hz, $J_{6\text{eq},6\text{ax}}$ 10,1 Hz, H-6eq); 4,60 (1H, d, $J_{1,2}$ 3,7 Hz,

H-1); 4,70, 4,87 (2d, 1H cada, J 12,1 Hz, CH_2OPh); 4,84, 4,93 (2d, 1H cada, J 11,3 Hz, CH_2OPh); 5,56 (1H, s, H-7); 7,25-7,54 (15H, m, H-Ar).

2,3,4-tri-O-benzil- α -D-glicopiranosídeo de metila (44)

Sob atmosfera de N_2 , LiAlH_4 (0,91 g; 23,9 mmol) foi adicionado, em porções, à solução de 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (**54**) (2,34 g; 5,06 mmol) em éter etílico anidro/DCM (1:1; 44,0 mL), sob agitação. A mistura foi mantida sob refluxo a 50 °C e uma solução de AlCl_3 (2,71 g; 20,3 mmol) em éter etílico anidro (50,0 mL), anteriormente preparada sob atmosfera de N_2 e banho de gelo, foi gotejada lentamente durante 30 minutos. A mistura permaneceu sob refluxo por mais 4 horas, sendo esta resfriada em seguida. O excesso de LiAlH_4 foi decomposto, sob banho de gelo, pela adição lenta de AcOEt (54,0 mL) e o $\text{Al}(\text{OH})_3$ formado na reação foi precipitado pela adição de água (36,0 mL). A mistura foi diluída com éter etílico (50,0 mL) e a fase orgânica separada; esta foi lavada com água destilada (3 x 25,0 mL), seca com MgSO_4 e concentrada em evaporador rotatório. O produto desejado foi obtido como sólido amarelo translúcido. Rendimento 99,7% (2,342 g; 5,05 mmol). R_f 0,4 (hexano: AcOEt , 1:1).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3,38 (3H, s, OCH_3); 3,48-3,56 (2H, m, H-2 e H-4); 3,62-3,82 (3H, m, H-5, H-6a, H-6b); 4,02 (1H, t aparente, J 9,6 Hz, H-3); 4,57 (1H, d, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1); 4,64, 4,99 (2d, 1H cada, J 10,8 Hz, CH_2OPh); 4,67, 4,81

(2d, 1H cada, J 12,1 Hz, CH_2OPh); 4,84, 4,89 (2d, 1H cada, J 11,1 Hz, CH_2OPh); 7,25-7,40 (15H, m, H-Ar).

2,3,4-tri-O-benzil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (55)

Trifenilfosfina triturada (5,34 g; 20,36 mmol), imidazol pulverizado (2,77 g; 40,74 mmol), recentemente recristalizados, e iodo ressublimado (5,17 g; 20,36 mmol) foram adicionados à solução de 2,3,4-tri-O-benzil- α -D-glicopiranosídeo de metila (**44**) (6,3 g; 13,58 mmol) em tolueno (70,0 mL). A mistura foi aquecida a 70 °C e mantida sob agitação por 3 horas. A seguir, esta foi resfriada em banho de gelo e solução saturada de NaHCO_3 (72,0 mL) foi adicionada lentamente. Após 5 minutos, alguns cristais de iodo foram acrescentados até que a fase toluênica (superior) permanecesse amarela. A mistura foi agitada, vigorosamente, por 10 minutos e o excesso de iodo foi neutralizado com solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5%. A mistura obtida foi transferida para um funil de separação e a fase orgânica foi separada; esta, então, foi diluída com tolueno (30,0 mL), lavada com água destilada (2 x 20,0 mL), seca com MgSO_4 , filtrada e concentrada. O produto bruto, castanho escuro, foi purificado através de filtração em sílica comum (63-200 μm), utilizando mistura de hexano:AcOEt (7:3). O composto desejado foi isolado como óleo viscoso incolor, o qual se cristalizou após repouso. Rendimento 88,7% (6,92 g; 12,05 mmol). P.F. 52 °C. Rf 0,6 (hexano:AcOEt, 7:3).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3,26-3,39 (2H, m, H-6a, H-6b); 3,42 (3H, s, OCH_3); 3,43-3,50 (2H, m, H-4 e H-5); 3,54 (1H, dd, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, $J_{2,3}$ 9,6 Hz, H-2); 4,02 (1H, t aparente, J 9,6 Hz, H-3); 4,61 (1H, d, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1); 4,66, 4,80 (2d, 1H cada, J 12,1 Hz, CH_2OPh); 4,69, 4,81 (2d, 1H cada, J 10,6 Hz, CH_2OPh); 4,94, 5,00 (2d, 1H cada, J 10,8 Hz, CH_2OPh); 7,25-7,39 (15H, m, H-Ar).

2,3,4-tri-O-benzil-6-desoxi- α -D-xilo-hex-5-enopiranosídeo de metila (45)

Sob atmosfera de N_2 , solução de 2,3,4-tri-O-benzil-6-desoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (**55**) (1,27 g; 2,22 mmol) em THF anidro (8,0 mL) foi tratada com DBU (1,07 mL; 7,15 mmol). A mistura resultante foi mantida sob refluxo (80 °C) por cerca de 8 horas; ao final deste tempo, análises de CCD indicaram o total consumo do material de partida. Após resfriamento o produto foi concentrado, e, em seqüência, filtrado em sílica comum (63-200 μm), utilizando mistura de hexano:AcOEt (7:3). O composto desejado foi obtido como líquido viscoso incolor. Rendimento 68% (0,67 g; 1,51 mmol). R_f 0,6 (hexano:AcOEt, 7:3).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3,44 (3H, s, OCH_3); 3,63 (1H, dd, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, $J_{2,3}$ 9,0 Hz, H-2); 3,93 (1H, dt, $J_{4,3}$ 9,0 Hz, $J_{4,6}$ 2,0 Hz, H-4); 3,99 (1H, t, J 9,0 Hz, H-3); 4,65 (1H, d, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1); 4,55-4,95 (8H, m, H-6a, H-6b, 3 x CH_2OPh); 7,24-7,40 (15H, m, H-Ar).

(3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (46)

Trifluoroacetato de mercúrio (0,020 g; 0,05 mmol) foi adicionado à solução de 2,3,4-tri-O-benzil-6-desoxi- α -D-xilo-hex-5-enopiranosídeo de metila (**45**) (0,24 g; 0,54 mmol) em acetona:água (2:1, 12,0 mL). A mistura reacional obtida foi deixada sob agitação por 4 horas, sendo acompanhada por CCD. Após este período, a mistura foi concentrada no evaporador rotatório e o líquido resultante (fase aquosa) foi extraído com DCM; a fase orgânica foi, então, lavada seqüencialmente com água destilada, solução de KI 10 %, solução de Na₂S₂O₃ 10%, solução saturada de NaHCO₃, solução saturada de NaCl; em seguida, esta foi seca com MgSO₄, filtrada e concentrada. O produto obtido foi purificado por CCC, utilizando sílica flash (40-63 μ m) e mistura de hexano:AcOEt (1:1).

Isômero α . Rendimento 32% (0,075 g; 0,17 mmol). P.F. 105-110°C. R_f 0,4 (hexano:AcOEt, 1:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ _H: 2,44 (1H, dd, $J_{5,6ax}$ 3,2 Hz, $J_{6ax,6eq}$ 14,6 Hz, H-6ax); 2,68 (1H, dd, $J_{5,6eq}$ 3,7 Hz, $J_{6ax,6eq}$ 14,6 Hz, H-6eq); 3,79 (1H, m, H-5); 3,99-4,07 (2H, m, H-2 e H-3); 4,24 (1H, dd, $J_{4,5}$ 3,2 Hz, $J_{3,4}$ 6,5 Hz, H-4); 4,56, 4,72 (2d, 1H cada, J 11,6 Hz, CH₂OPh); 4,79, 4,92 (2d, 1H cada, J 10,8 Hz, CH₂OPh); 4,81, 4,95 (2d, 1H cada, J 11,3 Hz, CH₂OPh); 7,24-7,42 (15H, H-Ar).

Isômero β . Rendimento 20% (0,047 g; 0,11 mmol). R_f 0,5 (hexano:AcOEt, 1:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ _H: 2,57 (1H, dd, $J_{5,6ax}$ 9,8 Hz, $J_{6ax,6eq}$ 13,3 Hz, H-6ax); 2,75 (1H, dd, $J_{5,6eq}$ 5,3 Hz, $J_{6ax,6eq}$ 13,3 Hz, H-6eq); 3,90 (1H, m, H-5); 3,99-4,07

(2H, m, H-2 e H-3); 4,26-4,33 (1H, m, H-4); 4,38-4,98 (6H, m, CH_2OPh); 7,23-7,41 (15H, H-Ar).

(3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-(tetraidropiran-2-iloxi)-cicloexanona (63)

Uma suspensão de (3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**) (0,05 g; 0,12 mmol), em tolueno tratado (1,2 mL), 2,3-diidropirano (0,10 g; 1,16 mmol) e ácido *p*-toluenossulfônico, quantidade catalítica, (0,00010 g) foi agitada durante 16 horas a temperatura ambiente, realizando-se CCD durante o período. A seguir, acrescentou-se K_2CO_3 anidro (0,015 g; 0,11 mmol) mantendo-se a agitação por 30 minutos. O resíduo foi filtrado e concentrado no evaporador rotatório obtendo-se um líquido viscoso vermelho intenso. Purificou-se o produto obtido por CCDP utilizando mistura de hexano:AcOEt (3:2). O composto foi isolado como sólido amarelado. Rendimento 86 % (0,052 g; 0,10 mmol). P.F. 156-160 °C. Rf 0,5 (hexano:AcOEt, 1:1).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 1,45-1,90 (6H, m, H-5'ax; H-4'ax; H-3'ax; H-4'eq; H-3'eq; H-5'eq); 2,65-2,80 (2H, m, H-6ax; H-6eq); 3,45-3,62 (2H, m, H-6'ax; H-6'eq); 3,77-3,95 (2H, m, H-3; H-4); 4,03-4,25 (2H, m, H-5; H-2); 4,70-5,05 (7H, m, 3 x CH_2OPh ; H-2'); 7,25-7,50 (15H, m, H-Ar).

(3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (59)

A uma solução sob agitação contendo (3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**) (0,091 g; 0,21 mmol) em dioxano (2,0 mL), foi adicionado NaBH₄ (0,024 g; 0,63 mmol). A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente por 2 horas, sendo durante este período, realizadas análises de CCD as quais indicaram o consumo total do material de partida. A seguir, a mistura é neutralizada com ácido acético 1M e concentrada no evaporador rotatório. O resíduo é dissolvido em AcOEt (25,0 mL) e então transferido para um funil de separação, onde a fase orgânica foi lavada com água destilada (3 x 10,0 mL), seca com MgSO₄, filtrada e concentrada. O produto obtido foi purificado por CCDP, utilizando mistura de hexano:AcOEt (1:1). O composto desejado foi obtido como líquido amarelo viscoso. Rendimento 83,8% (0,076 g; 0,17 mmol). P.F. 107-108 °C. Rf 0,2 (hexano:AcOEt, 1:1).

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 1,45 (1H, dt, *J*_{1,6ax} 2,7 Hz, *J*_{5,6ax} 2,7 Hz, *J*_{6ax,6eq} 15,6 Hz, H-6ax); 2,32 (1H, dt, *J*_{1,6eq} 3,7 Hz, *J*_{5,6eq} 3,7 Hz, *J*_{6ax,6eq} 15,6 Hz, H-6eq); 3,41 (2H, dd, *J*_{1,2} 3,0 Hz, *J*_{3,2} 9,5 Hz, *J*_{3,4} 9,5 Hz, *J*_{5,4} 3,0 Hz, H-2 e H-4); 4,11 (1H, t, *J*_{2,3} 9,5 Hz, *J*_{4,3} 9,5 Hz, H-3); 4,16 (2H, m, H-1 e H-5); 4,73 e 4,76 (4H, AB, *J*_{AB} 11,6 Hz, 2 x CH₂OPh); 4,92 (2H, s, CH₂OPh); 7,27-7,43 (15H, H-Ar). ESI-TOF calculado para C₂₇H₃₀O₅ [M + H⁺]: 435,2171; encontrado: 435,2384, C₂₇H₃₀O₅ [M + Na⁺]: 457,1990; encontrado: 457,2238, C₂₇H₃₀O₅ [M + K⁺]: 473,1730; encontrado: 473,1970.

(3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-di-O-metilsulfonil-cicloexano (60)

A uma solução sob agitação contendo (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (**59**) (96,6 mg; 0,22 mmol) em piridina (2,0 mL) foi adicionado lentamente cloreto de metanossulfonila (69 μ L; 0,89 mmol) a 0 °C. A seguir, a mistura reacional foi agitada durante 13h a temperatura ambiente, e acompanhada por CCD, com o consumo total do material de partida. Posteriormente, foi concentrada em evaporador rotatório, diluída com acetato de etila (10,0 mL) e transferida para um funil de separação, onde foi lavada com água destilada (3 x 10,0 mL), e, por fim, concentrada. O produto obtido foi purificado por CCDP, utilizando mistura de hexano:AcOEt (1:1), obtendo-se um sólido marrom translúcido. Rendimento 83,5% (109,7 mg; 0,18 mmol). Rf 0,5 (hexano:AcOEt, 1:1).

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 1,68 (1H, d, $J_{6\text{ax},6\text{eq}}$ 16 Hz, H-6ax); 2,60 (1H, d, $J_{6\text{eq},6\text{ax}}$ 16 Hz, H-6eq); 2,96 (6H, s, 2 x CH_3SO_2); 3,44 (2H, m, H-2 e H-4); 3,97 (1H, t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8,5$ Hz, H-3); 4,63 e 4,70 (4H, AB, J_{AB} 11 Hz, 2 x CH_2OPh); 4,77 (2H, s, CH_2OPh); 5,06 (2H, sl, H-1 e H-5); 7,20-7,32 (15H, H-Ar). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 31,23 (C-6); 39,07 (2 x CH_3SO_2); 73,28 (2 x CH_2OPh); 75,62 (C-1, C-5 e 1 x CH_2OPh); 77,37 (C-3); 77,66 (C-2 e C-4); 128-128,52 (C-Ar).

(1,3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-diazido-cicloexano (65)

Azido de sódio (55 mg; 0,85 mmol) foi adicionado à solução de (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-di-O-metilsulfonil-cicloexano (**60**) (50 mg; 0,08 mmol) em HMPA anidro (1,0 mL). A mistura resultante foi mantida sob refluxo (110 °C) por cerca de 1 hora; sendo acompanhada por CCD. Após este período, a mistura foi concentrada no evaporador rotatório com destilador de dedo frio e o sólido resultante foi extraído, em funil de separação, com acetato de etila (10,0 mL) e lavado com água destilada (3 x 10,0 mL) e, por fim, concentrada. O produto obtido foi purificado por CCDP, utilizando mistura de hexano:AcOEt (9,5:0,5), obtendo-se um sólido amarelo translúcido. Rendimento 12,7% (5,2 mg; 0,01 mmol). Rf 0,3 (hexano:AcOEt, 10:1).

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 1,17-1,27 (1H, m, H-6ax); 1,96 (1H, dt, $J_{1,6\text{eq}}$ 4,3 Hz, $J_{5,6\text{eq}}$ 4,0 Hz, $J_{6\text{ax},6\text{eq}}$ 14,2 Hz, H-6eq); 3,22 (1H, t, $J_{1,2}$ 9,6 Hz, $J_{2,3}$ 9,4 Hz, H-2); 3,48 (1H, dd, $J_{3,4}$ 9,6 Hz, $J_{4,5}$ 3,3 Hz, H-4); 3,60 (1H, m, $J_{1,2}$ 9,6 Hz, $J_{6\text{eq},1}$ 4,3 Hz, $J_{6\text{ax},1}$ 9,6 Hz, H-1); 3,81 (1H, t, $J_{2,3}$ 9,4 Hz, $J_{3,4}$ 9,6 Hz, H-3); 3,89 (1H, m, $J_{4,5}$ 3,3 Hz, H-5); 4,64 e 4,67 (2H, AB, J_{AB} 12,2 Hz, CH_2OPh); 4,74 (2H, d, J 10,4 Hz, CH_2OPh); 4,82 (2H, d, J 11,6 Hz, CH_2OPh); 7,19-7,30 (15H, H-Ar). ESI-TOF calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Na}^+]$: 507,2120; encontrado: 507,2252, $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{K}^+]$: 523,1859; encontrado: 523,1985, $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Cl}^-]$: 519,1911; encontrado: 519,2058. IV ($\text{cm}^{-1}/\text{filme}$) $\nu_{\text{máx}}$ 2100 (N_3).

(1,3/2,4)-2,3,4-tri-O-benzil-1-azido-cicloexeno (64)

Azido de sódio (44 mg; 0,68 mmol) foi adicionado à solução de (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-di-O-metilsulfonil-cicloexano (**60**) (40 mg; 0,07 mmol) em DMSO anidro (1,0 mL). A mistura resultante foi mantida sob refluxo (110 °C) por cerca de 3 horas; sendo acompanhada por CCD. Após este período, a mistura foi concentrada no evaporador rotatório com destilador de dedo frio e o sólido resultante foi extraído, em funil de separação, com acetato de etila (10,0 mL) e lavado com água destilada (3 x 10,0 mL) e, por fim, concentrada. O produto obtido foi purificado por CCDP, utilizando mistura de hexano:AcOEt (9,5:0,5), obtendo-se um sólido branco. Rendimento 76,5% (22,8 mg; 0,05 mmol). Rf 0,5 (hexano:AcOEt, 10:1).

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3,51 (1H, dd, $J_{1,2}$ 8,3 Hz, $J_{2,3}$ 10,2 Hz, H-2); 3,67 (1H, dd, $J_{2,3}$ 10,2 Hz, $J_{3,4}$ 7,8 Hz, H-3); 4,04 (1H, dd, $J_{1,2}$ 8,3 Hz, $J_{1,6}$ 2,1 Hz, H-1); 4,10 (1H, dd, $J_{3,4}$ 7,8 Hz, $J_{4,5}$ 2,1 Hz, H-4); 4,56 e 4,59 (2H, AB, J_{AB} 11,6 Hz, CH_2OPh); 4,78 (2H, d, J 12,8 Hz, CH_2OPh); 4,81 (2H, d, J 12,1 Hz, CH_2OPh); 5,43 (1H, dt, $J_{1,6}$ 2,1 Hz, $J_{6,5}$ 10,2 Hz, H-6); 5,67 (1H, dt, $J_{4,5}$ 2,1 Hz, $J_{6,5}$ 10,2 Hz, H-5); 7,16-7,30 (15H, H-Ar). ESI-TOF calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 464,195; encontrado: 464,2016, $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ [$\text{M} + \text{K}^+$]: 480,1689; encontrado: 480,1745. IV ($\text{cm}^{-1}/\text{filme}$) $\nu_{\text{máx}}$ 2100 (N_3).

Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho proposto foi planejado em duas etapas: Síntese, régio e estereosseletiva, do aminociclitol 2-desoxiestreptamina (**16**), **esquema 10**, e determinação de sua atividade biológica. Sendo a síntese de **16**, realizada a partir do precursor carba-açúcar (**46**), obtido como demonstrado no **esquema 9**.

Esquema 9: Síntese do carba-açúcar (**46**) obtido a partir do reagente comercial (**52**) em seis etapas.

Esquema 10: Rota sintética para preparação do composto desejado 2-desoxiestreptamina (**16**) a partir do carba-açúcar (**46**).

2-desoxiestreptamina (**16**) possui um desafio sintético interessante devido aos seus cinco centros estereogênicos contínuos em relação *trans*. Observando os esforços sintéticos em direção aos derivados de **16** é interessante notar que os materiais de partida utilizados variam de simples cicloalcenos a estruturas altamente poli-hidroxiladas, tais como inositóis e carboidratos, e na maioria dos casos já contendo estereocentros.

Da Silva *et al.*^{63,65} desenvolveu uma rota sintética, a qual parece ter sido inspirada na biosíntese de **16**, semelhante à desenvolvida neste trabalho até a formação do carba-açúcar **46** obtido via um intermediário gerado pelo rearranjo de *Ferrier*. Entretanto, a partir de **46** propõe uma rota sintética complexa a qual envolve um intermediário oxima. O grupo oximino é benzilado e posteriormente reduzido com LiAlH_4 levando a uma mistura de aminas epiméricas, sendo que apenas o epímero *trans* é utilizado nas etapas posteriores. O epímero *trans* é, na sequência, acetilado, convertido a mesilato e, finalmente, reage com azido de sódio, obtendo ao final um derivado protegido quiral de **16** (**esquema 8**).

A estratégia sintética proposta no presente trabalho, envolve uma metodologia inédita e mais simples em relação às encontradas na literatura, apresenta mecanismos de proteção e desproteção de hidroxilas, de forma altamente seletiva. Além disso, há a formação de um intermediário duplamente mesilado (**60**). Os grupos O-mesil, presentes em **60**, possuem configuração alfa desejável que poderá sofrer dupla inversão através de reação de substituição nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$ com azida de sódio. Por fim, é produzido o composto *meso* **16**, pela reação de hidrogenação/hidrogenólise, a qual promove simultaneamente, em apenas um passo, a redução dos grupos azidos e desproteção das hidroxilas (**esquema 10**).

4.1 Síntese de (3/2,4,5)-2,3,4-tri-*O*-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**)

Tendo em vista o grande interesse na preparação régio e estereosseletiva do derivado ciclitol **16**, potencialmente ativo, o trabalho experimental foi iniciado a partir da síntese do intermediário comum (3/2,4,5)-2,3,4-tri-*O*-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**), conforme mostrado no **esquema 9**.

A preparação de 4,6-*O*-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (**53**) foi iniciada a partir da técnica adaptada de Wilstermann e Magnusson⁶⁹, visando a proteção seletiva das hidroxilas nas posições C-4 e C-6. A reação empregada envolve a transacetalização de benzaldeído dimetilacetal, por ação do catalisador ácido *p*-toluenossulfônico, dando origem ao derivado benzilideno **53**, cujo mecanismo é mostrado no **esquema 11**.

Esquema 11: Mecanismo de reação envolvendo a síntese do derivado benzilideno **53**.

Essa reação é uma etapa crítica na rota sintética, pois se trata da primeira etapa de uma série de seis reações, **esquema 9**. O isolamento e purificação do produto envolvem uma etapa de recristalização em solução de NaHCO₃ 5% à quente, no entanto, empregando estas condições o rendimento foi reduzido a 15-35%. Inicialmente, foi empregada a proporção de 1:1,6 equivalentes entre **52** e o benzaldeído dimetilacetal a qual foi alterada para 1:2 equivalentes sob aquecimento a 50 °C. Entretanto não houve melhora no rendimento citado.

Logo, foi adotado o procedimento com 1:3 equivalentes entre **52** e o benzaldeído dimetilacetal e substituição do processo de recristalização por purificação por CCC, utilizando sílica comum (63-200 µm), o que possibilitou um aumento significativo do rendimento para 84%.

Recentemente, uma metodologia envolvendo radiação por microondas foi utilizada, com relação de 1:5:0,05 equivalentes entre **52**, benzaldeído dimetilacetal e ácido *p*-toluenossulfônico, respectivamente, a qual proporcionou uma relevante redução no tempo de reação, de 72 horas para 5 minutos, conservando o rendimento em 81%.

A conversão do composto **53** no produto 2,3-di-*O*-benzil-4,6-*O*-benzilideno- α -D-glicopiranosídeo de metila (**54**), a qual segue a síntese de Williamson, via mecanismo S_N2 (**esquema 12**), foi realizada na presença de KOH e cloreto de benzila (BnCl) como agente alquilante, numa proporção de 1:4:8 equivalentes entre **53**, KOH e BnCl⁷⁰. O produto **54** foi obtido por recristalização em etanol e apresentou rendimento de 68%.

Esta etapa também foi realizada pela metodologia por radiação de microondas, mantendo-se a proporção entre **53**, KOH e BnCl, de 1:4:8 equivalentes, o que proporcionou um melhor tempo de reação, anteriormente de 5 horas passou a

5 minutos, e um aumento de rendimento, obtendo-se 77%. O cloreto de benzila foi removido na purificação por CCC com maior facilidade, o que evitou a montagem do sistema de destilação realizada durante o método convencional o qual envolve, também, uma recristalização em etanol.

Esquema 12: Mecanismo de proteção das hidroxilas, em C-2 e C-3.

A preparação de 2,3,4-tri-O-benzil- α -D-glicopiranosídeo de metila (**44**) foi realizada pela reação de desalquilação seletiva na presença de hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4) e cloreto de alumínio (AlCl_3). Cabe ressaltar que, apesar de acetais e cetais serem resistentes a LiAlH_4 e hidretos similares, uma combinação de LiAlH_4 e AlCl_3 pode reduzir acetais e cetais, causando quebra de uma das ligações C-O do grupo benzilideno. Nesse caso, os agentes redutores que realizam essa quebra são o hidreto de cloroalumínio (AlH_2Cl) e o hidreto de dicloroalumínio (AlHCl_2), gerados *in situ*⁷¹, sendo o AlCl_3 de relevante importância no enfraquecimento da ligação em O-6. Com a utilização da técnica descrita por Lipták et al.⁷², foi possível realizar a

clivagem regioseletiva do anel benzilideno. A direção da clivagem do anel benzilideno é determinada por fatores estéricos, ou seja, pelo volume do substituinte benzilóxi em C-3, pois $\text{LiAlH}_4\text{-AlCl}_3$ podem formar complexo somente com o par de elétrons livres de O-6 de **54**, devido a blindagem de O-4 pelo grupo 3-O-benzil. Assim, o anel benzilideno cliva-se preferencialmente na posição 6 (**esquema 13**). O produto **44** bruto foi obtido em 99% de rendimento, na forma de líquido viscoso incolor.

Esquema 13: Mecanismo proposto para redução por $\text{LiAlH}_4\text{-AlCl}_3$.

O composto 2,3,4-tri-O-benzil-6-deoxi-6-iodo- α -D-glicopiranosídeo de metila (**55**) foi obtido pela substituição do grupo 6-OH livre de **44** por iodo (**esquema 14**), em presença de trifenilfosfina e imidazol (ambos recentemente recristalizados), sob refluxo em tolueno⁷³.

A purificação a partir de filtração em sílica, forneceu o produto com rendimento de 88%. Análises de RMN de ^1H e IV foram satisfatórias e confirmaram a obtenção do composto 6-iodo **55** desejado. Os sinais dos hidrogênios 6- CH_2I foram deslocados para campo de maior blindagem, δ 3,26-3,39, em relação aos

correspondentes hidrogênios 6-CH₂OH, δ 3,62-3,73. Adicionalmente, foi observado no espectro de IV o desaparecimento da banda do grupo OH em 3440 cm⁻¹.

Esquema 14: Mecanismo de reação da formação de **55**, representado como RI.

No laboratório de Química Farmacêutica tem sido desenvolvida uma metodologia para aplicação de irradiação por microondas nesta etapa, o que, juntamente com a redução do tempo de reação, trará a grande vantagem de empregar quantidade reduzida de solvente. Os resultados destes experimentos ainda não foram concluídos.

A eliminação do átomo de iodo de **55**, via mecanismo E2, com formação de dupla ligação entre C-5 e C-6, utilizando 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) e THF anidro, forneceu o composto **45**⁷⁴ (**esquema 15**). Após filtração em sílica comum, o produto desejado foi obtido em rendimento de 68%, valor este similar ao descrito na literatura (71%)⁷⁵.

Esquema 15: Mecanismo provável para eliminação do iodo e geração do produto **45**.

O intermediário desejado (3/2,4)-2,3,4-tri-*O*-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**) foi preparado a partir de **45**, pela reação de *rearranjo de Ferrier* (**esquema 16**). Essa reação foi descrita por Ferrier em 1979, e se mostrou bastante eficiente para a conversão de açúcares nos correspondentes derivados cicloexanonas, na presença de quantidades catalíticas de cloreto de mercúrio (II), em mistura de acetona/água, sob aquecimento⁷⁶. Após a descoberta desta reação, outros reagentes foram propostos, como acetato de mercúrio (II), sulfato de mercúrio (II) em 1,4-dioxano e H₂SO₄; PdCl₂ ou Pd(OAc)₂ e H₂SO₄. Diversos trabalhos relacionados ao estudo mecanístico, à aplicação da reação para a síntese de produtos naturais e ao desenvolvimento de melhores condições reacionais têm sido publicados⁷⁶. O mecanismo da reação de Ferrier envolve um processo de abertura de pirano (com geração de carbânion) e fechamento para sistema carbocíclico, de forma não estéreo-específica, o que resulta na formação de mistura de cicloexanonas epiméricas, geralmente na proporção de 3:1 (α/β)⁷⁵.

Esquema 16: Mecanismo de rearranjo de Ferrier para geração de cicloexanonas **46** e **56**.

A preparação de **46** foi realizada utilizando $(F_3CCO_2)_2Hg$ em mistura de acetona-água, a temperatura ambiente⁷⁶. O emprego de $(F_3CCO_2)_2Hg$ em quantidades catalíticas, cuja função é acelerar a reação e facilitar a obtenção do produto, forneceu a mistura de epímeros com rendimento de 52%. Os diastereoisômeros obtidos na reação, com configuração de OH α (**46**) e β (**56**), em proporção de 3:1, respectivamente, foram separados em CCC.

O espectro de RMN de 1H do produto (3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**) com a estereoquímica relativa (2*S*,3*R*,4*S*,5*S*), isolado de forma pura (32%), apresentou os sinais dos hidrogênios metilênicos (H-6_{ax} e H-6_{eq}), vizinhos ao grupo carbonílico, em δ 2,44 (dd) e δ 2,68 (dd), com acoplamentos característicos $J_{6ax,6eq}$ 14,6 Hz, $J_{5,6eq}$ 3,7 Hz e $J_{5,6ax}$ 3,2 Hz (Anexo 1). No espectro de IV foram observadas bandas intensas de grupo OH (3461 cm^{-1}) e C=O (1737 cm^{-1})

(Anexo 2). O epímero **56**, com a estereoquímica relativa (2*S*,3*R*,4*S*,5*R*), isolado em menor quantidade (20%), apresentou os sinais dos hidrogênios metilênicos α -carbonílicos em δ 2,57 (dd) e 2,75 (dd), com acoplamentos característicos $J_{6ax,6eq}$ 13,3 Hz, $J_{5,6eq}$ 5,3 Hz e $J_{5,6ax}$ 9,8 Hz. A separação dos isômeros foi realizada para isolamento do isômero α , com estereoquímica relativa do grupo 5-OH em posição axial, fundamental para as próximas etapas do trabalho experimental. Além disso, o emprego do derivado puro facilitou a análise dos espectros de RMN de ^1H dos produtos subseqüentes da rota sintética (**esquema 10**).

4.2 Síntese da 2-desoxiestreptamina (**16**)

Iniciando a segunda etapa do trabalho (**esquema 10**), foi testada a síntese do derivado aminociclitol 2-desoxiestreptamina (**16**), pela proteção da hidroxila em C-5 de **46** utilizando cloreto de *terc*-butildimetilsilila⁷⁷.

Esquema 10: Rota sintética para preparação do composto desejado 2-desoxiestreptamina (**16**) a partir do carba-açúcar (**46**).

O grupo volumoso *terc*-butílico apresenta papel fundamental na etapa seguinte, de formação de **58**, pois impede o ataque do hidreto, como agente redutor, na face inferior de **57**, possibilitando a conversão estereosseletiva de **57** em **58**, com grupo hidroxílico em posição α . Esta configuração de C-1 de **58** será fundamental para obtenção dos grupos amino em posição equatorial, como observada no produto natural 2-desoxiestreptamina.

No entanto, a presença de imidazol, empregado na proteção como uma base forte, atua atacando ou retirando os prótons ácidos de **46**, vizinhos a carbonila em C-6 ou C-2, dando origem ao produto de aromatização **62** (esquema 17), cujo espectro mostrou a presença de hidrogênios aromáticos em δ 6,40, 6,60 e 6,80 e hidrogênios O-benzílicos na região de δ 4,50-4,90, com integral relativa de 4H.

Esquema 17: Mecanismo provável para formação do produto aromático indesejado.

Devido aos resultados insatisfatórios, obtidos nas tentativas de proteção da hidroxila em C-5 de **46** com cloreto de *terc*-butildimetilsilila, nova estratégia foi proposta, substituindo a catálise básica por condição ácida, mais favorável para

manutenção da estabilidade dos reagentes e produto. O emprego de 2,3-diidropirano, como agente protetor volumoso pode determinar o bloqueio estérico pela face inferior do anel, de forma semelhante ao grupo TBDS, apesar de introduzir novo centro estereogênico na molécula e gerar misturas de diastereoisômeros.

4.2.1 Síntese de derivado tetraidropirano (63)

A obtenção de 2,3,4-tri-*O*-benzil-5-(tetraidropiran-2-iloxi)-cicloexanona (**63**) foi realizada a partir de **46** em presença de 2,3-diidropirano e quantidade catalítica de ácido *p*-toluenossulfônico, em tolueno seco⁷⁸. A introdução do grupo protetor ocorre pelo mecanismo de substituição eletrofílica, como representado no **esquema 18**.

Esquema 18: Mecanismo de proteção da hidroxila em C-5 de **46** por 2,3-diidropirano.

Apesar da obtenção do produto **63** em 86% de rendimento, foram realizadas algumas tentativas para eliminação desta etapa de proteção a fim de facilitar a obtenção do produto desejado **16**. Desta forma, foi testada a possível redução estereosseletiva direta do grupo carbonílico pró-quiral do intermediário de Ferrier **46**, contendo grupo OH livre em C-5, na presença de boroidreto de sódio, conforme mencionado por Semeria, *et al*⁷⁵. O objetivo desta tentativa foi explorar a possível participação dos grupos volumosos benziloxi, em C-2 e C-4 no direcionamento da redução, com formação da configuração desejada em C-1.

4.2.2 Síntese de (1,3,5/2,4)-1,5-di-azido-2,3,4-tri-O-benzil-cicloexano (**61**)

O tratamento de **46** com boroidreto de sódio (NaBH_4) em dioxano forneceu o composto (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (**59**) com 84% de rendimento. A redução da carbonila permitiu a formação da hidroxila secundária em posição axial provavelmente devido à influência dos grupos O-benzil presentes na face inferior, capazes de promover impedimento estérico, confirmando a não necessidade de proteção da hidroxila em C-5, como mostrado no **esquema 19**.

Esquema 19: Mecanismo proposto de redução da carbonila em C-1.

Deve-se levar em consideração nesta reação, também, o ângulo de ataque do nucleófilo que, neste caso, segue a trajetória de Bürgi-Dunitz, onde o nucleófilo se

aproxima do carbono carbonílico seguindo uma trajetória que realiza, com o eixo da ligação C–O, num ângulo de 107° , praticamente igual ao ângulo tetraédrico de $109,5^\circ$. Contudo a presença da hidroxila em C-5, em relação 1,3 a carbonila, impede o ataque do nucleófilo por essa trajetória, sendo assim, ocorre, como acima citado, a aproximação do hidreto apenas pela face superior de **46**.

Após purificação por CCDP o produto foi analisado previamente por espectroscopia de massas (ESI-TOF) de alta resolução, no modo de detecção positivo. O espectro apresentou pico característico do íon quase-molecular (calculado para $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + H^+]$: 435,2171; encontrado: 435,2384) e dos adutos, com sódio (calculado para $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + Na^+]$: 457,1990; encontrado: 457,2238) e potássio (calculado para $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + K^+]$: 473,1730; encontrado: 473,1970) (Anexo 3).

O espectro de RMN de 1H do produto simétrico *meso* (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (**59**), apresentou os sinais dos hidrogênios metilênicos (H-6ax e H-6eq), vizinhos aos grupos hidroxila, em δ 1,45 (dt) e δ 2,32 (dt), com acoplamentos característicos $J_{6ax,6eq}$ 15,6 Hz, $J_{5,6eq}$ 3,7 Hz e $J_{5,6ax}$ 2,7 Hz (ou $J_{6ax,6eq}$ 15,6 Hz, $J_{1,6eq}$ 3,7 Hz e $J_{1,6ax}$ 2,7 Hz), sendo os deslocamentos e desdobramentos de H-1 e H-2 os mesmos de H-5 e H-4 (integral relativa 2H para cada sinal), respectivamente, estando de acordo com o encontrado na literatura⁷⁵ (Anexo 4).

Este resultado foi bastante relevante para o desenvolvimento do projeto, uma vez que permitiu a eliminação de duas etapas da rota sintética inicialmente proposta, relativa à proteção com *tert*-butildimetilsilila ou diidropirano, como previamente discutido, e as correspondentes reações de desproteção, aparentemente críticas para o desenvolvimento do trabalho (**esquema 20**).

Esquema 20: Nova rota sintética com eliminação de duas etapas posterior a redução direta de **46**.

O intermediário *meso* (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-*O*-benzil-1,5-di-*O*-metilsulfonil-cicloexano (**60**), também simétrico, foi obtido pela proteção dos grupos 1-OH e 5-OH livres de **59**, via mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$, na presença de cloreto de metanossulfonila na proporção de 1:4 equivalentes, respectivamente⁷⁹, e piridina, atuando esta como solvente e base para neutralização do HCl formado na reação (**esquema 21**).

Esquema 21: Mecanismo de proteção das hidroxilas livres em C-1 e C-5 de **59**, bem como, neutralização do HCl formado.

A purificação, a partir de CCDP, forneceu o produto com rendimento de 83%. Análises de RMN de ^1H e técnicas bidimensionais, COSY e HMQC, foram empregadas na identificação do produto e confirmaram a obtenção do composto **60** desejado, representando o primeiro composto inédito da rota sintética proposta. Os grupos metanossulfonato (CH_3SO_2) apresentaram deslocamentos químicos dos hidrogênios em δ 2,96 (s) (Anexo 5). A presença dos grupos CH_3SO_2 em C-1 e C-5, de **60**, deslocou os respectivos hidrogênios H-1 e H-5 para região de maior desblindagem, δ 5,06 (sl), em relação aos hidrogênios, H-1 e H-5, do precursor **59**, anteriormente em δ 4,16 (m).

Diversas tentativas de obtenção do composto (1,3,5/2,4)-1,5-di-azido-2,3,4-tri-O-benzil-cicloexano (**61**), pela substituição dos ésteres sulfonatos de **60**⁷⁹, via mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$, em presença do íon azido (**esquema 22**), um nucleófilo forte, foram realizadas.

Esquema 22: Mecanismo de substituição dos ésteres sulfonatos, em C-1 e C-5, de **60** e deslocalização da carga no ânion metanossulfonato.

Inicialmente, a substituição dos grupos sulfonila foi testada na presença de solvente prótico, 2-metoxietanol, sob refluxo a 90 °C durante 16 horas, na proporção de 1:10 equivalentes entre **60** e azido de sódio⁷⁹. Entretanto, os resultados foram

insatisfatórios devido à geração de produto contendo apenas uma função azido e uma insaturação decorrente da reação paralela de eliminação, fornecendo **64** inédito, como mostrado no **esquema 23**.

Esquema 23: Formação do produto de eliminação **64** com apenas um grupo azido.

O espectro de RMN de ^1H de **64**, apresentou sinais dos hidrogênios olefínicos em δ 5,43 (dt), H-6, e δ 5,67 (dt), H-5, acoplados entre si com $J_{5,6}$ 10,2 Hz, bem como, com H-1 e H-4 em δ 4,04 (dd) e δ 4,10 (dd), respectivamente, com $J_{1,6} = J_{5,4}$ de 2,1 Hz. Análise através de técnica bidimensional COSY confirmou os sinais previamente atribuídos na análise unidimensional (Anexo 6). Adicionalmente, observou-se no espectro de IV o aparecimento da banda do grupo N_3 , em 2100 cm^{-1} (Anexo 7).

Análise de espectroscopia de massas (ESI-TOF) de alta resolução, no modo de detecção positivo, confirmou a obtenção do produto de eliminação mono-substituído **64** pela presença dos picos característicos do aduto com sódio (calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{Na}^+]$: 464,195; encontrado: 464,2016) e potássio (calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{K}^+]$: 480,1689; encontrado: 480,1745) (Anexo 8).

Uma justificativa encontrada para a formação do produto de eliminação indesejado **64** está relacionada à reação de β -eliminação, onde o substrato **60** apresenta estereoquímica favorável ao mecanismo E_2 em que o hidrogênio H-6_{ax} e o grupo de saída nucleofílico O-Ms, em C-1, estão em relação *trans*-diaxial ou antiperiplanar (180°). Esta relação confere a reação um caráter estereoespecífico, uma vez que possui conformação ótima, permitindo a sobreposição eficiente dos orbitais moleculares. Outro aspecto relevante, possivelmente, envolvido nesta reação é o congestionamento estérico promovido pelo grupo benzílico em C-3 com nuvem eletrônica π , que apesar da configuração equatorial, poderia dificultar a aproximação do nucleófilo⁷¹⁻⁷⁴.

Na seqüência, a preparação de **61** foi testada na presença do solvente *N,N*-dimetilformamida anidro (DMF)⁷⁹, aprótico, mantendo-se a proporção de 1:10 equivalentes entre **60** e azido de sódio, sob refluxo. No entanto, o produto isolado em pequena quantidade foi identificado como um derivado diazido relacionado ao produto (1,3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-diazido-cicloexano (**65**), com estereoquímica relativa (1*R*,2*S*,3*R*,4*S*,5*S*) e rendimento de 6,6%, além do produto de eliminação (**64**), isolado com rendimento de 69,4%.

O espectro de RMN H^1 apresentou os sinais de hidrogênios característicos de uma substância assimétrica e, definitivamente não *meso*, com integral relativa de sete hidrogênios com diferentes deslocamentos químicos presentes no anel cicloexano. A presença dos hidrogênios metilênicos (H-6_{ax} e H-6_{eq}), vizinhos aos grupos azido, em δ 1,17-1,27 (m) e δ 1,96 (dt), com acoplamentos característicos $J_{6ax,6eq}$ 14,2 Hz, $J_{5,6eq}$ 4,0 Hz e $J_{5,6ax}$ 2,7 Hz, $J_{1,6eq}$ 4,3 Hz e $J_{1,6ax}$ 9,6 Hz também contribuiu para a identificação do produto. A confirmação da estereoquímica relativa foi obtida através das análises dos espectros de RMN H^1 e COSY, na qual a

constante de acoplamento entre H-4, em δ 3,48 (dd) e H-5, em δ 3,89 (m), com $J_{4,5}$ 3,3 Hz sugeriu a presença do grupo azido em C-5, em posição axial indesejada. Por outro lado, a constante de acoplamento entre H-2, em δ 3,22 (t), e H-1, em δ 3,60 (m), com $J_{1,2}$ 9,6 Hz condiz com a posição equatorial, esperada do grupo azido, em C-1 (**esquema 24**). Principalmente, devido ao desdobramento do hidrogênio vizinho H-4 em relação ao hidrogênio em estudo (H-5) foi possível estabelecer a presença de um dos substituintes azido em posição axial (Anexo 9).

Esquema 24: Formação do produto diazido **65** e de eliminação **64** com estrutura assimétrica, gerado a partir da reação de **60** com íon azido.

Análise de espectroscopia de massas (ESI-TOF) de alta resolução, no modo de detecção positivo, mostrou os picos característicos do aduto com sódio (calculado para $C_{27}H_{28}N_6O_3$ $[M + Na^+]$: 507,2120; encontrado: 507,2252), potássio (calculado $C_{27}H_{28}N_6O_3$ $[M + K^+]$: 523,1859; encontrado: 523,1985), e, no modo de detecção negativo, cloro (calculado para $C_{27}H_{28}N_6O_3$ $[M + Cl^-]$: 519,1911; encontrado: 519,2058) para o produto dissustituído e diazido **65** (Anexo 10). Posteriormente, observou-se no espectro de IV o aparecimento da banda do grupo N_3 , em 2100 cm^{-1} (Anexo 11).

Vale mencionar que o produto quiral **65** é inédito na literatura e bastante interessante sob o ponto de vista sintético, podendo também ser empregado nos estudos de atividade biológica, bem como bloco de construção quiral na preparação de produtos mais complexos.

Como mencionado anteriormente, a velocidade de substituição de grupos sulfonatos pelo íon azido são intensificadas em solventes dipolares apróticos. Desta forma, dimetilformamida (DMF) e dimetilsulfóxido (DMSO) são freqüentemente usados na preparação de azido-carboidratos. Estudos comparativos e qualitativos sobre o efeito na velocidade da reação, entre os diferentes tipos de solventes utilizados, realizados em meio anidro, temperatura de 110°C e com excesso de azido de sódio demonstraram, que sob condições de pseudo-primeira ordem, a reação procede 13 a 15 vezes mais rápida em DMSO que em DMF e 2 a 3 vezes mais em HMPA que em DMSO⁷⁰.

A maior velocidade de reação no solvente dipolar aprótico hexametilfosforamida (HMPA) com relação ao DMSO, deve-se ao fato do extremo positivo do dipolo no HMPA, responsável pela solvatação do nucleófilo, estar menos acessível, ou inacessível, do que no DMSO, mantendo o nucleófilo mais livre para o ataque e deslocamento do grupo mesílico (**figura 15**).

Figura 15: Fórmulas estruturais de DMSO e HMPA, com representação dos dipolos positivos.

Desta forma, foram realizadas algumas tentativas para promover a substituição dos ésteres sulfonatos de **60** em presença de 10 equivalentes de azido de sódio nos três referidos solventes dipolares apróticos, DMF, DMSO e HMPA, sob refluxo, às temperaturas de 90°C e 110°C, em meio anidro. Os resultados apresentados na **tabela 3** mostraram uma melhora relativa de rendimento para obtenção do produto dissustituído **65** e formação constante do produto eliminado **64** em rendimentos superiores. Uma explicação plausível para geração de **65**, com grupo azido em posição axial seria por mecanismo S_N1 , uma vez que a possibilidade do produto eliminado sofrer a retro-adição do grupo azido no meio reacional foi descartada. Este resultado foi facilmente obtido pelo aquecimento do sub-produto puro **64** em NaN_3 , nas mesmas condições anteriores, o que conduziu à recuperação de **64**. Desta forma, nestes estudos, as tentativas para obtenção de **61** foram infrutíferas.

Tabela 3: Variação das condições reacionais e rendimentos observados dos sub-produtos **64** e **65**, durante as tentativas de preparação de **61**.

		Produto dissustituído (65)	Produto de eliminação (64)
		%	%
DMF	90°C	6,6	69,4
	110°C	6,8	56
DMSO	90°C	8,5	57,4
	110°C	11,6	76,5
HMPA	90°C	7,4	57
	110°C	12,7	69,7

A obtenção de **61** foi também investigada em diferentes temperaturas com a finalidade de reduzir a competição entre as reações S_N2 e E2. Inicialmente, a mistura de 1:10 equivalentes entre **60** e NaN_3 em DMF anidro foi mantida à temperatura de 0°C, durante 6 horas. Após acompanhamento por CCD, verificou-se a não formação de quaisquer produtos, sendo o mesmo resultado observado

quando a reação foi realizada a temperatura ambiente por 12 horas. No entanto, a elevação da temperatura a 50°C por 3 horas conduziu apenas à formação do produto de eliminação **64**. Nova tentativa, desta vez, em presença de hexametilfosforamida anidro, nas mesmas condições anteriores, forneceu também o composto **64** como produto principal, no entanto, durante o tempo em que a reação era mantida a temperatura ambiente.

As reações S_N2 possuem um estado de transição envolvendo cinco grupos “ligados” ao carbono α , sendo obviamente mais congestionado estericamente do que o das reações E2, como discutido na seção de introdução (1.8.3). Desta forma, ramificações no carbono ligado ao grupo de saída nucleófilo, ou em carbonos vizinhos, reduzem consideravelmente a velocidade de reação S_N2 devido à dificuldade de aproximação do nucleófilo em relação ao carbono no qual ocorre a substituição, antes mesmo da formação do estado de transição. Entretanto, a reação por E2 é favorecida pelas ramificações visto que o estado de transição apresenta caráter de alceno o qual é estabilizado pelo maior número de substituições (figura 16).

Figura 16: Representação dos estados de transição para os mecanismos S_N2 e E2.

Observando a estrutura de **60** temos em posições β , C-2 e C-4, vizinhas aos carbonos ligados aos grupos de saída O-Ms em C-1 e C-5, a presença de substituintes benziloxi volumosos eletronegativos. Esses substituintes afetam,

possivelmente, a velocidade da reação por S_N2 devido a fatores estérico, promovendo impedimento estérico, dificultando o ataque do grupo azido e a saída do grupo nucleóforo O-Ms.

A **figura 17** mostra a posição relativa dos grupos substituintes mesiloxi e benziloxi no sistema cicloexano, após minimização de energia por mecânica molecular (programa Hyperchem). O grupo O-Bn em C-3 projeta-se, em posição equatorial, para uma região distante do cicloexano, o qual não justificaria o impedimento espacial imposto na reação de substituição S_N2 . No entanto, a ligação livre do grupo metilênico O-Bn pode, eventualmente, permitir que este posicione sua nuvem π em região oposta ao da figura 16, projetando-se para a face superior ao cicloexano e interferindo com a aproximação do grupo azido.

Figura 17: Estrutura tridimensional com visão frontal a partir do C-1 de **60** mostrando a posição espacial do substituinte volumoso benziloxi em C-3, em posição equatorial, distante do anel cicloexano.

O trabalho apresentado mostra que a transformação química de grupos substituintes, no sistema cicloexano poli-funcionalizado, pode ser complexa e a

competição entre reações S_N2 e $E2$ é de difícil controle cinético, alterando a velocidade das reações.

Diversas modificações ainda podem ser realizadas para preparação de **61**, como por exemplo, utilização grupos abandonadores mais potentes, como trifluorometanossulfonatos, ou mesmo empregando nucleófilos neutros, como amônia e hidrazina em condições de catálise. A inversão das últimas etapas do **esquema 10**, pela reação de hidrogenólise dos grupos benzílicos de **60** e posterior substituição por azido poderá ser testada e confirmar a influência estérica do grupo protetor nas tentativas de geração de 2-desoxiestreptamina (**16**).

Conclusões

5. CONCLUSÕES

A preparação do carba-açúcar **46**, através de metodologia anteriormente utilizada no laboratório, a partir do reagente comercial **52**, foi realizada com sucesso, fornecendo os isômeros α e β com rendimento total de 20%. O aprimoramento desta rota sintética tem sido realizado com auxílio de radiação por microondas para aumento do rendimento e diminuição do tempo reacional.

A síntese da 2-desoxiestreptamina (**16**), utilizando **46** como precursor, a princípio planejada em seis etapas, foi reduzida para quatro etapas com eliminação da reação de proteção de **46** e desproteção de **58**. Nesta nova abordagem o rendimento obtido nas duas primeiras etapas foi bastante razoável, no total de aproximadamente 70%. No entanto, o emprego do intermediário inédito **60** na reação de dupla substituição nucleofílica S_N2 de grupos metanossulfonila por azido não forneceu os resultados esperados. O produto freqüentemente obtido, composto **64**, foi resultante da reação de eliminação, possivelmente por mecanismo E2, gerado em rendimentos razoáveis em torno de 70%, em diferentes condições experimentais. Nestas tentativas, a substituição de solvente prótico por aprótico conduziu à formação de um novo produto, **65**, em pequena proporção (6-13%) resultante da dissustituição dos grupos nucleófugos de **60** por diazido, mas com características estruturais diferentes do produto de interesse *meso* **61**. A análise detalhada de **65** revelou a presença de uma estrutura assimétrica e, portanto, com pureza quiral, sendo um dos grupos azido gerado em posição equatorial e outro axial, de acordo com os desdobramentos de sinais característicos no espectro de RMN H^1 . Uma explicação factível para a introdução de um nucleófilo em carbono do cicloexano com manutenção da configuração inicial envolve o mecanismo de substituição S_N1 ,

entretanto, o carbono secundário que sofre a substituição não possui grupos diretamente ligados, capazes de estabilizar um carbocátion como observado em S_N1 .

Os produtos obtidos nas diversas etapas reacionais foram purificados e caracterizados pela análise dos espectros de RMN de H^1 e C^{13} , COSY e HMQC, massas, IV, além do emprego de técnicas cromatográficas.

As atividades realizadas, durante este período, cumprem, razoavelmente, o estabelecido no cronograma inicialmente proposto. O desenvolvimento das etapas restantes do trabalho será realizado em diferentes condições, sendo prioritário o emprego de grupos nucleófilos mais potentes para conversão de **60** em **61**. Os produtos interessantes e inéditos sintetizados trabalho serão reduzidos e desprotegidos (**64** e **65**) para utilização nos ensaios biológicos.

Referências Bibliográficas

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHAMBERS, H. F.; SANDE M. A.; Fármacos antimicrobianos (CONTINUAÇÃO): Os Aminoglicosídeos. In: GOODMAN & GILMAN, (eds.) **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 9.ed, Rio de Janeiro - RJ, McGrawHill, cap. 46, p. 812-825, 1996.
2. GRINGAUZ, A.; Antimicrobial Drugs I. **Introduction to Medicinal Chemistry**, cap. 6, p. 247-255, 1997.
3. THOMAS, G. et all. Bacterial Protein Synthesis Inhibitors (Antimicrobial). **Medicinal Chemistry: An Introduction**, cap. 10, p. 392-395, 2000.
4. HERMANN, T.; WESTHOF, E. Aminoglycoside binding to the hammerhead ribozyme: A general model for the interaction of cationic antibiotics with RNA **Journal of Molecular Biology**, v.276, p.903-912, 1998.
5. MAGNET, S., BLANCHARD, J. S. Molecular Insights into Aminoglycosides Action and Resistance. **Chemical Reviews**, v.105, p.477-497, 2005.
6. JANA S.; DEB J. K. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.70, p.140-150, 2006.
7. SILVA, J. G.; CARVALHO, I. New insights into aminoglycoside antibiotics and derivatives. **Current Medicinal Chemistry**, v.14, p.1101-1119, 2007.
8. WILLIAMS D.A., LEMKE T.L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**, 5^a ed. 2002.
9. MARTIN, A. R.; Antibacterial antibiotics. In: DELGADO, J.N.; and REMERS, W.A. (eds.) **Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, 5.ed, Philadelphia, Lippincott-Raven, cap.10, p. 291-299, 1998.
10. WONG C H. **Carbohydrate-based Drug Discovery**, Vol. 2, Wiley-VCH GmbH & Cc. KGaA, Germany, cap.18, p.483-498, 2003.
11. HAINRICHSON M.; POKROVSKAYA V.; SHALLOM-SHEZIFI D.; FRIDMAN M.; BELAKHOV V.; SHACHAR D.; YARON S.; BAASOV T. Branched Aminoglycosides: Biochemical studies and antibacterial activity of neomycin B derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.13, p.5797-5807, 2005.
12. SUCHECK S. J.; WONG A. L.; KOELLER K. M.; BOEHR D. D.; DRAKER K. A.; SEARS P.; WRIGHT G. D.; WONG C. H. Design of Bifunctional Antibiotics that Target Bacterial rRNA and Inhibit Resistance-Causing Enzymes **Journal of the American Chemical Society**, v.122, p.5230-5231, 2000.
13. LIANG C. H.; ROMERO A.; RABUKA D.; SGARBI P. W. M.; DUFFIELD J.; YAO S.; CHENG M. L.; ICHICAWA Y.; SEARS P.; HU C.; HWANG S-B, SHUE Y-K, SUCHECK S. J. Structure-activity relationships of bivalent aminoglycosides and evaluation of their microbiological activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.15, 2123-2128, 2005.

14. <http://doencaspatologicas.no.comunidades.net/> 2008
15. CORRADO, A. P.; PIMENTA DE MORAIS, I.; PRADO, W. A.; Aminoglycoside antibiotics as a tool for the study of the biological role of calcium. **Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana**, v.39, p.419-430, 1989.
16. OWADA, K.; Experimental studies on the toxicity of kanamycin, its hydrolyzed products and neomycin. **Chemotherapy**, v.5, p.277-293, 1962.
17. KOTECHEA, B.; RICHARDSON, G. P. Ototoxicity in vitro: effects of neomycin, gentamicin. Dihydrostreptomycin, amikacin, spectinomycin, neamine, spermine and poly-L-lysine. **Hering Research**, v.73, n.2, p.173-174, 1994.
18. NAKASHIMA, T.; TERANISHI, M.; HIBI, T.; KOBAYASHI, M. UMEMURA, M. Vestibular and Cochlear Toxicity of Aminoglycosides - A review. **Acta Otolaryngologica**, v.120, p.904-911, 2000.
19. SELIMOGLU, E.; KALKANDELEN, S.; ERDOGAN, F. Comparative vestibulotoxicity of different aminoglycosides in the guinea pigs. **Yonsei Medical Journal**, v.44, n.3, p. 517-522, 2003.
20. LIMA, A. L. C. M.; MARSEILLAN, R. F.; CORRADO, A. P. Aminoglycoside antibiotics: structure-toxicity relationship. **Symposia of the Giovanni Lorenzini Foundation**, v.10 (New Trends Antibiot.: Re. Ther.), p. 274-276, 1981.
21. LESNIAK, W.; PECORARO, V. L.; SCHACHT, J. Ternary Complexes of Gentamicin with Iron and Lipid Catalyze Formation of reactive Oxygen Species. **Chemical Research in Toxicology**, v.18, n.2, p.357-364, 2005.
22. FISCHER-GHODSIAN, N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity. **Pharmacogenomics**, v.6, n.1, p.27-36, 2005.
23. VAKULENKO, S. B.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for the future. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.3, p.430-450, 2003.
24. WRIGHT, G. D. Bacterial Resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.57, p.1451-1470, 2005.
25. TABER, H. W.; MUELLER, J. P.; MILLER, P. F.; ARROW, A. S. Bacterial uptakes of aminoglycoside antibiotics. **Microbiological Reviews**, v.51, p.439-457, 1987.
26. HANCOCK, R. E. Alterations in outer membrane permeability. **Annual Review Microbiology**, v.38, p.237-264, 1984.
27. BRYAN, L. E.; KOWAND, S. K.; VAN DEL ELZEN, H. M. Mechanism of Aminoglycoside Antibiotic Resistance in Anaerobic Bacteria: *Clostridium perfringens* and *Bacteroides fragilis*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.15, n.1, p.7-13, 1979.
28. BALWIT, J. M.; VAN LANGEVELDE, P.; VANN, J. M.; PROCTOR, R. A. Gentamicin-resistant menadione and hemin auxotrophic *Staphylococcus aureus*

persist within cultured endothelial cells. **The Journal of Infectious Diseases**, v.170, p.1033-1037, 1994.

29. WATANABE, A.; NAGAI, J.; ADACHI, Y.; KATSUBE, T.; KITAHARA, Y.; MURAKAMI, T.; TAKANZ, M. Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists. **Journal of Controlled Release**, v.95, p.423-433, 2004.

30. LEVINGS, R. S.; PARTRIDGE, S. R.; LIGHTFOOT, D.; HALL, R. M.; DJORDJEVIC, S. P. New integron-associated gene cassette encoding a 3-*N*-aminoglycoside acetyl-transferase. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.49, p.1238-1241, 2005.

31. MCKAY, G. A.; WRIGTH, G. D. Kinetic mechanism of aminoglycoside phosphotransferase type IIIa: evidence for a Theorell-Chance mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v.270, p.24686-24692, 1995.

32. LACOUR, M.; BARTHELEMY, J.; BOREL, L.; MAGNAN, J.; XERRI, C.; CHAYS, A.; OUAKNINE, M. Sensory strategies in human postural control before and after unilateral vestibular neurectomy. **Experimental Brain Research**, v.115, n.2, p.300-310, 1997.

33. HONRUBIA, V. Pathophysiology of Meniere's disease. *Meniere's Disease*, Harris JP, 231-260, 1999.

34. RAUCH, S. D.; MERCHANT, S. N.; THEDINER, B. A. Meniere's syndrome and endolymphatic hydrops: double blind temporal bone study. **Annals of Otolaryngology and Laryngology**, v.98, n.11, p.873-883, 1989.

35. <http://www.tchain.com/otoneurology/disorders/menieres/menieres.html> 2006.

36. BLACK, F. O.; EFFRON, M. Z.; BURNS, D. S. Diagnosis and management of drop attacks of vestibular origin: Tumarkin's otolithic crisis. **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**, v.90, p.256-262, 1982.

37. ISHIYAMA, G.; ISHIYAMA, A.; BALOH, R. W. Drop Attacks and Vertigo Secondary to a Non-Meniere Otologic Cause. **Archives of Neurology**, v.60, p.71-75, 2003.

38. CASANI, A.; NUTI, D.; FRANCESCHINI, S. S. et al. Transtympanic Gentamicin and Fibrin Tissue Adhesive for Treatment of Unilateral Meniere's Disease: Effects on Vestibular Function. **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**, v.133, p.929-935, 2005.

39. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. – Oxygen free radicals and iron in relation on biology and medicine: some problems and concepts. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, v.246, p.501-514, 1986.

40. DULON, D.; ZAJIC, G.; SCHACHT, J. Differential motile response of isolated inner and outer hair cells to stimulation by potassium and calcium ions. **Hearing Research**, v.52, p.225-232, 1991.

41. OLIVEIRA, J. A. A.; ROSSATO, M.; ANSELMO-LIMA, W. T. Células ciliadas isoladas em cultura: um novo modelo para estudo da ototoxicidade. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.61, p.70-78, 1995.
42. WANG, H.; PRIUSKA, E.M.; SCHACHT, J. The iron embrace: exposing the secret activities of gentamicin. **Abstracts Association Research Otolaryngology**, p.19-29, 1996.
43. BUSSCHER, G. F.; RUTJES, F. P. J. T.; van DELFT, F. L. 2-deoxystreptamine: Central Scaffold of Aminoglycoside Antibiotics. **Chemical Reviews**, v.105, n.3, p.775-791, 2005.
44. LEACH, B. E.; TEETERS, C. M. Neamine, an Antibacterial Degradation Product of Neomycin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, p.2794-2797, 1951.
45. PECK, R. L.; HOFFHINE, C. E.; GALE, P.; FOLKERS, K. Streptomyces Antibiotics. XXIII. Isolation of Neomycin A. **Journal of the American Chemical Society**, v.71, p.2590-2591, 1949.
46. LEACH, B. E.; TEETERS, C. M. The Identity of Neamine and Neomycin A. **Journal of the American Chemical Society**, v.74, p. 3187-3188, 1952.
47. KUEHL, F, A.; BISHOP, M. N.; RAHWAY, N. J. FOLKERS, K. Streptomyces Antibiotics. XXIII. 1,3-diamino-4,5,6-trihydroxycyclohexane from Neomycin A **Journal of the American Chemical Society**, v.73, p.881-882, 1951.
48. NAKAJIMA, M.; HASEGAWA, A.; KURIHARA, N. Synthesis of 2-deoxystreptamine. **Tetrahedron Letters**, v.5, p.967-972, 1964.
49. NAKAJIMA, M.; HASEGAWA, A.; KURIHARA, N. Zur Chemie Des Benzolglykols.14. Synthese Des 2-Desoxy-Streptamins Und Des (+-)-Hyosamins. **Annalen Der Chemie-Justus Liebig**, v.689, p.235, 1965.
50. NAKAJIMA, M.; HASEGAWA, A.; KURIHARA, N.; SHIBATA, H.; UENO, T.; NISHIMUR, D. Total synthesis of kanamycin-A. **Tetrahedron Letters**, v.9, p.623-627, 1968.
51. OGAWA, S.; ABE, T.; SANO, H.; KOTERA, K.; SUAMI, T. Aminocyclitols .14. Synthesis of Streptamine And Actinamine. **Bulletin of The Chemical Society of Japan**, v.40, p.2405, 1967.
52. PRINZBACH, H.; KELLER, R.; SCHWESINGER, R. Simple and Productive Total Syntheses of 2-Deoxystreptamine and (+Or-)-Hyosamine. **Angewandte Chemie-International Edition In English**, v.14, p.632-633, 1975.
53. SCHUBERT, J.; KELLER, R.; SCHWESINGER, R.; PRINZBACH, H. Polyfunctionalised Cyclohexanes From Dianhydroinositols - Cis-1,3(1,4)-Inosdiamines From Benzene. **Chemische Berichte-Recueil**, v.116, p.2524-2545, 1983.

54. KÜHLMAYER, R.; KELLER, R.; SCHWESINGER, R.; NETSCHER, T.; FRITZ, H.; PRINZBACH, H. Polyfunctionalized Cyclohexanes from Dianhydrodeoxyinositols - Cis-Deoxy-1,3(1,4)-Inosadiazines from Benzene. **Chemische Berichte-Recueil**, v.117, p.1765-1800, 1984.
55. BUSSCHER, G. F.; GROOTHUYS, S.; de GELDER, R.; RUTJES, F. P. J. T.; van DELFT, F. L. Efficient Preparation of a 1,3-Diazidocyclitol as a Versatile 2-Deoxystreptamine Precursor. **Journal of Organic Chemistry**, v.69, p.4477-4481, 2004.
56. GEORGIADIS, M. P.; CONSTANTINOUKOKOTOU, V.; KOKOTOS, G. Synthesis of Amino-Acid Derivatives of Neamine and 2-Deoxystreptamine to be used as Mutasynthons. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v.10, p.739-748, 1991.
57. ORSAT, B.; ALPER, P. B.; MOREE, W.; MAK, C. P.; WONG, C. H. Homocarbonates as Substrates for the Enantioselective Enzymatic Protection of Amines. **Journal of the American Chemical Society**, v.118, p.712-713, 1996.
58. GREENBERG, W. A.; PRIESTLEY, E. S.; SEARS, P. S.; ALPER, P. B.; ROSENBOHM, C.; HENDRIX, M.; HUNG, S. C.; WONG, C. H. Design and Synthesis of New Aminoglycoside Antibiotics Containing Neamine as an Optimal Core Structure: Correlation of Antibiotic Activity with in Vitro Inhibition of Translation. **Journal of the American Chemical Society**, v.121, p.6527-6541, 1999.
59. CANAS-RODRIGUEZ, A.; RUIZ-POVEDA, S. G.; GOMEZ-SANCHEZ, A.; E. BLANCO GONZALEZ, E. B. 5,6-O-cyclohexylidene and 5,6-O-cyclohexylidene-1,3-di-N-methoxycarbonyl Derivatives of 2-deoxystreptamine **Carbohydrate Research**, v.59, p.240-243, 1977.
60. TONA, R.; BERTOLINI, R.; HUNZIKER, J. Synthesis of Aminoglycoside-modified Oligonucleotides. **Organic Letters**, v.2, p.1693-1696, 2000.
61. YOSHIKAWA, M.; IKEDA, Y.; KAYAKIRI, H.; KITAGAWA, I. Reductive One-Step Elimination of An Acetoxyl Residue at Beta-Position Of A Nitro-Group - Syntheses of (-)-Shikimic Acid from D-Mannose and 2-Deoxystreptamine Pentaacetate from N-Acetyl-D-Glucosamine. **Heterocycles**, v.17, p.209-214, 1982.
62. BAER, H. H.; ARAI, I.; RADATAUS, B.; RODWELL, J.; CHINH, N. A Chiral Approach to 2-Deoxystreptamine. **Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie**, v.65, p.1443-1451, 1987.
63. DA SILVA, E. T.; LE HYARIC, M.; MACHADO, A. S.; ALMEIDA, M. V. An efficient synthesis of protected 2-deoxy-streptamine and analogues. **Tetrahedron Letters**, v.39, p.6659-6662, 1998.
64. BUSSCHER, G. F.; RUTJES, F. P. J. T.; van DELFT, F. L. Synthesis of a protected enantiomerically pure 2-deoxystreptamine derivative from D-allylglycine. **Tetrahedron Letters**, v.45, p.3629-3632, 2004.
65. DE ALMEIDA, M. V.; DA SILVA, E. T.; LE HYARIC, M.; MACHADO, A. S.; SOUZA, M. V. N.; SANTIAGA, R. M. Synthesis of Protected EPI-2-deoxystreptamine and Analogs. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, v.22, p.733-742, 2003.

66. LIDSTRÖM, P.; TIERNEY, J.; WATHEY, B.; WESTMAN, J. Microwave assisted organic synthesis – a review. **Tetrahedron**, v.57, p.9225-9283, 2001.
67. DAS, S. K. Application of microwave irradiation in the synthesis of carbohydrates. **Synlett**, v.06, p.915-932, 2004.
68. PELYVÁS, I. F.; MONNERET, C.; HERCZEGH, P. **Synthetic Aspects of Aminodeoxy Sugars of Antibiotics**, Springer-Verlag, Germany, cap.2, p.25-59, 1988.
69. HABERFIELD, P.; NUDELMAN, A.; BLOOM A.; ROMM R.; GINSBERG H.; STEINHERZ P. Rate of Enhancement of S_N2 Reactions in Dipolar Aprotic Solvents. The Importance of Transition-state Solvation. **Chemical Communications**, p.194-195, 1968.
70. WU M.C.; ANDERSON L.; SLIFE C. W.; JENSEN L. J. Effect of Solvent, Temperature, and Nature of the Sulfonate Group on the Azide Displacement Reaction of Sugar Sulfonates. **Journal of Organic Chemistry**, Vol. 39, p. 3014-3020, 1974.
71. HILL J.; HOUGH L.; RICHARDSON A. C. Nucleophilic replacement reactions of sulphonates. Part I. The preparation of derivativeis of 4,6-diamino-4,6-dideoxy-d-glucose and -d-galactose. **Carbohydrate Research**, v. 8, p. 7-18, 1968.
72. RICHARDSON A. C. Nucleophilic replacement reactions of sulphonates. Part VI. A summary of s-eric and polar factors. **Carbohydrate Research**, v. 10, p. 395-402, 1969.
73. ALI Y.; RICHARDSON A. C. Nucleophilic Replacement Reactions of Sulphonates. Part III. The Synthesis of Derivatives of 2,3,4,6-Tetra-amino-2,3,4,6-tetradeoxy-D- galactose and -D-idose. **Journal of Chemical Society**, p. 1764-1769, 1968.
74. ALI Y.; RICHARDSON A. C. Nucleophilic Replacement Reactions of Sulphonate Esters. Part V. The Synthesis of Derivatives of 2,3,4,6-Tetra-amino-2,3,4,6-tetradeoxy-D –glucose. **Journal of Chemical Society**, p. 320-329, 1969.
69. WILSTERMANN, M.; MAGNUSSON, G. Synthesis of Disaccharide Glycosyl Donors Suitable for Introduction of the β -D-Gal *p*-(1 $\rightarrow$ 3)- α - and - β -D-Gal *p*NAc Groups. **Carbohydrate Research**, v.272, p.1-7, 1995.
70. DENNISON, J. C.; MCGILVRAY, D. I. 4 : 6-Dimethyl β -Methylglucoside and Some Derivatives of β -Methylglucoside. **Journal of Chemical Society**, p.1616, 1951.
71. MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure**, 4a. edição, Ed. John Wiley & Sons, New York, 1992.
72. LIPTÁK, A.; JODÁL, I.; NÁNÁSI, P. Stereoselective Ring-cleavage of 3-O-benzyl- and 2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzylidenehexopyranoside Derivatives with the LiAlH₄-AlCl₃ Reagent. **Carbohydrate Research**, v.44, p.1-11, 1975.

73. GAREGG, P. J.; SAMUELSSON, B. Novel Reagent System for converting a Hydroxy-group into an Iodo-group in Carbohydrates with Inversion of Configuration. **Journal of Chemical Society, Perkin Trans 1**, p.2866-2869, 1980.
74. MCAULIFFE, J. C.; STICK, R. V. β -Acarbose. I The Synthesis of 1-Epivalienamine. **Australian of Journal Chemistry**, v.50, p.193-196, 1997.
75. SEMERIA, D.; PHILIPPE, M.; DELAUMENY, J.; SEPULCHRE, A.; GERO, S. D. A General Synthesis of Cyclitols and Aminocyclitols from Carbohydrates. **Synthesis-Stuttgart**, n.9, p.710-713, 1983.
76. CHIDA, N.; OHTSUKA, M.; OGURA, K.; OGAWA, S. Synthesis of Optically Active Substituted Cyclohexenones from Carbohydrates by Catalytic Ferrier Rearrangement. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v.64, p.2118-2121, 1991.
77. CARVALHO, I.; MELO, E. B. Synthesis of (+)-(2R,3S,4R)-2,3,4-trihydroxycyclohexanone from D-glucose. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 2, p. 361-365, 2004.
78. BLATTNER, R.; FERRIER, R. J. Direct synthesis of 6-oxabicyclo[3.2.1]octane derivatives from deoxyinoses. **Carbohydrate Research**, v.150, p.151-162, 1986.
79. OGAWA, S.; ISAKA, A. Synthesis of several optically active O-methyl-inosamines and -inosdiamines from L-quebrachitol. **Carbohydrate Research**, v.210, p. 105-123, 1991.

Anexos

ANEXOS

ANEXO 1: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto (3/2,4)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanona (**46**).

ANEXO 2: Espectro na região do infravermelho do composto (3/2,4)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-ciclohexanona (**46**).

ANEXO 3: Espectro de massas do composto (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (**59**) (ESI-TOF calculado para $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + H^+]$: 435,2171; encontrado: 435,2384, $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + Na^+]$: 457,1990; encontrado: 457,2238, $C_{27}H_{30}O_5$ $[M + K^+]$: 473,1730; encontrado: 473,1970).

ANEXO 4: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do composto (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-5-hidroxi-cicloexanol (**59**).

ANEXO 5: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do composto (3/1,2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-di-O-metilsulfonil-cicloexano (**60**).

ANEXO 7: Espectro na região do infravermelho do composto (1,3/2,4)-2,3,4-tri-O-benzil-1-azido-cicloexeno (**64**).

ANEXO 8: Espectro de massas do composto (1,3/2,4)-2,3,4-tri-O-benzil-1-azido-cicloexeno (**64**) (ESI-TOF calculado para $C_{27}H_{27}N_3O_3$ $[M + Na^+]$: 464,195; encontrado: 464,2016, $C_{27}H_{27}N_3O_3$ $[M + K^+]$: 480,1689; encontrado: 480,1745).

ANEXO 9: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do composto (1,3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-diazido-cicloexano (**65**).

ANEXO 10: Espectro de massas do composto (1,3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-diazido-cicloexano (**65**) (ESI-TOF calculado para $C_{27}H_{28}N_6O_3$ $[M + Cl]^-$: 519,1911; encontrado: 519,2058).

ANEXO 11: Espectro na região do infravermelho do composto (1,3/2,4,5)-2,3,4-tri-O-benzil-1,5-diazido-cicloexano (**65**).