



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO



**Semi-síntese e avaliação biológica de naftoquinonas e
flavonóides glicosilados contra *Trypanosoma cruzi***

Carolina Borges Tersi

Ribeirão Preto, 2022

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Semi-síntese e avaliação biológica de naftoquinonas e flavonóides
glicosilados contra *Trypanosoma cruzi***

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do título de mestre em Ciências.

Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientada: Carolina Borges Tersi.

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Carvalho

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado ou Tese de Doutorado Direto apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 27/10/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto, 2022

RESUMO

TERSI, C.T. Semi-síntese e avaliação biológica de naftoquinonas e flavonóides glicosilados contra *Trypanosoma cruzi*. 136f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

As doenças infecciosas negligenciadas afetam milhares de pessoas em diversas regiões do planeta, principalmente a América Latina. Essas doenças estão restritas a regiões tropicais e subtropicais com saneamento inadequados e condições de habitação precárias. Uma das principais doenças consideradas negligenciadas é a Doença de Chagas, uma zoonose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, o qual apresenta em seu ciclo evolutivo as formas epimastigota; tripomastigota e amastigotas. A Doença apresenta as fases aguda, crônica indeterminada e crônica. Infelizmente, apesar de existir financiamento para as pesquisas relacionadas a estas doenças, o estudo não é convertido em avanços terapêuticos através do desenvolvimento de novos fármacos, devido ao baixo interesse da Indústria Farmacêutica, fato que é justificado pelo baixo retorno lucrativo, uma vez que a população atingida é de baixa renda. Por isso, pesquisas por compostos naturais têm se intensificado e a possibilidade de encontrar uma molécula com elevada atividade e baixa toxicidade está aumentando à medida que maior número de espécies de plantas é investigado. Vários produtos naturais derivados de lactonas sesquiterpênicas, esteróides, flavonóides e naftoquinomas foram capazes de inibir a forma tripomastigota de *T. cruzi*, e entre as duas últimas classes de compostos, vale destacar quercetina e juglona com atividade tripanocida. Desta forma, o objetivo deste projeto é realizar a modificação química de produtos naturais, explorando as reações de glicosilação de quercetina (flavonóides) e juglona (naftoquinona) com carboidratos, com o intuito de elevar a atividade tripanocida, reduzir a toxicidade e melhorar as propriedades farmacocinéticas destes compostos. Embora vários doadores de glicosídeos e aglicona de quercetina, contendo diferentes grupos protetores, tenham sido testados, melhores resultados foram obtidos com haletos de glicosila (**9**, **10** e **18**) e quercetina cetal-difenilmetano (**4**). Desta forma, quercetina cetal-difenilmetano **4** com acetobromogalactose (**10**), foram obtidos os compostos 3,7-di-*O*- β -D-galactosídeo (**20**) e 7-*O*- β -D-galactosídeo (**21**) de quercetina. Resultados semelhantes foram obtidos com o doador acetobromoglicose (**9**), com a formação dos compostos 7-*O*- β -D-glicosídeo (**22**) e 3,7-di-*O*- β -D-glicosídeo (**23**) de quercetina em rendimentos moderados. E com o doador cloreto de *N*-acetilglicosamina (**18**), foram obtidos os compostos 7-*O*- β -D-glicosídeo de *N*-acetilglicosamina (**24**) e 3,7-di-*O*- β -D-glicosídeo de *N*-acetilglicosamina (**25**) de quercetina. Sendo assim, os próximos passos envolveram a desproteção dos produtos, os quais serão enviados, parcial ou totalmente desprotegidos, para os testes de atividade biológica nas formas infectantes tripomastigota e amastigota, além da avaliação da atividade na enzima *trans*-sialidase.

Palavras-chave: 1. Produtos naturais 2. Glicosilação 3. Doença de Chagas 4. Semi-síntese 5. Açúcar 6. Síntese de Carboidratos.

ABSTRACT

TERSI, C.T. Semi-syntheses and biological evaluation of glycosilated naphthoquinone and flavonoid against *Trypanosoma cruzi*. 136p. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Neglected infected diseases affect thousand people worldwide, mainly in Latin Almerica. These diseases are restricted to tropical and subtropical regions with inadequate sanitation and poor housing conditions. One of the main neglected diseases is Chagas Disease, which is a zoonosis caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*, which presents in its evolutionary cycle the epimastigote, trypomastigotes and amastigotes forms. The progress of the disease involves acute, chronic indeterminate and chronic phases. Unfortunately, although there is investment for research in this area, the study is not translated into therapeutic advances through the development of new drugs, due to the low interest of Phamaceutical Industry, a fact that is justified by the low profit return, since the population has low income. Therefore, the search for natural compounds has intensified and the possibility of finding a molecule with high activity and low toxicity is increasing as more species of plants are investigated. Several natural products derived from sesquiterpene lactones, steroids, flavonoids and naphthoquinomes were able to inhibit the trypomastigote form of *T. cruzi*, and among the last two classes of compounds it is worth mentioning quercetin and juglone with trypanocidal activity. Therefore, the objective of this project is to perform the chemical modification of natural products, exploring glycosylation reactions of quercetin (flavonoids) and juglone (naphthoquinone) with differents carbohydrates, to enhance the trypanocidal activity, reduce the toxicity and improve the pharmacokinetics properties of these compounds. Although several glycoside donors and quercetin aglycone, containing different protective groups, were tested, better results were accomplished with glycosyl halides (**9**, **10** and **18**) and quercetin ketal-diphenylmethane (**4**). Thus, quercetin 3,7-di-*O*- β -D-galactoside (**20**) and Quercetin 7-di-*O*- β -D-galactoside (**21**) were obtained using quercetin ketal-diphenylmethane (**4**) with acetobromogalactose (**10**). Similar results were obtained with acetobromoglucose (**9**), with the formation of quercetin compounds 7-*O*- β -D-glucoside (**22**) and 3,7-di-*O*- β -D-glucoside (**23**) in moderate yields. On the other hand, the synthesis of compounds 7-*O*- β -D-glycoside of *N*-acetylglucosamine (**24**) and 3,7-di-*O*- β -D-glycoside of *N*-acetylglucosamine (**25**) were achieved from the glycosylation of quercetin **4** with donor *N*-acetylglucosamine chloride (**18**). On going work involved the product deprotection, which will be sent, partial or completely deprotected, to biological evaluation in the infective trypomastigote and amastigote forms, in addition to *trans*-sialidase enzyme.

Keywords: 1.Natural Products 2. Glycosilation 3. Chagas Disease 4. Semi-syntheses 5. Sugar 6. Carbohydrate Synthesis.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença de Chagas

As doenças infecciosas negligenciadas, também são consideradas doenças tropicais endêmicas, afetam milhares de pessoas em diversas regiões do planeta e as principais populações atingidas são aquelas de baixa renda. Essas doenças estão restritas a regiões tropicais e subtropicais com água não tratada, higiene e saneamento inadequados e condições de habitação precárias, sendo que as pessoas que vivem nessas áreas estão em maior risco. Acabam se tornando um grande problema de saúde pública devido à falta de atenção pelos governos e indústrias farmacêuticas. Atualmente, são vinte doenças que compõem o grupo das doenças tropicais negligenciadas da OMS (Organização Mundial da Saúde) (FERREIRA e ANDRICOPULO, 2019; MALECELA e DUCKER, 2021).

São consideradas doenças negligenciadas: Malária, Doença de Chagas, Leishmaniose, Filariose Linfática, Dengue, Esquistossomose, Tracoma, Tripanossomíase humana Africana (Doença do Sono), Teníase e Neurocisticercose, Hanseníase, Raiva, entre outras.

Em 1999, o *DNDi* (sigla em inglês de “*Drugs for Neglected Diseases initiative*”) surgiu como uma iniciativa visando o desenvolvimento de medicamentos para tratamento de doenças negligenciadas e representa uma organização de Pesquisa e Desenvolvimento, sem fins lucrativos, que estuda tratamentos seguros e eficazes para estas doenças (em particular para a Doença de Chagas, Leishmaniose, Doença do Sono, HIV pediátrico, Hepatite C, Filarioses e Micetoma).

Infelizmente, segundo o Ministério da Saúde (2010), apesar de existir financiamento para as pesquisas relacionadas às doenças negligenciadas, o estudo não é convertido em avanços terapêuticos significativos pelo desenvolvimento de novos fármacos, diagnósticos e vacinas. Este fato é, principalmente, devido ao baixo interesse da Indústria Farmacêutica com baixo retorno lucrativo, uma vez que a população atingida é de baixa renda. Com iniciativas do *DNDi* que promovem novas pesquisas e possibilidades de tratamentos, é possível uma melhoria na expectativa de vida dos indivíduos que convivem com a enfermidade, por meio de medicamentos mais seguros e eficazes.

Diversas ações foram realizadas, com progressos significativos, por parte da OMS, como programas de prevenção, melhoria de condições sanitárias e acessos terapêuticos acessíveis, e hoje, 500 milhões de pessoas não precisam mais de intervenções contra as doenças negligenciadas. No entanto, o fator mais desafiador para controle dessas doenças é encontrar uma terapia potente, rentável e bem adaptável às necessidades dos pacientes (MALECELA e DUCKER, 2021; ALI, COBB e MOWBRAY, 2020).

Atualmente, cerca de 6 a 8 milhões de pessoas estão infectadas na América Latina e calcula-se, anualmente, que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a Doença de Chagas, sendo que neste período, mais de 10 mil pessoas morrem devido às complicações clínicas da doença (OMS, 2022). A **figura 1** mostra a distribuição da Doença de Chagas no mundo, em 2016.

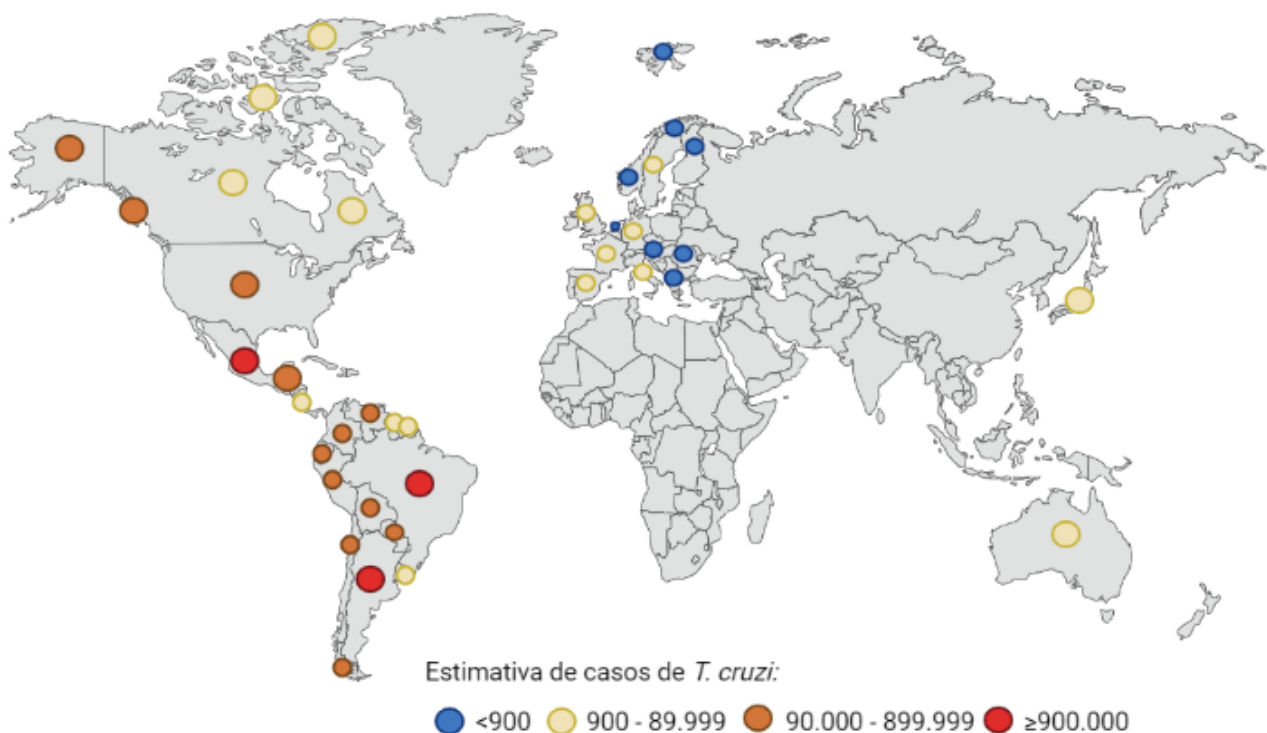


Figura 1. Distribuição de Chagas no Mundo, em 2016 (Adaptado SANTOS *et al.*, 2020).

Há relatos de que a Doença de Chagas surgiu a milhares de anos, possivelmente cerca de 7.000 a.C., pois estudos realizados por pesquisadores em múmias exumadas de sítios arqueológicos no Peru e Chile evidenciaram a presença do cinetoplasto do *T. cruzi* por PCR (ARAÚJO, *et al.*, 2009; CHAO, LEONE e VIGLIANO, 2020).

A Doença de Chagas é uma zoonose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) e é uma doença endêmica que ocorre em quase todos os países da América Latina (BELLOTTI, *et al.*, 1996). Sua descoberta ocorreu em 1909 por Carlos Chagas, o qual observou que a forma de transmissão da doença ocorria por meio da picada do hematófago “Barbeiro”. No ato da picada, o triatomíneo libera o protozoário nas fezes, o hospedeiro ao coçar a região permite com que o parasito entre na corrente sanguínea, contaminando o hospedeiro vertebrado (CHAGAS, 1909). O ciclo evolutivo (**figura 2**) de *T. cruzi* apresenta 3 formas evolutivas, epimastigota (forma de multiplicação do parasito no vetor, mosquito); tripomastigota (forma infectante do parasito, presente nos dois hospedeiros); amastigotas (estágios evolutivos que se multiplicam dentro das células do hospedeiro vertebrado) e a doença é caracterizada pelas fases aguda; crônica indeterminada e crônica (DIAS e COURA, 1997).

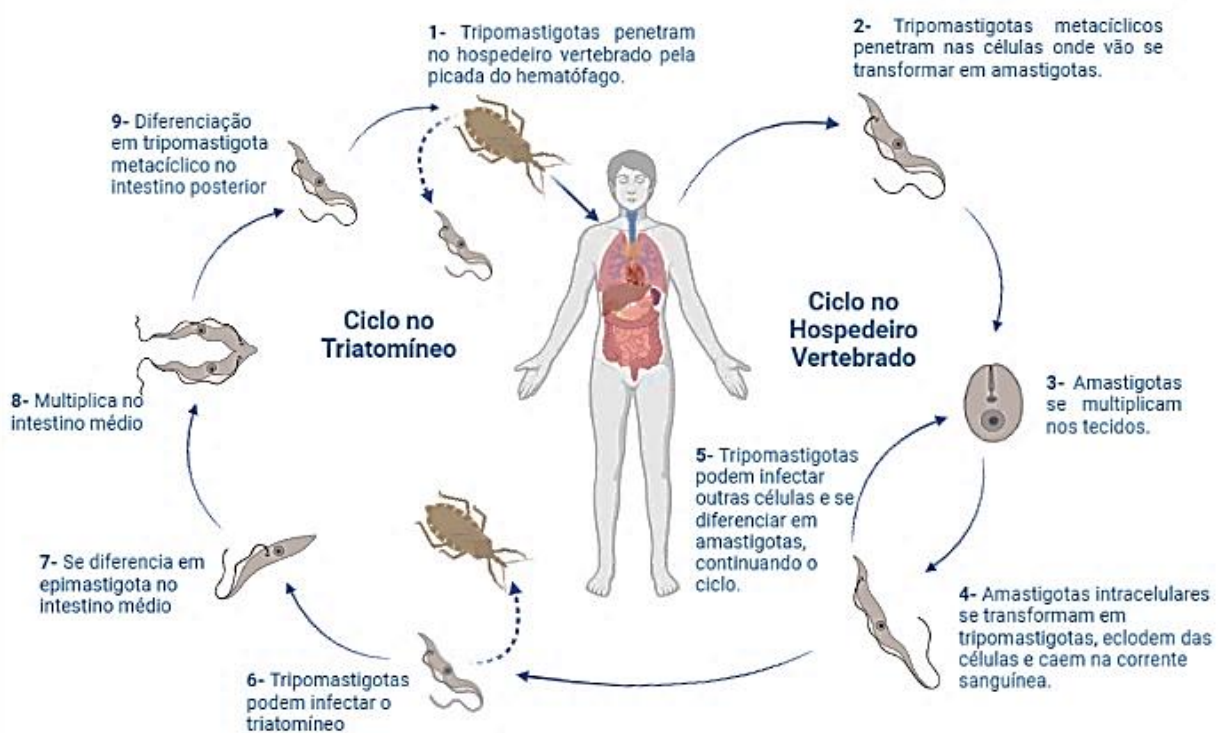


Figura 2. Ciclo evolutivo do parasito *Trypanosoma cruzi* (Adaptado MSDmanuals, 2022).

Na fase aguda, envolvendo as primeiras duas semanas após a infecção, os parasitos invadem as células hospedeiras e se replicam (altos níveis de parasitemia). Apesar do grande número de parasitos no sangue, essa fase não apresenta sintomas graves, muitas vezes podendo ser assintomática. Suas manifestações clínicas são febre leve, linfadenopatia (aumento do baço), hepatoesplenomegalia (aumento do fígado) e

inflamação no local da picada. Após o período de um a dois meses, o organismo desenvolve a imunidade celular, melhorando os sintomas e os parasitos são eliminados do sangue. Nesta etapa da fase crônica da doença, os parasitos permanecem nos músculos do trato gastrointestinal e miocárdio, por anos (baixos níveis de parasitemia). Com isso, ocorre comprometimento visceral (em um período de 10 a 30 anos) como, cardiomiopatia e megavísceras (megaesôfago e/ou megacólon), sendo que em 10% dos casos pode causar polineuropatia (MILLS, 2020; PÉREZ-MOLINA, *et al.*, 2020).

O diagnóstico é diferente em cada fase observada, isso ocorre devido aos níveis da parasitemia. Na fase aguda observamos elevados níveis de parasitemia e, por isso, pode ser diagnosticada por meio de técnicas de biologia celular como o PCR. Já na etapa crônica da doença, em que os níveis de parasitemia são baixos, técnicas de imunologia são utilizadas com diagnóstico baseado em testes de anticorpos IgG positivos, contra diferentes antígenos de *T.cruzi* (DIAS e COURA, 1997; PÉREZ-MOLINA, *et al.*, 2020).

Atualmente, a transmissão vetorial da doença encontra-se em fase controlada, no entanto, observam-se os casos crônicos remanescentes, que apresentam grave problema, principalmente em regiões do país onde o acesso à saúde é complicado. Muitos indivíduos ainda perdem suas vidas, precocemente, por lesões cardíacas causadas pela doença. Hoje, outros mecanismos de transmissão da doença são observados por meio de transfusões de sangue, transmissão vertical mãe contaminada/filho ou até mesmo por via oral, pela ingestão de vetores ou mamíferos infectados, sendo que estes últimos são caracterizados por aparecimento de sintomas agudos e, por vezes, considerados uma forma mais grave da doença (VINHAES e DIAS, 2000; ARAÚJO, *et al.*, 2009).

1.2. Tratamento da Doença de Chagas

Embora contribuam com 11% da incidência de enfermidades no mundo, as chamadas doenças negligenciadas são alvo de uma pequena fração de medicamentos desenvolvidos todos os anos (FERREIRA, e ANDRICOPULO, 2019).

Atualmente, apenas dois fármacos nitroheterocíclicos estão disponíveis para a Doença de Chagas, benznidazol e nifurtimox (**figura 3**), os quais requerem tratamento prolongado (60-90 dias) e são consideradas eficazes, principalmente para a fase aguda, na qual há uma redução de parasitemia, porém a OMS recomenda que o tratamento seja também oferecido para pacientes cronicamente infectados (KRATZ, 2019).

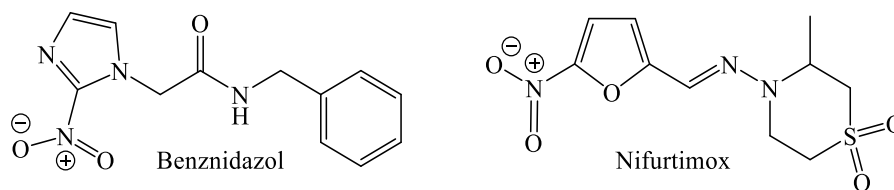


Figura 3. Fármacos utilizados para tratamento da Doença de Chagas.

Com base neste conhecimento da atividade dos compostos 5-nitrofurano contra a forma circulante (tripomastigotas) de *T. cruzi*, em 1961 foram sugeridos esquemas para interromper o ciclo do parasito no hospedeiro e, estudos *in vivo*, indicaram que compostos como nitrofurazona, nifurtimox e benznidazol também eram ativos contra formas teciduais (amastigotas) do parasito. Sendo assim, benznidazol (derivado nitroimidazol) foi lançado em 1971, mostrando sua eficácia semelhante à nitrofurazona, com menos efeitos tóxicos. Estudos clínicos mostraram sua eficácia na fase aguda da doença, porém seus efeitos adversos levam à descontinuação do tratamento em 10-20% dos casos. Já o nifurtimox foi usado clinicamente em 1969, sendo eficaz nas formas amastigotas, epimastigotas e reprodutivas, porém devido ao seu elevado perfil de toxicidade, nifurtimox foi descontinuado e sua comercialização suspensa do Brasil, Argentina, Chile e Uruguai desde a década de 1980 (CHAO, LEONE e VIGLIANO, 2020; PÉREZ-MOLINA, *et al.*, 2020).

Acredita-se que o mecanismo de ação dos compostos nitroheterocíclicos esteja envolvido com a nitrorredutase (NTR), principal enzima envolvida na bioativação de drogas nitroheterocíclicas em *T. cruzi*. Nifurtimox gera ânions de radical nitro reativos na presença de oxigênio, e com base no parasito que apresenta deficiência no mecanismo de desintoxicação torna-se suscetível a estes compostos reativos. Por outro lado, benznidazol modifica covalentemente macromoléculas, como as bases de guanosina no DNA e RNA, resultando em seu bloqueio e tornando o parasito suscetível a danos oxidativos em todas as suas fases do ciclo de vida, impedindo sua proliferação (PÉREZ-MOLINA, *et al.*, 2020; SANTOS, *et al.*, 2020).

Portanto, desde a descoberta da doença de Chagas em 1909, o desenvolvimento da quimioterapia para o tratamento da doença tem uma longa história, com os nitrocompostos, nifurtimox e benznidazol, que apresentam resultados controversos em termos de citotoxicidade, apesar da significativa relevância clínica (JARDIM; THIEMANN e ANIBAL; 2014). Como muitos pacientes descobrem a doença já na fase

crônica, é de extrema importância projetar novos medicamentos que sejam eficazes, toleráveis e seguros para essa etapa da Doença de Chagas (SANTOS, *et al.*, 2020).

1.3. Alvos moleculares para planejamento de novos Fármacos

A evolução tecnológica e científica das três últimas décadas alavancou diversas inovações terapêuticas e melhoria da expectativa de vida da população ao redor do mundo. Entretanto, as doenças negligenciadas continuam afetando a comunidade mais pobre e vulnerável, devido às falhas no mercado e das políticas de saúde pública. Por isso, é fundamental a união de estratégias entre governo, academia e indústria, para alcançar sucesso na pesquisa e desenvolvimento de fármacos para essas doenças (DIAS, *et al.*, 2013).

O processo de elaboração de novos fármacos envolve descoberta de novas moléculas, planejamento e o desenvolvimento. No processo da descoberta as pesquisas se concentram na identificação da molécula que sejam capazes de modular a atividade do alvo macromolecular eleito durante o planejamento. As moléculas bioativas, também chamadas “*hits*”, têm sua origem em produtos naturais ou sintéticos e passam por uma triagem e validação das suas propriedades biológicas, após essa etapa os compostos bioativos (aqueles com melhores propriedades) são considerados líderes ou “*lead*”. Com o auxílio da química medicinal é possível realizar uma otimização das moléculas, aumentando a afinidade e seletividade com o alvo molecular (DIAS, *et al.*, 2013).

Os produtos naturais (PNs) são uma importante fonte de moléculas bioativas para o desenvolvimento de medicamentos, sendo que mais da metade de todos os fármacos existentes atualmente é de origem natural. Porém, a descoberta de compostos medicinais provenientes de PNs é associada a desafios na purificação, caracterização e modificação química de complexos estruturais da molécula (STRATTON, NEWMAN e TAN, 2015).

Produtos naturais e seus derivados são uma importante ferramenta para a descoberta de novos compostos biologicamente ativos. Devido a sua biossíntese, normalmente, apresentam menor hidrofobicidade e maior complexidade estereoquímica, quando comparados com compostos sintéticos. Essas características estruturais são fundamentais para os parâmetros farmacocinéticos e estruturais, necessários para diversidade de fármacos e, também, para efetividade de tratamento. Diversos compostos naturais ou semissintéticos, como metabólitos marinhos, alcalóides,

flavonóides, esteróides, terpenos e cumarinas, revelaram atividade tripanocida significativa e podem ser empregados como protótipos para a busca de candidatos a fármacos (COCKRAM e SMITH, 2018; STRATTON, NEWMAN e TAN, 2015; SANTOS, *et al.*, 2020).

A partir do trabalho realizado por Newman e Cragg (2020), no qual enfatizaram a importância do produto natural no processo de descoberta e desenvolvimento de medicamentos, foi possível observar e realizar um levantamento de todas as substâncias aprovadas pelo FDA e que são provenientes de produtos naturais. Nos últimos anos, entre 1981 e 2019, foram aprovados 1881 novos fármacos. Desta classificação foram separados somente aqueles grupos que apresentaram produtos naturais, como “Produto Natural Inalterado - N”, “Derivado de Produto Natural – ND”, “Fármaco Sintético com Farmacóforo do Produto Natural – S*” e “Mimético do Produto Natural – S*/NM”. Sendo assim, dentro destas classificações, dos 1881 fármacos aprovados, 360 são produtos naturais aprovados para uso clínico, demonstrando a importância dos produtos naturais para o planejamento de novos fármacos.

As buscas por produtos naturais têm se intensificado e os resultados são promissores. A possibilidade de encontrar uma molécula com baixa toxicidade e com resultados clínicos efetivos está aumentando à medida que maior número de espécies de plantas é identificado. A partir de vários estudos, foram encontradas 18 espécies com resultados interessantes quando testadas contra diferentes fases do ciclo de vida de *T.cruzi*. Resultados efetivos foram obtidos após a exposição do parasito a vários extratos vegetais; os quais podem levar a descoberta de novos protótipos, e promover oportunidades para identificação de novos alvos terapêuticos (IZUMI, *et al.*, 2011).

Para o desenvolvimento de novos fármacos é necessário realizar uma análise da via metabólica do parasito para identificar alvos macromoleculares e suas consequentes funções biológicas. Assim, o sequenciamento do genoma de *T.cruzi* permitiu o reconhecimento de alguns alvos (**tabela 1**), sendo a maior parte enzimas. As principais vias metabólicas para a sobrevivência do *T.cruzi*, validadas atualmente, incluem as seguintes enzimas: triosefosfato isomerase (TIM), esterol 14 α -desmetilase (CYP51), diidroorotato desidrogenase (DHODH), cruzaina, tripanotona redutase (TR), superóxido dismutase (Fe-SOD), pteridina redutase (PTR) e diidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS). Além dessas enzimas, também são alvos importantes, a *trans*-sialidase e proteossomas (DIAS, *et al.*, 2009; SANTOS, *et al.*, 2020; HORTELANO, *et al.*, 2022).

Tabela 1. Rotas e alvos macromoleculares do *T.cruzi*, para desenvolvimento de novos fármacos (Adaptado de DIAS, *et al.*, 2009).

Alvo, via ou classe metabólica (função)	Enzima, organela ou rota metabólica
Proteases (Proteção do parasito)	Cisteíno proteases (Cruzaína) Serino proteases Metaloproteínas Treonina proteases
Biossíntese de esteróis (Composição estrutural)	Esterol 14 α -demetilase Lanoestersol sintase Esqualeno epoxidase Esqualeno sintase Esterol metiltransferase 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima a redutase Farnesil pirofosfato sintase Farnesiltransferase
Via Glicolítica (Energia)	Triosefosfato isomerase (TIM) Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase Hexoquinase Fosfofrutoquinase
Proteínas quinases (Energia)	Arginina quinase Fosfatidilinositol-3-quinase
Biossíntese de Lipídeos (Constituintes celulares)	Alquil-lisofosfolipídeos Glicosfingolipídeos
Metabolismo dependente de grupos tióis (Defesa contra estresse oxidativo)	Tripanotiona redutase Tripanotiona sintetase Triparedoxina peroxidase Superóxido dismutase
Metabolismo de pentose fosfato (Defesa contra estresse oxidativo)	6-fosfogluconato desidrogenase
Transporte e metabolismo de poliaminas (Defesa contra estresse oxidativo)	Arginina descarboxilase Glutacionil espermidina sintetase
Síntese de nucleotídeos (Síntese de material genético)	Purina fosforibosil transferases Di-hidrofolato redutase Pteridina redutase Diidroorotato desidrogenase
DNA topoisomerase (Replicação do DNA)	DNA topoisomerase I DNA topoisomerase II
Organelas Celulares (Diversas funções)	Núcleo e cinetoplasto Mecanismo de transporte de Na ⁺ /H ⁺ Componentes de membrana e osmorregulação Glicossomo e síntese de vitamina C Proteossomas
Transferência de Ácido Siálico (Glicoconjugação com o hospedeiro)	Trans-sialidase

1.3.1. Proteases

Cruzaína (cruzipaína ou GP57/51) é pertencente à família da papaína, expressa durante todas as fases de desenvolvimento do ciclo do parasito. Constitui a mais abundante e principal proteína da família das cisteíno proteases, sendo essencial para diversos processos do parasito, entre eles nutrição, evasão do sistema imunológico do hospedeiro, invasão das células hospedeiras, replicação e diferenciação intracelular do parasito, portanto, inibidores de cruzaína foram sugeridos como potenciais candidatos a fármacos contra *T. cruzi* (DIAS, *et al.*, 2009; SANTOS, *et al.*, 2020; HORTELANO, *et al.*, 2022).

1.3.2. Biossíntese de esteróis

Esterol 14 α -desmetilase (CYP51) é uma enzima altamente funcional, considerada uma hemoproteína que faz parte do citocromo P450 e atua nos estágios iniciais da via de biossíntese de esterol. Os esteróis são componentes fundamentais para as membranas das células, essenciais ao crescimento celular. Para o *T. cruzi*, o principal esterol é o ergosterol (DIAS, *et al.*, 2009; HORTELANO, *et al.*, 2022).

1.3.3. Via Glicolítica

Triosefosfato isomerase (TIM) é uma enzima presente tanto em humanos quanto no parasito, sendo essencial para a produção de energia em procariontes e eucariontes devido ao seu importante papel em várias vias metabólicas, como a glicólise (HORTELANO, *et al.*, 2022).

1.3.4. Metabolismo dependente de grupos tióis

A Tripanotiona redutase (TR) é uma flavoenzima presente em tripanossomatídeos e ausente em células de mamíferos, e responsável por regular o estresse oxidativo. Ou seja, diminui espécies reativas de oxigênio (ROS) e quando inibida pode interromper os mecanismos de proteção antioxidante do parasito (SANTOS, *et al.*, 2020; HORTELANO, SILANES e GALIANO, 2017).

Superóxido dismutase (Fe-SOD) é uma enzima que catalisa a formação de oxigênio e peróxido de hidrogênio a partir do ânion superóxido e utiliza ion ferro como cofator. Sua ação é importante em todos os organismos aeróbicos devido à sua atividade antioxidante. Atuam como sequestrantes de intermediários tóxicos de oxigênio, como ânion superóxido, ou radicais hidroxilas, que são produzidos pela redução de O₂ durante

a respiração mitocondrial. O principal mecanismo de defesa do *T. cruzi* contra o estresse oxidativo envolve os tióis (DIAS, *et al.*, 2009; HORTELANO, *et al.*, 2022).

1.3.5. Síntese de nucleotídeos

A enzima diidroorurato desidrogenase (DHOD) catalisa a reação da biossíntese de pirimidina, uma vez que o *T. cruzi* replica-se em células de mamíferos e depende da via biossintética que fornece os precursores essenciais para a síntese de ácidos nucleicos (NARA, *et al.*, 2005; HORTELANO, *et al.*, 2022).

Os parasitos tripanossomatídeos são auxotróficos de folato, um cofator essencial para os organismos vivos. O folato é fundamental para a síntese de nucleotídeos, consequentemente, para a formação de DNA, RNA e proteínas. A Diidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS) e a pteridina redutase são enzimas NADPH-dependente envolvida na síntese de folato e, consequentemente, monofosfato de desoxitimidina (dTMP), nucleotídeo utilizado na síntese de DNA (SCHORMANN, PAL e DEBASICH, 2001; HORTELANO, *et al.*, 2022).

1.3.6. Proteossomas

Além dos constituintes citados acima, pode também ser ressaltado a presença de proteossomas, relacionado ao complexo enzimático responsável pela renovação de proteínas anormais ou danificadas nas células eucarióticas. O rápido crescimento e divisão celular deste protozoário requer a correta proteção do proteossomo para sobrevivência (STANLEY, *et al.*, 2019).

É conhecido que o proteossoma está presente nos parasitos da classe *Kinetoplastida* e, atualmente, é um alvo terapêutico promissor para tratamento de infecções por cinetoplastídeos causadores das doenças negligenciadas (KHARE, *et al.*, 2017).

1.3.7. Transferência de ácido siálico

Trans-sialidase é uma enzima que protege o parasito do sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro. Ácido siálico é um açúcar fundamental para o reconhecimento das células de mamíferos e não é produzido por *T. cruzi*. Portanto, a enzima *trans*-sialidase é responsável por transferir o ácido siálico das células hospedeiras para a mucina, uma glicoproteína abundante na membrana plasmática do *T. cruzi*, por isso, o sistema imunológico não consegue reconhecer o parasito como

patógeno (SANTOS, *et al.*, 2020). Esta enzima é ancorada pelo glicosilfosfatidilinositol (GPI) à membrana superficial e liberada no sangue pela forma infecciosa (tripomastigosta) do parasito (CAMPETELLA *et al.*, 2020; BUSCAGLIA, *et al.*, 1998).

A *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi* (TcTS) é uma glicoproteína proveniente do gene GP85, que se encontra na superfície do protozoário e está envolvida na adesão e invasão do parasito ao hospedeiro pela interação com seus múltiplos ligantes extracelulares (laminina, fibronectina, colagênio, vimentina, citoqueratina). Todos os membros da superfamília GP85/*trans*-sialidase contêm sequência (VTVXNVFLYNR) com grupo carboxila terminal, relacionado ao domínio de ligação nas células do hospedeiro. De fato, peptídeo contendo a sequência FLY promove à adesão celular devido à ligação a proteína citoqueratina-18 de células epiteliais e desencadeia a ativação em cascata para internalização dos parasitos. Este processo está diretamente relacionado à proteína TcRab11, encontrada no vacúolo contrátil do parasito. TcRab11 permeia o tráfego de *trans*-sialidase para a membrana plasmática, promovendo a infecção dos tripomastigotas em fibroblastos. Embora a reação de *trans*-glicosilação constitui um dos mecanismos mais importantes pelos quais os parasitos invadem as células, *trans*-sialidase possui outros papéis multifuncionais na infecção, como o escape do parasito dos vacúolos parasitofóricos, formados na célula hospedeira. Adicionalmente à fuga dos vacúolos, *trans*-sialidase também contribui com os mecanismos de evasão dos protozoários contra a resposta imune do hospedeiro. Em relação à imunidade inata, a transferência do ácido siálico dos glicoconjugados do hospedeiro às mucinas do parasito, gera uma barreira negativamente carregada na superfície parasitária que confere proteção contra lise induzida por anticorpos do hospedeiro, podendo aumentar a virulência parasitária (CAMPO, TEIXEIRA e CARVALHO, 2016).

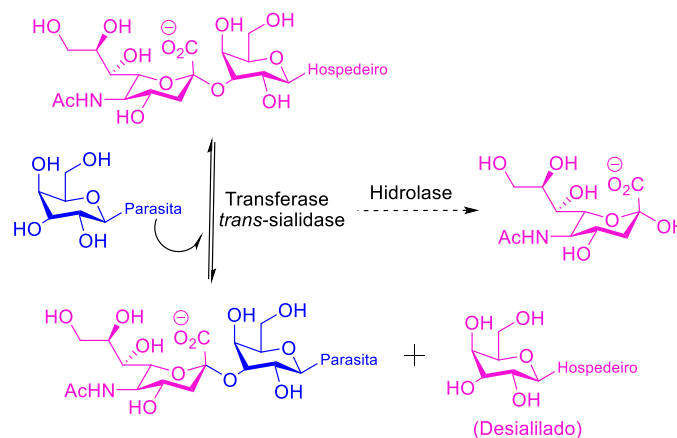


Figura 4. Transferência de ácido siálico pela *trans*-sialidase

De acordo com Arioka *et al.* (2010), o flavonóide quercetina apresentou atividade inibitória de TcTS com IC₅₀ de 58 µM e neuraminidase2 humana IC₅₀ de 160 µM. A atividade inibitória sobre neuraminidase foi determinada para avaliar a seletividade de quercetina e outros produtos naturais, portanto, a razão entre o valor de IC₅₀ TcTS e Neu2 foi de 2,8, valor que representa elevada especificidade para TcTS.

A partir da análise dos mecanismos da enzima *trans*-sialidase, é possível que a glicosilação de moléculas de quercetina e juglona também possam interferir com a interação entre *trans*-sialidase e mucinas de superfície do parasito, impedindo a sua aderência e entrada na célula. Neste caso, carboidratos interessantes a serem explorados estão relacionados às unidades de galactose e ácido siálico, representando, respectivamente, os subsítios de *trans*-sialidase do parasito contendo as regiões aceptora e doadora de ácido siálico. Adicionalmente, *N*-acetil-glicosamina é uma unidade importante envolvida na biossíntese de âncora de GPI (glicofosfatidilinositol), altamente explorada e necessária para a exposição tanto de mucinas como de *trans*-sialidase na superfície do parasito.

Neste sentido, diversos produtos naturais foram identificados com atividade contra alvos moleculares de *T.cruzi* e atividade tripanocida, entre eles são descritos o flavonóide, quercetina, e a naftoquinona, juglona.

1.4. Produtos Naturais

1.4.1. Quercetina

Algumas espécies, entre elas a *Lychnophora*, foram estudadas quimicamente, revelando a presença de lactonas sesquiterpênicas, esteróides, triterpenos e flavonóides, incluindo quercetina (**figura 5**). No Brasil, extratos brutos e substâncias isoladas de espécies de *Lychnophora spp.* (*Vernoniae*, *Asteraceae*) mostraram atividade tripanocida em bioensaios envolvendo *T. cruzi*. Nestes estudos, também foi observada atividade tripanocida de extratos brutos e substâncias isoladas de *Lychnophora pohlii* (GRAEL, ALBULQUERQUE e LOPES, 2005).

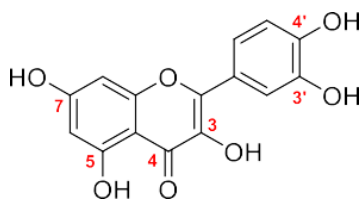


Figura 5. Quercetina

Adicionalmente, o extrato do vegetal *Lychnophora staavioides* Mart (Asteraceae) forneceu os flavonóides: tectochrysin (1), pinostrobin (2), pinobanksin (3), acetato de pinobanksin (4), pinocembrin (5), chrysin (6), éter de 3-metil-galangin (7), éter de 3-metil-querçetin (8) chrysoeriol (9) e vicenin-2 (10), os quais foram testados contra *T. cruzi*, na dosagem de 500µg/mL. Entre eles, a substância mais ativa foi o éter de 3-metil-querçetin, o qual causou a lise de parasitos sanguíneos em 13,0±6,7% na dosagem de 100µg/mL, 30,4±0,7% em 250µg/mL e 63,2±4,1% em 500µg/mL, sem causar lise de células sanguínea, podendo, portanto, ser empregada em bancos de sangue. Neste estudo, violeta genciana foi usada como controle positivo, a qual na concentração de 250µg/mL obteve atividade tripanocida de 100% e como controle negativo foi utilizada a mesma concentração de DMSO, o qual não mostrou redução do número de parasitos (GUIMARÃES e FARIA, 2007; TAKEARA, *et al.*, 2003). Atualmente, a violeta genciana é empregada na quimioprofilaxia de sangue, no entanto sua utilização requer um tempo de 24h para exposição no sangue (devido suas características tóxicas), fato que dificulta seu uso em situações de emergência. Portanto há a necessidade de pesquisa por novos compostos que sejam mais eficazes e com reduzidos efeitos colaterais (GUIMARÃES e FARIA, 2007).

Em outra avaliação realizada por Jordão *et al.* (2003) foram analisados os extratos de *Lychnophora salicifolia*, onde estão presentes os flavonoides éter 3,7,3',4'-tetrametil-querçetin (Ls1), éter 7,3',4'-trimetil-luteolina (Ls2), éter 7,3',4'-trimetil-querçetin (Ls3), sesquiterpenos de ácido lychnofólico (Ls4), acetato do ácido lychnofólico (Ls5) e lupeoltriterpeno (Ls6). Estes compostos foram avaliados contra as formas tripomastigotas, *in vitro*, nas dosagens de 100µg/mL, 250µg/mL e 500µg/mL. Na avaliação dos flavonóides foi possível observar que querçetin (utilizada como padrão) e o derivado trimetoxilado (Ls2) apresentaram maiores percentuais de lise, sendo querçetin o composto mais ativo, IC₅₀ 186,8µM, com redução da porcentagem de parasitos de 46,4±2,5% em 100 µg/mL, 45,9±2,8% em 250µg/mL e 64,7±2,5% em 500 µg/mL, enquanto a amostra Ls2 obteve IC₅₀ 217,3 µM. A violeta genciana (controle positivo) apresentou IC₅₀ 76µM, e na concentração de 250µg/mL a atividade tripanocida foi de 100%, **tabela 2**.

Tabela 2. Porcentagem de Lise das formas tripomastigotas de *T. cruzi* por compostos de *L. salicifolia* Mart. e seus IC₅₀ (Adaptado de Jordão *et al.*, 2003).

Compostos	Atividade Tripanocida (Lises)**			
	100 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	IC ₅₀ (µM)
Flavonol	17.0 ± 2.0	17.0 ± 2.0	44.3 ± 0.0	697.0
LS1	09.4 ± 7.9	14.9 ± 9.6	35.1 ± 1.1	847.0
LS2	32.0 ± 4.5	57.5 ± 11.8*	64.0 ± 9.6*	217.3
LS3	17.0 ± 1.8	17.0 ± 1.8	44.3 ± 0.0	697.0
LS4	9.0 ± 8.1	38.4 ± 5.1	50.3 ± 9.0*	449.6
LS5	24.8 ± 3.2	33.0 ± 8.7	41.6 ± 3.2	1029.0
CS*	464 ± 2.5	45.9 ± 2.8	64.7 ± 2.5*	186.8

*Quercetina (CS) usada como padrão

** Violeta Genciana usada como controle positivo, apresentou 100% de lise, concentração de 250 µg/mL.

Apesar de alguns flavonóides serem naturalmente encontrados na forma glicosilada, a investigação de derivados glicosilados de quercetina em relação à atividade tripanocida não foi realizada. Em contrapartida, para a atividade antibacteriana, alguns estudos são descritos, como o diacilramosídeo de kaempferol como potente agente anti-MRSA (Methicilin Resistant *S. aureus*) (LIU *et al.*, 2009), além de derivados diacilglicosídeos de quercetina ativos contra colônias de bactérias resistentes, como MRSA e VRE (Vancomycin Resistant enterococcus), com atividade até 128 vezes maior que vancomicina e quercetina aglicona. Apesar do maior peso molecular e presença de substituintes volumosos nas unidades de carboidrato que dificultam a penetração em bactérias gram-negativas, as modificações introduzidas promoveram maior difusão pela membrana citoplasmática de bactérias gram-positivas (HOSSION *et al.*, 2010). Nestes exemplos, os grupos glicosídeos estão presentes na posição C-3 dos flavonóides.

Diversas modificações químicas de quercetina têm sido realizadas por métodos quimioenzimáticos e envolvendo métodos de biotransformação. Exemplos interessantes estão relacionados à superexpressão de enzimas glicosiltransferases (GTs) em *E. coli* e engenharia metabólica para aumentar o açúcar nucleosídeo difosfato (NDP-açúcar), doador da unidade de carboidrato, sendo possível ainda a utilização de outros microrganismos, como *Streptomyces sp.*, para estes processos de biotransformação. Assim, as reações de biotransformação de quercetina envolvem glicosilação, metilação, hidroxilação e sulfatação. A introdução de unidades de carboidratos geralmente ocorre

nas posições 3-OH e 7-OH, enquanto as metilações são geralmente realizadas nas posições 3', 4' e 7-OH. Alguns estudos de relação estrutura-atividade mostram que a modificação de quercetina reduz sua atividade antioxidante devido à importância da hidroxila da posição 3, por outro lado, foi descrito que a metilação de quercetina diminui a peroxidação lipídica, assim como a atividade antiinflamatória, a qual não é totalmente dependente do número de hidroxilas livres. Com relação à quercetina glicosilada foi descrito que quercetina 3-glicosilada tem maior efeito anti-obesidade que a própria quercetina, talvez devido à maior biodisponibilidade que pode refletir em melhor atividade biológica. As reações de glicosilação, metilações e hidroxilações são as mais importantes para modificação química de quercetina. Em particular, a glicosilação pode produzir derivado de quercetina com várias unidades de açúcar em diferentes grupos hidroxila e criar não apenas um novo metabólito, mas também promover o aumento da atividade e funções em relação ao produto original (MAGAR e SOHNG, 2020).

Partindo deste princípio, no qual a glicosilação da molécula de quercetina pode potencializar sua atividade antibacteriana, é possível que o mesmo processo de modificação molecular possa elevar sua atividade tripanocida.

1.4.2. Juglona

Juglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) é uma naftoquinona, identificada como metabólito secundário presente nas raízes, folhas e cascas da noqueira (*Juglans nigra L*; *Juglans regia L*; *Juglans cinérea L*), **figura 6**. As preparações das ervas destas plantas têm sido utilizadas para o tratamento de acne, doenças inflamatórias, micose, infecções bacterianas, virais e fúngicas e até câncer (AITHAL *et al.*, 2009).

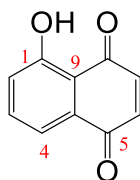


Figura 6. Juglona

Os protozoários da família *Trypanosomatidae* são bastante sensíveis à geração de ROS, apesar da existência de mecanismos de neutralização de ROS, envolvendo, por exemplo, as enzimas tripanotionaredutase e sintase. As naftoquinonas são suscetíveis a

reações oxidativas e podem alterar os mecanismos de defesa contra os processos oxidativos do parasito. Infelizmente, a maioria das naftoquinonas, na forma de aglicona, descritas (1,4-naftoquinona, plumbagina e shikonina) apresenta fraca biodisponibilidade e elevada toxicidade para as células de mamíferos, como a própria juglona, limitando sua aplicação na terapêutica. Assim, a glicosilação de juglona, formando o β -glicosídeo hidrojuglona, reduziu a citotoxicidade em células de mioblastos (IC_{50} juglona 21.03 μ M e IC_{50} β -glicosídeo de hidrojuglona 122.48 μ M). Apesar da leve redução da atividade tripanocida, o índice de seletividade para *T. brucei* foi mais elevado do que a aglicona (juglona: 13,0 e β -glicosídeohidrojuglona 20,0) e também foi pouco mais elevado para *T. cruzi* (juglona: < 0,1 e β -glicosídeohidrojuglona 0,7), sugerindo que a atividade antiparasitária e citotoxicidade desta classe de naftoquinonas podem ser moduladas pela presença de carboidratos específicos, **tabela 3** (ELLENDORFF, *et al.*, 2015).

Tabela 3. Índice de seletividade (IS) representa a proporção de valores de citotoxicidade e a atividade antiparasitária dos compostos por IC_{50} (Adaptado ELLENDORFF *et al.*, 2015).

Compostos	IC ₅₀ (μ M)				SI		
	TB	TC	LD	L6	TB	TC	LD
	<i>T. brucei rhodesiense</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>Leishmania donovani</i>	Rat skeletal myoblasts	<i>T. brucei rhodesiense</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>Leishmania donovani</i>
Glicosídeo Hidrojuglona	6.12	169.40	16.65	122.48	20.0	0.7	7.4
Juglona	1.62	> 100	2.02	21.03	13.0	< 0.1	10.4
1,4-Naftoquinona	0.58	9.24	2.38	6.39	11.1	0.7	2.7
Lawson	101.15	37.36	1.99	20.63	0.2	0.6	10.3
2,2'-bis-(3-hidroxi-1,4-naftoquinona)	68.79	236.99	7.34	61.56	0.9	0.3	8.4
Plumbagina	0.49	3.59	0.88	2.87	5.9	0.8	3.3
Lapachol	16.40	17.56	3.33	26.57	1.6	1.5	8.0
Shikonina	0.03	0.27	0.12	0.06	2.1	0.2	0.5
Arbutina (1,4-benzoquinona glicosídeo)	236.40	244.10	> 367	> 367	> 1.5	> 1.5	N.A*
Controles Positivos	0.005 Melarsoprol	2.33 Benznidazole	0.18 Miltefosina	0.014 Podofilotoxina			

*N.A: Não acessível (IC₅₀ não alcançado na concentração mais alta testada).

Em estudo realizado por Salomão *et al.* (2013), na qual foi avaliada a atividade em tripomastigotas da corrente sanguínea, a atividade sobre as formas proliferativas epimastigostas do *T.cruzi* e toxicidade para as células de mamíferos, foi possível observar que a juglona apresentou alta atividade contra o parasito com IC₅₀ 6.51 ± 0.48 µM, em comparação com o Benznidazol, tanto na atividade na corrente sanguínea, quanto na atividade sobre as formas proliferativas, de acordo com a **tabela 4**, a seguir:

Tabela 4. Atividade antiparasitária dos compostos por IC₅₀ (Adaptado SALOMÃO *et al.*, 2013).

Compostos	Nomenclatura	IC ₅₀ /24 h (µM)
NQ1	1,4-Naphthoquinone	0.79 ± 0.02
NQ2	2-Methyl-1,4-naphthoquinone (menadione)	6.04 ± 0.35
NQ3	2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone)	563.18 ± 83.28
NQ4	2-Acetoxy-1,4-naphthoquinone	63.02 ± 5.8
NQ5	2-Bromo-1,4- naphthoquinone	1.37 ± 0.03
NQ6	2,3-Dichloro-1,4- naphthoquinone (dichlone)	2.17 ± 0.29
NQ7	5-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone)	6.51 ± 0.48
NQ8	5-Acetoxy-1,4- naphthoquinone	0.16 ± 0.01
NQ9	5-Methoxy-1,4-naphthoquinone	1.02 ± 0.29
NQ10	2-Bromo-5-hydroxy-1,4-naphthoquinone	2.15 ± 0.22
NQ11	2-Bromo-5-acetoxy-1,4-naphthoquinone	2.43 ± 0.50
NQ12	2-Bromo-5-methoxy-1,4-naphthoquinone	1.25 ± 0.26
NQ13	3-Bromo-5-hydroxy-1,4-naphthoquinone	2.52 ± 0.37
NQ14	3-Bromo-5-acetoxy-1,4-naphthoquinone	0.85 ± 0.08
NQ15	3-Bromo-5-methoxy-1,4-naphthoquinone	1.41 ± 0.15
NQ16	2-Methyl-5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (plumbagin)	1.38 ± 0.26
Bz*	Benznidazole	26.0 ± 4.0

*Benznidazol utilizado como controle do estudo.

Estes resultados sinalizam que a introdução de carboidratos nestas estruturas naftoquinônicas é promissora para diminuição de citotoxicidade e/ou aumento de biodisponibilidade destes produtos naturais.

1.5. Carboidratos e Glicoconjugados

Na natureza, os carboidratos eram, inicialmente, pesquisados devido ao seu valor nutricional e interesse estrutural, podendo ser encontrados como compostos livres ou conjugados a uma ampla classe de biomoléculas, como proteínas, lipídeos, hormônios, alcalóides e flavonóides. Apresentam-se como um grande desafio para as pesquisas devido a sua enorme variabilidade de estruturas, assim como o grande número de funções biológicas. Atualmente, é conhecido que a importância da glicosilação, tanto em moléculas naturais quanto em compostos sintéticos, é devido à sua influência nas propriedades estruturais e, conseqüentemente, nas propriedades farmacológicas do composto inicial (FERLA, *et al.*, 2010; SHERIF, *et al.*, 2014). Estes produtos naturais glicosilados revelaram grande potencial no reconhecimento molecular para a transmissão de informações biológicas devido às suas porções de açúcar, que na maioria dos metabólitos secundários, é crucial para atividade, muitas vezes sendo responsável pela melhoria na bioatividade, estabilidade e solubilidade, além de permitir o direcionamento eficaz de medicamentos, melhorando as propriedades farmacocinéticas (VASUDEVAN e LEE, 2020; HUANG e MEI, 2014).

Segundo Thorson e Vogt (2003), estudos realizados por cristalografia, RMN e espectroscopia de massas de alta resolução, mostram que estes carboidratos ligados aos produtos naturais são capazes de exibir especificidade para interação em alvos macromoleculares, de acordo com sua estrutura e tamanho do açúcar.

1.5.1. Reações de O-Glicosilação

As reações de O-glicosilação de diversos tipos de substratos são bastante conhecidas e as primeiras reações foram descritas por Michael e Fisher pela obtenção de glicosídeos arílicos glicosídeos de alquila, ambos no final do século dezenove. No entanto, nas últimas duas décadas houve um aumento considerável de métodos usados em reações de glicosilação que permitiram a obtenção de moléculas mais complexas, de forma régio e estereosseletivas (DEMCHENKO, 2008; JACBSSON, MALMBERG e ELLERVIK, 2006).

As ligações *O*-glicosídicas podem ser classificadas em dois tipos dependendo da natureza “ α (posição axial)” ou “ β (posição equatorial)” do substituinte da posição anomérica do anel pirano ou furano, ou seja, o carbono hemiacetal C-1. Ainda esta classificação pode ser estendida com base na configuração dos carbonos C-1 e C-2 e ter a denominação de glicosídeos 1,2-*cis* ou 1,2-*trans*. Alguns exemplos de glicosídeos 1,2-*cis* e 1,2-*trans* podem ser visualizados na **figura 7**, e representam grupos importantes presentes em mamíferos e bactérias (NIGUDKAR e DEMCHENKO, 2015). No entanto, desoxi-glicosídeos e sialosídeos não podem ser classificados como 1,2-*cis* ou 1,2-*trans* devido à ausência de substituinte em C-2.

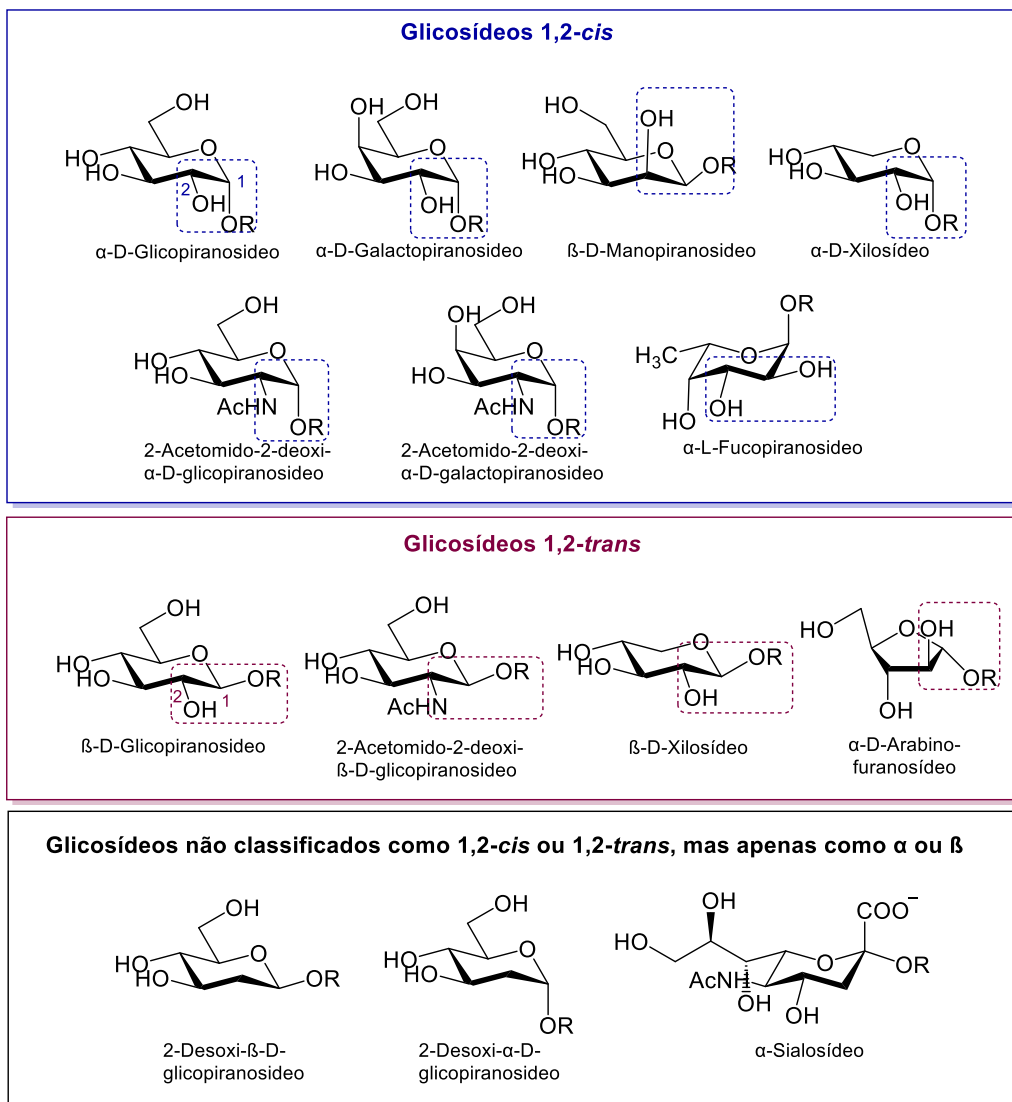


Figura 7. Resíduos de monossacarídeos comuns encontrados no glicoma de mamíferos e bactérias, classificados como 1,2-*cis*, 1,2-*trans* ou não classificados de acordo com a configuração dos carbonos 1 e 2 (adaptado DEMCHENKO, 2008).

A primeira reação de *O*-glicosilação realizada de forma controlada foi descrita por Koenigs e Knorr (1901), envolvendo uma reação de substituição nucleofílica de átomos de cloreto ou brometo do carbono anomérico por aceptores glicosídicos (hidroxilas livres), na presença de sais capazes de sequestrar HCl ou HBr gerados na reação, como Ag_2CO_3 . Com o intuito de melhorar as conversões nos produtos utilizando aceptores glicosídicos pouco reativos, como outros monossacarídeos, Zemplen e Gerecs e, posteriormente, Helferich e Wedermeyer (1949), introduziram o uso de catalisadores de metais mais reativos para melhorar o caráter abandonador de halogênios presentes em C-1, como sais de mercúrio (II).

Apesar da maior reatividade observada nesta modificação do método clássico de *Koenigs-Knorr*, outros métodos foram desenvolvidos para obtenção de estereosseletividade, frequentemente, não observada em reações muito rápidas. Por essa razão, outros doadores glicosídicos, diferentes dos haletos originais, foram testados, como os doadores peracetilados (HELPERICH e SCHMITZ, 1933).

Os trabalhos descritos por Lemieux (1954) e Fletcher e colaboradores (1951 e 1956) foram fundamentais no desenvolvimento de novos métodos, uma vez que consideraram que a reatividade dos haletos de glicosila e a estereosseletividade da glicosilação estavam diretamente relacionadas com a natureza dos grupos protetores, especialmente daqueles grupos vizinhos, na posição C-2 do anel pirano. Nestes estudos, foi estabelecido que doadores glicosídicos peracetilados permitem a formação estereosseletiva de glicosídeos 1,2-*trans* devido ao efeito participação do substituinte acila vizinho em C-2, denominado de assistência anquimérica. Apesar de quantidades substanciais de glicosídeos 1,2-*cis* poderem ser obtidas, mesmo com doadores 2-acilados de glicosila, as glicosilações 1,2-*cis* foram melhor alcançadas com introdução de grupo éter não participante em C-2, como metil ou benzil. Adicionalmente, a busca de promotores/catalisadores adequados para a ativação de haletos de glicosila levou à descoberta de Ag-silicato que provou ser bastante eficiente para reação de β -manosilação direta, pois essas reações geralmente ocorrem por meio de um mecanismo de substituição concertado $\text{S}_{\text{N}}2$ (PAULSEN e LOCKHOFF, 1981; VAN BOECKEL, BEETZ e AELST, 1984).

1.5.2. Doadores Glicosídicos

A síntese de glicosídeos simples ou oligossacarídeos foi realizada por muito tempo utilizando os doadores glicosídicos clássicos, como haletos, acetatos ou hemiacetais anoméricos, mas o maior entendimento sobre o mecanismo de reação e as variações observadas em reações de glicosilação estimularam o desenvolvimento de novos métodos, com o maior foco no desenvolvimento de novos grupos abandonadores anoméricos (TOSHIMA e TATSUTA, 1993; DAVIS, 2000) (**figura 8**).

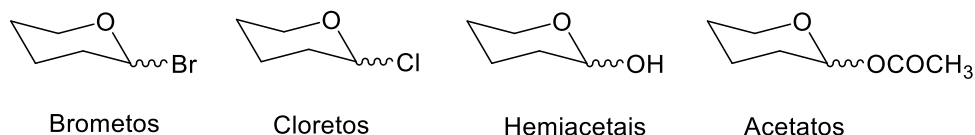
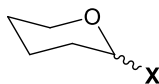


Figura 8. Primeiros doadores glicosídicos desenvolvidos entre 1900 e 1960.

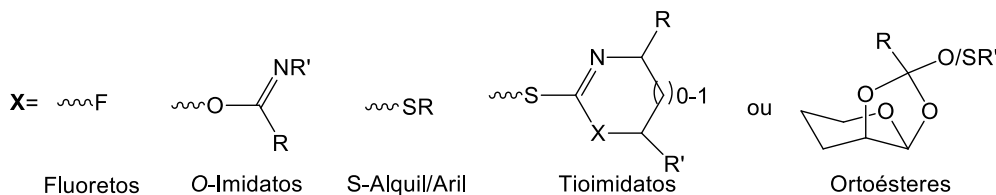
Muitos doadores glicosídicos introduzidos durante a década de 1970 e 1980 deram origem a excelentes metodologias de glicosilação, como por exemplo: tioglicosídeos por Ferrier *et al.* (1973), Nicolau *et al.* (1983), Garegg *et al.* (1983) e Oscarson (2001); derivados de cianoetilideno e ortoéster por Kochetkov e colaboradores (1975 e 1977); *O*-imidatos por Sinay e colaboradores (1977) e Schmidt e Michel (1980); tioimidatos incluindo derivados de *S*-benzotiazolila por Mukaiyama *et al.* (1979); derivados de tiopiridila por Hanessian *et al.* (1980) e Woodward *et al.* (1981) e fluoretos de glicosila por Mukaiyama *et al.* (1981). Atualmente, tricloroacetimidatos (SCHMIDT, CASTRO-PALOMINO e RETZ, 1999; SCHMIDT e JUNG, 2000), tioglicosídeos (GAREGG, 1997; OSCARSON, 2000; CODEE, *et al.*, 2005) e fluoretos (NICOLAOU e UENO, 1997; MUKAIYAMA, 2004) são os doadores de glicosila mais utilizados nas reações de *O*-glicosilação, **figura 9A**.

Uma variedade de metodologias e melhorias surgiram a partir do final de 1980 com o desenvolvimento de novos doadores, entre os mais importantes podem ser citados os derivados acil/carbonatos glicosídicos (BOURSIERC e DESCOTES, 1989; KOIDE, OHNO e KOBAYASHI, 1991; KUNZ e ZIMMER, 1993), tiocianatos (Kochetkov, Klimov e Malysheva, 1989), diazirinas (Briner e Vasella, 1989), xantatos (Marra e Sinay, 1990), glicais (Friesen e Danishefsky, 1989; Halcomb e Danishefsky, 1989), fosfitos (Kondo, Ichikawa e Wong, 1992; Martin e Schimidt, 1992), sulfóxidos (Kahne *et al.*, 1989), sulfonas (Brown, Ley e Vile, 1988), glicosídeos de selênio (Mehta e

PINTO, 1991), glicosídeos de alquenila (FRASER-REID *et al*, 1988; MARRA, ESNAULT e VEYRIERES, 1992; BOONS e ISLES, 1994) e glicosídeos de heteroarílicos (HUCHEL, SCHMIDT E SCHMIDT, 1998). Vale ainda destacar metodologias mais recentes, envolvendo iodetos de glicosila (GERVAY e HADD, 1997), fosfatos (PLANT, ANDRADE e SEEBERGER, Te-glicosídeos (STICK, TILBROOK e WILLIANS, 1997), sulfonilcarbamatos (HINKLIN e KIESSLING, 2001), dissulfetos (DAVIS, WARD e RENDLE, 2001), 2-(hidroxicarbonil) benzil glicosídeos (KIM *et al.*, 2001) e novos tio- (DEMCHENKO, MALYSHEVA e DE MEO, 2003; DEMCHENKO, PORNSURIYASAK e DE MEO, 2004) e O-imidatos (ADINOLFI *et al*, 2002). (N-fenil)trifluoroacetimidatos de glicosila também podem ser destacados com estabilidade e atividade comparáveis aos correspondentes tricloroacetimidatos (**figura 9B**) (YU e TAO, 2001).



A - Métodos desenvolvidos entre 1970-1980



B - Métodos recentes desenvolvidos entre 1980-2007

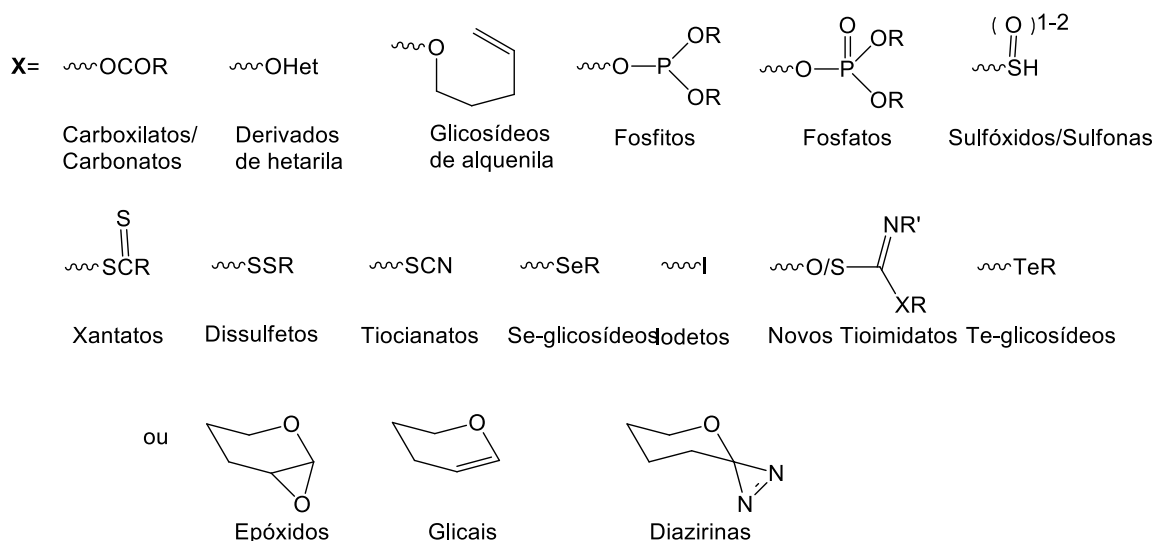


Figura9. Principais doadores glicosídicos descritos na literatura. **A:** Doadores glicosídicos reportados entre as décadas de 1970 e início de 1980; **B:** Doadores glicosídicos mais recentes descritos entre o final da década de 1980 e 2007 (adaptado DEMCHENKO, 2008).

1.5.3. Efeito Anomérico

Assim como no sistema anelar de seis membros (cicloexano), a hidroxila em C-1 do anel pirano de hemiacetais, também é apresentada, preferencialmente, na posição equatorial ou orientação β devido à ligação de hidrogênio intramolecular com O-5. De forma geral, a disposição equatorial dos substituintes gera menor energia estérea, ou seja, produtos energeticamente mais favorecidos porque evitam interações espaciais entre grupos introduzidos nas posições axiais, como a interação 1,3-diaxial. No entanto, substituintes polares ligados em C-1 do anel de piranose, como halogênios, éteres ou tio éteres, preferem a orientação axial devido ao **efeito anomérico** descrito por Lemieux (1954), com influência direta na estereoquímica do carbono anomérico. Duas principais razões justificam a configuração α anomérica, quando (i) o substituinte ligado ao anel em C-1 possui pares de elétrons livres pode apresentar interações de repulsão com os do oxigênio do anel O-5 se o substituinte anomérico estiver em orientação equatorial (posição β de D-açúcares em conformação 4C_1), fato que não ocorreria se o substituinte estiver em posição axial e (ii) a presença de um substituinte sacador de elétrons (α -anômero de D-açúcares, também em conformação 4C_1) é estabilizado via hiperconjugação devido à orientação periplanar do orbital não ligante de O-5 e do orbital antiligante de C-1. Essa interação não ocorre com o anômero β , pois o orbital não-ligante de O-5 e o orbital antiligante do C-1 estão em planos diferentes e, portanto, não interagem (**figura 10**).

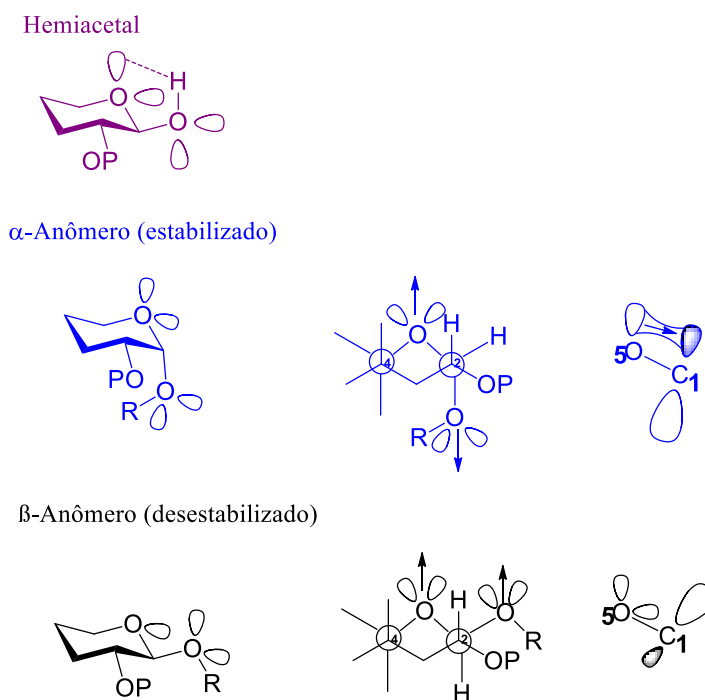


Figura 10. Representação do efeito anomérico observados em carboidratos (adaptado DEMCHENKO, 2008).

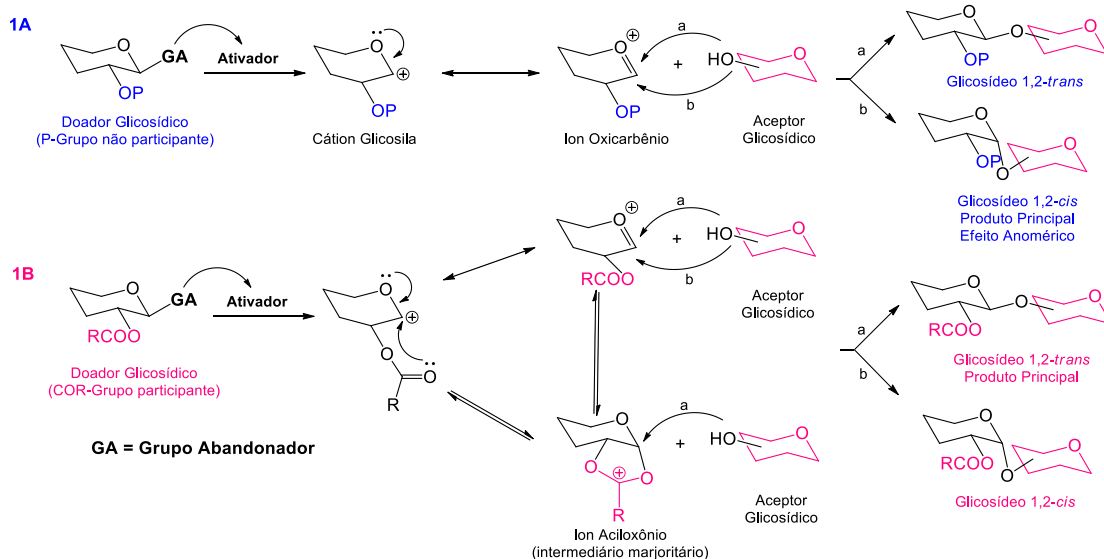
1.5.4. Mecanismos das reações de glicosilação

Os mecanismos envolvidos nas reações de *O*-glicosilação ainda são bastante estudados e, normalmente, a substituição nucleofílica no carbono anomérico secundário do anel é o mais estabelecido. Como os aceptores glicosídicos são nucleófilos fracos, o mecanismo segue a substituição unimolecular S_N1 e a estereoquímica do produto depende da influência do grupo vizinho na posição C-2, no caso de grupo participante.

O aumento da propriedade abandonadora do grupo em C-1 do doador glicosídico (GA) é promovido pela adição de um promotor ou catalisador, o qual contribui para a formação do cátion glicosila. Na ausência de grupo participante em C-2, esse cátion é estabilizado, intramolecularmente, pelo compartilhamento do par de elétrons livres de O-5, resultando na formação do íon oxocarbênio (**esquema 1A**). Entre os grupos em C-2 que não participam da estabilização do cátion glicosila estão os grupos benzílicos (Bn) para açúcares neutros e azida (N_3) para açúcares derivados de 2-amino-2-desoxiglicosídicos.

Com base no caráter sp^2 do íon oxocarbênio, o ataque nucleofílico em C-1 pode ocorrer tanto pela face superior (trans, β - para a série D-gluco) quanto pela face inferior (cis, α) do anel. Embora o produto α -, termodinamicamente favorecido, seja formado

em maior proporção por causa do efeito anomérico, uma quantidade razoável do produto cinético, com orientação β - é, frequentemente, obtida devido ao caráter irreversível da reação de glicosilação (DEMCHENKO, 2008).



Esquema 1. Mecanismos das reações de glicosilação. **1A.** Glicosilação envolvendo doadores glicosídeos sem a participação do grupo vizinho em C-2. **1B.** Glicosilação com a presença da participação de grupo vizinho em C-2, assistência anquimérica (adaptado DEMCHENKO, 2008).

Como mencionado no subitem 1.5.2, o produto com orientação β no carbono anomérico, como em derivados de D-glicose, a ligação glicosídica 1,2-*trans* pode ser obtida, prioritariamente, com a presença de grupo participante em C-2 no doador glicosídico, geralmente uma função acila como O-acetila (Ac), O-benzoila (Bz), 2-ftalimido (NPhth), entre outros. O direcionamento para formação do anômero β ocorre devido à formação de intermediário bicíclico, ou íon aciloxônio (**esquema 1B**), formado após a partida do grupo abandonador e geração do cátion glicosila. Diferentemente da estabilização observada no mecanismo mostrado no esquema 1a, a estabilização intramolecular do cátion glicosila ocorre pelo ataque do oxigênio carbonílico do grupo acila em C-2, gerando o íon aciloxônio. Neste caso, o ataque de um nucleófilo (álcool, aceptor de glicosil) só é possível a partir da face superior do anel (via c), permitindo a formação estereosseletiva de um glicosídeo 1,2-*trans*. Adicionalmente, vale ressaltar que o emprego de aceptores nucleofílicos fracos ou substituintes em C-2 com fraca participação na estabilização do cátion glicosila, conduz à formação de produtos com estereoquímica 1,2-*cis*, em paralelo a 1,2-*trans*, via geração de íon oxocarbênio (vias a e b).

Com base nestes mecanismos, é possível observar que a obtenção estereosseletiva de glicosídeos 1,2-*cis* é mais complexa do que 1,2-*trans* que pode ser mais favorecida com o emprego de um doador com grupo participante em C-2. Por outro lado, doadores glicosídicos que não possuem grupo participante em C-2 podem originar, preferencialmente, produtos com configuração anomérica α , dando origem a produtos 1,2-*cis* para derivados da série D-gluco. Apesar dos efeitos da participação de grupos mais distantes em relação à posição anomérica ser pequeno, substituintes em C-6 podem também influenciar a configuração do carbono anomérico, por exemplo, grupos acíclicos ou carbonato podem facilitar a formação de produtos com configuração anomérica α , uma vez que a presença de grupos volumosos em C-6 pode promover impedimento estereo na face superior do anel de piranose e levar à formação preferencial de glicosídeo 1,2-*cis*.

Diversos fatores podem diminuir o efeito anomérico nas reações de glicosilação, como já mencionado, o caráter irreversível da ligação glicosídica, a reatividade dos aceptores glicosídicos, temperatura, grupos protetores, conformação, solvente, promotor, impedimento estérico ou grupos de saída dos doadores podem também influenciar o rendimento e a estereoquímica das reações de glicosilação (DEMCHENKO, 2003).

1.5.5. Grupos protetores

A regioseletividade é um problema na química dos carboidratos devido aos variados grupos hidroxilas que apresentam reatividades semelhantes, como as hidroxilas secundárias. Além das diferentes hidroxilas presentes no carboidrato (primária, secundária e hemiacetal), as configurações de como estão ligadas aos carbonos do anel (equatorial ou axial) e as condições reacionais também afetam a regioseletividade. Por exemplo, grupos hidroxila primárias e anomérica (hemiacetal) são mais reativas que as correspondentes hidroxilas secundárias, facilitando sua proteção regioseletiva. Além disso, hidroxilas na posição equatorial são estericamente mais acessíveis em relação às axiais e, com isso, tendem a reagir mais rapidamente (FERRIER e COLLINS, 1996; WANG, T.; DEMCHENKO, 2019).

Portanto, as estratégias de adição do grupo protetor e desproteção seletiva, denominada de proteção ortogonal, são essenciais para obtenção de carboidratos de forma regioseletiva. Os grupos protetores mais comuns utilizados na química dos carboidratos são: acetais (isopropilideno e benzilideno), ésteres (acetato e benzoato),

éteres (benzila, tritila e alila), éteres de silila (trimetilsilila – TMS, *t*-butildimetilsilila – TBDMS, *t*-butildifenilsilila – TBDPS) e estanilenos (óxido de dibutilestanho – Bu_2SnO) (PÉTURSSON, 1997; PEI *et al.*, 2007).

Vale ainda destacar o conceito de estratégias quimiosseletivas de glicosilação “*armed-disarmed*”. Grupos protetores *O*-acílicos, como os ésteres, possuem maior efeito eletrossacador em comparação aos éteres, como grupo *O*-benzílico, promovendo maior desestabilização do íon oxocarbênio e diminuindo sua reatividade. Esta abordagem permite que carboidratos acetilados atuem como aceptores glicosídicos, denominados “*disarmed*” e reajam com doadores glicosídicos contendo grupos benzilados, “*armed*”.

CONCLUSÕES

2. CONCLUSÕES

Os resultados permitiram observar que reações de proteção de quercetina com brometo de benzila, diclorodifenilmetano e anidrido acético foram satisfatórias, uma vez que o rendimento obtido foi significativo e comparável à literatura. Além disso, foi possível observar que a reação por transferência de fase foi a mais adequada, até o momento, para glicosilação da quercetina com a acetobromogalactose, acetobromoglicose e cloreto de *N*-acetilglicosamina em condições mais brandas e de fácil execução.

A reação envolvendo quercetina cetal-difenilmetano **4** com acetobromogalactose (**10**) forneceu os compostos 3,7-di-*O*- β -D-galactosídeo (**20**) e 7-*O*- β -D-galactosídeo (**21**) de quercetina. Resultados semelhantes foram obtidos com o doador acetobromoglicose (**9**), os quais revelaram a formação dos compostos 7-*O*- β -D-glicosídeo (**22**) e 3,7-di-*O*- β -D-glicosídeo (**23**) de quercetina em rendimentos moderados. Adicionalmente, o doador cloreto de *N*-acetilglicosamina (**18**), forneceu os compostos 7-*O*- β -D-glicosídeo de *N*-acetilglicosamina (**24**) e 3,7-di-*O*- β -D-glicosídeo de *N*-acetilglicosamina (**25**) de quercetina. O estudo mostrou que os resultados obtidos foram satisfatórios utilizando o protocolo de Alluis e Dangles (2001), porém é divergente quanto às moléculas obtidas, na literatura foi obtida somente a porção monoglicosilada, e no estudo realizado, foram obtidas as moléculas mono e diglicosiladas, indicando que nem sempre a reprodução dos métodos descritos na literatura é viável, necessitando a padronização de diferentes condições reacionais.

Visto o extenso trabalho envolvendo a realização e otimização de inúmeras rotas semi-sintéticas, além do tempo despendido durante esse período, não foi possível realizar as desproteções de todas as moléculas. Desse modo, esta última etapa e os posteriores ensaios biológicos serão realizados futuramente. Os produtos serão enviados para os testes de atividade biológica nas formas infectantes tripomastigota e amastigota, além da avaliação a atividade dos produtos protegidos e desprotegidos na enzima *trans*-sialidase.

Caso os produtos apresentem atividade biológica, novas tentativas de aumento de rendimento serão testadas para publicação dos resultados.

REFERÊNCIAS

3. REFERÊNCIAS

- ADINOLFI, M.; BARONE, G.; IADONISI, A.; SCHIATTARELLA, M. Efficient activation of glycosyl N-(phenyl) trifluoroacetimidate donors with ytterbium (III) triflate in the glycosylation reaction. **Tetrah. Letters**, v.43, p.5573–5577, 2002.
- ADINOLFI, M.; BARONE, G.; IADONISI, A.; SCHIATTARELLA, M. **Synlett**, p.269–270, 2002.
- ALLUIS, B.; DANGLES, O. Quercetin (.2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one) Glycosides and Sulfates: Chemical Synthesis, Complexation, and Antioxidant Properties. **Helv. Chim. Acta**, v.84, p.1133-1156, 2001.
- ALI, N.; COBB, S.L.; MOWBRAY, C. Introduction to the themed collection on ‘Neglected tropical diseases’. **RSC Med. Chem**, v.11, p.1098–1099, 2020.
- AITHAL, B.K.; KUMAR, S.M.R.; RAO, B.N.; UDUPA, N.; RAO, B.S.S. Juglone, a naphthoquinone from walnut, exerts cytotoxic and genotoxic effects against cultured melanoma tumor cells. **Cell Biol. Intern.**, v.33, p.1039-1049, 2009.
- ARAÚJO, A.; JANSEN, A.M.; REINHARD, K.; FERREIRA, L.F. Paleoparasitology of Chagas disease - A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.104, p.9-16, 2009.
- ARIOKA, S.; SAKAGAMI, S.; UEMATSU, R.; YAMAGUCHI, H.; TOGAME, H.; TAKEMOTO, H.; HINOUE, H.; NISHIMURA, S. Potent inhibitor scaffold against *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase. **Bioorg. & Med. Chem.**, v.18, p.1633-1640, 2010.
- BELLOTI, G.; BOCCHI, E.A.; MORAES, A.V.; HIGUCHI, L.M.; BARBERO-MARCIAL, M.; SOSA, E.; ESTEVES-FILHO, A.; KALIL, R.; WEISS, R.; JATENE, A.; PILEGGI, F. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas’ heart disease. **American Heart J.**, v.132, 1996.
- BRINER, K.; VASELLA, A. **Helvetica Chimica Acta**, v.72, p.1371–1382, 1989.
- BOONS, G.J.; ISLES, S. Vinyl glycosides in oligosaccharide synthesis (part 1): A new latent-active glycosylation strategy. **Tetrah. Letters**, v.35, p.3593–3596, 1994.
- BOCHKOV, A.F.; KOCHETKOV, N.K. **Carb. Res.**, v.39, p.355-357, 1975.
- BOURSIER, M.; DESCOTES, G. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences**. v.308, p.919–921, 1989.
- BROWN, D.S.; LEY, S.V.; VILE, S. Preparation of cyclic ether acetals from 2-benzenesulphonyl derivatives: a new mild glycosidation procedure. **Tetrah. Letters**, v.29, p.4873–4876, 1998.
- BUSCAGLIA, C.A.; CAMPETELLA, O.; LEGUIZAMÓN, M.S.; FRASH, A.C.C. The Repetitive Domain of *Trypanosoma cruzi* trans-Sialidase Enhances the Immune Response against the Catalytic Domain. **J. Infect. Diseases**, 1998.

CAMPETELLA, O.; BUSCAGLIA, C.A. MUCCI, J.; LEGUIZAMÓN, M.S. Parasite-host glycan interactions during *Trypanosoma cruzi* infection: *trans*-sialidase rides the show. **Molec. Basis of Disease**, 2020.

CAMPO, V.L.; TEIXEIRA, M.B.M.; CARVALHO, I. *Trypanosoma cruzi* invasion into host cells: A complex molecular target interplay. **Med. Chem.**, v.16, n.13, p.1084-1097, 2016.

CAREY, F.A.; SUNDBERG, R. J. Advanced organic chemistry: part A: structure and mechanisms. 5^a ed., **Springer Science & Business Media**, 2007.

CARVALHO, I.; SCHEUERL, S. L.; KARTHA, K.P. R. FIELD, R. A. Practical synthesis of the 2 acetoamido-3,4,5-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- β - D- glucosides of Fmoc-serine and Fmoc-threonine and their benzyl esters. **Carbohydr. Res.**, v.338, p.1039-1043, 2003.

Ciclo de vida do *Trypanosoma*: MSDMANUALS, 2022. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/multimedia/image/ciclo-de-vida-do-trypanosoma->. Acesso em 10/10/2022.

CHAKRABORTI, A.K.; NAYAK, M.K.; SHARMA, L. Selective Deprotection of Aryl Acetates, Benzoates, Pivalates, and Tosylates under Nonhydrolytic and Virtually Neutral Conditions **J. Org. Chem.** v.64 (21), p.8027-8030, 1999.

CHAKRABORTI, A.K.; SHARMA, L.; NAYAK, M.K.; Influence of Hydrogen Bonding in the Activation of Nucleophiles: PhSH-(Catalytic) KF in *N*-Methyl-2-pyrrolidone as an Efficient Protocol for Selective Cleavage of Alkyl/Aryl Esters and Aryl Alkyl Ethers under Nonhydrolytic and Neutral Conditions **J. Org. Chem.** v.67(8), p.2541-2547, 2002.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum* n. gen. n. sp. Agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 1909.

CHAO, C.; LEONE, J.L.; VIGLIANO, C.A. Chagas disease: Historic perspective. **BBA – Molec. Basis of Disease**, 2020.

CHUPAKHINA, T.A.; KURYANOV, V.O., CHIRVA, V.Y.; GRIGORASH, R.I.; KOTLIAR, S.A.; KAMALOV, G.L. Aromatic Crown Ethers as Phase Transfer Catalysts in the Synthesis of *N*-Acetylglucosamine β -Aryl Glycosides. **Russian J. Bioorg. Chem.** v.30, p.301–303, 2004.

COCKRAM, P.E.; SMITH T. K., Active Natural Product Scaffolds against Trypanosomatid Parasites: A Review. **J. Nat. Prod.**, v.81, p.2138-2154, 2018.

CODEE, J.D.C.; LITJENS, R.E.J.N.; VAN DER BOS, L.J.; OVERKLEEF, H.S.; VAN DER MAREL, G.A. Thioglycosides in sequential glycosylation strategies. **Chem. Soc. Rev.**, v.34, p.769-782, 2005.

DAVIS, B.G. **J. Chem. Soc.**, v.1, p.2137-2160, 2000.

DAVIS, B.G.; WARD, S.J.; RENDLE, P.M. Glycosyldisulfides: a new class of solution and solid phase glycosyl donors. **Chem. Communications**, p.189-190, 2001.

DEMCHENKO, A.V.. **Handbook of chemical glycosilation – Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance**. Ed.1, Wiley-Vch, 2008.

DEMCHENKO, A.V.; MALYSHEVA, N.N.; DE MEO, C. S-Benzoxazolyl (SBox) glycosides as novel, versatile glycosyl donors for stereoselective 1,2-cis glycosylation. **Org. Lett.**, v.5, p.455- 458, 2003.

DEMCHENKO, A.V. **Synlett**, p.1225-1240, 2003.

DEMCHENKO, A.V. 1,2-cis-O-Glycosylation: Methods, Strategies, Principles. **Cur. Org. Chem.**, v.7, p.35-79, 2003.

DEMCHENKO, A.V.; POMSURIYASAK, P.; DE MEO, C.; MALYSHEVA, N.N. Potent, Versatile, and Stable: Thiazolyl Thioglycosides as Glycosyl Donors. **Angewandte Chemie**, v.43, p.3069-3072, 2004.

DIAS, J.C.P.; COURA, J.R. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Editora **FIOCRUZ**, ed. 20, 1997.

DIAS, L.C.; DESSOY, M.A.; GUIDO, R.V.C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Quim. Nova**, v.36, n.10, p.1552-1556, 2013.

DIAS, L.C.; DESSOY, M.A.; JERLEY, J.; THIEMANN, O.H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Quimioterapia da Doença de Chagas: estado da arte e perspectiva no desenvolvimento de novos fármacos. **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444-2457, 2009.

DWIVEDI, P.; MISHRA K. B.; MISHRA B. B.; SINGH, N.; SINGH R. K.; TIWARI V. K. **Glycoconj. J.**, v.32 (3-4), p.127–140, 2015.

DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE (DNDi). Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>. Acesso em 20/05/2022.

DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE (DNDi). **Estudo mostra que um tratamento muito mais curto para doença de Chagas pode ter a mesma eficácia e ser significativamente mais seguro**. Barcelona/Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <<https://www.dndial.org/2019/comunicacao-e-informacao/press-releases/estudo-mostra-tratamento-muito-mais-curto-para-doenca-de-chagas/>>. Acesso em 20/05/2022.

ELLENDORFF, T., BRUN, R.; KAISER, M.; SENDKER, J., SCHIMDT, T.J. PLS-Prediction and Confirmation of Hidrojuglone Glucoside as the Antitrypanosomal Constituent of *Juglans Spp*. **Molecules**, v.20, n.6, p.10082-10094, 2015.

FARKAS, L.; MEZEY-VÁNDOR, G.; NÓGRÁDI, M. Die Synthese des Scutellarins, Plantaginins, Scutellarien-7- β -rutosids und die erste Herstellung des Isoscutellareins **Chem. Ber.** v.107 (12), p.3878-3882, 1974.

FARKAS, L.; VERMES, B.; NÓGRÁDI, M. Synthese von Flavonoidbis(glycosiden), V. Die Synthese sämtlicher bekannter natürlicher Quercetinbis(glucoside). **Chem. Ber.**, v.107 (5), p.1518-1525, 1974.

FERLA, B. AIROLDI, C.; ZONA, C.; ORSATO, A.; CARDONA, F.; MERLO, S.; ERIKA, S.; ORAZIO, G.; NICOTRA, F. Natural Glyconjugates with antitumor activity. **Nat. Prod. Rep.**, v. 28, p. 630-648, 2011.

FERRIER, R.J.; HAY, R.W.; VETHAVIYASAR, N. **Carbohydr. Res.**, v.27, p.55-61, 1973.

FERRIER, R. J.; COLLINS, P. M. Monosaccharides, their chemistry and their roles in natural products. New York: **Wiley**, 1996.

FERREIRA, L.L.G.; ANDRICOPULO, A.D. Drugs and vaccines in the 21st century for neglected diseases. **The Lancet**, v.19, 2019.

FIANDOR, J.; GARCÍA-LÓPEZ, M. T.; DE LAS HERAS, F. G.; MÉNDEZ-CASTRILLÓN, P. P. A Facile Regioselective 1-*O*-Deacylation of Peracylated Glycopyranoses. **Synthesis**, v.12, p.1121-1123, 1985.

FRASER-REID, B.; KONRADSSON, P.; MOOTOO, D.R.; UDODONG, U. Direct elaboration of pent-4-enyl glycosides into disaccharides. **J. Chem. Soc.: Chemical Communications**, p.823-825, 1988.

FRIESEN, R.W.; DANISHEFSKY, S.J. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.111, p.6656-6660, 1989.

GAREGG, P.J. Thioglycosides as glycosyl donors in oligosaccharide synthesis. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v.52, p.179-205, 1997.

GAREGG, P.J.; HENRICHSON, C.; NORBERG, T. **Carbohydrate. Reserch**, v.116, p.162-165, 1983.

GERVAY, J.; HADD, M.J. Anionic Additions to Glycosyl Iodides: Highly Stereoselective Syntheses of β C-, N-, and O-Glycosides. **J. Org. Chem.**, v.62, p.6961-6967, 1997.

GRAEL, C.F.F.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J.L.C. Chemical constituents of *Lychnophora pohlii* and trypanocidal activity of crude plant extracts and of isolated compounds. **Fitot.**, v. 76, p.73-82, 2005.

GUIMARÃES, D.A.S.; FARIA, A.R. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanossoma cruzi*. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v.17, n.3, p.455-465, 2007.

HALCOMB, R.L.; DANISHEFSKY, S.J. On the direct epoxidation of glycals

application of a reiterative strategy for the synthesis of beta linked oligosaccharides. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.111, p.6661-6666, 1989.

HANESSIAN, S.; BACQUET, C.; LEHONG, N. **Carboh. Res.**, v.80, p.17-22, 1980.

HAN, Z. PINKNER, J.S.; FORD, B.; OBERMANN, R.; NOLAN, W.; WILDMAN, S.A.; HOBBS, D.; ELLENBERGER, T.; CUSUMANO, C.K.; HULTGREN, S.J.; JANETKA, J.W. Structure-based drug design and optimization of mannoside bacterial FimH antagonists. **J. Med. Chem.**, v.53, p.4779-4792, 2010.

HELFERICH, B.; WEDEMEYER, K.F. Zur Darstellung von Glucosiden aus Acetobromglucose. **Liebigs Annalen der Chemie**, v.563, p.139-145, 1949.

HELFERICH, B.; SCHMITZ-HILLEBRECHT, E. Eine neue Methode zur Synthese von Glykosiden der Phenole, **Chemische Berichte**, v.66, p.378-383, 1933.

HELFERICH, B.; ZIRNER, J. **Chem. Ber.** v.95, p.2604, 1962.

HINKLIN, R.J.; KIESSLING, L.L. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.123, p.3379-3380, 2001.

HOSSION, A.M.L.; OTSUKA, N.; KANDAHARY, R.K.; TSUCHIYA, T.; OGAWA, W.; IWADO, A.; ZAMAMI, Y.; SASAKI, K. Design, synthesis and biological evaluation of a novel series of quercetin diacylglucosides as potent anti-MRSA and anti-VRE agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v.20, p.5349-5352, 2010.

HORTELANO, I. B.; ALCOLEA, V.; FONT, M.; PÉRES-SILANES, S. Examination of multiple *Trypanosoma cruzi* targets in a new drug discovery approach for Chagas disease. **Bioorg. Med. Chem.**, v.58, 2022.

HORTELANO, I. B.; SILANES, S.P.; GALIANO, S. Trypanothione Reductase and Superoxide Dismutase as Current Drug Targets for *Trypanosoma cruzi*: An Overview of Compounds with Activity against Chagas Disease. **Cur. Med. Chem.**, v.24, p.1066-1138, 2017.

HORTON, D. 2-Acetamido-3,4,6-Tri-O-acetyl-2-deoxy- α -D-glucopyranosyl chloride. **Methods Carbohydr. Chem.**, v. 6, p. 282-285, 1972.

HUANG, G.; MEI, X. Synthetic Glycosylated Natural Products Have Satisfactory Activities. **Cur. Drug Targ.**, v.15, n.8, 2014.

HUCHEL, U.; SCHMIDT, C.; SCHMIDT, R.R. Synthesis of hetaryl Glycosides and their glycosyl donor properties. **Eur. J. Org. Chem.**, p.1353-1360, 1998.

IZUMI, E. NAKAMURA, T.U.; FILHO, B.P.D.; JUNIOR, V.F.V.; NAKAMURA, C.V. Natural products and Chagas' disease: a review of plants compounds studied for activity against *Trypanosoma cruzi*. **Nat. Prod. Rep.**, v.28, p.809-823, 2011.

JACOBSSON, M.; MALMBERG, J.; ELLERVIK, U. Aromatic *O*-glycosylation. **Carb. Res.**, v.341, p.1266-1281, 2006.

JARDIM, I.S.; THIEMANN, O.H.; ANIBAL, F.F. Leishmaniasis and Chagas Disease Chemotherapy: a Critical Review. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.25, n.10, p.1810-1823, 2014.

JORDÃO, C.O.; VICHNEWSKI, W.; SOUZA, G.E.P.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J.L.C. Trypanocidal Activity of Chemical Constituents from *Lychnophora salicifolia* Mart. **Phytother.Res.**, v.18, p.332-334, 2004.

KAJJOUT, M.; ROLANDO, C. Regiospecific synthesis of quercetin O- β -D-glucosylated and O- β -D-Glucuronidated isomers. **Tetrahedron**, v.67, p.4731-4741, 2011.

KAHNE, D.; WALKER, S.; CHENG, Y.; VAN ENGEN, D. J. **Amer. Chem. Soc.**, v.111, p.6881-6882, 1989.

KARTHA, K. P. R.; ALOUI, M.; FIELD, R. A. Iodine: A versatile reagent in carbohydrate chemistry. 3. Efficient activation of glycosyl halides in combination with DDQ. **Tetrahedron Lett**, v. 37, p. 8807, 1996.

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

KHARE, S.; NAGLE, A.; BIGGART, A.; LAI, Y.H.; LIANG, F.; DAVIS, L.C.; BARNES, S.W.; MATHISON, C.J.N.; MYBURGH, E.; GAO, M.Y.; GILLESPIE, J.R.; LIU, X.; TAN, J, L.; STINSON, M.; RIVERA, I.C.; BALLARD, J.; YEH, V.; GROESSL, T.; FEDERE, G.; KOH, H.X.Y.; VENABLE, J.D.; BURSULAYA, B.; SHAPIRO, M.; MISHRA, P.K.; SPRAGGON, G.; BROCK, A.; MOTTRAM, J.C.; BUCKNER, F.S.; SRINIVASA, P.S.R.; WEN, B.G.; WALKER, J.R.; TUNTLAND, T.; MOLTENI, V.; GLYNNE, R.J.; SUPEK, F. Proteasome inhibition for treatment of leishmaniasis, Chagas disease and sleeping sickness. **Nature**, 2017.

KIM, K.S. *et al.* **J. Amer. Chem. Soc.**, v.123, p.8477–8481, 2001.

KRATS, J.M. Drug discovery for chagas disease: A viewpoint. **Acta Tropica**, v. 198, 2019.

KOCHETKOV, N.K.; KLIMOV, E.M.; MALYSHEVA, N.N. Novel highly stereospecific method of 1,2-cis glycosylation synthesis of α -D-glucosyl-D-glucoses. **Tetrah. Letters**, v.30, p.5459-5462, 1989.

KOCHETKOV, N.K.; BACKINOWSKY, L.V.; TSVETKOV, Y.E. **Tetrah. Letters**, v.41, p.3681-1684, 1977.

KOENIGS, W.; KNORR, E., On some derivatives of dextrose and galactose. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, v.34 (1), p.957-981, 1901.

KOMAROVA, B.S.; TSVETKOV, Y.E.; NIFANTIEV, N. Design of α -Selective Glycopyranosyl Donors Relying on Remote Anchimeric Assistance. **Chem. Rec.**, v.16, p. 488-506, 2016.

KONDO, H.; ICHIKAWA, Y.; WONG, C.H. β -Sialyl Phosphite and Phosphoramidite:

Synthesis and Application to the chemoenzymatic Synthesis of CMP-Sialic Acid and Sialyl Oligosaccharides. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.114, p. 8748-8750, 1992.

KOIDE, K.; OHNO, M.; KOBAYASHI, S. A new glycosylation reaction based on a remote activation concept glycosyl 2 pyridinecarboxylate as a novel glycosyl donor. **Tetrah. Letters**, v.32, p.7065-7068,1991.

KUNZ, H.; ZIMMER, J. **Tetrah. Letters**, v.34, p.2907-2910,1993.

LEMIEUX, R.U. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v.9, p.1-57, 1954.

LIU, M.H. OTSUKA, N.; NOYORI, K.; SHIOTA, S.; OGAWA, W.; KURODA, T.; HATANO, T.; TSUCHIYA, T. Synergistic effect of kaempferol glycosides purified from *Laurusnobilis* and fluoroquinolones on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Biol. Pharm. Bull**, v.32, n.3, p.489 -492, 2009.

LI, N-G.; SHI, Z-H.; TANG, Y-P.; YANG, J-P.; DUAN, J-A. An efficient partial synthesis of 4'-*O*-methylquercetin via regioselective protection and alkylation of quercetin. **Beilstein J. Org. Chem.** v.5 (60), p.1-5, 2009.

LI, M.; HAN, X.; YU, B. Facile Synthesis of Flavonoid 7-*O*-Glycosides **J. Org. Chem.** v.68 (17), p.6842-6845, 2003.

LUCCHESI, A. M.; MARZORATI, L. Catálise de transferência de fase. **Quím. Nova**, v.23 (5), p.641-652, 2000.

MAGAR, R.T.; SOHNG, J.K. A Review on Structure, Modifications and Structure-Activity Relation of Quercetin and Its Derivatives. **J. Microbiol. Biotechnol.**, p.11-20, 2020.

MALECELA, M.N.; DUCKER, C. A road map for neglected tropical diseases 2021–2030. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** p.121-123, 2021.

MARRA, A.; SINAY, P. A novel stereoselective synthesis of N-acetyl- α -neurominosyl-galactose disaccharide derivatives, using anomeric S-glycosyl xanthates. **Carbohydr. Res.**, v.195, p.303-308, 1990.

MARRA, A.; ESNAULT, J.; VEYRIERES, A.; SINAY, P. Isopropenyl glycosides and congeners as novel classes of glycosyl donors: theme and variations. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.114, p.6354-6360, 1992.

MARTIN, T.J.; SCHMIDT, R.R. Efficient sialylation with phosphite as leaving group. **Tetrah. Letters**, v.33, p.6123-6126, 1992.

MEHHTA, S.; PINTO, B.M. Phenylselenoglycosides as novel, versatile glycosyl donors. Selective activation over thioglycosides. **Tetrah. Letters**, v.32, p.4435-4438, 1991.

MEZEY-VÁNDOR, G.; FARKAS, L.; KANZEL, I.; NÓGRÁDI, M. Synthese von Baicalin und einiger anderer Baicalein-glycoside. **Chem Ber.** v.113 (13), p.1945-1949, 1980.

MEZEY-VÁNDOR, G.; FARKAS, L.; NÓGRÁDI, M. In *Flavonoids and Bioflavonoids Current Research Trends*; Farkas, L., Gábor, M., Kállay, F., Eds.: **Elsevier**: Amsterdam; p.187-192, 1977.

MILLS, R.M. Chagas Disease. Epidemiology and Barriers to Treatment. **American J. of Medicine**, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, SECRETARIA DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. Doenças Negligenciadas, estratégias do Ministério da Saúde, **Rev. Saúde Pública**, v.44, p.200-202, 2010.

MUKAIYAMA, T.; MURAI, Y.; SHODA, S. An efficient method for glycosylation of hydroxy compounds using glucopyranosyl fluoride. **Chem. Letters**, p.431-432, 1981.

MUKAIYAMA, T. Explorations into New Reaction Chemistry. **Angewandte Chemie**, v.43, p.5590-5614, 2004.

MUKAIYAMA, T.; NAKATSUKA, T.; SHODA, S.A. An Efficient Glucosylation of alcohol using 1-thioglucoside derivative. **Chem. Letters**, p.487-490, 1979.

NARA, T. KAMEIB, Y.; TSUBOUCHI, A.; ANNOURAA, T.; HIROTAA, K.; IIZUMIA, K.; DOHMOTO, Y.; ONO, T.; AOKI, T. Inhibitory action of marine algae extracts on the *Trypanosoma cruzi* dihydroorotate dehydrogenase activity and on the protozoan growth in mammalian cells. **Paras. Intern.** v.54, p.59-64, 2005.

NATOLI, M.; NICOLOSI, G.; PIATTELLI, M. Regioselective Alcoholysis of Flavonoid Acetates with Lipase in an Organic Solvent. **J. Org. Chem.** v.57, p.5776-5778, 1992.

NESS, R.K.; FLETCHER, H.G.; HUDSON, C.S. New Tribenzoyl-D-ribopyranosyl Halides and their reactions with methanol. **American J. of Chem. Society**, v.73, p.959-963, 1951.

NESS, R.K.; FLETCHER, H.G. **American J. of Chem. Society**, v.78, p.4710-1714, 1956.

NERES, J.; BUSCHIAZZO, A.; ALZARI, P.M.; WALSH, L.; DOUGLAS, K.T. Continuous X-ray assay for high-throughput screening of inhibitors of *trans*-sialidase from *Trypanosoma cruzi*. **Anal. Biochem.**, p.302-304, 2006.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J. Nat. Prod.**, v.83, p.770-803, 2020.

NICOLAOU, K.C.; UENO, H. Preparative Carbohydrate Chemistry (Ed. S. Hanessian),

Marcel Dekker, Inc., New York, p. 313-338, 1997.

NICOLAOU, K.C.; MITCHELL, H.J. Adventures in Carbohydrate Chemistry: New Synthetic Technologies, Chemical Synthesis, Molecular Design, and Chemical Biology. **Angew. Chem. Int.** v. 40, p. 1576-1624, 2001.

NICOLAOU, K.C.; SEITZ, S.P.; PAPAHAJTIS, D.P. **J. American Chem. Soc.**, v.105, p.2430-2434, 1983.

NIGUDKAR, S.S.; DEMCHENKO, A.V. Stereocontrolled 1,2-cis glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. **Chem. Sci.**, v.6, p.2687-2704, 2015.

OSCARSON, S. Carbohydrates in Chemistry and Biology, v. 1 (Eds B. Ernst, G.W. Hart and P. Sinay), **Wiley-VCH** Verlag GmbH, Weinheim, New York, p.93-116, 2000.

OSCARSON, S. Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology, v.1, Berlin: **Springer**; Nova York: Heidelberg, p.643-671, 2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). OPAS: 70% das pessoas com Chagas não sabem que estão infectadas. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/13-4-2021-opas-70-das-pessoas-com-chagas-nao-sabem-que-estao-infectadas>>. Acesso em 18/05/2022.

PAULSEN, H.; LOCKHOFF, O. **Chemische Berichte**, v.114, p.3102-3114, 1981.

PEI, Z.; DONG, H.; CARABALLO, R.; RAMSTRÖM, O. Synthesis of positional thiol analogs of β -D galactopyranose. **Eur. J. Org. Chem.** v. 29, p. 4927-4934, 2007.

PÉREZ-MOLINA, J.A.; CREPILLO-ANDÚJAR, C.; BOSCH-NICOLAUB, P.; MOLINA, I. Trypanocidal treatment of Chagas disease. **Enferm Infecc Microbiol Clin.**, 2020.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. **Purification of Laboratory Chemicals**, 2ª edição, Ed. Pergamon Press Ltd., EUA, 1980

PÉTURSSON, S. Protecting groups in carbohydrate chemistry. **J. Chem. Educ.** v. 11, p. 1297-1303, 1997.

PICQ, M.; PRIGENT, A. F.; NÉMOZ, G.; ANDRÉ, A. C.; PACHECO, H. Pentasubstituted quercetin analogs as selective inhibitors of particulate 3',5'-cyclic-AMP phosphodiesterase from rat brain **J. Med. Chem.** v.25, (10), p.1192-1198, 1982.

PLANTE, O.J.; ANDRADE, R.B.; SEEBERGER, P.H. Synthesis and use of glycosyl phosphates as glycosyl donors. **Org. Letters**, v.1, p.211-214, 1999.

POUGNY, J.R. *et al.* **J. American Chemical Society**, v.99, 6762-6763, 1977.

SALOMÃO, K. SANTANA, N.; MOLINA, M.T.; CASTRO, S.L.; MENNA-BARRETO, R.F.S. *Trypanosoma cruzi* mitochondrial swelling and membrane potential

collapse as primary evidence of the mode of action of naphthoquinone analogues. **BMC Microbiology**, 2013.

SANTOS, S.S.; ARAUJO, R.V.; GIAROLLA, J.; SEOUD, O.; FERREIRA, E.I. Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **Intern. J. of Antimicrobial Agents**, v. 55, 2020.

SCHMIDT, R.R.; JUNG, K.H. Carbohydrates in Chemistry and Biology, v. 1. Ed. B. Ernst, G.W. Hart and P. Sinay, **Wiley-VCH Verlag GmbH**, Weinheim, New York, p. 5-59, 2000.

SCHMIDT, R.R.; CASTRO-PALOMINO, J.C.; RETS, O. New aspects of glycoside bond formation. **Pure and Applied Chem.**, v.71, p.729-744, 1999.

SCHMIDT, R.R.; MICHEL J. Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. **Angewandte Chemie**, v.19, p.731-732, 1980.

SCHORMANN, N.; PAL, B.; DEBASICH, C. Expression, purification, crystallization and preliminary crystallographic analysis of recombinant pteridine reductase of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Cryst.**, 2001.

SHERIF, I.E. SHAABAN, K.A.; KHARELC, M.K.; THORSON, J.S. A comprehensive review of glycosylated bacterial natural products. **Chem. Soc. Rev.**, 2015.

STANLEY, X.C.; LAWRENCE, R.D.; GOULD, A.; STEPHEN, B.; TILLEY, L. The proteasome as a target for protozoan parasite. **Exp. Opinion on therap. Targets**, v.23, n.11, p.903-914, 2019.

STARKS, C. M.; LIOTTA, C. Phase Transfer Catalysis; Springer: New York, p.128–138, 1978.

STICK, R.V.; TILBROOK, D.M.G.; WILLIAMS, S.J. **Australian J. Chem.**, v.50, p.237-240, 1997.

STRATTON, C.F.; NEWMAN, D.J.; TAN, D.S. Cheminformatic comparison of approved drugs from natural product versus synthetic origins. **Bioorg. Med. Chem. Let.**, 2015.

TAKEARA, R.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, N.P.; LOPES, J.L.C. Trypanocidal activity of *Lychnophorastaa vioides* Mart. (*Vernoniaeae, Asteraceae*). **Phytomed.**, v.10, p.490-493, 2003.

TATSUZAKI, J.; OHWADA, T.; OTANI, Y.; INAGI, R.; ISHIKAWA, T. A simple and effective preparation of quercetin pentamethyl ether from quercetin. **Beilstein J. Org. Chem.**, v.14, p.3112–3121, 2018.

THORSON, J.S.; VOGT, T. Glycosylated Natural Products. **Carbohydrate-based Drug Disc.**, 2003.

TOSHIMA, K.; TATSUTA, K. Recent progress in *O*-glycosylation methods and its

application to natural products synthesis. **Chem. Reviews**, v.93, p.1503-1531, 1993.

VASUDEVAN, U.M.; LEE, E.Y. Flavonoids, terpenoids, and polyketide antibiotics: Role of glycosylation and biocatalytic tactics in engineering glycosylation. **Biotech. Adv.**, v. 41, 2020.

VAN BOECKEL, C.A.A.; BEETZ, T.; VAN AELST, S.F. **Tetrahedron**, v.40, p.4097-4107, 1984.

VERMES, B.; CHARI, V. M., H.; WAGNER, H. Structure Elucidation and Synthesis of Flavonol Acylglycosides. III.[‡]. The synthesis of tiliroside. **Helv. Chim. Acta**, v.64 (6), p.1964-1967, 1981.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C.P. Doença de Chagas no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.16, p.7-12, 2000.

YU, B.; TAO, H. C., Glycosyl trifluoroacetimidates. Part 1: Preparation and application as new glycosyl donors. **Tetrahedron Lett.** 42 (12), 2405-2407, 2001

YU, B.; TAO, H. C. Glycosyl Trifluoroacetimidates. Part 2. Synthesis of Dioscin and Xiebai Saponin I. **J. Org. Chem.**, v.67, p.9099-9102, 2002.

WADZINSKI, T.J.; STEINAUER, A.; HIE, PELLETIER, L. G.; SCHEPARTZ, A.; MILLER S. J. Rapid phenolic *O*-glycosylation of small molecules and complex unprotected peptides in aqueous solvent. **Nature Chem.** v.10, p.644–652, 2018.

WANG, T.; DEMCHENKO, A.V. Synthesis of carbohydrate building blocks via regioselective uniform protection/deprotection strategies. **Org. Biomol. Chem.**, 2019.

WATANABE, T.; OHASHI, Y.; YOSHINO, R.; KOMANO, N.; EGUCHI, M.; MARUYAMA, S.; ISHIKAWA, T. Total synthesis of 12-methoxydihydrochelerythrine and anti-tumour activity of its quaternary base: toward an efficient synthetic route for 12-alkoxybenzo[*c*]phenanthridine bases via naphthoquinone monooxime from 2-benzofuranyl-1-tetralone derivative. **Org. Biomol. Chem.**, v.1, p.3024–3032, 2003.

WEI, J.; LV, X.; LU, Y.; YANG, G.; FU, L.; YANG, L.; WANG, J.; GAO, J.; CHENG, S.; DUAN, Q.; JIN, C.; LI, X. Glycosynthase with Broad Substrate Specificity – an Efficient Biocatalyst for the Construction of Oligosaccharide Library. **Eur. J. Org. Chem.**, p.2414-2419, 2013.

WOODWARD, R.B.; LOGUSCH, E.; NAMBIAR, K.P.; SAKAN, K.; WARD, D.E.; AU-YEUNG, B.W.; BALARAM, P.; BROWNE, L.J.; CARD, P.J.; CHEN, C.H. Asymmetric total synthesis of erythromycin. 3. Total synthesis of erythromycin. **J. American Chem. Soc.**, v.103, p.3215-3217, 1981.

ZEMPLÉN, G.; GERECSE, A. Einwirkung von Quecksilbersalzen auf Acetohalogenzucker, III. Mitteil.: Synthese der achtfach methylierten Cellobiose. **Chemische Berichte**, v.63, 1930.

