

SÍNTESE DE GLICOAMINOÁCIDOS DE INTERESSE BIOLÓGICO

Vanessa Leiria Campo e Ivone Carvalho*

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. do Café, s/n, 14040-930 Ribeirão Preto - SP, Brasil

Recebido em 9/3/07; aceito em 11/10/07; publicado na web em 9/4/08

SYNTHESIS OF GLYCOSYL-AMINO ACIDS OF BIOLOGICAL INTEREST. This work describes the synthesis of the glycosylated amino acids α -GlcNAc-Thr, β -GlcNAc-Thr and α -LacNAc-Thr by the glycosylation reaction of the amino acid threonine with the corresponding glycosyl donors α -GlcNAcCl and α -LacNAcCl. The glycosylated amino acids containing the sugar units α -D-GlcNAc and α -D-LacNAc *O*-linked to threonine amino acids are related to *O*-glycans found in mucins of the parasite *Trypanosoma cruzi*, while the corresponding β -D-GlcNAc isomer is involved in cellular signaling events.

Keywords: glycosylated amino acids; glycosyl donors; glycosylation reaction.

INTRODUÇÃO

A natureza e extensão das reações de glicosilação exercem grande impacto na estrutura de proteínas de superfície celular e função biológica em sistemas eucarióticos de mamíferos, sendo que um elevado grau de diversidade de glicoproteínas é possível devido à variabilidade de aminoácidos glicosilados (blocos de construção).¹ Aminoácidos *O*-glicosilados, contendo unidades de açúcar *O*-GlcNAc ligadas a aminoácidos de serina ou treonina, são constituintes de várias glicoproteínas e são altamente relevantes, tendo em vista que estão envolvidos em processos de reconhecimento e invasão celular, além de eventos de sinalização celular.

A ocorrência de unidades de açúcar 2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosose (α -D-GlcNAc) *O*-ligadas a aminoácidos de treonina, via ligação α -glicosídica, está relacionada a glicoproteínas de mucina de *Trypanosoma cruzi*, as quais se assemelham às de mamíferos, embora estes contenham unidades oligossacarídicas ligadas à cadeia peptídica pela inserção de resíduo de α -*N*-acetilgalactosamina (GalNAc).² As glicoproteínas de mucina são moléculas multigalactosiladas, cujas unidades de galactose encontram-se ligadas, através do resíduo α -GlcNAc, à cadeia peptídica com seqüência rica em aminoácidos de Thr, como Thr-Thr-Thr-Thr-Thr-Thr-Thr-Lys-Pro-Pro (Thr₈LysPro₂)^{3,4} (Figura 1).

Em função da variedade das moléculas de mucina de *T. cruzi*,

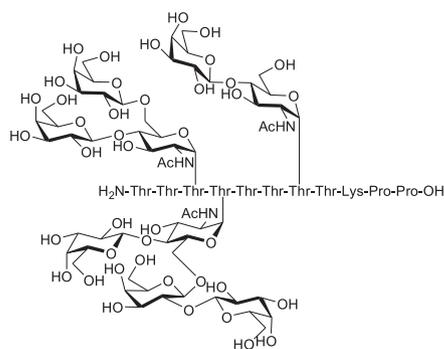
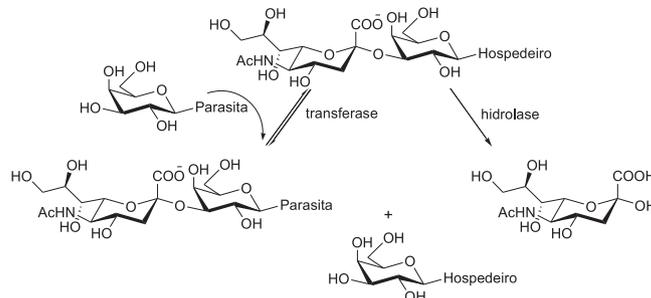


Figura 1. Representação dos glicopeptídeos de mucina, contendo unidades multigalactosiladas ligadas à unidade repetitiva Thr₈LysPro₂

*e-mail: carronal@usp.br

não existem compostos disponíveis que atuem como substratos glicopeptídicos sintéticos para entendimento dos mecanismos moleculares de invasão parasitária. O parasita intracelular *T. cruzi*, causador da doença de Chagas, desenvolve uma enzima regulatória de superfície, denominada *trans*-sialidase, envolvida nas interações entre célula do hospedeiro e parasita, etapa inicial chave no processo de infecção.⁴ *T. cruzi* é incapaz de sintetizar ácido siálico e, através da *trans*-sialidase, o parasita torna-se apto a transferir-lo de glicoconjugados do hospedeiro e incorporá-lo a moléculas de mucina ligadas à membrana parasitária através de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI).⁵ A enzima *trans*-sialidase é específica em catalisar, preferencialmente, a transferência de ácido siálico, originando ligações α -2,3 com unidades de β -galactoseceptoras de moléculas de mucina na superfície do parasita.⁶ No entanto, apesar de ser primariamente classificada como transferase, promovendo reações reversíveis, *trans*-sialidase possui também ação residual hidrolítica⁷ (Esquema 1).



Esquema 1. Reação de transferência de ácido siálico do hospedeiro para o parasita pela ação da enzima *trans*-sialidase

Um enfoque diferente envolvendo aminoácidos glicosilados *O*-GlcNAc-Ser/Thr está relacionado a estudos de processos de sinalização e transdução celular. A glicosilação de resíduos de serina e treonina em proteínas nucleares e citoplasmáticas por um resíduo de *N*-acetilglicosamina, via ligação β -glicosídica (*O*-GlcNAc), é uma das alterações pós-traducionais que tem merecido destaque em razão das recentes descobertas acerca de sua importância. As conseqüências funcionais exatas desse processo não são claras, mas investigações recentes têm sugerido diversas funções para essas reações de glicosilação.⁸

A alteração por *O*-GlcNAc já foi detectada em proteínas de diversas espécies eucarióticas e de diversos tecidos, entre elas proteínas do citoesqueleto, proteínas do poro nuclear, proteínas associadas à cromatina, RNA polimerase II e seus fatores de transcrição, supressores tumorais, fosfatases e quinases.⁹

Devido às características do processo de *O*-glicosilação, foi sugerido que esta poderia ser análoga à fosforilação, principal alteração relacionada à transdução de sinais e regulação da função protéica. Entre os fatores que sugerem que *O*-GlcNAc seja análoga à fosforilação na regulação celular estão a reação de adição de *O*-GlcNAc é altamente dinâmica na resposta aos eventos de sinalização celular; as modificações por *O*-GlcNAc ocorrem em sítios protéicos similares àqueles modificados por proteínas quinases e, *O*-GlcNAc é recíproca à fosforilação em proteínas já bastante estudadas como RNA polimerase II, receptor de estrogênio e o produto do proto-oncogene *c-Myc*.⁹ Estes dados conduzem a um complexo modelo de regulação de proteínas onde suas diferentes formas modificadas podem existir e uma série de deglicosilação/fosforilação e defosforilação/glicosilação seria necessária para alterar o comportamento de uma proteína. Todos esses aspectos são baseados na hipótese “yin-yang”, a qual supõe a existência de uma reciprocidade entre fosforilação e *O*-glicosilação, ou seja, ambas competem pelo mesmo sítio ou região protéica e são mutuamente exclusivas.^{9,10}

A síntese de glicoaminoácidos envolve estratégias que conduzem à formação da ligação glicosídica, entre a molécula de açúcar e a unidade de aminoácido (Ser/Thr), de forma estereosseletiva e a utilização de grupos protetores específicos devido à poli-funcionalidade das moléculas de carboidratos.^{1,11} A glicosilação de aminoácidos, com raras exceções, requer que ambas as funções dos aminoácidos, amino e carboxila, estejam protegidas; porém, os grupos protetores utilizados devem ser adequadamente selecionados considerando a labilidade da ligação glicosídica frente a fortes condições ácidas e a possibilidade de reação de β -eliminação de *O*-glicoaminoácidos sob fortes condições básicas.¹² Assim, estas características têm conduzido a um esforço contínuo para a adaptação e o desenvolvimento de grupos protetores que considerem o emprego de condições brandas e ortogonalidade da desproteção.

A síntese de glicosídeos 1,2-*trans*-2-acetamido-2-desoxi- β -D-Ser/Thr (β -*O*-GlcNAc-Ser/Thr) tem recebido atenção especial, tendo em vista a necessidade de unidades de açúcar contendo grupos protetores participantes na posição 2. Alguns métodos são descritos para a síntese destes derivados, sendo a reação do tipo Koenigs-Knorr a mais empregada, a qual necessita da utilização de haletos de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila como doadores glicosídicos.¹³ Alternativamente, reações a partir de derivados de oxazolona,¹⁴ como metil oxazolinas, sob catálise ácida, também podem conduzir aos glicoaminoácidos de configuração β . Com relação à preparação dos glicosídeos 1,2-*cis*-2-acetamido-2-desoxi- α -D-Ser/Thr (α -*O*-GlcNAc/LacNAc-Ser/Thr), doadores glicosídicos com grupo substituinte não participante na posição 2 devem ser empregados. Paulsen *et al.*¹⁵ e Lemieux *et al.*¹⁶ estabeleceram o grupo azido (N_3) como grupo preferencial a ser utilizado, o qual pode, posteriormente, ser facilmente convertido ao grupo *N*-acetil. Atualmente, a reação mais utilizada para a preparação de análogos 2-azido-2-desoxi tem sido a reação de azidonitração de D-glicol ou D-galactal desenvolvida por Lemieux *et al.* em 1979.

Destá forma, a síntese dos glicoaminoácidos contendo unidades de açúcar α -D-GlcNAc ou α -D-LacNAc *O*-ligadas a aminoácidos de treonina, como constituintes de moléculas de mucina de *T. cruzi*, é fundamental para a investigação da natureza das interações

moleculares críticas envolvidas no reconhecimento e processamento de glicosídeos contendo ácido siálico, na presença de *trans*-sialidase. No entanto, a obtenção dos correspondentes isômeros com unidades β -D-GlcNAc ou β -D-LacNAc também é interessante para aplicação em estudos comparativos de estrutura/função da enzima *trans*-sialidase, gerando derivados que podem ser empregados na validação da ação desta enzima. Além do mais, o envolvimento dos aminoácidos glicosilados β -D-GlcNAc-Ser/Thr em eventos de sinalização celular reforçam a relevância de sua preparação.

Assim sendo, considerando a importância biológica supracitada de glicoaminoácidos contendo unidades de açúcar α -D-GlcNAc/ α -D-LacNAc ou β -D-GlcNAc/ β -D-LacNAc *O*-ligadas a aminoácidos de treonina, neste trabalho é apresentada a síntese dos glicoaminoácidos α GlcNAc-Thr 1, β GlcNAc-Thr 2 e α LacNAc-Thr 3.

PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes e solventes utilizados foram convenientemente purificados de acordo com métodos padrões descritos na literatura quando necessário. As reações químicas foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica gel 60 GF₂₅₄ da Merck®. Colunas cromatográficas foram realizadas utilizando sílica gel tipo “Flash” (40-63 μ m) da Merck® ou em aparelho Biotage Horizon™ com sistema de alta performance de cromatografia “Flash”.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear foram registrados em espectrômetro Varian Gemini. Os espectros de RMN ¹H, registrados a 400 MHz, foram referenciados em δ_H 7,27 para CDCl₃, δ_H 3,35 para CD₃OD e δ_H 4,63 para D₂O, e os espectros de RMN ¹³C, registrados a 100 MHz, foram referenciados em δ_C 77,0 para CDCl₃ e δ_C 49,15 para CD₃OD. As análises de rotação óptica foram realizadas a temperatura ambiente em polarímetro Perkin-Elmer, modelo 141, utilizando lâmpada de sódio. Os espectros de massa utilizando ionização por electrospray (ESI-MS) foram realizados em aparelho Finnigan MAT 900 XLT, empregando modo positivo.

Síntese de aminoácidos glicosilados

Éster benzílico de N-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-(2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- β -D-glicopiranosil)-L-treonina 4 e Éster benzílico de N-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-(2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glicopiranosil)-L-treonina 5

Uma mistura de cloreto de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-*O*-acetil- α -D-glicopiranosila **6**¹⁷ (400 mg, 1,08 mmol) e do éster benzílico de *N*-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-L-treonina **7**¹⁸ (235 mg, 0,53 mmol) em 1,2-dicloroetano (4,3 mL) foi tratada com HgBr₂ (429 mg, 1,2 mmol). A mistura foi agitada e aquecida sob refluxo a 90 °C por 9 h e acompanhada por CCD (AcOEt: Hexano 7:3 v:v).¹⁹ A mistura âmbar obtida foi concentrada e purificada em coluna cromatográfica em sílica-gel (AcOEt:Hexano 7:3 v:v). Os produtos **4** (200 mg, 0,26 mmol, 52%) e o correspondente isômero **5** (77 mg, 0,10 mmol, 20%) foram obtidos como sólidos brancos amorfos. **4**: PF 173-174 °C, $[\alpha]_D^{25} - 15,6$ (*c* 1,0, CHCl₃), *R*_f 0,26 (AcOEt: Hexano, 7:3 v:v); δ_H (CDCl₃, 400 MHz) 7,76 (2 H, d, *J* 7,6 Hz, *CH* Fmoc Ph), 7,64 (2 H, d, *J* 7,8 Hz, *CH* Fmoc Ph), 7,41-7,26 (9 H, m, Fmoc Ph, OCH₂Ph), 5,83 (1 H, d, *J* 9,1 Hz, *NH* Thr), 5,54 (1 H, d, *J* 8,4 Hz, *NHAc*), 5,25 (1 H, t, *J*_{2,3} 10,1 Hz, H-3), 5,21-5,14 (2 H, AB, *J*_{AB} 12,2 Hz, OCH₂Ph), 5,00 (1 H, t, *J*_{3,4} 10,1 Hz, H-4), 4,65 (1 H, d, *J*_{1,2} 8,1 Hz, H-1), 4,47-4,40 (3 H, m, CH₂ Fmoc, β CH Thr), 4,35 (1 H, dd, *J* 7,3 Hz, *J* 10,6 Hz, α CH Thr), 4,24 (1 H, t, *J* 7,3 Hz, *CH* Fmoc), 4,19 (1 H, dd, *J*_{5,6a} 4,3 Hz, *J*_{6a,6b} 12,3 Hz, H-6a), 4,02 (1 H, dd, *J*_{5,6b} 2,2 Hz, *J*_{6,6b} 12,3 Hz, H-6b), 3,67 (1 H, dd,

$J_{1,2}$ 8,1 Hz, $J_{2,3}$ 10,1 Hz, H-2), 3,51-3,47 (1 H, m, H-5), 2,03, 2,02, 1,99, 1,93 (12 H, 4s, 4x COCH_3), 1,20 (3 H, d, J 6,3 Hz, CH_3 Thr). δ_{C} (CDCl_3 , 100 MHz) 170,9, 170,6, 170,4, 170,0 (COCH_3), 169,4 (COCH_2Ph), 156,8 (CO Fmoc), 144,0, 141,3 (*Cipso* Fmoc Ph), 135,5 (*Cipso* OCH_2Ph), 128,6, 128,5, 128,3, 127,7, 127,1, 125,5, 119,9 (CH Ph), 98,5 (C-1), 74,5 ($\beta\text{CH Thr}$), 71,9, 71,7, (C-5, C-3), 68,5 (C-4), 67,3 (OCH_2Ph , CH_2Fmoc), 61,9 (C-6), 58,7 ($\alpha\text{CH Thr}$), 55,3 (C-2), 47,3 (CH Fmoc), 23,3, 20,7, 20,5, 20,6 (COCH_3), 17,0 (CH_3 Thr). ESI-MS: calcd. para $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{NH}_4$ [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^+$: 778,3187, encontrado: 778,3187. Os dados físicos e analíticos descritos para o composto **4** estão de acordo com os descritos na literatura.¹⁹

5: PF 67,9-69,5 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 30,4$ (c 1,0, CHCl_3), R_f 0,31 (AcOEt: Hexano 7:3 v:v); δ_{H} (CDCl_3 , 400 MHz) 7,77 (2 H, d, J 7,5 Hz, CH Fmoc Ph), 7,64 (2 H, d, J 6,0 Hz, CH Fmoc Ph), 7,49-7,26 (9H, m, Fmoc Ph , OCH_2Ph), 5,94 (1 H, d, J 9,3 Hz, NHAc), 5,73 (1 H, d, J 9,5 Hz, NHThr), 5,20-5,14 (1 H, m, H-3), 5,19, 5,09 (2 H, AB, J_{AB} 12,2 Hz, OCH_2Ph), 5,08 (1 H, t, $J_{3,4}$ 9,4 Hz, H-4), 4,70 (1 H, d, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,55-4,44 (3 H, m, CH_2Fmoc , αCHThr), 4,31-4,07 (5 H, m, βCHThr , CHFmoc , H-2, H-6a, H-6b), 4,01-3,97 (1 H, m, H-5), 2,06, 2,04, 2,03, 1,96 (12H, s, COCH_3), 1,28 (3 H, d, J 6,2 Hz, CH_3 Thr); δ_{C} (CDCl_3 , 100 MHz) 171,5, 170,9, 170,8, 170,6 (COCH_3), 169,5 (COCH_2Ph), 156,7 (CO Fmoc), 144,0, 143,8, 141,5 (*Cipso* Fmoc Ph), 134,5 (*Cipso* OCH_2Ph), 129,2, 129,1, 128,8, 128,0, 127,3, 125,3, 120,2 (CH Ph), 99,5 (C-1), 77,6 (βCHThr), 71,4 (C-3), 68,5, 68,4 (C-5, C-4), 68,0 (OCH_2Ph), 67,7 (CH_2Fmoc), 62,2 (C-6), 58,7 (αCHThr), 51,8 (C-2), 47,3 (CH Fmoc), 23,3, 21,0, 20,9, 20,8 (COCH_3), 18,5 (CH_3 Thr). ESI-MS: calcd para $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{13}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 761,2916, encontrado: 761,2938.

2-acetamido-2-desoxi- β -D-glicopiranosil-L-treonina 2

Uma solução de éster benzílico de *N*-(9-Fluorenilmetoxi-carbonil)-(2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-*O*-acetil- β -D-glicopiranosil)-L-treonina **4** (60 mg, 0,078 mmol), previamente lavado com solução de EDTA 0,5%, em MeOH (3 mL) foi tratada com AcOH glacial (0,3 mL) e Pd/C 10% (40 mg). A mistura foi agitada e mantida sob atmosfera de H_2 (~1,5 atm) por 8 h. A mistura foi filtrada em Celite, concentrada *in vacuo* e purificada por coluna cromatográfica (DCM:MeOH 9:1 v:v). O produto obtido (28,3 mg, 0,063 mmol) foi então dissolvido em MeOH (1,5 mL) e tratado com solução de MeONa 1 mol/L em metanol até pH básico. A mistura reacional foi mantida sob agitação por 2 h sendo, a seguir, neutralizada pela adição de resina Dowex 50WX8-200. Filtração e concentração da mistura reacional forneceram o produto **2** (20,4 mg, 80%) como um sólido amorfo incolor. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 81,1$ (c 1,0, CH_3OH); δ_{H} (D_2O , 400 MHz) 4,40 (1H, d, $J_{1,2}$ 8,3 Hz, H-1), 4,18 (1H, m, $\beta\text{CH Thr}$), 3,82-3,78 (1H, m, H-6a), 3,65-3,62 (1H, m, H-2), 3,60 (1H, t, $J_{3,4}$ 9,8 Hz, H-3), 3,52-3,50 (1H, m, $\alpha\text{CH Thr}$), 3,44 (1H, t, $J_{3,4}$ 9,8 Hz, H-4), 3,37-3,30 (2H, m, H-5, H-6b), 1,95 (3H, s, NHAc), 1,22 (3H, d, J 6,5 Hz, CH_3 Thr); δ_{C} (CD_3OD , 100 MHz) 101,9 (C-1), 77,6 (βCHThr , αCHThr), 76,7 (C-5), 74,7 (C-3), 70,9 (C-4), 61,5 (C-6), 56,5 (C-2), 22,8 (NCOCH_3), 18,9 (CH_3 Thr). ESI-MS: calcd. para $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 323,1449, encontrado: 323,1449.

2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-L-treonina 1

O mesmo procedimento descrito para o produto **4** foi aplicado ao composto **5**. Partindo de 76 mg (0,09 mmol) de **5**, o produto **1** foi obtido como um sólido amorfo incolor (28 mg, 86%). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 61$ (c 0,2, CH_3OH); δ_{H} (D_2O , 400 MHz), 4,80 (1H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,40 (1H, m, $\beta\text{CH Thr}$), 3,82 (1H, m, $\alpha\text{CH Thr}$), 3,72-3,65 (2H, m, H-2, H-6a), 3,62-3,48 (H-6b, H-5, H-3), 3,33 (1 H, t, $J_{3,4}$ 10,1 Hz, H-4), 1,85 (3H, s, NHAc), 1,21 (3H, d, J 6,5 Hz, CH_3 Thr). δ_{C} (CD_3OD , 100 MHz) 99,30 (C-1), 73,24 (βCHThr), 73,04 (C-5),

70,78 (C-4), 69,04 (C-3), 61,04 (C-6), 56,83 (αCHThr), 53,04 (C-2), 21,34 (NCOCH_3), 17,34 (CH_3 Thr). ESI-MS: calcd. para $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}^+$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 345,1269, encontrado: 345,1280.

Síntese de dissacarídeo glicosídico

Cloreto de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosila **8**

Nitrato de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosila **9** (1,46 g, 2,2 mmol) obtido a partir da reação de azidonitração do lactal **10**¹⁶ foi dissolvido em acetonitrila (13,46 mL) contendo cloreto de tetraetilamônio (1,39 g). Após 4 h de agitação a 80 °C, a mistura reacional foi diluída com tolueno e lavada com água, sendo após purificada por coluna cromatográfica (AcOEt: Hexano 1:1 v:v). O produto **8** foi obtido na forma cristalina em 30% de rendimento (436,42 mg, 0,46 mmol). PF 190-193 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 60,2$ (c 1,0, CHCl_3), R_f 0,36 (Hexano: AcOEt, 1:1 v:v). δ_{H} (CDCl_3 , 400 MHz) 6,05 (1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 5,46 (1 H, $J_{3,4}$ 9,93 Hz, H-4'), 5,33 (1 H, d, $J_{2,3}$ 2,9 Hz, H-2'), 5,08 (1 H, t, J 10,3 Hz, H-3), 4,93 (1 H, dd, $J_{2,3}$ 3,3 Hz, $J_{3,4}$ 10,3 Hz, H-3'), 4,47 (1 H, m, $J_{6a,6b}$ 12,1 Hz, H-6b), 4,43 (1 H, d, $J_{1,2}$ 7,7 Hz, H-1'), 4,21 (1 H, m, J 11,0 Hz, H-6b'), 4,16 (1 H, m, $J_{5,6}$ 4,0 Hz, $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz, H-6a), 4,13 (1 H, m, J 11,0 Hz, H-6'a), 4,04 (1 H, m, J 7,3 Hz, H-5'), 3,86 (1 H, t, J 6,5 Hz, H-5), 3,79 (1 H, t, J 9,7 Hz, H-4), 3,70 (1 H, dd, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, $J_{2,3}$ 10,3 Hz, H-2), 2,09-1,91 (18 H, 6 s, 6 COCH_3); δ_{C} (CDCl_3 , 100 MHz) 169,3-167,8 (COCH_3), 99,8 (C-1'), 90,7 (C-1), 74,2 (C-4), 70,6 (C-3'), 69,9 (C-5'), 69,7 (C-3), 68,8 (C-2'), 67,9 (C-5), 65,5 (C-4'), 61,5 (C-6), 60,16 (C-6'), 59,7 (C-2). ESI-MS: calcd para $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{ClN}_3\text{O}_{15}\text{Na}^+$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 660,1, encontrado 660,1.

Éster benzílico de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-*N*-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-L-treonina **11**

A uma mistura de cloreto de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosila **8**²⁰ (200 mg, 0,31 mmol) e do aminoácido FmocThrOBn **7** (135,4 mg, 0,31 mmol) em 1,2-dicloroetano (2,5 mL) foi adicionado o promotor brometo de mercúrio (112 mg, 0,31 mmol), sendo a mistura reacional refluxada por 9 h e acompanhada por CCD (Hexano:AcOEt, 3:7 v:v). A mistura âmbar obtida foi purificada por coluna cromatográfica (Hexano:AcOEt, 1:1 v:v). O glicosídeo desejado **11** (195 mg, 0,18 mmol, 60%) foi obtido como um sólido amorfo. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 32,2$ (c 1,0, CHCl_3); δ_{H} (CDCl_3 , 400 MHz) 7,77 (2 H, d, J 7,5 Hz, CH Fmoc Ph), 7,64 (2 H, d, J 6,0 Hz, CH Fmoc Ph), 7,49-7,26 (9H, m, Fmoc Ph , OCH_2Ph), 5,79 (1 H, d, J 9,4 Hz, NH), 5,39 (1 H, dd, $J_{3,4}$ 3,4 Hz, $J_{4,5}$ 0,9 Hz, H-4'), 5,37 (1 H, dd, $J_{1,2}$ 7,8 Hz, $J_{2,3}$ 10,4 Hz, H-2'), 5,30 (2 H, AB, J_{AB} 12,2 Hz, OCH_2Ph), 5,13 (1 H, dd, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, $J_{3,4}$ 9,8 Hz, H-3), 4,96 (1 H, dd, $J_{2,3}$ 10,7 Hz, $J_{3,4}$ 3,4 Hz, H-3'), 4,80 (1 H, d, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,47 (1 H, d, $J_{1,2}$ 7,8 Hz, H-1'), 4,40 (3 H, m, αCHThr , βCHThr , H-6b), 4,31 (1 H, t, J 7,3 Hz, CHFmoc), 4,26 (1 H, dd, $J_{6a,6b}$ 11,0 Hz, $J_{5,6b}$ 5,9 Hz, H-6'b), 4,21 (1 H, dd, $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz, $J_{5,6a}$ 5,3 Hz, H-6a), 4,13 (1 H, $J_{6a,6b}$ 11,0 Hz, $J_{5,6a}$ 7,4 Hz, H-6'a), 3,99 (1 H, ddd, $J_{5,6a}$ 5,3 Hz, $J_{5,6b}$ 1,9 Hz, $J_{4,5}$ 10,0 Hz, H-5), 3,97 (2 H, m, CH_2Fmoc), 3,85 (1 H, dd, $J_{5,6a}$ 7,4 Hz, $J_{5,6b}$ 6,1 Hz, H-5'), 3,66 (1 H, dd, $J_{3,4}$ 9,8 Hz, $J_{4,5}$ 9,5 Hz, H-4), 3,09 (1 H, dd, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, $J_{2,3}$ 10,6 Hz, H-2), 2,16-1,96 (18 H, 6 s, 6 CH_3CO), 1,33 (3 H, d, J 6,5 Hz, CH_3 Thr); δ_{C} (CDCl_3 , 100 MHz) 170,5-169,6 (COCH_3), 169,3 (COCH_2Ph), 157,1 (CO Fmoc), 144,0, 141,2 (*Cipso* Fmoc Ph), 135,1 (*Cipso* OCH_2Ph), 128,8, 127,9, 127,3, 125,5, 120,1 (CH Ph), 101,3 (C-1'), 99,2 (C-1), 76,6 (C-4), 71,2 (C-3'), 70,9 (C-5'), 70,1 (C-3), 69,3 (C-2'), 69,1 (C-5), 68,0 (C-4'), 66,7 (CH_2Fmoc , OCH_2Ph), 62,1 (C-6),

61,6 (C-6'), 60,8 (α CHThr, β CHThr), 59,1 (C-2), 47,3 (CH Fmoc), 21,2-20,8 (COCH₃), 18,9 (CH₃ Thr). ESI-HSMS: calcd. para C₅₀H₅₆N₄O₂₀. NH₄⁺ [M + NH₄]⁺: 1050,3824, encontrado: 1050,3831.

Éster benzílico de 3,6-di-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-N-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-L-treonina 12

O composto **11** (150 mg, 0,145 mmol) foi adicionado à mistura de THF:anidrido acético:ácido acético (7 mL) e tratado com zinco em pó (247 mg).²¹ Solução saturada de CuSO₄ (0,4 mL) foi adicionada e a mistura reacional foi agitada por 30 min a temperatura ambiente, sendo posteriormente filtrada em celite e coevaporada a partir de tolueno. Purificação por coluna cromatográfica (Hexano: AcOEt 3:7 v:v) forneceu o produto **12** (99 mg, 0,094 mmol, 65%). [α]_D²⁵ + 28,8 (c 1,0, CHCl₃); δ _H (CDCl₃, 400 MHz) 7,77 (2 H, d, *J* 7,5 Hz, CH Fmoc Ph), 7,64 (2 H, d, *J* 6,0 Hz, CH Fmoc Ph), 7,49-7,26 (9H, m, Fmoc Ph, OCH₂Ph), 5,85-5,62 (2 H, 2 d, *J* 9,4 Hz, 2NH), 5,28 (1 H, dd, *J*_{3',4'} 3,4 Hz, *J*_{4',5'} 0,8 Hz, H-4'), 5,13 (1 H, dd, *J*_{2,3} 10,5 Hz, *J*_{3,4} 8,6 Hz, H-3), 5,10 (1 H, d, *J*_{1,2'} 7,8 Hz, *J*_{2,3} 10,4 Hz, H-2'), 5,02 (2 H, AB, *J*_{AB} 12,2 Hz, OCH₂Ph), 4,90 (1 H, dd, *J*_{2,3'} 10,4 Hz, *J*_{3',4'} 3,4 Hz, H-3'), 4,57 (1 H, d, *J*_{1,2} 3,7 Hz, H-1), 4,48 (1 H, d, *J*_{1,2'} 7,8 Hz, H-1'), 4,37 (3 H, m, α CHThr, CH₂Fmoc, H-6b), 4,22 (1 H, t, *J* 7,3 Hz, CHFmoc), 4,14-4,09 (3H, m, β CHThr, H-2, H-6a'), 4,06 (1 H, dd, *J*_{6'a,6'b} 11,0 Hz, *J*_{5',6'b} 5,9 Hz, H-6b'), 4,01 (1 H, dd, *J*_{6'a,6'b} 11,0 Hz, *J*_{5,6'a} 5,3 Hz, H-6a), 3,86 (1 H, ddd, *J*_{5,6'a} 5,3 Hz, *J*_{5,6'b} 1,9 Hz, *J*_{4,5} 10,0 Hz, H-5), 3,80 (1 H, dd, *J*_{5',6'a} 7,4 Hz, *J*_{5',6'b} 6,1 Hz, H-5'), 3,69 (1 H, dd, *J*_{3,4} 9,8 Hz, *J*_{4,5} 9,5 Hz, H-4), 2,15-1,93 (21 H, 7 s, 7 CH₃CO), 1,21 (3 H, d, *J* 6,5 Hz, CH₃ Thr); δ _C (CDCl₃, 100 MHz) 170,5-169,2 (COCH₃), 169,3 (COCH₂Ph), 157,1 (CO Fmoc), 144,0, 141,2 (*Cipso* Fmoc Ph), 135,1 (*Cipso* OCH₂Ph), 128,8, 127,9, 127,3, 125,5, 120,1 (CH Ph), 101,3 (C-1'), 99,3 (C-1), 76,6 (C-4), 71,2 (C-3'), 70,9 (C-3), 70,1 (C-5'), 69,3 (C-2'), 69,1 (C-5), 68,0 (CH₂Fmoc, OCH₂Ph), 66,7 (C-4'), 62,1 (C-6), 61,6 (C-6'), 60,8 (α CHThr, β CHThr), 59,1 (C-2), 47,3 (CH Fmoc), 21,2-20,8 (COCH₃), 18,9 (CH₃ Thr). ESI-HSMS: calcd. para C₅₂H₆₀N₂O₂₁. H⁺ [M + H]⁺: 1049,3761, encontrado: 1049,3768.

β -D-galactopiranosil-2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-L-treonina 3

Uma solução de éster benzílico de 3,6-di-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-acetamido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-N-(Fluoren-9-ilmetoxicarbonil)-L-treonina **12** (48 mg, 0,045 mmol), previamente lavada com solução de EDTA 0,5%, em MeOH (3,6 mL) foi tratada com ácido acético glacial (0,36 mL) e Pd/C 10% (51 mg). A mistura reacional foi agitada sob atmosfera de H₂ (~1,5 atm) por 8 h, sendo depois filtrada em celite, concentrada e purificada por coluna cromatográfica (DCM:MeOH 9:1 v:v). O produto obtido (43 mg, 0,058 mmol) foi dissolvido em MeOH (1,5 mL) e tratado com solução de MeONa 1 mol/L em metanol até pH básico. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 8 h, e após este período foi neutralizada com resina Dowex 50WX8-200. A filtração e concentração da mistura reacional forneceram o produto **3** (20 mg, 0,04 mmol, 90%). R_f 0,1 (DCM: MeOH 9:1 v:v); [α]_D²⁵ +10 (c 0,1, MeOH); δ _H (D₂O, 400 MHz), 4,77 (1H, d, *J*_{1,2} 3,7 Hz, H-1), 4,30 (1H, d, *J*_{1,2'} 7,8 Hz, H-1'), 4,29 (1H, m, β CHThr), 3,80-3,65 (7H, m, H-4', H-2, H-6a, H-6b, H-3, H-3', α CHThr), 3,62-3,52 (4H, H-6a', H-6b', H-4, H-5), 3,50 (1H, m, H-5'), 3,36 (1H, dd, *J*_{1,2'} 7,8 Hz, *J*_{2,3'} 10,1 Hz, H-2'), 1,87 (3H, s, NHAc), 1,24 (3H, d, *J* 6,5 Hz, CH₃ Thr). δ _C (D₂O, 100 MHz) 103,68 (C-1'), 99,46 (C-1), 79,48 (C-4), 76,09 (C-5'), 75,57 (β CHThr), 73,31 (C-5), 71,92, 71,91 (C-3', C-3), 71,73 (C-2'), 70,14 (α CHThr), 69,27 (C-4'), 61,77 (C-6'), 61,74 (C-6), 53,93 (C-2), 22,88 (NCOCH₃), 18,89 (CH₃ Thr). ESI-HSMS: calcd. para C₁₈H₃₂N₂O₁₃. Na⁺ [M + Na]⁺: 507,1797, encontrado: 507,1798.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese de aminoácidos glicosilados α GlcNAc-Thr 1 e β GlcNAc-Thr 2

A síntese do bloco de construção α GlcNAc-ThrOH é de fundamental importância para a preparação de glicoconjugados complexos que mimetizem as moléculas de mucina de *T. cruzi*, contribuindo para o melhor entendimento do processo de sialilação do parasita. No entanto, a formação estereosseletiva do isômero β GlcNAc-ThrOH também é de grande importância, considerando sua potencial aplicação em estudos de mecanismos de transdução de sinais celulares, conforme discutido na seção de introdução, bem como em estudos comparativos de estrutura/função da enzima *trans*-sialidase.

Reações de glicosilação

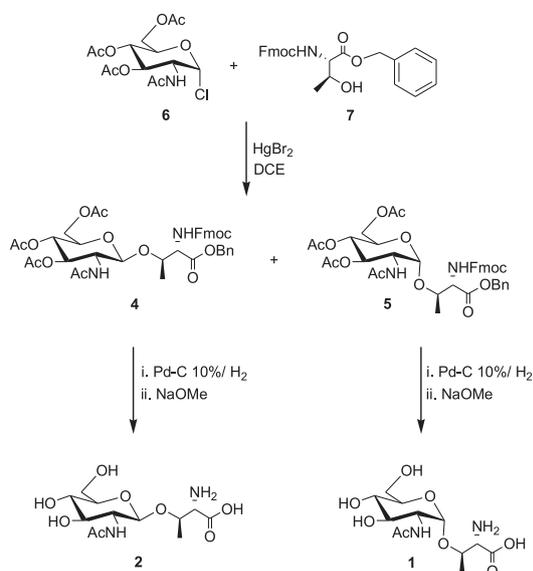
Haletos α -glicosídicos são amplamente empregados em reações de glicosilação (Koenigs-Knorr)²² como espécies doadoras de unidades glicosídicas e geração de derivados substituídos 1,2-*trans*-2-acetamido-2-desoxi-glicosídicos, com estereosseletividade em relação ao anômero β . Além de haletos, grupos como tricloroacetimidato, mercaptana e derivado sulfóxido podem também ser usados para funcionalização da posição anomérica e ativação da reação de glicosilação.²³ O emprego de cloreto de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glicopiranosila com aminoácidos aceptores, contendo grupos carboxi e amino protegidos, fornece frequentemente produtos com alta seletividade β . A assistência anquimérica exercida pelo grupo participante 2-*N*-acetil, na posição anomérica, leva a uma blindagem da face α do doador, forçando a entrada do aceptor apenas pela face β .²²

O alto rendimento e estereosseletividade das reações de glicosilação dependem não somente do doador glicosídico empregado, mas também de reagentes promotores da reação, tais como: trimetilsiloxitriflato (TMSOTf),²⁴ triflato de prata (AgOTf),²⁵⁻²⁷ dimetilmetiltiosulfonitriflato (DMTST),²⁸ brometo de mercúrio (HgBr₂)¹⁹ e iodo.²⁶

A preparação dos aminoácidos glicosilados β GlcNAc-FmocThrOBn **4** e α GlcNAc-FmocThrOBn **5** e dos correspondentes produtos totalmente desprotegidos **2** e **1** está apresentada no Esquema 2. A reação de glicosilação do açúcar cloreto de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glicopiranosila **6**¹⁷ com o aminoácido treonina **7**,¹⁸ contendo grupos protetores *N*-Fmoc e *O*-Bn utilizando-se 1,2-dicloroetano como solvente e HgBr₂ como catalisador, sob refluxo direto da mistura reacional durante 9 h,¹⁹ conduziu à formação de mistura α/β com rendimentos de 20 e 52%, respectivamente (total 72%). A identificação dos blocos de construção **4** e **5** foi realizada com base na constante de acoplamento dos hidrogênios anoméricos nos espectros de RMN ¹H, respectivamente em δ 4,60 (1H, d, *J*_{1,2} 8,1 Hz, axial) e δ 4,70 (1H, d, *J*_{1,2} 3,6 Hz, equatorial).

Embora o emprego do doador glicosídico **6** forneça, frequentemente, produto com alta seletividade β devido à participação do grupo vizinho na posição 2 (assistência anquimérica), foi possível a obtenção de mistura de isômeros β e α de interesse no trabalho. Foi verificado que quanto maior o tempo de reação, maior é a formação do isômero α até o limite de 20%.

A remoção dos grupos benzila e Fmoc de **4** e **5** foi realizada em uma única etapa, por meio de hidrogenação catalítica clássica (10% Pd-C/H₂). Considerando a contaminação do catalisador 10% Pd-C pelo promotor HgBr₂, existente em quantidades residuais nos materiais de partida, foi realizada a lavagem de **4** e **5** com solução de



Esquema 2. Síntese dos aminoácidos glicosilados **1** e **2**

EDTA 0,5%, previamente à reação de hidrogenação, com a finalidade de seqüestrar íons metálicos possivelmente presentes. A desproteção dos grupos *O*-Ac foi realizada na presença de solução de MeONa 1 mol/L em metanol até pH básico, seguida de neutralização com resina Dowex 50WX8-200. Desta forma, os compostos totalmente desprotegidos **1** e **2** foram obtidos com rendimentos de 86 e 80%, respectivamente, e caracterizados pelas análises de RMN ¹H e ESI-MS. Os espectros de RMN ¹H confirmaram a remoção dos grupos benzila, Fmoc e acetil de **1** e **2** devido à ausência de sinais em δ 7,76-7,26 e à presença de um único singlete em δ 1,85 e δ 1,95 para o CH₃ do grupo acetamido. Nos espectros ESI-MS de **1** e **2** foram observados os picos referentes a [M + Na]⁺ (*m/z* 345,12) e a [M + H]⁺ (*m/z* 323,14).

Síntese química do dissacarídeo glicosídico α LacNAc-Thr **3**

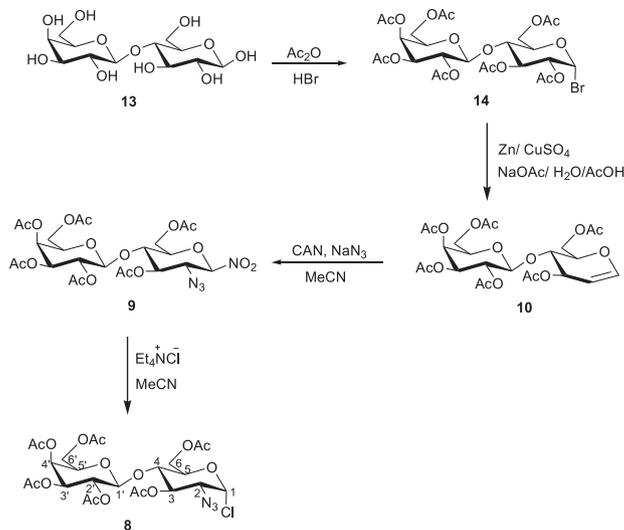
O dissacarídeo glicosídico α LacNAc-Thr **3** foi também sintetizado para ser empregado como potencial substrato da enzima *trans*-sialidase, bem como na preparação de glicopeptídeos complexos que mimetizam moléculas de mucina de *T. cruzi*.

A metodologia utilizada para a preparação do isômero α é normalmente distinta do isômero β , pois deve-se eliminar a participação do grupo vizinho. Desta forma, uma abordagem diferente pode ser explorada para geração de aminoácidos α -glicosilados que requer o uso do derivado N₃ para substituição temporária do grupo acetamido.²⁹ O tratamento de doadores de β -*N*-acetilglicosamina/lactosamina com TfN₃ (gerado pela reação entre Tf₂O e NaN₃) fornece o correspondente doador β -azidoglicosídeo, cuja reação de glicosilação com Ser ou Thr, na presença de promotores, exclui a participação do grupo azido vizinho e origina preferencialmente o anômero α .

Como precursor do composto **3**, o doador glicosídico cloreto de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosila **8** foi sintetizado em quatro etapas a partir do açúcar lactose **13** (Esquema 3). O tratamento de **13** com anidrido acético e HBr (45% em AcOH) forneceu o derivado acetobromo- α -D-lactose **14** em rendimento quantitativo. A eliminação reductiva de **14** com zinco e ácido acético forneceu o D-lactal **10** em 88% de rendimento, o qual foi subseqüentemente submetido à reação de azidonitração,¹⁶ sendo obtido o composto **9** (60%). Esta reação ocorre pela adição de excesso de nitra-

to de amônio cérico e azida de sódio ao D-galactal/D-lactal protegidos, fornecendo misturas epiméricas de 2-azido-2-desoxi-1-*O*-nitropiranosídeos. O produto **9** foi empregado, sem purificação prévia, na síntese do açúcar α LacN₃Cl **8** pelo tratamento com cloreto de tetra-etilamônio em acetonitrila. O composto **8** foi obtido com rendimento de apenas 30% devido à presença de vários subprodutos verificados em CCD; dois desses subprodutos foram isolados e caracterizados por análise de RMN ¹H como sendo o derivado dissacarídico cloreto de manose **15** e hemiacetal **16** do composto **8** (Figura 2). A formação do derivado **15** (10%) foi possível devido à presença de subproduto da etapa anterior de azidonitração, resultante da adição de grupo azido pela face mais impedida da dupla ligação. O espectro de RMN ¹H de **15** apresentou um dublete em δ 3,80, referente ao H-2, com *J*_{2,3} 3,7 Hz, diferentemente do H-2 do cloreto **8** (*J*_{2,3} 10,3 Hz). Com relação ao hemiacetal **16** (20,6%), a sua formação ocorreu possivelmente devido à existência de quantidade residual de água no solvente utilizado, sendo verificado no espectro de RMN ¹H o dublete referente ao H-1 em δ 5,53 (*J*_{1,2} 3,5 Hz). O doador glicosídico puro **8** foi isolado por cristalização seguida de coluna cromatográfica e caracterizado pelas análises ESI-MS e RMN ¹H. No espectro ESI-MS de **8** foi verificado o pico referente a [M + Na]⁺ (*m/z* 660,1), e a análise de RMN ¹H apresentou dois dubletos em δ 6,05 (*J*_{1,2} 3,8 Hz) e δ 4,43 (*J*_{1,2'} 7,7 Hz), correspondentes ao H-1 e H-1', respectivamente, e um multipletto em δ 2,09-1,91, referente aos grupos *O*Ac de **8**.

Com base no resultado satisfatório obtido na reação de glicosilação para a síntese dos aminoácidos glicosilados **4** e **5**, na qual se empregou o promotor HgBr₂, a síntese do dissacarídeo glicosídico éster benzílico de 3,6-di-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-2-azido-2-desoxi- α -D-glicopiranosil-*N*-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-L-treonina **11** foi também realizada por meio de reação de glicosilação do doador glicosídico α LacN₃Cl **8**²⁰ com o aminoácido FmocThrOBn **7**, utilizando-se



Esquema 3. Síntese do doador glicosídico **8** como precursor do composto **3**

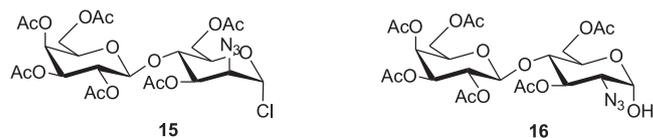
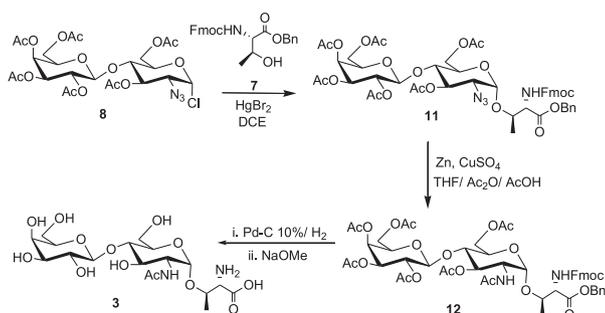


Figura 2. Subprodutos da reação para a formação do composto **8**: cloreto de manose **15** e hemiacetal **16**

HgBr₂ (catalisador) em 1,2-dicloroetano. A agitação da mistura reacional por 12 h seguida de refluxo por 9 h a 90 °C¹⁹ conduziu à formação do isômero α como produto principal devido à presença do grupo azido não participante em C-2 (Esquema 4). O espectro de RMN ¹H do produto β -D-Gal(1→4)- α -D-GlcN₃(1→O)-L-FmocThrOBn **12**, obtido com 60% de rendimento, apresentou dois dubletos em δ 4,80 (*J*_{1,2} 3,7 Hz) e δ 4,47 (*J*_{1',2'} 7,8 Hz), correspondentes ao H-1 e H-1', respectivamente, vários singletos sobrepostos em δ 2,16-1,96, referentes aos grupos OAc, além de um dubleto em δ 1,33 (*J* 6,5 Hz), relativo a CH₃ Thr. No espectro ESI-MS de **12** foi verificado o pico referente a [M + NH₄]⁺ (*m/z* 1050,38).



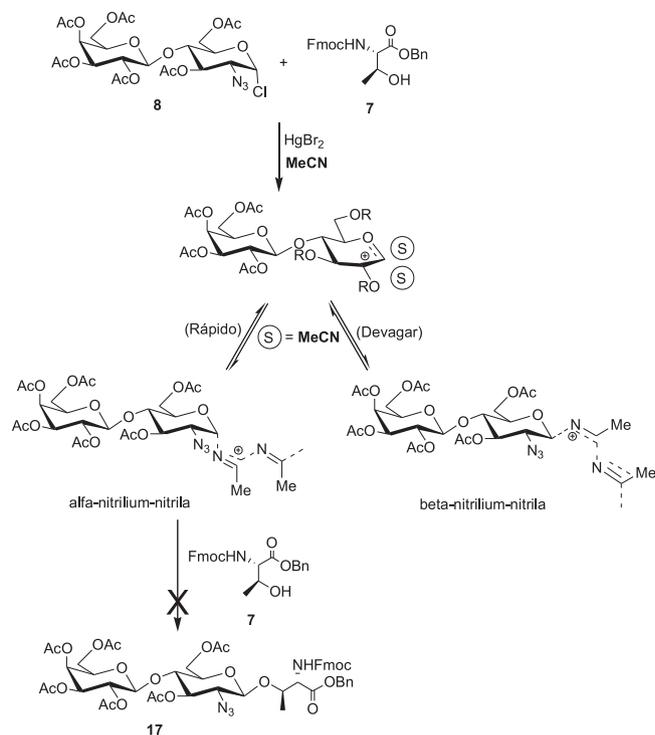
Esquema 4. Síntese do dissacarídeo glicosídico **3** de interesse biológico

O grupo azido na posição C-2 do composto **11** foi simultaneamente reduzido e acetilado na presença de zinco em THF/anidrido acético/ácido acético, 3:2:1; quantidade catalítica de sulfato de cobre também foi adicionada à mistura reacional para ativar o átomo de zinco (65% de rendimento).²¹ A completa desproteção do dissacarídeo glicosídico **12** foi necessária para a realização dos ensaios enzimáticos com a enzima TcTS. A remoção dos grupos benzila e Fmoc de **12** foi realizada em uma única etapa por hidrogenação catalítica clássica (10% Pd-C/H₂), seguindo o mesmo procedimento descrito para os compostos **1** e **2**, sendo a desproteção dos grupos O-Ac também realizada na presença de solução de MeONa 1 mol/L em metanol (Esquema 4). O composto totalmente desprotegido **3**, obtido com 90% de rendimento, foi identificado pelo espectro de RMN ¹H, no qual não se observam os sinais relacionados aos grupos Fmoc e benzila em δ 7,78-7,20 e apenas um único singlete em δ 1,80 para o CH₃ do grupo acetamido, confirmando a remoção dos grupos O-Ac (Esquema 4). No espectro ESI-MS do composto **3** foi observado o pico referente a [M + Na]⁺ (*m/z* 507,17).

Como forma de se obter também o isômero β -D-Gal(1→4)- β -D-GlcN₃(1→O)-L-FmocThrOBn **15**, a reação de glicosilação entre o açúcar **8** e o aminoácido **7** também foi realizada na presença do solvente acetonitrila, tendo em vista que este favorece a formação preferencial do isômero β (Esquema 5). Isto pode ser atribuído à participação do solvente durante a reação; o ataque da acetonitrila ao íon oxocarbênio intermediário conduz, normalmente, à rápida formação do conjugado α -nitrilium-nitrila (produto cinético) e subsequente formação do produto β .^{30,31} Devido à baixa formação do conjugado β -nitrilium-nitrila, termodinamicamente mais estável, o produto α ligado é obtido como produto minoritário da glicosilação. No entanto, não foi possível a obtenção do isômero β **17** na presença de acetonitrila e o rendimento para o isômero α foi reduzido (10%).

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, a metodologia de reação de glicosilação do açúcar α GlcNAcCl **6** com o aminoácido FmocThrOBn **7**, utilizando HgBr₂ como catalisador, conduziu à



Esquema 5. Mecanismo de participação do solvente acetonitrila durante a reação de glicosilação para a formação do isômero **17**

obtenção dos isômeros α GlcNAc-ThrOH **1** (20%) e β GlcNAc-ThrOH **2** (52%), embora o emprego do doador **6**, contendo grupo participante *N*-acetil na posição 2, favoreça a formação do isômero β com alta seletividade. A reação de glicosilação do doador glicosídico α LacN₃Cl **8** com o aminoácido FmocThrOBn **7**, sob condições semelhantes às utilizadas para a síntese de **1** e **2**, também possibilitou a formação do dissacarídeo glicosídico α LacNAc-ThrOH **3** (60%), não sendo possível, no entanto, a obtenção do correspondente isômero β , devido à presença do grupo N₃ não participante.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP e à CAPES pelo suporte financeiro, à Universidade de East Anglia (UEA), Inglaterra, onde a maior parte deste trabalho foi desenvolvido, e ao Prof. R. A. Field (UEA) pelas valiosas sugestões.

REFERÊNCIAS

- Wong, C.-H.; *Carbohydrate-based Drug Discovery*, 1st ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2003.
- Frasch, A. C. C.; Buscaglia, C. A.; Leguizamón, M. S.; Campetella, O.; *J. Infect. Disease* **1998**, *177*, 431.
- Di-Noia, J. M.; Pollevick, G. D.; Xavier, M. T.; Previato, J. O.; Mendoca-Previato, L.; Sanchez, D. O.; Frasc, A. C. C.; *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 32078.
- Previato, L. M.; Previato, J. O.; Jones, C.; Xavier, M. T.; Parodi, A. J.; Wait, R.; Travassos, L. R.; *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 7241.
- Acosta-Serrano, A.; Almeida, I. C.; Freitas, L. H.; Yoshida, N.; Schenkman, S.; *Molecular Biochem. Parasitol.* **2001**, *114*, 143.
- Pereira, V. L.; Serrano, A.; Almeida, I. C.; Rodrigues, M. M.; *J. Cell Sci.* **2000**, *113*, 1299.
- Agrellos, O. A.; Jones, C.; Todeschini, A. R.; Previato, J. O.; Previato, L. M.; *Mol. Biochem. Parasitol.* **2003**, *126*, 93.
- Wells, L.; Vosseller, K.; Hart, G. H.; *Science* **2001**, *291*, 2376.
- Zachara, N. E.; Hart, G. H.; *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 431.

10. Zachara, N. E.; Hart, G. H.; *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2004**, *1673*, 13.
11. Arsequell, G.; Valencia, G.; *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2839.
12. Wakabayashi, K.; Pigman, W.; *Carbohydr. Res.* **1974**, *35*, 3.
13. Koenigs, W.; Knorr, E.; *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 957.
14. Stockl, W. P.; Weidmann, H.; *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 169.
15. Paulsen, H.; Kolar, C.; Stenzel, W.; *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2358.
16. Lemieux, R. U.; Ratcliffe, M.; *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1244.
17. Horton, D.; *Methods Carbohydr. Chem.* **1972**, *6*, 282.
18. Wang, S.-S.; Gisin, B. F.; Winter, D. P.; Makofske, R.; Kulesha, I. D.; Tzougraki, C.; Meienhofer, J.; *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1286.
19. Carvalho, I.; Scheuerl, S. L.; Kartha, K. P. R.; Field, R. A.; *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 1039.
20. Paulsen, H.; Holck, J-P.; *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, *6*, 1121.
21. Winans, K. A.; King, D. S.; Rao, V. R.; Bertozzi, C. R.; *Biochemistry* **1999**, *38*, 11700.
22. Banoub, J.; *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1167.
23. Schmidt, R. R.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1986**, *25*, 212.
24. Saha, U. K.; Schmidt, R. R.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1997**, *12*, 1855.
25. Meinjohanns, E.; Meldal, M.; Bock, K.; *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 9205.
26. Berenguel, A. V.; Meldal, M.; Paulsen, H.; Bock, K.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1994**, 2615.
27. Roth, T. K.; Waldmann, H.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **2000**, 2579.
28. Seitz, O.; Wong, C-H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8766.
29. Pozsgay, V.; Glaudemans, C. P. J.; Robbins, J. B.; Schneerson, R.; *Tetrahedron* **1992**, *42*, 10249.
30. Schimidt, R. R.; Behrendt, M.; Toepfer, A.; *Synlett* **1990**, 694.
31. Mitchell, S. A.; Pratt, M. R.; Hruby, V. J.; Polt, R.; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2327.