



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS ENANTIOMERICAMENTE
ENRIQUECIDOS E DE NOVOS GLICOCONJUGADOS
POTENCIALMENTE ATIVOS

JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS

ORIENTADOR: PROF. DR. RAJENDRA MOHAN SRIVASTAVA
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. SEBASTIÃO JOSÉ DE MELO

Recife, 2008

JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS

**SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS ENANTIOMERICAMENTE
ENRIQUECIDOS E DE NOVOS GLICOCONJUGADOS
POTENCIALMENTE ATIVOS**

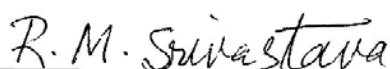
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito final à obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Síntese Orgânica.

ORIENTADOR: PROF. DR. RAJENDRA MOHAN SRIVASTAVA
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. SEBASTIÃO JOSÉ DE MELO

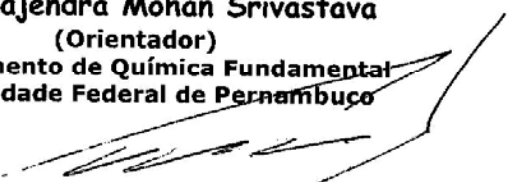
Recife, 2008

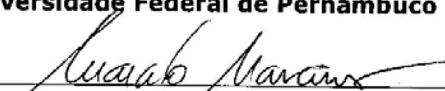
Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

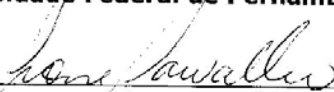
Aprovada:

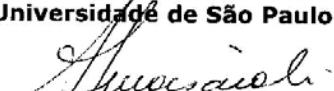


Prof. Rajendra Mohan Srivastava
(Orientador)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco


Prof. Paulo Henrique Menezes da Silva
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco


Prof. Marcelo Navarro
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco


Profa. Ivone Carvalho
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo


Profa. Anita Jocelyne Marsaioli
Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas

"Síntese de 1,2,4-Oxadiazóis Enantiomericamente Enriquecidos
e de Novos Glicoconjugados Potencialmente Ativos".

por

Janaína Versiani dos Anjos

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
04 de abril de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

REITOR:

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR:

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA:

Prof. Alfredo Mayall Simas

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO:

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA
NATUREZA:**

Prof. Manoel Lemos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL:

Prof. Marcelo Navarro

COORDENADORA DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA:

Prof^a. Rosa Maria Souto Maior

*Dedico este trabalho a meu esposo, João Henrique,
companheiro fiel e sempre presente
em mais uma etapa da minha vida.*

*Dedico também aos meus pais,
por toda a paciência, incentivo, carinho e amor.*

AGRADECIMENTOS

Ao orientador e mestre, o professor Rajendra Mohan Srivastava, por ter me aceitado como sua orientanda, por ter me ensinado muito, pelas discussões científicas de grande valia, pela paciência e pelo exemplo de pesquisador que é.

Ao Professor Sebastião José de Melo, pela hospitalidade em seu laboratório, pelos ensinamentos e pelos bons conselhos.

Ao Professor Denis Sinou, por ter me recebido em Lyon em seu laboratório, pelos ensinamentos, pelas orientações e discussões no curso do estágio em solo francês.

Às Professoras Silene Carneiro e Janete Magali do Departamento de Antibióticos, pela realização dos testes biológicos. Agradeço ainda às alunas Vânia Lima e Sâmea quando da realização dos testes de atividade antimicrobiana e à técnica Maria, na realização dos testes de atividade citotóxica.

Aos Pesquisadores do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ) Luís Carlos Alves e Fábio Brayner pela realização dos estudos da morfologia das células cancerígenas, por terem me recebido em seu laboratório e pelo apoio incondicional. Agradeço também ao técnico Rafael Padilha e a todos que fazem parte do Laboratório de Microscopia Eletrônica - LIKA: Marília Gabriela, Adriana, Guilherme, Juvenal Jr, Sérgio e Dyana. Em extensão, agradeço à Professora Elizabeth Chaves (LIKA) pela ajuda constante e pelas discussões científicas no tocante ao mecanismo de ação dos glicoconjugados.

A todos que fazem parte do Laboratório de Síntese Orgânica: Ricardo Wanderley, Natércia Miranda, Adriana Melo, Ronaldo Oliveira, Joselice Silva, Diogo Lúcio e os estagiários Juliano Rufino, Jucleiton, Cecília, Suseanne, Lorena e Karla.

Aos amigos queridos do laboratório de Síntese Orgânica do Departamento de Antibióticos: Francisco Jaime, Emerson Peter e Karina Carvalho. Em especial a Francisco Jaime (Chico), que foi meu grande “companheiro de aventuras” em bancadas brasileiras e francesas. Aos grandes amigos e companheiros de doutorado lotados no laboratório de Química de Produtos Naturais: Cláudia Maranhão, Jefferson Cunha e Andréa Bandeira. À Prof^ª. Márcia Nascimento, por sempre deixar que eu também fizesse parte de seu laboratório.

Aos que fazem parte do SASYM – Laboratoire de Synthèse Asymétrique: Paul Lhoste, Eric Framery, Catherine Goux-Henry, Reine Sayah, Patrícia Cutrupi, Kasia Glegola, Ouissam Adidou, Natalie Percina, Annie Briant e Eliane Quevreux, por terem me recebido e terem se tornado grandes amigos.

Aos colegas do Departamento de Química Fundamental: Juliana Manso, Nélia Lima, Renata Dourado, Ana Paula Teixeira, Joacy, Silvânia (*in memoriam*), Agenor Jácome, Vanessa Brustein, Fabíola Soraia, Michelle Patrícia, Jefferson Princival, Cristiano, Rosanne Albuquerque, Arisson Tranquilino, Luciana e tantos outros pela ótima convivência. Aos amigos do Departamento de Antibióticos: Prof^a. Nena, Prof^a. Teresinha, Ricardo Olímpio, Diana Malta, Leila Cabral, Manuela, Andréa Apolinário, Tiago Aquino, Ivana Gláucia, Virgínia, Adriana, Rita, Cíntia e Cleiton.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental e seus técnicos: Ricardo Oliveira, Eliete, Conceição, Lúcio, Priscila e Érida. Aos secretários da Pós-Graduação, Maurílio e Patrícia e ao hialotécnico Celso.

Ao CNPq e ao convênio CAPES-COFECUB pelas bolsas concedidas.

A todos meus familiares e amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para eu seguisse em minha caminhada.

Quem morre?

Morre lentamente

*quem se transforma em escravo do hábito,
repetindo todos os dias os mesmos trajetos, quem não muda de marca.
Não se arrisca a vestir uma nova cor ou não conversa com quem não conhece.*

Morre lentamente

quem faz da televisão o seu guru.

Morre lentamente

*quem evita uma paixão,
quem prefere o preto no branco
e os pingos sobre os "is" em detrimento de um redemoinho de emoções,
justamente as que resgatam o brilho dos olhos,
sorrisos dos bocejos,
corações aos tropeços e sentimentos.*

Morre lentamente

*quem não vira a mesa quando está infeliz com o seu trabalho,
quem não arrisca o certo pelo incerto para ir atrás de um sonho,
quem não se permite pelo menos uma vez na vida,
fugir dos conselhos sensatos.*

Morre lentamente

*quem não viaja,
quem não lê,
quem não ouve música,
quem não encontra graça em si mesmo.*

Morre lentamente

*quem destrói o seu amor-próprio,
quem não se deixa ajudar.*

Morre lentamente,

*quem passa os dias queixando-se da sua má sorte
ou da chuva incessante.*

Morre lentamente,

*quem abandona um projeto antes de iniciá-lo,
não pergunta sobre um assunto que desconhece
ou não responde quando lhe indagam sobre algo que sabe.*

Evitemos a morte em doses suaves,

*recordando sempre que estar vivo exige um esforço muito maior
que o simples fato de respirar. Somente a perseverança fará com que
conquistemos
um estágio esplêndido de felicidade.*

Pablo Neruda

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ANEXOS	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xii
LISTA DE ESQUEMAS	xv
LISTA DE FIGURAS	xviii
LISTA DE TABELAS	xx
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxii
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 – Glicoconjugados	1
1.2 – Os 1,2,4-Oxadiazóis	3
1.3 – Objetivos	8
CAPÍTULO 2 – BIORREDUÇÃO DAS 4-[3-(ARIL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL]-2-BUTANONAS A SEUS ÁLCOOIS CORRESPONDENTES	9
2.1 – Introdução	9
2.2 – Uso de <i>Daucus carota</i> em reduções de cetonas pró-quirais	10
2.3 – Resultados e Discussão	12
2.4 – Conclusão	17
CAPÍTULO 3 – SÍNTESE MEDIADA POR Pd(0) DE GLICOCONJUGADOS CONTENDO UMA FUNÇÃO 3-ARIL-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL-FENIL	18
3.1 – Introdução	18
3.2 – A reação de alquilação alílica (Tsuji-Trost)	19
3.3 – Resultados e Discussão	23
3.4 – Conclusão	27
CAPÍTULO 4 – SÍNTESE DE GLICOCONJUGADOS ATRAVÉS DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR ENTRE AZIDAS E ALCINOS TERMINAIS	28
4.1 – Introdução	28
4.2 – A reação de cicloadição 1,3-dipolar mediada por Cu(I)	28
4.3 – Resultados e Discussão	36
4.4 – Conclusão	63

	Página
CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	64
5.1 – Introdução	64
5.2 – Resultados e Discussão	64
5.3 – Conclusão	80
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	81
6.1 – Conclusões	81
6.2 – Perspectivas	82
CAPÍTULO 7 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	83
7.1 – Procedimentos gerais	83
7.2 – Equipamentos utilizados	83
7.3 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 2	84
7.4 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 3	91
7.5 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 4	95
7.6 – Metodologias utilizadas no capítulo 5	129
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	133

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1:	Artigo publicado no periódico Synthesis – Synthesis of triazole-linked manno- and glucopyranosyl aminoacids
ANEXO 2:	Artigo publicado no periódico Letters in Organic Chemistry – Synthesis of ethyl 4- <i>O</i> -[4-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]-D-mannopyranosides
ANEXO 3:	Artigo publicado no periódico Carbohydrate Research – Synthesis of glycosyl-triazole linked 1,2,4-oxadiazoles
ANEXO 4:	Artigo publicado no periódico Synthesis – Palladium catalysed alkynylation (Sonogashira coupling) at C-5 of the uracil moiety in modified unsaturated pyranosyl nucleosides
ANEXO 5:	Artigo submetido ao periódico Journal of Carbohydrate Chemistry – Synthesis of some unusual (1,2,4-oxadiazole)-linked hexepyransides and mannopyranosides
ANEXO 6:	Espectro de RMN de ^1H da substância 38a , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 7:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 38a , a 75 MHz, em CDCl_3
ANEXO 8:	Espectro de RMN de ^1H da substância 59a , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 9:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 59a , a 75 MHz, em CDCl_3
ANEXO 10:	Espectro de RMN de ^1H da substância 115a , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 11:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 115a , a 75 MHz, em CDCl_3
ANEXO 12:	Espectro de RMN de ^1H da substância 123a , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 13:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 123a , a 75 MHz, em CDCl_3
ANEXO 14:	Espectro de RMN de ^1H da substância 125a , a 300 MHz, em $\text{DMSO}_{\text{d}6}$
ANEXO 15:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 125a , a 75 MHz, em $\text{DMSO}_{\text{d}6}$
ANEXO 16:	Espectro de RMN de ^1H da substância 130a , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 17:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 130a , a 75 MHz, em CDCl_3
ANEXO 18:	Espectro de RMN de ^1H da substância 132 , a 300 MHz, em CDCl_3
ANEXO 19:	Espectro de RMN de ^{13}C da substância 132 , a 75 MHz, em CDCl_3

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SIGLA OU ABREVIATURA	SIGNIFICADO
δ	Deslocamento químico
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP	<i>Adaptor protein complexes</i> , complexos adaptadores de proteínas
Boc	<i>ter</i> -Butóxi-carbonil
BOP	Benzotriazolilóxi- <i>tris</i> -(dimetilamino) fosfônio-hexaflúor-fosfato
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDI	1,1'-Carbonil-diimidazol
CG	Cromatografia gasosa
CI₅₀	Concentração capaz de exercer efeito em 50% da população
d	Dupleto
dba	Dibenzilideno-acetona
DCC	Dicicloexilcarbodiimida
DCU	Dicicloexiluréia
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropil-etilamina
DMF	Dimetilformamida
dl	Dupleto largo
dppb	1,4-Difenil-fosfino-butano
dt	Duplo triplo
e.e.	Excesso enantiomérico
EM	Espectro de massas
EMAR [IE]	Espectro de massas de alta resolução – Impacto eletrônico
EMAR [IES]	Espectro de massas de alta resolução – Ionização por elétron-spray
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (EUA)
HEp-2	Células de carcinoma epidermóide de laringe
I.V.	Infravermelho
IGF	Fator de crescimento do tipo insulina

SIGLA OU ABREVIATURA	SIGNIFICADO
IGFBP-3	Proteína ligadora do fator de crescimento do tipo insulina - 3
IGFR	Receptor do fator de crescimento do tipo insulina
L_n	Ligante
m	Múltiplo
M.O.	Microondas
M6P	Manose 6-fosfato
M6PR	Receptor da manose 6-fosfato
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio
NAD	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo
NADH	Forma reduzida da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo
NCI-H₂₉₂	Células de câncer de pulmão
NMO	<i>N</i> -metilmorfolina- <i>N</i> -óxido
NOE	Efeito nuclear Overhauser
P.F.	Ponto de fusão
PBS	Tampão fosfato salina
ppm	Parte por milhão
Py	Piridina
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoreto de tetrabutyl-amônio
TBDMS	<i>Ter</i> -butil-dimetil-silil
TBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio tetraflúor-borato
TEA	Trietilamina
TGF-β1	Fator de crescimento tumoral - β1
TGN	Rede <i>trans</i> do complexo de Golgi

SIGLA OU ABREVIATURA	SIGNIFICADO
THF	Tetraidrofurano
THP	Tetraidropirano
TIP47	<i>Tail interacting protein</i> – 47 kDa
TMS	Trimetil-silil
UFC	Unidades formadoras de colônia
URM	Universidade do Recife de Micologia

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA	Página
Esquema 1: Formação de oxadiazóis via reação de amidoximas com anidrido succínico	5
Esquema 2: Formação de 1,2,4-oxadiazol via acilação da benzamidoxima com o cloreto de acetila e posterior ciclização com TBAF	6
Esquema 3: Formação de 1,2,4-oxadiazóis com um resíduo de L-alanina na cadeia lateral do C-5	6
Esquema 4: Formação do oxadiazol 20 em reação livre de solvente	7
Esquema 5: Síntese do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol em forno de microondas	7
Esquema 6: Oxidação do NAD^+ em NADH	10
Esquema 7: Redução de cetonas cíclicas contendo um estereocentro por <i>D. carota</i>	11
Esquema 8: Redução de acetofenonas substituídas com grupos organo-calcogênicos por <i>D. carota</i>	11
Esquema 9: Síntese total da (<i>R</i>)-(-) tembamida	12
Esquema 10: Formação dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanonas (37a-e) a partir de arilamidoximas e ácido levulínico	13
Esquema 11: Preparação dos derivados 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butanos 39a-e a partir de 37a-e	13
Esquema 12: Formação dos glicosídeos insaturados 41 e 42 a partir do álcool 38a	15
Esquema 13: Regra de Prelog para as cetonas da série 37 reduzidas com <i>D. carota</i>	17
Esquema 14: Síntese do fármaco anti-hipertensivo losartan através de catálise mediada por Pd(0)	18
Esquema 15: Perda sucessiva de ligantes dba e troca por ligantes fosfina para o sal $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	19
Esquema 16: Ciclo catalítico do complexo alílico de paládio na reação de Tsuji-Trost	20
Esquema 17: Exemplo de reação de um complexo π -alílico de paládio com nucleófilos moles e duros	21
Esquema 18: Reação de alquilação alílica entre fenóis e carbonatos de alila	22
Esquema 19: Síntese do anti-retroviral carbovir	23

ESQUEMA	Página
Esquema 20: Síntese dos 4-hidróxi-fenil oxadiazóis 57a-b	24
Esquema 21: Formação dos derivados de glicosídeos insaturados 59a-b	24
Esquema 22: Síntese dos etil manopiranosídeos 60a-b	26
Esquema 23: Formação de regioisômeros na cicloadição 1,3-dipolar em altas temperaturas	28
Esquema 24: Ciclo catalítico para a reação de cicloadição [3 + 2] mediada por Cu(I)	30
Esquema 25: Síntese de glicopeptídeos com a mesma unidade de aminoácido	31
Esquema 26: Reação entre o azidoaçúcar 61 e diferentes aminoácidos acetilênicos	32
Esquema 27: Reação entre carboidratos acetilênicos e o azido aminoácido 79 fornecendo os glicopeptídeos 80 e 81	33
Esquema 28: Aplicação da “click chemistry” no desenvolvimento de novos catalisadores para a adição de Michael assimétrica	36
Esquema 29: Formação dos oxadiazóis com uma porção acetilênica 100 e 101a-b	38
Esquema 30: Síntese da 5-etinil-uracila (104)	39
Esquema 31: Formação do 6- <i>O</i> -(<i>tert</i> -butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi-4-[2,4-dioxo-5-3,4-diidropirimidin-1(2 <i>H</i>)-il]- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo de etila (107)	39
Esquema 32: Síntese dos aminoácidos acetilênicos derivados da (L)-Phe (109 e 111)	40
Esquema 33: Síntese da <i>N</i> -Boc-Tyr tendo um substituinte propinilóxi em C-4 da fenila (114)	41
Esquema 34: Formação dos manopiranosídeos 116a-c, f-h	45
Esquema 35: Síntese dos oxadiazóis com uma função acetileno 117a-b, 120	49
Esquema 36: Síntese do 3-aril 5-metil 1,2,4-oxadiazol com uma tripla ligação 121	49
Esquema 37: Síntese dos oxadiazóis com uma porção éster propargílico na cadeia lateral do C-5 (122a-g)	50
Esquema 38: Acoplamento de Suzuki entre o derivado halogenado 123h e o ácido fenilborônico para fornecer o glicoconjugado 124	53
Esquema 39: Síntese dos novos triazóis 125a-d	54
Esquema 40: Síntese do glicotriazol contendo uma unidade peptídica na cadeia ligada em C-4 (126)	55
Esquema 41: Síntese dos azido-oxadiazóis 127a-b	56

ESQUEMA	Página
Esquema 42: Síntese dos triazóis 128a-d	57
Esquema 43: Síntese dos compostos glicoconjugados contendo duas unidades de oxadiazol e duas unidades de triazol 130a-b	61
Esquema 44: Formação dos manopiranosídeos 131a-b, 132	62
Esquema 45: Formação do manopiranosídeo desprotegido 133	62

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
Figura 1: Exemplos de fármacos contendo uma porção carboidrato	2
Figura 2: Estrutura do antimicrobiano vancomicina	2
Figura 3: Estrutura dos 1,2,4-oxadiazóis	3
Figura 4: Alguns exemplos de 1,2,4-oxadiazóis com atividade biológica	4
Figura 5: Espectro de RMN de ^1H para o 4- <i>O</i> -[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]-6- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-2,3-didesóxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo de etila (59a), a 300 MHz, em CDCl_3	25
Figura 6: Espectro de RMN de ^1H para o 2,3-di- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-4- <i>O</i> -[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]- α -D-manopiranosídeo de etila (60a), a 300 MHz, em CDCl_3	26
Figura 7: Comparação entre amidas e 1,2,3-triazóis	31
Figura 8: Moléculas inibidoras da tirosina fosfatase descobertas através de química combinatória e “click chemistry”	34
Figura 9: Fármaco acarbose (86) e a substância 87 , um carboidrato contendo uma porção triazol	35
Figura 10: Espectro de RMN de ^1H do 2,3-di- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-4-{4-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}- α -D-manopiranosídeo de etila (116a), a 300 MHz, em CDCl_3	47
Figura 11: Ampliação da área do espectro (de δ 4,0 a 6,0 ppm) do 2,3-di- <i>O</i> -acetil-6- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-4-{4-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}- α -D-manopiranosídeo de etila (116a), a 300 MHz, em CDCl_3	48
Figura 12: Espectro de RMN de ^1H para a substância 1-{[4-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}metil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesóxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo (128a), a 300 MHz, em CDCl_3	58
Figura 13: Vizinhança espacial entre os hidrogênios do anel triazólico e os hidrogênios do anel aromático H-3'' e H-5''	59
Figura 14: Espectros de RMN de ^1H e NOE diferencial (em detalhe) para a substância 1-{[4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}2-propil 4,6-di- <i>O</i> -acetil-2,3-didesóxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo (128d), a 300 MHz, em CDCl_3	60

FIGURA	Página
Figura 15: Curva dose-resposta para 128a	69
Figura 16: Curva dose-resposta para 128c	69
Figura 17: Curva dose-resposta para 130a	69
Figura 18: Curva dose-resposta para 131a	69
Figura 19: Curva dose-resposta para 132	69
Figura 20: Gráfico comparativo das drogas com maior percentual de inibição do crescimento celular (linhagem NCI-H ₂₉₂)	70
Figura 21: Curva dose-resposta para 128c	70
Figura 22: Curva dose-resposta para 131a	70
Figura 23: MEV de uma célula HEP-2 não-tratada	73
Figura 24: Aproximação da célula observada na figura 23	73
Figura 25: MEV de várias células HEP-2 não-tratadas	73
Figura 26: Aproximação de uma das células observadas na figura 25	73
Figura 27: MEV de duas células HEP-2 tratadas com 128a , na dose de 1,25 µg/mL	74
Figura 28: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 128a , na dose de 5,0 µg/mL	74
Figura 29: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 128a , na dose de 10,0 µg/mL	74
Figura 30: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 128c , na dose de 1,25 µg/mL	75
Figura 31: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 128c , na dose de 5,0 µg/mL	75
Figura 32: MEV de várias células HEP-2 tratadas com 128c , na dose de 10,0 µg/mL	75
Figura 33: Aproximação da membrana plasmática de uma das células da figura 32	75
Figura 34: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 130a , na dose de 1,25 µg/mL	76
Figura 35: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 130a , na dose de 5,0 µg/mL	76
Figura 36: MEV de uma célula HEP-2 tratada com 130a , na dose de 10,0 µg/mL	76
Figura 37: Reciclagem dos receptores de manose 6-fosfato (ou IGF-2) pela TIP47	78

LISTA DE TABELAS

TABELA	Página
Tabela 1: Rendimentos e excessos enantioméricos dos compostos 39a-e obtidos nas biorreduções de 37a-e com <i>Daucus carota</i>	14
Tabela 2: Principais sinais observados na RMN de ^1H para a mistura 41:42	16
Tabela 3: Carboidratos utilizados na síntese dos glicoconjugados	36
Tabela 4: Triazóis sintetizados a partir do azido-açúcar 94	42
Tabela 5: Constantes de acoplamento 3J para os hidrogênios da unidade de carboidrato dos manopiranosídeos 116a-c, f-h	46
Tabela 6: Síntese dos glicoconjugados 123a-q	50
Tabela 7: Constantes de acoplamento $^3J_{1,2}$, $^3J_{3,4}$ e $^3J_{4,5}$ para as substâncias 123g e 125a-d	55
Tabela 8: Valores das constantes de acoplamento $^3J_{2,3}$, $^3J_{3,4}$ e $^3J_{4,5}$ para os manopiranosídeos 131a-b, 132 e 133	63
Tabela 9: Relação dos microorganismos utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana	62
Tabela 10: Percentuais máximos de inibição do crescimento celular e CI_{50} das drogas avaliadas em relação ao grupo controle	66
Tabela 11: Percentuais máximos de inibição do crescimento celular e CI_{50} das drogas 123k-q em relação ao grupo controle	71

RESUMO

Neo-glicoconjugados constituem uma classe de compostos em que os carboidratos estão conjugados a outras moléculas de interesse biológico. Os 1,2,4-oxadiazóis são heterociclos bastante conhecidos em química medicinal, apresentando várias atividades farmacológicas e tendo sido considerados bioisósteros de ésteres e amidas. Este trabalho descreve a síntese de oxadiazóis enantiomericamente enriquecidos através de biocatálise com *Daucus carota*, a fim de preparar compostos glico-heterocíclicos; a síntese de novos neo-glicoconjugados contendo heterociclos e aminoácidos através de catálise mediada por Pd(0) e “click chemistry” e a avaliação da atividade biológica de alguns dos produtos sintetizados. A biorredução de oxadiazóis-cetona com *D. carota* forneceu oxadiazóis enriquecidos enantiomericamente com excessos enantioméricos variando de 52 a 72%. Os álcoois obtidos têm configuração absoluta *S*, o que está de acordo com a regra de Prelog para as biorreduções utilizando este sistema enzimático. A seguir, oxadiazóis com uma função fenol foram anexados na posição C-4 de um carboidrato insaturado através de alquilação alílica mediada por Pd(0), de maneira regiosseletiva. Estes glicosídeos insaturados foram transformados em manopiranosídeos através de bis-hidroxilação seguida de bis-acetilação. Em outro momento, vários oxadiazóis, derivados da uracila e aminoácidos foram anexados a carboidratos diversos através da cicloadição 1,3-dipolar catalisada por Cu(I), fornecendo diversos glicoconjugados com um espaçador 1,2,3-triazol. Os produtos foram obtidos de maneira regiosseletiva e os glicoconjugados com a porção carboidrato insaturada foram bis-hidroxilados e bis-acetilados, formando os respectivos manopiranosídeos. Alguns dos glicoconjugados tiveram suas propriedades biológicas avaliadas. Nenhum dos compostos avaliados demonstrou atividade antimicrobiana contra os microorganismos testados. Alguns produtos demonstraram ter atividade citotóxica em linhagens de células cancerígenas HEP-2 e NCI-H₂₉₂, com valores de CI₅₀ menores que 10 µg/mL. Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizados nas células cancerígenas da linhagem HEP-2 e forneceram fortes indícios de que estas substâncias ativariam a apoptose nas células estudadas.

Palavras-chave: 1,2,4-oxadiazóis, neo-glicoconjugados, alquilação alílica, click chemistry; citotoxicidade

ABSTRACT

Neo-glycoconjugates are an important class of carbohydrates in which they are attached to other molecules of biological interest. The 1,2,4-oxadiazole ring is known in medicinal chemistry due its pharmacological properties and they have been considered ester and amide bioisosters. This work describes the synthesis of enantiomerically enriched 1,2,4-oxadiazoles using *Daucus carota* as biocatalyst; the synthesis of new neo-glycoconjugates containing heterocyclic and aminoacid moieties employing Pd(0) as catalyst and via “click chemistry” and the evaluation of biological activity of some of these new compounds. Biorreduction of 1,2,4-oxadiazoles containing a ketone function in their side chain gave the corresponding secondary alcohols in 52 to 72 % e.e. The absolute configuration of these enantiomerically enriched products was found to be “S”, agreeing with the Prelog’s rule for this type of biorreduction. Next, oxadiazoles containing a phenol portion were attached to an unsaturated carbohydrate via allylic alkylation mediated by Pd(0), in a regioselective way. These unsaturated glycosides were transformed into their corresponding mannopyranosides through bis-hydroxylation, followed by bis-acetylation. At another moment, many oxadiazoles, uracil derivatives and modified aminoacids were conjugated to various carbohydrates via 1,3-dipolar cycloaddition, giving neo-glycoconjugates containing 1,2,3-triazole as linker. Almost all products were obtained as single 1,4-regioisomers and the glycoconjugates containing an unsaturated carbohydrate were submitted to bis-hydroxylation/bis-acetylation reactions to give the corresponding mannopyranosides. Some of these neo-glycoconjugates had their biological activities evaluated. None of these compounds possess anti-microbial properties when tested against the studied microorganisms. Some of them were cytotoxic against two cell lines (HEp-2 and NCI-H₂₉₂). The most potent drugs had IC₅₀ values lesser than 10 µg/mL. Scanning electron microscopic (SEM) studies showed that these substances may act as apoptosis inducers.

Key words: 1,2,4-oxadiazoles, glycoconjugates, allylic alkylation, click chemistry, cytotoxicity

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 – Glicoconjugados

Os carboidratos, conjuntamente com os lipídios, proteínas e os ácidos nucleicos, constituem as quatro grandes classes de biomacromoléculas. Sendo essencialmente compostos carbonílicos em que estão presentes duas ou mais hidroxilas, os carboidratos desempenham vários papéis nos organismos vivos, atuando como reservatórios de energia e intermediários metabólicos, fazendo parte das moléculas de nucleotídeos e também estruturando a parede celular de várias plantas e microorganismos.^{1,2}

Os carboidratos podem estar ligados a outras classes de biomoléculas como lipídios e proteínas, formando estruturas híbridas denominadas glicolipídios e glicoproteínas, respectivamente.¹ Essas substâncias podem ser classificadas como glicoconjugados, ou seja, moléculas de açúcares ligadas covalentemente a uma porção não-carboidrato. Estas moléculas são encontradas principalmente na parte externa das membranas celulares, onde desempenham importantes funções de interação intercelular, incluindo ações de reconhecimento celular em eventos inflamatórios,³ metástase tumoral,⁴ resposta imunológica⁵ e infecções em geral.⁶

Desde a década de 90, estudos na área de glicobiologia têm aumentado consideravelmente e isto despertou o interesse de químicos orgânicos para o desenvolvimento de novas metodologias sintéticas visando a conjugação entre carboidratos e compostos de interesse biológico e para a síntese de novos glicoconjugados não-naturais, os chamados neo-glicoconjugados.⁷⁻⁹ Esta nova vertente poderia não somente estudar fenômenos celulares ainda não totalmente elucidados, como também fornecer novas substâncias de interesse farmacológico.¹⁰

Sacarídeos são importantes agentes medicinais, agindo como fármacos antitumorais, antimicrobianos, glicosídeos cardíacos e vacinas. Sabe-se, por exemplo, que a parte carboidrato do antitumoral ciclamina é essencial para que haja o reconhecimento do fármaco durante processo de incorporação ao DNA da célula, impedindo sua replicação.¹⁰ Ainda, a conjugação de carboidratos a peptídeos ajuda a estabilizar o peptídeo contra a degradação *in vivo* e pode facilitar o transporte dos peptídeos através das membranas biológicas.¹⁰ Já glicosídeos cardíacos como a digoxina, que atuam aumentando a força de contração do músculo cardíaco, são esteróides ligados a um trissacarídeo (figura 1).¹¹

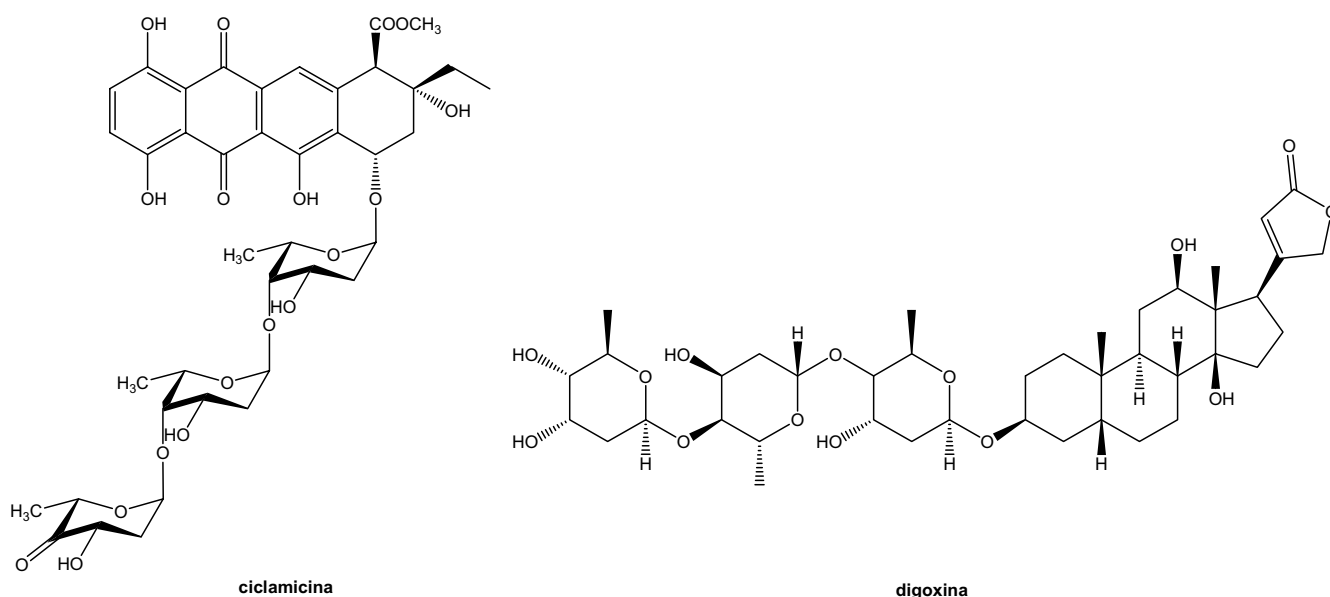


Figura 1: Exemplos de fármacos contendo uma porção carboidrato

Os glicopeptídeos formam uma classe de antimicrobianos que tem como principal representante a vancomicina (figura 2).^{12,13} A vancomicina é um antimicrobiano ativo contra cocos Gram-positivos e é bastante utilizado em infecções causadas por *Staphylococcus aureus*. Esta classe de antibióticos atua inibindo a síntese de peptidoglicano na parede celular das bactérias, ligando-se aos precursores do peptidoglicano e provocando a lise da célula.¹¹

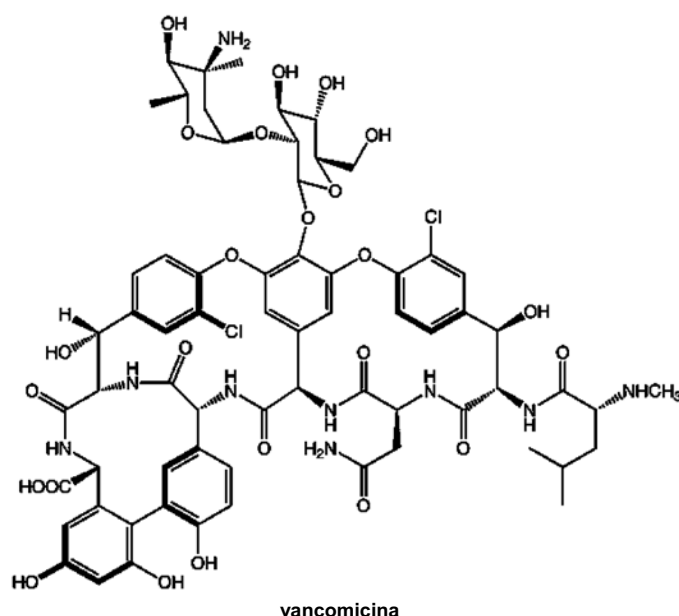


Figura 2: Estrutura do antimicrobiano vancomicina

O padrão de glicosidação em células é afetado durante processos inflamatórios e cancerígenos. Estas mudanças se expressam no aparecimento de novos antígenos de

superfície nas membranas celulares e este fenômeno biológico pode ser bastante útil para fins de diagnóstico e/ou tratamento de doenças. Baseando-se nisto, novas vacinas contra o câncer estão sendo desenvolvidas, já que alguns antígenos de superfície de células neoplásicas já foram isolados e identificados, como os glicoconjugados de Lewis.^{7,14}

A mesma técnica de desenvolvimento de vacinas já vem sendo utilizada para doenças causadas por microorganismos.¹⁵⁻¹⁷ Anticorpos que reconhecem carboidratos de superfície de células microbianas protegem os organismos superiores contra infecções bacterianas. Prova disso é a vacina pneumocócica polivalente, que contém polissacarídeos de *Streptococcus pneumoniae* e protege contra as infecções respiratórias. Porém, já foi constatado que vacinas de glicoconjugados que contêm o carboidrato de superfície do patógeno ligado a uma proteína carreadora são mais eficazes que as vacinas de polissacarídeos isolados, e este é um ramo em corrente desenvolvimento.¹⁷

Considerando os benefícios atribuídos à conjugação entre oligossacarídeos e moléculas dotadas de potencial biológico, fica evidente que a síntese de neo-glicoconjugados contendo heterociclos pode fornecer novos candidatos a fármacos, ainda mais potentes que os heterociclos isolados.

1.2 – Os 1,2,4-Oxadiazóis

Os 1,2,4-oxadiazóis são heterociclos de cinco membros contendo dois átomos de nitrogênio e um de oxigênio (figura 3), com pequeno caráter aromático, sendo melhor descrito como um sistema conjugado que aromático.¹⁸

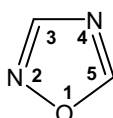


Figura 3: Estrutura dos 1,2,4-oxadiazóis

A este núcleo são atribuídas diversas propriedades biológicas. Constata-se ainda que 1,2,4-oxadiazóis são bioisósteros de grupos ésteres e amidas em modelos biológicos, o que ressalta sua importância na química medicinal.¹⁹ Isto é um dado importante já que derivados carboxílicos podem ser hidrolisados *in vivo*, acarretando em prejuízos para a atividade biológica. Desta forma, a substituição destas funcionalidades pelo anel oxadiazólico traz mais estabilidade ao candidato a fármaco frente à hidrólise *in vivo*.

Para demonstrar o potencial farmacológico dos 1,2,4-oxadiazóis, alguns exemplos são ilustrados na figura a seguir.

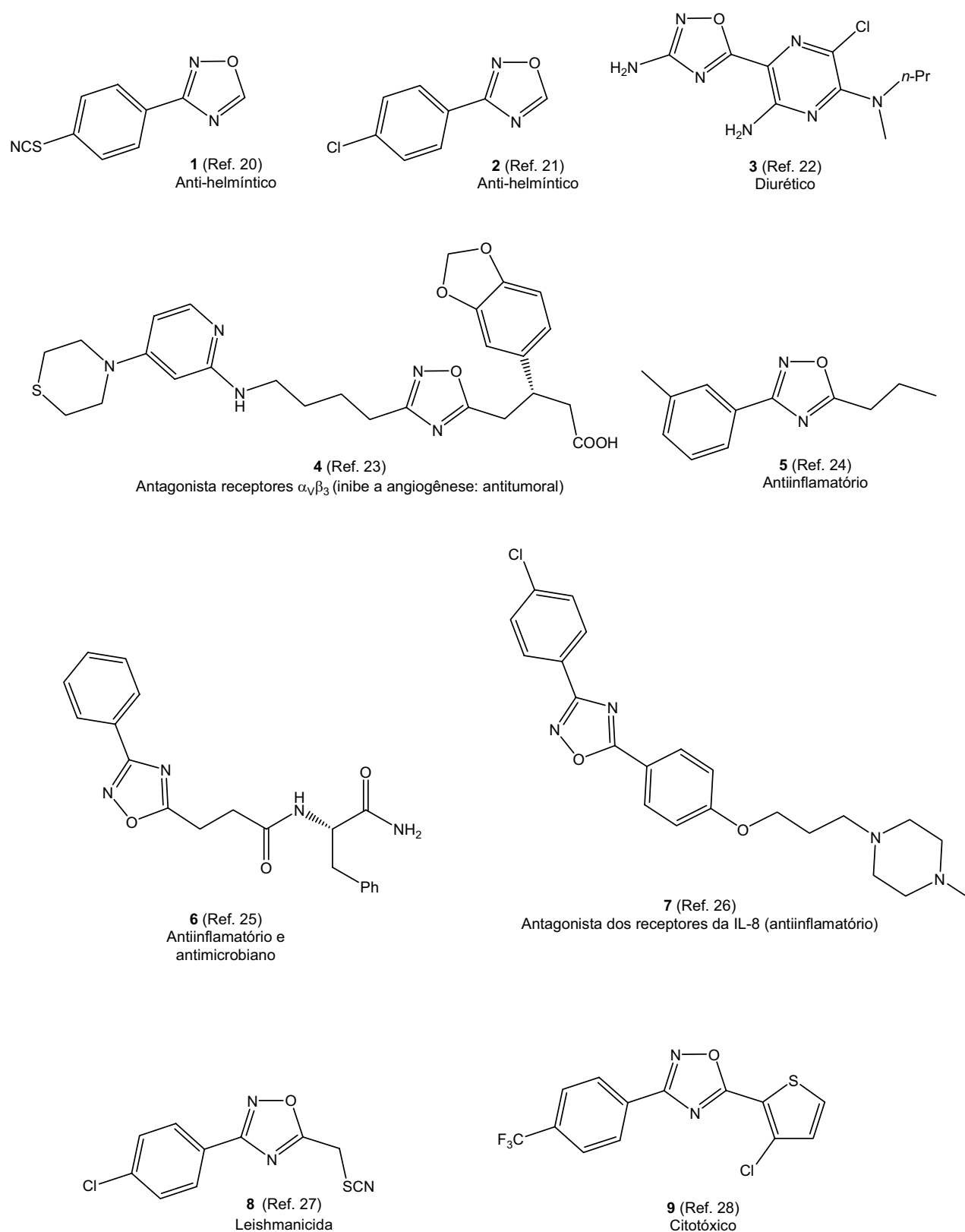
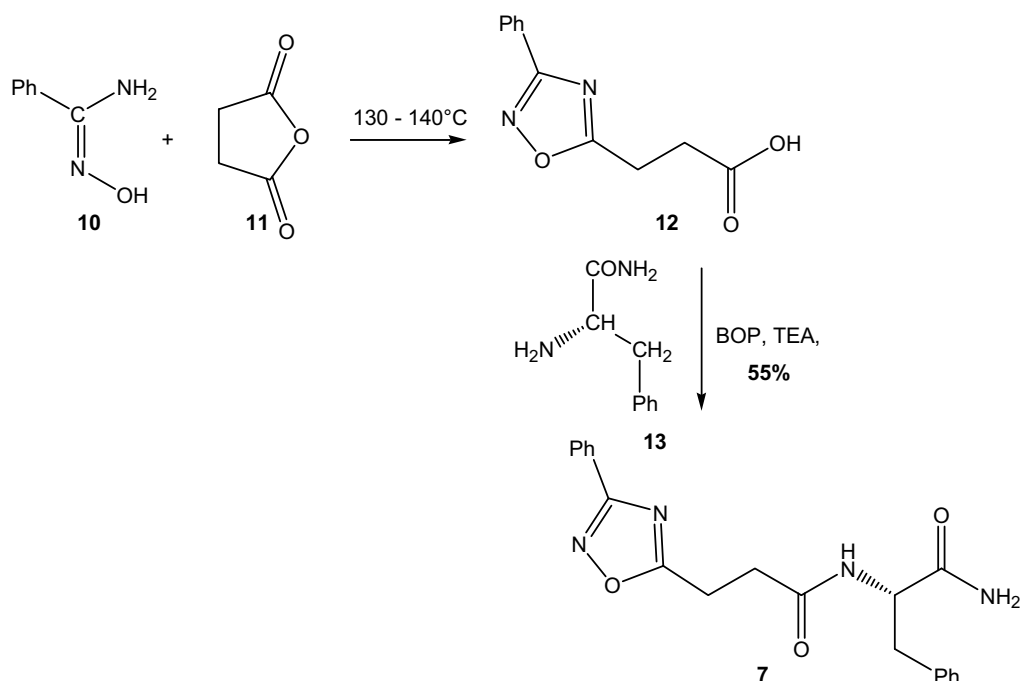


Figura 4: Alguns exemplos de 1,2,4-oxadiazóis com atividade biológica

Diante das atividades biológicas supracitadas, fica evidente o interesse na síntese de neo-glicoconjugados contendo o anel do 1,2,4-oxadiazol.

O método mais comum para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis consiste em duas etapas: a *O*-acilação de uma amidoxima por um ácido ativado ou um derivado de ácido (comumente anidrido ou cloreto de ácido), seguida de etapa de ciclização térmica.^{25, 28} Ainda, podem ser usados outros métodos, que serão discutidos mais adiante.

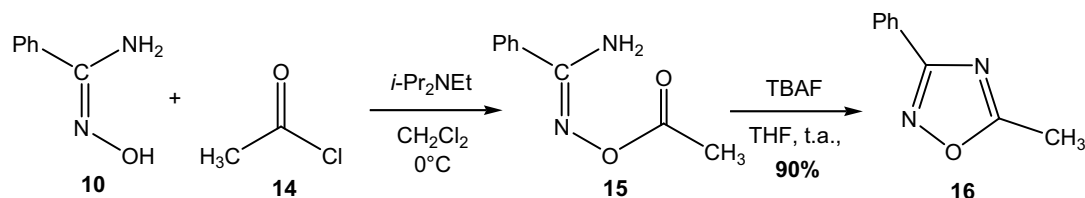
1,2,4-Oxadiazóis contendo uma porção ácido carboxílico na cadeia lateral (**12**) foram sintetizados através da reação da benzamidoxima (**10**) com anidrido succínico (**11**).²⁹ Visando sintetizar derivados oxadiazólicos peptideomiméticos, Leite e colaboradores²⁵ condensaram aminoácidos (no exemplo abaixo, tem-se a amida da L-fenilalanina, **13**) na cadeia lateral do ácido 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico (**12**) para fornecer o peptideomimético **7**. Para a formação da ligação peptídica, foi utilizado BOP como ativador da carbonila, em presença de TEA (esquema 1).



Esquema 1: Formação de oxadiazóis via reação de amidoximas com anidrido succínico

Vários autores relatam a síntese de 1,2,4-oxadiazóis através da acilação de amidoximas com cloretos de ácidos.^{20,27, 30} Porém, Gangloff e colaboradores³¹ desenvolveram uma metodologia em que a etapa de ciclização térmica é substituída pelo uso do fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF) em temperatura ambiente, oferecendo um novo método para a síntese de oxadiazóis cujos substituintes não toleram altas temperaturas e/ou condições extremamente básicas. Por exemplo, a benzamidoxima (**10**) reage com o cloreto de acetila

(14) em meio básico, utilizando diclorometano como solvente, fornecendo a benzamidoxima *O*-substituída (15). Esta última, por sua vez, é submetida à reação com o TBAF, em THF, a temperatura ambiente, para produzir o 1,2,4-oxadiazol (16) (esquema 2). O TBAF age liberando o íon fluoreto que, em solventes apróticos polares, age como uma base forte.

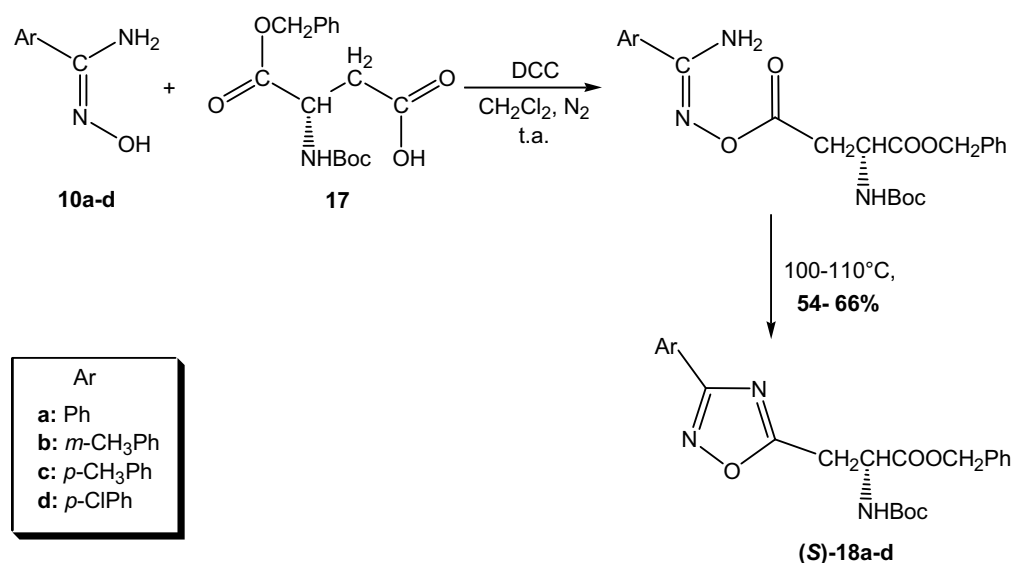


Esquema 2: Formação de 1,2,4-oxadiazol via acilação da benzamidoxima com o cloreto de acetila e posterior ciclicização com TBAF

Para que haja reação entre amidoximas e ácidos carboxílicos, estes últimos devem estar ativados, ou seja, tais ácidos são convertidos em intermediários mais reativos *in situ*. Para tal, comumente são usadas carbodiimidas, como a dicicloexilcarbodiimida (DCC).³²

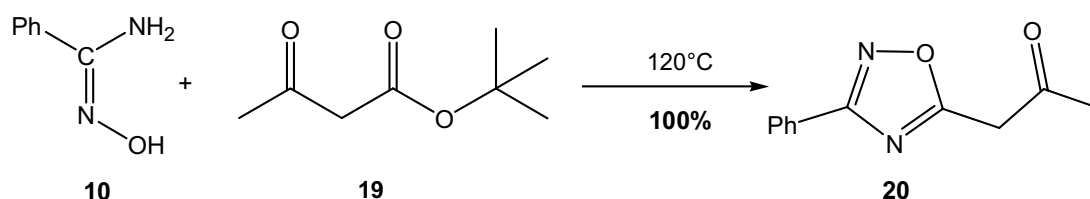
Já alguns autores relatam o uso de outros agentes ativadores, como o *N,N'*-carbonil-diimidazol (CDI)³³ e o 2-(1-*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio tetrafluoroborato (TBTU).³⁴

Resíduos de aminoácidos foram condensados, com sucesso, a amidoximas, adicionando um estereocentro na cadeia lateral do C-5 de 1,2,4-oxadiazóis.^{35,36} Melo e colaboradores³⁵ realizaram a síntese de oxadiazóis contendo uma cadeia de L-alanina (18a-d) através da condensação de amidoximas (10a-d) ao L-ácido aspártico protegido (17) em presença de DCC, com posterior etapa de ciclicização térmica (esquema 3).



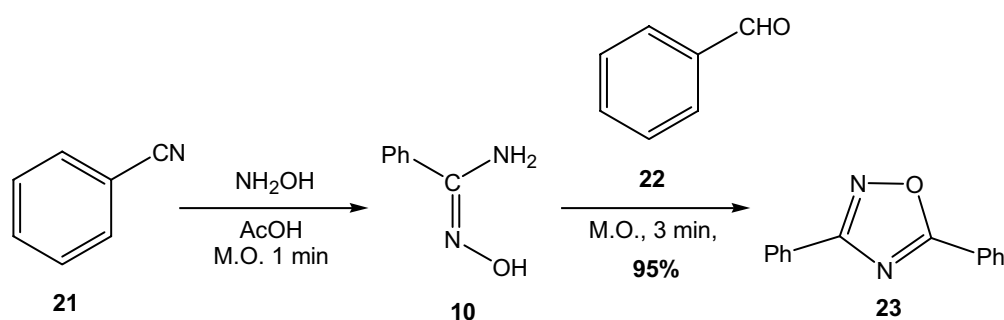
Esquema 3: Formação de 1,2,4-oxadiazóis com um resíduo de L-alanina na cadeia lateral do C-5

Ultimamente, porém, a síntese destes heterociclos vem sendo realizada de maneira mais prática, com redução do número de etapas reacionais e atingindo altos rendimentos³⁷⁻⁴⁰. Estes procedimentos são realizados sem o uso de solventes e podem ser feitos em fornos de microondas, contribuindo com a preservação do meio-ambiente, já que há diminuição da quantidade de rejeitos. Sem fazer uso de solventes orgânicos, Du e colaboradores³⁹ realizaram o acoplamento da benzamidoxima (**10**) ao *ter*-butil-acetoacetato (**19**) formando o 1,2,4-oxadiazol com uma função cetona (**20**), em rendimento quantitativo e em altas temperaturas (esquema 4).



Esquema 4: Formação do oxadiazol **20** em reação livre de solvente

Usando o forno de microondas, Adib e colaboradores⁴⁰ realizaram a síntese de 3,5-diaril-1,2,4-oxadiazóis em procedimento do tipo *one pot*. Por exemplo, a benzamidoxima (**10**) pode ser sintetizada a partir da benzonitrila (**21**) e da hidroxilamina sob ação de microondas e em meio ácido. A amidoxima formada reage então com o benzaldeído (**22**), também sob ação de microondas, para formar o 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol (**23**) em 95% de rendimento (esquema 5).



Esquema 5: Síntese do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol em forno de microondas

Objetivando a síntese de novas moléculas glicoconjugadas, este trabalho trata da síntese e da atividade biológica de novos 1,2,4-oxadiazóis e glicoconjugados contendo este heterociclo e outras moléculas dotadas de potencial biológico, como a uracila e aminoácidos modificados.

1.3 – Objetivos

Gerais:

- Síntese de 1,2,4-oxadiazóis enantiomericamente enriquecidos através de biocatálise.
- Síntese e avaliação das atividades biológicas de inéditos neo-glicoconjugados contendo heterociclos e resíduos de aminoácidos.

Específicos:

- Síntese de uma série de 1,2,4-oxadiazóis enantiomericamente enriquecidos utilizando a enzima álcool-desidrogenase presente nas raízes de *Daucus carota*.
- Síntese de etil 4-*O*-[4-(1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]- α -D-manopiranosídeos através da reação de alquilação alílica mediada por Pd(0).
- Síntese de inéditos neo-glicoconjugados através de cicloadição 1,3-dipolar mediada por cobre.
- Avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de alguns destes neo-glicoconjugados.
- Estudo morfológico das células cancerígenas tratadas com as substâncias sintetizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV).

CAPÍTULO 2

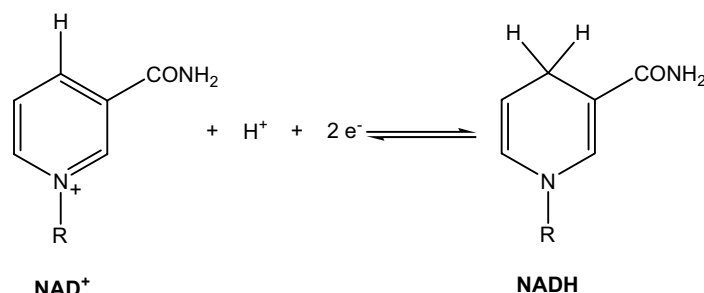
CAPÍTULO 2: BIORREDUÇÃO DAS 4-[3-(ARIL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL]-2-BUTANONAS A SEUS ÁLCOOIS CORRESPONDENTES

2.1 – Introdução

A síntese estereosseletiva de compostos orgânicos, também denominada de síntese assimétrica, consiste na transformação química preferida de um substrato aquiral que possua grupos, átomos, faces ou centros enantiotópicos em um único enantiômero do produto.⁴² Para tal, pode-se fazer uso de catalisadores sintéticos quirais ou de enzimas, na chamada catálise assimétrica.

As enzimas desempenham a função de catálise de reações nos organismos vivos, podendo ser isoladas a partir de células animais, vegetais ou microbianas, sendo estas últimas a maior fonte das enzimas disponíveis no mercado. O uso de enzimas como biocatalisadores vem crescendo principalmente na indústria, por estas apresentarem algumas vantagens como: maior atividade catalítica se comparadas a catalisadores convencionais, condições experimentais brandas e especificidade (quimiosseletividade, regiosseletividade e enantiosseletividade). Ainda, o uso de enzimas em síntese orgânica não agride o meio-ambiente e a enzima pode, em muitos casos, ser recuperada e reutilizada.⁴²

A álcool desidrogenase (álcool:NAD oxidorreductase E.C. 1.1.1.1) é uma enzima amplamente distribuída na natureza, estando presente tanto em células animais como vegetais, catalisando as interconversões entre álcoois e compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas) nos organismos vivos.⁴³ Por ser uma oxidorreductase, a referida enzima requer um cofator capaz de realizar a transferência de elétrons ($\text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{NADH}$). Este cofator consiste em um dinucleotídeo de adenina ligado a um heterociclo derivado do piridínio, a nicotinamida. Na oxidação de um substrato, o anel nicotinamida sofre redução de dois elétrons com protonação simultânea, sendo este processo reversível (esquema 6).^{44,45}



Esquema 6: Oxidação do NAD⁺ em NADH

Os cofatores, diferentemente dos grupos prostéticos, não são diretamente ligados à enzima e rapidamente se dissociam. Além disto, os cofatores são bastante caros, inviabilizando o uso das enzimas que os requerem. Devido a esta razão, as reações catalisadas pela enzima álcool desidrogenase têm sido realizadas utilizando-se todo o sistema bioquímico, ou seja, a célula microbiana ou a célula vegetal.⁴⁶

São diversas as fontes de álcool desidrogenase, porém, as mais estudadas são: células do fígado de cavalo,⁴³ fermento de pão (*baker's yeast* – *Saccharomyces cerevisiae*),⁴³ e mais recentemente células vegetais como funcho (*Foeniculum vulgare*),⁴⁷ cenoura (*Daucus carota*)^{46,48-52} e duas espécies de macaxeira (*Manihot dulcis* e *Manihot esculenta*).⁵³

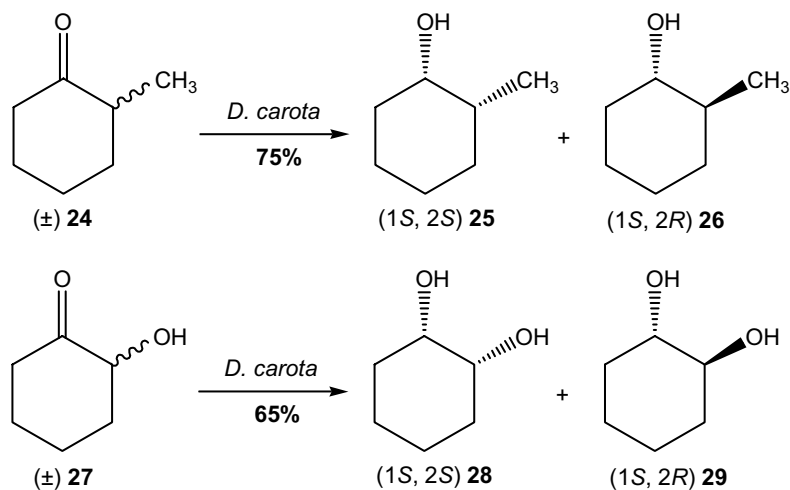
Os primeiros estudos utilizando o sistema enzimático da cenoura utilizavam culturas de células vegetais, o que dificultava o manejo deste tipo de reação.^{48,50} Posteriormente, muitos pesquisadores passaram a relatar o uso do sistema vegetal inteiro, o que facilitou o manuseio do material e tornou o uso de cofatores desnecessário.^{46, 47, 49, 51, 52, 54}

2.2 - Uso de *Daucus carota* em reduções de cetonas pró-quirais

A cenoura tem sido usada com sucesso nas reduções de cetonas pró-quirais como cetonas alifáticas,⁴⁶ aromáticas,^{51,54} cíclicas,^{47,49} ceto-ésteres⁵⁰ e azido-cetonas.⁵² Alguns exemplos destas biorreduções serão ilustrados a seguir.

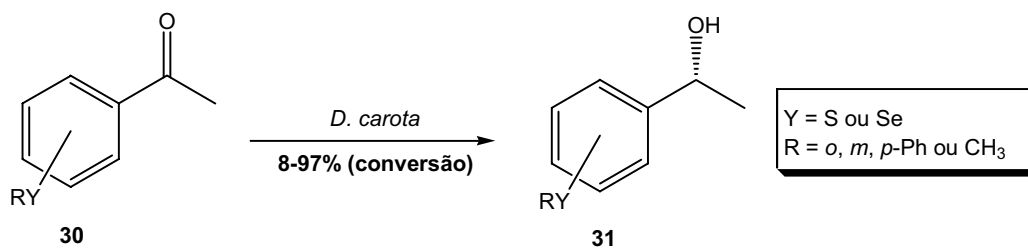
Baldassare e colaboradores⁴⁹ descrevem o uso da raiz de *D. carota* como agente biorredutor de cetonas cíclicas contendo um centro assimétrico para a formação de diastereoisômeros. Os substratos racêmicos 2-metil-cicloexanona (**24**) e 2-hidróxi-cicloexanona (**27**) foram submetidos à ação da álcool desidrogenase presente nas raízes da cenoura e forneceram os derivados diastereoisoméricos **25** e **26** com 75% de rendimento total, e **28** e **29**

com 65% de rendimento total. Estas biotransformações forneceram produtos com excessos diastereoisoméricos acima de 95% (esquema 7).



Esquema 7: Redução de cetonas cíclicas contendo um estereocentro por *D. carota*

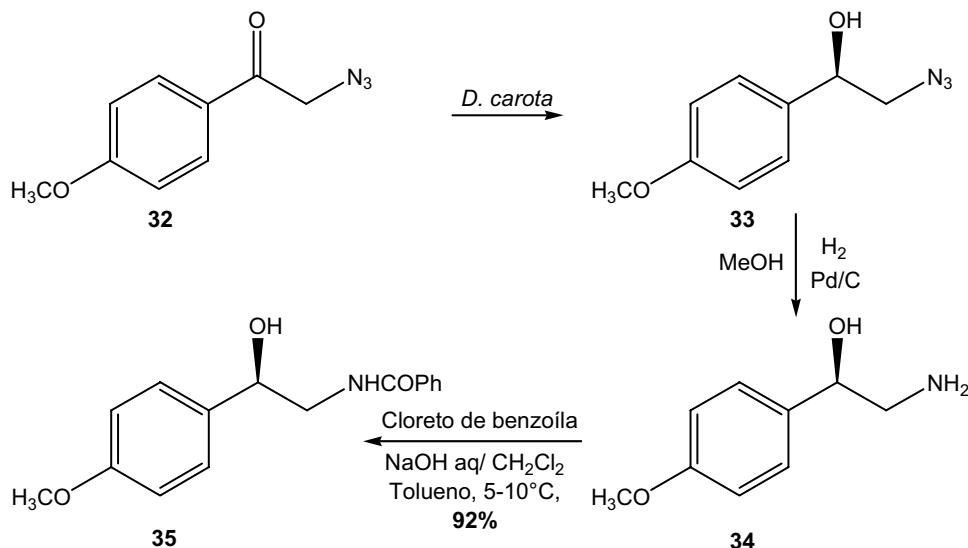
Cetonas aromáticas contendo átomos de calcogênios foram igualmente reduzidas através do uso de *D. carota* como agente biorredutor.⁵⁴ Acetofenonas substituídas com grupos metil e fenil-calcogênios (enxofre e selênio) (**30**) quando em presença do biocatalisador deram lugar aos álcoois correspondentes (**31**) com excelentes excessos enantioméricos (acima de 99%) (esquema 8).



Esquema 8: Redução de acetofenonas substituídas com grupos organo-calcogênios por *D. carota*

A raiz da cenoura também foi utilizada na etapa-chave da síntese total de uma molécula utilizada na medicina tradicional indiana como hipoglicemiante, a tembamida (**35**). Na síntese total destas moléculas, partiu-se da substância **32**, que foi reduzida enantiosseletivamente ao intermediário **33**, através do uso da cenoura como biocatalisador. O grupamento azida foi então reduzido a amino (**34**), o qual foi posteriormente acilado através da ação do cloreto de benzoíla,

forneendo a (*R*)-(-) tembamida (**35**), com excesso enantiomérico acima de 99% (esquema 9). Analogamente, foram sintetizadas outras duas moléculas: a aegelina e a denopamina.⁵²

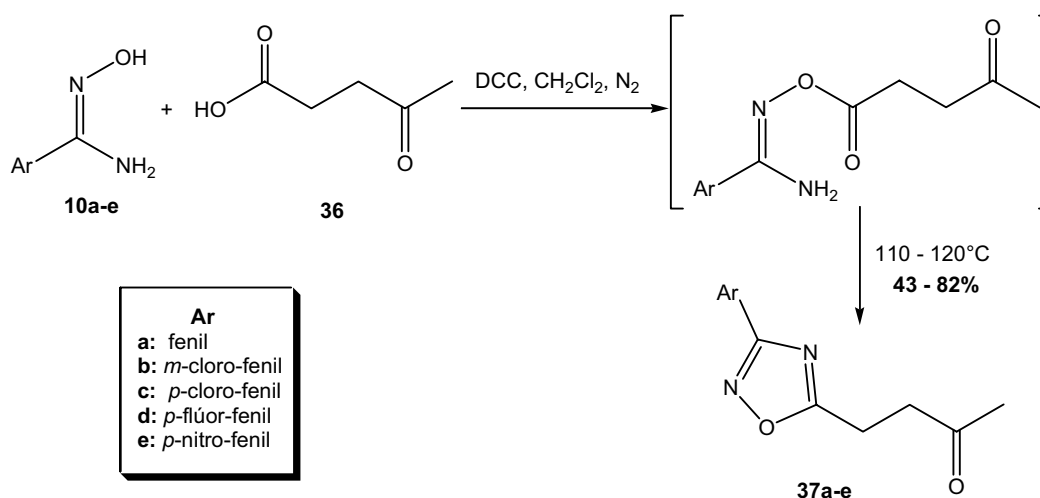


Esquema 9: Síntese total da (*R*)-(-) tembamida

O uso da raiz de *Daucus carota* como agente biorredutor fornece inúmeras vantagens, como já descrito até o presente momento. Este capítulo abordará o uso desta metodologia na síntese de 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanóis enantiomericamente enriquecidos.

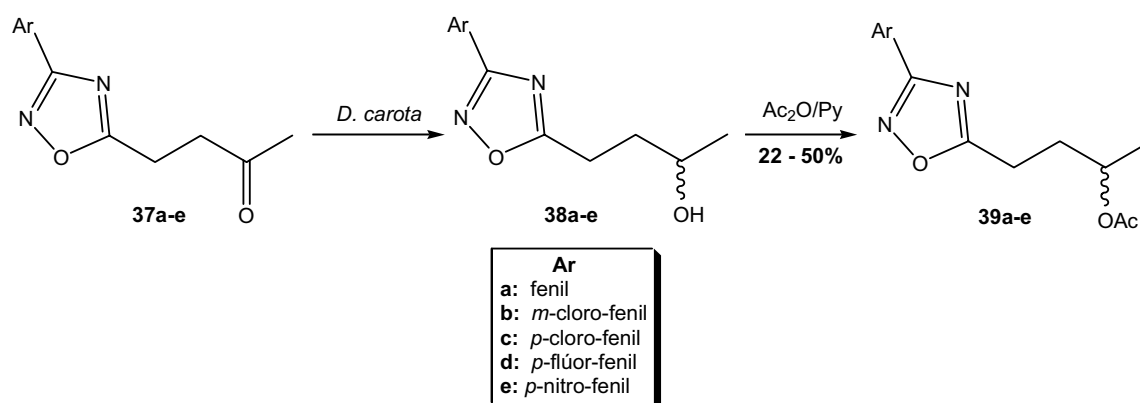
2.3 – Resultados e Discussão

Com a finalidade de formar um estereocentro na cadeia lateral presente em C-5 nos 1,2,4-oxadiazóis, partiu-se de oxadiazóis contendo um grupamento cetona pró-quiral. Para tal, arilamidoximas diversas (**10a-e**) reagiram com o ácido levulínico (**36**) em presença de DCC como agente ativador da carbonila, em diclorometano como solvente e sob atmosfera inerte, fornecendo os intermediários amidoximas *O*-aciladas. Estes últimos intermediários não foram isolados e foram diretamente submetidos à reação de ciclização térmica, formando os oxadiazóis **37a-e** (procedimento tipo *one pot*) (esquema 10).^{55,56}



Esquema 10: Formação dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanonas (**37a-e**) a partir de arilamidoximas e ácido levulínico

Os 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanonas (**37a-e**) foram então submetidos à ação da álcool desidrogenase presente nas raízes de *Daucus carota* (cenoura), para que o grupamento cetona fosse reduzido estereosseletivamente, formando os álcoois secundários **38a-e**. Estas substâncias obtidas na etapa de biorredução não foram isoladas devido à dificuldade de separação destas do restante da biomassa. Os álcoois **38a-e** foram então acetilados em presença de piridina e anidrido acético fornecendo os produtos **39a-e** (esquema 11).



Esquema 11: Preparação dos derivados 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butanos **39a-e** a partir de **37a-e**

As dificuldades com o manejo das massas celulares provenientes da biorredução ficam evidentes ao se observar os rendimentos químicos globais das etapas de biorredução e acetilação dos produtos **38a-e**, indicados na tabela 1. Os melhores resultados foram obtidos com o produto **39a**, em que não há substituição na parte aromática presente em C-3 do 1,2,4-oxadiazol. Para uso rotineiro, a reação deve ser otimizada a fim de que melhores rendimentos possam ser obtidos.

Tabela 1: Rendimentos e excessos enantioméricos dos compostos **39a-e** obtidos nas biorreduções de **37a-e** com *Daucus carota*

Composto de partida	Produto	Rendimento (%)	Excesso enantiomérico (%)
37a	39a	50	69 ^a
37b	39b	34	63 ^a
37c	39c	30	72 ^a
37d	39d	38	52 ^a
37e	39e	22	62 ^b

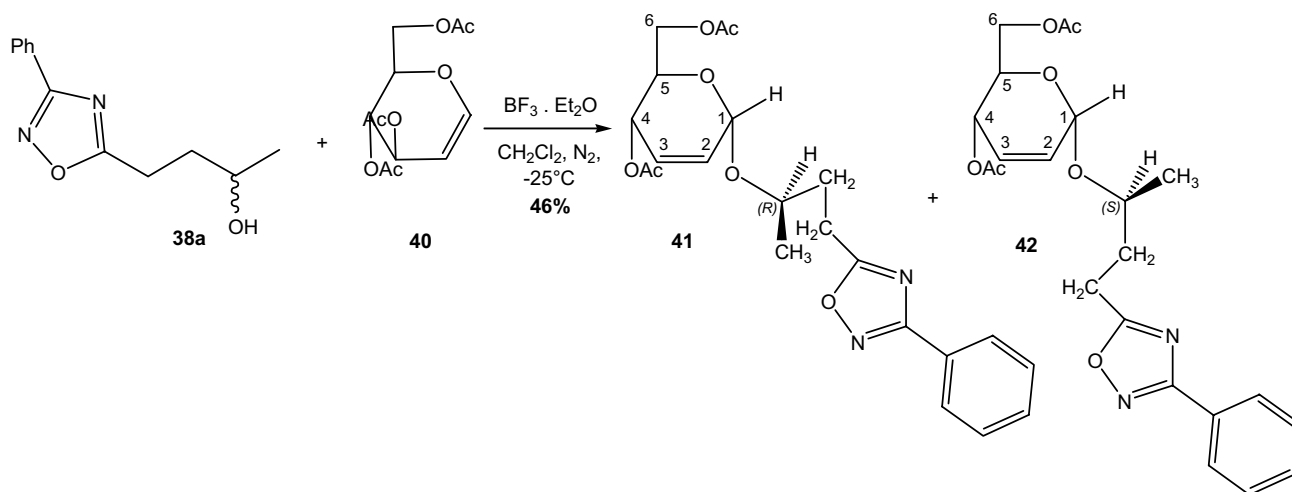
^a: Verificado através de CG, utilizando como fase estacionária coluna de β -ciclodextrina permetilada 20%

^b: Verificado através de reagente de deslocamento quiral, o tris[3-(trifluor-metil-hidróxi-metileno)-D-canforato)] európio (III).

Os excessos enantioméricos podem ser considerados modestos (52 a 72% e.e.), já que a cadeia das cetonas **37a-e** é alifática. Para os casos de cetonas alifáticas, a enantiosseletividade das reduções mediadas por enzimas varia devido à conformação deste tipo de cetonas não ser fixa. Yadav e colaboradores⁴⁶ realizaram um estudo comparativo para a redução de cetonas aromáticas, cíclicas, alifáticas, azido-cetonas e β -ceto-ésteres com raízes de *D. carota*. Pôde ser verificado, dentre outras peculiaridades que os menores excessos enantioméricos foram obtidos quando o substrato se tratava de uma cetona não-conjugada (92% e.e. para acetofenona contra 82% para a 2-pentanona).

Outras fontes relatam poucos experimentos em que foram reduzidas cetonas sem insaturações na posição α,β . A metodologia aqui empregada mostra excelentes resultados somente quando do uso de substratos contendo anéis aromáticos conjugados ao grupamento cetona, como no caso de reduções de acetofenonas substituídas, em que os excessos enantioméricos obtidos ficaram acima de 99% para o produto da biorredução.^{46, 47, 51, 54, 57}

Para que fôsse verificada a configuração absoluta dos produtos obtidos (**39a-e**), optou-se pela derivatização do álcool **38a** com o tri-*O*-acetil-D-glucal (**40**), em presença de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como ácido de Lewis, efetuando o rearranjo de Ferrier para formar os produtos **41** e **42** já descritos na literatura.⁵⁵ Os produtos formados tiveram um rendimento total de 46% (esquema 12).



Esquema 12: Formação dos glicosídeos insaturados **41** e **42** a partir do álcool **38a**

A escolha deste método foi orientada pelo fato de que glicosídeos insaturados contendo este oxadiazol como aglicona haverem sido sintetizados anteriormente por Freitas Filho e colaboradores.^{55,56} Estes pesquisadores efetuaram a hidrólise de **41** e **42** e posterior separação cromatográfica dos glicosídeos desacetilados. Foi verificado, naquele trabalho, através de estudos de RMN ^1H e cristalografia de raios X, que as metilas presentes no estereocentro fornecem informações quanto à estereoquímica dos produtos.

No espectro de RMN de ^1H dos compostos aqui sintetizados foram observados dois sinais referentes às metilas e cada um destes sinais corresponde a um diastereoisômero formado. Para o diastereoisômero **41**, ou seja, o (*R*)-1-metil-3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, a metila aparece em δ 1,34 ppm com uma constante de acoplamento $^3J = 6,0$ Hz (duplete). Já para o outro diastereoisômero, o (*S*)-1-metil-3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**42**), a mesma metila aparece em δ 1,25 ppm, com a mesma constante de acoplamento.

As constantes de acoplamento e os deslocamentos químicos dos principais sinais observados na RMN de ^1H da mistura de diastereoisômeros **41** e **42** com a aglicona proveniente da biorredução estão ilustrados na tabela 2.

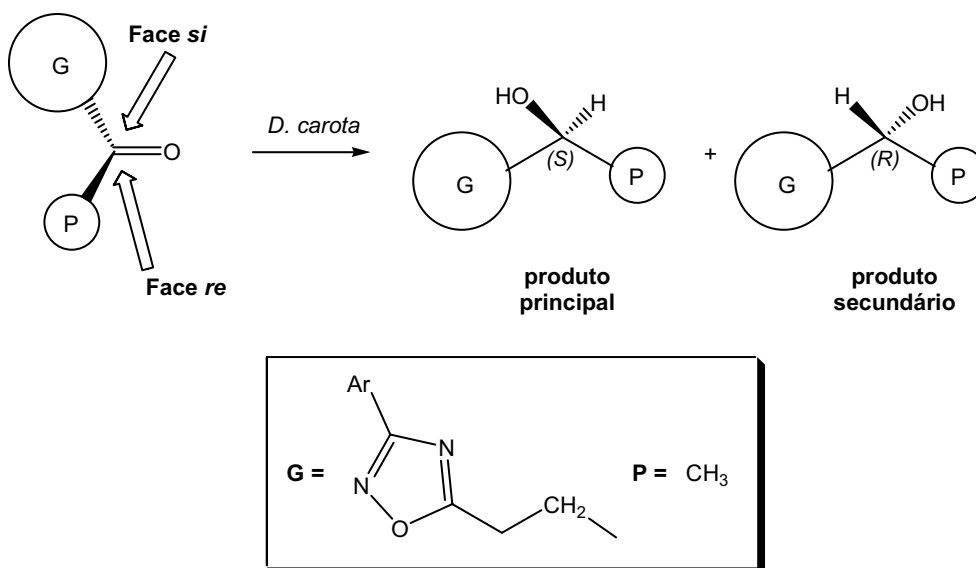
Tabela 2: Principais sinais observados na RMN de ^1H para a mistura **41:42**

Sinal	Deslocamento químico dos diastereoisômeros (ppm)		Constante de acoplamento (J , em Hz)
	(<i>R</i>)- 41	(<i>S</i>)- 42	
H-1	5,21 (sl)	5,16 (sl)	-
H-2	5,80 (ddd)	5,80 (ddd)	1,8; 2,4 e 10
H-3	5,88 (dl)	5,88 (dl)	10
H-4	5,28 (dl)	5,28 (dl)	9,6
CH₃ aglicona	1,34 (d)	1,25 (d)	6,3

A integração dos sinais da mistura diastereoisomérica obtida mostrou que o excesso diastereoisomérico é de 65%, estando de acordo com o valor anteriormente encontrado para o excesso enantiomérico do acetato proveniente do álcool **38a**, que foi de 69%.

Também pôde ser observado que o duplete de maior proporção é o duplete presente em δ 1,25 ppm, fornecendo indícios de que os álcoois obtidos através da biorredução são gerados, preferencialmente, com configuração absoluta (*S*).

A regra geral (regra de Prelog) para este tipo de redução é que, na maioria dos casos, a transferência do hidreto ocorre pela face *re* da cetona pró-quiral, dando origem ao álcool de configuração (*S*) (esquema 13).⁴⁶ Desta maneira, os resultados aqui obtidos estariam de acordo com os dados presentes na literatura para este tipo de biotransformação.



Esquema 13: Regra de Prelog para as cetonas da série **37** reduzidas com *D. carota*

2.4 – Conclusão

Foi utilizado *Daucus carota* (cenoura) como biocatalisador para a redução das cetonas **37a-e**, um catalisador amplamente disponível, que não requer cofatores (quando do uso de células vegetais) e de baixo custo. Ainda que com baixos rendimentos químicos (22 a 50%), as reações de biorredução aqui descritas forneceram produtos com excessos enantioméricos moderados (52 a 72% e.e.), o que demonstra a aplicabilidade desta metodologia com sistemas heterocíclicos contendo um grupo carbonílico na cadeia lateral.

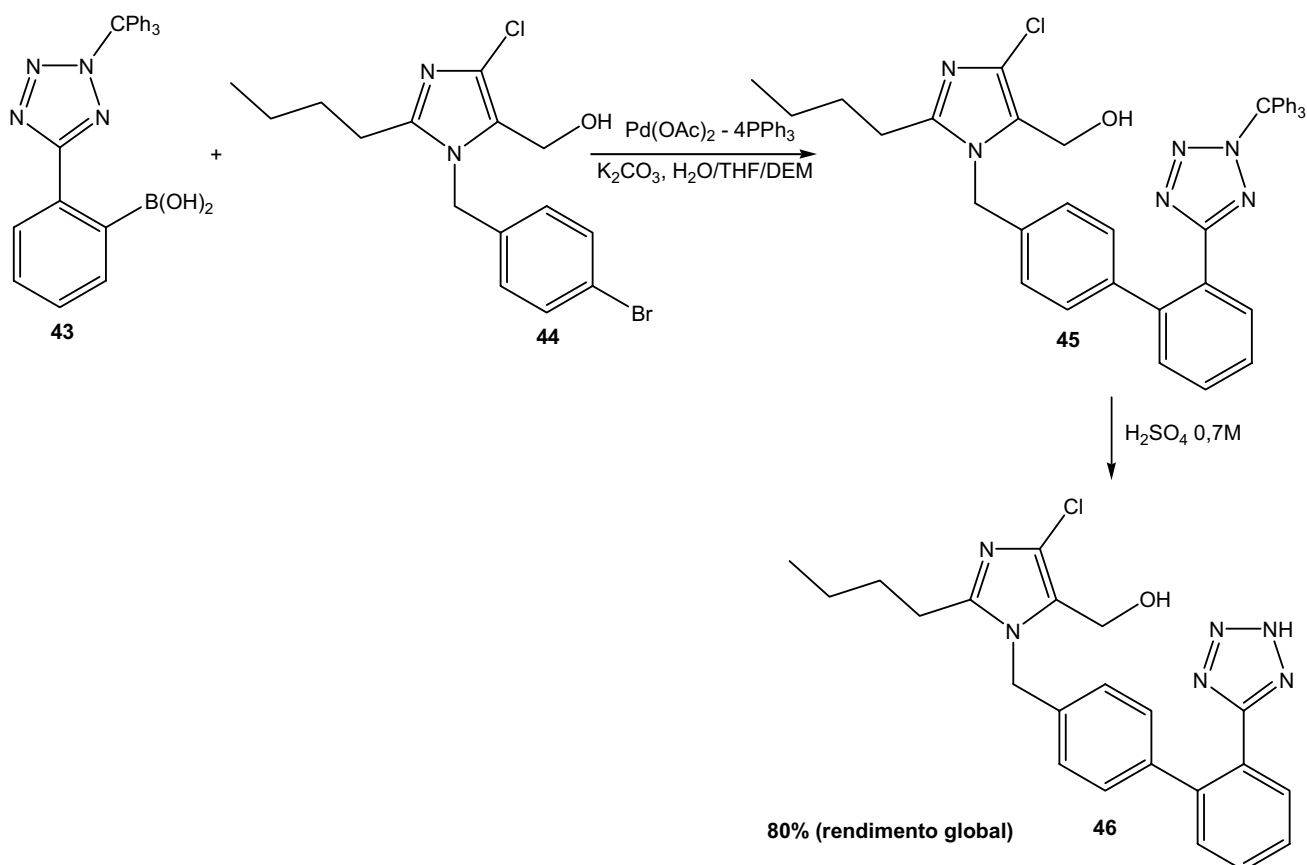
Um dos álcoois obtidos na reação com o sistema enzimático (**38a**) foi submetido à reação de glicosidação com o tri-*O*-acetil-D-glucal e foi obtida uma mistura diastereoisomérica (**41** e **42**). Comparando os resultados deste trabalho com dados da literatura,⁵⁵⁻⁵⁶ a configuração absoluta para os álcoois obtidos nas etapas de biocatálise pôde ser atribuída, estando de acordo com a regra de Prelog para este tipo de biorredução.⁴⁶

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3: SÍNTESE MEDIADA POR Pd(0) DE GLICOCONJUGADOS CONTENDO UMA FUNÇÃO 3-ARIL-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL-FENIL

3.1 – Introdução

A utilização de complexos de paládio como catalisadores em química orgânica se tornou uma ferramenta muito útil tanto para a pesquisa em laboratório, quanto em processos industriais. Por exemplo, complexos de Pd(0) podem ser utilizados na síntese do fármaco losartan (**46**), um antagonista dos receptores da angiotensina II, que age no controle da pressão arterial (esquema 14). A síntese convergente do fármaco **46** foi realizada através do acoplamento entre os compostos **43** e **44**, com 80% de rendimento, empregando o método de Suzuki-Miyaura,⁵⁸ com posterior desproteção do composto **45**.⁵⁹



Esquema 14: Síntese do fármaco anti-hipertensivo losartan através de catálise mediada por Pd(0)

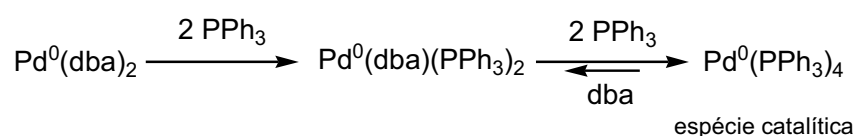
Bastante versáteis, os complexos de paládio se adaptam a um grande número de substratos e de reações evitando, em diversas vezes, etapas de proteção e desproteção. Ainda, são dotados de baixa toxicidade e são de fácil eliminação do meio reacional.⁶⁰

Um importante grupo de reações catalisadas por Pd(0) são as reações de acoplamento e inserção, em que observa-se a formação de complexos π -alílicos de paládio. Dentro desta família de reações, destacamos a reação de Tsuji-Trost, em que nucleófilos são inseridos em posição alílica.⁶¹⁻⁶³

3.2 – A reação de alquilação alílica (Tsuji-Trost)

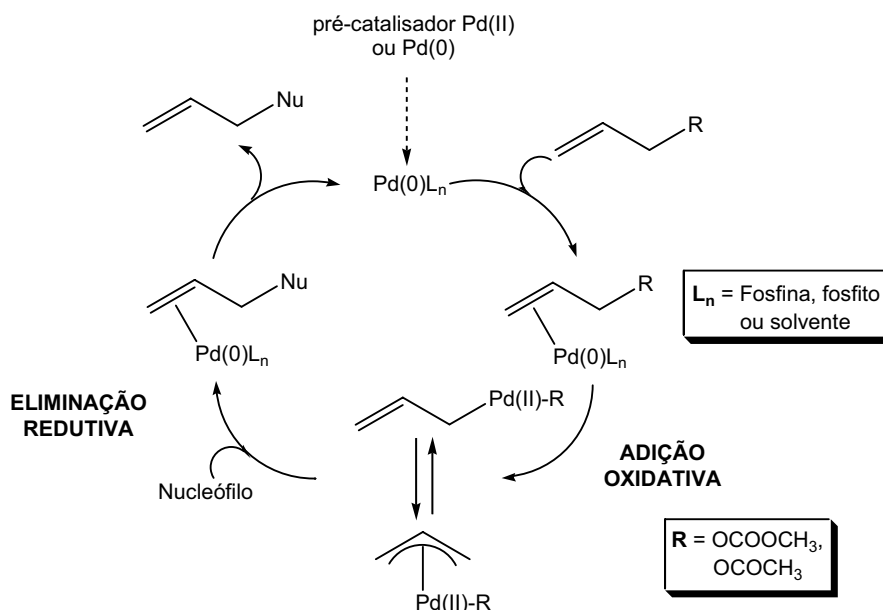
Sais de paládio nos estados de oxidação (0) ou (II) podem formar as espécies catalíticas, visando a formação de produtos de reações de alquilação alílica. A espécie reativa, comumente mencionada como Pd(0)L_n (onde L_n pode ser tanto um ligante do tipo fosfina ou fosfito ou o solvente utilizado na reação), pode ser formada a partir de sais contendo paládio no grau de oxidação (II) (pré-catalisador) ou de sais estáveis de Pd(0).⁶⁰

O sal de Pd(0) mais frequentemente utilizado é o Pd(PPh₃)₄, tanto pelo fato deste ser comercial, quanto pela sua relativa estabilidade. Outro sal bastante utilizado é o Pd₂(dba)₃, usado em conjunto com outros ligantes do tipo fosfina, como a PPh₃ ou o dppb. No caso do Pd₂(dba)₃, a espécie catalítica Pd(0)L_n é formada através da troca de ligantes dba por fosfinas. Esta perda de ligantes do tipo dba é lenta e a espécie organo-paládio encontrada em maior quantidade no meio reacional contém ainda uma molécula de dba (esquema 15).⁶⁴



Esquema 15: Perda sucessiva de ligantes dba e troca por ligantes fosfina para o sal Pd₂(dba)₃

No ciclo catalítico mostrado a seguir, pode ser observado que a reação de alquilação alílica se inicia com a formação da espécie catalítica, o Pd(0)L_n. Há então a formação da espécie organo-paládio, que sofre a chamada adição oxidante, formando espécies Pd(II) alil-substituídas, sendo esta a etapa determinante da velocidade da reação. Nesta etapa há a primeira inversão de configuração do carbono em posição alílica, com perda do substituinte. Inicia-se a segunda etapa do ciclo catalítico, com o ataque do nucleófilo ao complexo de Pd(II) na face menos impedida do complexo π -alílico, ocorrendo uma eliminação redutiva, em que o paládio retorna à forma reduzida (0). Nesta etapa também ocorre inversão da configuração no carbono alílico, havendo, portanto retenção da configuração no final do processo, já que há uma dupla inversão (esquema 16).⁶⁵

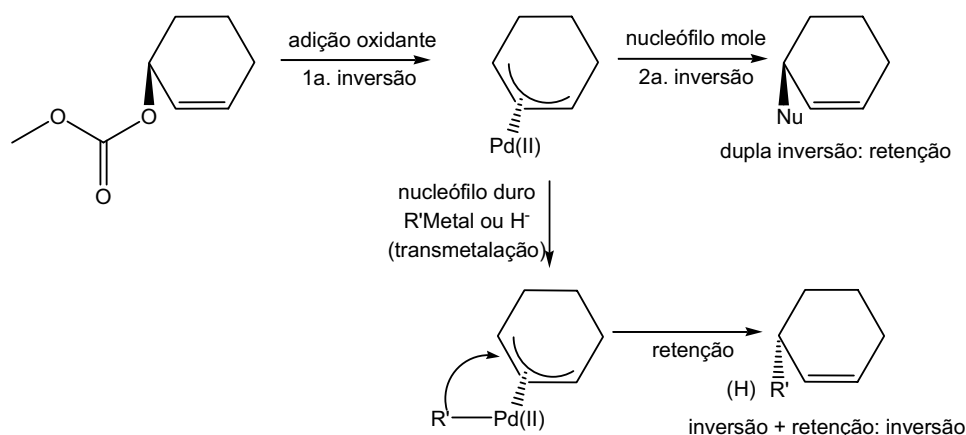


Esquema 16: Ciclo catalítico do complexo alílico de paládio na reação de Tsuji-Trost

Os complexos π -alílicos de paládio são formados mais facilmente quando se tem bons grupos de saída na posição alílica, como grupos acetato, carbonato ou fosfato. Sem dúvida, dos três exemplos citados, o grupo carbonato é a melhor escolha, pois é um excelente grupo de saída, acelerando assim o curso da reação, já que a adição oxidativa é a etapa-chave de todo o processo.⁶⁶ Fazendo-se uso de grupos carbonatos como nucleófilos, a reação ocorre em meio neutro, sem a necessidade do uso de bases externas pois o carbonato liberado durante a formação do complexo π -alílico serve de base catalítica interna.⁶⁰ O sucesso da reação depende também da desprotonação do nucleófilo e por isto as reações se processam normalmente em solventes apróticos polares.⁶⁷

Todas as etapas do ciclo catalítico são reversíveis e alil-carbonatos e alil-carbamatos podem ser obtidos na atmosfera de CO_2 liberado quando da saída do carbonato dos complexos alílicos, daí a importância da renovação da atmosfera de gás inerte ao curso da reação.⁶⁸

A estereoquímica de todo o processo é diretamente dependente da natureza do nucleófilo. Usando-se nucleófilos moles, o ataque do nucleófilo se dá *anti* ao complexo de paládio, resultando em uma segunda inversão de configuração no ciclo catalítico (a primeira ocorre durante a adição oxidativa) e então, há retenção ao fim do processo. Já com o uso de nucleófilos duros há, antes do ataque do nucleófilo, complexação deste com o paládio, com ataque nucleofílico no mesmo lado do paládio e retenção da configuração na posição alílica havendo, portanto, inversão da configuração ao fim da reação (esquema 17).^{60,69}

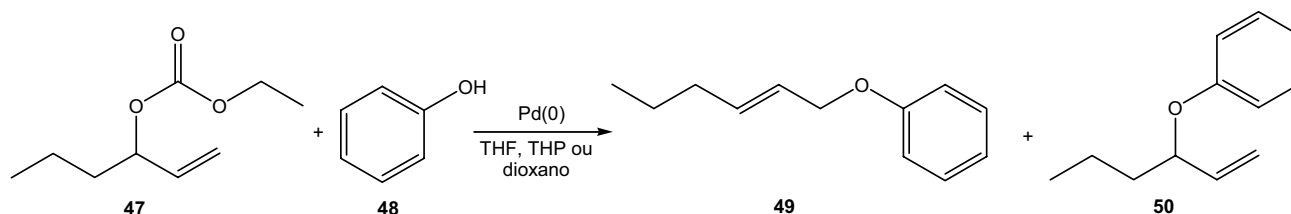


Esquema 17: Exemplo de reação de um complexo π -alílico de paládio com nucleófilos moles e duros

Já foi demonstrado que fenóis reagem bem com os complexos π -alílicos de paládio. Goux e colaboradores⁷⁰ realizaram um estudo sobre a alquilação alílica de diversos carbonatos com vários fenóis, variando a temperatura do sistema reacional, os catalisadores, o solvente e verificando se a substituição do fenol exerceu algum papel importante na perda ou ganho de estereosseletividade ou regioosseletividade. Por exemplo, a reação do carbonato **47** com o fenol **48** em THF, utilizando-se 0,02 equivalente de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ e 0,08 equivalente de ligante do tipo fosfina à temperatura ambiente (25°C) fornece uma mistura de regioisômeros **49** e **50** em 44 e 56%, respectivamente. Ainda, para o regioisômero **49**, a taxa de formação de isômeros *E/Z* é de 88 e 12%, respectivamente, demonstrando que, a 25°C, a *O*-alquilação não é estereosseletiva. A 60°C, o grupo fenóxi é bom nucleóforo no complexo π -alílico e o regioisômero **50** se converte no isômero **49** e, conforme a reação prossegue, a taxa de formação de **49** aumenta drasticamente (em 1 hora tem-se 54:46% e depois de 7 horas de reação, 71:29% respectivamente para **49:50**). Ainda, a taxa de formação dos estereoisômeros *E/Z* de **49** permanece a mesma (89/11%, respectivamente), demonstrando que a reação é estereosseletiva em temperaturas mais elevadas (esquema 18).

Com relação à influência do ligante fosfina, ficou claro que as difosfinas são mais eficazes que as monofosfinas, aumentando a velocidade da reação, porém sem controle cinético. Como já discutido anteriormente, solventes apróticos polares (THF, THP, dioxano) registraram melhores taxas de conversão (100%) que solventes apolares como dietóxietano e diclorometano (77 e 31%, respectivamente). Ainda, a natureza do fenol utilizado exerce importante influência no controle cinético da reação. Em temperatura ambiente, fenóis substituídos em *orto* forneceram as maiores taxas de formação do isômero **49** (84:16%, **49:50**)

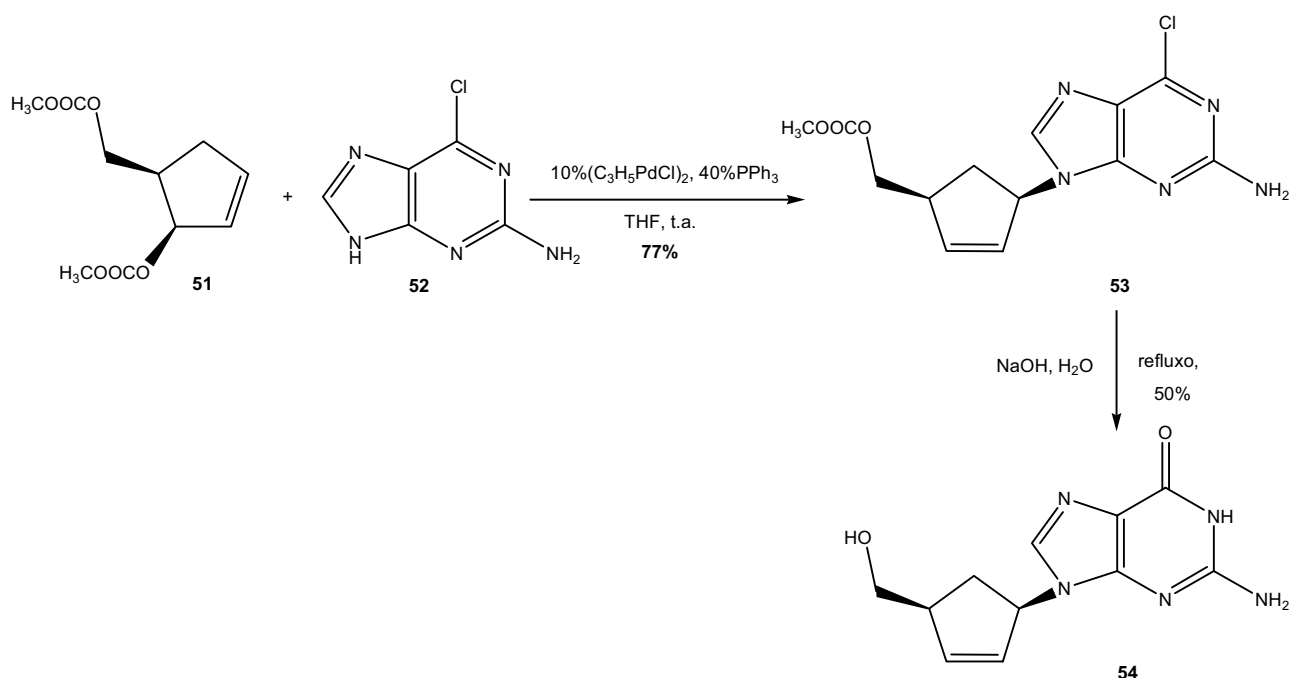
para o *o*-*t*-Bu-fenol), demonstrando que o controle estérico exerce grande influência na regioselectividade deste tipo de reação (esquema 18).



Esquema 18: Reação de alquilação alílica entre fenóis e carbonatos de alila

Nucleófilos nitrogenados como aminas primárias e secundárias costumam ser bastante eficazes nas reações de alquilação alílica. Em contrapartida, a espécie NH_3 não é um bom nucleófilo e, para a síntese de aminas primárias a partir deste tipo de reação, vários autores fazem uso de azidas (NaN_3 , TMSN_3)⁷¹ ou de ftalimidas.^{72,73}

Análogos de nucleotídeos purínicos com ação antiviral podem ser sintetizados através da reação de Tsuji-Trost. O carbonato **51** pode reagir com a 2-amino-6-cloropurina (**52**) em presença do sal de paládio $(\text{C}_3\text{H}_5\text{PdCl})_2$ e de trifenilfosfina para formar o carbanucleotídeo **53** que, após reação com hidróxido de sódio aquoso, fornece o carbovir (**54**), potente molécula anti-retroviral (esquema 19). Pode-se notar que as purinas são aliladas regioselectivamente em N-9.⁷⁴

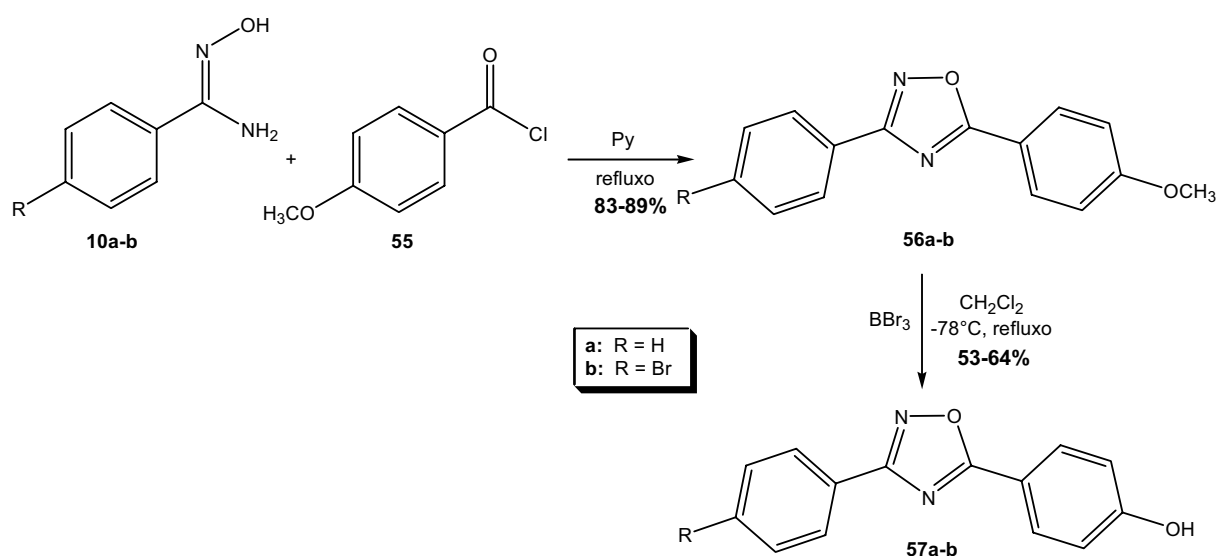


Esquema 19: Síntese do anti-retroviral carbovir

Já explanadas todas as vantagens da catálise mediada por Pd(0), este capítulo visa discutir a aplicação deste método na síntese de carboidratos contendo moléculas de 1,2,4-oxadiazóis.

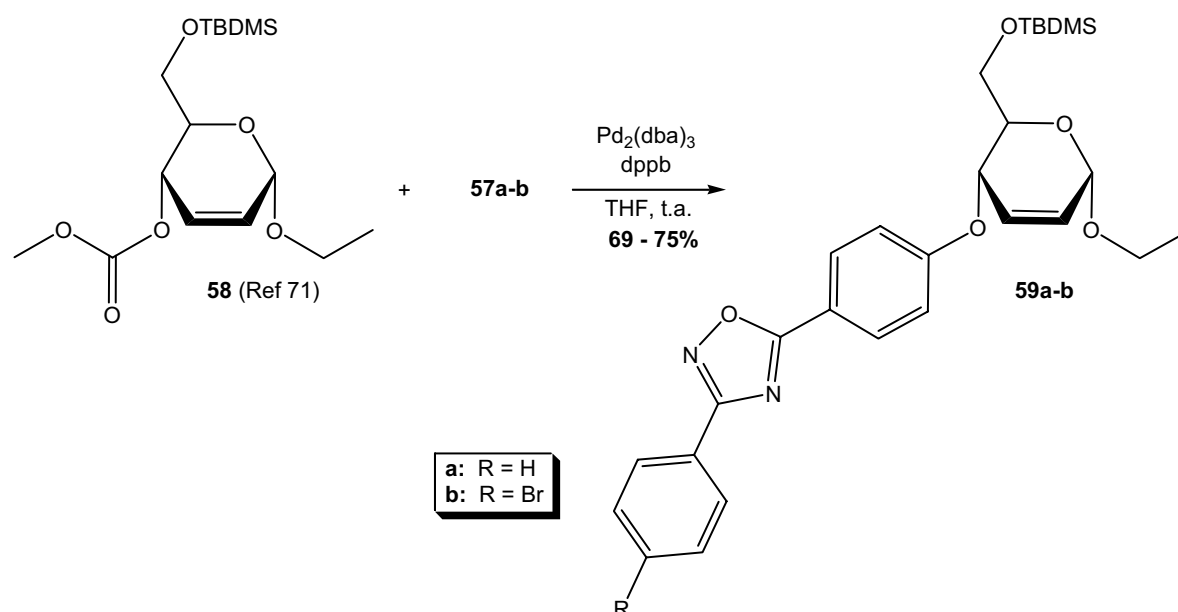
3.3 – Resultados e Discussão

Com o intuito de sintetizar carboidratos contendo uma molécula de oxadiazol, foram preparados 1,2,4-oxadiazóis com um grupo 4-hidróxifenil ligado no C-5. Tais oxadiazóis (**57a-b**) foram sintetizados a partir dos oxadiazóis substituídos com o grupo anisoíla em C-5 (**56a-b**)⁴⁰ com posterior clivagem da ligação O—C do grupo OCH₃ utilizando-se tribrometo de boro em diclorometano (esquema 20).



Esquema 20: Síntese dos 4-hidróxi-fenil oxadiazóis **57a-b**

Os oxadiazóis contendo um grupo 4-hidróxifenil foram então submetidos à reação com o carboidrato insaturado contendo a porção carbonato **58**⁷¹ em presença de 5 mol % de Pd₂(dba)₃ e 20 mol % do ligante bidentado dppb (2 equivalentes de fosfina para cada mol de paládio), em THF, em temperatura ambiente. Os derivados dos glicosídeos insaturados **59a-b** foram obtidos com 75 e 69% de rendimento, respectivamente (esquema 21).



Esquema 21: Formação dos derivados de glicosídeos insaturados **59a-b**

A reação foi regiosseletiva, já que somente foram isolados derivados glicosídicos substituídos em C-4, o que já era esperado, ainda que nucleófilos oxigenados possam atacar em ambos os lados do complexo π -alílico.⁷⁰ Isto mostra que os fenóis utilizados exercem controle estérico, impedindo a substituição no C-2 do carbonato **58**. Ainda, foi observado que houve retenção da configuração no carbono C-4, o que pôde ser constatado ao observar as constantes de acoplamento entre os hidrogênios H-4 e H-5 nos glicosídeos formados ($J_{4,5}$ = 8,9 Hz e 9,1 Hz para **59a** e **b**, respectivamente), indicando uma relação *pseudo trans*-diaxial entre os dois hidrogênios (figura 5).⁷⁵

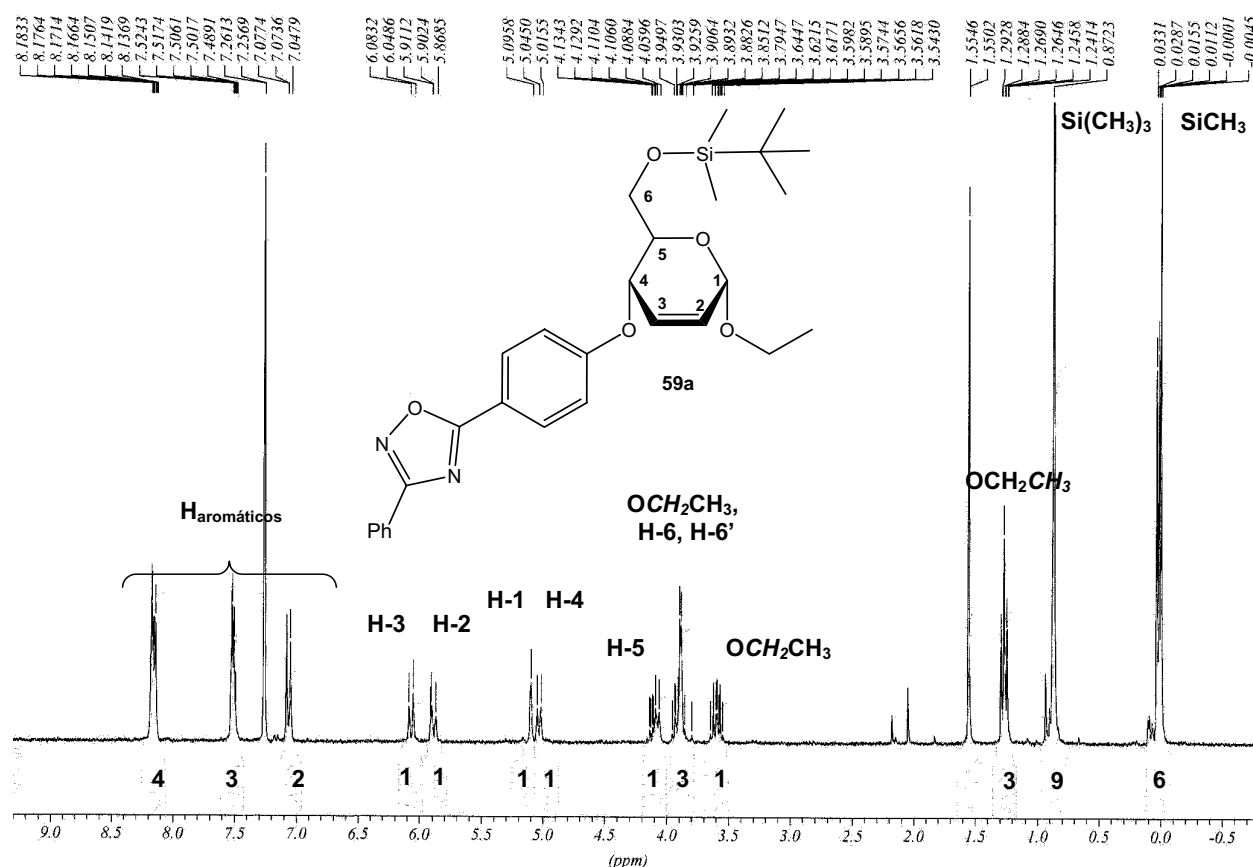
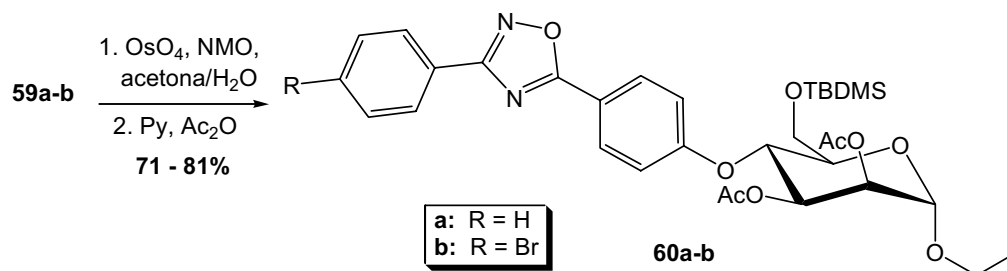


Figura 5: Espectro de RMN de ^1H para o 4-*O*-[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**59a**), a 300 MHz, em CDCl_3

Os glicosídeos **59a-b** foram ainda submetidos às reações de bis-hidroxilação e bis-acetilação para fornecer os manopiranosídeos **60a-b**. A reação de bis-hidroxilação *cis* foi realizada na presença de *N*-metilmorfolina *N*-óxido e quantidades catalíticas de tetróxido de ósmio em mistura de acetona e água. Em seguida, a mistura reacional foi submetida à acetilação clássica utilizando-se piridina e anidrido acético, fornecendo os novos derivados **60a-b**, com rendimentos de 81 e 71%, respectivamente (esquema 22).



Esquema 22: Síntese dos etil manopiranosídeos **60a-b**

Os produtos obtidos **60a-b** resultaram da reação de bis-hidroxilação *cis* no lado menos impedido da dupla ligação, já que as constantes de acoplamento vicinal entre H-2 e H-3 demonstraram uma relação axial-equatorial entre os dois prótons ($J_{2,3} = 3,2$ Hz e $3,4$ Hz, respectivamente para **60a** e **b**), estando estes resultados de acordo com outros relatados na literatura.^{76,77} A denominação *mano* nestes carboidratos foi atribuída ao observar as constantes de acoplamento vicinal entre H-3 e H-4 ($J_{3,4a} = 9,8$ Hz e $9,6$ Hz, respectivamente) e entre H-1 e H-2 ($J_{1e,2e} = 1,7$ e $1,8$ Hz, para **60a** e **b**). Na figura 6, é mostrado o espectro de RMN de ^1H para a substância **60a**.

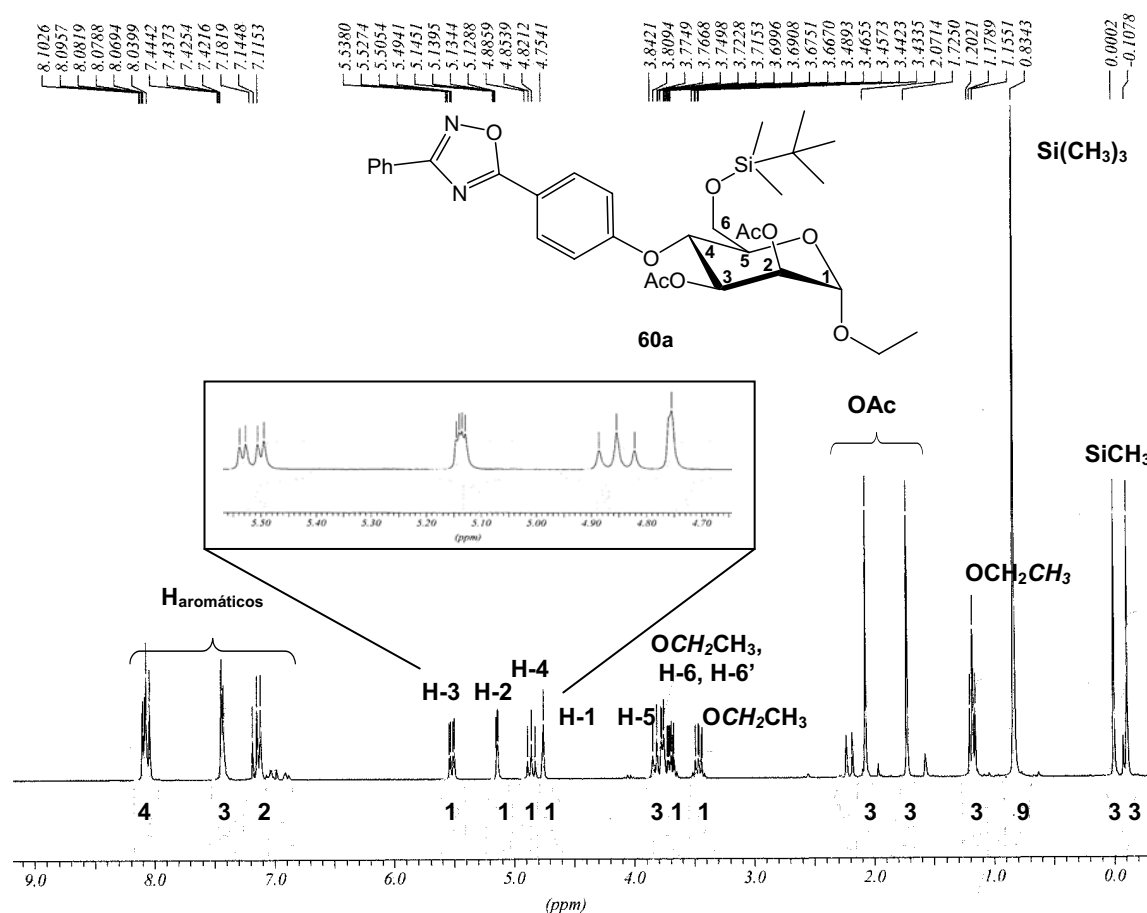


Figura 6: Espectro de RMN de ^1H para o 2,3-di-*O*-acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-*O*-[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]- α -D-manopiranosídeo de etila (**60a**), a 300 MHz, em CDCl_3

3.4 – Conclusão

A reação de alquilação alílica, também conhecida como reação de Tsuji-Trost, do carbonato **58** com os oxadiazóis fenóis **57a-b** forneceu os glicosídeos insaturados **59a-b** com bons rendimentos, de maneira regioseletiva e com retenção de configuração no carbono alílico, estando de acordo com os resultados encontrados na literatura. Ainda, tais glicoconjugados insaturados foram submetidos às reações de bis-hidroxilação e bis-acetilação, com formação dos manopiranosídeos **60a-b**. Ficou demonstrado que carboidratos podem conter uma porção oxadiazólica na posição C-4 do carboidrato, formando glicoconjugados dotados de potencial farmacológico.

CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 4: SÍNTESE DE GLICOCONJUGADOS ATRAVÉS DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR ENTRE AZIDAS E ALCINOS TERMINAIS

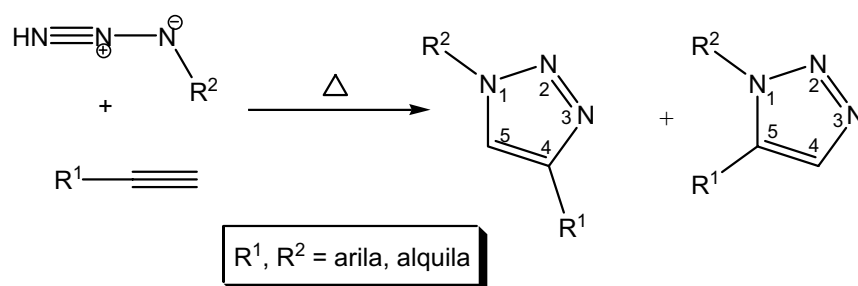
4.1 – Introdução

Os glicoconjugados exercem várias funções importantes nos eventos de interação e reconhecimentos celulares. Tais interações são muito importantes nas respostas imunológicas,⁵ infecções microbianas e virais,⁶ metástase tumoral⁴ e no processo da inflamação.³ Esta constatação tem chamado a atenção de vários grupos de pesquisa para a importância da síntese de novos análogos desta classe de moléculas como potencial fonte de novos fármacos.¹⁰

Um dos maiores desafios no tocante à síntese de moléculas glicoconjugadas consiste na junção da unidade de carboidrato à molécula dotada de potencial biológico. Muitas vezes, como no caso dos glicopeptídeos, a ligação glicosídica estabelecida entre o açúcar e o peptídeo é bastante sensível e pode ser hidroliticamente clivada.⁷⁸ Desta forma, o desenvolvimento de novas metodologias sintéticas visando a conjugação destas moléculas funcionalizadas tem ganhado importância nos últimos anos e, dentre essas diversas metodologias, destaca-se a cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos terminais catalisada por sais de Cu(I), também denominada "click chemistry".^{79,80}

4.2 – A reação de cicloadição 1,3-dipolar mediada por Cu(I)

A reação de cicloadição [3 + 2] de Huisgen consiste na reação entre azidas e alcinos terminais resultando em 1,2,3-triazóis.⁸¹ Esta reação pericíclica, apesar de termicamente permitida, ocorre somente em altas temperaturas na ausência de catalisadores, formando uma mistura regioisomérica de triazóis (esquema 23).⁸²



Esquema 23: Formação de regioisômeros na cicloadição 1,3-dipolar em altas temperaturas

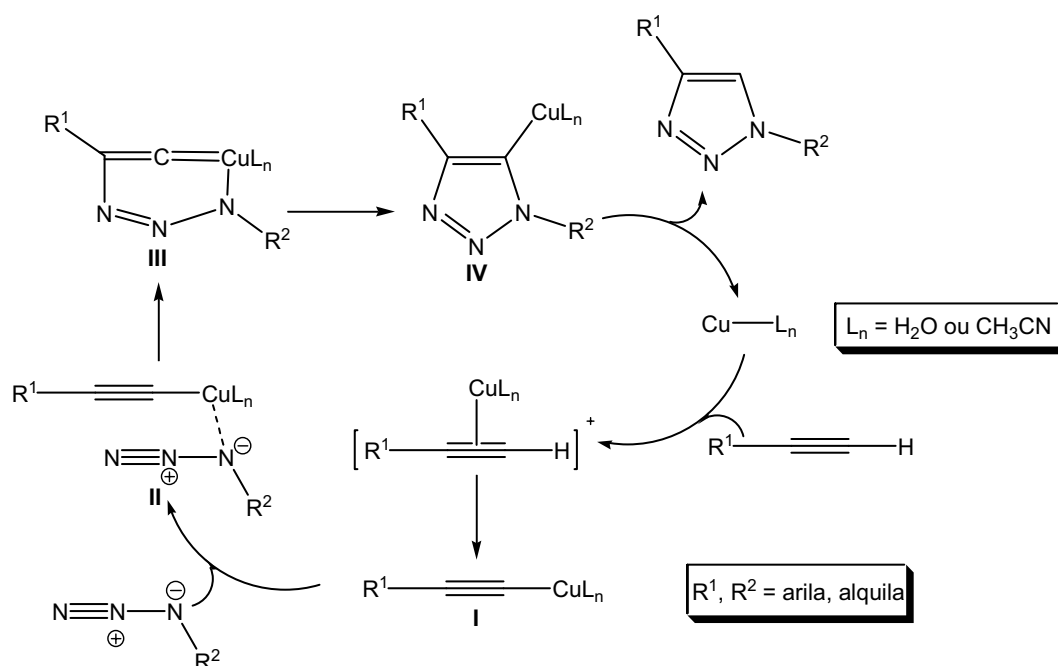
Recentemente, Sharpless e colaboradores⁸²⁻⁸⁵ desenvolveram sistemas catalíticos a partir de sais de Cu(II) na presença de agentes redutores para este tipo de reação, gerando espécies de Cu(I) *in situ*. Os sais de cobre mais comumente utilizados para esta finalidade são

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ e os agentes redutores mais eficazes são o ácido ascórbico e seu correspondente sal sódico. Sais de $\text{Cu}(\text{I})$ como CuI e $\text{CuOTf} \cdot \text{C}_6\text{H}_6$ podem ser usados diretamente na ausência de agentes redutores, mas requerem bases orgânicas como piridina ou trietilamina e o uso de acetonitrila como co-solvente.⁸⁶ Entretanto, nas reações catalisadas com sais de $\text{Cu}(\text{I})$, há formação de produtos secundários indesejados como diacetilenos, bis-triazóis e 5-hidróxi-triazóis, sendo portanto mais "limpas" as reações em que são utilizados sais de $\text{Cu}(\text{II})$.⁸²

O uso do ascorbato de sódio nestas reações não se limita à sua função como agente redutor solúvel em água (co-solvente neste tipo de reação), mas este reagente também mantém a concentração necessária de $\text{Cu}(\text{I})$ ativo no meio reacional, eliminando a necessidade de atmosfera inerte e permitindo o isolamento dos triazóis formados como os únicos produtos destas reações.⁸⁷

A reação catalisada por cobre é regioespecífica e leva à formação de 1,4-regioisômeros. Ao contrário da reação térmica, que ocorre por mecanismo concertado, a reação catalisada com sais de cobre se dá passo-a-passo e o mecanismo justifica a formação do regioisômero 1,4-substituído.⁸³

O ciclo catalítico das reações do tipo "click" entre azidas e alcinos terminais é mostrado no esquema 24, no qual a primeira etapa consiste na formação do acetilídeo de $\text{Cu}(\text{I})$ **I**. A formação desta espécie passa por um complexo π . Há a entrada da azida no ciclo, com formação da espécie **II** e rápida conversão no metalacido de seis membros **III**. A formação da espécie **II**, em que os ligantes do átomo de cobre são moléculas de água, justifica a formação de um único regioisômero neste tipo de reação. Há então a contração do anel de seis membros para formar o intermediário de menor energia e maior estabilidade **IV**, o triazolídeo de cobre. A espécie catalítica é finalmente regenerada e o produto, o 1,2,3-triazol, forma-se (esquema 24).^{82,83}

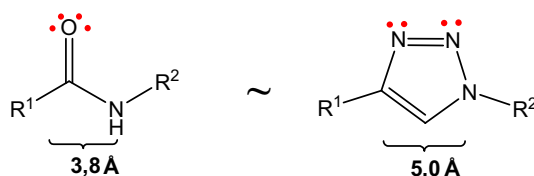


Esquema 24: Ciclo catalítico para a reação de cicloadição [3 + 2] mediada por Cu(I)

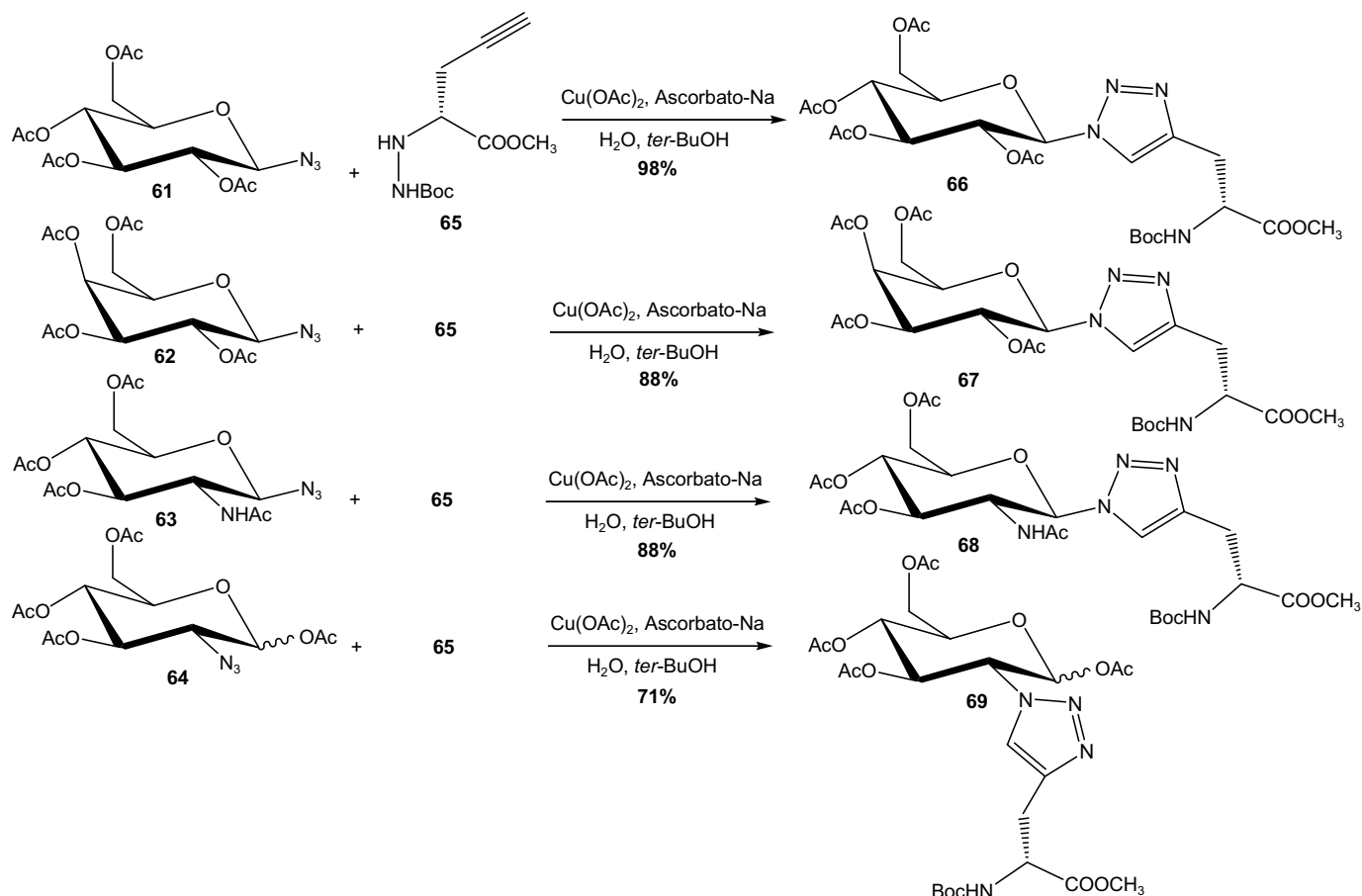
Essas reações não requerem condições especiais, podendo ser realizadas numa extensa variação de temperatura (de 0 a 160°C) e são praticamente insensíveis a mudanças de pH. Porém, devem ser realizadas com água ou acetonitrila como co-solvente, para que estes co-solventes sirvam de ligantes para o átomo de cobre. Quando da ausência de água neste tipo de reação, o processo se torna mais lento, menos seletivo e, em larga escala, é perigoso, pois tais cicloadições catalisadas por cobre são extremamente exotérmicas.⁷⁹

A cicloadição 1,3-dipolar mediada por cobre têm tido ampla aplicação nos diversos campos da química, como na descoberta⁸⁸⁻⁹⁰ e modulação⁹¹ de moléculas candidatas a fármacos, no desenvolvimento de novos materiais,⁹²⁻⁹⁴ no design de novos catalisadores,⁹⁵⁻⁹⁷ em química supramolecular⁹⁸⁻¹⁰¹ e em biotecnologia.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Alguns exemplos de aplicações desta metodologia serão discutidos a seguir.

A introdução do núcleo 1,2,3-triazólico como conector em sistemas glicoconjugados confere maior potencial biológico ao sistema, já que o referido heterociclo tem relatadas atividades antimicrobiana, anti-HIV e antialérgica.¹⁰⁵ Em química medicinal, o heterociclo tem sido comparado a grupamentos amidas devido a suas características físico-químicas. Assim como oxigênio da carbonila das amidas, os nitrogênios N-2 e N-3 também atuam como aceptores de pontes de hidrogênio, porém de maneira menos eficaz (figura 7). E embora os triazóis sejam mais resistentes à hidrólise e reações de oxirredução,⁷⁸ a distância entre os grupos R¹ e R² em amidas e triazóis é parecida (3,8Å para amidas e 5,0Å para triazóis).⁷⁹

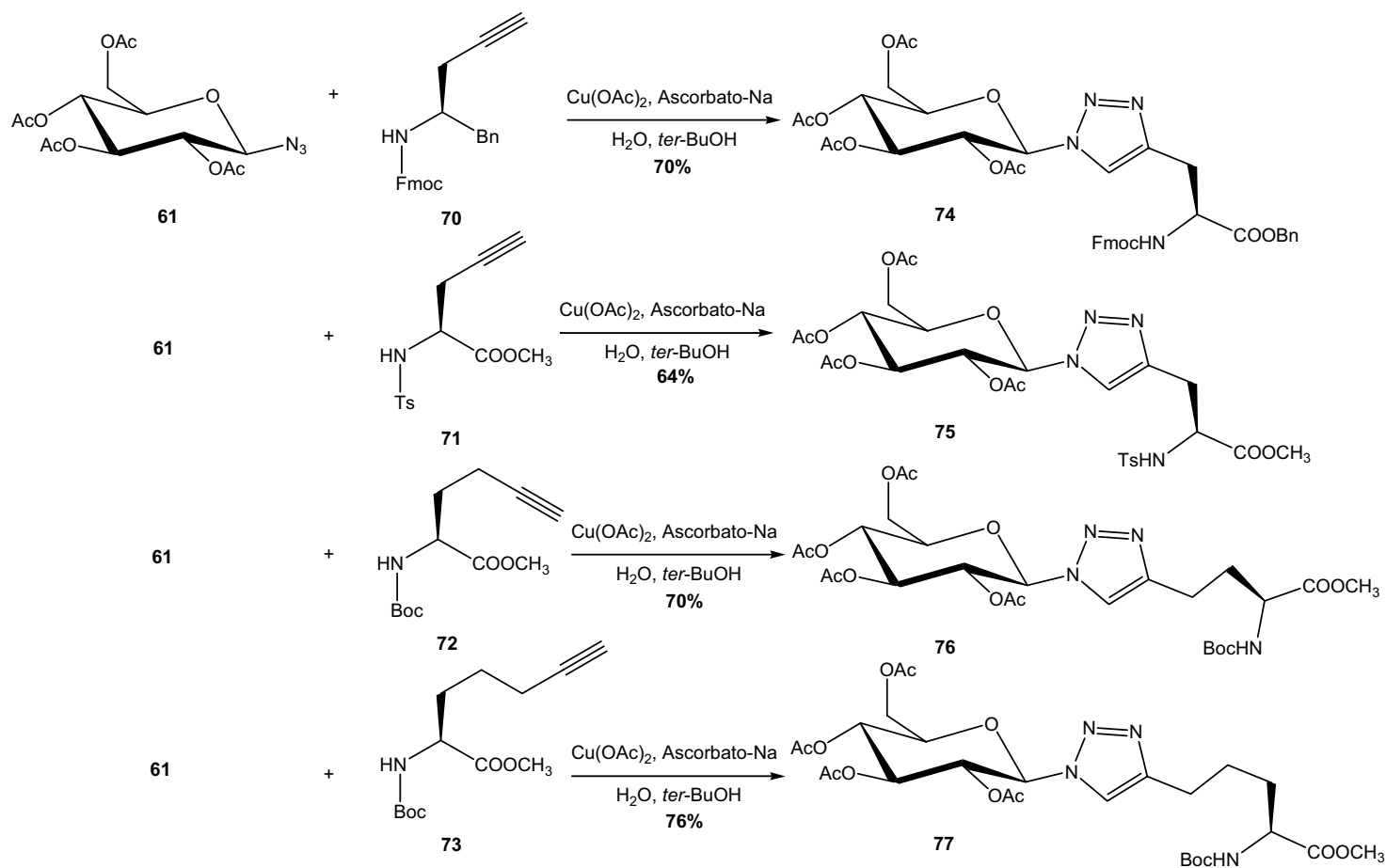
**Figura 7:** Comparação entre amidas e 1,2,3-triazóis

A cicloadição [3 + 2] é especialmente eficaz na síntese de *C*-glicopeptídeos, análogos peptídicos mais estáveis que os *O* e *N*-glicopeptídeos. Kuijpers e colaboradores⁷⁸ sintetizaram vários glicopeptídeos fazendo uso de “click chemistry”. Primeiramente, estes pesquisadores utilizaram diferentes carboidratos com uma porção azida, nas posições C-1 (anomérica) e/ou C-2 (**61** a **64**) com o mesmo aminoácido modificado com uma função alcino (**65**) para fornecer glicopeptídeos (**66** a **69**) com altos rendimentos químicos e excelente 1,4-regioespecificidade (esquema 25).

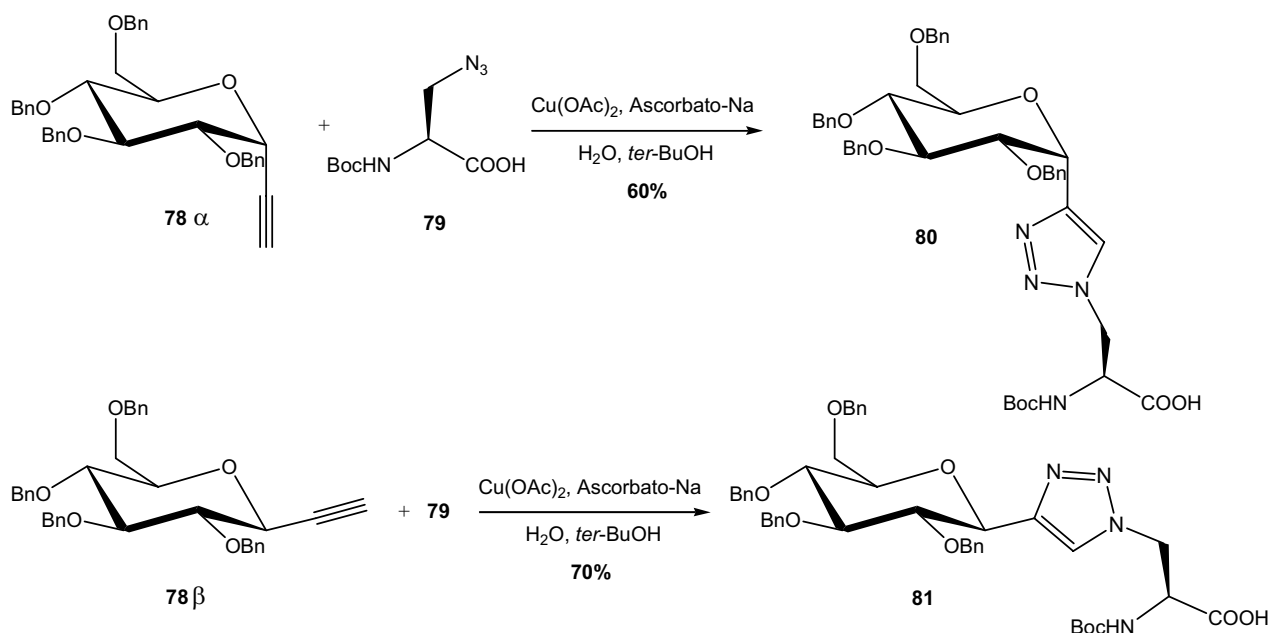
**Esquema 25:** Síntese de glicopeptídeos com a mesma unidade de aminoácido

Em um segundo momento, os mesmos pesquisadores mantiveram a porção carboidrato fixa (**61**) e variaram a porção aminoacídica contendo o grupamento acetilênico (**70** a **73**), obtendo resultados similares (**74** a **77**) e verificando que, mudanças nos grupamentos laterais

nos carboidratos e nos aminoácidos não conferem mudanças na reatividade destes sistemas (esquema 26). Ainda, foi constatado que, invertendo as funcionalidades, ou seja, reagindo carboidratos com uma porção acetilênica (**78 α,β**) e um azido-aminoácido (**79**) na presença do sistema catalítico Cu(II)/ascorbato de sódio, são formados os triazóis esperados (**80** e **81**), não sendo observadas variações significativas na regioespecificidade e no rendimento da reação, (esquema 27).



Esquema 26: Reação entre o azidoaçúcar **61** e diferentes aminoácidos acetilênicos



Esquema 27: Reação entre carboidratos acetilênicos e o azido aminoácido **79** fornecendo os glicopeptídeos **80** e **81**

Em virtude de todas as facilidades sintéticas e do amplo espectro de aplicação deste tipo de reação, a “click chemistry” tem se tornado uma ferramenta importante em química combinatória. Por exemplo, uma coleção de moléculas inibidoras da tirosina fosfatase (uma proteína quinase) foi sintetizada e, desta forma, fontes promissoras de fármacos contra diabetes e infecções bacterianas foram descobertas. As moléculas mais potentes são mostradas na figura 8 (substâncias **82** a **85**).⁸⁸

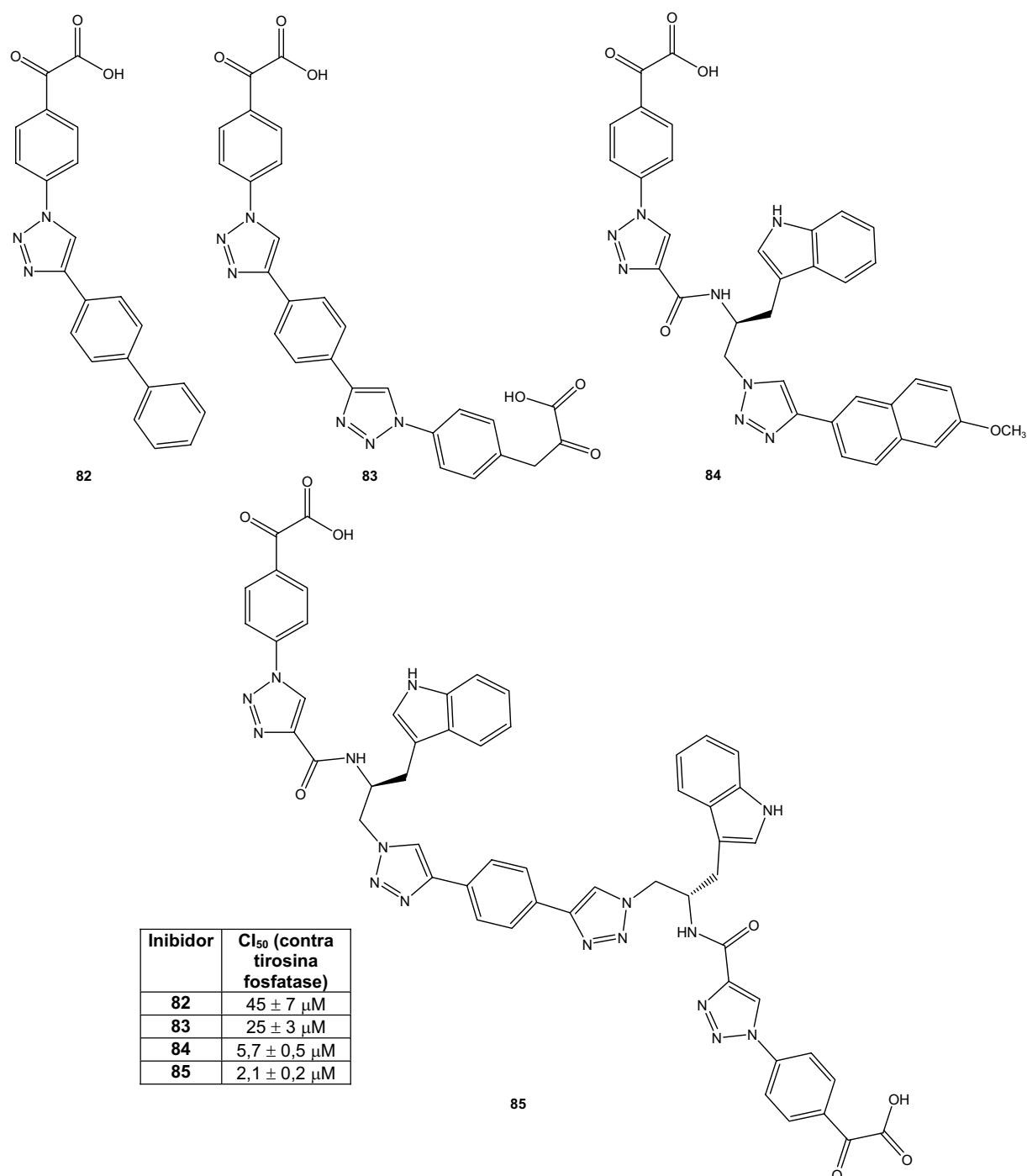


Figura 8: Moléculas inibidoras da tirosina fosfatase descobertas através de química combinatória e “click chemistry”

O medicamento hipoglicemiante acarbose (**86**) é um oligossacarídeo obtido através de fermentação de microorganismos. Este medicamento atua no intestino, inibindo a α -glicosidase, uma hidrolase presente na membrana intestinal que retarda a absorção da glicose.¹¹ Análogos estruturais da acarbose foram sintetizados através de cicloadição 1,3-dipolar e também apresentaram atividade inibitória da α -glicosidase. As estruturas do fármaco de

referência acarbose e de um açúcar contendo o anel triazol (**87**), com relatada atividade anti-glicosidase, são mostradas na figura 9.¹⁰⁶

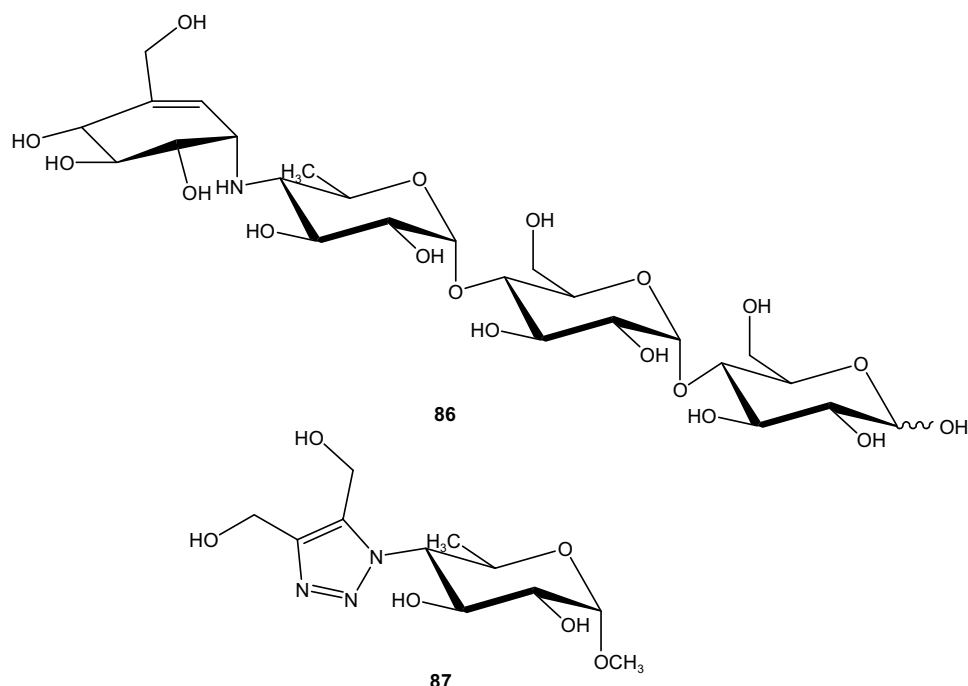
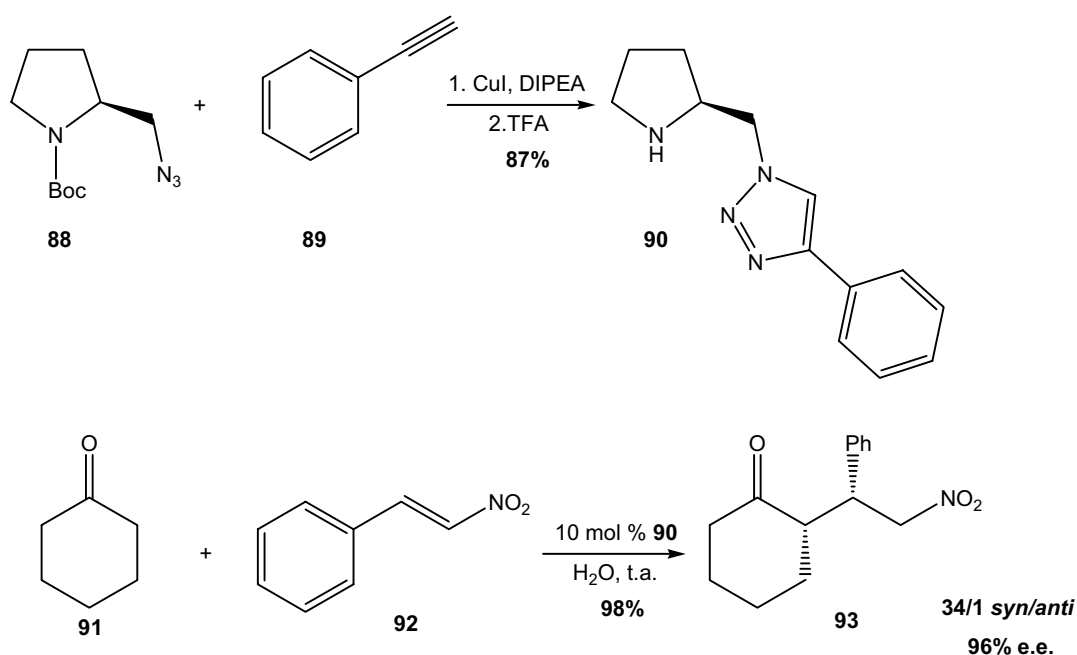


Figura 9: Fármaco acarbose (**86**) e a substância **87**, um carboidrato contendo uma porção triazol

No campo da catálise assimétrica, catalisadores contendo uma porção 1,2,3-triazol foram sintetizados a partir da *N*-Boc-(*S*)-2-azidometilenopirrolidina (**88**). Estes catalisadores se mostraram bastante eficazes na adição de Michael enantiosseletiva entre a cicloexanona (**91**) e o nitroestireno (**92**) para fornecer o aduto **93**. O derivado pirrolidina-triazólico mais eficaz para esta finalidade foi o composto **90**, produto da reação entre a pirrolidina modificada **88** e o fenil-acetileno (**89**) sob catálise de CuI, com posterior hidrólise da porção Boc (esquema 28).⁹⁵



Esquema 28: Aplicação da “click chemistry” no desenvolvimento de novos catalisadores para a adição de Michael assimétrica

Este capítulo abordará a síntese de moléculas glicoconjugadas derivadas de diversos aminoácidos modificados, diferentes oxadiazóis e uracilas modificadas através da cicloadição [3 + 2] mediada por Cu(I).

4.3 – Resultados e Discussão

Para a síntese de glicoconjugados através de “click chemistry”, foram sintetizados açúcares contendo um grupamento azida ou uma porção acetilênica. Estes açúcares já conhecidos foram preparados de acordo com os procedimentos experimentais descritos na literatura de referência (tabela 3).

Tabela 3: Carboidratos utilizados na síntese dos glicoconjugados

Carboidrato	Estrutura	Nomenclatura	Referência
94		4-Azido-6- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi- α -D- <i>eritro</i> -hex-2-enopiranosídeo de etila	71

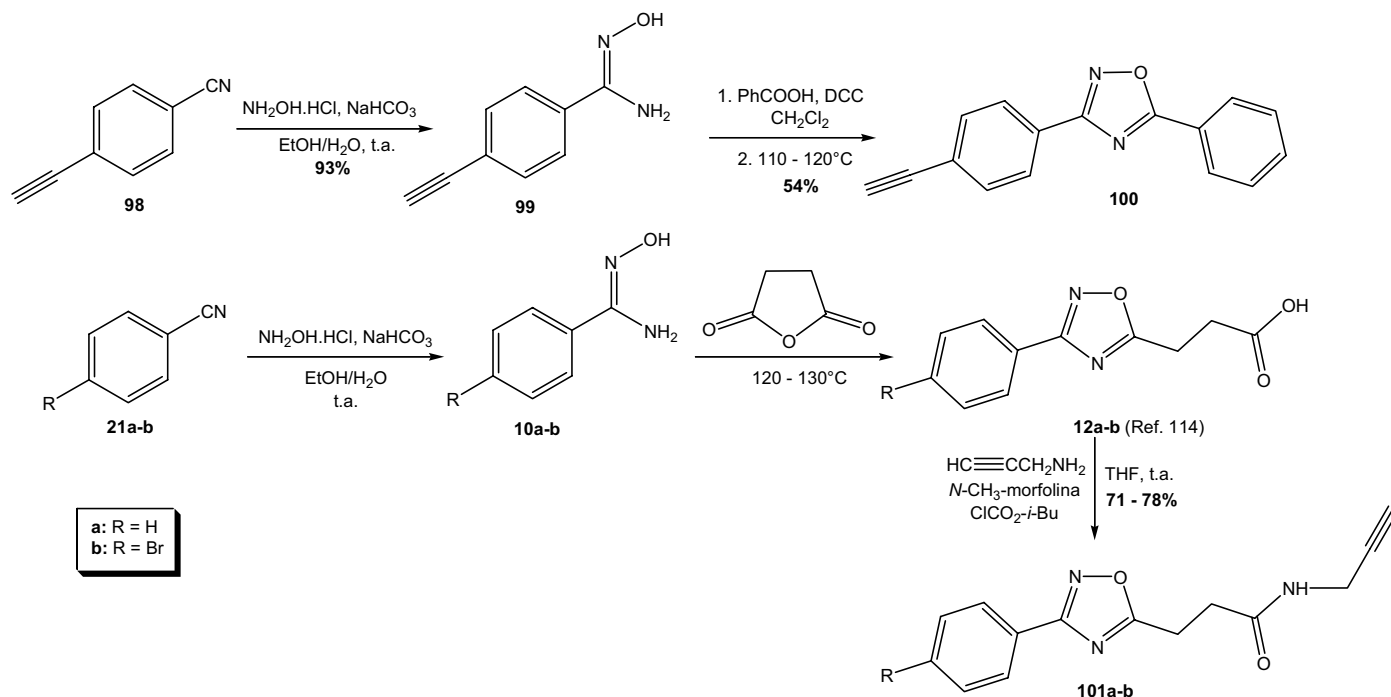
61		2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopiranosil azida	107
62		2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopiranosil azida	108
63		3,4,6-Tri-O-acetyl-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopiranosil azida	107
95		2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopiranosil azida	109
96		2,2',3,3',4',6,6'-Hepta-O-acetyl- β -D-Celobiosil azida	110
97a		4,6-di-O-Acetil-2,3-didesóxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo de propinila	111
97b		4,6-di-O-Acetil-2,3-didesóxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo de 2-metil-but-3-inila	112

Síntese de glicoconjugados com substituição na posição C-4 do carboidrato

Primeiramente foram sintetizados glicoconjugados utilizando-se a azida **94** e diversas moléculas de interesse biológico. Estas moléculas contendo uma função acetileno estão ilustradas nos esquemas 29 a 33. São 1,2,4-oxadiazóis (**100** e **101a-b**), uma uracila modificada (**104**), um análogo de nucleosídeo (**107**) e aminoácidos modificados (**109**, **111** e **114**).

Síntese dos oxadiazóis **100** e **101a-b**

O 3-(4-etinilfenil)-5-fenil-1,2,4-oxadiazol (**100**) foi sintetizado a partir da reação entre a benzaminoxima correspondente (**99**) e o ácido benzóico na presença de DCC, seguida de uma etapa de ciclização térmica, com um rendimento de 54%. A benzaminoxima (**99**) foi preparada a partir do método padrão,¹¹³ em que a 4-etinil-benzonitrila (**98**) reage com o cloridrato de hidroxilamina na presença de bicarbonato de sódio em mistura de etanol/água em temperatura ambiente. Já os oxadiazóis amidas **101a-b** foram sintetizados a partir da reação de amidificação dos ácidos **12a-b**. Esta amidificação foi realizada a partir da ação da propargilamina em presença de isobutilcloroformiato e *N*-metilmorfolina,¹¹⁵ fornecendo as amidas com rendimentos químicos de 78 e 71%, respectivamente para **101a** e **b** (esquema 29).

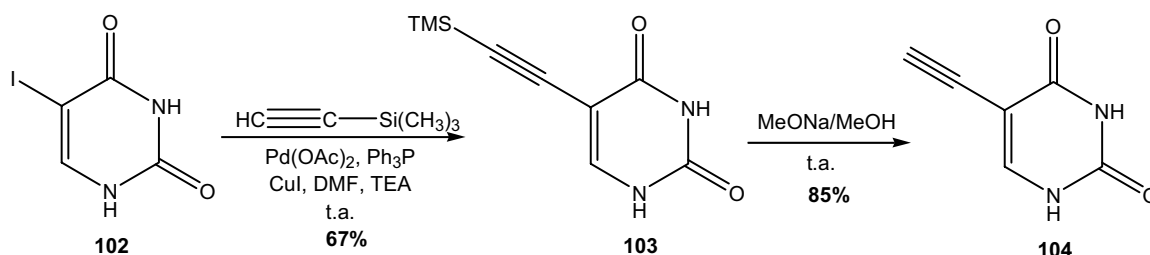


Esquema 29: Preparação dos oxadiazóis contendo uma porção acetilênica **100** e **101a-b**

Síntese dos derivados pirimidinônicos **104** e **107**

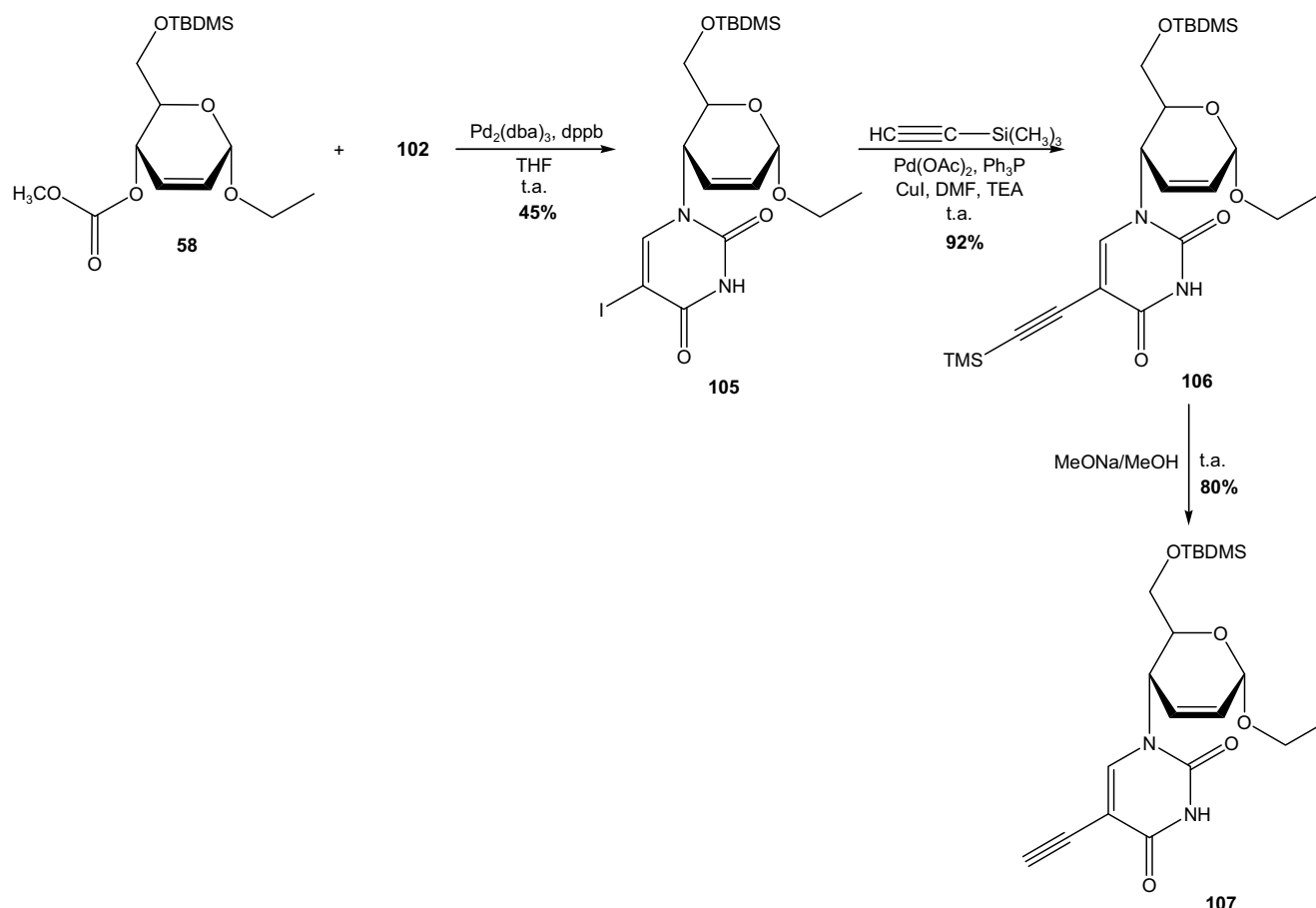
A 5-etinil-uracila (**104**) e seu análogo contendo uma porção carboidrato já estão descritos na literatura e a metodologia sintética adotada está mostrada nos esquemas 30 e 31. A

5-etinil-uracila (**104**) é obtida através da remoção do grupamento silila da -[2-(trimetilsilil)etinil]-uracila (**103**), que por sua vez é obtida através do acoplamento de Sonogashira entre a 5-iodo-uracila (**102**) e o trimetilsililacetileno (esquema 30).¹¹⁶



Esquema 30: Síntese da 5-etinil-uracila (**104**)

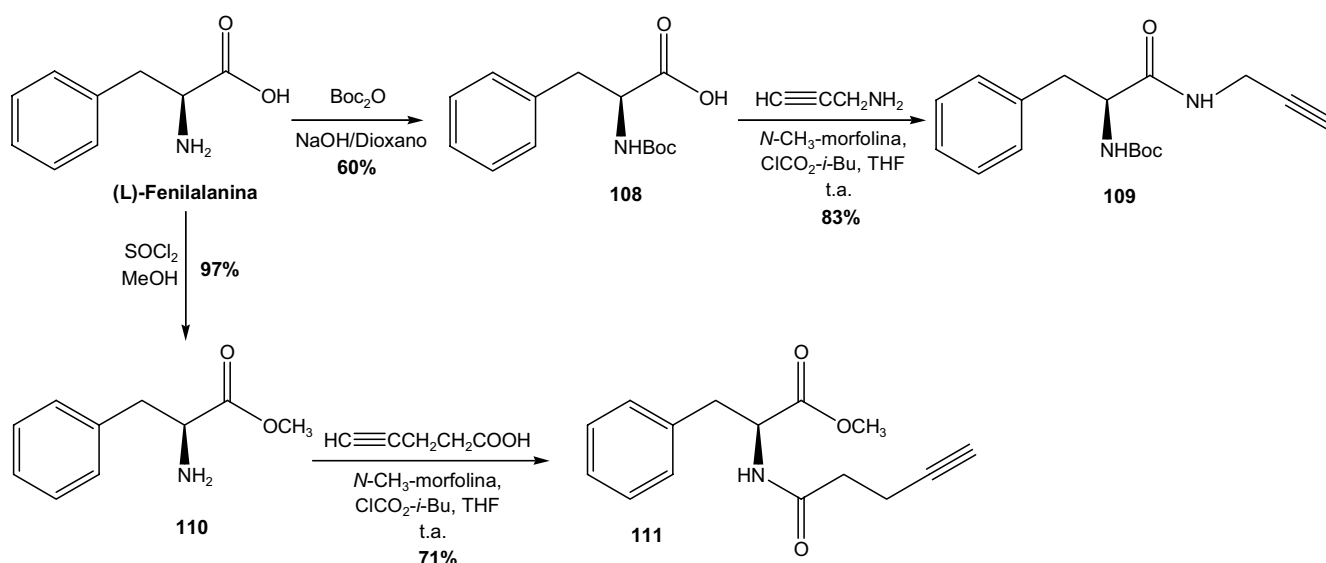
Já o nucleosídeo modificado **107** foi obtido através da reação de alquilação alílica (Tsuji-Trost) entre o carboidrato insaturado **58**⁷¹ e a 5-iodo-uracila (**102**), formando a substância **105**,¹¹⁷ que também foi submetida à reação de alquinilação com o trimetilsililacetileno (acoplamento de Sonogashira), com obtenção de **106**. Este último foi então desprotegido para, finalmente, fornecer **107** (esquema 31).¹¹⁸



Esquema 31: Formação do 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi-4-[2,4-dioxo-5-3,4-diidropirimidin-1(2*H*)-il]-α-*D*-eritro-hex-2-enopiranosídeo de etila (**107**)

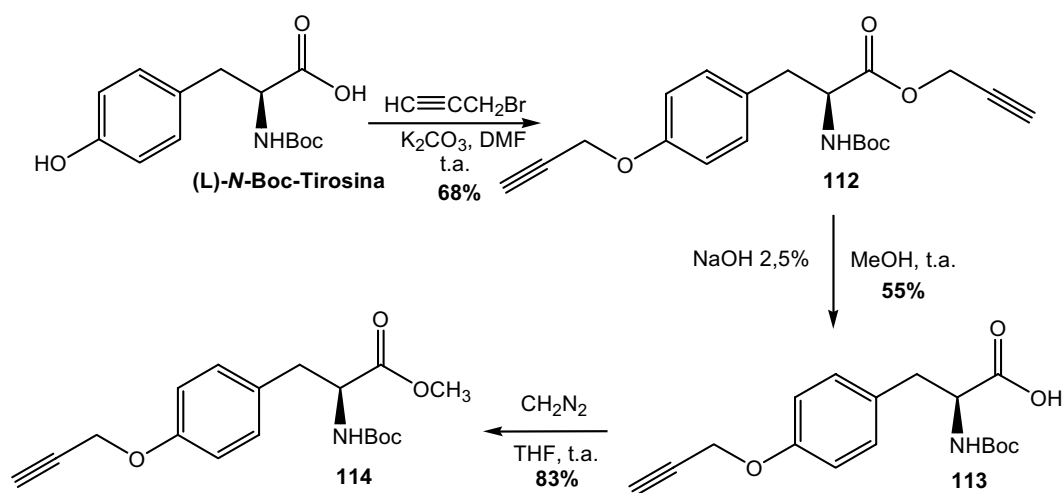
Síntese dos aminoácidos modificados **109**, **111** e **114**

A azida **94**, conforme anteriormente citado, também foi acoplada a aminoácidos com uma porção acetileno. Três aminoácidos foram funcionalizados com a tripla ligação, dois a partir da fenilalanina e um a partir da tirosina. Os aminoácidos derivados da fenilalanina já são descritos na literatura e a síntese está esquematizada abaixo. A *N*-Boc-Phe (**108**) foi submetida à amidificação com a propargilamina para fornecer o aminoácido modificado **109**.¹¹⁵ O éster metílico do mesmo aminoácido (**110**) passou pelo processo de amidificação da função amino com o ácido pentínico, formando o composto **111** (esquema 32).¹¹⁹



Esquema 32: Síntese dos aminoácidos acetilênicos derivados da (L)-Phe (**109** e **111**)

A *N*-Boc-tirosina forneceu dois aminoácidos contendo uma tripla ligação inéditos. O composto de partida foi *O*-alquilado com o brometo de propargila tanto na função ácida quanto na função fenol para fornecer a substância **112**,¹²⁰ que sofreu hidrólise básica da função éster formando **113**, com rendimento de 55%. Este último foi submetido à ação do diazometano para produzir o análogo de aminoácido inédito com uma função acetileno **114** com 83% de rendimento (esquema 33).



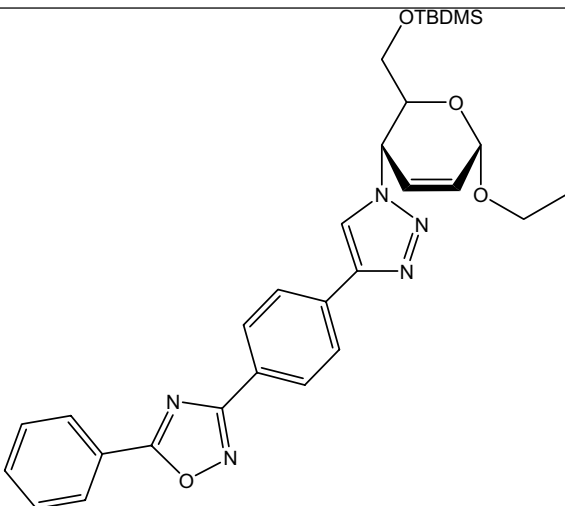
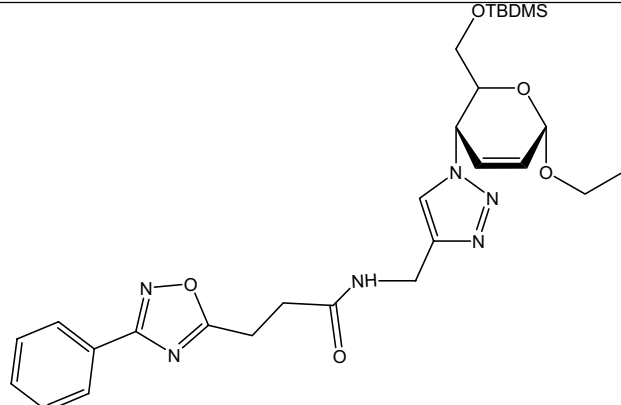
Esquema 33: Síntese da N-Boc-Tyr tendo um substituinte propinilóxi em C-4 da fenila (**114**)

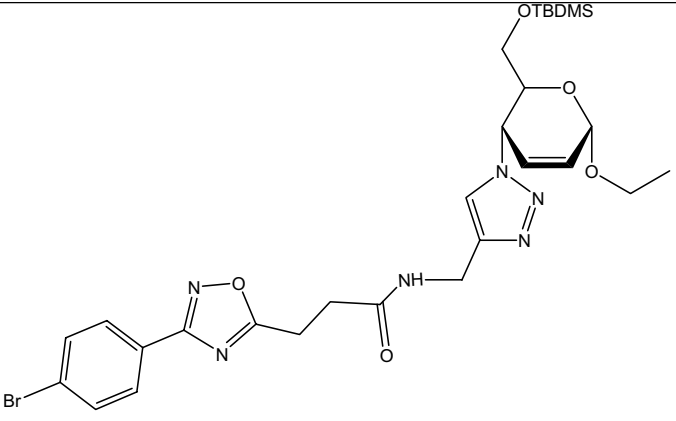
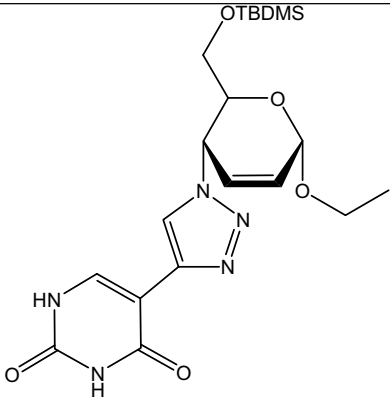
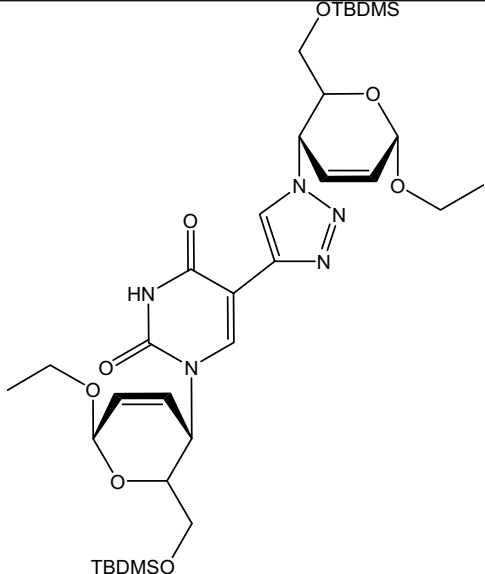
Síntese dos glicoconjugados **115a-h**, **116a-c,f-h**

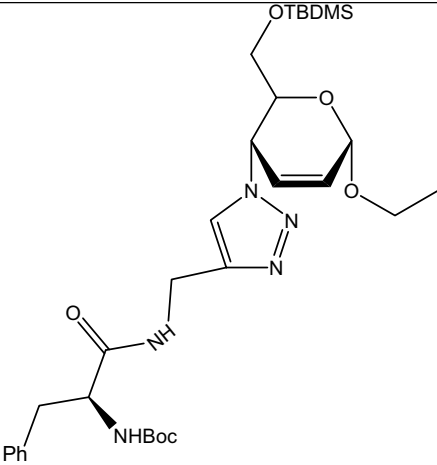
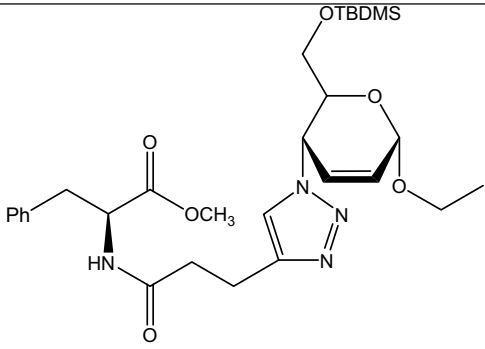
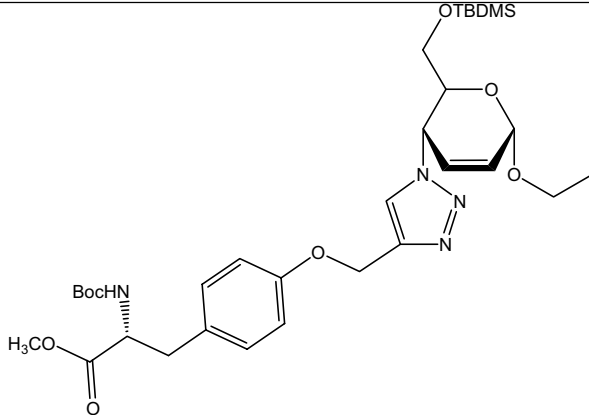
As moléculas supracitadas contendo uma tripla ligação foram acopladas ao azido-açúcar **94** através de catálise mediada por $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ /ascorbato de sódio e utilizando como solventes *ter*-butanol/água. Estas reações estão resumidas na tabela 4.

A reação mostrou ser de ampla aplicação, já que funcionou muito bem para todas as moléculas testadas com rendimentos acima de 60%, exceto para **115d**, em que o rendimento foi de 37%, devido provavelmente à baixa solubilidade da 5-etinil-uracila nos solventes utilizados, já que grande parte do produto de partida permaneceu intacto mesmo após 24 horas de reação. Fica provada mais uma vez a resistência de heterociclos do tipo oxadiazol e pirimidinona, de aminoácidos e de seus centros assimétricos e de grupos protetores como Boc e TBDMS a este tipo de condição reacional.^{86,121}

Tabela 4: Triazóis sintetizados a partir do azido-açúcar **94**

Acetileno de partida	Produto	Estrutura	Rendimento (%)
100	115a		80
101a	115b		79

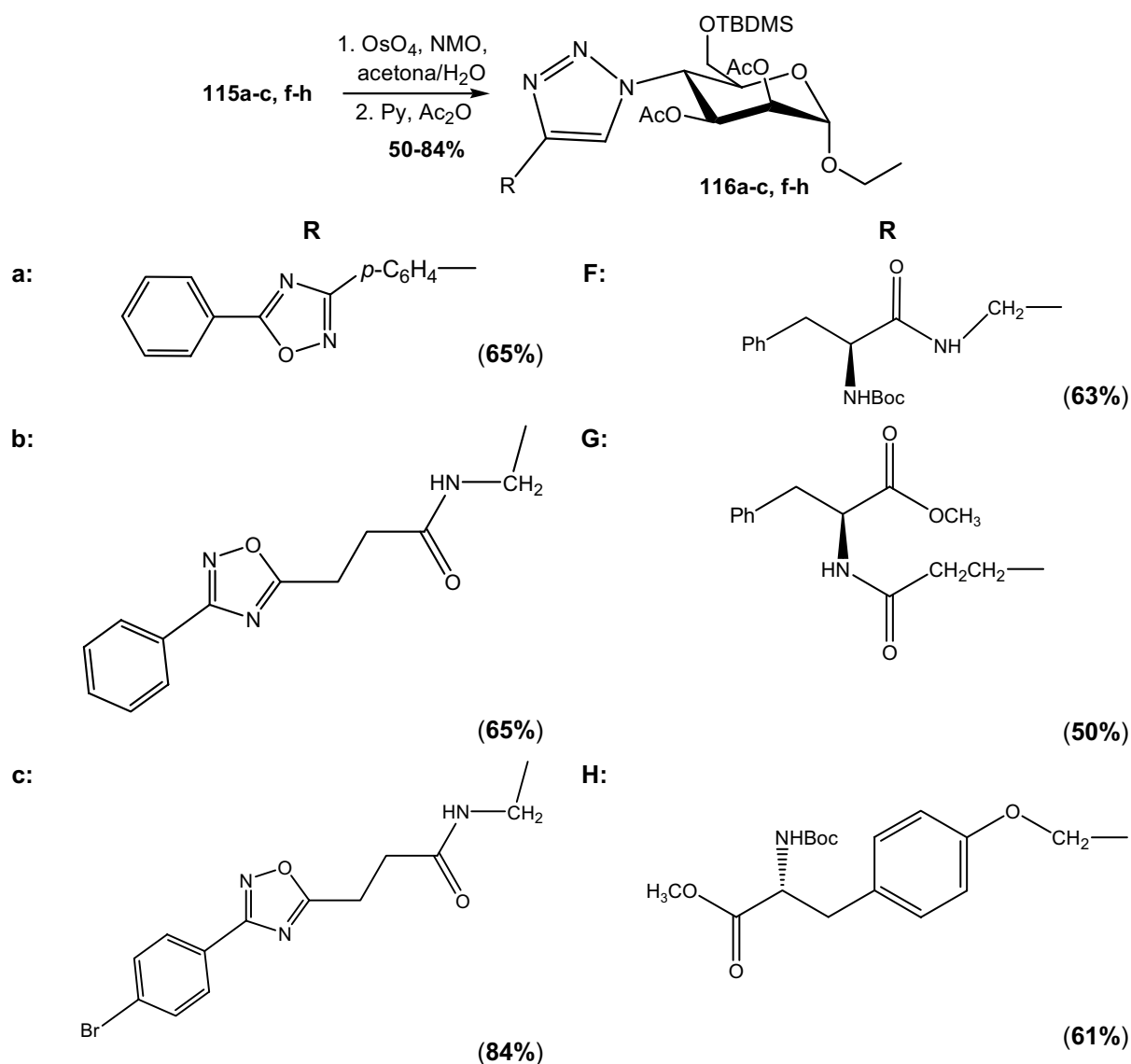
101b	115c		77
104	115d		37
107	115e		75

109	115f		73
111	115g		70
114	115h		61

Foi observado que a reação foi regioseletiva, ou seja, houve formação exclusiva de 1,4-regioisômeros. Isto pôde ser verificado através de ressonância magnética nuclear de hidrogênio em que foi observado um único simpleto para o hidrogênio triazólico para todas as substâncias (**115a-h**). Caso houvesse a formação de outro isômero (1,5-substituído), um segundo simpleto seria observado na RMN de ^1H . Uma prova de que esta reação é regioseletiva será dada mais adiante através de espectroscopia de NOE diferencial. Ainda, como já esperado, a configuração do tipo *eritro* do azido-açúcar de partida se manteve ($^3J_{3,4} = 9,6$ Hz para **115a**), bem como a relação do tipo *pseudo trans*-diaxial entre os hidrogênios H-4

e H-5 do carboidrato, dadas as constantes de acoplamento entre estes dois hidrogênios ($^3J_{4,5} = 9,6$ Hz para **115a**).

Os compostos **115a-c,f-h** foram submetidos à reação de bis-hidroxilação da dupla ligação presente nos carbonos C-2 e C-3 do carboidrato. A reação se processa na presença de tetróxido de ósmio e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido. Para facilitar a caracterização destes produtos bis-hidroxilados, os produtos obtidos nessa etapa foram diretamente acetilados, formando os manopiranosídeos **116a-c,f-h** (esquema 34).

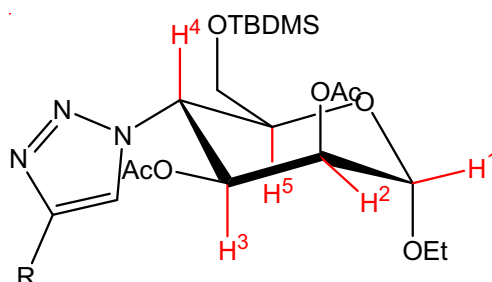


Esquema 34: Formação dos manopiranosídeos **116a-c, f-h**

Os produtos foram bis-hidroxilados em *cis*, formando manopiranosídeos, de acordo com outros resultados relatados na literatura.^{76,77} Isto pode ser facilmente observado ao

analisar os espectros de RMN de ^1H , em que se verifica que as constantes de acoplamento vicinal H-2 e H-3 mostram que existe uma relação axial-equatorial entre estes dois hidrogênios. Já entre H-1 e H-2, a relação é equatorial-equatorial, enquanto que entre H-3 e H-4 e entre H-4 e H-5, a relação é *trans*-diaxial, conferindo a denominação *mano*¹²² para estes produtos (tabela 5).

Tabela 7: Constantes de acoplamento 3J para os hidrogênios da unidade de carboidrato dos manopiranosídeos **116a-c, f-h**



Substância	$J_{1e,2e}$	$J_{2e,3a}$	$J_{3a,4a}$	$J_{4a,5a}$
116a	1,7 Hz	3,4 Hz	11,3 Hz	10,7 Hz
116b	1,8 Hz	3,2 Hz	10,9 Hz	10,6 Hz
116c	^a	3,2 Hz	11,1 Hz	10,2 Hz
116f	1,7 Hz	3,2 Hz	10,7 Hz	10,7 Hz
116g	1,7 Hz	3,4 Hz	11,1 Hz	10,3 Hz
116h	2,1 Hz	3,3 Hz	10,9 Hz	10,0 Hz

^a: não pôde ser observado na RMN de ^1H

Os valores presentes na tabela 5 para a substância **116a** podem ser comprovados através do espectro de RMN de ^1H mostrado a seguir (figuras 10 e 11).

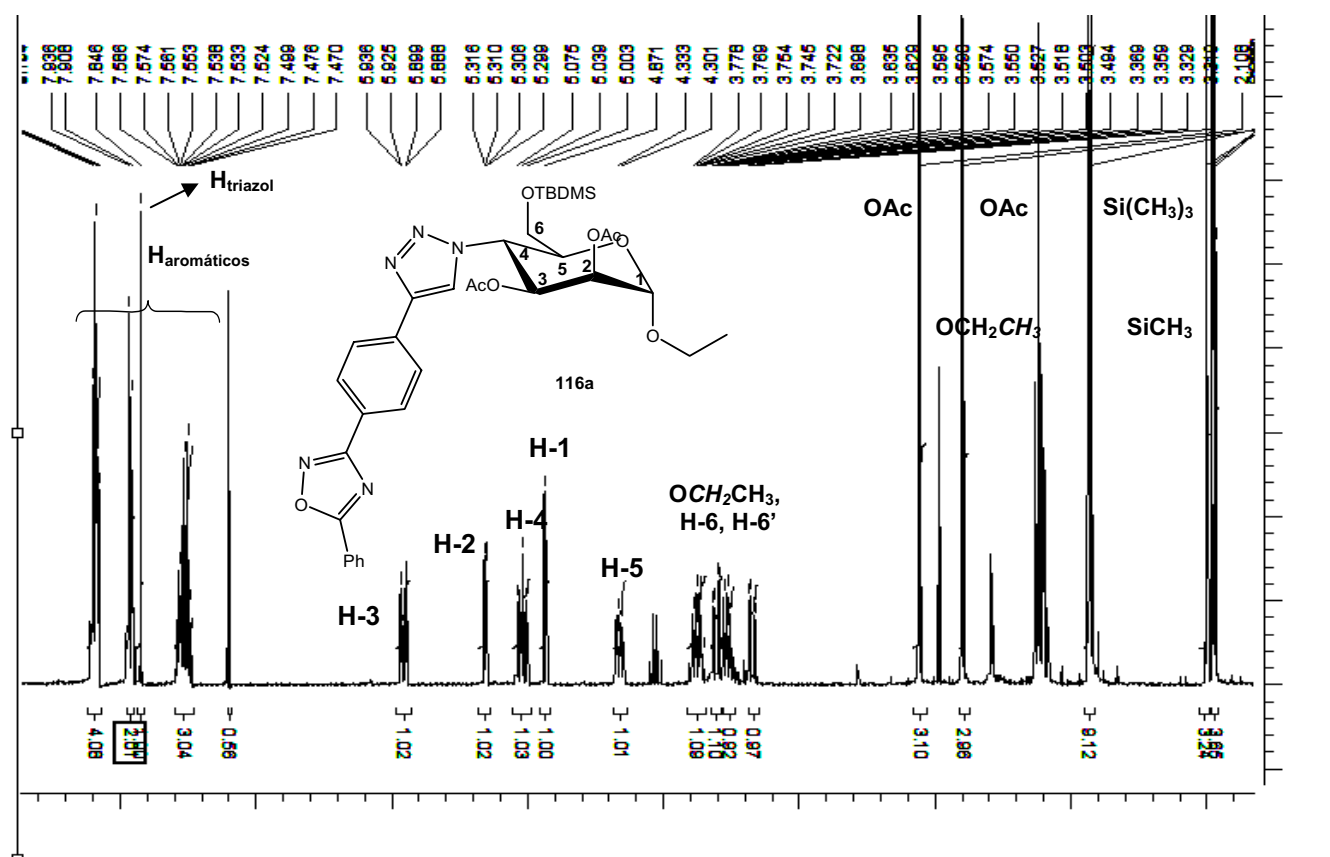


Figura 10: Espectro de RMN de ^1H do 2,3-di-*O*-acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-{4-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}- α -D-manopiranosídeo de etila (116a), a 300 MHz, em CDCl_3

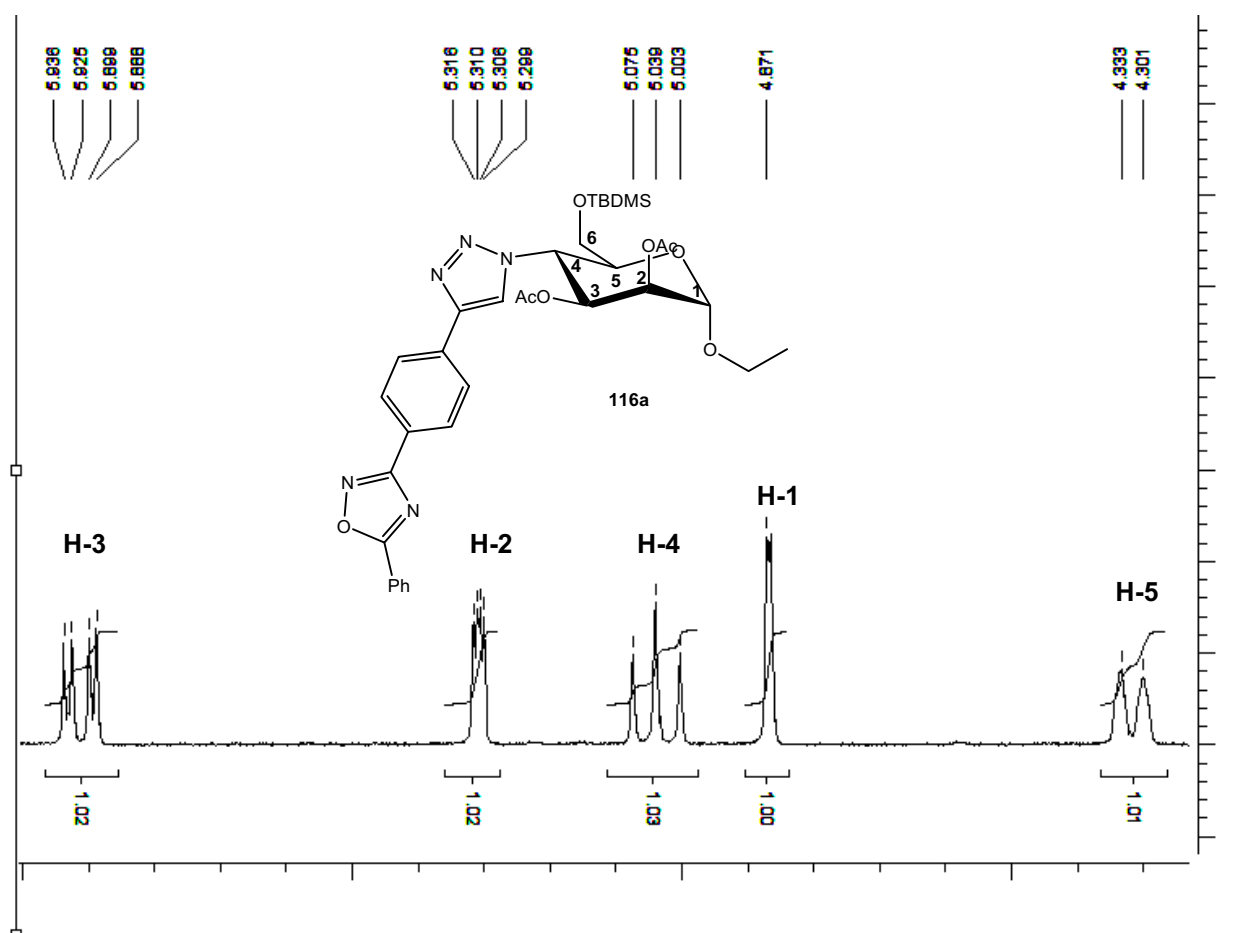


Figura 11: Ampliação da área do espectro (de δ 4,0 a 6,0 ppm) do 2,3-di-*O*-acetil-6-*O*-(*tert*-butildimetilsilil)-4-{4-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}- α -D-manopiranosídeo de etila (**116a**), a 300 MHz, em CDCl₃.

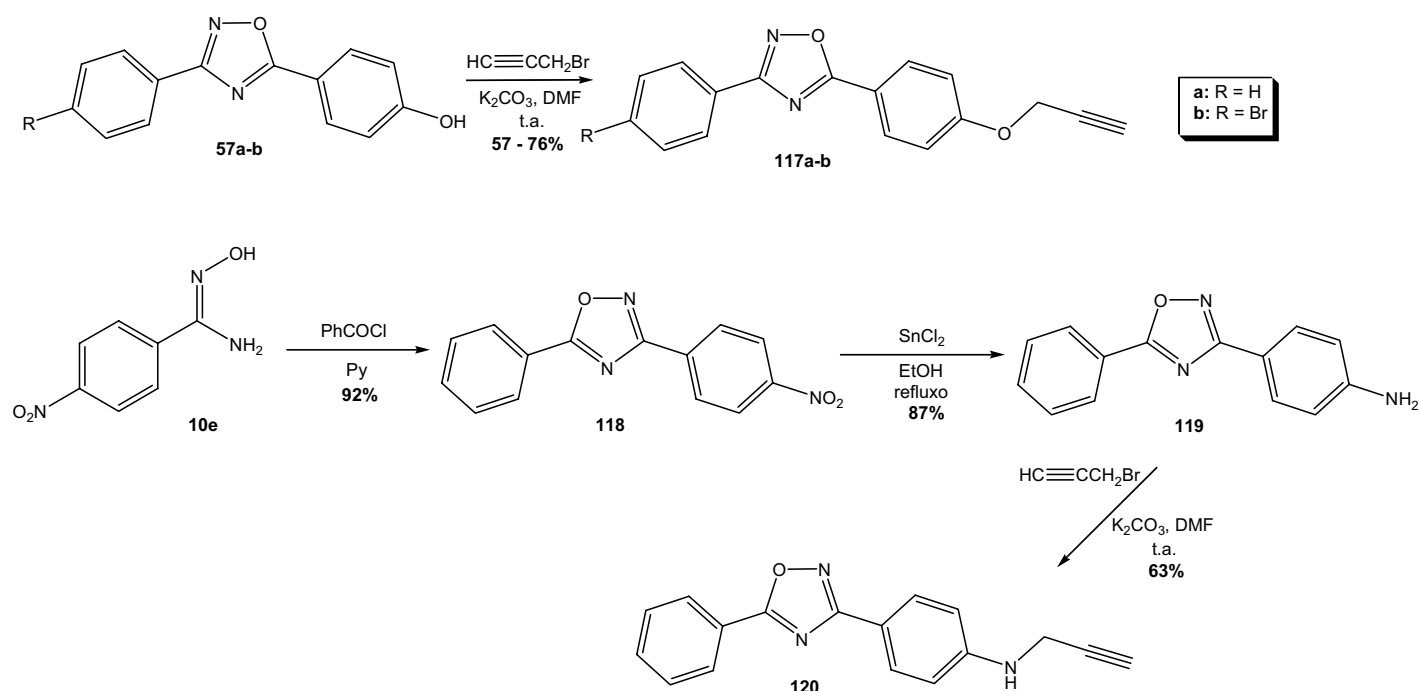
Síntese de glicoconjugados com o anel triazol-1-il ligado ao C-1 de carboidratos saturados

Para esta finalidade, foram utilizadas as azidas **61**, **62**, **63**, **95** e **96** e oxadiazóis e aminoácidos contendo a tripla ligação necessária para efetuar a reação de cicloadição visando a formação dos glicoconjugados.

Com o objetivo de verificar a versatilidade deste tipo de reação, em um primeiro momento foram sintetizados glicoconjugados fazendo-se uso do azido-carboidrato **61**. Além dos oxadiazóis **100** e **101a-b** e dos aminoácidos **109**, **111** e **114**, outros oxadiazóis (**117a-b**, **120**, **121** e **122a-g**) foram sintetizados para fornecer adutos de interesse biológico que foram testados contra microorganismos. A avaliação da atividade biológica destes glicoconjugados será tratada com detalhes no próximo capítulo.

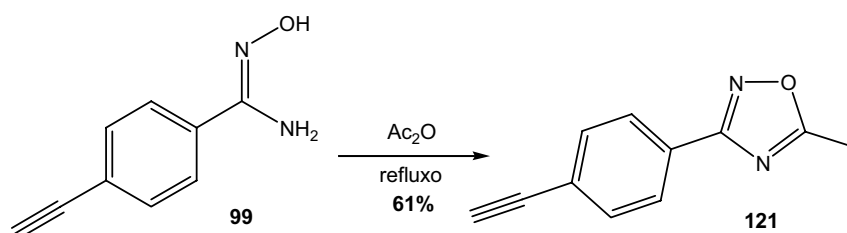
Síntese dos oxadiazóis 117a-b, 120, 121, 122a-g

No esquema 35, é visualizada a síntese de oxadiazóis derivados dos oxadiazóis fenóis **57a-b** (vide capítulo 3), em que estes últimos reagem com o brometo de propargila para formar os produtos **117a-b** com 57 e 76% de rendimento, respectivamente. O análogo amina secundária **120** foi sintetizado de maneira análoga, partindo-se do oxadiazol **119**, que por sua vez provem do composto nitro **118**, através da redução pelo cloreto estanoso.¹²³



Esquema 35: Síntese dos 3,5-diaril 1,2,4-oxadiazóis com uma função acetileno **117a-b** e **120**

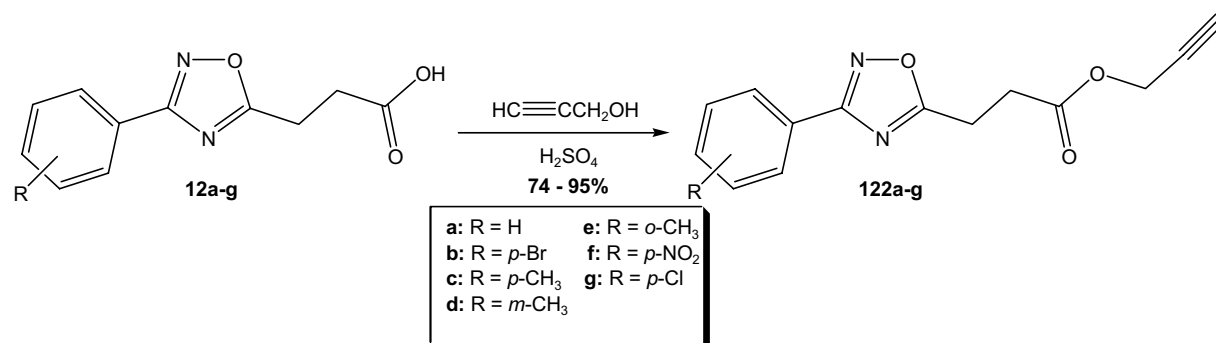
Já o composto **121**, o 3-(4-etinilfenil)-5-metil-1,2,4-oxadiazol, foi sintetizado a partir da 4-etinil-benzamidoxima (**99**) e do anidrido acético, com 61% de rendimento (esquema 36).



Esquema 36: Síntese do 3-aril 5-metil 1,2,4-oxadiazol com uma tripla ligação **121**

1,2,4-Oxadiazóis com um grupo carboxílico (**12a-g**) já foram sintetizados anteriormente.¹¹⁴ A reação destes ácidos com o álcool propargílico na presença de ácido

sulfúrico como catalisador forneceu os ésteres inéditos **122a-g**, com rendimentos variando entre 74 e 95% (esquema 37).



Esquema 37: Síntese dos oxadiazóis com uma porção éster propargílico na cadeia lateral do C-5 (**122a-g**)

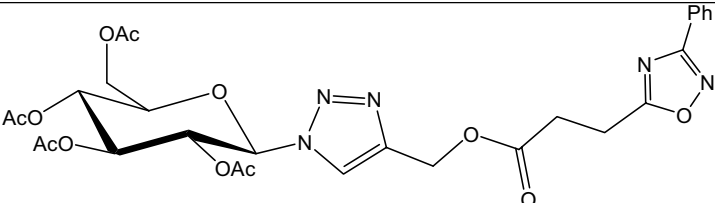
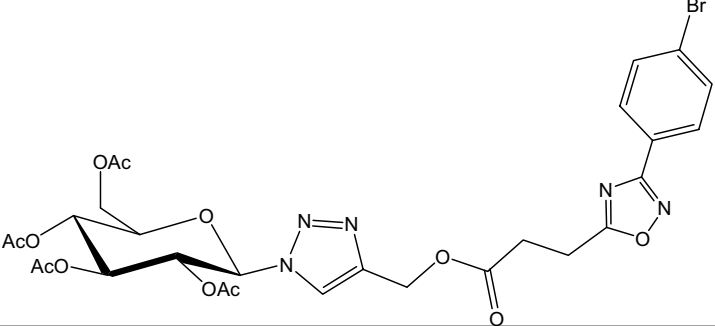
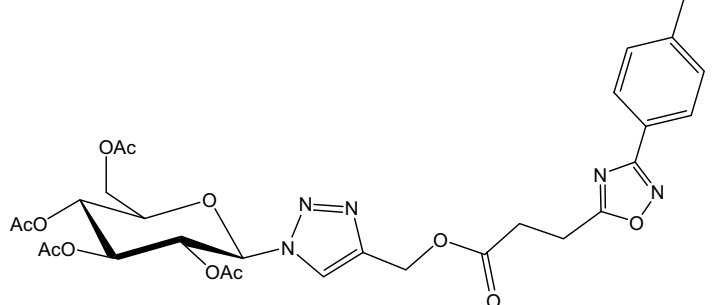
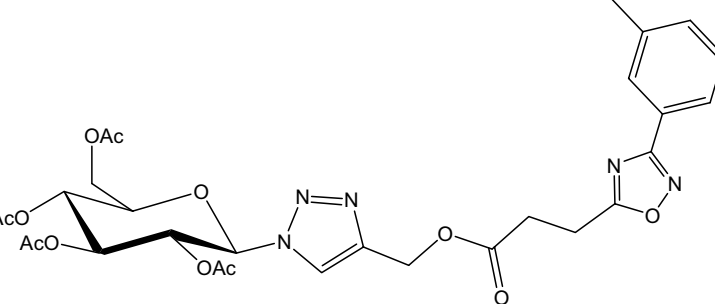
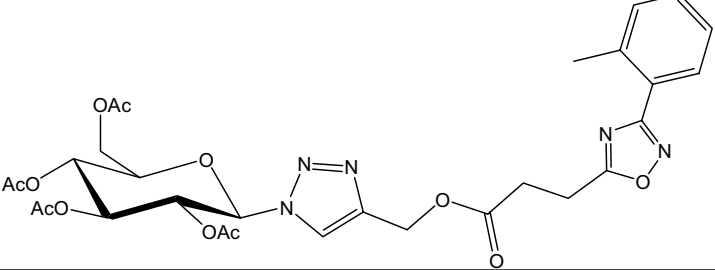
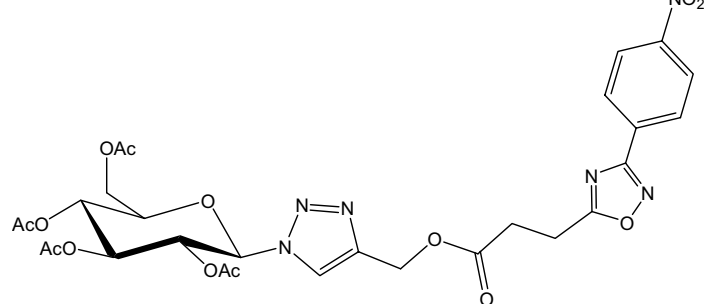
Síntese dos compostos glicoconjugados **123a-q**, **124**, **125a-d**, **126**

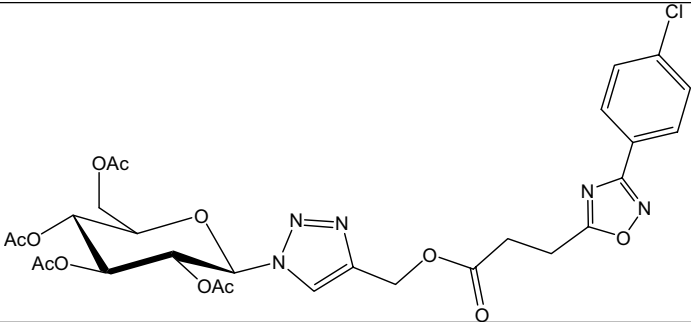
De posse dos diversos alcinos supracitados, a próxima etapa consiste no acoplamento destes com a azida **61** na presença do sistema catalítico Cu(II)/ascorbato de sódio porém, com outro sistema de solvente, um sistema bifásico de diclorometano/água. Este sistema já foi testado por Lee e colaboradores,¹²⁴ diminuindo a quantidade dos catalisadores para 5 mol % de cobre e 15 mol % de ascorbato, mas com aumento dos rendimentos. Este último sistema foi o adotado para a síntese dos próximos triazóis descritos neste trabalho (Tabela 6).

Tabela 6: Síntese dos glicoconjugados **123a-q**

Acetileno de partida	Produto	Estrutura	Rendimento (%)
100	123a		61

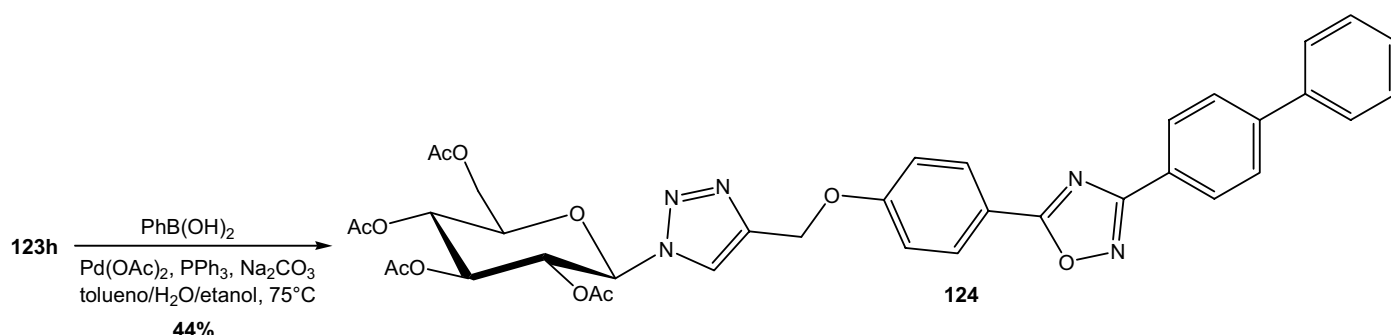
101a	123b		85
101b	123c		43
109	123d		65
111	123e		84
114	123f		73
117a	123g		80
117b	123h		60
120	123i		67
121	123j		80

122a	123k		83
122b	123l		73
122c	123m		84
122d	123n		74
122e	123o		77
122f	123p		69

122g	123q		66
------	------	--	----

Os glicoconjugados **123a-q** foram obtidos com rendimentos acima de 40% e de maneira regiosseletiva. Diferentemente da azida **94**, o azido-açúcar **61** possui a função azida no carbono anomérico, em posição beta. Observa-se que a estereoquímica da porção piranosídica permaneceu inalterada, conforme observado nos espectros de RMN de ^1H (vide parte experimental e anexos 12 e 13).

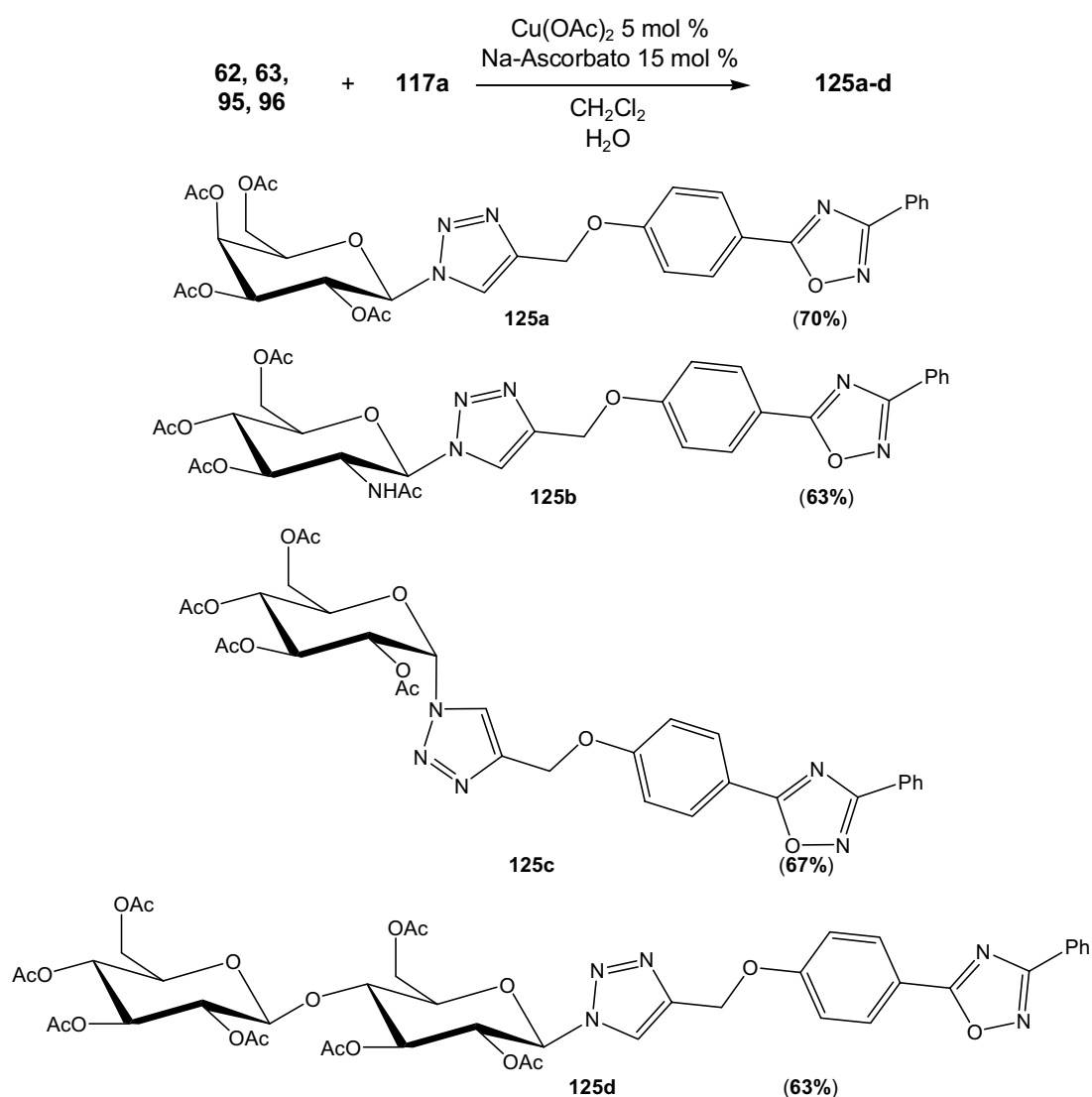
Para testar a reatividade do glicoconjugado **123h**, o mesmo foi submetido ao acoplamento de Suzuki com o ácido fenil-borônico, sob catálise de Pd(0) e em meio de água/etanol/tolueno, fornecendo o derivado bifenila **124**, com 44% de rendimento (esquema 38).



Esquema 38: Acoplamento de Suzuki entre o derivado halogenado **123h** e o ácido fenilborônico para fornecer o glicoconjugado **124**

Com a finalidade de avaliar a versatilidade desta reação com outras azidas, outros azido-açúcares foram sintetizados de acordo com procedimentos descritos na literatura. Estes açúcares estão apresentados na tabela 3 (compostos **62**, **63**, **95** e **96**) e incluem um dissacarídeo derivado da celobiose (**96**). As azidas foram acopladas ao oxadiazol **117a** sob as mesmas

condições reacionais anteriormente descritas e as estruturas dos novos glicoconjugados obtidos (**125a-d**) estão relacionadas no esquema 39.



Esquema 39: Síntese dos novos triazóis **125a-d**

Ficou constatado que mudanças na parte carboidrato do glicoconjugado não interferem significativamente no rendimento deste tipo de reação e, analogamente aos compostos derivados da azida **61**, não houve alteração na estereoquímica da porção açúcar dos glicoconjugados **125a-d**, conforme pôde ser observado nos espectros de RMN de ^1H (tabela 7). Na tabela abaixo, também são ilustradas as constantes de acoplamento para o triazol **123g** para fins de comparação.

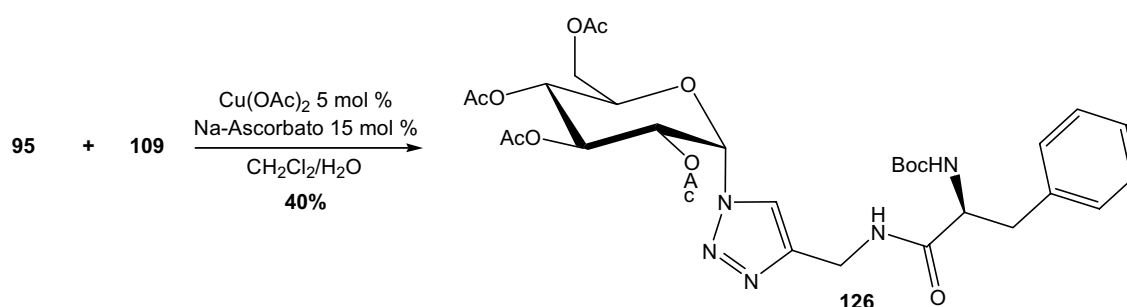
Tabela 7: Constantes de acoplamento $^3J_{1,2}$, $^3J_{3,4}$ e $^3J_{4,5}$ para as substâncias **123g** e **125a-d**

Produto	$^3J_{1,2}$	$^3J_{3,4}$	$^3J_{4,5}$
123g	9,1Hz	9,6Hz	9,8Hz
125a	9,2Hz	3,2Hz	2,8Hz
125b	10,0Hz	9,8Hz	10,0Hz
125c	6,0Hz	9,4Hz	10,0Hz
125d	8,8Hz ^a	^b	^b

^a: anel ligado ao triazol^b: não pôde ser calculado na RMN de ^1H devido à sobreposição dos sinais

Para as substâncias **123g**, **125b** e **125d**, observa-se que as relações entre os hidrogênios H-1 e H-2, H-3 e H-4, H-4 e H-5 são de ordem axial-axial. A substância **125a**, com a parte carboidrato derivada da β -galactose, possui a mesma interação axial-axial entre H-1 e H-2 que os demais compostos, porém as interações H-3 e H-4, H-4 e H-5 são do tipo equatorial-axial, comprovadas através dos baixos valores das constantes de acoplamento destes prótons. Finalmente para **125c**, em que a substituição está na posição *alfa* em relação ao carbono anomérico, observa-se a relação equatorial-axial entre H-1 e H-2, com constante de acoplamento $^3J = 6,0$ Hz entre esses dois hidrogênios.

Em seguida, o azido-açúcar **95** foi igualmente acoplado ao aminoácido **109**, na presença do mesmo sistema catalítico com formação de Cu(I) *in situ*, formando o glicopeptídeo **126** com uma porção triazol em *alfa* ao carbono anomérico, com rendimento de 40% e com 1,4-regiosseletividade (esquema 40).

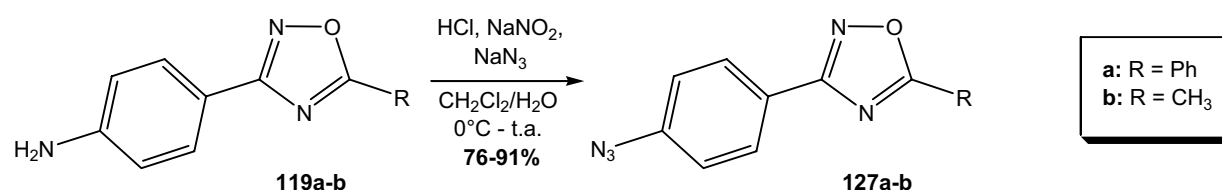
**Esquema 40:** Síntese do glicotriazol contendo uma unidade peptídica na cadeia ligada em C-1 (**126**)

Síntese de *O*-glicosídeos insaturados e contendo dois anéis heterocíclicos na parte aglicônica e posterior funcionalização da parte carboidrato

Visando avaliar a reatividade de açúcares acetilênicos na reação de cicloadição 1,3-dipolar mediada por cobre e obter glicoconjugados de interesse biológico, foram utilizados 1,2,4-oxadiazóis contendo uma função azida e açúcares acetilênicos derivados do tri-*O*-acetil-D-glucal.

Síntese dos azido-oxadiazóis 127a-b

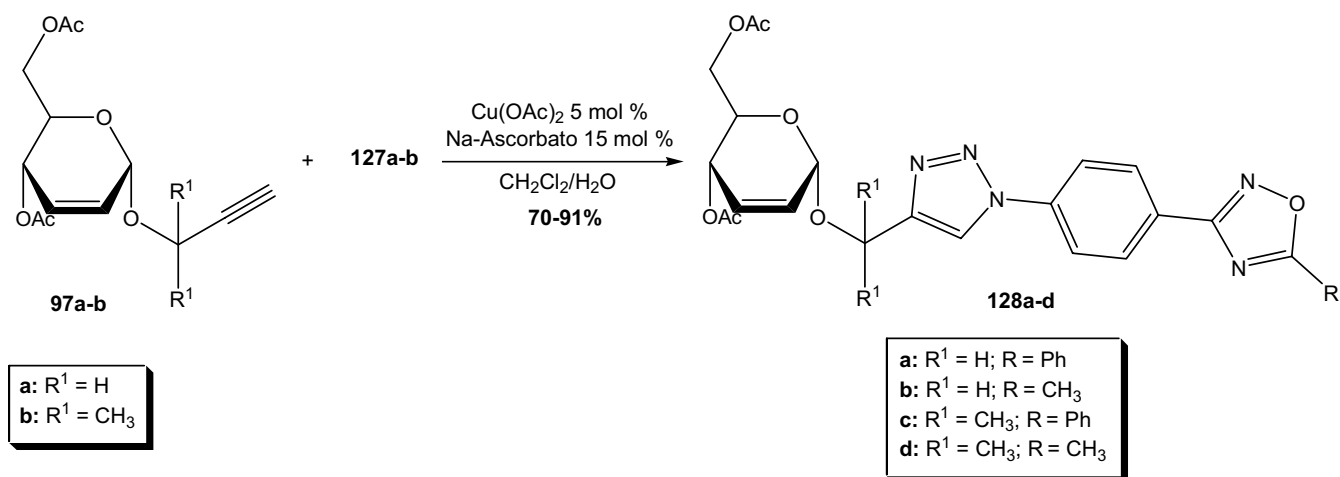
Os azido-oxadiazóis utilizados nesta parte do trabalho estão relacionados no esquema abaixo. As azidas **127a-b** foram sintetizadas a partir dos correspondentes aminados **119a-b** (vide esquema 35) sob ação do ácido nitroso formado *in situ* e da azida de sódio em meio bifásico de diclorometano e água.¹²⁵ Os oxadiazóis **127a** e **b** foram obtidos com rendimentos de 91 e 76%, respectivamente (esquema 41).



Esquema 41: Síntese dos azido-oxadiazóis 127a-b

Síntese dos glicoconjugados 128a-d, 129a-b, 131a-b, 131a-b, 132 e 133

Os açúcares **97a-b** foram então submetidos à reação de cicloadição [3 + 2] com os derivados oxadiazólicos **127a** e **b**, para formar **128a-d** com 1,4-regiosseletividade, conforme o esquema 42.

Esquema 42: Síntese dos triazóis **128a-d**

Glicoconjugados já foram sintetizados através de cicloadição 1,3-dipolar usando-se o açúcar **97a** como composto de partida.¹²¹ Entretanto, é a primeira vez que 1,2,4-oxadiazóis são introduzidos na posição anomérica através de “click chemistry”. De maneira análoga aos triazóis inseridos na posição C-4 do enopiranosídeo, observa-se a manutenção da configuração do tipo *eritro* e a relação *pseudo trans*-diaxial entre os hidrogênios H-4 e H-5 do carboidrato. Na figura 12, é mostrado o espectro de RMN de ^1H para a substância **128a**, para comprovação das informações aqui explicitadas.

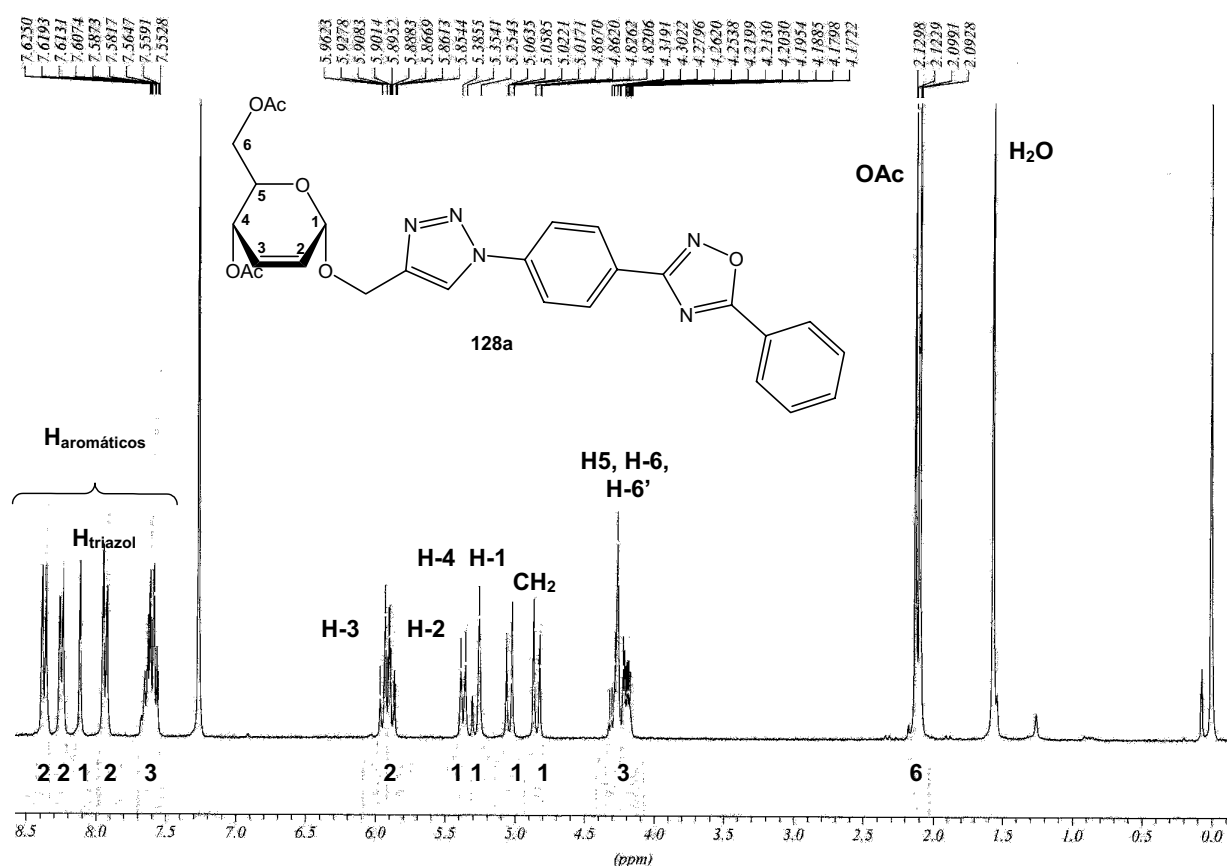


Figura 12: Espectro de RMN de ^1H para a substância 1-{[4-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128a**), a 300 MHz, em CDCl_3

Para todas as substâncias sintetizadas neste trabalho, foi constatada a formação de um único regioisômero na RMN de ^1H , com exceção para a substância **128d**. Para esta substância, observa-se um simpleto de menor intensidade (δ 8,06 ppm) vizinho ao simpleto referente ao próton triazólico (δ 8,03 ppm). Esse sinal de menor intensidade poderia ser atribuído ao outro isômero, ou seja, o composto 1,5-substituído. O simpleto de menor intensidade tem integração de 0,11, enquanto que o simpleto de maior intensidade tem integração para 0,89, o que seria correspondente à proporção de isômeros formados na reação de cicloadição para a formação de **128d**. Para comprovar que esta reação foi regioseletiva para a maioria das substâncias sintetizadas, foi realizado espectroscopia de NOE (efeito nuclear Overhauser) da substância **128d**, em que somente o composto substituído no C-4 do anel triazólico apresentaria vizinhança espacial entre o hidrogênio H-5' do anel triazol e os H-3'' e H-5'' do anel aromático vizinho (figura 13).

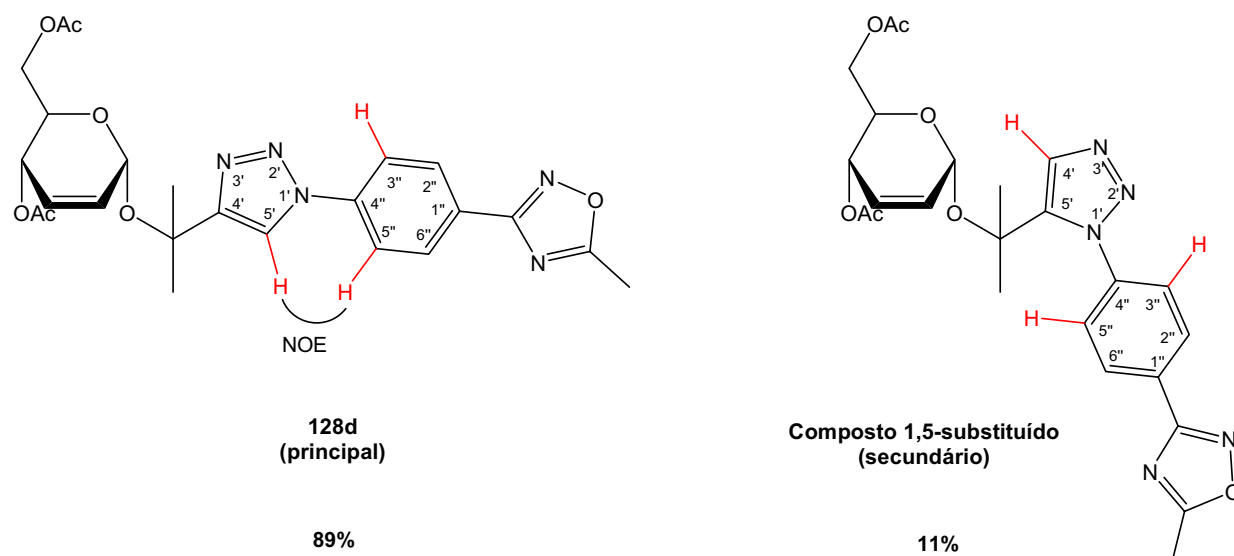


Figura 13: Vizinhança espacial entre os hidrogênios do anel triazólico e os hidrogênios do anel aromático H-3'' e H-5''

Os espectros de RMN de ^1H e NOE diferencial do composto **128d** são mostrados na figura 14. No espectro de NOE pode-se observar um incremento do sinal referente aos hidrogênios aromáticos H-3'' e H-5'' (aumento de 9,5%) quando da irradiação do hidrogênio triazólico, indicando que o regioisômero de maior proporção foi o isômero 1,4-substituído. Isto prova a regioseletividade da reação de cicloadição 1,3-dipolar mediada por cobre, o que já era esperado, levando em consideração os aspectos mecanísticos já explanados anteriormente (vide esquema 24). Até o presente momento, não se tem uma explicação plausível para a formação, ainda que em pequena proporção, do regioisômero 1,5-substituído neste único caso (**128d**).

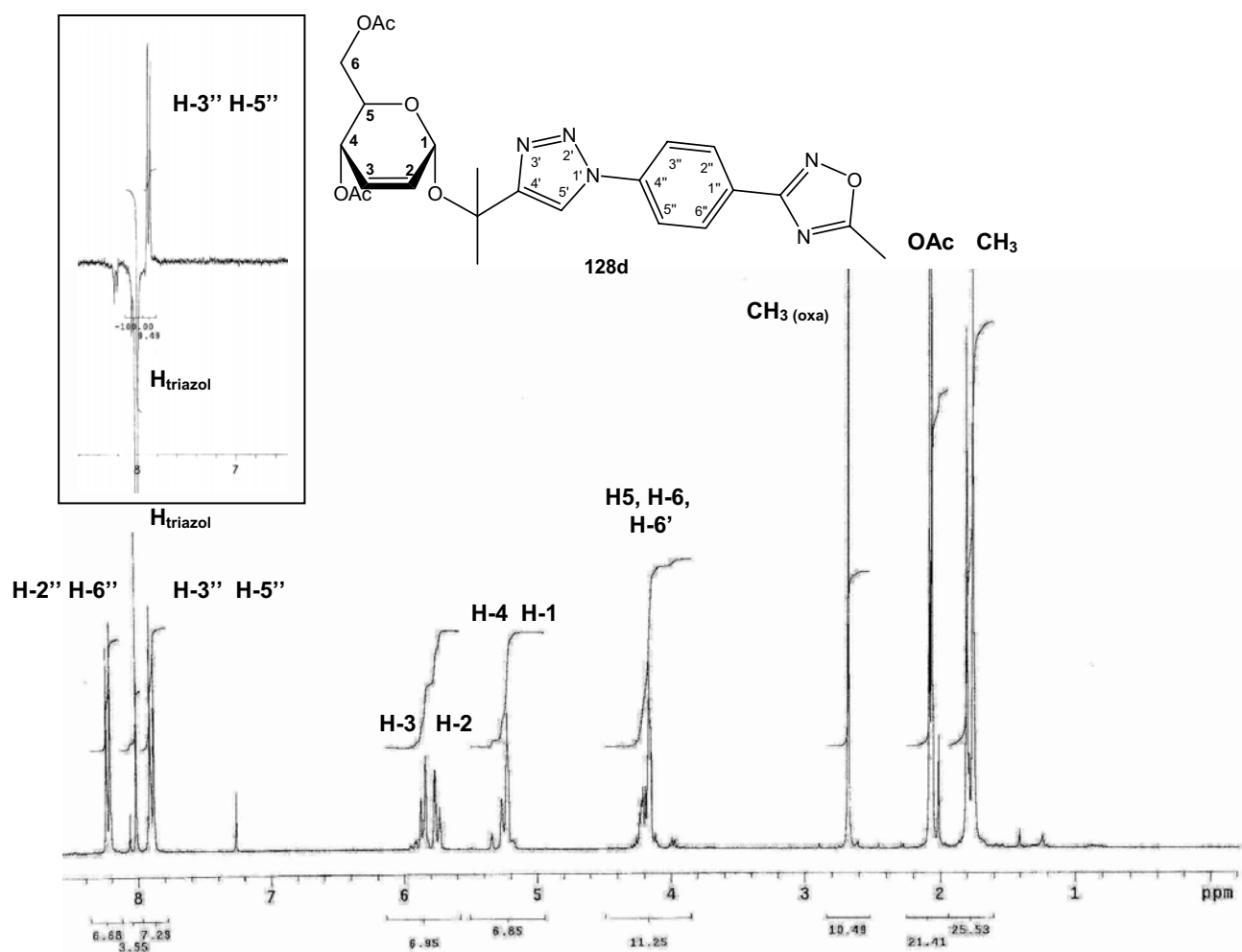
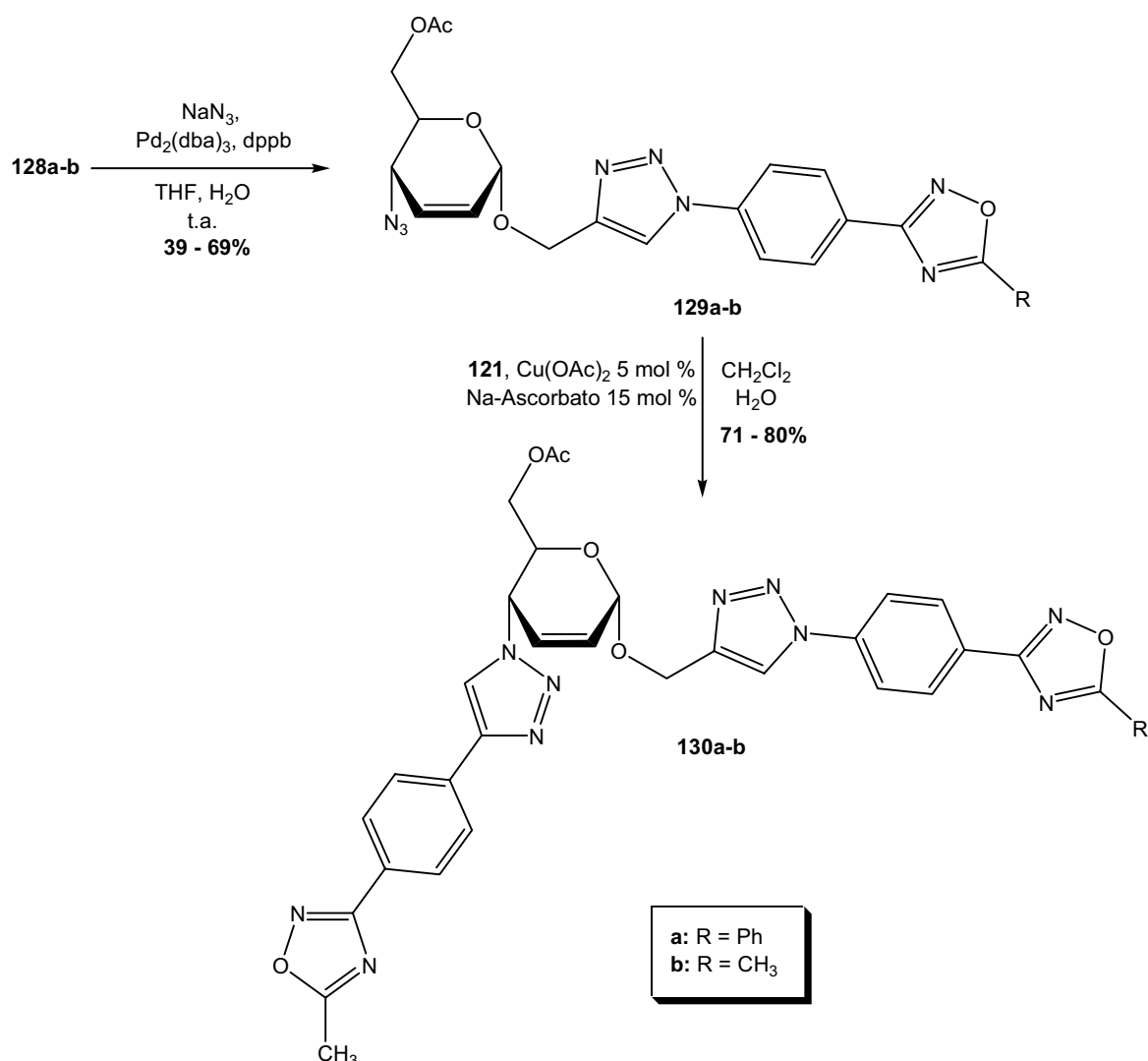


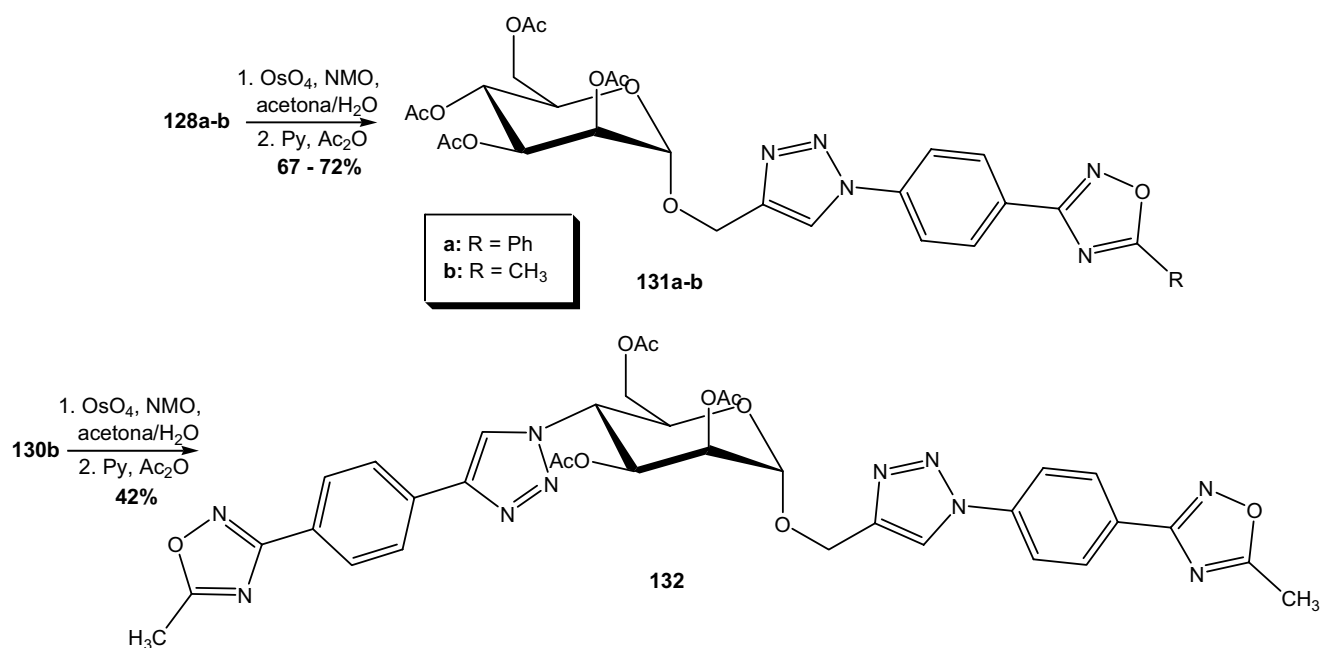
Figura 14: Espectros de RMN de ¹H e NOE diferencial (em detalhe) para a substância 1-{[4-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il} 2-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128d**), a 300 MHz, em CDCl₃

As substâncias **128a-b** foram então submetidas às reações de funcionalização da parte carboidrato, a fim de fornecer derivados dotados de maior potencial biológico. Primeiramente estas substâncias foram submetidas à reação de alquilação alílica catalisada por Pd(0) na presença da azida de sódio como nucleófilo para fornecer os derivados azida **129a-b**, com rendimentos moderados (69 e 39%, respectivamente). Estas azidas foram novamente acopladas a uma tripla ligação presente no 1,2,4-oxadiazol (**121**), formando glicoconjugados com duas unidades de oxadiazol **130a-b**, com rendimentos de 80 e 71%, respectivamente (esquema 43).

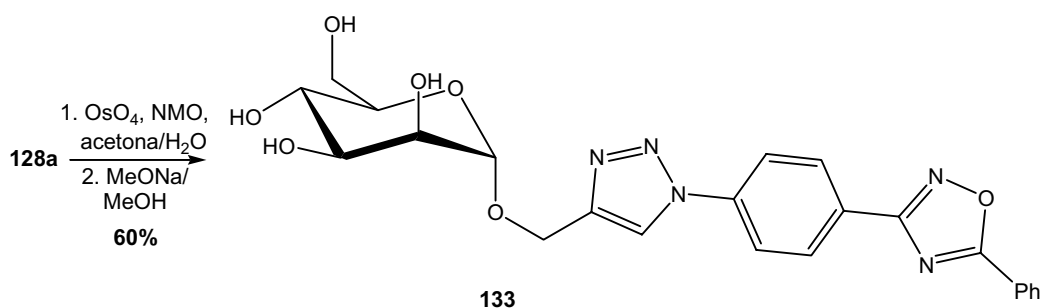


Esquema 43: Síntese dos compostos glicoconjugados contendo duas unidades de oxadiazol e duas unidades de triazol **130a-b**

Os derivados **128a-b** e **130b** foram ainda submetidos à reação de bis-hidroxilação com tetróxido de ósmio e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido seguida de acetilação com piridina e anidrido acético para formar os manopiranosídeos **131a-b** e **132** (esquema 44). Ainda, a substância **128a** foi di-hidroxilada e teve suas funções ésteres hidrolisadas em meio de MeOH/MeONa para fornecer **133** com rendimento de 60%, após as duas etapas reacionais (esquema 45). Observa-se assim que, ainda que se tenham grandes grupos presentes tanto no carbono anomérico, quanto em C-4 do açúcar, a reação de hidroxilação prossegue sem maiores problemas e gera os produtos desejados.



Esquema 44: Formação dos manopiranosídeos **131a-b**, **132**



Esquema 45: Formação do manopiranosídeo desprotegido **133**

Analogamente aos glicoconjugados **116a-c**, as substâncias **128a-b** e **130b** foram hidroxiladas em *cis*. Esta configuração foi baseada nas constantes de acoplamento $J_{4,5}$ e $J_{3,4}$ dos compostos obtidos. Tais valores, característicos da disposição axial-axial entre estes hidrogênios, podem ser observados na tabela 8, juntamente com os valores de $^3J_{2,3}$ destas mesmas substâncias.

Tabela 8: Valores das constantes de acoplamento $^3J_{2,3}$, $^3J_{3,4}$ e $^3J_{4,5}$ para os manopiranosídeos **131a-b**, **132** e **133**

Substância	$J_{2e,3a}$	$J_{3a,4a}$	$J_{4a,5a}$
131a	3,1 Hz	9,6 Hz	9,6 Hz
131b	3,4 Hz	9,4 Hz	9,0 Hz
132	2,1 Hz	9,2 Hz	10,4 Hz
133	^a	10,0 Hz	10,0 Hz

^a: não pôde ser calculado na RMN de ^1H (multiplete)

4.4 – Conclusão

A reação de cicloadição [3 + 2] entre uma azida e um etino terminal mediada por Cu(I) foi realizada com sucesso, e assim, várias moléculas glicoconjugadas foram obtidas. Os compostos foram, em sua grande maioria, sintetizados com bons rendimentos (acima de 60%), com 1,4-regiosseletividade, sem racemização dos centros assimétricos quando presentes e com tolerância a diversas funcionalidades orgânicas e grupos protetores. As moléculas aqui descritas, ou seja, glicoconjugados contendo unidades de oxadiazol, pirimidinona e aminoácido, são moléculas dotadas de grande potencial biológico e algumas foram testadas frente a microorganismos e células cancerígenas, o que será explorado no próximo capítulo.

CAPÍTULO 5

CAPÍTULO 5: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.1 – Introdução

O papel dos glicoconjugados nos processos bioquímicos, como no reconhecimento celular, tem estimulado a síntese de glicomiméticos e de neo-glicoconjugados como ferramentas na pesquisa em glicobiologia e na intervenção terapêutica.^{126, 127}

De uma maneira geral, os fármacos que contêm porções carboidrato comportam-se como pró-fármacos, ou seja, fármacos inativos que, ao sofrerem biotransformação, exercem o efeito esperado. Isto se deve ao fato que estas substâncias são fosforiladas pelas quinases, presentes em maior quantidade nas células tumorais ou infectadas por vírus e/ou bactérias, transformando estas substâncias de tal forma que estas possam se passar por nucleosídeos fraudulentos (pseudonucleosídeos) e assim, inibir a síntese do DNA nas células hospedeiras.¹²⁸

Como já exposto nos capítulos anteriores, foram sintetizados neo-glicoconjugados contendo diversas moléculas de interesse biológico e atenção especial foi dada aos glicoconjugados contendo unidades de 1,2,4-oxadiazol. Estes compostos glicoconjugados, em sua maioria, foram sintetizados através de “click chemistry”, ou seja, eles contêm uma molécula de 1,2,3-triazol como espaçador entre a unidade de carboidrato e o heterociclo ou aminoácido. O anel triazólico, além de conferir maior resistência à hidrólise e à oxidação,⁷⁹ também é bioativo, tendo reconhecidas atividades antimicrobiana¹²⁹ e citostática.¹³⁰

Desta forma, este capítulo descreve a avaliação da atividade biológica de alguns dos glicoconjugados sintetizados neste trabalho. Em um primeiro momento, as substâncias **123a-q**, **124**, **125a-d**, **126**, **128a**, **131a** e **133** foram avaliadas frente a microorganismos diversos. Já as substâncias **115a-d**, **116a-c**, **122a**, **123k-q**, **128a-d**, **129a-b**, **130a-b**, **131a-b**, **132** e **133** tiveram a atividade citotóxica testada.

5.2 – Resultados e Discussão

Avaliação da atividade antimicrobiana

A avaliação da susceptibilidade dos microorganismos a agentes antimicrobianos consiste em um dos testes de maior importância clínica realizados em um laboratório de microbiologia. Um dos métodos mais utilizados para a avaliação de atividade é o método da difusão em disco, em que substâncias com atividade antimicrobiana são impregnadas em discos de papel são difundidas através do meio de cultura.¹³¹ A difusão da substância

antimicrobiana forma um halo de inibição do crescimento do microorganismo, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima. Este método é qualitativo e permite classificar se a substância em questão é ativa ou não contra as cepas microbianas utilizadas no teste.¹³²

Para a avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias **123a-q**, **124**, **125a-d**, **126**, **128a**, **131a** e **133** foram utilizados 10 microorganismos pertencentes à Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE – DA) e do Departamento de Micologia da mesma universidade (URM). Estes microorganismos estão relacionados na tabela 9.

Tabela 9: Relação dos microorganismos utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana

Classificação	Microorganismo (Registro)
Bactérias Gram-positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02)
	<i>Bacillus subtilis</i> (UFPEDA 16)
	<i>Enterococcus faecalis</i> (UFPEDA 138)
Bactérias Gram-negativas	<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFPEDA 416)
Bactérias álcool-ácido resistentes (BAAR)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (UFPEDA 71)
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (UFPEDA 82)
Leveduras	<i>Candida albicans</i> (UFPEDA 1007)
	<i>Candida kruzei</i> (UFPEDA 1002)
	<i>Malazessia sympodialis</i> (URM 4849)

Os testes para a avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias **123a-q**, **124**, **125a-d** e **126**, na concentração de 30 µg/mL, não apresentaram halos de inibição para nenhum dos microorganismos testados. Para as substâncias **128a**, **131a** e **133**, nas quais a concentração nos discos de papel foi de 60 µg/mL, também não foram observados halos de inibição do crescimento bacteriano para os microorganismos testados.

Estes dados são diferentes dos obtidos em trabalhos anteriores em que o núcleo oxadiazólico apresentou atividade contra cepas de *S. aureus*,^{24,25} *B. subtilis*²⁴ e *C. albicans*.²⁴ No presente trabalho, o núcleo oxadiazólico está conjugado a porções-carboidrato através de um espaçador 1,2,3-triazólico, o que pode ter diminuído o potencial antimicrobiano do oxadiazol frente aos microorganismos-teste.

Outro dado interessante foi observado para as substâncias que apresentam resíduos de aminoácido em suas estruturas, como é o caso dos neo-glicopeptídeos **123d-f** e **126**. Glicopeptídeos constituem uma classe de antibióticos muito eficazes contra bactérias Gram-positivas¹¹ e, no entanto, as substâncias análogas **123d-f** e **126** não apresentaram quaisquer indícios de atividade antimicrobiana na concentração de 30 µg/mL.

Avaliação da atividade citotóxica

O controle no uso de animais de laboratório fez com que surgisse a necessidade do desenvolvimento de testes para a avaliação da citotoxicidade *in vitro*. Várias metodologias são conhecidas para esta finalidade, e dentre estas, o ensaio da viabilidade celular utilizando o corante vital MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazólio) é bem estabelecido, sendo reconhecido por órgãos como a FDA¹³³ e a ANVISA.¹³⁴

Este método se baseia na capacidade apresentada por células de reduzir o sal tetrazólio a cristais azuis (formazan), que precipita pela ação da enzima mitocondrial succinil desidrogenase, ativa apenas para células vivas.¹³⁵

Os testes foram realizados utilizando-se as substâncias **115a-d**, **116a-c**, **122a**, **123k-q**, **128a-d**, **129a-b**, **130a-b**, **131a-b**, **132** e **133** frente às linhagens de células NCI-H₂₉₂ (câncer de pulmão) e HEP-2 (carcinoma epidermóide da laringe).

Primeiramente, foram testadas as substâncias **115a-d**, **116a-c**, **122a**, **128a-d**, **129a-b**, **130a-b**, **131a-b**, **132** e **133** nas concentrações 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 µg/mL nas duas linhagens acima citadas. Das substâncias testadas, os glicoconjugados **128a**, **128c**, **130a**, **131a** e **132** mostraram ser os mais potentes agentes citotóxicos para a linhagem NCI-H₂₉₂. Já para a linhagem HEP-2, as drogas mais ativas foram **128c** e **131a**. Os percentuais máximos de inibição do crescimento celular em relação ao grupo não-tratado (controle), bem como a CI₅₀ (menor concentração capaz de matar 50% da população celular) podem ser observados na tabela 10.

Tabela 10: Percentuais máximos de inibição do crescimento celular e CI₅₀ das drogas avaliadas em relação ao grupo controle

Substância	Percentual de inibição (%)		CI ₅₀ (µg/mL)	
	NCI-H ₂₉₂	HEP-2	NCI-H ₂₉₂	HEP-2
115a	38,5	17,5	> 10,0	> 10,0
115b	19,7	5,6	> 10,0	> 10,0

115c	41,8	19,6	> 10,0	> 10,0
115d	18,8	^a	> 10,0	> 10,0
116a	31,5	21,6	> 10,0	> 10,0
116b	36,2	15,2	> 10,0	> 10,0
116c	18,4	12,6	> 10,0	> 10,0
122a	3,6	^a	> 10,0	> 10,0
128a	52,2	34,4	1,43	> 10,0
128b	3,5	11,7	> 10,0	> 10,0
128c	69,9	67,2	3,09	2,12
128d	5,1	2,8	> 10,0	> 10,0
129a	49,8	41,5	> 10,0	> 10,0
129b	12,3	13,4	> 10,0	> 10,0
130a	57,5	44,7	< 1,25	> 10,0
130b	48,3	12,4	> 10,0	> 10,0
131a	55,2	58,6	5,11	5,21
131b	13,4	4,3	> 10,0	> 10,0
132	61,2	50,0	5,37	≥ 10,0
133	11,3	11,0	> 10,0	> 10,0

^a: Não houve inibição do crescimento celular

Como pôde ser observado na tabela acima, as substâncias que apresentaram maiores índices de inibição e menores valores de CI_{50} são açúcares em que o grupamento 1,2,4-oxadiazol está presente no carboidrato como parte da aglicona (**128a**, **128c**, **130a**, **131a** e **132**). Os compostos com o 1,2,4-oxadiazol no C-4 do açúcar apresentaram baixa a moderada atividade citotóxica (**115a-c**, **116a-c**). Ainda, o glicoconjugado contendo o anel oxadiazólico contendo o grupamento fenila na posição C-5 (**128a**, **128c**, **129a**, **130a**, **131a**) apresenta maior atividade que aquele contendo o 1,2,4-oxadiazol substituído com um grupamento metila na mesma posição (**128b**, **128d**, **129b**, **130b**, **131b**). O oxadiazol não conjugado a um açúcar (**122a**) não apresentou atividade citotóxica, o que deixa claro a importância da conjugação com o carboidrato para a presença da atividade.

Cabe aqui uma comparação entre os compostos **128a** e **128c**, em que a diferença estrutural reside na presença de duas metilas na aglicona. O composto **128c** se mostrou mais potente, apresentando maiores índices de inibição celular nas duas linhagens estudadas,

indicando a importância desta substituição na parte da aglicona para um aumento da atividade citotóxica.

O composto **130a**, que contém o heterociclo oxadiazólico em C-1 e C-4 do açúcar, apresentou excelente atividade frente à linhagem NCI-H₂₉₂, mas seu análogo contendo a metila em C-5 do oxadiazol (**130b**) não apresentou a mesma atividade. Já a substância derivada de **130b**, o manopiranosídeo **132** apresentou boa atividade frente à linhagem NCI-H₂₉₂. A presença dos grupamentos acetila em C-2 e C-3 do açúcar conferiu pequeno incremento no percentual de inibição para o composto **131a** (face ao seu precursor sintético **128a**), porém com valor de CI₅₀ muito superior, o que torna o composto **128a** muito mais potente que seu derivado manopiranosídeo.

No entanto, a presença dos grupamentos acetila pareceu ser um fator determinante para a presença de atividade. O derivado totalmente desacetilado **133** mostrou pouca atividade citotóxica frente ao seu análogo acetilado **131a** e ao açúcar de partida **128a**, demonstrando que a presença do grupo acetila não se resume à função de proteção das hidroxilas do carboidrato e parece ser um fator determinante da atividade.

Nos gráficos a seguir, estão as curvas dose-resposta construídas para as drogas **128a**, **128c**, **130a**, **131a** e **132**, as quais apresentaram maior potencial citotóxico frente à linhagem NCI-H₂₉₂. A partir dessas curvas foi possível calcular a CI₅₀ para estas substâncias (figuras 15 a 19).

Para a substância **128a**, pode-se observar que a resposta (atividade inibitória do crescimento celular) atinge um platô logo após a concentração de 2,5 µg/mL, indicando que não há mudanças significativas no percentual de inibição nas doses subsequentes, o que foi igualmente verificado através de análise de variância (ANOVA – One Way).

Para as substâncias **128c**, **131a** e **132**, os valores da resposta biológica são crescentes e tendem a atingir o platô em doses acima de 10,0 µg/mL, sendo as respostas em cada dose diferentes estatisticamente a 95% de confiança (ANOVA – One Way).

Já para o manopiranosídeo **130a**, o qual apresenta dose capaz de exercer resposta em 50% da população celular inferior que a menor dose avaliada (1,25 µg/mL), observa-se um comportamento análogo ao de **128a**, porém com variações de resposta ainda menores entre as doses, sendo as respostas para as maiores doses avaliadas estatisticamente iguais a 95% de confiança (ANOVA – One Way).

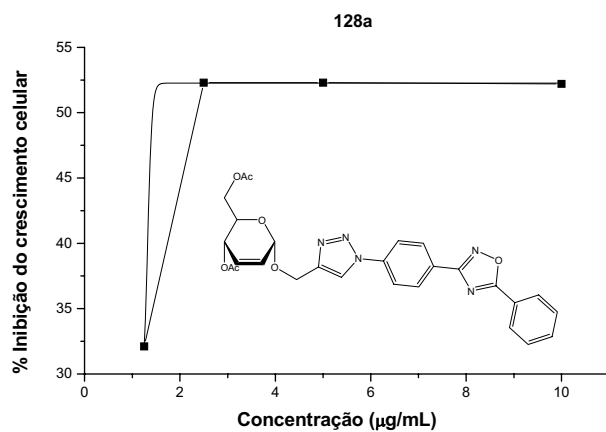


Figura 15: Curva dose-resposta para 128a

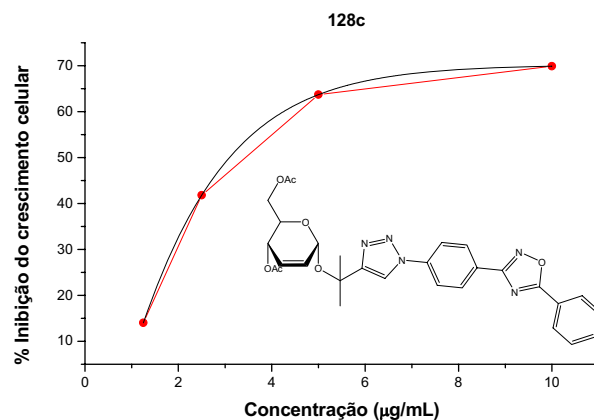


Figura 16: Curva dose-resposta para 128c

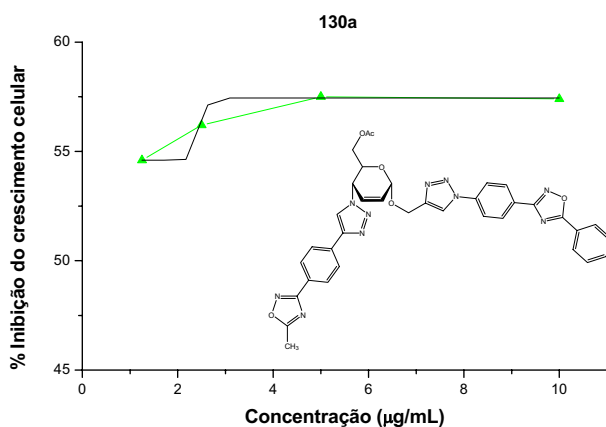


Figura 17: Curva dose-resposta para 130a

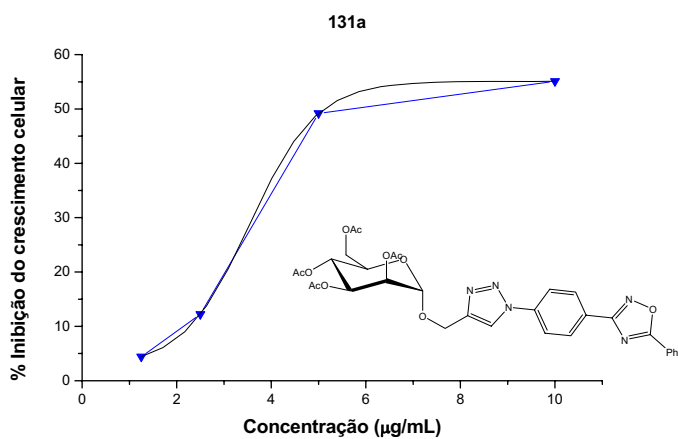


Figura 18: Curva dose-resposta para 131a

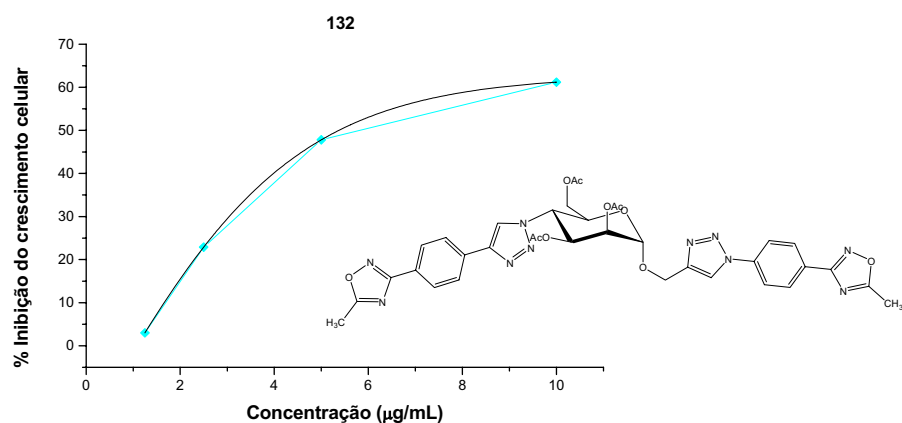


Figura 19: Curva dose-resposta para 132

Através do gráfico comparativo, pode-se observar conjuntamente as respostas das drogas supracitadas (figura 20). Constata-se que a substância **128c** (linha em vermelho) apresentou o maior percentual de inibição do crescimento celular (cerca de 70%). Contudo, aquela que apresentou menor CI_{50} foi a substância **130a** (menor que 1,25 $\mu\text{g/mL}$), com percentual de inibição em torno de 57%.

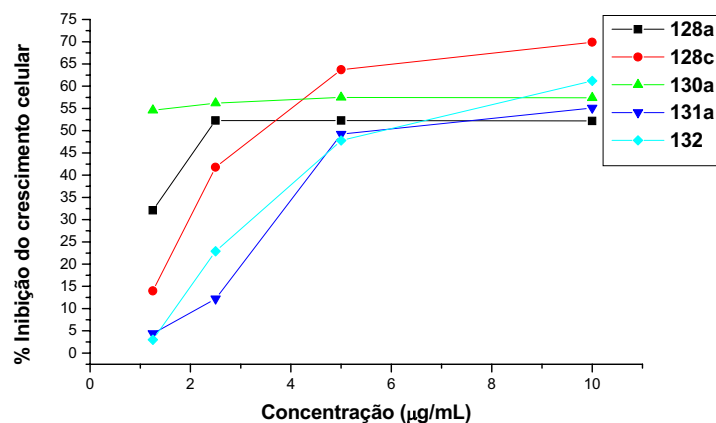


Figura 20: Gráfico comparativo das drogas com maior percentual de inibição do crescimento celular (linhagem NCI-H₂₉₂)

Já para a linhagem HEp-2, somente duas substâncias se mostraram eficazes com valores de CI_{50} abaixo de 10 $\mu\text{g/mL}$. Os gráficos dose-resposta para **128c** e **131a** estão relacionados a seguir (figuras 21 e 22).

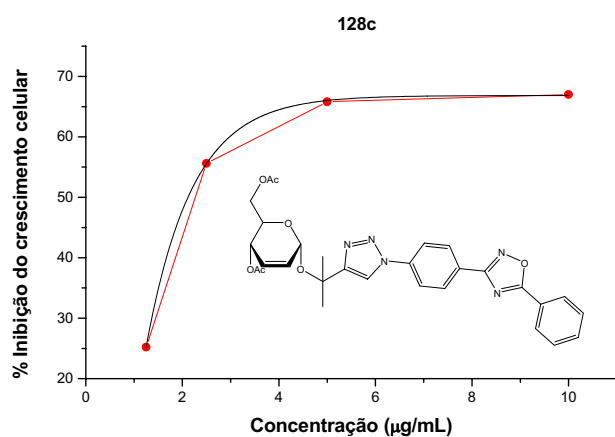


Figura 21: Curva dose-resposta para **128c**

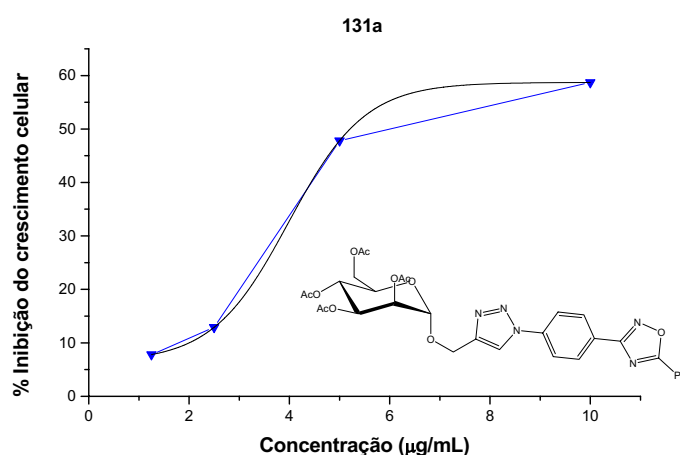


Figura 22: Curva dose-resposta para **131a**

Para **128c** e **131a**, o comportamento é análogo ao observado para a linhagem NCI-H₂₉₂, em que o platô da resposta biológica somente é atingido após a maior dose estudada, sendo todas as respostas diferentes entre si a 95% de confiança (ANOVA). A diferença entre as duas drogas consiste no valor da CI₅₀, que para **128c** (2,12 µg/mL) é praticamente a metade da CI₅₀ calculada para **131a** (5,21 µg/mL).

As drogas **123k-q** tiveram a atividade citotóxica avaliada em doses que variaram de 1,25 a 50,0 µg/mL (tabela 11). Contudo, estas drogas não apresentaram percentuais significativos de inibição do crescimento celular nas duas linhagens testadas.

Tabela 11: Percentuais máximos de inibição do crescimento celular e CI₅₀ das drogas **123k-q** em relação ao grupo controle

Substância	Percentual de inibição (%)		CI ₅₀ (µg/mL)	
	NCI-H ₂₉₂	HEp-2	NCI-H ₂₉₂	HEp-2
123k	10,4	4,5	> 50,0	> 50,0
123l	24,8	24,1	> 50,0	> 50,0
123m	10,2	1,2	> 50,0	> 50,0
123n	9,5	7,5	> 50,0	> 50,0
123o	9,2	6,7	> 50,0	> 50,0
123p	23,1	22,4	> 50,0	> 50,0
123q	15,0	4,9	> 50,0	> 50,0

Desta última série de substâncias testadas, observa-se que as mais potentes foram as substâncias substituídas com um átomo de bromo (**123l**) e com o grupamento nitro (**123p**) no anel fenila presente no C-5 do oxadiazol, ambas inibindo o crescimento celular em cerca de 23 a 24%.

Comparando a substância **122a** (3,6% de inibição na concentração de 10,0 µg/mL na linhagem NCI-H₂₉₂) com a substância **123k** (8,0% de inibição nos mesmos parâmetros), em que a diferença entre as duas drogas reside em um grupamento de açúcar e uma molécula de triazol, observa-se que não há incremento significativo na atividade biológica, ou seja, a glicosidação do oxadiazol **122a** não forneceu um derivado farmacologicamente superior.

Avaliação da morfologia celular das células tratadas com os glicoconjugados

Sabe-se que os eventos bioquímicos decorridos no interior da célula acarretam em alterações morfológicas visíveis ultra-estruturalmente. Com a finalidade de elucidar alguns aspectos relacionados ao mecanismo da ação citotóxica dessas substâncias nas linhagens de células cancerígenas testadas, foram realizados estudos preliminares de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para tal estudo, foram utilizadas, em um primeiro momento, somente células pertencentes à linhagem de carcinoma epidermóide de laringe (HEp-2). Como controle, foram utilizadas células cancerígenas não-tratadas e, para o estudo dos efeitos das drogas, foram utilizadas células tratadas com as drogas **128a**, **128c** e **130a**, com percentuais máximos de inibição do crescimento celular de 34,4%; 67,2% e 44,7%, respectivamente. Para esta parte do trabalho, foram utilizadas células tratadas com as drogas supracitadas nas doses de 10,0; 5,0 e 1,25 µg/mL.

Na MEV, podem ser observadas alterações morfológicas ocorridas na membrana celular, bem como alterações no tamanho e na forma das células. As fotomicrografias das células controle (figuras 23 a 26) e das células tratadas estão relacionadas nas figuras abaixo.

Observando as células controle (figuras 23 a 26), constata-se grande número de filopódios e invaginações da membrana plasmática dessas células cancerígenas. Filopódios são filamentos longos, finos e flexíveis de actina, presentes em células animais quando estas estão se movendo ou mudando de forma. Em culturas de células, essas projeções são bastante comuns, já que a célula precisa estar bem fixada ao suporte para que haja divisão celular.¹³⁶ Outra característica interessante são as invaginações da membrana, que servem para aumentar a superfície de contato da célula com o meio externo. Ainda, pode ser visto que estas células apresentam morfologia variada, porém há uma predominância de células fusiformes, o que está de acordo com os achados da literatura para esta cultura de células (HEp-2).¹³⁷

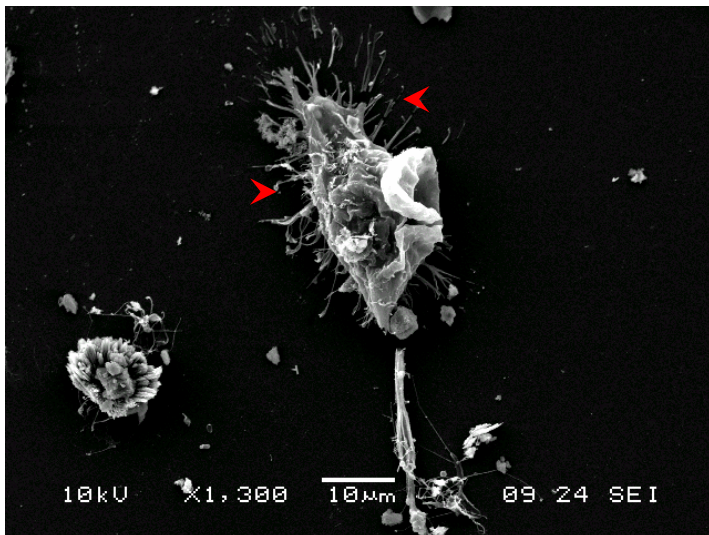


Figura 23: MEV de uma célula HEP-2 não-tratada. Observa-se a presença de filopódios (cabeças de seta) distribuídos por toda a superfície da membrana. x 1300.

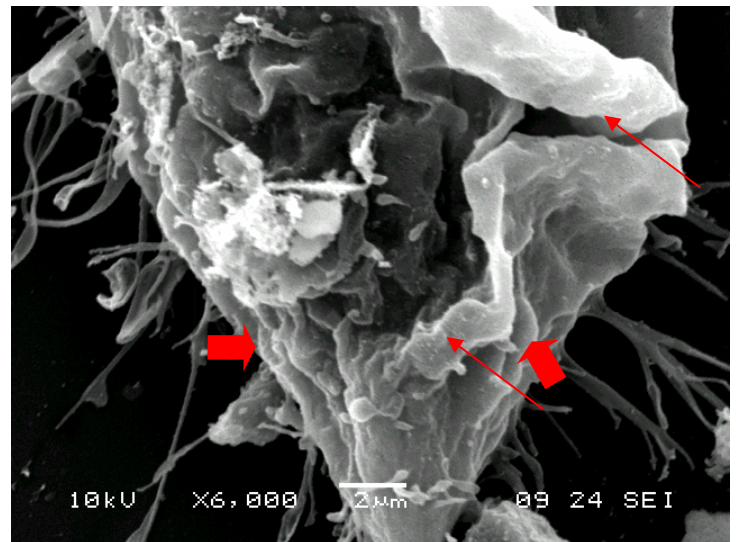


Figura 24: Aproximação da célula observada na figura 23. Observa-se que a membrana plasmática apresenta aspecto rugoso (setas largas) e forma invaginações (setas). x 6000.

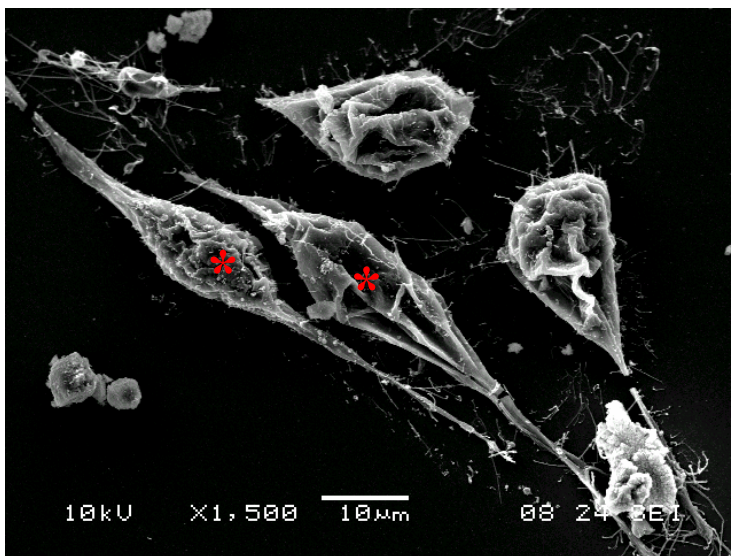


Figura 25: MEV de várias células HEP-2 não-tratadas. A morfologia destas células é variada, com predominância de células fusiformes (asterisco). x 1500.

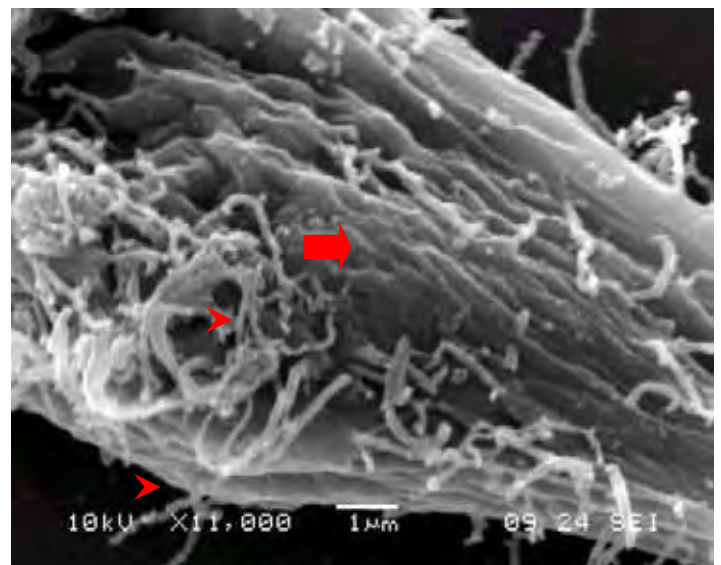


Figura 26: Aproximação de uma das células observadas na figura 25. Grande número de filopódios (cabeças de seta) e membrana com aspecto rugoso (seta larga). x 11000.

As células tratadas apresentaram nítidas diferenças morfológicas em relação às células controle na MEV. Para a droga **128a** (figuras 27 a 29), os efeitos foram dose-dependentes, isto é, os efeitos foram mais acentuados nas maiores doses. Houve profundas alterações no citoesqueleto com perda das projeções filopodiais, aparecimento de poros na membrana, bem como o aparecimento de bolhas na membrana das células tratadas com a maior dose (figura 29).

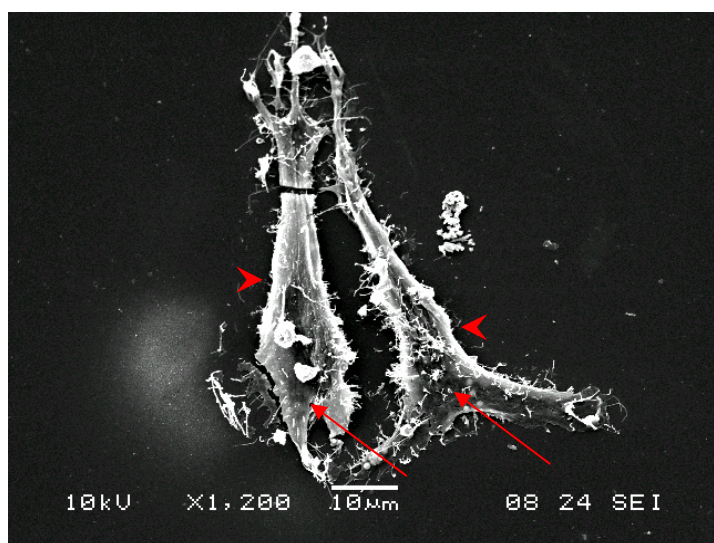


Figura 27: MEV de duas células HEp-2 tratadas com **128a**, na dose de 1,25 µg/mL. Observe as alterações na membrana, com diminuição do número de filopódios (cabeças de seta) e aparecimento de poros (setas). x 1200.

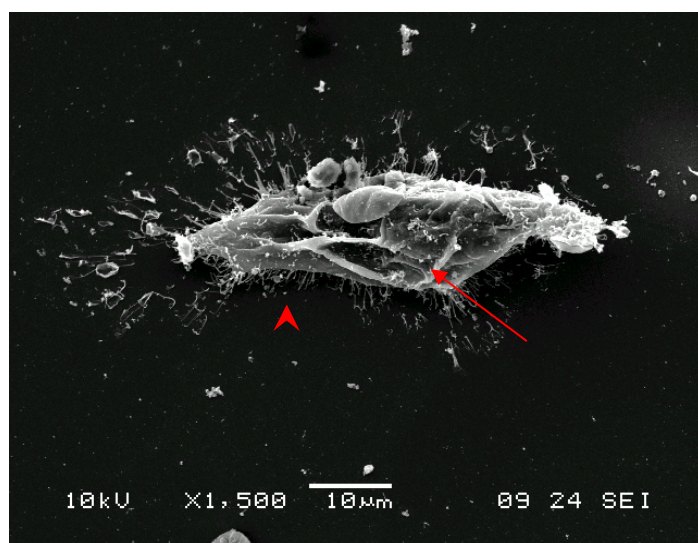


Figura 28: MEV de uma célula HEp-2 tratada com **128a**, na dose de 5,0 µg/mL. Alterações na membrana, com diminuição do número de filopódios (cabeças de seta) e aparecimento de poros (setas), são observadas. x 1500.

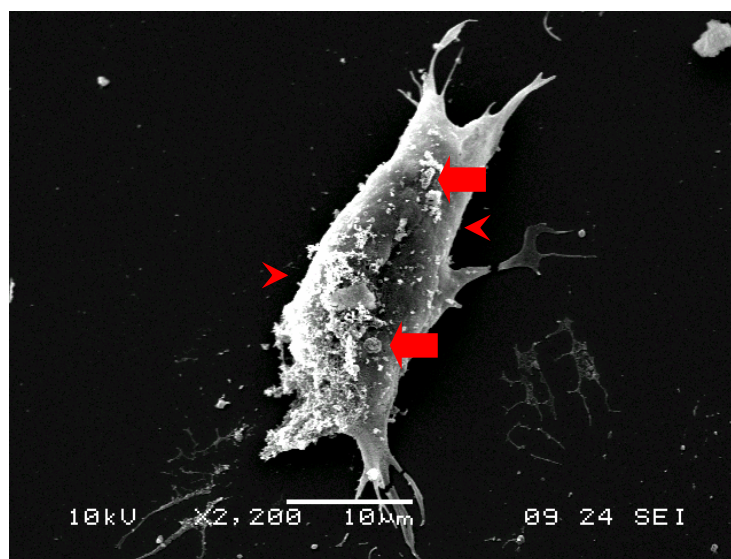


Figura 29: MEV de uma célula HEp-2 tratada com **128a**, na dose de 10,0 µg/mL. Pode-se observar a perda acentuada dos filopódios (cabeças de seta) e o aparecimento de bolhas na membrana (setas largas). x 2200.

Para as células tratadas com a substância **128c**, também foram observadas as mesmas alterações nas membranas plasmáticas das células tratadas (figuras 30 a 33). Analogamente, estas alterações também foram dose-dependentes. Para a menor dose (1,25 µg/mL), não foram observadas grandes alterações e as células apresentaram a morfologia predominante

deste tipo de cultura celular (figura 30). Nas doses subsequentes, foram observadas modificações na estrutura da membrana, como perda dos filopódios, aparecimento de bolhas e poros na superfície da membrana (figuras 31 a 33).

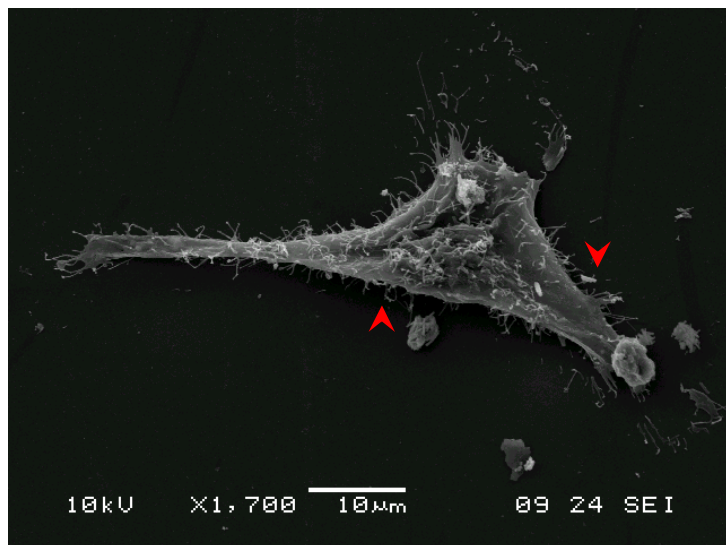


Figura 30: MEV de uma célula HEP-2 tratada com **128c**, na dose de 1,25 µg/mL. Não houve maiores alterações na membrana plasmática deste grupo de células. Observa-se a manutenção das projeções filopodiais (cabeças de seta). x 1700.

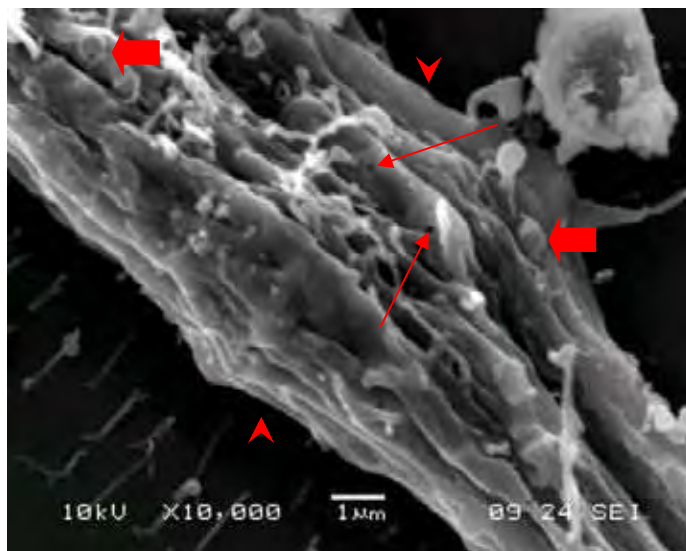


Figura 31: MEV de uma célula HEP-2 tratada com **128c**, na dose de 5,0 µg/mL. Nesta dose foram observados a perda dos filopódios (cabeças de seta), aparecimento de bolhas (setas largas) e poros (setas) na superfície da membrana. x 10000.

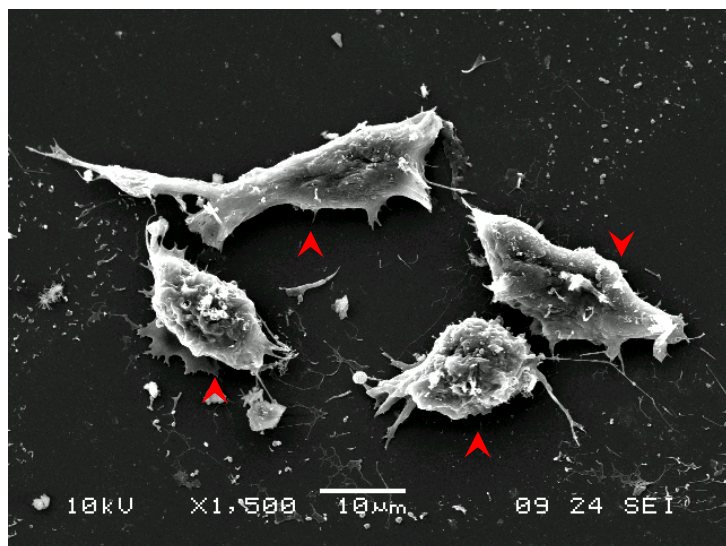


Figura 32: MEV de várias células HEP-2 tratadas com **128c**, na dose de 10,0 µg/mL. Nota-se que a morfologia das células é variada e que há perda significativa dos filopódios (cabeças de seta). x 1500.

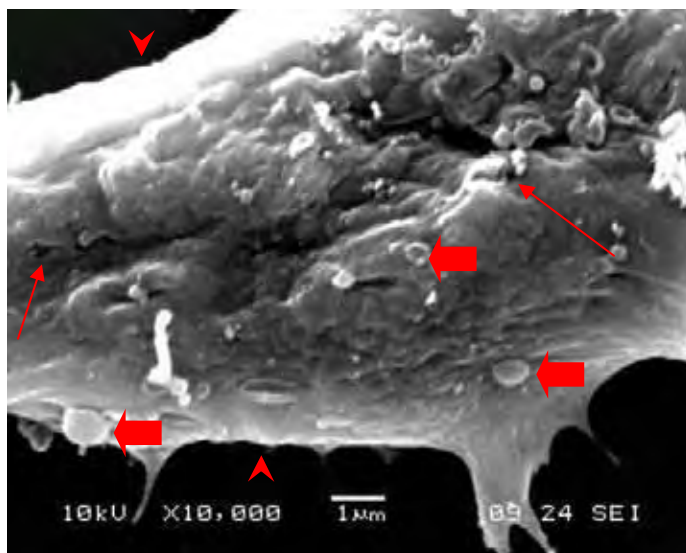


Figura 33: Aproximação da membrana plasmática de uma das células da figura 32. Como na dose de 5,0 µg/mL, foram observados a perda dos filopódios (cabeças de seta), aparecimento de bolhas (setas largas) e poros (setas) na superfície da membrana. x 10000.

Nas células tratadas com a substância **130a**, as alterações na membrana seguiram o mesmo padrão das drogas anteriores, com perda dos filopódios, aparecimento de bolhas e poros nas superfícies das membranas celulares (figuras 34 a 36).

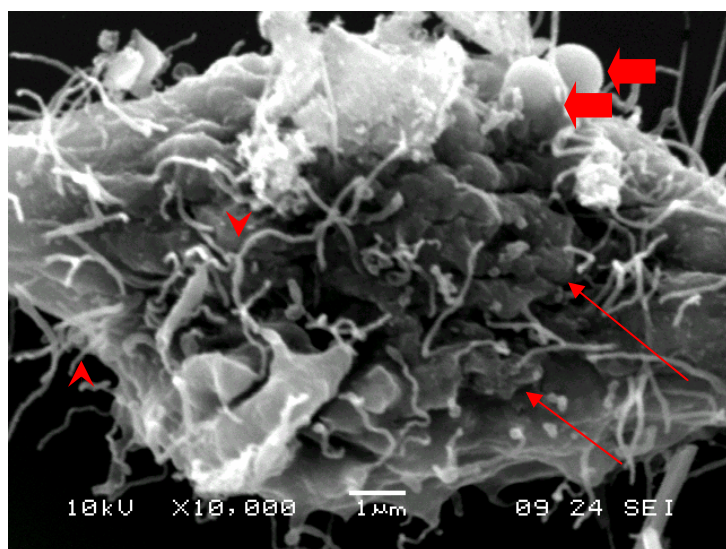


Figura 34: MEV de uma célula HEp-2 tratada com **130a**, na dose de 1,25 µg/mL. A célula apresenta numerosos filopódios (cabeças de seta) e invaginações (setas). Contudo, há a presença bolhas (setas largas) em sua superfície. x 10000.

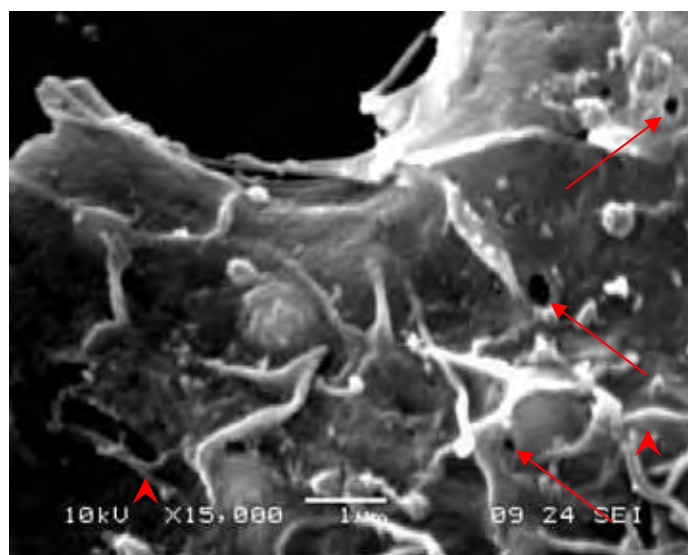


Figura 35: MEV de uma célula HEp-2 tratada com **130a**, na dose de 5,0 µg/mL. Nesta célula, nota-se perda gradual dos filopódios (cabeças de seta) e a presença de poros (setas) na membrana celular. x 15000.

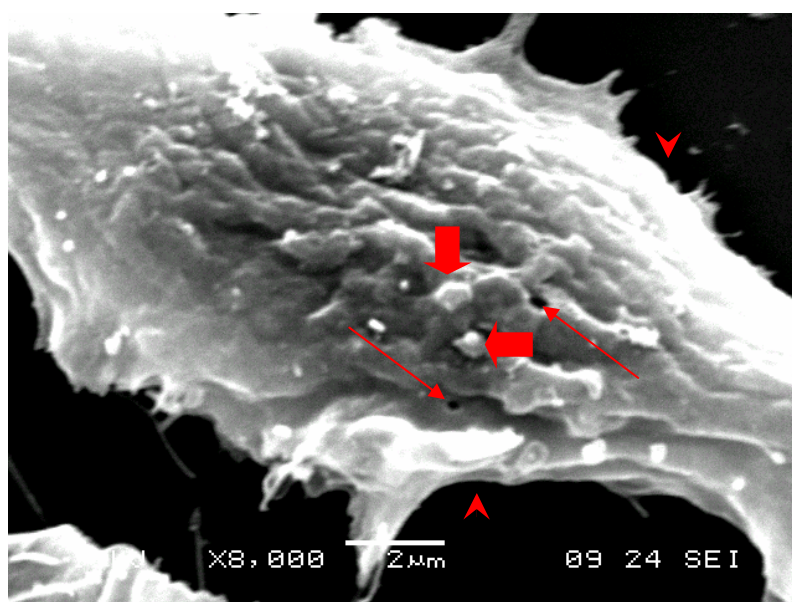


Figura 36: MEV de uma célula HEp-2 tratada com **130a**, na dose de 10,0 µg/mL. Houve perda quase que total dos filopódios (cabeças de seta), aparecimento de bolhas (setas largas) e de poros (setas) na membrana. x 8000.

Zhang e colaboradores²⁸ realizaram um importante estudo sobre a síntese e a relação estrutura-atividade de 3,5-diaril 1,2,4-oxadiazóis e esclareceram alguns pontos no que concerne ao mecanismo de ação destes heterociclos frente a linhagens de células cancerígenas. Segundo estes pesquisadores, estas drogas agiriam ativando as caspases, um grupo de 14 cisteína-proteases que iniciam o processo apoptótico (morte celular programada) nas células eucarióticas.

A apoptose é executada após uma cascata de ativação de caspases iniciadoras e efetoras. Estas enzimas proteolíticas são produzidas nas células eucarióticas como zimogênios inativos e devem ser processadas para se tornarem ativas. Por exemplo, a ativação da caspase-7 (efetora) é realizada pela caspase-9 (iniciadora). Uma vez ativada, a caspase efetora se torna responsável pela degradação proteolítica de diversos alvos celulares, levando à morte celular programada.^{138,139}

Drogas indutoras da apoptose são as grandes apostas da indústria farmacêutica no tratamento do câncer. Dentre os dois tipos de morte celular, necrose e apoptose, somente a apoptose pode ser seletiva. A necrose é caracterizada pela ruptura da membrana plasmática, com resposta inflamatória localizada e injúria aos tecidos vizinhos, sendo portanto não-específica. Já a apoptose é uma consequência de vários eventos genéticos precisos, sendo possível matar as células cancerígenas sem danos às células saudáveis. Outro fato importante é que todas as células eucarióticas têm a capacidade de ativar o programa apoptótico, mesmo aquelas que são indiferenciadas.¹⁴⁰

Várias mudanças ultra-estruturais são observadas quando a célula sofre apoptose. As mais pronunciadas ocorrem no núcleo celular, onde a cromatina se condensa, formando agregados granulares e há fragmentação e desaparecimento do nucléolo. As organelas restam intactas e sem alterações, mas formam agregados. Há a formação dos corpos apoptóticos (porções de citoplasma contendo cromatina e/ou restos de organelas). O citoesqueleto sofre alterações e na membrana plasmática há o aparecimento de bolhas, sendo isto decorrente da fragmentação do DNA celular. Como resultado de todos estes eventos celulares, há uma diminuição no tamanho celular (a célula apoptótica murcha) e há posterior fagocitose das células apoptóticas por macrófagos ou pelas células vizinhas.^{141-143.}

O estudo da morfologia das células tratadas com as drogas **128a**, **128c** e **130a** mostrou que houve profundas alterações na superfície da membrana plasmática. A perda dos filopódios (filamentos de actina) indica que houve alteração no citoesqueleto das células tratadas. Também pôde ser observado que houve formação de bolhas na superfície celular, como resultado da fragmentação do DNA. Outra característica que as células tratadas

apresentaram foi o aparecimento de poros, indicando que a célula está perdendo material para o meio externo. Todos estes resultados corroboram com hipótese de que estas drogas teriam seu mecanismo de ação citotóxico baseado na ativação da apoptose nas células cancerígenas.

Como não foram realizados estudos de microscopia eletrônica de transmissão (MET), em que as organelas celulares podem ser visualizadas, outras alterações características da morte celular programada, como condensação da cromatina e visualização das organelas intactas, não puderam ser observadas. Estudos de MET com estas células (HEp-2) e com células da linhagem NCI-H₂₉₂ devem ser realizados posteriormente.

Jessen e colaboradores¹⁴⁴ realizaram estudos quanto à localização do alvo biológico dos 3,5-diaril 1,2,4-oxadiazóis citotóxicos. Estes pesquisadores descobriram que o alvo molecular destas substâncias é uma proteína carreadora, a TIP47 (*tail interacting protein* de 47 kDa). Esta proteína citossólica realiza o transporte dos receptores da manose 6-fosfato (ou IGF-2, fator de crescimento do tipo insulina-2) dos endossomos para o complexo de Golgi, sendo bastante importante para a reciclagem destes receptores.¹⁴⁷⁻¹⁵⁰ Logo, se não há TIP47 suficiente para a reciclagem destes receptores (IGF-2R, M6PR), os complexos seguem para os lisossomos e são digeridos (figura 37).^{151,152}

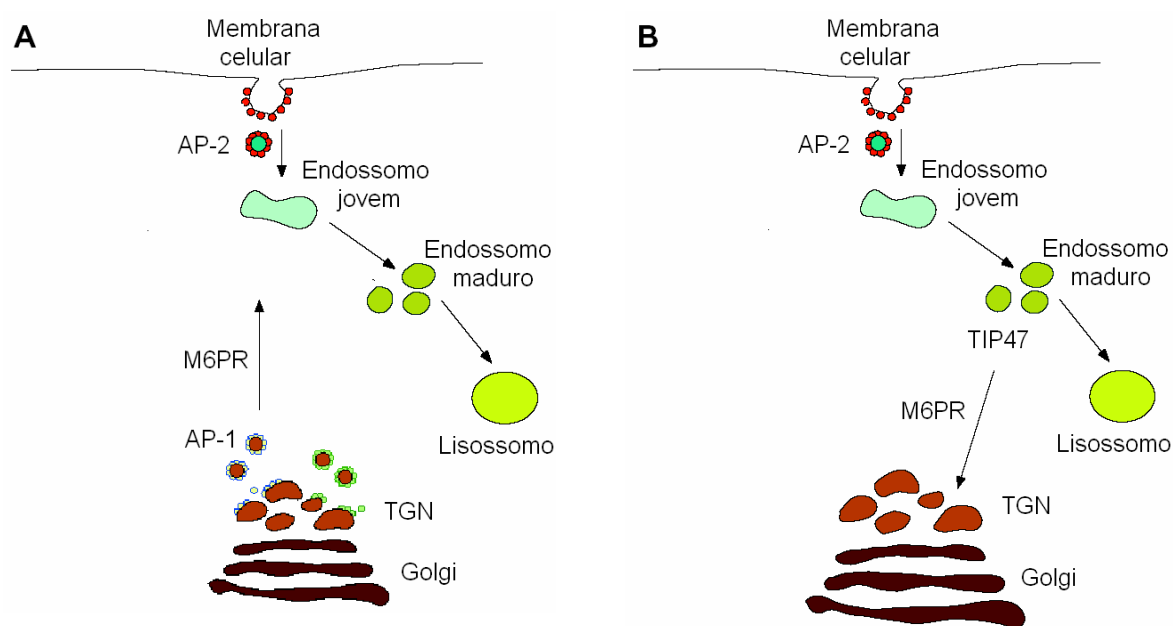


Figura 37: Reciclagem dos receptores de manose 6-fosfato (ou IGF-2) pela TIP47. O transporte dos receptores de M6P (M6PR) da rede *trans* do complexo de Golgi (TGN) até os endossomos é realizado por vesículas de clatrina (A). Já o transporte destes receptores dos endossomos para o Golgi se faz via TIP47 (B). Quando não há esta reciclagem, os complexos (por exemplo, IGF-2 – IGF-2R) seguem para os lisossomos e são digeridos. Modificado da Referência 151.

O principal papel do IGF-2R é funcionar como um regulador negativo da disponibilidade da IGF-2, já que esta última pode se ligar tanto nos receptores de IGF-2 quanto nos receptores de IGF-1, que também estão na membrana plasmática. Se há ligação com os receptores da IGF-1 (IGF-1R), haverá sinalização para a proliferação celular. Já quando há ligação com os receptores da IGF-2 (IGF-2R), não há sinalização celular e este complexo é então degradado pelos lisossomos.¹⁵³

Jessen e colaboradores¹⁴⁴ também verificaram que houve aumento na expressão dos genes de TGF- β 1 (fator de crescimento tumoral- β 1), IGF-BP3 (proteína ligadora do fator de crescimento do tipo insulina-3), p21 e diminuição na expressão do gene relacionado à ciclina D1. Estas alterações gênicas acarretam em apoptose nas células eucarióticas. Até o presente momento, o mecanismo de ativação da apoptose por parte destas moléculas não está totalmente esclarecido, mas a TIP47 parece estar relacionada na regulação destes genes e, por conseguinte, da apoptose.

Os resultados aqui explicitados estão de acordo com os dados da literatura no que concerne à atividade citotóxica dos 3,5-diaril 1,2,4-oxadiazóis. Neste trabalho, a porção 1,2,4-oxadiazol está ligada a açúcares através de um espaçador triazol e somente as substâncias contendo substituintes aromáticos nas posições 3 e 5 do anel oxadiazólico foram ativas contra as linhagens de células testadas. Maiores estudos deverão ser realizados para que se tenha a confirmação do mecanismo de ação citotóxica das substâncias sintetizadas.

5.3 – Conclusão

Alguns dos glicoconjugados sintetizados neste trabalho foram submetidos a testes de avaliação da atividade antimicrobiana e da atividade citotóxica. Das 26 substâncias testadas, nenhuma apresentou atividade antimicrobiana contra os microorganismos testados. Nos ensaios de avaliação da citotoxicidade, foram testadas 27 substâncias em diferentes concentrações nas linhagens NCI-H₂₉₂ e HEp-2. Destas 27 substâncias testadas, 5 se mostraram bastante eficazes na inibição do crescimento celular da linhagem NCI-H₂₉₂ (**128a**, **128c**, **130a**, **131a** e **132**), com valores de CI₅₀ menores que 10,0 μ g/mL. A linhagem HEp-2 foi menos responsiva ao tratamento com as substâncias sintetizadas e somente duas drogas (**128c** e **131a**) tiveram valores de CI₅₀ menores que 10,0 μ g/mL. Foi verificado que, para a manutenção da atividade citotóxica, é necessário que os glicoconjugados de 1,2,4-oxadiazol

tenham substituintes aromáticos nas duas posições do anel do heterociclo. Estudos da morfologia das células cancerígenas tratadas (MEV) fornecem fortes indícios de que estas substâncias induziriam a apoptose nestas células, o que estaria de acordo com os dados da literatura.

CAPÍTULO 6

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 – Conclusões

Com o intuito de sintetizar 1,2,4-oxadiazóis contendo um centro assimétrico para sua posterior glicosidação com o tri-*O*-acetil-D-glucal, foi utilizado *Daucus carota* como biocatalisador na redução dos oxadiazóis-cetonas **37a-e**. O emprego da cenoura como biocatalisador forneceria os produtos desejados (**38a-e**) a um baixo custo, se comparado a catalisadores convencionais. Os excessos enantioméricos dos produtos foram considerados moderados, porém os rendimentos químicos foram baixos, prejudicando a aplicação desta metodologia para a síntese da série de compostos **38a-e**. Dois diastereoisômeros (**41** e **42**) foram sintetizados utilizando-se como materiais de partida um dos álcoois obtidos por biorredução (**38a**) e o tri-*O*-acetil-D-glucal. A partir destes diastereoisômeros, foi possível atribuir a configuração absoluta do produto majoritário das biorreduções (configuração *S*).

Em seguida, novos glicosídeos contendo o anel do 1,2,4-oxadiazol foram sintetizados através da reação de alquilação alílica, de maneira regiosseletiva e com retenção da configuração no carbono alílico. Estes novos glicosídeos insaturados (**59a-b**), contendo o anel do 1,2,4-oxadiazol na posição C-4 do açúcar, foram submetidos às reações de bis-hidroxilação e bis-acetilação, com formação de novos manopiranosídeos (**60a-b**).

Vários glicoconjugados foram sintetizados a partir de “click chemistry”, ou seja, a reação de cicloadição [3 + 2] dipolar entre uma azida e um alcino terminal mediada por Cu(I). Esta metodologia mostrou ter ampla aplicabilidade, já que foram sintetizados glicoconjugados contendo unidades de oxadiazol, pirimidinona e aminoácido, em bons rendimentos e com 1,4-regiosseletividade.

Alguns dos glicoconjugados aqui sintetizados foram submetidos a testes de avaliação da atividade antimicrobiana e da atividade citotóxica. Nenhuma destas substâncias apresentou atividade antimicrobiana contra os 10 microorganismos testados. Já nos testes de avaliação da citotoxicidade, 5 drogas (**128a**, **128c**, **130a**, **131a** e **132**) se mostraram bastante eficazes na inibição do crescimento celular da linhagem NCI-H₂₉₂ (câncer de pulmão), com bons percentuais de inibição do crescimento celular (até 70% de inibição do crescimento celular para **128c**). Na linhagem HEp-2 (carcinoma epidermóide de laringe), que foi menos responsiva ao tratamento com as substâncias sintetizadas, 2 drogas (**128c** e **131a**) foram eficazes na inibição do crescimento celular (até 67% de inibição do crescimento celular para **128c**). A droga com maior potencial citotóxico foi **128c**, sendo citotóxica nos dois tipos de células cancerígenas testadas e com valores de CI₅₀ menores que 4,0 µg/mL. Ainda, foram

realizados estudos da morfologia das células cancerígenas tratadas através de microscopia eletrônica de varredura. Estes estudos mostraram que há fortes indícios de que estas substâncias teriam sua ação citotóxica mediada pela indução da apoptose nas células tratadas, o que estaria de acordo com dados da literatura para 3,5-diaril 1,2,4-oxadiazóis.

6.2 – Perspectivas

Estudos de biorredução com 1,2,4-oxadiazóis cetonas (**37a-e**) devem ser aprimorados para que os rendimentos químicos e ópticos sejam aumentados. Outros vegetais contendo a enzima álcool desidrogenase devem ser testados, como a macaxeira (*Manihot dulcis* e *Manihot esculenta*) e o funcho (*Foeniculum vulgare*).

Oxadiazóis fenóis foram acoplados, com bastante sucesso, na posição C-4 do carbonato **58**, fornecendo derivados com potencial farmacológico. Futuramente, pretende-se realizar testes de atividades citotóxica e antimicrobiana destes derivados. Ainda, almeja-se introduzir oxadiazóis com um grupamento anilina na mesma posição C-4 do carbonato **58**, obtendo-se aminas secundárias que também poderão ter suas atividades biológicas avaliadas.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar foi bastante explorada neste trabalho. A reação mostrou ter ampla aplicabilidade, o que possibilita a adição de quaisquer outras moléculas contendo uma porção alcino terminal a azido-açúcares.

Algumas das substâncias sintetizadas foram citotóxicas nas linhagens de células cancerígenas testadas (NCI-H₂₉₂ e HEP-2). Pretende-se avaliar a ação destas drogas em outras linhagens de células cancerígenas e em tumores *in vivo*. Ainda, pretende-se dar continuidade aos estudos de elucidação dos mecanismos citotóxicos desta classe de substâncias, com a realização dos testes específicos de indução da apoptose, dos estudos de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e de microscopia confocal a laser.

CAPÍTULO 7

CAPÍTULO 7: PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

7.1 – Procedimentos gerais

Todos os solventes e reagentes utilizados foram obtidos através de fornecedores Aldrich, Sigma, Acros, Merck e Vetec. Os solventes cicloexano e acetato de etila foram previamente destilados em coluna de vigre. Diclorometano anidro foi obtido através de refluxo com cloreto de cálcio anidro e posterior destilação. Metanol e etanol com teores reduzidos de água foram obtidos através de refluxo com magnésio metálico e iodo como indicador, seguido de destilação. Tetraidrofurano anidro foi obtido através de refluxo em sódio metálico e benzofenona como indicador, seguido de destilação. Dimetilformamida anidra foi obtida através de refluxo com hidreto de cálcio, seguido de destilação. Já piridina e trietilamina anidras foram obtidas através de refluxo curto em hidróxido de sódio, seguido de destilação.

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando-se placas de sílica em suporte de alumínio contendo indicador fluorescente F₂₅₄ da marca Macherey-Nagel ou Merck (Alemanha). Para a revelação das mesmas utilizou-se lâmpada ultravioleta e solução de ácido sulfúrico 10% em metanol. Para a cromatografia em coluna foi utilizada sílica-gel 60 (70-230 mesh) das mesmas fontes comerciais.

7.2 – Equipamentos utilizados

Para a determinação dos pontos de fusão foi utilizado aparelho Electro-thermal modelo Mel-temp analógico ou Büchi analógico e não são corrigidos.

As rotações ópticas foram medidas usando o polarímetro Perkin-Elmer 241 ou Jasco DIP 370.

Para a realização dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C foi utilizado o instrumento Varian modelo Unity Plus 300 MHz ou Bruker AMX 300, utilizando como solventes clorofórmio ou dimetilsulfóxido deuterados e TMS como padrão interno.

Para a realização dos espectros de infravermelho foi utilizado o espectrofotômetro Bruker modelo IFS66 FT-IR em pastilhas de KBr.

Para a realização dos espectros de massas de impacto de elétrons (70 eV) foi utilizado o aparelho Finnigan Mat CG-MS, tendo como fase estacionária coluna DB-5 MS. Já para os espectros de massa de alta resolução foi utilizado o aparelho Finnigan Mat 95 XL ou Bruker Daltonics Microtof Eletrospray.

Para a determinação dos excessos enantioméricos foi utilizado o cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 5890 series II, tendo como gás carreador hidrogênio a uma pressão de 10 psi. A fase estacionária consistiu na coluna quiral de β -ciclodextrina permetilada 20% HP (HP chiral®), com temperatura inicial 150°C e final 200°C, na taxa de 2,5°C/minuto, temperatura do injetor em 240°C e detector 220°C. Quando da não-vaporização da amostra no cromatógrafo, o excesso enantiomérico foi mensurado através de RMN de ^1H com reagente de deslocamento quiral, o tris[3-(trifluor-metil-hidróxi-metileno)-D-canforato)] európio (III).

Para a microscopia eletrônica de varredura foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL modelo 25SII.

7.3 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 2

As arilamidoximas **10a-e** foram sintetizadas de acordo com procedimentos já existentes na literatura.¹¹³ Os demais reagentes não descritos foram obtidos a partir de fontes comerciais.

Procedimento geral para a síntese dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanonas (37a-e)^{55,56}

Em um balão com capacidade para 100 mL com agitador magnético e sob atmosfera inerte, adicionou-se: a arilamidoxima (**10a-e**) (13,2 mmol) e a DCC (3,3 g; 15,9 mmol) em 50 mL de diclorometano seco. Em seguida foi adicionado, com o auxílio de uma seringa, o ácido levulínico (1,83 g; 15,9 mmol). Deixou-se a mistura reagir por cerca de 3 horas para que houvesse formação da aril-amidoxima *O*-substituída. Após constatado o término da reação, filtrou-se a suspensão em funil sinterizado sob vácuo para retirar o excesso de DCU formada durante a reação. Recolheu-se o filtrado e evaporou-se em evaporador rotativo. Submeteu-se o resíduo da evaporação à ciclização térmica em banho de óleo na temperatura de 110-120°C por cerca de 5 horas. Foi realizada cromatografia em coluna de sílica-gel usando como eluente o sistema cicloexano:acetato de etila (7:3 v/v). Os produtos cromatograficamente puros, quando sólidos, foram recristalizados em clorofórmio/cicloexano. Os dados físico-químicos destes produtos estão relacionados abaixo.

4-[3-(Fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37a**): óleo amarelo; rendimento: 64,4%; R_f 0,67 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v)

4-[3-(3-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37b**): cristais incolores; rendimento: 41%; P.F.: 48°C; R_f 0,73 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v)

4-[3-(4-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37c**): cristais incolores; rendimento: 46%; P.F.: 71°C; R_f 0,68 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

4-[3-(4-Flúor-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37d**): cristais incolores; rendimento: 45%; P.F.: 43°C; R_f 0,66 (cicloexano: acetato de etil, 3:2 v/v).

4-[3-(4-Nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37e**): cristais amarelos; rendimento: 71%; P.F.: 82°C; R_f 0,56 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

Procedimento geral para a síntese dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanóis racêmicos (38a-e)

Em um balão de duas bocas com capacidade para 50 mL, com agitador magnético e sob atmosfera inerte, adicionou-se: o 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**37a-e**) (4,6 mmol) em 20 mL de metanol seco. Em seguida foi adicionado, vagarosamente, o borohidreto de sódio (0,1 g; 2,6 mmol). Deixou-se o conteúdo sob agitação por 1 hora. Constatado o término da reação, foram adicionados 20 mL de solução saturada de cloreto de sódio e foi realizada extração com acetato de etila (3 x 20 mL). Secou-se com sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado so pressão reduzida e o resíduo submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel, tendo como eluente o sistema cicloexano:acetato de etila (3:2 v/v). O produto cromatograficamente puro, quando sólido, foi recristalizado em diclorometano:cicloexano. Os detalhes para estes compostos estão relacionados abaixo.

4-[3-(Fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (**38a**): óleo incolor; rendimento: 74%; R_f 0,51 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,27 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, CH_3); 1,90– 2,10 (2H, m, CH_2); 2,16 (1H, sl, OH); 3,09 (2H, dt, $J = 7,8$ Hz, 0,8 Hz, CH_2CNO); 3,95 (1H, m, CHOH); 7,43 – 7,50 (3H, m, H_{arom}); 8,04 – 8,07 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23,1; 23,6; 35,3; 66,8; 126,6; 127,3; 128,8; 131,3; 168,1; 179,9.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3395 (OH); 2964 e 2931 (C-H_{aromático}); 1562 e 1570 (C=N); 1367 (N-C-O).

E.M. m/z (%): 218 [M^+ , 7%]; 174 (64%); 160 (45%); 118 (100%); 104 (43%); 55 (47%); 45 (53%).

4-[3-(3-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (**38b**): óleo incolor; rendimento: 48%; R_f 0,56 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,29 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,64 (1H, sl, OH); 1,93 – 2,08 (2H, m, CH_2); 3,10 (2H, dt, $J = 7,5$ Hz, 1,5 Hz, CH_2CNO); 3,95 (1H, m, CH); 7,39 – 7,50 (2H, m, H_{arom}); 7,94– 8,08 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23,1; 23,6; 35,2; 66,8; 125,4; 127,4; 128,4; 130,1; 131,2; 134,9; 167,2; 180,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3403 (OH); 2972 e 2932 (C-H_{aromático}); 1587 e 1562 (C=N); 1351 (N-C-O).

E.M. m/z (%): 252 [M^+ , 4%]; 208 (70%); 194 (45%); 152 (100%); 137 (37%); 85 (64%); 55 (61%); 45 (95%).

4-[3-(4-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (**38c**): cristais incolores; rendimento: 79%; P.F.: 55°C; R_f 0,53 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,23 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, CH_3); 1,91 – 2,09 (2H, m, CH_2); 2,19 (1H, sl, OH); 3,08 (2H, dt, $J = 7,8$ Hz, 1,7 Hz, CH_2CNO); 3,95 (1H, m, CH); 7,43 (2H, dd, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 7,98 (2H, dd, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23,1; 23,6; 35,2; 66,7; 113,8; 125,2; 128,6; 129,1; 137,2; 167,3; 180,1.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3395 (OH); 2972 e 2932 (C-H_{aromático}); 1586 e 1561 (C=N); 1359 (N-C-O).

E.M. m/z (%): 252 [M^+ , 10%]; 208 (40%); 152 (85%); 137 (100%); 102 (46%); 85 (58%); 75 (42%); 55 (64%); 45 (67%).

4-[3-(4-Flúor-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (**38d**): cristais incolores; rendimento: 70%; P.F.: 45°C; R_f 0,50 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,25 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,88 – 2,08 (2H, m, CH_2); 2,45 (1H, sl, OH); 3,07 (2H, dt, $J = 7,5$ Hz, 1,7 Hz, CH_2CNO); 3,92 (1H, m, CH); 7,09 – 7,17 (2H, m, H_{arom}); 8,00 – 8,06 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23,1; 23,5; 35,2; 66,7; 116,0 ($^2J_{\text{C-F}} = 22,1$ Hz); 122,9 – 122,9 ($^4J_{\text{C-F}} = 3,2$ Hz); 129,5 ($^3J_{\text{C-F}} = 8,8$ Hz); 164,4 ($^1J_{\text{C-F}} = 250,1$ Hz); 167,3; 180,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3395 (OH); 2974 e 2931 (C- $\text{H}_{\text{aromático}}$); 1603 e 1561 (C=N); 1358 (N-C-O).

E.M. m/z (%): 236 [M^+ , 8%]; 192 (53%); 178 (40%); 136 (100%); 121 (51%); 109 (37%); 85 (42%); 55 (48%) 45 (62%).

4-[3-(4-Nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (**38e**): cristais incolores; rendimento: 73%; P.F.: 89°C; R_f 0,40 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,30 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 3,96 (1H, m, CH); 1,97 – 2,09 (2H, m, CH_2); 3,11 – 3,17 (2H, m, CH_2CNO); 8,26 (2H, dd, $J = 9,0$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 8,34 (2H, dd, $J = 9,0$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 23,1; 23,6; 35,2; 66,7; 124,0; 128,3; 132,6; 149,3; 166,6; 180,8.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3420 (OH); 2973 e 2932 (C- $\text{H}_{\text{aromático}}$); 1570 e 1520 (C=N); 1351 (N-C-O).

E.M. m/z (%): 263 [M^+ , 0,6%]; 219 (100%); 205 (40%); 163 (43%); 118 (22%); 102 (23%); 85 (44%); 55 (54%) 45 (94%).

Procedimento geral para a síntese dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butanos racêmicos (39a-e)

Em um balão com capacidade para 50 mL com agitador magnético e sob atmosfera inerte, adicionou-se o respectivo 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol racêmico (**39a-e**) (1,8 mmol) e este foi dissolvido em 10 mL de solução de piridina:acetonitrila (1:5 v/v). Acrescentou-se vagarosamente e a 0°C, com o auxílio de uma seringa, 1 mL de cloreto de acetila. Deixou-se reagir por cerca de 1 hora. Após constatado o término da reação, foram adicionados 5 mL de água destilada e solução de NaOH 10% até pH 7,0. Realizou-se extração com acetato de etila (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel, tendo como eluente sistema cicloexano:acetato de etila (4:1 v/v).

4-[3-(Fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39a**): óleo incolor; rendimento: 94%; R_f 0,87 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,26 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,96 (3H, s, CH_3); 2,07 – 2,14 (2H, m, CH_2); 2,96 (2H, dt, $J = 7,8$ Hz, 1,8 Hz, CH_2CNO); 4,98 (1H, m, CH); 7,40 – 7,45 (3H, m, H_{arom}); 8,01 – 8,05 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 19,7; 21,0; 22,7; 32,3; 69,5; 126,6; 127,2; 128,7; 131,0; 168,1; 170,4; 179,1.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2979 e 2932 (C- $\text{H}_{\text{aromático}}$); 1734 (C=O); 1587 e 1570 (C=N); 1235 (C-O-C).

E.M. m/z (%): 260 [M^+ , 6%]; 200 (92%); 173 (92%); 145 (40%); 119 (81%); 91 (37%); 82 (91%); 55 (100%).

4-[3-(3-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39b**): óleo incolor; rendimento: 85%; R_f 0,84 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,27 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,99 (3H, s, CH_3); 2,09 – 2,15 (2H, m, CH_2); 2,98 (2H, dt, $J = 7,8$ Hz, 1,7 Hz, CH_2CNO); 5,00 (1H, m, CH); 7,35 – 7,46 (2H, m, H_{arom}); 7,90 – 8,04 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 19,7; 21,1; 22,8; 32,3; 69,5; 125,3; 127,4; 128,4; 130,1; 131,1; 134,8; 167,2; 170,5; 179,4.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2940 e 2858 (C- $\text{H}_{\text{aromático}}$); 1725 (C=O); 1587 e 1563 (C=N); 1236 (C-O-C).

E.M. m/z (%): 294 [M^+ , 3%]; 234 (61%); 207 (53%); 153 (32%); 137 (28%); 82 (65%); 55 (100%).

4-[3-(4-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39c**): óleo incolor; rendimento: 94%; R_f 0,76 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,27 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,99 (3H, s, CH_3); 2,08 – 2,16 (2H, m, CH_2); 2,98 (2H, dt, $J = 7,8$ Hz, 1,5 Hz, CH_2CNO); 5,0 (1H, m, CH); 7,42 (2H, dd, $J = 8,4$ Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 7,98 (2H, dd, $J = 8,4$ Hz, 1,8 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 19,7; 21,1; 22,8; 69,5; 32,3; 125,2; 128,6; 129,1; 137,2; 167,4; 170,4; 179,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2932 e 2858 (C-H_{aromático}); 1734 (C=O); 1587 e 1562 (C=N); 1232 (C-O-C).

E.M. m/z (%): 294 [M^+ , 6%]; 234 (61%); 207 (50%); 153 (42%); 137 (27%); 82 (91%); 55 (100%)

4-[3-(4-Flúor-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39d**): óleo incolor; rendimento: 85%; R_f: 0,82 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,28 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 2,00 (3H, s, CH_3); 2,09 – 2,21 (2H, m, CH_2); 2,98 (2H, dt, $J = 7,7$ Hz, 1,7 Hz, CH_2CNO); 5,01 (1H, m, CH); 7,12– 7,17 (2H, m, H_{arom}); 8,02 – 8,07 (2H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 19,8; 21,1; 22,8; 32,4; 69,6; 116,0 ($^2J_{\text{C-F}} = 22,0$ Hz); 123,0; 129,5 ($^3J_{\text{C-F}} = 8,6$ Hz); 164,5 ($^1J_{\text{C-F}} = 250,1$ Hz); 167,4; 170,5; 179,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2930 e 2850 (C-H_{aromático}); 1734 (C=O); 1603 e 1582 (C=N); 1236 (C-O-C).

E.M. m/z (%): 278 [M^+ , 6%]; 218 (76%); 191 (60%); 163 (30%); 137 (57%); 109 (36%); 82 (92%); 55 (100%).

4-[3-(4-Nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39e**): cristais incolores; rendimento: 86%; P.F.: 63°C (diclorometano:cicloexano); R_f 0,76 (cicloexano: acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,28 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 1,99 (3H, s, CH_3); 2,10 – 2,17 (2H, m, CH_2); 2,98 (2H, dt, $J = 7,7$ Hz, 0,7 Hz, CH_2CNO); 5,01 (1H, m, CH); 8,20 – 8,31 (4H, m, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 19,7; 21,9; 22,8; 32,2; 69,4; 124,0; 128,3; 132,6; 149,3; 166,7; 170,5; 180,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2979 e 2940 (C-H_{aromático}); 1734 (C=O); 1604 e 1579 (C=N); 1520 (N=O); 1236 (C-O-C).

E.M. m/z (%): 305 [M^+ , 0,4%]; 245 (96%); 218 (56%); 190 (32%); 88 (26%); 82 (39%); 55 (100%).

Procedimento geral para a síntese dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2- acetil-butanos enriquecidos enantiomericamente através de biorredução com D. carota (38a-e)

Tratamento da cenoura: Tratou-se a cenoura recém-comprada com solução de hipoclorito de sódio (1 %) e posteriormente com etanol 70%. Retirou-se toda a parte externa e cortou-se parte interna em pedaços de aproximadamente 0,5 cm.

Biorredução: Pesou-se 50 gramas da cenoura já tratada e acrescentou-se 250 mL de água destilada em um erlenmeyer com capacidade para 500 mL. À esta biomassa, foi adicionado 0,1g do 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanona (**38a-e**) dissolvido em 2 mL de etanol. O erlenmeyer foi colocado em mesa agitadora a 170 rpm de rotação e à temperatura de 32°C. Deixou-se reagir por 4 dias. Constatado o término da reação, a biomassa foi filtrada em funil sinterizado sob vácuo e o filtrado foi submetido à extração com acetato de etila (3 x 100 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado em evaporador rotativo.

Acetilação dos 4-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanóis: Juntou-se ao resíduo bruto obtido na etapa de biorredução, 2 mL de piridina seca e 2 mL de anidrido acético. Deixou-se sob agitação, à temperatura ambiente por cerca de 12 horas. Constatado o fim da reação, juntou-se 10 mL de tolueno (para facilitar a evaporação da piridina) e evaporou-se em evaporador rotativo. Procedeu-se à cromatografia em coluna de sílica-gel, tendo como eluente o sistema cicloexano:acetato de etila (8:2 v/v).

4-[3-(Fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39a**): rendimento: 50%; e.e.: 69%

4-[3-(3-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39b**): rendimento: 34%; e.e.: 63%

4-[3-(4-Cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39c**): rendimento: 30%; e.e.: 72%

4-[3-(4-Flúor-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39d**): rendimento: 38%; e.e.: 52%

4-[3-(4-Nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-acetil-butano (**39e**): rendimento: 22%; e.e.: 62%
(verificado por RMN de ¹H com reagente de deslocamento quiral)

Reação de glicosidação do 4-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol: Formação dos diastereoisômeros 41 e 42^{55,56}

Em um balão com capacidade para 25 mL, sob agitação magnética, em atmosfera inerte e a -25°C (gelo seco em etanol), foi adicionado o 4-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-butanol (0,23 mmol; 50 mg) e o tri-*O*-acetil- α -D-glucal (0,15 mmol; 40 mg). Adicionou-se então 10 mL de diclorometano seco e em seguida o $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ com o auxílio de uma seringa (0,2 mL), em pequenas porções. A mistura reagiu por cerca de 40 minutos. Ao se constatar o término da reação por CCD, a mistura foi neutralizada com solução saturada de bicarbonato de sódio. Extraíu-se com diclorometano e evaporou-se o solvente em evaporador rotativo. A mistura foi submetida à cromatografia em coluna de sílica-gel, tendo como eluente sistema clorofórmio:acetato de etila (4:1 v/v).

(*R* e *S*)-1-Metil-3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**41** e **42**): óleo amarelo-claro; rendimento: 46%; R_f 0,57 (diclorometano: acetato de etila, 9:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1,25 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, CH_3); 2,07 (3H, s, OAc); 2,08 (3H, s, OAc); 2,04 – 2,15 (2H, m, CH_2); 2,99 – 3,20 (2H, m, CH_2CNO); 3,81 – 4,03 (2H, m, H5 e CH); 4,10 – 4,29 (2H, m, H6 e H6'); 5,21 (1H, sl, H1); 5,28 (1H, dl, $J = 9,6$ Hz, H4); 5,80 (1H, ddd, $J = 10,0$ Hz, 2,4 Hz, 1,8 Hz, H2); 5,88 (1H, dl, $J = 10,0$ Hz, H3); 7,47 – 7,49 (3H, m, H_{arom}); 8,04 – 8,08 (2H, m, H_{arom}).

7.4 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 3

As arilamidoximas **10a-b** foram sintetizadas de acordo com procedimentos já descritos na literatura.¹¹³ O 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-*O*-metóxi-carbonil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**58**) foi preparado segundo procedimento relatado por de Oliveira e colaboradores.⁷¹ Os demais reagentes não descritos foram obtidos a partir de fontes comerciais.

Síntese dos 3-*aril*-5-(4-metóxfenil)-1,2,4-oxadiazóis 56a-b

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo a correspondente arilamidoxima **10a-b** (8 mmol) e cloreto de anisóila **55** (1,6 g; 9,5 mmol), foram adicionados 20 mL de piridina e esta mistura foi refluxada por 12 horas. O solvente foi então evaporado sob pressão

reduzida e o resíduo recristalizado em mistura de metanol:água para fornecer os referidos oxadiazóis **56a-b**.

3-Fenil-5-(4-metóxfenil)-1,2,4-oxadiazol (**56a**): cristais incolores; rendimento: 83%; P.F.: 102–104 °C; R_f 0,74 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v); a RMN de ^1H está de acordo com os dados da literatura.⁴⁰

3-(4-Bromofenil)-5-(4-metóxfenil)-1,2,4-oxadiazol (**56b**): cristais incolores; rendimento: 89%; P.F. 88–91 °C; R_f 0,71 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v); a RMN de ^1H está de acordo com os dados da literatura.⁴⁰

Síntese dos 3-aril-5-(4-hidróxfenil)-1,2,4-oxadiazóis 57a-b

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 100 mL contendo o oxadiazol **56** (6,6 mmol) em 30 mL de CH_2Cl_2 seco e destilado, foram adicionados, através de ampola de adição, 20 mL de solução comercial 1M de BBr_3 em CH_2Cl_2 a -78°C . A reação foi deixada a temperatura ambiente e depois sob refluxo até a depleção do oxadiazol de partida, o que foi observado através de CCD. Então, foram adicionados 20 mL de água e foi efetuada uma extração com CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio e o solvente evaporado sob pressão reduzida para fornecer um resíduo sólido, que foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel e fornecer **57**. O produto cromatograficamente puro foi recristalizado em metanol:água. Os detalhes para estes compostos estão relacionados abaixo.

3-Fenil-5-(4-hidróxfenil)-1,2,4-oxadiazol (**57a**): cristais incolores; rendimento: 53%; P.F.: 161 °C; R_f 0,59 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v)

RMN ^1H (CDCl_3): δ 6,07 (sl, 1H, OH); 6,98 (dl, 2H, $J = 8,9\text{ Hz}$, H_{arom}); 7,50–7,53 (m, 3H, H_{arom}); 8,11–8,17 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 116,5; 127,3; 127,9; 129,3; 130,6; 155,1; 169,2; 176,0.

EMAR [IE] calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 238,0742; encontrado: 238,0741.

3-(4-Bromofenil)-5-(4-hidróxfenil)-1,2,4-oxadiazol (**57b**): cristais incolores; rendimento: 64%; P.F.: 216 °C; R_f 0,63 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 5,39 (sl, 1H, OH); 6,99 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 7,65 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 8,03 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 8,12 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$): δ 114,3; 116,5; 125,3; 125,9; 129,2; 130,4; 132,4; 162,4; 167,5; 175,9.

EMAR [IE] calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 315,9847; encontrado: 315,9857.

Síntese dos carboidratos insaturados contendo o anel de 1,2,4-oxadiazol em C-4 (59a-b)

O sistema catalítico foi preparado usando $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (37,0 mg; 0,04 mmol) e dppb (68 mg; 0,16 mmol) em tetraidrofurano seco, destilado e degaseificado sob argônio (5 mL) em um tubo tipo Schlenk. Foram então adicionados o carboidrato insaturado **58** (0,4 mmol; 140 mg) e o oxadiazol-fenol **57** (0,8 mmol), em THF seco e degaseificado (10 mL). A reação foi mantida sob agitação por 24 horas e à temperatura ambiente, quando o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo submetido à cromatografia em coluna para fornecer **59**.

6-*O*-(*Ter*-butildimetilsilil)-2,3-didesóxi-4-*O*-[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**59a**): óleo incolor; rendimento: 75%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +129$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,69 (éter de petróleo/acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 0,02 (s, 3H, SiCH_3); 0,03 (s, 3H, SiCH_3); 0,87 (s, 9H, CMe_3); 1,27 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 3,59 (dq, 1H, $J = 9,6$ Hz, 7,1 Hz, OCH_2CH_3); 3,85–3,95 (m, 3H, H6, OCH_2CH_3); 4,03–4,12 (m, 1H, H5); 5,03 (dl, 1H, $J = 8,9$ Hz, H4), 5,10 (sl, 1H, H1), 5,89 (dl, 1H, $J = 10,2$ Hz, H2), 6,06 (dl, 1H, $J = 10,2$ Hz, H3), 7,06 (dd, 2H, $J = 8,9$ Hz, 1,1 Hz, H_{arom}), 7,49–7,52 (m, 3H, H_{arom}), 8,14–8,18 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ -5,0; -4,9; 15,7; 18,8; 26,3; 62,8; 64,5; 68,7; 70,5; 94,7; 116,3; 117,7; 127,5; 127,9; 128,2; 129,2; 130,6; 131,5; 161,4; 169,2; 175,8.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 531,2291; encontrado: 531,2294.

4-*O*-{4-[3-(4-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]fenil}-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**59b**): óleo incolor; rendimento: 69%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +105,2$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,75 (éter de petróleo/acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,02 (s, 3H, SiCH_3); 0,86 (s, 9H, CMe_3); 1,25 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 3,58 (dq, 1H, $J = 9,6$ Hz, 7,1 Hz, OCH_2CH_3); 3,78–3,94 (m, 3H, H6, OCH_2CH_3); 4,05 (ddd, 1H, $J = 9,1$ Hz, 2,8 Hz, 2,6 Hz, H5); 5,02 (dl, 1H, $J = 9,1$ Hz, H4); 5,08 (sl, 1H, H1), 5,87 (ddd, 1H, $J = 10,2$ Hz, 2,6 Hz, 1,5 Hz, H2), 6,05 (dl, 1H, $J = 10,2$ Hz,

H3); 7,05 (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, 1,1 Hz, H_{arom}); 7,63 (dd, 2H, $J = 8,5$ Hz, 1,3 Hz, H_{arom}), 8,02 (dd, 2H, $J = 8,5$ Hz, 1,3 Hz, H_{arom}), 8,12 (dd, 2H, $J = 8,9$ Hz, 1,3 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ -5,0; -4,9; 15,7; 18,8; 26,3; 62,8; 64,5; 68,8; 70,5; 94,7; 116,3; 117,5; 126,0; 126,4; 128,8; 128,9; 129,4; 130,6; 132,5; 161,6; 168,5; 176,0.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 609,1396; encontrado: 609,1391.

Síntese dos glicosídeos 60a-b

Em um balão com capacidade para 25 mL contendo o carboidrato insaturado **59** (1 mmol) dissolvido em uma mistura de acetona:água (4:1), foram adicionados OsO_4 (0,25 mg, 2 mol%) e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido (NMO) (458 mg, 4 mmol) a 0 °C. A reação ficou sob agitação por cerca de 12 horas à temperatura ambiente, quando NaHSO_3 (500 mg) foi adicionado e o sistema reagiu por mais 30 minutos. A mistura reacional foi diluída em 5 mL de água, extraída com AcOEt (2 x 10 mL), seca em Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado para fornecer o correspondente diol. O resíduo bruto foi submetido à reação com Ac_2O (4 mL) em piridina (4 mL) por mais 12 horas. O solvente foi evaporado e cromatografado em coluna de sílica para fornecer o derivado manopiranosídico **60**.

2,3-di-*O*-Acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-*O*-[4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)fenil]- α -D-manopiranosídeo de etila (**60a**): óleo incolor; rendimento: 81%; $[\alpha]_D^{20} +104,1$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,84 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ -0,11 (s, 3H, SiCH_3); 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,83 (s, 9H, CMe_3); 1,18 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,73 (s, 3H, OAc); 2,07 (s, 3H, OAc); 3,46 (dq, 1H, $J = 9,6$ Hz, 7,1 Hz, OCH_2CH_3); 3,69 (dq, 1H, $J = 9,6$ Hz, 7,1 Hz, OCH_2CH_3); 3,73–3,86 (m, 3H, H6, H5), 4,75 (sl, 1H, H1), 4,85 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 9,6 Hz, H4), 5,13 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, 1,7 Hz, H2); 5,52 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 3,2 Hz, H3); 7,14 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,42–7,44 (m, 3H, H_{arom}), 8,05 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 8,07–8,10 (m, 2H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ -5,2; -4,9; 15,4; 18,6; 21,1; 21,3; 26,2; 61,6; 64,0; 71,0; 71,9; 72,6; 97,5; 117,2; 118,1; 127,5; 127,9; 129,2; 130,3; 131,5; 163,3; 169,2; 170,1; 170,5; 175,8.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_9\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 649,2557; encontrado: 649,2565.

2,3-di-*O*-Acetil-4-*O*-{4-[3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]fenil}-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)- α -D-manopiranosídeo de etila (**60b**): óleo amarelo; rendimento: 71%; $[\alpha]_D^{20} + 99$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,71 (éter de petróleo:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ – 0,11 (s, 3H, SiCH_3); 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,83 (s, 9H, CMe_3); 1,18 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,72 (s, 3H, OAc); 2,07 (s, 3H, OAc); 3,46 (dq, 1H, $J = 9,6$ Hz, 7,1 Hz, OCH_2CH_3); 3,64–3,84 (m, 4H, H5, H6, OCH_2CH_3); 4,75 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H1); 4,86 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,13 (dd, 1H, $J = 3,4$ Hz, 1,8 Hz, H2); 5,51 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz, 3,4 Hz, H3); 7,16 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,57 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,96 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 8,03 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ – 5,2; – 4,8; 15,4; 18,6; 21,1; 21,3; 26,2; 61,6; 64,0; 71,0; 71,9; 72,6; 97,5; 117,2; 117,8; 126,0; 126,4; 129,4; 130,3; 132,5; 163,4; 168,5; 170,0; 170,4; 176,0.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{BrN}_2\text{O}_9\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 727,1662; encontrado: 727,1661.

7.5 – Síntese das substâncias relatadas no capítulo 4

Os açúcares funcionalizados 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-azido-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**94**),⁷¹ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil azida (**61**),¹⁰⁷ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil azida (**62**),¹⁰⁸ 3,4,6-tri-*O*-acetil-2-acetamido-2-desóxi- β -D-glucopiranosil azida (**63**),¹⁰⁷ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosil azida (**95**),¹⁰⁹ 2,2',3,3',4',6,6'-hepta-*O*-acetil- β -D-celobiosil azida (**96**),¹¹⁰ 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de propinila (**97a**)¹¹¹ e 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de 2-metil-but-3-inila (**97b**);¹¹² bem como os oxadiazóis **12a-g**,¹¹⁴ **118**,¹²³ a etinil-uracila **104**,¹¹⁶ o análogo de nucleosídeo **107**¹¹⁸ e os aminoácidos modificados **109**,¹¹⁵ **111**¹¹⁹ e **112**¹²⁰ foram sintetizados de acordo com procedimentos já descritos na literatura. Os demais reagentes não relatados foram obtidos a partir de fontes comerciais.

Síntese da arilamidoxima **99**

A arilamidoxima **99** foi sintetizada a partir da metodologia descrita por Srivastava e colaboradores¹¹³. Em um balão com capacidade para 100 mL contendo uma solução recém-preparada de cloridrato de hidroxilamina (540 mg, 7,8 mmol) e bicarbonato de sódio (655 mg, 7,8 mmol) em água (20 mL) foram adicionados 500 mg (3,9 mmol) dissolvidos em 20 mL de etanol. A mistura reagiu a temperatura ambiente por 3 dias e então o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, o resíduo extraído com acetato de etila (3 x 20 mL) e novamente evaporado. O resíduo foi então cristalizado em clorofórmio para fornecer a 4-etinilbenzamidoxima (**99**).

4-Etinilbenzamidoxima (**99**): cristais incolores; rendimento: 93%; P.F.: 132 – 133°C; R_f 0,35 (éter de petróleo:acetato de etila, 2:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,63 (s, 1H, OH); 3,16 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,86 (sl, 2H, NH_2); 7,52 (dl, 2H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom}); 7,60 (dl, 2H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom}).

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$: C, 67,49%; H, 5,03%; N, 17,49%; encontrado: C, 67,15%; H, 4,86%; N, 17,67%.

Síntese do oxadiazol **100**

Em uma solução da amidoxima **99** em diclorometano seco (30 mL) e sob atmosfera inerte, foram adicionados ácido benzóico (0,85 g; 6,94 mmol) e DCC (1,43 g; 6,94 mmol). A mistura reagiu por 3 horas, os sólidos foram removidos por filtração, o solvente evaporado e o resíduo submetido à reação de ciclização térmica a 110 – 120 °C por mais 4 horas. O resíduo bruto foi então cromatografado em coluna de sílica e posteriormente recristalizado em metanol:água para fornecer o oxadiazol **100**.

3-(4-Etinilfenil)-5-fenil-1,2,4-oxadiazol (**100**): cristais incolores; rendimento: 54%; P.F.: 99 – 100 °C; R_f 0,6 (éter de petróleo:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 3,21 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 7,51–7,63 (m, 5H, H_{arom}); 8,13 (dl, 2H, $J = 6,7$ Hz, H_{arom}); 8,21 (dl, 2H, $J = 6,7$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 79,7; 83,5; 124,5; 125,3; 127,5; 127,8; 128,6; 129,5; 133,0; 133,2; 168,7; 176,3.

EMAR [IE] calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$: 246,7930; encontrado: 246,0805.

Síntese dos oxadiazóis **101a-b**

Em uma solução do oxadiazol **12** (0,92 mmol) em THF anidro (10 mL), a –25 °C e sob atmosfera inerte, foram adicionados *N*-metil-morfolina (93 mg; 0,92 mmol), cloroformiato de isobutila (130 mg; 0,92 mmol) e propargilamina (60 mg; 1,0 mmol). A mistura reagiu por cerca de 24 horas, quando então o solvente foi removido a vácuo e 10 mL de água foram adicionados seguidos da adição de solução de HCl 1N até pH 1 – 2. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL), lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio e salina. As fases orgânicas foram reunidas, secas com Na_2SO_4 , o

solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo recristalizado em diclorometano:hexano (5:1 v/v) para fornecer o oxadiazol **101**.

3-(3-Fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-*N*-(prop-2-in-1-il)propanamida (**101a**): cristais incolores; rendimento: 78%; P.F.: 97 - 98 °C; R_f 0,48 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,23 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 2,82 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,32 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,09 (dd, 2H, $J = 5,2$ Hz, 2,5 Hz, NCH_2); 5,95 (sl, 1H, NH); 7,44–7,51 (m, 3H, H_{arom}); 8,05 (dd, 2H, $J = 7,7$ Hz, 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 22,7; 29,8; 32,4; 72,2; 79,7; 127,1; 127,8; 129,2; 131,6; 168,6; 170,4; 179,1.

EMAR [IE] calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$: 255,1009; encontrado: 255,1023.

3-[3-(4-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-*N*-(prop-2-in-1-il)propanamida (**101b**): cristais incolores; rendimento: 71%; P.F.: 170 - 171 °C; R_f 0,52 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,24 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 2,81 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,31 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,08 (dd, 2H, $J = 5,2$ Hz, 2,5 Hz, NCH_2); 5,94 (sl, 1H, NH); 7,62 (dl, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,93 (dl, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$): δ 21,1; 27,2; 30,0; 72,3; 80,3; 124,3; 124,8; 128,2; 131,6; 166,0; 169,0; 179,5.

EMAR [IE] calc. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_2$: 333,0113; encontrado: 333,0122.

Síntese do aminoácido modificado 113

A uma solução de NaOH 2,5% em metanol (1g de NaOH em 40 mL de metanol), foi adicionado o aminoácido propargílico **112** (1,12 g; 3,14 mmol) e esta mistura reagiu por cerca de 3 horas em temperatura ambiente. Depois de verificado o consumo do composto de partida por CCD, a mistura foi acidificada cuidadosamente com solução de HCl 10% até pH 6,0. Foi feita então uma extração com acetato de etila (3 x 50mL), as fases orgânicas foram secas com Na_2SO_4 e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido à cromatografia em coluna para fornecer **113**.

N-(*Ter*-butóxicarbonil)-*O*-prop-2-in-1-il-L-tirosina (**113**): óleo amarelo; rendimento: 55%; $[\alpha]_D^{20} +26$ (c 0,5; CH_2Cl_2); R_f 0,54 (acetato de etila).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,42 (s, 9H, Boc); 2,52 (t, 1H, $J = 2,4\text{ Hz}$, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,03 (dd, 1H, $J = 6,1\text{ Hz}$, 14,0 Hz, CH_2Ph); 3,14 (dd, 1H, $J = 5,1\text{ Hz}$, 14,0 Hz, CH_2Ph); 4,56 – 4,62 (m, 1H, CHN); 4,67 (d, 2H, $J = 2,4\text{ Hz}$, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 4,95 (d, 1H, $J = 7,7\text{ Hz}$, NH); 6,92 (d, 2H, $J = 8,7\text{ Hz}$, H_{arom}); 7,12 (d, 2H, $J = 8,3\text{ Hz}$, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 28,7; 54,8; 56,2; 76,0; 79,0; 115,4; 130,9; 157,0; 157,1; 176,6.

EMAR [IE] calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{Na}$: 342,1317; encontrado: 342,1319.

Síntese do aminoácido modificado 114

A uma solução contendo o derivado ácido **113** (0,2g; 0,63 mmol) dissolvido em THF (5 mL), foi adicionada uma solução etérea de diazometano (0,026g; 0,63 mmol; obtido a partir da reação de 0,32g de *N*-metil-*N*-nitrosotolueno-*p*-sulfonamida com KOH etanólico).¹⁵⁴ Depois de verificado o consumo do composto de partida, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo cromatografado em coluna de sílica e posteriormente recristalizado em clorofórmio:hexano para fornecer **114**.

Metil *N*-(*ter*-butóxicarbonil)-*O*-prop-2-in-1-il-L-tirosinato (**114**): cristais incolores; rendimento: 83%; P.F.: 78 – 80°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 35,7$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,7 (acetato de etila).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,42 (s, 9H, Boc); 2,52 (t, 1H, $J = 2,5\text{ Hz}$, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 2,99 (dd, 1H, $J = 6,0\text{ Hz}$, 14,0 Hz, CH_2Ph); 3,06 (dd, 1H, $J = 5,9\text{ Hz}$, 14,0 Hz, CH_2Ph); 3,71 (s, 3H, OCH_3); 4,54 (ddd, 1H, $J = 5,9\text{ Hz}$, 6,0 Hz, 7,9 Hz, CHN); 4,66 (d, 2H, $J = 2,5\text{ Hz}$, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 4,97 (d, 1H, $J = 7,9\text{ Hz}$, NH); 6,90 (d, 2H, $J = 8,6\text{ Hz}$, H_{arom}); 7,06 (d, 2H, $J = 8,6\text{ Hz}$, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 28,7; 37,9; 52,6; 54,9; 56,2; 75,9; 79,0; 80,3; 115,3; 129,4; 130,7; 155,5; 157,0; 172,8.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_5$: C, 64,85%; H, 6,95%; encontrado: C, 64,52%; H, 7,21%.

Síntese dos triazóis 115a-h

O azido-carboidrato **94** (313 mg, 1 mmol) e o derivado acetilênico (3 mmol) foram suspensos em uma mistura 1:1 de *ter*-butanol/água (4 mL). A esta solução foram adicionados uma mistura de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (36 mg; 0,2 mmol) e ascorbato de sódio (79 mg; 0,4 mmol) em *ter*-BuOH/ H_2O (1 mL). A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por cerca de 12 horas quando foram adicionados 3 mL de água e a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 5 mL). As fases orgânicas foram combinadas, secas com sulfato de sódio anidro e o

solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado em coluna de sílica para fornecer **115**.

6-*O*-(*Ter*-butildimetilsilil)-4-{4-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**115a**): cristais incolores; rendimento: 80%; $[\alpha]_D^{20} + 121,1$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); P.F.: 58-59°C (clorofórmio:hexano); *R_f* 0,24 (éter de petróleo:acetato de etila, 9:1 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,02 (s, 3H, SiCH₃); 0,85 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,26 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz, OCH₂CH₃); 3,60 (dq, 1H, *J* = 7,2 Hz, 9,5 Hz, OCH₂CH₃); 3,62 (dd, 1H, *J* = 4,7 Hz, 11,7 Hz, H₆); 3,71 (dd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 11,7 Hz, H_{6'}); 3,89 (dq, 1H, *J* = 7,2 Hz, 9,5 Hz, OCH₂CH₃); 4,13 (ddd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 4,7 Hz, 9,6 Hz, H₅); 5,15 (sl, 1H, H₁); 5,42 (dl, 1H, *J* = 9,6 Hz, H₄); 6,00 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H₂); 6,08 (ddd, 1H, *J* = 2,5 Hz, 2,5 Hz, 10,0 Hz, H₃); 7,50 – 7,62 (m, 3H, H_{arom}); 7,90 (s, 1H, H_{triazol}); 7,96 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 8,10 – 8,25 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,0; 15,7; 18,7; 26,3; 55,4; 62,8; 64,7; 71,6; 94,2; 119,4; 126,4; 128,1; 128,5; 128,5; 129,5; 129,9; 133,2; 133,5; 147,7; 169,0; 176,1.

Anal. Elementar calc. para C₃₀H₃₇N₅O₄Si: C, 64,37%; H, 6,66%; encontrado: C, 63,88%; H, 6,68%.

N-[3-(3-Fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)]-*N*-[1-[etil 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]propanamida (**115b**): óleo incolor; rendimento: 79%; $[\alpha]_D^{20} + 61,2$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R_f* 0,2 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,01 (s, 3H, SiCH₃); 0,87 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,24 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 2,81 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 3,30 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 3,53 (dd, 1H, *J* = 4,9 Hz, 11,7 Hz, H₆); 3,57 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,6 Hz, OCH₂CH₃); 3,64 (dd, 1H, *J* = 2,2 Hz, 11,7 Hz, H_{6'}); 3,86 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,6 Hz, OCH₂CH₃); 4,06 (ddd, 1H, *J* = 2,2 Hz, 4,9 Hz, 9,8 Hz, H₅); 4,51 (dd, 1H, *J* = 5,6 Hz, 15,2 Hz, CH₂N); 4,57 (dd, 1H, *J* = 5,6 Hz, 15,2 Hz, CH₂N); 5,11 (sl, 1H, H₁); 5,30 (dl, 1H, *J* = 9,8 Hz, H₄); 5,85 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H₂); 6,00 (ddd, 1H, *J* = 2,6 Hz, 2,8 Hz, 10,0 Hz, H₃); 6,64 (tl, 1H, *J* = 5,6 Hz, NH); 7,43 – 7,52 (m, 3H, H_{arom}); 7,57 (s, 1H, H_{triazol}); 8,02 (dd, 2H, *J* = 2,2 Hz, 7,7 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,1 -5,0; 15,6; 18,7; 22,7; 26,2; 32,3; 35,2; 55,2; 62,7; 64,6; 71,2; 94,2; 121,9; 127,1; 127,7; 127,9; 129,2; 129,5; 131,5; 145,2; 168,5; 170,8; 179,2.

Anal. Elementar calc. para $C_{28}H_{40}N_6O_5Si$: C, 59,13%; H, 7,09%; encontrado: C, 59,51%; H, 7,20%.

N-{3-[3-(4-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]}-*N*-[1-[etil 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil]propanamida (**115c**): cristais incolores; rendimento: 77%; P.F.: 39 – 40 °C; $[\alpha]_D^{20} + 56,5$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,23 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 0,00 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,01 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,87 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 1,25 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 2,81 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2); 3,30 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2); 3,52 (dd, 1H, $J = 4,7$ Hz, 11,5 Hz, H6); 3,57 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,6 Hz, OCH_2CH_3); 3,64 (dd, 1H, $J = 2,2$ Hz, 11,5 Hz, H6'); 3,87 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,6 Hz, OCH_2CH_3); 4,06 (ddd, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4,7 Hz, 9,8 Hz, H5); 4,51 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,2 Hz, CH_2N); 4,57 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,2 Hz, CH_2N); 5,11 (bs, 1H, H1); 5,30 (dl, 1H, $J = 9,8$ Hz, H4); 5,87 (dl, 1H, $J = 10,0$ Hz, H2); 6,02 (ddd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 2,8 Hz, 10,0 Hz, H3); 6,34 (tl, 1H, $J = 5,6$ Hz, NH); 7,55 (s, 1H, $H_{triazol}$); 7,61 (dd, 2H, $J = 1,9$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}); 7,91 (dd, 2H, $J = 1,9$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ -5,0 -5,1; 15,6; 18,7; 22,7; 26,2; 32,3; 35,2; 55,3; 62,7; 64,6; 71,2; 94,2; 121,9; 126,0; 126,1; 127,9; 129,3; 129,6; 132,5; 145,1; 167,8; 170,7; 179,5.

Anal. Elementar calc. para $C_{28}H_{39}BrN_6O_5Si$: C, 51,93%; H, 6,07%; encontrado: C, 52,02%; H, 6,22%.

6-*O*-(*Ter*-butildimetilsilil)-4-{4-[2,4-dioxo-3,4-diidropirimidin-1-(2*H*)-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**115d**): cristais incolores; rendimento: 37%; P.F. 189 – 190 °C (metanol:éter dietílico); $[\alpha]_D^{20} + 89$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,59 (acetato de etila).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 0,02 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,04 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,88 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 1,30 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 3,59-3,76 (m, 2H, OCH_2CH_3 , H6); 3,71 (dl, 1H, $J = 10,0$ Hz, H6'); 3,93 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,4 Hz, OCH_2CH_3); 4,22 (ddd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 2,1 Hz, 10,0 Hz, H5); 5,18 (bs, 1H, H1); 5,44 (dl, 1H, $J = 10,0$ Hz, H4); 6,02 (d, 1H, $J = 10,2$ Hz, H2); 6,09 (ddd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 2,2 Hz, 10,2 Hz, H3); 8,40 (s, 1H, $H_{triazol}$); 8,76 (s, 1H, H_{uracil}); 10,82 (sl, 1H, NH); 11,17 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ -5,0; 15,6; 18,7; 26,3; 55,7; 62,8; 64,6; 71,2; 94,3; 105,8; 118,3; 121,7; 129,5; 140,1; 152,9; 163,0.

EMAR [IES] calc. para $C_{20}H_{31}N_5O_5NaSi$ $[M + Na]^+$: 472,19922; encontrado: 472,1986.

6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi-4-[5-{1-[etil 6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}-2,4-dioxo-3,4-diidropirimidin-1(2*H*)-il] α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo de etila (**115e**): cristais incolores; rendimento: 75%; P.F.: 83 – 84°C (acetato de etila:éter de petróleo); $[\alpha]_D^{20} + 119,7$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,36 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 0,02 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,03 (s, 6H, 2 $SiCH_3$); 0,04 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,85 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 0,89 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 1,28 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,29 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 3,57–3,66 (m, 3H, 2 H6, H6'); 3,69 (dl, 1H, $J = 11,7$ Hz, H6'); 3,72–3,81 (m, 2H, OCH_2CH_3); 3,87–3,95 (m, 2H, OCH_2CH_3); 4,04 (m, 1H, H5); 4,17 (ddd, 1H, $J = 1,6$ Hz, 2,1 Hz, 9,8 Hz, H5); 5,10 (sl, 1H, H1); 5,16 (sl, 1H, H1); 5,33 (dl, 1H, $J = 5,4$ Hz, H4); 5,40 (dl, 1H, $J = 9,8$ Hz, H4); 5,83 (dl, 1H, $J = 10,1$ Hz, H2); 5,97 (dl, 1H, $J = 10,1$ Hz, H2); 6,05 (ddd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 2,5 Hz, 10,1 Hz, H3); 6,11 (dl, 1H, $J = 10,1$ Hz, H3); 8,25 (s, 1H, $H_{triazol}$); 8,26 (s, 1H, H_{uracil}); 8,64 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ -5,2; -5,1; -5,0; 15,6; 18,7; 26,2; 55,3; 62,7; 64,3; 64,5; 71,2; 94,1; 94,2; 107,0; 121,5; 128,3; 128,8; 129,4; 139,5; 151,1; 161,4.

Anal. Elementar calc. para $C_{34}H_{57}N_5O_8Si_2$: C, 56,72%; H, 7,98%; encontrado: C, 56,78%; H, 8,65%.

N-(*Ter*-butóxicarbonil)-*N*-{[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil)-2,3,4-tridesóxi- α -L-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-L-fenilalaninamida (**115f**): cristais incolores; rendimento: 73%; P.F.: 53–54°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 59,2$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,53 (diclorometano:acetato de etila, 4:1v/v).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 0,00 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,01 (s, 3H, $SiCH_3$); 0,87 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 1,26 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,39 (s, 9H, Boc); 3,06 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2); 3,53 – 3,63 (m, 2H, H6, OCH_2CH_3); 4,07 (ddd, 1H, $J = 2,1$ Hz, 3,0 Hz, 9,4 Hz, H5); 4,33 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, NH); 4,43 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,2 Hz, CH_2Ph); 4,50 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,2 Hz, CH_2Ph); 4,95 (sl, 1H, NH); 5,13 (sl, 1H, H1); 5,32 (dl, 1H, $J = 9,4$ Hz, H4); 5,89 (dl, 1H, $J = 10,4$ Hz, H2); 6,05 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 2,8 Hz, 10,2 Hz, H3); 6,36 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, CHN); 7,16 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, H_{arom}); 7,24 – 7,30 (m, 3H, H_{arom}); 7,46 (s, 1H, $H_{triazol}$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ -5,1; -5,0; 15,6; 18,7; 26,2; 28,6; 35,3; 39,0; 55,2; 62,7; 64,5; 71,2; 94,2; 121,5; 127,3; 127,9; 128,9; 129,6; 129,7; 137,0; 145,2; 155,7; 171,8.

EMAR [IES] calc. para $C_{31}H_{49}N_5O_6SiNa$ $[M + Na]^+$: 638,33498; encontrado: 638,3348.

Metil *N*-{3-[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]propanoil}-L-fenilalaninato (**115g**): óleo incolor; rendimento: 70%; $[\alpha]_D^{20} + 94,7$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,63 (éter de petróleo:acetato de etila, 2:1 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,02 (s, 3H, SiCH₃); 0,87 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,25 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 2,61 (t, 1H, *J* = 7,0 Hz, CH₂); 3,02 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 3,07 (m, 1H, CH₂Ph); 3,11 (dd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 14,1 Hz, CH₂Ph); 3,53 – 3,61 (m, 2H, OCH₂CH₃, H₆); 3,65 (dd, 1H, *J* = 2,1 Hz, 11,7 Hz, H_{6'}); 3,71 (s, 3H, OCH₃); 3,87 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,6 Hz, OCH₂CH₃); 4,06 (ddd, 1H, *J* = 2,1 Hz, 4,9 Hz, 9,8 Hz; H₅); 4,85 (ddd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 5,9 Hz, 7,5 Hz CHN); 5,11 (sl, 1H, H₁); 5,29 (ddd, 1H, *J* = 1,7 Hz, 1,9 Hz, 9,8 Hz, H₄); 5,90 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H₂); 6,00 (ddd, 1H, *J* = 2,6 Hz, 2,6 Hz, 10,0 Hz, H₃); 6,16 (dl, 1H, *J* = 7,5 Hz, NH); 7,04 (dd, 2H, *J* = 1,6 Hz, 7,6 Hz, H_{arom}); 7,20 – 7,31 (m, 3H, H_{arom}); 7,39 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,1; -5,0; 15,6; 18,7; 21,7; 26,2; 38,7; 38,2; 52,6; 53,6; 55,1; 62,7; 64,5; 71,3; 94,2; 120,7; 127,4; 128,2; 128,9; 129,4; 129,5; 136,2; 147,0; 171,9; 172,3.

Anal. Elementar calc. para C₂₉H₄₄N₄O₆Si: C, 60,81%; H, 7,74%; encontrado: C, 60,68%; H, 7,80%.

Metil *N*-(*ter*-butóxicarbonil)-*O*-{[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosid-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-L-tirosinato (**115h**): óleo incolor; rendimento: 60%; $[\alpha]_D^{20} + 81,9$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,58 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,02 (s, 3H, SiCH₃); 0,03 (s, 3H, SiCH₃); 0,88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,27 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 1,43 (s, 9H, Boc); 3,01 (dd, 1H, *J* = 6,2 Hz, 14,5 Hz, CH₂Ph); 3,07 (dd, 1H, *J* = 6,0 Hz, 14,1 Hz, CH₂Ph); 3,56 – 3,72 (m, 3H, OCH₂CH₃, H₆ e H_{6'}); 3,72 (s, 3H, OCH₃); 3,89 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,5 Hz, OCH₂CH₃); 4,12 (m, 1H, H₅); 4,55 (m, 1H, CHN); 4,98 (dl, 1H, *J* = 7,9 Hz, NH); 5,15 (sl, 1H, H₁); 5,18 (s, 2H, OCH₂); 5,38 (dl, 1H, *J* = 9,8 Hz, H₄); 5,98 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H₂); 6,05 (ddd, 1H, *J* = 2,5 Hz, 2,5 Hz, 10,0 Hz, H₃); 6,92 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom}); 7,05 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom}); 7,70 (s, 1H, H_{triazol}).

¹³C RMN (CDCl₃): δ -5,1; -5,0; 15,6; 18,7; 26,2; 28,7; 52,6; 53,8; 55,3; 62,5; 62,7; 64,6; 71,4; 94,2; 115,1; 122,0; 128,0; 129,0; 129,7; 130,7; 144,9; 155,5; 157,7; 172,7.

Anal. Elementar calc. para C₃₂H₅₀N₄O₈Si: C, 59,42%; H, 7,79%; encontrado: C, 58,81%; H, 7,73%.

Síntese dos manopiranosídeos 116a-c e 116f-h

Em um balão com capacidade para 25 mL contendo o carboidrato insaturado **115** (1 mmol) dissolvido em uma mistura de acetona:água (4:1 v/v), foram adicionados OsO₄ (0,25 mg, 2 mol %) e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido (NMO) (458 mg, 4 mmol) a 0 °C. A mistura ficou sob agitação por cerca de 12 horas a temperatura ambiente e então NaHSO₃ (500 mg) foi adicionado e a mistura resultante reagiu por mais 30 minutos. O conteúdo do balão foi diluído em 5 mL de água, extraído com acetato de etila (2 x 10 mL), seco em Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para fornecer o correspondente diol. O resíduo bruto foi submetido à reação com anidrido acético (4 mL) e piridina (4 mL) por mais 12 horas. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e então cromatografado em coluna de sílica para fornecer o derivado manopiranosídico **116**. Os detalhes desta série de produtos são mostrados abaixo.

2,3-di-*O*-Acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-4-{4'-[4'-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il-fenil)]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}- α -D-manopiranosídeo de etila (**116a**): cristais incolores; rendimento: 65%; P.F.: 73-74°C (clorofórmio:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 59,5$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R_f* 0,77 (diclorometano:acetato de etila, 9:1 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ -0,05 (s, 3H, SiCH₃); 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,23 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 1,79 (s, 3H, OAc); 2,11 (s, 3H, OAc); 3,34 (dd, 1H, *J* = 3,1 Hz, 11,9 Hz, H6); 3,53 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,8 Hz, OCH₂CH₃); 3,61 (dd, 1H, *J* = 1,5 Hz, 11,9 Hz, H6'); 3,75 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,8 Hz, OCH₂CH₃); 4,32 (dl, 1H, *J* = 10,7 Hz; H5); 4,87 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H1); 5,04 (dd, 1H, *J* = 10,7 Hz, 11,3 Hz, H4); 5,31 (dd, 1H, *J* = 1,7 Hz, 3,4 Hz, H2); 5,91 (dd, 1H, *J* = 3,4 Hz, 11,3 Hz, H3); 7,47 – 7,59 (m, 3H, H_{arom}); 7,85 (s, 1H, H_{triazol}); 7,92 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz, H_{arom}); 8,16 (dd, 4H, *J* = 1,7 Hz, 6,6 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,1; - 4,9; 15,4; 18,7; 20,9; 21,2; 26,2; 56,8; 62,1; 64,4; 69,1; 69,5; 71,8; 97,8; 121,5; 124,6; 126,4; 127,1; 128,5; 128,6; 129,5; 133,2; 133,4; 146,9; 169,0; 169,6; 170,3; 176,2.

EMAR [IES] calc. para C₃₄H₄₃N₅O₈NaSi [M + Na]⁺: 700,2779; encontrado: 700,2765.

N-[3-(3-Fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)]-*N*-[1-[etil 2,3-di-*O*-acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)- α -D-manopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]propanamida (**116b**): óleo incolor;

rendimento: 65%; $[\alpha]_D^{20} + 44,4$ (*c* 0,55; CH₂Cl₂); *R*_f 0,2 (diclorometano, acetato de etila, 4:1, v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,10 (s, 3H, SiCH₃); 0,93 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,30 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 1,85 (s, 3H, OAc); 2,18 (s, 3H, OAc); 2,84 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 3,28 – 3,35 (m, 3H, H₆, CH₂); 3,52 – 3,66 (m, 2H, OCH₂CH₃, H_{6'}); 3,81 (dq, 1H, *J* = 7,2 Hz, 9,8 Hz, OCH₂CH₃); 4,36 (dl, 1H, *J* = 10,6 Hz, H₅); 4,51 (d, 2H, *J* = 5,5 Hz, CH₂N); 4,93 (sl, 1H, H₁); 5,01 (dd, 1H, *J* = 10,6 Hz, 10,9 Hz, H₄); 5,34 (dd, 1H, *J* = 1,8 Hz, 3,2 Hz, H₂); 5,87 (dd, 1H, *J* = 3,2 Hz, 10,9 Hz, H₃); 6,56 (tl, 1H, *J* = 5,5 Hz, NH); 7,47 – 7,52 (m, 3H, H_{arom}); 7,60 (s, 1H, H_{triazol}); 8,07 (dd, 2H, *J* = 1,8 Hz, 5,0 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,2; -4,9; 15,3; 18,6; 20,83; 21,18; 22,7; 26,2; 32,4; 35,4; 56,6; 61,9; 64,3; 69,20; 69,4; 71,4; 97,7; 127,1; 127,8; 129,2; 131,5; 168,6; 169,5; 170,3; 170,7; 179,1.

EMAR [IES] calc. para C₃₂H₄₆N₆O₉SiNa [M + Na]⁺: 709.29933; encontrado: 709.2992.

N-{3-[3-(4-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]}-*N*-[1-[etil 2,3-di-*O*-acetil-6-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-α-D-manopiranosid-4-il]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]propanamida (**116c**): cristais incolores; rendimento: 84%; P.F.: 47-48°C; $[\alpha]_D^{20} + 37,0$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,2 (diclorometano:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,00 (s, 3H, SiCH₃); 0,06 (s, 3H, SiCH₃); 0,93 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 1,29 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz, OCH₂CH₃); 1,85 (s, 3H, OAc); 2,18 (s, 3H, OAc); 2,84 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz, CH₂); 3,31 (m, 3H, CH₂, H₆); 3,59 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,8 Hz, OCH₂CH₃); 3,64 (dl, 1H, *J* = 13,0 Hz, H_{6'}); 3,81 (dq, 1H, *J* = 7,1 Hz, 9,8 Hz, OCH₂CH₃); 4,37 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H₅); 4,51 (dd, 1H, *J* = 5,8 Hz, 11,7 Hz, CH₂N); 4,58 (dd, 1H, *J* = 5,5 Hz, 11,7 Hz, CH₂N); 4,93 (sl, 1H, H₁); 5,01 (dd, 1H, *J* = 10,2 Hz, 11,1 Hz, H₄); 5,33 (dl, 1H, *J* = 3,2 Hz, H₂); 5,87 (dd, 1H, *J* = 3,2 Hz, 11,1 Hz, H₃); 6,82 (tl, 1H, *J* = 5,5 Hz, NH); 7,61 (s, 1H, H_{triazol}); 7,64 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 7,95 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ -5,2; -4,9; 15,3; 18,6; 20,8; 21,2; 22,6; 26,2; 32,3; 35,3; 56,6; 61,9; 64,3; 69,2; 69,4; 71,4; 97,7; 126,1; 129,3; 132,5; 167,9; 169,4; 170,3; 170,6; 179,4.

EMAR [IES] calc. para C₃₂H₄₅BrN₆O₉SiNa [M + Na]⁺: 787.20984; encontrado: 787.2093.

N-(*Ter*-butóxicarbonil)-*N*-[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil-2,3-di-*O*-acetil-4-desóxi-α-manopiranosid-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil]-*L*-fenilalaninamida (**115f**): cristais incolores; rendimento: 63%; P.F.: 66-67°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 39,4$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,75 (diclorometano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,05 (s, 3H, SiCH_3); 0,92 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$); 1,29 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, OCH_2CH_3); 1,39 (s, 9H, Boc); 1,83 (s, 3H, OAc); 2,16 (s, 3H, OAc); 3,05 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2); 3,34 (dd, 1H, $J = 3,0$ Hz, 11,9 Hz, H6); 3,56 (dq, 1H, $J = 7,2$ Hz, 9,8 Hz, OCH_2CH_3); 3,63 (dl, 1H, $J = 11,9$ Hz, H6'); 3,80 (dq, 1H, $J = 7,2$ Hz, 9,8 Hz, OCH_2CH_3); 4,38 – 4,35 (m, 2H, H5, NH); 4,41 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,2 Hz, CH_2Ph); 4,52 (dd, 1H, $J = 5,8$ Hz, 15,2 Hz, CH_2Ph); 4,91 (sl, 1H, H1); 4,94 (sl, 1H, NH); 4,98 (dd, 1H, $J = 10,7$ Hz, 10,7 Hz, H4); 5,33 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz, 1,7 Hz, H2); 5,83 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, 10,7 Hz, H3); 6,48 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 5,8 Hz, CHN); 7,14 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, H_{arom}); 7,22 – 7,32 (m, 3H, H_{arom}); 7,48 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ – 6,5; – 6,3; 13,9; 17,2; 19,4; 19,8; 24,8; 27,2; 33,9; 55,1; 60,5; 62,9; 67,9; 68,0; 70,0; 96,4; 122,3; 126,0; 127,7; 128,3; 135,5; 168,0; 168,9; 170,3.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{35}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 756.36159; encontrado: 756.3610.

Metil *N*-{3-[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil-2,3-di-*O*-acetil-4-desóxi- α -D-manopiranosid-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]propanoil-L-fenilalaninato (**116g**): óleo incolor; rendimento: 50%; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 52,8$ (c 0,6; CH_2Cl_2); R_f 0,66 (diclorometano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,05 (s, 3H, SiCH_3); 0,92 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$); 1,28 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,83 (s, 3H, OAc); 2,17 (s, 3H, OAc); 2,62 (t, 2H, CH_2 , $J = 7,3$ Hz); 3,03 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz, CH_2); 3,10 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 3,15 (dd, 1H, $J = 5,8$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 3,35 (dd, 1H, $J = 3,4$ Hz, 11,9 Hz, H6); 3,63 – 3,49 (m, 2H, OCH_2CH_3 , H6'); 3,74 (s, 3H, OCH_3); 3,81 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,8 Hz, OCH_2CH_3); 4,33 (dl, 1H, $J = 10,3$ Hz; H5); 4,87 (ddd, 1H, $J = 5,8$ Hz, 6,0 Hz, 7,8 Hz CHN); 4,91 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H1); 4,97 (dd, 1H, $J = 10,3$ Hz, 11,1 Hz, H4); 5,33 (dd, 1H, $J = 1,7$ Hz, 3,2 Hz, H2); 5,85 (dd, 1H, $J = 3,4$ Hz, 11,1 Hz, H3); 6,14 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, NH); 7,09 (dd, 2H, $J = 1,7$ Hz, 6,2 Hz, H_{arom}); 7,26 – 7,34 (m, 3H, H_{arom}); 7,40 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ –5,1; – 4,9; 15,3; 18,7; 20,8; 21,2; 21,6; 26,2; 35,7; 38,2; 52,7; 53,5; 56,4; 62,0; 64,3; 69,2; 69,5; 71,6; 97,7; 122,5; 127,6; 129,0; 129,6; 136,2; 169,5; 170,3; 171,7; 172,3.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 713.31939; encontrado: 713.3190.

Metil *N*-(*ter*-butóxicarbonil)-*N*-{[1-(etil 6-*O*-*ter*-butildimetilsilil-2,3-di-*O*-acetil-4-deóxi- α -D-manopiranosid-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-L-tirosinato (**116h**): cristais incolores;

rendimento: 61%; P.F.: 62-63°C; $[\alpha]_D^{20} + 62,3$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,81 (diclorometano:acetato de etila, 4:1 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ -0,06 (s, 3H, SiCH_3); 0,00 (s, 3H, SiCH_3); 0,86 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$); 1,23 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz, OCH_2CH_3); 1,38 (s, 9H, Boc); 1,75 (s, 3H, OAc); 2,10 (s, 3H, OAc); 2,95 (dd, 1H, $J = 6,2$ Hz, 14,0 Hz, CH_2Ph); 3,01 (dd, 1H, $J = 5,8$ Hz, 14,0 Hz, CH_2Ph); 3,28 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, 11,8 Hz, H6); 3,51 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,8 Hz, OCH_2CH_3); 3,59 (dl, 1H, $J = 12,0$ Hz, H6'); 3,67 (s, 3H, OCH_3); 3,74 (dq, 1H, $J = 7,1$ Hz, 9,8 Hz, OCH_2CH_3); 4,32 (dl, 1H, $J = 10,0$ Hz, H5); 4,49 (m, 1H, CHN); 4,86 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz, H1); 4,93 (dl, 1H, $J = 8,0$ Hz, NH); 4,97 (dd, 1H, $J = 10,9$ Hz, 10,9 Hz, H4); 5,14 (s, 2H, OCH_2); 5,28 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz, 2,8 Hz, H2); 5,85 (dd, 1H, $J = 3,3$ Hz, 11,2 Hz, H3); 6,84 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 6,99 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,59 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ -5,2; -4,9; 15,3; 18,6; 20,8; 21,2; 26,2; 28,7; 37,8; 52,6; 54,9; 56,6; 61,9; 62,5; 64,3; 69,2; 69,5; 71,6; 97,8; 115,2; 124,1; 129,0; 130,7; 144,3; 157,7; 169,4; 170,3; 172,7.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 787,35617; encontrado: 787,3568.

Síntese dos oxadiazóis 117a-b e 120

A uma suspensão do oxadiazol **57** ou **119** (1,26 mmol) e K_2CO_3 (260 mg; 1,9 mmol) em DMF seca (8 mL) foram adicionados 220 mg de brometo de propargila (1,9 mmol; sol. 80% em tolueno). A mistura ficou sob agitação por 30 horas, sob atmosfera inerte. Foram então adicionados 20 mL de água à esta mistura e foi realizada uma extração com acetato de etila (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio e salina, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido à cromatografia em coluna e recristalizado em metanol:água para fornecer **117** ou **120**.

3-Fenil-5-[4-(prop-2-in-1-ilóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol (**117a**): cristais incolores; rendimento: 57%; P.F.: 107-108°C; R_f 0,82 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,58 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,79 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz; CH_2); 7,13 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, $\text{H}_{\text{aromatic}}$); 7,49 – 7,52 (m, 3H, H_{arom}); 8,15 – 8,20 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 56,3; 76,7; 78,1; 115,8; 118,1; 127,9; 129,2; 130,4; 131,5; 161,4; 169,2; 175,9.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 276,0899; encontrado: 276,0901.

3-(4-Bromofenil)-5-[4-(prop-2-in-1-ilóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol (**117b**): cristais incolores; rendimento: 76%; P.F.: 153-154°C; R_f 0,85 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,50 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,79 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2); 7,04 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,56 (dl, 2H, $J = 8,7$ Hz, H_{arom}); 7,95 (dl, 2H, $J = 8,7$ Hz, H_{arom}); 8,07 (dl, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 56,3; 76,7; 78,0; 115,8; 117,9; 126,0; 126,4; 129,4; 130,4; 132,5; 161,5; 168,5; 176,0.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 354,0004; encontrado: 353,9991.

[4-(5-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil](prop-2-in-1-il)amina (**120**): cristais amarelos; rendimento: 63%; P.F.: 116-117°C; R_f 0,71 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,26 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,99 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2); 4,27 (sl, 1H, NH); 6,76 (dl, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,26 – 7,61 (m, 3H, H_{arom}); 8,02 (dl, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 8,20 (dl, 2H, $J = 7,9$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 33,7; 72,1; 80,7; 113,5; 117,1; 124,9; 128,5; 129,3; 129,4; 132,9; 149,6; 169,3; 175,5.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}]^+$: 275,1059; encontrado: 275,1062.

Síntese do oxadiazol 121

A um balão com capacidade para 25 mL contendo a amidoxima **99** (0,5 g; 3,13 mmol) foram adicionados 10 mL de anidrido acético. A mistura foi mantida sob refluxo durante 4 horas, quando foi então resfriado até a temperatura ambiente. Foi adicionada solução aquosa de NaOH 2N até pH 7,0 e foi realizada extração com acetato de etila (3 x 10 mL). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna de sílica, seguido de recristalização em éter dietílico:metanol para fornecer o oxadiazol **121**.

3-(4-Etinilfenil)-5-metil-1,2,4-oxadiazol (**121**): cristais incolores; rendimento: 61%; P.F.: 70-71°C; R_f 0,65 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,64 (s, 3H, CH_3); 3,21 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 7,58 (dl, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 8,02 (dl, 2H, $J = 8,7$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 12,7; 79,7; 83,4; 125,3; 127,4; 127,6; 132,9; 168,2; 177,1.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$: 184,0636; encontrado: 184,0636.

Síntese dos oxadiazóis 122a-g

A um balão com capacidade para 25 mL, adaptado com condensador de refluxo, contendo o oxadiazol ácido **12** (0,23 mmol), foram adicionados 0,39g (0,69 mmol) de álcool propargílico e cerca de 5 gotas de ácido sulfúrico. O sistema foi mantido sob agitação, a 60°C, por cerca de 12 horas. Após verificado o término da reação por CCD, o sistema foi resfriado até temperatura ambiente e a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3 x 20mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio e salina, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi submetido à cromatografia em coluna e recristalizado em diclorometano:cicloexano para fornecer **122**.

Propanoato de 3-[3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122a**): cristais incolores; rendimento: 95%; P.F.: 66-67°C; R_f 0,61 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,50 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,00 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,27 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,26 (d, 2H, $J = 2,5$ Hz, CH_2O); 4,73 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2O); 7,43 – 7,50 (m, 3H, H_{arom}); 8,04 – 8,08 (m, 2H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,8; 30,1; 52,3; 75,1; 77,2; 126,6; 127,3; 128,7; 131,1; 168,1; 170,5; 177,9.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 65,62%; H, 4,72%; N, 10,93%; encontrado: C, 65,81%; H, 4,49%; N, 11,33%.

Propanoato de 3-[3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122b**): cristais incolores; rendimento: 93%; P.F.: 61-62°C; R_f 0,67 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,50 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,00 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2); 3,28 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2); 4,74 (d, 2H, $J = 2,5$ Hz, CH_2O); 7,60 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,3 Hz, H_{arom}); 7,92 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,3 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,8; 30,1; 52,4; 75,2; 77,1; 125,5; 125,6; 128,8; 132,0; 167,5; 170,5; 178,2.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}$: C, 50,17%; H, 3,31%; N, 8,36%; encontrado: C, 50,09%; H, 3,18%; N, 8,47%.

Propanoato de 3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122c**): cristais incolores; rendimento: 74%; P.F.: 43-44°C; R_f 0,64 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,40 (s, 3H, CH_3); 2,49 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 2,99 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,26 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,73 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2O); 7,27 (dd, 2H, $J = 8,4$ Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 7,94 (dd, 2H, $J = 8,4$ Hz, 1,8 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,5; 21,8; 30,1; 52,4; 75,1; 77,2; 123,7; 127,2; 129,4; 141,4; 168,2; 170,5; 177,7.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 66,66%; H, 5,22%; N, 10,36%; encontrado: C, 66,67%; H, 5,15%; N, 10,65%.

Propanoato de 3-[3-(3-Toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122d**): cristais incolores; rendimento: 79%; P.F.: 44-45°C; R_f 0,67 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,41 (s, 3H, CH_3); 2,50 (t, 1H, $J = 2,3$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,00 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, CH_2); 3,27 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, CH_2); 4,73 (d, 2H, $J = 2,3$ Hz, CH_2O); 7,29 (dl, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{arom}); 7,35 (dl, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{arom}); 7,86 (dl, 2H, $J = 9,3$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,2; 21,8; 30,1; 52,4; 75,2; 77,2; 124,4; 126,4; 127,8; 128,6; 131,9; 138,5; 168,3; 170,5; 177,9.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 66,66%; H, 5,22%; N, 10,36%; encontrado: C, 66,73%; H, 5,09%; N, 10,67%.

Propanoato de 3-[3-(2-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122e**): cristais incolores; rendimento: 84%; P.F. 50-51°C; R_f 0,72 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,49 (t, 1H, $J = 2,6$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 2,61 (s, 3H, CH_3); 2,99 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,28 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,73 (d, 2H, $J = 2,6$ Hz, CH_2O); 7,26 – 7,40 (m, 3H, H_{arom}); 7,96 (dd, 1H, $J = 7,5$ Hz, 2,5 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,7; 22,0; 30,1; 52,3; 75,1; 77,2; 125,8; 129,9; 130,4; 131,2; 138,1; 168,7; 170,5; 176,9.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 66,66%; H, 5,22%; N, 10,36%; encontrado: C, 66,74%; H, 5,20%; N, 10,57%.

Propanoato de 3-[3-(4-nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122f**): cristais amarelos; rendimento: 87%; P.F.: 82-84°C; R_f 0,55 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,49 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,01 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,30 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,73 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2O); 8,22 (dd, 2H, $J = 9,0$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 8,30 (dd, 2H, $J = 9,0$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 21,8; 30,0; 52,5; 75,2; 77,1; 124,0; 128,3; 132,5; 149,3; 166,7; 170,4; 179,0.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 55,82%; H, 3,68%; N, 13,95%; encontrado: C, 55,86%; H, 3,70%; N, 13,93%.

Propanoato de 3-[3-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-prop-2-inila (**122g**): cristais incolores; rendimento: 93%; P.F.: 49-50°C; R_f 0,67 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2,49 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,00 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 3,28 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH_2); 4,74 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, CH_2O); 7,45 (ddd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,3 Hz, 0,3 Hz, H_{arom}); 8,00 (ddd, 2H, $J = 8,4$ Hz, 2,3 Hz, 0,3 Hz, H_{arom}).

^{13}C RMN (CDCl_3): δ 21,8; 30,1; 52,5; 75,2; 125,1; 128,7; 129,1; 137,3; 167,4; 170,5; 178,2.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_3$: C, 57,84%; H, 3,81%; N, 9,64%; encontrado: C, 57,59%; H, 3,73%; N, 9,65%.

Síntese dos glicoconjugados 123a-q, 125a-d, 126

O azido-açúcar **61**, **62**, **63**, **95** ou **96** (1 mmol) e o derivado acetilênico (1,1 mmol) foram suspensos em uma mistura 1:1 de diclorometano:água (4 mL). A esta solução foi adicionada uma mistura de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (10 mg; 0,05 mmol) e ascorbato de sódio (30 mg; 0,15 mmol) e o sistema foi mantido sob agitação a temperatura ambiente por cerca de 12 horas. Após verificado o fim da reação por CCD, foram adicionados diclorometano (5 mL) e água (5 mL) ao sistema e foi efetuada extração com diclorometano (3 x 5 mL). As fases orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo bruto foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel para fornecer **123**, **125** ou **126**.

3-{4-[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]fenil}-5-fenil-1,2,4-oxadiazol (**123a**): cristais incolores; rendimento: 61%; P.F.: 231-232°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} - 60,5$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,41 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,84 (s, 3H, OAc); 1,98 (s, 3H, OAc); 2,02 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 3,98 (ddd, 1H, $J = 1,7$ Hz, 5,1 Hz, 9,8 Hz, H5); 4,10 (dd, 1H, $J = 1,7$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,28 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, 12,6 Hz, H6'); 5,22 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 9,4 Hz, H4); 5,39 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,47 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,0 Hz, H2); 5,89 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1);

7,48 – 7,59 (m, 3H, H_{arom}); 7,93 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom}); 8,04 (s, 1H, H_{triazol}); 8,16 – 8,18 (m, 2H, H_{arom}); 8,19 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 19,2; 19,5; 19,7; 24,6; 66,7; 66,9; 69,3; 71,7; 74,2; 84,9; 117,4; 123,2; 125,2; 125,9; 127,1; 127,2; 128,1; 131,5; 131,8; 146,7; 167,5; 168,0; 168,4; 168,9; 169,5; 174,8.

EMAR [IES] calc. para C₃₀H₂₉N₅O₁₀Na [M + Na]⁺: 642,18121; encontrado: 642,1812.

N-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanamida (**123b**): cristais incolores; rendimento: 85%; P.F.: 152-153°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} - 19,2$ (c 1,0; CH₂Cl₂); R_f 0,46 (acetato de etila).

RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,75 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 3,21 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 4,05 (dd, 1H, $J = 2,2$ Hz, 12,4 Hz, H6); 4,12 (dd, 1H, $J = 5,5$ Hz, 12,4 Hz, H6'); 4,32 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz, CH₂N); 4,36 (m, 1H, H5); 5,16 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,54 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,2 Hz, H3); 5,63 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,2 Hz, H2); 5,31 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,53 – 7,59 (m, 3H, H_{arom}); 7,97 – 8,00 (m, 2H, H_{arom}); 8,21 (s, 1H, H_{triazol}); 8,60 (t, 1H, $J = 5,5$ Hz, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 20,5; 20,9; 20,9; 21,0; 22,7; 32,3; 35,3; 61,9; 68,0; 70,8; 73,0; 75,4; 86,0; 121,6; 126,1; 126,4; 127,1; 127,7; 129,2; 131,5; 145,7; 168,5; 169,2; 169,7; 170,3; 170,9; 179,3.

EMAR [IES] calc. para C₂₈H₃₂N₆O₁₁Na [M + Na]⁺: 651,20268; encontrado: 651,2029.

N-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]propanamida (**123c**): cristais incolores; rendimento: 43%; P.F.: 81-82°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} - 18,0$ (c 1,0; CH₂Cl₂); R_f 0,41 (acetato de etila).

RMN ¹H (DMSO-d₆): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,73 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, CH₂); 3,21 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, CH₂); 4,04 (dd, 1H, $J = 3,0$ Hz, 12,5 Hz, H6); 4,12 (dd, 1H, $J = 5,3$ Hz, 12,5 Hz, H6'); 4,31 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz, CH₂N); 4,36 (ddd, 1H, $J = 3,0$ Hz, 5,3 Hz, 9,8 Hz, H5); 5,16 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,8 Hz, H4); 5,54 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,63 (dd, 1H, $J = 9,0$ e 9,4 Hz, H2); 5,31 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,77 (dl, 2H, $J = 8,6$ Hz, H_{arom}); 7,92 (dl, 2H, $J = 8,6$ Hz, H_{arom}); 8,20 (s, 1H, H_{triazol}); 8,59 (t, 1H, $J = 5,5$ Hz, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 19,1; 19,5; 19,6; 19,7; 21,3; 30,9; 33,9; 60,5; 66,6; 69,4; 71,6; 74,0; 84,7; 120,2; 124,6; 124,7; 124,8; 125,0; 127,9; 131,1; 144,2; 166,5; 167,8; 168,4; 168,9; 169,4; 169,5; 178,1.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{BrNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 729,11319; encontrado: 729,1118.

N-(*Ter*-butóxicarbonil)-*N*-($\{1\text{-}[2,3,4,6\text{-tetra-}O\text{-acetil-}\beta\text{-D-glucopiranosil}]\text{-}1H\text{-}1,2,3\text{-triazol-}4\text{-il}\}$ metil)-*L*-fenilalaninamida (**123d**): cristais incolores; rendimento: 65%; P.F. 134-135°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 19,7$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,71 (AcOEt).

RMN ^1H (DMSO-d_6): δ 1,31 (s, 9H, Boc); 1,79 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,74 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 2,94 (dd, 1H, $J = 4,3$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 4,05 – 4,18 (m, 3H, H6, H6', CHN); 4,33 (d, 2H, $J = 5,5$ Hz, CH_2N); 4,37 – 4,40 (m, 1H, H5); 5,17 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,4 Hz, H4); 5,55 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,61 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 8,7 Hz, H2); 6,33 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H1); 6,95 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,18 -7,24 (m, 5H, H_{arom} , NH); 8,06 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$); 8,50 (tl, 1H, $J = 5,0$ Hz, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 20,5; 20,9; 20,9; 21,0; 28,6; 35,2; 40,0; 61,9; 68,0; 70,7; 73,1; 75,4; 86,0; 127,2; 129,0; 129,7; 137,0; 169,2; 169,7; 170,3; 170,9; 171,8.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_{12}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 698,26494; encontrado: 698,2639.

Metil *N*-(3- $\{1\text{-}[2,3,4,6\text{-tetra-}O\text{-acetil-}\beta\text{-D-glucopiranosil}]\text{-}1H\text{-}1,2,3\text{-triazol-}4\text{-il}\}$ propanoil)-*L*-fenilalaninato (**123e**): cristais incolores; rendimento: 84%; P.F.: 155-156°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 10,0$ (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,38 (acetato de etila).

RMN ^1H (DMSO-d_6): δ 1,78 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,41 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH_2); 2,42 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH_2); 2,74 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, CH_2); 2,87 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 3,02 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 13,6 Hz, CH_2Ph); 3,60 (s, 3H, OCH_3); 4,04 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 12,4 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,3$ Hz, 12,4 Hz, H6'); 4,37 (ddd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 5,3 Hz, 9,8 Hz, H5); 4,47 (ddd, 1H, $J = 3,4$ Hz, 5,6 Hz, 11,1 Hz, CHN); 5,15 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,55 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,0 Hz, H3); 5,59 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, 8,9 Hz, H2); 6,29 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz, H1); 7,19 – 7,31 (m, 5H, H_{arom}); 8,06 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$); 8,43 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 20,5; 20,9; 20,9; 21,0; 21,6; 35,5; 38,1; 52,7; 53,5; 61,9; 68,1; 70,6; 73,1; 75,3; 85,9; 120,3; 127,5; 128,9; 129,6; 136,3; 147,6; 169,2; 169,8; 170,3; 170,9; 171,6; 172,4.

Anal. Elementar calc. para $C_{29}H_{36}N_4O_{12}$: C, 55,06%; H, 5,74%; encontrado: C, 54,77%; H, 5,82%.

Metil *N*-(*ter*-butóxicarbonil)-*O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-L-tirosinato (**123f**): cristais incolores; rendimento: 73%; P.F.: 157-158°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20}$ - 1,3 (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,83 (acetato de etila).

RMN 1H ($DMSO_{d6}$): δ 1,33 (s, 9H, Boc); 1,77 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,78 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz, 13,4 Hz, CH_2Ph); 2,91 (dd, 1H, $J = 4,9$ Hz, 13,4 Hz, CH_2Ph); 3,60 (s, 3H, OCH_3); 4,04 – 4,16 (m, 3H, H6, H6', CHN); 4,37 (ddd, 1H, $J = 2,6$ Hz, 5,1 Hz, 10,0 Hz, H5); 5,11 (s, 2H, OCH_2); 5,18 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,56 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,68 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,0 Hz, H2); 6,38 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 6,94 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,16 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}); 7,27 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, NH); 8,54 (s, 1H, $H_{triazol}$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 20,5; 20,8; 20,9; 21,1; 28,7; 37,9; 52,6; 61,9; 62,3; 68,0; 70,6; 73,0; 75,5; 86,1; 115,3; 121,5; 126,2; 129,2; 130,8; 145,4; 157,6; 169,3; 169,7; 170,3; 170,9; 172,7.

EMAR [IES] calc. para $C_{32}H_{42}N_4O_{14}Na$ $[M + Na]^+$: 729,2595; encontrado: 729,2591.

5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi}fenil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**123g**): cristais incolores; rendimento: 80%; P.F.: 172-173°C (clorofórmio); $[\alpha]_D^{20}$ - 31,5 (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,25 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN 1H ($DMSO_{d6}$): δ 1,77 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 4,08 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, 12,8 Hz, H6); 4,15 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, 12,8 Hz, H6'); 4,37 (ddd, 1H, $J = 2,6$ Hz, 5,1 Hz, 9,8 Hz, H5); 5,19 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,34 (s, 2H, CH_2O); 5,57 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,69 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,4 Hz, H2); 6,39 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H1); 7,30 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, $H_{aromatic}$); 7,60 – 7,62 (m, 3H, H_{arom}); 8,08 – 8,11 (m, 2H, H_{arom}); 8,15 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, $H_{aromatic}$); 8,62 (s, 1H, $H_{triazol}$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 20,5; 20,8; 20,9; 21,1; 61,9; 62,3; 68,0; 70,7; 72,9; 75,6; 86,2; 115,7; 117,9; 121,8; 127,4; 127,9; 129,2; 130,5; 131,5; 144,6; 161,9; 169,2; 169,3; 169,7; 170,3; 170,8; 175,8.

Anal. Elementar calc. para $C_{31}H_{31}N_5O_{11}$: C, 57,32%; H, 4,81%; encontrado: C, 57,22%; H, 4,78%.

5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi} fenil)-3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol (**123h**): cristais incolores; rendimento: 60%; P.F.: 226-227°C (clorofórmio); $[\alpha]_D^{20}$ - 29 (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,34 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,76 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,02 (s, 3H, OAc); 4,08 (dd, 1H, *J* = 3,0 Hz, 12,8 Hz, H₆); 4,15 (dd, 1H, *J* = 5,6 Hz, 12,8 Hz, H_{6'}); 4,36 – 4,39 (m, 1H, H₅); 5,19 (dd, 1H, *J* = 9,8 Hz, 9,6 Hz, H₄); 5,33 (s, 2H, CH₂O); 5,55 (dd, 1H, *J* = 9,4 Hz, 9,4 Hz, H₃); 5,67 (dd, 1H, *J* = 9,2 Hz, 9,4 Hz, H₂); 6,38 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz, H₁); 7,29 (d, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}); 7,81 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 8,02 (dd, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 8,13 (d, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}); 8,61 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 20,5; 20,8; 20,9; 21,0; 61,9; 62,3; 68,1; 70,7; 72,9; 75,5; 86,2; 115,7; 117,6; 121,8; 125,9; 126,4; 129,3; 130,5; 132,4; 144,5; 162,0; 168,4; 169,3; 169,7; 170,2; 170,8; 175,9.

Anal. Elementar calc. para C₃₁H₃₀BrN₅O₁₁: C, 51,11%; H, 4,15%; encontrado: C, 50,90%; H, 4,21%.

N-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-4-(5-fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)anilina (**123i**): cristais incolores; rendimento: 67%; P.F.: 200-201°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20}$ - 24 (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,63 (acetato de etila).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,74 (s, 3H, OAc); 1,95 (s, 3H, OAc); 1,98 (s, 3H, OAc); 2,02 (s, 3H, OAc); 4,03 (dl, 1H, *J* = 11,7 Hz, H₆); 4,12 (dd, 1H, *J* = 5,1 Hz, 11,7 Hz, H_{6'}); 4,37 (m, 1H, H₅); 4,40 (d, 2H, *J* = 4,5 Hz, NCH₂); 5,17 (dd, 1H, *J* = 9,8 Hz, 9,8 Hz, H₄); 5,53 (dd, 1H, *J* = 9,6 Hz, 9,4 Hz, H₃); 5,65 (dd, 1H, *J* = 9,6 Hz, 9,4 Hz, H₂); 6,32 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz, H₁); 6,75 (dl, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 6,90 (tl, 1H, *J* = 4,5 Hz, NH); 7,63 – 7,72 (m, 3H, H_{arom}); 7,80 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 8,15 (dl, 2H, *J* = 8,3 Hz, H_{arom}); 8,31 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 20,5; 20,8; 20,9; 21,1; 39,7; 61,9; 68,1; 70,6; 73,0; 75,5; 86,1; 113,2; 116,6; 120,6; 124,9; 128,5; 129,4; 132,9; 146,7; 150,1; 169,3; 169,8; 170,3; 170,9; 175,5.

Anal. Elementar calc. para C₃₁H₃₂N₆O₁₀: C, 57,40%; H, 4,97%; N, 12,96%; encontrado: C, 57,28%; H, 4,96%; N, 12,67%.

3-{4-[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]fenil}-5-metil-1,2,4-oxadiazol (**123j**): cristais incolores; rendimento: 80%; P.F.: 230-231°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20}$ - 65 (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,75 (acetato de etila).

RMN ^1H (DMSO-d_6): δ 1,90 (s, 3H, OAc); 2,05 (s, 3H, OAc); 2,09 (s, 3H, OAc); 2,10 (s, 3H, OAc); 2,68 (s, 3H, CH_3); 4,05 (ddd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 5,1 Hz, 9,9 Hz, H5); 4,17 (dd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,35 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, 12,6 Hz, H6'); 5,28 (dd, 1H, $J = 9,1$ Hz, 9,9 Hz, H4); 5,46 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,52 (dd, 1H, $J = 8,8$ Hz, 9,4 Hz, H2); 5,94 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, H1); 7,96 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 8,09 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$); 8,14 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 12,8; 20,6; 20,9; 21,1; 61,9; 68,1; 70,7; 73,0; 75,6; 86,3; 118,8; 126,6; 127,2; 128,3; 132,9; 148,0; 168,4; 169,4; 169,7; 170,3; 170,8; 177,0.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_{10}$: C, 53,86%; H, 4,88%; encontrado: C, 53,09%; H, 4,96%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-(3-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123k**): cristais incolores; rendimento: 83%; P.F.: 140-141°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 25 \pm 1$ (c 0,33; CH_2Cl_2); R_f 0,41 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ^1H (DMSO-d_6): δ 1,78 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,96 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 3,25 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 4,06 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,13 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,36 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,1 Hz, 10,2 Hz, H5); 5,17 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 10,2 Hz, H4); 5,18 (s, 2H, CH_2O); 5,55 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H3); 5,65 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,34 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,52 – 7,61 (m, 3H, H_{arom}); 7,98 (ddd, 2H, $J = 9,0$ Hz, 2,1 Hz, 0,9 Hz, H_{arom}); 8,47 (s, 1H, $\text{H}_{\text{triazol}}$).

RMN ^{13}C (DMSO-d_6): δ 20,0; 20,3; 20,4; 20,6; 21,6; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,9; 124,0; 126,2; 127,0; 129,4; 131,6; 142,6; 142,5; 167,5; 168,6; 169,5; 169,7; 170,1; 171,2; 179,4.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{12}$: C, 53,42%; H, 4,96%; N, 11,12%; encontrado: C, 53,46%; H, 4,94%; N, 10,79%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(4-bromofenil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123l**): cristais incolores; rendimento: 73%; P.F.: 105-107°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 18 \pm 2$ (c 0,26; CH_2Cl_2); R_f 0,44 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ^1H (DMSO-d_6): δ 1,80 (s, 3H, OAc); 1,98 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,97 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 3,27 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 4,07 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz,

12,6 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,1$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,38 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,1 Hz, 9,6 Hz, H5); 5,19 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,19 (s, 2H, CH₂O); 5,57 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,6 Hz, H3); 5,67 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,37 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,78 (dd, 2H, $J = 2,1$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}); 7,92 (dd, 2H, $J = 2,1$ Hz, 8,4 Hz, H_{arom}); 8,49 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 19,9; 20,3; 20,4; 20,5; 21,5; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,9; 123,9; 125,1; 125,4; 129,0; 132,4; 142,5; 166,8; 168,5; 169,4; 169,6; 170,1; 171,1; 179,6.

Anal. Elementar calc. para C₂₈H₃₀BrN₅O₁₂: C, 47,47%; H, 4,27%; N, 9,89%; encontrado: C, 47,25%; H, 4,32%; N, 9,86%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(4-toluil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123m**): cristais incolores; rendimento: 84%; P.F.: 154-155°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_D^{20} - 20 \pm 2$ (c 0,26; CH₂Cl₂); R_f 0,46 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,78 (s, 3H, OAc); 1,96 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,37 (s, 3H, CH₃); 2,95 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 3,24 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 4,05 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 12,3 Hz, H6); 4,13 (dd, 1H, $J = 5,4$ Hz, 12,3 Hz, H6); 4,36 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,4 Hz, 9,9 Hz, H5); 5,18 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,9 Hz, H4); 5,18 (s, 2H, CH₂O); 5,55 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H3); 5,65 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,0 Hz, H2); 6,34 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,36 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom}); 7,86 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom}); 8,47 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 20,0; 20,3; 20,5; 20,7; 21,2; 21,6; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,2; 72,2; 73,3; 83,9; 123,5; 124,0; 127,0; 129,9; 141,5; 142,6; 167,5; 168,6; 169,5; 169,7; 170,1; 171,2; 179,2.

Anal. Elementar calc. para C₂₉H₃₃N₅O₁₂: C, 54,12%; H, 5,17%; N, 10,88%; encontrado: C, 54,34%; H, 5,16%; N, 10,72%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(3-toluil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123n**): cristais incolores; rendimento: 74%; P.F.: 123-124°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_D^{20} - 28 \pm 1$ (c 0,22; CH₂Cl₂); R_f 0,46 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

¹H RMN (DMSO_{d6}): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,40 (s, 3H, CH₃); 2,97 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 4,06 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,37 (ddd, 1H, $J =$

2,4 Hz, 5,4 Hz, 9,9 Hz, H5); 5,18 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,9 Hz, H4); 5,19 (s, 2H, CH₂O); 5,56 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H3); 5,66 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,38 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,41 (dd, 2H, $J = 7,5$ Hz, 3,9 Hz, H_{arom}); 7,46 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{arom}); 7,79 (dd, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{arom}); 8,49 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 19,9; 20,3; 20,4; 20,9; 21,6; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,8; 123,9; 124,2; 126,1; 127,4; 129,2; 132,2; 138,7; 142,5; 167,5; 168,5; 169,4; 169,6; 170,1; 171,1; 179,2.

Anal. Elementar calc. para C₂₉H₃₃N₅O₁₂: C, 54,12%; H, 5,17%; N, 10,88%; encontrado: C, 53,83%; H, 5,12%; N, 10,92%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(2-toluil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123o**): cristais incolores; rendimento: 77%; P.F.: 125-126°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_D^{20} - 21 \pm 2$ (c 0,26; CH₂Cl₂); R_f 0,49 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,53 (s, 3H, CH₃); 2,97 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 3,27 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 4,07 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,38 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,4 Hz, 9,9 Hz, H5); 5,18 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,9 Hz, H4); 5,19 (s, 2H, CH₂O); 5,57 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,6 Hz, H3); 5,67 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,37 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,34 – 7,49 (m, 3H, H_{arom}); 7,88 (dd, 1H, $J = 7,5$ Hz, 1,5 Hz, H_{arom}); 8,49 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 19,9; 20,3; 20,4; 20,5; 21,6; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,8; 123,9; 125,5; 126,2; 129,7; 130,8; 131,4; 137,5; 142,5; 168,1; 168,5; 169,4; 169,6; 170,0; 171,1; 178,2.

Anal. Elementar calc. para C₂₉H₃₃N₅O₁₂: C, 54,12%; H, 5,17%; N, 10,88%; encontrado: C, 54,14%; H, 5,07%; N, 10,79%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(4-nitrofenil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123p**): cristais incolores; rendimento: 69%; P.F.: 124-125°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_D^{20} - 24 \pm 1$ (c 0,30; CH₂Cl₂); R_f 0,28 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,80 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,97 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 3,31 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 4,07 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz,

12,6 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,38 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,4 Hz, 9,9 Hz, H5); 5,18 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, 9,3 Hz, H4); 5,20 (s, 2H, CH₂O); 5,57 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H3); 5,66 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,36 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 8,24 (dd, 2H, $J = 9,0$ Hz, 2,2 Hz, H_{arom}); 8,41 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, 2,2 Hz, H_{arom}); 8,49 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 19,9; 20,3; 20,4; 20,5; 21,6; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,8; 123,9; 124,5; 128,4; 131,9; 142,5; 149,2; 166,2; 168,5; 169,4; 169,6; 170,1; 171,1; 180,2.

Anal. Elementar calc. para C₂₈H₃₀N₆O₁₄: C, 49,85%; H, 4,48%; N, 12,46%; encontrado: C, 49,41%; H, 4,53%; N, 12,00%.

Propanoato de *O*-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metil}-3-[3-(4-clorofenil)]-1,2,4-oxadiazol-5-ila (**123q**): cristais incolores; rendimento: 66%; P.F.: 106-107°C (diclorometano:cicloexano); $[\alpha]_D^{20} - 17 \pm 2$ (c 0,31; CH₂Cl₂); R_f 0,39 (cicloexano:acetato de etila, 1:1 v/v).

¹H RMN (DMSO_{d6}): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,97 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 3,27 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 4,07 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 5,3$ Hz, 12,6 Hz, H6); 4,38 (ddd, 1H, $J = 2,4$ Hz, 5,3 Hz, 9,9 Hz, H5); 5,19 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,9 Hz, H4); 5,19 (s, 2H, CH₂O); 5,57 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H3); 5,67 (dd, 1H, $J = 9,3$ Hz, 9,3 Hz, H2); 6,37 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,65 (dd, 2H, $J = 1,8$ Hz, 8,4 Hz, H_{arom}); 7,99 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}); 8,49 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ¹³C (DMSO_{d6}): δ 19,9; 20,3; 20,4; 20,5; 21,5; 29,7; 57,4; 61,8; 67,5; 70,1; 72,1; 73,3; 83,8; 123,9; 125,0; 128,8; 129,4; 136,3; 142,5; 166,7; 168,5; 169,4; 169,6; 170,0; 171,1; 179,6.

EMAR [IES] calc. para C₂₈H₃₀ClN₅O₁₂Na [M + Na]⁺: 686, 1483; encontrado: 686,1471.

5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi}fenil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**125a**): cristais incolores; rendimento: 70%; P.F.: 186-187°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} - 15$ (c 1,0; CH₂Cl₂); R_f 0,37 (acetato de etila:éter de petróleo, 7:3 v/v).

RMN ¹H (DMSO_{d6}): δ 1,79 (s, 3H, OAc); 1,95 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,20 (s, 3H, OAc); 4,03 (dd, 1H, $J = 7,2$ Hz, 11,7 Hz, H6); 4,14 (dd, 1H, $J = 4,9$ Hz, 11,7 Hz, H6'); 4,60 (m, 1H, H5); 5,33 (s, 2H, CH₂O); 5,44 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz, 3,2 Hz, H4); 5,48 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz, 9,6 Hz, H3); 5,62 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,6 Hz, H2); 5,31 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H1); 7,32 (d,

2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,57 – 7,62 (m, 3H, H_{arom}); 8,09 (dl, 2H, $J = 7,9$ Hz, H_{arom}); 8,15 (dl, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 8,57 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 20,6; 20,9; 21,0; 21,0; 61,6; 62,3; 67,3; 68,3; 71,0; 74,4; 86,6; 115,7; 117,8; 121,9; 127,4; 127,8; 129,2; 130,4; 131,5; 144,4; 161,9; 169,1; 169,4; 170,2; 170,3; 170,7; 175,7.

Anal. Elementar calc. para $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{11}$: C, 57,32%; H, 4,81%; encontrado: C, 57,03%; H, 4,78%.

5-(4-{[1-(3,4,6-Tri-*O*-acetil-2-acetilamino-2-desóxi- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi} fenil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**125b**): cristais incolores; rendimento: 63%; P.F.: 246-247°C (metanol:água); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 44$ (c 0,5; CH_2Cl_2); R_f 0,44 (acetato de etila).

RMN ^1H (DMSO_{d_6}): δ 1,57 (s, 3H, NHAc); 1,95 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,02 (s, 3H, OAc); 4,06 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 12,2 Hz, H6); 4,16 (dd, 1H, $J = 4,9$ Hz, 12,2 Hz, H6'); 4,25 (ddd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4,9 Hz, 10,0 Hz, H5); 4,64 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 10,0 Hz, H4); 5,11 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 9,8 Hz, H3); 5,32 (s, 2H, CH_2O); 5,33 (dd, 1H, $J = 9,8$ Hz, 10,0 Hz, H2); 6,14 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz, H1); 7,31 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,58 – 7,62 (m, 3H, H_{arom}); 8,08 – 8,12 (m, 3H, H_{arom} , NH); 8,15 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 8,50 (s, 1H, H_{triazol}).

RMN ^{13}C (DMSO_{d_6}): δ 20,6; 20,7; 20,8; 22,6; 52,4; 61,6; 62,1; 68,3; 72,8; 73,8; 85,1; 116,1; 116,4; 124,2; 126,6; 127,4; 129,6; 130,3; 131,9; 142,6; 162,1; 168,4; 169,7; 169,8; 170,0; 170,4; 175,5.

EMAR [IES] calc. para $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 671,2077; encontrado: 671,2071.

5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi} fenil)-3-fenil-1,2,4-oxadiazol (**125c**): cristais incolores; rendimento: 67%; P.F.: 109-110°C(diclorometano:hexano); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 79$ (c 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,20 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,83 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,07 (s, 6H, OAc); 4,04 (dl, 1H, $J = 12,6$ Hz, H6); 4,27 (dd, 1H, $J = 3,6$ Hz, 12,6 Hz, H6'); 4,40 (dl, 1H, $J = 10,0$ Hz, H5); 5,25 – 5,33 (m, 2H, H4, H2); 5,36 (s, 2H, CH_2O); 6,27 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,9 Hz, H3); 6,39 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, H1); 7,15 (d, 2H, $J = 7,9$ Hz, H_{arom}); 7,49 – 7,52 (m, 3H, H_{arom}); 7,76 (s, 1H, H_{triazol}); 8,15 – 8,20 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 20,6; 20,9; 21,0; 61,6; 62,3; 68,3; 70,2; 70,7; 71,7; 81,9; 115,6; 118,0; 125,6; 127,4; 127,9; 129,2; 130,5; 131,5; 143,5; 161,9; 169,2; 170,0; 170,5; 170,8; 175,7.

Anal. Elementar calc. para $C_{31}H_{31}N_5O_{11}$: C, 57,32%; H, 4,81%; encontrado: C, 56,94%; H, 4,82%.

5-(4-{[1-(2,2',3,3',4',6,6'-Hepta-*O*-acetil- β -D-celobiosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi} fenil)-1,2,4-oxadiazol (**125d**): cristais incolores; rendimento: 63%; P.F.: 233-234°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20}$ - 27 (*c* 1,0; CH_2Cl_2); R_f 0,32 (acetato de etila:éter de petróleo, 7:3 v/v).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 1,85 (s, 3H, OAc); 1,99 (s, 3H, OAc); 2,02 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,05 (s, 3H, OAc); 2,10 (s, 3H, OAc); 2,11 (s, 3H, OAc); 3,68 (ddd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4,2 Hz, 9,6 Hz, H5); 3,93 – 3,98 (m, 2H, H5t, H6t); 4,05 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz, 12,4 Hz, H6); 4,16 (dd, 4,2 Hz, 12,4 Hz, H6'); 4,38 (dd, 1H, $J = 4,2$ Hz, 12,4 Hz, H6't); 4,54 (dd, 1H, $J = 7,9$ Hz, 8,1 Hz, H3t); 4,57 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H1); 4,96 (dd, 1H, $J = 8,1$ Hz, 9,0 Hz, H2); 5,08 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,6 Hz, H4); 5,17 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,0 Hz, H3); 5,31 (s, 2H, CH_2O); 5,36 – 5,44 (m, 2H, H4t, H2t); 5,83 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, H1t); 7,13 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,49 – 7,52 (m, 3H, H_{arom}); 7,82 (s, 1H, $H_{triazol}$); 8,15 – 8,19 (m, 4H, H_{arom}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 20,6; 20,8; 20,9; 21,1; 21,2; 62,0; 62,4; 68,2; 70,9; 72,0; 72,5; 72,7; 73,2; 76,2; 76,5; 101,2; 115,7; 117,9; 121,8; 127,5; 127,9; 129,3; 130,5; 131,5; 144,5; 162,0; 169,2; 169,4; 169,5; 169,7; 169,9; 170,6; 170,8; 175,8.

Anal. Elementar calc. para $C_{43}H_{47}N_5O_{19}$: C, 55,07%; H, 5,01%; encontrado: C, 54,76%; H, 5,06%.

N-(*Ter*-butóxicarbonil)-*N*-({1-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil)-*L*-fenilalaninamida (**126**): cristais incolores; rendimento: 40%; P.F.: 82-83°C; $[\alpha]_D^{20}$ + 62 (*c* 0,5; CH_2Cl_2); R_f 0,65 (acetato de etila).

RMN 1H ($CDCl_3$): δ 1,40 (s, 9H, Boc); 1,88 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 2,06 (s, 3H, OAc); 2,07 (s, 3H, OAc); 3,06 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2Ph); 4,01 (dd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 12,4 Hz, H6); 4,26 (dd, 1H, $J = 3,9$ Hz, 12,4 Hz, H6'); 4,30 – 4,35 (m, 2H, H5 e CHN); 4,47 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 15,8 Hz, CH_2N); 4,52 (dd, 1H, $J = 5,8$ Hz, 15,8 Hz, CH_2N); 4,95 (sl, 1H, NHBoc); 5,26 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,8 Hz, H4); 5,32 (dd, 1H, $J = 6,0$ Hz, 10,0 Hz, H2); 6,25 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, H1); 6,26 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 10,0 Hz, H3); 6,43 (dd, 1H, $J = 5,6$ Hz, 5,8 Hz, NH); 7,15 (dd, 2H, $J = 2,1$ Hz, 7,7Hz, H_{arom}); 7,25 – 7,32 (m, 3H, H_{arom}); 7,44 (s, 1H, $H_{triazol}$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 18,5; 18,7; 18,8; 26,4; 32,9; 59,4; 66,2; 67,9; 68,5; 69,3; 79,6; 122,7; 125,2; 126,9; 127,5; 134,6; 167,8; 168,2; 168,7; 169,5; 169,6.

EMAR [IES] calc. para $C_{31}H_{41}N_5O_{12}Na$ $[M + Na]^+$: 698,2649; encontrado: 698,2649.

Síntese do glicoconjugado 124 através da reação de Suzuki

Em um tubo de schlenk foram adicionados, sob agitação e em atmosfera inerte, $Pd(OAc)_2$ (0,3 mg; 1,1 μ mol) e PPh_3 (0,9 mg; 3,3 μ mol). Água (0,5 mL) e etanol degaseificados (0,5 mL) foram adicionados a esta mistura e a reação foi mantida sob agitação por 30 minutos. Então, foram adicionados o triazol **123h** (80 mg; 0,11 mmol) e o ácido fenilborônico (15 mg; 0,12 mmol) em uma mistura de tolueno (3 mL) e etanol (1,5 mL), seguidos de Na_2CO_3 (35 mg; 0,33 mmol) dissolvido em 1 mL de água degaseificada. A mistura resultante foi mantida sob agitação por 16 horas a 70°C, quando as fases foram separadas e a fase aquosa lavada com tolueno (2 x 10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, secas sob Na_2SO_4 e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado em coluna de sílica gel e posteriormente recristalizado em diclorometano:hexano para fornecer **124**.

3-Bifenil-4-il-5-(4-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il]metóxi}fenil)-1,2,4-oxadiazol (**124**): cristais incolores; rendimento: 44%; P.F.: 236-237°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 29 (*c* 0,5; CH_2Cl_2); R_f 0,36 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN 1H ($DMSO-d_6$): δ 1,78 (s, 3H, OAc); 1,97 (s, 3H, OAc); 2,00 (s, 3H, OAc); 2,03 (s, 3H, OAc); 4,09 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz, 12,8 Hz, H6); 4,16 (dd, 1H, $J = 5,5$ Hz, 12,8 Hz, H6'); 4,38 (ddd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 5,3 Hz, 9,8 Hz, H5); 5,19 (dd, 1H, $J = 9,6$ Hz, 9,8 Hz, H4); 5,34 (s, 2H, CH_2O); 5,56 (dd, 1H, $J = 9,4$ Hz, 9,4 Hz, H3); 5,69 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz, 9,2 Hz, H2); 6,40 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H1); 7,30 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 7,41 – 7,55 (m, 3H, H_{arom}); 7,77 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, H_{arom}); 7,91 (dd, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 8,16 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom}); 8,18 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom}); 8,62 (s, 1H, $H_{triazol}$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 20,5; 20,8; 20,9; 21,1; 61,9; 62,3; 68,1; 70,7; 72,9; 75,6; 86,3; 115,7; 117,9; 126,3; 127,5; 127,9; 128,3; 129,3; 130,5; 140,6; 144,2; 162,0; 169,4; 169,3; 169,7; 170,3; 170,8; 175,8.

EMAR [IES] calc. para $C_{37}H_{35}N_5O_{11}Na$ $[M + Na]^+$: 748,2231; encontrado: 748,2236.

Síntese dos oxadiazóis 127a-b

A um balão com capacidade para 100 mL e a 0°C, contendo o derivado amina **119** (4,1 mmol) dissolvido em 30 mL de diclorometano, foram adicionados 30 mL de solução aquosa de HCl 6N. A este sistema bifásico, ainda a 0°C, foram adicionados, vagorosamente, 10 mL de solução saturada de NaNO₂. A mistura reagiu por 30 minutos a 0°C e daí foi adicionada a azida de sódio (0,53g; 8,2 mmol) e a reação permaneceu sob agitação por mais 30 minutos. O banho de gelo foi retirado, as fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio e salina, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado em evaporador rotativo. O resíduo bruto foi cromatografado em coluna de sílica gel e recristalizado em metanol:água para fornecer **127**.

3-(4-Azidofenil)-5-fenil-1,2,4-oxadiazol (**127a**): cristais amarelos; rendimento: 91%; P.F.: 113–114 °C; *R_f* 0,76 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 7,04 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 7,38 – 7,50 (m, 3H, H_{arom}); 7,99 – 8,09 (m, 3H, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 119,8; 124,0; 124,6; 127,9; 128,5; 129,5; 133,1; 143,2; 168,5; 176,1.

Anal. Elementar calc. para C₁₄H₉N₅O: C, 63,87%; H, 3,45%; encontrado: C, 63,88%; H, 3,56%.

3-(4-Azidofenil)-5-metil-1,2,4-oxadiazol (**127b**): cristais amarelos; rendimento: 76%; P.F.: 70–71 °C; *R_f* 0,71 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,64 (s, 3H, CH₃); 7,10 (dl, 2H, *J* = 8,8 Hz, H_{arom}); 8,04 (dl, 2H, *J* = 8,8 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,7; 119,8; 123,8; 129,3; 143,2; 168,0; 177,0.

EMAR [IE] calc. para C₉H₇N₅O: 201,0651; encontrado: 201,0660.

Síntese dos triazóis 128a-d

O açúcar acetilênico **97** (1,1 mmol) e o oxadiazol azida **127** (1 mmol) foram suspensos em uma mistura 1:1 de diclorometano:água (4 mL). A esta emulsão foi adicionada uma mistura de Cu(OAc)₂ (10 mg; 0,05 mmol) e ascorbato de sódio (30 mg; 0,15 mmol) e o sistema foi mantido sob agitação na temperatura ambiente por cerca de 12 horas. Após verificado o fim da reação por CCD, foram adicionados diclorometano (5 mL) e água (5 mL)

ao sistema e foi efetuada extração com diclorometano (3 x 5 mL). As fases orgânicas foram secas com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo bruto foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel e recristalizado em diclorometano:cicloexano para fornecer **128**.

1- $\{[4-(5\text{-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il})\text{fenil}]-1H\text{-1,2,3-triazol-4-il}\}$ metil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128a**): cristais incolores; rendimento: 91%; P.F.: 180-181°C; $[\alpha]_D^{20} + 25$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R_f* 0,69 (acetato de etila: éter de petróleo, 7:3 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,09 (s, 3H, OAc); 2,12 (s, 3H, OAc); 4,15 – 4,32 (m, 3H, H5, H6 e H6'); 4,84 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,04 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,25 (sl, 1H, H1); 5,37 (dl, 1H, *J* = 9,4 Hz, H4); 5,88 (ddd, 1H, *J* = 1,8 Hz, 2,1 Hz, 10,2 Hz, H2); 5,95 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H3); 7,55 – 7,67 (m, 3H, H_{arom}); 7,93 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 8,11 (s, 1H, H_{triazol}); 8,24 (dl, 2H, *J* = 8,1 Hz, H_{arom}); 8,37 (dl, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 21,2; 21,3; 61,8; 63,3; 65,6; 67,5; 94,3; 120,9; 121,1; 124,4; 127,7; 128,5; 129,4; 129,5; 130,0; 133,3; 139,1; 145,9; 168,2; 170,6; 171,2; 176,4.

Anal. Elementar calc. para C₂₇H₂₅N₅O₇: C, 61,01%; H, 4,74%; encontrado: C, 61,11%; H, 4,80%.

1- $\{[4-(5\text{-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il})\text{fenil}]-1H\text{-1,2,3-triazol-4-il}\}$ metil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128b**): cristais incolores; rendimento: 87%; P.F.: 176-177°C; $[\alpha]_D^{20} + 29$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R_f* 0,32 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,09 (s, 3H, OAc); 2,12 (s, 3H, OAc); 2,69 (s, 3H, CH₃); 4,17 (ddd, 1H, *J* = 2,5 Hz, 4,9 Hz, 9,3 Hz, H5); 4,21 (dd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 12,2 Hz, H6); 4,29 (dd, 1H, *J* = 5,3 Hz, 12,2 Hz, H6'); 4,83 (d, 1H, *J* = 12,5 Hz, CH₂); 5,02 (d, 1H, *J* = 12,5 Hz, CH₂); 5,25 (s, 1H, H1); 5,36 (dl, 1H, *J* = 9,3 Hz, H4); 5,87 (ddd, 1H, *J* = 1,7 Hz, 2,5 Hz, 10,2 Hz, H2); 5,94 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H3); 7,89 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 8,09 (s, 1H, H_{triazol}); 8,24 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 21,2; 21,3; 61,8; 63,2; 65,7; 67,5; 94,3; 120,9; 121,1; 127,6; 127,7; 129,3; 130,0; 139,1; 145,9; 167,7; 170,6; 171,2; 177,3.

Anal. Elementar calc. para C₂₂H₂₃N₅O₇: C, 56,29%; H, 4,94%; encontrado: C, 56,52%; H, 4,98%.

1-{[4-(5-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}2-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128c**): cristais incolores; rendimento: 70%; P.F.: 91-92°C; $[\alpha]_D^{20} + 72 \pm 2$ (*c* 0,25; CH₂Cl₂); *R_f* 0,41 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,78 (s, 3H, CH₃); 1,83 (s, 3H, CH₃); 2,08 (s, 3H, OAc); 2,09 (s, 3H, OAc); 4,15 – 4,28 (m, 3H, H₅, H₆ e H_{6'}); 5,26 (sl, 1H, H₁); 5,27 (dl, 1H, *J* = 9,0 Hz, H₄); 5,77 (ddd, 1H, *J* = 2,1 Hz, 2,7 Hz, 10,2 Hz, H₂); 5,88 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H₃); 7,55 – 7,67 (m, 3H, H_{arom}); 7,94 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 8,05 (s, 1H, H_{triazol}); 8,23 (dd, 2H, *J* = 1,5 Hz, 8,4 Hz, H_{arom}); 8,35 (dl, 2H, *J* = 9,0 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 20,8; 20,9; 27,2; 29,0; 62,9; 65,2; 67,0; 74,3; 89,8; 118,9; 120,5; 124,0; 127,2; 128,1; 128,5; 128,8; 129,1; 132,9; 138,8; 153,6; 167,8; 170,3; 170,8; 176,0.

EMAR [IES] calc. para C₂₉H₂₉N₅O₇Na [M + Na]⁺: 582, 1965; encontrado: 582,1952.

1-{[4-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}2-propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**128d**): cristais incolores; rendimento: 70%; P.F.: 47-48°C; $[\alpha]_D^{20} + 77 \pm 1$ (*c* 0,39; CH₂Cl₂); *R_f* 0,27 (cicloexano:acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,77 (s, 3H, CH₃); 1,82 (s, 3H, CH₃); 2,07 (s, 3H, OAc); 2,09 (s, 3H, OAc); 2,69 (s, 3H, CH_{3oxa}); 4,13 – 4,27 (m, 3H, H₅, H₆ e H_{6'}); 5,25 (sl, 1H, H₁); 5,27 (dl, 1H, *J* = 11,1 Hz, H₄); 5,77 (ddd, 1H, *J* = 2,1 Hz, 2,4 Hz, 10,2 Hz, H₂); 5,87 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H₃); 7,91 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 8,03 (s, 1H, H_{triazol}); 8,06 (s, 1H, H_{triazol}); 8,24 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 20,8; 20,9; 26,8; 27,2; 29,0; 63,0; 65,2; 67,0; 74,3; 89,8; 118,9; 120,5; 127,1; 128,5; 128,8; 138,7; 153,6; 167,3; 170,3; 170,7; 176,9.

EMAR [IES] calc. para C₂₄H₂₇N₅O₇Na [M + Na]⁺: 520, 1808; encontrado: 520,1807

Síntese dos carboidratos com uma função azida 129a-b

O procedimento experimental foi realizado segundo trabalho descrito por de Oliveira e colaboradores.⁷¹ Em um tubo de Schlenk, foram adicionados Pd₂(dba)₃ (37,0 mg; 0,04 mmol) e dppb (68 mg; 0,16 mmol) seguidos de 3 mL de tetraidrofurano degaseificado sob argônio. Este sistema catalítico permaneceu sob agitação por cerca de 30 minutos, quando foram adicionados o triazol **128** (1 mmol) e a azida de sódio (72 mg; 1,1 mmol) dissolvidos em uma mistura de THF:água (3:2) também degaseificados. A mistura reagiu por 2 horas a 50°C, sob argônio. Após verificado o término da reação por CCD, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 10 mL), as fases orgânicas lavadas com solução aquosa de HCl 1M (3 x 10 mL),

solução saturada de bicarbonato de sódio e salina e sêcas com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo submetido à cromatografia em coluna de sílica gel para fornecer **129**.

1-{[4-(5-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 6-*O*-acetil-4-azido-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**129a**): cristais incolores; rendimento: 69%; P.F.: 146-147°C; $[\alpha]_D^{20} + 65$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,72 (acetato de etila: éter de petróleo, 3:7 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,14 (s, 3H, OAc); 3,95 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H4); 4,01 (ddd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 4,7 Hz, 10,0 Hz, H5); 4,31 (dd, 1H, *J* = 4,7 Hz, 12,1 Hz, H6); 4,41 (dd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 12,1 Hz, H6'); 4,83 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,02 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,24 (sl, 1H, H1); 5,98 (ddd, 1H, *J* = 2,0 Hz, 2,4 Hz, 10,0 Hz, H2); 6,05 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H3); 7,55 – 7,67 (m, 3H, H_{arom}); 7,93 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom}); 8,12 (s, 1H, H_{triazol}); 8,23 (dl, 2H, *J* = 8,3 Hz, H_{arom}); 8,35 (dl, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 21,3; 54,8; 61,8; 63,7; 68,4; 94,0; 120,9; 121,2; 124,4; 127,7; 128,6; 128,7; 129,5; 129,6; 133,4; 139,1; 145,9; 168,2; 171,1; 176,4.

Anal. Elementar calc. para C₂₅H₂₂N₈O₅: C, 58,36%; H, 4,31%; encontrado: C, 58,49%; H, 4,34%.

1-{[4-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 6-*O*-acetil-4-azido-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**129b**): cristais incolores; rendimento: 39%; P.F.: 124-125°C; $[\alpha]_D^{20} + 56$ (*c* 0,5; CH₂Cl₂); *R*_f 0,71 (acetato de etila).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,13 (s, 3H, OAc); 2,69 (s, 3H, CH₃); 3,94 (dl, 1H, *J* = 9,8 Hz, H4); 4,00 (ddd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 4,7 Hz, 9,8 Hz, H5); 4,31 (dd, 1H, *J* = 4,7 Hz, 12,1 Hz, H6); 4,40 (dd, 1H, *J* = 2,3 Hz, 12,1 Hz, H6'); 4,82 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,00 (d, 1H, *J* = 12,4 Hz, CH₂); 5,23 (sl, 1H, H1); 5,97 (ddd, 1H, *J* = 2,1 Hz, 2,3 Hz, 10,2 Hz, H2); 6,04 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H3); 7,90 (dl, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}); 8,09 (s, 1H, H_{triazol}); 8,25 (dl, 2H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 21,2; 54,8; 61,8; 63,7; 68,4; 94,0; 121,0; 121,1; 127,7; 128,7; 129,3; 139,1; 145,9; 167,7; 171,1; 177,4.

EMAR [IES] calc. para C₂₀H₂₀N₈O₅Na [M + Na]⁺: 475,1454; encontrado: 475,1456

Síntese dos açúcares 130a-b

Análoga à síntese dos triazóis da série **128**.

1-{[4-(5-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 6-*O*-acetil-4-{[4-[(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil]-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**130a**): cristais incolores; rendimento: 80%; P.F.: 206-207°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 56$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R_f* 0,74 (acetato de etila).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,09 (s, 3H, OAc); 2,66 (s, 3H, CH₃); 4,13 (dd, 1H, *J* = 4,7 Hz, 12,2 Hz, H₆); 4,29 (dd, 1H, *J* = 2,8 Hz, 12,2 Hz, H_{6'}); 4,44 (ddd, 1H, *J* = 2,8 Hz, 4,7 Hz, 9,8 Hz, H₅); 4,90 (d, 1H, *J* = 12,2 Hz, CH₂); 5,05 (d, 1H, *J* = 12,2 Hz, CH₂); 5,41 (sl, 1H, H₁); 5,50 (dl, 1H, *J* = 9,8 Hz, H₄); 6,08 (dl, 1H, *J* = 10,2 Hz, H₂); 6,18 (ddd, 1H, *J* = 2,5 Hz, 2,6 Hz, 10,2 Hz, H₃); 7,55 – 7,67 (m, 3H, H_{arom}); 7,90 (s, 1H, H_{triazol}); 7,93 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 7,95 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom}); 8,12 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 8,16 (s, 1H, H_{triazol}); 8,24 (dl, 2H, *J* = 8,2 Hz, H_{arom}); 8,37 (dl, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 21,1; 55,9; 61,9; 63,1; 69,0; 94,0; 119,3; 120,9; 121,4; 124,4; 126,4; 127,0; 127,9; 128,3; 128,6; 129,5; 129,6; 133,1; 133,4; 139,0; 145,5; 147,9; 168,2; 168,4; 170,9; 176,4; 177,0.

EMAR [IES] calc. para C₃₅H₃₀N₁₀O₆Na [M + Na]⁺: 721,2247; encontrado: 721,2244.

1-{[4-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 6-*O*-acetil-4-{[4-[(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil]-2,3,4-tridesóxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo (**130b**): cristais incolores; rendimento: 71%; P.F.: 203-204°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 44$ (*c* 0,5; CH₂Cl₂); *R_f* 0,52 (acetato de etila).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,09 (s, 3H, OAc); 2,67 (s, 3H, CH₃); 2,69 (s, 3H, CH₃); 4,12 (dd, 1H, *J* = 4,9 Hz, 12,2 Hz, H₆); 4,28 (dd, 1H, *J* = 2,8 Hz, 12,2 Hz, H_{6'}); 4,43 (ddd, 1H, *J* = 2,8 Hz, 4,9 Hz, 9,6 Hz, H₅); 4,89 (d, 1H, *J* = 12,3 Hz, CH₂); 5,04 (d, 1H, *J* = 12,3 Hz, CH₂); 5,40 (sl, 1H, H₁); 5,50 (dl, 1H, *J* = 9,6 Hz, H₄); 6,08 (dl, 1H, *J* = 10,0 Hz, H₂); 6,17 (ddd, 1H, *J* = 2,3; Hz, 2,5 Hz, 10,0 Hz, H₃); 7,91 (dl, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}); 7,92 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}); 7,96 (s, 1H, H_{triazol}); 8,12 (dl, 2H, *J* = 7,7 Hz, H_{arom}); 8,14 (s, 1H, H_{triazol}); 8,25 (dl, 2H, *J* = 8,5 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 21,2; 55,8; 62,0; 63,0; 69,0; 94,0; 119,2; 121,0; 121,4; 126,5; 128,3; 129,4; 129,5; 133,1; 145,5; 162,7; 170,9; 177,0.

EMAR [IES] calc. para C₃₁H₂₈N₁₀O₆Na [M + Na]⁺: 659,2091; encontrado: 659,2074.

Síntese dos manopiranosídeos 131a-b e 132

Em um balão com capacidade para 25 mL contendo o carboidrato insaturado **128** ou **130** (1 mmol) dissolvido em uma mistura de acetona:água (4:1), foram adicionados OsO₄ (0,25 mg, 2 mol %) e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido (NMO) (458 mg, 4 mmol) a 0 °C. A reação ficou sob agitação por cerca de 12 horas a temperatura ambiente e então NaHSO₃ (500 mg) foi adicionado e o sistema reagiu por mais 30 minutos. A mistura reacional foi diluída em 5 mL de água, extraída com AcOEt (2 x 10 mL), seca em Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para fornecer o correspondente diol. O resíduo bruto foi submetido à reação com anidrido acético (4 mL) em piridina (4 mL) por mais 12 horas. O solvente foi evaporado em evaporador rotativo e cromatografado em coluna de sílica para fornecer o derivado manopiranosídico **131** ou **132**.

1-{[4-(5-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosídeo (**131a**): cristais incolores; rendimento: 67%; P.F.: 71-72°C; $[\alpha]_D^{20} + 37$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,41 (éter de petróleo:acetato de etila, 3:2 v/v).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,00 (s, 3H, OAc); 2,05 (s, 3H, OAc); 2,14 (s, 3H, OAc); 2,17 (s, 3H, OAc); 4,07 – 4,16 (m, 1H, H5); 4,5 (dd, 1H, *J* = 2,2 Hz, 12,2 Hz, H6); 4,33 (dd, 1H, *J* = 5,2 Hz, 12,2 Hz, H6'); 4,81 (d, 1H, *J* = 12,6 Hz, CH₂); 4,97 (d, 1H, *J* = 12,6 Hz, CH₂); 5,03 (sl, 1H, H1); 5,30 (dl, 1H, *J* = 3,1 Hz, H2); 5,32 (dd, 1H, *J* = 9,6 Hz, 9,6 Hz, H4); 5,38 (dd, 1H, *J* = 3,1 Hz, 9,6 Hz, H3); 7,55 – 7,67 (m, 3H, H_{arom}); 7,95 (dl, 2H, *J* = 8,9 Hz, H_{arom}); 8,14 (s, 1H, H_{triazol}); 8,24 (dl, 2H, *J* = 8,3 Hz, H_{arom}); 8,38 (dl, 2H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 21,0; 21,1; 21,2; 61,4; 62,8; 66,5; 69,2; 69,4; 69,8; 97,4; 121,0; 121,4; 124,4; 127,8; 128,5; 129,4; 129,5; 133,3; 139,0; 145,0; 168,2; 170,1; 170,3; 170,4; 171,0; 176,4.

EMAR [IES] calc. para C₃₁H₃₁N₅O₁₁Na [M + Na]⁺: 672,1918; encontrado: 672,1927.

1-{[4-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopiranosídeo (**131b**): cristais incolores; rendimento: 72%; P.F.: 61-62°C; $[\alpha]_D^{20} + 42$ (*c* 1,0; CH₂Cl₂); *R*_f 0,63 (acetato de etila).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,00 (s, 3H, OAc); 2,04 (s, 3H, OAc); 2,13 (s, 3H, OAc); 2,17 (s, 3H, OAc); 2,69 (s, 3H, CH₃); 4,11 – 4,17 (m, 2H, H5 e H6); 4,32 (dd, 1H, *J* = 5,4 Hz, 12,3 Hz, H6'); 4,80 (d, 1H, *J* = 12,5 Hz, CH₂); 4,96 (d, 1H, *J* = 12,5 Hz, CH₂); 5,02 (sl, 1H, H1); 5,29

(dd, 1H, $J = 1,9$ Hz, 3,4 Hz, H₂); 5,35 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz, 9,4 Hz, H₄); 5,38 (dd, 1H, $J = 3,4$ Hz, 9,4 Hz, H₃); 7,92 (dd, 2H, $J = 1,7$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}); 8,12 (s, 1H, H_{triazol}); 8,26 (dd, 2H, $J = 1,9$ Hz, 8,7 Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 21,0; 21,1; 21,2; 61,3; 62,8; 66,4; 69,2; 69,4; 69,8; 97,3; 121,0; 121,4; 127,7; 129,3; 139,0; 144,9; 167,7; 170,0; 170,3; 170,4; 171,0; 177,3.

Anal. Elementar calc. para C₂₆H₂₉N₅O₁₁: C, 53,15%; H, 4,98%; encontrado: C, 53,10%; H, 5,13%.

1-{[4-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil 2,3,6-tri-*O*-acetil-4-{4-[(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil]- α -D-manopiranosídeo (**132**): cristais incolores; rendimento: 42%; P.F.: 205-206°C (diclorometano:hexano); $[\alpha]_D^{20} + 18$ (c 0,5; CH₂Cl₂); R_f 0,58 (acetato de etila).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,86 (s, 3H, OAc); 2,06 (s, 3H, OAc); 2,22 (s, 3H, OAc); 2,67 (s, 3H, CH₃); 2,70 (s, 3H, CH₃); 3,99 (dd, 1H, $J = 4,5$ Hz, 12,2 Hz, H₆); 4,19 (dl, 1H, $J = 12,2$ Hz, H_{6'}); 4,73 (dl, 1H, $J = 10,4$ Hz, H₅); 4,89 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz, CH₂); 5,02 (dd, 1H, $J = 10,2$ Hz, 10,4 Hz, H₄); 5,04 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz, CH₂); 5,17 (sl, 1H, H₁); 5,42 (sl, 1H, H₂); 6,17 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz, 9,2 Hz, H₃); 7,93 – 7,96 (m, 5H, H_{arom}, H_{triazol}); 8,13 (dl, 2H, $J = 7,9$ Hz, H_{arom}); 8,20 (s, 1H, H_{triazol}); 8,28 (dl, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom}).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 12,8; 20,8; 21,1; 21,3; 57,8; 61,6; 62,9; 68,7; 68,9; 69,4; 97,4; 120,4; 121,1; 121,6; 126,5; 127,1; 127,8; 128,3; 129,4; 132,9; 144,8; 147,6; 162,7; 169,6; 170,2; 170,7; 177,0; 177,4.

EMAR [IES] calc. para C₃₅H₃₄N₁₀O₁₀Na [M + Na]⁺: 777,2357; encontrado: 777,2352.

Síntese do glicosídeo desacetilado 133

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 25 mL contendo o carboidrato insaturado **128a** (1 mmol) dissolvido em uma mistura de acetona/água (4:1), foram adicionados OsO₄ (0,25 mg, 2 mol %) e *N*-metilmorfolina-*N*-óxido (NMO) (458 mg, 4 mmol) a 0 °C. A reação ficou sob agitação por cerca de 12 horas na temperatura ambiente e então NaHSO₃ (500 mg) foi adicionado e o sistema reagiu por mais 30 minutos. A reação foi diluída em 5 mL de água, extraída com AcOEt (2 x 10 mL), seca em Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para fornecer o correspondente diol. O resíduo bruto foi submetido à reação de desacetilação com metóxido de sódio (160 mg; 3 mmol) em metanol seco (3 mL) por 5 horas. A mistura reacional teve o solvente evaporado em evaporador

rotativo e o resíduo foi lavado várias vezes com solução saturada de bicarbonato de sódio, água destilada e metanol para fornecer **133**.

1- $\{[4-(5\text{-Fenil-1,2,4-oxadiazol-3-il})\text{fenil}]-1H\text{-1,2,3-triazol-4-il}\}$ metil 2,3,4,6-tetróxi- α -D-manopiranosídeo (**133**): cristais incolores; rendimento: 60%; P.F.: 189-190°C; $[\alpha]_D^{20}$ -72 (c 0,25; DMSO); R_f = 0,2 (acetato de etila).

RMN ^1H (DMSO- d_6): δ 3,40 (dl, 1H, J = 10,0 Hz, H4); 3,42 – 3,58 (m, 3H, H6, H6', H5); 3,65 – 3,70 (m, 2H, H2, H3); 4,67 (d, 1H, J = 12,2 Hz, CH $_2$); 4,80 (d, 1H, J = 12,2 Hz, CH $_2$); 4,82 (sl, 1H, H1); 7,67 – 7,80 (m, 3H, H $_{\text{arom}}$); 8,15 (dl, 2H, J = 8,7 Hz, H $_{\text{arom}}$); 8,22 (dl, 2H, J = 7,7 Hz, H $_{\text{arom}}$); 8,32 (dl, 2H, J = 8,7 Hz, H $_{\text{arom}}$); 8,91 (s, 1H, H $_{\text{triazol}}$).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 59,4; 61,6; 67,4; 70,5; 71,2; 74,6; 99,6; 120,8; 122,7; 123,5; 126,3; 128,2; 129,0; 129,9; 133,8; 138,9; 145,4; 167,7; 175,9.

EMAR [IES] calc. para C $_{23}$ H $_{23}$ N $_5$ O $_7$ Na $[M + Na]^+$: 504,1495; encontrado: 504,1488.

7.6 – Metodologias utilizadas no capítulo 5

Avaliação da atividade antimicrobiana

Os microorganismos utilizados no teste de avaliação da atividade antimicrobiana foram cedidos pela Coleção de Cultura do Departamento de Antibióticos – UFPE (UFPEDA) e pelo Departamento de Micologia da mesma Universidade (URM). As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foram mantidas em ágar nutritivo (AN), as bactérias álcool-ácido resistentes em ágar glicose extrato de levedura (GL) e as leveduras em ágar Sabouraud, todos conservados a 4°C.

A relação dos microorganismos utilizados está descrito na tabela 11 no capítulo 5. As drogas utilizadas neste ensaio foram: **123a-q**, **124**, **125a-d**, **126**, **128a**, **131a** e **133**.

A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método da difusão em disco de papel.¹⁵⁵

Cada droga (10 mg para **123a-q**, **124**, **125a-d** e **126**; 20 mg para **128a**, **131a** e **133**) foi solubilizada em 1 mL de diclorometano (com exceção para **125b** e **132**, que foram dissolvidas em DMSO) para a preparação das soluções com concentração final para cada disco de 30 μg para **123a-q**, **124**, **125a-d** e **126** e 60 μg para **128a**, **131a** e **133**.

De cada microorganismo foi obtido um inóculo com 24 horas de crescimento nos meios de cultura adequados. Foi preparada uma suspensão em salina (NaCl 0,9%) contendo cerca 10^8 UFC/mL, com turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland.¹⁵⁶

As suspensões foram transferidas para placas de Petri contendo os meios Müeller-Hinton para as bactérias e Yeast Nitrogen Base Dextrose para as leveduras. Sobre as placas de Petri contendo os meios e repicadas com os microorganismos, foram depositados os discos de papel estéreis contendo as drogas.

Os experimentos foram realizados em triplicata. Como controle negativo foram utilizados discos contendo diclorometano e DMSO (veículos) e como controle positivo foram utilizados discos contendo antimicrobianos já padronizados como cloranfenicol (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas), estreptomicina (BAAR) e cetoconazol (leveduras).

As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas para as bactérias e a 30°C durante 48 horas para as leveduras. Quando há atividade antimicrobiana, halos de inibição ao redor de cada disco são formados e estes são medidos. Os resultados são expressos como média aritmética das leituras dos halos de inibição para cada droga.

Avaliação da atividade citotóxica

A metodologia utilizada para a avaliação da atividade citotóxica foi a metodologia do MTT.¹⁵⁷⁻¹⁶⁰ Foram utilizadas duas linhagens de células cancerígenas humanas, a linhagem Hep-2 (carcinoma epidermóide da laringe) e a linhagem NCI-H₂₉₂ (câncer de pulmão) em fase exponencial de crescimento, com 24 horas de repicadas. As células foram isoladas em MEM – Meio Essencial Mínimo, contendo 10% de soro fetal bovino, 1% de solução antibiótica (penicilina 1000 UI/mL e estreptomicina 250 mg/mL) e 1% de glutamina 200µM.^{159,160}

A viabilidade celular foi determinada pelo teste de exclusão do Azul Tipano, corante vital capaz de penetrar facilmente nas células eventualmente danificadas pelas manipulações experimentais, corando-as em azul. As células íntegras, vivas, permanecem incolores.

A atividade citotóxica foi medida *in vitro* através de testes de inibição do crescimento celular baseados no método do MTT. Este método se baseia na capacidade apresentada por células de reduzir o sal tetrazólio a cristais azuis (formazan), que precipita pela ação da enzima mitocondrial succinil-desidrogenase, ativa apenas para células vivas.

Foi utilizada uma suspensão de 5×10^4 células/mL, distribuída em placa de 96 poços (125 µL em cada poço), aos quais foi acrescentada uma solução contendo 15 µL/mL da

droga-teste (**115a-d**, **116a-c**, **122a**, **123k-q**, **128a-d**, **129a-b**, **130a-b**, **131a-b**, **132** ou **133**) dissolvida em DMSO, nas concentrações de 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 µg/mL. Após 72 horas de incubação a 37°C em atmosfera úmida, enriquecida com 5% de CO₂, foram adicionados 15 µL de solução 0,5 % de MTT em tampão fosfato salina (BPS) em cada poço. As placas foram reincubadas nas mesmas condições, por um período de 2 horas, após o qual o meio de cultura foi removido e foram adicionados 100µL de DMSO em cada poço para solubilização dos cristais (formazan). A leitura foi realizada em leitor automático para placas, a 540 nm.

Avaliação da morfologia celular das células tratadas com os glicoconjugados

Os experimentos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) desta Universidade.

Para esta parte do trabalho foi utilizada somente a linhagem de células cancerígenas humanas HEp-2 em fase exponencial de crescimento e com 24 horas de repicadas. As células foram isoladas em MEM – Meio Essencial Mínimo, contendo 10% de soro fetal bovino, 1% de solução antibiótica (penicilina 1000 UI/mL e estreptomicina 250mg/mL) e 1% de glutamina 200µM.^{159,160} Foram utilizadas placas de 12 poços, nas quais lamínulas redondas foram cuidadosamente colocadas no fundo de cada poço. A estes poços foi acrescentada uma solução contendo 15 µL/mL da droga-teste (**128a**, **128c**, **130a**) dissolvida em DMSO, nas concentrações de 1,25; 5,0 e 10,0 µg/mL. Após 72 horas de incubação a 37°C em atmosfera úmida, enriquecida com 5% de CO₂, as lamínulas foram retiradas para processamento da MEV.

As lamínulas contendo células controle e tratadas (em triplicata) foram lavadas várias vezes e individualmente com tampão fosfato salina (BPS) e posteriormente com tampão cacodilato de sódio 0,05 M. O material foi fixado com solução de glutaraldeído (glutaraldeído 2,5% e formaldeído 4% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M) a 4°C por cerca de 12 horas. As lamínulas foram então lavadas para retirada do fixador com tampão cacodilato de sódio 0,05 M (duas vezes) e pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio (OsO₄ 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M) por cerca de 1 hora, em temperatura ambiente. As lamínulas foram lavadas para a retirada do pós-fixador com tampão cacodilato de sódio 0,05 M (duas vezes) e desidratadas com concentrações crescentes de etanol até etanol absoluto. Neste ponto, as lamínulas foram lavadas várias vezes com etanol absoluto e secas em ponto crítico de CO₂.

As lamínulas foram então colocadas em suporte apropriado e recobertas com ouro (metalização).^{161,162} O material foi examinado em microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL 25SII.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L. *Biochemistry*, 5th Ed., New York, W. H. Freeman, **2002**.
2. Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.
3. Phillips, M. L.; Nudelman, E.; Gaeta, F. C. A.; Perez, M.; Singhal, A. K.; Hakomori, S.; Paulson, J. C. *Science* **1990**, *250*, 1130-1132.
4. Feizi, T. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 701-710.
5. Rudd, P. M.; Elliott, T.; Cresswell, P.; Wilson, I. A.; Dwek, R. A. *Science* **2001**, *291*, 2370-2376.
6. Varski, A. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
7. Galonić, D. P.; Gin, D. Y. *Nature* **2007**, *446*, 1000-1007.
8. Dedola, S.; Nepogodiev, S. A.; Field, R.A. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1006-1017.
9. Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.
10. Sofia, M. J. *Drug Disc. Today* **1996**, *1*, 27-34.
11. Goodman, L. S.; Gilman, A. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 9^a Ed., Rio de Janeiro, Mc Graw-Hill, **1996**.
12. Buskas, T.; Ingale, S.; Boons, G. J. *Glicobiology* **2006**, *16*, 113R-136R.
13. Baltz, R. H.; *Nature Biotechnol.* **2006**, *24*, 1533-1540.
14. Rademacher, T. W. *Curr. Opin. Biotechnol.* **1998**, *9*, 74-79.
15. Davis, B. G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1999**, 3215-3237.
16. Vliegenthart, J. F. G. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 2945-2950.
17. Jones, C. J. *Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *38*, 840-850.
18. Clapp, L. B. 1,2,3- and 1,2,4-Oxadiazoles, A. R. Katritzky; C. W. Rees, Eds.; *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, New York, Pergamon Press, *6*, 365-391, **1984**.
19. Andersen, K. E.; Lundt, B. F.; Jørgensen, A. S.; Braestrup, C. *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, *31*, 417-425.
20. Haugwitz, R. D.; Martinez, A. J.; Venslavsky, J.; Angel, R. G.; Maurer, B. V.; Jacobs, G. A.; Narayanan, V. L.; Cruthers, L. R.; Szanto, J. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1234-1241.
21. Ainsworth, C.; Buting, W. E.; Davenport, J.; Callender, M. E.; McCowen, M. C. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 208-211.

22. Watthey, J. W. H.; Desai, M.; Rutledge, R.; Dotson, R. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 690-692.
23. Boys, M. L.; Schretzman, L. A.; Chandrakumar, N. S.; Tollefson, M. B.; Mohler, S. B.; Downs, V. L.; Wang, Y.; Dalton, C. R.; Norring, S. A. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 839-844.
24. Srivastava, R. M.; Lima, A. A.; Viana, O. S.; Silva, M. J. C.; Catanho, M. T. J. A.; de Moraes, J. O. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1821-1827.
25. Leite, A. C. L.; Vieira, R. F.; de Faria, A. R.; Wanderley, A. G.; Afiatpour, P.; Ximenes, E. C. P. A.; Srivastava, R. M.; Oliveira, C. F.; Medeiros, M. V.; Antunes, E.; Brondani, D. J. *Il Farmaco* **2000**, *55*, 719-724.
26. Weidner-Wells, M. A.; Henninger, T. C.; Fraga-Spano, S. A.; Boggs, C. M.; Matheis, M.; Ritchie, D. M.; Argentieri, D. C.; Wachter, M. P.; Hlasta, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4307-4311.
27. Cottrell, D. M.; Capers, J.; Salem, M. M.; DeLuca-Fradley, K.; Croft, S. L.; Werbovetz, K. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2815-2824.
28. Zhang, H. Z.; Kasibhatla, S.; Kuemmerle, J.; Kemnitzer, W.; Ollis-Mason, K.; Qiu, L.; Crogan-Grundy, C.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S. X. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5215-5223.
29. Srivastava, R. M.; Viana, M. B. A. B.; Bieber, L. *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, *21*, 1193-1195.
30. Durden Jr, J. A.; Heywood, D. L. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 4359-4361.
31. Gangloff, A. R.; Litvak, J.; Shelton, E. J.; Sperandio, D.; Wang, V. R.; Rice, K. D. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1441-1443.
32. Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*, New York, Springer-Verlag, **1984**.
33. Deegan, T. L.; Nitz, T. J.; Cebzanov, D.; Pufko, D. E.; Porco Jr, J. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 209-212.
34. Poulain, R.; Tartar, A. L.; Déprez, B. P. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1495-1498.
35. Melo, S. J.; Sobral, A. D.; Lopes, H. L.; Srivastava, R. M. *J. Braz. Chem. Soc.* **1998**, *9*, 465-468.
36. Braga, V. M. L.; Melo, S. J.; Srivastava, R. M.; Falcão, E. P. S. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 603-607.
37. Amarasinghe, K. K. D.; Maier, M. B.; Srivastava, A.; Gray, J. L. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3629-3631.

38. Du, W.; Hagmann, W. K.; Hale, J. J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4271-4274.
39. Du, W.; Truong, Q.; Qi, H.; Guo, Y.; Chobanian, H. R.; Hagmann, W. K.; Hale, J. J. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2231-2235.
40. Adib, M.; Jahromi, A. H.; Tavoosi, N.; Mahdavi, M.; Bijanzadeh, H. R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2965-2967.
41. Bosnich, B. *Asymmetric catalysis*, Dordrecht, Martinus Nijhoff Publishers, **1986**.
42. Dalla-Vecchia, R.; Nascimento, M.G.; Soldi, V. *Química Nova* **2004**, *27*, 623-630.
43. Dixon, M.; Webb, E. C. *Enzymes*, 2nd Ed., London, Academic Press, **1964**.
44. Wong, C. H.; Whitesides, G. M. *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Tetrahedron Organic Chemistry Series, *12*, Oxford, Pergamon, **1994**.
45. Vollhardt, K. P.; Schore, N. E. *Química Orgânica: Estrutura e Função*, 4^a Ed., Porto Alegre, Bookman, **2004**.
46. Yadav, J. S.; Nanda, S.; Reddy, T.; Rao, A. B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3900-3903.
47. Bruni, R.; Fantin, G.; Médici, A.; Pedrini, P.; Sacchetti, G. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3377-3379.
48. Chadha, A.; Manohar, M.; Soundararajan, T.; Lokeswari, T. S. *Tetrahedron: Asymm.* **1996**, *7*, 1571-1572.
49. Baldassare, F.; Bertoni, G.; Chiappe, C.; Marioni, F. *J. Mol. Cat. B* **2000**, *11*, 55-58.
50. Baskar, B.; Ganesh, S.; Lokeswari, T. S.; Chadha, A. *J. Mol. Cat. B* **2004**, *27*, 13-17.
51. Mączka, W. K.; Mironowicz, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2004**, *15*, 1965-1967.
52. Yadav, J. S.; Reddy, P. T.; Nanda, S.; Rao, A. B. *Tetrahedron: Asymm.* **2001**, *12*, 3381-3385.
53. Machado, L. L.; Souza, J. S. N.; Mattos, M. C.; Sakata, S. K.; Cordell, G. A.; Lemos, T. L. G. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 1637-1643.
54. Comasseto, J. V.; Omori, A. T.; Porto, A. L. M.; Andrade, L. H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 473-476.
55. Srivastava, R. M.; Freitas Filho, J. R.; Silva, M. J.; Porto, S. C. M.; Carpenter, G. B. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10761-10769.
56. Freitas Filho, J. R. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2001**.
57. Mączka, W. K.; Mironowicz, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2002**, *13*, 2299-2302.
58. Miyaoura, N.; Ishiyama, T.; Satoh, M.; Suzuki, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 314-321.

59. Larsen, R. D.; King, A. O.; Chen, C. Y.; Corley, E. G.; Foster, B. S.; Roberts, F. E.; Yang, C.; Lieberman, D. R.; Reamer, R. A.; Tschaen, D. M.; Verhoeven, T. R.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6391-6394.
60. Campagne, J. M.; Prim, D. *Les complexes de palladium en synthèse organique: Initiation et guide pratique*, Paris, CNRS Editions, **2001**.
61. Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *6*, 4387-4388.
62. Trost, B. M.; Verhoeven, T. R. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3215-3216.
63. Trost, B. M.; Verhoeven, T. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 630-632.
64. Amatore, C.; Jutand, A.; Khalil, F.; M'Barki, M. A.; Mottier, L. *Organometallics* **1993**, *12*, 3168-3178.
65. Williams, J. M. J.; Acemoglu, L. Synthetic scope of the Tsuji-Trost reaction with allylic halides, carboxylates, ethers, and related oxygen nucleophiles as starting compounds, Negishi, E., Ed.; *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*, New York, John Wiley & Sons, **2002**.
66. Castaño, A. M.; Echavarren, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6587-6590.
67. Moreno-Mañas, M.; Pleixats, R. Palladium-catalyzed allylation with allyl carbonates, Negishi, E., Ed.; *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*, New York, John Wiley & Sons, **2002**.
68. McGhee, W. D.; Riley, D. P.; Christ, M. E.; Christ, K. M. *Organometallics* **1993**, *12*, 1429-1433.
69. Stien, D.; Anderson, G. T.; Chase, C. E.; Koh, Y.; Weinreb, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9574-9579.
70. Goux, C.; Massacret, M.; Lhoste, P.; Sinou, D. *Organometallics* **1995**, *14*, 4585-4593.
71. de Oliveira, R. N.; Cottier, L.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8271-8281.
72. Trost, B. M.; Krueger, A. C.; Bunt, R. C.; Zambrano, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6520-6521.
73. Trost, B. M.; Radinov, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5962-5963.
74. Trost, B. M.; Li, L.; Guile, S. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8745-8747.
75. Nguefack, J. F.; Bolitt, V.; Sinou, D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6827-6832.
76. Stevens, C. L.; Filippi, J. B.; Taylor, K. G. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1292-1293.
77. Donohoe, T. J.; Garg, R.; Moore, P. R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3407-3410.
78. Kuijpers, B. H. M.; Groothuis, S.; Keereweer, A. B. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3123-3126.

79. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Disc. Today* **2003**, 8, 1128-1137.
80. Kosiova, I.; Kovackova, S.; Kois, P. *Tetrahedron* **2007**, 63, 312-320.
81. Huisgen, R.; Szemies, G.; Mobius, L. *Chem. Ber.* **1967**, 100, 2494-2499.
82. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596-2599.
83. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 210-216.
84. Krasinski, A.; Radić, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 6686-6692.
85. Lee, L. V.; Mitchell, M. L.; Huang, S.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Wong, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9588-9589.
86. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057-3064.
87. Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, 6, 2853-2855.
88. Xie, J.; Seto, C. T. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 458-473.
89. Al-Masoudi, N. A.; Al-Soud, Y. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4021-4022.
90. Lee, T.; Cho, M.; Ko, S. Y.; Youn, H. J.; Baek, D. J.; Cho, W. J.; Kang, C. Y.; Kim, S. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 585-589.
91. Parrish, B.; Emrick, T. *Bioconjugate Chem.* **2007**, 18, 263-267.
92. van Dijk, M.; Mustafa, K.; Dechesne, A.; van Nostrum, C. F.; Hennink, W. E.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 327-330.
93. Lee, B. S.; Lee, J. K.; Kim, W. J.; Jung, Y. H.; Sim, S. J.; Lee, J.; Choi, I. S. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 744-749.
94. Ikeda, M.; Hasegawa, T.; Numata, M.; Sugikawa, K.; Sakurai, K.; Fujiki, M.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 3979-3988.
95. Yan, Z. Y.; Niu, Y. N.; Wei, H. L.; Wu, L. Y.; Zhao, Y. B.; Liang, Y. M. *Tetrahedron: Asymm.* **2006**, 17, 3288-3293.
96. Bastero, A.; Font, D.; Pericàs, M. A. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2460-2468.
97. Chassaing, S.; Kumarraja, M.; Sido, A. S. S.; Paie, P.; Sommer, J. *Org. Lett.* **2007**, 9, 883-886.
98. Carlqvist, P.; Maseras, F. *Chem. Comm.* **2007**, 748-750.
99. Calvo-Flores, F. G.; Isac-Garcia, J.; Hernández-Mateo, F.; Pérez-Balderas, F.; Calvo-Asín, J. A.; Sánchez-Vaquero, E.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2499-2502.

100. Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Santoyo-González, F. G. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3687-3690.
101. Pérez-Balderas, F.; Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asín, J. A.; Isac-Garcia, J.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951-1954.
102. Féau, C.; Klein, E.; Kerth, P.; Lebeau, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1499-1503.
103. Agard, N. J.; Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Lo, A.; Bertozzi, C. R. *ACS Chem. Biol.* **2006**, *1*, 644-648.
104. Nepogodiev, S. A.; Dedola, S.; Marmuse, L.; Oliveira, M. T.; Field, R. A. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 529-540.
105. Lenda, F.; Guenoun, F.; Martinez, J.; Lamaty, F. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 805-808.
106. Périon, R.; Ferrières, V.; García-Moreno, M. I.; Mellet, C. O.; Duval, R.; Fernández, J. M. G.; Plusquellec, D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9118-9128.
107. Bianchi, A.; Bernardi, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4565-4577.
108. Vicente, V.; Martin, J.; Jimenez-Barbero, J.; Chiara, J. L.; Vicent, C. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4240-4251.
109. Soli, E. D.; Manoso, A. S.; Patterson, M. C.; DeShong, P.; Favor, D. A.; Hirschmann, R.; Smith, A.B. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3171-3177.
110. Peto, C.; Batta, G.; Gyorgydeak, Z.; Sztaricskai, F. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 505-507.
111. Lindsell, W. E.; Preston, P. N.; Rettie, A. B. *Carbohydr. Res.* **1994**, *254*, 311-316.
112. Melo, A. C. N. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2007**.
113. Srivastava, R.M.; Brinn, I.M.; Machuca-Herrera, J.O.; Faria, H.B.; Carpenter, G.B.; Andrade, D.; Venkatesh, C.G.; de Moraes, L.P.F. *J. Mol. Struct.* **1997**, *406*, 159-167.
114. Srivastava, R. M.; Viana, M. B. A. B.; Bieber, L. *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, *21*, 1193-1195.
115. Löser, R.; Schilling, K.; Dimmig, E.; Gütschow, J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7688-7707.
116. Kundu, N. G.; Schmitz, S. A. *J. Heterocyclic Chem.* **1982**, *19*, 463-464.
117. de Oliveira, R. N.; Mendonça Jr, F. J. B.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *Synlett* **2006**, 3049-3052.

118. Mendonça Jr, F. J. B.; dos Anjos, J. V.; Sinou, D.; Melo, S. J.; Srivastava, R. M. *Synthesis* **2007**, 1890-1897.
119. Curran, T. P.; Grant, R. A.; Lucht, R. A.; Carter, J. C.; Affonso, J. *Org Lett.* **2002**, 4, 2917-2920.
120. Deiters, A.; Cropp, T. A.; Mukherji, M.; Chin, J. W.; Anderson, J. C.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11782-11783.
121. de Oliveira, R. N.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2006**, 25, 407-425.
122. Juaristi, E. *Introduction to Stereochemistry and Conformational Analysis* New York, John Wiley & Sons, **1991**.
123. Bergmann, E. D.; Bendas, H.; D'Avilla, U. *J. Org. Chem.* **1953**, 18, 64-69.
124. Lee, B.Y.; Park, S. R.; Jeon, H. B.; Kim, K. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5105-5109.
125. Malolanarasimhan, K.; Lai, C. C.; Kelley, J. A.; Iaccarino, L.; Reynolds, D.; Young, H. A.; Marquez, V. E. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 2717-2722.
126. Sears, P.; Wong, C. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2300-2324.
127. Zhu, X.; Schmidt, R. R. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 1081-1085.
128. Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, Porto Alegre, Artes Médicas, **2001**.
129. Hartzel, L.W.; Benson, F. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 667-670.
130. de las Heras, F. G.; Alonso, R.; Alonso, G. *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 496-501.
131. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turc, M. *Am. J. Clin. Microbiol.* **1966**, 40, 2413-2415.
132. Sejas, L. M.; Silbert, S.; Reis, A. O.; Sader, H. S. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* **2003**, 39, 27-35.
133. Cruz, A. S.; Figueiredo, C. A.; Ikeda, T. I.; Vasconcelos, A. C. E.; Cardoso, J. B.; Salles-Gomes, L. F. *Rev. Saúde Pública* **1998**, 32, 153-159.
134. Agência Nacional de Segurança Sanitária (ANVISA) *Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos*, consultado em <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/html/pag05.htm>, no dia 28/08/2007, às 18:37 h.
135. Weisenthal, L. M.; Marsden, J. A.; Dill, P. L.; Macaluso, C. K. *Cancer Res.* **1983**, 43, 749-757.

136. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th Ed., New York, Garland Science, **2002**.
137. Moore, A. E.; Sabachewsky, L.; Toolan, H.W. *Cancer Res.* **1955**, *15*, 598-602.
138. Chai, J.; Shiozaki, E.; Srinivasula, S.M.; Alnemri, E. S.; Shi, Y. *Cell* **2001**, *107*, 399-407.
139. Berger, A.B.; Witte, M.D.; Denault, J.B.; Sadaghiani, A.M.; Sexton, K.M.B.; Salvesen, G.S.; Bogoy, M. *Molecular Cell* **2006**, *23*, 509-521.
140. Kasibhatla, S.; Tseng, B. *Mol. Cancer Ther.* **2003**, *2*, 573-580.
141. Falcieri, E.; Gobbi, P.; Zamai, L.; Vitale, M. *Scanning Microsc.* **1994**, *8*, 653-666.
142. Gilloteaux, J.; Jamison, J.M.; Arnold, D.; Neal, D. R.; Summers, J.L. *Anat. Rec. Part A* **2006**, *288A*, 58-83.
143. Fanizza, C.; Ursini, C.L.; Paba, E.; Ciervo, A.; Di Francesco, A.; Maiello, R.; De Simone, P.; Cavallo, D. *Toxicol. in Vitro* **2007**, *21*, 586-594.
144. Jessen, K.A.; English, N.M.; Wang, J.Y.; Maliartchouk, S.; Archer, S.P.; Qiu, L.; Brand, R.; Kuemmerle, J.; Zhang, H.Z.; Gehlsen, K.; Drewe, J.; Tseng, B.; Cai, S.X.; Kasibhatla, S. *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 761-771.
145. Diaz, E.; Pfeffer, S.R. *Cell* **1998**, *93*, 433-443.
146. Hickenbottom, S. J.; Kimmel, A.R.; Londos, C.; Hurley, J.H. *Structure* **2004**, *12*, 1199-1207.
147. Orsel, J.G.; Sincock, P.M.; Krise, J.P.; Pfeffer, S.R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 9047-9051.
148. Barbero, P.; Bittova, L.; Pfeffer, S.R. *J. Cell Biol.* **2002**, *156*, 511-518.
149. Hanna, J.; Carrol, K.; Pfeffer, S.R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 7450-7454.
150. Burguette, A.S.; Harbury, P.B.; Pfeffer, S.R. *Nature Meth.* **2004**, *1*, 1-6.
151. Rohn, W.M.; Rouillé, Y.; Waguri, S.; Hoflack, B. *J. Cell Sci.* **2000**, *113*, 2093-2101.
152. Hinners, I.; Tooze, S.A. *J. Cell Sci.* **2003**, *116*, 763-771.
153. Spinola, A.M.; Guerra Jr, C.G. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* **2005**, *49*, 833-840.
154. Furniss, B.S.; Hannaford, A.J.; Smith, P.W.G.; Tatchell, A.R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Ed, London, Longman, **1989**.
155. Acar, J.F.; Goldstein, F.W. Disk Susceptibility test; Lorian, V. (Ed.), *Antibiotics in Laboratory Medicine*, Baltimore, Williams & Wilkins, **1986**.
156. Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Dowell, V.R.; Jaina, W.M.; Somemmers, H.M.; Winn, C.W. *Diagnóstico Microbiológico*, 5^a. Ed., São Paulo, Medicina Panamericana, **1993**.

157. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.
158. Alley, M.C.; Scudiero, D.A.; Monks, A.; Hursey, M.L.; Czerwinski, M.J.; Fine, D.L.; Abbot, B.J.; Mayo, J.G.; Shoemaker, R.H.; Boyd, M.R. *Cancer Res.* **1988**, 48, 589–601.
159. Eagle, H. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **1955**, 89, 362–364.
160. Eagle H. *Science* **1971**, 174, 500–503.
161. Peixoto, C.A.; Alves, L.C.; Brayner, F.A.; Florêncio, M.S. *Micron* **2003**, 34, 381-385.
162. Jamison, J.M.; Gilloteaux, J.; Venugopal, M.; Koch, J.A.; Sowick, C.; Shah, R.; Summers, J.L. *Tissue & Cell* **1996**, 28, 687-701.

ANEXOS 1 – 5

TRABALHOS PUBLICADOS E SUBMETIDOS A PERIÓDICOS

Synthesis of Triazole-Linked Manno- and Glucopyranosyl Amino Acids

Janaína V. dos Anjos,^{a,b} Denis Sinou,^{*a} Sebastiao J. de Melo,^c Rajendra M. Srivastava^{*b}

^a Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université Claude Bernard Lyon1, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France
Fax +33(4)78898914; E-mail: sinou@univ-lyon1.fr

^b Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540 Recife, PE, Brazil
Fax +55(81)21268442; E-mail: rms@ufpe.br

^c Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brazil

Received 15 May 2007

Abstract: The synthesis of two types of triazole-linked glycosyl amino acids, at C-4 and at the anomeric position for mannopyranose and glucopyranose derivatives, respectively, via a copper-catalyzed [3+2] cycloaddition of acetylenic amino acid derivatives and azide-containing glycoside is described.

Key words: [3+2] cycloaddition, acetylenic amino acid, azidocarbohydrate, triazole, glycosyl amino acids

Glycopeptides constitute an important class of natural compounds which are widely found in living organisms and play crucial roles in various cellular recognition processes.¹ The synthesis of such glycopeptides, as well as the synthesis of models that mimic these natural glycopeptides, are attractive goals. The most commonly encountered members of this family, or their models, are N- and O-linked glycopeptides.² More recently, several efforts have been focused on the synthesis of C-linked glycopeptides,^{2b,3} which are more stable towards chemical and enzymatic cleavages.

During the last few years, there has been an increasing interest in the use of the Huisgen's 1,3-dipolar cycloaddition reaction of organic azides with terminal acetylenes,⁴ and particularly after the optimization of the reaction conditions via a copper(I)-catalyzed condensation.⁵ In carbohydrate chemistry, this copper-catalyzed cycloaddition or 'click chemistry' has been used to construct well-defined glycoconjugates,⁶ oligosaccharide mimics,⁷ and macrocyclic systems such as glycodendrimers⁸ or cyclodextrines.⁹ The synthesis and in situ attachment of saccharides to the microtiter plate¹⁰ as well as the synthesis of multiple labelled-carbohydrate oligonucleotides on solid support via 1,2,3-triazole formation have also been described.¹¹

Surprisingly, despite the importance of glycosyl amino acids, the use of this methodology for the construction of triazole-linked glycosyl amino acids is scarce. One possibility is the combination of azidosugars with acetylenic amino acid derivatives,^{6e-h,12a-e} anomeric azides as well as carbohydrates bearing a spacer between the sugar moiety and the azido function being used. The other approach is

the combination of azidoamino acids and acetylenic sugars.^{6h,12a,c,f,g}

In a research program involving the synthesis and biological evaluation of a series of new aminosugars,¹³ we published a very convenient access to unsaturated 4-azidocarbohydrates via a palladium-catalyzed substitution of allylic sugar acetates or carbonates using NaN₃ or Me₃SiN₃ as the azide source.¹⁴ These 4-azidocarbohydrates were used in the copper-coupling with various terminal alkynes, allowing an efficient access to some 1,2,3-triazole-linked glycoconjugates.¹⁵ Herein we report the application of this methodology for the synthesis of some triazole-linked glycosyl amino acids derived from α -D-mannopyranose and the extension of this procedure to glycosyl amino acids derived from α - and β -D-glucopyranose, starting from azidosugars and various protected amino acids containing a terminal acetylenic function.

In order to perform the [2+3] cycloaddition, we have to introduce a terminal alkyne moiety in the amino acid. For this purpose, we prepared three different types of protected amino acids **1a–c** bearing the alkyne group on the acidic function as an amide group, on the amino function as an amide group, and also on the aromatic ring of the amino acid (Figure 1).

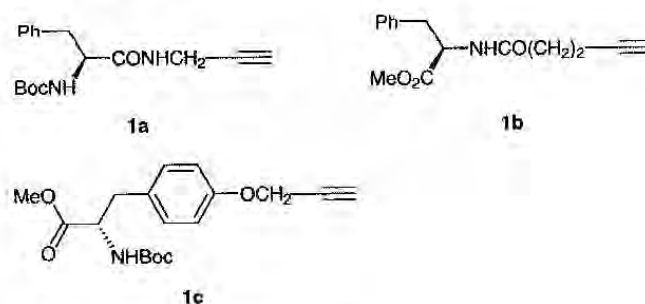
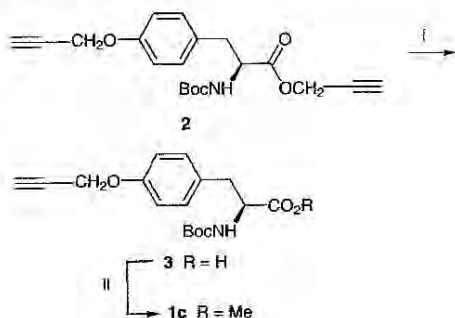


Figure 1 Acetylenic amino acids

Compounds **1a**¹⁶ and **1b**^{16a,17} were prepared according to the literature procedures. The synthesis of acetylenic amino acid **1c** was completed in two steps starting from compound **2** obtained from commercially available N-Boc-L-tyrosine according to the literature¹⁸ (Scheme 1). Saponification of the propargylic ester of compound **2** in a methanolic solution of sodium hydroxide followed by reaction

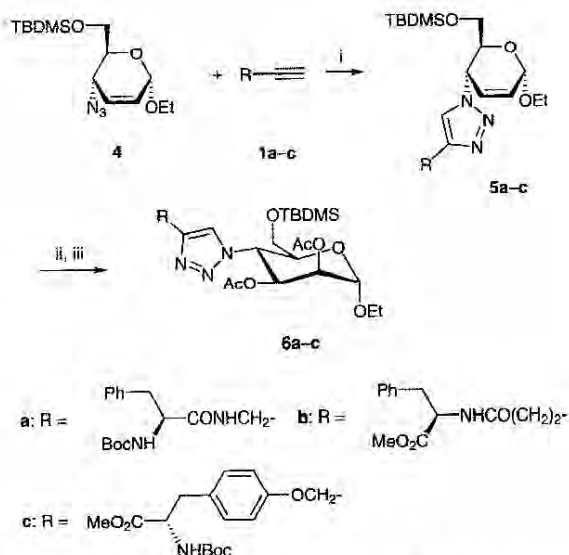
with diazomethane gave acetylenic amino acid **1c** in an overall yield of 45%.

The starting ethyl 4-azido-2,3,4-trideoxy- α -D-erythrohex-2-enopyranoside (**4**) was prepared according to the method described previously.¹⁴



Scheme 1 Reagents and conditions: (i) NaOH 2.5%, MeOH, r.t., 55%; (ii) CH_2N_2 , THF, r.t., 83%.

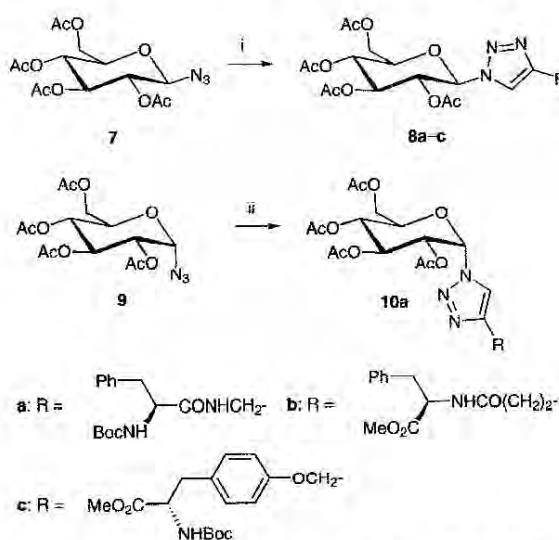
The reaction of unsaturated carbohydrate **4** with acetylenic amino acid **1a** in the presence of a catalytic amount of $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ and sodium ascorbate in a 1:1 mixture of *tert*-butyl alcohol and water at room temperature under nitrogen overnight afforded the 1*H*-1,2,3-triazole derivative **5a** as the exclusive product in 73% yield after column chromatography (Scheme 2). The regioselectivity of the 1,3-dipolar cycloaddition reaction was assigned according to the previous results using this methodology and based on the mechanism proposed by Sharpless et al.^{5a} Under the same conditions the reaction of carbohydrate **4** with acetylenic amino acids **1b** and **1c** afforded 1*H*-1,2,3-triazole derivatives **5b** and **5c** in 70 and 60% yield, respectively.



Scheme 2 Reagents and conditions: (i) *t*-BuOH- H_2O (1:1), $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (20 mol%), sodium ascorbate (40 mol%), r.t.; (ii) OsO_4 (2 mol%), NMO, acetone- H_2O , r.t.; (iii) Ac_2O , $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, r.t.

These unsaturated triazole-linked glycosyl amino acids **5a-c** were subjected to the dihydroxylation reaction in the presence of a catalytic amount of OsO_4 and *N*-methylmorpholine oxide followed by acetylation of the crude mixture (Scheme 2). As expected, the corresponding triazole-linked α -D-mannopyranosid-4-yl amino acids **6a-c** were obtained as the sole products in 63, 50, and 61% yield, respectively. Compounds **6a-c** were formed by the dihydroxylation of the double bond from the less hindered side, in agreement with the previous findings for similar compounds.¹⁹ The assigned configurations for compounds **6a-c** are mainly based on the coupling constant ($J_{4,5} = 10.7$, 10.3, and 10.9 Hz, and $J_{3,4} = 10.7$, 11.1, and 10 Hz, respectively), characteristic of an axial-axial disposition for H-3, H-4, and H-5.

The reaction of these protected acetylenic amino acids **1a-c** was also extended to glucopyranosyl azides **7** and **9**. However, we used the modified protocol recently published for similar condensations,²⁰ since it gave higher chemical yields in shorter reaction times. We performed the cycloaddition in the presence of CH_2Cl_2 as the co-solvent, instead of *t*-BuOH. Under these conditions, the β -glucopyranosyl azide **7** reacted in an efficient manner with the acetylenic amino acids **1a-c** to give the corresponding triazole-linked β -glycosyl amino acids in good yields after column chromatography (84, 65, and 73% yield for **8a**, **8b**, and **8c**, respectively), with retention of configuration at the anomeric center (Scheme 3). Likewise, the α -glucopyranosyl azide **9** reacted with the acetylenic amino acid **1a** to give the corresponding triazole-linked α -glycosyl amino acid **10a** in 40% yield. This is a complementary methodology to that described by Rutjes's group,^{12a} who used only the *N*-protected propargylglycine ester as the acetylenic amino acid, for the synthesis of various triazole-linked glycosyl amino acids.



Scheme 3 Reagents and conditions: (i) **1a-c**, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (5 mol%), sodium ascorbate (15 mol%), r.t.; (ii) **1a**, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (5 mol%), sodium ascorbate (15 mol%), r.t.

In conclusion, we have described a methodology for the synthesis of ethyl mannopyranoside bearing a triazole ring at C-4 linked to a protected amino acid moiety via the acidic or the amino function, or via the aromatic ring. The same amino acid moieties could be introduced very easily at the anomeric position of glucopyranose starting from azidoglucopyranoside.

Solvents were dried and distilled by standard methods before use. All commercially available reagents were used as received. All reactions were monitored by TLC analysis (TLC plates GF₂₅₄ Merck). Column chromatography was performed on silica gel 60 (230–240 mesh, Merck). Melting points were determined on a Büchi apparatus and are uncorrected. Optical rotations were recorded using a PerkinElmer 241 polarimeter. NMR spectra were recorded with a Bruker AMX 300 spectrometer and referenced as following: ¹H (300 MHz), internal SiMe₄ at δ = 0.00, ¹³C (75 MHz), internal standard at δ = 77.23. Exact mass measurements of the molecular ions were obtained on a Finnigan Mat 95 XL spectrometer.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-prop-2-yn-1-yl-L-phenylalaninamide (1a),^{16a} methyl *N*-pent-4-ynoyl-L-phenylalaninate (1b),^{16a,17} prop-2-yn-1-yl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*O*-prop-2-yn-1-yl-L-tyrosinate (2),¹⁸ ethyl 4-azido-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (4),¹⁴ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl azide (7),²¹ and 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl azide (9)²² were prepared according to reported procedures. Hexanes used had bp 40–65 °C.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*O*-prop-2-yn-1-yl-L-tyrosine (3)

A mixture of propargyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*O*-prop-2-yn-1-yl-L-tyrosinate (2) (1.12 g, 3.14 mmol) in a methanolic solution of 2.5% NaOH (40 mL) was stirred at r.t. for 3 h. The pH was then adjusted to 6.0 by adding a 30% aq solution of HCl, and the mixture was extracted with EtOAc (3 $\times$ 50 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by purification on silica gel chromatography using EtOAc as the eluent afforded acid 3 (550 mg, 55%) as a yellow oil; R_f = 0.54 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ +26 (c = 0.5, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 2.52 (t, J = 2.4 Hz, 1 H, C $\equiv$ CH), 3.03 (dd, J = 14.0, 6.1 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.14 (dd, J = 14.0, 5.1 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.57 (m, 1 H, CHN), 4.67 (d, J = 2.4 Hz, 2 H, CH₂C $\equiv$ C), 4.95 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, NH), 6.92 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 7.12 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.7, 37.4, 54.7, 56.2, 76.0, 79.0, 115.4, 130.9, 157.0, 157.1, 176.6.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₁₇H₂₁NO₅ + Na: 342.1317; found: 342.1319.

Methyl *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*O*-prop-2-yn-1-yl-L-tyrosinate (1c)

To a solution of 3 (0.2 g, 0.63 mmol) in THF (5 mL) was added at r.t. an ethereal solution of diazomethane obtained by reacting *N*-methyl-*N*-nitrosotoluene-*p*-sulfonamide (320 mg, 1.5 mmol) with ethanolic KOH (34 mg in 0.9 mL). After total consumption of the starting amino acid, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by silica gel chromatography using EtOAc as the eluent to afford the methyl ester 1c (174 mg, 83%) as a colorless solid; mp 78–80 °C; R_f = 0.7 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ +35.7 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 2.52 (t, J = 2.5 Hz, 1 H, C $\equiv$ CH), 2.99 (dd, J = 14.0, 6.0 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.06 (dd, J = 14.0, 5.9 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.71 (s, 3 H, OCH₃), 4.54

(ddd, J = 7.9, 6.0, 5.9 Hz, 1 H, CHN), 4.66 (d, J = 2.5 Hz, 2 H, CH₂C $\equiv$ C), 4.97 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, NH), 6.90 (d, J = 8.6 Hz, 2 H_{arom}), 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 2 H_{arom}).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.7, 37.9, 52.6, 54.9, 56.2, 75.9, 79.0, 80.3, 115.3, 129.4, 130.7, 155.5, 157.0, 172.8.

Anal. Calcd for C₁₈H₂₃NO₅: C, 64.85; H, 7.21. Found: C, 64.52; H, 7.21.

Unsaturated Triazole Derivatives 5a–c; General Procedure

4-Azidosugar 4 (313 mg, 1 mmol) and the appropriate acetylenic amino acid derivative 1 (3 mmol) were suspended in 1:1 mixture of *t*-BuOH and H₂O (4 mL), and THF (2 mL). To this solution was added a mixture of Cu(OAc)₂ (36 mg, 0.2 mmol) and sodium ascorbate (79 mg, 0.4 mmol) in *t*-BuOH–H₂O (1 mL). The reaction was stirred under N₂ at r.t. until TLC analysis indicated complete consumption of the product. H₂O (3 mL) was added, and the organic product was extracted with CH₂Cl₂ (3 $\times$ 5 mL). The combined organic layers were dried (Na₂SO₄). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel using the indicated eluent to give the corresponding compound 5.

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-{[1-(ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3,4-trideoxy- α -L-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methyl}-L-phenylalaninamide (5a)

Prepared from 4 and 1a; colorless solid; yield: 449 mg (73%); mp 54 °C; R_f = 0.53 (CH₂Cl₂–EtOAc, 4:1); $[\alpha]_D^{20}$ +59.2 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.00 (s, 3 H, SiCH₃), 0.01 (s, 3 H, SiCH₃), 0.87 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.39 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 3.06 (d, J = 6.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.53–3.63 (m, 2 H, H-6, CH₂CH₃), 4.07 (ddd, J = 9.4, 3.0, 2.1 Hz, 1 H, H-5), 4.33 (d, J = 7.2 Hz, 1 H, NH), 4.43 (dd, J = 15.2, 5.6 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.50 (dd, J = 15.2, 5.6 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.95 (br s, 1 H, NH), 5.13 (br s, 1 H, H-1), 5.32 (br d, J = 9.4 Hz, 1 H, H-4), 5.89 (br d, J = 10.4 Hz, 1 H, H-2), 6.05 (ddd, J = 10.2, 2.8, 2.4 Hz, 1 H, H-3), 6.36 (t, J = 6.8 Hz, 1 H, CHN), 7.16 (d, J = 7.5 Hz, 2 H_{arom}), 7.24–7.30 (m, 3 H_{arom}), 7.46 (s, 1 H, NCH=).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = –5.1, –5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 28.6, 35.3, 39.0, 55.2, 62.7, 64.5, 71.2, 94.2, 121.5, 127.3, 127.9, 128.9, 129.6, 129.7, 137.0, 145.2, 155.7, 171.8.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₃₁H₄₉N₅O₆Si + Na: 638.3349; found: 638.3348.

Anal. Calcd for C₃₁H₄₉N₅O₆Si: C, 60.46; H, 8.02. Found: C, 59.74; H, 7.84.

Methyl *N*-{[1-(Ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]propanoyl}-L-phenylalaninate (5b)

Prepared from 4 and 1b; colorless oil; yield: 401 mg (70%); R_f = 0.63 (hexanes–EtOAc, 2:1); $[\alpha]_D^{20}$ +94.7 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 0.00 (s, 3 H, SiCH₃), 0.02 (3 s, 3 H, SiCH₃), 0.87 [s, 9 H, SiC(CH₃)₃], 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 2.61 (t, J = 7.0 Hz, 1 H, CH₂), 3.02 (t, J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂), 3.07 (m, 1 H, CH₂Ph), 3.11 (dd, J = 14.1, 6.0 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.53–3.61 (m, 2 H, CH₂CH₃, H-6), 3.65 (dd, J = 11.7, 2.1 Hz, 1 H, H-6), 3.71 (s, 3 H, OCH₃), 3.87 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, CH₂CH₃), 4.06 (ddd, J = 9.8, 4.9, 2.1 Hz, 1 H, H-5), 4.85 (ddd, J = 7.5, 6.0, 5.9 Hz, 1 H, CHN), 5.11 (br s, 1 H, H-1), 5.29 (ddd, J = 9.8, 1.9, 1.7 Hz, 1 H, H-4), 5.90 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-2), 6.00 (ddd, J = 10.0, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-3), 6.16 (br d, J = 7.5 Hz, 1 H, NH), 7.04 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 2 H_{arom}), 7.20–7.31 (m, 3 H_{arom}), 7.39 (s, 1 H, NCH=).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 21.7, 26.2, 38.7, 38.2, 52.6, 53.6, 55.1, 62.7, 64.5, 71.3, 94.2, 120.7, 127.4, 128.2, 128.9, 129.4, 129.5, 136.2, 147.0, 171.9, 172.3.

Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$: C, 60.81; H, 7.74. Found: C, 60.68; H, 7.80.

Methyl *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*O*-[1-(ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-L-tyrosinate (5c)

Prepared from **4** and **1c**; colorless oil; yield: 388 mg (60%); R_f = 0.58 (CH_2Cl_2 -EtOAc, 4:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +81.9 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.02 (s, 3 H, SiCH_3), 0.03 (s, 3 H, SiCH_3), 0.88 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.43 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 3.01 (dd, J = 14.5, 6.2 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.07 (dd, J = 14.1, 6.0 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.56–3.72 (m, 3 H, CH_2CH_3 , H-6), 3.72 (s, 3 H, OCH_3), 3.89 (dq, J = 9.5, 7.1 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 4.12 (m, 1 H, H-5), 4.55 (m, 1 H, CHN), 4.98 (br d, J = 7.9 Hz, 1 H, NH), 5.15 (br s, 1 H, H-1), 5.18 (s, 2 H, OCH_2), 5.38 (br d, J = 9.8 Hz, 1 H, H-4), 5.98 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-2), 6.05 (ddd, J = 10.0, 2.5, 2.5 Hz, 1 H, H-3), 6.92 (d, J = 8.6 Hz, 2 H_{arom}), 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 2 H_{arom}), 7.70 (s, 1 H, NCH=).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 28.7, 52.6, 53.8, 55.3, 62.5, 62.7, 64.6, 71.4, 94.2, 115.1, 122.0, 128.0, 129.0, 129.7, 130.7, 144.9, 155.5, 157.7, 172.7.

Anal. Calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8\text{Si}$: C, 59.42; H, 7.79. Found: C, 58.81; H, 7.73.

Dihydroxylation of Unsaturated Triazole Derivatives 6a–c; General Procedure

To a solution of unsaturated 4-triazolyl glycopeptide **5** (0.5 mmol) in a 4:1 mixture of acetone– H_2O (2 mL), was added OsO_4 (0.125 mg, 0.5 μmol , 2 mol%) and *N*-methylmorpholine-*N*-oxide (233 mg, 2 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred overnight at r.t., then NaHSO_4 (250 mg) was added, and the contents were stirred for 30 min at r.t. The mixture was diluted with H_2O (3 mL), and extracted with EtOAc (2 $\times$ 5 mL). The organic phase was separated, dried (Na_2SO_4), and the solvent was evaporated to give the corresponding diol. The crude residue was directly acetylated using Ac_2O (153 mg, 1.5 mmol) in pyridine (2 mL) for 1 d. After removing the solvent under reduced pressure, the residue was purified by column chromatography on silica gel using the corresponding eluent to afford the 4-triazolyl carbohydrate **6**.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-[1-(ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-deoxy- α -D-mannopyranosid-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-L-phenylalaninamide (6a)**

Prepared from **5a**; colorless solid; yield: 231 mg (63%); mp 66 °C; R_f = 0.75 (CH_2Cl_2 -EtOAc, 1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +39.4 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.00 (s, 3 H, SiCH_3), 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.92 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.39 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.83 (s, 3 H, CH_3), 2.16 (s, 3 H, CH_3), 3.05 (d, J = 6.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.34 (dd, J = 11.9, 3.0 Hz, 1 H, H-6), 3.56 (dq, J = 9.8, 7.2 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 3.63 (br d, J = 11.9 Hz, 1 H, H-6), 3.80 (dq, J = 9.8, 7.2 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 4.38–4.35 (m, 2 H, H-5, NH), 4.41 (dd, J = 15.2, 5.6 Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.52 (dd, J = 15.2, 5.8 Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.91 (br s, 1 H, H-1), 4.94 (br s, 1 H, NH), 4.98 (dd, J = 10.7, 10.7 Hz, 1 H, H-4), 5.33 (dd, J = 2.8, 1.7 Hz, 1 H, H-2), 5.83 (dd, J = 10.7, 3.2 Hz, 1 H, H-3), 6.48 (dd, J = 5.8, 5.6 Hz, 1 H, CHN), 7.14 (d, J = 7.4 Hz, 2 H_{arom}), 7.22–7.32 (m, 3 H_{arom}), 7.48 (s, 1 H, NCH=).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = -6.5, -6.3, 13.9, 17.2, 19.4, 19.8, 24.8, 27.2, 33.9, 55.1, 60.5, 62.9, 67.9, 68.0, 70.0, 96.4, 122.3, 126.0, 127.7, 128.3, 135.5, 168.0, 168.9, 170.3.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Si}$ + Na: 756.3616; found: 756.3610.

Methyl *N*-[3-[1-(Ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-deoxy- α -D-mannopyranosid-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]propanoyl]-L-phenylalaninate (6b)

Prepared from **5b** colorless oil; yield: 173 mg (50%); R_f = 0.66 (CH_2Cl_2 -EtOAc, 1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +52.8 (c = 0.6, CH_2Cl_2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 0.00 (s, 3 H, SiCH_3), 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.92 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.83 (s, 3 H, CH_3), 2.17 (s, 3 H, CH_3), 2.62 (t, J = 7.3 Hz, 2 H, CH_2), 3.03 (t, J = 7.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.10 (dd, J = 13.6, 7.8 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.15 (dd, J = 13.6, 5.8 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.35 (dd, J = 11.9, 3.4 Hz, 1 H, H-6), 3.63–3.49 (m, 2 H, CH_2CH_3 , H-6), 3.74 (s, 3 H, OCH_3), 3.81 (dq, J = 9.8, 7.1 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 4.33 (br d, J = 10.3 Hz, 1 H, H-5), 4.87 (ddd, J = 7.8, 6.0, 5.8 Hz, 1 H, CHN), 4.91 (d, J = 1.5 Hz, 1 H, H-1), 4.97 (dd, J = 11.1, 10.3 Hz, 1 H, H-4), 5.33 (dd, J = 3.2, 1.7 Hz, 1 H, H-2), 5.85 (dd, J = 11.1, 3.4 Hz, 1 H, H-3), 6.14 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, NH), 7.09 (dd, J = 6.2, 1.7 Hz, 2 H_{arom}), 7.26–7.34 (m, 3 H_{arom}), 7.40 (s, 1 H, NCH=).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = -5.1, -4.9, 15.3, 18.7, 20.8, 21.2, 21.6, 26.2, 35.7, 38.2, 52.7, 53.5, 56.4, 62.0, 64.3, 69.2, 69.5, 71.6, 97.7, 122.5, 127.6, 129.0, 129.6, 136.2, 169.5, 170.3, 171.7, 172.3.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Si}$ + Na: 713.3194; found: 713.3190.

Methyl *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-[1-(ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-deoxy- α -D-mannopyranosid-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-L-tyrosinate (6c)

Prepared from **5c**; colorless solid; yield: 233 mg (61%); mp 63 °C; R_f = 0.81 (CH_2Cl_2 -EtOAc, 4:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +62.3 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = -0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.00 (s, 3 H, SiCH_3), 0.86 [s, 9 H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$], 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.38 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.75 (s, 3 H, OCOCH_3), 2.10 (s, 3 H, OCOCH_3), 2.95 (dd, J = 14.0, 6.2 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.01 (dd, J = 14.0, 5.8 Hz, 1 H, CH_2Ph), 3.28 (dd, J = 11.8, 3.2 Hz, 1 H, H-6), 3.51 (dq, J = 9.8, 7.1 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 3.59 (br d, J = 12.0 Hz, 1 H, H-6), 3.67 (s, 3 H, OCH_3), 3.74 (dq, J = 9.8, 7.1 Hz, 1 H, CH_2CH_3), 4.32 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-5), 4.49 (m, 1 H, CHN), 4.86 (d, J = 1.3 Hz, 1 H, H-1), 4.93 (br d, J = 8.0 Hz, 1 H, NH), 4.97 (dd, J = 10.9, 10.9 Hz, 1 H, H-4), 5.14 (s, 2 H, OCH_2), 5.28 (dd, J = 2.8, 2.1 Hz, 1 H, H-2), 5.85 (dd, J = 11.2, 3.3 Hz, 1 H, H-3), 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 6.99 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 7.59 (s, 1 H, NCH=).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = -5.2, -4.9, 15.3, 18.6, 20.8, 21.2, 26.2, 28.7, 37.8, 52.6, 54.9, 56.6, 61.9, 62.5, 64.3, 69.2, 69.5, 71.6, 97.8, 115.2, 124.1, 129.0, 130.7, 144.3, 157.7, 169.4, 170.3, 172.7.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{57}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Si}$: 765.3742; found: 765.3733.

Glucopyranosyl-Linked Triazole Derivatives 8a–c and 10a; General Procedure

Azidosugar **7** or **9** (1 mmol) and the appropriate acetylenic amino acid (1.1 mmol) were suspended in 1:1 mixture of CH_2Cl_2 and H_2O (4 mL). To this solution was added a mixture of $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (36 mg, 0.2 mmol) and sodium ascorbate (79 mg, 0.4 mmol). The resulting mixture was stirred under N_2 at r.t. until TLC analysis indicated complete consumption of the azidosugar. The mixture was diluted with CH_2Cl_2 (5 mL) and H_2O (5 mL). The organic layer was separated, and the aqueous phase was extracted again with CH_2Cl_2 (5 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica using the indicated eluent to give the corresponding 1,2,3-triazoles **8a–c** or **10a**.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-([1-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl)-L-phenylalaninamide (8a)**

Prepared from **7** and **1a**; colorless solid; yield: 439 mg (65%); mp 135 °C; R_f = 0.71 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ -19.7 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.31 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.79 (s, 3 H, OCOCH₃), 1.97 (s, 3 H, OCOCH₃), 1.99 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.03 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.74 (dd, J = 13.6, 10.0 Hz, 1 H, CH₂Ph), 2.94 (dd, J = 13.6, 4.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.05–4.18 (m, 3 H, H-6, CHN), 4.33 (d, J = 5.5 Hz, 2 H, CH₂N), 4.37–4.40 (m, 1 H, H-5), 5.17 (dd, J = 9.4, 9.2 Hz, 1 H, H-4), 5.55 (dd, J = 9.4, 9.2 Hz, 1 H, H-3), 5.61 (dd, J = 9.4, 8.5 Hz, 1 H, H-2), 6.33 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, H-1), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1 H_{arom}), 7.18–7.24 (m, 5 H, 4 H_{arom}, NH), 8.06 (s, 1 H, NCH=), 8.50 (br t, J = 5.0 Hz, 1 H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.5, 20.9, 20.9, 21.0, 28.6, 35.2, 40.0, 61.9, 68.0, 70.7, 73.1, 75.4, 86.0, 127.2, 129.0, 129.7, 137.0, 169.2, 169.7, 170.3, 170.9, 171.8.

HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ calcd for C₃₁H₄₂N₅O₁₂: 676.2830; found: 676.2857.

Methyl *N*-(3-[1-[2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]propanoyl)-L-phenylalaninate (8b)

Prepared from **7** and **1b**; colorless solid; yield: 531 mg (84%); mp 155 °C; R_f = 0.38 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ +10.0 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.78 (s, 3 H, OCOCH₃), 1.96 (s, 3 H, OCOCH₃), 1.99 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.03 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.41 (t, J = 7.4 Hz, 2 H, CH₂), 2.74 (t, J = 7.3 Hz, 2 H, CH₂), 2.87 (dd, J = 13.6, 9.2 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.02 (dd, J = 13.6, 5.6 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.60 (s, 3 H, OCH₃), 4.04 (dd, J = 12.4, 2.3 Hz, 1 H, H-6), 4.14 (dd, J = 12.4, 5.3 Hz, 1 H, H-6), 4.37 (ddd, J = 9.8, 5.3, 2.3 Hz, 1 H, H-5), 4.47 (ddd, J = 11.1, 5.6, 3.4 Hz, 1 H, CHN), 5.15 (dd, J = 9.6, 9.6 Hz, 1 H, H-4), 5.55 (dd, J = 9.2, 9.0 Hz, 1 H, H-3), 5.59 (dd, J = 9.0, 8.9 Hz, 1 H, H-2), 6.29 (d, J = 8.9 Hz, 1 H, H-1), 7.19–7.31 (m, 5 H_{arom}), 8.06 (s, 1 H, NCH=), 8.43 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.5, 20.9, 20.9, 21.0, 21.6, 35.5, 38.1, 52.7, 53.5, 61.9, 68.1, 70.6, 73.1, 75.3, 85.9, 120.3, 127.5, 128.9, 129.6, 136.3, 147.6, 169.2, 169.8, 170.3, 170.9, 171.6, 172.4.

Anal. Calcd for C₂₉H₃₆N₄O₁₂: C, 55.06; H, 5.74. Found: C, 54.77; H, 5.82.

Methyl *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*O*-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]-L-tyrosinate (8c)

Prepared from **7** and **1c**; colorless solid; yield: 515 mg (73%); mp 158 °C; R_f = 0.83 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ -1.3 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.33 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.77 (s, 3 H, OCOCH₃), 1.97 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.00 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.03 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.78 (dd, J = 13.4, 10.0 Hz, 1 H, CH₂Ph), 2.91 (dd, J = 13.4, 4.9 Hz, 1 H, CH₂Ph), 3.60 (s, 3 H, OCH₃), 4.04–4.16 (m, 3 H, H-6, CHN), 4.37 (ddd, J = 10.0, 5.1, 2.6, 1 H, H-5), 5.11 (s, 2 H, OCH₂), 5.18 (dd, J = 9.8, 9.6 Hz, 1 H, H-4), 5.56 (dd, J = 9.4, 9.4 Hz, 1 H, H-3), 5.68 (dd, J = 9.4, 9.1 Hz, 1 H, H-2), 6.38 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, H-1), 6.94 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 7.16 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 7.27 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, NH), 8.54 (s, 1 H, NCH=).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.5, 20.8, 20.9, 21.1, 28.7, 37.9, 52.6, 61.9, 62.3, 68.0, 70.6, 73.0, 75.5, 86.1, 115.3, 121.5, 126.2, 129.2, 130.8, 145.4, 157.6, 169.3, 169.7, 170.3, 170.9, 172.7.

HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ calcd for C₃₂H₄₃N₄O₁₄: 707.2776; found: 707.2763.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-([1-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl)-L-phenylalaninamide (10a)**

Prepared from **9** and **1a**; colorless solid; yield: 270 mg (40%); mp 82 °C; R_f = 0.65 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ +62.0 (c = 0.5, CH₂Cl₂).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.40 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.88 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.03 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.06 (s, 3 H, OCOCH₃), 2.07 (s, 3 H, OCOCH₃), 3.06 (d, J = 7.0 Hz, 2 H, CH₂Ph), 4.01 (dd, J = 12.4, 1.9 Hz, 1 H, H-6), 4.26 (dd, J = 12.4, 3.9 Hz, 1 H, H-6), 4.30–4.35 (m, 2 H, H-5, CHN), 4.47 (dd, J = 15.8, 5.6 Hz, 1 H, CH₂N), 4.52 (dd, J = 15.8, 5.8 Hz, 1 H, CH₂N), 4.95 (br s, 1 H, NH-Boc), 5.26 (dd, J = 9.8, 9.4 Hz, 1 H, H-4), 5.32 (dd, J = 10.0, 6.0 Hz, 1 H, H-2), 6.25 (d, J = 6.0 Hz, 1 H, H-1), 6.26 (dd, J = 10.0, 9.4 Hz, 1 H, H-3), 6.43 (dd, J = 5.8, 5.6 Hz, 1 H, NH), 7.15 (dd, J = 7.7, 2.1 Hz, 2 H_{arom}), 7.25–7.32 (m, 3 H_{arom}), 7.44 (s, 1 H, NCH=).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 18.5, 18.7, 18.8, 26.4, 28.6, 32.9, 54.9, 66.2, 67.9, 68.5, 69.3, 79.6, 122.7, 125.2, 126.9, 127.5, 134.6, 167.8, 168.2, 168.7, 1169.5, 169.6.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₃₁H₄₁N₅O₁₂ + Na: 698.2649; found: 698.2649.

Acknowledgment

We are indebted to the CAPES/COFECUB program no. 334/01 for financial support, and CNPq-Brazil for providing a fellowship (J.A.).

References

- (a) Varski, A. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97. (b) *Glycopeptides and Related Compounds, Synthesis, Analysis and Applications*; Large, D. G.; Warren, C. D., Eds.; Marcel Dekker: New York, **1997**. (c) Dwek, R.-A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683.
- (a) Seitz, O. *ChemBioChem* **2000**, *1*, 214. (b) Schweizer, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230. (c) Spiro, R. G. *Glycobiology* **2002**, *12*, 43R.
- (a) Postema, M. H. D. *C-Glycoside Synthesis*; CRC Press: Boca Raton, **1995**. (b) Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4395. (c) Beau, J.-M.; Gallagher, T. *Top. Curr. Chem.* **1997**, *187*, 1. (d) Yuan, X.; Linhardt, R. J. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1393.
- Huisgen, R.; Knorr, R.; Moebius, L.; Szeimies, G. *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 4014.
- (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596. (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057. (c) Wang, Q.; Chittaboina, S.; Barnhill, H. N. *Lett. Org. Chem.* **2005**, *2*, 293. (d) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *51*. (e) Lutz, J.-F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018. (f) Wu, P.; Fokin, V. V. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 7.
- (a) Pérez-Balderas, F.; Ortega-Muñoz, M.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernández-Mateo, F.; Calvo-Flores, F. G.; Calvo-Asín, J. A.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951. (b) Casas-Solvas, J. M.; Vargas-Berenguel, A.; Capitán-Vallvey, L. F.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3687. (c) Zhu, X.; Schmidt, R. R. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1081. (d) Périon, R.; Ferrières, V.; García-Moreno, M. I.; Mellet, C. O.; Duval, R.; Fernández, J. M. G.; Plusquellec, D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9118. (e) Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331. (f) Temelkoff, D. P.; Zeller, M.; Norris, P. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1081. (g) Wilkinson, B. L.; Bornaghi, L. F.; Poulsen, S.-A.; Houston, T. A. *Tetrahedron*

- 2006, 62, 8115. (h) Hotha, S.; Kashyap, S. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 364.
- (7) (a) Marmuse, L.; Nepogodiev, S. A.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2225. (b) Cheshev, P.; Marra, A.; Dondoni, A. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3225. (c) Hasegawa, T.; Umeda, M.; Numata, M.; Li, C.; Bae, A.-H.; Fujisawa, T.; Haraguchi, S.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 35.
- (8) (a) Joosten, J. A. F.; Tholen, N. T. H.; El Maate, F. A.; Brouwer, A. J.; van Esse, G. W.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J.; Pieters, R. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3182. (b) Fernandez-Megia, E.; Correa, J.; Rodríguez-Meizoso, I.; Riguera, R. *Macromolecules* **2006**, 39, 2113.
- (9) (a) Calvo-Flores, F. G.; Isac-García, J.; Hernández-Mateo, F.; Pérez-Balderas, F.; Calvo-Asín, J. J. A.; Sánchez-Vaquero, E.; Santoyo-González, F. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2499. (b) Bodine, K. D.; Gin, D. Y.; Gin, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1638. (c) Dörner, S.; Westermann, B. *Chem. Commun.* **2005**, 2852.
- (10) Fazio, F.; Bryan, M. C.; Blixt, O.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14397.
- (11) Bouillon, C.; Meyer, A.; Vidal, S.; Jochum, A.; Chevolot, Y.; Cloarec, J.-P.; Praly, J.-P.; Vasseur, J.-J.; Morvan, F. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4700.
- (12) (a) Kuijpers, B. H. M.; Groothuys, S.; Keereweer, A. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3123. (b) Kuijpers, B. H. M.; Dijkmans, G. C. T.; Groothuys, S.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Synlett* **2005**, 3059. (c) Groothuys, S.; Kuijpers, B. H. M.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Roelen, H. C. P. F.; Wiertz, R. W.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Synthesis* **2006**, 3146. (d) Billing, J. F.; Nilsson, U. J. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 4847. (e) Tejler, J.; Tullberg, E.; Frejd, T.; Leffler, H.; Nilsson, U. J. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 1353. (f) Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Massi, A. *Org. Lett.* **2004**, 6, 2929. (g) Arosio, D.; Bertoli, M.; Manzoni, L.; Scolastico, C. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 3697.
- (13) (a) de Brito, T. M. B.; da Silva, L. P.; Siqueira, V. L.; Srivastava, R. M. *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, 18, 609. (b) de Freitas Filho, J. R.; Srivastava, R. M.; da Silva, W. J. P.; Cottier, L. D.; Sinou, D. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 673. (c) de Freitas Filho, J. R.; Cottier, L.; Srivastava, R. M.; Sinou, D. *Synlett* **2003**, 1358.
- (14) de Oliveira, R. N.; Cottier, L.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *Tetrahedron* **2005**, 61, 8271.
- (15) de Oliveira, R. N.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *J. Carbohydr. Chem.* **2006**, 25, 407.
- (16) (a) Curran, T. P.; Grant, A. L.; Lucht, R. A.; Carter, J. C.; Affonso, J. *Org. Lett.* **2002**, 4, 2917. (b) Löser, R.; Schilling, K.; Dimmig, E.; Gütschow, M. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7688.
- (17) Lai, L. M.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, 44, 6190.
- (18) Deiters, A.; Cropp, T. A.; Mukherji, M.; Chin, J. A.; Anderson, J. C.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11782.
- (19) (a) Stevens, C. L.; Filippi, J. B.; Taylor, K. G. *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 1292. (b) Donohoe, T. J.; Garg, R.; Moore, P. R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3407.
- (20) Lee, B.-Y.; Park, S. R.; Jeon, H. B.; Kim, K. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5105.
- (21) Györgydeák, Z.; Sztigai, L.; Paulsen, H. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, 12, 139.
- (22) Soli, E. D.; Manoso, A. S.; Patterson, M. C.; DeShong, P. J. *Org. Chem.* **1999**, 64, 3171.

Synthesis of Ethyl 4-*O*-[4-(1,2,4-Oxadiazol-5-yl)phenyl]- α -D-mannopyranosides

Janaína Versiani dos Anjos^{a,b}, Denis Sinou^{*a}, Sebastião José de Melo^c and Rajendra Mohan Srivastava^b

^aLaboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université de Lyon, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622, Villeurbanne Cedex, France

^bDepartamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540, Recife, PE, Brazil

^cDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil

Received June 20, 2007; Revised July 06, 2007; Accepted July 13, 2007

Abstract: The palladium-catalyzed reaction of 5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazoles with ethyl α -*O*- Δ^2 -glucopyranoside afforded ethyl 4-*O*-[4-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]-2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranosides. Bishydroxylation of the latter compounds gave the corresponding ethyl 4-*O*-[4-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]- α -D-mannopyranosides.

Keywords: 1,2,4-Oxadiazole, palladium catalyst, ethyl α -*O*- Δ^2 -glycoside, ethyl mannopyranoside.

The 1,2,4-oxadiazole ring system is present in a large variety of biologically active compounds and natural products [1]. For the last ten years, substituted 1,2,4-oxadiazoles have been receiving considerable attention as heterocyclic amide and ester bioisosteres, and have been implicated in peptide chemistry and in the development of peptidomimetics [2]. Furthermore derivatives containing this heterocyclic subunit have been employed for example as anti-inflammatory agents [3], as agonists of benzodiazepine receptors [4], muscarinic receptors [5], serotonin [6], and sphingosine-1-phosphate-1 (SIP₁) receptors [7], as antagonists of integrin [8] and interleukin-8 [9], as anticancer agents [10], or as antikinoplastid parasites [11].

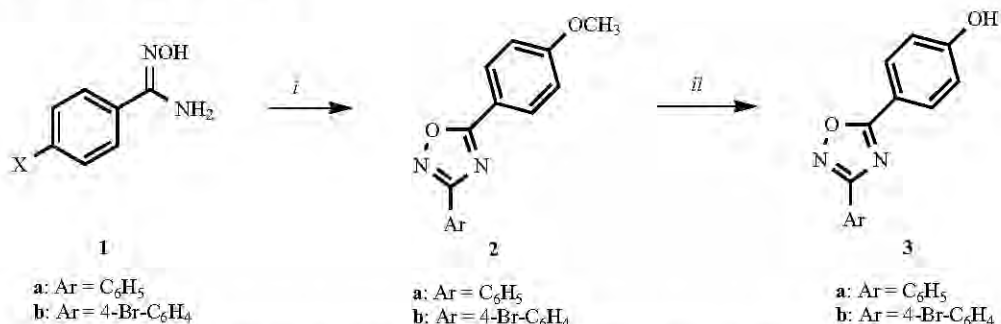
Due to the above-mentioned important biological properties, it would be interesting to incorporate these oxadiazole units in carbohydrate framework. The reason for this was tying of sugars to other simpler molecules is often employed to deal with targeting mechanism of action and/or pharmacology [12]. Surprisingly, only a few attempts have been made in order to synthesize carbohydrate oxadiazole. Oxadiazoles linked to a glycofuranose [13], a glycopyranose [2e, 14], and also an unsaturated glycopyranose [15] skeleton have been described in the literature. In a programme concerning the incorporation of heterocyclic moieties in carbohydrates, we report in this paper the incorporation of an 1,2,4-oxadiazole unit at position-4 of ethyl α -D-mannopyranoside; it is well known that the mannopyranose unit appeared frequently in many biologically important natural products.

We have shown that phenols and alcohols could be used very efficiently as nucleophiles in the palladium-catalyzed allylic alkylation of allylic carbonates [16], the so-called Trost-Tsuiji reaction, and this methodology was used for the introduction of various oxygen nucleophiles at position 4 of ethyl α -*O*- Δ^2 -glycosides having a leaving group at C-4 [17]. We expected that this approach could be used for the introduction of an 1,2,4-oxadiazole unit at position 4 of such unsaturated carbohydrates.

The first step was the preparation of 1,2,4-oxadiazoles **3** bearing a phenolic function (Scheme 1). Benzamidoximes **1a-b**, obtained from the corresponding nitriles by treatment with hydroxylamine hydrochloride in the presence of sodium hydrogenocarbonate in a water/ethanol mixture [18], were condensed with anisoyl chloride in pyridine to afford 3-aryl-5-(4-anisyl)-1,2,4-oxadiazoles **2a-b** in quite good yields. Deprotection of the aryl methyl ether of compounds **2a-b** with boron tribromide in dichloromethane afforded 5-(4-hydroxyphenyl) oxadiazoles **3a** and **3b** in 53 and 64% yields, respectively.

The reaction of unsaturated carbohydrate **4** with 5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazoles **3a-b** was performed in tetrahydrofuran at rt in the presence of a catalytic amount of tris(dibenzylideneacetone)dipalladium or Pd₂(dba)₃ and 1,4-bis(diphenylphosphino)butane or dppb. Unsaturated carbohydrates **5a-b** bearing the oxadiazole moiety at C-4 were obtained in 75 and 69% chemical yields, respectively. The vicinal coupling constants $J_{4,5}$ = 8.9 Hz and 9.1 Hz for compounds **5a** and **5b**, respectively, indicated a *trans* diaxial relationship between H-4 and H-5, proving the *erythro* configuration of the carbohydrate moiety. The observed overall retention of configuration at C-4, as well as the regioselectivity of the coupling, in this palladium-catalyzed condensation,

*Address correspondence to this author at the Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université de Lyon, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622, Villeurbanne Cedex, France; Tel: +33-472448183; Fax: +33-478898914; E-mail: sinou@univ-lyon1.fr



Scheme 1. Reagents and conditions: *i*) 4-CH₃O-C₆H₄-COCl, C₅H₅N, reflux; *ii*) BBr₃, CH₂Cl₂, rt, then reflux.

is in agreement with the results observed in the attack of π -allylic systems by oxygen nucleophiles [16, 17].

Unsaturated carbohydrates **5a-b** were subjected to the bishydroxylation reaction in the presence of a catalytic amount of OsO₄, followed by acetylation of the obtained mixture. As expected, ethyl 4-*O*-[4-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]- α -D-mannopyranosides **6a** and **6b** were obtained in 81 and 71% chemical yield, respectively. These compounds resulted from the bishydroxylation on the less hindered side of the double bond, as expected from previous results in this field [19]. The assigned *manno* configuration for compounds **6a-b** was mainly based on the coupling constants $J_{4,5}$ = 9.6 Hz, and $J_{4,3}$ = 9.8 and 9.6 Hz (δ 4.85 and 4.86 ppm, respectively, for H-4) for **6a** and **6b**; these values are characteristics of an axial-axial disposition for H-3, H-4, and H-5.

In conclusion, we have described a very easy access to ethyl 4-*O*-[4-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]- α -D-mannopyranosides. This methodology seems quite general and could be used for the synthesis of a large variety of analogues. Studies are currently in progress in order to extend this approach to other carbohydrates as well as other substituted 1,2,4-oxadiazoles, and to test the biological properties of these compounds.

EXPERIMENTAL

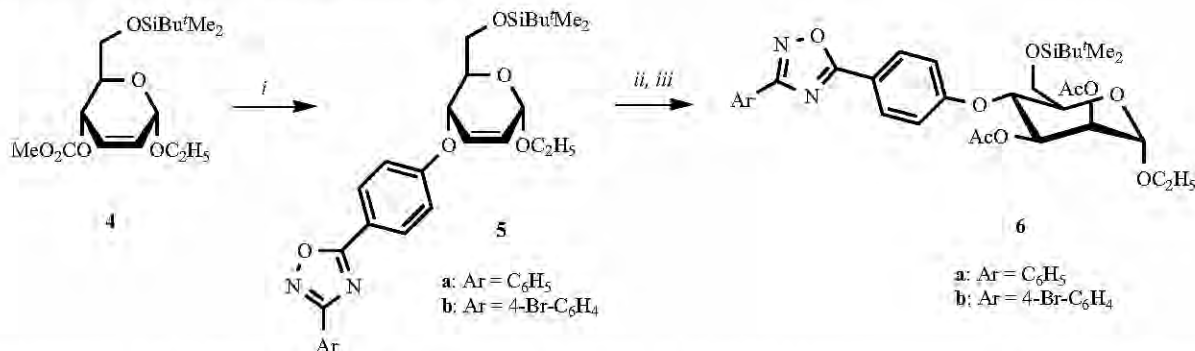
All commercially available reagents were used as received. All reactions were monitored by TLC analysis (TLC plates GF₂₅₄ Merck). Air- and moisture-sensitive reactions were performed under inert atmosphere techniques. Melting points were determined on a Büchi apparatus and are uncor-

rected. Column chromatography was performed on silica gel 60 (230-240 mesh, Merck). Optical rotations were recorded using a Perkin-Elmer 241 polarimeter. NMR spectra were recorded with a Bruker AMX 300 spectrometer and referenced as following: ¹H (300 MHz), internal SiMe₄ at δ = 0.00 ppm, ¹³C (75 MHz), internal standard at δ = 77.23 ppm. Exact mass measurements of the molecular ions were obtained on a Finnigan Mat 95 XL spectrometer.

Ethyl 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-methoxycarbonyl-2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside **4** has been prepared according to the literature procedure [20].

Synthesis of 3-aryl-5-(4-methoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole **2**

Sodium hydrogencarbonate (0.67 g, 8.0 mmol) and water (5.0 mL) were added to hydroxylamine hydrochloride (0.56 g, 8.0 mmol) in a round-bottom flask. The contents were stirred for 10 min in order to liberate free hydroxylamine, and then the appropriate nitrile (4.0 mmol) in ethanol (50 mL) was added. The solution was stirred at rt for 4 days. The amidoxime was extracted with CHCl₃, the solvent layer was washed with water, dried, and the solvent was evaporated under reduced pressure to give the corresponding amidoxime **1** as a solid that was used without further purification for the next step. Amidoxime **1** (8 mmol) and anisoyl chloride (1.6 g, 9.5 mmol) were dissolved in pyridine (20 mL) and the mixture was refluxed for 12 h. Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was crystallized and recrystallized from a methanol/water mixture (5/1) to give compound **2**.



Scheme 2. Reagents and conditions: *i*) Pd₂(dba)₃ 5 mol%, dppb, **3**, THF, rt; *ii*) cat. OsO₄, NMO, acetone/water, rt; *iii*) Ac₂O, pyridine.

3-Phenyl-5-(4-methoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (2a)

Yield 83%; colorless solid; m.p. 102–104 °C (lit. 109–110 °C [21]); R_f 0.74 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4:1); the ^1H NMR is in agreement with the literature data [21].

3-(4-Bromophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (2b)

Yield 89%; colorless solid; m.p. 88–91 °C (lit. 94–96 °C [21]); R_f 0.71 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4:1); the ^1H NMR is in agreement with the literature data [21].

General Procedure for the Synthesis of 3-aryl-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole 3

A 1M solution of BBr_3 in CH_2Cl_2 (20 mL, 20 mmol) was added slowly at -78° to a solution of oxadiazole **2** (6.6 mmol) in dry CH_2Cl_2 (30 mL). The reaction mixture was allowed to warm at rt, and then refluxed. After completion of the reaction, detected by TLC, the mixture was hydrolyzed by treatment with water (20 mL). After separation of the organic phase, the aqueous phase was extracted by CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). The combined organic phases were washed with saturated NaHCO_3 , brine, and dried over Na_2SO_4 . Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a solid that was purified by chromatography on silica to give the corresponding 5-hydroxyphenyl oxadiazole **3**.

3-Phenyl-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (3a)

Yield 53%; colorless solid; m.p. 161 °C (lit. 169–171 °C [22]); R_f 0.59 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4:1); ^1H NMR (CDCl_3): δ 6.07 (br s, 1H, OH), 6.98 (br d, 2H, $J = 8.9$ Hz, H_{arom}), 7.50–7.53 (m, 3H, H_{arom}), 8.11–8.17 (m, 4H, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 116.5, 127.3, 127.9, 129.3, 130.6, 155.1, 169.2, 176.0. HRMS [EI] calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ [M] $^+$: 238.0742; found: 238.0741.

3-(4-Bromophenyl)-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (3b)

Yield 64%; colorless solid; m.p. 216 °C; R_f 0.63 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4:1); ^1H NMR (CDCl_3): δ 5.39 (br s, 1H, OH), 6.99 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_{arom}), 7.65 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_{arom}), 8.03 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_{arom}), 8.12 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 114.3, 116.5, 125.3, 125.9, 129.2, 130.4, 132.4, 162.4, 167.5, 175.9. HRMS [EI] calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_2$ [M] $^+$: 315.9847; found: 315.9857.

General Procedure for the Synthesis of Oxadiazole-Linked Unsaturated Carbohydrate 5

The catalytic system was prepared by mixing for 1 h in a Schlenk tube under argon $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (37.0 mg, 0.04 mmol) and dppb (68 mg, 0.16 mmol) in dry tetrahydrofuran (5 mL). This solution was then added under argon to a Schlenk tube containing unsaturated carbohydrate **4** (0.4 mmol, 140 mg) and 5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole **3** (0.8 mmol) in THF (10 mL). After stirring for 24 h at rt, the solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was chromatographed on silica gel to give the corresponding unsaturated carbohydrate **5**.

Ethyl 4-O-[4-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]-6-O-(tert-butyltrimethylsilyl)-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (5a)

Yield 75%; colorless oil; $[\alpha]_D^{20} +129$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f 0.69 (petroleum ether/ EtOAc , 4:1); ^1H NMR (CDCl_3): δ 0.02 (s, 3H, SiCH_3), 0.03 (s, 3H, SiCH_3), 0.87 (s, 9H, CMe_3), 1.27 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, OCH_2CH_3), 3.59 (dq, 1H, $J = 9.6$, 7.1 Hz, OCH_2CH_3), 3.85–3.95 (m, 3H, H-6, OCH_2CH_3), 4.03–4.12 (m, 1H, H-5), 5.03 (br d, 1H, $J = 8.9$ Hz, H-4), 5.10 (br s, 1H, H-1), 5.89 (br d, 1H, $J = 10.2$ Hz, H-2), 6.06 (br d, 1H, $J = 10.2$ Hz, H-3), 7.06 (dd, 2H, $J = 8.9$, 1.1 Hz, H_{arom}), 7.49–7.52 (m, 3H, H_{arom}), 8.14–8.18 (m, 4H, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ -5.0, -4.9, 15.7, 18.8, 26.3, 62.8, 64.5, 68.7, 70.5, 94.7, 116.3, 117.7, 127.5, 127.9, 128.2, 129.2, 130.6, 131.5, 161.4, 169.2, 175.8. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5\text{SiNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 531.2291; found: 531.2294.

Ethyl 4-O-[4-[3-(4-bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]phenyl]-6-O-(tert-butyltrimethylsilyl)-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (5b)

Yield 69%; colorless oil; $[\alpha]_D^{20} +105.2$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f 0.75 (petroleum ether/ EtOAc , 4:1); ^1H NMR (CDCl_3): δ 0.00 (s, 3H, SiCH_3), 0.02 (s, 3H, SiCH_3), 0.86 (s, 9H, CMe_3), 1.25 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, OCH_2CH_3), 3.58 (dq, 1H, $J = 9.6$, 7.1 Hz, OCH_2CH_3), 3.78–3.94 (m, 3H, H-6, OCH_2CH_3), 4.05 (ddd, 1H, $J = 9.1$, 2.8, 2.6 Hz, H-5), 5.02 (br d, 1H, $J = 9.1$ Hz, H-4), 5.08 (br s, 1H, H-1), 5.87 (ddd, 1H, $J = 10.2$, 2.6, 1.5 Hz, H-2), 6.05 (br d, 1H, $J = 10.2$ Hz, H-3), 7.05 (dd, 2H, $J = 7.9$, 1.1 Hz, H_{arom}), 7.63 (dd, 2H, $J = 8.5$, 1.3 Hz, H_{arom}), 8.02 (dd, 2H, $J = 8.5$, 1.3 Hz, H_{arom}), 8.12 (dd, 2H, $J = 8.9$, 1.3 Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ -5.0, -4.9, 15.7, 18.8, 26.3, 62.8, 64.5, 68.8, 70.5, 94.7, 116.3, 117.5, 126.0, 126.4, 128.8, 128.9, 129.4, 130.6, 132.5, 161.6, 168.5, 176.0. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{SiNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 609.1396; found: 609.1391.

General Procedure for the Synthesis of Oxadiazole-Linked Ethyl Mannopyranoside 6

To a solution of unsaturated carbohydrate derivative **5** (1 mmol) in a 4:1 mixture of acetone/water (2 mL) was added OsO_4 (0.25 mg, 1 mol, 2 mol%) and *N*-methylmorpholine-*N*-oxide or NMO (458 mg, 4 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred overnight at rt, NaHSO_3 (500 mg) was then added, and the contents were stirred for 30 min at rt. The reaction mixture was diluted with water (5 mL), and extracted with EtOAc (2 x 10 mL). The organic layer was separated, dried over Na_2SO_4 , and the solvent was evaporated under reduced pressure to give the corresponding diol. The crude residue was directly acetylated using Ac_2O (306 mg, 3 mmol) in pyridine (4 mL) for 1 day. After removing the solvent under reduced pressure, the residue was purified by column chromatography on silica gel using the indicated eluent to afford the corresponding oxadiazole-linked ethyl mannopyranoside **6**.

Ethyl 2,3-di-O-acetyl-4-O-[4-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]-6-O-(tert-butyltrimethylsilyl)- α -D-mannopyranoside (6a)

Yield 81%; colorless oil; $[\alpha]_D^{20} +104.1$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f 0.84 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4:1); ^1H NMR (CDCl_3): δ -0.11 (s,

3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), 0.83 (s, 9H, CMe₃), 1.18 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 1.73 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 3.46 (dq, 1H, *J* = 9.6, 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 3.69 (dq, 1H, *J* = 9.6, 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 3.73–3.86 (m, 3H, H-6, H-5), 4.75 (br s, 1H, H-1), 4.85 (dd, 1H, *J* = 9.8, 9.6 Hz, H-4), 5.13 (dd, 1H, *J* = 3.2, 1.7 Hz, H-2), 5.52 (dd, 1H, *J* = 9.8, 3.2 Hz, H-3), 7.14 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H_{arom}), 7.42–7.44 (m, 3H, H_{arom}), 8.05 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H_{arom}), 8.07–8.10 (m, 2H, H_{arom}); ¹³C NMR (CDCl₃): δ –5.2, –4.9, 15.4, 18.6, 21.1, 21.3, 26.2, 61.6, 64.0, 71.0, 71.9, 72.6, 97.5, 117.2, 118.1, 127.5, 127.9, 129.2, 130.3, 131.5, 163.3, 169.2, 170.1, 170.5, 175.8. ESI-HRMS *m/z* calcd for C₃₂H₄₂N₂O₉SiNa [M + Na]⁺: 649.2557; found: 649.2565.

Ethyl 2,3-di-O-acetyl-4-O-{4-[3-(4-bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]phenyl}-6-O-(tert-butyltrimethylsilyl)-α-D-mannopyranoside (6b)

Yield 71%; yellow oil; [α]_D²⁰ +99 (c 1.0, CH₂Cl₂); *R*_f 0.71 (petroleum ether/EtOAc, 4:1); ¹H NMR (CDCl₃): δ –0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.00 (s, 3H, SiCH₃), 0.83 (s, 9H, CMe₃), 1.18 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 1.72 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 3.46 (dq, 1H, *J* = 9.6, 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 3.64–3.84 (m, 4H, H-5, H-6, OCH₂CH₃), 4.75 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H-1), 4.86 (dd, 1H, *J* = 9.6, 9.6 Hz, H-4), 5.13 (dd, 1H, *J* = 3.4, 1.8 Hz, H-2), 5.51 (dd, 1H, *J* = 10.0, 3.4 Hz, H-3), 7.16 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H_{arom}), 7.57 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, H_{arom}), 7.96 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, H_{arom}), 8.03 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H_{arom}); ¹³C NMR (CDCl₃): δ –5.2, –4.8, 15.4, 18.6, 21.1, 21.3, 26.2, 61.6, 64.0, 71.0, 71.9, 72.6, 97.5, 117.2, 117.8, 126.0, 126.4, 129.4, 130.3, 132.5, 163.4, 168.5, 170.0, 170.4, 176.0. ESI-HRMS *m/z* calcd for C₃₂H₄₁BrN₂O₉SiNa [M + Na]⁺: 727.1662; found: 727.1661.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to the CAPES/COFECUB programme no. 334/01 for financial support, and CNPq-Brazil for providing a fellowship (J. V. d. A.).

REFERENCES

- [1] (a) Clapp, L.B. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 1st ed; Potts, K.T. Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984; Vol. 6, pp. 365–392; (b) Clapp, L.B. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A.R.; Boulton, A.J. Eds.; Academic Press: New York, 1976; Vol. 20, pp. 65–116; (c) Jochims, J.C. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 2nd ed; Katritzky, A.R.; Rees, C.W.; Scriven, E.F.V. Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1996; Vol. 4, pp. 179–228; (d) Hemming, K. *J. Chem. Res., Synop.*, 2001, 209; (e) Kayukova, L.A. *Pharm. Chem. J.*, 2005, 39, 539.
- [2] (a) Borg, S.; Estenne-Bouthou, G.; Luthman, K.; Csoregh, I.; Heselink, W.; Hacksell, U. *J. Org. Chem.*, 1995, 60, 3112; (b) Borg, S.; Vollinga, R.C.; Labarre, M.; Payza, K.; Terenius, L.; Luthman, K. *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 4331; (c) Andersen, K.E.; Lundt, B.F.; Jørgensen, A.S.; Braestrup, C. *Eur. J. Med. Chem.*, 1996, 31, 417; (d) Vu, C.B.; Corpuz, E.G.; Merry, T.J.; Pradeepan, S.G.; Bartlett, C.; Bohacek, R.S.; Botfield, M.C.; Eyermann, C.J.; Lynch, B.A.; MacNeil, I.A.; Ram, M.K.; van Schravendijk, M.R.; Violette, S.; Sawyer, T.K. *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 4088; (e) Yu, J.; Zhang, S.; Li, Z.; Lu, W.; Zhou, R.; Liu, Y.; Cai, M. *Carbohydr. Res.*, 2003, 338, 257; (f) Jakopin, Z.; Roskar, R.; Dolenc, M.S. *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 1465.
- [3] (a) Nicolaides, D.N.; Fylaktakidou, K.C.; Litinas, K.E.; Hadjipavlou-Litina, D. *Eur. J. Med. Chem.*, 1998, 33, 715; (b) Srivastava, R.M.; Lima, A.A.; Viana, O.S.; da Costa-Silva, M.J.; Catanho, M.T.J.A.; de Morais, J.O.F. *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, 11, 1821.
- [4] (a) Watjen, F.; Baker, R.; Engelstoff, M.; Herbert, R.; MacLeod, A.; Knight, A.; Merchant, K.; Moseley, J.; Saunders, J.; Swain, C.J.; Wong, E.; Springer, J.P. *J. Med. Chem.*, 1989, 32, 2282; (b) Tully, W.R.; Gardner, C.R.; Gillespie, R.J.; Westwood, R. *J. Med. Chem.*, 1991, 34, 2060.
- [5] (a) Saunders, J.; Cassidy, M.; Freedman, S.B.; Harley, E.A.; Iversen, L.L.; Kneen, C.; MacLeod, A.M.; Merchant, K.J.; Snow, R.J.; Baker, R. *J. Med. Chem.*, 1990, 33, 1128; (b) Street, L.J.; Baker, R.; Book, T.; Kneen, C.O.; MacLeod, A.M.; Merchant, K.J.; Showell, G.A.; Saunders, J.; Herbert, R.H.; Freedman, S.B.; Harley, E.A. *J. Med. Chem.*, 1990, 33, 2690; (c) Sauerberg, P.; Kindtler, J.W.; Nielsen, L.; Sheardown, M.J.; Honoré, T. *J. Med. Chem.*, 1991, 34, 687; (d) Orlek, B.S.; Blaney, F.E.; Brown, F.; Clark, M.S.G.; Hadley, M.S.; Hatcher, J.; Riley, G.J.; Rosenberg, H.E.; Wadsworth, H.J.; Wyman, P. *J. Med. Chem.*, 1991, 34, 2726; (e) Macor, J.E.; Ordway, T.; Smith, R.L.; Verhoest, P.R.; Mack, R.A. *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 3228.
- [6] (a) Street, L.J.; Baker, R.; Castro, J.L.; Chambers, M.S.; Guiblin, A.R.; Hobbs, S.C.; Matassa, V.G.; Reeve, A.J.; Beer, M.S.; Middlemiss, D.N.; Noble, A.J.; Stanton, J.A.; Scholey, K.; Hargreaves, R.J. *J. Med. Chem.*, 1993, 36, 1529; (b) Chen, C.-y.; Senanayake, C.H.; Bill, T.J.; Larsen, R.D.; Verhoeven, T.R.; Reider, P.J. *J. Org. Chem.*, 1994, 59, 3738.
- [7] (a) Li, Z.; Chen, W.; Hale, J.J.; Lynch, C.L.; Mills, S.G.; Hajdu, R.; Keohane, C.A.; Rosenbach, M.J.; Milligan, J.A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Parent, S.A.; Bergstrom, J.; Card, D.; Forrest, M.; Quackenbush, E.J.; Wickham, L.A.; Vargas, H.; Evans, R.M.; Rosen, H.; Mandala, S. *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 6169; (b) Yan, L.; Huo, P.; Doherty, G.; Toth, L.; Hale, J.J.; Mills, S.G.; Hajdu, R.; Keohane, C.A.; Rosenbach, M.J.; Milligan, J.A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Quackenbush, E.; Wickham, A.; Mandala, S.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, 16, 3679; (c) Yan, L.; Huo, P.; Hale, J.J.; Mills, S.G.; Hajdu, R.; Keohane, C.A.; Rosenbach, M.J.; Milligan, J.A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Mandala, S.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17, 828.
- [8] Boys, M.L.; Schretzman, L.A.; Chandrakumar, N.S.; Tollefson, M.B.; Mohler, S.B.; Downs, V.L.; Penning, T.D.; Russell, M.A.; Wendt, J.A.; Chen, B.B.; Stenmark, H.G.; Wu, H.; Spangler, D.P.; Clare, M.; Desai, B.N.; Khanna, I.K.; Nguyen, M.N.; Duffin, T.; Engleman, V.W.; Finn, M.B.; Freeman, S.K.; Hanneke, M.L.; Keene, J.L.; Klover, J.A.; Nickols, G.A.; Nickols, M.A.; Steininger, C.N.; Westlin, M.; Westlin, W.; Yu, Y.X.; Wang, Y.; Dalton, C.R.; Norring, S.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, 16, 839.
- [9] Weidner-Wells, M.A.; Henninger, T.C.; Fraga-Spano, S.A.; Boggs, C.M.; Matheis, M.; Ritchie, D.M.; Argentieri, D.C.; Wachter, M.P.; Hlasta, D.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, 4307.
- [10] Zhang, H.-Z.; Kasibhatla, S.; Kuemmerle, J.; Kemnitzer, W.; Ollis-Mason, K.; Qiu, L.; Crogan-Grundy, C.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S.X. *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 5215.
- [11] Cottrell, D.M.; Capers, J.; Salem, M.M.; DeLuca-Fradley, K.; Croft, S.L.; Werbovetz, K.A. *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, 12, 2815.
- [12] Fu, X.; Albermann, C.; Jiang, J.; Liao, J.; Zhang, C.; Thorson, J.S. *Nat. Biotechnol.*, 2003, 21, 1467.
- [13] (a) Hennen, W.J.; Robins, R.K. *J. Heterocycl. Chem.*, 1985, 22, 1747; (b) Wu, W.D.; Ma, L.T.; Zhang, L.H.; Lu, Y.; Guo, F.; Zheng, Q.T. *Tetrahedron Asymmetry*, 2000, 11, 1527.
- [14] (a) Yu, J.; Zhang, S.; Li, Z.; Lu, W.; Zhang, L.; Zhou, R.; Liu, Y.; Cai, M. *J. Carbohydr. Chem.*, 2001, 20, 877; (b) Benlifa, M.; Vidal, S.; Fenet, B.; Msaddek, M.; Goekjian, P.G.; Praly, J.-P.; Bruynansky, A.; Docsa, T.; Gergely, P. *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 4242.
- [15] Srivastava, R.M.; de Freitas Filho, J.R.; da Silva, M.J.; de Melo Souto, S.C.; Carpenter, G.B.; Faustino, W.M. *Tetrahedron*, 2004, 60, 10761.
- [16] Goux, C.; Massacret, M.; Lhoste, P.; Sinou, D. *Organometallics*, 1995, 14, 4585.
- [17] Frappa, I.; Kryczka, B.; Lhoste, P.; Porwanski, S.; Sinou, D. *J. Carbohydr. Chem.*, 1997, 16, 891.
- [18] Srivastava, R.M.; Brinn, I.M.; Machuca-Herrera, J.O.; Faria, H.B.; Carpenter, G.B.; Andrade, D.; Venkatesh, C.G.; de Morais, L.P.F. *J. Mol. Struct.*, 1997, 206, 159.

- [19] (a) Stevens, C.L.; Filippi, J.B.; Taylor, K.G. *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 1292; (b) Donohoe, T.J.; Garg, R.; Moore, P.R. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 3407.
- [20] Ngusfack, C.-F.; Bolitt, V.; Sinou, D. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 1341.
- [21] Adib, M.; Jahromi, A.H.; Tavoosi, N.; Mahdavi, M.; Bijanzadeh, H.R. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 2965.
- [22] Corsaro, A.; Buemi, G.; Chiacchio, U.; Perrini, G.; Pistarà, V.; Romeo, R. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 7885.

Note

Synthesis of glycosyl-triazole linked 1,2,4-oxadiazoles

Janaína V. dos Anjos,^{a,b} Denis Sinou,^{a,*} Sebastiao J. de Melo^c and
Rajendra M. Srivastava^{b,*}

^a*Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université de Lyon,
43 Boulevard du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne, France*

^b*Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária,
50740-540 Recife, PE, Brazil*

^c*Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brazil*

Received 29 May 2007; received in revised form 2 July 2007; accepted 12 July 2007

Available online 21 July 2007

Abstract—The synthesis of four different types of oxadiazoles containing a terminal acetylenic group is described. Reaction of these oxadiazoles with various azidoglycosides via a copper-catalyzed [3+2] cycloaddition ('click chemistry') afforded the corresponding glycosyl-triazole linked 1,2,4-oxadiazoles in good yields.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Glycosyl azide; 1,2,4-Oxadiazole; [3+2] Cycloaddition; Copper catalyst

1,2,4-Oxadiazoles are a class of important heterocycles. Many compounds incorporating the 1,2,4-oxadiazole ring system showed a large variety of biological properties.^{1,2} Moreover, substituted 1,2,4-oxadiazoles have also been receiving considerable attention as heterocyclic amide and ester bioisosteres, and have been implicated in peptide chemistry and in the development of peptidomimetics.³

Due to these important biological properties, it would be interesting to incorporate these oxadiazole units in carbohydrate framework. The reason for this is that tying up of sugars to other simpler molecules is often employed to deal with targeting mechanism of action and/or pharmacology.⁴ Surprisingly, only a few attempts have been made in order to synthesize carbohydrate oxadiazole. Oxadiazoles linked to a glycofuranose,⁵ glycopyranose,^{3c,6} and also an unsaturated glycopyranose⁷ skeleton have been described in the literature. In a program concerning the incorporation of heterocyclic moieties in carbohydrates, we report in this paper a detailed

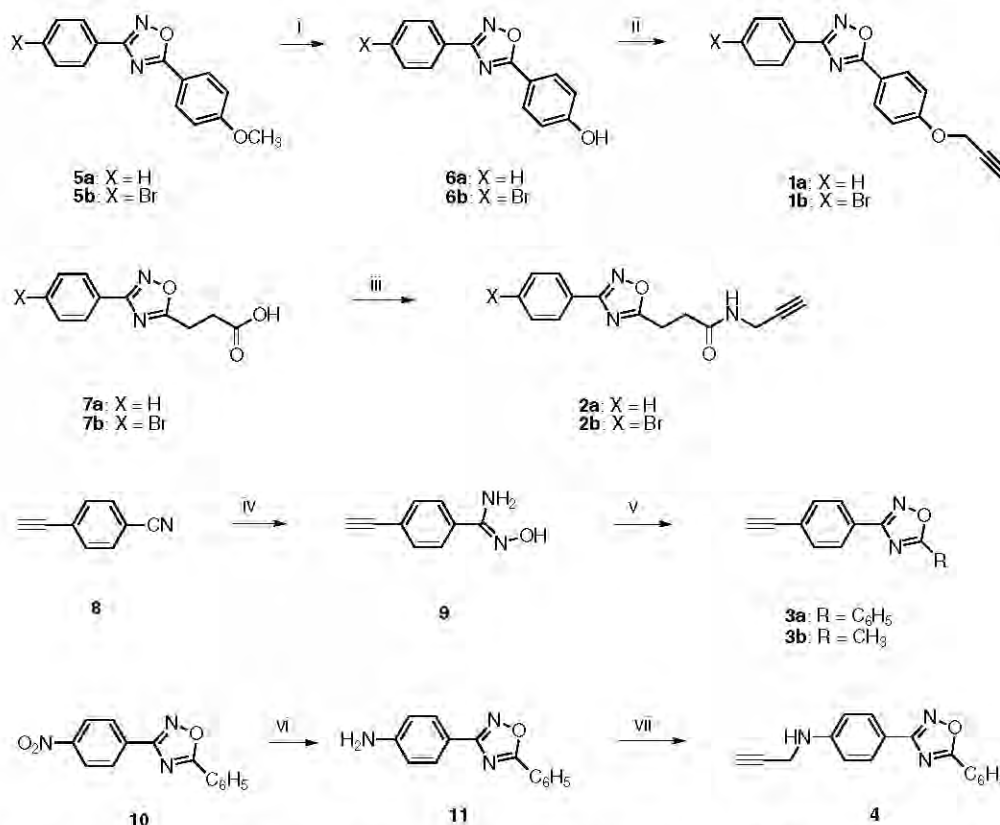
account of the preparation of a complex triheterocyclic system containing a sugar, a triazole, and an oxadiazole rings in one molecule.

We hypothesized that the oxadiazole framework could be linked to the glycoside using the copper-catalyzed procedure for the [3+2] cycloaddition (or 'click chemistry')⁸ between a glycoside containing an anomeric azide functionality and an oxadiazole bearing a terminal acetylenic group. Moreover, it has been shown that the triazole linkage at the anomeric position of carbohydrates is stable under a large variety of acidic or basic conditions.⁹

In order to achieve this goal, we prepared 1,2,4-oxadiazoles bearing a terminal acetylenic group. It was expected that this functionality could be introduced at position 5 (compounds **1a,b** and **2a,b**) or at position 3 (compounds **3a,b** and **4**) of the oxadiazole framework (Scheme 1). The chosen substructures are present in some compounds showing, for example, anti-inflammatory and anti-microbial properties (structures **1–3**),¹⁰ or acting as S1P receptor agonist (structures **1**, **3**, and **4**),^{2c-f} or IL-8 receptor antagonist (structure **1**).¹¹

The synthesis of these four different types of oxadiazoles **1–4** carrying a terminal acetylene function is

* Corresponding authors. Fax: +33 4 78898914 (D.S.)/+55 81 21268442 (R.M.S.); e-mail addresses: sinou@univ-lyon1.fr; rms@ufpe.br



Scheme 1. Synthesis of acetylenic 1,2,4-oxadiazoles **2**, **3**, and **4**. Reagents and conditions: (i) BBr₃, CH₂Cl₂, reflux, 20 h; (ii) HC≡CCH₂Br, K₂CO₃, DMF, rt, 30 h; (iii) HC≡CCH₂NH₂, *N*-CH₃-morpholine, ClCO₂ *i*-Bu, 24 h, rt; (iv) NH₂OH, HCl, NaHCO₃, then 4-NC C₆H₄C≡CH, C₂H₅OH, 3 days, rt; (v) C₆H₅CO₂H, DCC, CH₂Cl₂, 3 h, rt, then 110–120 °C; (vi) SnCl₂, C₂H₅OH, reflux; (vii) HC≡CCH₂Br, K₂CO₃, DMF, rt, 36 h.

depicted in Scheme 1. 5-Anisyl-1,2,4-oxadiazoles **5a,b** were obtained by condensation of the corresponding benzamidoximes with *p*-anisoyl chloride.¹² Deprotection of the aryl methyl ether of compounds **5a,b** with boron tribromide in dichloromethane afforded 5-(4-hydroxyphenyl) oxadiazoles **6a** and **6b** in 53% and 64% yields, respectively. Condensation of oxadiazoles **6a** and **6b** with propargylic bromide gave the corresponding acetylenic oxadiazoles **1a** and **1b** in 57% and 76% chemical yields, respectively.

Reaction of 3-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)propionic acids **7a,b**¹³ with *isobutyl* chloroformate and propargyl amine afforded acetylenic oxadiazoles **2a** and **2b** in 78% and 71% yields, respectively.

The synthesis of acetylenic oxadiazoles **3a,b** was performed in a one-pot reaction starting from 4-ethynylbenzonitrile (**8**). Treatment of nitrile **8** with hydroxylamine hydrochloride in the presence of sodium hydrogencarbonate afforded amidoxime **9**, whose reaction with benzoic acid in the presence of dicyclohexylcarbodiimide, followed by heating at 110 °C, afforded oxadiazole **3a** in an overall yield of 54%. Oxadiazole **3b** was obtained in 61% overall yield by heating of amidoxime **9** with acetic anhydride.

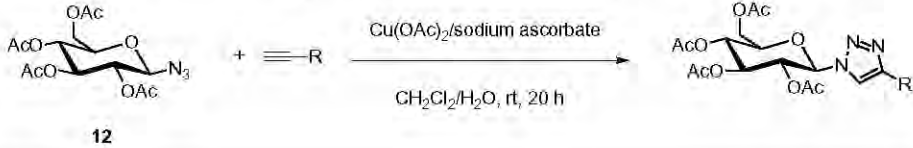
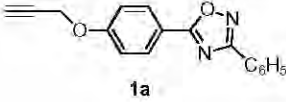
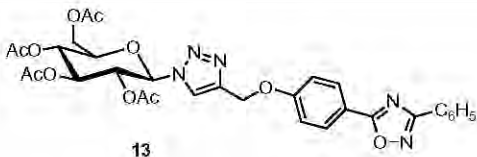
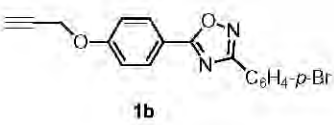
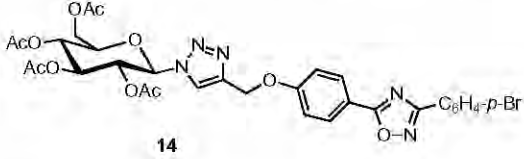
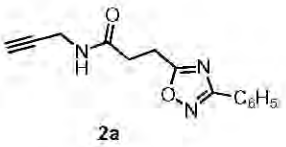
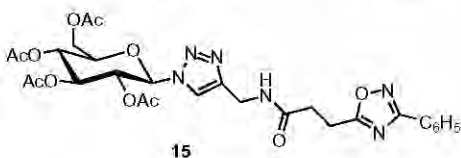
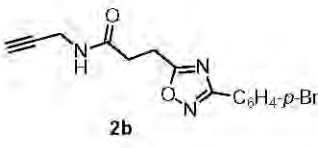
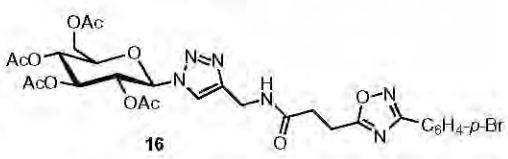
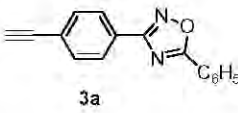
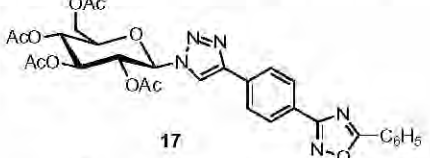
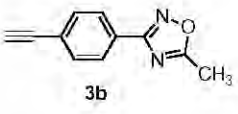
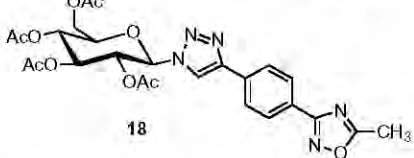
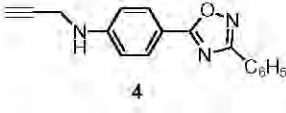
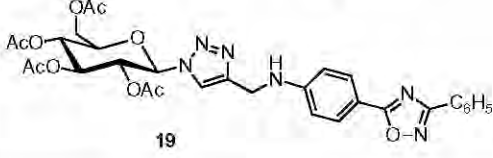
Finally, reduction of 4-nitrophenyl-5-phenyl-1,2,4-oxadiazole **10**¹⁴ with tin chloride gave amino oxadi-

azole **11**, whose in situ condensation with propargyl bromide afforded acetylenic oxadiazole **4** in 63% overall yield.

The copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of all terminal alkynes **1–4** was initially performed with β-glucosyl azide **12** using a 1:1 mixture of dichloromethane and water as the solvent in the presence of Cu(OAc)₂ and sodium ascorbate (Table 1).¹⁵ *O*-Propargyloxadiazoles **1a** and **1b** gave the corresponding cycloadducts **13** and **14** in 80% and 60% yields, respectively, after 16 h (Table 1, entries 1 and 2). *N*-Propargylpropane-amido- and 4-propargylaminophenyl-1,2,4-oxadiazoles **2a**, **2b**, and **4** also gave the desired β-glycosyl-triazoles linked 1,2,4-oxadiazoles **15**, **16**, and **19**, in 85%, 43%, and 67% yield, respectively (Table 1, entries 3, 4, and 7). Finally, cycloaddition of ethynylphenyl oxadiazoles **3a** and **3b** with azidoglucoside **12** afforded the corresponding cycloadducts **17** and **18** in 61% and 80% chemical yields, respectively.

Among the β-glucosyl 1,2,4-oxadiazoles obtained, bromooxadiazole **16** is an interesting compound for further functionalization. For example, the palladium-catalyzed Suzuki coupling reaction between oxadiazole **14** and phenylboronic acid performed in a water/ethanol/toluene mixture afforded the coupled product **20** in 44% chemical yield (Scheme 2).

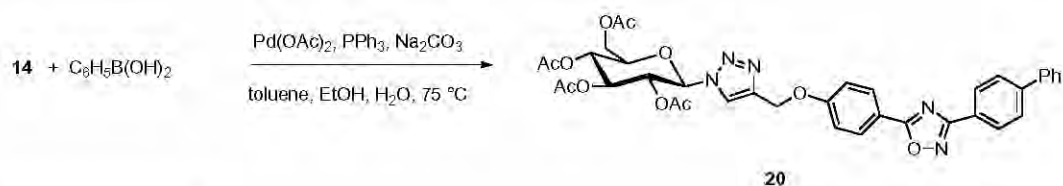
Table 1. Synthesis of glucosyl 1,2,4-oxadiazoles from β -glucosylazide **12** and various acetylenic 1,2,4-oxadiazoles

			
Entry	Oxadiazole	Products	Yield (%)
1			80
2			60
3			85
4			43
5			61
6			80
7			67

Next, we studied the application of different azidoglycosides in this copper-catalyzed cycloaddition with oxadiazole **1a** (Table 2). From Table 2, β -azidoglucosamine **21**, β -azidogalactoside **22**, and β -azidocellobioside **23** were successfully coupled to the corresponding β -glycosyl-triazole-linked 1,2,4-oxadiazoles **25**, **26**, and **27** in 63%, 70%, and 63% yields, respectively. Finally, reaction of α -azidoglucoside **24** with oxadiazole **1a** pro-

vided the corresponding α -D-glucopyranosyl oxadiazole **28** in 67% yield (Tables 3 and 4).

In conclusion, various 1,2,4-oxadiazoles bearing a terminal acetylenic function in their side-chain have been successfully cycloadded to azidoglycosides in good yields via a copper-catalyzed [3+2] reaction. These new compounds with various chain length as spacer between the oxadiazole and the glycoside frameworks represent a



Scheme 2. Synthesis of oxadiazole 20.

Table 2. Synthesis of glycosyl 1,2,4-oxadiazoles from various azidoglycosides and oxadiazole 1a

azido carbohydrate $R-N_3$ $+$ 1a $\xrightarrow[\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O, rt, 20 h}]{\text{Cu(OAc)}_2/\text{sodium ascorbate}}$ $R-N=N=N-CH=CH-O-CH_2-O-C_6H_4-C_6H_4-1,2,4-oxadiazole-5-carboxylate$			
Entry	Azidoglycoside	Product	Yield (%)
1	 21	 25	63
2	 22	 26	70
3	 23	 27	63
4	 24	 28	67

set of potentially interesting new compounds, whose biological studies are currently in progress.

1. Experimental

1.1. General methods

All commercially available reagents were used as received. All reactions were monitored by TLC analysis (TLC plates GF₂₅₄ E. Merck). Air- and moisture-sensitive reactions were performed under inert atmosphere. Melting points were determined on a Büchi apparatus and are uncorrected. Column chromatography was per-

formed on Silica Gel 60 (230–240 mesh, E. Merck). Optical rotations were recorded using a Perkin–Elmer 241 polarimeter. NMR spectra were recorded with a Bruker AMX 300 spectrometer and referenced as follows: ¹H (300 MHz), internal SiMe₄ at δ = 0.00 ppm, ¹³C (75 MHz), internal standard at δ = 77.23 ppm. Exact mass measurements of the molecular ions were obtained on a Finnigan Mat 95 XL spectrometer.

Oxadiazoles **5a**,^{12a} **5b**,^{12b} **7a**,¹³ **7b**,¹³ and **10**,¹⁴ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl azide (**12**),¹⁶ 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl azide (**21**),¹⁵ 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl azide (**22**),¹⁷ 2,2',3,3',4',6,6'-hepta-*O*-acetyl- β -D-cellobiosyl azide (**23**),¹⁸ and 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl azide (**24**) were prepared by the

Table 3. ¹H NMR chemical shifts (δ in ppm, J in Hz) of compounds 13–20, 25, 26, and 28

Proton (multiplicity)	13 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	14 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	15 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	16 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	17 (CDCl ₃)	18 (CDCl ₃)	19 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	20 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	25 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	26 (Me ₂ SO- <i>d</i> ₆)	28 (CDCl ₃)
H-1 (d)	6.39 (<i>J</i> 9.1)	6.38 (<i>J</i> 9.2)	6.31 (<i>J</i> 9.0)	6.31 (<i>J</i> 9.0)	5.89 (<i>J</i> 9.0)	5.94 (<i>J</i> 8.8)	6.32 (<i>J</i> 9.0)	6.40 (<i>J</i> 9.0)	6.14 (<i>J</i> 10.0)	6.31 (<i>J</i> 9.2)	6.39 (<i>J</i> 6.0)
H-2 (dd)	5.69 (<i>J</i> 9.4, 9.2)	5.67 (<i>J</i> 9.4, 9.2)	5.63 (<i>J</i> 9.2, 9.2)	5.63 (<i>J</i> 9.4, 9.0)	5.47 (<i>J</i> 9.4, 9.0)	5.52 (<i>J</i> 9.4, 8.8)	5.65 (<i>J</i> 9.6, 9.4)	5.69 (<i>J</i> 9.2, 9.2)	5.33 (<i>J</i> 10.0, 9.8)	5.62 (<i>J</i> 9.6, 9.2)	5.25–5.33 ^a
H-3 (dd)	5.57 (<i>J</i> 9.4, 9.4)	5.55 (<i>J</i> 9.4, 9.4)	5.54 (<i>J</i> 9.4, 9.2)	5.54 (<i>J</i> 9.4, 9.2)	5.39 (<i>J</i> 9.2, 9.2)	5.46 (<i>J</i> 9.4, 9.0)	5.53 (<i>J</i> 9.6, 9.4)	5.56 (<i>J</i> 9.4, 9.4)	5.11 (<i>J</i> 9.8, 9.8)	5.48 (<i>J</i> 9.6, 3.2)	6.27 (<i>J</i> 9.9, 9.4)
H-4 (dd)	5.19 (<i>J</i> 9.8, 9.6)	5.19 (<i>J</i> 9.8, 9.6)	5.16 (<i>J</i> 9.8, 9.6)	5.16 (<i>J</i> 9.8, 9.6)	5.22 (<i>J</i> 9.8, 9.4)	5.28 (<i>J</i> 9.9, 9.1)	5.17 (<i>J</i> 9.8, 9.8)	5.19 (<i>J</i> 9.8, 9.6)	4.64 (<i>J</i> 10.0, 9.8)	5.44 (<i>J</i> 3.2, 2.8)	5.25–5.33 ^a
H-5 (ddd)	4.37 (<i>J</i> 9.8, 5.1, 2.6)	4.36–4.39 ^a	4.36 ^a	4.36 (<i>J</i> 9.8, 5.3, 3.0)	3.98 (<i>J</i> 9.8, 5.1, 1.7)	4.05 (<i>J</i> 9.9, 5.1, 2.1)	4.37 ^a	4.38 (<i>J</i> 9.8, 5.3, 1.9)	4.25 (<i>J</i> 10.0, 4.9, 2.3)	4.60 (<i>J</i> 7.2, 4.9, 2.8)	4.40 ^b (<i>J</i> 10.0)
H-6 (dd)	4.08 (<i>J</i> 12.8, 2.6)	4.08 (<i>J</i> 12.8, 3.0)	4.05 (<i>J</i> 12.4, 2.2)	4.04 (<i>J</i> 12.5, 3.0)	4.10 (<i>J</i> 12.6, 1.7)	4.17 (<i>J</i> 12.6, 1.9)	4.03 ^b (<i>J</i> 11.7)	4.09 (<i>J</i> 12.8, 2.1)	4.06 (<i>J</i> 12.2, 2.3)	4.03 (<i>J</i> 11.7, 7.2)	4.04 ^b (<i>J</i> 12.6)
H-6' (dd)	4.15 (<i>J</i> 12.8, 5.1)	4.15 (<i>J</i> 12.8, 5.6)	4.12 (<i>J</i> 12.4, 5.5)	4.12 (<i>J</i> 12.5, 5.3)	4.28 (<i>J</i> 12.6, 5.1)	4.35 (<i>J</i> 12.6, 5.1)	4.12 (<i>J</i> 11.7, 5.1)	4.16 (<i>J</i> 12.8, 5.5)	4.16 (<i>J</i> 12.2, 4.9)	4.14 (<i>J</i> 11.7, 4.9)	4.27 (<i>J</i> 12.6, 3.6)
Ac	1.77, 1.97, 2.00, 2.03	1.76, 1.96, 2.00, 2.02	1.79, 1.96, 1.99, 2.03	1.79, 1.96, 1.99, 2.03	1.84, 1.98, 2.02, 2.03	1.90, 2.05, 2.09, 2.10	1.74, 1.95, 1.98, 2.02	1.78, 1.97, 2.00, 2.03	1.57, 1.95, 2.00, 2.02	1.79, 1.95, 1.99, 2.20	1.83, 2.04, 2.06, 2.07
=CHN–(s)	8.62	8.61	8.21	8.20	8.04	8.09	8.31	8.62	8.50	8.57	7.76
NH (t)			8.60 (<i>J</i> 5.5)	8.59 (<i>J</i> 5.5)			6.90 (<i>J</i> 4.5)		8.08–8.12 ^a		
CH ₂ O (s)	5.34	5.33						5.34	5.32	5.33	5.36
CH ₂ N (d)			4.32 (<i>J</i> 5.5)	4.31 (<i>J</i> 5.5)		2.68 (s) ^c			4.40 (<i>J</i> 4.5)		
Other CH ₂ (t)			2.75 (<i>J</i> 7.2)	2.73 (<i>J</i> 7.1)							
H _{anom}			3.21 (<i>J</i> 7.2)	3.21 (<i>J</i> 7.1)							
	7.30 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	7.29 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	7.53–7.59 (m, 3H)	7.77 (br d, 2H, <i>J</i> 8.6)	7.48–7.59 (m, 3H)	7.96 (d, 2H, <i>J</i> 8.3)	6.75 (br d, 2H, <i>J</i> 8.5)	7.30 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	7.31 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	7.32 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	7.15 (d, 2H, <i>J</i> 7.9)
	7.60–7.62 (m, 3H)	7.81 (d, 2H, <i>J</i> 8.5)	7.97–8.00 (m, 2H)	7.92 (br d, 2H, <i>J</i> 8.6)	7.93 (d, 2H, <i>J</i> 8.1)	8.14 (d, 2H, <i>J</i> 8.5)	7.63–7.72 (m, 3H)	7.41–7.55 (m, 3H)	7.58–7.62 (m, 3H)	7.57–7.62 (m, 3H)	7.49–7.52 (m, 3H)
	8.08–8.11 (m, 2H)	8.02 (dd, 2H, <i>J</i> 8.5)			8.16–8.18 (m, 2H)		7.80 (d, 2H, <i>J</i> 8.7)	7.77 (d, 2H, <i>J</i> 7.7)	8.08–8.12 (m, 3H)	8.09 (br d, 2H, <i>J</i> 7.9)	8.15–8.20 (m, 4H)
	8.15 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	8.13 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)			8.19 (d, 2H, <i>J</i> 8.1)		8.15 (br d, 2H, <i>J</i> 8.3)	7.91 (d, 2H, <i>J</i> 8.3)	8.15 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)	8.15 (br d, 2H, <i>J</i> 8.9)	
								8.16 (d, 2H, <i>J</i> 8.9)			
								8.18 (d, 2H, <i>J</i> 8.3)			

^a m.^b br d.^c CH₃.

Table 4. ^{13}C NMR chemical shifts (δ in ppm, CDCl_3) of compounds **13**, **20**, **25**, **26**, and **28**

Compound	13	14	15	16	17	18	19	20	25	26	28
C-1	86.2	86.2	86.0	86.0	86.3	86.3	86.1	86.3	85.1	86.6	81.9
C-2	70.7	70.7	70.8	70.8	70.7	70.7	70.6	70.7	52.4	68.3	70.2
C-3	72.9	72.9	73.0	72.9	73.1	73.0	73.0	72.9	72.8	71.0	70.7
C-4	68.0	68.1	68.0	68.0	68.4	68.1	68.1	68.1	68.3	67.3	68.3
C-5	75.6	75.5	75.4	75.4	75.6	75.6	75.5	75.6	73.8	74.4	71.7
C-6	62.3	62.3	61.9	61.8	62.0	61.9	61.9	62.3	62.1	62.3	62.3
$=\text{CHN}_{\text{triaz}}$	115.7	115.7	121.6	121.5	118.9	118.8	116.6	115.7	116.1	115.7	115.6
$=\text{CN}_{\text{triaz}}$	144.6	144.5	145.7	145.6	148.1	148.0	146.7	144.2	142.6	144.4	143.5
$\text{C}_{\text{oxadiaz}}$	169.2	168.4	168.5	169.1	168.4	167.1	169.2	169.3	168.4	169.1	169.2
C_{arom}	175.8	175.9	179.3	179.5	177.5	177.5	175.5	175.8	175.5	175.7	175.8
	117.9	117.6	126.1	125.8	124.7	126.6	120.6	117.9	116.4	117.8	118.0
	121.8	121.8	126.4	126.1	126.7	127.2	124.9	126.3	124.2	121.9	125.6
	127.4	125.9	127.1	126.3	127.4	128.3	128.5	127.5	126.6	127.4	127.4
	127.9	126.4	127.7	129.2	128.5	132.9	129.4	127.9	127.4	127.8	127.9
	129.2	129.3	129.2	132.5	128.6	168.4	132.9	128.3	129.6	129.2	129.2
	130.5	130.5	131.5	169.1	129.5		150.1	129.3	130.3	130.4	130.5
	131.5	132.4	168.6		133.0			130.5	131.9	131.5	131.5
	161.9	162.0			133.2			140.6	162.1	161.9	161.9
					169.0			162.0			
CH_3CO	20.5	20.5	20.5	20.5	20.6	20.6 ^a	20.5	20.5	20.6	20.6	20.6
	20.8	20.8	20.9 ^a	20.8	21.0	20.9	20.8	20.8	20.7	20.9	20.9
	20.9	20.9	21.0	20.9	21.1	21.1	20.9	20.9	20.8	21.0 ^a	21.0 ^a
	21.1	21.0		21.0	26.0		21.1	21.1	22.6		
CH_3CO	169.3	169.3	169.2	169.7	169.4	169.4	169.3	169.4	168.7	169.4	169.2
	169.7	169.7	169.7	170.3	169.7	169.7	169.8	169.7	169.8	170.1	170.0
	170.3	170.2	170.3	170.8	170.3	169.3	170.3	170.3	169.9	170.3	170.5
	170.8	170.8	170.9	170.9	170.8	170.8	170.9	170.8	170.0	170.7	170.8
Other CH_2	61.9	61.9	22.7	22.6		12.8 ^b	39.7	61.9	61.6	61.6	61.6
			32.3	32.3							
			35.3	35.2							

^a Two carbon signals.^b Methyl group.

pyranosyl azide (**24**),¹⁹ were prepared according to known literature procedures.

1.2. Synthesis of 3-aryl-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazoles **6a,b**

A 1 M soln of BBr_3 in CH_2Cl_2 (20 mL, 20 mmol) was added slowly at -78°C to a soln of oxadiazole **5** (6.6 mmol) in CH_2Cl_2 (30 mL). The reaction mixture was allowed to warm at rt, and then refluxed for 20 h. The reaction mixture was treated with water (20 mL) to hydrolyze the excess of BBr_3 . After separation of the organic phase, the aq phase was extracted with CH_2Cl_2 (3×100 mL). The combined organic phases were washed with satd aq NaHCO_3 , then brine, and finally dried over Na_2SO_4 . Removal of the solvent under diminished pressure gave a residue that was purified by column chromatography over silica gel to give the corresponding 5-hydroxyphenyl oxadiazole **6**.

1.2.1. 3-Phenyl-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (6a). Prepared from **5a** (1.67 g); 0.832 g (53%); colorless solid; mp 161°C , lit.²⁰ 169 – 171°C ; R_f 0.59 (4:1 CH_2Cl_2 –EtOAc); ^1H NMR (CDCl_3): δ 6.07 (br s, 1H, OH), 6.98 (br d, 2H, J 8.9 Hz, H_{arom}), 7.50–7.53 (m,

3H, H_{arom}), 8.11–8.17 (m, 4H, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 116.5, 127.3, 127.9, 129.3, 130.6, 155.1, 169.2, 176.0; HREIMS: m/z 238.0741. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 238.0742.

1.2.2. 3-(4-Bromophenyl)-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (6b). Prepared from **5b** (2.18 g); 1.34 g (64%); colorless solid; mp 216°C ; R_f 0.63 (4:1 CH_2Cl_2 –EtOAc); ^1H NMR (CDCl_3): δ 5.39 (br s, 1H, OH), 6.99 (d, 2H, J 8.3 Hz, H_{arom}), 7.65 (d, 2H, J 8.3 Hz, H_{arom}), 8.03 (d, 2H, J 8.3 Hz, H_{arom}), 8.12 (d, 2H, J 8.5 Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 114.3, 116.5, 125.3, 125.9, 129.2, 130.4, 132.4, 162.4, 167.5, 175.9; HREIMS: m/z 315.9857. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$: 315.9847.

1.3. Synthesis of oxadiazoles **1a,b**

8-(4-Hydroxyphenyl)oxadiazole **6** (1.26 mmol) and K_2CO_3 (260 mg, 1.9 mmol) were suspended in anhyd DMF (8 mL). Propargyl bromide (220 mg, 1.9 mmol, 80% sol in toluene) was slowly added under a N_2 atmosphere, and the reaction mixture was stirred for 30 h at rt. Cold water (20 mL) was added to the contents, and the mixture thus obtained was extracted with ethyl ace-

tate (3 × 20 mL). The combined organic layers were washed with satd aq NaHCO₃, brine, and finally dried (Na₂SO₄). The solvent was removed under diminished pressure, and the residue was purified by column chromatography on silica gel to afford the corresponding acetylenic oxadiazoles **1**.

1.3.1. 3-Phenyl-5-[4-(prop-2-yn-1-yloxy)phenyl]-1,2,4-oxadiazole (1a). Prepared from **6a** (300 mg); 198 mg (57%); colorless solid; mp 107 °C; *R_f* 0.82 (3:2 petroleum ether–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.58 (t, 1H, *J* 2.4 Hz, C≡CH), 4.79 (d, 2H, *J* 2.4 Hz, CH₂), 7.13 (d, 2H, *J* 8.9 Hz, *H_{arom}*), 7.49–7.52 (m, 3H, *H_{arom}*), 8.15–8.20 (m, 4H, *H_{arom}*); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 56.3, 76.7, 78.1, 115.8, 118.1, 127.9, 129.2, 130.4, 131.5, 161.4, 169.2, 175.9; HREIMS: *m/z* calcd for C₁₇H₁₂N₂O₂ [M]⁺: 276.0899; found: 276.0901.

1.3.2. 3-(4-Bromophenyl)-5-[4-(prop-2-yn-1-yloxy)phenyl]-1,2,4-oxadiazole (1b). Prepared from **6b** (399 mg); 340 mg (76%); colorless solid; mp 153 °C; *R_f* 0.85 (3:2 petroleum ether–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.50 (t, 1H, *J* 2.4 Hz, C≡CH), 4.79 (d, 2H, *J* 2.4 Hz, CH₂), 7.04 (d, 2H, *J* 8.9 Hz, *H_{arom}*), 7.56 (br d, 2H, *J* 8.7 Hz, *H_{arom}*), 7.95 (br d, 2H, *J* 8.7 Hz, *H_{arom}*), 8.07 (br d, 2H, *J* 8.9 Hz, *H_{arom}*); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 56.3, 76.7, 78.0, 115.8, 117.9, 126.0, 126.4, 129.4, 130.4, 132.5, 161.5, 168.5, 176.0; HREIMS: *m/z* 353.9991. Calcd for C₁₇H₁₁BrN₂O₂ [M]⁺: 354.0004.

1.4. Synthesis of oxadiazoles **2**

To a soln of oxadiazole **7** (0.92 mmol) in anhyd THF (10 mL) maintained at –25 °C and under a nitrogen atmosphere were successfully added *N*-methyl-morpholine (93 mg, 0.92 mmol), *isobutyl* chloroformate (130 mg, 0.92 mmol), and propargylamine (60 mg, 1.0 mmol). After being stirred at rt for 24 h, the solvent was removed under diminished pressure, water (10 mL) was added, and the pH of the mixture was adjusted between 1 and 2 with aq 1 N HCl. The aq soln was extracted with EtOAc (3 × 20 mL), the combined organic phases were washed with satd aq NaHCO₃ (3 × 10 mL), and brine. Removal of the solvent under diminished pressure afforded oxadiazole **2**, which was recrystallized from a CH₂Cl₂–hexane mixture.

1.4.1. 3-(3-Phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-*N*-(prop-2-yn-1-yl)propanamide (2a). Prepared from **7a** (200 mg); 183 mg (78%); colorless solid; mp 98 °C; *R_f* 0.48 (4:1 CH₂Cl₂–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.23 (t, 1H, *J* 2.5 Hz, C≡CH), 2.82 (t, 2H, *J* 7.2 Hz, CH₂), 3.32 (t, 2H, *J* 7.2 Hz, CH₂), 4.09 (dd, 2H, *J* 5.2, 2.5 Hz, NCH₂), 5.95 (br s, 1H, NH), 7.44–7.51 (m, 3H, *H_{arom}*), 8.05 (dd, 2H, *J* 7.7, 2.0 Hz, *H_{arom}*); ¹³C NMR (CDCl₃):

δ 22.7, 29.8, 32.4, 72.2, 79.7, 127.1, 127.8, 129.2, 131.6, 168.6, 170.4, 179.1; HREIMS: *m/z* 255.1023. Calcd for C₁₄H₁₃N₃O₂ [M]⁺: 255.1009.

1.4.2. 3-[3-(4-Bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-*N*-(prop-2-yn-1-yl)propanamide (2b). Prepared from **7b** (273 mg); 218 mg (71%); colorless solid; mp 170 °C; *R_f* 0.52 (4:1 CH₂Cl₂–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.24 (t, 1H, *J* 2.5 Hz, C≡CH), 2.81 (t, 2H, *J* 7.2 Hz, CH₂), 3.31 (t, 2H, *J* 7.2 Hz, CH₂), 4.08 (dd, 2H, *J* 5.2, 2.5 Hz, NCH₂), 5.94 (br s, 1H, NH), 7.62 (br d, 2H, *J* 8.5 Hz, *H_{arom}*), 7.93 (br d, 2H, *J* 8.5 Hz, *H_{arom}*); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) 21.1, 27.2, 30.0, 72.3, 80.3, 124.3, 124.8, 128.2, 131.6, 166.0, 169.0, 179.5; HREIMS: *m/z* 333.0122. Calcd for C₁₄H₁₂BrN₃O₂ [M]⁺: 333.0113.

1.5. 4-Ethynylbenzamidoxime (**9**)

To a soln of hydroxylamine hydrochloride (540 mg, 7.8 mmol) and sodium hydrogencarbonate (655 mg, 7.8 mmol) in water (20 mL) was added a soln of 4-ethynylbenzonitrile (**8**) (500 mg, 3.9 mmol) in ethanol (20 mL). After being stirred for 3 days at rt, the solvent was removed under diminished pressure and the residue was extracted with ethyl acetate (3 × 20 mL). Removal of the solvent under diminished pressure gave a solid that was crystallized in CH₂Cl₂ to give 4-ethynylbenzamidoxime **9** (540 mg, 93%) as a colorless solid: mp 132–133 °C (CH₂Cl₂); *R_f* 0.35 (2:1 petroleum ether–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 1.63 (s, 1H, OH), 3.16 (s, 1H, C≡CH), 4.86 (br s, 2H, NH₂), 7.52 (br d, 2H, *J* 7.8 Hz, *H_{arom}*), 7.60 (br d, 2H, *J* 7.8 Hz, *H_{arom}*). Anal. Calcd for C₉H₈N₂O: C, 67.49; H, 5.03; N, 17.49. Found: C, 67.15; H, 4.86; N, 17.67.

1.6. 3-(4-Ethynylphenyl)-5-phenyl-1,2,4-oxadiazole (**3a**)

To a soln of 4-ethynylbenzamidoxime **9** (0.5 g, 3.47 mmol) in anhyd CH₂Cl₂ (30 mL) was added benzoic acid (0.85 g, 6.94 mmol), followed by DCC (1.43 g, 6.94 mmol), at rt and under a nitrogen atmosphere. After being stirred for 3 h, the solid was filtered off, the solvent was removed under diminished pressure, and the residue was submitted to the cyclodehydration reaction at 110–120 °C for 4 h. The resulting mixture was submitted to column chromatography on silica gel (7:3 hexane–EtOAc) to give oxadiazole **3a** (461 mg, 54%) as a colorless solid: mp 99–100 °C; *R_f* 0.6 (7:3 hexane–EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃): δ 3.21 (s, 1H, C≡CH), 7.51–7.63 (m, 5H, *H_{arom}*), 8.13 (br d, 2H, *J* 6.7 Hz, *H_{arom}*), 8.21 (br d, 2H, *J* 6.7 Hz, *H_{arom}*); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 79.7, 83.5, 124.5, 125.3, 127.5, 127.8, 128.6, 129.5, 133.0, 133.2, 168.7, 176.3; HREIMS: *m/z* 246.0805. Calcd for C₁₆H₁₀N₂O [M]⁺: 246.0793.

1.7. 3-(4-Ethynylphenyl)-5-methyl-1,2,4-oxadiazole (3b)

A mixture of 4-ethynylbenzamidoxime (**9**) (0.5 g, 3.13 mmol) and Ac_2O (10 mL) was heated at reflux temperature for 4 h. The mixture was cooled to rt, and neutralized with satd aq NaOH until pH 7.0. The organic product was extracted with EtOAc (3×5 mL). Removal of the solvent under diminished pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel (3:2 petroleum ether–EtOAc) to give oxadiazole **3b** (350 mg, 61%) as a colorless solid; mp 71 °C; R_f 0.65 (3:2 petroleum ether–EtOAc); ^1H NMR (CDCl_3): δ 2.64 (s, 3H, CH_3), 3.21 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 7.58 (br d, 2H, J 8.5 Hz, H_{arom}), 8.02 (br d, 2H, J 8.7 Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 12.7, 79.7, 83.4, 125.3, 127.4, 127.6, 132.9, 168.2, 177.1; HREIMS: m/z 184.0636. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$: 184.0636.

1.8. [4-(5-Phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)phenyl](prop-2-yn-1-yl)amine (4)

A soln of nitrooxadiazole **10** (1.1 g, 4.1 mmol) in EtOH (50 mL) was refluxed in the presence of SnCl_2 (3.1 g, 16.4 mmol). After total consumption of the starting material as shown by TLC, the mixture was basified with satd aq NaHCO_3 until pH 8.0, and extracted with ethyl acetate (3×100 mL). Removal of the solvent under diminished pressure furnished crude 4-aminophenyl-5-phenyl-1,2,4-oxadiazole **11**, which was used in the next step without further purification. To a suspension of aminooxadiazole **11** (400 mg, 1.7 mmol) and potassium carbonate (470 mg, 3.4 mmol) in anhyd DMF (10 mL) was added slowly propargyl bromide (400 mg, 3.4 mmol) in toluene (80% soln). After being stirred for 36 h at rt, water (10 mL) was added, and the organic product was extracted with ethyl acetate (3×20 mL). The combined organic layers were dried (Na_2SO_4). Solvent removal under diminished pressure gave a residue that was purified by chromatography on silica gel using petroleum ether–EtOAc (3:2) as the eluent to afford oxadiazole **4** (320 mg, 68%) as a yellow solid; mp 117 °C; R_f 0.71 (3:2 petroleum ether–EtOAc); ^1H NMR (CDCl_3): δ 2.26 (t, 1H, J 2.4 Hz, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.99 (d, 2H, J 2.4 Hz, CH_2), 4.27 (br s, 1H, NH), 6.76 (br d, 2H, J 8.9 Hz, H_{arom}), 7.26–7.61 (m, 3H, H_{arom}), 8.02 (br d, 2H, J 8.9 Hz, H_{arom}), 8.20 (br d, 2H, J 7.9 Hz, H_{arom}); ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 33.7, 72.1, 80.7, 113.5, 117.1, 124.9, 128.5, 129.3, 129.4, 132.9, 149.6, 169.3, 175.5; HREIMS: m/z 275.1062. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}]^+$: 275.1059.

1.9. General procedure for the preparation of carbohydrate–triazole linked oxadiazole derivatives

The azidosugar (1 mmol) and acetylenic oxadiazole (1.1 mmol) were suspended in 1:1 mixture of CH_2Cl_2

and water (4 mL). To this soln was added a mixture of $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (36 mg, 0.2 mmol) and sodium ascorbate (79 mg, 0.4 mmol). The resulting mixture was stirred under nitrogen at rt until TLC analysis indicated complete consumption of the product. The mixture was diluted with CH_2Cl_2 (5 mL) and water (5 mL). The organic layer was separated, and the aq phase was extracted again with CH_2Cl_2 (5 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 . Removal of the solvent under diminished pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica using the indicated eluent to give the corresponding carbohydrate–triazole linked 1,2,4-oxadiazole.

1.9.1. 5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (13). Prepared from **12** (373 mg) and **1a** (303.6 mg); 519.7 mg (80%); colorless solid; mp 173 °C; R_f 0.25 (3:2 petroleum ether–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –31.5 (c 1.0, CH_2Cl_2); HRESIMS: m/z 672.1922. Calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 672.1918. Anal. Calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_{11}$: C, 57.32; H, 4.81. Found: C, 57.22; H, 4.78.

1.9.2. 5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-3-(4-bromophenyl)-1,2,4-oxadiazole (14). Prepared from **12** (373 mg) and **1b** (390 mg); 343.5 mg (60%); colorless solid; mp 227 °C; R_f 0.34 (3:2 petroleum ether–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –29 (c 1.0, CH_2Cl_2); HRESIMS m/z 729.1118. Calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{BrN}_5\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 729.1132. Anal. Calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{BrN}_5\text{O}_{11}$: C, 51.11; H, 4.15. Found: C, 50.90; H, 4.21.

1.9.3. *N*-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl}-3-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)propanamide (15). Prepared from **12** (373 mg) and **2a** (280.5 mg); 534 mg (85%); colorless solid; mp 153 °C; R_f 0.46 (EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –19.2 (c 1.0, CH_2Cl_2); HRESIMS m/z 651.2029. Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 651.2027.

1.9.4. *N*-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl}-3-[3-(4-bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]propanamide (16). Prepared from **12** (373 mg) and **2b** (367 mg); 237 mg (43%); colorless solid; mp 82 °C; R_f 0.41 (EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –18.0 (c 1.0, CH_2Cl_2); HRESIMS: m/z 729.1118. Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{BrN}_6\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 729.1131.

1.9.5. 3-{4-[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]phenyl}-5-phenyl-1,2,4-oxadiazole (17). Prepared from **12** (373 mg) and **3a** (270.6 mg); 378 mg (61%); colorless solid; mp 232 °C; R_f 0.41 (3:2 petroleum ether–EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –60.5 (c 1.0, CH_2Cl_2);

HRESIMS: m/z 642.1812. Calcd for $C_{30}H_{29}N_5O_{10}Na$ $[M+Na]^+$: 642.1812.

1.9.6. 3-{4-[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]phenyl}-5-methyl-1,2,4-oxadiazole (18). Prepared from **12** (373 mg) and **3b** (202 mg); 446 mg (80%); colorless solid; mp 230 °C; R_f 0.75 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ –65 (c 1.0, CH_2Cl_2). Anal. Calcd for $C_{25}H_{27}N_5O_{10}$: C, 53.86; H, 4.88. Found: C, 53.09; H, 4.96.

1.9.7. *N*-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl}-4-(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)aniline (19). Prepared from **12** (373 mg) and **4** (302 mg); 434.5 mg (67%); colorless solid; mp 201 °C; R_f 0.63 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ –24 (c 1.0, CH_2Cl_2). Anal. Calcd for $C_{31}H_{32}N_6O_{10}$: C, 57.40; H, 4.97; N, 12.96. Found: C, 57.28; H, 4.96; N, 12.67.

1.9.8. 5-(4-{[1-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-acetyl-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (25). Prepared from **1a** (303.6 mg) and **21** (372 mg); 408.6 mg (63%); colorless solid; mp 246 °C; R_f 0.44 (EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ –44 (c 0.5, CH_2Cl_2); HRESIMS: m/z 671.2071. Calcd for $C_{31}H_{32}N_6O_{10}Na$ $[M+Na]^+$: 671.2077.

1.9.9. 5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (26). Prepared from **1a** (303.6 mg) and **22** (373 mg); 389 mg (70%); colorless solid; mp 187 °C; R_f 0.37 (7:3 EtOAc–petroleum ether); $[\alpha]_D^{20}$ –15 (c 1.0, CH_2Cl_2). Anal. Calcd for $C_{31}H_{31}N_5O_{11}$: C, 57.32; H, 4.81. Found: C, 57.03; H, 4.78.

1.9.10. 5-(4-{[1-(2,2',3,3',4',6,6'-Hepta-*O*-acetyl- β -D-cellobiosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-1,2,4-oxadiazole (27). Prepared from **1a** (303.6 mg) and **23** (661 mg); 591 mg (63%); colorless solid; mp 233 °C; R_f 0.32 (7:3 EtOAc–petroleum ether); $[\alpha]_D^{20}$ –27 (c 1.0, CH_2Cl_2); 1H NMR ($CDCl_3$): δ 1.85 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc), 2.04 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.11 (s, 3H, OAc), 3.68 (ddd, 1H, J 9.6, 4.2, 2.3 Hz, H-5'), 3.93–3.98 (m, 2H, H-5, H-6), 4.05 (dd, 1H, J 12.4, 2.3 Hz, H-6'), 4.16 (dd, 1H, J 12.4, 4.2 Hz, H-6'), 4.38 (dd, 1H, J 12.4, 4.2 Hz, H-6), 4.54 (dd, 1H, J 8.1, 7.9 Hz, H-3), 4.57 (d, 1H, J 8.1 Hz, H-1'), 4.96 (dd, 1H, J 9.0, 8.1 Hz, H-2'), 5.08 (dd, 1H, J 9.6, 9.4 Hz, H-4'), 5.17 (dd, 1H, J 9.4, 9.0 Hz, H-3'), 5.31 (s, 2H, CH_2O), 5.36–5.44 (m, 2H, H-4, H-2), 5.83 (d, 1H, J 8.8 Hz, H-1), 7.13 (d, 2H, J 8.9 Hz, H_{arom}), 7.49–7.52 (m, 3H, H_{arom}), 7.82 (s, 1H, =CHN), 8.15–8.19 (m, 4H, H_{arom}); ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ 20.6, 20.8, 20.9, 21.1, 21.2, 62.0, 62.4, 68.2, 70.9, 72.0, 72.5, 72.7, 73.2, 76.2, 76.5, 86.0, 101.2, 115.7, 117.9, 121.8, 127.5, 127.9, 129.3, 130.5,

131.5, 144.5, 162.0, 169.2, 169.4, 169.5, 169.7, 169.9, 170.6, 170.8, 175.8. Anal. Calcd for $C_{41}H_{47}N_5O_{19}$: C, 55.07; H, 5.01. Found: C, 54.76; H, 5.06.

1.9.11. 5-(4-{[1-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (28). Prepared from **1a** (303.6 mg) and **24** (373 mg); 435 mg (67%); colorless solid; mp 109 °C; R_f 0.2 (3:2 petroleum ether–EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ +79 (c 1.0, CH_2Cl_2). Anal. Calcd for $C_{31}H_{31}N_5O_{11}$: C, 57.32; H, 4.81. Found: C, 56.94; H, 4.82.

1.10. 3-Biphenyl-4-yl-5-(4-{[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methoxy}phenyl)-1,2,4-oxadiazole (20)

$Pd(OAc)_2$ (0.3 mg, 1.1 μ mol) and PPh_3 (0.9 mg, 3.3 μ mol) were placed in a flask under argon. Degassed water (0.5 mL) and ethanol (0.5 mL) were added, and the soln was stirred for 30 min at rt. A suspension of bromooxadiazole **14** (80 mg, 0.11 mmol) and phenylboronic acid (15 mg, 0.12 mmol) in a mixture of toluene (3 mL) and ethanol (1.5 mL) was then added to the flask, followed by Na_2CO_3 (35 mg, 0.33 mmol) dissolved in water (1 mL). The resulting mixture was stirred at 70 °C for 16 h. The two phases were separated, the ethanol–water layer was washed twice with toluene. The combined organic phases were dried over Na_2SO_4 , and concentrated under diminished pressure. Purification of the crude product by chromatography on silica gel using petroleum ether–EtOAc (3:2) as the eluent gave the coupling product **20** (35 mg, 44%) as a colorless solid; mp 237 °C; R_f 0.36 (3:2 petroleum ether–EtOAc); $[\alpha]_D^{20}$ –29 (c 0.5, CH_2Cl_2); HRESIMS: m/z 748.2236. Calcd for $C_{37}H_{35}N_5O_{11}Na$ $[M+Na]^+$: 748.2231.

Acknowledgments

We are indebted to the CAPES/COFECUB Program No. 334/01 for financial support, and CNPq-Brazil for providing a fellowship (J.V.d.A.).

Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.carres.2007.07.011.

References

- (a) Clapp, L. B. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 1st ed.; Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984; Vol. 6, pp 365–392; (b) Clapp, L. B. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Boulton, A. J., Eds.; Academic Press: New York, 1976; Vol. 20, pp 65–

- 116; (c) Jochims, J. C. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 2nd ed.; Katritzky, A. R., Rees, C. W., Scriven, E. F. V., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1996; Vol. 4, pp 179–228; (d) Hemming, K. *J. Chem. Res., Synop.* **2001**, 209–216; (e) Kayukova, L. A. *Pharm. Chem. J.* **2005**, 39, 539–547.
2. For some recent references: (a) Bezerra, N. M. M.; de Oliveira, S. P.; Srivastava, R. M.; da Silva, J. R. *Il Farmaco* **2005**, 60, 955–960; (b) Li, Z.; Chen, W.; Hale, J. J.; Lynch, C. L.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Parent, S. A.; Bergstrom, J.; Card, D.; Forrest, M.; Quackenbush, E. J.; Wickham, L. A.; Vargas, H.; Evans, R. M.; Rosen, H.; Mandala, S. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6169–6173; (c) Colendrea, V. J.; Legiec, I. E.; Huo, P.; Yan, L.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Chrebet, G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Milligan, J. A.; Rosenbach, M. J.; Shei, G.-J.; Mandala, S. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 2905–2908; (d) Yan, L.; Budhu, R.; Huo, P.; Lynch, C. L.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Mandala, S. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3564–3568; (e) Yan, L.; Huo, P.; Doherty, G.; Toth, L.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Mandala, S. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3679–3683; (f) Yan, L.; Huo, P.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Mandala, S. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 828–831; (g) Boys, M. L.; Schretzman, L. A.; Chandrakumar, N. S.; Tollefson, M. B.; Mohler, S. B.; Downs, V. L.; Penning, T. D.; Russell, M. A.; Wendt, J. A.; Chen, B. B.; Stenmark, H. G.; Wu, H.; Spangler, D. P.; Clare, M.; Desai, B. N.; Khanna, I. K.; Nguyen, M. N.; Duffin, T.; Engleman, V. W.; Fimm, M. B.; Freeman, S. K.; Hanneke, M. L.; Keene, J. L.; Klover, J. A.; Nickols, G. A.; Nickols, M. A.; Steininger, C. N.; Westlin, M.; Westlin, W.; Yu, Y. X.; Wang, Y.; Dalton, C. R.; Norring, S. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 839–844; (h) Zhang, H.-Z.; Kasibhatla, S.; Kuenmerle, J.; Kemnitzer, W.; Ollis-Mason, K.; Qiu, L.; Crogan-Grundy, C.; Tseng, B.; Drewe, J.; Cai, S. X. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 5215–5223.
3. (a) Vu, C. B.; Corpuz, E. G.; Merry, T. J.; Pradeepan, S. G.; Bartlett, C.; Bohacek, R. S.; Botfield, M. C.; Eyermann, C. J.; Lynch, B. A.; MacNeil, I. A.; Ram, M. K.; van Schravendijk, M. R.; Violette, S.; Sawyer, T. K. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4088–4098; (b) Deegan, T. L.; Nitz, T. J.; Cebzanov, D.; Pufko, D. E.; Porco, J. A., Jr. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 209–212; (c) Yu, J.; Zhang, S.; Li, Z.; Lu, W.; Zhou, R.; Liu, Y.; Cai, M. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 257–261; (d) Jakopin, Z.; Roskar, R.; Dolenc, M. S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 1465–1468.
4. Fu, X.; Albermann, C.; Jiang, J.; Liao, J.; Zhang, C.; Thorson, J. S. *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 1467–1469.
5. (a) Hennen, W. J.; Robins, R. K. *J. Heterocycl. Chem.* **1985**, 22, 1747–1748; (b) Wu, W. D.; Ma, L. T.; Zhang, L. H.; Lu, Y.; Guo, F.; Zheng, Q. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 1527–1536.
6. (a) Yu, J.; Zhang, S.; Li, Z.; Lu, W.; Zhang, L.; Zhou, R.; Liu, Y.; Cai, M. *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, 20, 877–884; (b) Benlifa, M.; Vidal, S.; Fenet, B.; Msaddek, M.; Goekjian, P. G.; Praly, J.-P.; Brunyansky, A.; Docsa, T.; Gergely, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4242–4256.
7. Srivastava, R. M.; de Freitas Filho, J. R.; da Silva, M. J.; de Melo Souto, S. C.; Carpenter, G. B.; Faustino, W. M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 10761–10769.
8. (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, 41, 2596–2599; (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057–3064; (c) Wang, Q.; Chittaboina, S.; Barnhill, H. N. *Lett. Org. Chem.* **2005**, 2, 293–301; (d) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51–68; (e) Lutz, J.-F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 1018–1025; (f) Wu, P.; Fokin, V. V. *Aldrichim. Acta* **2007**, 40, 7–17.
9. Kuipers, B. H. M.; Groothuys, S.; Keereweer, A. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3123–3126.
10. (a) Leite, A. C. L.; Vieira, R. F.; de Faria, A. R.; Wanderley, A. G.; Afatpour, P.; Ximenes, E. C. P. A.; Srivastava, R. M.; de Oliveira, C. F.; Medeiros, M. V.; Antunes, E.; Brondani, D. J. *Il Farmaco* **2000**, 55, 719–724; (b) Srivastava, R. M.; Lima, A. A.; Viana, O. S.; da Costa Silva, M. J.; Catanho, M. T. J. A.; de Moraes, J. O. F. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2003**, 11, 1821–1827.
11. Weidner-Wells, M. A.; Henninger, T. C.; Fraga-Spano, S. A.; Boggs, C. M.; Matheis, M.; Ritchie, D. M.; Argentieri, D. C.; Wachter, M. P.; Hlasta, D. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4307–4311.
12. (a) Adib, M.; Jahromi, A. H.; Tavoosi, N.; Mahdavi, M.; Bijanzadeh, H. R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2965–2967; (b) Ryu, H.-C.; Hong, Y.-T.; Kang, S.-K. *Heterocycles* **2001**, 54, 985–988.
13. Srivastava, R. M.; Viana, M. B. A. B.; Bieber, L. J. *Heterocycl. Chem.* **1984**, 21, 1193–1195.
14. Bergmann, E. D.; Bendas, H.; d'Avilla, U. *J. Org. Chem.* **1953**, 18, 64–69.
15. Lee, B.-Y.; Park, S. R.; Jeon, H. B.; Kim, K. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5105–5109.
16. Bianchi, A.; Bernardi, A. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4565–4577.
17. Vicente, V.; Martin, J.; Jimenez-Barbero, J.; Chiara, J. L.; Vicent, C. *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 4240–4251.
18. Peto, C.; Batta, G.; Gyorgydeak, Z.; Sztaricskai, F. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 505–507.
19. Soli, E. D.; Manoso, A. S.; Patterson, M. C.; DeShong, P.; Favor, D. A.; Hirschmann, R.; Smith, A. B. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3171–3177.
20. Corsaro, A.; Buemi, G.; Chiacchio, U.; Perrini, G.; Pistara, V.; Romeo, R. *Tetrahedron* **1996**, 52, 7885–7892.

Palladium-Catalyzed Alkynylation (Sonogashira Coupling) at C-5 of the Uracil Moiety in Modified Unsaturated Pyranosyl Nucleosides

Francisco J. B. Mendonça, Jr.^{a,b} Janaína V. dos Anjos,^{a,c} Denis Sinou,^{*a} Sebastiao J. de Melo,^b Rajendra M. Srivastava^{*c}

^a Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, ESCPE Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France
Fax 33(4)78898914; E-mail: sinou@univ-lyon1.fr

^b Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil

^c Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540, Recife, PE, Brazil
Fax 55 8121268440; E-mail: rms@ufpe.br

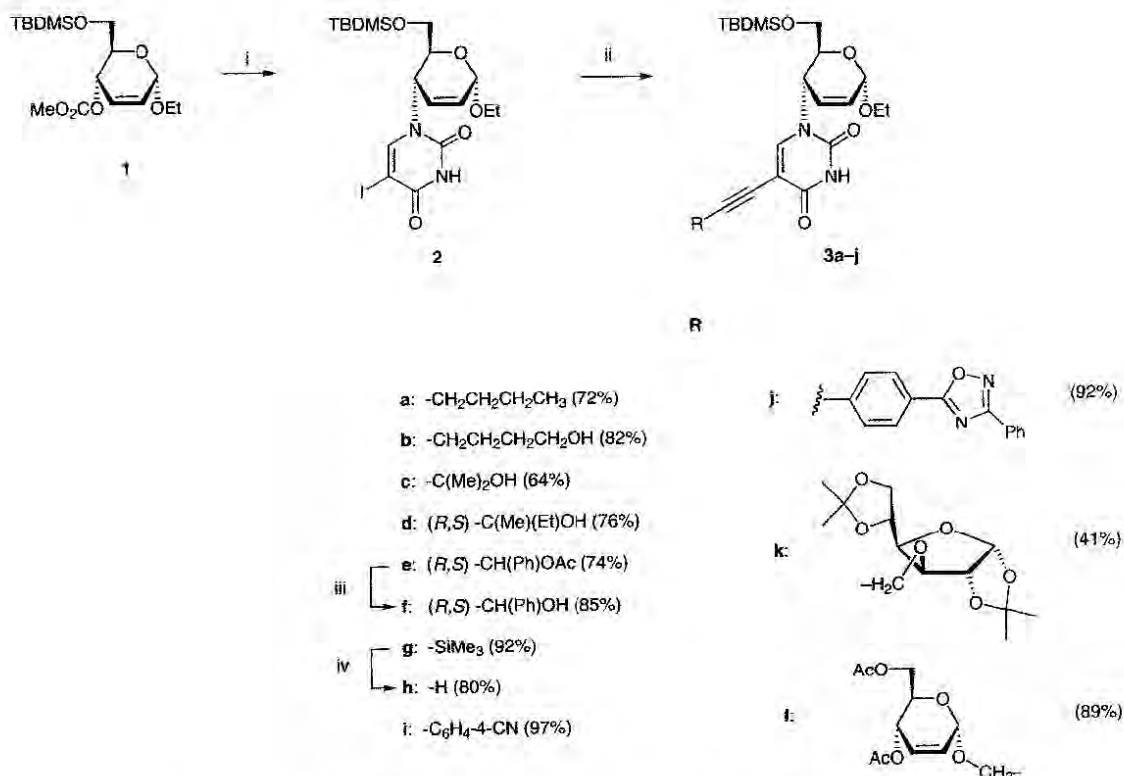
Received 25 January 2007

PSP

No 88

Abstract: Various unsaturated 4-(5-substituted-uracil-1-yl)glycopyranosides were synthesized in good yields by a palladium-catalyzed cross-coupling reaction of ethyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-iodo-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside with a range of acetylenic derivatives.

Key words: palladium, unsaturated carbohydrates, cross-coupling, nucleoside



Scheme 1 Reagents and conditions: (i) 5-iodouracil, $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (5 mol%), dppb (10 mol%), THF, 60 °C, 45%; (ii) $\text{RC}\equiv\text{CH}$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10 mol%), Ph_3P (30 mol%), CuI, DMF, Et_3N , r.t., 2 h; (iii) K_2CO_3 , MeOH, H_2O , r.t., 18 h; (iv) MeONa, MeOH, r.t., 1 h.

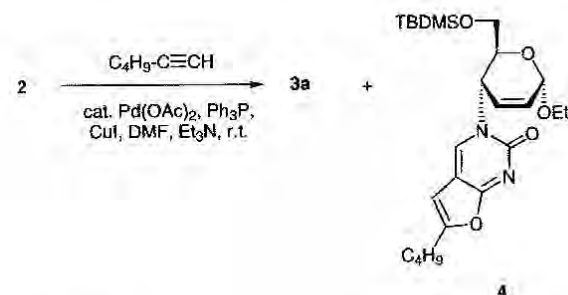
During the last three decades, there has been an increasing interest in the chemistry of nucleosides and modified nucleosides, since nucleosides analogues are active antiviral drugs.¹ Unsaturated analogues of nucleosides are of current interest, since they have been shown to be highly effective as antiviral and antitumor agents.² Although significant attention has been paid to the development of synthetic methods for five-membered-ring structures,³ few examples have been published on the corresponding unsaturated pyranosyl⁴ or cyclohexenyl⁵ analogues.

We have recently shown that the palladium-catalyzed alkylation of 2,3-unsaturated carbohydrates with heterocyclic amines, such as 5-halogenouracil, allowed an easy access to unsaturated glycopyranosyl nucleosides.⁶ The Sonogashira reaction has been shown to be a robust and versatile C–C coupling reaction, and has been used successfully in nucleoside and nucleobase chemistry,⁷ allowing an easy access to various C-5 substituted nucleosides. We present in this paper the application of this methodology for the introduction of acetylenic substituents at C-5 of the uracil portion in modified nucleosides.

The key carbohydrate precursor was 4-(5-iodouracil-1-yl) derivative **2** prepared from unsaturated carbohydrate **1** by palladium-catalyzed alkylation with 5-iodouracil as previously described.⁶ Treatment of compound **2** with hex-1-yne for two hours in DMF/Et₃N at room temperature in the presence of a catalytic amount of Pd(OAc)₂/Ph₃P and CuI gave coupling product **3a** in 72% yield (Scheme 1), together with a small amount of 3-glycosyl-6-butyrfuran[2,3-*d*]pyrimidin-2-one (**4**, 5% yield) (Scheme 2). Keeping the reaction mixture at room temperature for five days gave compounds **3a** and **4** in 62% and 29% yield, respectively. The formation of such furanopyrimidine by-products has already been described in the literature.^{1e,8} Increasing the reaction temperature provides such cyclized products in almost quantitative yields.

Analogous coupling of compound **2** with hex-5-yn-1-ol and 2-methylbut-3-yn-2-ol gave the expected compounds **3b** and **3c** in 82 and 64% yields, respectively. Racemic 3-methylpent-1-yn-3-ol and 1-phenylprop-2-ynyl acetate underwent catalytic coupling with compound **2** to give **3d** and **3e** in 76% and 74% yield, respectively. Compounds **3d** and **3e** are obtained as a 1:1 mixture of the two epimers as shown by ¹H NMR spectroscopy; compound **3d** shows two signals for CH₃CH₂C(OH) at δ = 1.72 and 1.73, and compound **3e** two different signals for H-3 (δ = 5.73 and

5.75), =CHN (δ = 7.51 and 7.61), and NH (δ = 8.15 and 8.20). The same 1:1 ratio was obtained when the reaction was performed in the presence of a large excess of racemic acetylenic alcohol or acetate, showing that no kinetic resolution occurred in this case.

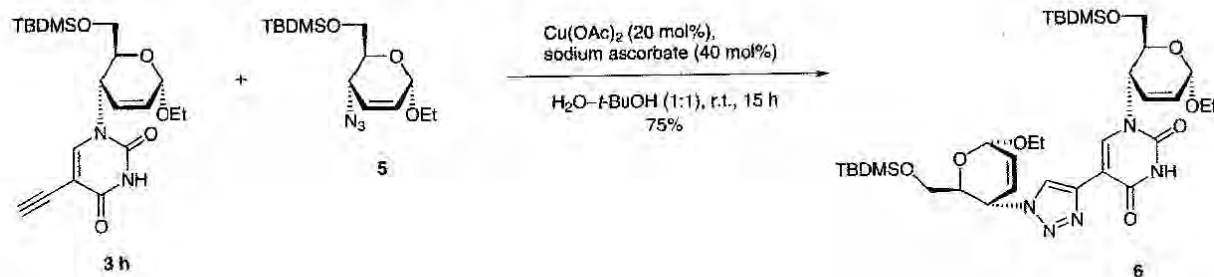


Scheme 2

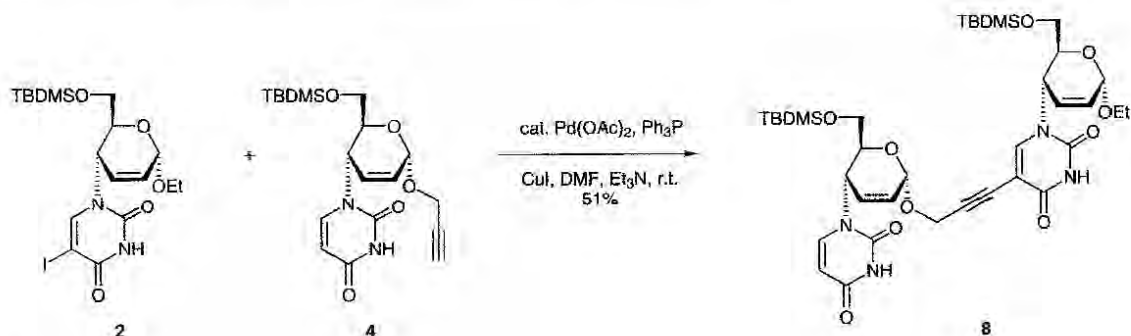
5-Ethynyluracil⁹ underwent palladium-catalyzed coupling with carbohydrate **2**, giving compound **3g** in 92% yield. The trimethylsilyl group was easily removed using NaOMe in methanol affording uracil derivative **3h** bearing a terminal acetylenic group in 80% yield. This compound **3h** could be the precursor of a large variety of glycoconjugates using the copper-catalyzed condensation with azidocarbohydrates, the so-called 'click' chemistry.¹⁰ Copper(I)-catalyzed condensation of **3h** with unsaturated azidocarbohydrate **5**¹¹ afforded effectively 1,2,3-triazole linked disaccharide **6** in 75% yield (Scheme 3).

4-Ethynylbenzonitrile and 5-(4-ethynylphenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole reacted also with compound **2** in the presence of palladium catalyst to give the corresponding coupling products **3i** and **3j** in 97% and 92% yield, respectively. The last coupling allows the easy introduction of the 1,2,4-oxadiazole moiety, exhibiting generally a wide range of biological activities, on the unsaturated 4-(uracil-1-yl)glycopyranoside.

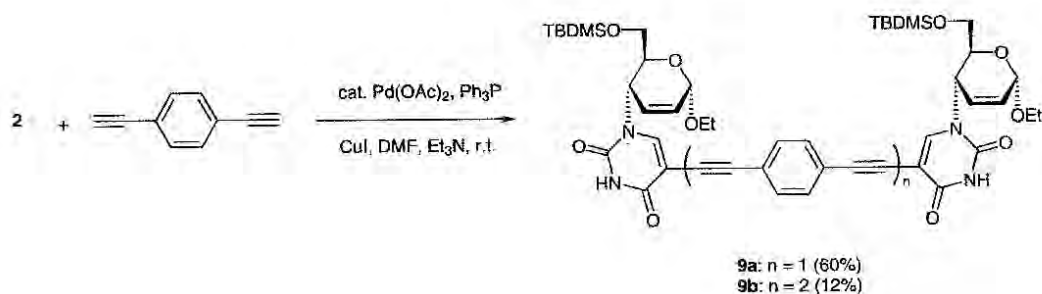
We extended this palladium-catalyzed coupling reaction to more complex propargylic substrates. Condensation of compound **2** with 1,2;5,6-bis-*O*-isopropylidene-3-*O*-(prop-2-yn-1-yl)-α-D-glucofuranose¹² and prop-2-yn-1-yl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy-α-D-erythro-hex-2-enopyranoside¹³ afforded disaccharides **3k** and **3l**, bearing two different carbohydrate units on the uracil framework, in 41% and 89% yields, respectively.



Scheme 3



Scheme 4



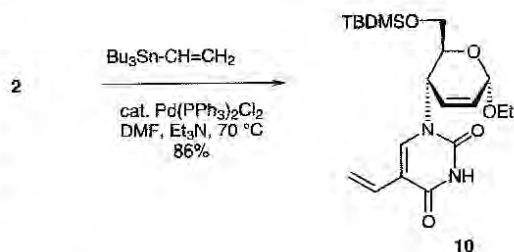
Scheme 5

Cross-coupling of iodo derivative **2** with the ethynylated nucleoside **7**, obtained by a palladium(0)-catalyzed alkylation of carbonate of propynyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside with uracil using a methodology described previously by our group,⁶ gave disaccharide **8**, bearing two uracil as well as two unsaturated carbohydrate moieties linked by an acetylenic bond, in 51% chemical yield (Scheme 4).

This coupling reaction was extended also to multivalent alkynes, in order to investigate the potentiality of this methodology for the preparation of polyvalent glycoconjugate clusters. Palladium-catalyzed coupling of carbohydrate **2** in excess with 1,4-diethynylbenzene afforded disaccharide **9a** in 60% yield, together with compound **9b**, in 12% yield (Scheme 5). The later compound was probably formed by the homocoupling of the acetylenic intermediate obtained from the monoalkynylation of diethynylbenzene.

It is to be noticed that compound **2** is a very important precursor for use not only in Sonogashira coupling, but also in other palladium-catalyzed carbon–carbon coupling reaction. For example, palladium-catalyzed coupling of unsaturated 4-(5-iodouracil-1-yl)glycoside **2** with tri-*n*-butylvinyltin at 70 °C in DMF–Et₃N afforded the coupling product **10** in 86% yield (Scheme 6).

In conclusion the palladium-catalyzed Sonogashira coupling between ethyl 4-(5-iodouracil-1-yl)-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-pyranoside and different functionalized alkynes afforded in good yields a large variety of new unsaturated pyranosyl nucleosides.



Scheme 6

Solvents were dried and distilled by standard methods before use. Most reagents were of commercial quality and used without further purification. Air- and moisture-sensitive reactions were performed under inert atmosphere.

All reactions were monitored by TLC analysis (TLC plates GF₂₅₄ Merck). Column chromatography was performed on silica gel 60 (230–240 mesh, Merck). Optical rotations were recorded using a PerkinElmer 241 polarimeter. Melting points were obtained using a Büchi apparatus and are uncorrected. ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded at 300 MHz and 75 MHz, respectively, on a Bruker AMX 300 spectrometer. Chemical shifts (δ) are reported in ppm downfield from TMS or from residual solvent peak; coupling constants (*J*) are reported in Hz and refer to apparent peak multiplicity. Exact mass measurements of the molecular ions were obtained on a Finnigan Mat 95 XL spectrometer.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-iodo-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (**2**),⁶ 5-[2-(trimethylsilyl)ethynyl]uracil,⁹ (prop-2-yn-1-yl) 2,3-dideoxy-6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (**7**),¹⁴ 1,2,5,6-bis-*O*-isopropylidene-3-*O*-(prop-2-yn-1-yl)- α -D-glucofuranose,¹² prop-2-yn-1-yl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside,¹³ and ethyl 4-azido-6-

O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-pyranoside (**5**)¹¹ were prepared according to reported procedures. Hexanes used had bp 40–65 °C.

5-(4-Ethynylphenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole

To a solution of benzamidoxime (0.5 g, 3.47 mmol) in anhyd CH_2Cl_2 was added at r.t. and under N_2 , 4-ethynylbenzoic acid (1.01 g, 6.94 mmol) and DCC (1.43 g, 6.94 mmol). After stirring for 3 h, the solid was filtered off, the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was submitted to the thermal cyclization reaction at 110–120 °C for 4 h. The resulting mixture was submitted to column chromatography on silica gel (hexanes–EtOAc, 7:3) to give 5-(4-ethynylphenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole (461 mg, 54%) as a colorless solid; mp 99–100 °C; R_f = 0.6 (hexanes–EtOAc, 7:3).

¹H NMR (CDCl_3): δ = 3.21 (s, 1 H, C $\equiv$ CH), 7.51–7.63 (m, 5 H_{arom}), 8.13 (br d, J = 6.7 Hz, 2 H_{arom}), 8.21 (br d, J = 6.7 Hz, 2 H_{arom}).

¹³C NMR (CDCl_3): δ = 79.7, 83.5, 124.5, 125.3, 127.5, 127.8, 128.6, 129.5, 133.0, 133.2, 168.7, 176.3.

HRMS (EI): m/z [M]⁺ calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$: 246.0793; found: 246.0805.

Prop-2-yn-1-yl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3-dideoxy-4-*O*-(methoxycarbonyl)- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside

To a solution of prop-2-yn-1-yl 2,3-dideoxy-6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside (3.77 g, 12.64 mmol) in CH_2Cl_2 (50 mL) maintained at 0 °C was added pyridine (2.15 mL, 25.1 mmol), 4-dimethylaminopyridine (800 mg, 6.55 mmol), and methyl chloroformate (1.95 mL, 25.1 mmol). After stirring at r.t. for 20 h, H_2O (5 mL) was added, and the mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3 $\times$ 20 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure followed by column chromatography on silica gel (hexanes–EtOAc, 5:1) gave the corresponding carbonate (3.3 g, 73%) as a colorless oil; R_f = 0.63; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +144.5 (c = 1.1, CH_2Cl_2).

¹H NMR (CDCl_3): δ = 0.00 [s, 6 H, Si(CH_3)₂], 0.82 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 2.36 (t, J = 2.4 Hz, 1 H, C $\equiv$ CH), 3.69 (dd, J = 11.2, 4.7 Hz, 1 H, H-6), 3.72 (s, 3 H, OCH₃), 3.74 (dd, J = 11.2, 2.6 Hz, 1 H, H-6), 3.86 (ddd, J = 9.4, 4.7, 2.6 Hz, 1 H, H-5), 4.24 (d, J = 2.4 Hz, 2 H, CH₂C $\equiv$), 5.11 (br d, J = 9.4 Hz, 1 H, H-4), 5.15 (br s, 1 H, H-1), 5.76 (ddd, J = 10.1, 2.6, 2.4 Hz, 1 H, H-3), 5.92 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-2).

¹³C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, 18.7, 26.2, 55.0, 55.2, 62.7, 69.2, 69.7, 75.1, 79.5, 92.7, 127.9, 129.8, 155.4.

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{Si}$: C, 57.28; H, 7.92. Found: C, 57.04; H, 8.03.

Prop-2-yn-1-yl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside (**7**)

To a solution of $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (31 mg, 34 μmol), dppb (58 mg, 136 μmol), and the unsaturated carbohydrate (500 mg, 1.4 mmol) in THF (5 mL) was added uracil (235 mg, 2.1 mmol) in THF (2 mL). The solution was stirred at 50 °C for 4 h. Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was directly purified by column chromatography on silica gel (hexanes–EtOAc, 4:1) to give carbohydrate **7** (350 mg, 42%) as a colorless solid; mp 158–159 °C; R_f = 0.28 (hexanes–EtOAc, 4:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +31.5 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

¹H NMR (CDCl_3): δ = 0.03 (s, 3 H, SiCH₃), 0.04 (s, 3 H, SiCH₃), 0.87 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 2.47 (t, J = 2.3 Hz, 1 H, C $\equiv$ CH), 3.69 (dd, J = 11.3, 5.4 Hz, 1 H, H-6), 3.73 (dd, J = 11.3, 4.3 Hz, 1 H, H-6), 3.83–3.88 (m, 1 H, H-5), 4.33 (d, J = 2.3 Hz, 2 H, CH₂C $\equiv$ C), 5.21 (br d, J = 9.7 Hz, 1 H, H-4), 5.28 (br s, 1 H, H-1), 5.73 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, =CHCO), 5.78 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-3), 6.09 (ddd, J = 10.0, 2.8, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.21 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, =CHN), 8.09 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 18.7, 26.2, 51.0, 55.2, 63.9, 71.5, 75.4, 79.3, 92.2, 103.4, 129.6, 130.5, 141.5, 151.7, 163.9.

Anal. Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$: C, 58.14; H, 7.19. Found: C, 57.92; H, 7.31.

Palladium-Catalyzed Preparation of Compounds 3a–e, g, i–l; General Procedure

A solution of $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (6.8 mg, 0.03 mmol) and Ph_3P (23.4 mg, 0.09 mmol) in DMF (2 mL) was stirred at r.t. in a Schlenk tube under argon for 15 min. This solution was added to a mixture of the carbohydrate derivative **2** (0.3 mmol), CuI (11.4 mg, 0.06 mmol), and Et₃N (1.21 mL, 9 mmol), in DMF (1 mL), followed by the addition of the alkyne (0.9 mmol). After stirring for 2 hours at r.t., the solution was filtered through Celite, and the solid was washed with EtOAc (2 $\times$ 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel using the indicated solvents.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-hex-1-yn-1-yl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside (**3a**)

Prepared from **2** and hex-1-yne; colorless solid; yield: 100 mg (72%); mp 43–46 °C; R_f = 0.77 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 7:3); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +87.7 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

¹H NMR (CDCl_3): δ = 0.03 [s, 6 H, Si(CH_3)₂], 0.83 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 1.41 (sext, J = 6.8 Hz, 2 H, CH₂), 1.54 (quint, J = 6.8 Hz, 2 H, CH₂), 2.40 (t, J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.68–3.72 (m, 2 H, H-6), 3.84–3.94 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.07 (br s, 1 H, H-1), 5.20 (br d, J = 8.5 Hz, 1 H, H-4), 5.76 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.09 (ddd, J = 10.1, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.37 (s, 1 H, =CHN), 9.22 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 14.0, 15.6, 18.7, 19.7, 22.4, 26.2, 30.9, 51.5, 64.1, 64.6, 71.1, 77.6, 93.9, 96.1, 101.8, 128.9, 131.3, 143.2, 150.6, 162.1.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ + Na: 485.2448; found: 485.2446.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-4-[6-butyl-2-oxofuro[2,3-*d*]pyrimidin-3(2*H*)-yl]-2,3,4-trideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside (**4**)

Obtained from **2** and hex-1-yne; yellow solid; yield: 7 mg (5%); mp 91.5–94 °C; R_f = 0.53 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -16 (c = 1.3, CH_2Cl_2).

¹H NMR (CDCl_3): δ = 0.00 [s, 6 H, Si(CH_3)₂], 0.81 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 0.94 (t, 3 H, J = 7.3 Hz, CH₃), 1.27 (t, J = 7.0 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 1.40 (sext, J = 7.3 Hz, 2 H, CH₂), 1.67 (quint, J = 7.5 Hz, 2 H, CH₂), 2.64 (t, J = 7.3 Hz, 2 H, CH₂), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.0 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.73 (dd, J = 11.5, 7.4 Hz, 1 H, H-6), 3.76 (dd, J = 11.5, 6.3 Hz, 1 H, H-6), 3.88–3.98 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.13 (br s, 1 H, H-1), 5.61 (br d, J = 8.2 Hz, 1 H, H-4), 5.77 (dd, J = 9.9, 1.5 Hz, 1 H, H-3), 6.06 (s, 1 H, =CH-), 6.12 (ddd, J = 9.9, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.80 (s, 1 H, CHN).

¹³C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 14.1, 15.6, 18.6, 22.5, 26.2, 28.4, 29.2, 52.7, 63.9, 64.5, 73.7, 93.8, 98.8, 108.9, 129.6, 151.1, 156.0, 160.9, 162.7.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ + Na: 485.2448; found: 485.2446.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-(6-hydroxyhex-1-yn-1-yl)-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside (**3b**)

Prepared from **2** and hex-5-yn-1-ol; colorless solid; yield: 115 mg (82%); mp 50–52 °C; R_f = 0.28 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +74.4 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3): δ = 0.04 (s, 3 H, SiCH_3), 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.88 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1.69–1.75 (m, 5 H, CH_2 , OH), 2.46 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}\equiv$), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.66–3.74 (m, 4 H, H-6, CH_2OH), 3.85–3.96 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.09 (br s, 1 H, H-1), 5.23 (br d, J = 8.1 Hz, 1 H, H-4), 5.76 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.10 (ddd, J = 10.1, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.42 (s, 1 H, $=\text{CHN}$), 8.85 (br s, 1 H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 19.7, 25.0, 26.2, 32.2, 51.5, 62.5, 64.1, 64.7, 71.2, 71.6, 93.9, 96.0, 101.7, 128.9, 131.3, 143.3, 150.6, 162.4.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ + Na: 501.2397; found: 501.2397.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-(3-hydroxy-3-methylbut-1-yn-1-yl)-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3c)

Prepared from 2 and 2-methylbut-3-yn-2-ol; yellow solid; yield: 90 mg (64%); mp 66–68 °C; R_f = 0.38 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +83.2 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3): δ = 0.05 (s, 3 H, SiCH_3), 0.06 (s, 3 H, SiCH_3), 0.88 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 2.88 (br s, 1 H, OH), 3.62 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.70 (dd, J = 11.1, 4.1 Hz, 1 H, H-6), 3.75 (dd, J = 11.1, 4.1 Hz, 1 H, H-6), 3.86–3.96 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.10 (br s, 1 H, H-1), 5.23 (br d, J = 5.4 Hz, 1 H, H-4), 5.77 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.12 (ddd, J = 10.1, 2.4, 2.2 Hz, 1 H, H-2), 7.46 (s, 1 H, $=\text{CHN}$), 8.76 (br s, 1 H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 31.5, 31.6, 51.2, 64.0, 64.7, 65.6, 71.4, 72.9, 93.9, 99.8, 100.8, 128.8, 131.4, 143.8, 150.5, 162.1.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ + Na: 487.2240; found: 487.2240.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-(*R,S*)-3-hydroxy-3-methylpent-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3d)

Prepared from 2 and 3-methylpent-1-yn-3-ol; colorless solid; yield: 109 mg (76%); mp 56–60 °C; R_f = 0.47 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 1:1).

^1H NMR (CDCl_3): δ = -0.01 [s, 6 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.82 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.03 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, CH_3CH_2), 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1.50 (s, 3 H, CH_3), 1.72 and 1.73 [2 q, J = 7.4 Hz, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}$, *R* and *S*], 2.58 (br s, 1 H, OH), 3.56 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.65 (dd, J = 11.3, 5.5 Hz, 1 H, H-6), 3.69 (dd, J = 11.3, 4.3 Hz, 1 H, H-6), 3.80–3.91 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.04 (br s, 1 H, H-1), 5.18 (br d, J = 7.3 Hz, 1 H, H-4), 5.71 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.06 (ddd, J = 10.1, 2.4, 2.4 Hz, 1 H, H-2), 7.40 (s, 1 H, $=\text{CHN}$), 8.60 (br s, 1 H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 9.4, 15.5, 18.7, 26.2, 29.36, 29.2, 29.3, 36.7, 36.8, 51.5, 64.0, 64.6, 69.2, 71.3, 74.0, 93.9, 98.7, 100.9, 128.7, 131.3, 143.5, 150.6, 162.0.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ + Na: 501.2397; found: 501.2395.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-(*R,S*)-3-acetoxy-3-phenylprop-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3e)

Prepared from 2 and 1-phenylprop-2-ynyl acetate; brown solid; yield: 122 mg (74%); mp 62–65 °C; R_f = 0.46 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 4:1).

^1H NMR (CDCl_3): δ = 0.03 [s, 6 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.86 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.27 and 1.28 [2 t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, *R* and *S*], 1.50 (s, 3 H, CH_3), 2.12 (s, 3 H, CH_3CO), 3.54–3.64 (m, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.65–3.76 (m, 2 H, H-6), 3.83–3.94 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.07

(br s, 1 H, H-1), 5.21 (br d, J = 7.3 Hz, 1 H, H-4), 5.73 and 5.75 [2 br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-3, *R* and *S*], 6.10 (ddd, J = 10.0, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 6.66 (s, 1 H, $\text{CHC}\equiv\text{C}$), 7.35–7.43 (m, 3 H_{arom}), 7.51 and 7.61 [2 s, 1 H, $=\text{CHN}$, *R* and *S*], 7.58 (dd, J = 7.9, 2.1 Hz, 2 H_{arom}), 8.15 and 8.20 [2 br s, 1 H, NH, *R* and *S*].

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 21.5, 26.2, 51.7, 64.1, 64.3, 64.7, 66.3, 69.2, 71.2, 78.2, 91.0, 93.9, 100.1, 128.3, 128.6, 128.8, 129.1, 129.4, 131.5, 136.9, 144.9, 150.6, 151.4, 160.5, 161.7, 170.2.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_7\text{Si}$ + Na: 577.2346; found: 577.2348.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[2,4-dioxo-5-(trimethylsilyl)ethynyl]-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3g)

Prepared from 2 and ethynyltrimethylsilane; yellow solid; yield: 131.5 mg (92%); mp 68–71 °C; R_f = 0.72 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 4:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +106.5 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3): δ = 0.03 (s, 3 H, SiCH_3), 0.04 (s, 3 H, SiCH_3), 0.24 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 0.87 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.62 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.66 (dd, J = 11.1, 5.2 Hz, 1 H, H-6), 3.71 (dd, J = 11.1, 4.7 Hz, 1 H, H-6), 3.84–3.95 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.08 (br s, 1 H, H-1), 5.22 (br d, J = 8.7 Hz, 1 H, H-4), 5.76 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.10 (ddd, J = 10.1, 2.4, 2.4 Hz, 1 H, H-2), 7.50 (s, 1 H, $=\text{CHN}$), 8.09 (br s, 1 H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.3, -5.2, 15.4, 18.5, 26.0, 51.3, 63.8, 64.5, 71.0, 93.7, 94.9, 100.2, 101.0, 128.6, 131.0, 144.7, 150.3, 161.4.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{Si}$ + Na: 501.2217; found: 501.2218.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[2,4-dioxo-5-(4-cyanophenylethynyl)-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3i)

Prepared from 2 and 4-ethynylbenzonitrile; yellow solid; yield: 147 mg (97%); mp 137–139 °C; R_f = 0.52 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 4:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +148.9 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3): δ = -0.01 (s, 3 H, SiCH_3), 0.00 (s, 3 H, SiCH_3), 0.82 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.57 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.66 (dd, J = 11.1, 5.6 Hz, 1 H, H-6), 3.71 (dd, J = 11.1, 4.5 Hz, 1 H, H-6), 3.81–3.91 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.05 (br s, 1 H, H-1), 5.24 (br d, J = 7.9 Hz, 1 H, H-4), 5.74 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.09 (ddd, J = 10.1, 2.4, 2.4 Hz, 1 H, H-2), 7.54–7.60 (m, 5 H, 4 H_{arom} , $=\text{CHN}$), 8.82 (br s, 1 H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 52.0, 64.3, 64.8, 71.3, 84.8, 92.8, 94.0, 100.4, 112.1, 118.8, 127.8, 128.7, 131.6, 132.4, 132.5, 144.8, 150.5, 161.5.

HRMS (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{Si}$ + Na: 530.2087; found: 530.2084.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[2,4-dioxo-5-[[4-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenyl]ethynyl]-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3j)

Prepared from 2 and 5-(4-ethynylphenyl)-3-phenyl-1,2,4-oxadiazole; yellow solid; yield: 172 mg (92%); mp 84–86 °C; R_f = 0.45 (CH_2Cl_2 –EtOAc, 9:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +124.2 (c = 1.0, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3): δ = 0.05 [s, 6 H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.88 (s, 9 H, $t\text{-C}_4\text{H}_9$), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.62 (dq, J = 9.7, 7.1 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 3.71 (dd, J = 11.1, 5.3 Hz, 1 H, H-6), 3.76 (dd, J = 11.1, 4.7 Hz, 1 H, H-6), 3.86–3.96 (m, 2 H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, H-5), 5.10 (br s, 1 H, H-1), 5.28 (br d, J = 7.9 Hz, 1 H, H-4), 5.80 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.14 (ddd, J = 10.1, 2.4, 2.8 Hz, 1 H, H-2), 7.53–7.64 (m,

4 H, 3 H_{arom}, =CHN), 7.67 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 8.05 (br s, 1 H, NH), 8.17 (d, J = 8.5 Hz, 2 H_{arom}), 8.22 (dd, J = 8.3 Hz, 2 H_{arom}).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = -5.08, -5.02, 15.6, 18.8, 26.2, 53.8, 64.3, 64.8, 71.3, 82.4, 94.0, 94.1, 101.0, 124.6, 125.8, 127.2, 1278, 128.6, 128.8, 129.5, 132.5, 133.2, 145.9, 150.5, 161.4, 168.8, 176.2.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₃₄H₃₈N₄O₆Si + Na: 649.2458; found: 649.2454.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-4-[5-{3-(2,3,5,6-di-*O*-isopropylidene- α -D-glucufuranos-3-yl)prop-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3k)

Prepared from **2** and 1,2,5,6-di-*O*-isopropylidene-3-*O*-propargyl- α -D-glucufuranose; colorless solid; yield: 83.5 mg (41%); mp 69–71 °C; R_f = 0.31 (CH₂Cl₂–EtOAc, 4:1); [α]_D²⁵ +55.7 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.03 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.86 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.27 (t, J = 7.0 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 1.32 (s, 3 H, CH₃), 1.35 (s, 3 H, CH₃), 1.42 (s, 3 H, CH₃), 1.49 (s, 3 H, CH₃), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.0 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.68 (dd, J = 11.1, 5.6 Hz, 1 H, H-6), 3.73 (dd, J = 11.1, 4.5 Hz, 1 H, H-6), 3.83–3.93 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 4.00 (dd, J = 8.5, 5.3 Hz, 1 H, H-4'), 4.08–4.15 (m, 3 H, H-6', H-5'), 4.26–4.33 (m, 1 H, H-3'), 4.45 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, CH₂C $\equiv$), 4.52 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, CH₂C $\equiv$), 4.70 (d, J = 3.7 Hz, 1 H, H-2'), 5.08 (br s, 1 H, H-1), 5.24 (br d, J = 8.8 Hz, 1 H, H-4), 5.74 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-3), 5.88 (d, J = 3.7 Hz, 1 H, H-1'), 6.11 (ddd, J = 10.0, 2.8, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.50 (s, 1 H, =CHN), 8.02 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 25.8, 26.2, 26.2, 27.2, 27.3, 51.8, 59.2, 64.2, 64.7, 67.6, 71.2, 72.8, 77.4, 81.5, 82.2, 83.1, 90.3, 93.9, 100.3, 105.6, 109.4, 112.2, 128.6, 131.6, 145.0, 150.5, 161.6.

Anal. Calcd for C₃₃H₅₀N₂O₁₁Si: C, 58.39; H, 7.42. Found: C, 58.06; H, 7.48.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-{3-(4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosyl)oxy}prop-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3l)

Prepared from **2** and prop-2-yn-1-yl-4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranose; yellow solid; yield: 173 mg (89%); mp 52–55 °C; R_f = 0.45 (CH₂Cl₂–EtOAc, 7:3); [α]_D²⁵ +146.9 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.03 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.86 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 2.08 (s, 3 H, CH₃), 2.11 (s, 3 H, CH₃), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.69–3.71 (m, 2 H, H-6), 3.83–3.93 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 4.08–4.14 (m, 1 H, H-5'), 4.19 (dd, J = 12.0, 2.6 Hz, 1 H, H-6'), 4.25 (dd, J = 12.0, 5.1 Hz, 1 H, H-6'), 4.48 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, CH₂C $\equiv$), 4.55 (d, J = 15.8 Hz, 1 H, CH₂C $\equiv$), 5.07 (br s, 1 H, H-1), 5.24 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-4), 5.26 (br s, 1 H, H-1'), 5.34 (ddd, J = 9.6, 1.5, 1.5 Hz, 1 H, H-4'), 5.74 (br d, J = 10.2 Hz, 1 H, H-3), 5.86 (ddd, J = 10.2, 2.4, 1.6 Hz, 1 H, H-3'), 5.93 (br d, J = 10.2 Hz, 1 H, H-2), 6.11 (ddd, J = 10.2, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2'), 7.51 (s, 1 H, =CHN), 8.07 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = -5.1, -5.0, 15.6, 18.7, 21.2, 21.3, 26.2, 51.9, 56.2, 63.2, 64.2, 64.7, 65.6, 67.6, 71.2, 77.5, 89.9, 93.2, 93.9, 100.2, 127.7, 128.5, 130.1, 131.6, 144.9, 150.4, 161.5, 170.6, 171.1.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₃₄H₄₄N₂O₁₁Si + Na: 671.2612; found: 671.2611.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-(*R,S*)-3-hydroxy-3-phenylprop-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3f)

A mixture of compound **3e** (30 mg, 0.052 μ mol), and K₂CO₃ (300 mg, 2.17 mmol) in MeOH (5 mL) and H₂O (2 mL) was stirred at r.t. for 18 h. The solution was concentrated under reduced pressure, and the product was extracted with EtOAc (3 $\times$ 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was submitted to column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 7:3) to give compound **3f** (23.4 mg, 85%) as a colorless solid; mp 68–70 °C; R_f = 0.29 (CH₂Cl₂–EtOAc, 7:3).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.00 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.83 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 2.87 and 2.94 [2 br s, 1 H, OH, *R* and *S*], 3.55 (dq, J = 9.4, 7.1 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.64 (dd, J = 11.3, 5.8 Hz, 1 H, H-6), 3.69 (dd, J = 11.3, 4.5 Hz, 1 H, H-6), 3.79–3.89 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.03 (br s, 1 H, H-1), 5.19 (br d, J = 5.4 Hz, 1 H, H-4), 5.67 and 5.69 (2 s, 1 H, C $\equiv$ CH, *R* and *S*), 5.70 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-3), 6.06 (br d, J = 10.0 Hz, 1 H, H-2), 7.27–7.38 (m, 3 H_{arom}), 7.47 (s, 1 H, =CHN), 7.56 (d, J = 7.1 Hz, 2 H_{arom}), 8.56 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = -5.0, 15.6, 18.8, 26.2, 51.7, 64.1, 64.7, 65.2, 71.3, 77.2, 77.6, 93.9, 94.9, 100.4, 127.1, 127.2, 128.6, 128.7, 129.0, 130.5, 140.6, 144.5, 150.4, 162.0.

Anal. Calcd for C₂₇H₃₆N₂O₆Si: C, 63.25; H, 7.08. Found: C, 63.08; H, 7.12.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-ethynyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (3h)

To a solution of compound **3g** (822 mg, 1.72 mmol) in MeOH (1.5 mL) maintained at 0 °C was added a solution of MeONa (1.5 g, 7.74 mmol) in MeOH (5.3 mL). After stirring for 1 h at r.t., a sat. aq solution of NH₄Cl (5 mL) was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3 $\times$ 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified directly purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 4:1) to give carbohydrate **3h** (562 mg, 80%) as a colorless solid; mp 153–155 °C; R_f = 0.36; [α]_D²⁵ +73.4 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.03 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.86 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 3.22 (s, 1 H, HC $\equiv$ C), 3.60 (dq, J = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.68 (dd, J = 11.1, 5.4 Hz, 1 H, H-6), 3.72 (dd, J = 11.1, 4.7 Hz, 1 H, H-6), 3.83–3.93 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.08 (br s, 1 H, H-1), 5.24 (br d, J = 6.8 Hz, 1 H, H-4), 5.75 (br d, J = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.11 (ddd, J = 10.1, 2.8, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 7.52 (s, 1 H, =CHN), 8.26 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = -5.1, -5.0, 15.5, 18.7, 26.2, 51.8, 64.2, 64.7, 71.2, 74.7, 82.9, 93.9, 100.0, 128.7, 131.4, 145.3, 150.7, 161.9.

HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ calcd for C₂₀H₃₀N₂O₅Si + Na: 429.1822; found: 429.1822.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[5-[1-ethynyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl]-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (6)

Azido sugar **5** (164.5 mg, 0.53 mmol) and alkyne **3h** (405 mg, 1 mmol) were suspended in *t*-BuOH–H₂O (1:1, 4 mL). To this solution was added a mixture of Cu(OAc)₂ (18 mg, 0.10 mmol) and sodium ascorbate (40 mg, 0.2 mmol) in *t*-BuOH–H₂O (1:1, 1 mL). The mixture was stirred overnight at r.t. under N₂. H₂O (3 mL) was then added, and the product was extracted with CH₂Cl₂ (3 $\times$ 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 4:1) to give compound **6** (286 mg, 75%) as a colorless solid; mp 83–84 °C; R_f = 0.36 (CH₂Cl₂–EtOAc, 4:1); [α]_D²⁵ +119.7 (c = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.02 (s, 3 H, SiCH₃), 0.03 (s, 6 H, 2 SiCH₃), 0.04 (s, 3 H, SiCH₃), 0.85 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 0.89 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂), 3.57–3.66 (m, 3 H, H-6), 3.69 (br d, *J* = 11.7 Hz, 1 H, H-6), 3.72–3.81 (m, 2 H, CH₂CH₃), 3.87–3.95 (m, 2 H, CH₂CH₃), 4.04 (m, 1 H, H-5'), 4.17 (ddd, *J* = 9.8, 2.1, 1.6 Hz, 1 H, H-5), 5.10 (br s, 1 H, H-1), 5.16 (br s, 1 H, H-1'), 5.33 (br d, *J* = 5.4 Hz, 1 H, H-4'), 5.40 (br d, *J* = 9.8 Hz, 1 H, H-4), 5.83 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, =CH), 5.97 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, =CH), 6.05 (ddd, *J* = 10.1, 2.5, 2.5 Hz, 1 H, =CH), 6.11 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, =CH), 8.25 (s, 1 H, =CHN), 8.26 (s, 1 H, =CHN), 8.64 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = −5.2, −5.1, −5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 55.3, 62.7, 64.3, 64.5, 71.2, 94.1, 94.2, 107.0, 121.5, 128.3, 128.8, 129.4, 139.5, 151.1, 161.4.

Anal. Calcd for C₃₄H₅₇N₃O₈Si₂: C, 56.72; H, 7.98. Found: C, 56.78; H, 8.65.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-4-[5-(3-[16-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl)- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl]oxy]prop-1-yn-1-yl]-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (8)

A solution of Pd(OAc)₂ (5.7 mg, 0.025 mmol) and Ph₃P (19.5 mg, 0.075 mmol) in DMF (3 mL) was stirred at r.t. in a Schlenk tube under argon for 15 min. This solution was added to a mixture of the carbohydrate derivative 2 (126.2 mg, 0.25 mmol), CuI (9.5 mg, 0.05 mmol), and Et₃N (1.0 mL, 7.4 mmol), in DMF (1 mL), followed by the addition of 1,4-diethynylbenzene (294 mg, 0.75 mmol). After stirring for 2 h at r.t., the solution was filtered through Celite, and the solid was washed with EtOAc (2 × 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 1:1) to give compound 8 (98.5 mg, 51%) as a colorless solid; mp 103–106 °C; *R*_f = 0.28 (CH₂Cl₂–EtOAc, 1:1); [α]_D²⁵ +70.2 (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.00 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.03 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.87 (s, 18 H, *t*-C₄H₉), 1.27 (t, *J* = 7.0 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 3.60 (dq, *J* = 9.6, 7.0 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.66–3.75 (m, 4 H, H-6, H-6'), 3.83–3.94 (m, 3 H, CH₃CH₂O, H-5, H-5'), 4.48 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H, CH₂C≡), 4.56 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H, CH₂C≡), 5.08 (br s, 1 H, H-1), 5.23 (br d, *J* = 9.6 Hz, 2 H, H-4, H-4'), 5.31 (br s, 1 H, H-1'), 5.74 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, =CHCO), 5.74 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, H-3'), 5.79 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H, H-3), 6.11 (ddd, *J* = 10.1, 2.6, 2.4 Hz, 2 H, H-2, H-2'), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, =CHN), 7.51 (s, 1 H, =CHN), 8.10 (br s, 1 H, NH), 8.18 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = −5.2, −5.1, −5.0, −4.9, 15.6, 18.6, 18.7, 26.1, 26.2, 50.9, 51.7, 56.0, 63.9, 64.4, 64.7, 71.4, 77.8, 89.6, 92.3, 93.9, 100.2, 103.4, 128.6, 129.4, 130.6, 131.6, 141.7, 144.7, 150.8, 151.7, 162.0, 164.0.

Anal. Calcd for C₃₇H₅₆N₄O₁₀Si₂: C, 57.49; H, 7.30. Found: C, 56.96; H, 7.41.

Palladium-Catalyzed Condensation of Compound 2 with 1,4-Diethynylbenzene

A solution of Pd(OAc)₂ (6.8 mg, 0.03 mmol) and Ph₃P (23.4 mg, 0.09 mmol) in DMF (2 mL) was stirred at r.t. in a Schlenk tube under argon for 15 min. This solution was added to a mixture of the carbohydrate derivative 2 (151.5 mg, 0.3 mmol), CuI (11.4 mg, 0.06 mmol), and Et₃N (1.22 mL, 9 mmol), in DMF (1 mL), followed by the addition of 1,4-diethynylbenzene (18.9 mg, 0.15 mmol). After stirring for 2 h at r.t., the solution was filtered through Celite, and the solid was washed with EtOAc (2 × 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 6:4) to give compound 9a (80 mg, 60%) and 9b (27 mg, 12%).

5,5'-[1,4-Phenylenebis(ethyne-2,1-diyl)]bis[1-{4-[ethyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl]}pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione] (9a)
Yellow solid; mp 116–119 °C; *R*_f = 0.70 (CH₂Cl₂–EtOAc, 6:4); [α]_D²⁵ +194.7 (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.00 [s, 12 H, Si(CH₃)₂], 0.83 (s, 18 H, *t*-C₄H₉), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 6 H, CH₃CH₂O), 3.56 (dq, *J* = 9.4, 7.1 Hz, 2 H, CH₃CH₂O), 3.66 (dd, *J* = 11.1, 5.4 Hz, 2 H, H-6), 3.71 (dd, *J* = 11.1, 5.0 Hz, 2 H, H-6), 3.80–3.90 (m, 4 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.05 (br s, 2 H, H-1), 5.22 (br d, *J* = 7.7 Hz, 2 H, H-4), 5.74 (br d, *J* = 9.9 Hz, 2 H, H-3), 6.08 (ddd, *J* = 9.9, 2.4, 2.4 Hz, 2 H, H-2), 7.45 (s, 4 H_{arom}), 7.52 (s, 2 H, =CHN), 8.21 (br s, 2 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = −5.2, −5.1, 15.6, 18.7, 26.2, 51.5, 64.5, 71.2, 85.2, 93.3, 94.6, 100.6, 123.5, 129.0, 129.2, 131.9, 132.4, 132.6, 145.0, 151.6, 162.6.

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₄₃H₆₂N₄O₁₀Si₂ + Na: 909.3902; found: 909.3901.

5,5'-[Buta-1,3-diyne-1,4-diylbis(4,1-phenylene-3,1-diyl)]bis[1-{4-[ethyl 6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosid-4-yl]}pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione] (9b)

Yellow solid; mp 113–116 °C; *R*_f = 0.81 (CH₂Cl₂–EtOAc, 6:4); [α]_D²⁵ +202.5 (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.04 [s, 12 H, Si(CH₃)₂], 0.86 (s, 18 H, *t*-C₄H₉), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 6 H, CH₃CH₂O), 3.56 (dq, *J* = 9.6, 7.1 Hz, 2 H, CH₃CH₂O), 3.70 (dd, *J* = 11.1, 5.4 Hz, 2 H, H-6), 3.75 (dd, *J* = 11.1, 4.5 Hz, 2 H, H-6), 3.85–3.95 (m, 4 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.09 (br s, 2 H, H-1), 5.22 (br d, *J* = 9.9 Hz, 2 H, H-4), 5.78 (br d, *J* = 10.1 Hz, 2 H, H-3), 6.13 (ddd, *J* = 10.1, 2.4, 2.4 Hz, 2 H, H-2), 7.49 (s, 8 H_{arom}), 7.57 (s, 2 H, =CHN), 8.31 (br s, 2 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = −5.1, −5.0, 15.6, 18.8, 26.2, 51.2, 64.3, 64.8, 71.3, 76.2, 82.5, 94.0, 101.0, 122.2, 123.8, 128.8, 131.9, 132.0, 132.8, 144.3, 150.4, 161.4.

HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₅₆H₆₆N₄O₁₀Si₂ + Na: 1033.4215; found: 1033.4218.

Ethyl 6-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3,4-trideoxy-4-[2,4-dioxo-5-vinyl-3,4-dihydropyrimidin-1(2*H*)-yl]- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside (10)

A solution of Pd(Ph₃P)₂Cl₂ (7.15 mg, 0.01 mmol) and compound 2 (101 mg, 0.2 mmol) in DMF (3 mL) was stirred at r.t. in a Schlenk tube under argon for 15 min. To this solution was added tributylvinyltin (0.12 mL, 0.4 mmol), and Et₃N (0.03 mL, 0.24 mmol), in DMF (1 mL), followed by the addition of 1,4-diethynylbenzene (18.9 mg, 0.15 mmol). After stirring for 5 h at 70 °C, the solution was filtered through Celite, and the solid was washed with EtOAc (2 × 5 mL). Evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue that was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂–EtOAc, 7:3) to give compound 10 (70 mg, 86%) as a colorless solid; mp 54.5–56.5 °C; *R*_f = 0.65 (CH₂Cl₂–EtOAc, 7:3); [α]_D²⁵ +63.3 (*c* = 1.0, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃): δ = 0.00 [s, 6 H, Si(CH₃)₂], 0.83 (s, 9 H, *t*-C₄H₉), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H, CH₃CH₂O), 3.57 (dq, *J* = 9.6, 7.1 Hz, 1 H, CH₃CH₂O), 3.67 (dd, *J* = 11.3, 5.6 Hz, 1 H, H-6), 3.70 (dd, *J* = 11.3, 4.3 Hz, 1 H, H-6), 3.81–3.92 (m, 2 H, CH₃CH₂O, H-5), 5.06 (br s, 1 H, H-1), 5.21 (br m, 1 H, H-4), 5.24 (dd, *J* = 11.4, 1.3 Hz, 1 H, =CH₂), 5.74 (dd, *J* = 10.1, 1.3 Hz, 1 H, H-3), 5.99 (dd, *J* = 17.5, 1.3 Hz, 1 H, =CH₂), 6.06 (ddd, *J* = 10.1, 2.6, 2.6 Hz, 1 H, H-2), 6.34 (dd, *J* = 17.5, 11.4 Hz, 1 H, =CH), 7.21 (s, 1 H, =CHN), 8.76 (br s, 1 H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃): δ = −5.1, −5.0, 15.6, 18.7, 26.2, 51.3, 64.1, 64.6, 71.3, 93.9, 113.6, 116.9, 127.8, 129.0, 131.3, 138.2, 150.9, 162.3.

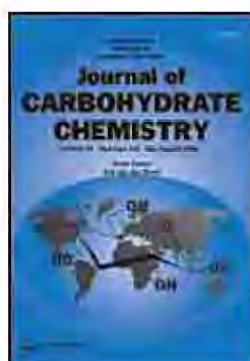
HRMS (ESI): *m/z* [M + Na]⁺ calcd for C₂₀H₃₂N₂O₅Si + Na: 431.1978; found: 431.1980.

Acknowledgment

We are indebted to the CAPES/COFECUB programme no. 334/01 for financial support, and CAPES and CNPq-Brazil for providing fellowships (J.B.M.Jr. and J.A.).

References

- (1) (a) De Clercq, E. *Med. Res. Rev.* **1993**, *13*, 229. (b) De Clercq, E. *Nucleosides Nucleotides* **1994**, *13*, 1271. (c) De Clercq, E. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2491. (d) Mansour, T. S.; Storer, R. *Current Pharm. Design* **1997**, *3*, 227. (e) De Clercq, E.; Descamps, J.; Balzarini, J.; Giziewicz, J.; Barr, P. J.; Robins, M. J. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 661. (f) Awano, H.; Shuto, S.; Baba, M.; Kira, T.; Shigeta, S.; Matsuda, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 367. (g) Guenther, S.; Nair, V. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2004**, *23*, 183.
- (2) Len, C.; Postel, D. *Curr. Org. Synth.* **2006**, *3*, 261.
- (3) Len, C.; Mackenzie, G. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9085.
- (4) (a) Bowles, W. A.; Robins, R. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1252. (b) Kondo, T.; Nakai, H.; Goto, T. *Tetrahedron* **1973**, *29*, 1801. (c) Bolitt, V.; Chaguir, B.; Sinou, D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2481. (d) Björnsne, M.; Classon, B.; Kvarnström, L.; Samuelsson, B. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8637. (e) Pérez-Pérez, M. J.; Doboszewski, B.; Rozenski, J.; Herdewijn, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 973. (f) Polak, M.; Doboszewski, B.; Herdewijn, P.; Plavec, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9782. (g) Lee, K.; Zhou, W.; Kelley, L.-L. C.; Momany, C.; Chu, C. K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1589. (h) Procopio, A.; Dalpozzo, R.; De Nino, A.; Nardi, M.; Oliverio, M.; Russo, B. *Synthesis* **2006**, 2608.
- (5) (a) Konkel, M. J.; Vince, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 799. (b) Rosenquist, Å.; Kvarnström, L.; Classon, B.; Samuelsson, B. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6282. (c) Wang, J.; Herdewijn, P. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7820. (d) Guan, H.-P.; Ksebati, M. B.; Kern, E. R.; Zemlicka, J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5177.
- (6) de Oliveira, R. N.; Mendonça, F. J. B. Jr.; Sinou, D.; de Melo, S. J.; Srivastava, R. M. *Synlett* **2006**, 3049.
- (7) Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875.
- (8) (a) Robins, M. J.; Barr, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 421. (b) Robins, M. J.; Barr, P. J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1854. (c) Robins, M. J.; Vinayah, R. S.; Wood, S. G. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3731. (d) McGuigan, C.; Yarnold, C. J.; Jones, G.; Velázquez, S.; Barucki, H.; Brancale, A.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Balzarini, J. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4479. (e) Kumarasinghe, E. S.; Peterson, M. A.; Robins, M. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8741. (f) Janeba, Z.; Maklad, N.; Robins, M. J. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2005**, *24*, 1729. (g) Janeba, Z.; Balzarini, J.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Robins, M. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4690. (h) Janeba, Z.; Balzarini, J.; Andrei, G.; Snoeck, R.; De Clercq, E.; Robins, M. J. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 580. (i) Crisp, G. T.; Flynn, B. L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6614.
- (9) Cooke, J. W. B.; Bright, R.; Coleman, M. J.; Jenkins, K. P. *Org. Process Res. Dev.* **2001**, *5*, 383.
- (10) (a) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057. (b) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596. (c) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *51*. (d) Wang, Q.; Chittaboina, S.; Barnhill, H. N. *Lett. Org. Chem.* **2005**, *2*, 293.
- (11) de Oliveira, R. N.; Cottier, L.; Sinou, D.; Srivastava, R. M. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8271.
- (12) Rochet, P.; Vatele, J. M.; Goré, J. *Synlett* **1993**, 105.
- (13) Lindsell, W. E.; Preston, P. N.; Rettie, A. B. *Carbohydr. Res.* **1994**, *254*, 311.
- (14) Marco-Contelles, J.; Ruiz-Caro, J. *Carbohydr. Res.* **2001**, *335*, 71.



Synthesis of Some Unusual (1,2,4-Oxadiazole)-linked hexepyranosides and Mannopyranosides

Journal:	<i>Journal of Carbohydrate Chemistry</i>
Manuscript ID:	LCAR-2008-0002
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	14-Jan-2008
Complete List of Authors:	Sinou, Denis; University Lyon 1 Versiani dos Anjos, Janaina; University Lyon 1 Srivastava, Rajenda; Universidade Federal de Pernambuco do Nascimento, Silene carneiro; Universidade Federal de Pernambuco de Melo, Sebastiao; Universidade Federal de Pernambuco
Keywords:	Cu-catalyst, [3 2] Cycloaddition, Hexenopyranoside, Mannopyranoside, 1,2,4-Oxadiazole based-carbohydrate



Synthesis of Some Unusual (1,2,4-Oxadiazole)-Linked Hexenopyranosides and Mannopyranosides

Janaína Versiani dos Anjos and Denis Sinou*

Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université de Lyon, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622, Villeurbanne Cedex, France

Rajendra M. Srivastava*

Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540, Recife, PE, Brazil

Silene Carneiro do Nascimento and Sebastião J. de Melo

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil

Copper-catalyzed reaction of propargyl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside with 3-(4-azidophenyl)-1,2,4-oxadiazoles gave the corresponding hexenopyranosides bearing an 1,2,4-oxadiazole subunit in the aglyconic part of the molecule. The same reaction between ethyl 4-azido-2,3,4-trideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside and acetylenic 1,2,4-oxadiazoles afforded the corresponding hexenopyranosides carrying a triazole and an 1,2,4-oxadiazole rings at position 4 of the carbohydrate. Combination of the two sequences gave hexenopyranosides displaying two 1,2,4-oxadiazole subunits, each one being embedded in the C-1 and C-4 frameworks, of the carbohydrate moiety. A simple dihydroxylation reaction of these unsaturated carbohydrates yielded a series of mannopyranosides bearing one or two 1,2,4-oxadiazole subunits at position 1 or 4 of the carbohydrate moiety. These new compounds were evaluated for their cytotoxic activities against two cell strains: NCI-H₂₉₂ (lung carcinoma) and Hep-2 (larynx carcinoma), some of them presenting impressive cell growth inhibitions.

Keywords: Cu-catalyst, [3+2] Cycloaddition, Hexenopyranoside, Mannopyranoside, 1,2,4-Oxadiazole based-carbohydrate.

Address correspondence to Denis Sinou, Laboratoire de Synthèse Asymétrique, UMR 5246-ICBMS, CPE Lyon, Université de Lyon, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622, Villeurbanne Cedex, France; Tel. +33-472448183; Fax +33-478898914; E-mail: sinou@univ-lyon1.fr

INTRODUCTION

The 1,2,4-oxadiazole ring system is present in a large variety of compounds possessing interesting biological activities, as well as in natural products.^[1] For the last thirteen years, substituted 1,2,4-oxadiazoles have been receiving considerable attention as bioisosteres of amides and esters, and have been implicated in peptide chemistry and in the development of peptidomimetics.^[2] Compounds containing this heterocyclic subunit have been used in various fields: as anti-inflammatory agents,^[3] as agonists of benzodiazepine,^[4] muscarinic,^[5] and sphingosine-1-phosphate-1 (S1P₁) receptors,^[7] as antagonists of integrin^[8] and interleukin-8,^[9] as anticancer agents,^[10] and as antikinetooplastid parasites.^[11]

Due to the above-mentioned important biological properties, it appeared interesting to incorporate the oxadiazole units in the carbohydrate framework. Effectively, tying of sugars to other simpler molecules is often employed to deal with targeting mechanism of action and/or pharmacology.^[12] Surprisingly, only a few attempts have been made in order to synthesize oxadiazole-linked carbohydrates. Oxadiazoles linked to a glycofuranose,^[13] a glycopyranose,^[2e,14] and also an unsaturated glycopyranose^[15] skeleton have been described in the literature. In a program concerning the incorporation of heterocyclic moieties in carbohydrates, we recently reported the incorporation of an 1,2,4-oxadiazole unit at position-1 of various carbohydrates^[16] using the copper-catalyzed procedure for the [3 + 2] cycloaddition (or "click chemistry")^[17] between a glycoside containing an anomeric azide functionality and an oxadiazole bearing a terminal acetylenic group, and at position-4 of ethyl α -D-mannopyranoside *via* the palladium-catalyzed reaction of 5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazoles with ethyl α -O- Δ^2 -glucopyranoside followed by a bishydroxylation of the later compounds.^[18]

In this paper we describe a very easy access to a new series of 2,3-dideoxy- α -D-*erythro*-hex-2-enopyranoside and α -D-mannopyranoside derivatives carrying one oxadiazole moiety connected to other groups attached to C-1 or/and to C-4 positions using this [3 + 2] cycloaddition reaction. Further, some preliminary results concerning the biological activity of these compounds are reported.

RESULTS AND DISCUSSION

We chose to carry out the [3 + 2] cycloaddition reaction between two sets of 1,2,4-oxadiazoles, one containing a terminal acetylenic group like **1** and **2**, and the other bearing an

azido function, like **3** (Fig. 1). The preparation of 1,2,4-oxadiazoles **1-2** has already been described by our group.^[16] Azido 1,2,4-oxadiazoles **3** were prepared from nitrooxadiazoles **4**^[19] by reduction with tin chloride to afford the amino oxadiazoles **5**; *in situ* transformation to the diazo derivatives followed by substitution with sodium azide gave the expected azido oxadiazoles **3a** and **3b** in an overall yield of 91% and 76%, respectively (Scheme 1).

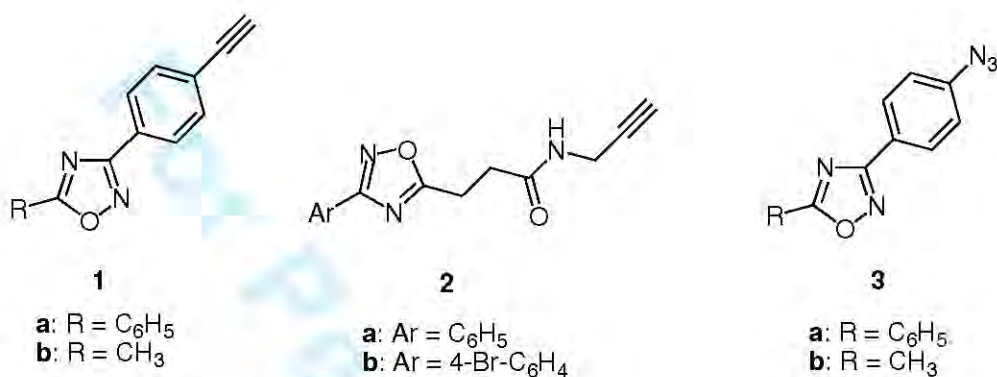
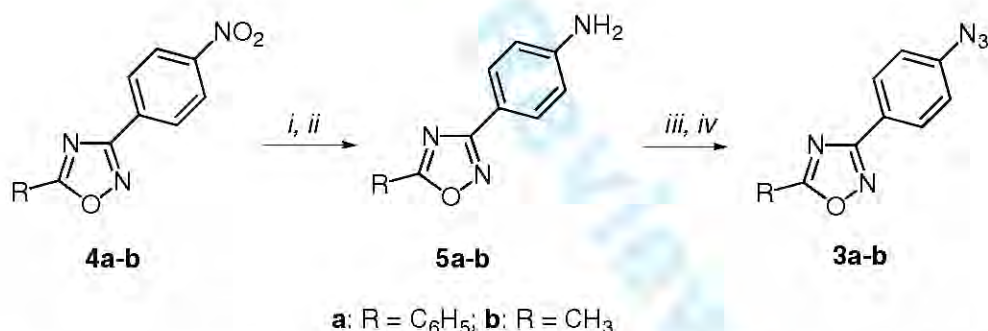


Figure 1. Structure of 1,2,4-oxadiazoles.



Reagents and conditions: i) SnCl₂, C₂H₅OH, reflux; ii) aq. NaHCO₃, rt; iii) CH₂Cl₂, aq. HCl, then NaNO₂, 0 °C; iv) NaN₃, 0 °C, then rt.

Scheme 1. Synthesis of 1,2,4-oxadiazoles **5**.

First we decide to introduce the 1,2,4-oxadiazole subunit on the aglycon moiety. For this purpose, the copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of azido oxadiazoles **3a-b** was performed with propargyl 4,6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranoside **6** using a 1:1 (v/v) mixture of dichloromethane and water as the solvent in the presence of Cu(OAc)₂ and sodium ascorbate (Scheme 2).^[20] The corresponding cycloadducts **7a** and **7b** were obtained in 91% and 87% yield, respectively. The unsaturated carbohydrates **7a-b** were subjected to the dihydroxylation reaction under Upjohn conditions (catalytic OsO₄/NMO), followed by acetylation of the obtained mixture, to afford the corresponding {1-[4-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)phenyl]-1*H*-1,2,3-triazol-