

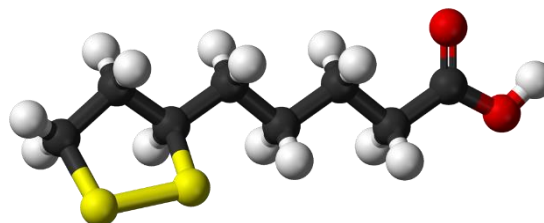
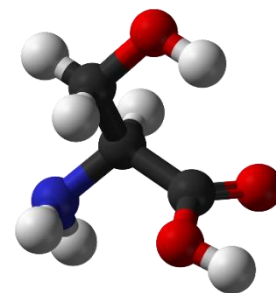
Conjugados de ácido lipóico com tensioativos derivados de serina: Novas metodologias de síntese e propriedades físico-químicas

Mariana Lopes de Sousa
Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto em Química
2016

Conjugados de ácido lipóico com tensioativos
derivados de serina: Novas metodologias de síntese
e propriedades físico-químicas

Mariana Lopes de Sousa





Conjugados de ácido lipóico com tensioativos derivados de serina: Novas metodologias de síntese e propriedades físico-químicas

Mariana Lopes de Sousa

Mestrado em Química

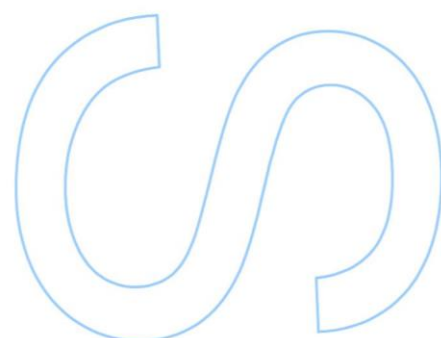
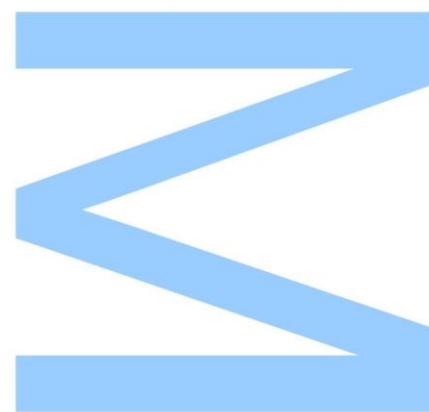
Departamento de Química e Bioquímica
2016

Orientador

Prof. Doutora Maria Luísa Cardoso do Vale, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Prof. Doutor Eduardo Figueira Marques, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

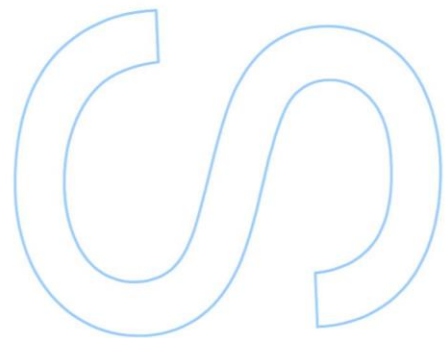
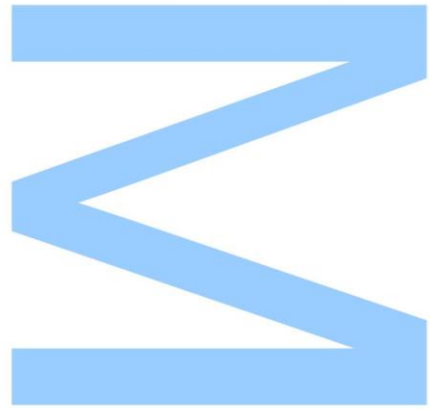




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

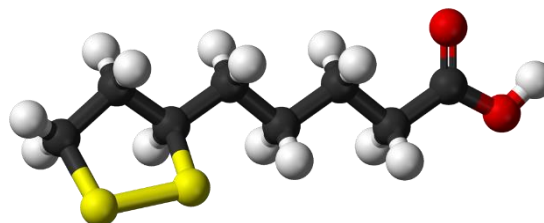
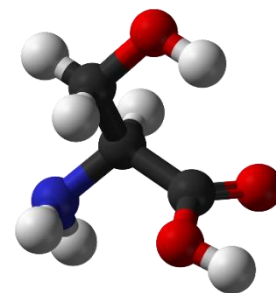
Porto, ____ / ____ / ____



*“A mente que se abre a uma nova
ideia nunca mais volta ao seu
tamanho original.”*

Albert Einstein

Ao João



Conjugados de ácido lipóico com tensioativos derivados de serina: Novas metodologias de síntese e propriedades físico-químicas

Mariana Lopes de Sousa

Mestrado em Química

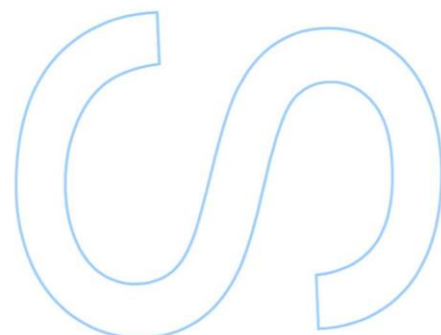
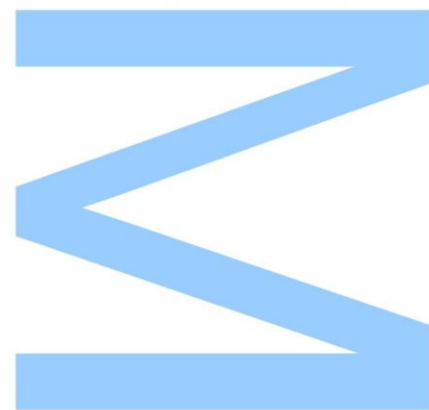
Departamento de Química e Bioquímica
2016

Orientador

Prof. Doutora Maria Luísa Cardoso do Vale, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Prof. Doutor Eduardo Figueira Marques, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

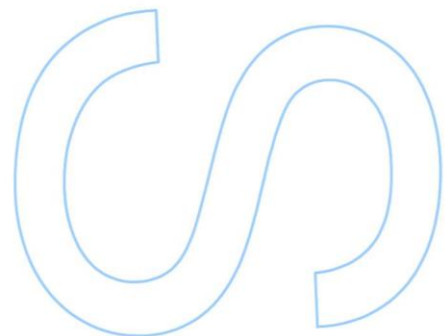
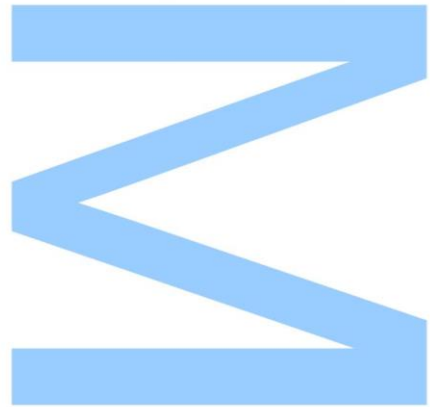




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____ / ____ / ____



*“A mente que se abre a uma nova
ideia nunca mais volta ao seu
tamanho original.”*

Albert Einstein

Ao João

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer à minha orientadora, Professora Maria Luísa do Vale, por me ter aceite neste tema que escolhi e por me ter ajudado ao longo deste ano. Obrigada pela paciência, pelas palavras amigas, por todos os ensinamentos que adquiri com ela neste ramo da Química Orgânica e por todo o carinho que me transmitiu.

Ao meu coorientador, Professor Eduardo Marques, agradeço por me ter recebido na área da Química Física, por tudo o que me ensinou e por me ter ajudado a ultrapassar alguns obstáculos.

Agradeço também a todos os colegas de laboratório, por todas as ajudas que me deram, por todos os conselhos e por todos os momentos fantásticos que passei com eles, nunca me irei esquecer. Em especial obrigada ao Ivo Dias por ter sempre uma mão amiga pronta para me auxiliar e apoiar, e à Vânia Gomes por me ajudar na síntese dos meus compostos e me ajudar a interpretar alguns problemas relacionados com estes. Obrigada pela amizade que criei com ambos.

Obrigada à Mariana e à Silvia do CEMUP, bem como à Dra. Zélia por me realizarem as análises de RMN e de massa respetivamente.

À minha grande amiga Sara, por toda a ajuda durante estes cinco anos, por todo o apoio, carinho, paciência e amizade que vou levar para a vida.

Obrigada às minhas meninas Natália, Patrícia e Teresa por toda esta amizade criada em cinco anos, sem vocês não teria sido o mesmo.

Agradeço ainda aos meus amigos Miguel Moreira, Mafalda Abreu, João Esteves e Ana Cardoso por me acompanharem sempre em tudo, por serem os amigos que sempre vou levar comigo, obrigada por serem a minha segunda família.

Por fim e não menos importante, agradeço à minha família, aos meus avós e ao meu irmão pelo apoio incondicional e por todo o carinho.

E por último, para acabar em grande, agradeço do fundo do meu coração ao João Primavera por me acompanhar em todos os passos que dei nesta minha grande e inesquecível caminhada, obrigada por toda a ajuda, por todos os abraços de conforto, por todas as palavras meigas e carinhosas, por todo o amor que me ajudou a superar caminhos mais difíceis.

Resumo

Os tensoativos derivados de aminoácidos apresentam propriedades superiores a nível biológico e físico-químico, em comparação com os tensoativos convencionais. Assim, têm surgido recentemente estudos diversos relativos à sua aplicação como sistemas para veiculação de fármacos e ácidos nucleicos. Neste contexto, e de modo a aumentar a sua biocompatibilidade e atividade biológica, tem-se tentado funcionalizar estes tensoativos com moléculas que possuem grupos com propriedades anticancerígenas, antioxidantes ou passíveis de serem reconhecidos por células-alvo.

O grupo de investigação onde foi realizado o presente projeto tem-se focado nos últimos anos na síntese, avaliação físico-química e avaliação das propriedades toxicológicas de tensoativos derivados dos aminoácidos serina, tirosina, lisina e 4-hidroxiprolina. Uma das áreas de investigação tem sido a funcionalização destes tensoativos com biomoléculas, com vista a aumentar a sua atividade biológica e biocompatibilidade.

O objetivo desta dissertação foi a síntese de dois conjugados de ácido lipóico com tensoativos derivados de serina, com vista à otimização das condições reacionais previamente estabelecidas pelo grupo de investigação, já que essa metodologia seguida apresentava rendimentos muito baixos, especialmente no último passo da sequência reacional (desproteção, $\eta = 8-10\%$). Os dois compostos alvo diferem entre si na posição em que o ácido α -lipóico é introduzido na serina, designando-se os compostos resultantes como sendo da série LA-Ser ou Ser-LA. A influência da estrutura final resultante nas propriedades físico-químicas foi avaliada na segunda parte desta dissertação dedicada então aos estudos das propriedades de agregação em solução aquosa por tensiometria.

Para a síntese dos compostos da série LA-Ser, começou-se por acoplar o ácido α -lipóico previamente ativado ao serinato de metilo anteriormente protegido no grupo hidroxilo com o grupo *terc*-butildifenilsilano. O intermediário foi convertido no ácido carboxílico correspondente por hidrólise alcalina e acidificação. De seguida, a sua condensação com uma diamina, usando TBTU como agente de acoplamento, seguida de alquilação com bromododecano, deu origem ao precursor monomérico catiónico funcionalizado. Por fim, para se obter o composto final pretendido, removeu-se o grupo protetor, *terc*-butildifenilsililo, e realizou-se uma troca iónica para se obter o tensoativo monomérico catiónico funcionalizado derivado de serina da série LA-Ser sob a forma de trifluoroacetato, CF_3COO^- .

No que diz respeito ao derivado da série Ser-LA, tentou-se a sua síntese por várias vias, mas apenas uma apresentou rendimentos aceitáveis. Assim, inicialmente realizaram-se duas aminações redutivas na serina previamente protegida no grupo hidroxilo com o grupo *tert*-butildifenilsilano, de modo a se introduzir uma cadeia alquílica C12 e um grupo metilo no grupo amino. A condensação deste precursor com uma diamina, usando também TBTU como agente de acoplamento, seguida de acoplamento do produto resultante com o ácido α -lipóico previamente ativado, deu origem ao respetivo precursor monomérico funcionalizado. Por metilação deste composto com iodometano, obteve-se o tensioativo monomérico catiónico tendo este como contra-íão o I⁻. De modo a se obter o composto final pretendido, removeu-se o grupo protetor e realizou-se uma troca iónica com Na⁺CF₃COO⁻, obtendo-se assim o tensioativo monomérico catiónico funcionalizado derivado de serina da série Ser-LA sob a forma de trifluoroacetato.

A identificação de todos os compostos foi feita recorrendo à espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C e à espetrometria de massa quando necessário.

No estudo das propriedades físico-químicas verificou-se que as concentrações de agregação crítica (*cac*) obtidas para os dois tensioativos são da mesma ordem de grandeza mas significativamente inferiores à do análogo monomérico C12SerTFA (1,87 mmol·Kg⁻¹). O LASerTFA apresenta um valor inferior (0,10 mmol·Kg⁻¹) ao obtido para o SerLATFA (0,34 mmol·Kg⁻¹) evidenciando a influência da estrutura do tensioativo nas propriedades de agregação.

Abstract

Amino acid-derived surfactants show superior biological and physico-chemical properties when compared to conventional surfactants. Thus there have recently emerged several studies on their application as vehicles for drugs and nucleic acids. In this context and in order to increase their biocompatibility and biological activity, their have been made efforts to functionalize these surfactants with molecules that possess anticancer and/or antioxidant properties, are easily recognized by specific cells (targeting).

The research group in which this project was conducted has been engaged in the synthesis and evaluation of the physico-chemical and toxicological properties of surfactants derived from serine, tyrosine, lysine and 4- hydroxyproline. One of the research areas has been the functionalization of these surfactants with biomolecules in order to increase their biological activity and their biocompatibility.

The aim of this project was the synthesis of two conjugates of lipoic acid with serine derived surfactants, using a novel methodology, since the method previously established had a very low yield, especially in the last step of the reaction sequence (8-10%). The two target compounds differ from each other in the position where the α -lipoic acid is introduced into serine, the resulting compounds being assigned as LA-Ser or Ser-LA. The influence of the resulting structure on the physico-chemical properties os the conjugates was evaluated in the second part of this work, dedicated to studies of the aggregation properties in aqueous solution by tensiometry.

The synthesis of compounds of the LA-Ser series, involved initial coupling of the activated α -lipoic acid to the *O*-silylated methyl serinate. The intermediate was converted to the correspondent carboxylic acid by alkaline hydrolysis followed by acidification. Its condensation with a diamine, using TBTU as coupling agent, followed by alkylation with bromododecane, gave rise to the functionalized cationic monomeric precursor. After removed of the protective group and exchange or the counter-ion functionalized serine derived surfactant from La-Ser series as trifluoracetate, CF_3COO^- .

With regard to the synthesis of the Ser-LA derivative, various methods of synthesis have been tried, but only one of them presented acceptable yields. Thus, initially two reductive aminations were carried out by reaction of *O*-silylated serine, first with dodecanol and then with formaldehyde. The condensation of the resulting precursor with ethylenediamine, followed reaction of the product formed with previously activated α -lipoic acid, gave rise to the monomeric precursor. Methylation of this compound with

iodomethane, followed by removal of the protecting group and counter-ion exchange originated the target surfactant as trifluoroacetate SerLATFA. was removed and a ionic trade with $\text{Na}^+\text{CF}_3\text{COO}^-$ was conducted, thus obtaining the cationic monomeric functionalized serine derived surfactant from Ser-LA series in the form of trifluoroacetate.

The identification of all the compounds was made using ^1H and ^{13}C NMR sprectroscopy, as well as mass spectrometry when needed.

Concerning the physicochemical properties, the critical aggregation concentrations (*cac*) determined for these novel surfactants are lower than the critical micelle concentration (*cmc*) of the C12SerTFA analogue ($1,87 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$). The LASERTFA presents a lower *cac* value ($0,10 \text{ mmol}\cdot\text{Kg}^{-1}$) than SerLATFA ($0,34 \text{ mmol}\cdot\text{Kg}^{-1}$) showing the strong influence of the molecular structure of the surfactant on its aggregation behavior.

Índice Geral

Agradecimentos	IX
Resumo	XI
Abstract	XIII
Índice de Esquemas	XIX
Índice de Figuras	XXI
Índice de Tabelas	XXV
Abreviaturas	XXVII
1 Introdução	1
1.1 Tensioativos: estrutura, propriedades e aplicações	3
1.1.1 Classificação de tensioativos com base na estrutura molecular	8
1.1.1.1 Tensioativos monoméricos	8
1.1.1.2 Tensioativos gemini	15
1.1.2 Tensioativos derivados de aminoácidos	17
1.2 Veiculação de fármacos	24
1.3 Funcionalização molecular	25
1.3.1 Funcionalização de tensioativos	25
1.3.2 Funcionalização com ácido lipóico	26
1.4 Estudo das propriedades físico-químicas de tensioativos	31
1.5 Âmbito da dissertação, objetivo e plano de trabalho	34
1.5.1 Parte I – Síntese Orgânica	34
1.5.2 Parte II - Avaliação físico-química	37
2 Resultados Obtidos e Discussão	39
Parte I – Síntese Orgânica	41
2.1 Pré-ativação do ácido α -lipóico (2)	41
2.2 Obtenção do composto 10	44
2.2.1 Sililação do serinato de metilo (3)	44
2.2.2 Acoplamento de 4 com o ácido α -lipóico ativado	46
2.2.3 Hidrólise alcalina (saponificação) e acidificação de 5	48
2.2.4 Condensação via TBTU entre 6 e a <i>N,N</i> - dimetiletano-1,2-diamina	51
2.2.5 Alquilação de 7 com bromododecano	53
2.2.6 Desproteção do composto 8	56
2.2.7 Reação de troca iônica do composto 9	58
2.3 Síntese do composto 19	61

2.3.1	Sililação da serina (11)	61
2.3.2	Método A	62
2.3.2.1	Aminação reductiva de 12 com dodecanal	62
2.3.2.2	Metilação de 13 com formaldeído	66
2.3.2.3	Condensação via TBTU entre 14 e a etilenodiamina	69
2.3.2.4	Acoplamento de 15 com o ácido α -lipóico ativado	73
2.3.2.5	Metilação de 16 com iodometano	74
2.3.2.6	Desproteção do composto 17	79
2.3.2.7	Reação de troca iónica do composto 18	86
2.3.3	Método B	90
2.3.3.1	Metilação de 12 por aminação reductiva	90
2.3.3.2	Condensação de 20 com a etilenodiamina	91
2.3.3.3	Acoplamento de 21 com o ácido α -lipóico ativado	93
2.3.3.4	Reações de 22	97
a)	Alquilação de 22 com bromododecano (1ª abordagem)	97
b)	Desproteção do composto 22	99
2.3.3.5	Alquilação de 24 com bromododecano	101
2.3.3.6	Reação de troca iónica do composto 25	103
Parte II – Caracterização físico-química		105
2.4	Tensiometria	105
3	Procedimento Experimental	111
Parte I – Síntese Orgânica		113
3.1	Aspetos gerais	113
3.2	Pré-ativação do ácido α -lipóico (2)	115
3.3	Obtenção do composto 10	117
3.3.1	Sililação do serinato de metilo (3)	117
3.3.2	Acomplamento de 4 com o ácido α -lipóico ativado	118
3.3.3	Hidrólise alcalina (saponificação) e acidificação de 5	120
3.3.4	Condensação via TBTU entre 6 e a <i>N,N</i> - dimetiletano-1,2-diamina 122	
3.3.5	Alquilação de 7 com bromododecano	123
3.3.6	Desproteção do composto 8	125
3.3.7	Reação de troca iónica do composto 9	126
3.4	Síntese do composto 19	128
3.4.1	Sililação da serina (11)	128
3.4.2	Método A	130
3.4.2.1	Aminação reductiva de 12 com dodecanal	130

3.4.2.2	Metilação de 13 com formaldeído.....	131
3.4.2.3	Condensação entre 14 e a etilenodiamina usando TBTU.....	133
3.4.2.4	Acoplamento de 15 com o ácido α -lipóico ativado.....	135
3.4.2.5	Metilação de 16 com iodometano.....	136
3.4.2.6	Desproteção do composto 17	138
3.4.2.7	Reação de troca iônica do composto 18	139
3.4.3	Método B.....	141
3.4.3.1	Metilação de 12 por aminação reductiva.....	141
3.4.3.2	Condensação de 20 com a etilenodiamina.....	142
3.4.3.3	Acoplamento de 21 com o ácido α -lipóico ativado.....	144
3.4.3.4	Reações de 22	145
a)	Alquilação 22 com bromododecano.....	146
b)	Desproteção do composto 22	147
3.4.3.5	Alquilação de 24 com bromododecano.....	148
3.4.3.6	Reação de troca iônica do composto 25	149
	Parte II – Caracterização físico-química	151
3.5	Tensão superficial.....	151
4	Conclusão	153
	Referências Bibliográficas.....	157

Índice de Esquemas

Esquema 1 - Metodologias de síntese de tensioativos derivados do aminoácido serina.	20
Esquema 2 - Híbridos de ácido α -lipóico conjugados com cumarinas, com potencial atividade anti-inflamatória.	29
Esquema 3 - Síntese do tensioativo catiónico LASerTFA.	35
Esquema 4 - Síntese do tensioativo catiónico SerLATFA.	36
Esquema 5 - Mecanismo reacional para a ativação do ácido α -lipóico por condensação, usando DCC como agente de acoplamento.....	42
Esquema 6 - Mecanismo da reação de silição do grupo hidroxilo.	44
Esquema 7 - Mecanismo reacional do acoplamento por condensação para a síntese do composto 5 por adição-eliminação.....	46
Esquema 8 - Mecanismo da hidrólise alcalina de um éster metílico, seguida de acidificação para obtenção do respetivo ácido carboxílico.	48
Esquema 9 - Mecanismo da reação de condensação usando TBTU como agente de acoplamento.	51
Esquema 10 - Mecanismo da reação de alquilação por S_N2	54
Esquema 11 - Mecanismo reacional para a remoção do grupo protetor TBDPS.....	56
Esquema 12 - Mecanismo da reação de aminação redutiva do dodecanal com a serina O-protegida.....	63
Esquema 13 - Mecanismo reacional da reação de metilação por S_N2	74

Índice de Figuras

Figura 1- Representação estrutural dos vários tipos de tensioativos.	3
Figura 2- Representação esquemática da capacidade de adsorção e de auto-agregação dos tensioativos.	4
Figura 3 – Desenho esquemático da estrutura de uma bicamada (a) e tipo de fases que a bicamada pode formar (b): vesículos, fase lamelar (L_{α}) e fase bicontínua (L_3).	6
Figura 4- Representação da estrutura de alguns tensioativos aniônicos.	9
Figura 5- Representação da estrutura de alguns tensioativos catiónicos.	11
Figura 6- Representação estrutural de alguns tensioativos não iónicos (obtidos por etoxilação de um alquilfenol, álcool, amina e ácido gordo).	13
Figura 7- Representação estrutural de alguns tensioativos zwitteriônicos.	14
Figura 8 - Representação estrutural de alguns tensioativos cataniônicos.	15
Figura 9 - Esquema da estrutura geral de um tensioativo gemini.	16
Figura 10- Representação estrutural de um tensioativo gemini catiónico, Dibrometo de dimetileno bis-[(<i>N,N</i> -dimetil- <i>N</i> -dodecil)amónio].	16
Figura 11- Grupos do aminoácido onde pode ser introduzida a cadeia alifática.	18
Figura 12- Representação estrutural de tensioativos gemini derivados de serina: A- série amina; B- série amida; C- série éster.	19
Figura 13 - Estrutura química do BOP e do PyBOP.	21
Figura 14 - Estrutura química do TBTU.	21
Figura 15- Processo de reconhecimento do ácido fólico por parte da célula-alvo.	26
Figura 16- Estrutura química do ácido α -lipóico.	26
Figura 17- Estrutura Química das formas em que o ácido α -lipóico pode ser encontrado no organismo: A- DHLA; B- lipoamida.	27
Figura 18- Representação de alguns derivados de LA com atividade cardioprotetora.	28
Figura 19 - Ilustração esquemática do processo de medição da tensão superficial pelo método da placa de Wilhelmy.	32
Figura 20- Espetro de RMN ^1H (CDCl_3) relativo ao composto 2	43

Figura 21 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 4 .	45
Figura 22 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) referente ao composto 5 .	47
Figura 23 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 6 .	50
Figura 24 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 7 .	53
Figura 25 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 8 .	55
Figura 26 - Espetro de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) relativo ao composto 9 .	58
Figura 27 - Espetro de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) relativo ao composto 10 .	59
Figura 28 - Espetros de massa relativos a composto 10 . Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.	60
Figura 29 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), relativo ao composto 12 .	62
Figura 30 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 13 .	65
Figura 31 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 14 .	67
Figura 32 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz), relativo ao composto 14 .	68
Figura 33 - Espetro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz), relativo ao composto 14 .	68
Figura 34 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 15 .	70
Figura 35 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 15 .	71
Figura 36 - Espetro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 15 .	71
Figura 37 - Espetro 2D de COSY obtido para o composto 15 .	72
Figura 38 - Espetro 2D de HSQC obtido para o composto 15 .	72
Figura 39 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 16 .	74
Figura 40 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 17 .	77
Figura 41 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 17 .	77
Figura 42 - Espetro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 17 .	78
Figura 43 - Espetro 2D de COSY obtido para o composto 17 .	78
Figura 44 - Espetro 2D de HSQC obtido para o composto 17 .	79
Figura 45 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 18 .	80
Figura 46 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 18 .	81
Figura 47 - Espetro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 18 .	81

Figura 48 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 18	82
Figura 49 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 18 (expansão da zona de maior relevo).	82
Figura 50 - Espectros de massa respetivos ao composto 18 1ª fração da coluna cromatográfica. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.	83
Figura 51 - Espectros de massa respetivos ao composto 18 2ª fração da coluna cromatográfica. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.	84
Figura 52 - Espectro de massa da 2ª fração (18), relativo à distribuição isotópica do pico base.	85
Figura 53 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 19	87
Figura 54 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 19	87
Figura 55 - Espectro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 19	88
Figura 56 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 19	88
Figura 57 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 19	89
Figura 58 - Espectros de massa respetivos ao composto 19 . Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.	89
Figura 59 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 20	91
Figura 60 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 21	93
Figura 61 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 22	95
Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 22	95
Figura 63 - Espectro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 22	96
Figura 64 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 22	96
Figura 65 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 22	97
Figura 66 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 23	99
Figura 67 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) relativo ao composto 24	100
Figura 68 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 25	102
Figura 69 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 19	104

Figura 70 - Espectros de massa respectivos ao composto 19 . Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.	104
Figura 71 - Gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano do composto LASerTFA (10).....	105
Figura 72 - Gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano do composto SerLATFA (19).....	106
Figura 73 - Gráfico do ajuste linear para o cálculo da cac, da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração do tensioativo LASerTFA (10).	106
Figura 74 - Gráfico do ajuste linear para o cálculo da cac, da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração do tensioativo SerLATFA (19).	107
Figura 75 – Sobreposição das curvas obtidas a partir da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração de ambos os tensioativos estudados.	108
Figura 76 – Regiões apolares e polares dos tensioativos sintetizados e estudados quanto às suas propriedades interfaciais: A - LASerTFA; B -SerLATFA.....	109

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Alguns grupos protetores usados para proteger álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e aminas.	22
Tabela 2 - Parâmetros interfaciais determinados para os tensoativos estudados.	107
Tabela 3 - Valores de <i>cac</i> dos compostos sintetizados e valores de cmc dos compostos similares descritos na literatura.....	109
Tabela 4 - Quantidades usadas de cada reagente, massa obtida de produto (2), tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.	116
Tabela 5 - Quantidades usadas de cada reagente, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada.	118
Tabela 6 - Quantidades usadas de reagentes, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência efetuada.....	120
Tabela 7 - Quantidade de reagente usada, massa obtida do produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada.....	121
Tabela 8 - Quantidade utilizada de reagentes, massa de produto final obtida, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.	123
Tabela 9 - Quantidades usadas dos reagentes, massa de produto obtida, tempo e rendimento da reação para as experiências efetuadas.	124
Tabela 10 - Quantidades dos reagentes usados, massa final do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.	126
Tabela 11 - Quantidades de reagentes utilizadas, massa do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.	129
Tabela 12 - Quantidade de reagentes usada, massa final do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as várias experiências realizadas.	131
Tabela 13 - Quantidade de reagentes usada, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.....	132
Tabela 14 - Quantidade de reagentes usada, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada uma das experiências realizadas.	134
Tabela 15 - Quantidade de reagentes utilizada, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.	136

Tabela 16- Quantidade de reagentes utilizada, massa do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas..... 137

Tabela 17- Quantidade utilizada de reagente, massa de produto obtida, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas..... 142

Tabela 18- Quantidade usada de reagente, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada. 143

Tabela 19- Quantidade usada de reagente, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas..... 145

Abreviaturas

δ - desvio químico

η - rendimento, em %

1D - unidimensional

2D - bidimensional(ais)

AcOEt - acetato de etilo

CCF - cromatografia em camada fina

CI-TBDPS - Cloreto de *tert*-butildifenilsililo

cmc - concentração micelar crítica

COSY - *Correlation Spectroscopy*

CTAB - brometo de cetiltrimetilamónio

d - dias

DCC - *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida

DCE - 1,2-dicloroetano

DCM - diclorometano

DCU - diciclohexilureia

DEPT - *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*

DHLA - ácido dihidrolipóico

DIEA - *N,N*-etildiisopropilamina

DMAP - 4-(dimetilamino) piridina

DMF - dimetilformamida

DNA - ácido 2-desoxirribonucleico

DPS - 3-(*N*-decyl-*N,N*-dimethylammonio)-1-propanesulfonate

EM - espetro(s) de massa

ESI - *electrospray ionization*

h - horas

Hex - hexano

HIV - *human immunodeficiency virus*

HRMS - espetrometria de massa de alta resolução (de *High Resolution Mass Spectrometry*)

HSQC - *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

J - constante de acoplamento

LA - ácido lipóico

M - massa molar, concentração em mol.L⁻¹

m – massa

Me – grupo metilo

MeOH – metanol

m/z - razão massa/carga

NEt₃ - trietilamina

NHS - *N*-hidroxisuccinimida

PNE - *Polyoxyethylene nonylphenyl ether*

R_f - fator de retenção cromatográfica

RMN ¹³C - ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN ¹H - ressonância magnética nuclear de próton

ROS - espécies reativas de oxigênio

SDS - sulfato de dodecilo e de sódio

S_N2 - substituição nucleófila bimolecular

T_{amb} - temperatura ambiente

TBAF - fluoreto de tetrabutilamônio

TBDPS - *tert*-butildifenilsililo

TBTU - tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N,N*-tetrametilurônio

^tBu - *tert*-butilo

TFA - ácido trifluoroacético

THF - tetra-hidrofurano

T_{Kr} - temperatura de Krafft

UV - ultravioleta

1 Introdução

1.1 Tensioativos: estrutura, propriedades e aplicações

Estrutura molecular e propriedades interfaciais

Os tensioativos são compostos capazes de modificar as propriedades das superfícies ou interfaces na qual estão adsorvidos. As propriedades específicas destes compostos residem no facto de apresentarem carácter anfifílico, dado que possuem duas regiões distintas na sua estrutura molecular – uma região polar e outra apolar. A região polar refere-se à cabeça do tensioativo e é hidrofílica, uma vez que tem afinidade com a água, podendo ser muito diversificada; normalmente é constituída por um grupo com carga ou por um grupo não iónico, ou então pode possuir ambos os grupos. Maioritariamente, esta região da molécula é responsável por determinar a classe do tensioativo. Esta classificação será abordada no ponto 1.1.1. Por outro lado, a região apolar refere-se à cadeia hidrocarbonada de comprimento variado e uma vez que é hidrofóbica, evita o contacto com a água e prefere ambientes apolares (óleo, solventes orgânicos).^{1,2}

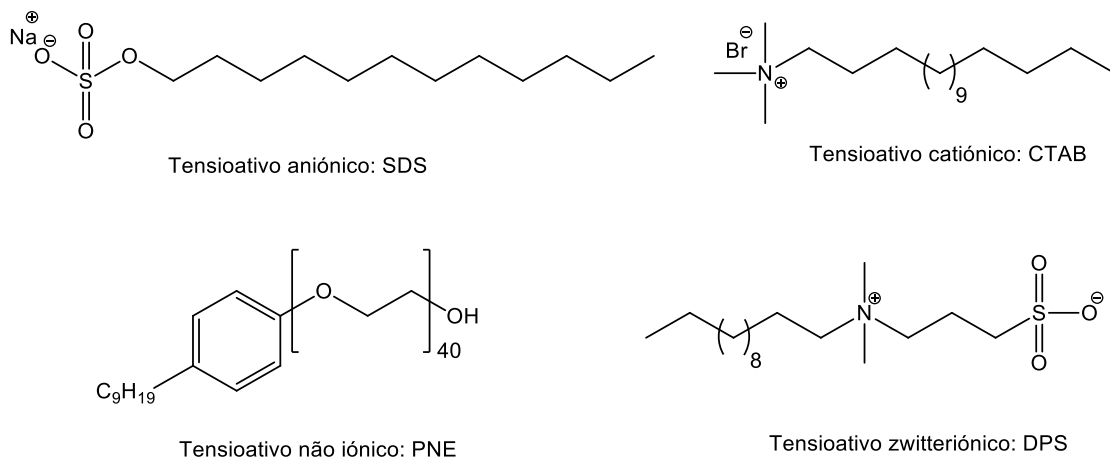


Figura 1- Representação estrutural dos vários tipos de tensioativos.

Os tensioativos têm, assim, a capacidade de adsorver em interfaces e de se auto-agregarem em solução, de modo a minimizarem o contacto das cadeias hidrofóbicas com o solvente, diminuindo assim a tensão interfacial. A tensão interfacial é o termo frequentemente usado para a energia de Gibbs de excesso por unidade de área e diz respeito à quantidade de trabalho necessário para expandir a interface, a temperatura e pressão constante. Assim, a tensão superficial da água é equivalente à energia de Gibbs por unidade de área da interface água-ar.¹

Quando um dado tensioativo está dissolvido em água a concentrações baixas, tem tendência a migrar do seio da solução, ou *bulk*, para a superfície, de forma a diminuir o contacto do grupo apolar com a água, formando uma monocamada entre dois meios

imiscíveis, em que os grupos hidrofóbicos estão orientados para o ar e os grupos polares para a água.¹ Como consequência, verifica-se que a concentração do tensoativo na interface, designada por excesso superficial, aumenta relativamente à do seio da solução e a tensão superficial da solução aquosa diminui.

- **Micelas e micelização**

Como referido anteriormente, os tensoativos têm a capacidade de migrarem do *bulk* para a superfície e formar uma monocamada. No entanto, a concentração de tensoativos na superfície atinge um limite. Tal acontece quando a interface se encontra “saturada”, uma vez que o tensoativo já não tem efeito na diminuição da tensão interfacial, devido à formação de agregados de unímeros de tensoativo no seio da solução. Esses unímeros podem-se agregar e formar micelas (micelização) ou formar outras estruturas mais complexas para concentrações mais elevadas.¹

Os agregados mais simples, formados a baixas concentrações designam-se por micelas esféricas. Neste tipo de estruturas, a cadeia apolar está orientada para o interior dos agregados, enquanto a cabeça polar está direcionada para a água.³

As micelas são agregados discretos ou contínuos (extremamente alongados). As micelas discretas englobam a forma esférica, cilíndrica e discoidal, enquanto as micelas contínuas incluem micelas vermiculares (*wormlike*) longas, com rigidez variável, ou micelas vermiculares ramificadas.

Para micelas normais, o filme de tensoativo curva sobre si mesmo ou em direção ao óleo, enquanto em micelas invertidas o filme curva na direção do meio aquoso.³

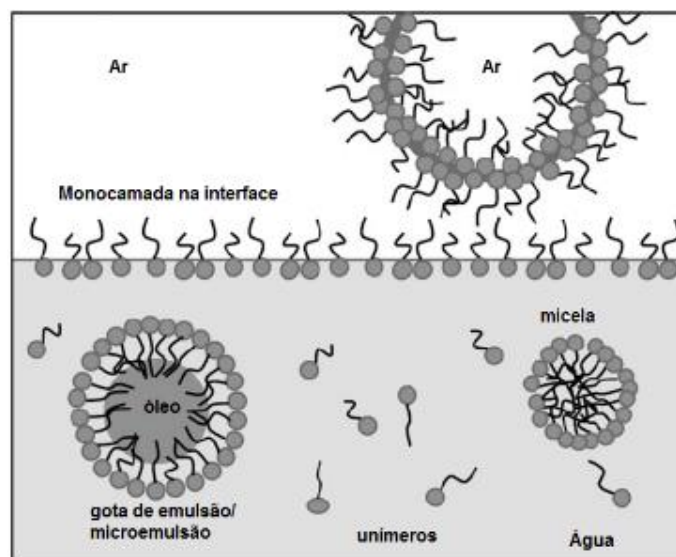


Figura 2- Representação esquemática da capacidade de adsorção e de auto-agregação dos tensoativos. (Adaptado de ³)

A micelização ocorre acima de uma dada temperatura, designada por temperatura de Krafft (T_{Kr}), e que é específica para cada tensioativo, e a uma concentração mínima necessária, designada de concentração micelar crítica, *cmc*; acima desse valor, a concentração de unímeros em solução e à superfície mantém-se constante, coexistindo tanto micelas como unímeros em solução, como é possível observar pela representação esquemática da figura 2.³

- **Outras estruturas auto-agregadas**

De entre os vários tipos de agregados que os tensioativos podem formar, as micelas e as bicamadas são os agregados mais simples. No entanto, os tensioativos podem também formar estruturas mais complexas, como é o caso dos cristais líquidos hexagonais, lamelares e cúbicos.

Deste modo, uma maneira simples de racionalizar os agregados que um determinado tensioativo forma, é baseando-nos no modelo do parâmetro crítico de empacotamento (P_s). Este modelo foi introduzido por *Israelachvili* em 1985 e relaciona a forma geométrica de um tensioativo com o tipo de agregados que forma em solução. O P_s é definido como:

$$P_s = \frac{V_{hc}}{a_{hg}l_{hc}} \quad (1)$$

onde, V_{hc} é o volume da cadeia hidrocarbonada, a_{hg} é a área ótima da cabeça do tensioativo e l_{hc} é o comprimento da cadeia hidrocarbonada. Em termos gerais, P_s define um cilindro de área a_{hg} e comprimento l_{hc} como estrutura de referência formando uma bicamada de curvatura zero ($P_s = 1$). Se o volume da cadeia alquílica é menor que o volume do cilindro, a forma global do tensioativo é semelhante a um cone ou a um cone truncado, sendo que, neste caso as estruturas mais favoráveis são micelas esféricas ($P_s = 1/3$) ou micelas cilíndricas ($1/3 \leq P_s \leq 1/2$), respetivamente. No que diz respeito aos tensioativos sob a forma de cones invertidos, a embalagem preferida são estruturas reversas para as quais o $P_s = 1$. No entanto, os parâmetros apresentados na expressão (1) não são experimentalmente conhecidos, podendo ser feita uma boa aproximação, especialmente para o V_{hc} e l_{hc} , sendo estes parâmetros determinados de acordo com as seguintes expressões:

$$V_{hc}/\text{nm}^3 = 0.0274 + 0.0269n_c \quad (2)$$

$$l_{hc}/\text{nm} = 0.154 + 0.127n_c \quad (3)$$

onde, n_c é o número de átomos de carbono na cadeia. O valor de a_{hg} , é um pouco mais difícil de estimar, uma vez que varia fortemente com condições da solução.³

Bicamadas

As bicamadas são membranas finas compostas por duas camadas de tensoativo num solvente, em que as regiões hidrofóbicas estão justapostas e as zonas hidrofílicas estão em contacto com o solvente. Estes agregados podem ser encontrados sob três formas morfológicas diferentes: vesículo, cristal líquido lamelar e estrutura bicontínua (fase “esponja”) (figura 3). A formação das diferentes formas, bem como a elasticidade/rigidez da membrana, podem ser racionalizadas através do modelo de superfície flexível e curvatura espontânea.³

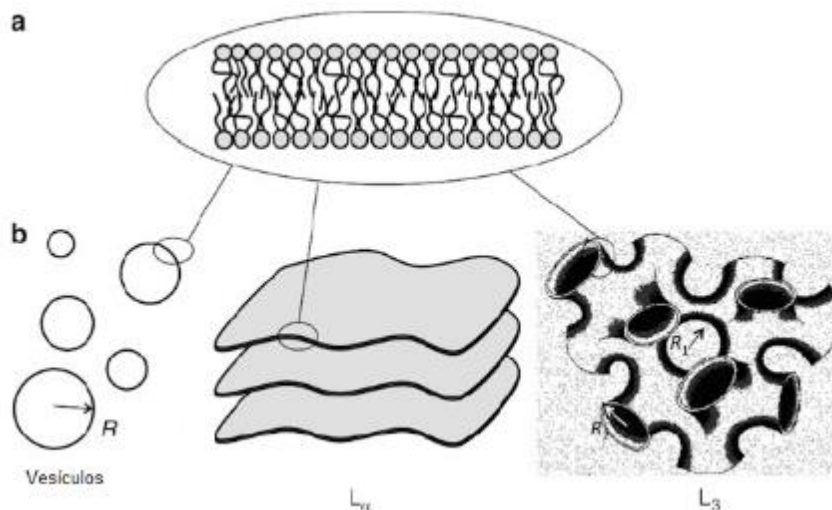


Figura 3 – Desenho esquemático da estrutura de uma bicamada (a) e tipo de fases que a bicamada pode formar (b): vesículos, fase lamelar (L_2) e fase bicontínua (L_3). (Adaptado de³)

As bicamadas podem ocorrer de forma natural ou artificial. Assim, a forma natural é encontrada nos organismos vivos sob a forma de membranas celulares que são constituídas principalmente por fosfolípidos, proteínas e colesterol, entre outras moléculas. As membranas celulares são caracterizadas por atuarem como barreiras de difusão e gerar um ambiente intracelular que serve para organizar o grande número de processos metabólicos que ocorrem nas células vivas. Quanto à forma artificial, pode ser produzida ao dispersar um tensoativo ou lípido num determinado solvente.³

Vesículos

Os vesículos ou lipossomas são bicamadas em forma de esfera, que têm um tamanho compreendido entre dezenas de nanómetros a poucos micrómetros e no seu interior aprisionam parte do solvente. Estes agregados são bastante importantes em biologia celular, uma vez que fazem parte de inúmeros mecanismos celulares; revestem-se também de grande interesse para o encapsulamento e transporte de fármacos e outro tipo de moléculas para células específicas, como por exemplo células cancerígenas.

Nos vesículos normais as cabeças polares dos tensoativos estão dirigidos para o exterior e interior do vesículo, uma vez que é nestas zonas que se encontra o solvente. O contrário acontece com os vesículos inversos, em que as cadeias hidrocarbonadas estão dirigidas para o exterior e para o interior do vesículo. Apenas os tensoativos que apresentam um parâmetro crítico de empacotamento perto da unidade tendem a formar vesículos.⁴

Os vesículos sintéticos são produzidos por dispersão de uma fase líquido-cristalina lamelar em excesso de solvente e adição de energia mecânica externa, como por exemplo sonicação ou extrusão. A fase lamelar é fragmentada em pequenos discos de bicamadas que têm bordas com cadeias hidrofóbicas expostas em contacto com o solvente. Como tal, devido a esta destabilização da fase lamelar, os discos fecham e formam vesículos. No entanto, com o tempo estes vesículos tendem a flocular e fundem-se, reformando a fase lamelar a partir da qual foram obtidos.³

Aplicações

Devido ao seu comportamento em interfaces e em solução e à sua diversidade estrutural, os tensoativos apresentam uma vasta gama de aplicações, tais como a detergência, produtos de higiene e cosmética, emulsificação, solubilização, veiculação de fármacos, entre outros.

Combinando diferentes grupos polares com apolares é possível obter uma enorme variedade de tensoativos com funções específicas para desempenhar numa determinada aplicação. Assim, modificações a nível estrutural podem acarretar diferenças em aplicações deste tipo de compostos.¹

Devido à elevada procura por novos tensoativos com propriedades e características melhoradas, foi sintetizada e estudada uma nova família de tensoativos designada por gemini. Estas novas moléculas têm proporcionado novos desafios e

oportunidades em termos de síntese, caracterização físico-química e aplicações. Estes compostos são considerados excelentes candidatos para aplicações que vão desde a formulação de cosméticos até agentes de transfecção de genes.⁵

Foram ainda desenvolvidas recentemente outras classes de tensioativos, como é o caso dos tensioativos cataniónicos. Estes são sistemas bastante atrativos para diversas aplicações, pois apresentam interações fortemente sinérgicas, como o facto de conduzirem a uma grande redução do valor da *cmc*.⁶

1.1.1 Classificação de tensioativos com base na estrutura molecular

1.1.1.1 Tensioativos monoméricos

Os tensioativos monoméricos são moléculas anfifílicas constituídas apenas por um grupo polar ligado a uma cadeia hidrofóbica. Nos tensioativos mais comuns, esta cadeia é hidrocarbonada, podendo por vezes, em casos mais especializados, haver tensioativos em que esta cadeia é perfluorocarbonada ou constituída por polidimetilsiloxano. Como referido anteriormente, os tensioativos podem ser classificados de acordo com a natureza do seu grupo polar em quatro classes: tensioativos iónicos (aniónicos e catiónicos), não iónicos, zwitteriónicos e cataniónicos.² Seguidamente, serão abordados todos os tipos de tensioativos tendo em conta essa classificação.

Tensioativos aniónicos

Esta classe de tensioativos é aquela que é produzida em maiores quantidades, uma vez que é mais rentável que todas as outras, e é encontrada em quase todos os produtos de limpeza. A sua capacidade de detergência é melhor quando as cadeias alquílicas têm comprimentos entre C12 e C18.^{1,2}

Os tensioativos aniónicos apresentam a parte hidrofílica da molécula com carga negativa, sendo os grupos mais comuns os carboxilatos, sulfatos, sulfonatos ou fosfatos (figura 4).²

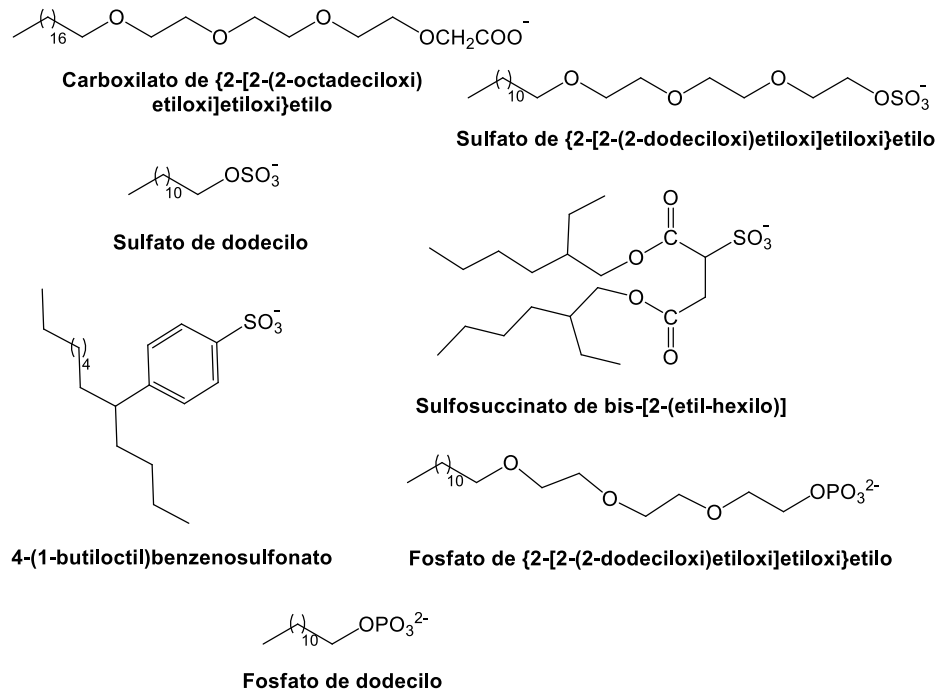


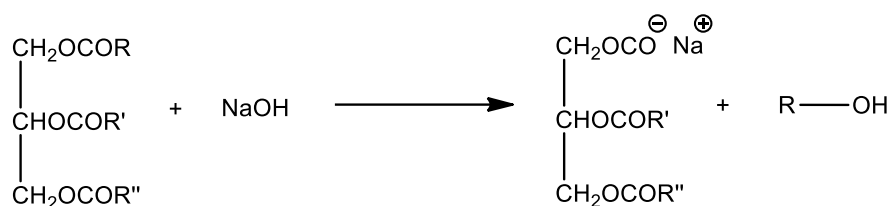
Figura 4- Representação da estrutura de alguns tensoativos aniônicos.¹

Os contra-íões mais utilizados são o sódio, o cálcio, o potássio, o amónio e várias aminas alquílicas protonadas. O sódio e o potássio promovem a solubilidade do tensoativo em água, contrariamente ao cálcio que promove a solubilidade em óleo. Por fim, as aminas e os seus respetivos sais apresentam tanto solubilidade em água como em óleo. De seguida são referidos alguns exemplos desta classe de tensoativos e a sua respetiva síntese.

- Ácidos carboxílicos e seus sais:

Os ácidos gordos livres não são utilizados como tensoativos, devido à baixa solubilidade que apresentam em água. Contrariamente, os carboxilatos, dado que apresentam uma ótima afinidade com a água, são mais utilizados.

Os carboxilatos podem ser produzidos diretamente a partir da hidrólise alcalina de glicérides de origem animal ou vegetal, como se pode observar pela equação 1.



Equação 1 - Equação química para a reação de hidrólise alcalina de um triglicérido.

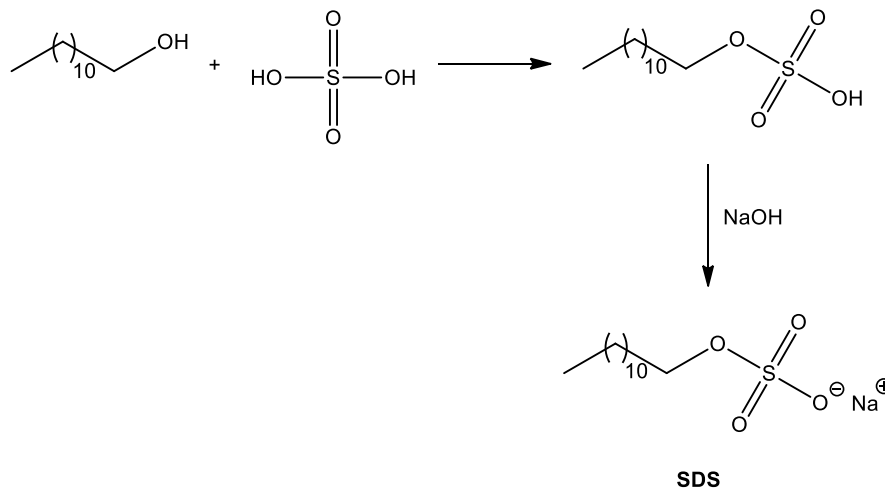
De todos os tensoativos aniônicos, os carboxilatos (sabões) são os mais conhecidos e produzidos em maiores quantidades e apresentam sensibilidade à água dura, sendo esta uma desvantagem para a sua utilização universal.¹

A maior aplicação deste tipo de tensoativos é encontrada em barras de sabão, usados essencialmente para higiene das mãos. Os sabões solúveis em água, podendo ser em barra ou líquidos, são utilizados para higiene da pele, produtos de barbear e em desodorizantes. Já os sabões insolúveis em água formam géis em sistemas não aquosos e devido à sua hidrofobicidade, são apropriados para emulsões de água em óleo.

- Derivados de ácido sulfúrico:

Um outro tipo de tensoativos aniônicos são os álcoois sulfatados e álcoois etoxilados sulfatados. Nestes tensoativos, a ligação éster é uma ligação lábil que se quebra muito facilmente a pH baixo, para o qual a hidrólise é autocatalítica. Neste conjunto de tensoativos aniônicos são utilizados como matéria-prima, álcoois lineares e ramificados que apresentam entre oito a dezasseis átomos de carbono,.

O SDS ou dodecil sulfato de sódio é um dos tensoativos aniônicos mais importantes nesta classe. É sintetizado a partir da reação do dodecanol com ácido sulfúrico, formando-se o dodecil monoéster de ácido sulfúrico que de seguida sofre neutralização com hidróxido de sódio (equação 2).¹



Equação 2 – Equação química para a reação de síntese do SDS.

Os tensoativos aniônicos derivados de ácido sulfúrico são aplicados essencialmente para formulações de detergentes e cosméticos.

Tensioativos catiónicos

Os tensioativos catiónicos, como o próprio nome indica, possuem uma carga positiva no grupo polar. Estes tensioativos são menos utilizados do que os aniônicos, essencialmente porque apresentam problemas ambientais, como por exemplo uma difícil biodegradabilidade. No entanto, são fundamentais para a modificação das propriedades de superfícies sólidas (fibras, têxteis, metais, etc.).

Outra capacidade que estes tensioativos possuem, é a de formarem complexos insolúveis em água com os tensioativos aniônicos, tornando-os úteis para o revestimento e proteção das superfícies em que atuam, uma vez que adsorvem tanto em superfícies hidrofóbicas como hidrofílicas.²

Os tensioativos catiónicos mais comuns são aqueles baseados em aminas ou sais de amónio quaternário. As aminas apenas são usadas como tensioativos se estiverem no seu estado protonado e são sensíveis quando se encontram em meios em que o pH é elevado. No entanto, os sais de amónio quaternário não são sensíveis ao pH, pois não apresentam nenhum protão que possa ser cedido, permanecendo com carga e sendo sempre usados como tensioativos. Na figura 5 estão representadas as estruturas de alguns tensioativos catiónicos.

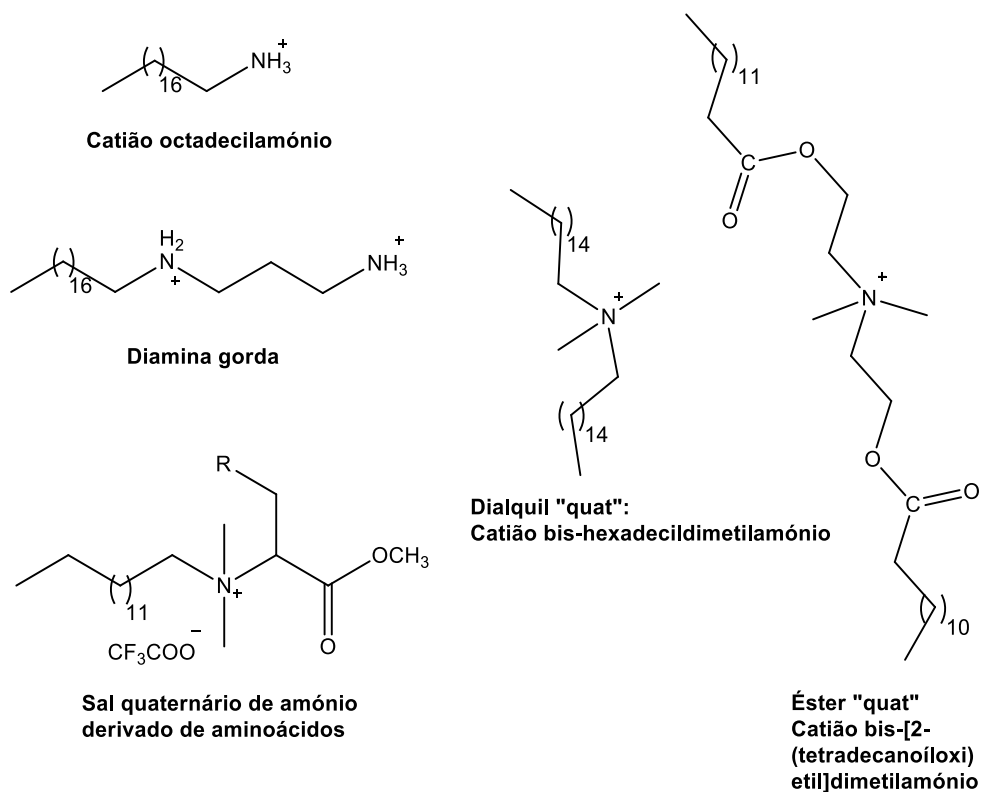


Figura 5- Representação da estrutura de alguns tensioativos catiónicos.¹

De seguida são apresentados alguns exemplos deste tipo de tensoativos, respetivas sínteses e aplicações.

- Aminas alquílicas

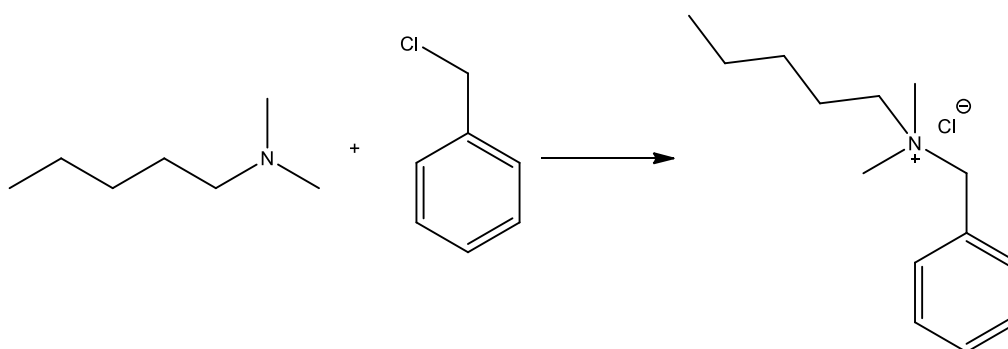
Deste grupo de tensoativos fazem parte as aminas alquílicas primárias, secundárias, terciárias e os respetivos sais. Estes compostos não apresentam carga quando se encontram em soluções neutras, o que torna este tipo de tensoativos não estritamente catiónicos. Assim, as aminas gordas em que apenas o grupo amino é responsável pela parte hidrofílica da molécula, são geralmente catiónicas em meios em que o pH é inferior a 7.²

Estes tensoativos baseados em aminas e nos seus sais têm aplicabilidade em tratamentos têxteis e amaciadores para tecidos. No entanto, sais de aminas conjugados com outros tensoativos são utilizados em cosméticos.

- Compostos de amónio quaternário

Estes tensoativos são constituídos por um átomo de azoto carregado positivamente que se encontra ligado a quatro substituintes. Os compostos de amónio quaternário não são sensíveis ao pH, uma vez que não há possibilidade de protonar ou desprotonar o azoto. Nestes compostos, quatro substituintes podem ser grupos alquilo, arilo, grupos alquiloxilo, polietoxilo, entre outros.

Os sais de amónio quaternário podem ser sintetizados por reação de aminas terciárias com cloreto de benzilo, sulfato de dimetilo ou clorometano/iodometano (equação 3).



Equação 3 – Equação química para a síntese de um sal de amónio quaternário.

A solubilidade destes compostos depende principalmente da natureza dos grupos substituintes, sendo que aqueles que contêm duas ou mais cadeias hidrofóbicas longas apresentam baixa solubilidade em água, contrariamente ao que acontece com sais de cadeias curta, que exibem uma ótima solubilidade em água.

Os sais de amônio quaternário têm a capacidade de adsorver em substratos e fibras naturais ou sintéticas. Têm utilidade em condicionadores de cabelo devido às suas propriedades de amaciamento e anti-estáticas.²

Tensioativos não iônicos

Os tensioativos não iônicos possuem normalmente como grupo polar um grupo poliéter constituído por 5-10 unidades de oxietileno, derivado da polimerização de óxido de etileno (figura 6).

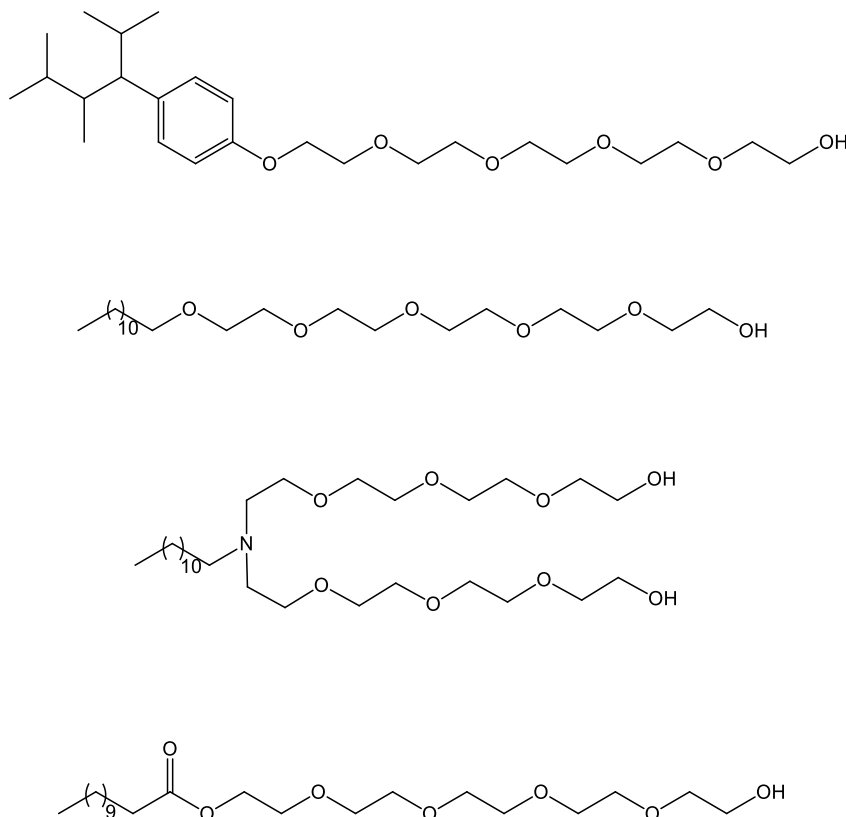


Figura 6- Representação estrutural de alguns tensioativos não iônicos (obtidos por etoxilação de um alquilfenol, álcool, amina e ácido gordo).¹

Os álcoois gordos apesar de exibirem atividade superficial e interfacial, não são considerados como verdadeiros tensioativos, pois apresentam uma solubilidade em água muito baixa. No entanto, são usados como precursores para a formação de álcoois etoxilados, os quais, por sua vez, são os tensioativos mais importantes desta categoria.¹

A sua aplicabilidade é essencialmente em detergentes em pó ou líquidos, sendo também bastante importantes para estabilizar emulsões óleo em água. São tensioativos hidroliticamente estáveis a pH entre 3 e 11, e sofrem oxidação lenta quando expostos ao ar. Consequentemente, alguns produtos provenientes dessa oxidação são mais irritantes para a pele do que o próprio tensioativo quando não exposto ao ar.

Os tensoativos etoxilados apresentam um comportamento físico-químico que é fortemente afetado pela variação de temperatura, e contrariamente aos compostos iónicos, tornam-se mais hidrofóbicos a temperaturas elevadas.¹

Estes tensoativos são utilizados essencialmente em produtos de limpeza como co-emulsionantes.²

Tensoativos zwitteriónicos

Os tensoativos zwitteriónicos apresentam dois grupos com cargas diferentes, positiva e negativa, na região polar da molécula. A carga positiva é constituída pelo grupo amónio e a carga negativa pode variar, sendo mais comum encontrar-se sob a forma de carboxilato (figura 7).

A presença de ambas as cargas na mesma molécula faz com que a hidrofiliidade da cabeça polar do tensoativo esteja entre as classes de tensoativos não iónicos e iónicos convencionais.⁷ Tendo em conta a natureza do grupo polar, estes tensoativos podem tornar-se dependentes do pH.

Os tensoativos zwitteriónicos são menos irritantes para a pele e para os olhos que as restantes classes de tensoativos e são por isso muito utilizados em cosméticos, produtos de saúde e produtos farmacêuticos. São muitas vezes combinados com tensoativos aniónicos ou catiónicos, para as suas propriedades se tornarem ainda mais eficientes.⁷

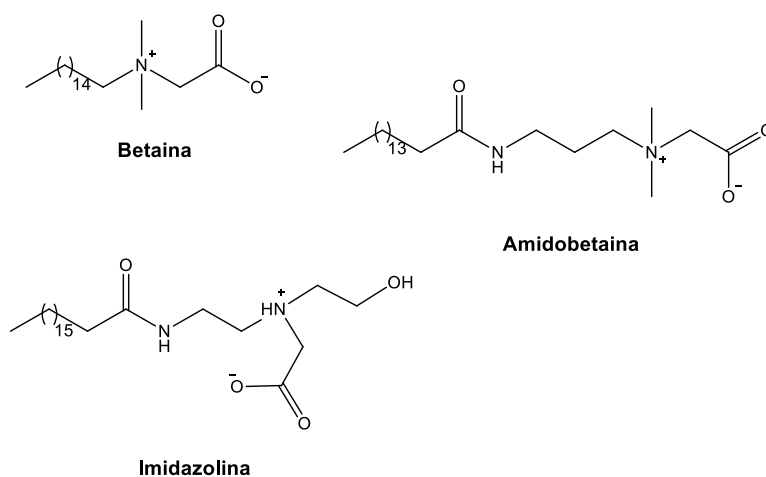


Figura 7- Representação estrutural de alguns tensoativos zwitteriónicos.¹

Tensioativos cataniônicos

Os tensioativos cataniônicos são compostos por quantidades estequiométricas equimolares de tensioativos catiónicos e aniônicos, apresentando dois íões anfífilicos com cargas opostas.^{6,8} Desta forma, assemelham-se aos tensioativos zwitteriônicos, pois ambos apresentam carga global nula na região polar, com a diferença de que os dois grupos polares não se encontram ligados de forma covalente nos tensioativos cataniônicos, como se pode observar na figura 8.

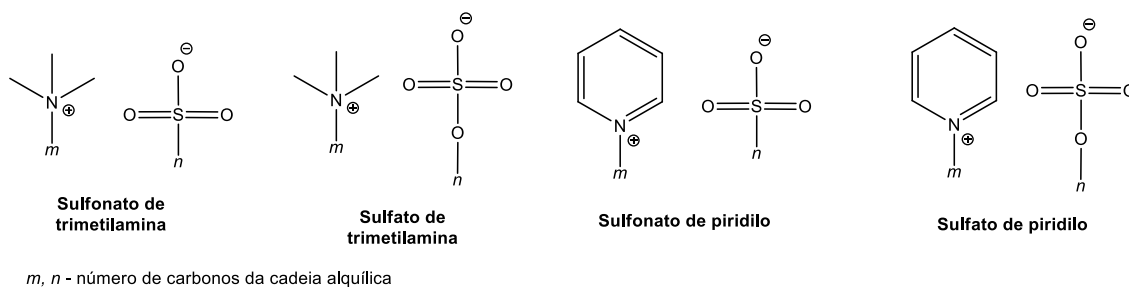


Figura 8 - Representação estrutural de alguns tensioativos cataniônicos.

Como referido no início deste capítulo, estes tensioativos apresentam interações fortemente sinérgicas, como a diminuição do valor da *cmc*, atividade superficial melhorada, adsorção e detergência.

Verificou-se em estudos realizados, que estes tensioativos são capazes de se auto-agregar numa variedade de microestruturas, tais como vesículas, micelas vermiformes ou discos, dependendo da composição do sistema aquoso. Estes compostos são também muito utilizados para sintetizar nanopartículas.⁹

1.1.1.2. Tensioativos gemini

Os tensioativos gemini surgiram na década de 1970 e desde então têm vindo a ser alvo de elevado interesse, devido à procura por novos tensioativos com elevada eficiência e melhor biodegradabilidade e biocompatibilidade.¹⁰

Estes tensioativos possuem duas cadeias hidrofóbicas e duas zonas hidrofílicas, em que as duas partes polares (hidrofílicas) estão ligadas quimicamente por um espaçador rígido ou flexível, como se pode observar pela figura 9. Esta particularidade faz com que estes compostos possuam propriedades físico-químicas melhoradas, apresentando, regra geral, concentrações micelares críticas mais baixas que os seus homólogos monoméricos e são mais eficientes no que toca à diminuição da tensão interfacial. Estes compostos são capazes de formar vários agregados supramoleculares

devido aos diferentes tipos de espaçadores que se podem introduzir, ou seja, conforme o tamanho e a natureza química dos espaçadores.^{10,11}

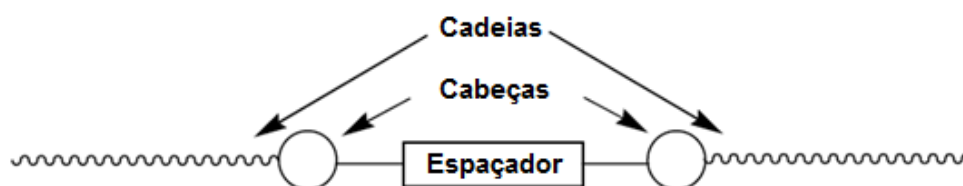


Figura 9 - Esquema da estrutura geral de um tensoativo gemini.

Pelo facto dos tensoativos gemini apresentarem baixos valores de *cmc*, alta detergência e alta solubilização, revestem-se de grande interesse para aplicações como produção de petróleo, na área farmacêutica, na produção de tintas e como inibidores de corrosão.^{11,12,13}

No que diz respeito à síntese, é possível obter uma grande diversidade de tensoativos gemini, conforme o comprimento das cadeias hidrofóbicas, e a natureza das cabeças polares e dos espaçadores.

Assim como os tensoativos monoméricos, esta classe de tensoativos também se subdivide em outras subclasses, dependendo da natureza do grupo polar, sendo estas os tensoativos gemini catiónicos, aniónicos ou não iónicos.¹⁴ A figura 10 demonstra a estrutura de um tensoativo gemini catiónico.

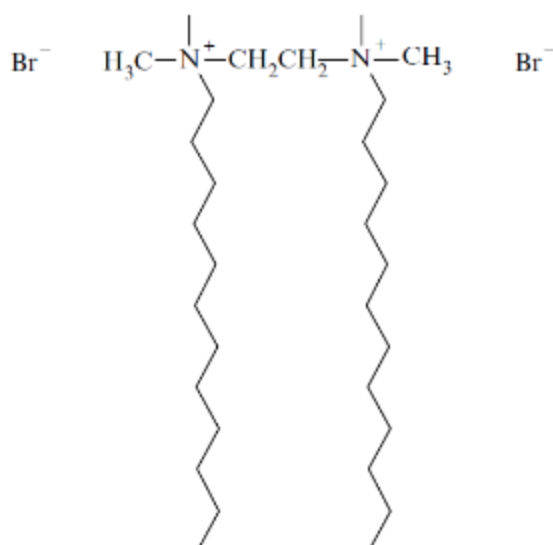


Figura 10- Representação estrutural de um tensoativo gemini catiónico, Dibrometo de dimetileno bis-[(*N,N*-dimetil-*N*-dodecil)amónio].¹

Os grupos polares em cada uma das subclasses são análogos aos que já foram referidos para os tensoativos monoméricos.

Destas subclasses, os tensoativos gemini catiónicos têm atraído grande atenção devido ao seu potencial para aplicações na área biomédica. No geral, os tensoativos gemini catiónicos são conhecidos por apresentarem atividade antimicrobiana, tendo vindo a ser bastante utilizados como desinfetantes em aplicações industriais e, mais recentemente, como antimicrobianos e agentes anti-fúngicos no tratamento de infeções humanas.¹⁰

1.1.2 Tensoativos derivados de aminoácidos

A elevada utilização de tensoativos tanto a nível industrial como a nível medicinal, levou ao seu desenvolvimento, melhorando as suas propriedades no que se refere à toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, mantendo a sua eficácia relativamente às propriedades de redução da tensão superficial e a capacidade de se auto-agregarem em solução.^{15,16}

Os tensoativos naturais embora satisfaçam estes requisitos, apresentam desvantagens, como o seu custo elevado, a pequena quantidade em que são encontrados e o processo de separação tende a ser demorado e ineficiente. Assim, recorreu-se à síntese e ao uso de tensoativos baseados em moléculas naturais, como aminoácidos, ácidos gordos e açúcares. A baixa toxicidade, boa biocompatibilidade e degradação rápida de muitos desses tensoativos, são as principais razões para o crescente interesse industrial nestes compostos.¹⁶

Os tensoativos derivados de aminoácidos, o tema de estudo desta dissertação, são constituídos por uma longa cadeia alifática apolar, ligada ao aminoácido que constitui a zona polar. A região apolar pode ser introduzida no grupo α -carboxilo, α -amino ou no grupo R presente no aminoácido. A figura 11 representa o local onde essa ligação se pode estabelecer entre uma cadeia alifática e um dos três grupos constituintes do aminoácido.

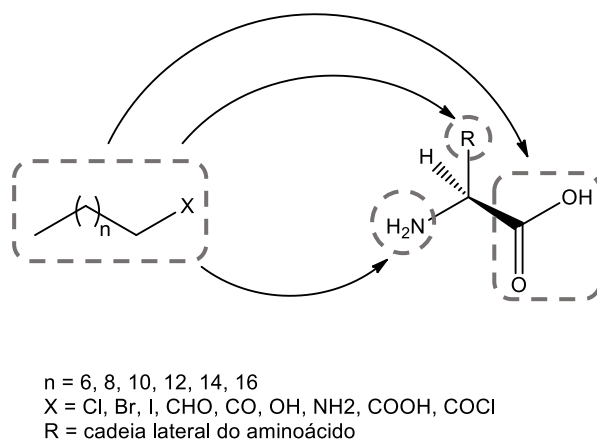


Figura 11- Grupos do aminoácido onde pode ser introduzida a cadeia alifática. (Adaptado de ¹⁷)

Existe uma variedade imensa deste tipo de compostos, uma vez que as cadeias alifáticas se podem ligar a três locais diferentes do aminoácido e o seu comprimento pode também variar, o que leva a alterações significativas nas propriedades físico-químicas e biológicas dos tensoativos resultantes.¹⁸

A síntese de tensoativos, tanto monoméricos como diméricos derivados de aminoácidos tem sido alvo de diversos estudos, podendo encontrar-se na literatura referências a tensoativos derivados de lisina, arginina, prolina, alanina, leucina, ácido aspártico, ácido glutâmico, fenilalanina, glicina e serina.¹⁸

O nosso grupo de investigação tem-se focado na síntese de novos tensoativos monoméricos baseados em serina, tirosina e 4-hidroxiprolina, com cadeias de diferentes comprimentos e no estudo das suas propriedades de micelização, do seu desempenho interfacial, entre outros, comparando com tensoativos convencionais.

No geral, os resultados obtidos nestes estudos indicaram que estes tensoativos não provocam impactos negativos na natureza, possuindo propriedades interfaciais melhoradas em comparação com os tensoativos convencionais.¹⁵ De entre os tensoativos estudados, os derivados de serina foram os que apresentaram o melhor perfil físico-químico, toxicológico (toxicidade aquática) e atividade hemolítica.

Assim, foram sintetizadas três séries de tensoativos gemini derivados do aminoácido serina, contendo ligações amida, amina e éster aos espaçadores, como se pode observar pela figura 12. Os dados retirados das análises da tensão superficial, indicaram que estes tensoativos apresentam propriedades interfaciais melhoradas em relação aos homólogos *bis*-Quats e aos correspondentes tensoativos monoméricos.

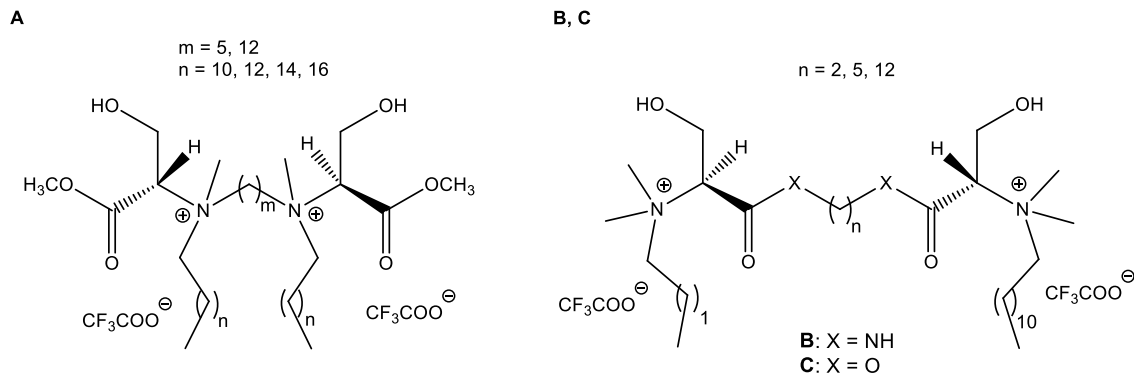


Figura 12- Representação estrutural de tensoativos gemini derivados de serina: A- série amina; B- série amida; C- série éster. (Adaptado de ^{10,14})

A natureza das ligações dos espaçadores, sendo amina, amida ou éster, não tem efeito significativo, quando o número de grupos metileno no espaçador é de dois ou de cinco, no que diz respeito às propriedades superficiais e de agregação do tensoativo. Apesar disso, aqueles que contêm amida e éster, agregam-se segundo estruturas em bicamada em vez de se agregarem na forma de micelas.¹⁰

No que se refere à citotoxicidade, estes tensoativos baseados em serina, são menos tóxicos que os convencionais *bis*-Quats e tensoativos monoméricos homólogos. Verificou-se que a toxicidade depende do comprimento da cadeia do tensoativo e do tipo de ligação espaçador-cabeça polar.¹⁰

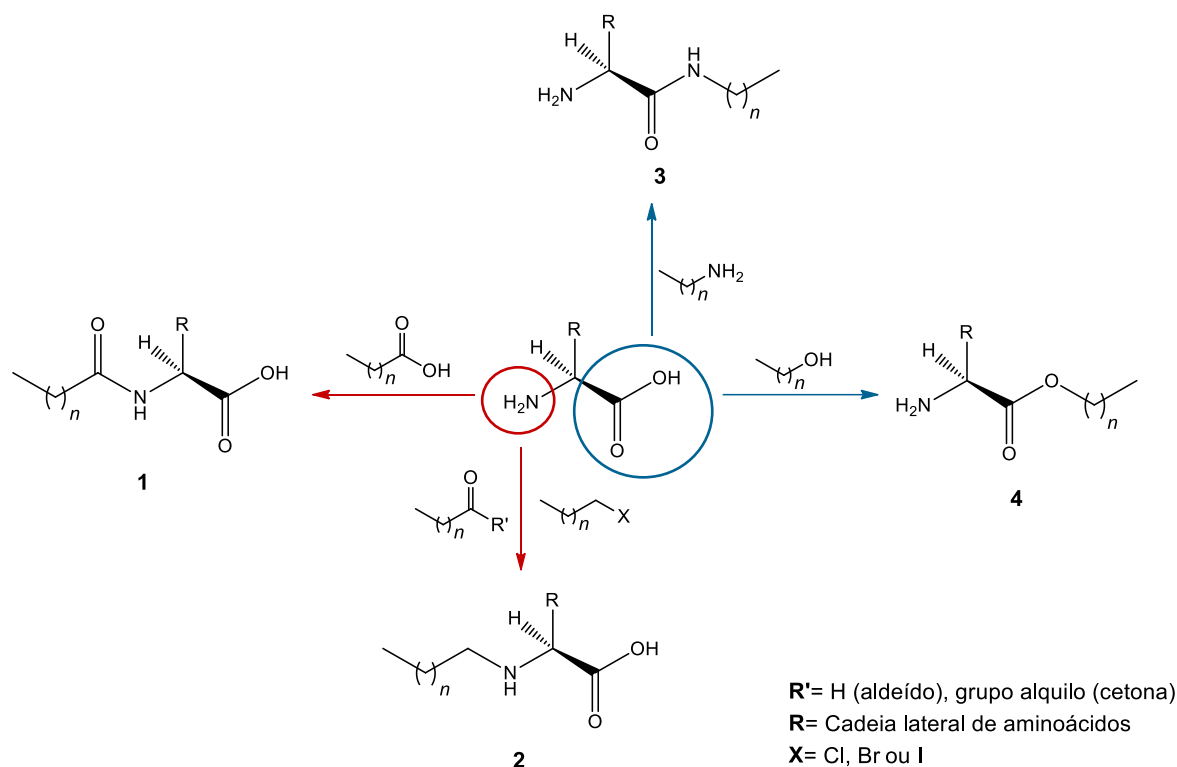
O facto destes tensoativos serem capazes de se agregar a concentrações mais baixas, possibilita a sua utilização em menor quantidade, o que leva também a valores de toxicidade mais baixos.

De entre as várias substâncias catiónicas, os tensoativos catiónicos derivados de aminoácidos têm sido utilizados com elevado sucesso na transfeção de genes, devido à sua biocompatibilidade e baixa citotoxicidade. Além disso, o facto destes tensoativos se conjugarem com a membrana dos lipossomas, aumenta a eficácia de transfeção.^{19,20}

Metodologias de síntese

Como referido anteriormente, a cadeia alifática pode-se ligar ao aminoácido por diferentes tipos de ligações e em diferentes locais da molécula, sendo que as ligações mais usuais são estabelecidas no grupo α -amino ou no grupo α -carboxilo. No esquema 1 estão representadas algumas metodologias de síntese para tensoativos derivados de aminoácidos. Sendo assim, ácidos gordos, halogenetos de alquilo (S_N2) ou cetonas/aldeídos (aminação redutiva) podem reagir com o grupo α -amino, dando origem

aos respetivos derivados de *N*-acilo (**1**) e *N*-alquilo (**2**). Como alternativa, o grupo α -carboxilo pode sofrer condensação com alquil-aminas ou álcoois alifáticos para formar amidas (**3**) e ésteres (**4**) *O*-alquílicos, respetivamente.^{16,21,4}



Esquema 1- Metodologias de síntese de tensoativos derivados do aminoácido serina.^{16,4}

As reações de condensação são geralmente realizadas na presença de um agente de acoplamento para garantir a formação da ligação amida/éster. Embora os agentes de acoplamento fossem inicialmente usados em síntese peptídica, o bom desempenho que apresentavam levou a que o seu uso fosse alargado à síntese orgânica tradicional. Os primeiros agentes de acoplamento usados foram as carbodiimidias, como é o caso da DCC. No entanto, como na maioria das reações eram observadas racemizações e formação de *N*-acilureias (não reativas), o seu uso passou a ser menos frequente. Surgiram então novos agentes de acoplamento, baseados em sais de fósforo e urónio.²²

O hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetil-amino)fósforo (BOP) é bastante utilizado como agente de acoplamento na síntese peptídica, uma vez que é fácil de manusear, promovendo um acoplamento rápido. No entanto, apresenta uma desvantagem, que é o facto de formar um composto secundário bastante tóxico, a HMPA, hexametilfosforotriamida. Assim, para evitar a formação desse produto, foi desenvolvida uma estrutura a partir do BOP, designada por hexafluorofosfato de

(benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfônio (PyBOP), que substitui o grupo dimetilamino do BOP por pirrolidino (figura 13).^{23,24}

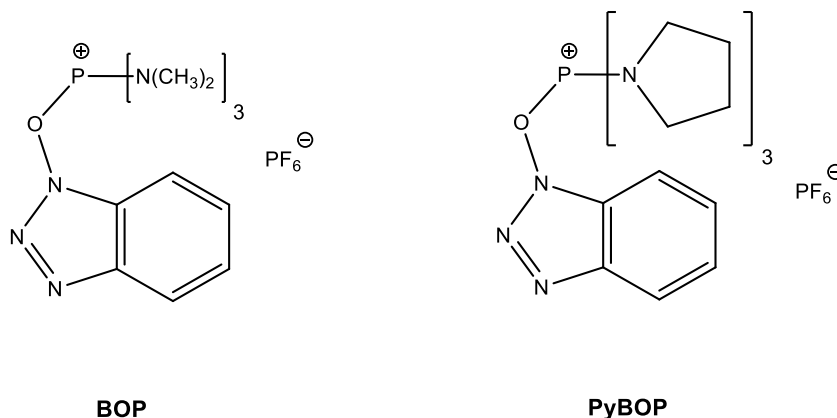


Figura 13 - Estrutura química do BOP e do PyBOP.

Outro reagente que mostrou bastante sucesso no acoplamento foi o tetrafluoroborato de *O*-benzotriazoliltetrametilurônio, TBTU (figura 14).²⁵

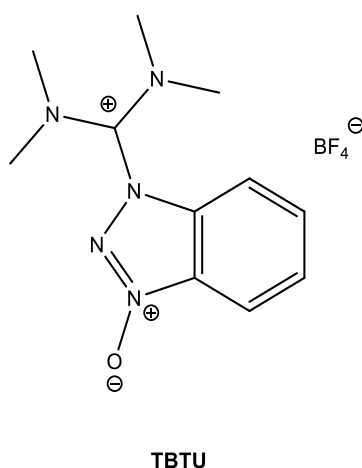


Figura 14 - Estrutura química do TBTU.

A escolha do agente de acoplamento para determinada reação tem que ser feita experimentalmente, já que se verificou que estes compostos não apresentam um padrão genérico de reatividade à ligação que se pretende formar.⁴

O TBTU foi o agente de acoplamento escolhido para realizar as reações de condensação referidas nesta dissertação.

As estruturas representadas no esquema 1 podem também ser convertidas em tensoativos iônicos, como é o caso dos tensoativos monoméricos catiónicos que foram sintetizados neste projeto. Assim, estes podem ser obtidos por metilação do grupo α -

amino com um agente alquilante. Enquanto os tensoativos monoméricos aniônicos podem ser obtidos por saponificação, a partir de ésteres formando-se carboxilatos. Para além disso, ainda é possível obter tensoativos zwitteriônicos a partir dos tensoativos **2.**¹⁶

Na realização da aminação reductiva a partir de aldeídos gordos para obter derivados de *N*-alquilo, ocorre inicialmente a formação prévia da imina, seguida pela adição do agente redutor. Os agentes redutores normalmente utilizados neste tipo de reação são o cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN), tetrahidroborato de sódio (NaBH_4) e o triacetoxiborohidreto de sódio ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$).⁴

Como na síntese destes compostos se introduzem vários grupos funcionais, na maioria dos casos é necessário proteger inicialmente, ou durante a síntese, um determinado grupo funcional para que o grupo que se pretende introduzir não reaja no local indesejado. Após a introdução de todos os grupos e visto que já não há o risco de formação de compostos indesejados, é necessário remover o grupo protetor de modo a obter-se o composto final desejado. Na tabela 1 apresentam-se alguns dos grupos protetores utilizados para proteger álcoois, ácidos carboxílicos, grupos carbonilo e aminas e a forma de remoção desses mesmos grupos.²⁶

Tabela 1 - Alguns grupos protetores usados para proteger álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e aminas. (Adaptado de ²⁶)

Grupo a proteger	Reagente para a introdução do grupo protetor	Condições de estabilidade	Remoção
Hidroxilo	Anidrido acético	Oxidação Hidrogenação	NaOH H_3O^+ /calor
	Cloreto de trimetilacetilo	Oxidação Meio alcalino Hidrogenação	H_3O^+ /calor
	Halogeneto de trialquilsilano (R_3SiCl)	Oxidação Redução Meio alcalino Hidrogenação	Fluoretos em meio ácido forte

Carboxilo	<i>Terc</i> -butanol	Oxidação Meio alcalino suave Hidrogenação	H ₃ O ⁺ /calor
	Metanol	Oxidação Hidrogenação Meios ácidos sem aquecimento	NaOH H ₃ O ⁺ /calor
Carbonilo (aldeídos e cetonas)	Etilenoglicol	Oxidação Redução Meio alcalino	H ₃ O ⁺ /calor
	Etano-1,2-ditiol	Oxidação Redução Meio alcalino Meio ácido suave	Hg ²⁺ /H ₃ O ⁺ /calor
Amino	Anidrido acético	Oxidação Hidrogenação Meio aquoso ácido ou alcalino suave	NaOH /calor H ₃ O ⁺ /calor
	Cl-Boc	Oxidação Meio alcalino Hidrogenação	Ácido trifluoracético H ₃ O ⁺ /calor
	Cl-Fmoc	Oxidação Hidrogenação Meio aquoso ácido ou alcalino suave	Piperidina Hidrazina

1.2 Veiculação de fármacos

Um fármaco é considerado uma substância química usada no tratamento, cura, prevenção ou diagnóstico de uma doença, podendo também ser usada para melhorar o bem-estar físico ou mental. Esta substância apresenta uma estrutura química definida e um mecanismo de ação. Assim, a eficiência de um fármaco depende da dose com que é administrado, podendo provocar muitas vezes efeitos secundários indesejados ao ser humano.

Foram desenvolvidas estratégias para o tratamento de uma variedade de doenças que requerem a entrega eficaz do fármaco para o citosol ou núcleo das células alvo, evitando que este provoque efeitos secundários indesejados ou seja degradado antes de atingir a célula alvo. Desta forma, são utilizados compostos que formam vesículas e têm como função encapsular o fármaco, protegendo-o e transportando-o até ao seu destino.¹⁹

O método de veiculação confere proteção ao fármaco, possibilitando que sejam utilizadas concentrações mais baixas do fármaco. Desta forma, os efeitos de toxicidade do fármaco são minimizados e a sua eficácia é aumentada.

1.3 Funcionalização molecular

Ultimamente tem havido um interesse acrescido no que diz respeito à síntese de novas moléculas a partir da lipofilização de compostos fenólicos com ácidos gordos, tendo estas capacidades melhoradas como antioxidantes para serem utilizados na área alimentar e terapêutica, em comparação com os compostos originais, pois apresentam as características benéficas de ambos os compostos que lhes deram origem.

Assim, é possível produzir moléculas híbridas com atividade biológica significativa pela combinação de duas moléculas biologicamente ativas e naturais.^{27,28}

1.3.1 Funcionalização de tensioativos

Os lipossomas derivados de lípidos são portadores universais de muitas substâncias terapêuticas, devido à estrutura anfipática que apresentam. No entanto, devido à sua instabilidade coloidal e biológica torna-se necessário desenvolver tensioativos mais eficientes. Uma hipótese, consiste em adicionar aos tensioativos polietilenoglicóis que se ligam às cabeças hidrofílicas dos tensioativos que constituem os lipossomas, por interações não covalentes, aumentando desse modo o tempo de vida do lipossoma no sangue. Desta forma, a entrega do fármaco é mais eficaz, pois a estrutura longa e flexível dos derivados de polioxietileno forma uma camada protetora à volta do lipossoma e evita a sua degradação precoce no organismo.²⁹

Por outro lado para tornar os lipossomas mais eficazes em aplicações biomédicas, poderá funcionalizar-se os tensioativos com grupos/moléculas que lhes confirmam uma atividade biológica específica bem como estabilidade coloidal, permitindo que seja entregue uma quantidade considerável do fármaco à célula alvo.³⁰

A funcionalização com ácido fólico é uma forma de funcionalização de tensioativos. Tal como demonstra a figura 15, o ácido fólico é reconhecido por recetores específicos nas membranas das células alvo, o que permite controlar o destino do lipossoma, enviando-o para as células malignas.³¹

Apesar de terem sido demonstrados exemplos de funcionalização de lipossomas à superfície, esta também pode acontecer no interior dos lipossomas ou no interior da dupla camada de tensioativos, ou seja, na zona hidrofóbica.

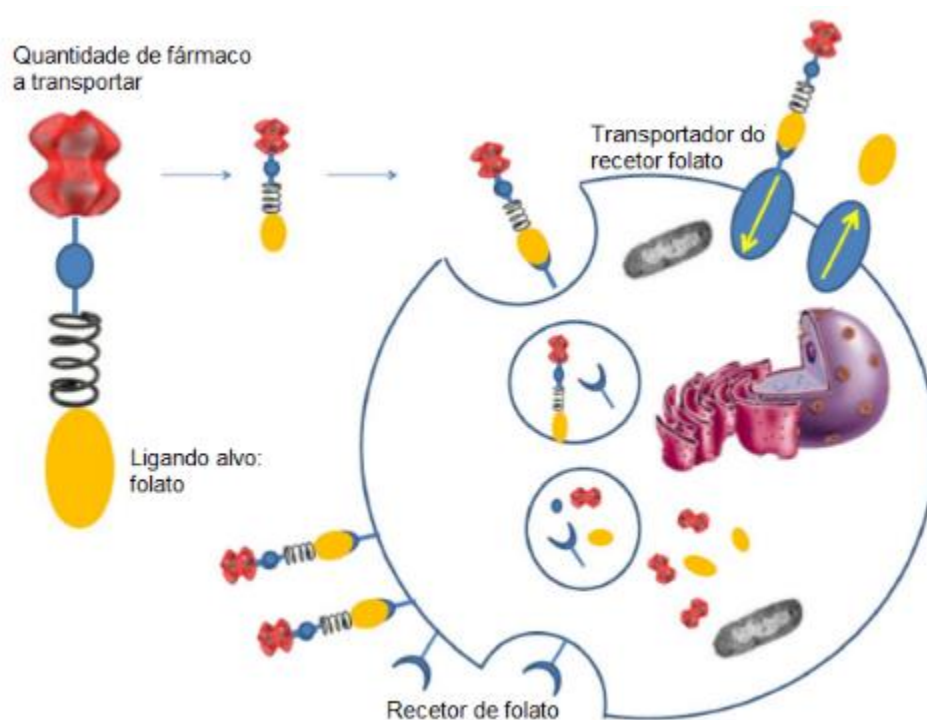


Figura 15- Processo de reconhecimento do ácido fólico por parte da célula-alvo.³²

1.3.2 Funcionalização com ácido lipóico

O ácido lipóico ou ácido 1,2-ditiolan-3-il-5-pentanóico (LA) é um antioxidante natural no nosso organismo e possui um carbono quiral ligado a um dos átomos de enxofre, existindo desta forma ambos os enantiômeros *R* ou *S*. Assim, o ácido lipóico sintetizado é constituído pela mistura racémica do par de enantiômeros. No entanto, a forma natural deste antioxidante no organismo é o enantiômero *R*, apresentando este melhor biodisponibilidade do que o enantiômero *S*.^{33,34} A figura 16 pretende demonstrar a estrutura química do ácido lipóico.

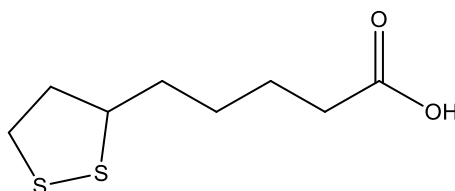


Figura 16- Estrutura química do ácido α - lipóico.

Normalmente o ácido α -lipóico está presente em alimentos, embora em quantidades muito pequenas. No organismo, o LA aparece sob a forma de lipoamida, por conjugação com diferentes proteínas, e atua como co-enzima em complexos

multienzimáticos envolvidos no metabolismo de energia, que ocorre nas mitocôndrias. O ácido dihidrolipóico (DHHLA) é a forma reduzida do LA e juntos formam um par redox, proporcionando um papel importante como antioxidantes biológicos capturando ROS (espécies reativas de oxigênio). Este par redox é também fundamental no que toca à restauração do nível intracelular de glutathiona. O DHHLA isolado tem a capacidade de regenerar níveis reduzidos de antioxidantes, como tocoferóis e vitamina C.³⁵ A figura 17 demonstra a estrutura química das diferentes formas em que o ácido α -lipóico pode ser encontrado no nosso organismo.

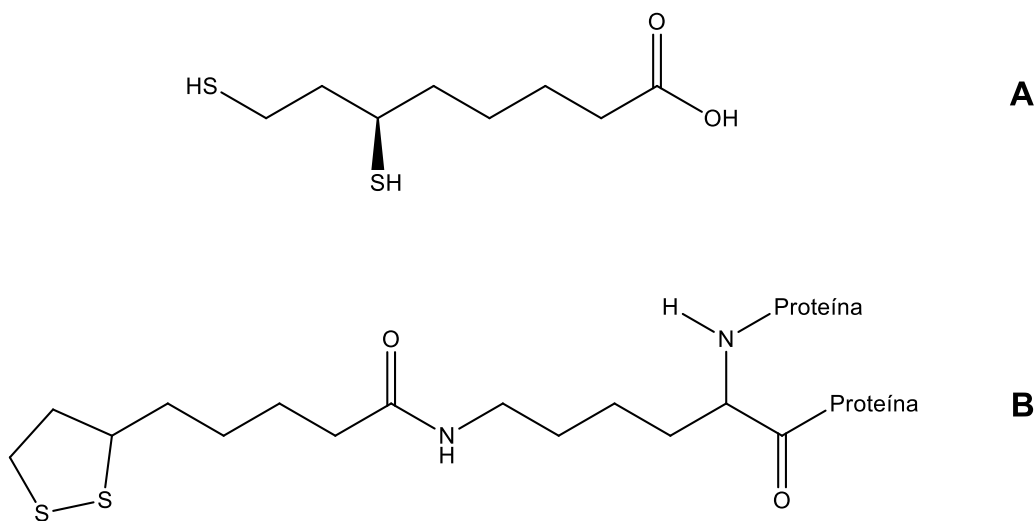


Figura 17- Estrutura Química das formas em que o ácido α - lipóico pode ser encontrado no organismo: A- DHHLA; B- lipoamida.

Como referido anteriormente, este antioxidante é visto como ideal, pois é ativo tanto em meios hidrofílicos como hidrofóbicos, sendo assim é encontrado em ambientes intra e extracelulares. Devido a esta versatilidade por parte do ácido α -lipóico, este é considerado como “antioxidante universal”.

O ácido lipóico é aplicado para o tratamento de várias doenças, tais como a aterosclerose, trombose, diabetes, danos provenientes de radiações, infecção por HIV, neurodegeneração, sendo também usado como suplemento dietético.²⁷

A síntese de moléculas híbridas em que um dos compostos é o ácido lipóico, também proporciona a obtenção de conjugados multifuncionais, sendo o seu efeito terapêutico superior ao efeito apresentado pelo ácido lipóico isolado.²⁷

A síntese de análogos de LA condensados com aminoácidos, com atividade cardioprotetora é um exemplo de síntese de moléculas híbridas com LA. Assim, estudos realizados a este nível demonstraram que a potência destes compostos era maior

quando se utilizava o enantiômero *R*, em alternativa ao enantiômero *S* ou à mistura racémica. A partir daí, verificou-se que utilizando o enantiômero *R* do ácido lipóico e acoplando aminoácidos naturais e não naturais, a potência destes compostos dependia da força do ácido que estes possuíam. Assim, adutos de LA com grupos alquila lineares e ácidos, como o carboxílico, sulfúrico e fosfórico apresentavam maior eficácia, e adutos alquila lineares demonstraram ser ainda mais eficazes do que os seus respetivos adutos arilo. Verificou-se ainda que quando estes compostos apresentavam mais do que uma função ácida também eram mais eficientes.^{36,37} A figura 18 demonstra alguns dos compostos referidos anteriormente.

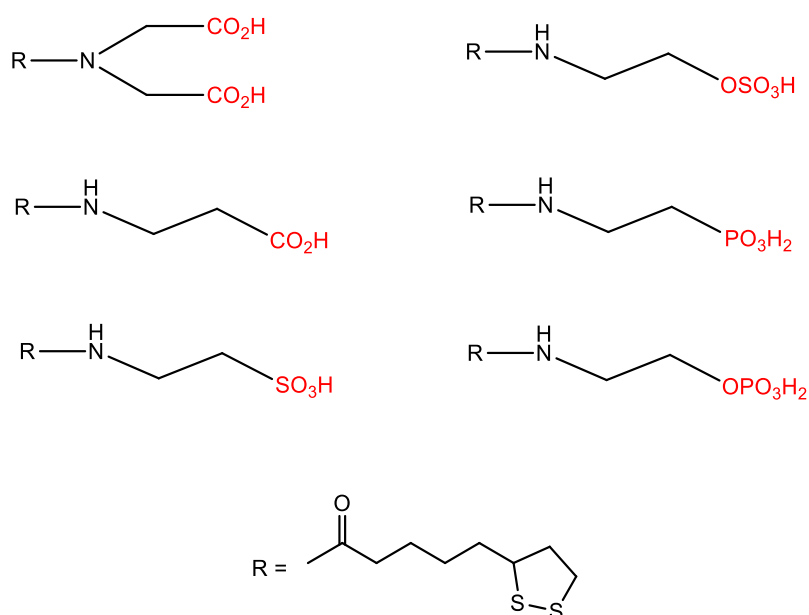


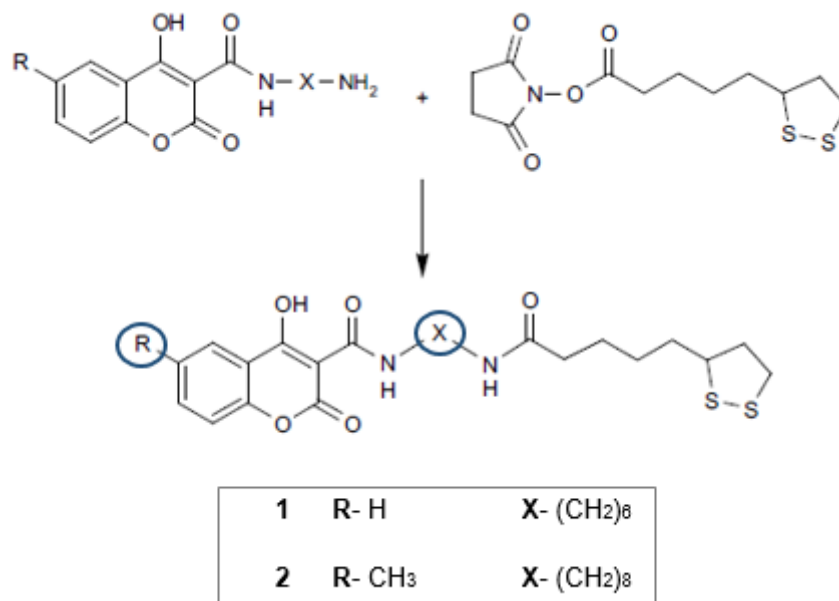
Figura 18- Representação de alguns derivados de LA com atividade cardioprotetora. (Adaptado de ³⁶)

Um fator de risco para o acidente vascular cerebral é a hipertensão arterial, também relacionada com a esperança média de vida reduzida. Assim, foram realizados estudos em ratos, de modo a compreender de que modo os derivados de LA influenciavam esse risco. Verificou-se que o uso de LA para tratar a hipertensão, faz aumentar os níveis de glutathione nos tecidos. Portanto, clinicamente foi possível concluir que estes compostos permitem diminuir a pressão sistólica em pacientes com pressão sanguínea elevada.³⁸

Foram ainda realizados estudos com conjugados de LA com cumarinas. Farmacologicamente as cumarinas são flavonóides e apresentam bastante interesse neste tipo de estudo, uma vez que apresentam efeitos benéficos para a saúde humana.

Tais efeitos referem-se à atividade anticoagulante, antibacteriana, anticancerígena, anti-inflamatória e antioxidante.³⁷

Assim, estes estudos realizados, envolveram a atividade anti-inflamatória *in vivo* e antioxidante *in vitro*. Relativamente ao primeiro estudo (*in vivo*), este indicou que os compostos **1** e **2** apresentados no esquema 2 eram os que apresentavam uma maior atividade do que o ácido lipóico isolado. Além disso, mesmo baixando as concentrações dos compostos, verificava-se também que o seu poder na inibição da inflamação se mantinha.³⁶



Esquema 2 - Híbridos de ácido α -lipóico conjugados com cumarinas, com potencial atividade anti-inflamatória. (Adaptado de ³⁷)

Relativamente ao segundo estudo, era esperado que os compostos com propriedades antioxidantes demonstrassem proteção para o aparecimento da artrite reumatoide e inflamação. Assim, testaram-se os híbridos em termos de propriedades antioxidantes em comparação com antioxidantes comuns, como o *Trolox*. Os resultados obtidos neste estudo indicaram também que os compostos presentes no esquema 2 (**1** e **2**) apresentavam atividade antioxidante.

Devido às propriedades tanto anti-inflamatórias como antioxidantes destes compostos híbridos, tem sido cada vez mais do interesse dos investigadores, explorarem de forma mais aprofundada estas moléculas.

A proteção contra a morte celular apoptótica mediada por fármacos, contendo ácido α -lipóico tem sido também de grande interesse no estudo destes compostos

antioxidantes (1 e 2). O ácido lipóico uma vez que possui, como referido anteriormente, atividade tanto em meio hidrofílico como lipofílico, e em ambientes intra e extracelulares, tanto na forma oxidada como reduzida, faz com que seja uma molécula com potencial para realizar essa proteção farmacológica.

1.4 Estudo das propriedades físico-químicas de tensoativos

A fim de se avaliar as propriedades físico-químicas dos tensoativos, é comum o uso de técnicas bem conhecidas na química física de colóides e interfaces, tais como a tensiometria, a condutimetria, a microcalorimetria e as espectroscopias de UV-Vis e RMN.

Recorre-se habitualmente à tensiometria para a determinação das propriedades de micelização e atividade superficial. Assim, de seguida apresenta-se uma abordagem para a técnica de tensiometria que foi utilizada para realizar a caracterização físico-química dos tensoativos sintetizados.

- **Tensiometria**

A concentração micelar crítica (*cmc*) de um tensoativo pode ser determinada pela medição da tensão superficial (γ) da solução em função do aumento da concentração de tensoativo. Como a adição de tensoativo aumenta a quantidade de unímeros em solução, as moléculas de tensoativo têm tendência a acumular na superfície por adsorção, diminuindo a tensão superficial até uma determinada concentração (*cmc*). Normalmente, a partir deste valor não se verificam alterações significativas no valor da tensão superficial, atingindo-se um patamar constante designado de *plateau*.³⁹

Uma vez determinados os valores da tensão superficial e da concentração que se vai adicionando de tensoativo, é possível construir um gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração ($\ln(c)$). Deste modo, obtém-se uma curva, que permite a determinação da *cmc*, por interseção das retas obtidas por ajuste linear correspondente aos dois declives antes e após a *cmc*.

Com os valores obtidos da tensão superficial, podem ser calculados, para além da *cmc*, outros parâmetros importantes para o estudo das propriedades físico-químicas de tensoativos, tais como o valor da concentração superficial de excesso máxima ($\Gamma_{m\acute{a}x}$) e a área mínima superficial por molécula de tensoativo (a_s). Desta forma, estes dois valores podem ser obtidos segundo as duas equações apresentadas de seguida:

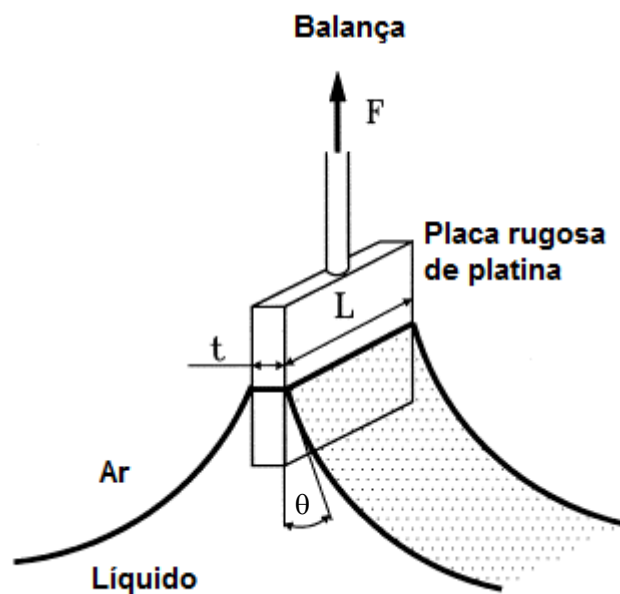
$$\Gamma_{m\acute{a}x} = -\frac{1}{nRT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln(c)} \right)_{p,T} \quad (4)$$

$$a_s = \frac{1}{N_A \Gamma_{m\acute{a}x}} \quad (5)$$

onde na primeira equação (isotérmica de adsorção de Gibbs), R é a constante dos gases ideais, T é a temperatura absoluta, c é a concentração molal ($\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) e n é o número de espécies químicas na interface; na segunda equação, N_A refere-se à constante de Avogadro.

Normalmente, para se medir a tensão superficial, utiliza-se uma microbalança e uma placa designada de placa de Wilhelmy ou um anel designado por anel de Noüy, funcionando estes como sondas que são colocadas em contacto com a superfície. A placa de Wilhelmy é utilizada para efetuar medições em modo estático ou em modo de deslocamento, enquanto o anel de Noüy é utilizado apenas para medições em modo de deslocamento. Na medição estática, a placa mantém-se em contacto com o líquido durante toda a medição, já na medição em que ocorre deslocamento, a tensão superficial é medida por medição da força necessária para separar o anel ou a placa do contacto com a superfície.⁴⁰

Deste modo, a sonda ao entrar em contacto com o líquido fica molhada e faz com que o líquido adira à placa ou ao anel e suba por capilaridade, aumentando a área interfacial, e levando a uma força que puxa a sonda, ao longo do perímetro molhado, em direção ao plano da interface, como se pode observar pela figura 19.⁴⁰



F = Força, $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$

L = Comprimento de molhagem, mm

θ = ângulo de contacto (=0 na maioria dos líquidos)

Figura 19 - Ilustração esquemática do processo de medição da tensão superficial pelo método da placa de Wilhelmy. (Adaptado de ⁴⁰)

O método da placa e Wilhelmy foi o utilizado para realizar a tensiometria dos compostos sintetizados nesta dissertação, e sendo assim será abordado de forma mais aprofundada.

Método da placa de Wilhelmy

Neste método, como já referido, utiliza-se uma placa para medir a tensão superficial. Esta placa apresenta uma superfície rugosa para permitir uma boa adesão por parte do líquido, e é constituída por uma liga de platina-irídio ou simplesmente por platina. Esta placa apresenta uma boa resistência a ataques químicos e estabilidade mecânica e térmica.^{39,40}

A placa é colocada na microbalança numa posição fixa em relação à superfície horizontal do líquido e a força que atua verticalmente sobre o perímetro molhado da placa pelo menisco do líquido, é medida usando a microbalança, determinando-se desta forma a tensão superficial do líquido. Uma boa molhagem, no caso da água, garante que o ângulo de contacto seja próximo de 0° .⁴⁰

1.5 Âmbito da dissertação, objetivo e plano de trabalho

1.5.1 **Parte I** – Síntese Orgânica

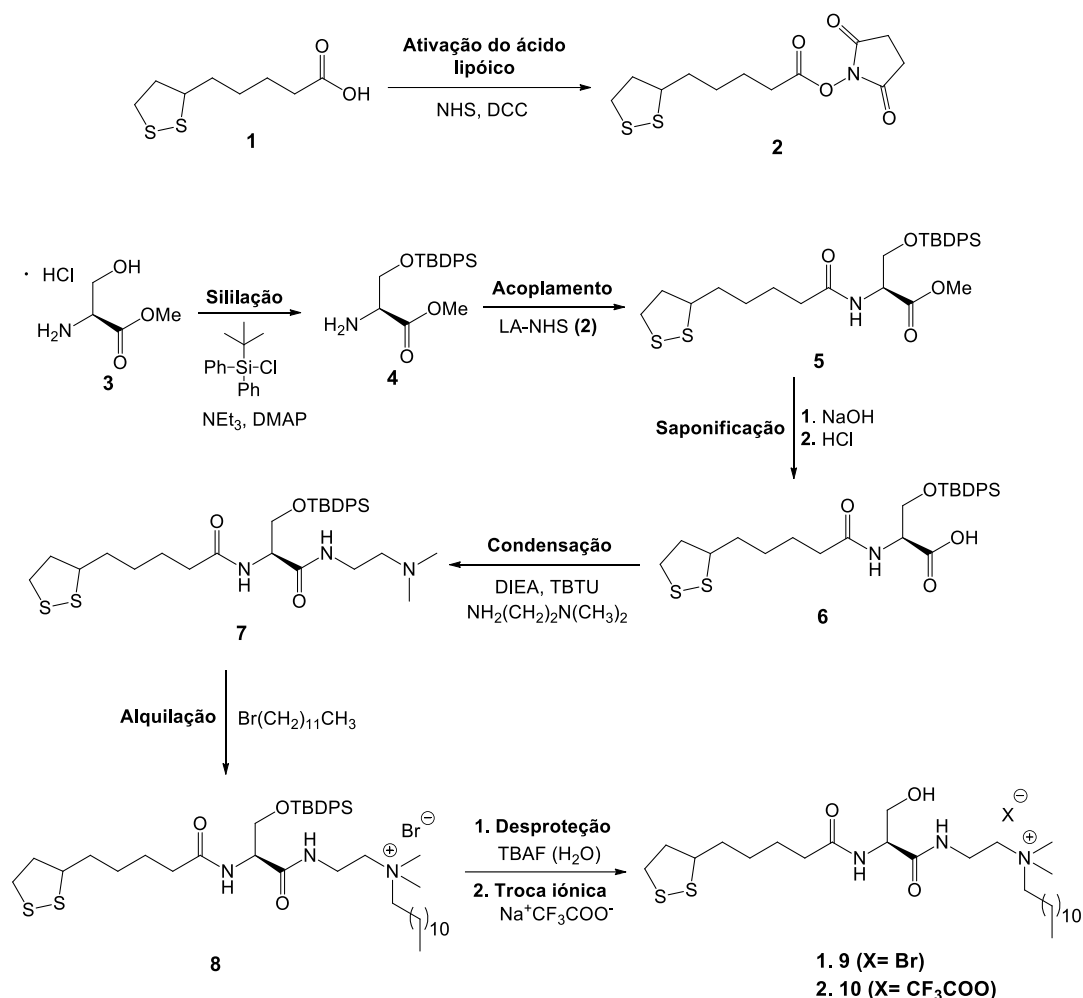
A presente dissertação foi realizada no âmbito do Mestrado em Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, seguindo um projeto de investigação dividido em duas partes.

A primeira foi realizada na área da Química Orgânica, tendo como objetivo a síntese de tensioativos funcionalizados derivados de aminoácidos e sua caracterização espectroscópica. Esta parte do trabalho, foi efetuada no laboratório do ORCHIDS no departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, sob orientação da Prof. Doutora Maria Luísa do Vale.

A síntese destes compostos foi proposta de modo a dar continuidade ao trabalho desenvolvido anteriormente pelo grupo de investigação, de forma a otimizar rendimentos dos passos reacionais dos intermediários para obtenção dos compostos finais. O presente projeto envolveu a síntese de dois conjugados da serina com ácido lipóico: o primeiro designado de LASerTFA e o segundo de SerLATFA.

Estes dois tensioativos diferem um do outro na posição em que o antioxidante foi introduzido.

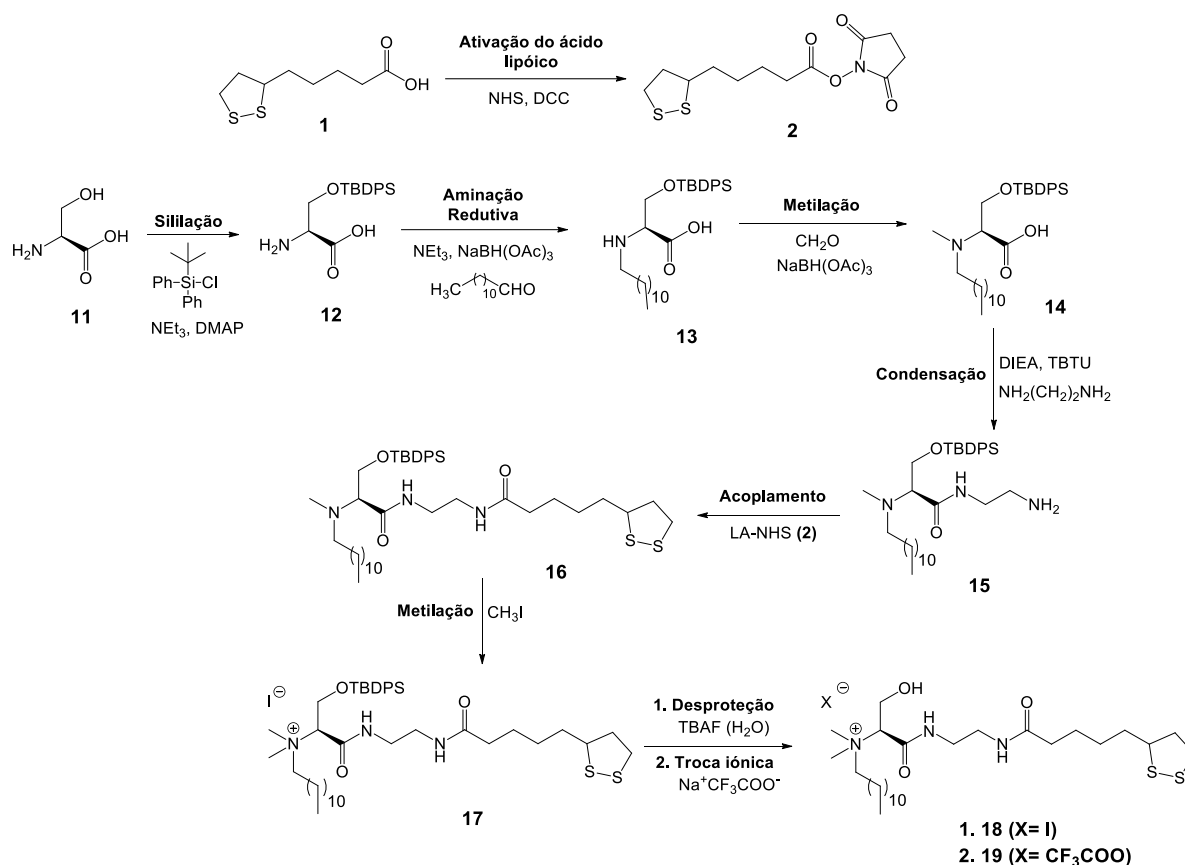
Estas sínteses envolveram reações já conhecidas, como é o caso das condensações, metilações, aminações redutivas e desproteções. O objetivo principal seria alterar as metodologias de síntese anteriormente usadas para a obtenção destes compostos, essencialmente no último passo reacional, a desproteção, de modo a que os rendimentos pudessem apresentar melhores resultados. O esquema 3 demonstra a rota sintética a seguir para a síntese do primeiro composto pretendido.



Esquema 3 - Síntese do tensoativo catiónico LASerTFA.

Nesta primeira rota sintética, inicialmente proteger-se-ia o grupo hidroxilo do aminoácido (**3**) de modo a que a introdução dos seguintes grupos funcionais no aminoácido não pudesse acontecer nesse local, evitando produtos secundários indesejados. De seguida proceder-se-ia então à funcionalização do aminoácido protegido (**4**) com o ácido α -lipóico previamente ativado (**2**), no grupo α -amino. De seguida realizar-se-ia uma saponificação, ou seja, hidrólise alcalina seguida de acidificação do composto **5**, obtendo-se o respetivo ácido carboxílico (**6**). O composto **6** seria condensado com uma diamina, usando como agente de acoplamento o TBTU, tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurónio, formando o precursor monomérico **7**, que posteriormente seria alquilado com bromododecano, de modo a se obter o tensoativo monomérico catiónico (**8**). Após remoção do grupo protetor (TBDPS) e troca do contraíão, obter-se-ia o composto final pretendido (**10**).

No esquema 4 está apresentada a rota sintética para obtenção do segundo produto pretendido (**19**).



Esquema 4 - Síntese do tensoativo catiónico SerLATFA.

Inicialmente, proceder-se-ia também à proteção do grupo hidroxilo do aminoácido com TBDPSCl. De seguida far-se-ia a introdução da cadeia alquílica e do grupo metilo por aaminação redutiva de modo a obter **14**. A condensação de **14** com uma diamina, usando TBTU como agente de acoplamento, originaria o tensoativo monomérico **15**, que por reação com o ácido α -lipóico previamente ativado originaria o tensoativo monomérico funcionalizado (**16**). A metilação com iodometano levaria à formação do precursor **17**, que após desproteção e troca iónica originaria o tensoativo final pretendido (**19**).

Como referido anteriormente estes dois compostos diferem apenas na posição em que se introduz o LA, pretendendo-se averiguar qual a influência desta alteração nas propriedades físico-químicas dos compostos.

1.5.2 **Parte II** - Avaliação físico-química

A segunda parte desta dissertação foi realizada na área da Química Física, no laboratório do CIQ no departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, sob orientação do Prof. Doutor Eduardo Figueira Marques. Teve como objetivo a avaliação das propriedades físico-químicas dos compostos sintetizados, uma vez que estas ainda não tinham sido realizadas.

A avaliação físico-química dos tensioativos sintetizados envolveu uma técnica bastante utilizada em química-física, a tensiometria, para avaliar as propriedades de micelização e atividade da superfície destes compostos.

Nos capítulos 2 e 3 são apresentados os resultados obtidos nessas medições e o procedimento utilizado para o uso desta técnica, respetivamente.

2 Resultados Obtidos e Discussão

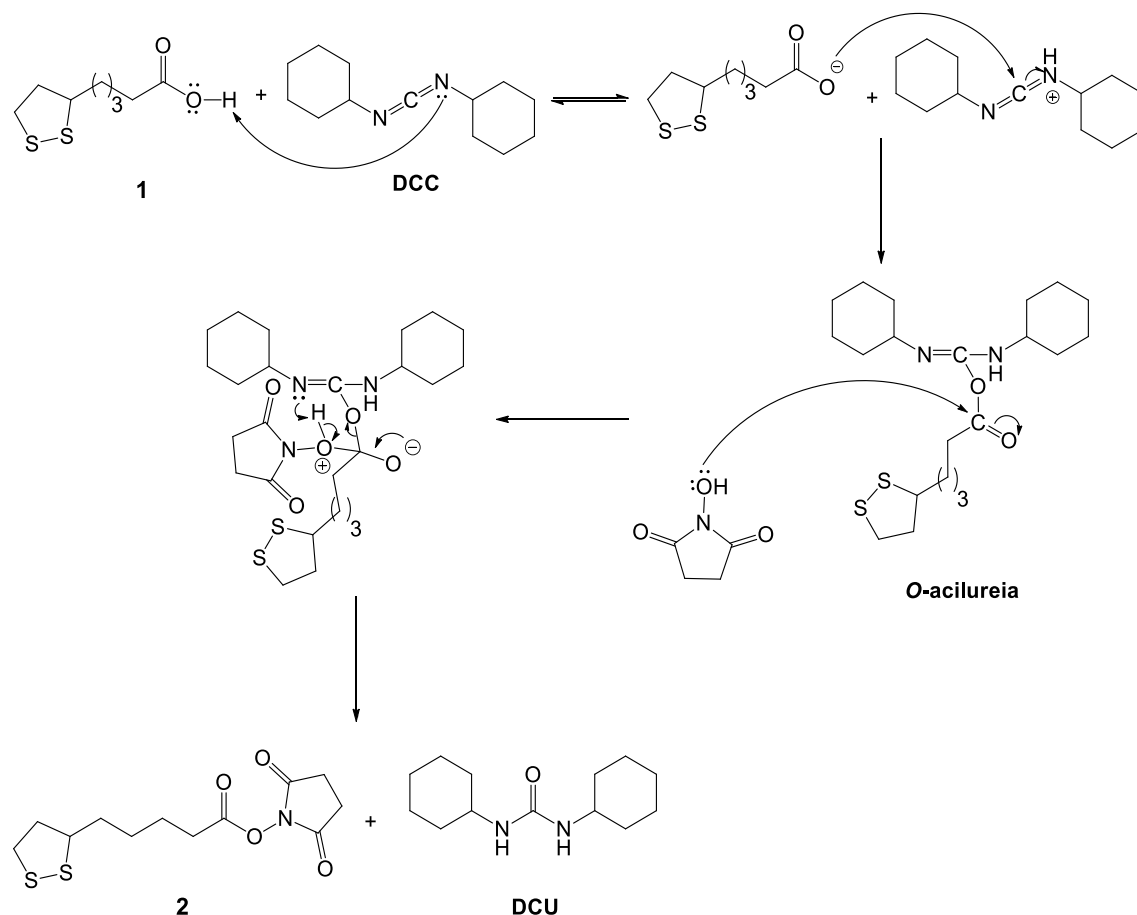
Parte I – Síntese Orgânica

2.1 Pré-ativação do ácido α -lipóico (2)

Existem vários métodos para sintetizar ésteres a partir de ácidos carboxílicos e álcoois. No entanto, como o ácido carboxílico não é um grupo muito reativo, os rendimentos são bastante baixos. Deste modo, o procedimento mais comum é formar ésteres a partir de halogenetos de alcanoílo dos respectivos ácidos carboxílicos, sendo estes mais reativos, conseguindo o álcool deste modo atacar o grupo carbonilo, obtendo-se rendimentos mais elevados. De forma a melhorar estes procedimentos, foram desenvolvidos novos métodos envolvendo carbodiimidas, como é o caso da DCC. Esta tem sido o agente de acoplamento mais importante para ativar ácidos carboxílicos desde 1955, uma vez que é eficaz e apresenta baixo custo.^{41,42}

Na pré-ativação do ácido lipóico usou-se a DCC para a formação do éster benzotriazolílico. Assim, o primeiro passo desta síntese envolveu a reação do ácido carboxílico com a DCC para formar um intermediário, a *O*-acilureia ativa. No segundo passo, a NHS reage com a ureia formada no passo anterior, originando o ácido lipóico ativado. Esta reação de condensação tem como consequência a formação de um co-produto, a dicitlohexilureia, DCU, que normalmente é insolúvel na maior parte dos solventes orgânicos, o que faz com que possa ser removida por filtração.^{41,42}

No esquema 5 demonstra-se o mecanismo reacional da ativação do ácido lipóico com NHS na presença de DCC.



Esquema 5 - Mecanismo reacional para a ativação do ácido α -lipóico por condensação, usando DCC como agente de acoplamento.

O procedimento foi realizado seguindo o descrito na literatura.^{43,44}

Observou-se que no decorrer da reação se formou um precipitado branco, a DCU, que se removeu por filtração sob pressão reduzida. Efetuaram-se lavagens com AcOEt, uma vez que este co-produto é insolúvel neste solvente e o produto pretendido é solúvel, permitindo que se consiga isolar a DCU. Evaporou-se o solvente do filtrado e obteve-se um óleo amarelo que foi de seguida cristalizado de modo a se obterem cristais amarelos que correspondiam ao composto pretendido (**2**).

Após filtrar os cristais formados, lavaram-se estes com uma mistura de solventes, AcOEt/Hex na proporção 1:1. No entanto, as reações onde se lavaram os cristais com esta mistura de solventes apresentaram um rendimento mais baixo do que as restantes, em que se usou apenas hexano. Tal acontece, porque o ácido α -lipóico ativado é solúvel em AcOEt e não em Hex, podendo parte deste composto passar para as águas-mãe durante a filtração. Deste modo, nas seguintes reações lavaram-se os cristais somente com Hex, uma vez que as impurezas são solúveis neste solvente ao contrário do que acontece com o composto pretendido.

O facto da impureza, DCU, poder ser removida por filtração, evita que o composto tenha de ser sujeito a uma coluna cromatográfica.

A caracterização espectroscópica deste composto por RMN ^1H encontra-se na figura 20, onde se conseguem identificar facilmente todos os picos. Inicialmente observamos os picos dos prótons mais desprotegidos do composto **2**, o pico relativo ao grupo $-\text{CH}_2-$ ligado ao átomo de enxofre e o pico do próton ligado ao carbono quiral, $-\text{CH}-$, a 3,13 e 3,57 ppm respetivamente. Os 4 prótons relativos ao anel pirrolidínico da NHS, originam um singleto largo com um desvio químico de 2,83 ppm. O tripleto a 2,62 ppm corresponde ao $-\text{CH}_2-$ ligado ao grupo carbonilo do LA. Verificam-se ainda os sinais a 2,46 e a 1,93 ppm desdobrados em dois multipletos, referentes aos prótons diastereotópicos do grupo $-\text{CH}_2-$ ligado ao carbono quiral da molécula, pertencentes ao anel de ditiolano. Por fim, os outros três picos encontrados a desvios químicos menores representam os prótons dos grupos $-\text{CH}_2-$ pertencentes à cadeia da molécula de LA.

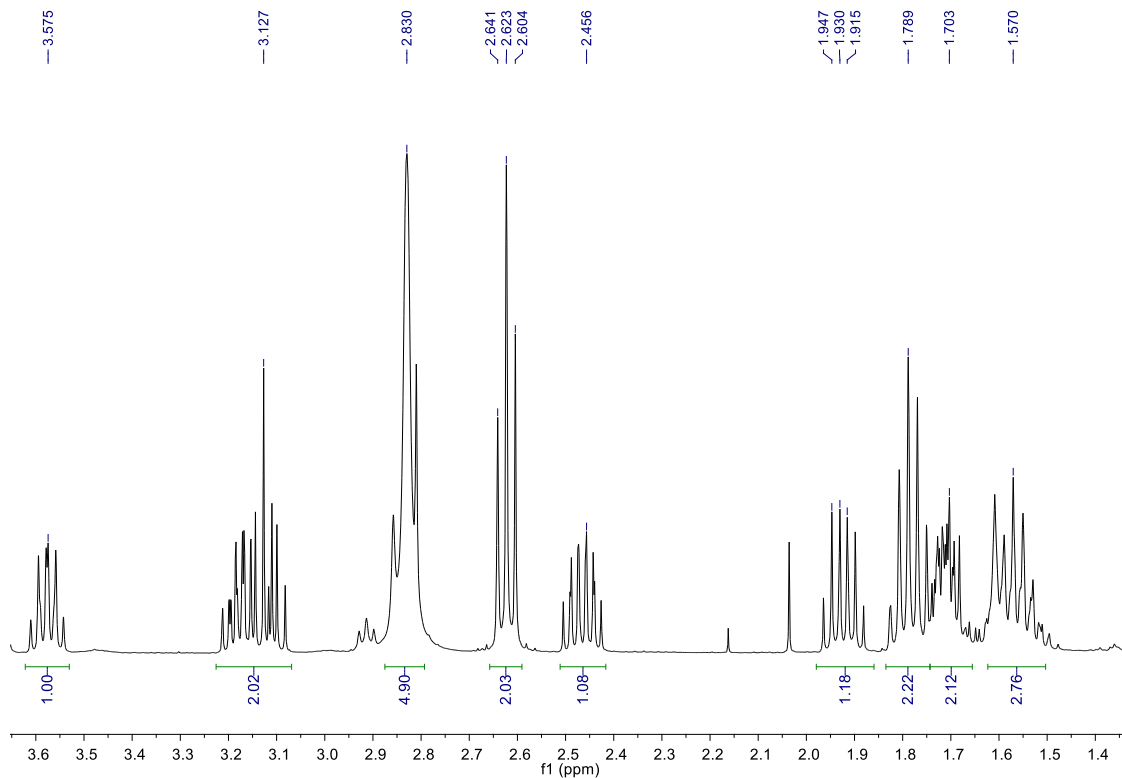


Figura 20- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3) relativo ao composto **2**.

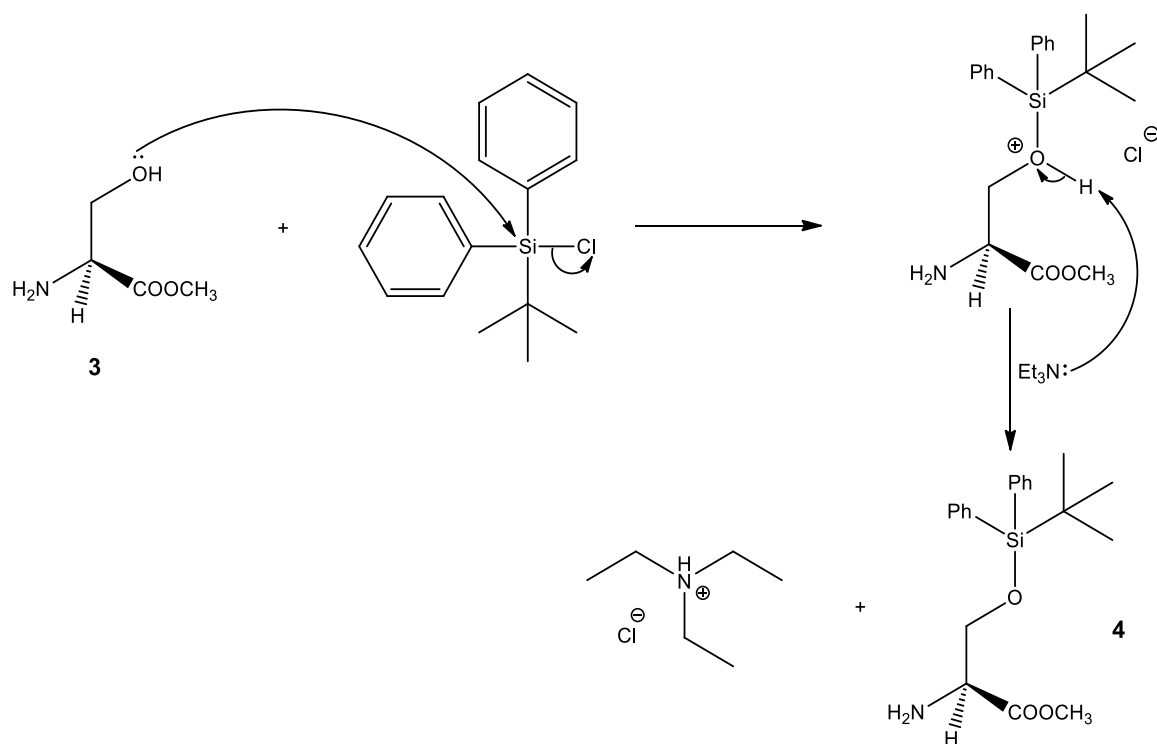
2.2 Obtenção do composto **10**

2.2.1 Sililação do serinato de metilo (**3**)

A maior parte dos compostos orgânicos apresenta na sua constituição vários grupos funcionais, permitindo realizar uma vasta gama de reações de maneira a obter um grande número de compostos. Desta forma, torna-se por vezes necessário proteger um determinado grupo funcional para ser possível efetuar a transformação desejada.⁴⁵

No presente trabalho foi necessário efetuar a proteção do grupo hidroxilo da serina por forma a se poderem efetuar as transformações desejadas no local pretendido. Dos vários métodos existentes, apresentados anteriormente na tabela 1 da página 22, utilizou-se um derivado do silano, o cloreto de *tert*-butildifenilsililo, TBDPSCI, para realizar a proteção do grupo hidroxilo. Este grupo apresenta maior estabilidade frente à hidrólise ácida e a uma variedade de reagentes do que o *tert*-butildimetilsililo, TBDMS, também comumente usado.⁴⁶

O esquema 6 pretende demonstrar o mecanismo reacional para a proteção do grupo hidroxilo com o uso do Cl-TBDPS.



Esquema 6 - Mecanismo da reação de sililação do grupo hidroxilo.⁴⁷

Seguiu-se o procedimento descrito na literatura para a síntese deste composto, tendo-se obtido o produto pretendido com um $\eta = 48\%$.⁴⁸

O produto foi identificado por RMN ^1H (figura 21). Pode-se observar a 7,64 e 7,41 ppm os prótons correspondentes aos dois anéis fenílicos e a 1,04 ppm os prótons pertencentes ao grupo *terc*-butilo do grupo protetor introduzido.

Os restantes sinais referem-se aos prótons do aminoácido, aparecendo a desvios químicos mais elevados que o pico do grupo *terc*-butilo. A 3,98 e 3,88 ppm observam-se dois duplos dupletos, que correspondem ao desdobramento de sinal, relativo aos prótons diastereotópicos do grupo $-\text{CH}_2-$ do aminoácido. O singlete a 3,71 ppm diz respeito ao grupo metilo que protege o grupo carboxílico. Por fim, o tripleto e o singlete largo a 3,56 e 1,76 ppm, respetivamente, correspondem ao $-\text{CH}-$ e ao grupo amino do aminoácido, respetivamente.

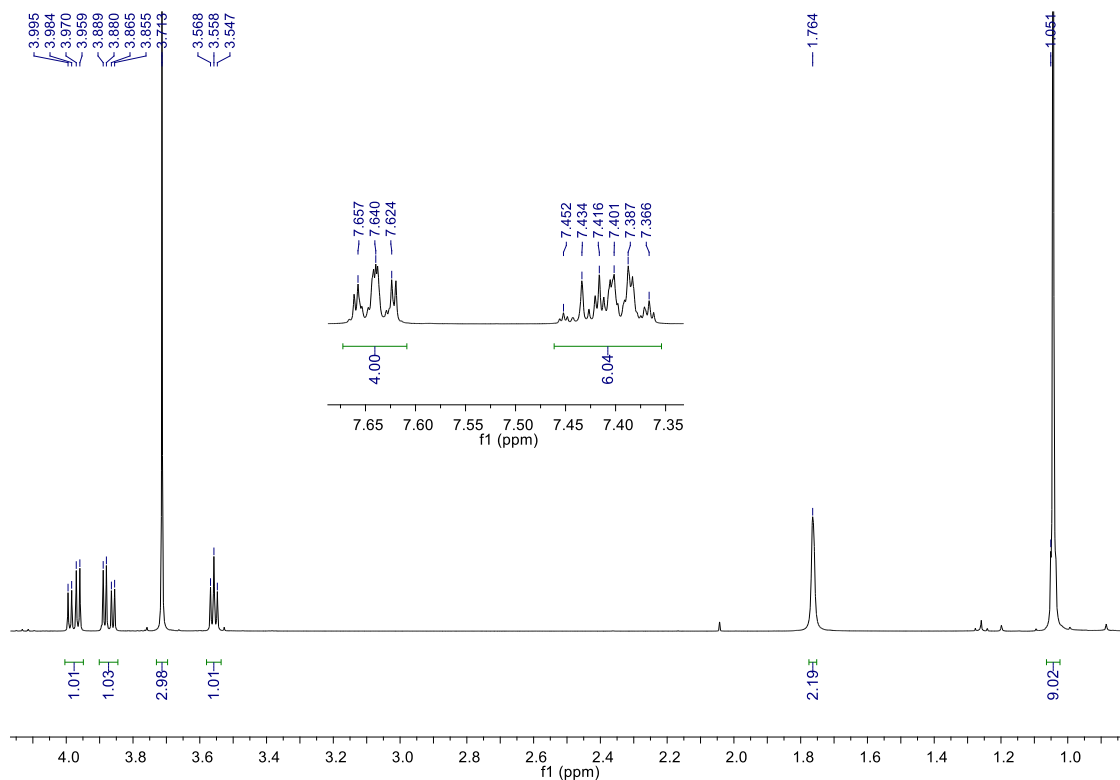
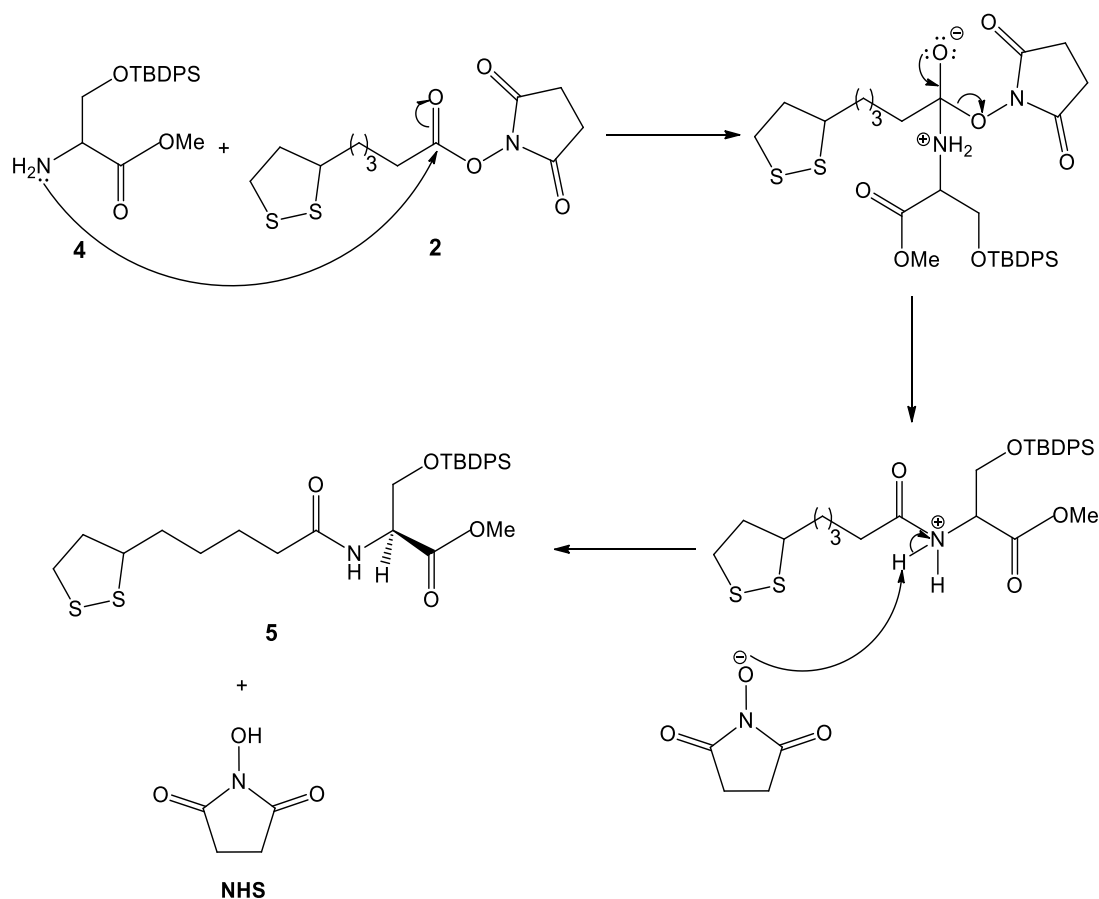


Figura 21 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **4**.

2.2.2 Acoplamento de **4** com o ácido α -lipóico ativado

O passo seguinte na sequência reacional com vista à obtenção do tensoativo pretendido consistiu na introdução do ácido lipóico por condensação do serinato de metilo protegido com o ácido α -lipóico ativado. O mecanismo desta reação está representado no esquema 7.



Esquema 7 - Mecanismo reacional do acoplamento por condensação para a síntese do composto **5** por adição-eliminação.

A síntese foi efetuada de acordo com o procedimento descrito na literatura.³⁷

A reação foi realizada ao abrigo da luz de modo a impedir a fotodegradação que os derivados de LA podem sofrer.

A NHS que se liberta nesta reação, torna necessário a realização de muitas lavagens à fase orgânica até se observar por CCF a passagem completa deste composto para a fase aquosa. O produto pretendido (**5**) foi posteriormente isolado por

cromatografia em coluna usando como eluente Hex/AcOEt 1:1, para se remover desta forma o LA-NHS que não reagiu. A caracterização do produto obtido por RMN ^1H , presente na figura 22, permitiu confirmar que se tratava do composto pretendido (5). Observa-se a contaminação com AcOEt utilizado durante a purificação do composto, muito embora este tenha estado a secar sob alto vácuo. Os picos do AcOEt são o singlete a 2,05 ppm, o sinal a 4,12 ppm que aparece sobreposto com um próton do -CH₂- do aminoácido, e o tripleto a 1,26 ppm. Esta contaminação talvez se deva ao facto do composto apresentar uma elevada viscosidade, tornando difícil a remoção total do solvente.

No espectro estão presentes para além dos sinais que ocorrem a desvios químicos semelhantes aos dos observados no reagente de partida, os sinais correspondentes ao ácido α -lipóico ativado. Para além disso, não se observa o singlete largo relativo aos dois -CH₂- do anel da NHS. O mesmo aconteceu com o pico característico da -NH₂- do aminoácido, dando lugar ao duplete a 6,25 ppm, devido à formação da ligação amida.

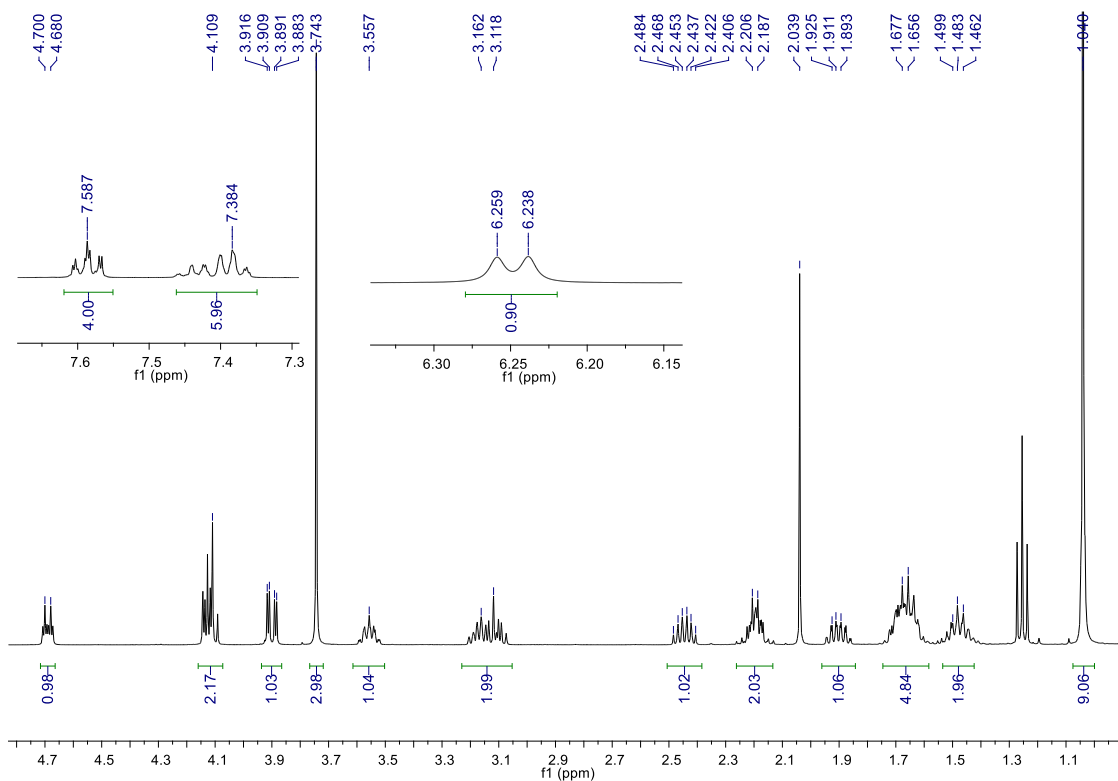
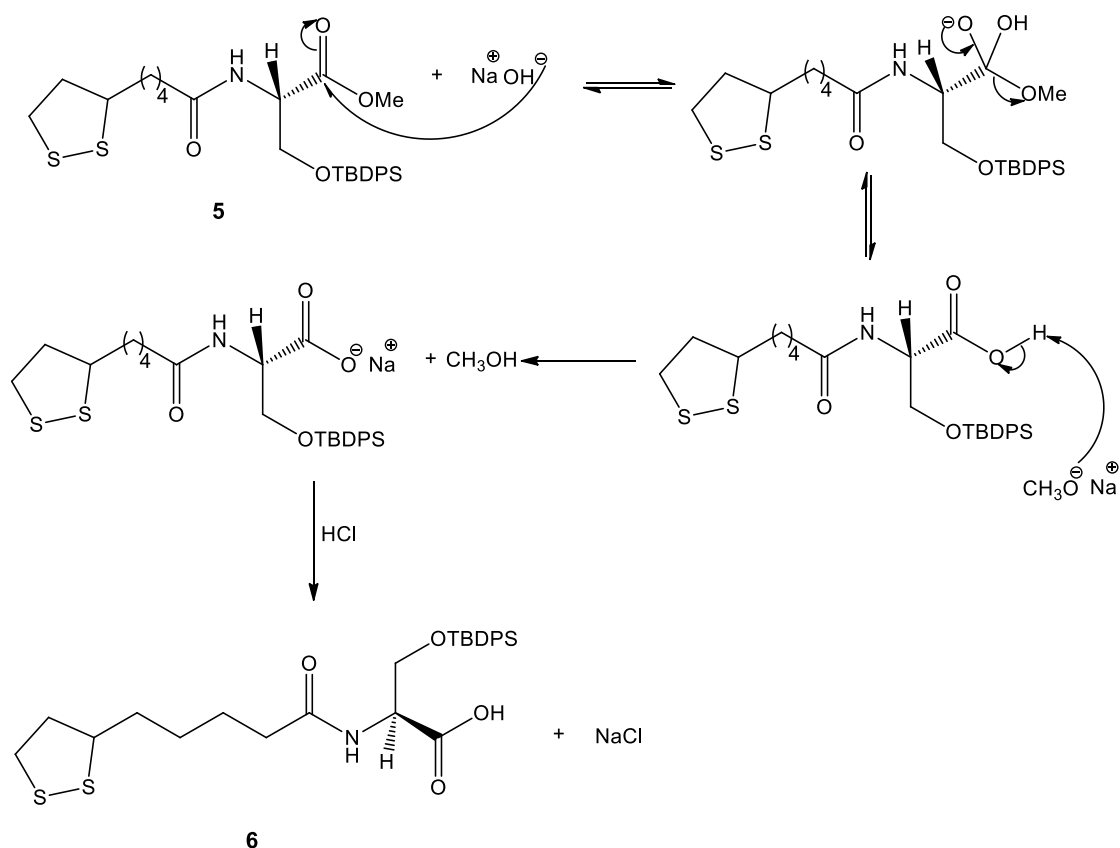


Figura 22 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) referente ao composto 5.

2.2.3 Hidrólise alcalina (saponificação) e acidificação de **5**

O objetivo desta reação era transformar o éster metílico da serina no correspondente ácido carboxílico. Para tal, a hidrólise do grupo éster de **5** foi efetuada por reação com NaOH para formar o carboxilato, com posterior acidificação com uma solução aquosa de HCl para se obter o respetivo ácido carboxílico (**6**).

Assim, como se pode observar pelo esquema 8, o anião hidróxido, HO^- serve de nucleófilo, atacando o átomo de carbono do grupo carbonilo do composto **5**, formando-se um intermediário tetraédrico. De seguida, o grupo alcóxido, CH_3O^- , é eliminado obtendo-se o ácido carboxílico pretendido. Contudo, como o grupo alcóxido formado é uma base muito forte desprotona o ácido carboxílico, dando origem ao respetivo carboxilato de sódio e ao álcool (neste caso, MeOH). De modo a restaurar o ácido carboxílico, foi necessário realizar um tratamento do carboxilato com um ácido forte, tendo-se neste caso usado uma solução aquosa de HCl.



Esquema 8 - Mecanismo da hidrólise alcalina de um éster metílico, seguida de acidificação para obtenção do respetivo ácido carboxílico.⁴⁷

Nesta reação, o NaOH é adicionado em excesso para garantir a total conversão do éster no carboxilato de sódio e também é adicionado lentamente, uma vez que esta

reação é exotérmica e pode aumentar a temperatura da mistura reacional, podendo provocar a polimerização, devido à quebra da ligação S-S do resíduo de LA, bem como haver racemização devido há possível formação dos dois enantiômeros.

Numa das tentativas de obtenção deste composto, durante o tratamento, colocou-se a mistura num funil de separação e adicionou-se hexano. Apesar da emulsão formada conseguiu-se separar as fases. Juntou-se a solução aquosa de HCl preparada (1,3%) a partir de uma solução aquosa de HCl a 37%, uma vez que se verificou por CCF que o composto teria ido para a fase aquosa e não para a fase orgânica. Observou-se após adição do ácido forte, que precipitou um sólido branco. Adicionou-se DCM e formou uma pasta bastante viscosa, talvez devido à quebra da ligação dissulfureto, o que levou à polimerização. Porém, após secagem da fase orgânica com Na_2SO_4 e filtração do solvente sob pressão reduzida, efetuou-se uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 8:1, para remover o carboxilato que não reagiu, obtendo-se um óleo amarelo que foi confirmado por RMN ^1H , como sendo o composto pretendido **6**. Como esta reação apresentou um rendimento de 10% devido à formação da pasta viscosa, decidiu-se alterar o procedimento para o tratamento da mistura reacional.

Deste modo, o tratamento das restantes experiências foi realizado de acordo com o descrito no ponto 3.3.3. (página 120) do procedimento experimental. No entanto, numa segunda experiência realizada já seguindo este novo procedimento, obteve-se um rendimento de 17%, uma vez que houve dificuldades durante a purificação. Inicialmente realizou-se uma coluna cromatográfica usando como eluente DCM/MeOH 8:1, tendo-se isolado três frações distintas e analisado por RMN ^1H , verificando-se que apenas uma delas correspondia ao produto pretendido, no entanto, contaminado com Cl-TBDPS. Deste modo, decidiu-se realizar extrações líquido-líquido dessa fração com acetonitrilo e hexano, não tendo este procedimento resultado. De seguida, através de um teste de eluentes escolheu-se o sistema DCM/AcOEt 2:1 até sair todo o contaminante e depois Acetona/AcOEt 4:1 para sair o composto pretendido. Uma vez que por observação de CCF se verificou que saíram da coluna cromatográfica os dois compostos juntos, tanto o contaminante como o composto pretendido, não deu tempo para mudar o eluente, sendo que se decidiu realizar nova coluna cromatográfica usando apenas como eluente Acetona/AcOEt 4:1. Realizou-se análise RMN ^1H da fração obtida da coluna e verificou-se que o composto continuava impuro. Pensou-se que o problema podia ser da pouca quantidade de sílica usada na coluna, portanto, optou-se por realizar nova coluna com cem vezes mais sílica do que a quantidade de composto. Assim, isolaram-se três frações distintas, confirmando-se por análise de RMN ^1H que apenas uma delas

continha o composto puro. Após estas dificuldades, optou-se por usar essa quantidade de sílica durante o processo de purificação nas restantes experiências, de modo a conseguir separar o composto pretendido das impurezas, nomeadamente, CI-TBDPS. Para além da purificação ter sido difícil, perdeu-se bastante composto na tentativa de conseguir isolar o produto desejado, por esse motivo é que o rendimento também apresenta um valor muito baixo comparativamente com os outros rendimentos obtidos.

Na figura 23 está representado o espectro de RMN ^1H para o composto **6**. No espectro é possível verificar o desaparecimento do singlete a 3,74 ppm relativo ao grupo metilo do éster que foi removido. Para além do desaparecimento deste pico, ainda é possível verificar os outros sinais relativos ao resíduo de LA e os sinais característicos do aminoácido, que aparecem de acordo com o esperado tendo em conta o espectro do reagente de partida.

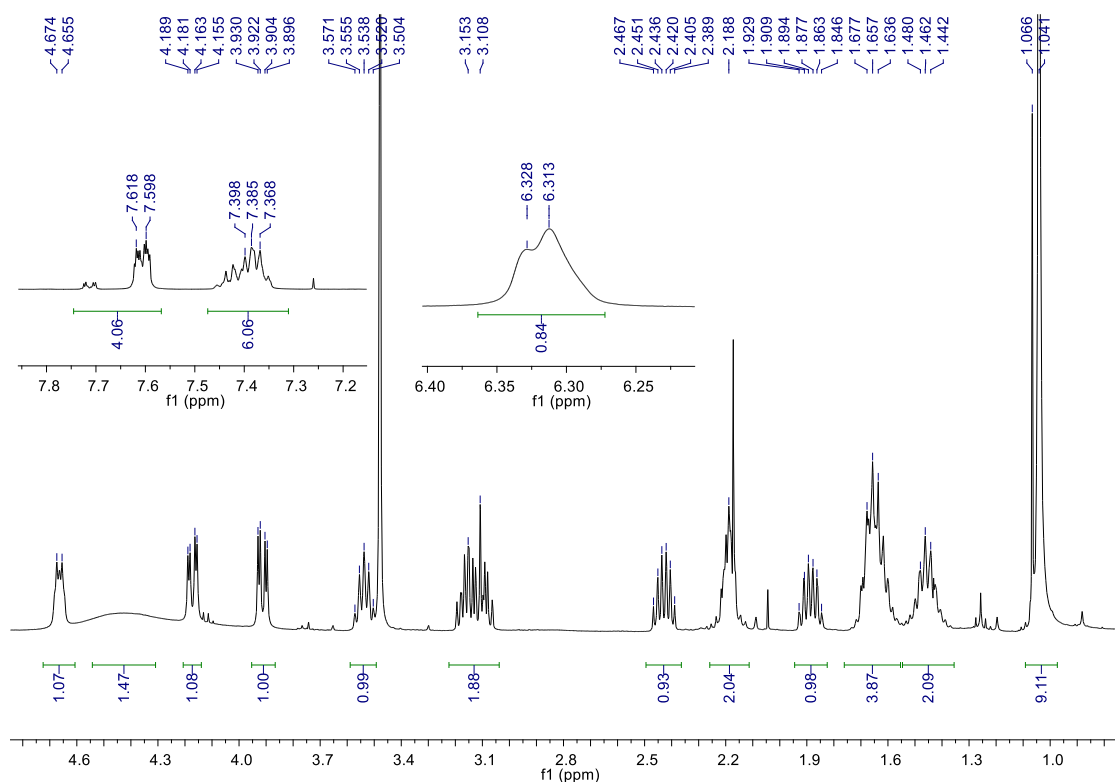


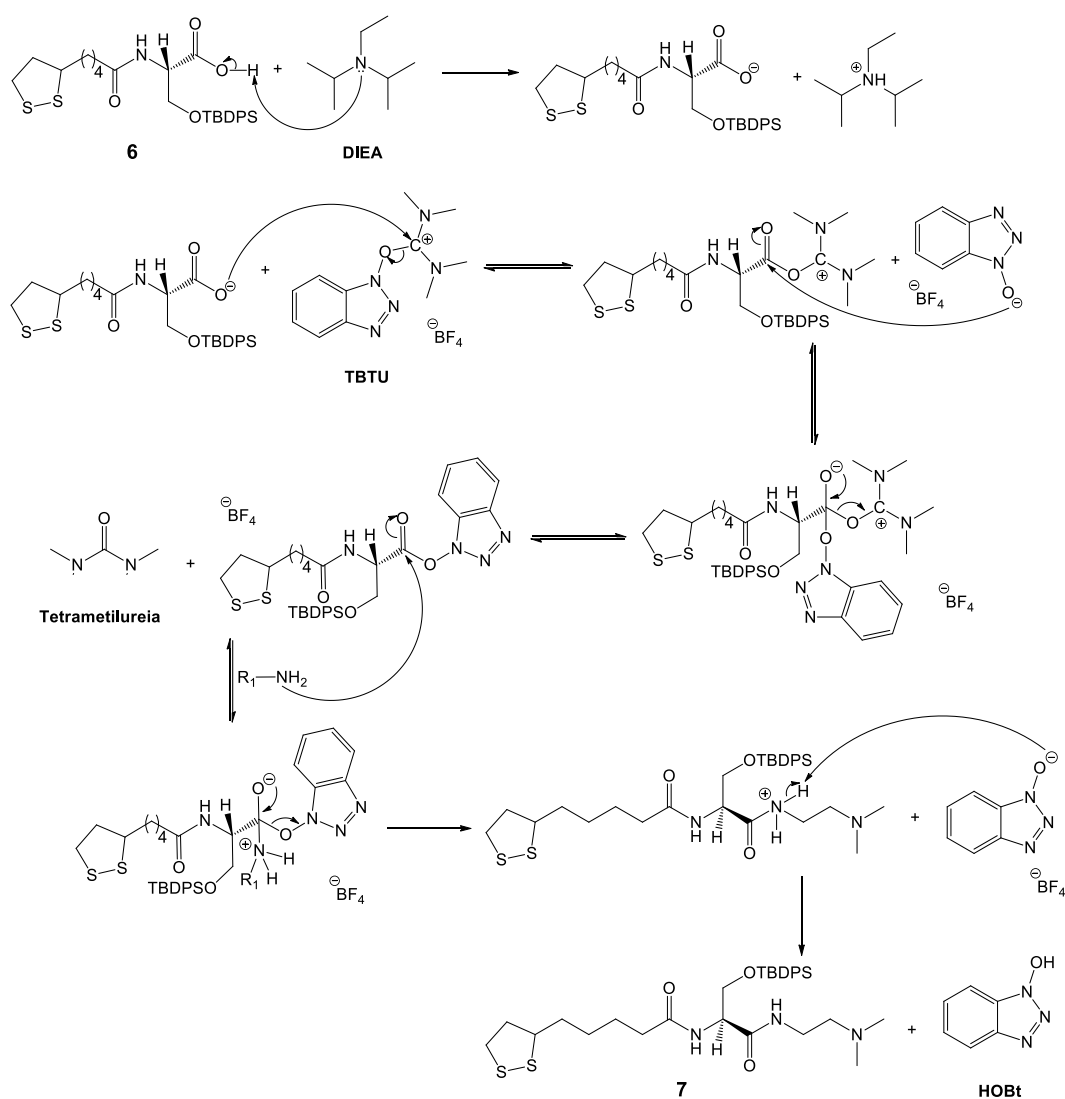
Figura 23 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **6**.

2.2.4 Condensação via TBTU entre **6** e a *N,N*- dimetiletano-1,2-diamina

De acordo com o plano de trabalhos, posteriormente à síntese do composto **6**, pretendia-se introduzir uma diamina por condensação no grupo carboxílico livre.

Usou-se a *N,N*-dimetiletano-1,2-diamina e a reação foi realizada de acordo com o procedimento que se encontra na literatura, utilizado pelo grupo de investigação.¹⁰ Estas reações de acoplamento são geralmente realizadas na presença de um agente de acoplamento, para garantir a formação da ligação amida.

No presente trabalho, e com base num estudo prévio realizado no grupo de investigação (resultados não publicados) usou-se o TBTU como agente de acoplamento. No esquema 9 encontra-se o mecanismo da reação de condensação usando este agente de acoplamento.



Esquema 9 - Mecanismo da reação de condensação usando TBTU como agente de acoplamento.

A reação é feita na presença de 1 eq. de DIEA, cuja função consiste em desprotonar o ácido carboxílico, formando o correspondente carboxilato. Este ataca de seguida o TBTU, formando um éster que é mais reativo do que o ácido carboxílico inicial, uma vez que o carbono do grupo carboxilo passa a ser mais eletrófilo e possui um melhor grupo de saída. O 1-hidroxibenzotriazole desprotonado formado nesse passo reage com o éster, por ataque ao carbono eletrófilo do grupo carboxilo. O éster resultante, como também é reativo, sofre ataque nucleófilo por parte da amina, levando à formação da ligação amida.

Ao realizar esta reação, após adicionar a DIEA, esperou-se 15 minutos antes de se adicionar o TBTU, para a DIEA poder reagir e se ter a certeza que se formou o carboxilato. Por observação de CCF verificou-se que a reação terminara ao fim de 4h.

Os vários produtos secundários formados foram removidos por extrações líquido-líquido. Assim, a lavagem com solução aquosa de HCl 0,01M, permitiu a remoção do excesso de DIEA e as lavagens com NaHCO₃ e NaCl permitiram a remoção da tetrametilureia e HOBt para a fase aquosa (CCF).

O produto pretendido foi finalmente isolado por cromatografia em coluna, usando como eluente DCM/MeOH 10:1, obtendo-se um óleo amarelo que foi identificado RMN ¹H.

Numa das experiências realizadas para esta reação, obteve-se um rendimento de 21%, muito embora as extrações tenham sido bem sucedidas e de não se terem obtido muitas frações da coluna com o composto juntamente com as impurezas. Esse baixo rendimento deve-se provavelmente ao facto de se ter deixado a reação durante um período de 22h, levando à degradação do composto.

Na figura 24 apresenta-se o espetro de RMN ¹H do composto **7**. Verifica-se o aparecimento de um sinal a 6,76 ppm referente ao protão da nova ligação amida formada. Também se consegue verificar o aparecimento do singleto largo correspondente aos dois grupos metilo da diamina a um desvio químico de 2,17 ppm. Para além disso, o -CH₂- ligado ao azoto do grupo amida origina dois multipletos com desvios químicos de 3,43 e 3,30 ppm.

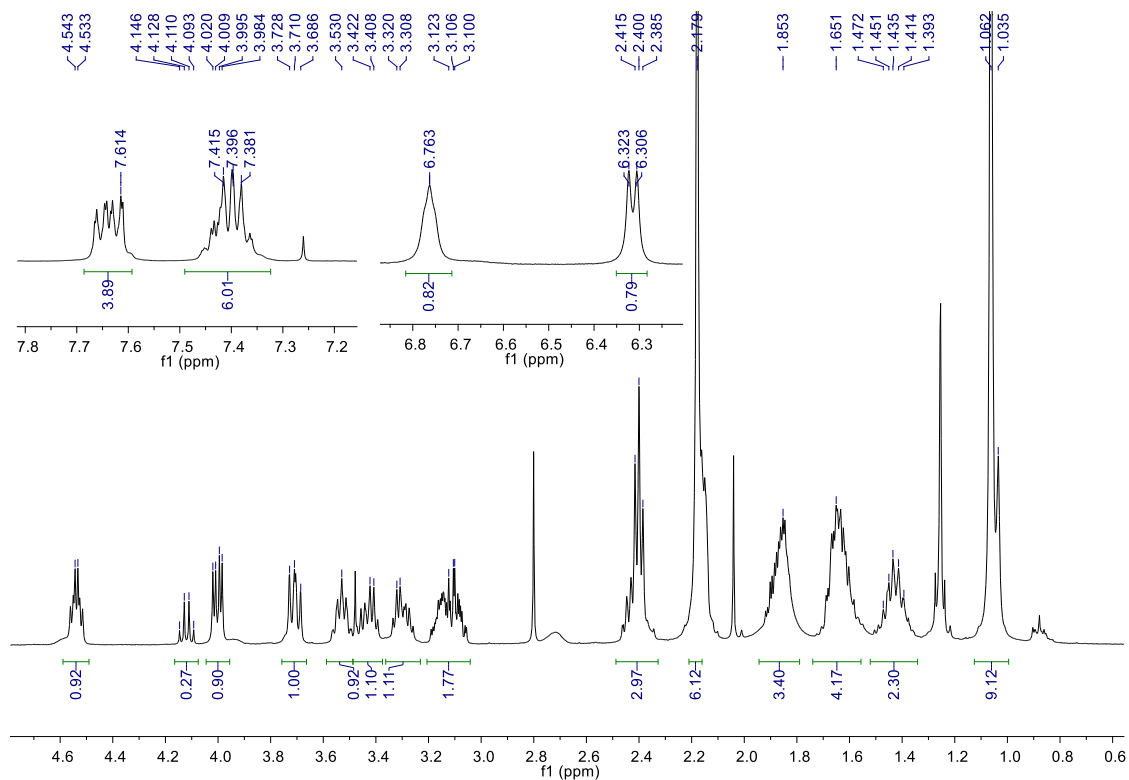
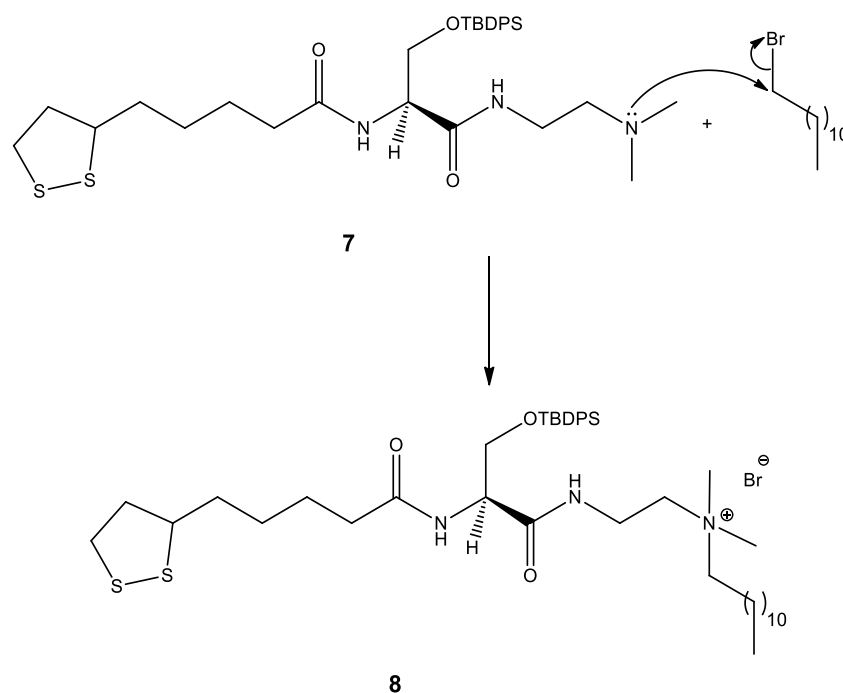


Figura 24 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **7**.

2.2.5 Alquilação de **7** com bromododecano

A reação de alquilação com bromododecano ocorre segundo o mecanismo apresentado no esquema 10, dando-se o ataque nucleófilo da amina terciária ao carbono diretamente ligado ao átomo de bromo, por um mecanismo de substituição nucleófila bimolecular, $\text{S}_{\text{N}}2$.



Esquema 10 - Mecanismo da reação de alquilação por S_N2 .

Seguindo o procedimento adotado pelo grupo de investigação para a realização desta reação, dissolveu-se o reagente de partida e o bromododecano (em excesso) em acetona e deixou-se a reação ocorrer sob agitação magnética e sob proteção da luz.

A alquilação durou 10 dias, no entanto verificaram-se algumas dificuldades em termos de observação por CCF pelo método habitual de revelação (usando ácido fosfomolibdico), uma vez que o produto tem um R_f idêntico ao reagente de partida. Posto isto, foi necessário recorrer à técnica de revelação das placas de CCF pelo método da dicarboxidina. Assim, após eluição, as placas foram expostas a uma atmosfera de cloro (solução de ácido clorídrico, HCl, a 10%, e permanganato de potássio, $KMnO_4$ 0,1 mol.L⁻¹, na proporção 1:1), seguida de pulverização com uma solução diluída de dicarboxidina (revelação de grupos amino). Com esta técnica, observou-se na placa que o reagente de partida apresentava uma cor amarela e o produto uma cor rosa-avermelhada, sendo então possível verificar o término da reação.

O tratamento da mistura reacional envolveu extrações líquido-líquido com hexano e acetonitrilo, uma vez que o bromododecano que não reagiu é solúvel em hexano e o produto em acetonitrilo, permitindo desta forma separar ambos, tornando mais fácil a posterior cromatografia em coluna.

Na cromatografia em coluna utilizou-se como eluente DCM/MeOH 10:1, conseguindo-se desta forma isolar o composto desejado com um rendimento de 66 %.

Na figura 25 é apresentado o espectro de RMN ^1H respetivo ao composto **8**, onde se consegue observar claramente o aparecimento dos dois singletos largos a 1,25 e 1,29 ppm relativos aos grupos metileno da cadeia alquilada após introdução do bromododecano, e ainda o sinal a um desvio químico de 0,88 ppm diz respeito ao grupo $-\text{CH}_3$ dessa mesma cadeia.

A quaternização do azoto fez com que os prótons dos grupos metilénicos à sua volta ficassem mais desprotegidos, pois os carbonos a que estes estão ligados cedem densidade eletrónica ao grupo amónio. Desta forma, verifica-se que os dois grupos $-\text{CH}_2-$ da cadeia alquilada que estão ligados diretamente ao azoto surgem a desvios químicos maiores, a 1,66 ppm apresenta-se o multipletto correspondente ao segundo $-\text{CH}_2-$ ($-\text{N}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-$), sobreposto com grupos $-\text{CH}_2-$ da cadeia alifática do LA, e o primeiro $-\text{CH}_2-$ da cadeia alquilada aparece num multipletto, com intensidade 2 a 3,29 ppm.

Os restantes picos correspondentes ao LA e à serina encontram-se de acordo com o espectro realizado anteriormente para o reagente de partida **7**, à exceção do grupo $-\text{CH}_2-$ ligado à amina quaternária, que dá origem a dois sinais devido à quaternização, ficando os prótons desta forma mais desprotegidos e apresentando dois multipletos a 3,55 e 3,75 ppm.

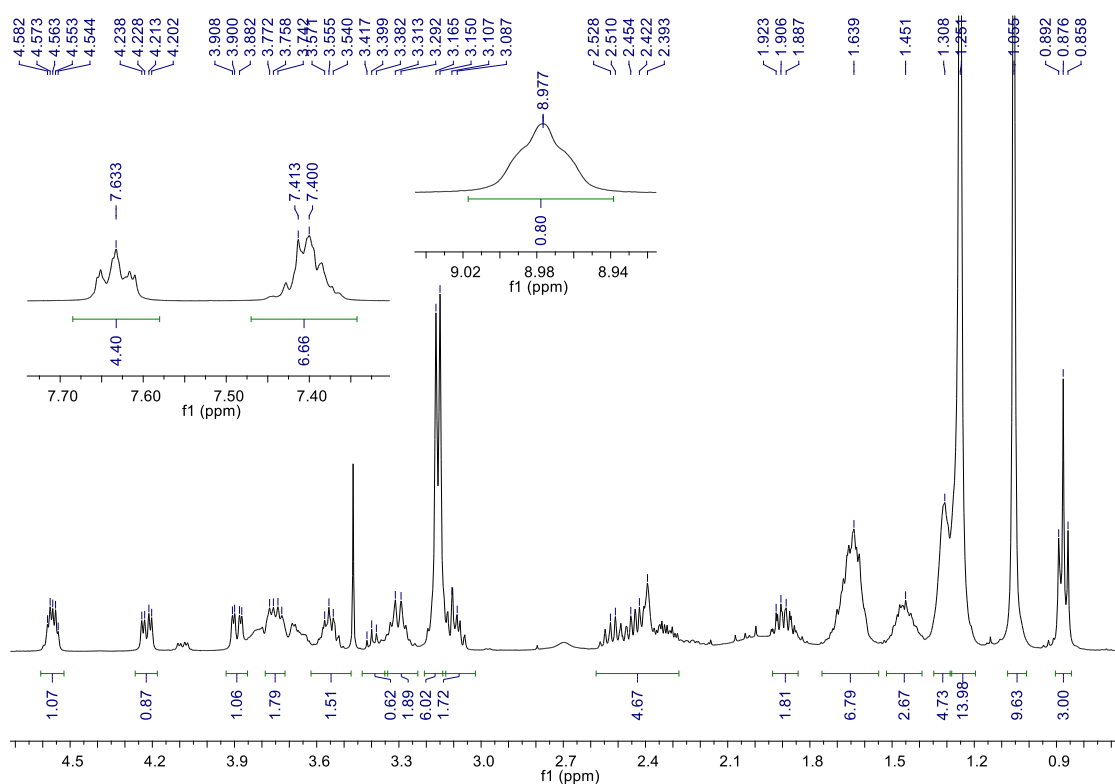
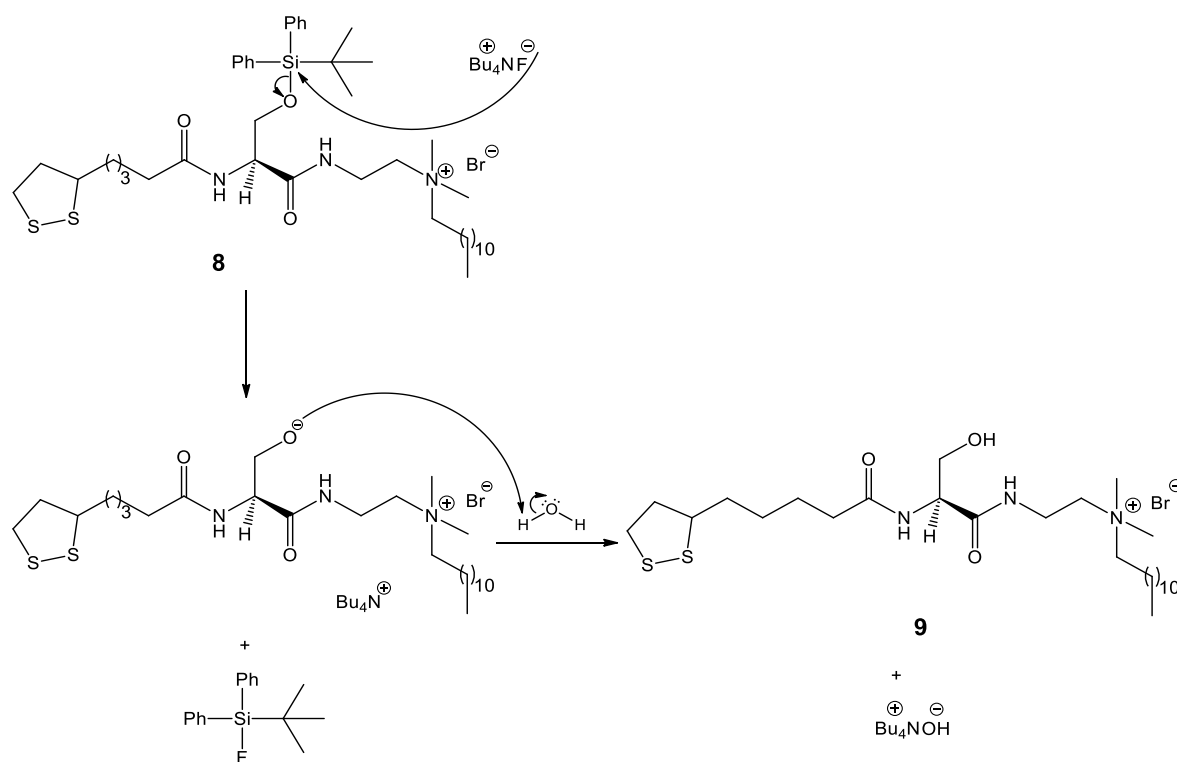


Figura 25 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **8**.

2.2.6 Desproteção do composto **8**

O grupo protetor TBDPS, como já foi referido, foi usado para evitar que determinados grupos introduzidos ao longo do procedimento, pudessem reagir no grupo hidroxilo. Uma vez obtido o tensoativo catiónico quaternizado no azoto do grupo α -amino, resta remover o grupo protetor de forma a obter o composto desprotegido para de seguida se poder realizar a troca iónica, obtendo-se o produto final desejado.

O silício apresenta uma forte afinidade para elementos eletronegativos, como é o caso do O, F e do Cl. Desta forma, os ésteres de trialquililililo são atacados pelo ião hidróxido, por água ou pelo ião fluoreto. Normalmente a remoção destes grupos protetores, requer a utilização de soluções aquosas de ácido ou de sais de fluoreto, em particular $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$.⁴⁸ No esquema 11 está representado o mecanismo reacional para a remoção do grupo protetor usando este sal.



Esquema 11 - Mecanismo reacional para a remoção do grupo protetor TBDPS.⁵⁰

Para promover a desproteção do grupo hidroxilo da cadeia lateral do aminoácido, seguiu-se um procedimento já utilizado pelo grupo de investigação. Deste modo dissolveu-se o reagente de partida **8** numa quantidade mínima de acetona e adicionou-se uma quantidade estequiométrica de fluoreto de tetrabutilamónio, TBAF, dissolvido

também em acetona. Colocou-se a mistura reacional sob agitação magnética, à T_{amb} e sob proteção da luz, verificando-se por CCF que a reação terá terminado ao fim de 1h, uma vez que já não existia reagente de partida para reagir, formando-se o produto desejado e um derivado do TBAF.

Efetuar-se lavagens da mistura reacional com H_2O e $NaCl$ para remover o hidróxido de tetrabutílamónio e algumas impurezas que se poderão ter formado durante a reação. De seguida, realizou-se uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1, conseguindo-se isolar um óleo amarelo que foi analisado por RMN 1H , verificando-se que este dizia respeito ao composto pretendido contaminado com TBDPSF. Para remover este contaminante, tentou-se recristalizar a mistura, adicionando hexano à mistura e verificou-se a formação de um precipitado, decantou-se o líquido e por CCF observou-se que o composto pretendido estaria no líquido mas ainda contaminado com TBDPSF e parte do TBDPSF teria sido removido. Evaporou-se o solvente e procedeu-se novamente a uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1, isolando-se deste modo o composto pretendido **9** que foi identificado por RMN 1H .

Na figura 26 está representado o espetro de RMN 1H do composto **9**, podendo-se observar o desaparecimento dos sinais correspondentes ao grupo protetor que anteriormente apareciam a 7,63 e 7,40 ppm relativos aos prótons dos dois grupos fenilo, e a 1,06 ppm correspondentes aos prótons do grupo tBu . É possível observar os picos referentes ao resíduo da serina e do LA bem como os da cadeia alquílica. Os sinais dos grupos amida não aparecem, pelo facto de se ter usado CD_3OD como solvente na preparação da amostra.

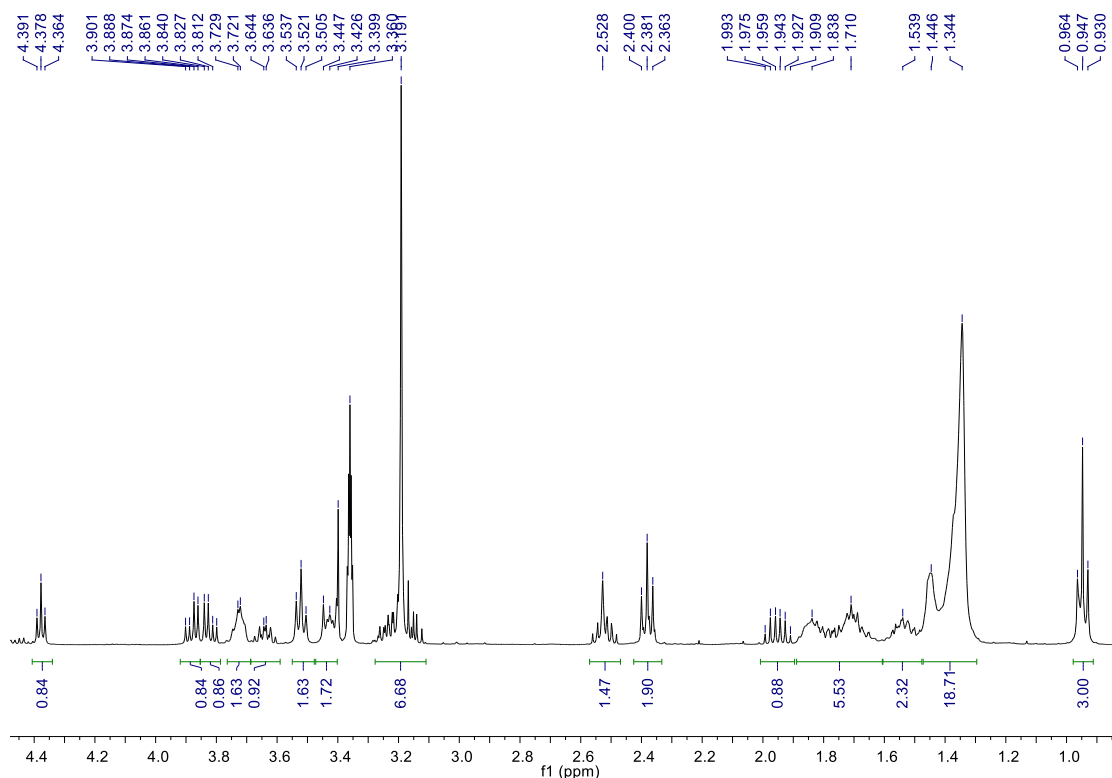


Figura 26 - Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) relativo ao composto **9**.

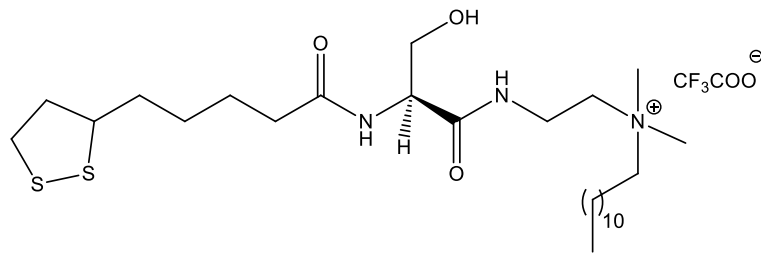
2.2.7 Reação de troca iónica do composto **9**

O tensoativo catiónico obtido no passo anterior tem como contra-ião o Br^- , sendo que o produto final se pretende sob a forma de trifluoroacetato (CF_3COO^-). Como já foi referido no capítulo 1, o sal iónico contendo como contra-ião o CF_3COO^- apesar de apresentar níveis de toxicidade idênticos ao sal iónico que contém como contra-ião o Br^- , possui um grau de dissociação maior por apresentar maior volume, conseguindo desta forma libertar-se das micelas mais facilmente.

Adaptando o protocolo já utilizado pelo grupo de investigação para a troca iónica, colocou-se num funil de separação o composto dissolvido em DCM e juntou-se 10 eq. de solução aquosa de $\text{CF}_3\text{COO}^- \text{Na}^+$. Agitou-se com cuidado e separaram-se as fases. O produto obtido foi analisado por RMN ^1H e HRMS, sendo que os respetivos espectros se encontram representados nas figuras 27 e 28, confirmando-se que se trata do composto pretendido **10**.

Através do espectro de RMN ^1H (figura 27) não é possível concluir se a troca iónica ocorreu com sucesso, já que o catião do tensoativo é o mesmo e o anião não origina

qualquer sinal no espectro de RMN ^1H . Assim, o espectro de RMN ^1H é idêntico ao do reagente de partida. No entanto, podemos verificar a mudança de contra-íão pelo espectro de massa, figura 28, onde se pode observar que em modo positivo, o espectro apresenta o pico base a $m/z = 532,3$ u.m.a. valor igual ao m/z calculado, correspondente ao catião amônio esperado. Em modo negativo, é possível observar o pico a $m/z = 112,9$ u.m.a., compatível com o contra-íão que se pretendia (CF_3COO^-).



10

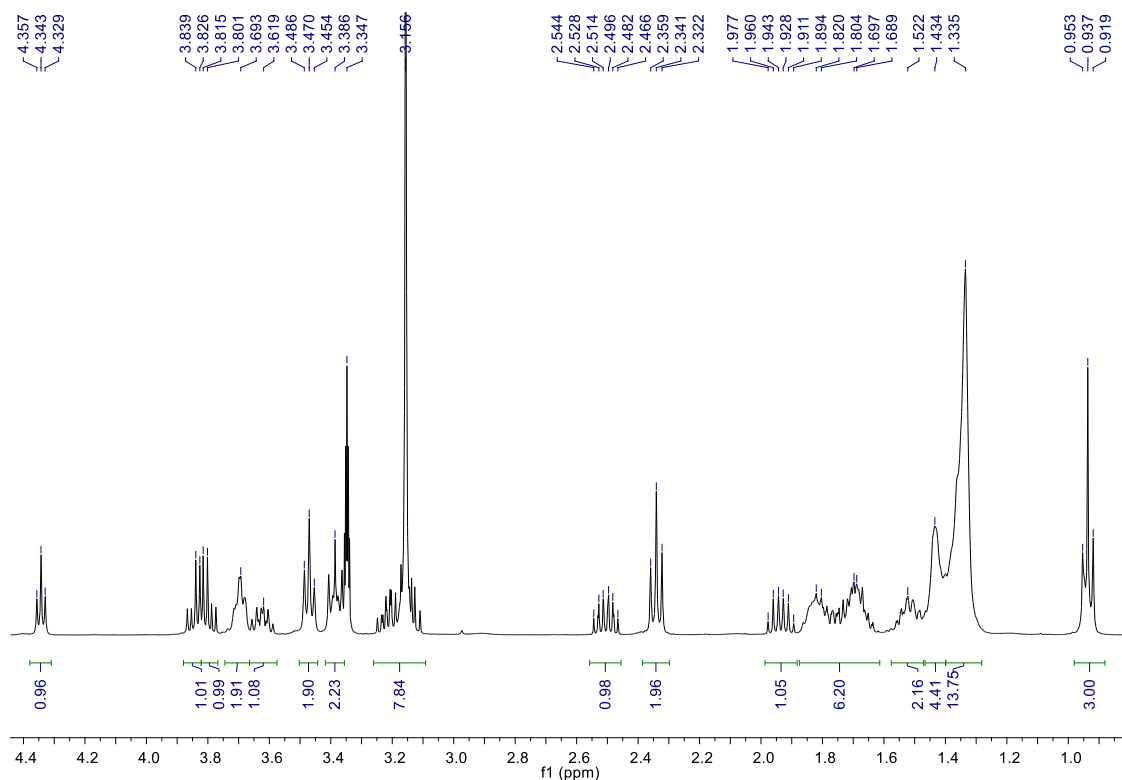
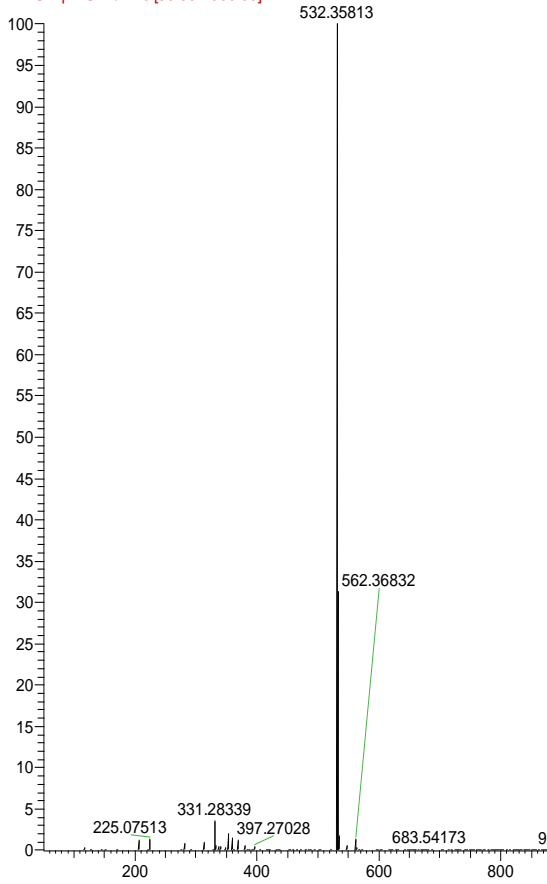


Figura 27 - Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) relativo ao composto 10.

Resultados Obtidos e Discussão | 60

mlsms_048 #92-94 RT: 2.45-2.54 AV: 3 NL: 1.78E7
F: FTMS + p ESI Full ms [50.00-2000.00]



mlsms_048 #60-77 RT: 1.62-1.89 AV: 18 NL: 9.71E4
F: FTMS - p ESI Full ms [50.00-700.00]

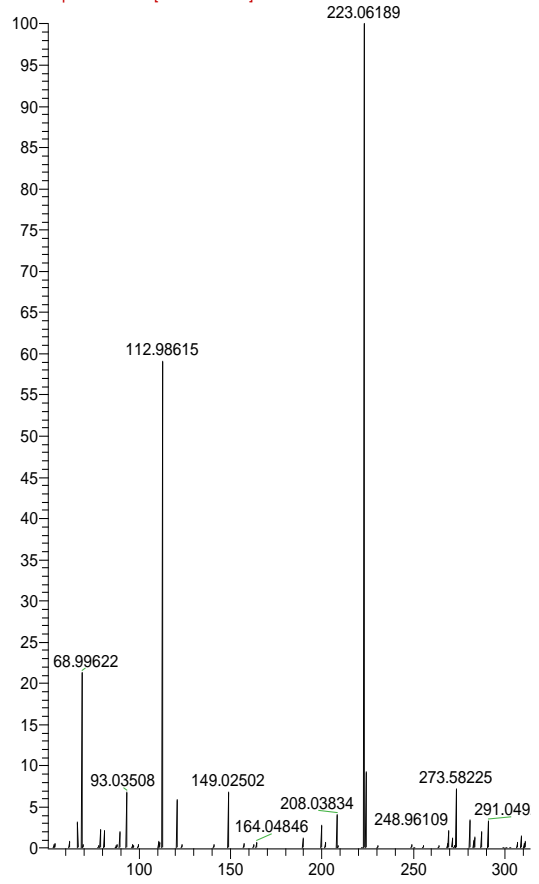


Figura 28 - Espectros de massa relativos a composto **10**. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.

2.3 Síntese do composto **19**

Para a síntese do composto **19** seguiram-se duas metodologias distintas, por forma a avaliar qual a mais eficaz. A diferença consistiu essencialmente na ordem de introdução dos diferentes grupos no reagente de partida, a serina *O*-protegida.

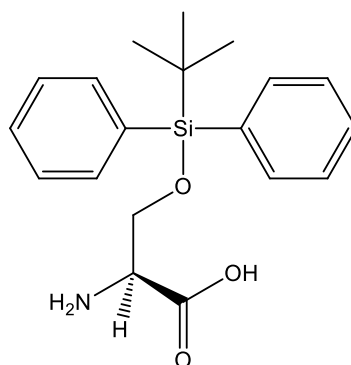
2.3.1 Sililação da serina (**11**)

A proteção do grupo hidroxilo da serina foi realizada de modo análogo à do serinato de metilo (página 44).

Neste caso, por observação de CCF, verificou-se que a reação terminou ao fim de 28h. Efetuaram-se extrações com H₂O para remoção dos sais formados (HN⁺Et₃Cl⁻), e após purificação por coluna cromatográfica obteve-se um sólido branco com um rendimento de 41%.

Dois dos rendimentos mais baixos obtidos para esta síntese (17 e 18%), devem-se essencialmente ao composto no início da coluna cromatográfica, sair junto com o contaminante Cl-TBDPS que não reagiu completamente, sendo necessário recolunar as frações da coluna em que se verificava por CCF que o composto estava contaminado.

Terminada a purificação, obteve-se um sólido branco, confirmado por RMN ¹H, como sendo o composto pretendido. O espectro do composto obtido está representado na figura 29. Observam-se os sinais do aminoácido de partida (entre 4,14 e 3,64 ppm), bem como os sinais do grupo protetor introduzido, nomeadamente um sinal a 0,99 ppm correspondente ao grupo ^tBu e dois multipletos a 7,55 e 7,15 ppm referentes aos prótons dos dois grupos fenilo, apresentando intensidades de 4 e 6, respetivamente.



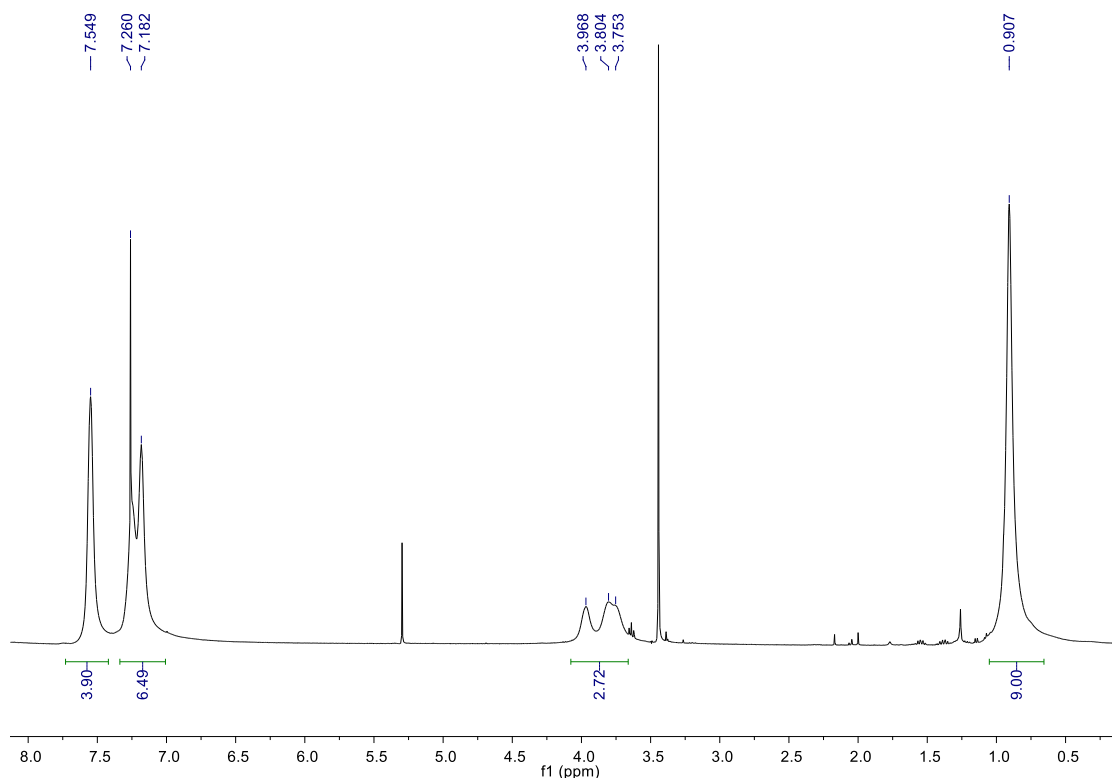


Figura 29 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), relativo ao composto **12**.

2.3.2 Método A

2.3.2.1 Aminoação redutiva de **12** com dodecanal

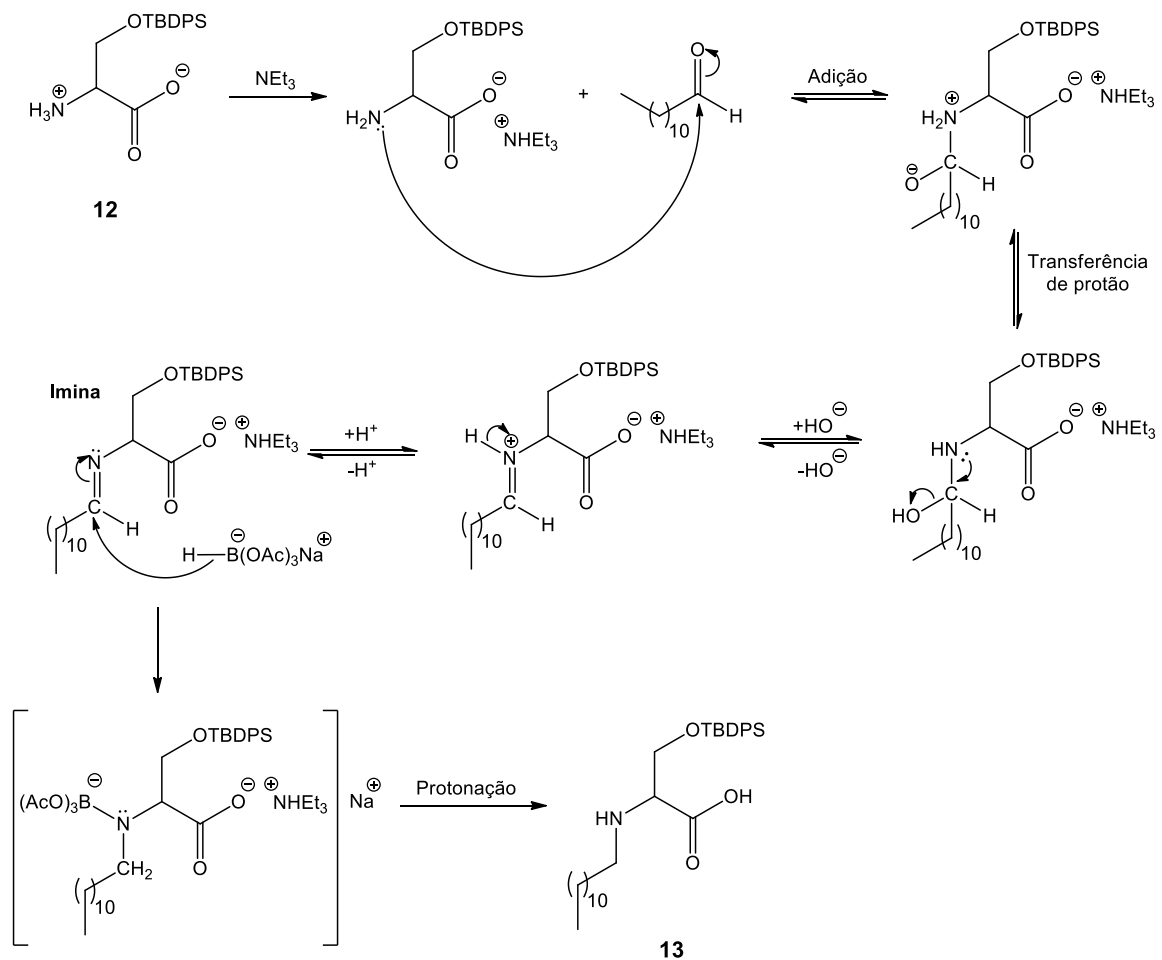
As reações que ocorrem entre aldeídos ou cetonas e aminas (como NH_3 , aminas primárias ou secundárias), na presença de um agente redutor para formar aminas primárias, secundárias ou terciárias, são designadas por aminoações redutivas.^{49,50} A nova ligação C-N forma-se no carbono do grupo carbonilo do aldeído ou da cetona.

As aminoações redutivas podem ocorrer segundo uma reação direta ou indireta. A reação é direta quando se misturam o composto carbonílico e a amina com o agente redutor sem o isolamento de um intermediário, e é indireta quando ocorre por passos, envolvendo o isolamento prévio da imina intermediária seguida por redução num passo posterior.

Neste caso, a aminoação redutiva ocorreu de forma direta, uma vez que previamente não se isolou a imina intermediária. Assim, é possível observar pelo esquema 12, que a sequência começa com a condensação do grupo amino com o grupo

carbonilo (dodecanal) para produzir a imina correspondente, seguindo-se a redução desta por hidretos, neste caso, o triacetoxiborohidreto de sódio, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$.

Inicialmente começou-se por tentar fazer a aminação redutiva da serina, sem qualquer proteção funcional, já que se esta metodologia fosse eficaz neste passo e nos subsequentes, deixaria de ser necessário efetuar a desproteção final, reação essa que foi a mais problemática na metodologia original. No entanto, a reação de aminação redutiva não foi bem sucedida, uma vez que embora não tivesse ocorrido qualquer reação no grupo hidroxilo, se ligaram ao grupo amino da serina duas cadeias alquílicas em vez de se ligar apenas uma como era pretendido. Assim, decidiu-se proteger o grupo hidroxilo da serina, tal como se procedeu anteriormente para a síntese do composto **10**, com TBDPS. O grupo protetor uma vez que é volumoso faz com que haja um impedimento estereoquímico no azoto do grupo amino da serina, e como consequência consegue-se obter o produto pretendido. No entanto observou-se por CCF que também se formou o produto com duas cadeias alquílicas ligadas ao azoto do grupo amino da serina.



Esquema 12 - Mecanismo da reação de aminação redutiva do dodecanal com a serina O-protegida.

Nesta reação, adiciona-se NEt_3 a uma solução de **12** em DCE, para que a NEt_3 desprotone o grupo α -amino do aminoácido, adquirindo este um caráter nucleófilo para conseguir atacar o carbono do grupo carbonilo do dodecanal, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CHO}$. Após o ataque, há transferência de um próton e perda do grupo $-\text{OH}$ para se formar a imina, que é posteriormente reduzida por cedência de um hidreto por parte do agente redutor $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$.

Usou-se um ligeiro excesso de dodecanal (1,1 eq.) para garantir uma maior eficácia da reação. No entanto, o excesso deve ser pequeno para que não ocorra a formação do composto dialquilado, resultante de duas aminações redutivas consecutivas.

A reação foi realizada segundo o procedimento já utilizado pelo grupo de investigação.^{10,16}

Como referido no procedimento experimental (página 130), após a adição de NEt_3 , adicionou-se apenas metade da quantidade de aldeído, esperou-se 30 minutos para adicionar também metade do agente redutor, deixando-se reagir durante mais 30 minutos. De seguida adicionou-se a outra metade de aldeído e passados 30 minutos adicionou-se o que restava da quantidade de agente redutor. Decidiu-se proceder deste modo na adição dos reagentes para garantir a total formação dos intermediários, para se conseguir obter maior quantidade do produto monoalquilado do que dialquilado. De facto, na 1ª experiência realizada em que se juntou logo todo o aldeído e todo o agente redutor o rendimento foi de 19%, devido à formação de grande quantidade do produto dialquilado.

Após a adição de todos os reagentes, deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} e sob agitação magnética, durante um período de 4h.

O tratamento da mistura reacional foi realizado inicialmente com uma solução aquosa de HCl 0,10M, para garantir a total remoção da NEt_3 para a fase aquosa e para protonar o sal obtido, e de seguida lavou-se a fase orgânica com H_2O . Observaram-se algumas dificuldades neste passo, uma vez que se formavam bastantes emulsões, devido ao caráter anfifílico do produto formado.

Terminado o tratamento, secou-se a fase orgânica e evaporou-se o solvente, para submeter a mistura a uma cromatografia em coluna. Usou-se como eluente DCM/MeOH 10:1 e recolheram-se frações pequenas da coluna, para evitar que fossem obtidas frações do produto contaminado. Isolaram-se dois compostos com R_f diferente mas muito próximo, que se analisaram por RMN ^1H . Concluiu-se que o composto com R_f maior era referente ao produto com duas cadeias alquiladas introduzidas no grupo α -

amino da serina e o composto com R_f inferior era o produto pretendido **13**. Apesar dos tempos de espera entre a adição dos reagentes e de se usar só um pequeno excesso de dodecanal, não se conseguiu evitar a formação do produto secundário indesejado, obtendo-se este na proporção 1:2 em relação ao produto pretendido.

Na figura 30 está representado o espectro de RMN ^1H referente ao composto **13**, onde se verifica a presença dos sinais relativos aos prótons da cadeia alquílica. Assim, a 3,00 ppm aparece o multipletto relativo ao grupo $-\text{CH}_2-$ da cadeia alquilada diretamente ligado ao átomo de azoto do aminoácido, logo de seguida a 1,69 ppm o sinal referente ao segundo grupo $-\text{CH}_2-$ da cadeia alquilada. A 1,25 ppm e 0,88 ppm, observam-se os picos correspondentes à cadeia, o primeiro pertence aos restantes grupos metilénicos e o segundo pertence ao grupo $-\text{CH}_3$.

Os dois multipletos a 4,14 e 4,07 ppm, correspondem aos prótons diastereotópicos do grupo $-\text{CH}_2-$ do aminoácido, e o pico a 3,71 ppm corresponde ao grupo $-\text{CH}-$ do aminoácido. Os sinais relativos ao grupo protetor ocorrem a desvios químicos semelhantes aos dos observados no reagente de partida **12**.

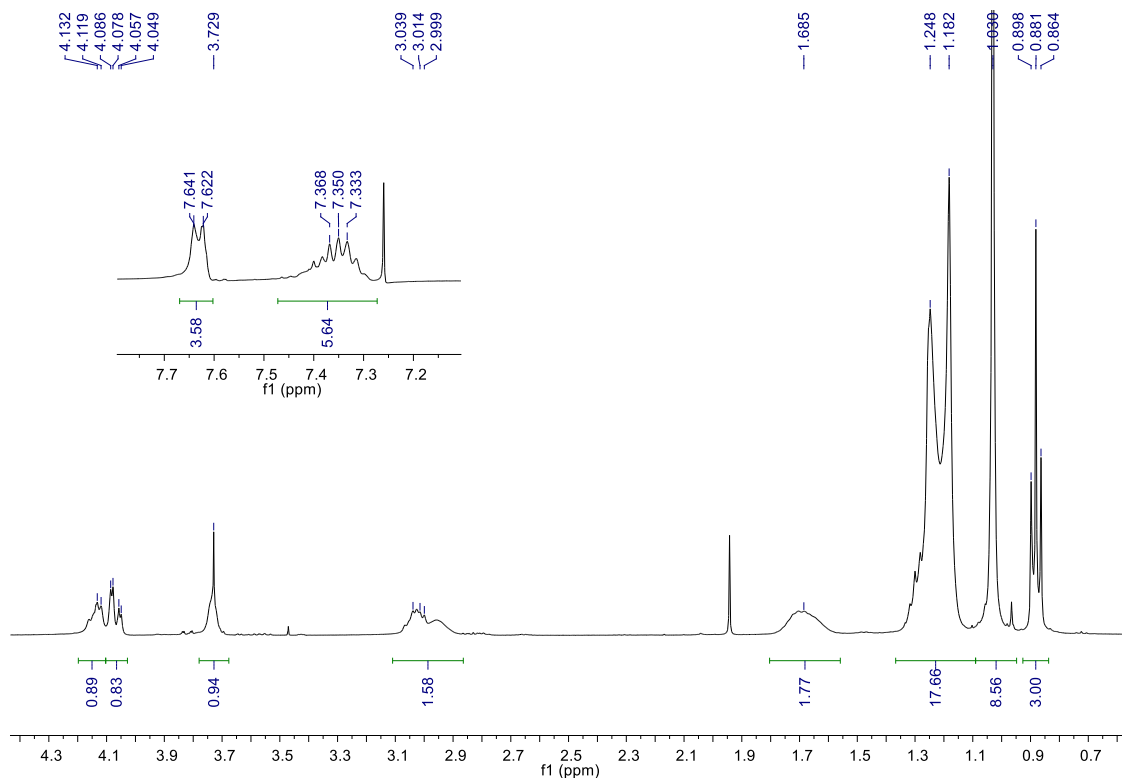


Figura 30 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **13**.

2.3.2.2 Metilação de **13** com formaldeído

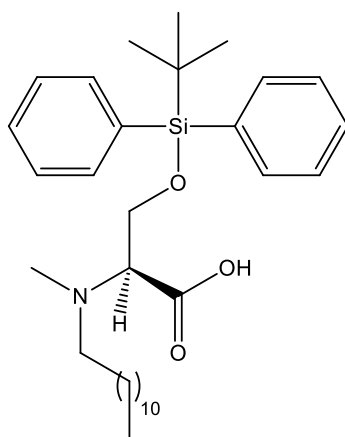
A metilação por aminação redutiva de formaldeído com o derivado **13**, uma “amina” secundária, ocorre segundo um mecanismo semelhante ao apresentado no esquema 12 (página 63), originando o derivado da serina *N,N*-dialquilado.

Para esta reação utilizou-se formaldeído (37% em água) em excesso, não havendo neste caso o risco de alquilação múltipla, pois o produto formado (**14**) é já uma “amina” terciária.

Visto que se usou excesso de formaldeído e de agente redutor, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ e uma vez que não há nenhum processo de purificação adicional após o tratamento por extrações líquido-líquido, é importante que neste passo se garanta a eliminação total do ácido acético, CH_3COOH , que se forma durante a reação. O CH_3COOH que se forma resulta do $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, pois, por cada molécula do agente redutor há cedência de um hidreto e formam-se três moléculas de CH_3COOH . Para eliminar totalmente este contaminante, é necessário realizar inúmeras lavagens da fase orgânica com H_2O . Por RMN ^1H , é possível verificar a eliminação total desta impureza, uma vez que esta origina um sinal com um desvio químico a aproximadamente 2,10 ppm.

Terminado o tratamento, foi possível obter um óleo incolor/esbranquiçado, sendo a sua pureza confirmada por RMN ^1H , ^{13}C e DEPT. O espectro de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT estão representados nas figuras 31, 32 e 33 respetivamente. Na figura 31, pode-se verificar a 2,86 ppm o aparecimento do sinal relativo ao grupo metilo introduzido nesta reação. Os restantes picos aparecem de acordo com o espectro do reagente de partida **13**, exceto o sinal correspondente ao grupo metileno diretamente ligado ao átomo de azoto do aminoácido, que neste espectro apresenta os dois multipletos separados (3,20 e 3,09 ppm).

Relativamente ao espectro de RMN ^{13}C e DEPT (figuras 32 e 33), é possível verificar a presença do pico relativo ao grupo metilo que foi introduzido a um desvio químico de 39,19 ppm.



14

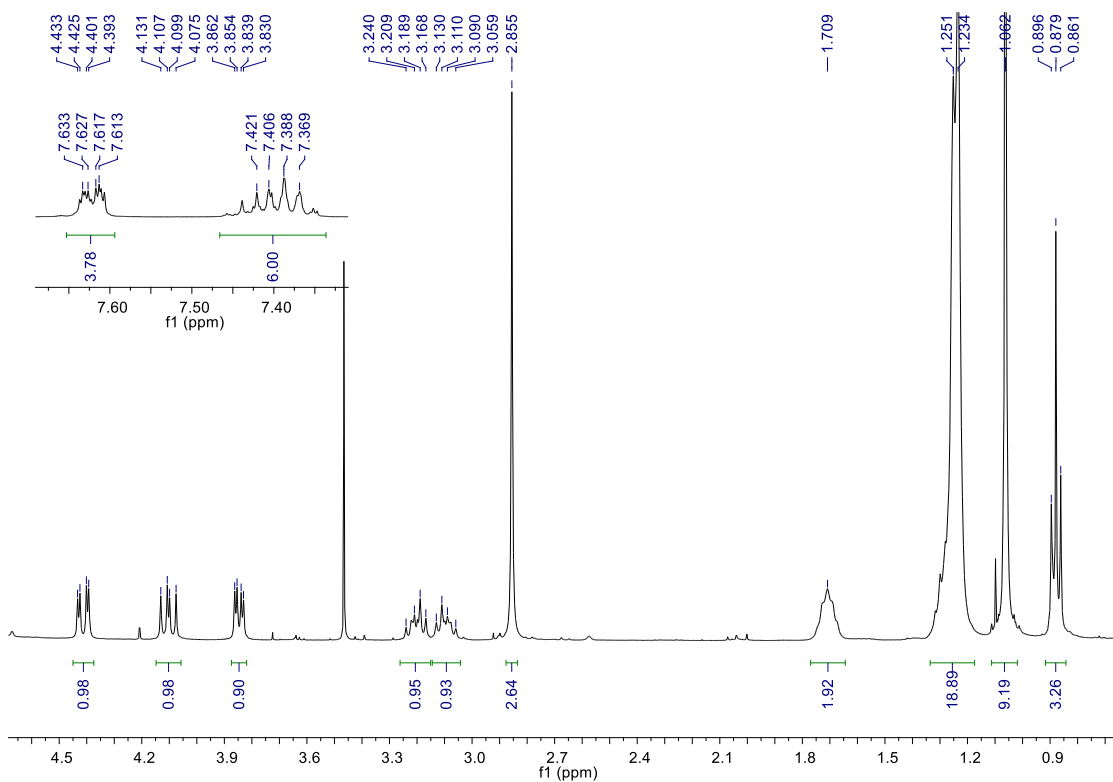


Figura 31 - Espetro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) relativo ao composto 14.

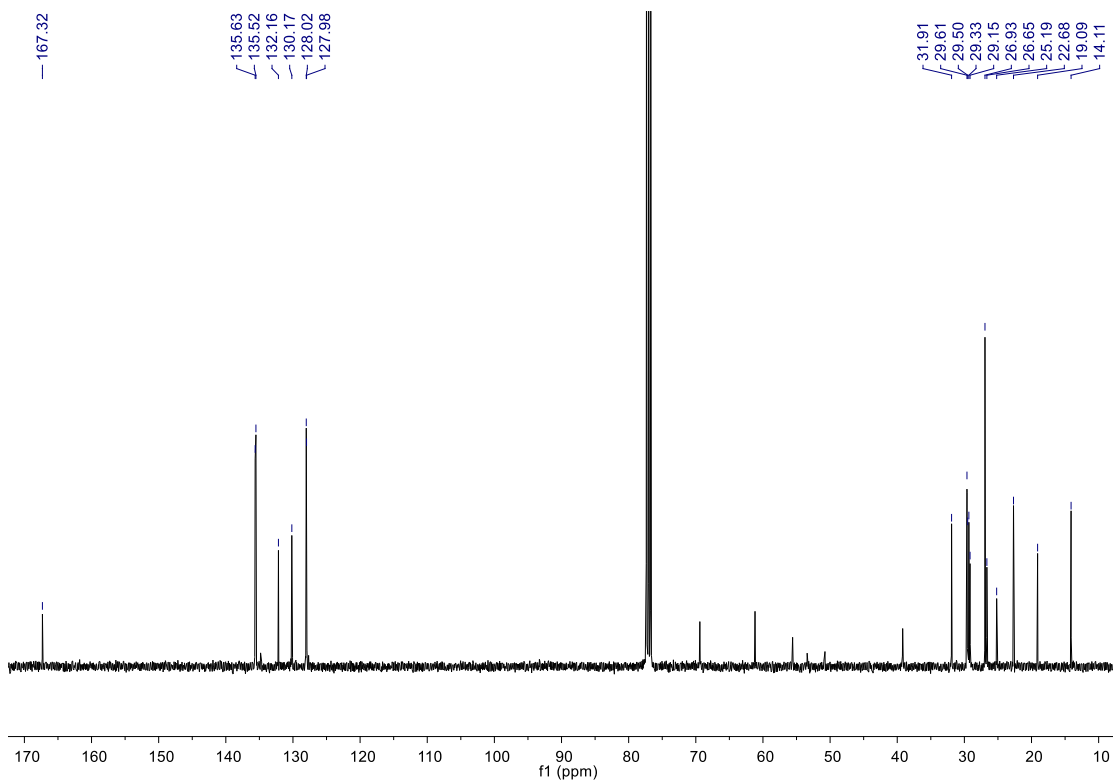


Figura 32 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz), relativo ao composto 14.

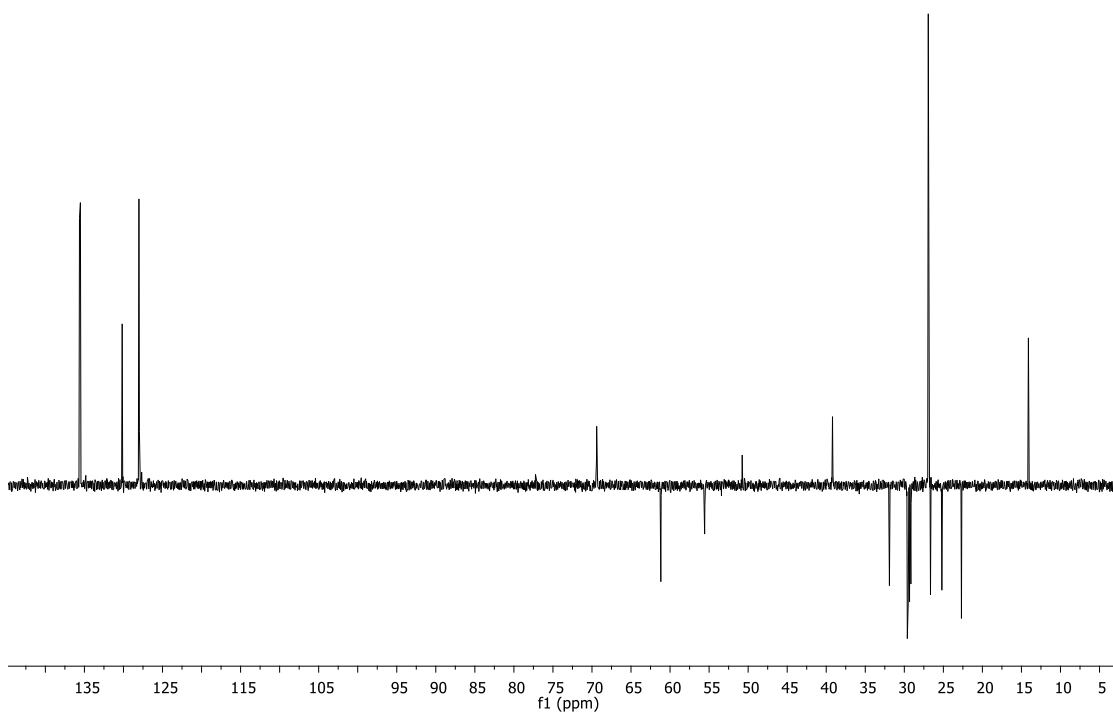


Figura 33 - Espectro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz), relativo ao composto 14.

2.3.2.3 Condensação via TBTU entre **14** e a etilenodiamina

A reação de condensação entre **14** e a etilenodiamina segue o mesmo mecanismo apresentado no esquema 9 (página 51), recorrendo também ao agente de acoplamento TBTU, para garantir a formação de uma ligação amida entre os dois reagentes.

Uma vez que a diamina usada é simétrica, contendo em ambos os extremos dois grupos amino livres, há o risco de formar mais facilmente produtos indesejados, como é o caso de estruturas diméricas. Deste modo, para tentar diminuir o risco de reações laterais, foi feita uma adição espaçada de cada reagente, garantindo a total formação dos respetivos intermediários. Inicialmente adicionou-se a DIEA e deixou-se em agitação e sob banho de gelo com o reagente de partida **14**, e esperou-se 15 minutos para adicionar o TBTU. Esperou-se 1 hora para ocorrer a ativação por parte do TBTU e de seguida evaporou-se o solvente da mistura reacional e juntou-se esta a um balão contendo a diamina, garantindo assim que esta se encontra sempre em grande excesso. Durante a adição dos reagentes colocou-se sempre a mistura reacional em banho de gelo, uma vez que se verificou numa das experiências que à T_{amb} se podem formar produtos indesejados, obtendo-se um rendimento de 12%.

O tratamento foi realizado inicialmente com uma solução aquosa de HCl 0,10M, para garantir a eliminação total da DIEA em excesso. As lavagens realizadas de seguida à fase orgânica com NaHCO_3 e H_2O promovem a passagem do HOBt e da tetrametilureia para a fase aquosa, tal como aconteceu com o composto **7**. Da cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 10:1 foi possível isolar um óleo amarelo que foi identificado por RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY e HSQC (figuras 34 a 38), como sendo o composto pretendido **15**.

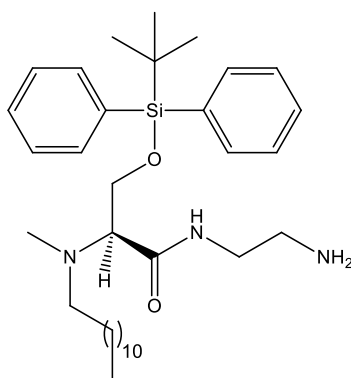
Pelo espectro de RMN ^1H representado na figura 34, é possível observar o aparecimento do sinal a 7,74 ppm referente ao próton da ligação amida formada, e pelo espectro de ^{13}C (figura 35) é também possível observar um pico bastante deslocado para a esquerda, a um desvio químico de 172,63 ppm, típico do grupo carbonilo de amidas. No espectro de RMN ^1H , o aparecimento do singlete largo a 2,70 ppm confirma a presença do grupo amino livre na molécula.

Os espectros de RMN 2D (figuras 37 e 38) permitiram confirmar a interação dos prótons diastereotópicos do grupo $-\text{CH}_2-$ ligado ao grupo protetor, que dão origem a dois duplos dupletos a 4,14 e 4,00 ppm. Estes dois prótons por sua vez interagem também com o próton do $-\text{CH}-$ do aminoácido a 3,32 ppm, confirmando assim a sua localização na molécula.

Relativamente aos sinais dos grupos metilénicos da diamina introduzida, é possível verificar por COSY a correlação entre ambos os picos, apresentando o -CH₂- diretamente ligado ao grupo amino livre um tripuleto com desvio químico de 2,85 ppm.

Não foi possível atribuir os sinais dos grupos metilénicos da cadeia alquilada, nem mesmo com a ajuda do espectro de RMN DEPT, uma vez que são sinais que saem muito juntos.

Uma vez terminada a atribuição de todos os sinais relativos aos prótons, a análise do espectro de HSQC permitiu uma fácil atribuição dos carbonos da molécula.



15

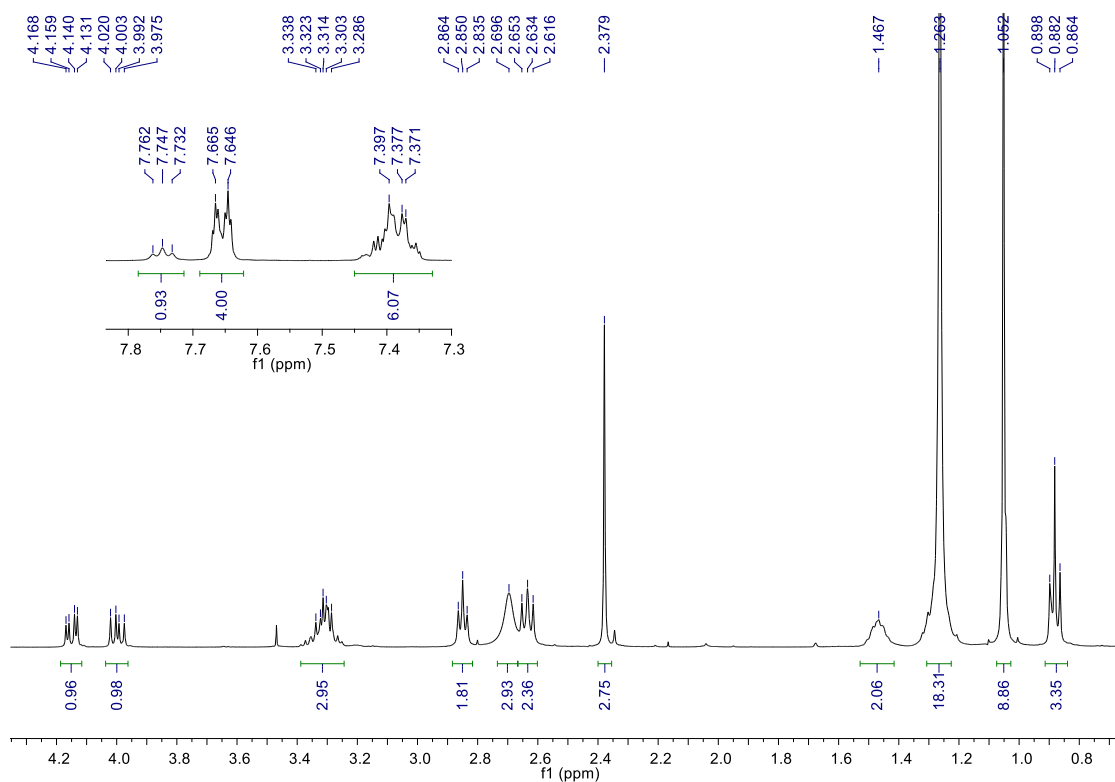


Figura 34 - Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) relativo ao composto 15.

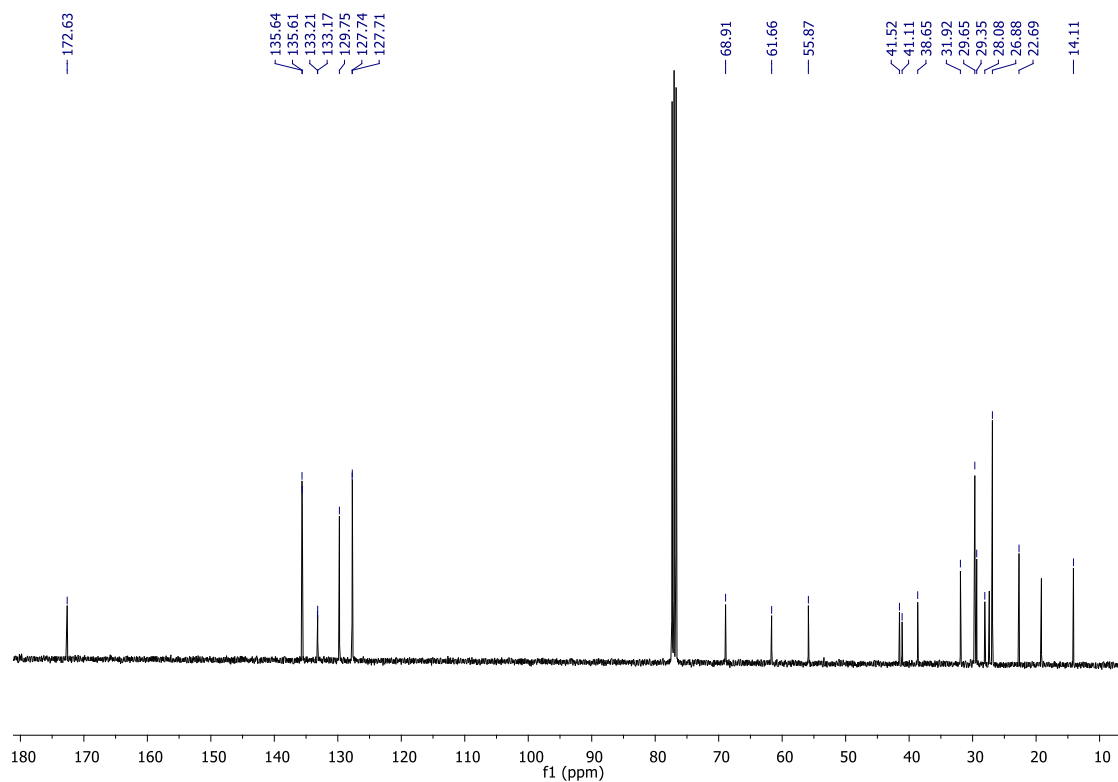


Figura 35 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 15.

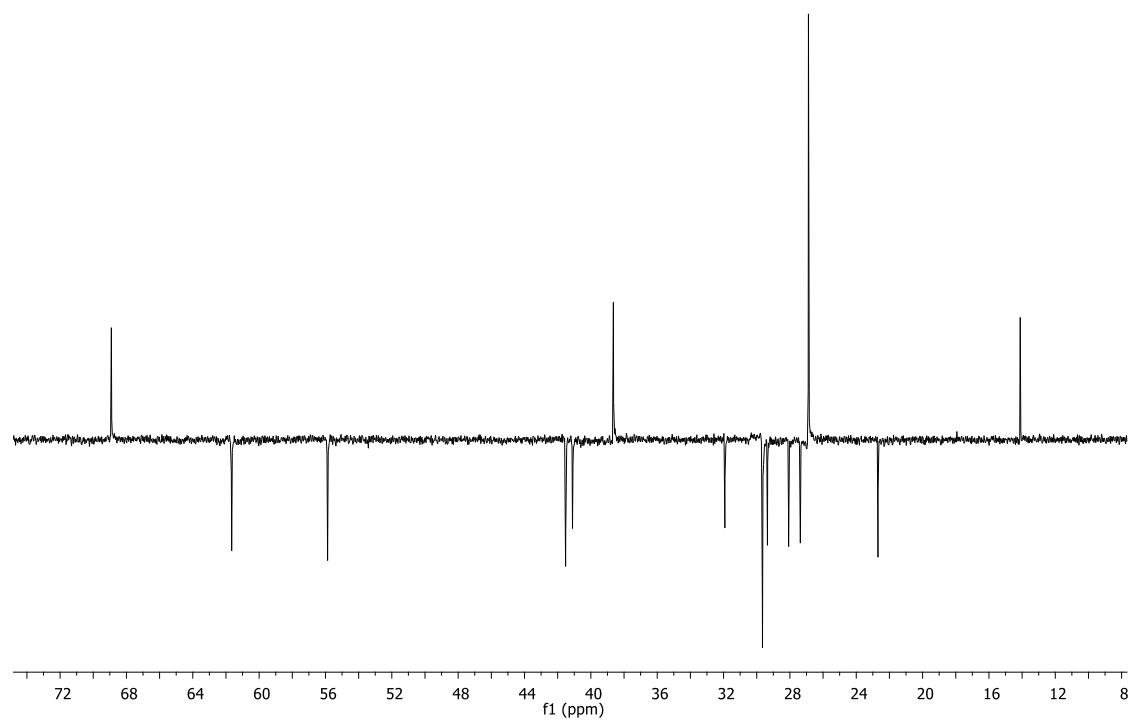


Figura 36 - Espetro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 15.

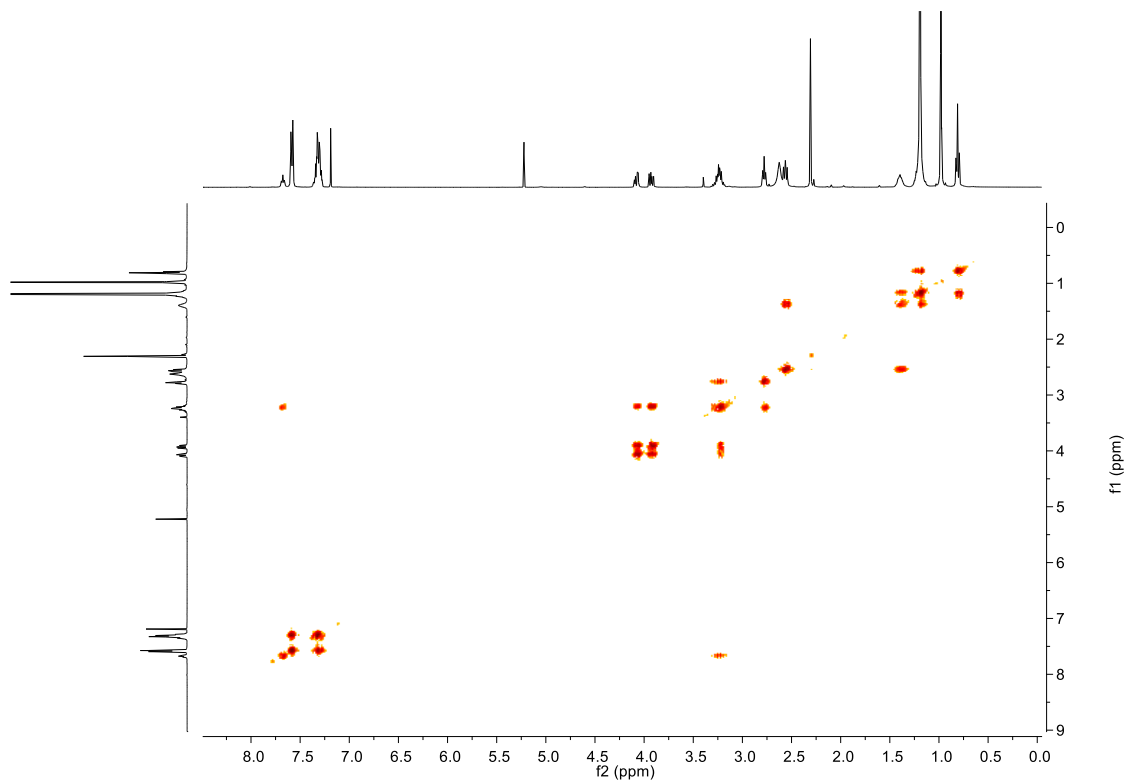


Figura 37 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 15.

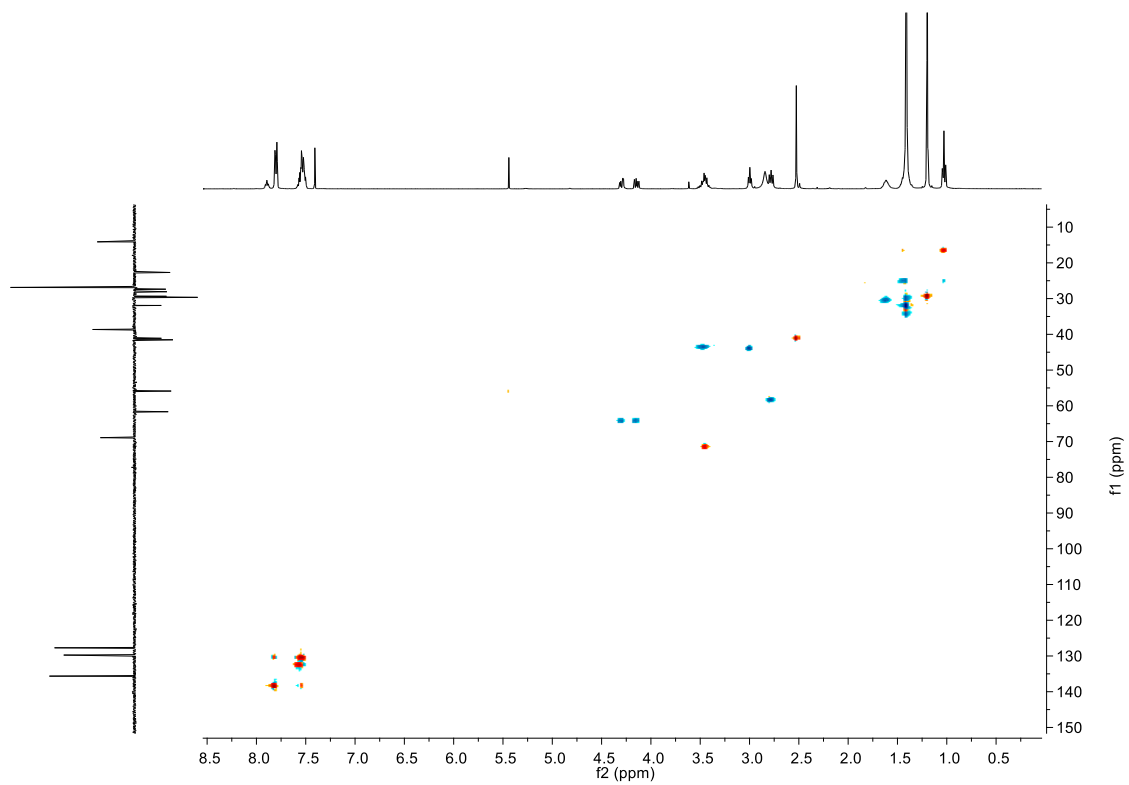


Figura 38 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 15.

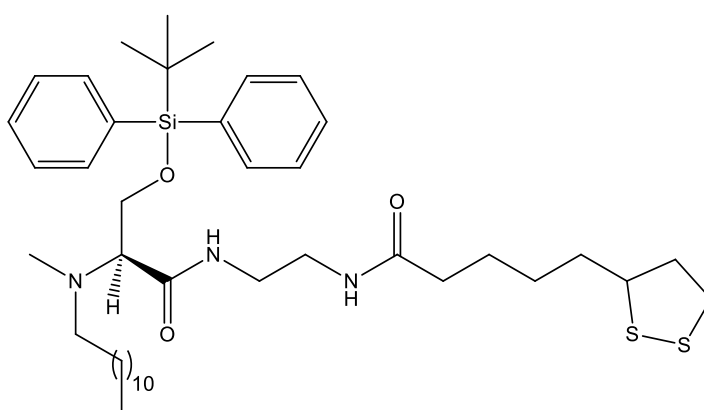
2.3.2.4 Acoplamento de **15** com o ácido α -lipóico ativado

A reação de acoplamento do ácido α -lipóico com o composto **15** por condensação ocorre segundo um mecanismo análogo ao apresentado no esquema 7 (página 46).

A síntese foi realizada de acordo com o procedimento encontrado na literatura.³⁷

A mistura reacional permaneceu em agitação durante a noite, na ausência de luz e por observação de CCF, verificou-se que a reação terminara ao fim de 24h.

Relativamente à purificação, efetuou-se uma primeira cromatografia em coluna usando como eluente uma mistura de solventes, DCM/MeOH 20:1, uma vez que por CCF se observava que as manchas estavam bem separadas. No entanto a separação não foi eficaz. Deste modo, efetuou-se nova coluna usando Hex/AcOEt 1:1, tendo-se conseguido isolar um óleo amarelo que foi identificado por RMN ^1H (figura 39) como sendo o composto pretendido **16**. Assim, no espectro de RMN ^1H é possível observar o aparecimento dos picos correspondentes ao resíduo de LA, bom como o desaparecimento do singlete largo a 2,70 ppm relativo ao grupo amino livre, que por condensação com o ácido lipóico formou uma ligação amida, aparecendo agora um singlete largo a 6,36 ppm. Observa-se a contaminação com AcOEt utilizado durante a purificação do composto, muito embora este tenha estado a secar sob alto vácuo durante 1 dia. Os picos do AcOEt referem-se a um singlete a 2,05 ppm, a um quarteto a 4,12 ppm e a um tripleto a 1,26 ppm, que aparece sobreposto com o sinal dos prótons da cadeia alquílica.



16

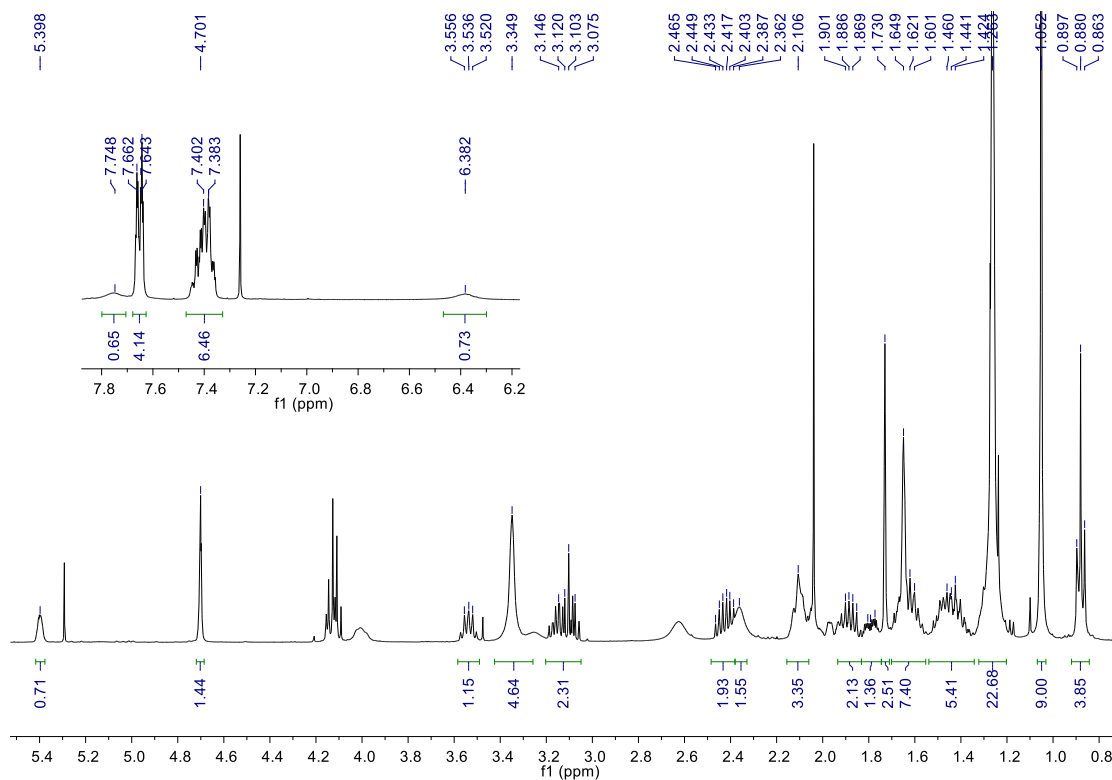
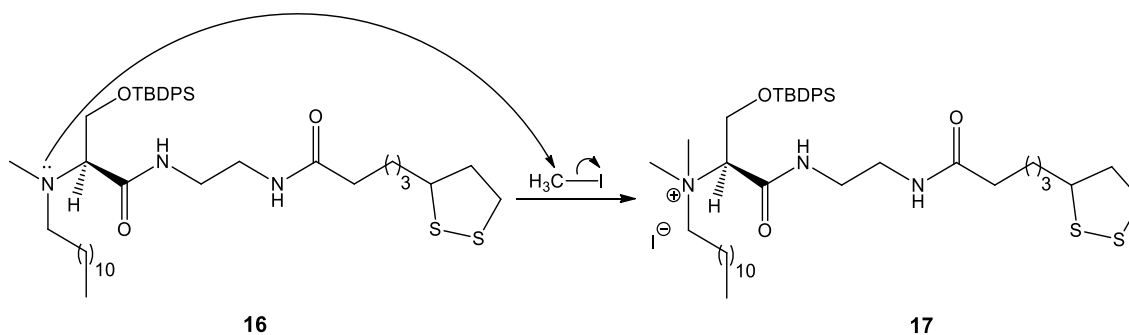


Figura 39 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **16**.

2.3.2.5 Metilação de **16** com iodometano

A metilação do composto **16** foi realizada usando um excesso de iodometano e uma quantidade mínima de DMF, apenas para dissolver os compostos. A reação segue um mecanismo reacional de substituição nucleófila biomolecular apresentado no esquema 13, idêntico ao apresentado anteriormente no esquema 10 (página 54).



Esquema 13 - Mecanismo reacional da reação de metilação por $\text{S}_{\text{N}}2$.

A reação só poderia ocorrer no grupo amino do aminoácido, devido à proteção anteriormente realizada no grupo hidroxilo, impedindo desta forma o ataque deste ao iodometano. Assim, uma vez que o grupo amino do tensoativo é nucleófilo, ataca o átomo de carbono do iodometano, formando-se desta forma um composto quaternário de amônio. O ião iodeto vai assim servir de contra-íão ao grupo quaternário formado.

Dissolveu-se o reagente de partida em DMF, colocou-se sob agitação magnética e protegido da luz, e juntou-se o iodometano em excesso, de modo a garantir a total introdução deste grupo na molécula pretendida. Observou-se imediatamente a alteração do aspeto da reação, passando de uma cor amarelada para uma cor acastanhada. Por CCF verificou-se que a reação terminou ao fim de 3h, uma vez que já não existia reagente de partida para reagir.

Nas extrações usou-se como solvente DCM e inicialmente lavou-se a fase orgânica com uma solução saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, para promover a eliminação total de algum I_2 que se possa ter formado durante a reação. De seguida realizaram-se bastantes lavagens com H_2O para remover a DMF.

Terminado o tratamento, procedeu-se a uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 10:1, verificando por CCF que o composto saiu contaminado. Assim, decidiu-se proceder a uma nova coluna cromatográfica, alterando a proporção do eluente, usando DCM/MeOH 20:1, conseguindo-se isolar o produto desejado **17**, com um rendimento de 55 %, que foi identificado por RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY e HSQC (figuras 40 a 44).

Numa das experiências realizadas para esta reação, obteve-se um rendimento de 8%. Uma vez que o reagente de partida não desaparecia completamente, foi necessário adicionar mais 2 eq. de CH_3I , e deixou-se a reação de um dia para o outro, tendo sido parada ao fim de 22h. Como se deixou durante a noite, não foi possível acompanhar a reação por CCF, e talvez o tempo tenha sido a causa do rendimento ter sido tão baixo, pois o composto pode-se ter degradado.

Na figura 40 está apresentado o espetro de RMN ^1H , observando-se a 3,33 e 3,27 ppm a presença de dois singletos referentes aos dois grupos metilo ligados ao azoto da molécula.

Como já referido anteriormente, a quaternização do azoto fez com que os prótons na sua vizinhança ficassem mais desprotegidos, devido à cedência de densidade eletrónica ao grupo amônio. Assim, o grupo -CH- da serina apresenta um duplo duplete a 5,43 ppm, comprovado também por análise 2D de COSY que este se encontra acoplado aos dois duplos dupletos relativos ao grupo -CH₂- da serina, que apresentam

sinais distintos por serem prótons diastereotópicos. De forma análoga, o grupo metilénico da cadeia alquilada que está diretamente ligado ao azoto e o grupo metilénico seguinte, surgem a desvios químicos mais elevados: a 3,91 e 3,55 ppm estão os sinais relativos ao primeiro $-CH_2-$ que apresentam sinais distintos, sendo que o segundo aparece sobreposto num multiplete de intensidade 3; já o segundo $-CH_2-$ aparece também sobreposto num multiplete, neste caso de intensidade aproximadamente 7 a um desvio químico de 1,70 ppm.

Por análise 2D (COSY e HSQC), foi possível atribuir os restantes prótons do sinal a 1,70 ppm aos grupos metilénicos $-NHCO-CH_2-CH_2-$ e $-CH_2-CH-S-$ do resíduo de LA. Estes espetros bidimensionais, também ajudam na atribuição do próton do carbono terciário ligado ao átomo de enxofre e de um dos prótons do grupo metilénico ligado a um dos grupos amida, $-CONH-CH_2-$, que surgem num multiplete a 3,55 ppm. O outro próton do grupo metilénico referido surge num multiplete a 3,13 ppm, juntamente com os sinais do $-CH_2-$ ligado ao átomo de enxofre.

Quanto ao espetro de RMN ^{13}C e DEPT, é possível verificar os dois picos relativos aos dois grupos metilos ligados ao azoto da serina, sendo assim aparece um pico com desvio químico de 50,38 e outro de 49,15 ppm. Os restantes carbonos foram facilmente atribuídos, com a ajuda dos espetros 2D.

Os sinais que não foram referidos dizem respeito a prótons do grupo protetor, do resíduo de LA e do resíduo da serina, uma vez que se mantiveram idênticos aos apresentados no espetros anteriores.

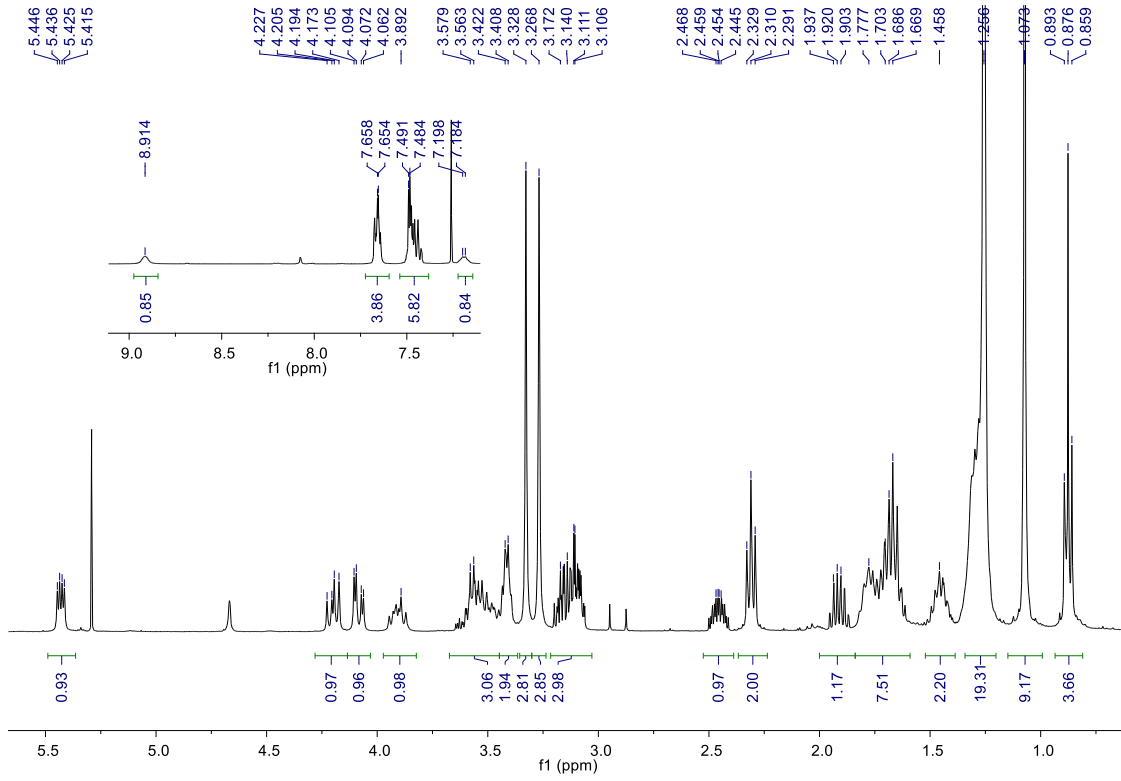


Figura 40 - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 17.

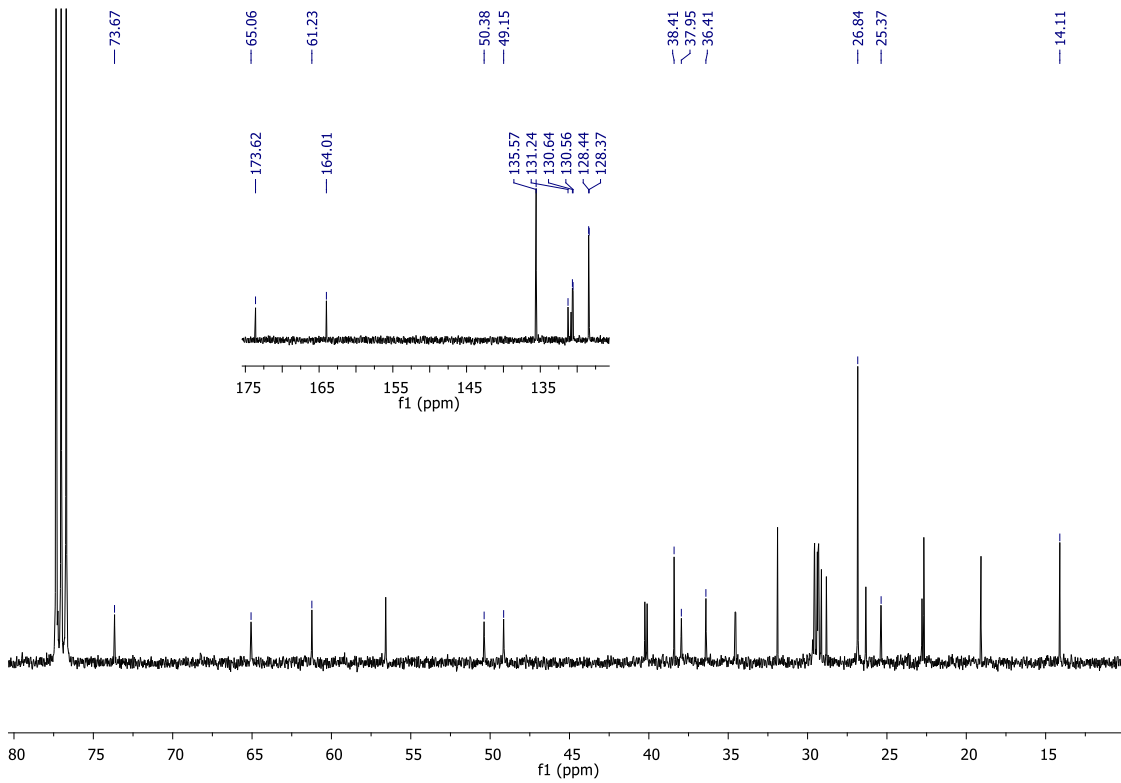


Figura 41 - Espetro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 17.

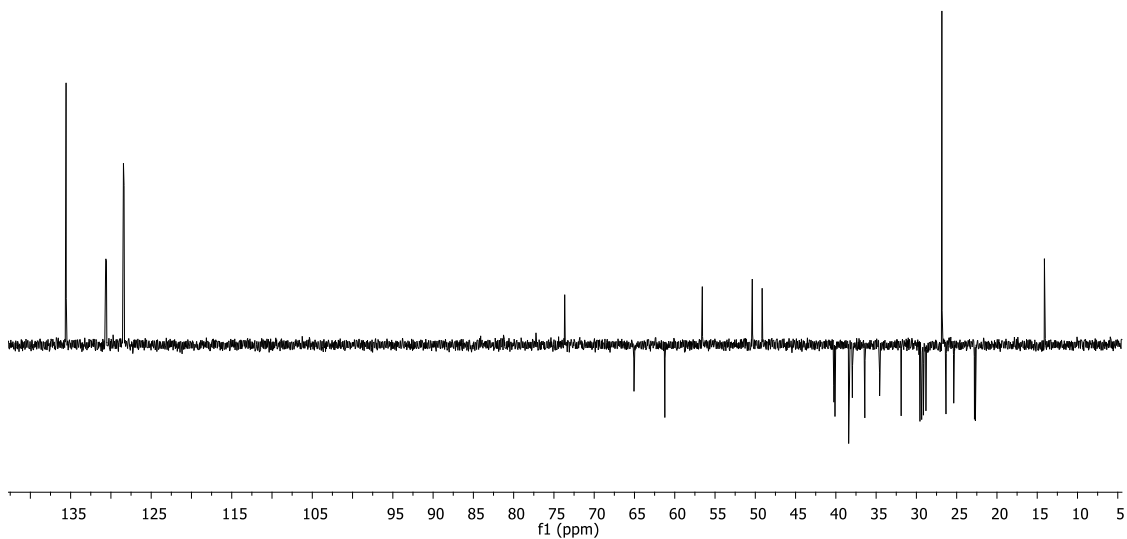


Figura 42 - Espectro de RMN DEPT (CDCl₃, 75 MHz) relativo ao composto 17.

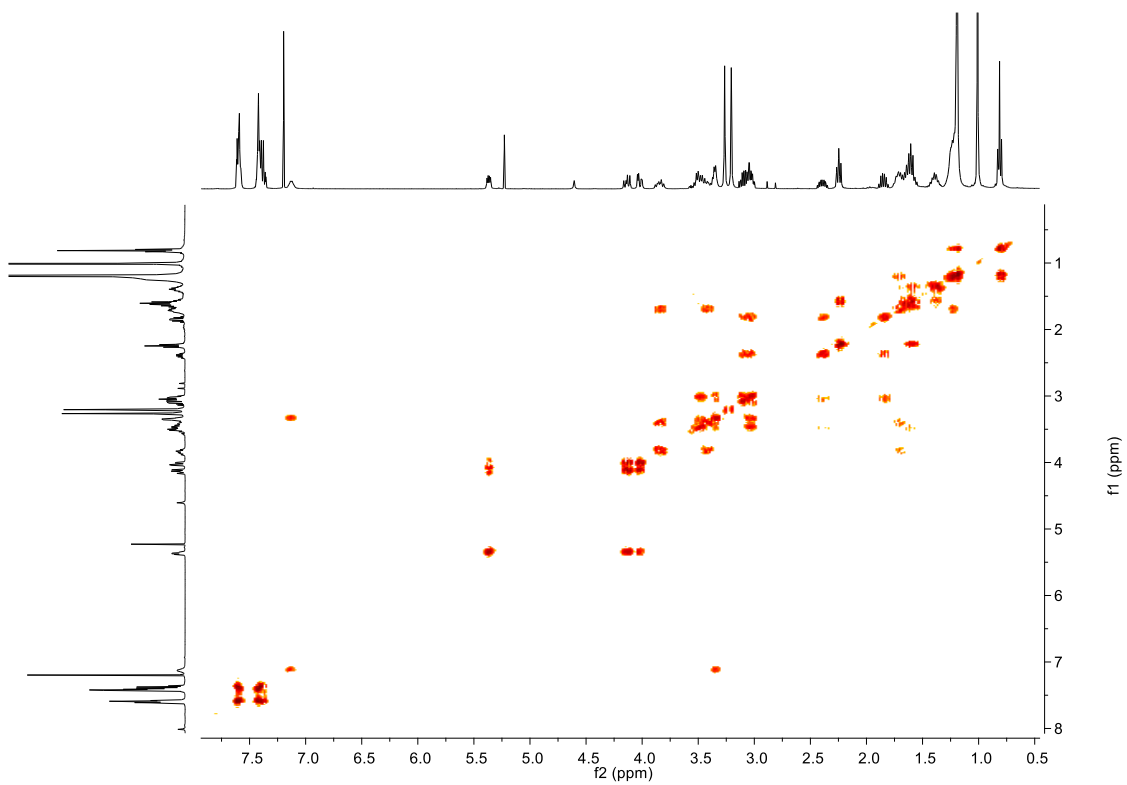


Figura 43 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 17.

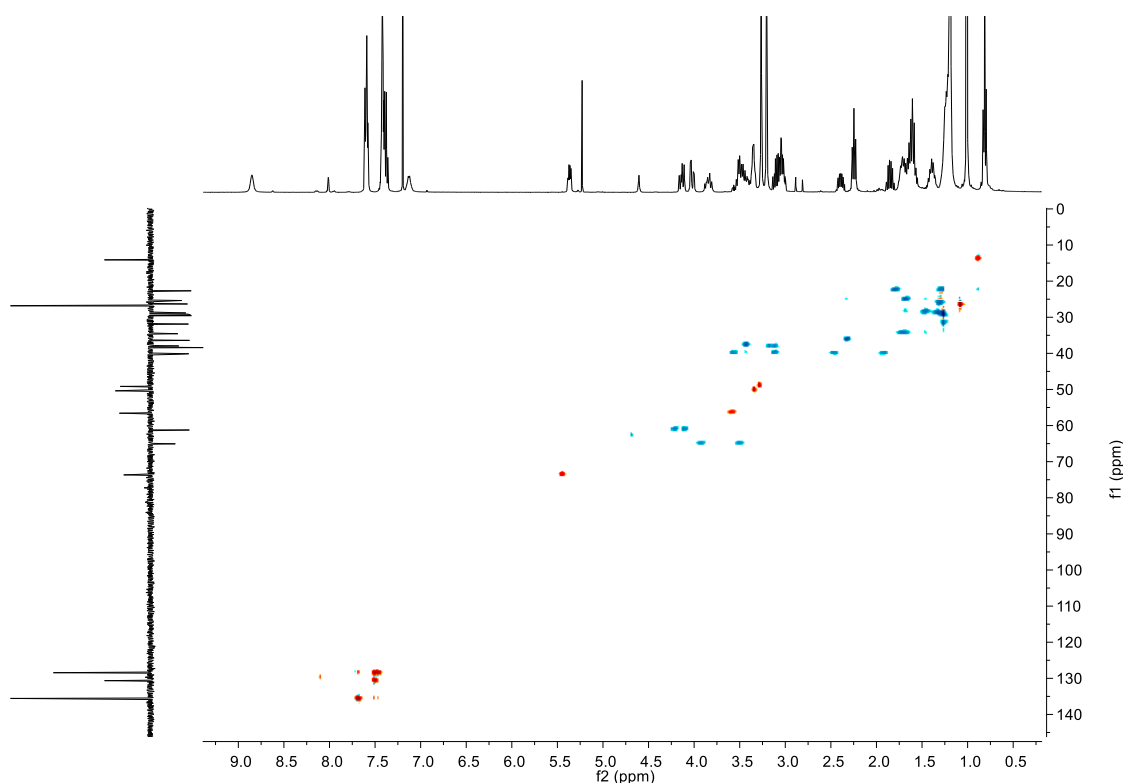


Figura 44 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto **17**.

2.3.2.6 Desproteção do composto **17**

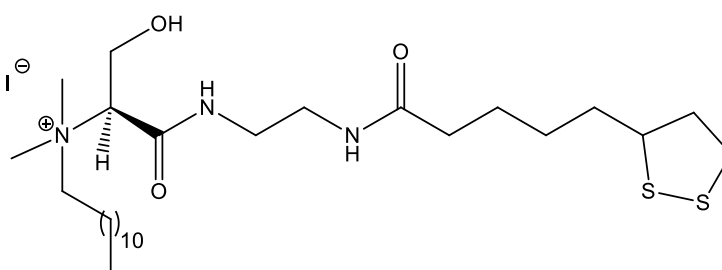
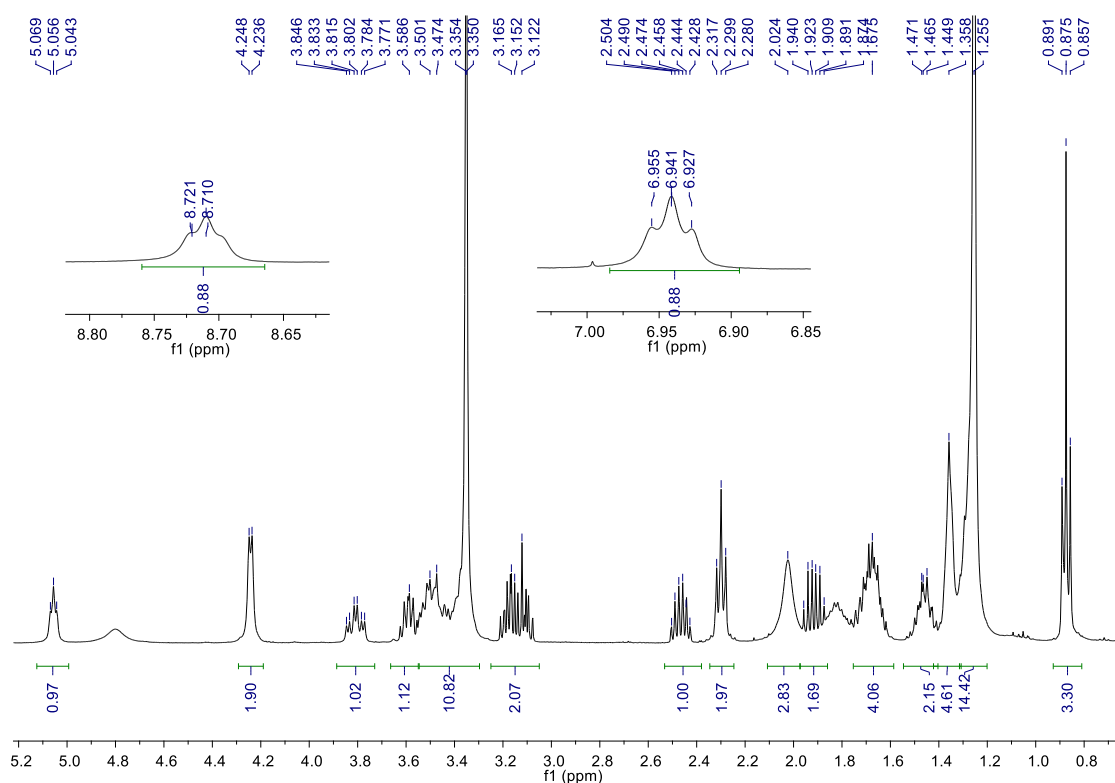
Como já foi referido no ponto 2.2.6. (página 56), após obtenção do tensoativo catiónico monomérico, foi necessário remover o grupo protetor, uma vez que já não se pretendia realizar mais nenhuma reação. O mecanismo desta reação é análogo ao apresentado no esquema 11 (página 56), sendo que a única diferença é no contra-íão, que neste caso é o iodeto, I⁻.

Utilizou-se o mesmo procedimento usado para a desproteção do composto **8** (página 56) tendo-se dado a reação por terminada ao fim de 2h.

Adicionou-se DCM à mistura obtida e efetuaram-se lavagens com H₂O e NaCl, para remover o hidróxido de tetrabutílamónio que se formou durante a reação, bem como o fluoreto de *tert*-butildifenilsilano. De seguida purificou-se o composto pretendido por cromatografia em coluna em que o eluente usado foi uma mistura de solventes, DCM/MeOH 10:1. Foram isoladas duas frações da coluna sendo ambas analisadas por RMN ¹H, ¹³C, COSY, HSQC e HRMS (figuras 45 a 52). Pareciam corresponder ambas ao composto pretendido (**18**). No entanto, ao analisar por HRMS as duas frações (figuras 50 a 52), verificou-se que embora em modo positivo ambas apresentassem espectros de massa idênticos (m/z = 532,36 u.m.a.), em modo negativo uma das frações

(figura 51) apresentava, para além do pico a 126,9 u.m.a. relativo ao anião iodeto, um outro pico a 602,3 u.m.a. com uma distribuição isotópica (figura 52) compatível com a presença de dois átomos de cloro, $M-I+2Cl^-$. Apesar disso, decidiu-se na mesma juntar as duas frações e realizar o passo da troca iónica, na esperança de que ambos os contra-íons pudessem trocar para o CF_3COO^- .

Relativamente aos espectros de RMN (figuras 45 a 49) é possível verificar no espectro de protão (figura 45), o desaparecimento dos picos correspondentes ao grupo protetor, que no espectro do reagente de partida **17** apareciam a 7,66 e 7,47 ppm (grupos fenilo), e a 1,07 ppm (1Bu). A remoção do grupo protetor também pode ser confirmada por RMN ^{13}C e DEPT (figuras 46 e 47), onde já não se encontram os picos referentes aos carbonos terciários dos grupos fenilo (125,00–135,00 ppm) nem o pico que aparecia a 26,84 ppm relativo aos carbonos primários do grupo 1Bu .

**18****Figura 45** - Espectro de RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz) relativo ao composto **18**.

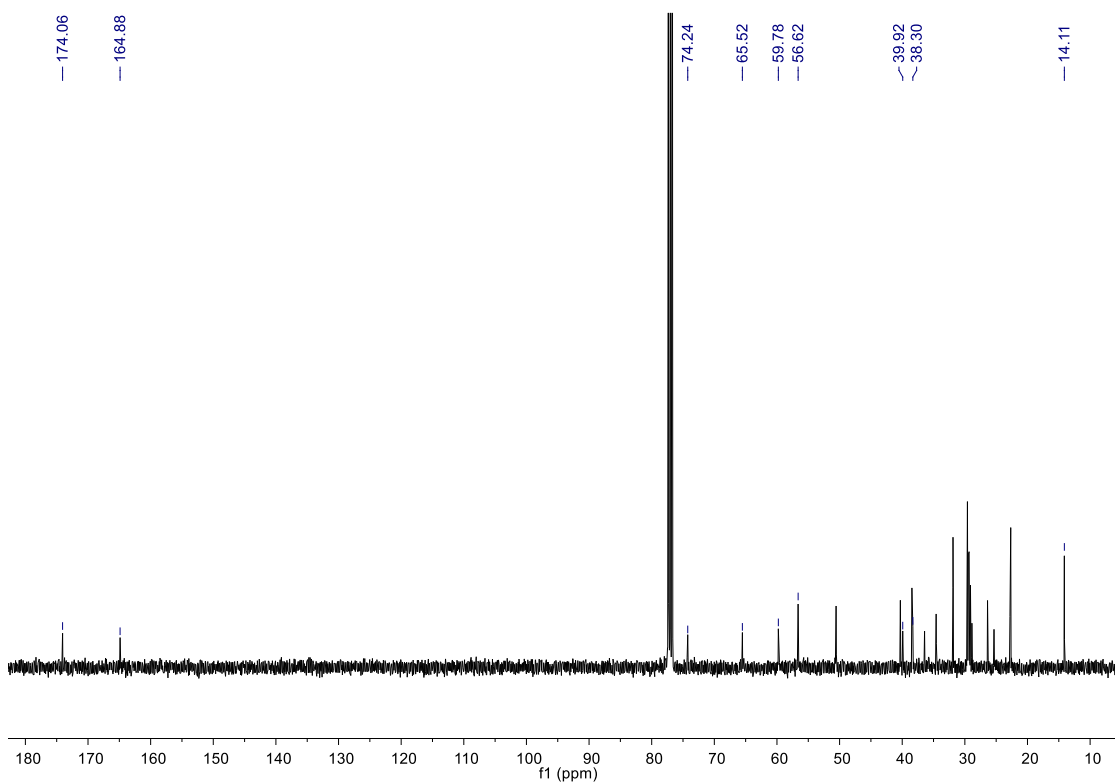


Figura 46 - Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) relativo ao composto 18.

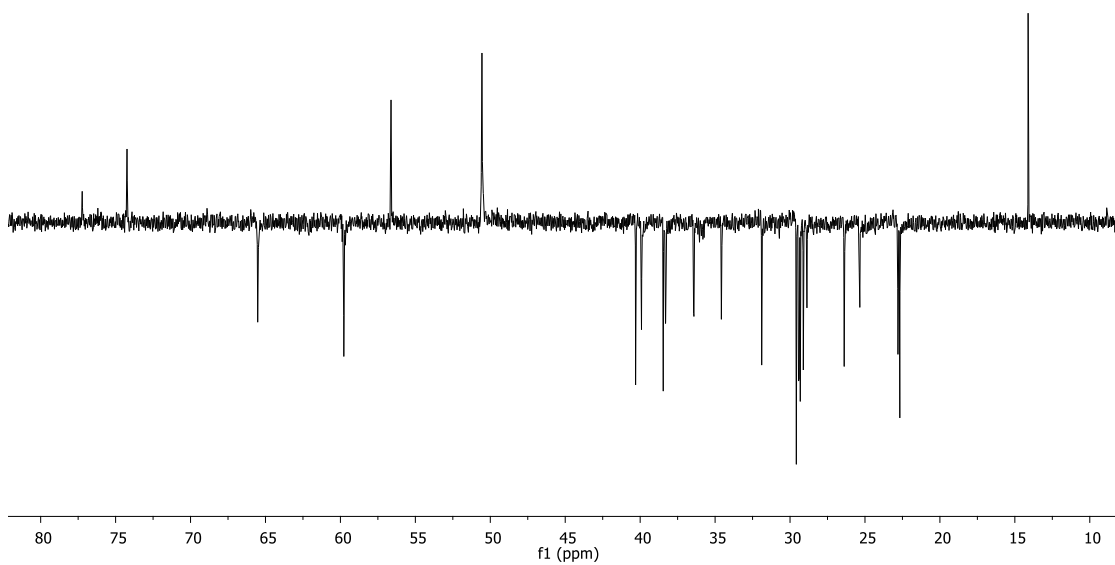


Figura 47 - Espectro de RMN DEPT (CDCl₃, 75 MHz) relativo ao composto 18.

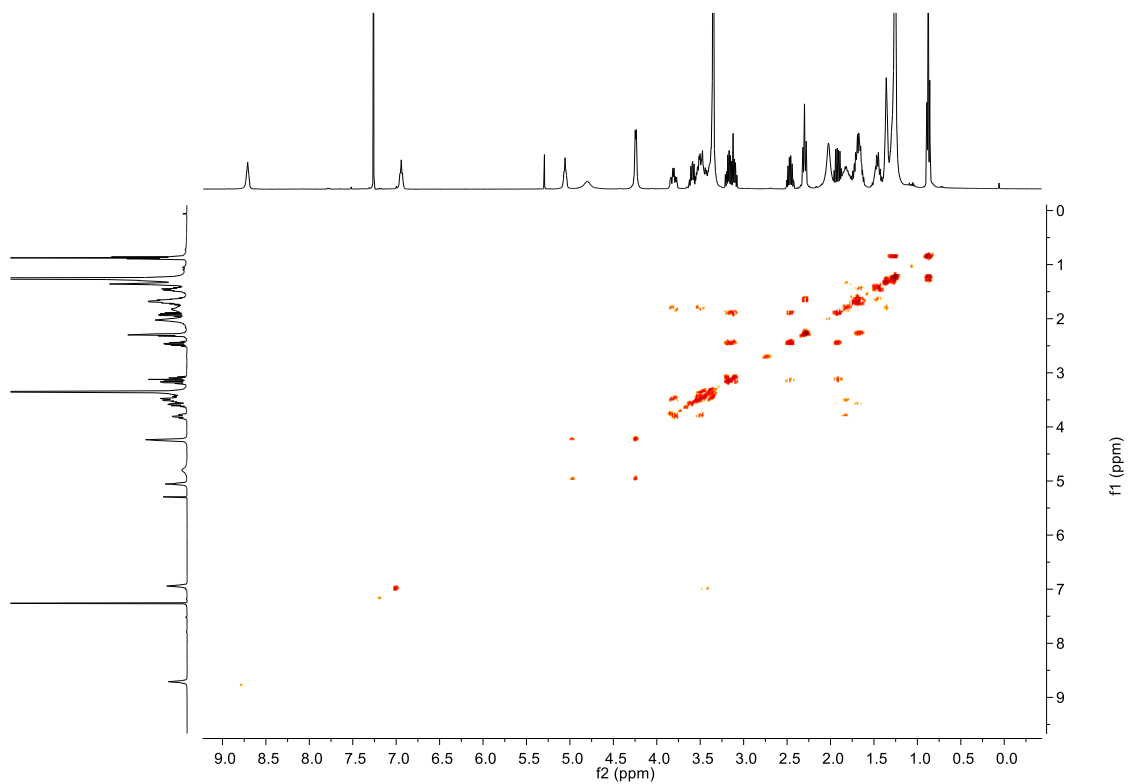


Figura 48 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 18.

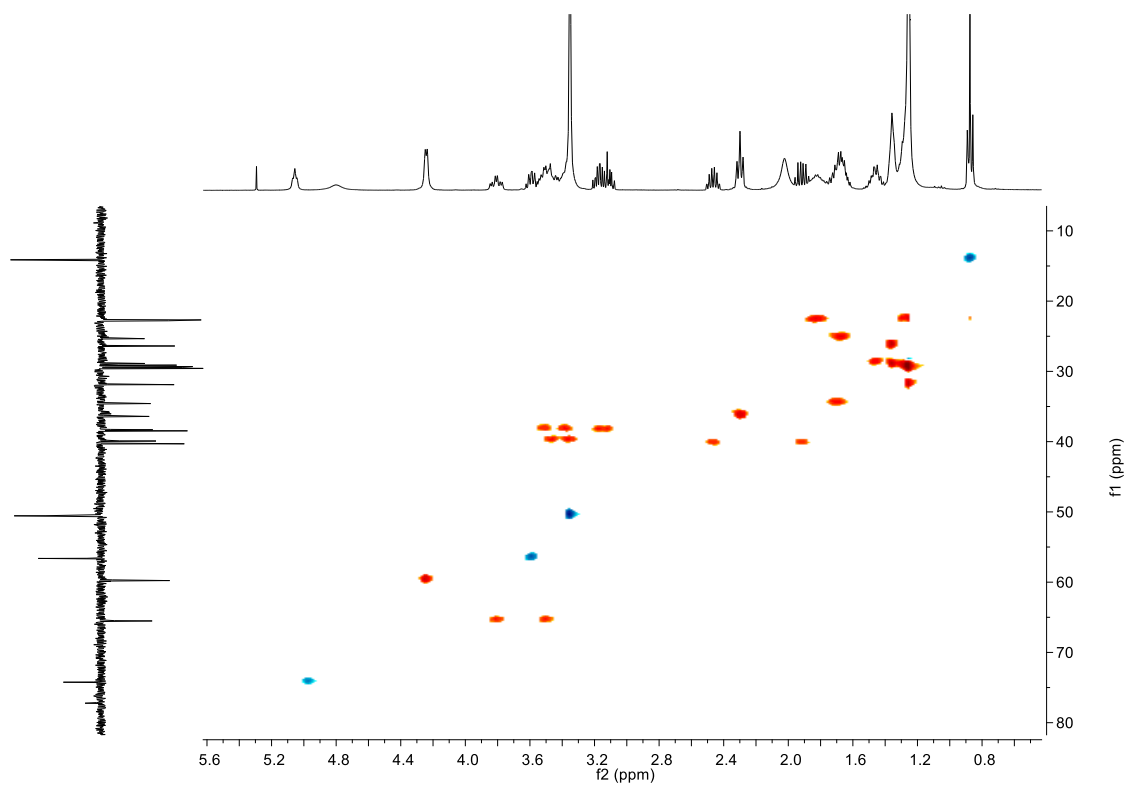


Figura 49 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 18 (expansão da zona de maior relevo).

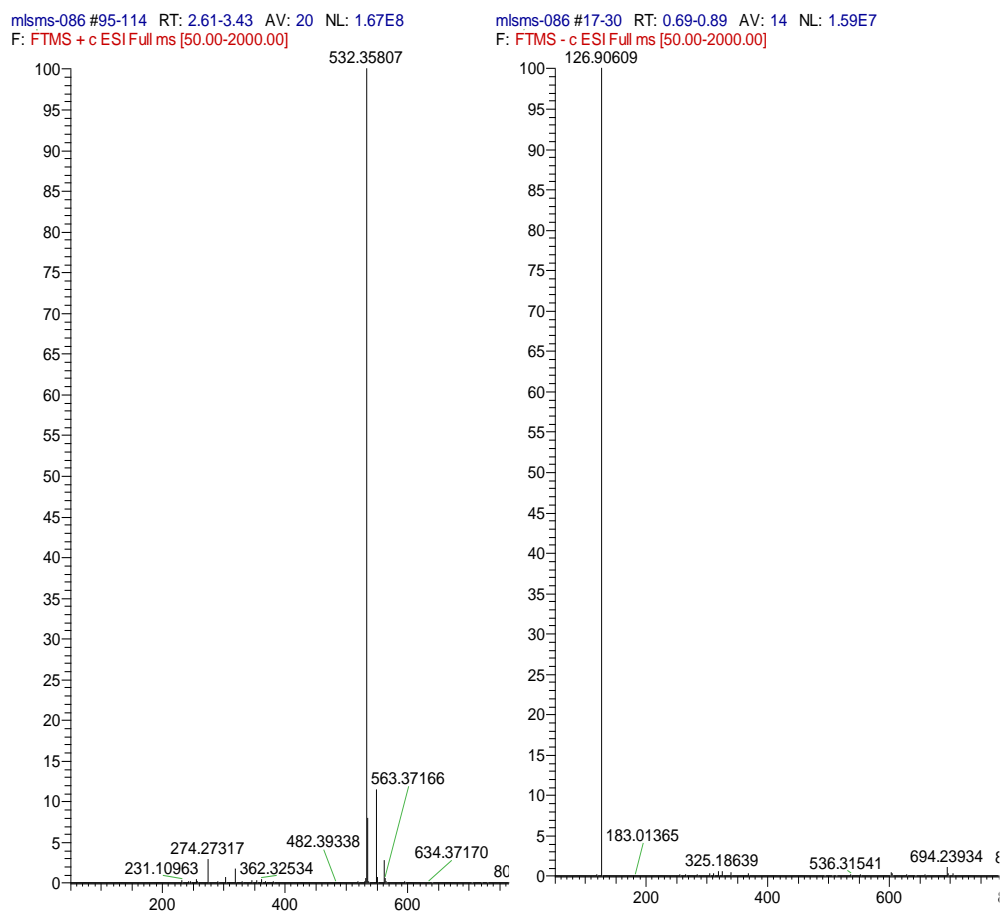


Figura 50 - Espetros de massa respetivos ao composto **18** 1ª fração da coluna cromatográfica. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.

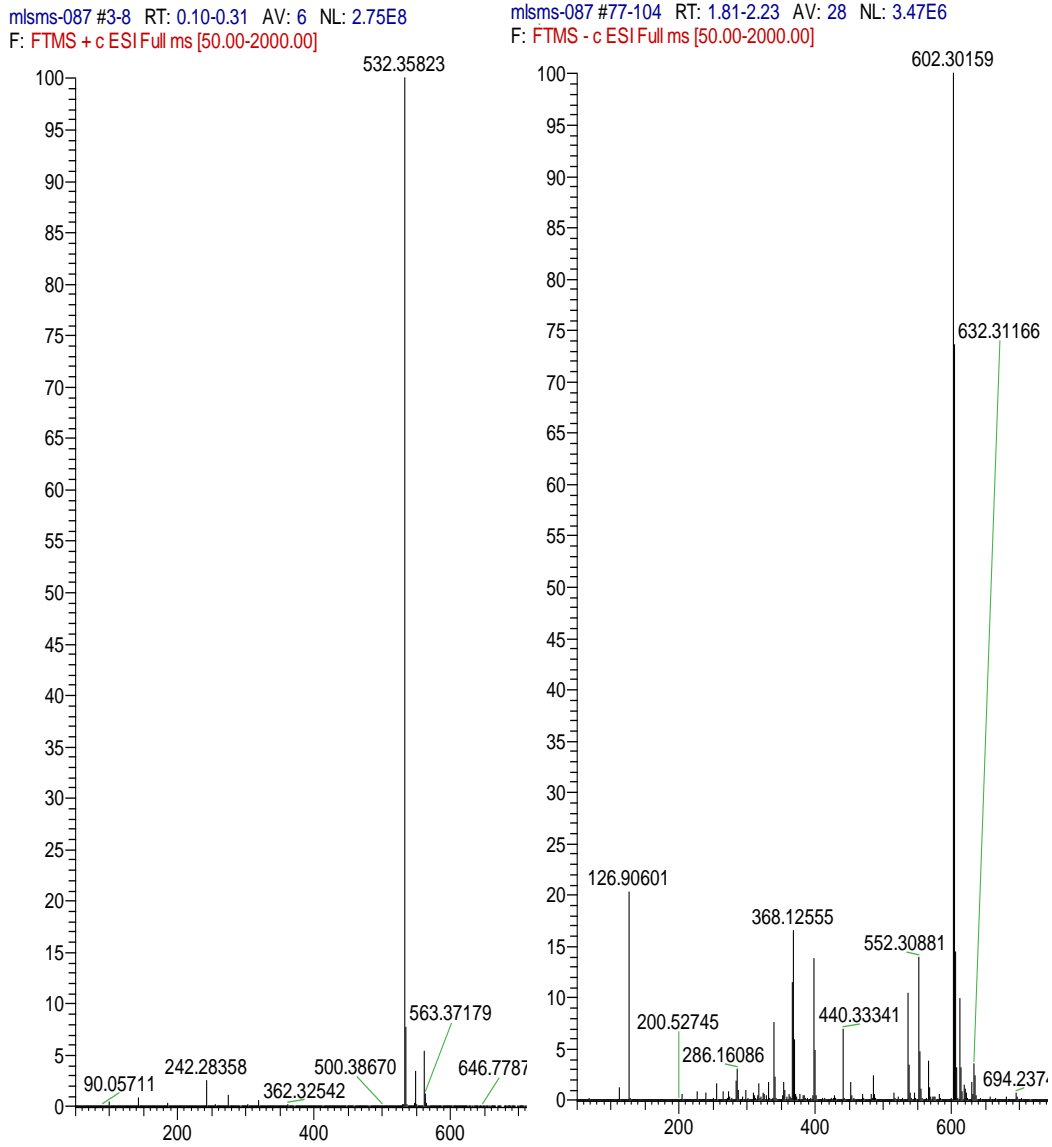


Figura 51 - Espectros de massa respectivos ao composto **18** 2ª fração da coluna cromatográfica. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.

mlsms-087 #71-99 RT: 1.72-2.15 AV: 29 NL: 3.58E6
F: FTMS - c ESI Full ms [50.00-2000.00]

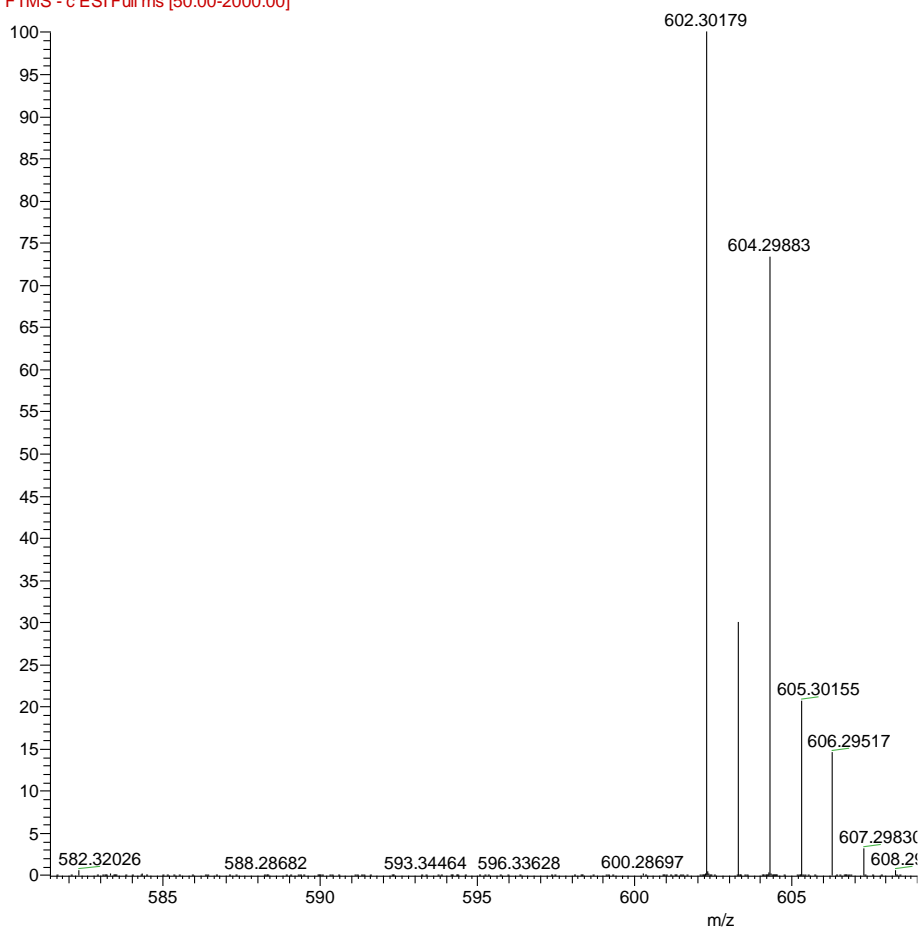


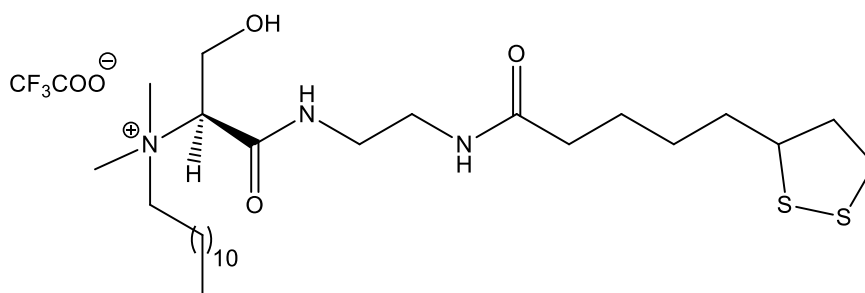
Figura 52 - Espectro de massa da 2ª fração (**18**), relativo à distribuição isotópica do pico base.

2.3.2.7 Reação de troca iônica do composto **18**

A última reação nesta sequência reacional para a obtenção do composto pretendido (**19**) consistiu na troca do contra-íon (halogeneto) pelo trifluoroacetato.

A troca iônica foi realizada usando o procedimento normalmente adotado pelo grupo de investigação. Inicialmente preparou-se uma solução de TFA (0,14 mL em 10 mL de H₂O) e adicionou-se a esta solução NaHCO₃. Agitou-se e mediu-se o pH. Parou-se a adição de NaHCO₃ quando se verificou que a solução estava básica. De seguida colocou-se esta mistura num funil de separação e juntou-se o composto **18** (na proporção 10:1) dissolvido em DCM. Agitou-se com cuidado e separaram-se as fases.

Após secar a fase orgânica e evaporar o solvente, obteve-se um óleo amarelo que foi identificado por RMN ¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HSQC e HRMS (figuras 53 a 58), como sendo o composto pretendido **19**. Como era de esperar, os espetros de RMN são muito parecidos com os do reagente de partida, **18**. O espetro de HRMS (figura 58) permite-nos, no entanto, concluir inequivocamente que se obteve o trifluoroacetato, já que em modo negativo se observa o pico a 112,9 u.m.a., característico do CF₃COO⁻. Em modo positivo observa-se o pico base a 532,3 u.m.a. que está de acordo com a parte catiónica do composto.



19a

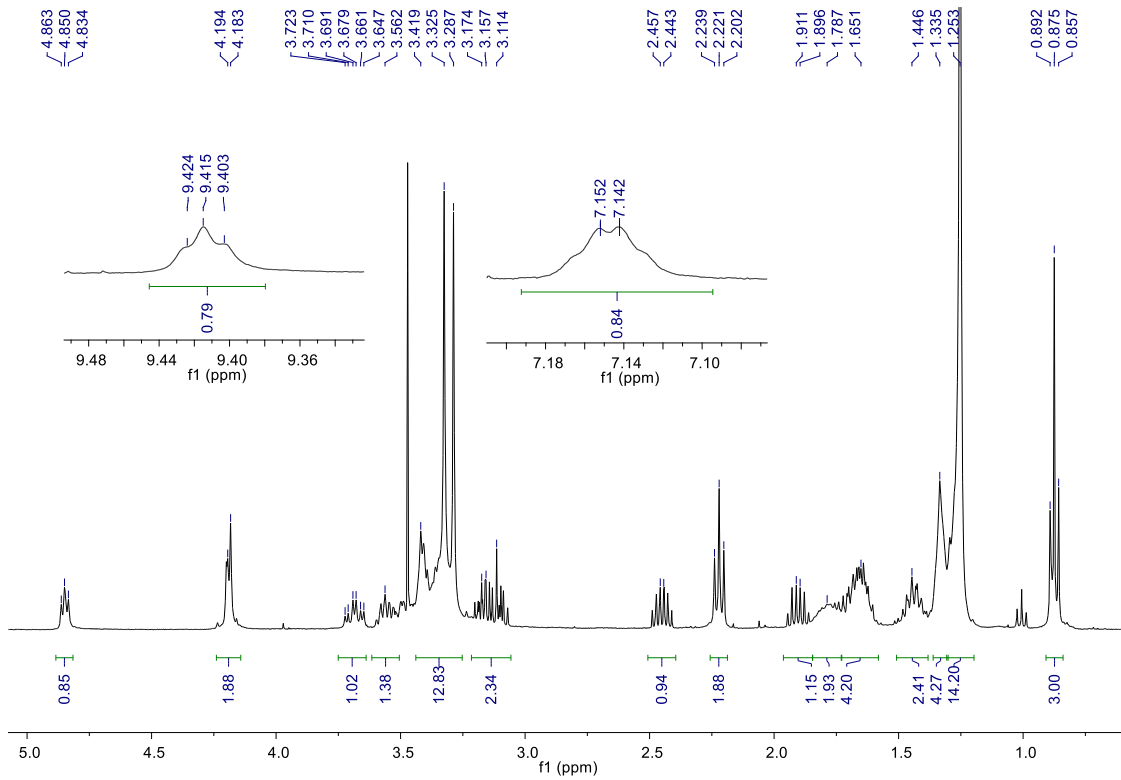


Figura 53 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 19.

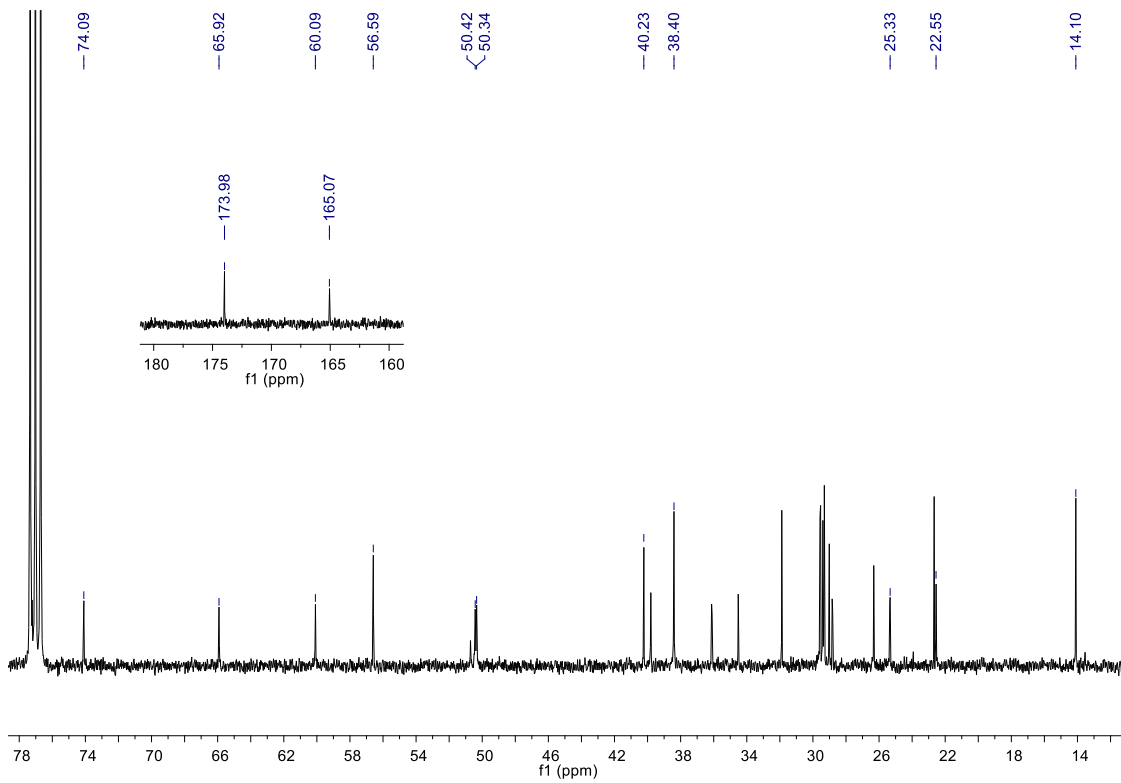


Figura 54 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 19.

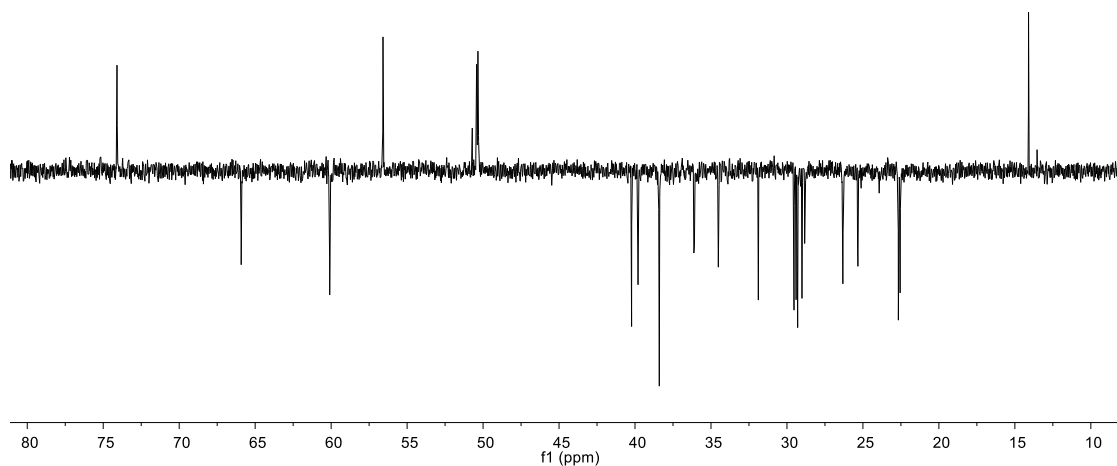


Figura 55 - Espectro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto 19.

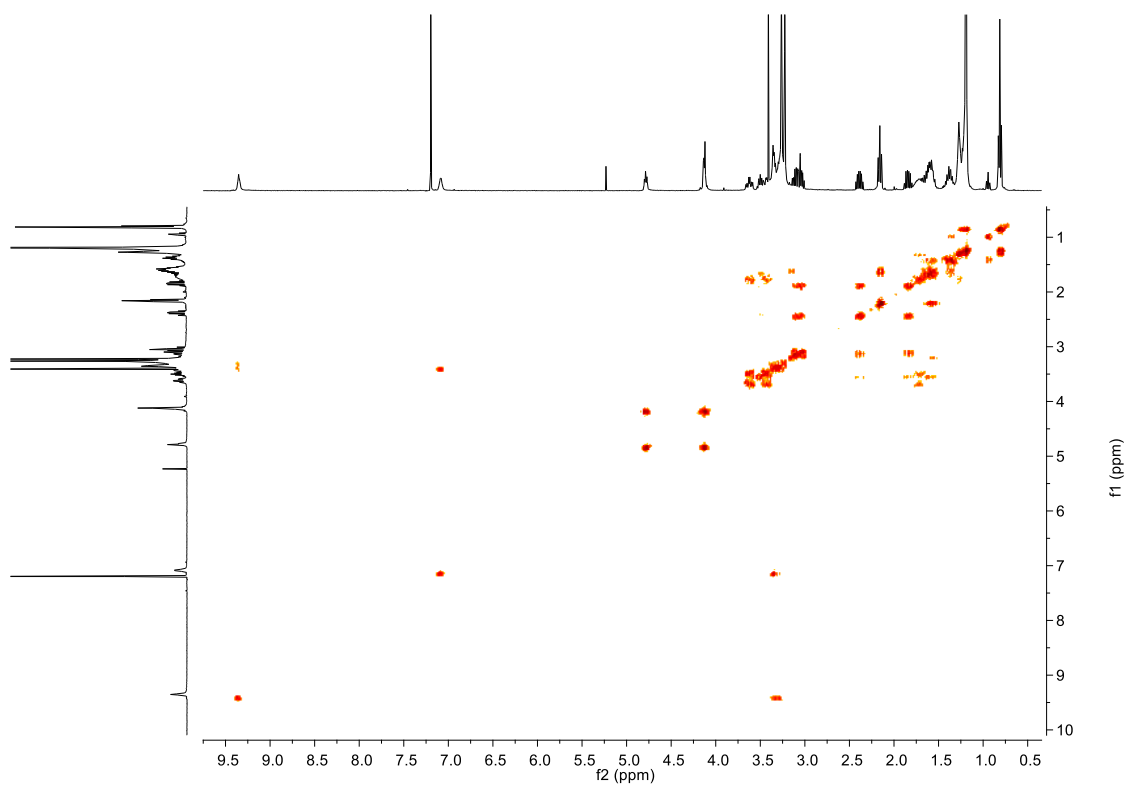


Figura 56 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto 19.

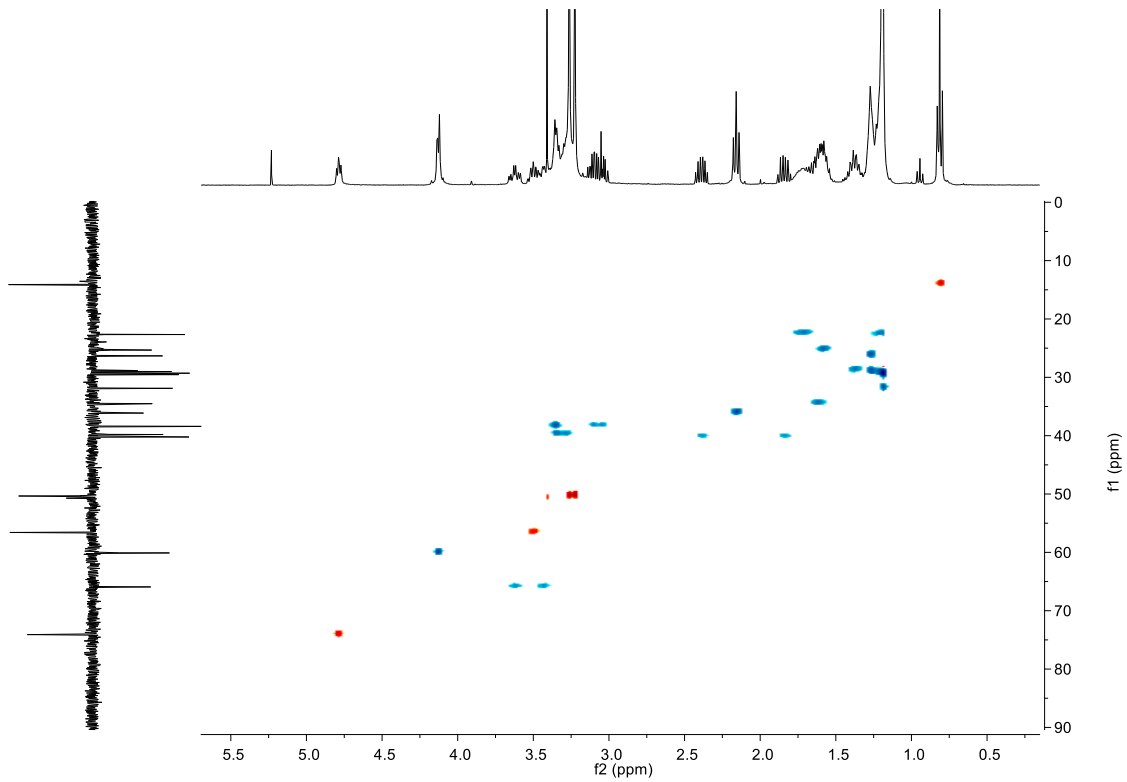


Figura 57 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto 19.

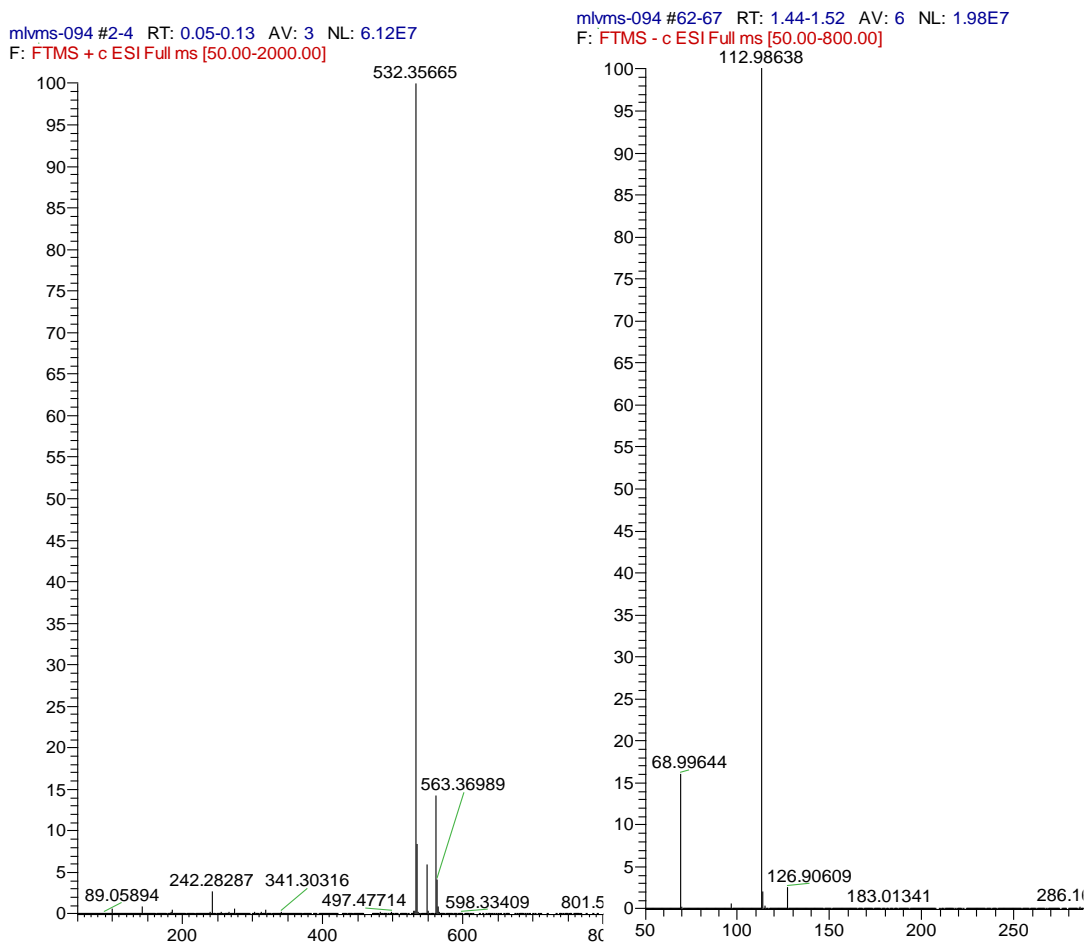


Figura 58 - Espectros de massa respectivos ao composto 19. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.

2.3.3 Método B

2.3.3.1 Metilação de **12** por aminação reductiva

Nesta metodologia, começou-se por introduzir dois grupos metilo no composto **12**, por aminação reductiva usando formaldeído. Esta reação segue um mecanismo idêntico ao apresentado no esquema 12 (página 63). Neste caso, não é necessário o uso da NEt_3 , uma vez que a amina primária já se encontra na sua forma desprotonada, conseguindo funcionar como um bom nucleófilo, atacando assim o carbono do formaldeído.

Como se pretendia introduzir dois grupos metilo no grupo α -amino foi necessário usar 2,4 eq. de formaldeído, o dobro dos equivalentes que os usados para a síntese do composto **14**.

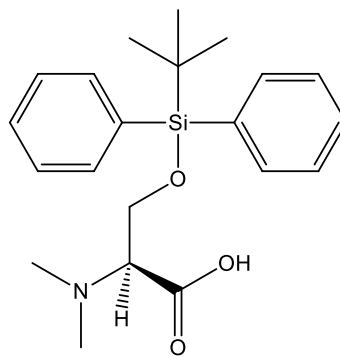
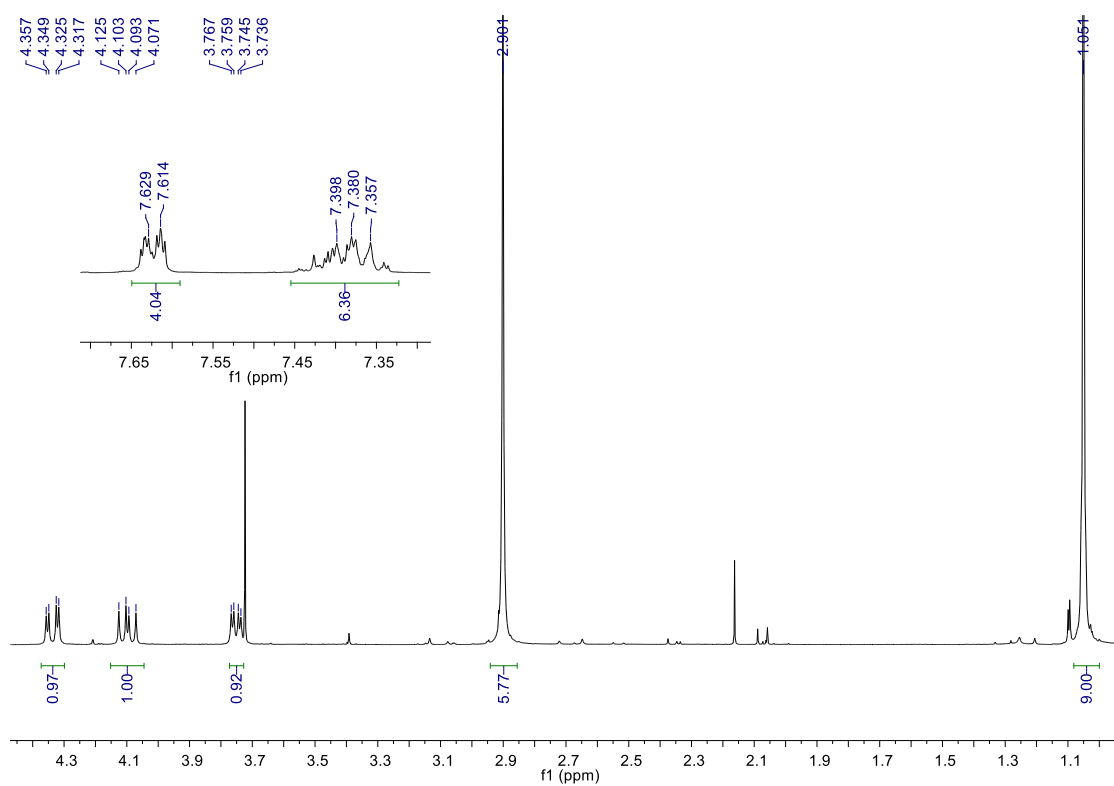
Na primeira experiência realizada para esta síntese, houve um engano, tendo-se adicionado pouco CH_2O (1,2 eq.). O que se verificou por CCF e RMN ^1H foi a formação de vários produtos para além do desejado o que levou a um rendimento na ordem dos 34%. Para além disso, esta reação também demorou mais tempo do que o esperado, 22h.

Quando se realizou a reação com 2,4 eq., observou-se por CCF o seu término ao fim de 2h, com a total conversão do reagente de partida **12** no produto pretendido.

Uma vez que se usou ligeiro excesso de CH_2O e de agente redutor $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, e visto que neste caso não é necessário qualquer outro tipo de purificação para além do tratamento, é importante garantir a total remoção do CH_3COOH que se forma durante a decomposição do agente redutor, como já referido anteriormente no ponto 2.3.2.2. (página 94), fazendo extrações com H_2O .

Terminado o tratamento, foi possível obter um sólido branco, identificado por RMN ^1H (figura 59), como sendo o composto **20** puro. Conseguem-se observar os prótons do grupo $-\text{CH}_2-$ ligado ao carbono quiral, que por serem prótons diastereotópicos, apresentam dois duplos dupletos a 4,34 e 3,75 ppm. Já o sinal do próton no carbono quiral aparece a um desvio químico de 4,09 ppm. O sinal que indica a formação do produto pretendido, é o singlete largo a 2,91 ppm correspondente aos dois grupos metilo introduzidos, tendo então uma intensidade aproximadamente de 6.

Os restantes picos são referentes ao grupo protetor e aparecem de acordo com os espectros demonstrados anteriormente.

**20****Figura 59** - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **20**.

2.3.3.2 Condensação de **20** com a etilenodiamina

A reação de condensação com TBTU entre **20** e a etilenodiamina segue também o mecanismo apresentado no esquema 9 (página 51).

No entanto, tratando-se de uma diamina primária (nos dois grupos amino) podem formar-se produtos diméricos por ataque de ambos os grupos amino no grupo carbonilo

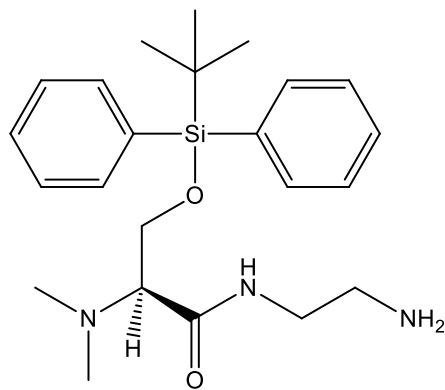
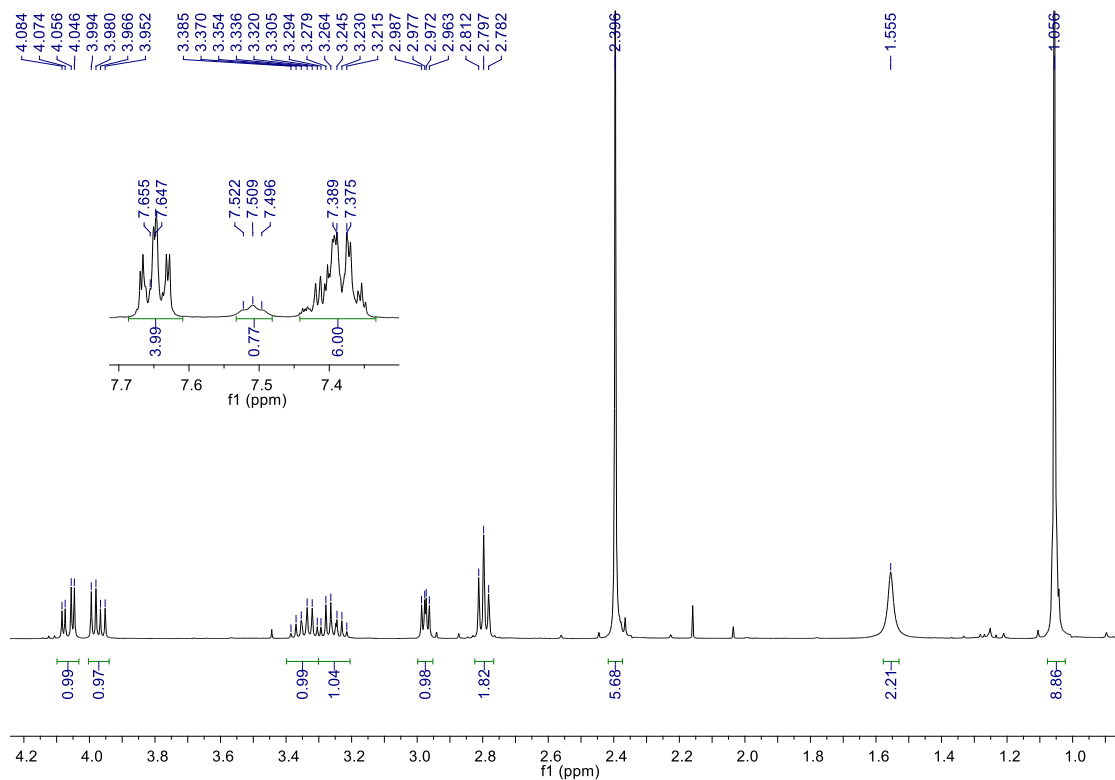
do aminoácido protegido (**20**). Assim, para evitar o risco de formação destes produtos indesejados, adicionou-se inicialmente à solução de **20** em DCM, DIEA e esperou-se 10 minutos para adicionar TBTU. Deixou-se a reação ocorrer durante 1h, para garantir a formação do complexo de TBTU com o ácido carboxílico, para de seguida se adicionar a diamina, garantindo a formação apenas do produto desejado e não de estruturas diméricas. Durante a adição dos reagentes, colocou-se sempre a reação em banho de gelo, uma vez que esta é exotérmica.

Um dos rendimentos obtido numa das experiências realizadas para esta reação, foi de 16%, tal se deve ao facto de não se ter tido em conta os tempos de espera entre a adição da DIEA e do TBTU, não dando possibilidade de converter totalmente o composto **20** no respetivo carboxilato, para posteriormente reagir com o TBTU. Assim, nas restantes experiências, teve-se cuidado em respeitar esses tempos entre a adição dos dois reagentes.

O tratamento foi realizado do mesmo modo ao apresentado no ponto 2.3.2.3. (página 69), realizando-se posteriormente uma cromatografia em coluna usando inicialmente como eluente DCM/MeOH 5:1 e após se observar por CCF a saída de todas as impurezas, aumentou-se a polaridade do eluente, usando DCM/MeOH 2:1. Isolou-se um óleo amarelo, confirmado por RMN ¹H, como sendo o composto pretendido **21**.

Na figura 60 está apresentado o espectro de RMN ¹H para este composto, verificando-se o aparecimento do tripleto a 7,51 ppm relativo à ligação amida formada. Os multipletos a 3,34 e a 3,25 ppm dizem respeito aos prótons do grupo -CH₂- ligado ao grupo amida. Outro sinal que identifica a introdução da diamina no composto **20**, é o tripleto a 2,79 ppm referente ao grupo -CH₂- ligado ao grupo amino e também o singlete largo a 1,56 característico do grupo amino livre.

Os restantes picos do espectro estão de acordo com o espectro do reagente de partida **20**.

**21****Figura 60** - Espetro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **21**.

2.3.3.3 Acoplamento de **21** com o ácido α -lipóico ativado

O acoplamento de **21** com o ácido α -lipóico previamente ativado, ocorre segundo o mecanismo apresentado no esquema 7 (página 46) e o procedimento seguido para a síntese deste composto foi o descrito na literatura.⁴⁴

A reação, após permanecer em agitação e sob proteção da luz durante a noite deu-se por terminada ao fim de 23h, por observação de CCF.

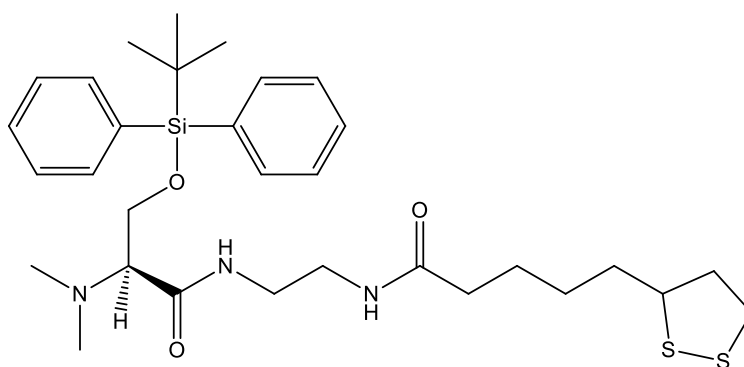
O tratamento da mistura reacional foi análogo ao usado na síntese do composto **4** e do composto **16**. Assim, realizaram-se lavagens da mistura com H₂O e NaCl, de modo a garantir a total eliminação da DMF.

Após secar a fase orgânica e evaporar o solvente, purificou-se a mistura obtida através de uma cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 20:1, isolando desta forma o ácido α -lipóico ativado que estava em excesso na reação e o composto pretendido **22**, que se identificou por RMN ¹H, ¹³C, DEPT, COSY e HSQC, como se pode observar pelas figuras 61 a 65.

No espectro de RMN ¹H, é possível verificar o aparecimento dos picos correspondentes ao resíduo de LA, bem como o desaparecimento do singlete largo a 1,56 ppm relativo ao grupo amino livre, que por condensação com o ácido lipóico formou uma ligação amida, aparecendo agora um singlete largo a 6,38 ppm.

Já no espectro de RMN ¹³C, verifica-se a presença dos sinais derivados ao resíduo de LA bem como os dois sinais a aproximadamente 173 ppm, referentes aos dois grupos amida presentes no composto.

Os espectros 2D permitiram distinguir os sinais dos prótons dos grupos -CH-S- e -CH-N-, que ocorrem a 3,54 ppm e a 2,97 ppm, respetivamente. A análise bidimensional também permitiu atribuir os sinais a 2,44 e 1,89 ppm aos prótons diastereotópicos do grupo -CH₂- ligado ao carbono quiral do anel de ditiolano.

**22**

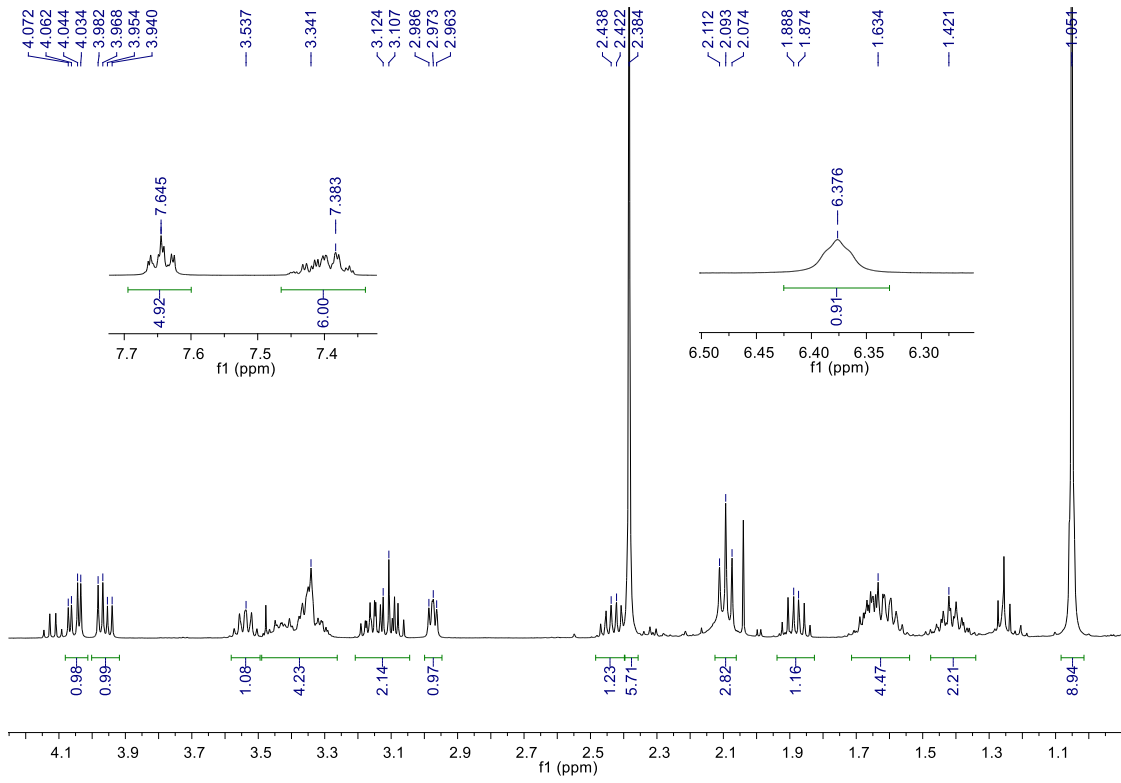


Figura 61 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **22**.

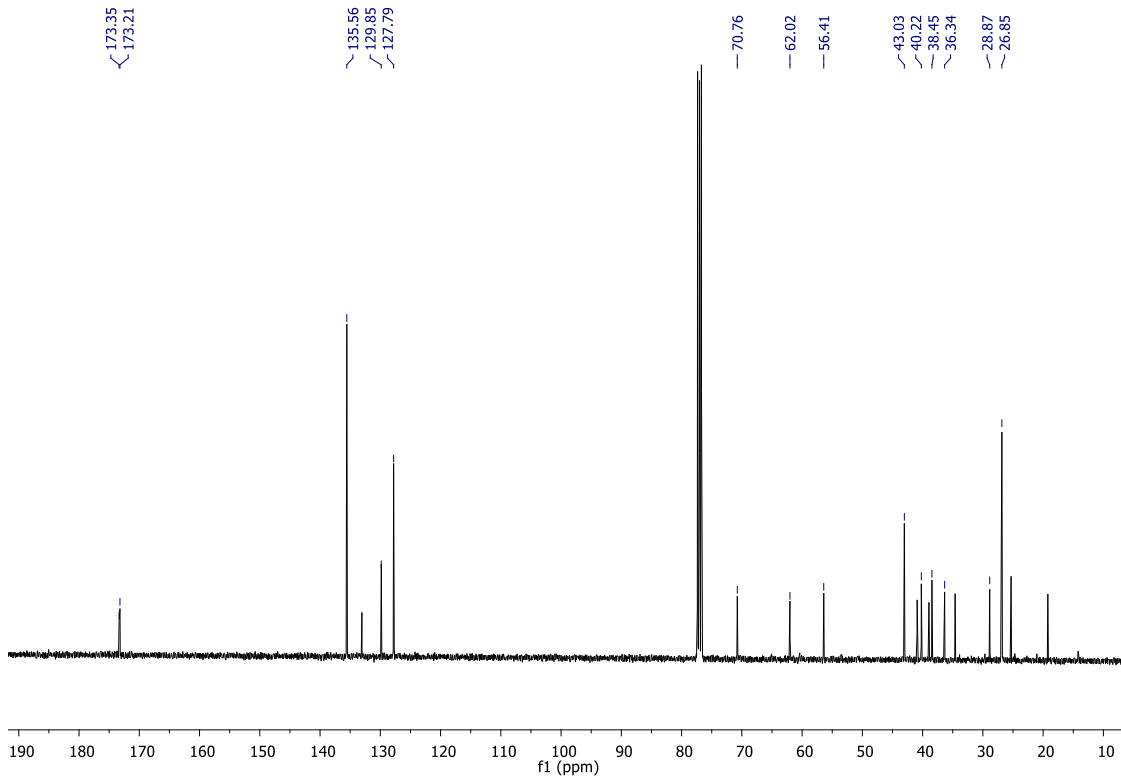


Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto **22**.

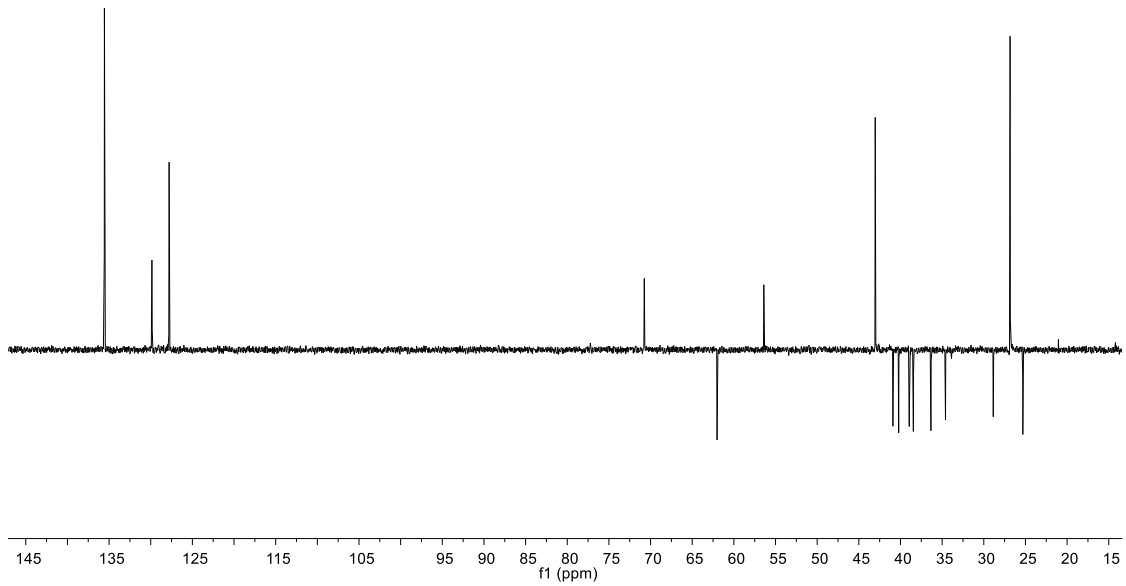


Figura 63 - Espectro de RMN DEPT (CDCl_3 , 75 MHz) relativo ao composto **22**.

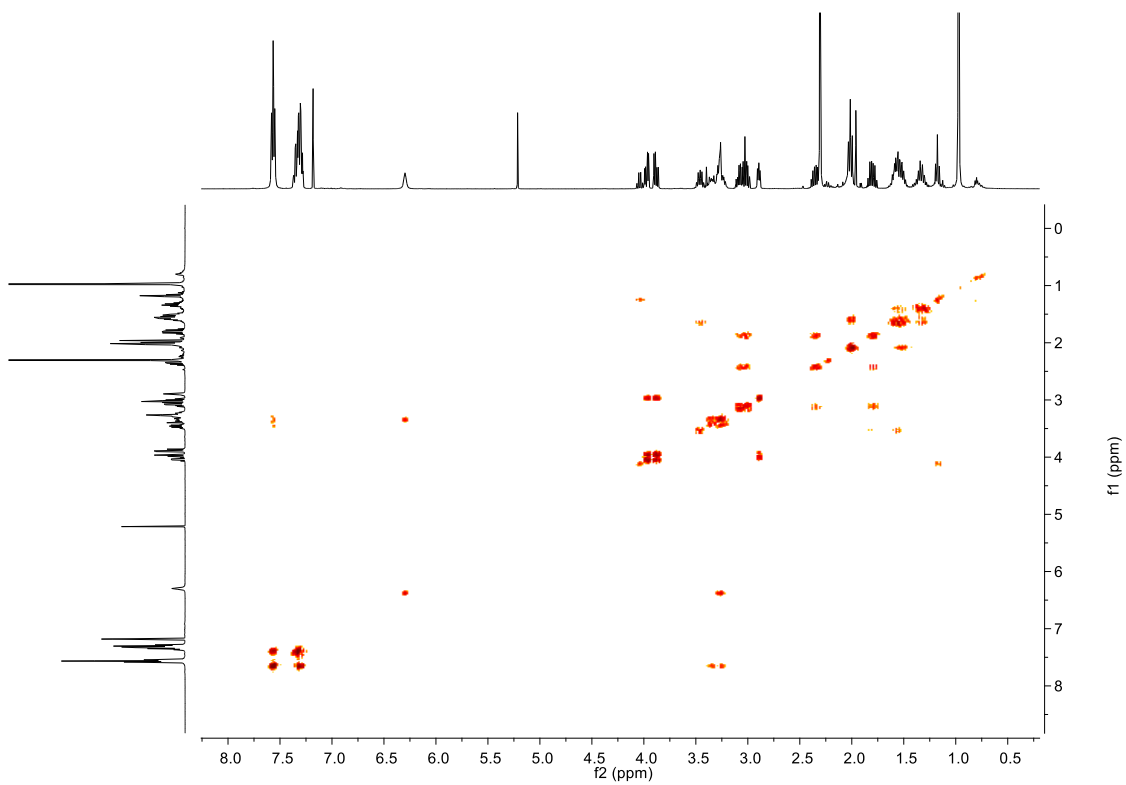


Figura 64 - Espectro 2D de COSY obtido para o composto **22**.

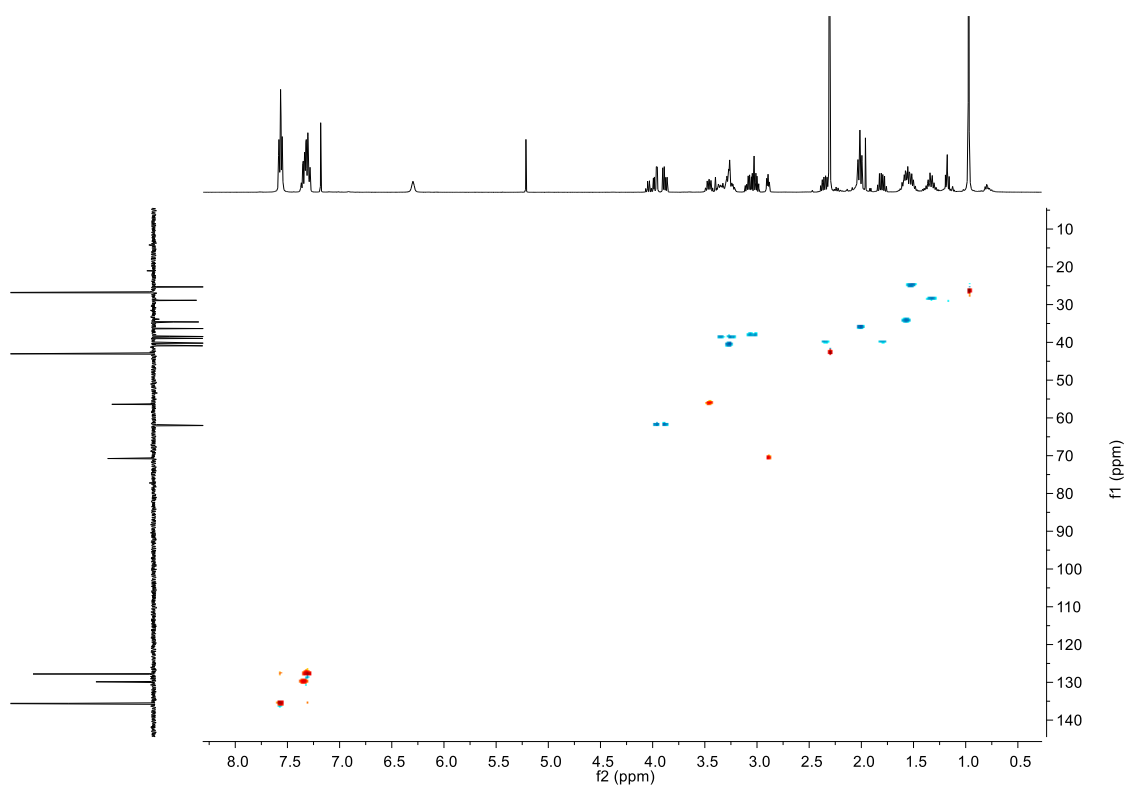


Figura 65 - Espectro 2D de HSQC obtido para o composto **22**.

2.3.3.4 Reações de **22**

O composto **22** foi sujeito a dois processos distintos com vista à obtenção do produto final. Numa primeira abordagem optou-se por começar por introduzir a longa cadeia alquílica para posteriormente se proceder à desproteção e troca iónica.

Como o passo de alquilação apresentou rendimentos muito baixos, abandonou-se esta via e optou-se por efetuar inicialmente a desproteção de **22**, introduzir a cadeia alquílica no composto resultante e por fim realizar a troca iónica.

a) Alquilação de **22** com bromododecano (1^a abordagem)

A introdução da cadeia hidrocarbonada por reação com bromododecano segue um mecanismo de S_N2 , conforme apresentado anteriormente (página 54) para a alquilação de **7**.

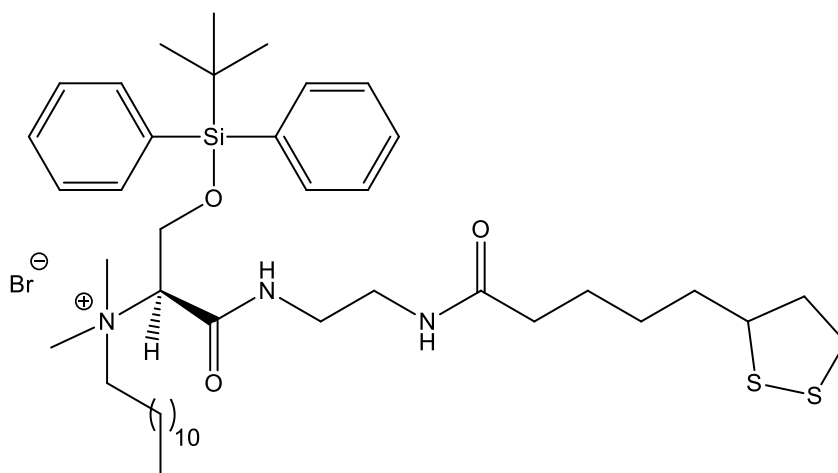
Seguiu-se o mesmo procedimento experimental, tendo-se deixado a reação ocorrer durante 16d. Foi necessário aquecer a mistura reacional (35°C), uma vez que

por CCF ao fim de 12d ainda se observava a presença de reagente de partida. Ao fim dos 16d não se viram alterações significativas, pelo que se deu como terminada a reação. Nesta alquilação também foi necessário recorrer à técnica de revelação das placas de CCF pelo método da dicarboxidina, tal como aconteceu na alquilação de **7** (página 53), pois o reagente de partida e o produto têm um R_f idêntico, sendo impossível distingui-los através do método de revelação das placas de CCF com ácido fosfomolibdico.

Para o tratamento da mistura reacional começou-se por realizar extrações líquido-líquido com H_2O . Secou-se a fase orgânica e evaporou-se o solvente de modo a se poderem realizar extrações com acetonitrilo e hexano. Assim, o bromododecano que se adicionou em excesso, fica na fase do hexano e o composto pretendido juntamente com as impurezas, fica na fase do acetonitrilo. De seguida realizou-se uma cromatografia em coluna, conseguindo-se separar duas frações distintas que foram analisadas por RMN 1H , em que uma se referia ao reagente de partida e a outra ao produto pretendido **23** (figura 66).

No entanto, o rendimento obtido foi muito baixo, pelo que se decidiu não continuar com esta via de síntese.

Relativamente ao produto obtido, no espetro de RMN 1H , é possível observar o aparecimento do multiplete a 1,26 ppm referente aos grupos metilénicos da cadeia alquílica, bem como o tripleto e o multiplete a 0,88 e 1,75 ppm correspondentes ao grupo $-CH_3$ e ao primeiro $-CH_2-$ da cadeia alquílica, respetivamente. Os restantes picos encontram-se de acordo com o esperado, e podem ser atribuídos por comparação com os espetros anteriores.

**23**

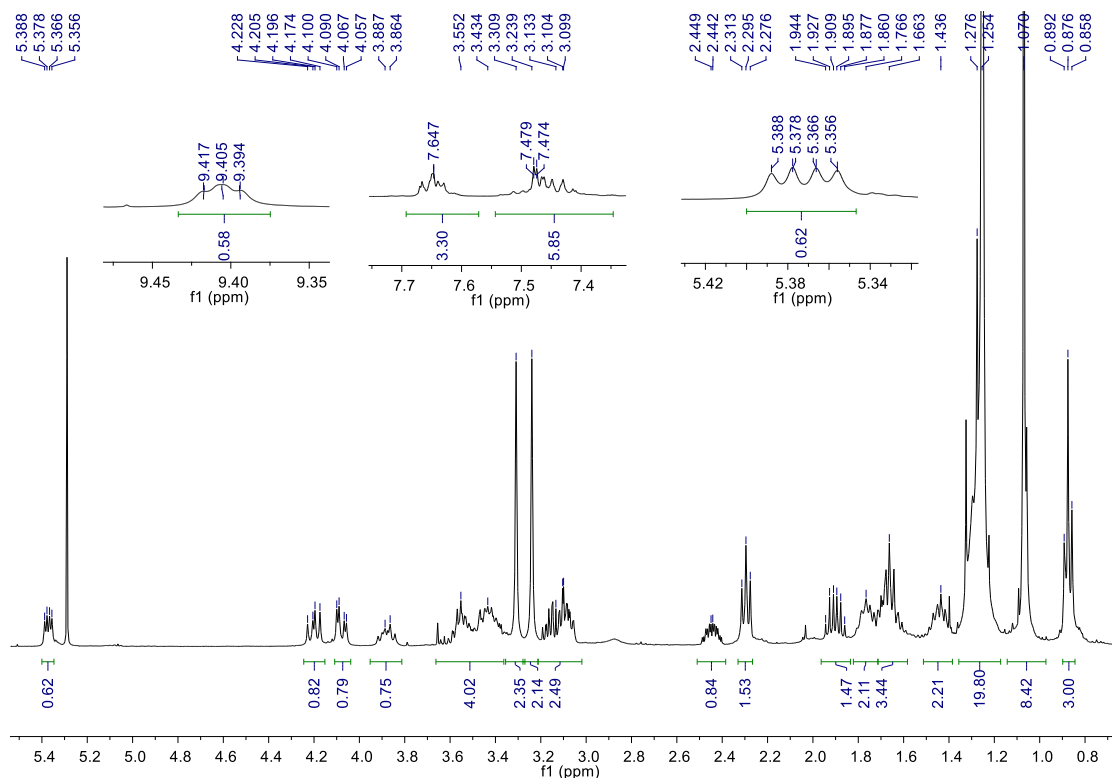


Figura 66 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto **23**

b) Desproteção do composto **22**

A remoção do grupo TBDPS foi realizada por reação com TBAF, sendo o mecanismo desta reação análogo ao apresentado no esquema 11 (página 56).

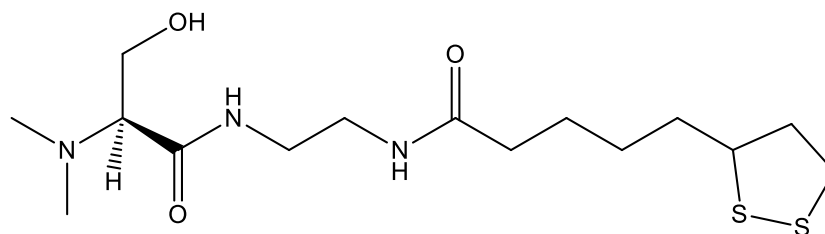
O procedimento para a síntese do composto **24** foi o mesmo utilizado para as desproteções já apresentadas. Assim, após dissolver o reagente de partida **22** em acetona, adicionou-se TBAF também dissolvido em acetona e colocou-se a mistura sob agitação magnética e protegida da luz. Verificou-se por CCF que esta terminara ao fim de 3h, não se observando a mancha relativa ao reagente de partida.

Após o tratamento da mistura com H_2O e DCM para remover o hidróxido de tetrabutylamónio e o fluoreto de *tert*-butildifenilsilano, decidiu-se realizar uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1 de modo a isolar o composto pretendido puro, uma vez que por CCF se observavam algumas manchas relativas a impurezas.

A fração isolada da coluna foi analisada por RMN ^1H (figura 67), confirmando tratar-se do composto pretendido **24**, pois verifica-se o desaparecimento dos picos

relativos ao grupo protetor, a 7,64 e 7,41 ppm relativos aos prótons dos grupos fenilo, e a 1,05 ppm referente ao grupo ^tBu.

Os restantes picos encontram-se de acordo com o espectro do reagente de partida **22**.



24

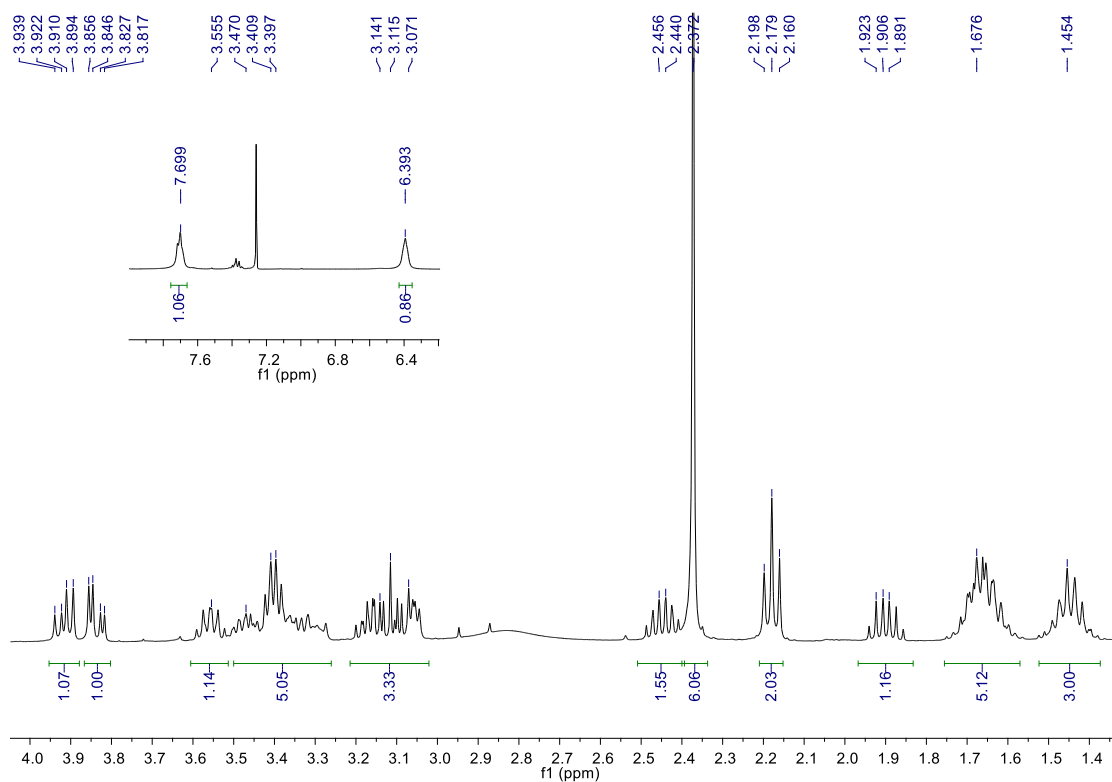


Figura 67 - Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz) relativo ao composto **24**.

2.3.3.5 Alquilação de **24** com bromododecano

A reação de alquilação do composto **24** foi realizada analogamente ao descrito para **22**. Tratando-se de uma reação que segue um mecanismo biomolecular (S_N2), como o composto **25** apresenta um menor impedimento estereoquímico que **22** espera-se obter um rendimento mais elevado.

O procedimento foi análogo ao usado para as reações de alquilação anteriormente descritas tendo-se, no entanto, usado como solvente DMF em vez de acetona, já que o reagente de partida não era solúvel neste solvente.

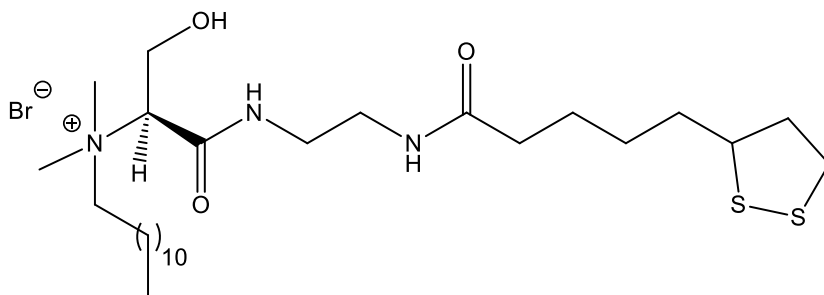
Assim, após se dissolver o reagente de partida em DMF e se adicionar bromododecano (em excesso), colocou-se a mistura sob agitação magnética e protegida da luz. Ao fim de 9d, como se verificou por CCF a existência de reagente de partida, resolveu-se adicionar mais 2 eq. de bromododecano. No dia seguinte, realizou-se nova CCF e como esta não apresentava grandes alterações relativamente à anterior, deu-se como terminada a reação. Nesta reação, ao contrário das alquilações realizadas anteriormente, o reagente de partida e o produto não apresentam o mesmo R_f , sendo mais fácil de verificar o aparecimento da mancha relativa ao produto e o desaparecimento gradual da mancha relativa ao reagente de partida.

Relativamente ao tratamento, inicialmente realizou-se uma extração com acetonitrilo e hexano para promover a passagem do bromododecano em excesso para a fase do hexano, ficando o produto pretendido contaminado com um pouco de reagente de partida, na fase do acetonitrilo. De seguida evaporou-se o acetonitrilo e juntou-se à mistura DCM, para desta forma se poderem realizar extrações líquido-líquido várias vezes com H_2O , de modo a garantir a total remoção da DMF.

A purificação foi feita por cromatografia em coluna usando como sistema de eluentes DCM/MeOH 10:1 e, após se observar por CCF a saída de todas as impurezas da coluna, mudou-se o eluente para DCM/MeOH 5:1 para eluição do produto pretendido (muito polar). Pela análise de RMN 1H (figura 68), confirmou-se a síntese e pureza do composto **25**, sendo que se pode verificar o aparecimento dos picos referentes à cadeia alquílica introduzida no grupo amino terciário. Assim, tal como se observou para o composto **18**, que difere deste apenas no contra-íão, os prótons do grupo metilénico da cadeia alquilada diretamente ligado ao azoto, surgem com sinais distintos, observando-se o pico a 3,80 ppm relativo a um dos prótons e o sinal relativo ao outro próton, encontra-se num multiplete sobreposto a 3,43 ppm com intensidade 11. Já os prótons referentes ao segundo grupo metilénico da cadeia aparecem mais protegidos, a um

desvio químico de 2,07 ppm. Os restantes prótons da cadeia encontram-se a 1,29 e 0,87 ppm, referentes aos grupos -CH₂- e ao grupo metilo, respetivamente.

Os restantes sinais do espetro encontram-se de acordo com o espetro do reagente de partida **24**.



25

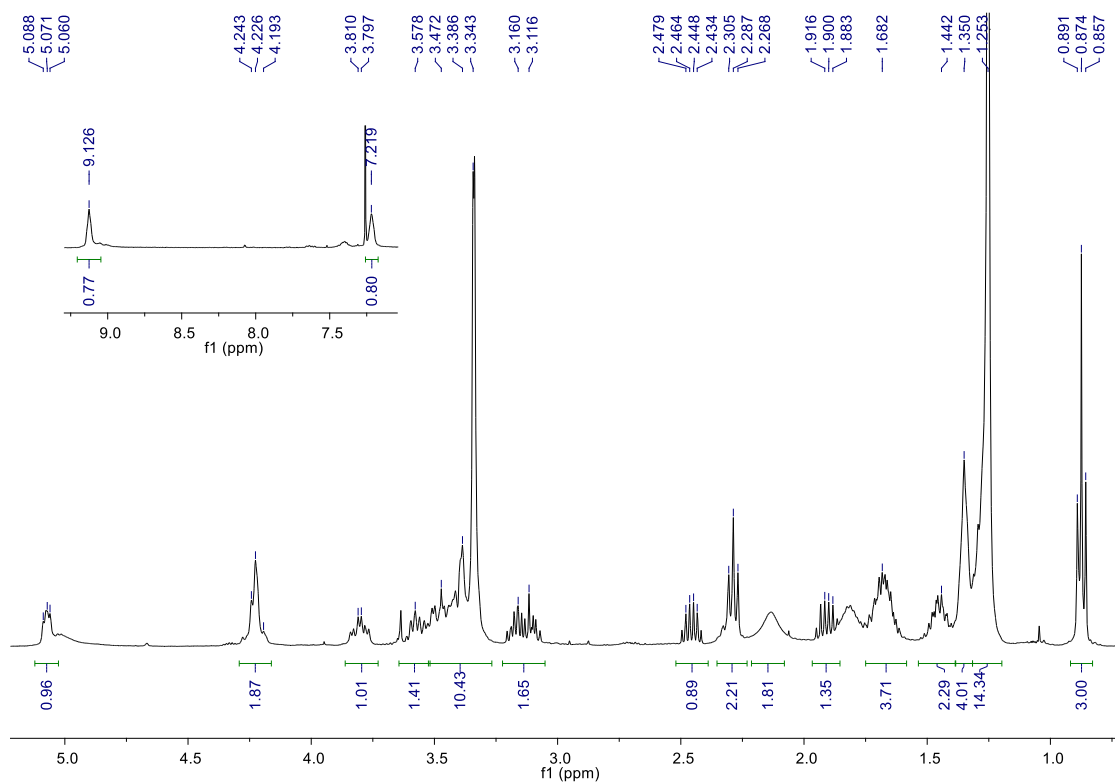
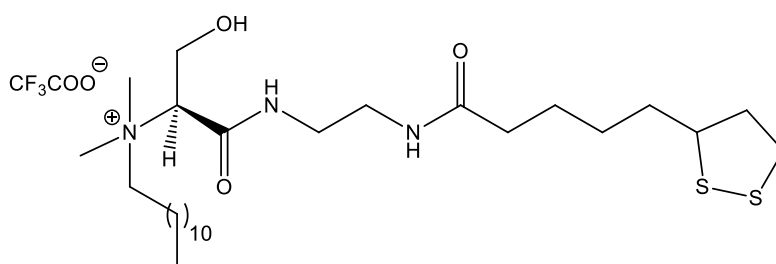


Figura 68 - Espetro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) relativo ao composto **25**.

2.3.3.6 Reação de troca iônica do composto **25**

O último passo nesta sequência reacional consistiu na troca do anião brometo pelo anião CF_3COO^- . O procedimento foi análogo ao utilizado para o composto **18** (página 86), sendo que a diferença reside no contra-íon do reagente de partida, que neste caso é o Br^- , devido ao uso do bromododecano para introduzir a cadeia alquílica.

Após as extrações com $\text{Na}^+\text{CF}_3\text{COO}^-$, secou-se a fase orgânica e evaporou-se o solvente, tendo-se realizado posteriormente uma análise por RMN ^1H e HRMS, sendo que esta última serviu para verificar a troca do Br^- pelo CF_3COO^- . Relativamente a análise por RMN ^1H (figura 69) verifica-se que o composto **19** não se encontrava puro, no entanto, como se obteve apenas 19 mg decidiu-se não fazer nova purificação, passando-se então para uma nova via de síntese deste produto (metodologia A). No procedimento experimental não se colocou a fita corrida deste RMN uma vez que apesar de se ter realizado a análise completa, como o espectro contém algumas impurezas, torna-se difícil atribuir os picos. Para além disso, espera-se que este espectro seja idêntico ao do reagente de partida, uma vez que o composto é o mesmo, apenas se alterou o contra-íon (observa-se esta modificação apenas por HRMS). Por HRMS (figura 70), é possível observar em modo positivo um pico base $m/z = 532,3$ u.m.a., pertencendo este à parte catiónica da molécula e estando de acordo com o valor para m/z calculado. Em modo negativo confirma-se a presença do contra-íon desejado, CF_3COO^- com um pico base $m/z = 112,9$ u.m.a., compatível com o esperado.



19b

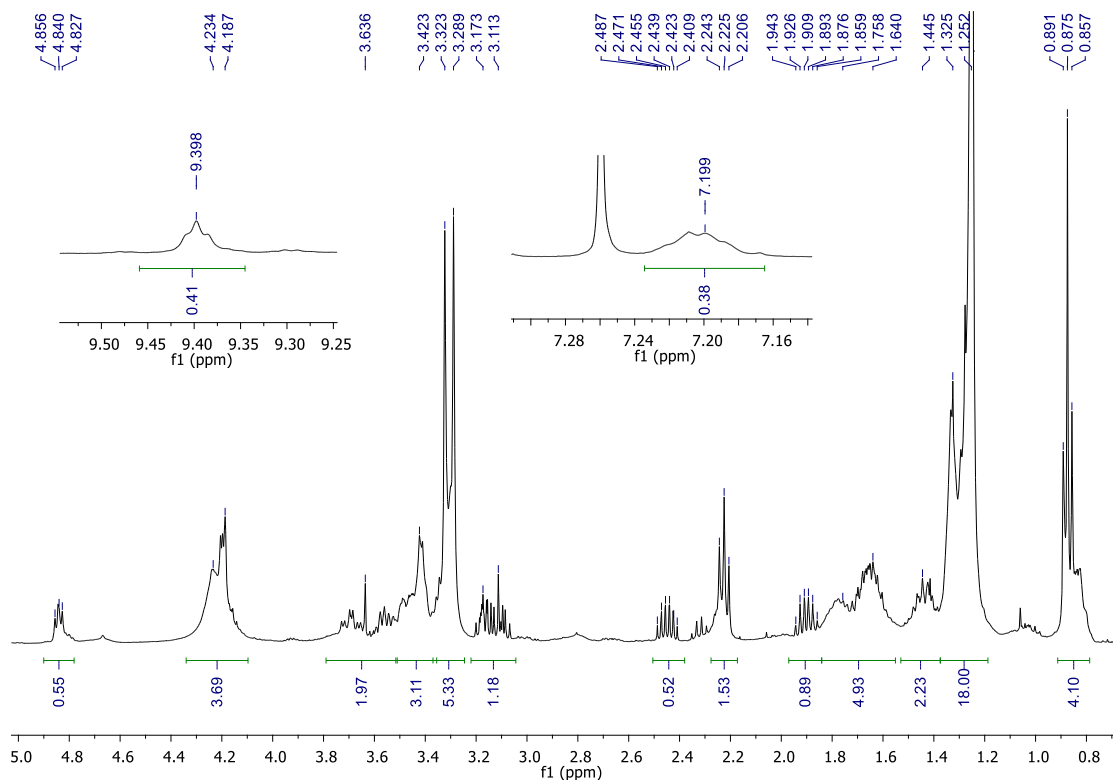


Figura 69 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) relativo ao composto 19.

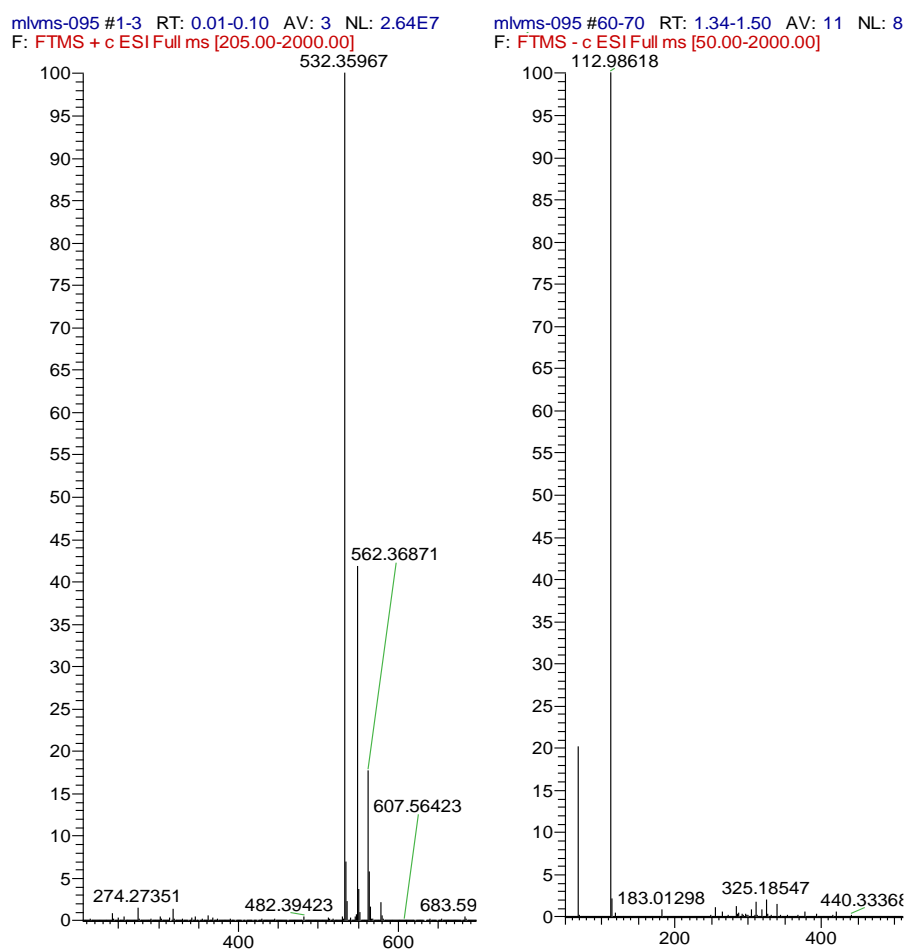


Figura 70 - Espectros de massa respetivos ao composto 19. Do lado esquerdo o de modo positivo e do lado direito, o de modo negativo.

Parte II – Caracterização físico-química

2.4 Tensiometria

Nesta parte do trabalho, a tensão superficial das soluções aquosas dos tensioativos LASerTFA e SerLATFA foi medida através do método da placa de Wilhelmy, como referido anteriormente no ponto 1.4. (página 31). Todas as medições foram realizadas à temperatura de 25 °C, após solubilização dos compostos realizada por agitação mecânica contínua durante um período de 24-48 h.

As soluções preparadas nos três ensaios realizados para a tensiometria do tensioativo LASerTFA, apresentaram ligeira turbidez. Relativamente ao tensioativo SerLATFA, as soluções preparadas eram significativamente turvas, mesmo após agitação durante uma semana. Por observação ao microscópio de luz (*Olympus BX-51* em modo de campo claro) de todas as soluções preparadas, tanto do primeiro como do segundo tensioativo, verificou-se a existência de pequenas partículas ou agregados esféricos (tipicamente de tamanho 0.5-2 μm) no seio da solução. Devido a este facto, designar-se-ão as concentrações críticas determinadas como concentração de agregação crítica (*cac*) e não especificamente concentração micelar crítica (*cmc*), uma vez que esta última implicaria inequivocamente a formação de micelas (e como tal, soluções transparentes e incolores).

De seguida são apresentados os gráficos da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração de tensioativo para ambos os tensioativos sintetizados (figuras 71 e 72).

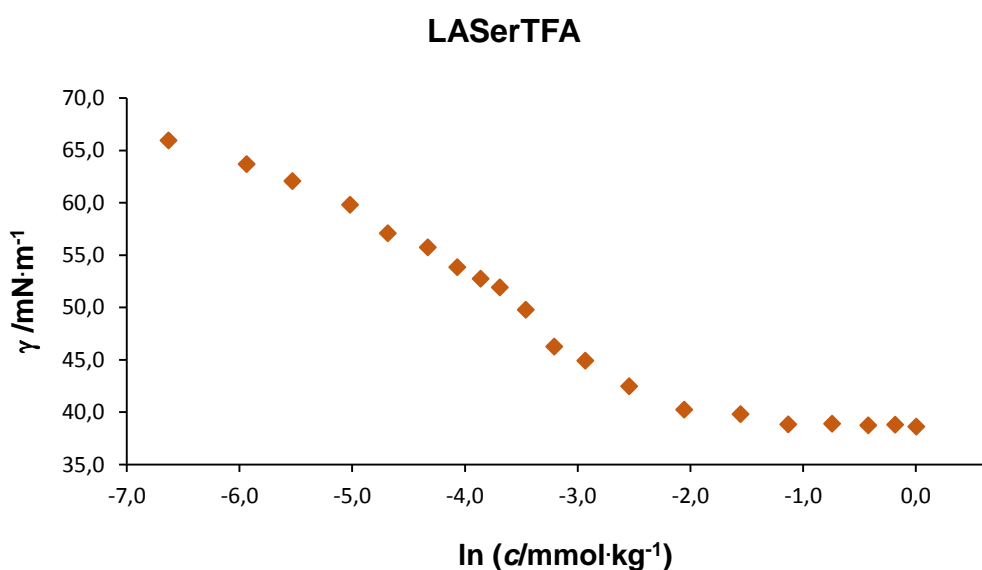


Figura 71 - Gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano do composto LASerTFA (10).

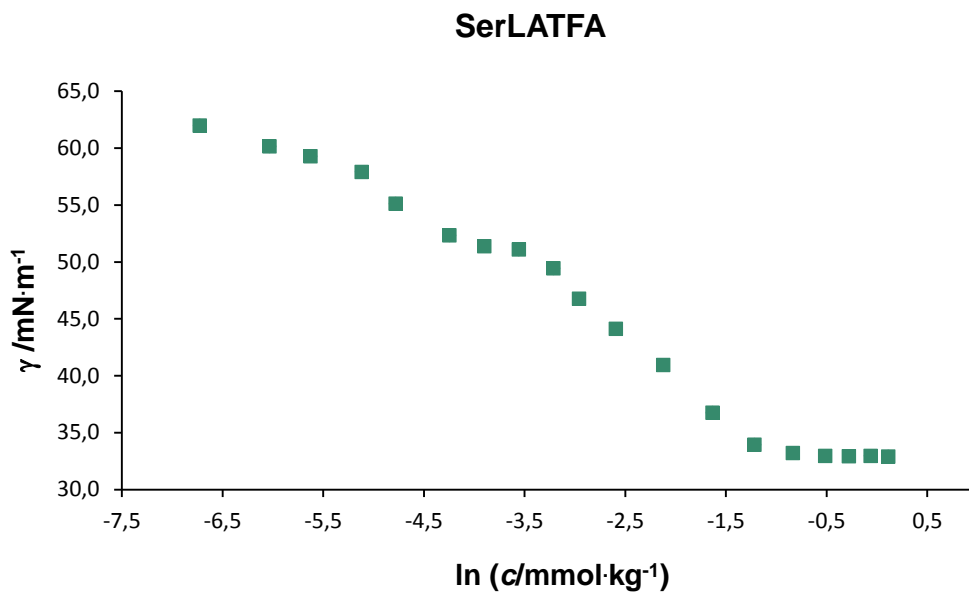


Figura 72 - Gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano do composto SerLATFA (19).

O valor de cac é obtido pela interseção das retas de diferentes declives antes e após a cac . As figuras 73 e 74 demonstram esse ajuste linear efetuado para o composto LASerTFA e SerLATFA, respectivamente.

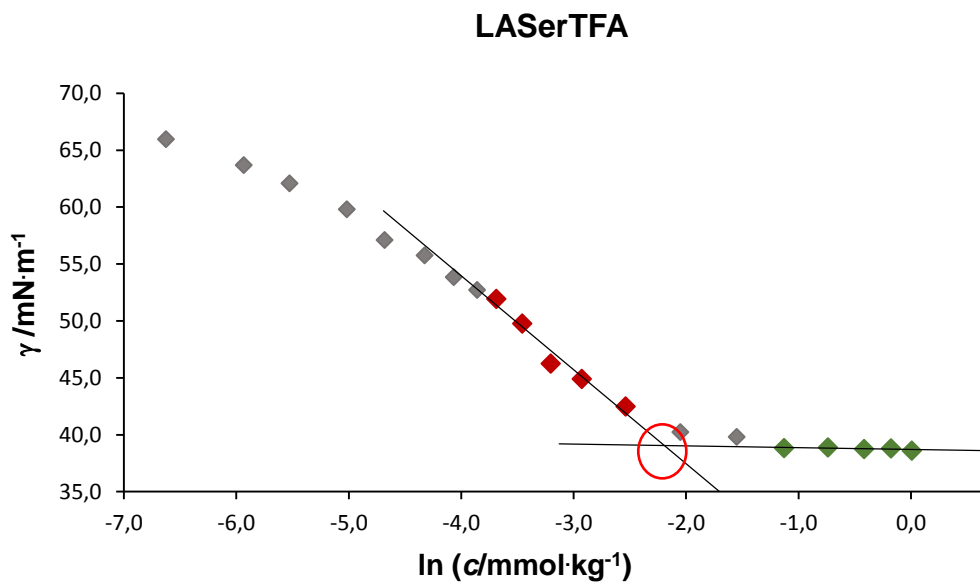


Figura 73 - Gráfico do ajuste linear para o cálculo da cac , da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração do tensoativo LASerTFA (10).

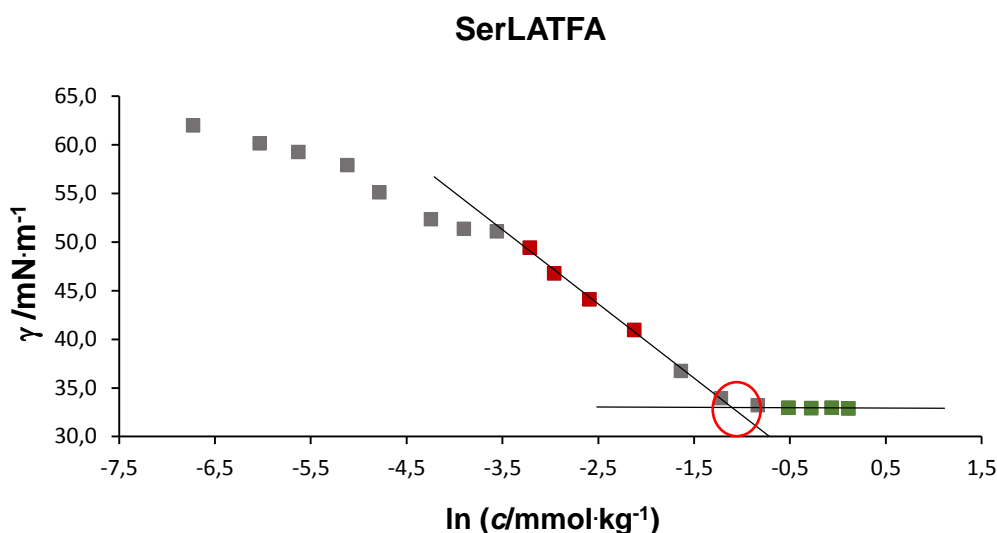


Figura 74 - Gráfico do ajuste linear para o cálculo da cac , da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração do tensoativo SerLATFA (19).

Na tabela 2 encontram-se os valores da cac , bem como os restantes parâmetros interfaciais que são possíveis de calcular a partir do gráfico da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração dos tensoativos estudados.

Tabela 2 - Parâmetros interfaciais determinados para os tensoativos estudados.

Tensioativo	Ensaio	$cac / \text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	cac		$10^6 \Gamma / \text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$	a_s / nm^2
			média / $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\gamma_{cac} / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$		
LASerTFA	1	0,106			0,44	
	2	0,112	$0,103 \pm 0,010$	$38,6 \pm 1,8$	1,07	$2,3 \pm 1,3$
	3	0,092			1,03	
SerLATFA	1	0,347			1,54	
	2	0,331	$0,34 \pm 0,01^*$	$32,9 \pm 0,2$	0,90	$1,46 \pm 0,54$

*Desvio padrão apenas para dois ensaios e como tal a incerteza subestimada..

No gráfico representado na figura 75, mostra-se a sobreposição de duas curvas tensiométricas referentes aos dois tensoativos estudados. Numa primeira análise, verifica-se que os compostos se encontravam puros, caso contrário ambas as curvas apresentariam um mínimo (ou poço) na zona de inflexão da curva de tensão superficial.

Assim, a tensiometria é um teste à pureza dos tensoativos, uma vez que é uma técnica muito sensível à presença de impurezas superficialmente ativas. Para além de se encontrarem puros, os tensoativos estudados apresentam curvas de tensão superficial com um perfil bastante regular.

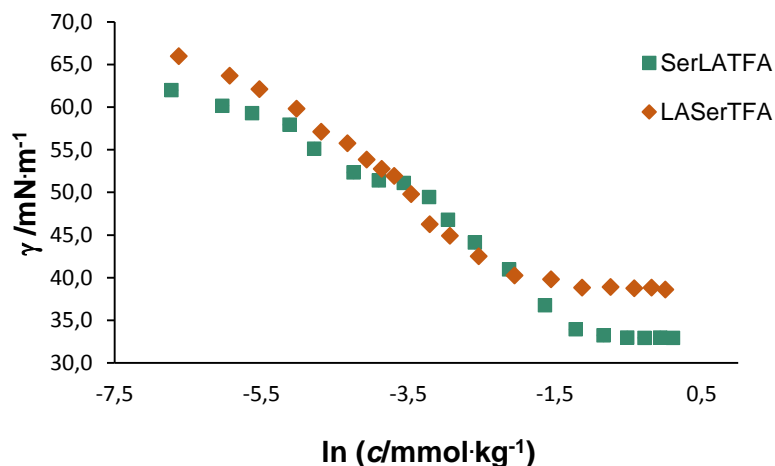


Figura 75 – Sobreposição das curvas obtidas a partir da tensão superficial em função do logaritmo neperiano da concentração de ambos os tensoativos estudados.

Através da figura 75 e da tabela 2, é também possível observar que os dois tensoativos apresentam valores de c_{ac} e de tensão superficial na c_{ac} consideravelmente diferentes. Embora sejam constituídos pelos mesmos grupos funcionais, o local em que o ácido lipóico está ligado em cada um deles é distinto, o que acarreta que as propriedades interfaciais sejam também distintas. Verifica-se que: a c_{ac} de SerLATFA é maior num fator de 3, e a γ_{cac} é menor $6 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Conclui-se assim que globalmente o composto SerLATFA é mais hidrofílico. Seguidamente, apresentar-se-á uma hipótese explicativa dos resultados obtidos.

Em ambos os compostos o que confere carácter hidrofílico ao composto é o resíduo do aminoácido serina e a carga do tensoativo, e o que confere carácter hidrofóbico é o ácido lipóico introduzido e a cadeia alquílica C12. Assim, no tensoativo SerLATFA a carga encontra-se no azoto do resíduo de serina, o que parece conferir um carácter global mais hidrofílico do que no tensoativo LASerTFA, em que a carga se encontra afastada do resíduo de serina por um espaçador (embora possuindo apenas dois carbonos). Deste modo, neste último composto, embora o resíduo de serina possua carácter hidrofílico, não será tão elevado como no local em que se encontra a carga. Possivelmente, o resíduo de serina tem tendência a dobrar para o interior do agregado micelar juntamente com o ácido lipóico, sendo que a única região hidrofílica é aquela que pertence ao local onde a carga se encontra. Já no SerLATFA a região hidrofílica é

a que contém a carga e o aminoácido, como já foi referido (figura 76). Portanto, como o tensoativo SerLATFA apresenta maior caráter hidrofílico, a respetiva *cac* será também maior.

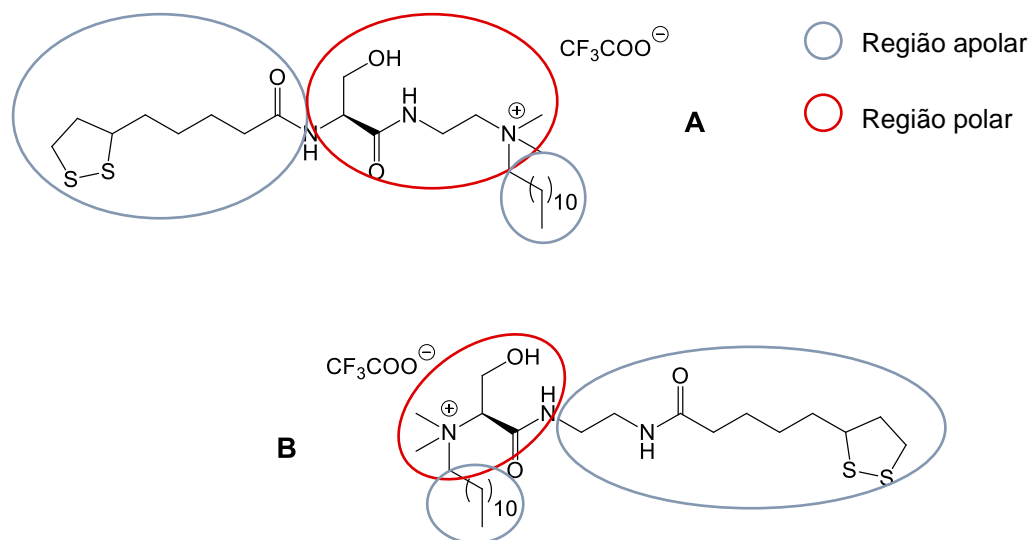


Figura 76 – Regiões apolares e polares dos tensoativos sintetizados e estudados quanto às suas propriedades interfaciais: **A**- LASerTFA; **B**-SerLATFA.

É ainda possível comparar os resultados obtidos com os valores de *cmc* obtidos para compostos similares, neste caso um derivado do aminoácido serina com uma cadeia C12, tal como apresentado na tabela 3.

Tabela 3 - Valores de *cac* dos compostos sintetizados e valores de *cmc* dos compostos similares descritos na literatura.

Tensioativo	<i>cmc</i> (<i>cac</i>) / mmol·kg ⁻¹	θ / °C
C ₁₂ SerTFA	1,87	25
LASerTFA	0,10	25
SerLATFA	0,34	25

Verifica-se que os valores de *cac* dos tensoativos estudados são valores mais baixos em cerca de uma ordem de grandeza comparativamente com a *cmc* do tensoativo similar, C₁₂SerTFA. Deste modo, confirma-se que a introdução do ácido lipóico faz aumentar a hidrofobicidade dos compostos sintetizados, diminuindo assim a *cmc*, devido à ligação do tipo amida estabelecida entre o aminoácido e o ácido lipóico no caso do primeiro composto, e de uma diamina e o ácido lipóico no caso do segundo composto.

3 Procedimento Experimental

Parte I – Síntese Orgânica

3.1 Aspectos gerais

Os reagentes comerciais utilizados nas diferentes reações para a síntese dos dois compostos, pertencem às marcas *Sigma-Aldrich*, *Fluorochem*, *Koch Light Laboratories Ltd*, *Acros Organics*, *Fluka* e *Emsure* e não necessitaram de qualquer tipo de purificação antes de serem utilizados.

Todas as reações desta dissertação foram efetuadas com solventes de qualidade pró-análise. No entanto, quando se utilizou como solvente DCM anidro, este foi previamente submetido a uma destilação em atmosfera inerte de argon, sob um agente secante, neste caso o hidreto de cálcio, CaH_2 .

Utilizou-se o método de cromatografia em camada fina, CCF, para acompanhar a evolução das reações realizadas e para determinar a pureza dos compostos pretendidos. Assim, foram utilizadas placas de alumínio revestidas com gel de sílica 60 F_{254} com 0,25 mm de espessura da marca *Merck*. Após eluir as placas de CCF, estas foram irradiadas com luz UV no comprimento de onda de 254 nm, e posteriormente expostas a uma solução de ácido fosfomolibdico em etanol e aquecidas (secador e chama).

Todas as reações exceto a metilação do composto **13** e do composto **16** formaram mais do que um produto durante a reação ou apresentavam vestígios do reagente de partida, o que fez com que fosse necessário após o seu tratamento, proceder à purificação dessas misturas. As purificações foram realizadas recorrendo a uma cromatografia líquida de adsorção em coluna de vidro, em que a fase estacionária se refere a um gel de sílica suspenso no respetivo eluente. A eluição foi realizada por “flash”, com recolha manual de frações com cerca de 20 mL de eluato. Como eluentes para a fase móvel foram utilizadas misturas de solventes como será indicado caso a caso.

Para a eliminação dos solventes, recorreu-se a um evaporador rotativo da marca *Buchi rotavapor R-200*. No entanto, em algumas ocasiões foi necessário utilizar o alto vácuo entre uma a duas horas para garantir a eliminação total do solvente.

Relativamente aos espetros de ressonância magnética nuclear de protão e de carbono 13, RMN ^1H e RMN ^{13}C respetivamente, ^{13}C -DEPT (de *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), bem como os espetros bidimensionais, 2D, de COSY (de *Correlation Spectroscopy*) e HSQC (de *Heteronuclear Single Quantum Coherence*), estes foram obtidos a partir de um espetrómetro *Brucker Avance III* de 400

MHz do Centro de Materiais da Universidade do Porto, CEMUP. Os dados que descrevem cada espectro de RMN são apresentados pela seguinte ordem:

^1H -RMN (solvente utilizado, frequência do aparelho, em MegaHertz, MHz) – desvio químico, δ , em partes por milhão (ppm); multiplicidade do sinal (singleto, s; singleto largo, sl; duplete, d; duplo-duplete, dd; duplo-triplete, dt; triplete, t; sexteto, sext; multiplete, m) área relativa do sinal (nH sendo n o número de prótons); constante de acoplamento, J , em Hertz (Hz); localização dos prótons na molécula.

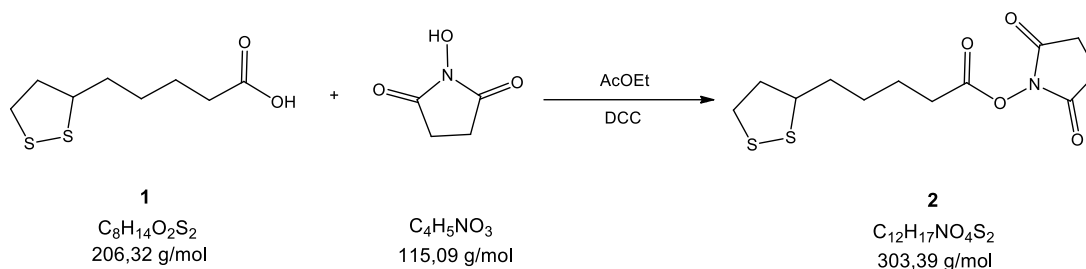
^{13}C -RMN (solvente utilizado, frequência do aparelho, em MegaHertz, MHz) – desvio químico, δ , em ppm; localização do carbono na molécula.

Nos espectros de massa obtidos por espectrometria de massa de alta resolução, HRMS (*High Resolution Mass Spectrometry*), o instrumento utilizado foi um espectrômetro de massa pertencente ao CEMUP, *LTQ Orbitrap XL* (Thermo Fischer Scientific, Bremen, Germany), que utiliza também um interface ESI (*electrospray ionization*), em que a voltagem capilar da ionização foi definida para 3000 V e a temperatura capilar de 275°C.

Os compostos analisados foram dissolvidos em MeOH (concentração final de cerca de 0,01%), tendo sido os espectros obtidos em modo positivo e negativo no intervalo de razão massa/carga (m/z) de 50 a 2000 u.m.a. Os dados obtidos são apresentados especificando o valor de m/z calculado e o obtido para o ião molecular em questão.

3.2 Pré-ativação do ácido α -lipóico (2)

Síntese do 5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2)



Dissolveu-se ácido lipóico, **1**, e *N*-hidroxisuccinimida, NHS (1,2 eq.), em 15 mL de AcOEt, e colocou-se em agitação magnética, em banho de gelo e sob proteção da luz. De seguida, adicionou-se lentamente *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida, DCC (1,2 eq.), dissolvida em 2 mL de AcOEt. Após a adição de todos os reagentes, removeu-se o banho de gelo e deixou-se a reação a ocorrer à T_{amb} durante 5h, sendo esta acompanhada por CCF.

O precipitado formado, um sólido branco, diciclohexilureia (DCU), foi removido por filtração sob pressão reduzida, e o solvente das águas mãe foi evaporado num evaporador rotativo, obtendo-se um óleo de cor amarela.

Realizou-se uma cristalização do óleo amarelo obtido em AcOEt/Hex na proporção 1:1, efetuando-se lavagens dos cristais com hexano. Deste modo, isolou-se o produto **2** com um rendimento de 98%, que foi identificado por RMN 1H .

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas estão resumidos na tabela 4.

5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2):

$\eta = 98\%$

$R_f = 0,87$ (DCM/MeOH 10:1)

$P_f = 87^\circ C - 89^\circ C$

Aspeto: Cristais amarelo claro

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ 3.62-3.53 (m, 1H, -CH-), 3.22-3.07 (m, 2H, -S-CH $_2$ -), 2.83 (sl, 4H, -N-CO-(CH $_2$) $_2$), 2.62 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, -CH $_2$ -COO-), 2.51-2.42 (m, 1H, -C(H)H-CH-), 1.97-1.87 (m, 1H, -C(H)H-CH-), 1.83-1.74 (m, 2H, -CH-CH $_2$ -), 1.74-1.66 (m, 2H, -CH $_2$ -CH $_2$ -COO-), 1.63-1.49 (m, 2H, -CH-CH $_2$ -CH $_2$ -).

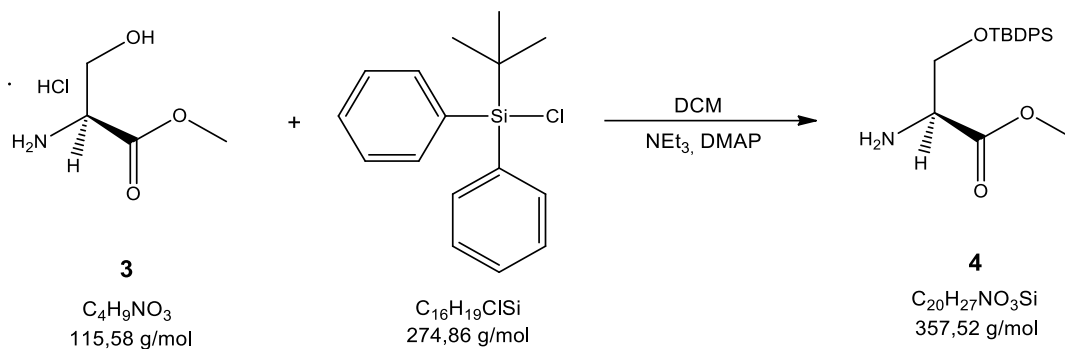
Tabela 4- Quantidades usadas de cada reagente, massa obtida de produto (**2**), tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	1 m/g (n/mmol)	NHS m/g (n/mmol)	2 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,04 (5,04)	0,78 (6,8)	1,2148 (4,0041)	5	81
2	1,02 (4,94)	0,72 (6,3)	0,7929 (2,614)	6	53
3	1,02 (4,94)	0,72 (6,3)	1,3137 (4,3301)	24	88
4	1,01 (4,90)	0,72 (6,3)	1,1403 (3,7585)	6	77
5	1,02 (4,94)	0,69 (6,0)	1,2508 (4,1227)	25	83
6	1,00 (4,85)	0,69 (6,0)	1,4397 (4,7454)	5	98
7	1,05 (5,09)	0,70 (6,1)	1,4104 (4,6488)	5	91
8	1,00 (4,85)	0,68 (5,9)	1,3727 (4,5245)	5	93

3.3 Obtenção do composto **10**

3.3.1 Sililação do serinato de metilo (**3**)

Síntese do (2*S*)-2-amino-3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi] propanoato de metilo (**4**)



A uma solução contendo **3** em 10 mL de DCM sob agitação magnética, atmosfera de argon e em banho de gelo, juntou-se DMAP em quantidade catalítica. De seguida adicionou-se trietilamina, NEt_3 , (2,5 eq.) e posteriormente juntou-se gota-a-gota *tert*-butil(cloro)difenilsilano, Cl-TBDPS (1,5 eq.). Após a adição de todos os reagentes, retirou-se a mistura reacional do banho de gelo e deixou-se a reagir à T_{amb} . A reação foi controlada por CCF, verificando-se que terminou ao fim de 29h.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação, juntou-se 15 mL de H_2O , agitou-se vigorosamente durante uns segundos e deixou-se em repouso. Separaram-se as duas fases e procedeu-se novamente à lavagem da fase orgânica com H_2O . De seguida realizaram-se duas lavagens da fase orgânica com solução saturada de NaCl (15 mL). As fases aquosas foram posteriormente extraídas com DCM. Secaram-se as fases orgânicas com sulfato de sódio anidro, Na_2SO_4 , filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi sujeita a uma coluna cromatográfica, usando como eluente Hex/AcOEt na proporção 1:1, e após se observar por CCF a separação de todas as impurezas, usou-se como eluente apenas AcOEt para o composto sair mais rápido uma vez que este eluente é mais polar do que a mistura dos eluentes usada anteriormente. Terminada a coluna cromatográfica, obteve-se um óleo incolor ($R_f = 0,10$) que foi confirmado como sendo o produto pretendido na análise por RMN 1H , com um rendimento de 48%.

Os resultados obtidos nas várias experiências realizadas encontram-se resumidos na tabela 5.

(2S)-2-amino-3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]propanoato de metilo (4):

$\eta = 48\%$

$R_f = 0,10$ (Hex/AcOEt 3:1)

Aspeto: Óleo incolor

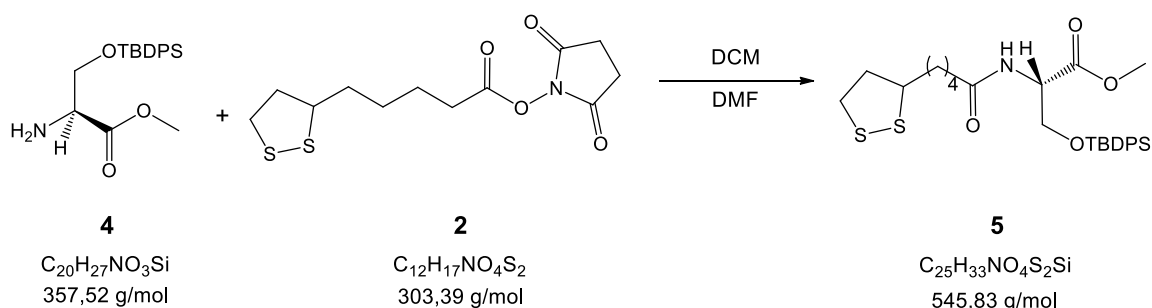
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.67-7.61 (m, 4H, ArH), 7.46-7.35 (m, 6H, ArH), 3.98 (dd, 1H, $J = 9.8, 4.3$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.88 (dd, 1H, $J = 9.8, 3.8$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.71 (s, 3H, -OCH₃-), 3.56 (t, 1H, $J = 4.1$ Hz, -CH-COO-), 1.76 (sl, 2H, NH₂-CH-), 1.04 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

Tabela 5- Quantidades usadas de cada reagente, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada.

Exp.	3 m/g (n/mmol)	CI-TBDPS v/mL (n/mmol)	4 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,55 (13,4)	3,76 (14,5)	1,4820 (4,1452)	16	42
2	1,53 (13,2)	3,76 (14,5)	1,5966 (4,4658)	22	45
3	1,50 (13,0)	3,76 (14,5)	1,6400 (4,5872)	29	48
4	1,55 (13,4)	3,76 (14,5)	1,3850 (3,8739)	23	39

3.3.2 Acomplamento de 4 com o ácido α -lipóico ativado

Síntese do (2S)-3-[(*tert*-butildifenilsilil)oxi]-2-[5-(1,2-ditolan-3-il)pentanoílamino]propanoato de metilo (5)



Misturaram-se os dois reagentes de partida em cerca de 30 mL de DCM e adicionaram-se algumas gotas de DMF. A reação decorreu sob agitação magnética e protegida da luz durante 21h, sendo acompanhada por CCF.

Terminada a reação, evaporou-se o solvente, num evaporador rotativo. De seguida adicionou-se 10 mL de AcOEt e procedeu-se às extrações líquido-líquido, transferindo inicialmente a mistura reacional para um funil de separação. Adicionou-se aproximadamente 10 mL de H₂O, agitou-se e separaram-se as fases. Este processo repetiu-se 10 vezes. Realizaram-se também lavagens da fase orgânica com solução saturada de NaCl (10 mL), repetindo-se também 10 vezes. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro.

Após filtração e evaporação do solvente, obteve-se um óleo amarelo que foi submetido a uma cromatografia em coluna, usando como eluente Hex/AcOEt na proporção 1:1. O produto isolado apresentava o aspeto de um óleo de cor amarela intensa ($R_f = 0,79$), com rendimento de 88%, que foi identificado por RMN ¹H como sendo o composto pretendido.

Na tabela 6 encontram-se os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas.

(2S)-3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2-[5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino]propanoato de metilo (5):

$\eta = 88\%$

$R_f = 0,79$ (DCM/AcOEt 3:1)

Aspeto: Óleo de cor amarela intensa

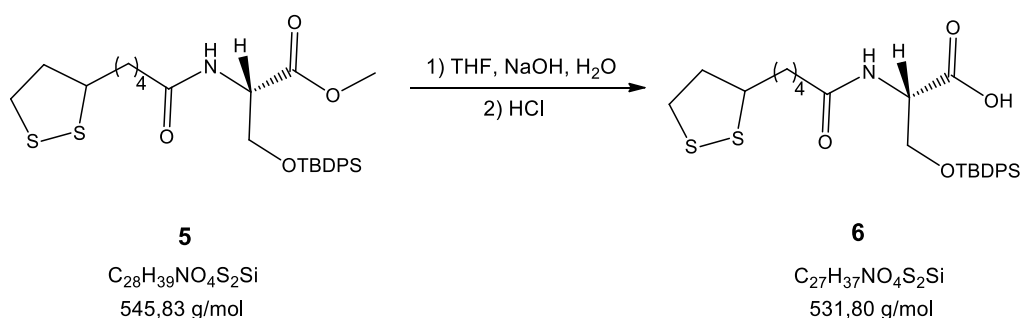
RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 7.62-7.55 (m, 4H, ArH), 7.46-7.35 (m, 6H, ArH), 6.25 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, -CONH-), 4.69 (m, 1H, -CO-NH-CH-), 4.12 (m, 1H, -CH-C(H)H-), 3.90 (dd, 1H, $J = 10.3, 3.0$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.74 (s, 3H, -OCH₃-), 3.61-3.50 (m, 1H, -S-CH-), 3.23-3.05 (m, 2H, -CH₂-S-), 2.44 (sext, 1H, $J = 6.5$ Hz, -C(H)H-CH-S-), 2.26-2.13 (m, 2H, -CH₂-CO-NH-), 1.90 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 1.75-1.58 (m, 4H, -S-CH-CH₂- + -CH₂-CH₂-CONH-), 1.54-1.42 (m, 2H, -S-CH-CH₂-CH₂-), 1.04 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

Tabela 6- Quantidades usadas de reagentes, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência efetuada.

Exp.	4 m/g (n/mmol)	2 m/g (n/mmol)	5 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,20 (3,36)	1,2136 (4,0001)	1,0900 (1,9970)	16	60
2	1,30 (3,64)	1,2998 (4,2843)	1,7152 (3,1424)	21	88
3	1,64 (4,59)	1,6737 (5,5167)	1,9781 (3,6240)	96	79
4	1,67 (4,67)	1,6738 (5,5170)	1,9303 (3,5364)	22	75

3.3.3 Hidrólise alcalina (saponificação) e acidificação de **5**

Síntese do ácido (2*S*)-3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2-[5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino] propanóico (**6**)



A uma solução de **5** em 3 mL de THF, sob agitação magnética e em banho de gelo, adicionou-se hidróxido de sódio, NaOH (2 eq.), dissolvido em 9 mL de H₂O, gota a gota. Removeu-se o banho de gelo, permanecendo a reação sob agitação magnética à T_{amb} e protegida da luz, durante 3h.

Após se verificar por CCF que todo o reagente de partida se tinha convertido num sal, evaporou-se o solvente (T_{máx}= 25 °C), adicionou-se ≈15 mL de DCM, sob agitação magnética e em banho de gelo. De seguida, adicionou-se lentamente uma solução aquosa de HCl (n^omoles = n^omoles de NaOH, preparada a partir de uma solução aquosa de HCl a 37%). Após se verificar a acidificação completa do sal, transferiu-se a mistura para um funil de separação e procedeu-se a extrações líquido-líquido com H₂O. Posteriormente secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi purificada através de uma cromatografia em coluna, usando como eluente DCM/MeOH na proporção 5:1, obtendo-se o produto pretendido, sendo este um óleo amarelo, que foi identificado por RMN ^1H , como sendo o composto **6**.

Os resultados obtidos para as diferentes experiências realizadas encontram-se na tabela 7.

ácido (2S)-3-[(*terc*-butildifenilsilil)oxi]-2-[5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino] propanóico (6):

$\eta = 95\%$

$R_f = 0,62$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspetto: Óleo amarelo

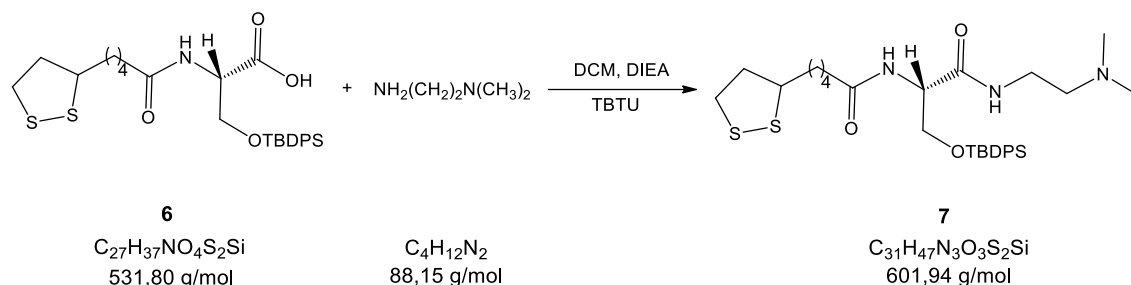
RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.74-7.56 (m, 4H, ArH), 7.50-7.32 (m, 6H, ArH), 6.31 (sl, 1H, -CONH-), 4.71-4.62 (m, 1H, -CONH-CH $_{\text{H}}$ -), 4.43 (sl, 1H, -COOH), 4.17 (dd, 1H, $J = 10.4, 3.2$ Hz, -C(H)H-OSi-), 3.91 (dd, 1H, $J = 10.4, 3.4$ Hz, -C(H)H-OSi-), 3.60-3.50 (m, 1H, $J = 13.7, 6.7$ Hz, -S-CH-), 3.23-3.03 (m, 2H, -CH $_2$ -S-), 2.49-2.36 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 2.26-2.11 (m, 2H, -CH $_2$ -CO-NH-), 1.94-1.82 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 1.76-1.55 (m, 4H, -S-CH-CH $_2$ - + -CH $_2$ -CH $_2$ -CONH-), 1.55-1.35 (m, 2H, -S-CH-CH $_2$ -CH $_2$ -), 1.06 (sl, 9H, -C(CH $_3$) $_3$).

Tabela 7- Quantidade de reagente usada, massa obtida do produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada.

Exp.	5 m/g (n/mmol)	6 m/g (n/mmol)	$T_{\text{reação}}$ (h)	η (%)
1	1,7152 (3,1424)	0,1664 (0,3129)	5	10
2	0,9346 (1,712)	0,8297 (1,560)	3	91
3	0,5200 (0,9527)	0,0857 (0,161)	3	17
4	2,8446 (5,2115)	2,6300 (4,9455)	3	95

3.3.4 Condensação via TBTU entre **6** e a *N,N*- dimetiletano-1,2-diamina

Síntese do *N*-[(1*S*)-1-(*N*-(2-(dimetilamino)etil)carbamoil)-2-(*tert*-butildifenilsililoxi)etil]-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**7**)



Dissolveu-se **6** em 10 mL de DCM, colocou-se sob agitação magnética e adicionou-se DIEA (1 eq.), deixou-se a mistura reacional protegida da luz durante 15 minutos. De seguida adicionou-se TBTU (1 eq.) e deixou-se novamente a reação ocorrer durante 15 minutos. Por fim, juntou-se *N,N*-dimetiletano-1,2-diamina (1 eq.) à mistura reacional e deixou-se a reação sob agitação magnética e protegida da luz, verificando-se ao fim de 4h por CCF que todo o reagente de partida tinha reagido.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação, adicionou-se cerca de 10 mL de uma solução aquosa de HCl 0,01M, agitou-se e separaram-se as fases. De seguida lavou-se a fase orgânica com H₂O (3 x 10 mL), solução saturada de NaHCO₃ (2 x 10 mL) e novamente H₂O (4 x 10 mL). Secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi sujeita a uma coluna cromatográfica a fim de purificar o composto desejado, usando como eluente DCM/MeOH 10:1. Obteve-se um óleo amarelo, que foi identificado como sendo o composto pretendido através de uma análise RMN ¹H.

Na tabela 8 encontram-se registados os resultados obtidos para as várias experiências realizadas.

***N*-[(1*S*)-1-(*N*-(2-(dimetilamino)etil)carbamoil)-2-(*tert*-butildifenilsililoxi)etil]-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**7**):**

$\eta = 58\%$

$R_f = 0,35$ (Acetona/MeOH 1:1)

Aspeto: Óleo amarelo

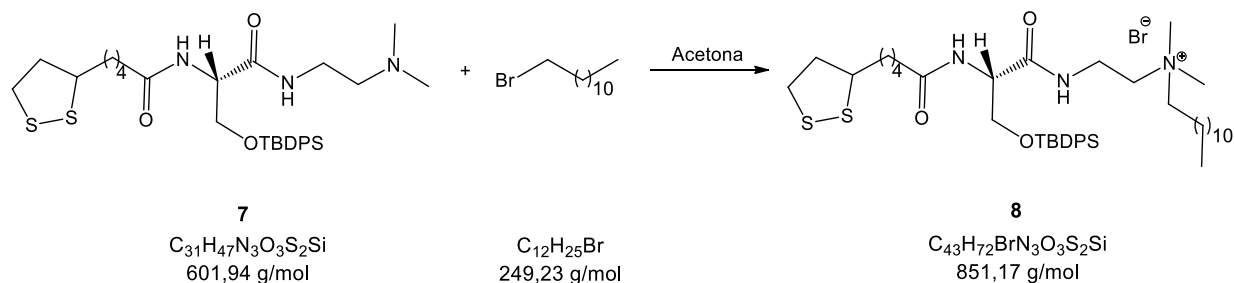
RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.69-7.59 (m, 4H, ArH), 7.48-7.32 (m, 6H, ArH), 6.76 (sl, 1H, $-\text{CH}-\text{CONH}-$), 6.31 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, $-\text{CONH}-\text{CH}-$), 4.54 (dt, 1H, $J = 7.1, 4.3$ Hz, $-\text{CONH}-\text{CH}-$), 4.00 (dd, 1H, $J = 14.3, 7.1$ Hz, $-\text{CH}-\text{C}(\text{H})\text{H}-$), 3.70 (dd, 1H, $J = 14.3, 7.1$ Hz, $-\text{CH}-\text{C}(\text{H})\text{H}-$), 3.59-3.49 (m, 1H, $-\text{S}-\text{CH}-$), 3.49-3.37 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{C}(\text{H})\text{H}-$), 3.36-3.23 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{C}(\text{H})\text{H}-$), 3.21-3.04 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{S}-$), 2.49-2.33 (m, 3H, $-\text{C}(\text{H})\text{H}-\text{CH}-\text{S}- + -\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2-$), 2.17 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2-$), 1.94-1.79 (m, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CONH}- + -\text{C}(\text{H})\text{H}-\text{CH}-\text{S}-$), 1.74-1.56 (m, 2H, $-\text{S}-\text{CH}-\text{CH}_2-$), 1.52-1.34 (m, 2H, $-\text{S}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.05 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Tabela 8 - Quantidade utilizada de reagentes, massa de produto final obtida, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	6 m/g (n/mmol)	diamina v/mL (n/mmol)	7 m/g (n/mmol)	$T_{\text{reação}}$ (h)	η (%)
1	0,9177 (1,726)	0,19 (1,7)	0,5708 (0,9483)	1	55
2	0,5797 (1,090)	0,12 (1,1)	0,1360 (0,2260)	22	21
3	1,4316 (2,6920)	0,29 (2,7)	0,8898 (1,478)	3	55
4	1,1984 (2,2535)	0,25 (2,3)	0,7906 (1,313)	4	58

3.3.5 Alquilação de **7** com bromododecano

Síntese do brometo de *N*-[2-(3-(*tert*-butildifenilsililoxi)-(2*S*)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido) propanamido)etil]-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamônio (**8**)



Dissolveu-se o composto **7** em 3 mL de acetona, colocou-se sob agitação magnética e protegido da luz. De seguida adicionou-se bromododecano, $\text{Br}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$

(8 eq.). Deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} , durante 10 dias, sendo esta acompanhada por CCF durante esse período de tempo.

Ao fim dos 10 dias, adicionou-se 10 mL de hexano e 10 mL de acetonitrilo e transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação de modo a realizar extrações líquido-líquido. Após evaporar o solvente da fase do acetonitrilo, num evaporador rotativo, procedeu-se a uma cromatografia em coluna.

A mistura foi purificada usando como eluente DCM/MeOH 10:1, conseguindo-se isolar um óleo amarelo que foi identificado por RMN 1H como sendo o composto pretendido **8**.

Os resultados obtidos para as várias experiências realizadas encontram-se registados na tabela 9.

Brometo de *N*-[2-(3-(*terc*-butildifenilsililoxi)-(2*S*)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido) propanamido)etil]-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (8**):**

$\eta = 66\%$

$R_f = 0,20$ (DCM/MeOH 10:1)

Aspeto: Óleo amarelo

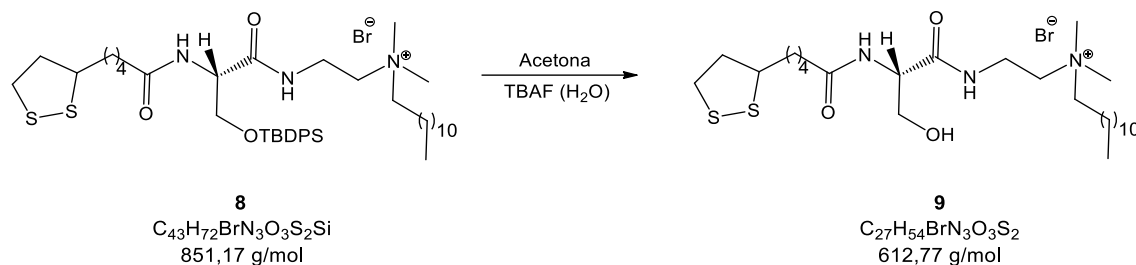
RMN 1H (CDCl₃, 400MHz): δ 8.98 (sl, 1H, -CH-CONH-), 7.70-7.56 (m, 4H, ArH), 7.48-7.32 (m, 6H, ArH), 6.80 (dd, 1H, $J = 8.0, 3.1$ Hz, -CONH-CH-), 4.56 (m, 1H, -CONH-CH-), 4.22 (dd, 1H, $J = 10.3, 4.2$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.88 (dd, 1H, $J = 10.4, 3.2$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.80-3.70 (m, 2H, -CONH-C(H)H-C(H)H-N⁺(CH₃)₂), 3.60-3.50 (m, 2H, -CONH-C(H)H-C(H)H-N⁺(CH₃)₂), 3.45-3.34 (m, 1H, -S-CH-), 3.36-3.20 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 3.22-3.11 (s, 6H, -N⁺(CH₃)₂), 3.14-3.02 (m, 2H, -CH₂-S-), 2.58-2.27 (m, 3H, -C(H)H-CH-S- + -CH₂-CONH-), 1.94-1.84 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 1.76-1.55 (m, 6H, -S-CH-CH₂- + -CH₂-CH₂-CONH- + -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.52-1.39 (m, 2H, -S-CH-CH₂-CH₂-), 1.29 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.25 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 1.06 (sl, 9H, -C(CH₃)₃), 0.88 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, -CH₃).

Tabela 9- Quantidades usadas dos reagentes, massa de produto obtida, tempo e rendimento da reação para as experiências efetuadas.

Exp.	7 m/g (n/mmol)	BrC ₁₂ v/mL (n/mmol)	8 m/g (n/mmol)	T _{reação} (d)	η (%)
1	1,5966 (2,6524)	5,00 (21,2)	1,3292 (1,5616)	11	59
2	0,7906 (1,313)	2,51 (10,5)	0,7402 (0,8696)	11	66

3.3.6 Desproteção do composto **8**

Síntese do Brometo de *N*-[2-((2*S*)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido)-3-hidroxiopropanamido)etil]-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (**9**)



Dissolveu-se o composto **8** em 3 mL de acetona e colocou-se sob agitação magnética e protegido da luz. De seguida juntou-se fluoreto de tetrabutylamónio, TBAF (1 eq.), e deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} . Ao fim de 1h, por observação de CCF verificou-se que todo o reagente de partida tinha reagido, deu-se então a reação como terminada.

De seguida transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação, lavou-se a fase orgânica com 10 mL de H_2O e de seguida com 10 mL de NaCl e por fim extraiu-se a fase aquosa seis vezes com 10 mL de DCM. Secaram-se as fases orgânicas com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

O resíduo obtido foi submetido a uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1, tendo-se obtido um óleo amarelo que foi analisado por RMN 1H , verificando-se que este continha o composto pretendido (**9**) mas estava contaminado com o fluoreto de TBDPS. Adicionou-se hexano à mistura e precipitou um sólido, decantou-se o líquido e por CCF observou-se que o composto estaria no líquido. De seguida evaporou-se o solvente e realizou-se novamente uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1, obtendo-se um óleo amarelo que foi identificado por RMN 1H como sendo o composto **9**.

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas apresentam-se resumidos na tabela 10.

Brometo de *N*-[2-((2*S*)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido)-3-hidroxiopropanamido)etil]-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamônio (9):

$\eta = 27\%$

$R_f = 0,43$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspetto: Óleo amarelo

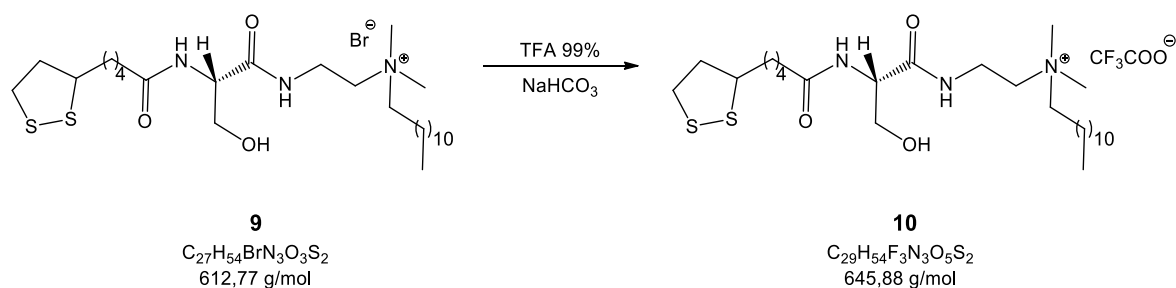
RMN ¹H (CD₃OD, 400MHz): δ 4.38 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz, -CONH-CH-), 3.88 (dd, 1H, $J = 11.1, 5.3$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.81 (dd, 1H, $J = 11.1, 5.3$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.77-3.68 (m, 2H, -CONH-CH₂-), 3.69-3.58 (m, 1H, -S-CH-), 3.52 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, -CH₂-N⁺(CH₃)₂), 3.47-3.39 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 3.32-3.05 (m, 8H, -CH₂-S- + -N⁺(CH₃)₂), 2.58-2.45 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 2.37 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -CH₂-CONH-), 1.94 (sext, 1H, $J = 6.9$ Hz, -C(H)H-CH-S-), 1.89-1.60 (m, 6H, -S-CH-CH₂- + -CH₂-CH₂-CONH- + -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.60-1.47 (m, 2H, -S-CH-CH₂-CH₂-), 1.45 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.34 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 0.95 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz, -CH₃).

Tabela 10- Quantidades dos reagentes usados, massa final do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	8 m/g (n/mmol)	TBAF v/mL (n/mmol)	9 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,3292 (1,5616)	0,57 (1,6)	0,0904 (0,148)	2	9
2	0,2502 (0,2939)	0,11 (0,29)	0,0189 (0,0308)	2	11
3	0,4900 (0,5757)	0,21 (0,58)	0,0962 (0,157)	1	27

3.3.7 Reação de troca iônica do composto 9

Síntese do Trifluoroacetato de *N*-[2-((2*S*)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido)-3-hidroxiopropanamido)etil]-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamônio (10)



Após dissolver o composto **9** em 10 mL de DCM, transferiu-se a solução para um funil de separação. Adicionou-se de seguida TFA (10 eq.) e NaHCO₃ (100 eq.), agitou-se devagar e separaram-se as fases. Filtrou-se sob pressão reduzida, evaporou-se o solvente num evaporador rotativo, obtendo-se um óleo amarelo que foi analisado por RMN ¹H e por HRMS como sendo o composto desejado **10**.

Trifluoroacetato de N-[2-((2S)-2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamido)-3-hidroxiopropanamido)etil]-N-dodecil-N,N-dimetilamónio (10):

$\eta = 95\%$

$R_f = 0,13$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CD₃OD, 400MHz): δ 4.34 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz, -CONH-CH₂-), 3.84 (dd, 1H, $J = 11.0, 5.3$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.79 (dd, 1H, $J = 11.0, 5.6$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.75-3.66 (m, 2H, -CONH-CH₂-), 3.66-3.58 (m, 1H, -S-CH-), 3.48 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, -CH₂-N⁺(CH₃)₂), 3.42-3.36 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 3.26-3.09 (m, 8H, -CH₂-S- + -N⁺(CH₃)₂), 2.56-2.45 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 2.34 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, -CH₂-CONH-), 1.94 (sext, 1H, $J = 6.8$ Hz, -C(H)H-CH-S-), 1.88-1.61 (m, 6H, -S-CH-CH₂- + -CH₂-CH₂-CONH- + -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.58-1.47 (m, 2H, -S-CH-CH₂-CH₂-), 1.43 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.33 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 0.94 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz, -CH₃).

HRMS (ESI, MeOH): m/z calculado para M⁺ 532,36011, obtido 532,35916 ; m/z calculado para M⁻ 112,98559, obtido 112,98615.

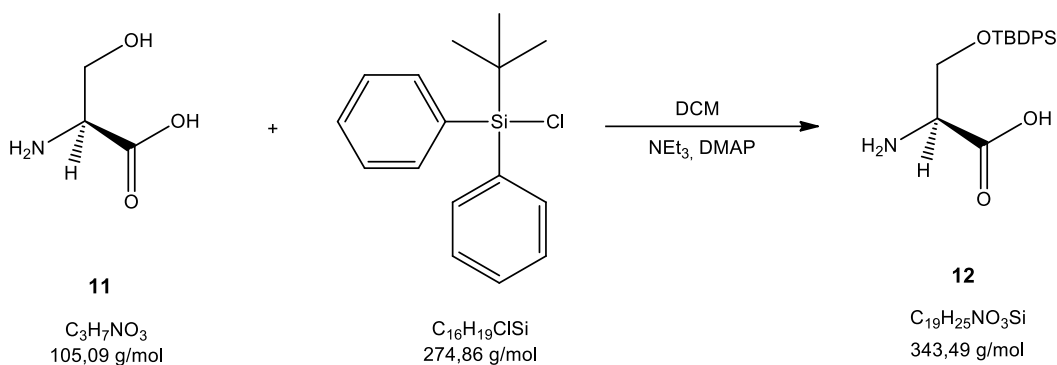
3.4 Síntese do composto **19**

Para realizar a síntese do composto **19** foram efetuadas duas metodologias de síntese, de modo a encontrar aquela que apresentava resultados mais eficazes.

De seguida são apresentadas essas duas metodologias para a obtenção deste composto, que diferem uma da outra na ordem de introdução dos vários grupos no reagente de partida (**12**).

3.4.1 Sililação da serina (**11**)

Síntese da *O*-(*tert*-butildifenilsililoxi)serina (**12**)



A uma solução de **11** em DCM, sob agitação magnética, atmosfera de argón e em banho de gelo, adicionou-se quantidade catalítica de DMAP. Posteriormente juntou-se NEt_3 (2,5 eq.) e de seguida juntou-se Cl-TBDPS (1,5 eq.) gota-a-gota. Após a adição de todos os reagentes, retirou-se o banho de gelo e deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} durante um período de 28h.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e procederam-se às extrações líquido-líquido. Inicialmente realizaram-se lavagens com H_2O (4 x 15 mL) e de seguida com NaCl (2 x 15 mL). No fim das lavagens, a fase aquosa foi sujeita a cinco extrações com DCM. Por fim, secaram-se as fases orgânicas com Na_2SO_4 , filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi sujeita a uma coluna cromatográfica, usando como eluente DCM até se observar por CCF a separação de todas as impurezas, mudando-se depois para o eluente DCM/MeOH na proporção 5:1. Desta purificação obteve-se um sólido branco que foi confirmado como sendo o produto pretendido na análise por RMN ^1H , com um rendimento de 41%.

Na tabela 11 estão apresentados os resultados obtidos para as diferentes experiências realizadas.

Ácido (2S)-2-amino-3-(*terc*-butildifenilsililoxi) propanóico (12):

$\eta = 41\%$

$R_f = 0,37$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspetto: Sólido branco

RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.76-7.42 (m, 4H, ArH), 7.34-6.98 (m, 6H, ArH), 4.14-3.64 (m, 3H, NH₂-CH- + NH₂-CH-CH₂-), 0.99 (sl, 9H, -C(CH₃)₃).

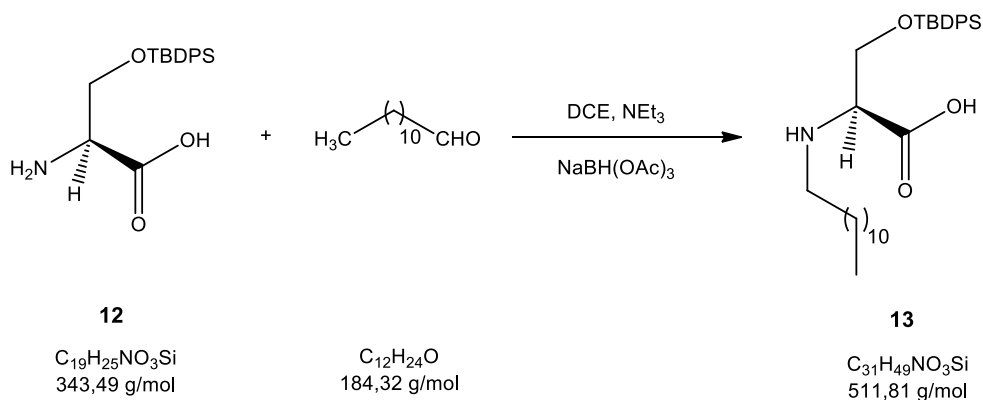
Tabela 11- Quantidades de reagentes utilizadas, massa do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	11 m/g (n/mmol)	Cl-TBDPS v/mL (n/mmol)	12 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,5000 (14,273)	6,00 (21,5)	1,5758 (4,5876)	25	32
2	1,5700 (14,939)	6,00 (21,5)	0,8910 (2,594)	24	18
3	1,5887 (15,118)	6,00 (21,5)	0,8917 (2,596)	16	17
4	1,5365 (14,621)	6,00 (21,5)	1,5668 (4,5614)	25	31
5	1,5090 (14,359)	6,00 (21,5)	2,0362 (5,9280)	28	41
6	2,0085 (19,112)	7,40 (28,5)	1,9721 (5,7413)	22	30
7	1,5353 (14,609)	6,00 (21,5)	1,2401 (3,6102)	21	25

3.4.2 Método A

3.4.2.1 Aminoação redutiva de **12** com dodecanal

Síntese do ácido (2*S*)-3-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-dodecilaminopropanóico (**13**)



A uma solução de **12** em 5 mL de dicloroetano, DCE, sob agitação magnética e atmosfera de argon, juntou-se NEt_3 (1,5 eq.) e deixou-se a reagir durante cerca de 15 minutos. De seguida adicionou-se dodecanal (0,55 eq.), $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}$, deixou-se a reagir durante cerca de 30 minutos, e posteriormente o agente redutor, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0,75 eq.), deixando também a reagir durante cerca de 30 minutos. Ao fim desse tempo adicionou-se mais 0,55 eq. de dodecanal, deixou-se a reagir mais meia hora e juntou-se depois mais 0,75 eq. do agente redutor. Deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} , observando-se por CCF que esta terminara ao fim de 4 horas.

A mistura reacional foi transferida para um funil de separação, procedendo-se às extrações líquido-líquido, adicionando inicialmente cerca de 10 mL de solução aquosa de HCl 0,10M. Agitou-se e separaram-se as duas fases, realizando de seguida lavagens da fase orgânica com H_2O (3 x 10 mL). A fase aquosa foi extraída mais duas vezes com DCM. Por fim, secaram-se as fases orgânicas com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura proveniente do tratamento foi sujeita a uma cromatografia em coluna usando com o eluente DCM/MeOH na proporção 10:1, isolando-se um sólido branco identificado por RMN ^1H , como sendo o composto pretendido **13**.

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas encontram-se resumidos na tabela 12.

Ácido (2S)-3-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-dodecilaminopropanóico (13):

$\eta = 45\%$

$R_f = 0,52$ (DCM/MeOH 8:1)

Aspeto: Sólido branco

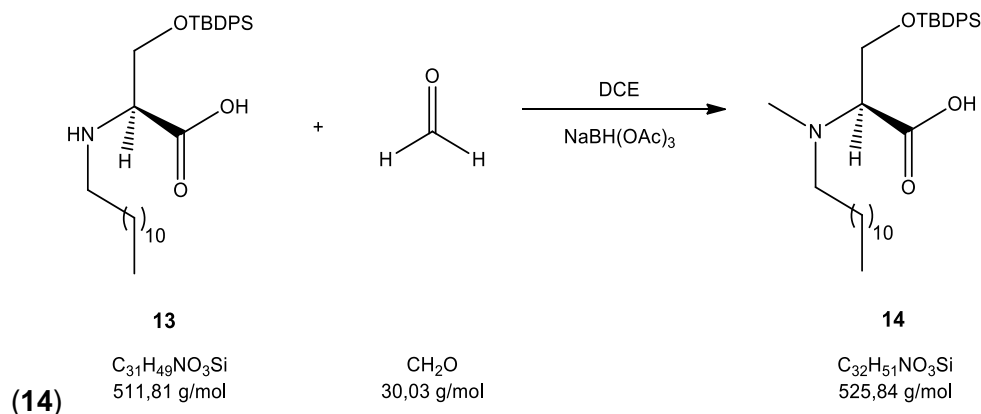
RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.68-7.60 (m, 4H, ArH), 7.48-7.28 (m, 6H, ArH), 4.14 (m, 1H, $-\text{CH}-\text{C}(\underline{\text{H}})\text{H}-$), 4.07 (dd, 1H, $J = 11.4, 3.2$ Hz, $-\text{CH}-\text{C}(\text{H})\underline{\text{H}}-$), 3.79-3.67 (m, 1H, $-\text{CH}-\text{CH}_2-$), 3.11-2.86 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-$), 1.81-1.56 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.37-1.09 (m, 18H, $-(\text{CH}_2)_9-$), 1.02 (sl, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz, $-\text{CH}_3$).

Tabela 12- Quantidade de reagentes usada, massa final do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as várias experiências realizadas.

Exp.	12 m/g (n/mmol)	CHO m/g (n/mmol)	13 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	0,5043 (1,468)	0,3300 (1,790)	0,1455 (0,2843)	16	19
2	0,9819 (2,859)	0,5976 (3,242)	0,5636 (1,101)	3	39
3	1,0543 (3,0694)	0,6797 (3,688)	0,5997 (1,172)	3	42
4	1,0877 (3,1666)	0,6484 (3,518)	0,7003 (1,368)	17	43
5	0,8844 (2,575)	0,5305 (2,878)	0,5623 (1,099)	3	43
6	1,2401 (3,6103)	0,7367 (3,997)	0,8214 (1,605)	4	45
7	0,5311 (1,546)	0,3175 (1,723)	0,3251 (0,6352)	3	41

3.4.2.2 Metilação de 13 com formaldeído

Síntese do ácido (2S)-3-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-(*N*-dodecil-*N*-metilamino)propanóico



Dissolveu-se **13** em cerca de 5 mL de DCE e colocou-se a reação sob agitação magnética. Adicionou-se uma solução aquosa de formaldeído (1,2 eq.), CH₂O, e de seguida juntou-se NaBH(OAc)₃ (2,4 eq.). Por CCF verificou-se que a reação terminou ao fim de 4 horas.

Após se ter dado a reação como terminada, transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e realizaram-se extrações líquido-líquido. Inicialmente lavou-se a fase orgânica com H₂O (20 x 10 mL), agitou-se e separaram-se as fases. Posteriormente realizaram-se duas extrações da fase aquosa com DCM. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo. Obteve-se um óleo incolor/esbranquiçado que foi confirmado por RMN ¹H, ¹³C e DEPT como sendo o composto desejado **14**.

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas encontram-se resumidos na tabela 13.

Ácido (2S)-3-(terc-butildifenilsililoxi)-2-(N-dodecil-N-metilamino)propanóico (**14**):

η = 98%

R_f = 0,28 (AcOEt/MeOH 5:1)

Aspeto: Óleo incolor/esbranquiçado

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 7.66-7.59 (m, 4H, ArH), 7.47-7.33 (m, 6H, ArH), 4,41 (dd, 1H, J = 12.8, 3.4 Hz, -CH-CH(H)-), 4.10 (dd, 1H, J = 12.8, 9.4 Hz, -CH-CH(H)-), 3.85 (dd, 1H, J = 9.4, 3.4 Hz, -CH-COOH-), 3.26-3.15 (m, 1H, -N-C(H)H-), 3.15-3.04 (m, 1H, -N-C(H)H-), 2.86 (s, 3H, -N-CH₃), 1.77-1.64 (m, 2H, -N-CH₂-CH₂-), 1.34-1.17 (m, 18H, -(CH₂)₉-), 1.12-1.01 (m, 9H, -C(CH₃)₃), 0.88 (t, 3H, J = 6.9 Hz, -CH₃).

RMN ¹³C e DEPT (CDCl₃, 75 MHz): δ 167.32 (C=O), 135.57 (ArC), 132.16 (ArC), 130.17 (ArC), 128.00 (ArC), 69.40 (-CH-), 39.19 (-N(CH₃)-), 28.23 (-C(CH₃)₃), 14.11 (-CH₃).

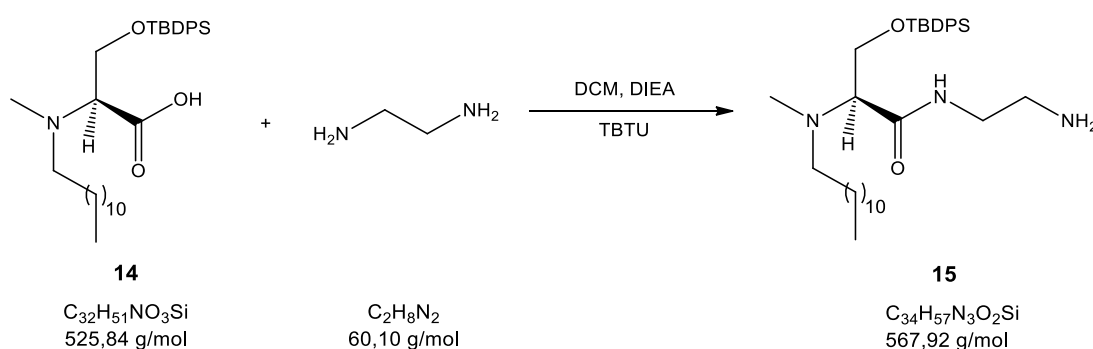
Tabela 13- Quantidade de reagentes usada, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	13 m/g (n/mmol)	CH ₂ O v/mL (n/mmol)	14 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,1633 (2,2729)	0,21 (2,7)	1,0963 (2,0849)	3	87
2	0,7003 (1,368)	0,12 (1,6)	0,6978 (1,327)	3	97

3	0,5468 (1,068)	0,10 (1,3)	0,5263 (1,001)	3	93
4	0,8214 (1,605)	0,14 (1,9)	0,8210 (1,561)	4	97
5	0,3251 (0,6352)	0,10 (0,77)	0,3271 (0,6221)	4	98

3.4.2.3 Condensação entre **14** e a etilendiamina usando TBTU

Síntese da *N*-(2-aminoetil)-[(2*S*)-3-(*tert*-butildifenilsiloxi)-2-(*N*-dodecil-*N*-metilamino)propanamida] (**15**)



A uma solução de **14** em DCM sob agitação magnética e em banho de gelo, juntou-se DIEA (2 eq.) e TBTU (2eq.). Retirou-se o banho de gelo e deixou-se a reação ocorrer à T_{amb} durante o período de 1h, realizando-se CCF para observar a evolução da reação. Ao fim desse tempo evaporou-se um pouco o solvente da mistura reacional num evaporador rotativo e juntou-se esta a um balão que continha etilendiamina (30 eq.). Após a adição de todos os reagentes, por observação de CCF verificou-se que a reação terminou ao fim de 3 horas.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e adicionou-se cerca de 15 mL de HCl 0,1M. Agitou-se, separaram-se as fases e realizaram-se lavagens da fase orgânica com H_2O (2 x 10 mL), solução saturada de NaHCO_3 (3 x 10 mL) e novamente com H_2O (2 x 10 mL). Por fim extraíram-se as fases aquosas com DCM. Secaram-se as fases orgânicas com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

O óleo obtido foi submetido a uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 10:1, isolando-se um óleo amarelo que foi identificado por RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY e HSQC, como sendo o composto pretendido **15**.

Na tabela 14 apresentam-se os resultados obtidos para as diferentes experiências realizadas.

***N*-(2-aminoetil)-[(2*S*)-3-(*terc*-butildifenilsililoxi)-2-(*N*-dodecil-*N*-metilamino) propanamida] (15):**

$\eta = 84\%$

$R_f = 0,40$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspetto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 7.74 (t, 1H, $J = 6.2$ Hz, -CONH-), 7.69-7.62 (m, 4H, ArH), 7.45-7.33 (m, 6H, ArH), 4.14 (dd, 1H, $J = 11.3, 3.9$ Hz, -CH-CH(H)-), 4.00 (dd, 1H, $J = 11.3, 7.1$ Hz, -CH-CH(H)-), 3.39-3.24 (m, 3H, -CH-CONH- + -CONH-CH₂-), 2.85 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz, -CONH-CH₂-CH₂-), 2.70 (sl, 2H, -NH₂), 2.63 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -N-CH₂-), 2.38 (s, 3H, -N-CH₃), 1.53-1.42 (m, 2H, -N-CH₂-CH₂-), 1.33-1.21 (m, 18H, -(CH₂)₉-), 1.05 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 0.88 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, -CH₃).

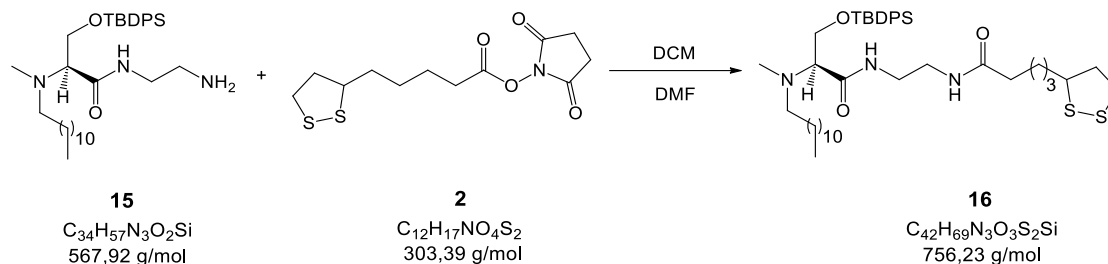
RMN ¹³C e DEPT (CDCl₃, 75 MHz): δ 172.63 (C=O), 135.62 (ArC), 133.19 (ArC), 129.75 (ArC), 127.73 (ArC), 68.91 (-CH-), 61.66 (-CH-CH₂-), 55.87 (-N-CH₂-), 41.52 (-CONH-CH₂-CH₂-), 41.11 (-CONH-CH₂-), 38.65 (-N(CH₃)-), 29.65 (-N-CH₂-CH₂-), 28.66 (-C(CH₃)₃), 14.11 (-CH₃).

Tabela 14- Quantidade de reagentes usada, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada uma das experiências realizadas.

Exp.	14	diamina	15	T _{reação} (h)	η (%)
	m/g (n/mmol)	v/mL (n/mmol)	m/g (n/mmol)		
1	1,0963 (2,0849)	4,20 (62,7)	0,6300 (1,109)	4	53
2	0,6791 (1,292)	2,59 (38,7)	0,3383 (0,5957)	2	46
3	0,5052 (0,9607)	1,93 (28,8)	0,3246 (0,5716)	3	60
4	0,8210 (1,561)	3,13 (46,8)	0,1045 (0,1840)	3	12
5	0,3271 (0,6221)	1,24 (18,6)	0,2973 (0,5235)	3	84

3.4.2.4 Acoplamento de **15** com o ácido α -lipóico ativado

Síntese da *N*-{2-[(2'*S*)-3'-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2'-(*N*-dodecil-*N*-metilamino)propanamido]etil}-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**16**)



Dissolveu-se **15** e ácido α -lipóico ativado, **2**, (1,2 eq.) em cerca de 25 mL de DCM e de seguida adicionaram-se algumas gotas de DMF. A reação ocorreu sob agitação magnética e protegida da luz durante a noite. Observando-se por CCF que esta terminou ao fim de 24h.

Evaporou-se o DCM num evaporador rotativo e de seguida juntou-se 10 mL de AcOEt e procederam-se às lavagens da fase orgânica num funil de separação, inicialmente com H_2O (4 x 10 mL). Posteriormente lavou-se a fase orgânica com uma solução saturada de NaCl (4 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro.

Após filtração e evaporação do solvente num evaporador rotativo, submeteu-se a mistura a uma cromatografia em coluna usando como eluente Hex/AcOEt na proporção 1:1. O produto foi isolado com um rendimento de 92% e foi identificado por RMN 1H , ^{13}C , DEPT, COSY e HSQC como sendo o composto pretendido.

Na tabela 15 estão apresentados os resultados obtidos nas várias experiências realizadas.

***N*-{2-[(2'*S*)-3'-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2'-(*N*-dodecil-*N*-metilamino)propanamido]etil}-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**16**):**

$\eta = 92\%$

$R_f = 0,17$ (DCM/AcOEt 9:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ 7.76 (sl, 1H, -CONH-), 7.68-7.63 (m, 4H, ArH), 7.48-7.33 (m, 6H, ArH), 6.36 (sl, 1H, -NHCO-), 5.42-5.37 (m, 1H, -CH-CH₂-), 4.73-4.67 (m, 2H, -CH-CH₂-), 3.61-3.48 (m, 1H, -S-CH-), 3.42-3.26 (m, 4H, -CONH-CH₂-CH₂-NHCO-), 3.20-

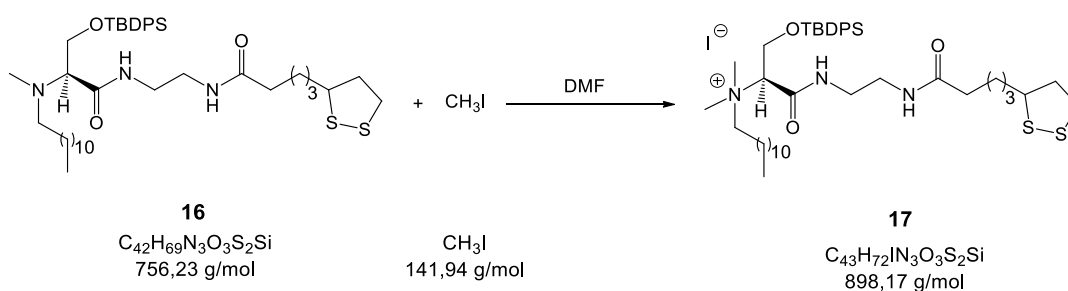
3.05 (m, 2H, -CH₂-S-), 2.50-2.38 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 2.39-2.32 (m, 2H, -NHCO-CH₂-), 2.16-2.06 (m, 2H, -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.91-1.83 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 1.83-1.75 (m, 2H, -N-CH₂-), 1.75-1.70 (s, 3H, -N-CH₃), 1.71-1.55 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.54-1.34 (m, 2H, -N-CH₂-CH₂-), 1.33-1.20 (m, 18H, -(CH₂)₉-), 1.05 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 0.87 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, -CH₃).

Tabela 15- Quantidade de reagentes utilizada, massa de produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	15 m/g (n/mmol)	2 m/g (n/mmol)	16 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	0,6300 (1,109)	0,4112 (1,355)	0,7156 (0,9463)	21	85
2	0,3246 (0,5716)	0,2069 (0,6820)	0,3960 (0,5237)	24	92
3	0,4428 (0,7797)	0,2885 (0,9509)	0,4222 (0,5583)	24	72

3.4.2.5 Metilação de **16** com iodometano

Síntese do iodeto de *N*-{(1*S*)-2-*terc*-butildifenilsililoxi-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etilcarbamoíl]etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetil amónio (**17**)



Dissolveu-se o composto **16** numa pequena quantidade de DMF, cerca de 1 mL, e adicionou-se CH₃I (4 eq.). Deixou-se a reação ocorrer sob agitação magnética, protegida da luz e à T_{amb} durante 3h, sendo esta acompanhada por CCF.

Terminada a reação, transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação, adicionou-se 15 mL de DCM e efetuaram-se lavagens da fase orgânica com uma solução saturada de tiosulfato de sódio (15 mL), Na₂S₂O₃, e H₂O (10 x 15 mL). Secou-se a fase orgânica com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi purificada por cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 20:1, isolando-se um óleo amarelo intenso que foi identificado por RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY e HSQC como sendo o composto **17**.

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas encontram-se registados na tabela 16.

Iodeto de *N*-{(1*S*)-2-*terc*-butildifenilsililoxi-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etilcarbamoíl]etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetil amónio (17):

$\eta = 55\%$

$R_f = 0,12$ (DCM/MeOH 20:1)

Aspeto: Óleo amarelo intenso

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 8.91 (s, 1H, -CONH-), 7.73-7.60 (m, 4H, ArH), 7.54-7.38 (m, 6H, ArH), 7.19 (d, 1H, $J = 5.9$ Hz, -NHCO-), 5.43 (dd, 1H, $J = 8.5, 4.2$ Hz, -CH-CONH-), 4.19 (dd, 1H, $J = 13.0, 8.6$ Hz, -CH-CH(H)-), 4.08 (dd, 1H, $J = 13.1, 4.1$ Hz, -CH-CH(H)-), 3.98-3.82 (m, 1H, -N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -C(H)H-), 3.68-3.45 (m, 3H, -N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -C(H)H- + -CONH-C(H)H- + -CH-S-), 3.45-3.37 (m, 2H, -CH $_2$ -NHCO-), 3.33 e 3.27 (2x s, 3+3H, -N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -), 3.22-3.03 (m, 3H, -CONH-C(H)H- + -CH $_2$ -CH $_2$ -CH-S-), 2.53-2.39 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 2.31 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -NHCO-CH $_2$ -), 2.00-1.84 (m, 1H, -C(H)H-CH-S-), 1.84-1.58 (m, 6H, -N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -CH $_2$ -CH $_2$ - + -NHCO-CH $_2$ -CH $_2$ - + -NHCO-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_2$ -), 1.53-1.38 (m, 2H, -NHCO-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_2$ -), 1.36-1.19 (m, 18H, -(CH $_2$) $_9$ -), 1.07 (s, 9H, -C(CH $_3$) $_3$), 0.88 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz, -CH $_3$).

RMN ^{13}C e DEPT (CDCl_3 , 75 MHz): δ 173.62 (-CH-CONH-), 164.01 (-NHCO-CH $_2$ -), 135.57 (ArC), 131.24 (ArC), 130.60 (ArC), 128.41 (ArC), 73.67 (-N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -CH-), 65.06 (-N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -CH $_2$ -), 61.23 (-CH $_2$ -OSi-), 50.38 (-N $^+$ -CH $_3$), 49.15 (-N $^+$ -CH $_3$), 38.19 (-CONH-CH $_2$ -), 36.41 (-CH $_2$ -NHCO-), 26.84 (-C(CH $_3$) $_3$), 25.37 (-N $^+$ (CH $_3$) $_2$ -CH $_2$ -CH $_2$ -), 14.11 (-CH $_3$).

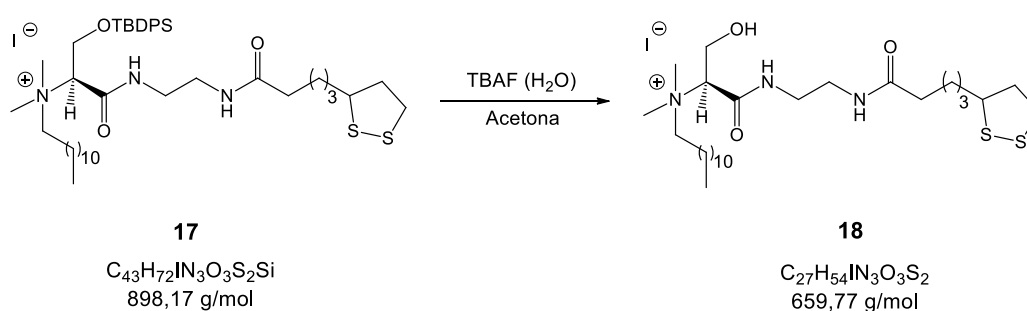
Tabela 16- Quantidade de reagentes utilizada, massa do produto obtido, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	16 m/g (n/mmol)	CH $_3$ I m/g (n/mmol)	17 m/g (n/mmol)	T $_{\text{reação}}$ (h)	η (%)
1	0,7156 (0,9463)	0,24 (3,6)	0,3160 (0,3518)	1	37
2	0,3791 (0,5013)	0,12 (1,9)	0,1581 (0,1760)	2	35

3	0,2630 (0,3478)	0,10 (1,6)	0,1719 (0,1914)	3	55
4	0,1592 (0,2105)	0,05 (0,8)	0,0152 (0,0169)	22	8
5	0,2056 (0,2719)	0,10 (1,6)	0,0547 (0,0609)	3	22

3.4.2.6 Desproteção do composto **17**

Síntese do iodeto de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (**18**)



Após se dissolver o composto **17** em 5 mL de acetona, juntou-se TBAF (1 eq.) dissolvido também em 2 mL de acetona. Deixou-se a reação ocorrer sob agitação magnética, à T_{amb} e protegida da luz, verificando-se por CCF que esta terminara ao fim de 2h.

Procedeu-se de seguida às extrações líquido-líquido, transferindo para um funil de separação a mistura reacional. Inicialmente lavou-se a fase orgânica com 10 mL de H_2O e depois com 10 mL de NaCl. A fase aquosa foi extraída 4 vezes com DCM até se verificar por CCF que todo o composto tinha passado para a fase orgânica. As fases orgânicas foram secas com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi submetida a uma purificação por cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 10:1, tendo-se isolado um óleo amarelo que se identificou por RMN 1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC e HRMS, com sendo o composto **18**.

Iodeto de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamônio (18):

$\eta = 39\%$

$R_f = 0,35$ (DCM/MeOH 10:1)

Aspetto: Óleo amarelo

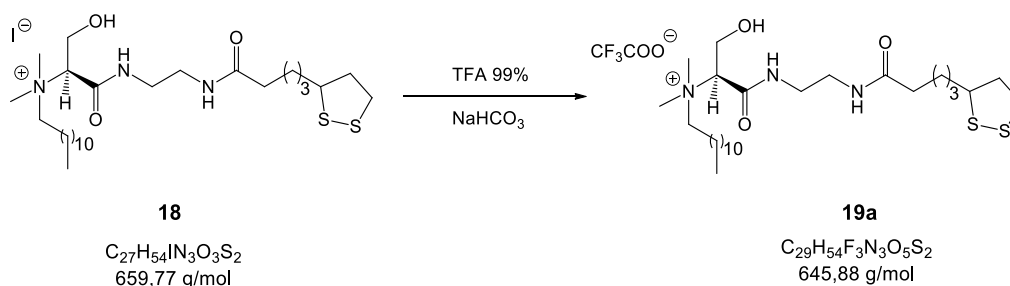
RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 8.71 (t, 1H, $J = 4.4$ Hz, -CONH-), 6.96 (t, 1H, $J = 5.5$ Hz, -NHCO-), 5.06 (t, 1H, $J = 5.2$ Hz, -CH-CONH-), 4.24 (d, 2H, $J = 4.9$ Hz, -CH-CH₂-), 3.89-3.72 (m, 1H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H-), 3.66-3.55 (m, 1H, -CH-S-), 3.55-3.29 (m, 11H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H- + -CONH-CH₂-CH₂-NHCO- + -N⁺(CH₃)₂-), 3.25-3.04 (m, 2H, -CH₂-S), 2.52-2.38 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 2.30 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -NHCO-CH₂-), 2.11-1.97 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.97-1.86 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 1.77-1.59 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -CH₂-CH-S-), 1.55-1.42 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH-S-), 1.37 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.27 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 0.87 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz, -CH₃).

RMN ¹³C e DEPT (CDCl₃, 75 MHz): δ 174.06 (-CH-CONH-), 164,88 (-NHCO-CH₂-), 74.24 (-N⁺(CH₃)₂-CH-), 65.52 (-N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 59.78 (-CH₂-OH-), 56.62 (-CH-S), 39.92 (-CH₂-CH₂-S-), 38.30 (-NHCO-CH₂-), 14.11 (-CH₃).

HRMS (ESI, MeOH): m/z calculado para M⁺ 532,36011, obtido 532,35807 ; m/z calculado para M⁻ 126,90502, obtido 126,90609.

3.4.2.7 Reação de troca iônica do composto 18

Síntese do trifluoroacetato de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamônio (19)



Inicialmente preparou-se uma solução de TFA (1,5 mL em 10 mL de H₂O) e adicionou-se NaHCO₃ (1 eq.), verificando-se se a solução já se encontrava básica (papel indicador de pH), tendo sido necessário adicionar mais uma microespátula de NaHCO₃.

De seguida, transferiu-se a solução de TFA e NaHCO₃ para um funil de separação, dissolveu-se o composto **18** em DCM e transferiu-se para o funil que continha essa mistura básica. Agitou-se algumas vezes e separou-se as fases. Extraiu-se a fase aquosa com DCM duas vezes até se verificar por CCF que nesta já não existia o produto formado. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

Confirmou-se posteriormente por RMN ¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HSQC e HRMS que se obteve o composto pretendido **19**.

Trifluoroacetato de N-((1S)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamóil]-2-hidroxi-etil]-N-dodecil-N,N-dimetilamónio (19):

η = 98%

R_f = 0,48 (DCM/MeOH 5:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 9.41 (t, 1H, J = 4.2 Hz, -CONH-), 7.15 (d, 1H, J = 3.9 Hz, -NHCO-), 4.85 (t, 1H, J = 5.7 Hz, -CH-CONH-), 4.19 (d, 2H, J = 4.6 Hz, -CH-CH₂-), 3.77-3.63 (m, 1H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H-), 3.61-3.51 (m, 1H, -CH-S-), 3.43-3.25 (m, 11H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H- + -CONH-CH₂-CH₂-NHCO- + -N⁺(CH₃)₂-), 3.23-3.04 (m, 2H, -CH₂-S), 2.49-2.39 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 2.22 (t, 2H, J = 7.5 Hz, -NHCO-CH₂-), 1.97-1.85 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 1.85-1.73 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.73-1.57 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -CH₂-CH-S-), 1.52-1.38 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH-S-), 1.33 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.25 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 0.87 (t, 3H, J = 6.9 Hz, -CH₃).

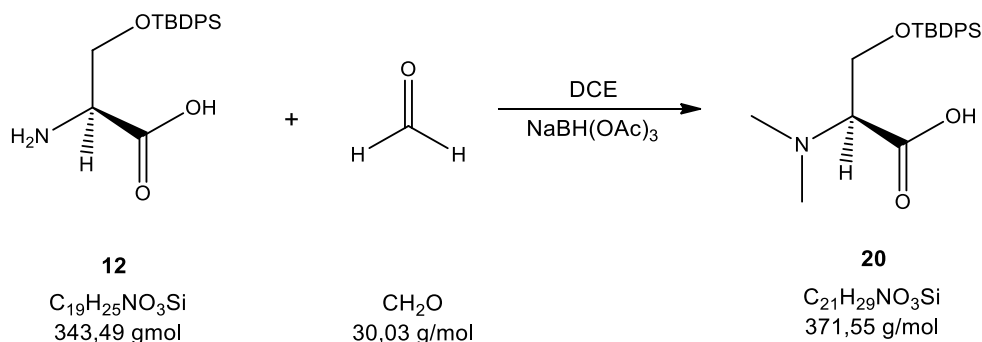
RMN ¹³C e DEPT (CDCl₃, 75 MHz): δ 173.98 (-CH-CONH-), 165.07 (-NHCO-CH₂-), 74.09 (-N⁺(CH₃)₂-CH-), 65.92 (-N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 60.09 (-CH₂-OH-), 56.59 (-CH-S), 50.42 (-N⁺-CH₃-), 50.34 (-N⁺-CH₃-), 40.23 (-CH₂-CH₂-S-), 38.40 (-CH₂-S-), 25.33 (-CH₂-CH-S-), 22.55 (-N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 14.10 (-CH₃).

HRMS (ESI, MeOH): m/z calculado para M⁺ 532,36011, obtido 532,35665 ; m/z calculado para M⁻ 112,98559, obtido 112,98638.

3.4.3 Método B

3.4.3.1 Metilação de **12** por aminação redutiva

Síntese do ácido (3*S*)-(terc-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanóico (**20**)



Dissolveu-se **12** em 5 mL de DCE e adicionou-se formaldeído (2,4 eq.), CH_2O , e de seguida $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (4,8 eq.). Deixou-se a reação ocorrer sob agitação magnética à T_{amb} e por observação de CCF, verificou-se que a reação terminou ao fim de 2h.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e procederam-se às extrações líquido-líquido com H_2O (4 x 10 mL). Por fim, a fase aquosa foi extraída com DCM 4 vezes. Secaram-se as fases aquosas, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

O produto obtido do tratamento foi identificado por RMN ^1H como sendo o composto pretendido **20**.

Na tabela 17 estão apresentados os resultados obtidos para as diferentes experiências realizadas.

Ácido (3*S*)-(terc-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanóico (**20**):

$\eta = 89\%$

$R_f = 0,43$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspeto: Sólido branco

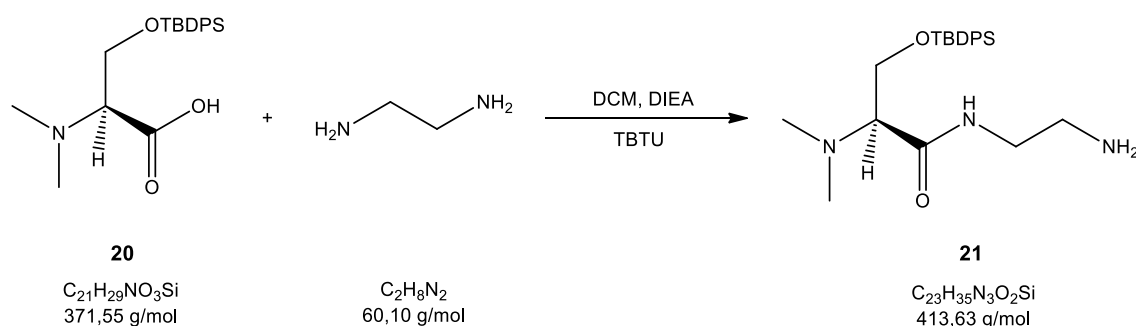
RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.66-7.59 (m, 4H, ArH), 7.46-7.32 (m, 2H, ArH), 4.34 (dd, 1H, $J = 12.8, 3.3$ Hz, $-\text{CH}-\text{C}(\underline{\text{H}})\text{H}-$), 4.09 (dd, 1H, $J = 12.8, 9.0$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}-$), 3.75 (dd, 1H, $J = 9.0, 3.3$ Hz, $-\text{CH}-\text{C}(\text{H})\underline{\text{H}}-$), 2.91 (sl, 6H, $-\text{N}-(\text{CH}_3)_2$), 1.05 (sl, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Tabela 17- Quantidade utilizada de reagente, massa de produto obtida, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

Exp.	12 m/g (n/mmol)	CH ₂ O v/mL (n/mmol)	20 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	0,8910 (2,594)	0,23 (3,1)	0,3275 (0,8814)	22	34
2	0,8917 (2,596)	0,50 (6,2)	0,7563 (2,036)	3	77
3	1,0496 (3,0557)	0,60 (7,3)	1,0059 (2,7073)	2	89

3.4.3.2 Condensação de **20** com a etilenodiamina

Síntese da *N*-(2-aminoetil)-3-(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanamida (**21**)



A uma solução de **20** em 20 mL de DCM e em banho de gelo, adicionou-se DIEA (2 eq.) e TBTU (2 eq.). Removeu-se o banho de gelo e deixou-se a reação ocorrer sob agitação magnética e à T_{amb} durante cerca de 1h. De seguida evaporou-se um pouco o solvente da mistura reacional e transferiu-se esta para um balão contendo etilenodiamina (30 eq.). A reação ocorreu nas condições descritas anteriormente no ponto 3.4.2.3. na página 133, observando-se por CCF que terminara ao fim de 18h.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e realizaram-se lavagens da fase orgânica inicialmente com HCl 0,1M (20 mL). De seguida lavou-se a fase orgânica com H₂O (2 x 20 mL), solução saturada de NaHCO₃ (2 x 20 mL) e por fim novamente com H₂O (2 x 20 mL). A fase aquosa extraiu-se 2 vezes com DCM, secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

Após o tratamento, submeteu-se a mistura a uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 5:1 e depois de saírem todas as impurezas (observação por

CCF), aumentou-se a polaridade do eluente para DCM/MeOH 2:1. O composto pretendido **21** foi identificado por RMN ^1H .

Na tabela 18 apresentam-se os resultados obtidos nas várias experiências realizadas.

***N*-(2-aminoetil)-3-(*terc*-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanamida (21):**

$\eta = 58\%$

$R_f = 0,28$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspeto: Óleo amarelo

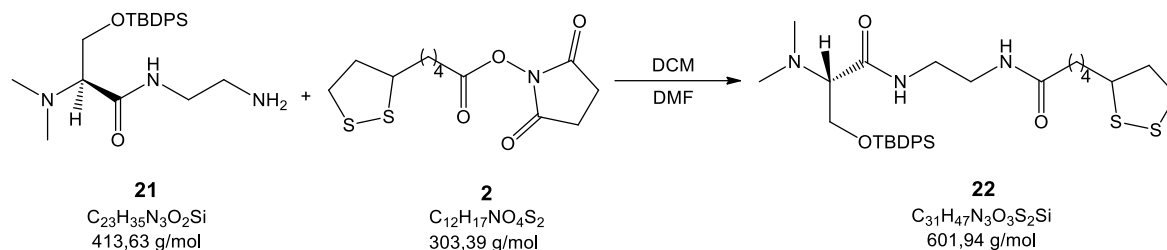
RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz): δ 7.70-7.60 (m, 4H, ArH), 7.51 (t, 1H, $J = 5.3$ Hz, -CONH-), 7.44-7.33 (m, 6H, ArH), 4.06 (dd, 1H, $J = 11.2, 3.8$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.97 (dd, 1H, $J = 11.2, 5.7$ Hz, -CH-(H)H-), 3.34-3.30 (m, 1H, -CONH-C(H)H-), 3.30-3.20 (m, 1H, -CONH-C(H)H-), 2.97 (dd, 1H, $J = 5.7, 3.9$ Hz, -CH-CH₂-), 2.79 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, -CH₂-NH₂), 2.40 (s, 6H, -N-(CH₃)₂), 1.56 (sl, 2H, -NH₂), 1.05 (sl, 9H, -C(CH₃)₃).

Tabela 18- Quantidade usada de reagente, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para cada experiência realizada.

Exp.	20 m/g (n/mmol)	diamina v/mL (n/mmol)	21 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	1,2085 (3,2526)	6,50 (97,5)	0,2177 (0,5263)	17	16
2	0,3275 (0,8814)	1,76 (26,4)	0,2123 (0,5133)	18	58
3	1,0059 (2,7073)	6,00 (89,8)	0,4169 (1,008)	21	37

3.4.3.3 Acoplamento de **21** com o ácido α -lipóico ativado

Síntese da *N*-2-[(2*S*)-3-[(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanamido]}etil-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**22**)



Dissolveu-se o composto **21** em 25 mL de DCM, colocou-se sob agitação magnética à T_{amb} e de seguida adicionou-se ácido α -lipóico ativado, **2**, (1,2 eq.). A reação ocorreu nas condições referidas no ponto 3.4.2.4. na página 135, e protegida da luz, verificando-se por CCF que esta terminou ao fim de 23h.

Evaporou-se o solvente num evaporador rotativo e juntou-se 10 mL de AcOEt, realizando-se extrações líquido-líquido num funil de separação. Inicialmente lavou-se a fase orgânica com H₂O (4 x 10 mL) e posteriormente com solução saturada de NaCl (4 x 10 mL). Fizeram-se ainda extrações com DCM da fase aquosa de modo a passar o composto que tinha ficado nesta, para a fase orgânica. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

A mistura foi purificada através de uma cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 20:1. O produto obtido foi identificado por RMN ¹H, ¹³C, DEPT, COSY e HSQC, como sendo o composto pretendido, **22**.

Os resultados obtidos nas diferentes experiências realizadas encontram-se registados na tabela 19.

***N*-2-[(2*S*)-3-[(*tert*-butildifenilsililoxi)-2-(dimetilamino)propanamido]}etil-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**22**):**

η = 45%

R_f = 0,48 (DCM/MeOH 10:1)

Aspetto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 7.70-7.60 (m, 5H, ArH + -CONH-), 7.47-7.33 (m, 6H, ArH), 6.38 (sl, 1H, -NHCO-), 4.05 (dd, 1H, *J* = 11.2, 3.9 Hz, -CH-C(H)H-), 3.96 (dd, 1H, *J* = 11.2, 5.7 Hz, -CH-C(H)H-), 3.58-3.50 (m, 1H, -S-CH-), 3.49-3.26 (m, 4H, -CONH-CH₂-CH₂-NHCO-), 3.20-3.04 (m, 2H, -CH₂-S-), 3.00-2.94 (m, 1H, -CH-CH₂-), 2.48-2.40 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 2.38 (s, 6H, -N-(CH₃)₂), 2.08 (t, 2H, -NHCO-CH₂-), 1.94-1.82 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 1.73-1.54 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -S-CH-CH₂-), 1.47-1.34 (m, 2H, -S-CH-CH₂-CH₂-), 1.05 (sl, 9H, -C(CH₃)₃).

RMN ¹³C e DEPT (CDCl₃, 75 MHz): δ 173.35 (-CH-CO-NH-), 173.21 (-NHCO-CH₂-), 135.56 (ArC), 129.85 (ArC), 127.79 (ArC), 70.76 (-N(CH₃)₂-CH-), 62.02 (-N(CH₃)₂-CH-CH₂-), 56.41 (-CH-S), 43.03 (-N(CH₃)₂), 40.22 (-CH₂-CH₂-S-), 38.45 (-CH₂-S-), 36.34 (-NHCO-CH₂-), 28.87 (-NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-), 26.85 (^tBu).

Tabela 19- Quantidade usada de reagente, massa obtida de produto, tempo e rendimento da reação para as diferentes experiências realizadas.

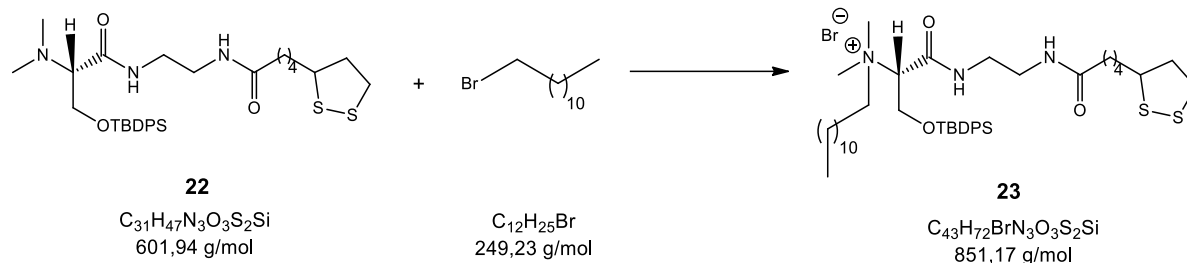
Exp.	21 m/g (n/mmol)	2 m/g (n/mmol)	22 m/g (n/mmol)	T _{reação} (h)	η (%)
1	0,4300 (1,040)	0,3883 (1,280)	0,2806 (0,4662)	23	45
2	0,4169 (1,008)	0,3867 (1,275)	0,2052 (0,3409)	21	34

3.4.3.4 Reações de 22

O composto **22** foi submetido a dois métodos diferentes com vista à obtenção do produto final. Numa primeira abordagem decidiu-se introduzir inicialmente a cadeia alquílica para posteriormente se proceder à desproteção e troca iónica. No entanto, o passo de alquilação apresentou um rendimento muito baixo, como se pode observar de seguida na alínea a). Assim, optou-se por efetuar primeiramente a desproteção de **22**, introduzir a cadeia alquílica no composto obtido e de seguida realizar a troca iónica.

a) Alquilação **22** com bromododecano

Síntese do brometo de *N*-{(1*S*)-2-*tert*-butildifenilsililoxi-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etilcarbamoíl]etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (**23**)



A uma solução de **22** em 2 mL de acetona, sob agitação magnética e protegida da luz, juntou-se bromododecano (8 eq.). Como ao fim de 12 dias a mistura ainda continha reagente de partida (CCF), colocou-se a reação em banho de óleo a 35°C e adicionou-se mais 1 mL de acetona. Deixou-se a reação ocorrer durante mais um dia e por CCF verificou-se que o reagente de partida ainda não tinha reagido completamente. Juntou-se umas gotas de água e deixou-se a reação ocorrer durante mais 4 dias.

Ao fim dos 4 dias, uma vez que a reação permanecia igual, procedeu-se às extrações líquido-líquido num funil de separação. Inicialmente lavou-se a fase orgânica 4 vezes com H₂O e a fase aquosa extraiu-se 4 vezes com DCM. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

Posteriormente dissolveu-se a mistura em acetonitrilo (CH₃CN) e realizaram-se extrações com hexano. Extraíu-se duas vezes a fase do hexano com CH₃CN e evaporou-se o solvente das fases do acetonitrilo num evaporador rotativo.

A mistura foi submetida a uma purificação por cromatografia em coluna usando como eluente AcOEt/DCM/MeOH 8:2:1, tendo-se obtido um óleo amarelo que foi identificado por RMN ¹H como sendo o composto pretendido **23**.

Brometo de *N*-{(1*S*)-2-*tert*-butildifenilsililoxi-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etilcarbamoíl]etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetil amónio (23**):**

$\eta = 5\%$

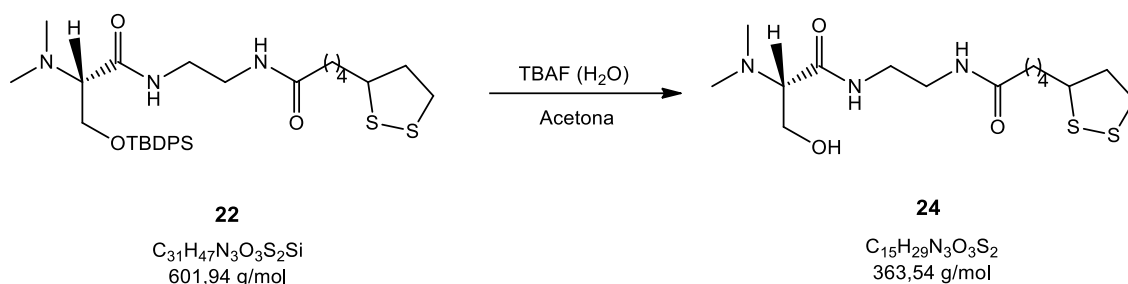
$R_f = 0,52$ (DCM/MeOH 10:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 9.40 (t, 1H, *J* = 5.0 Hz, -CONH-), 7.69-7.56 (m, 4H, ArH), 7.55-7.35 (m, 6H, ArH), 5.37 (dd, 1H, *J* = 8.7, 4.1 Hz, -CH-CH₂-), 4.20 (dd, 1H, *J* = 12.8, 9.0 Hz, -CH-C(H)H-), 4.08 (dd, 1H, *J* = 13.1, 4.0 Hz, -CH-C(H)H-), 3.95-3.81 (m, 1H, -S-CH-), 3.66-3.36 (m, 4H, -CONH-CH₂-CH₂-NHCO-), 3.31 e 3.24 (2x s, 3+3H, -N⁺(CH₃)₂-), 3.21-3.02 (m, 2H, -CH₂-S-), 2.51-2.39 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 2.29 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, -NHCO-CH₂-), 1.96-1.83 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 1.82-1.71 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-), 1.71-1.58 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.51-1.39 (m, 2H, -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.36-1.17 (m, 20H, -(CH₂)₁₀-), 1.07 (sl, 9H, -C(CH₃)₃), 0.88 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, -CH₃).

b) Desproteção do composto **22**

Síntese da *N*-2-[(2*S*)-2-(dimetilamino)-3-hidroxiopropanamido]etil-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (**24**)



Dissolveu-se o composto **22** em 2 mL de acetona, colocou-se sob agitação magnética, protegido da luz e adicionou-se TBAF dissolvido em 1 mL de acetona. Verificou-se por CCF que a reação terminou ao fim de 3h.

Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação e procedeu-se às extrações líquido-líquido com H₂O (2 x 10 mL). Extraíu-se a fase aquosa com DCM (4 x 10 mL) e secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro.

Após filtração sob pressão reduzida e evaporação do solvente num evaporador rotativo, realizou-se uma cromatografia em coluna com o eluente DMC/MeOH 5:1, sendo o composto isolado identificado por RMN ¹H como sendo o produto pretendido **24**.

Síntese da *N*-2-((2*S*)-2-(dimetilamino)-3-hidroxiopropanamido]etil-5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanamida (24):

$\eta = 61\%$

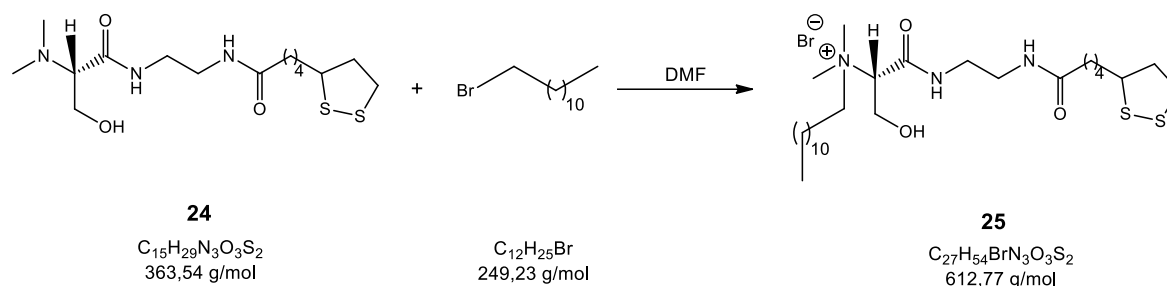
$R_f = 0,18$ (DCM/MeOH 10:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 7.71 (sl, 1H, -CONH-), 6.39 (sl, 1H, -NHCO-), 3.92 (dd, 1H $J = 11.5, 6.6$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.84 (dd, 1H, $J = 11.5, 4.0$ Hz, -CH-C(H)H-), 3.60-3.52 (m, 1H, -S-CH-), 3.50-3.26 (m, 4H, -CONH-CH₂-CH₂-NHCO-), 3.21-3.02 (m, 3H, -CH₂-S- + -CH-CH₂-), 2.51-2.40 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 2.37 (s, 6H, -N⁺(CH₃)₂-), 2.18 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -NHCO-CH₂-), 1.97-1.83 (m, 1H, -C(H)H-CH₂-S-), 1.75-1.57 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-), 1.52-1.37 (m, 2H, -NHCO-CH₂-CH₂-CH₂-).

3.4.3.5 Alquilação de 24 com bromododecano

Síntese do brometo de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (25)



Dissolveu-se **24** em algumas gotas de DMF e colocou-se sob agitação magnética e sob proteção da luz à T_{amb} . Adicionou-se de seguida bromododecano (2 eq.) e deixou-se a reação ocorrer nas condições referidas no ponto 3.4.3.4. alínea a), durante um período de 10 dias (controlada por CCF).

Transferiu-se a mistura para um funil de separação e procedeu-se às extrações líquido-líquido com acetonitrilo e hexano. Extraiu-se ainda a fase do hexano com acetonitrilo. Evaporou-se o solvente das fases do acetonitrilo e adicionou-se cerca de 10 mL de DCM. De seguida, procedeu-se a lavagens da fase orgânica com H₂O (6 x 10

mL). A fase aquosa proveniente destas lavagens foi ainda extraída com DCM. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

Purificou-se a mistura através de uma cromatografia em coluna usando como eluente DCM/MeOH 10:1. O produto obtido com rendimento de 25% e aspeto de um óleo amarelo, foi detetado por RMN ¹H como sendo o composto **25**.

Síntese do brometo de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (**25**):

$\eta = 25\%$

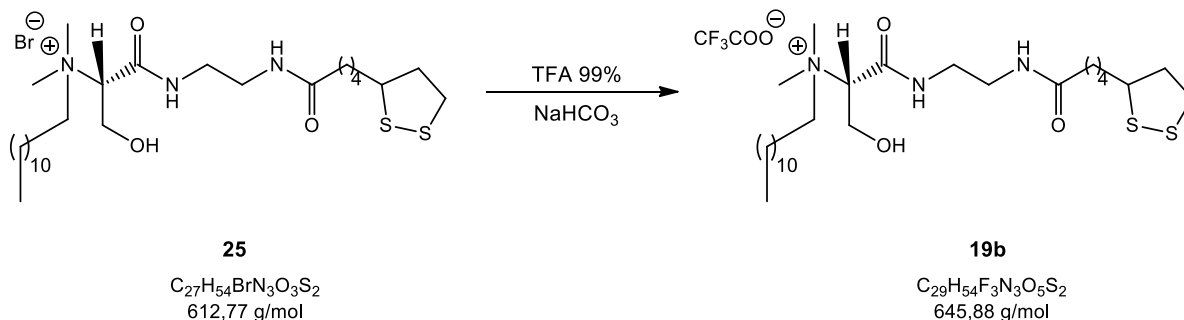
$R_f = 0,72$ (DCM/MeOH 5:1)

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz): δ 9.09 (s, 1H, -CONH-), 7.22 (s, 1H, -NHCO-), 5.12-5.03 (m, 1H, -CH-CONH-), 4.30-4.14 (m, 2H, -CH-CH₂-), 3.87-3.72 (m, 1H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H-), 3.66-3.52 (m, 1H, -CH-S-), 3.52-3.25 (m, 11H, -N⁺(CH₃)₂-C(H)H- + -CONH-CH₂-CH₂-NHCO- + -N⁺(CH₃)₂-), 3.24-3.04 (m, 2H, -CH₂-S), 2.53-2.38 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 2.28 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, -NHCO-CH₂-), 2.21-2.07 (m, 2H, -N⁺(CH₃)₂-CH₂-CH₂-), 1.97-1.84 (m, 1H, -S-CH-C(H)H-), 1.74-1.59 (m, 4H, -NHCO-CH₂-CH₂- + -CH₂-CH-S-), 1.53-1.39 (m, 2H, -CH₂-CH₂-CH-S-), 1.33 (sl, 4H, -(CH₂)₂-), 1.29 (sl, 14H, -(CH₂)₇-), 0.87 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, -CH₃).

3.4.3.6 Reação de troca iónica do composto **25**

Síntese do trifluoroacetato de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (**19**)



Inicialmente preparou-se uma solução de TFA (0,05 mL em 10 mL de H₂O) e adicionou-se NaHCO₃ (1 eq.), verificando-se se a solução já se encontrava básica (papel indicador de pH), tendo sido necessário adicionar mais uma microespátula de NaHCO₃. De seguida, transferiu-se a solução de TFA e NaHCO₃ para um funil de separação, dissolveu-se o composto **25** em DCM e transferiu-se para o funil que continha a mistura básica. Agitou-se algumas vezes e separou-se as fases. Extraiu-se a fase aquosa com DCM duas vezes até se verificar por CCF que nesta já não existia o produto formado. Secaram-se as fases orgânicas com Na₂SO₄ anidro, filtrou-se sob pressão reduzida e evaporou-se o solvente num evaporador rotativo.

O composto obtido foi identificado por RMN ¹H e HRMS como sendo o composto pretendido **19**, no entanto um pouco contaminado.

Síntese do trifluoroacetato de *N*-{(1*S*)-1-[2-(5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoílamino)etil-carbamoíl]-2-hidroxi-etil}-*N*-dodecil-*N,N*-dimetilamónio (19):

η = 61%

R_f = 0,50 (DCM/MeOH 5:1)

Aspetto: Óleo amarelo

HRMS (ESI, MeOH): m/z calculado para M⁺ 532,36011, obtido 532,35967 ; m/z calculado para M⁻ 112,98559, obtido 112,98618.

Parte II – Caracterização físico-química

3.5 Tensão superficial

As medições da tensão superficial foram realizadas recorrendo a um tensiómetro comercial Dataphysics modelo DCAT11, usando um aplicativo no computador designado por SCAT. A temperatura do banho de água termostaticado ligado ao tensiómetro foi mantida constante ($25,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$).

Inicialmente ligou-se o tensiómetro, o computador e o banho de água, regulando a temperatura deste a 25°C . A placa de Wilhelmy usada nas medições possuía um comprimento de 10 mm, 19,9 mm de largura e 0,2 mm de espessura. Antes de cada experiência realizada, esta placa foi lavada com etanol-água ultrapura-etanol e posteriormente levada à chama três vezes até ficar incandescente, de modo a garantir a sua total limpeza. De seguida colocou-se a placa na balança do tensiómetro com o parafuso de fixação apertado para que esta ficasse bem colocada. A tina usada para colocar a massa de água inicial e as posteriores alíquotas da solução do tensioativo que se adicionaram ao longo da experiência, foi lavada várias vezes com HNO_3 , acetona, etanol e água ultrapura e colocada a secar na estufa. De seguida pesou-se cerca de 25 mL de água para a tina e colocou-se esta no tensiómetro. O magnete usado para agitar a solução da tina foi também bem lavado com água ultrapura.

Mediu-se inicialmente a tensão superficial da água, verificando que estes valores (entre os $71,25$ e $71,45\text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$) se encontravam sempre próximos do valor de referência da tensão superficial para a água ultrapura ($71,97\text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$). Posteriormente, mediu-se a tensão superficial da solução à medida que se foram adicionando as alíquotas da solução de tensioativo.

Para realizar as medições, foram adicionadas sucessivas alíquotas de uma solução concentrada de tensioativo, à tina do tensiómetro com um volume inicial de 25 mL. As soluções de tensioativo usadas para a caracterização interfacial foram preparadas sempre com 24-48 h de antecedência à realização da experiência, de modo a garantir a total dissolução do respetivo composto.

A água usada para as lavagens do material, para a preparação das amostras, bem como a água usada na tina do tensiómetro, foi água ultra-pura obtida pelo sistema Mili-Q.

4 Conclusão

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos novos tipos de tensioativos que apresentam características específicas, tornando-os bastante úteis para aplicações biomédicas. Deste modo, o seu desenho é realizado tendo em conta um perfil toxicológico melhorado, bem como uma melhor biodegradabilidade e biocompatibilidade, sem esquecer o interesse das propriedades de auto-agregação destes tensioativos. Os tensioativos derivados de aminoácidos têm demonstrado características interessantes, pelo que são bastante estudados em vários grupos de investigação.

De modo a obter tensioativos ainda mais eficientes tem-se recorrido à funcionalização destes com moléculas capazes de lhes conferir capacidades interessantes, como anticancerígenas, antioxidantes ou de reconhecimento molecular.

Neste contexto, foi proposto sintetizar e avaliar as propriedades físico-químicas de tensioativos catiónicos derivados de serina funcionalizados com um antioxidante, o ácido lipóico.

Relativamente ao primeiro objetivo, o trabalho de síntese, foi possível sintetizar dois tensioativos catiónicos monoméricos derivados de serina e funcionalizados com ácido lipóico. Seguiram-se três rotas sintéticas, uma para a síntese do primeiro composto, e duas para a síntese do segundo composto, uma vez que se pretendia otimizar a metodologia anteriormente utilizada pelo grupo de investigação. Na síntese do composto **10**, os rendimentos obtidos foram, no geral, bons a muito bons, com exceção da reação de desproteção, que apesar de se ter melhorado o rendimento em relação ao obtido anteriormente pelo grupo de investigação (8-10%), como era pretendido, este ainda foi bastante baixo (27%). A síntese do composto **6** resultou melhor e apresentou rendimentos mais elevados quando se alterou o procedimento do tratamento, uma vez que anteriormente se formava uma pasta bastante viscosa e se perdia bastante composto. O rendimento para a síntese do composto **13** foi melhorado quando se teve em conta os tempos de espera entre a adição do aldeído e do agente redutor.

Verificou-se que relativamente à síntese do composto **19**, o método B não era eficaz, pois apresentava rendimentos mais baixos e mais dificuldades na purificação dos intermediários. Como aconteceu na alquilação do composto **22** para obtenção do **23**, obteve-se um rendimento de 5% devido ao elevado impedimento estereoquímico para a introdução da cadeia alquílica. No entanto, pelo método A, os rendimentos obtidos foram, no geral, bons a muito bons, com exceção da reação de desproteção para

obtenção do composto **18**, que apresentou um rendimento de 39% superior ao obtido previamente pelo grupo de investigação (8-10%) mas não satisfatório.

Relativamente à segunda parte do trabalho, que tinha como objetivo a avaliação físico-química dos tensioativos sintetizados, não foi possível obter os valores de *cmc* para os dois compostos, mas sim os valores de *cac* uma vez que as soluções preparadas a partir destes não eram soluções transparentes mas sim turvas, especialmente quando se tratava do segundo composto, não se podendo falar em micelização. Esta situação deve-se à observação de algumas partículas esféricas ao microscópio, não sabendo ainda se se trata de algum comportamento intrínseco destes compostos. No entanto, verifica-se que a funcionalização destes tensioativos com ácido lipóico faz diminuir a *cmc*, devido ao aumento da hidrofobicidade do tensioativo, em comparação com os valores de *cmc* do tensioativo (C₁₂SerTFA).

Ambos os compostos apresentaram dificuldades de solubilidade em água, especialmente o segundo composto (SerLATFA) tendo-se deixado a agitar durante pelo menos um dia e só depois se procedeu à tensiometria. Entre si, os dois tensioativos apresentam valores de *cac* diferentes, o que significa que a alteração do local onde se introduziu o antioxidante com a consequente alteração da estrutura do tensioativo resultante interfere na sua agregação.

No sentido de dar continuidade ao trabalho desenvolvido nesta dissertação, seria interessante otimizar a reação de desproteção do composto **8**, uma vez que um rendimento de 27% ainda não é bom. Relativamente à segunda parte do trabalho, seria necessário realizar mais ensaios de tensiometria do segundo composto (SerLATFA) de modo a se obterem resultados mais completos, pois só foram realizados dois ensaios e o desvio padrão que se calculou não tem um significado concreto. Seria ainda importante e interessante estudar estes compostos a nível dos agregados que podem formar, já que se sabe que não formam micelas.

Referências Bibliográficas

1. Holmberg, K.; Jonsson, B.; Kronberg, B.; Lindman, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. 2^a ed.; John Wiley & Sons: Reino Unido, **2002**.
2. Guertechin, L. O. *Handbook of Detergents, Part A: Properties*. Inglaterra, **1999**.
3. Marques, E. F.; Silva, B. F. B. *Surfactant Self-Assembly, Encyclopedia Of Colloid and Interface Science*, **2013**.
4. Silva, S. G. *Serine-based Surfactants: design, synthesis and self-assembly*, Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2014**.
5. Mbadugha, B. N. A.; Keiper, J. S. *Handbook of Detergents, Part F: Production*, Inglaterra, **2009**.
6. Sohrabi, B.; Eivazzadeh, S.; Sharifi, A.; Azadbakht, R. *Journal of Molecular Liquids*, **2015**, 211, 754-760.
7. Li, Z. Q.; Zhang, L.; Xu, Z. C.; Liu, D. D.; Song, X. W.; Cao, X. L.; Zhang, L.; Zhao, S. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2013**, 430, 110-116.
8. Brown, P.; Butts, C. P.; Eastoe, J.; Grillo, I.; James, C.; Khan, A. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2013**, 395, 185-189.
9. Khurana, R., Vaidya, S., Devi, M. M. & Ganguli, A. K. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, 352, 470-475.
10. Silva, S. G.; Alves, C.; Cardoso, A. M. S.; Jurado, A. S.; Lima, M. C. P.; Vale, M. L. C.; Marques, E. F. *European Journal of Organic Chemistry*, **2013**, 2013 (9), 1758-1769.
11. Shaban, S. M.; Moustafa, H. Y.; Hamed, A. *Journal of Molecular Liquids*, **2015**, 212, 907-914.
12. Kumar, B.; Tikariha, D., Ghosh, K. K.; Quagliotto, P. *Journal of Molecular Liquids*, **2012**, 172, 81-87.
13. Kumar, B.; Tikariha, D.; Ghosh, K. K.; Barbero, N.; Quagliotto, P. *Journal of Chemical Thermodynamics*, **2013**, 62, 178-185.
14. Silva, S. G.; Fernandes, R. F.; Marques, E. F.; Vale, M. L. C. *European Journal of Organic Chemistry*, **2012**, 2012 (2), 345-352.
15. Brito, R. O.; Silva, S. G.; Fernandes, R. M. F.; Marques, E. F.; Borges, J. E.; Vale,

- M. L. C. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2011**, 86 (1), 65-70.
16. Silva, S. G.; Borges, J. E. R.; Marques, E. F.; Vale, M. L. C. *Tetrahedron*, **2009**, 65 (21), 4156-4164.
 17. Alves, C. M. *Novos Tensioativos Funcionalizados Derivados de Aminoácidos: Síntese e Avaliação Biológica*, Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2014**.
 18. Morán, M. C.; Pinazo, A.; Calpés, P.; Angelet, M.; García, M. T.; Vinardell, M. P.; Infante, M. R. *Green Chem.*, **2004**, 6 (5), 233-240.
 19. Nogueira, D. R.; Mitjans, M.; Morán, M. C.; Pérez, L.; Vinardell, M. P. *Amino Acids*, **2012**, 43 (3), 1203-1215.
 20. Nogueira, D. R.; Morán, M. C.; Mitjans, M.; Martínez, V.; Pérez, L.; Vinardell, M. P. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2013**, 83 (1), 33-43.
 21. Infante, M. R.; Pérez, L.; Pinazo, A.; Clapés, P.; Morán, M. C.; Angelet, M.; García, M. T.; Vinardell, M. P. *Amino acid-based surfactants*, *Comptes Rendus Chimie*, **2004**, 7, 583-592.
 22. Balalaie, S.; Mahdidoust, M.; Najafabadi, R. E. J. *Iran. Chem. Soc.*, **2007**, 4 (3), 364-369.
 23. Le-Nguyen, D; Heitz, A; Castro, B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1987**, 1915.
 24. Coste, J; Le-Nguyen, D; Castro, B. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 205.
 25. Carpino, L. A.; Imazumi, H.; El-Faham, A.; Ferrer, F. J.; Zhang, C. W.; Lee, Y. S.; Foxman, B. M.; Henklein, P.; Hanay, C.; Mugge, C. M.; Wenschuh, H.; Klose, J.; Beyermann, M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 441-445.
 26. Borges, J. E. *Síntese de Fármacos Q4024*; Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2015**.
 27. Kaki, S. S.; Grey, C.; Adlercreutz, P. *Journal of Biotechnology*, **2012**, 157 (2), 344-349.
 28. Shahidi, F.; Zhong, Y. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2010**, 112 (9), 930-940.
 29. Blume, G.; Cevc, G. *Biochimica et Biophysica Acta: Biomembranes*, **1993**, 1146 (2), 157-168.
 30. Çağdaş, M.; Sezer, A. D.; Bucak, S. *Nanotechnology and Nanomaterials* :

- 'Application of Nanotechnology in Drug Delivery', **2014**, 1-50.
31. Low, P. S.; Henne, W. A.; Doorneweerd, D. D. *Accounts of Chemical Research*, **2008**, 41 (1), 120-129.
 32. Marchetti, C.; Giorgini, M.; Medici, C. D.; Palaia, I.; Iadarola, R.; Vertechy, L.; Muzii, L.; Panici, P. B.; Domenici, L.; Donato, V. D.; Tomao, F. *OncoTargets and Therapy*, **2014**, 7, 1223-1236.
 33. Flora, S. J. S. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2009**, 2 (4), 191-206.
 34. Bast, A.; Haenen, G. R. M. M. H. *BioFactors*, **2003**, 17, 207-213.
 35. Madawala, S. R. P.; Andersson, R. E.; Jastrebova, J. A.; Almeida, M.; Dutta, P. C. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **2012**, 62 (3), 159-169.
 36. Kates, S. A.; Casale, R. A.; Baguisi, A.; Beeuwkes, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2014**, 22 (1), 505-12.
 37. Melagraki, G.; Afantitis, A.; Markopoulou, O. I.; Detsi, A.; Koufaki, M.; Kontogiorgis, C.; Litina, D. J. H. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44 (7), 3020-3026.
 38. Shay, K. P.; Moreau, R. F.; Smith, E. J.; Smith, A. R.; Hagen, T. M. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2009**, 1790 (10), 1149-1160.
 39. Marques, E. F. Manual de Trabalhos Práticos (Interfaces e Colóides Q4020); Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2014**.
 40. Drelich, J.; Fang, C.; White, C. L. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, **2002**, 3152-3166.
 41. Zengin, G.; Huffman, J. W. *Synthesis*, **2004**, 2004 (12), 1932-1934.
 42. Kvasnica, M. *Synlett*, **2007**, 2007 (14), 2306-2307.
 43. Jin, H.; Nam, J.; Park, J.; Jung, S.; Im, K.; Hur, J.; Park, J. J.; Kim, J. M.; Kim, S. *Chemical Communications*, **2011**, 47 (6), 1758-1760.
 44. Liu, W.; Howarth, M.; Greytak, A. B.; Zheng, Y.; Nocera, D. G.; Ting, A. Y.; Bawendi, M. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130 (11), 1274-1284.
 45. Chaudhary, S. K.; Hernandez, O. *Tetrahedron Letters*, **1979**, 20 (2), 99-102.
 46. Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4^a ed., **2007**, 16-366.
 47. Clayden, Greeves, Warren, W. *Organic Chemistry*, **2012**.

48. Chaudhary, S. K.; Hernandez, O. *Tetrahedron Letters*, **1979**, 99, 20.
49. Magid, A. F. A.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A.; Shah, R. D. *Journal of Organic Chemistry*, **1996**, 61 (11), 3849-3862.
50. Vollhardt, K. P. C.; Schore, N. E. *Organic Chemistry: Structure and Function*. 4^a ed.; W. H. Freeman and Company: Nova Iorque, **2007**.