MARIA JOÃO SINDE MONTEIRO PINTO DE ARAÚJO

Licenciada em Química (U. P.)

Assistente de Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

SÍNTESE
de
POLIAMINAS NATURAIS SELECTIVAMENTE PROTEGIDAS

DERIVATIZAÇÃO e SÍNTESE TOTAL

Dissertação para Doutoramento em Química Orgânica
na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Porto 1995

MARIA JOÃO SINDE MONTEIRO PINTO DE ARAÚJO

Licenciada em Química (U. P.)

Assistente de Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

SÍNTESE
de
POLIAMINAS NATURAIS SELECTIVAMENTE PROTEGIDAS
DERIVATIZAÇÃO e SÍNTESE TOTAL

Dissertação para Doutoramento em Química Orgânica
na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Porto 1995

À minha Mãe

Ao Agostinho

AGRADECIMENTOS

À Fundação Gomes Teixeira e à Reitoria da Universidade do Porto, a concessão de uma bolsa para doutoramento no país, durante três anos, com início em Outubro de 1990.

À Reitoria da Universidade do Porto, a autorização para a dispensa de serviço docente, durante três anos, bem como ao Grupo de Química da Faculdade de Ciências do Porto, o parecer favorável concedido para esse efeito.

Ao INIC e à JNICT, o apoio financeiro concedido para as deslocações ao Departamento de Bioquímica da Universidade de Uppsala.

À Professora Doutora Maria Joaquina Soares Arêde Amaral Trigo, orientadora desta dissertação, o permanente apoio e incentivo e as discussões sobre o trabalho de investigação.

Ao Doutor Ulf Ragnarsson, co-orientador do trabalho de investigação, a oportunidade que me deu de trabalhar no campo das poliaminas, a disponibilidade para a discussão de resultados, especialmente nas suas visitas a Portugal, bem como a hospitalidade e a possibilidade de aprendizagem de várias técnicas, essenciais para o decurso do trabalho laboratorial, nas suas instalações do Departamento de Bioquímica da Universidade de Uppsala.

À Professora Doutora Maria de Lurdes Soares de Almeida, os seus ensinamentos, o entusiasmo com que sempre apoiou a realização deste trabalho e o acompanhamento prestado nos estágios de curta duração efectuados em Uppsala.

À Professora Doutora Maria Augusta Oliveira e à Maria Luísa Cardoso do Vale, a constante disponibilidade para a troca de impressões sobre nomenclatura.

Às minhas colegas, Assistentes de Química Orgânica, e à Maria da Graça Moutinho Assis, a amizade, a jovialidade e o entusiasmo com que me ajudaram a ultrapassar algumas fases menos favoráveis do período de investigação e de redacção da dissertação.

À Doutora Maria Adelina Macedo, o tempo dedicado e a atenção disponibilizada na aprendizagem de algumas técnicas experimentais, nomeadamente, a de Ressonância Magnética Nuclear e a de Espectrometria de Massa.

À Cuca, o importante contributo para a compreensão e clarificação de assuntos relacionados com a investigação no âmbito da Bioquímica e Medicina.

Ao Senhor Isaque, a prontidão e o empenho com que sempre resolveu os problemas relacionados com a manutenção do material necessário à execução do trabalho experimental.

A todos aqueles que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho.

Poliaminas como a putrescina, a espermidina e a espermina constituem biomoléculas, largamente distribuídas nos organismos vivos, que desempenham funções primordiais em processos de diferenciação e proliferação celular.

Independentemente de serem capazes de interacções não covalentes com macromoléculas, como ácidos nucleicos, proteínas e fosfolípidos, influenciando a velocidade das reacções bioquímicas, fazem ainda parte integrante da estrutura de numerosos alcalóides, sideróforos e toxinas. Muitos destes produtos naturais têm actividade biológica, sendo usados como agentes antibióticos, anti-neoplásicos e imunossupressores.

Para além de terem aplicação terapêutica, particularmente em várias doenças proliferativas, as poliaminas são igualmente úteis no diagnóstico de outras doenças, através da observação do nível destas moléculas nos fluidos fisiológicos.

Em face do crescente e contínuo interesse das poliaminas e seus derivados em Medicina, Bioquímica e Farmacologia, tem sido devotado um grande esforço no desenvolvimento de métodos de síntese convenientes para a obtenção, em larga escala, tanto daqueles compostos como de modelos imprescindíveis para estudar a relação entre a estrutura e a actividade.

O êxito das metodologias de síntese estabelecidas depende, em grande parte, da possibilidade de utilização de grupos de protecção adequados para as diferentes funções amina. Actualmente, existe um grande número de grupos de N-protecção que permite fazer uma escolha criteriosa, de acordo com as condições reaccionais usadas nas várias fases da síntese em questão, de modo a que as reacções ocorram exclusivamente nos átomos requeridos.

Embora nos últimos dez anos se tenha verificado uma grande contribuição para o estabelecimento de métodos de síntese de poliaminas e seus derivados, as metodologias descritas envolvem, na sua maioria, esquemas reaccionais muito extensos que levam à obtenção de produtos finais com rendimentos baixos e nos quais, a maior parte das vezes, são usadas condições drásticas para introduzir e remover grupos de N-protecção.

Dado os problemas acabados de referir, pareceu ser útil e apropriada a investigação de uma nova metodologia que permitisse a síntese de poliaminas selectivamente protegidas nas suas funções amina primárias e secundárias através de procedimentos de fácil execução e boa reprodutibilidade.

O presente trabalho, realizado durante quatro anos no Laboratório de Síntese Orgânica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, sob a supervisão da Prof. Doutora Maria Joaquina Soares Arêde Amaral Trigo e do Doutor Ulf Ragnarsson, da Universidade de Uppsala, teve como objectivo o estudo da síntese de poliaminas selectivamente protegidas.

Os resultados obtidos constituem a parte essencial e original deste trabalho, que contém também uma breve revisão de diferentes métodos usados na síntese e protecção selectiva de poliaminas.

Do estudo efectuado, verificou-se que a nova combinação dos grupos de N-protecção terc-butiloxicarbonilo e p-nitrobenziloxicarbonilo é adequada para a obtenção de poliaminas selectivamente protegidas a partir de poliaminas livres, pois aqueles grupos possuem um comportamento químico tal que permite a sua introdução e remoção selectivas, em condições suaves, com bom rendimento.

Desenvolveu-se, ainda, um método de síntese total de poliaminas selectivamente protegidas por adição, uma a uma, de unidades percursoras contendo um átomo de azoto, que mostrou ter aplicação geral na preparação de poliaminas de cuja estrutura façam parte resíduos aminopropílicos. Foi, assim, possível sintetizar triaminas protegidas tanto nas funções amina terminais, com os grupos benziloxicarbonilo e terc-butiloxicarbonilo, como na função amina secundária, com o grupo terc-butiloxicarbonilo e, numa das funções amina primárias, com o grupo etoxicarbonilo.

Em face dos resultados obtidos, parece legítimo concluir que a estratégia e a metodologia estudadas constituem uma contribuição útil e positiva para a síntese de poliaminas e seus derivados, necessários para investigação que permita clarificar as suas funções nos organismos vivos e, consequentemente, para posterior aplicação a nível terapêutico.

Resumo

A síntese de derivados selectivamente protegidos de poliaminas naturais, tais como a espermina, a espermidina e os seus homólogos, norespermidina e homoespermidina, constituiu o principal objectivo do trabalho experimental descrito na presente dissertação.

O estudo realizado envolveu, essencialmente, duas metodologias de síntese. A primeira consistiu na síntese dos derivados já referidos, a partir das respectivas poliaminas livres, por introdução e remoção selectivas, em condições suaves, de grupos de N-protecção apropriados. A combinação dos grupos *terc*-butiloxicarbonilo e *p*-nitro-benziloxicarbonilo, nas sequências reaccionais efectuadas, mostrou ser conveniente, uma vez que estes grupos apresentam uma estabilidade ortogonal, permitindo a obtenção, com bom rendimento, das diferentes poliaminas selectivamente protegidas. Através da metodologia usada, foram obtidos catorze novos compostos, sendo de destacar a N^8-Boc-N^1-Z(NO_2)-espermidina e a N^4-Z(NO_2)-espermidina preparadas a partir dos intermediários N^1,N^4-metilenoespermidina e N^1,N^4,N^8-[Z(NO_2)]$_3$-espermidina, por meio de sequências reaccionais que englobaram, respectivamente, quatro e três passos. A N^4-Z(NO_2)-espermidina foi, ainda, aplicada na síntese do sideróforo natural, N^1,N^8-bis-(2,3-diidroxibenzoil)espermidina.

A segunda metodologia envolveu esquemas reaccionais que permitiram a síntese total de poliaminas selectivamente modificadas a partir da adição, uma a uma, de unidades percursoras adequadas, contendo um átomo de azoto. Assim, procedeu-se à formação da cadeia poliamínica através da reacção entre aminoalquilálcoois N-monoprotegidos e o reagente de Gabriel, Troc(Z)NH, nas condições de Mitsunobu, seguindo-se a adição de acrilonitrilo às diaminas obtidas e, finalmente, a redução do grupo nitrilo, por hidrogenação catalítica. Ao longo das sequências reaccionais efectuadas, protegeram-se, convenientemente, as diferentes funções amina dos intermediários e produtos formados, usando os grupos de N-protecção, benziloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo. A metodologia seguida permitiu a obtenção, sempre com bom

rendimento, de três triaminas selectivamente substituídas nos grupos amino terminais [$BocNH(CH_2)_mNHCH_2CH_2CH_2NHZ$, m=3 a 5] e de duas triaminas selectivamente protegidas na função amina secundária e numa das funções amina primárias [$EtOCONH(CH_2)_nN(Boc)CH_2CH_2CH_2NH_2$, n=3 e 5].

Os objectivos inicialmente propostos foram alcançados, conseguindo-se confirmar a utilidade da metodologia estabelecida por Ragnarsson e colaboradores[102], aplicando-a, com êxito, na preparação de novos derivados da espermidina e espermina com uma combinação diferente de grupos de N-protecção. Por outro lado, estabeleceu-se um método simples e eficiente para a síntese total de poliaminas selectivamente protegidas contendo, na sua estrutura, resíduos aminopropílicos.

Parte dos resultados obtidos durante a investigação, no âmbito da síntese de poliaminas, que levou à elaboração desta tese, deu já origem a cinco comunicações e a um artigo publicado em colaboração[109].

Abstract

The synthesis of selectively protected derivatives of natural polyamines, such as spermine, spermidine and its homologues, nor-spermidine and homo-spermidine, was the main objective of the experimental work described in this dissertation.

Two synthetic approaches were investigated. The first involved the derivatization of free polyamines by selective introduction and removal of suitable amino protecting groups, under mild conditions. The two orthogonal *tert*-butyloxycarbonyl and *p*--nitrobenzyloxycarbonyl protecting groups proved to be a good combination in the reaction sequences for the synthesis of selectively protected polyamine derivatives, which were isolated in very high yields. The preparation and properties of fourteen new compounds have been studied, with special relevance to the N^8-Boc-N^1-$Z(NO_2)$--spermidine and the N^4-$Z(NO_2)$-spermidine, which were obtained in four and three steps, respectively, from the intermediates N^1,N^4-methylenespermidine and N^1,N^4,N^8--$[Z(NO_2)]_3$-spermidine. N^4-$Z(NO_2)$-spermidine was applied to the synthesis of a natural siderophore, the N^1,N^8-bis(2,3-dihydroxybenzoyl)spermidine.

The second approach involved the total synthesis of selectively modified polyamines from proper units containing nitrogen atoms. The polyamine chain was built up by the reaction between N-monoprotected aminoalkylalcohols and the Gabriel reagent, Troc(Z)NH, under Mitsunobu conditions, followed, successively, by the addition of acrylonitrile to the diamines previously obtained and, finally, by reduction of the nitrile group, using catalytic hydrogenation. During the stepwise syntheses, the N-protecting groups benzyloxycarbonyl, *tert*-butyloxycarbonyl and 2,2,2-trichloroethyloxycarbonyl were combined to protect the different amine functions of the intermediates and products. By using this methodology, three triamines selectively protected in the primary amino groups [$BocNH(CH_2)_mNHCH_2CH_2CH_2NHZ$, m=3 to 5] and two triamines protected in the secondary amine function and in one of the primary amine functions [$EtOCONH(CH_2)_nN(Boc)CH_2CH_2CH_2NH_2$, n=3 and 5] were obtained in good yields. The direct preparation of modified polyamines, containing aminopropyl residues in their structure, based on this simple and efficient procedure, seems to be the most attractive approach to many of their analogues.

Resumé

La synthèse de dérivés sélectivement protégés de polyamines naturelles, telles que la spermine, la spermidine et ses homologues, norspermidine et homospermidine, a constitué le principal objectif du travail expérimental décrit dans la présente dissertation.

L'étude réalisée a compris, essentiellement, deux méthodologies de synthèse. La première a consisté dans la synthèse des dérivés déjà rapportés, à partir des respectives polyamines libres, par introduction et déplacement séléctifs, en conditions souples, des groupements de N-protection convenables. La combinaison des groupements *terc*--butyloxycarbonyle et *p*-nitrobenzyloxycarbonyle, dans les séquences réactionnelles effectuées, s'est montrée convenable, une fois que ces groupements présentent une stabilité orthogonal qui permet l'obtention, avec un bon rendement, des différentes polyamines sélectivement protegées. À travers la méthodologie utilisée, quatorze nouveaux composés ont été obtenus, ayant spécial importance la N^8-Boc-N^1-$Z(NO_2)$--spermidine et la N^4-$Z(NO_2)$-spermidine preparées à partir des intermédiaires N^1,N^4--méthylenespermidine et N^1,N^4,N^8-[$Z(NO_2)$]-spermidine, suivant des séquences réactionnelles qui ont compris, respectivement, quatre et trois étapes. La N^4-$Z(NO_2)$--spermidine a été encore appliquée dans la synthèse du sidéróphóre naturel, N^1,N^8--bis(2,3-dihydroxybenzoyl)spermidine.

La deuxième méthode a compris des schèmes réactionnels qui ont permis la synthèse totale de polyamines sélectivement modifiées par addition, une à une, des unités précurseurs appropriées, contenant un atome de azote. Ainsi, la chaîne polyaminique a été construite à travers la reaction entre aminoalkylalcools N-monoprotegés et le réactif de Gabriel, Troc(Z)NH, sous les conditions de Mitsunobu, suivie de l'addition de acrylonitrile sur les diamines obtenues et, finalement, de la réduction du groupement nitrile, par hydrogénation catalytique. Au long des séquences réactionnelles effectuées, les fonctions amines des intermédiaires et produits formés ont été convenablement protégées, par utilisation des groupements de N-protection, benzyloxycarbonyle, *terc*--butyloxycarbonyle et 2,2,2-trichloroethyloxycarbonyle. La méthodologie suivie a permis l'obtention, toujours avec rendements élevés, de trois triamines sélectivement substituées sur les fonctions amine primaires [$BocNH(CH_2)_mNHCH_2CH_2CH_2NHZ$, m=3 à 5] et de deux triamines sélectivement protégées sur une fonction amine primaire et la fonction amine secondaire [$EtOCONH(CH_2)_nN(Boc)CH_2CH_2CH_2NH_2$, n=3 et 5]. La préparation directe de polyamines modifiées, contenant des résidus aminopropyliques dans leur structure, basée dans ce procédé simple et efficace, paraît être le plus attractif approchement pour obtenir leurs analogues.

ÍNDICE

PARTE GERAL

1 - Introdução 2

1.1 - Biossíntese e interconversão de poliaminas naturais 3

1.2 - Interacções das poliaminas com os ácidos nucleicos 6

1.3 - Derivados biologicamente activos de poliaminas 8

1.3.1 - Sideróforos 8

1.3.2 - Toxinas 11

1.3.3 - Outros derivados de poliaminas com interesse em Medicina 13

2 - Métodos de síntese de poliaminas 18

2.1.- Síntese total de poliaminas usando reacções de alquilação 19

2.1.1 - Alquilação de N-tosilaminas 19

2.1.2 - Alquilação de aminas primárias 26

2.2 - Síntese total de poliaminas usando reacções de redução 30

2.2.1 - Redução de nitrilos 30

2.2.2 - Redução de amidas 38

2.2.3 - Redução de iminas 47

2.2.4 - Redução de azidas 49

3 - Protecção selectiva de grupos amino primários e secundários em poliaminas 53

3.1 - Protecção de aminas primárias 54

3.1.1 - Por acção de ésteres 1-piperidílicos 54

3.1.2 - Por acção de 3-alcoxicarbonil- e 3-acil-1,3-tiazolidina-2-tionas 56

3.1.3 - Por acção de acil- e alcoxicarbonilimidazóis 59

3.1.4 - Por acção de derivados do ácido ftálico 61

3.1.5 - Por acção de alcano-, acil- e alcoxicarbonilnitrilos 62

3.1.6 - Por acção de 3-acil- e 3-alcoxicarbonil-2-oxazolonas 64

3.1.7 - Por formação de piperazinas condensadas 65

3.2 - Protecção de aminas secundárias 67

3.2.1 - Derivados cíclicos da ureia 67

3.2.2 - Derivados do 1,3-diazacicloexano (hexaidropirimidinas) 70

3.2.3 - Complexos formados por poliaminas e catiões metálicos ou átomos de boro 76

ESTUDOS DE SÍNTESE EM POLIAMINAS

4 - Resultados e discussão 80

4.1 - Objectivos e desenvolvimento do trabalho de investigação 80

4.2 - Síntese dos derivados selectivamente protegidos da N-etil-etanodiamina, N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitro-benziloxicarbonil)etanodiamina e N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiamina 95

4.3 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina 98

4.3.1 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)-espermidina 98

4.3.2 - N^4-(*p*-Nitrobenziloxicarbonil)espermidina 101

4.3.3 - N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina 104

4.4 - Síntese do sideróforo natural, brometo de N^1,N^8-bis(2,3-di-idroxibenzoil)espermidínio 105

4.5 - Síntese do derivado simetricamente protegido da espermina, N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)espermina 108

4.6 - Dificuldades verificadas na síntese de aminoálcoois N,N-diprotegidos 110

4.7 - Síntese da N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-1,3-propanodiamina 117

4.8 - Síntese total de triaminas selectivamente protegidas 119

4.8.1 - Síntese de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino primários 119

4.8.1.1 - N-Benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas 119

4.8.1.2 - N-Benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-alcanodiaminas 124

4.8.1.3 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas 125

4.8.1.4 - Triaminas N-monoprotegidas com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo 128

4.8.1.5 - N^1-Benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-espermidina e sais oxálicos das N-benziloxicarbonilaminopropil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas 130

4.8.2 - Síntese de triaminas selectivamente protegidas no grupo amino secundário e num dos grupos amino primários 132

4.8.2.1 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas 132

4.8.2.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas 133

4.8.2.3 - N-(2-Cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)-alcanodiaminas 134

4.8.2.4 - Sais oxálicos das N-aminopropil-N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-etiloxicarbonilalcanodiaminas 135

4.9 - Conclusões gerais 139

5 - Parte experimental 144

NOTAS GERAIS 144

5.1 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da N^1-etiletanodiamina 147

5.1.1 - Síntese da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina 147

5.1.1.1 - N^1-Etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)-etanodiamina 147

5.1.1.2 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^1,N^2-bis-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina 148

5.1.1.3 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina 149

5.1.2 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiamina 150

5.2 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina 151

5.2.1 - Síntese da N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 151

5.2.1.1 - N^1,N^4-Metilenoespermidina 151

5.2.1.2 - Carbonato de 1-benzotriazolilo e *p*-nitrobenzilo 151

5.2.1.3 - N^1,N^4-Metileno-N^1,N^8-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)-espermidina 152

5.2.1.4 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1,N^8--bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 153

5.2.1.5 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1--(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 154

5.2.1.6 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 155

5.2.2 - Síntese da N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 156

5.2.2.1 - N^1,N^4,N^8-Tris(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 156

5.2.2.2 - N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^8-tris-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina 157

5.2.2.3 - N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)espermidina 158

5.2.2.4 - N^4-(*p*-Nitrobenziloxicarbonil)espermidina 159

5.2.3 - Síntese da N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina 160

5.2.4 - Síntese do brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)-espermidínio 161

5.2.4.1 - Ácido 2,3-bis(benziloxi)benzóico 161

5.2.4.2 - N^1,N^8-Bis[2,3-bis(benziloxibenzoil)]-N^4-(*p*-nitro--benziloxicarbonil)espermidina 161

5.2.4.3 - Brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)esper-midínio 162

5.3 - Síntese do derivado simetricamente protegido da espermina, N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)espermina 164

5.3.1- N^1,N^4,N^9,N^{12}-Tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)es-permina 164

5.3.2 - N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^9,N^{12}-te-traquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina 165

5.3.3 - N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitro-benziloxicarbonil)espermina 166

5.4 - Síntese da N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxi-carbonil)-1,3-propanodiamina 167

5.4.1 - N-Benziloxicarbonil-3-bromopropanamina 167

5.4.2 - Reagentes de Gabriel 168

A – Isocianato de benziloxicarbonilo 168

B – Iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo 168

C – Sal sódico do iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo 169

5.4.3 - N^1,N^3-Bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-
-1,3-propanodiamina 169

5.5 - Síntese total de triaminas selectivamente protegidas 171

5.5.1 - Síntese do sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-
-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina 171

5.5.1.1 - 5-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]pentanol 171

5.5.1.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-
-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina 172

5.5.1.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)pen-
tanodiamina 173

5.5.1.4 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina 174

5.5.1.5 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentano-
diamina 174

5.5.1.6 - N^9-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina 175

5.5.1.7 - Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(*terc*-butil-
oxicarbonil)-4-azanonanodiamina 176

A – Cianeto de benziloxicarbonilo 176

B – Introdução do grupo benziloxicarbonilo na N^9-(*terc*-
butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina 176

5.5.2 - Síntese da N^1-benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicar-
bonil)-4-azaoctanodiamina 178

5.5.2.1 - 4-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]butanol 178

5.5.2.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-
-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina 178

5.5.2.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-
butanodiamina 179

5.5.2.4 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)butanodiamina 179

5.5.2.5 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(2-cianoetil)buta-
nodiamina 180

5.5.2.6 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina 181

5.5.2.7 - N^1-Benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina 181

5.5.3 - Síntese do sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^7-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina 182

5.5.3.1 - 3-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]propanol 182

5.5.3.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina 182

5.5.3.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)-propanodiamina 183

5.5.3.4 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)propanodiamina 183

5.5.3.5 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^3-(2-cianoetil)propanodiamina 184

5.5.3.6 - N^7-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina 184

5.5.3.7 - Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^7-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina 185

5.5.4 - Síntese do sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina 186

5.5.4.1 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina 186

5.5.4.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina 187

5.5.4.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)-pentanodiamina 188

5.5.4.4 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina 189

5.5.4.5 - Sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina 190

5.5.5 - Síntese da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina 191

5.5.5.1 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxi-carbonil)butanodiamina 191

5.5.5.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina 192

5.5.5.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)-butanodiamina 192

5.5.5.4 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^4-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina 193

5.5.6 - Síntese do sal oxálico da N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^7-etiloxicarbonil-4-azaeptanodiamina 193

5.5.6.1 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxi-carbonil)propanodiamina 193

5.5.6.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina 194

5.5.6.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)-propanodiamina 194

5.5.6.4 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^3-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina 195

5.5.6.5 - Sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^7-etiloxicarbonil-4-azaeptanodiamina 196

Derivados preparados de mono-, di- e triaminas 197

Alguns reagentes preparados 200

Bibliografia 201

ABREVIATURAS

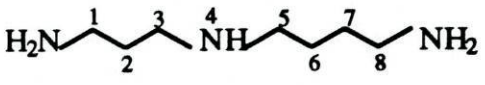
Ac	acetilo
AcSpd	N^1-acetilespermidina
AcSpm	N^1-acetilespermina
AdoMet	S-adenosil-L-metionina
aq.	aquosa
Ar	arilo
Arg	arginina
ATP	trifosfato de adenosina
ATT	3-acil-1,3-tiazolidina-2-tiona
B	base
Boc	*terc*-butiloxicarbonilo
Boc-ON	2-[(*terc*-butiloxicarboniloxi)imino]-2-
	-fenilacetonitrilo
Bu	butilo
Bu^t	*terc*-butilo
Bzl	benzilo
cat.	catalisador
dcAdoMet	S-adenosil-*L*-metionina descarboxilada
DCC	N,N'-dicicloexilcarbodiimida
DCU	N,N'-dicicloexilureia
DEAEA	2-(N,N-dietilamino)etanamina
dG-me^5dC	desoxiguanina-5-metildesoxicitosina
dG-me^5dG	desoxiguanina-5-metildesoxiguanina
DMAP	4-(N,N-dimetilamino)piridina
DME	dimetoxietano
DMF	N,N-dimetilformamida
DNA	ácido desoxirribonucleico

Et	etilo
Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonilo
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
Im	imidazol
JSTX-3	toxina da aranha Joro
K_a	constante de acidez
K_f	constante de formação
lit.	literatura
Me	metilo
MTA	5'-metiltioadenosina
NSTX-3	toxina da aranha Papua New Guinean
Nu	nucleófilo
ODC	ornitina descarboxilase
Orn	ornitina
p. f.	ponto de fusão
Ph	fenilo
Pht	ftaloílo
Put	putrescina
Py	piridina
RMN	ressonância magnética nuclear
RNA	ácido ribonucleico
Spd	espermidina
Spm	espermina
SuN	succinimido
HOSu	N-hidroxissuccinimida
TcBoc	2,2,2-tricloro-1,1-dimetiletiloxicarbonilo
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetraidrofurano
TLC	cromatografia em camada fina

TMG	N,N,N',N'-tetrametilguanidina
TMS	tetrametilsilano
Tos	*p*-toluenossulfonilo / tosilo
tRNA	RNA de transferência
Troc	2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo
Trt	tritilo
Z	benziloxicarbonilo
$Z(NO_2)$	*p*-nitrobenziloxicarbonilo

NOTAS:

- Sempre que possível, foi usada a nomenclatura recomendada pela IUPAC-IUB como se encontra sumariada na *Pure Appl. Chem.*, 1984, **56**, 595.
- A numeração da espermidina, espermina e seus derivados foi efectuada de acordo com o artigo de H. Tabor, C. W. Tabor e L. de Meis, *Methods Enzymol.*, 1971, **17B**, 824. Por exemplo, no caso da espermidina será:



- A numeração das referências bibliográficas seguiu a ordem do seu aparecimento ao longo do texto. As abreviaturas usadas para os títulos das revistas são as adoptadas pela *Chemical Society* de Londres.

PARTE GERAL

1 - Introdução

As poliaminas alifáticas naturais, de baixa massa molecular, presentes nas células procarióticas e eucarióticas como ligandos policatiónicos, normalmente em quantidades milimolares, desempenham um papel essencial na diferenciação e no crescimento celular. O controlo deste crescimento pode estar relacionado, em parte, com interacções entre as poliaminas e os ácidos nucleicos[1]. Verifica-se, também, que a biossíntese e a activação de poliaminas são processos essenciais à replicação de DNA, à produção de RNA e à síntese de proteínas[2].

Em muitos casos, as poliaminas encontram-se associadas a carboidratos, esteróides, fosfolípidos, aminoácidos e péptidos, podendo mesmo fazer parte da estrutura de numerosos antibióticos e alcalóides[3]. Muitos destes produtos naturais mostraram ter actividade biológica como agentes antibióticos, antiproliferativos e imunossupressores. As poliaminas fazem, ainda, parte integrante dos sideróforos derivados do catecol que, através da elevada afinidade que possuem para o catião Fe (III), efectuam o seu transporte através das membranas celulares.

Os níveis de poliaminas nos fluidos fisiológicos e em materiais de biópsias têm sido usados para controlar tanto a evolução da patogénese de doenças hematológicas como a monitorização de doenças prolongadas com ou sem tratamento quimioterapêutico[4].

Recentemente, o interesse pelo mecanismo da biossíntese de poliaminas tem vindo a aumentar, uma vez que este fornece informações cruciais para o desenvolvimento de inibidores que podem ser usados como agentes farmacológicos. Assim, tem vindo a ser estudada a possibilidade da aplicação terapêutica de certos derivados de poliaminas, particularmente no combate ao cancro e a outras doenças proliferativas e no tratamento de doenças de plantas[4].

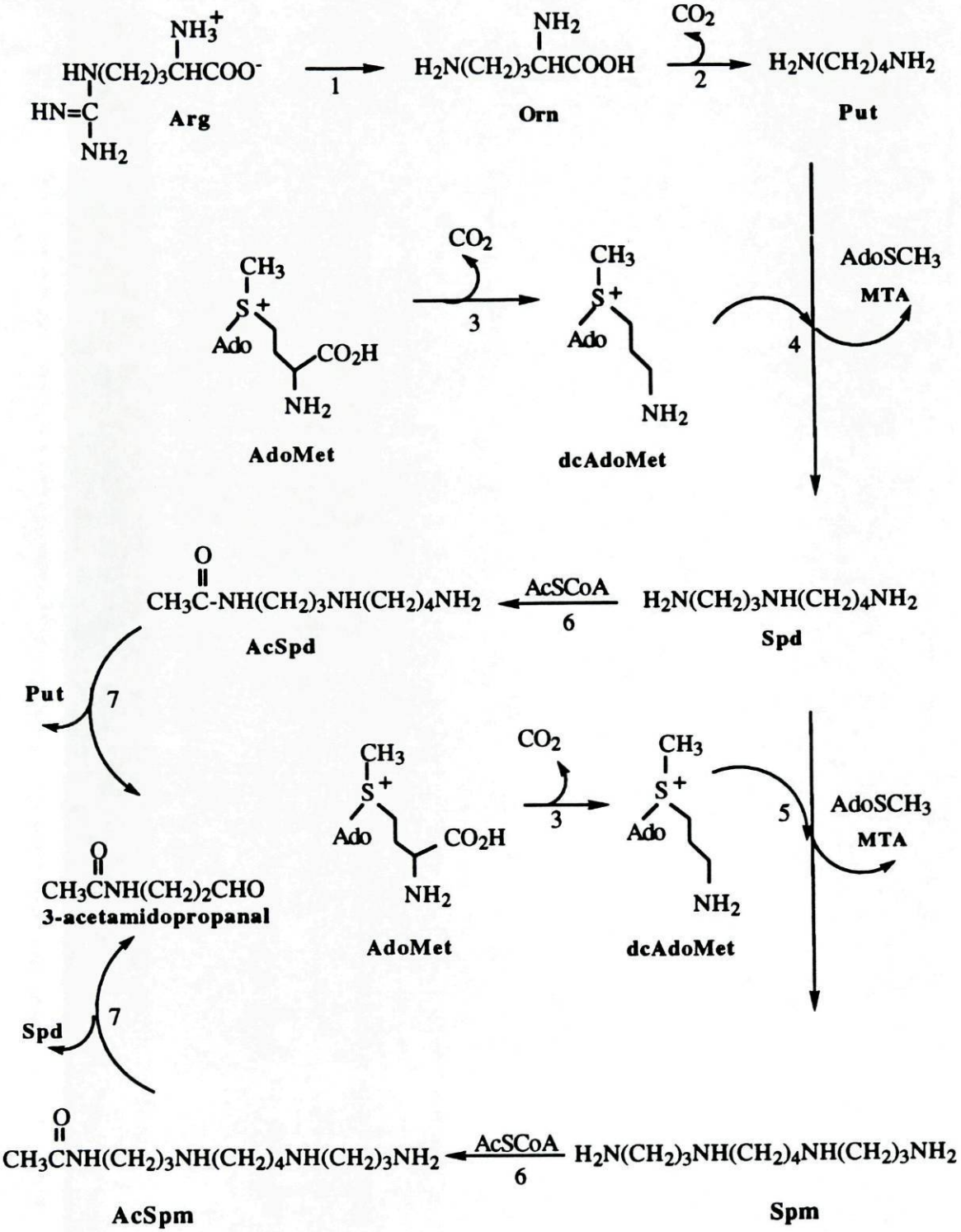
Dos factos referidos, depreende-se a grande importância do desenvolvimento de processos convenientes de síntese, em larga escala, de poliaminas e seus derivados para posterior aplicação em investigação do foro biológico.

1.1 - Biossíntese e interconversão de poliaminas naturais

As poliaminas putrescina, espermidina e espermina são sintetizadas, interconvertidas e degradadas através de uma série bem estabelecida de reacções catalisadas por enzimas (Esquema I)[5,6]. Estas poliaminas são produzidas, em muitos microorganismos e plantas superiores, a partir da agmatina originada pela descarboxilação da arginina. Nas espécies cujas células não contêm a enzima arginina descarboxilase, tais como os mamíferos, os eucariontes inferiores incluindo fungos e, muito provavelmente, os protozoários, as poliaminas derivam dos aminoácidos arginina e metionina[7].

O percursor imediato das poliaminas é a diamina putrescina resultante da descarboxilação da ornitina pela acção da ornitina descarboxilase (ODC) (EC 4.1.1.17)[6]. Esta enzima possui um tempo de semi-vida extremamente curto (cerca de 5-15 min) o que permite às células variarem rapidamente os seus níveis de poliaminas como resposta a diversos estímulos[8].

Por sua vez, a ornitina, usada como substrato da ODC na produção de putrescina, pode ser proveniente do plasma ou produzida intracelularmente por acção da arginase sobre a arginina[9]. A putrescina é então convertida em espermidina e espermina através da acção consecutiva de duas aminopropiltransferases distintas, a espermidina sintase (EC 2.5.1.16) e a espermina sintase (EC 2.5.1.22)[8]. Ambas as enzimas usam a S-adenosil-L-metionina descarboxilada como dador do grupo aminopropilo, sendo, no entanto, específicas no que respeita ao seu aceitador (putrescina e espermidina, respectivamente). Nas células dos mamíferos, o conteúdo de S-adenosil-L-metionina descarboxilada é, normalmente, muito baixo, o que implica que a actividade das aminopropiltransferases seja regulada pela quantidade disponível deste nucleósido. Deste modo, a enzima S-adenosilmetionina descarboxilase (EC 4.1.1.50) que o produz e que é activada pela putrescina, desempenha um papel fundamental na produção das poliaminas.



Esquema I - Biossíntese e interconversão de poliaminas naturais[5,6].

Enzimas: 1 - Arginase; 2 - Ornitina descarboxilase;
3 - S-adenosilmetionina descarboxilase;
4 - Espermidina sintase; 5 - Espermina sintase;
6 - Espermidina / espermina N^1-acetiltransferase;
7 - Poliamina oxidase.

As poliaminas são, em seguida, interconvertidas e degradadas até à formação de putrescina, por acção de duas enzimas, a poliamina oxidase e a espermidina / espermina N^1-acetiltransferase. O primeiro passo da degradação consiste na acetilação de um grupo aminopropilo da espermina dando origem à N^1-acetilespermina. Esta reacção é catalisada pela enzima espermidina / espermina N^1-acetiltransferase. A N^1-acetilespermina é degradada, num segundo passo, pela enzima poliamina oxidase, com formação da espermidina e de um aldeído, 3-acetamidopropanal. A espermidina também é acetilada pela mesma transferase e a N^1-acetilespermidina resultante pode ser cindida pela poliamina oxidase para formar putrescina e 3-acetamidopropanal[9]. Estas reacções, combinadas com as reacções de transferência do grupo aminopropilo, constituem um ciclo que converte a S-adenosil-L-metionina descarboxilada em 5'-metiltioadenosina. O factor limitante da velocidade desta interconversão é a actividade da acetiltransferase. Esta é, normalmente, muito baixa mas pode ser induzida pela administração exógena de poliaminas e seus modelos ou por acção de agentes tóxicos que, provavelmente, causam a libertação de poliaminas ligadas noutros locais. Deste modo, o sistema acetilase / oxidase pode ter uma resposta reguladora, cuja função seja reduzir o nível intracelular de poliaminas, quando este se torne muito elevado[6].

Finalmente, a putrescina formada (como produto da degradação das poliaminas) pode ser reciclada, degradada pela acção da diamina oxidase ou excretada da célula.

O conhecimento do mecanismo da biossíntese das poliaminas permitiu desenvolver inibidores que interferem com as enzimas presentes nesta biossíntese e, assim, causem a deplecção específica das poliaminas intracelulares. A deplecção específica mostrou ser essencial para a determinação do significado fisiológico das poliaminas e dos processos reguladores em que possam estar envolvidas.

1.2 - Interacções das poliaminas com os ácidos nucleicos

As poliaminas, salvo raras excepções, não fazem parte da estrutura de macromoléculas, estando presentes nas células como entidades metabólicas bem definidas[10]. No entanto, como se encontram carregadas positivamente, devido ao valor do pH fisiológico, verificam-se interacções electrostáticas e ligações de hidrogénio entre as poliaminas e os aniões orgânicos. Estas interacções influenciam as estruturas secundária e terciária e / ou contribuem para a integridade de macromoléculas como os ácidos nucleicos e as membranas celulares. Embora as poliaminas sejam ligandos estruturalmente simples, elas interactuam com os ácidos nucleicos a vários níveis. Investigações efectuadas sobre este tema indicam que as interacções entre as poliaminas e o DNA podem ser de natureza específica, não-específica ou ainda, uma combinação das duas[1,11]. De facto, está provado que as poliaminas protegem o DNA contra a sua desnaturação térmica e alcalina, contra a degradação enzimática e contra rupturas da cadeia por agentes mecânicos. Para além desta protecção, as poliaminas induzem a condensação do DNA em estruturas compactas e facilitam a transição da sua conformação B para a conformação Z[12].

O controlo do crescimento celular por parte das poliaminas pode estar relacionado com interacções destas com os ácidos nucleicos. Assim, estudos recentes ácerca destas interacções evidenciaram a capacidade das poliaminas para alterarem a conformação da cadeia do DNA através de condensação e agregação e para aumentar a sua temperatura de fusão, o que implica uma estabilização da forma em cadeia dupla em deterimento da forma em cadeia simples. A estabilização de conformações específicas do DNA pode ser importante para processos tais como a formação de nucleossomas, a condensação da cromatina e a expressão genética[1]. O facto da conformação do DNA poder ser alterada pela manipulação dos níveis intracelulares das poliaminas, serviu de base a estudos sobre a modificação da citotoxicidade dos agentes quimioterapêuticos dirigidos ao DNA através do tratamento com inibidores da biossíntese das poliaminas[11].

As variações na conformação do DNA causadas pelas poliaminas dependem tanto da carga como da estrutura dos catiões respectivos, estando pois relacionadas com a distribuição de carga ao longo do comprimento da cadeia poliamínica. De facto, provou-se que a variação no comprimento da cadeia alifática da espermidina tem efeitos definitivos na condensação do DNA e na sua estabilidade térmica[13,14]. Do mesmo modo, a separação espacial de carga mostrou alterar os efeitos da espermidina na desnaturação térmica do DNA e na transição da conformação B para a Z de cadeias poli(dG-me^{5}dC).poli (dG-me^{5}dC)[13].

Em estudos efectuados com complexos formados por moléculas de várias poliaminas e de Z-DNA verificaram-se as seguintes interacções características das poliaminas com o DNA[15]:

a) na superfície convexa, os grupos amino tendem a formar ligações de hidrogénio com as posições N^7 das guaninas;
b) um subgrupo destes grupos amino forma, simultaneamente, ligações de hidrogénio com as posições O^6 das mesmas guaninas;
c) os grupos amino formam também ligações de hidrogénio com os átomos de oxigénio dos grupos fosfato;
d) os grupos amino terminais tanto podem estar localizados perto da fenda menor do Z-DNA como podem mesmo penetrar nela;
e) as poliaminas não interactuam somente com uma molécula de DNA, mas fazem-no simultaneamente com duas ou três.

Estas interacções foram confirmadas no caso particular da espermina[15] cujo comportamento difere do das poliaminas anteriormente estudadas somente no número de ligações de hidrogénio (num total de dez) formadas entre os seus grupos amino e o DNA.

Relativamente à associação das poliaminas com o RNA, podem citar-se os estudos realizados por S. S. Cohen que provaram poder estabelecer-se uma relação molar entre as poliaminas e o RNA de transferência (tRNA) essencial para o crescimento, em condições específicas, tanto das células de mamíferos como das células de bactérias[11]. Neste caso, a função das poliaminas consiste na estabilização da estrutura em forma de

trevo do tRNA. Assim, estudos cristalográficos indicaram que se encontram duas moléculas de espermina em locais específicos da molécula de tRNA que estabilizam as suas estruturas secundária e terciária. Uma das moléculas encontra-se na fenda maior da hélice dupla e estende-se até ao extremo do anti-codão. Esta molécula de espermina liga-se a quatro átomos de oxigénio dos grupos fosfato, de modo a aproximar os lados opostos da fenda maior. A outra molécula de espermina encontra-se enrolada em volta do grupo fosfato 10, numa região em que a cadeia polinucleótida dá uma volta acentuada.

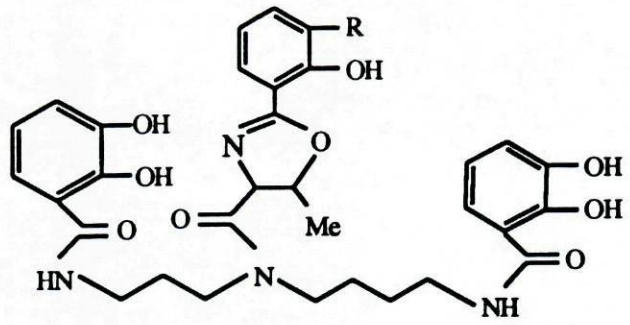
1.3 - Derivados biologicamente activos de poliaminas

1.3.1 - Sideróforos

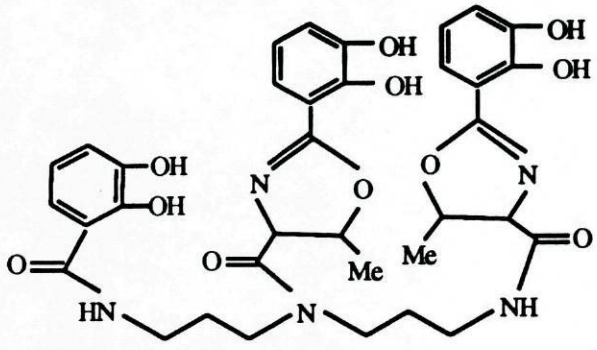
Os sideróforos constituem um grupo de moléculas quelantes produzidas por microorganismos, de baixo peso molecular, com elevada afinidade e especificidade para o ião Fe (III), que contêm, em muitos casos, na sua estrutura, resíduos de poliaminas[16].

Os microorganismos são particularmente sensíveis à falta de ferro e, por isso, muitos desenvolveram mecanismos notáveis para a aquisição deste metal[17]. Assim, através da síntese de sideróforos, os microorganismos garantiram a solubilização e o transporte do ferro para o interior das suas células onde é utilizado para promover o crescimento celular. Por vezes, verifica-se a permuta de sideróforos entre certos micróbios e outros procariotas.

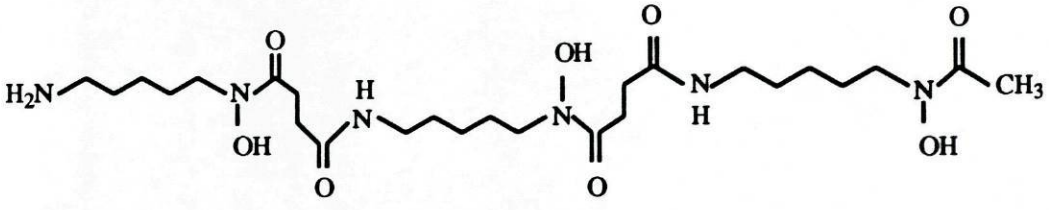
A preparação laboratorial de sideróforos naturais e dos seus modelos de síntese tem vindo a ser realizada com vista a um estudo subsequente da respectiva actividade biológica[18,19,20]. Estes ligandos metálicos podem classificar-se, essencialmente, em dois grupos principais : as catecolamidas (que contêm resíduos do ácido 2,3-diidroxibenzóico) e os hidroxamatos (que contêm resíduos do ácido hidroxâmico). No esquema II encontram-se representadas as estruturas de alguns sideróforos naturais[16,20].



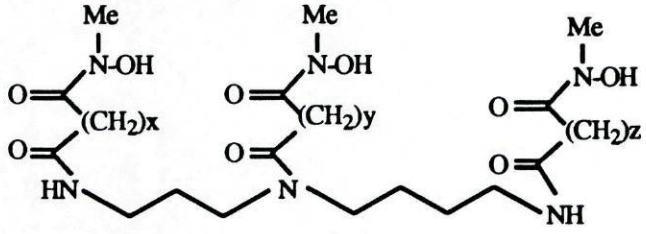
Agrobactina, R=OH
Parabactina, R=H



Vibriobactina



Desferrioxamina B



Espermexatina (x,y,z=1, 2 ou 3)

Esquema II - Exemplos de alguns sideróforos naturais[16,20].

Todos os sideróforos naturais da espermidina (catecolamidas) contêm duas unidades de catecol e um componente heterocíclico necessários à complexação do ião Fe (III)[20]. A parabactina constitui um exemplo de uma catecolamida produzida por um agente patogénico de plantas, *Paracoccus denitrificans*. Este sideróforo forma com o ferro (III) um complexo 1 : 1 sendo o valor da sua constante de formação 10^{48} M. Por comparação, a transferrina diférrica, a maior glicoproteína transportadora de ferro dos mamíferos, tem uma constante de formação[21] igual a 10^{24} M. Tanto esta catecolamina como a agrobactina têm vindo a ser estudadas como potenciais quelantes de ferro na terapia de pacientes com anemia de Cooley e no tratamento de cancros[20].

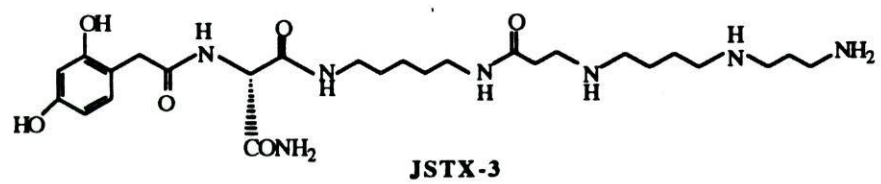
Os hidroxamatos, por sua vez, são frequentemente derivados das aminas 1,3-propanodiamina, putrescina, cadaverina ou dos seus percursores bioquímicos ornitina e lisina[19]. Como exemplo de hidroxamatos podem citar-se os sideróforos isolados do *Streptomyces pilosis*, que contêm repetidas unidades de putrescina ou cadaverina no seu esqueleto. Deste grupo de hidroxamatos, o mais conhecido é a desferrioxamina B que sendo um ligando triidroxamato linear, forma um complexo octaédrico muito estável com o Fe (III) ($K_f = 10^{30}\ M^{-1}$). O sal formado por reacção da desferrioxamina B com o ácido metanossulfónico (*Desferal*) tem sido usado no tratamento de várias doenças causadas por sobrecarga de ferro tal como a Talassemia[19]. A capacidade dos sideróforos converterem especificamente o Fe (III) numa forma solúvel e transportável tem sido aplicada clinicamente no tratamento dessas doenças. Nestes casos, o papel dos sideróforos é oposto ao realizado nos microorganismos pois provoca a remoção do ferro das células eucarióticas. As experiências terapêuticas com a desferrioxamina B não foram totalmente satisfatórias devido à semi-vida muito curta desta droga no organismo, o que obriga os doentes a uma administração contínua. Daí, que tem havido grande interesse em investigar novos derivados deste composto, potencialmente mais eficazes[18,20].

Os complexos de ferro de determinados sideróforos formados extracelularmente interactuam com receptores específicos na membrana celular externa, entrando, em segui-

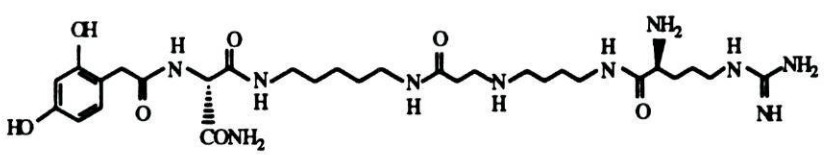
da, para a célula através de um mecanismo de transporte activo de ferro. Com base neste mecanismo, tem vindo a ser estudado o uso deste processo de reconhecimento e assimilação dos complexos de ferro para fazer penetrar antibióticos nas bactérias patogénicas[22].

1.3.2 - Toxinas

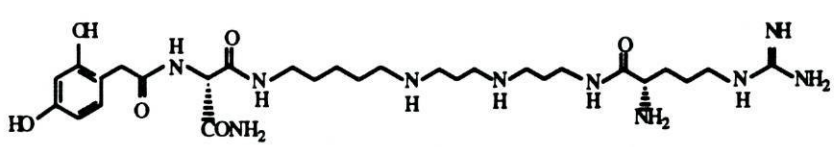
Quando se mencionam derivados de poliaminas, não se pode deixar de referir as toxinas presentes no veneno segregado por várias espécies de aranhas. Fazem parte da estrutura destas toxinas, poliaminas, resíduos de aminoácidos (por ex: arginina e asparagina) e grupos hidrofílicos N-terminais [por ex: (2,4-diidroxifenil)acetamido e (4-hidroxiindol)acetamido]. No esquema III apresentam-se as estruturas de algumas toxinas contendo na sua cadeia resíduos de poliaminas.



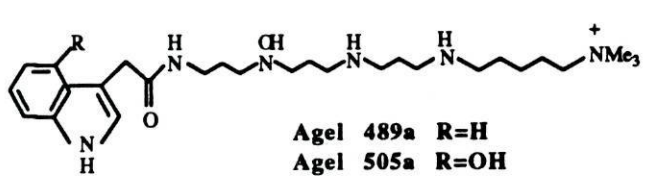
JSTX-3



NSTX-3



Argiotoxina-636



Agel 489a R=H
Agel 505a R=OH

Esquema III - Exemplos de toxinas de cuja estrutura fazem parte resíduos de poliaminas.

O interesse pelo estudo das toxinas, que contêm na sua estrutura poliaminas, surgiu quando se verificou que estas moléculas constituem antagonistas eficazes dos receptores de L-glutamato (aminoácido excitador), inibindo especificamente a sua função como neuro-transmissor[23]. O L-glutamato é um dos mediadores químicos mais abundantes do sistema nervoso central do homem e de outros animais, desempenhando também esta função no sistema nervoso periférico dos insectos. Com base neste facto, tem vindo a ser estudado o envolvimento dos receptores de L-glutamato em importantes funções nervosas nomeadamente na memória e na aprendizagem e, ainda, em distúrbios neurológicos verificados em casos de epilepsia e nas doenças de Huntington, de Alzheimer e de Parkinson[24,25].

Compostos como as toxinas que afectam a função dos aminoácidos excitadores, particularmente aqueles que antagonizam a acção destes transmissores das células nervosas, têm sido objecto de investigação quer do fôro agrícola (controlo de insectos através da produção de insecticidas específicos) quer do fôro terapêutico e farmacológico. Assim, verificou-se, por exemplo, que a toxina da aranha *Nephila clavata*, JSTX-3, bloqueia especificamente a transmissão glutamatérgica na sinapse de crustáceos e de mamíferos[26]. A toxina NSTX-3 isolada do veneno da aranha *Nephila maculata* bloqueia a transmissão neuromuscular tanto nos músculos dos crustáceos como nos dos insectos[27]. A argiopina designada por argiotoxina 636, sendo uma das neurotoxinas de baixa massa molecular encontrada no veneno da aranha *Argiope lobata*, é um bloqueador eficiente dos receptores de L-glutamato do sistema nervoso de insectos e de mamíferos. Devido ao seu comportamento, tem vindo a ser estudada a aplicação da argiopina e dos seus modelos de síntese na produção de novas drogas e insecticidas[28]. Por sua vez, as acilpoliaminas da aranha *Agelenopsis aperta* afectam a neurotransmissão do aminoácido excitador e causam a paralisia imediata mas reversível de insectos[29,30]. Em face destes resultados, conclui-se que o isolamento e a síntese de toxinas de cuja estrutura fazem parte poliaminas tem permitido um desenvolvimento apreciável no campo neurológico, uma vez que constituem antagonistas específicos necessários ao estudo da transmissão glutamatérgica e à caracterização dos receptores de glutamato no sistema nervoso.

1.3.3 - Outros derivados de poliaminas com interesse em Medicina

É um facto irrefutável que as poliaminas são necessárias para o crescimento e replicação adequados de todos os tipos de células, estando presentes em elevadas concentrações nas células que proliferam rapidamente. Estas poliaminas tanto podem ser sintetizadas intracelularmente como podem ser introduzidas nas células através de um sistema de transporte activo que parece ser regulado pela concentração das poliaminas na célula. Com base neste facto, têm-se usado moléculas de poliaminas como portadoras de drogas e de agentes de diagnóstico para o interior de células cancerosas, utilizando o sistema de transporte de poliaminas em conjugação com um inibidor da sua biossíntese. Ao inibir a biossíntese intracelular das poliaminas, a célula tem necessidade de captá-las do meio extracelular, permitindo assim a entrada de derivados estruturalmente semelhantes às poliaminas. Deste modo, foram sintetizados modelos da espermidina de cuja estrutura fazem parte agentes activos (por ex: agentes quimioterapêuticos e agentes de diagnóstico) com mecanismos de acção diferentes, tendo como objectivo testar a entrada selectiva destes agentes nas células de tecidos cancerosos[31].Também se verificou que fazendo penetrar derivados N-alquilados da espermina (N^1,N^{12}-dimetilespermina, N^1,N^{12}-dietilespermina e N^1,N^{12}-dipropilespermina) em células leucémicas L 1210, se inibia o crescimento dessas células[32]. Como o local de acção de muitos agentes citotóxicos se situa no interior das células, estes agentes têm que atravessar a membrana celular para, em seguida, reconhecerem e interactuarem com os seus alvos. Aproveitando o sistema de transporte de poliaminas, G. M. Cohen e colaboradores[33] testaram o uso de um derivado formado a partir da espermidina e do *clorambucil* como portador deste último composto para o interior de células cancerosas, uma vez que aquele derivado possui características estruturais óptimas que se traduzem tanto na sua afinidade à cadeia de DNA como na facilidade de captação celular. O *clorambucil* é uma mustarda nitrogenada largamente usada no tratamento da leucemia linfocítica crónica, de linfomas e do carcinoma do ovário, actuando no DNA nuclear. Dos resultados destes testes

concluiu-se que o derivado espermidina-*clorambucil* actuava sobre a cadeia de DNA em concentrações muito menores do que quando se administrava somente o *clorambucil.*

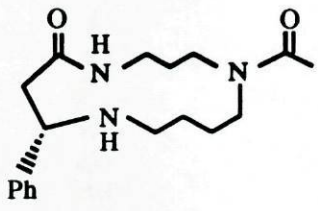
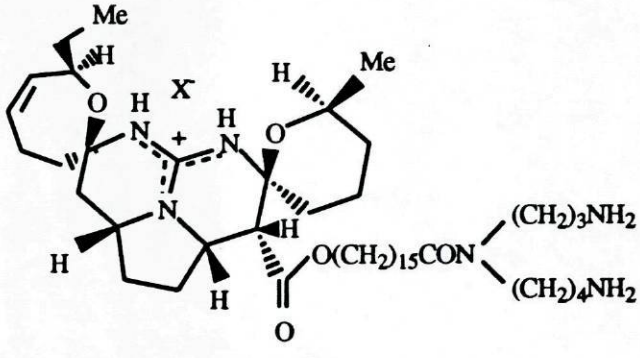
Muitos alcalóides derivados de poliaminas podem ser antibióticos, antivíricos e antimicrobianos, inibidores do crescimento de tumores e ter actividade anti-hipertensiva. A N^1-acetil-N^1-desoximaifolina[34], a ptilomicalina A, as glicocinamoilespermidinas LL-BM 123 ß, γ_1 e γ_2 e a (-)-espergualina constituem exemplos de alcalóides que contêm, na sua estrutura, uma molécula de espermidina. A ptilomicalina A, isolada a partir da esponja *Ptilocaulis spiculifer* existente nas Caraíbas e da esponja *Hemimycale* do mar Vermelho, possui uma notável actividade antivírica e antifúngica, actuando também como anti-neoplásico[35]. Os antibióticos de largo espectro formados pelas glicocinamoil-espermidinas γ_1 e γ_2 têm especial interesse devido à sua potente actividade contra organismos Gram-negativos e à sua função protectora contra infecções[36]. Por sua vez, a (-)-espergualina e o seu derivado obtido por síntese, (-)-15-desoxiespergualina demonstraram possuir propriedades antibióticas e inibidoras de tumores, sendo especificamente activos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e aumentando o tempo de sobrevida de ratos com leucemia EL-4 e com carcinoma de Ehrlich[37,38].

De entre os inibidores de tumores também se podem referir a solapalmitina e a solapalmitenina cujas estruturas são derivadas da bis(4-aminobutil)amina[39].

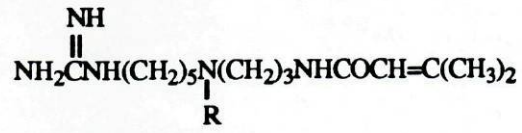
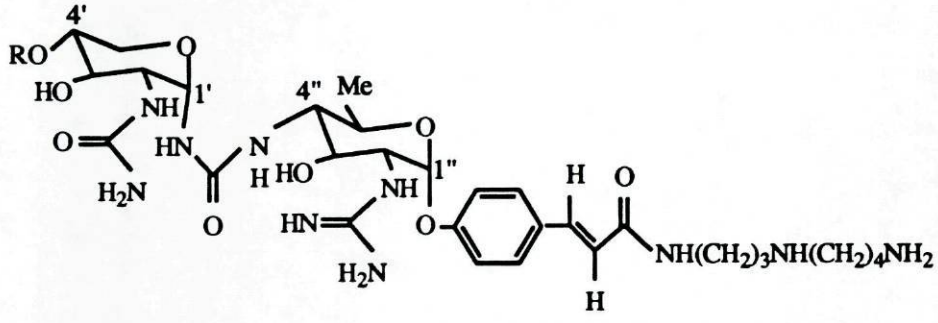
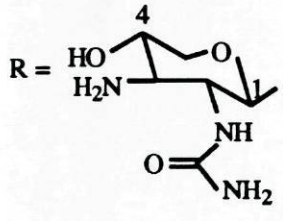
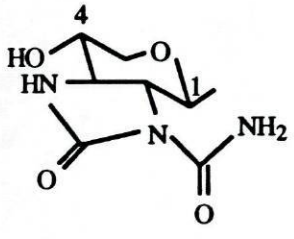
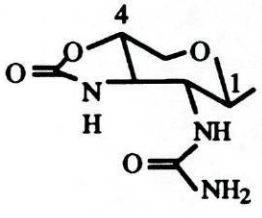
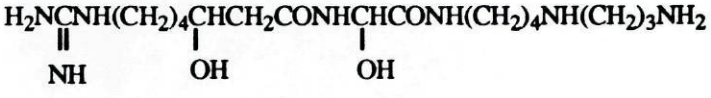
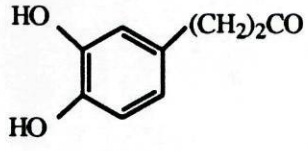
As acarnidinas antivíricas e antimicrobianas isoladas por Carter e Rinehart[40] da esponja *Acarnus erithacus* constituem uma família de homoespermidinas activas contra o *Herpes simplex*, o *Bacillus subtilis* e o *Penicillium atrovenetum* .

Finalmente, como exemplo de um poderoso agente anti-hipertensor pode mencionar-se a kukoamina A que é um derivado da poliamina natural espermina. Para além deste efeito, a kukoamina A apresenta actividade hipoglicemiante, anti-pirética e anti-ulcerosa e, ainda, algumas propriedades características dos sideróforos[41]. No quadro I apresentam-se as estruturas e a respectiva actividade biológica de alguns dos derivados de poliaminas acima referidos com interesse em Medicina.

Quadro I - Alguns compostos, derivados de poliaminas, com interesse em Medicina.

Estrutura / Nome	Actividade biológica
$(ClCH_2CH_2)_2NC_6H_4(CH_2)_3CONH(CH_2)_3NH^+(CH_2)_3NH_3$ / $(CH_2)_4NH_3^+$ **Espermidina-clorambucil**	Anti-neoplásica[33]
 **(±)-N^1-Acetil-N^1-desoximaifolina**	Antibiótica[34]
 **Ptilomicalina A**	Anti-vírica Anti-fúngica Anti-neoplásica[35]
$(CH_3)_2N(CH_2)_4N(CH_2)_4N(CH_3)_2$ $CO(CH_2)_{14}CH_3$ **Solapalmitina** $(CH_3)_2N(CH_2)_4N(CH_2)_4N(CH_3)_2$ $COCH{=}CH(CH_2)_{12}CH_3$ **Solapalmitenina**	Inibidora de tumores[39]

Quadro I - continuação

 $R = CO(CH_2)_{10}CH_3$ $R = cis\text{-}CO(CH_2)_3CH{=}CH(CH_2)_5CH_3$ $R = COC_{13}H_{21}$ **Acarnidinas**	Anti-vírica Anti-microbiana[40]
 **Glicocinamoilespermidinas LL-BM 123** R =  **BM 123 ß**  **BM 123 γ_1**  **BM 123 γ_2**	Antibiótica[36]
 **(-)-Espergualina**	Antibiótica Inibidora de tumores[37,38]
$RNH(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR$ R =  **Kukoamina A**	Anti-hipertensora[41]

Verifica-se assim que existem derivados biologicamente activos de poliaminas com vasta aplicação terapêutica e, daí, o grande interesse em desenvolver estratégias e métodos de síntese convenientes tanto para a obtenção destes compostos como de modelos adequados para estudos da relação entre estrutura e actividade.

2 - Métodos de síntese de poliaminas

Dado que as poliaminas se encontram largamente distribuídas na natureza, tanto como unidades independentes como fazendo parte da estrutura de numerosos produtos naturais, surgiu a necessidade de se desenvolver estratégias e métodos de síntese eficazes para a preparação destes compostos, tendo como objectivo o estudo das suas funções biológicas. Assim, verificou-se uma rápida proliferação da investigação no campo da química das poliaminas, a partir do início dos anos 70, tendo vindo a ser publicados inúmeros artigos sobre métodos de síntese de poliaminas naturais e dos seus derivados.

Uma vez que os derivados das poliaminas naturais podem conter grupos amino selectivamente modificados, as estratégias desenvolvidas para a síntese destes compostos devem atender, de um modo geral, a dois importantes requisitos:

1) permitir a introdução de um ou mais grupos funcionais em átomos de azoto previamente seleccionados;
2) utilizar reacções que apresentem rendimentos apreciáveis.

As principais estratégias seguidas na preparação de poliaminas baseiam-se, fundamentalmente, na síntese total a partir de unidades percursoras apropriadas, contendo grupos funcionais que, após serem submetidos a reacções adequadas, se transformem nas funções amina constituintes da cadeia poliamínica. Por sua vez, os derivados das poliaminas tanto podem ser preparados através de uma síntese convergente, envolvendo as poliaminas e outros produtos naturais ou de síntese, como através da síntese total a partir de unidades estruturais adequadas para a obtenção dos compostos requeridos. No caso particular da síntese de poliaminas selectivamente protegidas, esta também pode ser conseguida, quer por reacção de unidades percursoras parcialmente protegidas, quer por introdução, remoção e / ou substituição de grupos de N-protecção directamente em poliaminas.

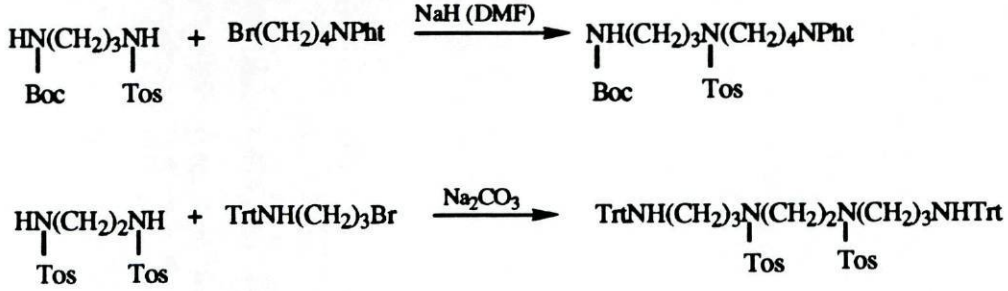
Os métodos de síntese total de poliaminas podem dividir-se, essencialmente, em dois grupos - métodos de alquilação e métodos de redução - de acordo com uma das reacções principais incluídas na sequência que origina a formação da cadeia amínica.

2.1 - Síntese total de poliaminas usando reacções de alquilação

A formação da cadeia poliamínica pode ocorrer através da alquilação de tosilaminas ou de aminas primárias com halogenetos de alquilo que contenham um grupo amino protegido.

2.1.1 - Alquilação de N-tosilaminas

A síntese de poliaminas utilizando este método é conseguida através da alquilação do grupo amino N-tosilado de N-Y-N'-tosilalcanodiaminas (Y: grupo de N--protecção diferente do grupo tosilo) ou dos dois grupos amino de N,N'--bis(tosil)alcanodiaminas com halogenetos de alquilo contendo uma função amina protegida (Esquema 1). Os grupos tritilo, ftaloílo, acilo e do tipo uretano são os mais frequentemente utilizados na protecção da função amina contida no agente alquilante.

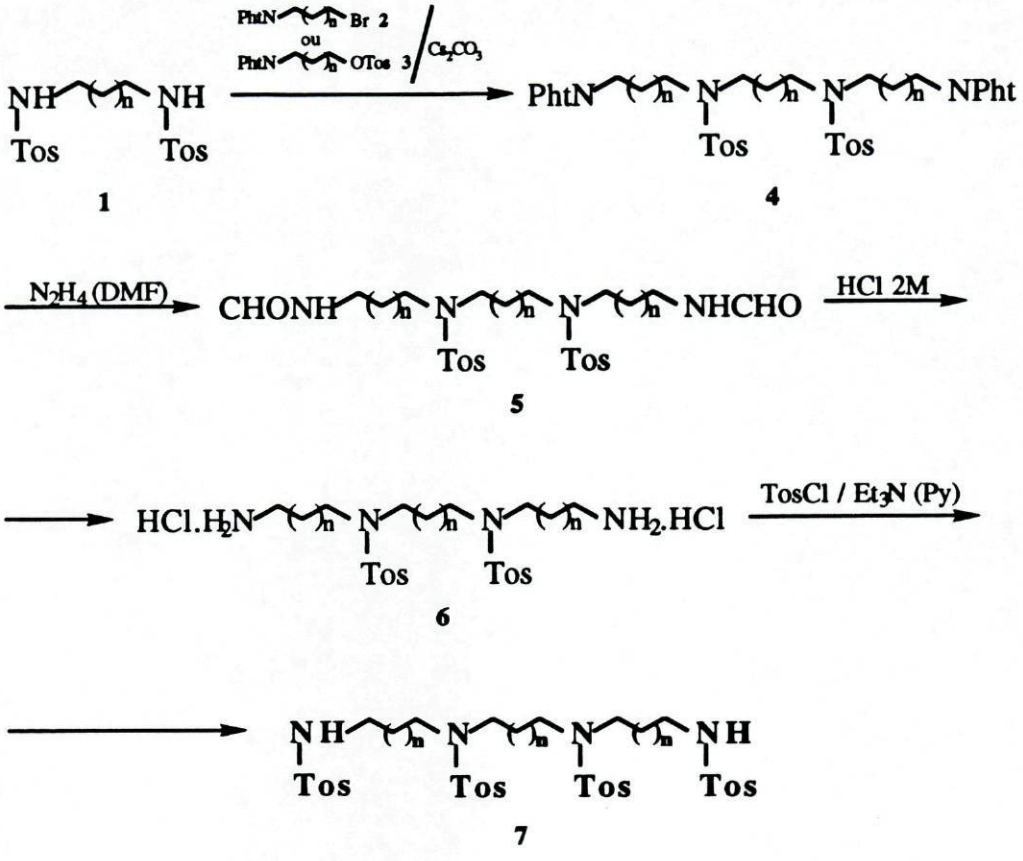


Esquema 1 - Exemplos de reacções de alquilação de N-tosilaminas[42,43].

Este método tem sido usado na síntese de alcalóides derivados da espermidina[44a], de derivados da espermidina contendo três grupos diferentes de N-

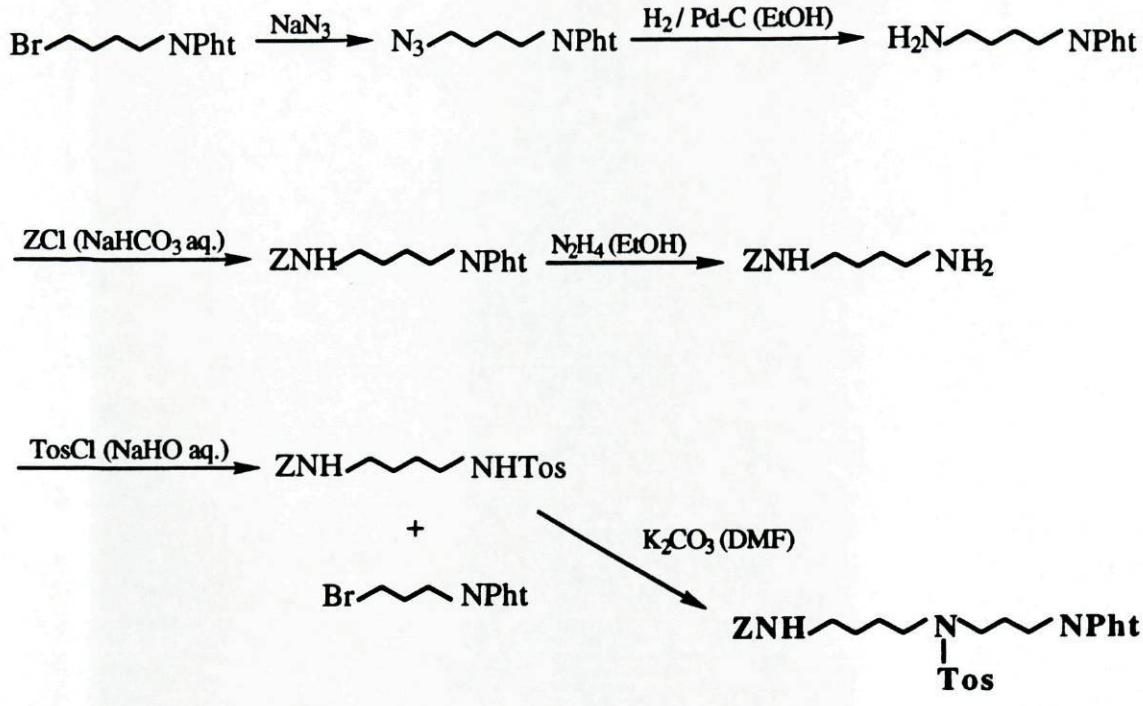
-protecção[42,45], de derivados da espermidina e da espermina usados em estudos de espectrometria de massa[44b], de poliaminas macrocíclicas[46], etc.

Iwata e colaboradores[47] desenvolveram um método geral de síntese, baseado na alquilação de N-tosilaminas, aplicável à preparação de poliaminas acíclicas e cíclicas, durante os trabalhos de investigação que realizaram sobre as funções das poliaminas macrocíclicas como receptores de iões ou de moléculas. Uma vez que essas funções são altamente dependentes da estrutura molecular dos macrociclos, foi necessário desenvolver uma estratégia de síntese que permitisse a introdução de segmentos constituídos por grupos propilo e butilo, separados por átomos de azoto, de acordo com o que se verifica na estrutura das poliaminas naturais espermidina, espermina, termina e termoespermina (Esquema 2). Assim, cada poliamina cíclica preparada por este grupo de investigação (num total de 12) continha, na sua estrutura, uma ou mais moléculas daquelas quatro poliaminas naturais. A estratégia seguida consistiu na elaboração da cadeia poliamínica partindo da reacção de alquilação de N,N'-bis(tosil)alcanodiaminas **1** com N-(ω-bromo-alquil)ftalimida **2** ou com *p*-toluenossulfonato de ω-ftalimidoalquilo **3**, na presença de carbonato de césio, à temperatura ambiente, durante 24 horas, obtendo quase quantitativamente as α,ω-diftalimidas **4**. À temperatura de 80°C, verificaram que a velocidade da reacção não era aumentada e que o agente alquilante sofria uma apreciável decomposição. O passo seguinte consistiu na transformação, com bom rendimento, das α,ω-diftalimidas **4** em α,ω-diformamidas **5**, por acção de hidrazina em DMF. Estes derivados (**5**) foram então hidrolizados com solução aquosa de HCl 2M, originando os correspondentes cloretos **6** isolados como sólidos cristalinos. Por tratamento dos sais **6** com cloreto de tosilo, em piridina, na presença de trietilamina, formaram-se as respectivas N,N',N'',N'''-tetraquis(tosil)aminas **7**, a partir das quais foi possível a elongação da cadeia poliamínica, por adição de novos segmentos contendo grupos aminopropilo ou aminobutilo. Esta série de reacções foi repetida com sucesso, na construção das cadeias poliamínicas requeridas para a síntese dos compostos cíclicos propostos.



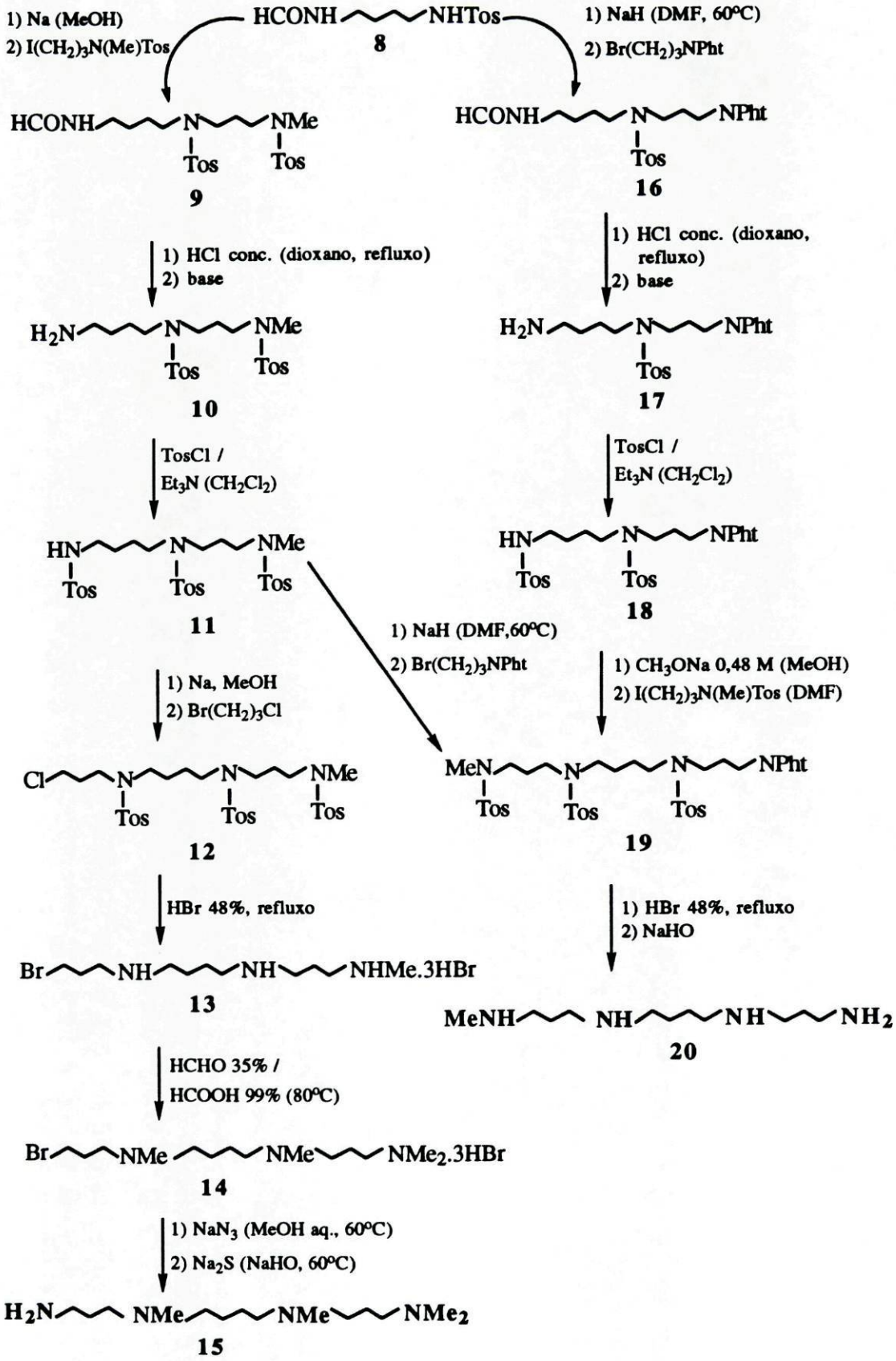
Esquema 2 - Síntese de poliaminas politosiladas[47] (n=1 e 2).

A aplicação do método de alquilação de N-tosilaminas é ainda ilustrada através da síntese de um derivado triprotegido da espermidina, N^1-Pht-N^4-Tos-N^8-Z--espermidina, preparado pela primeira vez por Eugster e colaboradores[45] quando sintetizaram lactamas com estruturas contendo moléculas de espermidina. Esta triamina foi obtida partindo da N-(4-bromobutil)ftalimida, numa sequência reaccional que envolveu seis passos e se encontra representada no esquema 3.



Esquema 3 - Síntese da N^1-Pht-N^4-Tos-N^8-Z-espermidina[45].

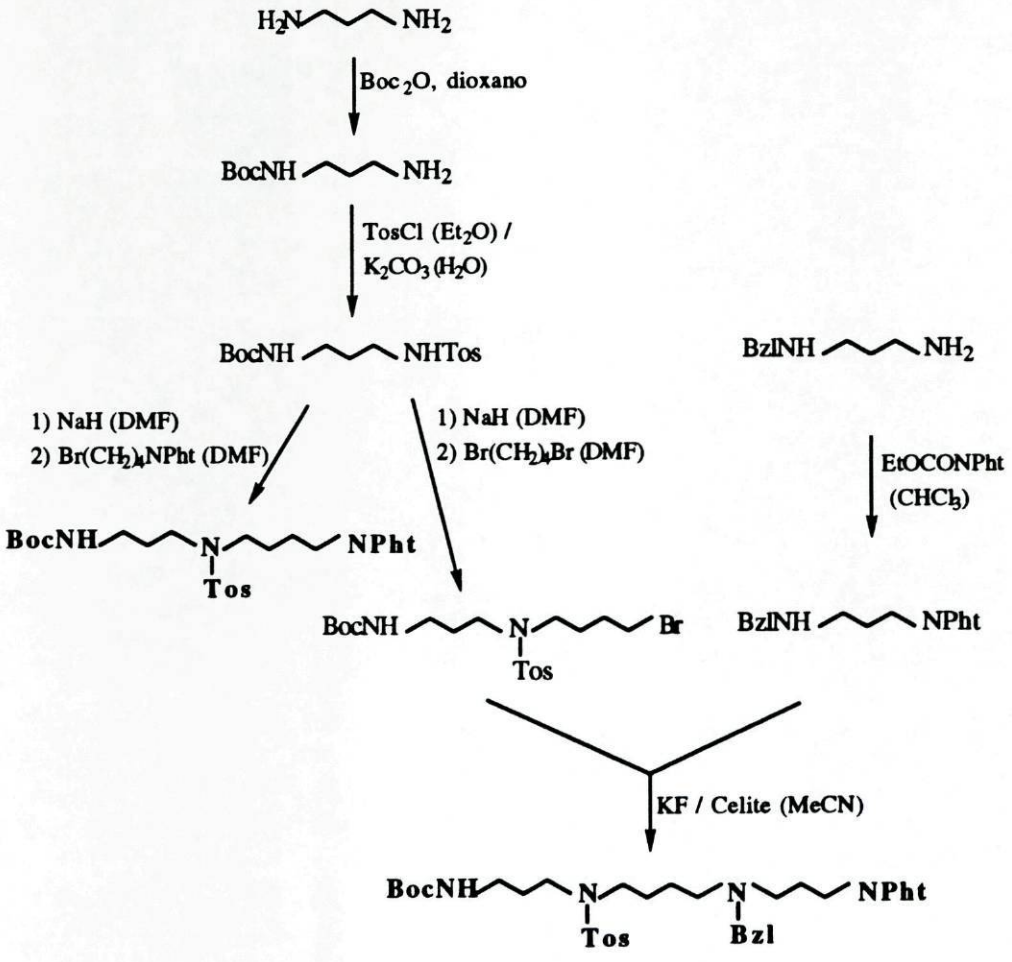
As carbodiimidas solúveis em água, tais como a N-etil-N'-[3-(dimetilamino)-propil]carbodiimida, parecem auto-catalisar a condensação de resíduos de nucleótidos, desempenhando assim o papel da ligase ATP / DNA. Esta catálise é devida à formação de um "complexo misto" entre a carbodiimida e os oligonucleótidos utilizados nessa condensação. Na tentativa de aumentar a velocidade de auto-catálise, provocando uma maior estabilidade relativa do complexo misto, Dorwald e colaboradores[48] sintetizaram carbodiimidas ligadas a poliaminas naturais, uma vez que estas estabilizam a cadeia dupla do DNA. Assim, o derivado tetrametilado da espermina - $H_2N(CH_2)_3NMe(CH_2)_4NMe(CH_2)_3NMe_2$ - foi escolhido como percursor das carbodiimidas em estudo. O esquema de síntese seguido na preparação daquele derivado baseou-se em sucessivas N-alquilações de tosilaminas para a construção da cadeia poliamínica (Esquema 4).



Esquema 4 - Síntese da N^1-metilespermina e da N^1,N^1,N^4,N^9-tetrametilespermina[48].

A referida síntese foi iniciada pela reacção de alquilação da diamina dissubstituída $HCONH(CH_2)_4NHTos$, no átomo de azoto que continha o grupo tosilo, com agentes alquilantes do tipo $X(CH_2)_3Y$ [em que X=Br, I e Y=Cl, N(Me)Tos e NPht]. Deste modo, formaram-se triaminas com o grupo amino terminal primário ou secundário, consoante a natureza do agente alquilante usado. Para a obtenção do composto $Tos(Me)N(CH_2)_3NTos(CH_2)_4NTos(CH_2)_3NPht$ (**19**) foram realizadas duas sequências de síntese que diferem essencialmente nos passos em que foi efectuada a alquilação. Na primeira sequência, a N,N',N''-tris(tosil)amina **11** foi obtida, com um rendimento quase quantitativo, através da N-alquilação da N-(N'-tosilaminobutil)formamida **8** com a N-(3-iodopropil)-N-metil-*p*-toluenossulfonamida, seguida da remoção do grupo formilo e subsequente introdução do grupo tosilo na função amina primária. A tetraamina totalmente protegida foi preparada, em seguida, também com bom rendimento, através de uma segunda alquilação com N-(3-bromopropil)ftalimida. A segunda sequência de síntese, partindo da mesma diamina dissubstituída **8**, mas de um agente alquilante diferente [N-(3-bromopropil)ftalimida], revelou-se menos eficaz devido, provavelmente, a uma menor estabilidade do grupo ftaloílo face às condições reaccionais empregues na remoção do grupo formilo. Assim, foi obtida a tetraamina protegida **19** com um rendimento de 72%. Em face destes resultados, foi preparado um outro percursor da poliamina **15** em que o grupo ftalimido foi substituído por um átomo de cloro, por reacção da tris(tosil)amina **11** com 1-bromo-3-cloropropano. Finalmente, foi isolada a tetraamina tetrametilada **15** após remoção de todos os grupos tosilo, introdução dos grupos metilo, por tratamento com excesso de metanal / ácido fórmico, e conversão da triamina na correspondente azida, seguida de redução do grupo azido com sulfureto de sódio. Os esquemas de síntese descritos por Kiedrowski e Dorwald[48] permitiram a preparação de derivados protegidos da espermidina e da espermina com rendimentos razoáveis. No entanto, estas sínteses apresentam como desvantagens o elevado número de passos necessários para a preparação da tetraamina e as condições drásticas em que se efectuam as remoções dos grupos tosilo, ftaloílo e formilo.

Mais recentemente (1993), Hesse e colaboradores[42], interessados na síntese de percursores de alcalóides contendo a poliamina natural espermina, obtiveram derivados selectivamente protegidos da espermidina (muito semelhantes ao preparado por Eugster[45]) e da espermina. A triamina totalmente protegida, N^1-Boc-N^8-Pht-N^4-Tos--espermidina, foi obtida por alquilação da N-Boc-N'-Tos-propanodiamina com N-(4-bromobutil)ftalimida. Por sua vez, a tetraamina substituída, N^1-Boc-N^8-Bzl-N^{12}--Pht-N^4-Tos-espermina foi preparada utilizando um método de síntese convergente de modo a reduzir-se o número de perdas que geralmente ocorrem durante as sínteses que envolvem um elevado número de passos (esquema 5).

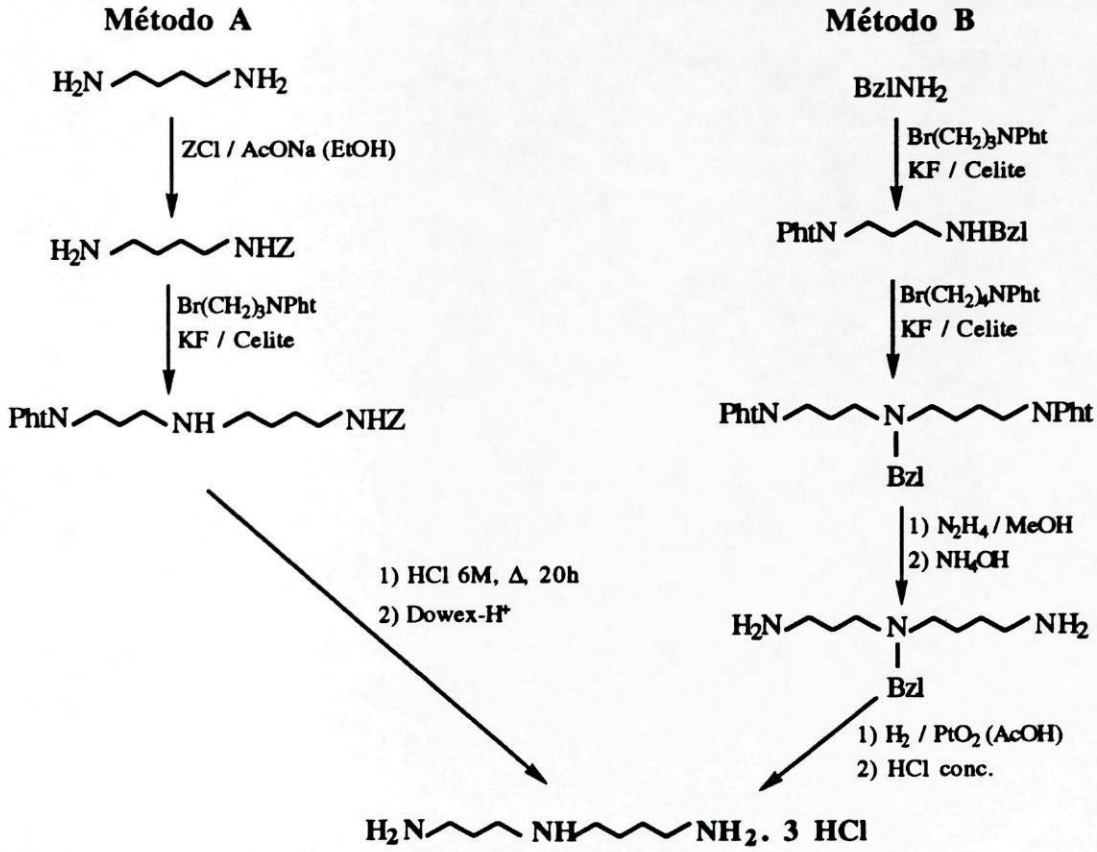


Esquema 5 - Síntese da N^1-Boc-N^8-Pht-N^4-Tos-espermidina e da N^1-Boc-N^8-Bzl-N^{12}--Pht-N^4-Tos-espermina[42].

2.1.2 - Alquilação de aminas primárias

A alquilação de grupos amino primários é geralmente efectuada com halogenetos de N-ftaloilaminoalquilo ou com alcanos dialogenados.

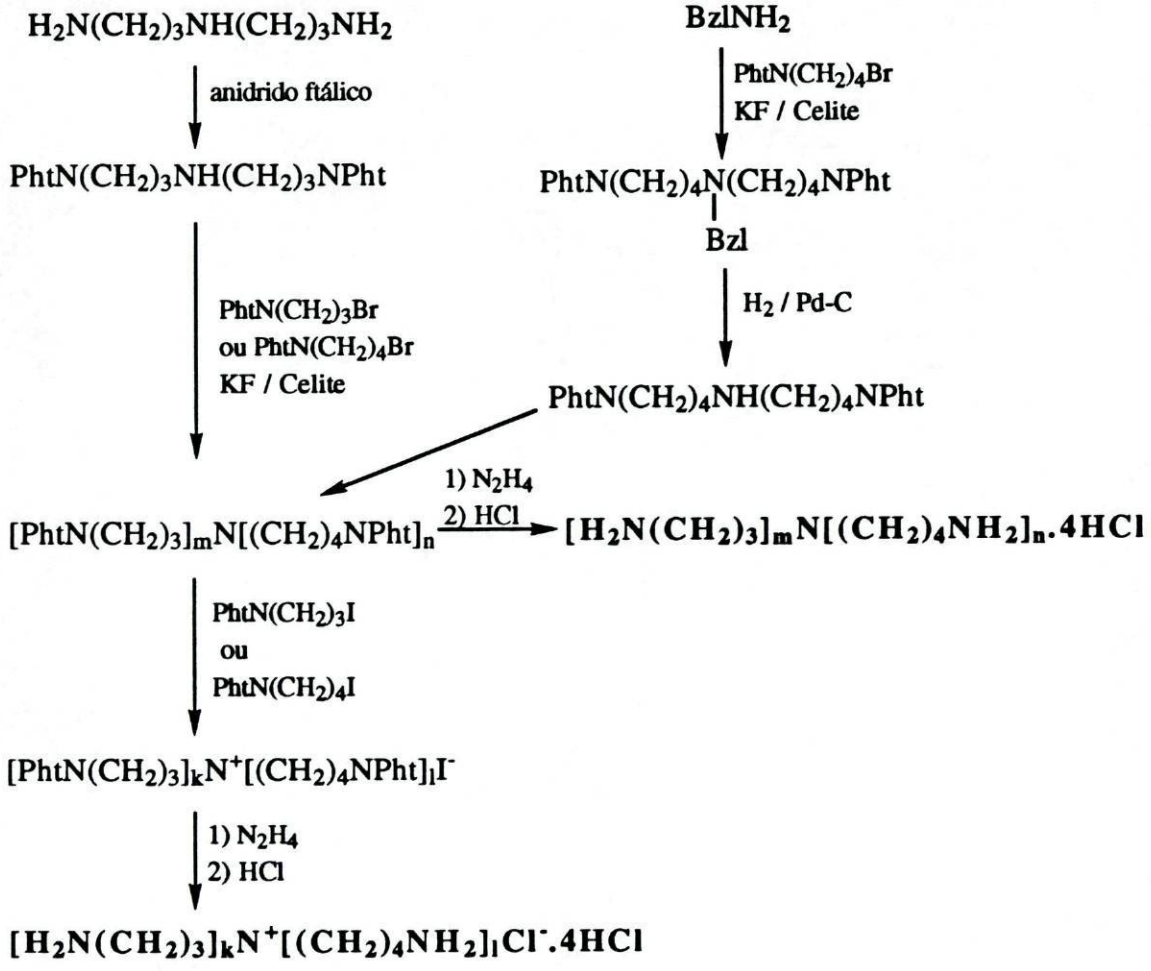
A aplicação deste método por Samejima e colaboradores[49], em 1984, na preparação de poliaminas marcadas com ^{15}N (entre outras, as poliaminas espermidina e espermina), permitiu uma melhor compreensão do significado fisiológico das poliaminas através da possibilidade de aplicação das técnicas de espectrometria de ressonância magnética nuclear e de massa. Os procedimentos descritos por estes autores, para a síntese da espermidina e da espermina, baseiam-se na alquilação, em meio neutro e na presença de KF-Celite, da N-benziloxicarbonilputrescina ou da benzilamina com N-(3--bromopropil)ftalimida (como dador do grupo aminopropilo) e com N-(4-bromo-butil)ftalimida (método B). Desenvolveram-se, deste modo, dois processos para a síntese da espermidina marcada com ^{15}N, que se encontram representados no esquema 6.



Esquema 6 - Síntese da espermidina[49].

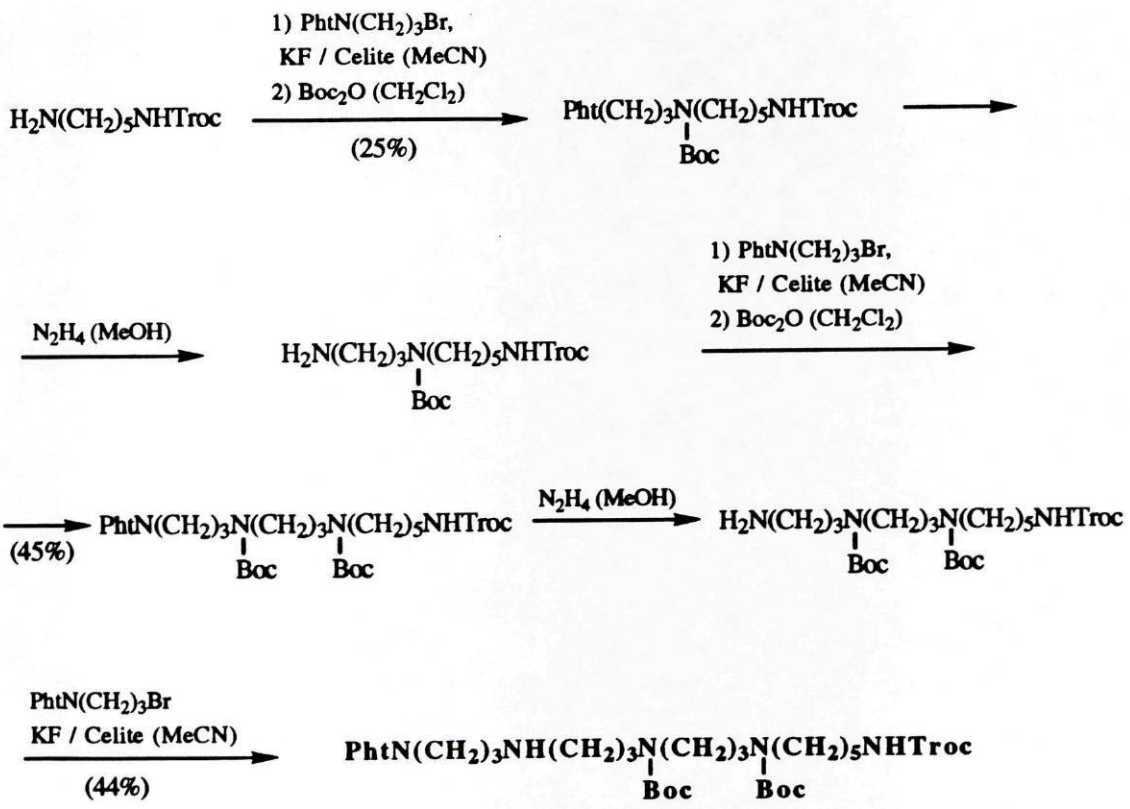
O processo A envolveu a alquilação da N-benziloxicarbonilputrescina com N-(3-bromopropil)ftalimida seguida da remoção dos grupos de N-protecção com HCl 6M à ebulição durante cerca de 20 horas e, por fim, a purificação da espermidina por cromatografia de permuta catiónica. O facto da preparação da N-benziloxicarbonil-putrescina ser realizada com um rendimento baixo (aproximadamente 40%), constitui uma desvantagem na utilização deste procedimento, uma vez que é necessário adicionar esta diamina numa quantidade superior à da N-(3-bromopropil)ftalimida, de modo a reduzir a formação do composto secundário N,N-bis-alquilado. O processo B consistiu na sucessiva alquilação da benzilamina com N-(3-bromopropil)ftalimida e N-(4-bromobutil)ftalimida, na presença de KF-Celite, seguida da remoção do grupo ftaloílo por hidrazinólise e do grupo benzilo por hidrogenação catalítica. Ambos os processos permitiram a síntese de outras triaminas naturais, nomeadamente a *sym*-norespermidina, a *sym*-homoespermidina, a aminopropilcadaverina, etc.

Mais tarde, Niitsu e colaboradores[50] aplicaram a metodologia referida anteriormente à síntese de tetraaminas terciárias e de pentaaminas quaternárias, contendo grupos aminopropilo e / ou aminobutilo, usadas na confirmação da estrutura de poliaminas naturais ramificadas (Esquema 7).



Esquema 7 - Síntese de tetraaminas terciárias e de pentaminas quaternárias[50].
(m=3, n=0; m=2, n=1; m=1, n=2; m=0, n=3)
(k=4, l=0; k=3, l=1; k=2, l=2; k=1, l=3; k=0, l=4)

Por sua vez, Volkmann e colaboradores[30], baseados no método de alquilação de aminas, confirmaram as estruturas de duas acilpoliaminas presentes no veneno segregado pela aranha *Agelenopsis aperta* através da síntese da Agel 489a. A porção poliamínica deste composto foi preparada através de repetidas alquilações, na presença de KF-Celite, alternadas pela protecção (introduzida por reacção com Boc_2O) dos grupos amino inseridos por alquilação, seguida da remoção do grupo ftaloílo terminal, de acordo com o esquema 8.



Esquema 8 - Síntese da cadeia poliamínica parcialmente protegida da estrutura da toxina Agel 489a[30].

Embora tenha sido obtida a pentaamina requerida, as reacções de alquilação com N-(3-bromopropil)ftalimida apresentam o inconveniente de ocorrerem com baixos rendimentos.

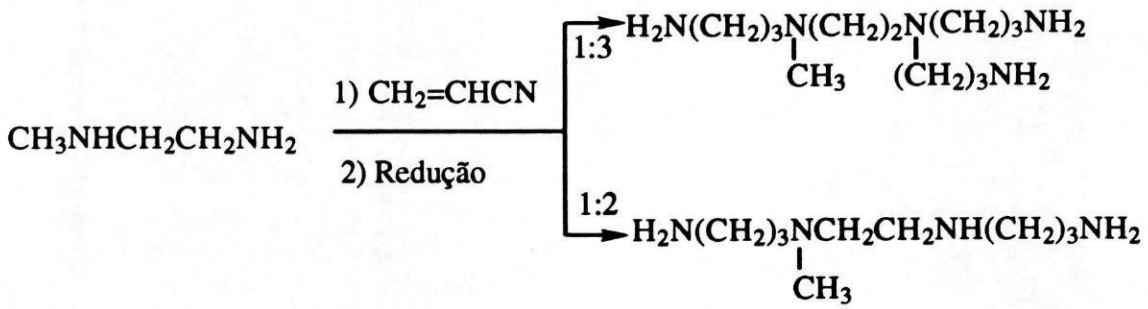
2.2 - Síntese total de poliaminas usando reacções de redução

Os nitrilos, amidas, iminas e azidas podem ser convertidos em aminas através de processos de redução adequados[51]. Daí a possibilidade de se prepararem poliaminas por adição de unidades, que introduzam esses grupos em compostos contendo já uma ou mais funções amina, seguida de redução em condições apropriadas.

2.2.1 - Redução de nitrilos

A extensão da cadeia amínica através da adição de unidades contendo grupos nitrilo é efectuada por reacção da amina com acrilonitrilo ou com halogenetos de cianoalquilo, seguida de redução catalítica.

A adição de Michael de aminas a acrilonitrilo permite introduzir os grupos aminopropílicos, que fazem parte da estrutura de muitas poliaminas naturais, em aminas primárias ou em tosilaminas. Por outro lado, a reacção entre uma diamina, que contenha simultaneamente um grupo amino primário e outro secundário, e acrilonitrilo pode ser controlada pela razão estequiométrica dos dois reagentes, formando-se uma N,N'--bis(cianoetil)diamina (1 : 2) ou uma N,N',N'-tris(cianoetil)diamina (1 : 3) que, após redução dos grupos nitrilo, dá origem à poliamina correspondente (Esquema 9).



Esquema 9 - Preparação de poliaminas por adição de acrilonitrilo a grupos amino primários e secundários.

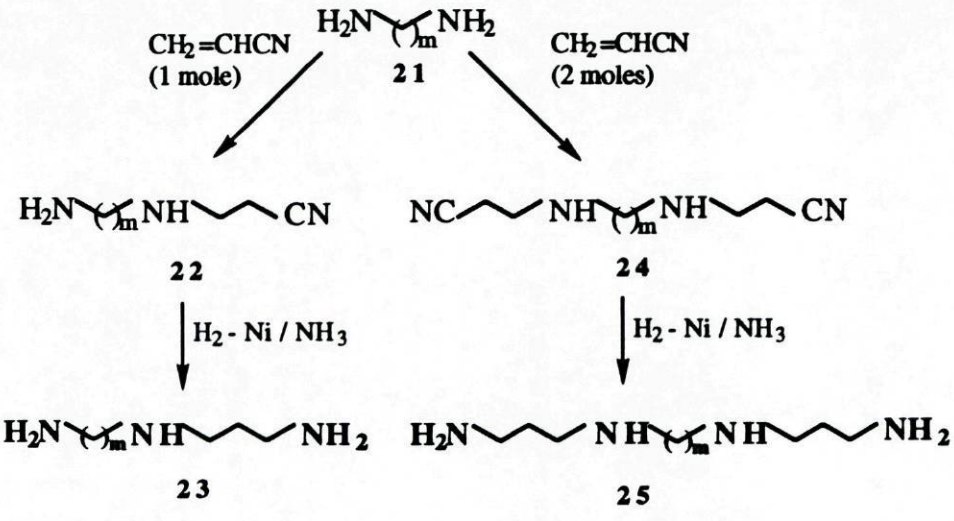
A redução do grupo nitrilo não é um processo directo pois forma-se uma aldimina intermediária que tanto pode ser reduzida de modo a obter-se uma amina primária, como pode reagir com esta amina dando origem a produtos indesejados[52].

$$RCN \longrightarrow RCH{=}NH \longrightarrow RCH_2NH_2$$

$$RCH{=}NH + RCH_2NH_2 \longrightarrow RCH(NH_2)NHCH_2R \xrightarrow{H_2 / cat.} (RCH_2)_2NH + NH_3$$

O catalisador utilizado na reacção de hidrogenação é a variável mais importante a ter em consideração para se obter o produto adequado. Assim, escolhendo o catalisador correcto, obtêm-se aminas primárias com elevada selectividade (caso dos catalisadores que contêm Co, Ni e Ru), caso contrário, obtêm-se misturas de produtos em que prevalecem as aminas secundárias ou as terciárias. Os agentes redutores BH_3, $LiAlH_4$, $NaBH_4$ / Co (II) e H_2 / Raney-Ni são os mais usados na redução de nitrilos a aminas[4].

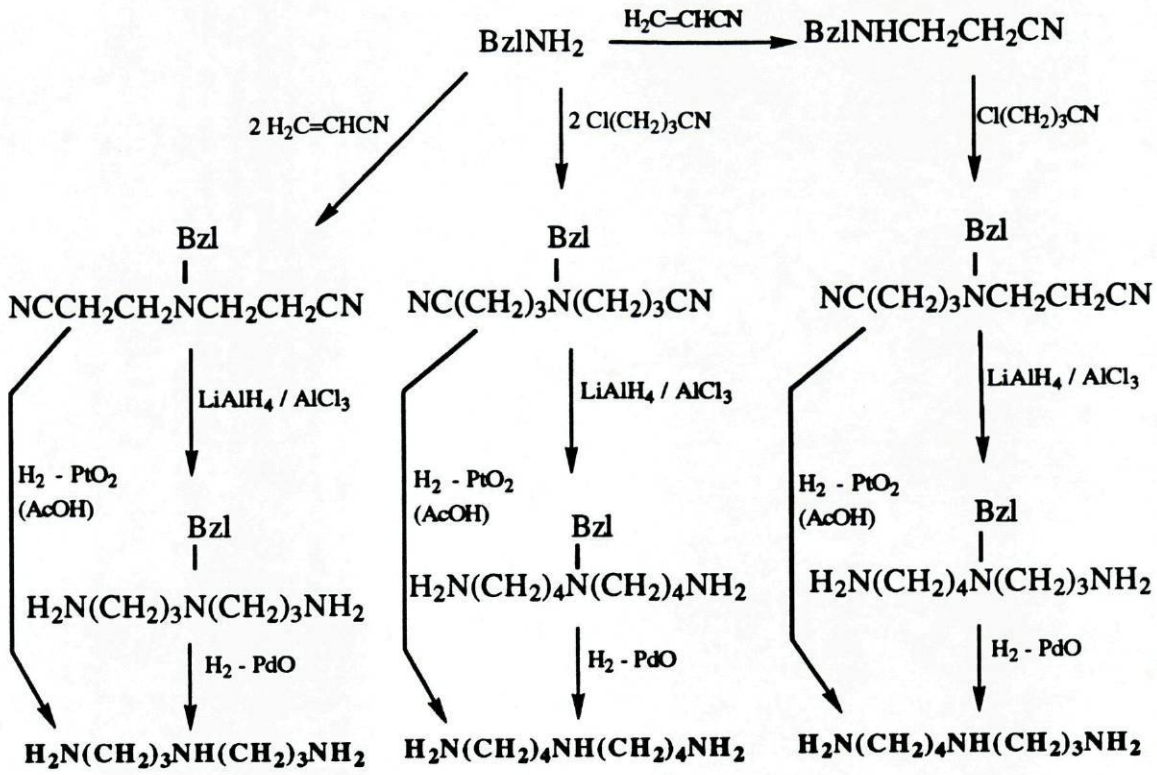
Este método foi aplicado na síntese da espermidina, da espermina e de homólogos destes compostos[53], em que se variou o número de grupos metileno numa porção da sua cadeia poliamínica, através da mono- e bis-cianoetilação de diaminas apropriadas, seguida da redução catalítica dos grupos nitrilo obtidos (Esquema 10).



Esquema 10 - Síntese da espermidina (**23**, m=4), da espermina (**25**, m=4) e de homólogos destas poliaminas (m=2, 3, 5, 6, 9, 10, 12)[53].

Assim, o procedimento seguido na preparação do mononitrilo envolveu a adição lenta de uma quantidade equimolar de acrilonitrilo à diamina, com o intuito de diminuir a possibilidade de ocorrência de bis-cianoetilação que vai decrescendo à medida que aumenta o número de grupos metileno constituintes da diamina. Os produtos desta reacção foram purificados por destilação sob pressão reduzida e sob atmosfera de azoto, a uma temperatura inferior a 160-170ºC, de modo a evitar a decomposição e a eliminação de acrilonitrilo que conduziriam à obtenção dos reagentes iniciais. Por sua vez, a introdução de dois grupos cianoetilo foi conseguida por tratamento da diamina com o dobro do número de moles de acrilonitrilo. Neste caso, os produtos não foram purificados por destilação uma vez que foi verificada a ocorrência de extensa decomposição quando se procedeu ao seu aquecimento. A síntese das poliaminas em questão terminou com a hidrogenação catalítica dos correspondentes compostos cianoetilados, utilizando Raney-Ni como catalisador, numa solução saturada de amoníaco em etanol, para evitar a formação de aminas secundárias, durante a redução dos grupos nitrilo.

Bergeron e colaboradores[54], interessados na síntese total de um sideróforo isolado do *Micrococcus denitrificans*, desenvolveram uma metodologia adequada para a preparação de triaminas bis-aciladas exclusivamente nos grupos amino terminais. A referida metodologia permitiu a síntese das triaminas homoespermidina, espermidina e norespermidina utilizando benzilamina, acrilonitrilo ou 4-clorobutanonitrilo como reagentes iniciais (Esquema 11)[55].



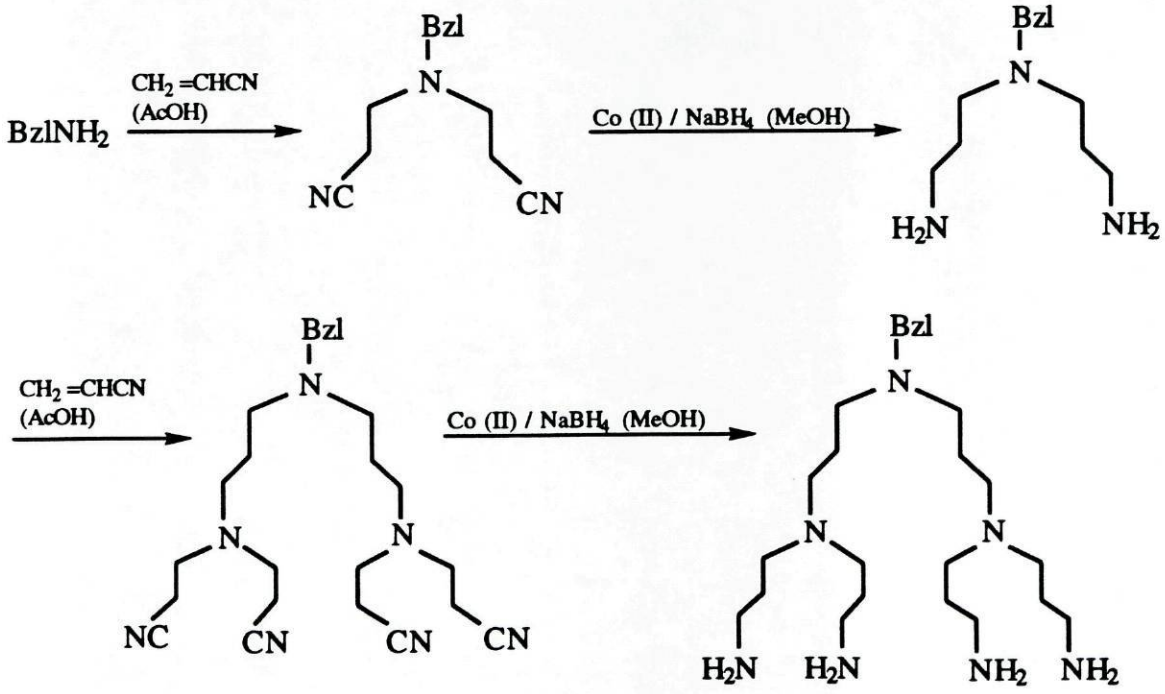
Esquema 11 - Síntese da norespermidina, da homoespermidina e da espermidina[55].

O procedimento seguido envolveu fundamentalmente três passos: cianoetilação, alquilação e redução. A espermidina foi assim preparada por adição de acrilonitrilo à benzilamina, seguida da reacção de alquilação do grupo amino com 4-clorobutanonitrilo e, por fim, a remoção do grupo benzilo após redução dos grupos nitrilo ou, alternativamente, a redução simultânea destes três grupos por hidrogenação catalítica. Os autores procederam, do mesmo modo, à síntese das triaminas norespermidina e homoespermidina, efectuando a bis-alquilação, respectivamente, com acrilonitrilo e 4-clorobutanonitrilo e subsequente redução dos grupos nitrilo. A cianoetilação da benzilamina com acrilonitrilo prosseguiu, suavemente, à temperatura ambiente, enquanto que a bis-alquilação com este mesmo reagente e a alquilação com 4-clorobutanonitrilo necessitaram de tempos de reacção mais prolongados e temperaturas mais elevadas. Todos os intermediários isolados eram estáveis e facilmente purificados por destilação. No caso do 4-benzil-4-azaeptanodinitrilo, a purificação foi conseguida por cromatografia

em coluna para evitar a ocorrência de alguma eliminação de acrilonitrilo, durante a destilação.

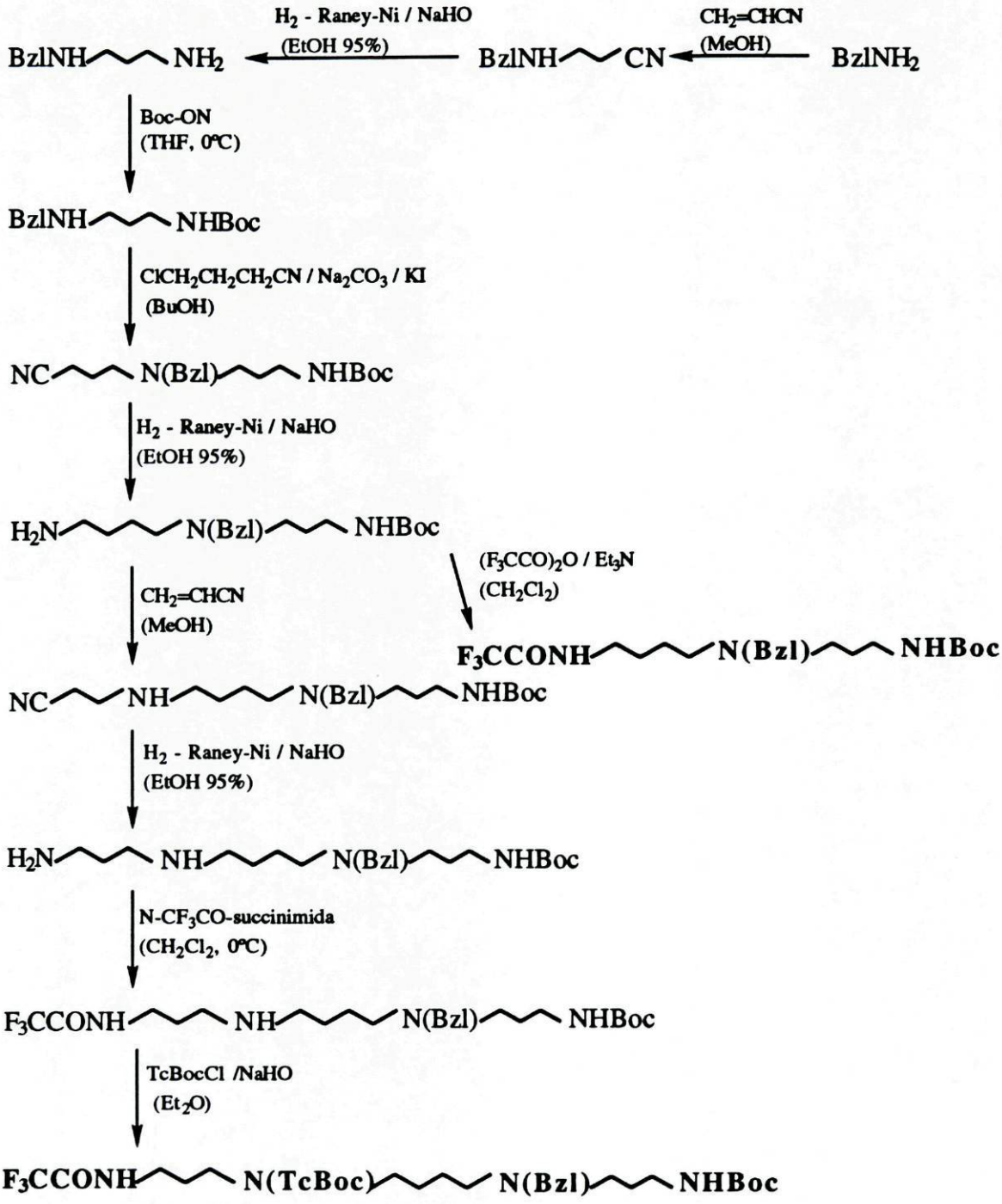
O método de síntese descrito permitiu ultrapassar um dos maiores problemas inerentes à preparação de derivados selectivamente modificados das triaminas, ao possibilitar a derivatização selectiva dos grupos amino primários e secundário. As N-benziltriaminas preparadas deste modo constituiram percursores muito úteis na síntese de modelos de sideróforos e de sideróforos naturais[56].

Vogtle e colaboradores[57] usaram esta sequência de reacções de adição de acrilonitrilo e de redução dos grupos nitrilo com Co (II) / $NaBH_4$, para obter uma série de poliaminas, contendo funções amina primárias nos extremos das cadeias poliamínicas. Este grupo de investigadores preparou as chamadas poliaminas em "cascata" que funcionam como ligandos para espécies iónicas com interesse biológico (Esquema 12).



Esquema 12 - Síntese duma poliamina em "cascata"[57].

Após terem sintetizado a N^4-benzilespermidina[54], que desempenhou um papel fundamental na acilação selectiva dos grupos amino primários da espermidina, e a N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina[58], que permitiu a acilação selectiva do grupo amino secundário, Bergeron e colaboradores apresentaram um esquema de síntese de triaminas contendo três grupos de N-protecção diferentes que possibilitou a funcionalização selectiva dos três grupos amino[59]. Os reagentes utilizados nesta síntese foram usados, mais tarde, pelos mesmos investigadores, na preparação da espermina com quatro grupos de N-protecção independentes[60]. A síntese destas poliaminas teve início a partir da reacção da benzilamina com acrilonitrilo. O nitrilo obtido foi reduzido à diamina correspondente, utilizando Raney-Ni como catalisador. Após protecção do grupo amino primário por reacção da diamina com 2-[(*terc*-butiloxicarboniloxi)imino]-2--fenilacetonitrilo (Boc-ON), introduziram a porção aminobutílica através da alquilação com 4-cloro-butanonitrilo. O passo seguinte consistiu na redução catalítica do nitrilo formado. O grupo amino primário do produto desta redução foi posteriormente protegido por acilação com anidrido trifluoroacético dando origem à espermidina triprotegida. A preparação da espermina selectivamente substituída em todas as funções amina, com grupos de protecção diferentes, foi efectuada a partir da N^1-Boc-N^4-Bzl-N^8-(2--cianoetil)espermidina, por redução do grupo nitrilo e subsequente introdução dos grupos trifluoroacetilo e 2,2,2-tricloro-1,1-dimetiletiloxicarbonilo, respectivamente, nas funções amina primária e secundária da tetraamina diprotegida (Esquema 13).

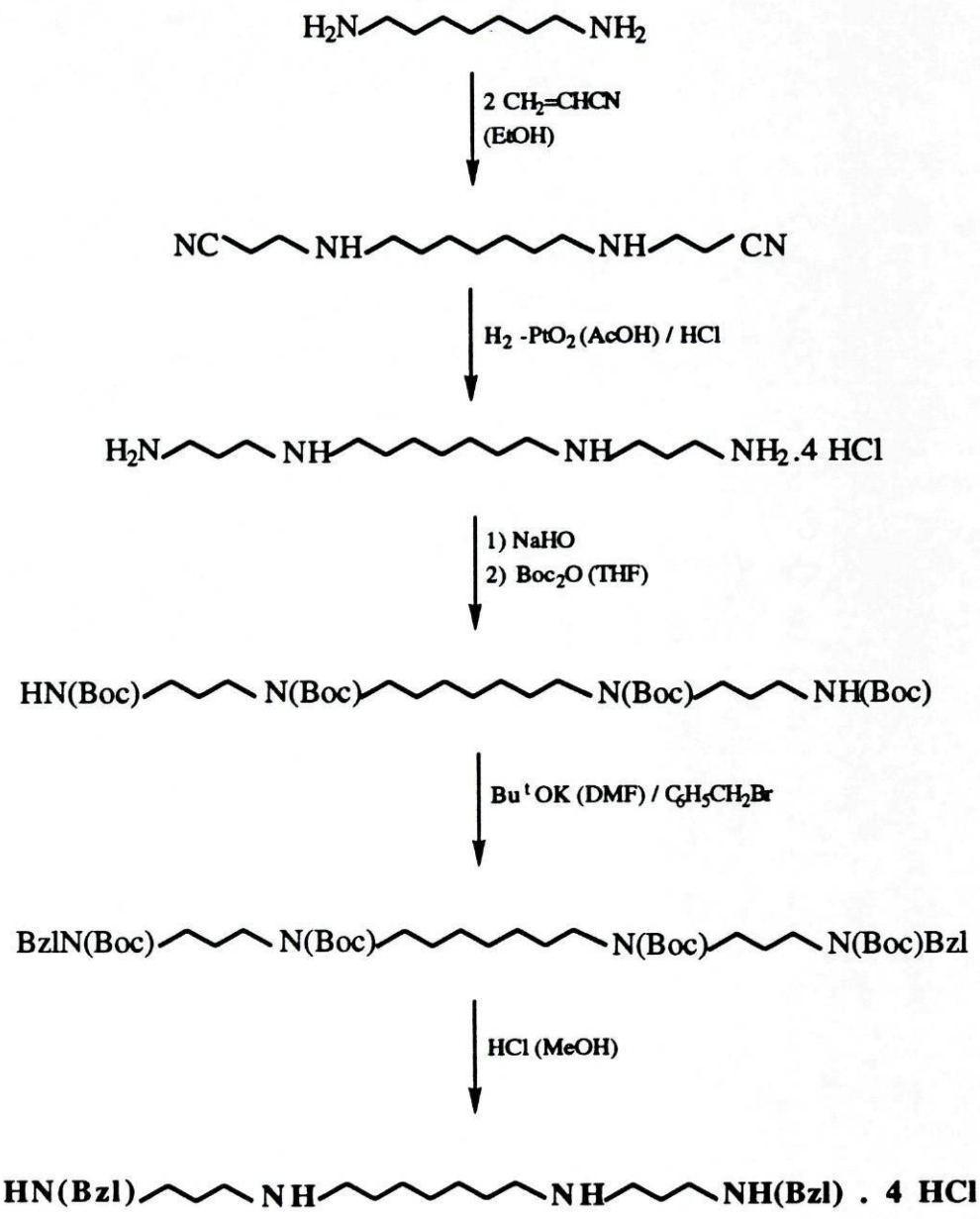


Esquema 13 - Síntese da espermidina e da espermina selectivamente protegidas em todos os grupos amino[59,60].

Dos passos mais importantes nestas sínteses destacam-se os que envolvem a redução dos grupos nitrilo que decorrem com rendimentos apreciáveis. Embora muitas aminas obtidas por síntese sejam produto da redução dos correspondentes nitrilos, até

serem divulgados os resultados de Bergeron e colaboradores, não estava estabelecido um método geral e conveniente para esta conversão efectuada numa escala preparativa[61].

Os trabalhos publicados por Edwards e colaboradores[62] sobre a preparação de tetraaminas com actividade biológica, constituem exemplos mais recentes da aplicação do método da redução de nitrilos à síntese de poliaminas. Este grupo de investigação sintetizou, entre outras, a tetraamina $H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_8NH(CH_2)_3NH_2$, verificando que se comporta como inibidora de tumores quando co-administrada com uma poliamina oxidase em células leucémicas L 1210, e a tetraamina dibenzilada, $BzlNH(CH_2)_3NH(CH_2)_7NH(CH_2)_3NHBzl$ (preparada segundo o esquema 14) que apresenta actividade anti-malária.



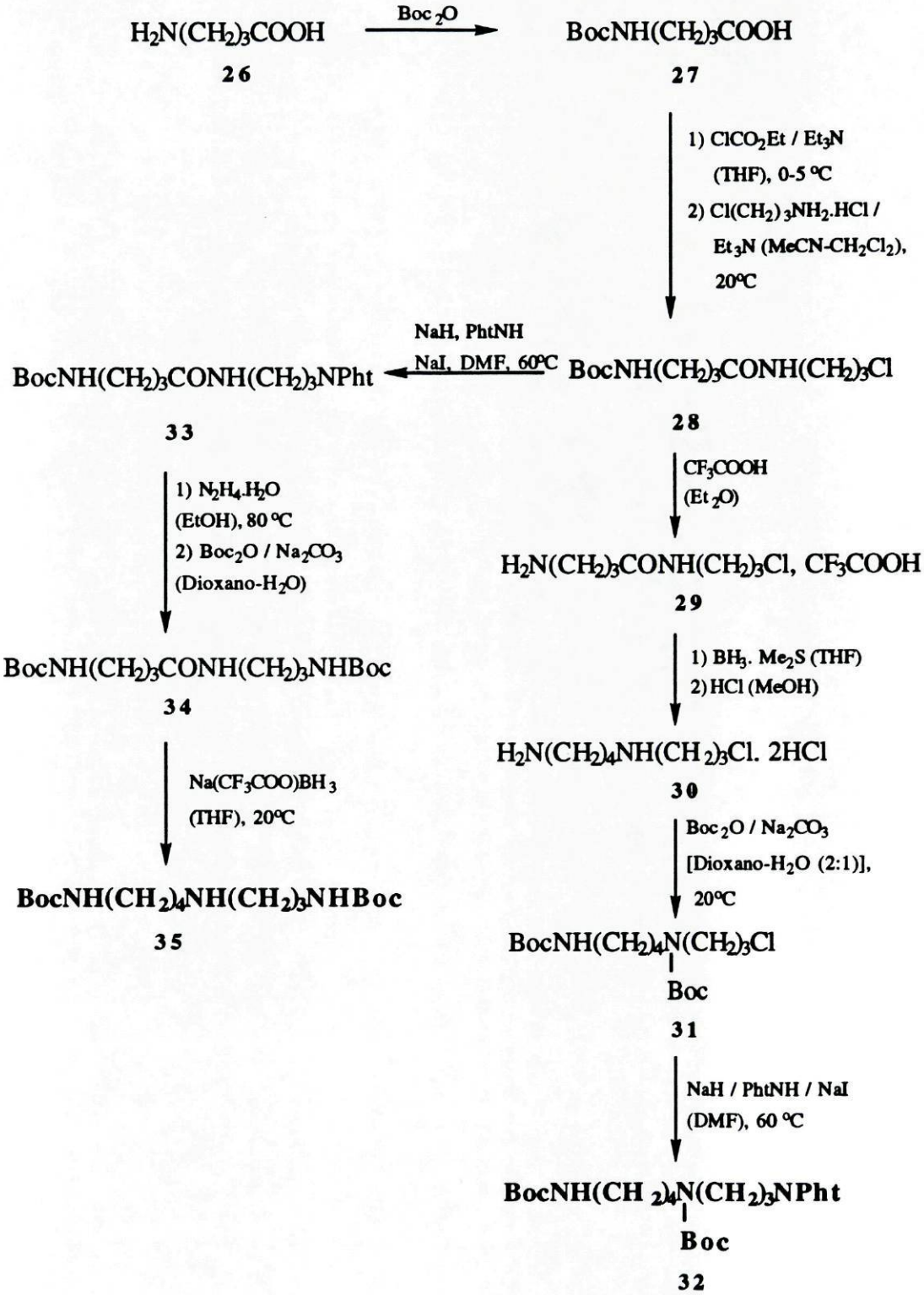
Esquema 14 - Síntese da tetraamina N^1,N^{15}-dibenzil-4,12-diazapentadecanodiamina[62].

2.2.2 - Redução de amidas

A formação de novas ligações C-N através das reacções características utilizadas na síntese de amidas permite aumentar o número de funções amina e, consequentemente, o tamanho da cadeia poliamínica, após redução dos grupos carbamoílo.

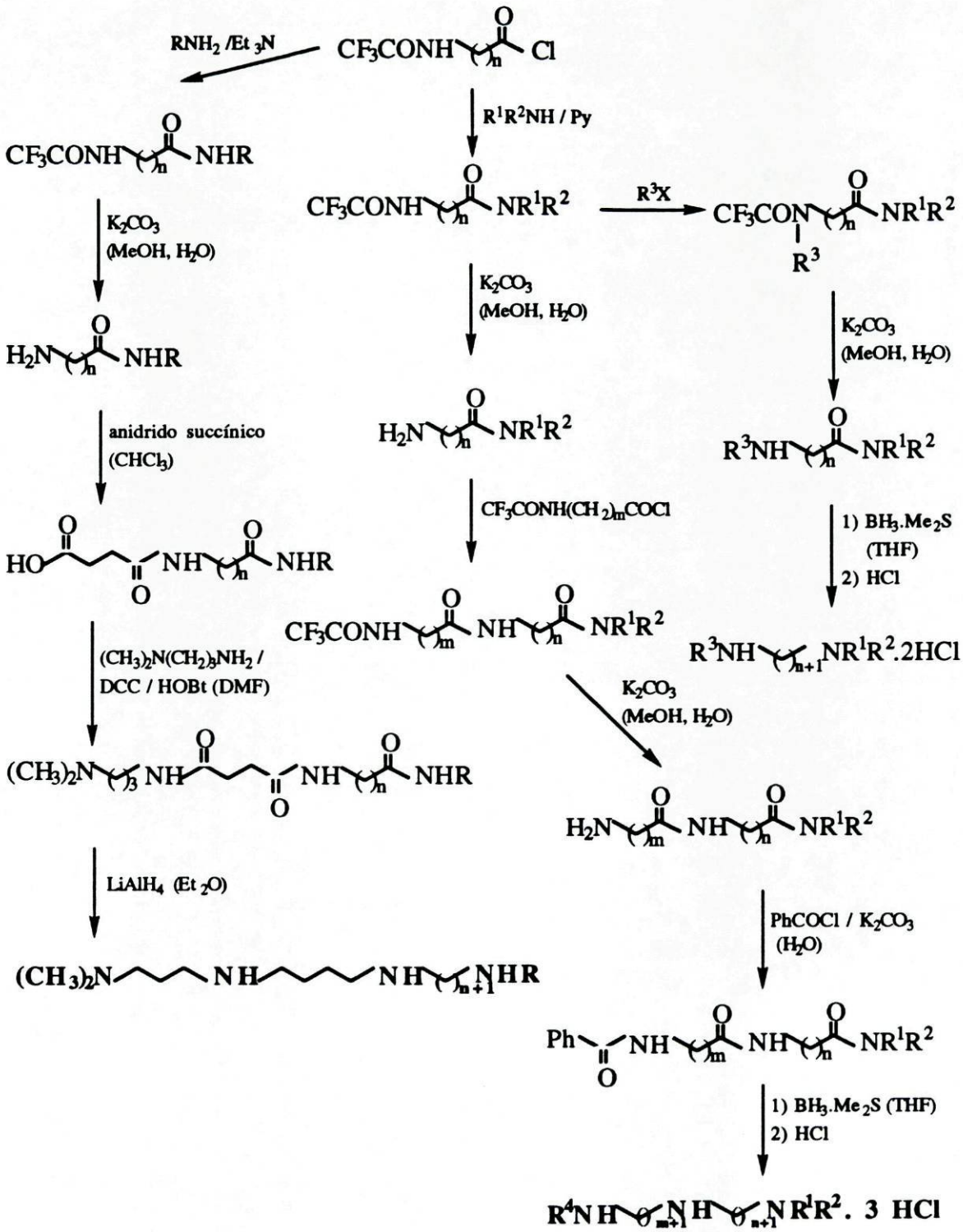
A aplicação desta metodologia pode ser ilustrada com o procedimento eficaz que Das e colaboradores[63] desenvolveram para a síntese do derivado totalmente protegido da espermidina **32**, quando realizaram estudos com amidas formadas através da condensação de ácidos hidroxicinâmicos com as poliaminas alifáticas naturais mais comuns.

O composto **32** constitui um intermediário apropriado para a preparação regiosselectiva de derivados da espermidina monoacilados nas posições N^1 ou N^8 dependendo das condições utilizadas para a remoção dos grupos de N-protecção da N^4,N^8-Boc_2-N^1-Pht-espermidina. A preparação deste intermediário envolveu a condensação da 3-cloropropilamina com o anidrido misto {formado por reacção do ácido 4-[(N-*terc*-butiloxicarbonil)amino]butírico com o clorometanoato de etilo}, dando origem à amida **28**. Após remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo do composto **28**, foi efectuada a redução do grupo carbamoílo com o complexo $BH_3.Me_2S$ para dar a amina **30**. A introdução sucessiva dos grupos de N-protecção Boc e Pht levou à formação da triamina totalmente protegida **32**. Uma desvantagem inerente a este procedimento reside no facto da redução, quer com $BH_3.Me_2S$ quer com $Na(CF_3COO)BH_3$, não ser selectiva para o grupo carbamoílo do composto **28**, ocorrendo simultaneamente a conversão do grupo Boc no grupo metilo. Por este motivo, a síntese da triamina em questão envolveu um maior número de passos (Esquema 15). A amida intermediária **28** constitui, ainda, um reagente adequado para a preparação da N^1,N^8-Boc_2-espermidina (**35**) necessária à síntese de N^4-acilespermidinas[64]. Neste caso, a redução do composto **34** com $Na(CF_3COO)BH_3$ originou a correspondente amina secundária com um rendimento razoável (65%).



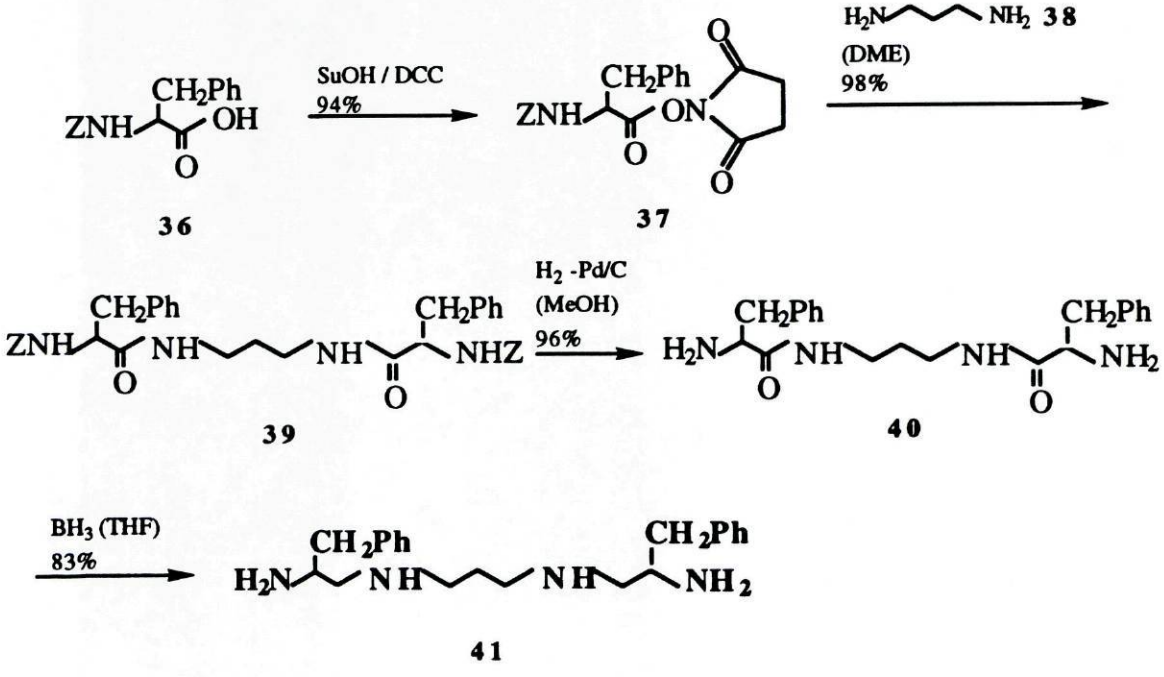
Esquema 15 - Síntese da N^4,N^8-Boc_2-N^1-Pht-espermidina e da N^1,N^8-Boc_2-espermidina[63,64].

De acordo com a metodologia que tem vindo a ser referida, Nordlander e colaboradores[65] apresentaram um esquema versátil para a síntese de poliaminas lineares regioespecificamente N-mono- ou polialquiladas. O método proposto baseou-se na formação e consequente redução das ligações do tipo amida, em conjugação com a trifluoroacetilação dos grupos amino primários. O grupo trifluoracetilo desempenhou a dupla função de proteger o grupo amino e de controlar a monoalquilação desse mesmo grupo. Esta estratégia permitiu a síntese de di-, tri- e tetraaminas com inúmeras combinações de substituintes alquilo, habitualmente usados, nos grupos amino terminais. Deste modo, foram sintetizados, entre outros, vários derivados das poliaminas naturais putrescina, espermidina (por ex: N^1-benzil-N^8,N^8-dimetilespermidina) e espermina [por ex: N^1-(1-adamantil)-N^{12},N^{12}-dimetilespermina] (Esquema 16).



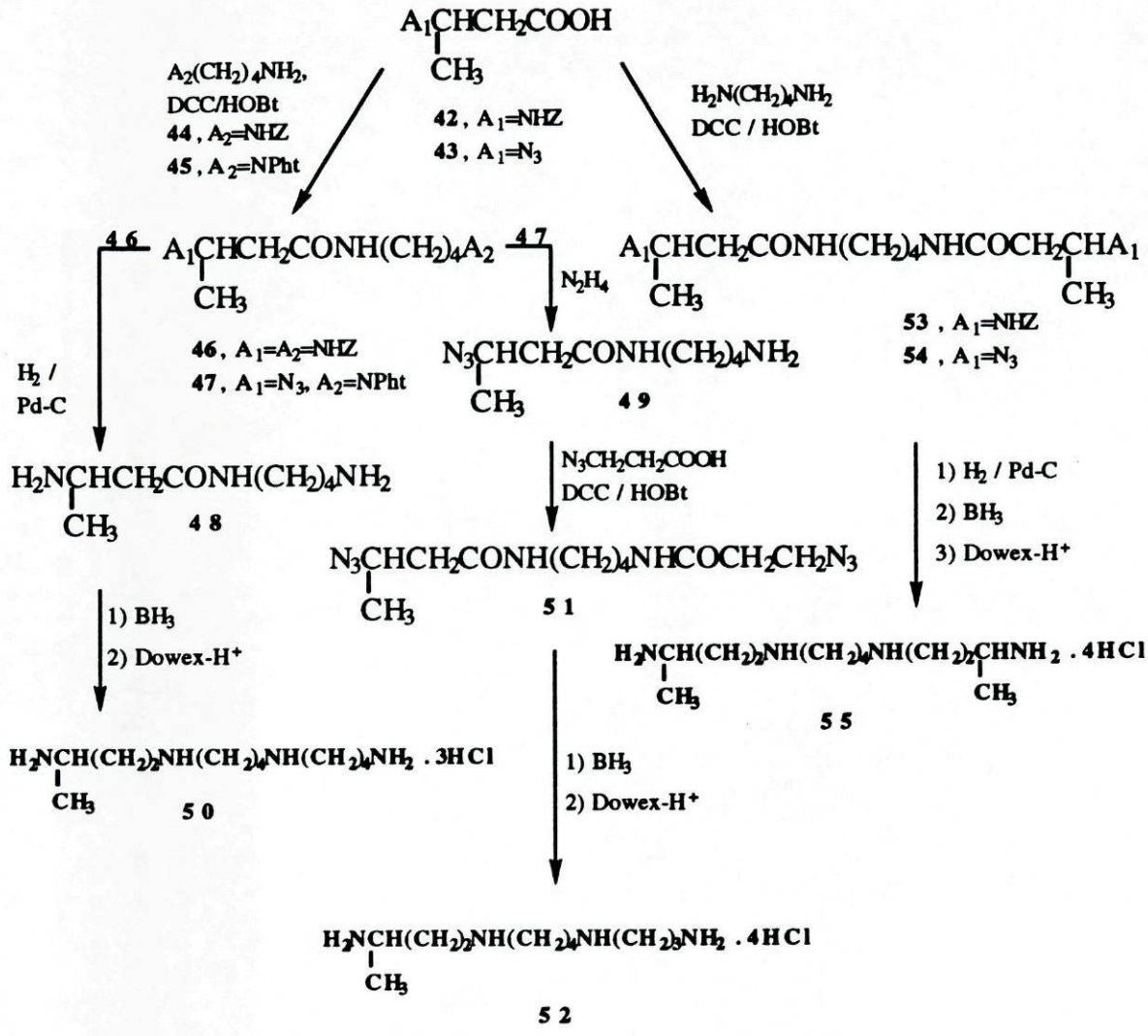
Esquema 16 - Síntese de derivados de poliaminas contendo substituintes alquilo nos grupos amino terminais[65]; m=1, 2 e 3; n=1, 2 e 3.

Durante a preparação de uma dioxociclama derivada da L-fenilalanina, com interesse biológico devido à sua capacidade para formar complexos com metais de transição tais como Co(II), Ni(II), Pt(II) e Cu(II) e para estabilizar estados de oxidação mais elevados de alguns destes iões, Burrows e colaboradores[66] utilizaram uma metodologia para a formação da cadeia poliamínica daquele macrociclo baseada na condensação de um aminoácido com uma diamina, seguida da redução dos grupos carbamoílo formados. Numa primeira fase, foi obtido o éster activado **37** por reacção da N-benziloxicarbonil-L-fenilalanina com N-hidroxissuccinimida, na presença de DCC. A reacção de condensação entre dois equivalentes deste éster e um equivalente de 1,3--propanodiamina (**38**) levou à formação da diamida **39**. Após remoção dos grupos benziloxicarbonilo, por hidrogenação catalítica, e redução dos grupos carbamoílo do composto **40** com borano em THF, obteve-se a tetraamina **41**. Todas as reacções envolvidas nesta síntese produziram sólidos cristalinos com rendimentos elevados (Esquema 17) o que torna este método atraente para a síntese de tetraaminas com estruturas simétricas.



Esquema 17 - Síntese da tetraamina 1,9-dibenzil-3,7-diazanonanodiamina[66].

Mais recentemente, e ainda baseados no método que tem vindo a ser referido, Lakanen e colaboradores[5] sintetizaram a 1-metilespermidina, com o objectivo de estudarem a tolerância da enzima espermina sintase relativamente a substratos contendo substituintes no carbono α da porção aminopropílica da espermidina. Os autores verificaram que a 1-metilespermidina constitui um substrato fraco para a enzima espermina sintase e que não se comporta como substrato da enzima espermidina N^1-acetiltransferase. Estes resultados sugerem que as poliaminas α-metiladas podem ser metabolicamente estáveis e, portanto, constituirem compostos úteis para o estudo dos efeitos das poliaminas nas células intactas. Ao alargar este estudo às poliaminas 1-metilespermina e 1,12-dimetilespermina, aquele grupo de investigadores concluiu que as poliaminas α-metiladas são capazes de substituir as poliaminas naturais envolvidas em processos bioquímicos críticos para a continuação do crescimento celular.



Esquema 18 - Síntese da 1-metilespermidina, da 1-metilespermina e da 1,12-dimetilespermina[5].

A estratégia usada na síntese das poliaminas contendo um substituinte metilo no átomo de carbono α envolveu a formação de uma ligação amida entre um β-aminoácido apropriadamente substituído ou um ácido β-azidocarboxílico e um derivado devidamente protegido da putrescina. Uma vez formada esta ligação, a redução da amida a uma amina secundária, após remoção dos grupos de N-protecção terminais, levou à formação das poliaminas requeridas. A sequência de reacções efectuada encontra-se representada no esquema 18. O primeiro passo da síntese da 1-metilespermidina consistiu na preparação do aminoácido percursor **42** para a reacção de condensação com o N^4-Z-1,4-

-diaminobutano (**44**). Assim, o ácido D,L-3-(Z-amino)butírico (**42**) reagiu com o composto **44** na presença de DCC / HOBt originando a triamida **46**. A insolubilidade do intermediário **46** em muitos solventes orgânicos (entre eles o THF) além de dificultar a sua separação do produto secundário DCU, tornou impraticável a redução da função amida de **5** por acção de BH_3.THF. Este problema foi ultrapassado removendo os grupos benziloxicarbonilo da triamida **46** antes da função amida ser reduzida, uma vez que o composto obtido (**48**) era muito solúvel no meio usado para efectuar esta redução, permitindo assim a obtenção da 1-metilespermidina com um rendimento de 36%. Dado os problemas de solubilidade encontrados na síntese da 1-metilespermidina, foi seguida uma metodologia ligeiramente diferente na preparação da 1-metilespermina, em que se substituiu os grupos amino Z-protegidos por grupos azido menos polares. Por outro lado, esta metodologia apresenta a vantagem de se proceder à redução simultânea dos grupos carbamoílo e azido, diminuindo o número de passos necessários para a referida síntese. Deste modo, a preparação da 1-metilespermina (**52**) foi conseguida através da reacção de condensação do ácido 3-azidobutírico (**43**) com a N^4-ftaloil-1,4-butano-diamina (**45**), seguida da remoção do grupo ftaloílo para se obter o composto **49** que foi submetido a uma reacção de condensação com o ácido 3-azidopropanóico, e por fim, da redução directa dos grupos carbamoílo e azido com BH_3.THF. A N^1,N^{12}-dimetilespermina (**55**) foi obtida por um processo idêntico através da condensação da putrescina com duas moléculas do ácido carboxílico **42** ou **43**, dando origem à diamida simétrica **53** ou **54** , seguida da remoção dos grupos Z e da posterior redução dos grupos carbamoílo ou da redução simultânea das funções amida e azida.

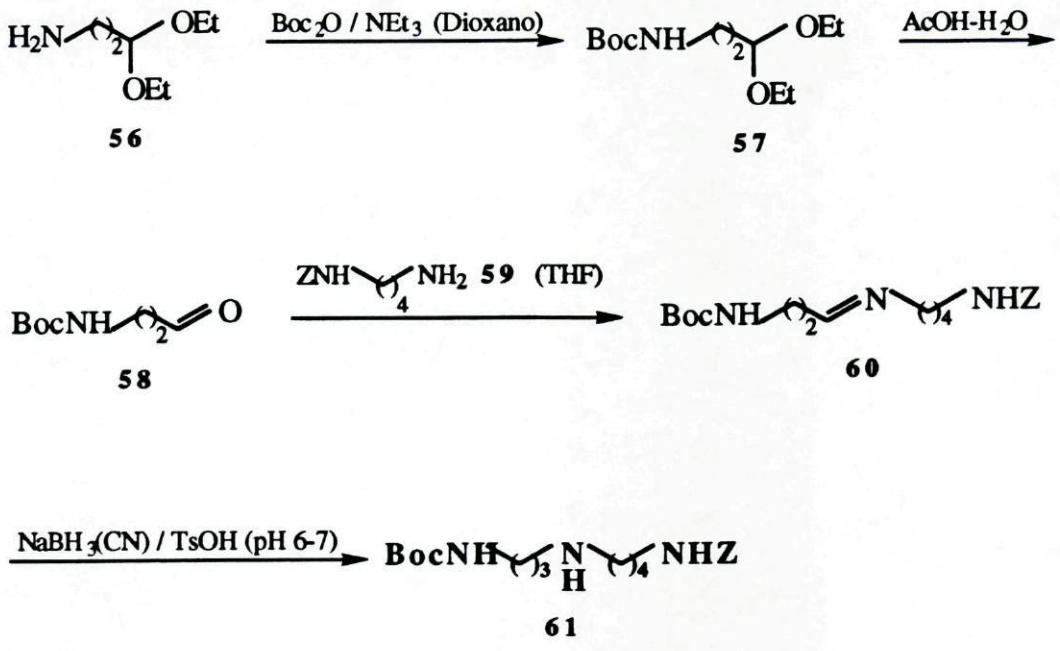
Embora o método usado por Lakanen para a síntese de poliaminas implique um número relativamente pequeno de passos, a sua aplicação é limitada uma vez que os rendimentos das reacções que levam à formação dos produtos finais são baixos.

2.2.3 - Redução de iminas

A aminação de aldeídos e de cetonas, que contenham grupos amino devidamente protegidos, por reacção com aminas primárias de cadeia apropriada, seguida de redução das iminas formadas, constitui uma metodologia alternativa para a extensão da cadeia poliamínica. A reacção em questão é efectuada na presença de um agente redutor adequado de modo a que as iminas intermediárias formadas sejam imediatamente reduzidas às respectivas aminas. A redução das iminas, durante este processo, pode ocorrer via hidrogenação catalítica (Raney-níquel ou platina) ou pela acção de hidretos de metais tais como cianotriidretoborato de sódio ou de lítio[67]. Após redução das iminas e posterior remoção dos grupos de N-protecção, obtêm-se as cadeias poliamínicas com a estrutura pretendida.

Assim, de acordo com esta metodologia, Haemers e colaboradores[68] descreveram um procedimento rápido e eficaz para a síntese total da poliamina natural espermidina selectivamente funcionalizada (Esquema 19). Após terem protegido o grupo amino do acetal **56**, por reacção com Boc_2O, procederam à hidrólise do composto **57** com ácido acético diluído de modo a obterem o 3-[(N-*terc*-butiloxicarbonil)amino]propanal (**58**) necessário para a reacção de condensação com a N-Z-putrescina. A aminação redutiva, efectuada na presença do agente redutor cianotriidretoborato de sódio, originou a N^1-Boc-N^8-Z-espermidina (**61**) que foi usada na preparação de moléculas de espermidina selectivamente substituídas nos seus três grupos amino. Na preparação destes derivados foram empregues os grupos de N-protecção Boc, Z e Fmoc.

Embora o procedimento descrito seja apropriado para a síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina, a sua aplicação na síntese total de poliaminas parece ser limitada, uma vez que a aminação redutiva, que permite a extensão da cadeia, ocorre com baixo rendimento (32%).



Esquema 19 - Síntese da N^1-Boc-N^8-Z-espermidina[68].

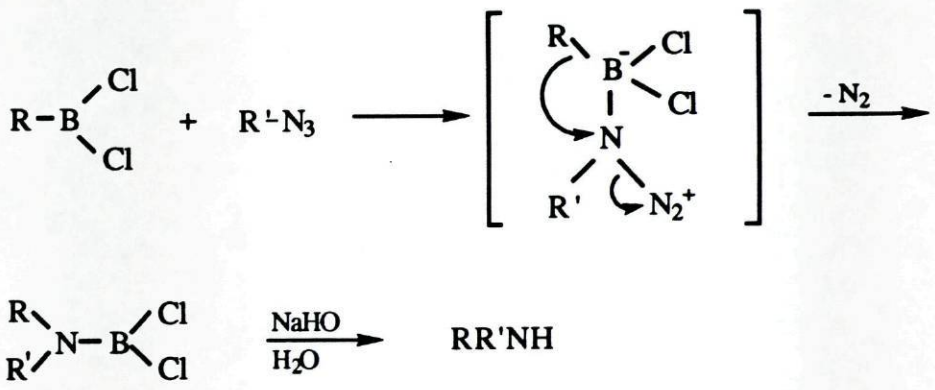
Uma metodologia idêntica à referida anteriormente, já tinha sido usada na síntese de N^1-, N^4- e N^8-acetilespermidinas em que a base de Schiff formada foi reduzida com $NaBH_4$[69].

A aminação redutiva de aldeídos e de cetonas foi ainda aplicada na preparação de outros derivados de poliaminas naturais[70,71]. Quando a base de Schiff é suficientemente estável, pode ser isolada antes da sua conversão, por redução, na amina correspondente, o que permite evitar a formação de aminas terciárias por reacção com algum aldeído presente na mistura reaccional a que se adiciona o agente redutor.

Na maioria dos casos, em que as iminas formadas não são suficientemente estáveis ou em que o equilíbrio para a formação da base de Schiff é demasiado desfavorável para permitir o seu isolamento, a redução daqueles intermediários foi efectuada na mistura reaccional. Neste caso, são conhecidos exemplos em que os produtos requeridos se obtêm, quer com rendimentos elevados[72], quer com rendimentos baixos[71,73] devido, provavelmente, à reacção secundária referida.

2.2.4 - Redução de azidas

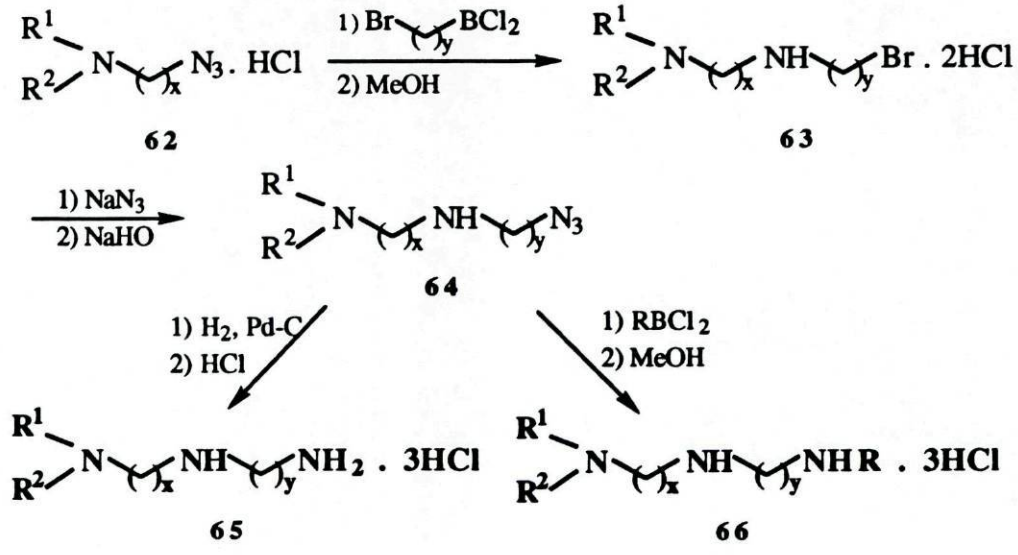
O anião azoteto, N_3^-, é um bom nucleófilo e, por isso, tem vindo a ser usado na formação de ligações carbono-azoto através de reacções de substituição nucleófila bimolecular. A redução das azidas obtidas, tanto por hidrogenação catalítica como pela acção de outros reagentes redutores apropriados, permite a formação de aminas primárias[74]. Quando se pretende preparar aminas secundárias, um dos procedimentos mais eficazes consiste na alquilação redutiva de alquilazidas com monoalquil- ou aril-dicloroboranos[75,76](Esquema 20).



Esquema 20 - Formação de aminas secundárias através da alquilação redutiva com monoalquildicloroboranos.

Para além desta reacção possuir uma boa quimiosselectividade e prosseguir com retenção da configuração do grupo alquilo que migra do borano para o grupo azido, permite evitar a formação de produtos polialquilados que geralmente ocorre, por exemplo, na reacção de aminas primárias com halogenetos de alquilo[77].

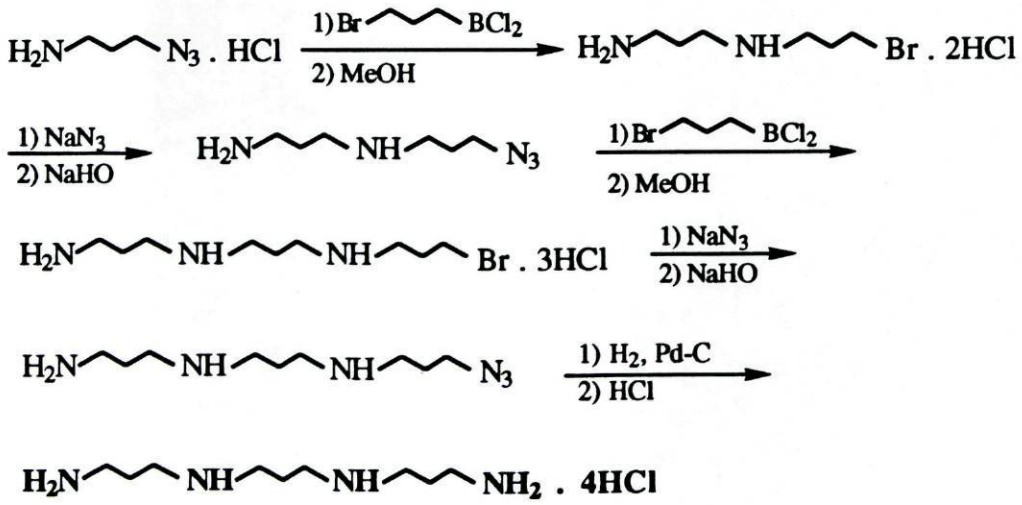
Carboni e colaboradores[78] desenvolveram novas vias para a síntese regioespecífica de poliaminas alifáticas, usando 1,ω-aminoalquilazidas como unidades percursoras na formação da ligações C-N. A extensão da cadeia poliamínica a partir da extremidade que contém o grupo azido foi conseguida por reacção das 1,ω-amino-alquilazidas com (ω-bromoalquil)dicloroboranos. O interesse do uso destes compostos bifuncionais (1,ω-aminoalquilazidas) na síntese de poliaminas, reside no facto de que cada grupo que contém azoto reage independentemente, o que permite a extensão da cadeia poliamínica com total regiocontrolo. Assim, a alquilação redutiva com (ω-bromo-alquil)dicloroboranos ocorre somente no grupo azido, deixando o grupo amino disponível para uma posterior extensão da cadeia através, por exemplo, da reacção com acrilonitrilo ou da aminação redutiva com uma azidoalquilcetona. Por outro lado, este procedimento apresenta a vantagem de não envolver os habituais passos de introdução e remoção dos grupos de N-protecção necessários quando se efectua a síntese de poliaminas partindo de α,ω-alcanodiaminas. Este método foi usado na preparação de poliaminas regiosselectivamente C- ou N-substituídas. O esquema 21 ilustra a preparação de triaminas com um número variável tanto de grupos metileno entre as funções amina como de substituintes alquilo nos grupos amino terminais.



Esquema 21 - Síntese de triaminas selectivamente substituídas nos grupos amino terminais[78]; x=2 e 3; y=3.

O primeiro passo da síntese destas triaminas consistiu na alquilação redutiva das 1,ω-aminoalquilazidas **62** com (ω-bromoalquil)dicloroboranos. Após metanólise, isolaram-se as diaminas **63**. A introdução de uma nova ligação carbono-azoto foi conseguida através da substituição nucleófila do átomo de halogénio das diaminas **63** pelo grupo azido (por reacção com azoteto de sódio em água). As azidas **64**, obtidas após tratamento com hidróxido de sódio, foram convertidas em diferentes triaminas de acordo com o método de redução empregue. Assim, a hidrogenação catalítica daquelas azidas levou à formação das triaminas **65** que continham, na sua estrutura, um grupo amino primário, enquanto que a alquilação redutiva com alquildicloroboranos, seguida de metanólise, originou as triaminas **66** com o mesmo grupo amino terminal mono-substituído. Todos os passos envolvidos na síntese das triaminas levaram à obtenção de produtos com bons rendimentos, não sendo necessário utilizar técnicas de purificação sofisticadas.

A síntese de triaminas, através deste procedimento, foi ainda alargada à preparação de tetraaminas como a termina, em que foram usados como reagentes de partida a azida $H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_3N_3$ e o 3-bromopropildicloroborano, $Br(CH_2)_3BCl_2$ (Esquema 22)[78].



Esquema 22 - Síntese da termina[78].

Uma vez que o grupo azido é compatível com numerosos reagentes[79], o aumento do número de ligações C-N nas poliaminas pode efectuar-se pela extremidade que contém o grupo amino, deixando o grupo azido inalterado. A utilidade em síntese das 1,ω-aminoalquilazidas não se restringe à metodologia baseada na sua alquilação redutiva, uma vez que a síntese da 5-metilespermidina pode ser efectuada por dois processos alternativos, usando como intermediárias duas 1,ω-aminoalquilazidas diferentes, $H_2N(CH_2)_3N_3$ e $H_2NCH(CH_3)CH_2CH_2CH_2N_3$. No primeiro caso, a aminação redutiva da 3-aminopropilazida com 5-azido-2-pentanona, na presença de cianotriidre-toborato de sódio, originou a bis-azida $N_3CH_2CH_2CH_2CH(CH_3)NHCH_2CH_2CH_2N_3$ que, por hidrogenação catalítica (H_2, Pd-C), foi convertida na triamina requerida. No segundo caso, a adição de Michael da 4-amino-4-metilbutilazida a acrilonitrilo produziu a azida $N_3CH_2CH_2CH_2CH(CH_3)NHCH_2CH_2CN$, que foi reduzida na presença de Raney-níquel para originar a respectiva triamina.

A metodologia descrita pelo grupo de investigadores referido constitui uma contribuição muito positiva para a síntese de poliaminas selectivamente C- e / ou N-substituídas.

3 - Protecção selectiva de grupos amino primários e secundários em poliaminas

Em sínteses que envolvem poliaminas é quase sempre necessário recorrer à protecção selectiva dos diferentes grupos amino, por meio da introdução de grupos funcionais adequados. Assim, têm sido investigadas várias metodologias que permitem modificar grupos amino sem alterar a restante estrutura da molécula. Os métodos de protecção desenvolvidos para cada tipo de grupo amino, quando devidamente aplicados, possibilitam que as modificações nas várias funções amina decorram na sequência desejada e evitam a formação de misturas de produtos. A N-protecção é pois utilizada para proteger todas as funções que possam reagir, deixando livres os grupos onde se pretende efectuar uma modificação. O uso de grupos de N-protecção adequados permite:

- introduzir grupos diferentes que, oportunamente, possam ser de protecção;
- modificar a estrutura por alquilação e / ou acilação, permitindo por exemplo, ramificar e / ou aumentar a cadeia poliamínica;
- utilizar unidades parcialmente protegidas em sínteses convergentes com outras estruturas mais complexas, para a formação de alcalóides, sideróforos, toxinas e outros compostos biologicamente importantes;

Para além da metodologia escolhida, tem particular importância a táctica seguida na protecção dos diversos grupos amino de modo que a introdução e a remoção dos grupos de N-protecção, ao longo da sequência reaccional pretendida, se efectue com bons rendimentos e em condições suaves, não afectando as restantes funções presentes na cadeia poliamínica. Por outro lado, os grupos de N-protecção, enquanto inseridos numa dada estrutura, devem ser estáveis nas condições reaccionais usadas durante as diferentes fases da síntese.

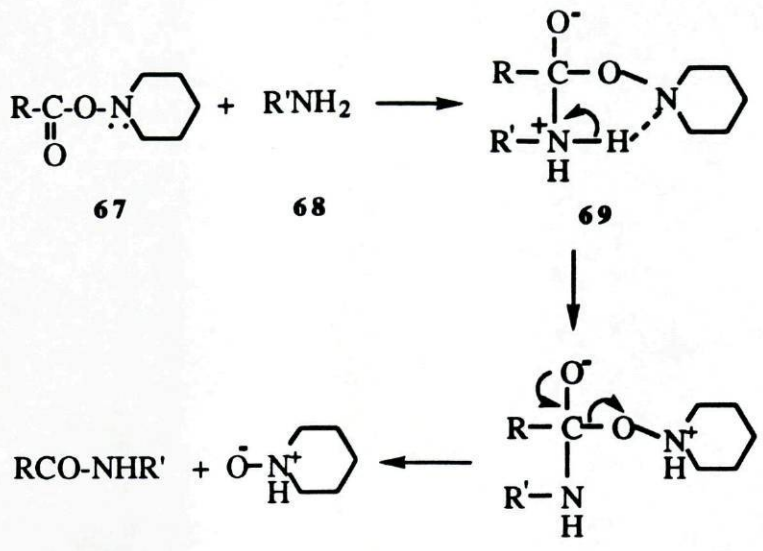
Em seguida, apresentam-se, resumidamente, os métodos de protecção selectiva mais comuns para os grupos amino primários e secundários, com aplicação na síntese de poliaminas e seus derivados.

3.1 - Protecção de aminas primárias

A protecção de funções amina primárias é conseguida, em geral, através de reacções de alcoxicarbonilação e de acilação, com reagentes apropriados, originando os respectivos carbamatos e amidas[80]. De entre os reagentes usados para a introdução dos grupos acilo destacam-se os ésteres 1-piperidílicos, as 3-acil-1,3-tiazolidina-2-tionas, os acilimidazóis, os derivados do ácido ftálico, os alcano- e acilnitrilos e as 3-acil-2-oxazolonas. Por sua vez, a alcoxicarbonilação é efectuada por reacção dos grupos amino primários com 3-alcoxicarbonil-1,3-tiazolidino-2-tionas, alcoxicarbonilimidazóis, alcoxicarbonilnitrilos e / ou 3-alcoxicarbonil-2-oxazolonas.

3.1.1 - Por acção de ésteres 1-piperidílicos

Os ésteres activados 1-piperidílicos **67**, muito usados em síntese peptídica, são certamente adequados para a acilação selectiva de aminas primárias. A reacção da 1-benzoiloxipiperidina, em condições suaves, com as aminas fortemente nucleófilas n-butilamina e benzilamina é praticamente quantitativa enquanto que não ocorre com a anilina e a *terc*-butilamina[81]. A selectividade e a velocidade da benzoilação foram explicadas por Young e colaboradores[82], ao sugerirem que o aduto **69** e o estado de transição que o precede podem ser estabilizados através de uma ligação de hidrogénio e que a transferência subsequente do protão acelera consideravelmente o passo final (de acordo com o esquema 23).



67 68 69

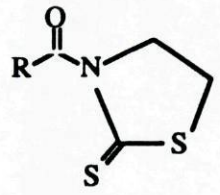
Esquema 23 - Mecanismo proposto por Young para a acilação de uma amina primária com um éster 1-piperidílico[82].

A formação da ligação de hidrogénio não é possível no caso de aminas terciárias e pode ser impedida por efeitos de inibição estereoquímica.

Mais tarde, Husson e colaboradores[83] demonstraram que os ésteres 1-piperidílicos permitem a 1,8-bis-acilação regiosselectiva e quantitativa da espermidina. Os intermediários obtidos foram utilizados para sintetizar, pela primeira vez, a (±) tetra-idrolunaridina (um alcalóide da espermidina) e vários outros derivados de poliaminas com interesse biológico[84,85].

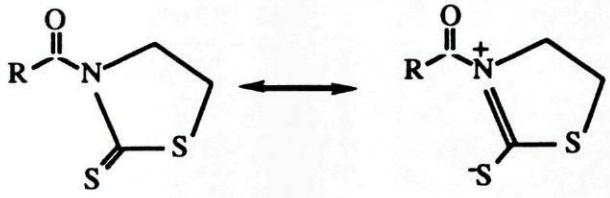
3.1.2 - Por acção de 3-alcoxicarbonil- e 3-acil-1,3-tiazolidina--2-tionas

Os derivados da 3-acil-1,3-tiazolidina-2-tiona (ATT) constituem agentes acilantes altamente reactivos em relação a nucleófilos tais como aminas, ião hidreto e arilcarbaniões[86].



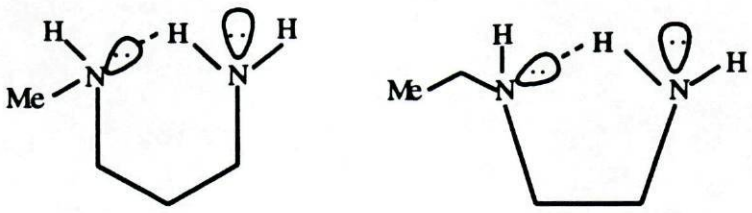
70

Estes compostos contêm um bom grupo de saída, o grupo 2-tiocarbonil-tiazolinilo, e apresentam uma elevada reactividade que pode ser explicada pelo facto do par de electrões não compartilhado do átomo de azoto da amida estar conjugado com o grupo tiocarbonilo. Daí se atribuir uma maior contribuição à forma canónica **70b** para a estrutura mais provável da ATT.



70a **70b**

A reacção entre uma 3-acil-1,3-tiazolidina-2-tiona e uma diamina ou poliamina que contenha na sua estrutura grupos amino primários e secundários, ocorre de preferência, com transferência do grupo acilo para as aminas primárias. A selectividade da acilação é favorecida pela activação do grupo amino primário, por formação de uma ligação de hidrogénio intramolecular entre um grupo amino primário e um secundário da poliamina, quando há a possibilidade de se formar um anel pentagonal ou hexagonal (Esquema 24).



Esquema 24 - Formação de uma ligação de hidrogénio intramolecular entre o grupo amino primário e o grupo amino secundário de diaminas[87].

Fujita e colaboradores[88] verificaram que a velocidade de aminólise depende da densidade electrónica do átomo de azoto da amina e da sua vizinhança estereoquímica. Um estudo comparativo da velocidade de acilação de várias aminas levou à seguinte seriação:

amina alifática > amina aromática

$RCH_2NH_2 > R_2CHNH_2 >>> R_3CNH_2$

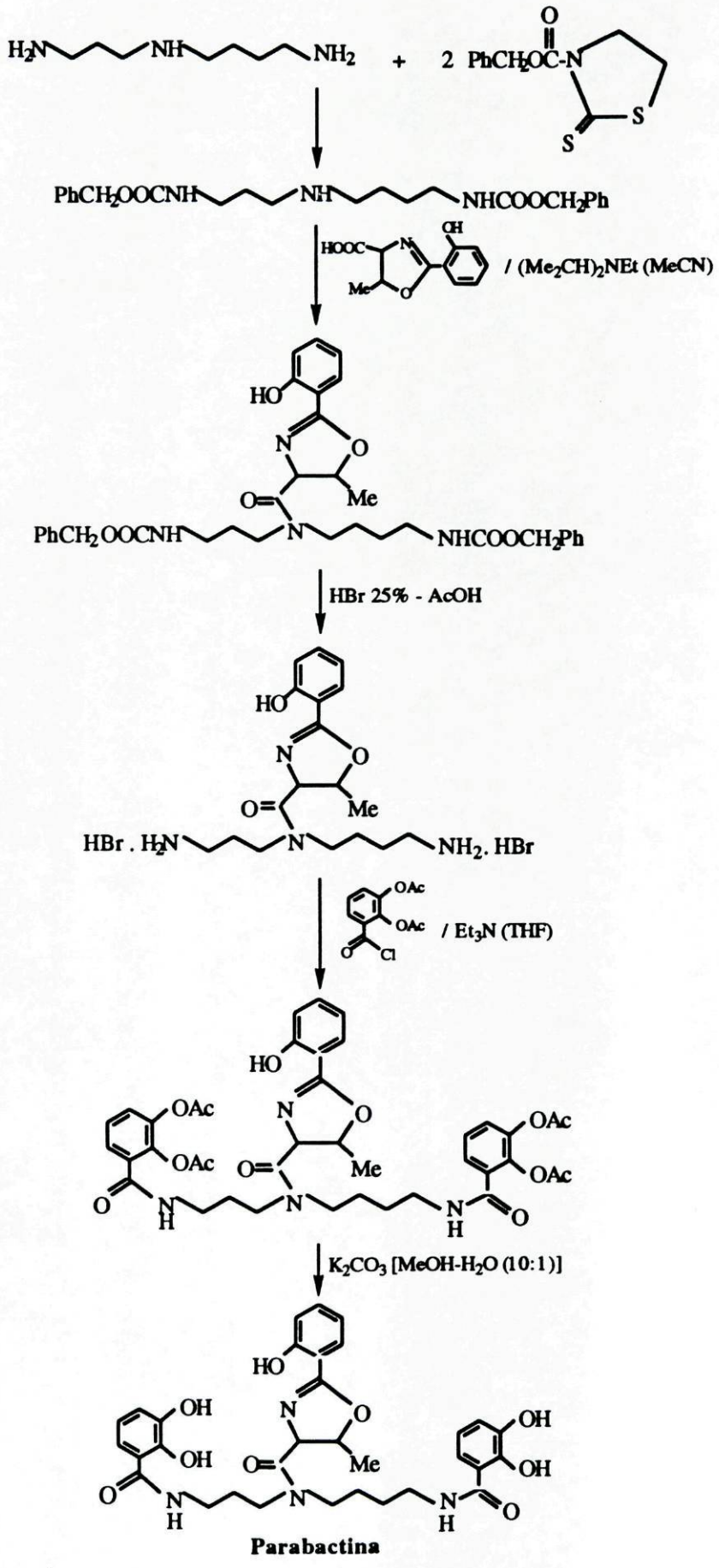
$RNH_2 \geq RR'NH$

$(CH_2)_n$ NH (n=4-6) > R_2NH

Um facto a salientar é a selectividade química da reacção em relação a outros grupos funcionais presentes no substrato. Por exemplo, a reacção de vários aminoálcoois ou aminofenóis com ATT origina apenas as amidas requeridas, não se verificando qualquer alteração nos grupos hidroxilo.

Note-se ainda que a acilação de aminas efectuada com a ATT pode ser monitorizada pelo desaparecimento da cor amarela característica dos reagentes de partida.

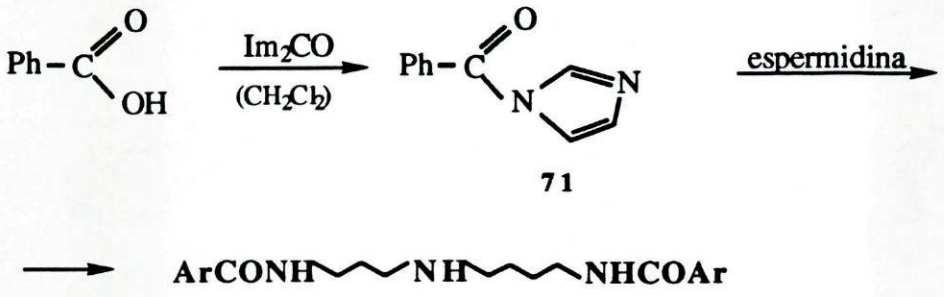
Por sua vez, a alcoxicarbonilação selectiva dos grupos amino primários de poliaminas pode ser efectuada com 3-benziloxicarbonil-1,3-tiazolidina-2-tiona como, por exemplo, na síntese total dos sideróforos parabactina (esquema 25) e parabactina A e de alcalóides amídicos, entre eles, a maitenina. Este alcalóide, embora já tivesse sido sintetizado por Husson e colaboradores[84], foi obtido usando condições mais suaves e com um melhor rendimento.



Esquema 25 - Síntese da parabactina [88].

3.1.3 - Por acção de acil- e alcoxicarbonilimidazóis

Os acilimidazóis, preparados facilmente por reacção entre um ácido carboxílico e 1,1'-carbonildiimidazol (Im_2CO), constituem reagentes adequados para a acilação directa dos grupos amino primários de poliaminas. Joshua e colaboradores[89] procederam à acilação selectiva dos grupos amino primários da espermidina (Esquema 26) e de outras triaminas lineares usando acilimidazóis (**71**) como agentes acilantes.

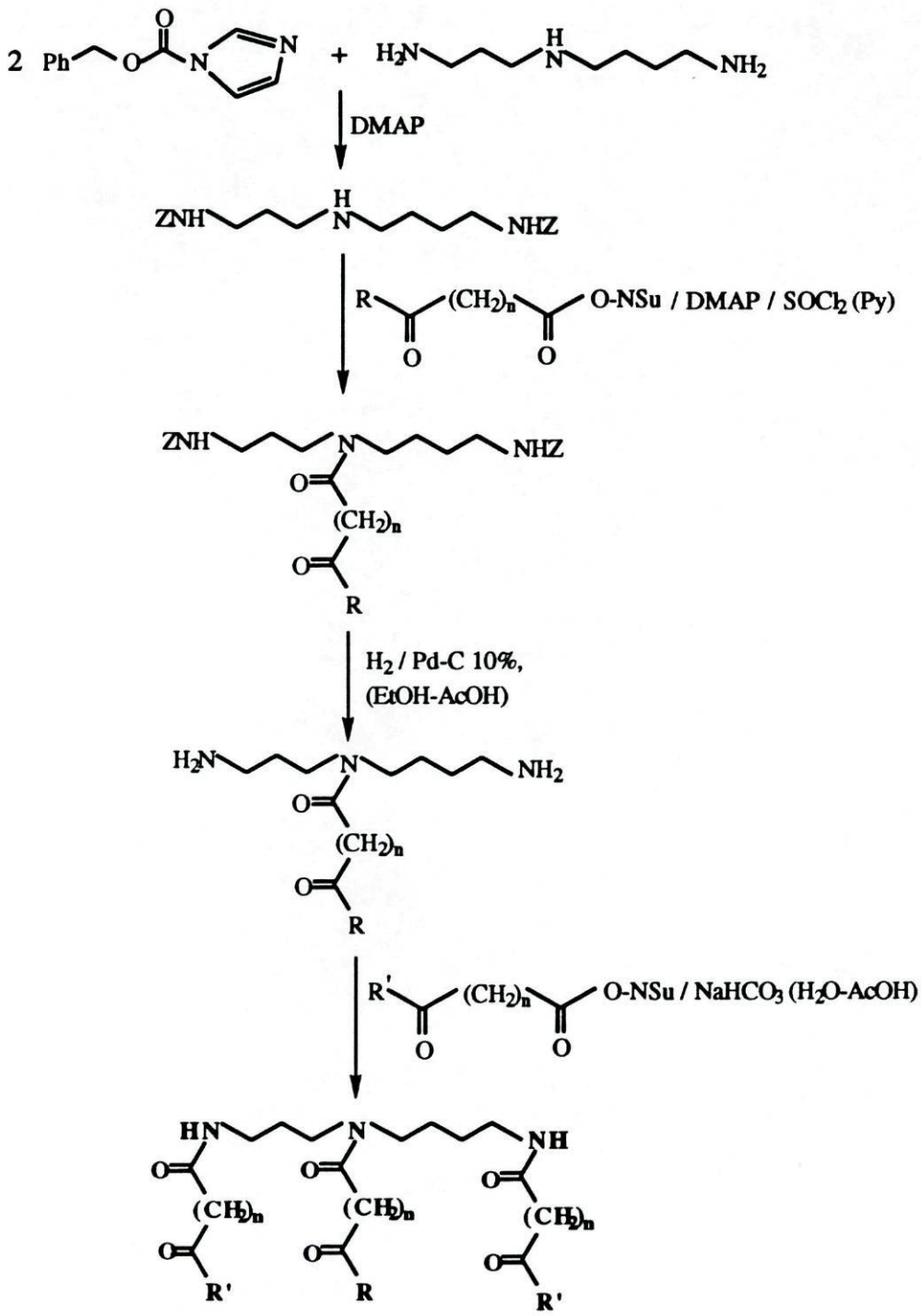


Esquema 26 - Acilação selectiva dos grupos amino primários da espermidina com acilimidazóis[89].

O êxito da acilação de triaminas com reagentes acilantes de cuja estrutura fazem parte grupos volumosos, especialmente aromáticos, depende do impedimento estereoquímico no grupo carbonilo do intermediário (**71**) que é atacado pelo nucleófilo. À medida que diminui esse impedimento, diminui a selectividade da reacção e obtêm-se misturas de produtos, como acontece, por exemplo, quando se usam reagentes acilantes que incluam resíduos do ácido cinâmico ou de ácidos carboxílicos contendo grupos acetóxido.

Mais recentemente, Sharma e colaboradores[20] sintetizaram modelos de sideróforos da espermidina efectuando a protecção selectiva dos grupos amino primários através da alcoxicarbonilação directa com N-benziloxicarbonilimidazol (Z-Im), na presença de uma quantidade catalítica de DMAP. A protecção selectiva permitiu-lhes estudar a introdução de uma variedade de grupos acilo no átomo de azoto central daquela triamina. Após acilação do grupo amino secundário por reacção com ésteres da

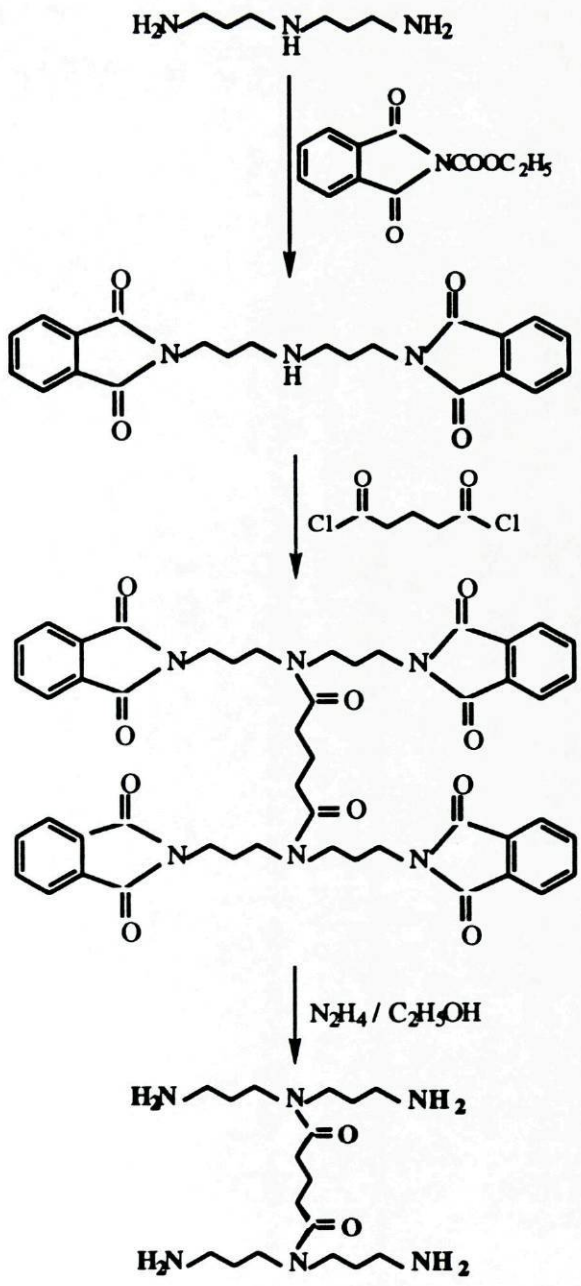
succinimida e remoção dos grupos benziloxicarbonilo, foi possível fazer reagir os grupos amino primários de modo a obterem os compostos requeridos (Esquema 27).



Esquema 27 - Síntese de modelos de sideróforos da espermidina[20]; n=1, 2 e 3.

3.1.4 - Por acção de derivados do ácido ftálico

A protecção selectiva de grupos amino primários, em poliaminas, pode ainda ser efectuada por reacção com ácido ou anidrido ftálico[4], permitindo que os grupos amino secundários sejam modificados por reacção com agentes acilantes apropriados. Em 1960, Nefkens utilizou o reagente N-etoxicarbonilftalimida para introduzir o grupo ftaloílo como N-protecção de aminoácidos[80]. Sosnovsky e Lukszo[90], interessados na síntese de novas drogas anti-cancerígenas a partir da derivatização adequada da espermina e da espermidina, aplicaram este método, com bom rendimento, na protecção selectiva dos grupos amino primários dessas aminas. Os grupos amino secundários das poliaminas foram, em seguida, acilados por reacção com cloretos de acilo, anidrido succínico e isocianato de fenilo. Após remoção dos grupos N-ftaloílo, por hidrazinólise, foram obtidas as poliaminas derivatizadas nas funções amina secundárias. No esquema 28 ilustra-se o método referido com um exemplo que apresenta a particularidade de duas moléculas de norespermidina serem simultaneamente aciladas com o mesmo reagente, dado que este contém na sua estrutura dois grupos acilo capazes de efectuarem aquela reacção.

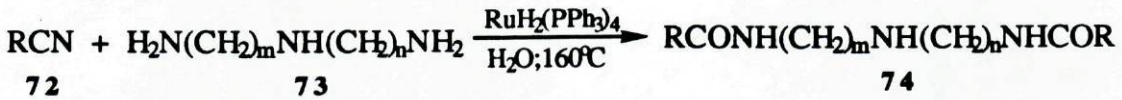


Esquema 28 - Derivatização simultânea de duas moléculas de norespermidina[90].

3.1.5 - Por acção de alcano-, acil- e alcoxicarbonilnitrilos

Os alcanonitrilos reagem com os grupos amino primários das poliaminas, na presença do catalisador $RuH_2(PPh_3)_4$ e do dobro da quantidade estequiométrica de água, a temperaturas elevadas, dando origem às respectivas amidas com bom rendimento.

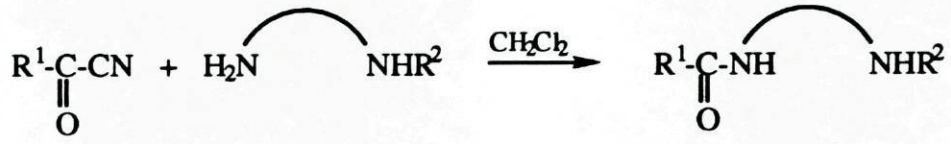
Murahashi e colaboradores[91] provaram a quimiosselectividade desta reacção ao fazerem reagir as triaminas **73** com os nitrilos **72**, verificando que se formavam os compostos **74** exclusivamente acilados nos grupos amino primários (Esquema 29).



72 **73** **74**

Esquema 29 - Síntese de triaminas selectivamente aciladas nos grupos amino terminais[91]; m=3, n=3 e 4.

A acilação selectiva dos grupos amino primários das poliaminas pode ainda ser efectuada por reacção desses grupos com acil- ou alcoxicarbonilnitrilos[18].



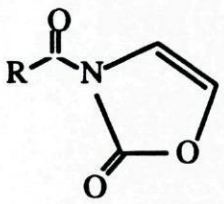
R^1: grupo alquilo ou alcóxido

A N^1,N^8-diacetilespermidina e a N^1,N^7-bis(fenilacetil)dipropilenotriamina são exemplos de triaminas selectivamente aciladas nos grupos amino primários, obtidas por reacção da espermidina e da dipropilenotriamina, respectivamente, com acetonitrilo e fenilacetonitrilo.

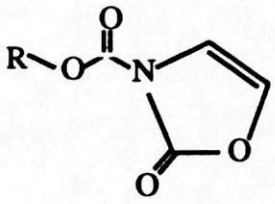
A reacção de alcoxicarbonilação da espermidina com cianometanoato de benzilo, na proporção molar de 1:2, permitiu introduzir selectivamente o grupo de N-protecção benziloxicarbonilo nas funções amina primárias daquela poliamina, formando-se a N^1,N^8-bis(benziloxicarbonil)espermidina com um rendimento de 99%[18]. Esta reacção é vantajosa, relativamente a métodos anteriormente descritos, pois prossegue com elevada selectividade, em condições suaves e os produtos são facilmente isolados apenas por evaporação do solvente.

3.1.6 - Por acção de 3-acil- e 3-alcoxicarbonil-2-oxazolonas

As 3-acil- e 3-alcoxicarbonil-2-oxazolonas (**75** e **76**) apresentam um comportamento quimio- e regiosselectivo na acilação e alcoxicarbonilação de grupos amino, hidroxilo e sulfidrilo[92].



75



76

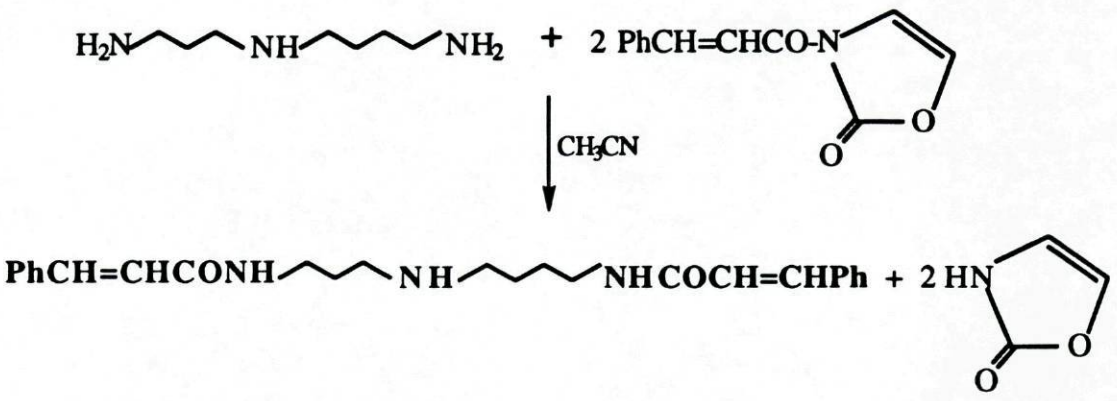
As funções amina são nucleófilos mais fortes do que os outros dois grupos que, por sua vez, precisam de ser activados por catalisadores apropriados para que a reacção decorra em condições suaves[92]. Por este motivo, os grupos hidroxilo de aminoálcoois e de aminofenóis não necessitam de ser previamente protegidos quando se realiza a acilação ou a alcoxicarbonilação do grupo amino. Das vantagens de utilização destes reagentes destaca-se o facto do grupo 2-oxooxazolilo constituir um excelente grupo de saída, que se converte na respectiva oxazolona muito solúvel em água e que pode ser facilmente removida do meio reaccional. Tal como acontece com os acil- e alcoxicarbonilimidazóis e as 3-acil- e 3-alcoxicarbonil-1,3-tiazolidina-2-tionas, as 3-acil- e 3-alcoxicarbonil-2-oxazolonas possuem uma reactividade característica relativamente a aminas e poliaminas que leva à acilação e alcoxicarbonilação preferencial das funções amina menos impedidas estereoquimicamente. Baseados neste facto, Kunieda e colaboradores[93] estudaram a acilação de várias aminas e poliaminas com 3-acil-2-oxazolonas e verificaram que a velocidade daquela reacção dependia da estrutura do nucleófilo do seguinte modo:

aminas alifáticas >> aminas aromáticas

$RCH_2NH_2 < RR'CHNH_2 > RR'R''CNH_2$

aminas primárias > aminas secundárias

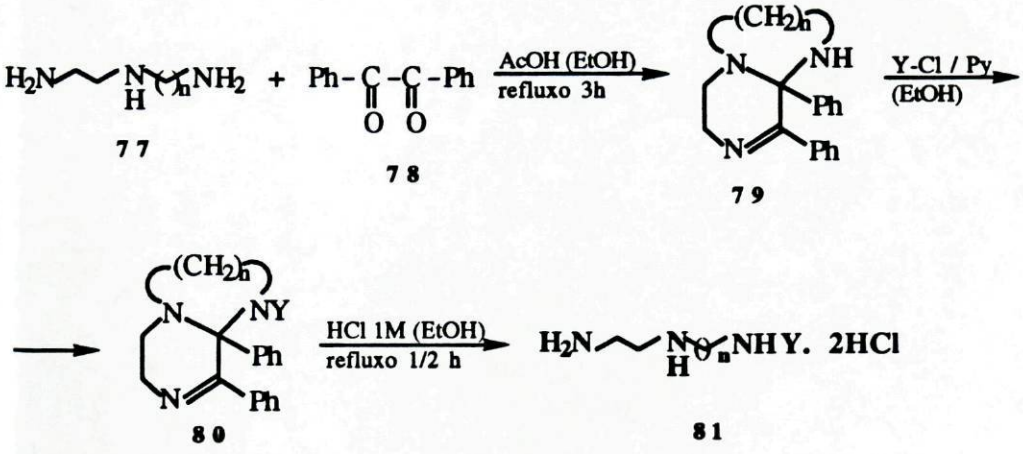
Por outro lado, sintetizaram um alcalóide bioactivo (maitenina) procedendo à acilação selectiva da espermidina com 3-*trans*-cinamoil-2-oxazolona, sem proteger a função amina secundária (Esquema 30).



Esquema 30 - Síntese dum alcalóide bioactivo da espermidina[93].

3.1.7 - Por formação de piperazinas condensadas

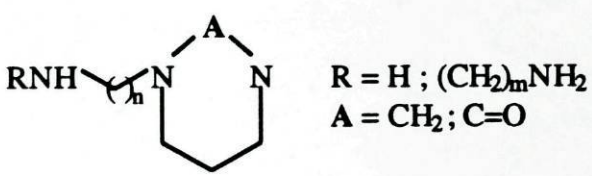
Okawara e colaboradores[94] descreveram um método interessante para a acilação de um só grupo amino primário de triaminas, usando 1,2-difeniletanodiilideno como grupo de N-protecção. O processo em questão é essencialmente constituído por três fases, consistindo a primeira na formação de tetraidropirazinas (**79**) por reacção dos três grupos amino com difeniletanodiona. Segue-se a acilação exclusiva do grupo amino secundário da tetraidropirazina e, por fim, a remoção do grupo de protecção através de hidrólise em meio ácido. O esquema 31 ilustra os vários passos para a monoacilação ou a monoalcoxicarbonilação de um grupo amino primário terminal de triaminas.



Esquema 31 - Síntese de triaminas N-monoaciladas ou N-monoalcoxicarboniladas num grupo amino primário terminal[94]; n=2, 3; Y = PhCO, Z e Tos.

3.2 - Protecção de aminas secundárias

Dois importantes métodos de protecção de grupos amino secundários em poliaminas foram introduzidos por Ganem[95] e baseiam-se na formação de compostos heterocíclicos (**82**) derivados do cicloexano. Esses compostos resultam da interacção da unidade 1,3-propanodiamínica de poliaminas com clorometanoato de metilo ou com aldeídos e cetonas, originando, respectivamente, derivados cíclicos da ureia ou hexaidropirimidinas. A formação de um heterociclo com seis lados, constituído tanto por ligações covalentes como por ligações de coordenação, ocorre mais rapidamente e é, geralmente, mais estável do que as estruturas análogas constituídas por sete ou mais lados.

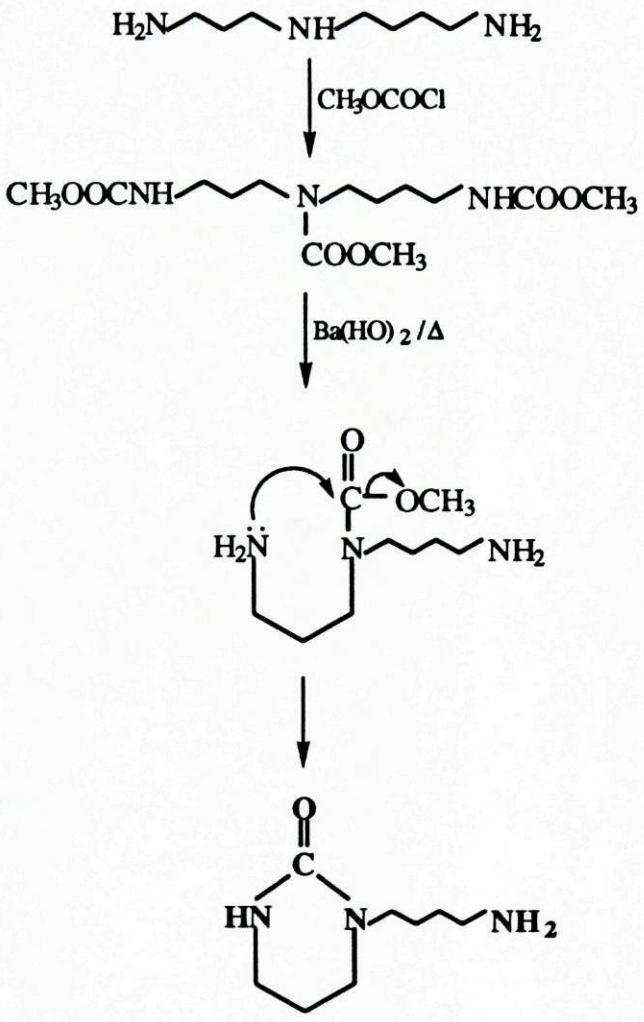


82

3.2.1 - Derivados cíclicos da ureia

As funções amina secundárias das poliaminas podem ser protegidas através da formação de derivados cíclicos da ureia, uma vez que os grupos carbamoílo da ureia não são reactivos nas condições em que se efectuam as reacções nos grupos amino primários.

A ureia cíclica derivada da espermidina foi sintetizada por um processo simples que consistiu na acilação exaustiva da triamina com clorometanoato de metilo, seguida de hidrólise a quente em meio alcalino (Esquema 32). A hidrólise e subsequente descarboxilação ocorrem, preferencialmente, nos grupos uretano terminais, tendo lugar a ciclização na mistura reaccional através do ataque intramolecular do grupo amino terminal da unidade 1,3-aminopropílica ao grupo carbonilo ligado ao átomo de azoto secundário. A remoção do grupo carbonilo é conseguida tanto por redução com $LiAlH_4$ como por permuta de ureias.

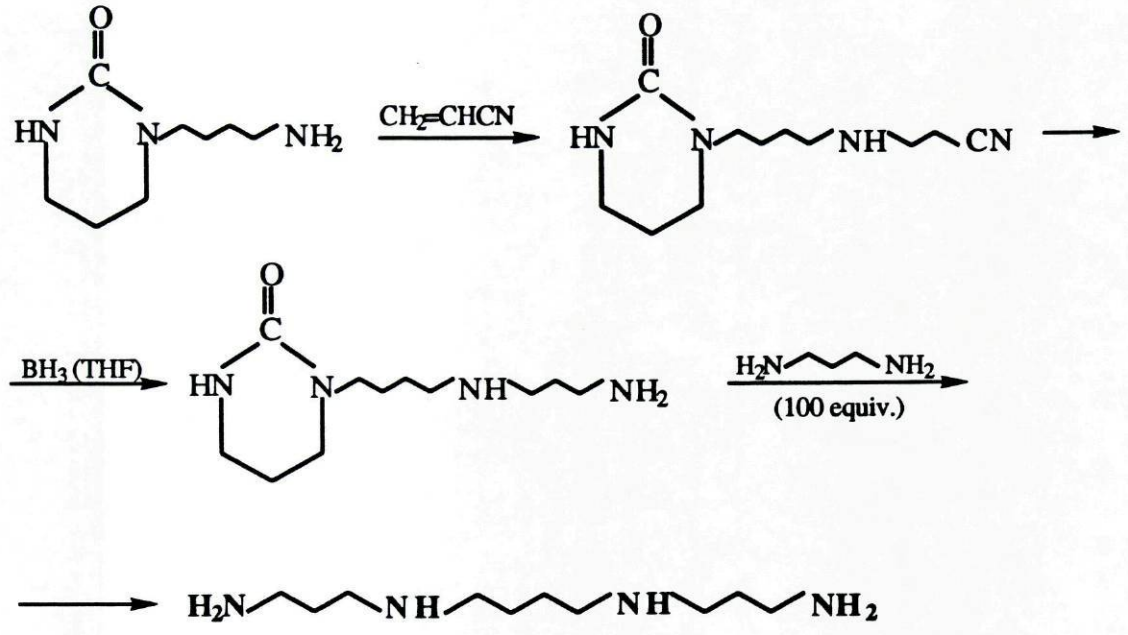


Esquema 32 - Síntese da ureia cíclica derivada da espermidina[95].

Através do primeiro processo de remoção obtém-se uma mistura de produtos difícil de separar, constituída por espermidina e N^1-metilespermidina na razão de 4 : 1. O segundo procedimento consiste no aquecimento da ureia cíclica na presença de um grande excesso de uma diamina de baixo ponto de ebulição. Deste aquecimento resulta a libertação da poliamina e a formação de uma ureia solúvel em água.

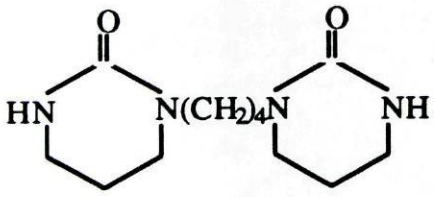
O método descrito, para além de fornecer um processo directo para a preparação de amostras de espermina marcadas radioactivamente num só átomo de azoto, a partir da espermidina (Esquema 33), também proporciona a síntese da espermina protegida de tal

modo que é possível a ocorrência selectiva de reacções em todos os seus quatro átomos de azoto.



Esquema 33 - Síntese da espermina através da ureia cíclica da espermidina[95].

A formação de derivados cíclicos da ureia pode ocorrer noutras poliaminas naturais [espermina, N-(aminopropil)cadaverina, etc.] desde que contenham, na sua estrutura, pelo menos uma unidade aminopropílica. Por exemplo, a espermina, por hidrólise do seu derivado N^1,N^4,N^9,N^{12}-tetraquis(metóxicarbonil)espermina dá origem à bis-ureia **83**.



83

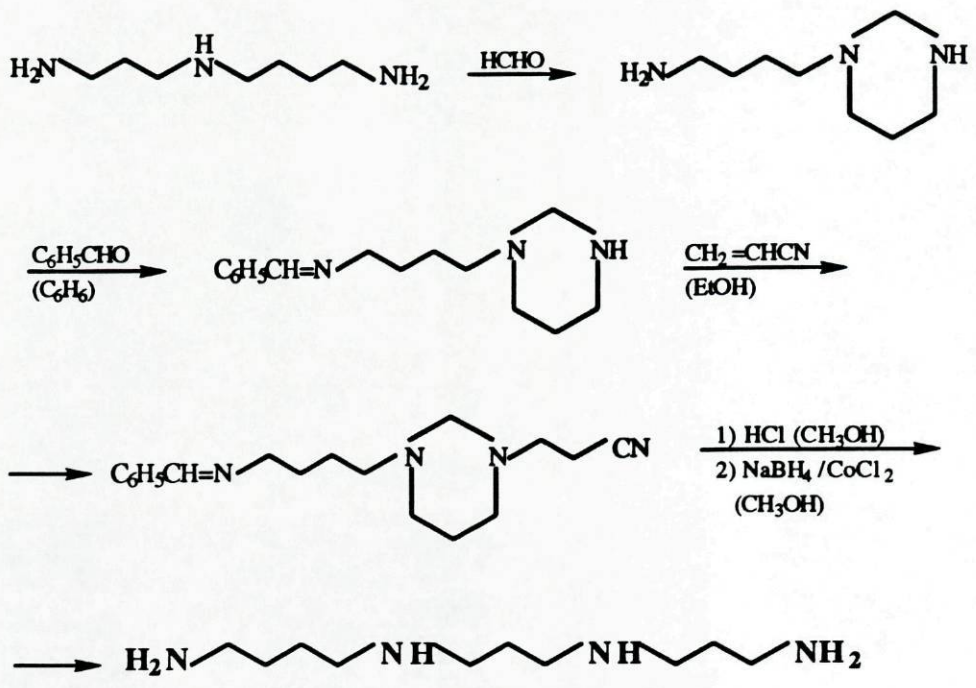
No entanto, contrariamente ao que sucede com a espermidina, em que os três átomos de azoto podem ser selectivamente diferenciados, os grupos amino do derivado **83** são equivalentes dois a dois e encontram-se todos protegidos relativamente à maioria dos reagentes electrófilos.

Embora a utilização de ureias cíclicas como método de protecção dos grupos amino secundários das poliaminas seja ideal para determinados fins (por ex: a síntese de um metabolito citotóxico de um coral - *Simularia brongersunai*[95]), a ureia parece ser um grupo de protecção demasiado drástico para derivados complexos das poliaminas, uma vez que a sua remoção pode destruir outras funções importantes que façam parte da estrutura da molécula.

3.2.2 - Derivados do 1,3-diazacicloexano (hexaidropirimidinas)

Como alternativa ao método das ureias cíclicas para a protecção de funções amina secundárias das poliaminas, Ganem e colaboradores[95] prepararam derivados da hexaidropirimidina através de um procedimento muito simples. Assim, misturando quantidades equimolares da poliamina e de uma solução aquosa de metanal a 37%, obtiveram o respectivo derivado cíclico com excelente rendimento. Esse composto pôde ser, em seguida, selectivamente acilado ou alquilado nos restantes grupos amino, por uma variedade de reagentes. Após ocorrência dessas reacções, a ponte de metileno foi removida, quer por tratamento com malonato de dietilo e piperidina, como por hidrólise ácida.

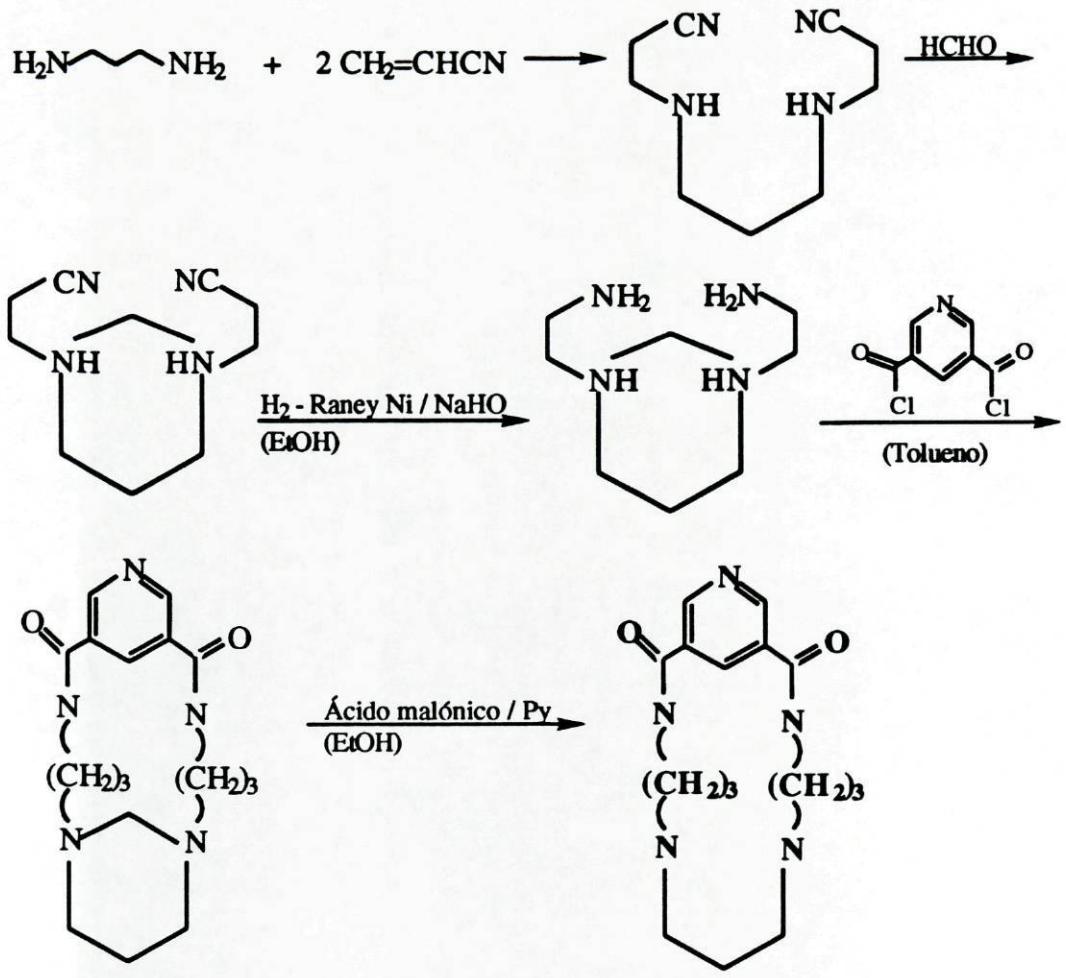
O esquema 34 ilustra um exemplo do procedimento seguido por Ganem para a síntese de um derivado 3-aminopropílico da espermidina – a poliamina natural termo-espermina[96,97].



Termoespermina

Esquema 34 - Síntese da termoespermina por intermédio do derivado hexaidropirimidínico da espermidina[96,97].

Por sua vez, Dutasta e colaboradores[98] usaram a mesma estratégia na preparação de compostos poliazamacrocíclicos, que se exemplifica para o caso de um tetraazamacrociclo no esquema 35. O primeiro e o segundo passo dessa síntese levaram à formação do percursor da 4,8-diaza-1,11-undecanodiamina com os grupos amino internos protegidos, através da reacção entre uma mole de 1,3-propanodiamina e duas moles de acrilonitrilo, seguida da condensação com formaldeído. Os grupos nitrilo foram posteriormente reduzidos na presença de Raney-níquel. Da ciclização da tetraamina protegida com dicloreto de 3,5-piridinodicarbonilo resultou o correspondente macrociclo cujo anel diazacicloexano foi aberto por hidrólise ácida.

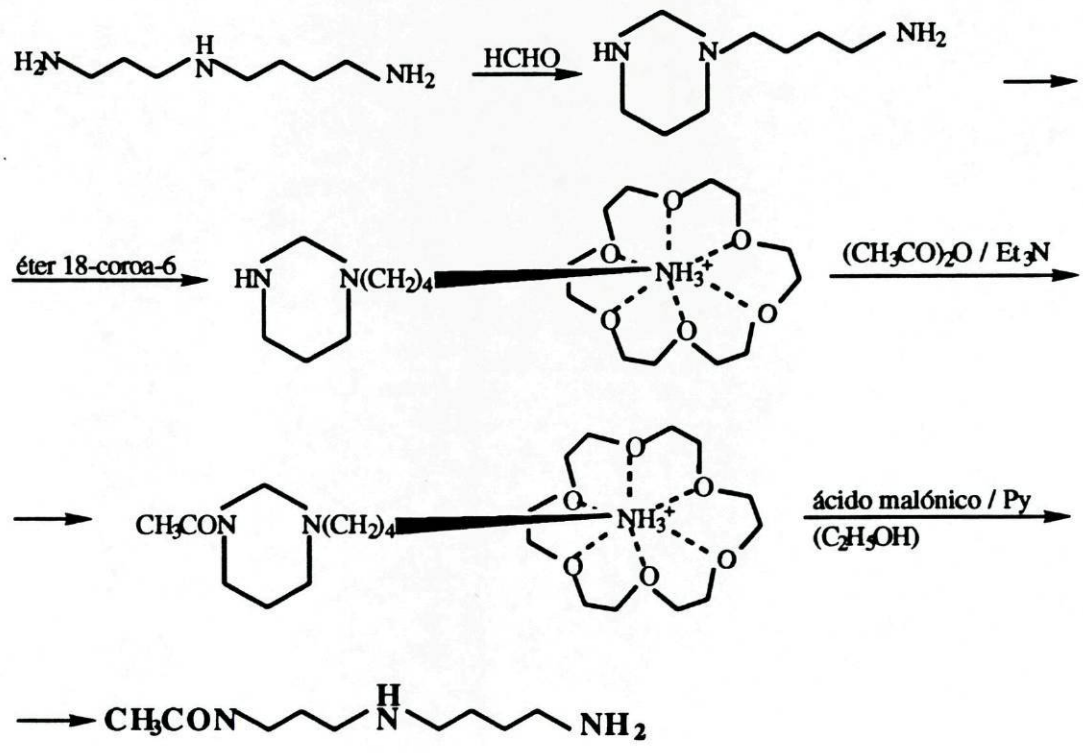


Esquema 35 - Síntese dum tetraazamacrociclo[98].

Várias outras poliaminas naturais, tais como a espermina e a N-(3-amino-propil)cadaverina, contêm unidades 1,3-diamínicas. Como foi demonstrado por Chantrapromma e Ganem[99], a espermina ao reagir com uma solução aquosa de metanal a 37% forma a bis-hexaidropirimidina **84** que foi usada como intermediário na síntese de um grande número de derivados da Kukoamina A[100] e sempre com rendimentos elevados.

84

Por sua vez, Tice e Ganem[101] desenvolveram ainda um processo interessante para acilar exclusivamente o grupo amino primário (N^1) da espermidina. O grupo amino secundário e o outro grupo primário (N^8) foram bloqueados, respectivamente, por reacção com metanal, o que levou à formação da hexaidropirimidina correspondente, e por complexação com o éter 18-coroa-6. O derivado monoacilado foi obtido após reacção do grupo amino secundário do heterociclo com anidrido acético, seguida de remoção dos grupos de protecção por tratamento com ácido malónico e piridina em etanol (Esquema 36).

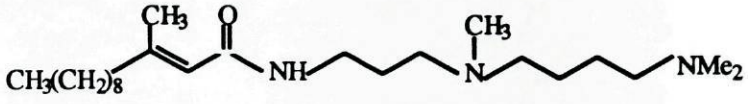


Esquema 36 - Síntese da N^1-acetilespermidina[101].

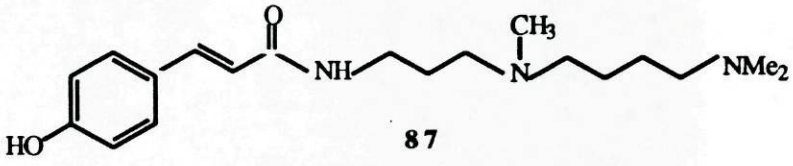
Entre as poliaminas naturais que fazem parte da estrutura dos alcalóides, encontram-se, frequentemente, resíduos da espermidina e da espermina. Thiengchanya e colaboradores[100] escolheram alguns compostos representativos deste grupo de produtos bioactivos para estudos de síntese envolvendo intermediários derivados das hexaidropirimidinas. Assim, prepararam com êxito, a termoespermina (**85**), o derivado

citotóxico da espermidina **86**, a aglicona das glicocinamoilespermidinas LL-BM 123 **87**, N^4-acilespermidinas e derivados da Kukoamina A, **88** e **89** (Esquema 37), cuja disponibilidade permitiu uma grande evolução no estudo das relações estrutura-actividade de derivados de poliaminas.

85

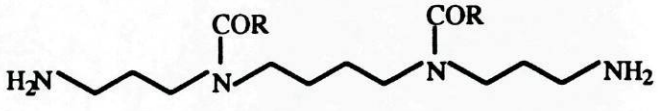


86



87

88



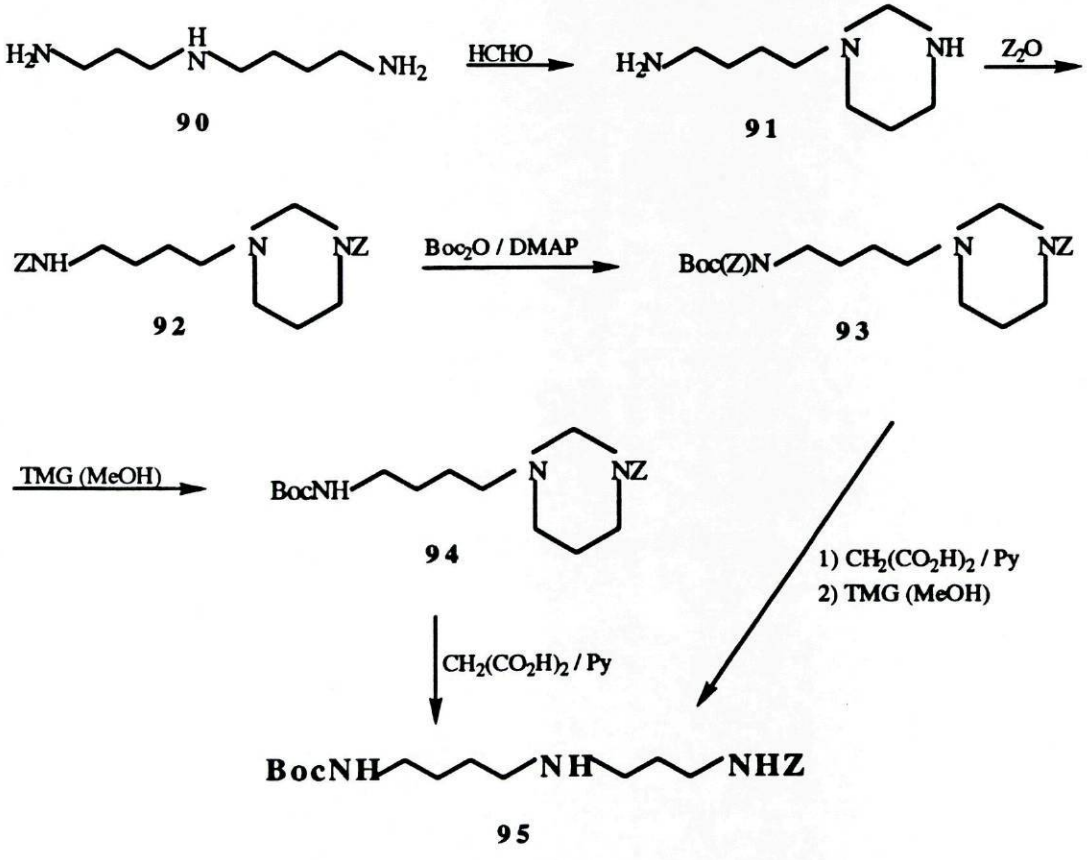
89

R = CH_3, C_6H_5, $CH{=}CHC_6H_5$, $CH_2CH_2C_6H_5$, $CH{=}CH(C_6H_4)(OH)$, $CH{=}CH(C_6H_3)(OH)_2$

Esquema 37 - Exemplos de compostos obtidos através de intermediários derivados de hexaidropirimidinas[100].

Finalmente, Ragnarsson e colaboradores[102] conseguiram realizar a alcoxicarbonilação selectiva dos dois grupos amino primários da espermidina, através de uma síntese envolvendo 5 fases, em que o grupo amino secundário foi protegido por meio da condensação entre a espermidina e o metanal. A sequência de reacções efectuada

encontra-se resumida no esquema 38. Assim, o aduto **91** obtido facilmente e com um rendimento quantitativo, reagiu com dicarbonato de dibenzilo (Z_2O) de modo a serem introduzidos dois grupos benziloxicarbonilo nos átomos de azoto N^1 e N^8. O produto obtido (**92**) foi então tratado com Boc_2O-DMAP para que ocorresse nova substituição no N^8, formando-se o composto **93** contendo os grupos Z e Boc simultâneamente no mesmo átomo de azoto (N^8). Por metanólise do produto **93**, catalisada pela N,N,N',N'-tetrametilguanidina (TMG), foi removido selectivamente o grupo Z do átomo de azoto N^8, originando o composto **94** sob a forma de um óleo. Após remoção do grupo metileno por tratamento com ácido malónico em piridina, sob refluxo, o produto **95** foi obtido, com bom rendimento, sob a forma de um sólido cristalino.

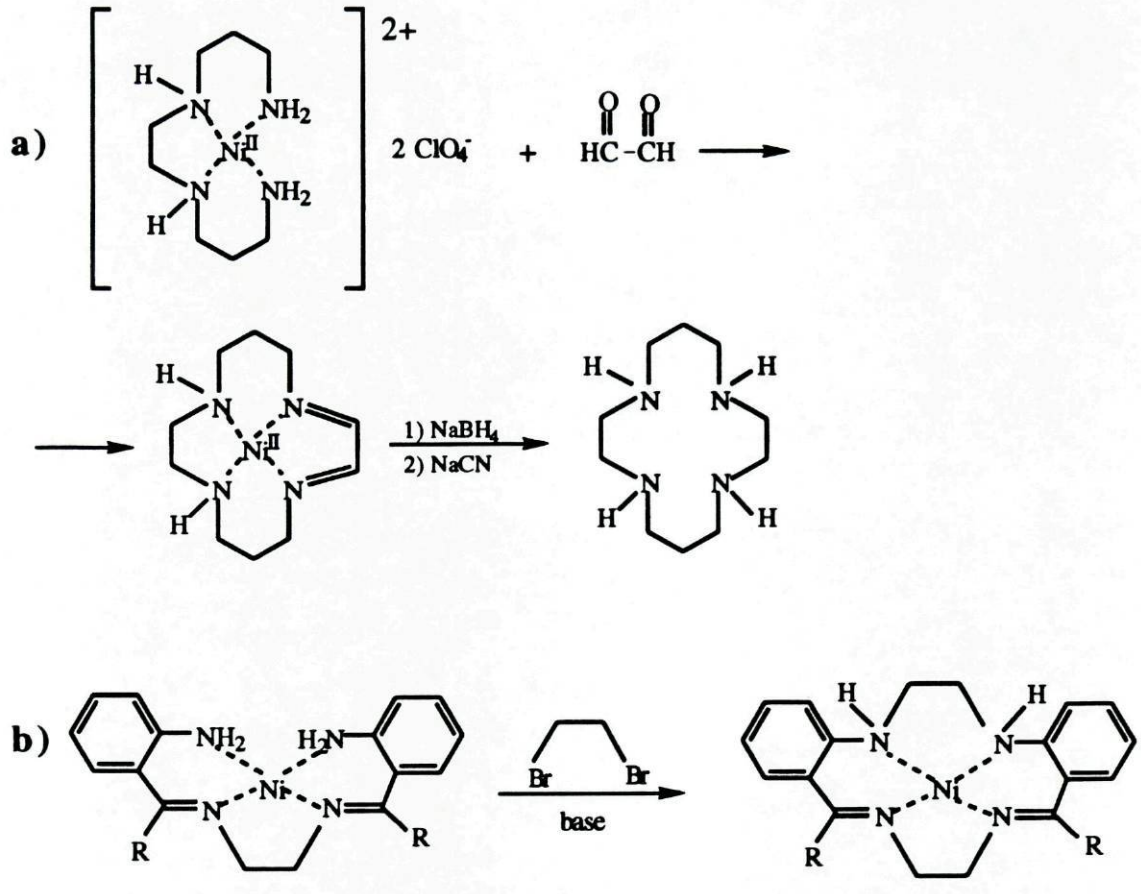


Esquema 38 - Síntese da N^8-Boc-N^1-Z-espermidina[102].

Comparando os dois métodos referidos para a protecção dos grupos amino secundários de poliaminas, pode-se concluir que o procedimento que envolve a formação de uma ou mais hexaidropirimidinas parece ser mais adequado pois os derivados cíclicos são prontamente obtidos por um processo muito simples, a remoção do grupo metileno ocorre em condições mais suaves do que a remoção do grupo carbonilo e o último procedimento permite a funcionalização de todos os grupos amino terminais.

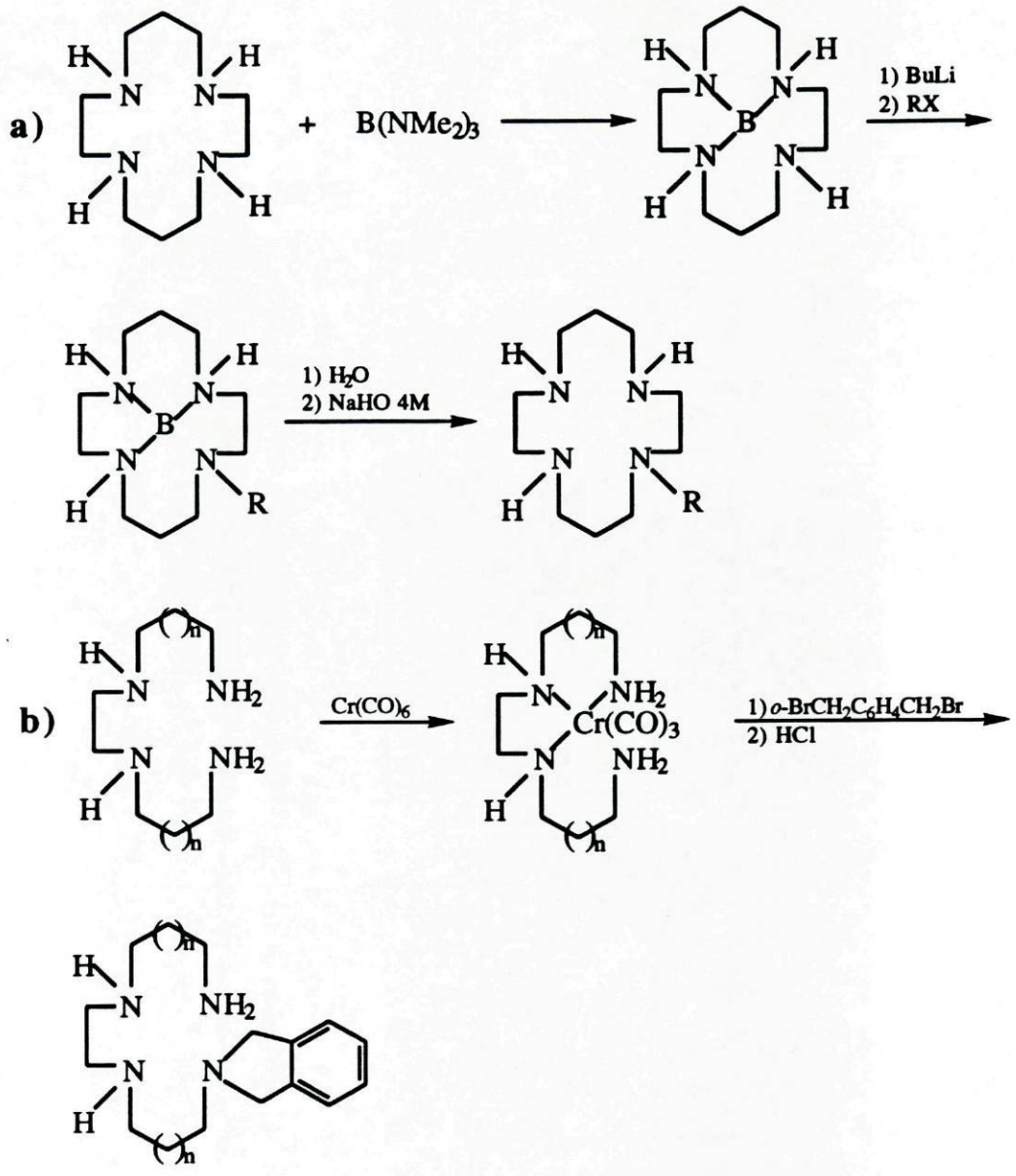
3.2.3 - Complexos formados por poliaminas e catiões metálicos ou átomos de boro.

Um outro método para a protecção dos grupos amino secundários de tri- e tetra-aminas consiste na formação de complexos entre as poliaminas e catiões metálicos ou derivados do borano. Embora o catião metálico ou o átomo de boro coordene todos os átomos de azoto, os grupos amino primários terminais continuam a actuar como nucleófilos reactivos, como foi demonstrado na síntese de poliaminas macrocíclicas. No esquema seguinte, exemplifica-se a formação de tetraazamacrociclos sem ser necessária a introdução dos habituais grupos de protecção nas funções amina internas.



Esquema 39 - Exemplos da protecção de grupos amino secundários por formação de complexos com catiões metálicos[4].

Recentemente, foram preparados macrociclos e tetraaminas lineares, alquilados num só átomo de azoto, através da formação de complexos com boro ou com tricarbonilcrómio. Tanto o átomo de boro como o de crómio coordenam somente com três átomos de azoto de modo que a alquilação tem lugar exclusivamente no quarto átomo de azoto[103,104] (Esquema 40).



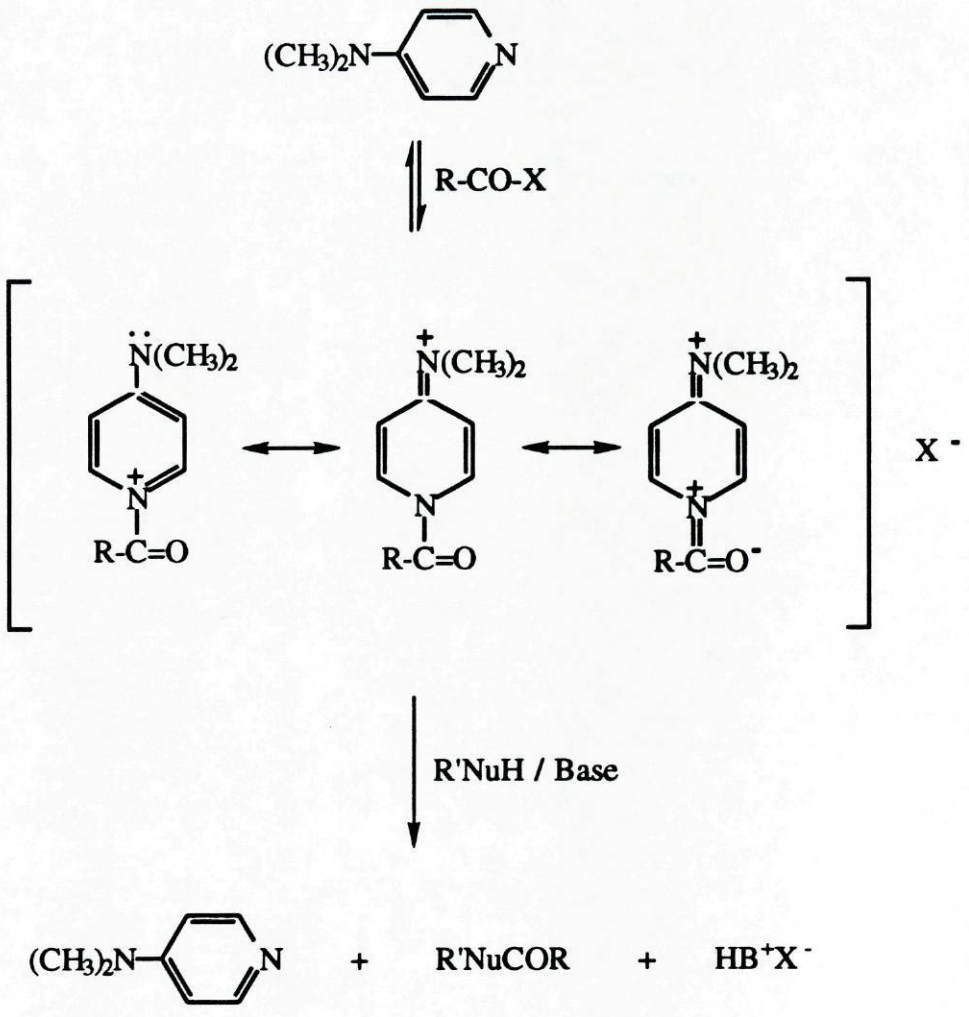
Esquema 40 - Alquilação de um só átomo de azoto em macrociclos e em tetraaminas lineares[103,104]; n=0 e 1.

ESTUDOS DE SÍNTESE EM POLIAMINAS

4 - Resultados e discussão

4.1 - Objectivos e desenvolvimento do trabalho de investigação

A importância da investigação realizada no campo das poliaminas tem vindo a aumentar com a verificação da sua ampla ocorrência na natureza, tanto como entidades individuais como fazendo parte de outras espécies biologicamente activas. Como já se referiu, têm sido desenvolvidos vários métodos de síntese com vista à preparação de poliaminas, sendo dada particular relevância a derivados da espermidina e espermina. Neste contexto, foram fundamentalmente seguidas duas estratégias para a sua obtenção, baseando-se uma delas na protecção selectiva e subsequente modificação da poliamina e consistindo a outra na síntese total a partir de percursores apropriados. De um modo geral, as metodologias existentes para esse fim envolvem um número elevado de passos e / ou condições drásticas para a remoção dos grupos de protecção. Em 1988, Ragnarsson e colaboradores[102] desenvolveram uma nova metodologia conducente à protecção selectiva de aminas mistas, primárias e secundárias, uma vez que até então não existia um método ideal para a modificação selectiva de poliaminas. O procedimento descrito por Ragnarsson e colaboradores baseou-se na *terc*-butiloxicarbonilação exaustiva de grupos amino previamente protegidos, sendo a reacção efectuada, em condições muito suaves, com dicarbonato de bis(*terc*-butilo) na presença de quantidades catalíticas de 4-(N,N-dimetilamino)piridina. Este reagente apresenta uma elevada actividade catalítica em reacções de acilação de álcoois, fenóis e aminas, principalmente daqueles em que se verifica inibição da acilação devido a efeitos estereoquímicos. O mecanismo proposto para essa acilação encontra-se representado no esquema 41[105].



Esquema 41 - Mecanismo da reacção de acilação catalisada pela 4-(N,N-dimetilamino)-piridina[105].

São essencialmente dois os factores responsáveis pelo grande poder catalítico da 4-(N,N-dimetilamino)piridina. Por um lado, o elevado carácter nucleófilo da 4-(N,N--dimetilamino)piridina leva à rápida formação de sais N-acil-4-(N',N'-dimetil-amino)piridínicos com os reagentes acilantes, mesmo em solventes não polares, constituindo um "suporte catalítico" para o electrófilo, de modo a promover a reacção com o substrato (R'NuH)[106]. Por outro lado, os sais, devido à deslocalização de carga, estão presentes como pares iónicos fracamente ligados, facilitando assim o ataque do nucleófilo no grupo acilo activado e permitindo a catálise geral por base efectuada pelo anião

constituinte do sal. Este efeito também explica a razão dos anidridos serem melhores agentes acilantes do que os correspondentes cloretos de acilo, dado o anião carboxilato ser uma base mais forte do que o anião cloreto[107]. Relativamente a outras bases anteriormente estudadas, o uso da 4-(N,N-dimetilamino)piridina como catalisador em reacções de acilação apresenta as seguintes vantagens[105]:

- a acilação é suave, geralmente com um rendimento elevado, mesmo em larga escala, sendo assegurada por uma razão de substrato : 4-(N,N-dimetilamino)piridina de 20 : 1, ou seja, sendo suficiente uma quantidade catalítica desta base;

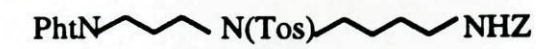
- a adição habitual de pelo menos uma quantidade equimolar de outra base, cuja função é remover o ácido formado à medida que decorre a reacção, nos casos de acilações difíceis, torna-se desnecessária pois a 4-(N,N-dimetilamino)piridina, quando adicionada em quantidades estequiométricas, desempenha a dupla função de catalisador e de base.

Aliando todas as características e vantagens deste catalisador, Ragnarsson e colaboradores conseguiram introduzir o grupo *terc*-butiloxicarbonilo em funções amina previamente protegidas sob a forma de uretanos. Foi escolhido o grupo benziloxicarbonilo para a protecção inicial das funções amina primárias, por ter um comportamento ortogonal relativamente ao grupo *terc*-butiloxicarbonilo e poder ser facilmente removido em condições suaves. Foram, assim, preparadas várias diaminas e derivados da espermidina selectivamente protegidos, dos quais se destacam a N^1,N^8-Boc_2-espermidina (**96**), cuja síntese envolveu somente três passos e a N^8-Boc-N^1-Z-espermidina (**97**) preparada através de uma sequência de cinco passos[102]. Os compostos **96** e **97** mostraram ser intermediários apropriados na síntese de derivados monoacetilados da espermidina com interesse biológico (metabolitos e produtos de excreção), visto que se pode modificar selectivamente tanto o grupo amino secundário de **96** como qualquer um dos grupos amino terminais de **97**, após protecção adequada do seu átomo de azoto secundário[108].

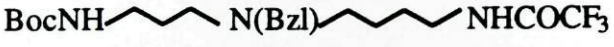
No início do presente trabalho, de acordo com as estratégias até então conhecidas, encontravam-se descritas na literatura as preparações de três derivados selectivamente protegidos da espermidina, contendo os grupos de N-protecção benzilo, benziloxi-

carbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo, ftaloílo, trifluoroacetilo e tosilo, N^1-Pht-N^4-Tos-N^8-Z--espermidina (**98**)[45], N^1-Boc-N^4-Bzl-N^8-CF_3CO-espermidina (**99**)[59] e N^8-Boc-N^1-Z-espermidina (**97**)[102].

97



98

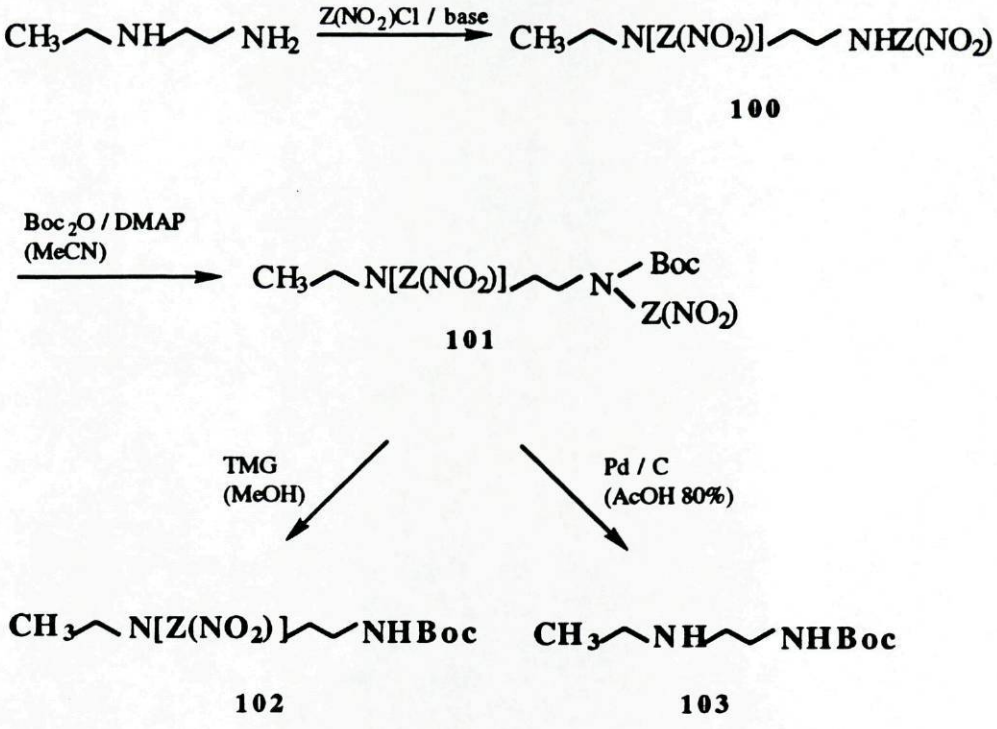


99

Esquema 42 - Derivados selectivamente protegidos da espermidina.

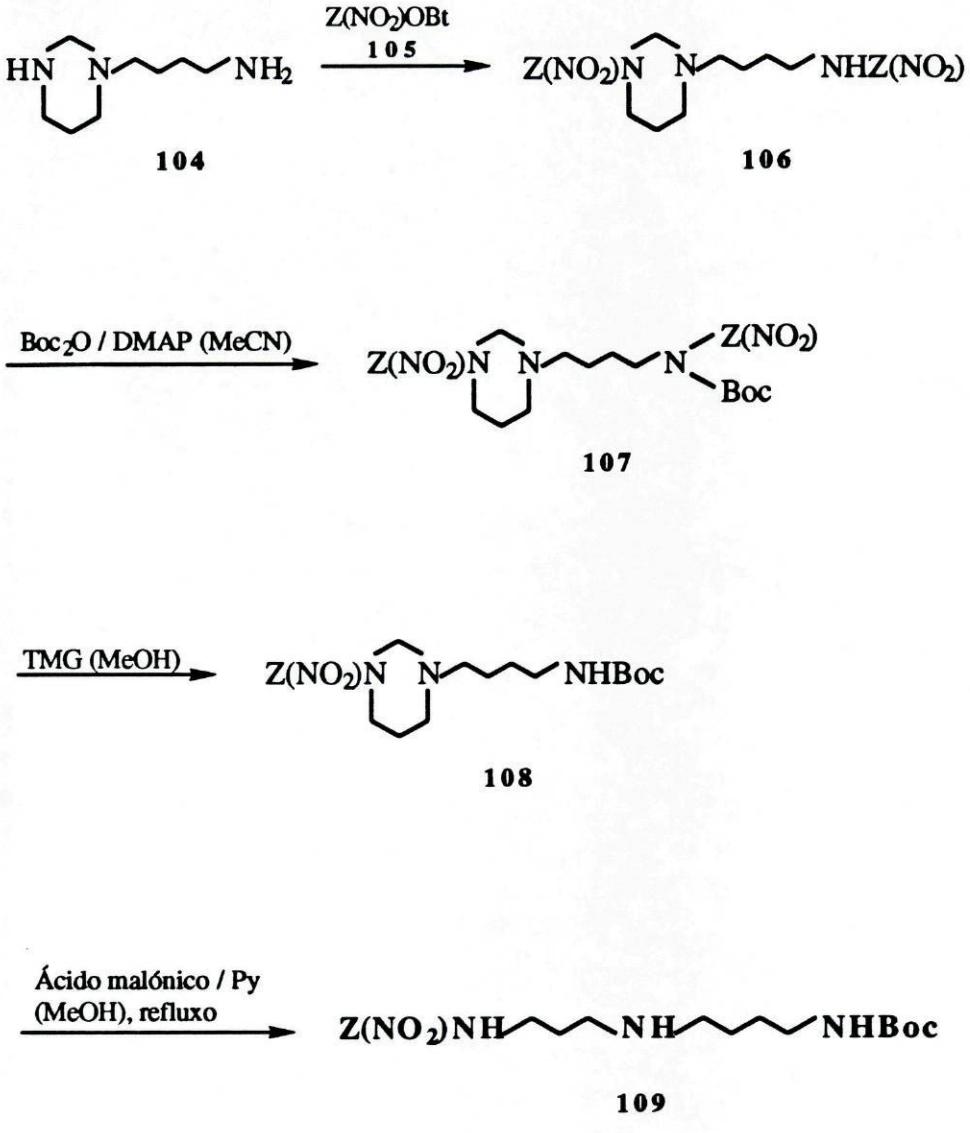
Embora os compostos **97** a **99** sejam úteis para a preparação de derivados da espermidina, as sequências reaccionais para a síntese dos compostos **98** e **99** envolvem 6 passos e requerem condições drásticas para a remoção de alguns dos grupos de N--protecção.

Em face destes resultados, pareceu-nos ser interessante preparar derivados selectivamente protegidos de poliaminas usando um outro grupo de N-protecção, o *p*-nitrobenziloxicarbonilo, que fosse igualmente ortogonal em relação ao grupo *terc*--butiloxicarbonilo e permitisse obter intermediários sólidos cristalinos mais fáceis de isolar. O uso do grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo em conjunto com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo foi primeiramente estudado num composto modelo, a N-etiletanodiamina, que permitiu demonstrar a exequibilidade da combinação destes dois grupos, com a obtenção dos derivados **102** e **103** (Esquema 43).

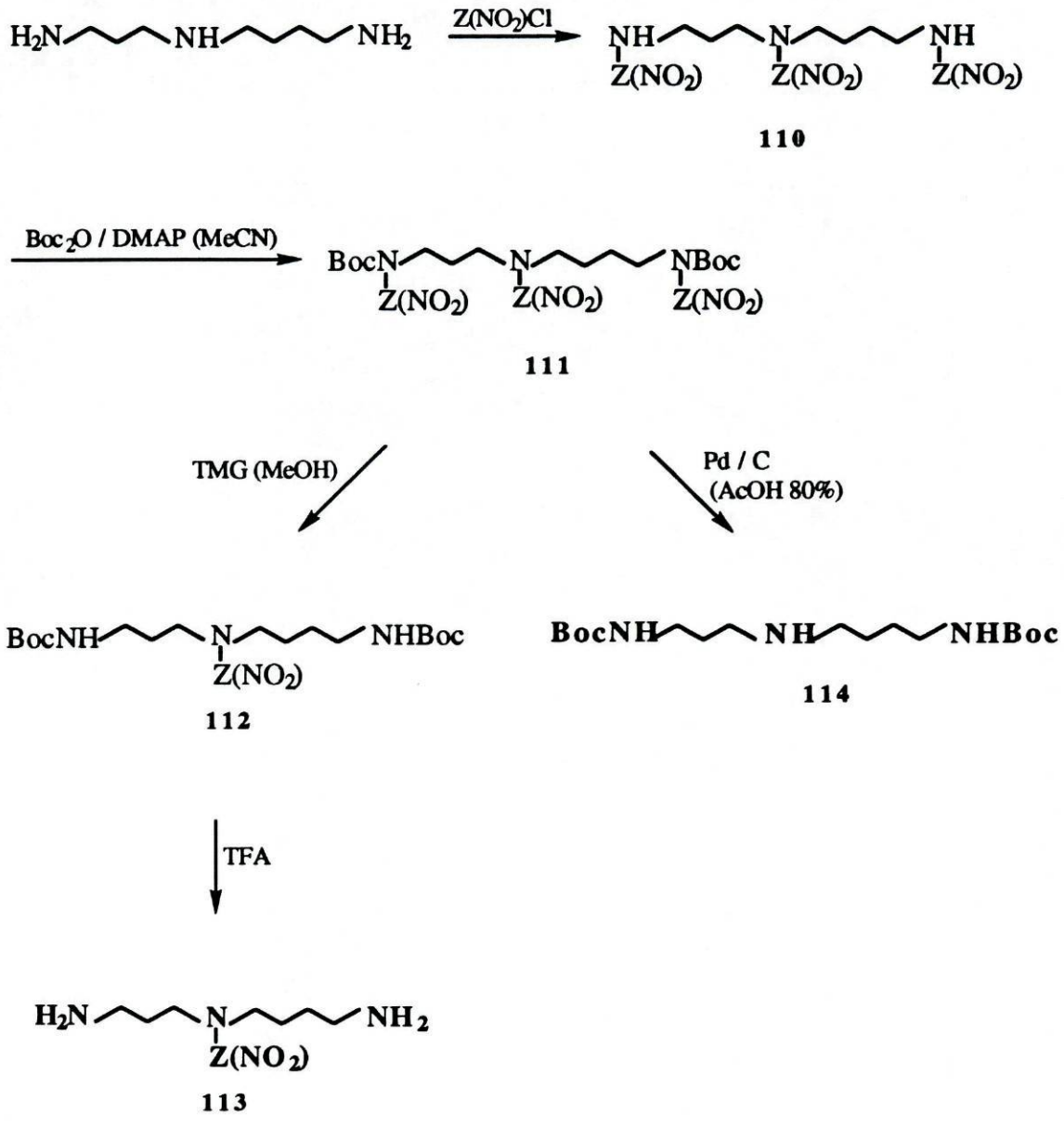


Esquema 43 - Síntese da N^2-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-etil-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (**102**) e da N^2-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-etiletanodiamina (**103**).

Em seguida, estudaram-se as condições para estender a aplicação destes dois grupos na síntese de novos derivados de poliaminas naturais de estrutura mais complexa. Assim, conseguiu-se isolar novos derivados da espermidina, N^8-Boc-N^1-$Z(NO_2)$--espermidina[109] (**109**) (Esquema 44), N^4-$Z(NO_2)$-espermidina[109] (**113**) (Esquema 45) e o já descrito N^1,N^8-Boc_2-espermidina (**114**) (Esquema 45), seguindo uma metodologia de síntese semelhante à descrita por Ragnarsson[102].

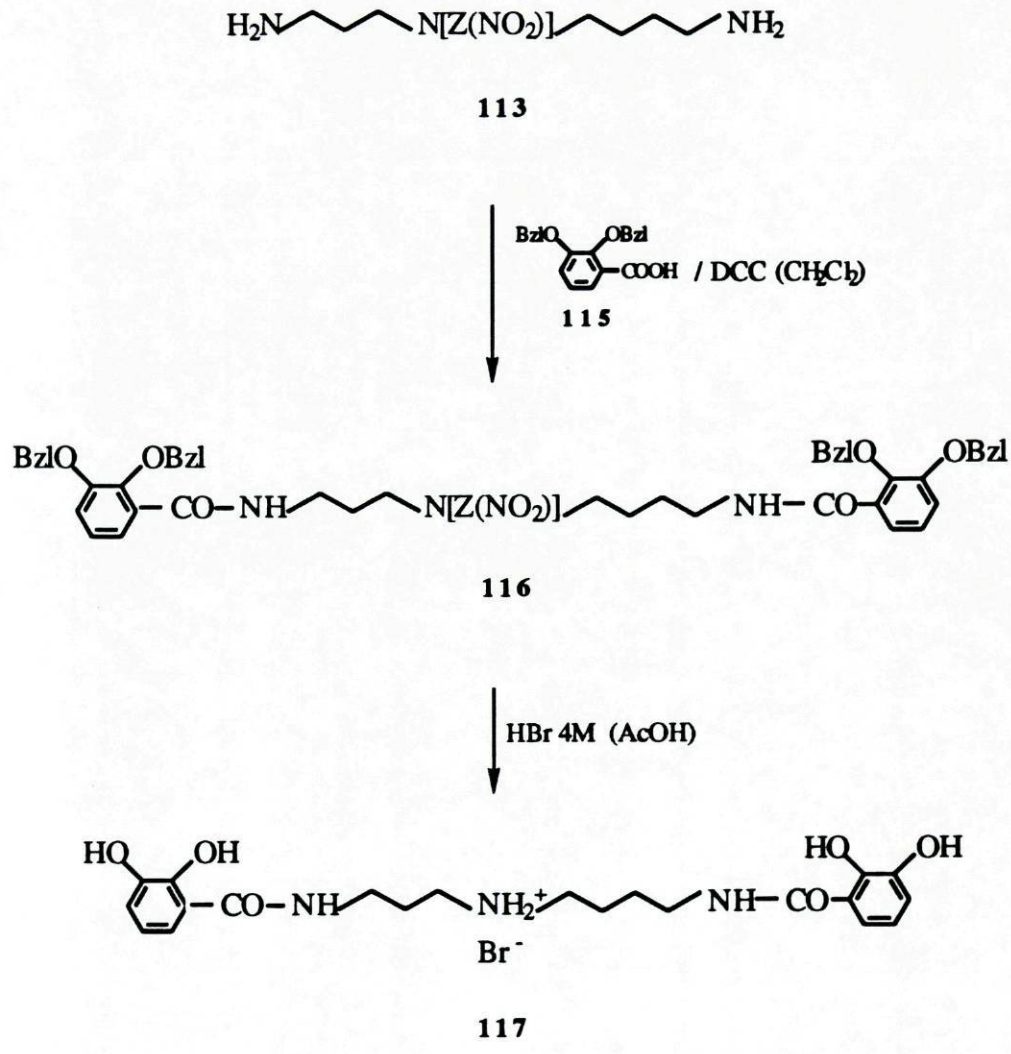


Esquema 44 - Síntese da N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)-espermidina[109] (**109**).



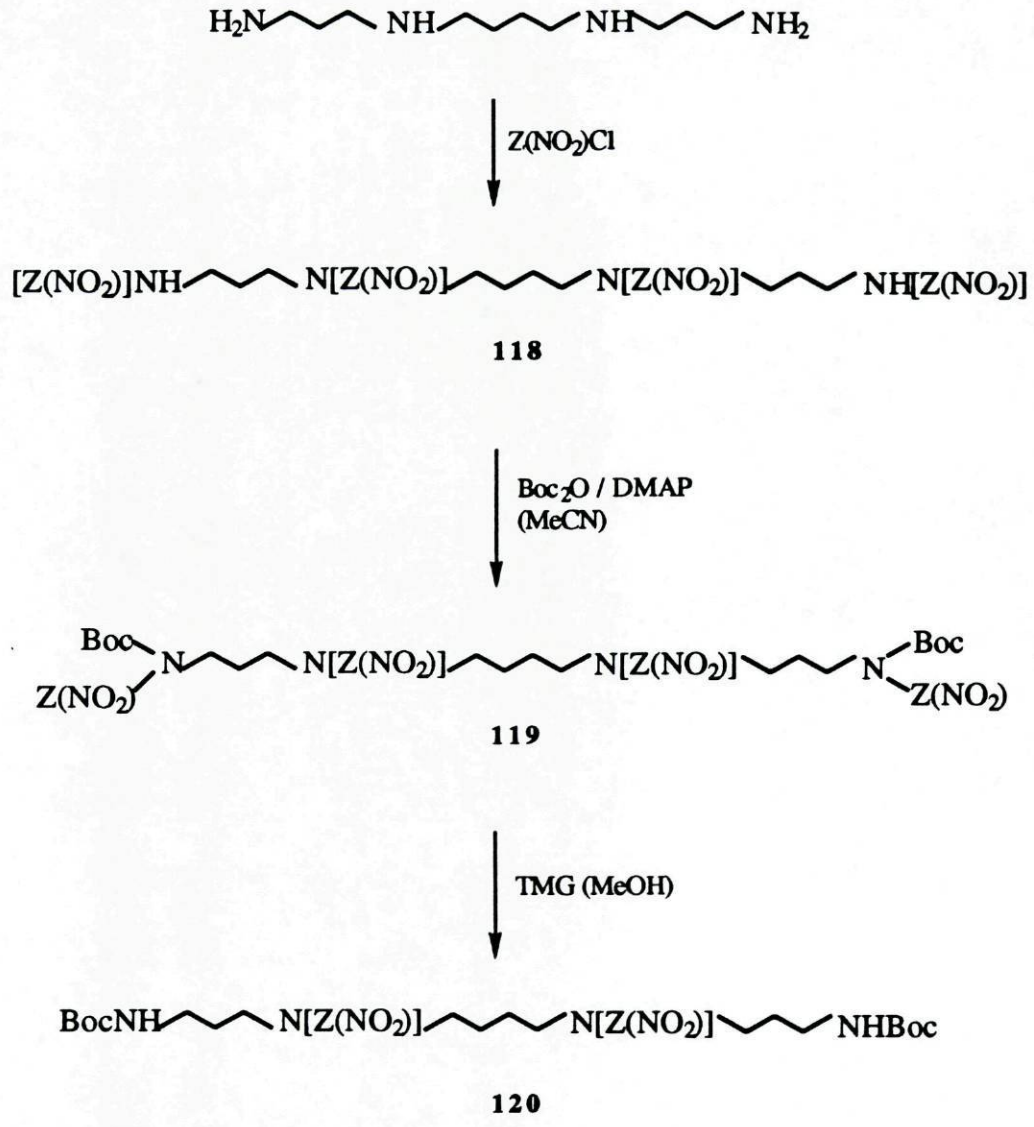
Esquema 45 - Síntese da N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (**113**) e da N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina[109] (**114**).

Os compostos **109** e **113** constituem potenciais intermediários muito úteis na síntese de produtos naturais, contendo na sua estrutura resíduos de derivados acilados da espermidina, tais como alcalóides e sideróforos. A N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)-espermidina isolada como sal (**117**), constitui um exemplo dum produto pertencente a este grupo de compostos biologicamente activos que foi sintetizado a partir do derivado da espermidina **113** (Esquema 46).



Esquema 46 - Síntese do sideróforo natural, brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)-espermidínio (**117**).

No caso da espermina foi também usada uma metodologia análoga, com obtenção de derivados simetricamente protegidos, que se representa no esquema 47.



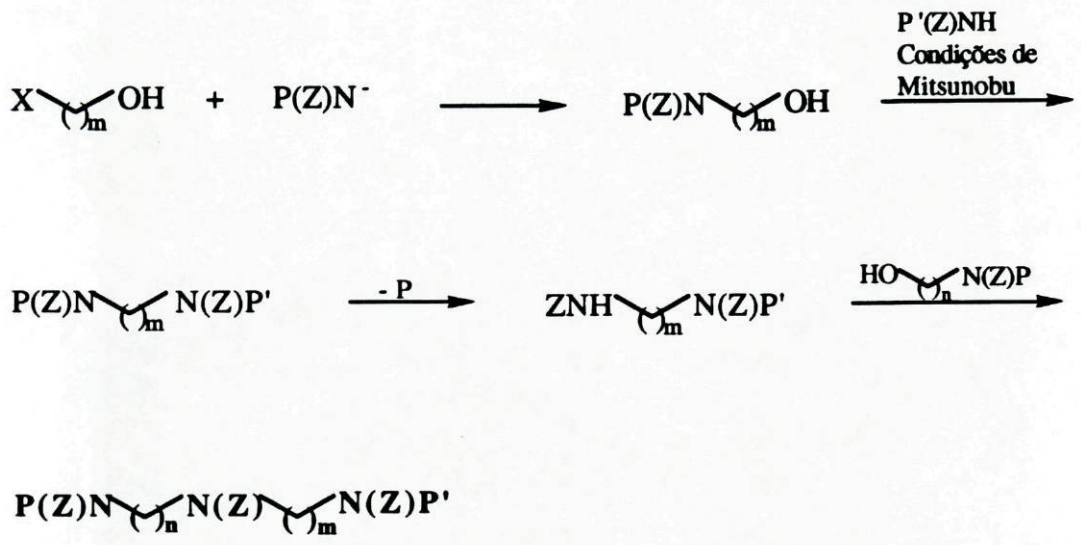
Esquema 47 - Síntese de derivados simetricamente protegidos da espermina.

A substituição do grupo benziloxicarbonilo pelo grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo, conforme se esperava, provou ser vantajosa visto que todos os derivados sintetizados e isolados foram obtidos sob a forma de sólidos cristalinos estáveis.

Quando se iniciou o programa experimental descrito nesta tese, não se encontravam descritos na literatura métodos simples para a síntese por fases de poliaminas livres e / ou selectivamente protegidas. Com o objectivo de investigar novas estratégias para a síntese de poliaminas selectivamente protegidas, através de métodos gerais de conversão de vários grupos funcionais nas aminas correspondentes, Ragnarsson e colaboradores melhoraram o procedimento experimental para a obtenção do iminodicarboxilato de bis(*terc*-butilo) (Boc_2NH) e aplicaram esse procedimento à preparação de percursores amínicos contendo dois grupos de N-protecção diferentes e, de preferência ortogonais, de modo a poderem ser removidos, em condições suaves, qualquer que seja a ordem arbitrada[110,111]. Alguns dos reagentes de Gabriel [$P(P')N^-$, em que P e P' são grupos de N-protecção] estudados por este grupo de investigação mostraram ser extremamente úteis na síntese de aminas primárias, dado que a presença simultânea dos dois grupos de protecção no mesmo átomo de azoto aumenta a labilidade das ligações formadas entre a função amina e esses grupos, facilitando a sua remoção selectiva. De facto, é do conhecimento geral, que a aplicação da reacção de Gabriel na preparação de aminas primárias é severamente restringida pela elevada estabilidade do grupo ftaloílo, cuja remoção obriga ao uso de um ácido ou de uma base fortes, ou ainda ao uso de hidrazina, a temperaturas elevadas, o que na maioria dos casos é incompatível com a presença de outros grupos funcionais nas aminas a sintetizar[112]. Por estas razões, a nova metodologia estabelecida por Ragnarsson pareceu-nos ser adequada para a síntese total de poliaminas em que os reagentes do tipo P(P')NH seriam utilizados como unidades percursoras para a extensão da cadeia amínica.

Assim, a segunda parte do trabalho experimental consistiu da síntese total de triaminas selectivamente protegidas com os grupos benziloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo, a partir de reacções adequadas que permitiram a introdução, uma a uma, das funções amina requeridas. Numa primeira fase da investigação, planeou-se sintetizar triaminas totalmente protegidas através de uma sequência reaccional em que os grupos amino seriam inseridos por meio de reacções entre haloalquilálcoois e reagentes de Gabriel, fazendo reagir, em seguida, nas condições de

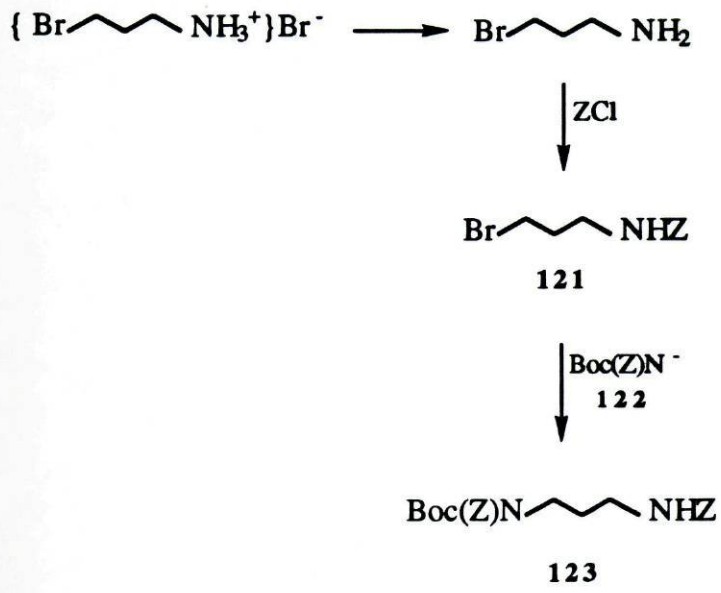
Mitsunobu, os aminoálcoois N,N-diprotegidos formados, quer com iminodicarboxilatos de alquilo e arilo, quer com diaminas protegidas. No esquema 48 encontra-se representada a sequência reaccional planeada para a preparação de triaminas totalmente protegidas.



Esquema 48 - Plano de síntese de triaminas totalmente protegidas; X=Br, Cl; P e P'=Boc e Troc; m e n=2 a 4.

No entanto, verificou-se que a reacção entre os haloalquilálcoois e os reagentes de Gabriel usados, não era de aplicação geral, dado que em certos casos não ocorreu a formação de qualquer produto [X=Cl; $Cl(CH_2)_mOH$; m=2 e 4] e, nos restantes, os produtos requeridos foram obtidos com rendimentos muito baixos.

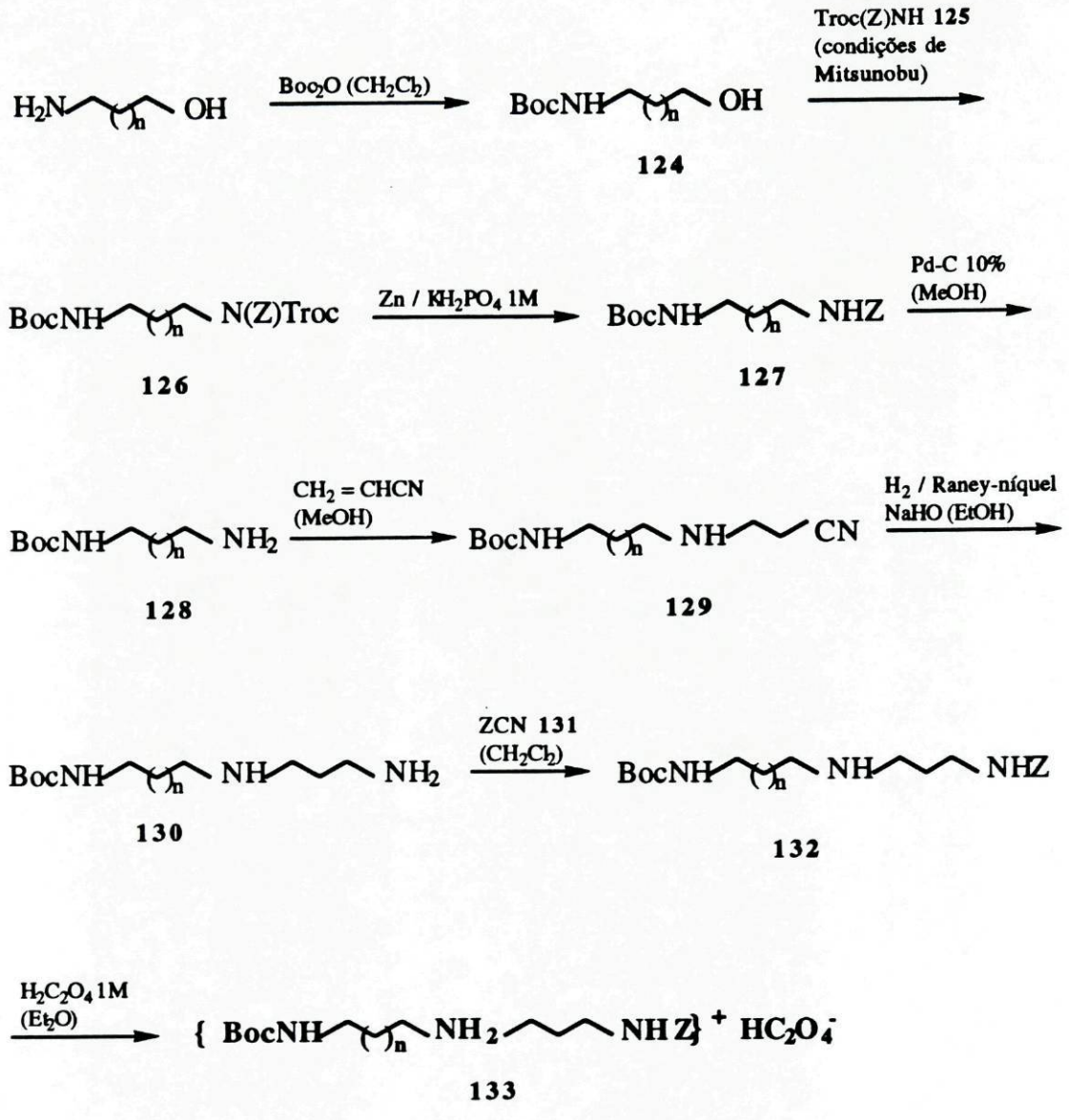
Um dos compostos de fórmula geral $ZNH(CH_2)_mN(Z)P'$ (m=3, P'=Boc) foi ainda preparado por um esquema reaccional alternativo (Esquema 49).



Esquema 49 - Síntese da N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)propanodiamina.

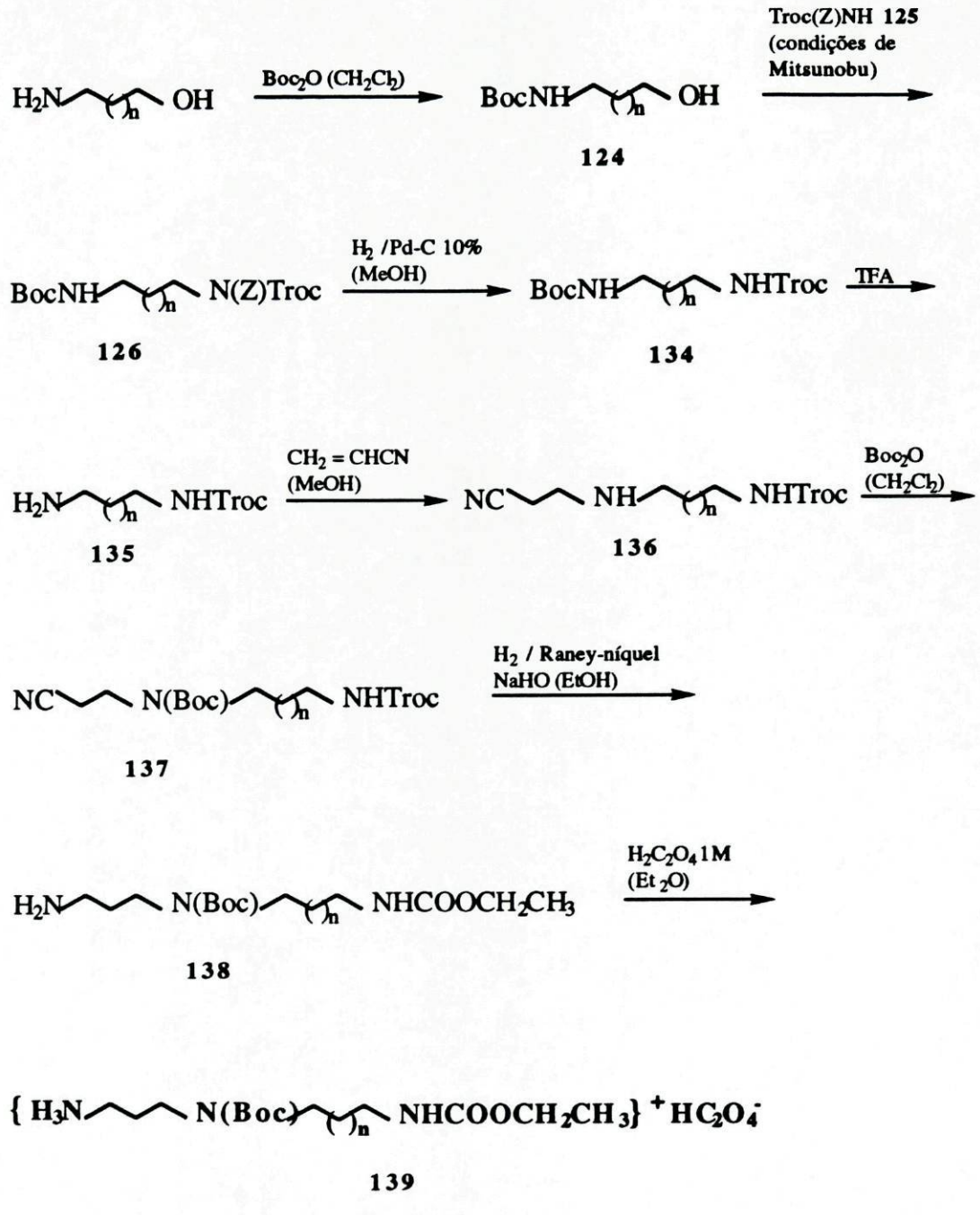
Dado os resultados desanimadores obtidos, tiveram de ser investigadas sequências alternativas de síntese que levassem à formação de triaminas selectivamente protegidas. Assim, foi delineada uma outra estratégia que veio a permitir a formação da cadeia poliamínica por adição, uma a uma, de unidades contendo um átomo de azoto. Com base no facto de que a reacção de Mitsunobu[113] entre um álcool e uma amina activada constitui um processo conveniente para a síntese de aminas primárias N,N-diprotegidas, prepararam-se, por meio desta reacção, diaminas triprotegidas, fazendo reagir N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois com os reagentes de Gabriel atrás referidos [P(Z)NH, P=Boc e Troc]. Uma vez que os grupos de N-protecção benziloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo têm uma estabilidade ortogonal relativamente uns aos outros, foi possível a remoção selectiva, em condições suaves, de qualquer um destes grupos, para se obterem as diaminas com um número variável de substituintes nas funções amina. A extensão da estrutura amínica foi conseguida por adição de acrilonitrilo às diaminas monossubstituídas, seguida de redução do grupo nitrilo, por hidrogenação catalítica. Durante as sequências de síntese efectuadas, houve

necessidade de se proceder à introdução e remoção dos grupos de N-protecção acima referidos, de modo a que as reacções ocorressem exclusivamente nas posições pretendidas. Através da primeira sequência reaccional, representada no esquema 50, foi possível sintetizar triaminas em que as funções amina terminais foram selectivamente protegidas com os grupos benziloxicarbonilo e *terc*-butiloxicarbonilo [$BocNH(CH_2)_nNHCH_2CH_2CH_2NHZ$; n = 3 a 5]. De entre as poliaminas sintetizadas destaca-se o derivado diprotegido da espermidina, N^8-Boc-N^1-Z-espermidina, anteriormente preparado por um método distinto, através do derivado hexaidropirimidínico da espermidina[102].



Esquema 50 - Síntese total de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino terminais; n=1 a 3.

Por sua vez, a sequência reaccional ilustrada no esquema 51 levou à obtenção de triaminas protegidas no seu grupo amino secundário e num dos grupos amino primários [$H_2NCH_2CH_2CH_2N(Boc)CH_2(CH_2)_nCH_2NHCOOCH_2CH_3$; n = 1 a 3], possibilitando assim a extensão da cadeia poliamínica através de reacções adequadas com o restante grupo amino terminal livre.

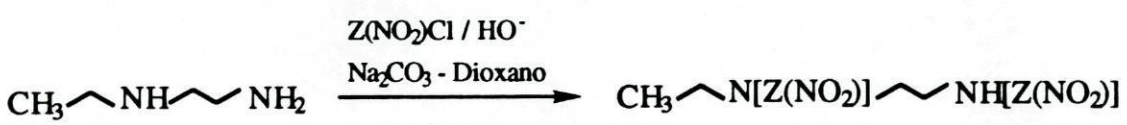


Esquema 51 - Síntese de triaminas selectivamente protegidas num grupo amino primário e no grupo amino secundário; n=1 a 3.

Procede-se, em seguida, à análise dos resultados obtidos e descreve-se, pormenorizadamente, o procedimento experimental seguido na preparação dos compostos representados nas sequências reaccionais atrás esquematizadas.

4.2 - Síntese dos derivados selectivamente protegidos da N-etiletanodiamina, N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)--N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (102) e N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiadiamina (103)

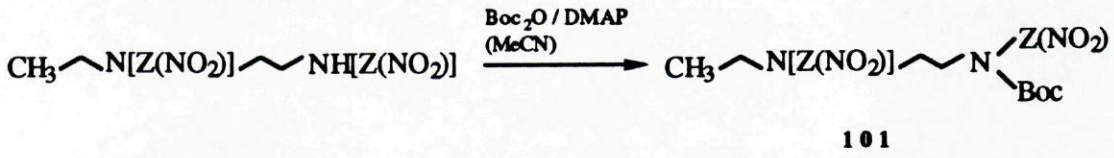
A sequência de síntese para a preparação da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil--N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (**102**) envolveu três fases (Esquema 43). A primeira fase consistiu na preparação da N^1-etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (**100**) que foi conseguida por reacção da N-etiletanodiamina com um pequeno excesso de cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo, em solução aquosa de carbonato de sódio e dioxano. A mistura reaccional foi mantida a pH 8 por adição de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2M.



100

Uma vez que desta reacção se obteve o produto **100** contaminado com álcool *p*-nitrobenzílico (resultante da hidrólise de algum cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo), foi necessário proceder à sua purificação, por cromatografia em coluna. O procedimento descrito levou ao isolamento do composto **100** com um rendimento mais elevado do que o referido na literatura[102](Quadro 1).

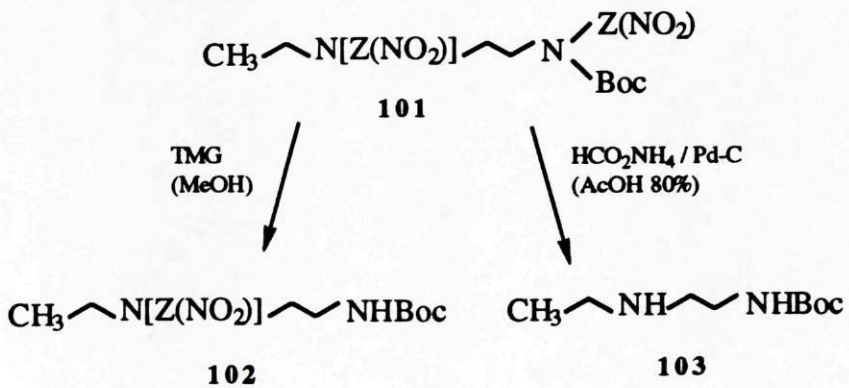
A introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo no grupo uretano terminal do composto **100** (segunda fase) foi efectuada por reacção com dicarbonato de bis(*terc*--butilo) na presença de uma quantidade catalítica de 4-(N,N-dimetilamino)piridina.



101

O produto **101** foi obtido como um sólido esbranquiçado, com bom rendimento, após purificação por cromatografia em coluna.

Uma vez que os dois grupos de N-protecção, *terc*-butiloxicarbonilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo, apresentam um comportamento químico ortogonal, ou seja, a remoção de um deles é efectuada em condições tais que o outro grupo não é afectado, o derivado totalmente protegido **101** foi convertido na N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (**102**) e na N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiamina (**103**) por remoção, respectivamente, de um grupo (apenas da função amina terminal diprotegida) e de dois grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo.



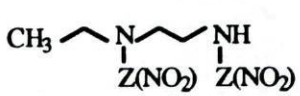
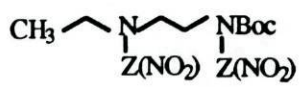
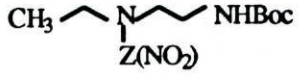
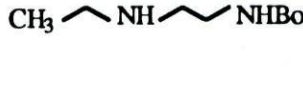
Esquema 52 - Remoção selectiva de um ou dois grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^1, N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina.

Assim, a remoção altamente selectiva do grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo de **101** com vista à obtenção do composto **102** foi conseguida por metanólise catalisada pela N,N,N',N'-tetrametilguanidina[114]. No decurso da reacção verificou-se (TLC e ^{1}H NMR) unicamente a formação de dois produtos - N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-

-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina e álcool *p*-nitrobenzílico - o que prova que a remoção é muito selectiva. Os dois produtos foram separados por cromatografia em coluna, obtendo-se o composto **102** como um sólido cristalino, com um bom rendimento, embora o tempo de reacção tenha sido um pouco elevado.

Por sua vez, a remoção dos dois grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo foi efectuada através de uma hidrogenação catalítica por transferência, usando metanoato de amónio como dador de hidrogénio e Pd-C como catalisador, em ácido acético aquoso, como foi descrito por Anwer e Spatola[115]. Uma vez terminada a hidrogenação, verificou-se (TLC) que o produto obtido se encontrava contaminado com *p*-toluidina, pelo que foi necessário purificá-lo por recristalização, obtendo-se o composto **103** como um sólido branco, com um bom rendimento, de acordo com o anteriormente descrito na literatura[102]. Quando se comparam os tempos necessários para remover, nas mesmas condições, os grupos benziloxicarbonilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo, verifica-se que o segundo requer um período bastante superior ao primeiro. No quadro 1 indicam-se os rendimentos, os pontos de fusão dos derivados da N-etiletanodiamina sintetizados, bem como a localização das respectivas preparações.

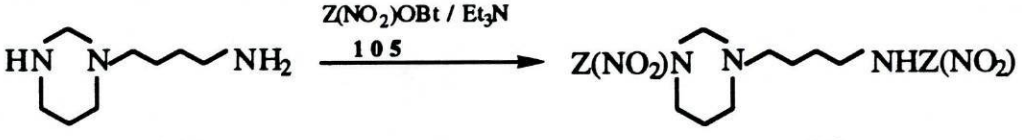
Quadro 1 - Resultados obtidos na síntese dos derivados da N-etiletanodiamina.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	100	80 lit.[102] 64	104-105 lit.[102] 104,5-105	147
	101	88 lit.[102] 80	109-110 lit.[102] 109-109,5	148
	102	82	79-80	149
	103	80 lit.[102] 85	54-55 lit.[102] 54,5-55	150

4.3 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina

4.3.1 - N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (109)

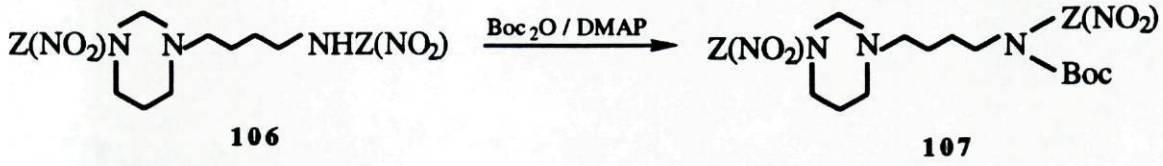
A sequência reaccional que levou à obtenção do composto **109** iniciou-se com a formação do conhecido aduto de Ganem (**104**), que constitui um excelente reagente de partida para a síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina[116]. As duas funções amina (primária e secundária) da N^1,N^4-metilenoespermidina foram primeiramente protegidas com o grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo, sendo a sua introdução conseguida através da reacção com carbonato de 1-benzotriazolilo e *p*-nitrobenzilo, na presença de trietilamina. O grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo não foi introduzido usando o reagente cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo pois já anteriormente tinha sido verificado que o derivado hexaidropirimidínico da espermidina era instável nas condições reaccionais necessárias a essa reacção[117].



104 **106**

O composto **106** foi então obtido, com bom rendimento (78%), após purificação por cromatografia em coluna.

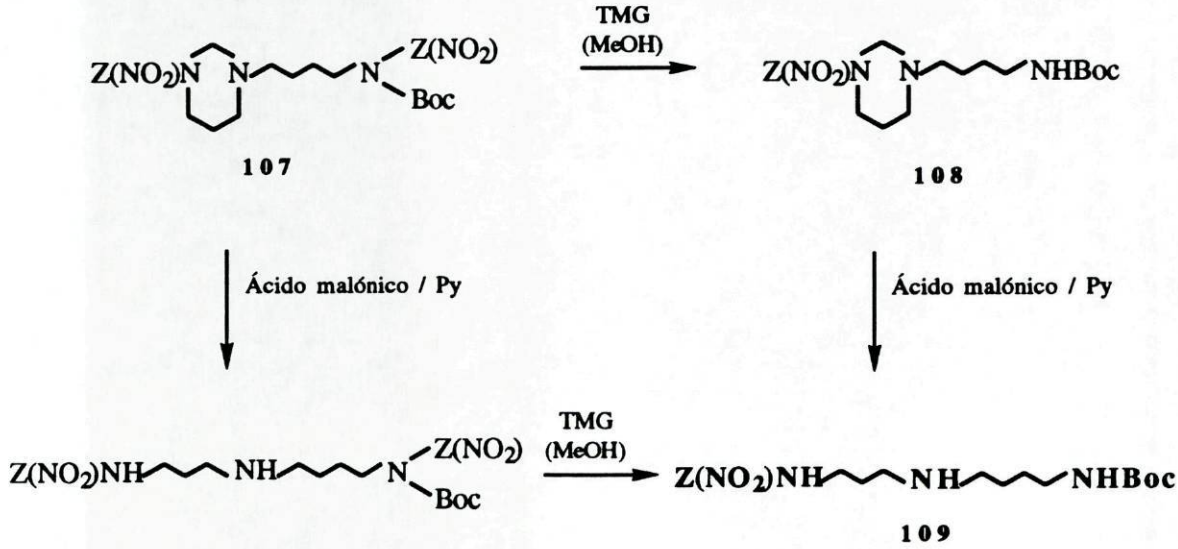
O grupo amino terminal da N^1,N^4-metileno-N^1,N^8-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina foi, em seguida, protegido através da reacção com dicarbonato de bis(*terc*-butilo) catalisada pela 4-(N,N-dimetilamino)piridina.



106 **107**

A introdução do segundo grupo de protecção na referida função amina ocorreu lentamente (2 dias) e foi necessário adicionar uma quantidade de Boc_2O equivalente a duas vezes o número de moles do reagente **106** para que a reacção se completasse. A mistura reaccional foi então separada por cromatografia em coluna, obtendo-se o produto **107** com o rendimento de 72%.

Nesta fase da sequência reaccional e tendo como objectivo a síntese da N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (**109**), poder-se-iam seguir dois procedimentos de acordo com o esquema 53 a seguir representado.



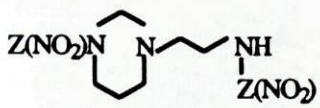
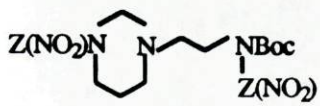
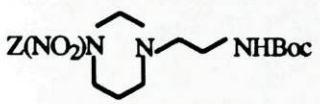
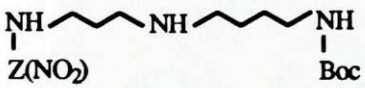
107 **108** **109**

Esquema 53 - Remoção dos grupos metileno e *p*-nitrobenziloxicarbonilo, através de procedimentos alternativos, para a obtenção do composto **109**.

Uma das vias consistiria na remoção do grupo metileno, formando-se uma molécula de espermidina mono- e diprotegida, respectivamente, nas posições N^1 e N^8, seguida da remoção selectiva do grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo do átomo N^8. O

procedimento alternativo envolveria as mesmas remoções mas realizadas no sentido inverso, ou seja, primeiro o grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo da posição N^8 e só depois o grupo metileno do derivado **108**. Uma vez que se encontra referido na literatura[117] que o primeiro procedimento, usando os grupos de N-protecção benziloxicarbonilo e *terc*-butiloxicarbonilo, se desenrola com rendimentos relativamente baixos, optou-se pela síntese do produto **109** através da segunda via reaccional ilustrada. Assim, a presença simultânea dos grupos *terc*-butiloxicarbonilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo na posição N^8 torna este último mais lábil do que o mesmo grupo na posição N^1, possibilitando a sua remoção selectiva por metanólise catalisada pela N,N,N',N'-tetrametilguanidina, obtendo-se deste modo o composto **108**, com um bom rendimento, após cromatografia em coluna. Seguiu-se a abertura do anel efectuada com ácido malónico, nas condições de Knoevenagel[118], com um breve aquecimento, que levou à formação do novo derivado selectivamente protegido da espermidina **109**, com o rendimento de 75%, após ser purificado por cromatografia em coluna e por recristalização. No quadro 2 indicam-se os rendimentos e os pontos de fusão dos derivados da espermidina isolados e preparados usando como intermediário o aduto de Ganem (N^1,N^4-metilenoespermidina), bem como a localização das respectivas preparações.

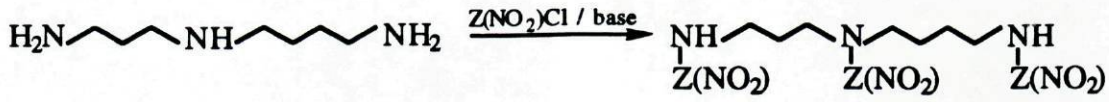
Quadro 2 - Resultados obtidos na síntese dos derivados da espermidina usando o aduto de Ganem como intermediário.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	106	78	óleo	152
	107	72	óleo	153
	108	90	óleo	154
	109	75	73-74	155

Deve notar-se que a unidade estrutural N-CH_2-N é facilmente localizável nos espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C destes compostos. De facto, os espectros de todos os compostos **106-109** apresentam sinais a 4,14 ppm (^1H) e a 65,0-65,6 ppm (^{13}C). Encontram-se ainda descritos na literatura[102] três compostos semelhantes cujos espectros apresentam sinais a 4,12-4,14 ppm (^1H) e a 65,0-65,2 ppm (^{13}C).

4.3.2 - N^4-(*p*-Nitrobenziloxicarbonil)espermidina (113)

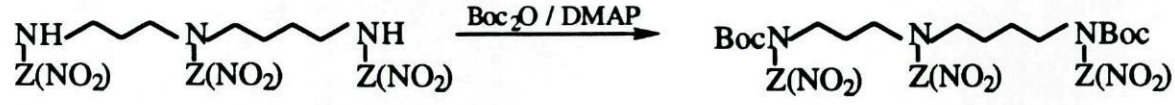
Como se encontra representado no esquema 45, a síntese da N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina teve lugar em quatro passos. No primeiro, todas as funções amina da espermidina foram protegidas com os grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo por reacção daquela poliamina com um pequeno excesso de cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo e solução aquosa de hidróxido de sódio.



110

O intermediário **110** assim preparado apresentava-se contaminado com álcool *p*-nitrobenzílico pelo que foi necessário proceder à sua purificação por cromatografia em coluna, para se obter um sólido cristalino, com bom rendimento. Importa referir que a substituição do grupo de N-protecção benziloxicarbonilo pelo grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo levou à formação de um sólido cristalino (**110**) e não de um óleo como se verificou na síntese da N^1,N^4,N^8-tris(benziloxicarbonil)espermidina descrita na literatura[102].

O passo seguinte consistiu na introdução dos grupos *terc*-butiloxicarbonilo nos átomos N^1 e N^8 do composto **110**, convertendo-os nos respectivos iminodicarboxilatos de *terc*-butilo e *p*-nitrobenzilo N-alquilados, através de um procedimento simples e análogo ao empregue na preparação do composto **107**.

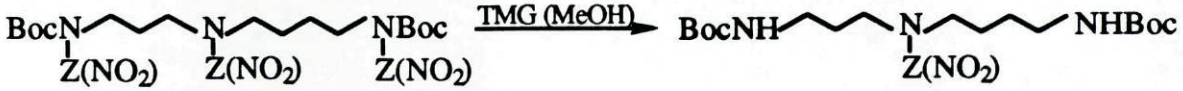


110 **111**

Após purificação por cromatografia em coluna, seguida de recristalização, obteve-se o composto **111** com bom rendimento, sob a forma de um sólido cristalino.

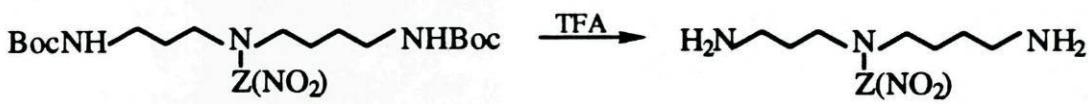
A terceira fase consistiu na remoção selectiva dos grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo, presentes nas funções amina terminais diprotegidas, por tratamento com N,N,N',N'-tetrametilguanidina em metanol. Verificou-se (TLC e NMR) que a mistura resultante desta remoção continha o produto requerido, álcool *p*-nitrobenzílico e vestígios de um outro produto, possivelmente resultante da remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo em vez do grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo, ligado à mesma função

amina. Essa remoção, já referida na literatura[114], foi explicada devido à relativa semelhança estrutural entre esses dois grupos, sendo responsável pela pequena selectividade na metanólise catalisada por base do composto Boc(Z)NPh, em que a razão dos produtos obtidos - BocNHPh e ZNHPh - é de 6 : 1. No presente caso (metanólise do composto **111**) a reacção não só ocorreu com grande selectividade, como com um bom rendimento, após purificação por cromatografia em coluna.



111 **112**

Finalmente, removeram-se os dois grupos *terc*-butiloxicarbonilo com ácido trifluoroacético nas condições usuais, obtendo-se a triamina **113**, em que somente a posição N^4 se encontra protegida com o grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo, estando as funções amina terminais disponíveis para posterior acilação.



112 **113**

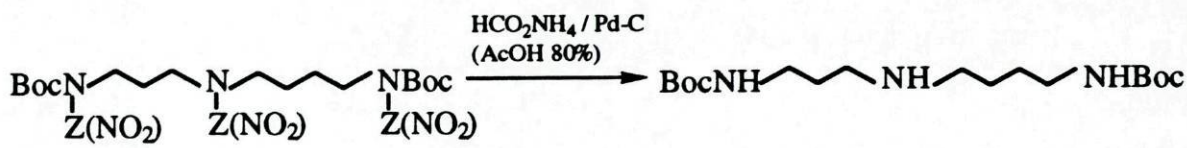
O produto **113**, como base livre, é instável e deve ser usado imediatamente após o seu isolamento.

Um derivado da espermidina idêntico ao composto **113** (N^4-benzilespermidina) já tinha sido sintetizado por dois grupos de investigação seguindo sequências reaccionais diferentes. Assim, Samejima e colaboradores[49] prepararam a N^4-benzilespermidina através de um procedimento que envolveu três fases, em que a benzilamina foi alquilada sucessivamente com N-(3-bromopropil)ftalimida e com N-(4-bromobutil)ftalimida. No entanto, o uso do grupo ftaloílo tem a desvantagem de requerer condições drásticas necessárias para a sua remoção. Por sua vez, Bergeron e colaboradores[55] sintetizaram o mesmo produto por adição de acrilonitrilo à benzilamina, seguida de alquilação do grupo

amino com 4-clorobutanonitrilo e por fim de redução dos grupos nitrilo, ainda com o inconveniente das condições usadas na última alquilação serem muito drásticas.

4.3.3 - N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina (114)

A síntese da N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina foi realizada com êxito, através da remoção total dos grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo do intermediário **111**, por hidrogenação catalítica por transferência, em ácido acético aquoso, usando paládio como catalisador e metanoato de amónio como dador de hidrogénio.

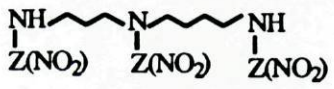
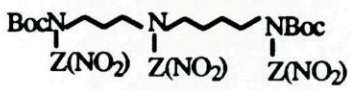
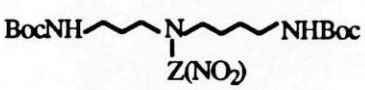
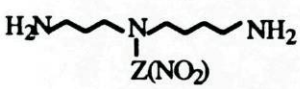
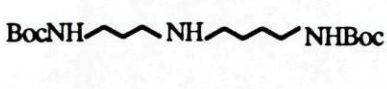


111 **114**

O produto **114** foi obtido como um sólido cristalino, com um rendimento de 60%, após recristalização, que permitiu remover a *p*-toluidina resultante da redução do grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo durante a hidrogenação.

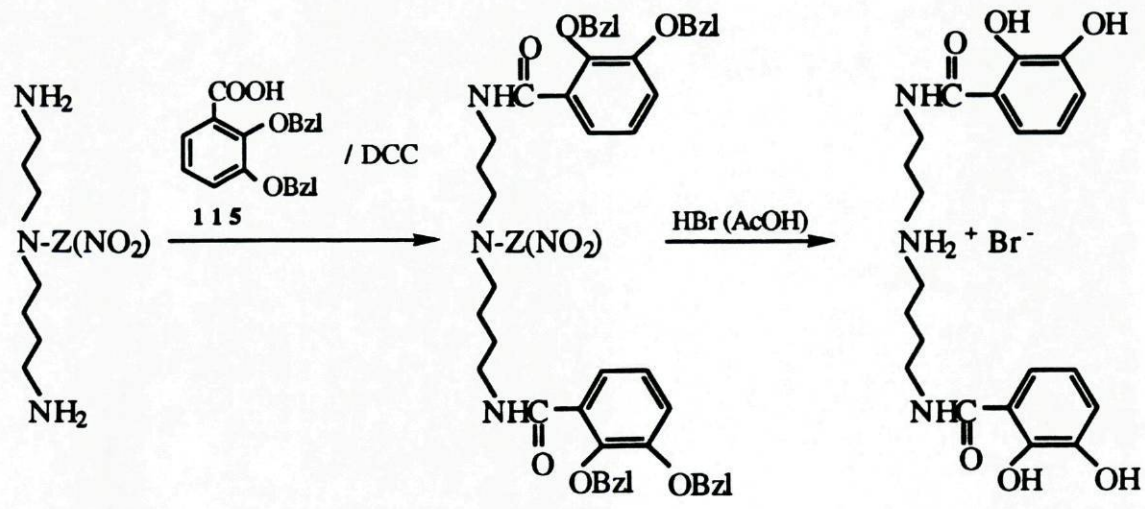
No quadro 3 indicam-se os rendimentos e os pontos de fusão dos derivados da espermidina acabados de referir (**110** a **114**), bem como a página em que se encontra descrita a sua preparação.

Quadro 3 - Resultados obtidos na síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina, usando apenas intermediários de cadeia linear.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	110	85	103-104	156
	111	78	92	157
	112	82	97-98	158
	113	80	óleo	159
	114	60	83-84 lit.[102] 83-84	160

4.4 - Síntese do sideróforo natural, brometo de N^1,N^8--bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio (117)

O sideróforo brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio foi preparado por bis-acilação das posições N^1 e N^8 da N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina com ácido 2,3-bis(benziloxi)benzóico, de acordo com o procedimento descrito por Kanai e colaboradores[119], usando N,N'-dicicloexilcarbodiimida como agente de condensação, seguida de remoção de todos os grupos de protecção (benzilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo) com brometo de hidrogénio em ácido acético.



113 **116** **117**

O composto **116**, resultante da reacção de condensação, foi obtido como um sólido ceroso, com um rendimento de 60%, após purificação por cromatografia em coluna.

Procurou-se então remover os grupos de protecção do intermediário **116**, por hidrogenação catalítica, mas obteve-se uma mistura complexa que, de acordo com as análises efectuadas (TLC e NMR) não continha qualquer vestígio dos reagentes iniciais e na qual, tal como se esperava, estava presente a *p*-toluidina. Numa tentativa de isolar e identificar os vários componentes dessa mistura, procedeu-se à sua separação por cromatografia em coluna mas, à medida que decorria a eluição, verificou-se a decomposição de alguns dos produtos. Neste momento, ainda se desconhecem as razões do insucesso desta reacção, uma vez que o grupo *p*-nitrobenziloxicarbonilo deveria ser removido pelo procedimento acima descrito, assim como os éteres benzílicos cuja remoção por este processo já foi aplicado por vários autores na síntese de catecóis, nomeadamente por Miyasaka e colaboradores[120], que os usaram na preparação do cloreto do mesmo sideróforo. Em face destes resultados, abandonou-se a purificação por cromatografia em coluna da mistura obtida e optou-se por realizar o passo final, de um modo mais limpo, através da remoção dos grupos de protecção com uma solução de

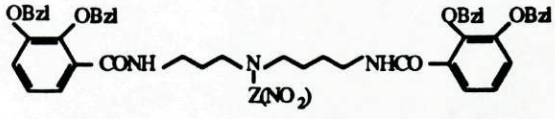
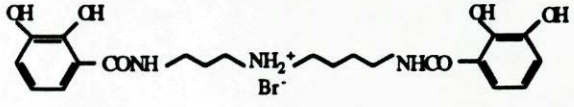
brometo de hidrogénio 4M em ácido acético, isolando-se o sideróforo em questão, sob a forma do sal do brometo de hidrogénio (**117**), com bom rendimento, após recristalização.

De entre os vários processos usados para a obtenção da N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidina deve mencionar-se a síntese realizada por Bergeron e colaboradores[54] que consistiu da condensação dos grupos amino primários da N^4-benzilespermidina com cloreto de 2,3-bis(acetiloxi)benzoílo, na presença de uma base, seguida da remoção do grupo benzilo por hidrogenação catalítica e dos grupos acetilo por tratamento com uma solução de metóxido de sódio em metanol.

Por sua vez, Murahashi e colaboradores[18] descreveram um procedimento muito elegante, conveniente e quimiosselectivo para a síntese do mesmo sideróforo baseado no uso de cianetos de acilo que, como já foi referido, reagem exclusivamente com os grupos amino primários, não sendo necessário proteger a função amina secundária da espermidina. Foram ainda aplicados outros reagentes acilantes com elevada selectividade relativamente a grupos amino primários na preparação do sideróforo referido, sempre com bons rendimentos. Assim, por exemplo, Joshua e colaboradores[89] usaram o reagente 2,3-bis(benziloxi)benzoilimidazol para acilar selectivamente os grupos amino terminais da espermidina durante o procedimento seguido na preparação da N^1,N^8--bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidina. A 3-[2,3-bis(benziloxi)benzoil]-1,3-tiazolidina-2--tiona também constitui um reagente adequado para este tipo de acilação, como foi demonstrado na síntese do cloreto de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio efectuada por Miyasaka e colaboradores[120].

No quadro 4 indicam-se os rendimentos e os pontos de fusão dos compostos **116** e **117**, bem como a localização da sua preparação.

Quadro 4 - Resultados obtidos na síntese do sideróforo brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	116	60	39-40	161
	117	80	190-191	162

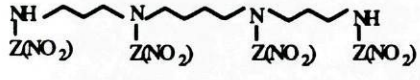
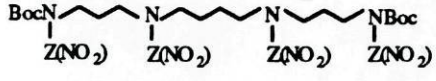
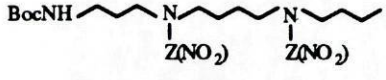
4.5 - Síntese do derivado simetricamente protegido da espermina, N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4, N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (120)

O derivado selectivamente protegido da espermina, N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina, foi sintetizado seguindo um procedimento idêntico ao descrito para o correspondente derivado da espermidina **112**, sendo efectuado em três fases. Na primeira fase, protegeram-se as quatro funções amina da espermina por reacção desta poliamina com cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo, tendo-se obtido o produto **118** bastante puro após ser tratado, sucessivamente, com água e éter etílico e submetido a uma única recristalização. Note-se o elevado rendimento (98%) com que o composto **118** foi isolado, podendo-se mesmo concluir que a introdução dos grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo, neste caso, é quantitativa. A fase seguinte consistiu na introdução dos grupos *terc*-butiloxicarbonilo nas funções amina terminais monoprotegidas, através da reacção do derivado **118** com dicarbonato de bis(*terc*-butilo) na presença de uma quantidade catalítica de 4-(N,N-dimetilamino)piridina. Esta reacção desenrolou-se mais lentamente do que a efectuada com o derivado da espermidina **111** e, devido à

insolubilidade do substrato, foi necessário aquecer ligeiramente a mistura reaccional. No entanto, o composto **119** foi obtido, com bom rendimento, depois de ter sido purificado por "flash chromatography". Finalmente, removeram-se selectivamente os grupos *p*-nitrobenziloxicarbonilo das posições N^1 e N^{12} por metanólise na presença de N,N,N',N'-tetrametilguanidina, o que levou à formação do produto **120** com um bom rendimento, embora a remoção só se tenha completado ao fim de dez dias. Uma vez que a mistura obtida no final da reacção continha o produto **120** juntamente com álcool *p*-nitrobenzílico (TLC), foi necessário proceder-se a uma separação prévia por cromatografia em coluna para se poder cristalizar a N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina.

No quadro 5 indicam-se os rendimentos e os pontos de fusão dos derivados protegidos da espermina isolados, bem como a localização das respectivas preparações.

Quadro 5 - Resultados obtidos na síntese de derivados protegidos da espermina.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	118	98	112-113	164
	119	73	103-104	165
	120	86	112-113	166

4.6 - Dificuldades verificadas na síntese de aminoálcoois N,N-diprotegidos

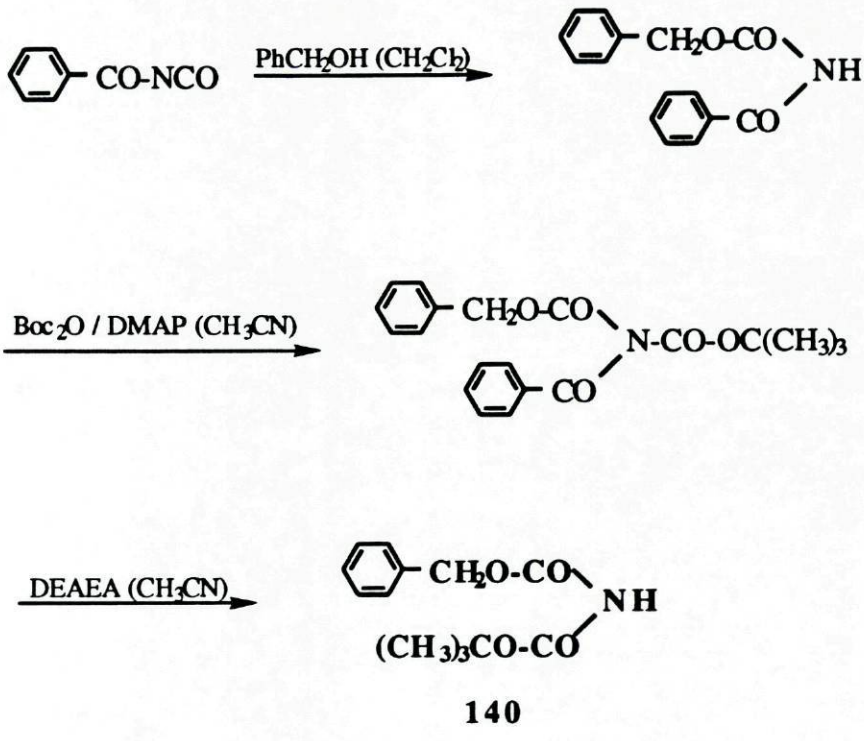
O método clássico para a síntese de aminas primárias, que envolve a alquilação do sal de potássio da ftalimida seguida da remoção do grupo de protecção ftaloílo, foi desenvolvido por Gabriel há mais de um século[121]. Desde então, o procedimento experimental tem vindo a ser melhorado no que respeita aos passos de alquilação e de remoção[112]. Assim, foi variado o tipo de solvente de modo a que a reacção pudesse ser efectuada a temperaturas inferiores às originalmente estabelecidas e foram utilizados novos reagentes alquilantes. Por outro lado, foram estudadas condições alternativas para a hidrólise e remoção do grupo ftaloílo, como por exemplo a hidrazinólise, verificando-se, no entanto, que a regeneração da amina formada ainda apresenta problemas práticos consideráveis[122-124]. Este método não é aconselhável para a síntese de aminas primárias nos casos em que não se podem usar ácidos ou bases fortes nem hidrazina. Por estes motivos, nas últimas duas décadas tem sido investigado um número considerável de compostos que substituam a ftalimida ou o seu sal de potássio nas reacções de Gabriel e de Mitsunobu.

De entre os compostos estudados, destacam-se os iminodicarboxilatos simétricos [P(P')NH em que P = P'] e assimétricos [P(P')NH em que P ≠ P'] em que P e P' são grupos habitualmente usados na protecção das funções amina. O primeiro destes iminodicarboxilatos de alquilo utilizado, Boc_2NH, foi preparado por Carpino[125], com um rendimento baixo, a partir do hidrazidometanoato de *terc*-butilo via um rearranjo de Curtius na azida intermediária. Jones e colaboradores[126] melhoraram o procedimento para a síntese do mesmo derivado, demonstrando que este pode ser obtido, com um rendimento de 70%, por oxidação do carbamoilmetanoato de *terc*-butilo (facilmente disponível em larga escala) com tetraacetato de chumbo em *terc*-butanol, através da formação dum composto intermediário, o isocianato de *terc*-butiloxicarbonilo. Por sua vez, Ragnarsson e colaboradores[114,127,128] sintetizaram o mesmo composto, em larga

escala, partindo da formamida que foi exaustivamente *terc*-butiloxicarbonilada com o dobro da quantidade estequiométrica de dicarbonato de bis(*terc*-butilo) na presença de 4--(N,N-dimetilamino)piridina, seguindo-se a remoção do grupo formilo da N,N-bis(*terc*--butiloxicarbonil)formamida com 2-(N,N-dietilamino)etanamina. Actualmente, este método é utilizado na preparação industrial do iminodicarboxilato de bis(*terc*-butilo), pela firma suíça "Fluka Chemie". Outro composto simétrico deste tipo, o iminodicarboxilato de dibenzilo, foi preparado por adição de álcool benzílico a isocianato de benziloxicarbonilo[129] ou, mais recentemente, a partir de carbamato de benzilo e de cloreto de benziloxicarbonilo na presença de hidreto de potássio[130].

Dos iminodicarboxilatos assimétricos podem citar-se como exemplos o iminodicarboxilato de *terc*-butilo e metilo e o iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo (**140**). O primeiro foi preparado por oxidação do carbamoilmetanoato de *terc*-butilo com tetraacetato de chumbo, em metanol[126,131]. O seu sal de potássio foi isolado e usado em reacções de alquilação do tipo da reacção de Gabriel, originando os correspondentes N-alquiliminodicarboxilatos de *terc*-butilo e metilo. O grupo metoxicarbonilo foi removido selectivamente com hidróxido de sódio a 20ºC, formando-se os carbamatos de *terc*-butilo, com rendimentos de 71-73%. A primeira preparação do iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo (**140**) foi conseguida por reacção do isocianato de benzoílo com álcool benzílico, seguida da *terc*-butiloxicarbonilação exaustiva do intermediário obtido. O N-benzoiliminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo formado *in situ* foi directamente submetido a aminólise, usando 2-(N,N-dietilamino)etanamina (DEAEA) para remover o grupo benzoílo[111] (Esquema 54). O composto **140** foi convertido no sal de sódio, quantitativamente, e usado em algumas alquilações de Gabriel simples, dando produtos com rendimentos de 83-93%. Uma vez que é possível remover selectivamente o grupo benziloxicarbonilo dos N-alquiliminodicarboxilatos de benzilo e *terc*-butilo por hidrogenação catalítica, e que os carbamatos de *terc*-butilo assim como, em princípio, outros carbamatos de alquilo sofrem alquilação no grupo amino, os iminodicarboxilatos atrás referidos abriram novas perspectivas, quando comparados com a ftalimida, para a síntese de aminas secundárias. Enquanto que as reacções de alquilação, usando o sal de

potássio da ftalimida, permitem exclusivamente a síntese de aminas primárias, o procedimento descrito também possibilita a preparação de aminas secundárias através de reacções consecutivas de alquilação, remoção do grupo benziloxicarbonilo e nova alquilação.



140

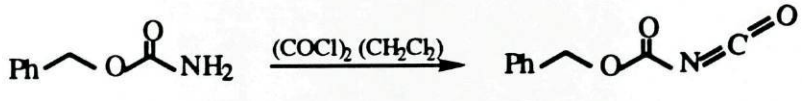
Esquema 54 - Síntese do iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo[111].

Dada esta possibilidade, foram preparados vários iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo (ZNHCOOR) por reacção do isocianato de benziloxicarbonilo com os álcoois apropriados, com rendimentos superiores a 90%[129]. Os álcoois utilizados foram seleccionados de modo a ser possível a remoção selectiva dos grupos alcoxicarbonilo da amina diprotegida, qualquer que fosse a ordem arbitrada.

Dando continuidade a este estudo e tendo como objectivo a síntese de aminas primárias N,N-diprotegidas, cuja estrutura inclua um outro grupo funcional através do qual seja possível a extensão da cadeia por reacções adequadas entre esse grupo funcional e compostos que contenham ou possam vir a originar funções amina, procurou-se

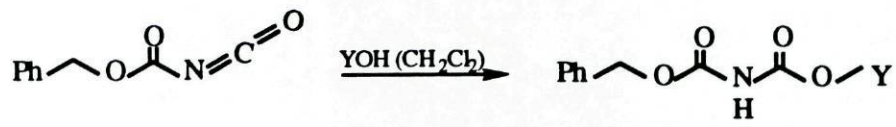
preparar aminoálcoois N,N-diprotegidos por reacção de haloalquilálcoois [$XCH_2(CH_2)_nCH_2OH$ em que X=Br ou Cl e n=0 a 2] com os sais de sódio ou de potássio de iminodicarboxilatos de alquilo [$P(Z)N^- M^+$ em que P=Boc ou Troc e M=K ou Na]. Os produtos assim formados seriam então usados em reacções de Mitsunobu com vista à obtenção de triaminas totalmente protegidas com grupos selectivamente removíveis (Esquema 48).

Assim, numa primeira fase, prepararam-se os reagentes de Gabriel [$P(Z)N^-M^+$] através de uma sequência de três reacções. O passo inicial consistiu na síntese do isocianato de benziloxicarbonilo por reacção do carbamato de benzilo com o cloreto de oxalilo, sendo obtido o produto com um rendimento moderado (50%) de acordo com o referido na literatura[129].



141

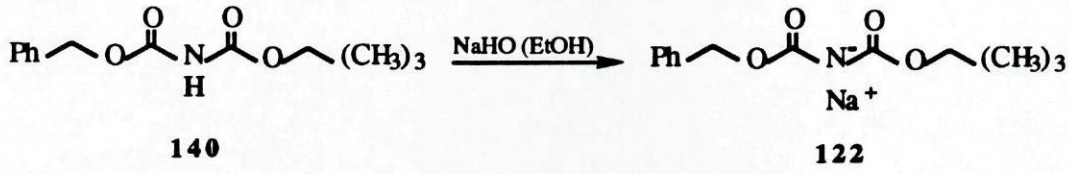
O procedimento experimental seguido nesta síntese é dificultado pelo facto do isocianato de benziloxicarbonilo ser muito sensível à humidade do ar, obrigando à realização de todas as operações sob atmosfera de azoto, o que foi impraticável nas condições laboratoriais de que dispomos. Depois de isolado por destilação sob pressão reduzida, fez-se reagir o isocianato de benziloxicarbonilo com os álcoois adequados, obtendo-se quantitativamente os respectivos iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo.



Y = CH_2CCl_3 **125**
Y = $C(CH_3)_3$ **140**

No último passo converteram-se, quantitativamente, os iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo nos correspondentes sais de sódio ou de potássio, a baixa temperatura

(-20ºC), usando uma quantidade de hidróxido de sódio ou de potássio em etanol ligeiramente inferior à estequiométrica.



140 **122**

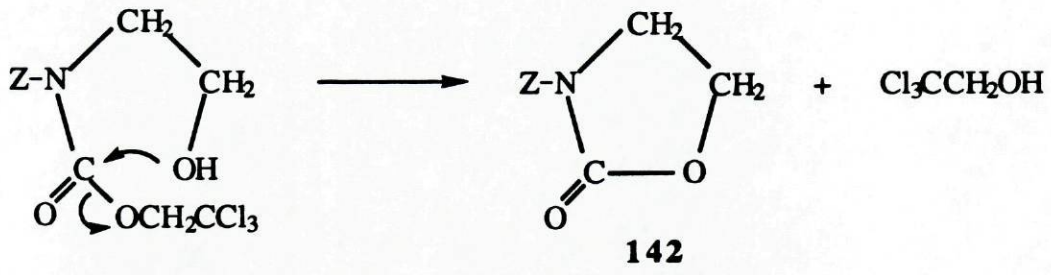
A segunda fase da preparação dos aminoálcoois N,N-diprotegidos consistiu na reacção destes sais com vários haloalquilálcoois em N,N-dimetilformamida, à temperatura de -30ºC, verificando-se, por análise dos componentes das misturas resultantes (TLC e NMR), que este procedimento não é de aplicação geral, uma vez que os resultados obtidos diferem significativamente de reacção para reacção. Assim, só ocorreu a formação do produto requerido nas experiências 1, 2 e 6 (Quadro 6), embora com rendimentos muito baixos (com excepção da experiência 2 cujo rendimento foi de 54%). Após separação por cromatografia em coluna, os componentes das misturas resultantes das reacções que envolveram cloroalquilálcoois (exp. 3 e 4) foram identificados como sendo os compostos iniciais, encontrando-se os reagentes de Gabriel sob a forma de P(Z)NH (P=Boc e Troc). Nestes casos, as misturas reaccionais foram ainda aquecidas a 50ºC, durante três dias, mas não ocorreu qualquer alteração dos resultados acima descritos.

Quadro 6 - Estudo da reacção de reagentes de Gabriel com haloalquilálcoois.

Experiência	Reagente de Gabriel	Substrato	Produto requerido	Outros componentes da mistura final	Rendimento /%
1	$Boc(Z)N^-Na^+$	$Br(CH_2)_2OH$	$Boc(Z)N(CH_2)_2OH$	Boc(Z)NH $Br(CH_2)_2OH$	14
2	$Boc(Z)N^-Na^+$	$Br(CH_2)_3OH$	$Boc(Z)N(CH_2)_3OH$	Boc(Z)NH $Br(CH_2)_3OH$	54
3	$Boc(Z)N^-Na^+$	$Cl(CH_2)_4OH$	–	Boc(Z)NH $Cl(CH_2)_4OH$	–
4	$Troc(Z)N^-Na^+$	$Cl(CH_2)_2OH$	–	Troc(Z)NH $Cl(CH_2)_2OH$	–
5	$Troc(Z)N^-Na^+$	$Br(CH_2)_2OH$	–	Troc(Z)NH $Br(CH_2)_2OH$ Produto cíclico	– 15
6	$Troc(Z)N^-Na^+$	$Br(CH_2)_3OH$	$Troc(Z)N(CH_2)_3OH$	Troc(Z)NH $Br(CH_2)_3OH$	6
7	$Troc(Z)N^-K^+$	$Br(CH_2)_2OH$	–	Troc(Z)NH $Br(CH_2)_2OH$ Produto cíclico	– 15

Uma possível explicação para o facto de se formarem aminoálcoois N,N-di-protegidos, embora com baixo rendimento, nas experiências com os substratos bromados e de não se verificar a sua formação com os cloroalquilálcoois, pode basear-se na maior facilidade de saída do anião brometo relativamente ao anião cloreto, em reacções de substituição nucleófila em carbono saturado. No caso das reacções de $Troc(Z)N^-Na^+$ e $Troc(Z)N^-K^+$ com 2-bromoetanol (experiências 5 e 7) verificou-se a ocorrência de ciclização intramolecular do produto requerido, com baixo rendimento (15%), provavelmente através do ataque nucleófilo do átomo de oxigénio hidroxílico ao grupo

carbonilo do grupo Troc, com formação da 3-benziloxicarbonil-2-oxazolidinona (**142**) e do 2,2,2-tricloroetanol.



142

O espectro de RMN ^1H registado para o composto **142** apresenta valores de desvios químicos concordantes com os existentes na literatura[132] para a 3-benziloxicarbonil-2-oxazolidinona (Quadro 7).

Quadro 7 - Comparação dos valores dos desvios químicos encontrados para a 3-benziloxicarbonil-2-oxazolidinona com os da literatura.

3-benziloxicarbonil-2-oxazolidinona δ_H ($CDCl_3$) / ppm		
Encontrados	Literatura[132]	
7,34-7,41	7,20-7,70	(m, 5H, C_6H_5)
5,30	5,30	(s, 2H, $C_6H_5CH_2$)
4,32-4,37	4,30-4,60	(m, 2H, CH_2O)
3,97-4,06	3,80-4,20	(m, 2H, CH_2N)

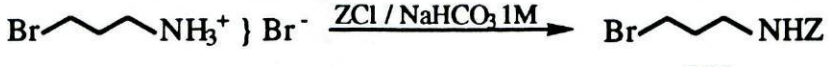
Na experiência 7 substituiu-se o sal de sódio do iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo pelo respectivo sal de potássio no intuito de se verificar se o facto do primeiro ser mais higroscópico influenciaria o rendimento do produto formado. No entanto, esta substituição parece não ter alterado os resultados obtidos.

Em todas as experiências realizadas (com excepção da experiência 2) os iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo [P(Z)NH, P=Boc e Troc] e os haloalquilálcoois foram os componentes isolados em maior quantidade, após separação por cromatografia em coluna. O insucesso das experiências, efectuadas nas condições já referidas, foi

primeiramente atribuído ao carácter básico dos reagentes de Gabriel usados. Assim, uma vez que estes compostos são bases moderadamente fortes[133], podem captar um protão do grupo hidroxilo dos haloalquilálcoois presentes na mistura inicial, formando-se os respectivos ácidos conjugados e diminuindo a concentração dos reagentes de Gabriel necessários para efectuarem o ataque nucleófilo ao átomo de carbono que contém o halogénio. Por outro lado, o grupo OH dos haloalquilálcoois também deve ser mais acídico devido à presença do átomo de halogénio na outra extremidade da cadeia. Na tentativa de evitar este problema, realizaram-se novamente as referidas experiências na presença de uma base adicional, a N,N,N',N'-tetrametilguanidina, que em princípio evitaria a remoção do protão pelos reagentes de Gabriel. Surpreendentemente, mantiveram-se os resultados obtidos anteriormente, o que nos levou a abandonar esta parte do programa de investigação.

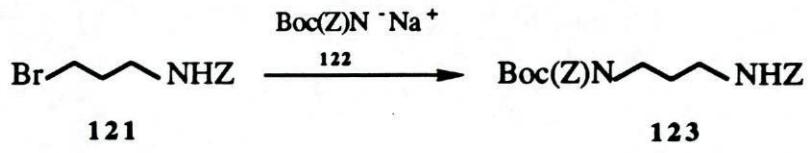
4.7 - Síntese da N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-1,3-propanodiamina

A N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)propanodiamina, um dos intermediários do esquema reaccional planeado para a síntese de triaminas totalmente protegidas (esquema 48), foi obtida, posteriormente à tentativa de preparação de amino-álcoois N,N-diprotegidos, seguindo um procedimento que envolveu dois passos. No primeiro, protegeu-se o grupo amino da 3-bromopropanamina por reacção com cloreto de benziloxicarbonilo, mantendo o pH da mistura reaccional igual a 8, por adição de uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio 1M.



121

Neste caso, não se usou a habitual solução aquosa de carbonato de sódio a 10% para se manter alcalina a mistura em reacção, por se tratar de uma base suficientemente forte para provocar a hidrólise parcial da 3-bromopropanamina com a consequente formação de N-benziloxicarbonil-3-hidroxipropanamina como produto secundário[134]. Nas condições em que se realizou a introdução do grupo benziloxicarbonilo, obteve-se o produto requerido com um rendimento quantitativo, após purificação por cromatografia em coluna. Procedeu-se, em seguida, à reacção de Gabriel entre a N-benziloxicarbonil-3--bromopropanamina e o sal de sódio do iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo, sendo o produto isolado com bom rendimento (70%), depois de purificado por cromatografia em coluna.



121 **123**

Este composto pode ter aplicação prática na extensão da cadeia poliamínica por reacção, nas condições de Mitsunobu, com aminoálcoois N-protegidos.

4.8 - Síntese total de triaminas selectivamente protegidas

4.8.1 - Síntese de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino primários

4.8.1.1 - N-Benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas (126)

A sequência reaccional elaborada com vista à preparação de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino terminais inclui a síntese de intermediários diamínicos tri-, di- e monoprotegidos. Os intermediários triprotegidos foram obtidos por reacção de N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois com o iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo nas condições suaves de Mitsunobu.

A reacção de compostos contendo grupos hidroxilo com ácidos (HX, pKa $\leq$ 11) na presença de trifenilfosfina e de azodicarboxilato de dietilo tem sido amplamente utilizada para a funcionalização de álcoois e de compostos com eles relacionados[113]. Na verdade, a reacção de Mitsunobu constitui um método geral, excepcionalmente útil em síntese orgânica, pois permite a substituição de um grupo hidroxilo por uma larga gama de nucleófilos. Este procedimento tem sido aplicado na obtenção de aminas e seus derivados através do uso de nucleófilos contendo azoto que, depois de reagirem com o grupo hidroxilo, são convertidos nas funções amina requeridas. Deste modo, Weinreb e colaboradores[135], por exemplo, usaram N-alquilsulfonamidas como componentes acídicos da reacção de Mitsunobu para a síntese de aminas primárias e secundárias protegidas. Por sua vez, Edwards e colaboradores[136] efectuaram a síntese estereoespecífica de aminas secundárias através da reacção de álcoois com a N-metiltrifluorometanossulfonamida, nas condições de Mitsunobu. Em 1992, Ragnarsson e colaboradores[137] descreveram a preparação de aminoácidos quirais N-protegidos, empregando a reacção de Mitsunobu, a partir de iminodicarboxilatos de alquilo e de ésteres do ácido láctico, com rendimentos que variaram entre 5 e 93%. Na tentativa de relacionar o

rendimento obtido nestas reacções com a acidez dos iminodicarboxilatos de alquilo usados, foram determinados os valores das constantes de acidez desses reagentes em dimetilsulfóxido, verificando-se que, quanto menor fôr o valor de pKa, maior é o rendimento da alquilação[133]. No quadro 8 indicam-se alguns dos valores determinados no estudo da correlação referida.

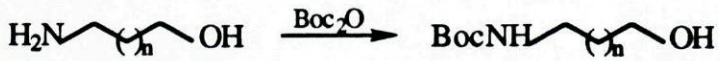
Quadro 8 - Correlação entre o valor de pKa do componente acídico e o valor do rendimento da reacção de Mitsunobu para a preparação de aminoácidos quirais N-protegidos[133].

Experiência	Ácido [P(P')NH]	pKa (DMSO)	Rendimento da reacção de Mitsunobu / %
1	Boc_2NH	16,9	<5
2	Adoc(Z)NH	15,6	13
3	Boc(Z)NH	14,4	16
4	Z[Z(OMe)]NH	14,3	30
5	Z_2NH	14,2	42
6	$Z[Z(NO_2)]NH$	13,3	66
7	Troc(Z)NH	12,7	83
8	Tos(Boc)NH	8,5	93

A importância do valor de pKa do componente acídico no mecanismo e no rendimento da reacção de Mitsunobu foi ainda objecto de estudo por outros grupos de investigação[138-140].

Em face destes estudos, concluiu-se que o iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo seria um reagente adequado para a introdução de um grupo amino diprotegido em N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois através da reacção de Mitsunobu. Assim, numa fase inicial, protegeu-se o grupo amino dos aminoálcoois com dicarbonato de bis(*terc*-butilo), protecção essa que foi efectuada com bom rendimento, sendo os

produtos facilmente isolados após simples lavagens com soluções aquosas de tampão fosfato (pH=5,4) e saturadas de hidrogenocarbonato de sódio e cloreto de sódio.



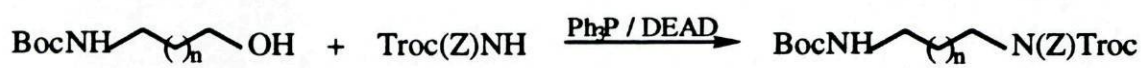
n=1 a 3 **124**

No quadro 9 registam-se os rendimentos obtidos na síntese dos N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois bem como a localização das respectivas preparações.

Quadro 9 - Rendimentos obtidos na introdução do grupo terc-butiloxicarbonilo na função amina dos aminoálcoois.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
BocNH-(CH2)3-OH	124a	91	171
BocNH-(CH2)2-OH	124b	80	178
BocNH-C6H4-OH	124c	98	182

Em seguida, efectuou-se a reacção de Mitsunobu entre os N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois e o iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, que originou as N-(benziloxicarbonil)-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas com bom rendimento, após separação da mistura final por cromatografia em coluna.



124 **125** **126**

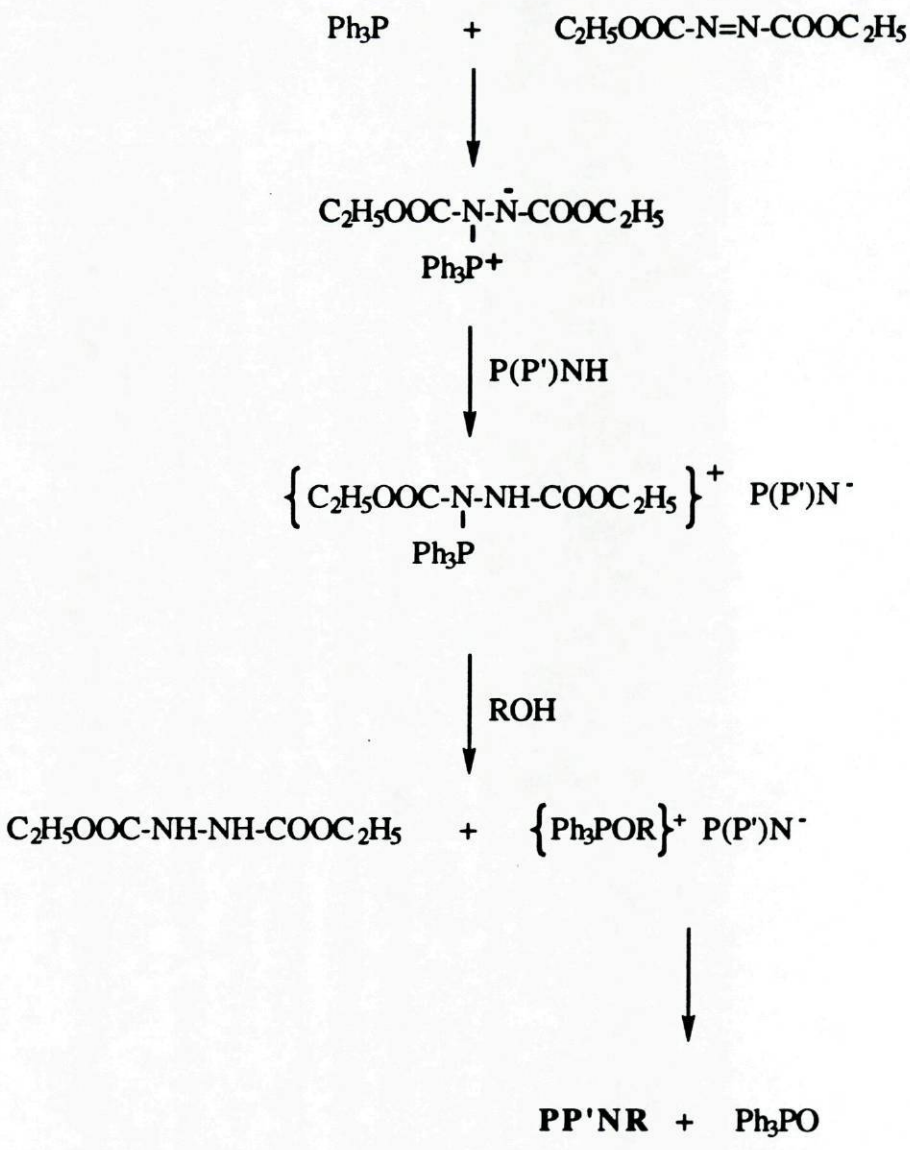
n=1 a 3

Embora o componente acídico Boc(Tos)NH tenha uma constante de acidez (em DMSO) mais elevada do que o iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, não se utilizou o primeiro nas reacções de Mitsunobu efectuadas devido à dificuldade de remoção do grupo tosilo quando se pretende desproteger selectivamente a função amina dissubstituída. No quadro 10 indicam-se os rendimentos obtidos na síntese das diaminas triprotegidas através da reacção de Mitsunobu, assim como a localização das respectivas preparações.

Quadro 10 - Rendimentos obtidos na reacção de Mitsunobu entre os N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois e o iminodicarbonato de benzilo e de 2,2,2-tricloroetilo.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
BocNH-$(CH_2)_3$-N(Z)Troc	126a	82	172
BocNH-$(CH_2)_2$-N(Z)Troc	126b	77	178
BocNH-C_6H_4-N(Z)Troc	126c	69	182

Foram propostos vários esquemas mecanísticos para a reacção de esterificação de Mitsunobu, em que a sequência reaccional, para além de depender do pKa do componente acídico, também é influenciada pela concentração desse reagente, pela polaridade do solvente usado e pela ordem de adição dos reagentes[141-143]. A síntese de aminas baseada na reacção de Mitsunobu prossegue através de uma sequência mecanística semelhante à referida para a esterificação, podendo ser representada de acordo com o esquema 55.

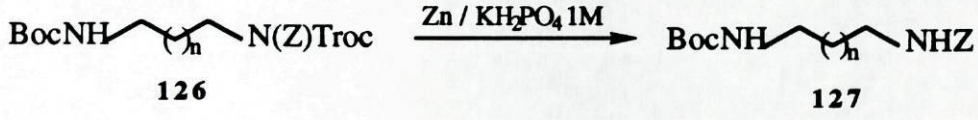


Esquema 55 - Sequência mecanística da reacção de Mitsunobu para a preparação de aminas N,N-diprotegidas[144]; P e P'= grupos de N-protecção.

O passo mais influenciado pelo pKa do componente acídico consiste na reacção do respectivo anião com o intermediário alcoxitrifenilfosfónio. Quanto menor fôr o pKa do iminodicarboxilato de alquilo, maior é o rendimento do produto da reacção de substituição nucleófila bimolecular, devido ao aumento da velocidade deste passo, com consequente diminuição do período em que o intermediário alcoxitrifenilfosfónio pode sofrer outras reacções, nomeadamente a de eliminação.

4.8.1.2 - N-Benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas (127)

As diaminas N,N'-diprotegidas com grupos alquiloxicarbonilo diferentes (Z e Boc) foram obtidas após remoção do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo da função amina dissubstituída das N-(benziloxicarbonil)-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas. A remoção selectiva do grupo 2,2,2--tricloroetiloxicarbonilo foi conseguida, com bom rendimento, por tratamento das diaminas triprotegidas com pó de zinco activado, numa solução aquosa de diidrogenofosfato de potássio[145].



126 **127**

n=1 a 3

Com este procedimento, confirmou-se o comportamento ortogonal dos grupos de N-protecção (Troc e Z) localizados na mesma função amina, uma vez que na mistura resultante desta remoção não se detectou (TLC e RMN) a presença de qualquer quantidade do derivado diamínico N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxi-carbonil)alcanodiamina. Com excepção da N-(benziloxicarbonil)-N'-(*terc*-butiloxicar-bonil)pentanodiamina, os produtos obtidos foram isolados como sólidos cristalinos, após purificação por cromatografia em coluna. Note-se que, por este procedimento foi possível preparar diaminas contendo, nos dois extremos da sua cadeia, grupos de N--protecção com comportamento ortogonal, o que possibilita a extensão da estrutura amínica a partir de qualquer uma das extremidades, sendo apenas necessário remover o grupo de N-protecção e submeter a função amina livre a reacções com unidades adequadas para esse fim.

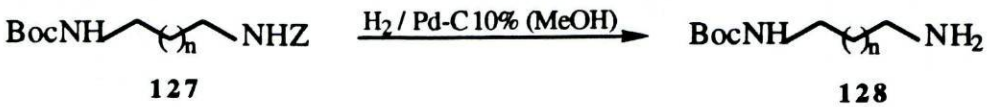
No quadro 11 sumariam-se os valores dos rendimentos e dos pontos de fusão obtidos para as diaminas N,N'-diprotegidas sintetizadas, assim como a localização das respectivas preparações.

Quadro 11 - Resultados obtidos na síntese de diaminas N,N'-diprotegidas.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
BocNH-$(CH_2)_3$-NHZ	127a	87	óleo	173
BocNH-$(CH_2)_2$-NHZ	127b	83	94-95	179
BocNH-CH_2-NHZ	127c	88	60-61	183

4.8.1.3 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas (128)

A remoção do grupo benziloxicarbonilo nos derivados **127**, por hidrogenação catalítica em metanol, usando Pd-C a 10% como catalisador, originou, de um modo bastante limpo, as correspondentes N-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas que constituem reagentes homobifuncionais monoprotegidos, com grande utilidade em várias aplicações bioquímicas[146]. De entre as funções desempenhadas por estas diaminas monossubstituídas, destaca-se a ligação de pequenas moléculas orgânicas tanto a proteínas, para formar conjugados imunogénicos ou enzimáticos, como a compostos fluorescentes marcados, com importância no desenvolvimento de testes e diagnósticos imunológicos e, ainda, a ligação covalente de proteínas a suportes sólidos usados na preparação de colunas de afinidade. Neste último caso, somente um grupo NH_2 da N-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiamina pode participar na condensação com a matriz da coluna cromatográfica, sendo regenerada a outra função amina, por hidrólise suave do grupo de protecção *terc*-butiloxicarbonilo, para reagir então com o ligando apropriado.



127 **128**

n=1 a 3

Embora sejam comercialmente disponíveis várias α,ω-alcanodiaminas, verifica-se que alguns dos métodos publicados para as monoproteger são muitas vezes difíceis de reproduzir, especialmente quando se pretende preparar os seus homólogos superiores[147,148]. Por outro lado, estudos mecanísticos indicam que geralmente é necessário usar diluições elevadas, grande excesso de diamina e reagentes acilantes desactivados, para minimizar a formação da espécie diprotegida[149]. Uma aproximação alternativa consiste na N-protecção de uma amina bifuncional, seguida da conversão do outro grupo funcional numa amina livre. Kunesch[150] converteu ω-bromoamidas em diaminas monoaciladas através da redução das respectivas azidas intermediárias. Em 1988, foi descrito um esquema geral para a preparação de mono(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas por intermédio da formação de α-aminoalcano-ω-carboxamidas cuja função amida foi convertida no grupo amino, via desidratação, obtendo-se o respectivo nitrilo que, em seguida, foi reduzido por hidrogenação catalítica (Raney-níquel, 300 psi)[151]. Neste procedimento, embora os rendimentos sejam aceitáveis, a hidrogenação é realizada a pressões muito elevadas, o que obriga à utilização de equipamento apropriado, nem sempre disponível nos laboratórios de investigação. Por sua vez, Mattingly[146] descreveu um processo elegante e adequado para a síntese de diaminas monoprotegidas partindo de aminoálcoois N-protegidos. Assim, o grupo hidroxilo do N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcool foi convertido no respectivo metanossulfonato, por reacção com cloreto de metanossulfonilo, na presença de trietilamina, cuja função é remover o ácido formado. O intermediário, metanossulfonato de N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoalquilo não é isolado, mas sim directamente convertido na azida, por adição de uma solução aquosa de azoteto de sódio e uma quantidade catalítica de brometo de tetrabutilamónio (catalisador de transferência de fase). A conversão da azida no cloreto de N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoalquilamónio é conseguida por hidrogenólise, sobre Pd-C a 10%, na presença de uma pequena porção de clorofórmio que actua como fonte de cloreto de hidrogénio.

Assim, pode afirmar-se que a metodologia seguida no presente trabalho experimental para a síntese de diaminas N-mono-*terc*-butiloxicarboniladas é superior à

maioria dos métodos descritos na literatura e compara bem com o de Mattingly, podendo ser resumida a sua execução nas seguintes quatro fases:

1- introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo na função amina de amino-alquilálcoois;

2- conversão do grupo hidroxilo dos aminoalquilálcoois numa função amina dissubstituída, por reacção com Troc(Z)NH, nas condições de Mitsunobu;

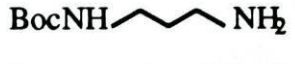
3- remoção selectiva do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo da função amina diprotegida;

4- desprotecção total dessa mesma função amina por hidrogenação catalítica do grupo benziloxicarbonilo.

Todas as reacções constituintes desta sequência foram efectuadas em condições suaves, envolvendo um procedimento de fácil execução e boa reprodutibilidade.

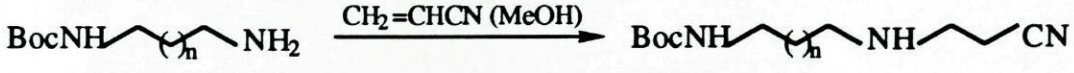
No quadro 12 indicam-se os rendimentos obtidos na reacção de remoção do grupo benziloxicarbonilo das diaminas N,N'-diprotegidas e a sua localização na parte experimental.

Quadro 12 - Rendimentos obtidos na remoção do grupo benziloxicarbonilo das N-benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
	128a	95	174
	128b	90	179
	128c	91	183

4.8.1.4 - Triaminas N-monoprotegidas com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo (130)

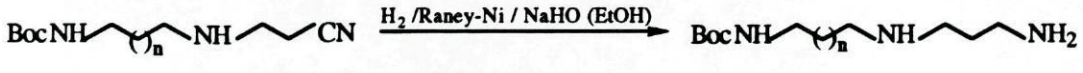
A adição de unidades 3-aminopropílicas a aminas primárias pode ser conseguida por reacção com acrilonitrilo, seguida de redução do grupo nitrilo. Esta sequência foi aplicada na extensão da cadeia amínica das N-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas, tendo como objectivo a formação de triaminas monoprotegidas com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo. Assim, trataram-se as diaminas referidas, dissolvidas em metanol, com uma quantidade de acrilonitrilo ligeiramente inferior à estequiométrica, de modo a evitar a adição de dois resíduos 2-cianoetílicos ao mesmo grupo amino.



128 **129**

n=1 a 3

A redução subsequente foi realizada através de um procedimento idêntico ao estabelecido por Bergeron e colaboradores[61], introduzindo-se, no entanto, algumas alterações.



129 **130**

n=1 a 3

Este grupo de investigação verificou que usando W-2 Raney-níquel[152] (comercialmente disponível) como catalisador, NaHO como co-catalisador e etanol aquoso a 95% como solvente, na presença de hidrogénio (40 psi), à temperatura ambiente, se obtinha uma redução praticamente quantitativa de vários nitrilos[61]. A presença de NaHO é necessária uma vez que esta substância desempenha um papel activo no processo de redução e não simplesmente na pré-activação do catalisador. Este, por sua

vez, é requerido em pequenas quantidades, podendo ser reutilizado pelo menos duas vezes, sem que haja grande alteração na sua actividade. A proporção, em massa, de nitrilo para Raney-níquel situou-se entre 5:1 e 7:1, verificando-se que quanto maior fôr esta razão mais longos são os períodos de tempo necessários para se completar a redução. Embora as condições em que se realizaram as reduções catalíticas descritas pareçam ter uma aplicação geral, Bergeron e colaboradores referem algumas limitações ao uso deste método. Uma delas consiste na obtenção de rendimentos baixos quando a redução é realizada em pequena escala (quantidade de nitrilo igual ou inferior a 10 mmol) devido, possivelmente, à ocorrência de adsorção do reagente ou do produto no catalisador. No entanto, a redução do grupo nitrilo das N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2-cianoetil)-alcanodiaminas, efectuada no decurso do trabalho experimental que tem vindo a ser descrito, numa escala inferior a 10 mmol (2,5-4 mmol), conduziu à formação dos produtos requeridos com um rendimento quantitativo, não ocorrendo portanto absorção no catalisador tanto do reagente como do produto. Por outro lado, verificou-se que não era necessária a utilização de uma pressão de hidrogénio superior à pressão atmosférica para que a conversão se completasse ao fim de um período de tempo razoável (três horas). Através das experiências efectuadas, confirmou-se ainda a estabilidade do grupo *terc*-butiloxicarbonilo nas condições usadas (pH_2=1 atm, NaHO 1M em etanol, razão nitrilo:catalisador = 1:1).

Outra limitação referida por Bergeron consiste na necessidade de um meio fortemente alcalino para se efectuar a redução, o que implica uma escolha de grupos característicos estáveis e compatíveis com as condições reaccionais. No entanto, quando se faz uma escolha criteriosa daqueles grupos, este processo apresenta como vantagens poder usar um catalisador comercialmente disponível que não requer pré-tratamento e pode ser usado várias vezes, tornando este procedimento mais económico relativamente a outros praticados para o mesmo fim. Por outro lado, a redução referida resulta muito bem para reacções efectuadas em escala preparativa, facilitando a obtenção de poliaminas com importância biológica através da redução rápida e simples dos nitrilos correspondentes.

Deste modo, foram obtidas as triaminas monoprotegidas **130**, com bom rendimento, após purificação por cromatografia em coluna.

No quadro 13 indicam-se os rendimentos obtidos nas reacções que deram origem às N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2-cianoetil)alcanodiaminas e às triaminas monoprotegidas, bem como a localização das respectivas preparações.

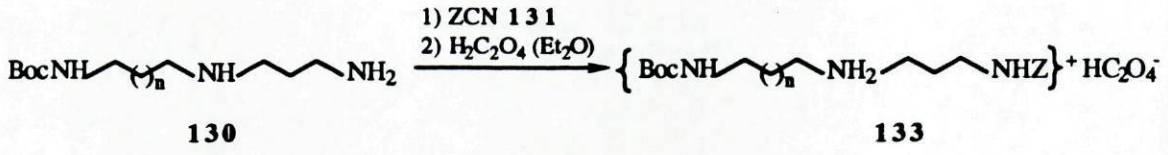
Quadro 13 - Resultados obtidos nas reacções que deram origem às N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2-cianoetil)alcanodiaminas e às N-aminopropil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-alcanodiaminas.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
BocNH(CH$_2$)$_5$NH(CH$_2$)$_2$CN	129a	81	174
BocNH(CH$_2$)$_4$NH(CH$_2$)$_2$CN	129b	75	180
BocNH(CH$_2$)$_3$NH(CH$_2$)$_2$CN	129c	72	184
BocNH(CH$_2$)$_5$NH(CH$_2$)$_3$NH$_2$	130a	98	175
BocNH(CH$_2$)$_4$NH(CH$_2$)$_3$NH$_2$	130b	97	181
BocNH(CH$_2$)$_3$NH(CH$_2$)$_3$NH$_2$	130c	98	184

4.8.1.5 - N^1-Benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina (132b) e sais oxálicos das N-benziloxicarbonilaminopropil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas (133)

Tal como foi descrito por Murahashi e colaboradores[18], a alcoxicarbonilação selectiva da função amina primária livre das N-aminopropil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas foi conseguida por reacção com cianometanoato de benzilo[153], em condições suaves, originando as triaminas selectivamente protegidas nas funções amina terminais com os grupos benziloxicarbonilo e *terc*-butiloxicarbonilo. Verificou-se, no entanto, que estes produtos se decompõem ao longo do tempo, pelo que, após serem purificados por

cromatografia em coluna, foram convertidos nos respectivos sais oxálicos, por tratamento com uma solução de ácido oxálico anidro em éter.



130 **133**

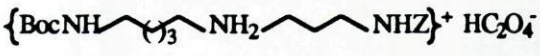
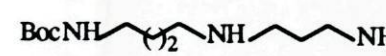
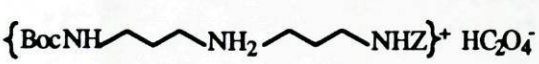
n=1 e 3

Deste modo, formaram-se sais estáveis, com bom rendimento, sob a forma de sólidos cristalinos, facilmente isoláveis por evaporação do éter etílico. Para além da N^1--aminopropil-N^5-pentanodiamina, este procedimento possibilitou a síntese de duas poliaminas naturais, a espermidina e a norespermidina, contendo diferentes grupos de protecção nas funções amina terminais. A metodologia seguida para a obtenção destas triaminas permitiu a síntese de uma triamina simétrica selectivamente substituída, a $BocNH(CH_2)_3NH(CH_2)_3NHZ$. Uma vez que os grupos de N-protecção introduzidos nestas triaminas têm um comportamento ortogonal, é possível aumentar o tamanho da cadeia poliamínica a partir de qualquer um dos extremos. Assim, por exemplo, pode-se sintetizar a espermina a partir da N^1-Z-N^8-Boc-espermidina através de uma sequência reaccional que englobe a remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo, a adição de acrilonitrilo à função amina primária livre e subsequente redução do grupo nitrilo. Por outro lado, as triaminas dissubstituídas nos grupos amino terminais podem ser aciladas na função amina secundária e seguidamente desprotegidas, para formar derivados que desempenham importantes funções biológicas (como se mencionou no capítulo 1).

Haemers e colaboradores[68] também efectuaram a síntese total da N^1-Boc-N^8-Z--espermidina por meio de uma sequência de reacções que incluiu a condensação do 3-[(N-*terc*-butiloxicarbonil)amino]propanal com a N-benziloxicarbonilputrescina e a redução da imina formada com cianotriidretoborato de sódio. No entanto, o produto resultante desta aminação redutiva é obtido com um baixo rendimento (32%), o que constitui uma desvantagem relativamente ao procedimento agora descrito.

No quadro 14 sumariam-se os rendimentos e os pontos de fusão das triaminas sintetizadas, assim como a localização das respectivas preparações.

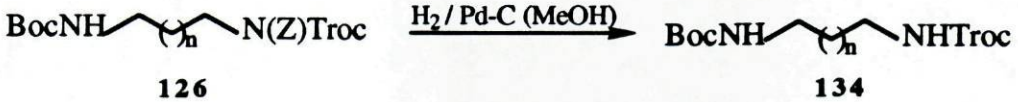
Quadro 14 - Resultados obtidos na preparação dos sais oxálicos das triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino primários e da N^8-Boc-N^1-Z-espermidina.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
	133a	82	127-128	176
	132b	81	63-64 lit.[102] 63-64	181
	133c	80	126-127	185

4.8.2 - Síntese de triaminas selectivamente protegidas no grupo amino secundário e num dos grupos amino primários

4.8.2.1 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas (134)

Tal como na preparação das N-benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-alcanodiaminas, a síntese das diaminas selectivamente protegidas com os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo foi efectuada usando a reacção de Mitsunobu entre N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois e o iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, seguindo-se a remoção selectiva do grupo benziloxicarbonilo da função amina diprotegida. Mais uma vez ficou comprovada a possibilidade de se remover somente um dos grupos de protecção da função amina dissubstituída, dado que a remoção do grupo benziloxicarbonilo decorreu, com bom rendimento, através da habitual hidrogenação catalítica em metanol, usando Pd-C a 10% como catalisador.



126 **134**

n=1 a 3

Os produtos desta remoção foram obtidos como sólidos cristalinos estáveis, após purificação por cromatografia em coluna, seguida de cristalização. No quadro 15 sumariam-se os resultados obtidos na remoção selectiva do grupo benziloxicarbonilo das N-benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas e a sua localização na parte experimental.

Quadro 15 - Resultados obtidos na remoção do grupo benziloxicarbonilo das N-benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
BocNH$(CH_2)_3$NHTroc	134a	88	82-83	186
BocNH$(CH_2)_2$NHTroc	134b	73	96-97	191
BocNH$(CH_2)_4$NHTroc	134c	81	93-94	193

4.8.2.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas (135)

A remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo das N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas decorreu facilmente, por tratamento destas diaminas com ácido trifluoroacético, à temperatura ambiente. As diaminas N-monoprotegidas foram isoladas, com rendimentos elevados, após alcalinização da mistura

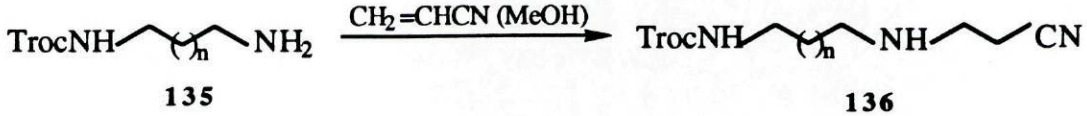
reaccional e extracção com um solvente adequado. Os produtos obtidos como bases livres são instáveis e, por isso, foram imediatamente utilizados no passo seguinte da síntese das triaminas requeridas. No quadro 16 registam-se os rendimentos obtidos na remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo das N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, assim como a sua localização na parte experimental.

Quadro 16 - Rendimentos obtidos na remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo dos compostos **134**.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
TrocNH-$(CH_2)_3$-NH_2	135a	88	187
TrocNH-$(CH_2)_2$-NH_2	135b	90	192
TrocNH-C_6H_4-NH_2	135c	92	194

4.8.2.3 - N-(2-Cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas (136)

A reacção entre as N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas e acrilonitrilo, em proporções estequiométricas, levou à introdução de apenas um grupo 2-cianoetilo na função amina primária livre daquelas diaminas.



135 **136**

n=1 a 3

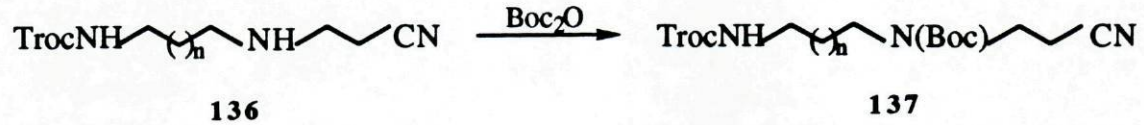
Os produtos, N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, obtidos como óleos, com bom rendimento, foram purificados por cromatografia em coluna. No quadro 17 indicam-se os rendimentos obtidos nesta reacção e a localização da preparação das N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas.

Quadro 17 - Rendimentos obtidos na reacção de adição de acrilonitrilo a N-Troc-alcanodiaminas.

Composto	Número	Rendimento / %	Página
TrocNH$(CH_2)_3$NHCN	136a	87	188
TrocNH$(CH_2)_2$NHCN	136b	87	192
TrocNHNHCN	136c	78	194

4.8.2.4 - Sais oxálicos das N-aminopropil-N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-etiloxicarbonilalcanodiaminas (139)

A síntese destes derivados de poliaminas ocorreu em duas fases, consistindo a primeira na introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo na função amina secundária e a segunda na conversão do grupo nitrilo num grupo amino primário. A introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo foi conseguida por reacção das diaminas, preparadas conforme referido em 4.8.2.3, com dicarbonato de bis(*terc*-butilo), originando os produtos requeridos, com bom rendimento, sob a forma de sólidos cristalinos (com excepção do composto **137b**), após purificação por cromatografia em coluna.



136 **137**

n=1 a 3

No quadro 18 resumem-se os resultados obtidos na reacção de introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo na função amina secundária das N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, assim como a localização das respectivas preparações.

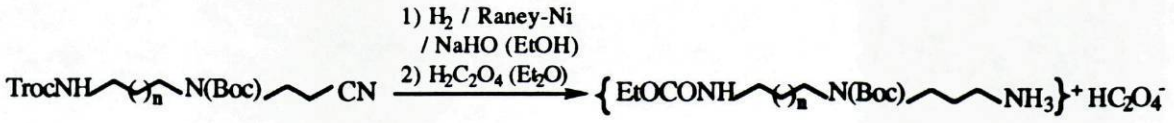
Quadro 18 - Resultados obtidos na reacção de protecção da função amina secundária das N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
TrocNH-(CH2)3-N(Boc)-CH2CH2-CN	137a	89	72-73	189
TrocNH-(CH2)2-N(Boc)-CH2CH2-CN	137b	97	óleo	193
TrocNH-CH2-N(Boc)-CH2CH2-CN	137c	90	61-62	195

Quando se procedeu à hidrogenação catalítica do grupo nitrilo das diaminas obtidas no passo anterior, verificou-se que os valores dos desvios químicos dos espectros de ressonância magnética nuclear dos produtos formados não correspondiam aos esperados para as triaminas em questão. De facto, após interpretação destes espectros, concluiu-se que os átomos de cloro do grupo de N-protecção 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo foram substituídos por átomos de hidrogénio, não se formando as triaminas N,N'--diprotegidas com os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo, mas

sim as correspondentes aminas contendo os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e etiloxicarbonilo. Numa tentativa de evitar esta substituição, procurou-se efectuar a hidrogenação catalítica num período de tempo menor, de modo a que a conversão do grupo nitrilo ocorresse anteriormente à permuta dos átomos de halogénio por átomos de hidrogénio. No entanto, mesmo nestas condições, a reacção de substituição é mais rápida do que a redução do grupo nitrilo. A instabilidade do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo, face a certas condições usadas na remoção por hidrogenação catalítica do grupo benziloxicarbonilo, foi referida por Galpin e colaboradores[154] quando efectuaram a mesma reacção com um tripéptido diprotegido com os grupos benziloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo. Este grupo de investigadores verificou que utilizando Pd-C a 10% como catalisador, na presença de uma quantidade equimolar de ácido *p*-toluenossulfónico monoidratado e N,N-dimetilformamida como solvente, a remoção do grupo benziloxicarbonilo do tripéptido referido era acompanhada pela formação de uma grande percentagem do tripéptido livre e de produtos onde tinha ocorrido substituição de um, dois ou mesmo três átomos de cloro por hidrogénio. No entanto, durante o trabalho experimental que consta desta tese, efectuou-se, com êxito, a remoção selectiva do grupo benziloxicarbonilo localizado na mesma função amina que continha o grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo sem que ocorresse qualquer alteração neste último.

Apesar do grupo Troc ser afectado pelas condições em que se realizou a redução do grupo nitrilo das N-(2-cianoetil)-N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, efectuou-se a conversão destas diaminas nas N-aminopropil-N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-etiloxicarbonilalcanodiaminas correspondentes, usando Raney-níquel como catalisador, de acordo com o procedimento descrito na síntese de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino primários (4.8.1.4). Assim, prepararam-se, com bom rendimento, duas triaminas selectivamente protegidas com os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e etiloxicarbonilo que foram purificadas por cromatografia em coluna.



137 **139**

n=1 e 3

A presença de um grupo amino livre torna estas triaminas instáveis pelo que foram convertidas nos respectivos sais oxálicos, por reacção com uma solução de ácido oxálico anidro em éter etílico e isoladas como sólidos cristalinos. No quadro 19 indicam-se os resultados obtidos no último passo da síntese destas triaminas e a localização das respectivas preparações.

Quadro 19 - Resultados obtidos na preparação dos sais oxálicos das N-aminopropil-N-(*terc*-butil-oxicarbonil)-N'-etiloxicarbonilalcanodiaminas.

Composto	Número	Rendimento / %	Ponto de fusão / °C	Página
$\{CH_3CH_2OCONH(CH_2)_5N(Boc)(CH_2)_3NH_3\}^+ HC_2O_4^-$	139a	76	76-77	190
$\{CH_3CH_2OCONH(CH_2)_3N(Boc)(CH_2)_3NH_3\}^+ HC_2O_4^-$	139c	80	72-73	196

4.9 - Conclusões gerais

O trabalho de investigação sobre estudos de síntese em poliaminas, que deu origem à presente dissertação, envolveu, fundamentalmente, duas metodologias de síntese que levaram à formação de poliaminas selectivamente protegidas. Assim, o trabalho experimental foi dividido em duas partes principais.

Na primeira, estudou-se a protecção selectiva dos grupos amino primários e secundários de poliaminas através de uma estratégia que consistiu na modificação das funções amina por introdução e remoção de grupos de protecção adequados. A protecção selectiva foi conseguida usando os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo, que foram escolhidos devido ao seu comportamento químico ortogonal, podendo ser introduzidos e removidos em condições suaves de modo a não afectarem as outras funções presentes na cadeia poliamínica. A introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo em funções amina, previamente protegidas sob a forma de uretanos, foi efectuada através da aplicação do método estabelecido por Ragnarsson e colaboradores, usando Boc_2O / DMAP. Por sua vez, a combinação dos grupos *terc*-butiloxicarbonilo e *p*-nitrobenziloxicarbonilo permitiu o isolamento de novos derivados da N-etiletanodiamina, da espermidina e da espermina como sólidos cristalinos mais fáceis de manusear do que alguns óleos obtidos numa sequência reaccional idêntica, seguida na preparação de derivados das duas primeiras aminas substituídas com os grupos *terc*-butiloxicarbonilo e benziloxicarbonilo. Deste modo, foram preparados, sempre com bom rendimento, catorze novos derivados daquelas poliaminas, destacando-se de entre eles a N^8-Boc-N^1--Z(NO_2)-espermidina (obtida através de um esquema de síntese que envolveu o aduto de Ganem) e a N^4-Z(NO_2)-espermidina (obtida por uma sequência reaccional que englobou exclusivamente intermediários lineares) que, juntamente com a também isolada N^1,N^8--Boc_2-espermidina, constituem potenciais intermediários apropriados para a síntese de derivados selectivamente acilados da espermidina com interesse em investigação do fôro biológico. Neste âmbito, foi ainda sintetizado a partir da N^4-Z(NO_2)-espermidina, um

composto biologicamente activo, o sideróforo natural isolado sob a forma de sal, brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio.

A estratégia seguida na obtenção de derivados selectivamente protegidos da N-etiletanodiamina e da espermina, bem como da N^1,N^8-Boc_2-espermidina tem aplicação em qualquer tipo de poliaminas. No entanto, a sequência reaccional que deu origem à N^8-Boc-N^1-$Z(NO_2)$-espermidina só é aplicável a poliaminas que contenham na sua estrutura unidades aminopropílicas, que permitam a formação das hexaidropirimidinas necessárias para a diferenciação dos grupos amino primários e secundários.

Na segunda parte do trabalho experimental, desenvolveu-se uma estratégia adequada à síntese total de triaminas selectivamente protegidas.

Numa primeira fase, procurou-se preparar aminoálcoois N,N-diprotegidos que desempenhariam um papel fundamental na síntese planeada para a formação de triaminas totalmente protegidas através da reacção entre reagentes de Gabriel do tipo $P(P')N^-$ e haloalquilálcoois. No entanto, concluiu-se que esta reacção não era de aplicação geral pois foram obtidos resultados dificilmente correlacionáveis e nos casos em que se conseguiu isolar o produto requerido, verificou-se que a sua formação ocorria com um rendimento muito baixo.

A estratégia alternativa adoptada consistiu na formação da cadeia poliamínica por adição, uma a uma, de unidades contendo um átomo de azoto. Assim, foram usados, com êxito, N-Boc-aminoálcoois, iminodicarboxilatos de alquilo e de arilo e acrilonitrilo como percursores amínicos para a extensão da referida cadeia. Realizaram-se, para esse fim, dois esquemas de síntese que conduziram à formação de triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino terminais e de triaminas substituídas no grupo amino secundário e num dos grupos amino primários. Durante as sequências reaccionais efectuadas, utilizaram-se os grupos benziloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo e 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo para proteger as funções amina dos intermediários e dos produtos requeridos. De entre o grande número de grupos de N-protecção actualmente existentes, seleccionaram-se os grupos referidos por apresentarem um comportamento estável, que foi confirmado no presente trabalho, relativamente às condições de introdução e remoção

de uns e outros grupos, independentemente da ordem pela qual sejam realizadas. O procedimento que permitiu a obtenção das triaminas selectivamente protegidas incluiu as seguintes fases:

a) Introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo na função amina de aminoálcoois para formação do primeiro percursor amínico, $BocNH(CH_2)_nOH$ (n=3 a 5).

b) Conversão, em condições suaves, do grupo hidroxilo dos N-(*terc*-butiloxicarbonil)aminoálcoois numa função amina diprotegida, através da reacção com iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, na presença de trifenilfosfina e de azodicarboxilato de dietilo (reacção de Mitsunobu) com formação das diaminas triprotegidas, $BocNH(CH_2)_nN(Z)Troc$ (n=3 a 5).

c) Remoção selectiva de um dos grupos de N-protecção da função amina diprotegida das N-benziloxicarbonil-N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas. O grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo foi removido por tratamento das diaminas com pó de zinco activado, numa solução tampão (pH=5) de diidrogenofosfato de potássio, dando origem às diaminas N,N'-diprotegidas, $BocNH(CH_2)_nNHZ$ (n=3 a 5). Por sua vez, a remoção do grupo benziloxicarbonilo foi efectuada por hidrogenação catalítica com Pd-C a 10%, em metanol, permitindo a obtenção das diaminas N,N'-dissubstituídas, $BocNH(CH_2)_nNHTroc$ (n=3 a 5).

d) Remoção selectiva de um dos grupos de protecção das N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas com vista à formação de diaminas N-monosubstituídas. A remoção do grupo *terc*-butiloxicarbonilo foi realizada, nas condições habituais, por acção do ácido trifluoroacético, levando à obtenção das N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, $TrocNH(CH_2)_nNH_2$ (n=3 a 5). Por outro lado, foram obtidas as N-(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas, $BocNH(CH_2)_nNH_2$ (n=3 a 5) por remoção do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo, nas condições referidas em c).

e) Adição de acrilonitrilo às diaminas monoprotegidas para formação dos percursores triamínicos, N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2-cianoetil)alcanodiaminas,

$BocNH(CH_2)_nNHCH_2CH_2CN$ (n=3 a 5) e N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloro-etiloxicarbonil)alcanodiaminas, $TrocNH(CH_2)_nNHCH_2CH_2CN$ (n=3 a 5).

f) Introdução do grupo *terc*-butiloxicarbonilo na função amina secundária das N--(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas para se obter as N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, $TrocNH(CH_2)_nN(Boc)CH_2CH_2CN$ (n=3 a 5).

g) Redução do grupo nitrilo das N'-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2-cianoetil)alcanodiaminas e das N-(*terc*-butiloxicarbonil)-N-(2-cianoetil)-N'-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)alcanodiaminas, por hidrogenação catalítica, usando Raney-níquel como catalisador e hidróxido de sódio como co-catalisador, de acordo com o estabelecido por Bergeron e colaboradores. Verificou-se que o grupo de N--protecção 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo não é estável nas condições usadas para esta hidrogenação, uma vez que ocorreu, simultaneamente, substituição dos átomos de cloro daquele grupo por átomos de hidrogénio e redução do grupo nitrilo. Deste modo, formaram-se triaminas dissubstituídas numa das funções amina primárias com o grupo etiloxicarbonilo e na função amina secundária com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo, $EtOCONH(CH_2)_nN(Boc)CH_2CH_2CH_2NH_2$ (n=3 e 5). Embora o grupo etiloxicarbonilo possa ser usado como protecção da função amina, a sua remoção implica o uso de condições drásticas. No entanto, a redução do grupo nitrilo, efectuada nas diaminas monoprotegidas com o grupo *terc*-butiloxicarbonilo, decorreu sem problemas, obtendo-se as triaminas requeridas, $BocNH(CH_2)NHCH_2CH_2CH_2NH_2$ (n=3 a 5).

h) Introdução do grupo benziloxicarbonilo por reacção das N-aminopropil-N'--(*terc*-butiloxicarbonil)alcanodiaminas com o excelente reagente para a protecção selectiva de aminas primárias, cianeto de benziloxicarbonilo, formando-se as triaminas selectivamente protegidas nos grupos amino terminais, $BocNH(CH_2)_nNHCH_2CH_2CH_2NHZ$ (n=3 a 5).

O método usado na preparação de triaminas substituídas englobou a síntese de diaminas selectivamente tri-, di- e monoprotegidas através de um procedimento que, tal como a metodologia estabelecida por Mattingly, constitui um processo adequado para a obtenção de homólogos superiores dessas diaminas, com grande utilidade em várias aplicações bioquímicas.

É ainda de salientar que o procedimento descrito na presente dissertação, para além de dar origem a vinte e oito novos compostos, permitiu a síntese da norespermidina, uma triamina simétrica, selectivamente protegida nas funções amina terminais com os grupos benziloxicarbonilo e *terc*-butiloxicarbonilo.

Todos os passos constituintes dos esquemas reaccionais seguidos (exceptuando o descrito para a redução do grupo nitrilo na presença do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo) levaram à formação dos intermediários e produtos requeridos com bom rendimento, em condições suaves e de fácil reprodutibilidade, do que se pode inferir que a metodologia estabelecida seja potencialmente útil e adequada à síntese por fases de poliaminas contendo na sua estrutura um ou mais grupos aminopropilo.

5 - Parte experimental

NOTAS GERAIS:

Todos os solventes usados nas reacções foram de qualidade pró-análise. Sempre que necessário, os solventes foram secos sobre filtros moleculares (4 Å, Merck), previamente activados por aquecimento a 300ºC, durante 24 horas.

As reacções foram seguidas por cromatografia em camada fina (TLC), usando placas recobertas com gel de sílica 60 F_{254} (sensíveis à radiação de comprimento de onda de 254 nm) com 0,25 mm de espessura (Merck). Os sistemas de solventes utilizados na eluição e as respectivas proporções volumétricas encontram-se indicados na tabela 1. A visualização dos cromatogramas foi conseguida por irradiação de luz U.V. de comprimento de onda de 254 nm (caso dos compostos que absorvem radiação deste comprimento de onda) e / ou por pulverização com uma solução de dicarboxidina[155], após breve aquecimento e subsequente exposição numa atmosfera de cloro. As manchas reveladas por este método apresentam cor violeta-azulada.

Na cromatografia em coluna, realizada para purificar os vários intermediários e produtos das sínteses efectuadas, usou-se gel de sílica 60 de granolumetria 70-230 mesh da Merck (refª 7754) e utilizou-se o seguinte equipamento:

- Bomba peristáltica Gilson Minipuls 3;
- Colector automático de fracções Gilson FC 204;
- Colunas de vidro de dimensões 25 x 1,5 cm (com capacidade para 30 mL de gel de sílica), 25 x 2,5 cm (com capacidade para 75 mL de gel de sílica) e 50 x 2,5 cm (com capacidade para 150 mL de gel de sílica);

Dum modo geral, usou-se cerca de 150 mL de gel de sílica para 1 g de composto.

As evaporações dos solventes foram efectuadas sob pressão reduzida num evaporador rotativo.

O pó de zinco, usado na remoção do grupo 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo, foi activado por tratamento, a frio, com uma solução aquosa de cloreto de hidrogénio a 2% e, em seguida, lavado consecutivamente com água, etanol aquoso a 95% e éter.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de protão (^{1}H-RMN) e de carbono (^{13}C-RMN) foram registados em espectrómetros Bruker AC (200 MHz) e Bruker AMX (300 MHz). Na descrição de cada espectro, os dados são indicados pela seguinte ordem: desvio químico (δ em ppm), multiplicidade do sinal [s (singuleto), sl (singuleto largo), d (dupleto), t (tripleto), q (quarteto), m (multipleto)], constante de acoplamento (J em Hz), área relativa (nH como número de protões), localização do protão na molécula. Os desvios químicos indicados para cada composto foram registados relativamente ao padrão interno tetrametilsilano (TMS) e obtidos em soluções de clorofórmio deuterado, excepto nos casos em que se faz referência ao padrão interno e / ou ao solvente utilizado.

Os pontos de fusão foram determinados em tubos capilares abertos, num aparelho Gallenkamp, e não foram corrigidos.

As microanálises elementares foram efectuadas em Kronach, na Alemanha (Dra. Ilse Beetz) e no Departamento de Química da Faculdade de Ciências do Porto (Dra. Maria Isabel Rocha).

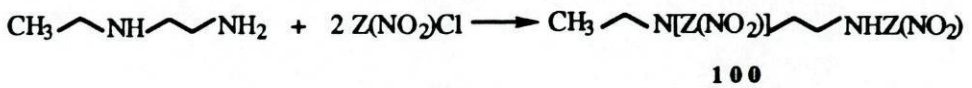
TABELA 1

	Sistema de solventes	Proporção volumétrica
A	Tolueno - acetonitrilo	2 : 1
B	Diclorometano - éter etílico	20 : 1
C	Diclorometano - éter etílico	12 : 1
D	Diclorometano - acetona	20 : 1
E	Diclorometano - acetona	10 : 1
F	Diclorometano - acetona	4 : 1
G	Diclorometano - metanol	1 : 1
H	Diclorometano - metanol	15 : 1
I	Diclorometano - metanol	18 : 1
J	Acetato de etilo - acetona - -ácido acético - água	5 : 3 : 1 : 1
L	Diclorometano - metanol - - ácido acético	18 : 2 : 1
M	Diclorometano - acetona - - ácido acético	5 : 5 : 1
N	Clorofórmio - metanol - -solução aquosa de amoníaco a 25%	2 : 2 : 1
O	Clorofórmio - metanol	9 : 1

5.1 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da N^1-etiletanodiamina

5.1.1 - Síntese da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (102)

5.1.1.1 - N^1-Etil-N^1,N^2-bis(p-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (100)



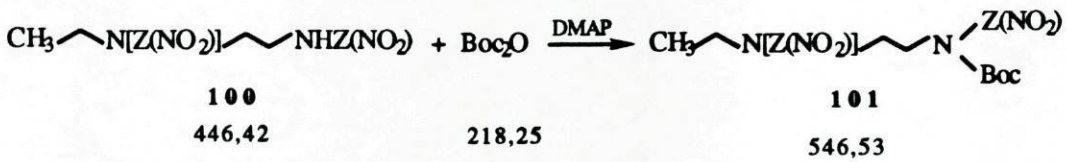
100

88,15 215,59 446,42

A uma solução de N^1-etiletanodiamina (1,06 g, 12,0 mmol) em solução aquosa de carbonato de sódio 1M (120 mL) e dioxano (30 mL), arrefecida em banho de gelo e agitada vigorosamente, adicionou-se simultaneamente, uma solução de cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo (5,74 g, 26,6 mmol) em dioxano e uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2M (15 mL), por um período de 45 minutos. A mistura resultante foi deixada 4 horas com agitação, em banho de gelo. Evaporou-se então o dioxano e adicionou-se água fria (300 mL), deixando a solução com agitação durante uma hora à temperatura ambiente e 14 horas a 4ºC. Filtrou-se o sólido entretanto formado que se lavou com água fria e éter. Purificou-se o produto por cromatografia em coluna, usando diclorometano - éter etílico (20 : 1) como eluente. Após evaporação do solvente das fracções que continham o produto cromatograficamente homogéneo [TLC (B)], obteve-se um resíduo oleoso que, por trituração a frio com éter etílico, deu origem a 4.3 g (80%) do composto **100** como um sólido branco de p.f. 104-105ºC (lit.[102] p.f. 104,5-105ºC). Os espectros de ^1H e ^{13}C

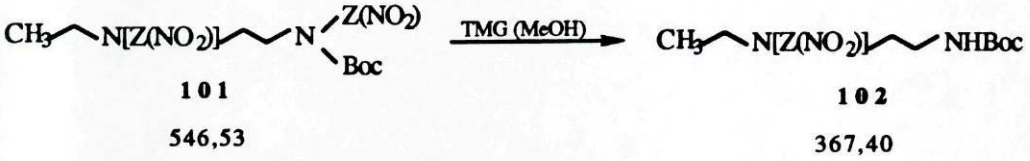
registados para o composto referido apresentaram valores de desvios químicos concordantes com os existentes na literatura[102].

5.1.1.2 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^1,N^2-bis(p-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (101)



A uma suspensão de N^1-etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina (1,66 g, 3,72 mmol) e 4-(N,N-dimetilamino)piridina (0,091 g, 0,74 mmol) em acetonitrilo seco (40 mL), agitada vigorosamente, sob atmosfera de azoto, adicionou-se, gota a gota, uma solução de dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (1,27 g, 5,82 mmol) em acetonitrilo seco (5 mL). A mistura resultante foi agitada, sob atmosfera de azoto, à temperatura ambiente, durante 20 horas. Evaporou-se então o solvente e dissolveu-se o resíduo obtido em acetato de etilo (150 mL) e lavou-se sucessivamente com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 50 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 50 mL) e cloreto de sódio saturada (2 x 50 mL). Tratou-se a fase orgânica com carvão activado, filtrou-se e secou-se sobre sulfato de magnésio anidro. Evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo oleoso obtido por cromatografia em coluna, usando diclorometano - éter etílico (20 : 1) como eluente. Após evaporação do eluente das fracções apropriadas e posterior tratamento do resíduo com éter etílico a frio, obtiveram-se 1.8 g (88%) do produto **101** como um sólido esbranquiçado, homogéneo por TLC (B) e de p.f. 109-110ºC (lit.[102] p.f. 109-109,5ºC); os espectros de ^1H e ^{13}C registados para o referido composto apresentaram valores de desvios químicos concordantes com os existentes na literatura[102].

5.1.1.3 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(p-nitrobenzil-oxicarbonil)etanodiamina (102)

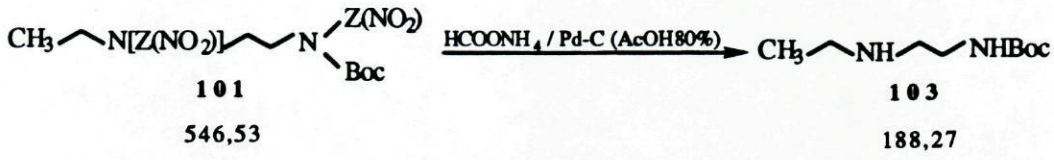


101 546,53

102 367,40

A uma suspensão de N^2-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)etanodiamina (0,400 g, 0,732 mmol) em metanol (3,2 mL), adicionou-se N,N,N',N'-tetrametilguanidina (0,0134 g, 0,116 mmol) e deixou-se com agitação, à temperatura ambiente, durante 48 horas. À mistura resultante, adicionou-se éter etílico (60 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (30 mL). Lavou-se a fase orgânica com soluções aquosas de hidrogenocarbonato de sódio 1M (30 mL) e cloreto de sódio saturada (30 mL). Secou-se sobre sulfato de sódio anidro, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo obtido por cromatografia em coluna, usando como eluentes, primeiro diclorometano (até eluir todo o álcool *p*-nitrobenzílico) e depois diclorometano - éter etílico (12 : 1). Após trituração a frio com éter de petróleo 40-60º, obtiveram-se 0,22 g (82%) do produto **102** como um sólido branco, homogéneo por TLC (C) e de p.f. 79-80ºC; δ_H 8,23 e 7,52 (2d, 4H, ArH), 5,23 (s, 2H, CH_2Ph), 4,90 (sl, 1H, NH), 3,41-3,31 (m, 6H, CH_2), 1,43 [s, 9H, $C(CH_3)_3$], 1,16 (t, J=7,0 Hz, 3H, NCH_2CH_3); δ_C 155,8 e 155,0 (CO), 147,6, 144,0, 128,0 e 123,6 (ArC), 83,4 [$C(CH_3)_3$], 65,6 (CH_2PhNO_2), 46,6 (NCH_2CH_3), 42,7 ($CH_3CH_2NCH_2$), 39,4 ($BocNHCH_2$), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 13,9 (NCH_2CH_3); análise elementar: C, 55,56; H, 6,92; N, 11,45%, $C_{17}H_{25}N_3O_6$ (367,40) requer C, 55,58; H, 6,86; N, 11,44%.

5.1.2 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiamina (103)



101 546,53

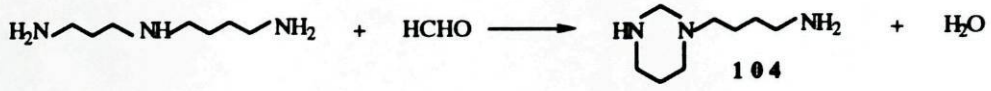
103 188,27

A uma suspensão de N^2-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)etanodiamina (1,39 g, 2,54 mmol) numa mistura de ácido acético e água (4 : 1) (30 mL), adicionou-se metanoato de amónio (1,20 g, 18,5 mmol) e deixou-se com agitação até que todo o sólido dissolvesse. Adicionou-se, em seguida, em pequenas porções, com agitação vigorosa e sob atmosfera de azoto, Pd-C (10%, 0,400g) em ácido acético - água (4 : 1) (10 mL). Após agitação durante 24 horas, sob atmosfera de azoto, à temperatura ambiente, o catalisador foi filtrado e lavado com ácido acético - água (4 : 1). Depois de se evaporar o solvente, obteve-se um resíduo oleoso amarelo que foi dissolvido em éter etílico (80 mL) e tratado com solução aquosa de carbonato de potássio a 30% (80 mL). Extraiu-se o composto da camada aquosa com éter etílico (2 x 40 mL), lavaram-se os extractos etéreos com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 40 mL) e secaram-se sobre sulfato de sódio anidro. Removeu-se o solvente, obtendo-se um óleo alaranjado que foi tratado, a quente, com éter de petróleo 40-60º e com carvão activado. Filtrou-se e deixou-se o filtrado à temperatura de -20ºC durante 10 horas, no fim das quais se formou um sólido branco que foi recristalizado de éter de petróleo 40-60º, originando 0,38 g (80%) do produto **103**, homogéneo por TLC (M) e de p.f. 54-55ºC (lit[102] p.f. 54,5-55ºC); os espectros de ^1H e ^{13}C registados para este composto apresentaram valores de desvios químicos concordantes com os existentes na literatura[102].

5.2 - Síntese de derivados selectivamente protegidos da espermidina

5.2.1 - Síntese da N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenzil-oxicarbonil)espermidina (109)

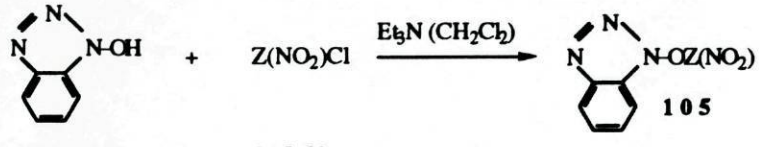
5.2.1.1 - N^1,N^4-Metilenoespermidina (104)



145,25 157,26

O composto **104** foi preparado seguindo um procedimento já descrito na literatura[96,97], com um rendimento de 87%.

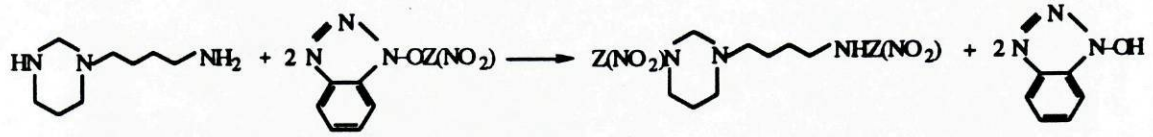
5.2.1.2 - Carbonato de 1-benzotriazolilo e p-nitrobenzilo (105)



135,12 215,59 314,26

O composto **105** foi preparado de acordo com o procedimento descrito na literatura[156], com um rendimento de 91%.

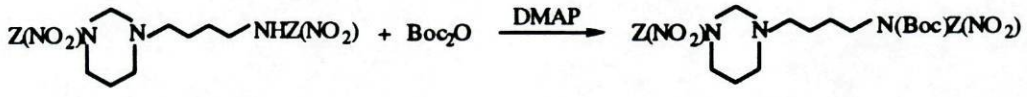
5.2.1.3 - N^1,N^4-Metileno-N^1,N^8-bis(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (106)



104 157,26 | **105** 314,26 | **106** 515,52 | 135,12

A uma solução de N^1,N^4-metilenoespermidina (0,682 g, 4,34 mmol) em acetonitrilo seco (100 mL), adicionou-se carbonato de 1-benzotriazolilo e *p*-nitrobenzilo (3,10 g, 9,86 mmol). A solução foi mantida em agitação, à temperatura ambiente, durante 24 horas, sendo então diluída com diclorometano (120 mL) e lavada, sucessivamente, com soluções aquosas saturadas de hidrogenocarbonato de sódio (100 mL) e cloreto de sódio (100 mL). Secou-se a fase orgânica sobre sulfato de magnésio anidro e removeu-se o solvente. O resíduo amarelo resultante foi submetido a cromatografia em coluna, usando como eluentes diclorometano - acetona (4 : 1) e (2 : 1). Após evaporação do eluente, foram obtidos 1,7 g (78%) do composto **106** sob a forma de um óleo amarelo; δ_H 8,21 e 7,50 (2m, 8H, ArH), 5,45 (sl, ca 1H, NH), 5,22 e 5,18 (2s, 4H, CH_2Ph), 4,14 (s, 2H, NCH_2N), 3,54 e 3,19 [2m, 4H, $CH_2NZ(NO_2)$], 2,70 e 2,42 (2m, 4H, CH_2N), 1,71-1,56 (m, 6H, CCH_2C); δ_C 155,8 (CO), 144,1, 128,0 e 123,7 (ArC), 65,6 (CH_2PhNO_2), 65,0 (NCH_2N), 52,7 e 52,2 (CH_2N), 44,0 e 40,9 [$Z(NO_2)NCH_2C$], 27,8, 24,4 e 23,1 (CCH_2C); análise elementar: C, 55,88; H, 5,65; N, 13,57%, $C_{24}H_{29}N_5O_8$ (515,52) requer C, 55,92; H, 5,67; N, 13,58%.

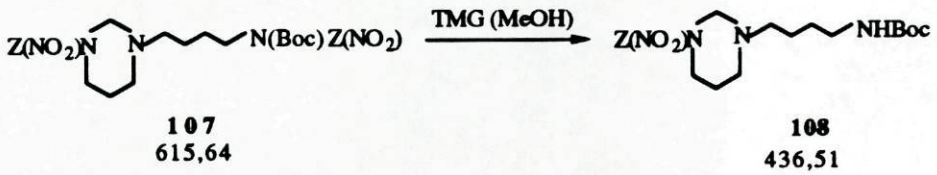
5.2.1.4 - N^8-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1,N^8-bis-(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (107)



106 515,52 — 218,25 — **107** 615,64

A uma solução de N^1,N^4-metileno-N^1,N^8-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (2,20 g, 4,27 mmol) em acetonitrilo seco (15 mL), sob forte agitação, adicionou-se 4-(N,N-dimetilamino)piridina (0,0547 g, 0,448 mmol) seguida de dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (1,03 g, 4,70 mmol). Após 8 horas, verificou-se, por TLC (D), que na mistura reaccional ainda existia algum reagente inicial, pelo que se adicionou mais dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (1,03 g). Deixou-se a mistura em agitação, durante 2 dias, e evaporou-se o solvente, obtendo-se um resíduo oleoso que foi submetido a cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (4 : 1) como eluente. Obtiveram-se 1,9 g (72%) do composto **107** como um óleo amarelo; δ_H 8,22 e 7,54 (2m, 8H, ArH), 5,30 e 5,22 (2s, 4H, CH_2PhNO_2), 4,14 (s, 2H, NCH_2N), 3,69-3,55 {m, 4H, $CH_2NZ(NO_2)$ e $CH_2NBoc[Z(NO_2)]$}, 2,70 e 2,42 (2t, J = 7,1 Hz, 4H, CH_2N), 1,70-1,57 e 1,49 [m+s, 15H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 154,5, 153,8 e 153,4 (CO), 144,1, 142,9, 137,9, 132,4, 128,0 e 123,8 (ArC), 83,1 [$C(CH_3)_3$], 66,8 (CH_2PhNO_2), 65,6 (NCH_2N), 52,7 e 51,9 (CH_2N), 46,6 e 43,9 [$CH_2NZ(NO_2)$], 28,0 [$C(CH_3)_3$], 26,8, 24,5, 23,1 e 22,8 (CCH_2C); análise elementar: C, 56,58; H, 6,15; N, 10,17%, $C_{29}H_{37}N_5O_{10}$ (615,64) requer C, 56,58; H, 6,06; N, 11,38%.

5.2.1.5 - N^8-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1-(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (108)

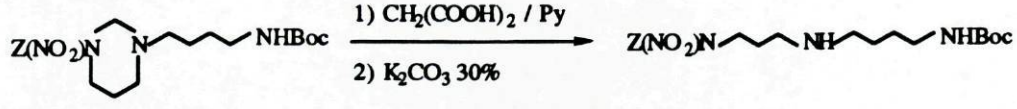


107
615,64

108
436,51

Tratou-se uma solução de N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1,N^8-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (2,39 g, 3,80 mmol) em metanol seco (20 mL) com N,N,N',N'-tetrametilguanidina (0,219 g, 1,90 mmol). Deixou-se com agitação, à temperatura ambiente, durante 4 dias. Evaporou-se, então, o solvente e o resíduo obtido foi submetido a cromatografia em coluna, usando diclorometano-acetona (4 : 1) como eluente. Após evaporação do solvente das fracções apropriadas [TLC (F)], obtiveram-se 1,5 g (90%) do produto **108** como um óleo amarelo; δ_H 8,22 (d, J = 8,8 Hz, 2H, ArH), 7,52 (d, J = 8,8 Hz, 2H, ArH), 5,23 (s, 2H, CH_2PhNO_2), 4,85 (sl, ca 1H, NH), 4,14 (s, 2H, NCH_2N), 3,53 [m, 2H, $CH_2NZ(NO_2)$], 3,12-3,02 (m, 2H, CH_2NHBoc), 2,72 e 2,42 (t+m, J = 5,5 Hz, 2+2H, CH_2N), 1,67-1,51 e 1,43 [m+s, 6+9H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,9 (CO), 144,1, 128,0 e 123,7 (ArC), 78,9 [$C(CH_3)_3$] 65,6 (CH_2PhNO_2), 65,0 (NCH_2N), 52,8 e 52,1 (CH_2N), 43,9 [$CH_2NZ(NO_2)$], 40,3 (CH_2NHBoc), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 27,8, 24,5 e 23,0 (CCH_2C); análise elementar: C, 57,82; H, 7,37; N, 11,59%, $C_{21}H_{32}N_4O_6$ (436,51) requer C, 57,78; H, 7,39; N, 12,84%.

5.2.1.6 - N^8-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1-(p-nitrobenziloxicarbonil)-espermidina (109)



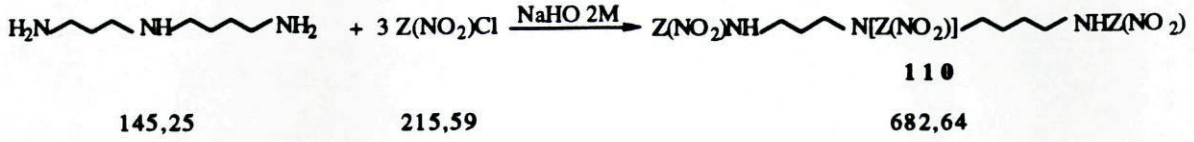
108
436,51

109
424,50

Refluxou-se uma solução de N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (1,00 g, 2,30 mmol) em metanol seco (25 mL), contendo piridina (0,58 mL, 7,2 mmol) e ácido malónico (0,867 g, 8,30 mmol), durante 2 horas. Após evaporação do solvente, adicionou-se uma solução aquosa de carbonato de potássio a 30% (40 mL) e extraiu-se o produto com clorofórmio (3 x 100 mL). Lavou-se a fase orgânica com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (3 x 50 mL), secou-se sobre sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia em coluna, usando diclorometano-metanol (1 : 1) como eluente. Juntaram-se as fracções apropriadas [TLC(J)] e levaram-se à secura, obtendo-se um óleo que, por trituração com éter de petróleo 40-60º, deu origem a 0,73 g (75%) do composto **109** como um sólido amarelo pálido de p.f. 73-74ºC (após recristalização de acetato de etilo-éter de petróleo 40-60º); δ_H 8,22 e 7,51 (2d, 4H, ArH), 6,00 [sl, 1H, $NHZ(NO_2)$], 5,19 (s, 2H, CH_2PhNO_2), 4,80 (sl, 1H, NHBoc), 3,32-3,10 [m, 4H, $CH_2NZ(NO_2)$ e CH_2NHBoc], 2,75-2,62 (m, 4H, CH_2N), 1,97-1,52 e 1,43 [m+s, 6+9+1H, CCH_2C, $C(CH_3)_3$ e NH amina]; δ_C 155,9 (CO), 128,4 e 123,8 (ArC), 78,9 [$C(CH_3)_3$], 64,9 (CH_2PhNO_2), 49,2 e 47,7 (CH_2N), 40,1 [CH_2NHBoc e $CH_2NZ(NO_2)$], 28,4 [$C(CH_3)_3$], 29,0, 27,7 e 26,9 (CCH_2C); análise elementar: C, 56,37; H, 7,63; N, 12,97%, $C_{20}H_{32}N_4O_6$ (424,50) requer C, 56,59; H, 7,60; N, 13,20%.

5.2.2 - Síntese da N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (113)

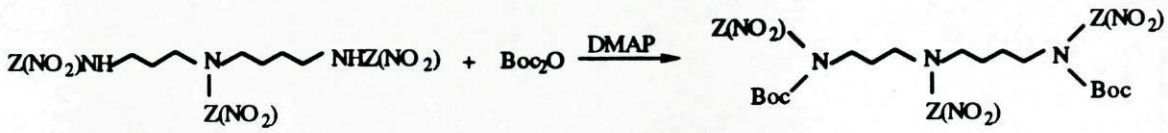
5.2.2.1 - N^1,N^4,N^8-Tris-(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (110)



A uma suspensão de espermidina (1,00 g, 6,90 mmol) numa mistura de carbonato de sódio aquoso 2M - dioxano (4 : 1) (32,5 mL), arrefecida em banho de gelo, sob agitação vigorosa, adicionou-se, gota a gota, simultaneamente, uma solução de cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo (6,00 g, 27,6 mmol) em dioxano (8 mL) e uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2M (15 mL). Durante a adição, manteve-se a temperatura da mistura reaccional inferior a 8ºC. A mistura acastanhada resultante foi mantida com agitação, durante 7 horas, à temperatura de 4ºC e 14 horas à temperatura ambiente. O sólido amarelado obtido foi filtrado e tratado, a frio, com acetato de etilo (90 mL). Após filtração desta mistura, juntaram-se os dois filtrados e evaporou-se o solvente, à temperatura ambiente, obtendo-se um óleo amarelado que, por trituração com éter etílico, arrefecido em banho de gelo, deu origem a um sólido amarelo (rendimento bruto 90%). Purificou-se o composto por cromatografia em coluna [diclorometano-éter etílico (10 : 1) como eluente], obtendo-se um produto homogéneo por TLC (A), que foi dissolvido em acetato de etilo (25 mL / g). A solução resultante foi filtrada e concentrada a 1 / 10 do seu volume. Por trituração do resíduo obtido com éter etílico, seguida de arrefecimento em banho de gelo, formaram-se 4,0 g (85%) do composto **110** de p. f. 103-104ºC; δ_H 8,21 e 7,49 (2d, J = 8,4 Hz, 12H, ArH), 5,68 e 4,92 (2 sl, ca 2H, NH), 5,21 e 5,18 (2s, 4+2H, CH_2PhNO_2), 3,35-3,18 (m, 8H, CH_2N), 1,75-1,48 (m, 6H, CCH_2C); δ_C 155,9 (CO), 147,6, 143,9, 128,1 e 123,7 (ArC), 65,8 e 65,1 (CH_2PhNO_2), 46,6 e 44,4 (CH_2NCH_2), 40,9 e 37,8

[$CH_2NHZ(NO_2)$], 28,0, 27,3 e 25,7 (CCH_2C); análise elementar: C, 54,49; H, 4,97; N, 12,34%, $C_{31}H_{34}N_6O_{12}$ (682,64) requer C, 54,54; H, 5,02; N, 12,31%.

5.2.2.2 - N^1,N^8-Bis(terc-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^8-tris(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (111)

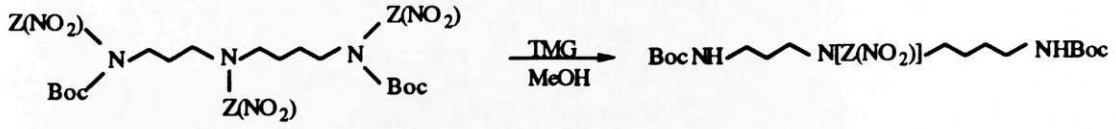


110 682,64 | 218,25 | **111** 882,87

A uma suspensão de N^1,N^4,N^8-tris-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (5,00 g, 7,30 mmol) e de 4-(N,N-dimetilamino)piridina (0,370 g, 3,00 mmol) em acetonitrilo seco (50 mL), adicionou-se dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (5,30 g, 24,3 mmol) obtendo-se uma solução castanha clara, após 10 minutos de agitação vigorosa. A solução foi mantida com agitação, à temperatura ambiente, durante 2 dias. Removeu-se então o solvente e adicionou-se, ao resíduo oleoso obtido, éter etílico (180 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (90 mL). Lavou-se o extracto etéreo com soluções aquosas de hidrogenocarbonato de sódio 1M (90 mL) e de cloreto de sódio saturada (90 mL), secou-se sobre sulfato de magnésio anidro e levou-se à secura. O óleo amarelo obtido foi submetido a cromatografia em coluna, usando como eluente diclorometano-éter dietílico (20 : 1). Após evaporação do solvente das fracções apropriadas, cristalizou-se o resíduo obtido de acetato de etilo - éter de petróleo 40-60º, obtendo-se 5,2 g (80%) do produto **111** como um sólido branco, homogéneo por TLC (B) de p.f. 92ºC; δ_H 8,22 e 7,54 (2m, 12H, ArH), 5,33 (s, 4H, $BocNCO_2CH_2Ph$), 5,22 (s, 2H, CH_2PhNO_2), 3,67 [t, J=5,4 Hz, 4H, $CH_2NBocZ(NO_2)$], 3,29 (t, J = 5,2 Hz, 4H, CH_2NCH_2), 1,91-1,84 (m, 2H, CCH_2C), 1,57-1,49 [m+s, 4+18H, $C(CH_2)_2C$ e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,4, 153,8 e 151,7 (CO), 147,7, 144,1, 142,8, 128,2, 127,9 e 123,8 (ArC), 83,3 [$C(CH_3)_3$], 66,8

($BocNCO_2CH_2PhNO_2$), 65,6 (CH_2PhNO_2), 47,2, 46,3 e 44,5 (CH_2N), 27,9 [$C(CH_3)_3$], 26,1 e 25,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 55,86; H, 5,61; N, 9,58%, $C_{41}H_{50}N_6O_{16}$ (882,87) requer C, 55,78; H, 5,71; N, 9,52%.

5.2.2.3 - N^1,N^8-Bis(terc-butiloxicarbonil)-N^4-(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (112)



111
882,87

112
524,61

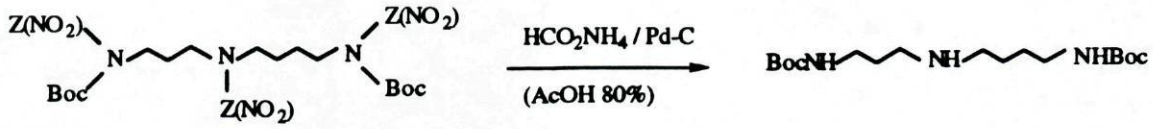
Tratou-se uma suspensão de N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^8-tris(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (0,883 g, 1,00 mmol) em metanol seco (4,0 mL) com N,N,N',N'-tetrametilguanidina (0,345 g, 3,00 mmol), sob agitação vigorosa. Deixou-se com agitação, à temperatura ambiente, durante 15 horas, após o que se adicionou acetato de etilo (100 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (50 mL). Lavou-se o extracto orgânico sucessivamente com soluções aquosas de hidrogenocarbonato de sódio 1M (50 mL) e de cloreto de sódio saturada (50 mL) e secou-se sobre sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente, obteve-se um sólido que foi purificado por cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (20 : 1) como eluente, dando origem a 0,43 g (82%) do produto **112**, homogéneo por TLC (E) e de p.f. 97-98°C; δ_H 8,23 e 7,51 (2d, 4H, ArH), 5,22 (s, 2H, CH_2PhNO_2), 5,15 e 4,65 (2 sl, ca 2H, NH), 3,31 [m, 4H, $CH_2NZ(NO_2)$], 3,11 [t, J = 5.6 Hz, 4H, CH_2NBoc), 1,73-1,44 [m+s, 6+18H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,0 (CO), 144,1, 136,8, 128,0 e 123,8 (ArC), 83,6 e 79,3 [$C(CH_3)_3$], 65,7 (CH_2PhNO_2), 46,6 e 44,6 {$CH_2N[Z(NO_2)]CH_2$}, 40,1 e 37,3 (CH_2NH), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 27,5, 25,8 e 25,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 57,29; H, 7,66; N, 10,78%, $C_{25}H_{40}N_4O_8$ (524,61) requer C, 57,25; H, 7,68; N, 10,68%.

5.2.2.4 - N^4-(p-Nitrobenziloxicarbonil)espermidina (113)

112 524,61 **113** 324,38

A uma solução de N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (0,684, 1,30 mmol) em diclorometano (10 mL), arrefecida em banho de gelo, adicionou-se ácido trifluoroacético (25 mL) e deixou-se com agitação durante 3 horas. Após evaporação do solvente, o resíduo foi tratado com solução aquosa de carbonato de potássio a 30% até pH 12. Extraiu-se o composto com clorofórmio (6 x 10 mL) e secaram-se os extractos orgânicos sobre sulfato de sódio anidro. Por evaporação do clorofórmio, obtiveram-se 0,34 g (80%) do produto **113** como um óleo amarelo, homogéneo por TLC (N); δ_H 8,25-8,20 (m, 2H, ArH), 7,53 e 7,49 (d, J = 8,7 Hz, 2H, ArH), 5,22 (s, 2H, CH_2Ph), 3,40-3,24 [m, 4H, $CH_2NZ(NO_2)$], 2,74-2,67 (m, 4H, CH_2NH_2), 2,00-1,60 (m, 10H, CCH_2C e NH_2). Este produto decompõe-se rapidamente, pelo que deve ser usado imediatamente a seguir ao seu isolamento.

5.2.3 - Síntese da N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina (114)



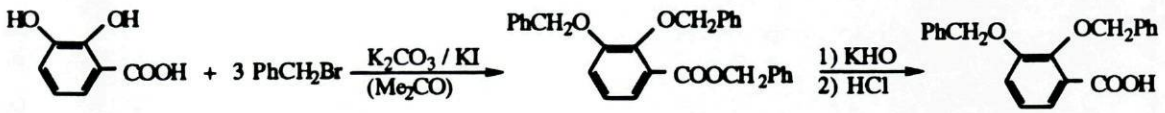
111
882,87

114
345,48

A uma suspensão de N^1,N^8-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^8-tris(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (1,80 g, 2,04 mmol) numa mistura de ácido acético e água (4 : 1) (35 mL), sob atmosfera de azoto, adicionou-se metanoato de amónio (2,21 g, 35 mmol) e Pd-C a 10%. Deixou-se com agitação durante 1 hora, após o que se filtrou o catalisador, concentrou-se o filtrado sob pressão reduzida (40-50ºC) e adicionou-se solução aquosa de carbonato de potássio a 30% (36 mL). Extraiu-se o produto com éter etílico (3 x 50 mL), lavou-se o extracto etéreo com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 5 mL) e secou-se sobre sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente obteve-se um óleo amarelo que, por trituração com éter de petróleo 40-60º, deu origem a um sólido branco. Recristalizou-se o sólido obtido de éter de petróleo 40-60º, obtendo-se 0,42 g (60%) do composto **114** homogéneo por TLC (J) e de p.f. 83-84ºC (lit.[102] p.f. 85,5-86,5ºC). Os valores obtidos nos espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C são concordantes com os da literatura[102].

5.2.4 - Síntese do brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)-espermidínio (117)

5.2.4.1 - Ácido 2,3-bis(benziloxi)benzóico (115)

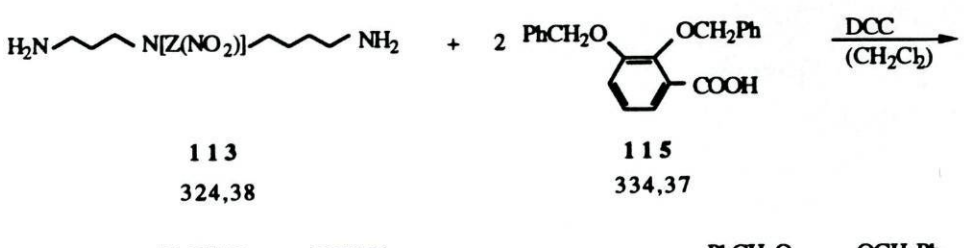


115

154,12 171,04 424,50 334,37

O composto **115** foi preparado seguindo o procedimento já descrito na literatura[119], com um rendimento de 85%.

5.2.4.2 - N^1,N^8-Bis[2,3-bis(benziloxi)benzoil]-N^4-(p-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (116)



113 324,38 **115** 334,37

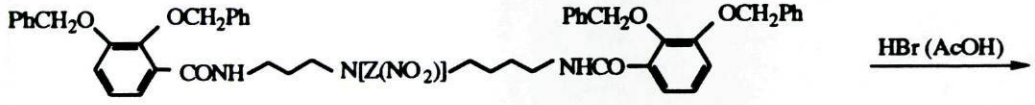
116

957,09

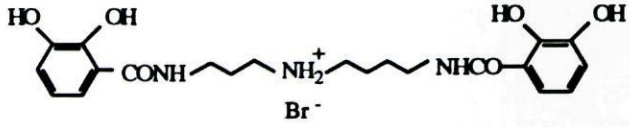
Após se manter com agitação e arrefecimento em banho de gelo, durante 1 hora, ácido 2,3-bis(benziloxi)benzóico (1,79 g, 5,36 mmol) e N,N'-dicicloexilcarbodiimida (1,16 g, 5,63 mmol) em diclorometano (20 mL), adicionou-se uma solução de N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (0,870 g, 2,68 mmol) em diclorometano (20 mL) e

deixou-se reagir durante 20 horas. Filtrou-se a ureia, evaporou-se o solvente, tratou-se o resíduo com acetona a quente e guardou-se a mistura resultante a 0ºC durante 13 horas. Filtrou-se a ureia precipitada, levou-se o filtrado à secura e purificou-se o resíduo obtido por cromatografia em coluna, usando diclorometano-acetona (10 : 1) como eluente. Por trituração, a frio, com éter de petróleo 40-60º, foram obtidos 1,5 g (60%) do composto **116** sob a forma de um sólido "ceroso" amarelo de p.f. 30-49ºC; δ_H 8,08-7,14 (m, 30H, ArH), 5,15-4,98 (m, 10H, CH_2Ph), 3,25 e 3,12 (2t, J = 5,6 Hz e J = 6,0 Hz, 4+4H, CH_2N e CH_2NH), 1,70-1,28 (m, 6H, CCH_2C); δ_C 165,1 (CONH), 151,7 (CO), 147,4, 146,7, 144,0, 136,4, 128,7, 127,7, 124,5, 123,7, 123,1 e 116,8 (ArC), 71,2 (CH_2Ph), 65,6 (CH_2PhNO_2), 46,6 e 45,7 [$CH_2NZ(NO_2)$], 39,2 e 36,3 (CH_2NH), 28,4, 26,6 e 25,4 (CCH_2C); análise elementar: C, 71,56; H, 5,95; N, 5,79%, $C_{57}H_{56}N_4O_{10}$ (957,09) requer C, 71,53; H, 5,90; N, 5,85%.

5.2.4.3 - Brometo de N^1,N^8-bis(2,3-diidroxibenzoil)espermidínio (117)



116
957,09



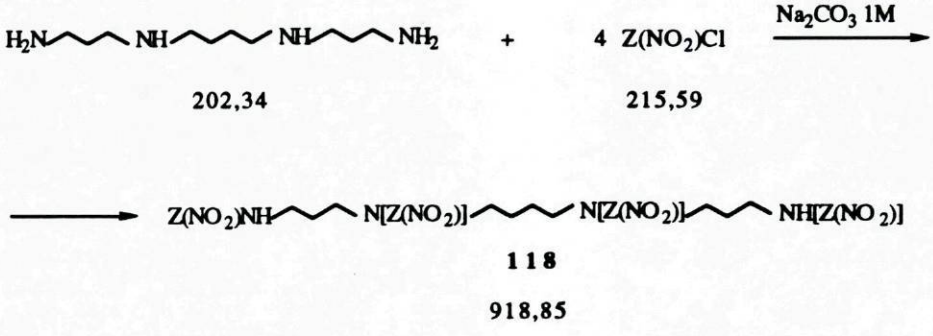
117
498,37

Dissolveu-se N^1,N^8-bis[2,3-bis(benziloxi)benzoil]-N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina (0,700 g, 0,731 mmol) numa solução de brometo de hidrogénio 4M em ácido acético (5,5 mL) e aqueceu-se a solução num banho de óleo (60ºC) durante 6 horas.

Evaporou-se o solvente, à temperatura ambiente, e o resíduo oleoso castanho obtido foi vigorosamente agitado, sucessivamente, com diclorometano (15 mL) e etanol (15 mL) até se formar um sólido castanho. Após recristalização de metanol, foram obtidos 0,29 g (80%) do produto **117** como um sólido cinzento claro, homogéneo por TLC (J), de p.f. 190-191°C; δ_H (ácido trifluoroacético, os desvios químicos foram calculados relativamente ao padrão interno $CDCl_2$, 5,28 ppm) 7,73 (sl, 2H, CONH), 7,54-6,99 (m, 6H, ArH), 3,85 (sl, 4H, CH_2NH_2), 3,42 (sl, 4H, CONHC*H*$_2$), 2,39 e 2,10 (2 sl, 6H, CCH_2C); δ_C (ácido trifluoroacético, os desvios químicos foram calculados relativamente ao padrão interno TFA, 164,0 ppm) 174,7 e 173,6 (CO), 149,6 e 146,6 (ArOH), 124,4, 123,8, 122,6 e 115,7 (ArC), 51,3 e 48,7 (CH_2NHCO), 43,9 e 39,7 ($CH_2NH_2^+$), 28,4, 27,7 e 26,1 (CCH_2C); análise elementar: C, 50,40; H, 5,70; N, 8,30, O, 19,10%, $C_{21}H_{27}N_3O_6$. HBr (498,37) requer C, 50,61; H, 5,66; N, 8,43, O, 19,26%.

5.3 - Síntese do derivado simetricamente protegido da espermina, N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4, N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (120)

5.3.1 - N^1,N^4,N^9,N^{12}-Tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (118)



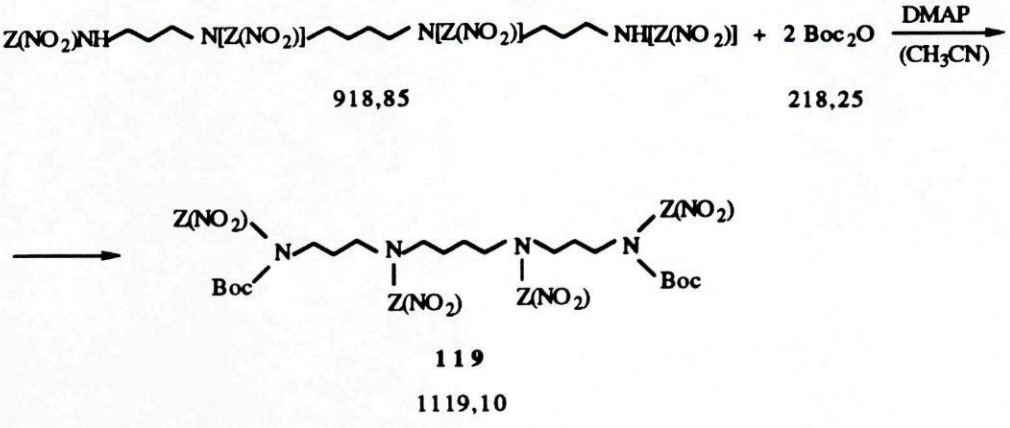
202,34 215,59

118

918,85

A uma solução de espermina (1,01 g, 5,00 mmol) em 70 mL de carbonato de sódio aquoso 1M - dioxano (4 : 3), arrefecida em banho de gelo, adicionou-se, gota a gota, sob agitação vigorosa, uma solução de cloreto de *p*-nitrobenziloxicarbonilo (5,05 g, 23,5 mmol) em dioxano (40 mL). Após se completar a adição (1 hora), deixou-se a mistura reaccional com agitação, em banho de gelo, durante 2 horas e à temperatura ambiente, durante 16 horas. A mistura foi então tratada com água (250 mL) e deixada a 0ºC durante 15 horas. O sólido obtido foi filtrado e lavado, sucessivamente, com água fria e éter etílico. Por recristalização de diclorometano, obtiveram-se 4,5 g (98%) do composto **118** como um sólido branco, homogéneo por TLC (A) e de p.f. 112-113ºC; δ_H 8,17 e 7,49 (2d, 16H, ArH), 5,18 (d, 8H, CH_2PhNO_2), 3,34-3,13 (m, 12H, CH_2N), 1,79-1,66 (m, 4H, CH_2CH_2N), 1,52 (sl, 4H, CCH_2C); δ_C 155,9 (CO), 147,6, 143,8, 128,1 e 123,8 (ArC), 65,9 e 65,1 (CH_2PhNO_2), 46,5 e 44,3 (NCH_2C), 38,6 e 37,7 ($NHCH_2C$), 29,6, 28,0, 25,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 55,00; H, 4,90; N, 12,13%, $C_{42}H_{46}N_8O_{16}$ (918,85) requer C, 54,90; H, 5,00; N, 12,20%.

5.3.2 - N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^9,N^{12}-tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (119)



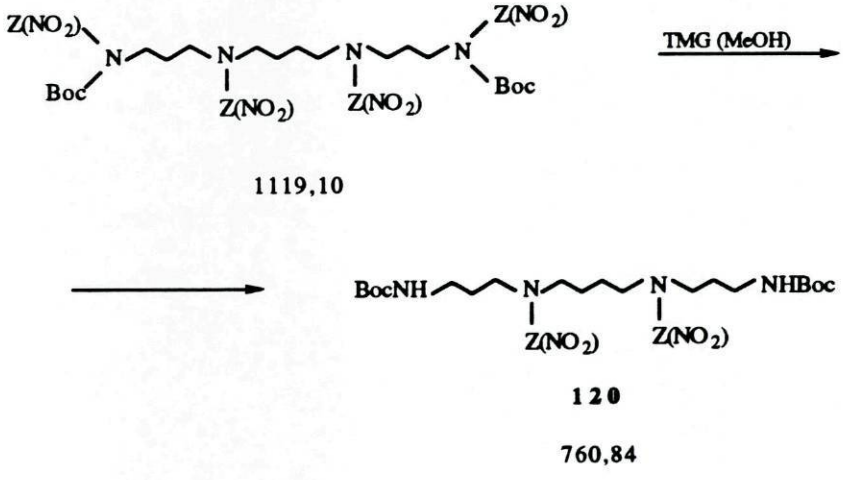
119

1119,10

A uma suspensão de N^1,N^4,N^9,N^{12}-tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (2,80 g, 3,00 mmol) e 4-(N,N-dimetilamino)piridina (0,0744 g, 0,609 mmol) em acetonitrilo seco (210 mL), adicionou-se uma solução de dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (3,82 g, 17,5 mmol) no mesmo solvente (10 mL). A mistura, vigorosamente agitada, foi aquecida a 50ºC até que todos os reagentes dissolvessem (1 hora) e deixada à temperatura ambiente, durante uma semana [a reacção foi seguida por TLC (A)]. Removeu-se então o solvente e adicionou-se ao resíduo oleoso castanho obtido, acetato de etilo (150 mL) e solução aquosa de hidrogenocarbonato de potássio 1M (50 mL). A fase orgânica foi lavada, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 25 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 25 mL) e cloreto de sódio saturada (3 x 25 mL) e, posteriormente, seca sobre sulfato de magnésio anidro. Após tratamento com carvão activado, o extracto orgânico foi mantido à temperatura de 0ºC durante 15 horas. O sólido branco entretanto formado, foi filtrado e purificado por "flash cromatography" em sílica, usando diclorometano - acetona (10 : 1) como eluente. Depois de remover o solvente das fracções que continham o composto homogéneo por TLC (E), obtiveram-se 2,5 g (73%) do produto **119** como um sólido branco de p.f. 103-104ºC; δ_H 8,22 e 8,20 (2d, 8H, ArH), 7,57 e 7,49 (2d, 8H, ArH), 5,31 e 5,20 (2s, 8H,

CH_2Ph), 3,65 (sl, 4H, CH_2NBoc), 3,30-3,24 (m, 8H, CH_2NCH_2), 1,88-1,82 (m, 4H, $NCH_2CH_2CH_2N$), 1,65-1,47 [m+s, 4+18H, $C(CH_2)C$ e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,4, 153,7 e 151,6 (CO), 147,5, 144,1, 142,6, 138,0, 128,2, 127,9 e 123,8 (ArC), 83,5 [$C(CH_3)_3$], 66,9 e 65,6 (CH_2PhNO_2), 47,2, 44,5 e 42,3 (NCH_2C), 28,0 [$C(CH_3)_3$], 27,5, 25,8 e 25,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 54,70; H, 5,75; N, 9,83 %, $C_{52}H_{62}N_8O_{20}.H_2O$ (1137,12) requer C, 54,93; H, 5,67; N, 9,85 %.

5.3.3 - N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (120)



1119,10

120

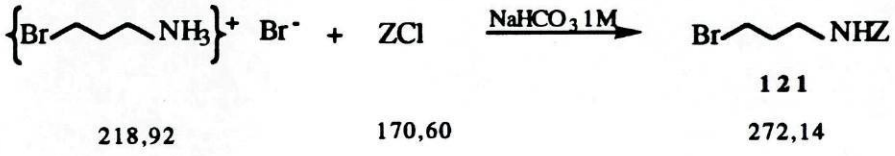
760,84

Tratou-se uma solução de N^1,N^{12}-bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^9,N^{12}-tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina (1,70 g, 1,52 mmol) em diclorometano seco (10 mL), agitada vigorosamente, à temperatura ambiente, com metanol (15,2 mL) e N,N,N',N'-tetrametilguanidina (0,524 g, 4,60 mmol). Após 10 dias, quando por TLC (E) se verificou que a reacção tinha sido completada, evaporou-se o solvente e adicionou-se, ao resíduo oleoso amarelo obtido, acetato de etilo (150 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (25 mL). A fase orgânica foi lavada, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 25 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 25 mL) e cloreto de sódio saturada (3 x 25 mL),

seca sobre sulfato de sódio anidro e tratada com carvão activado. Depois de se evaporar o solvente, obteve-se um sólido amarelo que se verificou [TLC (D)] estar contaminado com álcool *p*-nitrobenzílico. O sólido foi então purificado por cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (10 : 1) como eluente, dando origem a 0,99 g (86%) do composto **120** como um sólido branco, homogéneo por TLC (D), e de p.f. 112-113ºC; δ_H 8,22 e 7,51 (2d, 8H, ArH), 5,22 (s, 4H, CH_2Ph), 5,10 e 4,60 (2 sl, 2H, NH), 3,28-3,05 (m, 12H, CH_2N), 1,74-1,43 [m+s, 8+18H, $CH_2CH_2CH_2$ e $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,0 (CO), 147,6, 144,1, 128,1 e 123,8 (ArC), 79,3 [$C(CH_3)_3$], 65,7 (CH_2PhNO_2), 47,2, 46,7, 44,7 e 42,8 [$CH_2NZ(NO_2)CH_2$], 37.5 (CH_2NHBoc), 29,4 e 25,9 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 56,85; H, 7,00; N, 10,78%, $C_{36}H_{52}N_6O_{12}$ (760,84) requer C, 56,83; H, 6,89; N, 11,05%.

5.4 - Síntese da N^1,N^3-bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-1,3-propanodiamina (123)

5.4.1 - N-Benziloxicarbonil-3-bromopropanamina (121)

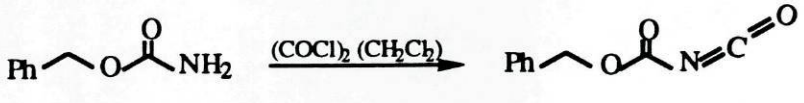


A uma suspensão de brometo de 3-bromopropilamónio (2,00 g, 9,14 mmol) em dioxano (34 mL), arrefecida em banho de gelo, adicionaram-se, gota a gota, simultaneamente, uma solução de cloreto de benziloxicarbonilo (1,78 g, 10,4 mmol) em dioxano (7 mL) e uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio 1M, de modo a manter o pH da mistura aproximadamente igual a 8. A mistura resultante foi agitada durante 12 horas, à temperatura ambiente, adicionando-se, em seguida, água fria (100 mL) e éter etílico (220 mL). A fase orgânica foi então lavada, sucessivamente, com

soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 50 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 50 mL) e cloreto de sódio saturada (2 x 50 mL). Após secagem do extracto etéreo sobre sulfato de magnésio anidro, evaporou-se o solvente, obtendo-se 2,4 g (95%) do composto **121** como um óleo incolor homogéneo por TLC (B); δ_H 7,34 (s, 5H, ArH), 5,08 (s, 2H, CH_2Ph), 3,45-3,28 (m, 4H, $BrCH_2$ e CH_2NH), 2,15-1,98 (m, 2H, CCH_2C); δ_C 156,4 (CO), 136,3, 128,4 e 128,0 (ArC), 66,9 (CH_2Ph), 39,3 (CH_2NH), 32,4 (CH_2Br), 30,6 (CCH_2C); análise elementar: C, 48,66; H, 5,30; N, 5,06; Br, 29,50%, $C_{11}H_{14}NO_2Br$ (272,14) requer C, 48,55; H, 5,18; N, 5,15; Br, 29,36%.

5.4.2 - Reagentes de Gabriel

A – Isocianato de benziloxicarbonilo (141)

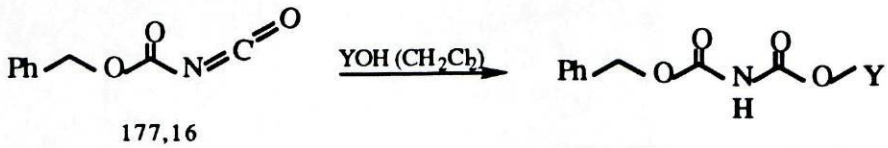


151,16

141
177,16

O composto **141** foi preparado seguindo um procedimento já descrito na literatura, com um rendimento de 50% (lit.[129] 53%).

B – Iminodicarboxilatos de alquilo e benzilo

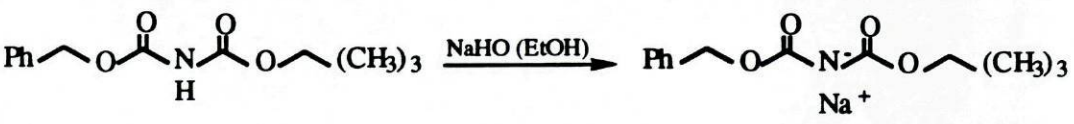


177,16

Y = CH_2CCl_3 326,56 **125**
Y = $C(CH_3)_3$ 251,28 **140**

Os produtos **125** e **140** foram sintetizados de acordo com o procedimento descrito na literatura, com um rendimento, respectivamente, de 95% e 93% (lit.[129] 97% e 92%).

C – Sal sódico do iminodicarboxilato de benzilo e terc-butilo (122)

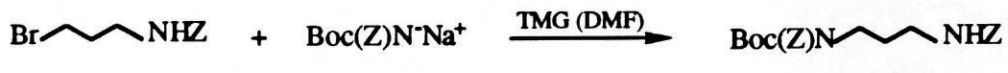


140
251,28

122
273,26

O composto **122** foi preparado através de um procedimento anteriormente descrito na literatura, com um rendimento de 95% (lit.[111] 98%).

5.4.3.- N^1,N^3-Bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-1,3-propanodiamina (123)



121
272,14

122
273,26

123
442,51

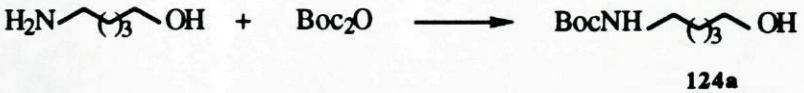
A uma suspensão de Boc(Z)N$^-$Na$^+$ (0,628 g, 2,30 mmol) em N,N-dimetilformamida seca (8.5 mL), arrefecida a -30ºC, adicionou-se uma solução de N,N,N',N'-tetrametilguanidina (0,368 g, 3,19 mmol) em N,N-dimetilformamida seca (3 mL) e, em seguida, gota a gota, com agitação vigorosa, uma solução de N-benziloxicarbonil-3-bromopropanamina (0,868 g, 3,19 mmol) no mesmo solvente (7.5 mL). A mistura resultante foi deixada com agitação, durante 30 minutos a -30ºC e dois dias à temperatura ambiente. Adicionou-se então éter etílico (115 mL) e solução aquosa de

hidrogenossulfato de potássio 1M (100 mL). Lavou-se a camada etérea, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 35 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 35 mL) e cloreto de sódio saturada (2 x 35 mL) e secou-se sobre sulfato de magnésio anidro. Após remoção do solvente, obteve-se um resíduo oleoso amarelado que foi purificado por cromatografia em coluna, usando diclorometano - éter etílico (40 : 1) como eluente, dando origem a 0,88 g (86%) do produto **123** sob a forma de um óleo incolor, homogéneo por TLC (B); δ_H 7,38-7,30 (m, 10H, ArH), 5,28 (s, 2H, BocNCOOCH_2Ph), 5,08 (s, 2H, NHCOOCH_2Ph), 3,71 [t, 2H, CH_2N(Z)Boc], 3,22-3,13 [m, 2H, CH_2NH(Z)], 1,82-1,72 (m, 2H, CCH$_2$C), 1,45 [s, 9H, C(CH_3)$_3$]; δ_C 156,3, 154,1 e 152,3 (CO), 136,6, 135,3, 128,4, 128,2 e 128,0 (ArC), 83,2 [*C*(CH$_3$)$_3$], 68,5 e 66,5 (CH$_2$Ph), 43,6 (NCH$_2$C), 37,8 (NHCH$_2$C), 29,1 (CCH$_2$C), 27,9 [C(*C*H$_3$)$_3$]; análise elementar: C, 65,26; H, 6,94; N, 6,24%, $C_{24}H_{30}N_2O_6$ (442,51) requer C, 65,14; H, 6,83; N, 6,33%.

5.5 - Síntese total de triaminas selectivamente protegidas

5.5.1 - Síntese do sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina (132a)

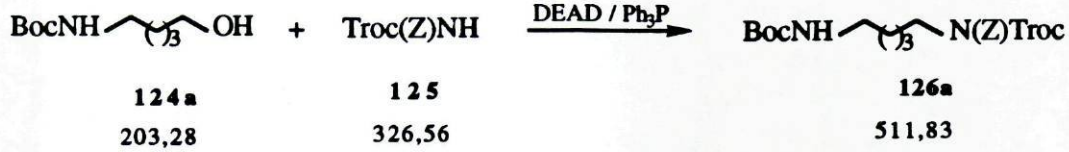
5.5.1.1 - 5-[N-(Terc-butiloxicarbonil)amino]pentanol (124a)



103,16 218,25 **124a** 203,28

A uma solução de 5-aminopentanol (1,03 g, 10,0 mmol) em diclorometano (6 mL), agitada vigorosamente, adicionou-se, gota a gota, durante 30 minutos, uma solução de dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (2,36 g, 10,8 mmol) em diclorometano (6 mL). Manteve-se a solução resultante em agitação, à temperatura ambiente, durante 21 horas. Após diluição com éter etílico (20 mL), lavou-se, sucessivamente, com soluções aquosas de tampão fosfato (0.5M, pH=5,4; 2 x 10 mL), hidrogenocarbonato de sódio saturada (10 mL) e cloreto de sódio saturada (10 mL). Secou-se a fase etérea sobre sulfato de magnésio anidro e evaporou-se o solvente, obtendo-se 1,8 g (91%) do produto **124a** sob a forma de um óleo incolor, homogéneo por TLC (O); os espectros de ^1H e ^{13}C registados para o referido composto apresentaram valores de desvios químicos concordantes com os existentes na literatura[146].

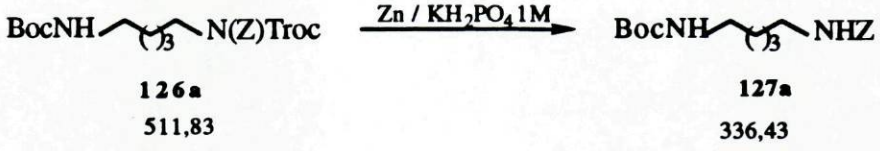
5.5.1.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (126a)



124a 203,28 | **125** 326,56 | **126a** 511,83

A uma solução de iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo (0,327 g, 1,00 mmol) e de trifenilfosfina (0,315 g, 1,20 mmol) em tetraidrofurano seco (2 mL), arrefecida em banho de gelo, sob atmosfera de azoto, adicionou-se uma solução de 5-[N-(*terc*-butiloxicarbonil)amino]pentanol (0,224 g, 1,10 mmol) em tetraidrofurano seco (1 mL) e, em seguida, gota a gota, durante 30 minutos, com agitação vigorosa, uma solução de azodicarboxilato de dietilo (0,189 g, 1,08 mmol) no mesmo solvente (1 mL). A solução resultante foi mantida com agitação, à temperatura ambiente, durante 13 horas, após o que se removeu o solvente para se obter uma mistura viscosa amarela. O produto **126a** foi separado da mistura obtida por cromatografia em coluna, usando diclorometano-éter etílico (20 : 1) como eluente. Foram obtidos, deste modo, 0,42 g (82%) do composto **126a**, sob a forma de um óleo viscoso amarelado, homogéneo por TLC (B); δ_H 7,42-7,33 (m, 5H, ArH), 5,28 (s, 2H, CH_2Ph), 4,82 (s, 2H, $TrocCH_2$), 4,49 (sl, ca 1H, NH), 3,77 (t, J=7,4 Hz, 2H, $CH_2N(Z)Troc$), 3,06 (m, 2H, CH_2NHBoc), 1,73-1,30 [m, 6+9H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,8, 153,4 e 151,7 (CO), 135,0, 128,5 e 128,3 (ArC), 94,4 (CCl_3), 79,1 [$C(CH_3)_3$], 75,6 (CH_2CCl_3), 69,0 (CH_2Ph), 46,9 (CH_2N), 40,4 (CH_2NH), 29,6 e 23,8 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 49,38; H, 5,79; N, 5,46; Cl, 20,73%, $C_{21}H_{29}N_2O_6Cl_3$ (511,83) requer C, 49,28; H, 5,71; N, 5,47; Cl, 20,78%.

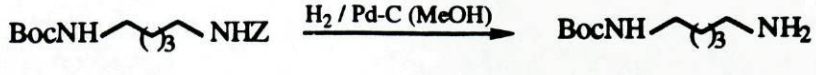
5.5.1.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(terc-butiloxicarbonil)pentanodiamina (127a)



126a 511,83 — **127a** 336,43

Tratou-se uma solução de N^1-benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (0,420 g, 0,820 mmol) em tetraidrofurano (8,5 mL), agitada vigorosamente, sob atmosfera de azoto, com pó de zinco activado (0,820 g) seguido da adição, gota a gota, de uma solução aquosa de diidrogenofosfato de potássio (1,64 mL). A mistura resultante foi mantida com agitação à temperatura ambiente, durante 4 horas. Filtrou-se então o pó de zinco e evaporou-se o solvente do filtrado, obtendo-se um resíduo oleoso que foi tratado com éter etílico (40 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (20 mL). Lavou-se a fase etérea, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (20 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (20 mL) e cloreto de sódio saturada (20 mL). Secou-se sobre sulfato de magnésio anidro, evaporou-se o solvente e purificou-se o óleo incolor obtido, por cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (20 : 1) como eluente. Após evaporação do eluente das fracções apropriadas, foram obtidos 0,24 g (87%) do composto **127a** sob a forma de um óleo incolor, homogéneo por TLC (E); δ_H 7,36-7,30 (m, 5H, ArH), 5,08 (sl, ca 3H, CH_2Ph e NHZ), 4,69 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,20-3,08 (m, 4H, ZNHCH_2 e BocNHCH_2), 1,55-1,31 [m, 6+9H, (CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,5 e 156,1 (CO), 136,3, 128,5 e 128,1 (ArC), 79,0 [$C(CH_3)_3$], 66,5 (CH_2Ph), 40,8 e 40,2 (ZNHCH_2 e BocNHCH_2), 29,6, 29,5 e 23,8 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 64,13; H, 8,34; N, 8,40%, $C_{18}H_{28}N_2O_4$ (336,43) requer C, 64,26; H, 8,39; N, 8,33%.

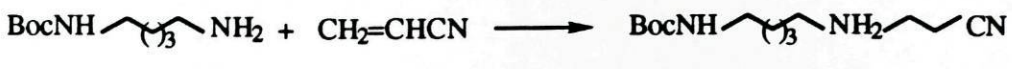
*5.5.1.4 - N-(*Terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina (128a)*



127a 336,43 — **128a** 202,30

A uma solução de N^1-benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina (0,756 g, 2,24 mmol) em metanol (26 mL), sob atmosfera de azoto, adicionou-se Pd-C 10% (0,076 g). Na mistura resultante, vigorosamente agitada, fez-se borbulhar hidrogénio, durante 1 hora, à temperatura ambiente. O catalisador foi então filtrado e lavado com metanol. Após evaporação do solvente do filtrado, obtiveram-se 0,43 g (95%) do produto **128a**, homogéneo por TLC (J), que foi imediatamente usado na preparação de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina.

*5.5.1.5 - N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina (129a)*

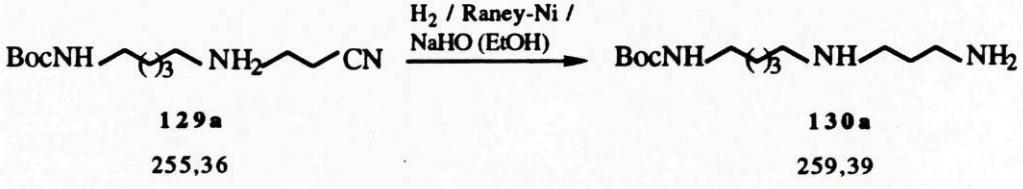


128a 202,30 — 53,06 — **129a** 255,36

A uma solução de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina (0,405 g, 2,00 mmol) em metanol (15 mL), arrefecida em banho de gelo, foi adicionada lentamente, através de seringa, uma solução de acrilonitrilo (0,106 g, 2,00 mmol) em metanol (2 mL). Após ser mantida em agitação, à temperatura ambiente, durante 13 horas, a solução foi concentrada e submetida a cromatografia em coluna, usando diclorometano - metanol (15 : 1) como eluente, obtendo-se 0,41 g (81%) do produto **129a** como um óleo amarelo, homogéneo por TLC (H); δ_H 4,76 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,13 (q, J = 6,4 Hz,

2H, BocNHCH_2), 2,93 (t, J = 6,6 Hz, 2H, NHCH_2CH_2CN), 2,64 (t, J = 7,0 Hz, 2H, CH_2NHCH_2), 2,53 (t, J = 6,6 Hz, 2H, CH_2CN), 1,56-1,31 [m, 16H, CCH_2C, NH e C(CH_3)$_3$]; δ_C 156,0 (CO), 118,8 (CN), 79,0 [*C*(CH_3)$_3$], 49,0 (*C*H_2NHCH_2CH_2CN), 45,0 (NH*C*H_2CH_2CN), 40,4 (BocNH*C*H_2), 29,9, 29,6 e 24,4 (C*C*H_2C), 28,4 [C(*C*H_3)$_3$], 18,6 (*C*H_2CN); análise elementar: C, 61,08; H, 9,90; N, 16,55%, $C_{13}H_{25}N_3O_2$ (255,36) requer C, 61,15; H, 9,87; N, 16,46%.

5.5.1.6 - N^9-(Terc-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina (130a)



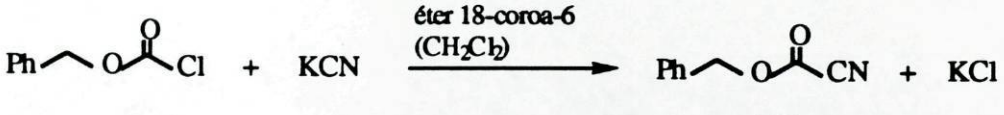
129a 255,36 **130a** 259,39

Dissolveu-se N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina (0,905 g, 3,54 mmol) numa solução de hidróxido de sódio em etanol a 95% (33 mL). A esta solução, agitada vigorosamente e sob atmosfera de azoto, adicionou-se Raney-níquel (1,0 g, pesado como uma mistura densa em água, pH 10) e fez-se borbulhar hidrogénio, durante 3 horas, à temperatura ambiente. O catalisador foi então cuidadosamente filtrado sob vácuo e lavado com etanol a 95% (2 x 20 mL). Concentrou-se o filtrado e adicionou-se solução aquosa de hidróxido de sódio a 10% até se verificar o aparecimento de um óleo em suspensão (pH $\geq$ 13). O óleo foi extraído com éter dietílico (4 x 15 mL) até que no extracto etéreo não se verificasse a presença da amina [TLC (J)]. Secaram-se os extractos etéreos sobre sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente, para se obter 0,90 g (98%) do produto **130a** como um óleo incolor, homogéneo por TLC (J), que foi imediatamente usado na preparação do composto **132a**; δ_H 4,72 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,11 (q, J=6,3 Hz, 2H, BocNHCH_2), 2,80-2,71 (m, 2H, NHCH_2CH_2CH_2NH_2), 2,67-2,60 (2t, J=7,0 Hz, 4H, CH_2NHCH_2 e CH_2NH_2), 2,26 (sl, 3H, NH e NH_2), 1,69-1,60 (m, 2H, CH_2CH_2NH_2), 1,55-1,32 [m, 15H, BocNHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH e

$C(CH_3)_3]$; δ_C 156,0 (CO), 79,0 [$C(CH_3)_3$], 49,9 (CH_2NH), 47,9 ($NHCH_2$), 40,5 ($BocNHCH_2$), 33,5 (CH_2NH_2), 30,0, 29,6 e 24,5 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$].

5.5.1.7 - Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(terc-butil-oxicarbonil)-4-azanonanodiamina (133a)

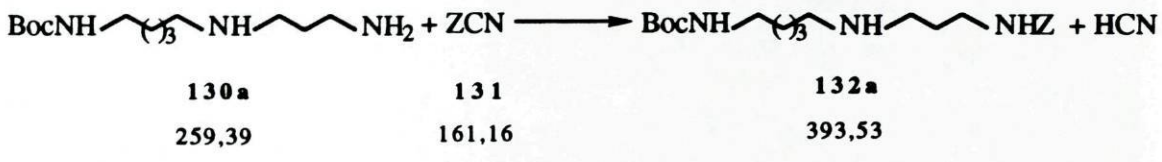
A - *Cianeto de benziloxicarbonilo (131)*



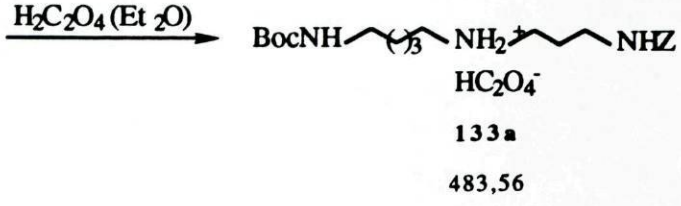
170,60 65,12 **131** 161,16

O composto **131** foi preparado segundo um procedimento já descrito na literatura, com um rendimento de 70% (lit.[153] 65%).

B - *Introdução do grupo benziloxicarbonilo na N^9-(terc-butiloxicarbonil)-4--azanonanodiamina*



130a 259,39 **131** 161,16 **132a** 393,53



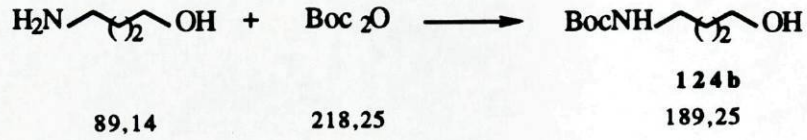
133a

483,56

A uma solução de N^9-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina (0,918 g, 3,54 mmol) em diclorometano seco (24 mL), agitada vigorosamente, à temperatura ambiente, adicionou-se, gota a gota, durante 3 horas, uma solução de cianeto de benziloxicarbonilo (0,571 g, 3,54 mmol) no mesmo solvente (12 mL). O cianeto de hidrogénio libertado no decurso da reacção foi cuidadosamente recolhido numa solução aquosa de hidróxido de sódio que, por sua vez foi tratada com hipoclorito de sódio. A mistura reaccional foi mantida em agitação, durante 13 horas, após o que se removeu o solvente, obtendo-se um resíduo oleoso que foi submetido a cromatografia em coluna, usando diclorometano - metanol (1 : 1) como eluente. Por evaporação do eluente das fracções apropriadas, obtiveram-se 1,1 g (82%) do composto **132a** como um óleo amarelado, homogéneo por TLC (G e J). Como se verificou que este produto se decompunha facilmente, isolou-se o composto requerido sob a forma do respectivo oxalato **133a** de p.f. 127-128°C, por precipitação com ácido oxálico anidro 0,1 M em éter etílico; δ_H(DMSO) 7,41-7,31 (m, 6H, COOH e ArH), 6,80 (sl, ca 2H, NHZ e NHBoc), 5,02 (s, 2H, CH_2Ph), 3,08-3,06 (m, 2H, ZNHCH_2), 2,91-2,80 (m, 6H, BocNHCH_2 e C$H_2NH_2^+$CH_2), 1,77-1,72 (m, 2H, ZNHCH$_2$CH_2), 1,58-1,56 (m, 2H, BocNHCH$_2$CH_2), 1,37-1,27 [m, 13H, BocNHCH$_2$CH$_2$CH_2CH_2CH$_2$NH$_2^+$ e C(CH$_3$)$_3$]; δ_C(DMSO) 164,8, 156,1 e 155,9 (CO), 137,0, 128,3, 127,7 e 127,6 (ArC), 77,3 [*C*(CH$_3$)$_3$], 65,2 (*C*H$_2$Ph), 46,5 e 44,4 (*C*H$_2$NH), 40,2 e 39,9 (BocNH*C*H$_2$ e ZNH*C*H$_2$), 28,8, 26,1, 25,0 e 23,2 (C*C*H$_2$C), 28,2 [C(*C*H$_3$)$_3$]; análise elementar: C, 57,15; H, 7,60; N, 8,45%, $C_{23}H_{37}N_3O_8$ (483,56) requer C, 57,13; H, 7,71; N, 8,69%.

5.5.2 - Síntese da N^1-benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina (132b)

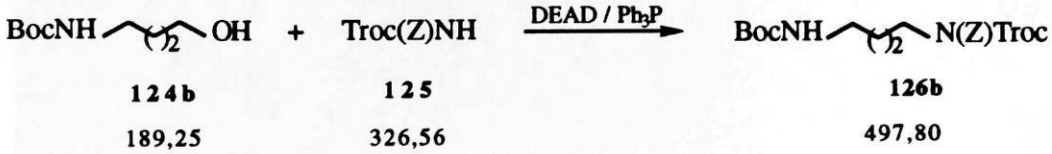
5.5.2.1 - 4-[N-(Terc-butiloxicarbonil)amino]butanol (124b)



		124b
89,14	218,25	189,25

O produto **124b** foi preparado seguindo o procedimento descrito para o composto **124a** (5.5.1.1), obtendo-se um óleo incolor, com um rendimento de 80%, após purificação por cromatografia em coluna, usando diclorometano - metanol (18 : 1) como eluente.

5.5.2.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (126b)

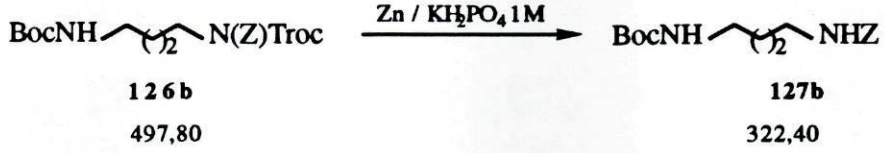


124b	**125**	**126b**
189,25	326,56	497,80

O produto **126b** foi obtido, seguindo um procedimento análogo ao descrito em 5.5.1.2, por reacção de 4-[N-(*terc*-butiloxicarbonil)amino]butanol com iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, sob a forma de um óleo incolor, com um rendimento de 77%; δ_H 7,42-7,34 (m, 5H, ArH), 5,28 (s, 2H, ZCH_2), 4,82 (s, 2H, $TrocCH_2$), 4,58 (sl,1H, NH), 3,78 [t, J=7,4 Hz, 2H, $CH_2N(Z)Troc$], 3,10 (m, 2H, CH_2NHBoc), 1,76-1,64 e 1,44 [m+s, 4+9H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,8, 153,2 e 151,6 (CO), 135,0, 128,6 e 128,3 (ArC), 94,4 (CCl_3), 79,2 [$C(CH_3)_3$], 75,6 (CH_2CCl_3), 69,0

(CH_2Ph), 46,7 (CH_2N), 40,0 (CH_2NH), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 27,1 e 26,1 (CCH_2C); análise elementar: C, 48,24; H, 5,48; N, 5,55; Cl, 21,35%, $C_{20}H_{27}N_2O_6Cl_3$ (497,80) requer C, 48,26; H, 5,47; N, 5,63; Cl, 21,37 %.

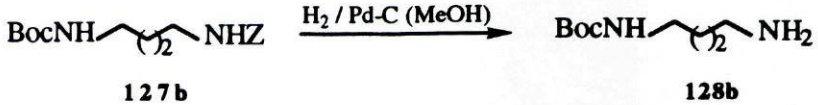
5.5.2.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(terc-butiloxicarbonil)butanodiamina (127b)



126b 497,80 → **127b** 322,40

O composto **127b** foi obtido de acordo com o procedimento descrito na preparação do produto **127a** (5.5.1.3), como um sólido branco de p.f. 94-95°C, com um rendimento de 83%; δ_H 7,36-7,29 (m, 5H, ArH), 5,09 (s, 2H, CH_2Ph), 4,98 (sl, ca 1H, NHZ), 4,64 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,20-3,11 (m, 4H, ZNHCH_2 e BocNHCH_2), 1,64-1,50 (m, 4H, CCH_2C), 1,43 [s, 9H, $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,4 e 156,0 (CO), 136,6, 128,5 e 128,1 (ArC), 79,1 [$C(CH_3)_3$], 66,6 (CH_2Ph), 40,7 e 40,1 (CH_2NH), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 27,3 e 27,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 63,26; H, 8,16; N, 8,60; O, 19,52%, $C_{17}H_{26}N_2O_4$ (322,40) requer C, 63,33; H, 8,13; N, 8,69; O, 19,88%.

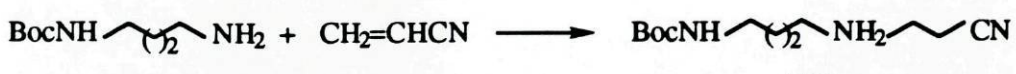
5.5.2.4 - N-(Terc-butiloxicarbonil)butanodiamina (128b)



127b 322,40 → **128b** 188,27

O composto **128b** foi obtido por hidrogenação catalítica através de um procedimento idêntico ao descrito para o produto **128a** (5.5.1.4), com um rendimento de 90% e, imediatamente, usado na preparação de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(2-cianoetil)butanodiamina.

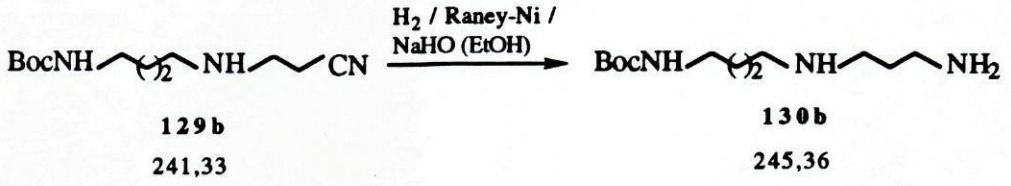
5.5.2.5 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^4-(2-cianoetil)butanodiamina (129b)



128b 188,27 — 53,06 — **129b** 241,33

O composto **129b** foi obtido, com um rendimento de 75%, como um óleo incolor, por um procedimento análogo ao descrito na preparação de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina (5.5.1.5); δ_H 5,11 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,13 (m, 2H, BocNHC*H*$_2$), 2,92 (t, J = 6,6 Hz, 2H, NHC*H*$_2$CH$_2$CN), 2,66 (t, J = 6,6 Hz, 2H, C*H*$_2$NHCH$_2$CH$_2$CN), 2,54 (t, J = 6,6 Hz, 2H, CH$_2$CN), 1,53-1,51 (m, 5H, CCH$_2$C e CH$_2$N*H*CH$_2$), 1,44 [s, 9H, C(CH$_3$)$_3$]; δ_C 156,1 (CO), 118,8 (CN), 78,8 [*C*(CH$_3$)$_3$], 48,7 (*C*H$_2$NHCH$_2$CH$_2$CN), 45,0 (NH*C*H$_2$CH$_2$CN), 40,3 (BocNH*C*H$_2$), 28,4 [C(*C*H$_3$)$_3$], 27,7 e 27,2 (C*C*H$_2$C), 18,6 (*C*H$_2$CN); análise elementar: C, 59,50; H, 9,60; N, 17,20; O, 13,60%, $C_{12}H_{23}N_3O_2$ (241,33) requer C, 59,72; H, 9,60; N, 17,41, O, 13,26%.

5.5.2.6 - N^8-(Terc-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina (130b)



129b
241,33

130b
245,36

O composto **130b** foi obtido como um óleo incolor (97%), por um procedimento idêntico ao descrito para o produto **130a** (5.5.1.6) e usado, imediatamente a seguir, na síntese de N^1-benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina.

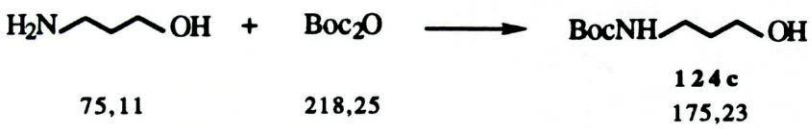
5.5.2.7 - N^1-Benziloxicarbonil-N^8-(terc-butiloxicarbonil)-4--azaoctanodiamina (132b)

130b 245,36 | **131** 161,16 | **132b** 379,50

Preparou-se o produto **132b** por um processo análogo ao utilizado na síntese da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina (5.5.1.7), obtendo-se um sólido branco de p.f. 63-64°C (lit.[102] p.f. 63-64°C), com um rendimento de 81%; δ_H 7.36-7.29 (m, 5H, ArH), 5.73 (sl, ca 1H, NHZ), 5.09 (s, 2H, CH_2Ph), 4.85 (sl, ca 1H, NHBoc), 3.28 (m, 2H, CH_2NHZ), 3.10 (m, 2H, CH_2NHBoc), 2.66 (m, 2H, NHCH_2CH$_2$CH$_2$NHZ), 2.58 [m, 2H, BocNHCH$_2$(CH$_2$)$_2$CH_2NH], 1.66 (qui., J=6.3 Hz, 2H, NHCH$_2$CH_2CH$_2$NHZ), 1.50-1.48 (m, 5H, CCH_2C e NH), 1.43 (s, 9H, C(CH_3)$_3$]; δ_C 156.5 e 156.0 (CO), 136.8, 128.5 e 128.0 (ArC), 79.0 [*C*(CH$_3$)$_3$], 66.4 (*C*H$_2$Ph), 49.4 e 47.8 (*C*H$_2$NH), 40.4 e 39.9 (BocNH*C*H$_2$ e ZNH*C*H$_2$), 29.5, 27.8 e 27.3 (C*C*H$_2$C), 28.4 [C(*C*H$_3$)$_3$].

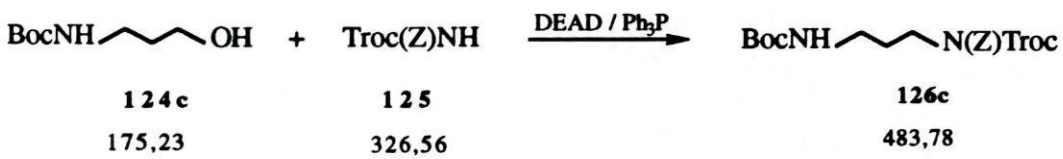
5.5.3 - Síntese do sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^7-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina (133c)

5.5.3.1 - 3-[N-(Terc-butiloxicarbonil)amino]propanol (124c)



O composto **124c**, um óleo incolor, foi preparado segundo o procedimento descrito para a obtenção de 5-[N-(*terc*-butiloxicarbonil)amino]pentanol (5.5.1.1), com um rendimento de 98%.

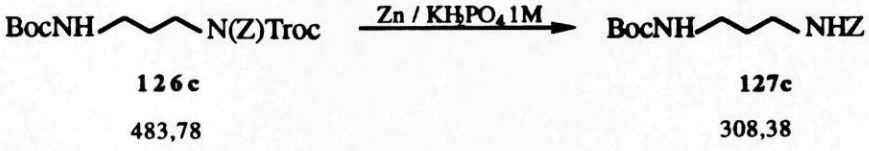
5.5.3.2 - N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina (126c)



O produto **126c** foi obtido, seguindo um procedimento análogo ao descrito em 5.5.1.2 para o composto **126a,** por reacção de 3-[N-(*terc*-butiloxicarbonil)amino]-propanol com imidodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo, sob a forma de um óleo incolor, com um rendimento de 69%; δ_H 7,42-7,34 (m, 5H, ArH), 5,28 (s, 2H, ZCH_2), 4,83 (s, 2H, $TrocCH_2$), 3,85 (t, J=7,0 Hz, 2H, $CH_2N(Z)Troc$), 3,14 (m, 2H, CH_2NHBoc), 1,89-1,64 e 1,43 [m+s, 11H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,9, 153,4 e 151,8 (CO), 134,9, 128,7 e 128,3 (ArC), 94,4 (CCl_3), 79,2 [$(CH_3)_3C$], 75,8 (CH_2CCl_3), 69,2 (CH_2Ph), 44,6 (CH_2N), 37,4 (CH_2NH), 29,3 (CCH_2C) e 28,4

[C(CH_3)$_3$]; análise elementar: C, 47,08; H, 5,26; N, 5,85; Cl, 22,09%, $C_{19}H_{25}N_2O_6Cl_3$ (483,78) requer C, 47,17; H, 5,21; N, 5,79; Cl, 21,99 %.

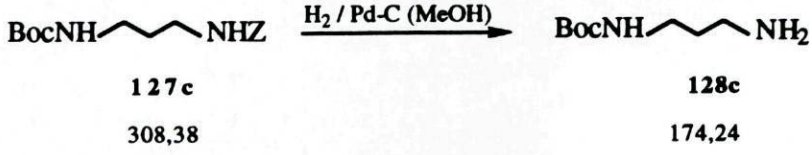
5.5.3.3 - N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(terc-butiloxicarbonil)propanodiamina (127c)



126c 483,78 **127c** 308,38

O composto **127c** foi obtido de acordo com o procedimento descrito na preparação do produto **127a** (5.5.1.3), como um sólido branco de p.f. 60-61°C, com um rendimento de 88%; δ_H 7,35 (m, 5H, ArH), 5,35 (sl, ca 1H, NHZ), 5,09 (s, 2H, CH_2Ph), 4,89 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,26-3,16 (m, 4H, CH_2NH), 1,61 (m, 2H, CCH_2C), 1,43 [s, 9H, $(CH_3)_3C$); δ_C 156,8 e 156,4 (CO), 136,6, 128,5 e 128,1 (ArC), 79,3 [$C(CH_3)_3$], 66,6 (CH_2Ph), 37,6 e 37,0 (CH_2NH), 30,5 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 61,98; H, 7,85; N, 8,78; O, 20,67%, $C_{16}H_{24}N_2O_4$ (308.38) requer C, 62,32; H, 7,84; N, 9,08; O, 20,75%.

5.5.3.4 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)propanodiamina (128c)

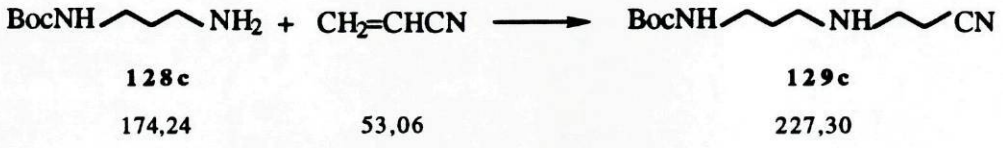


127c 308,38 **128c** 174,24

O composto **128c** foi obtido, como um óleo amarelado, por hidrogenação catalítica, através de um procedimento idêntico ao descrito para o produto **128a**

(4.5.1.4), com um rendimento de 91%, e imediatamente usado na preparação de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^3-(2-cianoetil)propanodiamina.

5.5.3.5 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^3-(2-cianoetil)propanodiamina (129c)

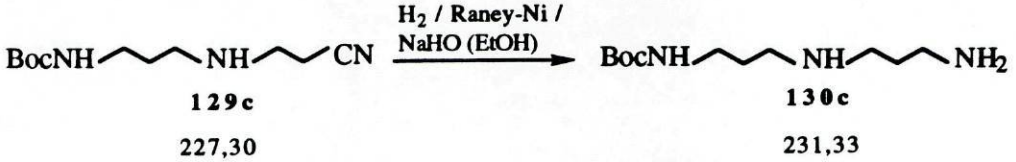


128c **129c**

174,24 53,06 227,30

O composto **129c** foi obtido, por um procedimento análogo ao descrito na preparação da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina (**129a**) (5.5.1.5), com um rendimento de 72%, como um óleo incolor; δ_H 5,15 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,20 (m, 2H, BocNHCH_2), 2,93 (m, 2H, NHCH_2CH_2CN), 2,70 (m, 2H, CH_2NHCH_2CH_2CN), 2,53 (t, J=6,6 Hz, 2H, CH_2CN), 1,72 (s, ca 1H, CH_2N*H*CH_2), 1,66 (q, J = 6,6 Hz, 2H, CCH_2C), 1,44 [s, 9H, C(CH_3)$_3$]; δ_C 156,2 (CO), 118,8 (CN), 79,0 [*C*(CH_3)$_3$], 46,6 (*C*H_2NHCH_2CH_2CN), 45,0 (NH*C*H_2CH_2CN), 38,6 (BocNH*C*H_2), 30,0 (C*C*H_2C), 28,4 [C(*C*H_3)$_3$], 18,6 (*C*H_2CN); análise elementar: C, 58,00; H, 9,24; N, 18,54%, $C_{11}H_{21}N_3O_2$ (227.30) requer C, 58,12; H, 9,31; N, 18,49%.

5.5.3.6 - N^7-(Terc-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina (130c)

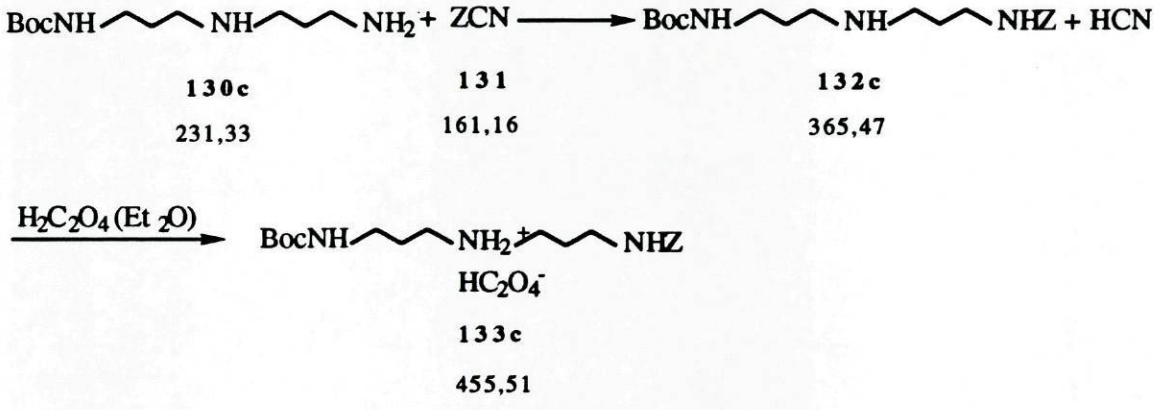


129c **130c**

227,30 231,33

O composto **130c** foi obtido como um óleo incolor (98%), por um procedimento idêntico ao descrito para o produto **130a** (5.5.1.6) e usado, imediatamente a seguir, na síntese de N^1-benziloxicarbonil-N^7-(*terc*-butiloxicarbonil)-4--azaeptanodiamina; δ_H 4,68 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,11 (q, J=6,3 Hz, 2H, BocNHCH_2), 2,79-2,74 (m, 2H, CH_2NHCH_2), 2,66 e 2,60 (2t, J=7,0 Hz, 4H, CH_2NHCH_2 e CH_2NH_2), 1,70-1,59 (m, 6H, NH_2 e CCH_2C), 1,55-1,44 [m, 10H, NH e $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,0 (CO), 79,0 [$C(CH_3)_3$], 49,9 (CH_2NH), 47,9 ($NHCH_2$), 40,5 (BocNHCH_2), 33,7 (CH_2NH_2), 29,7 e 24,6 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$].

5.5.3.7 - Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^7-(terc-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina (133c)

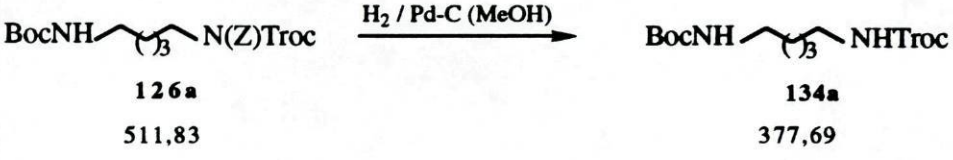


Preparou-se o produto **133c** por um processo análogo ao utilizado na síntese do sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina (5.5.1.7), obtendo-se um sólido branco de p.f. 126-127°C, com um rendimento de 80%; δ_H(DMSO) 7,44-7,34 (m, 6H, COOH e ArH), 6,80 (t, J=5,3 Hz, ca 2H, NHZ e NHBoc), 5,02 (s, 2H, CH_2Ph), 3,07 (q, J=6,2 Hz, 2H, ZNHCH_2), 2,93-2,80 (m, 6H, BocNHCH_2 e $CH_2NH_2^+CH_2$), 1,77-1,72 (m, 2H, $ZNHCH_2CH_2$), 1,58-1,53 (m, 2H, $BocNHCH_2CH_2$), 1,37-1,25 [s+m, 11H, $C(CH_3)_3$ e NH_2]; δ_C(DMSO) 164,8, 156,1 e 155,5 (CO), 137,0, 128,3, 127,7 e 127,6 (ArC), 77,3 [$C(CH_3)_3$], 65,2 (CH_2Ph), 46,5 e 44,3 ($CH_2NH_2^+CH_2$), 40,2 e 39,9 ($BocNHCH_2$ e $ZNHCH_2$), 28,2 [$C(CH_3)_3$], 26,1 e

23,2 (CCH_2C); análise elementar: C, 55,29; H, 7,19; N, 9,35%, $C_{21}H_{33}N_3O_8$ (455.51) requer C, 55,37; H, 7,30; N, 9,22%.

5.5.4 - Síntese do sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina (139a)

5.5.4.1 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (134a)

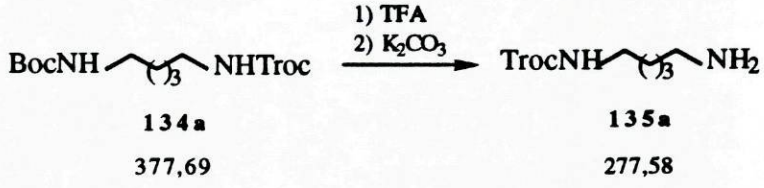


126a 511,83 **134a** 377,69

A uma solução de N^1-benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (0,512 g, 1,00 mmol) em metanol (15 mL), sob atmosfera de azoto e com agitação vigorosa, adicionou-se Pd-C 10% (0,052 g) e fez-se borbulhar hidrogénio, à temperatura ambiente, durante 1 hora. Removeu-se então o catalisador por filtração, lavou-se com metanol e evaporou-se o solvente do filtrado. Ao resíduo oleoso assim obtido, adicionou-se diclorometano (50 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (25 mL). Lavou-se a fase etérea, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (25 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (25 mL) e cloreto de sódio saturada (25 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente, obteve-se um sólido branco que foi purificado por cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (20 : 1) como eluente. Por evaporação das fracções que continham o produto homogéneo por TLC (D), obtiveram-se 0.33 g (88%) do composto **134a** de p.f. 82-83°C; δ_H 5,35 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,72 (s, 2H, $TrocCH_2$), 4,52 (sl, ca 1H, NHBoc), 3,23 (m, 2H, $CH_2NHTroc$), 3,11 (m, 2H, CH_2NHBoc), 1,60-1,27 e 1,44 [m+s, 6+9H, CCH_2C e $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,0 e 154,6

(CO), 95,7 (CCl_3), 79,2 [$(CH_3)_3C$], 74,5 (CH_2CCl_3), 41,0 ($CH_2NHTroc$), 40,2 (CH_2NHBoc), 29,7, 29,3 e 23,7 (CCH_2C) e 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 41,32; H, 6,16; N, 7,12; O, 17,10%, $C_{13}H_{23}N_2O_4Cl_3$ (377.69) requer C, 41,34; H, 6,14; N, 7,42; O, 16,94%.

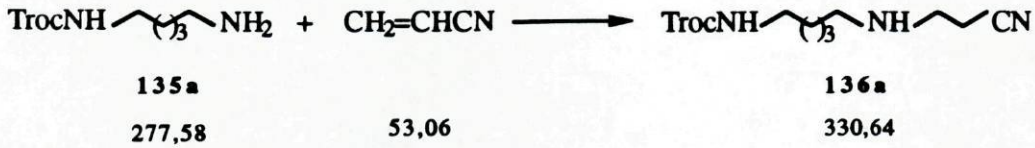
5.5.4.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (135a)



134a 377,69 **135a** 277,58

Fez-se reagir N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-etiloxicarbonilpentanodiamina (0,650 g, 1,72 mmol) com ácido trifluoroacético (3 mL), à temperatura ambiente e com agitação vigorosa, durante 1 hora. Após evaporação do solvente, tratou-se o resíduo com solução aquosa de carbonato de potássio 30% até se verificar a formação de um óleo (pH 12). Extraiu-se esse óleo com clorofórmio (8 x 15 mL) e secaram-se os extractos orgânicos sobre sulfato de sódio anidro. Por evaporação do solvente, obtiveram-se 0,42 g (88%) do produto **135a** como um óleo amarelo, cromatograficamente homogéneo [TLC(J)], que foi imediatamente usado na preparação de N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina.

5.5.4.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (136a)

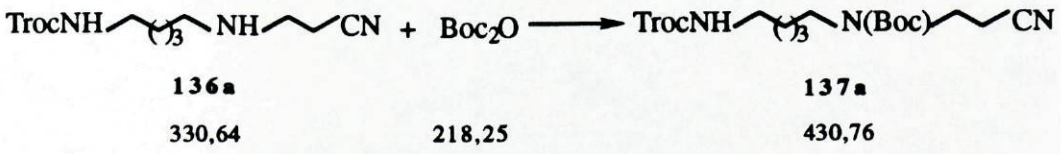


135a **136a**

277,58 53,06 330,64

A uma suspensão de N-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (0,416 g, 1,50 mmol) em metanol (3 mL), arrefecida em banho de gelo e com agitação forte, adicionou-se, gota a gota, através de uma seringa, uma solução de acrilonitrilo (0,079 g, 1.49 mmol) em metanol (2 mL). A solução resultante foi deixada com agitação, à temperatura ambiente, durante 4 dias. Após evaporação do solvente, o resíduo oleoso obtido foi submetido a cromatografia em coluna, usando diclorometano - metanol (15 : 1) como eluente. O produto **136a** foi então obtido (0,43 g; 87%) como um óleo incolor, homogéneo por TLC(H); δ_H 5,27 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,72 (s, 2H, TrocCH_2), 3,24 (m, 2H, TrocNHCH_2), 2,93 (m, 2H, NHCH_2CH_2CN), 2,65 (m, 2H, CH_2NHCH_2CH_2CN), 2,53 (t, J=6,6 Hz, 2H, CH_2CN), 1,66-1,31 (m, 6H, CCH_2C); δ_C 154,5 (CO), 118,6 (CN), 95,6 (CCl_3), 74,4 (CH_2CCl_3), 48,8 (CH_2NHCH_2CH_2CN), 44,9 (NHCH_2CH_2CN), 41,1 (TrocNHCH_2), 29,5, 29,4 e 24,1 (CCH_2C), 18,6 (CH_2CN); análise elementar: C, 40,05; H, 5,54; N, 12,76; Cl, 32,03%, $C_{11}H_{18}N_3O_2Cl_3$ (330.64) requer C, 39,96; H, 5,49; N, 12,71; Cl, 32,17%.

5.5.4.4 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina

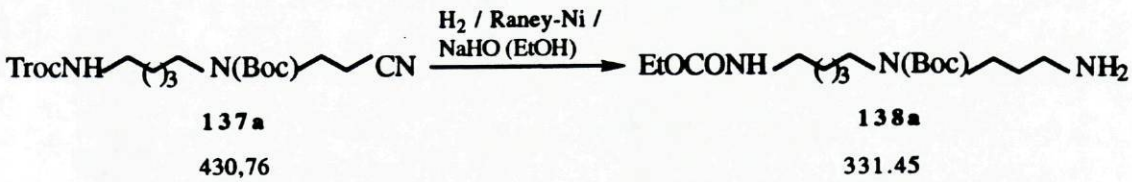


136a **137a**

330,64 218,25 430,76

Tratou-se uma solução de N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (0,413 g, 1,25 mmol) em diclorometano (20 mL) com dicarbonato de bis(*terc*-butilo) (0,295 g, 1,35 mmol), à temperatura ambiente. Deixou-se a solução resultante com agitação, à temperatura ambiente, durante 3 dias, após o que se removeu o solvente e se adicionou, ao resíduo oleoso obtido, diclorometano (25 mL) e solução aquosa de hidrogenossulfato de potássio 1M (20 mL). Lavou-se a fase orgânica, sucessivamente, com soluções aquosas de hidrogenossulfato de potássio 1M (3 x 20 mL), hidrogenocarbonato de sódio 1M (3 x 20 mL) e cloreto de sódio saturada (2 x 20 mL) e secou-se sobre sulfato de sódio anidro. Removeu-se o solvente e purificou-se o produto por cromatografia em coluna, usando diclorometano - acetona (20 : 1) como eluente, obtendo-se 0,48 g (89%) d(o composto **137a** como um sólido amarelo claro de p.f. 72-73ºC; δ_H 5,40 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,72 (s, 2H, TrocC*H*$_2$), 3,46 [t, J=6,7 Hz, 2H, N(Boc)C*H*$_2$CH$_2$CN], 3,30-3,18 [m, 4H, C*H*$_2$N(Boc)CH$_2$CH$_2$CN e TrocNHC*H*$_2$], 2,61 (m, 2H, C*H*$_2$CN), 1,60-1,32 [m, 15H, CCH$_2$C e C(CH$_3$)$_3$]; δ_C 154,5 (CO), 118,2 (CN), 95,6 (CCl_3), 80,2 [*C*(CH$_3$)$_3$], 74,2 (*C*H$_2$CCl$_3$), 48,3, 47,1, 43,6, 40,9, 29,2 e 23,5 (C*C*H$_2$C), 28,2 [C(*C*H$_3$)$_3$] e 17,3 (*C*H$_2$CN); análise elementar: C, 44,69; H, 6,05; N, 9,73, Cl, 24,66%, $C_{16}H_{26}N_3O_4Cl_3$ (430,76) requer C, 44,61; H, 6,08; N, 9,80; Cl, 24,69%.

5.5.4.5 - Sal oxálico da N^4-(terc-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina (139a)

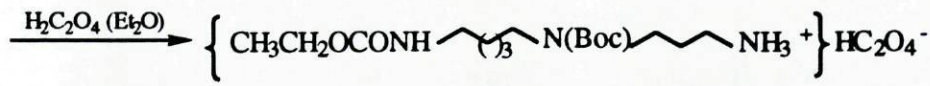


137a

430,76

138a

331.45



139a

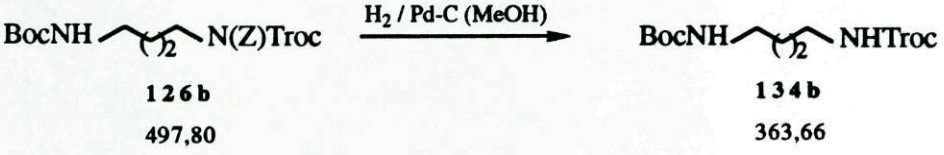
421,49

A uma solução de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (1,14 g, 2,65 mmol) numa solução de hidróxido de sódio 1M em etanol (24 mL), agitada vigorosamente e sob atmosfera de azoto, adicionou-se, Raney-níquel (1,0 g, pesado como uma mistura densa em água, pH 10) e fez-se borbulhar hidrogénio durante 3 horas, à temperatura ambiente. Filtrou-se sob vácuo o catalisador, lavou-se com etanol, e evaporou-se o solvente do filtrado. Ao resíduo oleoso obtido, adicionou-se água (pH da solução $\geq$ 13) (10 mL) e éter etílico (25 mL). Extraiu-se o produto da camada aquosa com éter etílico (4 x 20 mL), secaram-se os extractos etéreos (sulfato de sódio anidro) e, por evaporação do solvente, obteve-se um resíduo oleoso que foi submetido a cromatografia em coluna, usando diclorometano - metanol (1 : 1) como eluente. Após evaporação do solvente das fracções apropriadas, obtiveram-se 0,67 g (76%) do produto **138a** sob a forma de um óleo incolor, homogéneo por TLC (G). Como se verificou que este produto se decompunha rapidamente, isolou-se sob a forma do respectivo oxalato, tratando uma solução de N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9--etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina em éter etílico com uma solução de ácido oxálico anidro 0,1 M no mesmo solvente. Deste modo, formou-se o referido sal oxálico (**139a**) como um sólido branco de p.f. 76-77ºC; δ_H (DMSO) 7,06 (sl, 1H, COOH), 6,73 (sl, ca

1H, CONH), 3,96 (q, J=6,9 Hz, 2H, CH_2O), 3,17-3,06 [m, 4H, $CH_2N(Boc)CH_2$], 2,96-2,94 (m, 2H, $CH_3CH_2OCONHCH_2$), 2,76-2,71 (m, 2H, $CH_2NH_3^+$), 1,74 [m, 2H, $N(Boc)CH_2CH_2$], 1,39-1,20 [m, 13H, $C(CH_3)_3$ e $NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NBoc$], 1,16-1,12 (m, 5H, $CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$ e CH_2CH_3); δ_C 164,6 e 156,1 (CO), 78,5 [$C(CH_3)_3$], 59,3 (CH_2O), 46,4 e 44,4 [$CH_2N(Boc)CH_2$], 40,5 ($CH_3CH_2OCONHCH_2$), 38,5 ($CH_2NH_3^+$), 29,9, 28,4, 27,5 e 23,4 (CCH_2C), 27,9 [$C(CH_3)_3$], 14,6 (CH_3CH_2); análise elementar: C, 51,40; H, 8,50; N, 9,72%, $C_{18}H_{35}N_3O_8$ (421,49) requer C, 51,29; H, 8,37; N, 9,97%.

5.5.5 - Síntese da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^4--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (137b)

5.5.5.1 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (134b)

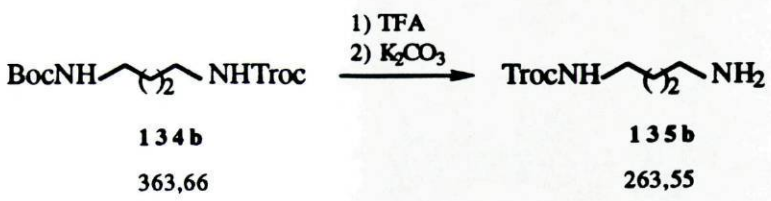


126b
497,80

134b
363,66

O composto **134b** foi obtido segundo o procedimento descrito para a preparação da N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-etiloxicarbonilpentanodiamina (5.5.4.1), como um sólido branco de p.f. 96-97°C, com um rendimento de 73%; δ_H 5,22 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,76-4,64 (s+sl, ca 3H, $TrocCH_2$ e NHBoc), 3,31-3,12 (m, 4H, $TrocNHCH_2$ e CH_2NHBoc), 1,53 (m, 2H, CCH_2C), 1,44 [s, 9H, $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,0 e 154,6 (CO), 95,6 (CCl_3), 79,2 [$C(CH_3)_3$], 74,4 (CH_2CCl_3), 40,9 ($CH_2NHTroc$), 40,0 (CH_2NHBoc), 28,4 [$C(CH_3)_3$], 27,3 e 27,0 (CCH_2C); análise elementar: C, 39,83; H, 5,89; N, 7,52; O, 17,71%, $C_{12}H_{21}N_2O_4Cl_3$ (363,66) requer C, 39,63; H, 5,82; N, 7,70; O, 17,60%.

5.5.5.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (135b)

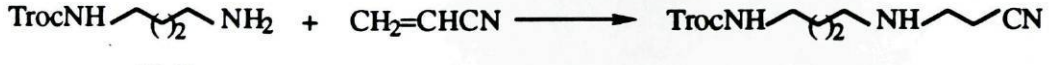


134b
363,66

135b
263,55

O produto **135b** foi preparado seguindo o procedimento descrito para o seu homólogo **135a** (5.5.4.2), obtendo-se um óleo amarelo cromatograficamente homogéneo [TLC (J)], com um rendimento de 90%, que foi imediatamente usado na síntese de N^1-(2--cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina.

5.5.5.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (136b)



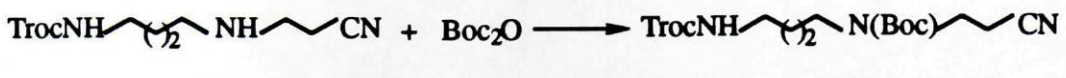
135b
263,55

53,06

136b
316,61

O composto **136b** foi preparado de acordo com o procedimento descrito para a síntese do produto **136a** (5.5.4.3), sendo obtido sob a forma de um óleo amarelo claro, com um rendimento de 87%; δ_H 5,70 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,72 (s, 2H, TrocCH_2), 3,24 (m, 2H, TrocNHCH_2), 2,94 (m, 2H, NHCH_2CH_2CN), 2,68 (m, 2H, CH_2NHCH_2), 2,55 (t, J=6,6 Hz, 2H, CH_2CN), 1,66-1,55 (m, 4H, CCH_2C); δ_C 154,6 (CO), 118,5 (CN), 95,9 (CCl_3), 74,4 (CH_2CCl_3), 48,6 (CH_2NHCH_2CH_2CN), 44,9 (NHCH_2CH_2CN), 41,0 (TrocNHCH_2), 27,5 e 27,2 (CCH_2C), 18,6 (CH_2CN); análise elementar: C, 37,90; H, 5,12; N, 13,37; Cl, 33,54%, $C_{10}H_{16}N_3O_2Cl_3$ (316,61) requer C, 37,94; H, 5,09; N, 13,27; Cl, 33,59%.

5.5.5.4 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^4-(2,2,2--tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina (137b)

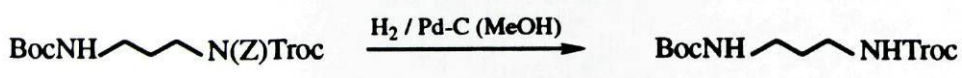


136b — 316,61 **137b** — 416,73

O composto **137b** foi preparado seguindo o procedimento descrito para o produto **137a** (5.5.4.4), obtendo-se um óleo amarelo claro, com um rendimento de 97%; δ_H 5,50 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,73 (s, 2H, $TrocCH_2$), 3,47 [t, J=6,6 Hz, 2H, $N(Boc)CH_2CH_2CN$], 3,27 [m, 4H, $CH_2N(Boc)CH_2CH_2CN$ e $TrocNHCH_2$], 2,62 (m, 2H, CH_2CN), 1,62-1,51 (m, 4H, CCH_2C), 1,47 [s, 9H, $C(CH_3)_3$]; δ_C 154,5 (CO), 118,2 (CN), 95,6 (CCl_3), 80,4 [$C(CH_3)_3$], 74,2 (CH_2CCl_3), 47,9 e 47,0 [$CH_2N(Boc)CH_2CH_2CN$], 40,5 ($TrocNHCH_2$), 28,2 [$C(CH_3)_3$], 26,8 e 25,9 (CCH_2C), 17,4 (CH_2CN); análise elementar: C, 43,18; H, 5,86; N, 10,16; Cl, 25,39%, $C_{15}H_{24}N_3O_4Cl_3$ (416,73) requer C, 43,23; H, 5,80; N, 10,08; Cl, 25.52%.

5.5.6 - Síntese do sal oxálico da N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^7--etiloxicarbonil-4-azaeptanodiamina (139c)

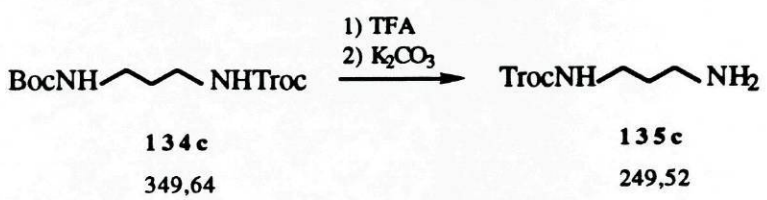
5.5.6.1 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina (134c)



126c — 483,78 **134c** — 349,64

O composto **134c** foi obtido segundo o procedimento descrito para a preparação de N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina (5.5.4.1), como um sólido branco de p.f. 93-94ºC, com um rendimento de 81%; δ_H 5,60 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,82-4,73 (s+sl, ca 3H, $TrocCH_2$ e NHBoc), 3,34-3,16 (m, 4H, $TrocNHCH_2$ e CH_2NHBoc), 1,67 (m, 2H, CCH_2C), 1,45 [s, 9H, $C(CH_3)_3$]; δ_C 156,5 e 154,9 (CO), 95,7 (CCl_3), 79,5 [$C(CH_3)_3$], 74,5 (CH_2CCl_3), 38,0 ($CH_2NHTroc$),37,1 (CH_2NHBoc), 30,4 (CCH_2C), 28,4 [$C(CH_3)_3$]; análise elementar: C, 37,78; H, 5,52; N, 7,93; O, 18,45%, $C_{11}H_{19}N_2O_4Cl_3$ (349,64) requer C, 37,79; H, 5,48; N, 8,01; O, 18.30%.

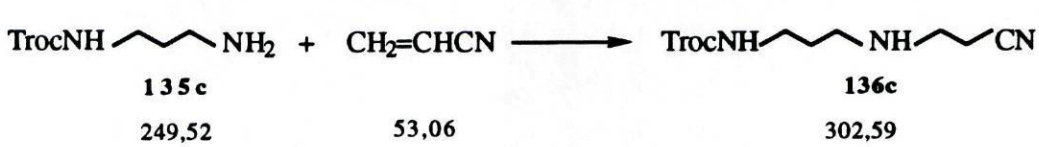
5.5.6.2 - N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina (135c)



134c 349,64 → **135c** 249,52

O produto **135c** foi preparado seguindo o procedimento descrito para o seu homólogo **135a** (5.5.4.2), obtendo-se um óleo amarelo cromatograficamente homogéneo [TLC (J)], com um rendimento de 92%, que foi imediatamente usado na síntese de N^1-(2--cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina.

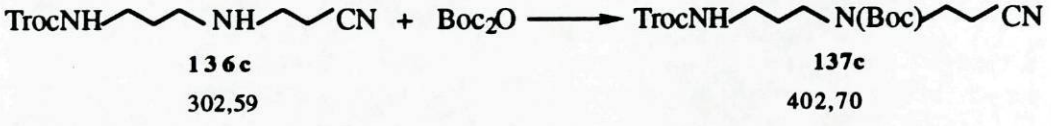
5.5.6.3 - N^1-(2-Cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina (136c)



135c 249,52 + 53,06 → **136c** 302,59

O composto **136c** foi preparado de acordo com o procedimento descrito para a síntese do produto **136a** (5.5.4.3), sendo obtido sob a forma de um óleo amarelo claro, com um rendimento de 78%; δ_H 6,04 (t, J=5,4 Hz, ca 1H, NHTroc), 4,72 (s, 2H, $TrocCH_2$), 3,32 (m, 2H, $TrocNHCH_2$), 2,92 (m, 2H, $NHCH_2CH_2CN$), 2,74 (m, 2H, $CH_2NHCH_2CH_2CN$), 2,54 (t, J=6,5 Hz, 2H, CH_2CN), 1,78-1,65 (m, 2H, CCH_2C), 1,55 (s, 1H, NH); δ_C 154,5 (CO), 118,5 (CN), 95,5 (CCl_3), 74,0 (CH_2CCl_3), 46,3 ($CH_2NHCH_2CH_2CN$), 44,6 ($NHCH_2CH_2CN$), 39,3 ($TrocNHCH_2$), 29,2 (CCH_2C), 18,4 (CH_2CN); análise elementar: C, 35,74; H, 4,56; N, 13,91; Cl, 34,97%, $C_9H_{14}N_3O_2Cl_3$ (302,59) requer C, 35,72; H, 4,66; N, 13,89; Cl, 35.15%.

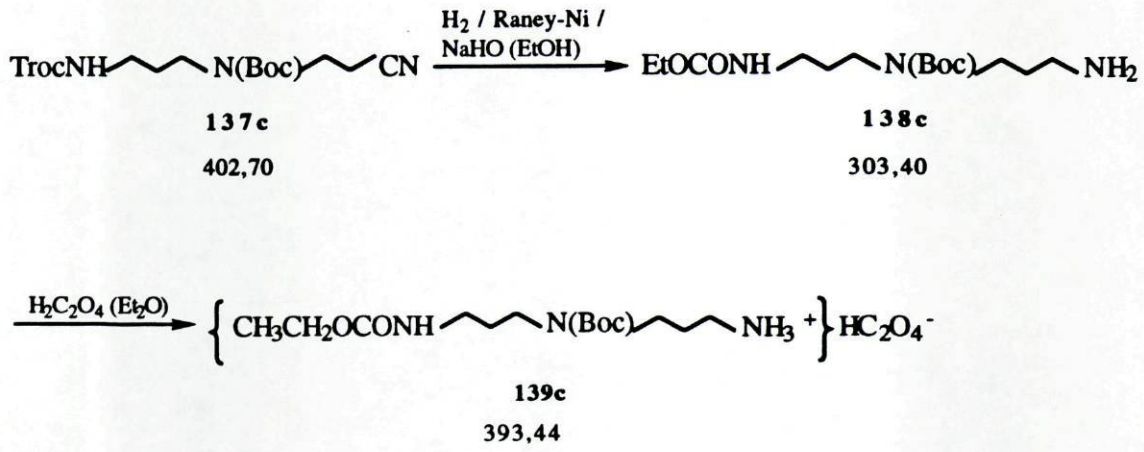
5.5.6.4 - N^1-(Terc-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina (137c)



136c 302,59 — **137c** 402,70

O derivado **137c** foi preparado seguindo o procedimento descrito para o composto **137a** (5.5.4.4), obtendo-se um sólido branco de p.f. 61-62°C, com um rendimento de 90%; δ_H 5,66 (sl, ca 1H, NHTroc), 4,73 (s, 2H, $TrocCH_2$), 3,50 [t, J=6,8 Hz, 2H, $N(Boc)CH_2CH_2CN$], 3,38 [t, J=6,6 Hz, 2H, $CH_2N(Boc)CH_2CH_2CN$], 3,24 (m, 2H, $TrocNHCH_2$), 2,63 (m, 2H, CH_2CN), 1,85-1,76 (m, 2H, CCH_2C), 1,44 [s, 9H, $C(CH_3)_3$]; δ_C 155,2 e 154,6 (CO), 117,8 (CN), 95,6 (CCl_3), 81,1 [$C(CH_3)_3$], 74,4 (CH_2CCl_3), 44,4 (CH_2NBoc), 43,6 [$N(Boc)CH_2CH_2CN$], 38,0 ($TrocNHCH_2$), 29,6 (CCH_2C), 28,3 [$C(CH_3)_3$], 17,4 (CH_2CN); análise elementar: C, 41,76; H, 5,48; N, 10,41; Cl, 26,44%, $C_{14}H_{22}N_3O_4Cl_3$ (402,70) requer C, 41,76; H, 5,51; N, 10,43; Cl, 26,41%.

5.5.6.5 - Sal oxálico da N^4-(terc-butiloxicarbonil)-N^7-etiloxicarbonil-4-azaeptanodiamina (139c)



O composto **139c** foi obtido segundo o procedimento descrito na preparação da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina (5.5.4.5), com um rendimento de 80%, como um sólido branco de p.f. 72-73°C; δ_H (DMSO) 7,07 (sl, 1H, COOH), 6,66 (sl, ca 1H, CONH), 3,95 (q, J=7,0 Hz, 2H, CH_2O), 3,17-3,06 [m, 4H, $CH_2N(Boc)CH_2$], 2,98-2,92 (m, 2H, $CH_3CH_2OCONHCH_2$), 2,74 (t, J=7,6 Hz, 2H, $CH_2NH_3^+$), 1,77-1,72 [m, 2H, $N(Boc)CH_2CH_2$], 1,39-1,35 [m, 11H, $C(CH_3)_3$ e $CH_2CH_2NH_3^+$], 1,14 (t, J=7,0 Hz, 3H, CH_2CH_3); δ_C 164,6 e 156,2 (CO), 78,5 [$C(CH_3)_3$], 59,3 (CH_2O), 46,4 e 43,4 [$CH_2N(Boc)CH_2$], 40,2 ($CH_3CH_2OCONHCH_2$), 36,6 ($CH_2NH_3^+$), 29,0 e 23,4 (CCH_2C), 27,9 [$C(CH_3)_3$], 14,6 (CH_3CH_2); análise elementar: C, 48,90; H, 8,00; N, 10,70%, $C_{16}H_{31}N_3O_8$ (393,44) requer C, 48,85; H, 7,94; N, 10,68%.

DERIVADOS PREPARADOS DE MONO-, DI- E TRIAMINAS

	Pág.	p. f / °C	Referência
N-Benziloxicarbonil-3-bromopropanamina	167	óleo	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^8-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina	181	63-64	102
N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)butanodiamina	179	94-95	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina	173	óleo	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)propanodiamina	183	60-61	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina	178	óleo	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^5-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina	172	óleo	novo
N^1-Benziloxicarbonil-N^3-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1--(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina	182	óleo	novo
N^1,N^3-Bis(benziloxicarbonil)-N^1-(*terc*-butiloxicarbonil)--1,3-propanodiamina	169	óleo	novo
N^1,N^8-Bis(2,3-dibenziloxibenzoil)-N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	161	39-40	novo
N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4,N^9-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina	166	112-113	novo
N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)espermidina	160	83-84	102
N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	158	97-98	novo
N^1,N^{12}-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^9,N^{12}-tetraquis-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina	165	103-104	novo
N^1,N^8-Bis(*terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4,N^8-tris(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	157	92	novo
Brometo de N^1,N^8-bis(2,3-dibenziloxibenzoil)espermidínio	162	190-191	novo
4-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]butanol	178	óleo	146
5-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]pentanol	171	óleo	146
3-[N-(*Terc*-butiloxicarbonil)amino]propanol	182	óleo	146
N^7-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina	184	óleo	novo

	Pág.	p. f / °C	Referência
N^9-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina	175	óleo	novo
N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-4-azaoctanodiamina	181	óleo	novo
N-(*Terc*-butiloxicarbonil)butanodiamina	179	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(2-cianoetil)butanodiamina	180	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2-cianoetil)pentanodiamina	174	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^3-(2-cianoetil)propanodiamina	184	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina	193	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina	189	72-73	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(2-cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina	195	61-62	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina	148	109-110	102
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etil-N^2-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina	149	79-80	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^2-etiletanodiamina	150	54-55	102
N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1,N^8-bis(*p*--nitrobenziloxicarbonil)espermidina	153	óleo	novo
N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1,N^4-metileno-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	154	óleo	novo
N^8-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^1-(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	155	73-74	novo
N-(*Terc*-butiloxicarbonil)pentanodiamina	174	óleo	novo
N-(*Terc*-butiloxicarbonil)propanodiamina	183	óleo	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina	191	96-97	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina	186	82-83	novo
N^1-(*Terc*-butiloxicarbonil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina	193	93-94	novo
N^1-(2-Cianoetil)-N^4-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina	192	óleo	novo
N^1-(2-Cianoetil)-N^5-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina	188	óleo	novo

	Pág.	p. f / °C	Referência
N^1-(2-Cianoetil)-N^3-(2,2,2-tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina	194	óleo	novo
N^1-Etil-N^1,N^2-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)etanodiamina	147	104,5-105	102
N^1,N^4-Metileno-N^1,N^8-bis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	152	óleo	novo
N^4-(*p*-Nitrobenziloxicarbonil)espermidina	159	óleo	novo
Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^9-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azanonanodiamina	176	127-128	novo
Sal oxálico da N^1-benziloxicarbonil-N^7-(*terc*-butiloxicarbonil)-4-azaeptanodiamina	185	126-127	novo
Sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^7-etiloxicarbonil-4-azaeptanodiamina	196	72-73	novo
Sal oxálico da N^4-(*terc*-butiloxicarbonil)-N^9-etiloxicarbonil-4-azanonanodiamina	190	76-77	novo
N^1,N^4,N^9,N^{12}-Tetraquis(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermina	164	112-113	novo
N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)butanodiamina	192	óleo	novo
N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)pentanodiamina	187	óleo	novo
N-(2,2,2-Tricloroetiloxicarbonil)propanodiamina	194	óleo	novo
N^1,N^4,N^8-Tris(*p*-nitrobenziloxicarbonil)espermidina	156	103-104	novo

ALGUNS REAGENTES PREPARADOS

	Pág.	p. f / °C	Referência
Ácido 2,3-bis(benziloxi)benzóico	161	124-125	119
Carbonato de 1-benzotriazolilo e *p*-nitrobenzilo	151	135-136	156
Cianeto de benziloxicarbonilo	176	óleo	153
Iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo	168	óleo	112
Iminodicarboxilato de benzilo e 2,2,2-tricloroetilo	168	90-91	129
Isocianato de benziloxicarbonilo	168	líquido	129
N^1,N^4-Metilenoespermidina	151	sólido ceroso	96,97
Sal sódico do iminodicarboxilato de benzilo e *terc*-butilo	169	230 (dec)	112

BIBLIOGRAFIA

1 - B. G. Fenerstein, N. Pattabiraman, L. J. Marton, *Nucleic Acids Research*, 1990, **18**, 1271.

2 - R. D. Snyder, M. L. Edwards, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991, **176**, 1383.

3 - B. Carboni, A. Benalil, M. Vaultier, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 3736.

4 - J. S. Bradshaw, K. E. Krakowiak, R. M. Izatt, *Tetrahedron*, 1992, **48**, 4475.

5 - J. R. Lakanen, J. K. Coward, A. E. Pegg, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 724.

6 - A. E. Pegg, *Cancer Res.*, 1988, **48**, 759.

7 - A. E. Pegg, *Biochem. J.*, 1986, **234**, 249.

8 - O. Heby, *J. Am. Physiol. Soc.*,1986, **1**, 12.

9 - D. L. Morgan, *Essays Biochem.*, 1987, **23**, 82.

10 - C. W. Porter, J. R. Sufrin, *Anticancer Research*,1986, **6**, 525.

11 - P. P. McCann, A. E. Pegg, A. Sjoerdsma, *Inhibition of Polyamine Metabolism: Biological Significance and Basis for New Therapies*, Academic Press, New York, 1987, p. 80.

12 - I. S. Haworth, A. Rodger, W. G. Richard, *J. of Biomol. Struct. Dyn.*, 1992, **10**, 195.

13 - P. M. Vertino, R. J. Bergeron, P. F. Cavanaugh, Jr., C. W. Porter, *Biopolymers*, 1987, **26**, 691.

14 - K. J. Hampel, P. Crosson, J. S. Lee, *Biochemistry*, 1991, **30**, 4455.

15 - M. Egli, L. D. Williams, Q. Gao, A. Rich, *Biochemistry*, 1991, **30**, 11388.

16 - R. J. Bergeron, J. S. McManis, *Tetrahedron*, 1990, **46**, 5881.

17 - R. J. Bergeron, P. F. Cavanaugh, Jr, S. J. Kline, R. G. Hughes, Jr, G. T. Elliot, C. W. Porter, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984, **121**, 848.

18 - S.-I. Murahashi, T. Naota, N. Nakajima, *Chem. Lett.*, 1987, 879.

19 - R. J. Bergeron, O. Phanstiel IV, *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 7140.

20 - S. K. Sharma, M. J. Miller, S. M. Payne, *J. Med. Chem.*, 1989, **32**, 357.

21 - P. F. Cavanaugh, Jr, C. W. Porter, D. Tukalo, O. S. Frankfurt, Z. P. Pavelic, R. J. Bergeron, *Cancer Res.*, 1985, **45**, 4754.

22 - A. Ghost, M. J. Miller, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 7652.

23 - N. A. Saccomano, R. A. Volkmann, H. Jackson, T. N. Parks, *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Academic Press, 1989, p. 287.

24 - K. Nakanishi, R. Goodnow, K. Konno, M. Niwa, R. Bukownik, T. A. Kallimopoulos, P. Usherwood, A. T. Eldefrawi, M. E. Eldefrawi, *Pure Appl. Chem.*, 1990, **62**, 1223.

25 - S.-K. Choi, K. Nakanishi, P. N. R. Usherwood, *Tetrahedron*, 1993, **49**, 5777.

26 - M. Yoshioka, N. Narai, N. Kawai, M. Numata, T. Nakajima, *Biogenic Amines*, 1990, **7**, 375.

27 - B. Hue, T. Piek, *Comp. Biochem. Physiol.*, 1990, **95C**, 229.

28 - V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, N. A. Saccomano, R. A. Volkmann, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 6223.

29 - V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, K. J. Rosnack, N. A. Saccomano, J. G. Stroh, R. A. Volkmann, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 6696.

30 - V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, K. J. Rosnack, J. T. Forman, N. A. Saccomano, J. G. Stroh, R. A. Volkmann, *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 1814.

31 - P. A. Stark, B. D. Thrall, G. G. Meadows, M. M. Abdel-Monem, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 4264.

32 - R. J. Bergeron, A. H. Neins, J. S. McManis, T. R. Hawthorne, J. R. T. Vinson, R. Bortell, M. J. Ingeno, *J. Med. Chem.*, 1988, **31**, 1183.

33 - G. M. Cohen, P. M. Cullis, J. A. Hartley, A. Mather, M. C. R. Symons, R. T. Wheelhouse, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 298.

34 - B. F. Tawil, A. Guggisberg, M. Hesse, *Tetrahedron*, 1992, **48**, 3775.

35 - (a) Y. Kashman, S. Hirsh, O. J. McConnell, I. Ohtani, T. Kusumi, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 8925; (b) I. Ohtani T. Kusumi, H. Kakisawa, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 2525.

36 - G. A. Ellestad, D. B. Cosulich, R. W. Broschard, J. H. Martin, M. P. Kunstmann, G. O. Morton, J. E. Lancaster, W. Fulmor, F. M. Lovell, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 2515.

37 - K. Umezawa, T. Takeucki, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 1987, **41**, 227.

38 - R. J. Bergeron, J. S. McManis, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 1700.

39 - S. M. Kupchan, A. P. Davies, S. J. Barboutis, H. K. Schnoes, A. L. Burlingame, *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, **89**, 5718.

40 - G. T. Carter, K. L. Rinehart, Jr, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 4302.

41 - S. Funayama, K. Yoshida, C. Konno, H. Hikino, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 1355.

42 - W. J. Fiedler, M. Hesse, *Helv. Chim. Acta*, 1993, **76**, 1511.

43 - K. E. Krakowiak, P. Huszthy, J. S. Bradshaw, R. M. Izatt, *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 21.

44 - (a) A. Guggisberg, P. Van den Broek, M. Hesse, H. Schmid, F. Schneider, K. Bernauer, *Helv. Chim. Acta*, 1976, **59**, 3013; (b)A. Guggisberg, R. W. Gray, M. Hesse, *Helv. Chim. Acta*, 1977, **60**, 112.

45 - E. Walchli-Schaer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta*, 1978, **61**, 928.

46 - (a) B. Dietrich, J.-M. Lehn, J. Guilhem, C. Pascard, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 4125; (b) M. Iwata, H. Kuzuhara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1986, **59**, 1031; (c) U. Kramer, H. Schmid, A. Guggisberg, M. Hesse, *Helv. Chim. Acta*, 1979, **62**, 811.

47 - M. Iwata, H. Kuzunhara, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 1989, **62**, 198.

48 - G. von Kiedrowski, F. Z. Dorwald, *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 787.

49 - (a) K. Samejima, Y. Takeda, M. Kawase, M. Okada, Y. Kyogoku, *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, **32**, 3428; (b) M. Niitsu, K. Samejima, *Chem. Pharm. Bull.*, 1986, **34**, 1032.

50 - M. Niitsu, H. Sano, K. Samejima, *Chem. Pharm. Bull.*, 1992, **40**, 2958.

51 - R. J. Fessenden, J. S. Fessenden, *Organic Chemistry*, Willard Grant Press, Boston, 2ª ed., 1982, p. 714.

52 - J. J. Zuckerman, A. D. Norman, *Inorganic Reactions and Methods*, VCH Publishers, Inc., Weinheim, 1993, vol. 16, p. 202.

53 - M. Israel, J. S. Rosenfield, E. J. Modest, *J. Med. Chem.*, 1964, **7**, 710.

54 - R. J. Bergeron, K. A. McGovern, M. A. Channing, P. S. Burton, *J. Org. Chem.*, 1980, **45**, 1589.

55 - R. J. Bergeron, P. S. Burton, K. A. McGovern, S. J. Kline, *Synthesis*, 1981, 732.

56 - (a) R. J. Bergeron, P. S. Burton, S. J. Kline, K. A. McGovern, *J. Org. Chem.*, 1981, **46**, 3712; (b) R. J. Bergeron, S. J. Kline, N. J. Stolowich, K. A. McGovern, P. S. Burton, *J. Org. Chem.*, 1981, **46**, 4524; (c) R. J. Bergeron, N. J. Stolowich, S. J. Kline, *J. Org. Chem.*, 1983, **48**, 3432.

57 - E. Buhleier, W. Wehner, F. Vogtle, *Synthesis*, 1978, 155.

58 - R. J. Bergeron, N. J. Stolowich, *Synthesis*, 1982, 689.

59 - R. J. Bergeron, J. R. Garlich, N. J. Stolowich, *J. Org. Chem.*, 1984, **49**, 2997.

60 - R. J. Bergeron, J. S. McManis, *J. Org. Chem.*, 1988, **53**, 3108.

61 - R. J. Bergeron, J. R. Garlich, *Synthesis*, 1984, 782.

62 - (a) M. L. Edwards, N. J. Prakash, D. M. Stemerick, S. P. Sunkara, A. J. Bitonti, G. F. Davis, J. A. Dumont, P. Bey, *J. Med. Chem.*, 1990, **33**, 1369; (b) M. L. Edwards, D. M. Stemerick, A. J. Bitonti, J. A. Dumont, P. P. McCann, P. Bey, A. Sjoerdsma, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**,

569; (c) M. L. Edwards, R. D. Snyder, D. M. Stemerick, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 2414.

63 - R. Sundaramoorthi, J.-L. Fourrey, B. C. Das, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1984, 2759.

64 - R. Sundaramoorthi, C. Marazano, J.-L. Fourrey, B. C. Das, *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 3191.

65 - J. E. Nordlander, M. J. Payne, M. A. Balk, J. L. Gress, F. D. Harris, J. S. Lane, R. F. Lewe, S. E. Marshall, D. Nagy, D. J. Rachlin, *J. Org. Chem.*, 1984, **49**, 133.

66 - T. R. Wagler, C. J. Burrows, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 5091.

67 - J. R. Malpass, *Comprehensive Organic Chemistry: The Synthesis and Reactions of Organic Compounds*, ed. I. O. Sutherland, Pergamon Press, Oxford, 1979, vol. 2, p. 10.

68 - I. Levchine, P. Rajan, M. Borloo, W. Bollaert, A. Haemers, *Synthesis*, 1994, 37.

69 - J. Boukouvalas, B. T. Golding, R. W. McCabe, P. K. Slaich, *Angew. Chem. Suppl.*, 1983, 860.

70 - J. Boukouvalas, B. T. Golding, R. W. McCabe, P. K. Slaich, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1983, **22**, 618.

71 - S. C. Yorke, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, J. C. Cook, K. L. Rinehart, Jr, *Aust. J. Chem.*, 1986, **39**, 447.

72 - (a) R. F. Borch, A. I. Hassid, *J. Org. Chem.*, 1972, **37**, 1673; (b) Y. Ohfune, N. Kurokawa, N. Higuchi, M. Saito, M. Hashimoto, T. Tanaka, *Chem. Lett.*, 1984, 441.

73 - (a) K. A. Schellenberg, *J. Org. Chem.*, 1963, **28**, 3259; (b) D. B. Olsen, T. W. Hepburn, M. Moos, P. S. Mariano, D. Dunaway-Mariano, *Biochemistry*, 1988, **27**, 2229.

74 - S. Ege, *Organic Chemistry*, Heath and Company, Toronto, 2ª ed., 1989, p. 898.

75 - F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry*, Plenum Press, New York, 2ª ed., 1983, p. 173.

76 - H. C. Brown, M. M. Midland, A. B. Levy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **95**, 2394.

77 - A. Benalil, B. Carboni, M. Vaultier, *Tetrahedron*, 1991, **47**, 8177.

78 - B. Carboni, M. Vaultier, R. Carrié, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 1279.

79 - E. F. V. Scriven, K. Turnblum,*Chem. Rev.*, 1988, **88**, 297.

80 - T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, J. Wiley & Sons, New York, 2ª ed., 1991, p. 315.

81 - S. M. Beaumont, B. O. Handford, J. H. Jones, G. T. Young, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1965, 53.

82 - B. O. Handford, J. H. Jones, G. T. Young, T. F. N. Johnson, *J. Chem. Soc.*, 1965, 6814.

83 - H.-P. Husson, C. Poupat, B. Rodriguez, P. Potier, *Tetrahedron*, 1973, **29**, 1405.

84 - H.-P. Husson, C. Poupat, P. Potier, *C. R. Acad. Sc., Paris (C)*,1973, **276**, 1039.

85 - A. Husson, R. Besselievre, H.-P. Husson, *Tetrahedron Lett.*, 1983, **24**, 1031.

86 - Y. Nagao, E. Fujita, *Heterocycles*, 1982, **17**, 537.

87 - Y. Nagao, K. Seno, K. Kawabata, T. Miyasaka, S. Takao, E. Fujita, *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, **32**, 2687.

88 - Y. Nagao, T. Miyasaka, Y. Hagiwara, E. Fujita, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1984, 183.

89 - A. V. Joshua, J. R. Scott, *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 5725.

90 - G. Sosnovsky, J. Lukszo, *Z. Naturforsch., B*, 1986 , **41**, 122.

91 - S.-I. Murahashi, T. Naota, E. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 7846.

92 - T. Kunieda, T. Higuchi, Y. Abe, M. Hirobe, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 1159.

93 - T. Kunieda, T. Higuchi, Y. Abe, M. Hirobe, *Tetrahedron*, 1983, **39**, 3253.

94 - T. Okawara, K. Uchiyama, Y. Okamoto, T. Yamasaki, M. Furukawa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1990, 1385.

95 - B. Ganem, *Acc. Chem. Res.*, 1982, **15**, 290.

96 - K. Chantrapromma, J. S. McManis, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 2475.

97 - B. Ganem, K. Chantrapromma, *Methods Enzymol.*, 1983, **94**, 416.

98 - J.-P. Dutasta, G. Gellon, C. Leuchter, J.-L. Pierre, *J. Org. Chem.*, 1988, **53**, 1817.

99 - K. Chantrapromma, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.*, 1981, **22**, 23.

100 - A. Thiengchanya, C. Eung, N. Tanikkul, K. Chantrapromma, *Ciba Foundation Symposium 154*, Jonh Wiley & Sons, New York, 1990, p. 99.

101 - C. M. Tice, B. Ganem, *J. Org. Chem.*, 1983, **48**, 2106.

102 - M. L. S. Almeida, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1988, 1905.

103 - H. Bernard, J.-J. Yaouanc, J.-C. Clément , H. Abbayes, H. Handel, *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 639.

104 - J.-J. Yaouanc, N. Le Bris, G. Le Gall, J.-C. Clément, H. Handel, H. Abbayes, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 206.

105 - Reilly Tar & Chemical Corporation, *Reilly Report*, DMAP Update, Indianopolis, 1982.

106 - E. F. V. Scriven, *Chem. Soc. Rev.*, 1983, **12**, 129.

107 - G. Hofle, W. Steglich, H. Vorbruggen, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1978, **17**, 569.

108 - N. Seiler, *J. Physiol. Pharmacol.*, 1987, **65**, 2024.

109 - M. J. S. M. P. Araújo, U. Ragnarsson, M. L. S. Almeida, M. J. S. A. Amaral Trigo, *J. Chem. Res. (M)*, 1992, **964**.

110 - L. Grehn, U. Ragnarsson, *Synthesis*, 1987, 275.

111 - L. Grehn, U. Ragnarsson, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1988, **53**, 2778.

112 - M. S. Gibson, R. W. Bradshaw, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1968, **7**, 919.

113 - O. Mitsunobu, *Synthesis*, 1981, 1.

114 - L. Grehn, K. Gunnarsson, U. Ragnarsson, *Acta Chem. Scand.*, Ser. B, 1987, **41**, 18.

115 - M. K. Anwer, A. F. Spatola, *Synthesis*, 1980, 929.

116 - R. F. Evans, *Aust. J. Chem.*, 1967, **20**, 1643.

117 - M. L. S. Almeida, *Selective Protection of Polyamines: Synthesis of Spermidine Derivatives*, Dissertação para Doutoramento em Química Orgânica, Faculdade de Ciências do Porto, 1989.

118 - S. Nagarajan, B. Ganem, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 5735.

119 - F. Kanai, K. Isshiki, Y. Umezawa, H. Morishima, H. Naganawa, T. Takita, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. of Antibiotics*, 1985, **28**, 31.

120 - T. Miyasaka, Y. Nagao, E. Fujita, H. Sakurai, K. Ishizu, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1987, 1543.

121 - N. L. Allinger, M. P. Cava, D. C. Jongh, C. R. Johnson, N. A. Lebel, C. L. Stevens, *Organic Chemistry*, Worth Publishers Inc., New York, 2ª ed., 1976, p. 556.

122 - S. Kukolja, S.R. Lammert, *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 5582.

123 - T. Kamiya, M. Hashimoto, O. Nakaguchi, T. Oku, *Tetrahedron*, 1979, **35**, 323.

124 - J. O. Osby, M. G. Martin, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 2093.

125 - L. A. Carpino, *J. Org. Chem.*, 1964, **29**, 2820.

126 - C. T. Clarke, J. D. Elliott, J. H. Jones, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1978, 1088.

127 - L. Grehn, U. Ragnarsson, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1984, **23**, 296.

128 - L. Grehn, U. Ragnarsson, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1985, **24**, 510.

129 - L. Grehn, M. L. S. Almeida, U. Ragnarsson, *Synthesis*, 1988, 992.

130 - Y. Takeuchi, M. Nabetani, K. Takagi, T. Hagi, T. Koizumi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1991, 49.

131 - J. D. Elliott, J. H. Jones, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1977, 758.

132 - I. Shibata, K. Nakamura, A. Baba, H. Matsuda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1989, **62**, 853.

133 - I. Koppel, J. Koppel, F. Degerbeck, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 7172.

134 - St. Guttmann, R. A. Boissonnas, *Helv. Chim. Acta*, 1958, **41**, 1852.

135 - J. R. Henry, L. R. Marcin, M. C. McIntosh, P. M. Scola, G. D. Harris, Jr., S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 5709.

136 - M. L. Edwards, D. M. Stemerick, J. R. McCarthy, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 3417.

137 - F. Degerbeck, B. Fransson, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1992, 245.

138 - D. Camp, I. D. Jenkins, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 3045.

139 - D. L. Hughes, R. A. Reamer, J. J. Bergan, E. J. J. Grabowski, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 6487.

140 - J. A. Dodge, J. I. Trujillo, M. Presnell, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 234.

141 - M. Varasi, K. A. M. Walker, M. L. Maddox, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 4235.

142 - D. Crich, H. Dyker, R. J. Harris, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 257.

143 - W. Adam, N. Narita, Y. Nishizawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 1843.

144 - M. L. Edwards, D. M. Stemerick, J. R. McCarthy, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 5579.

145 - G. Just, K. Grozinger, *Synthesis*, 1976, 457.

146 - P. G. Mattingly, *Synthesis*, 1990, 366.

147 - J. B. Hansen, M. C. Nielson, U. Ehrbar, O. Buchardt, *Synthesis*, 1982, 404.

148 - H. Tabor, C. W. Tabor, L. De Meis, *Methods Enzymol.*, 1971, **17B**, 829.

149 - A. R. Jacobson, A. N. Makris, L. M. Sayre, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 2592.

150 - G. Kunesch, *Tetrahedron Lett.*, 1983, **24**, 5211.

151 - R. Houssin, J.-L. Bernier, J.-P. Hénichart, *Synthesis*, 1988, 259.

152 - J. S. Pizey, *Synthetic Reagents*, John Wiley & Sons, New York, 1974, vol. 2, p. 175.

153 - M. E. Childs, W. P. Weber, *J. Org. Chem.*, 1976, **41**, 3486.

154 - G. Hancock, I. J. Galpin, B. A. Morgan, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 249.

155 - C. M. Svahn, J. Gyllander, *J. Cromatogr.*, 1979, **170**, 292.

156 - S. Kim, H. Chang, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 1986, **7**, 70.