

**Raquel Alexandra Pinto Castanheiro**

Licenciada em Química (UP)

**APLICAÇÃO DE CETONAS CÍCLICAS  
NA PREPARAÇÃO DE  
4-IMIDAZOLIDINONAS DA PRIMAQUINA**

**Potenciais pró-fármacos para a quimioterapia da malária**

*Dissertação para mestrado em Química pela  
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto*



QD262  
CASr A  
2003

**Porto 2003**

Raquel Alexandra Pinto Castanheiro

# APLICAÇÃO DE CETONAS CÍCLICAS NA PREPARAÇÃO DE 4-IMIDAZOLIDINONAS DA PRIMAQUINA

Potenciais pró-fármacos para a quimioterapia da malária

A. Presidente do júri

M. Agostinho Matos

30. 4. 2003

Porto 2003

|                       |
|-----------------------|
| UNIVERSIDADE DO PORTO |
| BIBLIOTECA            |
| Sala                  |
| Coloc. <u>TMUP-48</u> |
| N.º <u>49168</u>      |
| FACULDADE DE CIÊNCIAS |

## AGRADECIMENTOS

*“Para chegar ao fim das coisas, o primeiro passo é julgá-las possíveis.”*

Luis XIV

À Doutora Paula Alexandra de Carvalho Gomes, orientadora desta dissertação, os constantes apoio, incentivo, ensinamentos e disponibilidade prestados ao longo da realização do trabalho.

À Doutora Maria João Sinde M. P. Araújo, co-orientadora desta dissertação, toda a ajuda, encorajamento e ensinamentos durante a realização do trabalho.

Ao Professor Doutor Rui Ferreira Alves Moreira, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, a possibilidade de colaboração neste projecto de investigação de estudo da síntese de potenciais pró-fármacos na terapia da malária.

À Dra. Maria Adelina Macedo, ao Doutor Jim Iley e à Doutora Eliandre de Oliveira, pela realização dos espectros de RMN e de massa, respectivamente.

À Dra. Zélia Azevedo, pela indispensável ajuda na interpretação dos espectros de RMN.

Aos meus colegas do laboratório de investigação em síntese orgânica, pela cooperação e companheirismo que tornaram o ambiente de trabalho mais agradável e pelos auxílio e incentivo que me transmitiram.

Aos meus Pais e Amigos, todo o apoio, estímulo e compreensão inesgotáveis.

## ÍNDICE GERAL

|  |    |
|--|----|
| Sumário  | V  |
| Abstract   | VI |
| <b>CAPÍTULO I – PARTE GERAL</b>  |    |
| <b>1. Considerações sobre a malária</b>  |    |
| 1.1. A malária no mundo actual   | 1  |
| 1.2. Aspectos biológicos da malária humana   | 3  |
| 1.3. Fármacos antimaláricos  | 6  |
| <b>2. Pró-Fármacos da primaquina na quimioterapia da malária</b>   |    |
| 2.1. Efeitos da primaquina no organismo  | 9  |
| 2.2. Pró-fármacos da primaquina  | 11 |
| <b>3. Importância biológica das 4-imidazolidinonas</b>   | 13 |
| <b>CAPÍTULO II – ESTUDO DA SÍNTESE DE 4-IMIDAZOLIDINONAS DA PRIMAQUINA DERIVADAS DE CETONAS CÍCLICAS</b> |    |
| <b>1. Âmbito do projecto</b>   | 18 |
| <b>2. Objectivo</b>  | 18 |
| <b>3. Análise Retrossintética</b>  | 19 |
| <b>4. Métodos de Síntese</b>   | 20 |
| 4.1. Condensação da primaquina com $\alpha$ -aminoácidos $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos                    | 20 |
| 4.2. Remoção do grupo <i>terc</i> -butiloxicarbonilo por acidólise com ácido trifluoroacético            | 22 |
| 4.3. Síntese das 4-imidazolidinonas por ciclização dos derivados da primaquina com cetonas cíclicas      | 23 |
| <b>5. Resultados experimentais e Discussão</b>   | 24 |
| 5.1. Condensação da primaquina com $\alpha$ -aminoácidos $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos                    | 24 |
| 5.2. Remoção do grupo Boc por acidólise com TFA  | 29 |
| 5.3. Síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina derivadas de cetonas cíclicas                           | 32 |
| 5.4. Preparação de sais hidrossolúveis das 4-imidazolidinonas sintetizadas                               | 39 |
| <b>6. Conclusão e Perspectivas</b>   | 41 |

|  |    |
|--|----|
| <b>7. Parte Experimental</b>   |    |
| 7.1. Notas gerais  | 44 |
| 7.2. Condensação da primaquina com aminoácidos N <sup>α</sup> -Boc-protégidos  |    |
| 7.2.1. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N- ( <i>terc</i> -butiloxicarbonilglicil) primaquina                               | 46 |
| 7.2.2. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N- ( <i>terc</i> -butiloxicarbonilalanil) primaquina                               | 48 |
| 7.2.3. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N- ( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil) primaquina                                | 50 |
| 7.2.3.1. Usando DCCI como reagente de condensação  | 50 |
| 7.2.3.1. Usando DIPCI como reagente de condensação   | 51 |
| 7.2.4. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilfenilalanil) primaquina                           | 53 |
| 7.2.4.1. Usando DCCI como reagente de condensação  | 53 |
| 7.2.4.2. Usando DIPCI como reagente de condensação   | 54 |
| 7.3. Remoção do grupo Boc por acidólise com ácido trifluoroacético   |    |
| 7.3.1. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N-glicilprimaquina   | 56 |
| 7.3.2. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N-alanilprimaquina   | 58 |
| 7.3.3. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N-valilprimaquina  | 60 |
| 7.3.4. Síntese da 4 <sup>?</sup> -N-fenilalanilprimaquina  | 62 |
| 7.4. Síntese de 4-imidazolidinonas   |    |
| 7.4.1. Por ciclização com cicloexanona   |    |
| 7.4.1.1. Síntese da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona               | 64 |
| 7.4.1.2. Síntese da 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona       | 66 |
| 7.4.1.3. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona   | 68 |
| 7.4.1.4. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona      | 70 |
| 7.4.2. Por ciclização com ciclopentanona   |    |
| 7.4.2.1. Síntese da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona             | 72 |
| 7.4.2.2. Síntese da 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona     | 74 |
| 7.4.2.3. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona | 76 |
| 7.4.2.4. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona    | 78 |
| 7.4.3. Por ciclização com cicloheptanona   |    |

---

|  |           |
|--|-----------|
| 7.4.3.1. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil] -2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona | 80        |
| 7.4.3.2. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona      | 82        |
| 7.5. Preparação dos citratos das 4-imidazolidinonas  | 84        |
| <b>Referências Bibliográficas</b>  | <b>86</b> |
| <b>Apêndices</b>   |           |
| Compostos sintetizados   | 90        |
| Glossário  | 91        |
| Índice de figuras  | 92        |
| Índice de tabelas  | 94        |

## RESUMO

O principal objectivo do trabalho experimental descrito nesta dissertação consistiu na síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina com potencial aplicação como pró-fármacos antimaláricos.

A síntese das 4-imidazolidinonas foi conseguida recorrendo a métodos clássicos de síntese peptídica e envolveu vários passos. O primeiro passo levou à formação de N-acilprimaquinas usando  $\alpha$ -aminoácidos (Gly, Ala, Val, Phe) N<sup>α</sup>-protegidos com o grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), como agentes acilantes. Neste passo, usou-se a N,N'-dicioxilcarbodiimida ou a N,N'-diisopropilcarbodiimida como reagentes de condensação e o 1-hidroxibenzotriazole como nucleófilo auxiliar. O passo seguinte consistiu na remoção do grupo Boc por acidólise com ácido trifluoroacético. Finalmente, a ciclização dos derivados de primaquina obtidos com cetonas cíclicas (ciclohexanona, ciclopentanona e cicloheptanona), na presença de trietilamina, originou as 4-imidazolidinonas pretendidas. A estrutura molecular de todos os compostos isolados foi confirmada usando técnicas de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e espectrometria de massa de alta resolução.

Em suma, prepararam-se derivados N<sup>α</sup>-Boc-aa-PQ com rendimentos globais da ordem dos 90%. A remoção do grupo N<sup>α</sup>-Boc-protector destes derivados ocorreu com rendimentos da ordem dos 80-90%, ao passo que as ciclizações destes últimos com cetonas cíclicas conduziram a rendimentos superiores a 50%.

A aplicabilidade terapêutica dos compostos sintetizados está a ser testada através de estudos farmacocinéticos e biológicos, realizados no Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e no Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa, respectivamente.

O estudo da síntese de sistemas de cedência da fármacos antimaláricos vai prosseguir, no sentido de alargar a investigação a outros aminoácidos e dipéptidos e também a outros compostos carbonílicos.

## ABSTRACT

The main objective of the experimental work described in this dissertation consisted in the synthesis of primaquine 4-imidazolidinones, with potential application as antimalarial pro-drugs.

The synthesis of 4-imidazolidinones was achieved applying classical peptide synthesis procedures and involved several steps. The first step led to the formation of N-acylprimaquines using  $\alpha$ -amino acids (Gly, Ala, Val, Phe)  $N^\alpha$ -protected with the *tert*-butyloxycarbonyl group (Boc), as acylating agents. In this step, N, N'-dicyclohexylcarbodiimide or N, N'-diisopropylcarbodiimide was used as the coupling reagent and 1-hydroxybenzotriazole as the auxiliary nucleophile. In the next step, removal of the *tert*-butyloxycarbonyl group was achieved by acidolysis with TFA. Finally, the cyclization of the primaquine derivatives obtained with cyclic ketones (cyclohexanone, cyclopentanone and cycloheptanone), in the presence of triethylamine, gave the primaquine 4-imidazolidinones required. The molecular structure of all isolated compounds was confirmed by Nuclear Magnetic Resonance and mass spectrometry of high-resolution techniques.

Thus, several  $N^\alpha$ -Boc-aa-PQ derivatives were prepared in 90% yields. The removal of the  $N^\alpha$ -Boc-protector group of these derivatives occurs in 80-90% yields, while the cyclization of these last with cyclic ketones led to yields greater than 50%.

Pharmacological and biological studies of the isolated compounds is carried out at "Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa" and "Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa", respectively.

The study of the synthesis of antimalarial drug delivery systems will be continued, in the extension of this investigation, by using other amino acids and dipeptides and employing other carbonylic compounds.

*Aos meus Pais*

# CAPÍTULO I

## *PARTE GERAL*

*“...o mais importante na vida é dar-se o  
melhor de si, não importa o resultado final...”*

Alôar de Sousa

# 1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A MALÁRIA

## 1.1. A MALÁRIA NO MUNDO ACTUAL

A malária, também conhecida por paludismo, é considerada a mais grave doença tropical causada por um parasita.

Esta infecção, conhecida há milhares de anos, está presente em larga escala nas regiões tropicais e sub-tropicais do planeta, em cerca de 100 países, especialmente na África, Ásia e Américas Central e do Sul, países esses onde a malária é endêmica. O maior foco de transmissão é a África sub-Sahariana, onde ocorrem 90% dos casos no mundo<sup>1</sup> (Figura 1). Porém, o aquecimento global e a maior mobilidade das populações tornam real o risco de globalização da doença.

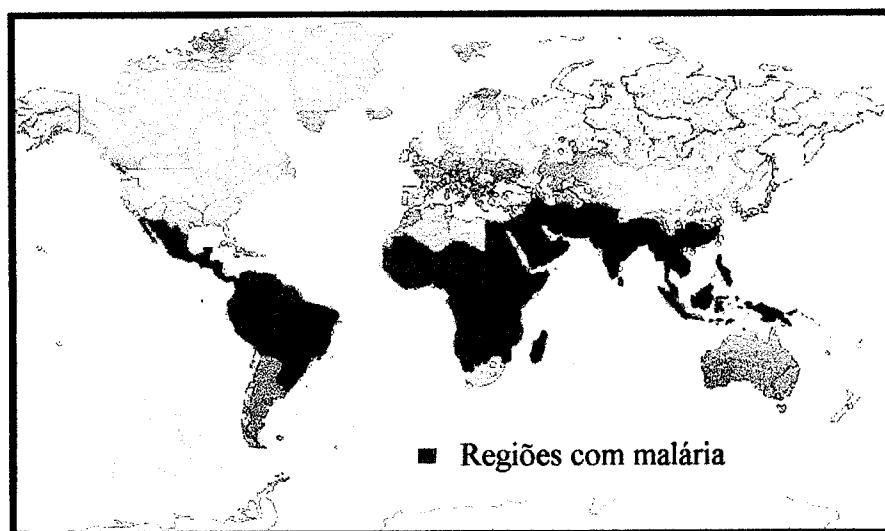


Figura 1: Distribuição da malária no mundo<sup>3</sup>.

A incidência global anual varia entre 300 a 500 milhões de casos, com cerca de 2 a 3 milhões de óbitos, sendo as grávidas e as crianças as pessoas mais vulneráveis à doença.

Durante as décadas de 50 e 60, a Organização Mundial de Saúde tentou erradicar a malária da maioria das regiões onde prevalecia, com o desenvolvimento de compostos como o DDT (dicloro-difenil-tricloroetano), que apresentava grande actividade insecticida, grande poder residual e baixo custo e, também, com a obtenção de antimaláricos sintéticos altamente eficazes. Como consequência, por volta de 1970, os programas de erradicação haviam livrado do risco da doença cerca de 53% da população residente em áreas malarígenas, evitando

do risco da doença cerca de 53% da população residente em áreas malarígenas, evitando milhões de mortes e contribuindo para o desenvolvimento sócio-económico de grandes áreas, especialmente Ásia, sul e sudeste da Europa e Américas.

Entretanto, devido à redução das actividades de controlo, às crises económicas, ao aumento do custo dos insecticidas, ao surgimento de resistência dos mosquitos aos insecticidas e dos parasitas aos antimaláricos, a situação deteriorou-se na década de oitenta, ocorrendo um aumento progressivo no número de casos na maioria dos países<sup>1</sup>.

A exploração de um novo esquema global de combate à doença passa pelo desenvolvimento de métodos alternativos de maior eficácia, tais como a quimioterapia e a vacinação.

Informações recentes indicam que, em 2001, os casos de malária diminuíram em cerca de 40 a 75% em relação ao ano anterior. Pensa-se que este decréscimo se deve parcialmente à reintrodução do insecticida DDT, mas também à alteração do tratamento e à adopção de programas de saúde e de actividade de controlo da doença. Estas envolvem um diagnóstico definitivo, através de um kit de diagnóstico rápido, seguido de tratamento eficaz e imediato, bem como medidas de controlo do vector por pulverização do interior das habitações e impregnação das camas-rede com um insecticida residual<sup>2</sup>.

No entanto, persistem alguns problemas graves ao nível da quimioterapia, nomeadamente desenvolvimento de resistências pelos parasitas, rápida eliminação e inactivação metabólica dos fármacos e, ainda, toxicidade destes últimos para os pacientes. Deste modo, o desenvolvimento de fármacos e vacinas eficazes adivinha-se como uma caminhada lenta e árdua, mas que urge percorrer. Daí que o estudo da síntese de compostos químicos com potencial actividade antimalárica seja um desafio irrecusável.

## 1.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DA MALÁRIA HUMANA

A malária é uma doença infecciosa causada por um parasita (protozoário) do género *Plasmodium* e transmitida ao Homem através da picada do mosquito do género *Anopheles*.



**Figura 2:** Mosquito do género *Anopheles* que transmite a malária ao hospedeiro humano<sup>2</sup>.

Esta doença pode ainda ser transmitida por transfusão de sangue ou partilha de agulhas e seringas infectadas com plasmódios<sup>1</sup>.

Estes parasitas pertencem ao filo *Apicomplexa*, classe *Sporozoea*, ordem *Hemosporidiida*, família *Plasmodiidae*. São organismos unicelulares eucariontes, sem cílios ou flagelos, excepto nos gâmetas<sup>6</sup>.

São quatro as espécies de parasitas que causam a malária humana: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium malariae*. Nas quatro espécies, o ciclo de vida é essencialmente o mesmo. Apresentam uma fase sexuada exógena (esporogonia), com a multiplicação dos parasitas em certos mosquitos do género *Anopheles*, e uma fase assexuada endógena (esquizogonia), com a multiplicação no hospedeiro humano. Esta última fase inclui o ciclo que ocorre nas células do parênquima hepático (esquizogonia tecidual ou pré-eritrocítica) e o ciclo que se desenvolve nos glóbulos vermelhos (esquizogonia eritrocítica). O ciclo de vida dos parasitas da malária humana encontra-se esquematizado na Figura 3.

Ao picar o homem, o mosquito injecta uma pequena quantidade de saliva no sangue humano para evitar a coagulação do mesmo durante o acto de sucção. É juntamente com esta saliva que, caso o mosquito esteja infectado, são introduzidos na corrente sanguínea humana

os parasitas primários chamados esporozoítos. Passado menos de uma hora, os esporozoítos deixam a corrente sanguínea e invadem o interior das células hepáticas. Muitos destes esporozoítos desenvolvem-se em esquizontes teciduais primários (esquizogonia tecidual), os quais passam por repetidas divisões assexuadas formando milhares de merozoítos. Durante este período, os indivíduos infectados não evidenciam qualquer sintoma da doença.

Decorridos cerca de 10 a 15 dias no caso do *Plasmodium vivax*, e 7 a 10 dias no caso do *Plasmodium falciparum*, as células hepáticas sofrem uma ruptura e os merozoítos são libertados na corrente sanguínea, onde atacam os eritrócitos, iniciando-se a fase eritrocítica do ciclo.

Alguns esporozoítos do *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale* permanecem no interior do hepatócito em estado de latência por períodos que podem variar de um mês a 2 anos. Por esta característica recebem o nome de hipnozoítos. Estes podem ser reactivados e causar recidivas da doença clínica a cada 2-3 meses. Esta fase da infecção é chamada esquizogonia exo-eritrocítica. Nas infecções dos *Plasmodia falciparum* e *malariae* não ocorrem recaídas a partir do fígado, no entanto, a infecção do sangue pode tornar-se crónica e, se não tratada, pode persistir durante anos, no caso do *Plasmodium falciparum* e décadas, no caso do *Plasmodium malariae*.

Após invadir o eritrócito, o merozoíto assume uma forma em anel chamada trofozoíto e começa a alimentar-se de hemoglobina. Quando o trofozoíto amadurece e começa a dividir-se torna-se num esquizonte sanguíneo. A divisão (esquizogonia eritrocítica) continua, originando o rompimento dos eritrócitos e a libertação de novos merozoítos que invadem novos glóbulos vermelhos, reiniciando-se um novo ciclo assexuado. É neste momento de rompimento e reinvasão que ocorrem os sintomas típicos da malária: febres altas (por vezes superiores a 40°C), calafrios e anemia. Alguns merozoítos desenvolvem-se em trofozoítos mas não formam esquizontes; em vez disso o seu núcleo permanece intacto e diferencia-se em formas sexuais, femininas e masculinas, chamadas gametócitos. Estes não sofrem qualquer divisão no Homem, mas circulam na corrente sanguínea até serem ingeridos por outro mosquito no momento de nova picada.

Enquanto os *Anopheles* machos se alimentam somente de néctar e seiva vegetal, as fêmeas necessitam de sangue na sua alimentação para o amadurecimento dos seus ovos e para possibilitar a oviposição. Assim, após uma fêmea ingerir sangue de um hospedeiro humano contendo as formas sexuadas do parasita (gametócitos), inicia-se uma fase sexuada no interior do seu estômago com a fecundação e formação de um ovo ou zigoto.

O zigoto transforma-se numa estrutura dotada de mobilidade chamada oocineto, o qual penetra a parede do estômago e forma um oócito que se posiciona entre a parede do estômago e a sua membrana basal. No seu interior formam-se, por esporogonia, muitos esporozoítos. Quando o oócito rebenta, alguns esporozoítos migram para as glândulas salivares do mosquito, os quais poderão, no momento da picada, ser inoculados noutra hospedeiro humano, iniciando-se novo ciclo e propagando-se a doença.

As quatro espécies de parasitas da malária humana originam ataques caracteristicamente distintos. Assim, o *Plasmodium falciparum* é responsável pela chamada malária terçã maligna; os *Plasmodia vivax* e *ovale* pela malária terçã benigna, enquanto que o *Plasmodium malariae* provoca malária quartã benigna. A qualificação terçã ou quartã refere-se ao intervalo de tempo entre picos de febre do paciente, respectivamente de 48 e de 72 horas<sup>1,3,4,5,6,7,16,17,18,20,23</sup>.

Os *Plasmodia falciparum* e *vivax* são os agentes maláricos largamente predominantes. O *Plasmodium falciparum* produz, muitas vezes, infecções fulminantes em pacientes não imunes. Tais infecções podem tornar-se fatais se não forem tratadas a tempo. O *Plasmodium vivax* produz ataques mais suaves e possui baixo nível de mortalidade, mesmo em pacientes não tratados. Neste caso, as recaídas podem ocorrer até dois anos após a primeira infecção. Já o *Plasmodium malariae* pode causar recaídas vários anos depois da infecção inicial.

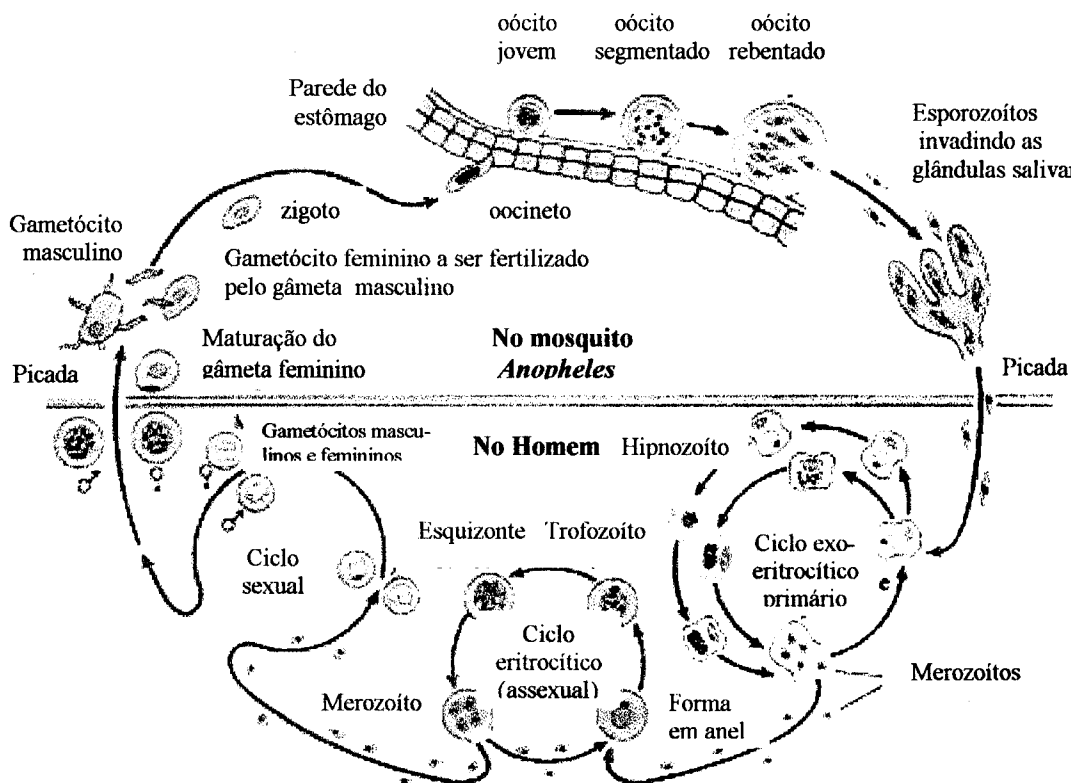
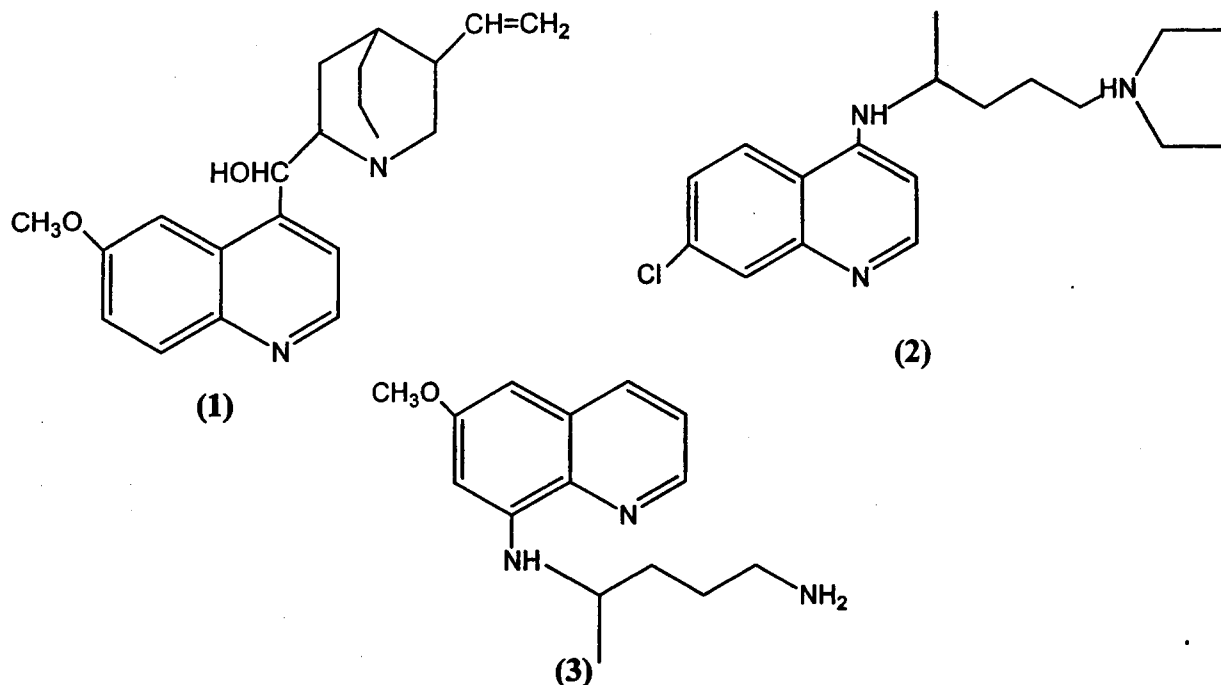


Figura 3: Ciclo de vida dos parasitas da malária humana<sup>8</sup>.

### 1.3. FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

A evidente necessidade de combater a malária conduziu à descoberta e preparação de numerosos agentes antimaláricos, desde a clássica *quinina* (1), à *cloroquina* (2) e à *primaquina* (3), entre muitos outros.



Tendo em conta o estágio do ciclo de vida do parasita no qual actuam, os fármacos antimaláricos são classificados como:

➤ ***Esquizonticidas teciduais usados para profilaxia causal:***

Estes fármacos actuam nos esquizontes teciduais primários dos *Plasmodia*, os quais, após crescimento, iniciam o estágio eritrocítico. Bloqueando este estágio, um desenvolvimento posterior da infecção pode ser prevenido. O proguanil, pirimetamida e primaquina são exemplos de fármacos utilizados nesta categoria.

➤ ***Esquizonticidas teciduais usados para prevenir recidivas:***

Estes agentes actuam nos hipnozoítos do *P. vivax* e *P. ovale* que permanecem latentes após as primeiras formas hepáticas serem libertadas na circulação.

Os esquizonticidas que actuam sobre os hipnozoítos evitam a maturação destes, pelo que são usados para profilaxias terminais e curas radicais de infecções que causem recaídas. A primaquina é o fármaco mais utilizado neste caso, mas a pirimetamina e a quinocida também possuem esta actividade.

➤ ***Esquizonticidas usados para a cura clínica ou supressiva:***

Estes fármacos actuam no estágio eritrocítico assexuado dos parasitas da malária, interrompendo a esquizogonia eritrocítica e acabando assim com os ataques clínicos da malária (cura clínica). Tais fármacos podem também produzir a cura supressiva, eliminando completamente os parasitas do corpo através de uma terapia contínua. São exemplos a cloroquina, quinina e a mefloquina.

➤ ***Gametocitocidas:***

Estes fármacos destroem as formas sexuadas do parasita no sangue, prevenindo, desse modo, a transmissão da infecção ao mosquito. A cloroquina e quinina possuem actividade gametocitocida contra o *P. vivax* e *P. malariae*, mas não contra o *P. falciparum*. A primaquina possui actividade gametocitocida contra todos os *Plasmodia*, incluindo o *P. falciparum*.

➤ ***Esporontocidas:***

Estes agentes, quando administrados no hospedeiro vertebrado infectado previnem ou inibem a formação de oócitos e esporozoítos nos mosquitos que se alimentam do sangue desse hospedeiro. Fármacos com actividade esporontocida são a primaquina, a pirimetamina e a quinocida.

Deste modo, um tratamento efectivo da malária deve incluir esquizonticidas sanguíneos, gametocitocidas e esquizonticidas teciduais (no caso do *P. vivax* e *P. ovale*). Uma combinação de cloroquina e primaquina é, pois, necessária para o tratamento de todos os casos de malária<sup>9,16,17,18</sup>.

A rápida emergência e crescimento dos *Plasmodia falciparum* resistentes à cloroquina é um dos factores que mais afecta os esforços no controlo da malária. A busca de novas terapias antimaláricas, a um custo acessível, é uma tarefa de elevada prioridade para a erradicação da doença. Estas terapias devem focar-se no desenvolvimento e melhoramento de:

- Agentes gametocitocidas capazes de eliminar o ciclo sexual do parasita no mosquito e, assim, interromper a transmissão do hospedeiro humano ao mosquito vector e,
- Potentes esquizonticidas sanguíneos efectivos contra as estirpes de *Plasmodium falciparum* resistentes à cloroquina.

O controlo da malária também tem sido procurado através de técnicas preventivas como a vacinação<sup>18</sup>. Estão a ser desenvolvidos três tipos de vacinas:

- a) Vacinas anti-esporozoítos que previnem a infecção eritrocítica,
- b) Vacinas anti-merozoítos que resultam no controlo efectivo da infecção e,
- c) Vacinas contra as formas esporogónicas primitivas do parasita que bloqueiam a transmissão hospedeiro-mosquito.

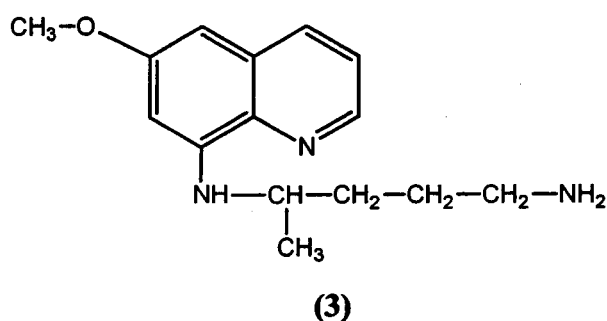
O conhecimento do mapa genético completo do mosquito e do parasita *Plasmodium falciparum*, muito recentemente comunicado<sup>13,14,15</sup>, surge como uma grande esperança na batalha contra a malária, especialmente ao nível da concepção mais precisa e racional de vacinas mais eficazes.

## 2. PRÓ-FÁRMACOS DA PRIMAQUINA NA QUIMIOTERAPIA DA MALÁRIA

### 2.1. EFEITOS DA PRIMAQUINA NO ORGANISMO

A primaquina (3), é o único composto 8-aminoquinolínico utilizado na quimioterapia da malária.

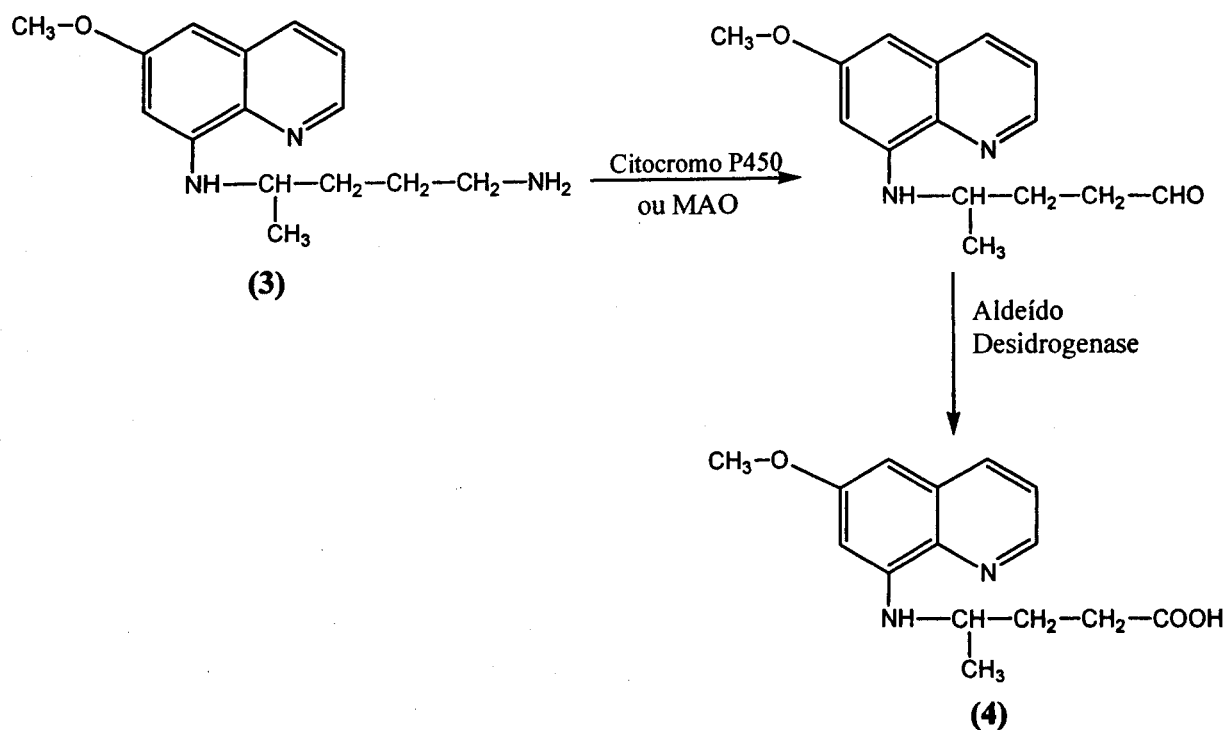
Com a designação científica de 8-[(4-amino-1-metilbutil)amino]-6-metoxiquinolina, a primaquina possui um anel bicíclico (grupo quinolina), tal como as restantes 8-aminoquinolinas, com um grupo amino secundário na posição 8 e um grupo metoxilo na posição 6, como se pode observar na estrutura representada:



Actualmente, a primaquina é o único agente antimalárico capaz de bloquear o ciclo reprodutivo dos *Plasmodia* no Homem, interrompendo a transmissão da doença ao mosquito-vector. Além da sua actividade gametocitocida, eficaz mesmo contra o *Plasmodium falciparum*, a primaquina é fundamental para a cura radical de recidivas das infecções provocadas pelos *Plasmodia vivax e ovale*.

A primaquina é administrada oralmente e é completamente absorvida pelo tracto gastrointestinal. Atinge os picos de concentração no plasma em 1 a 2 horas, após o que diminui rapidamente, com um tempo de meia vida de cerca de 3 a 6 horas. Apenas uma pequena porção da dose administrada é excretada na urina sem modificação; a maior porção é excretada em 24 horas, sob a forma de metabolitos. Após absorção, a primaquina é rapidamente biotransformada em dois passos metabólicos. O primeiro passo leva à formação de dois metabolitos activos *in vivo*, 5-hidroxiprimaquina e 5-hidroxi-metilprimaquina. Do segundo passo resulta a formação de N-acetilprimaquina. Esta biotransformação da primaquina gera um metabolito com elevado poder oxidante, aumentando a actividade esquizontocida tecidual. Porém, paralelamente a esta transformação, o grupo amino primário

da primaquina é rapidamente removido através de um processo oxidativo com a participação da enzima monoamino oxidase (MAO) e do citocromo P450, originando carboxiprimaquina (4) que é farmacologicamente inactiva (Figura 4).



**Figura 4:** Transformação da primaquina em carboxiprimaquina por oxidação enzimática.

Estratégias para evitar esta inactivação metabólica do fármaco poderão envolver a acilação do grupo amino terminal da primaquina, evitando a formação de carboxiprimaquina.

Subsequentemente, e também com o intuito de bloquear ou retardar o metabolismo da primaquina, os derivados acilados poderão ser modificados, através da ciclização, por exemplo a 4-imidazolidinonas cíclicas através da reacção daqueles derivados com compostos carbonílicos.

Em doses terapêuticas, a primaquina é bem tolerada, mas em doses elevadas pode causar distúrbios gastrointestinais e methemoglobinémia<sup>9,10,21,25</sup>.

Por outro lado, a primaquina causa hemólise em pacientes com deficiência congénita na glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) nas hemácias. A G6PD é uma enzima que protege os grupos sulfidrilo da hemoglobina e a membrana dos glóbulos vermelhos, dos efeitos oxidativos dos radicais de oxigénio, mantendo o fornecimento intracelular de glutatona reduzida. Em pessoas com deficiência na G6PD, a oxidação da hemoglobina leva à sua precipitação dentro da célula, produzindo inclusões características chamadas corpos de Heinz. O aumento do teor de hemoglobina oxidada produz methemoglobinémia, causando um

incremento na produção de radicais livres, os quais danificam as células. Estes efeitos causam, por fim, a hemólise<sup>11,12</sup>.

## 2.2. PRÓ-FÁRMACOS DA PRIMAQUINA<sup>18</sup>

Um pró-fármaco é um composto inactivo, que pode ser convertido *in vivo* numa substância farmacologicamente activa, através de mecanismos de natureza química ou metabólica.

Este conceito pode ser dividido em duas classes: pró-fármacos propriamente ditos e bioprecursores. Os pró-fármacos propriamente ditos (apenas estes vão ser considerados posteriormente) resultam de uma ligação temporária entre o fármaco e uma unidade transportadora, ligação essa que é depois química ou enzimaticamente hidrolisada *in vivo*. Assim, o fármaco mantém as suas propriedades terapêuticas, mas só as manifesta quando se liberta da unidade transportadora.

Devem ser considerados alguns factores importantes na concepção de um pró-fármaco:

- A ligação entre o fármaco e a unidade transportadora deve ser covalente;
- O pró-fármaco deve ser inactivo ou menos activo do que o fármaco original;
- A síntese do pró-fármaco não deverá implicar custos incomportáveis;
- A ligação entre o fármaco e o transportador deve sofrer clivagem, *in vivo*, química ou enzimaticamente, isto é, o pró-fármaco deverá ser um derivado reversível ou biorreversível do fármaco;
- A unidade transportadora deve ser não tóxica e, de preferência, biologicamente inactiva;
- A libertação do princípio activo deverá ser cineticamente controlada, para assegurar a manutenção da concentração do fármaco a níveis eficientes no local de acção, de modo a minimizar sua inactivação metabólica.

Os bioprecursores não implicam uma ligação temporária entre o fármaco e a unidade transportadora, mas resultam de uma modificação molecular do próprio fármaco. Esta modificação origina um novo composto que actua como substrato em processos enzimáticos que conduzem à formação do princípio activo.

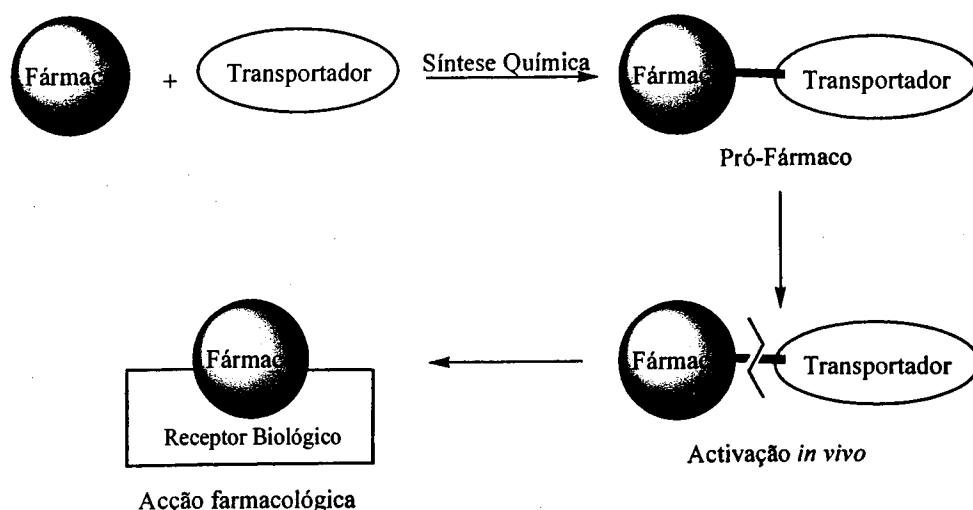


Figura 5: Representação esquemática da formação e acção de um pró-fármaco.

O objectivo do desenvolvimento de pró-fármacos, é na maioria dos casos, resolver problemas farmacêuticos ou farmacológicos específicos. Assim, os objectivos principais do recurso aos pró-fármacos são:

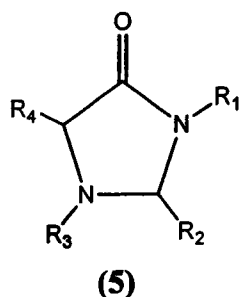
- Modificação das propriedades farmacocinéticas do fármaco *in vivo* para melhorar a sua absorção, distribuição, biotransformação e excreção, ou por outras palavras, melhorar a sua biodisponibilidade;
- Aumento da estabilidade nas condições fisiológicas ou alteração conveniente da solubilidade;
- Formulação farmacêutica adequada;
- Diminuição da toxicidade e reacções adversas;
- Maior especificidade relativamente aos tecidos ou órgãos alvo da acção farmacológica;
- Períodos de acção prolongados.

Os fármacos devem possuir grupos susceptíveis de modificação química reversível, permitindo a introdução de unidades transportadoras, por formação de ligações amida, éster, acetal, entre muitas outras.

Uma vez que a primaquina possui um grupo amino ( $-NH_2$ ) susceptível de modificação química reversível, pode, através de uma ligação amida com moléculas transportadoras adequadas (como os aminoácidos), transformar-se num potencial pró-fármaco. Assim, poder-se-á aumentar a selectividade e diminuir a extensão de inactivação do fármaco e das reacções secundárias que este possa causar, aumentando assim, a sua potencialidade como agente terapêutico da malária.

### 3. IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DAS 4-IMIDAZOLIDINONAS

Têm sido efectuados diversos estudos de concepção e melhoramento de compostos farmacologicamente activos, baseados na introdução de estruturas do tipo 4-imidazolidinona (5). Uma 4-imidazolidinona é um anel pentagonal heterocíclico,



mais frequentemente encontrada como uma modificação em cadeias polipeptídicas, nas quais se forma normalmente no extremo N-terminal através de uma condensação com um composto carbonílico (aldeído ou cetona). Por exemplo, a formação de 4-imidazolidinonas por reacção de péptidos e proteínas do organismo com acetaldeído, o principal metabolito do etanol, foi sugerida como um indicador de consumo abusivo de bebidas alcoólicas<sup>35</sup>. Além disso, a relativa facilidade com que ocorre esta reacção tem sido também relacionada com a alteração das propriedades farmacológicas de compostos como a vancomicina, um antibiótico peptídico que sofre modificação espontânea (formação de uma 4-imidazolidinona) quando conservado em solução aquosa a pH neutro e temperatura ambiente, na presença de vestígios de formaldeído ou acetaldeído<sup>34</sup>.

Um vasto número de 4-imidazolidinonas tem revelado uma larga variedade de propriedades biológicas e terapêuticas, nomeadamente, actividade anti-convulsiva, anti-depressiva, anti-inflamatória, anti-viral e anti-tumoral<sup>31</sup>. É também notável, o facto de estas estruturas constituírem um denominador comum a vários inibidores da aldose redutase o que poderá ter implicações no tratamento de tecidos cancerosos<sup>42</sup>.

Algumas 4-imidazolidinonas foram identificadas como inibidoras da reacção de Maillard *in vitro*. Este facto torna-as potencialmente úteis no tratamento de doenças causadas por aquelas reacções, como sejam diversas complicações derivadas da diabetes e dos processos de envelhecimento<sup>43,44</sup>.

Mas é nos peptidomiméticos que a introdução de 4-imidazolidinonas começa a tornar-se cada vez mais relevante. De facto, o desenvolvimento clínico de péptidos como fármacos ou como unidades transportadoras de fármacos (em pró-fármacos) implica problemas como

seja a permeabilidade limitada das membranas biológicas ou, mais relevante ainda, a susceptibilidade à degradação enzimática por acção das peptidases. Assim, é cada vez mais frequente o recurso aos peptidomiméticos, que não são mais do que moléculas com uma topologia e constituição muito semelhantes às do péptido bioactivo, mas em que as ligações amida são “mascaradas” ou substituídas pelos seus isósteros<sup>28,29</sup>. Recentemente, foi publicado um número significativo de trabalhos científicos em que se descreve a introdução de modificações do tipo 4-imidazolidinona em cadeias peptídicas, com o duplo objectivo de manter ou até melhorar a bioactividade do péptido original e, simultaneamente, eliminar os problemas do fármaco relacionados com biodisponibilidade, estabilidade enzimática e permeabilidade (por exemplo, da barreira hemato-encefálica)<sup>32,33</sup>. Atendendo à sua estrutura, bem como ao efeito causado pela introdução na estrutura secundária das cadeias polipeptídicas, o anel de 4-imidazolidinona desempenha frequentemente o papel de uma pseudo-prolina:

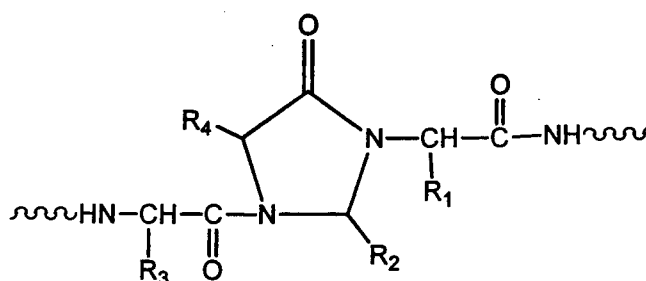


Figura 6: 4-imidazolidinona numa sequência peptídica.

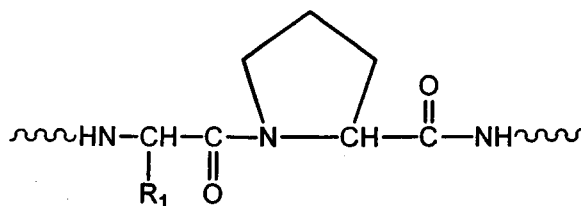
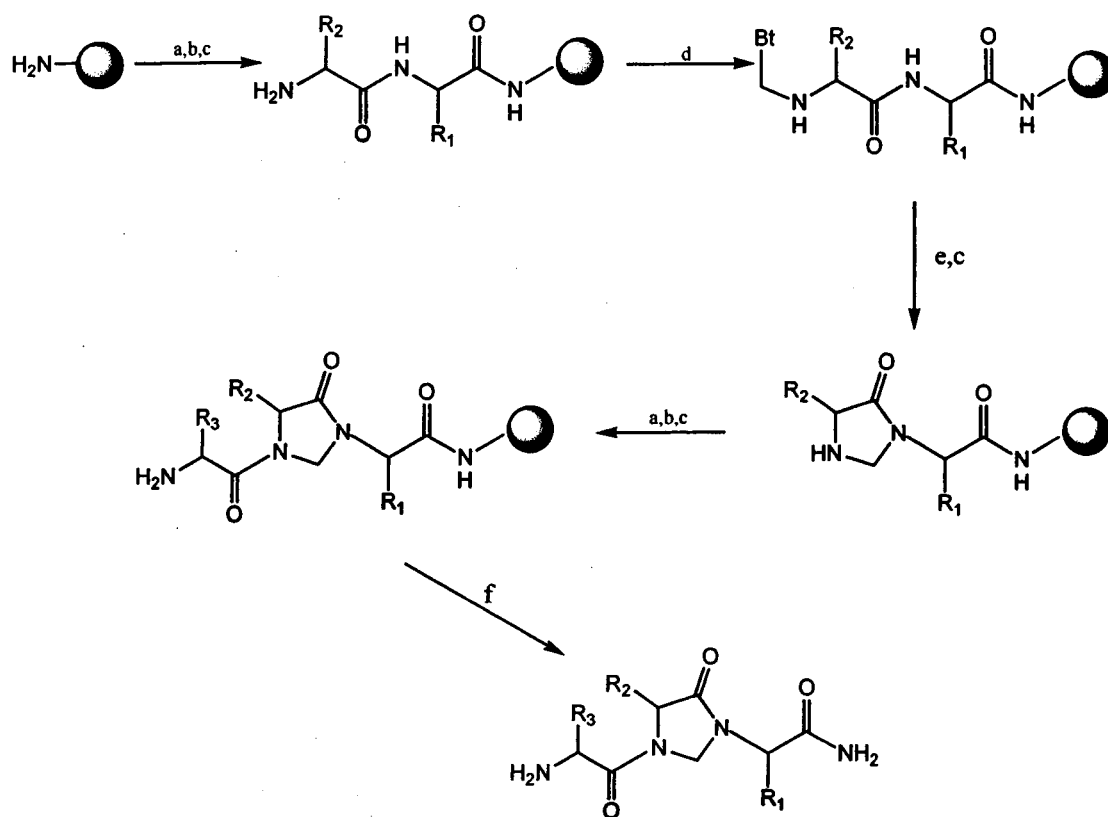


Figura 7: Prolina numa sequência peptídica.

O papel participativo das 4-imidazolidinonas na actividade terapêutica dos péptidos em que se inserem revela-se também ao nível da posição desta inserção. Encontra-se descrita na literatura uma clara dependência entre a actividade biológica e a posição da sequência peptídica em que se introduziu o anel<sup>29</sup>.

Do ponto de vista sintético, as aproximações mais clássicas correspondem à formação do heterociclo em solução, através da reacção do componente peptídico com o componente carbonilo, geralmente em meio polar (metanol<sup>39</sup>, tampão aquoso<sup>33</sup>) e eventualmente na presença de um catalisador básico como a trietilamina<sup>36</sup>.

Muito recentemente, têm sido descritos métodos em fase sólida de inserção de 4-imidazolidinonas em cadeias peptídicas baseadas na formação de um aducto reactivo resultante da presença do aldeído e de benzotriazole, o qual sofre um processo espontâneo de substituição nucleófila intramolecular, gerando a 4-imidazolidinona e libertando benzotriazole<sup>28,29,30</sup>.



**Figura 8:** Síntese em fase sólida de 4-imidazolidinonas análogas a péptidos: (a) Boc-aa-OH, DIPCl, HOBT, DMF; (b) TFA em DCM; (c) DIEA em DCM; (d) benzotriazole (Bt), formaldeído, DMF, 85°C; (e) BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O, DCM; (f) HF, 0°C.

Estes métodos em fase sólida permitem variar facilmente a posição de inserção e a estrutura da 4-imidazolidinona a introduzir e, por outro lado, tornam exequível o recurso a largos excessos dos reagentes solúveis (benzotriazole, aldeído) para forçar a ciclização pretendida<sup>28,29,30</sup>.

Em suma, as 4-imidazolidinonas revelam-se como estruturas de grande importância biológica, com as evidentes implicações ao nível terapêutico, e oferecem um vasto campo a explorar no âmbito da Química Bioorgânica e Química Médica.

## CAPÍTULO II

*ESTUDO DA SÍNTESE DE  
4-IMIDAZOLIDINONAS DA PRIMAQUINA  
DERIVADAS DE CETONAS CÍCLICAS*

## 1. ÂMBITO DO PROJECTO

O trabalho experimental em questão está inserido num projecto de investigação que tem por fim a síntese química e o estudo de derivados da primaquina como potenciais pró-fármacos na terapia da malária.

Este projecto está a ser desenvolvido na linha de Síntese Orgânica de Compostos Bioactivos (linha 1) do Centro de Investigação em Química da Universidade do Porto, sob a orientação das Doutoradas Paula Gomes e Maria João Araújo.

A aplicabilidade destes compostos como potenciais sistemas de cedência biorreversível da primaquina está a ser testada em colaboração com as equipas do Professor Doutor Rui Moreira, do Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Lisboa, e do Professor Doutor Virgílio do Rosário, do Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa, através de estudos farmacocinéticos e biológicos, respectivamente.

## 2. OBJECTIVO

Do exposto no capítulo I, em especial no que se refere às propriedades terapêuticas da primaquina (3) e às características biológicas das 4-imidazolidinonas (5), pensou-se na possibilidade de concepção de novos pró-fármacos antimaláricos, através da conjugação destas duas estruturas moleculares. Assim, a realização deste trabalho teve por objectivo a síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina derivadas da ciclopentanona, cicloexanona e cicloheptanona, contendo os  $\alpha$ -aminoácidos glicina, alanina, valina e fenilalanina (Figura 9).

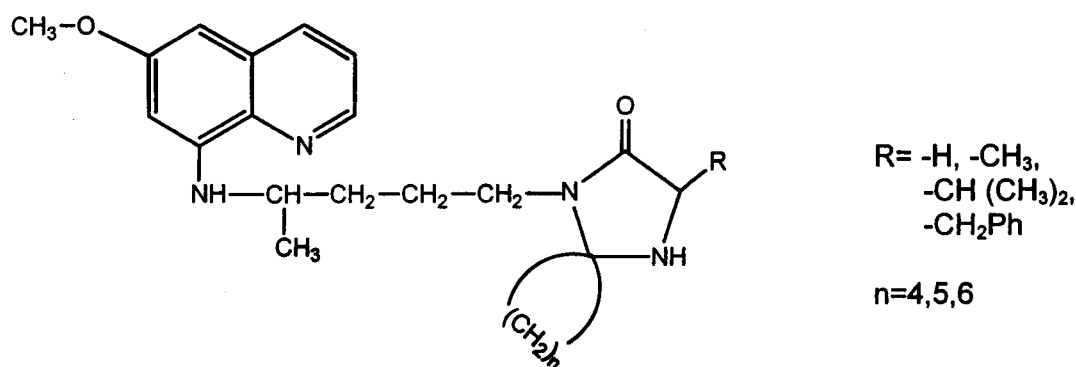
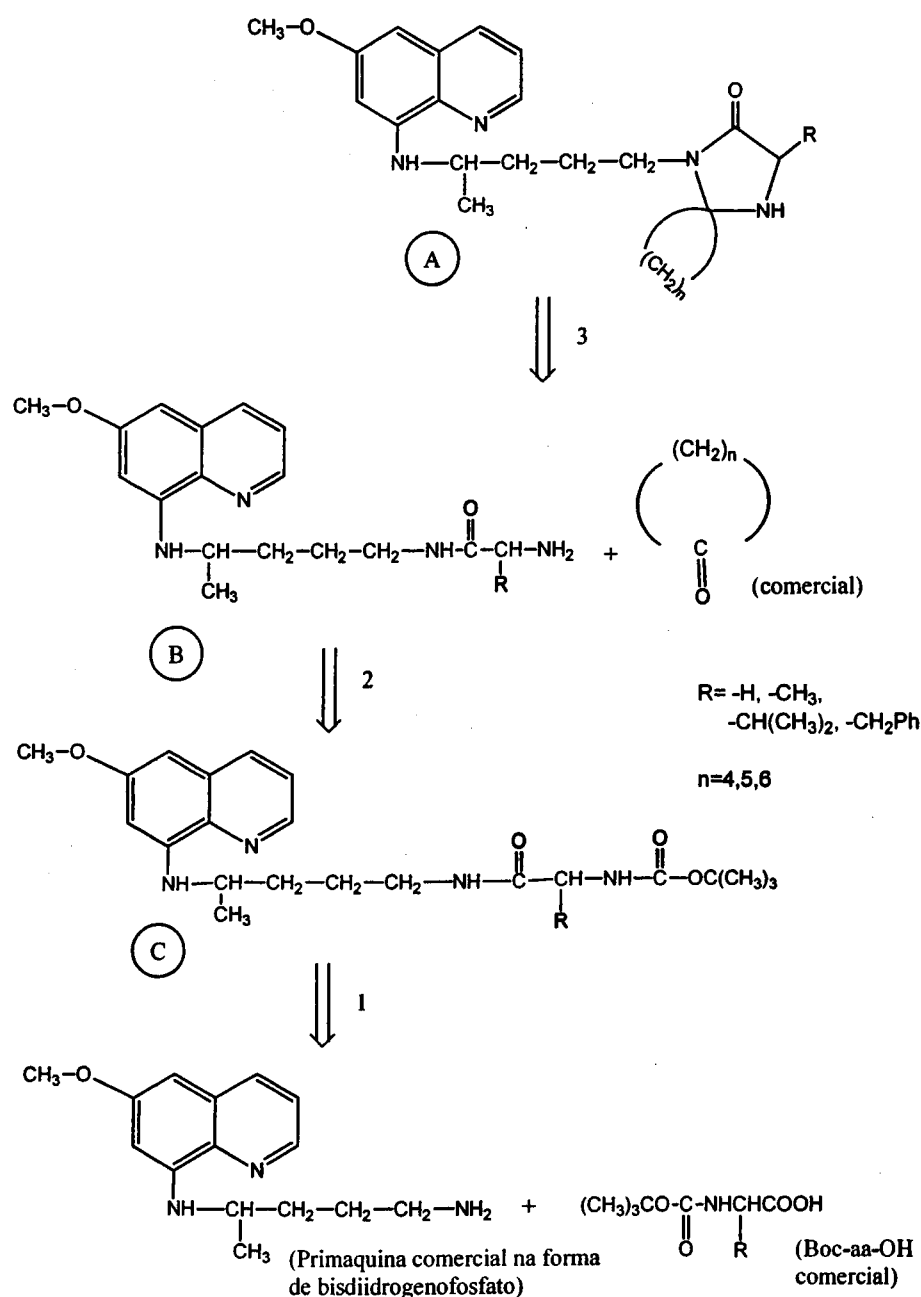


Figura 9: Estrutura genérica das 4-imidazolidinonas pretendidas.

## 3. ANÁLISE RETROSSINTÉTICA

Atendendo à estrutura das 4-imidazolidinonas que se pretenderam sintetizar, fez-se a seguinte análise retróssintética:



Assim, considerou-se que as 4-imidazolidinonas pretendidas (A), poderiam ser obtidas através da ciclização, com cetonas cíclicas, de derivados neutros da primaquina contendo resíduos de  $\alpha$ -aminoácidos (B)  $\Rightarrow$  passo 3. Estes, por sua vez, obter-se-iam por simples condensação da primaquina com  $\alpha$ -aminoácidos devidamente protegidos, através da formação de uma ligação amida  $\Rightarrow$  passo 1. O grupo  $N^\alpha$ -protector seria removido numa etapa intermédia entre a 1ª fase de condensação e a última fase de ciclização  $\Rightarrow$  passo 2.

## 4. MÉTODOS DE SÍNTESE

Atendendo à análise retrossintética descrita no ponto anterior, os derivados acilados da primaquina foram preparados por condensação desta com quatro  $\alpha$ -aminoácidos  $N^\alpha$ -Boc-protégidos diferentes (passo 1), após o que se removeu o grupo  $N^\alpha$ -protector (passo 2) e, por último, se procedeu à ciclização com três cetonas cíclicas distintas (passo 3).

### 4.1. Condensação da Primaquina com $\alpha$ -aminoácidos $N^\alpha$ -Boc-protégidos

A condensação da primaquina com os  $\alpha$ -aminoácidos fez-se através da formação de uma ligação amida. Esta forma-se pelo ataque do grupo amino primário da primaquina ao grupo carboxilo do  $\alpha$ -aminoácido  $N^\alpha$ -Boc-protégido, uma vez que o grupo amino primário da primaquina é mais nucleófilo do que o grupo amino secundário, devido à maior basicidade e menor impedimento estereoquímico daquele relativamente a este.

A formação da ligação amida seguiu os métodos usuais de condensação peptídica já descritos na literatura <sup>45,46,47</sup>. Estes métodos abrangeram a utilização do grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc) <sup>45,46,47</sup> para a protecção do grupo  $N^\alpha$ -amino do  $\alpha$ -aminoácido a condensar, o recurso a carbodiimidas (6) <sup>45,46,47</sup> como reagentes de condensação (N,N'-dícicloexilcarbodiimida, DCCI e N,N'-diisopropilcarbodiimida, DIPCI) e o uso de 1-hidroxibenzotriazole (HOBt) (7) como nucleófilo auxiliar <sup>45,46,47</sup>. O método DCCI/HOBt (Figura 10) continua a ser, actualmente, um dos mais utilizados em síntese peptídica, pois conduz a bons resultados a nível quantitativo (rendimentos) e qualitativo (bons graus de pureza química e óptica dos produtos, por supressão de reacções laterais) <sup>45,46,47</sup>.



#### 4.2. Remoção do grupo *tert*-butiloxicarbonilo por acidólise com ácido trifluoroacético

O método utilizado para a remoção do grupo  $N^\alpha$ -Boc-protector, por acidólise com ácido trifluoroacético, está bem descrito na literatura <sup>45,46,47</sup>.

No presente trabalho experimental procedeu-se à remoção do grupo Boc dos derivados da primaquina por solubilização directa destes em ácido trifluoroacético puro, formando-se, por conseguinte, os respectivos trifluoroacetatos (Figura 11).

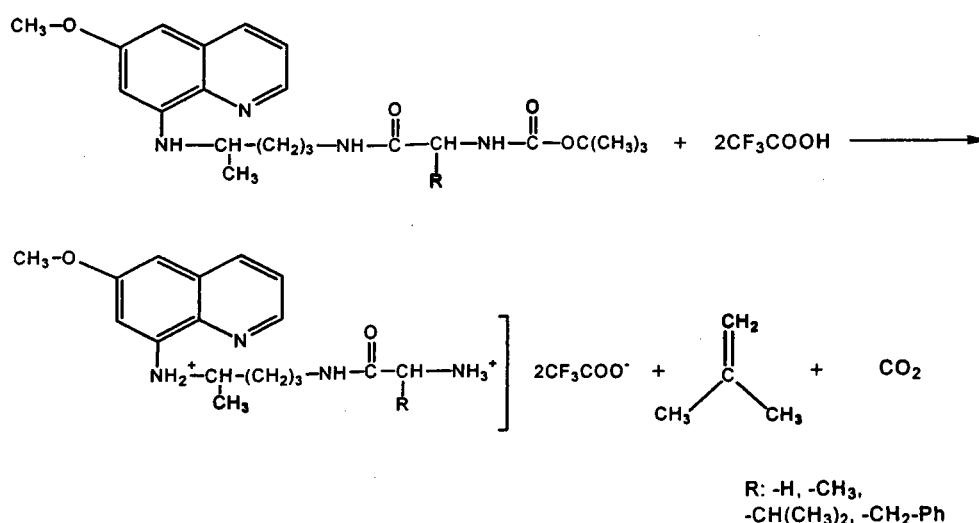


Figura 11: Remoção do grupo Boc dos derivados  $N^\alpha$ -protegidos da primaquina por acidólise com TFA.

Neutralizando estes trifluoroacetatos com solução aquosa de carbonato de sódio a 30%, obtêm-se os compostos totalmente desprotegidos, ou seja, com o grupo amino terminal livre. Em seguida, estes compostos podem ser isolados mediante uma simples extracção líquido-líquido.

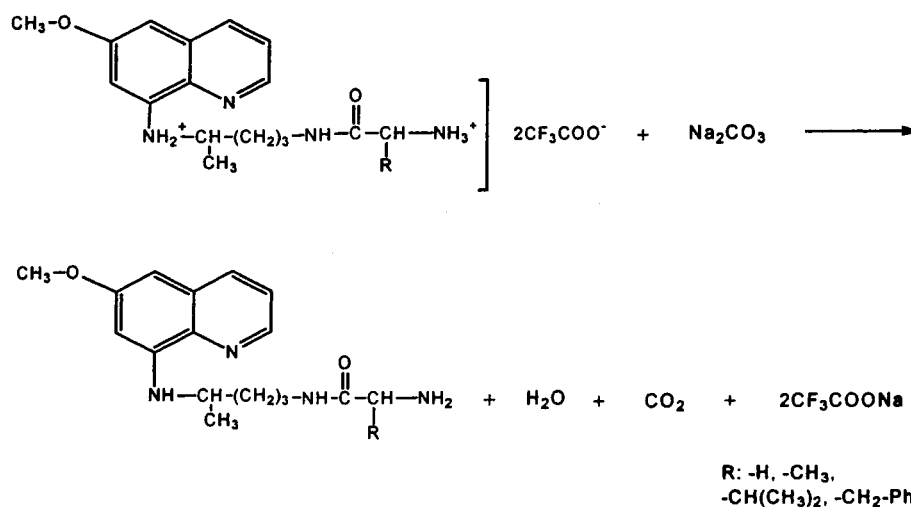


Figura 12: Desprotecção total do derivado, com obtenção do grupo amino terminal livre.

### 4.3. Síntese das 4-imidazolidinonas por ciclização dos derivados da primaquina com cetonas cíclicas

A ciclização dos derivados da primaquina com cetonas cíclicas (ciclohexanona, ciclohexanona e cicloheptanona) baseia-se em métodos descritos na literatura<sup>33,36,39</sup>. A reacção de ciclização faz-se na presença de filtros moleculares, para absorver a água libertada na reacção, e de trietilamina como catalisador básico auxiliar. Um mecanismo proposto para esta reacção passa pela formação de uma base de Schiff que sofre um rearranjo posterior, resultando a 4-imidazolidinona pretendida (Figura 13).

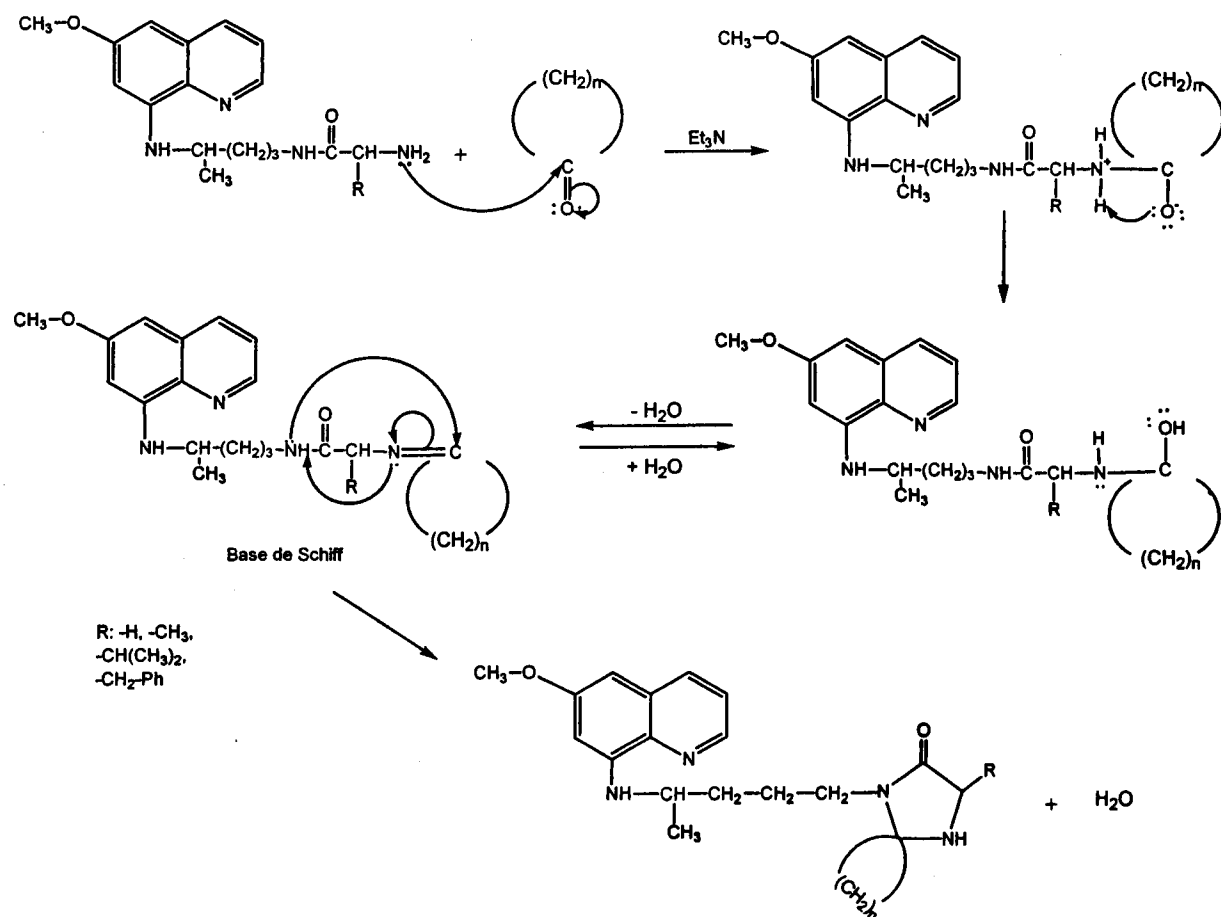


Figura 13: Mecanismo proposto para a ciclização dos derivados da primaquina com cetonas cíclicas.

## 5. RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÃO

### 5.1. Condensação da primaquina com $\alpha$ -aminoácidos $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos

Realizaram-se várias reacções de síntese para cada derivado Boc-aa-PQ, utilizando como reagente de condensação a DCCI ou a DIPCI, conforme os casos. Os rendimentos globais foram reprodutíveis para o mesmo procedimento experimental e encontram-se resumidos na Tabela I, que inclui outras observações experimentais.

| Reagente base | Reagente de condensação | Aminoácido $N^{\alpha}$ -Boc-protégido | Produto obtido  | Tempo reacção (Dias) | $R_f$ (sistema de eluentes) | Aspecto do produto           | Rendimento (%) |
|---------------|-------------------------|--|---|----------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------|
| Primaquina    | DCCI                    | Glicina                                | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilglicil) primaquina      | 5                    | 0,56(B)                     | Óleo espesso amarelo torrado | 96,0           |
|               |                         | Alanina                                | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilalanil) primaquina      |                      | 0,68(A)                     | Óleo espesso amarelo torrado | 93,0           |
|               |                         | Valina                                 | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil) primaquina       |                      | 0,29(D)                     | Óleo espesso acastanhado     | 95,0           |
|               |                         | Fenilalanina                           | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilfenilalanil) primaquina |                      | 0,56(D)                     | Óleo espesso amarelo         | 96,9           |
|               | DIPCI                   | Valina                                 | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil) primaquina       | 5                    | 0,44(N)                     | Óleo espesso amarelo         | 98,6           |
|               |                         | Fenilalanina                           | 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilfenilalanil) primaquina |                      | 0,44(D)                     | Óleo espesso amarelo         | 96,2           |

Tabela I: Resultados obtidos para a reacção de condensação da primaquina com  $\alpha$ -aminoácidos  $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos.

Os rendimentos obtidos para a reacção de condensação dos  $\alpha$ -aminoácidos  $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos com a primaquina, na presença de  $Et_3N$ , DCCI (ou DIPCI) e HOBt, foram quase quantitativos.

O decurso das reacções foi acompanhado por TLC, tendo-se verificado um aumento significativo da mancha relativa ao produto principal após a segunda adição de DCCI

(ou DIPCI). Também por TLC se verificou que os compostos sintetizados se encontravam cromatograficamente homogêneos, facto que evidenciou uma purificação cromatográfica aparentemente eficaz.

Como se pôde observar, a condensação da primaquina com os  $\alpha$ -aminoácidos valina e fenilalanina  $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos efectuou-se utilizando como reagente de condensação a DCCI que, posteriormente, foi substituída por DIPCI. Esta é uma carbodiimida líquida, com a mesma eficácia da DCCI como reagente de condensação, e origina uma ureia, a  $N,N'$ -diisopropilureia (DIU), mais solúvel do que a  $N,N'$ -dicicloexilureia (DCU) nos solventes orgânicos correntes. O emprego da DIPCI em substituição da DCCI, na condensação destes  $\alpha$ -aminoácidos, deveu-se a problemas observados na separação cromatográfica entre o derivado pretendido e a DCU. De facto, nas primeiras sínteses destes derivados utilizando DCCI, constatou-se que a DCU e os produtos apresentavam o mesmo valor de  $R_f$  em diversas condições cromatográficas testadas, havendo pois sobreposição de manchas. Assim, e apesar de muitas vezes os produtos isolados parecerem puros por se apresentarem cromatograficamente homogêneos, veio-se a verificar que estavam contaminados com DCU. Esta contaminação só se tornava visível ou através de análises espectroscópicas dos produtos, ou em reacções posteriores, em que os produtos já apresentavam  $R_f$  distintos do da DCU. Deste modo, repetiram-se as sínteses utilizando a DIPCI, tendo-se verificado que a respectiva ureia (DIU) apresentava um valor de  $R_f$  marcadamente diferente do dos derivados Boc-aa-PQ, possibilitando uma eficaz separação por cromatografia em coluna. Tal como já foi referido, este problema só foi detectado mediante análises espectroscópicas dos produtos e, também, em reacções posteriores. Nomeadamente, foi possível detectar a impureza durante a reacção de remoção do grupo Boc, porque os  $R_f$  dos produtos desprotegidos resultantes eram significativamente afastados do  $R_f$  da DCU (secção 5.2.). Deste modo, a técnica de TLC não foi eficaz na comprovação da pureza dos produtos 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilvalil)primaquina e 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilfenilalanil)primaquina sintetizados utilizando DCCI como reagente de condensação. Por esta razão, os rendimentos calculados para estas sínteses não representaram os valores reais, uma vez que os produtos não se encontravam puros, apesar de cromatograficamente homogêneos. As restantes reacções de condensação da primaquina com os  $\alpha$ -aminoácidos valina e fenilalanina  $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos foram já efectuadas utilizando a DIPCI como reagente de condensação, não se registando qualquer dificuldade digna de nota.

Uma outra dificuldade encontrada ao nível experimental centrou-se na relativa facilidade com que o composto 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilglicil)primaquina se decompunha. Após permanecer poucos dias no exsiccador, este composto já não se encontrava cromatograficamente homogéneo, apresentando sinais de uma possível reconversão aos reagentes iniciais Boc-Gly-OH e primaquina.

No entanto, com as devidas precauções, foi possível trabalhar com os derivados da glicina sem problemas, com determinações estruturais correctas e obtendo-se produtos finais de boa qualidade.

Uma vez optimizados os métodos de preparação destes compostos, todas as sínteses foram repetidas em maior escala, por forma a obter produtos finais em quantidade suficiente para posteriores testes farmacocinéticos, biológicos e toxicológicos. A alteração da escala de síntese não teve qualquer efeito visível ao nível dos resultados, quer qualitativos, quer quantitativos.

A caracterização estrutural dos produtos sintetizados, que se apresentaram todos como óleos espessos amarelados, foi feita por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e por espectrometria de massa de alta resolução (MALDI-TOF).

Apresenta-se de seguida, e a título de exemplo, o espectro de massa correspondente ao produto 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilvalil)primaquina (Figura 14). Os dados relativos aos espectros de massa dos restantes compostos desta família encontram-se registados na Parte Experimental.

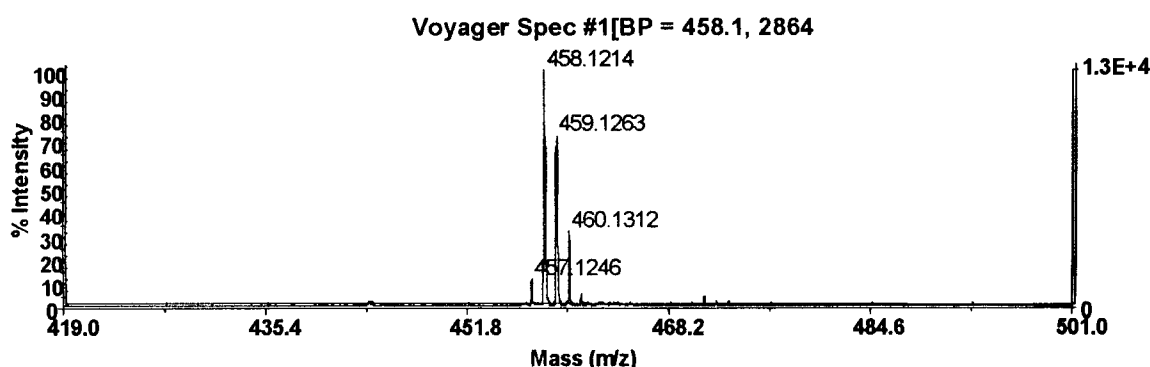


Figura 14: Espectro de massa da 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilvalil)primaquina (MM=458,60 u.m.a.)

Os espectros de massa apresentaram-se totalmente compatíveis com as massas moleculares dos produtos esperados, como se pode ver neste caso, em que a razão  $m/z$  esperada e a observada são praticamente coincidentes.

Os dados relativos aos espectros de Ressonância Magnética Nuclear deste grupo de compostos encontram-se igualmente registados na Parte Experimental. No entanto, apresentam-se de seguida os espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 15) e de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Figura 16) do produto 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilvalil)primaquina, ilustrativos dos restantes. Tanto estes espectros como todos os outros foram compatíveis com as estruturas esperadas, confirmando inequivocamente a identidade dos produtos pretendidos.

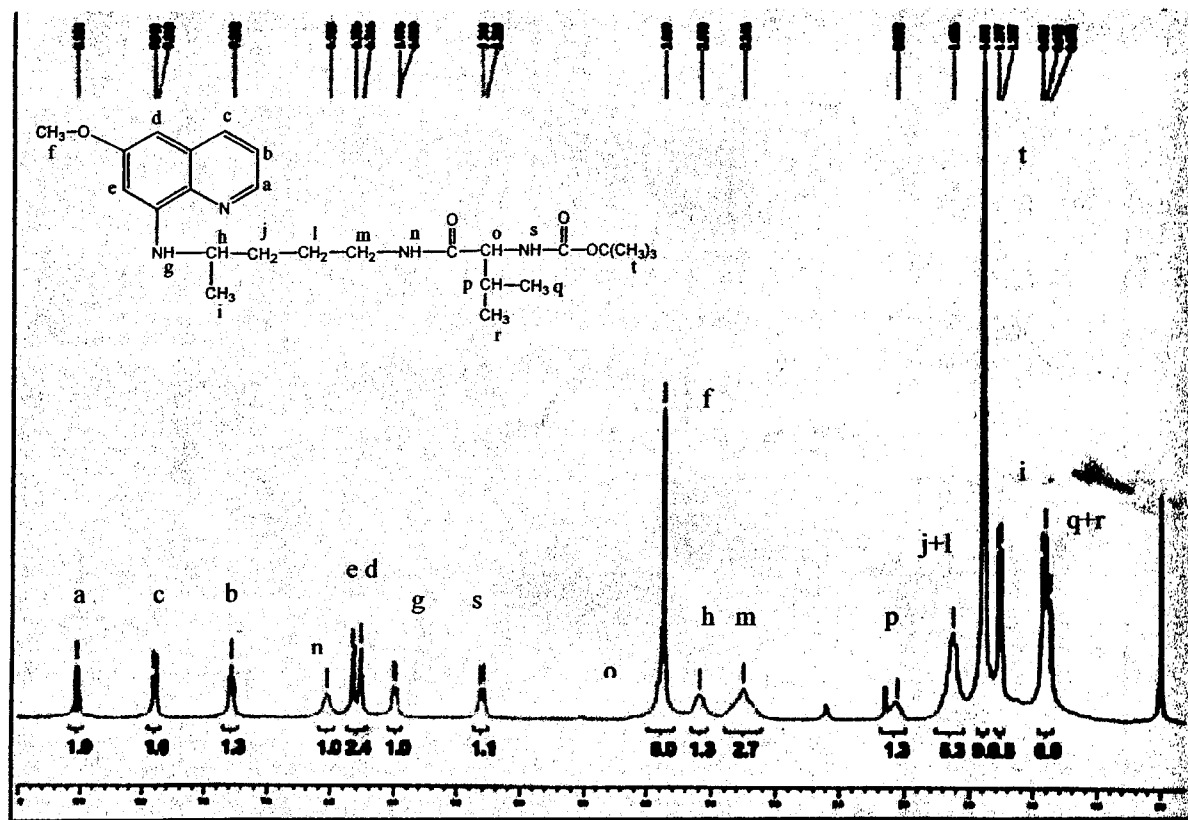


Figura 15: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN da 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilvalil)primaquina em  $\text{CDCl}_3$

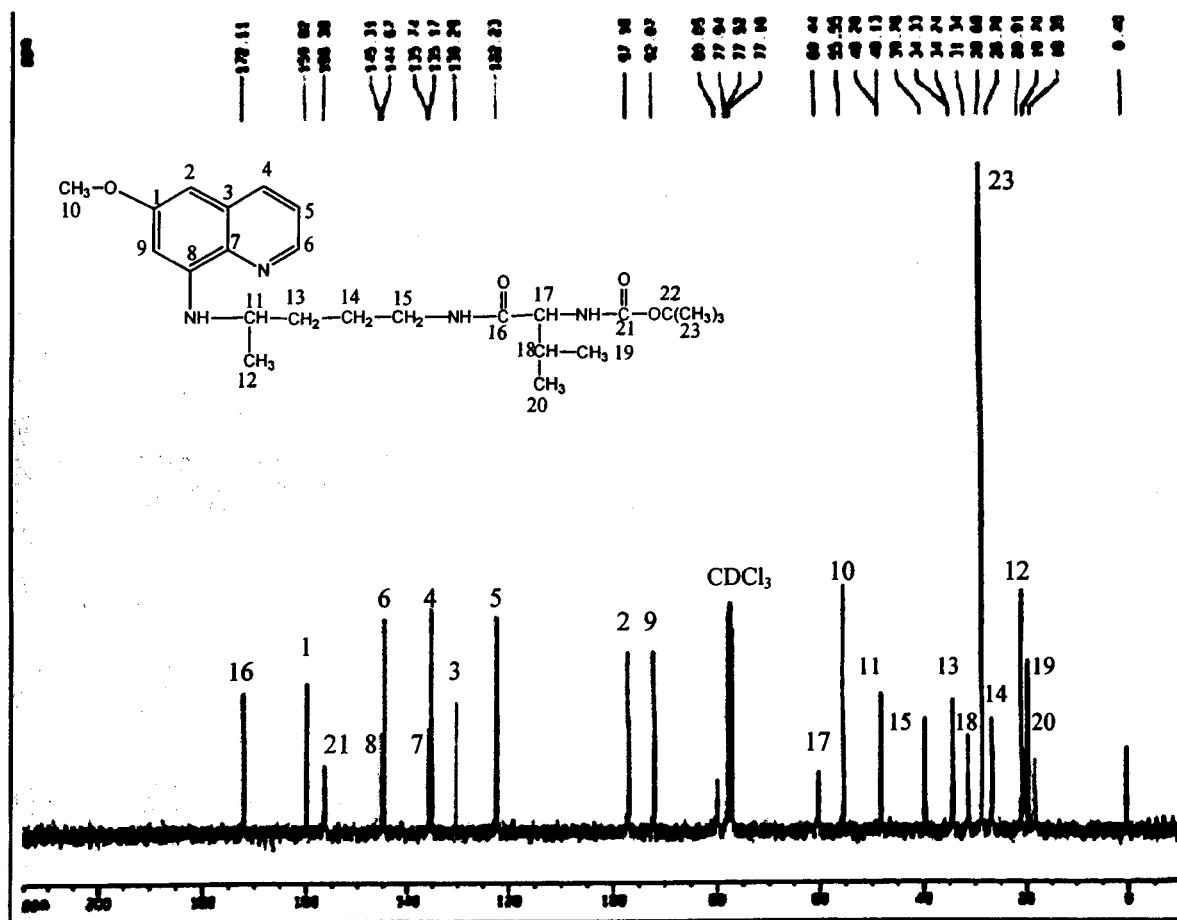


Figura 16: Espectro de <sup>1</sup>H-RMN da 4'-N-(*tert*-butiloxycarbonilvalil)primaquina em CDCl<sub>3</sub>

## 5.2. Remoção do grupo Boc por acidólise com ácido trifluoroacético

Realizaram-se várias reacções de remoção do grupo Boc dos derivados da primaquina obtidos anteriormente, com ácido trifluoroacético. Os rendimentos globais obtidos foram reprodutíveis para o mesmo procedimento experimental e encontram-se resumidos na Tabela II, que inclui outras observações experimentais.

| Composto inicial  | Produto obtido             | Tempo reacção (Horas) | R <sub>f</sub> (sistema de eluentes) | Aspecto do produto   | Rendimento (%) |
|---|----------------------------|-----------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------|
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilglicil) primaquina      | 4'-N- glicilprimaquina     | 2                     | 0.06(B)                              | Óleo amarelo torrado | 95,6           |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilalanil) primaquina      | 4'-N-alanilprimaquina      |                       | 0.06(C)                              |                      | 87,3           |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil) primaquina       | 4'-N-valilprimaquina       |                       | 0.03(C)                              |                      | 94,4           |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilfenilalanil) primaquina | 4'-N-fenilalanilprimaquina |                       | 0.04(C)                              |                      | 88,2           |

Tabela II: Resultados obtidos para a reacção de remoção do grupo Boc com TFA.

A remoção do grupo Boc por acidólise com TFA é uma reacção quantitativa, facto que se evidenciou nos rendimentos observados para as desprotecções dos compostos 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilglicil)primaquina e 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilvalil)primaquina. No entanto, os rendimentos da remoção do grupo Boc nos compostos 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilalanil)primaquina e 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilfenilalanil)primaquina foram um pouco mais baixos. Este facto deveu-se provavelmente a maiores perdas de produto nas diversas operações realizadas para isolar os derivados neutros, nomeadamente, extracções e filtração após secagem com sulfato de magnésio anidro.

O decurso das reacções de remoção foi acompanhado por TLC, técnica que permitiu também confirmar que os compostos obtidos eram cromatograficamente homogéneos.

Os derivados desprotegidos foram igualmente caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear e espectrometria de massa de alta resolução.

À semelhança do que se fez no ponto anterior, apresentam-se apenas os espectros de um dos compostos como exemplo representativo de todos os restantes, cujos dados se encontram descritos na Parte Experimental.

O espectro de massa obtido para a 4'-N-valilprimaquina apresenta-se na Figura 17 e é totalmente compatível com o valor esperado para a razão  $m/z$  da espécie  $MH^+$  (359,49 u.m.a).

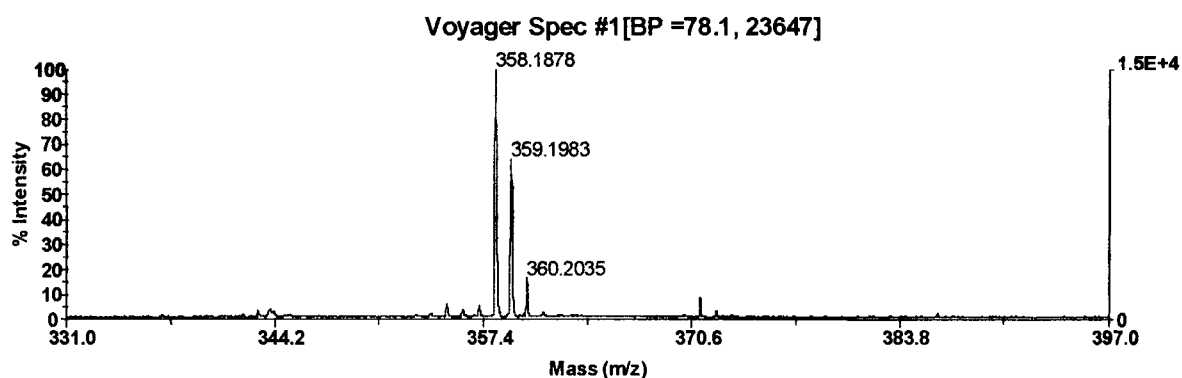


Figura 17: Espectro de massa da 4'-N-valilprimaquina (MM=358,49 u.m.a.)

Os espectros de  $^1H$ -RMN e de  $^{13}C$ -RMN do produto 4'-N-valilprimaquina, apresentam-se nas Figuras 18 e 19, respectivamente. Tanto estes espectros como os correspondentes aos restantes derivados desprotegidos apresentaram-se compatíveis com as estruturas esperadas. Assim, foi também possível confirmar a identidade de todos os derivados desprotegidos preparados, comprovando o êxito deste passo sintético.

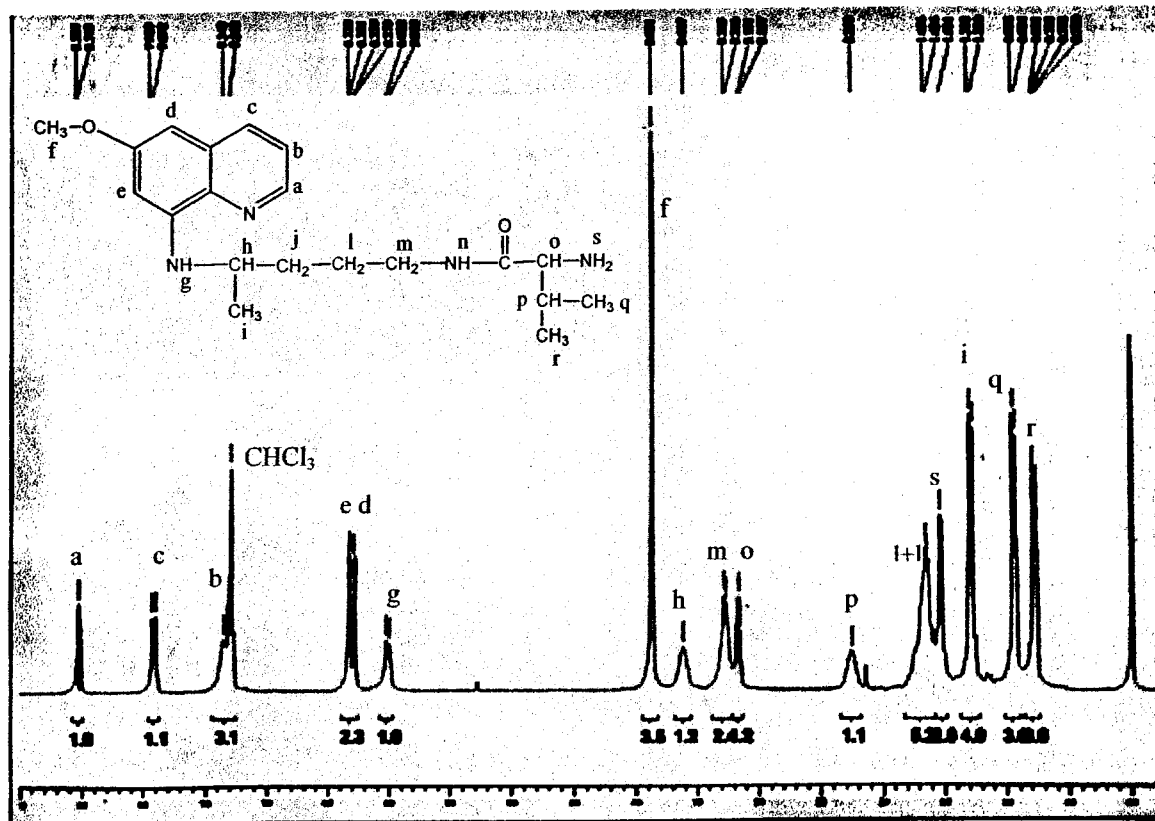


Figura 18: Espectro de <sup>1</sup>H-RMN da 4'-N-valilprimaquina em CDCl<sub>3</sub>

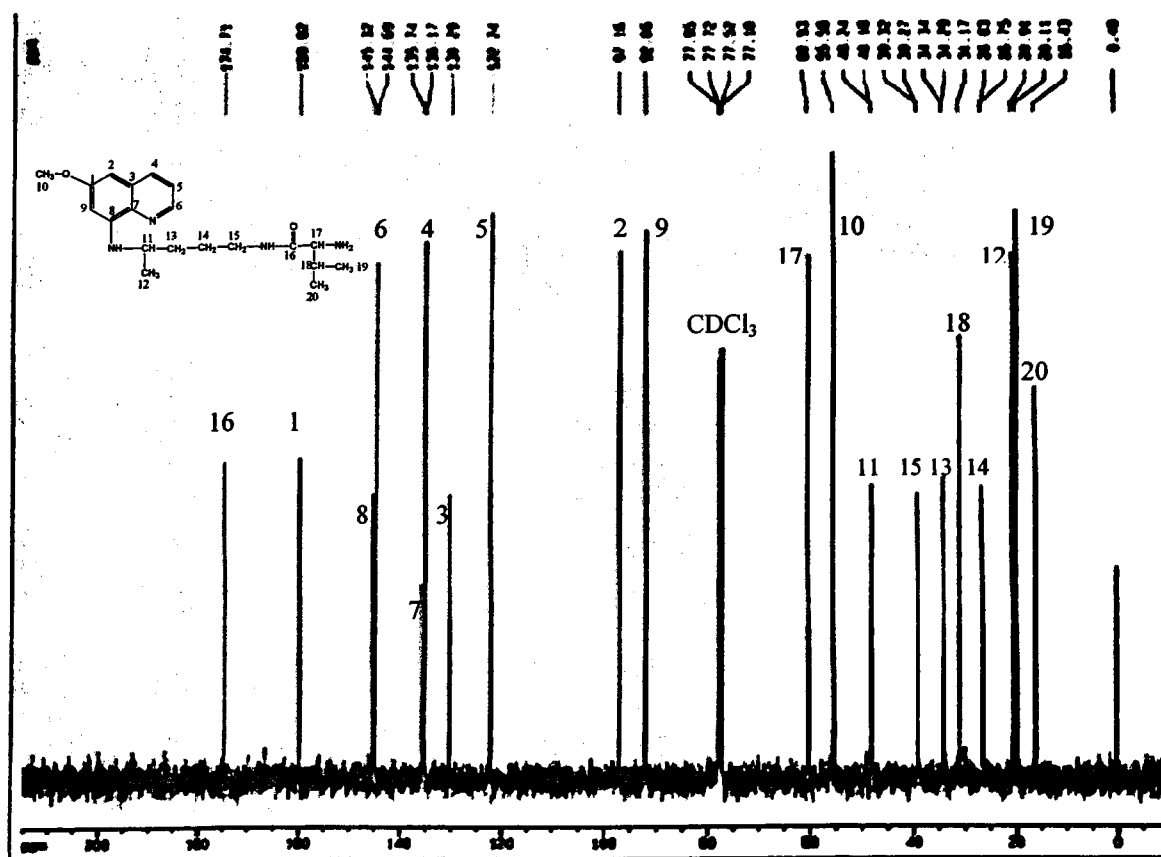


Figura 19: Espectro de <sup>13</sup>C-RMN da 4'-N-valilprimaquina em CDCl<sub>3</sub>

## 5.3. Síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina, derivadas de cetonas cíclicas

Na Tabela III encontram-se os resultados das sínteses de 4-imidazolidinonas obtidas por ciclização dos derivados da primaquina preparados anteriormente com ciclohexanona, ciclopentanona e cicloheptanona:

| Composto inicial           | Cetona utilizada | Produto obtido   | Tempo reacção (Dias) | R <sub>f</sub> (sistema de eluentes) | Aspecto do produto   | Rendimento (%) |
|----------------------------|------------------|--|----------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------|
| 4'-N- glicilprimaquina     | ciclohexanona    | 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona             | 3                    | 0,28(E)                              | Óleo amarelo torrado | 74,7           |
| 4'-N-alanilprimaquina      |                  | 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona      |                      | 0,44(E)                              | Óleo amarelo torrado | 69,2           |
| 4'-N-valilprimaquina       |                  | 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona  |                      | 0,20(I)                              | Óleo amarelo         | 62,5           |
| 4'-N-fenilalanilprimaquina |                  | 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona     |                      | 0,37(H)                              | Óleo amarelo         | 69,1           |
| 4'-N- glicilprimaquina     | ciclopentanona   | 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona            | 3                    | 0,16(P)                              | Óleo amarelo         | 50,4           |
| 4'-N-alanilprimaquina      |                  | 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona     |                      | 0,41(L)                              | Óleo amarelo torrado | 61,2           |
| 4'-N-valilprimaquina       |                  | 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona |                      | 0,33(O)                              | Óleo amarelo         | 55,0           |
| 4'-N-fenilalanilprimaquina |                  | 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona    |                      | 0,33(G)                              | Óleo amarelo torrado | 58,6           |
| 4'-N-valilprimaquina       | cicloheptanona   | 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona | 3                    | 0,46(I)                              | Óleo amarelo         | 47,9           |
| 4'-N-fenilalanilprimaquina |                  | 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona    |                      | 0,44(I)                              | Óleo amarelo         | 50,2           |

Tabela III: Resultados obtidos para a síntese de 4-imidazolidinonas por ciclização com cetonas cíclicas.

Os rendimentos globais das diferentes ciclizações efectuadas situaram-se entre os 50 e os 70%, evidenciando que se tratam de reacções com extensão apreciável. Como se pôde observar, os valores de rendimento foram maiores no caso das ciclizações com ciclohexanona, seguindo-se os relativos às reacções com ciclopentanona e, por fim, os correspondentes às ciclizações com cicloheptanona. Esta observação poder-se-á explicar em termos de flexibilidade e tamanho dos anéis das cetonas usadas. Assim, os menores rendimentos associados às ciclizações com cicloheptanona poder-se-ão dever ao grande tamanho do anel de sete lados a incorporar à molécula. Por outro lado, a maior tensão verificada em anéis de cinco carbonos relativamente aos de seis, poderá estar na origem de uma menor flexibilidade, logo, menor reactividade da ciclopentanona relativamente à ciclohexanona.

Observando os valores de rendimento obtidos para o caso da ciclização com ciclohexanona, verificou-se que foi maior no caso da síntese da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona, uma vez que o grupo R da glicina (R=H) é menos volumoso do que o dos restantes  $\alpha$ -aminoácidos, sendo portanto mais fácil a sua aproximação ao anel da cetona e posterior formação do anel de 4-imidazolidinona. Já no caso da ciclização com ciclopentanona, constatou-se que, neste caso, o derivado 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona era o que apresentava menor rendimento. Este facto poder-se-á dever a uma separação cromatográfica mais difícil, devido ao produto ficar mais retido na coluna, o que se traduziu no menor rendimento observado.

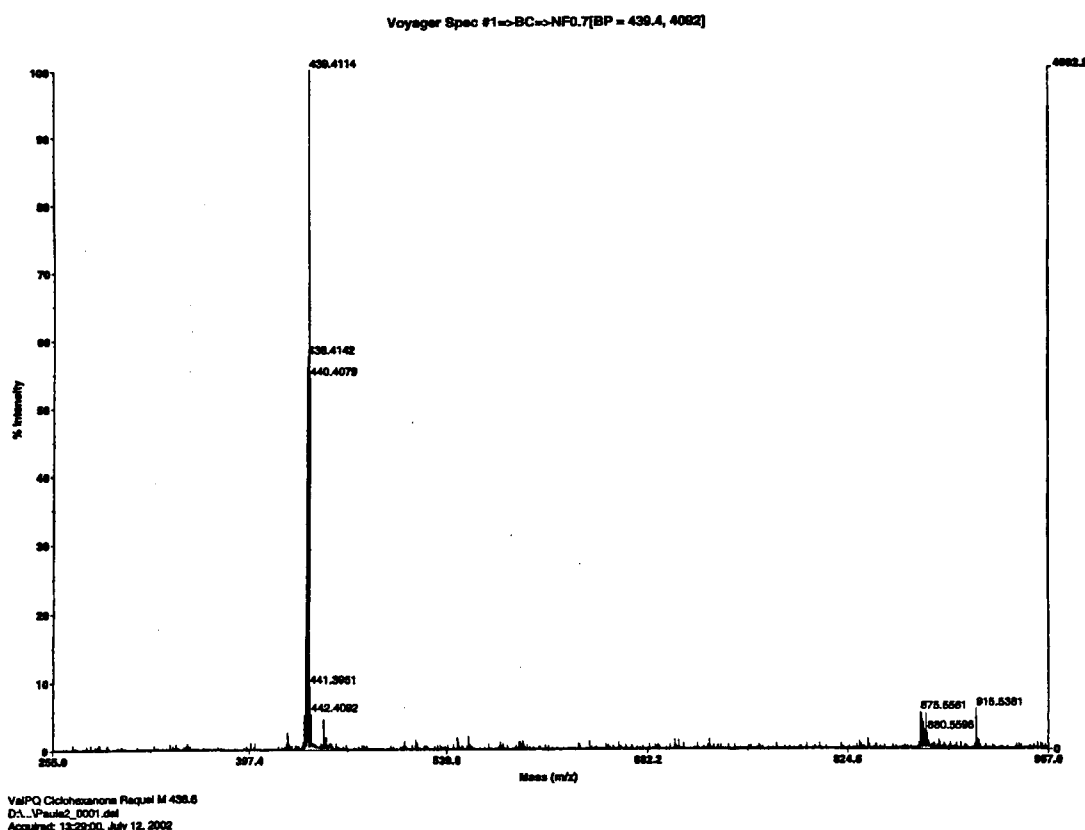
Apesar de fazer parte dos objectivos do presente trabalho, as sínteses da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona e da 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona não foram concluídas dentro do período de preparação desta dissertação.

O decurso das ciclizações foi acompanhado por TLC, tendo-se verificado que, nas sínteses das 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona, 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona, 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona, 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona e 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona, as respectivas manchas aumentaram ao longo de três dias sem surgimento de outras manchas de eventuais produtos secundários. Quanto às sínteses das restantes 4-imidazolidinonas, verificou-se que ao fim de dois dias as respectivas manchas não aumentavam visivelmente, pelo que se resolveu parar as

reações. De notar que em todas as ciclizações foi adicionado mais um equivalente da respectiva cetona após as primeiras 24 horas de reacção.

Todos os produtos finais apresentaram-se como óleos amarelados cromatograficamente homogêneos após uma etapa purificativa por cromatografia líquida em coluna com gel de sílica.

A caracterização estrutural dos compostos cíclicos preparados foi igualmente feita por Ressonância Magnética Nuclear e por espectrometria de massa de alta resolução (MALDI-TOF), encontrando-se os dados espectrais de cada composto registados na Parte Experimental. À semelhança do que se fez nos pontos 5.1. e 5.2., reproduzem-se alguns dos espectros de massa e de RMN, a título de exemplo. Assim, apresentam-se, por esta ordem, os espectros de massa das 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona (Figura 20), 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona (Figura 21) e 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona (Figura 22) ilustrativos dos correspondentes aos restantes compostos cíclicos.



**Figura 20:** Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona (MM=438,62 u.m.a.)

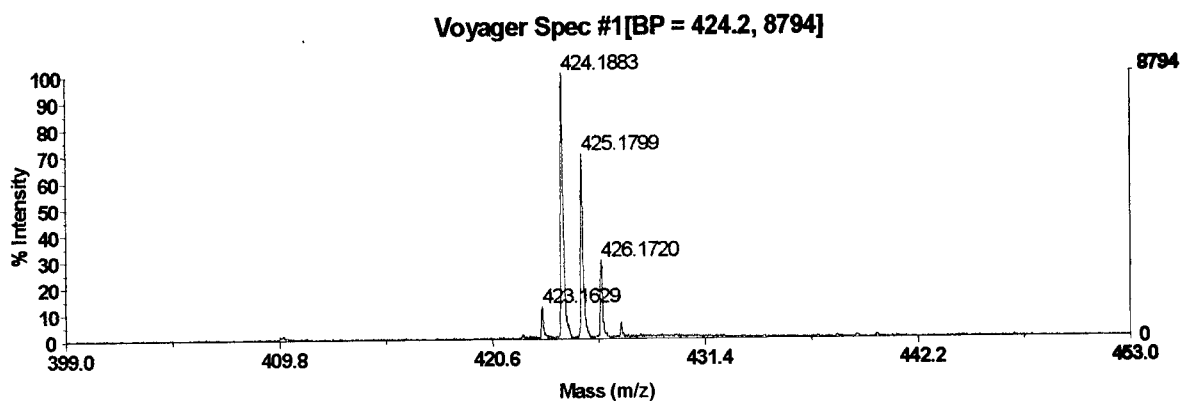


Figura 21: Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona (MM=424,59 u.m.a.)

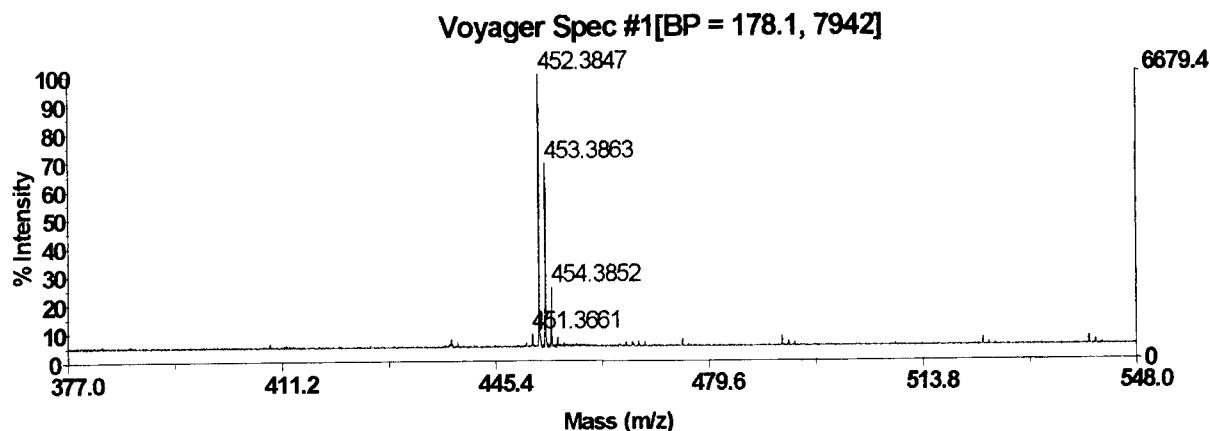


Figura 22: Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona (MM=452,64 u.m.a.)

Como se pode observar nas figuras acima, os espectros de massa obtidos pela técnica de MALDI-TOF são perfeitamente compatíveis com as massas moleculares dos produtos analisados.

Nas páginas seguintes estão representados exemplos de espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (Figuras 23,25,27) e de  $^{13}\text{C}$ -RMN (Figuras 24,26,28) para estes mesmos compostos. Mais uma vez, os espectros de RMN foram compatíveis com as estruturas esperadas, denotando-se algumas impurezas que se veio a verificar terem origem nos eluentes utilizados para cromatografia em coluna.

Todos os espectros de RMN e de massa dos compostos preparados confirmaram inequivocamente a identidade dos produtos como sendo as 4-imidazolidinonas pretendidas.

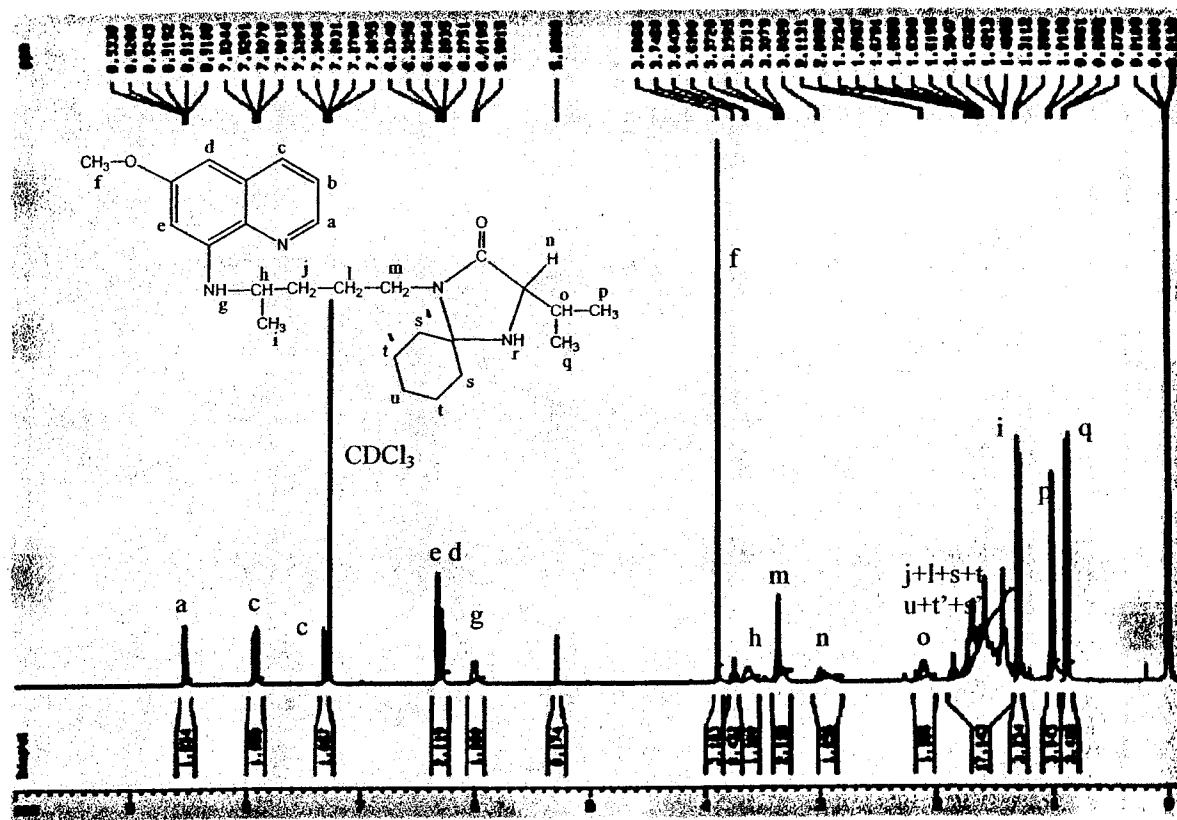


Figura 23: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona em  $\text{CDCl}_3$

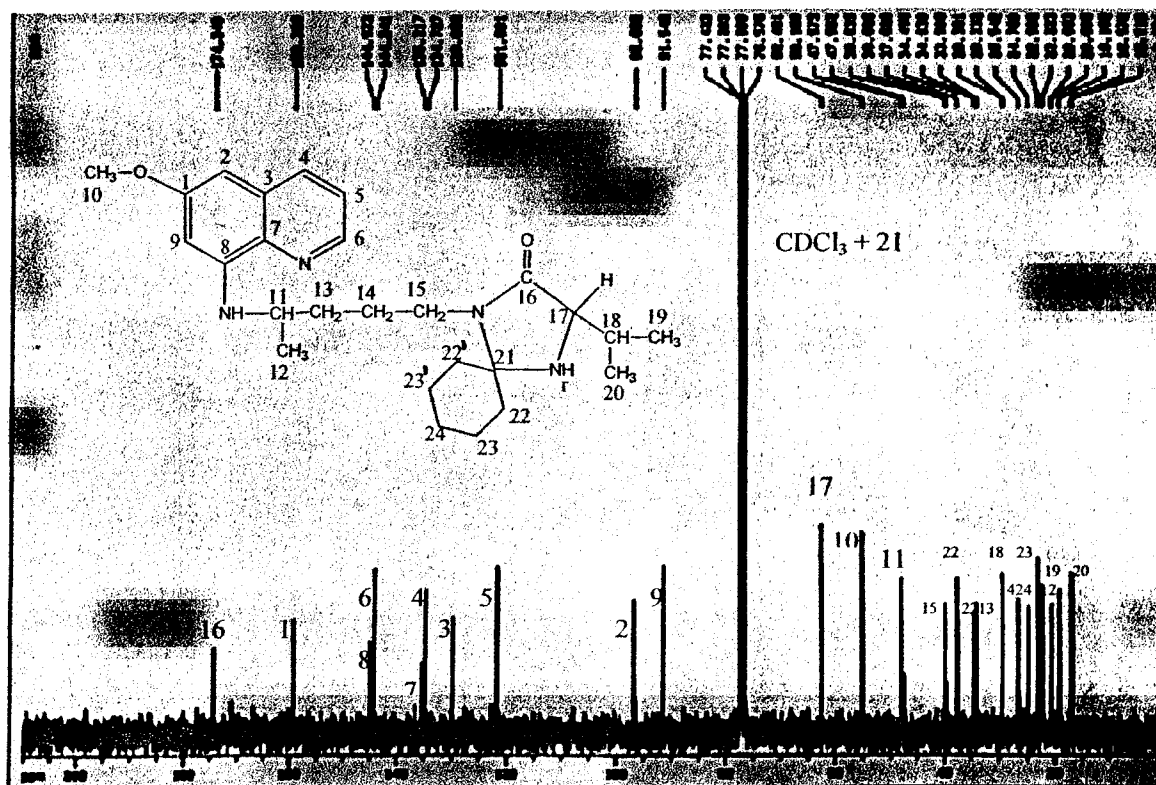


Figura 24: Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona em  $\text{CDCl}_3$

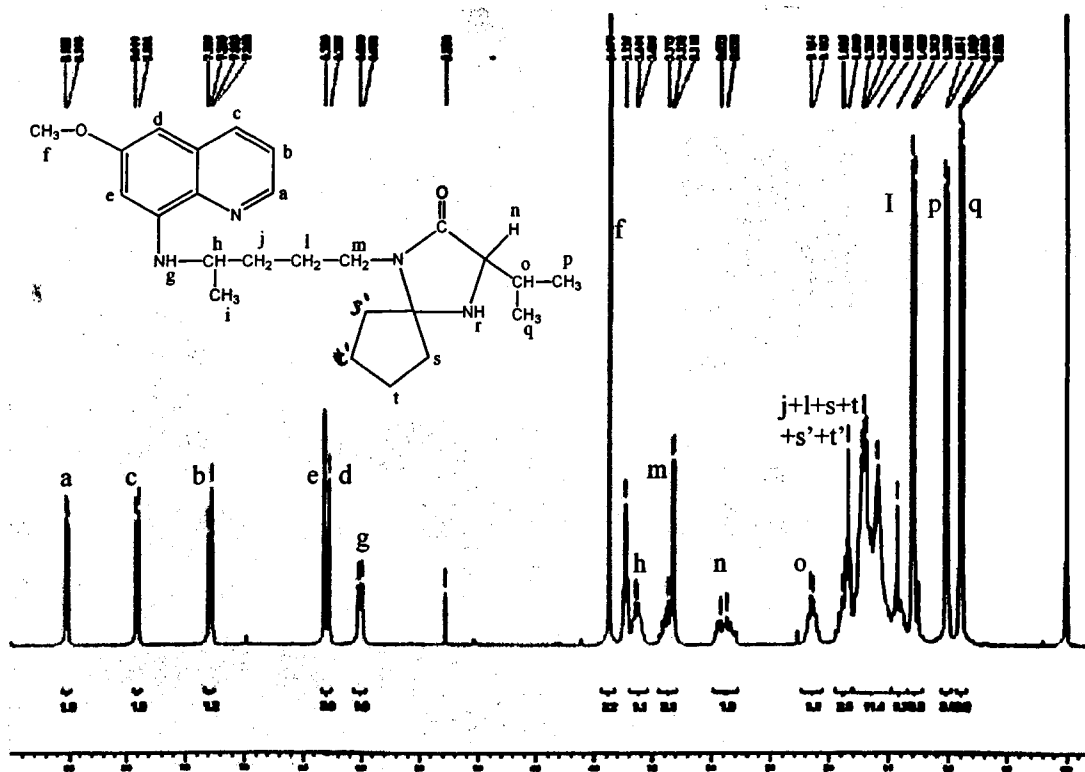


Figura 25: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona em  $\text{CDCl}_3$

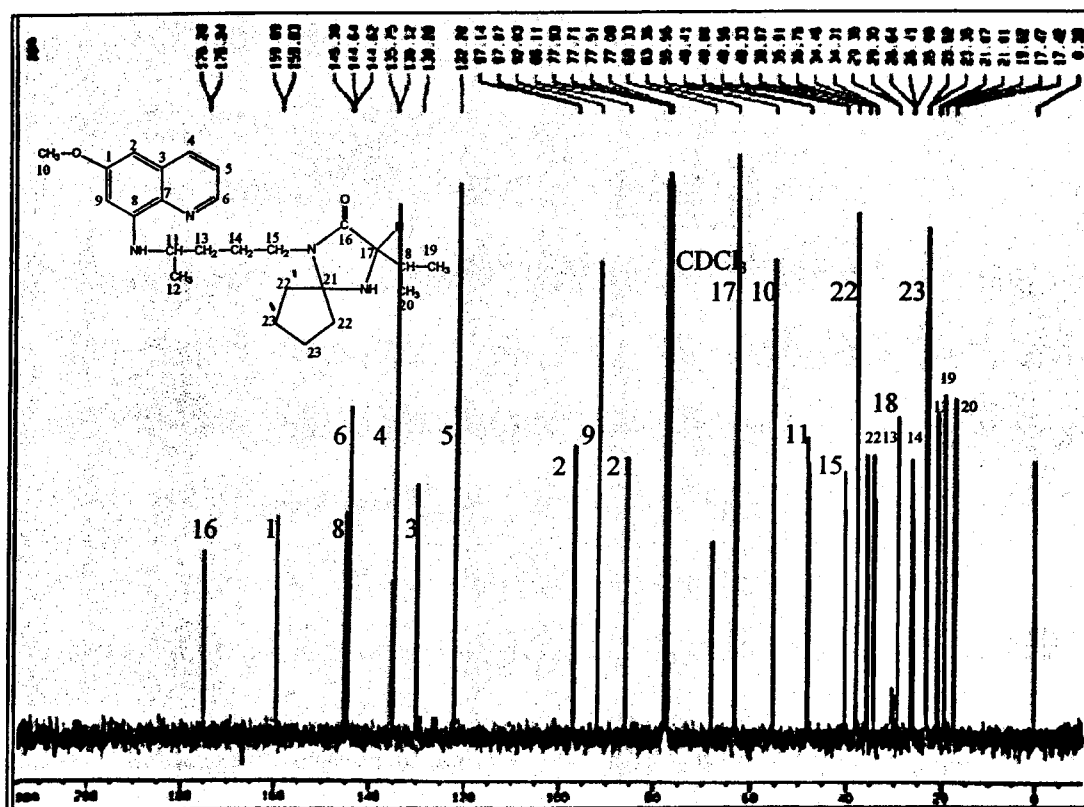


Figura 26: Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona em  $\text{CDCl}_3$

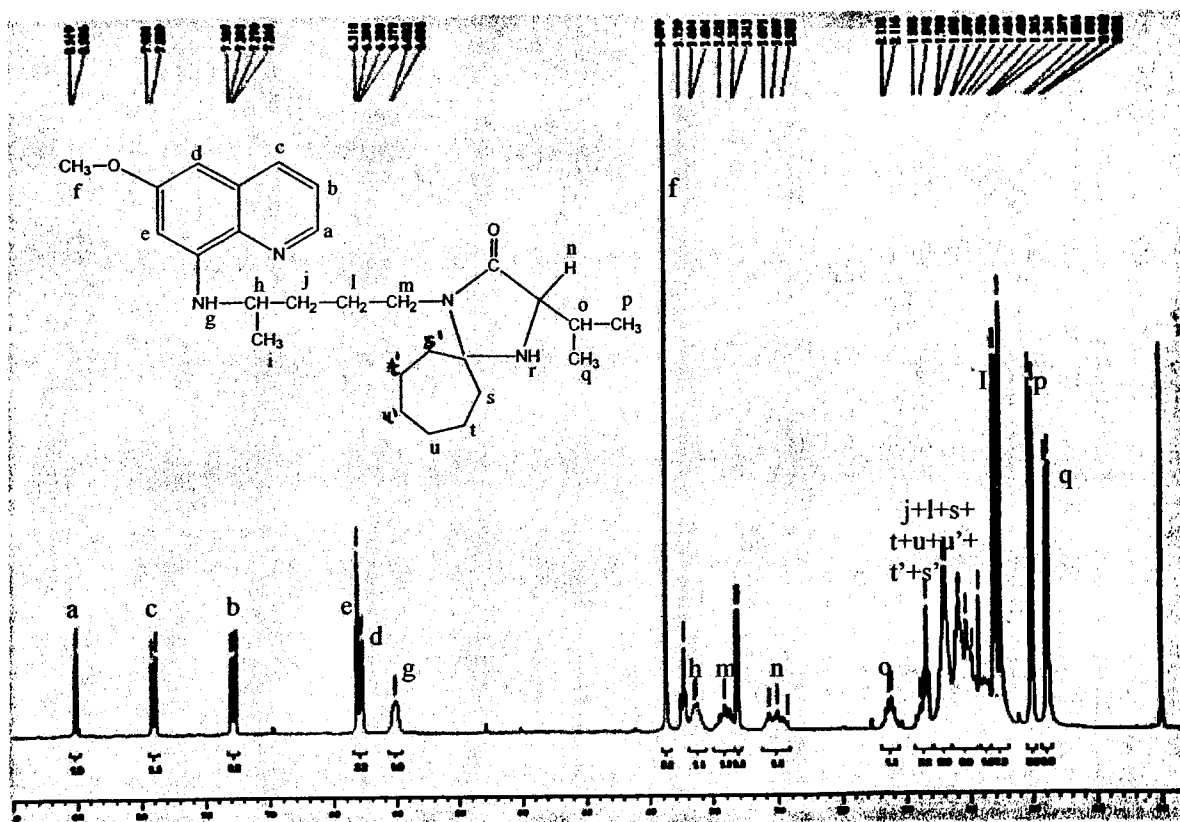


Figura 27: Espectro de <sup>1</sup>H-RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclooctano-4-imidazolidinona em CDCl<sub>3</sub>

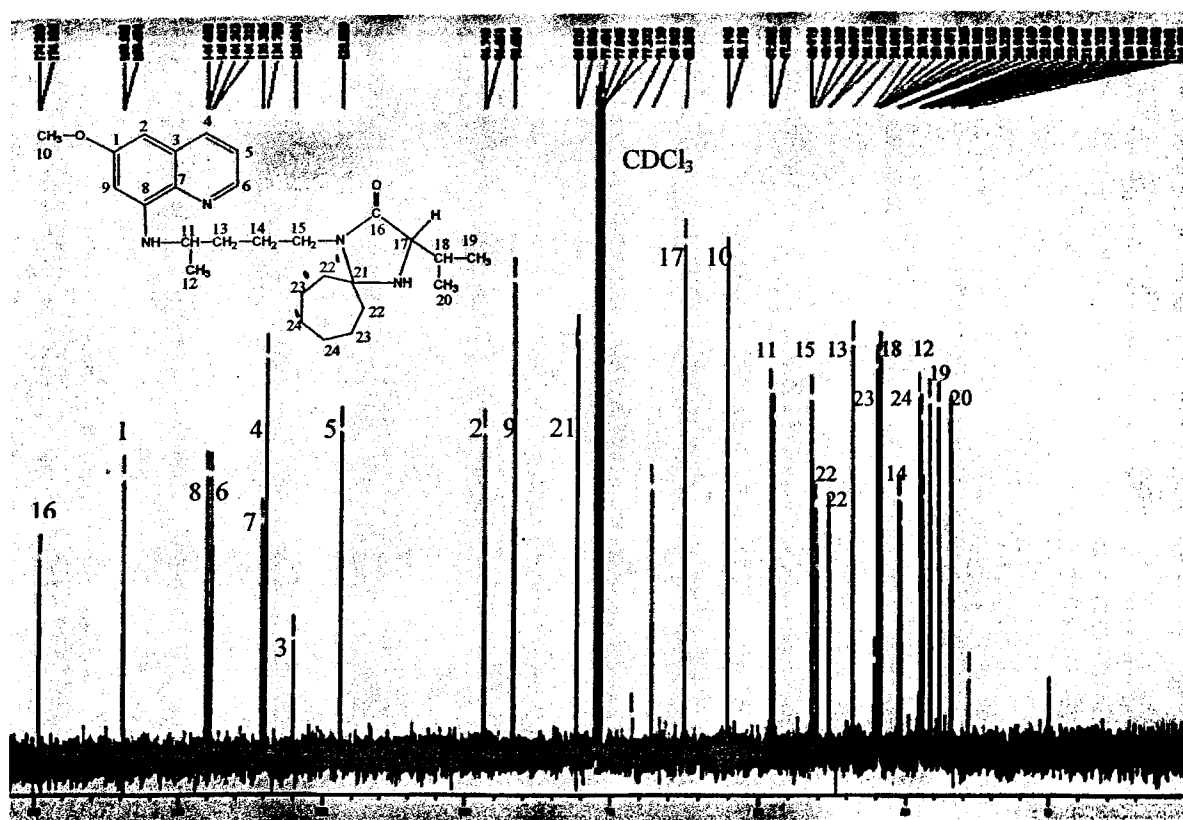


Figura 28: Espectro de <sup>13</sup>C-RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclooctano-4-imidazolidinona em CDCl<sub>3</sub>

#### 5.4. Preparação de sais hidrossolúveis das 4-imidazolidinonas sintetizadas

Uma vez sintetizadas e positivamente identificadas as 4-imidazolidinonas pretendidas, procedeu-se à preparação de sais hidrossolúveis das mesmas. A conversão das 4-imidazolidinonas em formas hidrossolúveis visou a preparação de soluções daquelas em tampões aquosos adequados, para estudos do perfil farmacocinético e de actividade biológica destes compostos.

Testou-se em primeiro lugar a preparação de metanossulfonatos obtidos por reacção das 4-imidazolidinonas com uma solução de ácido metanossulfónico em éter etílico anidro. Apenas se prepararam os metanossulfonatos das 4-imidazolidinonas derivadas da cicloexanona, conseguindo-se a precipitação de um sal sólido unicamente no caso da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona. Os restantes metanossulfonatos precipitaram como pastas espessas de cor alaranjada, tendo-se optado por abandonar este procedimento e tentar, alternativamente, preparar fosfatos das 4-imidazolidinonas.

Os fosfatos foram preparados por adição de ácido fosfórico em etanol a soluções etanólicas das 4-imidazolidinonas recuperadas após neutralização dos metanossulfonatos preparados em primeiro lugar. Mais uma vez, não houve precipitação imediata de fosfatos sólidos, observando-se apenas solidificação dos compostos (3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona e 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona), após dois meses em exsiccador. No entanto, estes sólidos eram muito higroscópicos, apresentando deliquescência.

Atendendo às dificuldades observadas nas tentativas de preparação de metanossulfonatos e fosfatos sólidos, estudou-se a possibilidade de preparar os citratos das 4-imidazolidinonas em estudo.

Assim, prepararam-se os citratos de todas as 4-imidazolidinonas sintetizadas por adição de uma solução de ácido cítrico em éter etílico anidro. Desta feita, os sais precipitaram facilmente como sólidos de cor amarelo-alaranjada intensa, não apresentando deliquescência nem carácter higroscópico aparente.

Os citratos foram posteriormente enviados para o Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e para o Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa, para aí serem efectuados estudos farmacocinéticos e biológicos, respectivamente.

Recentemente, e já durante a redacção desta Dissertação, verificou-se não ser estritamente necessário preparar sais das 4-imidazolidinonas, uma vez que estas últimas são solúveis, mesmo na forma neutra, nos meios utilizados para a realização dos estudos farmacocinéticos e biológicos.

## 6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Neste trabalho experimental propôs-se aplicar cetonas cíclicas (ciclohexanona, ciclopentanona e cicloheptanona) na preparação de 4-imidazolidinonas da primaquina, as quais se apresentam como potenciais pró-fármacos da primaquina, cuja aplicabilidade na quimioterapia da malária será oportunamente testada.

Os métodos de síntese utilizados para a condensação da primaquina com  $\alpha$ -aminoácidos  $N^{\alpha}$ -Boc-protégidos revelaram-se adequados, conduzindo a excelentes resultados. O mesmo se pode afirmar quanto às reacções de remoção do grupo  $N^{\alpha}$ -protector, *tert*-butiloxicarbonilo, e às reacções de ciclização dos derivados desprotégidos com as cetonas ciclohexanona, ciclopentanona e cicloheptanona.

Os produtos pretendidos foram eficazmente purificados e identificados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e por espectrometria de massa de alta resolução.

Os resultados globais deste trabalho podem considerar-se bons, esperando-se que venham a revelar-se úteis não só no desenvolvimento de novas estratégias para a terapia da malária, como também no estabelecimento de novas metodologias de síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina.

A evolução futura deste trabalho, a curto e a mais longo prazo, passará provavelmente pelos seguintes pontos:

- Conclusão das sínteses dos derivados da 4'-N-glicilprimaquina e da 4'-N-alanilprimaquina resultantes da ciclização com cicloheptanona;
- Estudo de diferentes condições de síntese e isolamento, no sentido de otimizar os rendimentos das ciclizações e a eficácia das purificações;
- Alargamento do projecto de investigação a novos derivados, usando outros  $\alpha$ -aminoácidos, e outros compostos carbonílicos;
- Estudo da síntese de 4-imidazolidinonas resultantes da ciclização de dipeptidilprimaquinas no primeiro ou no segundo  $\alpha$ -aminoácido, por forma a avaliar a influência desta na actividade terapêutica dos derivados obtidos.

Recentes estudos farmacocinéticos, em tampão a pH fisiológico e em plasma humano, de alguns dos compostos preparados, evidenciaram que estes são demasiado estáveis para terem aplicação como pró-fármacos.

No entanto, foram já realizados testes biológicos sobre esses mesmos compostos, os quais manifestaram actividades antimaláricas comparáveis às da própria primaquina. Estes resultados, provenientes de ensaios *in vivo*, usando o vector natural (mosquitos *Anopheles*) e um mamífero hospedeiro (rato), revestem-se de particular importância. De facto, a notável actividade antimalárica revelada pelas 4-imidazolidinonas testadas, parece indicar que estamos na presença de uma nova família de fármacos antimaláricos.

*PARTE EXPERIMENTAL*

## 7. PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1. Notas Gerais

Os solventes utilizados para a realização das reacções foram todos de qualidade pró-análise. Sempre que necessário, foram utilizados solventes secos sobre filtros moleculares (4 Å, da Merck), sendo estes previamente activados por aquecimento numa mufla a 300°C durante 24 horas.

Para o seguimento das reacções, recorreu-se à técnica de cromatografia em camada fina (TLC), que possibilitou também a confirmação da homogeneidade cromatográfica dos compostos preparados. Utilizaram-se, para isso, placas de alumínio recobertas com gel de sílica 60 F<sub>254</sub> da Merck, sensíveis à luz ultravioleta de comprimento de onda 254 nm. Os cromatogramas foram revelados por irradiação com luz UV a 254 nm (lâmpada UV: CN-6, da Vilben Lourmat), e também por pulverização com uma solução de dicarboxidina, após exposição das placas a atmosfera de cloro<sup>50</sup>. As manchas reveladas por este método apresentaram uma coloração avermelhada, que era tanto mais intensa quanto maior a concentração do composto presente.

Para a purificação dos compostos obtidos, utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de adsorção em coluna, com coluna de vidro de dimensão 45×3 cm. Utilizou-se gel de sílica chromagel 60 A da SDS (tamanho das partículas: 35-70µm, pH=7, superfície mássica 550 m<sup>2</sup>/g) como fase estacionária, previamente suspensa no eluente a utilizar. A eluição e recolha de fracções de eluato foram feitas manualmente.

Os sistemas de solventes utilizados na eluição, quer em placa, quer em coluna, constam da Tabela IV:

| Sistemas de eluentes | Composição (solventes e respectiva proporção volumétrica) |
|----------------------|---|
| A                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH 10:1               |
| B                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / EtOH 15:1               |
| C                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / Me <sub>2</sub> CO 4:1  |
| D                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / Me <sub>2</sub> CO 7:1  |
| E                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / Me <sub>2</sub> CO 10:1 |
| F                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / Me <sub>2</sub> CO 15:1 |
| G                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 2:1                 |
| H                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 5:1                 |
| I                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 8:1                 |
| J                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 10:1                |
| L                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 15:1                |
| M                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 20:1                |
| N                    | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / THF 1:5                 |

Tabela IV: Sistema de eluentes cromatográficos utilizados.

Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida em evaporador rotativo Büchi B-169.

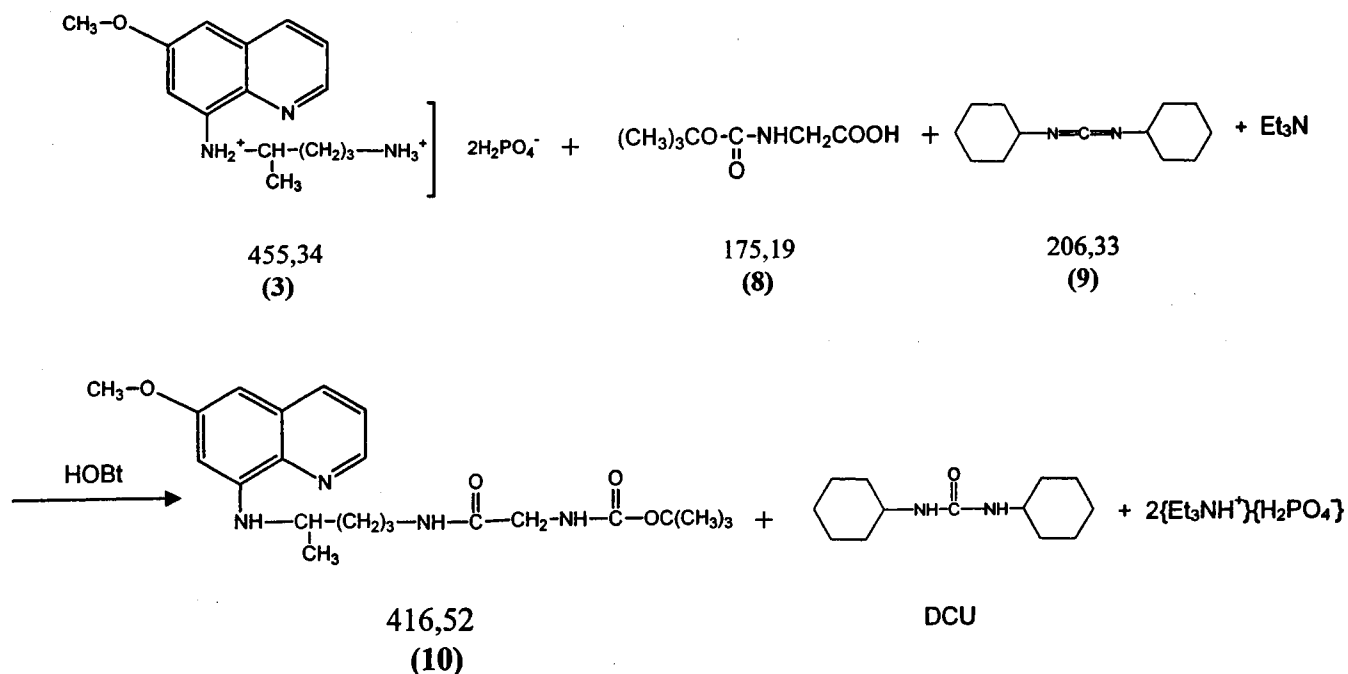
Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de protão ( $^1\text{H}$ -RMN) e de carbono13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) dos diferentes compostos foram traçados, alternativamente, em espectrómetro (300 MHz) do Departamento de Química da Universidade Aberta do Reino Unido (Doutor Jim Iley), espectrómetro Brücker AMX (300 MHz) do Departamento de Química da Universidade de Aveiro (Dr. Hilário Tavares), espectrómetro Brücker (200 MHz) do Departamento de Química da Faculdade de ciências da Universidade do Porto (Dra. Adelina Macedo) e espectrómetro Brücker AMX (300 MHz) da Universidade de Santiago de Compostela (R.I.A.I.D.T., serviço de RMN).

Os desvios químicos observados foram registados relativamente ao padrão interno tetrametilsilano (TMS) e obtidos de soluções dos compostos em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

Os dados referentes a cada espectro de protão encontram-se especificados do seguinte modo: desvio químico (em ppm), multiplicidade do sinal (s-singuleto, sl-singuleto largo, d-duplete, dd-duplo duplete, ds-dupletos sobrepostos, t-triplete, m-multiplete e ms-multipletos sobrepostos), área relativa do sinal (nH ou  $n^\circ$  de protões), localização do protão na molécula.

A análise dos produtos finais por espectrometria de massa de alta resolução MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption ionization – time-of-flight) foi realizada pela Doutora Eliandre de Oliveira no Departamento de Química Orgânica da Universidade de Barcelona, em espectrómetros Finnigan MAT Lasermat 2000 ou Brücker II Biflex, utilizando-se como matrizes, alternativamente, ácido 2,5-diidroxibenzóico (DHB), antraceno e ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico (ACH).

As suspensões dos citratos das 4-imidazolidinonas da primaquina precipitados em éter etílico, foram centrifugadas a 3000 r.p.m e a  $0^\circ\text{C}$ , em centrífuga Centurion (série K<sub>2</sub>R).

7.2. Condensação da primaquina com aminoácidos N<sup>α</sup>-Boc-protégidos7.2.1. Síntese da 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilglicil) primaquina

A uma suspensão de sal de primaquina (3) (1,08g; 2,37mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (20,0 mL), adicionou-se Et<sub>3</sub>N (1,3 mL; 9,4mmol) de modo a que o bisdiidrogenofosfato de primaquina se dissolvesse. A mistura foi mantida com agitação magnética em banho de gelo e ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

Em seguida adicionou-se Boc-Gly-OH (8) (0,64g; 3,7mmol), HOBt (0,35g; 2,6 mmol) e uma solução de DCCI (9) (0,58g; 2,8mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10,0 mL). Deixou-se a mistura reaccional sempre sob agitação magnética durante cerca de 2 horas, em banho de gelo e ao abrigo da luz, continuando-se depois a reacção à temperatura ambiente durante 2 dias.

Adicionou-se novamente uma solução de DCCI (9) (0,53g; 2,6mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10,0 mL) e deixou-se a reacção decorrer como anteriormente, durante mais 3 dias.

Filtrou-se a mistura obtida, levou-se o filtrado à secura, e dissolveu-se o resíduo em acetona a quente, tendo-se colocado a solução obtida no frigorífico durante 24 h. Repetiu-se todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(C) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  4:1.

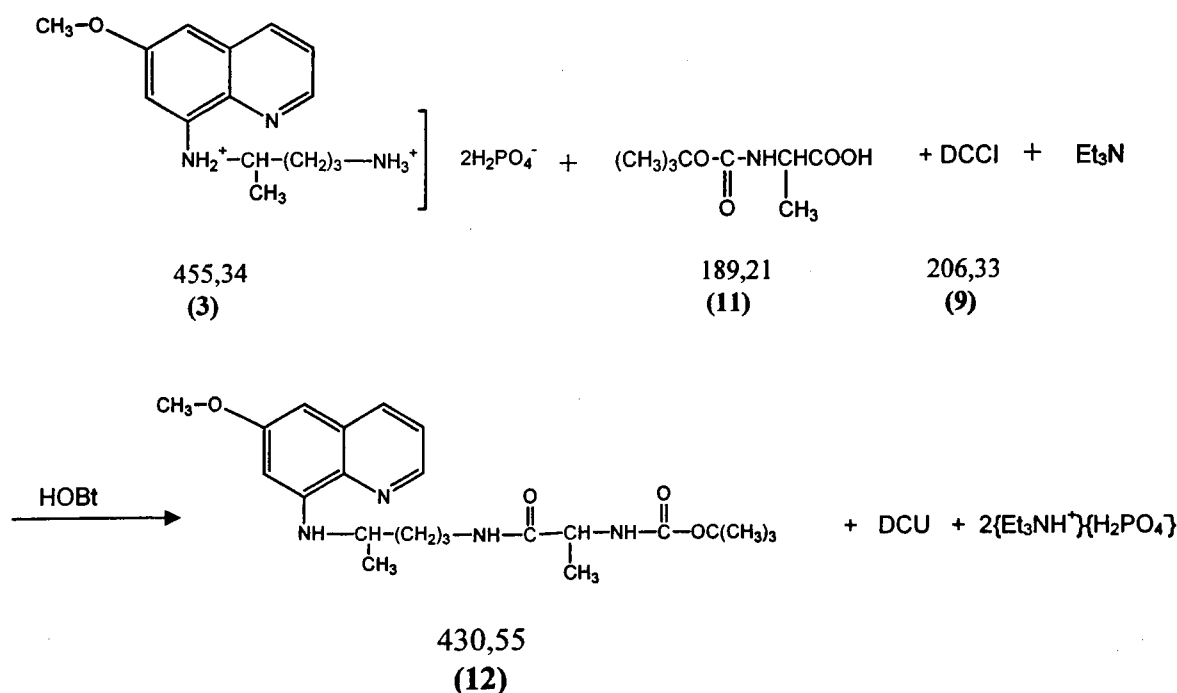
Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso amarelo torrado (0,95g) que por TLC(C) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(10)=0,56$ .

$\delta_H$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 8,50 (dd, 1H,  $J=4,20\text{Hz}$ ,  $J=1,47\text{Hz}$ , Ar); 7,90 (dd, 1H,  $J=8,22\text{Hz}$ ,  $J=1,65\text{Hz}$ , Ar); 7,28 (dd, 1H,  $J=8,22\text{Hz}$ ,  $J=4,20\text{Hz}$ , Ar); 6,31 e 6,24 (2d, 2H,  $J=2,56\text{Hz}$ , Ar), 6,17 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{-NH-CO}$ ); 5,97 (m, 1H,  $\text{-NH-CH}$ ); 5,16 (m, 1H,  $\text{-NH-COO}$ ); 3,87 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O-}$ ); 3,72 (d, 2H,  $J=5,88\text{Hz}$ ,  $\text{-NHCO-CH}_2\text{-NHCO-}$ ); 3,61 (m, 1H,  $\text{-CH-}$ ); 3,28 (m, 2H,  $\text{-CH}_2\text{-NHCO}$ ); 1,80 a 1,57 (ms, 4H,  $\text{-CH}_2\text{-}$ ); 1,40 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{-}$ ); 1,27 (d, 3H,  $J=6,24\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3\text{-}$ );.

$\delta_C$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 169,3 (C=O); 156,0 (C=O-O); 159,4 a 91,7 (ArC); 80,2 (C); 55,2 ( $\text{CH}_3\text{O-}$ ); 47,8 ( $\text{-CH-}$ ); 44,4 ( $\text{-NHCO-CH}_2\text{-NHCO-}$ ); 39,3 a 26,2 ( $\text{-CH}_2\text{-}$ ); 28,3 ( $(\text{CH}_3)_3\text{-}$ ); 20,5 ( $\text{CH}_3$ ).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=417,23 (esperado, 417,52).

## 7.2.2. Síntese da 4'-N- (terc-butiloxicarbonilalanil) primaquina



A uma suspensão de sal de primaquina (3) (2,12g; 4,66mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (40,0 mL), adicionou-se  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,3 mL; 9,4mmol) de modo a que o bisdiidrogenofosfato de primaquina se dissolvesse. A mistura foi mantida com agitação magnética em banho de gelo e ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

Em seguida adicionou-se Boc-Ala-OH (11) (1,29g; 6,82mmol), HOBt (0,71g; 5,2mmol) e uma solução de DCCI (9) (1,07g; 5,19mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (20,0 mL). Deixou-se a mistura reaccional sempre sob agitação magnética durante cerca de 2 horas, em banho de gelo e ao abrigo da luz, prolongando-se depois a reacção à temperatura ambiente durante mais 2 dias.

Adicionou-se novamente uma solução de DCCI (9) (1,04g; 5,04mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (20,0 mL) e deixou-se reagir como anteriormente, durante mais 3 dias.

Filtrou-se a mistura obtida, levou-se o filtrado à secura, e dissolveu-se o resíduo em acetona a quente, tendo-se colocado a solução obtida no frigorífico durante 24 h. Repetiu-se todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(E) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  10:1.

Uma vez que o processo não foi eficaz, procedeu-se a uma segunda purificação, usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10:1 como eluente.

Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso amarelo torrado (1,87g) que por TLC(A) se verificou estar cromatograficamente homogêneo:  $R_f(12)=0,68$ .

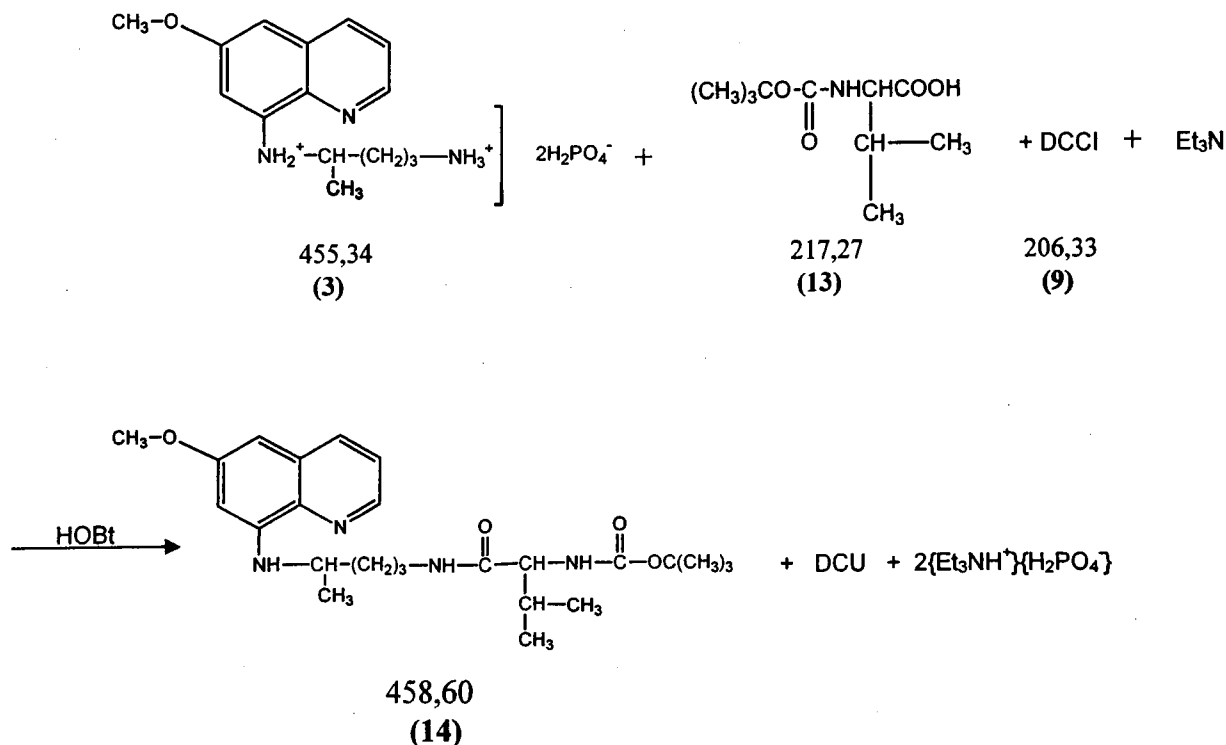
$\delta_H$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 8,52 (dd, 1H,  $J=4,22\text{Hz}$ ,  $J=1,64\text{Hz}$ , Ar); 7,87 (dd, 1H,  $J=8,28\text{Hz}$ ,  $J=1,60\text{Hz}$ , Ar); 7,30 (dd, 1H,  $J=8,25\text{Hz}$ ,  $J=4,23\text{Hz}$ , Ar); 6,47 (m, 1H,  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}$ ); 6,33 e 6,26 (2d, 2H,  $J=2,48\text{Hz}$ , Ar); 5,98 (d, 1H,  $J=8,25\text{Hz}$ ,  $-\text{NH}-\text{CH}-$ ); 5,19 (m, 1H,  $-\text{NH}-\text{COO}-$ ); 4,13 (m, 1H,  $-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-$ ); 3,68 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-$ ); 3,61 (m, 1H,  $-\text{CH}-$ ); 3,26 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{NHCO}$ ); 1,72 a 1,51 (ms, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ); 1,39 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3-$ ); 1,33 a 1,27 (ds, 6H,  $J=6,46\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3-$ ).

$\delta_C$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 172,6 (C=O); 155,5 (C=O-O); 159,3 a 91,6 (ArC); 79,9 (C); 55,1 ( $\text{CH}_3\text{O}-$ ); 50,0 ( $-\text{CH}-\text{NH}-$ ); 47,7 ( $-\text{CH}-$ ); 39,2 a 26,1 ( $-\text{CH}_2-$ ); 28,2 ( $(\text{CH}_3)_3-$ ); 20,5 ( $\text{CH}_3$ ); 16,5 ( $\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_3$ ).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=431,26 (esperado, 431,55);  $m/z$  ( $\text{MNa}^+$ )=453,22 (esperado, 453,55);  $m/z$  ( $\text{MK}^+$ )=469,21 (esperado, 469,55).

7.2.3. Síntese da 4'-N-(*tert*-butiloxicarbonilvalil) primaquina

## 7.2.3.1. Usando DCCI como reagente de condensação



A uma suspensão de sal de primaquina (3) (1,18g; 2,59mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (20,0 mL), adicionou-se Et<sub>3</sub>N (1,3 mL; 9,4mmol) de modo a que o bisdiidrogenofosfato de primaquina se dissolvesse. A mistura foi mantida com agitação magnética em banho de gelo e ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

Em seguida adicionou-se Boc-Val-OH (13) (0,62g; 2,9mmol), HOBt (0,42g; 3,1mmol) e uma solução de DCCI (9) (0,58g; 2,8mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10,0 mL). Deixou-se a mistura reaccional sempre sob agitação magnética durante cerca de 2 horas em banho de gelo e ao abrigo da luz, continuando-se depois à temperatura ambiente durante 2 dias.

Adicionou-se novamente uma solução de DCCI (9) (0,53g; 2,6mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10,0 mL) e deixou-se a reacção decorrer como anteriormente, durante mais 3 dias.

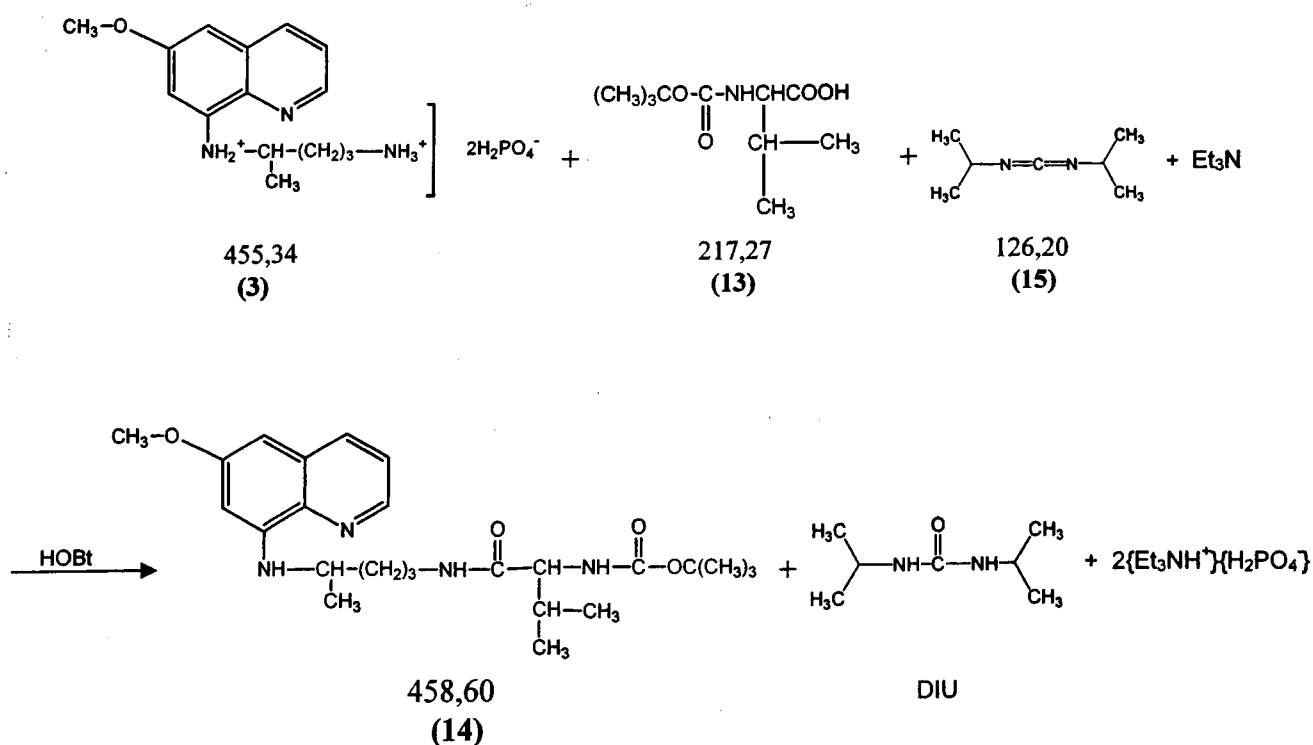
Filtrou-se a mistura obtida, levou-se o filtrado à secura, e dissolveu-se o resíduo em acetona a quente, tendo-se colocado a solução obtida no frigorífico durante 24 h. Repetiu-se

todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(F) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  15:1.

Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso acastanhado (1,13g) que por TLC(F) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(14)=0,29$ .

### 7.2.3.1. Usando DIPCI como reagente de condensação



A uma suspensão de sal de primaquina (3) (2,14g; 4,70mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (40,0 mL), adicionou-se  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,3 mL; 9,4mmol) de modo a que o bisdiidrogenofosfato de primaquina se dissolvesse. A mistura foi mantida com agitação magnética em banho de gelo e ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

Em seguida adicionou-se Boc-Val-OH (**13**) (1,14g; 5,24mmol), HOBt (0,72g; 5,3mmol) e DIPCI (**15**) (0,76mL; 4,9mmol). Deixou-se a mistura reaccional sempre sob agitação magnética durante cerca de 2 horas em banho de gelo e ao abrigo da luz, continuando-se depois a reacção à temperatura ambiente durante 2 dias.

Adicionou-se novamente DIPCI (**15**) (0,76mL; 4,9mmol) e deixou-se a reacção avançar como anteriormente, durante mais 3 dias.

Filtrou-se a mistura obtida, levou-se o filtrado à secura, e dissolveu-se o resíduo em acetona a quente, tendo-se colocado a solução obtida no frigorífico durante 24h. Repetiu-se todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(D) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  7:1.

Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso amarelo (2,13g) que por TLC(D) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(\mathbf{14})=0,44$ .

$\delta_{\text{H}}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 8,52 (dd, 1H,  $J=4,05\text{Hz}$ ,  $J=1,35\text{Hz}$ , Ar); 7,90 (dd, 1H,  $J=8,25\text{Hz}$ ,  $J=1,35\text{Hz}$ , Ar); 7,28 (dd, 1H,  $J=7,65\text{Hz}$ ,  $J=4,95\text{Hz}$ , Ar); 6,53 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ); 6,33 e 6,27 (2d, 2H,  $J=2,10\text{Hz}$ , Ar); 5,99 (d, 1H,  $J=7,20\text{Hz}$ ,  $\text{-NH-CH}$ ); 5,30 (dd, 1H,  $J=8,25\text{Hz}$ ,  $J=1,95\text{Hz}$ ,  $\text{-NH-COO-}$ ); 3,92 (m, 1H,  $\text{NH-CO-CH-NH-CO}$ ); 3,87 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O-}$ ); 3,59 (m, 1H,  $\text{-CH-}$ ); 3,25 (m, 2H,  $\text{-CH}_2\text{-NH}$ ); 2,05 (m, 1H,  $\text{-CH-(CH}_3)_2$ ); 1,63 (ms, 4H,  $\text{-CH}_2\text{-}$ ); 1,39 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{-}$ ); 1,27 (d, 3H,  $J=6,00\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3\text{-}$ ); 0,91 (ds, 6H,  $J=6,90\text{Hz}$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{-}$ ).

$\delta_{\text{C}}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 172,1 (C=O); 156,4 (C=O-O); 159,8 a 92,1 (ArC); 80,1 (C); 60,4 (NHCO-CH-NHCO); 55,6 ( $\text{CH}_3\text{O-}$ ); 48,2( $\text{-CH-}$ ); 31,3( $\text{-CH-(CH}_3)_2$ ); 39,8 a 26,7 ( $\text{-CH}_2\text{-}$ ); 28,7 ( $(\text{CH}_3)_3\text{-}$ ); 20,9 ( $\text{CH}_3$ ); 19,7 e 18,4 ( $(\text{CH}_3)_2\text{-}$ ).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=459,13 (esperado, 459,60).

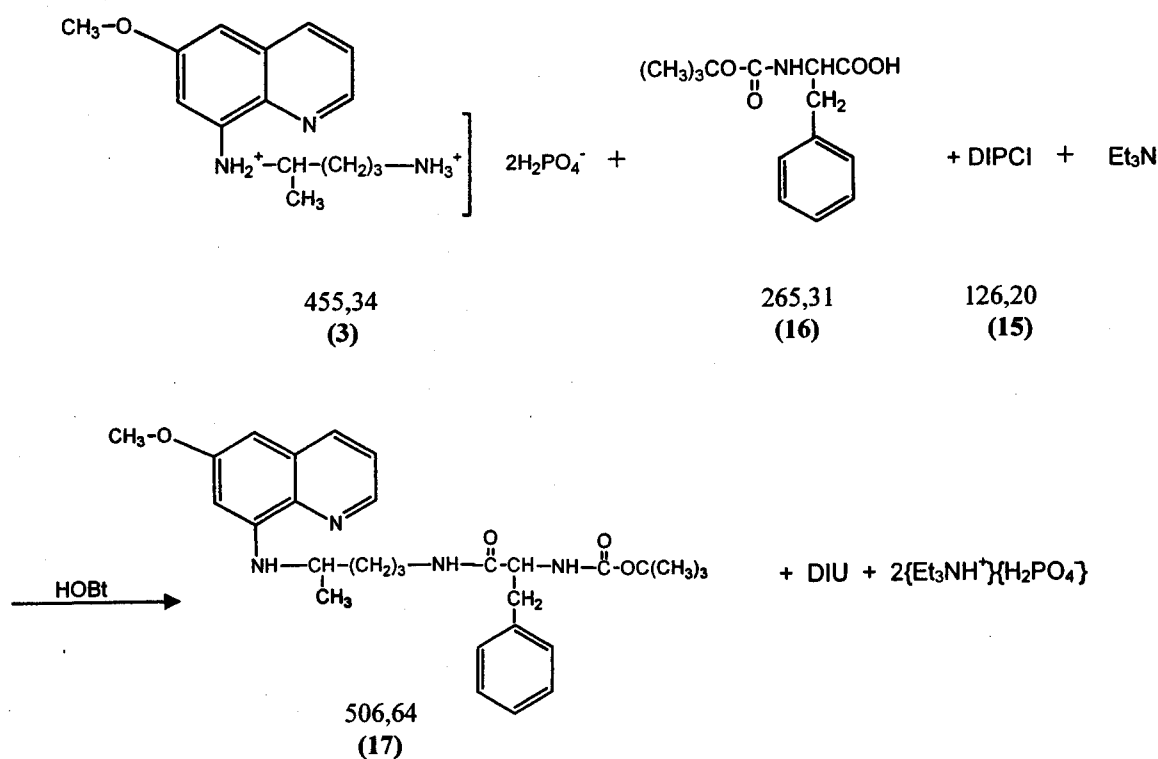


todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(F) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  15:1.

Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso amarelo (2,48g) que por TLC(F) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(17)=0,56$ .

#### 7.2.4.2. Usando DIPCI como reagente de condensação



A uma suspensão de sal de primaquina (3) (2,14g; 4,70mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (40,0 mL), adicionou-se  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,3 mL; 9,4mmol) de modo a que o bisdiidrogenofosfato de primaquina se dissolvesse. A mistura foi mantida com agitação magnética em banho de gelo e ao abrigo da luz durante cerca de 30 minutos.

Em seguida adicionou-se Boc-Phe-OH (16) (1,26g; 4,74mmol), HOBT (0,66g; 4,9mmol) e DIPCI (15) (0,74mL; 4,7mmol). Deixou-se a mistura reaccional sempre sob agitação magnética durante cerca de 2 horas em banho de gelo e ao abrigo da luz, continuando-se depois a reacção à temperatura ambiente durante 2 dias.

Adicionou-se novamente DIPCI (15) (0,74mL; 4,7mmol) e, deixou-se a mistura reagir por mais 3 dias, como anteriormente.

Filtrou-se a mistura obtida, levou-se o filtrado à secura, e dissolveu-se o resíduo em acetona a quente, tendo-se colocado a solução obtida no frigorífico durante 24 h. Repetiu-se todo o passo anterior obtendo-se como resíduo um óleo espesso castanho, que por TLC(F) se verificou estar impuro.

Procedeu-se, então, à purificação do óleo por cromatografia em coluna, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$  15:1.

Recolheram-se as fracções correspondentes ao produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo espesso amarelo (2,29g) que por TLC(F) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(17)=0,44$ .

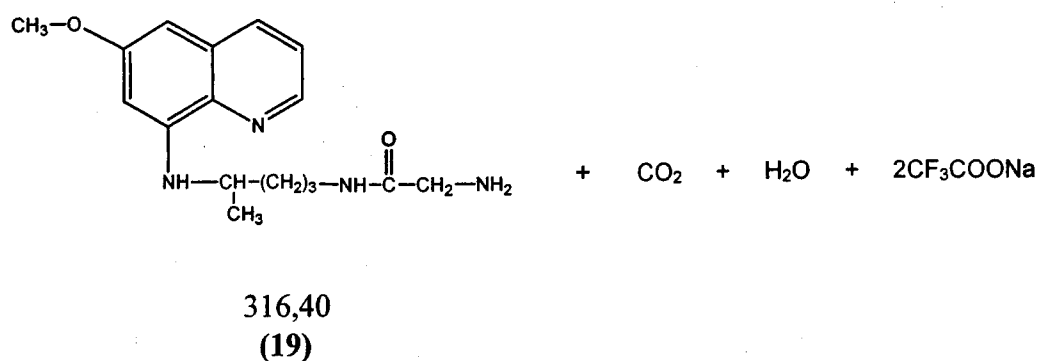
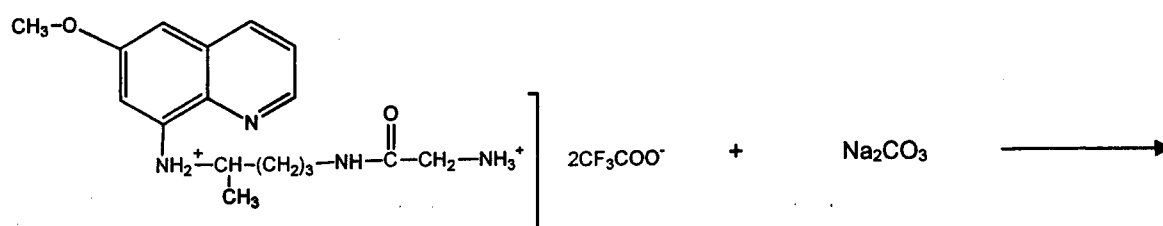
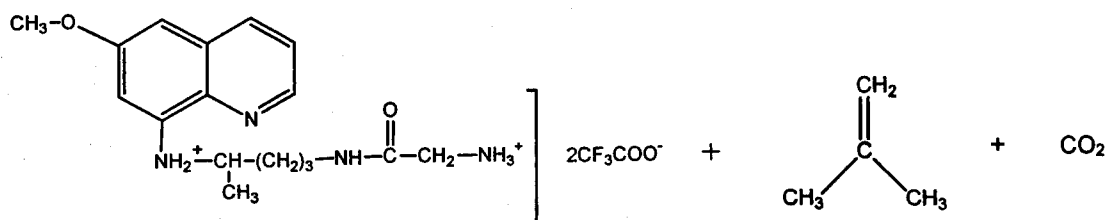
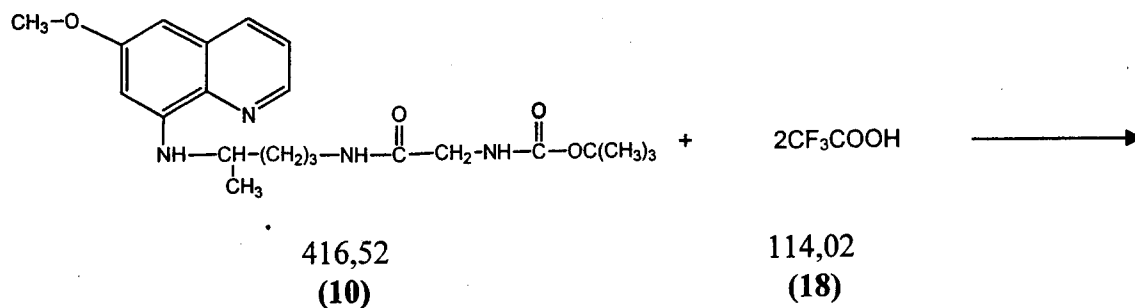
$\delta_{\text{H}}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 8,52 (m, 1H,  $J=4,17\text{Hz}$ ,  $J=2,21\text{Hz}$ ,  $J=1,55\text{Hz}$ , Ar); 7,91 (dd, 1H,  $J=8,31\text{Hz}$ ,  $J=1,59\text{Hz}$ , Ar); 7,32 a 7,12 (m, 6H, Ar); 6,33 e 6,25 (2d, 2H,  $J=2,90\text{Hz}$ , Ar); 6,03 (m, 1H, -NH-CH-); 5,58 (m, 1H, -NH-COO-); 4,27 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>-NH-CO-CH-); 3,87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,70 a 3,50 (ms, 2H, -CH-); 3,17 a 3,00 e 1,68 a 1,49 (ms, 8H, -CH<sub>2</sub>-); 1,37 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-); 1,24 (d, 3H,  $J=6,34\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-).

$\delta_{\text{C}}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 173,8 (C=O); 159,3 a 91,4 (ArC); 75,9 (C); 58,6(CH-NHCOO-); 55,0 (CH<sub>3</sub>O-); 47,7 (-CH-); 40,1 a 25,8 (-CH<sub>2</sub>-); 27,8 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-); 20,5 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=507,20 (esperado, 507,64);  $m/z$  ( $\text{MNa}^+$ )=529,18 (esperado, 529,64);  $m/z$  ( $\text{MK}^+$ )=545,16 (esperado, 545,64).

### 7.3. Remoção do grupo Boc por acidólise com ácido trifluoroacético

#### 7.3.1. Síntese da 4'-N-glicilprimaquina



Solubilizou-se a 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilglicil)primaquina (**10**) (1,49g) em TFA (2 mL) (**18**). Deixou-se a solução durante 2 horas com agitação magnética e ao abrigo da luz. A reacção foi sendo acompanhada por TLC(C) até estar completa.

Seguidamente, adicionou-se solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 30% até a mistura resultante apresentar pH =10. Deixou-se esta mistura com agitação magnética e ao abrigo da luz durante mais 1 hora.

Extraiu-se o composto (**19**) com 6 porções de 5 mL de clorofórmio. Juntaram-se os extractos e adicionou-se sulfato de magnésio anidro, deixando-se a secar durante 10 minutos, com agitação ocasional. Filtrou-se por gravidade em filtro de pregas e levou-se o filtrado à secura por evaporação sob pressão reduzida.

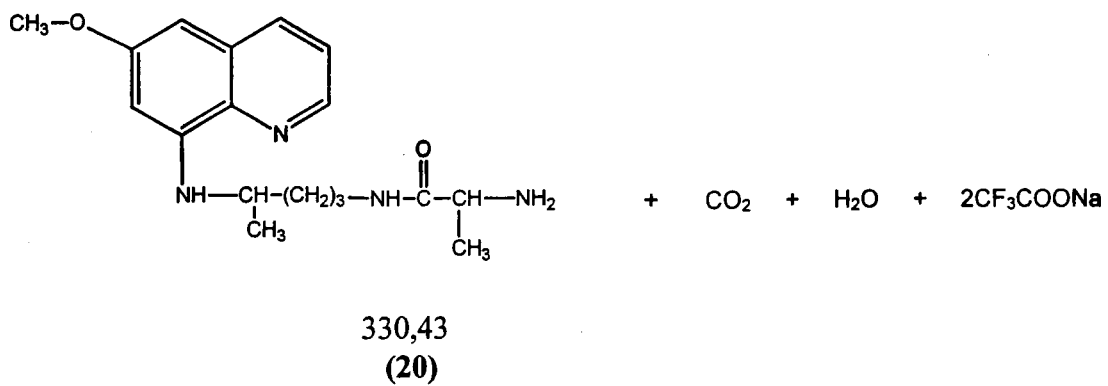
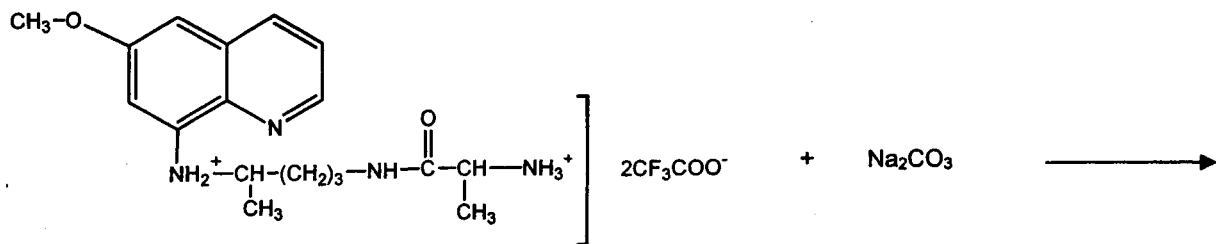
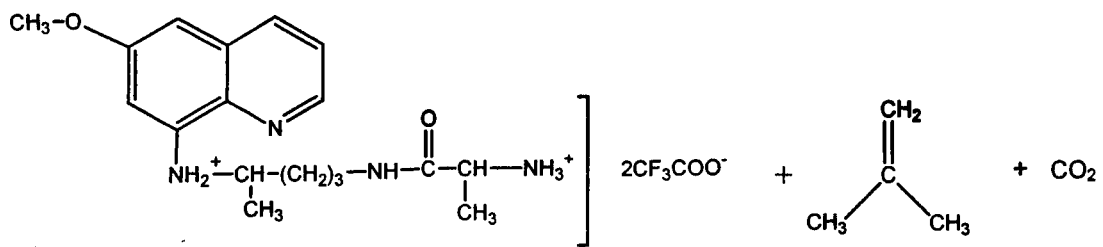
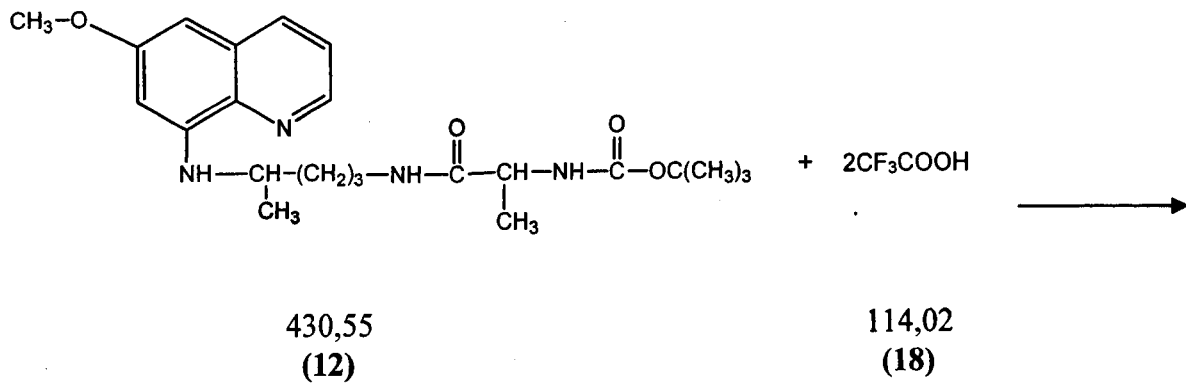
Obteve-se um óleo amarelo torrado (1,08g) que através de TLC(C) se verificou estar cromatograficamente homogéneo R<sub>f</sub> (**19**) =0,06.

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,48 (m, 1H, J=4,23Hz, J=1,65Hz, Ar); 7,87 (m, 1H, J=9,51Hz, J=1,29Hz, Ar); 7,26 (m, 1H, J=9,72Hz, J=4,23Hz, Ar); 6,30 e 6,24 (2m, 2H, J=2,56Hz, Ar); 5,92 (m, 1H, -NH-CH-); 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,53 (m, 1H, -CH-); 3,39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 3,19 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-NHCO-); 1,69 a 1,56 (ms, 4H, -CH<sub>2</sub>-); 1,20 (d, 3H, J=6,21Hz, CH<sub>3</sub>-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 159,4 a 91,7 (ArC); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 47,8 (-CH-); 43,3 (-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>); 39,2 a 26,0 (-CH<sub>2</sub>-); 20,3 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=317,21 (esperado, 317,40).

7.3.2. Síntese da 4'-N-alanilprimaquina



Solubilizou-se a 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilalanil)primaquina (**12**) (0,80g) em TFA (2 mL) (**18**). Deixou-se a solução durante 2 horas com agitação magnética e ao abrigo da luz. A reacção foi sendo acompanhada por TLC(E) até estar completa.

Seguidamente, adicionou-se depois solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 30% até a mistura resultante apresentar pH =10. Deixou-se esta mistura com agitação magnética e ao abrigo da luz durante mais 1 hora.

Extraiu-se o composto (**20**) com 6 porções de 5 mL de clorofórmio. Juntaram-se os extractos e adicionou-se sulfato de magnésio anidro, deixando-se a secar durante 10 minutos, com agitação ocasional. Filtrou-se por gravidade em filtro de pregas e levou-se o filtrado à secura por evaporação sob pressão reduzida.

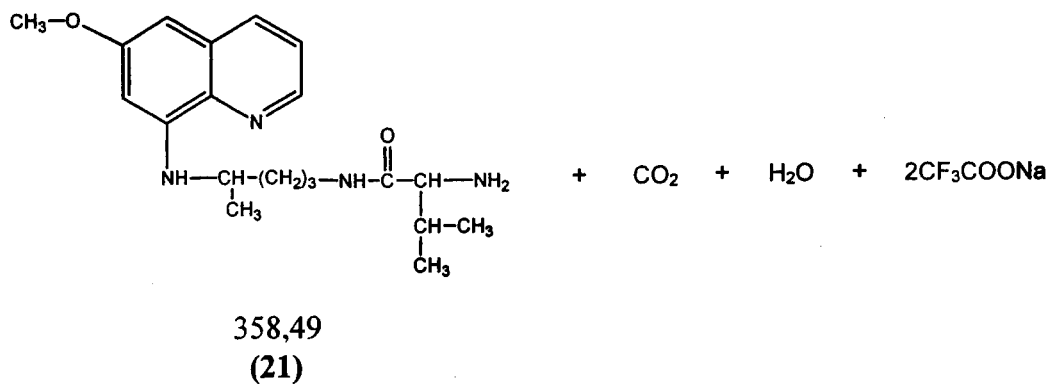
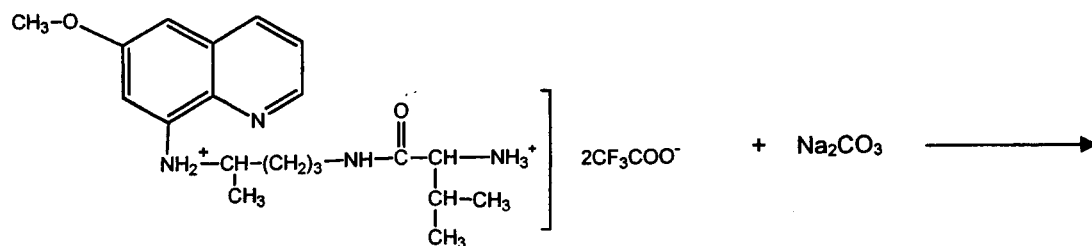
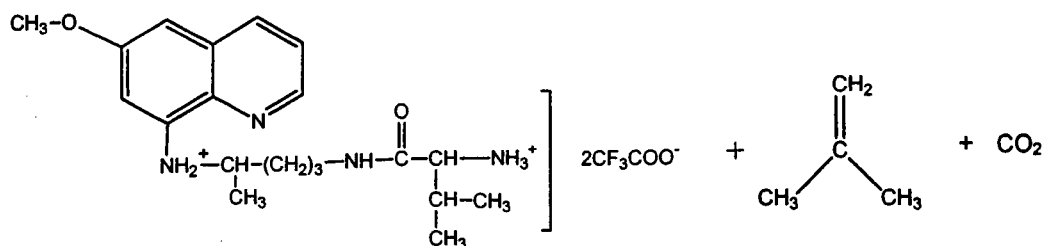
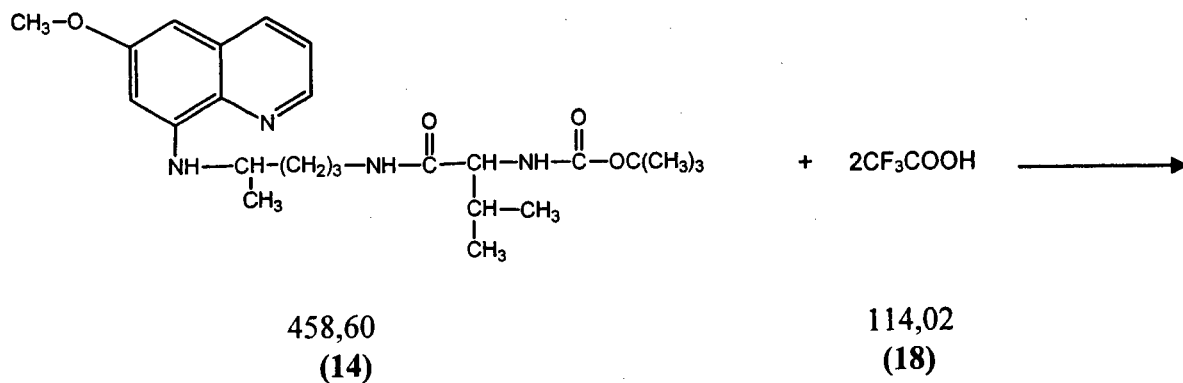
Obteve-se um óleo amarelo torrado (0,55g) que através de TLC(E) se verificou estar cromatograficamente homogéneo R<sub>f</sub> (**20**) =0,06.

$\delta_{\text{H}}$  (CDCl<sub>3</sub>, 200MHz) 8,53 (dd, 1H, J=4,20Hz, J=1,53Hz, Ar); 7,92 (dd, 1H, J=8,25Hz, J=1,51Hz, Ar); 7,31 (dd, 1H, J=8,22Hz, J=4,20Hz, Ar); 6,34 e 6,28 (2d, 2H, J=2,45Hz, Ar); 6,00 (d, 1H, J=8,29Hz, -NH-CH-); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,63 (m, 1H, -CH-); 3,46 (m, 1H, -CH-NH<sub>2</sub>); 3,27 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-NHCO); 1,80(m, 2H, NH<sub>2</sub>); 1,67 a 1,61 (ms, 4H, -CH<sub>2</sub>-); 1,32 a 1,25 (ds, 6H, J=6,40Hz, CH<sub>3</sub>-).

$\delta_{\text{C}}$  (CDCl<sub>3</sub>, 200MHz) 159,4 a 91,6 (ArC); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 50,7 (-CH-NH<sub>2</sub>); 47,6(-CH-); 38,9 a 26,3 (-CH<sub>2</sub>-); 21,7 e 20,5 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=331,12 (esperado, 331,43).

7.3.3. Síntese da 4'-N-valilprimaquina



Solubilizou-se a 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilvalil)primaquina (**14**) (2,04g) em TFA (2 mL) (**18**). Deixou-se a solução durante 2 horas com agitação magnética e ao abrigo da luz. A reacção foi sendo acompanhada por TLC(E) até estar completa.

Seguidamente, adicionou-se depois solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 30% até a mistura resultante apresentar  $\text{pH} = 10$ . Deixou-se esta mistura com agitação magnética e ao abrigo da luz durante mais 1 hora.

Extraiu-se o composto (**21**) com 6 porções de 5 mL de clorofórmio. Juntaram-se os extractos e adicionou-se sulfato de magnésio anidro, deixando-se a secar durante 10 minutos, com agitação ocasional. Filtrou-se por gravidade em filtro de pregas e levou-se o filtrado à secura por evaporação sob pressão reduzida.

Obteve-se um óleo amarelo torrado (1,51g) que através de TLC(E) se verificou estar cromatograficamente homogéneo  $R_f$  (**21**) = 0,03.

$\delta_H$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 8,52 (dd, 1H,  $J=3,60\text{Hz}$ ,  $J=0,90\text{Hz}$ , Ar); 7,90 (dd, 1H,  $J=8,10\text{Hz}$ ,  $J=1,20\text{Hz}$ , Ar); 7,28 (dd, 1H,  $J=7,50\text{Hz}$ ,  $J=5,10\text{Hz}$ , Ar); 6,32 e 6,28 (2d, 2H,  $J=1,95\text{Hz}$ , Ar); 6,01 (d, 1H,  $J=8,10\text{Hz}$ , -NH-CH-); 3,87 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ -); 3,62 (m, 1H, -CH-); 3,28 (m, 2H, - $\text{CH}_2$ -NHCO-); 3,16 (m, 1H, CH-NH<sub>2</sub>); 2,25 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,66 a 1,64 (ms, 4H, -CH<sub>2</sub>-); 1,53 (sl, 2H, NH<sub>2</sub>); 1,29 (d, 3H,  $J=6,60\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>); 0,95 e 0,79 (2d, 6H,  $J=7,05\text{Hz}$ , (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$\delta_C$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) 174,7 (C=O); 159,3 a 92,1 (ArC); 60,5 (-CH-NH<sub>2</sub>); 55,6 (CH<sub>3</sub>O-); 48,2 (-CH-); 31,2(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 39,3 a 26,8 (-CH<sub>2</sub>-); 20,9 (CH<sub>3</sub>); 20,1 e 16,4 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=359,20 (esperado, 359,49).



Solubilizou-se a 4'-N-(*terc*-butiloxicarbonilfenilalanil)primaquina (**17**) (2,22g) em TFA (2 mL) (**18**). Deixou-se a solução durante 2 horas com agitação magnética e ao abrigo da luz. A reacção foi sendo acompanhada por TLC(F) até estar completa.

Seguidamente, adicionou-se depois solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 30% até a mistura resultante apresentar pH =10. Deixou-se esta mistura com agitação magnética e ao abrigo da luz durante mais 1 hora.

Extraiu-se o composto (**22**) com 6 porções de 5 mL de clorofórmio. Juntaram-se os extractos e adicionou-se sulfato de magnésio anidro, deixando-se a secar durante 10 minutos, com agitação ocasional. Filtrou-se por gravidade em filtro de pregas e levou-se o filtrado à secura por evaporação sob pressão reduzida.

Obteve-se um óleo amarelo torrado (1,57g) que através de TLC(F) se verificou estar cromatograficamente homogéneo  $R_f$  (**22**) =0,04.

$\delta_H$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 8,53 (dd, 1H,  $J=4,22\text{Hz}$ ,  $J=1,56\text{Hz}$ , Ar); 7,93 (dt, 1H,  $J=8,36\text{Hz}$ ,  $J=1,42\text{Hz}$ , Ar); 7,34 a 7,16 (m, 6H, Ar); 6,33 e 6,27 (2d, 2H,  $J=2,51\text{Hz}$ , Ar); 3,88 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}-$ ); 3,62 a 3,54 (ms, 2H,  $-\text{CH}-$ ); 3,29 a 1,57 (ms, 8H,  $-\text{CH}_2-$ ); 1,30 (d, 3H,  $J=6,35\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3-$ ).

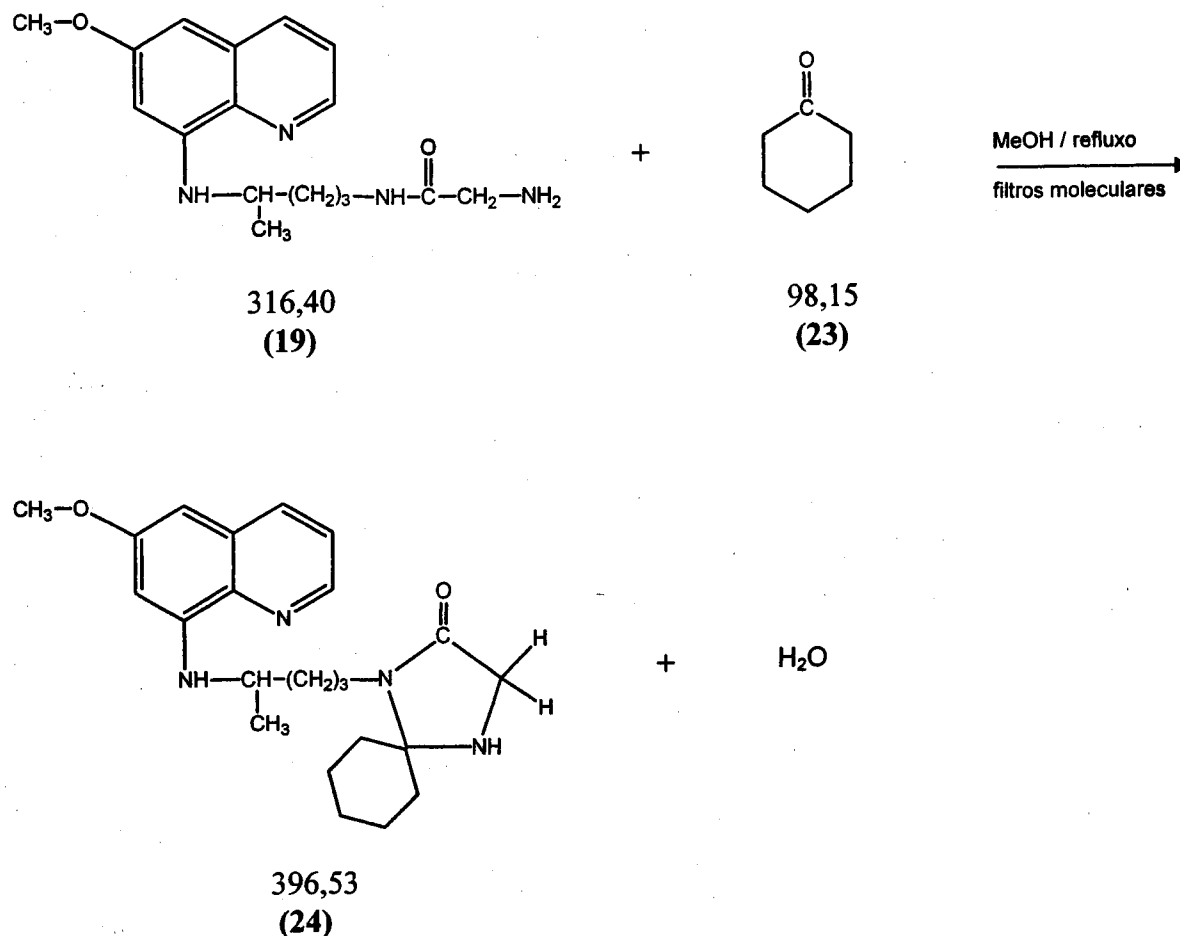
$\delta_C$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) 174,0 (C=O); 137,8 (C); 159,3 a 91,5 (ArC); 56,3 e 47,7 ( $-\text{CH}-$ ); 55,1 ( $\text{CH}_3\text{O}-$ ); 40,7 a 26,1 ( $-\text{CH}_2-$ ); 20,4 ( $\text{CH}_3$ ).

$m/z$  ( $\text{MH}^+$ )=407,27 (esperado, 407,53).

## 7.4. Síntese de 4-imidazolidinonas

## 7.4.1. Por ciclização com cicloexanona

## 7.4.1.1. Síntese da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-glicilprimaquina (19) (0,64g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e cicloexanona (23) (0,42mL; 4,1mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloexanona (0,21mL; 2,0mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo torrado que por TLC(G) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 2:1 como eluente.

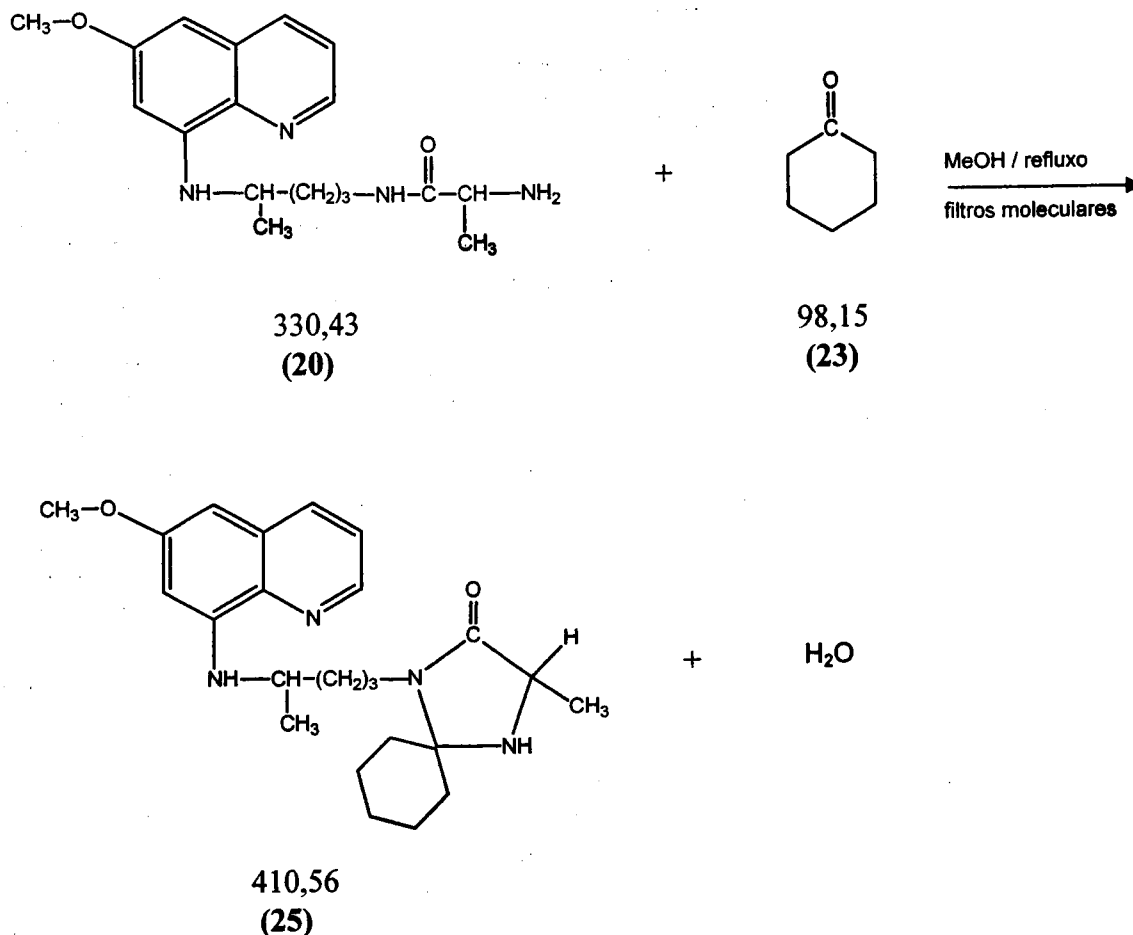
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo torrado (0,59g; 1,5mmol), que por TLC(G) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(24)=0,28$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (dd, 1H, J=4,20Hz, J=1,50Hz, Ar); 7,92 (dd, 1H, J=8,10Hz, J=2,70Hz, Ar); 7,30 (dd, 1H, J=8,10Hz, J=4,20Hz, Ar); 6,33 e 6,29 (2d, 2H, J=2,70Hz, Ar), 6,01(d, 1H, J=8,40Hz, -NH-); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,64 (m, 1H, -CH-); 3,37 (s, 2H, -CO-CH<sub>2</sub>); 3,14(m, 2H, -CH<sub>2</sub>-); 1,87 a 1,43 (ms, 14H, -CH<sub>2</sub>-); 1,31 (d, 3H, J=6,30Hz, CH<sub>3</sub>-); 0,93 (m, 1H, -NH-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 173,9 (C=O); 159,4 a 91,5 (ArC); 67,9 (C); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 48,0 (-CH-); 47,8 a 22,5 (-CH<sub>2</sub>-); 20,7 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=397,65 (esperado, 397,53);  $m/z$  (MNa<sup>+</sup>)=419,63 (esperado, 419,53);  $m/z$  (MK<sup>+</sup>)=435,61 (esperado, 435,53).

7.4.1.2. Síntese da 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-alanilprimaquina (**20**) (1,07g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e cicloexanona (**23**) (0,67mL; 6,5mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloexanona (0,34mL; 3,3mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo castanho que por TLC(G) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 2:1 como eluente.

Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo torrado (0,92g; 2,2mmol), que por TLC(G) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(25)=0,44$ .

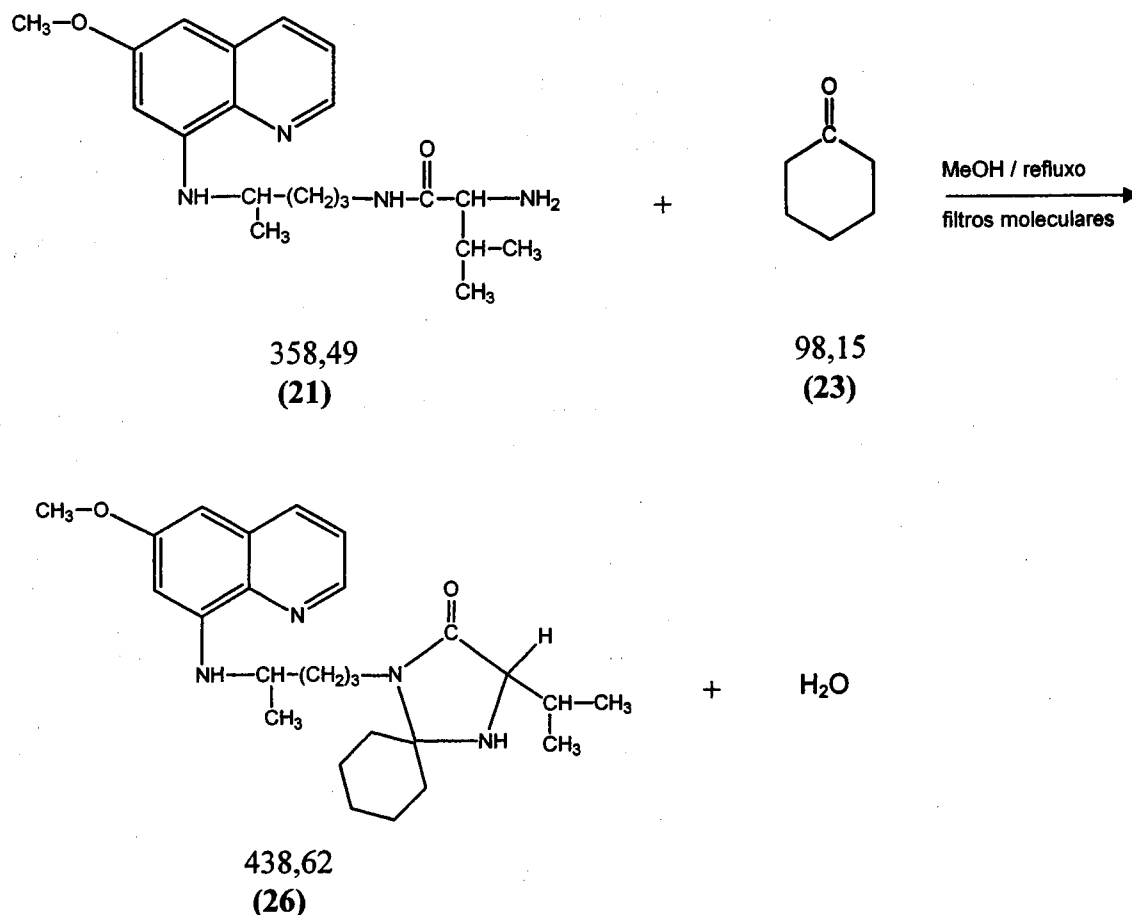
$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (m, 1H, J=4,31Hz, J=2,37Hz, J=1,68Hz, Ar); 7,92 (dd, 1H, J=8,24Hz, J=1,61Hz, Ar); 7,30 (dd, 1H, J=8,28Hz, J=4,26Hz, Ar); 6,33 e 6,28 (2d, 2H, J=2,51Hz, Ar), 6,01(d, 1H, J=8,22Hz, -NH-); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,63 (m, 1H, NH-CH-); 3,31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N); 2,98 (m, 1H, CO-CH-); 1,76 a 1,45 (ms, 10H, -CH<sub>2</sub>-); 1,32 (d, 3H, J=4,71Hz, CH<sub>3</sub>-); 1,30 (d, 3H, J=4,23Hz, CH<sub>3</sub>-); 0,96 (m, 1H, -NH-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 175,9 (C=O); 159,3 a 91,5 (ArC); 78,0 (C); 55,1 (CH<sub>3</sub>O-); 53,4 a 47,9 (-CH-); 40,0 a 22,2 (-CH<sub>2</sub>-); 20,6 (CH<sub>3</sub>); 17,7 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=411,33 (esperado, 411,56);  $m/z$  (MNa<sup>+</sup>)=433,30 (esperado, 433,56);

$m/z$  (MK<sup>+</sup>)=449,26 (esperado, 449,56).

### 7.4.1.3. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-valilprimaquina **(21)** (0,71g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g),  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,2mL; 1,4mmol) e cicloexanona **(23)** (0,40mL; 3,9mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloexanona (0,20mL; 1,9mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo castanho que por TLC(M) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$  20:1 como eluente.

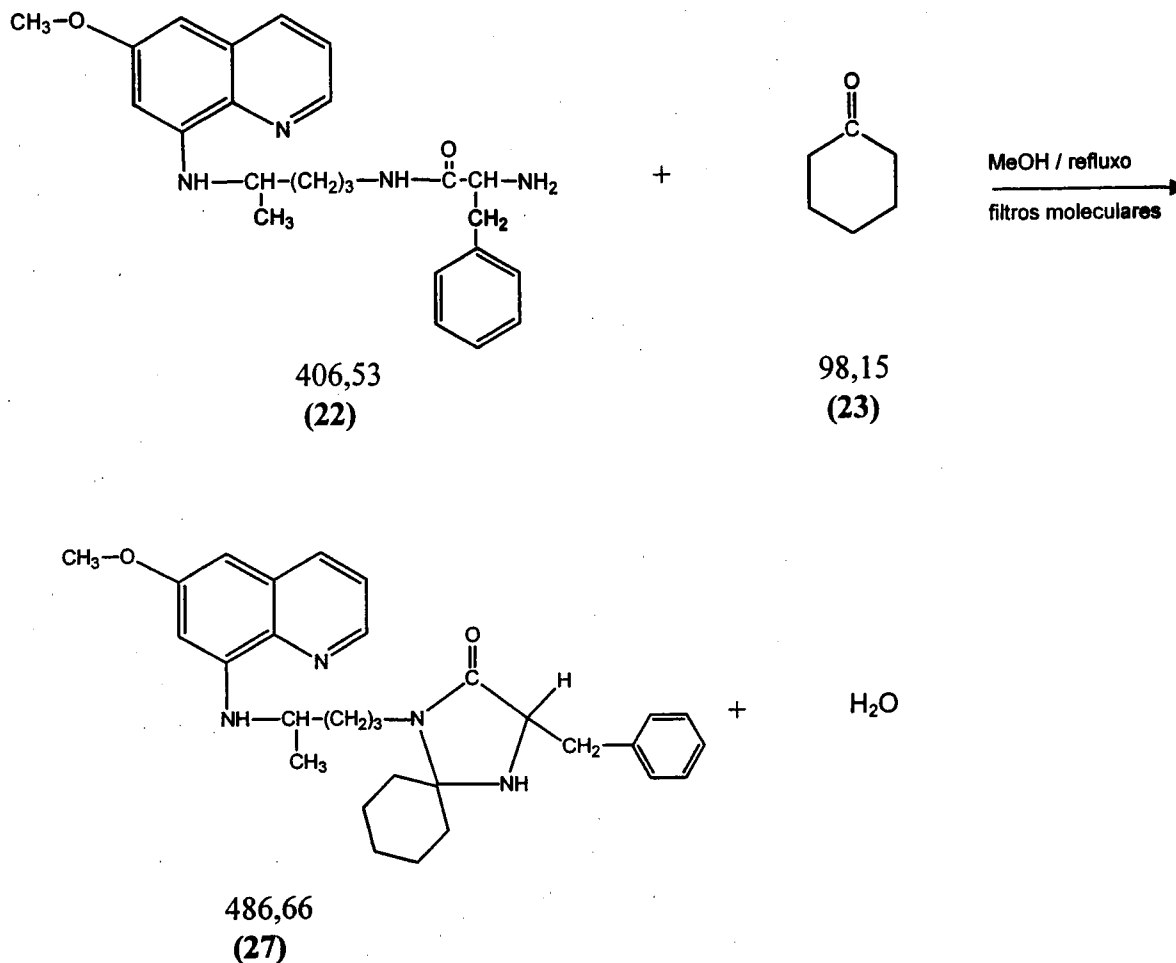
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (0,55g; 1,2mmol), que por TLC(M) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(26)=0,20$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (dt, 1H, J=4,14Hz, J=2,63Hz, J=1,50Hz, Ar); 7,92 (dd, 1H, J=8,24Hz, J=1,59Hz, Ar); 7,30 (dd, 1H, J=8,21Hz, J=4,20Hz, Ar); 6,33 e 6,28 (2d, 2H, J=2,50Hz, Ar), 6,01(d, 1H, J=8,38Hz, -NH-); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,63 (m, 1H, CH-); 3,32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N); 3,00 (m, 1H, CO-CH-); 2,11 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,75 a 1,37 (ms, 10H, -CH<sub>2</sub>-); 1,30 (d, 3H, J=6,36Hz, CH<sub>3</sub>-); 1,01 e 0,88 (2d, 6H, J=6,87Hz, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 174,3 (C=O); 159,4 a 91,5 (ArC); 76,6 (C); 62,5 (CO-CH-); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 48,0 (-CH-); 29,4(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 39,8 a 22,9 (-CH<sub>2</sub>-); 20,6 a 16,9 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=439,41 (esperado, 439,62).

7.4.1.4. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-fenilalanilprimaquina **(22)** (1,57g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g),  $Et_3N$  (0,2mL; 1,4mmol) e cicloexanona **(23)** (0,80mL; 7,7mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloexanona (0,40mL; 3,9mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo acastanhado que por TLC(L) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando  $CH_2Cl_2/THF$  15:1 como eluente.

Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (1,30g; 2,67mmol), que por TLC(L) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(27)=0,37$ .

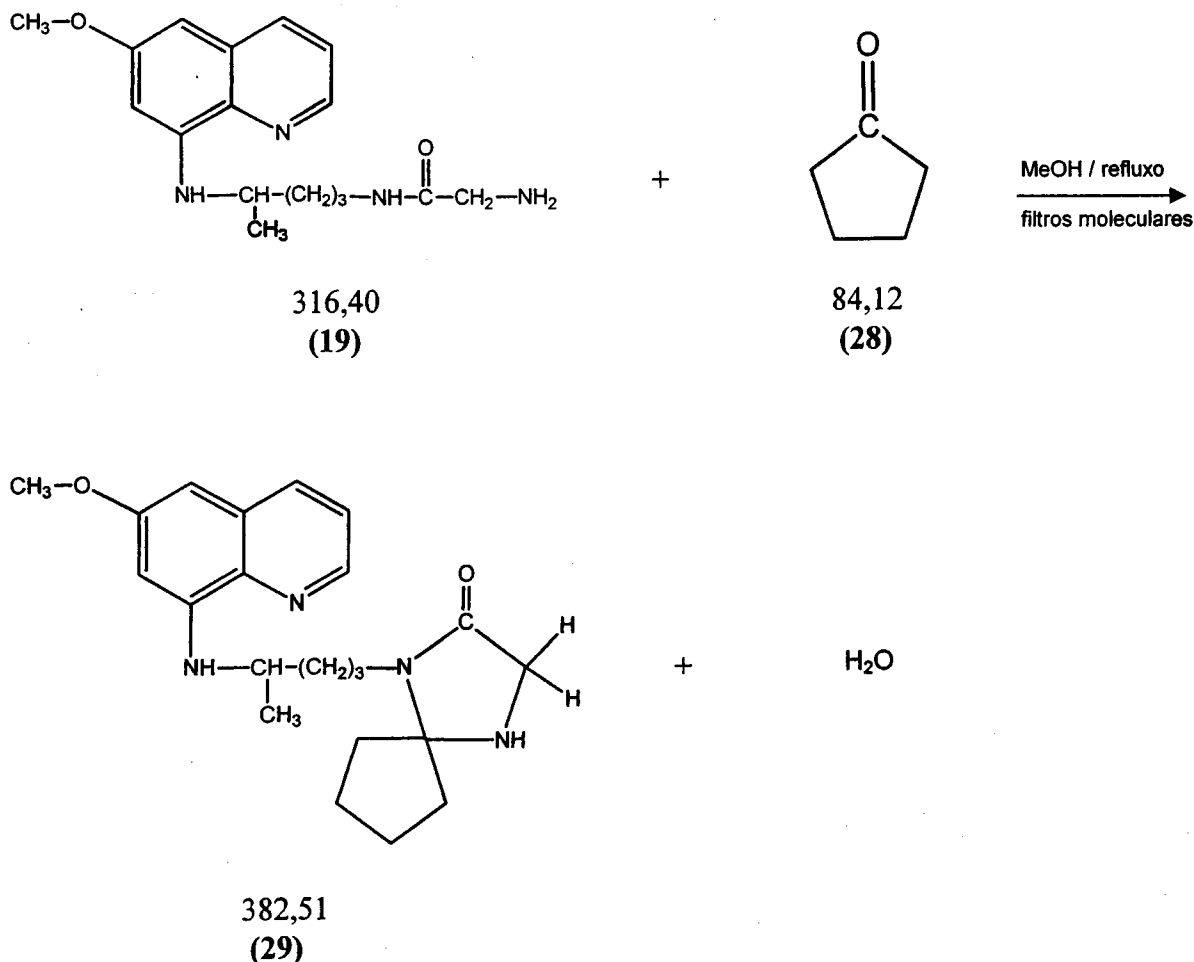
$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (m, 1H, J=4,20Hz, J=2,37Hz, J=1,83Hz, Ar); 7,92 (dd, 1H, J=8,22Hz, J=1,47Hz, Ar); 7,32 a 7,15 (m, 6H, Ar); 6,33 (dd, 1H, J=2,37Hz, J=1,00Hz, Ar); 6,28 (m, 1H, Ar); 6,00(m, 1H, -NH-); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,72 (m, 1H, -CO-CH-); 3,61 (m, 1H, -CH-); 3,30 e 2,92 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-); 3,05 (dd, 2H, J=5,31Hz, J=2,76Hz, -CH<sub>2</sub>-Ph); 1,68 a 1,39 (3m, 12H, -CH<sub>2</sub>-); 1,29 (dd, 3H, J=6,39Hz, J=1,83Hz, CH<sub>3</sub>-); 0,88 (m, 2H, J=8,43Hz, -CH<sub>2</sub>-);

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 174,1 (C=O); 170,0 a 91,5 (ArC); 68,0 (C); 58,7 (-CO-CH-); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 47,9 (-CH-); 40,0 a 22,2 (-CH<sub>2</sub>-); 20,6 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=487,66 (esperado, 487,66).

## 7.4.2. Por ciclização com ciclopentanona

## 7.4.2.1. Síntese da 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-glicilprimaquina (19) (1,03g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e ciclopentanona (28) (0,58mL; 6,6mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de ciclopentanona (0,29mL; 3,3mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo torrado que por TLC(B) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 15:1 como eluente.

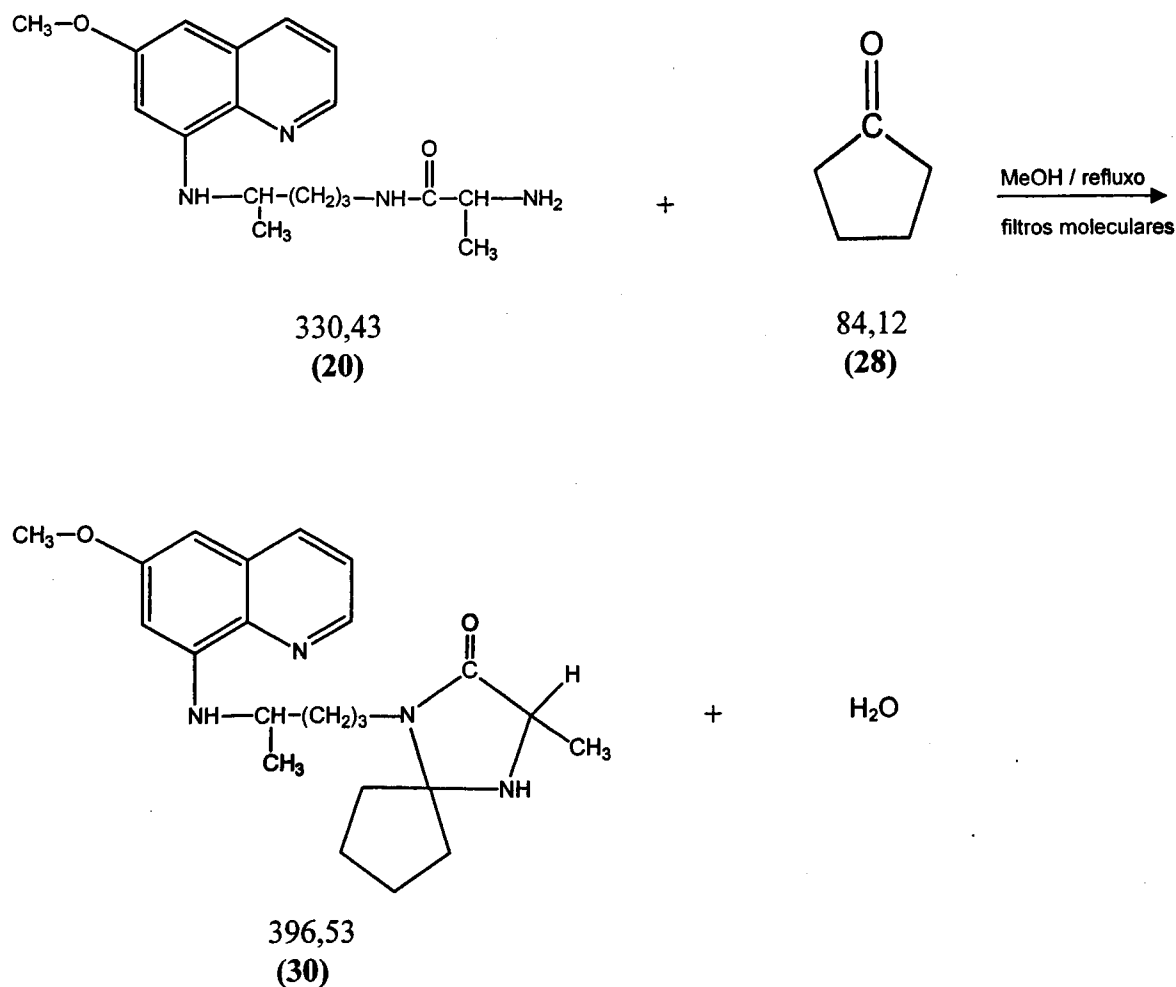
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (0,63g; 1,6mmol), que por TLC(B) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(29)=0,16$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (dd, 1H,  $J=4,80\text{Hz}$ ,  $J=2,70\text{Hz}$ , Ar); 7,91 (d, 1H,  $J=8,40\text{Hz}$ , Ar); 7,29 (dd, 1H,  $J=7,80\text{Hz}$ ,  $J=4,20\text{Hz}$ , Ar); 6,33 e 6,28 (2s, 2H, Ar), 6,01(d, 1H,  $J=8,10\text{Hz}$ , -NH-CH-); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,68 (m, 1H, NH-CH-); 3,36 (s, 2H, CO-CH<sub>2</sub>); 3,14 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N); 1,89 (sl, 1H, -NH-); 1,81 a 1,52 (ms, 12H, -CH<sub>2</sub>-); 1,30 (d, H,  $J=6,30\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 174,7 (C=O); 159,8 a 92,0 (ArC); 88,5 (C); 55,6 (CH<sub>3</sub>O-); 48,7 (CO-CH<sub>2</sub>-); 48,2 (-CH-); 40,4 a 23,4 (-CH<sub>2</sub>-); 21,1 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=383,23 (esperado, 383,51).

7.4.2.2. Síntese da 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-alanilprimaquina (20) (0,55g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e ciclopentanona (28) (0,29mL; 3,3mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de ciclopentanona (0,15mL; 1,7mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo torrado que por TLC(N) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 1:5 como eluente.

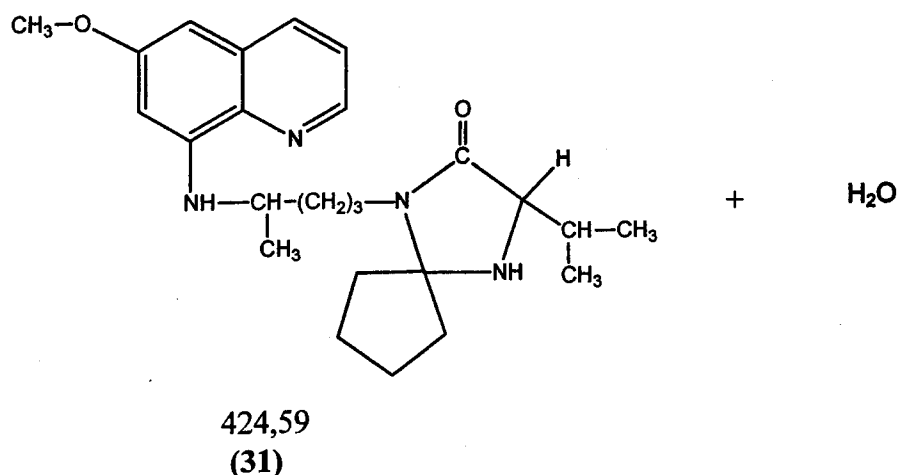
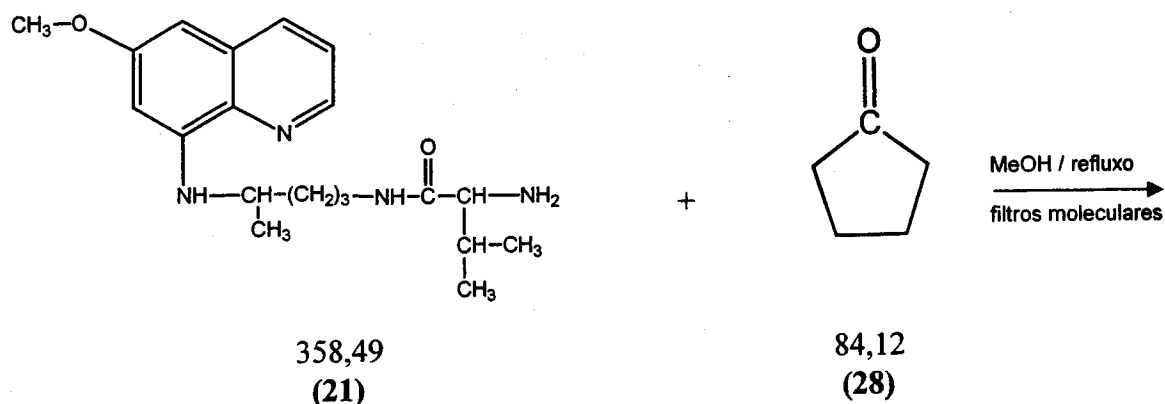
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo torrado (0,41g; 1,0mmol), que por TLC(N) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(\mathbf{30})=0,41$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (dd, 1H,  $J=4,35\text{Hz}$ ,  $J=1,65\text{Hz}$ , Ar); 7,92 (dd, 1H,  $J=8,40\text{Hz}$ ,  $J=1,20\text{Hz}$ , Ar); 7,30 (dd, 1H,  $J=8,10\text{Hz}$ ,  $J=4,20\text{Hz}$ , Ar); 6,33 e 6,28 (2d, 2H,  $J=2,40\text{Hz}$ , Ar); 6,01 (d, 1H,  $J=4,50\text{Hz}$ , -NH-CH); 3,89 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,66 (m, 1H, -CH-); 3,36 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N); 2,92 (m, 1H, CO-CH-); 1,97 a 1,47 (ms, 12H, -CH<sub>2</sub>-); 1,34 e 1,30 (ds, 6H,  $J=6,45\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-); 0,89 (m, 1H, -NH-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 176,7 (C=O); 159,8 a 92,0 (ArC); 86,3 (C); 55,6 (CH<sub>3</sub>O-); 54,2 (CO-CH-); 48,4 (NH-CH-); 40,8 a 23,4 (-CH<sub>2</sub>-); 21,0 e 17,4 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=397,31 (esperado, 397,53).

7.4.2.3. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-valilprimaquina (21) (1,35g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e ciclopentanona (28) (0,67mL; 7,6mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de ciclopentanona (0,34mL; 3,8mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo torrado que por TLC(I) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 8:1 como eluente.

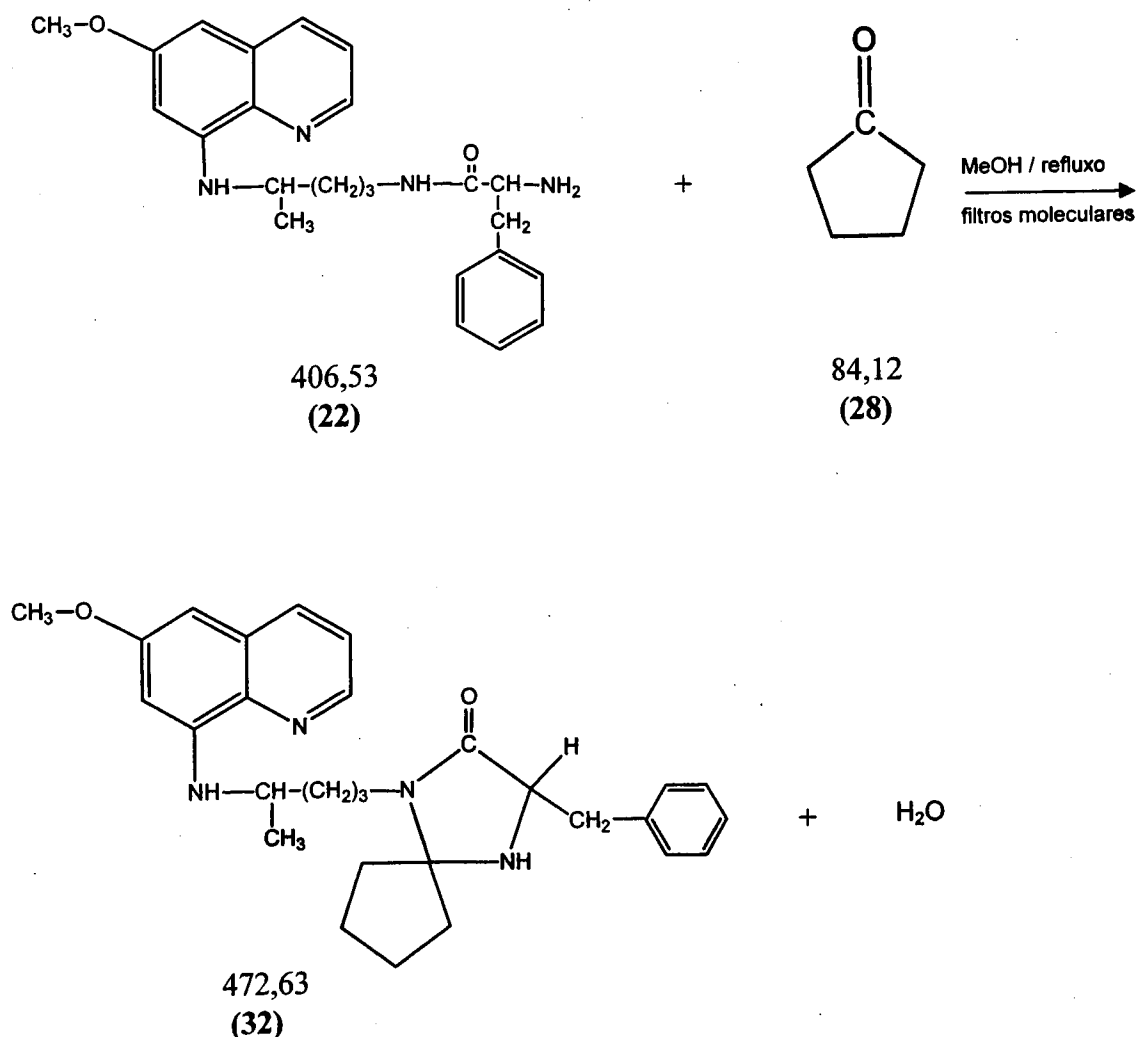
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (0,88g; 2,1mmol), que por TLC(I) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(31)=0,33$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (dd, 1H, J=4,35Hz, J=1,35Hz, Ar); 7,91 (dd, 1H, J=8,25Hz, J=1,35Hz, Ar); 7,29 (dd, 1H, J=7,95Hz, J=4,35Hz, Ar); 6,32 (d, 1H, J=2,70Hz, Ar); 6,29 (t, 1H, J=2,85Hz, Ar); 6,02 (d, 1H, J=8,70Hz, -NH-CH); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,64 (m, 1H, NH-CH-); 3,37 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N); 2,88 (m, 1H, CO-CH-); 2,15 (m, 1H, CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-); 1,72 a 1,43 (ms, 12H, -CH<sub>2</sub>-); 1,30 (d, 3H, J=6,90Hz, CH<sub>3</sub>-); 1,02 e 0,90 (2d, 6H, J=6,75Hz, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 175,3 (C=O); 159,8 a 92,0 (ArC); 86,1 (C); 63,4 (CO-CH-); 55,6 (CH<sub>3</sub>O-); 48,4 (NH-CH-); 40,6 a 23,5 (-CH<sub>2</sub>-); 21,0 (CH<sub>3</sub>); 19,6 e 17,4 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=425,18 (esperado, 425,59).

#### 7.4.2.4. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-fenilalanilprimaquina (22) (1,56g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e ciclopentanona (28) (0,68mL; 7,7mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de ciclopentanona (0,34mL; 3,8mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo castanho que por TLC(J) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 10:1 como eluente.

Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo torrado (1,06g; 2,24mmol), que por TLC(J) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(32)=0,33$ .

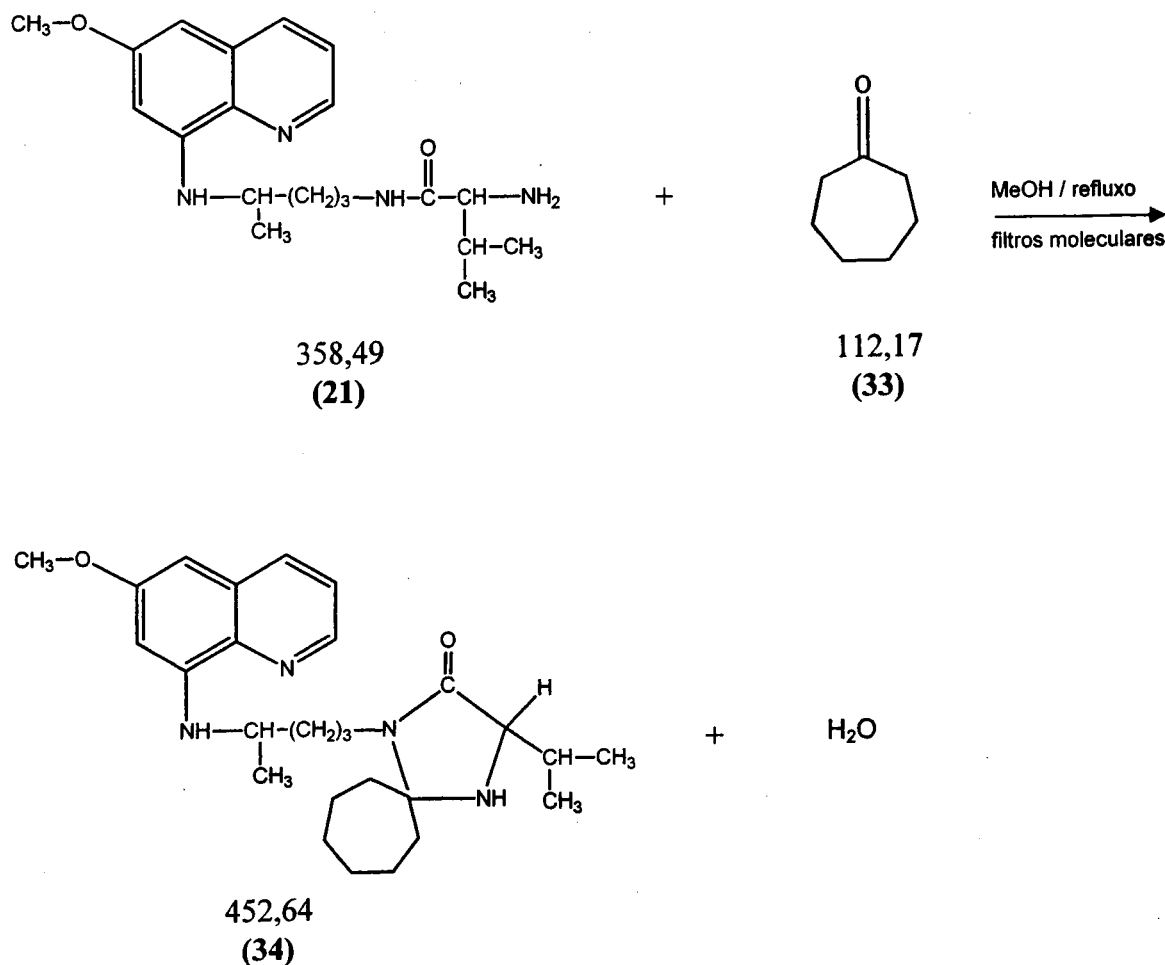
$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (m, 1H, J=4,36Hz, J=2,85Hz, J=1,71Hz, Ar); 7,92 (dt, 1H, J=8,26Hz, J=1,62Hz, Ar); 7,32 a 7,17 (m, 6H, Ar); 6,33 (d, 1H, J=2,39Hz, Ar); 6,28 (t, 1H, J=2,88Hz, Ar); 6,00 (t, 1H, J=8,24Hz, -NH-CH-); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,70 a 3,59 (m, 2H, -CH-); 3,36 e 2,85 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-); 3,09 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph); 1,85 a 1,43 (ms, 12H, -CH<sub>2</sub>-); 1,29 (dd, 3H, J=6,32Hz, J=2,36Hz, CH<sub>3</sub>-); 1,07 (m, 1H, -NH-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 174,6 (C=O); 159,4 a 91,5 (ArC); 136,8 (C); 85,9 (C); 58,8 (CO-CH-); 55,1 (CH<sub>3</sub>O-); 47,9 (NH-CH-); 40,2 a 22,8 (-CH<sub>2</sub>-); 20,6 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=473,36 (esperado, 473,63);  $m/z$  (MNa<sup>+</sup>)=495,34 (esperado, 495,63);  $m/z$  (MK<sup>+</sup>)=511,34 (esperado, 511,63).

## 7.4.3. Por ciclização com cicloeptanona

## 7.4.3.1. Síntese da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil] -2-espirocicloeptano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-valilprimaquina (21) (1,72g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e cicloeptanona (33) (1,13mL; 9,58mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloeptanona (0,57mL; 4,8mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo alaranjado que por TLC(I) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 8:1 como eluente.

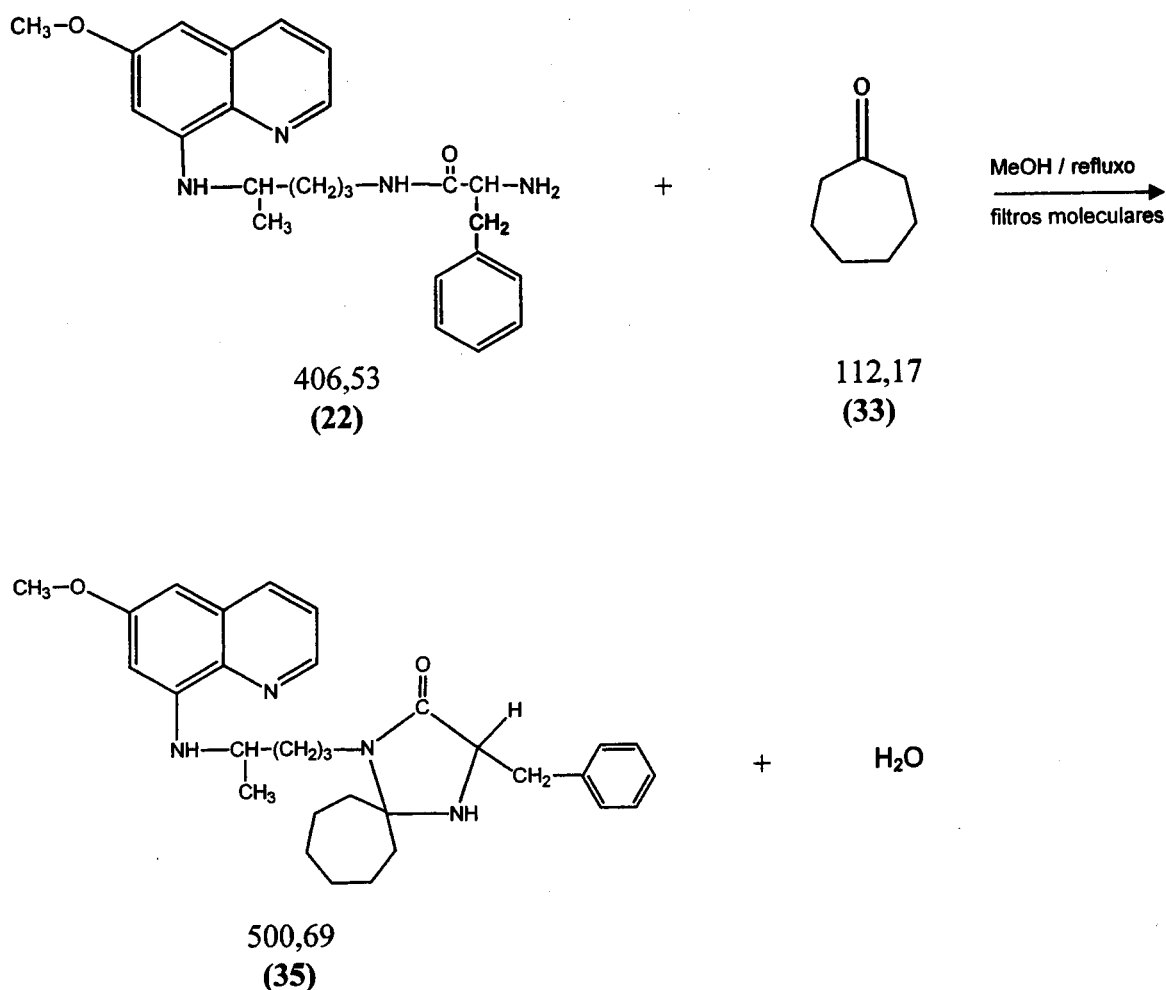
Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (1,04g; 2,30mmol), que por TLC(I) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(34)=0,46$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,51 (dd, 1H, J=3,90Hz, J=0,90Hz, Ar); 7,91 (dd, 1H, J=8,25Hz, J=1,35Hz, Ar); 7,29 (dd, 1H, J=8,25Hz, J=4,35Hz, Ar); 6,32 (d, 1H, J=2,70Hz, Ar); 6,29 (dd, 1H, J=5,55Hz, J=2,25Hz, Ar); 6,01 (dd, 1H, J=7,95Hz, J=3,15Hz, -NH-CH); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,64 (m, 1H, NH--CH-); 3,41 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-N); 3,08 (m, 1H, CO-CH-); 2,13 (m, 1H, CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-); 1,71 a 1,34 (ms, 16H, -CH<sub>2</sub>-); 1,30 (d, 3H, J=6,60Hz, CH<sub>3</sub>-); 1,01 e 0,89 (2d, 6H, J=6,60Hz, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 174,2 (C=O); 159,5 a 91,6 (ArC); 80,8 (C); 62,3 (CO-CH-); 55,2 (CH<sub>3</sub>O-); 47,7 (NH-CH-); 41,0 a 21,9 (-CH<sub>2</sub>-); 20,7 (CH<sub>3</sub>); 19,1 e 17,0 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=453,39 (esperado, 453,64).

7.4.3.2. Síntese da 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona



A uma solução de 4'-N-fenilalanilprimaquina (**22**) (1,71g) em metanol seco (20,0mL), adicionaram-se filtros moleculares (1,55g), Et<sub>3</sub>N (0,2mL; 1,4mmol) e cicloheptanona (**33**) (1,00mL; 8,48mmol). Deixou-se a mistura em refluxo (aquecimento em manta eléctrica) ao abrigo da luz durante 3 dias, adicionando mais um equivalente de cicloheptanona (0,50mL; 4,24mmol) por cada 24h de reacção. A reacção foi sendo acompanhada por TLC. Filtrou-se a mistura obtida por gravidade, para remover os filtros moleculares, e levou-se o filtrado à secura. Obteve-se um óleo amarelo alaranjado que por TLC(I) se verificou estar impuro.

Procedeu-se à purificação por cromatografia em coluna utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF 8:1 como eluente.

Recolheram-se as fracções de produto principal e evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, tendo-se obtido um óleo amarelo (1,06g; 2,12mmol), que por TLC(I) se verificou estar cromatograficamente homogéneo:  $R_f(35)=0,44$ .

$\delta_H$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 8,52 (m, 1H,  $J=4,42\text{Hz}$ ,  $J=3,14\text{Hz}$ ,  $J=1,60\text{Hz}$ , Ar); 7,91 (dt, 1H,  $J=8,29\text{Hz}$ ,  $J=1,60\text{Hz}$ , Ar); 7,32 a 7,17 (m, 6H, Ar); 6,33 (d, 1H,  $J=2,43\text{Hz}$ , Ar); 6,28 (dd, 1H,  $J=4,12\text{Hz}$ ,  $J=2,53\text{Hz}$ , Ar); 5,99 (t, 1H,  $J=9,07\text{Hz}$ , -NH-CH-); 3,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O-); 3,69 a 3,61 (m, 2H, -CH-); 3,40 e 3,01 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-); 3,13 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-Ph); 1,64 a 1,38 (ms, 16H, -CH<sub>2</sub>-); 1,29 (dd, 3H,  $J=6,36\text{Hz}$ ,  $J=3,41\text{Hz}$ , CH<sub>3</sub>-); 1,20 (m, 1H, -NH-).

$\delta_C$  (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) 173,8 (C=O); 159,4 a 91,5 (ArC); 136,8 (C); 81,3 (C); 58,2 (CO-CH-); 55,1 (CH<sub>3</sub>O-); 47,6 (NH-CH-); 40,5 a 21,9 (-CH<sub>2</sub>-); 20,6 (CH<sub>3</sub>).

$m/z$  (MH<sup>+</sup>)=501,33(esperado, 501,69).

## 7.5. Preparação dos citratos das 4-imidazolidinonas

A cada uma das 4-imidazolidinonas sintetizadas de acordo com a secção anterior, adicionou-se solução de ácido cítrico 0,1M em éter etílico anidro, ocorrendo precipitação quase imediata de um sólido alaranjado. Continuou-se a adição de solução de ácido cítrico, gota a gota, até não ser observada precipitação adicional.

Transferiu-se a suspensão obtida para um tubo de centrifuga *Falcon* e centrifugou-se a 3000 r.p.m. e 0°C, durante 15 minutos. Decantou-se o sobrenadante para o balão onde se havia efectuado a precipitação, procedendo-se a diversos ciclos de evaporação / readição de éter etílico anidro, no sentido de aproveitar o máximo de sal sólido possível.

Os citratos preparados foram colocados em exsiccador de vácuo até massa constante e posteriormente armazenados a 0°C e ao abrigo da luz.

*REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS*

1. [http:// www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria/texto\\_malaria.htm](http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria/texto_malaria.htm).
2. [http://www.malaria.org.za/Malaria\\_Risk/General\\_Information/Update/update.htm](http://www.malaria.org.za/Malaria_Risk/General_Information/Update/update.htm).
3. [http:// www.rph.wa.gov.au/labs/haem/malaria/spain/history.html](http://www.rph.wa.gov.au/labs/haem/malaria/spain/history.html).
4. [http:// www.cienciaviva.met.pt](http://www.cienciaviva.met.pt).
5. [http:// www.biotemas.com.br/malariaciclo.htm](http://www.biotemas.com.br/malariaciclo.htm).
6. [http:// www.etall.hpg.ig.com.br/malaria.htm](http://www.etall.hpg.ig.com.br/malaria.htm).
7. [http:// www.geocities.com/HotSprings/Resort/5403/Malaria.htm](http://www.geocities.com/HotSprings/Resort/5403/Malaria.htm).
8. [http:// www.malariasite.com/malaria/Lifecycle.htm](http://www.malariasite.com/malaria/Lifecycle.htm).
9. [http:// www.rationalmedicine.org/malaria/primaquine.htm](http://www.rationalmedicine.org/malaria/primaquine.htm).
10. [http:// www.inchem.org/documents/pims/pharm/primaqui.htm](http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/primaqui.htm)
11. [http:// www.malariasite.com/malaria/G6PD.htm](http://www.malariasite.com/malaria/G6PD.htm).
12. [http:// www.Rialto.com/g6pd/clinical.htm](http://www.Rialto.com/g6pd/clinical.htm).
13. M.J.Gardner, N.Hall, E.Fung et al, *Nature*, 2002, **419(6906)**, 498-511.
14. M.Enserink, E.Pennisi, *Science*, 2002, **295 (5558)**, 1207.
15. Jornal de Notícias, edição de 3/10/2002.
16. H.P. Rang, *Farmacologia*, Guanabara-Koogan, London, 2ª edição, 1993.
17. J.G. Hardman, L.E.Limbird, P.B.Molinoff, R.W.Ruddon, AG.Gilman, *Goodman & Gilman's – The Pharmacological Basis of Therapeutics*, MC Graw-Hill, 9ª edição, 1996.
18. A .Korolkovas, *Essencial of Medicinal Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 2ª edição, 1988.
19. M. J. Araújo, R. Moreira, P. Gomes, R.A.P. Castanheiro; Livro de Resumos do XV Encontro Galego - Português de Química, A Coruña, 2001, p.117.
20. J.D..Phillipson, *Assays for Antimalarial and Amoebicidal Activities*, University of London, London, p.135-152.
21. A. Brossi, P.Millet, I. Landau, M.E. Bembenek and C.W.Abell, *FEBS Letters*, 1987, **214(2)**, 291-294.
22. R.E. Coleman, A .M.Clavin and W.K.Milhous, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **46(2)**, 169-182.
23. E.A. Nodiff, S.Chatterjee, H.A. Musallam, *Progress in Medicinal Chemistry*, Elsevier Science Publishers, 1991, Vol.28, 1-40.
24. S. Agarwal, U.R.Gupta, R.C.Gupta, N. Anand and S.S. Agarwal, *Biochemical Pharmacology*, 1988, **37(24)**, 4605-4609.

25. M. J. Portela, R. Moreira, E. Valente, L. Constantino, J. Iley, J. Pinto, R. Rosa, P. Cravo, V. E. Rosário, *Pharm. Res.*, 1999, **16(6)**, 949-955.
26. A. Philip, J.A. Kepler, B.H.Johnson, F.I. Carroll, *J. Med. Chem.*, 1988, **31(4)**, 870-874.
27. M.J.Araújo, R.Castanheiro, R.Ferraz, H.Pinto, R.Moreira, P.Gomes, *J. of Pep. Sci.*, 2002, **8(suppl)**, 207.
28. M.Rinnová, A.Anefzi, R.A. Houghten, *Tetrahedron Letters*, 2002, **43**, 2343-2346.
29. M.Rinnová, A.Anefzi, R.A. Houghten, *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 2002, **12**, 3175-3178.
30. M.Rinnová, A. Vidal, A.Anefzi, R.A. Houghten, *J. Comb. Chem.*, 2002, **4**, 209-213.
31. A. I. Khodair, P.Bertrand, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 4859-4872.
32. L.Lund, A.Bak, G.J.Friis, L.Hovgaard, L.L.Christrup, *Int. J. of Pharm.*, 1998, **172**, 97-101.
33. A.Bak, M.Fich, B.D.Larsen, S.Frokjaer, G.J.Friis, *Eur. J. of Pharm. Sci.*, 1999, **7**, 317-323.
34. A.J.R.Heck, P.J.Bonnici, E.Breukink, D.Morris, M:Wills, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7(4)**, 910-916.
35. L.F.Fowles, E.Beck, S.Worrall, B.C.Shanley, J.Jersey, *Biochemical Pharmacology*, 1996, **51**, 1259-1267.
36. G.A.Hardcastle, D.A.Johnson, C.A.Panetta, A.I.Scott, S.A.Sutherland, *J. Org. Chem.*, 1966, **31(3)**, 897-899.
37. Y.Gotoh, M.Tsukada, N.Minoura, *Int. J. Biological Macromolecules*, 1996, **19**, 41-44.
38. U.Zehavi, D.Ben-Ishai, *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 1097-1101.
39. C.A.Panetta, M.Pesh-Imam, , *J. Org. Chem.*, 1972, **37(2)**, 302-304.
40. P.M.Hardy, D.Samworth, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, 1977, 1954-1960.
41. A.Papadopoulos, B.Lewall, E.Steckan, K.D.Ginzel, F.Knoch, M.Nieger, *Tetrahedron*, 1991, **47**, 563-572.
42. N.A Meanwell, H.R.Roth, E.C.R.Smith, D.L.Wedding, J.J.K.Wright, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 6897-6904.
43. K. Miyajima, B. Yasuui, M. Motoyama, S. Ishikawa, K. Yasumura, *Chem. Abstr.*, 1993, **119**, 117247c.
44. K. Yasumura, K. Miyajima, T. Nagahama, S. Ishikawa, Y. Tohyama, K. Sugiyama, *Chem. Abstr.*, 1995, **122**, 314548q.
45. M. Bodansky, *Principles of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1984.

46. M. Bodansky, *Peptide Chemistry- A practical textbook*, Springer-Verlag, Berlin, 1988.
47. P.L. Williams, F. Albericio, E. Giralt, *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*, CRC Press, Boca Raton (USA), 1997.
48. H.E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 7512-7515.
49. E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, N. Simon, *Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos*, Alambra Longman, Madrid, 1980.
50. C. M. Svahn, J. Gyllander, *J. Chrom.*, 1979, **170**, 292-293.
51. P. A. C. Gomes, *Estudo da Síntese de derivados da Sulfametazina*, Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 1996.
52. R. A. P. Castanheiro, *Síntese de compostos cíclicos da Primaquina contendo aminoácidos e dipéptidos*, Seminário em Síntese Orgânica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2001.
53. R.A. P. Castanheiro, *Seminários I e II*, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2002.

*APÊNDICES*

| Composto sintetizado  | Rendimento / % | Número / Página |
|---|----------------|-----------------|
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilglicil) primaquina  | 96,0           | 10 / 46         |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilalanil) primaquina  | 93,0           | 12 / 48         |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil) primaquina   | 98,6           | 14 / 50         |
| 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilfenilalanil) primaquina   | 96,9           | 17 / 53         |
| 4'-N- glicilprimaquina  | 95,6           | 19 / 56         |
| 4'-N-alanilprimaquina   | 87,3           | 20 / 58         |
| 4'-N-valilprimaquina  | 94,4           | 21 / 60         |
| 4'-N-fenilalanilprimaquina  | 88,2           | 22 / 62         |
| 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil]-<br>-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona              | 74,7           | 24 / 64         |
| 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil]-<br>-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona      | 69,2           | 25 / 66         |
| 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona   | 62,5           | 26 / 68         |
| 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>2-espirocicloexano-4-imidazolidinona       | 69,1           | 27 / 70         |
| 3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil) aminobutil]-<br>-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona            | 50,4           | 29 / 72         |
| 5-metil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona     | 61,2           | 30 / 74         |
| 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona | 55,0           | 31 / 76         |
| 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona    | 58,6           | 32 / 78         |
| 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona | 47,9           | 34 / 80         |
| 5-benzil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-<br>-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona    | 50,2           | 35 / 82         |

Tabela V: Compostos sintetizados

**GLOSSÁRIO**

**aa:** aminoácido

**ACH:** ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico

**Ala:** resíduo do aminoácido alanina

**Boc :** grupo *terc*-butiloxicarbonilo

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (DCM):** diclorometano

**<sup>13</sup>C-RMN:** ressonância magnética nuclear de carbono 13

**DCCI:** N,N'-dícicloexilcarbodiimida

**DCU:** N,N'-dícicloexilureia

**DHB:** ácido 2,5-diidroxibenzóico

**DIPCI:** N,N'-diisopropilcarbodiimida

**DIU:** N,N'-diisopropilureia

**EM:** espectrometria de massa

**Et<sub>2</sub>O:** éter dietílico

**Et<sub>3</sub>N:** trietilamina

**EtOH:** etanol

**Gly:** resíduo do aminoácido glicina

**<sup>1</sup>H-RMN:** ressonância magnética nuclear de próton

**HOBt:** 1-hidroxibenzotriazole

**MALDI-TOF:** matrix assisted laser desorption ionization – time-of-flight

**Me<sub>2</sub>CO:** acetona (propanona)

**MeOH:** metanol

**MgSO<sub>4</sub>:** sulfato de magnésio

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** carbonato de sódio

**Ph:** grupo fenilo

**Phe:** resíduo do aminoácido fenilalanina

**Primaquina (PQ):** 8-[(4-amino-1-metilbutil)amino]-6-metoxiquinolina

**R<sub>f</sub>:** factor de retenção

**TFA:** ácido trifluoroacético

**THF:** tetraidrofurano

**TLC:** cromatografia em camada fina (*thin-layer chromatography*)

**TMS:** tetrametilsilano

**Val:** resíduo do aminoácido valina

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1:</b> Distribuição da malária no mundo   | 1  |
| <b>Figura 2:</b> Mosquito do género <i>Anopheles</i> que transmite a malária ao hospedeiro humano                                       | 3  |
| <b>Figura 3:</b> Ciclo de vida dos parasitas da malária humana  | 5  |
| <b>Figura 4:</b> Transformação da primaquina em carboxiprimaquina por oxidação enzimática   | 10 |
| <b>Figura 5:</b> Representação esquemática da formação e acção de um pró-fármaco  | 12 |
| <b>Figura 6:</b> 4-imidazolidinona numa sequência peptídica   | 14 |
| <b>Figura 7:</b> Prolina numa sequência peptídica   | 14 |
| <b>Figura 8:</b> Síntese em fase sólida de 4-imidazolidinonas análogas a péptidos   | 15 |
| <b>Figura 9:</b> Estrutura genérica das 4-imidazolidinonas pretendidas  | 18 |
| <b>Figura 10:</b> Esquema geral da reacção de condensação de um $\alpha$ -aminoácido $N^{\alpha}$ -Boc-protégido com a primaquina       | 21 |
| <b>Figura 11:</b> Remoção do grupo Boc dos derivados $N^{\alpha}$ -protégidos da primaquina por acidólise com TFA                       | 22 |
| <b>Figura 12:</b> Desprotecção total do derivado, com obtenção do grupo amino terminal livre  | 22 |
| <b>Figura 13:</b> Mecanismo proposto para a ciclização dos derivados da primaquina com cetonas cíclicas                                 | 23 |
| <b>Figura 14:</b> Espectro de massa da 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil)primaquina   | 26 |
| <b>Figura 15:</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN da 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil)primaquina em $\text{CDCl}_3$              | 27 |
| <b>Figura 16:</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN da 4'-N-( <i>terc</i> -butiloxicarbonilvalil)primaquina em $\text{CDCl}_3$           | 28 |
| <b>Figura 17:</b> Espectro de massa da 4'-N-valilprimaquina   | 30 |
| <b>Figura 18:</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN da 4'-N-valilprimaquina em $\text{CDCl}_3$  | 31 |
| <b>Figura 19:</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN da 4'-N-valilprimaquina em $\text{CDCl}_3$   | 31 |
| <b>Figura 20:</b> Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloexano-4-imidazolidinona   | 34 |
| <b>Figura 21:</b> Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclopentano-4-imidazolidinona | 35 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 22:</b> Espectro de massa da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona                                   | 35 |
| <b>Figura 23:</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$     | 36 |
| <b>Figura 24:</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirociclohexano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$  | 36 |
| <b>Figura 25:</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$    | 37 |
| <b>Figura 26:</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$ | 37 |
| <b>Figura 27:</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$    | 38 |
| <b>Figura 28:</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN da 5-isopropil-3-[4-metil-4-(6-metoxi-8-quinolil)aminobutil]-2-espirocicloheptano-4-imidazolidinona em $\text{CDCl}_3$ | 38 |

**ÍNDICE DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela I:</b> Resultados obtidos para a reacção de condensação da primaquina<br>com os $\alpha$ -aminoácidos N <sup>α</sup> -Boc-protegidos | 24 |
| <b>Tabela II:</b> Resultados obtidos para a reacção de remoção do grupo Boc com TFA  | 29 |
| <b>Tabela III:</b> Resultados obtidos para a síntese das 4-imidazolidinonas por ciclização<br>com cetonas cíclicas                             | 32 |
| <b>Tabela IV:</b> Sistema de eluentes cromatográficos utilizados   | 44 |
| <b>Tabela V:</b> Compostos sintetizados  | 90 |

UNIVERSIDADE DO PORTO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
BIBLIOTECA