

# Metodologias de síntese de novo tensioativos derivados de aminoácidos

Ana Rita Dias

Mestrado em Química

Departamento de Química e Bioquímica

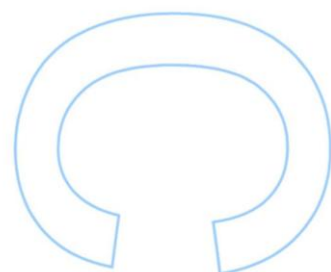
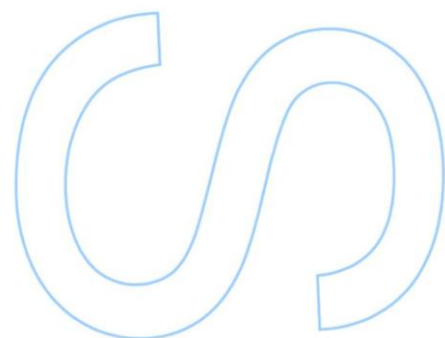
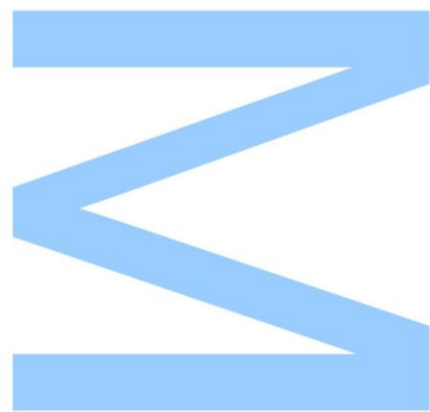
2014

## Orientador

Prof<sup>a</sup>. Maria Luísa Cardoso do Vale, Professora Auxiliar, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

## Coorientador

Prof<sup>a</sup>. Maria João Sinde Monteiro Pinto de Araújo, Professora Auxiliar, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto



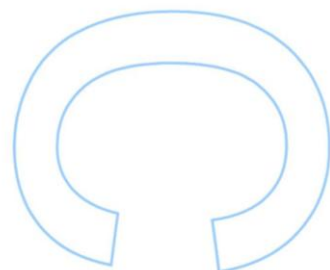
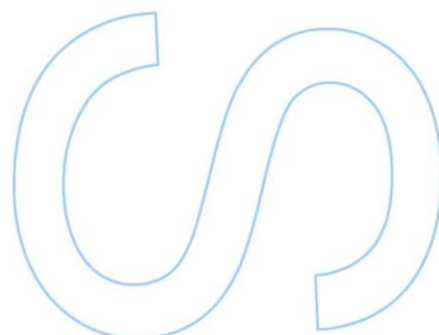
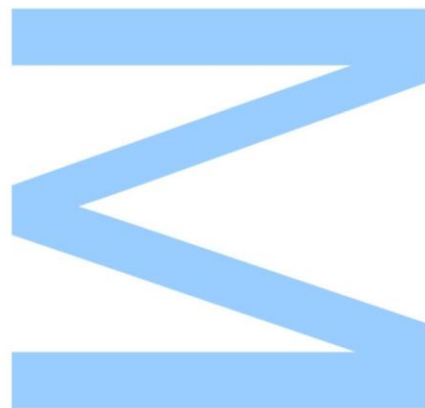




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_





So, so you think you can tell

Heaven from Hell,

Blue skies from pain.

Can you tell a green field

From a cold steel rail?

A smile from a veil?

Do you think you can tell?

**Roger Waters, *Wish You Were Here***



# Agradecimentos

Começo por agradecer à minha orientadora, professora Maria Luísa Cardoso do Vale, pela paciência e por toda a ajuda que me disponibilizou, não só neste projeto, mas ao longo destes quase três anos.

À professora Maria João Araújo, minha coorientadora, pela oportunidade de participar neste projeto e por todo o apoio.

Agradeço também à Cláudia, a minha colega de bancada dos últimos dois anos e meio, e aos restantes colegas de laboratório – Carina, Ana, Cidália, Isabel, Fábio, Ivo, Carlos, etc. – pela amizade e apoio nos momentos de maior emulsão.

À Rita e à Vânia um muito obrigada pela preocupação e pelo apoio, pelo ânimo quando este mais faltou.

Agradeço à Ana Silva, à Cristiana e à Patrícia, por todos estes anos e por não deixarem a distância interferir com a amizade! Obrigada por estarem lá sempre que precisei e por me conseguirem aturar durante tanto tempo.

Por fim, o agradecimento mais importante, aos meus pais e irmãos, por tudo! Mesmo tudo! Nem se pudesse escolher eu arranjava melhor!









# Resumo

Os tensioativos gemini representam uma nova geração de tensioativos que, quando comparados com os correspondentes tensioativos monoméricos, apresentam geralmente melhores propriedades físico-químicas (interfaciais e de auto-agregação) e biológicas e a introdução de biomoléculas na sua estrutura, tais como aminoácidos, veio aumentar a sua biocompatibilidade e diminuir a sua toxicidade.

Devido às suas características singulares, nos últimos anos, estas moléculas têm atraído muita atenção, em particular para a utilização em aplicações biológicas e biomédicas, nomeadamente para sistemas de veiculação de fármacos ou como vetores para terapia génica.

Neste contexto, foi elaborado um projeto cujo objetivo envolvia a síntese de tensioativos gemini derivados de aminoácidos. Neste trabalho é discutida a síntese de dois tensioativos gemini derivados da serina, do tipo amida e do tipo éster (série amida 2 e série éster 2) e a síntese de tensioativos gemini derivados da 4-hidroxirolina (série hidroxiprolina).

Os tensioativos catiónicos das séries amida 2 e hidroxiprolina foram sintetizados através da introdução de um grupo alcanóilo de cadeia longa no grupo hidroxilo do aminoácido (ligação do tipo éster), seguida da condensação de uma diamina com dois precursores monoméricos através do grupo carboxílico (ligação do tipo amida, composto gemini) e da quaternização do grupo amino. Em ambas as séries foram obtidos os compostos gemini catiónicos pretendidos, com rendimentos das reações que variaram entre razoáveis e elevados.

Para a série éster 2, pretendia-se a síntese de tensioativos gemini derivados de serina em que dois monómeros de aminoácido *N*-alquilado, fossem unidos através do seu grupo hidroxilo por um dicloreto de ácido. Experimentaram-se três vias de síntese para a obtenção deste composto, mas em nenhum dos casos se conseguiu obter o composto pretendido.

No total foram sintetizados oito novos compostos, dois deles tensioativos gemini catiónicos finais. Deste modo, foram estabelecidas as metodologias de síntese para a obtenção de duas novas famílias de tensioativos gemini catiónicos derivados de aminoácidos, um de serina e outro de 4-hidroxirolina.



# Abstract

Gemini surfactants are a new class of surfactants that usually display enhanced physicochemical (interfacial and self-aggregation behavior) and biological properties, when compared to the corresponding monomeric analogues. The introduction of biological moieties, like amino acids and sugars, in their structure made them more biocompatible and less toxic.

Over the last few years, these molecules have attracted much attention due to their improved features, in particular for biological and biomedical applications, such as drug delivery systems and vectors for gene transfection.

In this context, the aim of this project was the synthesis of new amino acid-based gemini surfactants. In this work, the synthesis of two novel serine-based gemini surfactants (series amide 2 and ester 2) and as well as the synthesis of a 4-hydroxyproline-based gemini surfactant (hydroxyproline series) are described.

In the amide 2 and hydroxyproline series, the aliphatic chain was introduced at the amino acid's hydroxyl group by esterification with a long-chain acyl chloride. Then, a diamine spacer was condensed to the carboxyl group of the amino acid, forming an amide bond. These gemini precursors were transformed into the target cationic surfactants by quaternization of the amine group using iodomethane. In both series the cationic gemini compounds were obtained, with medium to high overall yields.

For the ester 2 series, the introduction of the spacer between the hydroxyl groups of the *N*-alkylated serine derivative, using glutaryl chloride was aimed at. Three methods of synthesis were attempted, but none of them was successful, as the desired compounds could not be isolated.

Eight new compounds were synthesized, with two of them being final cationic gemini surfactants. Thus, the synthetic methodologies for the synthesis of two novel families of amino acid-based cationic gemini surfactants were established, one based on serine and the other 4-hydroxyproline.



# Índice Geral

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	v
Índice de Tabelas .....	xiii
Índice de Figuras .....	xv
Abreviaturas .....	xxi
Introdução.....	1
1.1. Os tensioativos.....	4
1.1.1.Caracterização de tensioativos .....	5
a) Tensioativos aniónicos.....	5
b) Tensioativos catiónicos.....	6
c) Tensioativos não iónicos.....	7
d) Tensioativos zwitteriónicos .....	8
1.1.2.Preocupações ambientais.....	9
1.1.3.Tensioativos Gemini .....	12
1.2. O Projeto.....	15
1.3. Plano de trabalhos .....	16
Resultados e Discussão .....	19
2.1. Síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina – Série Amida 2 .....	21
2.1.1.Introdução da cadeia alifática no aminoácido por esterificação.....	21
2.1.2.Metilação do tensioativo no grupo amino por aminação reductiva .....	22
2.1.3.Introdução do espaçador por condensação .....	25

2.1.4. Metilação do tensioativo gemini .....	28
2.2. Síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de 4-hidroxirolina ...	31
2.2.1. Introdução da cadeia alifática no aminoácido por esterificação.....	31
2.2.2. Introdução do espaçador por condensação .....	33
2.2.3. Desproteção – Remoção do grupo Fmoc.....	35
2.2.4. Metilação exaustiva do tensioativo gemini .....	37
2.3. Tentativa de síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina – Série Éster 2.....	40
2.3.1. Tentativa I - Introdução do espaçador por esterificação.....	40
2.3.2. Tentativa II.....	41
a) Introdução da cadeia alifática no aminoácido por aminação reductiva.	41
b) Introdução do espaçador por esterificação .....	41
2.3.3. Tentativa III - Síntese do tensioativo gemini não iónico da série éster 2.....	42
Considerações Finais .....	45
Procedimento Experimental .....	51
3.1. Aspectos Gerais.....	53
3.2. Síntese da série amida 2.....	55
3.2.1. Síntese de <i>O</i> -dodecanoíserina.....	55
3.2.2. Síntese de <i>N,N</i> -dimetil- <i>O</i> -dodecanoíserina .....	56
3.2.3. Síntese de didodecanoato de (2 <i>S</i> )-2-(dodecametileno-1,12- dicarbamoíl) <i>bis</i> [(2- <i>N,N</i> -dimetilamino)etilo] .....	57
3.2.4. Síntese de diiodeto de (1 <i>S</i> )-{1-(dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) <i>bis</i> [2-(dodecanoíloxi)etil]} <i>bis-N,N,N</i> -trimetilamónio.....	58
3.3. Síntese da série hidroxiprolina .....	60
3.3.1. Síntese de <i>N</i> -Fmoc-4-dodecanoíloxiprolina .....	60



3.3.2. Síntese de didodecanoato de (2S)-[(2-dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) <i>bis</i> ( <i>N</i> -Fmoc-pirrolidin-4-ilo)] .....	61
3.3.3. Desproteção do precursor gemini não iônico .....	62
3.3.4. Síntese de diodeto de (2S)-(2-dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) <i>bis</i> -[(4-dodecanoíloxi)- <i>N,N</i> -dimetilpirrolidínio] .....	63
3.4. Tentativa de síntese da série éster 2.....	65
3.4.1. Tentativa I - Síntese de glutarato de <i>bis</i> [( <i>S</i> )-2-amino-2-(metiloxicarbonil)etilo] .....	65
3.4.2. Tentativa II .....	65
a) Síntese de <i>N</i> -dodecilserinato de metilo.....	65
b) Síntese de glutarato de <i>bis</i> [( <i>S</i> )-2-(dodecilamino)-2-(metiloxicarbonil)etilo] .....	66
3.4.3. Tentativa III - Síntese de glutarato de <i>bis</i> [( <i>S</i> )-2-(dodecilamino)-2-(metiloxicarbonil)etilo] .....	67
Referências Bibliográficas .....	69
Anexos .....	71



# Índice de Tabelas

Tabela 1 - Resultados obtidos na síntese do composto <b>2</b> .....	22
Tabela 2 - Resultados obtidos na síntese do composto <b>3</b> .....	24
Tabela 3 - Resultados obtidos na síntese do composto <b>4</b> .....	27
Tabela 4 - Resultados obtidos na síntese do composto <b>5</b> .....	29



# Índice de Figuras

Figura 1 - Ilustração de um tensoativo. ....	4
Figura 2 - Tensoativos associados em: a) monocamada; b) micela. ....	5
Figura 3 - Estruturas representativas de tensoativos aniônicos.....	6
Figura 4 - Estruturas representativas de tensoativos catiónicos. ....	7
Figura 5 - Estruturas representativas de tensoativos não iónicos.....	8
Figura 6 - Estruturas representativas de tensoativos zwitteriônicos. ....	9
Figura 7 - Representação genérica de um tensoativo gemini. <sup>[16]</sup> .....	13
Figura 8 - Exemplos de estruturas de tensoativos gemini. ....	13
Figura 9 - Exemplos de tensoativos derivados de serina desenvolvidos. ....	15
Figura 10 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400 MHz) do composto <b>3</b> .....	25
Figura 11 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) do composto <b>4</b> . ....	27
Figura 12 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) do composto <b>5</b> . ....	29
Figura 13 - Espetro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) do composto <b>5</b> .....	30
Figura 14 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) do composto <b>7</b> . ....	32
Figura 15 - Espetro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) do composto <b>7</b> .....	33
Figura 16 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) do composto <b>8</b> . ....	34
Figura 17 - Espetro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) do composto <b>8</b> .....	35
Figura 18 - Espetro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) do composto <b>9</b> . ....	36
Figura 19 - Espetro de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) do composto <b>9</b> .....	37

Figura 20 - Espetro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto <b>10</b> . .....	38
Figura 21 - Espetro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto <b>10</b> . .....	39
Figura 22 - Numeração adotada para a prolina e para o grupo Fmoc (exemplificado com o composto <b>7</b> ). .....	54
Figura 23 - Espetro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{MeOD}$ , 400 MHz) do composto <b>2</b> . .....	73
Figura 24 - Espetro de Massa do composto <b>4</b> . .....	74
Figura 25 - Espetro de DEPT do composto <b>5</b> . .....	75
Figura 26 - Espetro de COSY do composto <b>5</b> . .....	75
Figura 27- Espetro de HSQC-DEPT do composto <b>5</b> . .....	76
Figura 28- Espetro de Massa do composto <b>5</b> . .....	76
Figura 29- Espetro de DEPT do composto <b>7</b> . .....	77
Figura 30- Espetro de COSY do composto <b>7</b> . .....	77
Figura 31- Espetro de HSQC-DEPT do composto <b>7</b> . .....	78
Figura 32- Espetro de DEPT do composto <b>8</b> . .....	79
Figura 33 - Espetro de COSY do composto <b>8</b> . .....	79
Figura 34- Espetro de HSQC-DEPT do composto <b>8</b> . .....	80
Figura 35- Espetro de Massa do composto <b>8</b> . .....	80
Figura 36- Espetro de DEPT do composto <b>9</b> . .....	81
Figura 37- Espetro de COSY do composto <b>9</b> . .....	81
Figura 38- Espetro de HSQC-DEPT do composto <b>9</b> . .....	82
Figura 39 - Espetro de DEPT do composto <b>10</b> . .....	83

Figura 40 - Espetro de COSY do composto <b>10</b> .....	83
Figura 41 - Espetro de HSQC-DEPT do composto <b>10</b> .....	84
Figura 42- Espetro de Massa do composto <b>10</b> .....	84





# Índice de esquemas

Esquema 1 - Reação entre uma amina terciária e cloroacetato de sódio.....	9
Esquema 2 - Métodos de síntese de tensioativos derivados de aminoácidos. <sup>[8]</sup> .....	12
Esquema 3 - Síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina na série amida 2.....	16
Esquema 4 - Síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de 4-hidroxiprolina na série hidroxiprolina.....	17
Esquema 5 – Metodologias propostas para a síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina na série éster 2. ....	18
Esquema 6 - Mecanismo geral da reação de esterificação. ....	21
Esquema 7 - Mecanismo geral da reação de aminação redutiva. ....	23
Esquema 8 - Mecanismo geral da reação de condensação. ....	26
Esquema 9 - Mecanismo geral da reação de metilação. ....	28
Esquema 10 - Mecanismo geral da reação de remoção do grupo protetor Fmoc. ....	36

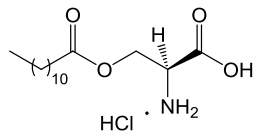


# Abreviaturas

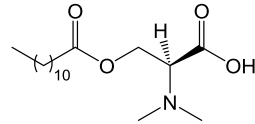
<b>4-HyPro</b>	4-hidroxiprolina
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>CCF</b>	Cromatografia em camada fina
<b><i>cmc</i></b>	Concentração micelar crítica
<b>COSY</b>	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<b>DCE</b>	Dicloroetano
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>DEPT</b>	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
<b>DIEA</b>	<i>N</i> -etil- <i>N,N</i> -diisopropilamina
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -dimetilformamida
<b>EM</b>	Espectrometria de massa
<b>eq.</b>	equivalentes estequiométricos
<b>ESI</b>	<i>Electrospray Ionization</i>
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	Éter dietílico
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>Fmoc</b>	9-fluorenylmethoxycarbonyl
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
<b>Hz</b>	Hertz
<b><i>J</i></b>	constante de acoplamento
<b><i>m/z</i></b>	relação massa/carga
<b>M</b>	massa molar; concentração em mol.L <sup>-1</sup>
<b>Me</b>	grupo metilo

<b>MeOH</b>	Metanol
<b>NEt<sub>3</sub></b>	Trietilamina
<b>ppm</b>	partes por milhão
<b>Rf</b>	Fator de retenção cromatográfica
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância magnética nuclear de próton
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
<b>TBTU</b>	Tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio
<b>TFA</b>	ácido trifluoroacético

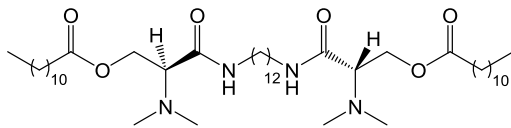
# Compostos Sintetizados



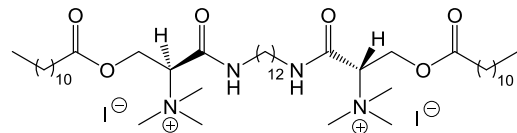
2



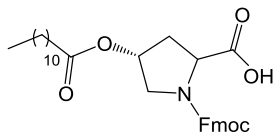
3



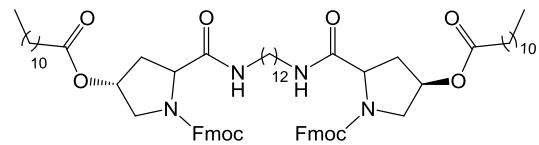
4



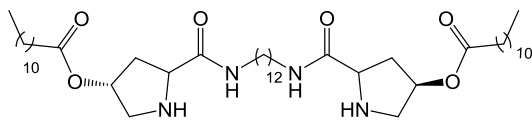
5



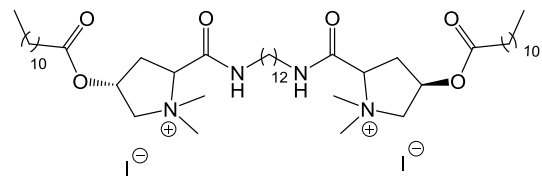
7



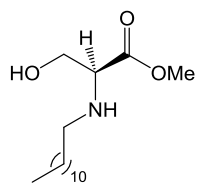
8



9



10



13



## *Capítulo I*

---

# **Introdução**





A produção de tensoativos começou por ser conduzida principalmente pela indústria de sabões e detergentes, tendo sido esta a principal impulsionadora destes compostos no mercado. Contudo, com o desenvolvimento tecnológico e o estudo mais aprofundado destas moléculas, são cada vez mais variadas as suas áreas de aplicação, tornando os tensoativos num dos produtos químicos mais comumente utilizados atualmente. Os tensoativos são usados a grande escala como constituintes de diferentes tipos de produtos, desde detergentes a cosméticos, em aplicações industriais ou domésticas.

Nos dias de hoje, nota-se um aumento da consciência ambiental da população, principalmente no que diz respeito tipo de produtos químicos que entra em contacto com o ambiente. Alguns tensoativos apresentam problemas de toxicidade para organismos aquáticos, uma vez que grande parte dos produtos que possuem tensoativos em quantidades significativas na sua constituição são libertados para o sistema de esgotos e conseqüentemente para o mar.<sup>[1,2]</sup>

De forma a responder às exigências, tanto dos consumidores, como das legislações ambientais implementadas, as indústrias investiram no desenvolvimento de novos compostos mais biocompatíveis e biodegradáveis, mas que mantivessem a mesma performance que os tensoativos até então desenvolvidos.

Uma das estratégias encontradas para a obtenção de compostos mais amigos do ambiente foi a síntese de novos tensoativos que tivessem na sua constituição biomoléculas, tais como aminoácidos e açúcares.<sup>[3,4]</sup>

Com o aumento do interesse no estudo dos tensoativos, nos últimos anos começaram a surgir novos compostos com estruturas inovadoras e em alguns casos com propriedades físico-químicas e/ou biológicas muito interessantes. Uma dessas novas moléculas são os tensoativos gemini, que consistem em dois monómeros de tensoativo ligados entre si por um espaçador. Esta nova classe de tensoativos apresenta, em alguns aspetos, propriedades melhoradas em relação aos seus precursores monoméricos, nomeadamente na sua capacidade de micelização.<sup>[5]</sup>

A grande variedade de estruturas e aplicações possíveis que os tensoativos apresentam faz com que estes mereçam a atenção tanto da indústria como do meio académico e são cada vez mais os estudos relacionados com o tema.

## 1.1. Os tensoativos

Os tensoativos são consumidos em grande escala a nível doméstico e industrial, podendo representar cerca de 25% da constituição de alguns detergentes, ou estar apenas presentes ao nível das partes por milhão em aplicações de alta performance, como por exemplo, sistemas de veiculação de fármacos, revestimentos de ótica de precisão e fabrico de produtos eletrónicos.<sup>[1]</sup>

Algumas das aplicações mais comuns dos tensoativos incluem: detergentes para roupa, amaciadores, detergentes da loiça e outros produtos de limpeza; produtos de higiene pessoal e cosméticos; polímeros em emulsão usados em tintas, revestimentos e adesivos; constituintes de produtos agrícolas; emulsionantes alimentares.

Os tensoativos são moléculas orgânicas anfifílicas, pois possuem duas porções com diferente polaridade, uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica. A parte hidrofílica é designada como cabeça, já a hidrofóbica é a cauda (figura 1).<sup>[1,3,6]</sup>

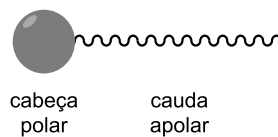
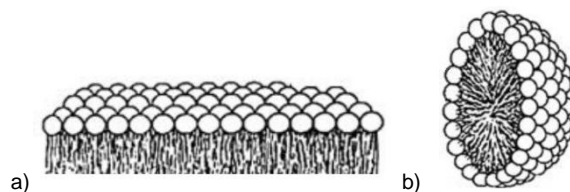


Figura 1 - Ilustração de um tensoativo.

A cauda apolar pode ser linear ou ramificada. O seu grau de ramificação, o tamanho da sua cadeia e a posição a que esta se liga à parte polar são parâmetros importantes quando se consideram as propriedades dos tensoativos. A cabeça polar pode ser iónica ou não iónica, sendo que as características do grupo polar determinam mais profundamente as propriedades do tensoativo.

Os tensoativos são moléculas com tendência a adsorver na interface entre duas fases não miscíveis, de modo a diminuir a tensão interfacial. Na interface, os monómeros de tensoativos distribuem-se numa monocamada (figura 2a), em que cada porção se direciona no sentido da fase com a qual tem mais afinidade. Normalmente, quanto maior a tendência para adsorver na interface, melhor é o

tensioativo, contudo a performance do composto vai depender da sua estrutura e da natureza das duas fases do sistema.



**Figura 2** - Tensioativos associados em: a) monocamada; b) micela.

Um dos aspetos mais importantes dos tensioativos é sua propensão para se auto-agregarem em solução, formando micelas (figura 2b) ou outros agregados mais complexos. A concentração de tensioativo em solução a partir da qual se inicia a formação de micelas é denominada de concentração micelar crítica, ou *cmc*, e é uma propriedade muito importante de cada tensioativo.

A formação de micelas, ou micelização, é um fenómeno muito relevante, visto que os tensioativos se comportam de maneira muito diferente em micelas do que quando se encontram como unímeros livres em solução. Numa micela, o grupo hidrofóbico está direccionado para o interior do aglomerado e a cabeça polar está direccionada para o exterior, para solventes polares. <sup>[3]</sup>

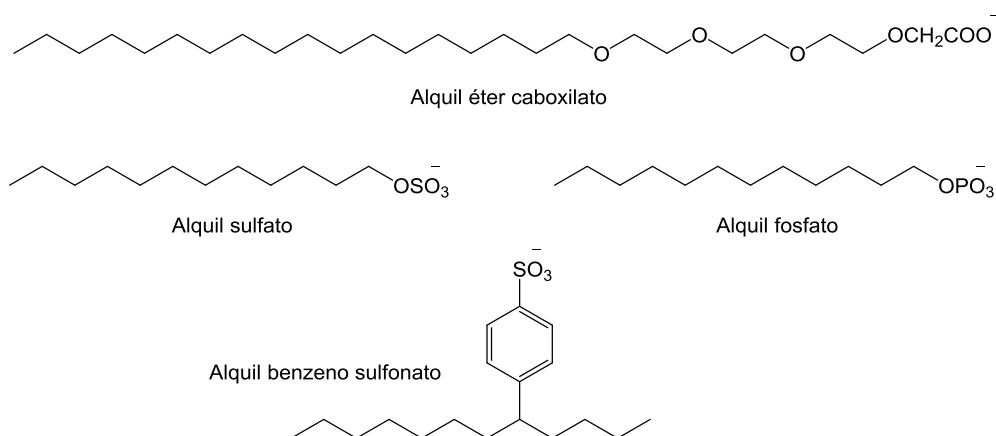
### 1.1.1. Caracterização de tensioativos

Uma das classificações de tensioativos utilizada é baseada na carga do seu grupo polar. Desta forma estes podem ser divididos em tensioativos aniónicos, catiónicos, não iónicos e zwitteriónicos.

#### a) Tensioativos aniónicos

Os tensioativos aniónicos representam a maior das categorias de tensioativos, tanto em termos de volume produzido como em vendas. Os grupos polares mais

representativos neste tipo de tensoativos são carboxilatos, sulfatos, sulfonatos e fosfatos (figura 3).



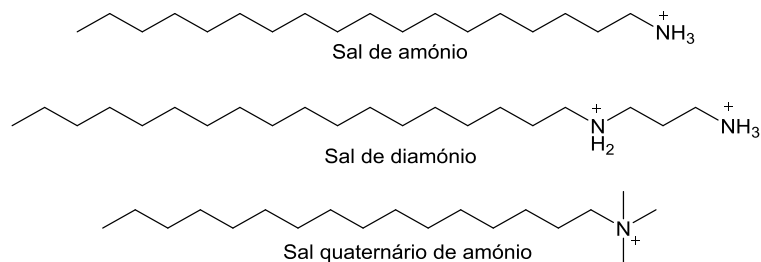
**Figura 3** - Estruturas representativas de tensoativos aniônicos.

Os contra-íões mais usados habitualmente são sódio, potássio, amónio, cálcio e diferentes tipos de aminas alquiladas protonadas. O sódio e o potássio conferem ao tensoativo maior solubilidade em água, enquanto que o cálcio e o magnésio promovem a solubilidade em solventes apolares.

Uma das principais razões para a popularidade dos tensoativos aniônicos são a facilidade e o baixo custo da sua produção. Os tensoativos aniônicos constituem, muitas vezes, a componente primária ou secundária em formulações de limpeza. As suas principais aplicações são: detergentes da roupa, produtos de limpeza e de higiene pessoal, emulsificantes para a agricultura, aditivos em plásticos e fibras.<sup>[1,3]</sup>

## b) Tensoativos catiónicos

Os tensoativos catiónicos são os terceiros tensoativos mais produzidos em termos de volume. A maioria destes tensoativos tem um azoto com carga positiva, ou seja, estão sob a forma de sais de amónio (figura 4). Os sais de amónio não podem ser utilizados a pH elevado, com exceção dos compostos de amónio quaternário, “quats”, que não são sensíveis ao pH.



**Figura 4** - Estruturas representativas de tensoativos catiónicos.

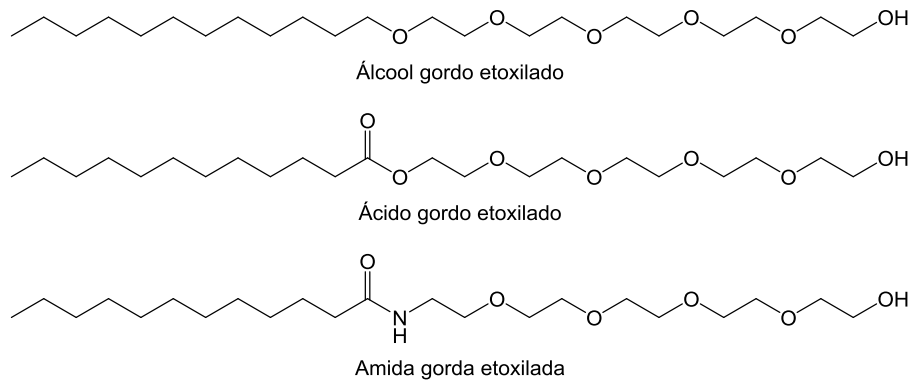
Existem ainda alguns tensoativos que apresentam grupos fosfónio, sulfónio, ou sulfoxónio, como grupo catiónico. Estes tensoativos catiónicos têm pouca utilização industrial pois raramente apresentam vantagens em termos de performance e custos, quando comparados com os baseados em azoto; contudo, alguns destes compostos encontraram utilização como biocidas ou agentes anti-estáticos.

Os tensoativos catiónicos são utilizados numa vasta gama de produtos domésticos e industriais, por exemplo: lubrificantes, amaciadores e fixadores de tintas para tecidos, agentes anticorrosivos para metais, agentes anti-estáticos para plásticos, agentes anti-aglomerantes em fertilizantes agrícolas, bactericidas e condicionadores de cabelo. <sup>[1,3]</sup>

### c) Tensoativos não iónicos

Os tensoativos não iónicos encontraram maior utilidade como complemento ou alternativa aos tensoativos aniónicos em produtos de limpeza doméstica e em aplicações industriais devido à sua tolerância à água “dura”, eficiência na remoção de sujidade e menor capacidade espumante.

Os tensoativos não iónicos são essencialmente compostos poli-hidroxilados (p. ex. açúcares) ou poliéteres. Os poliéteres podem ser divididos em três grupos, dependendo da ligação entre a cauda apolar e a cabeça polar (etoxilada): ácidos gordos etoxilados (ésteres), amidas gordas etoxiladas e álcoois etoxilados (éteres) (figura 5).



**Figura 5** - Estruturas representativas de tensoativos não iônicos.

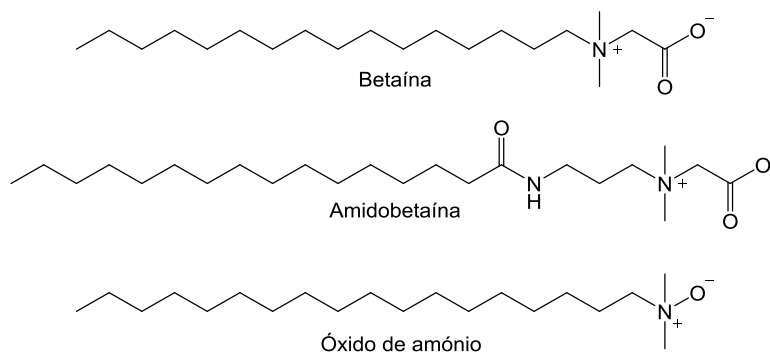
Estes tensoativos podem ser utilizados para limpeza de alta performance, como por exemplo, na metalurgia e no fabrico eletrónico e ótico, e em produtos de higiene pessoal e cosmética. <sup>[1]</sup>

#### **d) Tensoativos zwitteriônicos**

Os tensoativos zwitteriônicos representam o grupo mais pequeno de tensoativos e são caracterizados por apresentarem carga positiva e negativa na sua cabeça polar. São muitas vezes referidos na literatura como tensoativos anfotéricos, embora esta designação nem sempre esteja correta. Um tensoativo anfotérico, dependendo do pH do meio, pode ser catiónico, zwitteriônico ou aniónico, mas nenhum dos grupos, ácido ou básico, mantém a sua carga ao longo de toda a gama de valores de pH. Os aminoácidos são um bom exemplo de compostos anfotéricos. Nos tensoativos zwitteriônicos, uma das cargas pode permanecer fixa independentemente do pH do meio, como acontece quando o grupo catiónico é um grupo quaternário de amónio.

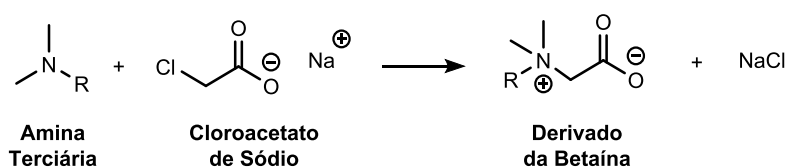
Os tensoativos zwitteriônicos têm, normalmente, como grupo com carga positiva o grupo amónio; o grupo com carga negativa costuma ser mais variado, sendo, no entanto, os carboxilatos os mais frequentemente encontrados.

Os tipos mais comuns de tensoativos zwitteriônicos são os derivados *N*-alquilados de aminoácidos simples, como a glicina, a betaína e o ácido amino-propanóico ( $\beta$ -alanina), ou óxidos de amina (figura 6).



**Figura 6** - Estruturas representativas de tensoativos zwitteriónicos.

Os derivados de aminoácidos são geralmente preparados por reação de uma amina de cadeia longa com cloroacetato de sódio ou derivados de ácido acrílico, originando estruturas com um e dois carbonos, respetivamente, entre o azoto e o grupo carboxilato (esquema 1).



**Esquema 1** - Reação entre uma amina terciária e cloroacetato de sódio.

Estes compostos apresentam, normalmente, maiores custos tanto ao nível de matérias-primas como de produção, e por isso são vendidos a preços elevados. Ainda assim, as suas propriedades únicas tornam-nos valiosos e a sua procura continua a aumentar. São descritos como tendo excelentes propriedades dermatológicas, por serem pouco irritantes para os olhos, e por isso são frequentemente utilizados em shampoos e outros produtos de cosmética. Proporcionam formulações suaves para uso doméstico, assim como espumas estáveis e espessas. <sup>[1,3]</sup>

### 1.1.2. Preocupações ambientais

Os tensoativos estão presentes em diferentes produtos que entram em contacto com o meio ambiente através do uso doméstico, na agricultura e na indústria.

Numa sociedade cada vez mais consciente dos efeitos nocivos da libertação irresponsável de certos produtos químicos para o ambiente, a produção de tensoativos tem de ultrapassar certos desafios, tanto no melhoramento de compostos já existentes, assim como no desenvolvimento de novas substâncias de modo a obedecer aos regulamentos existentes e preencher requisitos de biodegradabilidade, toxicidade e bioacumulação, exigidos por cada diferente região do planeta.<sup>[1]</sup>

Para além do desafio de minimizar custos de produção, indústrias como a alimentar, farmacêutica e cosmética, investem cada vez mais em alternativas mais amigas do ambiente. As tendências atuais passam pela síntese de tensoativos a partir de moléculas de origem natural e com ligações fáceis de quebrar.<sup>[3,7]</sup>

De modo a acelerar o seu o ritmo de biodegradação, tornou-se prática comum desenvolver tensoativos com ligações mais facilmente quebráveis na sua estrutura. Estas ligações podem ser colocadas em locais aleatórios na molécula, mas são normalmente colocadas entre a cadeia hidrofóbica e a cabeça polar, por razões práticas na sua síntese. Exemplos deste tipo de ligações são ésteres e amidas, devido ao facto de existirem enzimas no meio ambiente capazes de as quebrar. Apesar de anteriormente este tipo de ligações ser evitado por trazer problemas ao armazenamento dos produtos, atualmente, as preocupações ambientais estão no topo das prioridades aquando o desenvolvimento de novos tensoativos.

Nos últimos anos tem havido uma forte tendência na direção dos tensoativos “verdes”, particularmente para o uso doméstico. Neste contexto, surgiu o termo “tensoativo natural”, utilizado para assinalar a origem natural do composto. Contudo, nenhum tensoativo utilizado atualmente em quantidades substanciais é verdadeiramente natural. Com algumas exceções, todos eles são produzidos por síntese orgânica. Atualmente referem-se como tensoativos naturais os tensoativos que, embora de origem sintética, contenham moléculas “naturais” na sua constituição.

Os tensoativos, realmente, naturais são referidos muitas vezes como lípidos polares. Estes são abundantes em todos os organismos vivos. Em sistemas biológicos, os tensoativos são utilizados de maneira semelhante aos utilizados em aplicações técnicas: para ultrapassar problemas de solubilidade, como emulsificadores, como dispersantes, para modificar superfícies, etc. Existem muitos exemplos em sistemas biológicos: os sais biliares são solubilizadores muito eficientes de compostos hidrofóbicos no sangue; misturas de fosfolípidos arranjam-se em bicamadas



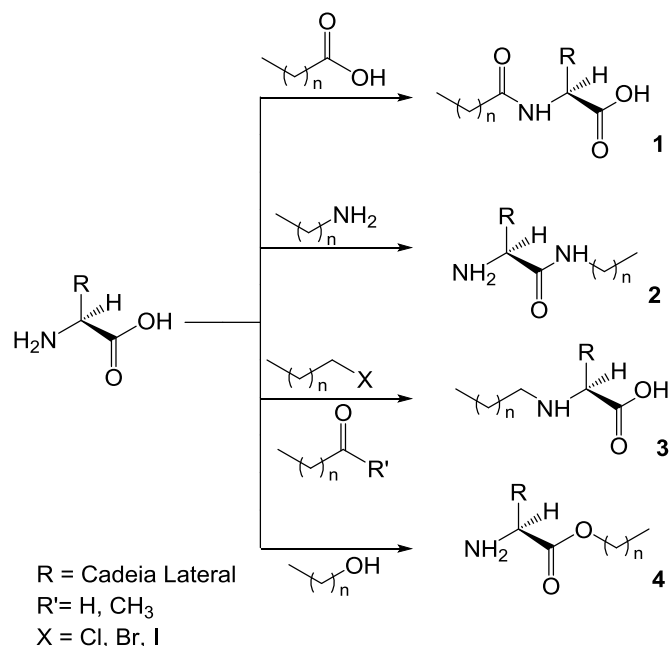
ordenadas e estas estruturas constituem as membranas das células. Este tipo de tensoativos seria o ideal em termos de compatibilidade com sistemas biológicos e com o meio ambiente; contudo, o uso comercial destes produtos está muito limitado pelo seu preço elevado.

Outra opção é o desenvolvimento de tensoativos que se assemelhem às moléculas anfifílicas naturais, derivadas de biomoléculas. De entre os produtos naturais que têm sido estudados para serem utilizados como cabeça polar em tensoativos, encontram-se os açúcares e os aminoácidos. Estes tensoativos podem ser desenvolvidos tanto por síntese orgânica como por síntese enzimática, ou ambas. [3,4]

No que se refere à utilização de aminoácidos como base na preparação de tensoativos, desde logo se verificou que a sua presença era vantajosa, conferindo aos compostos propriedades físico-químicas e biológicas melhoradas. Inicialmente, os tensoativos derivados de aminoácidos eram usados como agentes de conservação em aplicações médicas e em cosmética, tendo-se mais tarde verificado que também eram eficazes contra vários tipos de bactérias, tumores e vírus.

A junção de aminoácidos, que constituem a cabeça polar, com cadeias alquílicas de comprimento variado, deu origem a uma grande variedade de estruturas anfifílicas com diferentes propriedades físico-químicas e biológicas. O tipo de aminoácido determina de forma significativa as suas propriedades de adsorção e agregação, bem como a sua atividade biológica. [7]

Os aminoácidos podem-se ligar às cadeias alifáticas através dos grupos  $\alpha$ -amino,  $\alpha$ -carboxilo ou de grupos presentes na cadeia lateral. Como pode ser observado no esquema 2, o grupo amino do aminoácido pode reagir com ácidos gordos e dar origem a um derivado *N*-alcilado (1, amidas de ácidos gordos); por outro lado, quando reage com haloalcanos ( $S_N2$ ) ou aldeídos/cetonas (aminação redutiva) origina um derivado *N*-alquilado (3). O grupo carboxílico do aminoácido pode reagir com aminas e daí resultam *N*-alquilamidas (2), ou ainda com álcoois, obtendo-se os respetivos ésteres (4). As possibilidades relativas à introdução da cadeia alquílica na cadeia lateral não estão representadas no esquema, por uma questão de simplicidade, mas serão análogas às referidas para a cadeia parental. [7,8]



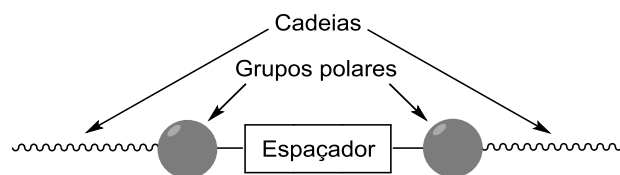
**Esquema 2** - Métodos de síntese de tensoativos derivados de aminoácidos. <sup>[8]</sup>

Estes precursores podem se transformados nos correspondentes tensoativos catiónicos por metilação do grupo amino com um agente de alquilação (2, 3 e 4), ou em tensoativos aniônicos por saponificação (1 e 3). Os compostos do tipo 3 apresentam a possibilidade de gerar tensoativos zwitteriônicos. <sup>[8]</sup>

Atualmente, existem já vários estudos sobre este tipo de tensoativos, de entre os quais se salientam os derivados de arginina <sup>[7,9]</sup>, lisina <sup>[7,9-11]</sup>, cisteína <sup>[12]</sup>, metionina <sup>[12]</sup>, serina <sup>[8,13-15]</sup>, tirosina <sup>[8,14,15]</sup> e 4-hidroxi prolina <sup>[8,14,15]</sup>.

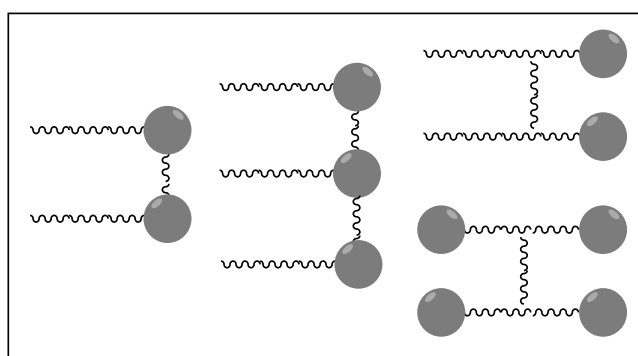
### 1.1.3. Tensoativos Gemini

Os tensoativos gemini constituem uma nova classe de tensoativos que têm atraído o interesse da indústria e da comunidade científica. Nestes compostos, dois ou mais monómeros de tensoativo estão ligados covalentemente, geralmente ao nível da cabeça polar, por um espaçador rígido ou flexível, hidrofílico ou hidrofóbico (figura 7) de comprimento variável. Estes novos compostos levantaram novos desafios e oportunidades, principalmente ao nível do estudo das suas propriedades físico-químicas e biológicas. <sup>[3,5,16]</sup>



**Figura 7** - Representação genérica de um tensoativo gemini.<sup>[16]</sup>

Na figura abaixo (figura 8), estão representados exemplos de diferentes estruturas de tensoativos gemini já desenvolvidos.<sup>[16]</sup>



**Figura 8** - Exemplos de estruturas de tensoativos gemini.

Para a introdução do espaçador, são normalmente utilizados compostos com dois grupos funcionais terminais idênticos, por exemplo, dióis, diaminas, diésteres, entre outros. Desta forma consegue-se obter a estrutura gemini num só passo reacional.

Uma das características mais atrativas dos tensoativos gemini é o facto de, em muitos casos, estes começarem a formar micelas a uma concentração menor (mais de uma ordem de grandeza) que os respetivos monómeros. O baixo valor de *cmc*, a maior eficiência a reduzir a tensão superficial e interfacial, o maior poder de solubilização, a melhor viscoelasticidade e capacidade de gelificação, são apenas algumas das vantagens que os tensoativos gemini apresentam em relação aos respetivos tensoativos monoméricos.<sup>[3,5,16]</sup>

Deste modo estas moléculas revelam um futuro promissor, sendo que as suas principais aplicações atuais vão do desenvolvimento de cosméticos até a formulações

alimentares.<sup>[6]</sup> É pouco provável que esta nova classe de tensioativos venha a fazer parte, por exemplo, do mercado de produção em massa de detergentes de roupa. Neste aspeto, o perfil custo/performance não compensa em relação aos tensioativos atualmente utilizados.

Atualmente, o custo elevado de desenvolvimento destes compostos limita a sua aplicação ao setor farmacêutico e eletroquímico. A sua possível utilização em áreas como a química verde, a nanotecnologia ou sistemas de veiculação de genes e de fármacos tem sido alvo de intensa investigação.

Em última análise, o sucesso destes compostos está dependente do desenvolvimento de melhores métodos de produção pelas indústrias químicas de forma a diminuir custos de produção, mantendo as propriedades que os diferenciam dos tensioativos convencionais. Só assim é que os tensioativos poderão competir eficientemente por um papel mais marcante na indústria dos tensioativos.<sup>[16]</sup>

## 1.2. O Projeto

Nos últimos anos, o grupo de investigação da linha 1 do Centro de Investigação em Química da Universidade do Porto (CIQ), no qual foi realizado este projeto, tem vindo a investir na síntese e análise de tensoativos derivados de aminoácidos, tais como a serina, treonina e 4-hidroxirolina, para serem utilizados na veiculação de fármacos e de material genético.<sup>[8,14,15]</sup> Como já foi referido anteriormente, por serem derivados de aminoácidos, estes tensoativos apresentam menor toxicidade e maior biocompatibilidade, o que representa um benefício para a sua utilização em aplicações biomédicas. Para além disso, em estudos recentes, moléculas anfífilas catiónicas têm mostrado grande potencial como vetores para terapia génica.<sup>[11,17]</sup>

Mais recentemente a pesquisa por novas moléculas tem sido dirigida para o desenvolvimento de tensoativos gemini, devido às suas características mais atrativas, tanto em estudos físico-químicos como biológicos.

No que se refere aos tensoativos catiónicos derivados de aminoácidos, é na serina que incide a maioria dos esforços, pois esta mostrou melhores resultados do que os restantes aminoácidos estudados (treonina e 4-hidroxirolina).<sup>[8,13]</sup> Na figura 9 estão representados alguns dos tensoativos derivados de serina desenvolvidos pelo grupo de investigação.

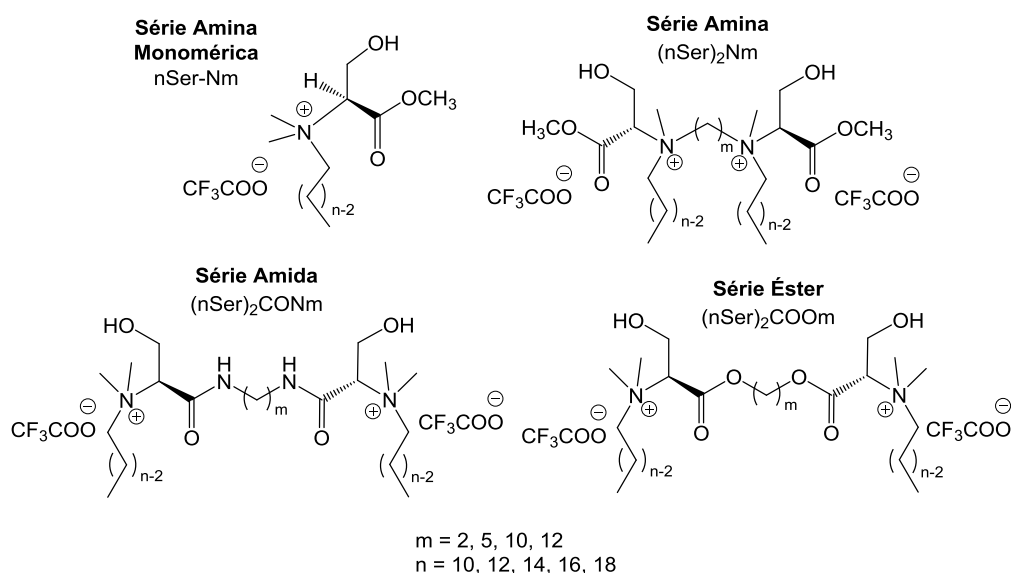
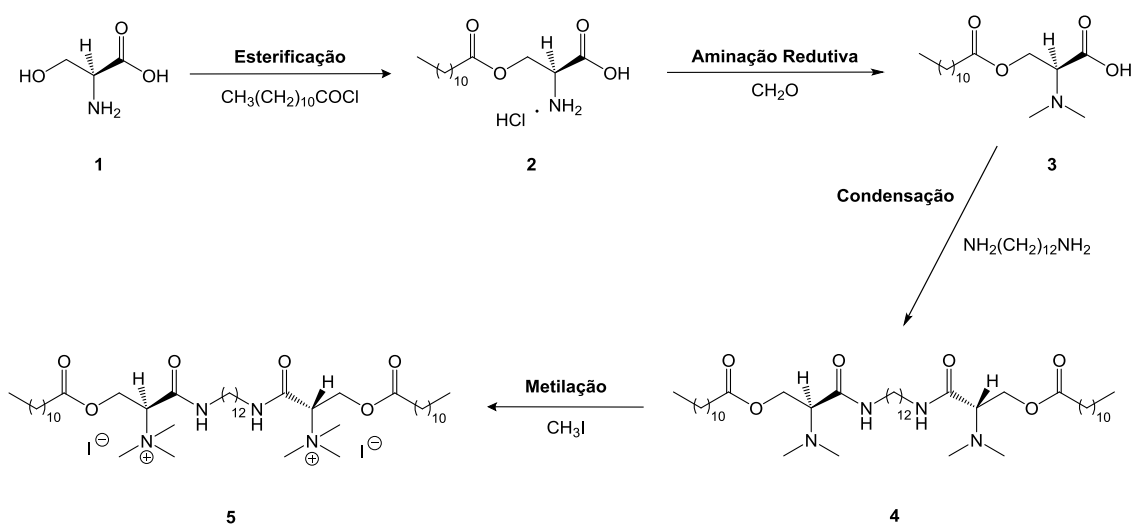


Figura 9 - Exemplos de tensoativos derivados de serina desenvolvidos.

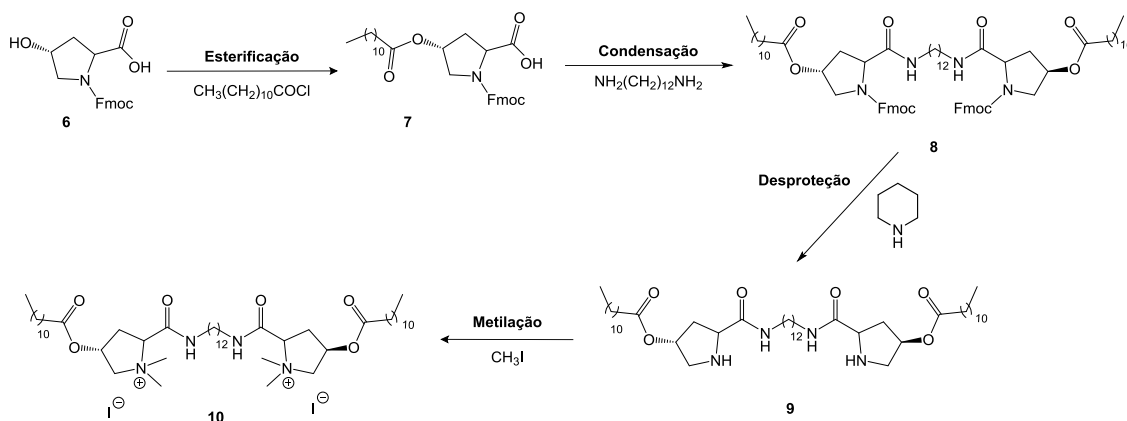
### 1.3. Plano de trabalhos

Seguindo o trabalho até então realizado, o objetivo do projeto proposto era o design e a síntese de novas famílias de tensoativos. Uma das metodologias delineadas consistia na síntese de tensoativos gemini catiónicos derivados da serina e 4-hidroxiprolina com a cadeia alquílica introduzida ao nível do grupo hidroxilo do aminoácido, conforme está apresentado nos esquemas 3 e 4:



**Esquema 3** - Síntese de tensoativos gemini catiónicos derivados de serina na série amida 2.

No caso dos derivados da serina, começar-se-ia por introduzir a longa cadeia alifática no grupo hidroxilo da serina **1**, por reação de esterificação com o cloreto de lauroílo. De seguida seriam introduzidos dois grupos metilo, por aminação redutiva do formaldeído, no grupo  $\alpha$ -amino do composto previamente obtido (**2**). A reação do produto resultante (**3**) com dodecano-1,12-diamina, originaria o precursor gemini não iónico (**4**), que seria transformado no tensoativo catiónico pretendido (**5**) por metilação com iodometano.

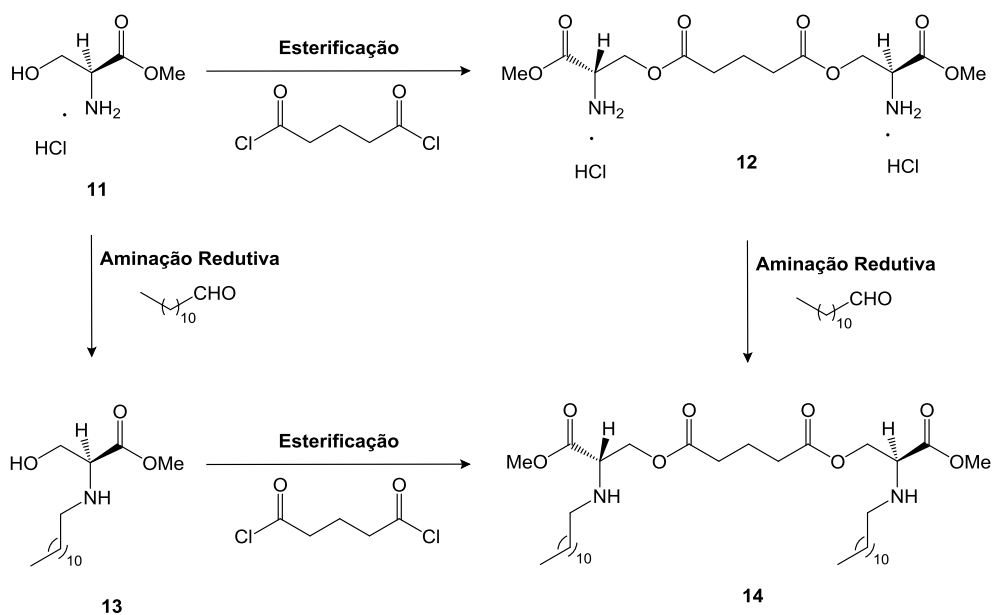


**Esquema 4** - Síntese de tensoativos gemini catiónicos derivados de 4-hidroxirolina na série hidroxirolina.

Para a síntese dos tensoativos derivados de 4-hidroxirolina utilizar-se-ia como reagente de partida a 4-hidroxirolina Fmoc-protégida. Começar-se-ia também neste caso com a introdução da longa cadeia alifática no grupo hidroxilo da prolina *N*-protégida **6**, por reação de esterificação com o cloreto de lauroílo. O produto obtido (**7**) seria transformado no correspondente tensoativo gemini não iónico (**8**) por condensação com dodecano-1,12-diamina. A remoção do grupo protetor Fmoc do composto (**8**) com piperidina, seguida de metilação do precursor resultante (**9**) com iodometano, levaria à obtenção do tensoativo gemini catiónico pretendido **10**.

Foi ainda proposta a síntese de uma terceira família de tensoativos derivados de serina, esta designada de série éster 2. Nesta, a cadeia alquílica estaria ligada à serina no seu grupo  $\alpha$ -amino, com uma ligação do tipo amina, enquanto o espaçador seria introduzido no grupo hidroxilo da cadeia lateral numa ligação do tipo éster (esquema 5).

A primeira abordagem sintética previa, como primeiro passo reacional, a introdução do espaçador por reação com dicloreto de glutarilo, seguida de aminação redutiva do precursor resultante com dodecanal. Delineou-se uma metodologia alternativa, onde se iniciaria pela síntese de **13**, em que se iria introduzir a cadeia alifática longa no grupo  $\alpha$ -amino da serina, por aminação redutiva do dodecanal, para depois se proceder à introdução do espaçador por esterificação. Propôs-se ainda uma terceira via de síntese, que consistiria na introdução do espaçador por esterificação, seguida de aminação redutiva do dodecanal, sem tratamento entre os dois passos reacionais, para obter o composto **14**.



**Esquema 5** – Metodologias propostas para a síntese de tensoativos gemini catiónicos derivados de serina na série éster 2.



## *Capítulo II*

---

# **Resultados e Discussão**



## 2.1. Síntese de tensoativos gemini catiónicos derivados de serina – Série Amida 2

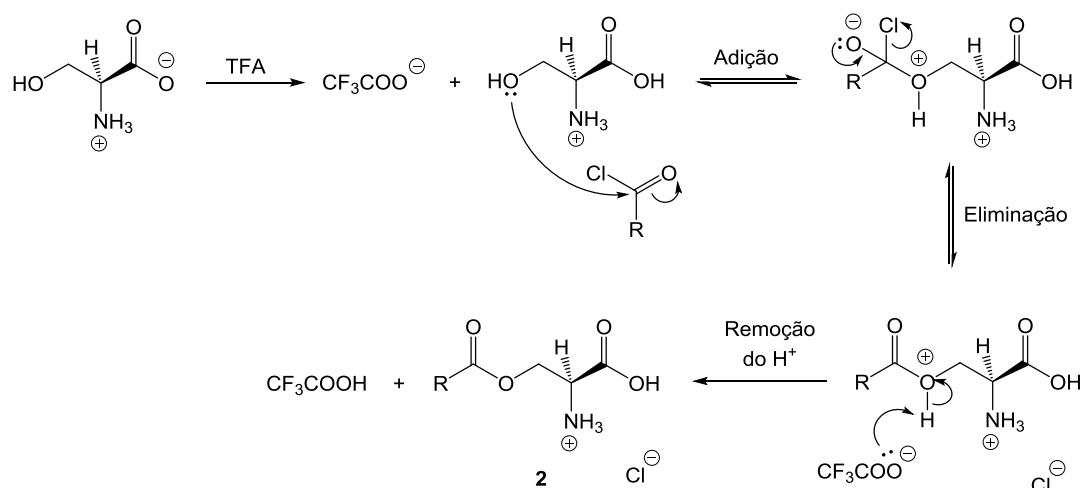
Para a obtenção do tensoativo gemini catiónico final foram necessários quatro passos reacionais, que serão discutidos seguidamente.

### 2.1.1. Introdução da cadeia alifática no aminoácido por esterificação

Iniciou-se a experiência pela adição lenta da serina ao ácido trifluoroacético (TFA) frio. O meio ácido visa garantir que o grupo amino do aminoácido permanece protonado (não nucleofílico) durante a reação, evitando assim quaisquer reações laterais indesejadas sem ser necessário recorrer à sua proteção.

Adicionou-se depois o cloreto de lauroílo, que sofre ataque nucleofílico pela serina através do oxigénio do seu grupo hidroxilo. O cloreto de ácido, utilizado em excesso, sofre o ataque nucleofílico em detrimento do ácido carboxílico do aminoácido por ser mais reativo.

No esquema seguinte está representado o mecanismo da reação:



Esquema 6 - Mecanismo geral da reação de esterificação.

A primeira fase da reação, a adição, consiste no ataque nucleófilo do grupo hidroxilo da serina protonada ao grupo carbonilo do cloreto de ácido, formando-se um intermediário tetraédrico. Segue-se a fase de eliminação em que se verifica a saída de um ião cloreto (bom grupo de saída) e a formação da ligação dupla no grupo carbonilo (C=O). Por fim dá-se a remoção do protão pelo anião trifluoroacetato.

A reação ocorreu sob agitação magnética durante 6 horas, após as quais, foi adicionado éter etílico (Et<sub>2</sub>O) frio de modo a precipitar o composto. O sólido branco obtido foi identificado por RMN <sup>1</sup>H como sendo o composto (**2**). O facto de não ser necessário o tratamento da mistura reacional antes da precipitação do composto facilitou a obtenção de rendimentos elevados. Na tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos.

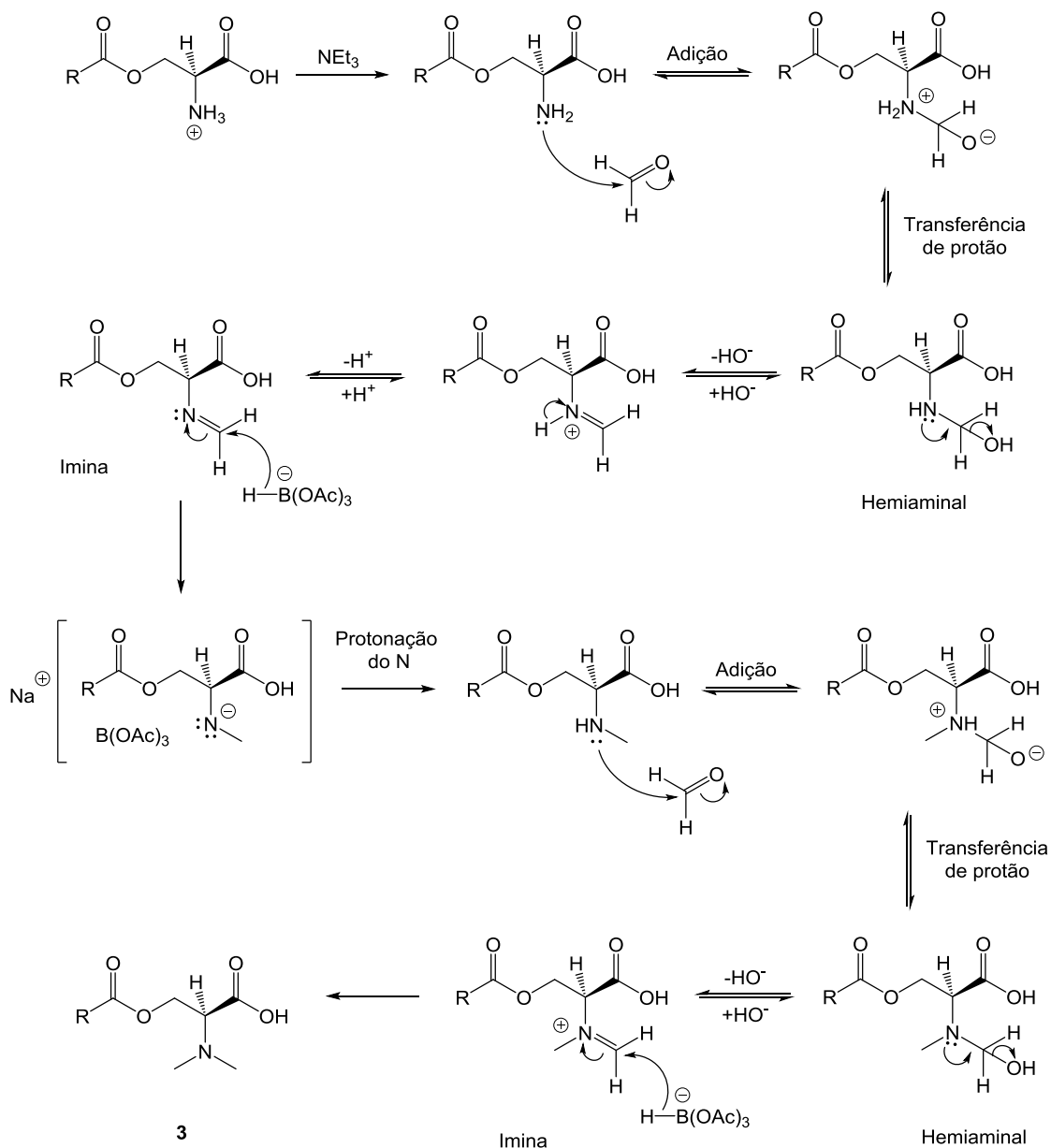
Tabela 1 - Resultados obtidos na síntese do composto **2**.

Experiência	[ <b>2</b> ] m/g (n/mmol)	Rendimento (%)
1	2,7582 (8,5343)	87,5
2	3,7167 (11,500)	88,0

### 2.1.2. Metilação do tensioativo no grupo amino por aminação redutiva

Nesta etapa pretendia-se introduzir dois grupos metilo no precursor **2**, previamente sintetizado, por aminação redutiva do formaldeído. Como o composto **2** se encontrava sob a forma de sal de amónio foi necessário juntar trietilamina (NEt<sub>3</sub>) para tornar o azoto nucleofílico, capaz de atacar o grupo carbonilo do aldeído. O mecanismo da reação está representado no esquema 7.

O formaldeído (CH<sub>2</sub>O) sofre o ataque nucleófilo por parte do azoto do aminoácido, formando a correspondente imina. Esta é reduzida pelo triacetoxiborohidreto de sódio (NaBH(OAc)<sub>3</sub>), por doação de um hidreto, formando a respetiva amina secundária. A amina secundária obtida ataca de seguida uma nova molécula de formaldeído, que se encontra em excesso, para se obter a amina terciária pretendida.



Esquema 7 - Mecanismo geral da reação de aminação redutiva.

A mistura reagiu durante 3 horas, findas as quais se procedeu ao seu tratamento, por extrações líquido-líquido, primeiramente com HCl 1M e depois com  $\text{H}_2\text{O}$ . Desta forma garantiu-se a acidificação da mistura para que fosse possível recuperar o composto **3**, assim como a remoção da  $\text{NEt}_3$  e  $\text{CH}_2\text{O}$  em excesso e do ácido acético, um produto secundário formado pela degradação do agente redutor ( $\text{NaBH(OAc)}_3$ ).

Inicialmente, verificava-se que, aquando realização do tratamento, uma parte significativa do composto **3** ficava retida na fase aquosa. Para além da dificuldade em evitar a formação de emulsões, que no caso deste composto são muito persistentes, foram necessárias inúmeras extrações para obter uma quantidade significativa de composto, com rendimentos na casa dos 50%. Experimentou-se, então, aquecer o DCM (fase orgânica) para facilitar a dissolução do composto. Desta forma as emulsões tornaram-se menos persistentes e diminuiu-se significativamente o número de extrações líquido-líquido necessárias para recuperar uma maior quantidade do composto do que com o método anterior. Deste modo conseguiu-se aumentar os rendimentos da reação para a ordem dos 80%. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 2.

Foi ainda necessária a purificação do composto por cromatografia em coluna, tendo-se usado como eluente diclorometano (DCM)/ metanol (MeOH) na proporção de 5:1. Confirmou-se por RMN  $^1\text{H}$  (figura 10) que o sólido branco obtido era o composto pretendido (**3**). O espetro obtido é semelhante ao obtido para o composto **2**, mas neste pode observar-se nitidamente o pico dos prótons dos dois grupos metilo ligados ao azoto a um desvio químico  $\delta = 2,93$  ppm.

**Tabela 2** - Resultados obtidos na síntese do composto **3**.

Experiência	[ <b>3</b> ] m/g (n/mmol)	Rendimento (%)
1	0,2686 (0,8520)	53,3
2	0,2323 (0,7369)	45,0
3	0,3940 (1,250)	58,0
4	0,2838 (0,8996)	57,4
5	0,3732 (1,184)	68,2
6	0,3324 (1,054)	77,7
7	0,6038 (1,915)	82,5
8	0,4133 (1,311)	82,0

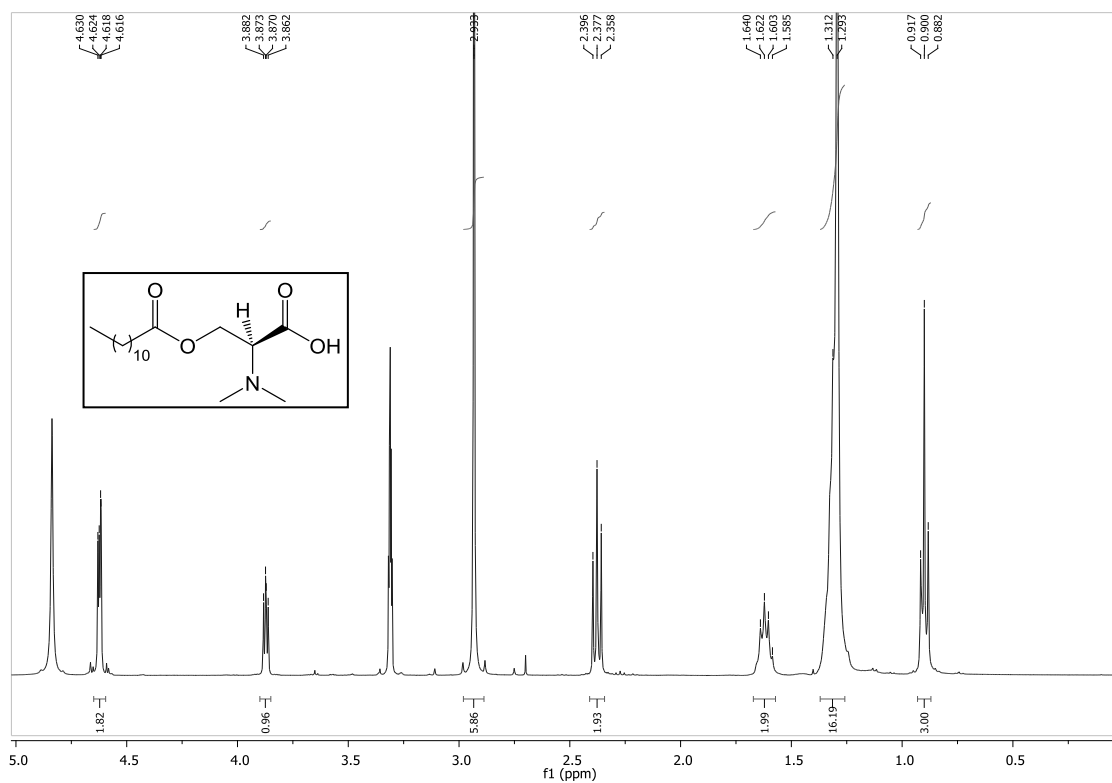
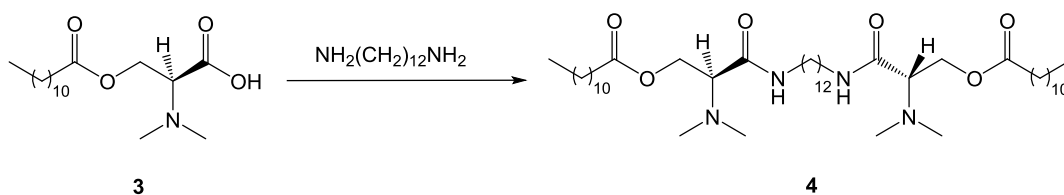


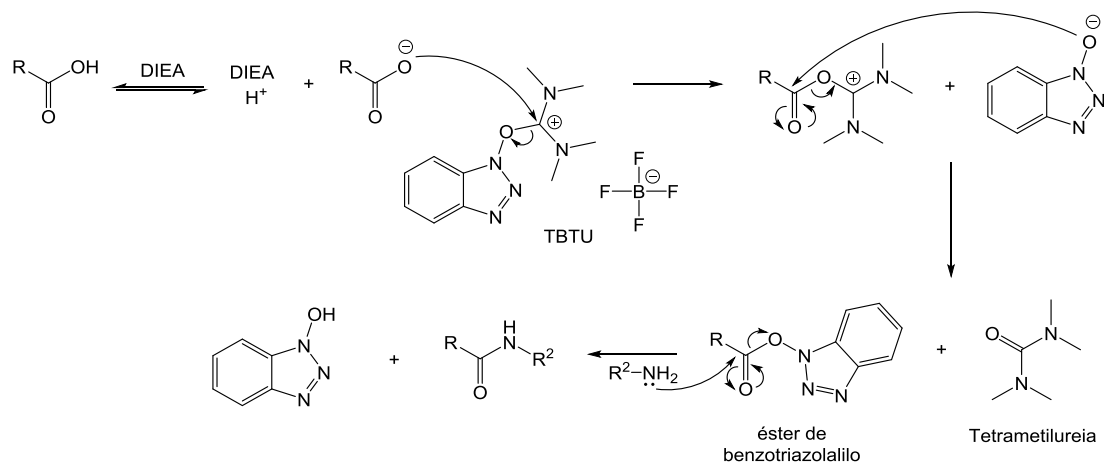
Figura 10 - Espetro de RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz) do composto 3.

### 2.1.3. Introdução do espaçador por condensação

A síntese do tensoativo gemini não iônico realizou-se por condensação do precursor monomérico com uma diamina.



A reação foi efetuada usando DIEA como base não nucleófila e TBTU como agente de acoplamento. O mecanismo da reação está apresentado no esquema 8.



**Esquema 8** - Mecanismo geral da reação de condensação.

Inicialmente há a desprotonação do grupo carboxílico por parte da *N*-etil-*N,N*-diisopropilamina (DIEA), sendo que o ião carboxilato formado ataca de seguida o carbono ligado ao oxigénio do tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (TBTU). O intermediário formado reage com o óxido de benzotriazol, formando o correspondente éster de benzotriazolililo. A adição da dodecano-1,12-diamina nesta fase leva à formação da correspondente ligação amida, obtendo-se deste modo o precursor gemini pretendido. De notar que a adição da diamina foi feita muito após a adição do TBTU, para dar tempo à ativação do ácido. Também é importante referir que se juntou amina na proporção 1:2 em relação ao composto de partida, de modo a favorecer a ligação de duas moléculas de precursor a uma molécula de espaçador. O facto de não se poder usar excesso deste reagente tem implicações a nível do rendimento obtido, que não foi além dos 60 %.

A reação decorreu durante 5 dias, após os quais se procedeu ao tratamento da mistura reacional por extrações líquido-líquido. Foi necessária a realização de várias extrações para garantir a remoção total da tetrametilureia. A mistura resultante foi ainda purificada por cromatografia em coluna utilizando ao início o eluente DCM/MeOH 20:1, passando depois para DCM/MeOH 5:1. Na tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos.

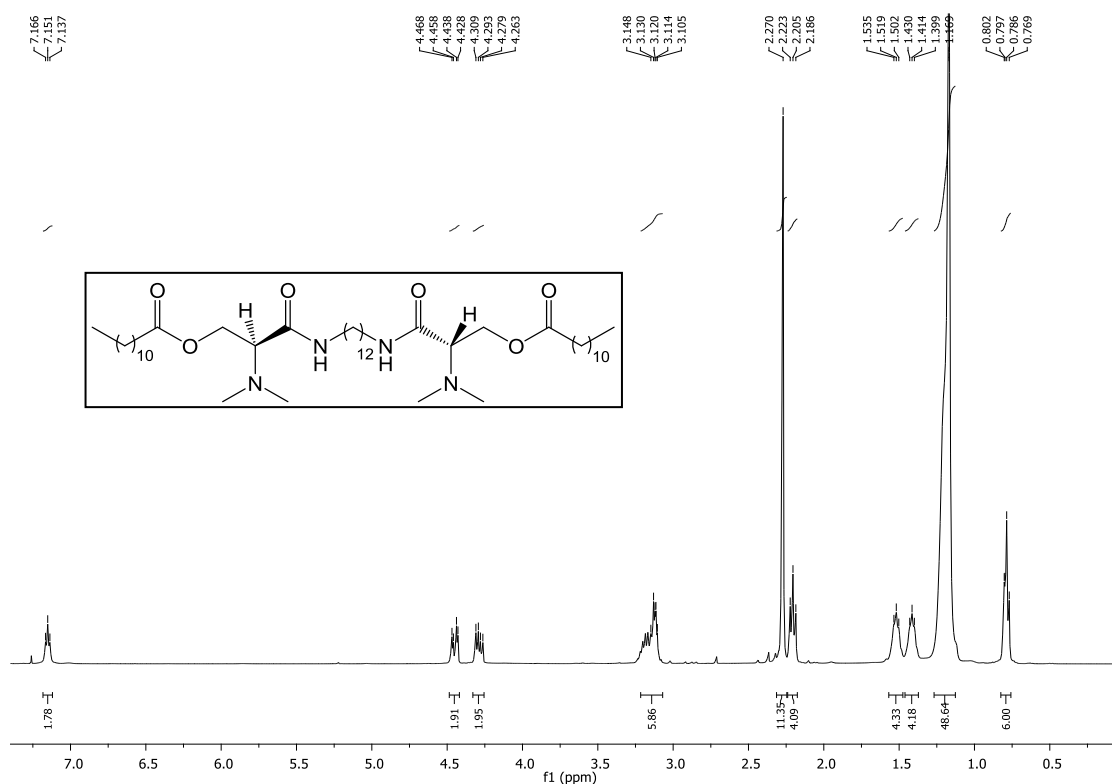
Obteve-se um óleo amarelo, que foi analisado primeiramente por RMN  $^1H$  (figura 11), tendo-se verificado que se tratava do composto pretendido. De facto, em comparação com o espetro do composto de partida, é agora possível identificar o pico do protão da amida a  $\delta = 7,15$  ppm e o aumento do número de protões do pico da



cadeia alquílica, devido à presença do espaçador. Relativamente ao protão do carbono  $\alpha$ , que se previa originar um sinal próximo (com desvio químico ligeiramente inferior) do dos protões  $-O-CH_2-CH-$ , o seu sinal parece estar sobreposto com o dos grupos  $CH_2-NH$  no multipeto a  $\delta= 3.11-3.15$  ppm. Após análise por EM, observou-se que o composto obtido tinha a massa molecular desejada e confirmou-se que este era de facto o tensoativo gemini pretendido. Na tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos.

**Tabela 3** - Resultados obtidos na síntese do composto 4.

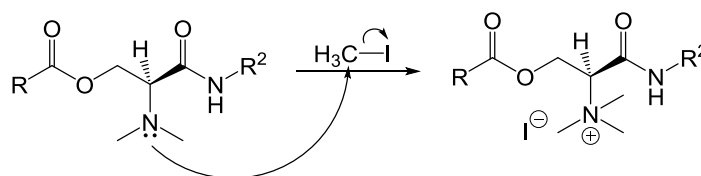
Experiência	[4] m/g (n/mmol)	Rendimento (%)
1	0,2975 (0,3741)	26,0
2	0,3353 (0,4216)	53,5
3	0,5242 (0,6592)	62,4



**Figura 11** - Espetro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) do composto 4.

### 2.1.4. Metilação do tensioativo gemini

O tensioativo gemini **4** foi metilado novamente no grupo amino com o objetivo de o tornar catiónico, ou seja, formar uma amina quaternária. Para isso, dissolveu-se o tensioativo numa quantidade mínima de *N,N*-dimetilformamida (DMF) e adicionou-se iodometano em excesso. Esta é uma reação de substituição nucleófila bimolecular, onde o iodometano é atacado pelo átomo de azoto do precursor gemini, com deslocamento do ião iodeto. O mecanismo da reação pode ser observado no esquema 9.



Esquema 9 - Mecanismo geral da reação de metilação.

Após o ataque nucleófilo do grupo amino do tensioativo ao iodometano, os aniões iodeto livres irão atuar como contra-íons dos grupos amónio quaternários.

A reação teve a duração de aproximadamente 48h, após as quais se procedeu a extrações líquido-líquido da mistura reacional. Para além de serem necessárias algumas lavagens da fase orgânica para garantir a remoção total de DMF, ainda houve o contratempo de parte do composto passar para a fase aquosa; por isso, este foi um processo que, por vezes, se tornou demorado e afetou o rendimento final. Após extrações foi ainda necessária a realização de cromatografia em coluna com o eluente DCM/MeOH 10:1.

Obteve-se um óleo amarelado que mostrou ser o composto gemini catiónico pretendido quando analisado por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e EM. Quando analisado o espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido é possível observar que, devido ao facto de o azoto ter carga positiva, os prótons mais próximos ficam mais desprotegidos e isso leva à modificação dos desvios químicos dos respetivos picos em relação ao precursor não iónico. Isto observa-se no pico do próton no carbono  $\alpha$  que está a  $\delta = 5.54$  ppm. Também é possível ver uma diferença no pico que pertence aos prótons dos grupos

metilo ligados ao azoto quaternário, que agora se tem um desvio químico de  $\delta = 3.54$  ppm e integra para mais prótons do que anteriormente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  foram identificados todos os carbonos pertencentes ao composto pretendido. Na tabela 4 estão apresentados os rendimentos obtidos.

Tabela 4 - Resultados obtidos na síntese do composto 5.

Experiência	[5] m/g (n/mmol)	Rendimento (%)
1	0,1704 (0,1579)	42,2
2	0,3662 (0,3393)	51,5

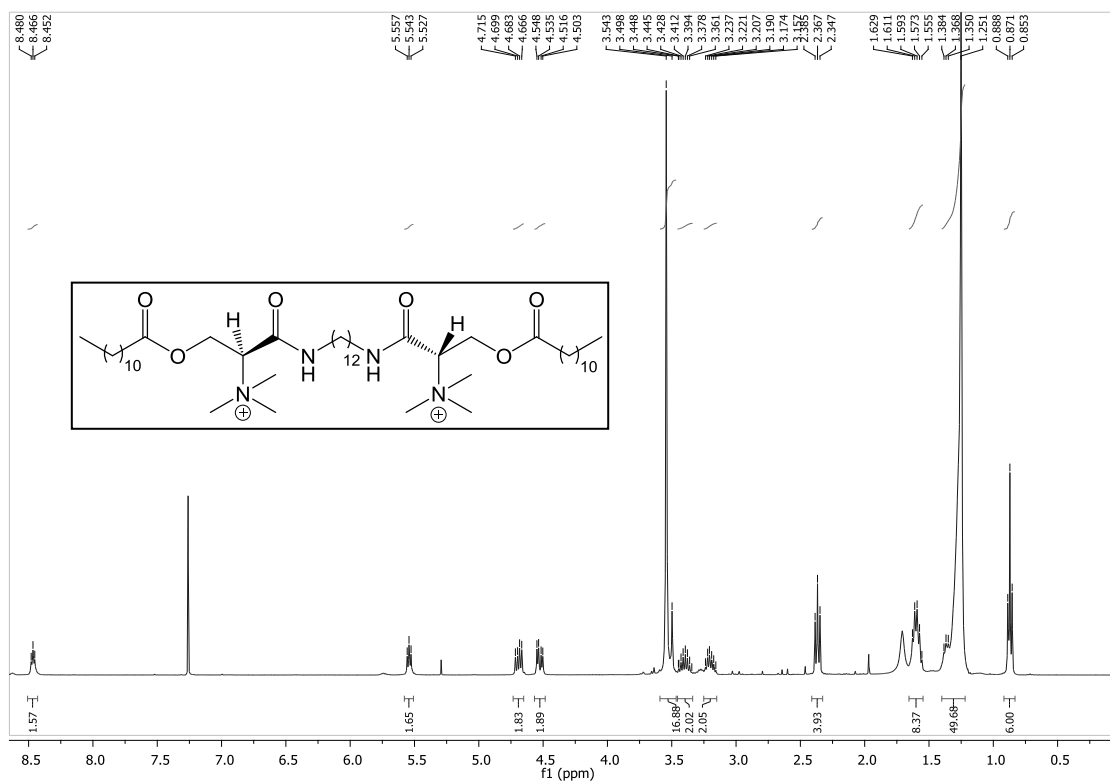


Figura 12 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto 5.

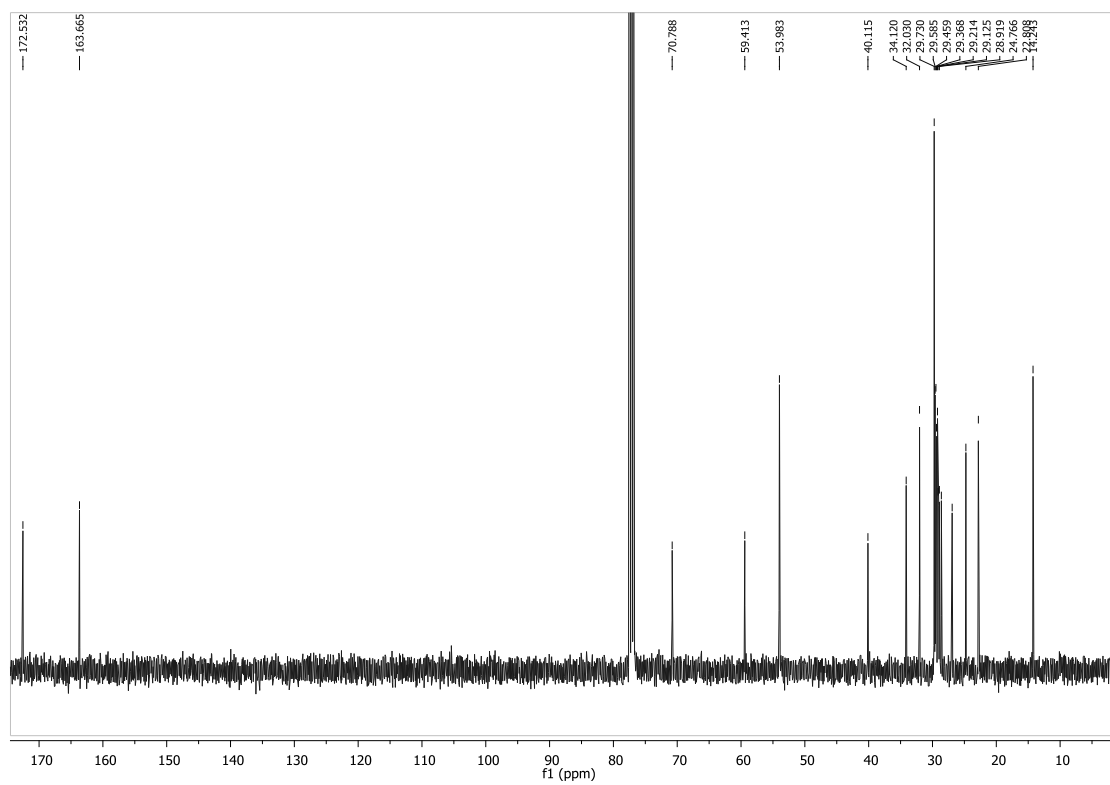


Figura 13 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto 5.

## **2.2. Síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de 4-hidroxirolina**

Pretendeu-se sintetizar um tensioativo análogo ao descrito no ponto anterior (mesma família) mas usando o aminoácido 4-hidroxirolina. Por razões de disponibilidade, foi utilizada uma hidroxirolina *N*-protegida por um grupo Fmoc.

### **2.2.1. Introdução da cadeia alifática no aminoácido por esterificação**

Para introdução da cadeia alifática no grupo hidroxilo da 4-hidroxirolina realizaram-se os mesmos passos reacionais apresentados no ponto 2.1.1. O mecanismo da reação é análogo ao aí descrito no esquema 6.

A reação teve a duração de 7 horas. Verificou-se neste caso que aquando a adição do Et<sub>2</sub>O não houve precipitação do composto. Assim, procedeu-se à remoção do excesso de TFA por lavagens seguidas de evaporação com Et<sub>2</sub>O frio. Após a evaporação de grande parte do TFA, efetuaram-se extrações líquido-líquido da mistura. Ainda se tentou precipitar o composto com diferentes solventes, nomeadamente, hexano (Hex) e acetona, contudo não se verificou a formação de cristais.

Purificou-se então a mistura por cromatografia em coluna cromatográfica com os eluentes Hex/ acetato (AcOEt) 3:1 e AcOEt/MeOH 3:1. Este composto mostrou um comportamento peculiar na realização de cromatografia em coluna. Nas primeiras colunas efetuadas verificou-se que o composto se arrastava pela coluna dificultando a sua purificação, independentemente dos eluentes utilizados (1<sup>o</sup>- acetona; 2<sup>o</sup> - acetona/MeOH 60:1; 3<sup>o</sup>- DCM/MeOH 10:1). Só na quarta tentativa se obtiveram os resultados pretendidos. A utilização de hexano no eluente da coluna fez com que o composto ficasse retido (o composto dissolve mal em hexano), dessa forma foram retiradas as impurezas primeiro, sendo depois utilizado o eluente AcOEt/MeOH 3:1 para retirar o composto da coluna.

Nos espetros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, foi possível identificar os protões da cadeia alifática introduzida. Assim, no espetro de protão observa-se, para além dos sinais da 4-HyPro, um sinal a  $\delta = 1,25$  ppm e outro a 0,87 ppm, correspondentes aos grupos

metilénicos e ao grupo metilo da cadeia alifática introduzida, respetivamente. Também no espectro de  $^{13}\text{C}$  é possível observar os sinais relativos aos carbonos metilénicos e metílico (34 - 14 ppm), bem como o sinal do grupo carbonilo de éster da nova ligação formada a  $\delta = 173$  ppm. De notar que alguns dos sinais aparecem em “duplicado”, indiciando a presença de estereoisómeros.

Da análise dos espectros conclui-se, que o óleo viscoso obtido corresponde ao composto **7**. Obtiveram-se 1,7148 g (2,1916 mmol) deste precursor monomérico, com um rendimento final da reação de 88,0%.

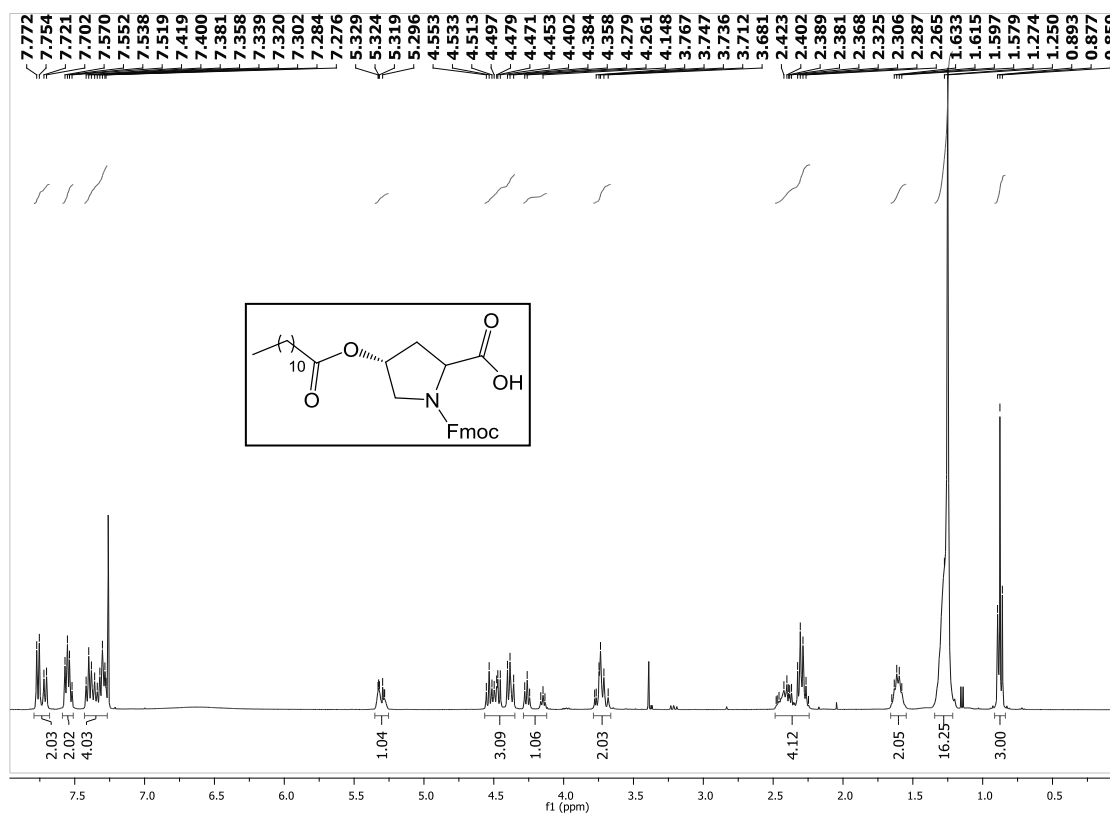


Figura 14 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto **7**.

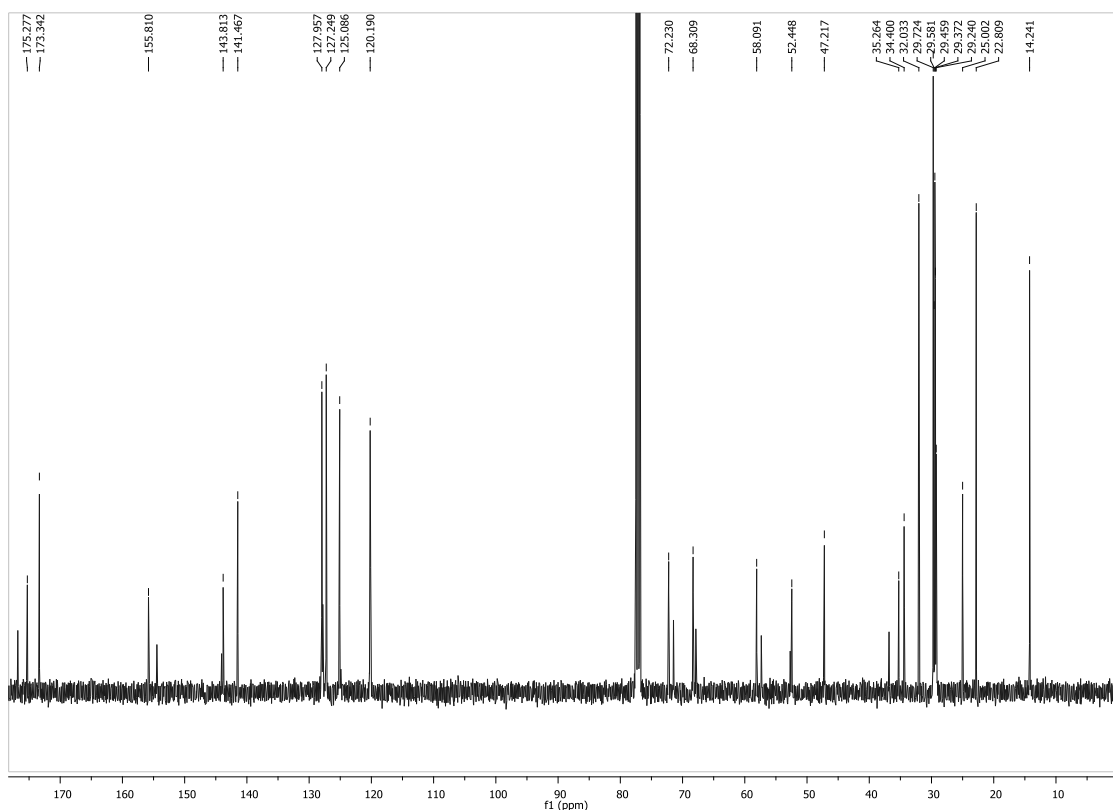


Figura 15 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto 7.

### 2.2.2. Introdução do espaçador por condensação

Analogamente ao que se tinha feito para o derivado de serina, também aqui se introduziu um espaçador de 12 carbonos por reação do precursor com a dodecano-1,12-diamina. O mecanismo da reação é idêntico ao já descrito (esquema 8, secção 2.1.3).

A reação ocorreu durante 3 dias. Para o isolamento do produto obtido foram efetuadas extrações líquido-líquido da mistura reacional seguidas de uma separação por cromatografia em coluna, utilizando como eluentes Hex/AcOEt 1:1, seguido de Hex/AcOEt 1:3. Obteve-se 0,7612 g (0,6156 mmol) de um óleo viscoso que, depois de analisado por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e EM, se confirmou ser o composto 8.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi possível observar o aparecimento do pico do próton da amida a  $\delta = 6,59$  ppm, assim como os picos dos prótons dos dois carbonos do espaçador mais próximos do grupo amida a  $\delta = 3,29\text{-}3,11$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$ ) e  $1,65\text{-}1,56$  ppm ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$ ). Também é possível observar o aumento do número de prótons

para que integra o mutipeto a 1,17-1,25 ppm, a que correspondem aos prótons da cadeia alifática e do espaçador. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  observa-se o desaparecimento do pico do carbono do grupo carboxílico, para passarmos a ter o carbono do grupo amida a  $\delta = 170,5$  ppm, assim como o aparecimento dos picos de carbonos do espaçador próximos do grupo amida a 39,9 e 27,0 ppm (-NH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{-}$  e -NH-( $\text{CH}_2$ ) $_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-}$ , respetivamente).

Esta reação teve um rendimento elevado de 84,7 %, que é muito superior ao rendimento da condensação para o tensoativo derivado de serina. Isto pode dever-se à presença do grupo protetor Fmoc na amina do derivado de prolina que, por ser um grupo volumoso, torna o composto mais apolar, minimizando assim a possível transferência de composto para a fase aquosa durante as extrações líquido-líquido. Foi ainda observado por CCF que nesta síntese se formam menos produtos secundários do que na anteriormente referida, o que significa que uma menor quantidade do composto de partida foi perdida em possíveis reações laterais.

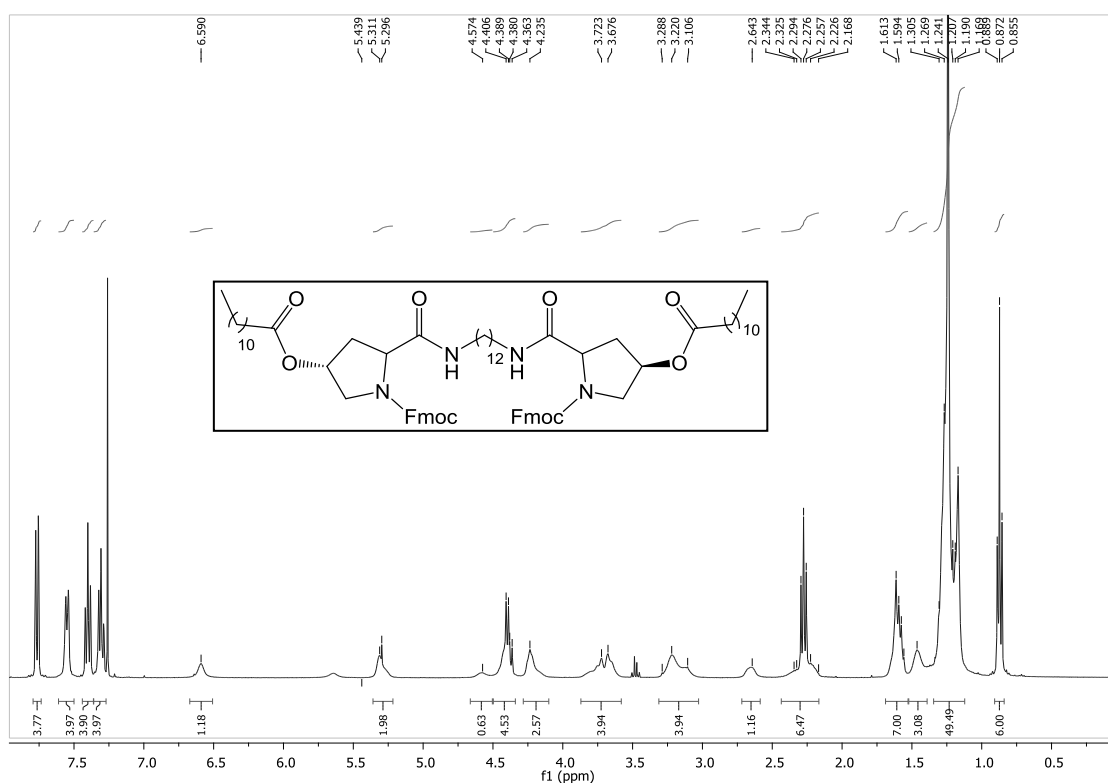


Figura 16 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto 8.



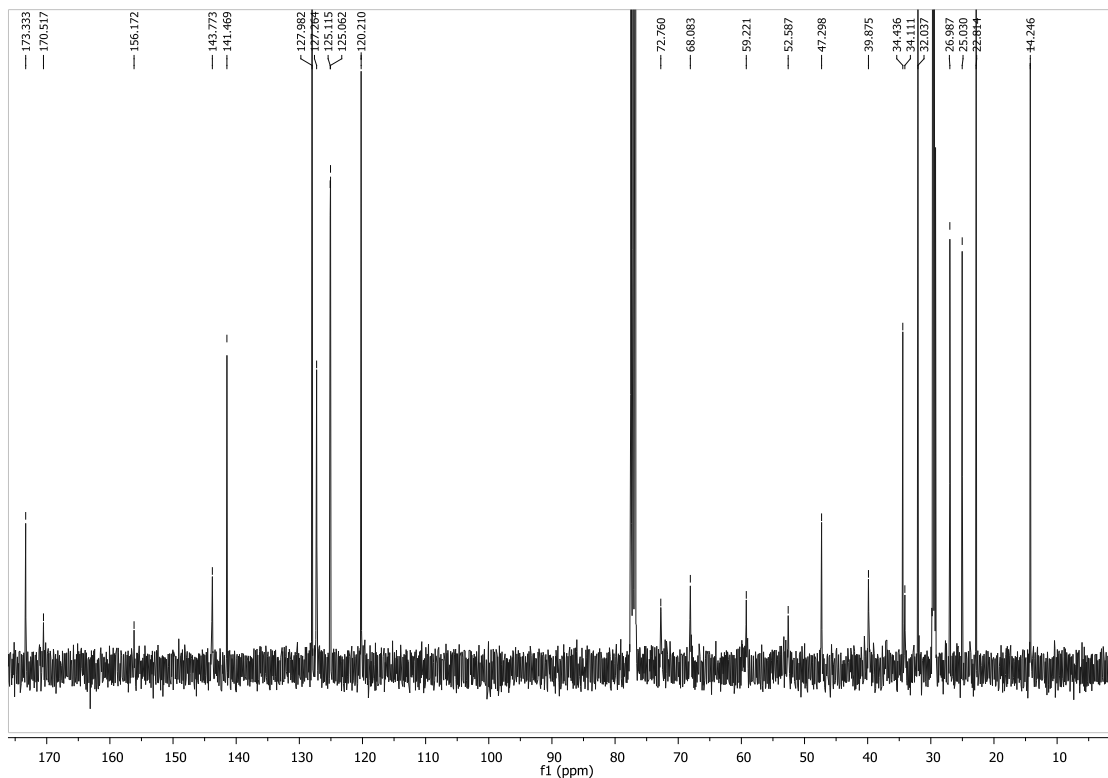


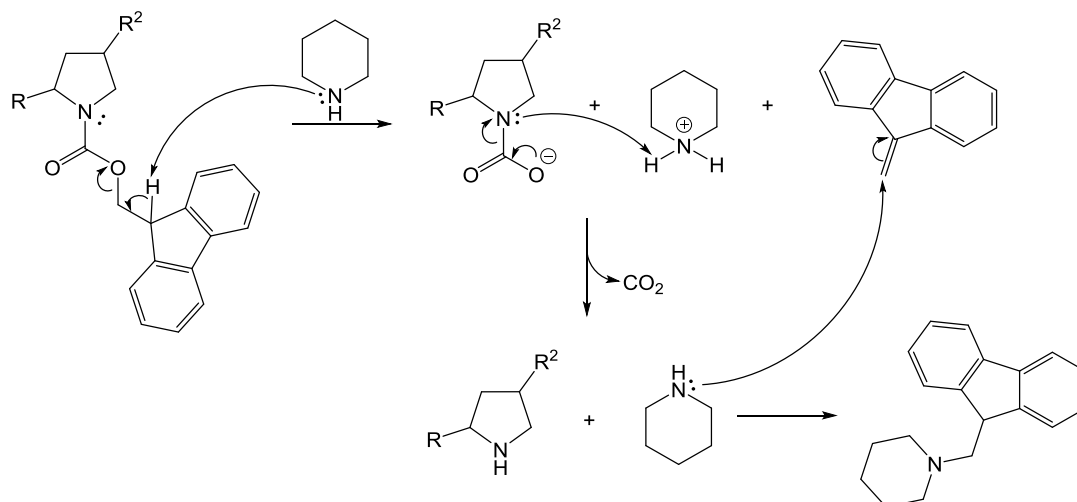
Figura 17 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto **8**.

### 2.2.3. Desproteção – Remoção do grupo Fmoc

Para se efetuar a quaternização do azoto da prolina, é necessário remover o grupo protetor Fmoc. O método de remoção deste grupo está bem estabelecido, sendo amplamente usado em síntese peptídica, e consiste simplesmente na reação do composto com piperidina. Assim, no presente caso, dissolveu-se o precursor geminini **8** em DCM e depois adicionou-se a piperidina, lentamente. O mecanismo da reação encontra-se demonstrado no esquema 10.

A reação de desproteção demorou 15 min, passando-se depois ao tratamento da mistura reacional através de extrações líquido-líquido, usando uma solução aquosa de HCl 0,1 M para remover a piperidina em excesso. Purificou-se ainda o composto por cromatografia em coluna utilizando o eluente DCM/AcOEt 10:1 e obteve-se 0,4023 g (0,5088 mmol) de um óleo incolor.

Por análise de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ , observou-se o desaparecimento dos picos referentes ao grupo Fmoc, e assim confirmou-se que o composto obtido era o composto **9**, obtido com um rendimento de 82,6 %.



Esquema 10 - Mecanismo geral da reação de remoção do grupo protetor Fmoc.

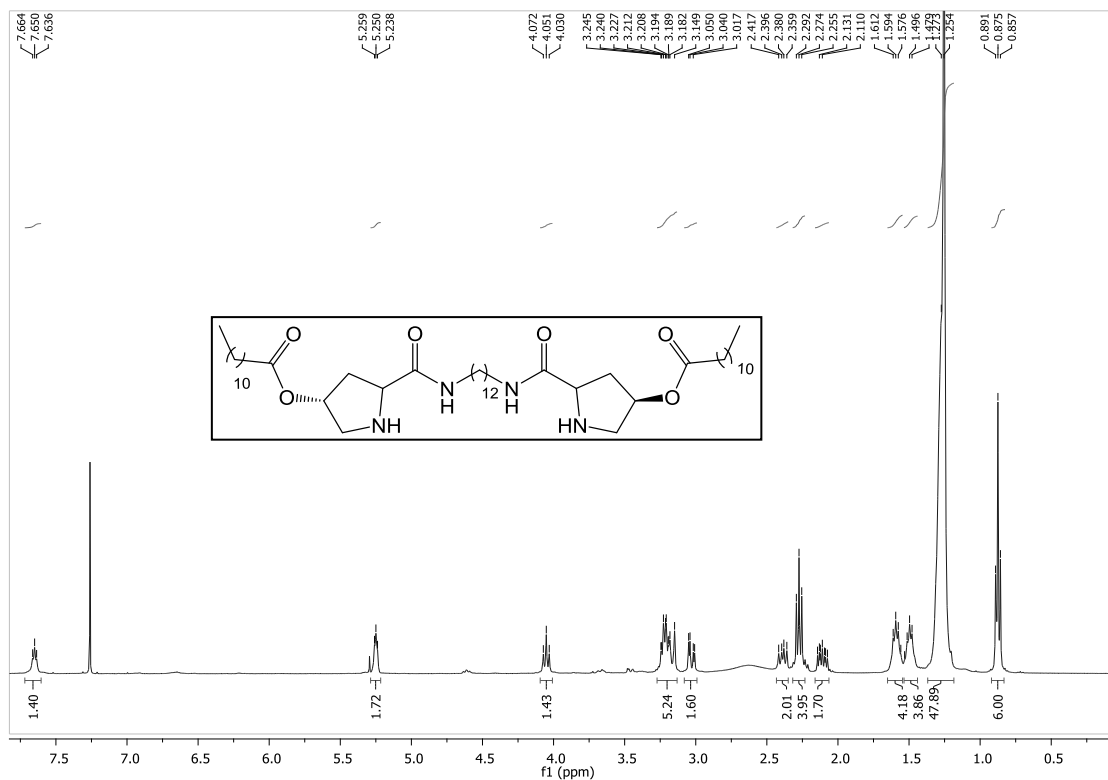


Figura 18 - Espetro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto **9**.

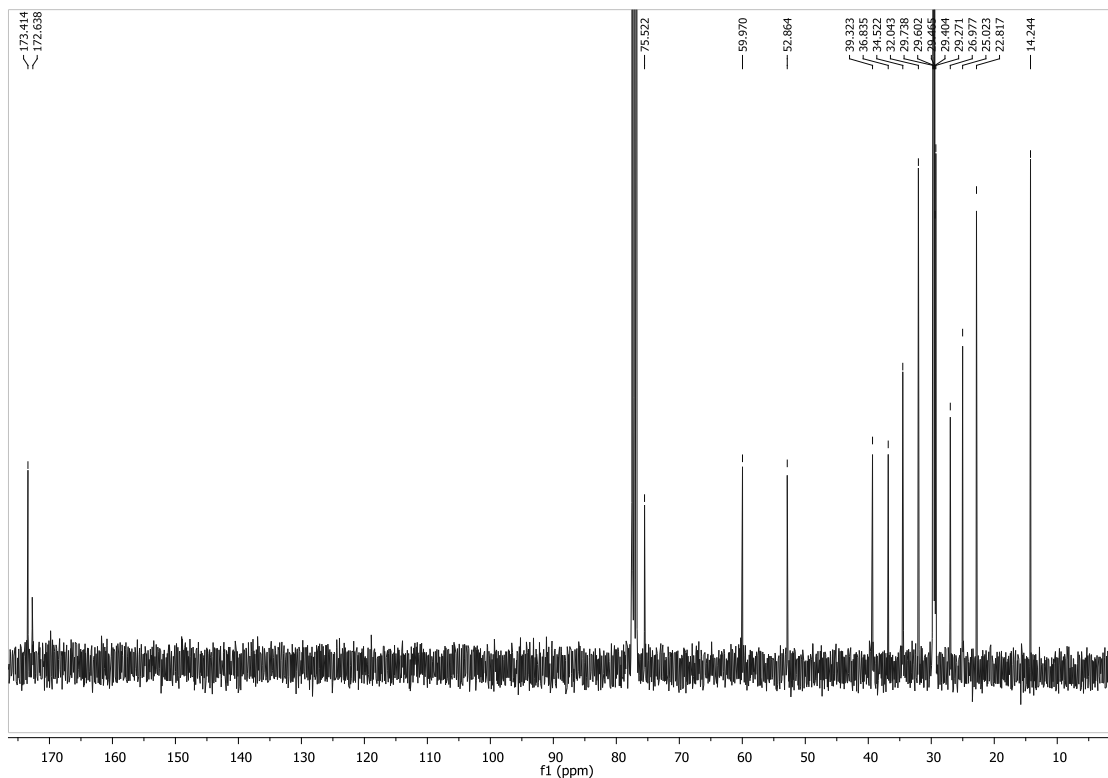


Figura 19 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto 9.

#### 2.2.4. Metilação exaustiva do tensoativo gemini

A quaternização do grupo amino da prolina foi feita por metilação exaustiva com iodometano. A reação segue um mecanismo idêntico ao descrito em 2.1.4 (esquema 9). Como se pretendiam neste caso introduzir dois grupos metilo em cada um dos átomos de azoto, foi usado um maior excesso de iodometano.

A duração da reação foi de 48 horas. Finda a reação, tratou-se a mistura reacional por extrações líquido-líquido, e posteriormente purificou-se através de cromatografia em coluna, começado com o eluente DCM/MeOH 20:1 e passando depois para DCM/MeOH 10:1. Obteve-se 0,2849 g (0,2583mmol) de um óleo amarelo que, depois de analisado por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e EM, se confirmou tratar-se do composto 10.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  é possível observar o aparecimento do singuleto correspondente ao prótons dos dois grupos metilo adicionados ao átomo de azoto com um desvio químico de 3,48 ppm, assim como o deslocamento dos picos pertencentes

aos prótons dos carbonos mais próximos da amina quaternária, nomeadamente H-2 e H-5, para valores de desvio químico mais elevados (para  $\delta = 5,68-5,75$  e  $4,20$  ppm, respetivamente). No espetro de RMN  $^{13}\text{C}$  observou-se um comportamento semelhante, sendo que os grupos metilo do grupo amónio quaternário têm o pico a  $\delta = 50,9$  ppm. Já o desvio químico dos carbonos C2 e C5 é superior ao que apresentavam anteriormente, mas para este composto, eles apresentam o mesmo valor de  $\delta = 71,2$  ppm. O rendimento da reação foi de 50,8%.

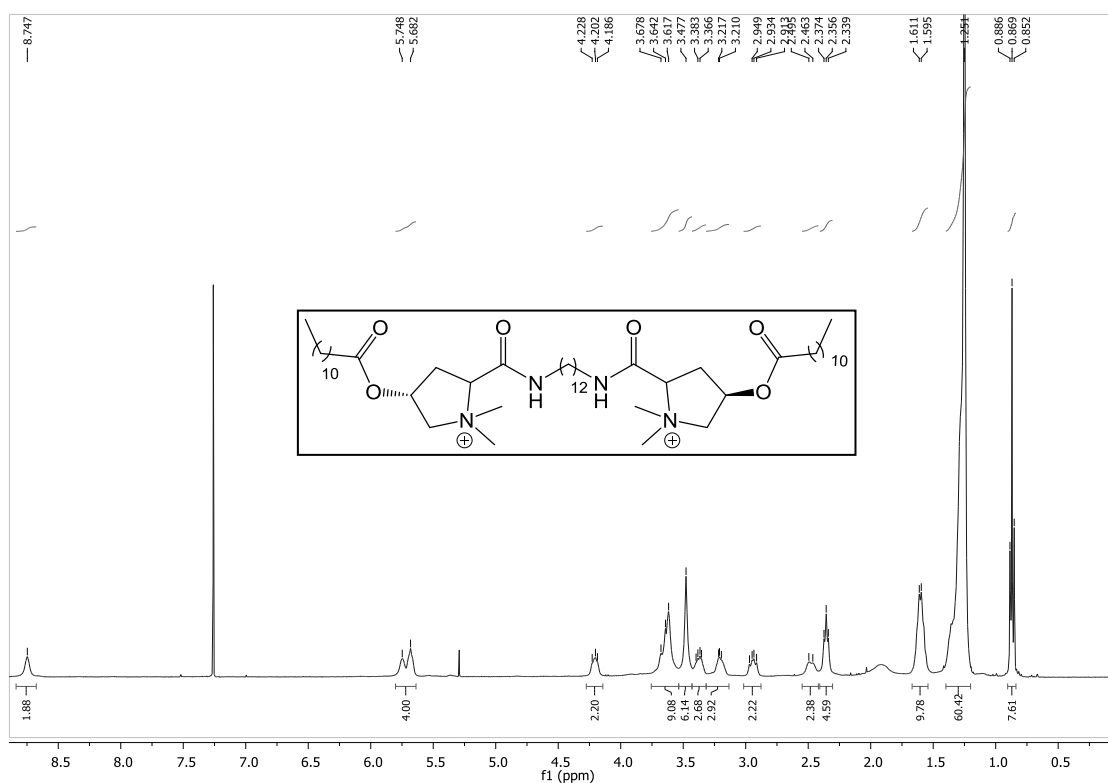


Figura 20 - Espetro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do composto 10.

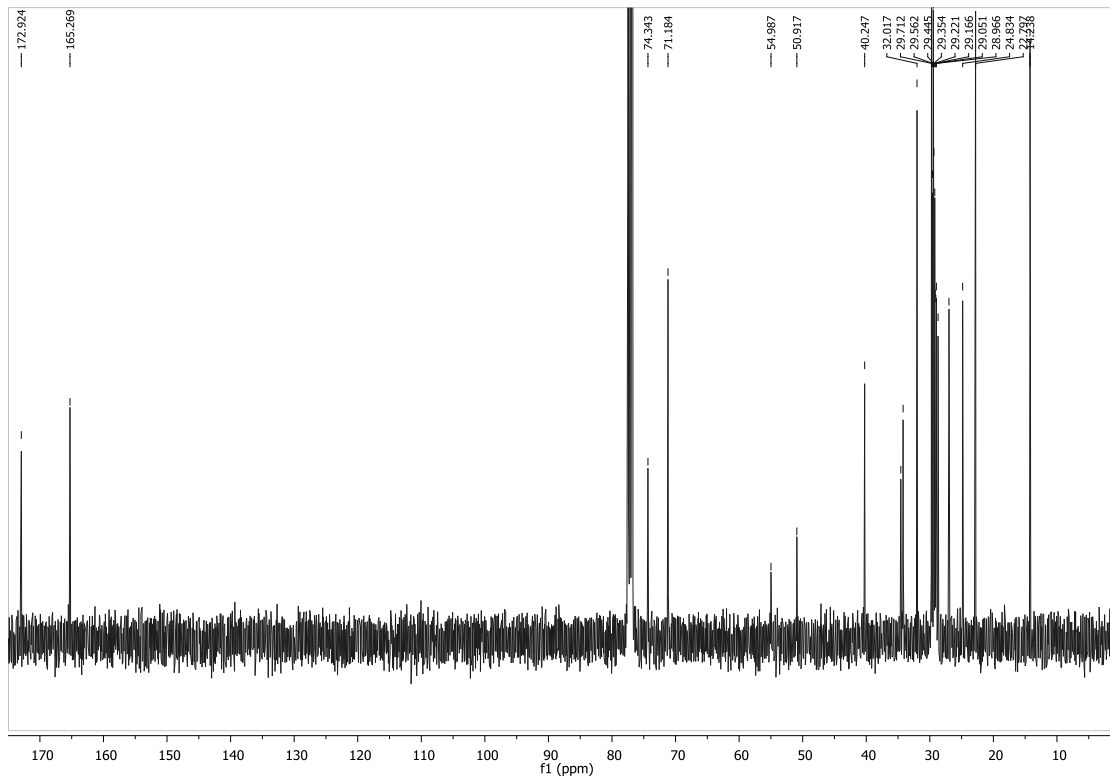


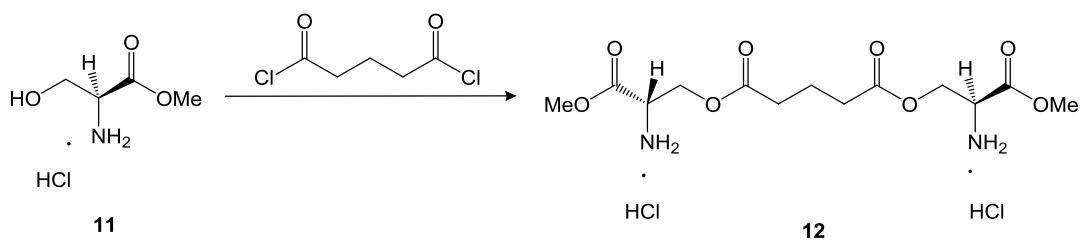
Figura 21 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) do composto 10.

## 2.3. Tentativa de síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina – Série Éster 2

Para a obtenção do tensioativo gemini catiónico da série éster 2 tentaram-se três vias de síntese que serão discutidos seguidamente.

### 2.3.1. Tentativa I - Introdução do espaçador por esterificação

Tentou-se a síntese deste composto por introdução do espaçador, o cloreto de glutarilo, no grupo hidroxilo na serina.



Seguiu-se o mesmo método da síntese de **2** (ponto 2.1.1), com a diferença de, por se tratar agora da reação da serina com um dicloreto de ácido, se ter utilizado metade do número de moles do espaçador em relação à serina. O mecanismo da reação é análogo ao descrito no esquema 6.

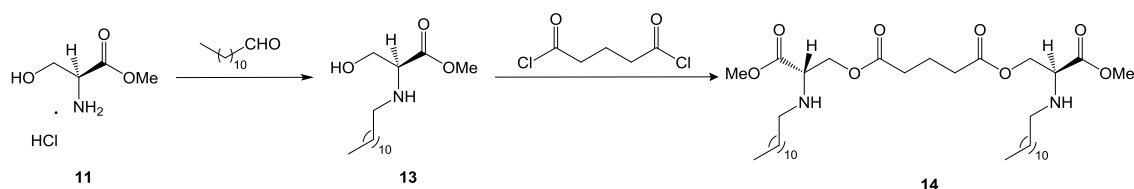
Deixou-se reagir a mistura durante 6 horas, após as quais se tentou precipitar o composto pretendido com Et<sub>2</sub>O frio, tendo-se formado um sólido muito viscoso e pegajoso que não foi possível separar da restante mistura reacional. Retirou-se o excesso de TFA por lavagens com Et<sub>2</sub>O e voltou-se a tentar a precipitação do composto com outros solventes, mas não se conseguiu a precipitação do composto.

Verificou-se ainda que os produtos da reação eram muito polares, dissolviam apenas em MeOH, EtOH e água, o que impediu o seu tratamento por extrações líquido-líquido e cromatografia em coluna, pois após vários testes de eluentes em CCF, constatou-se que não se verificava a separação dos componentes da reação, pois estes ficavam todos retidos na base da placa.

Sendo, assim, não foi possível tirar uma conclusão concreta quanto ao sucesso desta reação e prosseguiu-se para outro método

### 2.3.2. Tentativa II

Em alternativa ao método anterior, tentou-se começar por introduzir na serina inicial **11** uma cadeia alifática no grupo amino do aminoácido, seguindo-se depois para a introdução do espaçador. Com este plano sintético pretendia-se tornar o aminoácido mais hidrofóbico para facilitar o seu tratamento e conseqüente purificação na reação de esterificação.



#### a) Introdução da cadeia alifática no aminoácido por aminação redutiva

A introdução da cadeia alifática no aminoácido foi feita por aminação redutiva do dodecanal. Esta reação é já bem conhecida pelo grupo de investigação<sup>[13]</sup> e decorreu conforme o esperado. Obteve-se após purificação por cromatografia em coluna um óleo amarelo (**13**). O rendimento foi de 61,1%. O mecanismo é análogo ao representado no esquema 7.

#### b) Introdução do espaçador por esterificação

Tal como na tentativa I (ponto 2.3.1), tentou-se introduzir o espaçador, por reação com o cloreto de glutarilo. Seguiu-se o mesmo método que o utilizado no ponto 2.1.1, cujo mecanismo já foi apresentado no esquema 6.

Relativamente à tentativa I, estávamos à espera que o composto obtido, por ser menos hidrofílico devido à presença das cadeias de 12 carbonos previamente introduzidas, permitisse a sua recuperação da mistura reacional.

Deixou-se a mistura reagir durante 24 horas e findo este tempo, lavou-se a mistura reacional várias vezes com Et<sub>2</sub>O, de forma a extrair o TFA. Efetuou-se o tratamento da mistura por extrações líquido-líquido e procedeu-se para a realização de cromatografia em coluna utilizando os eluentes Hex/AcOEt 6:1 e Hex/AcOEt 1:1.

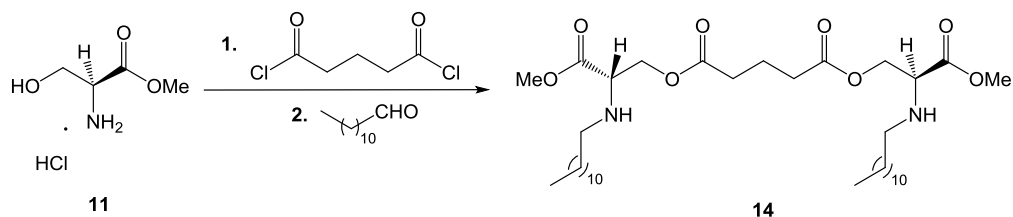
A reação apresentava um grande número de produtos que não se conseguiram isolar. Após a realização da coluna separou-se alguns conjuntos de produtos, contudo, após pesagem das várias misturas, verificou-se que, mesmo que o composto pretendido (**14**) estivesse presente numa delas, estaria em quantidades muito reduzidas para que o rendimento final fosse satisfatório já que as massas obtidas foram muito baixas. Por esse motivo concluiu-se que a reação não foi bem-sucedida.

Pensa-se, pelo facto de a reação ter decorrido durante 24 horas e sem estar em atmosfera inerte, que o dicloreto de glutarilo tenha sofrido hidrólise, originando o respetivo di-ácido. Este, por ser menos reativo, demoraria mais tempo a reagir com o grupo hidroxilo, ou não reagiria de todo nas condições utilizadas.

### **2.3.3. Tentativa III - Síntese do tensioativo gemini não iónico da série éster 2**

Nesta tentativa começou-se pela introdução do cloreto de glutarilo na serina **11**, fazendo-se de seguida reagir o produto obtido, sem qualquer purificação (usou-se diretamente a mistura reacional obtida), com o dodecanal. Desta forma tentou-se resolver o problema de solubilidade encontrado no poto 2.3.1 através da introdução da cadeia alifática logo após a ligação da serina ao espaçador.





Iniciou-se a reação seguindo o mesmo método apresentado do ponto 2.1.1, tendo-se colocado a mistura reacional em atmosfera de argônio para evitar a possível degradação do cloreto de glutarilo. O espaçador foi usado em proporção 1:2 em relação à serina e deixou-se a reação ocorrer durante 24 horas. Após esse tempo, retirou-se o excesso de TFA através de lavagens com Et<sub>2</sub>O e, sem se proceder ao tratamento da mistura reacional, passou-se à segunda fase da reação.

No passo seguinte, tentou-se a introdução da cadeia por aminação redutiva. Para isso a mistura foi sujeita a uma reação semelhante à indicada no ponto 2.1.2, sendo o aldeído utilizado o dodecanal. A reação ocorreu durante 24 horas, depois das quais se efetuaram extrações líquido-líquido.

Por CCF, verificou-se que foram obtidos vários produtos, sendo a mistura mais complexa do se esperava. Nenhum dos produtos parecia estar em maioria em relação aos outros.

A razão mais provável que pode justificar o aparecimento de tantos compostos diferentes pode estar relacionada com a presença de demasiados produtos laterais das duas reações, que podem ter reagido entre si e com os composto pretendidos de múltiplas formas.



## *Capítulo IV*

---

# **Considerações Finais**



Neste trabalho, foram propostas as sínteses de diferentes tensioativos gemini derivados de serina e de 4-hidroxirolina, numa tentativa de se encontrar novos compostos que demonstrem uma maior eficiência e biocompatibilidade.

Primeiramente, efetuou-se a síntese de tensioativos gemini catiónicos derivados de serina da série amida 2. Iniciou-se pela adição de uma cadeia longa ao grupo hidroxilo da serina por esterificação do cloreto de lauroílo com rendimentos elevados (88%). Seguiu-se a introdução de dois grupos metilo ao grupo amina do precursor monomérico **2**, por aaminação reductiva do formaldeído. Nesta etapa de síntese conseguiu-se melhorar o rendimento da reação dos 45-58% para 68-83% através da otimização do tratamento da mistura reacional, o que levou à recuperação de maiores quantidades do composto **3**. No passo seguinte, uniram-se dois monómeros de precursor por condensação com a dodecano-1,12-diamina, usando o TBTU como agente de acoplamento. Obteve-se o composto gemini **4** com rendimentos dos 26-63%. A etapa final deste processo envolve a quaternização do grupo amina com iodometano, para obter o gemini na sua forma catiónica (**5**), com rendimentos inferiores aos esperados (42-52%).

Para esta série é necessário ainda otimizar os rendimentos das duas últimas reações de síntese, principalmente para a reação de metilação, nomeadamente no melhoramento do processo de tratamento por extrações líquido-líquido, como por exemplo, a utilização de outro tipo de solvente como a fase orgânica.

Para a síntese dos tensioativos gemini catiónicos derivados da série hidroxiprolina, começou-se por introduzir uma cadeia alifática no grupo hidroxilo da 4-hidroxiprolina *N*-protegida, por esterificação com cloreto de lauroílo, obtendo-se um bom rendimento (88%). O composto *O*-alquilado resultante (**7**) foi condensado com dodecano-1,12-diamina (agente de acoplamento: TBTU) e obteve-se o precursor gemini *N*-protegido **8** com um rendimento 85%. No passo seguinte, removeu-se o grupo protetor Fmoc ao fazer reagir o composto gemini não iónico protegido com piperidina (rendimento de 83%). O precursor gemini não iónico **9** foi então metilado exaustivamente com iodometano, de modo a quaternizar o grupo amina, obtendo-se assim o tensioativo gemini catiónico **10** com rendimento de 51%.

Os rendimentos obtidos nos passos reacionais da série hidroxiprolina foram elevados, à exceção da reação de metilação, que apresenta um problema semelhante ao observado para a mesma reação na série amida 2. Do mesmo modo, deve

experimentalizar-se a mudança de solvente orgânico no tratamento após a reação e averiguar os resultados.

Foi ainda proposto um plano de síntese de compostos gemini derivados de serina da série éster 2, em que o aminoácido seria *N*-alquilado e o espaçador estaria inserido no grupo hidroxilo através de uma ligação do tipo éster.

A primeira abordagem passava pela introdução do espaçador por esterificação do grupo hidroxilo com o cloreto de glutarilo, para depois ser introduzida a cadeia alifática no grupo amino por aminação redutiva do dodecanal. Contudo, não foi possível averiguar o sucesso da primeira reação pois a mistura reacional resultante era muito polar e não se conseguiu proceder ao seu tratamento.

Numa segunda abordagem, iniciou-se com a introdução da cadeia alifática por aminação redutiva do dodecanal e obteve-se a serina *N*-alquilada **13** com um rendimento de 61%. Posteriormente, tentou-se promover a introdução do cloreto de glutarilo no precursor, para que daí originasse o precursor gemini não iónico. Porém, esta reação não proporcionou resultados satisfatórios.

Por último, retomou-se a rota reacional da primeira abordagem, mas desta vez, depois da introdução do espaçador por esterificação, submeteu-se a mistura reacional obtida, sem qualquer tratamento de purificação, a uma reação de aminação redutiva com o dodecanal. Contudo, com este método os resultados voltaram a não ser animadores, pois obteve-se uma mistura complexa de produtos da reação.

Nestas 3 metodologias sintéticas efetuadas, a etapa que está a impedir o sucesso da síntese é relativa à introdução do espaçador por esterificação do grupo hidroxilo do aminoácido com o dicloreto de alcanóilo. De facto, essa reação já tinha dado problemas aquando da tentativa de introdução da longa cadeia alquílica nesse mesmo grupo hidroxilo para a síntese da série amida 2. No entanto os problemas tinham sido ultrapassados usando o método aqui descrito. Pelos resultados obtidos, esse método parece não resultar para a introdução do espaçador e terá que se tentar averiguar se a falha está na reação propriamente dita, ou no tratamento da mistura reacional resultante. A abordagem ao problema será diferente conforme o caso.

Assim, de futuro, devem ser experimentadas alterações aos métodos apresentados, que podem ir desde as condições reacionais (atmosfera inerte e/ou baixas temperaturas) aos tempos de reação. Pode ainda tentar-se a síntese dos

compostos pretendidos usando outras metodologias, essencialmente no que respeita a introdução do espaçador por uma ligação éster no grupo hidroxilo. Talvez a reação com um diácido usando um agente de acoplamento adequado seja uma boa alternativa.

Nas três séries diferentes, foram sintetizados um total de nove compostos, diferentes, dois dos quais são compostos gemini catiónicos finais.

Os dois tensioativos gemini catiónicos sintetizados serão sujeitos a estudos físico-químicos e biológicos, onde será interessante compará-los entre si, visto terem características semelhantes em termos do tipo e tamanho de espaçador e cadeia alifática que possuem. Desta forma, será possível observar a influência direta que o aminoácido utilizado tem nas propriedades do tensioativo.





*Capítulo III*

---

**Procedimiento Experimental**



### 3.1. Aspectos Gerais

Em todas as reações foram utilizados solventes de qualidade pró-análise.

Foi utilizada a cromatografia em camada fina (CCF) tanto para seguir o progresso das reações, como para atestar a pureza dos compostos obtidos. Para isso foram utilizadas placas de alumínio revestidas com gel de sílica 60 F<sub>254</sub> (sensíveis à luz UV no comprimento de onda de 254 nm) com 0,25 mm de espessura, da marca Merck. Depois da realização de CCF, as placas foram observadas à luz UV no comprimento de onda anteriormente mencionado e foram reveladas por um de dois métodos: por exposição a uma atmosfera de cloro (solução de ácido clorídrico (HCl) a 10% e permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) 0,1 M na proporção de 1:1) seguida de pulverização com solução diluída de dicarboxidina; ou mergulhando numa solução etanólica de ácido fosfomolibdico, revelando a quente.

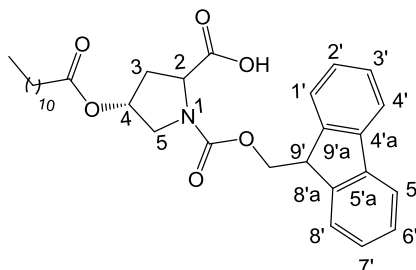
Sempre que necessário, foram removidos produtos secundários ou reagentes de partida que permaneciam junto do composto pretendido no final da reação, inicialmente por extração líquido-líquido, e numa fase posterior, se necessário, por cromatografia líquida de adsorção em coluna de vidro. Para a coluna cromatográfica foi utilizado como fase estacionária gel de sílica 60 da marca SDS, granulometria 40-60 µm, para cromatografia “flash”, previamente suspensa no eluente a utilizar.

Para eliminar os solventes dos compostos, estes foram colocados num evaporador rotativo sob pressão reduzida (trompa de água), e para uma eliminação mais eficaz, foram ainda submetidos a uma bomba de alto vácuo durante, pelo menos, duas horas.

A análise por ressonância magnética nuclear de próton e carbono (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C), foi realizada num espectrómetro Bruker AVANCE III de 400 MHz do CEMUP(UP). As análises espectroscópicas foram efetuadas à temperatura ambiente em clorofórmio deuterado ou em metanol deuterado, e os desvios químicos foram registados relativamente ao sinal do tetrametilsilano (TMS) e/ou do próprio solvente parcialmente não deuterado como referência interna.

Os dados que descrevem cada espectro de RMN <sup>1</sup>H são apresentados pela seguinte ordem: desvio químico,  $\delta$ , em ppm; multiplicidade de sinal (singleto, s; singleto largo, sl; tripleto, t; triplo-dupleto, td; dupleto, d; duplo-dupleto, dd; quintuplet, quint; multiplet, m); área relativa do sinal (nH como número de prótons); constante de

acoplamento,  $J$ , em Hertz; localização do protão na molécula. Quanto aos espectros RMN  $^{13}\text{C}$ , os dados são descritos do seguinte modo: desvio químico,  $\delta$ , em ppm; localização do carbono na molécula. Note-se que, no caso da série da hidroxiprolina se adotou a numeração representada na figura 24.

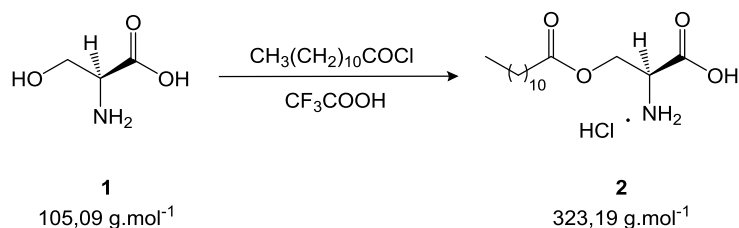


**Figura 22** - Numeração adotada para a prolina e para o grupo Fmoc (exemplificado com o composto 7).

Os espectros de massa (EM) foi obtido num *Finnigan Surveyor*, equipado com um detetor de massa Finnigan LCQ DECA XP MX (Finnigan Corp. San José, Calif. USA) e com API (Atmospheric Pressure Ionization) usando um interface ESI (Electrospray Ionization – ESI-MS).

## 3.2. Síntese da série amida 2

### 3.2.1. Síntese de O-dodecanoíserina



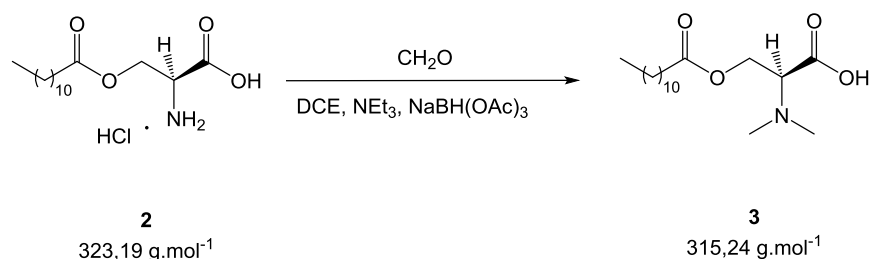
Colocou-se TFA (5 mL) num balão em banho de gelo durante 5 min. Adicionou-se lentamente a serina (**1**) (1,37 g; 13,0 mmol) e deixou-se reagir durante 15 min., com agitação vigorosa. Juntou-se o cloreto de lauroílo (4,53 mL; 19,6 mmol; 1,5 eq.), ficando a mistura reacional em agitação à temperatura ambiente durante 6h. Colocou-se a mistura reacional em gelo, com agitação vigorosa e adicionou-se Et<sub>2</sub>O (15 mL) lentamente utilizando um funil de adição. Formou-se uma suspensão branca, que ficou em agitação durante 15 min. a 0 °C. Filtraram-se os cristais por vácuo e obteve-se um sólido branco (3,72 g), que se identificou por RMN <sup>1</sup>H como sendo o composto **2**. O rendimento foi de 88,0 %.

Composto **2**: sólido branco

R<sub>f</sub> = 0,22 (DCM/MeOH 1:1)

**RMN <sup>1</sup>H** (MeOD, 400 MHz): δ 4.54-4.53 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH-), 4.38-4.36 (m, 1H, -CH-), 2.40 (t, 2H, J = 7.6 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.62 (quint, 2H, J = 7.2 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.30 (sl, 16H, CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-), 0.91 (t, 3H, J = 7.0 Hz, -CH<sub>3</sub>)

### 3.2.2. Síntese de *N,N*-dimetil-*O*-dodecanoílerina



Dissolveu-se o composto **2** (0,44 g; 1,36 mmol) em DCE (20 mL) e juntou-se  $\text{NEt}_3$  (0,28 mL; 2,04 mmol; 1,5 eq.), formaldeído a 37-41% (0,25 mL; 3,39 mmol; 2,5 eq.) e  $\text{NaBH(OAc)}_3$  (1,15 g; 5,43 mmol; 4 eq.), com intervalos de 20 min. entre adições dos diferentes reagentes. Deixou-se em agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas.

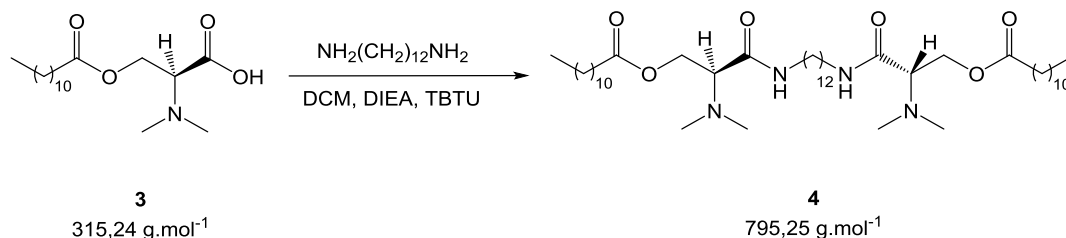
No final da reação, procedeu-se a extrações líquido-líquido: primeiro com HCl 1M (15 mL), separando rapidamente as fases; depois lavaram-se as fases orgânica e aquosa com  $\text{H}_2\text{O}$  e DCM quente, respetivamente. Secou-se a fase orgânica com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se por vácuo e evaporou-se o solvente. Purificou-se o composto por cromatografia em coluna no eluente DCM/MeOH 5:1. Após nova evaporação de solvente, obteve-se um sólido branco (0,3324 g), que depois de se analisar por RMN  $^1\text{H}$  verificou-se que era o composto **3**. O rendimento da reação foi de 77,7%.

Composto **3**: sólido branco

$R_f = 0,49$  (DCM/MeOH 5:1)

**RMN  $^1\text{H}$**  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  4.63-4.62 (m, 2H, -O- $\underline{\text{CH}}_2$ -CH-), 3.89-3.86 (m, 1H, -CH-), 2.93 (s, 6H, -N-( $\text{CH}_3$ )<sub>2</sub>), 2.37 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz, -CH<sub>2</sub>- $\underline{\text{CH}}_2$ -CO-), 1.62 (quint, 2H,  $J = 7.2$  Hz, - $\underline{\text{CH}}_2$ -CH<sub>2</sub>-CO-), 1.29 (sl, 16H,  $\text{CH}_3$ -( $\underline{\text{CH}}_2$ )<sub>8</sub>-), 0.90 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz, -CH<sub>3</sub>)

### 3.2.3. Síntese de didodecanoato de (2S)-2-(dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) bis[(2-N,N-dimetilamino)etilo]



Num balão de fundo redondo, dissolveu-se o composto **3** (0,70 g; 2,21 mmol) em DCM e juntou-se DIEA (0,76 mL; 4,42 mmol; 2 eq.). Passados 30 min. colocou-se a mistura reacional em gelo e juntou-se TBTU (1,42 g; 4,42 mmol; 2 eq.), deixando a reagir durante 1 hora. Adicionou-se a dodecanodiamina (0,21 g; 1,06 mmol; 0,5 eq.) e deixou-se reagir em agitação magnética e em gelo durante 5 dias.

Finda a reação, procedeu-se ao seu tratamento por extração com a sequência de solventes: HCl 0,1 M (20 mL), H<sub>2</sub>O (20 mL), NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), H<sub>2</sub>O (20 mL). Repetiu-se a sequência até não se verificarem alterações na fase orgânica. Secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. A mistura resultante foi purificada por coluna cromatográfica começando com o eluente DCM/MeOH 20:1, passando depois para DCM/MeOH 5:1. Depois de evaporado o solvente, obteve-se um óleo amarelo (0,52 g). Por RMN <sup>1</sup>H e EM verificou-se que era o composto **4**. O rendimento foi de 62,3 %.

Composto **4**: óleo amarelo

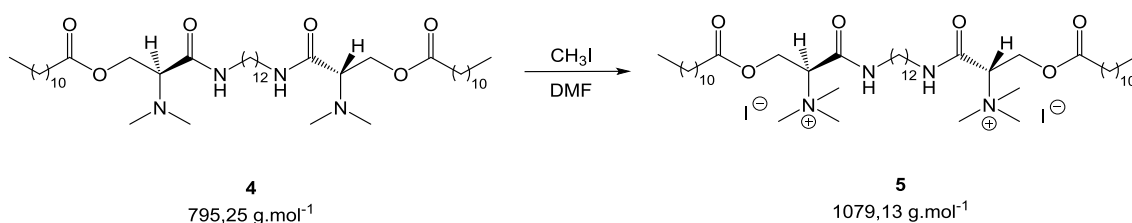
R<sub>f</sub> = 0,65 (DCM/MeOH 10:1)

**RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  7.15 (t, 2H,  $J$  = 5.8 Hz, 2x -NH-), 4.45 (dd, 2H,  $J$  = 8.0, 4.0 Hz, 2x -O-C(H)H-CH-), 4.28-4.35 (dd, 2H,  $J$  = 5.6, 6.4 Hz, 2x -O-C(H)H-CH-), 3.15-3.11 (m, 6H, 2x -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- + 2x -CH-), 2.27 (s, 12H, 2x -N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.21 (t, 4H,  $J$  = 7.4 Hz, 2x -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.54-1.50 (m, 4H, 2x -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.43-1.40 (m, 4H, 2x -

NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.17 (sl, 48H, 2x CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>- + -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-), 0.80-0.77 (m, 6H, 2x -CH<sub>3</sub>)

EM (ESI, MeOH) m/z calcd. 796,26 [M+H]<sup>+</sup>, obtido 795,93

### 3.2.4. Síntese de diiodeto de (1S)-{1-(dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) bis[2-(dodecanoíloxi)etil]} bis-N,N,N-trimetilamónio



O composto **4** (0,52 g; 0,65 mmol) foi dissolvido em DMF ( $\approx$  1 mL) e seguidamente foi adicionado iodometano (0,16 mL; 2,64 mmol; 4 eq.). A reação ocorreu em agitação magnética durante 48h. Dissolveu-se a mistura reacional em AcOEt (20 mL) e procederam-se às extrações líquido-líquido com Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a 10 % (2x 20 mL) e H<sub>2</sub>O (5x 20 mL), secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Purificou-se a mistura por coluna cromatográfica com o eluente DCM/MeOH 10:1, evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo amarelo (0,37 g). Comprovou-se que era composto **5** por RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e EM. O rendimento foi de 51,5 %.

Composto **5**: óleo amarelo

R<sub>f</sub> = 0,50 (DCM/MeOH 5:1)

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  8.47 (t, 2H,  $J$  = 5.6 Hz, 2x -NH-), 5.54 (t, 2H,  $J$  = 6.0 Hz, 2x .N<sup>+</sup>-CH-), 4.69 (dd, 2H,  $J$  = 6.4, 6.8 Hz, 2x -O-C(H)H-CH-), 4.53 (dd, 2H,  $J$  = 7.6, 5.2 Hz 2x -O-C(H)H-CH-), 3.54 (sl, 18H, 2x -N<sup>+</sup>-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.45-3.36 (m, 4H, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.25-3.16 (m, 4H, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 2.37 (t, 4H,  $J$  = 7.6 Hz, 2x -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.65-1.55



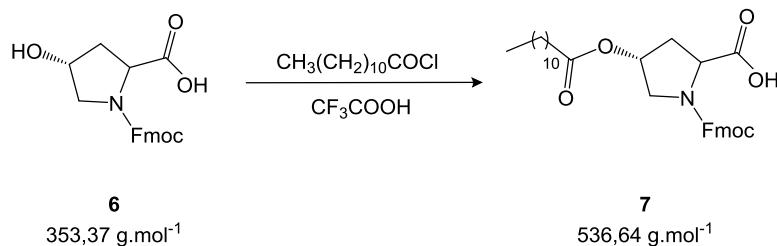
(m, 8H, 2x  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$  +  $-\text{NH}-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ ), 1.25 (sl, 48H, 2x  $\text{CH}_3-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_8-$  +  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_8-$ ), 0.87 (t, 6H,  $J = 7.0$  Hz, 2x  $-\text{CH}_3$ )

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  172.5 ( $-\text{O}-\underline{\text{C}}(\text{O})-$ ), 163.7 ( $-\text{C}(\text{O})-\text{N}-$ ), 70.8 ( $-\text{N}^+\text{CH}-$ ), 59.4 ( $-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}-$ ), 54.0 ( $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ), 40.1 ( $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ ), 34.1 ( $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-$ ), 32.0 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ ), [29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 29.0, 28.9, 28.6 ( $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_6-$  +  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_6-$ )], 26.9 ( $-\text{NH}-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ ), 24.7 ( $-\text{C}-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ ), 22.8 ( $\text{CH}_3-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ ), 14.2 ( $-\text{CH}_3$ )

**EM** (ESI, MeOH)  $m/z$  calcd. 952,22  $[\text{M}-\text{I}]^+$ , obtido 951,47; calcd. 412,66  $[\text{M}-2\text{I}]^{2+}$ , obtido 412,93

### 3.3. Síntese da série hidroxiprolina

#### 3.3.1. Síntese de *N*-Fmoc-4-dodecanoóloxiprolina



Colocou-se TFA (5 mL) em banho de gelo durante 5 min. Adicionou-se lentamente a 4-hidroxiprolina (**6**) (1,50 g; 4,26 mmol) e deixou-se reagir durante 15 min., com agitação vigorosa. Juntou-se o cloreto de lauroílo (1,48 mL; 6,39 mmol; 1,5 eq.), ficando em agitação à temperatura ambiente durante 7h. Lavou-se a mistura reacional com Et<sub>2</sub>O, que depois foi evaporado, para retirar o excesso de TFA, repetindo-se o processo 20 vezes. Dissolveu-se a mistura em DCM e efetuaram-se extrações líquido-líquido com HCl 1 % (20 mL) e H<sub>2</sub>O (10x 20 mL). Purificou-se a mistura numa coluna cromatográfica utilizando os eluentes Hex/AcOEt 3:1 e AcOEt/MeOH 3:1. Identificou por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C que o óleo transparente e muito viscoso obtido era o composto **7** (1,71 g). O rendimento foi de 88,0 %.

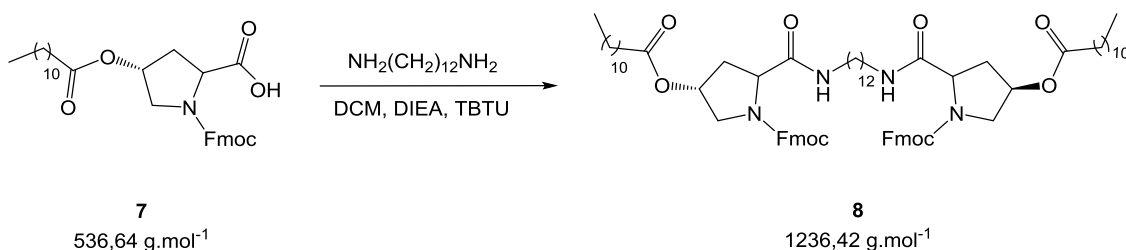
Composto **7**: óleo transparente muito viscoso

R<sub>f</sub> = 0,28 (DCM/MeOH 10:1)

**RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.74 (dd, 2H, *J* = 13.2, 7.4 Hz, H-4' + H-5'), 7.57-7.52 (m, 2H, H-1' + H-8'), 7.42-7.28 (m, 4H, H-2' + H-3' + H-6' + H-7'), 5.33-5.27 (m, 1H, H-4), 4.55-4.36 (m, 3H, H-2 + -O-CH<sub>2</sub>-), 4.28-4.13 (m, 1H, H-9'), 3.78-3.68 (m, 2H, H<sub>2</sub>-5), 2.48-2.25 (m, 4H, H<sub>2</sub>-3 + -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.65-1.56 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 1.25 (sl, 16H, CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-), 0.88 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, -CH<sub>3</sub>)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  175.3 (-C(O)OH), 173.3 (-O-C(O)-CH<sub>2</sub>), 155.8 (-O-C(O)-N-), 143.8 (C-8'a + C-9'a), 141.5 (C-4'a + C-5'a), 128.0 (C-3' + C-6'), 127.3 (C-2' + C-7'), 125.1 (C-1' + C-8'), 120.2 (C-4' + C-5'), 72.2 (C-4), 68.3 (-O-CH<sub>2</sub>-), 58.1 (C-2), 52.5 (C-5), 47.2 (C-9'), 35.3 (C-3), 34.4 (-C-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 32.0 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), [29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2 (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-)], 25.0 (-C-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 22.8 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-), 14.2 (-CH<sub>3</sub>)

### 3.3.2. Síntese de didodecanoato de (2S)-[(2-dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) bis(N-Fmoc-pirrolidin-4-ilo)]



Dissolveu-se o composto **7** (0,78 g; 1,5 mmol) em DCM e adicionou-se DIEA (0,50 mL; 2,9 mmol; 2 eq.) e deixou-se a reagir por 30 min. Colocou-se o balão reacional em gelo e juntou-se TBTU (0,94 g; 2,9 mmol; 2 eq.), deixando a reagir durante 1 hora. Adicionou-se a dodecanodiamina (0,15 g; 0,73 mmol; 0,5 eq.) e deixou-se reagir em agitação magnética e em gelo durante 3 dias.

Procedeu-se ao tratamento da mistura reacional por extrações líquido-líquido, com a sequência de solventes: HCl 0,1 M (20 mL), H<sub>2</sub>O (20 mL), NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), H<sub>2</sub>O (20 mL). Repetiu-se a sequência até não se verificarem alterações na fase orgânica. Secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Purificou-se por coluna cromatográfica utilizando os eluentes Hex/AcOEt 1:1 e Hex/AcOEt 1:3. Evaporou-se o solvente, obteve-se um óleo amarelo viscoso (0,76 g). Por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e por EM verificou-se que se tratava do composto **8**. O rendimento foi de 84,7 %.

Composto **8**: óleo amarelo viscoso

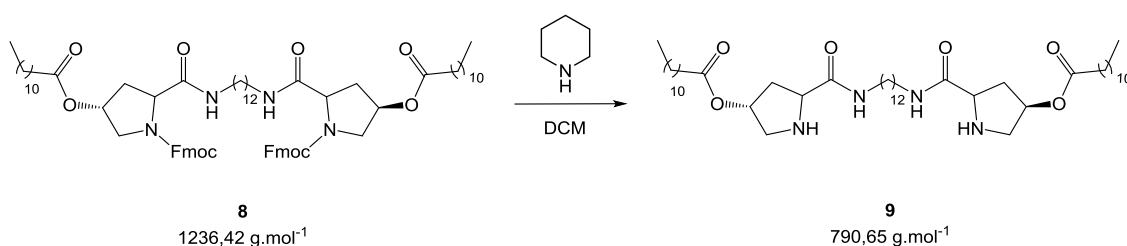
$R_f = 0,64$  (Hex/AcOEt 1:3)

**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.76 (d, 4H,  $J = 7.6$  Hz, 2x H-4' + 2x H-5'), 7.55 (d, 4H,  $J = 7.2$  Hz, 2x H-1' + 2x H-8'), 7.40 (t, 4H,  $J = 7.4$  Hz, 2x H-3' + 2x H-6'), 7.30 (td, 4H,  $J = 6.4, 0.8$  Hz, 2x H-2' + 2x H-7'), 6.59 (s, 2H, 2x -C(O)-NH-), 5.31 (s, 2H, 2x H-4), 4.57 (s, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-), 4.45-4.36 (m, 4H, -O-CH<sub>2</sub>- + 2x H-2), 4.25-4.22 (m, 2H, H-9'), 3.80-3.65 (m, 4H, 2x H<sub>2</sub>-5), 3.29-3.11 (m, 4H, 2x -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-), 2.65 (sl, 2H, 2x H<sub>a</sub>-3), 2.34-2.17 (m, 6H, 2x H<sub>b</sub>-3 + 2x -CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.65-1.56 (m, 6H, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- + 2x -CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.46 (sl, 2H, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.25-1.17 (m, 48H, 2x CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>- + -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-), 0.87 (t, 6H,  $J = 6.8$  Hz, 2x -CH<sub>3</sub>)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  173.3 (-O-C(O)-CH<sub>2</sub>-), 170.5 (-C(O)-NH-), 156.2 (-O-C(O)-N-), 143.7 (C-8'a + C-9'a), 141.5 (C-4'a + C-5'a), 128.0 (C-3' + C-6'), 127.3 (C-2' + C-7'), 125.1 (C-1' + C-8'), 120.2 (C-4' + C-5'), 72.8 (C-4), 68.1 (-O-CH<sub>2</sub>-), 59.2 (C-2), 52.6 (C-5), 47.3 (C-9'), 39.9 (-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 34.4 (-CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 34.1 (C-3), 32.0 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), [29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.4, 29.4, 29.3 (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>- + -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- + -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-)], 27.0 (-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 25.0 (-CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 22.8 (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-), 14.3 (-CH<sub>3</sub>)

**EM** (ESI, MeOH)  $m/z$  calcd. 1237,43 [M+H]<sup>+</sup>, obtido 1236,40

### 3.3.3. Desproteção do precursor gemini não iônico



Dissolveu-se o composto **8** (0,76 g; 0,62 mmol) em DCM (5 mL) e adicionou-se lentamente a piperidina (0,61 mL; 6,16 mmol; 10 eq), deixou-se em agitação magnética à temperatura ambiente durante 15 min. Procedeu-se a extrações líquido-líquido com HCl 0,1 M (15 mL) e H<sub>2</sub>O. Secou-se a fase orgânica com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se por vácuo e evaporou-se o solvente. Purificou-se o composto por

cromatografia em coluna no eluente DCM/AcOEt 10:1. Após nova evaporação de solvente, obteve-se um óleo incolor (0,40 g), que se identificou por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  como sendo o composto **9**. O rendimento da reação foi de 82,6 %.

### Didodecanoato de (2S)-[(2-dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) bis(pirrolidin-4-ilo)]

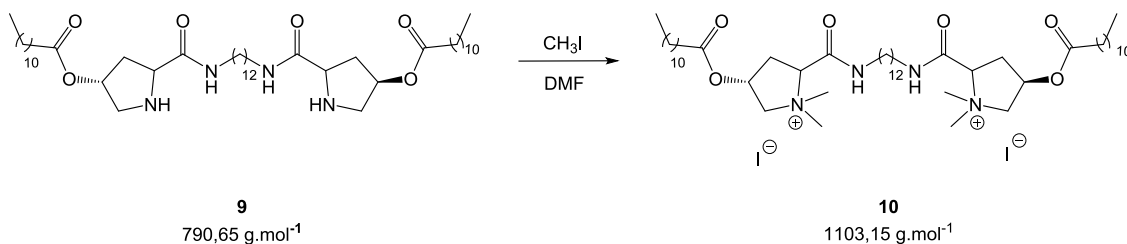
Composto **9**: óleo incolor

$R_f = 0,58$  (DCM/MeOH 20:1)

**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.65 (t, 2H,  $J = 5.6$  Hz, 2x  $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ), 5.26-5.23 (m, 2H, 2x H-4), 4.05 (t, 2H,  $J = 8.4$  Hz, 2x H-2), 3.25-3.15 (m, 6H, 2x  $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-$  + 2x  $\text{H}_a-5$ ), 3.03 (dd, 2H,  $J = 9.2, 3.8$  Hz, 2x  $\text{H}_b-5$ ), 2.42-2.36 (m, 2H, 2x  $\text{H}_a-3$ ), 2.27 (t, 4H,  $J = 7.4$  Hz, 2x  $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 2.14-2.07 (m, 2H, 2x  $\text{H}_b-3$ ), 1.59 (quint, 4H,  $J = 7.2$  Hz, 2x  $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 1.50 (quint, 4H,  $J = 6.8$  Hz, 2x  $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 1.25 (sl, 48H, 2x  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-$  +  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_8-$ ), 0.88 (t, 6H,  $J = 6.8$  Hz, 2x  $-\text{CH}_3$ )

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  173.4 ( $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2$ ), 172.3 ( $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ), 75.5 (C-4), 60.0 (C-2), 52.8 (C-5), 39.3 ( $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 36.8 (C-3), 34.5 ( $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 32.0 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), [29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3 ( $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_6-$  +  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}_2)_6-$ )], 27.0 ( $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-$ ), 25.0 ( $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 22.8 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-$ ), 14.2 ( $-\text{CH}_3$ )

### 3.3.4. Síntese de diiodeto de (2S)-(2-dodecametileno-1,12-dicarbamoíl) bis-[(4-dodecanoóloxi)-N,N-dimetilpirrolidínio]



O composto **9** (0,40 g; 0,50 mmol) foi dissolvido em DMF ( $\approx$  1 mL), adicionou-se iodometano (0,25 mL; 4,00 mmol; 8 eq.). A reação ocorreu em agitação magnética durante 48h. A mistura reacional foi dissolvida em AcOEt (20 mL) e efetuaram-se extrações líquido-líquido com  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  a 10% (3x 20 mL) e  $\text{H}_2\text{O}$  (8x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Por coluna cromatográfica, purificou-se a mistura, usando os eluentes DCM/MeOH 20:1 e DCM/MeOH 10:1, evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo amarelo (0,28 g). Comprovou-se que era composto **10** por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e EM. O rendimento foi de 50,8 %.

Composto **10**: óleo amarelo

$R_f = 0,21$  (DCM/MeOH 10:1)

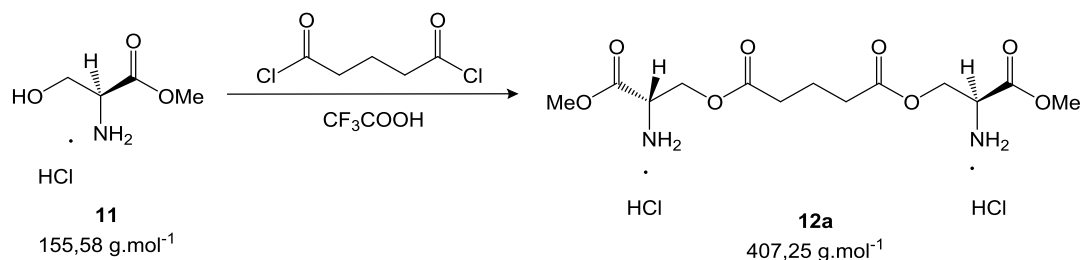
**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  8.75 (s, 2H, 2x -C(O)-NH-), 5.75 (s, 2H, 2x H-2), 5.70-5.67 (m, 2H, 2x H-4), 4.23-4.19 (m, 2H, 2x  $\text{H}_a$ -5), 3.68-3.62 (m, 8H, 2x  $\text{H}_b$ -5 + - $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.47 (s, 6H, 2x - $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.40-3.35 (m, 2H, -C(O)-NH- $\text{CH}_a$ H $_b$ ), 3.22-3.20 (m, 2H, -C(O)-NH- $\text{CH}_a$ H $_b$ ), 2.97-2.91 (m, 2H, 2x  $\text{H}_a$ -3), 2.49-2.46 (m, 2H, 2x  $\text{H}_b$ -3), 2.36 (t, 4H,  $J = 7$  Hz, 2x -CO- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), 1.65-1.56 (m, 8H, 2x -CO- $\text{CH}_2$ -( $\text{CH}_2$ ) $_2$ -), 1.25 (sl, 48H, 2x  $\text{CH}_3$ -( $\text{CH}_2$ ) $_7$ - + -NH- $\text{CH}_2$ -( $\text{CH}_2$ ) $_{10}$ -), 0.87 (t, 6H,  $J = 6.8$  Hz, 2x - $\text{CH}_3$ )

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  172.9 (-O-C(O)-), 165.3 (-C(O)-NH-), 74.3 (C-4), 71.1 (C-2 + C-5), [55.0, 50.92 (- $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ )], 40.3 (-NH- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), 34.5 (C-3), 34.2 (-C- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), 32.0 ( $\text{CH}_3$ - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), [29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.9, 28.7 ( $\text{CH}_3$ -( $\text{CH}_2$ ) $_2$ -( $\text{CH}_2$ ) $_6$ - + -NH- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ - + -NH-( $\text{CH}_2$ ) $_3$ -( $\text{CH}_2$ ) $_6$ -)], 27.0 (-NH-( $\text{CH}_2$ ) $_2$ - $\text{CH}_2$ -), 24.8 (-C- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -), 22.8 ( $\text{CH}_3$ - $\text{CH}_2$ -), 14.2 (- $\text{CH}_3$ )

**EM** (ESI, MeOH)  $m/z$  calcd. 976,25 [ $\text{M-I}$ ] $^+$ , obtido 975,53; calcd. 424,68 [ $\text{M-2I}$ ] $^{2+}$ , obtido 424,73

### 3.4. Tentativa de síntese da série éster 2

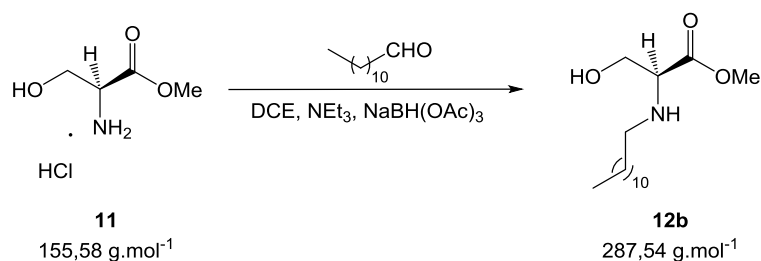
#### 3.4.1. Tentativa I - Síntese de glutarato de *bis*[(S)-2-amino-2-(metiloxicarbonil)etilo]



Colocou-se TFA (5 mL) em banho de gelo, passados 5 min, adicionou-se lentamente o serinato de metilo (**11**) (1,18 g; 7,62mmol), com agitação vigorosa. Esperou-se 15 min e adicionou-se o cloreto de glutarilo (0,45 mL; 3,80 mmol; 0,5 eq.), ficando a mistura em agitação à temperatura ambiente durante 6h. Colocou-se a mistura reacional em gelo, com agitação vigorosa e adicionou-se Et<sub>2</sub>O (15 mL) lentamente utilizando um funil de adição. Formou-se um sólido pegajoso, que não se conseguiu filtrar. Tentou-se, ainda recristalizar com Hex, mas obteve-se um resultado idêntico. Os produtos da reação eram muito polares, dissolvendo apenas em MeOH, EtOH e água. Por testes de eluentes, verificou-se em CCF que estes não saíam da base.

#### 3.4.2. Tentativa II

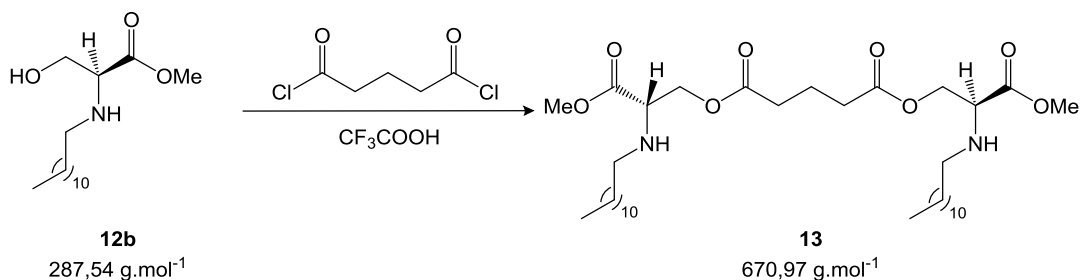
##### a) Síntese de *N*-dodecilserinato de metilo



Dissolveu-se o serinato de metilo **11** (1,05 g; 6,73 mmol) em DCE (20 mL) e adicionou-se  $\text{NEt}_3$  (1,41 mL; 10,1 mmol; 1,5 eq.). Esperou-se 20 min e adicionou-se dodecanal (1,49 g; 8,07 mmol; 1,2 eq.) e, novamente, 20 min depois adicionou-se  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  (2,14 g; 10,1 mmol; 1,5 eq.). Deixou-se a reação em agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 5 horas.

No final da reação, tratou-se a mistura reacional através de extrações líquido-líquido com  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) e  $\text{H}_2\text{O}$  (10x 20 mL). Secou-se a fase orgânica com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Purificou-se o composto por cromatografia em coluna com os eluentes Hex/AcOEt 6:1 e DCM/MeOH 10:1. Evaporou-se o solvente e obteve-se um óleo amarelado (1,18 g), que ao comparar com um padrão por CCF, se verificou que era o composto **12b**. O rendimento da reação foi de 61,1%.

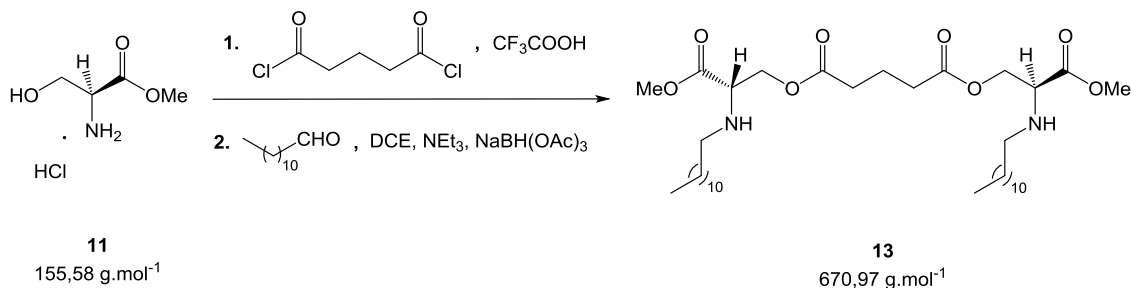
**b) Síntese de glutarato de bis[(S)-2-(dodecilamino)-2-(metiloxicarbonil)etilo]**



Começou-se por colocar TFA (5 mL) em banho de gelo durante 5 min. Lentamente, juntou-se o composto de partida **12b** (0,71 g; 2,47 mmol) e deixou-se em agitação vigorosa durante 15 min. Adicionou-se por fim o cloreto de glutarilo (0,15 mL; 1,24 mmol; 0,5 eq.), ficando a mistura em agitação à temperatura ambiente durante 24h. Lavou-se a mistura reacional com  $\text{Et}_2\text{O}$  para retirar o excesso de TFA. Dissolveu-se a mistura em DCM e efetuaram-se extrações líquido-líquido com  $\text{NaHCO}_3$  (20 mL) e  $\text{H}_2\text{O}$  (10x 20 mL). Tentou-se purificar mistura numa coluna cromatográfica utilizando os eluentes Hex/AcOEt 6:1 e Hex/AcOEt 1:1. Não se conseguiu obter nenhum dos produtos puros.



### 3.4.3. Tentativa III - Síntese de glutarato de *bis*[(*S*)-2-(dodecilamino)-2-(metiloxicarbonil)etilo]



Colocou-se TFA (5 mL) em banho de gelo durante 5 min, findos os quais se adicionou o serinato de metilo (**11**) (0,35 g; 3,41 mmol), lentamente, e deixou-se em agitação vigorosa e atmosfera de árgon durante 15 min. Adicionou-se depois o cloreto de glutarílo (0,21 mL; 1,71 mmol; 0,5 eq.), ficando a mistura em agitação à temperatura ambiente e sob atmosfera de árgon durante 24h.

Findas as 24h, lavou-se várias vezes a mistura reacional com  $\text{Et}_2\text{O}$  (15 mL), evaporando sempre o solvente entre as várias lavagens. Dissolveu-se a mistura obtida em DCE e adicionou-se  $\text{NEt}_3$  (1,19 mL; 8,52 mmol; 2,5 eq.). Passados 20 min, adicionou-se dodecanal (0,75 g; 4,09 mmol; 1,2 eq.) e 20 min depois adicionou-se  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  (1,08 g; 5,11 mmol; 1,5 eq.). Deu-se a reação como terminada passadas 24h e procedeu-se a extrações líquido-líquido com HCl 1 M (20 mL) e  $\text{H}_2\text{O}$  (10x 20 mL). Terminado este processo, verificou-se por CCF que, tal como em reações anteriores, desta reação resultaram inúmeros produtos e que não foi possível purificar



## Referências Bibliográficas

- [1] Levinson, M. I. *Handbook of detergents – Part F*, Taylor and Francis Group, LCC, England, **2009**, 1, 1-38.
- [2] Sanchez, L.; Mitjans, M.; Infante, M. R.; García, M. T.; Manresa, M.A.; Vinardell, M. P. *Amino Acids*, **2007**, 32, 133–136.
- [3] Holmberg, K.; Jönsson, B.; Krongber, B.; Lindman, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Riley & Sons, England, **2002**, Capítulos 1, 2.
- [4] Holmberg, K. *Curr. Opinion Colloid Interface Sci*, **2001**, 6, 148-159.
- [5] Menger, F. M.; Keiper, J. S. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 1906-1920.
- [6] Salager, J.L., FIRP booklet # E300-A, *Surfactants: Types and Uses*, FIRP, version 2, Merida, Venezuela, **2002**.
- [7] Morán, M. C.; Pinazo, A.; Pérez, L.; Clapés, P.; Angelet, M.; García, M. T.; Vinardell, M. P.; Infante, M. R. *Green Chem.*, **2004**, 6, 233-240.
- [8] Silva, S. G.; Rodríguez-Borges, J. E.; Marques, E. F.; Vale, M. L. C. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 4156-4164.
- [9] Infante, M. R.; Pinazo, A.; Seguer, J. *Colloids Surf. A*, **1997**, 123–124 (0), 49-70.
- [10] Gomes, P.; Araújo, M. J.; Marques, E. F.; Falcão, S.; Brito, R. O. *Synthetic Communications*, **2008**, 38 (12), 2025-2036.
- [11] Pérez, L.; Pinazo, A.; García, M. T.; Lozano, M.; Manresa, A.; Angelet, M.; Vinardell, M. P.; Mitjans, M.; Pons, R.; Infante, M. R. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44, 1884-1892.
- [12] Faustino, C.; Calado, A.; Garcia-Rio, L. *J. Colloid Interface Sci.*, **2010**, 351 (2), 472-477.

- [13] Silva, S. G.; Fernandes, R. F.; Marques, E. F.; Vale, M. L. C. *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 2, 345-352.
- [14] Brito, R. O.; Marques, E. F.; Silva, S. G.; do Vale, M. L.; Gomes, P.; Araujo, M. J.; Rodriguez-Borges, J. E.; Infante, M. R.; Garcia, M. T.; Ribosa, I.; Vinardell, M. P.; Mitjans, M. *Colloids Surf. B*, **2009**, 72 (1), 80-7.
- [15] Brito, R. O.; Silva, S. G.; Fernandes, R. M.; Marques, E. F.; Enrique-Borges, J.; do Vale, M. L. *Colloids Surf. B*, **2011**, 86 (1), 65-70.
- [16] Mbadugha, B. N. A.; Keiper, J. S. *Handbook of detergents*, Taylor and Francis Group, LCC, England, **2009**, 29, 561-577.
- [17] Kirby, A. J.; Camilleri, P.; Engberts, J. B. F. N.; Feiters, M. C.; Nolte, R. J. M.; Soderman, O.; Bergsma, M.; Bell, P. C.; Fielden, M. L.; Garcia-Rodriguez, C. L.; Guédat, P.; Kremer, A.; McGregor, C.; Perrin, C.; Rosin, G.; van Eijk, M. C. P. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 1448-1457.

---

## **Anexos**



# Espetros Adicionais

- Composto 2

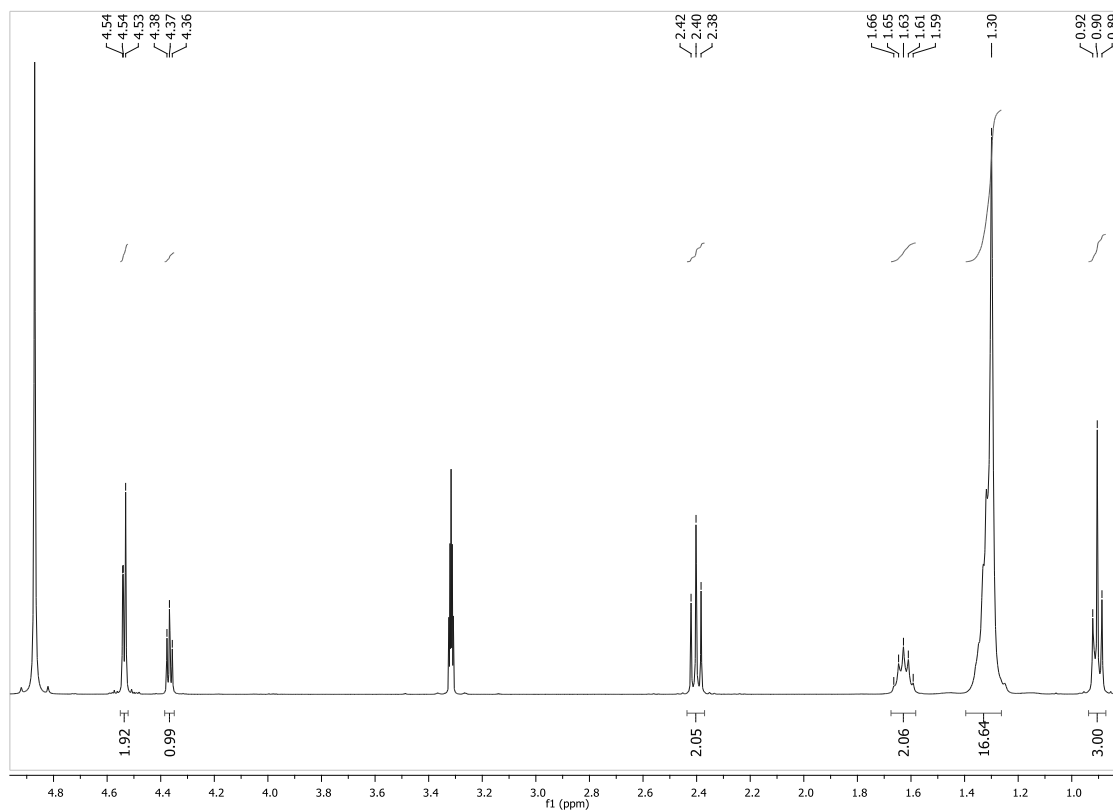
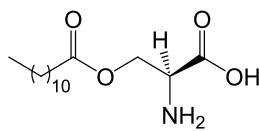
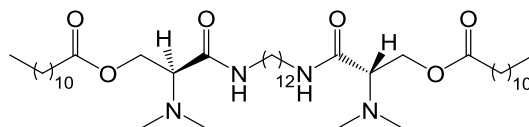


Figura 23 - Espetro de RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz) do composto 2.

• **Composto 4**

RD-03\_140515163449 #3 RT: 0,08 AV: 1 NL: 1,12E8  
T: + p ESI Full ms [ 50,00-2000,00]

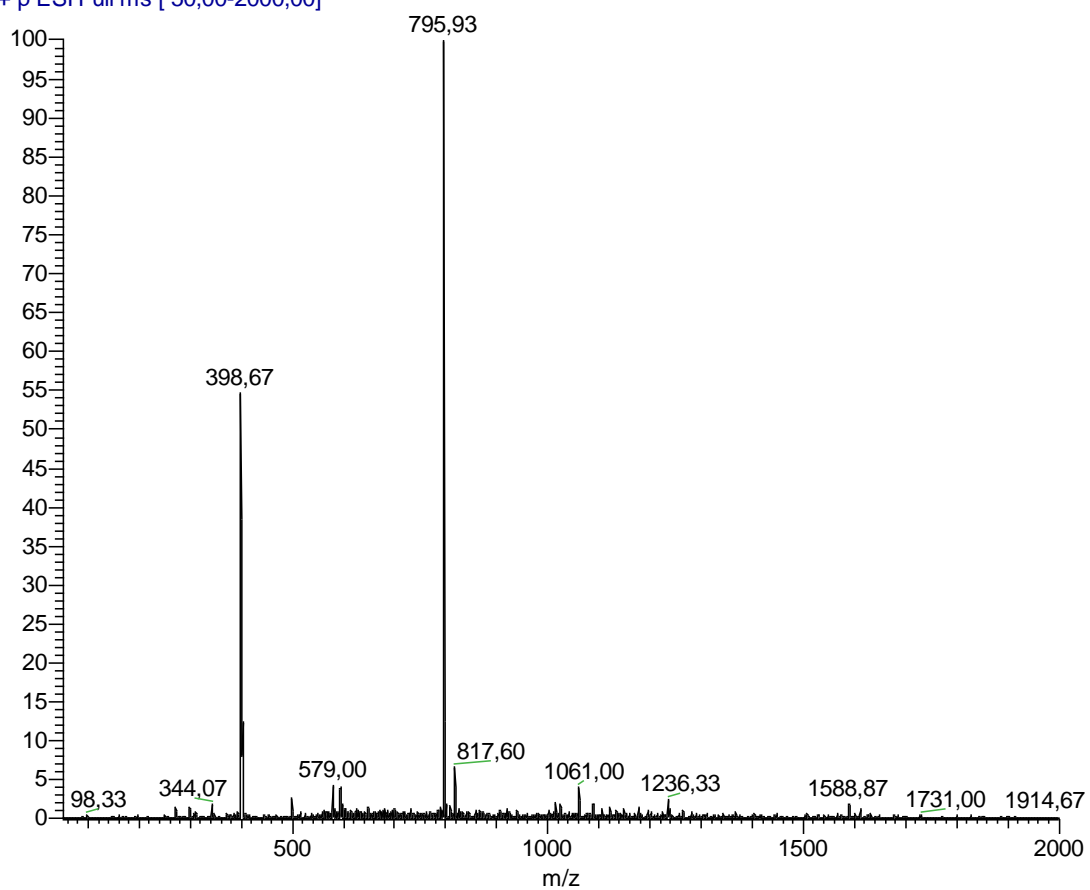


Figura 24 - Espetro de Massa do composto 4.



## • Composto 5

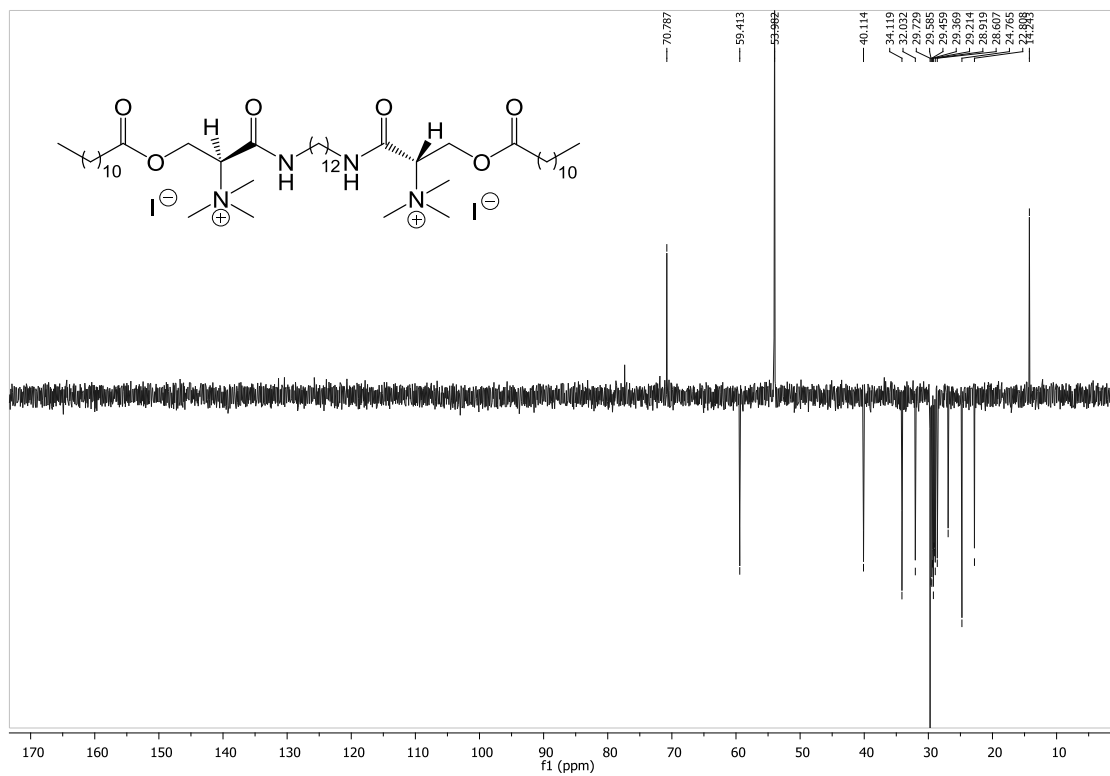


Figura 25 - Espetro de DEPT do composto 5.

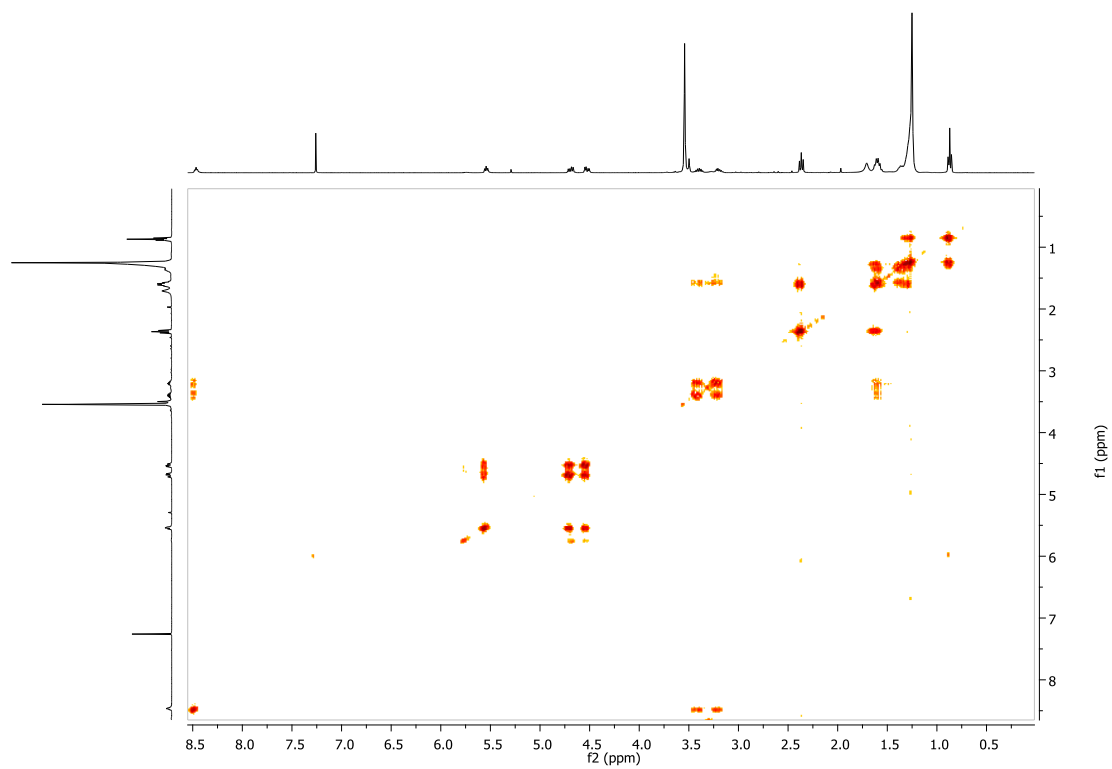


Figura 26 - Espetro de COSY do composto 5.

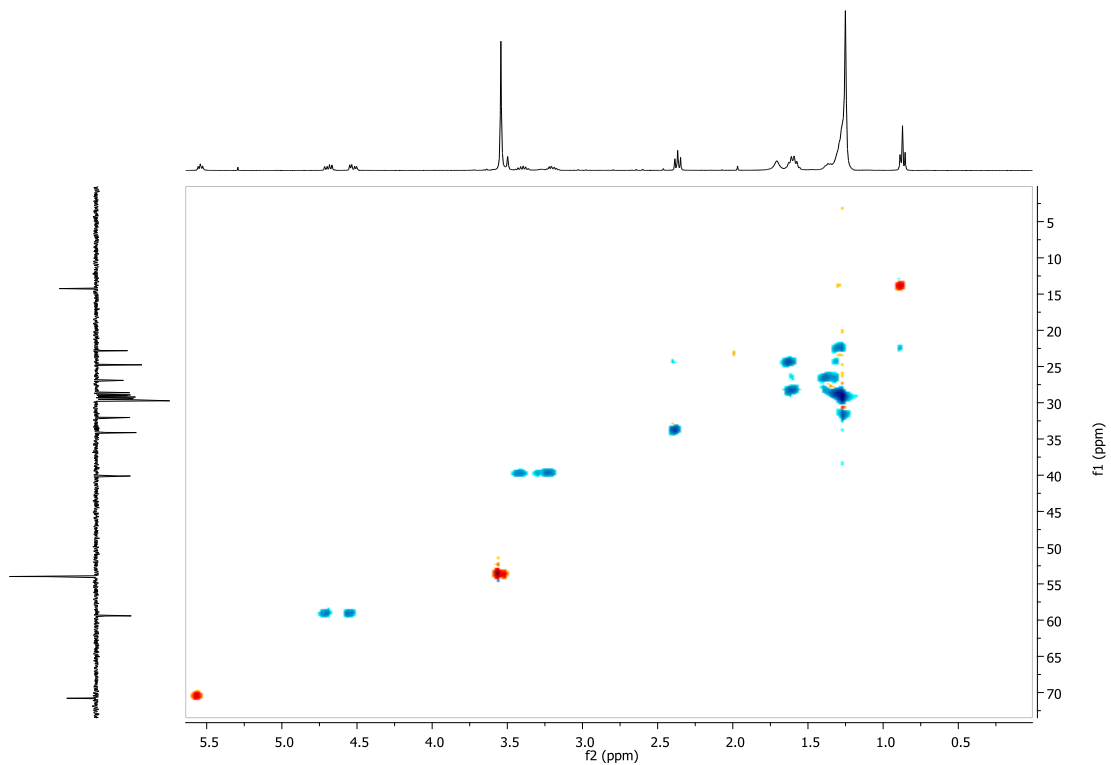


Figura 27- Espetro de HSQC-DEPT do composto 5.

RD-05 #22-23 RT: 0,59-0,61 AV: 2 NL: 1,01E8  
 T: + p ESI Full ms [ 50,00-2000,00]

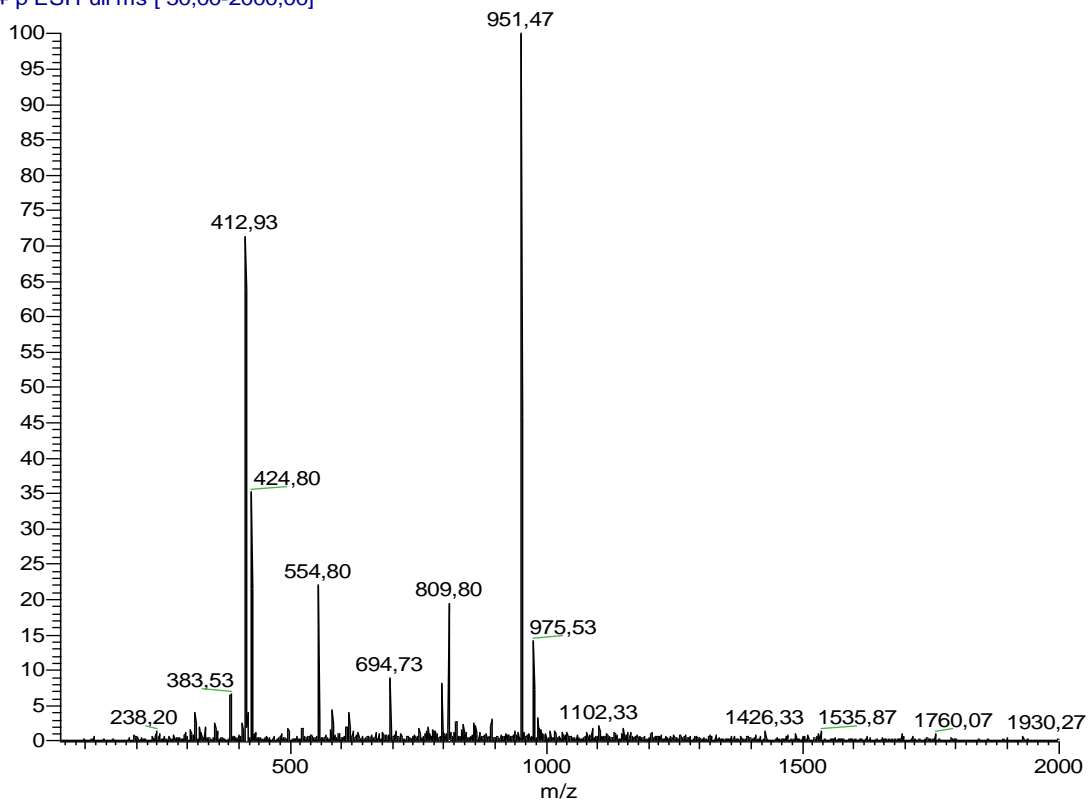


Figura 28- Espetro de Massa do composto 5.

• Composto 7

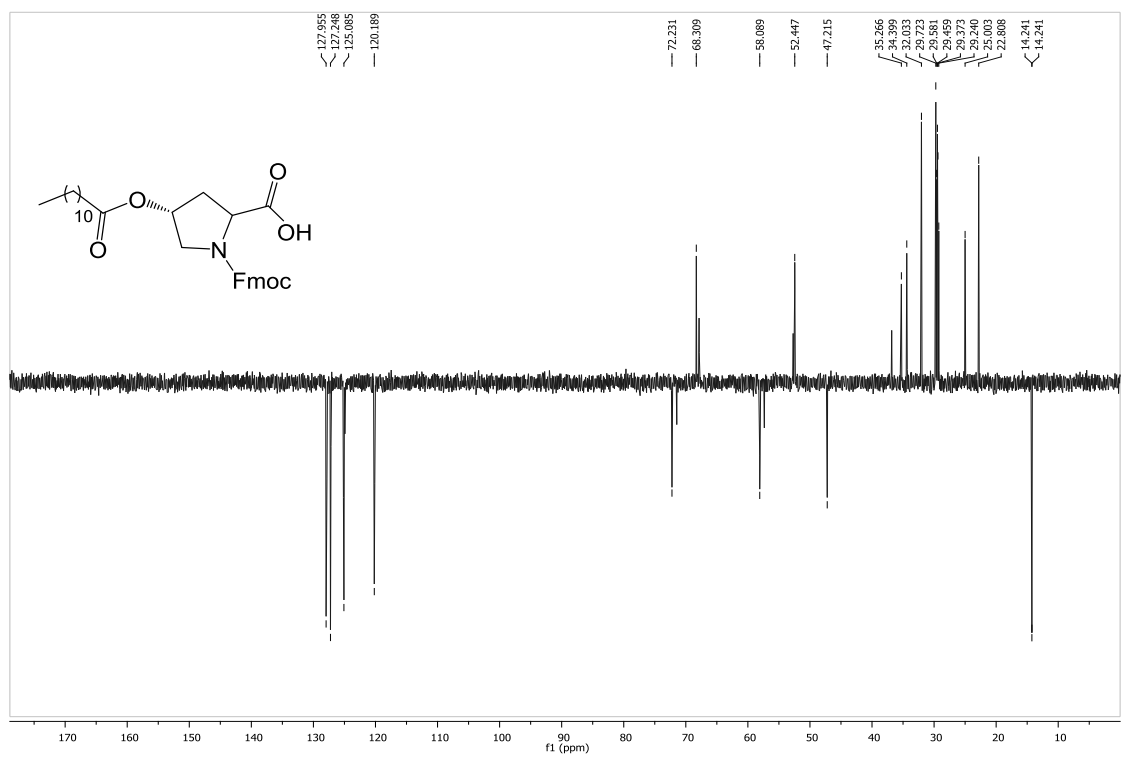


Figura 29- Espetro de DEPT do composto 7.

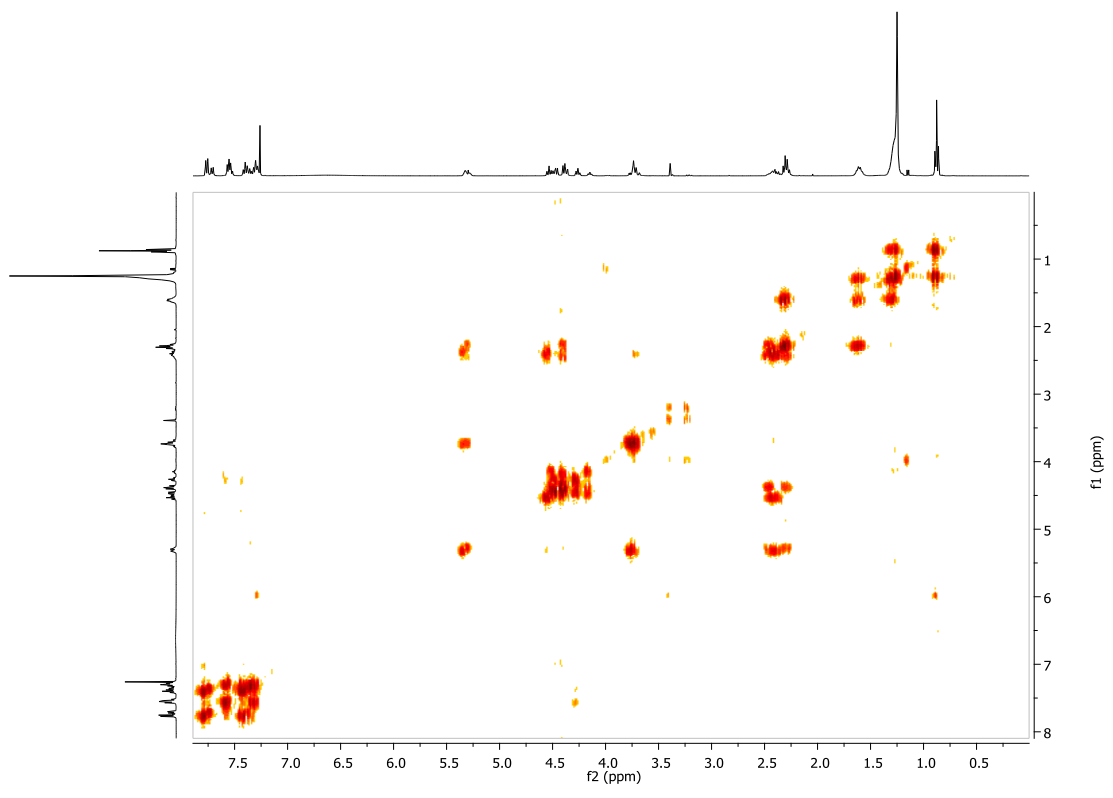


Figura 30- Espetro de COSY do composto 7.

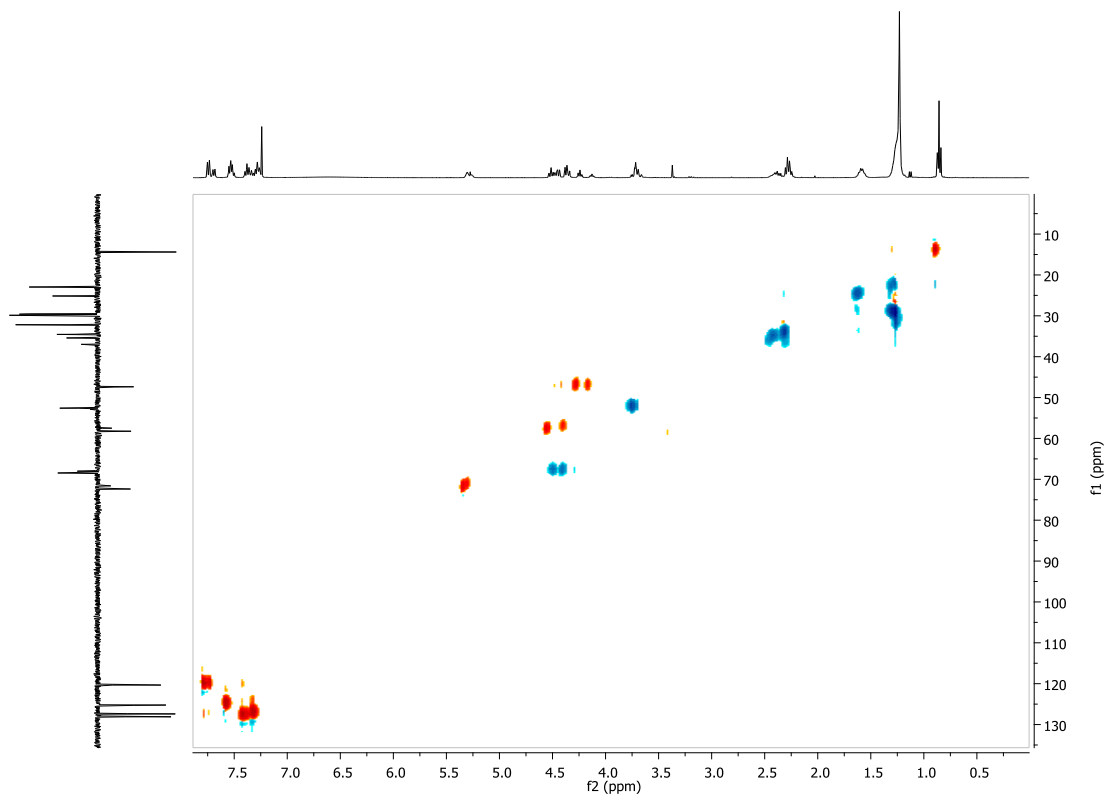


Figura 31- Espectro de HSQC-DEPT do composto 7.

• **Composto 8**

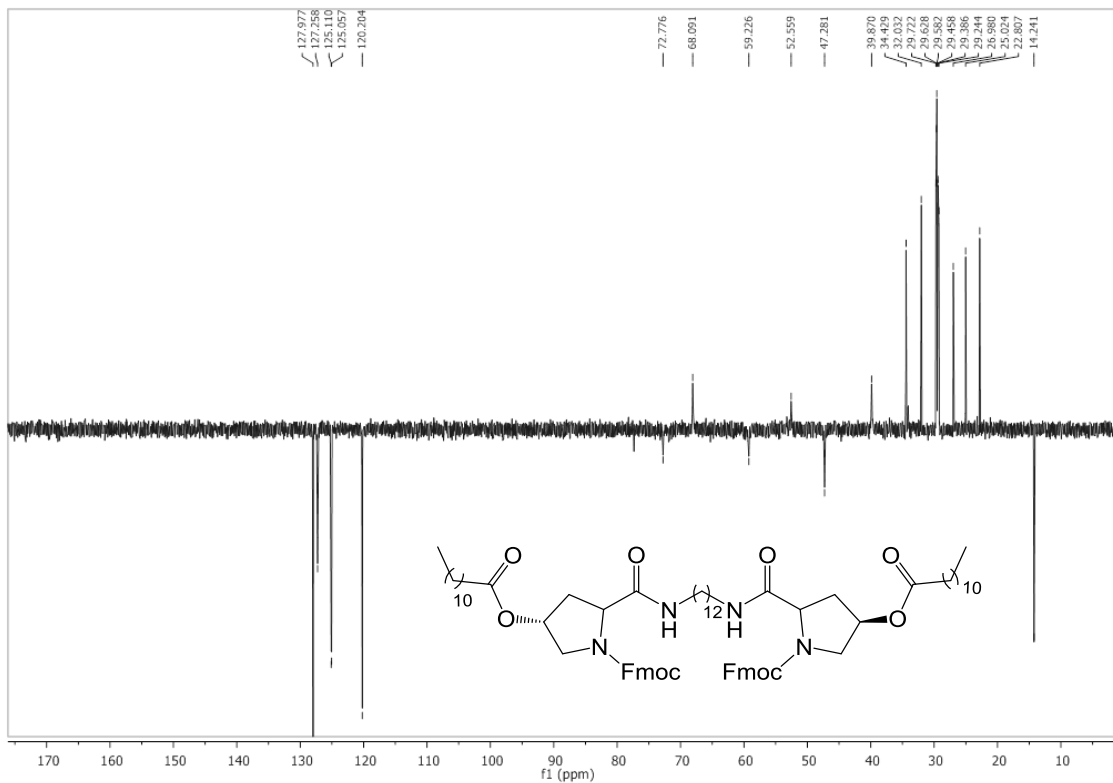


Figura 32- Espetro de DEPT do composto 8.

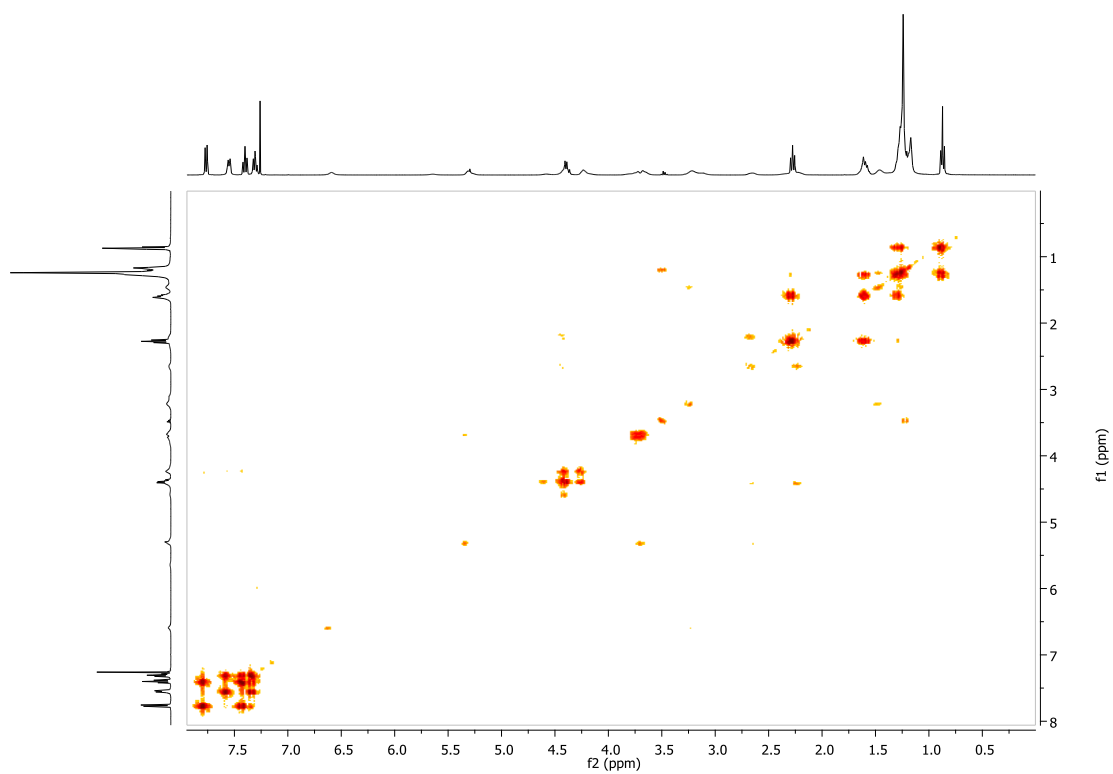


Figura 33 - Espetro de COSY do composto 8.

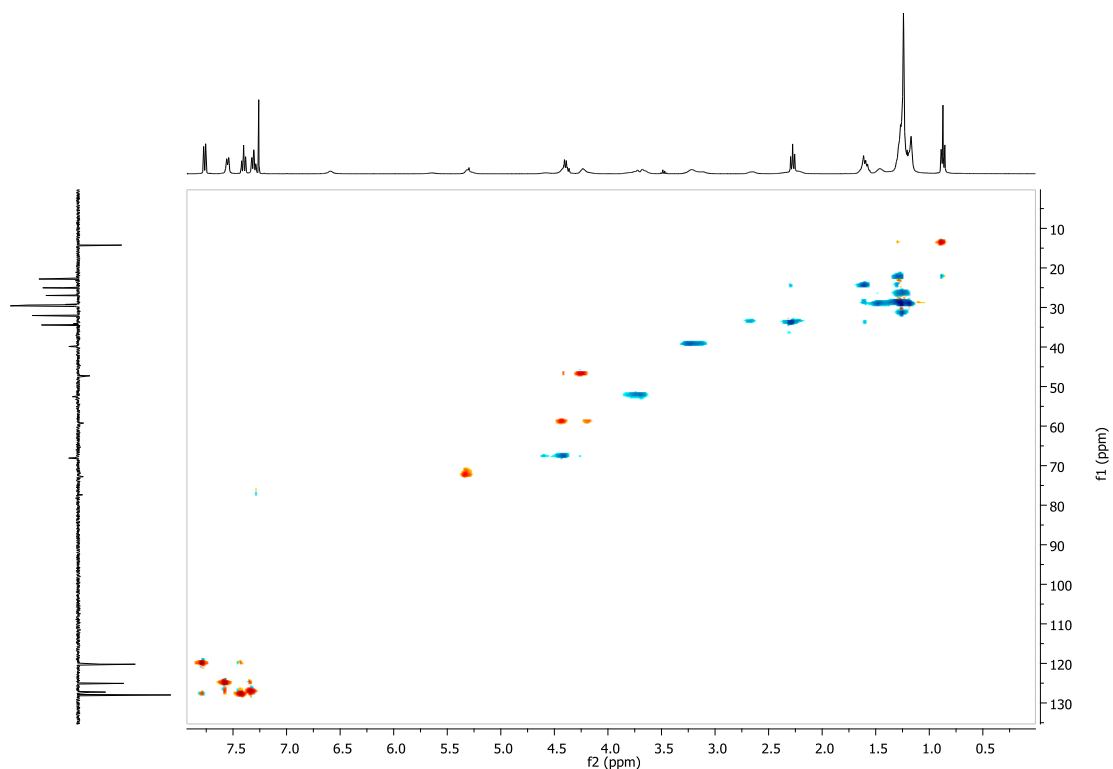


Figura 34- Espetro de HSQC-DEPT do composto 8.

RD-02\_140515163150 #6-7 RT: 0,15-0,18 AV: 2 NL: 5.40E7  
T: + p ESI Full ms [ 50,00-2000,00]

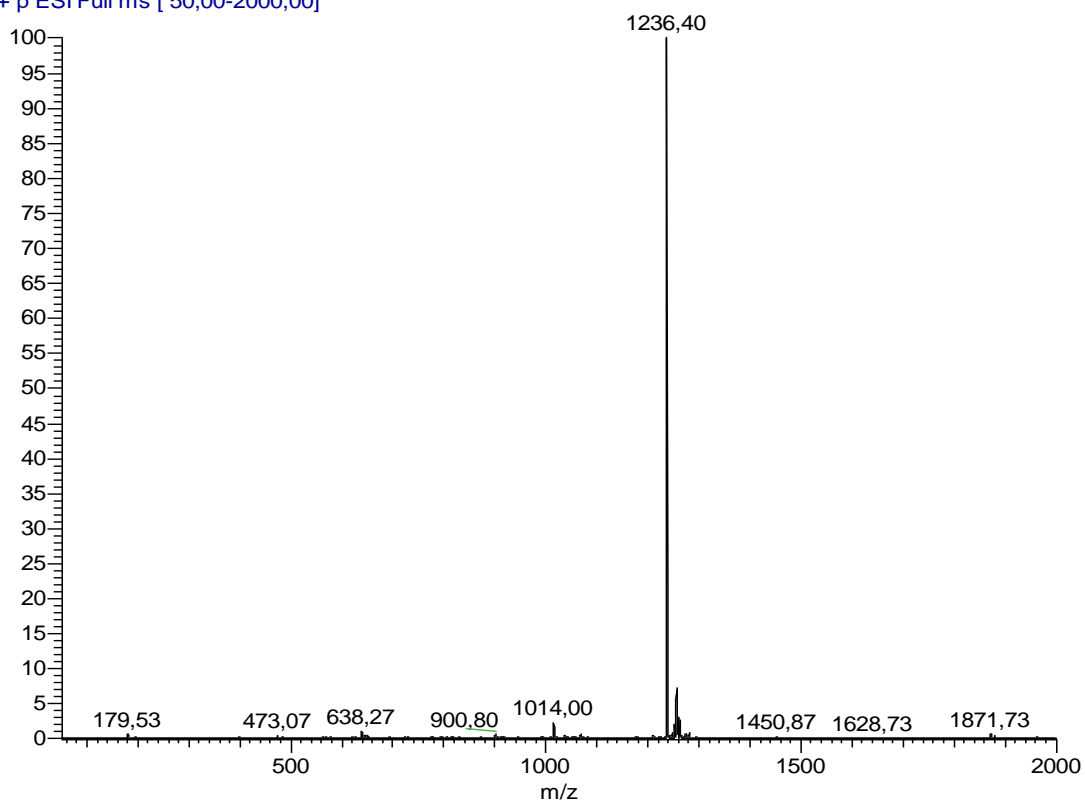


Figura 35- Espetro de Massa do composto 8.

## • Composto 9

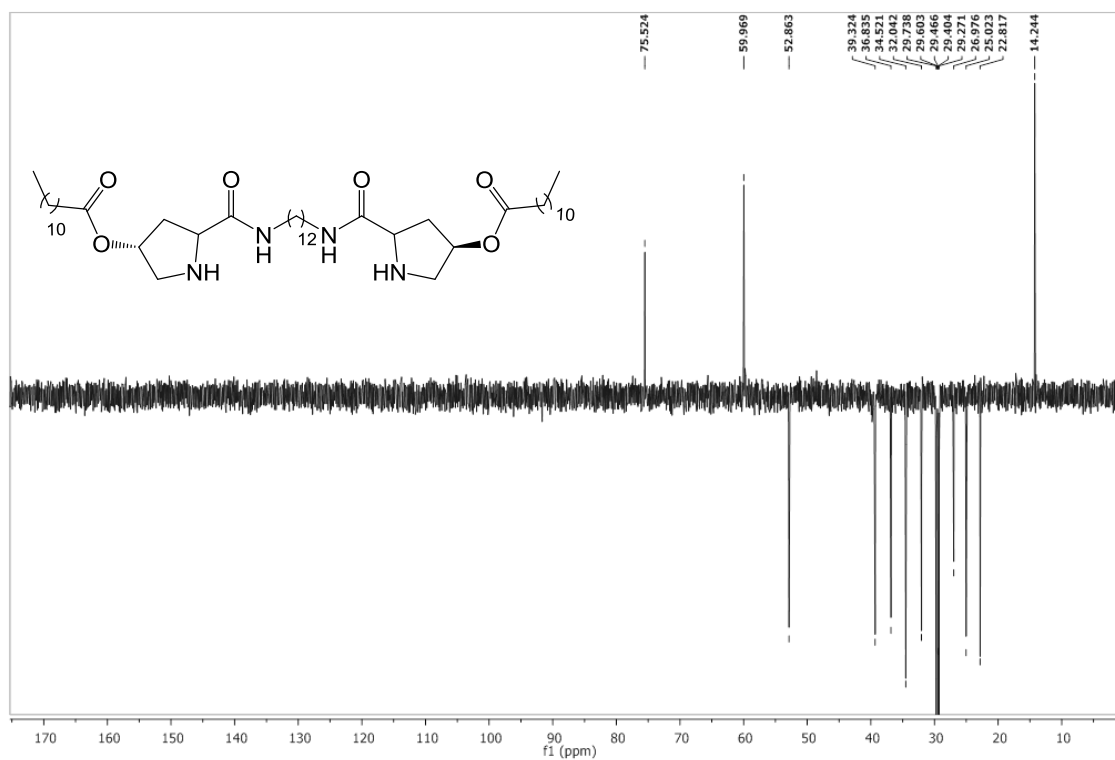


Figura 36- Espectro de DEPT do composto 9.

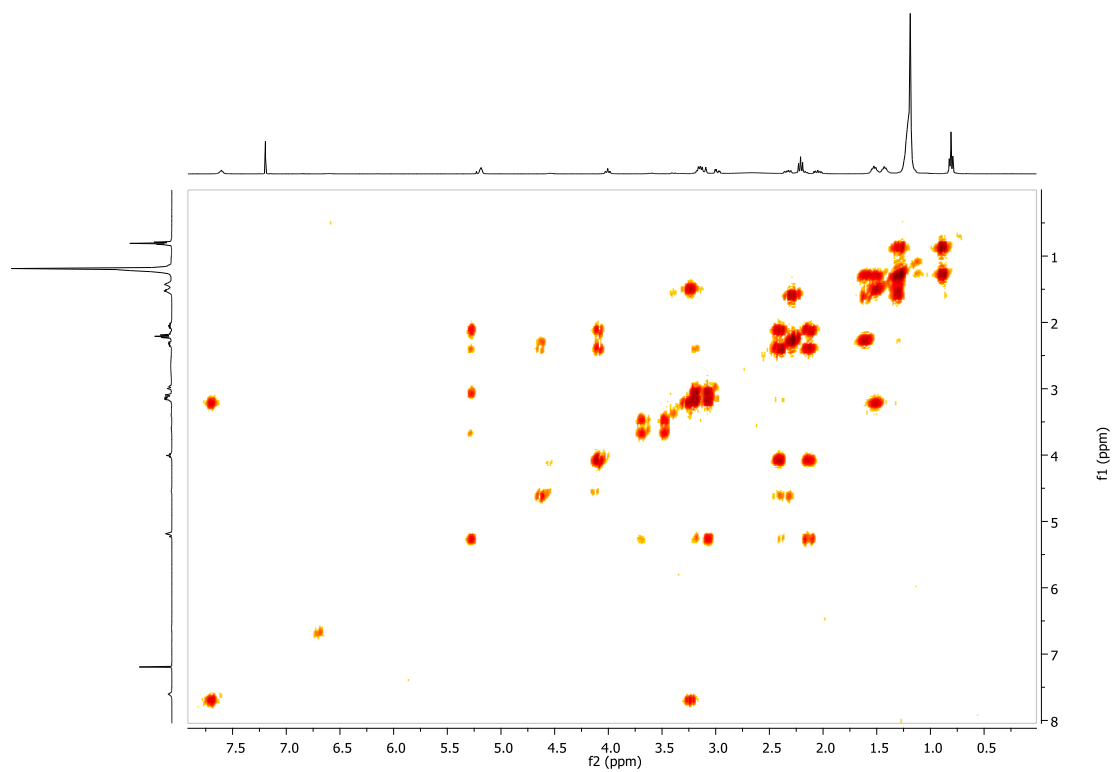


Figura 37- Espectro de COSY do composto 9.

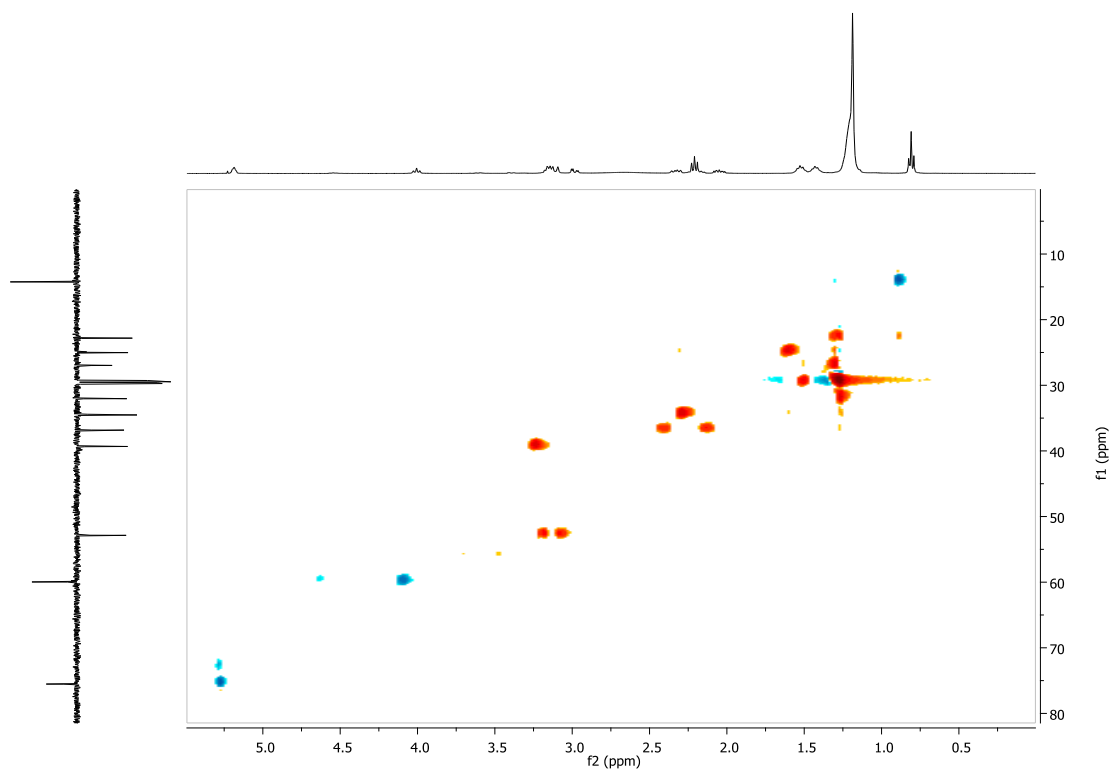
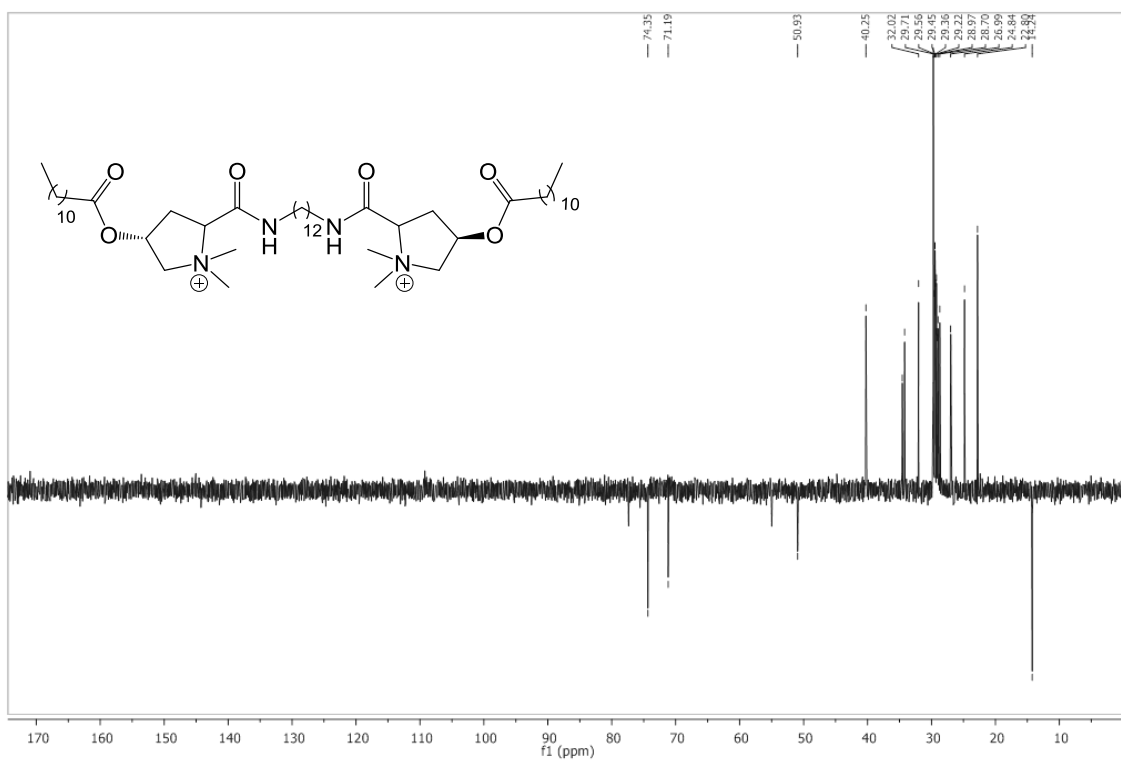


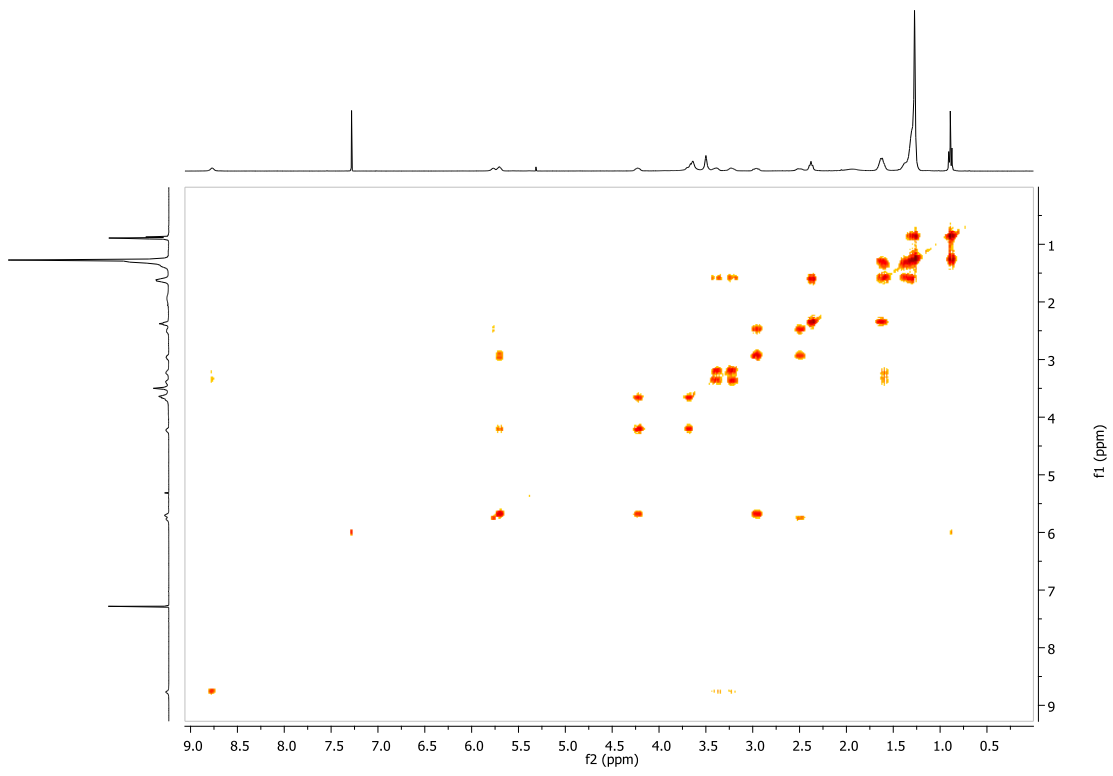
Figura 38- Espectro de HSQC-DEPT do composto 9.



• **Composto 10**



**Figura 39** - Espetro de DEPT do composto 10.



**Figura 40** - Espetro de COSY do composto 10.

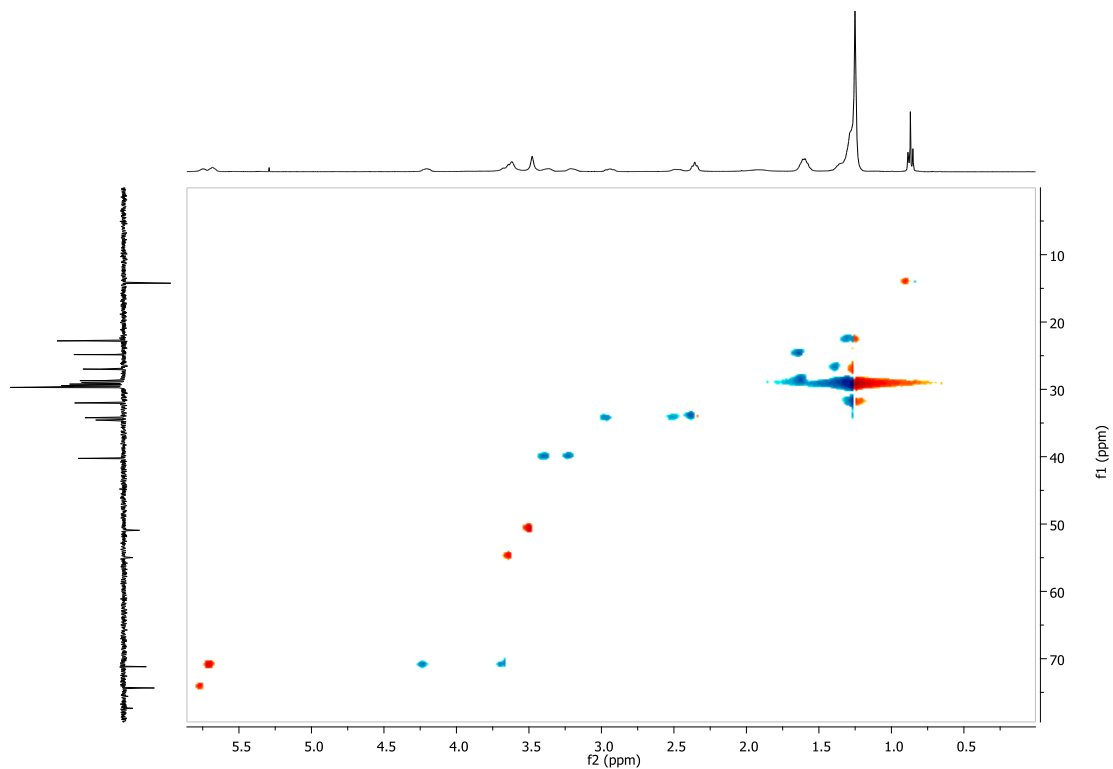


Figura 41 - Espectro de HSQC-DEPT do composto 10.

RD-04 #1-14 RT: 0,02-0,38 AV: 14 NL: 5,96E7  
T: + p ESI Full ms [ 50,00-2000,00]

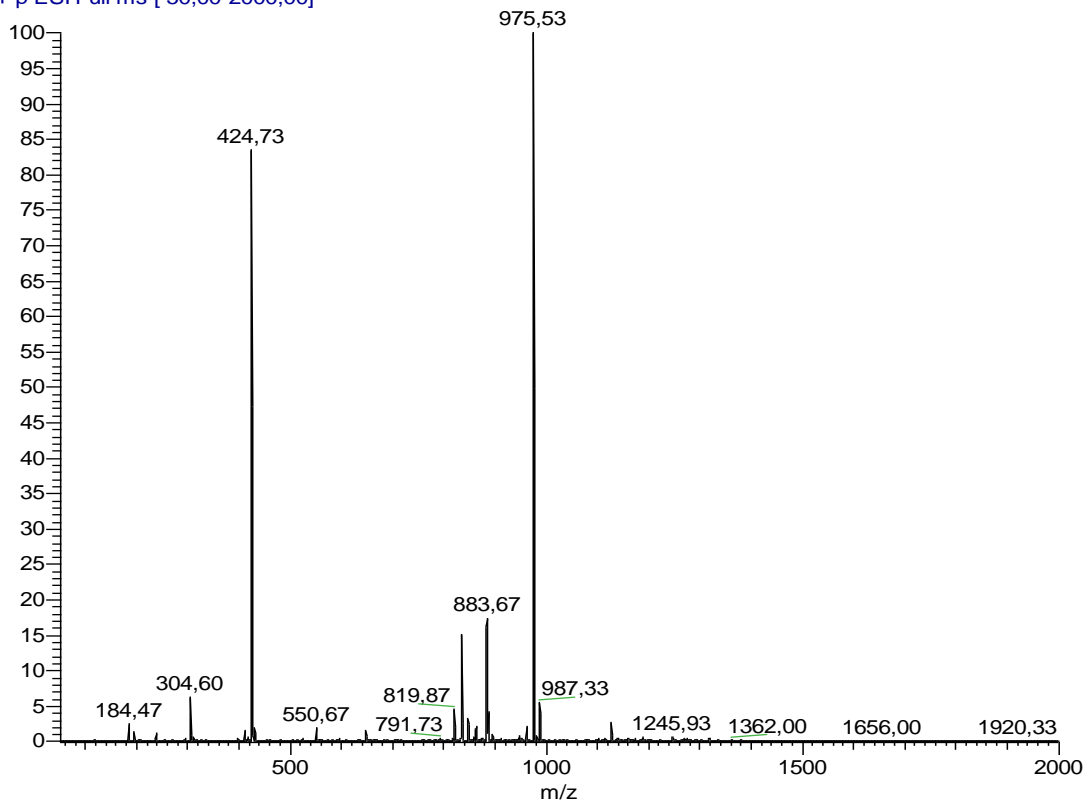


Figura 42- Espectro de Massa do composto 10.

