

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS

**6-ARIL-PIRIMIDINAS CONTENDO UMA FUNÇÃO IMIDA: SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS**

Maria Renata Leite Monteiro

RECIFE – 2005

Maria Renata Leite Monteiro

**6-ARIL-PIRIMIDINAS CONTENDO UMA FUNÇÃO IMIDA: SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS
BIOATIVOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM BIOTECNOLOGIA DE
PRODUTOS BIOATIVOS

Área de concentração: Química de
Compostos Bioativos

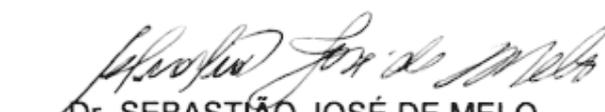
Orientador: Professor Doutor Sebastião José
de Melo

RECIFE - 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

DISSERTAÇÃO DE Mestrado APRESENTADA POR *MARIA RENATA LEITE MONTEIRO* AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM BIOTECNOLOGIA.

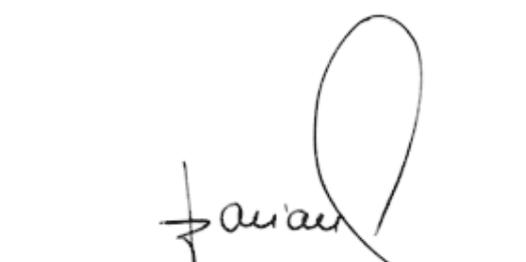
DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM 29 DE JULHO DE 2005 DIANTE DA BANCA EXAMINADORA:



Dr. SEBASTIÃO JOSÉ DE MELO
Departamento de Antibióticos - UFPE



Dra. NORMA BUARQUE DE GUSMÃO
Departamento de Antibióticos - UFPE



Dr. ANTÔNIO RODOLFO DE FÁRIA
Departamento de Farmácia - UFPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**

REITOR

Professor Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Professor Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Professor Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Professora Miriam Camargo Guarniere

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Silene Carneiro do Nascimento

SUB-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Norma Buarque de Gusmão

COORDENADORA DO CURSO DE MESTRADO

Professora Ana Maria Souto de Maior

VICE-COORDENADORA DO CURSO DE MESTRADO

Professor Alexandre José da Silva Góes

"Confie no Senhor com todo o seu coração, e não se fie em sua própria inteligência. Pense Nele em todos os seus caminhos, e ele aplainará as suas trilhas"

(Provérbios 3. 5-6)

"Feliz o homem que encontrou a sabedoria e alcançou o entendimento, porque a sabedoria vale mais que a prata, e dá mais lucro que o ouro"

(Provérbios 3. 13-14)

Dedico

*A minha mãe Eduarda Leite, mulher de grande sabedoria e muita força, pela educação, apoio, incentivo e amor;
Ao meu marido Danilo Benevides, e a Rayssa Benevides, minha filha;
Aos meus avós, José Cavalcanti A. Leite (in memorian) e Maria Luiza V. Albuquerque (in memorian).*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida e por me dar saúde e força para prosseguir, por me abençoar e me guiar para que eu chegasse até aqui;

Ao Prof. Dr. Sebastião José de Melo, que me acolheu em seu laboratório, pela orientação, ensinamento e incentivo;

A minha mãe Maria Eduarda Leite, pelo amor e compreensão, pela educação e incentivo e por tudo que fez e ainda faz por mim;

Ao meu marido Danilo Benevides, pelo apoio nos momentos difíceis, pelo amor e carinho dispensados a mim ao longo dos últimos treze anos;

A minha filha Rayssa Benevides, razão da minha vida, que tanto abdicou de minha presença, pela existência, carinho, amor e alegria;

Aos meus avós José Cavalcanti A. Leite e Maria Luiza V. Albuquerque, que sempre me apoiaram, aconselharam e incentivaram, por todo amor, carinho e dedicação;

Ao meu irmão Juscelino Monteiro que tanto torceu por mim e me deu força e as minhas sobrinhas Camila e Lívia Monteiro por serem sempre presentes na minha vida de forma tão amorosa;

A Edmo Soares pelo incentivo, força e carinho e aos meus “irmãos postiços” Nara e Edinho pela amizade e companheirismo;

A Angela Leite, a nossa mãe Ica, pelo amor, carinho e incentivo que sempre me deu e a tia Luciana Leite, por tudo que sempre fez por mim.

Ao tio Sérgio Carvalho por ter me iniciado no caminho da Química, pela atenção, apoio, aconselhamento, carinho;

A toda minha família, tios, primos, sobrinhos, sogra e cunhados, pelo apoio e pelo carinho que sempre tiveram comigo e a todos os meus amigos que tanto torcem pelo meu sucesso;

A amiga e companheira de laboratório Janaína Versiani, que sempre me ajudou e me ensinou, pelo apoio e incentivo, pelo agradável convívio e amizade, e pela cooperação indispensável à realização deste trabalho;

Aos amigos e companheiros de laboratório Dr Emerson Peter da Silva Falcão e Francisco Jaime Bezerra Mendonça Jr, pela ajuda, pelo apoio, convívio, ensinamentos e conselhos;

A aluna Leonela Walnei (Léa), bolsistas do laboratório, e ao colega Fred pela agradável convivência no laboratório;

A Kerley Muniz, pela ajuda na tradução do Abstract;

A Profa. Dra. Márcia Nascimento e sua equipe pelo apoio, amizade e por permitir que fizesse uso do seu laboratório. As colegas Patrícia e Ana Paula pelo agradável convívio e pela ajuda que me deram;

A Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima (Nena) e toda sua equipe pelo incentivo, apoio e pelos momentos de descontração no decorrer desses dois anos;

A Profa. Dra. Norma Gusmão pela realização dos testes antimicrobianos, por sua paciência, carinho e atenção;

A Central Analítica do Departamento de Química Fundamental – UFPE e os técnicos: Ricardo Oliveira, Eliete Barros, Sr. Lúcio pela realização dos espectros de RMN¹H, massas e infravermelho;

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos, que muito contribuíram para minha formação no exercício da docência de disciplinas que fizeram parte do currículo do mestrado;

A secretária do Curso de Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos Suely Cavalcante e demais funcionários que direta ou indiretamente contribuíram na elaboração deste trabalho;

Aos colegas de turma, Ricardo Moura, Diana Malta, Manuela Carvalho, Micheline Miranda, Everaldo dos Santos, Gerson Paiva, Rômulo Tenório, Denise Tenório, Joás Lucas, Eudínice, Manuela Mota, Rossana, Ivanildo Mangureira, Marcos Santos e Cláudia pela agradável convivência;

Aos irmãos da Igreja Congregacional de Jaboatão, por estarem sempre comigo em oração e amor;

Aos colegas do Laboratório de Síntese Orgânica do Departamento de Química Fundamental pelo apoio e pelo suporte;

Ao Prof. Dr. Rajendra Mohan Srivastava, pelo seu apoio, ensinamento, conselhos e pela cessão de suas instalações para realização de reações importantes para a conclusão deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 ou 4-(N-succinimidofenil)}pirimidinas	6
Figura 2: Anel pirimidínico	9
Figura 3: Estrutura de um inibidor de DHFR	21
Figura 4: Composto antiinflamatório	22
Figura 5: Inibidores do herpes simplex	24
Figura 6: Pirimidina com ação anticonceptiva	26
Figura 7: 4-amino-6-cloro-2-piperazino-pirimidinas	26
Figura 8: Ligantes de estrogênio-receptores (ERs)	27
Figura 9: Preparação e incubação dos inóculos	40
Figura 10: Determinação da concentração mínima inibitória	41
Figura 11: Espectro de IV do composto 7a	51
Figura 12: Espectro de RMN- ¹ H do composto 7c e suas ampliações	53
Figura 13: Espectro de IV do composto 7c	54
Figura 14: Espectro de IV do composto 8a	56
Figura 15: Espectro de IV do composto 8c	58
Figura 16: Espectro de RMN- ¹ H do composto 9a e suas ampliações	60
Figura 17: Espectro de IV do composto 9a	61
Figura 18: Espectro de RMN- ¹ H do composto 9b e suas ampliações	63
Figura 19: Espectro de IV do composto 9a	64
Figura 20 – Espectro de IV do composto 9a	66
Figura 21 – Espectro de IV do composto 9a	68
Figura 22 – Espectro de massa do composto 9a	72
Figura 23 – Espectro de massa do composto 9c	75
Figura 24 – Confirmação da CMI das amostras 8b e 8d frente à <i>K. pneumoniae</i>	79
Figura 25 – Confirmação da CMI das amostras 9a e 9c frente à <i>K. pneumoniae</i>	79
Figura 26 – Confirmação da CMI das amostras 8c e 8d frente à <i>E. coli</i>	80
Figura 27 – Confirmação da CMI das amostras 9c e 9d frente à <i>E. coli</i>	80

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana	37
Tabela 2: Descrição dos meios de cultura utilizados no experimento e sua função	38
Tabela 3: Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)	78

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1: Reação de obtenção da 4,6-diaminopirimidina	11
Esquema 2: Obtenção da dicloroaminopirimidina	11
Esquema 3: Síntese de pirimidinas polissubstituídas	12
Esquema 4: Síntese utilizando irradiação com UV de 2,6-dimetil-4-amino-pirimidina-5-carbonitrila	12
Esquema 5: Rota geral de síntese de pirazolopirimidinas	13
Esquema 6: Síntese de pirazolopirimidinas	14
Esquema 7: Reação de obtenção da 5,7-dimetil-1,2,4-triazolo[1,5]pirimidina	14
Esquema 8: Síntese de 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 e 4-(N-ftalimidofenil)}pirimidina	15
Esquema 9: Síntese de pirimidinas com uso do suporte sólido	16
Esquema 10: Síntese de 3H-pirimidin-4-ona através de SPS	17
Esquema 11: Síntese de pirimidinas utilizando microondas	19
Esquema 12: Reação de obtenção do aduto de Knoevenagel	43
Esquema 13: Reação de obtenção das amidinas	44
Esquema 14: Síntese dos compostos 4-Amino-6-(amino-fenil)pirimidínicos	45
Esquema 15: Mecanismo de formação de 4-amino-2,6-diaril-pirimidinas-5-carbonitrila	46
Esquema 16: Síntese dos compostos 4-aminopirimidínicos ligados a uma porção imida	47

Esquema 17: Fragmentação de massas proposta para o composto 9a	71
Esquema 18: Fragmentação de massas proposta para o composto 9b	73
Esquema 19: Fragmentação de massas proposta para o composto 9c	74
Esquema 20: Fragmentação de massas proposta para o composto 9d	76

LISTA DE SIMBOLOGIAS E ABREVIÇÕES

AA:	Ácido araquidônico
AMPS:	Aminometil poliestireno
CMI:	Concentração Mínima Inibitória
DCM:	Diclorometano
DHFR:	Dihidrofolatoredutase
DMF:	Dimetilformamida
DMSO:	Dimetilsulfóxido
DNA:	Ácido desoxirribonucléico
EtOH :	Etanol
Fmoc:	Fluorenil metóxi carbonil
h ν :	Radiação ultravioleta
HCMV:	Citomegalovírus humano
HIV:	Vírus da imunodeficiência humana
HSV – 1 e 2:	Vírus do herpes simples tipos 1 e 2.
Hz:	Hertz
IV:	Infravermelho
J:	Constante de acoplamento
LiOH:	Hidróxido de Lítio
m:	Multiplete
m/z	Massa/carga
MeOH:	Metanol
NaOH:	Hidróxido de Sódio
PNP:	Purina nucleosídeo fosforilase
Pi :	Piperidina
Rf:	Fator de retenção
RMN ¹ H:	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
SPS:	Síntese em fase sólida
TFA:	Ácido Trifluoracético
μg:	micrograma

RESUMO

Os derivados pirimidínicos vêm ganhando destaque devido à sua grande importância biológica. Atividades antitumoral, antiinflamatória, antimicrobiana, anticonvulsivante, anti-hipertensiva, entre outras são atribuídas ao heterociclo da pirimidina. Por outro lado, compostos contendo a função imida vem ganhando grande importância dada às suas significantes atividades biológicas. Estes dados bibliográficos nos motivaram a obter compostos heterocíclicos pirimidínicos contendo uma função imida e avaliar as suas propriedades antimicrobianas. Inicialmente foram sintetizados os compostos 4-amino-2,6-(diaril-dissubstituídos)-5-carbonitrila-pirimidínicos (**7a-d**), a partir da reação de bisnitrilas com amidinas. Em seguida, foi feita a redução dos nitrocompostos às suas respectivas aminas (**8a-d**), utilizando Pd como catalizador. A última série de derivados 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 e 4-(N-succinimidofenil)}pirimidina (**9a-d**) foi obtida através da condensação do grupo amino com o anidrido succínico. Os produtos obtidos foram identificados estruturalmente por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H), espectroscopia de infravermelho (IV) e espectrometria de massas (MS). Depois de caracterizados, os compostos (**8a-d**) e (**9a-d**) foram avaliados quanto à sua atividade antimicrobiana. Os resultados do teste de difusão em meio sólido não foram satisfatórios, mostrando apenas uma pequena inibição frente a *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudonocardia thermophila*, levando-nos a crer que as substâncias, por serem pouco solúveis, não se difundem no meio. Em meio líquido, os compostos apresentaram uma melhor resposta, visto que os microrganismos-teste foram sensíveis a todas as substâncias testadas.

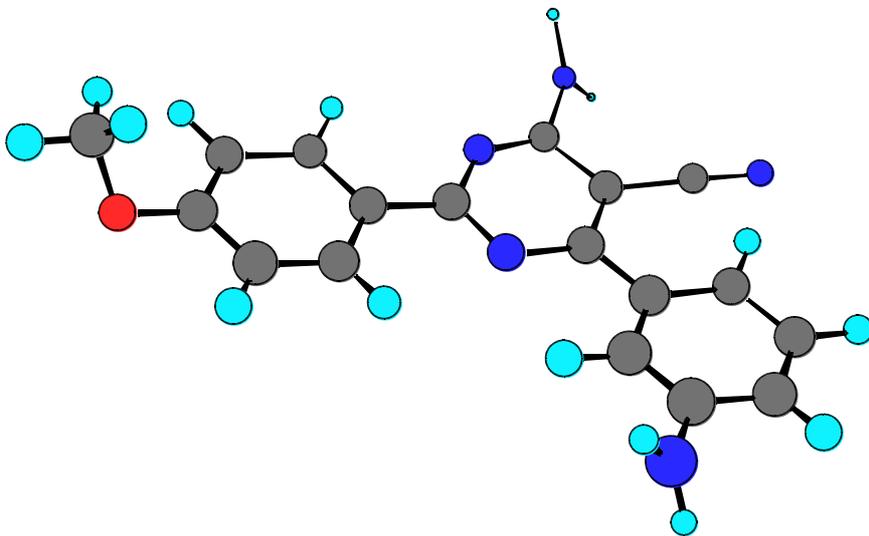
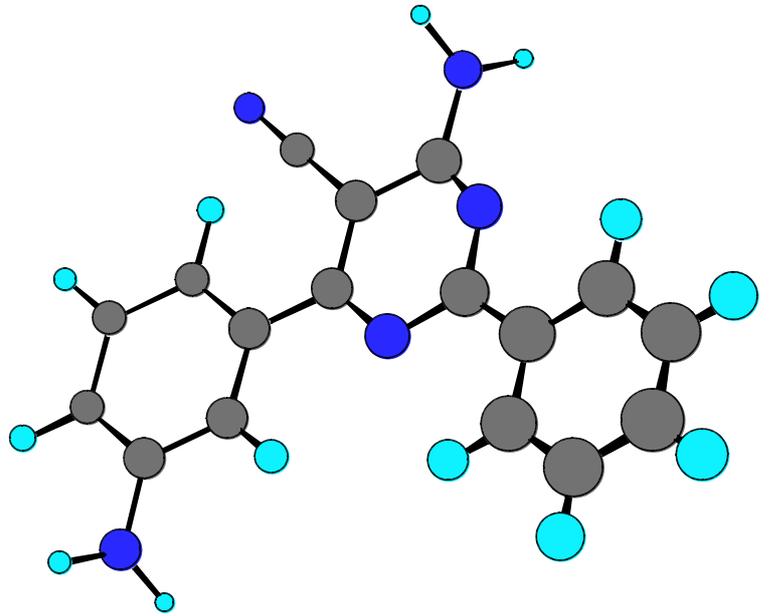
ABSTRACT

The pyrimidinic derivatives have been attracting scientific attention due to its great biological importance. Activities such as antitumoral, antiinflammatory, antibacterial, anticonvulsivant, antihypertensive, among others, are the characteristics of the pyrimidine heterocyclic. On the other hand, composites with the imide function have also been gaining great importance, given to its significant biological activities. These data reference motivated us to obtain pyrimidinic compounds, with an imide function and evaluate their antimicrobial properties. Initially, the composites 4-amino-2,6-(diaryl-dissubstituted)-5-carbonitrile-pyrimidinic **(7a-e)** were synthesized, from the reaction of bisnitriles with amidines. After that, the reduction of the nitro-composites to their respective amines was made **(8a-e)**, utilizing Pd as a catalyst. The last composite series 4-amino-2-(*p*-phenyl-substituted)-5-cyano-6-(succinimidophenyl)-pyrimidine **(9a-d)** was obtained through the condensation of the amino group with the succinic anhydride. The products obtained were identified structurally through spectroscopy of nuclear magnetic resonance of hydrogen (RMN-1H), infra-red ray spectroscopy (IV) and spectrometry of masses (MS). After they were characterized, the composites **(8a-d)** and **(9a-d)** were evaluated as for their antimicrobial activity. The results of diffusion test in solid environment were not satisfactory, showing only a small inhibition when used with *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudonocardia termophila* leading to the belief that the substances, being little soluble, do not spread in the environment. In liquid environment, the composites had a better response, seen as the microorganisms-test were sensitive to the all of the substances tested.

SUMÁRIO

	Página
1 – INTRODUÇÃO	1

5.3 – Espectrometria de Massas	69
5.4 – Atividade Antimicrobiana	77
5.4.1 – Método de Difusão em Meio Sólido	77
5.4.2 – Concentração Mínima Inibitória	77
6 – CONCLUSÕES	82
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O final do milênio trouxe diversas modificações, de forma materializada ou mística, na mente dos seres humanos. Em tempos de modernidade, a sociedade precisa estar apta a enfrentar novos desafios, somente assim os avanços irão ocorrer.

As transformações do mundo moderno estão tornando a sociedade mais competitiva, mais interessada em solucionar problemas e em melhorar as condições sociais. Na área de saúde essa situação faz-se prioritária devido ao grande número de doenças que têm surgido dizimando a população.

O desenvolvimento da Química Orgânica tem proporcionado um aumento considerável de compostos sintéticos para uso medicinal, os quais têm sido empregados no combate a diferentes doenças.

O planejamento e a síntese de novas moléculas e o ensaio de suas possíveis atividades biológicas compõem a primeira etapa para o surgimento de um novo composto potencialmente ativo, que pode conduzir ao lançamento de um novo

medicamento. Mais da metade dos medicamentos utilizados na terapêutica é de origem sintética (KOROLKOVAS, 1988).

Com o objetivo de descobrir novos compostos bioativos, são conhecidos alguns processos na introdução de um fármaco na terapêutica tais como triagem empírica, planejamento racional e, o mais utilizado atualmente, a modificação estrutural de um composto protótipo, objetivando sua otimização farmacocinética ou farmacodinâmica (BARREIRO e FRAGA, 2001). A modificação molecular é realizada utilizando como protótipo um composto matriz, possuidor de estrutura química e atividades biológicas bem conhecidas e, baseados nele, são sintetizados novos compostos análogos ou homólogos (MONTANARI, 1995).

As variações estruturais desses análogos ou homólogos conferem às novas moléculas diferentes propriedades físicas e alteram a reatividade das moléculas, que por sua vez provocam mudanças em sua distribuição nas células e tecidos, bem como no acesso aos sítios ativos de enzimas e receptores. Mesmo uma alteração muito pequena na estrutura química pode revelar efeitos biológicos que haviam estado latentes ou eclipsados pelos efeitos colaterais do composto protótipo (KOROLKOVAS, 1988). Com isso, objetivam-se obter novos compostos mais potentes, mais seletivos e conseqüentemente com menos reações adversas.

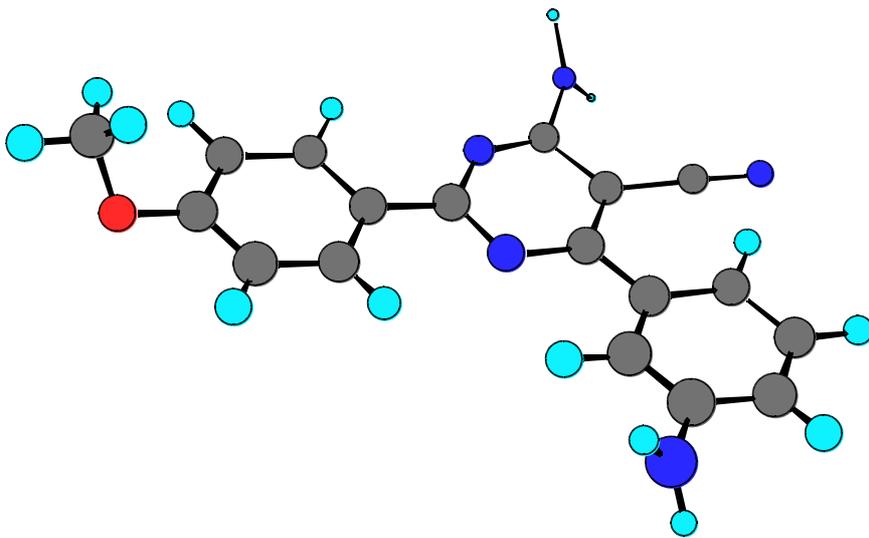
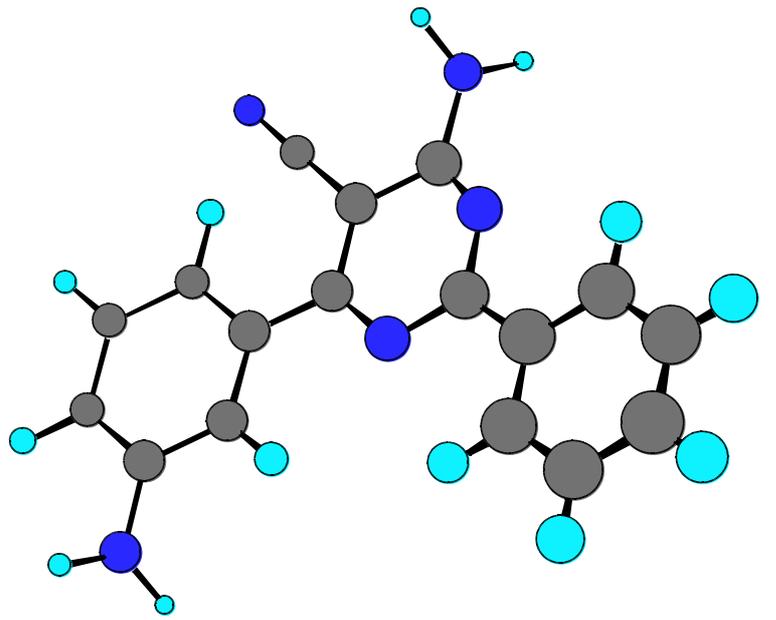
Um grande número de substâncias reconhecidamente bioativas em variadas situações, possui anéis heterocíclicos em sua estrutura. Os compostos

heterocíclicos além de apresentarem uma série de propriedades biológicas são também utilizados como antioxidantes, inibidores de corrosão, agentes opticamente luminosos e constituem grande parte das estruturas de corantes e pigmentos (HO, 2005).

Em geral, esses compostos estão extensamente distribuídos na natureza, particularmente os heterociclos de seis membros que contém dois átomos de nitrogênio, pois tomam parte na constituição de estruturas químicas fundamentais para a vida, que são os ácidos nucleicos, e são de importância fundamental para todos os sistemas biológicos.

Inúmeros trabalhos relatam a aplicabilidade farmacológica e biológica de fármacos contendo o anel pirimidínico, sendo relatadas atividades antiviral (CHONG *et al.*, 2002), antitumoral (FELCZAK *et al.*, 1996) (COCCO, *et al.*, 2001), antiinflamatória (MELO, 2002), antimicrobiana (ORZESZKO *et al.*, 2004), atividade hepatoprotetora (RAM *et al.*, 2002), inibidora de telomerase (KUMAR *et al.*, 2001), entre outras que serão abordadas posteriormente.

Diante dessas considerações, nosso interesse tem se voltado para a obtenção de compostos heterocíclicos potencialmente ativos, resultantes da síntese e de modificações estruturais do anel pirimidínico, com a finalidade de obter moléculas inéditas com potencial farmacológico.



OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo principal a obtenção de uma nova série de 4-aminopirimidinas, contendo uma função imida e avaliar as suas propriedades antimicrobianas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar novas 6-(aminofenil) pirimidinas;
- Sintetizar os derivados pirimidínicos contendo a função imida, tendo como base a reatividade química do grupo amino do substituinte 6-aminofenil;

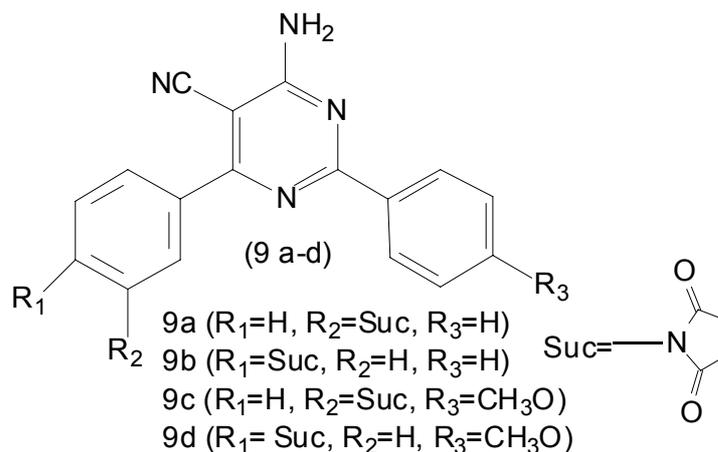
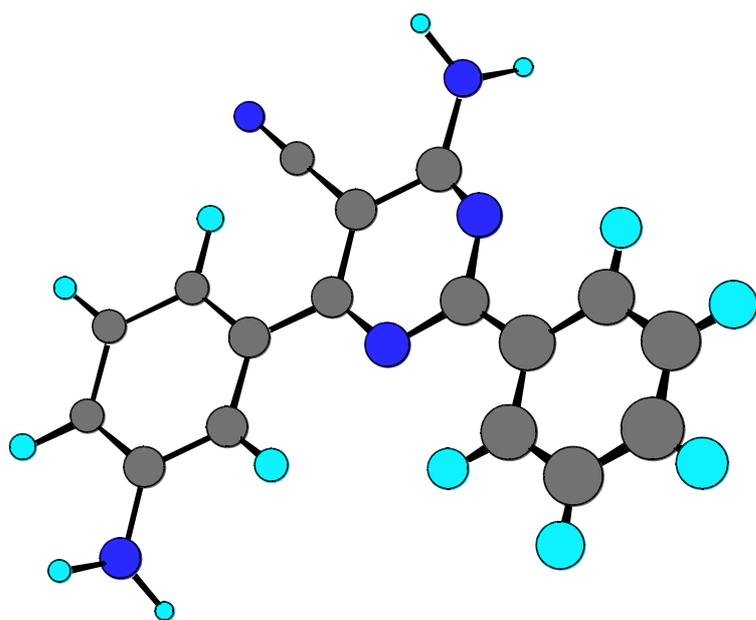
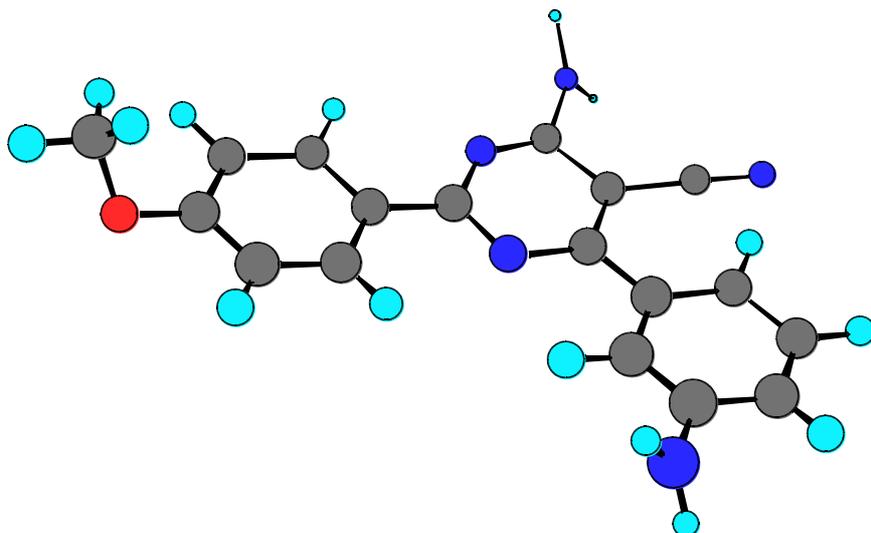


Figura 1 - 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 ou 4-(N-succinimidofenil)}pirimidinas

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar as características físico-químicas fator de retenção (R_f), ponto de fusão (Pf), solubilidade e rendimentos dos compostos obtidos.
- Confirmar as estruturas dos novos compostos sintetizados pelos métodos usuais de espectroscopia de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e espectrometria de massa (MS);
- Avaliar as propriedades antimicrobianas das pirimidinas contendo a função imida, assim como dos intermediários 6-(aminofenil) pirimidínicos.





REVISÃO DA LITERATURA

~~3. REVISÃO DA LITERATURA~~

3.1. ASPECTOS GERAIS

Pirimidinas são aminas heterocíclicas aromáticas, heteroaromáticas, isoeletrônicas ao benzeno, nas quais dois átomos dos seis que constituem o anel benzênico estão substituídos por nitrogênio nas posições 1 e 3 (Figura 1) (JOGLE e MILLS, 2000).

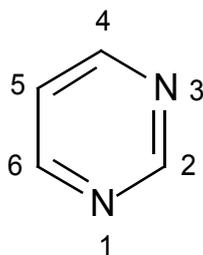


Figura 2 – Anel Pirimidínico

A nomenclatura sistemática segue a mesma regra dos demais heterociclos, ou seja, os nitrogênios recebem as menores numerações. Assim, a pirimidina recebe o nome de 1,3-diazina ou metadiazina ou 1,3-diazobenzeno (SOLOMONS, 1996).

A pirimidina é pouco susceptível ao ataque eletrofílico pelo fato de ser uma estrutura π deficiente, uma vez que a eletronegatividade do nitrogênio e a não participação do par de elétrons no sistema π , tornam o nitrogênio um aceptor de elétrons, conferindo à pirimidina as propriedades de uma base fraca (CAREY e SUNDBERG, 1990).

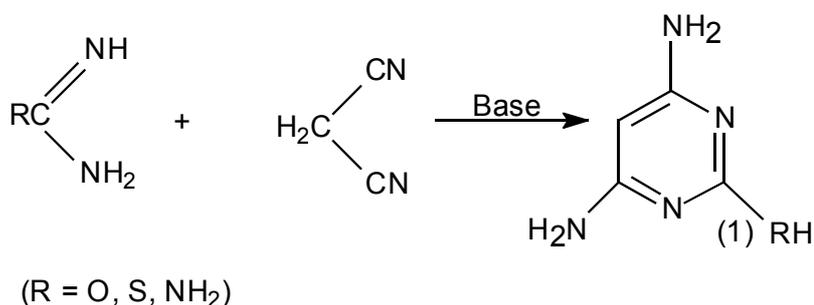
Considerando a distribuição de densidades eletrônicas e os híbridos de ressonância da pirimidina, o carbono C-5 corresponde ao mais susceptível sítio de ataque eletrofílico (SINGH, 1982). Já os ataques nucleofílicos seriam confinados às posições C-2, C-4 e C-6 do anel pirimidínico, pois há uma maior carência eletrônica nestas posições. A adição de substituintes eletroretirantes aumenta este efeito, enquanto que os eletrodoadores o diminuem (BROWN, 1984).

3.2. SÍNTESE

Estudos prevêm que as primeiras pirimidinas podem ter tido sua origem nos mais remotos anos de existência de nosso planeta, a partir de reações catalíticas em temperaturas moderadas da formamida e do HCN (SALADINO, 2002).

De acordo com Taylor e Mckillop (1970), a grande maioria dos compostos heterocíclicos como as pirimidinas, podem ser obtidos através de reações de condensação envolvendo a participação da malonitrila ou seus derivados. Em muitos casos, a síntese de pirimidinas é baseada na combinação de reagentes com esqueletos contendo N-C-N com aqueles contendo C-C-C (GILCHRIST, 1992).

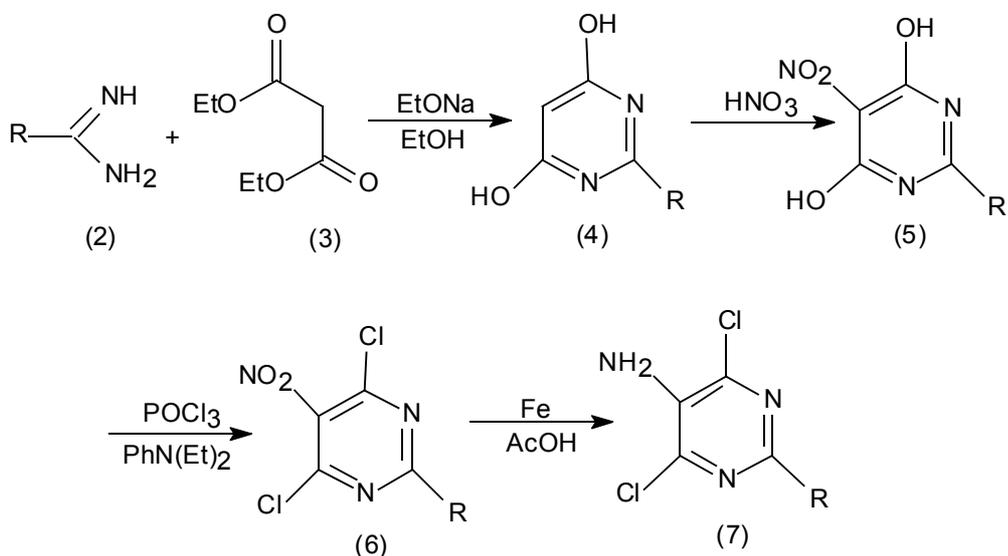
Segundo Brown (1962), a reação de condensação, catalisada por base, da guanidina, uréia ou tiouréia com malonitrila produziu a 4,6-diaminopirimidina (1) (Esquema 1), levando-se a prever que a condensação de amidinas com malonitrila produziria análogos de (1).



Esquema 1 – Reação de obtenção da 4,6-diaminopirimidina

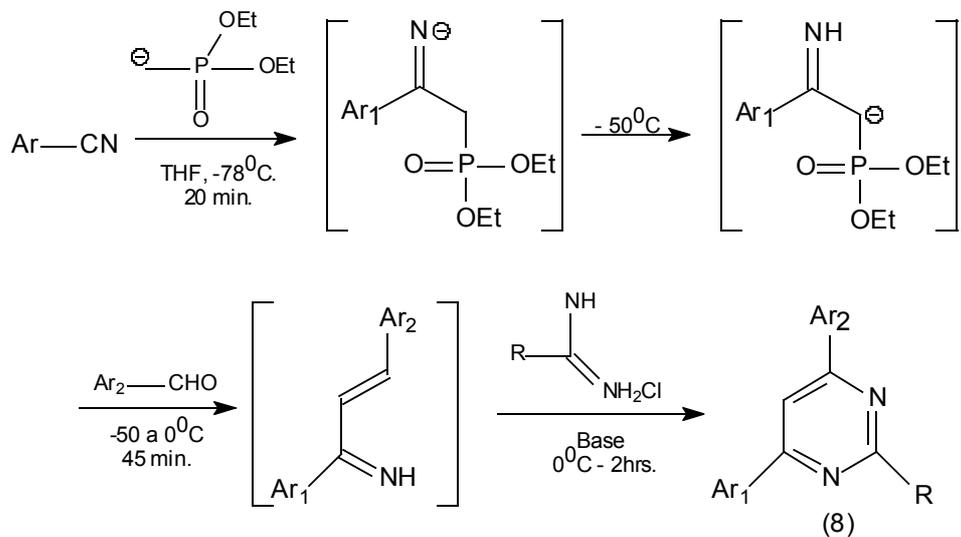
A condensação da amidina substituída (2) com malonato de etila (3) em presença de etóxido de sódio produz a correspondente pirimidina (4). A nitração controlada da piridimidina-4,6-diol (4) fornece o análogo 5-nitro-piridimidina-4,6-diol (5). A cloração resulta na completa conversão de 5-nitro-piridimidina-4,6-diol (5) em seu correspondente dicloronitropirimidina (6), enquanto que a redução desta

promove a formação da dicloroaminopirimidina (7) (Esquema 2) (BAINDUR *et al.*, 2003).



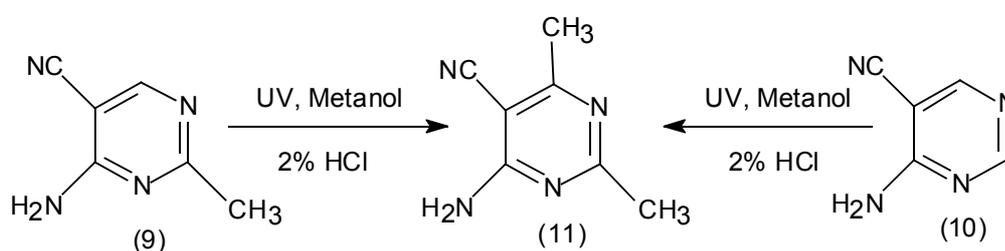
Esquema 2 – Obtenção da dicloroaminopirimidina

Kiselyov (2005) sintetizou pirimidinas polissubstituídas (8) através de iminas α,β -insaturadas geradas *in situ* e seus derivados correspondentes amidinas ou guanidinas (Esquema 3).



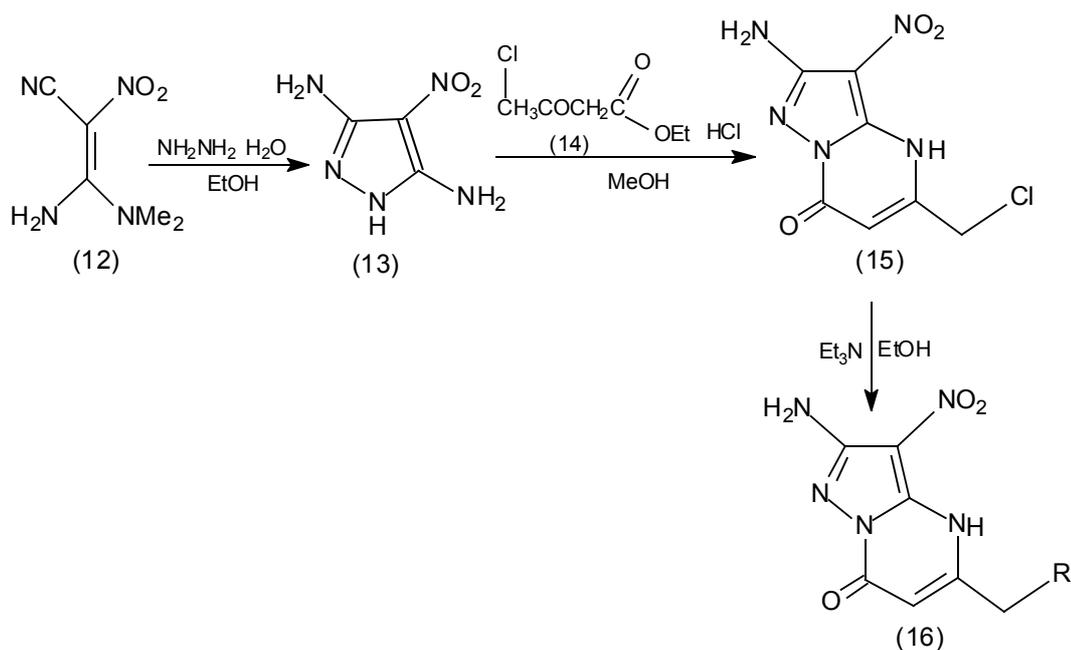
Esquema 3 – Síntese de pirimidinas polissubstituídas

Ochiai e Morita (1967) produziram 2,6-dimetil-4-amino-pirimidina-5-carbonitrila (11), contendo grupos metílicos nas posições 2 e 6, com 60 % e 86 % de rendimento através da irradiação de 2-metil-4-amino-5-ciano pirimidina (9) e de 4-amino-pirimidina-5-carbonitrila (10), respectivamente, por UV em metanol a 2 % de HCl (Esquema 4).



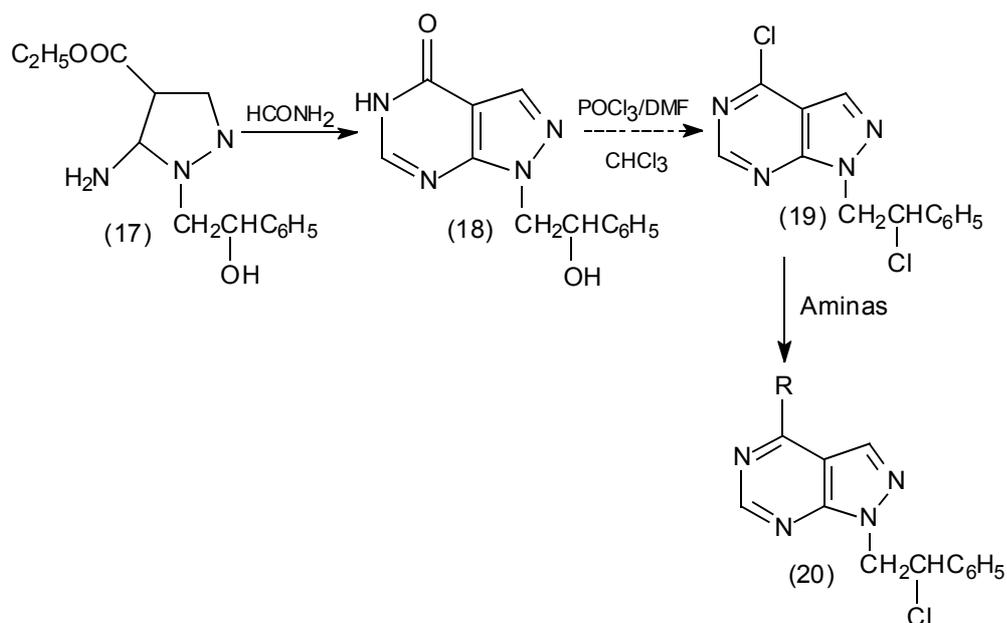
Esquema 4 – Síntese utilizando irradiação com UV de 2,6-dimetil-4-amino-pirimidina-5-carbonitrila

Uma rota geral de síntese de pirazolopirimidinas é descrita no Esquema 5. O 3,5-diamino-4-nitropirazol (15) foi preparado via condensação de 1-dimetilamino-2-nitroenamina (12) com hidrazina dando origem ao pirazol (13). A condensação de (13) com 4-cloro-3-oxo-butanoato (14) de etila produz 2-amino-3-nitropirazolo[1,5- α] pirimidinas (15). A reação subsequente de (15) com diferentes agentes nucleofílicos em presença de trietilamina resulta no produto (16) (MAKAROV *et al.*, 2005).



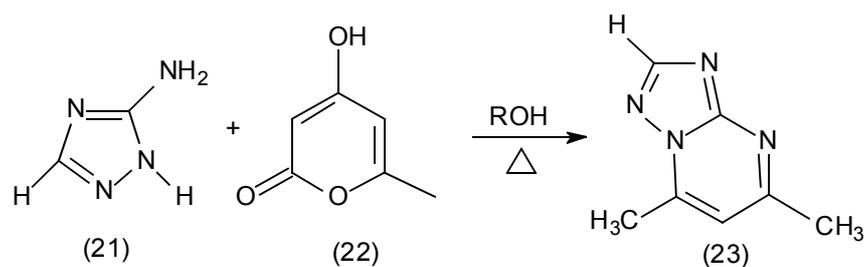
Esquema 5 – Rota geral de síntese de pirazolopirimidinas

A reação de 5-amino-1-(2-hidroxi-2-feniletil)1-*H*-pirazol (17) com formamidina produz a pirazolo[3,4-*d*]-pirimidinona (18). A cloração com complexo Vilsmeier ($\text{POCl}_3\text{:DMF/1:1}$) produz o derivado dihalogenado (19) direcionando o átomo de cloro para a posição 4 do anel pirimidínico e para o N em posição 1 da cadeia lateral do anel pirazólico. A substituição regioseletiva do cloro em C4 do composto (19) com um excesso de várias aminas primárias e secundárias, em tolueno, dá origem ao produto desejado 1-*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina (20) com bons rendimentos (Esquema 6) (SCHENONE *et al.*, 2004).



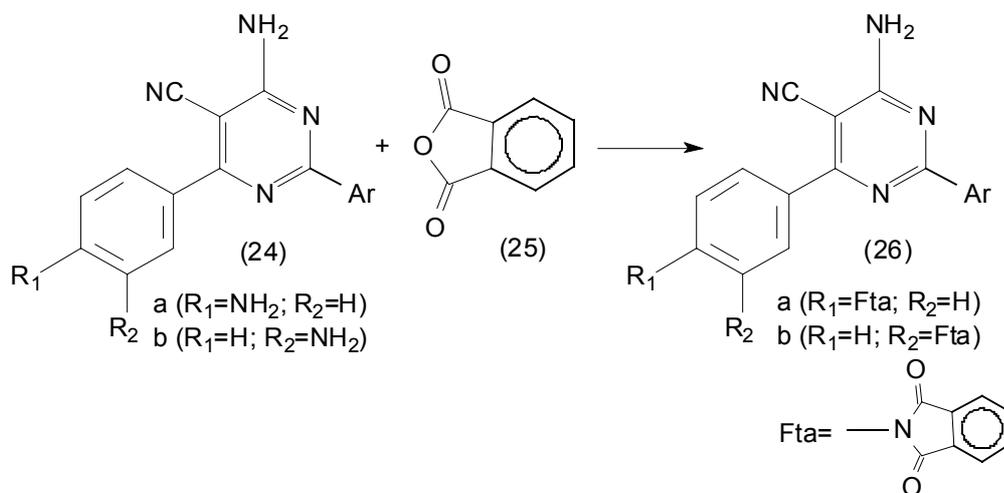
Esquema 6 – Síntese de pirazolopirimidinas

Elotmani e colaboradores (2002) descrevem a reação de 3-amino-1,2,4-triazolo (21) com 4-hidroxi-6-metilpiran-2-ona (22) para produzir 5,7-dimetil-1,2,4-triazolo [1,5]pirimidina (23) (Esquema 7).



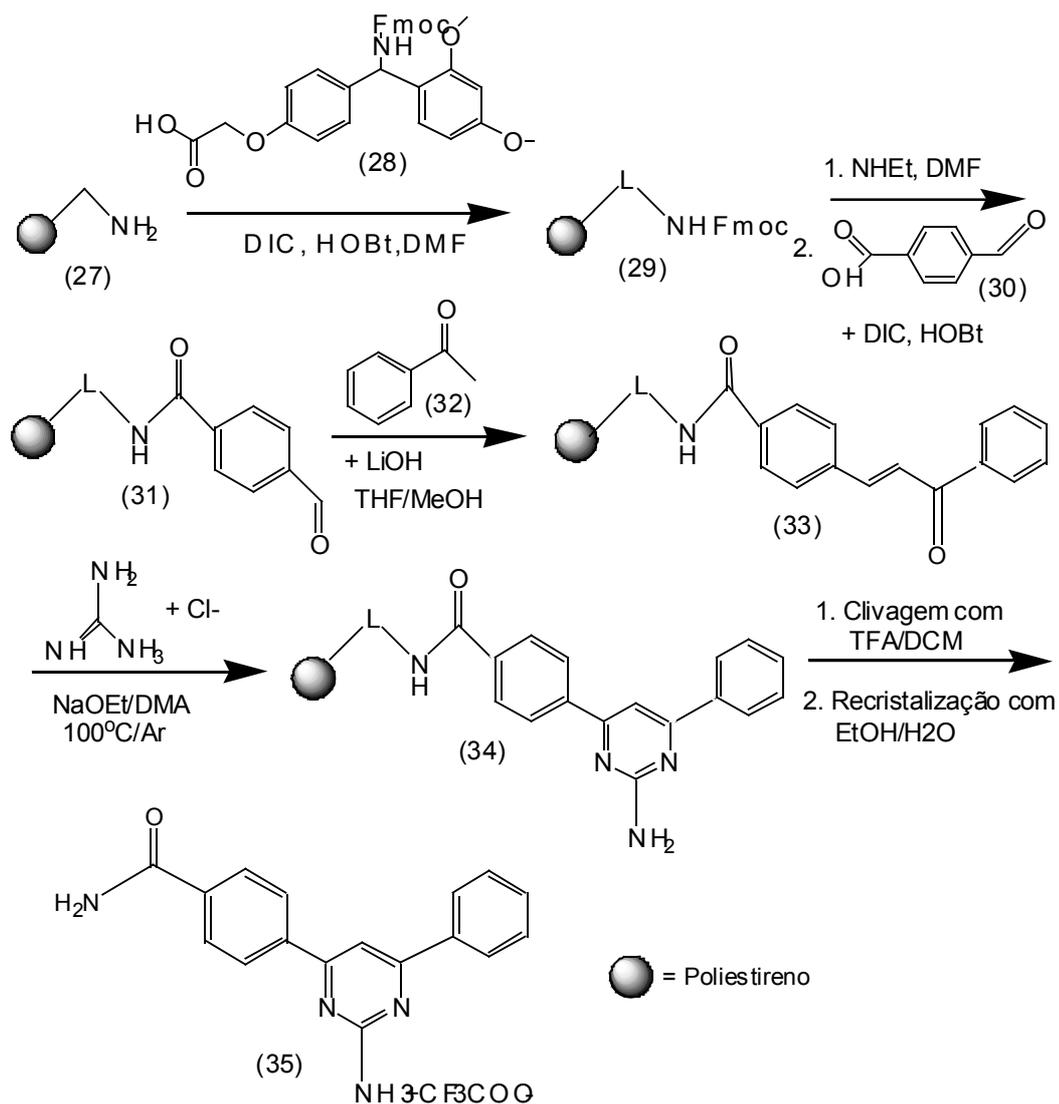
Esquema 7 – Reação de obtenção da 5,7-dimetil-1,2,4-triazolo[1,5]pirimidina

Uma série de cinco 4-amino-pirimidinas-5-carbonitrilas (26), contendo o resíduo da ftalimida, foram produzidos no nosso laboratório por Falcão (2003), através da reação de 6-(amino-aryl) pirimidinas (24) com anidrido ftálico (25) (Esquema 8).



Esquema 8 – Síntese de 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 e 4-(N-ftalimidofenil)}pirimidina

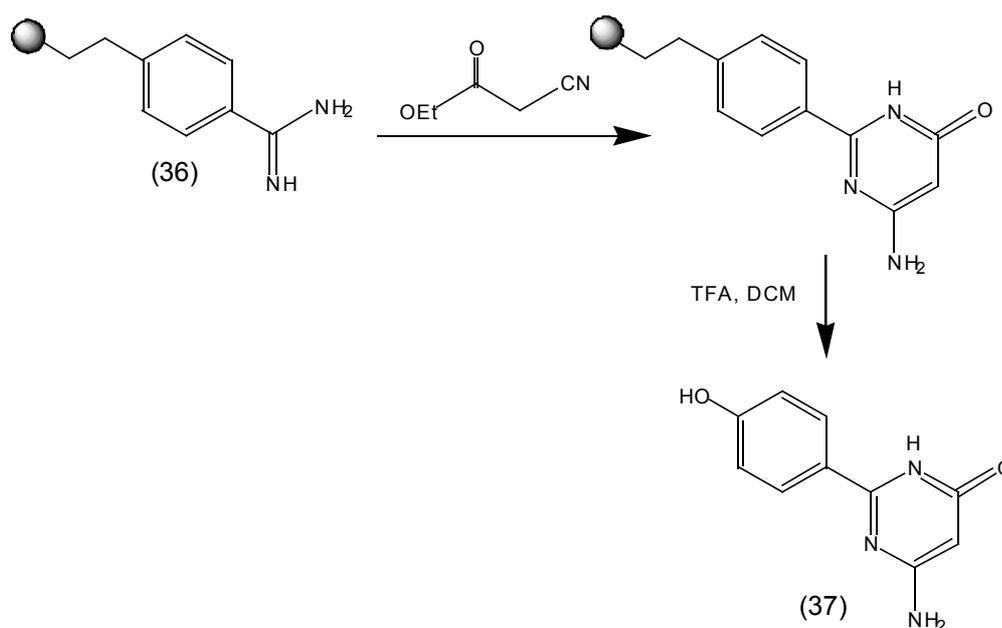
Uma inovação na síntese de pirimidinas é a síntese utilizando suporte sólido (MEISENBACH *et al.*, 2003). Nesta rota sintética, a formação do anel pirimidínico ocorre através da condensação entre cetonas α,β insaturadas e derivados guanidínicos. O suporte utilizado foi o aminometil poliestireno (AMPS) (27) que reage com o derivado do ácido acético (28) para formar a resina (29). Após a clivagem do grupo Fmoc com dietilamina em DMF, 4-carboxibenzaldeído (30) será acoplado dando origem ao produto (31). A formação do produto (33) se dá através da reação de Claisen-Schmidt com excesso de acetofenona (32) e LiOH. Em seguida, o produto (33) e a guanidina são aquecidas em dimetil acetamida e o ar é borbulhado na mistura para formar a pirimidina (34). Após a completa conversão, o produto (34) foi separado do suporte e a 4-(2-amino-6-fenil-pirimidin-4-il)-benzamidina (35) foi obtida (Esquema 9).



Esquema 9 – Síntese de pirimidinas com uso do suporte sólido

César (2005) desenvolveu recentemente a síntese em fase sólida de amidinas, para testar habilidade de transformação em 2-alkil e 2-arylpirimidinas e 3H-pirimidin-4-onas. O suporte 4-hidroxibenzamidina (36) foi preparado por acoplamento Mitsunobu de 4-hidroxibenzonitrila com resina Wang. A nitrila foi transformada em amidoxima por tratamento com hidroxilamina, e esta foi reduzida a amidina-suporte (36) com (SnCl₂ · 2H₂O). Em seguida, ocorreu a condensação de

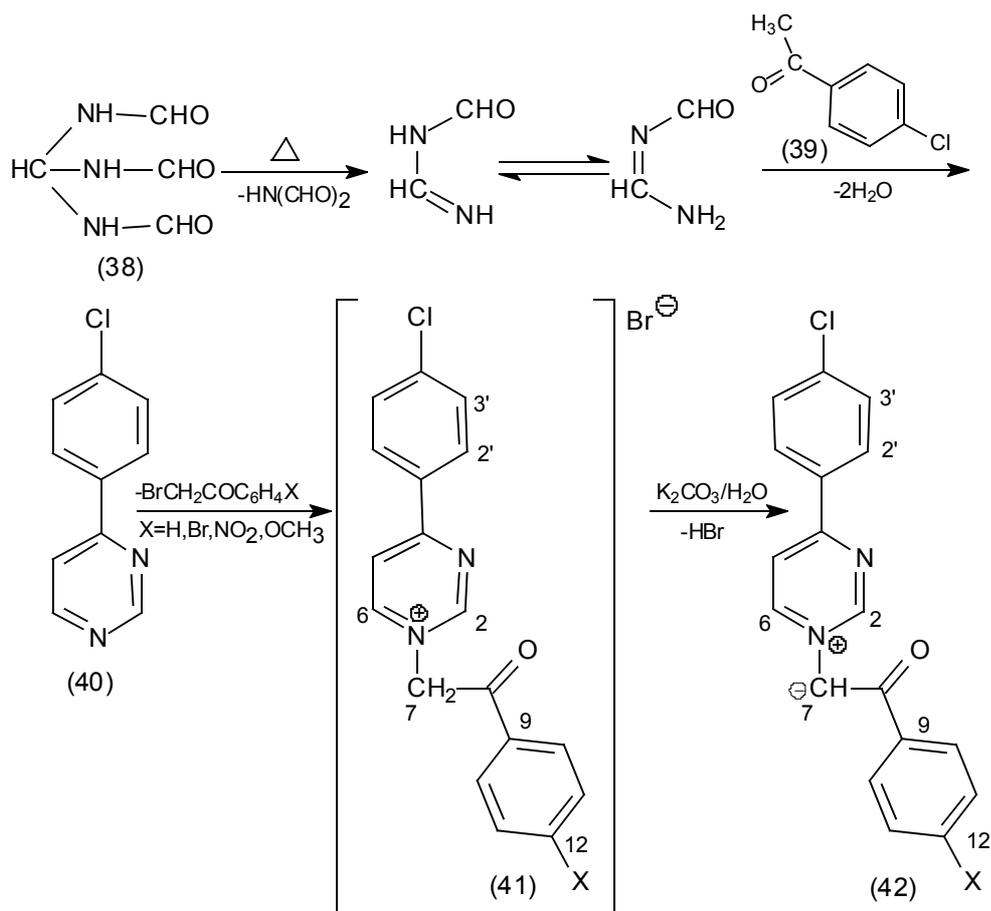
(36) com cianoacetato de etila. As reações aconteceram durante 24 h a 80°C. Após lavagem, o produto foi clivado para obter 6-amino-2-(4-hidroxifenil)-3*H*-pirimidin-4-ona (37). Sob condições neutras, usando DMF ou 2-metoxi-etanol como solvent, essencialmente não foi observada a formação do produto. Quando ter-butóxido de potássio foi adicionado como base em DMF, aproximadamente 20% de (37) foi formado. Usando metóxido de sódio foi adicionado em 2-metoxi-etanol resultou em 85% de conversão, com 15% de amidina não reagida. Quando etil cianoacetato e metóxido de sódio foram adicionados em excesso, somente traços de amidina foram observados após clivagem (Esquema 10).



Esquema 10 – Síntese de 3*H*-pirimidin-4-ona através de SPS

A irradiação de microondas é um novo passo na Química Orgânica, oferecendo um caminho fácil e versátil para uma grande variedade de sínteses. A influência dessa irradiação a respeito da síntese de novos compostos pirimidínicos

foi alvo do estudo de Moldoveanu e colaboradores (2005). O produto de partida escolhido foi a 4-(4-cloro-fenil)-pirimidina (40), obtida a partir da condensação de tris-(*N*-formilamino) metano (38) com 4-cloroacetofenona (39). O sal 1-[2-(4-*X*-fenil)-2-oxoetil]-4-(4-clorofenil)-pirimidinium (41) foi obtido pelo tratamento de (40) com brometo 4-*X*-fenacil, que em solução aquosa de carbonato produz o correspondente (42) (Esquema 11). A principal desvantagem de se obter a pirimidina pelas condições normais, refluxo de tolueno, é o tempo muito longo (cinco dias), enquanto que com a irradiação de microondas o tempo da reação é reduzido para vinte minutos, apresentando rendimentos iguais ou até maiores que nas condições normais.



Esquema 11 – Síntese de pirimidinas utilizando microondas

Agarwal e Chauhan (2005) sintetizaram diversas dihidropirido[2,3-d] pirimidinas, com rendimentos de 82-92 %, em suporte sólido usando irradiação de microondas. O uso das microondas reduziu bastante o tempo de reação e o suporte sólido leva ao rápido acesso aos compostos heterocíclicos. Também Yoon e colaboradores (2004) obtiveram derivados pirimidínicos usando irradiação de microondas. O procedimento é simples, eficiente e apresenta altos rendimentos e vantagem sobre as rotas alternativas que sempre requerem múltiplas etapas.

3.3. ATIVIDADE BIOLÓGICA

Compostos contendo o heterociclo pirimidínico vêm há muito sendo descritos na literatura, pois desempenham um papel vital em várias atividades biológicas, sendo relatadas atividades antiviral (EL-BROLLOSY *et al.*, 2002) (ZHU *et al.*, 2004), antitumoral (CHAUHAN *et al.*, 2005), antiinflamatória (SKULNICK *et al.*, 1985), atividade antihiperlipidêmica (GADAD *et al.*, 1996), inibidora de telomerase (KUMAR *et al.*, 2001; KATAKAMI *et al.*, 1992), entre outras. Uma revisão de Brown (1984), assim como recentes trabalhos do nosso grupo (MELO *et al.*, 2002) e (FALCÃO, 2003) tratam da química e das propriedades farmacológicas de derivados desta classe.

O heterocíclico da pirimidina é também conhecido na literatura por seus potenciais anti-hipertensivo, vasodilatador coronariano seletivo (NIIYA *et al.*, 1992) e antibacteriano (MENON *et al.*, 1996). A presença do grupo amino em C-4 do anel

pirimidínico parece ser bastante conveniente, uma vez que estes derivados pirimidínicos demonstram relevantes atividades, como observado por Ganjee e colaboradores (2004) que sintetizaram e avaliaram novos análogos quanto à atividade inibitória sobre dihidrofolato redutase (DHFR) de *Toxoplasma gondii*, verificando um aumento de até 500 vezes na atividade dos novos compostos em relação ao Trimetoprim (Figura 3).

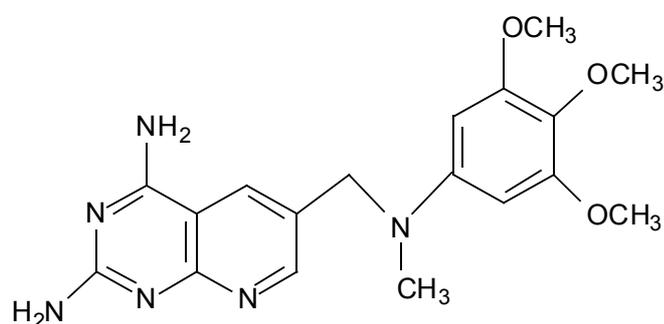


Figura 3: Estrutura de um inibidor de DHFR

A interação de cobre(II), zinco(II) e cádmio(II) com Trimetoprim(2,4-diamino-5-(39,49,59-trimetoxibenzil)pirimidina tem sido bastante estudada por Simo e colaboradores (2000). Os complexos foram testados frente a diversas bactérias, mostrando atividade similar ao Trimetoprim.

Em seu trabalho, Pandey e colaboradores (2004) relatam a significativa atividade de derivados pirimidínicos como agentes leishmanicidas que podem, inclusive modular as defesas naturais do hospedeiro e restaurar suas funções imunológicas.

Woo e colaboradores (1992) obtiveram resultados significativos ao testarem, em uma série pirimidínica sintética derivada da hipoxantina, a atividade inibitória contra purina nucleosídeo fosforilase (PNP), enzima cuja inibição resulta em imunossupressão relacionada aos linfócitos T, com potencial aplicação em distúrbios auto-imunes, como artrite reumatóide e células leucêmicas.

A série de 2-metoxi-5H[1]benzopirano[4,3-d]pirimidin-5-aminas foi preparada e testada *in vitro* como anticoagulante induzindo a agregação de ADP, ácido araquidônico (AA) e colágeno. Experimentos *in vivo* foram realizados em seqüência para avaliar as atividades antiinflamatória, analgésica e antipirética. Os compostos apresentaram atividade em agregação induzida com AA ou colágeno e mostraram boa atividade analgésica sem nenhuma toxicidade gástrica (BRUNO *et al.*, 2002).

Sandanandam e colaboradores (1992) testaram 18 derivados pirimidínicos, 4-fenilsubstituídos, todos apresentando atividade analgésica, e dos quais 16 apresentaram atividade antiinflamatória. Seus resultados estão de acordo com os obtidos por Melo e colaboradores (1992).

Bahekar e Shinde (2004) sintetizaram vários derivados pirimidínicos substituídos e avaliaram sua atividade antiinflamatória *in vivo*. Os compostos apresentaram moderada atividade (Figura 4).

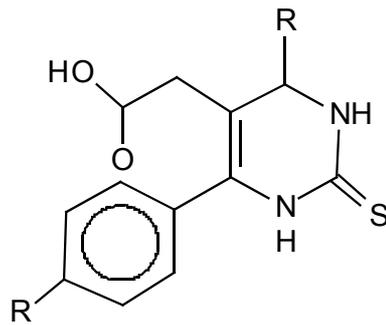


Figura 4: Composto antiinflamatório

No trabalho de Felczak e colaboradores (1996), dois análogos da uridina, o 5-flúor-6-(hidroximetil)-uridina e o 5-flúor-6-(fluormetil)-uridina exibiram potente atividade antileucêmica, com menos toxicidade em linfócitos humanos e maior seletividade que a droga padrão, o 5-fluoruracil.

Compostos 4-amino-2,6-diaril-5-carbonitrilas-pirimidínicos, apresentaram atividade antitumoral significativa, comparável ao lapachol, associada à baixa toxidez *in vitro* e *in vivo* (Falcão, 2003).

O número de doenças alérgicas relacionadas à poluição, tais como asma, rinite, entre outras, comuns em países industrializados, tem aumentado o interesse por drogas com atividade antialérgica. Dessa forma, Quintela e colaboradores (2001) sintetizaram novos derivados piridopirimidínicos e avaliaram suas potencialidades como inibidores da liberação de histamina, em cultura de mastócitos de ratos, produzindo compostos com atividade inibitória de 50-70 %, aliada com a baixa citotoxicidade.

Hocková e colaboradores (2004) constataram que certos nucleosídeos apresentaram atividade contra o vírus do herpes simplex tipo I e tipo II, contra o citomegalovírus humano (HCMV) e contra o vaccinia vírus.

Johns e colaboradores (2005) sintetizaram pirazolo[1,5- α]piridina (43) e seu correspondente imidazo[1,2- α]piridina (44), extremamente potentes e seletivos contra o vírus da herpes simplex tipo I e II (HSV-1 e HSV-2). Os compostos apresentaram atividade antiviral similar ao aciclovir (45) (Figura 5).

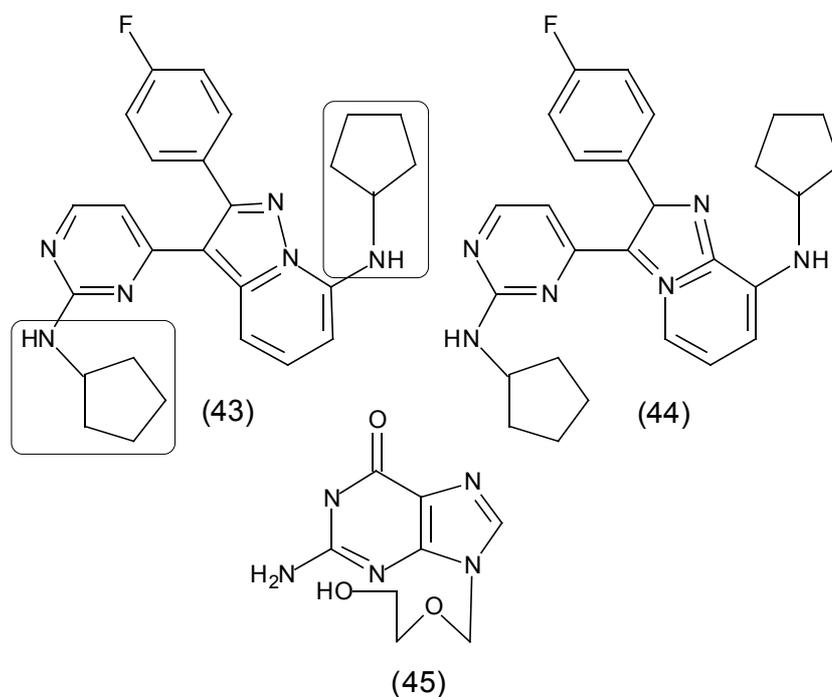


Figura 5 – Inibidores do herpes simplex

Nasr e Gineinah (2002), sintetizaram novas séries de análogos 7-amino e 7-oxo-5-aryl-6-cianopirido[2,3-d]pirimidinas, e avaliaram quanto à sua atividade anti-herpes simplex vírus (HSV). Concluíram, com isto, que alguns compostos apresentaram atividade.

Kumar e colaboradores (2002) sintetizaram e avaliaram novos nucleosídeos pirimidínicos acíclicos, 1-[2-(hidroximetoxi) metil]-5(1-azidovinil)uracil, quanto à sua atividade antiviral contra o vírus da hepatite B em hepatócitos de pato infectados com o vírus. Estes compostos apresentaram alta atividade, com $EC_{50} = 0,01-0,05\mu\text{g/mL}$, além de seletividade. O autor relatou ainda que a cadeia lateral acíclica em C-5, no anel pirimidínico, seria essencial para a atividade antiviral e que os compostos não apresentaram qualquer evidência citotóxica *in vitro*.

Hamilton e colaboradores (1999) sintetizaram diversos nucleosídeos carbocíclicos monofosfatados e verificaram sua atividade inibitória contra transcriptase reversa de HIV e obtiveram resultados que demonstram a potencialidade destas moléculas em futuras pesquisas de drogas anti-HIV.

Choo e colaboradores (2003) sintetizaram e avaliaram a atividade inibitória de L-nucleosídeos fluorados 2',3'-insaturados contendo citosina, 5-fluorcitosina e adenina, contra HIV-1 e cepa mutante resistente a lamivudina (M184V), em células mononucleares (PBM) de sangue periférico humano. Seus resultados mostraram atividade do nucleosídeo contendo citosina contra (HIV-1_{M184V}).

Uma série de novos compostos pirimidínicos trissubstituídos foram sintetizados e avaliados sua atividade inibitória *in vitro* da topoisomerase II contra *Setaria cervi*. Os compostos apresentaram um percentual de inibição entre 40-80% dependendo da concentração. Todos os compostos apresentaram melhor atividade que o Novobiocin (KATIYAR *et al*, 2005).

Agarwal e colaboradores (2005) sintetizaram 17 derivados pirimidínicos 2,4,6-trissubstituídos (Figura 6) e avaliaram quanto a sua atividade contraceptiva. Três compostos apresentaram 100 % de atividade em 10 mg/kg e seis compostos apresentaram 50 % de atividade na mesma dose. Os compostos apresentaram uma boa relação estrutura-atividade.

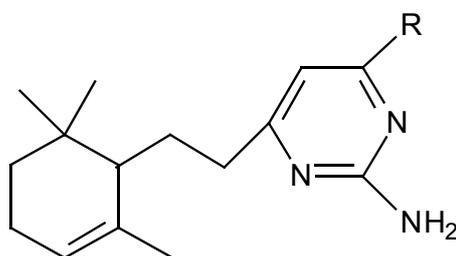


Figura 6: Pirimidina com ação anticonceptiva

4-amino-6-cloro-2-piperazinopirimidinas (Figura 7) foram sintetizadas e avaliadas quanto a sua habilidade de interação com adrenoreceptores α_1 e α_2 , in vitro, usando radioligantes. Os compostos mostraram alta e seletiva afinidade por adrenoreceptores α_2 . a natureza do substituinte 4-amino parece ser o fator mais decisivo na determinação da potência desses receptores (GUÉRÉMY *et al.*, 1986).

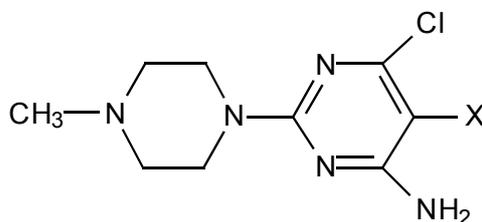


Figura 7: 4-amino-6-cloro-2-piperazinoprimidinas

O estrogênio-receptor (ER) é um receptor hormonal de grande interesse farmacêutico, usado no tratamento da osteoporose, câncer de mama e outras desordens endócrinas (KATZENELLENHOGEN *et al.*, 2000). Embora seja um ligante natural do Estradiol (E_2), os ERs são capazes de se unir a uma ampla variedade de ligantes esteroidais e não esteroidais. Muitos ERs são ligados a núcleos heterocíclicos. Neste sentido, Compton e colaboradores (2004) examinaram pirazolo-pirimidinas como supores nucleares para desenvolver ligantes ER inéditos. A versatilidade sintética dos sistemas bicíclicos permite a introdução de múltiplas variedades de substituintes. O grupo hidroxí pirimidina age de forma análoga ao Estradiol (E_2), apresentando alta afinidade por ligantes ER (Figura 8).

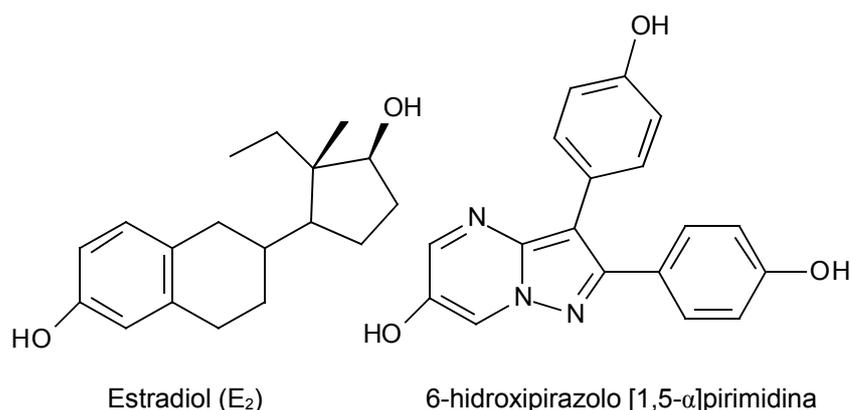


Figura 8 – Ligantes de estrogênio-receptores (ERs)

A recente descoberta de um segundo estrogênio-receptor ($ER-\beta$), com distribuição tecidual e propriedade transcriptacional diferente do $ER-\alpha$, abre novas possibilidades de descobertas de estrogênios seletivos de células e tecidos. As 5-hidroxi-pirimidinas são mais seletivas para $ER-\beta$ (DE ANGELIS *et al.*, 2004).

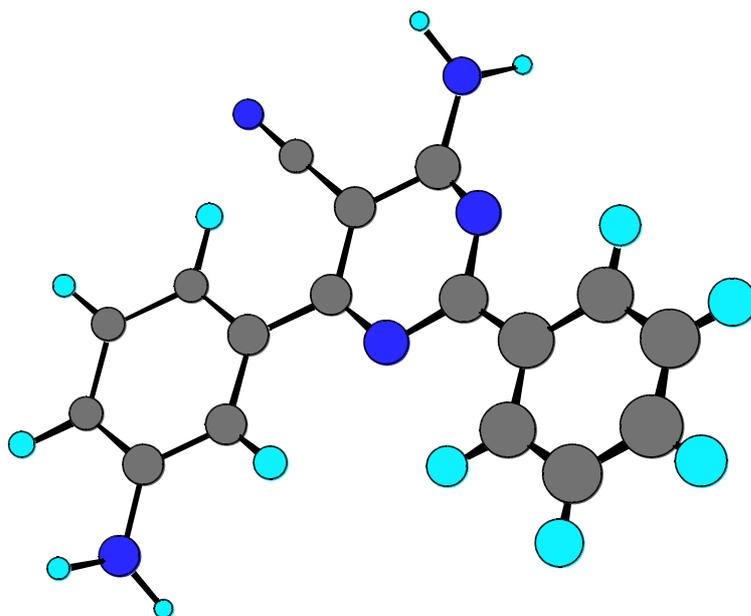
4-Substituído 2-amino-6-(anilino)pirimidinas têm sido criadas como inibidores seletivos da DNA polimerase III, enzima essencial na replicação do DNA de bactérias Gram-positivas. Entre esses análogos, 18 apresentaram IC50 de 10 µM contra DNA polimerase III de *Staphylococcus aureus* (ALI, et al., 2001).

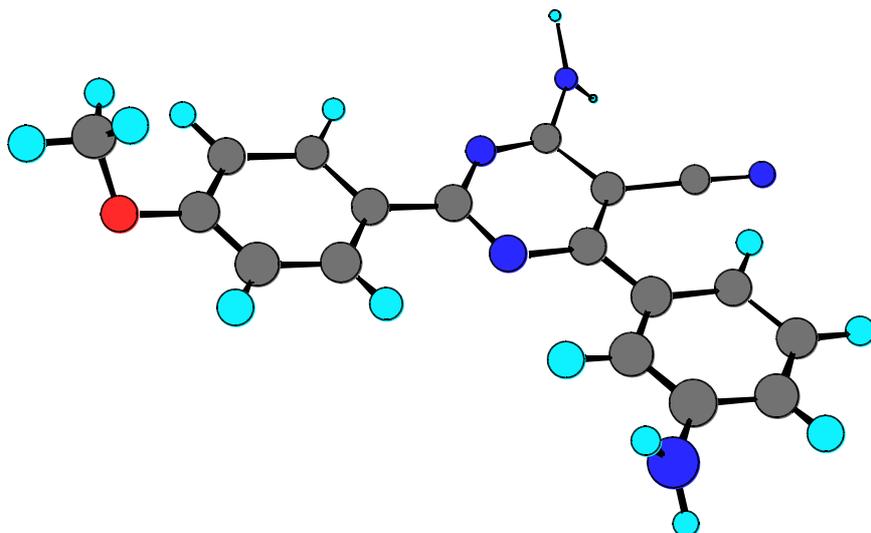
A procura por novas drogas com atividade antimicrobiana tem sido intensa, sobretudo para evitar o surgimento de cepas resistentes às terapias convencionais. Prakash e colaboradores (2004) obtiveram novos derivados triazolo-pirimidínicos e avaliaram sua atividade antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi*. A maioria dos compostos chegou a apresentar 100 % de inibição.

Sharma e colaboradores (2004) sintetizaram derivados pirimidínicos e avaliaram quanto a sua atividade antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas diminuta*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* e quanto a sua atividade antifúngica frente a *Aspergillus niger* e *Cândida albicans*. As concentrações mínimas inibitórias (CMI) variaram entre 2-57 µg/mL. As bactérias Gram-positivas parecem ser mais sensíveis em relação aos compostos sintetizados. A atividade antimicrobiana dos compostos segue a ordem: *S. aureus* > *B. subtilis* > *E. coli* > *P. diminuta* > *C. albicans* > *A. niger*. Isto mostra que o núcleo pirimidínico exerce significativa influência nas atividades biológicas investigadas.

Compostos contendo função imida vêm ganhando grande importância devido às suas significantes atividades biológicas. A talidomida é uma destas drogas. Anteriormente proibida devido aos seus efeitos teratogênicos, atualmente vem

sendo muito estudada, dadas às suas atividades biológicas. Além disso, drogas contendo o núcleo imidínico, tais como o ftalimídico encontrado na talidomida, demonstram atividade antitumoral, bloqueando o desenvolvimento tumoral por inibir a angiogênese (SINGHAL *et al.*, 1999; JULIUSSON *et al.*, 2000; PATT *et al.*, 2000; ZOMAS *et al.*, 2000).





MATERIAL E MÉTODOS

~~4. MATERIAL E MÉTODOS~~

4.1. QUÍMICA

4.1.1. Síntese do Aduto de Knoevenagel

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 0,1 mol do aldeído aromático convenientemente substituído (1a, b) e 0,1 mol da malonitrila (2). Os reagentes são mantidos em agitação, utilizando-se metanol como solvente, a temperatura ambiente durante 2 a 4h, sendo a reação acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) até o seu término. Ao final da reação, pode-se observar a formação dos cristais do produto que são filtrados e o líquido restante é evaporado sob pressão reduzida. O sólido resultante é purificado por

cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se como solvente de eluição a mistura *n*-hexano:acetato de etila (8:2). Por fim, o produto obtido é recristalizado em metanol e armazenado em dessecador.

4.1.2. Síntese das Amidinas

4.1.2.1. Síntese das benzonitrilas *p*-substituídas

Em um balão de fundo redondo de 500 mL, adaptado a um condensador e sob agitação, foram adicionados 0,1 mol de aldeído aromático convenientemente substituído, 0,1 mol de cloridrato de hidroxilamina, 0,184 mol de formiato de sódio e 3,98 mol de ácido fórmico. A mistura foi posta a refluxar em banho de óleo por duas horas, sendo a reação acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando-se como eluente o sistema *n*-hexano: acetato de etila (1:1). Em seguida, a nitrila foi cristalizada utilizando-se gelo. O material foi filtrado a vácuo em funil sinterizado e lavado com água gelada, para eliminar o excesso de ácido. Os cristais foram então mantidos em dessecador até peso constante. O ponto de fusão dos cristais das nitrilas obtidas foi comparado ao da literatura (CHEM. ABS. 1967) para confirmação.

4.1.2.2. Obtenção do benzoiminoéter *p*-substituído

Em um balão de fundo redondo de 500 mL, foi colocado cloreto de sódio, previamente mantido em estufa, juntamente com toda a vidraria a ser utilizada, até o momento da reação para evitar resquícios de umidade. Ao se retirar a vidraria da

estufa, esta é mantida devidamente vedada até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, adiciona-se ácido sulfúrico em dosador e no dedo frio até 1/3 do volume total. Em um balão de 125 mL, de duas bocas, foi colocado 42,86 mmol da nitrila e 10 mL de etanol anidro. Em uma das bocas do balão foi acoplado um tubo com cloreto de cálcio e na outra uma rolha com orifício, adaptou-se tubo de vidro.

O dosador com ácido sulfúrico foi conectado ao balão com cloreto de sódio por meio de um adaptador com abertura lateral à qual foi conectada uma mangueira de borracha ligada ao dedo frio, por onde o ácido clorídrico deveria passar, depois de formado. O dedo frio, por sua vez, era conectado, por uma mangueira, ao tubo de vidro.

Após o sistema montado e as juntas vedadas adequadamente, o ácido sulfúrico começou a ser gotejado no cloreto de sódio e o ácido clorídrico a circular pelo dedo frio, borbulhando através do tubo de vidro na solução de nitrila e etanol. O material foi mantido sob agitação e a temperatura ambiente por 6h, sendo a reação acompanhada cromatograficamente, utilizando-se como eluente o sistema n-hexano: acetato de etila (8:2). Ao final da reação, o aparato foi desmontado e o líquido reacional evaporado sob pressão reduzida e sem aquecimento em rota evaporador. Em seguida, o material foi cristalizado com éter seco e filtrado sob vácuo e guardado em dessecador até a etapa reacional seguinte, a reação de síntese da amidina.

4.1.2.3. Reação de síntese das amidinas aromáticas *p*-substituídas

Tomando-se o mesmo cuidado, descrito na reação anterior, quanto à umidade, foi montado aparato semelhante. A um balão de 1000 mL, adaptado a um condensador, foi colocado 500 mL de hidróxido de amônio. Este balão foi colocado em banho de óleo na placa aquecedora convencional. Na parte superior do condensador foi acoplado adaptador, conectado por uma mangueira de borracha, a um dedo frio contendo hidróxido de potássio até aproximadamente 1/3 do volume. O dedo frio, por sua vez, foi conectado a um tubo de vidro adaptado a uma das duas bocas do balão de 125 mL, aonde foi colocado iminoéter dissolvido com metanol, sendo a solução mantida sob agitação. À outra boca do balão, foi acoplado um tubo contendo cloreto de cálcio. Uma vez montado o sistema, o aquecimento foi acionado e a amônia gasosa começou a ser produzida, circulando pelos tubos até borbulhar na solução contendo o iminoéter. A reação dura, em média, 5 à 6h, sendo acompanhada por CCD, utilizando-se o mesmo sistema de eluição descrito para a reação anterior.

4.1.3. Preparação das 6-nitro-fenil pirimidinas (7a-d)

Os derivados amidínicos utilizados na síntese foram obtidos de duas maneiras distintas: sintetizados, como no caso da *p*-metoxibenzonitrila, ou adquiridos comercialmente, como no caso da benzamidina adquirida junto a Sigma-Aldrich.

Em um balão de fundo redondo, foram dissolvidas em metanol (20mL) quantidades equimolares (5,36 mmol) do intermediário bisnitrílico adequado (3) e da arilamidina (6) e refluxados sob agitação, sendo adicionadas quantidades catalíticas

de piperidina (algumas gotas). A reação foi monitorada por CCD e a mistura reacional foi assim mantida durante 7h. O meio reacional foi esfriado à temperatura ambiente, sendo que, em alguns casos, houve a formação de cristais, que foram separados por filtração a vácuo em filtro sinterizado. Em todos os casos, porém, o líquido reacional foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, sendo utilizado como solvente eluente *n*-hexano, sendo a polaridade gradualmente aumentada por adição de acetato de etila até a proporção de *n*-hexano:acetato de etila (8:2). O produto puro, uma vez obtido, foi recristalizado em solvente adequado, tendo os rendimentos e pontos de fusão determinados.

4.1.4. Síntese dos Derivados 6-amino-fenil Pirimidínicos (8a-d)

Estes compostos foram obtidos através de 2 métodos:

Método 1:

Em um balão de duas bocas de fundo redondo, foi dissolvido em acetato de etila (20 mL) 24 mmol do derivado pirimidínico 6-nitro-fenil (7a-e). À solução foram adicionados 20 % em peso do catalisador, palladium (Pd). Em seguida, uma das bocas foi selada com septo, enquanto à outra foi adaptada uma válvula de três pontos. A esta foi acoplado um balão de borracha previamente preenchido com hidrogênio. Após ter sido retirado o ar do interior do balão contendo a mistura reacional, utilizando-se bomba de vácuo, foi aberta a válvula para o balão de borracha, e a mistura reacional foi então mantida sob agitação por 2h, sendo acompanhada por CCD, utilizando-se sistema de eluição *n*-hexano:acetato de etila

(8:2). Ao final da reação, o material foi filtrado a vácuo em filtro sinterizado e o líquido reacional evaporado sob pressão reduzida e a temperatura ambiente. O material obtido foi cristalizado em acetato de etila. Sendo, os cristais, secos em dessecador.

Método 2:

A metodologia utilizada foi de acordo com Guarda e colaboradores (2000) e Cecchetti e colaboradores (1984). Em um balão de fundo redondo de 50 mL, em banho de gelo e sob agitação, solubilizou-se o cloreto estanoso diidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (0,32 mmol) em ácido clorídrico concentrado (HCl). Adicionou-se, lentamente, a pirimidina nitrada (0,32 mmol) em pequenas porções e agitou-se por 15 min. Aqueceu-se lentamente até o refluxo, deixando-se nessas condições por 8 horas. Resfriou-se e se ressuspendeu o composto em H_2O destilada. Adicionou-se solução de NaOH a 20 % até $\text{pH}=10$. Filtrou-se o precipitado em funil sinterizado à vácuo. Lavou-se com NaOH 10 % e, em seguida, com água destilada. O Material obtido foi recristalizado em metanol e armazenado no dessecador.

4.1.5. Síntese dos Compostos 4-aminopirimidínicos Ligados a uma Porção Imida

4.1.5.1. Recuperação do Anidrido Succínico

Em um balão de 500 mL, adaptado a um condensador e sob agitação, foram adicionados 65 mL de anidrido acético e 40 g de anidrido succínico. A mistura foi posta a refluxar em banho de óleo por uma hora. Quando a reação tornou-se límpida, deixou-se refluxar por mais uma hora. O meio reacional foi esfriado à temperatura ambiente, o material foi filtrado a vácuo em funil sinterizado e lavado com diclorometano ou éter seco. Em seguida, recristalizou-se com acetona ou diclorometano e filtrou-se novamente. Os cristais foram então mantidos em dessecador até peso constante.

4.1.5.2. Obtenção dos derivados 4-aminopirimidínicos ligados a uma função imida (9a-d)

Em um balão de fundo redondo, foram adicionadas quantidades equimolares de anidrido succínico com 6-(aminofenil)-pirimidinas (8a-d), utilizando-se ácido acético como solvente. A reação foi realizada à temperatura de refluxo, e acompanhada por CCD, durante 8h, quando todos os reagentes foram consumidos e a mesma foi considerada finalizada. O produto foi lavado com bastante água destilada, para se retirar o excesso de ácido acético. O sólido resultante foi purificado e por fim, o produto obtido foi armazenado em dessecador.

4.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A análise qualitativa dos derivados pirimidínicos sintetizados foi realizada envolvendo a medida da inibição do crescimento de vários grupos representativos de microrganismos, previamente selecionados.

4.2.1 – Microrganismos-teste e padronização dos inóculos

Os testes foram realizados frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e leveduras, pertencentes à Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE (Tabela 1).

Tabela 1: Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana

Bactérias Gram-positivas ^a	<i>Staphylococcus aureus</i> / UFPEDA02
	<i>Staphylococcus aureus</i> / PASM 18260
	<i>Pseudonocardia thermophyla</i> / UFPEDA 3517
Bactérias Gram-negativas ^a	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / UFPEDA 416
	<i>Escherichia coli</i> / UFPEDA 224
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> / UFPEDA 396
Leveduras ^b	<i>Candida albicans</i> / UFPEDA 1007

^a Mantidas em Ágar Nutritivo e ^b Mantidas em Ágar Sabouraud.

Os inóculos foram obtidos a partir de culturas com 24 horas de crescimento dos microrganismos-teste, preparando-se suspensões padronizadas pela turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (10^8 UFC/ml) (KONEMAN, 1997).

4.2.2 – Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados na avaliação antimicrobiana dos compostos sintetizados foram: Sabouraud-ágar, Müller Hinton ágar, Glicose-extrato de levedura-ágar. Para preparação dos inóculos, manutenção dos microrganismos, teste de macrodiluição foram utilizados os meios sólidos e líquidos (Tabela 2).

Os meios de cultura foram solubilizados em água destilada, tiveram os pHs ajustados ao recomendado e foram esterilizados em autoclave por 15 minutos a temperatura de 121°C.

Tabela 2: Descrição dos meios de cultura utilizados no experimento e sua função.

Meio de cultura	Utilização no experimento
<i>Müller-Hinton ágar (MH)</i>	Realização de experimentos com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
<i>Müller-Hinton líquido (MH)</i>	Realização dos testes de macrodiluição.
<i>Agar nutriente (AN)</i>	Manutenção e preparação do inóculo de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
<i>Glicose extrato de levedura ágar (GL)</i>	Manutenção e preparação do inóculo de <i>Mycobacterium smegmatis</i> .
<i>Sabouraud ágar</i>	Manutenção e preparação do inóculo de <i>Candida albicans</i> .

4.2.3 – Preparação dos produtos sintéticos

Todos os produtos foram solubilizados em quantidade suficiente de dimetilsulfóxido (DMSO) para preparação de soluções com concentrações de 1mg/ml.

4.2.4 – Preparação dos discos de papel

Foram confeccionados discos de papel de filtro que foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos e, em seguida, foram colocados em pequenos tubos de ensaio onde, com o auxílio de uma micropipeta automática, receberam 20µL das soluções dos produtos.

4.2.5 – Preparação das placas

Às placas de Petri estéreis, de 90mm de diâmetro, foram adicionados 10mL do meio, e estas foram mantidas em superfície plana horizontal até solidificarem. Após solidificação do meio, as placas de Petri foram mantidas durante 24h em estufa para teste de esterilidade.

Os pré-inóculos foram preparados conforme descrito no item 3.2.1 e semeados nas placas de Petri (BAUER E KIRBY, 1966). Após 30 min, os discos foram depositados na superfície do meio contendo o microrganismo e as placas de Petri foram incubadas a 37°C por 24 horas.

Os testes foram realizados em duplicata e após 24h foram efetuadas a leitura através da medição dos diâmetros (mm) dos halos de inibição e os resultados representam a média aritmética. O teste de controle negativo foi realizado com discos embebidos em DMSO (Figura 9).

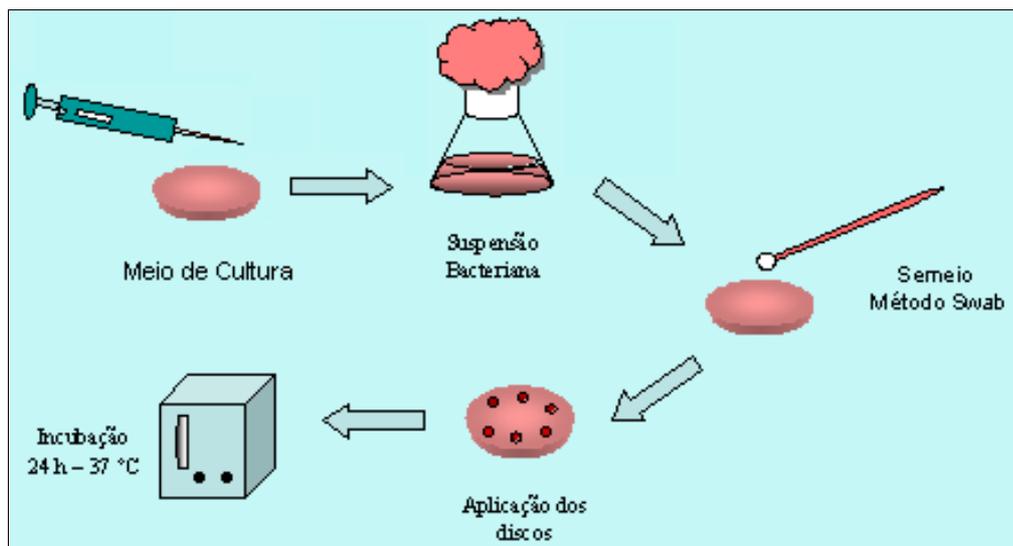


Figura 9 – Preparação e incubação dos inóculos.

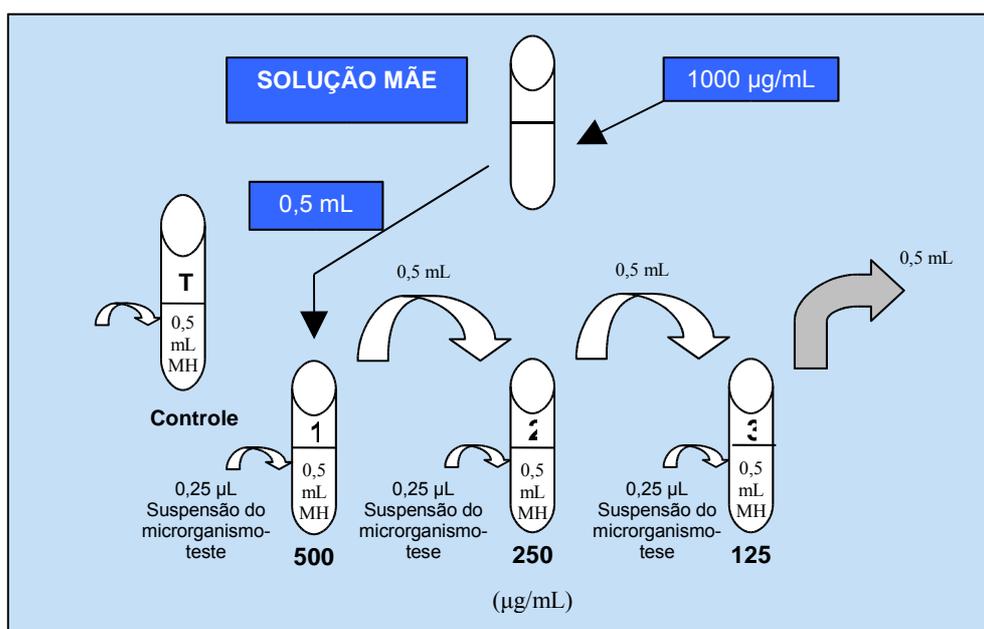
4.2.6 – Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

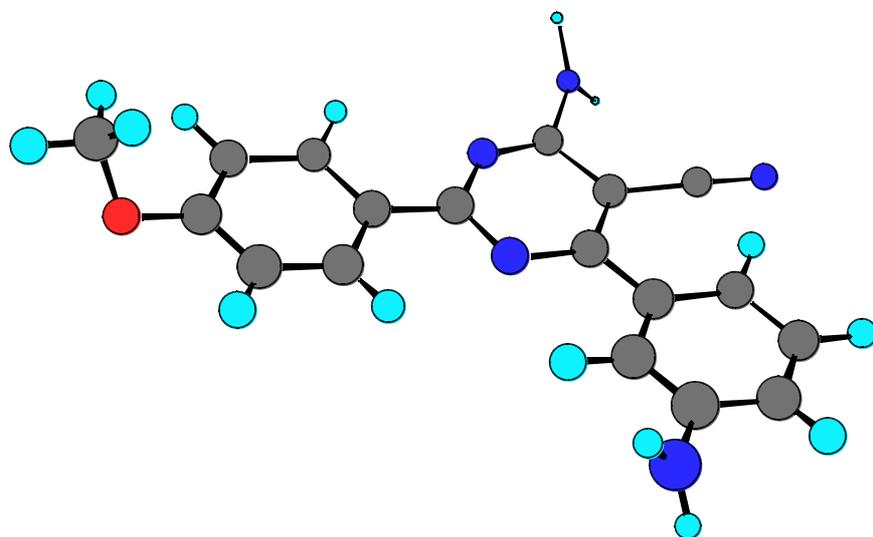
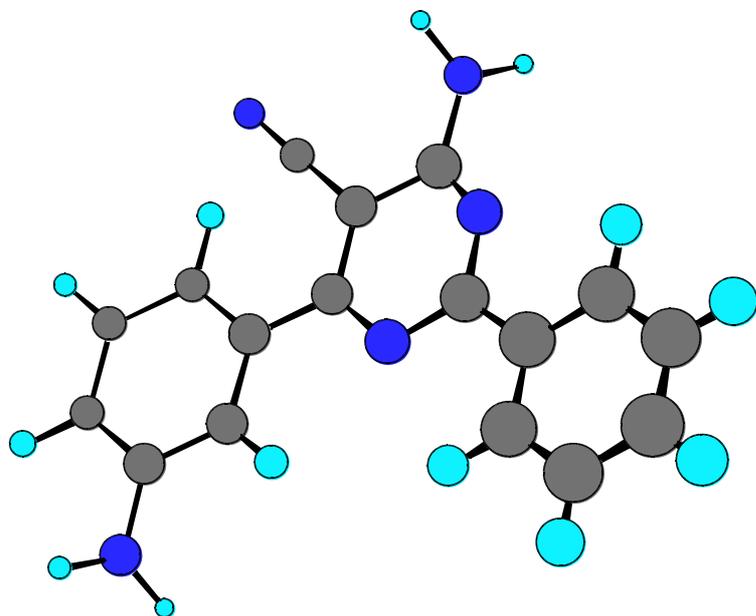
A concentração mínima inibitória (CMI) corresponde a menor concentração do produto expressa em $\mu\text{g/mL}$, em presença da qual não ocorre crescimento microbiano visível a olho nu.

A determinação da CMI foi realizada através do método de macrodiluição segundo a metodologia descrita por Lorian (1986). O método consiste na inoculação de uma série de tubos contendo um determinado volume do meio de cultura líquido Müller Hinton e diferentes concentrações da substância a ser testada, com uma suspensão padronizada do microrganismo-teste. Considera-se a CIM, a concentração do antibiótico do primeiro tubo onde não ocorreu crescimento visível (turvação do meio) após 24 horas de incubação.

A partir de uma solução-mãe da substância, de concentração igual a 1000 $\mu\text{g/mL}$, foram realizadas diluições sucessivas nas proporções de 1:2, 1:4 e 1:8 em caldo Müller Hinton, a fim de obter uma série de: 500 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$

(Figura 10). Em seguida, foi adicionada 0,25µL da suspensão do microrganismo. Para o controle positivo foi utilizado um tubo testemunho (T), contendo apenas o meio de cultura e a suspensão do microrganismo, para comparação do crescimento microbiano. Para o controle negativo, foram utilizados tubos contendo o meio de cultura, mais o solvente DMSO e a suspensão do microrganismo. Os tubos de ensaio foram incubados a uma temperatura de 37°C e os resultados foram avaliados após 24 horas. E após este período foram transferidos 0,25µl da suspensão para placas de Petri, contendo meio de cultura ágar Müeller Hinton e incubados a temperatura de 37°C. Os resultados foram avaliados após 24 horas (Figura 9).





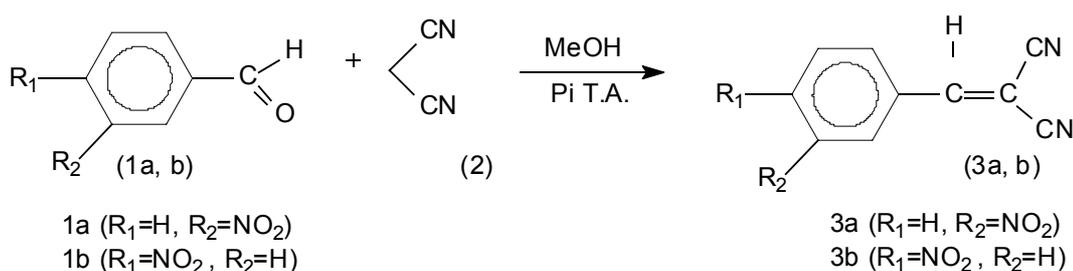
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – SÍNTESE

5.1.1- Síntese do aduto de Knoevenagel

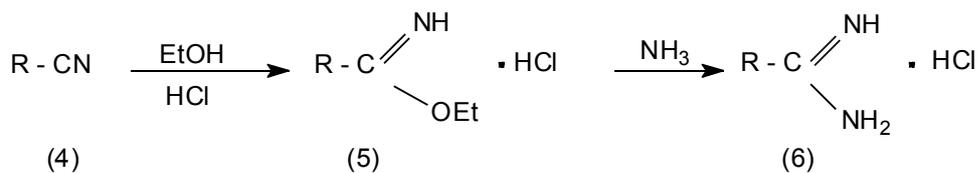
O aduto de Knoevenagel (**3a, b**) foi obtido através da conhecida condensação de Knoevenagel, fazendo-se a reação de aldeídos aromáticos (**1a, b**) com malononitrila (**2**) em meio básico (Esquema 12), segundo descrito por Patai (1960).



Esquema 12 – Reação de obtenção do aduto de Knoevenagel.

5.1.2- Síntese das Amidinas

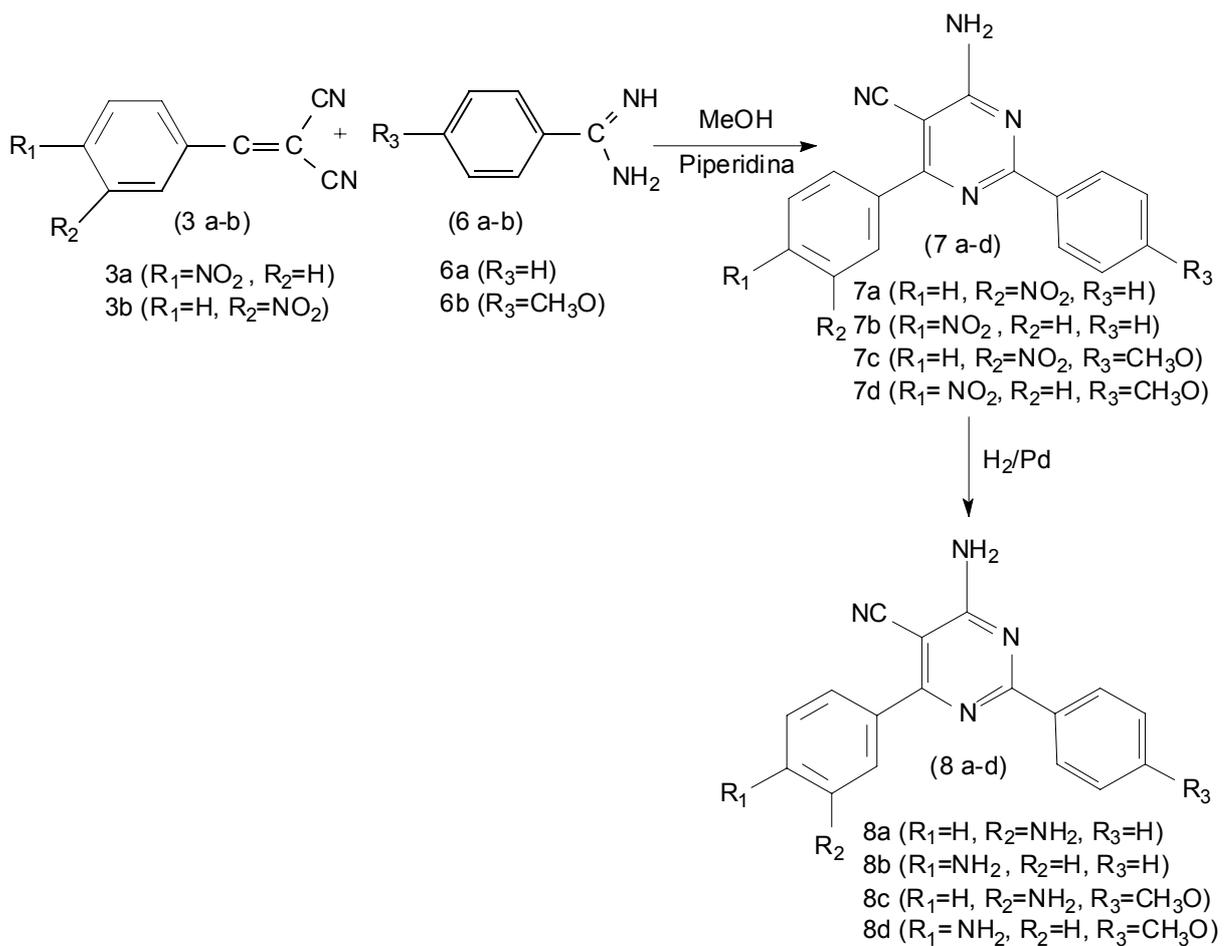
Para a obtenção das amidinas foi utilizada a metodologia de Pinner (1892). Este método necessitou de duas etapas, sendo a primeira, a síntese do iminoéter (**5**) pela reação das nitrilas (**4**), com etanol em ácido clorídrico gasoso. Em seguida, eles foram submetidos à ação do amoníaco para a obtenção da amidina (**6**), numa segunda etapa.



Esquema 13: Reação de obtenção das amidinas.

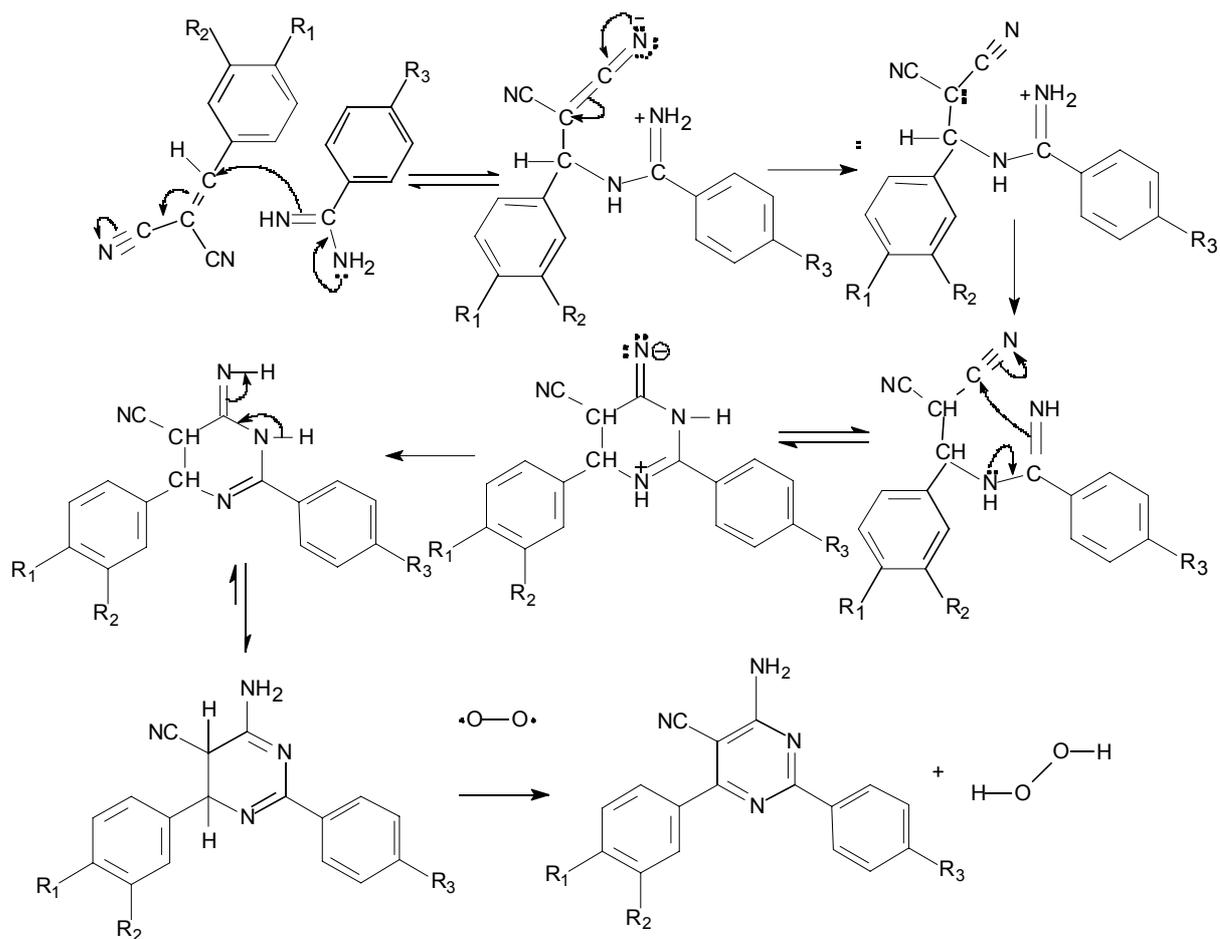
5.1.3– Síntese dos compostos 4-Amino-6-(amino-fenil) pirimidínicos

Os derivados pirimidínicos foram obtidos segundo a metodologia descrita por Melo e colaboradores (2002), a partir de reações sucessivas (Esquema 14), principiando com a obtenção do aduto de Knoevenagel, como descrito no item 4.1.1. Em seguida o referido intermediário reagiu com amidinas aromáticas convenientemente substituídas (**6a-b**) originando, nesta última etapa, os derivados pirimidínicos (**7a-d**), que submetidos à hidrogenação, utilizando Pd como catalisador, formaram os compostos (**8a-d**). Uma vez obtidos tais derivados, estes foram isolados por cromatografia em coluna de sílica gel, quando necessário, e recristalizados.



Esquema 14 - Síntese dos compostos 4-Amino-6-(amino-fenil) pirimidínicos.

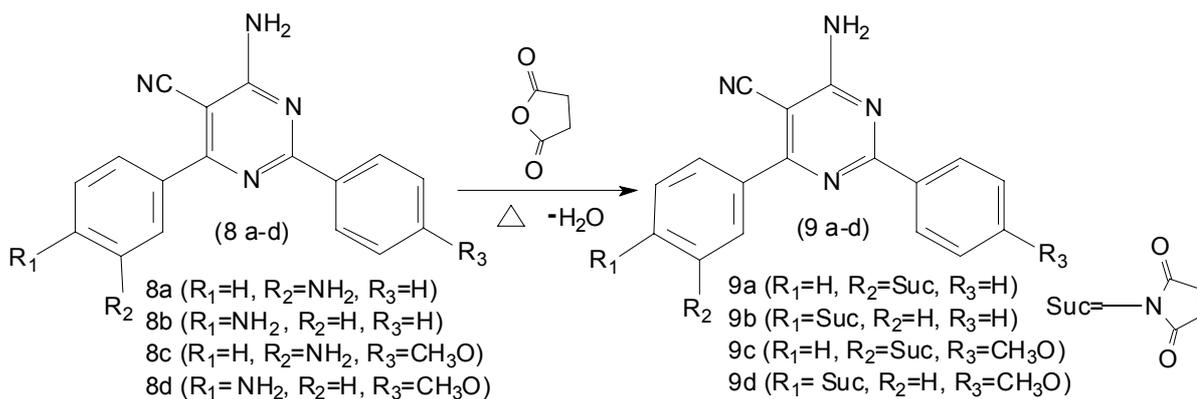
As pirimidinas foram obtidas após ciclização promovida pela amidina e bisnitrila, conforme podemos observar pelo mecanismo proposto por Falcão (2003) (Esquema 15).



Esquema 15 – Mecanismo de formação de 4-amino-2,6-diaril-pirimidinas-5-carbonitrila

5.1.4– Síntese dos compostos 4-aminopirimidínicos ligados a uma porção imida.

Os compostos 4-amino-6-succinimido fenil 5-carbonitrila pirimidínicos foram obtidos conforme descrito por Falcão (2003), a partir da reação do anidrido succínico com as 6-(aminofenil) pirimidinas (**8a-d**), utilizando ácido acético como solvente à temperatura de refluxo, como ilustrado no Esquema 16.



Esquema 16 - Síntese dos compostos 4-aminopirimidínicos ligados a uma porção imida.

Entretanto, não foram obtidos compostos puros, pois apresentaram sempre a presença de uma impureza, tendo como estrutura provável o ácido correspondente da imida. Não obstante insistentes tentativas de purificação através de cromatografia e tentativa de conversão do provável ácido em solução aquosa, utilizando bicarbonato de sódio, seguido de filtração, não obtivemos os derivados **9a-d** puros.

5.2 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPOSTOS

5.2.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H)

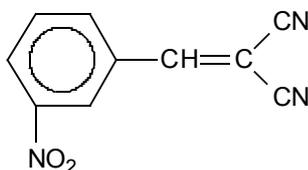
Os derivados pirimidínicos sintetizados tiveram suas estruturas elucidadas através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H).

Os espectros apresentaram picos característicos dos prótons do anel aromático na faixa de δ 7.0 – 9.0 ppm. Os prótons metílicos apresentaram picos característicos, em forma de singlete, no deslocamento de 3.8 ppm e os metilênicos apresentaram-se também na forma de singlete, no deslocamento de 2.8 ppm (SILVERSTEIN E WEBSTER, 2000).

5.2.2 – Espectroscopia de Infravermelho (IV)

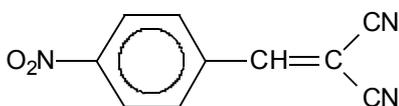
Os espectros de infravermelho dos derivados pirimidínicos sintetizados apresentaram bandas de absorção características de amins assimétricas na faixa de 3.400 cm^{-1} , amins simétricas na faixa de 3.300 cm^{-1} , C \equiv N em aproximadamente 2.200 cm^{-1} e C = N em aproximadamente 1.600 cm^{-1} . Os compostos da série **(9a-d)** apresentaram ainda a banda de absorção característica da carbonila (C = O) do anidrido succínico em aproximadamente 1.700 cm^{-1} . Esses dados estão de acordo com os apresentados por Falcão (2003).

- **2-Ciano-3-nitro cinamonitrila (3a)**



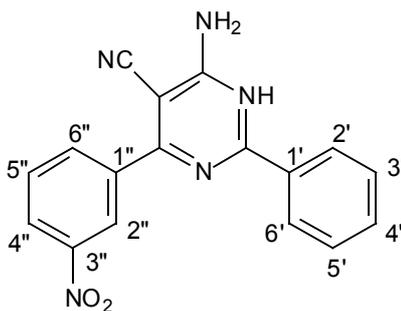
Fórmula	C ₁₀ H ₅ N ₃ O ₂
Peso Molecular	199 g/mol
Rendimiento (%)	47
Rf	0,39; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	127-129

- **2-Ciano-4-nitro cinamonitrila (3b)**



Fórmula	C ₁₀ H ₅ N ₃ O ₂
Peso Molecular	199 g/mol
Rendimiento (%)	41
Rf	0,42; Ciclohexano : Acetato de Etila (6:4)
PF (°C)	131-133

- **4-Amino-6-(3-nitrofenil)-2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (7a)**



Fórmula	C ₁₇ H ₁₁ N ₅ O ₂
Peso Molecular	317 g/mol
Rendimento (%)	37
Rf	0,37; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	209-210,5

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.58 (2H, d, H₂' e H₆'); δ 8.40 (4H, m, H₂'', H₄'', H₅'' e H₆''); δ 7.55 (1H, m, H₄'); δ 7.90 (2H, m, H₃' e H₅').

MS (m/z):

m/z (int. rel.) 317 (26,79%); 318 (97,24%); 319 (100%); 198 (45,12%).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

ν_{C=N} 1654

ν_{C≡N} 2227

ν_{NH₂} Simétrico 3320

ν_{NH₂} Assimétrico 3432

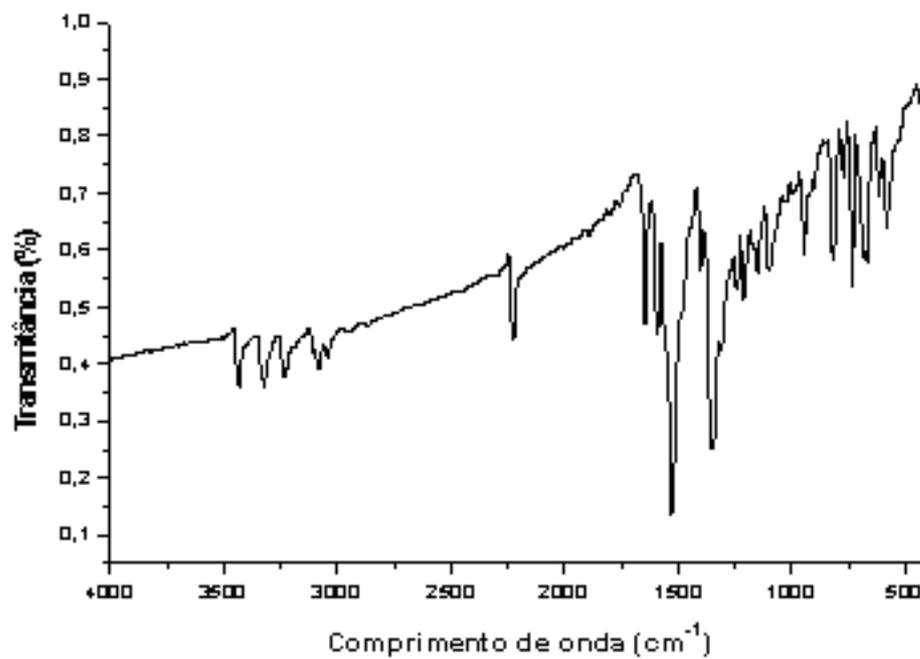
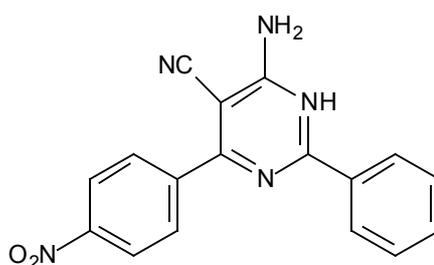


Figura 11 – Espectro de IV do composto 7a

- 4-Amino-6-(4-nitrofenil)- 2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (7b)

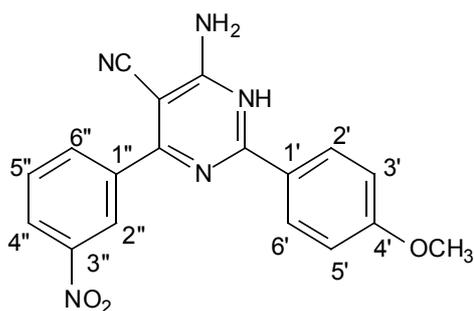


Fórmula



Peso Molecular	317 g/mol
Rendimento (%)	39
Rf	0,46; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	255-256

• **4-Amino-6-(3-nitrofenil)-2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (7c)**



Fórmula	$C_{18}H_{13}N_5O_3$
Peso Molecular	347 g/mol
Rendimento (%)	35
Rf	0,29; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	230-232

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.76 (1H, t, J=2,1 Hz, H_{2''}); δ 8.47 (1H, t, J=2,4 Hz, H_{4''}); δ 8.43 (1H, t, H_{6''}); δ 8.35 (2H, d, J=9,0 Hz, H_{2'} e H_{6'}); δ 7.9 (1H, t, J=8,1 Hz, H_{5''}); δ 7.09 (2H, d, J=9,0 Hz, H_{3'} e H_{5'}); δ 3.95 (3H, s).

IV (KBr) ν cm^{-1} :

$\nu_{\text{C}=\text{N}}$ 1646

$\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ 2210

ν_{NH_2} Simétrico 3354

ν_{NH_2} Assimétrico 3443

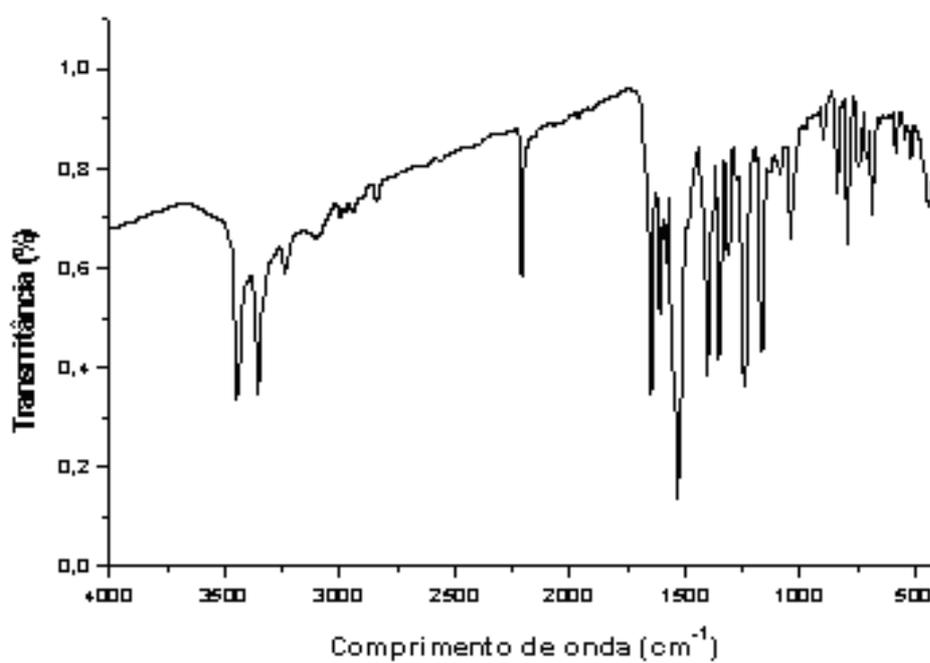
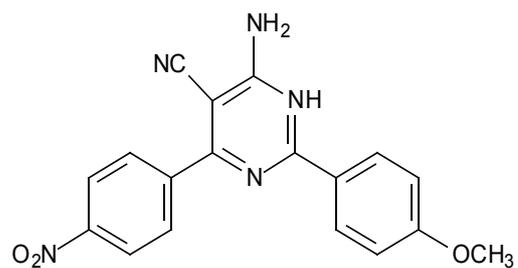


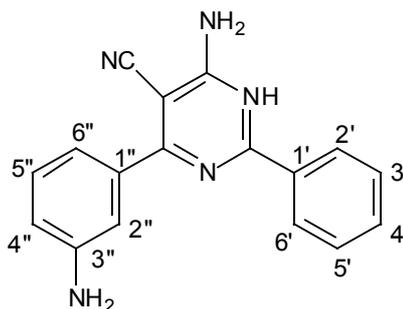
Figura 13 – Espectro de IV do composto 7c

- 4-Amino-6-(4-nitrofenil)-2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (7d)



Fórmula	$C_{18}H_{13}N_5O_3$
Peso Molecular	347 g/mol
Rendimento (%)	51
Rf	0,21; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	239-240,5

• **4-Amino-6-(3-amino-fenil)- 2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (8a)**



Fórmula	$C_{17}H_{13}N_5$
Peso Molecular	287 g/mol
Rendimento (%)	81
Rf	0,27; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	198-200

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.50 (2H, d, J=9,0 Hz, H_{2'} e H_{6'}); δ 7.84 (2H, H_{5''} e H_{6''}); δ 7.53 (3H, m, H_{3'}, H_{4'} e H_{5'}); δ 7.26 (2H, t, H_{2''} e H_{4''}); δ 5.98 (2H, NH₂, b).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

$\nu_{C=N}$ 1635

$\nu_{C\equiv N}$ 2221

VNH₂ Simétrico 3332

VNH₂ Assimétrico 3454

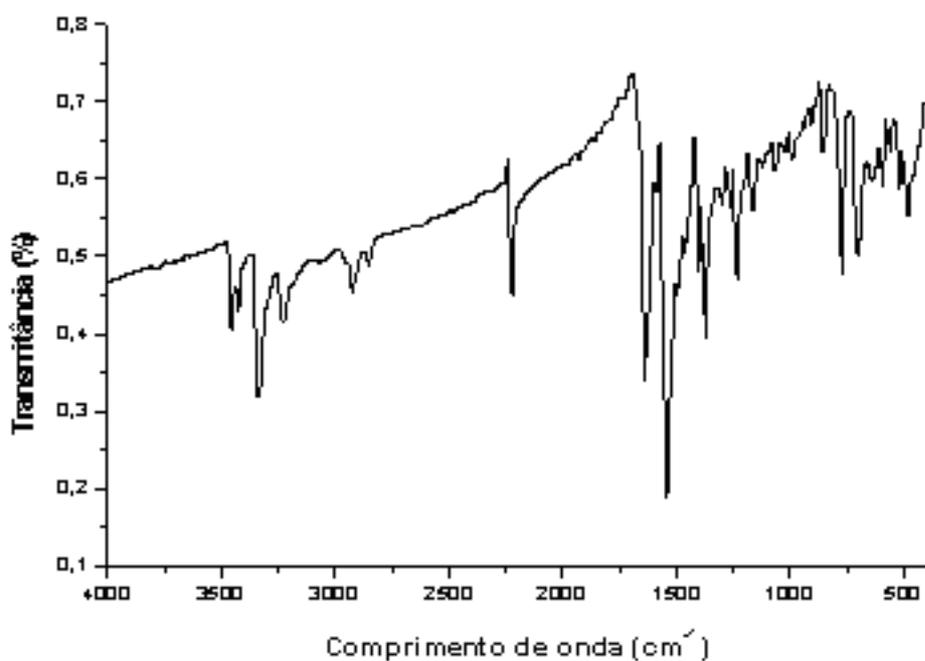
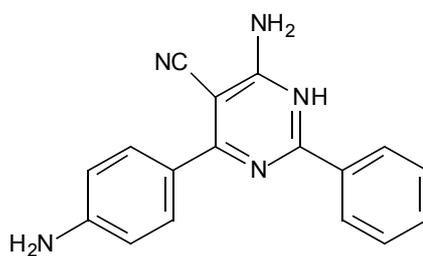


Figura 14 – Espectro de IV do composto 8a

- **4-Amino-6-(4-amino-fenil)- 2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (8b)**



Fórmula

C₁₇H₁₃N₅

Peso Molecular

287 g/mol

Rendimento (%)

84

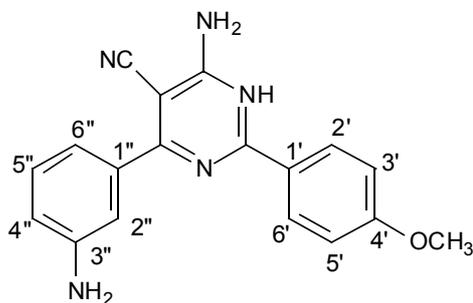
Rf

0,35; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)

PF (°C)

189-190

- 4-Amino-6-(3-amino-fenil)- 2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (8c)



Fórmula	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O
Peso Molecular	317 g/mol
Rendimento (%)	79
Rf	0,39; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	199-201

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.34 (2H, d, J=1,8 Hz, H₂' e H₆'); δ 7.87 (2H, H₅'' e H₆''); δ 7.08 (2H, d, H₃' e H₅'); δ 6.76 (2H, d, J=1,5Hz, H₂'' e H₄''); δ 5.38 (2H, NH₂, b); δ 3.83 (3H, s).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

ν_{C=N} 1635

ν_{C≡N} 2221

ν_{NH₂} Simétrico 3332

ν_{NH₂} Assimétrico 3454

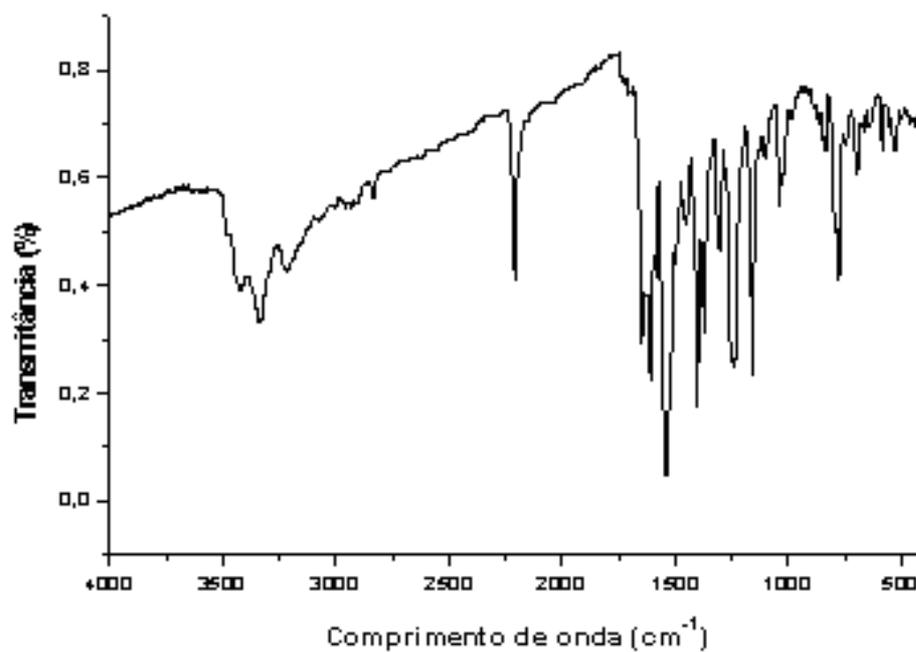
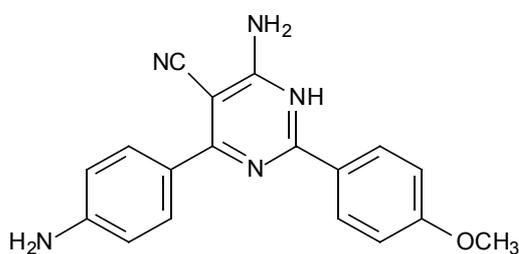


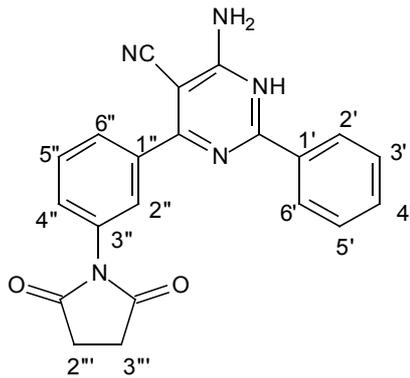
Figura 15 – Espectro de IV do composto 8c

- **4-Amino-6-(4-amino-fenil)- 2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (8d)**



Fórmula	$C_{18}H_{15}N_5O$
Peso Molecular	317 g/mol
Rendimento (%)	88
Rf	0,47; Ciclohexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C)	225-228

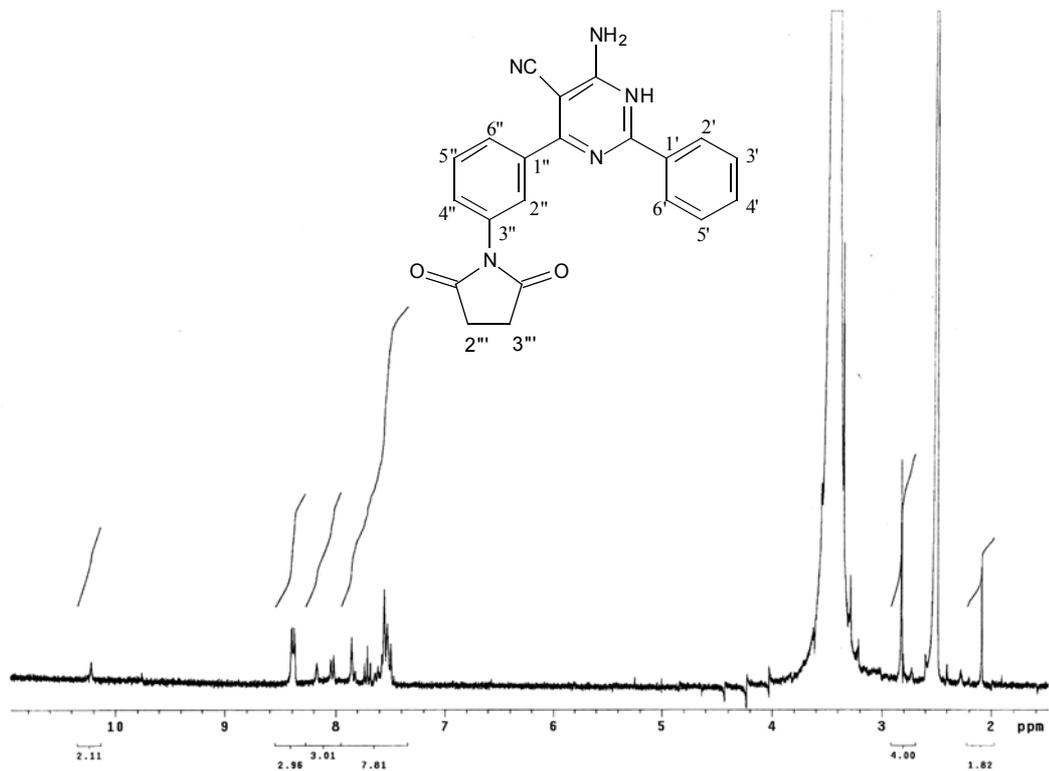
- **4-Amino-6-(3-succinimido-fenil)-2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (9a)**



Fórmula	$C_{21}H_{13}N_5O_2$
Peso Molecular	369 g/mol
Rendimento Bruto (%)	85
Rf	0,13; Ciclohexano : Acetato de Etila (6:4)
PF (°C)	221-223

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.39 (2H, d, J=7,5 Hz, H_{2'} e H_{6'}); δ 8.17 (1H, H_{2''}, s); δ 8.03 (1H, d, J=8,4 Hz, H_{4''}); δ 7.71 (1H, t, J=8.1 Hz, H_{5''}); δ 7.52 (4H, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'} e H_{6'}); δ 2.82 (4H, s, H_{2'''} e H_{3'''}).



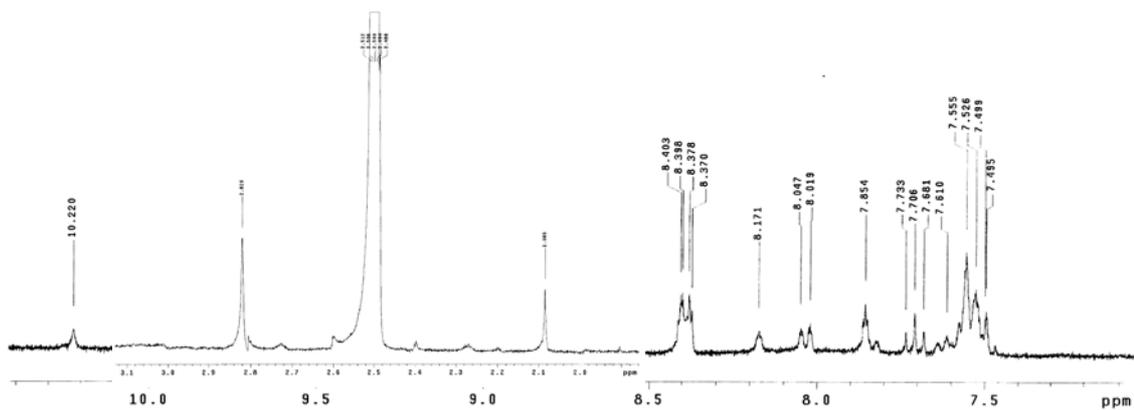


Figura 16 – Espectro de RMN-¹H do composto 9a e suas ampliações

MS (m/z):

m/z (int. rel.) 368 (38,73%); 339 (100%); 313 (22,88%); 210 (17,11%); 184 (14,29%).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

$\nu_{C=O}$ 1701

$\nu_{C=N}$ 1618

$\nu_{C\equiv N}$ 2204

ν_{NH_2} Simétrico 3332

ν_{NH_2} Assimétrico 3482

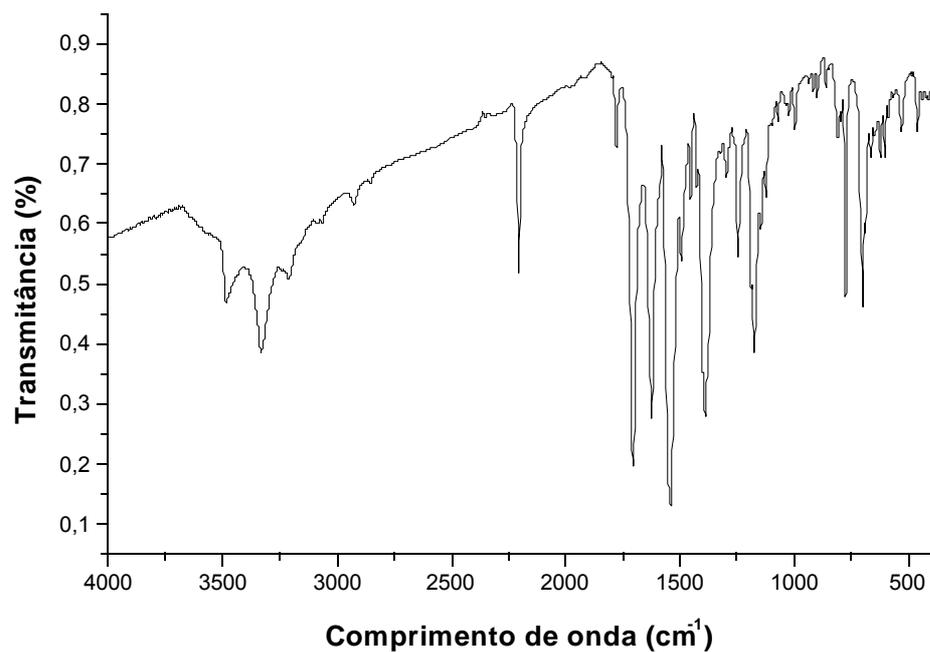
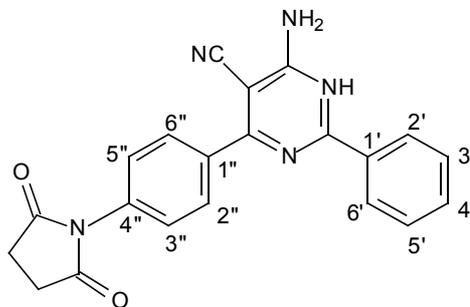


Figura 17 – Espectro de IV do composto 9a

• **4-Amino-6-(4-succinimido-fenil)-2-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (9b)**



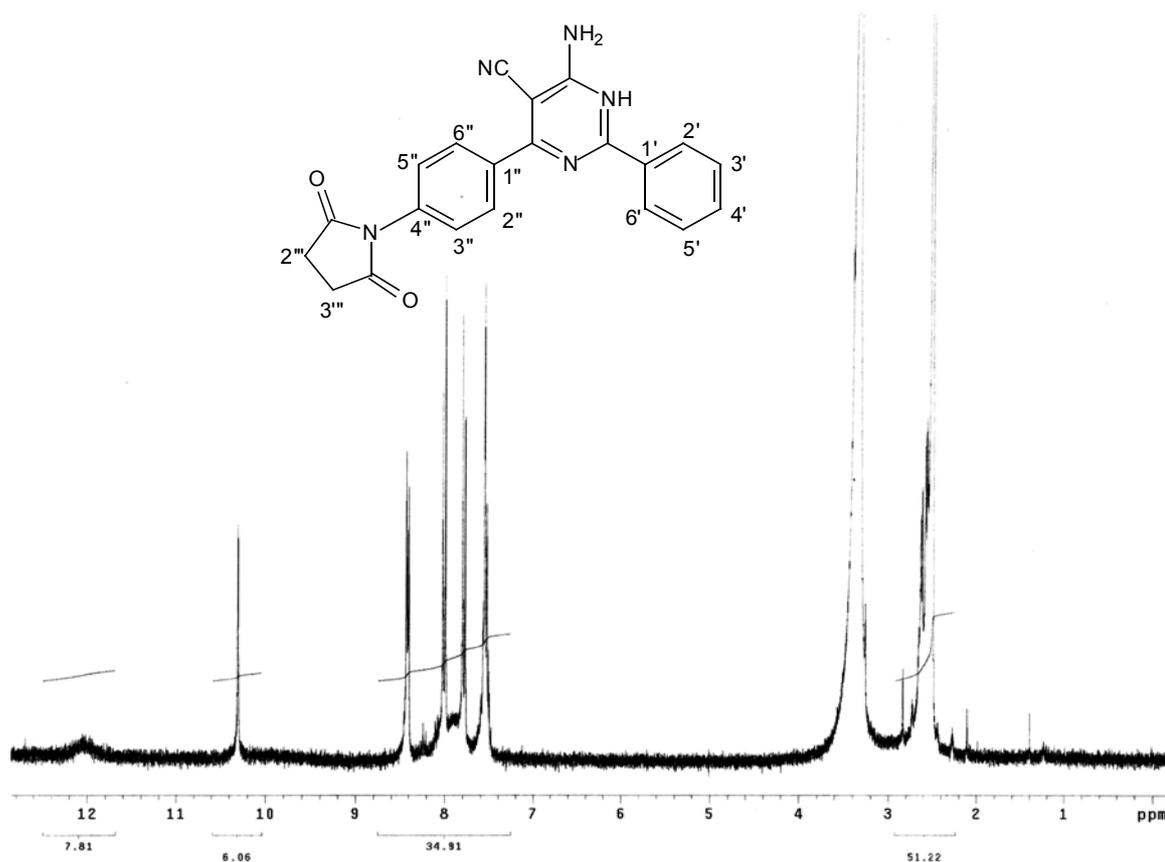
Fórmula	$C_{21}H_{13}N_5O_2$
Peso Molecular	369 g/mol
Rendimento Bruto (%)	73
Rf	0,12; Ciclohexano : Acetato de Etila (6:4)
PF (°C)	218-220

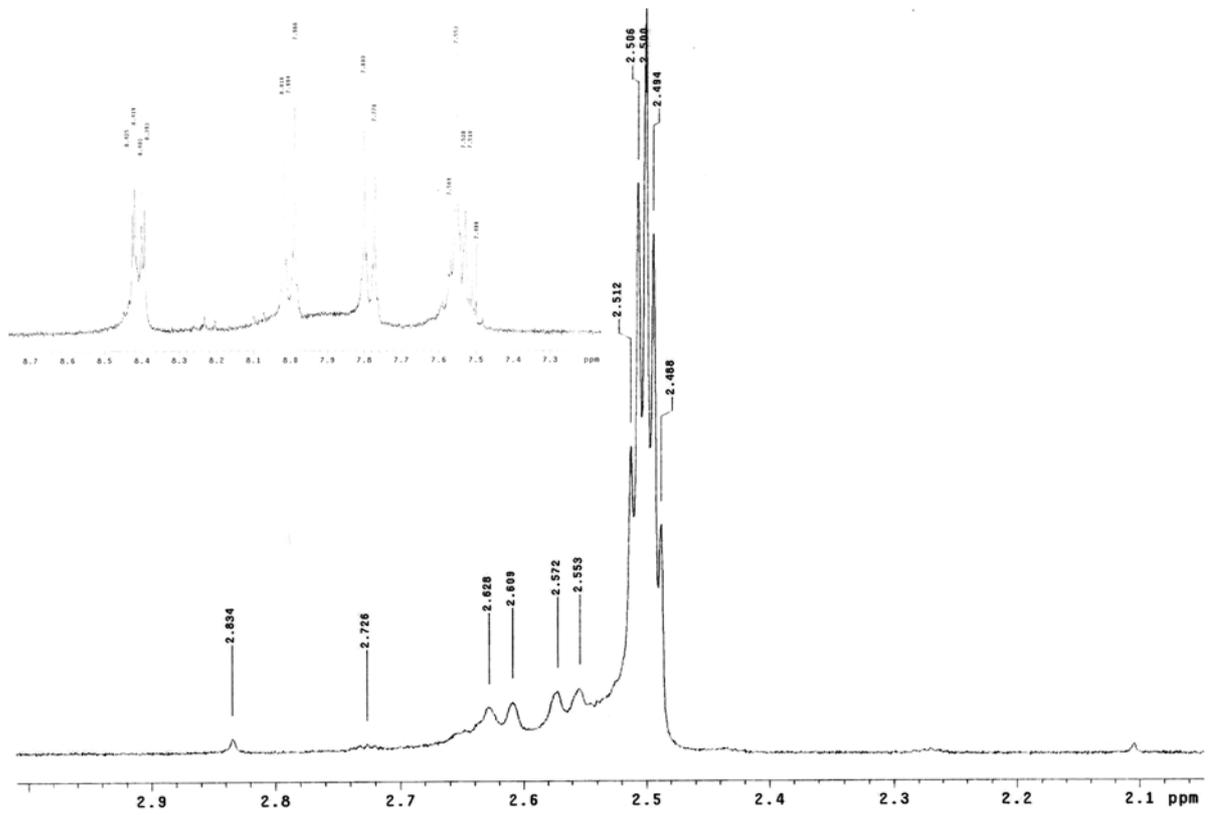
RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.40 (2H, d, $J=9,6$ Hz, $H_{2'}$ e $H_{6'}$); δ 8.00 (2H, d, $J=9,0$ Hz, $H_{3''}$ e $H_{5''}$); δ 7.78 (2H, d, $J=9,0$ Hz, $H_{2''}$ e $H_{6''}$); δ 7.53 (3H, m, $H_{3'}$, $H_{4'}$ e $H_{5'}$); δ 2.83 (4H, $H_{2''''}$ e $H_{3''''}$).

MS (m/z):

m/z (int. rel.) 287 (27,66%); 286 (100%); 184 (29,69%).





IV (KBr) ν cm^{-1} :

$\nu_{\text{C=O}}$ 1646

$\nu_{\text{C=N}}$ 1596

$\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ 2216

ν_{NH_2} Simétrico 3320

ν_{NH_2} Assimétrico 3422

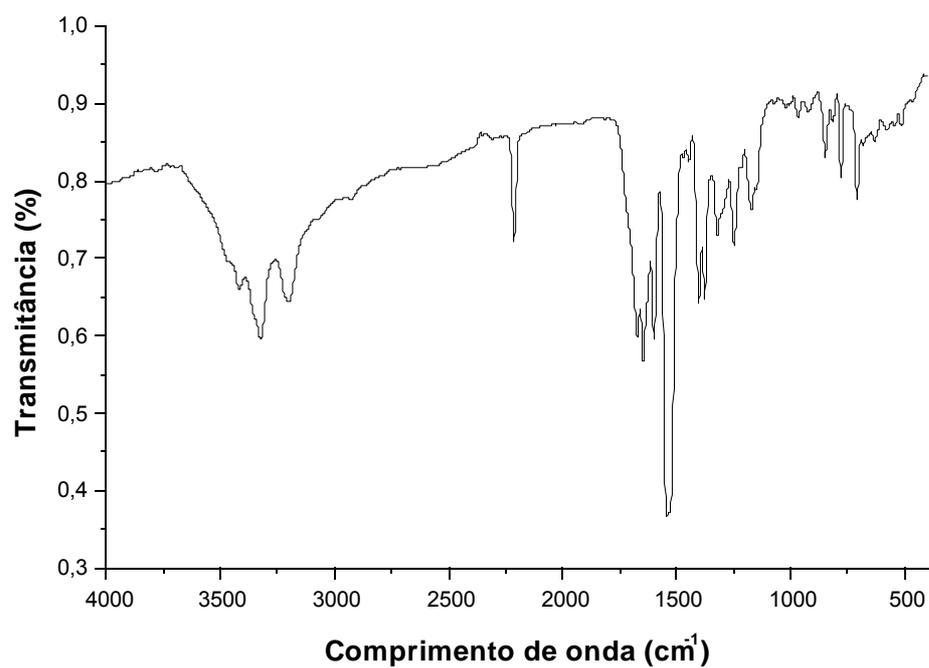
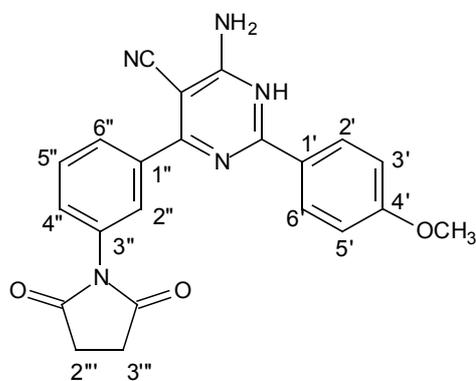
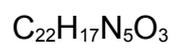


Figura 19 – Espectro de IV do composto 9b

- **4-Amino-6-(3-succinimido-fenil)-2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (9c)**



Fórmula



Peso Molecular	399
Rendimento Bruto (%)	88
Rf	0,15; Ciclohexano : Acetato de Etila (6:4)
PF (°C)	224-225

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.35 (2H, d, J=6,9 Hz, H₂' e H₆'); δ 8.16 (1H, H₂'', s); δ 8.01 (1H, d, J=7,2 Hz, H₄''); δ 7.70 (1H, t, J=7,8 Hz, H₅''); δ 7.5 (1H, d, J=7,2 Hz, H₆''); δ 7.08 (2H, d, J=8,7 Hz, H₃' e H₅'); δ 3.84 (3H, metílicos); δ 2.82 (4H, H₂''' e H₃''').

MS (m/z):

m/z (int. rel.) 398 (10,08%); 343 (64,66%); 317 (86,42%); 210 (38,58%); 184 (100%); 133 (15,34%).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

ν_{C=O} 1701

ν_{C=N} 1624

ν_{C≡N} 2204

ν_{NH₂} Simétrico 3354

ν_{NH₂} Assimétrico 3471

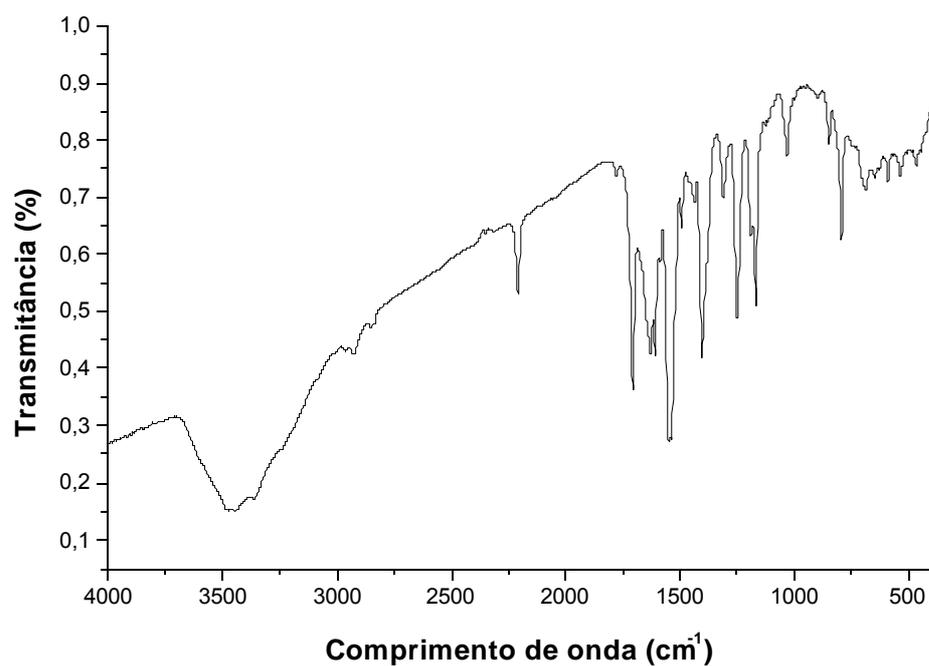
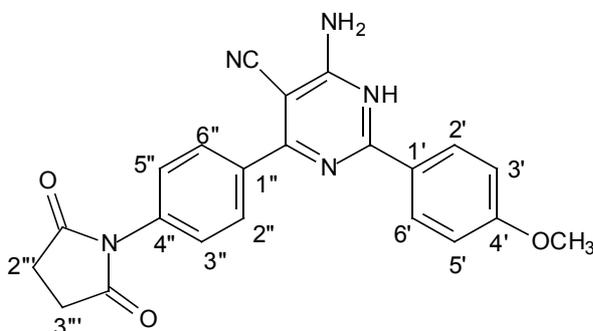


Figura 20 – Espectro de IV do composto 9c

- **4-Amino-6-(4-succinimido-fenil)-2-(4-metoxi-fenil)-pirimidina-5-carbonitrila (9d)**



Fórmula	$C_{22}H_{17}N_5O_3$
Peso Molecular	399
Rendimento Bruto (%)	79

Rf 0,25; n-Hexano : Acetato de Etila (8:2)
PF (°C) 230-231

RMN¹H (ppm, DMSO-d₆):

δ 8.38 (2H, d, J=9.0 Hz, H₂' e H₆'); δ 8.06 (2H, d, J=8.7 Hz, H₃'' e H₅''); δ 7.77 (2H; d, J=8.7 Hz, H₂'' e H₆'' da amida); δ 7.07 (2H, d, J=8.7 Hz, H₃' e H₄'); δ 3,84 (3H, metílicos); δ 2.82 (4H, H₂''' e H₃''').

MS (m/z):

m/z (int. rel.) 398 (16,76%); 317 (27,53%); 266 (35,30%); 238 (11,58%); 236 (40,91%); 210 (18,34%); 208(20,64%); 184 (100%); 133 (16,33%).

IV (KBr) ν cm⁻¹:

ν_{C=O} 1652

ν_{C=N} 1607

ν_{C≡N} 2210

ν_{NH₂} Simétrico 3354

ν_{NH₂} Assimétrico 3437

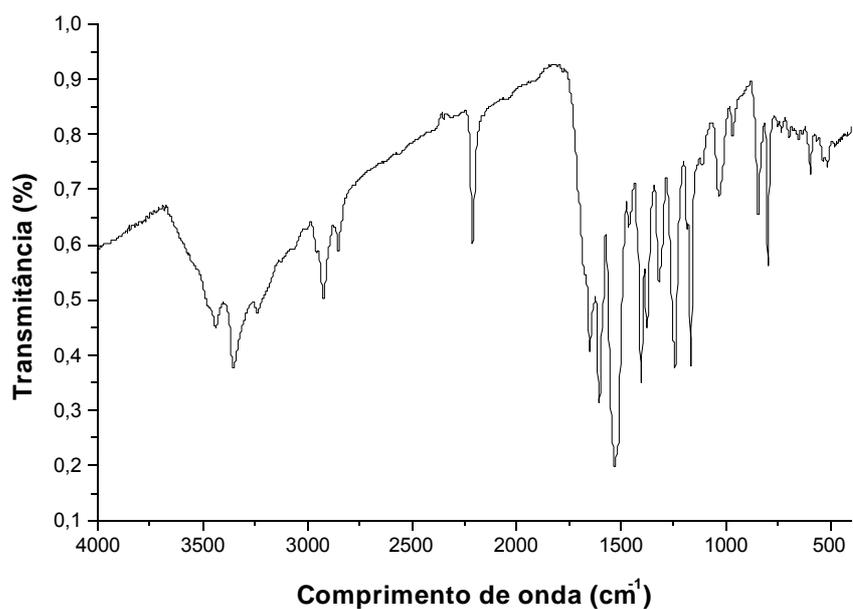


Figura 21 – Espectro de IV do composto 9d

5.3 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os dados literários por Kato e colaboradores (1970) referem que derivados pirimidínicos contendo substituintes nos carbonos 2 e 6 por radicais alquilas mostram que o íon **a** pode provir de um intermediário derivado do íon molecular **a** partir da ruptura das ligações (C-2 e N-3) e (C-6 e N-1).

Melo (1989), estudando uma série de pirimidinonas substituídas 2 e 6 por radicais arilas, igualmente relatam a ocorrência das rupturas destas ligações do anel da pirimidinona, que conduzem a formação do íon **a**.

Mais recentemente, Melo e colaboradores (2002) em uma outra série de pirimidinonas, descrevem igualmente as rupturas das ligações (C-2 e N-3) e (C-6 e N-1) dando origem ao íon **a**.

Nós temos estudado, na presente dissertação, as fragmentações de algumas pirimidinas contendo a função imida no radical aril do C-6. As fragmentações dos derivados **9a-d** estão descritas nos Esquemas 17 a 20. Descrevemos aqui as fragmentações do composto **9d**.

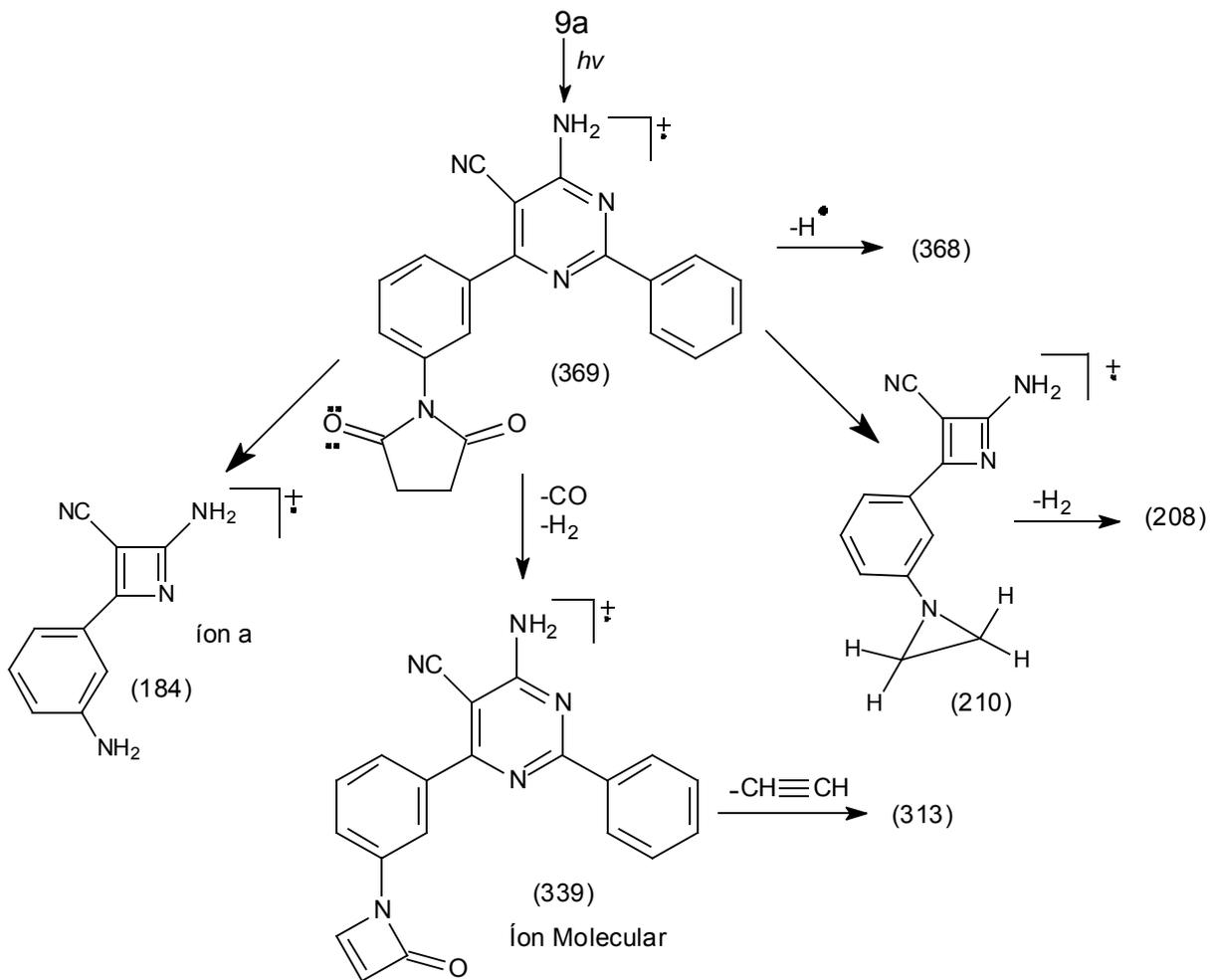
Como no esquema de Kato e colaboradores (1970), o íon molecular ($m/z=399$) dá origem à nitrila correspondente, a *p*-metoxibenzonitrila. Enquanto que conforme observado por Melo e colaboradores (2002), esta mesma fragmentação dá origem ao íon **a**, pico base. O íon $m/z=315$ pode ser formado a partir do íon molecular após fragmentação da função imida.

Ressaltamos que todos os derivados apresentaram o íon molecular correspondente, assim como este subtraído de uma unidade, em virtude da perda de um radical hidrogênio.

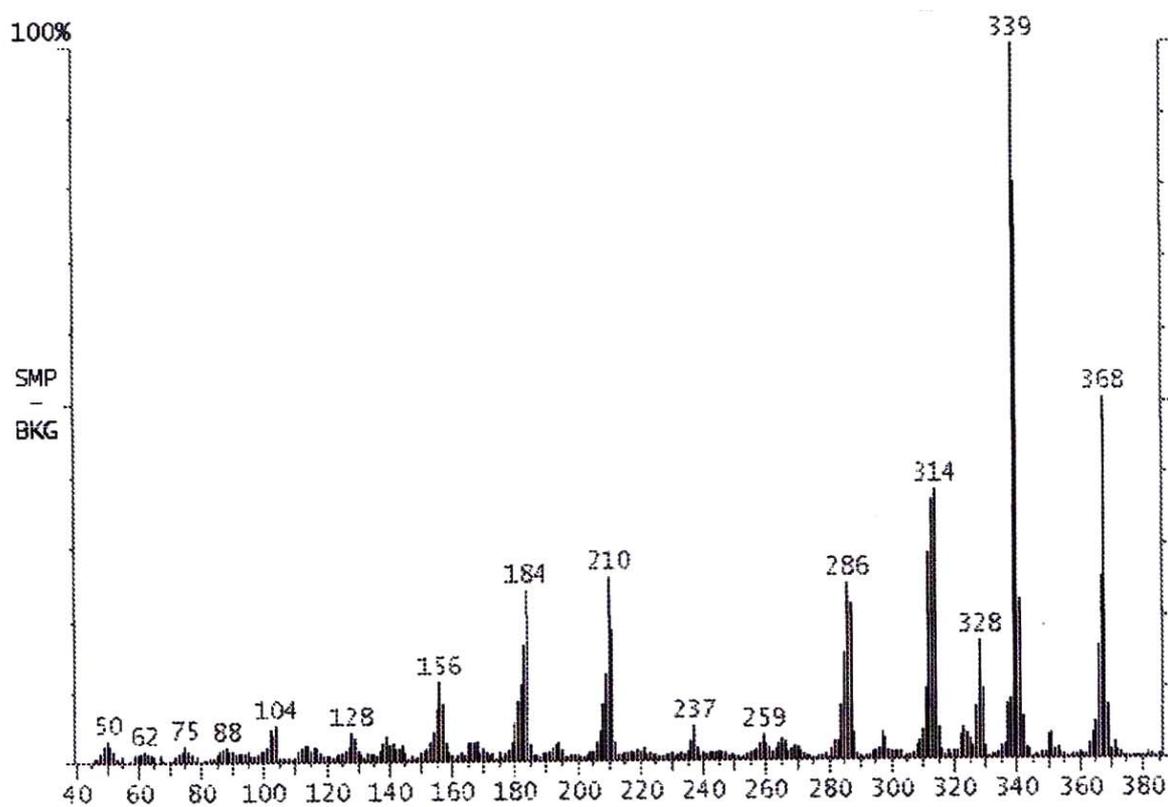
Em conclusão, as principais fragmentações das moléculas estudadas apresentam analogias com aquelas propostas por Kato e colaboradores (1970) e

por Melo e colaboradores (2002), enquanto que a fragmentação da porção imida resulta na formação de íons de intensidade considerável.

Principais Fragmentações do Composto 9a



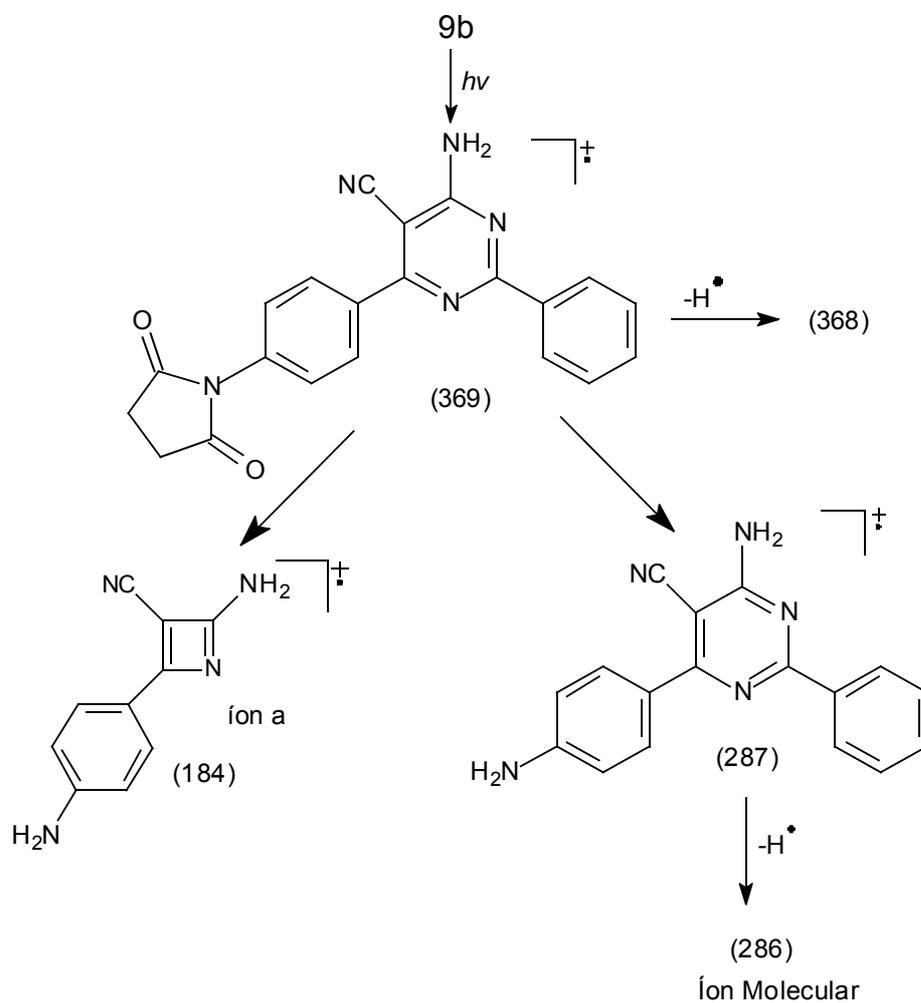
Esquema 17 – Fragmentação de massas proposta para o composto **9a**



Mass	Intensity	% Base	Mass	Intensity	% Base	Mass	Intensity	% Base
102	107,403	3.40	298	116,153	3.67			
103	120,143	3.80	309	102,953	3.25			
128	132,539	4.19	311	284,495	8.99			
153	98,796	3.12	312	683,495	21.61			
154	100,335	3.17	313	723,614	22.88			
155	167,347	5.29	314	778,565	24.61			
156	247,483	7.82	315	110,707	3.50			
157	186,317	5.89	322	115,096	3.64			
180	123,379	3.90	327	250,599	7.92			
181	204,591	6.47	328	298,080	9.42			
182	250,361	7.91	329	152,650	4.83			
183	418,813	13.24	337	105,017	3.32			
184	451,955	14.29	338	353,736	11.18			
208	181,243	5.73	339	3,163,249	100.00			
209	208,675	6.60	341	1,401,732	44.31			
210	541,196	17.11	364	96,285	3.04			
211	512,219	16.19	365	113,084	3.57			
237	110,990	3.51	366	282,957	8.95			
266	95,059	3.01	367	430,004	13.59			
283	117,931	3.73	368	1,225,084	38.73			
284	175,516	5.55	369	148,782	4.70			
285	239,514	7.57						
286	540,878	17.10						
287	432,675	13.68						
297	111,728	3.53						

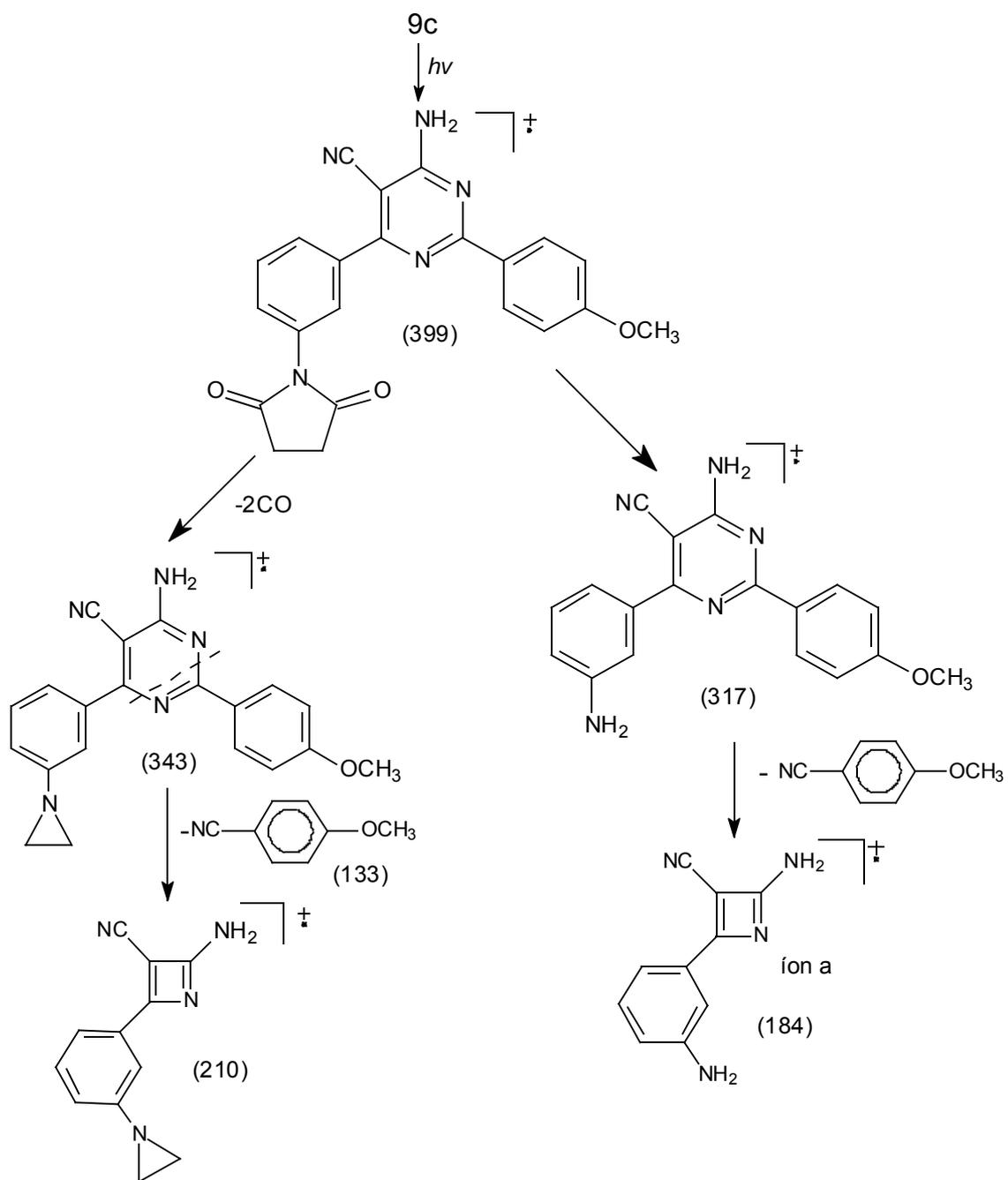
Figura 22 – Espectro de massa do composto 9a

Principais Fragmentações do Composto 9b

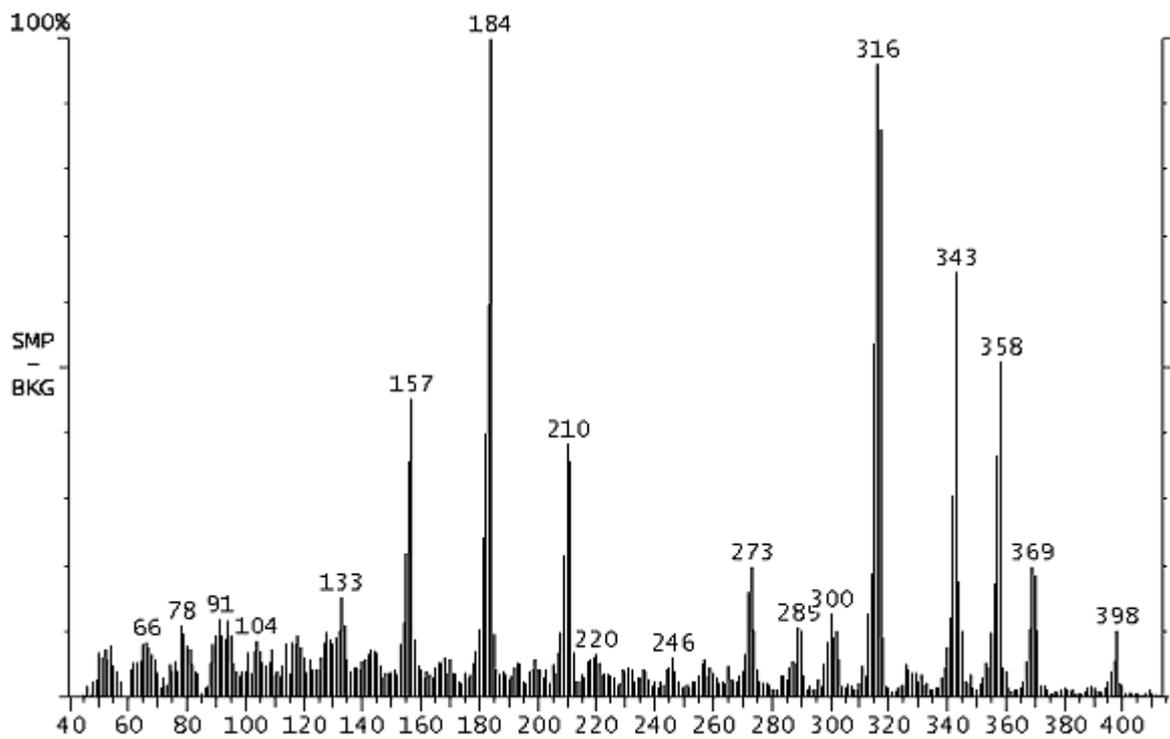


Esquema 18 – Fragmentação de massas proposta para o composto **9b**

Principais Fragmentações do Composto 9c



Esquema 19 – Fragmentação de massas proposta para o composto 9c



Mass	Intensity	% Base	Mass	Intensity	% Base	Mass	Intensity	% Base
78	83,309	10.81	313	98,131	12.73			
91	92,168	11.96	314	144,391	18.73			
94	90,056	11.68	315	415,016	53.84			
132	78,682	10.21	316	743,153	96.42			
133	118,217	15.34	317	666,093	86.42			
134	83,571	10.84	341	94,200	12.22			
154	87,580	11.36	342	234,782	30.46			
155	169,415	21.98	343	498,391	64.66			
156	277,763	36.04	344	135,019	17.52			
157	349,647	45.36	345	77,443	10.05			
180	80,014	10.38	356	133,398	17.31			
181	185,796	24.11	357	282,494	36.65			
182	307,896	39.95	358	393,920	51.11			
183	460,260	59.71	368	79,842	10.36			
184	770,767	100.00	369	152,849	19.83			
209	166,728	21.63	370	141,950	18.42			
210	297,352	38.58	371	77,158	10.01			
211	277,614	36.02	398	77,696	10.08			
272	122,708	15.92						
273	151,846	19.70						
274	78,336	10.16						
289	82,597	10.72						
290	77,821	10.10						
300	97,430	12.64						
302	78,043	10.13						

Figura 23 – Espectro de massa do composto 9c

Principais Fragmentações do Composto 9d

5.4.1 – Método de Difusão em Meio Sólido

As amostras de *S. aureus* (PASM 18260), *S. aureus* (DAUFPE 02), *E. coli* (DAUFPE 224), e *C. albicans* (DAUFPE 1007) mostraram-se resistente a todas as substâncias testadas.

Os compostos **8a-c**, **9a** e **9c** apresentaram apenas uma pequena inibição, sem muita significância, frente a *K. pneumoniae* (DAUFPE 396) e os compostos **9a** e **9c** apresentaram uma pequena inibição frente a *Pseudonocardia termophila* (DAUFPE 3517).

Os compostos **8d**, **9b** e **9d** não apresentaram inibição frente a *K. pneumoniae* (DAUFPE 396) e *Pseudonocardia termophila* (DAUFPE 3517).

5.4.2 –Concentração Mínima Inibitória

Todas as substâncias mostraram-se ativas frente às bactérias *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* e os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Substância	Concentração Mínima Inibitória (µg/mL)			
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
8a	250	<125	<125	<125
8b	500	250	<125	<125
8c	250	250	250	<125
8d	500	<125	250	<125
9a	250	<125	<125	<125
9b	250	<125	250	<125
9c	250	<125	250	<125
9d	250	<125	250	<125

A bactéria *Klebsiella pneumoniae* (DAUFPE 396) mostrou-se resistente à concentração de 125µg/ml frente a todas as substâncias testadas e na concentração de 250 µg/ml para as substâncias **8b** e **8d**. Mostrou-se sensível na concentração de 500µg/ml para todas as substâncias e na concentração de 250µg/ml para **8a**, **8c**, **9a-d** (Figuras 24 e 25).

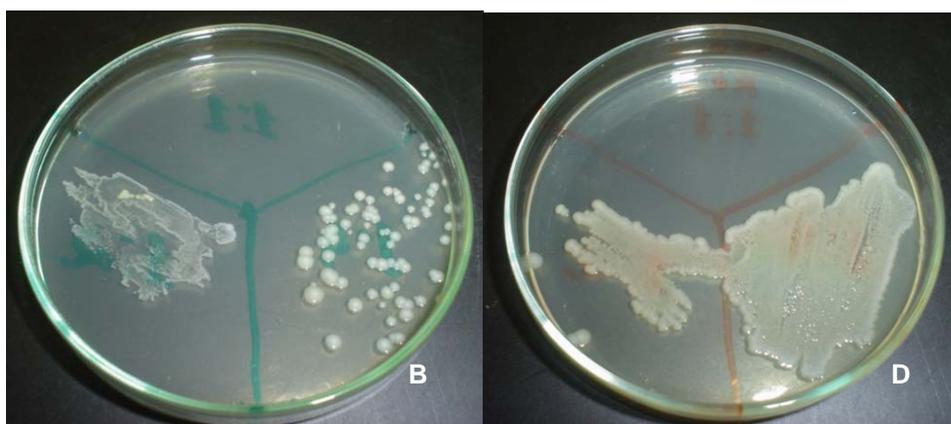


Figura 24 – Confirmação da CMI das amostras **8b** e **8d** frente à *K. pneumoniae*

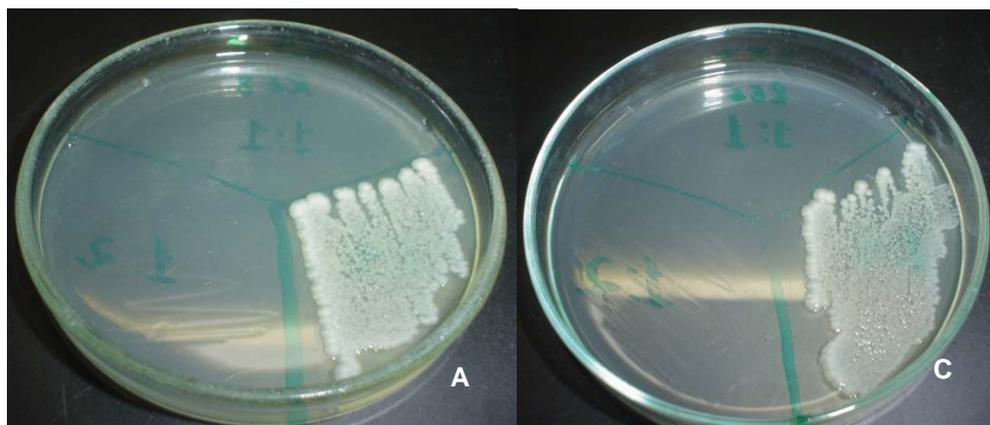


Figura 25 – Confirmação da CMI das amostras **9a** e **9c** frente à *K. pneumoniae*

Chandrasekaran e Nagarajan (2005) inserindo os grupos 2-Amino e tienil demonstraram aumento da atividade dos derivados pirimidínicos frente a *K. pneumoniae* nas concentrações de 24 μ g/ml para o composto **5b** e de >60 μ g/ml para **5a**, **5c-e**. Entretanto, Agarwal e colaboradores (2002) mostraram atividade de 4-cloropirimidinas frente a *K. pneumoniae* em concentrações maiores que 100 μ g/ml, exceto para o composto **3g** que se mostrou ativo na concentração de 50 μ g/ml.

Staphylococcus aureus (DAUFPE 02) foi resistente aos compostos **8b** e **8c** na concentração de 125 μ g/ml, sendo sensível na concentração de 250 μ g/ml. Para as demais substâncias (**8a**, **8d**, **9a-d**), a bactéria mostrou-se sensível em todas as concentrações testadas. Esses resultados corroboram com os de Bekhit e colaboradores (2003) que apresentaram atividade antimicrobiana dos derivados pirimidínicos frente a *S. aureus* nas concentrações acima de 200 μ g/ml para a maioria das substâncias testadas.

Escherichia coli (DAUFPE 224) mostrou-se sensível ao composto **8a**, **8b** e **9a** e resistente aos compostos **8c** e **8d** e **9b-d** na concentração de 125µg/ml. Nas demais concentrações (250µg/ml e 500µg/ml) a *E. coli* apresentou sensibilidade frente a todas as substâncias testadas (Figuras 26 e 27).

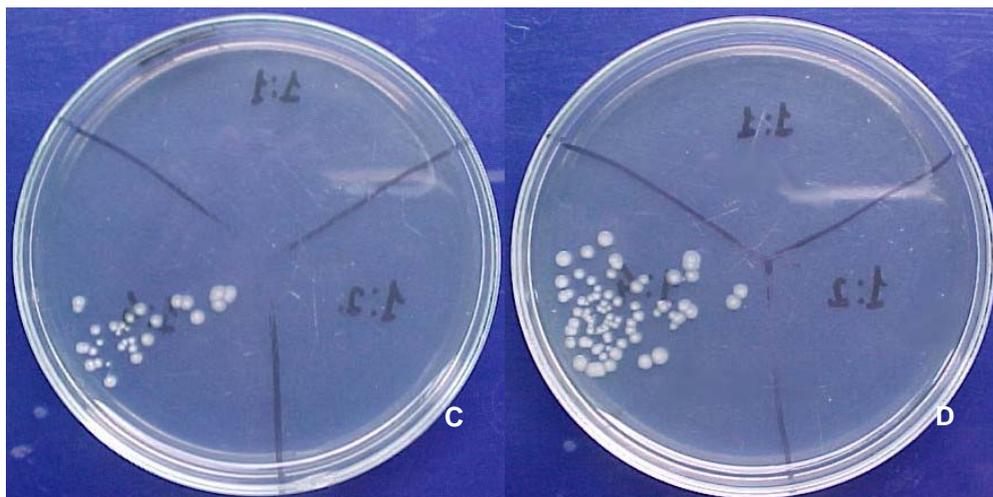


Figura 26 – Confirmação da CMI das amostras **8c** e **8d** frente à *E. coli*

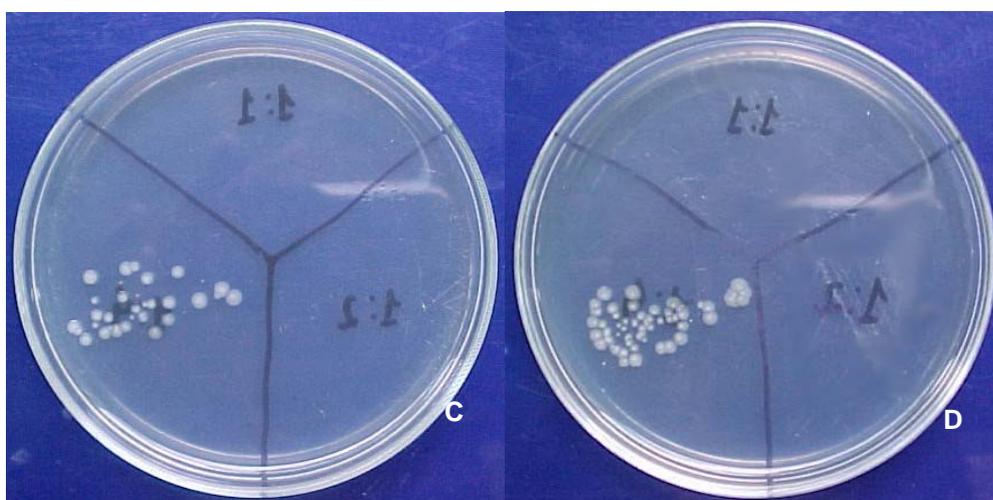
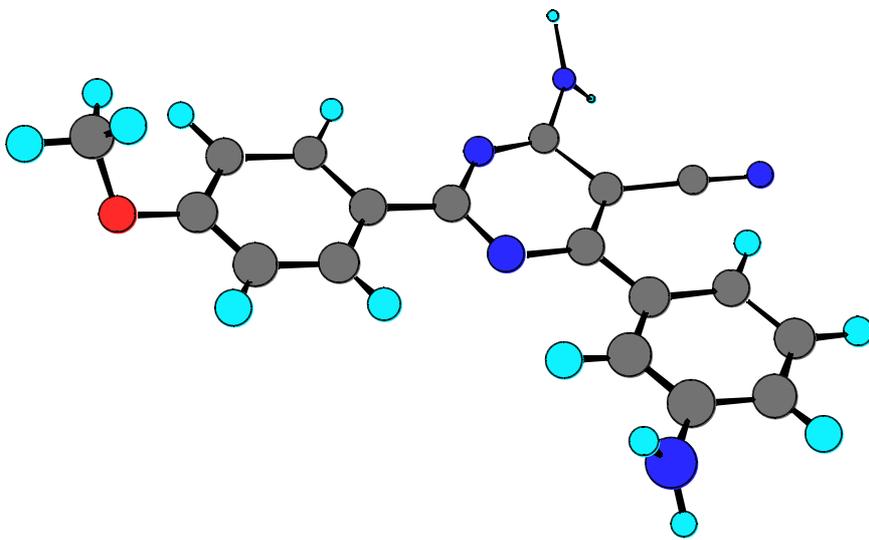
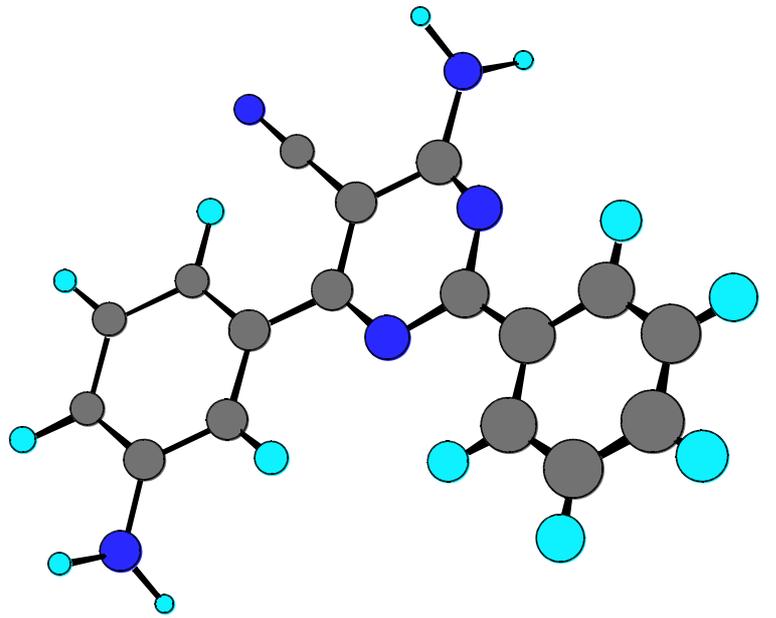


Figura 27 – Confirmação da CMI das amostras **9c** e **9d** frente à *E. coli*

O trabalho realizado por Baraldi e colaboradores (2002) demonstrou que os derivados pirimidínicos apresentaram atividade antimicrobiana frente a *E. coli* na concentração acima de 100µg/ml.

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (DAUFPE 416) foi sensível a todos os compostos testados (**8a-d** e **9a-d**) em todas as concentrações (125µg/ml, 250µg/ml e 500µg/ml).

A série de compostos 2-Amino-6-aryl-4-(2-tienil) pirimidínicos demonstraram atividade frente a *P. aeruginosa* nas concentrações de 42µg/ml para o composto **5b** e de >60µg/ml para **5a**, **5c-e** (Chandrasekaran e Nagarajan, 2005).



CONCLUSÕES

0. CONCLUSÕES

Foram obtidos quatro novos derivados 4-amino-2-aryl-5-ciano-6-{3 e 4-(N-succinimidofenil)}pirimidina (**9a-d**). Inicialmente obtiveram-se as pirimidinas adequadamente substituídas com o grupo nitro (**7a-d**), a partir da reação de condensação de nitrobenzamidinas e bisnitrilas. Em seguida, as nitropirimidinas foram reduzidas às correspondentes aminopirimidinas (**8a-d**), utilizando Pd como catalizador. Por fim, estas foram submetidas à ação do anidrido succínico. Além dos novos derivados (**9a-d**), quatro intermediários pirimidínicos ainda não foram relatados na literatura ao nosso conhecimento. Tais compostos apresentaram bons rendimentos e facilidade sintética, porém são pouco solúveis nos solventes usualmente utilizados em laboratório.

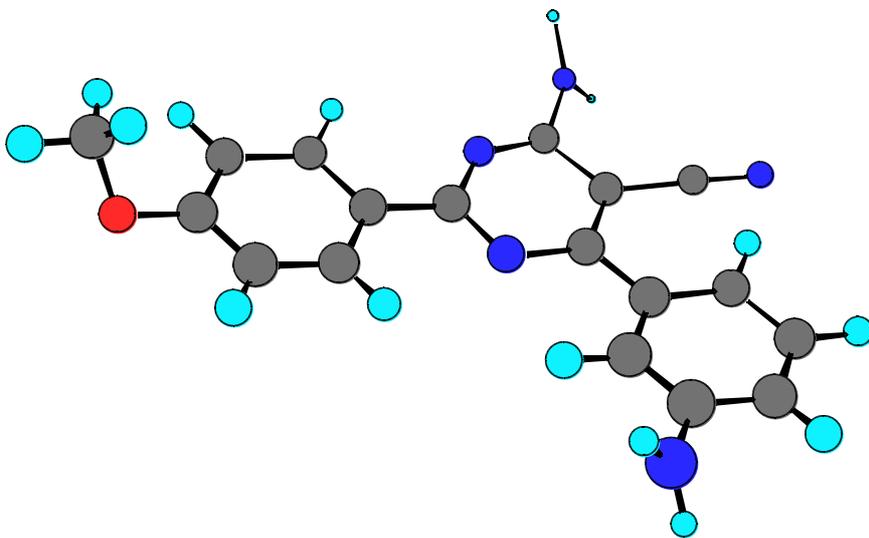
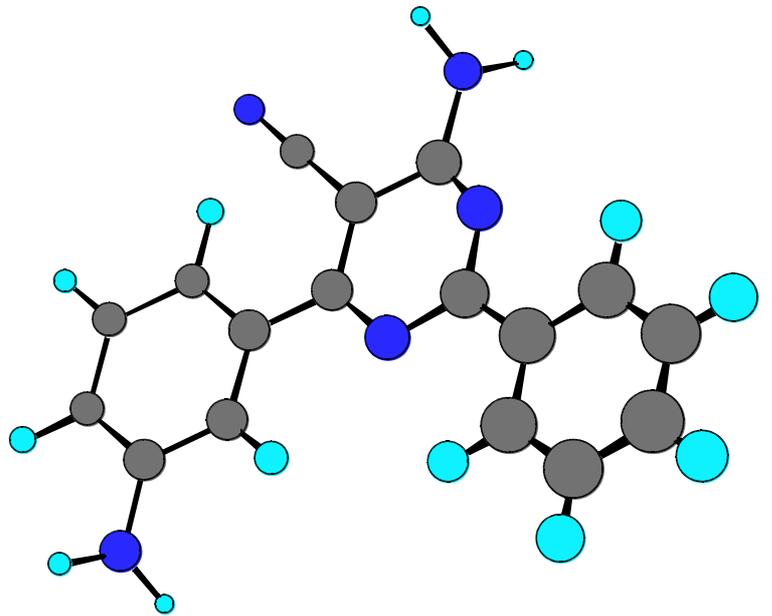
A estrutura química dos novos compostos sintetizados foi elucidada através dos métodos convencionais de espectrometria de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectroscopia de massas.

Os derivados (**9a-d**) e as 4-amino-pirimidinas (**8a-d**) foram submetidos aos ensaios de atividade antimicrobiana pelo método de difusão em meio sólido, frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e levedura. Grande parte dos compostos não apresentou atividade contra os microorganismos testados, com exceção de **8a-c**, **9a** e **9c**, que mostraram uma pequena inibição frente a *K. pneumoniae*, e dos compostos **9a** e **9c** que também apresentaram uma pequena inibição frente a *Pseudonocardia thermophila*. O método de difusão em meio sólido, neste caso, não foi eficaz, devido a problemas de solubilidade dos compostos e de difusão destes no meio sólido. Desta forma, os compostos foram submetidos ao teste de

macrodiluição, onde se apresentaram ativos frente às bactérias *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

A bactéria *Klebsiella pneumoniae* mostrou-se sensível na concentração de 250 µg/ml, exceto para as substâncias **8b** e **8d**, que só apresentou sensibilidade na concentração de 500µg/ml. *Staphylococcus aureus* foi sensível ao composto **8b** e **8c** na concentração de 250 µg/ml, para os outros compostos, apresentou sensibilidade na concentração de 125 µg/ml. Na concentração de 125 µg/ml, a *Escherichia coli* foi sensível ao composto **8a**, **8b** e **9a**, e resistente aos compostos **8c-d** e **9b-d**. Estes compostos apresentaram sensibilidade na concentração de 250 µg/ml. A bactéria *Pseudomonas aeruginosas* foi sensível a todos os compostos (**8a-d** e **9a-d**), na concentração de 125 µg/ml.

Baseado no foi exposto, conclui-se que os novos derivados pirimidínicos ligados a uma porção imida, bem como os seus intermediários 4-(aminofenil) pirimidínicos apresentam atividade antimicrobiana, impulsionando assim a síntese de novos análogos destes compostos.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, A.; CHAUHAN, P. M. S. – Solid supported synthesis of structurally diverse dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidines using microwave irradiation. *Tetrahedron Letters*, **46(8)**: 1345-1348, 2005;

AGARWAL, A.; KUMAR, B.; MCHROTRA, P. K.; CHAUHAN, P. M. S. – 2,4,6-Trisubstituted pyrimidine derivatives as pregnancy interceptive agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13(6)**: 1893-1899, 2005;

AGARWAL, N.; SRIVASTAVA, P.; RAGHUWANSHI, S. K.; UPADHYAY, D.N.; SINHA, SUDHIR.; SHUKLAB, P.K.; RAM, V. J. – Chloropyrimidines as a New Class of Antimicrobial Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **10**, 869–874, 2002;

ALI, A.; ASTER, S. D.; GRAHAM, D. W.; PATEL, G. F.; TAYLOR, G. E.; TOLMAN, R. L.; PAINTER, R. E.; SILVER, L. L.; YOUNG, K.; ELLSWORTH, K.; GEISSLERC, W.; HARRIS, G. S. – Design and synthesis of novel antibacterial agents with inhibitory activity against DNA polymerase III. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **11**, 2185–2188, 2001;

BADDILEY, J.; LYTHOGOE, B.; TODD, A. R. – Experiments on the Synthesis of Purine Nucleosides. Part II. A New and Convenient Synthesis of Adenine. *Journal of Chemical Society*, 386-387, 1943;

BAHEKAR, S. S.; SHINDE, D. B. – Synthesis and anti-inflammatory activity of some [4,6-(4-substituted aryl)-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidi-5-yl]-acetic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**: 1733-1736, 2004;

BAINDUR, N.; CHADHA, N.; PLAYER, M. R. – Solution-phase synthesis of a library of 3, 5, 7-trisubstituted 3*H*-[1, 2, 3]triazolo[4, 5-*d*]pyrimidines. *Journal of Combinatorial Chemistry*, **5**: 653-659, 2003;

BARALDI, P. G.; PAVANI, M. G.; NUÑEZ, M. C.; BRIGIDI, P.; VITALI, B.; GAMBARIC, R.; ROMAGNOLIA, R. – Antimicrobial and antitumor activity of *N*-heteroimine-1,2,3-dithiazoles and their transformation in triazolo-, imidazo-, and pyrazolopyrimidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **10**, 449–456, 2002;

BARREIRO, E. J. e FRAGA, C. A. M. – *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. Porto Alegre, Editora ArtMed, 2001;

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. – Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Path.*, **45(4)**, 493-496, 1966;

BEKHIT, A. A.; FAHMY, H. T. Y.; ROSTOM, S. A. F.; BARAKA, A. M. – Design and synthesis of some substituted 1*H*-pyrazolyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidines as anti-inflammatory – antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **38**, 27-36, 2003;

BROWN, D. J. Pyrimidines and their Benzo Derivatives, A. R. Katritzky and C. W. Rees, Eds., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry, The structure, Reactions, Synthesis and uses of Heterocyclic Compounds*. Pergamon Press, Oxford, **3**, pp. 57-155, 1984;

BROWN, D.J. & MASON, S.F. – Edit., *The Pyrimidines*, Interscience Publishers, New York, pp.31-115, 1962;

BRUNO, O.; BRULLO, C.; SCHENONE, S.; RANISE, A.; BONDAVALLI, F.; BAROCELLI, E.; TOGNOLINI, M.; MAGNANINI, F.; BALLABENI, V. – Progress in 5H[1]benzopyrano[4,3-d] pyrimidin-5-amine series: 2-methoxy derivatives effective as antiplatelet agents with analgesic activity. *Il Farmaco*, **57**, 753-758, 2002;

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. – *Advanced Organic Chemistry. Structure and Mechanisms*. 3th ed. Plenum Publishing Corporation, 1990;

CECCHETTI, V.; DOMINICI, S.; FRAVOLIN, A.; SCHIAFFELA, F. – Synthesis and Antibacterial Evaluation of 1,4-Thiazinoquinoline-carboxylic Acids. *European Journal Medicinal Chemistry*, v.19, p.29-35, 1984;

CESAR, J. – Solid-phase synthesis of structurally diverse 2-alkyl and 2-aryl-pyrimidines from support-bound amidines. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 2005;

CHANDRASEKARAN, S.; NAGARAJAN S. – Microwave-assisted synthesis and antibacterial activity of some 2-Amino-6-aryl-4-(2-thienyl)pyrimidines. *Il Farmaco*, **60**, 279–282, 2005;

CHAUHAN, P. M. S.; MARTINS, C. J. A.; HORWELL, D. C. – Syntheses of novel heterocycles as anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13(10)**: 3513-3518, 2005;

CHONG, Y.; CHOO, H.; CHOI, Y.; MATHEW, J.; SCHINAZI, R. F.; CHU, C. K. – Stereoselective synthesis and antiviral activity of D-2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides. *Journal of Medicinal Chemistry*. **45**, 4888-4898, 2002;

CHOO, H.; CHONG, Y.; MATHEW, J.; SCHINAZI, R. F.; CHU, C. K. – Synthesis, anti-HIV activity and molecular mechanism of drug resistance of L-2',3'-didehydro-2'-fluoro-4'-thionucleosides. *Journal of Medicinal Chemistry*. **46**, 389-398, 2003;

COCCO, M. T.; CONGIU, C.; ONNIS, V.; PIRAS, R. – Synthesis and antitumor evaluation of 6-thioxo-, 6-oxo- and 2,4-dioxypyrimidine derivatives. *Il Farmaco*, **56**, 741–748, 2001;

COMPTON, D. R.; CARLSON, K. E.; KATZENELLENBOGEN, J. A. – Pyrazolo[1,5- α]pyrimidines as estrogen receptor ligands: defining the orientation of a novel heterocyclic core. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**: 5681-5684, 2004;

DE ANGELIS, M.; KATZENELLENBOGEN, J. A. – Ring nitrogen-substituted non-steroidal estrogens: pyridine and pyrimidine analogs of the phenol in deoxyhexestrol experience resonance constrains on preferred ligand conformation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**: 5835-5839, 2004;

EL-BROLLOS, N. R.; JORGENSEN, P. T.; DAHAN, B.; BOEL, A. M.; PEDERSEN, E. B.; NIELSEN, C. – Sintesis of Novel N-1 (Allyloxymethyl) analogues of 6-benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (MKC-442, Emevirine) with Improved Activity Against HIV-1 and its mutants. *Journal of Medicinal Chemistry*. **45**, 5721-5726, 2002;

ELOTMANI, B.; EL MAHI, M.; ESSASSI, E. – Synthèse de nouvelles 7 (5)-[benzimidazol-2-yl] méthyl-2 (7)-méthil-1, 2, 4-triazolo [1, 5-a] ([4, 3-a])pyrimidines. *C. R. Chimie*, **5**: 517-523, 2002;

FALCÃO, E. P. S. –Novas pirimidinas: Síntese e Avaliação de suas Propriedades Farmacológicas, Tese de Doutorado em Ciências Biológicas – UFPE – Recife-PE, 2003;

FELCZAK, K.; DRABIKOWSKA, A. K.; VILPO, J. A.; KULIKOWSKI, T.; SHUGAR, D. – 6-Substituted and 5,6-Dissubstituted derivatives of uridine: stereoselective, synthesis, interaction with uridine phosphorylase, and *in vitro* antitumor activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **39**; 1720-1728, 1996;

GADAD, S. G.; ANEGUNDI, R. I.; PATTAN, S. R.; MAHAJANSHETTI, C. S.; SHISHOO, C. J. – Synthesis and Antihyperlipidemic Activity of some 2-aminomethyl-

3-aryl-5,6,7,8-tetrahydrobenzo (b) 5,6-dimethylthieno (2,3-d)-pyrimidin-4-ones.

Arzneim **46** (10): 981-985, 1996;

GANGJEE, A.; LIN, X.; QUEENER, S. – Design, synthesis, and biological evaluation of 2,4-diamino-5-methyl-6-substituted-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines as dihydrofolate reductase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **47**:3689-3692, 2004;

GILCHRIST, T. L. – Heterocyclic chemistry. *Longman Scientific & Technical*, 2th ed.7, pp 249-276, 1992;

GUARDA, V. L. M.; PERRISSIN, M.; THOMASSON, F.; XIMENES, E. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. – Synthesis and Microbiological Activity of some 2*H*-1,4-Benzothiazin-3-one Derivatives. *Heterocycl. Commun*, v.6, p.49-54, 2000;

GUÉRÉMY, C.; AUDIAN, F.; RENAULT, C.; BENAVIDES, J.; UZAN, A.; LE FUR, G. – 4-Amino-6-chloro-2-piperazinopyrimidines with selective affinity for α_2 -adrenoceptors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **29**: 1394-1398, 1986;

HAMILTON, C. J.; ROBERTS, S. M. – Synthesis of fluorinated phosphonoacetate derivatives of carbocyclic nucleoside monophosphonates and activity as inhibitors of HIV reverse Transcriptase. *Journal of Chemical Society Perkin Transactions*, **1**; 1051-1056, 1999;

HO, Y. W. – Synthesis of some new azo pyrazolo[1,5- α]pyrimidine-thieno[2,3-*b*]pyridine derivatives and their application as disperse dyes. *Dyes and Pigments* **64**: 223-230, 2005;

HOCKOVÁ, D.; HOLY, A.; MASOJÍDKOVÁ, M.; ANDREI, G.; SNOECK, R.; CLERCQ, E.; BALZARINI, J. – Synthesis and antiviral activity of 2,4-diamino-5-cyano-6-[2-(phosphonomethoxy)ethoxy]pyrimidine and related compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**: 3197-3202, 2004;

JOHNS, B. A.; GUDMUNDSSON, K. S.; TURNER, E. M.; ALLEN, S. H.; SAMANO, V. A.; RAY, J. A.; FREEMAN, G. A.; BOYD JR, L.; SEXTON, C. J.; SELLESETH, D. W.; CREECH, K. L.; MONIRI, K. R. – Pyrazolopyridine antiherpetics: SAR of C2' and C7 amine substituents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13**: 2397-2411, 2005;

JOULE, J. A.; MILLS, K. – Heterocyclic Chemistry. 4th ed. Blackwell Publishing, 2000;

JULIUSSON, G.; CELSING, F.; TURESSON, I.; LENHOFF, S.; ADRIANSSON, M.; MALM, C. – Frequent good partial remissions from thalidomide including best response ever in patients with advanced refractory and relapsed myeloma. *British Journal of Haematology*, **109(1)**: 89-96, 2000;

KATAKAMI, T.; YOKOYAMA, T.; MIYAMOTO, M.; MORI, H.; KAWAUCHI, N.; NOBORI, T.; SAN-NOHE, K.; KAIHO, T. – Synthesis and Pharmacological Studies of N-Substituted 6-[(2-Aminoethyl) amino]-1,3-dimethyl-2,4 (1*H*, 3*H*)-pyrimidinediones, Novel Class III antiarrhythmic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **35**: 3325-3330, 1992;

KATIYAR, S. B.; BANSAL, I.; SAXENA, J. K.; CHAUHAN, P. M. S. – Synthesis of 2,4,6-trisubstituted pyrimidine derivatives as a new class of antifilarial topoisomerase II inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**: 47-50, 2005;

KATO T.; YAMANAKA, H.; ICHIKAWA, H.; CHIBA, T.; ABE, H.; SASAKI, S. – Mass spectrometric studies of 6-methyl-4-pyrimidinones. *Org. Mass. Spectrometry*, **4**, 181, 1970;

KATZENELLENHOGEN, B. S.; KATZENELLENHOGEN, J. A. – *Breast Cancer Res.*, **2**, 235-244, 2000;

KENNER, G. W.; LYTHGOE, B.; TODD, A. R.; TOPHAM, A. – Some Reactions of Amidines with Derivatives of Malonic Acid. *J. Chem. Soc.*, 388-390, 1943;

KISELYOV, A. S. – One-pot synthesis of polysubstituted pyrimidines. *Tetrahedron Letters*, **46**: 1663-1665, 2005;

KONEMAN, E.W.; ALLEM, S.D.; DOWELL, V.R.; JAIHA, W.M.; SOMEMMERS, H. M.; WIMN, C.W.W. – *Diagnóstico microbiológico médico*. J.B. Lippincott co. p.570, 1997;

KOROLKOVAS, A. E BURCKHALTER, J.H. – *Química Farmacêutica*, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1988;

KUMAR, D.; KANZ, B.; MAMIYA, B. M.; KERN, J. T.; KERWIN, S. M. – Synthesis of a phosphoramidate pró-drug of 6-thio-deaza-2'-deoxyguanosina (TDG): a regioselective phosphorylation. *Tetrahedron letters*. **42**, 565-567, 2001;

LORIAN, V. – Antibiotics in laboratory medicine. USA. Ed. Williams & Wilkins, Second Edition, 1986;

MAKAROV, V. A.; RIABOVA, O.; GRANIK, V. G.; DAHSE, H.; STELZNER, A.; WUTZLER, P.; SCHMIDTKE, M. – Anti-coxsackievirus B3 activity of 2-amino-3-nitropyrazolo[1,5- α] pyrimidines and their analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**: 37-39, 2005;

MEISENBACH, M.; ALLMENDINGER, T.; MAK, C. – Scale-up of the synthesis of a pyrimidine derivative directly on solid support. *Organic Process Research & Development*, **7**: 553-558, 2003;

MELO, S. J.; SANTOS, L. C.; FALCÃO, E. P. S.; SRIVASTAVA, R. M.; LUU-DUC, C. – Synthesis of new 4-amino-2,6-diarylpyrimidine-5-carbonitriles. *Journal of Chemical Research (S)*, **5**, 216-217, 2002;

MELO, S.J., LUU-DUC, C., THOMASSON, F., NARCISSE, G., GAULTIER, C. – 5-Fluoro-(3H)-pyrimidine-4-ones: synthèse, réactivité et propriétés pharmacologiques, *Ann. Pharmaceutiques Françaises*, v. 50, pp. 39-51, 1992;

MELO, S. J. – Synthèse réactivité et propriétés pharmacologiques des fluoro -5(3H) pyrimidinones-4. Tese de Doutorado l'Université Joseph Fourier, Grenoble, 1989;

MENON, R. G.; PURUSHOTHAMAN, E. – Synthesis and Antimicrobial Actives of Pyridocinnolinedithiones, their bis (alkylthio) derivatives and 4-amino-2-methyl – thypyrimidocinnolines. *Indian Journal of Chemistry*, **35B** (11): 1185-1189, 1996;

MOLDOVEANU, C. C.; MANGALAGIU, G. C.; ZBANCIOE, G. N.; DROCHIOIU, G.; CAPROSU, M. C.; MANGALAGIU, I. – 4-(4-Chlorophenyl)pyrimidinium ylides. 1. Structure, stability, reactivity. *Arkivoc*, (**i**), 7-19, 2005;

MONTANARI, C. A. – Química Medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia, *Química Nova*, **18 (1)**: 56-64, 1995;

NASR, N. M.; GINEINAH, M. M. – Pyrido[2,3]pyrimidines and pyrimido[5'4':5,6] pyrido[2,3-d]pyrimidines as new agents: Synthesis and biological activity. *Archive der Pharmazie*. **335 (6)**: 289-295, 2002;

NIIYA, K.; OLSSON, R. A.; THOMPSON, R. D.; SILVIA, S. K.; UEEDA, M. – 2-(N'-Alkylidenehydrazino) adenosines: Potent and Selective Coronary Vasodilators. *Journal of Medicinal Chemistry*, **35**: 4557-4561, 1992;

OCHIAI, M.; MORITA, K. – A novel photo-induced methylation of pyrimidines and condensed pyrimidine compounds. *Tetrahedron Letters*, **25**, 2349-2351, 1967;

ORZESZKO, B.; KAZIMIERCZUK, Z.; MAURIN, J. K.; LAUDY, A. E.; STAROŚCIAK, B. J.; VILPO, J.; VILPO, L.; BALZARINI, J.; ORZESZKO, A. – Novel adamantylated pyrimidines and their preliminary biological evaluations. *II. Farmaco*, **59(12)**: 929-937, 2004;

PANDEY, S.; SURYAWANSHI, S. N.; GUPTA, S.; SRIVASTAVA, V. M. L. – Synthesis and antileishmanial profile of some novel terpenyl pyrimidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **39**: 969-973, 2004;

PATAI, S. J. I. – The Kinetics and Mechanisms of Carbonyl – Methylene Condensations. *Journal of the Chemical Society*: 2020-2024, 1960;

PATT, Y. Z.; HASSAN, M. M.; LOZANO, R. D.; ELLIS, L. M.; PETERSON, J. A.; WAUGH, K. A. – *American Journal of Clinical Oncology*, **23**, 319-321, 2000;

PINNER, A. – Die Iminoather und ihre Derivative, Oppenheim R., Berlin, 1892;

PRAKASH, O.; BHARDWAJ, V.; KUMAR, R.; TYAGI, P.; ANEJA, K. R. – Organoiodine (III) mediated synthesis of 3-aryl/hetryl-5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[4,3-a]pyrimidines as antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **39**: 1073-1077, 2004;

QUINTELA, J. M.; PEINADOR, C.; MOREIRA, M. J.; ALFONSO, A.; BOTANA, L. M.; RIGUEIRA, R. – Pyrazolopyrimidines: synthesis, effect on histamine release from rat

peritoneal mast cells and cytotoxic activity. *European Journal Medicinal Chemistry*, **36**, 321-332, 2001;

RAM, V. J.; GOEL, A.; SARKHEL, S.; MAULIK, P. R. – A convenient synthesis and hepatoprotective activity of imidazo[1,2-c]pyrimido[5,4-e]pyrimidine, tetraazaacenaphthene and tetraazaphenalene from cyclic ketene amins through tandem addition-cyclization reactions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **10**; 1275-1280, 2002;

SANDANANDAM, Y. S.; SHETTY, M. M.; DIWAN, P. V. – Synthesis and Biological Evaluation of New 3,4-dihydro-6-methyl-5-*N*-methyl-carbamoyl-4-(substituted phenyl)-2(1*H*) pyrimidines and pyrimidinones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **27**; 87-92, 1992;

SALADINO, R.; CIAMBECCINI, U.; MAGA, G.; MASTROMARINO, P.; CONTI, C., BOTTA, M. – A new and efficient synthesis of substituted 6-[(2'-dialkylamino)ethyl] pyrimidine and 4-*N,N*-dialkyl-6-vinyl-cytosine derivatives and evaluation of their anti-rubella activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **10**: 2143-2153, 2002;

SAWA, Y.; OSAWA, F.; KANEKO, H.; *Journal of Pharmaceutical Society*. Japan, **67** 204, 1947; Chemical Abstract, **45** 9063g, 1951. Taylor E. C.; McKillop A. The Chemistry of Cyclic Enaminonitriles and *o*-Aminonitriles. *Advances in Organic Chemistry: Methods and Results*. New York, John Wiley & Sons, **7**, 103-126;

SCHENONE, S.; BRUNO, O.; BONDAVALLI, F.; RANISE, A.; MOSTI, L.; MENOZZI, G.; FOSSA, P.; DONNINI, S.; SANTORO, A.; ZICHE, M.; MANETTI, F.; BOTTA, M. – Antiproliferative activity of new 1-aryl-4-amino-1*H*-pyrazolo [3,4-*d*] pyrimidine derivatives toward the human epidermoid carcinoma A431 cell line. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **39**:939-946, 2004;

SHARMA, P.; RANE, N.; GURRAM, V. K. – Synthesis and QSAR studies of pyrimido [4,5-*d*]pyrimidine-2,5-dione derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**: 4185-4190, 2004;

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F.X. – Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6ª edição, LTC Editora, 2000;

SIMO, B.; PERELLO, L.; ORTIZ, R.; CASTINEIRAS, A.; LATORRE, J.; CANTON, E. – Interactions of metal ions with a 2,4-diaminopyrimidine derivative (trimethoprim) Antibacterial studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **81**, 275–283, 2000;

SINGH, A.K. – Analytical Reactions of Substituted Pyrimidines – *Talanta*, **29**, 95-102, 1982;

SINGHAL, S.; MEHTA, I.; DESIKAN, R.; AYERS, D.; ROBERSON, P.; EDDLEMON, P.; MUNSHI, N.; ANAISSE, E.; WILSON, C.; DHODAPKAR, M.; ZEDDIS, I.; BARLOGIE, B. – *New England Journal of Medicine*, **341**, 1565 – 1571, 1999;

SKULNIK, H. I.; LUDENS, J. H.; WENDLING, M. G.; GLENN, E. M.; ROHLOFF, N. A.; SMITH, R. J.; WIERENGA, W. – Pyrimidinones 3*N*-Substituted 6-Phenyl-

pyrimidinones and Pyrimidinediones with Diuretic/Hypotensive and Antiinflammatory Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **29**, 1499-1504, 1986;

SOLOMONS, T. W. G. – Química Orgânica, Vol. 1 e 2, 6ª edição, John Wiley & Sons, Inc, 1996;

TAYLOR, E. C.; MCKILLOP, A. – The Chemistry of Cyclic Enaminonitriles and aminonitriles. *Advances in organic Chemistry: Methods and results*. New York. John Wiley & Sons **7**, 103-126, 1970;

WOO, P. W. K.; KOSTLAN, C. R.; SIRCAR, C. J.; DONG, M. K.; GILBERTSEN, R. B. – Inhibitors of Human Purine Nucleoside Phosphorilase. Synthesis and Biological Activities of 8-amino-3-benzylhypoxantine and Related Analogues. *Journal of Medicinal Chemistry* **35**:1451-1457, 1991;

YOON, D. S.; HAN, Y.; STARK, T. M.; HABER, J. C.; GREGG, B. T.; STANKOVICH, S. B. – Efficient synthesis of 4-aminoquinazoline and thieno [3,2-*d*]pyrimidin-4ylamine derivatives by microwave irradiation. *Organic Letters*, **6 (15)**: 4775-4778, 2004;

ZHU, W.; CHONG, Y.; CHOO, H.; MATHEWS, J.; SCHINAZI, R. F.; CHU, C. K. – Synthesis, structure-activity relationships, and mechanism of drug resistance of D- and L- β – 3'-fluoro-2', 3'-unsaturated-4'-thionucleosides as anti-HIV agents. – *Journal of Medicinal Chemistry* **47**; 1631-1640, 2004;

ZOMAS, A.; ANAGOSTOPOULOS, N.; DIMOPOULOS, M.A. – Bone Marrow
Transplant. **25**, 1319-1320, 2000.

