



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE REGIOSSELETIVA DE 4-TRIFLUORMETIL-2-(METILTIO)-
3,4-DIIDROPIRIMIDIN-4-ÓIS 3,6-DISSUBSTITUÍDOS COM EFEITO
INIBITÓRIO ENZIMÁTICO**

Andréia M. P. Weber da Silva

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**SÍNTESE REGIOSSELETIVA DE 4-TRIFLUORMETIL-2-(METILTIO)-
3,4-DIIDROPIRIMIDIN-4-ÓIS-3,6-DISSUBSTITUÍDOS COM EFEITO
INIBITÓRIO ENZIMÁTICO**

por

Andréia M. P. Weber da Silva

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do grau de **Mestrado em Química**

Orientador: Prof. Dr. Nilo Zanatta

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação em mestrado

**SÍNTESE REGIOSSELETIVA DE 4-TRIFLUORMETIL-2-(METILTIO)-
3,4-DIIDROPIRIMIDIN-4-ÓIS-3,6-DISSUBSTITUÍDOS COM EFEITO
INIBITÓRIO ENZIMÁTICO**

elaborada por
Andréia M. P. Weber da Silva

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Nilo Zanatta, Dr.
(Presidente/Orientador)

Helio Gauze Bonacorso, Dr. (UFSM)

Adriana Dornelles Carpes, Dr^a. (UNIFRA)

Santa Maria, 27 de Fevereiro de 2012.

Na vida damos muitas voltas...

E durante esses giros encontramos muitas pessoas que nos marcam e que nos deixam algo em especial.

Com você meu amor foi assim, nos conhecemos de repente... e o seu jeito especial de falar, de agir, de pensar, de me tratar conquistou para sempre meu coração.

Ao meu esposo, Fabio, dedico este trabalho pelo amor, carinho, dedicação, compreensão, paciência, apoio, ajuda e incentivo na realização do mesmo.

Te amo muito meu amor!

Ao professor Dr. Nilo Zanatta, agradeço pela excelente orientação concedida desde o curso de Iniciação Científica até a realização desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Aos professores Helio Gauze Bonacorso e Adriana Dornelles Carpes por terem aceitado o convite e participado efetivamente da banca de qualificação e defesa desta dissertação;

Aos funcionários da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química Ademir e Valéria e aos demais funcionários do Departamento de Química pela competência nos serviços prestados e amizade.

Aos colegas de laboratório: Estefania, Carlos, Andressa, Karine, Josiane, Márcio, Débora, Mário, Adriano, Cássio, Valquíria, Laura, Leida, Alessandra e Letícia, agradeço pela amizade, coleguismo e momentos de descontração proporcionados.

Aos demais colegas do NUQUIMHE pelos empréstimos de reagentes e trocas de conhecimento.

Aos colegas da bioquímica: Eduardo, Jonas, Pablo, Rogério pela ajuda nos testes de atividade biológica.

As minhas amigas Andressa Model, Aline Henkes e Julia Arruda por todo apoio proporcionado durante todos esses anos juntas e pela nossa amizade sincera e os momentos de alegria e conselhos.

Aos meus familiares, em especial a minha mãe Teresinha Medianeira Pedrolo Weber pelo apoio concedido na realização de meus sonhos e projetos, pelo amor sincero e preocupação demonstrada durante toda minha vida, agradeço sem encontrar as devidas palavras.

Por me permitir chegar até aqui e por ter me concedido a força necessária para superar os obstáculos da vida... Por ter realizado todos os meus sonhos e desejos... Agradeço, sobretudo, a DEUS.

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA ORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA

SÍNTESE REGIOSSELETIVA DE 4-TRIFLUORMETIL-2-(METILTIO)-3,4-DIIDROPIRIMIDIN-4-ÓIS 3,6-DISSUBSTITUÍDOS COM EFEITO INIBITÓRIO ENZIMÁTICO.

Autora: Andréia M. P. Weber da Silva

Orientador: Prof. Dr. Nilo Zanatta

Local da Defesa e Data: Santa Maria, 27 de Fevereiro de 2012.

Este trabalho apresenta uma nova estratégia simples e versátil para a síntese regioseletiva de 6-alkil(aril ou heteroaril)-4-trifluormetil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-óis N^3 -substituídos, a qual possibilitou a comprovação da regioquímica da reação de ciclocondensação entre enonas trifluormetiladas e 2-metilisotiureias N -substituídas.

As 6-alkil(aril ou heteroaril)-4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidin-4-óis N^3 -substituídos foram obtidos a partir da reação de ciclocondensação das 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alken-2-onas (enonas) de fórmula geral $CF_3C(O)CHCR(OCH_3)$, onde $R = Me, Et, Pr, C_6H_5, 4-MeC_6H_4, 4-OMeC_6H_4, 4-FC_6H_4, 4-BrC_6H_4$ e fur-2-il, com diferentes sulfatos de 2-metilisotiureias N -substituídas, de fórmula geral $[R^1NHC(SCH_3)NH]_2 \cdot H_2SO_4$, onde $R^1 = Me, Et, Alil$ e C_6H_5 em meio básico. A metodologia empregada proporcionou a síntese de 18 diidropirimidinóis inéditos em excelentes rendimentos (85-98%) e com alta regioseletividade, pois apenas os compostos N^3 -substituídos foram obtidos.

O efeito inibitório dos produtos obtidos sobre a atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE), NTPDases e 5'-nucleotidase foram avaliados, demonstrando resultados promissores, principalmente para a acetilcolinesterase. Para essa última foi realizado o estudo de modelagem molecular com composto que apresentou maior efeito inibitório sobre a AChE.

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN ORGANIC CHEMISTRY
GRADUATE PROGRAM IN CHEMISTRY
FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA, RS, BRAZIL

REGIOSELECTIVE SYNTHESIS OF 3, 6-DISSUBSTITUTED 4-TRIFLUOROMETHYL-2-METHYLTHIO-3,4-DIHYDROPYRIMIDIN-4-OLS WITH ENZYMATIC INHIBITORY EFFECT.

Author: Andréia M. P. Weber da Silva

Academic Advisor: Prof. Dr. Nilo Zanatta

Place and date of the defense: Santa Maria, February 27, 2012.

This work reports a simple and versatile new strategy for the regioselective synthesis of *N*³-substituted 6-alkyl(aryl or heteroaryl)-4-trifluoromethyl-2-(methylthio)-3,4-dihydropyrimidin-4-ols, which enabled to establish the regiochemistry of the cyclocondensation reaction between trifluoromethylated enones and *N*-substituted 2-methylisothiureas.

The *N*³-substituted 6-alkyl(aryl or heteroaryl)-4-trifluoromethyl-2-(methylthio)-3,4-dihydropyrimidin-4-ols were obtained from the cyclocondensation reaction of 4-alkoxy-1,1,1-trifluoromethyl-3-alken-2-ones (enones) of general formula $\text{CF}_3\text{C}(\text{O})\text{CHCR}(\text{OCH}_3)$, where $\text{R} = \text{Me, Et, Pr, C}_6\text{H}_5, 4\text{-MeC}_6\text{H}_4, 4\text{-OMeC}_6\text{H}_4, 4\text{-FC}_6\text{H}_4, 4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ and fur-2-yl, with different *N*-substituted 2-methylisothiurea sulfates of general formula $[\text{R}^1\text{NHC}(\text{SCH}_3)\text{NH}]_2\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$, where $\text{R}^1 = \text{Me, Et, Allyl}$ and C_6H_5 in basic medium. The methodology used provided the synthesis of 18 novel dihydropyrimidinols in excellent yields (85-98%) and with high regioselectivity, because only the *N*³-substituted compounds were obtained.

The inhibitory effect of the obtained products on the activity of the enzymes acetylcholinesterase, NTPDase and 5'-nucleotidase were evaluated, showing promising results, mainly for acetylcholinesterase. For this last study was carried out molecular modeling compound that showed a higher inhibitory effect on AChE.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura das bases nitrogenadas.....	2
Figura 2	– Representação estrutural do anel pirimidínico	4
Figura 3	– Pirimidina com potencial atividade inibitória sobre enzimas NTPDases.....	5
Figura 4	– Representação estrutural β -alcoxivinil trifluormetil cetonas (enonas).....	9
Figura 5	– Estratégia para atribuição da posição para o grupo <i>N</i> -CH ₃ por experimentos de HMBC.....	23
Figura 6	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3e	40
Figura 7	– Espectro de RMN ¹ H do composto 3e , a 400,13 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	43
Figura 8	– Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} 3e , a 100,61 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	44
Figura 9	– Espectro de RMN HMBC do composto 3f em DMSO- <i>d</i> ₆	45
Figura 10	– Projeção da estrutura molecular do composto C ₁₄ H ₁₅ F ₃ N ₂ OS (3e).....	50
Figura 11	– Espectro de RMN ¹ H do composto 3a a 400 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	69
Figura 12	– Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} do composto 3a a 100 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	69
Figura 13	– Espectro de RMN ¹ H do composto 3b a 200 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	70
Figura 14	– Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} do composto 3b a 100 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	70
Figura 15	– Espectro de RMN ¹ H do composto 3c a 200 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	71
Figura 16	– Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} do composto 3c a 100 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	71
Figura 17	– Espectro de RMN ¹ H do composto 3d a 400 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆	72

Figura 18	Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3d a 100 MHz em DMSO- d_6	72
Figura 19	– Espectro de RMN ^1H do composto 3e a 400 MHz em DMSO- d_6	73
Figura 20	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3e a 100 MHz em DMSO- d_6	73
Figura 21	– Espectro de RMN ^1H do composto 3f a 400 MHz em DMSO- d_6	74
Figura 22	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3f a 100 MHz em DMSO- d_6	74
Figura 23	– Espectro de RMN ^1H do composto 3g a 400 MHz em DMSO- d_6	75
Figura 24	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3g a 100 MHz em DMSO- d_6	75
Figura 25	– Espectro de RMN ^1H do composto 3h a 400 MHz em DMSO- d_6	76
Figura 26	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3h a 100 MHz em DMSO- d_6	76
Figura 27	– Espectro de RMN ^1H do composto 3i a 400 MHz em DMSO- d_6	77
Figura 28	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 3i a 100 MHz em DMSO- d_6	77
Figura 29	– Espectro de RMN ^1H do composto 7a a 200 MHz em DMSO- d_6	78
Figura 30	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 7a a 100 MHz em DMSO- d_6	78
Figura 31	– Espectro de RMN ^1H do composto 7d a 400 MHz em DMSO- d_6	79
Figura 32	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 7d a 100 MHz em DMSO- d_6	79
Figura 33	– Espectro de RMN ^1H do composto 7g a 400 MHz em DMSO- d_6	80

Figura 34	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 7g a 100 MHz em DMSO- d_6	80
Figura 35	– Espectro de RMN ^1H do composto 8a a 400 MHz em DMSO- d_6	81
Figura 36	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 8a a 100 MHz em DMSO- d_6	81
Figura 37	– Espectro de RMN ^1H do composto 8d a 400 MHz em DMSO- d_6	82
Figura 38	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 8d a 100 MHz em DMSO- d_6	82
Figura 39	– Espectro de RMN ^1H do composto 8g a 400 MHz em DMSO- d_6	83
Figura 40	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 8g a 100 MHz em DMSO- d_6	83
Figura 41	– Espectro de RMN ^1H do composto 9a a 400 MHz em DMSO- d_6	84
Figura 42	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 9a a 400 MHz em DMSO- d_6	84
Figura 43	– Espectro de RMN ^1H do composto 9d a 400 MHz em DMSO- d_6	85
Figura 44	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 9d a 100 MHz em DMSO- d_6	85
Figura 45	– Espectro de RMN ^1H do composto 9g a 400 MHz em DMSO- d_6	86
Figura 46	– Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto 9g a 100 MHz em DMSO- d_6	86
Figura 47	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3b	88
Figura 48	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3c	88
Figura 49	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3d	89
Figura 50	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3e	89
Figura 51	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3f	90
Figura 52	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3g	90

Figura 53	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3h	91
Figura 54	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3i	91
Figura 55	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 7a	92
Figura 56	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 7d	92
Figura 57	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 7g	93
Figura 58	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 8a	93
Figura 59	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 8d	94
Figura 60	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 8g	94
Figura 61	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 9a	95
Figura 62	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 9d	95
Figura 63	– Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 9g	96
Figura 64	– Efeito do composto 3a sobre a atividade da NTPDase para a hidrólise do ATP (A) e ADP (B). Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	110
Figura 65	– Efeito do composto 3a sobre a atividade da 5'-nucleotidase. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	111
Figura 66	– Efeito do composto 3g sobre a atividade da NTPDase para a hidrólise do ATP (A) e ADP (B). Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	111
Figura 67	– Efeito do composto 3g sobre a atividade da 5'-nucleotidase. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	111
Figura 68	– Efeito do composto 3a sobre a atividade da ADA. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	112
Figura 69	– Efeito do composto 3g sobre a atividade da ADA. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$	112

- Figura 70** – Sobreposição molecular do ligante do cristal da estrutura 3I6M (vermelho) e a melhor conformação do ligante N-PGAL proposta pelo programa AutoDock Vina 1.1 program (verde), com um valor de RMSD igual a 0,46 Å. Os hidrogênios apolares foram omitidos da visualização.... 121
- Figura 71** – Sobreposição dos enantiômeros **(R)-3g** (vermelho) e **(S)-3g** (azul) ligados no sítio ativo “gorge” da TcAChE 1EA5 (A) e 3I6M (B). As setas vermelhas apontam o sítio ativo “gorge”..... 122
- Figura 72** – Representação do modelo de interação dos enantiômeros **(R)-3g** (A e B) and **(S)-3g** (C e D) ligados ao sítio ativo “gorge” da TcAChE 1EA5 (A e C) e 3I6M (B e D). Os valores das distâncias são mostrados em angstroms (Å).... 123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Nomenclatura e estrutura química dos compostos sintetizados neste trabalho e de seus precursores.....	26
Tabela 2	– Otimização das condições reacionais para a síntese do pirimidinol 3d	34
Tabela 3	– Condições de reação e características dos compostos 3a-i	36
Tabela 4	– Condições de reação e características dos compostos 7-9a,d,g	38
Tabela 5	– Fórmula molecular/peso molecular, dados de CG-EM e análise elementar dos compostos 3a-i, 7-9a,d,g	40
Tabela 6	– Dados de RMN ¹ H e ¹³ C dos compostos 3a-i, 7-9a,d,g	46
Tabela 7	– Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o composto 3e	98
Tabela 8	– Comprimentos de ligação [Å] e ângulos [°] para o composto 3e	99
Tabela 9	– Parâmetros de substituição anisotrópica ^[a] (Å ² x 10 ³) para composto 3e	102
Tabela 10	– Ângulos de torção [°] para o composto 3e	103
Tabela 11	– Valores de IC ₅₀ para os compostos testados e para inibidores clássicos da AChE.....	106
Tabela 12	– Previsão da energia livre de ligação (em kcal.mol ⁻¹) para os enantiômeros R e S e inibidor N-PGAL para TcAChE 3I6M.....	121

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RMN ¹H- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

DMSO-d₆- Dimetilsulfóxido deuterado

δ- Deslocamento químico

J- Constante de acoplamento

TMS- Tetrametilsilano

d- Dubleto

dd – Dubleto de dubletos

t- Triplete

qua- Quarteto

quin- Quinteto

m- Multiplete

t.a.- Temperatura ambiente

Py- Piridina

ATFA- Anidrido Trifluoracético

AcOH- Ácido acético

AChE - Acetilcolinesterase

DA - Doença de Alzheimer

NTPDases – Nucleosídeo Trifosfato Difosfohidrolase-2

ADP – Trifosfato de Adenosina

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xiv
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 Síntese de β-alcoxivinil trifluormetil cetonas (4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil - 3-alquen-2-onas)	9
2.2. Síntese de pirimidinas trifluormetil substituídas	11
3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	25
3.1 Apresentação dos Compostos	25
3.1.1 Nomenclatura dos compostos sintetizados	25
3.2 Síntese de Acetais	29
3.3. Síntese das 4-alquil(aril)(heteroaril)-1,1,1-trifluór-4-metóxi-3-alquen-2-onas (1a-i)	30
3.4 Síntese dos sulfatos de N-alquil(aril)-2-metiltiouréias 2, 4-6	31
3.5 Síntese das 4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas N³-substituídas (3a-i e 7-9a,d,g)	31
3.5.1. Síntese das 4-(trifluormetil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinas 6-substituídas 3a-i	33
3.5.2. Comprovação da regioquímica da reação de ciclocondensação: Síntese das 4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinas N ³ -substituídas 7-9a,d,g ...37	
3.5.3. Identificação espectrométrica das 4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas 3a-i, 7-9a,d,g	39
3.5.4. Mecanismo de reação proposto para a síntese regioseletiva das 3,4-diidropirimidinas trifluormetiladas 3a-i e 7-9a,d,g	50
3.5.5. Atividade biológica dos compostos 3d-i e 7-9a	51
3.5.5. Modelagem molecular da 3,4-diidropirimidinas trifluormetilada 3g	52
4. CONCLUSÃO	54
5 EQUIPAMENTOS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	57
5.1 Equipamentos utilizados na caracterização química, física e espectroscópica dos compostos sintetizados	57
5.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	57
5.1.2 Espectrometria de Massas.....	58
5.1.3 Análises Elementares	58
5.1.5 Difração de Raios-X	58
5.1.6 Pontos de Fusão	59
5.2 Procedimentos experimentais de síntese dos compostos obtidos	59
5.2.1. Síntese de acetais – procedimento geral	59
5.2.1 Procedimento de síntese das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas 1a	59
5.2.2. Síntese de 1,1,1-trifluór-4-metóxi-3-alquen-2-onas (1b-i) acetais	60

5.2.3 Síntese das 4-trifluormetil-3-metil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas(3a-c , 7-9a).....	60
5.2.4 Síntese das 4-trifluormetil-3-metil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas(3d-i , 7-9d,g).....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
<i>APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN DE ¹H E ¹³C DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS</i>	69
<i>APÊNDICE B – ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS</i>	88
<i>APÊNDICE C – DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 3e</i>	98
<i>APÊNDICE D – RESULTADOS DA ATIVIDADE BIOLÓGICA</i>	105
<i>APÊNDICE E – MODELAGEM MOLECULAR PARA O COMPOSTO 3g</i>	119

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A importância dos compostos heterocíclicos tem se afirmado ao longo dos anos pela sua grande aplicabilidade nos mais variados campos da química, bem como por sua contribuição no desenvolvimento de novos fármacos, produtos agroquímicos e vitaminas. Extraídos da natureza ou obtidos sinteticamente, os compostos heterocíclicos são comuns na química orgânica, onde muitos apresentam propriedades biológicas definidas¹ de importância fundamental para os sistemas biológicos, como exemplificado a seguir:

- As bases nitrogenadas dos ácidos nucleicos (**Figura 1**) podem ser identificadas como sendo derivados dos anéis purínicos e pirimidínicos e são essenciais para a transmissão de todas as informações genéticas dos seres vivos, sendo ainda constituintes das estruturas do DNA e RNA;

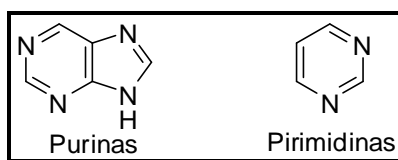


Figura 1: Estrutura das bases nitrogenadas.

De maneira geral, a eficácia do uso dos compostos heterocíclicos deve-se à sua grande variedade, complexidade estrutural e metodologias de síntese, as quais têm levado a uma série ilimitada de novas estruturas, com larga faixa de propriedades físicas, químicas e biológicas e um amplo espectro de reatividade e estabilidade.² Contudo, a pesquisa de novos métodos de síntese de heterociclos é de grande importância para o desenvolvimento de novas moléculas com possível aplicação farmacêutica e/ou na indústria agroquímica.

Uma das estratégias empregadas para a obtenção de novos fármacos é a modificação molecular, processo que utiliza um composto matriz com estrutura

¹ (a) Cottineau, B.; Toto, P.; Marot.; Pipaud, A.; Chenault, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2105; (b) Lee, K. Y.; Kim, J. M.; Kim, J. N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6737; (c) Genin, M. J.; Biles, C.; Keiser, B. J.; Poppe, S. M.; Swaney, S. M.; Tarpley, W. G.; Yagi, Y.; Romero, D. L. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1034.

² (a) Lednecer, D. and Mitscher, L. A. *Organic Chemistry of Drugs Synthesis*, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, N Y, **1997**; (b) Arriba, A. F.; Gómez-Casajús, L. A.; Cavalcante, F.; Almansa, C.; García-Rafanell, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *318*, 341.

química e atividade biológica bem definida e, com base em suas propriedades, são planejados e sintetizados novos compostos de estrutura análoga ou homóloga.³

As variações estruturais dos compostos análogos conferem às novas moléculas, diferentes propriedades físicas e muitas vezes alteram sua reatividade. Isso faz com que ocorram mudanças na distribuição nas células e nos tecidos, no acesso dos compostos ao sítio ativo de enzimas e receptores e na velocidade das reações em tais sítios. Mesmo uma alteração aparentemente muito pequena na estrutura química pode revelar efeitos biológicos que haviam estado latentes ou eclipsados pelos efeitos colaterais do composto matriz.⁴ Com isso, a pesquisa orgânica tem se dedicado a obtenção de compostos mais potentes, seletivos e que minimizem as reações adversas.

Mais de 70% de todos os medicamentos comercializados no mundo e produtos que ainda estão em fase de testes clínicos e pré-clínicos, possuem em sua estrutura núcleos heterocíclicos. Dos inúmeros heterociclos conhecidos, os compostos pirimidínicos destacam-se por suas aplicações farmacológicas, sendo empregados como agentes anti-inflamatórios,⁵ antitumorais⁶ e antivirais.⁷ Na agroquímica, o anel pirimidínico é constituinte da estrutura de herbicidas,⁸ inseticidas,⁹ acaricidas¹⁰ e fungicidas.¹⁰

Pirimidinas (1,3-diazinas) pertencem à classe dos compostos heterocíclicos aromáticos dinitrogenados, sendo que os átomos de nitrogênio localizam-se nas posições 1 e 3 do ciclo de seis membros (Figura 2).

Vários grupos de pesquisa, entre eles o Núcleo de Química de Heterociclos (NUQUIMHE) da Universidade Federal de Santa Maria, têm desenvolvido estratégias para a síntese de novos compostos heterocíclicos contendo substituintes fluorados. A síntese desses compostos é realizada através do emprego de

³ Montanari, C. A. *Quim. Nova* **1995**, *18*, 56.

⁴ Korolkovas, A. e Burckhalter, J. H. – *Química farmacêutica*, Ed. Guanabara Dois S.A.: Rio de Janeiro, **1982**;

⁵ Skulnik, H. I.; Ludens, J. H.; Wendling, M. G.; Glenn, E. M.; Rohloff, N. A.; Smith, R. J.; Wierenga, W. J. *Med. Chem.* **1986**, *29*, 1499.

⁶ Kawauchi, K.; Fukazawa, N.; Ishibashi, D.; Yano, O.; Iwata, D.; Etatsugu, H.; Sobashima, T. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1994**, JP06172377 [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 33585f].

⁷ Magnus, A.; Confalone, P. N.; Storace, L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3015.

⁸ (a) Pees, K.; Liers, P.; Karla, C. *Eur. Pat. Appl.* **1998**, EP834513 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 257444a]; (b) Drewes, M. W.; Andree, R.; Dollinger, M. *PCT Int. Appl.* **1999**, WO9854155 [*Chem. Abstr.* **1999**, *130*, 38393w].

⁹ (a) Perrior, T. R.; Tapolkzay, D. J.; Whittle, A. J. *Eur. Pat. Appl.* **1989**, EP338686 [*Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 179009r]; (b) Ishii, S.; Akimoto, K.; Nakayama, K.; Yagi, K.; Ooya, E.; Umehara, T.; Kudo, M.; Inoue, Y. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1993**, JP0543555 [*Chem. Abstr.* **1993**, *119*, 180804x].

¹⁰ Inoue, Y.; Kobayashi, T.; Masu, A.; Asahina, K. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1991**, JP03197467 [*Chem. Abstr.* **1991**, *115*, 280054p].

precursores 1,3-dieletrófilos contendo o grupo trifluormetila (-CF₃) em sua estrutura, esses precursores por sua vez tem sido obtidos através de reações de acilação de enol éteres¹¹ ou acetais¹² com anidrido trifluoracético.

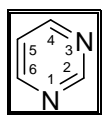


Figura 2: Representação estrutural do anel pirimidínico.

A presença de um grupo trifluormetila (-CF₃) tem conferido mudanças nas propriedades físico-químicas desses compostos como, por exemplo, polaridade, lipossolubilidade e polarizabilidade. Também é possível observar o efeito desses substituintes, no comportamento espectroscópico¹³ e na atividade farmacológica¹⁴ de compostos semelhantes na literatura. Especificamente, o grupo trifluormetila afeta a reatividade e a estabilidade de grupos funcionais próximos, devido ao seu efeito retirador de elétrons onde, por exemplo, a troca do átomo de hidrogênio por flúor em uma molécula leva a mudanças nas características químicas de um composto químico sem modificar a geometria da mesma.

Em muitos sistemas, a substituição do grupo metila por um grupo trifluormetila resulta em um acréscimo de lipofilicidade ($\pi_{\text{CF}_3} = 1,07$ versus $\pi_{\text{CH}_3} = 0,5$). Esta lipofilicidade proporciona uma maior permeabilidade dos compostos ativos nas membranas celulares, o que pode levar a uma maior e mais fácil absorção e transporte das moléculas dentro do sistema biológico, resultando em melhores

¹¹ (a) Martins, M. A. P.; Zoch, A. N.; Flores, A. F. C.; Clar, G.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, 32, 739; (b) Effenberger, F.; Maier, R.; Schonwalder, K. H.; Ziegler, T. *Chem. Ber.* **1982**, 115, 2766; (c) Effenberger, F.; Schonwalder, K. H. *Chem. Ber.* **1984**, 117, 3270; (d) Kamiori, Y.; Hojo, M.; Masuda, R.; Fujitani, T.; Kosbuschi, T. *Synthesis* **1986**, 340.

¹² (a) Hojo, M.; Masuda, R.; Okada, E. *Synthesis*, **1986**, 12, 1013; (b) Hojo, M.; Masuda, R.; Kokuryo, Y.; Shioda, H.; Matsuo, S. *Chem Lett.* **1976**, 5, 499; (c) Siqueira, G. M.; Flores, A. F. C.; Clar, G. Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, 17, 24; (d) Martins, M. A. P.; Bastos, G. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4309; (e) Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P.; Bittencourt, S. R. T.; Lourega, R. V.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **1999**, 99, 177; (f) Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M.; Freitag, A. R.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, 17, 298; (g) Hojo, M.; Masuda, R.; Sakagushi, S.; Takagawa, M. *Synthesis* **1986**, 1016; (h) Bonacorso, H. G.; Costa, M. B.; Moura, S.; Pizzuti, L.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **2005**, 126, 1396.

¹³ Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Sinhorin, A. P.; Rosa, A.; Zimmermann, N. E. K.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Magn. Res. Chem.* **2002**, 40, 182.

¹⁴ Hussein, A. H. M. *Heteroat. Chem.* **1997**, 8, 1.

propriedades farmacocinéticas. Essas propriedades têm feito com que compostos organofluorados sejam muito utilizados na química medicinal.¹⁵

A pirimidina trifluormetilada apresentada na **Figura 3**, sintetizada por pesquisadores do NUQUIMHE/UFSM, apresentou considerável efeito inibitório sobre enzimas NTPDases de sinaptossomas do córtex cerebral de ratos, as quais são responsáveis pela hidrólise do ATP e ADP.¹⁶ Quando a hidrólise do ATP encontra-se aumentada temos a formação de ADP. Este é um agente pró-agregante de plaquetas sanguíneas podendo, quando em excesso no organismo, induzir o aparecimento de doenças como, por exemplo, a trombose. Essa doença causa a coagulação intravascular e a formação de trombos sanguíneos na circulação. Logo, a inibição da hidrólise do ATP faz com que se forme menos ADP no organismo o que proporciona uma diminuição das chances de ocorrência de coagulação do sangue (formação de trombos) no interior dos vasos sanguíneos.¹⁷

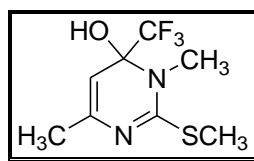


Figura 3: Pirimidina com potencial atividade inibitória sobre enzimas NTPDases.¹⁶

Além disso, pesquisas envolvendo a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) têm sido objeto de estudo desde o surgimento da hipótese colinérgica, em que déficits de aprendizado, memória e comportamento parecem estar associados com a perda da neurotransmissão colinérgica em hipocampo e de córtex cerebral.¹⁸ Embora novas opções terapêuticas promissoras estejam sendo pesquisadas, a descoberta de novos inibidores da acetilcolinesterase permanece na atual fronteira terapêutica para o tratamento da doença de Alzheimer (DA).¹⁹ A DA é a forma mais comum de dano cognitivo na terceira idade e o aumento de sua prevalência reflete o

¹⁵ (a) Lin, P.; Jiang, J. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3635; (b) Arnone, A.; Berbari, R.; Blasco, F.; Cardillo, R.; Resnati, G.; Gerus, I. I.; Kukhar, V. P. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 2809; (c) Filler, R. *Organofluorine Chemicals and Their Industrial Applications*, Banks, R. E. ed. Ellis Horwood: London, **1979**.

¹⁶ Cechin, S. R.; Schetinger, M. R. C.; Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Pacholski, I. L.; Flores, D. C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P.; Morsch, V. M. *Chem. Res. Toxicol.* **2003**, *16*, 1433.

¹⁷ Bakker, W. W.; Poelstra, K.; Barradas, M. A.; Mikhailidis, D. P. *Platelets* **1994**, 121.

¹⁸ Klafki, H. W.; Staufienbiel, M.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J. *Braian* **2006**, *129*, 2840.

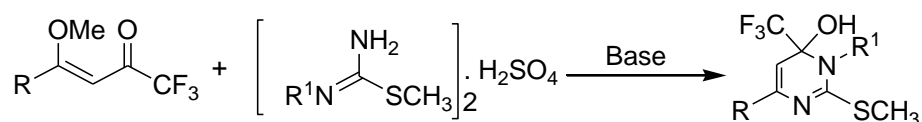
¹⁹ Geldmacher, D. S.; Frolich, L.; Doody, R. S.; Erkinjuntti, T.; Vellas, B.; Jones, R. W.; Banerjee, S.; Lin, P.; Sano, M. *J. Nutr. Health Aging*. **2006**, *10*, 417.

crescimento da população de idosos.²⁰ Inibidores da AChE usados para tratar a DA incluem tacrina, rivastigmina, donepezil e galantamina. Recentemente pirimidinas substituídas apresentaram uma potente atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE).^{21,22}

Desta forma, considerando a importância da atividade biológica e do desenvolvimento de novas metodologias para síntese de compostos pirimidínicos e também de novas moléculas trifluorometiladas bioativas, esse trabalho tem como objetivo:

i) Desenvolver e aplicar uma metodologia eficiente para a síntese regioseletiva de novas 4-trifluorometil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-óis 3 e 6-substituídos a partir da reação de ciclocondensação de uma série de β -alcoxivinil trifluorometil cetonas com diferentes sulfatos de metilisotiureias *N*-substituídos (**Esquema 1**). Desta forma, a meta será sintetizar uma diversidade de compostos pirimidínicos trifluorometilados que apresentem diferentes substituintes R e R¹, provenientes da estrutura molecular das enonas e metilisotiureias, respectivamente.

Esquema 1:



R = Alquil, Aril, Heteroaril
R¹ = Alquil, Aril

A variação dos substituintes R e R¹ é fundamental para o estudo da reatividade e comprovação da regioquímica da reação e para a realização de um estudo de relação estrutura atividade (SAR) para os compostos. Todos os exemplares sintetizados nessa etapa do projeto passarão por triagens de testes biológicos realizados por colaboradores do Programa de Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica da UFSM (PPGBT), onde serão testados os efeitos sobre

²⁰ Caselli, R. J.; Beach, T. G.; Yaari, R.; Reiman, E. M. *J. Clin. Psychiat.* **2006**, *67*, 1784.

²¹ Mohamed, T.; Rao, P. P. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3606

²² Figueredo, J. A.; Ismael, M. I.; Pinheiro, J. M.; Silva, A. M. S.; Justino, J.; Silva, F. V. M.; Goulat, M.; Mira, D.; Araujo, M. E. M.; Campoy, R.; Rauter, A. P. *Carbohydr. Res.* **2011**, 346.

a atividade das enzimas NTPDases e 5'-nucleotidase, ambas envolvidas na hidrólise de nucleotídeos de adenina na circulação sanguínea.

Após a realização desses testes, os pesquisadores do PPGBT/UFSM realizarão testes adicionais de forma a avaliar os efeitos dos compostos pirimidínicos sobre a agregação plaquetária humana. Além disso, será avaliada a atividade inibitória dos compostos sintetizados sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase e a modelagem molecular (docking) do composto mais ativo sobre esta enzima (AChE).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão da literatura apresentada a seguir tem como objetivo relatar as principais metodologias e os diferentes reagentes empregados na síntese de compostos semelhantes aos obtidos neste trabalho.

2.1 Síntese de β -alcoxivinil trifluormetil cetonas (4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alquen-2-onas)

Nas últimas quatro décadas, vários trabalhos referente à síntese de 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alquen-2-onas (**Figura 4**) têm sido publicados. Esse sistema, análogo ao dos compostos 1,3-dicarbonílicos, apresenta uma reatividade bastante distinta nos seus dois centros eletrofílicos: o carbono carbonílico e o carbono- β . Essa diferença de reatividade tem conduzido, muitas vezes, a reações regioseletivas de ciclocondensação com diferentes dinucleófilos.

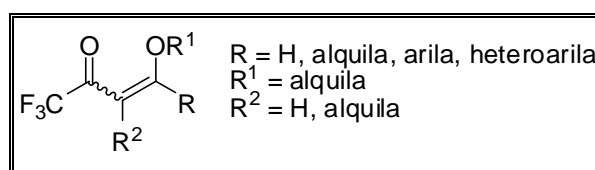
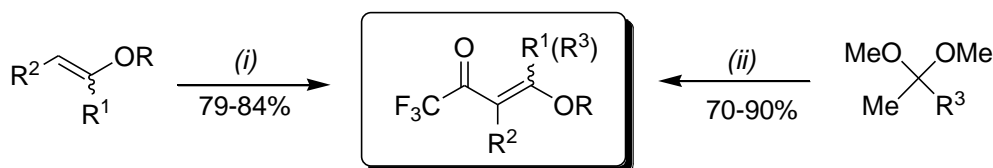


Figura 4: Representação estrutural β -alcoxivinil trifluormetil cetonas (enonas).

Os primeiros métodos de obtenção das 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alquen-2-onas foram publicados por Effenberger e col.¹¹ e por Hojo e col.¹² por volta de 1980. A partir de então, o Núcleo de Química de Heterociclos (NUQUIMHE) têm aplicado de maneira sistemática o método de acilação de enol éteres e acetais com anidrido trifluoracético buscando condições otimizadas para preparação de enonas trifluormetiladas com elevado grau de pureza. Desta forma, o NUQUIMHE já sintetizou diversas 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alquen-2-onas com altos rendimentos através da reação de enoléteres,¹¹ acetais^{12a,d, 23} e ortoacetato de etila com anidrido trifluoracético as quais estão resumidos no **Esquema 2**.

²³ Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Zimmermann, N. K. E.; Moura, S.; Sinhorin, A. P.; Cunico, W.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G.; Flores, A. F. C. *Synthesis* **2003**, *15*, 2353.

Esquema 2



R/R² = Et/H, Me/H, Et/Me, -(CH₂)₂, -(CH₂)₃. R¹ = H, Me. R³ = Et, Pr, C₆H₅, 4-MeC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-OMeC₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 2-furil, 2-tienil.

Condições de reação:

(i): (CF₃CO)₂O, Py, CHCl₃, 0-25°C, 16h. (ii) (CF₃CO)₂O, Py, CHCl₃, 0-45°C, 16h.

Embora as metodologias convencionais de síntese das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas, como as apresentadas no Esquema 2, continue sendo amplamente utilizadas na obtenção desses compostos, recentemente novos métodos de síntese de enonas trifluormetiladas foram descritos, entre eles os que empregam líquidos iônicos para promover a acilação de enol éteres e acetais.²⁴ Nesses casos, os produtos foram obtidos em maiores rendimentos e em um menor intervalo de tempo em comparação com as metodologias convencionais de síntese.

No decorrer dos últimos anos os pesquisadores do NUQUIMHE têm explorado o potencial sintético desse bloco de precursores, o qual tem sido empregado na síntese de uma extensa variedade de compostos heterocíclicos, demonstrando a sua elevada versatilidade. Maiores detalhes sobre as metodologias de síntese, reatividade das 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-alquen-2-onas e sua aplicação na síntese de compostos heterocíclicos podem ser obtidos em três artigos de revisão publicados por Martins e col.,²⁵ Druzhinin e col.²⁶ e Nenajdenko e Balenkova²⁷ nos anos de 2004, 2007 e 2011, respectivamente.

²⁴ (a) Martins, M. A. P.; Guarda, E. A.; Frizzo, C. P.; Scapin, E.; Beck, P.; Costa, A. C.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2007**, *266*, 100. (b) Martins, M. A. P.; Guarda, E. A.; Frizzo, C. P.; Moreira, D. N.; Marzari, M. R. B.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Catal. Lett.* **2009**, *130*, 93.

²⁵ Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C.M.P.; Sinhorin, A. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synthesis* **2004**, *1*, 391.

²⁶ Balenkova, E.; Druzhinin, S.; Nenajdenko, V. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7753.

²⁷ Nenajdenko, V.G.; Balenkova, E.S. *Arkivoc* **2011**, 246

2.2. Síntese de pirimidinas trifluormetil substituídas

Estudos demonstraram que as primeiras pirimidinas, assim como outras bases nitrogenadas, podem ter sido sua origem nos mais remotos anos de existência de nosso planeta, a partir de reações catalíticas entre o ácido cianídrico (HCN) e a formamida sob temperaturas moderadas.²⁸

Atualmente, pirimidinas trifluormetiladas têm sido sintetizadas através de quatro métodos mais comumente aplicados, os quais são mencionados a seguir:

- (i) A partir de reações de ciclização entre compostos 1,3-dicarbonílicos e seus derivados com uréias;²⁹
- (ii) A partir de reações de enonas com amidinas, seguido de desidratação e oxidação do aduto intermediário;³⁰
- (iii) Através de reações de heterociclização do 4,4,4-trifluoro-3-oxo-2-(ureiadimetileno)butanoato de etila empregando condições básicas³¹ e;
- (iv) Através de reações de ciclocondensação de β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com uréias e isotiouréias.²⁷

Tendo em vista os poucos relatos da síntese de 2-metil-3,4-diidropirimidinas trifluormetiladas N^3 -substituídas devido à maioria desses compostos serem patenteados,^{32,33,34} esta revisão bibliográfica focará a síntese de pirimidinas trifluormetiladas de uma maneira mais ampla, ou seja, descreverá a síntese de pirimidinas que apresentam diferentes substituintes no anel, não necessitando conter, obrigatoriamente, o substituinte metil (–SMe) em sua estrutura molecular. Além disso, essa seção focará principalmente a síntese de pirimidinas empregando o método descrito no item (iv) apresentado anteriormente, uma vez que os compostos obtidos neste trabalho foram sintetizados a partir de reações de ciclocondensação entre β -alcoxivinil trifluormetil cetonas (enonas) com isotiouréias.

O emprego das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas como bloco precursor da síntese de pirimidinas exemplifica a facilidade que essas cetonas apresentam na

²⁸ Saladino, R.; Cretini, C.; Palamara, A. T.; Danti, M. C.; Manetti, F.; Coreli, F.; Garaci, E. e Botta, M. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4554.

²⁹ Katritsky, A. R., Daryl, L. O.; Yousaf, T. I. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 5171.

³⁰ Funabiki, K.; Nakamura, H.; Matsui, M.; Shibata, K. *Synlett* **1999**, 756.

³¹ Palanki, M. S. S.; Gayo-Fung, L. G.; Shevlin, G. I.; Erdman, P.; Sato, M.; Goldman, M.; Ransone, L.; Spunner, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2573.

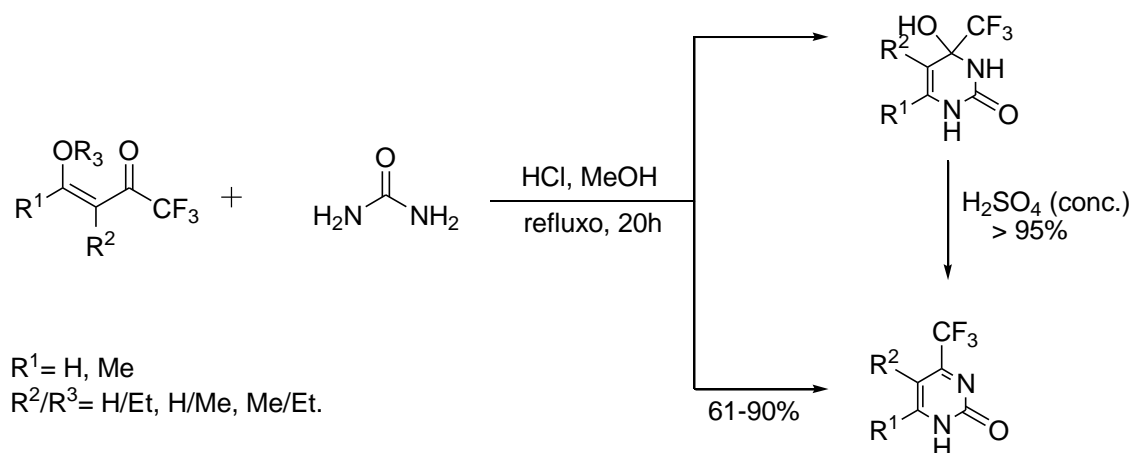
³² Baldino, C. M.C.; Justin, L.N.; Flanders, R. B.; Dumas, Y. L., Dumas, S. A. Patente U.S. 01522235 A1, **2011**.

³³ Mizuno, H. Patente WO2010134478 A1, **2010**.

³⁴ Aurecochea, N.; Beroza, P.P.; Damodaran, K. V.; Robinson, L.; Weber, K.T. 20100081653, **2011**.

reação com nucleófilos fracos como as uréias.³⁵ Um dos primeiros trabalhos desenvolvidos pelo NUQUIMHE foi publicado em 1991 por Zanatta e col.,³⁶ os quais desenvolveram um método de síntese de compostos pirimidínicos a partir da reação de ciclocondensação de β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com uréias empregando catálise ácida (**Esquema 3**).

Esquema 3:



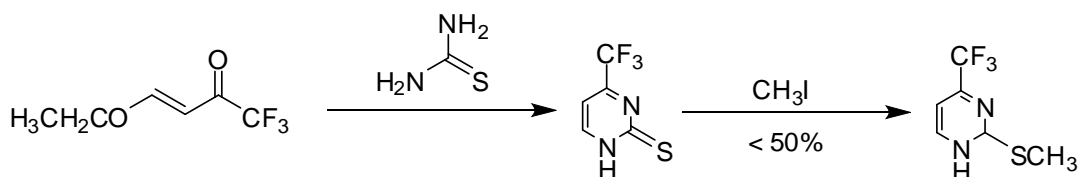
Segundo este estudo, quando o substituinte R^2 das enonas é uma metila ($\text{R}^2=\text{Me}$) foram obtidas 3,4-diidropirimidinonas, as quais foram desidratadas com ácido sulfúrico concentrado para obtenção das respectivas pirimidin-2-onas. No entanto, quando $\text{R}^2=\text{H}$, as pirimidin-2-onas foram obtidas sem necessidade de tratamento com ácido sulfúrico.

No mesmo ano, Gerus e col.³⁷ sintetizaram 4-trifluormetil-2-metilpirimidinas em duas etapas: primeiramente realizaram reações de condensação entre a 1,1,1-trifluormetil-4-etóxi-3-buten-2-ona com tiouréia, obtendo como intermediários as 4-trifluormetil-2-tiopirimidinas, as quais foram, na etapa seguinte, metiladas com iodeto de metila para fornecer as 2-metilpirimidinas com rendimentos menores que 50% (**Esquema 4**).

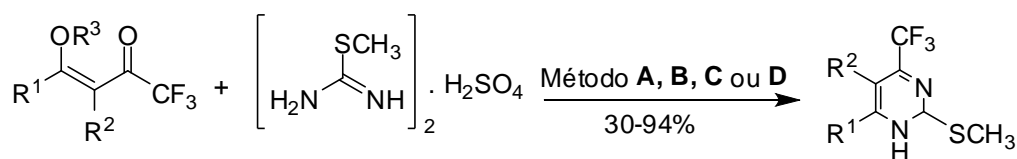
³⁵ (a) Bonaccorso, H. G.; Lopes I. S.; Wastowski, A. D.; Zanatta N.; Martins M. A. P., *J. Fluorine Chem.* **2003**, *120*, 29; (b) Flores, A. F. C.; Pizzuti, L.; Brondani, S.; Rossato, M.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 1316.

³⁶ Zanatta, N.; Pachoski, I. L.; Blanco, I.; Martins, M. A. P. *J. Braz. Chem. Soc.* **1991**, *2*, 118.

³⁷ Gerus, I. I.; Vdovenko, S. I.; Gorbunova, M. G.; Kukhar, V. P. *Chem. Heterocycl. Comp.* **1991**, 398.

Esquema 4:

Melhores resultados foram obtidos por Zanatta e col.,³⁸ os quais sintetizaram as 4-trifluormetil-2-metilthiopirimidinas em apenas um passo de reação através da ciclocondensação de diferentes β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com 2-metil-pseudotiouréia com rendimentos de 83% (**Esquema 5**). Para a obtenção das 2-metilthiopirimidinas foram empregados quatro métodos distintos, sendo as condições reacionais otimizadas para cada enona empregada.

Esquema 5:

$R^1 = \text{H, Me}$

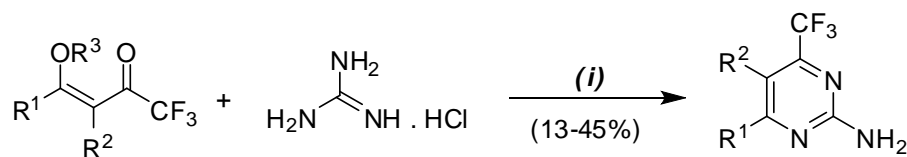
$R^2/R^3 = \text{H/Et, H/Me, }-(\text{CH}_2)_2-, -(\text{CH}_2)_3-$

Métodos: **A:** $\text{H}_2\text{O/Py}$; **B:** $\text{MeOH/H}_2\text{O/Py}$; **C:** $\text{MeOH/H}_2\text{O/HCl}$; **D:** MeOH/Py .

Em 1997 Zanatta e col.³⁹ sintetizaram 4-trifluormetil-2-aminopirimidinas através da reação de ciclocondensação das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com cloridrato de guanidina na presença de solução aquosa de hidróxido de sódio (**Esquema 6**). Os autores acreditam que a guanidina, por ser uma base forte, possa ter causado a decomposição das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas, fazendo com que os produtos fossem obtidos com baixos rendimentos (13-45%).

³⁸ Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Clereci, E.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1995**, *32*, 735.

³⁹ Zanatta, N.; Corteline, M. F. M.; Carpes, M. J. S.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P. *J. Heterocyclic Chem.* **1997**, *34*, 509.

Esquema 6:

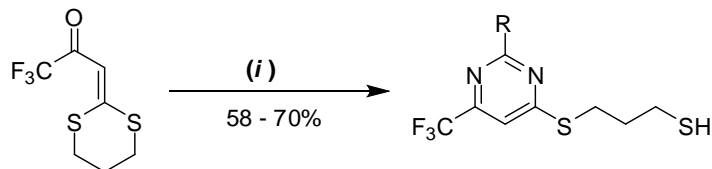
R¹ = H, Me

R²/R³ = H/Et, H/Me, -(CH₂)₂-, -(CH₂)₃-.

Condição de reação:

(i) NaOH (1M), t.a.

No mesmo ano, Mellor e col.⁴⁰ sintetizaram pirimidinas trifluormetiladas contendo o substituinte 1,3-ditiopropil no anel pirimidínico a partir da reação de oxocetonasditioacetais trifluormetilados com dinucleófilos (**Esquema 7**). Os autores concluíram que a rota foi eficiente para a síntese de novas pirimidinas trifluormetiladas contendo um grupo tiol no heterociclo.

Esquema 7:**Dinucleófilos:**

Tiouréia (R=SH);

Sulfato de *N,N*-Dimetilguanidina (R=NMe₂);

Sulfato de *N*-Etilguanidina (R= NHEt);

Sulfato de *N,N*-Dietilguanidina (R= NEt₂).

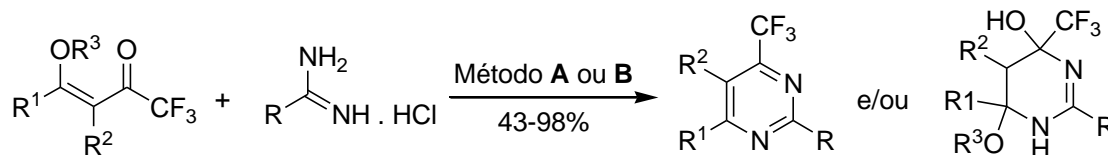
Condição de reação:

(i): Na₂CO₃, xileno, dinucleófilo, 140°C, 4h.

No ano seguinte, Zanatta e col.⁴¹ relataram a síntese de 2-metil[fenil]pirimidinas e 2-metil[fenil]tetraidropirimidinas 4-trifluormetiladas através da reação das β-alcoxivinil trifluormetil cetonas com acetamidas e benzamidas aplicando os métodos método A e B (**Esquema 8**). O Método A foi baseado no emprego de solução 1M de NaOH enquanto no Método B foi utilizado um alcóxido de sódio e um álcool (metanol ou etanol) para promover o meio básico da reação. A metodologia aplicada na síntese proporcionou a formação de pirimidinas, de tetraidropirimidinas ou ainda da mistura dos dois compostos, dependendo das condições de reação e da natureza das enonas de partida (substituintes R¹ e R²).

⁴⁰ Mellor, J. M.; Schofield, S. R.; Korn, S. R. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 1763.

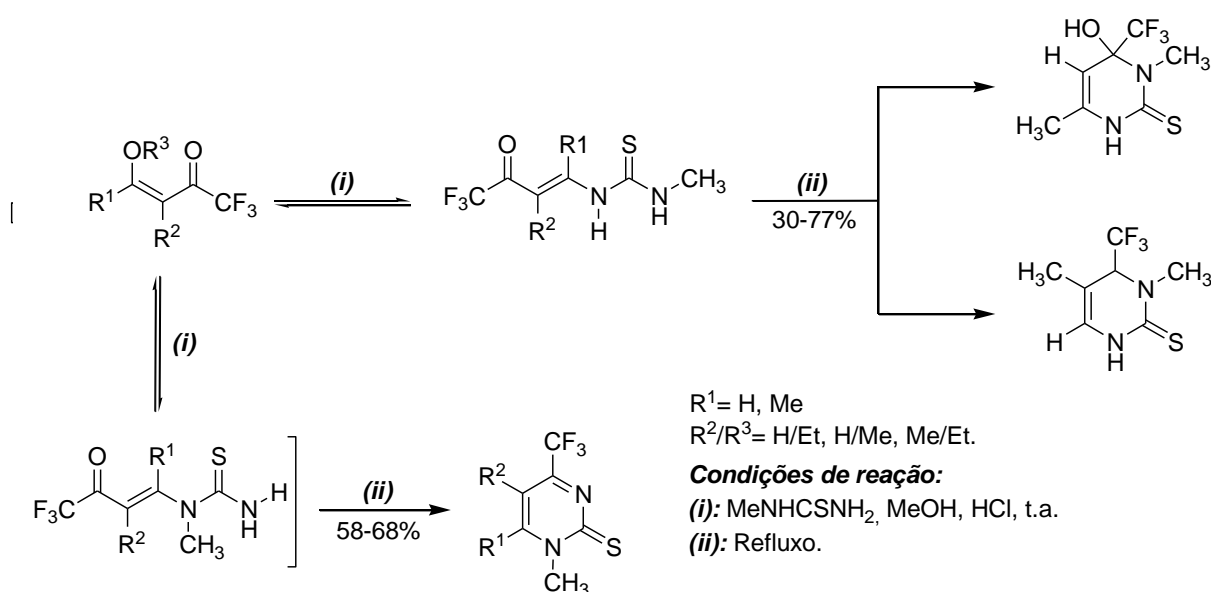
⁴¹ Zanatta, N.; Fagundes, M. B.; Ellensohn, R.; Marques, M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocyclic Chem.* **1998**, *35*, 451.

Esquema 8:

R= Me, Ph

R¹= H, MeR²/R³= H/Et, H/Me, -(CH₂)₂, -(CH₂)₃.**Condições de reação:**Método **A**: NaOH (1,0 M). **B**: EtO⁻Na⁺/EtOH.

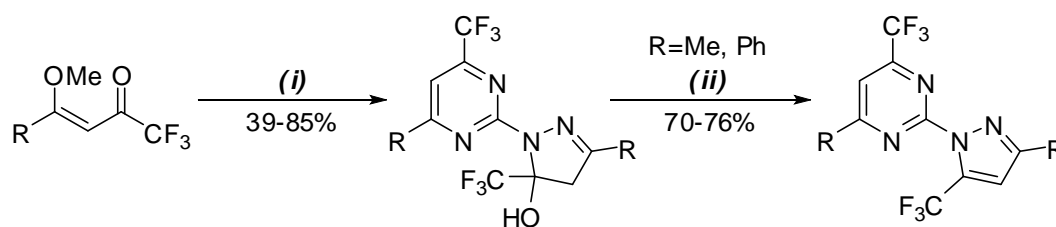
Em 2000, Zanatta e col.⁴² estudaram a regioquímica da reação de ciclocondensação entre as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com *N*-metiltiouréia na síntese de uma série de diferentes *N*-metilpirimiditionas substituídas (**Esquema 9**). Neste estudo foi observado que fatores como a temperatura e o tempo de reação, bem como os substituintes das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas influenciaram na regioseletividade e regioquímica da reação. Em geral o produto de cadeia aberta foi obtido em um pequeno intervalo de tempo, quando a reação foi realizada sob baixas temperaturas (0°C – t.a) e quando empregado refluxo e maiores tempos de reação, foram obtidas as *N*-metilpirimiditionas.

Esquema 9:R¹= H, MeR²/R³= H/Et, H/Me, Me/Et.**Condições de reação:****(i)**: MeNHCSNH₂, MeOH, HCl, t.a.**(ii)**: Refluxo.

⁴² Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Marisco, P. C.; Flores, D. C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocyclic chem.* **2000**, *37*, 1213.

Em 2001, Bonacorso e col.⁴³ relataram um método conveniente para a obtenção de 5-hidróxi-2-[1*H*-pirazol-1-il]pirimidinas trifluormetiladas a partir da reação de ciclização entre β -metoxivinil trifluormetil cetonas e aminoguanidinas (**Esquema 10**). A metodologia utilizada permitiu o isolamento dos produtos intermediários de cadeia aberta provavelmente devido ao efeito eletrônico retirador de elétrons proveniente do grupo trifluormetila presente no anel pirazolínico que proporcionou a síntese regioespecífica dos compostos desejados. Apenas as 5-hidróxi-2-[1*H*-Pirazol-1-il]pirimidinas trifluormetiladas com substituintes R= Me e Ph foram posteriormente desidratadas empregando ácido sulfúrico concentrado.

Esquema 10:



R = Me, *n*-Pr, *t*-Bu, Ph, 4-MeC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-MeOC₆H₄.

Condições de reação:

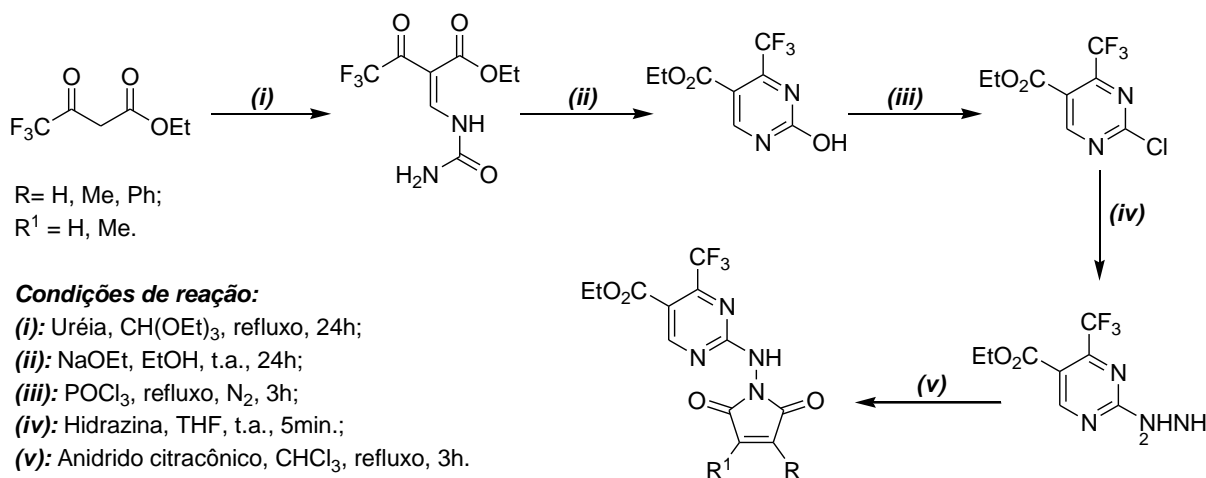
(i): NH₂NHC(NH)NH₂·H₂CO₃, etanol, refluxo, 4h.

(ii): H₂SO₄(conc.), CH₂Cl₂, refluxo, 4h.

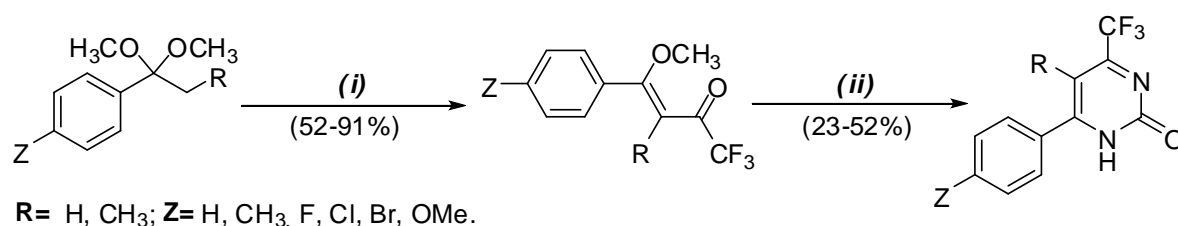
Em 2002, Palanki e col.³¹ descreveram a síntese e o estudo de relação estrutura atividade de uma série de análogos do composto 2-[(3-metil-2,5-dioxo(3-pirrolinil)amino]-4-(trifluormetil)pirimidina-5-carboxilato de etila o qual é um potente inibidor da proteína AP-1 reguladora da expressão gênica e do complexo de protéico controlador da transcrição do DNA, NF- κ B (**Esquema 11**).

Posteriormente, os autores também substituíram os grupamentos -CF₃ e -CO₂Et por outros grupos como, por exemplo, alquila, arila e heteroarila onde observaram que a presença de diferentes substituintes nas posições 2, 4 e 5 do anel pirimidínico causou influência na atividade inibitória dos compostos sintetizados sobre a proteína AP-1 e o complexo protéico NF- κ B.

⁴³ Bonacorso, H. G.; Wentz, A. P.; Zantta, N.; Martins, M. A. P. *Synthesis* **2001**, 1505.

Esquema 11:

Em 2003, Bonacorso e col.⁴⁴ sintetizaram novas 6-aryl(5-metil)-4-trifluormetil-(1*H*)-pirimidinonas empregando uréia e diferentes β -metoxivinil trifluormetil cetonas (**Esquema 12**). Segundo os autores, os espectros de RMN ¹H mostraram que as pirimidinonas com o substituinte metila na posição 5 do anel (R=CH₃), foram obtidas como uma mistura de isômeros *E* e *Z* na proporção 2:1, respectivamente. Já as pirimidinonas não substituídas na posição 5 do anel (R=H), apresentaram somente o isômero *E*.

Esquema 12:**Condições de reação:**

(i): (CF₃CO)₂, Py, CHCl₃, 0-60°C, 16-24h;

(ii): (NH₂)CO, MeOH, HCl conc., refluxo, 24-72h.

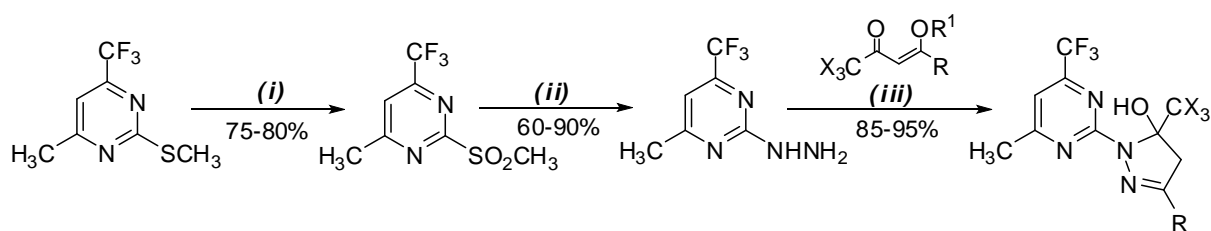
No mesmo ano, Zanatta e col.⁴⁵ realizaram a ciclização de 4-alcoxivinil trifluormetil cetonas com 2-hidrazinilpirimidinas trialometiladas para fornecer as pirazolil pirimidinas substituídas (**Esquema 13**). A síntese dos compostos teve início

⁴⁴ Bonacorso, H. G.; Lopes, I. S.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Fluorine Chem.* **2003**, *120*, 29.

⁴⁵ Zanatta, N.; Flores, D. C.; Madruga, C.C.; Faoro, D.; Flores, A.F.C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *Synthesis*, **2003**, 6, 894-898.

com a reação de oxidação das trifluormetil-2-sulfanilpirimidinas com o ácido *m*-cloroperbenzóico (MCPBA) para formar as sulfonas trifluormetiladas. Estas foram posteriormente oxidadas e convertidas em 2-hidrazinilpirimidinas através da reação com hidrazina hidratada e etanol. Finalmente, as hidrazinilpirimidinas foram reagidas com as 4-alcovivinil trialometil cetonas empregando os métodos A e B apresentados no Esquema 15. O método A foi baseado no emprego de MeOH com refluxo por 4h enquanto o método B utiliza CHCl₃ com refluxo por 24h. Os autores observaram que quando partiram de enonas trifluormetiladas a síntese das hidrazinilpirimidinas trifluormetiladas foi realizada com sucesso por ambos os métodos aplicados (A e B) enquanto para as enonas triclorometiladas quando foi realizada pelo método A ocorreu a formação de uma mistura complexa e não formou o produto e pelo método B ocorreu à formação do produto desejado.

Esquema 13:



X= F, Cl.

R= H, CH₃, Ph.

R¹=Et, Me.

Condições de reação:

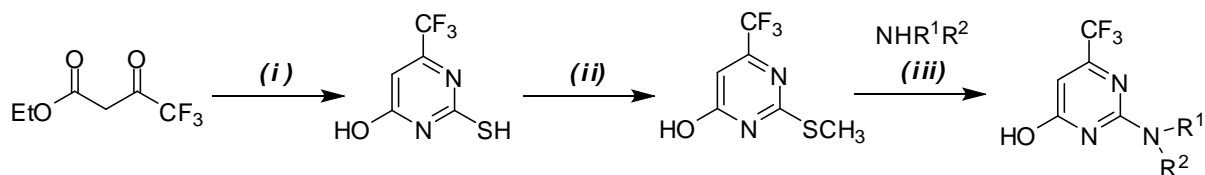
(i): MCPBA, CHCl₃, 24h, 25°C.

(ii): NH₂NH₂·H₂O, EtOH, refluxo, 4h.

(iii): **Método A** - MeOH, Refluxo, 4h; **Método B** - CHCl₃, Refluxo, 24h.

Em 2004, Ringom e col.⁴⁶ sintetizaram 2-aminopirimidinas trifluormetiladas, uma nova classe de inibidores seletivos da proteína A-FABP em seres humanos, empregando três etapas de reação (**Esquema 14**). Primeiramente os autores realizaram a reação de ciclização entre o composto dicarbonílico 4,4,4-trifluor-3-oxobutanoato de etila e tioúrea, produzindo uma 2-tiopirimidina. Esta foi posteriormente alquilada, empregando iodeto de metila, e reagida com algumas aminas para formar as 2-aminopirimidinas trifluormetiladas desejadas.

⁴⁶ Ringom, R.; Axen, E.; Uppenber, J.; Lundback, T.; Rondahl, L.; Barf, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4449.

Esquema 14:

$R^1 = \text{H, Me.}$

$R^2 = \text{Bn, 4-OMeBn-, 4-ClBn-, 2-ClBn-, 3-ClBn-, 4-MeBn-}.$

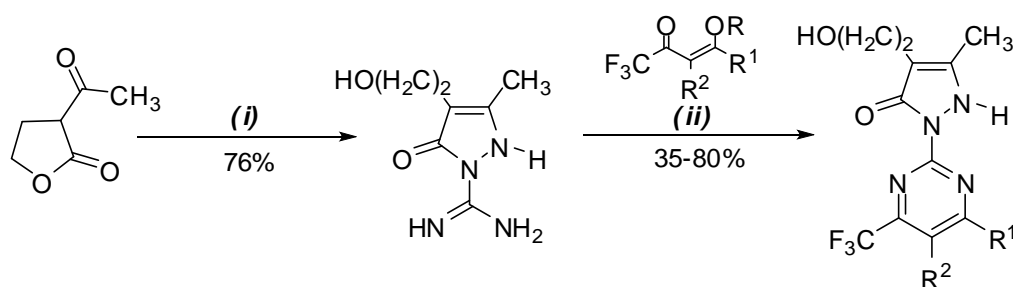
Condições de reação:

(i): Tiouréia, NaOMe, refluxo, MeOH, 18h;

(ii): MeI, 25°C, THF, 3h;

(iii): 3 Equiv. amina, 130°C, 18h.

Em 2005, Bonacorso e col.⁴⁷ sintetizaram uma nova série de 4-alkil(aril)-2-[3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-2-il]-6(4)-trifluormetilpirimidinas através da reação de ciclocondensação das 4-alcovivinil-1,1,1-trifluor-3-alquen-2-onas com uma amidina pirazolínica na presença de carbonato de sódio anidro (**Esquema 15**). A amidina pirazolínica foi preparada através da reação de 3-acetilbutirolactona com aminoguanidina. Este método proporcionou uma eficiente estratégia para a introdução de substituintes alquílicos (cíclicos e alifáticos) e aromáticos na posição 4 das trifluormetil pirimidinas.

Esquema 15:

$R = \text{Me, Et.}$

$R^1/R^2 = \text{H/H, Me/H, } i\text{-Pr/H, } -(\text{CH}_2)_3\text{-, C}_6\text{H}_5\text{/H, 4-OMeC}_6\text{H}_4\text{/H, 4-OMeC}_6\text{H}_4\text{/Me.}$

Condições de reação:

(i): $\text{NH}_2\text{NHC(NH)NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, EtOH, refluxo;

(ii): MeCN, K_2CO_3 .

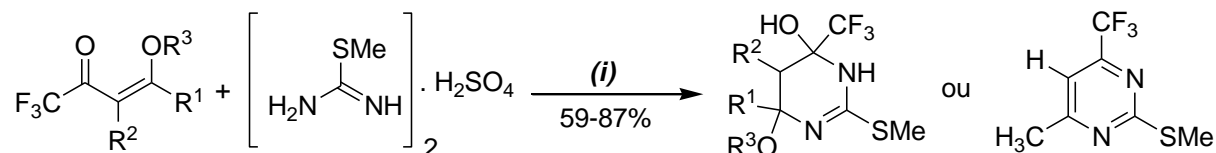
Em 2008 Zanatta e col.⁴⁸ relataram a síntese e o estudo de uma nova série de 2-metilsulfanil tetraidropirimidinas e 2-metilsulfanil pirimidinas a partir da reação de

⁴⁷ Bonacorso, H. G.; Martins, D. B.; Martins, M. A. P.; Zantta, N.; Flores, A. F. C. *Synthesis* **2005**, 809.

⁴⁸ Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Marisco, P. C.; Rosa, L. S.; Fernandes L. S.; Flores, D. C.; Flores, A. F. C.; Burrow, R. A.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **2008**, *45*, 221.

β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com sulfato de 2-metil-2-pseudotiouréia (**Esquema 16**).

Esquema 16:



$R^1 = \text{H, Me.}$

$R^2/R^3 = \text{H/Et, H/Me, } -(\text{CH}_2)_2^-, -(\text{CH}_2)_3^-.$

Condição de reação:

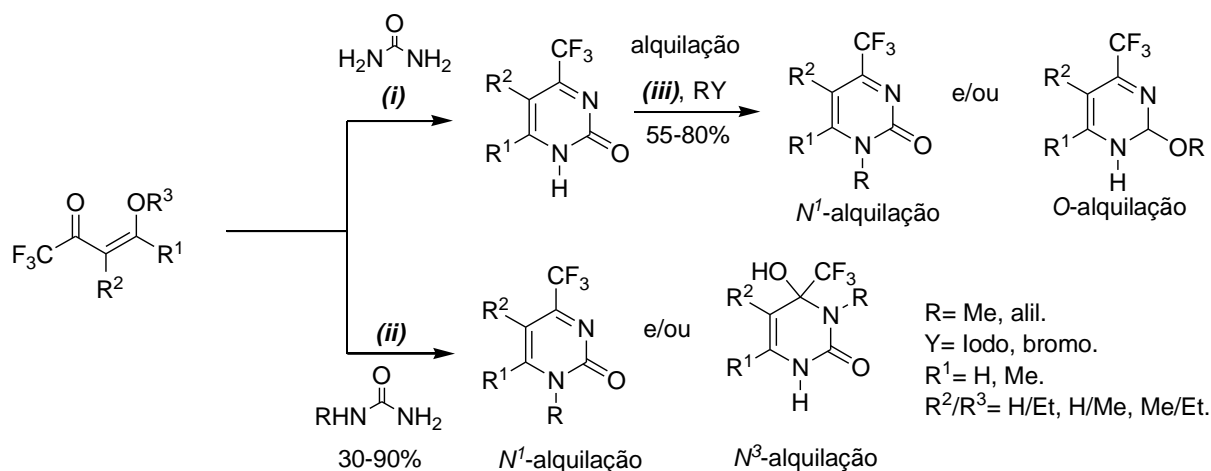
(i): NaOH 1M, t.a.

Quando os autores partiram das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas com o substituinte R^1 sendo uma metila ($R^1 = \text{CH}_3$) foram obtidas as pirimidinas trifluormetiladas desejadas, porém quando a reação foi realizada com as enonas que apresentaram substituintes R^1 diferentes ($R^1 \neq \text{CH}_3$), foram obtidas as tetraidropirimidinas.

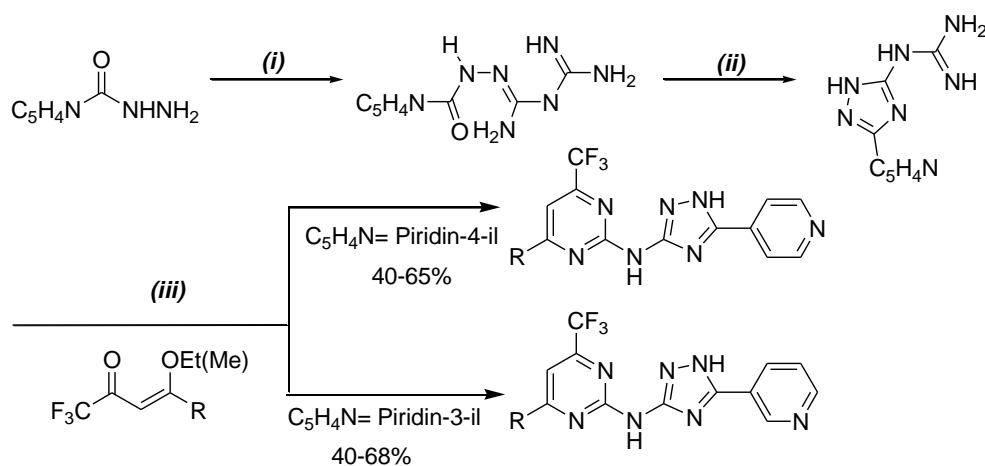
No mesmo ano, Zanatta e col.⁴⁹ realizaram um estudo comparativo da quimioseletividade e dos rendimentos da síntese de *N*-alquil-4-(trifluormetil)-1*H*-pirimidinonas, as quais foram obtidas através da reação de ciclocondensação de 4-alcóxi-1,1,1-trifluoralqu-3-en-2-onas com metil- e aliluréias ou pela reação de *N*-alquilação de 4-(trifluormetil)-1-pirimidin-2-onas com iodeto de metila e brometo de alila (**Esquema 17**). Os autores observaram que a *N*-alquilação forneceu mistura dos produtos *N*¹- e *O*-alquilados enquanto que a ciclocondensação das enonas com metil e aliluréias forneceu produtos regioseletivos, sendo obtidas apenas as pirimidinonas *N*³-alquiladas quando o $R^1 = \text{Me}$ e, apenas as pirimidinonas *N*¹-alquiladas quando $R^1 = \text{H}$.

⁴⁹ Zanatta, N.; Faoro, D.; Fernandes, L. S.; Brondani, P. B.; Flores, D. C.; Flores, A.C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5832.

Esquema 17

**Condições de reação:****(i):** Uréia, MeOH, HCl, Refluxo, 20h;**(ii):** metil ou aliluréia, MeOH, HCl, refluxo, 20h;**(iii):** Iodeto de metila ou brometo de alila, K_2CO_3 , acetona, refluxo 20h.

Em 2010, Bonacorso e col.⁵⁰ realizaram a síntese de *N*-(piridinil-triazolil)pirimidin-2-aminas trifluorometiladas a partir da reação de ciclocondensação de *N*-[5-(piridinil)-1*H*-1,2,4-triazol-3-il]guanidinas com 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trifluór-3-alken-2-onas (**Esquema 18**). A metodologia empregada proporcionou a obtenção de novas alkil, aril e heteroaril pirimidinas trifluorometiladas 2-substituídas.

Esquema 18:

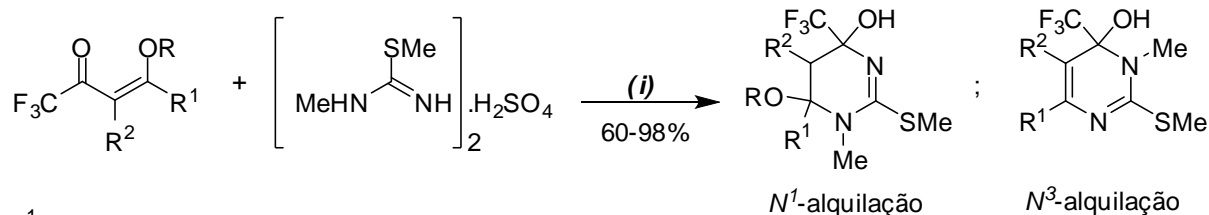
R= H, Me, C_6H_5 , 4- FC_6H_4 , 4- MeC_6H_4 , 4- OMeC_6H_4 , 2-Furil.

Condições de reação:**(i):** Cianoguanidina, EtOH, HCl 37%, refluxo, 8h; **(ii):** NaOH 2.5M, 80°C, 6h; **(iii):** EtOH, refluxo, 18h.

⁵⁰ Bonacorso, H. G.; Bortolloto, G. P.; Navarini, J.; Porte, L. M. F.; Wiethan, C. W.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **2010**, *131*, 1297.

No mesmo ano, Zanatta e col.⁵¹ realizaram a síntese e o estudo estrutural de uma série de *N*-metil-2-metiltiopirimidinas obtidas a partir da reação de ciclocondensação de enonas trifluormetiladas com o dinucleófilo sulfato de *N*-metil-2-metiltiouréia na presença de solução 1M de NaOH (**Esquema 19**).

Esquema 19:



$\text{R}^1 = \text{H}, \text{Me}.$

$\text{R}^2/\text{R} = \text{H/Et}, \text{H/Me}, -(\text{CH}_2)_2-, -(\text{CH}_2)_3-.$

Condição de reação:

(i) Solução 1M de NaOH, 0-50°C, 1h-2,4h.

Com relação à síntese, os autores observaram que os substituintes das enonas (R , R^1 e R^2) tiveram grande influência na formação dos produtos N^1 e N^3 -metilados, da seguinte maneira: quando a reação foi realizada empregando as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas que apresentaram $\text{R}^1 = \text{H}$ foram obtidas somente as tetraidropirimidinas N^1 -metiladas. Entretanto, quando a reação foi realizada utilizando a enona em que $\text{R}^1 = \text{Me}$, foi obtida somente a diidropirimidina N^3 -metilada.

Desta forma, os autores acreditam que efeitos estéricos estejam governando a regioseletividade porque, quando o substituinte R^1 da enona é um hidrogênio não ocorre impedimento estérico na reação de ciclocondensação com o sulfato de *N*-Metil-2-metilisotioureia, o que favorece a formação de somente os produtos N^1 -metilados. No entanto, quando o substituinte R^1 da enona é igual a uma metila ocorre impedimento estérico com centro nucleófilico N-CH_3 do sulfato de *N*-metil-2-metilisotioureia ocorrendo somente à formação do produto N^3 -metilado.

Para a comprovação da regioseletividade da reação onde apenas as tetraidropirimidinas N^1 -metiladas ou apenas a diidropirimidina N^3 -metilada foram obtidas, os pesquisadores realizaram um estudo estrutural dos compostos com base

⁵¹ Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Marisco, P. C.; Rosa, L. S.; Silva, F. M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **2010**, *47*, 1234.

nos experimentos de ressonância magnética nuclear bidimensional (HMBC), onde foi possível a confirmação da posição correta do grupo $N\text{-CH}_3$ (posição N^1 ou N^3). Esse experimento mostrou que quando o grupo $N\text{-CH}_3$ está na posição N^1 observou-se o acoplamento dos hidrogênios do grupo $N\text{-CH}_3$ com os carbonos C-2 e C-6 do anel pirimidínico enquanto que, quando $N\text{-CH}_3$ está na posição N^3 observou-se o acoplamento dos hidrogênios do grupo $N\text{-CH}_3$ com os carbonos C-2 e C-4 do anel pirimidínico, como mostrado na **Figura 5**.

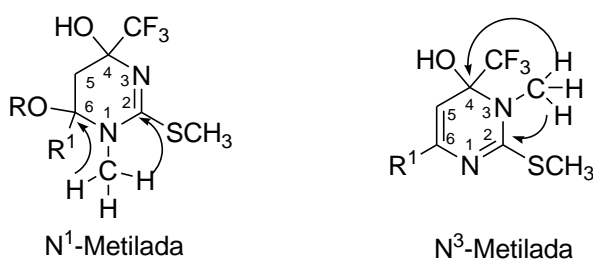


Figura 5: Estratégia para atribuição da posição para o grupo $N\text{-CH}_3$ por experimentos de HMBC.

Além disso, foi observado nos espectros de RMN ^1H que quando o grupo $N\text{-CH}_3$ da diidropirimidina está vizinho ao grupo CF_3 ($N^3\text{-CH}_3$) observou-se o desdobramento do sinal dessa metila em um quarteto devido ao acoplamento com o grupo CF_3 , o que facilitou a identificação correta da estrutura dos compostos obtidos com a realização de um simples espectro de RMN de hidrogênio.

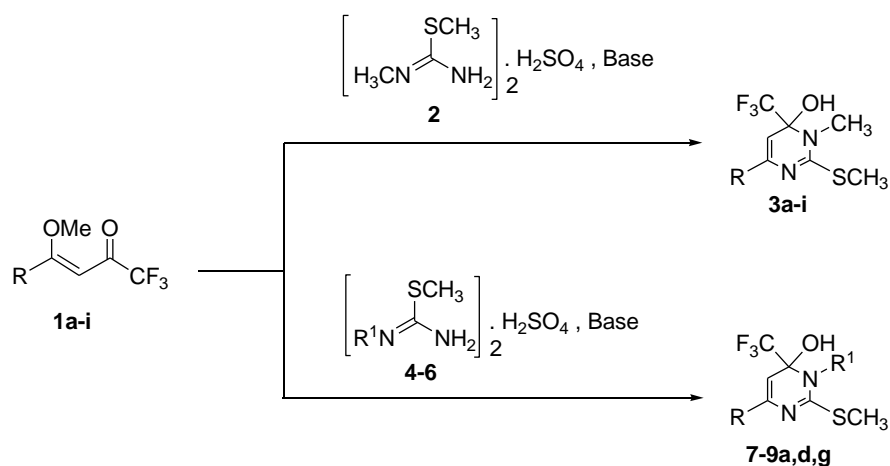
APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1 Apresentação dos Compostos

O **Esquema 20** apresenta a rota reacional proposta para a obtenção dos produtos sintetizados neste trabalho, bem como a numeração atribuída a cada composto. O bloco de partida para as reações foram as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas **1a-i**.

Esquema 20:



Base= Na₂CO₃ (1,0M) ou NaOH (1,0M).

1,3,7-9	a	b	c	d	e	f	g	h	i
R	Me	Et	Pr	C ₆ H ₅	4-MeC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	Fur-2-il.

	4,7	5,8	6,9
R ¹	Et	Alil	C ₆ H ₅

3.1.1 Nomenclatura dos compostos sintetizados

A **Tabela 1** apresenta a nomenclatura e a estrutura química dos compostos inéditos sintetizados neste trabalho, bem como de seus precursores, as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas **1a-i** e a 1,2-dimetilisotioureia (**2**) e as 2-metilisotiureias *N*-substituídas, **4-6**.

Tabela 1: Nomenclatura e estrutura química dos compostos sintetizados neste trabalho e de seus precursores.

Composto	Estrutura	Nomenclatura
1a		1,1,1-Trifluor-4-metoxipent-3-en-2-ona
1b		1,1,1-Trifluor-4-metoxihex-3-en-2-ona
1c		1,1,1-Trifluor-4-metoxihept-3-en-2-ona
1d		4-Fenil-1,1,1-trifluor-4-metoxibut-3-en-2-ona
1e		1,1,1-Trifluor-4-(metilfenil) 4-metoxibut-3-en-2-ona
1f		1,1,1-Trifluor-4-metóxi-4-(4-metoxifenil)-but-3-en-2-ona
1g		1,1,1-Trifluor-4-(4-fluorfenil)-4-metoxibut-3-en-2-ona
1h		4-(4-Bromofenil)-1,1,1-trifluor-4-metoxibut-3-en-2-ona
1i		1,1,1-trifluor-4-(Fur-2-il)-4-metoxibut-3-en-2-ona
2		Sulfato de <i>N</i> -metil-2-metiltiouréia

Tabela 1: Nomenclatura e estrutura química dos compostos sintetizados neste trabalho e de seus precursores (continuação).

Composto	Estrutura	Nomenclatura
3a		4-(Trifluorometil)-3,6-dimetil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
3b		6-Etil-4-(trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
3c		4-(Trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-6-propil-3,4-diidropirimidin-4-ol
3d		4-(Trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-6-fenil-3,4-diidropirimidin-4-ol
3e		4-(trifluorometil)-3-metil-6-(4-metilfenil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
3f		4-(trifluorometil)-3-metil-6-(4-metoxifenil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
3g		6-(4-Fluorfenil)-4-(trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
3h		6-(4-Bromofenil)-4-(trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol

Tabela 1: Nomenclatura e estrutura química dos compostos sintetizados neste trabalho e de seus precursores (continuação).

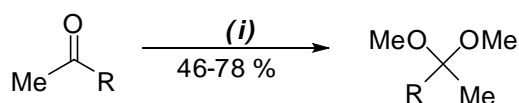
Composto	Estrutura	Nomenclatura
3i		6-(Fur-2-il)-4-(trifluorometil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
4		Sulfato de <i>N</i> -etil-2-metiltiouréia
5		Sulfato de <i>N</i> -alil-2-metiltiouréia
6		Sulfato de <i>N</i> -fenil-2-metiltiouréia
7a		3-Etil-4-(trifluorometil)-6-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
7d		3-Etil-6-fenil-4-(trifluorometil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
7g		3-Etil-6-(4-fluorfenil)-4-(trifluorometil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
8a		4-(Trifluorometil)-6-metil-2-(metiltio)-3-(prop-1-en-3-il)-3,4-diidropirimidin-4-ol

Tabela 1: Nomenclatura e estrutura química dos compostos sintetizados neste trabalho e de seus precursores (continuação).

Composto	Estrutura	Nomenclatura
8d		6-Fenil-4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3-(prop-1-en-3-il)-3,4-diidropirimidin-4-ol
8g		6-(4-Fluorfenil)-4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3-(prop-1-en-3-il)-3,4-diidropirimidin-4-ol
9a		3-Fenil-4-(trifluormetil)-6-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
9d		3,6-Difenil-4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol
9g		3-Fenil-6-(4-fluorfenil)-4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol

3.2 Síntese de Acetais

As reações de obtenção dos acetais empregados na síntese das enonas **1a-i** (**Esquema 21**) foram realizadas de acordo com técnicas anteriormente descritas.¹² Desta forma, os acetais foram obtidos a partir da reação de metilcetonas com ortoformiato de trimetila empregando quantidade catalítica de ácido *p*-tolueno sulfônico. Os acetais foram purificados por meio de destilação à pressão reduzida.

Esquema 21:

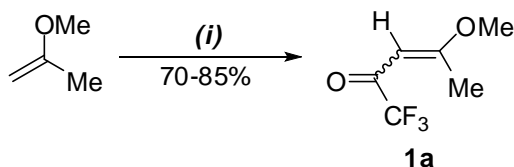
R = Et, Pr, C₆H₅, 4-MeC₆H₅, 4-OMeC₆H₅, 4-FC₆H₅, 4-BrC₆H₅, fur-2-il.

Condição de reação:

(i): *p*-TsOH, HC(OMe)₃, MeOH, t.a., 24 h.

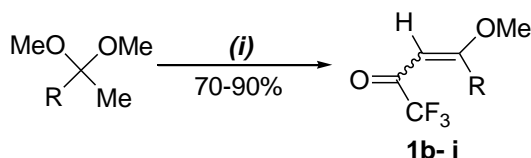
3.3. Síntese das 4-alkil(aril)(heteroaril)-1,1,1-trifluór-4-metóxi-3-alquen-2-onas (1a-i).

A síntese dos compostos **1a-i** foi realizada conforme metodologia já descrita na revisão bibliográfica.^{11,12,23,52} A enona trifluormetilada **1a** foi obtida através da reação de acilação do enol éter 2-metoxiprop-1-eno com anidrido trifluoracético na presença de piridina (**Esquema 22**). As demais enonas trifluormetiladas (**1b-i**) foram obtidas através de reações de acilação dos acetais com anidrido trifluoracético e piridina (**Esquema 23**). Os produtos **1a-i** foram purificados por meio de destilação à pressão reduzida, sendo obtidos em bons rendimentos.

Esquema 22:

Condição de reação:

(i) (CF₃CO)₂O (1,2 equiv.), py (1,2 equiv.), CHCl₃, 0-25°C, 16h.

Esquema 23:

R = Et (**1b**); Pr (**1c**); C₆H₅ (**1d**); 4-MeC₆H₄ (**1e**); 4-OMeC₆H₄ (**1f**); 4-BrC₆H₄ (**1g**); 4-FC₆H₄ (**1h**); fur-2-il (**1i**).

Condição de reação:

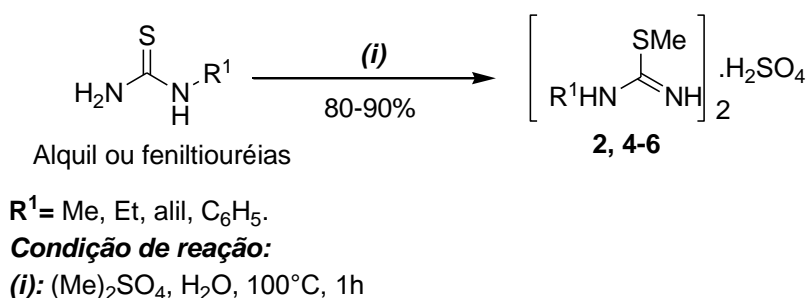
(i) (CF₃CO)₂O (2,0 equiv.), py (2,0 equiv.), CHCl₃, 0-45°C, 16h.

⁵² (a) Bonacorso, H. G.; Wentz, A. P.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Synthesis* **2002**, 1079; (b) Frizzo, C. P.; Campos, P. T.; Marzari, M. R. B.; Machado, P.; Martins, M. A. P. *Acta Cryst.* **2008**, *64*, 212.

3.4 Síntese dos sulfatos de N-alkuil(aril)-2-metilouréias **2, 4-6**.⁵³

Os sulfatos de N-alkuil(aril)-2-metilisotiouréias **2, 4-6**, empregados na reação de ciclocondensação com as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas **1a-i**, foram sintetizados através da reação entre o dimetilsulfato e quatro N-alkuil(aril)metilisotiouréias, conforme demonstrado no **Esquema 24**. Os sulfatos **2, 4** e **5** foram obtidos como óleos viscosos e incolores, já o sulfato de N-fenil-2-metilisotiouréia **6** foi obtido na forma de um sólido branco e apresentou ponto de fusão na faixa de 103-106 °C. Todos os sulfatos foram obtidos em ótimos rendimentos.

Esquema 24:



3.5 Síntese das 4-trifluormetil-2-metil-3,4-diidropirimidinas N³-substituídas (**3a-i** e **7-9a,d,g**).

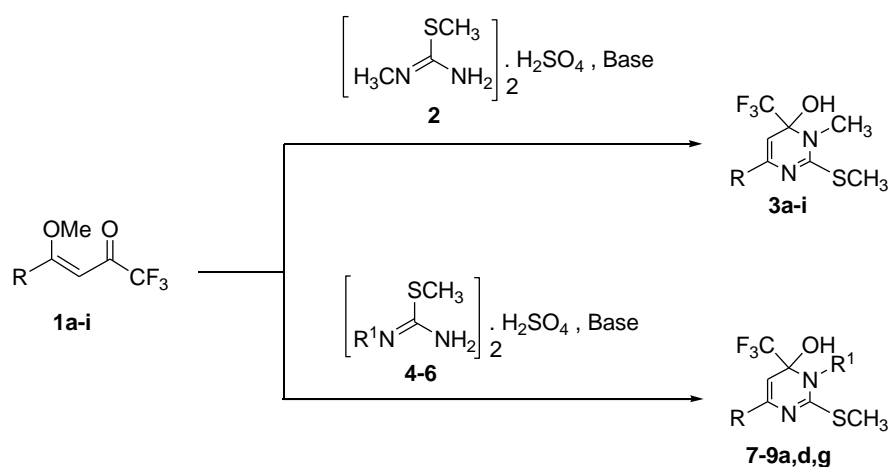
Como descrito na revisão bibliográfica, uma das metodologias empregadas para a síntese de pirimidinas substituídas consiste na reação de ciclocondensação entre β -alcoxivinil trifluormetil cetonas e sulfatos de isotiouréias empregando meio básico.⁵¹ Tendo em vista, que somente um produto, o 4-(Trifluormetil)-3,6-dimetil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-ol (**3a**) foi sintetizado por Zanatta e col.⁵¹, este trabalho visa à obtenção de uma série de novos 4-(Trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-óis 3- e 6-substituídos de forma a comprovar a reatividade e a regioseletividade da reação de ciclocondensação.

Logo, neste trabalho a metodologia proposta por Zanatta e col.⁵¹ foi aperfeiçoada visando à síntese de uma série de novos 4-(Trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-óis, os quais apresentam diferentes substituintes nas posições 3

⁵³ Blatt, A. H. organic syntheses, New York, **1943**, vol. II, 411p.

e 6 do anel pirimidínico. Os produtos regioseletivos 4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidin-4-óis **3a-i**, **7a,d,g**, **8a,d,g** e **9a,d,g** foram sintetizados a partir da reação de ciclocondensação entre as β -alcoxivinil trifluormetil cetonas **1a-i** e os dinucleófilos *N*-alquil(aril)-2-metilisotiouréias **2**, **4-6** empregando solução básica (carbonato de sódio ou hidróxido de sódio) como já foi demonstrado no **Esquema 20**, o qual, para uma melhor visualização dos compostos, é apresentado novamente nesta seção.

Esquema 20:



Base= Na₂CO₃ (1,0M) ou NaOH (1,0M).

1,3,7-9	a	b	c	d	e	f	g	h	i
R	Me	Et	Pr	C ₆ H ₅	4-MeC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	4-FC ₆ H ₄	4-BrC ₆ H ₄	Fur-2-il.

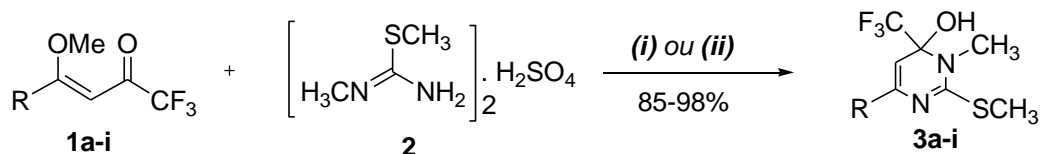
	4,7	5,8	6,9
R ¹	Et	Alil	C ₆ H ₅

O estudo sintético foi conduzido de forma a produzir, inicialmente, a série inédita de compostos 4-trifluormetil-3-metil-2-metiltio-3,4-diidropirimidin-4-óis 6-substituídos **3a-i** e, posteriormente, sintetizar os diidropirimidinóis análogos **7a,d,g**, **8a,d,g** e **9a,d,g** fixando os substituintes metil, fenil e 4-fluorfenil, derivados das enonas **1a**, **1d** e **1g**, respectivamente, na posição 6 do anel pirimidínico. Neste caso, o substituinte metila da posição 3 do anel pirimidínico dos compostos **3a-i** foi substituído por outros grupos mais volumosos (etil, alil e fenil).

3.5.1. Síntese das 4-(trifluormetil)-3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinas 6-substituídas 3a-i.

As diidropirimidinas **3a-i** foram sintetizadas através da reação de ciclocondensação das enonas **1a-i** com sulfato de *N*-metil-2-metilisotiuréia **2** em meio básico conforme é apresentado no **Esquema 25**

Esquema 25:



R= Me (**3a**), Et (**3b**), Pr (**3c**), C₆H₅ (**3d**), 4-MeC₆H₄ (**3e**), 4-MeOC₆H₄ (**3f**),
4-FC₆H₄ (**3g**), 4-BrC₆H₄ (**3h**), Fur-2-il (**3i**).

Condições de reação:

(i): NaOH (1,0M), 0°C, 1h. (**1a-c**)

(ii) Na₂CO₃ (1,0M), t.a, 1h. (**1d-i**)

As condições de reação (i) e (ii) apresentadas no **Esquema 25** foram estabelecidas após a realização de alguns ensaios de otimização das reações de ciclocondensação utilizando a enona 4-fenil-1,1,1-trifluor-4-metoxibut-3-en-2-ona **1d** e o dinucleófilo *N*-metil-2-metilisotiuréia **2** como demonstrado na **Tabela 2**. Nesses testes experimentais foi verificada a influência de quatro fatores sobre o rendimento da reação: o emprego de diferentes proporções molares enona:dinucleófilo, a temperatura em que a reação foi realizada, o tempo da reação e a base utilizada na reação (NaOH ou Na₂CO₃).

As diferentes proporções de enona e dinucleófilo testadas foram 1:1, 1:1,5 e 1:2; as bases utilizadas para a otimização da reação, como já foi mencionado, foram o hidróxido de sódio (NaOH) e o carbonato de sódio (Na₂CO₃); os tempos de reação variaram entre 30 minutos e 2 horas e 20 minutos e as temperaturas testadas nas reações foram 0°C ou temperatura ambiente (t.a.).

Tabela 2: Otimização das condições reacionais para a síntese do pirimidinol **3d**.

Ensaio	Enona 1d: dinucleófilo 2 ^[a]	Tempera- tura ^[b]	Tempo (h)	Base utilizada	Produto obtido	Rendimento (%) ^[c]
1	1:2	0°C	2,3	NaOH	1d+3d ^[d]	-
2	1:2	0°C	2,3	Na ₂ CO ₃	1d+3d ^[d]	-
3	1:2	t.a	2,3	NaOH	3d	30
4	1:2	t.a	2,3	Na ₂ CO ₃	3d	98
5	1:1	t.a	2,3	Na ₂ CO ₃	3d	50
6	1:1,5	t.a	2,3	Na ₂ CO ₃	3d	65
7	1:2	t.a	0,5	Na ₂ CO ₃	1d+3d ^[d]	-
8	1:2	t.a	1,0	Na ₂ CO ₃	3d	97

^[a]Proporção molar; ^[b]t.a.=temperatura ambiente; ^[c]Rendimento do produto isolado; ^[d]Obtida uma mistura do produto desejado **3d** juntamente com a enona de partida **1d**.

De maneira mais detalhada, a **Tabela 2** pode ser interpretada da seguinte maneira:

Nos ensaios 1 e 2 foi utilizada a proporção molar 1:2 da enona **1d** e do dinucleófilo **2**, respectivamente; o mesmo tempo de reação (2,3h = 2h20min.) e temperatura de 0°C, variando apenas a base utilizada (NaOH ou Na₂CO₃). A proporção enona/dinucleófilo, tempo de reação, base utilizada e temperatura para o ensaio 1 foram baseadas em dados da literatura⁵¹. Nesses dois ensaios realizados foi observada a formação do produto desejado **3d**, porém grande parte da enona de partida **1d** ficou sem reagir. Desta forma, chegou-se a conclusão que, nesta temperatura pouco influenciou o emprego do NaOH ou Na₂CO₃ e que outras temperaturas de reação deveriam ser testadas.

Nos ensaios 3 e 4 também foi utilizada a proporção molar 1:2 da enona **1d** e do dinucleófilo **2**, respectivamente; as reações foram realizadas a temperatura ambiente no intervalo de tempo de 2,3h, mantendo-se a o emprego das bases NaOH e Na₂CO₃. Foi observado no ensaio 4, no qual empregou-se o Na₂CO₃ como base, que o produto **3d** foi obtido com excelente rendimento (98%), não restando

material de partida, enquanto que a base NaOH proporcionou a obtenção da diidropirimidina **3d** com apenas 30% de rendimento (ensaio 3).

Tendo encontrado a melhor base (Na_2CO_3) e a temperatura ideal (t.a.) para a realização da reação, buscou-se a melhor proporção molar enona : dinucleófilo. Para isso, nos ensaios 5 e 6 a proporção molar de enona : dinucleófilo empregada foi 1:1 e 1:1,5, respectivamente. Nesses ensaios foi mantida a temperatura (t.a.) e o tempo de reação de 2,3h. Nessas condições, o produto **3d** foi obtido em rendimentos moderados (50% ensaio 5 e 65% ensaio 6), o que levou a conclusão de que a melhor proporção molar enona : dinucleófilo empregada foi a 1:2, respectivamente, pois proporcionou um melhor rendimento (98%, ensaio 4).

Com o objetivo de se encontrar o menor tempo para que a reação fosse finalizada sem que houvesse queda no rendimento, foram realizados mais dois ensaios, o ensaio 7 e o 8, nos quais foram mantidos a proporção molar (1:2), a temperatura (t.a) e a base (Na_2CO_3), aplicando tempos de 30 minutos e 1 hora, respectivamente. Logo, foi observado que, quando a reação foi deixada sob agitação por 30 minutos, apenas uma pequena quantidade do produto **3d** foi obtido, restando grande quantidade da de partida **1d** (ensaio 7), enquanto que, quando aplicado o tempo de 1 hora de reação, o produto **3d** foi obtido de forma pura, apresentando rendimento de 97% (ensaio 8).

Desta forma, a condição de reação escolhida para a síntese dos compostos **3a-i** foi a descrita no ensaio 8 da **Tabela 2**, onde a reação de ciclocondensação foi realizada à temperatura ambiente empregado-se um excesso de 1 equivalente molar do dinucleófilo **2** em relação à enona **1d** (proporção 2:1), a base carbonato de sódio (Na_2CO_3) e o tempo de reação de 1h. Essa condição proporcionou a obtenção do produto desejado **3d** com ótimo rendimento, elevado grau de pureza e em um menor intervalo de tempo. Por esses motivos, porém com algumas ressalvas que serão discutidas em momento apropriado, essa condição de reação [(i) - **Esquema 25**] foi aplicada para a síntese dos demais compostos desta série (**3a-i**) e também das diidropirimidinas **7-9a,d,g**, as quais serão descritas posteriormente.

Embora a condição de reação aplicada no ensaio 8 tenha sido satisfatória para a maioria das reações realizadas, quando as enonas alquílicas **1a**, **1b** e **1c** foram empregadas na reação com o dinucleófilo *N*-metil-2-metilisotriuréia (**2**), foi observado a degradação dos produtos esperados (**3a**, **3b** e **3c**) e uma ligeira queda nos seus rendimentos, quando comparados com o rendimento do composto **3d**

relatado no ensaio 8 da Tabela 2. Desta forma, para as enonas **1a**, **1b** e **1c** foram realizados novos ensaios experimentais, onde as reações foram efetuadas a 0°C e utilizando NaOH como base. As demais variáveis (proporção molar enona: dinucleófilo e tempo de reação) já estabelecidas no ensaio 8 da Tabela 2 foram preservadas. Assim, os produtos **3a**, **3b** e **3c** foram obtidos através da condição de reação [(ii) - **Esquema 25**] apresentando bons rendimentos e pureza satisfatória.

De forma a especificar a condição de reação aplicada para a obtenção de cada produto da série de 3,4-diidropirimidinas trifluormetiladas **3a-i**, a **Tabela 3** apresenta detalhes da síntese dos compostos desejados como: enona empregada na reação, temperatura em que a reação foi realizada, rendimento e algumas características físicas dos produtos **3a-i**.

Tabela 3: Condições de reação e características dos compostos **3a-i**.^[a]

Enona	Temperatura ^[b]	Base ^[c]	Produto	Rendimento (%) ^[d]	Características	Ponto de Fusão (°C)
1a	0°C	NaOH	3a	98	Sólido amarelo claro	58-60
1b	0°C	NaOH	3b	80	Sólido amarelo claro	70-71
1c	0°C	NaOH	3c	85	Sólido amarelo escuro	83-85
1d	t.a.	Na ₂ CO ₃	3d	98	Sólido branco	112-113
1e	t.a.	Na ₂ CO ₃	3e	90	Sólido branco	108-109
1f	t.a.	Na ₂ CO ₃	3f	92	Sólido branco	104-106
1g	t.a.	Na ₂ CO ₃	3g	95	Sólido amarelo claro	102-103
1h	t.a.	Na ₂ CO ₃	3h	96	Sólido branco	106,5-107
1i	t.a.	Na ₂ CO ₃	3i	93	Sólido amarelo esverdeado	103-104

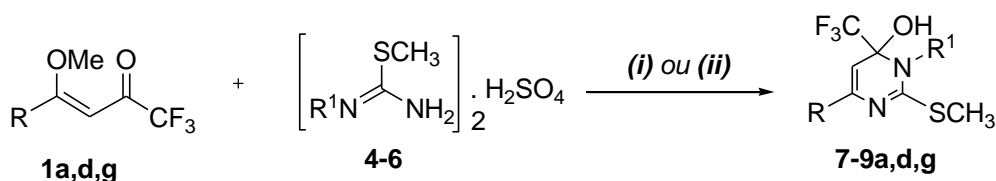
^[a]Todas as reações foram realizadas no tempo de 1h, empregando a proporção molar 1:2 de enona e isotiouréia, respectivamente; ^[b]t.a.=temperatura ambiente; ^[c]A base foi empregada na forma de solução de concentração 1,0M; ^[d]Rendimento dos produtos isolados.

3.5.2. Comprovação da regioquímica da reação de ciclocondensação: Síntese das 4-(trifluormetil)-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinas N^3 -substituídas 7-9a,d,g.

Como mencionado na introdução, um dos objetivos deste trabalho é realizar a comprovação da regioquímica da reação de ciclocondensação entre as enonas trifluormetiladas e as N -(alquil ou aril)-2-metilisotiuréias. Como observado no Esquema 25, apresentado anteriormente, as reações entre as enonas **1a-i** e o sulfato de N -metil-2-metilisotiuréia (**2**) proporcionaram a obtenção apenas dos produtos regioseletivos N^3 -metilados, no caso, produtos N^3 -metilados, não sendo observado nenhum traço dos possíveis produtos N^1 -metilados. Visando a comprovação da regioquímica dessas reações foram realizadas novas reações de ciclocondensação entre as enonas selecionada **1a**, **1d** e **1g** e outras três 2-metilisotiuréias N -substituídas (**4-6**). As enonas com substituintes $R = \text{Me}$, C_6H_5 e $4\text{-FC}_6\text{H}_4$ foram às escolhidas para verificar a regioseletividade da reação de ciclocondensação, porque apresentam volumes dos substituintes bem diferenciados e também pelo fato das diidropirimidinas, **3a**, **3d** e **3g**, derivadas destas enonas, foram as que mostraram os melhores resultados na atividade biológica.

Desta forma, os substituintes Me , C_6H_5 e $4\text{-FC}_6\text{H}_4$, os quais são provenientes das enonas **1a**, **1d** e **1g**, respectivamente foram fixados na posição 6 do anel pirimidínico, e ao mesmo tempo, o grupo metila da posição 3 do heterociclo foi substituído pelos grupos Et , alil e C_6H_5 , provenientes das 2-metilisotiuréias N -substituídas **4-6**, resultando na obtenção dos novos produtos regioseletivos **7-9a,d,g** (Esquema 26).

Esquema 26:



$\text{R/R}^1 = \text{Me/Et}$ (**7a**), Me/Alil (**8a**), $\text{Me/C}_6\text{H}_5$ (**9a**), $\text{C}_6\text{H}_5/\text{Et}$ (**7d**), $\text{C}_6\text{H}_5/\text{Alil}$ (**8d**), $\text{C}_6\text{H}_5/\text{C}_6\text{H}_5$ (**9d**), $4\text{-FC}_6\text{H}_4/\text{Et}$ (**7g**), $4\text{-FC}_6\text{H}_4/\text{Alil}$ (**8g**), $4\text{-FC}_6\text{H}_4/\text{C}_6\text{H}_5$ (**9g**).

Condições de reação:

(i): NaOH (1,0M), 0°C , 1h. (**1a**)

(ii) Na_2CO_3 (1,0M), t.a, 1h. (**1d**, **1g**)

As condições de reação utilizadas para a obtenção das 3,4-diidropirimidinas **7-9a,d,g** foram às mesmas utilizadas para a síntese da série 3-metil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinas **3a-i**, ou seja, os dinucleófilos **4-6** foram empregados com excesso na proporção 1:2 (enona:dinucleófilo); as reações foram realizadas na presença de solução 1M de NaOH, no tempo de 1h, sob temperatura de 0°C (quando utilizada a enona alquílica **1a**) ou na presença de solução 1M de Na₂CO₃, no tempo de 1h, a temperatura ambiente (quando utilizadas as enonas **1d,g**). A **Tabela 4** apresenta detalhes da síntese dos compostos desejados **7-9a,d,g** (enona empregada na reação, temperatura em que a reação foi realizada, rendimento e algumas características físicas dos produtos).

Tabela 4: Condições de reação e características dos compostos **7-9a,d,g**.^[a]

Enona	Temperatura ^[b]	Base ^[c]	Produto	Rendimento (%) ^[d]	Características	Ponto de Fusão (°C)
1a	0°C	NaOH	7a	98	Sólido branco	105-107
1a	0°C	NaOH	8a	85	Sólido branco	107-108
1a	0°C	NaOH	9a	80	Sólido amarelo	
1d	t.a.	Na ₂ CO ₃	7d	98	Sólido branco	113-114
1d	t.a.	Na ₂ CO ₃	8d	90	Sólido branco	116-117
1d	t.a.	Na ₂ CO ₃	9d	92	Sólido branco	111-112
1g	t.a.	Na ₂ CO ₃	7g	95	Sólido amarelo claro	101-102
1g	t.a.	Na ₂ CO ₃	8g	96	Sólido branco	105-106
1g	t.a.	Na ₂ CO ₃	9g	96	Sólido amarelo esverdeado	138-139

^[a]Todas as reações foram realizadas no tempo de 1h, empregando a proporção molar 1:2 de enona e tiouréia, respectivamente; ^[b]t.a.=temperatura ambiente; ^[c]A base foi empregada na forma de solução de concentração 1,0M; ^[d]Rendimento dos produtos isolados.

Após a síntese desta nova série de 3,4-diidropirimidinas *N*³-substituídas **7-9a,d,g** pode-se comprovar a regioquímica da reação pois mesmo aumentado o volume do substituinte R¹ em relação as 3,4-diidropirimidinas da série **3a-h**, a regioquímica foi mantida com isolamento de somente o isômero *N*³-substituído, provando que o possível impedimento estérico entre os grupos R¹ e o CF₃, não

dificultou a formação do produto N^{β} -substituído, concluindo-se com isso, que o passo determinante para a definição da regioquímica é o ataque do dinucleófilo na posição β das enonas.

3.5.3. Identificação espectrométrica das 4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas 3a-i, 7-9a,d,g.

A identificação espectrométrica das 4-trifluormetil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas N^{β} -substituídas sintetizadas neste trabalho (**3a-i, 7-9a,d,g**) foram identificadas através da análise de dados obtidos por experimentos de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), Carbono-13 (RMN ^{13}C) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM), sendo a pureza dos produtos confirmada por Análise Elementar CHN. Os espectros

Como se pode observar na **Tabela 5**, os compostos pirimidínicos apresentaram como característica principal dos seus espectros de massas, quando estes foram realizados sob impacto de elétrons (EI), a presença do fragmento relativo à eliminação do substituinte hidroxila (-OH) ligado ao carbono C-4 do anel pirimidínico. O pico relativo ao íon molecular (M^+) não foi observado para todos os produtos desta série e, quando observado, apresentou pequena intensidade. Como exemplo ilustrativo das fragmentações características dos 4-trifluormetil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidin-4-óis N^{β} -substituídos **3a-i, 7-9a,d,g.**, a **Figura 6** apresenta o espectro de massas do composto **3e**.

Observa-se na **Figura 6** que, no caso do composto **3e**, não foi possível a visualização do pico do íon molecular (M^+ , $m/z=316$), no entanto o espectro apresentou o pico relativo à perda da hidroxila (M^+-17 , $m/z= 299$). Além disso, o espectro de massa deste composto apresentou um pico relativo a perda simultânea do grupo metila e da hidroxila (M^+-32) e um outro pico relativo a perda simultânea dos grupos trifluormetila, metila e hidroxila (M^+-101).

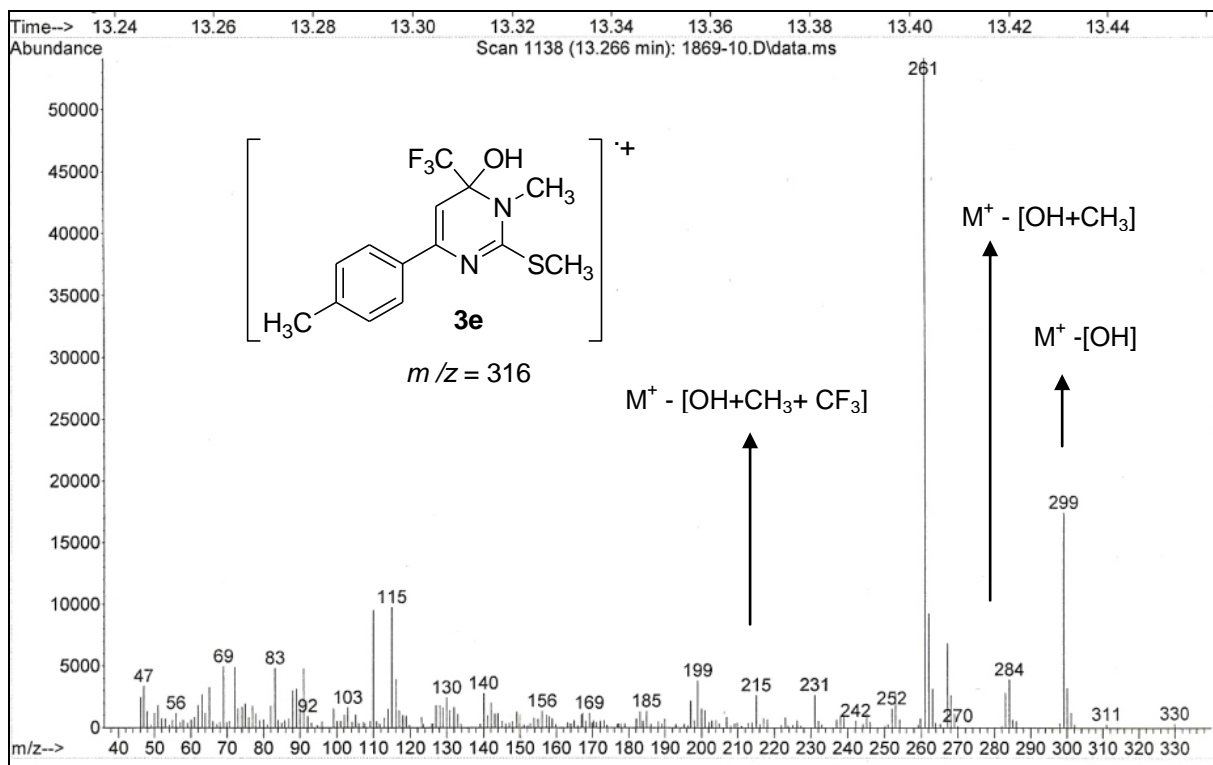


Figura 6 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3e**.

A **Tabela 5** apresenta os dados obtidos para cada composto nos experimentos de GC-EM (EI) e análise elementar.

Tabela 5: Fórmula molecular/peso molecular, dados de CG-EM e análise elementar dos compostos **3a-i**, **7-9a,d,g**.

Composto	Formula Molecular/ (g/mol)	CG-EM m/z (M ⁺ , %), EI (70 eV)	Análise Elementar ^[a]		
			C	H	N
3a	C ₈ H ₁₁ ON ₂ F ₃ S (240,24)	Ref. ⁵¹	Ref. ⁵¹		
3b	C ₉ H ₁₃ ON ₂ F ₃ S (254,07)	236 (M ⁺ - 17 [OH], 100); 221 (M ⁺ - 32, OH+CH ₃], 72); 206 (10); 189 (10), 110(34), 94 (20).	42.51	5.15	11.02
			42.63	5.26	11.30
3c	C ₁₀ H ₁₅ ON ₂ F ₃ S (268,08)	250 (M ⁺ - 17 [OH],25); 235 (M ⁺ - 32 [OH+ CH ₃], 100);	44.77	5.64	10.44
			44.81	5.76	10.62

Tabela 5: Fórmula molecular/peso molecular, dados de CG-EM e análise elementar dos compostos **3a-i, 7-9a,d,g.** (continuação)

Composto	Formula Molecular/ (g/mol)	CG-EM m/z (M ⁺ , %), EI (70 eV)	Análise Elementar ^[a] Calc./Exp. (%)		
			C	H	N
3d	C ₁₃ H ₁₃ ON ₂ F ₃ S (302,07)	302 (M ⁺ , 2,8); 285 (M ⁺ -17 [OH], 6,70);	51.65	4.33	9.27
		270 (M ⁺ -32 [OH+CH ₃], 25); 253(100); 233 (M ⁺ - 69 [CF ₃], 100).	51.70	4.30	9.35
3e	C ₁₄ H ₁₅ ON ₂ F ₃ S (316,08)	299 (M ⁺ -17[OH],34); 284 (M ⁺ -32, [OH+CH ₃], 6); 261 (100);	53.38	4.78	8.86
		215 (M ⁺ -101 [CF ₃ +CH ₃ +OH], 6,7).	53.15	5.08	9.26
3f	C ₁₄ H ₁₅ O ₂ N ₂ F ₃ S (332,08)	315 (M ⁺ -17[OH],38); 300 (M ⁺ - 32, [OH+CH ₃], 9,7); 277 (100);	50.60	4.55	8.43
		247 (M ⁺ -69 [CF ₃], 6); 231 (M ⁺ -101[CF ₃ +CH ₃ +OH], 5,8).	50.95	4.65	8.80
3g	C ₁₃ H ₁₂ OF ₄ N ₂ S (320,06)	303 (M ⁺ -17 [OH], 31); 287 (M ⁺ -32 [OH+CH ₃], 3); 265 (100);	48.75	3.78	8.75
		219 (M ⁺ -101 [CF ₃ +CH ₃ +OH], 5,8).	48.35	4.07	8.35
3h	C ₁₃ H ₁₂ ON ₂ BrF ₃ S (379,98)	275 (M ⁺ -32 [OH+CH ₃], 7,1); 237 (M ⁺ -47 [SCH ₃] 100).	40.96	3.17	7.35
			40.77	3.19	7.62
3i	C ₁₁ H ₁₁ O ₂ N ₂ F ₃ S (292,04)	275 (M ⁺ -17 [OH], 29); 260 (M ⁺ -32 [OH+CH ₃], 3); 237 (100);	45,22	3,79	9,58
		191 (M ⁺ -101 [CF ₃ +CH ₃ +OH], 4).	45,52	4,05	9,98
7a	C ₉ H ₁₃ ON ₂ F ₃ S (254,27)	236 (M ⁺ -17 [OH], 100); 221 (17); 208 (M ⁺ - 46 [OH+ C ₂ H ₅], 51);	42.51	5.15	11.02
		162 (34), 135(10).	42.81	5.40	11.25

Tabela 5: Fórmula molecular/peso molecular, dados de CG-EM e análise elementar dos compostos **3a-i, 7-9a,d,g.** (continuação)

Composto	Formula Molecular/ (g/mol)	CG-EM m/z (M ⁺ , %), EI (70 eV)	Análise Elementar ^[a] Calc./Exp. (%)		
			C	H	N
7d	C ₁₄ H ₁₅ ON ₂ F ₃ S (316,08)	299 (M ⁺ -17 [OH], 24,1); 270 (M ⁺ -46 [OH+C ₂ H ₅], 58); 261 (100).	53.15	4.78	8.86
			50.40	5.08	9.01
7g	C ₁₄ H ₁₄ ON ₂ F ₄ S (334,04)	270 (M ⁺ -64 [OH+CH ₂ CH ₃ +F], 100); 224 (18); 204 (12); 155(14); 77(8).	50.29	4.22	8.38
			50.70	4.62	8.70
8a	C ₁₀ H ₁₃ ON ₂ F ₃ S (266,28)	248 (M ⁺ -17 [OH], 75); 233 (100) 221 (M ⁺ -46 [OH+C ₃ H ₅], 4).	45.10	4.92	10.52
			45.11	4.86	10.55
8d	C ₁₅ H ₁₅ ON ₂ F ₃ S (328,08)	311 (M ⁺ -17 [OH], 75); 270 (100); 266 (M ⁺ -58 [C ₃ H ₅ +OH], 25).	54.87	4.60	8.53
			54.46	4.61	8.43
8g	C ₁₅ H ₁₄ ON ₂ F ₄ S 346,07	329 (M ⁺ -17 [OH], 3,8); 288 (M ⁺ -58 [C ₃ H ₅ +OH], 19,2); 259 (M ⁺ -86 [CF ₃ +OH], 100).	52.02	4.07	8.09
			52.42	3.99	7.99
9a	C ₁₃ H ₁₃ ON ₂ F ₃ S 302,07	284 (M ⁺ -17 [OH], 100); 269 (M ⁺ -15 [CH ₃], 13); 237 (8); 191 (4); 91(13), 77 (C ₆ H ₅ , 15).	51.65	4.33	9.27
			51.80	4.65	9.35
9d	C ₁₈ H ₁₅ ON ₂ F ₃ S 364,08	347 (M ⁺ -17 [OH], 100); 309 (50).	59.33	4.15	7.69
			59.38	4.12	7.64
9g	C ₁₈ H ₁₄ ON ₂ F ₄ S 382,37	365 (M ⁺ -17 [OH], 36); 327 (100); 297 (M ⁺ -86 [CF ₃ +OH], 25).	56,54	3.69	7.33
			56.57	3.72	7.41

^[a] Análise Elementar expressa em % de C, H e N, respectivamente.

Os 4-trifluormetil-2-(metiltio)-3,4-diidropirimidinóis **3a-i**, **7-9a,d,g** apresentaram espectros de RMN ^1H e ^{13}C de fácil interpretação, sendo observados acoplamentos característicos entre hidrogênios nas moléculas.

Comumente, os espectros de hidrogênio dos compostos pirimidínicos **3a-i**, **7-9a,d,g** apresentaram alguns sinais característicos, entre esses sinais destacaram-se dois singletos, um na região de 2,5 ppm relativo ao hidrogênio do grupo $-\text{SCH}_3$ e outro na região de 5,5 ppm referente ao hidrogênio $H-5$ do anel pirimidínico.

Tendo como base para a discussão dos dados de RMN ^1H o composto 4-trifluormetil-3-metil-6-(4-metilfenil)-2-(metiltio)-3,4-diidropiridin-4-ol **3e**, foi observado em seu espectro de hidrogênio (**Figura 7**) os dois singletos relatados no parágrafo anterior: o singlete do grupo SCH_3 em 2,5 ppm e o singlete do hidrogênio $H-5$ em 5,40 ppm.

Além disso, foi observado no espectro de RMN ^1H do composto **3e** e também nos espectros dos demais compostos da série **3a-i**, um quarteto na região de 3,1 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila ligado ao nitrogênio ($-\text{NCH}_3$), devido o seu acoplamento com os átomos de flúor presentes no grupo $-\text{CF}_3$ vizinho (qua, $^5J_{\text{H-F}}=1,2$ Hz).

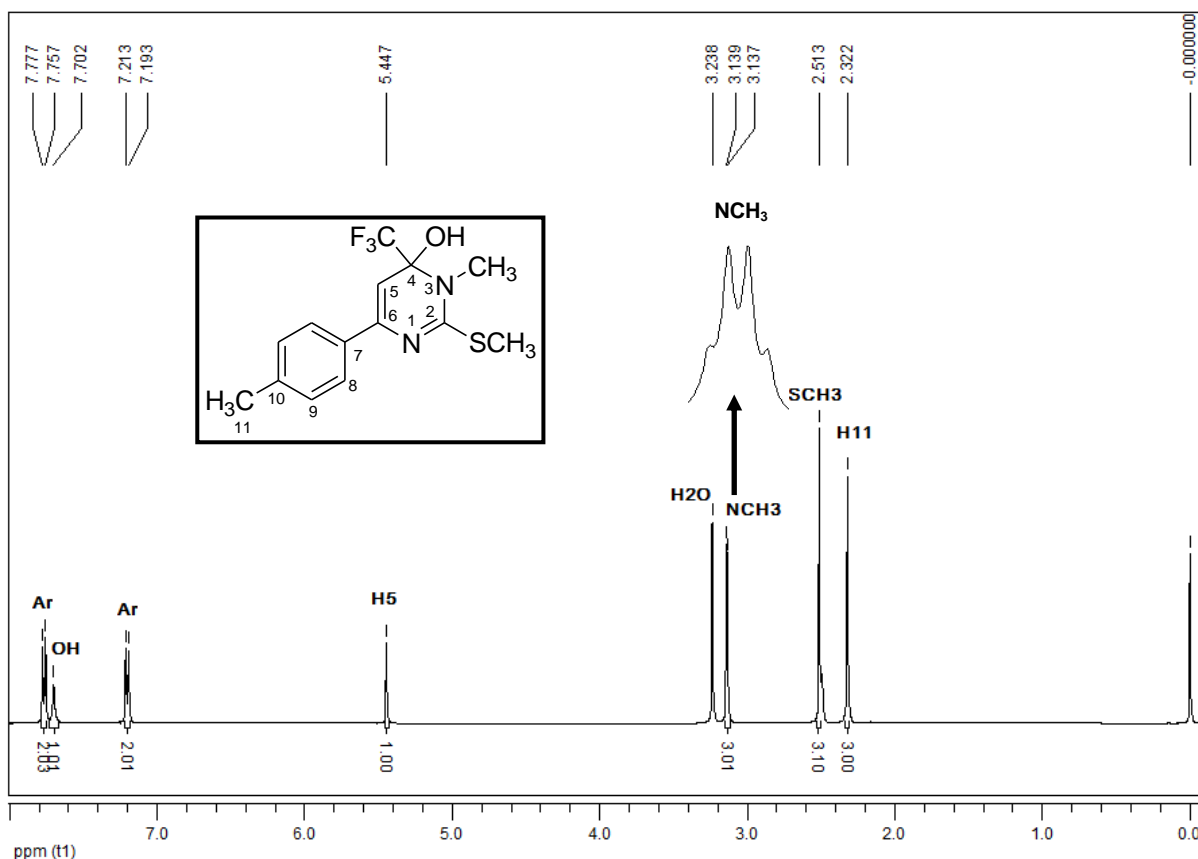


Figura 7: Espectro de RMN ^1H do composto **3e**, a 400,13 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

Os espectros de RMN ^{13}C totalmente desacoplados também apresentaram sinais em comum a todos os compostos sintetizados. Esses sinais representam os carbonos do anel pirimidínico, do grupo $-\text{CF}_3$ e do substituinte $-\text{SCH}_3$ ligado ao carbono C-2 do anel.

Como ilustra a **Figura 8**, o carbono metílico relativo ao substituinte $-\text{SCH}_3$ é o mais blindado, aparecendo na região de 13,9 ppm, em sequência, foi visualizado o carbono do substituinte N-CH_3 em 29,6 ppm e os carbonos C-4 e C-5 , em 83,2 e 94,0 ppm, respectivamente, sendo que o carbono C-4 foi visualizado como um quarteto devido o seu acoplamento com o grupo $-\text{CF}_3$ ($^2J_{\text{C-F}} = 32 \text{ Hz}$). O carbono característico de compostos trifluormetilados $-\text{CF}_3$ foi visualizado na região de 123,4ppm como um quarteto devido o acoplamento ($J_{\text{C-F}} = 289 \text{ Hz}$) com os átomos de flúor. Os carbonos C-2 e C-6 foram os mais desblindados do espectro, sendo visualizados na região de 159,5 e 144,0 ppm, respectivamente.

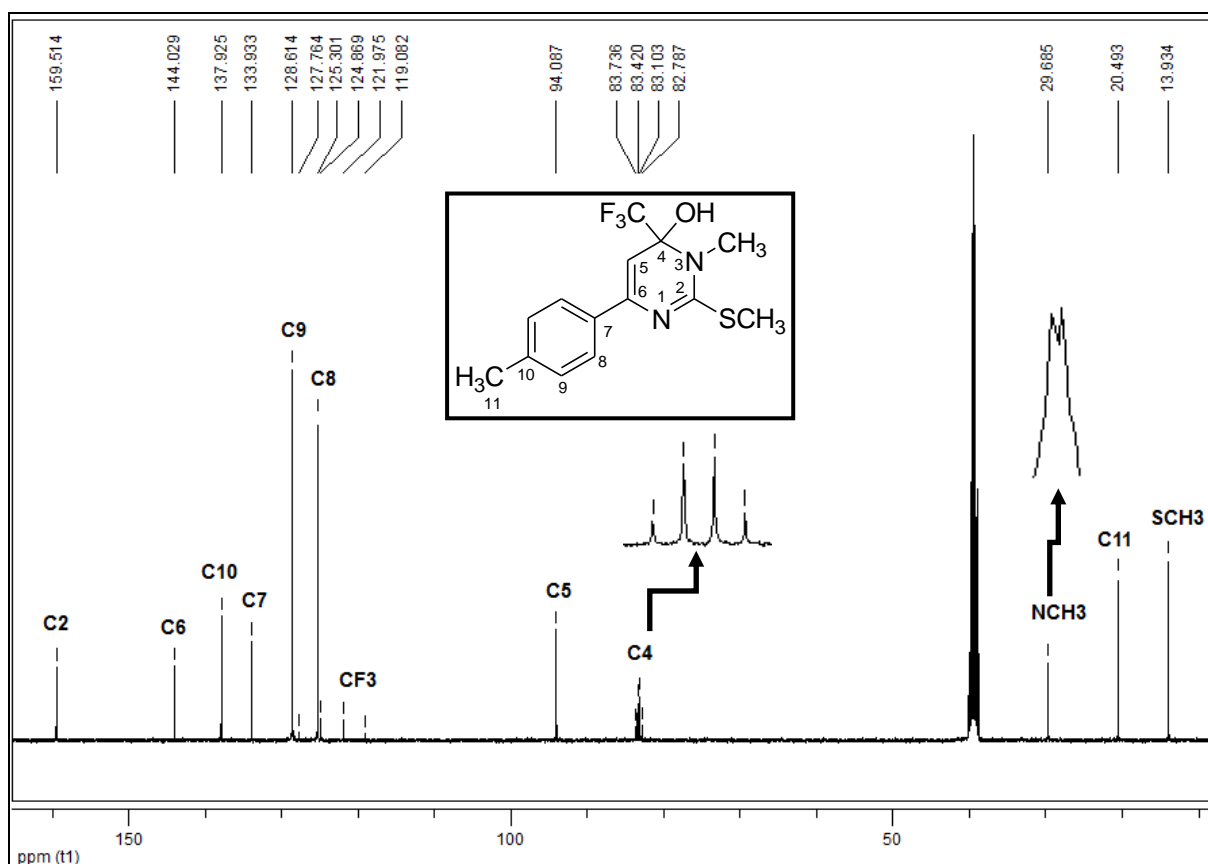


Figura 8: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ **3e**, a 100,61 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

Os demais espectros de massas, ^1H e ^{13}C desses compostos **3a-i**, **7-9a,d,g** encontram-se respectivamente nos Apêndices A e B desta dissertação.

Para a comprovação da regioseletividade da reação onde apenas as diidropirimidinas N^3 -metiladas foram obtidas, foi realizado experimentos de ressonância magnética nuclear bidimensional (HMBC) do composto **3f** onde foi possível a confirmação da posição correta do grupo $N\text{-CH}_3$ (posição N^1 ou N^3) conforme a **Figura 9**.

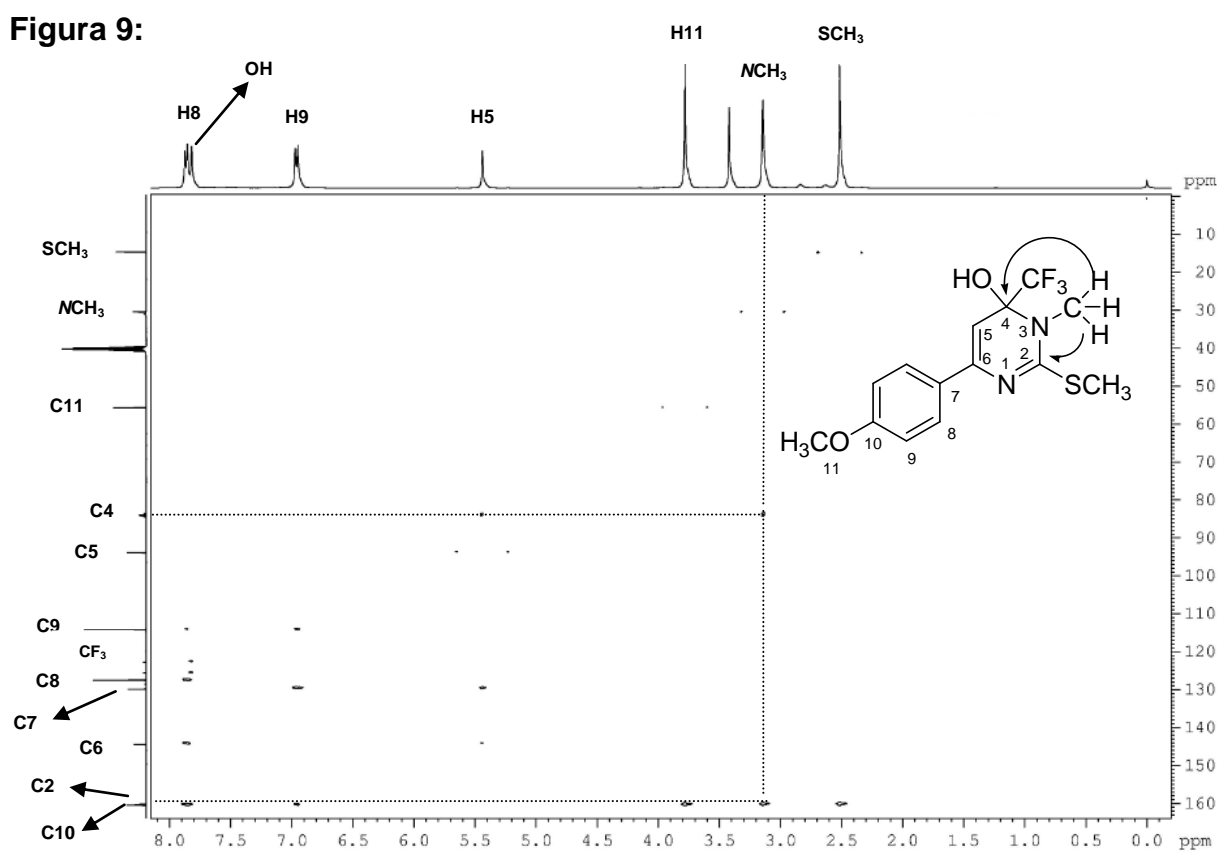


Figura 9– Espectro de RMN HMBC do composto **3f** em $\text{DMSO-}d_6$.

Como destacado na **Figura 9**, o espectro de HMBC mostrou que grupo $N\text{-CH}_3$ está na posição 3 (N^3) do anel pirimidínico e não na posição 1 (N^1) pois observou-se através do espectro de HMBC o acoplamento dos hidrogênios do grupo $N\text{-CH}_3$ com os carbonos C-2 e C-4 do anel pirimidínico. Se o $N\text{-CH}_3$ estivesse na posição 1 seria observado um cruzamento dos hidrogênios do grupo $N\text{-CH}_3$ com o C-2 e com o C-6. O cruzamento dos hidrogênios do grupo $N\text{-CH}_3$ com o C-6, não foi observado o que confirma a posição do grupo $N\text{-CH}_3$ na posição N^3 do anel pirimidínico conforme descrito na revisão bibliográfica dessa dissertação⁵¹.

A Tabela 6 apresenta os dados obtidos para cada composto nos experimentos de RMN (^1H) e (^{13}C).

Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos **3a-i**, **7-9a,d,g**.

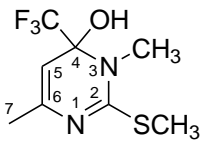
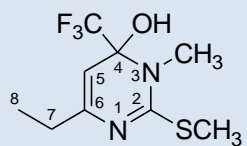
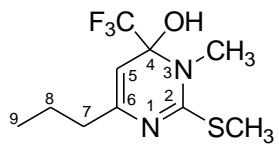
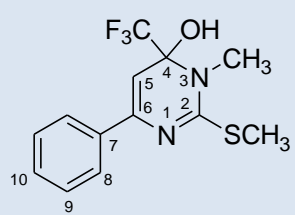
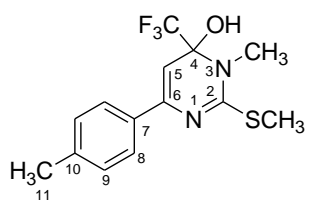
Composto	RMN ^1H : δ (multiplicidade, nº H, J , identificação)	RMN ^{13}C : δ (identificação)
 <p>3a</p>	2,02 (d, 3H, H7, $J = 1,2$ H-7); 2,35 (s, 3H, SCH ₃); 3,05 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}} = 1,6$ NCH ₃); 4,76 (s, 1H, H-5).	14,5 (SCH ₃); 22,3 (C-7); 29,5 (NCH ₃); 82,9 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 31,6$, C-4); 96,3 (C-5); 123,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 289$, CF ₃); 145,1 (C-6); 158,7 (C-2).
 <p>3b</p>	1,04 (t, 3H, H-8, $J_{\text{H8-H7}} = 8$, H-8); 2,13 (qua, 2H, $J_{\text{H7-H8}} = 8$, H-7); 2,34 (s, 3H, SCH ₃); 3,05 (q, 3H, NCH ₃ , $^5J_{\text{H-F}} = 1,6$); 4,73 (s, 1H, H-5).	11,6 (C-8); 13,1 (SCH ₃); 28,93 (C-7); 29,7 (NCH ₃); 83,1 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 31,4$, C-4); 95,0 (C-5); 123,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 289$, CF ₃); 150,1 (C-6); 158,9 (C-2).
 <p>3c</p>	0,90 (t, 3H, $J_{\text{H9-H8}} = 7,4$, H-9); 1,55 (sex, 2H, $J_{\text{H8-H7,H9}} = 7,4$, H-8); 2,12 (t, 2H, $J_{\text{H7-H8}} = 6,4$, H-7); 2,41 (s, 3H, SCH ₃); 3,2 (q, 3H, NCH ₃ , $^5J_{\text{H-F}} = 1,6$); 4,84 (s, 1H, H-5).	13,1 (SCH ₃); 13,7 (C-9); 19,6 (C-8); 29,5 (NCH ₃); 37,6 (C-9); 83,0 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 31,4$, C-4); 96,0 (C-5); 123,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 289$, CF ₃); 148,3 (C-6); 158,7 (C-2).
 <p>3d</p>	2,52 (s, 3H, SCH ₃); 3,15 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}} = 1,2$ NCH ₃); 5,50 (s, 1H, H-5); 7,35-7,40 (m, 3H, Ar); 7,71 (s, 1H, OH); 7,88 (dd, 2H, $J_{\text{H8-H9}} = 8,4$; $J_{\text{H8-H10}} = 1,6$; Ar).	14,1 (SCH ₃); 29,8 (NCH ₃); 83,3 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 32$, C-4); 94,0 (C-5); 123,52 (q, $J_{\text{C-F}} = 289$, CF ₃); 128,2 (C-9); 125,5 (C-8); 128,7 (C-10); 136,7 (C-7); 144,1 (C-6); 159,8 (C-2).
 <p>3e</p>	2,32 (s, 3H, H-11); 2,51 (s, 3H, SCH ₃); 3,13 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}} = 1,2$ NCH ₃); 5,44 (s, 1H, H-5); 7,20 (d, 2H, $J_{\text{H9-H8}} = 8$, Ar); 7,70 (s, 1H, OH); 7,76 (d, 2H, $J_{\text{H8-H9}} = 8$, Ar).	13,9 (SCH ₃); 20,4 (C11); 29,68 (NCH ₃); 94,0 (C-5); 83,2 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 32$, C-4); 123,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 289$, CF ₃); 125,3 (C-8); 128,6 (C-9); 133,9 (C-7); 137,9 (C-10); 144,0 (C-6); 159,5 (C-2).

Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos **3a-i**, **7-9a,d,g** (continuação).

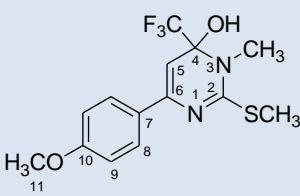
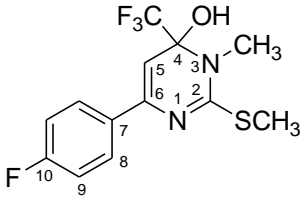
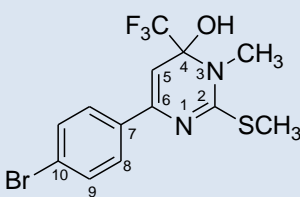
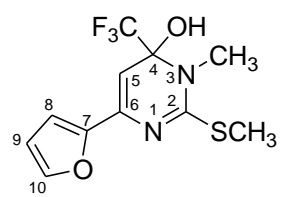
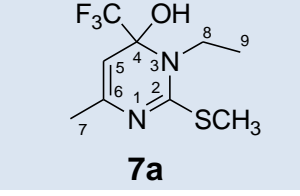
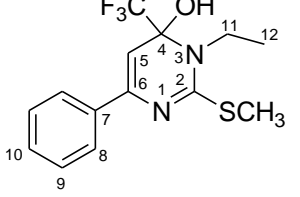
Composto	RMN ^1H : δ (multiplicidade, nº H, J , identificação)	RMN ^{13}C : δ (identificação)
 <p>3f</p>	2,51 (s, 3H, SCH ₃); 3,13 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}}=1,2$ NCH ₃); 3,78 (s, 3H, H-11); 5,44 (s, 1H, H-5); 6,95 (d, 2H, $J_{\text{H9-H8}}=8,8$ Ar); 7,63 (s, 1H, OH); 7,81 (d, 2H, $J_{\text{H8-H9}}=8,8$ Ar).	13,9 (SCH ₃); 29,6 (NCH ₃); 54,9 (C-11); 83,3 (q, $^2J_{\text{C-F}}=32$, C-4); 93,1 (C-5); 123,4 (q, $J_{\text{C-F}}=289$, CF ₃); 113,4 (C-9); 126,7 (C-8); 129,1 (C-7); 143,7 (C-6); 159,4 (C-2); 159,6 (C-10).
 <p>3g</p>	2,51 (s, 3H, SCH ₃); 3,14 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}}=1,6$ NCH ₃); 5,50 (s, 1H, H-5); 7,21 (t, 2H, $J_{\text{H8-H9,F}}=4$, H-8); 7,80 (s, 1H, OH); 7,94 (dd, 2H, $^3J_{\text{H8-H9}}=9,2$; $^4J_{\text{H8-F}}=5,6$ Ar).	14,1 (SCH ₃); 29,9 (NCH ₃); 83,3 (q, $^2J_{\text{C-F}}=32$, C-4); 94,7 (C-5); 120,6 (q, $J_{\text{C-F}}=290$, CF ₃); 115,0 (d, $^2J_{\text{C-F}}=21$ C-9); 127,7 (d, $^3J_{\text{C-F}}=8$ C-8); 133,1 (d, $J_{\text{C-F}}=3$, C-7); 143,2 (C-6); 160,0 (C-2); 162,4 (d, $J_{\text{C-F}}=244$ C-10).
 <p>3h</p>	2,51 (s, 3H, SCH ₃); 3,14 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}}=1,6$ NCH ₃); 5,54 (s, 1H, H-5); 7,58 (d, 2H, $J_{\text{H8-H9}}=2$, Ar); 7,75 (s, 1H, OH); 7,83 (d, 2H, $J_{\text{H9-H8}}=2$, Ar).	13,9 (SCH ₃); 29,7 (NCH ₃); 83,1 (q, $^2J_{\text{C-F}}=32$, C-4); 95,2 (C-5); 123,2 (q, $J_{\text{C-F}}=289$, CF ₃); 127,4 (C-8); 121,8 (C-10); 130,9 (C-9); 135,9 (C-7); 143,1 (C-6); 160,0 (C-2).
 <p>3i</p>	2,47 (s, 3H, SCH ₃); 3,12 (q, 3H, $^5J_{\text{H-F}}=1,2$ NCH ₃); 5,2 (s, 1H, H-5); 6,55 (dd, 1H, $J_{\text{H9-H8}}=1,6$, $J_{\text{H9-H10}}=3,6$, H-9); 6,81 (d, 1H, $J_{\text{H8-H9}}=3$, H-8); 7,70 (s, 1H, H-10); 7,80 (s, 1H, OH).	14,1 (SCH ₃); 29,9 (NCH ₃); 82,8 (q, $^2J_{\text{C-F}}=32$, C-4); 92,4 (C-5); 123,4 (q, $J_{\text{C-F}}=289$, CF ₃); 109,2 (C-8); 111,6 (C-9); 137,5 (C-6); 143,8 (C-10); 151,6 (C-7); 160 (C-2).
 <p>7a</p>	1,22 (t, 3H, $J_{\text{H12-H11}}=6,6$, H-12); 1,84 (s, 1H, H-7); 2,36 (s, 3H, SCH ₃); 3,53-3,63 (m, 2H, H-11); 4,77 (s, 1H, H-5).	14,2 (SCH ₃); 15,9 (C-9); 22,8 (C-7); 38,7 (C-8); 83,1 (q, $^2J_{\text{C-F}}=31$, C-4); 97,4 (C-5); 124,04 (q, $J_{\text{C-F}}=288$, CF ₃); 145,6 (C-6); 158,5 (C-2).
 <p>7d</p>	1,29 (t, 3H, $J_{\text{H12-H11}}=7,2$, H-12); 2,53 (s, 3H, SCH ₃); 3,61-3,75 (m, 2H, H-11); 5,51 (s, 1H, H-5); 7,35-7,42 (m, 3H, Ar); 7,75 (s, 1H, OH); 7,88 (d, 2H, $J_{\text{H8-H9}}=7,2$; Ar).	14,6 (SCH ₃); 16,0 (C-12); 39,0 (C-11); 84,1 (q, $^2J_{\text{C-F}}=31$, C-4); 95,9 (C-5); 124,13 (q, $J_{\text{C-F}}=288$, CF ₃); 126,0 (C-8); 128,7 (C-9); 129,1 (C-10); 137,2 (C-7); 144,6 (C-6); 159,6 (C-2).

Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos **3a-i**, **7-9a,d,g**. (continuação)

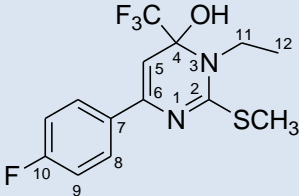
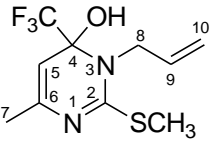
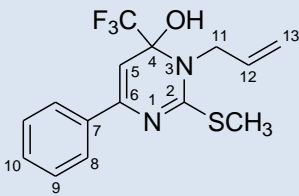
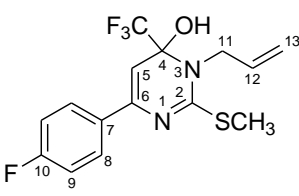
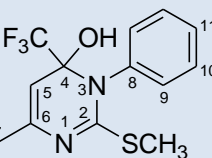
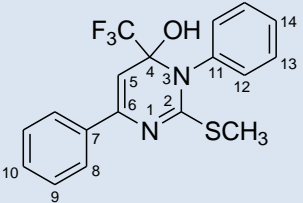
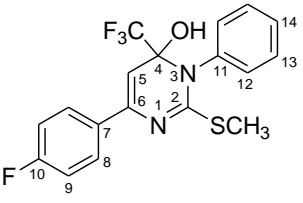
Composto	RMN ^1H : δ (multiplicidade, nº H, J , identificação)	RMN ^{13}C : δ (identificação)
 <p>7g</p>	1,28 (t, 3H, $J_{\text{H}12-\text{H}11}=7,2$, H-12); 2,53 (s, 3H, SCH ₃); 3,73-3,60 (m, 2H, H-11); 5,52 (s, 1H, H-5); 7,21 (t, 2H, $J_{\text{H}8-\text{H}9,\text{F}}=9,2$, Ar); 7,85 (s, 1H, OH); 7,95 (dd, 2H, $J_{\text{H}8-\text{H}9}=9,2$, $J_{\text{H}8-\text{F}}=6,4$, Ar).	14,0 (SCH ₃); 15,3 (C-12); 38,4 (C-11); 83,5 (q, $^2J_{\text{C}-\text{F}}$); 31,5 C-4); 95,1 (C-5); 123,4 (q, $J_{\text{C}-\text{F}}=288$, CF ₃); 114,8 (d, $^2J_{\text{C}-\text{F}}=21$ C-9); 127,6 (d, $^3J_{\text{C}-\text{F}}=8$ C-8); 133,0 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=3$, C-7); 143,0 (C-6); 159,1 (C-2); 162,3 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=244$ C-10).
 <p>8a</p>	1,85 (d, $J=0,4$; H-7); 2,34 (s, 3H, SCH ₃); 4,12 (dd, $J_{\text{H}8'-\text{H}8}=17,6$; $J_{\text{H}8'-\text{H}9}=4,8$; H-8'); 4,26 (dd, $J_{\text{H}8-\text{H}8'}=18$; $J_{\text{H}8-\text{H}9}=4$; H-8); 4,81 (s, 1H, H-5); 5,19-5,13 (m, 2H, H-10); 5,82-5,74 (m, 1H, H-9); 7,52 (s, 1H, OH).	13,8 (SCH ₃); 22,2 (C-7); 45,8 (C-8); 45,2 (C-8); 82,9 (q, $^2J_{\text{C}-\text{F}}=31,4$, C-4); 96,8 (C-5); 116,5 (C-10); 123,3 (q, $J_{\text{C}-\text{F}}=288$, CF ₃); 134,4 (C-9); 144,9 (C-6); 158,6 (C-2).
 <p>8d</p>	2,50 (s, 3H, SCH ₃); 4,21 (dd, $J_{\text{H}11'-\text{H}11}=17,6$; $J_{\text{H}11'-\text{H}12}=4,4$; H-11'); 4,35 (dd, $J_{\text{H}11-\text{H}11'}=18$; $J_{\text{H}11-\text{H}12}=6$; H-11); 5,17-5,24 (m, 2H, H-13); 5,79-5,88 (m, 1H, H-12); 5,54 (s, 1H, H-5); 7,36-7,42 (m, 3H, Ar); 7,89 (dd, 2H, $J_{\text{H}8-\text{H}9}=8,4$; $J_{\text{H}8-\text{H}10}=1,6$; Ar).	14,1 (SCH ₃); 45,4 (C-11); 83,3 (q, $^2J_{\text{C}-\text{F}}=32$, C-4); 95,3 (C-5); 116,7 (C-13); 123,4 (q, $J_{\text{C}-\text{F}}=281$, CF ₃); 125,4 (C-8); 128,0 (C-9); 128,5 (C-10); 134,2 (C-12); 136,6 (C-7); 143,9 (C-6); 159,6 (C-2);
 <p>8g</p>	2,50 (s, 3H, SCH ₃); 4,20 (dd, $J_{\text{H}11'-\text{H}11}=17,6$; $J_{\text{H}11'-\text{H}12}=4,4$; H-11'); 4,34 (dd, $J_{\text{H}11-\text{H}11'}=17$; $J_{\text{H}11-\text{H}12}=5,6$; H-11); 5,55 (s, 1H, H-5); 5,17-5,24 (m, 2H, H-13); 5,78-5,87 (m, 1H, H-12); 7,21 (t, 2H, $J_{\text{H}8-\text{H}9,\text{F}}=8,8$ Ar); 7,95 (dd, 2H, $J_{\text{H}8-\text{H}9}=8,4$; $J_{\text{H}8-\text{H}10}=5,6$; Ar).	14,3 (SCH ₃); 83,4 (q, $^2J_{\text{C}-\text{F}}=32$, C-4); 95,2 (C-5); 120,6 (q, $J_{\text{C}-\text{F}}=290$, CF ₃); 115,0 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=21$ C-9); 116,9 (C-13); 127,7 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=8$ C-8); 133,1 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=3$, C-7); 134,3 (C-12); 143,2 (C-6); 160,0 (C-2); 162,5 (d, $J_{\text{C}-\text{F}}=244$ C-10);
 <p>9a</p>	1,97 (s, 3H, H-5); 2,34 (s, 3H, SCH ₃); 5,08 (s, 1H, H-5); 7,26-7,22 (m, 3H, Ar); 7,43-7,41 (m, 2H, Ar).	14,7 (SCH ₃); 22,7 (C-7); 82,4 (q, $^2J_{\text{C}-\text{F}}=31$, C-4); 98,1 (C-5); 117,7 (C-11); 122,0 (q, $J_{\text{C}-\text{F}}=287$, CF ₃); 121,8 (C-9); 128,8 (C-10); 144,9 (C-6); 136,7 (C-8); 158,3 (C-2);

Tabela 6: Dados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos **3a-i**, **7-9a,d,g**. (continuação)

Composto	RMN ^1H : δ (multiplicidade, n $^\circ$ H, J, identificação)	RMN ^{13}C : δ (identificação)
 <p>9d</p>	2,37 (s, 3H, SCH ₃); 5,80 (s, 1H, H-5); 7,33 (d, 1H, $J=7,6$, Ar); 7,42-7,47 (m, 6H, Ar); 7,97-7,99 (m, 3H, Ar).	15,4 (SCH ₃); 84,8 (q, $^2J_{\text{C-F}}=31$, C-4); 97,0 (C-5); 123,3 (q, $J_{\text{C-F}}=287$, CF ₃); 126,1 (C-9); 128,8 (C-8); 129,3 (C-12); 132,9 (C-13); 137,1 (C-7); 137,3 (C-11); 144,3 (C-6); 129,8 (C-14); 159,8 (C-2);
 <p>9g</p>	2,37 (s, 3H, SCH ₃); 5,80 (s, 1H, H-5); 7,24 (t, 2H, $J_{\text{H8-H9,F}}=8,8$ Ar); 7,33 (d, 1H, $J=7,6$, Ar); 7,43-7,47 (m, 4H, Ar); 8,03 (dd, 2H, $J_{\text{H8-H9}}=8,8$; $J_{\text{H8-F}}=5,6$ Ar).	14,7 (SCH ₃); 84,1 (q, $^2J_{\text{C-F}}=32$, C-4); 96,2 (C-5); 120,6 (q, $J_{\text{C-F}}=290$, CF ₃); 115,0 (d, $J_{\text{C-F}}=21$ C-9); 127,7 (d, $J_{\text{C-F}}=8$ C-8); 129,1 (C-12); 130,8 (C-14); 132,2 (C-13); 133,1 (C-7); 136,5 (C-11); 142,8 (C-6); 159,3 (C-2); 162,4 (d, $J_{\text{C-F}}=244$ C-10);

Outra forma para comprovação da localização correta do substituinte metila (posição N^1 ou N^3 do anel pirimidínico) foi o experimento de difração de Raios-X da estrutura cristalina do composto **3e** (**Figura 10**). O experimento confirmou que o substituinte metila encontra-se ligado no nitrogênio N^3 -pirimidínico como já evidenciado nos espectros de hidrogênio (RMN H^1) e experimentos de RMN bidimensional (HMBC).

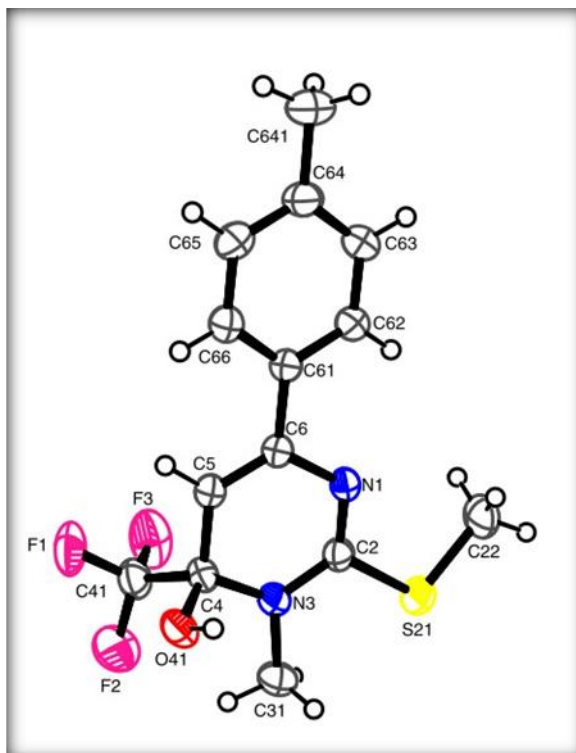


Figura 10 - Projeção da estrutura molecular do composto $C_{14}H_{15}F_3N_2OS$ (**3e**).

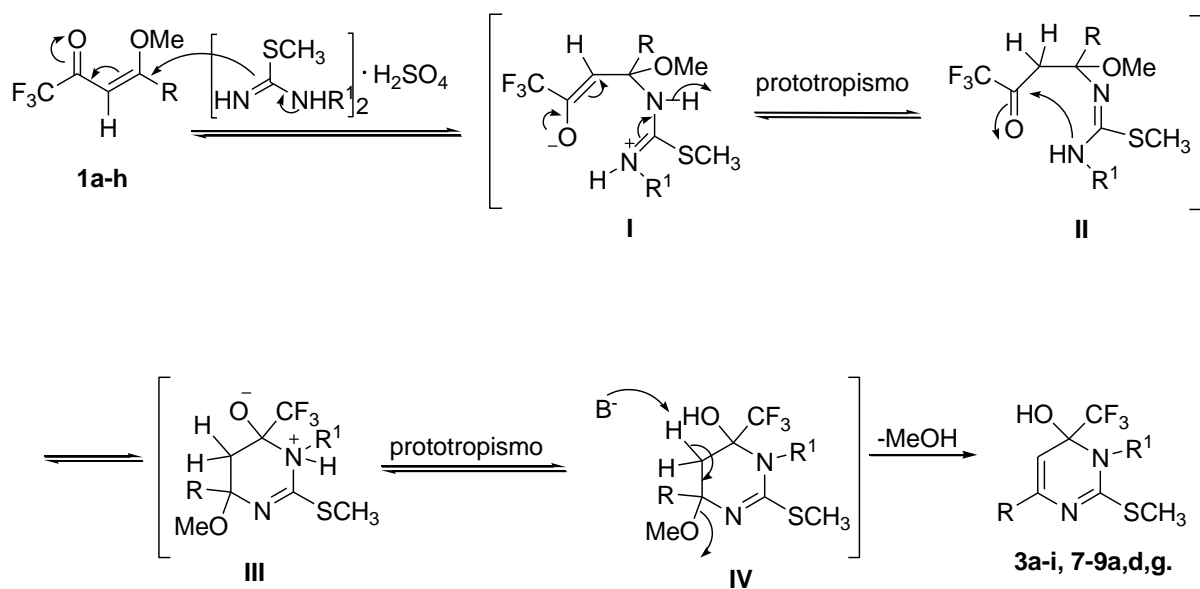
3.5.4. Mecanismo de reação proposto para a síntese regioseletiva das 3,4-diidropirimidinas trifluormetiladas **3a-i** e **7-9a,d,g**.

O mecanismo de reação para a formação dos compostos **3a-i** e **7-9a,d,g** foi proposto com base em artigos científicos publicados por Zanatta e col.,⁵¹ os quais efetuaram reações semelhantes as desenvolvidas neste trabalho e também pelos estudos realizados neste trabalho através dos experimentos de RMN 1H , RMN bidimensional (HMBC) e Raio X.

Conforme ilustra o **Esquema 27**, o mecanismo possivelmente teria início com o ataque nucleofílico do nitrogênio (*N-H*) ao carbono β das enonas **1a-i**, resultando na formação dos intermediários de cadeia aberta **I** e **II**. Em seguida, o intermediário **II** sofreria uma ciclização intramolecular, com o ataque do nitrogênio (*N-R*) a carbonila vizinha ao grupo $-CF_3$, proporcionando a formação do intermediário **III** de cadeia fechada o tetraidropirimidinol N^3 -substituído. No próximo passo do mecanismo, a base utilizada na reação (NaOH ou Na_2CO_3) retiraria um dos hidrogênios ligado ao C-5 promovendo, por conseguinte, a eliminação do substituinte metóxido localizado no carbono 6 do anel pirimidínico, proporcionando a formação dos 3,4-diidropirimidinóis **3a-i** e **7-9a,d,g** obtidos neste trabalho. O

mecanismo proposto explica eficientemente a síntese dos produtos regioseletivos N^3 -substituídos. A regioseletividade da reação seria governada pelo efeito estérico entre os substituintes na posição 4 das enonas e o N -substituinte das N -alquil(aril)isotiouréias.

Esquema 27:



3.5.5. Atividade biológica dos compostos 3d-i e 7-9a.

Primeiramente os compostos da série **3d-i** foram testados como inibidores da atividade da enzima acetil colinesterase e a partir do composto **3g** que apresentou a melhor atividade biológica foram feitas mudanças na posição 3 (**7-9g**) do anel pirimidínico para verificar a influência do tamanho do substituinte na atividade da mesma enzima. Posteriormente os pesquisadores do PPGBT/UFSM realizarão testes induzindo o déficit e a alteração com o peptídeo β -amilóide (o principal agente causador da doença de Alzheimer) e utilizar o melhor composto para prevenir o reverter a doença.

Além disso, os compostos **3a**, **3d** e **3g** foram testados sobre a atividade das enzimas NTPDases e 5'-nucleotidase, ambas envolvidas na hidrólise de nucleotídeos de adenina na circulação sanguínea. Futuramente os pesquisadores do PPGBT/UFSM realizarão testes adicionais de forma a avaliar os efeitos dos compostos pirimidínicos sobre a agregação plaquetária humana. As informações mais detalhadas sobre a parte biológica realizada pelos pesquisadores da PPGBT/UFSM

sob responsabilidade da prof^a Maria Rosa Chintolina e col.encontram-se no **anexo D**.

3.5.5. Modelagem molecular da 3,4-diidropirimidinas trifluormetilada 3g.

A modelagem molecular foi realizada a partir do composto **3g** que apresentou a melhor atividade na enzima acetil colinesterase. As informações mais detalhadas sobre esse experimento realizado pelos pesquisadores da PPGBT/UFSM sob responsabilidade do prof^o João B. T. Rocha e col. encontra-se no **anexo E**.

CONCLUSÃO

4. CONCLUSÃO

Considerando o objetivo proposto para a realização deste trabalho, e analisando os métodos desenvolvidos, bem como os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- 1) A rota reacional proposta, baseada na realização de reações de ciclocondensação entre as enonas trifluormetiladas **1a-i** com o dinucleófilo *N*-metil-2-metilisotiouréia **2**, demonstrou grande regioseletividade para a síntese dos produtos desejados 3,4-diidropirimidinóis trifluormetilados **3a-i**, sendo obtidos apenas o regioisômero *N*³-metilado em excelentes rendimentos.
- 2) A regioquímica da reação de ciclocondensação pôde ser comprovada com a obtenção dos 3,4-diidropirimidinóis trifluormetilados *N*³-substituídos **7-9a,d,g**, os quais foram obtidos através da mesma metodologia aplicada para a síntese dos compostos **3a-i**, porém empregando os sulfatos de *N*-Alquil(aril)isotiouréias **4-6**.
- 3) Mesmo alocando substituintes diferentes do grupo metila ($R^1 \neq \text{Me}$) na posição 3 do anel pirimidínico, foram obtidos apenas os produtos *N*³-substituídos, dessa forma a variação do substituinte da posição 3 do anel pirimidínico foi fundamental para o estudo e comprovação da regioquímica da reação e para a realização de um estudo de relação estrutura atividade (SAR) para os compostos.
- 4) Concluiu-se que o fator determinante da regioquímica da reação é causado pelo efeito estérico entre o substituinte na posição 4 das enonas e o grupo ligado ao nitrogênio das 2-metilisotioureias.
- 5) Os experimentos bidimensionais HMBC e Raio X permitiram determinar com precisão a posição correta do substituinte ligado ao nitrogênio na estrutura das diidropirimidinas sintetizadas neste estudo.
- 6) Foi desenvolvida uma metodologia simples e prática para a determinação da regioquímica dos 4-trifluormetil-2-metil-3,4-diidropirimidin-4-óis 3- e 6-substituídos, através de um espectro de RMN de hidrogênio, pela

observação do desdobramento em um quarteto, dos hidrogênios α ao N^{β} devido ao acoplamento destes com os átomos de flúor do grupo CF_3 .

A maioria dos compostos obtidos neste trabalho foram promissores farmacologicamente, pois apresentaram uma boa atividade biológica sobre as enzimas acetilcolinesterase, NTPDase e 5'-nucleotidase em testes prévios já realizados pelos colaboradores do laboratório de Bioquímica Toxicológica da UFSM. A grande variedade de compostos obtidos está proporcionando um amplo estudo de investigação de suas possíveis atividades biológicas.

EQUIPAMENTOS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5 EQUIPAMENTOS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1 Equipamentos utilizados na caracterização química, física e espectroscópica dos compostos sintetizados

5.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C e os espectros de RMN bidimensionais COSY H-H e HMQC foram registrados em espectrômetros BRUKER DPX-200 e BRUKER DPX-400. Os deslocamentos químicos (δ) foram relacionados em partes por milhão (ppm) em relação ao Tetrametilsilano (TMS, utilizado como padrão interno), e utilizando como solventes deuterados clorofórmio (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido (DMSO-d_6).

Os parâmetros experimentais dos equipamentos para a aquisição dos espectros dos compostos sintetizados, em geral, foram:

- Espectrômetro Bruker DPX-200: SF 200,13 MHz para espectros de ^1H e 50,32 MHz para espectros de ^{13}C , largura de pulso de 9,0 μs para ^1H e 19,5 μs para ^{13}C (ângulo de 90°), tempo de aquisição de 3,9 s para ^1H e 2,8 s para ^{13}C ; janela espectral 2400 Hz (corresponde a 12 ppm, pois $12 \times 200 = 2400\text{Hz}$) (^1H) e 12000 Hz (^{13}C); número de varreduras 2-8 para ^1H e 2000-10000 para ^{13}C , dependendo do composto; número de pontos 65536 com resolução digital do FID igual a 0,0366 Hz/ponto (^1H) e 0,183 Hz/ponto do ^{13}C , temperatura de 300 K.

- Espectrômetro Bruker DPX-400: SF 400,13 MHz para espectros de ^1H e 100,62 MHz para espectros de ^{13}C , largura de pulso de 8,0 μs para ^1H e 13,7 μs para ^{13}C (ângulo de 90°), tempo de aquisição de 6,5 s para ^1H e 7,6 s para ^{13}C ; janela espectral 4800 Hz (^1H) e 24000 Hz (^{13}C); número de varreduras 8-32 para ^1H e 2000-20000 para ^{13}C , dependendo do composto; número de pontos 65536 com resolução digital do FID igual a 0,0732 Hz/ponto (^1H) e 0,366 Hz/ponto do ^{13}C , temperatura de 300 K.

5.1.2 Espectrometria de Massas

As análises por cromatografia gasosa foram efetuadas em um cromatógrafo gasoso HP 6890 acoplado a um espectrômetro de massas HP 5973 (CG/EM), com injetor automático HP 6890 com coluna HP-5Ms (Crosslinked 5% de Siloxane) – temperatura máxima de 325°C – (30 m x 0,3 mm x 0,25 µm) sendo o fluxo de gás Hélio de 2 mL/min, pressão de 5,0 psi. Temperatura do injetor 250°C. Seringa de 10 µL com injeção de 1 µL. Temperatura inicial do forno 70°C/min. e após aquecimento de 12°C/min até 280°C. Para a fragmentação dos compostos foi utilizado 70 eV no espectrômetro de massas.

5.1.3 Análises Elementares

As análises elementares foram determinadas em aparelho analisador Perkin Elmer 2400 CHN, no Instituto de Química da USP, São Paulo.

5.1.5 Difração de Raios-X

A análise de difração de raios-X dos compostos foi realizada em monocristal em um difratômetro automático de quatro círculos com detector de área Bruker Kappa APEX-II CCD 3 kW Sealed Tube System, dotado de um monocromador de grafite e fonte de radiação Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$)⁵⁴ instalado no Departamento de Química da UFSM. A solução e o refinamento das estruturas foram feitos utilizando o pacote de programas SHELX97.⁵⁵ Os parâmetros estruturais foram obtidos através do refinamento, baseando-se nos quadrados dos fatores estruturais e na técnica da matriz completa/mínimos quadrados. Os átomos não hidrogenóides restantes foram localizados através de sucessivas diferenças de Fourier e refinados com parâmetros térmicos anisotrópicos. As coordenadas dos átomos de hidrogênio foram, então,

⁵⁴ Bruker (2006). APEX2 (Versão 2.1), COSMO (Versão 1.56), BIS (Versão 2.0.1.9), SAINT (Versão 7.3A), SADABS (Versão 2004/1) e XPREP (Versão 2005/4). Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

⁵⁵ Sheldrick, G. M. SHELX-97, Programs for solution and Refinement of Crystal Structures, University of Göttingen, Germany, 1997.

localizadas a partir das densidades encontradas no mapa de Fourier. As projeções gráficas foram construídas utilizando-se o programa *Ortep3 for Windows*.⁵⁶

5.1.6 Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em aparelhos KOFER- REICHERT-THERMOVAR e Electrothermal Mel-Temp 3.0.

5.2 Procedimentos experimentais de síntese dos compostos obtidos

5.2.1. Síntese de acetais – procedimento geral

A uma solução da cetona respectiva (667,0 mmol) e ortoformiato de trimetila (84,8 g, 800 mmol) em metanol anidro (50 mL), adicionou-se ácido *p*-tolueno sulfônico (0,19 g, 1,0 mmol). Após ter ficado em repouso por 24 horas à temperatura ambiente, o meio reacional foi neutralizado com carbonato de sódio anidro (30,0 g), e filtrado a pressão ambiente. O metanol e o ortoformiato de trimetila (excesso) foram retirados em rotaevaporador e o respectivo acetal foi então destilado a pressão reduzida.

5.2.1 Procedimento de síntese das β -alcoxivinil trifluormetil cetonas 1a¹¹

Uma mistura do enol éter (2-metóxi-propeno) – (66,0 mmóis) e piridina (60,0 mmóis) previamente tratada foi gotejada lentamente, através de um funil de adição, em um balão de 250 mL contendo uma mistura de anidrido trifluoracético (6,7 mL, 10,9 g, 60,0 mmóis) e clorofórmio seco (70 mL), resfriada a 0°C com banho de gelo e sob agitação rigorosa. Após o término da adição, o banho de gelo foi retirado e a reação deixada sob agitação à temperatura ambiente por mais 16 horas. A mistura reacional foi, então, transferida para um funil de extração de 500 mL e lavada com solução 3% de HCl (3 x 150 mL) e água destilada (3 x 150 mL). A fase aquosa proveniente da lavagem da fase orgânica foi ainda extraída com diclorometano (3 x

⁵⁶ Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.

50 mL), sendo que as fases orgânicas resultantes foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e, após filtração, evaporadas em rotaevaporador para a retirada do solvente. A enona **1a** foi purificada através de destilação sob pressão reduzida e isoladas como óleo amarelo em bom rendimento. (85%).

5.2.2. Síntese de 1,1,1-trifluor-4-metóxi-3-alquen-2-onas (**1b-i**)^{12a,d, 23}

Uma mistura de acetal (30,0 mmóis) e piridina (60,0 mmóis) previamente tratada foi gotejada lentamente, através de um funil de adição, em um balão de 250 mL contendo uma mistura de anidrido trifluoracético (60,0 mmóis) e clorofórmio seco (30 mL), resfriada a 0°C com banho de gelo e sob agitação rigorosa. Após o término da adição, o banho de gelo foi retirado e a reação deixada sob agitação por mais 16 horas em refluxo a 45°C. A mistura reacional foi, então, transferida para um funil de extração de 500 mL e lavada com solução 3% de HCl (3 x 150 mL) e água destilada (3 x 150 mL). A fase aquosa proveniente da lavagem da fase orgânica foi ainda extraída com diclorometano (3 x 50 mL), sendo que as fases orgânicas resultantes foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e, após filtração, evaporadas em rotaevaporador para a retirada do solvente. As enonas **1b-h** foram purificadas através de destilação sob pressão reduzida e isoladas como óleos incolores e amarelos em bons rendimentos.

5.2.3 Síntese das 4-trifluormetil-3-metil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas(**3a-c**, **7-9a**).

Em um balão, contendo as β -alcoxivinil cetonas **1a-c** (1,0 mmol) foram adicionadas aos sulfatos de tiouréias **2**, **4**, **5**, **6** (2,0 mmoles) dissolvidos em uma solução 1M de NaOH (2 ml, 2,0 mmoles) sob banho de gelo e agitação vigorosa por 1 hora. Os produtos **3a-c**, **7-9a** foram isolados do meio reacional através de uma extração com acetato de etila. A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada. Os compostos **3a-c**, **7-9a** foram obtidos em forma de sólidos e foram recristalizados com uma mistura de clorofórmio e acetato de etila numa proporção de 9:1.

5.2.4 Síntese das 4-trifluormetil-3-metil-2-metiltio-3,4-diidropirimidinas(3d-i, 7-9d,g).

Em um balão, contendo a respectiva β -alcoxivinil cetona **1d-i** (1 mmol) foram adicionadas os sulfatos de 2-metilisotiouréias **2**, **4**, **5**, **6** (2,0 mmoles) dissolvido em uma solução 1M de Na_2CO_3 (2 ml, 2,0 mmoles) a temperatura ambiente e agitação vigorosa por 1 hora. Os produtos **3d-h**, **7-9d,g** foram isolados do meio reacional através de extração com acetato de etila (3x50ml). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada.

Os compostos foram obtidos em forma de sólidos e foram recristalizados com uma mistura de clorofórmio e acetato de etila numa proporção de 9:1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. (a) Cottineau, B.; Toto, P.; Marot.; Pipaud, A.; Chenault, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2105; (b) Lee, K. Y.; Kim, J. M.; Kim, J. N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6737; (c) Genin, M. J.; Biles, C.; Keiser, B. J.; Poppe, S. M.; Swaney, S. M.; Tarpley, W. G.; Yagi, Y.; Romero, D. L. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1034.
2. (a) Lednecer, D. and Mitscher, L. A. *Organic Chemistry of Drugs Synthesis*, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, N Y, **1997**, Vol. 1-3; (b) Arriba, A. F.; Gómez-Casajús, L. A.; Cavalcante, F.; Almansa, C.; García-Rafanell, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *318*, 341.
3. Montanari, C. A. *Quim. Nova* **1995**, *18*, 56
4. Korolkovas, A. e Burckhalter, J. H. – *Química farmacêutica*, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Dois S.A., pp. 3-83, **1982**;
5. Skulnik, H.I.; Ludens, J.H.; Wendling, M.G.; Glenn, E. M.; Rohloff, N.A.; Smith, R.J.; Wierenga, W. *Journal of medicinal chem.* **1986**, *29*, 1499-1504
6. Kawauchi, K.; Fukazawa, N.; Ishibashi, D.; Yano, O.; Iwata, D.; Etatsugu, H.; Sobashima, T. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1994**, JP06172377 [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 33585f].
7. Magnus, A.; Confalone, P. N.; Storace, L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3015.
8. (a) Pees, K.; Liers, P.; Karla, C. *Eur. Pat. Appl.* **1998**, EP834513 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 257444a]; (b) Drewes, M. W.; Andree, R.; Dollinger, M. *PCT Int. Appl.* **1999**, WO9854155 [*Chem. Abstr.* **1999**, *130*, 38393w].
9. (a) Perrior, T. R.; Tapolkzay, D. J.; Whittle, A. J. *Eur. Pat. Appl.* **1989**, EP338686 [*Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 179009r]; (b) Ishii, S.; Akimoto, K.; Nakayama, K.; Yagi, K.; Ooya, E.; Umehara, T.; Kudo, M.; Inoe, Y. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1993**, JP0543555 [*Chem. Abstr.* **1993**, *119*, 180804x].
10. Inoue, Y.; Kobayashi, T.; Masu, A.; Asahina, K. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* **1991**, JP03197467 [*Chem. Abstr.* **1991**, *115*, 280054p].
11. (a) Martins, M. A. P.; Zoch, A. N.; Flores, A. F. C.; Clar, G.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, *32*, 739; (b) Effenberger, F.; Maier, R.; Schonwalder, K. H.; Ziegler, T. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 2766; (c)

- Effenberger, F.; Schonwalder, K. H. *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 3270; (d) Kamiori, Y.; Hojo, M.; Masuda, R.; Fujitani, T.; Kosbuschi, T. *Synthesis*, **1986**, *4*, 340.
12. (a) Hojo, M.; Masuda, R.; Okada, E. *Synthesis*, **1986**, *12*, 1013; (b) Hojo, M.; Masuda, R.; Kokuryo, Y.; Shioda, H.; Matsuo, S. *Chem Lett.* **1976**, *5*, 499; (c) Siqueira, G. M.; Flores, A. F. C.; Clar, G. Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, *17*, 24; (d) Martins, M. A. P.; Bastos, G. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4309; (e) Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P.; Bittencourt, S. R. T.; Lourega, R. V.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **1999**, *99*, 177; (f) Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M.; Freitag, A. R.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, *17*, 298; (g) Hojo, M.; Masuda, R.; Sakagushi, S.; Takagawa, M. *Synthesis* **1986**, 1016; (h) Bonacorso, H. G.; Costa, M. B.; Moura, S.; Pizzuti, L.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **2005**, *126*, 1396.
13. Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Sinhorin, A. P.; Rosa, A.; Zimmermann, N. E. K.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Magn. Res. Chem.* **2002**, *40*, 182.
14. Hussein, A. H. M. *Heteroat. Chem.* **1997**, *8*, 1.
15. (a) Lin, P.; Jiang, J. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 3635; (b) Arnone, A.; Barbardi, R.; Blasco, F.; Cardillo, R.; Resnati, G.; Gerus, I. I.; Kukhar, V. P. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 2809; (c) Filler, R. *Organofluorine Chemicals and Their Industrial Applications*, Banks, R. E. (ed), Ellis Horwood, London, **1979**.
16. S. R. Cechin, M. R. C. Schetinger, N. Zanatta, C. C. Madruga, I. L. Pacholski, D. C. Flores, H. G. Bonacorso, M. A. P. Martins, V. M. Morsch, *Chem. Res. Toxicol.* **2003**, *16*, 1433.
17. Bakker, W.W; Poelstra, K; Barradas, M.A.; Mikhailidis, D.P. *Platelets* **1994**, 121.
18. Klafki, H. W.; Staufenbiel, M.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J. *Braian* **2006**, *129*, 2840.
19. Geldmacher, D. S.; Frolich, L.; Doody, R. S.; Erkinjuntti, T.; Vellas, B.; Jones, R. W.; Banerjee, S.; Lin, P.; Sano, M. *J. Nutr. Health Aging.* **2006**, *10*, 417.
20. Caselli, R. J.; Beach, T. G.; Yaari, R.; Reiman, E. M. *J. Clin. Psychiat.* **2006**, *67*, 1784.
21. Mohamed, T.; Rao, P. P. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3606.

-
22. Figueredo, J. A.; Ismael, M. I.; Pinheiro, J. M.; Silva, A. M. S.; Justino, J.; Silva, F. V. M.; Gourlat, M.; Mira, D.; Araujo, M. E. M.; Campoy, R.; Rauter, A. *P. Carbohyd. Res.* **2011**, 346.
23. Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Zimmermann, N. K. E.; Moura, S.; Sinhorin, A. P.; Cunico, W.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G.; Flores, A. F. C. *Synthesis* **2003**, 15, 2353.
24. (a) Martins, M. A. P.; Guarda, E. A.; Frizzo, C. P.; Scapin, E.; Beck, P.; Costa, A. C.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2007**, 266, 100. (b) Martins, M. A. P.; Guarda, E. A.; Frizzo, C. P.; Moreira, D. N.; Marzari, M. R. B.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Catal. Lett.* **2009**, 130, 93.
25. Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C.M.P.; Sinhorin, A. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synthesis* **2004**, 1, 391.
26. Balenkova, E.; Druzhinin, S.; Nenajdenko, V. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 7753.
27. Nenajdenko, V.G.; Balenkova, E.S. *Arkivoc* **2011**, 246.
28. Saladino, R.; Cretini, C.; Palamara, A. T.; Danti, M. C.; Manetti, F.; Coreli, F.; Garaci, E. e Botta, M. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 4554.
29. Katritsky, A. R., Daryl, L. O.; Yousaf, T. I. *Tetrahedron* **1987**, 43, 5171.
30. Funabiki, K.; Nakamura, H.; Matsui, M.; Shibata, K. *Synlett* **1999**, 756.
31. Palanki, M. S. S.; Gayo-Fung, L. G.; Shevlin, G. I.; Erdman, P.; Sato, M.; Goldman, M.; Ransone, L.; Sponner, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 2573.
32. Baldino, C. M.C.; Justin, L.N.; Flanders, R. B.; Dumas, Y. L., Dumas, S. A. Patente U.S. 01522235 A1, **2011**.
33. Mizuno, H. Patente WO2010134478 A1, **2010**.
34. Aurrecoechea, N.; Beroza, P.P.; Damodaran, K. V.; Robinson, L.; Weber, K.T. 20100081653, **2011**.
35. (a) Bonacorso, H. G.; Lopes I. S.; Wastowski, A. D.; Zanatta N.; Martins M. A. P., *J. Fluorine Chem.* **2003**, 120, 29; (b) Flores, A. F. C.; Pizzuti, L.; Brondani, S.; Rossato, M.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 1316.
36. Zanatta, N.; Pachoski, I.L; Blanco, I; Martins, M. A. P.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1991**, 2, 118-120.
37. Gerus, I.I.; Vdovenko, S.I; Gorbunova, M.G.; Kukhar, V.P. *Chem.Heterocyc. compd.* **1991**, 398.

38. Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Clereci, E.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocycli*, **1995**, 32, 735-738.
39. Zanatta, N.; Corteline, M. F. M.; Carpes, M. J. S.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocycli*, **1997**, 34, 509-513.
40. Mellor, J. M.; Schofield, S. R.; Korn, S. R. *Tetrahedron* **1997**, 53, 1763.
41. Zanatta, N.; Fagundes, M. B.; Ellensohn, R.; Marques, M; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocycli*, **1998**, 35, 451-455.
42. Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Marisco, P. C.; Flores, D. C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *J. Heterocycli*, **2000**, 37, 1213-1218.
43. Bonacorso, H. G.; Wentz, A. P.; Zantta, N.; Martins, M.A.P.; *Sinteses*, **2001**, 10, 1505-1508.
44. Bonacorso, H. G.; Lopes, I. S.; Wastowski, A.D.; Zanatta, N.; Martins, M.A.P. *Journal of fluorine chemistry*, **2003**, 120,29-32.
45. Zanatta, N.; Flores, D. C.; Madruga, C.C.; Faoro, D.; Flores, A.F.C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P.; *Synthesis*, **2003**, 6, 894-898.
46. Ringom, R.; Axen, E.; Uppenberg, J.; Lundback, T.; Rondahl, L.; Barf, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4449.
47. Bonacorso, H. G.; Martins, D. B.; Martins, M.A.P.; Zantta, N.; Flores, A.F.C.; *Synthesis*, **2005**, 5, 809-813.
48. Zanatta, N.; Madruga, C.C.; Marisco, P. C.; Rosa, L.S.; Fernandes L. S.; Flores, D.C.; Flores, A.F.C.; Burrow, R.A.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P. ; *J. Heterocyclic chem* , **2008**, 45, 221-227.
49. Zanatta, N.; Faoro, D.; Fernandes, L. S.; Brondani, P. B.; Flores, D.C.; Flores, A..C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M.A.P, *Eur. J. Org. chem.*, **2008**, 5832-5838.
50. Bonacorso, H. G.; Bortolloto, G.P.; Navarini, J.; Porte, L.M.F.; Wiethan, C.W.; Zanatta, N.; Martins, M.A.P.; Flores, A.F.C. *Journal of Fluorine chem.*, **2010**,1.
51. Zanatta, N.; Madruga, C. C.; Marisco, P. C.; Rosa, L. S.; Silva, F. M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, 47, 1234.
52. (a) Bonacorso, H. G.; Wentz, A. P.; Zanatta, N.; Martins, M. A, P. *Synthesis* **2002**, 1079; (b) Frizzo, C. P.; Campos, P. T.; Marzari, M. R. B.; Machado, P.; Martins, M. A. P. *Acta Cryst.* **2008**, 64, 212.
53. Blatt, A. H. *Organic Syntheses*, New York, **1943**, vol II, 411p

54. Bruker (2006). APEX2 (Versão 2.1), COSMO (Versão 1.56), BIS (Versão 2.0.1.9), SAINT (Versão 7.3A), SADABS (Versão 2004/1) e XPREP (Versão 2005/4). Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
55. Sheldrick, G. M. SHELX-97, Programs for solution and Refinement of Crystal Structures, University of Göttingen, Germany, **1997**.
56. Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, 30, 565.

APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

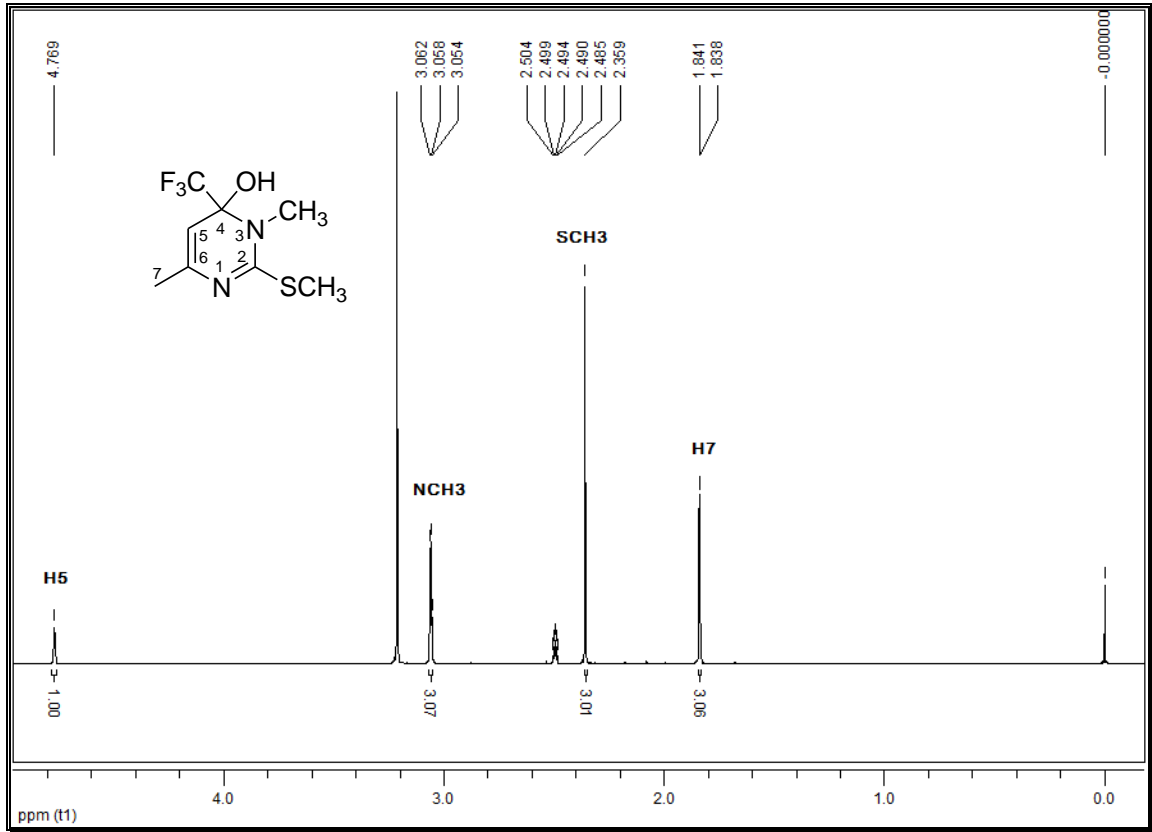


Figura 11: Espectro de RMN ^1H do composto **3a** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

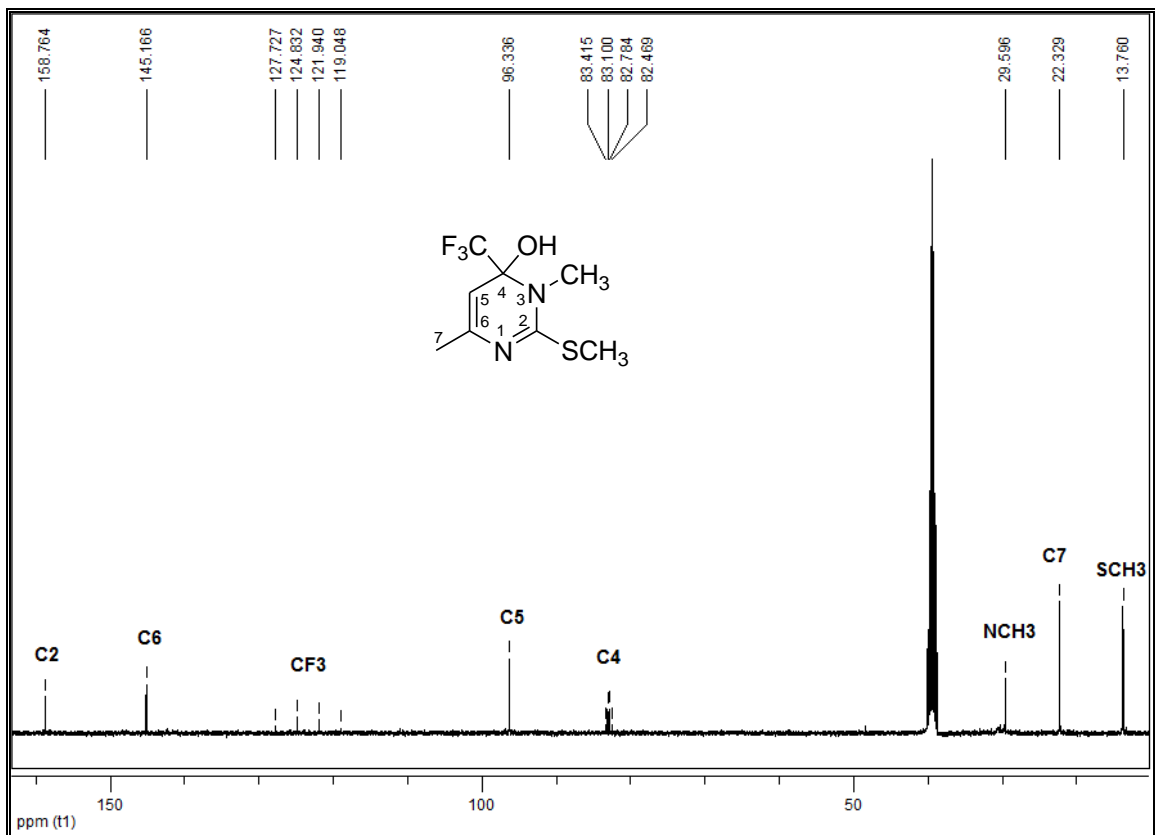


Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **3a** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

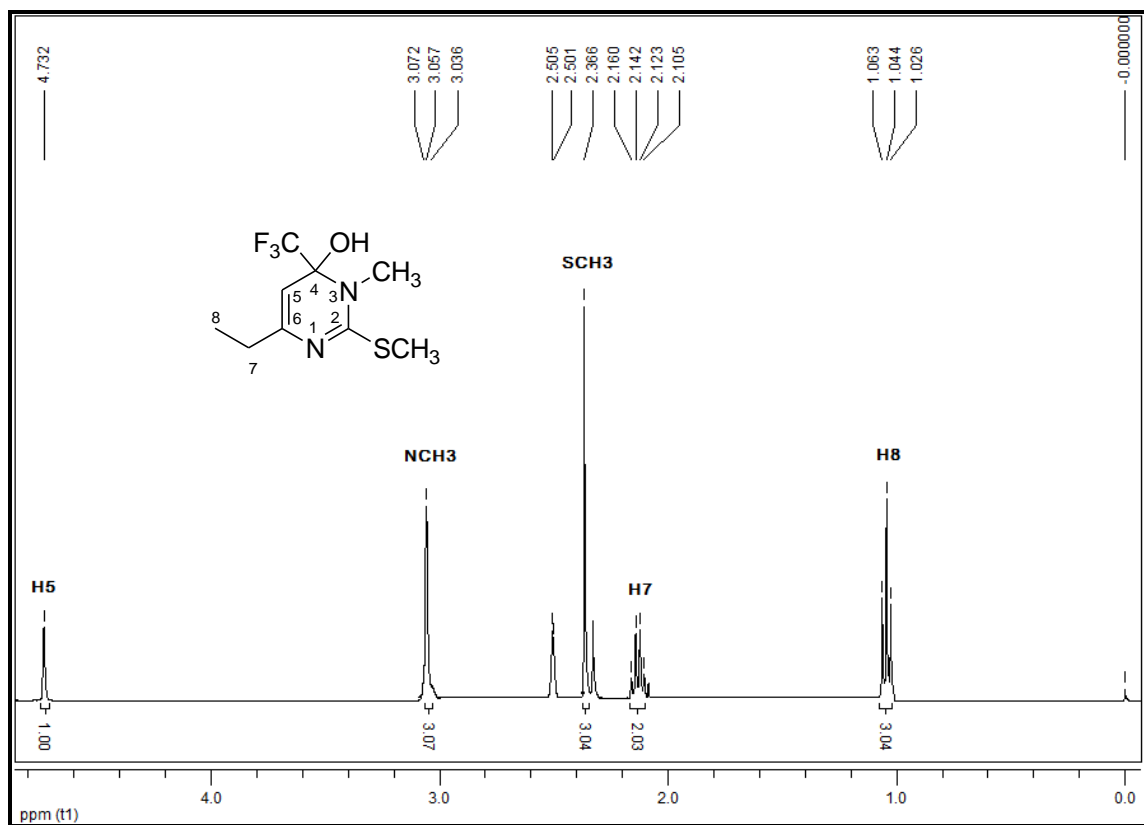


Figura 13: Espectro de RMN ¹H do composto **3b** a 200 MHz em DMSO-*d*₆.

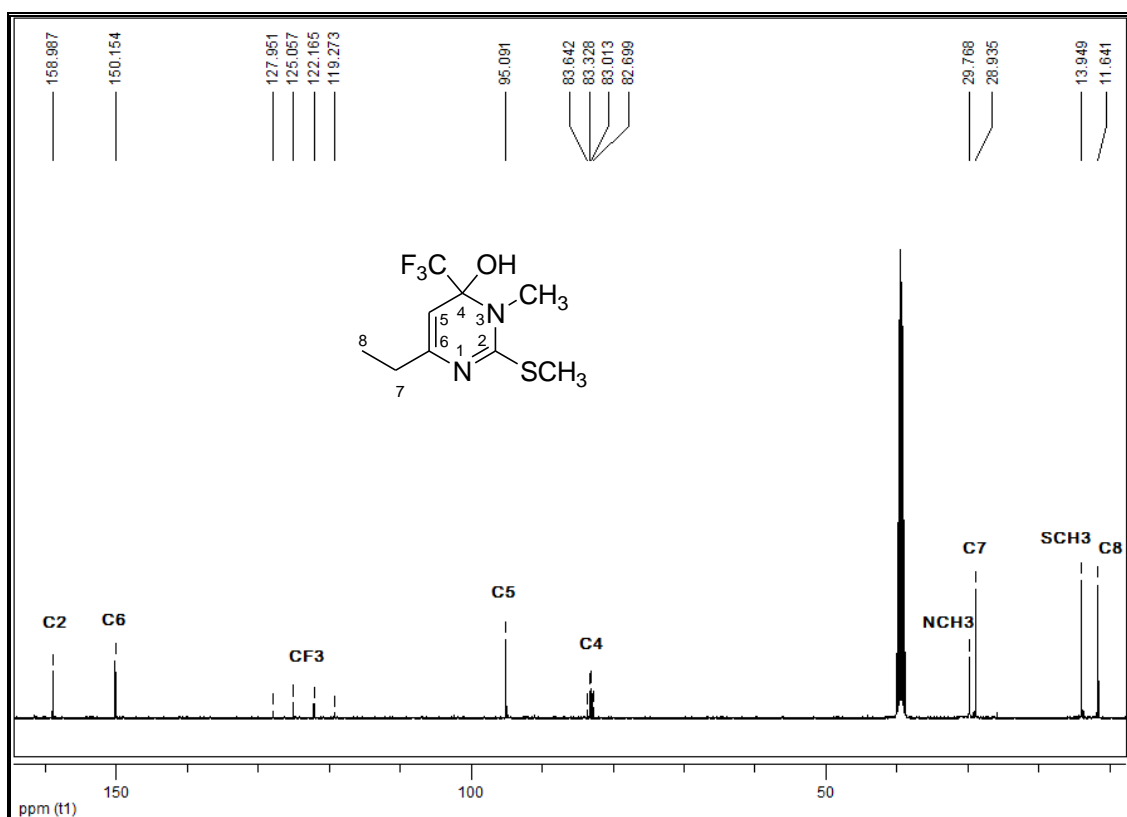


Figura 14: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **3b** a 100 MHz em DMSO-*d*₆.

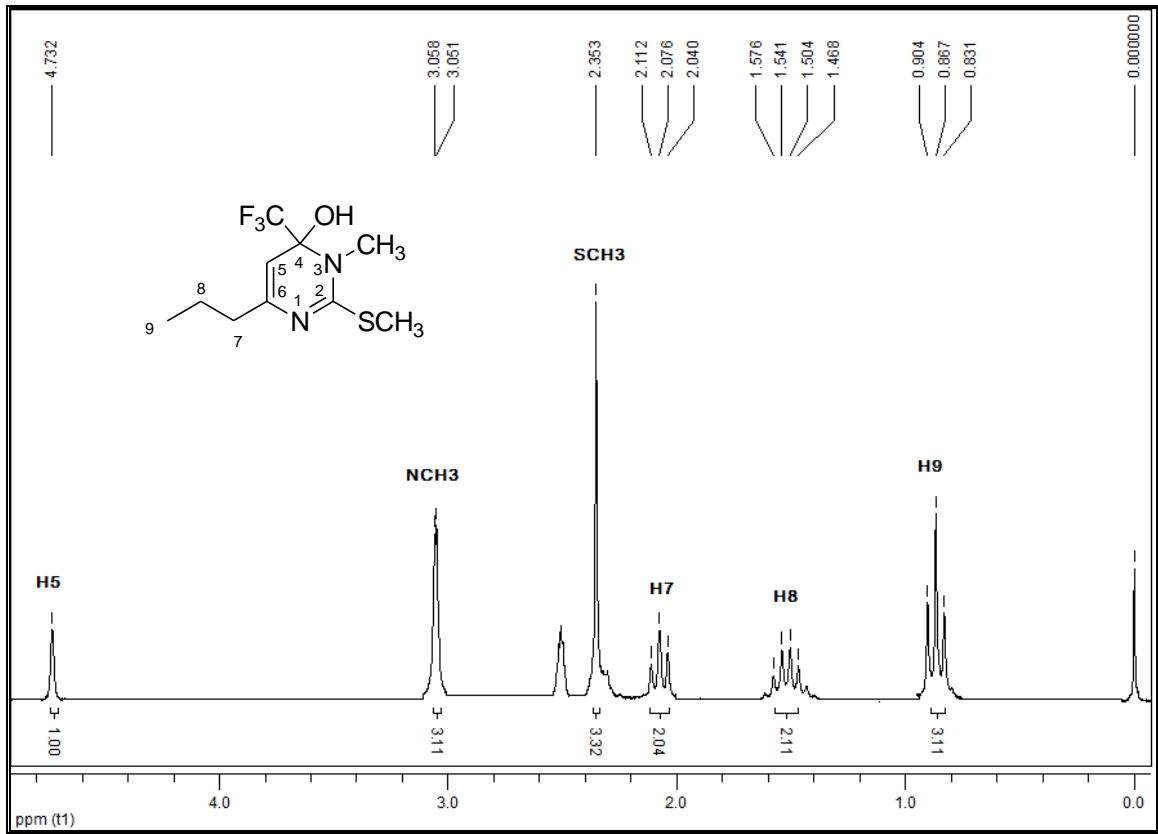


Figura 15: Espectro de RMN ¹H do composto **3c** a 200 MHz em DMSO-d₆.

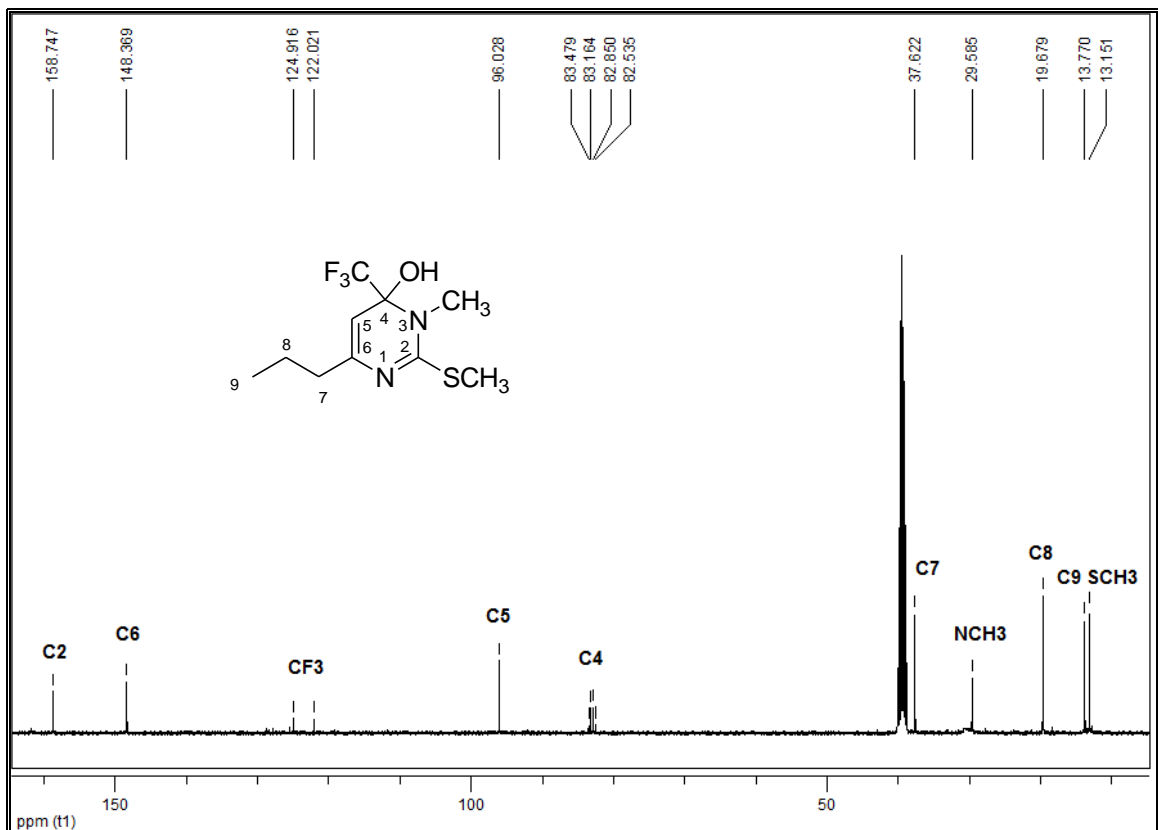


Figura 16: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **3c** a 100 MHz em DMSO-d₆.

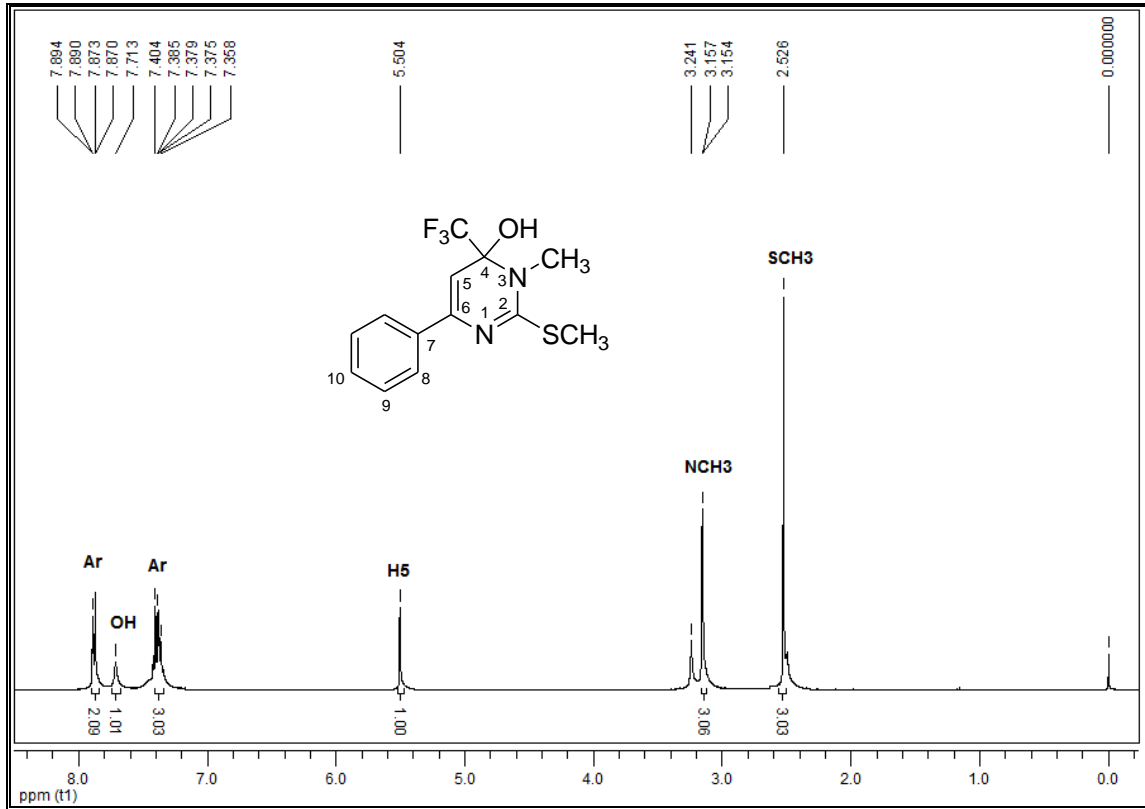


Figura 17: Espectro de RMN ¹H do composto 3d a 400 MHz em DMSO-*d*₆.

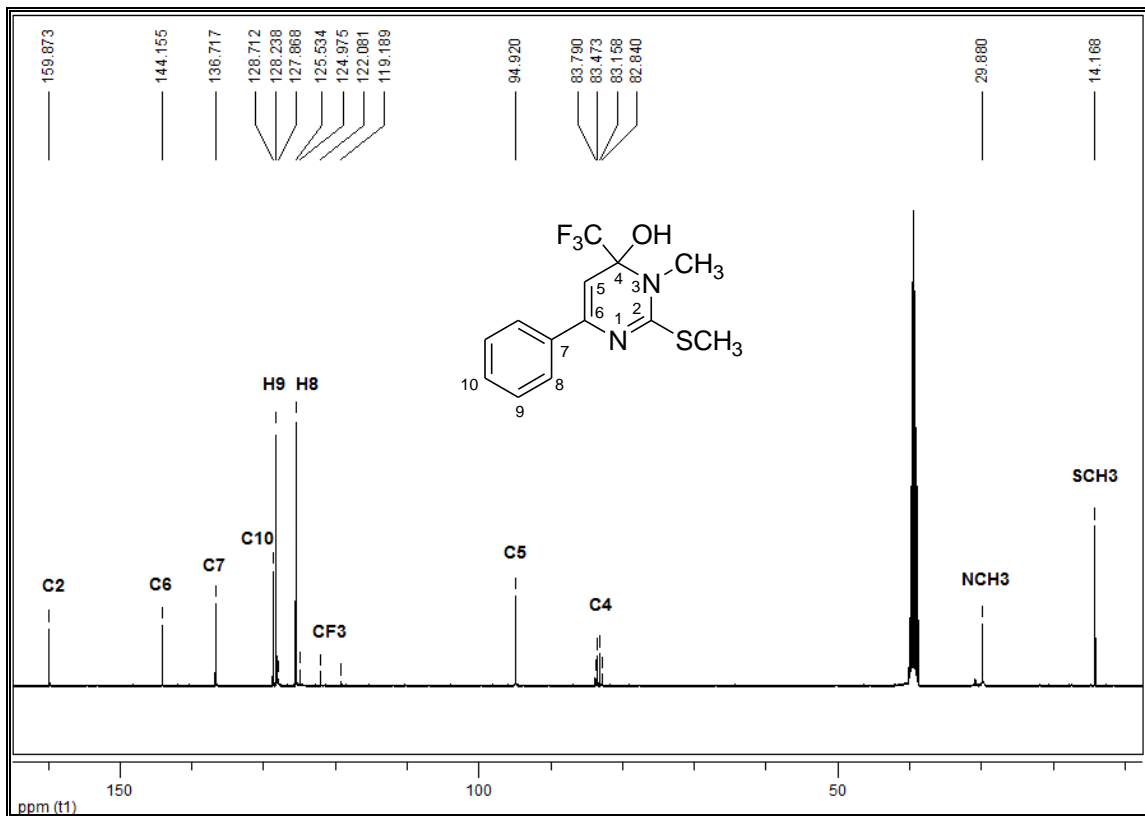


Figura 18: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto 3d a 100 MHz em DMSO-*d*₆.

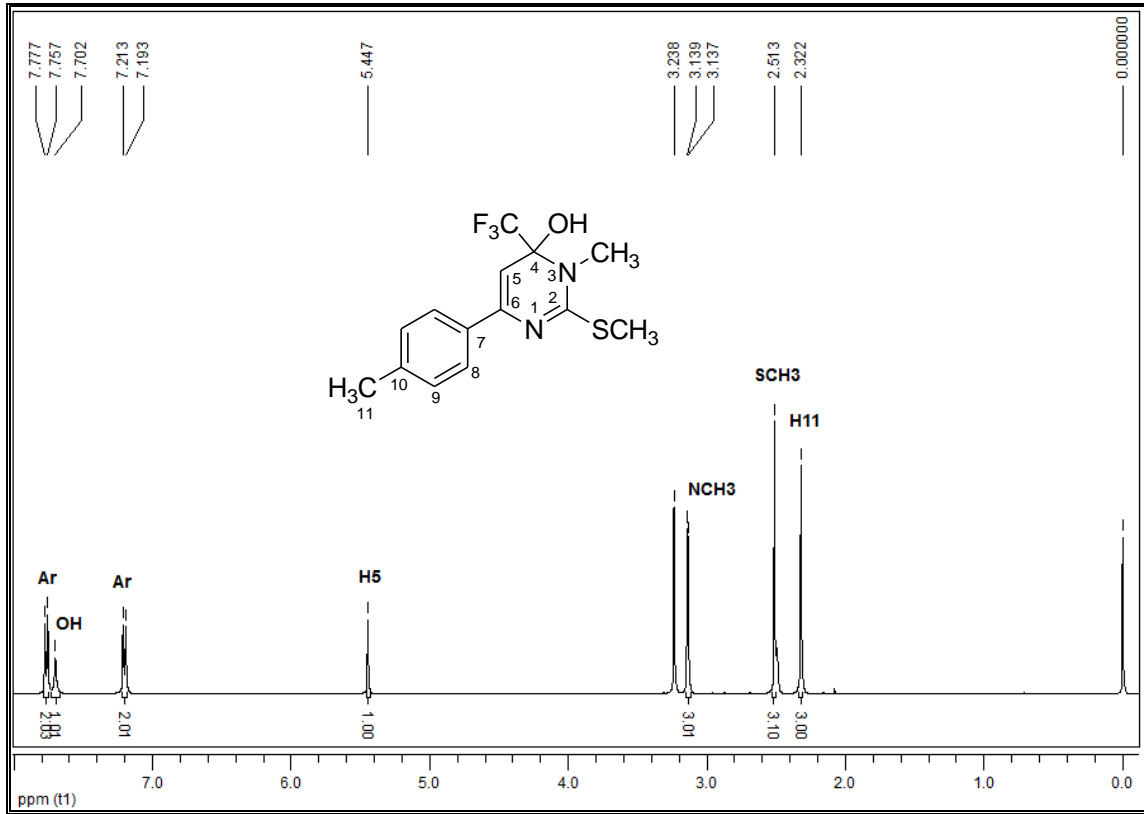


Figura 19: Espectro de RMN ¹H do composto **3e** a 400 MHz em DMSO-d₆.

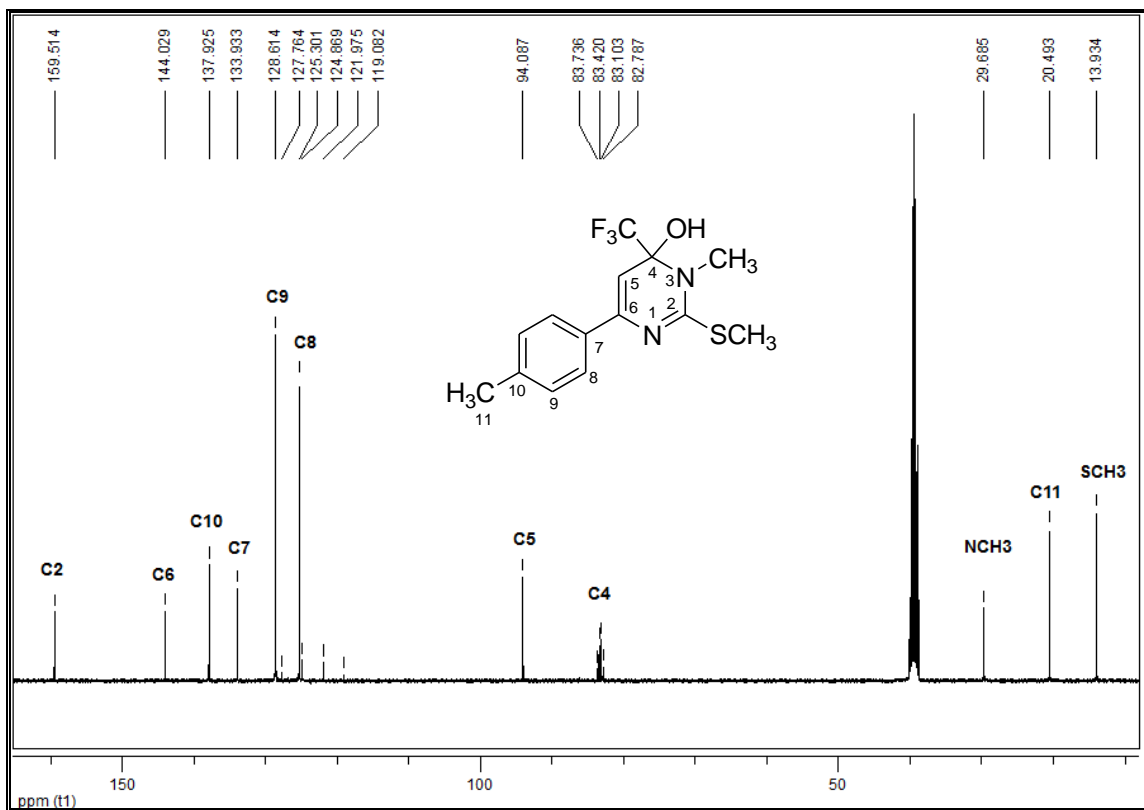


Figura 20: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **3e** a 100 MHz em DMSO-d₆.

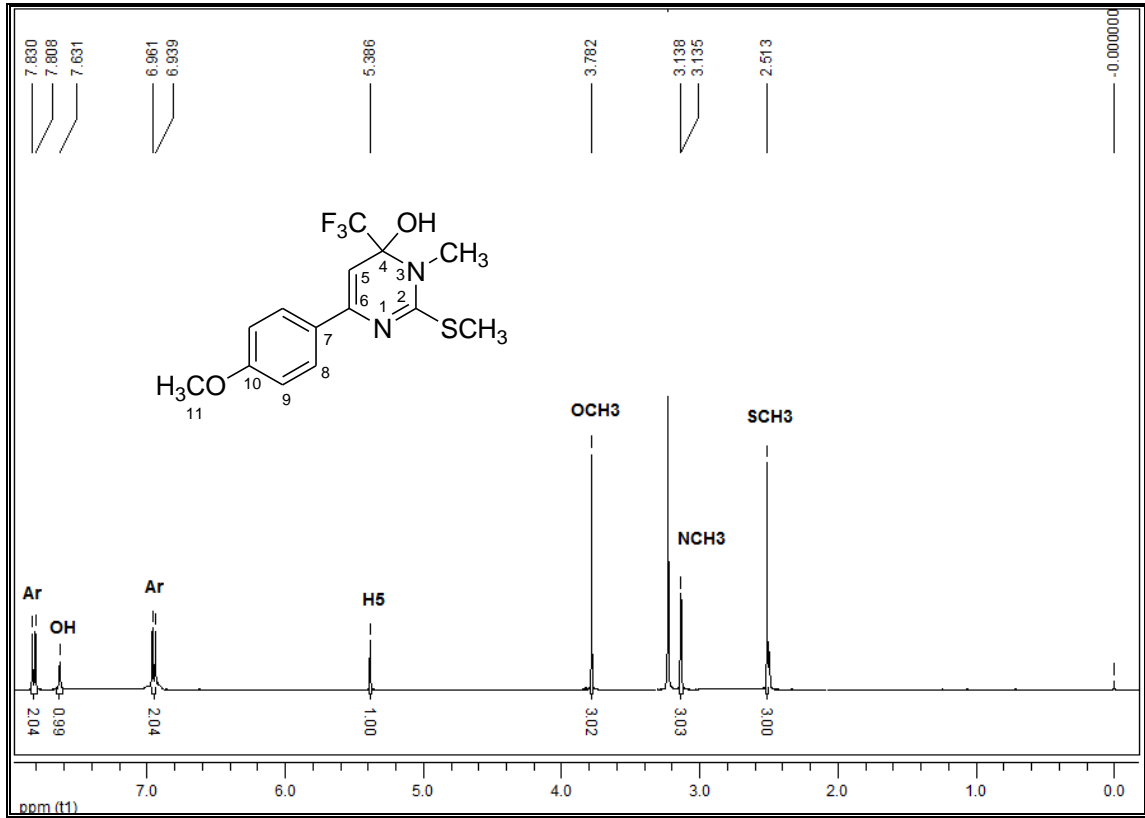


Figura 21: Espectro de RMN ¹H do composto **3f** a 400 MHz em DMSO-*d*₆.

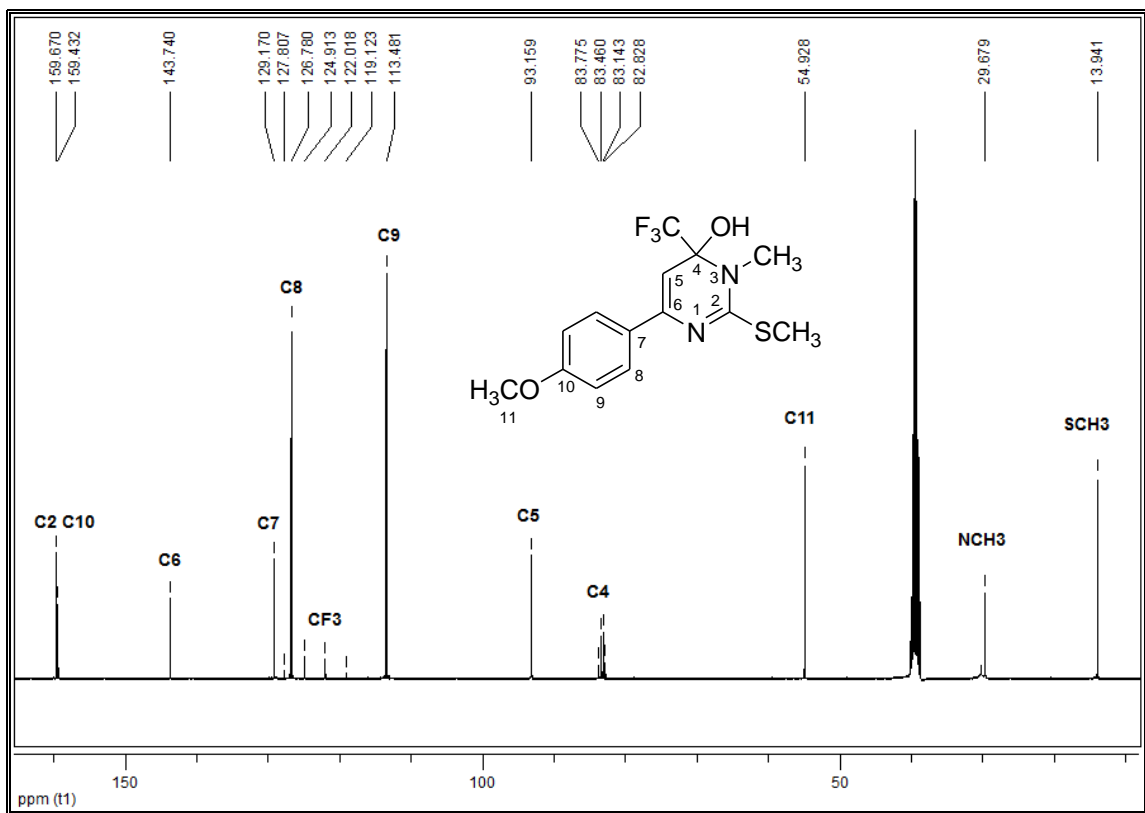


Figura 22: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **3f** a 100 MHz em DMSO-*d*₆.

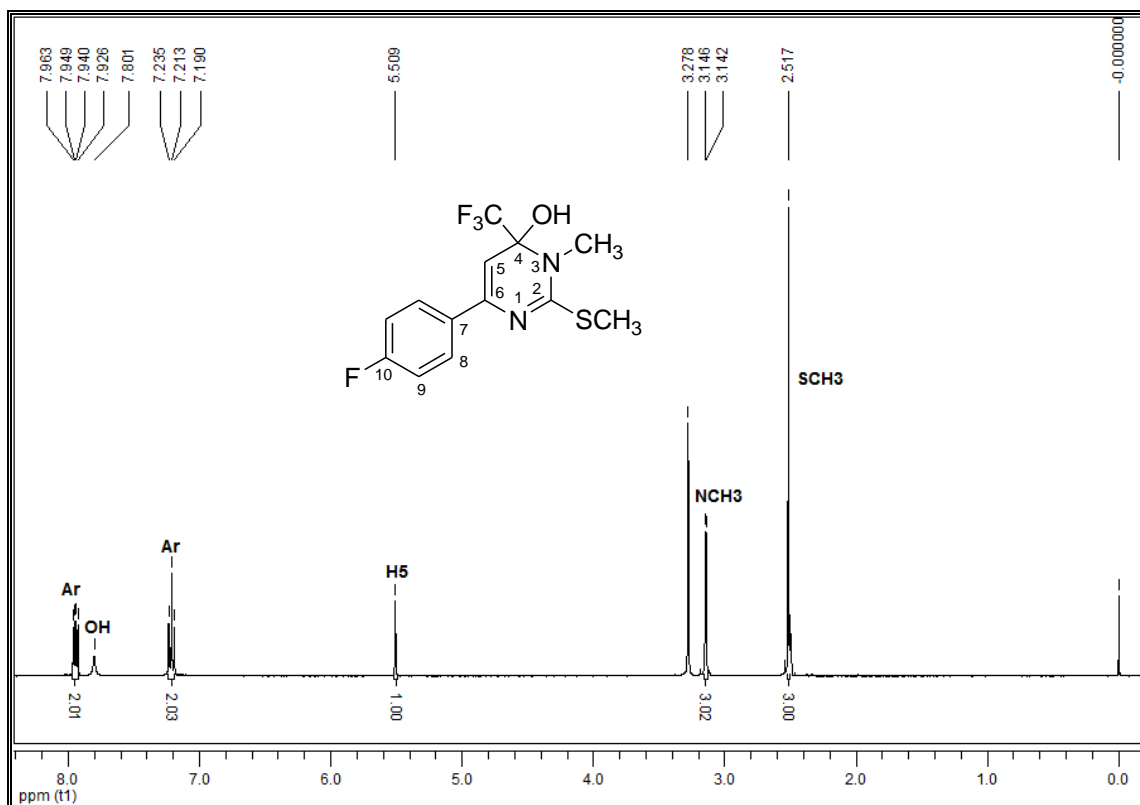


Figura 23: Espectro de RMN ^1H do composto **3g** a 400 MHz em DMSO- d_6 .

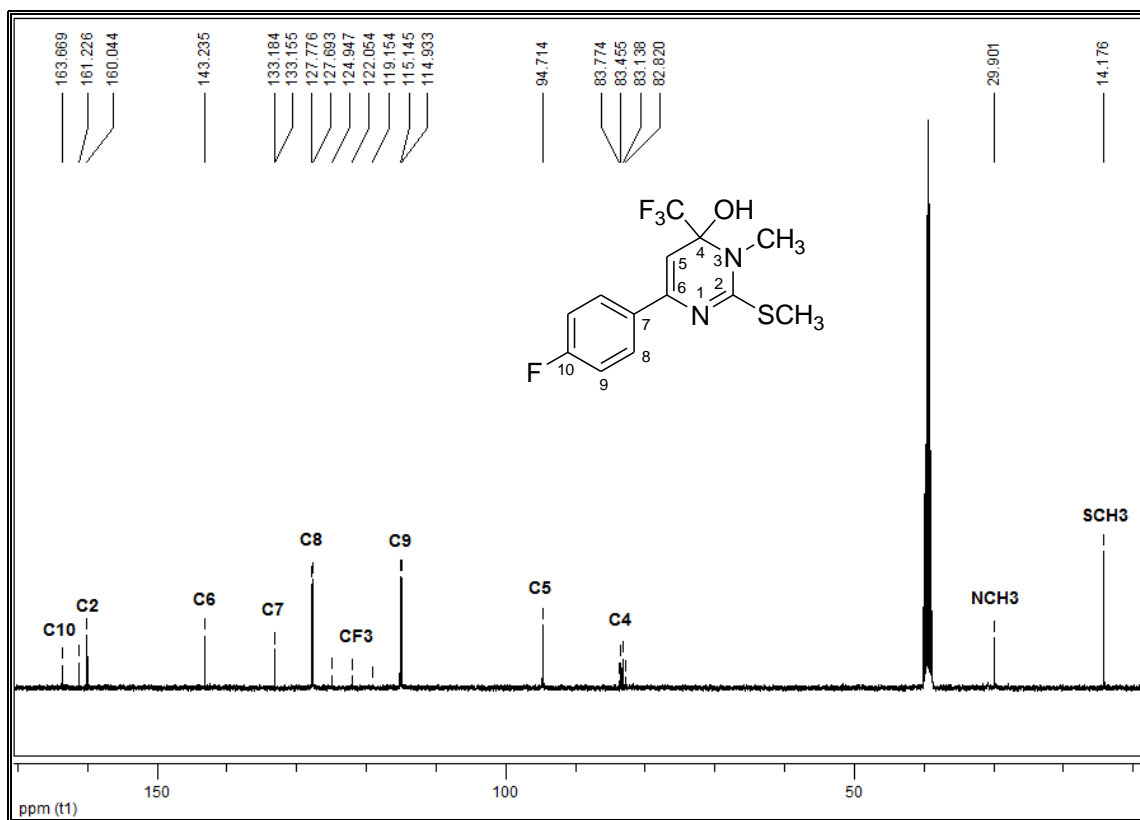


Figura 24: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **3g** a 100 MHz em DMSO- d_6 .

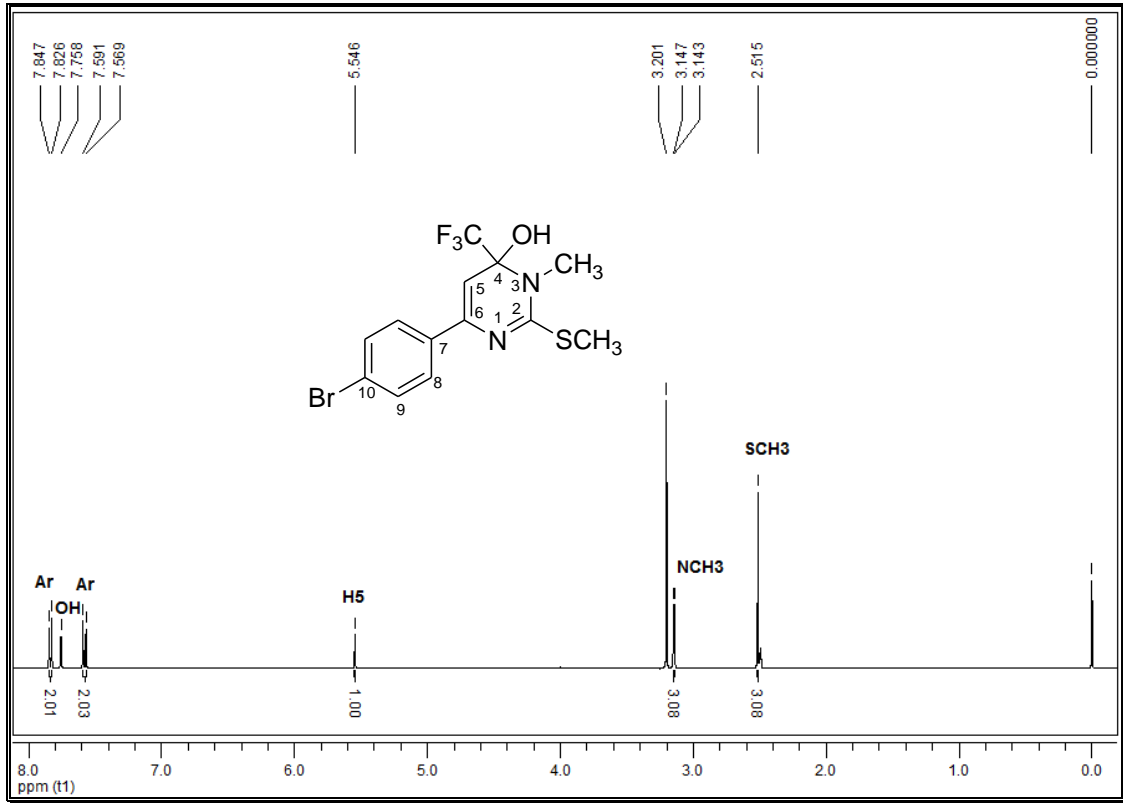


Figura 25: Espectro de RMN ^1H do composto **3h** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

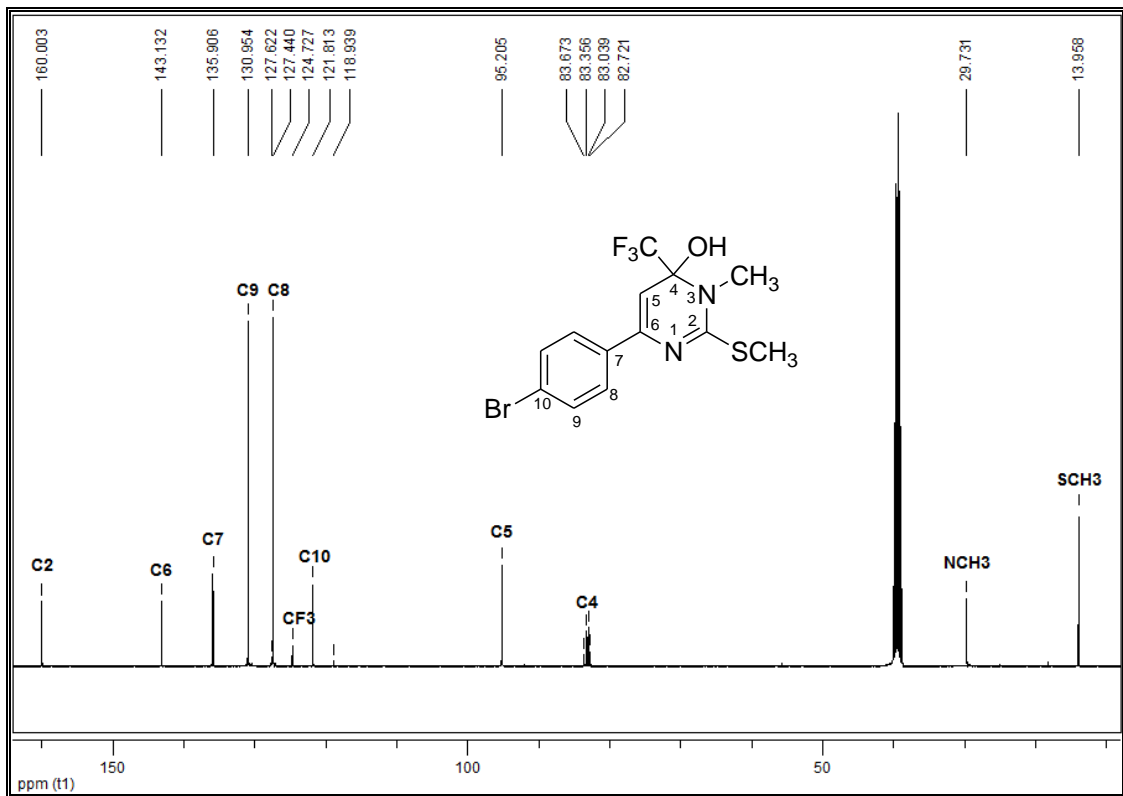


Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **3h** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

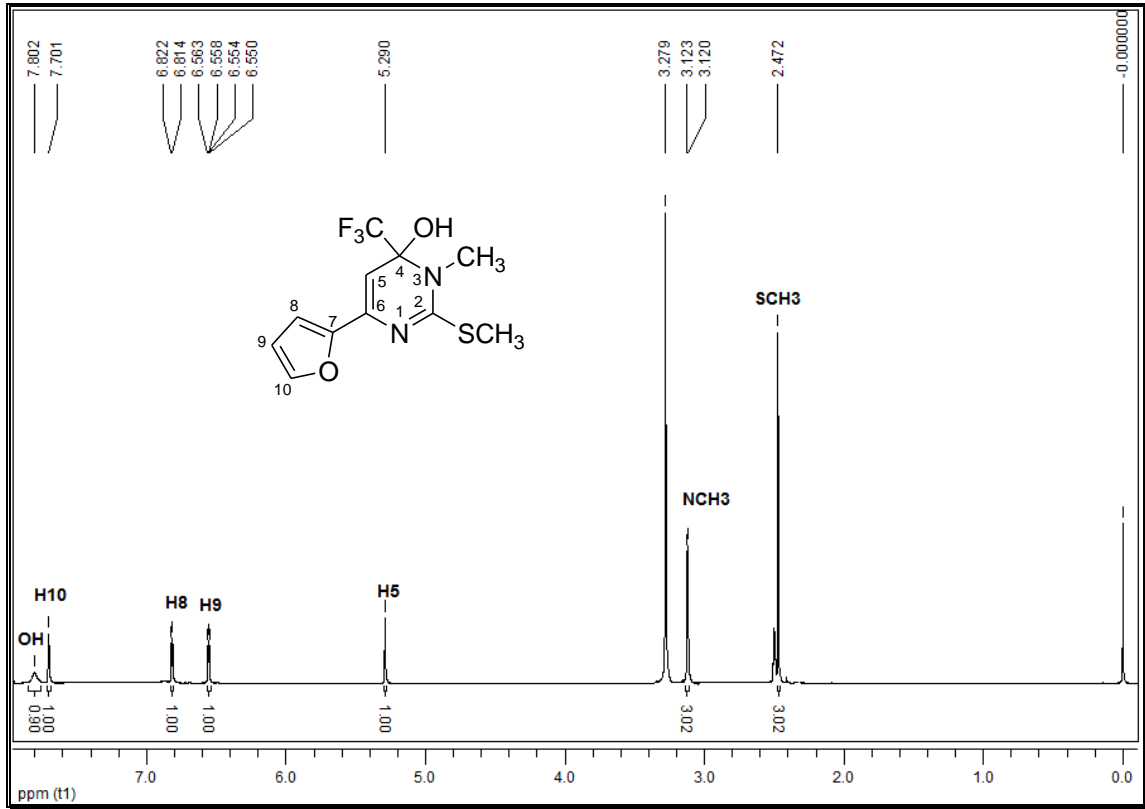


Figura 27: Espectro de RMN ^1H do composto **3i** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

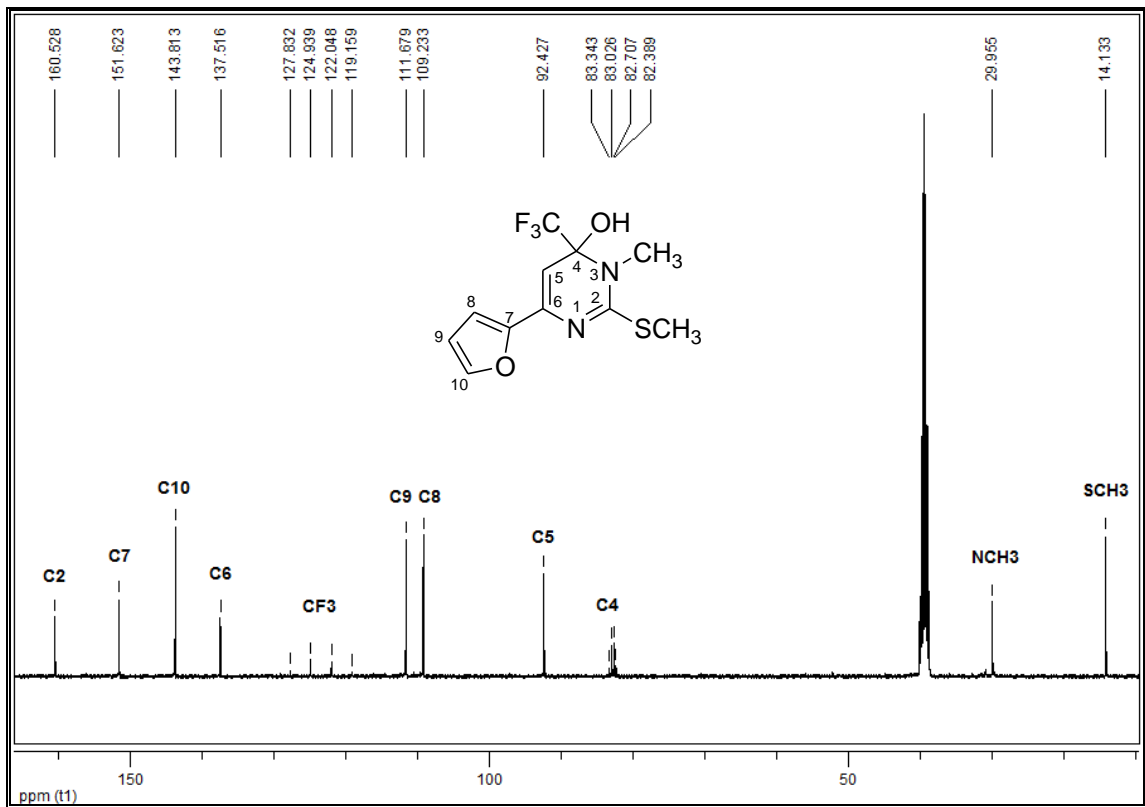


Figura 28: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **3h** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

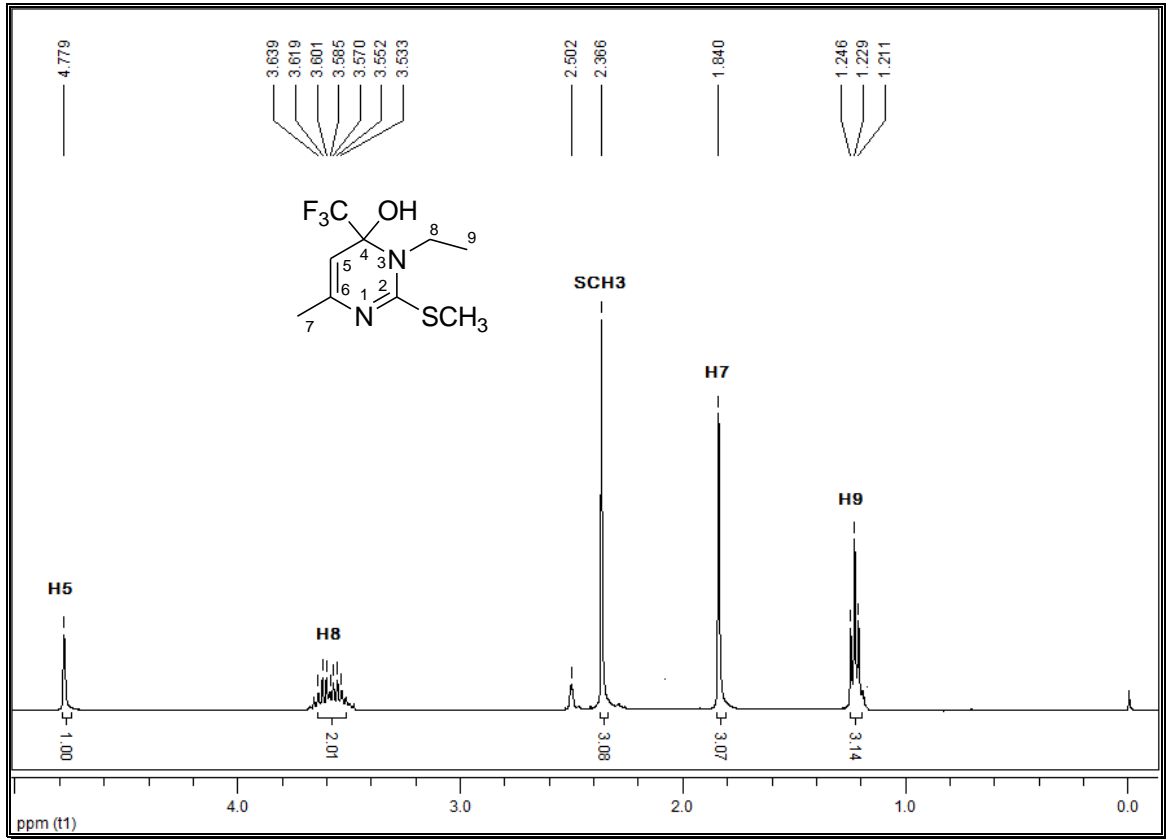


Figura 29: Espectro de RMN ¹H do composto **7a** a 200 MHz em DMSO-*d*₆.

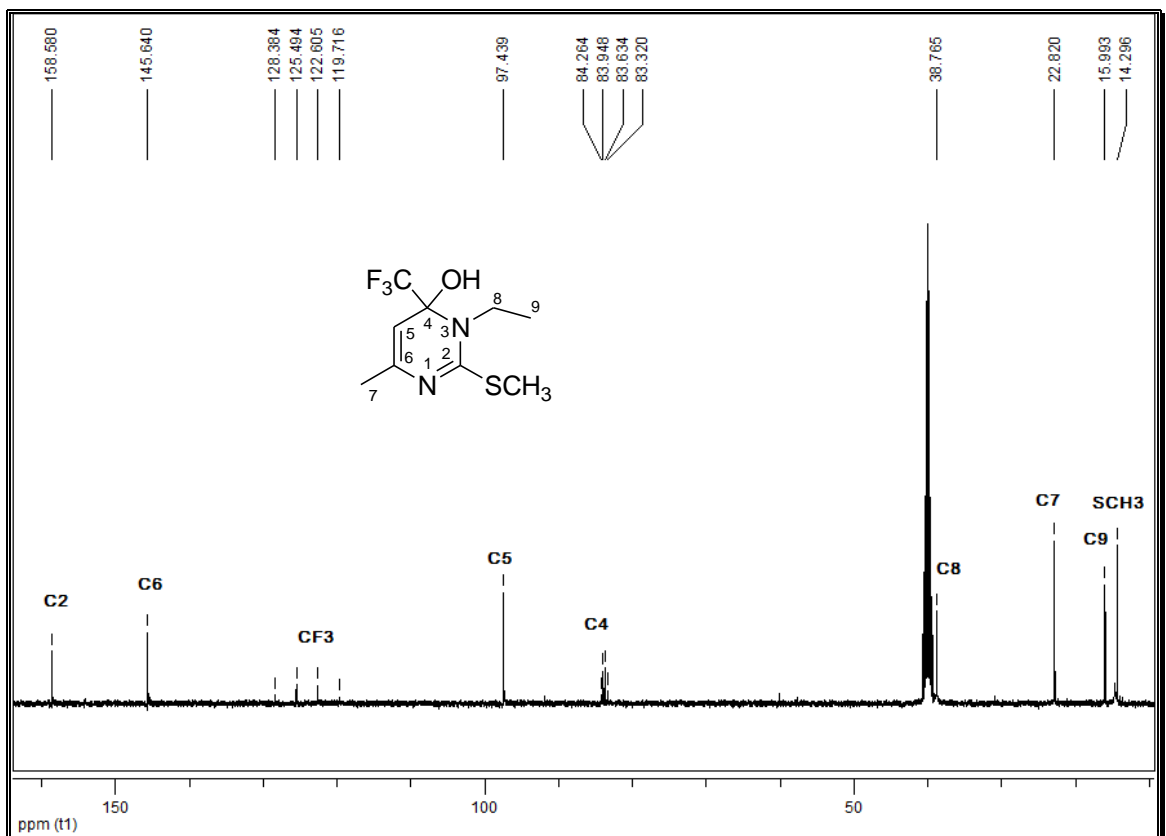


Figura 30: Espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **7a** a 100 MHz em DMSO-*d*₆.

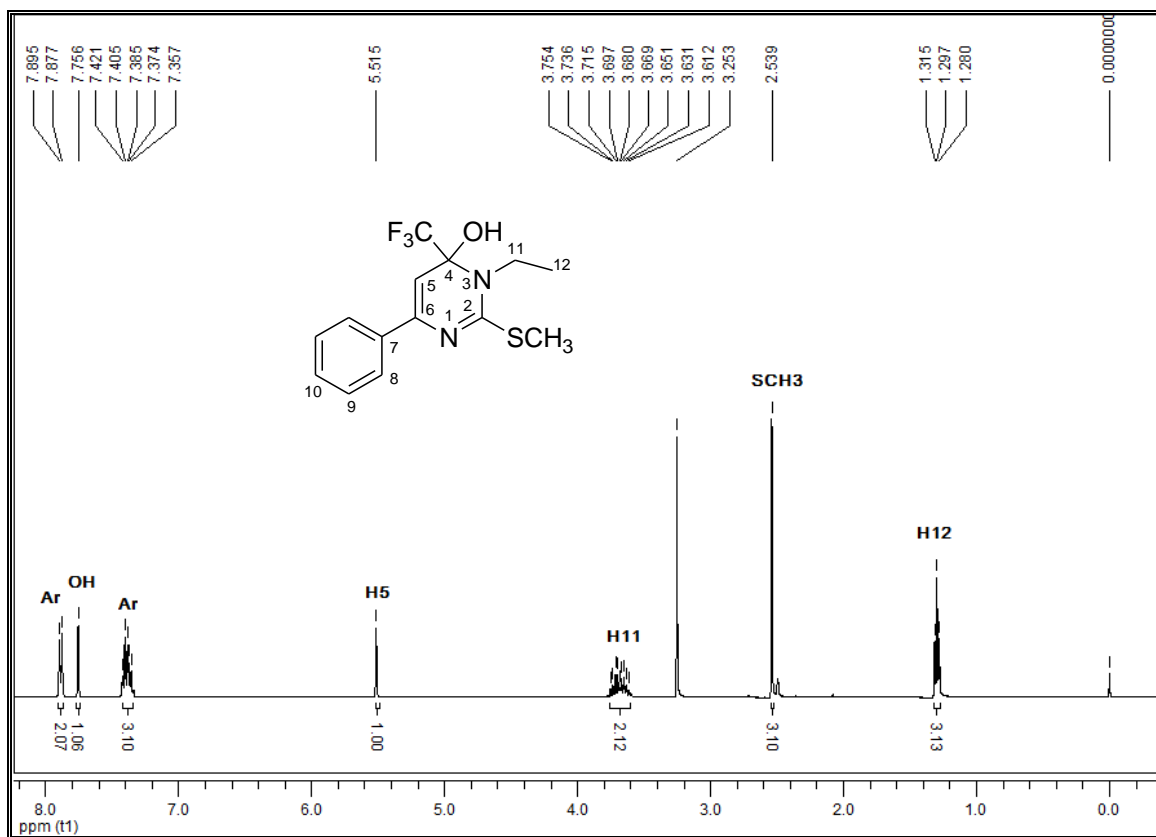


Figura 31: Espectro de RMN ^1H do composto **7d** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

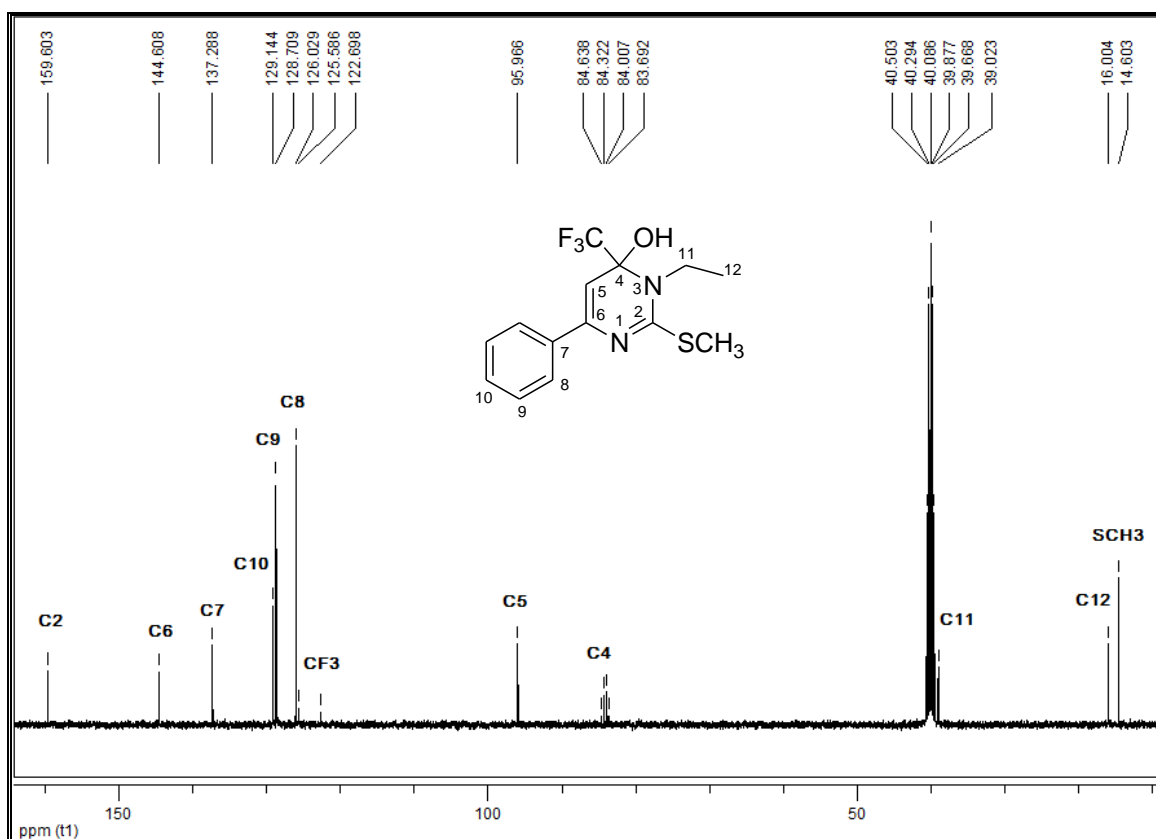


Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **7d** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

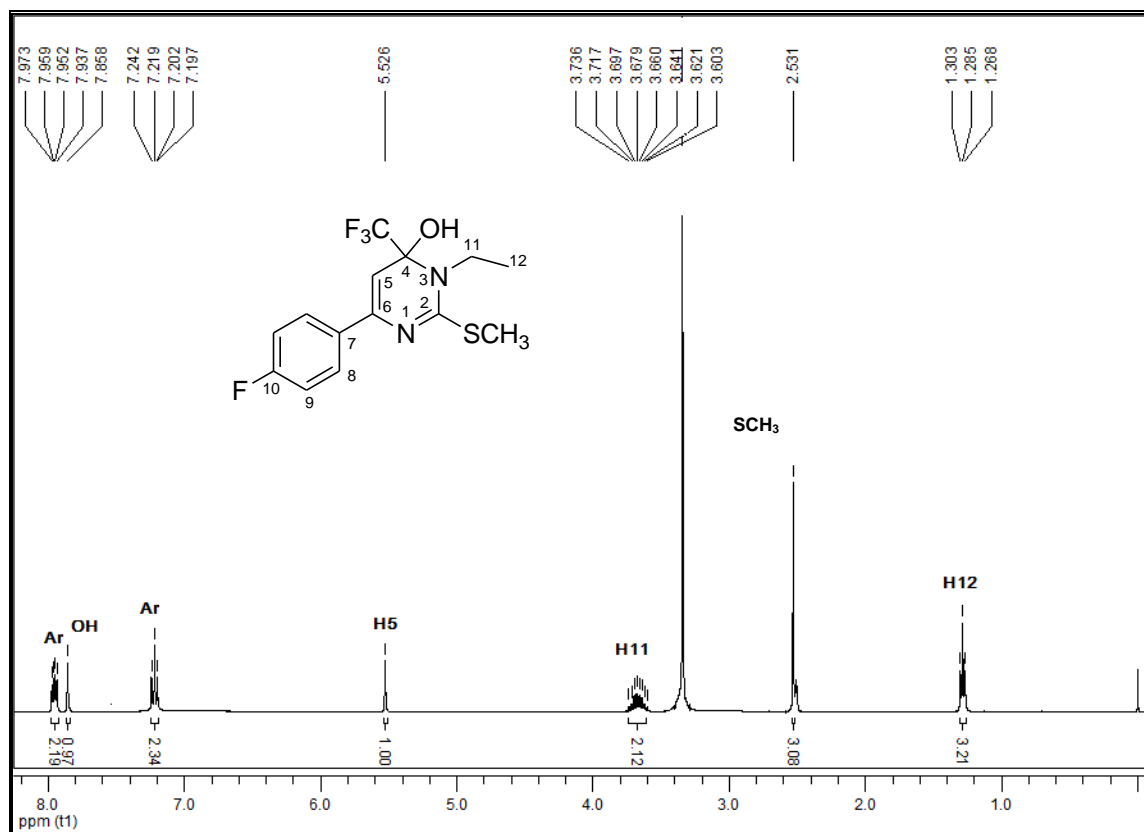


Figura 33: Espectro de RMN ^1H do composto **7g** a 400 MHz em DMSO- d_6 .

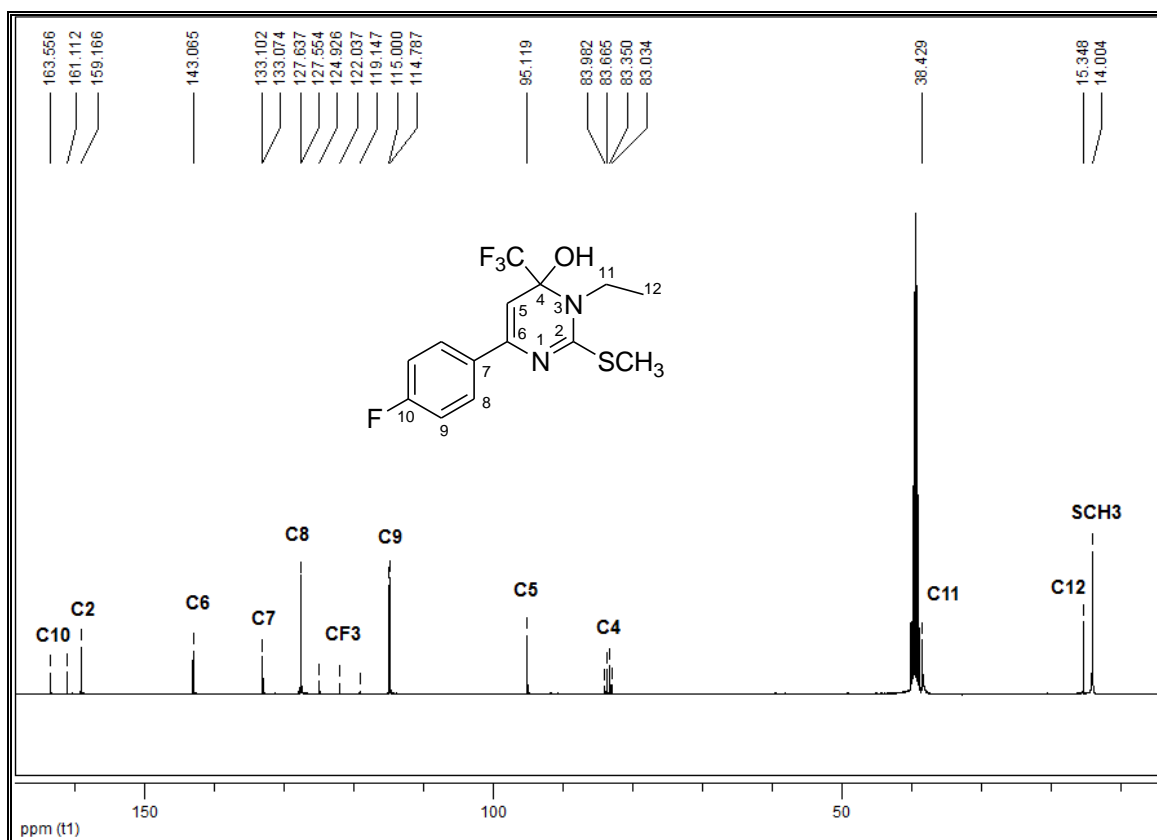


Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **7g** a 100 MHz em DMSO-

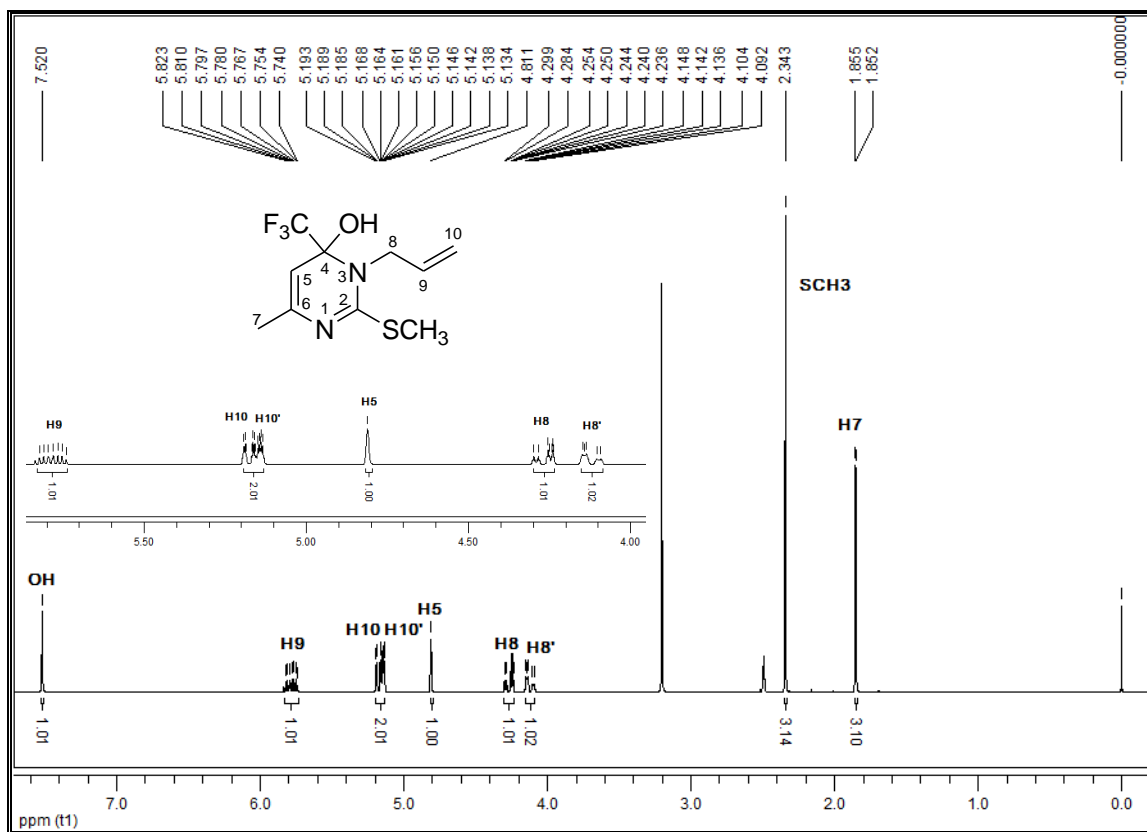


Figura 35: Espectro de RMN ^1H do composto **8a** a 400 MHz em DMSO- d_6 .

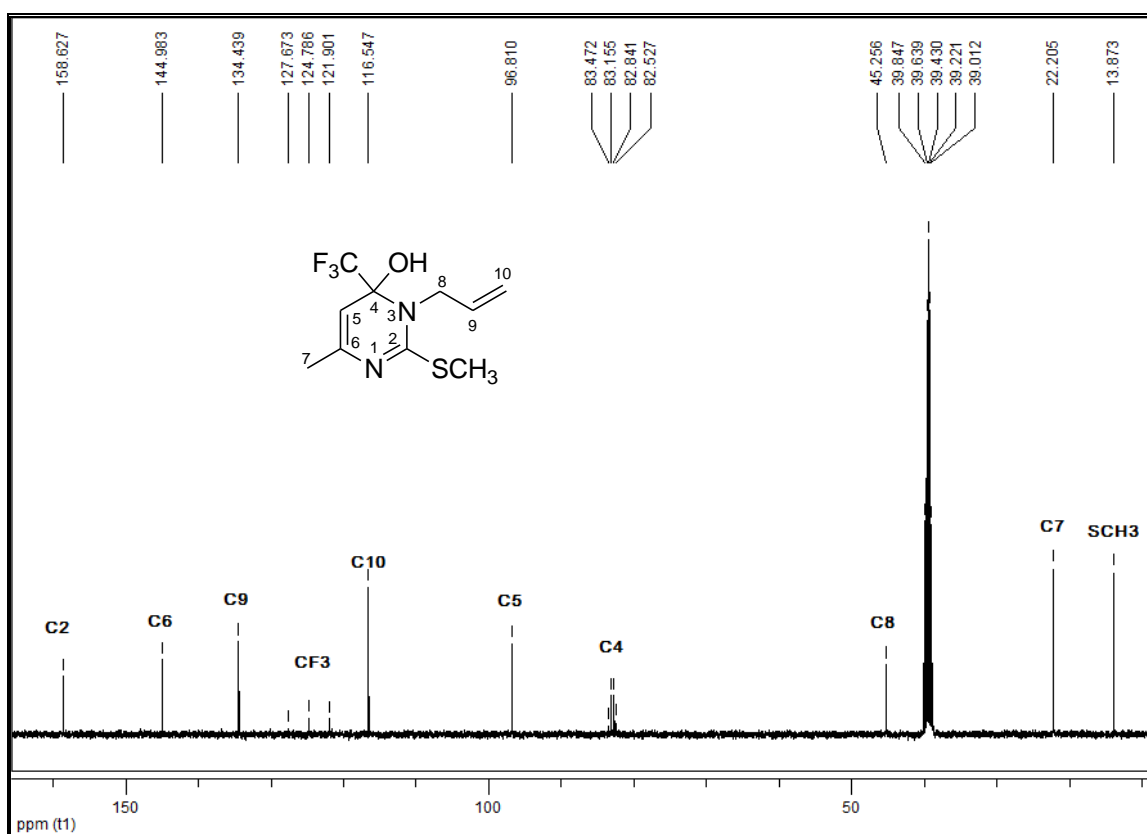


Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **8a** a 100 MHz em DMSO- d_6 .

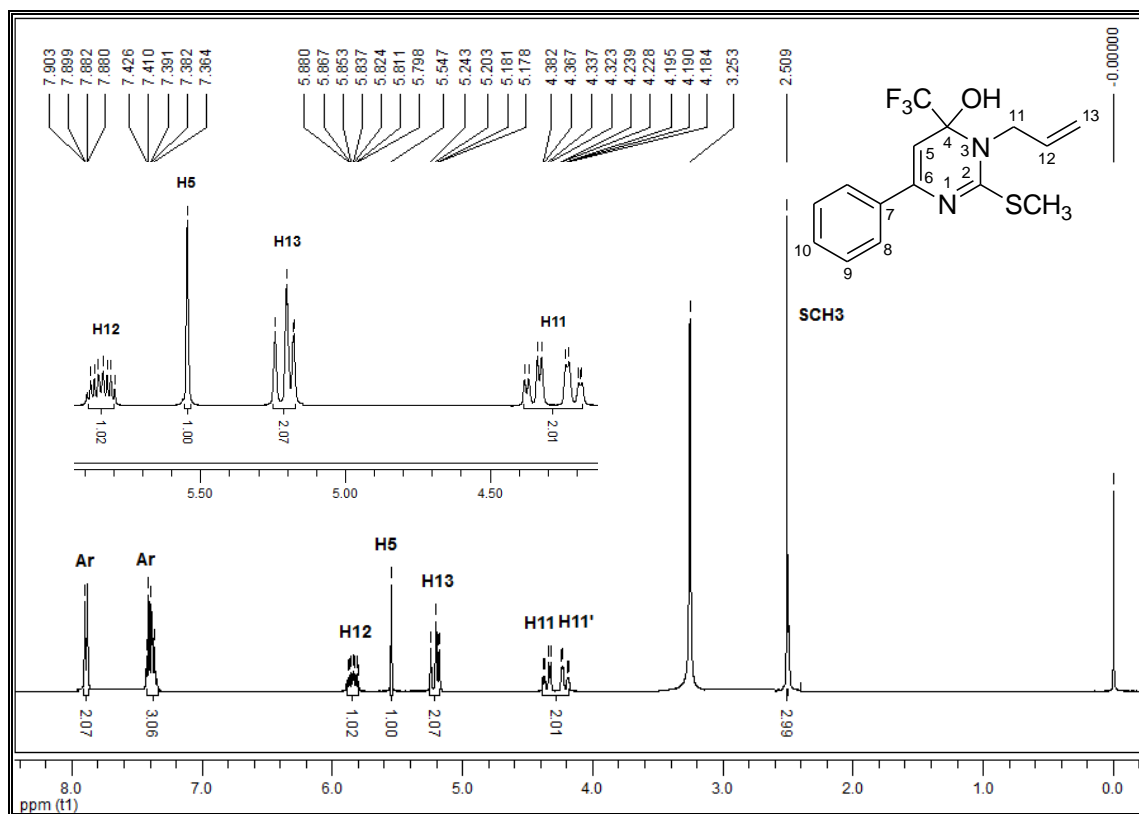


Figura 37: Espectro de RMN ^1H do composto **8d** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

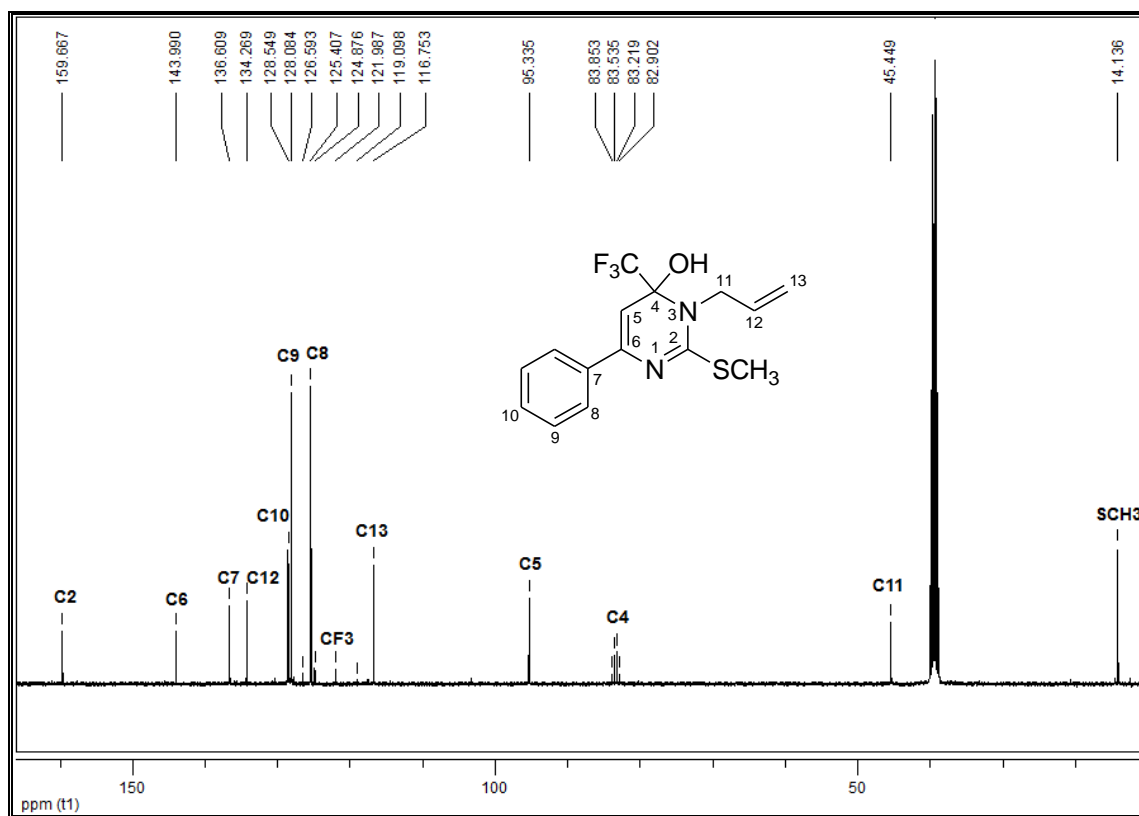


Figura 38: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **8d** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

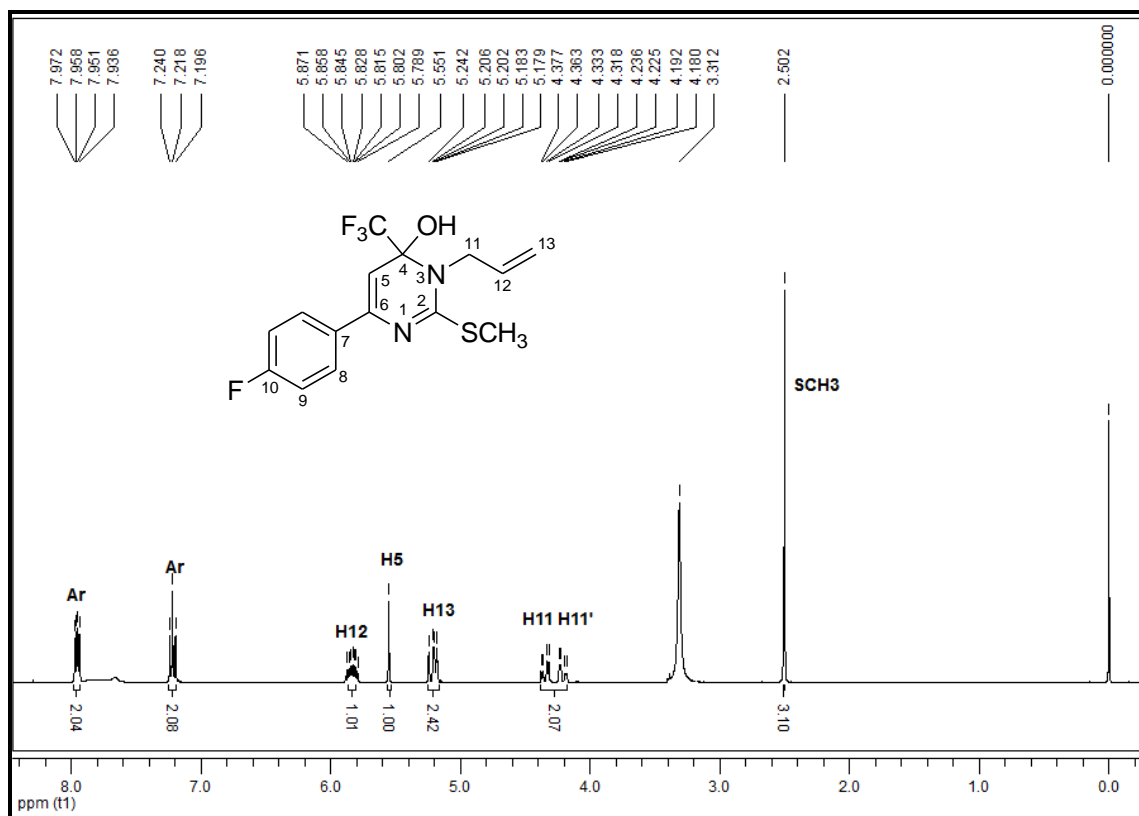


Figura 39: Espectro de RMN ^1H do composto **8g** a 400 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

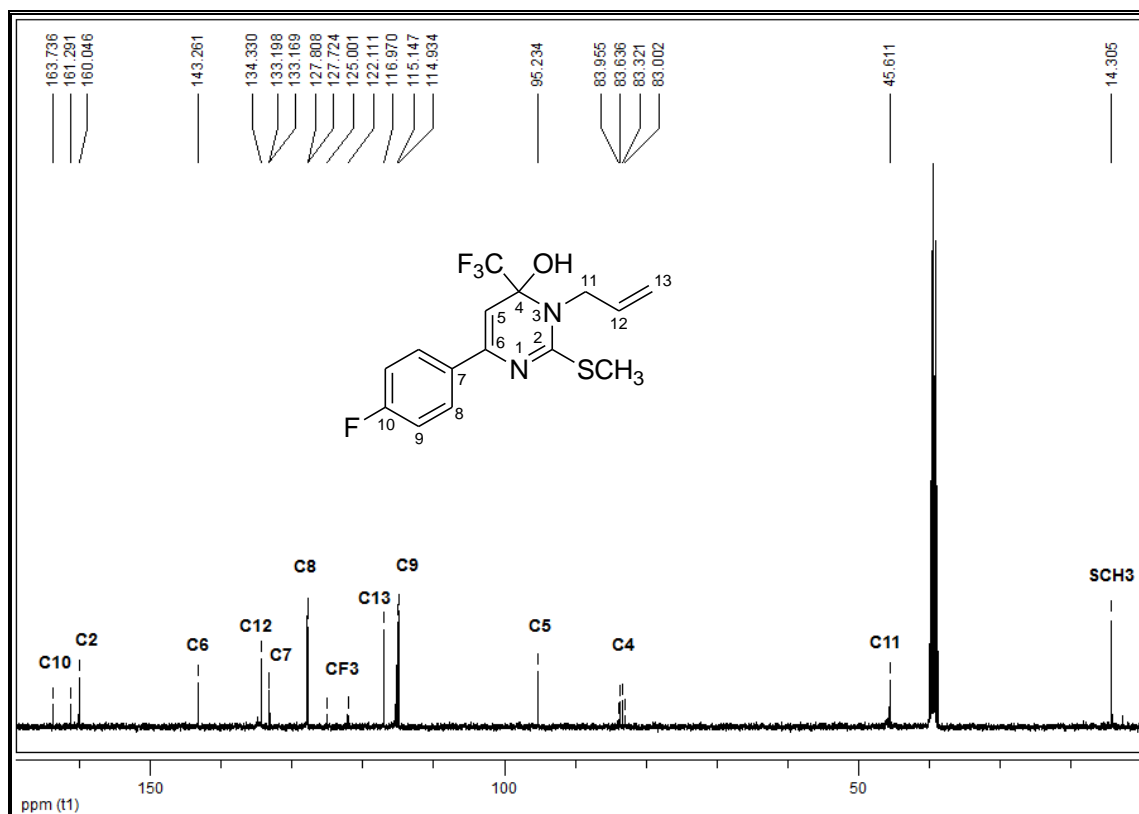


Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **8g** a 100 MHz em $\text{DMSO-}d_6$.

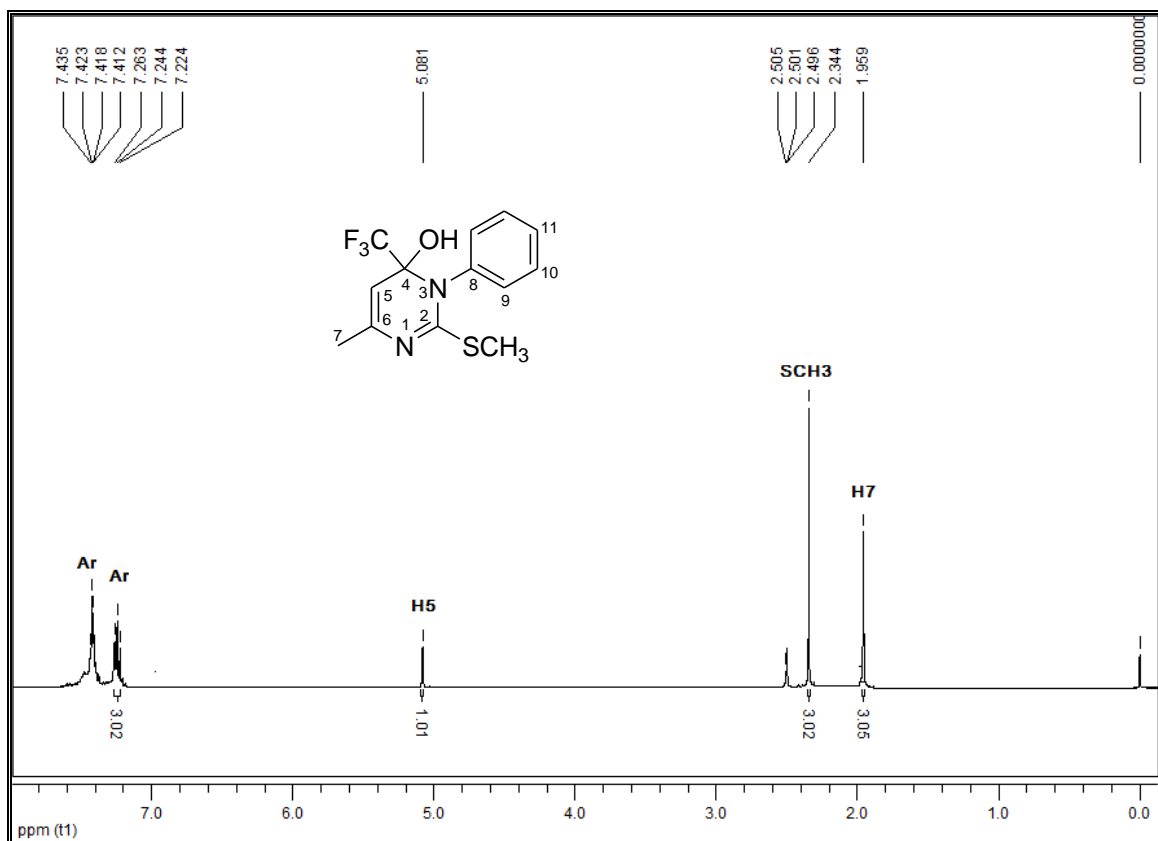


Figura 41: Espectro de RMN ^1H do composto **9a** a 400 MHz em DMSO-*d*₆.

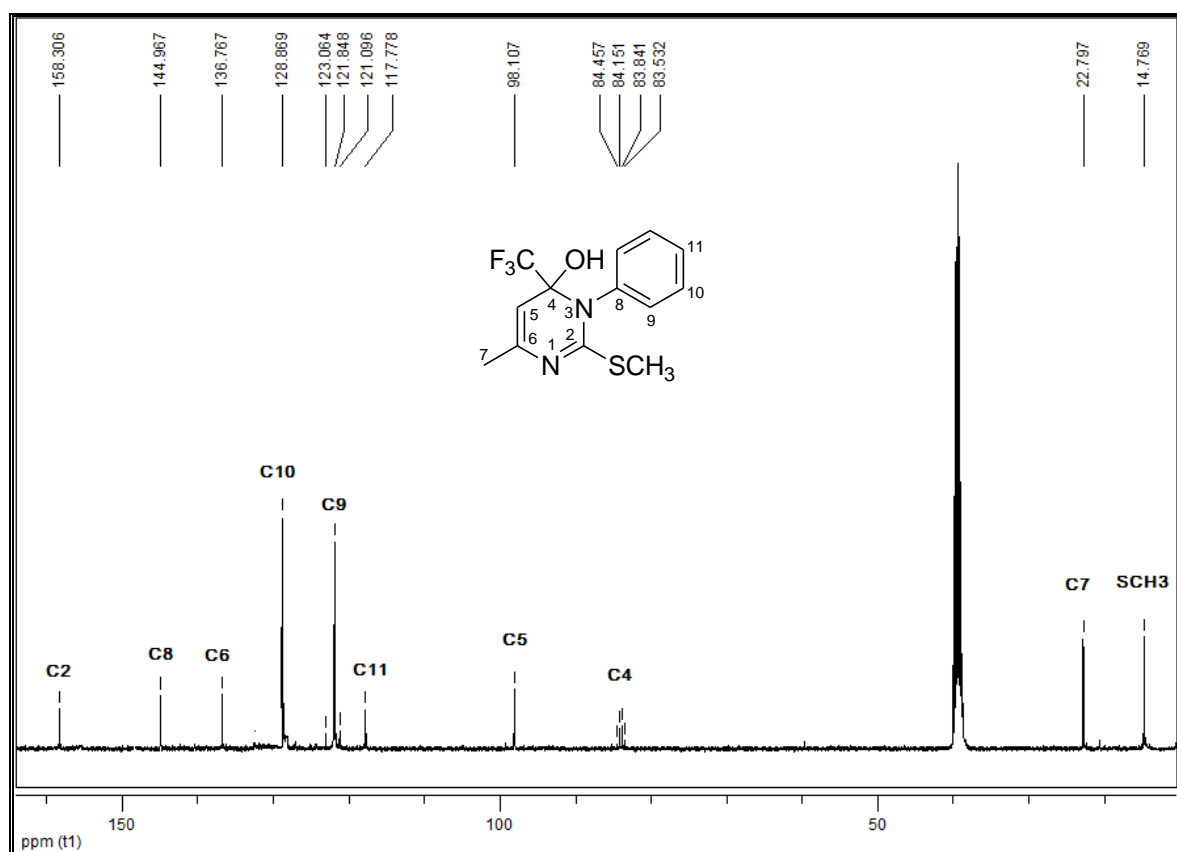


Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto **9a** a 100 MHz em DMSO-*d*₆.

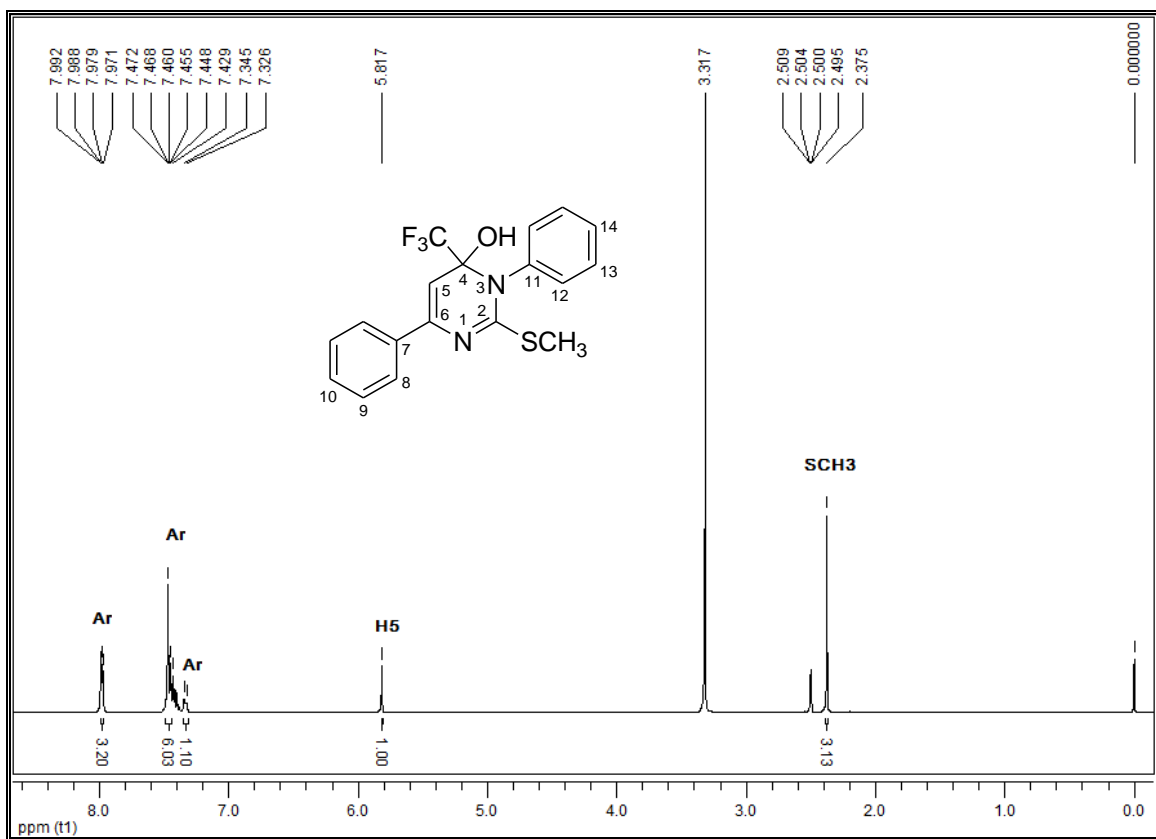


Figura 43: Espectro de RMN ^1H do composto **9d** a 400 MHz em DMSO- d_6 .

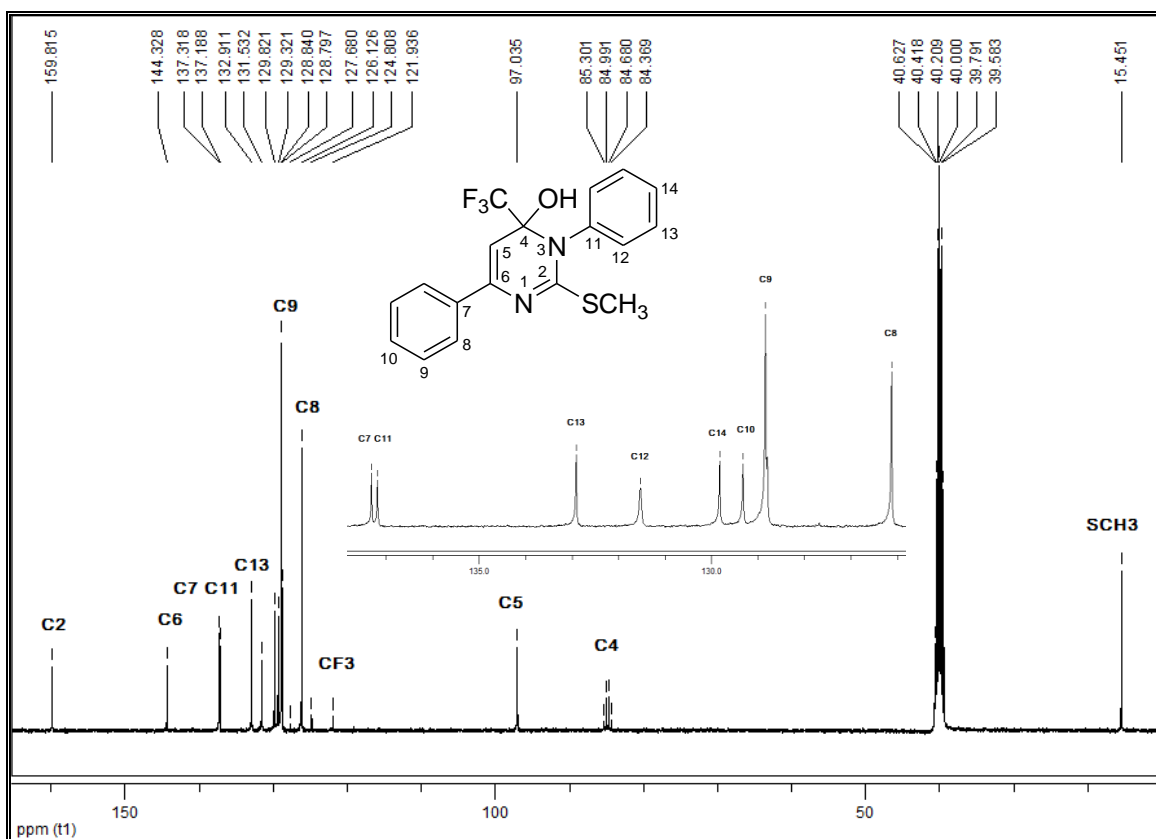
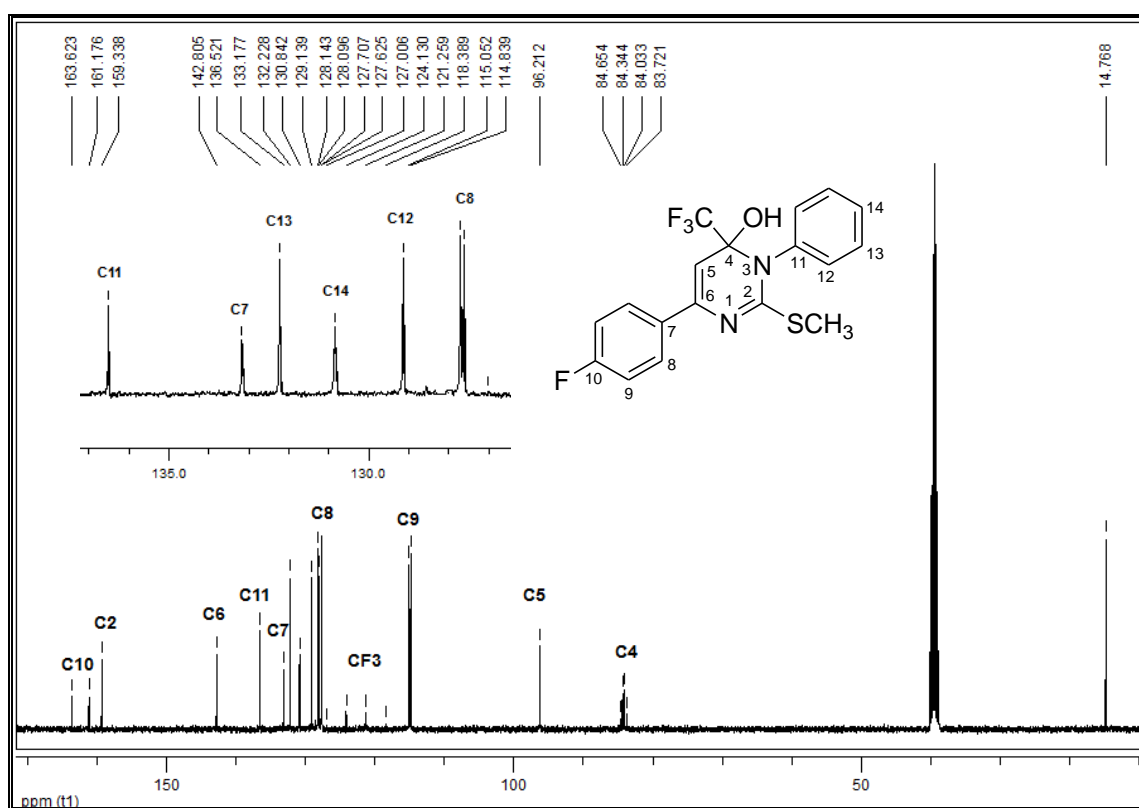
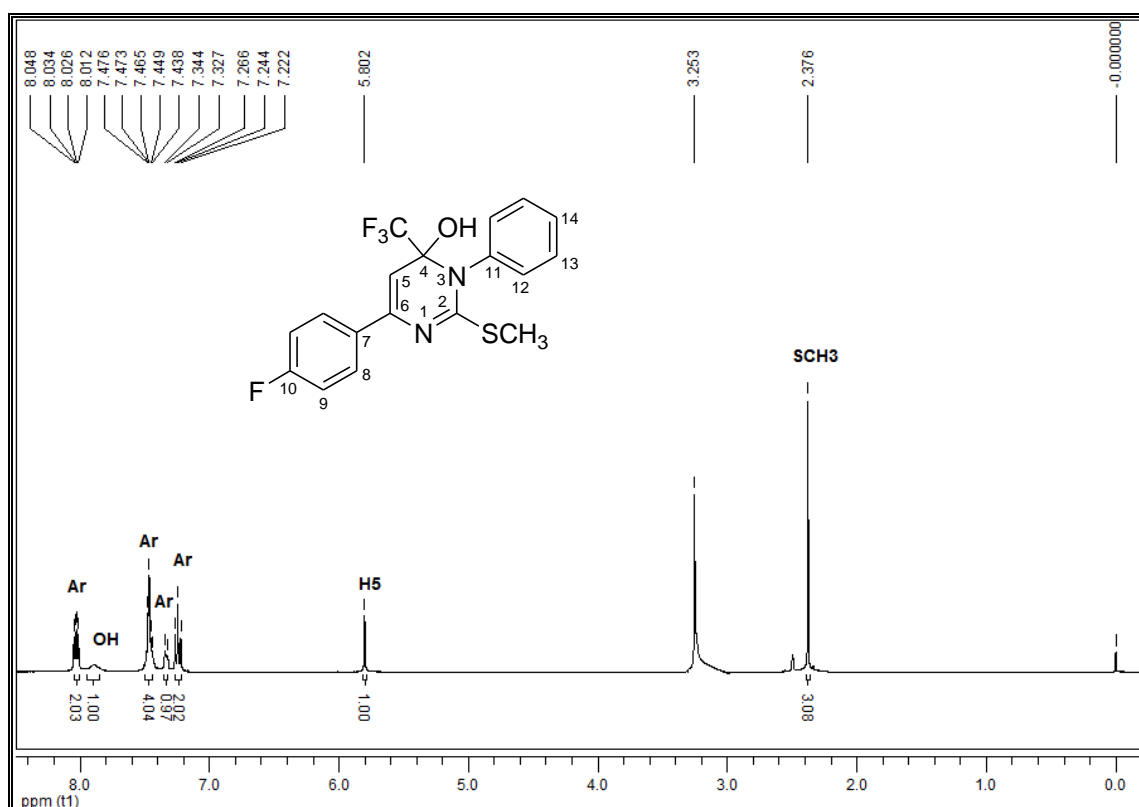


Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **9d** a 100 MHz em DMSO- d_6 .



***APÊNDICE B – ESPECTROS DE MASSAS
DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS***

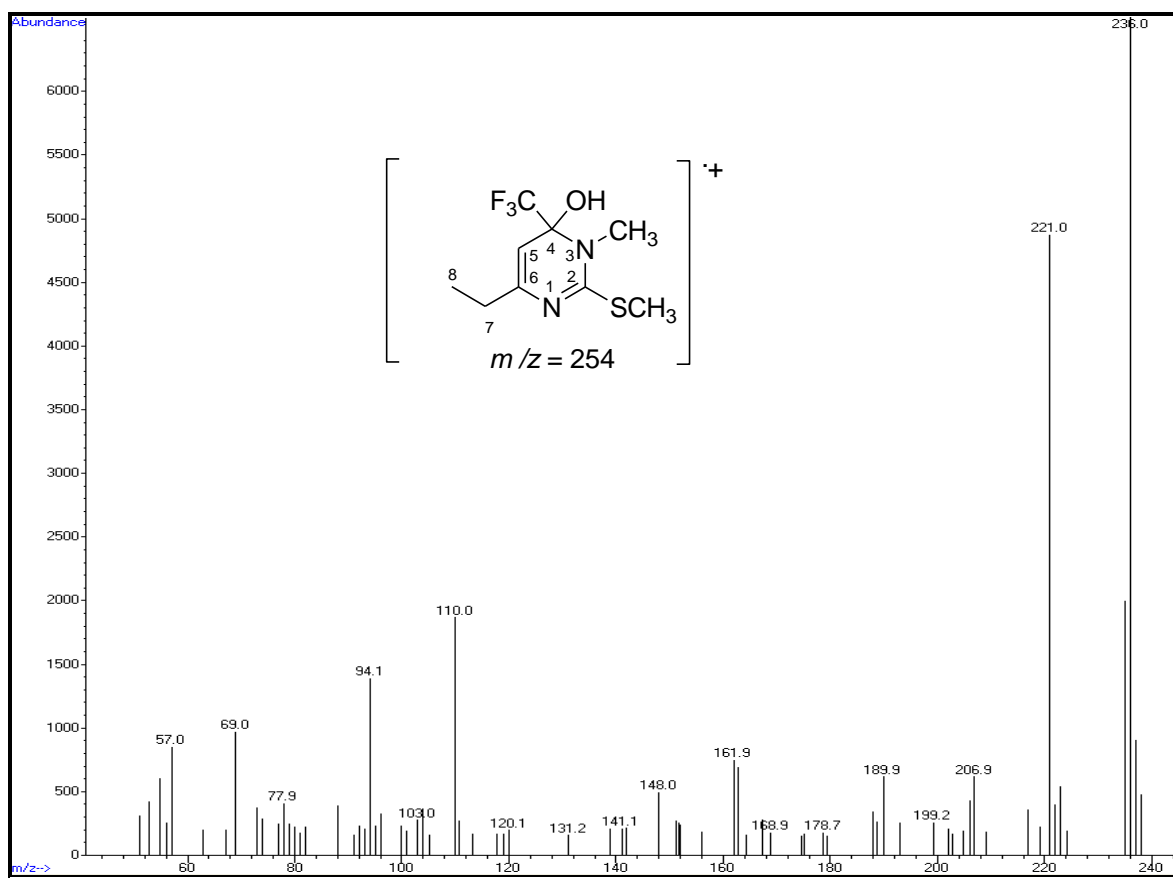


Figura 47 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3b**.

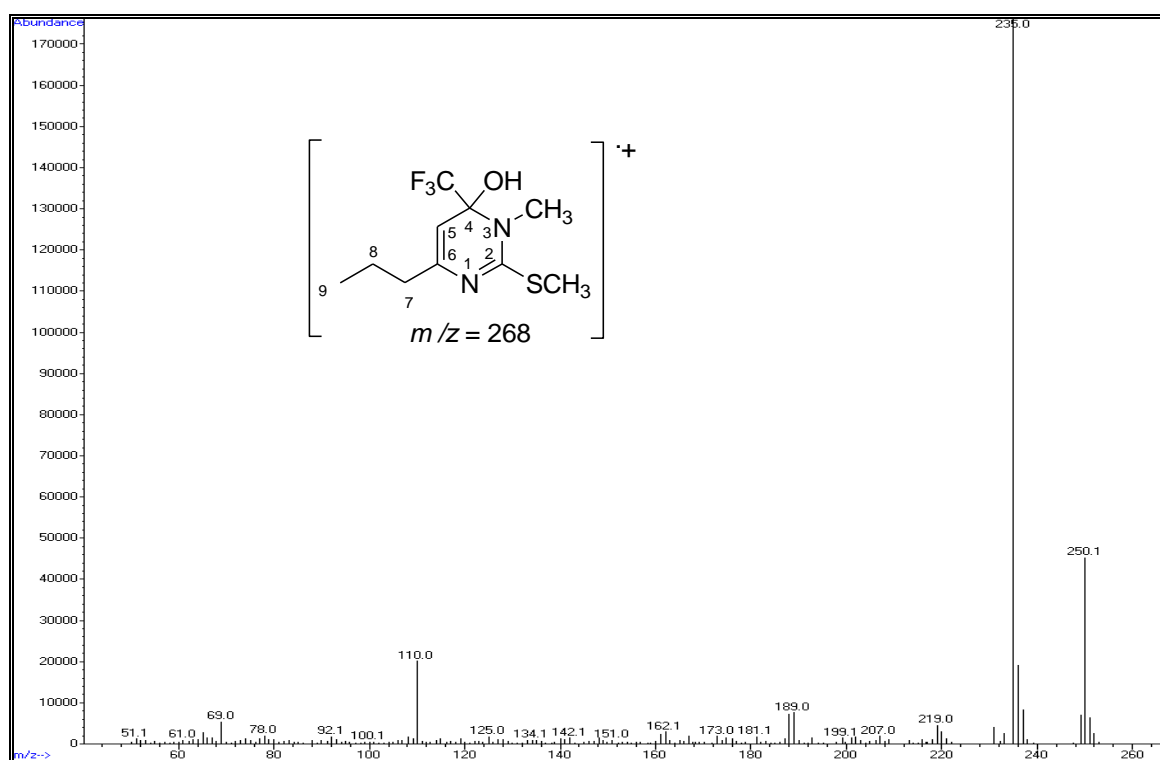


Figura 48 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3c**.

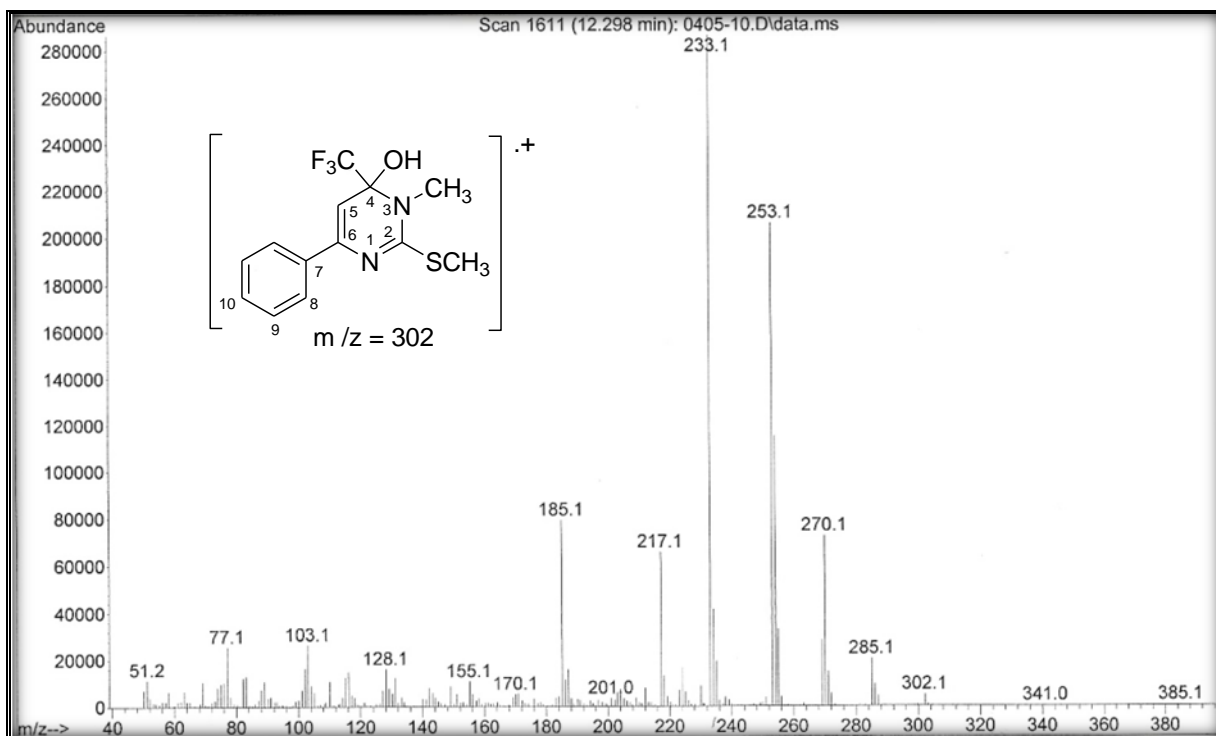


Figura 49 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3d**.

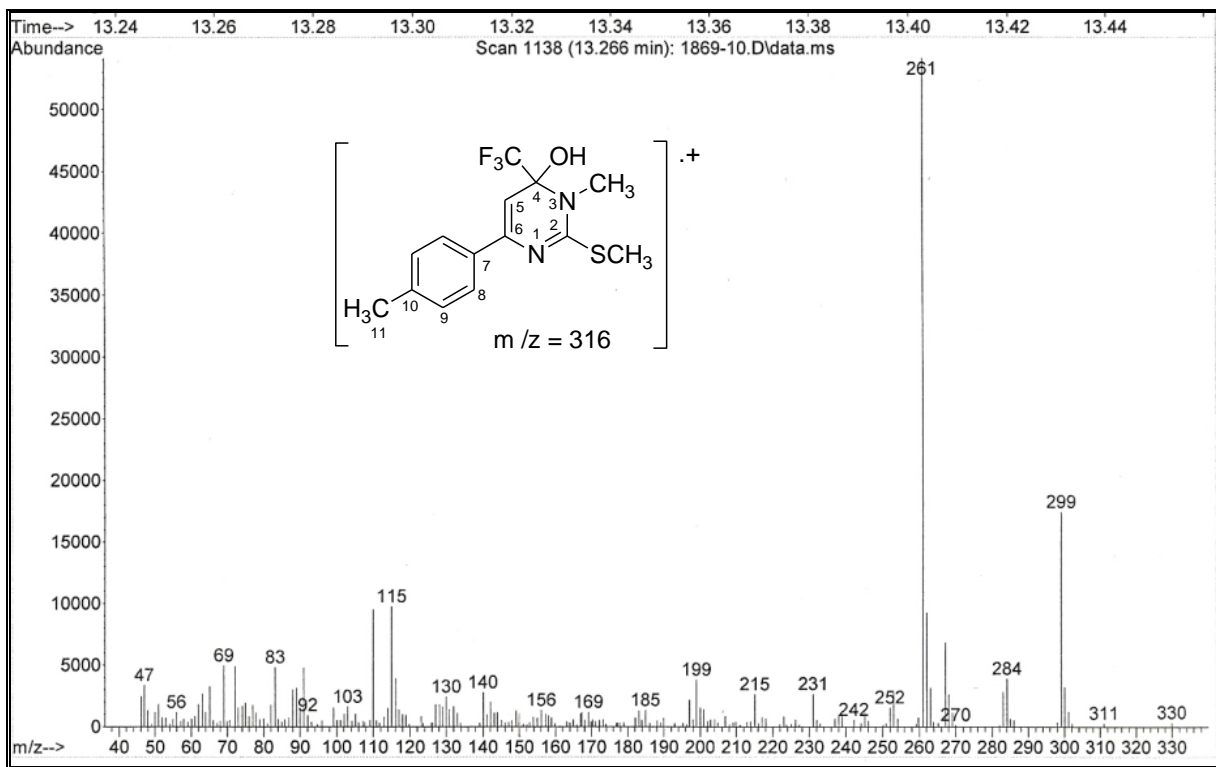


Figura 50 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3e**.

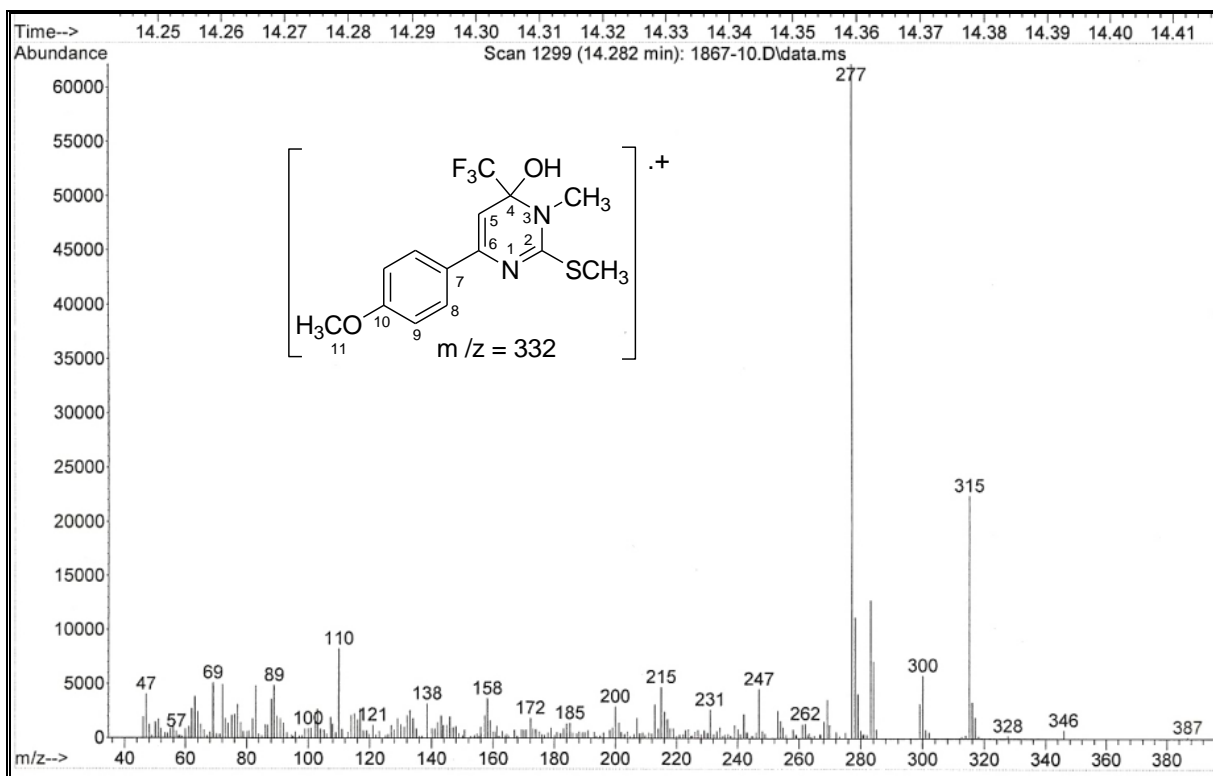


Figura 51 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3f**.

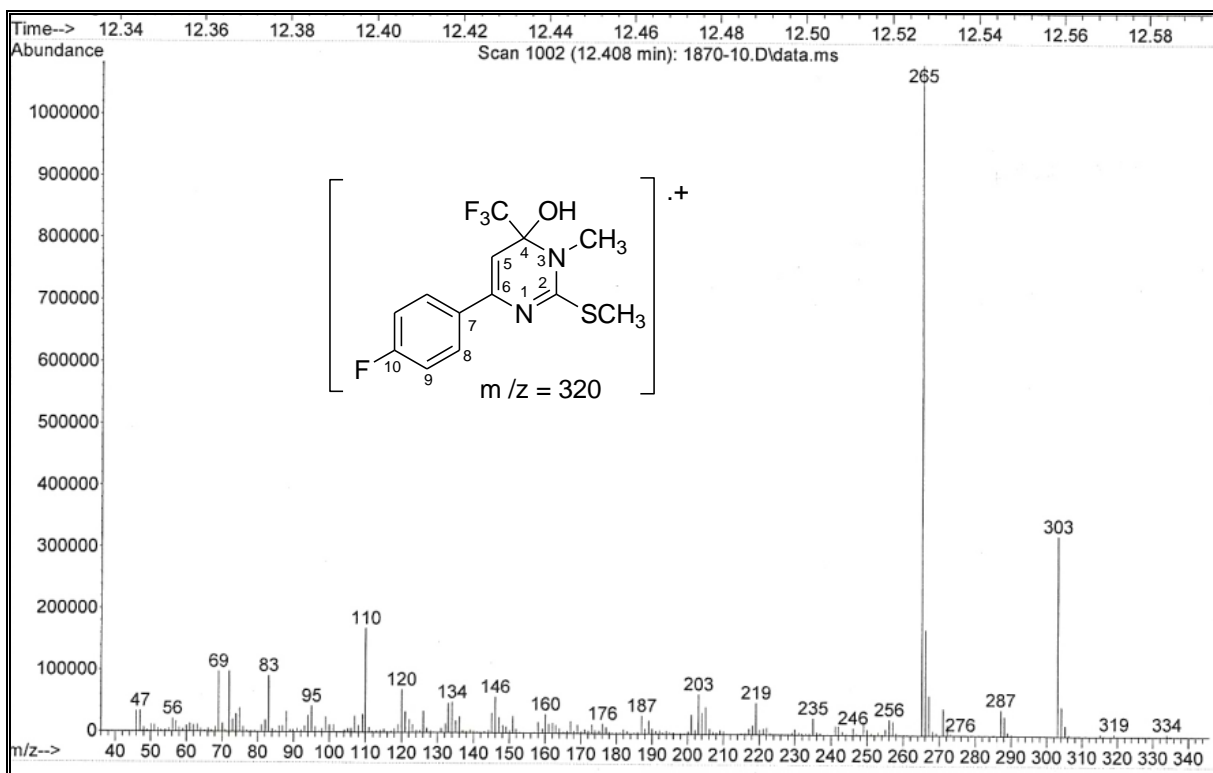


Figura 52 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **3g**.

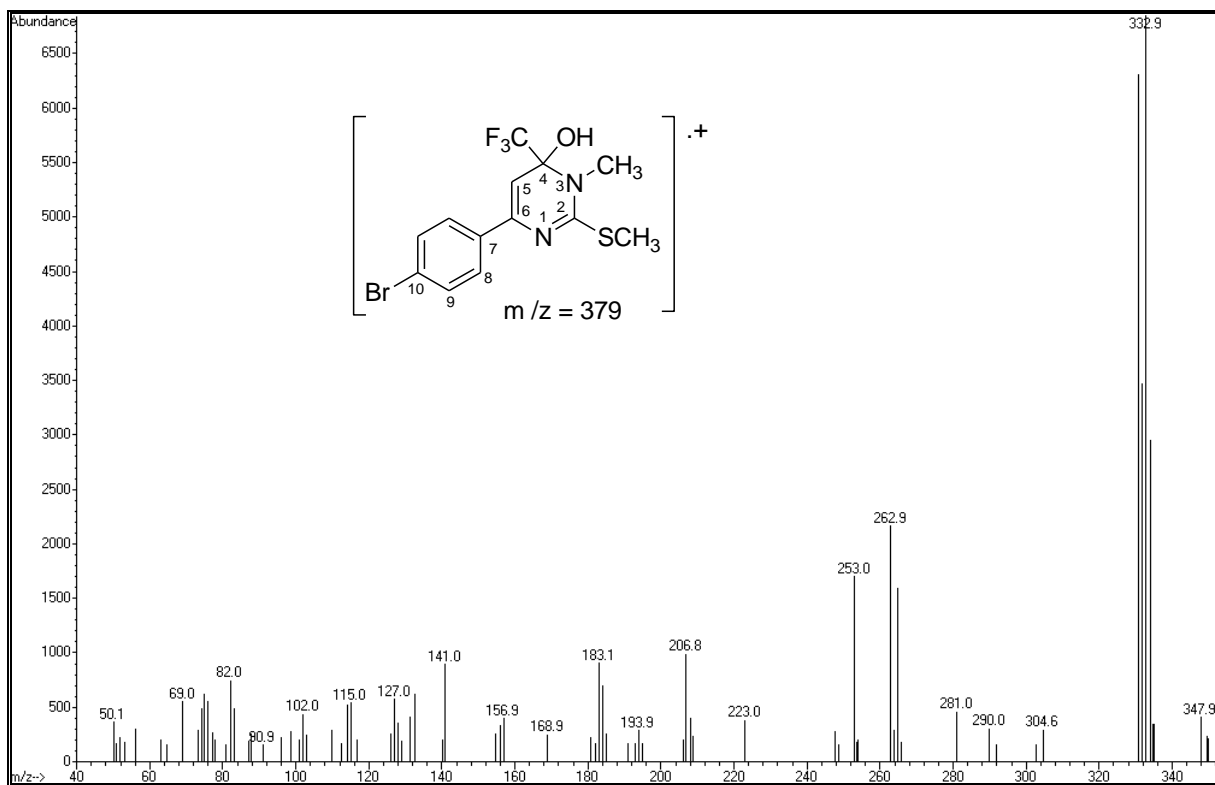


Figura 53 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3h.

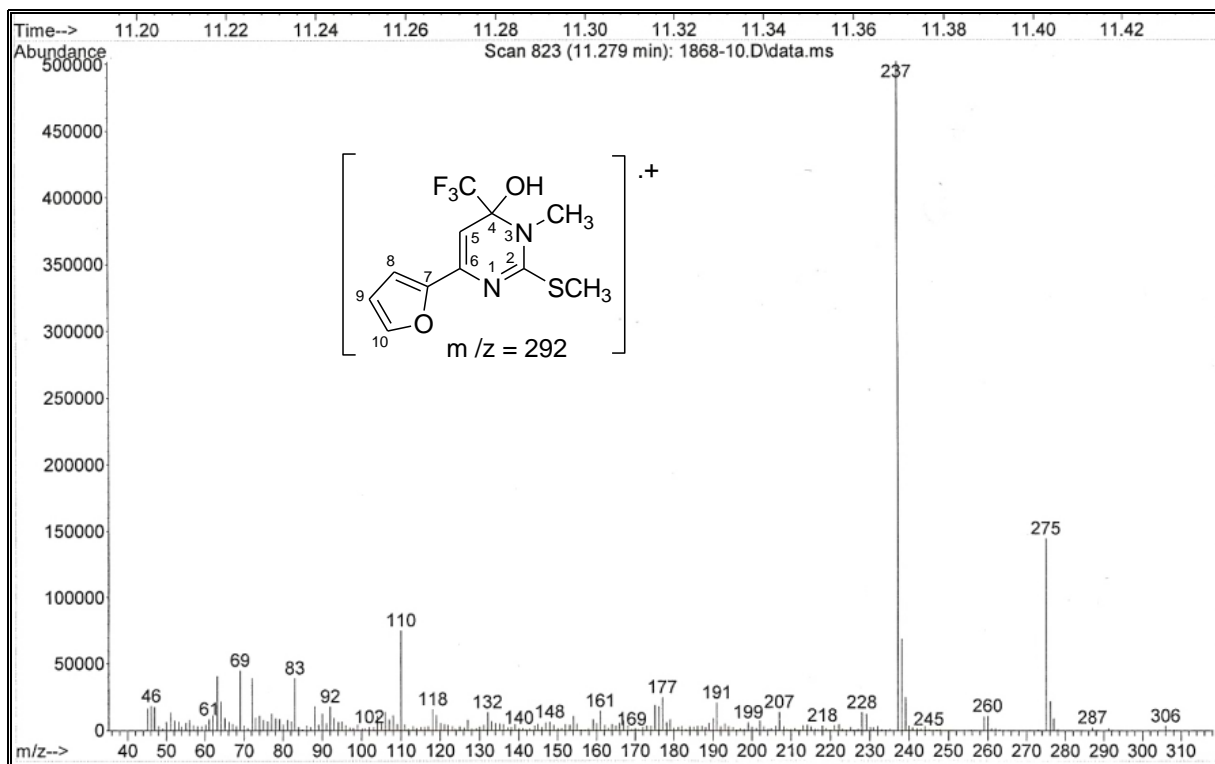


Figura 54 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 3i.

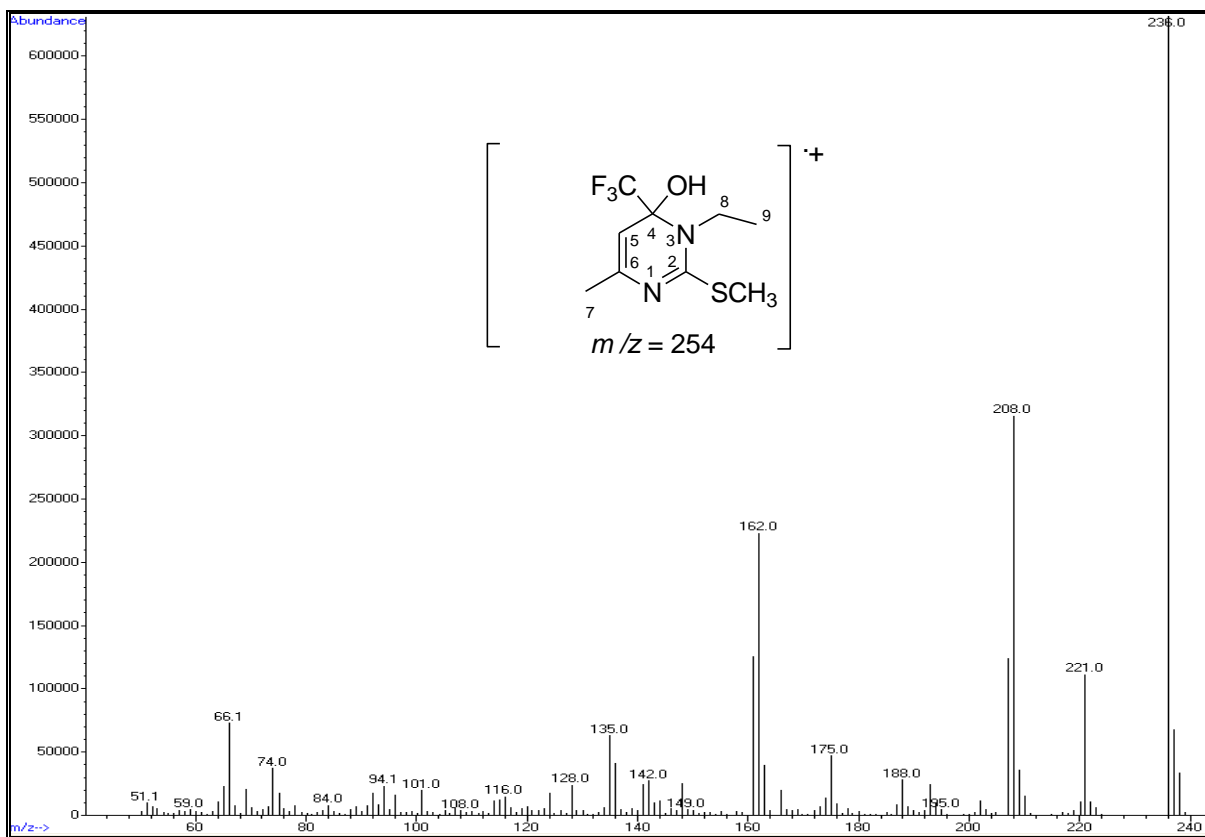


Figura 55 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 7a.

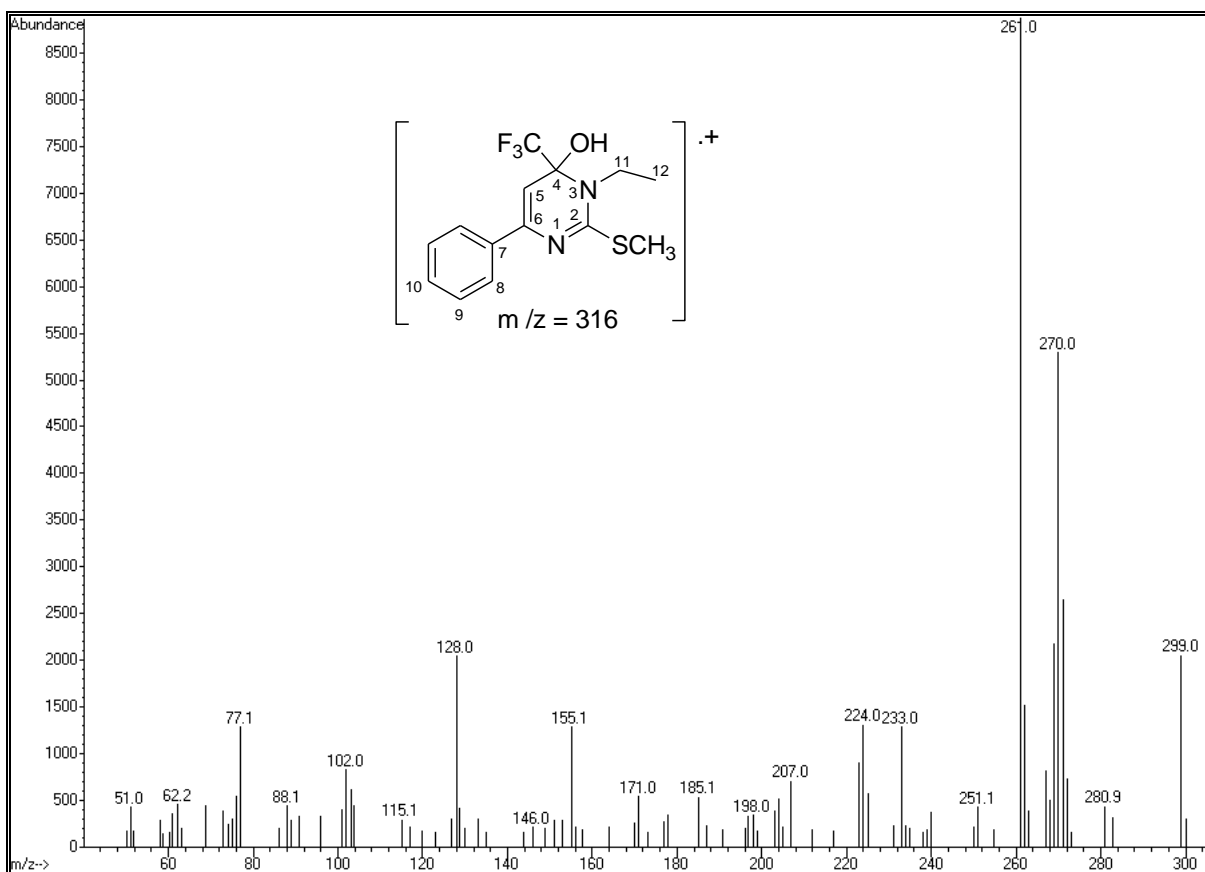


Figura 56 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto 7d.

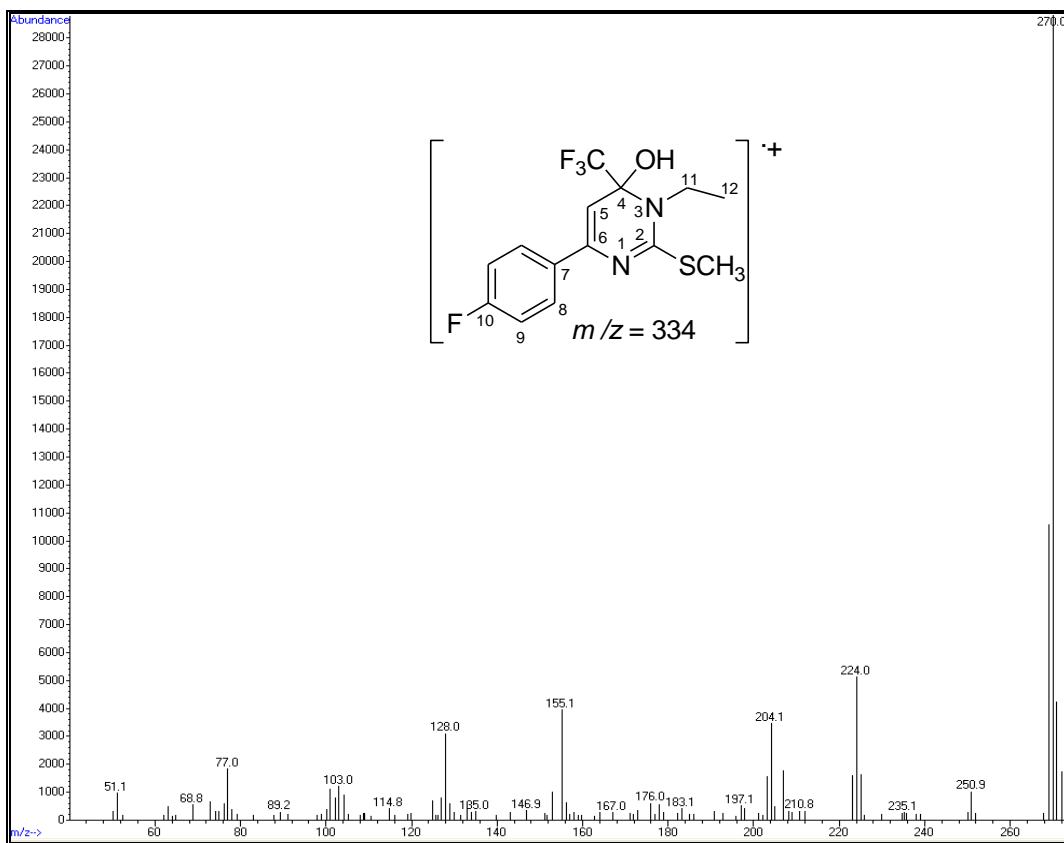


Figura 57 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **7g**.

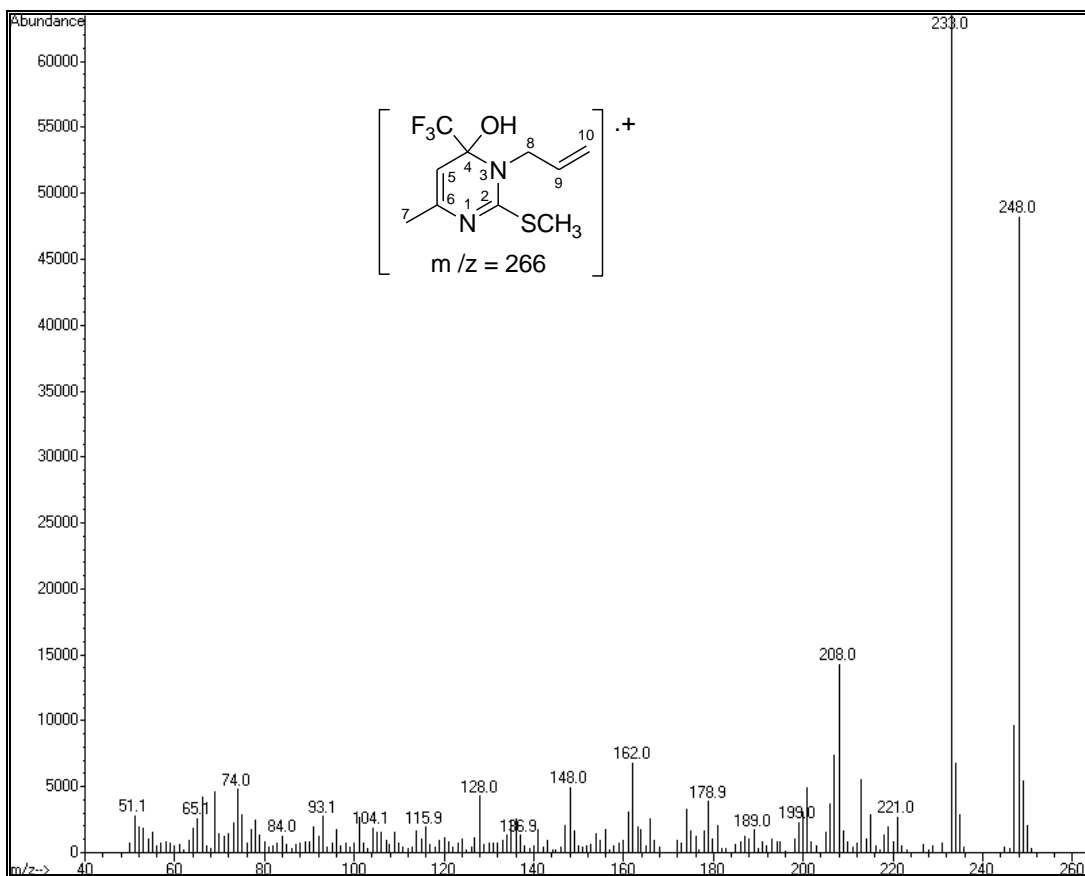


Figura 58 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **8a**.

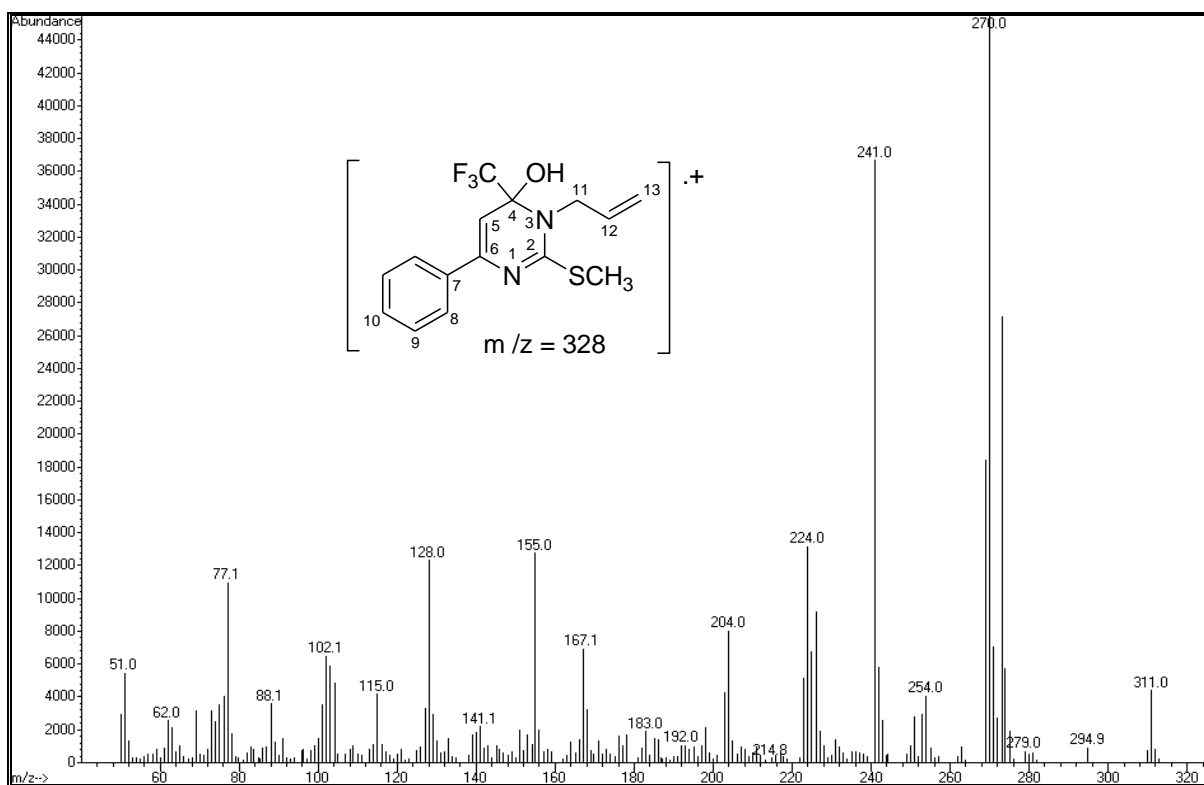


Figura 59 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **8d**.

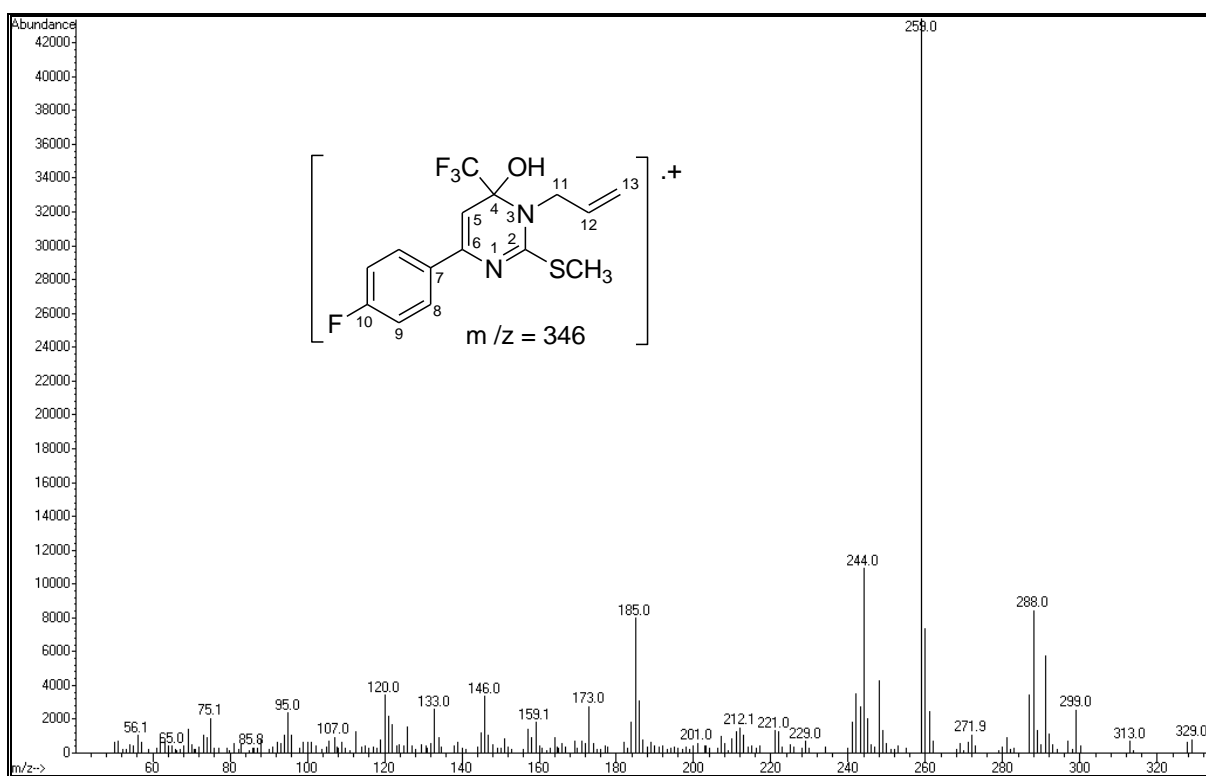


Figura 60 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **8g**.

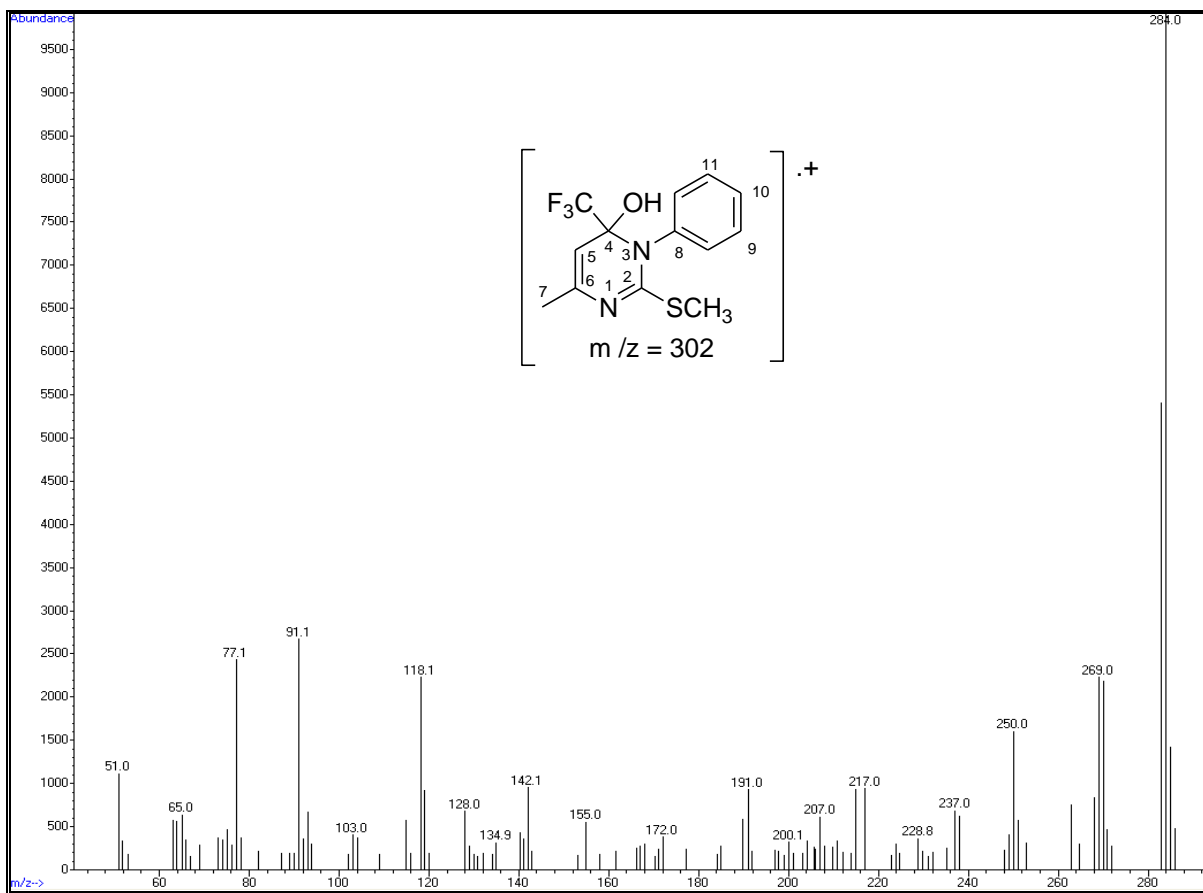


Figura 61 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **9a**.

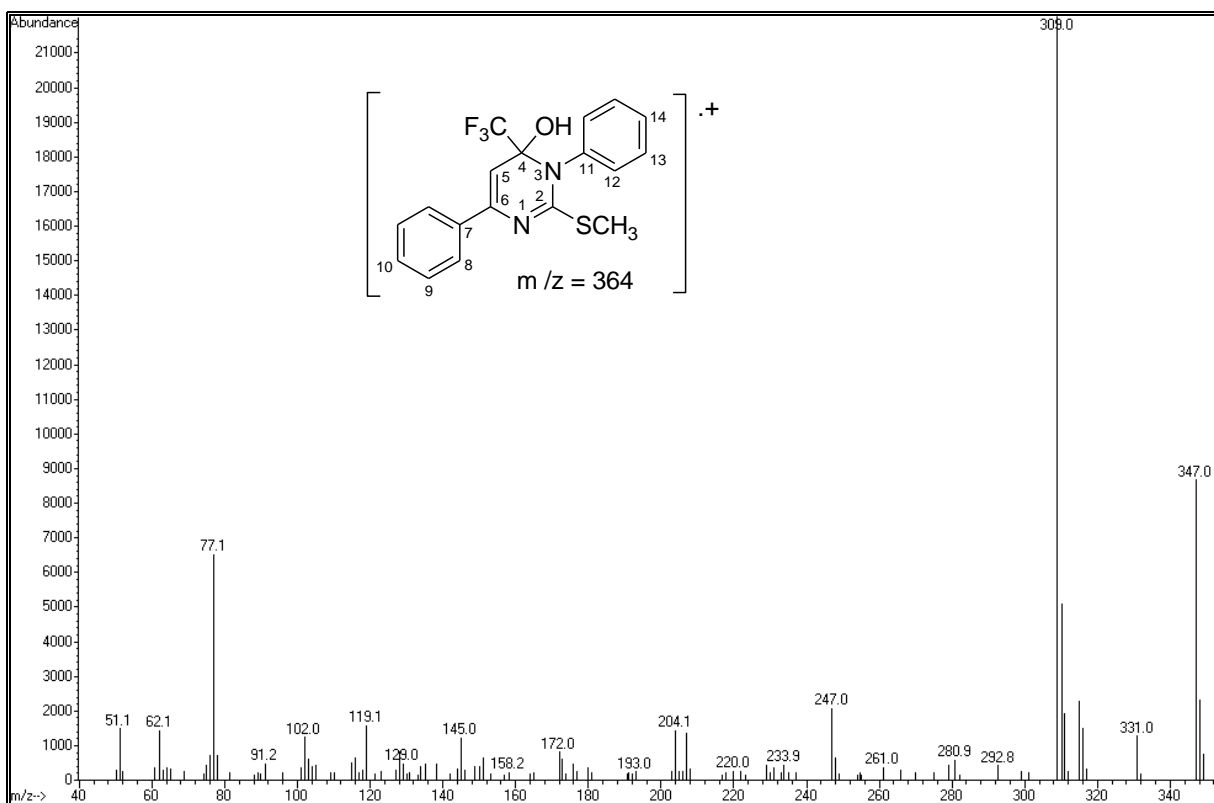


Figura 62 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **9d**.

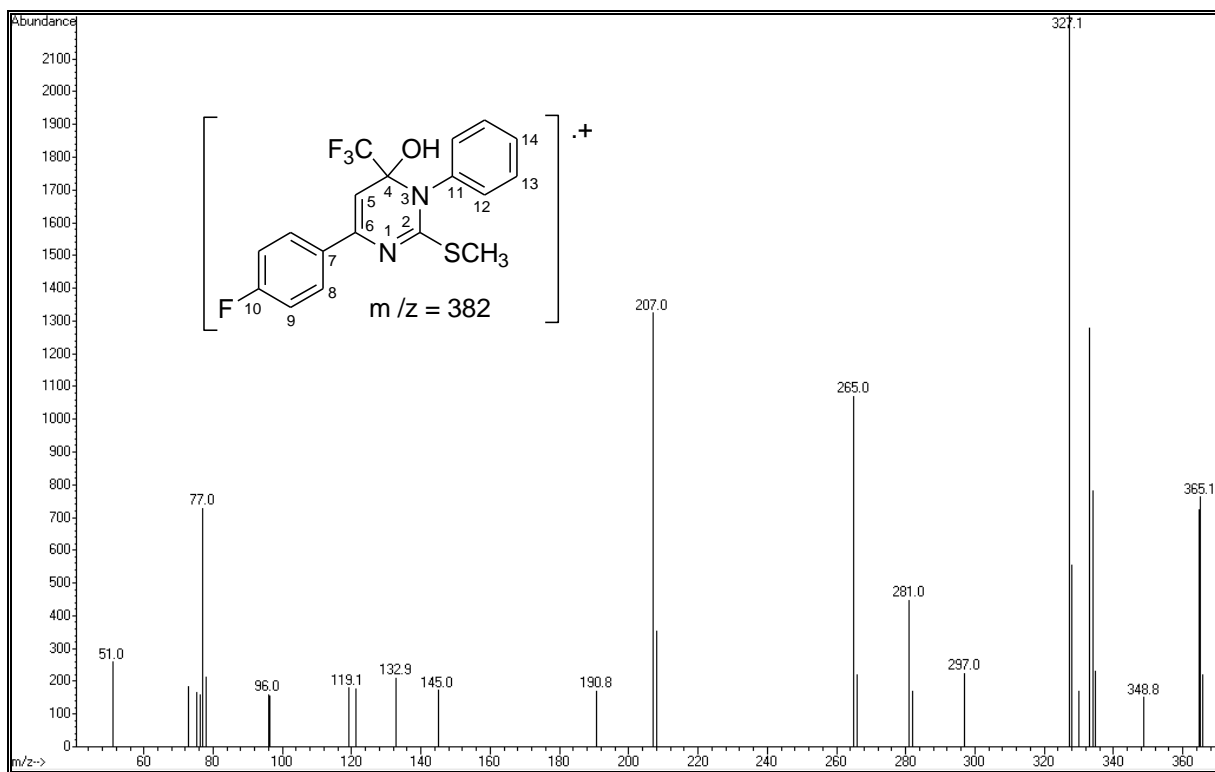


Figura 63 – Espectro de massa (EI-70 Ev.) do composto **9g**.

***APÊNDICE C – DADOS DE DIFRAÇÃO
DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 3e***

Tabelas de dados de Difração de Raios-X

Tabela 7 – Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o composto **3e**.

Identification code	p-1	
Empirical formula	$C_{14}H_{15}ON_2F_3S$	
Formula weight	316,34	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic, p-1	
Unit cell dimensions	$a = 7.92430 (10) \text{ \AA}$	$\alpha = 70.0140 (10)^\circ$
	$b = 9.97010 (10) \text{ \AA}$	$\beta = 80.0050 (10)^\circ$
	$c = 10.7779 (2) \text{ \AA}$	$\gamma = 67.2090 (10)^\circ$
Volume	$736.925 (18) \text{ \AA}^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.426 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.252 mm ⁻¹	
F(000)	328	
Crystal size	0.32 x 0.19 x 0.14 mm	
Theta range for data collection	3.51 to 28,35°	
Index ranges	-10<=h<=10, -13<=k<=13, -14<=l<=14	
Reflections collected	13813	
Independent reflections	13813 / 3694 [R(int) = 0.0248]	
Completeness to theta = 28.35°	99.7 %	
Max. and min. transmission	0.9656 and 0,9237	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	

Tabela 7 – Dados cristalográficos e de refinamento estrutural (continuação).

Data / restraints / parameters	3694 / 0 / 190
Goodness-of-fit on F^2	1.048
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0.0437, wR2 = 0.1223
R indices (all data)	R1 = 0.0577, wR2 = 0.1335
Largest diff. peak and hole	0.329 and -0.256 e.Å ⁻³

Tabela 8 – Comprimentos de ligação [Å] e ângulos [°] para o composto **3e**.

S(21)-C(2)	1.7622(16)
S(21)-C(22)	1.792(2)
F(1)-C(41)	1.328(2)
O(41)-C(4)	1.406(2)
O(41)-H(41)	0,8200
F(3)-C(41)	1.324(2)
F(2)-C(41)	1.324(2)
N(1)-C(2)	1.297(2)
N(1)-C(6)	1.400(2)
C(5)-N(3)	1.361(2)
N(3)-C(4)	1,464(2)
N(3)-C(31)	1.472(2)
C(41)-C(4)	1.549(2)
C(4)-C(5)	1.490(2)
C(5)-C(6)	1.334(2)
C(5)-H(5)	0.9300
C(6)-C(61)	1.489(2)
C(61)-C(62)	1.386(2)
C(61)-C(66)	1.394(2)
C(66)-C(65)	1.388(2)

Tabela 8 – Comprimentos de ligação [Å] e ângulos [°] (continuação).

C(66)-H(66)	0.9300(2)
C(65)-C(64)	1.389(3)
C(65)-H(65)	0.9300
C(64)-H(66)	1.378(3)
C(64)-C(641)	1.509(2)
C(641)-H(64A)	0.9600
C(641)-H(64B)	0.9600
C(641)-H(64C)	0.9600
C(22)-H(22A)	0.9600
C(22)-H(22B)	0.9600
C(22)-H(22C)	0.9600
C(31)-H(31A)	0.9600
C(31)-H(31B)	0.9600
C(31)-H(31C)	0.9600
C(63)-C(62)	1.388(3)
C(63)-H(62)	0.9300
C(62)-H(62)	0.9300
C(63)-H(63)	0.930
C(2)-S(21)-C(22)	101.649(9)
C(4)-O(41)-H(41)	109.5
C(2)-N(1)-C(6)	166.82(13)
N(1)-C(2)-N(3)	126.25(15)
N(1)-C(2)-S(21)	118.77(12)
N(3)-C(2)-S(21)	114.97(12)
C(2)-N(3)-C(4)	120.97(13)
C(2)-N(3)-C(31)	120.54(14)
C(4)-N(3)-C(31)	117.65(15)
F(3)-C(41)-F(2)	107.27(17)
F(3)-C(41)-F(1)	106.64(16)
F(2)-C(41)-F(1)	105.71(16)
F(3)-C(41)-C(4)	111.15(15)

Tabela 8 – Comprimentos de ligação [Å] e ângulos [°] (continuação).

F(2)-C(41)-C(4)	114.85(15)
F(1)-C(41)-C(4)	110.66(15)
O(41)-C(4)-N(3)	111.79(13)
O(41)-C(4)-C(5)	113.14(13)
N(3)-C(4)-C(5)	110.19(13)
O(41)-C(4)-C(41)	103.14(14)
N(3)-C(4)-C(41)	110.17(14)
C(5)-C(4)-C(41)	107.85(14)
C(6)-C(5)-C(4)	123.00(15)
C(6)-C(5)-H(5)	118.5
C(4)-C(5)-H(5)	118.5
C(5)-C(6)-N(1)	122.12(14)
C(5)-C(6)-C(61)	123.27(15)
N(1)-C(6)-C(61)	114.61(14)
C(62)-C(61)-C(66)	117.93(15)
C(62)-C(61)-C(6)	120.28(15)
C(66)-C(61)-C(6)	121.79(15)
C(65)-C(66)-C(61)	120.62(17)
C(65)-C(66)-H(66)	119.7
C(61)-C(66)-H(66)	119.7
C(66)-C(65)-C(64)	121.31(17)
C(66)-C(65)-H(65)	119,3
C(64)-C(65)-H(65)	119.3
S(21)-C(22)-H(22A)	109.5
S(21)-C(22)-H(22B)	109.5
H(22A)-C(22)-H(22B)	109.5
S(21)-C(22)-H(22C)	109.5
H(22A)-C(22)-H(22C)	109.5
H(22B)-C(22)-H(22C)	109.5
N(3)-C(31)-H(31A)	109.5
C(62)-C(63)-H(63)	119.2

Tabela 9 – Parâmetros de substituição anisotrópica^[a] ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para composto **3e**.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
S(21)	56(1)	31(1)	40(1)	-5(1)	-2(1)	-9(1)
F(11)	86(1)	37(1)	76(1)	-30(1)	-9(1)	-11(1)
O(41)	37(1)	48(1)	44(1)	-24(1)	6(1)	-14(1)
F(3)	54(1)	76(1)	115(1)	-55(1)	-14(1)	-19(1)
F(2)	114(1)	87(1)	50(1)	-43(1)	16(1)	-50(1)
N(1)	40(1)	28(1)	33(1)	-11(1)	2(1)	-9(1)
C(2)	39(1)	31(1)	32(1)	-11(1)	-1(1)	-13(1)
N(3)	45(1)	30(1)	33(1)	-11(2)	4(1)	-12(1)
C(41)	49(1)	42(1)	49(1)	-23(1)	1(1)	-14(1)
C(4)	36(1)	33(1)	36(1)	-16(1)	3(1)	-11(1)
C(5)	43(1)	28(1)	36(1)	-10(1)	3(1)	-10(1)
C(6)	35(1)	30(1)	33(1)	-11(1)	1(1)	-13(1)
C(61)	36(1)	31(1)	33(1)	-11(1)	3(1)	-14(1)
C(66)	50(1)	33(1)	39(1)	-10(1)	4(1)	-10(1)
C(65)	57(1)	36(1)	41(1)	-3(1)	2(1)	-13(1)
C(64)	53(1)	46(1)	35(1)	-11(1)	5(1)	-24(1)
C(641)	76(1)	62(1)	43(1)	-8(1)	15(1)	-28(1)
C(22)	54(1)	37(1)	55(1)	-14(1)	-4(1)	-1(1)
C(31)	57(1)	50(1)	31(1)	-12(1)	6(1)	-19(1)
C(62)	38(1)	34(1)	37(1)	-11(1)	4(1)	-11(1)
C(63)	42(1)	44(1)	40(1)	-16(1)	8(1)	-15(1)

^[a]The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

Tabela 10 – Ângulos de torção [°] para o composto **3e**.

C(6)-N(1)-C(2)-N(3)	1.8(2)
C(6)-N(1)-C(2)-S(21)	177.37(11)
C(22)-S(21)-C(2)-N(1)	9.14(16)
C(22)-S(21)-C(2)-N(3)	170.10(14)
N(1)-C(2)-N(3)-C(4)	5.3(3)
S(21)-C(2)-N(3)-C(4)	175.50(12)
N(1)-C(2)-N(3)-C(31)	174.53(16)
S(21)-C(2)-N(3)-C(31)	6.3(2)
C(2)-N(3)-C(4)-O(41)	118.12(16)
C(31)-N(3)-C(4)-O(41)	51.4(2)
C(2)-N(3)-C(4)-C(5)	8.9(2)
C(31)-N(3)-C(4)-C(5)	178.46(14)
C(2)-N(3)-C(4)-C(41)	127.82(16)
C(31)-N(3)-C(4)-C(41)	174.42(15)
F(2)-C(41)-C(4)-O(41)	52.4(2)
F(1)-C(41)-C(4)-O(41)	67.16(18)
F(3)-C(41)-C(4)-N(3)	55.0(2)
F(2)-C(41)-C(4)-N(3)	67.0(2)
F(1)-C(41)-C(4)-N(3)	173.38(14)
F(3)-C(41)-C(4)-C(5)	65.3(2)
F(2)-C(41)-C(4)-C(5)	172.66(16)
F(1)-C(41)-C(4)-C(5)	53.08(19)
O(41)-C(4)-C(5)-C(6)	119.32(18)
N(3)-C(4)-C(5)-C(6)	6.8(2)
C(41)-C(4)-C(5)-C(6)	127.12(18)
C(4)-C(5)-C(6)-N(1)	0,7(3)
C(4)-C(5)-C(6)-C(61)	179.95(15)
C(2)-N(1)-C(6)-C(5)	4.1(2)
C(2)-N(1)-C(6)-C(61)	175.24(14)
C(5)-C(6)-C(61)-C(62)	168.33(16)
N(1)-C(6)-C(61)-C(62)	11.0(2)
C(65)-C(64)-C(63)-C(62)	1.0(3)
C(641)-C(64)-C(63)-C(62)	177.52(19)
C(61)-C(62)-C(63)-C(64)	0.7(3)
C(66)-C(65)-C(64)-C(641)	178.2(2)
C(66)-C(61)-C(62)-C(63)	0.3(3)

BIOLÓGICA _____ ***APÊNDICE D – RESULTADOS DA ATIVIDADE***

6. Atividade da Acetilcolinesterase

A AChE (EC 3.1.1.7) é uma importante enzima regulatória que controla a transmissão do impulso nervoso através da sinapse colinérgica pela rápida hidrólise e inativação da ACh modulando a concentração deste neurotransmissor nas sinapses¹. É uma glicoproteína globular encontrada nos neurônios colinérgicos, nas proximidades das sinapses colinérgicas e em concentrações elevadas na junção neuromuscular.

A AChE é um importante alvo terapêutico e atualmente inibidores dessa enzima têm sido usados para o tratamento de desordens cognitivas como a Doença de Alzheimer (DA) e outras demências^{2,3,4}. Novos inibidores da AChE (AChEIs) têm sido sintetizados e testados com o objetivo de descobrir drogas com maior afinidade e seletividade na ação farmacológica⁵. Os AChEIs também são empregados para combater desordens neuromusculares como *miastenia gravis* e glaucoma⁶.

A inibição da enzima impede que ela hidrolise acetilcolina em ácido acético e colina, fazendo com que haja um acúmulo do neurotransmissor e, dessa forma, com que haja um aumento da atividade colinérgica. Esse aumento na transmissão dos impulsos nervosos está vinculado às tentativas de minimizar os déficits cognitivos relacionados a perda de neurônios colinérgicos a pacientes que sofrem de DA.

Devido à importância que a acetilcolinesterase possui na neurotransmissão colinérgica, torna-se relevante o estudo de novos compostos que possam interagir com a atividade desta enzima em busca de agentes terapêuticos para distúrbios que envolvam o sistema colinérgico.

6.1 – Parte experimental

Para o ensaio da *EeAChE* em primeiro lugar, foi selecionada uma concentração adequada de AChE, em que a relação entre a velocidade inicial e a concentração de AChE ([AChE]) deveria ser linear^{7,8}. Em segundo lugar, a atividade da AChE foi determinada de acordo com Ellman e col.⁹, com algumas modificações. O meio de ensaio (2 ml de volume final) continha 100 mM de tampão fosfato (pH 7,5) e 1 mM de ácido 5,5'-ditiobisnitrobenzóico. 100 microlitros de preparação enzimática purificada. As concentrações dos compostos testados foram de 0; 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 μ M, em etanol 70%, sendo que no controle foi

usado somente solução de 70% de etanol. O meio de reação foi pré-incubado por 2 min com os respectivos compostos, sendo que a reação foi iniciada pela adição de 0,8 mM de iodeto de acetilcolina como substrato e a hidrólise foi monitorada pela formação do diânion tiolato de DTNB em 412 nm por 2 minutos (intervalos de 20s). Todas as amostras foram executados em duplicata ou triplicata. A atividade enzimática foi expressa em U / h / ml .

6.2 - Análise estatística

A análise estatística usada foi ANOVA de uma via seguida pelo teste da série múltipla de Duncan. $P < 0,05$ foi considerado como diferença significativa. Todos os dados foram expressos como média \pm desvio padrão.

6.3- Resultados

Dentre os compostos testados os que tiveram as melhores inibições sobre a atividade da AChE foram o composto **3h** e o composto **3g**, pois esses compostos foram os que apresentaram os melhores valores de IC_{50} , 9,02 e 1,21 μ M, respectivamente (**Tabela 11**).

Os compostos **3a**, **3f**, **8g**, **9g** inibiram relativamente bem a enzima, mostrando valores de IC_{50} inferiores a 100 μ M.

Já os compostos **3d**, **3e** e **7g** foram os únicos que não mostraram inibição significativa da AChE (dados não mostrados). Os valores de IC_{50} para estes compostos estão na **Tabela 11**.

Tabela 11: Valores de IC_{50} para os compostos testados e para inibidores clássicos da AChE.

Inibidor	IC_{50}	Inibidor	IC_{50}	Inibidor	IC_{50}
Composto 3a	77,27 μ M	Composto 3g	1,21 μ M	Tacrina ¹⁰	0,173 μ M
Composto 3d	NI	Composto 7g	NI	Donepezil ¹¹	0,028 μ M
Composto 3e	NI	Composto 8g	29,99 μ M	Galantamina ¹⁰	0,360 μ M
Composto 3f	19,28 μ M	Composto 9g	50,35 μ M		
Composto 3h	9,02 μ M	Referência	0,829 μ M		

6.4 - Conclusão

Com os resultados obtidos neste estudo, pode-se notar que dois compostos se destacaram pelos seus baixos valores de IC_{50} , que são os compostos **3h** e **3g**.

Embora fármacos utilizados no tratamento de demências relacionadas ao sistema colinérgico, como a DA, apresentem valores muito inferiores de IC₅₀, a obtenção de compostos com potencial inibitório da AChE, como os deste trabalho, são de grande relevância na investigação de novas rotas sintéticas que visem a obtenção de compostos ainda mais potentes e eficazes nessa inibição. Dessa forma, os resultados aqui apresentados podem colaborar no desenvolvimento de possíveis fármacos para o tratamento de patologias neurodegenerativas utilizando esses compostos como precursores. Mais estudos como a análise toxicológica, ensaios farmacocinéticos e farmacodinâmicos, no entanto serão necessários para dar prosseguimento a este propósito.

6.5- Referências

1. GRISARU, D.; STERNFELD, M.; ELDOR, A.; GLICK, D.; SOREQ, H. *European Journal of Biochemistry*, **1999**, v. 264, p. 672-686.
2. Siddiqui, M.F.; Levey, Al. *Drugs of future*, **1999**, 24, 417.
3. Talesa, V.N.; Mech. Ageing, *develop.* **2001**, 1961.
4. Gray, J.A.; Enz, A.; Spiegel, R.T. *Pharmacol. Sci.* **1986**, suppl1, 85.
5. Sanpe, M.F.; Misra, A.; Murray, T.K.; Souza, R.J.; Williams, J.L.; Cross, AJ. *Neuropharmacology*, **1999**, 38, 181.
6. Rotundo, R.L.; Rossi, S.G.; Kimbell, L.M.; Ruiz, C.; Marrero, E. *Chem. Biol. Interac.*, **2005**, 157, 15.
7. Chen, S.G.; Zhou, R.Q. *Enzymology*. Fudan University Press, China. **2001**.
8. Kamal, M.A; Greig, N.H.; Alhomida, A.S.; Al-Jafari, A.A. *Biochem Pharmacology*. **2000**; 60: 561–570.
9. Ellmann, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V; Featherstone, R.M. *Biochem Pharmacology*. **1961**; 7: 88-95.
10. Guillou, C; Mary, A; Renki, D.Z; Gras, E; Thal, C. *Bioorganic and Medicinal chemistry Letters*, **2000**, 10, 637.
11. Nadri, H.; Piralí.Hamedani, M.; Shekarchi, M.; Abdolahi, M.; Sheibani, V.; Manlou, M.; Shafiee, A. Foroumadi, A.; *Bioorganic and Medicinal chemistry*, **2010**, 18, 6360.

7. Atividade da NTPDase, 5'-nucleotidase e ADA

A enzima E-NTPDase (E.C.3.6.1.5, CD39) é responsável pela hidrólise de ATP e ADP para AMP e exerce importante função no controle do fluxo sanguíneo, através da regulação do catabolismo do ADP, pois é sabido que concentrações micromolares de ADP são suficientes para induzir a agregação plaquetária em humanos¹. O ATP, por sua vez, em altas concentrações é inibidor competitivo das ações mediadas pelo ADP², além de apresentar também funções pró-inflamatórias, através da estimulação e proliferação de linfócitos, sendo essencial para a liberação de citocinas, como a interleucina 2 (IL-2) e o interferon γ (IFN- γ)^{3,4}.

A enzima 5'-nucleotidase (E.C.3.1.3.5, CD73) hidrolisa o AMP, gerando adenosina, e, desse modo, completa o metabolismo do ATP^{5,6}. A adenosina é um potente inibidor da agregação plaquetária e um importante modulador do tônus vascular⁷. Ela atua como agente protetor nos tecidos, tendo papel fundamental no sistema imunológico, pela promoção da maturação dos monócitos^{8,9}. Por outro lado, a adenosina tem potente atividade antiinflamatória e imunossupressora por inibir a proliferação de células T e liberação de citocinas pró-inflamatórias¹⁰.

A adenosina, por fim, é inativada no meio extracelular pela ação da adenosina desaminase (ADA – E.C.3.5.4.4, CD26), que catalisa a desaminação irreversível da adenosina em inosina¹¹.

Em conjunto, as ectoenzimas descritas acima são capazes de regular a concentração extracelular dos nucleotídeos e nucleosídeos de adenina, sendo importantes tanto na manutenção da homeostase sanguínea, por meio da regulação da agregação plaquetária¹², quanto no controle dos processos inflamatórios.

7.1 Procedimento experimental

7.1.1 Reagentes

Os substratos ATP, ADP, AMP, adenosina, bem como trizma base, azida de sódio, HEPES e Coomassie Azul Brilhante G forma obtidos da Sigma Chemical Co (St. Louis, MO, USA). Todos os demais produtos químicos utilizados apresentavam alto grau de pureza.

7.1.2 Separação das plaquetas

O plasma rico em plaquetas (PRP) foi separado segundo o método desenvolvido por Pilla e col.¹³ modificado por Lunkes e col.¹⁴ O sangue total foi coletado em tubos contendo citrato de sódio 0,120 M como anticoagulante e centrifugado a 1000 rpm por min. Depois disso, o PRP foi centrifugado a 3500rpm 25 min e lavado duas vezes com tampão HEPES 3.5 mM, pH 7.0. O pellet de plaquetas foi ressuspensionado em tampão HEPES e foi usado para determinação das atividades enzimáticas.

7.1.3 Determinação da atividade da NTPDase e 5'-nucleotidase

O ensaio enzimático da NTPDase foi realizado em um meio reacional contendo 5 mM CaCl_2 , 100 mM NaCl, 4 mM KCl, 60 mM glicose e 50 mM tampão Tris HCl, pH 7.4, em um volume final de 200 μL como descrito por Lunkes et al. (2004)¹⁴. Para a hidrólise do AMP, a atividade da 5'-nucleotidase foi realizada como descrito por Lunkes e col. (2004)¹⁴, exceto o CaCl_2 5 mM que foi substituído por MgCl_2 10 mM. Vinte micro litros da preparação enzimática (0,4 a 0,6 mg/mL de proteína) foi adicionada à mistura reacional e pré-incubação seguiu por 10 minutos à 37 °C. A reação foi iniciada pela adição de ATP ou ADP até uma concentração final de 1.0 mM, e AMP até uma concentração final de 2.0 mM. As drogas foram diluídas em 100% água, até um volume final de concentração de 0.5, 1.0 e 2.0mM e adicionadas aos tubos de ensaio. O tempo para incubação foi de 60 minutos. Ambos os ensaios enzimáticos foram interrompidos por adição de 200 μL de ácido tricloroacético (TCA) 10%. Posteriormente os tubos foram refrigerados em gelo por 10 minutos para liberação de fosfato inorgânico (Pi) como descrito por Chan e col.(1986)¹⁵, usando como reagente colorimétrico o verde de malaquita e KH_2PO_4 como padrão. Os controles foram realizados para a correção das hidrólises não enzimáticas dos nucleotídeos por adição da preparação enzimática após a adição de TCA 10%. Todas as amostras foram feitas em triplicatas. As atividades específicas das enzimas foram reportadas em nmol Pi liberado/minuto/mg de proteína.

7.1.4 Determinação da atividade da ADA

A atividade da ADA em plaquetas foi determinada de acordo com Guisti and Galanti (1984)¹⁶.

Resumidamente, 50 μ L de plaquetas reagiram com 21 mmol/L de adenosina em pH 6,5 e foram incubadas até 37 °C por 60 min. Este método é baseado na produção direta de amônia quando a ADA reage com um excesso de de adenosina. O teor de proteína utilizada para o experimento em plaquetas foi ajustado entre 0,4 e 0,6 mg/mL. Os resultados foram expressos em unidades por mg de proteínas (U/mg de proteína). Uma unidade (1U) de ADA é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1mmol de amônia por minuto, a partir de adenosina, obtido em condições normalizadas de ensaio.

7.1.4 Determinação de proteínas

A quantidade de proteína foi determinada de acordo com Bradford (1976)¹⁷, utilizando albumina de soro bovino como padrão.

Análise estatística

A análise estatística usada foi ANOVA de uma via seguida pelo teste da série múltipla de Duncan. $P < 0,05$ foi considerado como diferença significativa. Todos os dados foram expressos como média \pm desvio padrão.

Resultados

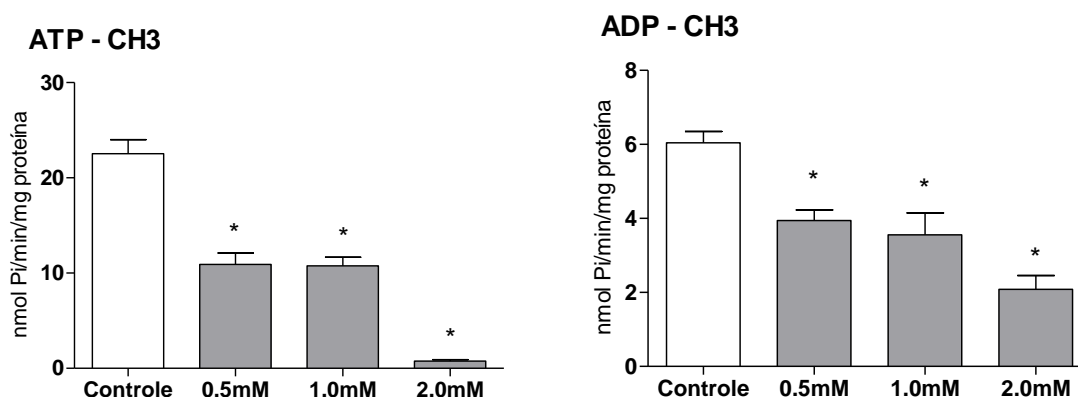


Figura 64: Efeito do composto **3a** sobre a atividade da NTPDase para a hidrólise do ATP (A) e ADP (B). Resultados são expressos como média \pm desvio padrão, $P < 0,05$.

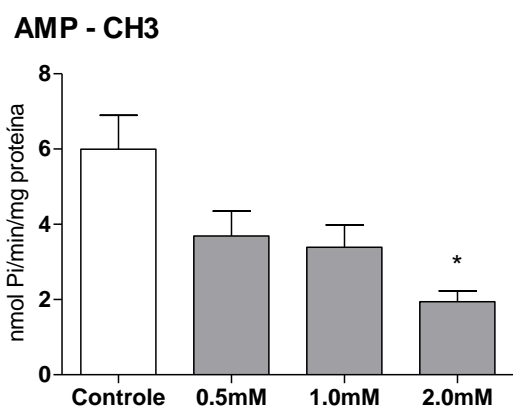


Figura 65: Efeito do composto **3a** sobre a atividade da 5'-nucleotidase. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P < 0,05$.

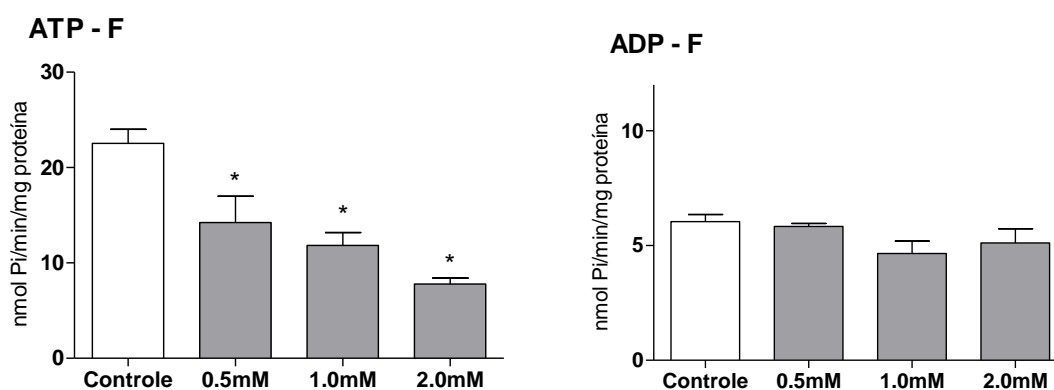


Figura 66: Efeito do composto **3g** sobre a atividade da NTPDase para a hidrólise do ATP (A) e ADP (B). Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P < 0,05$.

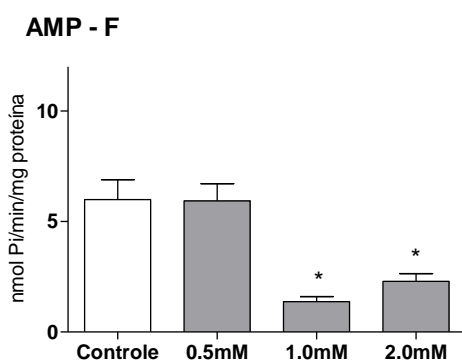


Figura 67: Efeito do composto **3g** sobre a atividade da 5'-nucleotidase. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P < 0,05$.

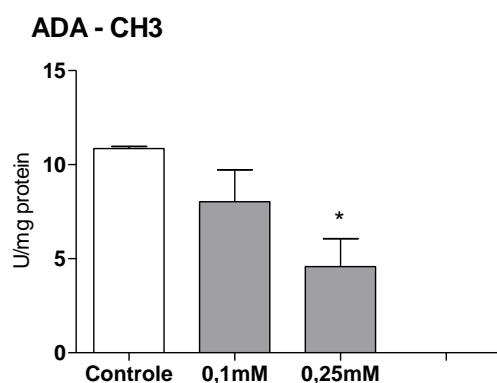


Figura 68: Efeito do composto **3a** sobre a atividade da ADA. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$.

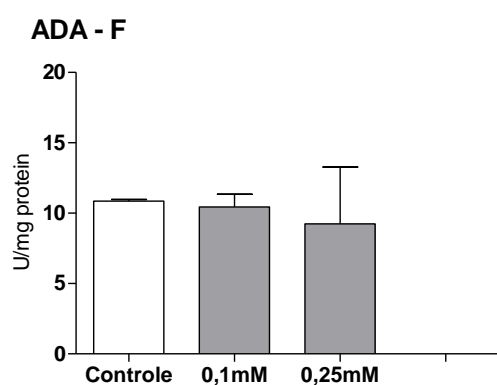


Figura 69: Efeito do composto **3g** sobre a atividade da ADA. Resultados são expressos como média±desvio padrão, $P<0,05$.

Discussão

No presente estudo os resultados mostraram que os compostos **3a** e **3g** promoveram uma inibição na hidrólise dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP, assim como, uma inibição na hidrólise da adenosina.

Como podemos observar na **Figura 69**, o composto **3a** inibiu a atividade da NTPDase para a hidrólise do ATP e do ADP. Desse modo, há uma maior concentração de ATP e ADP disponível no meio extracelular e as ações desses nucleotídeos de adenina, como a atividade pró-inflamatória e vasoconstritora do ATP e os efeitos pró-agregantes do ADP, podem estar aumentadas. Da mesma maneira, verificamos que o composto **3a** inibiu também a atividade da enzima 5'-nucleotidase (**Figura 70**), promovendo uma menor formação de adenosina no meio extracelular já que a hidrólise do AMP está diminuída. Contudo, a atividade da ADA, responsável

pela hidrólise da adenosina em inosina, também foi inibida pelo composto **3a** (**Figura 73**) e, desse modo, os níveis de adenosina no meio extracelular podem estar aumentados. O aumento dos níveis de adenosina extracelular pode atuar de maneira compensatória aos efeitos exercidos pelo ATP e ADP no meio extracelular, já que a adenosina apresenta atividade inibidora da agregação plaquetária e vasodilatadora. Esse provável aumento na quantidade de adenosina no meio extracelular também pode favorecer o desenvolvimento das propriedades anti-inflamatória características da adenosina^{18,19,20}.

Com o desenvolvimento desse estudo é notável a grande influência que os compostos pirimidínicos têm sobre a atividade das enzimas do sistema purinérgico e com esses achados podemos especular que os compostos **3a** e **3g** apresentam capacidade de modular a atividade da NTPDase, da 5'-nucleotidase e da ADA podendo ser utilizados futuramente na clínica médica em benefício da população. Contudo, é evidente a necessidade de maiores estudos acerca da atividade das pirimidinas sobre essas enzimas.

Referências Bibliográficas

1. MARCUS, A.J. et al. Heterologous cell–cell interactions: thromboregulation, cerebroprotection and cardioprotection by CD39 (NTPDase-1). **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, 1:2497-2509, 2003.
2. ROZALSKI, M.; NOCUL, M.; WATALA, C. Adenosina diphosphate receptors on blood platelets – potential new targets for antiplatelet therapy. **Acta Biochimica Polonica**, 52(2):411-415, 2005.
3. LANGSTON, H. et al. Secretion of IL-2 and IFN- γ , but not IL-4, by antigen-specific T cells requires extracellular ATP. **Journal Immunology**, 170:2962-2970, 2003.
4. BOURS, M. et al. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. **Pharmacology & Therapeutics**, 112:358-404, 2006.
5. BARANKIEWICZ, J. et al. Regulation of adenosine concentration and cytoprotective effects of novel reversible adenosine deaminase inhibitors. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 283:1230-1238, 1997.

6. ZIMMERMANN, H. Ectonucleotidases: some recent developments and a note on nomenclature. **Drug Development Research**, 52:44-56, 2001.
7. ANFONSI, G. et al. Adenosine increases human platelet levels of cGMP through role in this antiaggregating effect. **Thrombosis Research**, 105(1):71-78, 2002.
8. SPYCHALA, J. Tumor promoting functions of adenosine. **Pharmacology & Therapeutics**, 87:161-173, 2000.
9. DUNWIDDIE, T.; MASINO, S. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. **Annual Review of Neuroscience**, 24:31-55, 2001.
10. GESSI, K.; VARANI, S.; MERIGHI, S. Adenosine and lymphocyte regulation, **Purinergic Signalling**, 3:109-116, 2007.
11. BLACKBURN, M.R.; KELLEMS, R.E. Adenosine deaminase deficiency: metabolic basis of immune deficiency and pulmonary inflammation. **Advances in Immunology**, 86:1-41, 2005.
12. YEGUTKIN, G.G. Nucleotide-and nucleoside-converting ectoenzymes: important modulators of purinergic signalling cascade. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research**, 1758(5): 673-694, 2008.
13. C. Pilla, T. Emanuelli, S.S. Frassetto, A.M.O. Battastini, R.D. Dias, J.J.F. Sarkis, ATP diphosphohydrolase activity (apyrase, EC 3.6.1.5) in human blood platelets, **Platelets**. 7 (1996) 225–230.
14. Lunkes, G., Lunkes, D., Morsch, V., Mazzanti, C., Morsch, A., Miron, V., Schetinger, M.R., 2004. NTPDase and 5'-nucleotidase in rats alloxan-induced diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice** 65 (1), 1–6.
15. Chan K, Delfret D, Junges K. A direct colorimetric assay for Ca²⁺-stimulated ATPase activity. **Anal Biochem** 1986; 157:375-80.
16. GUISTI, G.; GALANTI, B. Colorimetric method. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*. **Verlag Chemie Weinheim**, p. 315–323, 1984.
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem** 1976;72:218–54.

18. Soslau, G., Youngprapakorn, D., 1997. A possible dual physiological role of extracellular ATP in modulation of platelet aggregation. **Biochimica et Biophysica Acta** 1355 (2), 131–140.
19. Birk, A.V., Broekman, J., Gladek, E.M., Robertson, H.D., Drosopoulos, J.H.F., Marcus, A.J., Szeto, H., 2002a. Role of a novel soluble nucleotide phosphohydrolase from sheep plasma in inhibition of platelet reactivity: hemostasis, thrombosis, and vascular biology. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine** 139 (2), 116–124.
20. Birk, A.V., Broekman, J., Gladek, E.M., Robertson, H.D., Drosopoulos, J.H.F., Marcus, A.J., Szeto, H., 2002b. Role of extracellular ATP metabolism in regulation of platelet reactivity. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine** 140 (3), 166–175.

8. Material e métodos.

8.1- *Docking* molecular *in silico* da interação proteína-ligante.

Com o intuito de propor um modelo de interação entre as formas enantioméricas do (R)-6-(4-fluorfenil)-4-(trifluormetil)-3-metil-2-(metilsulfanil)-3,4-diidropirimidin-4-ol [(R)-3g] e (S)-6-(4-fluorfenil)-4-(trifluormetil)-3-metil-2-(metilsulfanil)-3,4-diidropirimidin-4-ol [(S)-3g] ligadas à AChE, buscou-se um estudo de modelagem molecular *in silico*. Para isso, duas estruturas cristalográficas da estrutura tridimensional da enzima acetilcolinesterase de *Torpedo californica*⁵⁷ (TcAChE) obtidas a partir do banco de dados virtual *RCSB Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb/>) foram usadas como macromoléculas, com códigos PDB 1EA5 (TcAChE nativa)¹ e 3I6M (TcAChE complexada com o inibidor N-piperidinopropil-galatamina – N-PGAL)². Inicialmente, ambas as estruturas foram submetidas à otimização geométrica através do programa UCSF Chimera 1.5rc³, usando o método AM-1 e cargas parciais de Gasteiger, com 500 passos de otimização. As estruturas geométricas dos enantiômeros (R)-3g e (S)-3g (ligantes) foram obtidas usando o programa Avogadro 0.9.8 seguido por otimização de geometria com cargas parciais MMFF94, seguido de otimização pelo método AM-1 do MOPAC2009.

Para o procedimento do *docking*, ligantes e macromoléculas foram previamente preparadas usando o programa AutoDock Tools 4.2⁴, mantendo somente hidrogênios polares e adicionando cargas parciais de Gasteiger. As simulações de *docking* molecular foram realizadas usando o programa AutoDock Vina⁵. As ligações covalentes dos ligantes foram mantidas flexíveis (rotacionáveis) enquanto que as ligações nas macromoléculas foram mantidas rígidas. O *docking*

⁵⁷ *Torpedo californica*: nome científico da arraia elétrica do Pacífico.

executado foi do tipo cego, ou seja, toda a enzima foi selecionada para que se houvesse a busca da região de interação mais favorável com menor energia livre. Assim, a caixa de grade (região espacial de busca da melhor interação) foi centralizada na TcAChE nas coordenadas $x = 5,206$; $y = 66,365$ e $z = 58,759$ para o cristal com PDB código 1EA5 (dimensões da caixa de grade: $64 \text{ \AA} \times 62 \text{ \AA} \times 58 \text{ \AA}$ pontos, espaçamento de 1 \AA , exaustividade igual a 200) e nas coordenadas $x = 4,284$; $y = 67,182$ e $z = 57,886$ para o cristal com PDB código 3I6M (dimensões da caixa de grade: $62 \text{ \AA} \times 62 \text{ \AA} \times 58 \text{ \AA}$ pontos, espaçamento de 1 \AA , exaustividade igual a 200). Para as demais configurações de *docking*, foram aceitos os parâmetros predefinidos do programa AutoDock Vina. Dentre as conformações sugeridas pelo *docking*, aceitou-se a conformação com a menor energia livre como o modelo de interação mais provável. As conformações de menor energia livre e as interações moleculares nos complexos enzima-ligante foram analisadas usando os programas Accelrys Discovery Studio Visualizer 2.5 and PyMOL⁶.

8.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do alinhamento múltiplo de sequências primárias e de estruturas tridimensionais da AChE de diferentes vertebrados demonstram, conjuntamente, que os resíduos do sítio ativo "*gorge*" são conservados do ponto de vista evolutivo⁷. Sendo assim, é possível inferir que compostos capazes de inibir a AChE de vertebrados (por exemplo, *Torpedo californica*, *Electroforus electricus* e roedores) em modelos experimentais, podem também agir de maneira similar à AChE humana.

O AutoDock Vina é um programa de *docking* molecular livre para fins acadêmicos, que opera através de uma função *scoring* empiricamente ponderada,

com parâmetros definidos para ligações de hidrogênio, interações de van der Waals e penalidades de ligações rotacionáveis, além de um algoritmo de busca local sofisticado⁶. De forma a garantir a eficiência do programa AutoDock Vina em propor um modelo de interação representativo confiável, foi realizado previamente um *redocking*, que consiste em permitir o programa prever a conformação adotada pelo ligante do cristal dentro do sítio ativo, seguida de uma comparação desse resultado com uma sobreposição da conformação original do mesmo ligante na estrutura cristalográfica. Assim, foi executado o *redocking* do ligante do cristal N-PGAL no sítio ativo da TcAChE (código PDB 3I6M). O *redocking* não foi executado para a estrutura da TcAChE 1EA5 por não haver inibidores ligados a esta estrutura cristalografada. A melhor conformação do ligante do cristal N-PGAL proposta pelo *redocking* foi quase idêntica à conformação original do mesmo ligante na enzima TcAChE 3I6M, demonstrando um desvio da raiz quadrada média (RMSD, de *root mean square deviation*) igual a 0,46 Å (**Figura 70**). Valores de RMSD menores que 2 Å apontam que os parâmetros adotados para a predição da interação são considerados adequados⁸.

As energias de ligação preditas (ΔG_{pred}) mais baixas para cada enantiômero com ambos os cristais da TcAChE são mostradas na **tabela 12**. Os valores de ΔG_{pred} variaram entre -9.1 e -8.7 kcal.mol⁻¹ para **(R)-3g** e **(S)-3g** e -1.5 kcal.mol⁻¹ para a N-GAL. Assim, a interação de ambos os enantiômeros no sítio ativo da TcAChE é esperada ser de forma espontânea ($\Delta G_{\text{pred}} < 0$). O docking cego sugere que, tanto o enantiômero **(R)-3g** e **(S)-3g** são capazes de acessar com sucesso o sítio ativo “gorge” da TcAChE, com pequenas diferenças entre o modo de ligação dos ligantes em TcAChE (**Figura 70**) devido a posição espacial de seus grupos funcionais.

As representações gráficas dos resultados da modelagem para os enantiômeros **(R)-3g** e **(S)-3g** ligados com a TcAChE (1EA5 e 3I6M) são mostradas na **Figura 71 e 72**. A modelagem molecular demonstrou que ambos os enantiômeros podem interagir com os resíduos do sítio de ligação da colina (Trp84), o subsítio aniônico periférico e a cavidade de ligação acil, impedindo o acesso da acetilcolina (ACh) à tríade catalítica (Ser200, Glu327 and His440).

Conjuntamente, todos os modelos demonstram uma potencial interação do tipo empilhamento π - π entre o anel aromático da porção 4-fluorfenil de ambas as formas enantioméricas e os anéis aromáticos do resíduo Trp84 (distâncias variando entre 3,7 a 4,2 Å, **figura 72- A, B, C, D**) e interações do tipo cátion- π entre o resíduo carregado positivamente da tríade catalítica His440 e o anel aromático da porção 4-fluorfenil (distâncias variando entre 5,1 a 5,9 Å, **figura 77-A, B, C, D**). Além disso, a hidroxila do Tyr121 desempenha um papel importante como doador ou receptor de hidrogênio em ambos os enantiômeros: a hidroxila do **(S)-3g** pode interagir com a hidroxila da Tyr121 (distância: 2,5 Å, **figuras 72-C, D**) e, para o **(R)-3g**, dois modelos de interação são propostos: o átomo de flúor do grupo -CF₃ e o átomo de hidrogênio da hidroxila do Tyr121 (TcAChE 1EA5, distância: 2,5 Å, **Figura 72-A**) ou a hidroxila do composto e a hidroxila da Tyr121 (TcAChE 3I6M, distancia: 2,5 Å, **figure 72-B**).

Os modelos de interação propostos pela modelagem *in silico* para ambos os enantiômeros R e S estão em conformidade com os dados de inibição da atividade da AChE *in vitro*. Além disso, o modo de ligação dos enantiômeros com TcAChE são semelhantes aos inibidores clássicos reversíveis, incluindo os que são utilizados clinicamente (por exemplo, galantamina, tacrina e huperzina)^{8,9}.

Tabela 12 – Predição da energia livre de ligação (em kcal.mol⁻¹) pelo programa AutoDock Vina para os enantiômeros **(R)-3g** e **(S)-3g** e inibidor N-PGAL para TcAChE 3I6M.

Ligantes	Energia livre de ligação predita (kcal.mol ⁻¹)	
	TcAChE 1EA5	TcAChE 3I6M
N-PGAL	–	-11.5
(R)-3g	-8.7	-9.1
(S)-3g	-9.2	-9.1

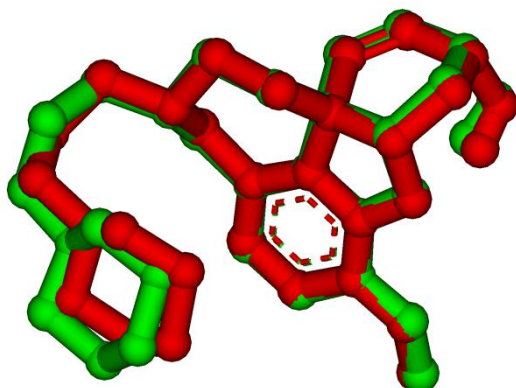


Figura 70 – Sobreposição molecular do ligante do cristal da estrutura 3I6M (vermelho) e a melhor conformação do ligante N-PGAL proposta pelo programa AutoDock Vina 1.1 program (verde), com um valor de RMSD igual a 0,46 Å. Os hidrogênios apolares foram omitidos da visualização.

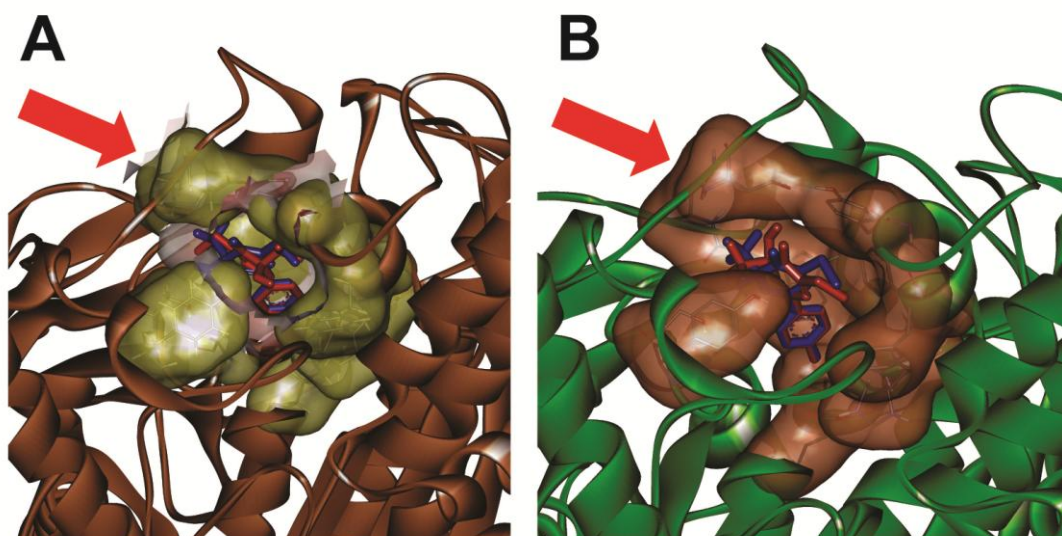


Figura 71 – Sobreposição dos enantiômeros **(R)-3g** (vermelho) e **(S)-3g** (azul) ligados no sítio ativo “gorge” da TcAChE 1EA5 (A) e 3I6M (B). As setas vermelhas apontam o sítio ativo “gorge”.

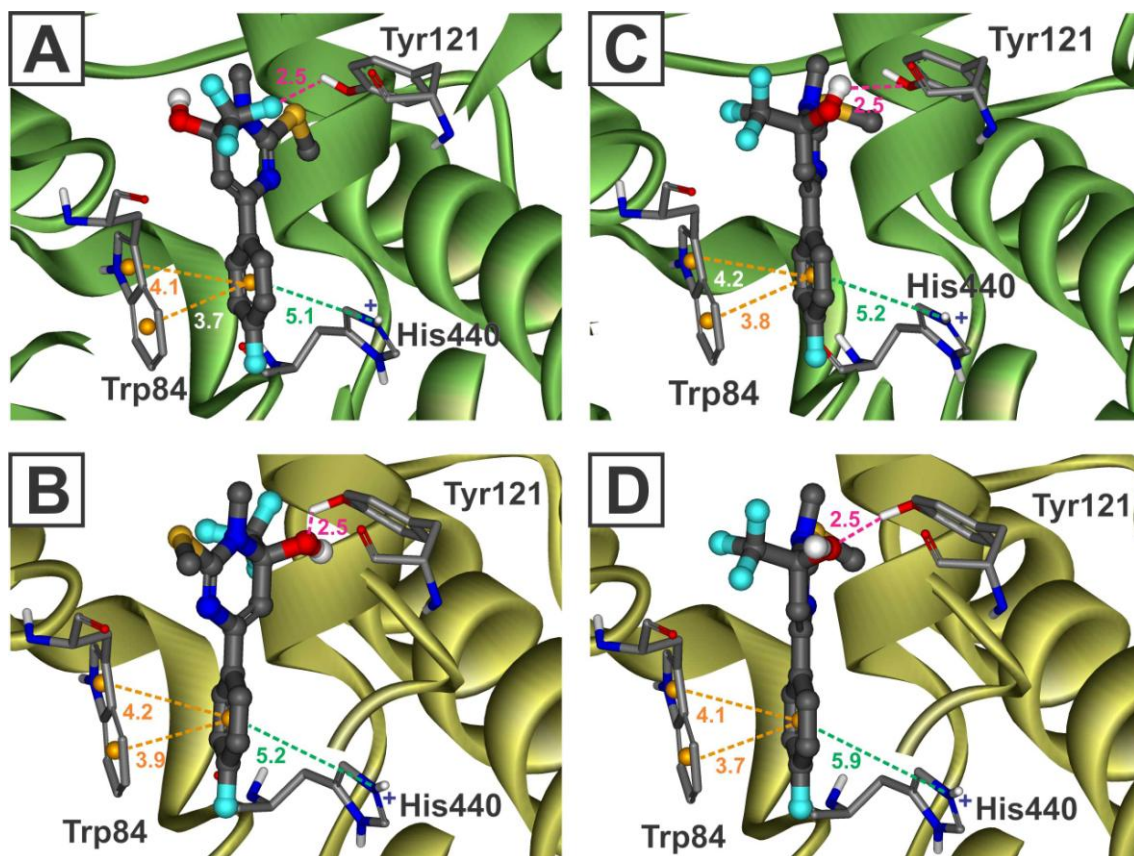


Figura 72 – Representação do modelo de interação dos enantiômeros **(R)-3g** (A e B) and **(S)-3g** (C e D) ligados ao sítio ativo “gorge” da TcAChE 1EA5 (A e C) e 3I6M (B e D). Os valores das distâncias são mostrados em angstroms (Å). As linhas pontilhadas verdes denotam interações cátion- π . Linhas pontilhadas de cor laranja denotam interações π - π . Linhas pontilhadas de cor magenta denotam ligações de hidrogênio. As esferas laranja encontradas no interior das estruturas aromáticas denotam seu centroide. Todos os resíduos de aminoácidos envolvidos nas interações moleculares estão representados na forma de bastão. Os ligantes estão representados na forma de bola e bastão. Os hidrogênios não polares foram omitidos. Os átomos estão representados com as cores: hidrogênio branco, carbono cinza, oxigênio vermelho, flúor azul-claro, nitrogênio azul-escuro e enxofre amarelo.

Referências Bibliográficas

1. Dvir H, Jiang HL, Wong DM, Harel M, Chetrit M, He XC, Jin GY, Yu GL, Tang XC, Silman I, Bai DL, Sussman JL. X-ray structures of *Torpedo californica* acetylcholinesterase complexed with (+)-huperzine A and (-)-huperzine B: structural evidence for an active site rearrangement. *Biochemistry* 2002, 41, 10810-10818.
2. Bartolucci C, Haller LA, Jordis U, Fels G, Lamba D. Probing *Torpedo californica* acetylcholinesterase catalytic gorge with two novel bis-functional galanthamine derivatives. **J Med Chem.** 2010 Jan 28;53(2):745-51.
3. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera - a visualization system for exploratory research and analysis. **J. Comput. Chem.** 2004 Oct;25(13):1605-12.
4. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., and Olson, A. J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comput. Chem.* 30:2785–2791.
5. Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, **J. Comp. Chem.** 31 (2010) 455-461.
6. Seeliger, D., and De Groot, B. L. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. **J. Comput. Aid. Mol. Des.** 24:417-422 (2010).
7. Khan, M.T.H. Molecular interactions of cholinesterases inhibitors using in silico methods: current status and future prospects. **New Biotechnology** 25 (2009):331-346.
8. Bursulaya, B. D., Totrov, M., Abagyan, R. A., and Brooks, C. L. III. 2003. Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking. **J. Comput. Aid. Mol. Des.** 17:755–763.
9. Nawaz, S.A.; Ayaz, M.; Brandt, W.; Wessjohann, L.A; Westermann, B. Cation- π and π - π stacking interactions allow selective inhibition of butyrylcholinesterase by modified quinine and cinchonidine alkaloids. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 404 (2011): 935-940.

