UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE DE COMPOSTOS CONTENDO OS NÚCLEOS ADENINA E 1,3-DIFENILUREIA VISANDO A INIBIÇÃO DE PROTEÍNAS QUINASES ASSOCIADAS À PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS.

Dissertação de Mestrado

FRANCISCO PAULO BUCHAILLOT

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes

Porto Alegre, julho de 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCISCO PAULO BUCHAILLOT

SÍNTESE DE COMPOSTOS CONTENDO OS NÚCLEOS ADENINA E 1,3-DIFENILUREIA VISANDO A INIBIÇÃO DE PROTEÍNAS QUINASES ASSOCIADAS À PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes
Orientador

Porto Alegre, julho de 2026

CIP - Catalogação na Publicação

Buchaillot, Francisco Paulo
Síntese de compostos contendo os núcleos adenina e 1,3-difenilureia visando a inibição de proteínas quinases associadas à proliferação de células tumorais. / Francisco Paulo Buchaillot. -- 2026.
215 f.
Orientador: João Paulo Bizarro Lopes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. Química Orgânica. 2. Hibridização Molecular. 3. 1,3-difenilureia. 4. Adenina. 5. Inibidores de Quinases. I. Lopes, João Paulo Bizarro, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais estão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre maio de 2024 e julho de 2026, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor João Paulo Bizarro Lopes. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Juliana Christina Thomas

Profa. Dra. Angélica Venturini Moro

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi

Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes
(Orientador)

Francisco Paulo Buchaillot

Para Francine P. B,

Desde sempre estivestes comigo

Mas só agora que eu te conheço

O mundo me impedia de te ver

Apesar disso te fizestes visível

E por me tirar desta jaula genotípica

Tenho um amor por ti

Um que nunca tive pelo autor

O amor-próprio.

Obrigada.

AGRADECIMENTOS

Dedico a minha gratidão a todas amigas e amigos, porque são aqueles ao redor de nós que nos definem. Àqueles que conheço praticamente a minha vida inteira; Rafa, Gabi, Lu, Twix, Mari, Mafe, Mattias que, apesar de me verem mudar tanto, mantemos a amizade e espero que continuemos assim por mais algumas décadas.

Aos que, apesar da distância física, são uns dos mais próximos a mim; Oliver, Taylor, Danny, Chris, Caredig, Bianca, *perhaps one day we can see each other but I still appreciate you all so much. Even if all we have is just online conversations, it's still everything to me.*

Para meu grupo mais recente que a UFRGS me deu de presente; Nathy, Clara, Manu, Marco, Camis, Dani, Pedrinho, Gilmar, Gu, talvez eu tenha demorado para me abrir para vocês, mas agora sinto que me permitiram expor e abrir partes de mim que nem eu conhecia, agora sinto vontade de viver minha vida e ser alguém, muito obrigada.

Agradeço a todos membros passados e presentes do laboratório K216, o local onde pude viver meu sonho de trabalhar em química orgânica. Primeiramente ao meu querido professor orientador João Paulo que aceitou um aluno puramente por recomendação e foi um excelente orientador. Além de conhecimento e proficiência na ciência, teve paciência e compreensão, sempre esteve aberto às minhas sugestões e opiniões, nos orientou a priorizar nossa saúde mental e física acima de tudo, e me ajudou a reconhecer meus méritos e habilidades quando duvidei de mim mesmo.

Aos meus colegas de laboratório que compartilharam bancadas, conhecimentos e fofocas; João Eduardo que me introduziu ao laboratório; Juliana, Rúbia, Dexter, alunos de iniciação científica que ajudei com suas pesquisas, mas também aprendi muito também. Para meus colegas de pós-graduação Samuel e Vinicius, que me ensinaram o que é ser um cientista de verdade, além de serem verdadeiros amigos que me acompanharam nos longos e difíceis dias no laboratório.

Tenho gratidão a Elizabeth e Antonio, meus pais, pelo apoio que me proporcionaram em toda minha vida, em especial neste período de pesquisa e trabalho. Compartilharam da minha felicidade com meus sucessos e de minhas dores e dificuldades, demonstrando tanto orgulho de minha carreira científica. E foram verdadeiros exemplos de profissionalismo e dedicação em suas carreiras.

Agradeço ao laboratório de Hematologia e Células-tronco da faculdade de farmácia da UFRGS e a professor Patrícia Planke pela colaboração para os testes de viabilidade celular. Em específico agradeço à Natasha Maurmann por dedicar tempo para os experimentos, pela demonstração da metodologia, explicações e colaboração geral; e ao colega Dexter também pela participação nos experimentos de viabilidade celular.

E agradeço à UFRGS, uma universidade pública, federal, gratuita e de qualidade com reconhecimento internacional, que me formou um químico capaz. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. E dos órgãos públicos federais e estaduais que permitem continuamente o desenvolvimento de ciência: CNPq e FAPERGS.

Produções científicas desenvolvidas no período

Buchaillot, F. P.; Lopes, J. P. B. Synthesis of Adenine and 1,3-Diphenylurea Hybrids as Potential Kinase Inhibitors for Cancer Treatment. *Brazilian Meeting on Organic Synthesis*, Bento Gonçalvez, Brasil, **2024**; Abstract. https://schenautomacao.com.br/bmos/envio/files/trabalho1_59.pdf

Lopes, J. P. B.; Buchaillot, F. P. Síntese de compostos híbridos contendo os núcleos 1,3-difenilureia e adenina com potencial atividade de ação seletiva em células tumorais. *30° Encontro de Química da Região Sul - SBQ Sul*, Blumenau, Brasil, **2024**; Resumo. https://static.even3.com/anais/995483.pdf

Souza, R.; Rockenbach. M. T; Buchaillot; F. P.; Lopes, J. P. B.; Thomas, J. C. Síntese de compostos heterocíclicos de selênio: blocos de construção para selenetos funcionalizados. *30º Encontro de Química da Região Sul - SBQ Sul,* Blumenau, Brasil, **2024**; Resumo. static.even3.com/anais/996062.pdf

Buchaillot. F. P. Síntese de compostos contendo os núcleos purina e 1,3-difenilureia visando a inibição de proteínas quinases associadas a proliferação de células tumorais. *Salão UFRGS 2025: 1º Salão de Pós-Graduação*, Porto Alegre, Brasil, **2025**; Resumo. https://www1.ufrgs.br/EventosInstitucionais/PortalYii/130/trabalhos/trab.visualizarTrabalho?CodEvento=130&NrSeqTrabalho=89713

RESUMO

Devido à baixa seletividade de tratamentos anticâncer clássicos como a quimioterapia, alternativas mais direcionadas são de alto interesse. Para isto, desenvolveu-se a terapia-alvo, especialmente a inibição de proteínas quinases, enzimas diretamente envolvidas nas rotas de sinalização superexpressadas ou mutadas em cânceres. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho consiste em obter compostos com potencial atividade antiproliferativa em cultura de células tumorais através da inibição de quinases. Para isto foram escolhidos os núcleos farmacofóricos 1,3-difenilureia, inspirado pelo fármaco Sorafenibe, e a adenina, presente no ATP, substrato natural das quinases. A estratégia terapêutica incluiu a hibridização molecular, ou seja, a junção de grupos de conhecida atividade farmacológica em um composto. Foram sintetizados dois grupos principais de compostos híbridos do tipo 1,3-difenilureia-adenina: o primeiro, com substituintes no núcleo difenilureia, e o segundo, com os núcleos farmacofóricos conectados por um *linker*. Todos os produtos foram obtidos em poucas etapas. Os híbridos com substituintes foram obtidos em apenas 3 etapas partindo de anilinas substituídas comercialmente acessíveis. Compostos com *linkers* alquílico e amida foram obtidos também em apenas 3 etapas: formação de difenilureia, incorporação de *linker,* e conexão com adenina. Além desses, foi obtido um híbrido conectado via anel triazólico em 4 etapas. No total foram obtidos 15 híbridos 1,3-difenilureia-adenina, sendo 8 com hibridização por fusão e 7 conectados via *linkers*. O potencial farmacológico desses compostos foi avaliado através de atividade antiproliferativa em culturas de células, tumorais e saudáveis. Dos 15 exemplares obtidos, observou-se que 11 híbridos não foram tóxicos contra células de fibroblastos saudáveis (MRC-5). Dentre esses onze, dois apresentaram um nível de inibição de proliferação celular contra células de carcinoma hepatocelular (HepG2) com inibição de até 36% do crescimento em concentração de 10 μM. Assim, neste trabalho foram obtidos uma variedade de híbridos moleculares 1,3-difenilureia-adenina e testes preliminares de viabilidade celular *in vitro* demonstraram, em geral, boa tolerância a células saudáveis e potencial atividade antiproliferativa para carcinoma hepatocelular.

Palavras-chave: Anticâncer; Terapia-alvo; Inibidores de quinase; 1,3-difenilureia; Adenina.

ABSTRACT

Due to the low selectivity of classical anticancer treatments, such as chemotherapy, more targeted alternatives have gained considerable interest. Among these approaches, targeted therapy has emerged as a promising strategy, especially the inhibition of kinase proteins, these enzymes are directly involved in signaling cascades that are overactivated or mutated in cancers. In this context, the aim of this work is to obtain compounds with potential antiproliferative activity in tumor cell cultures by inhibiting kinase enzymes. For this the pharmacophores chosen were 1,3-diphenylurea, inspired by the drug Sorafenib, and adenine, present in ATP, the natural substrate of kinases. The therapeutic strategy includes molecular hybridization, which is the joining of groups with known pharmacological activity into a single compound. Two main groups of 1,3-diphenylurea-adenine hybrids were synthesized: one with a variety of substituents in the diphenylurea moiety and another where the pharmacophores are connected by a linker group. All final compounds were obtained in few steps. The hybrids with substituents were obtained in only 3 steps starting from commercially available substituted anilines. The hybrid compounds with alkyl and amide linkers were also obtained in only 3 steps: formation of diphenylurea, incorporation of the linker, and connection with adenine. Lastly, one hybrid connected by triazol was obtained in 4 synthetic steps. In total, 15 1,3-diphenylurea-adenine hybrids were obtained, with 8 being hybridized via fusion and 7 via linker. The pharmacological potential of the compounds was measured with antiproliferative activity in cell cultures of tumor cells and healthy cells. Of the 15 compounds tested, 11 were determined to be non-toxic to healthy fibroblast cells (MRC-5). Within these eleven products, two showed considerable inhibition of hepatocellular carcinoma (HepG2) cellular proliferation, with inhibition of cell growth up to 36% at 10 μM concentration. Therefore, in this work a variety of molecular hybrids of 1,3-diphenylurea-adenine were obtained and preliminary tests of cellular viability *in vitro* showed good tolerance towards healthy cells and potential antiproliferative activity against hepatocellular carcinoma.

Keywords: Anticancer; Targeted therapy; Kinase inhibitors; 1,3-diphenylurea; Adenine.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura dos primeiros inibidores de quinase aprovados pela FDA.....2
Figura 2. Estrutura dos núcleos 1,3-difenilureia e adenina.....3
Figura 3. Estrutura geral dos compostos híbridos 1,3-difenilureia e adenina.....4
Figura 4. Diagrama da cascada sinalizadora MAPK simplificada.....7
Figura 5. Estrutura cristalina da subunidade catalítica do complexo proteína-quinase-A com ATP e Mg^{2+}.....8
Figura 6. Comparação da estrutura de Abl e Bcr-Abl.....9
Figura 7. Estruturas dos primeiros inibidores de quinase aprovados pela FDA.....10
Figura 8. Estruturas miméticas da adenina utilizada em inibidores de quinase aprovados até o ano de 2022.....11
Figura 9. Inibidores de quinase aprovados pelo FDA contendo o farmacóforo ureia 1,3-dissubstituída.....13
Figura 10. Estrutura do ATP e de inibidores de quinase contendo adenina.....18
Figura 11. Primeiros compostos derivados de adenina identificados como inibidores de quinases.....20
Figura 12. Representação das principais estratégias de hibridização molecular.....24
Figura 13. Farmacóforos e *linker* utilizados por Hu *et al* para desenvolvimento de híbridos moleculares inibidores duplos de acetilcolinesterase/proteína Tau.....25
Figura 14. Híbridos cumarina-triazol-timidina inibidores de protease e transcriptase reversa de HIV-1 desenvolvidos por Olomola *et al*.....26
Figura 15. Híbridos Quinolona carboxamida - fosfonato sintetizados por Machado *et al* como agentes antitumorais para câncer de mama.....26
Figura 16. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **7a**.....32
Figura 17. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **8** isolado da síntese de nitrofenil-fenilureias.....33
Figura 18. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **9a**.....37
Figura 19. Espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **16** isolado da síntese de **7i**.....41
Figura 20. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d*6*) do produto **17b**.....45
Figura 21. Espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **18f**.....48

Figura 22. Espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **18f** 49
Figura 23. Espectro de RMN de HSQC (400 MHz – 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **18f** 50
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **18f**.....51
Figura 25. Híbridos difenilureia-adenina com variação de *linker* planejados.....52
Figura 26. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **20c**.....55
Figura 27. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **21d**.....58
Figura 28. Espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **21d**. Acoplamentos de H_a e H_b.....59
Figura 29. Espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **21d.** Acoplamentos de H_c.....60
Figura 30. Espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **21d**. Acoplamentos de H_g e H_h.....61
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **21d**.....62
Figura 32. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **23a**.....64
Figura 33. Espectros de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **23a** a 25, 50 e 70 ºC sobrepostos.....65
Figura 34. Representação da cromatografia de camada delgada durante a reação de acoplamento de amida.....67
Figura 35. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **25** obtido do acoplamento para obtenção do híbrido difenilureia-amida-adenina.....68
Figura 36. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **26**.....70
Figura 37. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **31a**.....75
Figura 38. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, Acetona-*d*6) do produto **31a**.....76
Figura 39. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **32a**.....77
Figura 40. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **33b**.....79
Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **33b**.....80
Figura 42. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário **35**.....83
Figura 43. Espectro de infravermelho do composto **35**.....84
Figura 44. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário **37**.....85
Figura 45. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **38**.....86
Figura 46. Espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **38** 87

Figura 47. Espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **38** 88
Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto **38**.....89
Figura 49. Estruturas dos híbridos difenilureia-adenina **18a-h, 21a-d, 33a-b e 38**.....90
Figura 50. Gráfico de viabilidade celular de células MRC-5 saudáveis com híbridos difenilureia-adenina substituídos **18a-h**.....91
Figura 51. Gráfico de viabilidade celular de células MRC-5 saudáveis com híbridos difenilureia-adenina com *linker* alquílico **21a-d**, amida **33a-b** e triazol **38**.....92
Figura 52. Gráfico de viabilidade celular das linhagens MRC-5, HepG2 e PC-12 com compostos difenilureia-adenina substituídos **18a-e,h**.....93
Figura 53. Gráfico de viabilidade celular das linhagens MRC-5, HepG2 e PC-12 com compostos difenilureia-adenina com *linker* alquílico **21a-d** e amida **33b**.....93

Lista de Esquemas

Esquema 1. Reação de fosforilação catalisada por proteína-quinases.....6
Esquema 2. A) Formação de ureias a partir de isocianato. B) principais rotas de síntese de isocianatos orgânicos.....14
Esquema 3. Mecanismo simplificado do rearranjo de Hofmann seguido de adição de amina, seguindo a rota sintética de Liu, Wang e Hu.....15
Esquema 4. Rota sintética de Ahmed *et al* para síntese de ureias via rearranjo de Curtius.....15
Esquema 5. Rota sintética de Padiya *et al* para síntese de ureias 1,3-dissubstituídas utilizando CDI.....16
Esquema 6. Síntese de 1,3-difenilureia via transamidação de Nagarkar e Telvekar, e mecanismo simplificado de transamidação catalisada por L-prolina.....17
Esquema 7. Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas via acoplamento de Buchwald-Hartwig.....17
Esquema 8. Mecanismo da reação de cloração de hipoxantina descrita por Bendich, Russel e Fox.....21
Esquema 9. Rota sintética de Zatloukal *et al* para reação de substituição nucleofílica aromática em cloropurinas com anilinas.....21
Esquema 10. Reação de substituição nucleofílica aromática entre cloropurina e fenóis descrita por Wang *et al*.....22
Esquema 11. Rota sintética de Qu *et al* para reação de substituição nucleofílica aromática em meio aquoso sob irradiação de micro-ondas.....23
Esquema 12. Retrossíntese para híbridos difenilureia-adenina com substituintes.....28
Esquema 13. Síntese do híbrido difenilureia-adenina obtido num trabalho anterior.....29
Esquema 14. Retrossíntese dos intermediários aminofenil-fenilureias substituídas.....29
Esquema 15. Mecanismo de formação de **8**.....33
Esquema 16. Síntese do intermediário **7g**.....34
Esquema 17. Retrossíntese alternativa para intermediários difenilureia não-simétricos.....34
Esquema 18. Mecanismo de formação de **9a-d** e da decomposição de **10**.....35

Esquema 19. Síntese do intermediário **7h** via rearranjo de Curtius.....39
Esquema 20. Mecanismo simplificado da síntese de **7h** via rearranjo de Curtius....40
Esquema 21. Tentativa de síntese de **7i** via rearranjo de Curtius.....40
Esquema 22. Mecanismo para formação do subproduto **16** obtido na tentativa de síntese de **7i** via rearranjo de Curtius.....41
Esquema 23. Mecanismo de redução de nitro compostos.....43
Esquema 24. Mecanismo de S_NAr com 6-cloropurina **1**.....46
Esquema 25. Síntese dos compostos híbrido difenilureia-adenina substituídos **18a-h** via S_NAr.....47
Esquema 26. Retrossíntese para obtenção dos híbridos difenilureia-alquil-adenina.....53
Esquema 27. Síntese de intermediários **4a-b**.....53
Esquema 28. Reação de teste de Ehrlich para detecção de aminas.....56
Esquema 29. Retrossíntese para obtenção de híbridos difenilureia-amida-adenina.....63
Esquema 30. Síntese de intermediários **23a-b** via S_NAr.....63
Esquema 31. Tautomerismo de purinas observado por Sečkářová *et al*.....65
Esquema 32. Mecanismo de acoplamento de amida utilizado reagente carbodi-imida.....66
Esquema 33. Tentativa de síntese do híbrido **24** via reação de acoplamento com DCC.....66
Esquema 34. Tentativa de síntese do híbrido **24** via reação de acoplamento com EDC, HOBt.....67
Esquema 35. Reações de acoplamento de amida entre **4a** e ácido butírico e ácido benzóico.....69
Esquema 36. Síntese de **26** via reação de esterificação de Fischer.....70
Esquema 37. Tentativa de síntese do híbrido difenilureia-amida-adenina **24** via reação de amidação direta de amina e éster.....71
Esquema 38. Tentativa de síntese do híbrido **24** via cloreto de ácido.....71
Esquema 39. Sequência de amidinação-redução de nitrilas para síntese de poliaminas descrita por Peñas-Sanjuán *et al*.....72
Esquema 40. Sequência para obtenção de benzamidas descrita por Peñas-Sanjuán *et al*.....73
Esquema 41. Nova retrossíntese para obtenção de híbridos difenilureia-amida-

adenina.....73
Esquema 42. Síntese de **28**.....73
Esquema 43. Mecanismo simplificado de síntese de amidinas cíclicas.....74
Esquema 44. Síntese de **21a**.....74
Esquema 45. Sequência reacional para síntese dos intermediários **32a-b**.....77
Esquema 46. Síntese de híbridos **33a-b** via S_NAr.....78
Esquema 47. Retrossíntese para obtenção do híbrido difenilureia-triazol-adenina.....82
Esquema 48. Síntese de **35** via intermediário sal de diazônio **34**.....82
Esquema 49. Síntese do intermediário **37** via S_NAr.....84
Esquema 50. Síntese do híbrido **36** via acoplamento alcino-azida.....86

Lista de Tabelas

Tabela 1. Síntese dos intermediários **7a-f**.....31
Tabela 2. Síntese de **9a-d** via isocianato de potássio.....36
Tabela 3. Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-fluorofenil)-ureia via transamidação e tentativas de otimização.....38
Tabela 4. Redução de **7a-f,h** para **17a-g**.....44
Tabela 5. Síntese de intermediários **20a-d** via S_N2.....54
Tabela 6. Síntese de híbridos **21a-d** via S_NAr.....57

Lista de abreviaturas e siglas

Abl	*Abelson tyrosine kinase* (Tirosina-Quinase Abelson)
APT	*Attached Proton Test* (Teste de Proton Acoplado)
ATP	*Adenosine triphosfate* (trifosfato de adenosina)
ATR	*Attenuated Total Reflectance* (Reflectância Total Atenuada)
Bcr	*Breakpoint Cluster Region protein*
CCD	Cromatográfia de Camada Delgada
CDI	1,1'-Carbonildiimidazol
CDK	*Cyclin Dependent Kinase* (Quinase Dependente de Ciclina)
DCC	*N,N'*-dicicloexilcarbodiimida
DMAP	4-(dimetilamino)-piridina
DMEM	*Dulbecco's Modified Eagle Medium* (Meio Eagle Modificado de Dulbecco)
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-*d*6	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	*Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxirribonucleico)
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropol)carbodiimida
EGFR	*Epithelial Growth Factor Receptor* (Receptor do Fator de Crescimento Epitelial)
ERK	*Extracellular Signal-Regulated Kinase* (Quinase Regulada por Sinais Extracelulares)
FDA	*Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Medicamentos)
FGFR	*Fibroblast Growth Factor Receptor* (Receptor do Fator de Crescimento de Fibroflastos)
FTIR	*Fourier Transform Infrared* (Infravermelho com Transformada de Fourier)
HEPES	*N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)* (Ácido *N*-(2hidroxietil)piperazil-*N*'-(2-etanosulfônico))
HIV	*Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da Imunodeficiência Humana)
HMBC	*Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação de Múltiplas Ligações Heteronuclear)

HOBt	1-Hidróxibenzotriazol
HSQC	*Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação Quântica Única Heteronuclear)
MAPK	*Mitogen-Activated Protein Kinase* (Proteína-quinases ativadas por mitógenos)
MeCN	Acetonitrila
MEK	*Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase* (Quinase Ativadora da MAP Quinase)
mTOR	*Mammalian Target of Rapamycin* (Alvo da Rapamicina em Mamíferos)
MTT	*(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* (Brometo de (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltretrazolio)
MW	*Microwave* (Micro-ondas)
NaAsc	Ascorbato de sódio
NAC	*N*-Acetilcisteína
NMM	*N*-metilmorfolina
OMS	Organização Mundial de Saúde
P/S	*Penicillin/Streptomycin* (Penicilina/Estreptomicina)
PDB	*Protein Data Bank* (Banco de Dados de Proteínas)
PDGFR	*Platelet Derived Growth Factor Receptor* (Receptor do Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas)
pf	Ponto de fusão
PI3K	*Phosphoinositide-3-kinase* (Fosfatidilinositol 3-quinase)
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S_N2	Substituição Nucleofílica bimolecular
S_NAr	Substituição Nucleofílica Aromática
t.a	Temperatura ambiente
TCT	2,4,6-Tricloro-1,3,5-triazina
THF	Tetraidrofurano
UV	Ultravioleta
VEGFR	*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor* (Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

SUMÁRIO

1. Introdução 1

2. Objetivos 4

2.1. Objetivo Geral 4

2.2. Objetivos Específicos 4

3. Revisão Bibliográfica 5

3.1. Proteína-Quinases 5

3.2. Inibidores de Quinase 8

3.3. Núcleo 1,3-difenilureia 12

3.4. Núcleo Adenina 18

3.5. Hibridização Molecular 23

4. Resultados e Discussão 28

4.1. Híbridos difenilureia-adenina com variação de substituintes 28

4.1.1. Síntese de nitro-difenilureias 30

4.1.2. Síntese de monofenilureias 35

4.1.3. Síntese de difenilureia não-simétricas 37

4.1.4. Síntese de amino-difenilureias via reação de redução 42

4.1.5. Síntese de híbridos difenilureia-adenina substituídos 46

4.2. Híbridos difenilureia-adenina com variação de *linker* 52

4.2.1. Híbridos difenilureia-alquil-adenina 52

4.2.1.1. Síntese de intermediários N-aminoalquil-aminodifenilureias 53

4.2.1.2. Síntese de híbridos difenilureia-alquil-adenina via S_NAr 56

4.2.2. Híbridos difenilureia-amida-adenina 63

4.2.2.1. Síntese de intermediários purina-aminoácidos 63

4.2.2.2. Síntese de amidas via reação de acoplamento 66

4.2.2.3. Síntese de amida via amidação de éster 69

4.2.2.4. Síntese de amida via cloreto de ácido 71

4.2.2.5. Síntese de amidas a partir de nitrilas 72

4.2.2.6. Síntese de híbridos difenilureia-amida-adenina via S_NAr 78

4.2.3. Híbrido difenilureia-triazol-adenina 81

4.2.3.1. Síntese do híbrido difenilureia-triazol-adenina via reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen 85

4.3. Determinação da atividade antiproliferativa dos compostos híbridos 91

5. Conclusões 95

6. Parte Experimental 97

Referências 122

Apêndice 130

1. Introdução

De acordo com a organização mundial de saúde (OMS), no ano de 2022 o câncer foi responsável por aproximadamente 9,7 milhões de mortes e houve 20 milhões de novos casos no mundo.[1] Esses números tornam o câncer a segunda maior causa de óbitos no mundo, atrás apenas de doenças cardiovasculares. Neste contexto, a procura por tratamentos mais efetivos e seletivos para essa doença é de grande interesse. Na quimioterapia anticâncer clássica, o objetivo principal é a eliminação de células mutantes com proliferação descontrolada, que é o que caracteriza o câncer, contudo esse ataque não-específico também danifica tecidos saudáveis de alta taxa de multiplicação celular. Assim, recentemente procurou-se desenvolver tratamentos com mais precisão, tendo como alvo proteínas mutantes e/ou rotas metabólicas diretamente envolvidas na sobrevivência e crescimento de células tumorais.[2] Conhecida como terapia-alvo, essa estratégia minimiza os efeitos secundários severos causados pelo ataque indiscriminado de compostos quimioterápicos clássicos. Dentro dessa terapia, as proteínas quinases são os principais alvos de inibição, já que estão envolvidas nas rotas de sinalização para processos como diferenciação, proliferação, apoptose e inflamação; sendo tipicamente superexpressadas ou mutadas em múltiplos tipos de câncer.[3]

Apesar do potencial de inibição de quinases já ser conhecido nos anos 80, somente em 2001 foi aprovada a primeira molécula pequena inibidora de quinase para tratamento de câncer. O Imatinibe (Gleevec®) (Figura 1), aprovado pela *Food and Drug Administration (*FDA) em 2001,[3] é primeiramente um inibidor da proteína-quinase mutante Bcr-Abl para o tratamento de leucemia mieloide crônica. A aprovação do Imatinibe foi uma revolução para a terapia-alvo e nos anos seguintes foram aprovados mais antineoplásicos com alvo em diferentes quinases. Como, por exemplo, o Gefitinibe (Iressa®) em 2003 para tratamento de câncer de pulmão de células não-pequenas via inibição do receptor do fator de crescimento epitelial (EGFR). E o Sorafenibe (Nexavar®) em 2005 para carcinoma renal pela inibição de enzimas Raf inicialmente, mas também inibindo receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e o receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) (Figura 1). No total, 75 compostos foram aprovados para tratamento de câncer entre os anos de 2001 e 2025, tendo como alvo 20 diferentes

quinases.[1,4] Esse contínuo interesse em inibidores de quinases é devido não só à diversidade de tipos de câncer, mas também ao problema de desenvolvimento de resistência aos fármacos já aprovados.

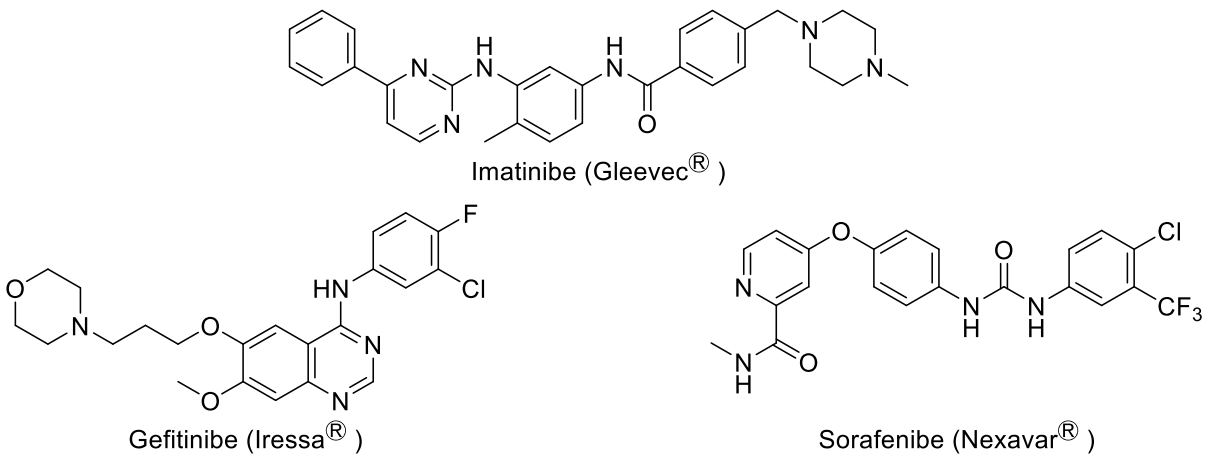


Figura 1. Estrutura dos primeiros inibidores de quinase aprovados pela FDA.

Uma estratégia utilizada para o desenvolvimento de novos compostos bioativos é a hibridização molecular, ou seja, a junção de núcleos estruturais farmacofóricos que foram identificados como responsáveis pela atividade de uma entidade química. Procura-se com isso obter um efeito sinérgico por essa combinação, potencializando a inibição proporcionada pelos farmacóforos além de também haver polifarmacologia pela interação com múltiplos alvos, um fator que foi observado ser benéfico para atividade antitumoral.[2] Farmacóforos identificados para inibidores de quinases incluem a base purínica adenina ou bioisósteros dessa, já que esse grupo é contido no trifosfato de adenosina (ATP), o substrato comum a todas as quinases (Figura 2). Diversos compostos contendo o núcleo purina, incluindo híbridos moleculares, demonstraram atividades antiproliferativas e seletividades promissoras pela inibição de quinases.[5] Considerando a constante necessidade de desenvolvimento de novos compostos com potencial atividade anticâncer, o foco deste trabalho é a hibridização molecular entre a adenina, para a mimetização da interação das quinases com o substrato do ATP, e a 1,3-difenilureia, estrutura central do fármaco Sorafenibe (Figura 2).

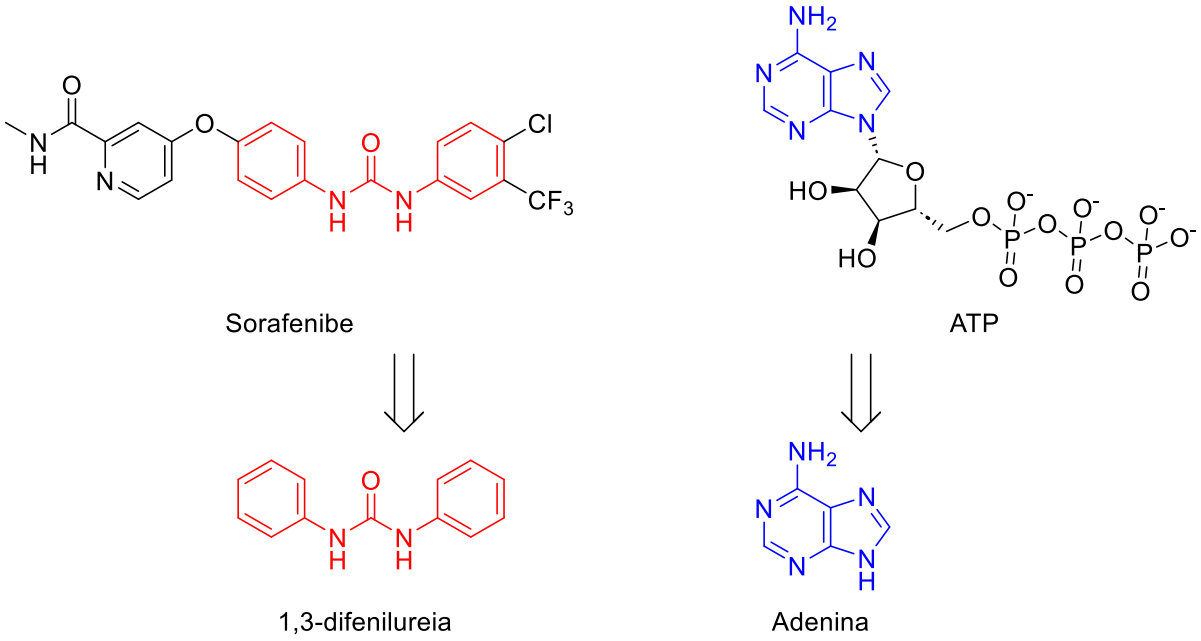


Figura 2. Estrutura dos núcleos 1,3-difenilureia e adenina.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Sintetizar compostos híbridos contendo as estruturas 1,3-difenilureia e adenina para potencial atividade antiproliferativa de células tumorais via inibição de quinases específicas.

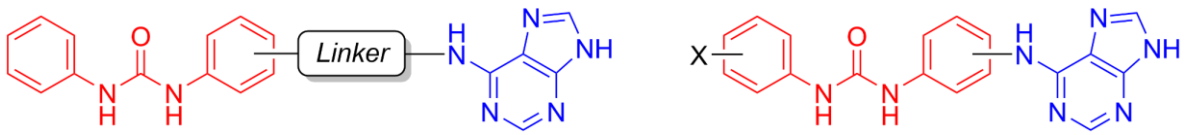


Figura 3. Estrutura geral dos compostos híbridos 1,3-difenilureia-adenina.

2.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar 1,3-difenilureias não-simétricas com grupo amino livre;
- Sintetizar compostos híbridos 1,3-difenilureia-adenina contendo substituintes na porção difenilureia;
- Sintetizar difenilureias contendo cadeia metilênica com grupo amino na extremidade;
- Sintetizar compostos híbridos 1,3-difenilureia-adenina com *linker* metilênico flexível entre os farmacóforos;
- Sintetizar derivados de adenina com grupo carboxilato;
- Sintetizar compostos híbridos 1,3-difenilureia-adenina com *linker* amida a partir de aminofenil-fenilureias e derivados carboxílicos de purina;
- Sintetizar híbrido 1,3-difenilureia-adenina com *linker* triazol;
- Avaliar a atividade antiproliferativa dos compostos híbridos em cultura de células tumorais *in vitro*.

3. Revisão Bibliográfica

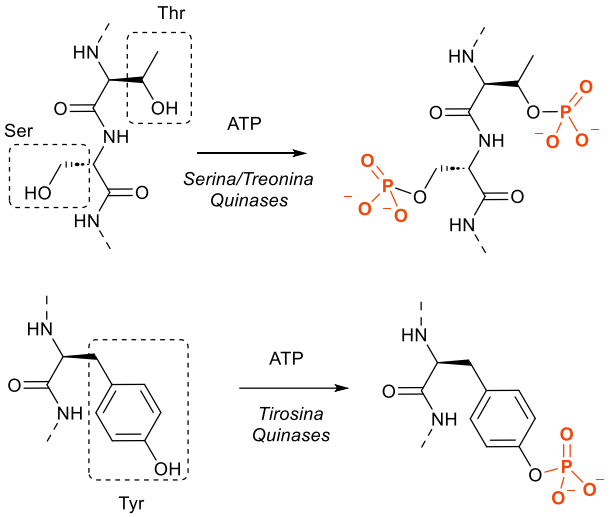
O câncer é um dos maiores problemas de saúde pública e econômicos modernos, representando quase 1 a cada 6 mortes (16,8%) mundialmente e é uma das principais barreiras contra o aumento da expectativa de vida. No ano de 2022, a organização mundial de saúde reportou que foram registradas aproximadamente 9,7 milhões de mortes causadas por essa doença além de 20 milhões de casos novos e é previsto que o número de casos novos aumente para 35 milhões de casos novos anuais em 2050.[6]

Essencialmente o câncer é caracterizado por células com crescimento e proliferação ininterrupto, além da ausência da morte celular programada devido à desregulação das rotas de sinalização desses processos. A origem dessa doença é uma série de mutações do material genético responsável por processos de divisão, crescimento, apoptose, reparo do DNA, resposta ao estresse, entre outros.[7] Grande parte dos processos celulares são regulados por proteínas quinases sinalizadoras. A alteração dos mecanismos que regulam a expressão gênica e a mutação dos genes que codificam essas enzimas são fatores no desenvolvimento de câncer. Além disso, mesmo em casos em que a mutação gênica não ocorre nas quinases, estas ainda são ativadas excessivamente na maioria dos tumores.[3] Assim, desde os anos 80 já se havia identificado que a inibição de quinases apresenta grande potencial por serem comumente a fonte ou participarem na sinalização desregulada.

3.1. Proteína-Quinases

As quinases constituem quase 2% do genoma humano, havendo aproximadamente 560 proteínas humanas desta classe identificadas, e estas participam na maioria dos processos biológicos importantes.[3,8] Por definição, as quinases são enzimas que catalisam a transferência do grupo fosfato terminal (gamma) do trifosfato de adenosina (ATP) para outro substrato, seja este lipídio, carboidrato ou outra proteína. O maior subgrupo e de maior relevância para oncologia contemporânea são proteína-quinases, ou seja, enzimas que tem como função a fosforilação de outra proteína.[9] Tipicamente o ataque nucleofílico é feito por um grupo hidroxila de um resíduo de aminoácido do substrato (Esquema 1), assim

as proteína-quinases são classificadas de acordo com esse resíduo, sendo a maioria serina/treonina-quinases e aproximadamente 2% sendo tirosina-quinases.[8] A importância dessa classe de enzimas é a participação das quinases nas diversas rotas de sinalização intracelular, incluindo cascatas de fosforilação relevantes à oncologia.



Esquema 1. Reação de fosforilação catalisada por proteína-quinases.

A regulação de proteínas via fosforilação é uma etapa integral nas vias de sinalização intracelular. Assim as quinases são essenciais nesse processo, recebendo sinais extracelulares através de proteínas integrais de membrana, como os com receptores tirosina-quinase, e propagando ou amplificando sinais com serina/treonina-quinases presentes no citoplasma. As proteína-quinases se organizam em cascatas, onde uma é ativada por outra que ativa outra, assim amplificando o sinal. Um exemplo é a via de proteína-quinases ativadas por mitógenos (MAPK) (Figura 4), uma cascata sinalizadora complexa e interconectada envolvida em processos como proliferação, desenvolvimento, crescimento e diferenciação celular.[10,11] Receptores tirosina-quinase como EGFR, PDGFR e FGFR são ativados por fatores de crescimento que se ligam no domínio extracelular do receptor. Assim, os receptores tirosina-quinase a catalisam a fosforilação no domínio intracelular levando a uma sequência de ativação de proteínas sinalizadoras intracelulares como RAS, Raf, MEK, ERK, etc até ativarem proteínas que causam uma alteração no comportamento celular.

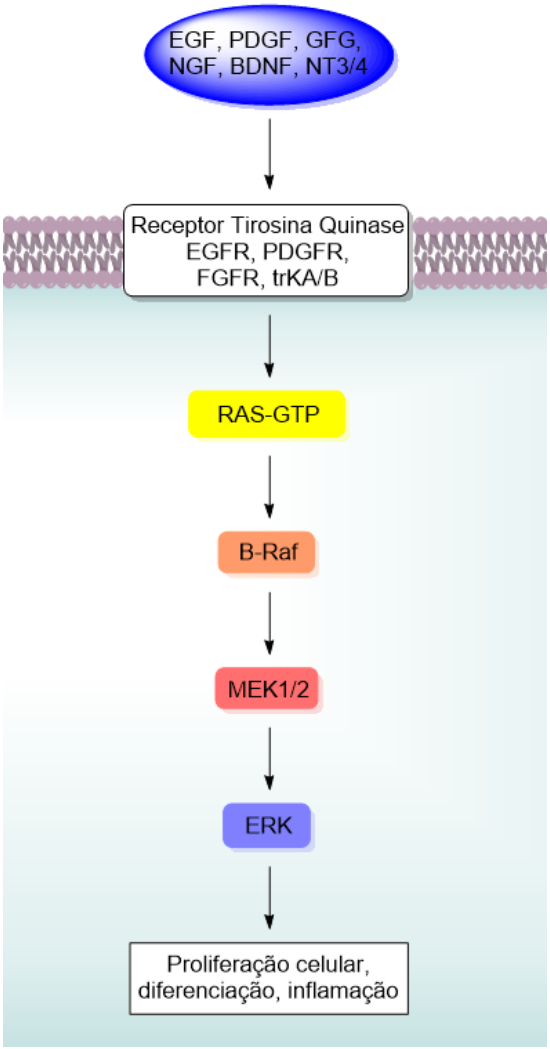


Figura 4. Diagrama da cascada sinalizadora MAPK simplificada.[10]

Entre as proteína-quinases observa-se uma alta conservação da estrutura do domínio catalítico destinado para o encaixe do substrato ATP. Em 1991 foi descrita por Knighton *et al* a estrutura da subunidade catalítica da proteína-quinase-A (PKA) co-cristalizada com ATP e foram identificadas as principais regiões de importância para estrutura tridimensional e para interação com o ligante.[12] A estrutura desta subunidade consiste em dois lóbulos conectados por uma sequência peptídica conhecida como 'alça' (Figura 5a, destacada em vermelho); o lóbulo N-terminal menor consistindo de 5 folhas beta (β1-β5, em azul) e uma alfa hélice denominada αC; e o C-terminal maior contendo majoritariamente alfa hélices.

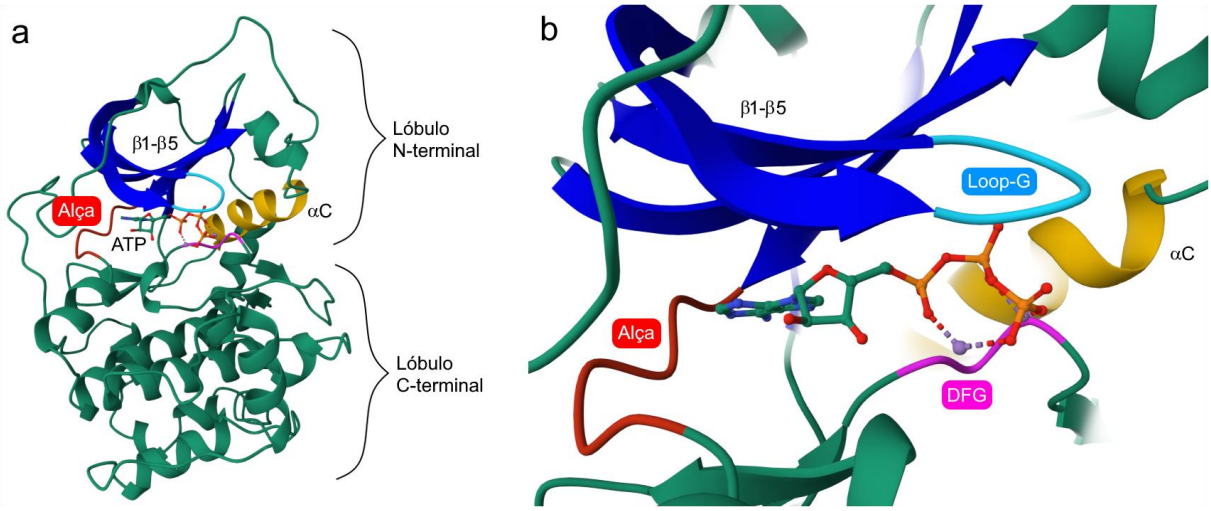


Figura 5. Estrutura cristalina da subunidade catalítica do complexo proteína-quinase A com ATP e Mg^{2+} PDB: 1ATP. **a** - Estrutura inteira com as regiões relevantes ressaltadas. **b** - Ampliação no sítio de ligação do ATP.

O espaço entre os lóbulos é onde o ATP se encaixa e ocorre a transferência do fosfato (Figura 5b). As principais interações intermoleculares envolvidas são ligações de hidrogênio entre a alça (vermelho) e o núcleo adenina do ATP, entre os fosfatos e a estrutura Loop-G (azul-claro) que conecta as folhas β1 e β2. Os grupamentos fosfatos também se coordenam com os co-fatores Mg^{2+} (violeta) que interagem com a proteína via resíduo carboxilato como o aspartato contido na tríade DFG (rosa). O DFG é uma sequência de aspartato-fenilalanina-glicina preservada nas proteína-quinases que tem grande importância na regulação destas enzimas. O DFG faz parte do segmento de ativação assim, quando a quinase está ativada, ele fica fixo apontando para dentro podendo coordenar com o cofator Mg^{2+}, enquanto para a quinase desativada o DFG fica flexível e perde essa coordenação. O conhecimento dos principais fatores estruturais do sítio de ligação auxiliam no planejamento de compostos inibidores de quinase para o tratamento de doenças que envolvem a desregulação dessas, sendo o câncer o de maior relevância.

3.2. Inibidores de Quinase

Duas décadas após o reconhecimento de proteína-quinases como alvo interessante, foi aprovado o fármaco Imatinibe (Gleevec®) pelo FDA em 2001 para o tratamento de leucemia mielóide crônica. Antes do Imatinibe, a leucemia mielóide crônica apresentava uma mortalidade entre 10% e 20% por ano após diagnóstico,

enquanto após a aprovação a mortalidade anual tornou-se entre 1% e 2% com uma taxa de sobrevivência de acima de 80% após 10 anos, valor similar ao grupo de controle sem leucemia.[14] O sucesso desse primeiro inibidor de quinase anticâncer aprovado é devido à inibição da proteína Bcr-Abl que é característica da leucemia mielóide crônica. Esta quinase é uma quimera causada pela fusão dos genes responsáveis pelas proteínas Bcr e Abl1 no chamado 'cromossomo filadélfia' (Figura 6), assim a inibição desta foi altamente eficaz em proporcionar um tratamento seletivo.[15]

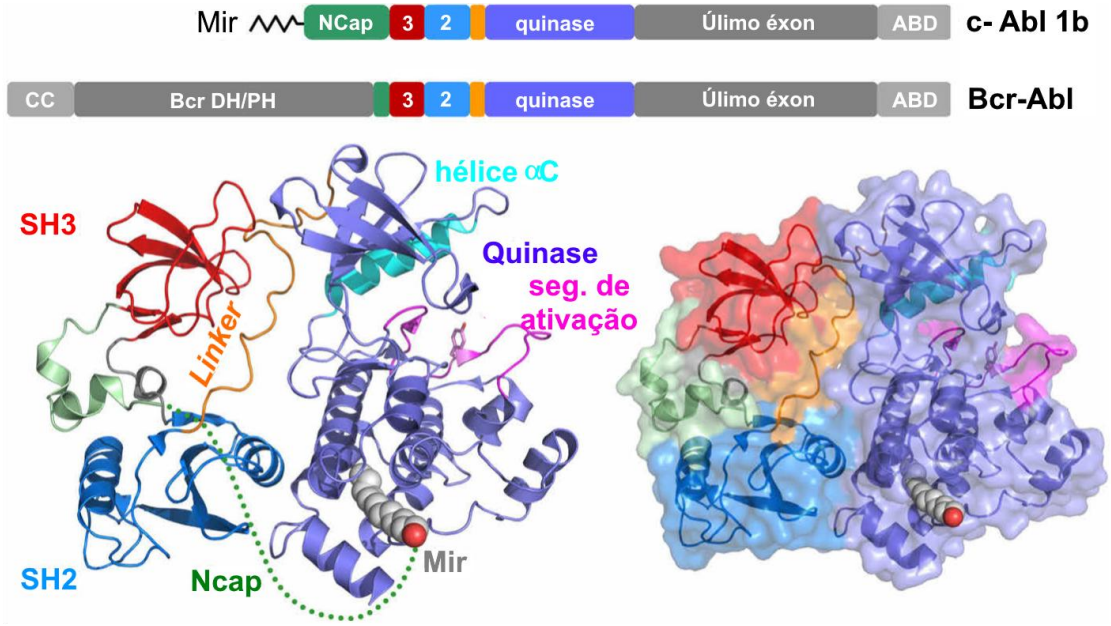


Figura 6. Comparação da estrutura de Abl e Bcr-Abl (superior). Estrutura cristalina da proteína Abl 1b com suas principais regiões destacadas (inferior). Adaptado da Panjarian *et al*.[6]

Esse tipo de tratamento de precisão via inibição de proteínas diretamente envolvidas no câncer é o que define a terapia-alvo e os inibidores de proteína-quinases foram revolucionários neste contexto.[17] Assim, nos anos seguintes à aprovação do Imatinibe foram aprovados inibidores de EGFR: Gefitinibe e Erlotinibe em 2002 e 2004, inibidores do Bcr-Abl de segunda geração: Dasatinibe e Nilotinibe em 2006 e 2007, inibidores multi-alvo como Sorafenibe em 2005 (Figura 7).[3] Em total até 2025 foram aprovados 75 inibidores de quinase para o tratamento de câncer com múltiplos outros em fases clínicas avançadas.[4]

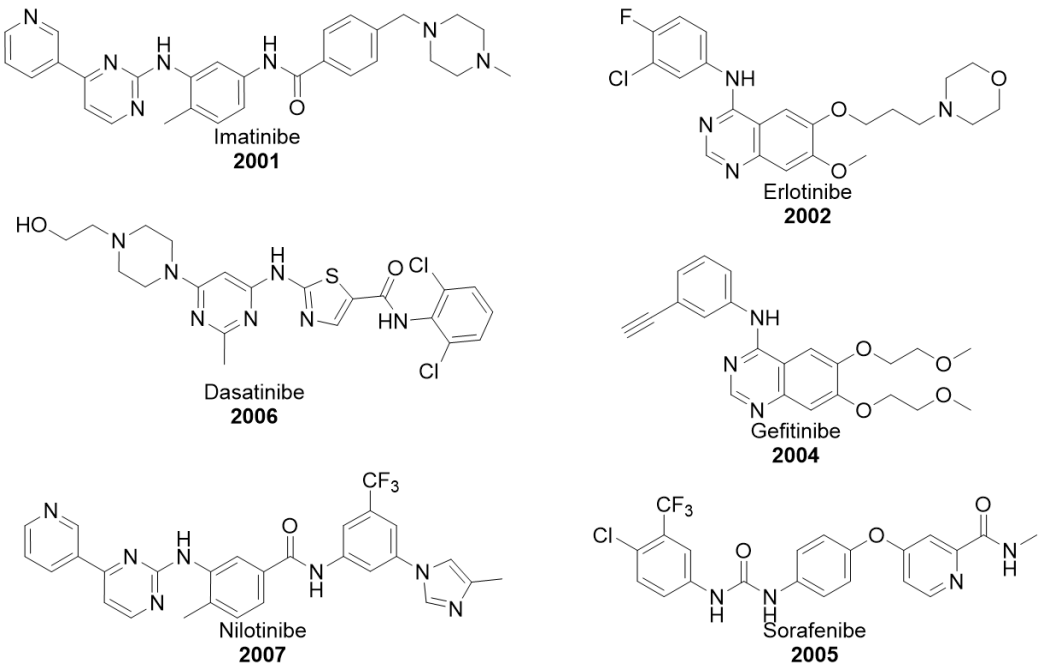


Figura 7. Estruturas dos primeiros inibidores de quinase aprovados pela FDA.

De foram geral, os inibidores de quinases desenvolvidos são inibidores ATP-competitivos, ou seja, o seu mecanismo de ação consiste em ocupar o sítio de ligação da quinase-alvo. Assim, o *design* molecular procura mimetizar as principais interações intermoleculares do ATP nas quinases como com as regiões de alça, Loop-G e DGF observadas anteriormente (Figura 5); além de proporcionar novas interações com bolsos lipofílicos próximos. O principal núcleo dos inibidores é tipicamente um heterocíclico nitrogenado aromático para proporcionar ligações de hidrogênio com a região da alça, similarmente à estrutura da adenina do ATP. Observam-se então estruturas como amino-pirimidina, quinazolina, pirrolo-pirimidina, quinolina, entre outros como bioisósteros da adenina (Figura 8). Além da região da alça, alguns inibidores utilizam de um bolso lipofílico disponível quando o DFG está na conformação desativada, como observado com as estruturas benzamida do Imatinibe, anilida no Dasatinibe e Nilotinibe, e difenilureia no Sorafenibe (Figura 7). Essa região apresenta maior variedade estrutural entre as quinases, assim inibidores que utilizam desse bolso lipofílico tendem a apresentar maior seletividade ao alvo desejado.[3]

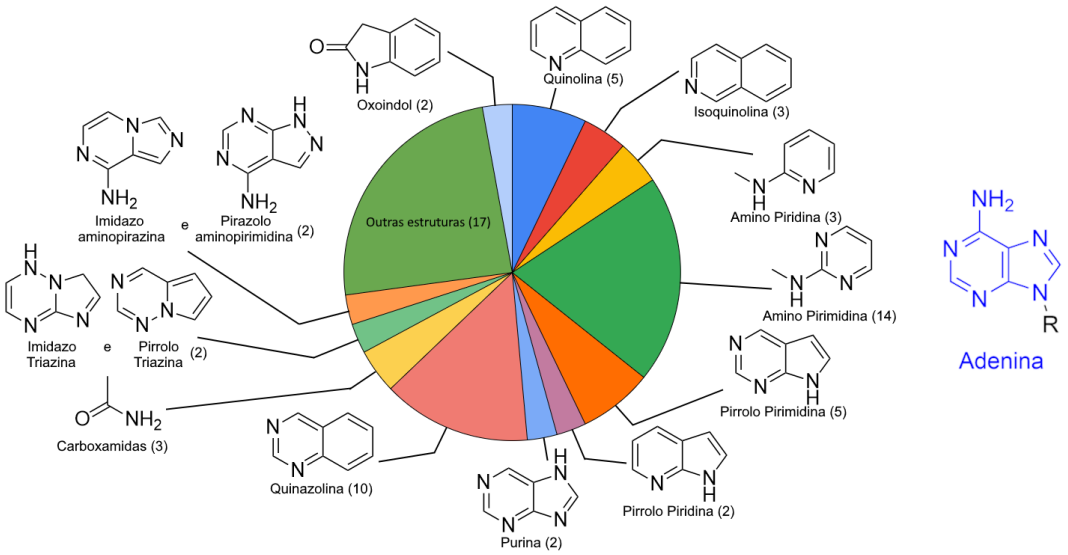


Figura 8. Estruturas miméticas da adenina utilizada em inibidores de quinase aprovados até o ano de 2022. Adaptado de Attwood *et al*.[13]

Apesar da eficácia observada dos inibidores de quinase, um dos grandes desafios na sua utilização na oncologia é o desenvolvimento de resistência. Pela natureza da doença, as células cancerígenas podem desenvolver mutações nas quinases-alvo, diminuindo assim a potência dos inibidores, um problema frequentemente encontrado com os inibidores de EGFR.[18] Isto é um dos principais fatores que causam que o EGFR seja o alvo mais frequente entre os inibidores de quinase desenvolvidos. Outro mecanismo de resistência é a ativação compensatória de rotas de sinalização alternativas, já que as cascatas de quinases tendem a ser complexas e interconectadas. Assim a inibição se torna irrelevante devido à ativação do mesmo efeito celular por outra rota de sinalização. Uma estratégia para combater a resistência é a polifarmacologia, ou seja, a interação simultânea com múltiplos alvos terapêuticos, prevenindo assim que uma rota de sinalização prevaleça sobre outra além de aumentar a potência efetiva.[2] Essa propriedade já foi observada no fármaco Sorafenibe (Nexavar®) e foi um dos fatores que contribuiu para sua eficácia no tratamento de carcinoma hepatocelular, renal e de tireoide.[19]

3.3. Núcleo 1,3-difenilureia

A principal característica estrutural do Sorafenibe é a 1,3-difenilureia, um grupo farmacofórico que foi identificado como essencial na sua forte inibição da quinase Raf1.[19] O Sorafenibe apresenta o benefício da polifarmacologia assim, além da atividade de inibição das isoformas da quinase Raf1 envolvidas na cascata MAPK, o Sorafenibe também é um inibidor da vários receptores tirosina-quinase como VEGFR1/2/3, PDGFRβ, FGFR1 envolvidos na angiogênese, o processo de criação de vasos sanguíneos. A inibição da vascularização limita a obtenção de nutrientes para células tumorais via vasos sanguíneos, assim impedindo seu crescimento e multiplicação. Esta estratégia é utilizada naturalmente pelo organismo. A proteína p53 conhecida como o 'Guardião do Genoma' inibe o ciclo celular e induz apoptose em células sob alto estresse ou com dano no seu DNA, como células de câncer. Além disso, p53 também é um regulador da angiogênese, interrompendo esse processo ao detectar neoplasias.[20]

Seguindo a aprovação do Sorafenibe, diversos inibidores de quinases derivados contendo ureias 1,3-dissubstituídas foram aprovados pela FDA: Regorafenibe, Lenvatinibe, Ripretinibe, Tivozanibe e Quizartinibe (Figura 9), com mais 8 entidades químicas em fases clínicas atualmente. Inibidores de quinases contendo ureias 1,3-dissubstuidas são, em sua maioria, inibidores multi-alvo de tirosina-quinases envolvidos na angiogênese e na tumorigênese. Essa estrutura proporciona interações intermoleculares estratégicas no sítio de ligação das proteínas quinases.[20]

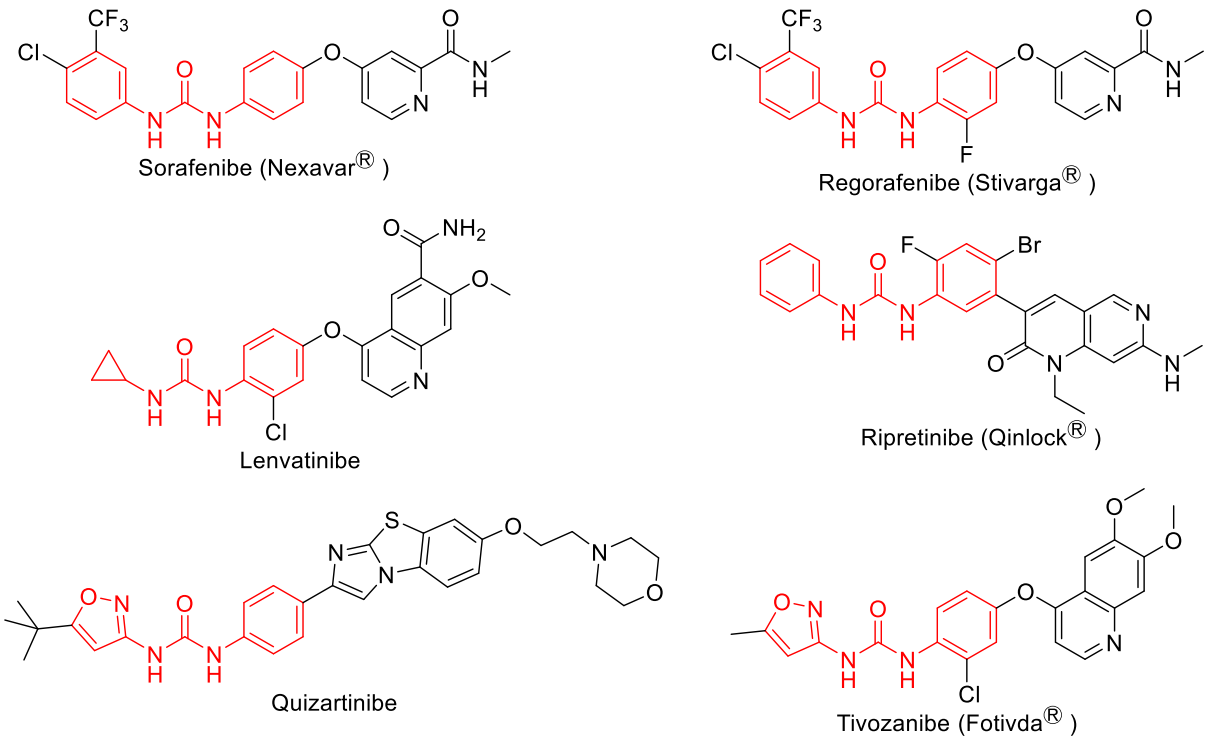
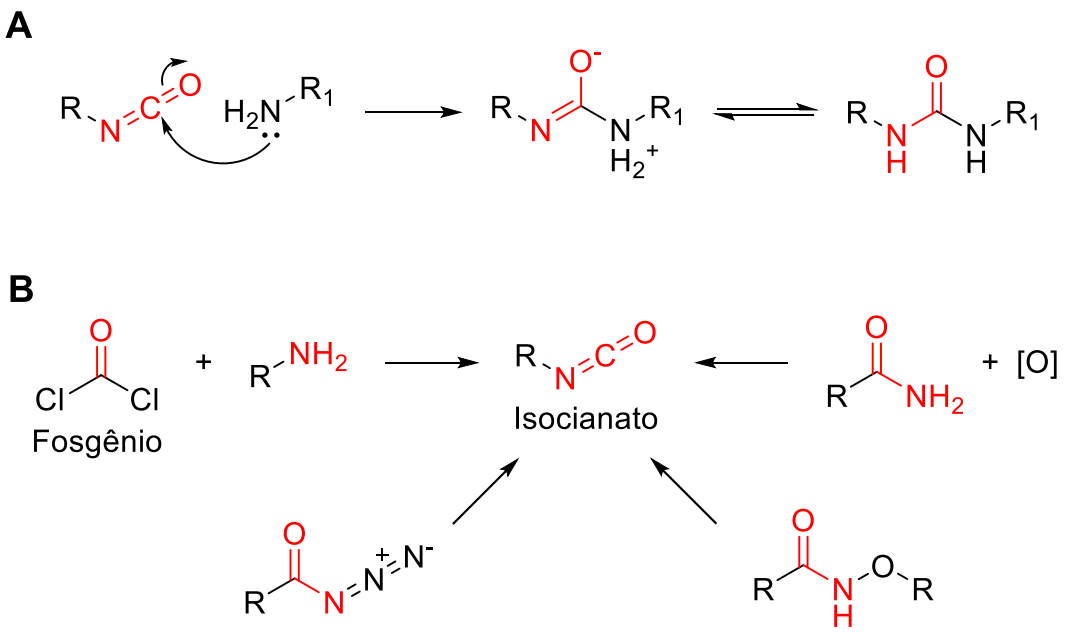


Figura 9. Inibidores de quinase aprovados pelo FDA contendo o farmacóforo ureia 1,3-dissubstituída.

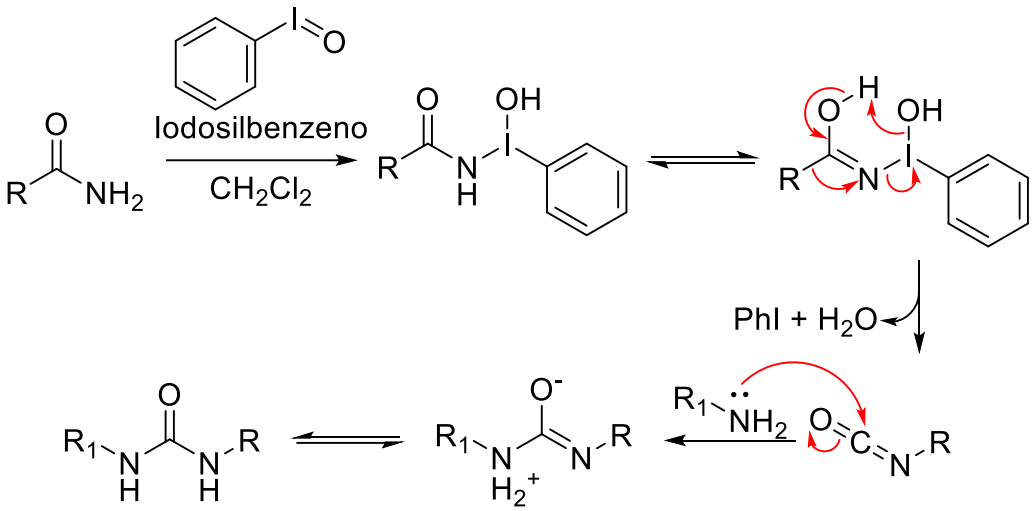
Considerando a relevância do farmacóforo 1,3-difenilureia presente no sorafenibe e a utilidade farmacológica geral de ureias 1,3-dissubstuidas, diversas metodologias sintéticas para obtenção desses grupos foram desenvolvidas. As estratégias de obtenção de ureias são tipicamente similares àquelas para amidas, utilizando uma amina e um reagente carbonílico eletrofílico. Neste caso são amplamente utilizados os isocianatos orgânicos, compostos contendo o grupo R-NCO eletrofílico no carbono sp central (Esquema 2A). A obtenção e utilidade sintética de isocianatos já eram bem conhecidas há mais de 60 anos principalmente após a descoberta de poliuretanos em 1937.[21] Apesar da sua conhecida toxicidade, hoje em dia isocianatos ainda são amplamente utilizados industrialmente para produção de polímeros, agroquímicos e fármacos.[22]



Esquema 2. A) Formação de ureias a partir de isocianato. B) principais rotas de síntese de isocianatos orgânicos.

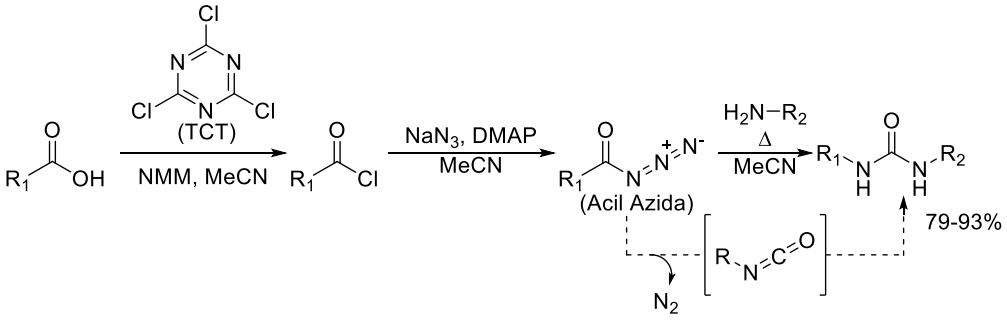
A rota principal para síntese de isocianatos, especialmente para uso industrial de produção de polímeros, é a utilização de fosgênio (Esquema 2B, à esquerda). Contudo, fosgênio é um gás altamente tóxico que libera cloreto de hidrogênio corrosivo ao reagir, assim estratégias alternativas são de grande interesse inclusive pela possibilidade de formação *in situ* de isocianatos. As alternativas consistem em rearranjos utilizando derivados de amidas primárias com um grupo de saída ligado a N constituindo um equivalente de nitreno (Esquema 2B).

O rearranjo de Hofmann utiliza um agente oxidante para halogenar a posição N da amida para permitir o rearranjo. Originalmente a reação utilizava meio aquoso básico para formação da amina primária, contudo o intermediário isocianato pode ser capturado *in situ* por um nucleófilo presente. Para isto, Liu, Wang e Hu utilizaram iodosilbenzeno para ativação da amida e aminas ou álcoois como nucleófilos para formar ureias e carbamatos (Esquema 3).[23] O reagente de iodo (III) efetivamente oxida a amida, formando um grupo de saída forte, promovendo o rearranjo 1,2 e formação do isocianato que é rapidamente atacado. Nucleófilos utilizados incluem aminas primárias, secundárias e aromáticas para formação de ureias e alcoois primários, secundários e terciários. Utilizando o rearranjo de Hofmann, os autores obtiveram rendimentos entre 60 e 90% em geral.



Esquema 3. Mecanismo simplificado do rearranjo de Hofmann seguido de adição de amina, seguindo a rota sintética de Liu, Wang e Hu.[23]

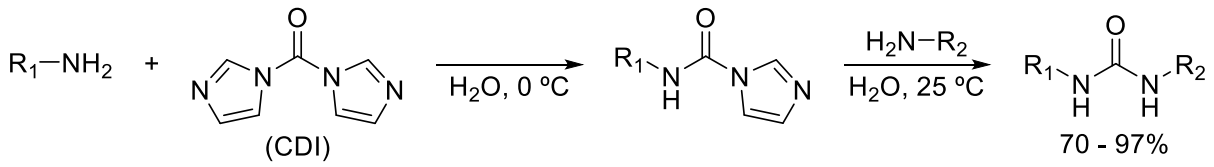
Outra reação clássica similar é o rearranjo de Curtius, que utiliza acil azidas para formar isocianatos. Sob aquecimento, em uma etapa concertada, acil azidas sofrem rearranjo 1,2 e liberam N_2, assim esta reação é ideal para formação *in situ* de isocianatos. O rearranjo de Curtius foi aplicado por Ahmed *et al* para sintetizar ureias, carbamatos, amidas, tiocarbamatos e aminas a partir de ácidos carboxílicos (Esquema 4).[24] Para formação *in situ* do intermediário acil azida, os autores primeiramente utilizaram triclorotriazina (TCT) para ativar o ácido carboxílico para o ataque sequencial de azida de sódio. A terceira etapa foi simultaneamente a adição do nucleófilo e o aquecimento, havendo assim a liberação de N_2, o rearranjo 1,2 e adição do nucleófilo no isocianato formado. A sequência reacional foi conduzida em cascata sob atmosfera aberta e permitiu a obtenção de diversas ureias 1,3 dissubstituídas com rendimentos entre 73 e 93%.



Esquema 4. Rota sintética de Ahmed *et al* para síntese de ureias via rearranjo de Curtius.[24]

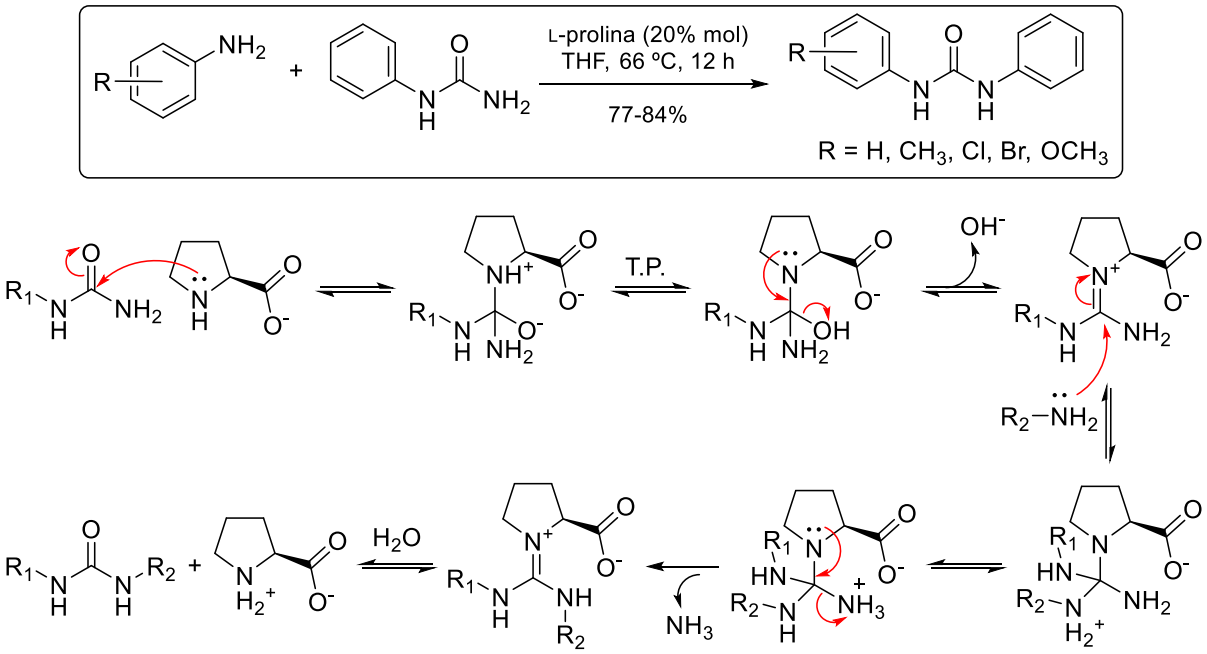
Os isocianatos, apesar de sua utilidade sintética, sofrem de sensibilidade a umidade e de toxicidade considerável, mesmo em metodologias de geração e

consumo *in situ*. Assim, outras reações também foram investigadas para a síntese de ureias dissubstituídas, como a funcionalização de ureias monossubstituídas ou diferentes eletrófilos carbonílicos. O *N*,*N*'-carbonildiimidazol (CDI), embora também seja sensível a umidade, é um reagente suave e mais acessível. Tipicamente CDI é utilizado sob solventes orgânicos anidros como diclorometano, THF e acetonitrila. No entanto, Padiya *et al* utilizaram CDI em meio aquoso para obter ureias, carbamatos e tiocarbamatos (Esquema 5).[25] Os autores reportam que a baixas temperaturas, o ataque de aminas no CDI é mais rápido que a sua hidrólise e que o intermediário imidazolil-carboxamida *N*-substituída tipicamente precipita. Assim foi possível, em sequência, adicionar outro nucleófilo e aquecer o meio até temperatura ambiente para obter com sucesso ureias 1,3-dissubstituídas com rendimentos de 70 a 97%.



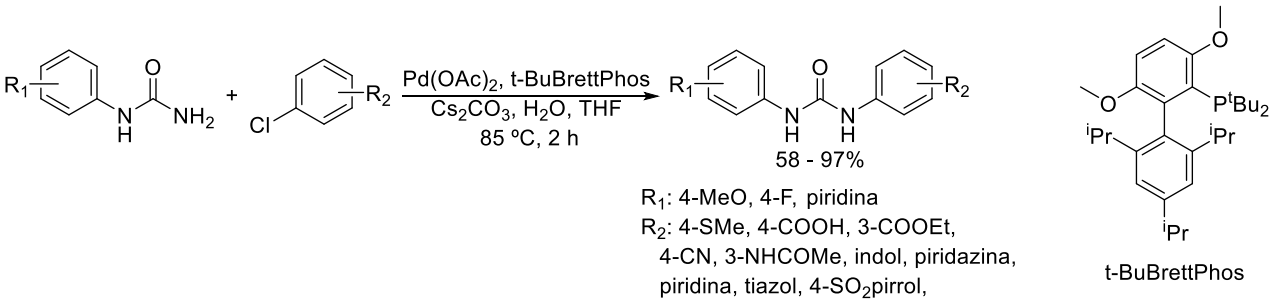
Esquema 5. Rota sintética de Padiya *et al* para síntese de ureias 1,3-dissubstituídas utilizando CDI.[25]

Partindo de compostos com o grupo ureia já formado, podem ser obtidos compostos ureia 1,3-dissubstituídos não-simétricos de maneiras mais ambientalmente sustentáveis e evitando reagentes altamente tóxicos. Isto foi demonstrado com o uso de L-prolina como um catalisador atóxico e barato para reações de transamidação de monofenilureias com anilinas.[26] Assim, foram conduzidas reações de substituição do grupo amino da *N*-fenilureia com aminas primárias, secundárias e aromáticas, obtendo 1,3-difenilureias com rendimentos entre 77 e 84% (Esquema 6). O catalisador L-prolina permite a formação de imina para facilitar ataques nucleofílicos. Primeiramente a L-prolina ataca a monofenilureia formando uma guanidina catiônica que em sequência pode ser atacada pela amina presente. Após eliminação de amônia, a L-prolina é regenerada pela hidrólise do intermediário guanidina e o produto é formado.



Esquema 6. Síntese de 1,3-difenilureia via transamidação de Nagarkar e Telvekar, e mecanismo simplificado de transamidação catalisada por L-prolina.[26]

Além de substituição nucleofílica na carbonila, os compostos ureia podem ser utilizados como *N*-nucleófilos fracos para incorporar substituintes. Exemplos com ótima aplicação industrial são reações de acoplamento, como pela adaptação do acoplamento de Buchwald-Hartwig, tipicamente útil para anilinas ou outros N-nucleófilos fracos.[27] Utilizando catalisador de Pd(0) com ligante fosfina e Cs_2CO_3 como base, os autores obtiveram um ótimo escopo de monofenilureias com rendimentos entre 60 e 94%, além de 1,3-difenilureias não-simétricas com rendimentos entre 58 e 97% (Esquema 7).



Esquema 7. Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas via acoplamento de Buchwald-Hartwig.[27]

Metodologias sintéticas para ureias 1,3-dissubstituidas, como as apresentadas anteriormente, permitem fácil obtenção de compostos potencialmente bioativos, principalmente para inibidores de quinase como identificado no Sorafenibe. Similarmente, outros núcleos de interesse para inibição de quinase incluem a estrutura adenina devido à presença desse bicíclico nitrogenado no ATP, o substrato natural das quinases.

3.4. Núcleo Adenina

A base purínica adenina é uma das bases nitrogenadas encontradas no material genético, contida na estrutura do nucleosídeo adenosina. Os nucleotídeos de adenosina tem como função principal a transferência de grupos fosfatos como uma forma de 'transferência de energia' ou para ativação/desativação de proteínas. As quinases utilizam o nucleotídeo trifosfato de adenosina (ATP) para isto, assim compostos desenvolvidos como inibidores dessa classe de enzimas tipicamente tem um *design* molecular inspirado na estrutura do ATP. Compostos que contêm adenina em sua estrutura foram efetivos na inibição de quinases, como Seliciclibe e Fadraciclibe como inibidores de quinases dependentes de ciclina (CDKs), Mavelertinibe para EGFR, e Duvelisibe (Copiktra®) e Idelalisibe (Zydelig®) como inibidores de fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) aprovados pela FDA (Figura 10).

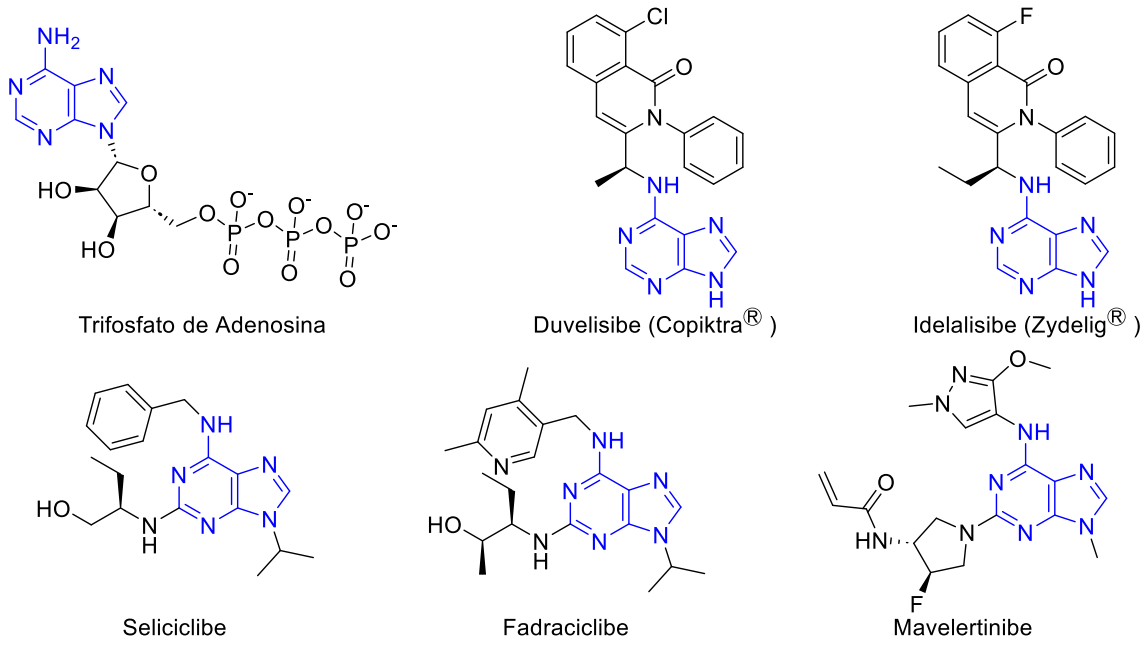


Figura 10. Estrutura do ATP e de inibidores de quinase contendo adenina.

O fármaco Idelalisibe foi o primeiro inibidor de lipídio-quinase aprovado em 2014 para múltiplos linfomas e, junto com Duvelisibe aprovado em 2018 também para linfomas, são inibidores de PI3K.[13] Uma lipídio-quinase envolvida na cascata PI3K–AKT–mTOR, uma rota desregulada em vários cânceres. Enquanto que os compostos Seliciclibe e Fadraciclibe apresentam inibição de quinases dependentes de Ciclina (CDK), especificamente CDK2, CDK7 e CDK9. As CDKs grupo de quinases tem função de regular a progressão do ciclo celular pelo controle do avanço das etapas da duplicação celular. Pela natureza do câncer, as CDKs são frequentemente superexpressadas, assim sendo um alvo de grande interesse para a oncologia.[9]

Derivados de adenina já eram reconhecidos como potenciais inibidores de quinases desde os anos 80, com os compostos 6-dimetilaminopurina e isopenteniladenina sendo utilizados na época como ‘inibidores de quinase não-específicos’ devido a sua baixa seletividade (Figura 11).[28] Na década seguinte identificou-se a Olomoucina como um inibidor relativamente seletivo de CDK1 e, pela compreensão do seu modo de ligação, foram desenvolvidos diversos inibidores de CDKs derivados de adeninas. Nesta descoberta foi reconhecida a importância do padrão de purinas-2,6,9-trissubstituídas para a seletividade e potência, contudo estudos recentes foram mais conclusivos. Em um estudo de relação estrutura-atividade por Coxon *et al*, encontrou-se que substituintes volumosos na posição 6 da purina proporcionaram seletividade ao alvo CDK2 e que substituintes na posição 2 com um grupo polar aumentou a potência de inibição.[29] Além disso, identificou-se que heterociclos análogos à purina foram menos potentes na inibição de CDK2, demonstrando a importância no núcleo.

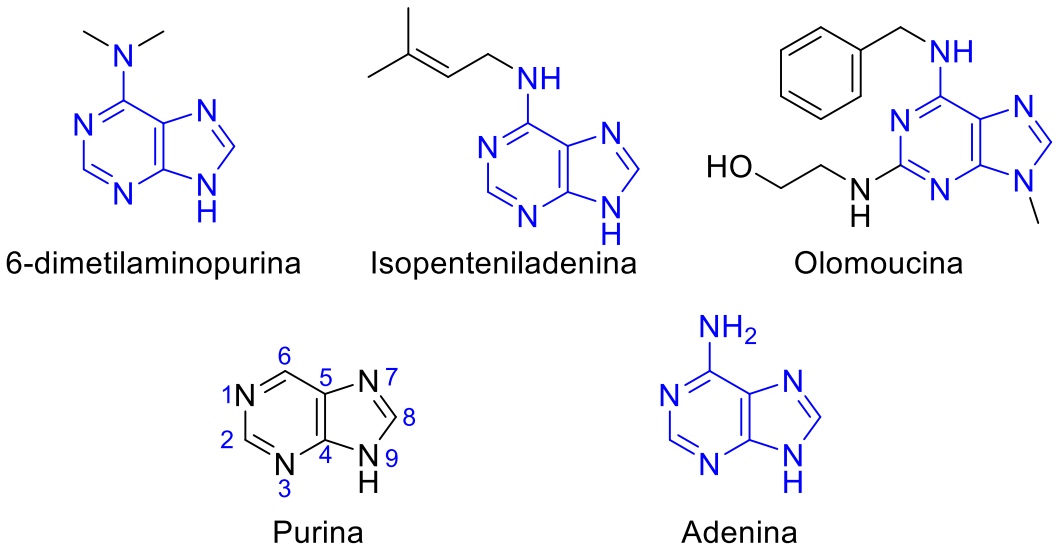
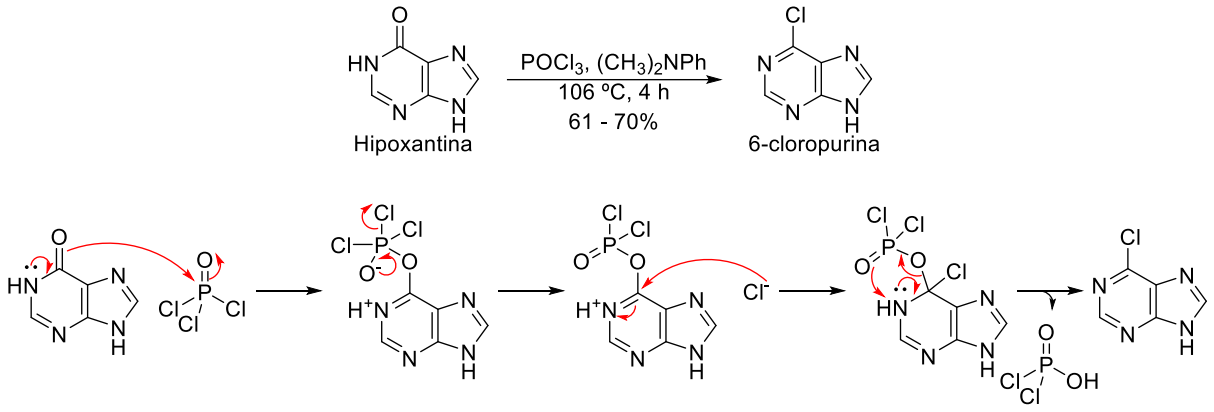


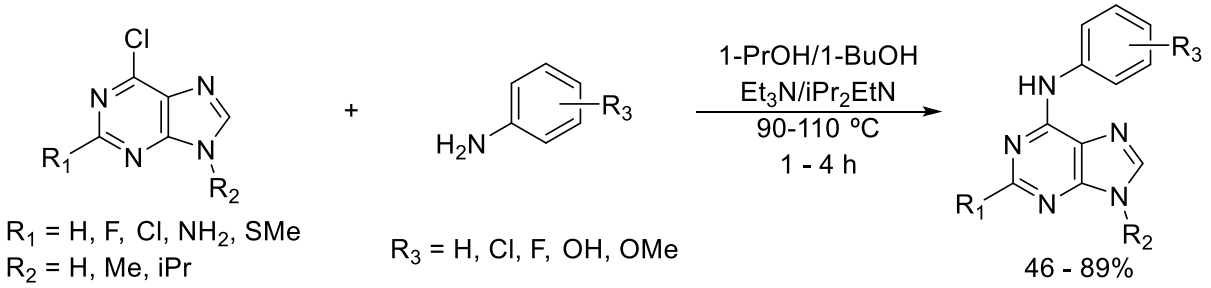
Figura 11. Primeiros compostos derivados de adenina identificados como inibidores de quinases.[28]

Considerando a relevância biológica de compostos purínicos no meio biológico como produtos naturais e do potencial de derivados como inibidores de quinase, a construção e funcionalização sintética de purinas e de adeninas (6-aminopurinas) (Figura 11) é de grande interesse. Enquanto que a construção do núcleo bicíclico da adenina foi descrito múltiplas vezes na literatura,[30] é possível partir de compostos purínicos disponíveis comercialmente e incorporar os substituintes desejados. Um composto purínico comercial é o produto natural hipoxantina que pode ser transformada em 6-cloropurina (Esquema 8), um bom reagente para reações de substituição nucleofílica aromática devido ao seu anel pirimidínico retirador de elétrons. No procedimento de Bendich, Russel e Fox, foi utilizado cloreto de fosforila ($POCl_3$) como agente clorante e dimetilanilina como base para capturar ácidos liberados pela reação, sendo obtido o produto com rendimento entre 61 e 70%.[31] Esta transformação é efetiva pois há formação de ligação P-O forte, transformando o grupo oxo da hipoxantina em um ótimo grupo de saída e permitindo que o cloreto liberado faça uma substituição nucleofílica aromática no anel pirimidina (Esquema 8).



Esquema 8. Mecanismo da reação de cloração de hipoxantina descrita por Bendich, Russel e Fox.[31]

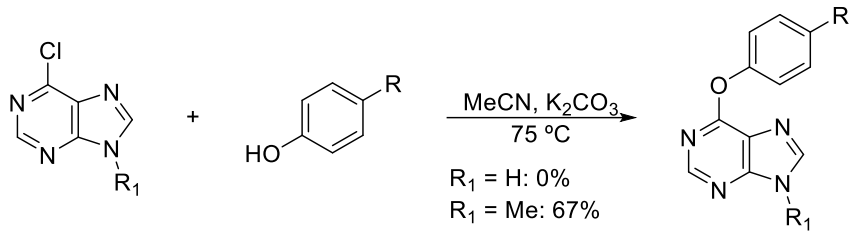
Partindo do reagente 6-cloropurina podem ser sintetizados derivados de adenina N-substituídos via reação de substituição nucleofílica aromática. Procedimentos de literatura tipicamente utilizam solvente alcoólico, como no procedimento de Zatloukal *et al*, onde foram utilizados n-propanol e n-butanol para promover reações de substituição entre diversas cloropurinas e anilinas (Esquema 9).[32] Os autores obtiveram a maioria dos produtos com rendimentos de 60 a 90% mesmo utilizando cloropurinas com halogênios na outra posição eletrofílica do anel pirimidina. Apesar de serem utilizadas as bases orgânicas trietilamina e diisopropilamina, as reações sem base também foram equivalentes em rendimento e em tempo reacional relativamente curto de 1 a 4 horas.



Esquema 9. Rota sintética de Zatloukal *et al* para reação de substituição nucleofílica aromática em cloropurinas com anilinas.[32]

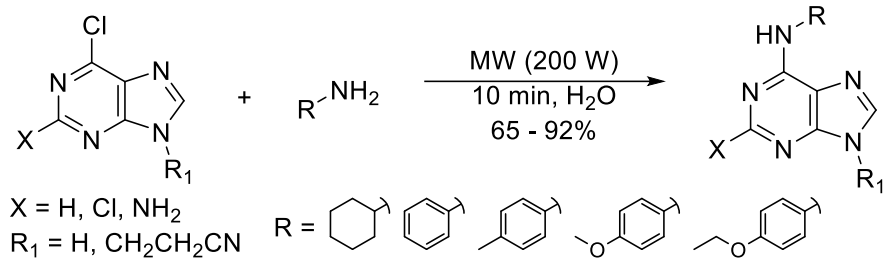
Além da obtenção de 6-anilino-purinas, reagentes como a 6-cloropurina podem sofrer substituição frente a outros nucleófilos. Isto foi feito por Wang *et al* utilizando fenóis na síntese de compostos com atividade antiviral.[33] A reação foi conduzida em solventes orgânicos como DMF, acetona, metanol, acetonitrila e DMSO e foram utilizadas bases inorgânicas como K_2CO_3 e KOH. Contudo a reação não obteve sucesso em nenhuma condição mesmo sob altas temperaturas via

irradiação de micro-ondas (Esquema 10). Somente quando foi utilizado o reagente 6-cloro-9-metilpurina foi possível obter o produto de substituição nucleofílica aromática, demonstrando que o hidrogênio N-H imidazólico foi prejudicial para a reação possivelmente pela desprotonação desse. Os autores então otimizaram a reação e obtiveram um rendimento de 67% com as condições de acetonitrila a 75 ºC e K_2CO_3 como base.



Esquema 10. Reação de substituição nucleofílica aromática entre cloropurina e fenóis descrita por Wang *et al*.[33]

Compostos purínicos simples apresentam também o benefício de solubilidade em meio aquoso em altas temperaturas, sendo assim podem ser conduzidas reações em condições mais ambientalmente benignas e econômicas. Dessa forma, visando otimizar essas reações de substituição nucleofílica aromática de anilinas em 6-cloropurina, Qu *et al* encontraram que, ao conduzir esta substituição em meio aquoso, foram obtidos rendimentos próximos de 80% enquanto que ao utilizar solventes orgânicos como DMF, etanol e butanol, foram obtidos rendimentos entre 50 e 70%.[34] Além do mais, ao testar a reação sob irradiação de micro-ondas foi possível sintetizar o produto desejado com rendimentos comparáveis e em tempos reacionais drasticamente menores (Esquema 11). Os autores observaram rendimentos entre 80 e 90% com apenas 8 minutos de irradiação de micro-ondas, uma diminuição considerável do tempo das 18 horas necessárias originalmente. Além disso, a metodologia síntese foi robusta para purinas 9-alquiladas, 2,6-dicloropurina e 2-amino-6-cloropurina (65 - 78%).



Esquema 11. Rota sintética de Qu *et al* para reação de substituição nucleofílica aromática em meio aquoso sob irradiação de micro-ondas.[34]

As estratégias sintéticas de obtenção de adeninas permite o desenvolvimento de novos inibidores de quinase como possíveis agente antitumorais, contudo, apesar da efetividade dos inibidores de quinase anticâncer, o desenvolvimento de resistência é um risco constante e uma das principais limitações desses em tratamentos. Assim inibidores de segunda geração tem como principal foco o tratamento após o desenvolvimento de resistência a outros inibidores, ou tratamentos que minimizam resistência como terapias combinatórias ou inibidores multi-alvo. A inibição de diversas quinases diferentes por um composto é principalmente efetiva contra receptores tirosina-quinase pois previne a ativação de rotas alternativas, um dos mecanismos de resistência.

3.5. Hibridização Molecular

A polifarmacologia, que descreve drogas e aplicações medicinais que afetam múltiplos alvos, é um dos focos modernos da química medicinal, além de ser observado frequentemente em drogas já previamente estabelecidas.[35] Assim, visando os benefícios da polifarmacologia, a obtenção de compostos com atividade biológica que juntam estruturas com atividade conhecida é de potencial interesse para o tratamento de doenças multifuncionais, como o câncer.

A hibridização molecular é um conceito de *design* molecular que visa o benefício da polifarmacologia. A estratégia utiliza estruturas com comprovada atividade biológica, seja originários de produtos naturais ou de outros fármacos aprovados, e conecta os farmacóforos formando uma entidade química com potencial atividade inibitória de múltiplos alvos.[36] Além da polifarmacologia, a hibridização também tende a ter o benefício de efeitos sinérgicos onde o híbrido

molecular apresenta maior potência de inibição que os compostos de inspiração para seu *design*, propriedades farmacocinéticas mais favoráveis, e uma melhor seletividade farmacodinâmica.[5] Estruturalmente, a hibridização molecular segue duas principais estratégias: hibridização via integração direta ou hibridização via um grupo conector (Figura 12). A hibridização pode ser direta onde as estruturas dos farmacóforos são preservadas e conectadas diretas sem incorporação de um grupo entre os núcleos, ou via fusão onde uma quimera química é formada ao mesclar os farmacóforos. E alternativamente há a hibridização com *linker*, um grupo que conecta os dois núcleos, que pode ser uma cadeia simples ou um grupo funcional maior podendo atuar como um terceiro farmacóforo.

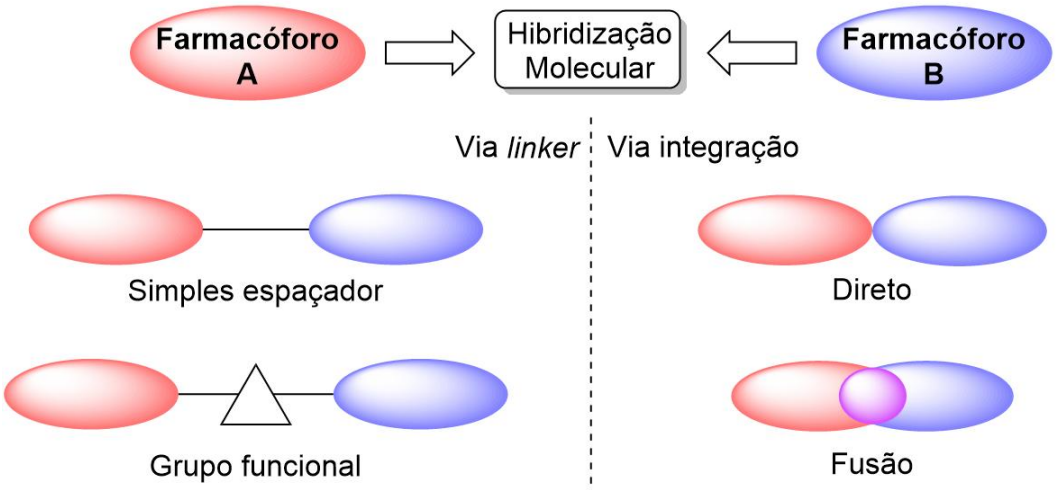


Figura 12. Representação das principais estratégias de hibridização molecular.

Além da conexão dos farmacóforos, os *linkers* também proporcionam propriedades adicionais dependendo da escolha de estrutura. Espaçadores simples, como cadeias metilênicas por exemplo, são mais flexíveis e não proporcionam diretamente novas interações intermoleculares significativas no sítio ativo alvo. Enquanto que *linkers* compostos por grupos funcionais, como um anel aromático ou um grupo nitrogenado, tendem a proporcionar novas conexões com alvos biológicos com ligações de hidrogênio ou interações tipo *pi-stacking*.

Na química medicinal, a maioria dos híbridos moleculares desenvolvidos são para o tratamento da doença de Alzheimer, principalmente para inibidores duplos de acetilcolinesterase.[37] Isto se dá pelo caráter multifatorial dessa doença neurodegenerativa com deficiência colinérgica, neuroinflamação, disfunção sináptica, anormalidades vasculares, entre outros. Assim, com o sucesso de ligantes

multi-alvos, os autores Hu *et al* desenvolveram uma série de híbridos moleculares entre farmacóforos inibidores da proteína tau: fenotiazina, dibenzotiazepina e benzotiazepinona com inibidores de acetilcolinesterase: tacrina e donepezila. E como *linker* foram utilizados diaminas alquílicas lineares, piperazina e amidas (Figura 13). Os resultados obtidos demonstraram que híbridos fenotiazina ou dibenzotiazepina com tacrina ou donepezila conectados via piperazina ou amida foram promissores na inibição de acetilcolinesterase.

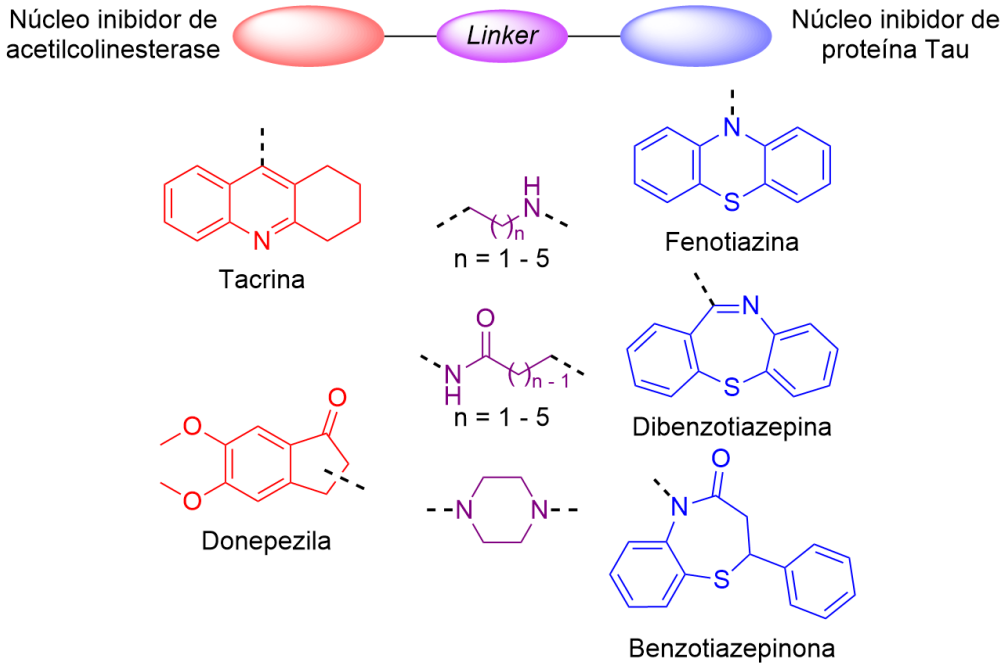


Figura 13. Farmacóforos e *linker* utilizados por Hu *et al* para desenvolvimento de híbridos moleculares inibidores duplos de acetilcolinesterase/proteína Tau.[37]

Os grupos conectores também têm potencial de serem farmacóforos em si, como observado com triazois 1,3-dissubstituídos demonstrando atividade antibacteriana, antiviral e anticâncer.[38] O triazol tornou-se interessante para hibridização molecular porque, além de potencial biológico, é de fácil obtenção sintética via acoplamento alcino-azida catalisado por Cu(I).[39] Devido a isso, visando obter compostos com atividade antiviral, Olomola *et al* sintetizaram híbridos cumarina-triazol-timidina utilizando a reação *click* para juntar os núcleos (Figura 14).[40] A hibridização molecular dos farmacóforos teve como objetivo obter compostos para o tratamento de HIV via inibição da protease e da transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1).

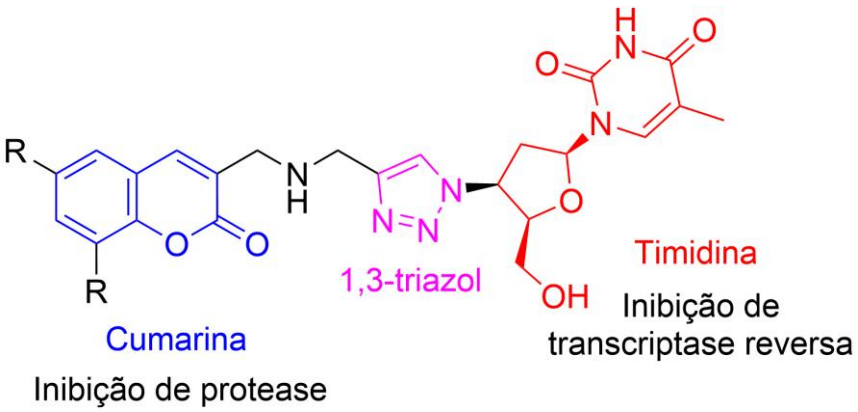


Figura 14. Híbridos cumarina-triazol-timidina inibidores de protease e transcriptase reversa de HIV-1 desenvolvidos por Olomola *et al*.[40]

Apesar da utilidade e abundância do uso de *linkers* na literatura, híbridos moleculares conectados diretamente também são reportados. Como por exemplo, os compostos quinolona carboxamida - fosfonato sintetizados por Machado *et al* como potenciais agentes antitumorais para câncer de mama (Figura 15).[41] Os núcleos utilizados foram escolhidos pelos autores devido a observada atividade de inibição de enzimas topoisomerase por quinolonas-carboxamidas e pelo potencial de geração de espécies reativas de oxigênio identificado em fosfonatos, que causam danos no DNA de células cancerígenas. Dos híbridos obtidos, os com substituintes cloro e nitro obtiveram valores de IC_{50} de 13,2 e 20,4 μM contra linhagem MCF-7 de câncer de mama, e um com substituinte bromo demonstrou atividade de 24,3 μM e baixa hepatotoxicidade.

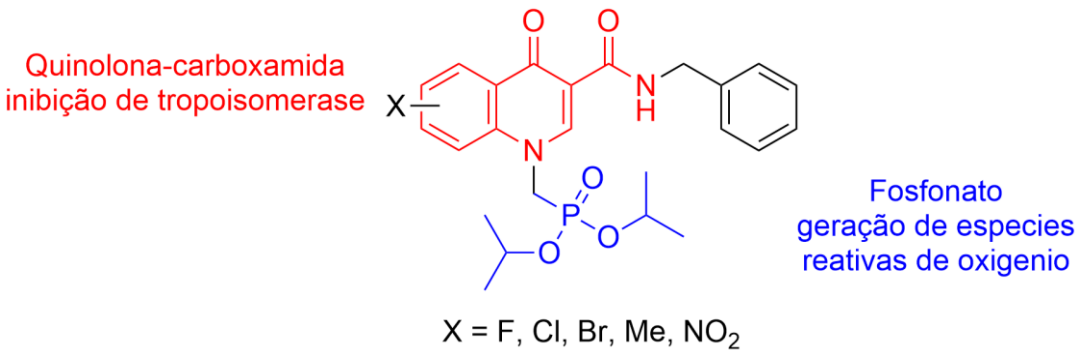


Figura 15. Híbridos Quinolona carboxamida - fosfonato sintetizados por Machado *et al* como agentes antitumorais para câncer de mama.[41]

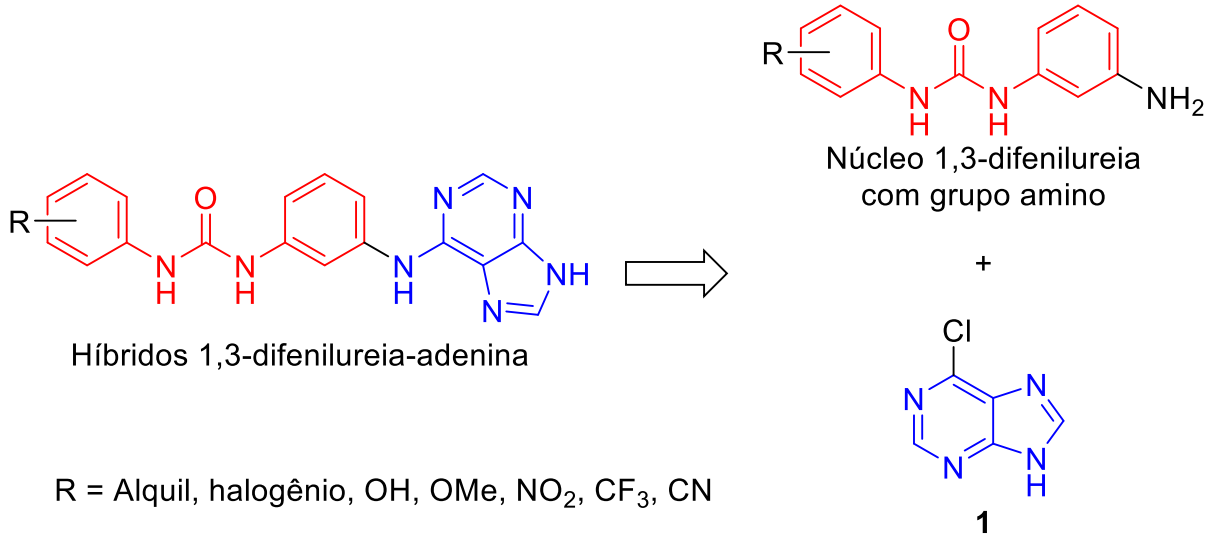
Considerando a efetividade da hibridização molecular em potencializar a atividade dos núcleos utilizados e do benefício da polifarmacologia, é de interesse medicinal a obtenção de novos compostos híbridos antitumorais devido ao caráter multifatorial do câncer e de sua propensidade de desenvolvimento de resistência. Com base nisso, neste trabalho foram selecionados farmacóforos com conhecida atividade de inibição de quinase, adenina e 1,3-difenilureia, optando por variar entre a hibridização molecular via conexão direta e via diferentes *linkers*.

4. Resultados e Discussão

4.1. Híbridos difenilureia-adenina com variação de substituintes

A primeira família de compostos consiste em híbridos difenilureia-adenina, com os núcleos farmacofóricos adenina e 1,3-difenilureia conectados diretamente, e com uma variedade de substituintes no núcleo 1,3-difenilureia. Visando realizar um estudo de relação estrutura-atividade, foram selecionados grupos de caráter lipofílico (alquil, halogênios, trifluorometil) e hidrofílicos (hidroxila, metoxila, nitro) que influenciam as possíveis interações intermoleculares no sítio de ligação.

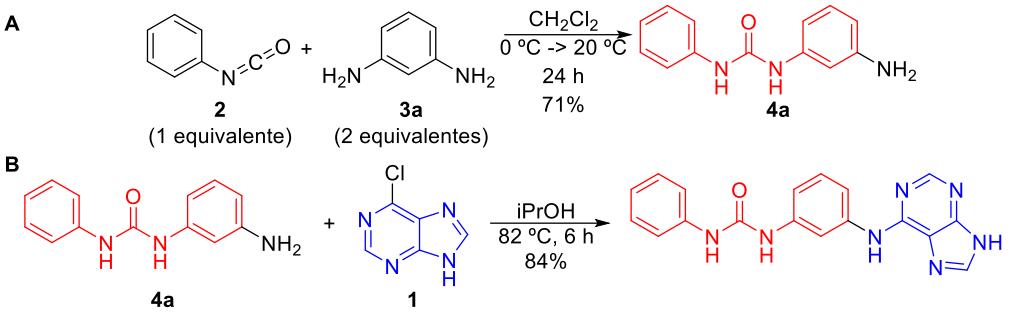
Para obtenção dos híbridos moleculares, os dois núcleos podem ser conectados via reação de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) (Esquema 12). A estrutura heterocíclica nitrogenada aromática do núcleo adenina confere ao núcleo caráter eletrofílico para a etapa final da síntese. O derivado 6-cloropurina **1** é comercialmente disponível, assim é necessário apenas a síntese do núcleo difenilureia com grupo amino para atuar como nucleófilo frente à 6-cloropurina **1**.



Esquema 12. Retrossíntese para híbridos difenilureia-adenina com substituintes.

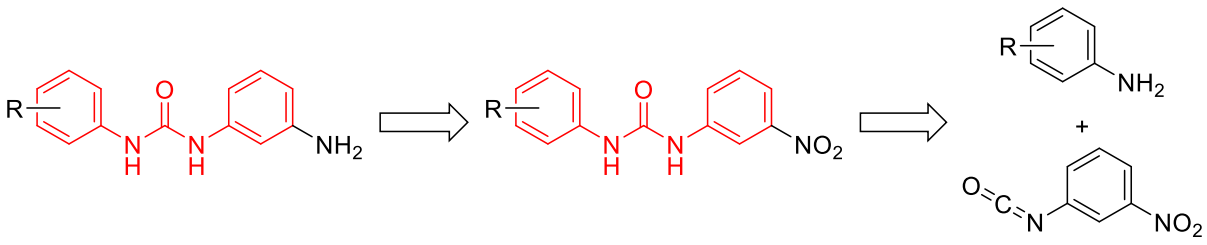
Este trabalho é uma continuação e expansão de escopo do trabalho desenvolvido na conclusão do curso de graduação, onde já havia sido obtido o híbrido difenilureia-adenina com os núcleos conectados diretamente e sem substituintes no núcleo 1,3-difenilureia. A obtenção do híbrido molecular foi possível via 2 etapas, sendo a primeira a síntese da amino-difenilureia **4a** (Esquema 13A). Essa reação requer controle cinético para evitar a dupla adição de isocianato de

fenila **2** a 1,3-fenilenodiamina **3a**: adição lenta do isocianato, banho de gelo e excesso do reagente diamina, além de necessitar uma etapa de recristalização após para remoção do subproduto bis-fenilureia. Em seguida foi feita a substituição nucleofílica aromática na 6-cloropurina **1** para obter o híbrido final (Esquema 13B).



Esquema 13. Rota sintética para o híbrido difenilureia-adenina obtido num trabalho anterior.[42] **A**: Síntese de aminofenil-fenilureia **4a** via adição a isocianato; **B**: Síntese do híbrido via substituição nucleofílica aromática com **1**.

Para este trabalho, visando estudar o efeito biológico de diferentes substituintes no anel aromático da 1,3-difenilureia, o protocolo original não é eficiente devido à baixa disponibilidade comercial e alto preço de isocianatos de fenila substituídos. Assim, a alternativa escolhida foi a utilização de isocianato de 3-nitrofenila **5**, permitindo acessar um escopo mais facilmente via adição com diversas anilinas substituídas, reagentes mais comuns e acessíveis (Esquema 14). Além do custo, essa estratégia elimina a formação de subprodutos na adição facilitando ou até eliminando etapas de purificação, a única grande desvantagem comparada ao método anterior é a incorporação de uma etapa simples de redução do grupo nitro.

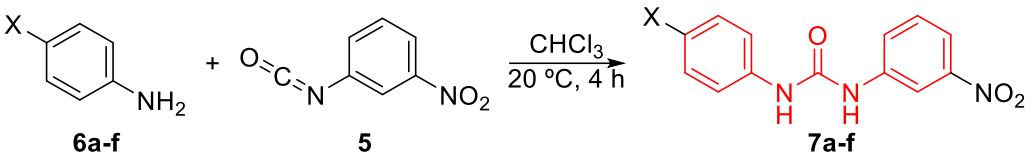


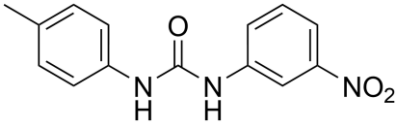
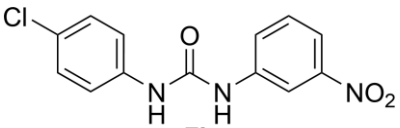
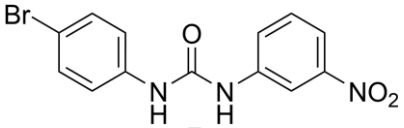
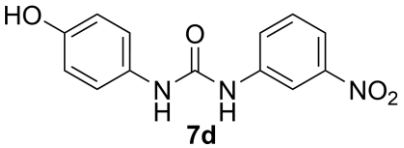
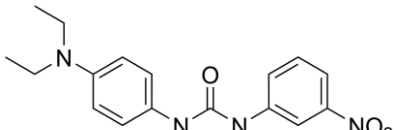
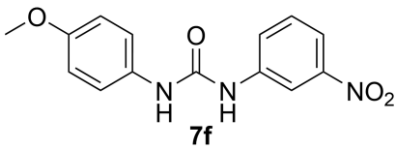
Esquema 14. Retrossíntese dos intermediários aminofenil-fenilureias substituídas.

4.1.1. Síntese de nitro-difenilureias

A estratégia de utilização do isocianato de 3-nitrofenila **5** com anilinas substituídas **6a-f** foi aplicada efetivamente sem a necessidade de aquecimento ou catálise, em apenas algumas horas de reação (Tabela 1). Solvente halogenado, clorofórmio, foi utilizado devido à diferença de solubilidade dos reagentes com o produto, sendo anilinas bem solúveis e as difenilureia sendo praticamente insolúveis nesses solventes. Devido à precipitação do produto e o caráter de reação de adição sem a possibilidade de formação de subprodutos, permitiu a obtenção dos produtos com pureza satisfatória sem a necessidade de purificação.

Tabela 1. Síntese dos intermediários nitrofenil-fenilureias **7a-f**.



Entrada	Produto	Rend. (%)
1	 **7a**	94
2	 **7b**	86
3	 **7c**	84
4	 **7d**	98
5	 **7e**	*
6	 **7f**	*

*rendimento não medido

Primeiramente foram utilizadas as anilinas com substituintes metil, cloro, bromo e hidróxi na posição *para* (Tabela 1, entradas 1, 2, 3 e 4), obtendo os

intermediários nitro-difenilureias **7a-d** com rendimentos de 94%, 86%, 84% e 98% respectivamente sem a necessidade de purificação. A estrutura e pureza desses compostos foi evidenciada via espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C, abaixo sendo apresentado um espectro referente ao composto **7a** (Figura 16).

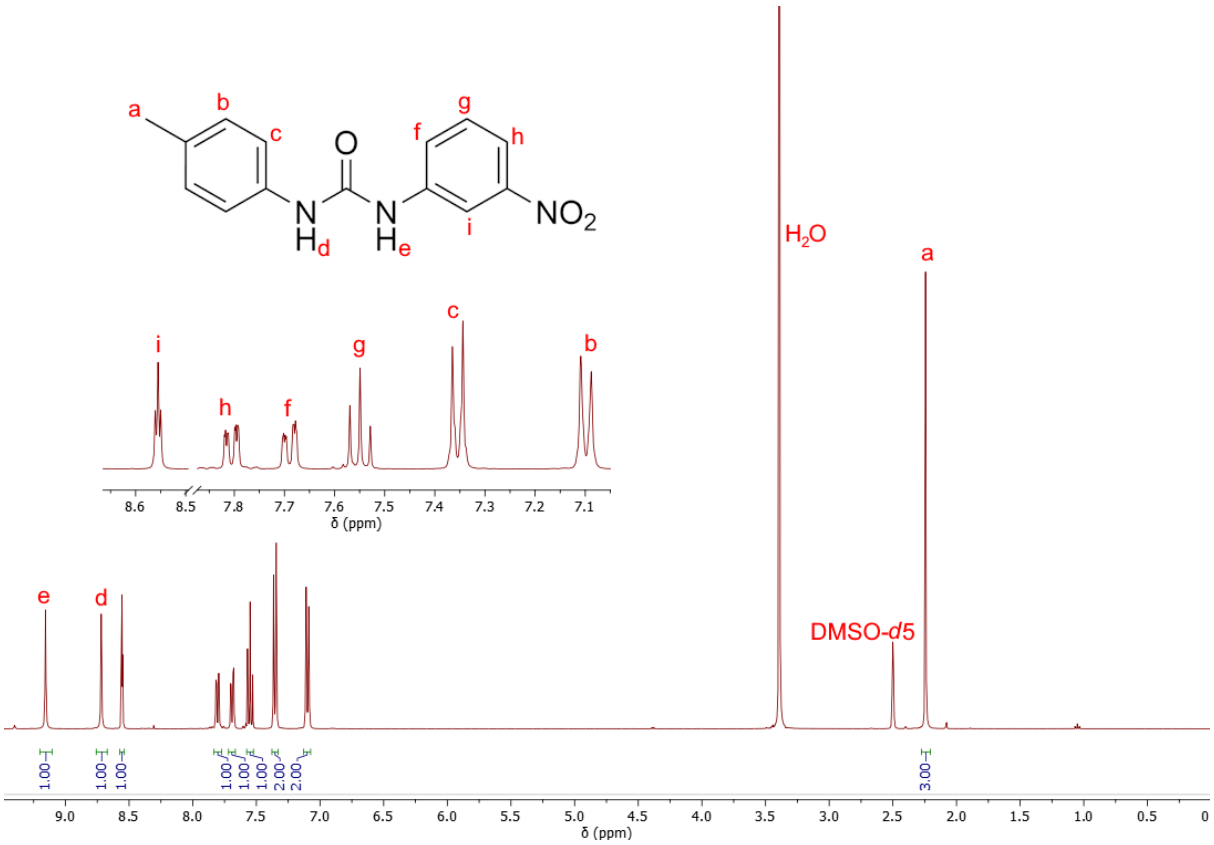


Figura 16. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-nitrofenil)-3-(p-toluil)-fenilureia **7a**.

A formação do composto é evidenciada pela presença dos N-Hs do grupo ureia em 9,16 e 8,72 ppm pois representam os hidrogênios nas posições ‘e’ e ‘d’ (H_e e H_d) respectivamente. Os demais sinais apresentam o padrão de integral e multiplicidade esperado para o composto, como já descrito na literatura.[43]

Contudo, seguindo o procedimento para obter os produtos **7e** e **7f** (Tabela 1, entradas 5 e 6) foi impureza em alta concentração e de difícil separação. Tentativas de purificação foram pouco eficiente devido a similaridade de eluição levando a coeluição do produto com a impureza. Uma pequena fração isolada do composto foi analisada via RMN de ^{1}H (Figura 17)

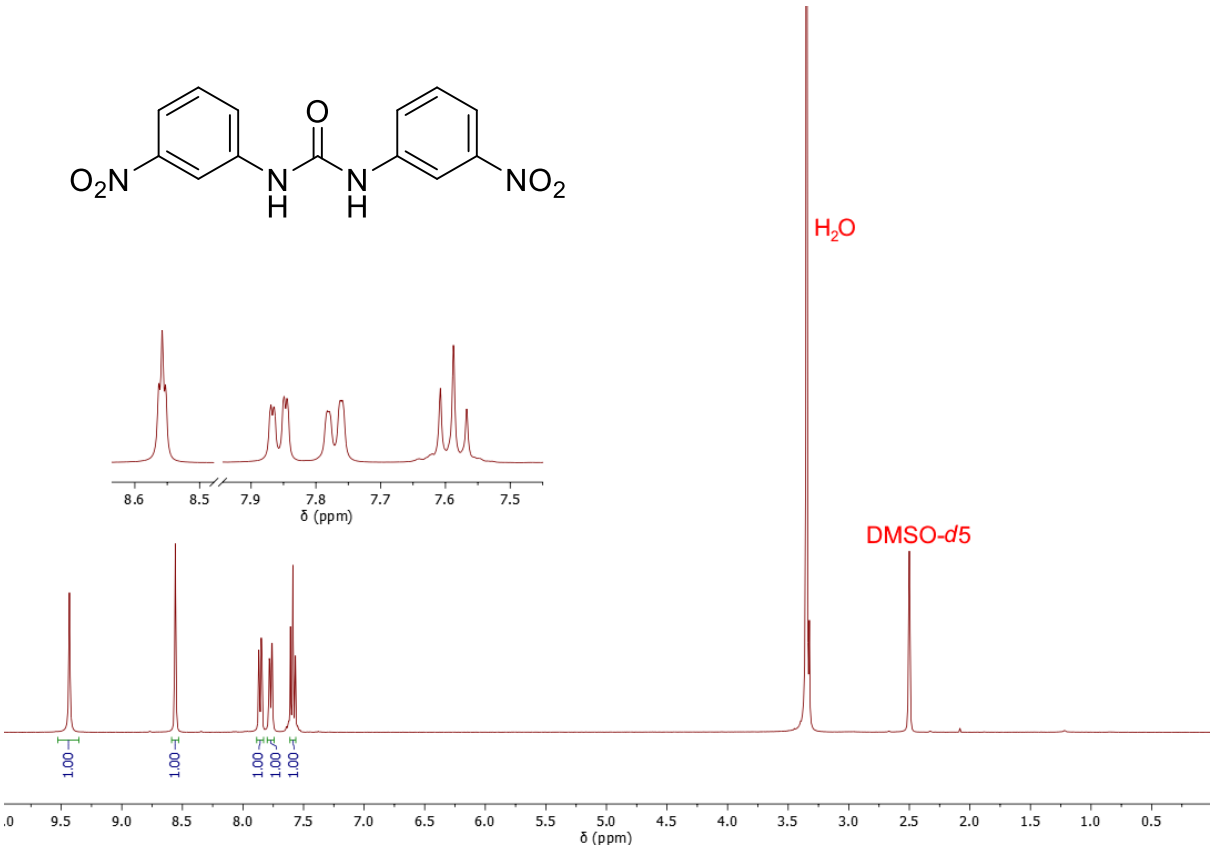
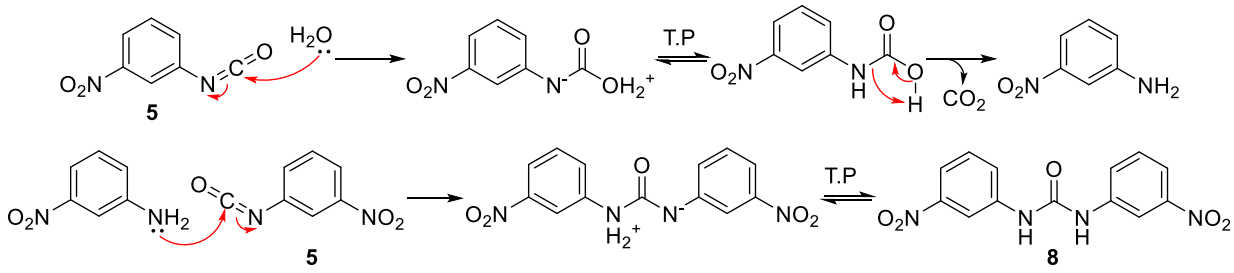


Figura 17. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **8** isolado da síntese de nitrofenil-fenilureias.

O singleto em 9,43 ppm é indicativo de N-H de um grupo ureia, contudo a ausência de um segundo sinal N-H junto do baixo número de sinais e integrais na região aromática aponta para uma difenilureia simétrica. O composto isolado foi identificado como 1,3-bis-(3-nitrofenil)-ureia **8** como já descrito na literatura.[44] A formação desse é provavelmente devido a degradação do reagente isocianato em contato com a umidade do ar (Esquema 15).

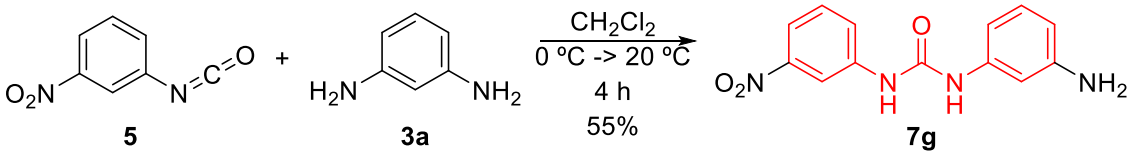


Esquema 15. Mecanismo de formação de 1,3-bis-(3-nitrofenil)-ureia **8**.

A adição de água ao isocianato forma ácido carbônico que rapidamente sofre descarboxilação. A nitro-anilina formada é adicionada a outra molécula de isocianato de 3-nitrofenila **5** levando a formação da 1,3-difenilureia simétrica **8**. Como não foi

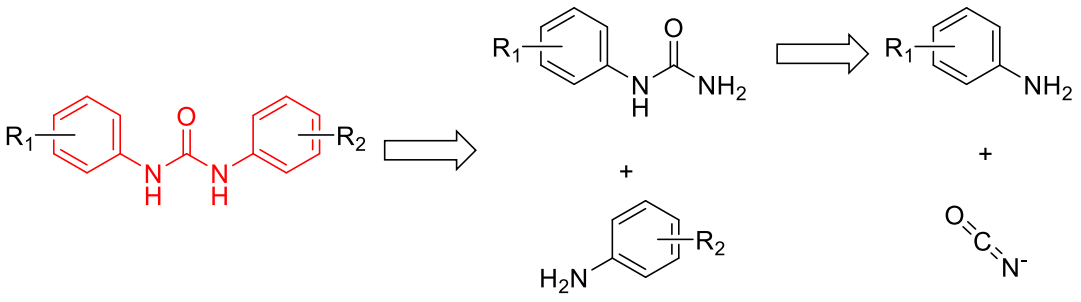
possível isolar efetivamente o produto, encontrou-se mais eficiente utilizar essa mistura na próxima etapa de redução do grupo nitro e separar a mistura resultante. Contudo não foi possível quantificar o rendimento da reação para obtenção de **7e** e **7f**.

Com o intuito de obter um híbrido com substituinte nitro na terminação difenilureia, utilizou-se 1,3-fenilenodiamina **3a** como nucleófilo frente ao isocianato **5** para obter aminofenil-nitrofenilureia **7g** (Esquema 16). Adaptando o procedimento do trabalho anterior, utilizou-se um excesso de **3a** e adição lenta de **5** sob baixa temperatura. O produto foi obtido com um rendimento de 55% que, apesar de ser menor que os rendimentos obtidos para **7a-d**, evita a necessidade de uma etapa de redução pois já contém um grupo nucleofílico amino.



Esquema 16. Síntese do intermediário 1-(3-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)ureia **7g**.

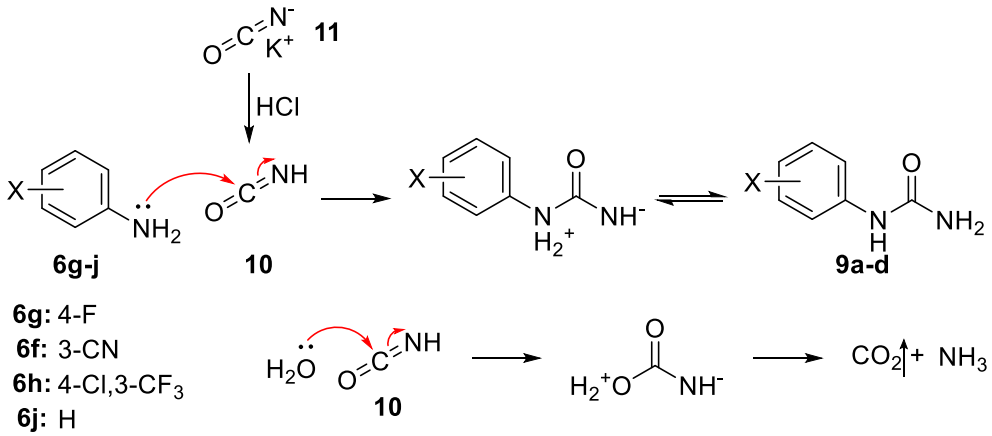
Devido à observada degradação do reagente isocianato **5** e visando continuar o escopo de substituintes na porção difenilureia, procurou-se uma rota alternativa para 1,3-difenilureia não-simétricas. Optou-se pela reação de transamidação entre anilinas e monofenilureias que podem ser obtidas a partir de reação entre anilinas e um sal de isocianato inorgânico (Esquema 17).



Esquema 17. Retrossíntese alternativa para intermediários difenilureia não-simétricos.

4.1.2. Síntese de monofenilureias

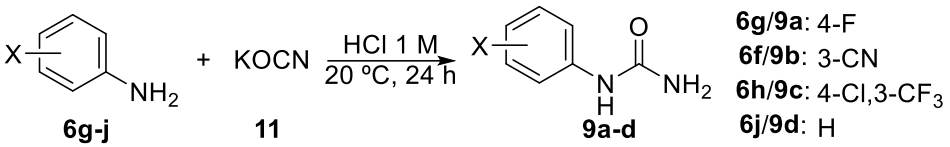
Para a síntese de monofenilureias **9a-d** foi utilizado o ácido ciânico **10** (HNCO), um forte eletrófilo formado *in situ* pela protonação do isocianato de potássio **11** (Esquema 18). Como descrito por Tiwari *et al*,[45] esta reação pode ser conduzida em meio aquoso ácido para possibilitar a dissolução da anilina, a formação do eletrófilo e precipitação do produto. Sendo assim, a anilina **6g-j**, foi misturada com isocianato de potássio **11** em uma solução aquosa de ácido clorídrico 1 M. O isocianato de potássio **11** foi utilizado em excesso para compensar a hidrólise/decomposição do ácido ciânico **10**.



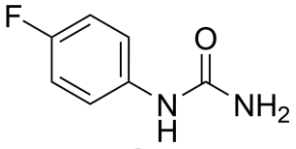
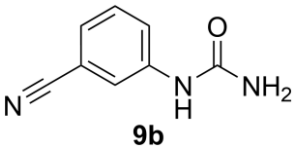
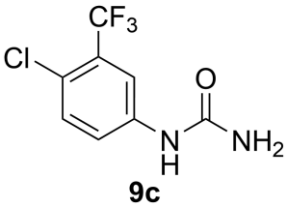
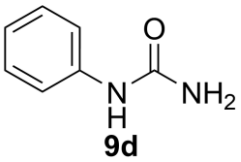
Esquema 18. Mecanismo de formação de monofenilureias **9a-d** e da decomposição de HNCO **10**.

Assim, foi possível sintetizar os produtos mono fenilureia com substituintes 4-flúor **9a**, 3-ciano **9b**, 4-cloro 3-trifluorometano **9c** e sem substituinte (**9d)** (Tabela 2).

Tabela 2. Síntese de monofenilureias **9a-d** via isocianato de potássio **11**.[45]



6g-j **11** **9a-d**

Entrada	Produto	Rend. (%)
1	 **9a**	69
2	 **9b**	47
3	 **9c**	38
4	 **9d**	99

Comparado ao produto **9a** (entrada 1), os produtos **9b** e **9c** apresentaram rendimentos relativamente baixos. Observa-se que isso está relacionado ao caráter eletrônico dos substituintes, já que os grupos trifluorometil (**9b**) e ciano (**9c**) são mais fortemente retiradores que o flúor (**9a**). Devido a isso, o ataque da anilina respectiva é mais lento tendo que competir com a hidrólise do ácido ciânico **10**. Isto fica ainda mais aparente na ausência de grupo retirador de elétrons (entrada 4) resultando num rendimento comparativamente mais alto. Os produtos foram caracterizados via RMN de ^{1}H e ^{13}C com o produto **9a** apresentado abaixo (Figura 18).

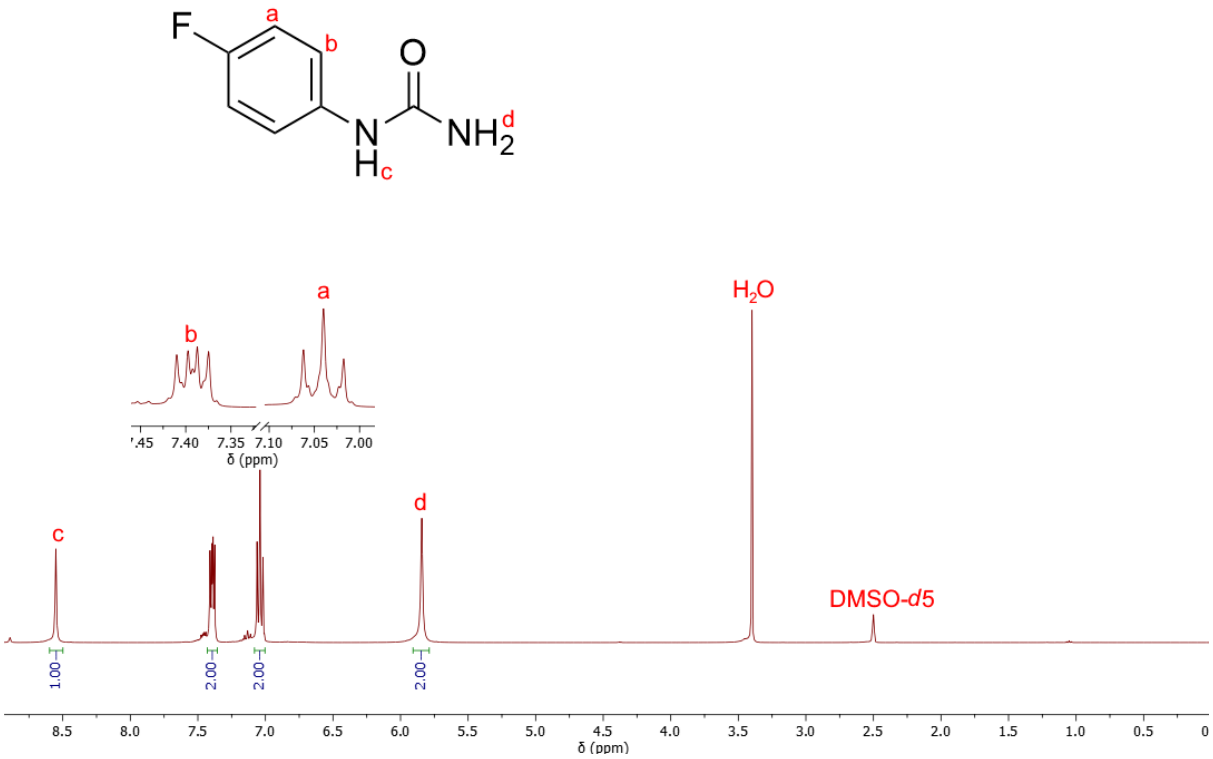


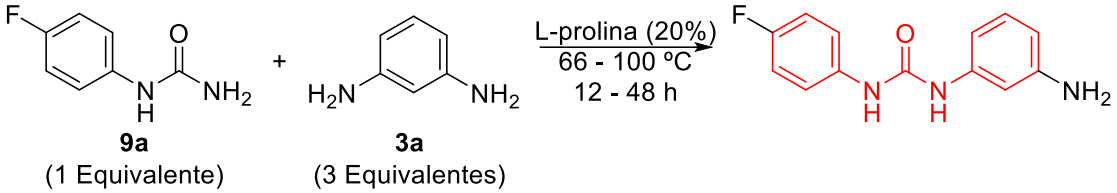
Figura 18. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-fluorofenil)ureia **9a**.

Como esperado para N-H de fenilureia, o sinal referente a H_c encontra-se mais desblindado em 8,55 ppm enquanto que os H_d encontram se mais blindados em 5,84 ppm com integral para 2 H. Estes e os demais sinais estão de acordo com descrições deste composto na literatura.[46]

4.1.3. Síntese de difenilureia não-simétricas

Com os produtos monofenilureia em mãos, podem ser sintetizados difenilureias não-simétricas via transamidação com anilinas. Como catalisador, foi utilizada L-prolina como demonstrado no método descrito por Nagarkal e Telvekar.[26] Assim foi aplicado o procedimento de transamidação para a obtenção de 1,3-difenilureias não simétrica (Tabela 3). Para obter o produto com grupo amino foi utilizado o reagente 1,3-fenilenodiamina **3a** em grande excesso para evitar dupla substituição.

Tabela 3. Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-fluorofenil)-ureia via transamidação e tentativas de otimização.



9a
(1 Equivalente)

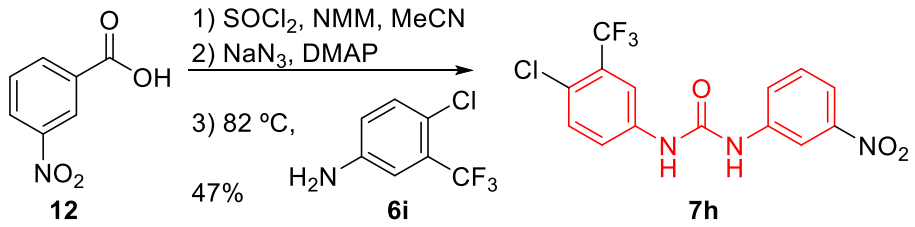
3a
(3 Equivalentes)

Entrada	Solvente	T (ºC)	t (h)	Rend. (%)
1	THF	66	12	4
2	THF	66	48	6
3	1,4-dioxano	100	48	-
4	-	100	12	-
5	H_2O	100	12	3
6	-	80	12	5
7	H_2O	80	12	2

Inicialmente foi obtido 4% de rendimento após purificação sem ser observada a formação de outros produtos (Entrada 1, Tabela 3), repetindo a reação, porém com maior tempo reacional não houve uma diferença significativa no rendimento (Entrada 2). Aumento da temperatura reacional, permitida somente com a mudança de solvente, demonstraram formação de produto via CCD, porém tiveram complicações na purificação do produto devido à decomposição do reagente **3a** e do catalisador prolina (Entradas 3, 4 e 5). Uma temperatura intermediária reduziu a decomposição dos reagentes, contudo também apresentou rendimentos muito baixos (Entradas 6 e 7).

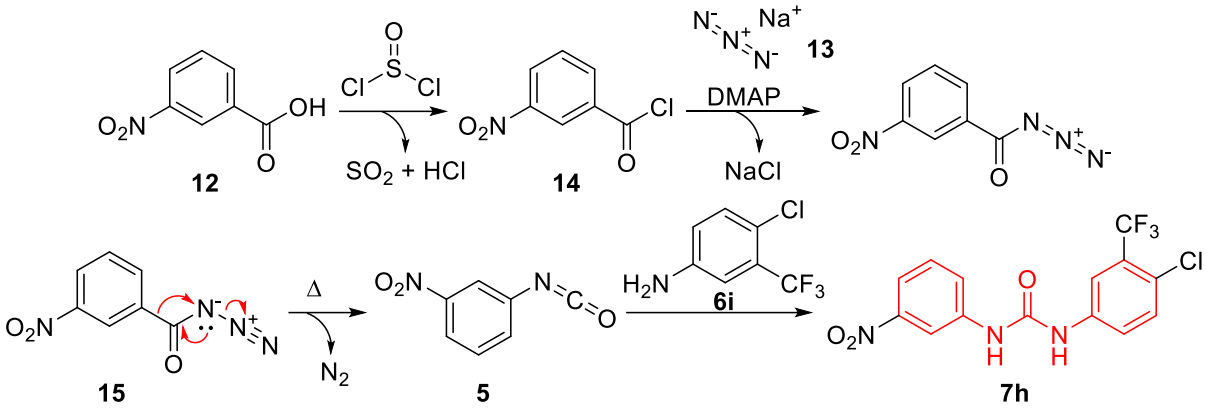
A estratégia via catálise com prolina não obteve sucesso mesmo com tentativas de otimização. Uma procura de novos catalisadores e condições reacionais talvez possam obter rendimentos satisfatórios de maneira mais sustentável que a alternativa de isocianatos orgânicos. Contudo, a magnitude desse estudo não entra no escopo e tempo disponível deste trabalho, cujo objetivo é a obtenção dos produtos híbridos para avaliação da atividade biológica.

Para replicar os resultados com o uso de isocianatos orgânicos, porém evitando o custo, baixa disponibilidade e manuseio desse, utilizou-se a preparação e utilização do isocianato *in situ* via rearranjo de Curtius. A metodologia foi aplicada efetivamente para síntese utilizando a 4-cloro-3-trifluorometil anilina **6i** e a respectiva nitrofenil-fenilureia **7h** foi obtida com um rendimento de 47% após a recristalização (Esquema 19). Comparativamente com os rendimentos obtidos com o uso direto do isocianato de 3-nitrofenila **5** (84 - 98%, Tabela 1), o rendimento obtido foi consideravelmente menor. Contudo, foi uma estratégia mais acessível pois utiliza apenas reagentes comuns e de fácil acesso.



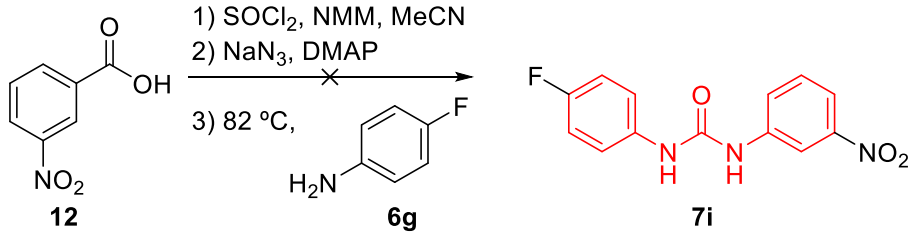
Esquema 19. Síntese de 1-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-3-(3-nitrofenil)-ureia **7h** via rearranjo de Curtius.

Na reação o ácido 3-nitrobenzóico **12** foi submetido a cloração seguido de substituição com azida de sódio, formando intermediário carbonil-azida **15**. Através de rearranjo térmico, o intermediário isocianato **5** é formado junto com liberação de gás nitrogênio. A anilina **6i** então ataca o intermediário **5** e forma a difenilureia não-simétrica **7h** (Esquema 20).



Esquema 20. Mecanismo simplificado de síntese de **7h** via rearranjo de Curtius.

Com o sucesso da metodologia de rearranjo de Curtius (espectro de RMN no apêndice, página 139), foi tentada a síntese partindo-se da 4-fluoroanilina **6g** utilizando o mesmo procedimento (Esquema 21). Contudo, o produto isolado com rendimento de 58% não correspondeu com a estrutura desejada após análise via ^{1}H RMN (Figura 19).



Esquema 21. Tentativa de síntese de 1-(4-fluorofenil)-3-(3-nitrofenil)-ureia **7i** via rearranjo de Curtius.

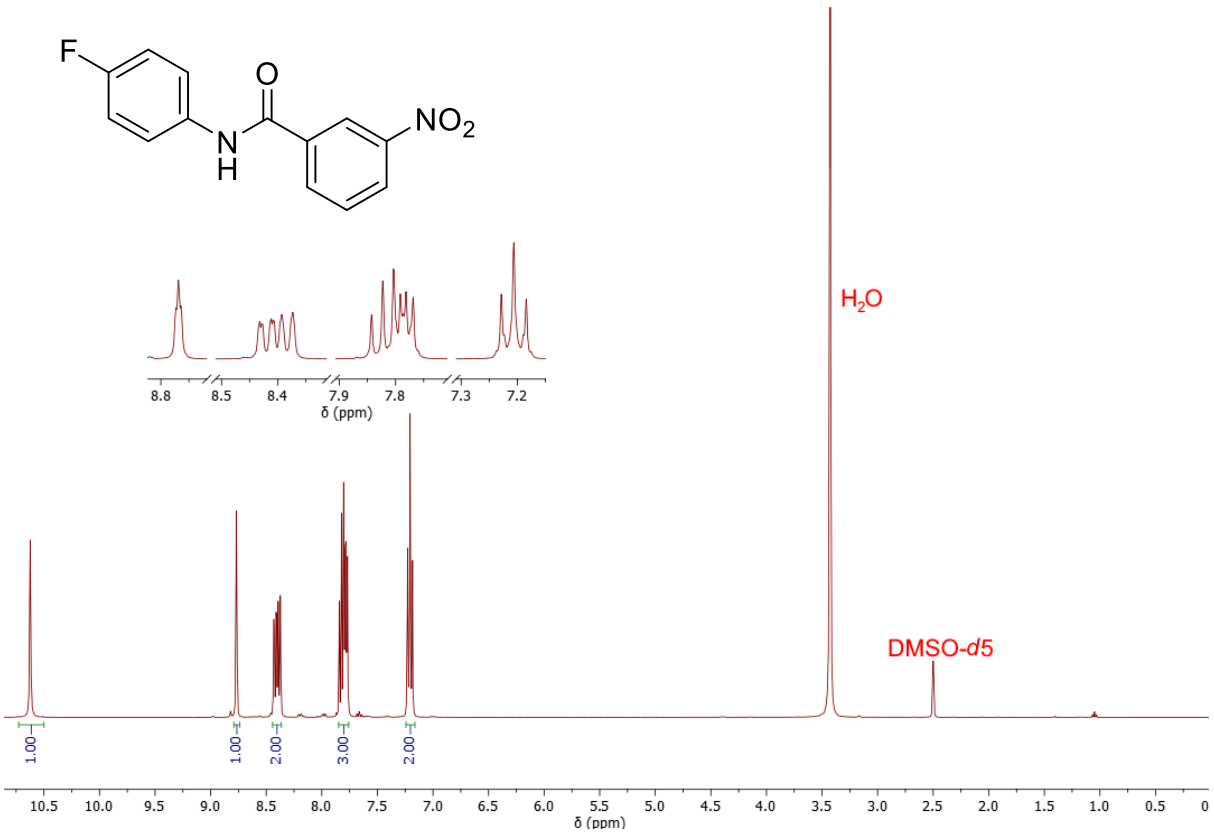
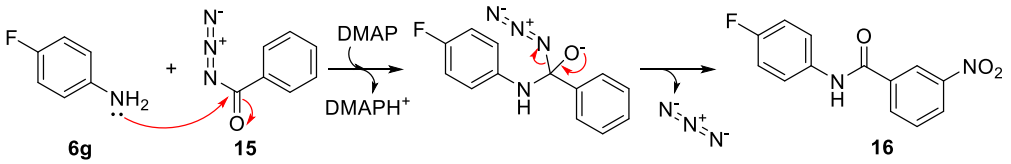


Figura 19. Espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **16** isolado da síntese de fluorofenil-nitrofenilureia **7i**.

A região aromática entre 9 e 7 ppm apresenta integral e multiplicidade esperada para a molécula desejada. Contudo os sinais referentes a ureia não estão presentes, havendo apenas um singleto em 10,62 ppm, um deslocamento fora da região típica dos hidrogénio tipo N-H de fenilureias de 8 a 9 ppm. O produto identificado é o composto benzamida **16** como já descrito na literatura.[47] Esse produto seria formado pelo ataque da anilina **6g** em um dos intermediários carbonílicos, seja o cloreto ou azida (Esquema 22).



Esquema 22. Mecanismo para formação do subproduto **16** obtido na tentativa de síntese de fluorofenil-nitrofenilureia **7i** via rearranjo de Curtius.

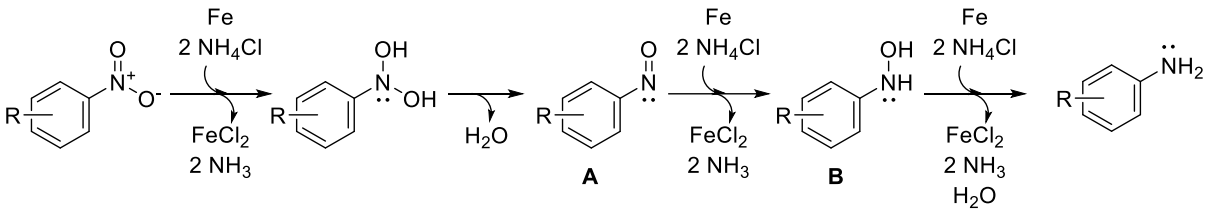
O procedimento reacional foi idêntico ao utilizado para o produto **7h** contudo com a utilização da anilina **6g**. Assim, a diferença da anilina utilizada foi responsável pela alteração da reatividade observada. Experimentalmente, a introdução da anilina

e o aumento da temperatura ocorreu simultaneamente com a expectativa de haver rearranjo seguido do ataque, já que o isocianato é um eletrófilo mais potente que o intermediário acil azida. Enquanto que essa expectativa demonstrou-se correta para a 4-cloro-3-trifluorometil anilina **6i**, para a reação com fluoroanilina **6g** não ocorreu o esperado. Uma explicação plausível é a diferença de nucleofilicidade desses reagentes devido aos efeitos eletrônicos dos substituintes. O grupo trifluorometil é fortemente retirador de elétrons por indução e o flúor na posição *para* é um retirador fraco. Consequentemente, a fluoroanilina **6g** foi capaz de atacar o intermediário acil azida mais rápido do que a reação de rearranjo térmico.

Considerando essa teoria, a reação foi replicada com alterações: após a etapa de adição de azida a mistura foi aquecida na ausência da fluoroanilina **6g** e somente após 16 horas foi adicionada a anilina. O período de alta temperatura permite que o intermediário acil azida **15** sofra rearranjo sem possibilidade de ataque prematuro e em seguida ocorra a adição e formação do produto. Apesar disso, foi novamente formado o mesmo produto **16** com um rendimento de 67%. Assim, não foi possível obter o produto desejado apesar de obter sucesso anteriormente com a mesma metodologia, isso demonstra que o método é inconsistente sendo necessário modificações e um estudo da influência do nucleófilo utilizado.

4.1.4. Síntese de amino-difenilureias via reação de redução

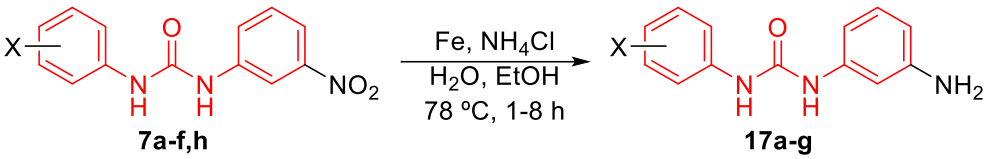
Em seguida, para obter os intermediários aminofenil-fenilureias **17a-g** necessários para a substituição nucleofílica aromática, necessita-se uma etapa de redução de grupo nitro. Na reação, a fonte de elétrons reduz o nitrogênio (+3) do grupo nitro até o grupo amino (-3) (Esquema 23). Primeiramente o nitrogênio é reduzido em dois elétrons formando um grupo nitroso **A** após eliminação de água auxiliada pela fonte de H^+. Em seguida, o nitrogênio do grupo nitroso é novamente reduzido com dois elétrons formando hidroxilamina **B** que, por fim, forma o composto desejado com grupo amino via mais uma doação de elétrons e eliminação de água.



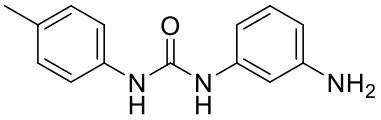
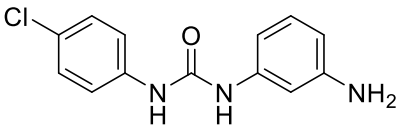
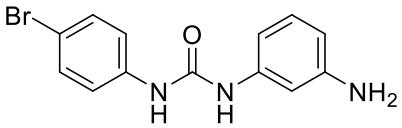
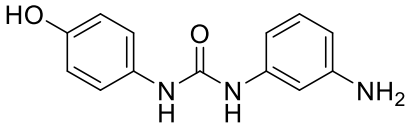
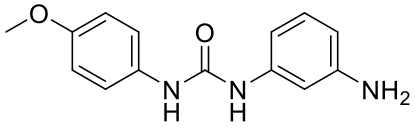
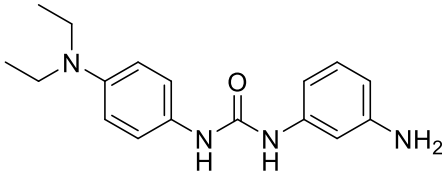
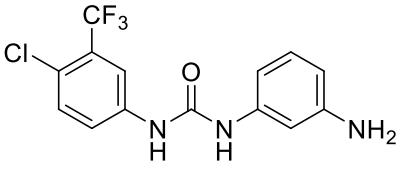
Esquema 23. Mecanismo simplificado de redução de nitro compostos.

Assim, utilizou-se ferro em pó como agente redutor e cloreto de amônio como fonte de H^+ para reduzir os compostos nitro-difenilureia **7a-f,h** a amino-difenilureia **17a-g** (Tabela 4). As reações foram monitoradas via CCD e o fim foi detectado pelo consumo total do reagente nitro-difenilureia **7a-f,h,** os produtos foram obtidos sem necessidade de purificação adicional.

Tabela 4. Redução de nitro-difenilureias **7a-f,h** para amino-difenilureias **17a-g**.



7a-f,h **17a-g**

Entrada	Produto	t (h)	Rend. (%)
1	 **17a**	2,5	49
2	 **17b**	1	39
3	 **17c**	3	50
4	 **17d**	3	50
5	 **17e**	1	*
6	 **17f**	8	61
7	 **17g**	3	74

*Rendimento não medido

Apesar de não ser observada formação de outros produtos orgânicos, os produtos foram obtidos com rendimentos menores do que tipicamente esperados para redução de nitro compostos. Foi identificado que houve perdas significativas no processo tratamento e isolamento do produto, especificamente na etapa de filtração com os produtos ficando fortemente aderidos aos sais e óxidos de ferro presentes. Todos os produtos tiveram sua formação evidenciada por ^{1}H e ^{13}C RMN e, como exemplo, está apresentado abaixo o espectro de RMN de ^{1}H do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-clorofenil)-ureia **17b** (Figura 20).

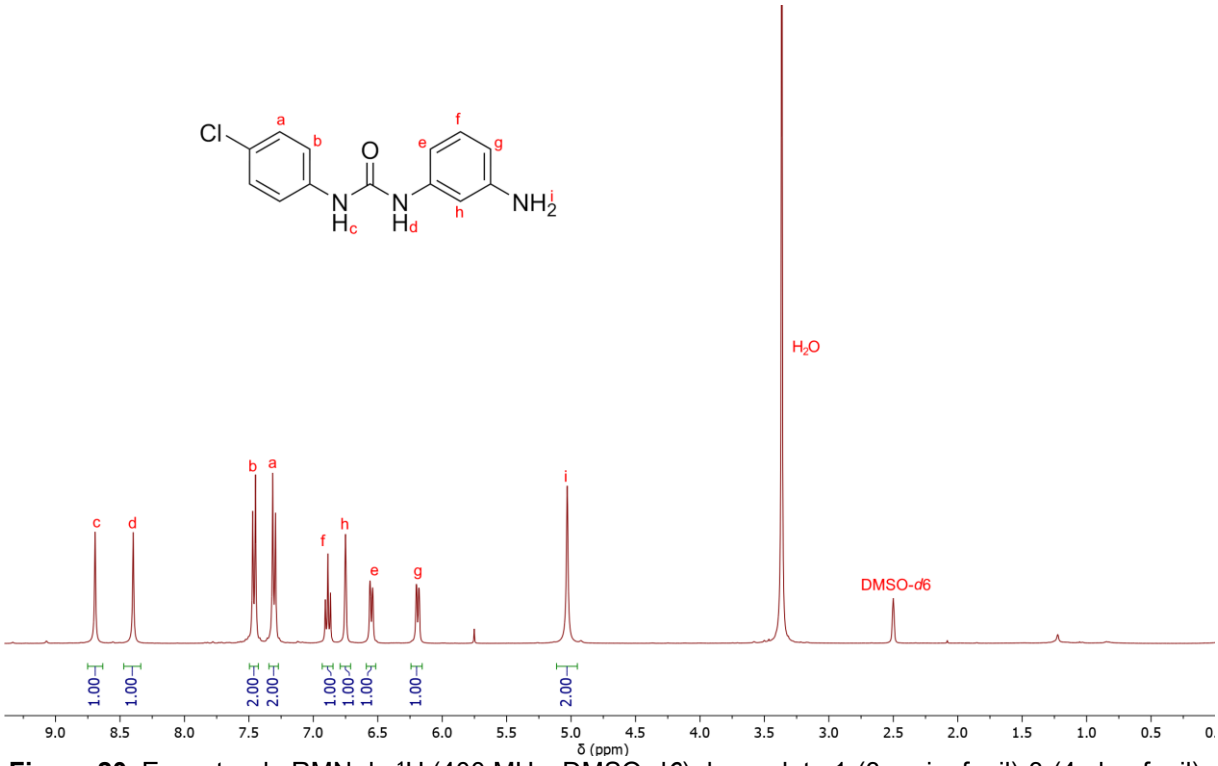
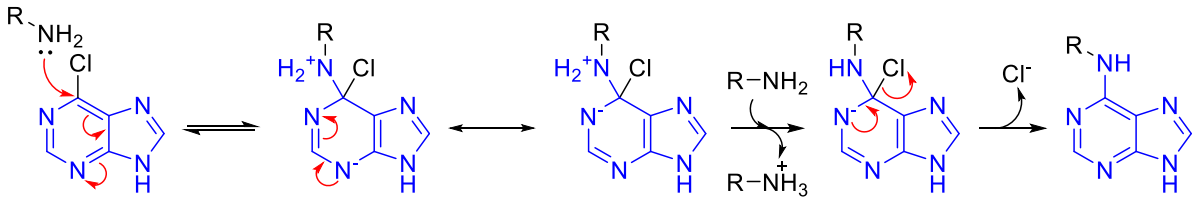


Figura 20. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d*6*) do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-clorofenil)-ureia **17b**.

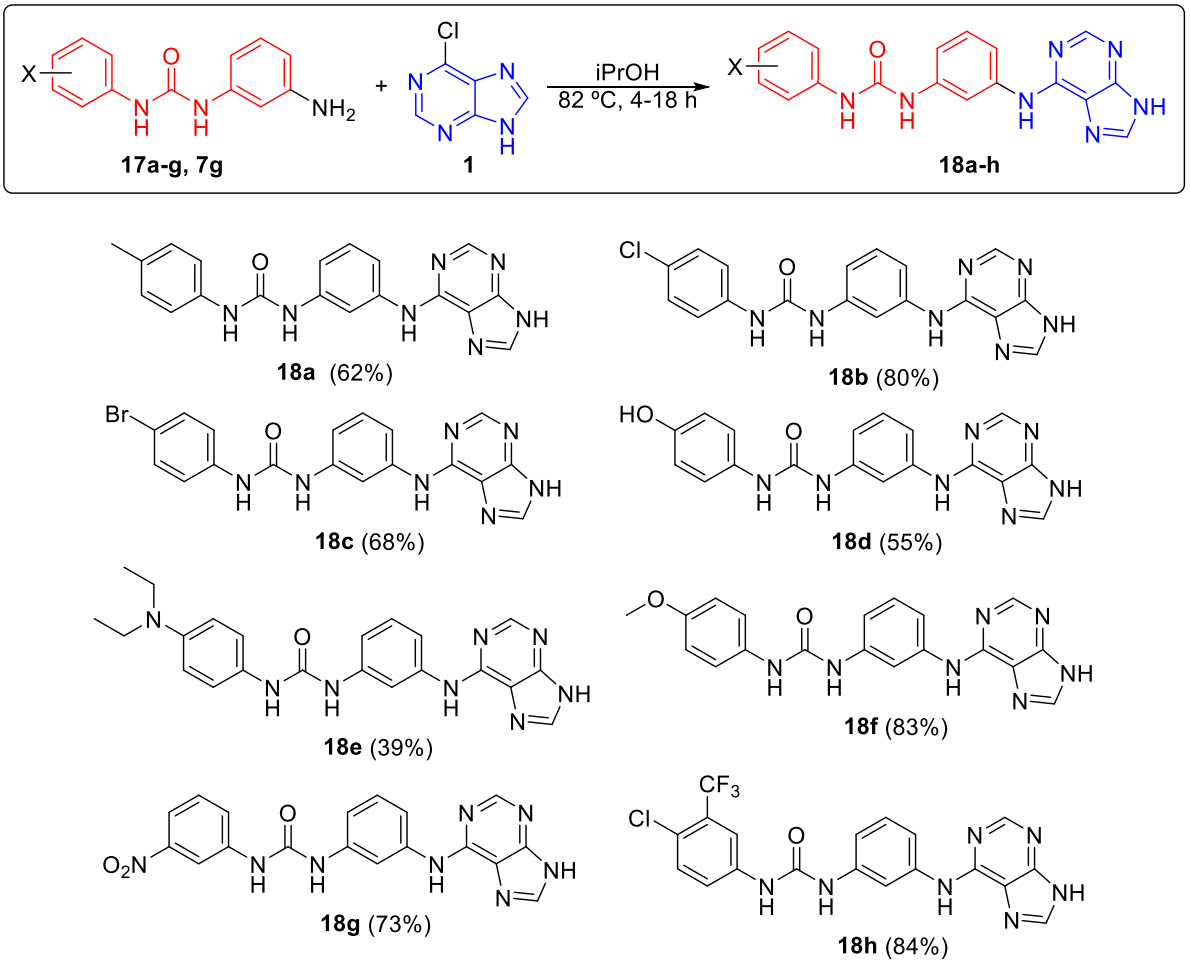
Além dos sinais característicos de N-H da própria ureia, H_c e H_d em 8,40 e 8,69 ppm respectivamente, observa-se o sinal relativo ao grupo amino formado na reação: H_i em 5,03 ppm com integral relativa de 2H. Os demais sinais estão de acordo com aqueles descritos previamente na literatura,[48] confirmando a formação do produto desejado.

4.1.5. Síntese de híbridos difenilureia-adenina substituídos

Finalmente, com os intermediários amino-difenilureias **17a-g** obtidos, podem ser sintetizados os compostos híbridos via reação de substituição nucleofílica aromática. Para isto utilizou-se a 6-cloropurina **1** como excelente eletrófilo devido ao seu caráter de heterocíclico nitrogenado capaz de estabilizar o intermediário reacional (Esquema 24). Assim, 8 compostos híbridos inéditos foram sintetizados de maneira simples sem a necessidade de catálise ou de purificação. As reações foram monitoradas via CCD para identificação do final via consumo do reagente limitante **1** (Esquema 25).



Esquema 24. Mecanismo de S_NAr com 6-cloropurina **1**.



Esquema 25. Síntese dos compostos híbrido difenilureia-adenina substituídos **18a-h** via S_NAr.

A maioria dos produtos foram obtidos com rendimentos entre 60 e 80% e tempos reacionais relativamente curtos (4-6 horas). Uma exceção a isso foi o produto dietilaminodifenilureia-adenina **18e** (39% de rendimento) que, por ser parcialmente solúvel, necessitou mais tempo e purificação adicional. As sínteses dos híbridos inéditos obtidos foram evidenciadas por RMN de ^1H e ^{13}C, abaixo está representado o espectro do produto metoxi-difenilureia-adenina **18f** (Figura 21) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 158).

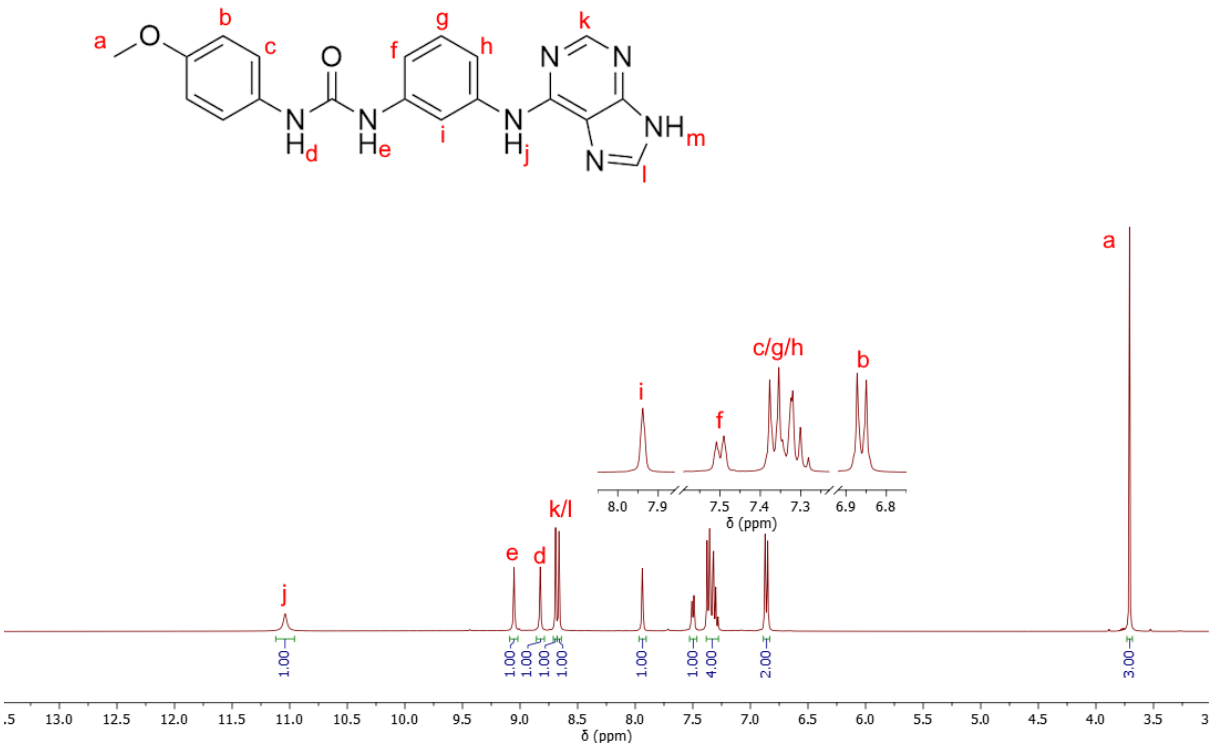


Figura 21. Ampliação do espectro de ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-metoxifenil)ureia **18f** na região entre 3,0 e 13,5 ppm.

Novamente, os sinais comuns à estrutura difenilureia estão presentes como os sinais C-H aromáticos entre 8,0 e 6,8 ppm, destacam-se os hidrogênios do sistema *para* em 7,37 e 6,86 ppm para H_c e H_b respectivamente com maior integral devido à simetria do sistema e com um acoplamento ^{3}J de 9,0 Hz entre si. Os hidrogênio N-H característicos do grupo ureia estão evidentes como os singletos em 9,05 e 8,82 ppm relativos a H_e e H_d respectivamente. Relativo à adenina observa-se dois sinais em 8,69 e 8,66 ppm relativos aos C-Hs aromáticos H_k e H_l, enquanto que para o N-H imidazólico H_m não é observado um sinal. Tipicamente observa-se como um sinal alargado próximo de 13 ppm devido a sua acidez, contudo devido a fortes interações intermoleculares com DMSO-*d*6 e H_2O do solvente o sinal se torna pouco intenso e bem largo assim sendo indistinguível da linha de base. Por fim, o singleto alargado em 11,04 ppm representa H_j, o NH altamente desblindado devido a ressonância com dois grupos aromáticos, ou seja, evidenciando a conexão dos núcleos 1,3-difenilureia e adenina. Para a caracterização de RMN de ^{13}C, foi feita também a análise via HSQC do composto metóxi-difenilureia-adenina **18f** para a

assinalação dos carbonos através dos hidrogênios ligados a esses (Figura 22) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 159).

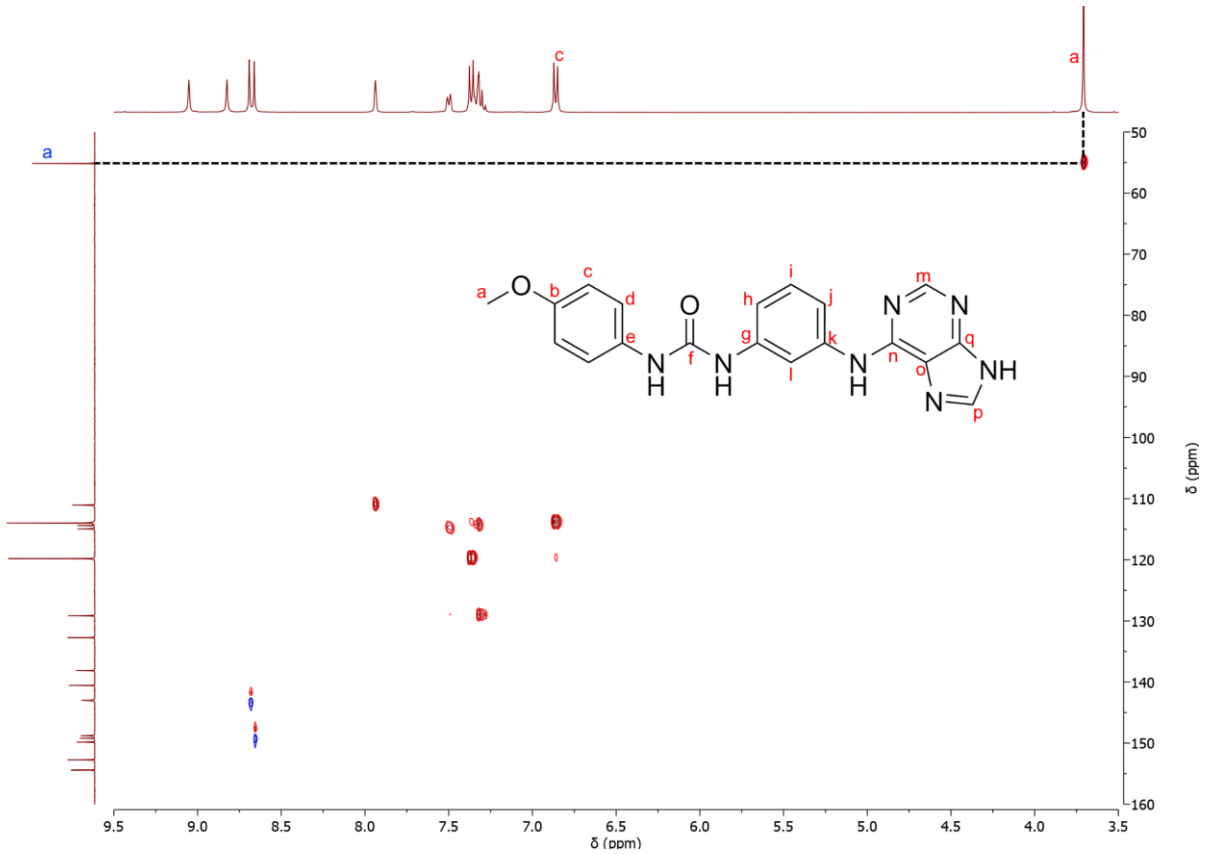


Figura 22. Ampliação do espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-metoxifenil)ureia **18f** na região entre 3,5 e 9,5 ppm (^{1}H) e 50 a 160 ppm (^{13}C).

Na região de baixo deslocamento químico observa-se apenas um sinal que apresenta acoplamento ^{1}J com H_a sendo esse o sinal do carbono da metoxila característico do composto híbrido. Para designar os carbonos da região aromática, está apresentado abaixo o espectro ampliado na região entre 110 e 150 ppm no espectro de ^{13}C (Figura 23).

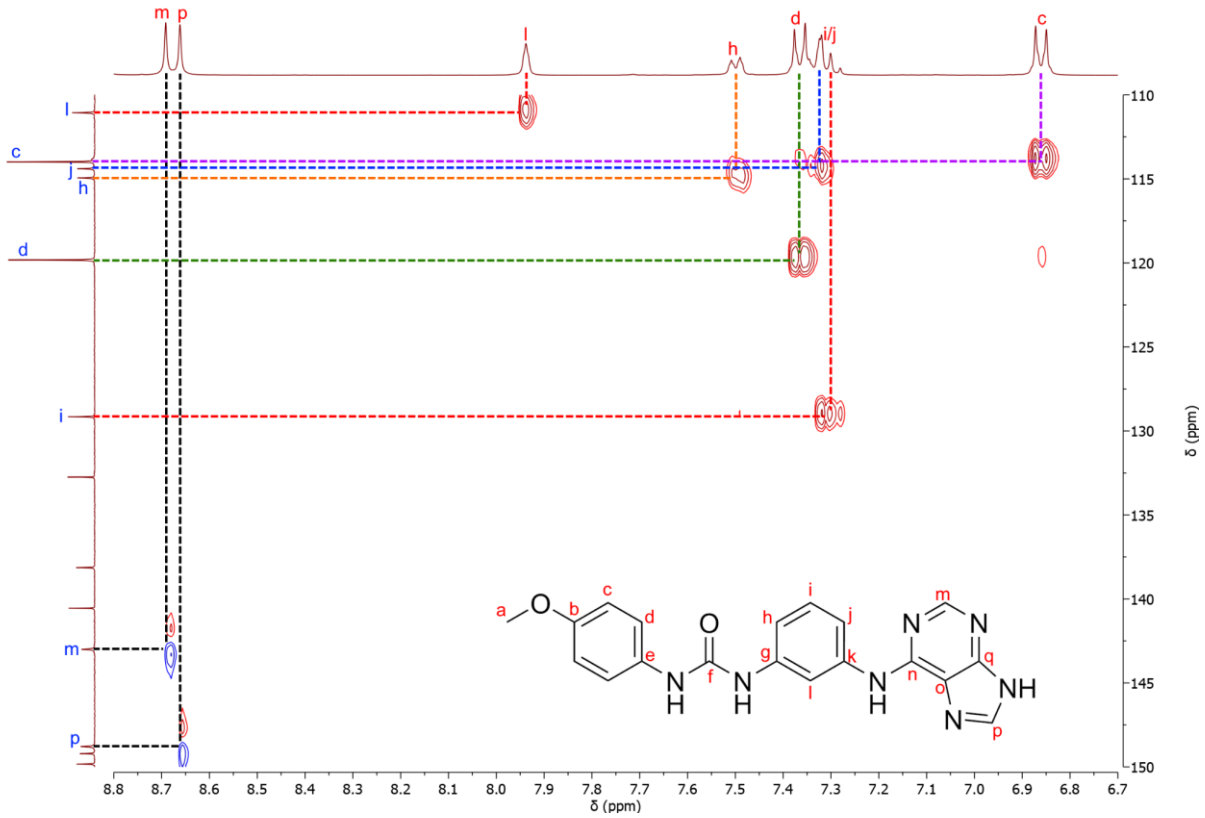


Figura 23. Ampliação do espectro de RMN de HSQC (400 MHz – 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-metoxifenil)ureia **18f** na região entre 6,7 e 8,8 ppm (^{1}H) e 110 a 150 ppm (^{13}C).

Pela correlação dos sinais observados, evidenciam-se os sinais de H_m e H_p como C-Hs da adenina e identificam-se os carbonos C_m e C_p relativos a esses em 143,0 e 148,8 ppm. Enquanto que para os carbonos do núcleo 1,3-difenilureia, pelos sinais de acoplamento são identificados os carbonos aromáticos C_l em 111,1 ppm; C_h em 114,9 ppm e C_c em 114,0 ppm. Para o multipleto no espectro de ^{1}H entre 7,4 e 7,3 ppm, os carbonos ligados a esses, apresentam deslocamentos bem diferentes podendo identificar C_d em 119,8 ppm devido a intensidade relativa maior, já que equivale a dois carbonos. E C_j foi correspondido ao sinal em 114,4 ppm devido a sua similaridade eletrônica a C_h, e por fim o sinal em 129,2 ppm representa C_i. Assim a assinalação dos sinais do espectro de ^{13}C está apresentada abaixo (Figura 24) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 159).

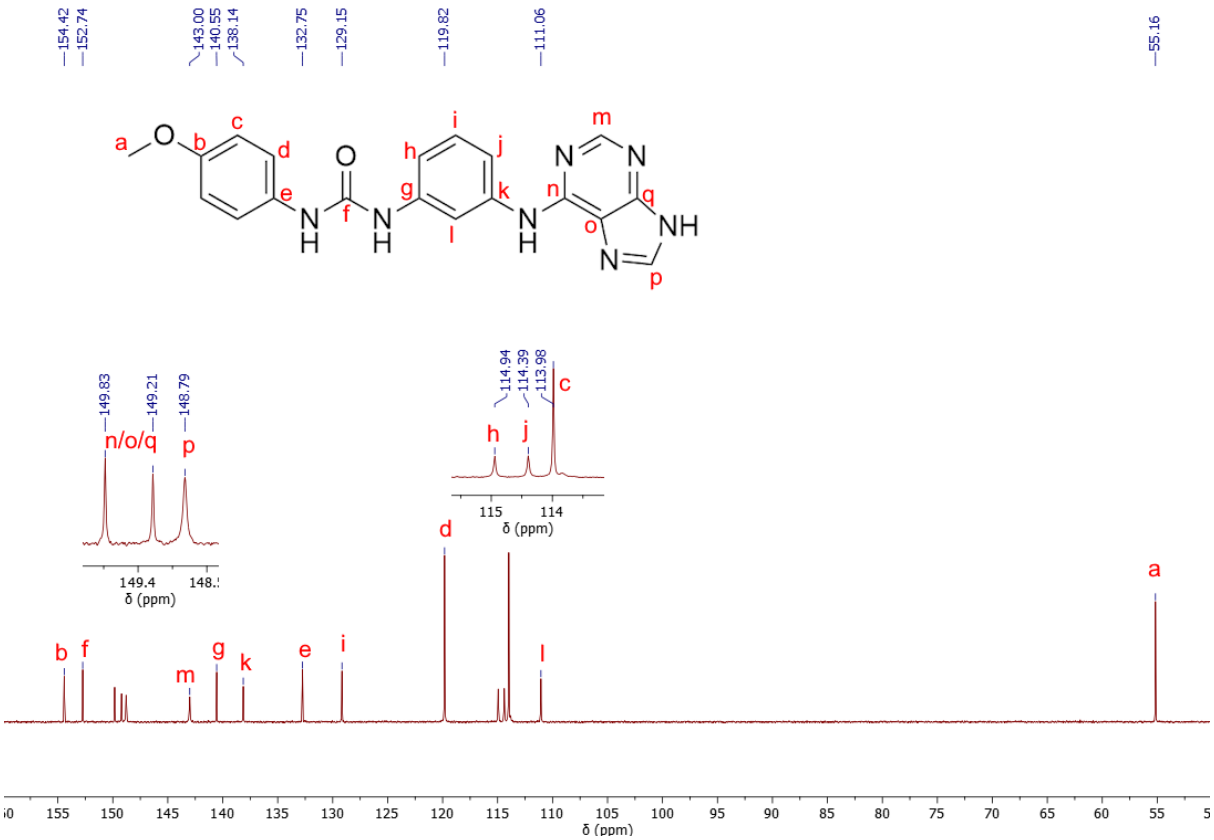


Figura 24. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-metoxifenil)ureia **18f** na região entre 50 e 160 ppm.

Além da informação obtida do espectro de HSQC, os sinais dos carbonos sem hidrogênio foram estimados de acordo com a densidade eletrônica dos grupos aromáticos. O carbono aromático ligado à metoxila, C_b tem o sinal de maior deslocamento em 154,4 ppm devido à forte indução do oxigênio vizinho, enquanto que C_e vizinho à ureia é relativamente mais blindado em 132,8 ppm devido à doação via ressonância desse oxigênio na posição *para* relativo a esse carbono. O carbono da carbonila da ureia, C_f é representado pelo sinal em 152,4 ppm, um sinal típico da difenilureia. Os carbonos do sistema *meta*, C_g e C_k têm deslocamentos mais intermediários de 140,6 e 138,1 ppm devido a fraca influência eletrônica dos grupos ligados a esse anel. Por fim, os carbonos da adenina, C_n, C_o e C_q foram estimados aos sinais próximos de 150 ppm, contudo são difíceis de designar sinais devido ao seu caráter como carbonos da estrutura adenina sem ligação a hidrogênio.

Em total, foram sintetizados com sucesso 8 híbridos difenilureia-adenina **18a-h** inéditos em 3 etapas sintéticas. Os compostos foram obtidos com uma variedade de substituintes lipofílicos e hidrofílicos na porção 1,3-difenilureia visando avaliar a relação estrutura-atividade. Outra variação estrutural de interesse para essa relação

é a diversificação da estratégia de conexão dos farmacóforos. Assim, em seguida, procura-se obter um segundo subgrupo de híbridos moleculares difenilureia-adenina com variação de *linker*.

4.2. Híbridos difenilureia-adenina com variação de *linker*

O segundo grupo de híbridos difenilureia-adenina deste trabalho apresenta diversificação nos grupos que conectam os farmacóforos, os *linkers*, e esta família pode ser dividida em 3 subgrupos de acordo com seus *linkers*: cadeia alquílica, amida e triazol (Figura 25).

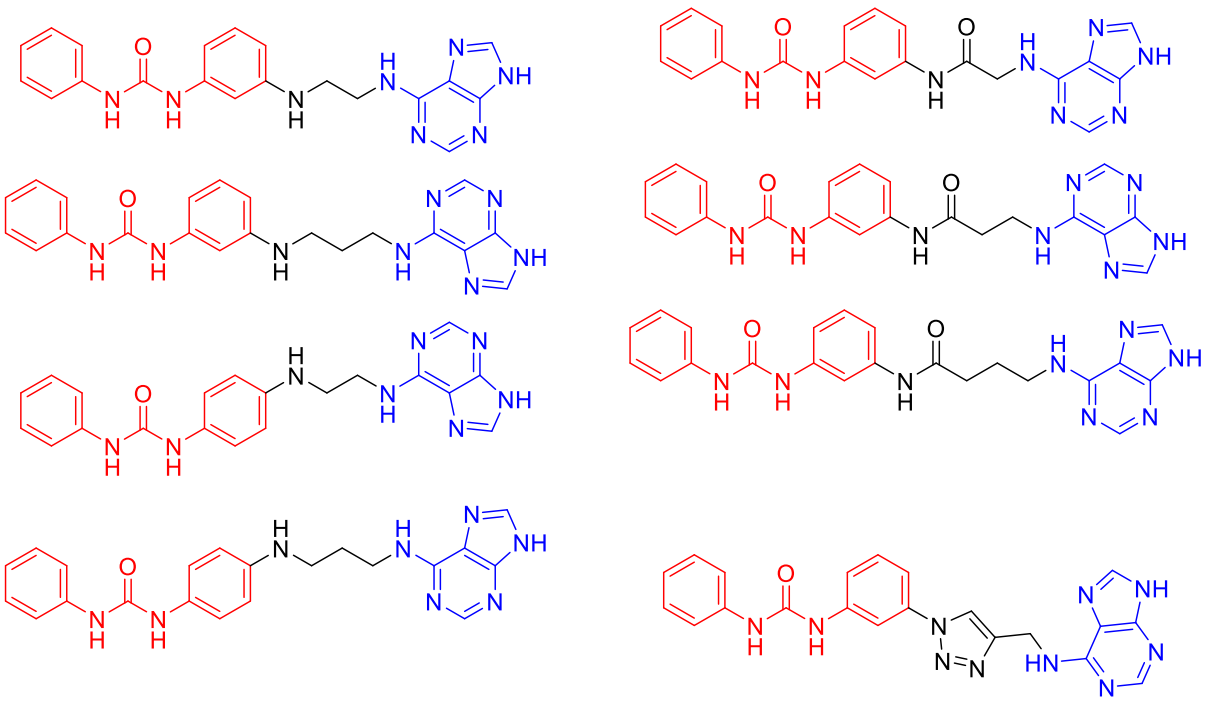
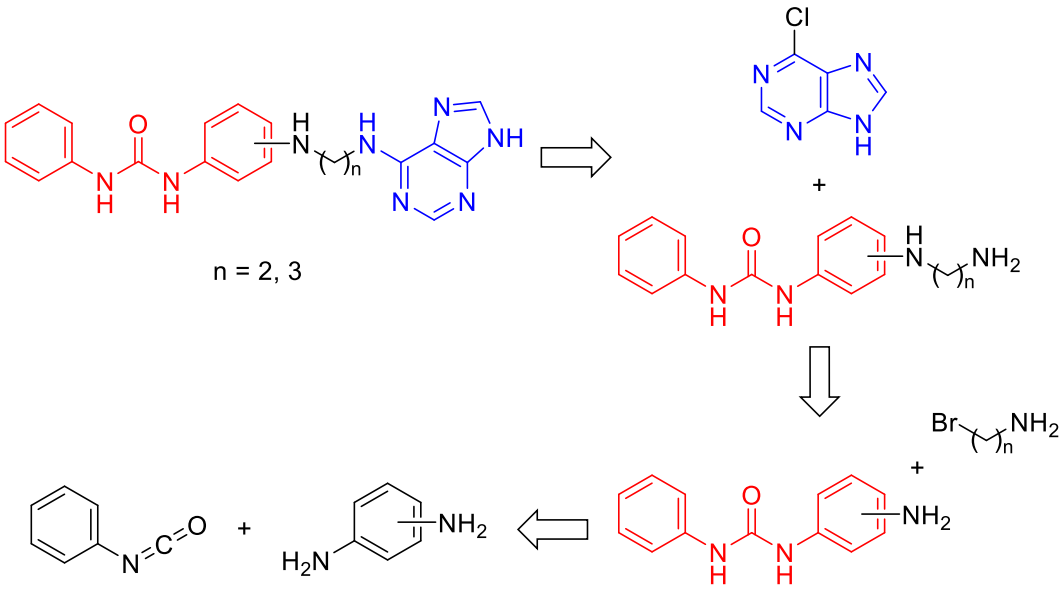


Figura 25. Híbridos difenilureia-adenina com variação de *linker* planejados.

4.2.1. Híbridos difenilureia-alquil-adenina

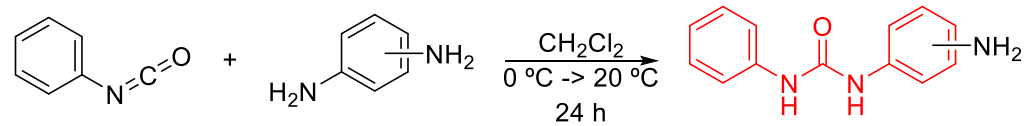
Os compostos híbridos sintetizados anteriormente apresentaram hibridização via conexão direta à adenina. Devido à conjugação presente nessa conexão direta, a estrutura da molécula tende a ser plana e rígida para não perder a estabilidade proveniente da ressonância. A introdução de flexibilidade de rotação e um maior distanciamento entre os farmacóforos pode ser interessante para proporcionar novas

interações nas proteínas-alvo. Para obtenção de híbridos contendo *linker* flexível, pode-se introduzir uma alquil amina terminal via S_N2 na difenilureia e novamente conectar os núcleos via reação de substituição nucleofílica aromática (Esquema 26).



Esquema 26. Retrossíntese para obtenção dos híbridos difenilureia-alquil-adenina.

A preparação de amino-difenilureias **4a-b**, como já desenvolvida no trabalho prévio de graduação,[42] consiste no ataque de fenilenodiamina **3a-b** em isocianato de fenila **2** (Esquema 27). Para evitar a dupla adição de isocianato **2**, o reagente foi adicionado diluído e lentamente e foi utilizado um excesso significativo de fenilenodiamina **3ab**. Assim foi possível obter aminofenil-fenilureias *meta* **4a** e *para* **4b** com rendimentos de 71% e 83% respectivamente.



2
(1 Equivalente)

3a-b
(2 Equivalentes)

4a: *meta* = 71%
4b: *para* = 83%

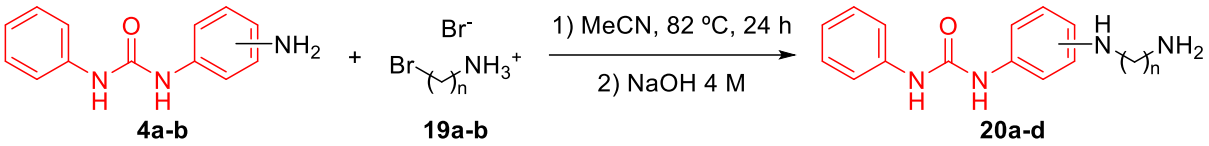
Esquema 27. Síntese de intermediários aminofenil-fenilureias **4a-b**.

4.2.1.1. Síntese de intermediários N-aminoalquil-aminodifenilureias

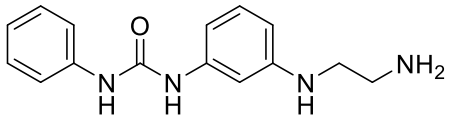
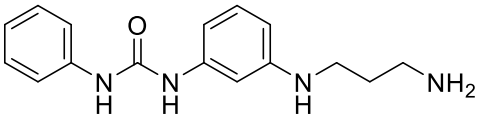
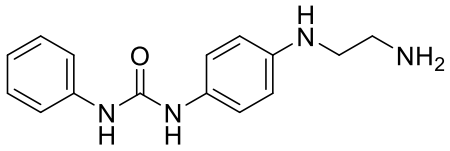
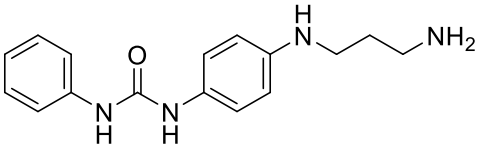
A incorporação da cadeia flexível que se tornaria o *linker* foi obtida via reação de S_N2 com bromo-alquilaminas na forma de bromoidratos **19a-b**. Pela combinação

de posição do grupo amino e tamanho de cadeia foram obtidos 4 compostos amino-alquil-difenilureia **20a-d** inéditos (Tabela 5).

Tabela 5. Síntese de intermediários N-aminoalquil-aminodifenilureias **20a-d** via S_N2.



4a-b **19a-b** **20a-d**

Entrada	Produto	Rend. (%)
1	 **20a**	81
2	 **20b**	69
3	 **20c**	62
4	 **20d**	48

Apesar de a alquilação de aminas via S_N2 ser tipicamente uma estratégia pouco aconselhada devido à possibilidade de polialquilação, não foi observada formação significativa de subprodutos e foram obtidos rendimentos entre 40 e 80%. Contudo, observa-se que, para os compostos com grupo amino em *meta* (partindo de **4a**) foram obtidos rendimentos maiores que para o equivalente em *para* (partindo de **4b**). Com 81% para **20a** comparado com 62% para **20c**, e 69% para **20b** comparado com 48% para **20d**. Os produtos foram caracterizados via RMN de ^1H e ^{13}C, como exemplo está apresentado abaixo o espectro de RMN de ^1H do produto *para* etilamino **20c** (Figura 26).

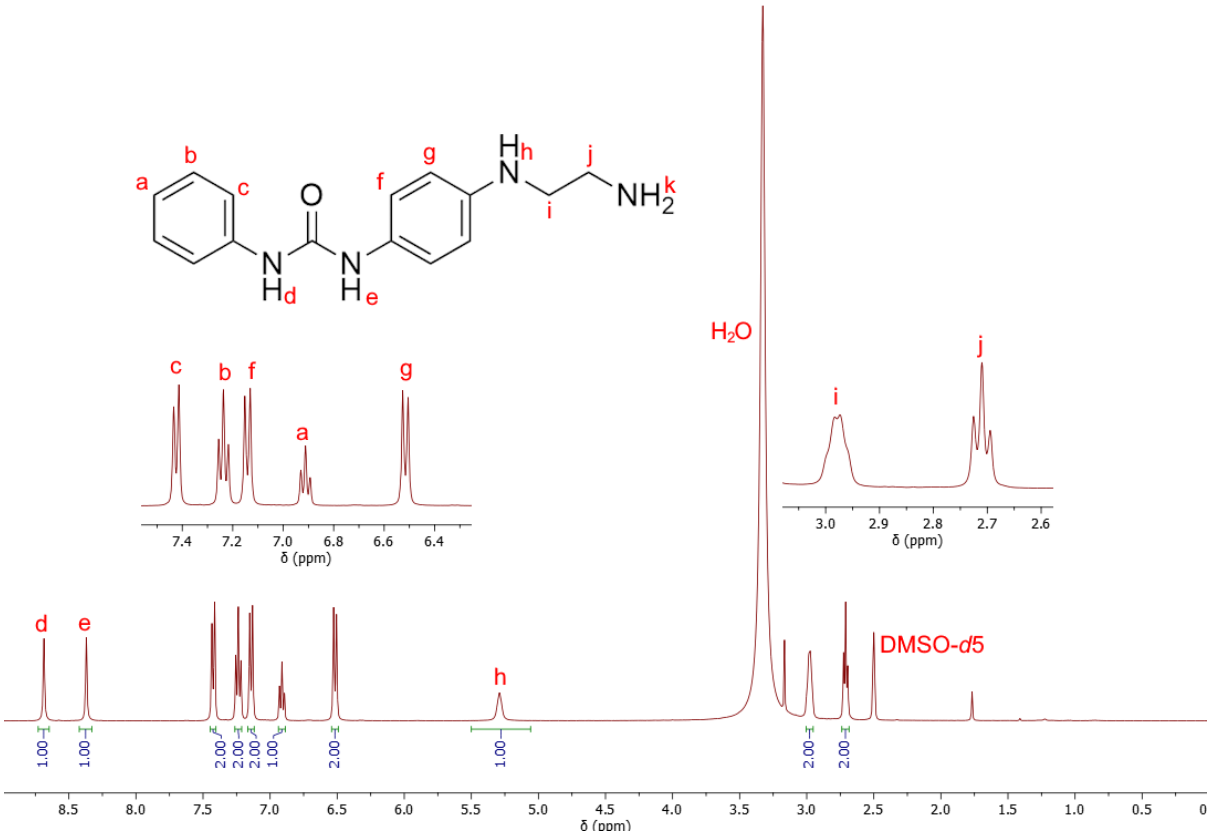
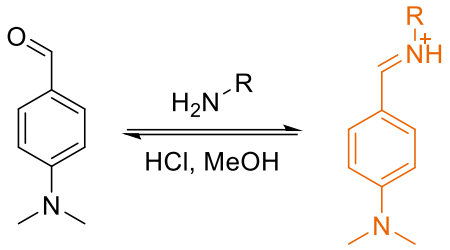


Figura 26. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((2-aminoetil)amino)fenil)-3-fenilureia **20c**.

O posicionamento *para* do grupo aminoetil-amina está aparente pelos sinais de H_f e H_g em 7,14 e 6,52 ppm respectivamente e com integral relativa de 2 H para cada um devido à simetria do aromático. O grupo amino ligado ao anel, H_h está representado pelo sinal alargado em 5,29 ppm e os hidrogênio metilênicos H_i e H_j têm deslocamento de 2,98 e 2,71 respectivamente com integral relativa de 2 H para cada. Os hidrogênios metilênicos apresentam um acoplamento ^3J entre si de aproximadamente 6,2 Hz como é aparente pela multiplicidade de tripleto do H_j em 2,71 ppm. Contudo H_i é representado por um multipleto alargado devido ao acoplamento ^3J com H_j e ^3J com H_h. Os N-Hs do grupo amino terminal, H_k não são observados no espectro, possivelmente estando sobrepostos pelo sinal intenso da água proveniente do solvente deuterado ou alargados ao ponto de serem indistinguíveis da linha de base.

Contudo a presença desse grupo funcional foi verificada pelo teste com a solução de Ehrlich (Esquema 28). Neste teste, é detectada a presença de nucleófilos onde, especificamente para aminas, o reagente 4-(dimetilamino)-benzaldeído reage em condições acidas para formar um produto imina com forte coloração laranja.

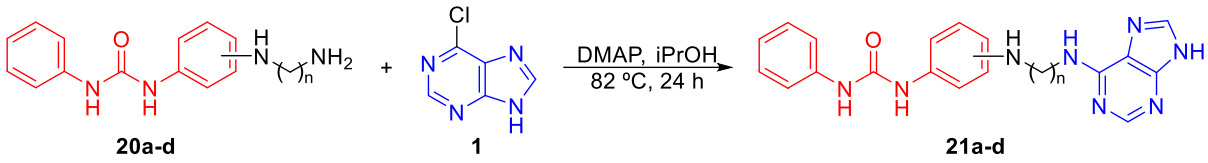


Esquema 28. Reação de teste de Ehrlich para detecção de aminas.

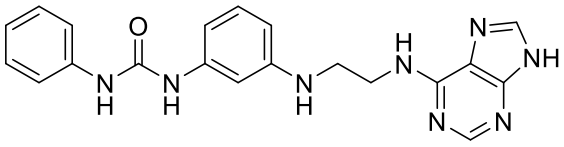
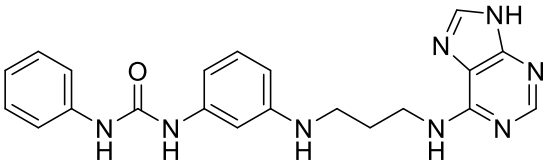
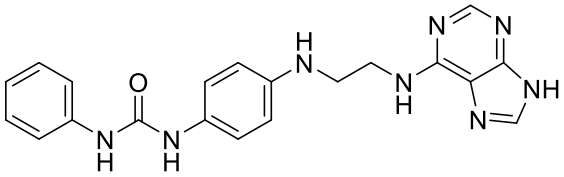
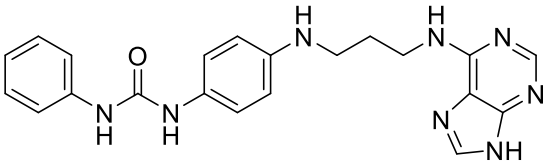
4.2.1.2. Síntese de híbridos difenilureia-alquil-adenina via S_NAr

Por fim, com a obtenção dos intermediários alquilamino-difenilureia **20a-d** podem ser obtidos os compostos híbridos pelo ataque a 6-cloropurina **1** como descrito anteriormente. Assim os intermediários obtidos foram submetidos a condições de reação de substituição nucleofílica aromática para se obter os compostos híbridos inéditos **21a-d** (Tabela 6).

Tabela 6. Síntese de híbridos difenilureia-alquil-adenina **21a-d** via S_NAr.



20a-d + **1** → **21a-d**

Entrada	Produto	Rend. (%)
1	 **21a**	18
2	 **21b**	17
3	 **21c**	38
4	 **21d**	12

O composto híbrido com *linker* etil na posição *meta* **21a** (entrada 1) foi sintetizado previamente no trabalho de conclusão da graduação, contudo os outros híbridos foram sintetizados neste trabalho. Apesar de usar condições similares à síntese dos híbridos anteriores, foram obtidos rendimentos menores com o uso de aminas alquílicas do que com aminas aromáticas. Enquanto que os híbridos anteriores tiveram consumo do reagente limitante tipicamente entre 4 e 8 horas (Esquema 25, página 47), estas sínteses não tiveram consumo total do reagente limitante **1** mesmo após 24 horas. Tempos reacionais maiores e tentativas em temperaturas mais altas levaram a surgimento significativo de produtos de

degradação sem melhoras no rendimento. Ademais, os produtos necessitaram purificação via cromatografia em coluna, diferentemente dos híbridos sem *linker* que foram isolados puros via filtração. Apesar dos rendimentos relativamente menores, os produtos inéditos foram obtidos com sucesso e foram caracterizados via ressonância de RMN de ^{1}H e ^{13}C (Figura 27).

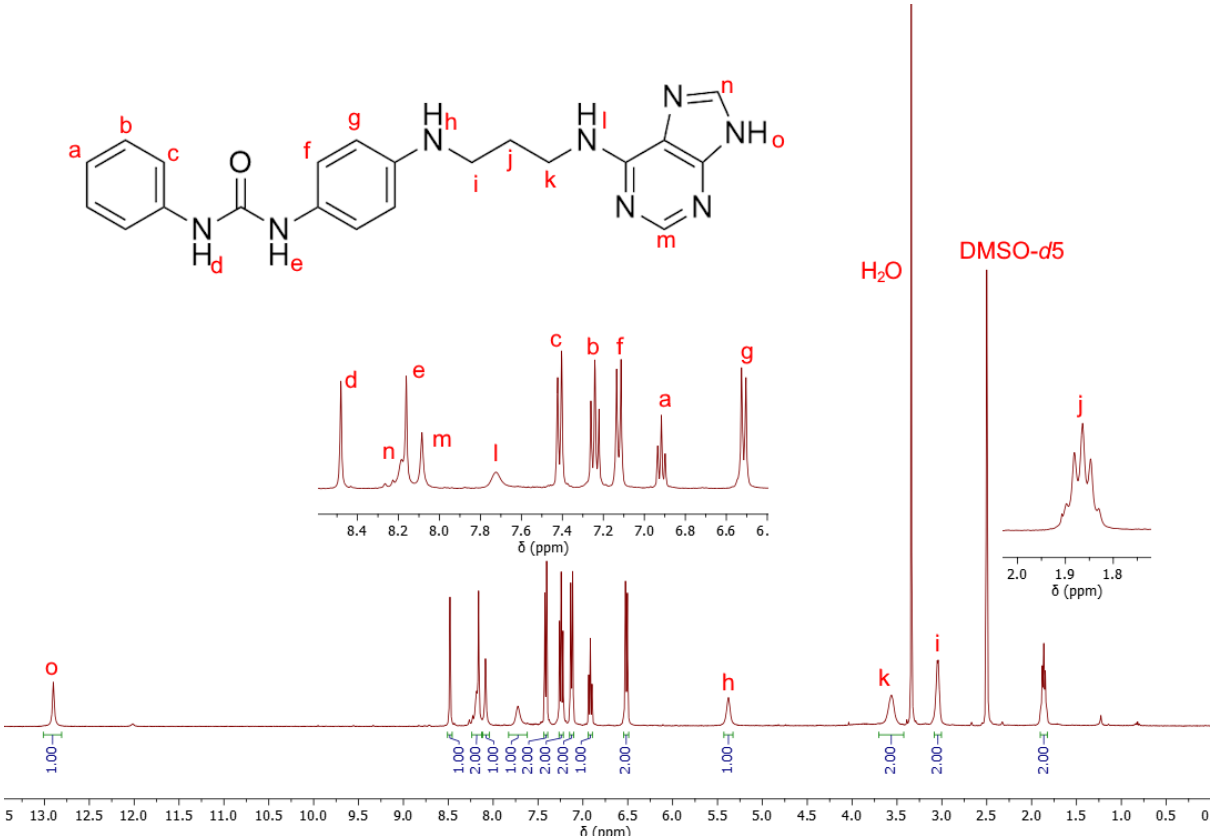


Figura 27. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia **21d**.

Primeiramente o núcleo difenilureia é evidenciado pela permanência dos sinais observados no precursor; os N-Hs da ureia H_d e H_e presentes como singletos em 8,48 e 8,16 ppm; os C-Hs aromáticos do anel terminal em 7,41 ppm para H_c, 7,24 ppm para H_b e 6,92 ppm para H_a; e para o anel *para* substituído H_f e H_g em 7,12 e 6,51 ppm respectivamente com integral relativa para 2 H cada. Também similar ao reagente é o N-H do amino aromático, H_h representado por um sinal alargado em 5,38 ppm. Na região mais blindada, estão aparentes os metilenos do grupo *linker,* com H_k e H_i mais desblindados em 3,56 e 3,05 ppm respectivamente devido à proximidade com nitrogênios eletronegativos, enquanto que H_j em 1,86 ppm apresenta multiplicidade de quintupleto devido a ^{3}J de 6,9 Hz com 2 H_k e 2 H_i. Indicando a incorporação da adenina, além do maior deslocamento de H_k,

observam-se o C-H imidazólico H_n em 8,19 ppm e o C-H pirimidínico H_m em 8,08 ppm, além de H_o altamente desblindado em 12,90 ppm como esperado para esse NH imidazólico relativamente ácido. Um novo sinal, sinal ausente em ambos os reagentes, é o sinal alargado em 7,72 ppm representando o N-H H_l, evidenciando a conexão do *linker* ao núcleo adenina.

Para identificação dos carbonos via RMN, principalmente os carbonos sem ligação com hidrogênio, foi feito também o experimento de HMBC junto com RMN de ^{13}C (Figura 28) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 175). Neste caso observa-se majoritariamente correlações a 2 ou 3 ligações sendo os sinais para ^{3}J relativamente mais intensos devido à configuração do equipamento.

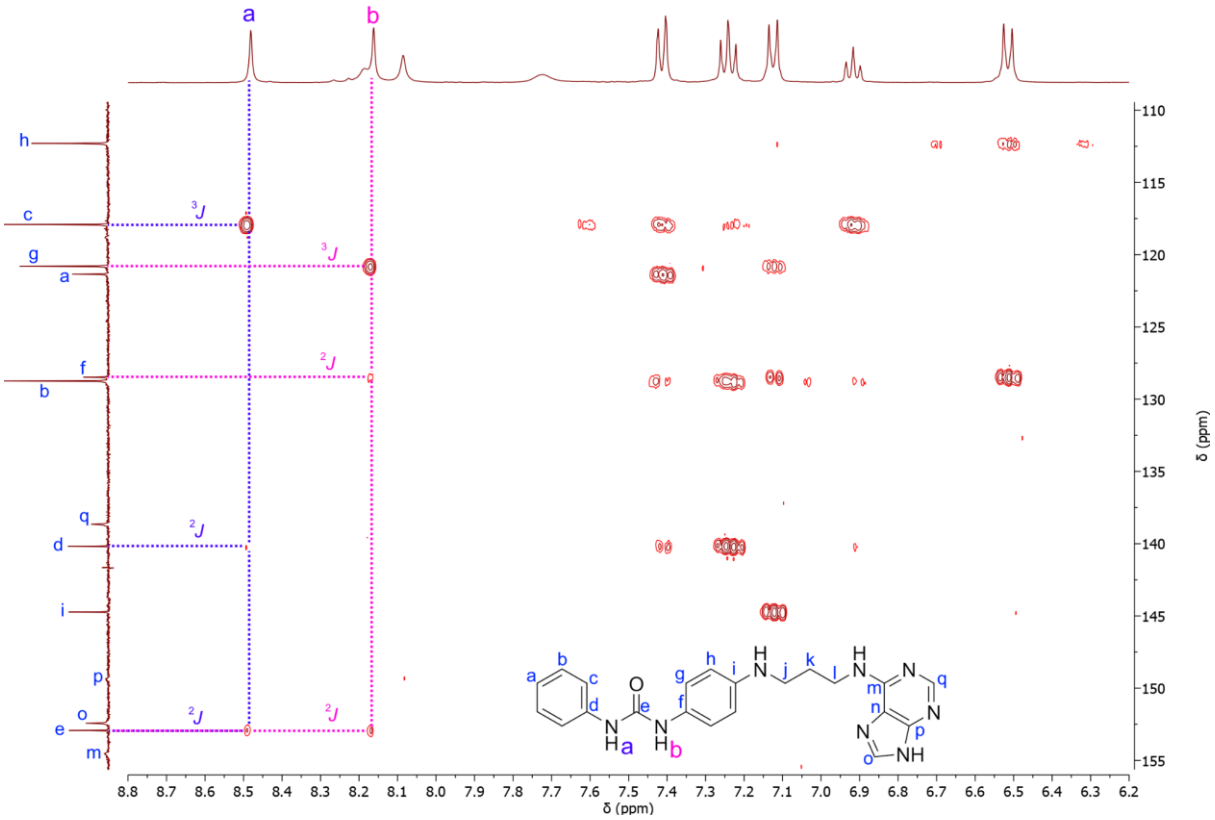


Figura 28. Ampliação do espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia **21d** na região entre 6,2 e 8,8 ppm (^1H) e 110 e 155 ppm (^{13}C). Acoplamentos de H_a e H_b.

Ampliando na região aromática do espectro, observam-se primeiramente os carbonos que apresentam acoplamento com os hidrogênios do tipo N-H da ureia como o carbono carbonílico da ureia, C_e em 152,9 ppm acoplando em ^{2}J com ambos os hidrogênios. Para o grupo fenil mono-substituído (correlações em roxo), H_a

apresenta correlação pouco intensa no espectro com C_d em 140,2 ppm e mais intensa com C_c em 117,9 ppm já que C_c é ^3J e C_d é ^2J. Similarmente para o sistema *para* substituído (em rosa), H_b apresenta correlações com C_f em 128,5 ppm a e C_g em 120,8 ppm.

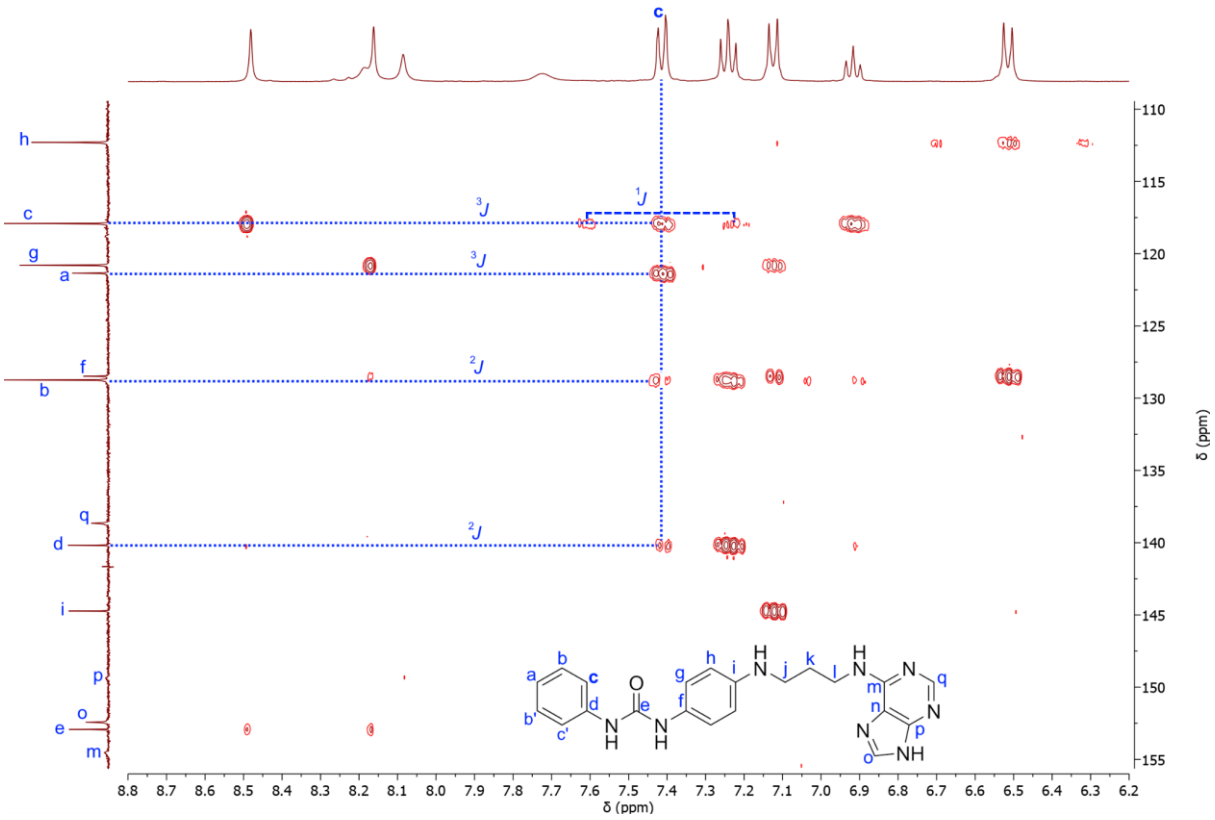


Figura 29. Ampliação do espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia **21d** na região entre 6,2 e 8,8 ppm (^{1}H) e 110 e 155 ppm (^{13}C). Acoplamentos de H_c.

Os demais carbonos do sistema fenil mono-substituído podem ser atribuídos pelas correlações observadas para H_c (Figura 29). Para C_c observam-se duas correlações devido à simetria do sistema, havendo ^3J com o carbono $C_{c'}$ e ^1J com C_c (presente como dois sinais vizinhos) ambos em 117,9 ppm. Observa-se também o acoplamento ^3J com C_a em 121,4 ppm, a ^2J com C_b em 128,7 ppm e a ^2J com C_d 140,2 ppm.

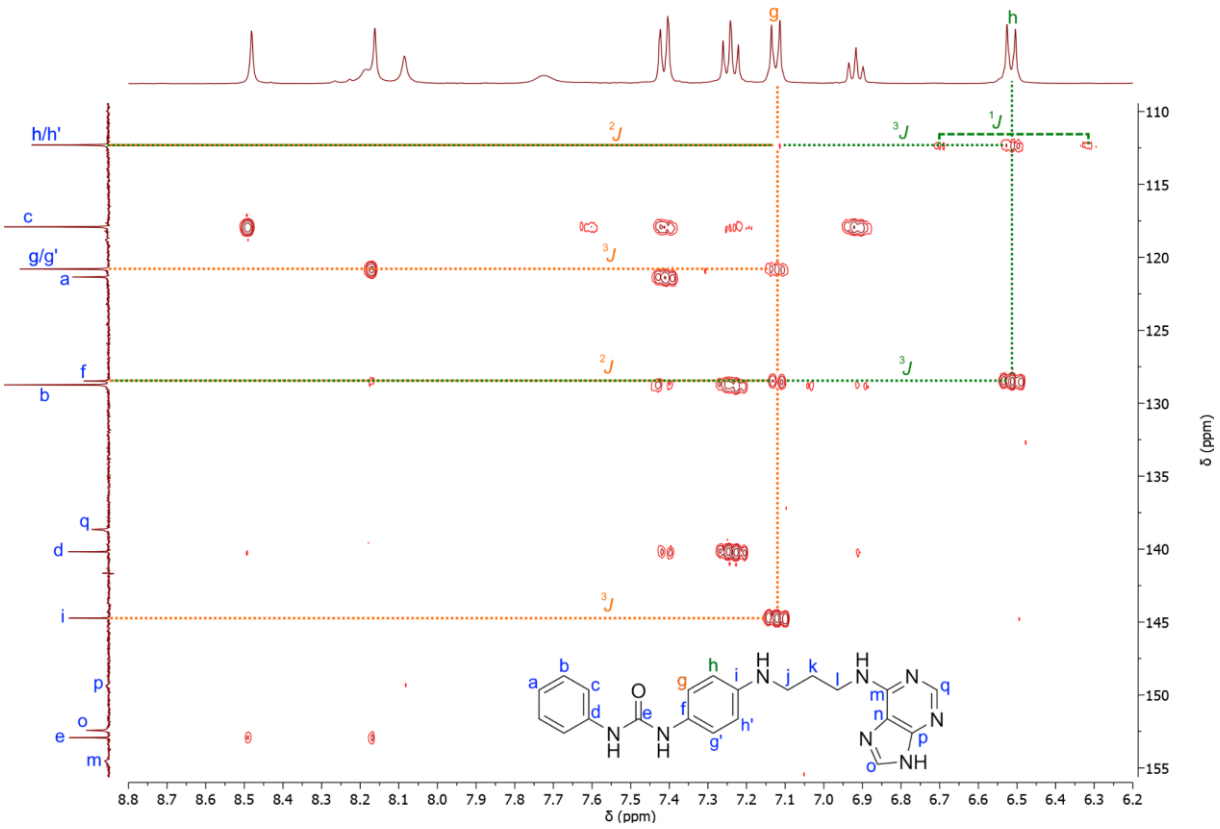


Figura 30. Ampliação do espectro de RMN de HMBC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia **21d** na região entre 6,2 e 8,8 ppm (^{1}H) e 110 e 155 ppm (^{13}C). Acoplamentos de H_g e H_h.

Para o sistema *para* substituído, podem ser identificados os carbonos pelos acoplamentos com H_g e H_h (Figura 30). Para C_h em 112,3 ppm há uma fraca correlação com H_g por ser ^{2}J enquanto que para H_h apresenta dois sinais de acoplamento ^{1}J e ^{3}J sobrepostos devido à simetria. Com $C_{g'}$ em 120,8 ppm há correlação com H_g a 3 ligações, C_f em 128,5 ppm apresenta acoplamento a ^{2}J com H_g e ^{3}J com H_h, e o C_i em 144,7 ppm tem ^{3}J com H_g. Com os carbonos identificados via HMBC, o espectro de ^{13}C inteiro pode ser atribuído (Figura 31).

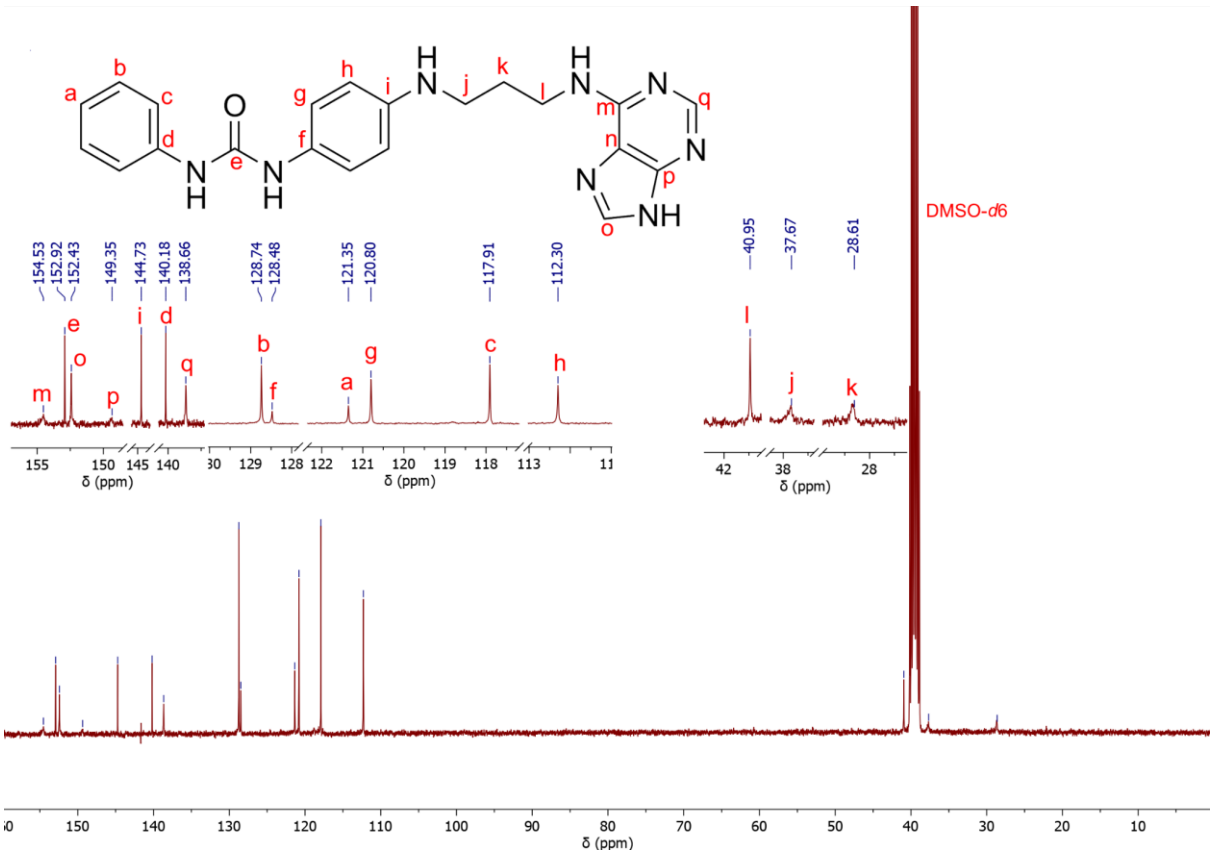


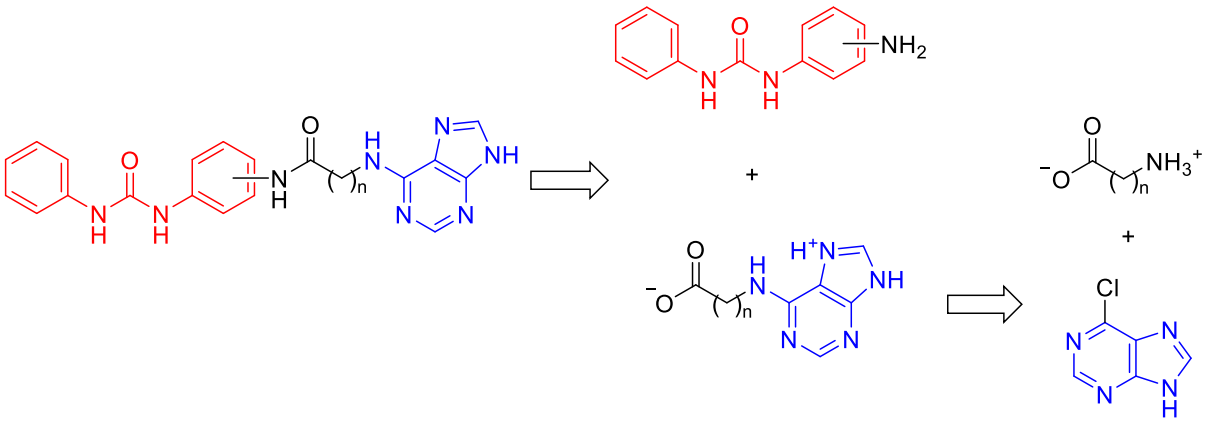
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia **21d**.

Dos carbonos não identificados via HMBC, observa-se o metileno C_k como o sinal mais blindado em 28,6 ppm devido ao seu caráter alquílico junto com os demais CH_2 C_j e C_k mais desblindados em 37,7 ppm e 41,0 ppm respectivamente devido à eletronegatividade dos nitrogênios próximos. Os remanescentes carbonos aromáticos C_m, C_n, C_o, C_p e C_q são do núcleo adenina e tendem a ser pouco intensos. Por serem CHs, C_o e C_q são relativamente mais intensos e são identificados em 152,4 e 138,7 ppm. Contudo C_m, C_n e C_p são de difícil atribuição, dois dos carbonos são referentes aos sinais pouco intensos e alargados em 154,5 e 149,4 ppm e o terceiro não foi possível identificá-lo.

Os híbridos difenilureia-adenina **21a-d** com *linker* metilênico flexível foram obtidos com sucesso em 3 etapas reacionais. Os compostos inéditos apresentaram variação no tamanho de cadeia e na posição do *linker* na difenilureia. Em seguida, procura-se incorporar o grupo funcional amida nesse *linker* visando proporcionar novas interações intermoleculares no sítio de ligação das proteínas alvo.

4.2.2. Híbridos difenilureia-amida-adenina

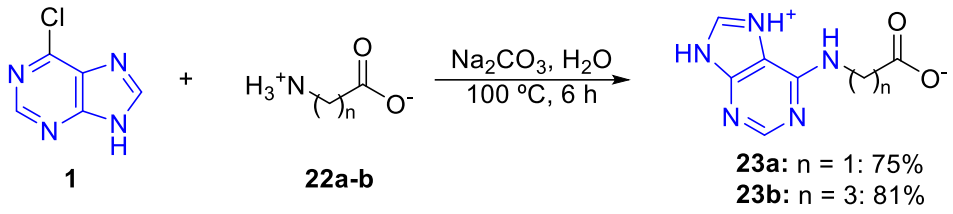
Devido à abundância desse grupo funcional no meio biológico, amidas são interessantes para o desenvolvimento de fármacos, podendo proporcionar novas interações intermoleculares em sítios de ligação. Tipicamente a formação de amidas se dá com uma amina e um ácido carboxílico, neste caso sendo escolhido amino-difenilureia **4a** já sintetizado anteriormente. Para o composto carboxilato, foi escolhido um derivado de adenina obtido a partir de aminoácidos (Esquema 29).



Esquema 29. Retrossíntese para obtenção de híbridos difenilureia-amida-adenina.

4.2.2.1. Síntese de intermediários purina-aminoácidos

Para os intermediários adenina contendo ácido carboxílico **23a-b** utilizou-se o procedimento descrito por Ward *et al*. Assim, foram utilizados aminoácidos **22a-b** para reação de substituição nucleofílica aromática com 6-cloropurina **1** em meio aquoso com auxílio de carbonato de sódio como base (Esquema 30).[49]



Esquema 30. Síntese de intermediários purina-aminoácidos **23a-b** via S_NAr.

Foram utilizados glicina **22a** e ácido 4-aminobutírico **22b** para obter híbridos com uma variedade no tamanho na distância dos farmacóforos. E foram obtidos com

sucesso os intermediários **23a-b** com rendimentos de 75 e 81%. A obtenção e pureza dos produtos foram evidenciada via RMN de ^{1}H (Figura 32).

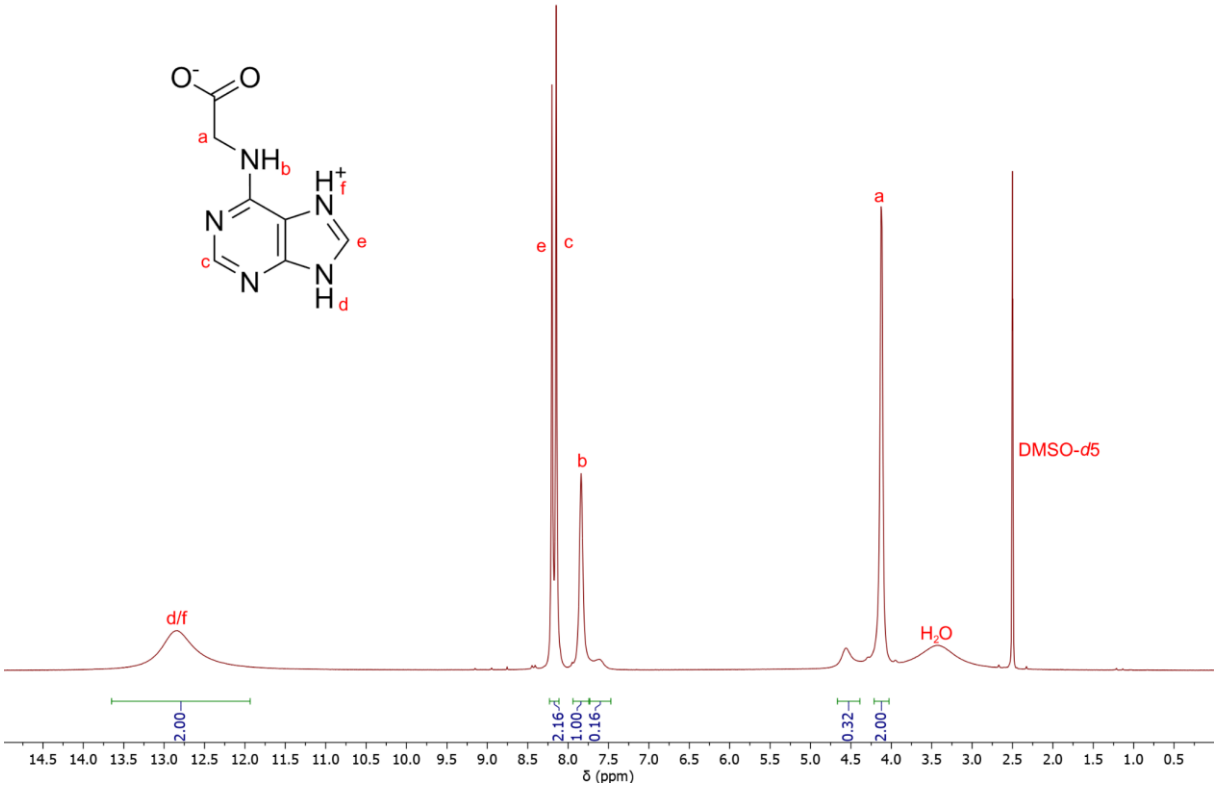
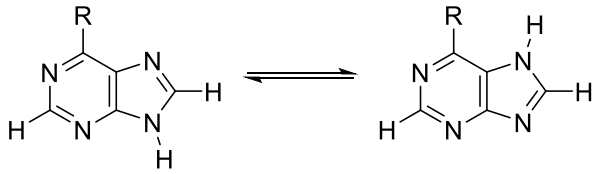


Figura 32. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto ácido 2-((purin-6-il)amino) acético **23a**.

Como o composto é um zwitterion, há carga positiva distribuída no anel aromático, assim os hidrogênios N-H imidazólicos H_d e H_f são altamente desblindados, representados pelo sinal alargado na região entre 14 e 12 ppm com integral relativa para 2H. Os C-Hs aromáticos, H_c e H_e aparecem como singletos em 8,20 e 8,14 ppm, e o singleto em 7,84 ppm levemente alargado representa o N-H H_b. Por fim, o sinal mais blindado da estrutura em 4,12 ppm representa H_a do metileno entre o carboxilato e a amina. Contudo, nota-se no espectro que, em 7,60 e 4,67 ppm há dois sinais pouco intensos alargados. Enquanto que aparente ser uma impureza, encontra-se na literatura que derivados de purina apresentam tautomerismo identificável por RMN (Esquema 31).[50]



R= N=CHN(Me)$_2$, Cl, OMe

Esquema 31. Tautomerismo de purinas observado por Sečkářová *et al*.[50]

Para avaliar essa possibilidade, a análise de RMN de ^{1}H foi repetida a diferentes temperaturas (Figura 33).

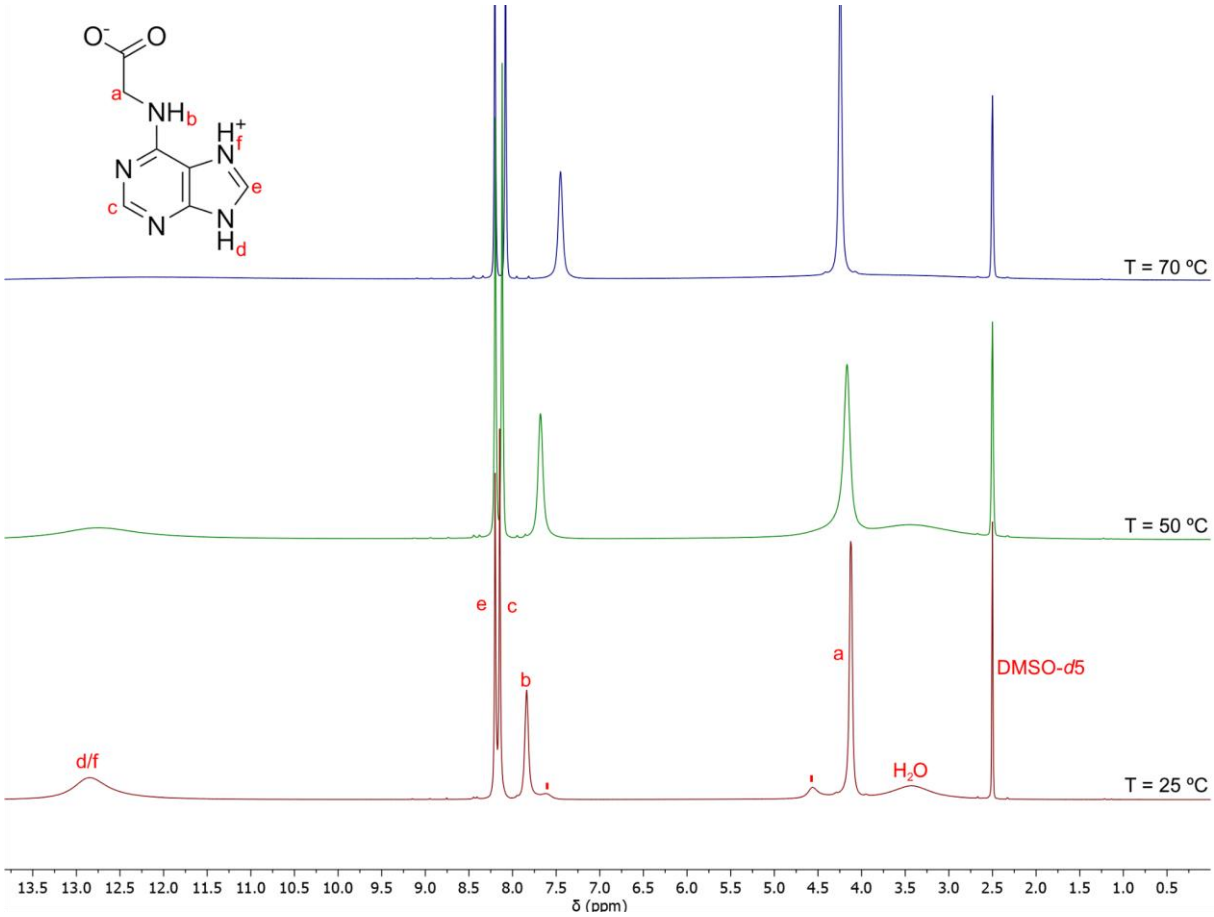


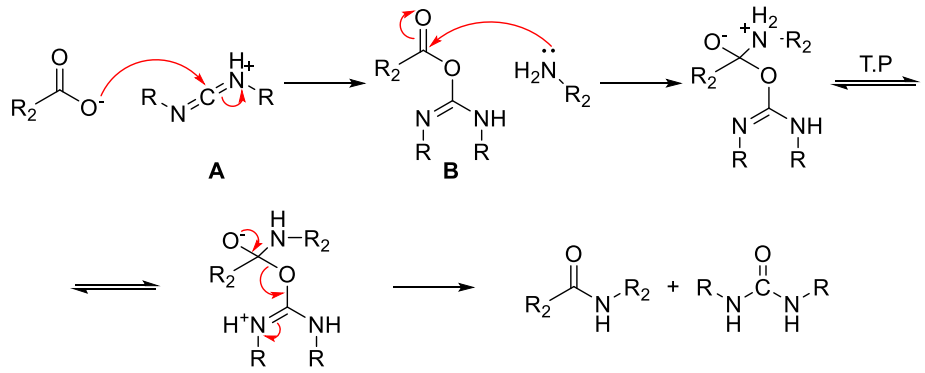
Figura 33. Espectros de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto ácido 2-((purin-6-il)amino) acético **23a** a 25, 50 e 70 ºC sobrepostos.

Observa-se que a 50 ºC os sinais desconhecidos coalescem com os sinais vizinhos, tornando H_c e H_b mais largos. E a 70 ºC os sinais se tornam mais definidos e alterando os deslocamentos químicos de H_c para 7,45 ppm a 70 ºC e 4,24 ppm para H_b. Além disso, observa-se um maior alargamento do sinal referente a H_a e H_f tornando-o indistinguível da linha de base. Contudo, o tautomerismo descrito pelos

autores é devido à posição de H_f no anel imidazólico, causando duplicação dos sinais H_e e H_d. E neste caso não houve alteração nesses sinais no produto obtido, indicando ser uma outra forma de tautomeria.

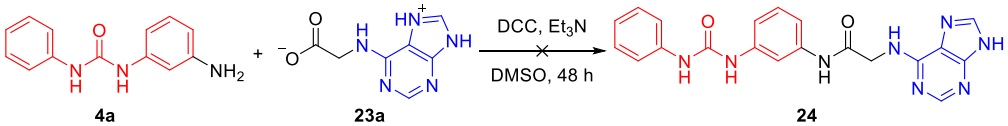
4.2.2.2. Síntese de amidas via reação de acoplamento

Para a preparação de amidas a partir de ácido carboxílico via acoplamento utiliza-se um reagente ativador que transforma o carboxilato em um centro eletrofílico e também proporciona a remoção de água formada na reação. Reagentes típicos para isso são carbodi-imidas **A**, que formam derivados ureia como subproduto do acoplamento (Esquema 32).



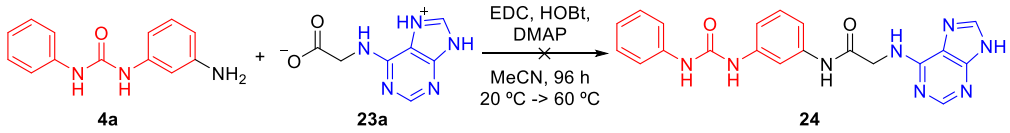
Esquema 32. Mecanismo de acoplamento de amida utilizado carbodi-imida.

Como descrito no esquema 32, o reagente de acoplamento carbodi-imida **A** é eletrofílico podendo ser atacado pelo carboxilato e formando um intermediário éster-isoureia **B**. Esse intermediário é muito mais eletrofílico que o carboxilato e contém um grupo de saída conjugado favorecendo a formação da amida. Inicialmente utilizou-se o reagente diciclohexilcarbodi-imida (DCC) devido à sua disponibilidade e baixo custo, assim o subproduto é diciclohexilureia. O DMSO foi utilizado como solvente devido à baixa solubilidade dos reagentes em outros solventes testados (Esquema 33).



Esquema 33. Tentativa de síntese do híbrido difenilureia-amida-adenina **24** via reação de acoplamento com DCC.

Apesar da mudança de aspecto reacional com a alteração da coloração da solução e precipitação de um sólido, a monitoração via CCD não demonstrou consumo ou diminuição significativa de um dos reagentes. Procurando favorecer a formação do intermediário ativado e o ataque nesse intermediário, foram alteradas as condições utilizando o procedimento de Ghosh e Shahabi. Os autores utilizaram 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodi-imida (EDC) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) como reagentes de acoplamento (Esquema 34).[51] Esse protocolo foi desenvolvido para nucleófilos fracos, como anilinas, e os autores também demonstraram sucesso para acoplamento com derivados de aminoácidos.



Esquema 34. Tentativa de síntese do híbrido difenilureia-amida-adenina **24** via reação de acoplamento com EDC, HOBt.

Inicialmente a reação foi mantida sob temperatura ambiente com monitoração via CCD (Figura 34). Após 24 horas foi detectada a formação de um novo produto (R_f ~0,45) em baixa concentração, contudo sem consumo dos reagentes mesmo após mais 24 horas de reação (48 horas em total). Assim, a mistura foi mantida sob aquecimento aproximadamente entre 50 - 60 ºC e depois de mais 24 horas observou-se diminuição do reagente aminofenil-fenilureia **4a** (72 horas em total). Por fim, com 96 horas total, não foi detectado o reagente então a mistura foi tratada, purificada via cromatografia e o produto isolado foi analisado via RMN de ^{1}H (Figura 35).

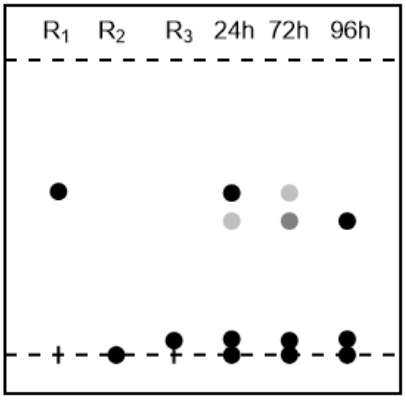


Figura 34. Representação da cromatografia de camada delgada durante a reação de acoplamento de amida. R_1: aminofenil-fenilureia **4a**, R_2: purinil-glicina **23a**, R_3: DMAP. Fase móvel: diclorometano/metanol 9:1. Revelador: luz UV 254 nm.

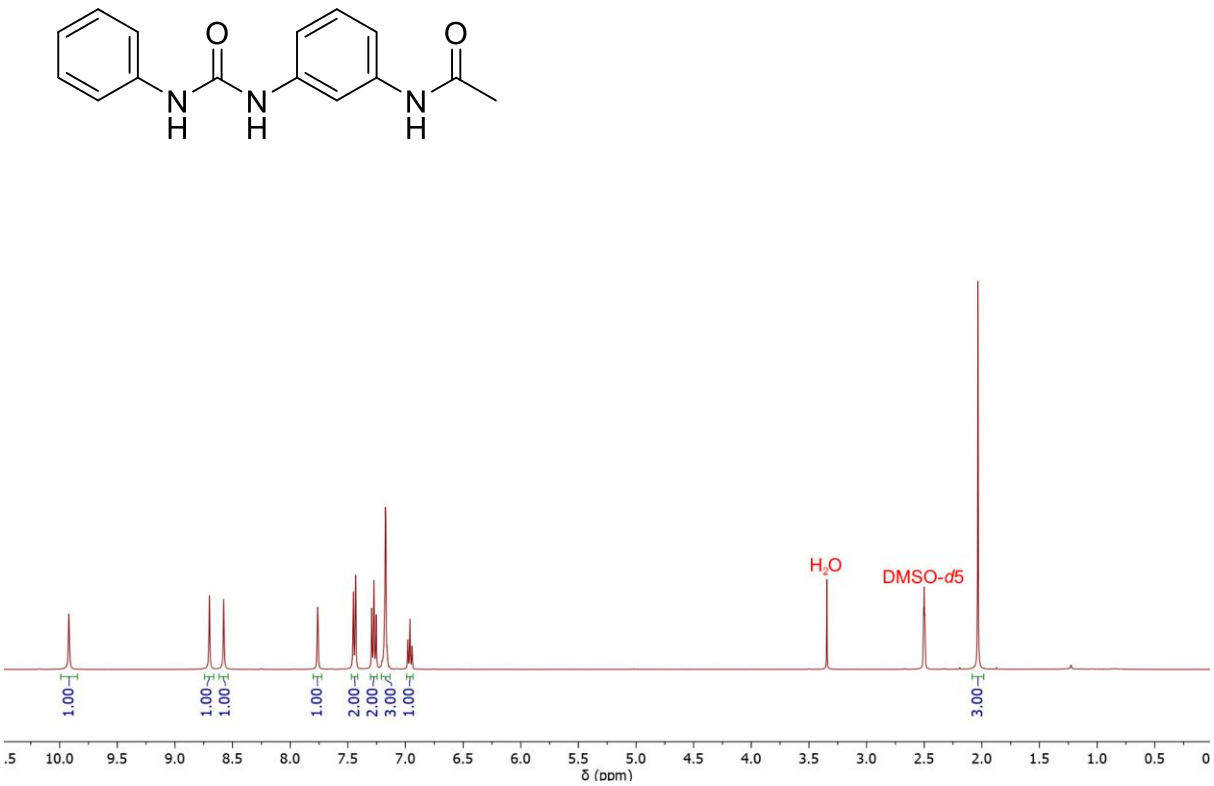
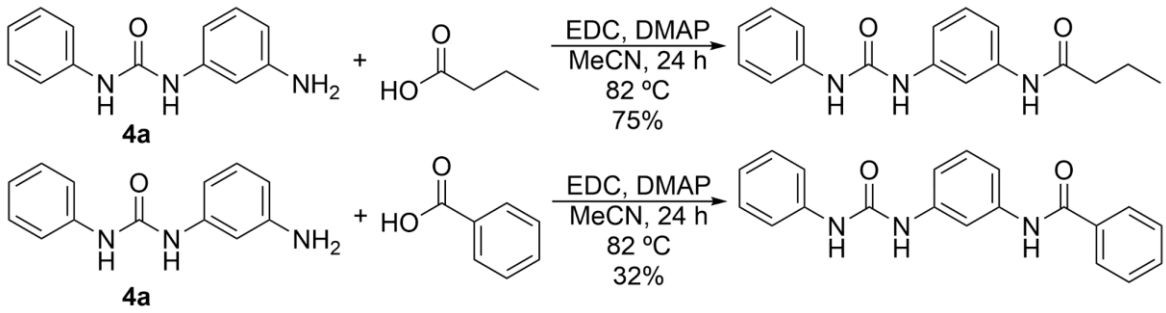


Figura 35. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto **25** obtido do acoplamento para obtenção do híbrido difenilureia-amida-adenina.

Pelo espectro de RMN obtido observa-se sinais relativos à difenilureia, como os N-Hs da ureia em 8,70 e 8,58 ppm, e os aromáticos entre 7,8 e 6,9 ppm apresentando integral total de 10 como esperado para os C-Hs desse núcleo. Contudo não há indícios do núcleo adenina, especificamente esperam-se dois singletos na região entre 8,0 e 8,4 relativos aos C-Hs aromáticos. Além dos sinais típicos de difenilureia, observa-se um singleto em 9,92 ppm indicando algum hidrogênio altamente desblindado, e um singleto em 2,03 ppm com integral relativa a 3 H. Este é característico de metila de grupo acetil assim, junto com o singleto altamente desblindado, indica que o produto obtido seja a acetamida **25** respectiva do reagente aminofenil-fenilureia **4a**.

No espectro do produto **25** isolado (Figura 35), o singleto com integral relativa de 3 H representa a metila do grupo acetil enquanto que para o NH desse grupo pode ser correlacionado o sinal altamente desblindado em 9,92 ppm. Esse composto já é conhecido na literatura e os valores espectroscópicos são próximos o suficiente para poder concluir que esta é a estrutura do produto formado.[27] Devido à origem desconhecida desse grupo acetil, foram conduzidas duas reações de acoplamento

com a aminofenil-fenilureia **4a** com ácidos carboxílicos simples, ácido butírico e ácido benzóico (Esquema 35).

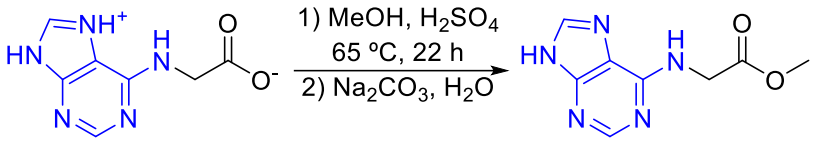


Esquema 35. Reações de acoplamento de amida entre aminofenil-fenilureia **4a** e ácido butírico e ácido benzóico.

Apesar de serem obtidos rendimentos significativamente diferentes, ambos os produtos amida foram formados com sucesso e não foi detectada a formação de outros subprodutos. O sucesso das reações de acoplamento confirma que o reagente aminofenil-fenilureia **4a** é compatível com as condições de acoplamento de amida, não sendo responsável pela reatividade inesperada obtida no acoplamento visando o híbrido difenilureia-amida-adenina. O intermediário **23a** demonstrou causar alguma reação indesejada levando a formação do produto acetamida-difenilureia **25** durante a reação de acoplamento. Então foi necessário procurar estratégias alternativas para a amidação desses produtos.

4.2.2.3. Síntese de amida via amidação de éster

O ataque direto de uma amina a um éster permite obter uma amida sem a necessidade de outros reagentes orgânicos e da formação de intermediários ativados, assim procurando um procedimento alternativo para preparação de amida optou-se pela estratégia de ataque a éster. Para isso foi então necessária a preparação do éster equivalente do reagente carboxílico (Esquema 36).



23a **26** 58%

Esquema 36. Síntese de 2-((purin-6-il)amino)acetato de metila **26** via reação de esterificação de Fischer.

Foi escolhido como álcool o metanol pois o éster metílico **26** formado sofre ataque nucleofílico mais rápido que outros ésteres. E o produto foi obtido com sucesso com 55% de rendimento e foi evidenciado via RMN de ^{1}H (Figura 36).

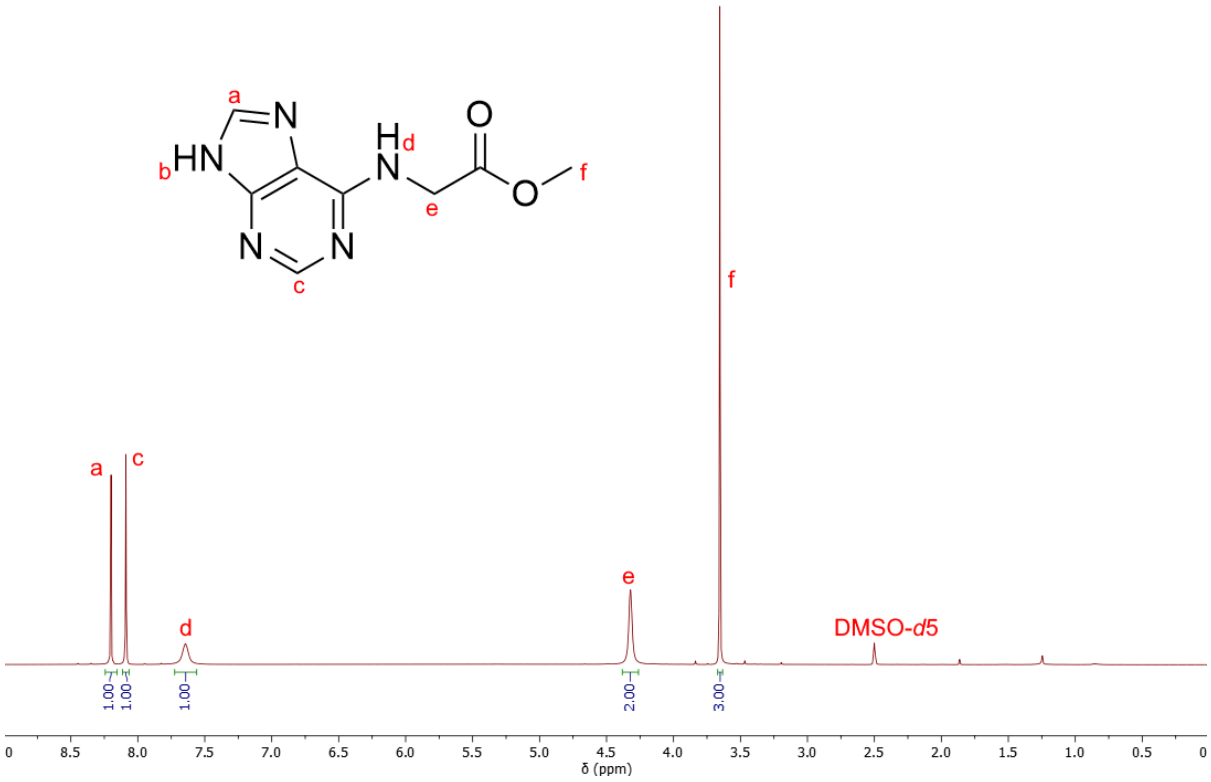
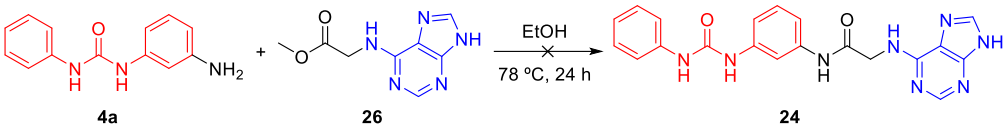


Figura 36. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6, T = 70 °C) do produto 2-((purin-6-il)amino)acetato de metila **26**.

O composto obtido apresentou os sinais esperados e foi condizendo com a descrição deste na literatura assim confirmando o sucesso da reação.[52] O éster **26** sintetizado permite tentar a reação de amidação direta utilizando novamente o reagente aminofenil-fenilureia **4a** (Esquema 37).

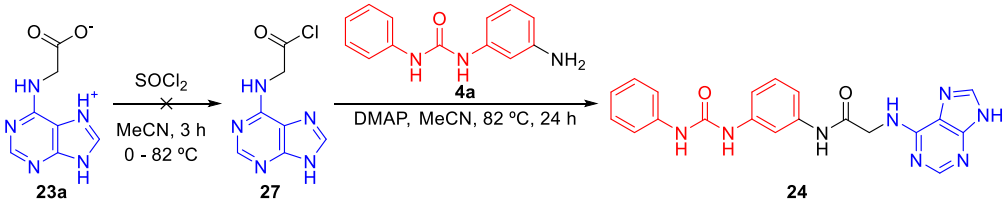


Esquema 37. Tentativa de síntese do híbrido difenilureia-amida-adenina **24** via reação de amidação direta de amina e éster.

Inicialmente utilizou-se como solvente o metanol, porém não foi observado a formação de um novo composto via CCD, então foi utilizado etanol devido ao seu maior ponto de ebulição em relação ao metanol. Com o aumento da temperatura observou-se um escurecimento do meio reacional, porém novamente não houve consumo dos reagentes ou formação de algum produto, como detectado via CCD. Com ácido de Lewis observou-se indício de novos produtos via CCD, porém tentativa de análise via RMN indicou ser apenas degradação dos reagentes. Por fim, ausência de solvente ou mudança para acetonitrila também falharam na formação de produto, somente havendo escurecimento do meio reacional. Desta forma, a estratégia via ataque a éster não foi efetiva na síntese do produto híbrido desejado provavelmente devido à baixa reatividade dos reagentes mesmo sob catálise de ácido de Lewis. Alternativas que utilizam reagentes ou formam intermediários mais reativos são mais promissoras para síntese do produto amida.

4.2.2.4. Síntese de amida via cloreto de ácido

Outra estratégia comum para a preparação de derivados de ácido carboxílico, como ésteres e amidas, é via intermediários cloreto de ácido. Para produtos mais complexos, a formação e utilização desses intermediários segue uma sequência *one pot* para evitar hidrólise sob contato com ar, revertendo o cloreto ao reagente carboxilato. Deste modo, aplicou-se essa estratégia de cloração e ataque em sequência *one pot* (Esquema 38).[24]

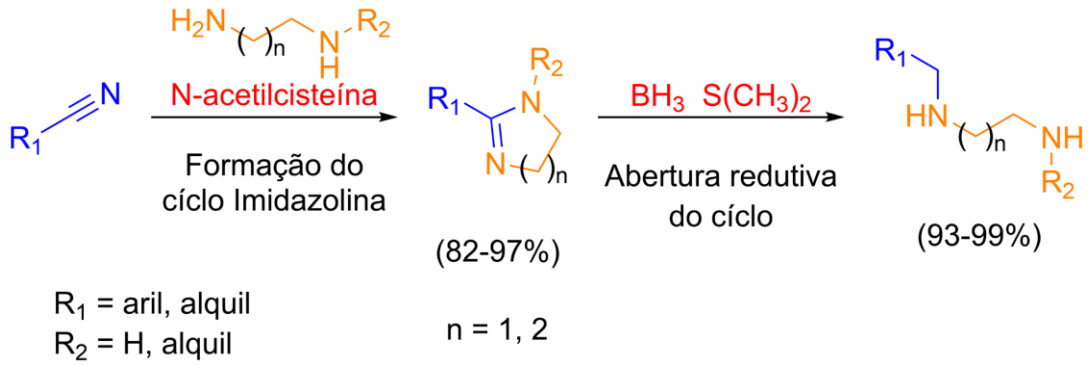


Esquema 38. Tentativa de síntese do híbrido difenilureia-amida-adenina **24** via cloreto de ácido.

Como agente de cloração utilizou-se cloreto de tionila ($SOCl_2$) sob aquecimento e em seguida foi introduzido o reagente aminofenil-fenilureia **4a** como nucleófilo. Análise do bruto reacional via CCD evidenciou apenas os reagentes e produtos altamente polares (compostos que não eluiram na placa de CCD). Durante a etapa de cloração a mistura tornou-se profundamente escura e, após a destilação, tornou-se um resíduo preto pouco solúvel. Indicando possível degradação do reagente carboxilato **23a** nessa etapa. Assim repetindo o procedimento, porém com n-butilamina com nucleófilo obteve-se novamente a formação de um sólido escuro, pouco solúvel e altamente polar. Como para a reação de acoplamento, concluiu-se que o reagente **23a** é incompatível com as condições utilizadas, sendo interessante evitar o uso desse intermediário e procurar outra rota sintética para obtenção de um híbrido difenilureia-amida-adenina.

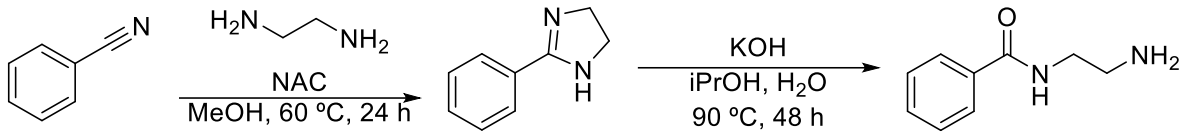
4.2.2.5. Síntese de amidas a partir de nitrilas

Procurando desenvolver uma nova rota sintética para síntese de amida e conexão do núcleo adenina, encontrou-se uma publicação recente descrevendo a síntese de polialquilaminas utilizando nitrilas e alcano diaminas (Esquema 39)[53].



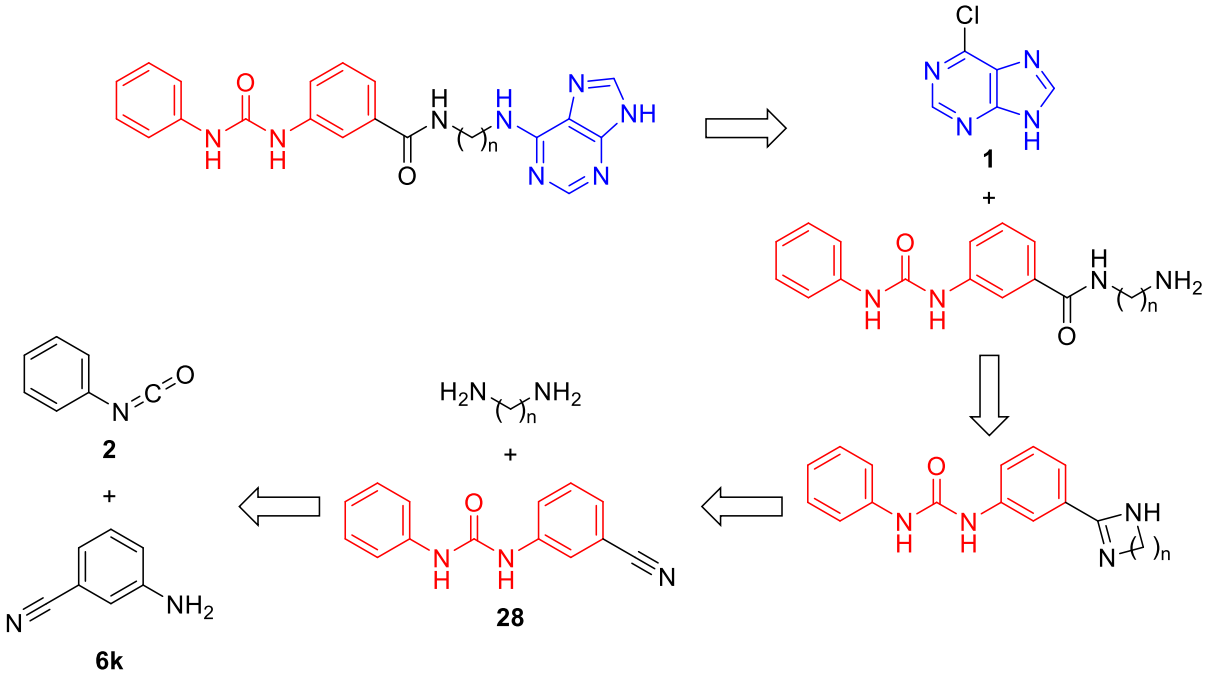
Esquema 39. Sequência de amidinação-redução de nitrilas para síntese de poliaminas descrita por Peñas-Sanjuán *et al*.[53]

Enquanto que os autores utilizam hidreto de boro como redutor para a abertura do ciclo, eles também descrevem abertura via hidrólise alcalina formando uma amida com uma amina alquílica conectada (Esquema 40).



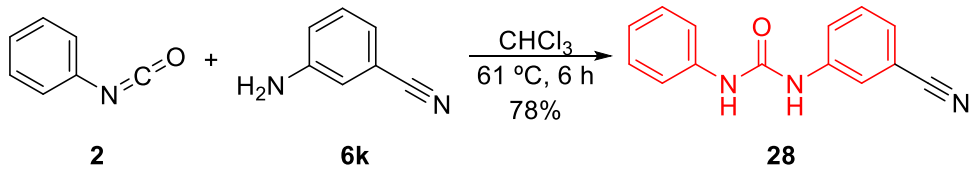
Esquema 40. Sequência para obtenção de benzamidas descrita por Peñas-Sanjuán *et al*.[53]

Assim podemos aplicar essa estratégia partindo de cianofenil-fenilureia **28**, formando o intermediário cíclico, hidrolisando esse e utilizando a amina terminal como nucleófilo para ataque na 6-cloropurina **1** (Esquema 41).



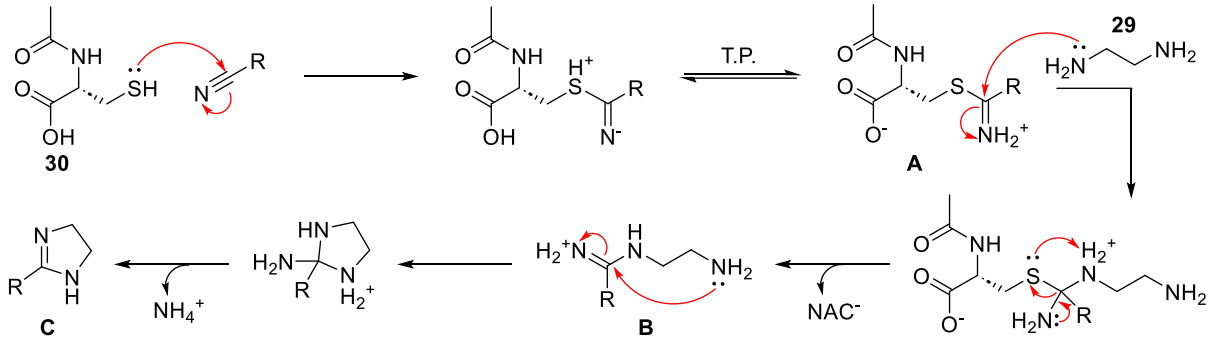
Esquema 41. Nova retrossíntese para obtenção de híbridos difenilureia-amida-adenina.

Esta modificação resulta em produtos estruturalmente diferentes, com as conexões na carbonila e no nitrogênio da amida sendo invertidas. Contudo o *design* molecular é inalterado, havendo uma difenilureia conectada à adenina por um *linker* contendo amida. Assim, inicialmente para a obtenção de difenilureia com substituinte nitrila **28** foi utilizado novamente adição a isocianato de fenila **2**, contudo devido à baixa nucleofilicidade da amino-benzonitrila **6k** foi necessário aquecimento para obter o produto (Esquema 42).



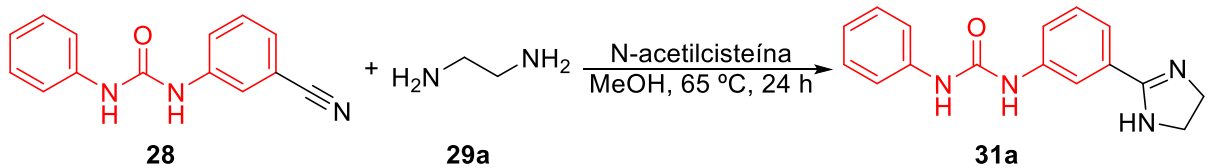
Esquema 42. Síntese de 1-(3-cianofenil)-3-fenilureia **28**.

O composto cianofenil-fenilureia **28** foi obtido com rendimento de 78%, enquanto que tipicamente esta adição tende a ser próximo de 90%, o efeito retirador de elétrons da nitrila acabam afetando o ataque da anilina. Na etapa subsequente, esse produto é utilizado para uma reação de ataque da nitrila seguido por ciclização utilizando um reagente 1,n-alcanodiamina **29a-b**. Esse ataque é catalisado por *N*-acetilcisteína (NAC) **30** devido a nucleofilicidade do tiol e auxilia nas transferências protônicas com o ácido carboxílico (Esquema 43). No mecanismo, o catalisador primeiramente é adicionado à nitrila formando uma iso-tioamida **A** que pode sofrer ataque da alcanodiamina **29** presente, isto regenera o catalisador e forma uma amidina **B**. O segundo grupo amino da alcanodiamina ataca o carbono central da amidina, eliminando amônia e formando uma amidina cíclica **C**.



Esquema 43. Mecanismo simplificado de síntese de amidinas cíclicas.[53]

Devido à formação de um produto cíclico, somente etilenodiamina **29a** e 1,3-diaminopropano **29b** podem ser utilizados pois diaminas maiores necessitam formar ciclos de mais de 6 membros. Isto é desfavorecido e levaria a baixos rendimentos e subprodutos como dímeros ou até polímeros. Assim, o protocolo descrito pelos autores foi utilizado para a ciclização utilizando cianofenil-fenilureia **28** e etilenodiamina **29a** para obter o produto imidazolina **31a** (Esquema 44).



Esquema 44. Síntese de 1-(3-(4,5-diidroimidazol-2-il)fenil)-3-fenilureia **31a**.

Monitoração via CCD demonstrou consumo total do reagente **28** contudo, encontrou-se dificuldade em isolar o produto de sólidos inorgânicos introduzidos no tratamento. Tentativas de recristalização com acetona também apresentaram a

mesma contaminação inorgânica resultando em uma massa maior que rendimento teórico máximo. Ainda assim, a mistura foi analisada via RMN de ^{1}H para verificar a presença do produto desejado (Figura 37).

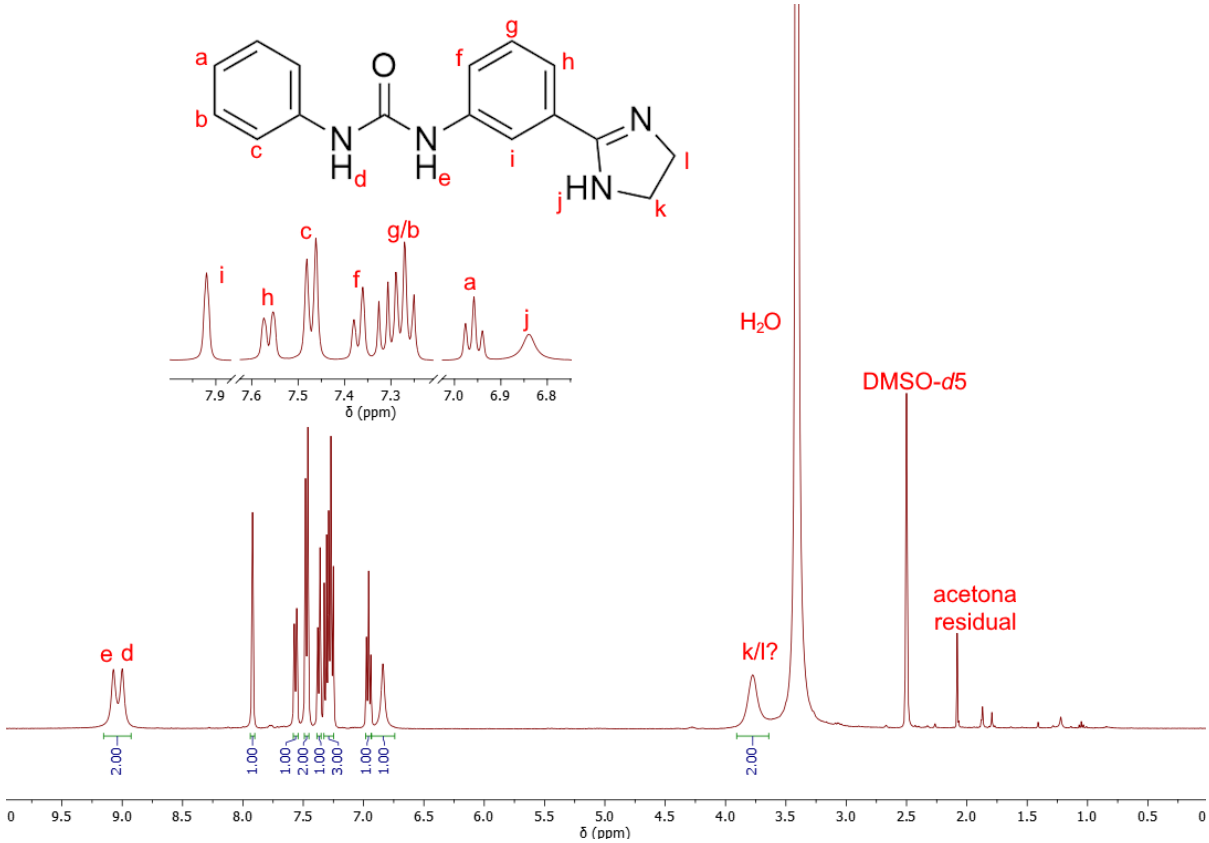


Figura 37. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-(4,5-diidroimidazol-2-il)fenil)-3-fenilureia **31a**.

A estrutura de difenilureia fica novamente aparente, com os N-H do grupo ureia H_e e H_d em 9,07 e 9,00 ppm respectivamente e os C-H na região aromática entre 8,0 e 6,9 ppm. Em 6,84 ppm observa-se um singleto alargado com integral para 1 H, sendo o N-H H_j esperado para esse produto. Para os sinais esperados para os metilenos H_k e H_j só foi observado um singleto largo em 3,78 ppm com integral relativa de 2 H quando seria esperado uma integral total de 4 H ou dois sinais com 2 H cada. Considerando a possibilidade de haver outro sinal sendo obstruído pela água proveniente da impureza de sais higroscópicos, a análise de RMN de ^{1}H foi repetida utilizando outro solvente (Figura 38).

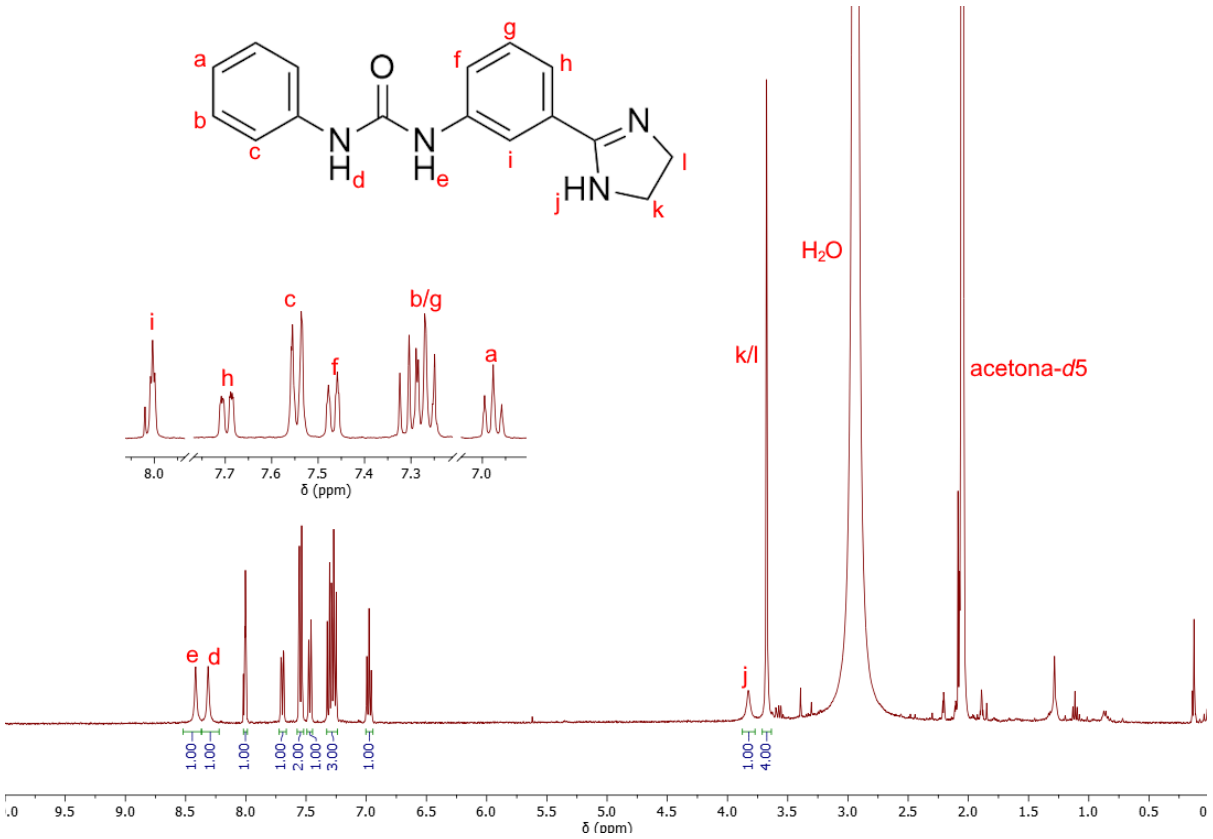
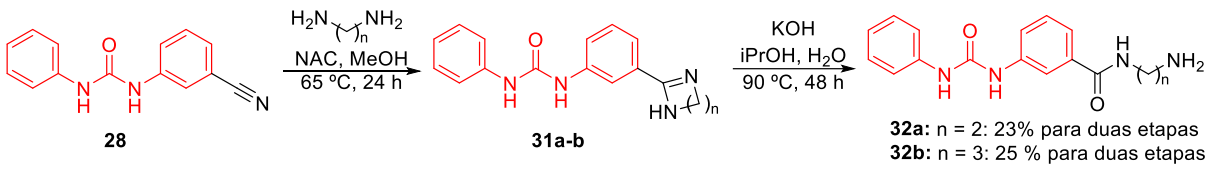


Figura 38. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, Acetona-*d*6) do produto 1-(3-(4,5-diidroimidazol-2-il)fenil)-3-fenilureia **31a**.

Foi utilizado como solvente para a análise a acetona deuterada, assim observou-se o mesmo padrão aromático da difenilureia entre 8,5 e 6,8 ppm. Contudo, o singleto relativo a H_j está em 3,83 ppm e há um singleto intenso em 3,68 ppm com integral relativa de 4 H. O singleto intenso representa os metilenos cíclicos H_k e H_l apresentando o mesmo deslocamento químico, o que indica um equilíbrio tautomérico que é significativamente mais rápido em acetona que em DMSO. Enfim, conclui-se que o produto foi efetivamente formado e, apesar de haver contaminação de sais inorgânicos, não há contaminações consideráveis de compostos orgânicos. Devido a isso e às perdas significativas durante tratamento e tentativas de purificação, optou-se por não isolar os intermediários **31** e utilizá-los diretamente para a próxima etapa (Esquema 45).



Esquema 45. Sequência reacional para síntese dos intermediários *N*-aminoalquil-fenilureia-benzamida **32a-b**.

Devido à dificuldade do isolamento do composto **31a**, alterou-se a metodologia para uso direto do bruto reacional na seguinte etapa de hidrólise alcalina. Desta forma, obteve-se rendimentos de 23 e 25% para os produtos inéditos **32a** e **32b** respectivamente. Considerando as duas etapas reacionais, o rendimento equivale a 48% por etapa para o produto usando etilenodiamina **29a** e 50% por etapa (25% total) para o produto usando 1,3-diaminopropano **29b**. Os produtos foram também caracterizados via espectroscopia de RMN (Figura 39).

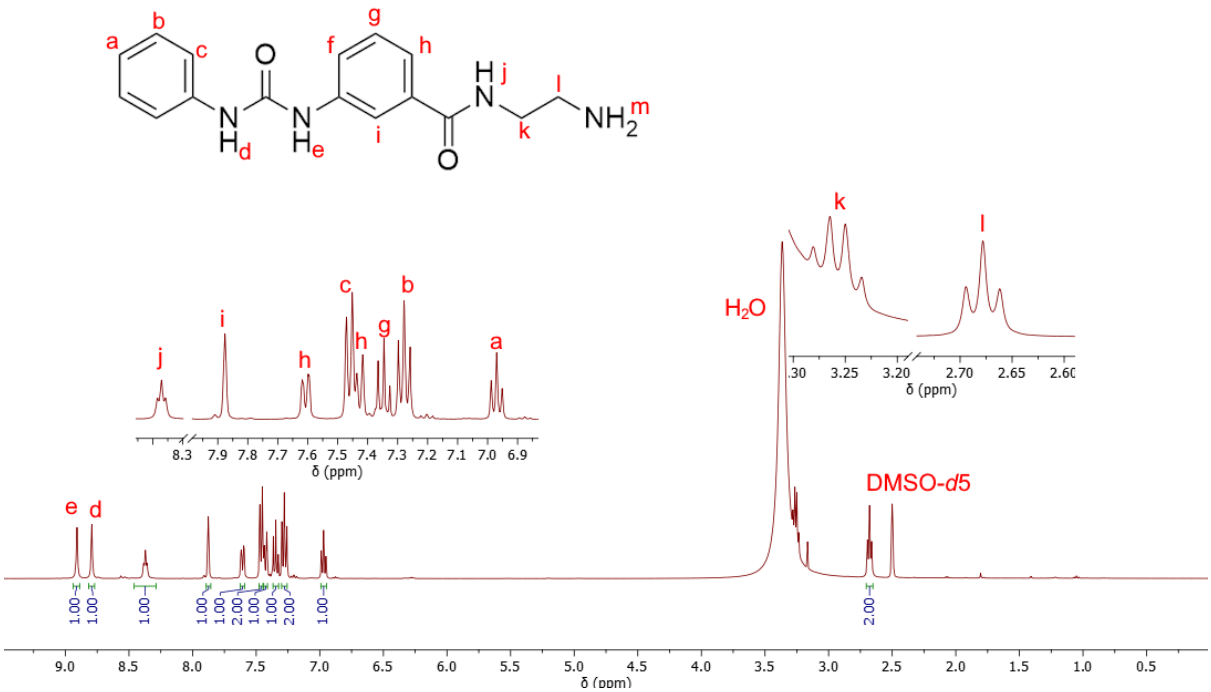


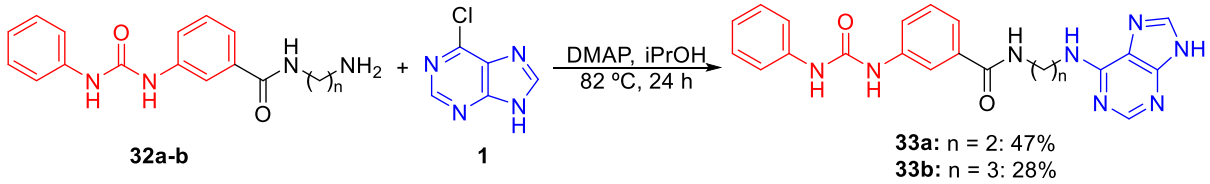
Figura 39. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto *N*-(2-aminoetil)-3-(3-fenilureido)benzamida **32a**.

O hidrogênio N-H da amida formada, H_j está presente como um tripleto em 8,37 ppm acoplando com o H_k do metileno vizinho com ^{3}J = 5,6 Hz. Apesar da distorção causada pelo sinal da água presente no solvente deuterado, H_k está

representado por um sinal similar a um quarteto em 3,26 ppm já que apresenta ^{3}J com H_j e com os dois H_l bem similares. Enquanto que H_l do segundo metileno está representado por um tripleto em 2,68 ppm devido ao acoplamento com H_k. Como observado nos intermediários alquilamino anteriores, os hidrogênios do grupo amino, H_m não aparecem como sinal no espectro provavelmente sobrepostos pela água residual do solvente deuterado, mas novamente um teste utilizando reagente de Ehrlich apresenta resultado positivo para o grupo amino.

4.2.2.6. Síntese de híbridos difenilureia-amida-adenina via S_NAr

Com intermediários com grupo amino **32a-b** em mãos, podem ser sintetizados os híbridos difenilureia-amina-adenina desejados via substituição nucleofílica aromática com 6-cloropurina **1** (Esquema 46).



Esquema 46. Síntese de híbridos difenilureia-amida-adenina **33a-b** via S_NAr.

Os compostos inéditos **33a** e **33b** foram obtidos com sucesso com rendimentos de 47 e 38%. Em comparação com os rendimentos obtidos para os híbridos difenilureia-alquil-adenina **21a-d** com o mesmo procedimento (item 4.2.1.2.), os rendimentos obtidos foram melhores contudo ainda são menores que os rendimentos obtidos com aminas aromáticas como nucleófilos. Novamente os híbridos inéditos obtidos foram purificados via cromatografia em coluna e evidenciados via RMN de ^{1}H (Figura 40) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 189).

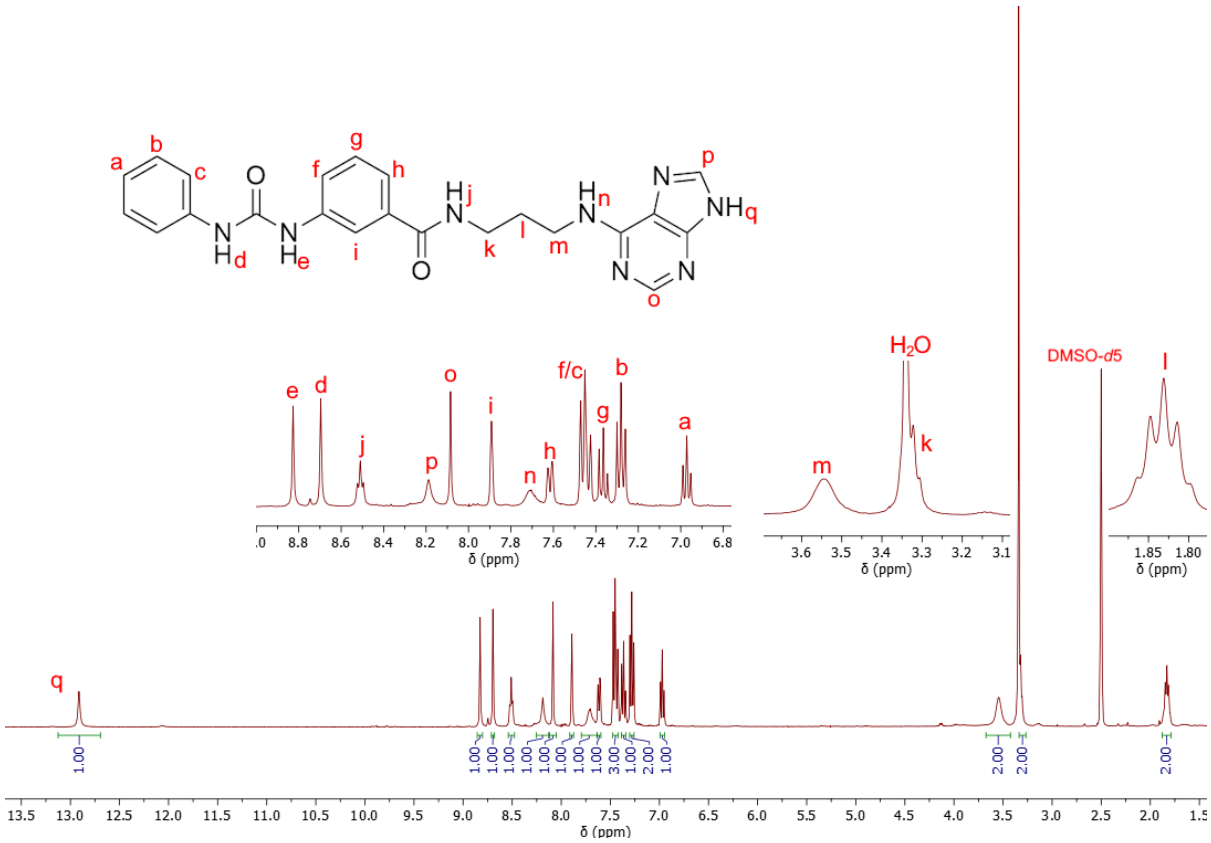


Figura 40. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto *N*-(3-((purin-6-il)amino)propil)-3-(3-fenilureido)benzamida **33b** na região entre 13,5 e 1,5 ppm.

Relativo à difenilureia, os mesmos sinais observados para os intermediários difenilureia utilizados são observados com pouca mudança no deslocamento químico. Ressalta-se os hidrogênios N-H da ureia H_e e H_d em 8,83 e 8,70 ppm respectivamente e H_j da amida em 8,51 ppm como um tripleto devido a 2 H_k vizinho no grupo *linker*. Nesta cadeia observa-se os hidrogênios metilênicos H_l novamente como mais blindado em 1,83 ppm, H_k próximo de 3,3 ppm contudo obstruído pelo sinal da água proveniente do DMSO-*d*6 utilizado, e H_m mais desblindado em 3,55 ppm devido aos nitrogênios eletronegativos próximos. Relativo à adenina adicionada nessa etapa sintética, o N-H H_n proveniente do amino terminal agora é relativo ao sinal alargado em 7,70 ppm, os C-Hs aromáticos desse heterocíclo H_p e H_o são representados pelos sinais em 8,19 e 8,08 ppm e o sinal mais desblindado presente em 12,91 ppm representa o N-H imidazólico H_q. Também foi feita a caracterização por RMN de ^{13}C do híbrido sintetizado (Figura 41).

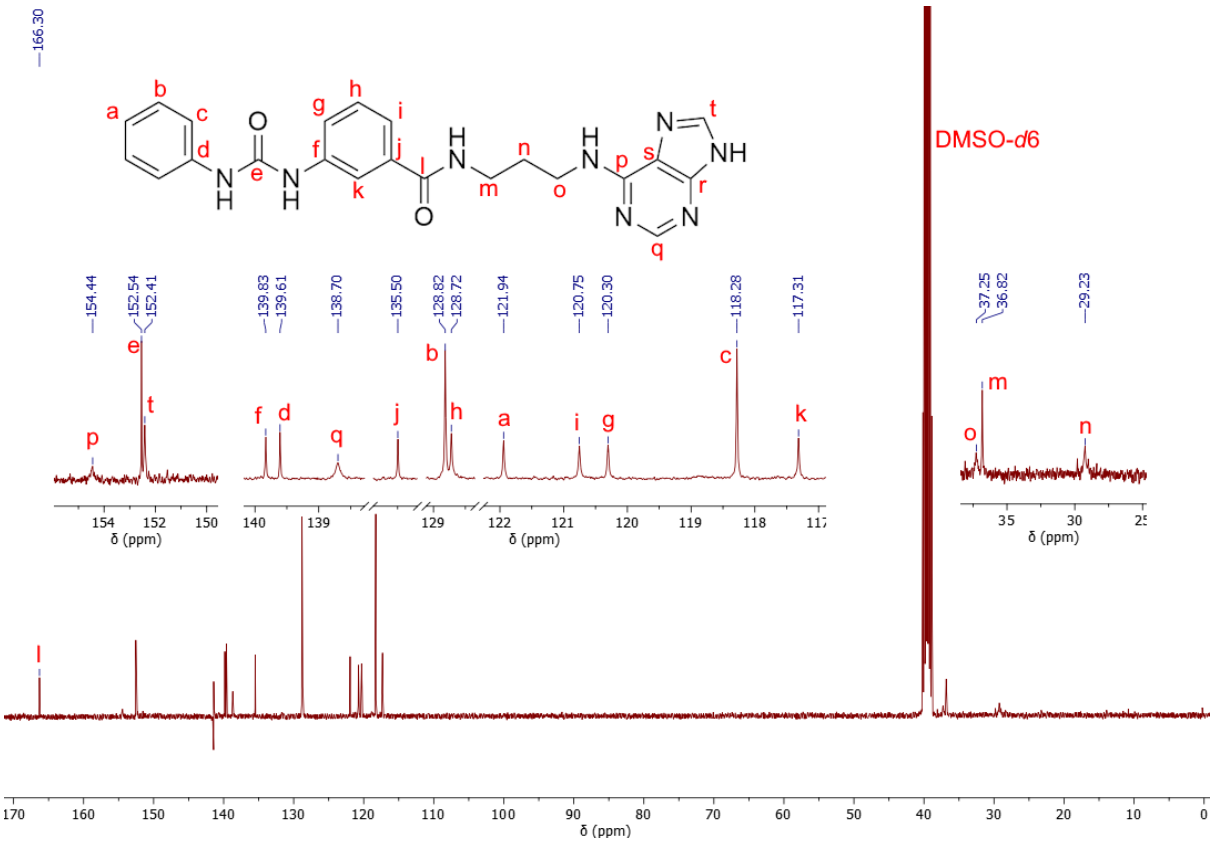


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto *N*-(3-((purin-6-il)amino)propil)-3-(3-fenilureido)benzamida **33b**.

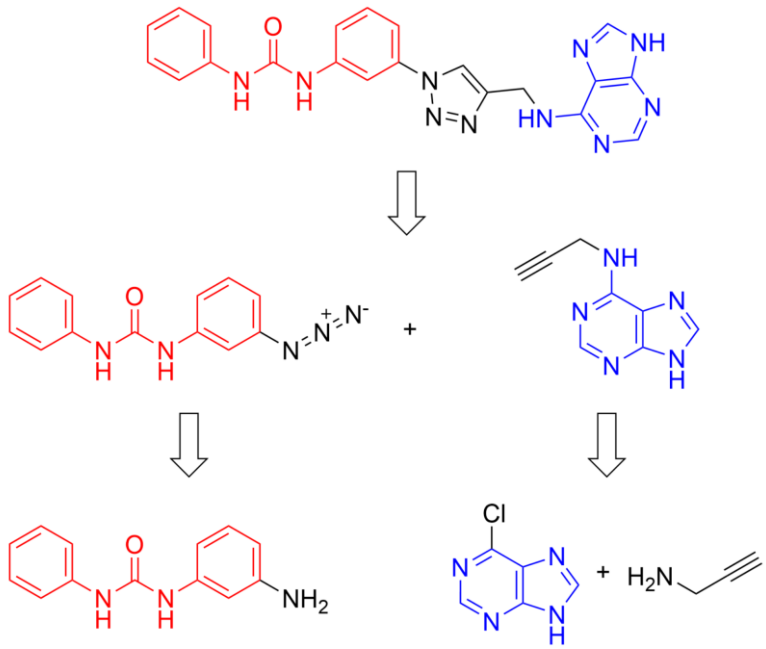
Os sinais referentes aos carbonos podem ser atribuídos devido à similaridade com os compostos híbridos anteriores. Para o fenil mono-substituído, os carbonos C-H C_b e C_c em 128,8 e 118,3 ppm respectivamente estão presentes como sinais mais intensos pois correspondem a dois carbonos cada devido à simetria do sistema, enquanto que C_a e C_d em 121,9 e 139,6 ppm são comparativamente menos intensos. Considerando o sistema *meta* substituído, C_k em 117,3 ppm é o carbono aromático mais blindado, C_i e C_g são similares em 120,8 e 120,3 ppm respectivamente, C_h está representado pelo sinal em 128,7 ppm e os carbonos sem ligação a hidrogênios C_f e C_j em 139,8 e 135,5 ppm são mais desblindados devido a eletronegatividade dos heteroátomos próximos. O carbono carbonílico do grupo ureia, C_e corresponde ao sinal em 152,5 ppm e o sinal mais desblindado é respectivo ao carbono carbonílico da amida C_l em 166,3 ppm. Os sinais na região alquílica abaixo de 40 ppm correspondem aos carbonos alquílicos do *linker*, como C_o e C_m próximos em 37,2 e 36,8 ppm respectivamente e o metilênico C_n mais blindado em 29,2 ppm devido à ausência de heteroátomo vizinho. Da adenina, observam-se os C-Hs aromáticos C_t em 152,4 ppm e C_q em 138,7 ppm, contudo novamente os

carbonos sem ligação a hidrogênio são muito pouco intensos e bem alargados, somente sendo visível uma banda em 154,4 ppm que corresponde a C_p, C_r ou C_s sendo os outros dois menores que o ruído da linha de base.

Após modificação da rota sintética, foram obtidos com sucesso dois híbridos moleculares inéditos de difenilureia-adenina com *linker* contendo grupo amida em 3 etapas reacionais. O grupo amida, além de ter função de conexão dos farmacóforos, pode proporcionar novas interações intermoleculares no sítio de ligação de proteínas alvos. Similarmente, um *linker* que também pode ser considerado farmacóforo, o triazol é de grande interesse para a conexão de 1,3-difenilureia e adenina.

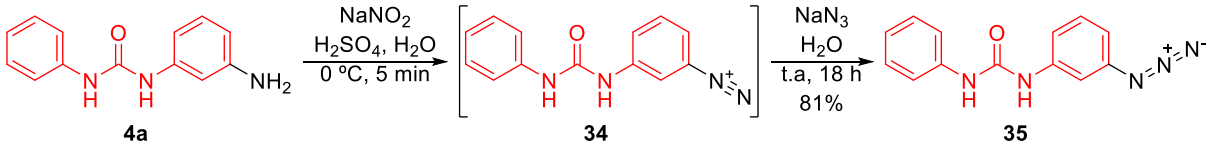
4.2.3. Híbrido difenilureia-triazol-adenina

A utilização do grupo 1,2,3-triazol para a conexão de farmacóforos é devido à sua praticidade sintética e ao seu potencial medicinal. Para a formação desse heterociclo foi escolhida a estratégia de reação *click* devido aos baixos tempos reacionais, seletividade e simplicidade dos reagentes; sendo esta uma cicloadição 1,3-dipolar entre um alcino terminal e uma azida via catálise por Cu(I).[39] Além da facilidade sintética, os triazois demonstram promissora atividade biológica sendo a sua estrutura um bioisóstero de amidas, grupo funcional essencial e abundante nas proteínas. Para poder promover a reação *click*, são necessários os grupos funcionais azida e alcino terminal conectado nos farmacóforos. Compostos purínicos com grupo propargil já foram descritos e podem ser sintetizados via S_NAr, enquanto que a azido-difenilureias pode ser obtida a partir de amino-difenilureias **4** descritas anteriormente (Esquema 47).



Esquema 47. Retrossíntese para obtenção do híbrido difenilureia-triazol-adenina.

A preparação de azidas orgânicas tipicamente utiliza sais do íon trinitreto (N_3^-) também conhecidos como azidas inorgânicas, devido à sua alta nucleofilicidade. Assim, necessita-se formar um intermediário 1,3-difenilureia com centro eletrofílico, isto foi obtido por reação de diazotação da amino-difenilureia **4a** diretamente seguida da adição de azida de sódio **13** (Esquema 48).



Esquema 48. Síntese de azidofenil-fenilureia **35** via intermediário sal de diazônio **34**.

A formação do sal de diazônio **34** *in situ* foi indicada pela mudança da coloração, tornando-se uma suspensão laranja, e foi imediatamente submetido à ataque nucleofílico com azida de sódio sendo observada a liberação de gás nitrogênio. O produto inédito **35** foi obtido após purificação via cromatografia em coluna com rendimento de 81% e foi caracterizado via RMN de ^{1}H (Figura 42).

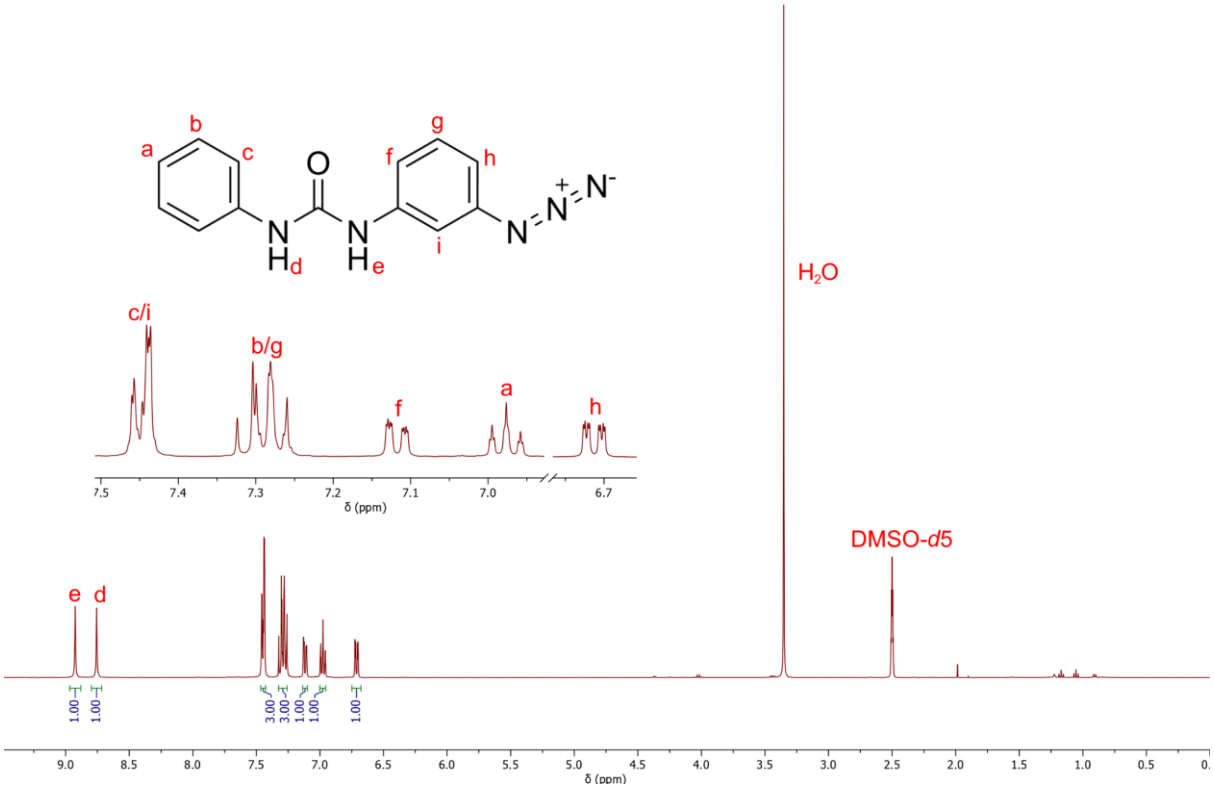


Figura 42. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário 1-(3-azidofenil)-3-fenilureia **35**.

No espectro identificam-se os hidrogênios N-H típicos da ureia H_e e H_d em 8,92 e 8,76 ppm, além dos hidrogênios C-Hs dos sistemas aromáticos entre 7,5 e 6,6 ppm. O sistema mono-substituído apresenta na posição *para* à ureia, H_a como um tripleto de tripletos em 6,98 ppm devido aos acoplamentos com H_b e H_c, porém os sinais ficam sobrepostos com os sinais do sistema *meta*, H_g e H_i em aproximadamente 7,29 e 7,45 ppm. Os restantes C-Hs, H_f e H_h estão representados pelos dubletos de dubletos de dubletos em 7,12 e 6,71 ppm, e sua multiplicidade é devido ao acoplamento ^4J = 2,2 Hz entre si, ^3J = 8,1 Hz com H_g e ^4J = 0,9 Hz com H_i. Comparado ao reagente **4a** (Espectro de RMN no apêndice, página 131) há a ausência do NH_2 em 5 ppm. Assim, evidencia-se ser uma difenilureia diferente do aminofenil-fenilureia **4a**, contudo não se pode conclusivamente identificá-lo como uma azida. Para isto, foi feita espectrometria de infravermelho (Figura 43).

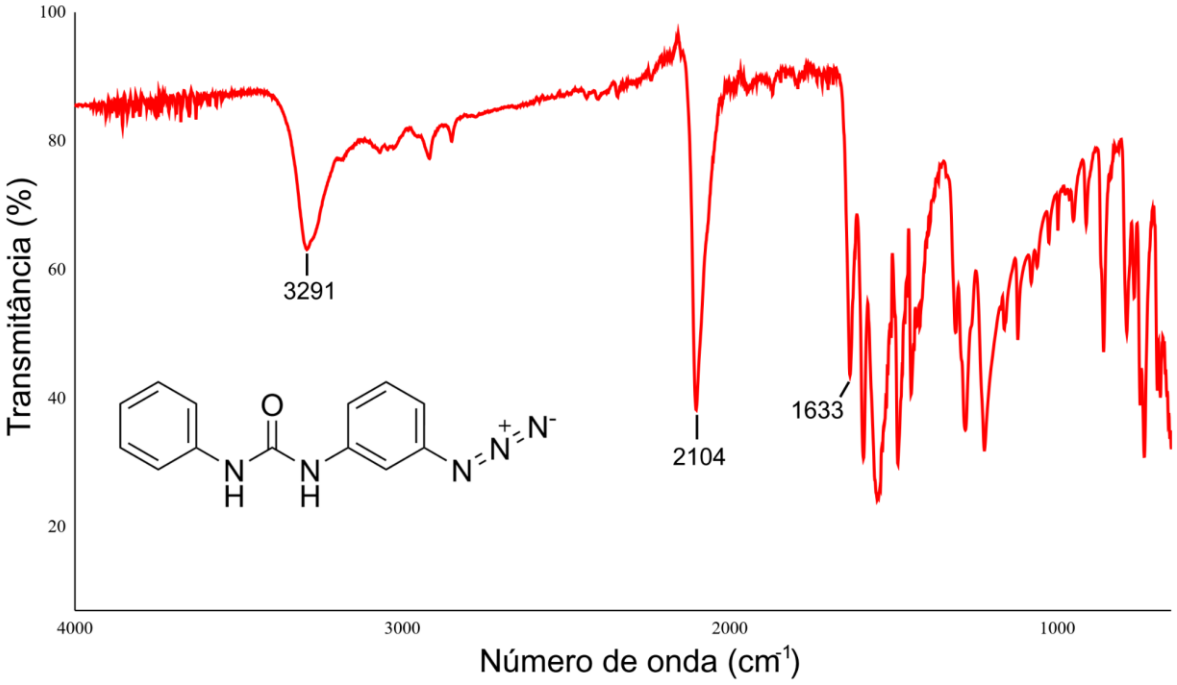
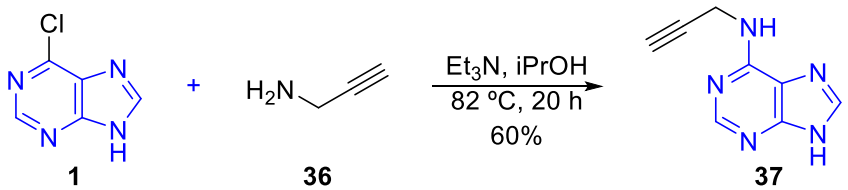


Figura 43. Espectro de infravermelho do composto 1-(3-azidofenil)-3-fenilureia **35**.

Através do espectro de infravermelho podem ser identificados tipos de ligação, como o estiramento das ligações N-H da ureia correspondente à banda alargada em 3291 cm^{-1}. Também da ureia, a absorção em 1633 cm^{-1} refere ao estiramento da carbonila (C=O) desse grupo. E o sinal mais característico presente, a absorção intensa em 2104 cm^{-1} referente ao estiramento N=N=N, ou seja, que indica a presença do grupo azida e evidencia o sucesso da reação.

Como para todos compostos híbridos aqui apresentados, pode ser obtido o derivado de adenina desejado **37** via reação de substituição nucleofílica aromática com 6-cloropurina **1**. Para a introdução de um grupo alcino terminal para a reação de cicloadição com azida, foi utilizada a propargilamina **36** sob as condições de ataque na purina já estabelecidas (Esquema 49).



Esquema 49. Síntese do intermediário *N*-(prop-2-in-1-il)-6-amino-adenina **37** via S_NAr.

Apesar de ser utilizada uma amina alquílica como nucleófilo, fato que se evidenciou ser prejudicial para essa substituição nucleofílica aromática

anteriormente, foi obtido um rendimento de 60% após recristalização e foi verificado via espectroscopia de RMN de ^{1}H (Figura 44).

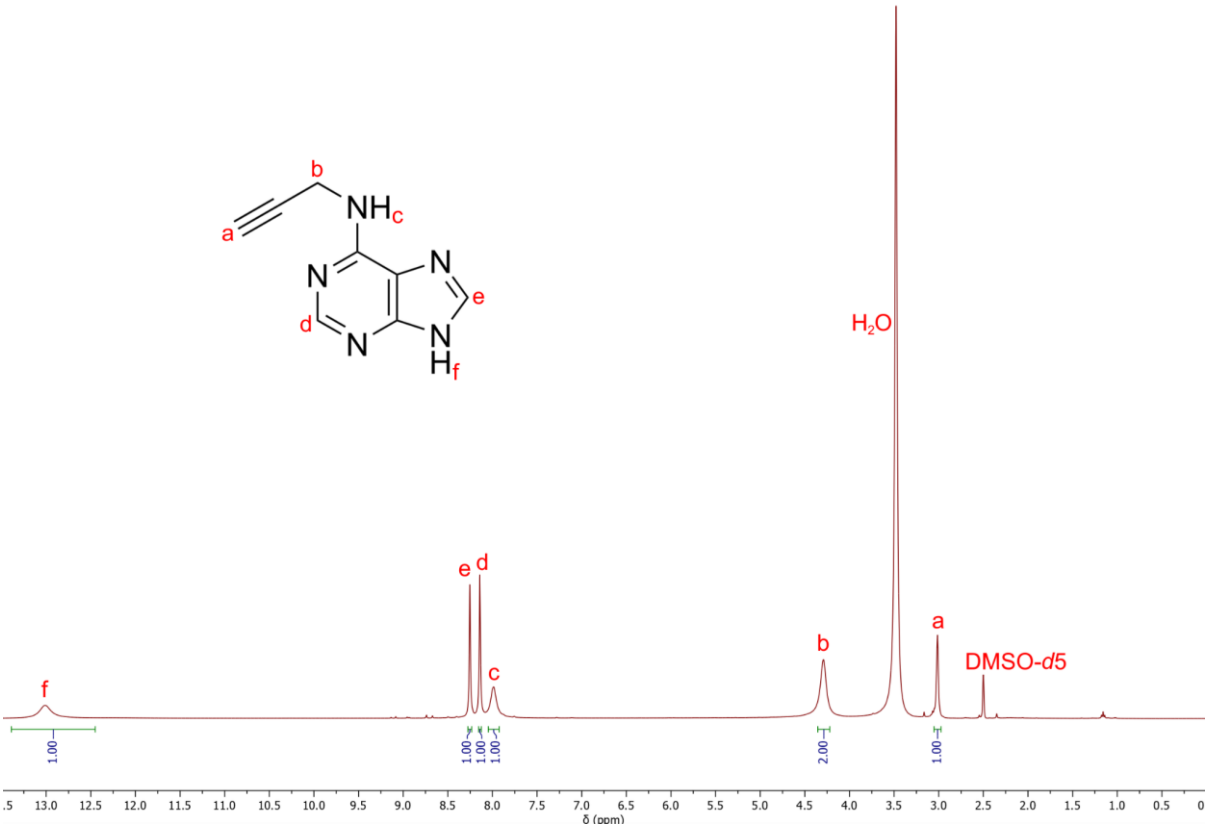


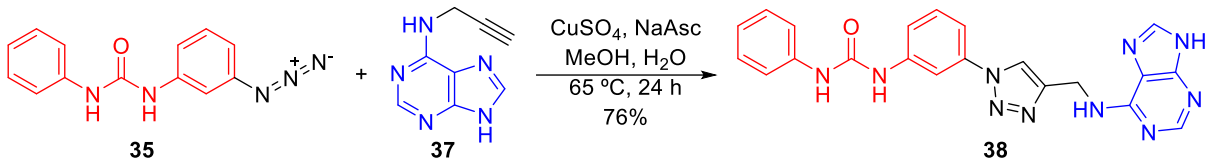
Figura 44. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário *N*-(prop-2-in-1-il)-6-amino-adenina **37**.

No espectro de RMN de ^{1}H, os sinais relativos ao produto **37** desejado podem ser identificados de acordo com resultados descritos previamente na literatura.[54] Assim, demonstrando com sucesso a incorporação da terminação propargil no núcleo adenina.

4.2.3.1. Síntese do híbrido difenilureia-triazol-adenina via reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen

Apesar da reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen já ser conhecida, a formação de triazois com alcinos tornou-se mais prática com o desenvolvimento do acoplamento alcino-azida catalisado por cobre (I). Assim, com os fragmentos alcino, *N*-propargil-adenina **37**, e azida, azidofenil-fenilureia **35**, pode ser sintetizado o híbrido com *linker* triazol **38** pelo uso de um catalisador de Cu(I). Escolheu-se uma

metodologia de formação *in situ* desse catalisador, utilizando o $CuSO_4$ penta-hidratado como fonte de cobre e ascorbato de sódio como redutor de 1 elétron. Restrito pela solubilidade da *N*-propargil-adenina **37** e do sal de cobre, foi utilizada uma mistura de metanol e água (Esquema 50).



Esquema 50. Síntese do híbrido difenilureia-triazol-adenina **38** via acoplamento alcino-azida.

Inicialmente a reação foi mantida sob temperatura ambiente conforme as condições típicas da literatura e observou-se um novo produto via CCD, contudo mesmo após 24 horas não houve consumo de um dos reagentes e não houve aumento aparente da concentração do novo produto. Assim a mistura foi mantida sob refluxo de metanol e após ser mantido sob refluxo *overnight* observou-se consumo total da *N*-propargil-adenina **37** via CCD. O produto inédito foi purificado via cromatografia em coluna e foi caracterizado via RMN de ^1H (Figura 45) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 193).

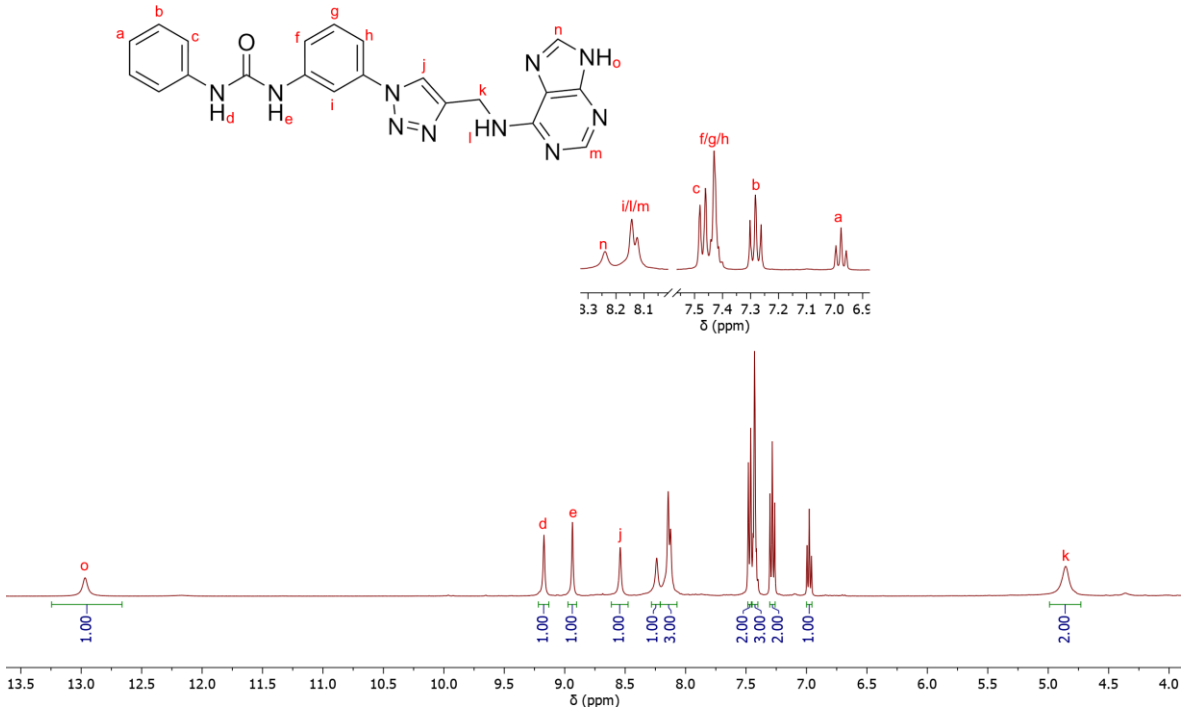


Figura 45. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-(4-(((purin-6-il)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)-3-fenilureia **38** na região entre 13,5 e 4,0 ppm.

As principais alterações nos sinais de RMN de ^{1}H que evidenciam a formação do produto são referente ao grupo *linker*, com o singleto altamente desblindado do H_j em 8,54 ppm devido ao caráter aromático do triazol. Além disso o metileno vizinho, H_k se torna mais desblindado também devido à aromaticidade resultando num singleto alargado em 4,86 ppm. Referente aos hidrogênios da adenina, nota-se o característico sinal em 12,97 ppm correspondendo ao N-H imidazólico H_o, e o C-H imidazólico H_n em 8,24 ppm e o C-H pirimidínico H_m sobreposto com H_l e H_i cerca de 8,13 ppm. Similarmente, os hidrogênios da difenilureia também tiveram sobreposição de sinais, com os C-Hs H_f, H_g e H_h estando presentes em 7,43 ppm em um multipleto com integral relativa de 3 H. Contudo, os hidrogênios do fenil mono-substituído foram facilmente identificados, com H_c em 7,47 ppm assemelhando-se a um dubleto devido ao acoplamento com H_b, e H_b em 7,28 ppm acoplando com H_c e H_a em ^3J = 7,9 Hz e, para o tripleto em 6,98 ppm, H_a. E os N-Hs da ureia também estão aparentes com H_d e H_e em 9,17 e 8,94 ppm respectivamente. Para a caracterização de RMN de ^{13}C, foi feita também a análise via HSQC para a assinalação dos carbonos através dos hidrogênios ligados a esses (Figura 46) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 194).

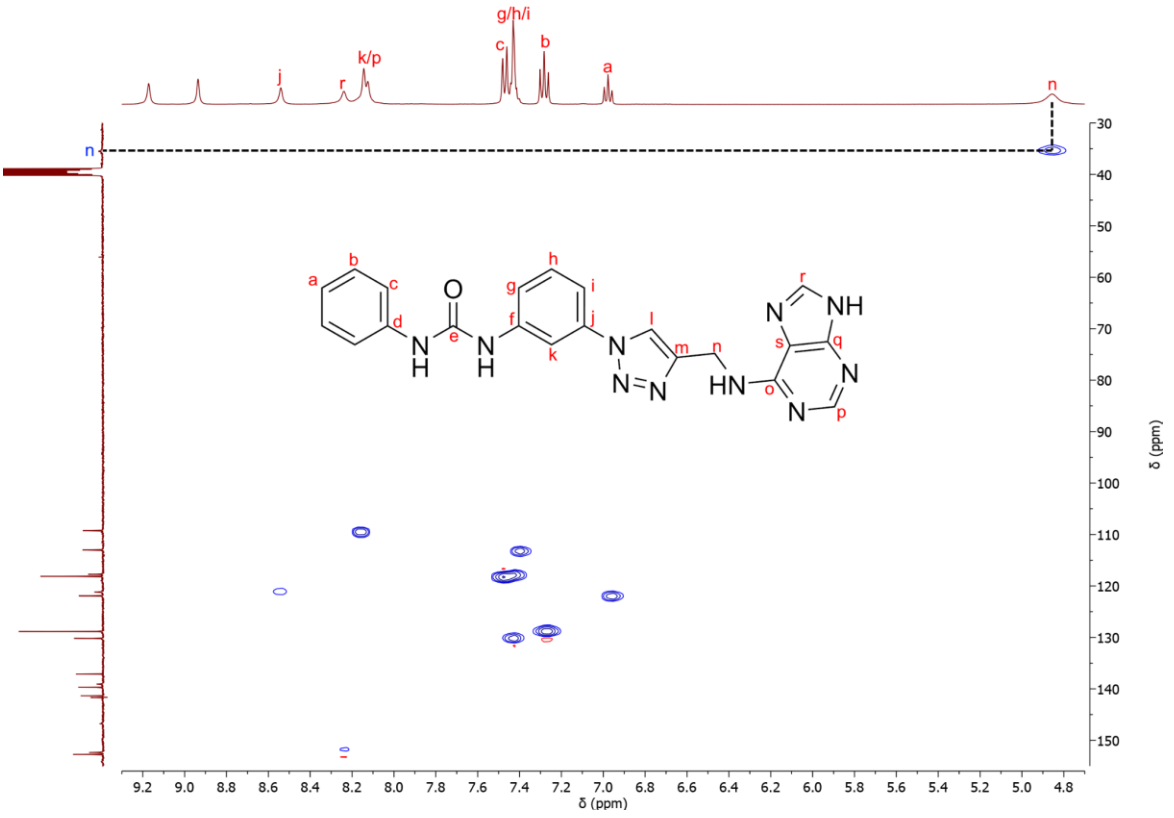


Figura 46. Ampliação do espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-(4-(((purin-6-il)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)-3-fenilureia **38** na região entre 9,3 e 4,7 ppm (^{1}H) e entre 155 e 30 ppm (^{13}C).

Como há apenas um sinal na região aromática de ambos os espectros, o metileno C_n pode ser facilmente identificado em 35,4 ppm. Enquanto que para os demais carbonos aromáticos é necessário ampliar na região típica de carbonos sp² (Figura 47).

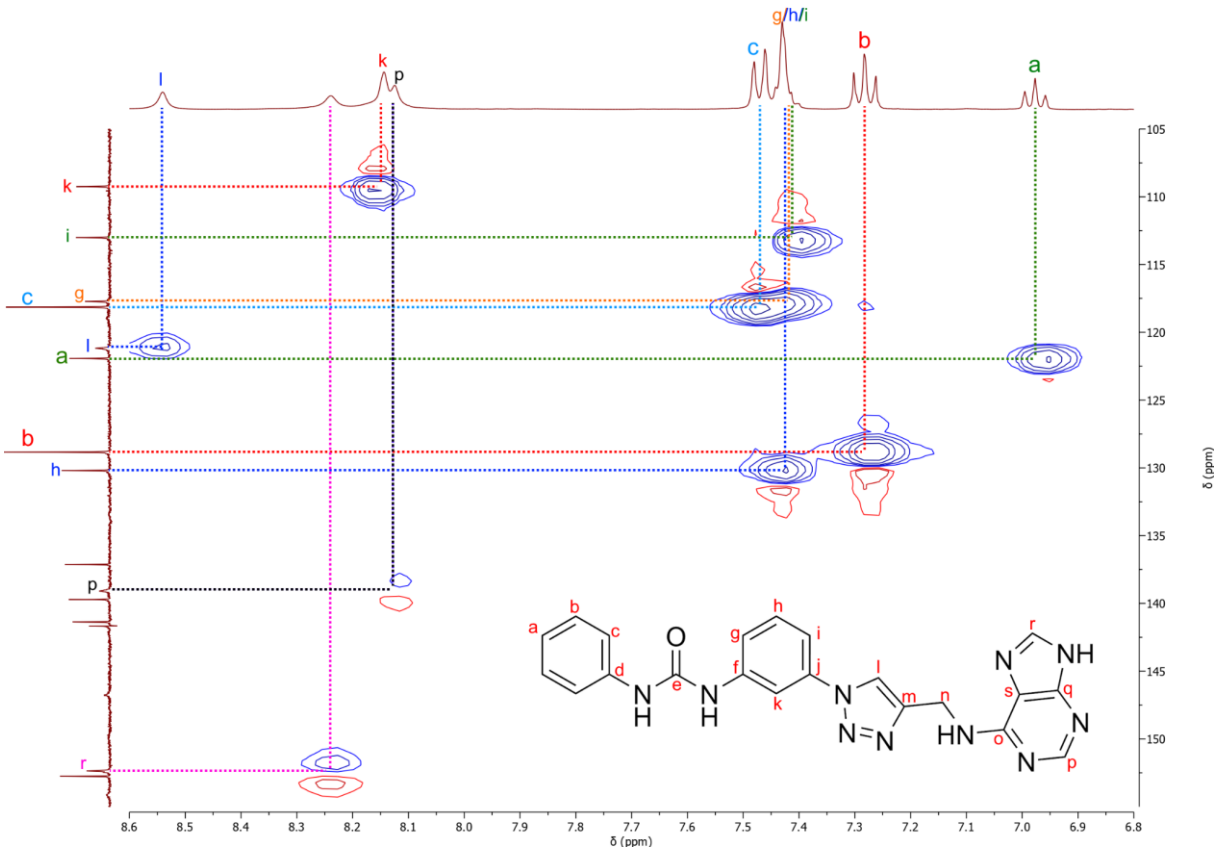


Figura 47. Ampliação do espectro de RMN de HSQC (400 MHz - 100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-(4-(((purin-6-il)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)-3-fenilureia **38** na região entre 8,6 e 6,8 ppm (^{1}H) e entre 155 e 105 ppm (^{13}C).

Através das correlações observadas, identifica-se o CH C_l do anel triazol em 121,2 ppm, e C_r e C_p da adenina em 152,4 e 139,1 ppm respectivamente. Para a difenilureia, C_k é o carbono aromático mais blindado em 109,2 ppm apesar de seu respectivo hidrogênio ser um dos mais desblindados devido a ligação de hidrogênio atípica com a ureia vizinha. Apesar de seus respectivos hidrogênios estarem sobrepostos, os demais carbonos do sistema *meta* estão significativamente separados, com C_g e C_i em 117,7 e 113,0 ppm respectivamente e C_h mais desblindado em 130,2 ppm devido à ausência de doação eletrônica dos substituintes nessa posição. Enquanto que para o sistema mono-substituído, identificam-se C_a, C_b e C_c em 121,9, 128,8 e 118,1 ppm respectivamente. Por fim, utilizando estas correlações identificadas e os padrões observados nos outros compostos híbridos,

foi possível atribuir os sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 48) (Espectro sem ampliação no apêndice, página 193).

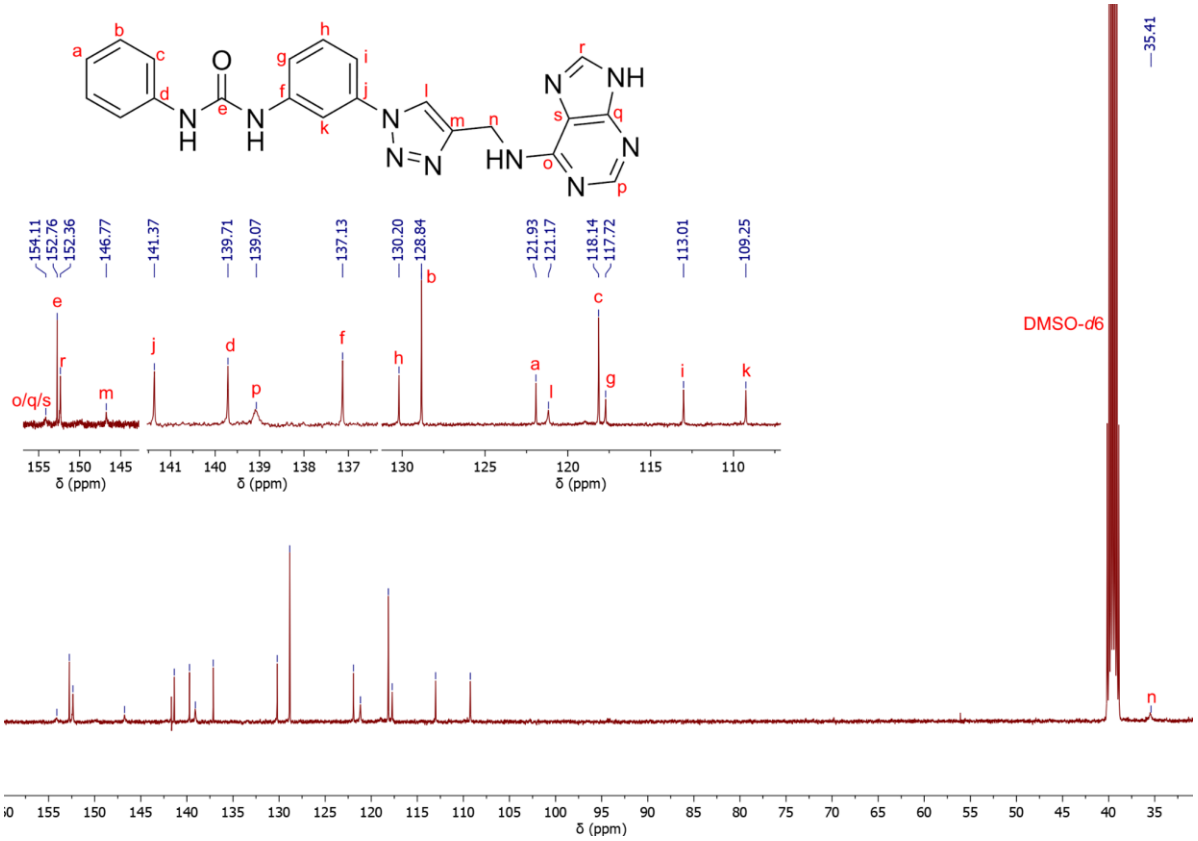


Figura 48. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) do produto 1-(3-(4-(((purin-6-il)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)-3-fenilureia **38** na região entre 160 e 30 ppm.

Para os carbonos não identificados via HSQC, o carbono carbonílico C_e da ureia está representado pelo sinal em 152,8 ppm comum a todos os compostos difenilureia; e C_d em 139,7 ppm como em outros sistemas mono-substituídos. Do sistema *meta*, C_f e C_j correspondem aos sinais em 137,1 e 141,4 ppm respectivamente, sendo C_j mais desblindado devido à aromaticidade do triazol vizinho. O carbono sem ligações com hidrogênio do triazol, C_m é estimado ser o sinal pouco intenso em 146,8 ppm e os demais carbonos purínicos novamente não são totalmente identificáveis, havendo somente um sinal muito pouco intenso em 154,1 ppm podendo corresponder a C_o, C_s ou C_q.

Como confirmando pelas evidências espectroscópicas, foi obtido com sucesso um híbrido molecular inédito das estruturas 1,3-difenilureia e adenina via *linker* triazol em 4 etapas sintéticas. Incluindo este, foram obtidos 7 híbridos difenilureia-adenina com variação de *linker* e mais 8 híbridos com variação de

substituinte na estrutura 1,3-difenilureia. Assim, em total foram obtidos 15 compostos finais inéditos **18a-h, 21a-d, 33a-b** e **38** (Figura 49). E, visando avaliar a potencial atividade antitumoral dos híbridos obtidos, foram conduzidos testes preliminares de viabilidade celular *in vitro*.

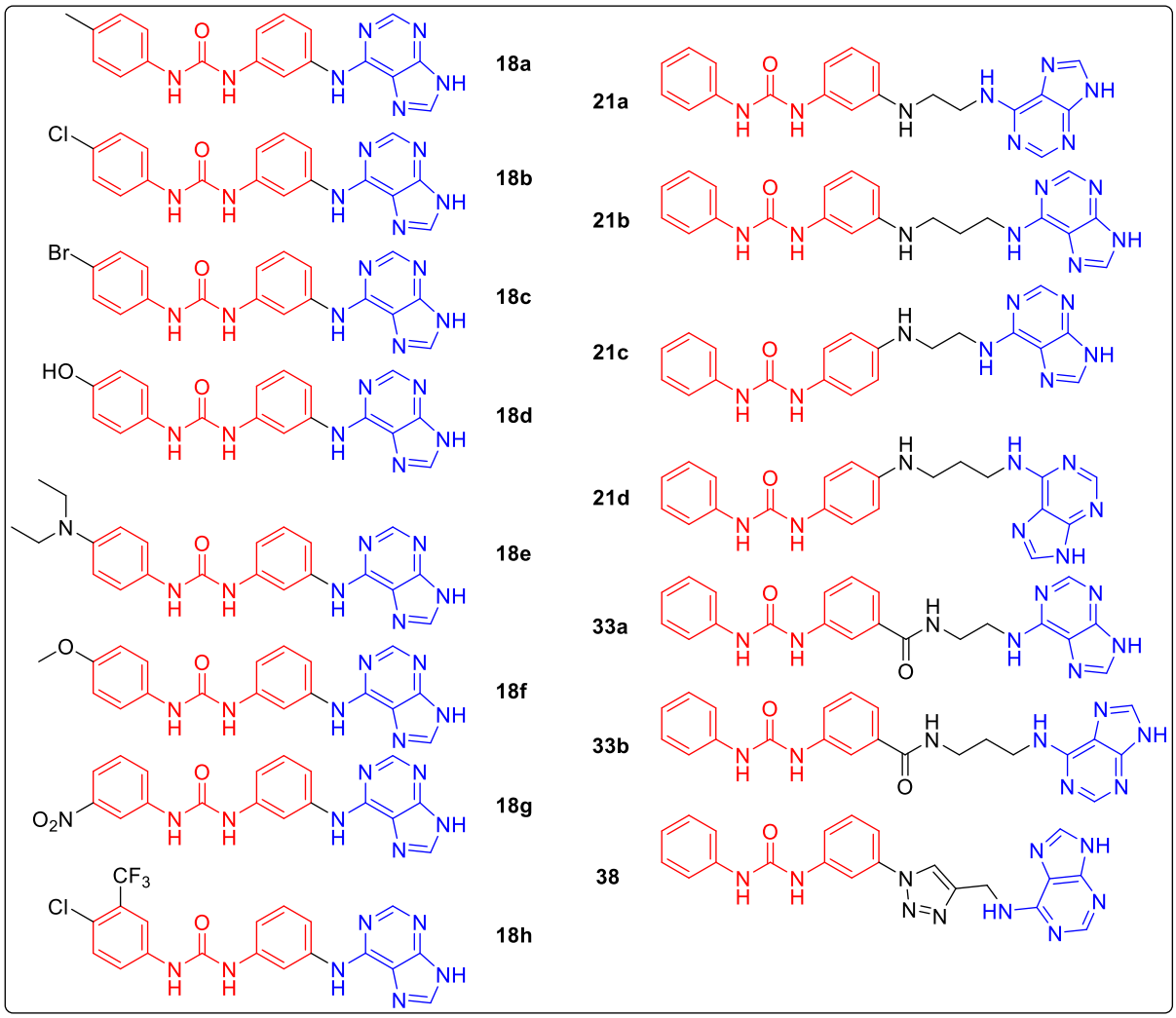


Figura 49. Estruturas dos híbridos difenilureia-adenina **18a-h, 21a-d, 33a-b e 38.**

4.3. Determinação da atividade antiproliferativa dos compostos híbridos

A primeira análise biológica necessária para avaliar a potencial atividade anticâncer de protótipos sintéticos é a antiproliferação de culturas de células tumorais. Somente após essa avaliação preliminar é que os compostos mais promissores terão o seu mecanismo de ação investigado, isto é, atividades de inibição de enzimas quinases associadas aos processos de sinalização tumoral.

Em colaboração com o Laboratório de Hematologia e Células-Tronco da faculdade de farmácia da UFRGS, foi avaliado o potencial antitumoral dos compostos híbridos obtidos. Para avaliar a atividade antiproliferativa dos compostos sintetizados neste trabalho (Figura 49), foram feitos testes *in vitro* de viabilidade celular utilizando linhagens de tumor de médula suprarrenal (feocromocitoma, PC-12), de carcinoma hepatocelular (HepG2) e de células saudáveis de fibroblastos diploides (MRC-5). Para a medição colorimétrica foi utilizado o reagente brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio e as células foram tratadas com o meio de cultura Meio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM). Como controle positivo, foi utilizado Tamoxifeno nas concentrações de 2,5, 5,0 e 10 μM; e cada composto foi testado em triplicata nas concentrações de 1,25, 2,5, 5,0 e 10 μM. Inicialmente foram feitos os testes de viabilidade celular contra linhagem MRC-5 para estimar a toxicidade contra células saudáveis dos híbridos difenilureia-adenina substituídos **18a-h** (Figura 50) e difenilureia-adenina com *linker* alquílico **21a-d**, amida **33a-b**, e triazol **38** (Figura 51).

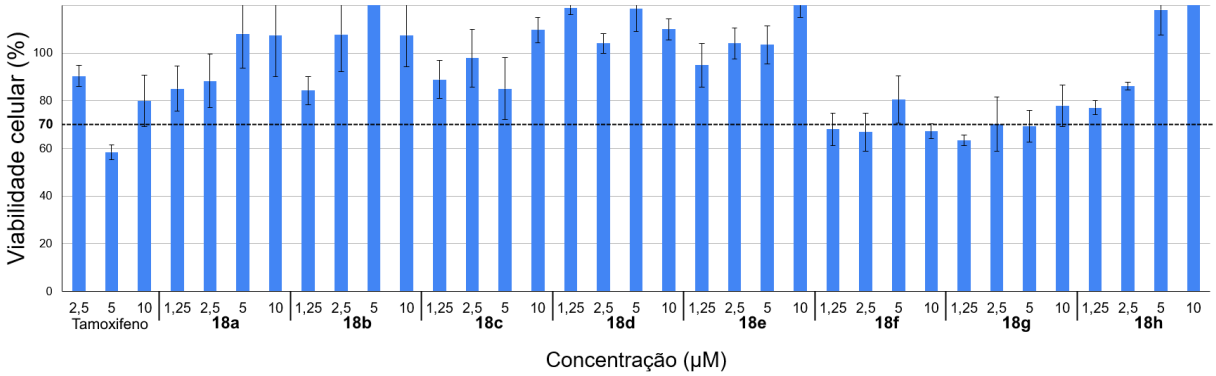


Figura 50. Gráfico de viabilidade celular de células MRC-5 saudáveis com híbridos difenilureia-adenina substituídos **18a-h** e com controle positivo Tamoxifeno.

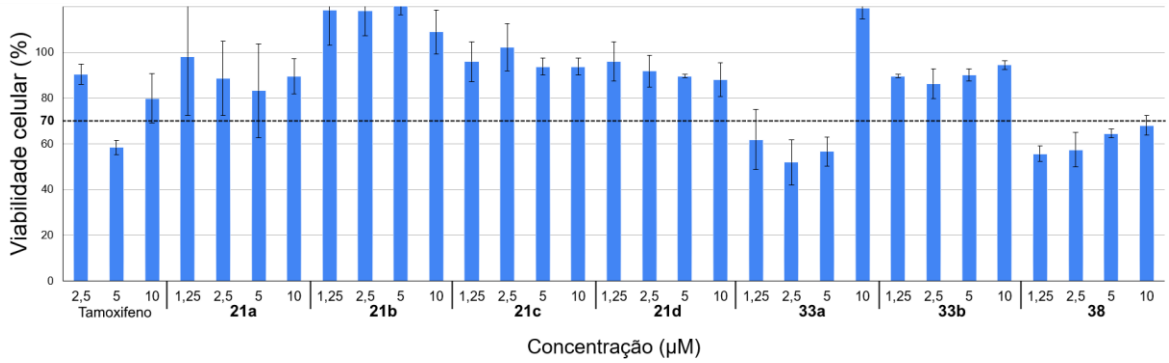


Figura 51. Gráfico de viabilidade celular de células MRC-5 saudáveis com híbridos difenilureia-adenina com *linker* alquílico **21a-d**, amida **33a-b** e triazol **38**, e com controle positivo Tamoxifeno.

Como determinado pela Organização Internacional de Padronização, foi utilizado o valor de 70% de viabilidade celular como o limite para toxicidade.[55] Assim, compostos que proporcionam resultados de viabilidade celular abaixo de 70% são considerados citotóxicos. Para a família de híbridos difenilureia-adenina substituídos sem *linker* **18a-h** (Figura 50), observa-se que os híbridos **18a**, **18b**, **18c**, **18d**, **18e** e **18h** proporcionaram valores de viabilidade celular dentro do limite considerado, ou seja, acima de 70% de viabilidade celular em todas as concentrações testadas, sendo que o composto **18d** apresentou valores bem próximos de 100%. Por outro lado, os compostos **18f** e **18g** demonstraram menos de 70% de viabilidade celular na maioria das concentrações testadas, sendo, portanto, considerados citotóxicos para as células saudáveis.

Considerando os compostos com *linker* (Figura 51), os híbridos difenilureia-alquil-adenina **21a-d** foram todos considerados não citotóxicos, já para os híbridos difenilureia-amida-adenina, o composto **33a** demonstrarou toxicidade contra MRC-5 enquanto que **33b** não foi consideravelmente tóxico. Por último, o híbrido difenilureia-triazol-adenina **38** também apresentou citotoxicidade no teste de viabilidade celular.

Observa-se que, enquanto que o tamanho e posição do *linker* nos híbridos difenilureia-alquil-adenina **21a-d** não influenciou a toxicidade, o maior espaçamento no híbrido **33b** resultou em uma diminuição da toxicidade em comparação com **33a** e **38**. Esse resultado indica uma relação com o tamanho e caráter do *linker* sendo os grupos amida e triazol similares em tamanho e em interações intermoleculares.

Assim, como um teste preliminar para verificar o potencial de atividade antiproliferativa, foram testadas também as viabilidades celulares das linhagens

tumorais PC-12 e HepG2 com os híbridos sintetizados. Neste caso, quanto menor a viabilidade, maior potencial antitumoral pode ter o composto. Abaixo estão apresentados os gráficos para os compostos que não foram determinados como tóxicos frente MRC-5 (Figura 52, Figura 53).

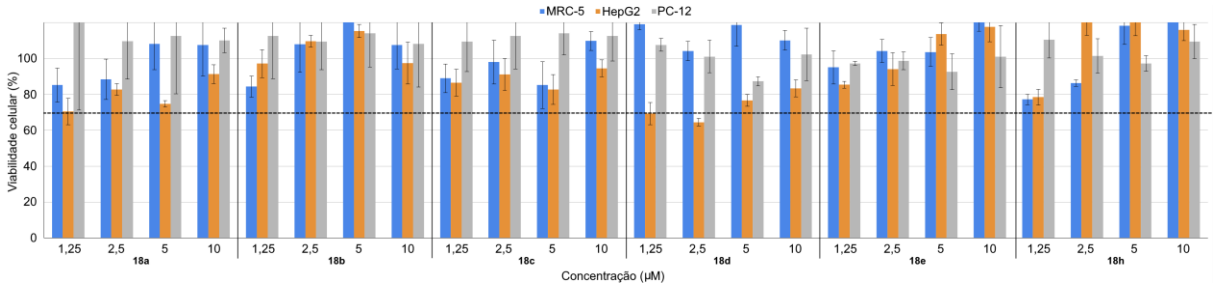


Figura 52. Gráfico de viabilidade celular das linhagens MRC-5, HepG2 e PC-12 com compostos difenilureia-adenina substituídos **18a-e,h**.

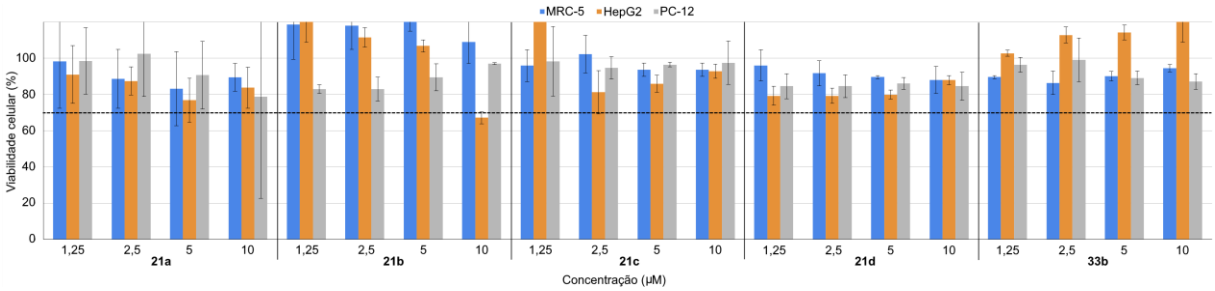


Figura 53. Gráfico de viabilidade celular das linhagens MRC-5, HepG2 e PC-12 com compostos difenilureia-adenina com *linker* alquílico **21a-d** e amida **33b**.

Para a linhagem tumoral de feocromocitoma (PC-12, barras cinza), observa-se que todos os compostos testados resultaram em viabilidades celulares acima de 70%. Entretando, o híbrido **21a** (Figura 53, primeiro à esquerda) apresenta uma tendência de queda da viabilidade celular com aumento da concentração utilizada. Esse resultado indica um possível aumento da atividade antiproliferativa com o aumento da concentração testada. Por outro lado, para a cultura de hepatocarcinoma humano (HepG2, barras laranja) observou-se atividade citotóxica significativa com o híbrido **18d** (Figura 52), com uma inibição de 31% ± 7% a 1,25 µM e de 36% ± 2% a 2,5 µM. Além disso, para o composto **21b** observa-se uma tendência de queda da viabilidade celular com o aumento da concentração. Especialmente na concentração de 10 µM resultando em inibição de 33% ± 4%, indicando também a possibilidade de atividade antiproliferativa maior que 50% com o aumento da concentração.

Em geral, para os compostos **18a-h** (Figura 52), não foi identificado uma relação conclusiva entre o caráter dos substituintes com a inibição de viabilidade tumoral. Havendo apenas uma potencial correlação entre o caráter de doador de ligação de hidrogênio do grupo OH de **18d**, enquanto os demais não apresentam essa característica. Para os híbridos com grupo *linker* (Figura 53), os compostos com cadeia metilênica **21a-d** apresentaram maior inibição para HepG2 e em especial os compostos com cadeia mais curta (*linker* etil em **21a-d**) foram mais promissores.

Considerando que nesses testes preliminares foram utilizadas concentrações baixas, visando descartar compostos pouco promissores, alguns dos híbridos adenina-difenilureia sintetizados demonstraram potencial atividade antiproliferativa em cultura de células tumorais. Especificamente, os compostos **21a** em células PC-12, e **21b** e **18d** em células HepG2. Além disso, esses híbridos demonstraram viabilidade celular acima de 70% em células saudáveis MRC-5, ou seja, não foram citotóxicos contra células saudáveis. Sendo assim, novos testes em concentrações maiores dos compostos selecionados serão realizados visando determinar a concentração inibitória mínima em 50% das células tumorais (IC_{50}). Além disso, apesar dos compostos **18a, 18b, 18c, 18e, 18h, 21c, 21d e 33b** não terem apresentado resultados de inibição de crescimento nas linhagens tumorais testadas, por terem demonstrado viabilidade celular frente à linhagem saudável, poderão serem testados frente a outras linhagens celulares de câncer.

5. Conclusões

Seguindo as rotas retrossintéticas propostas foi possível obter uma variedade de híbridos difenilureia-adenina inéditos, primeiramente com escopo de substituintes no núcleo difenilureia e posteriormente com diferentes estratégias de conexão dos farmacóforos. Os compostos sintetizados foram caracterizados via espectroscopia de RMN de ^{1}H e ^{13}C com técnicas uni e bidimensionais, além disso os compostos inéditos também foram caracterizados por ponto de fusão e infravermelho e já foram encaminhados para análise de espectrometria de massas de alta resolução.

O primeiro grupo de produtos finais foram os híbridos difenilureia-adenina com substituintes **18a-h**, obtidos através de intermediários difenilureias não-simétricas, sintetizadas a partir do isocianato de 3-nitrofenila disponível comercialmente. Tentativas de obter difenilureias não-simétricas por um método alternativo de transamidação não foram eficazes. Por fim, os intermediários amino-difenilureia **17a-g** foram utilizados para a síntese dos híbridos **18a-h** via substituição nucleofílica aromática na 6-cloropurina **1** comercial, sendo obtidos com sucesso, com rendimentos entre 39 e 84%.

O segundo grupo de compostos finais obtidos foram híbridos difenilureia-adenina conectados com variação de *linker*; incluindo cadeias metilênicas **21a-d**, amidas **33a-b** e triazol **38**. Para a conexão via cadeia metilênica flexível foram obtidos os intermediários inéditos aminoalquil-difenilureias **20a-d** via substituição nucleofílica bimolecular com bromidratos de bromoalquil aminas **19a-b**. Os intermediários **20a-d** foram utilizados para síntese dos híbridos **21a-d** via S_NAr novamente na 6-cloropurina, obtendo rendimentos entre 12% e 38%.

Após tentativas sem sucesso de utilizar aminoácidos como *linker*, os híbridos difenilureia-adenina conectados via amida **33a-b** foram obtidos pelo ataque de diaminas em nitrila. Em uma sequência reacional de ciclização entre cianofenil-fenilureia **28** e 1,n-alcanodiaminas **29a-b** seguido de hidrólise básica, foram obtidos intermediários inéditos difenilureia-amida com grupo amino terminal **32a-b**. Por fim, os híbridos difenilureia-amida-adenina foram sintetizados via S_NAr entre os intermediários **32a-b** e 6-cloropurina **1**, com rendimentos de 28% e 47%

Por último, um híbrido difenilureia-triazol-adenina foi obtido via acoplamento azido-alcino catalisado por cobre (I). Esta cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen utilizou azidofenil-fenilureia **35** inédita e propargil-adenina **37** para obter o híbrido **38** inédito com rendimento de 76%.

Por fim, todos os 15 compostos híbridos inéditos sintetizados foram avaliados para sua atividade antiproliferativa via teste de viabilidade celular *in vitro*. Primeiramente, os testes contra linhagem de células saudáveis MRC-5 demonstraram que 11 dos híbridos, **18a-h**, **21a-d** e **33b,** mantiveram a viabilidade celular acima de 70%, ou seja, não foram considerados tóxicos contra células saudáveis. Os 11 compostos não citotóxicos foram também avaliados contra linhagens tumorais PC-12 e HepG2 e 3 híbridos promissores foram identificados, um do grupo com variação de substituinte e dois com *linker* alquílico. O híbrido com *linker* etileno na posição *meta* **21a** apresentou uma tendência de diminuição da viabilidade celular de PC-12 com aumento da concentração, indicando potencial citotoxicidade em concentrações maiores. O composto hibridizado via cadeia propílica em *meta* **21b** também demonstrou diminuição da viabilidade celular tumoral com aumento da concentração, atingindo inibição de 33% a 10 μM contra HepG2. E o híbrido contendo substituinte hidroxila **18d** também apresentou inibição significativa de viabilidade celular de HepG2, com inibição de 31% na concentração de 1,25 μM e de 36% a 2,5 μM.

Com esses resultados preliminares promissores, como perspectivas futuras, pretende-se repetir as análises de viabilidade celular em concentrações maiores para determinação de IC_{50} dos compostos citotóxicos **18d**, **21a** e **21b**. Além do mais, todos os 11 compostos híbridos determinados não citotóxicos também poderão ser avaliados contra outras linhagens tumorais disponíveis. Também serão realizados estudos de modelagem molecular *in silico* para prever a inibição em enzimas quinases.

6. Parte Experimental

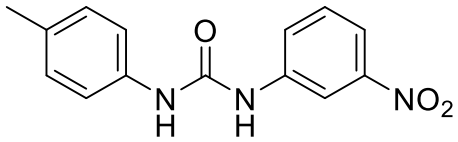
Todos os reagentes utilizados foram obtidos em grau para análise (P.A) de fontes comerciais e foram utilizados sem purificações adicionais, com exceção no isocianato de fenila que foi destilado a vácuo. Solventes também foram obtidos de fontes comerciais com grau P.A. e foram utilizados sem purificação adicional, com exceção de diclorometano, acetato de etila e hexano para uso em coluna, que foram obtidos com grau industrial e destilados. Foi utilizada sílica gel mesh 60Å, 70-230 mesh como fase estacionária para cromatografia em coluna. As reações e colunas cromatográficas foram monitoradas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) em lâminas de sílica 60 Å suportadas em placas de alumínio reveladas com indicador UV 254 nm e vapor de iodo. Pontos de fusão foram medidos utilizando aparelho de detecção de ponto de fusão automático Buchi® M 565. Espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos com espectrômetro Bruker® 400 operando com campo de 9,3 Tesla e 400 MHz para ^{1}H, COSY e HSQC, e 100 MHz para ^{13}C e ^{13}C APT. Os deslocamentos químicos dos espectros estão expressos em ppm (δ), utilizando tetrametilsilano como sinal de referência (0,0 ppm), e as constantes de acoplamento (*J*) em Hertz. Multiplicidade dos sinais estão representadas de acordo com as seguintes convenções: s para singleto, sl para singleto largo, d para dubleto, dd para dubleto de dubletos, ddd para dubleto de dubletos de dubletos, t para tripleto, dt para dubleto de tripletos, tt para tripleto de tripletos, q para quarteto, quint para quinteto e m para multipleto. Para a coleta dos espectros no infravermelho médio utilizou-se o equipamento Agilent Cary 630 FTIR, equipado com acessório de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. Cada espectro foi obtido na faixa de 4000 a 650 cm^{-1}, com 64 varreduras acumuladas e resolução de 2 cm^{-1}. Entre cada amostra avaliada, registrou-se o espectro de referência (ar ambiente) para correção de linha de base e compensação de vapor d'água e CO_2.

6.1 Procedimento geral para síntese de nitrofenil-fenilureias. (7a-g)

A um balão de fundo redondo 50 mL contendo uma suspensão de isocianato de 3-nitrofenila **5** (1,5 mmol) em $CHCl_3$ (15 mL) foi adicionada a respectiva anilina **6a-f** (1,7 mmol, exceto para m-fenilenodiamina **3a** = 3,3 mmol) e a mistura foi

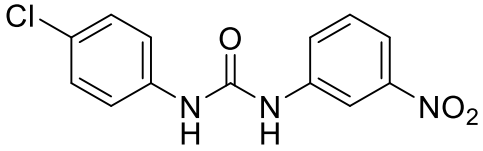
mantida sob agitação sem aquecimento por 4 horas. Após a reação, a mistura foi filtrada e o sólido retido foi lavado com $CHCl_3$, coletado e seco ao ar. Os produtos foram utilizados sem purificações adicionais, com exceção do produto **7g**.

6.1.1. 1-(3-nitrofenil)-3-(p-toluil)ureia. **(7a)**



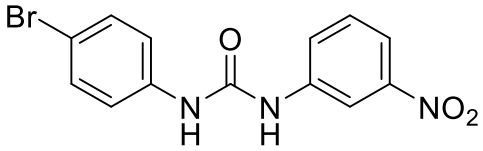
Sólido amarelo, rendimento: 94% (394 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,16 (s, 1H); 8,72 (s, 1H); 8,56 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,81 (ddd, *J* = 8,2; 2,4; 1,0 Hz, 1H); 7,69 (ddd, *J* = 8,2; 2,1; 1,0 Hz, 1H); 7,55 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,10 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H); 2,24 (s, 3H). RMN ¹³C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,5; 148,2; 141,2; 136,7; 131,2; 130,1; 129,3; 124,3; 118,7; 116,2; 112,1; 20,4.

6.1.2. 1-(4-clorofenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7b)**



Sólido amarelo, rendimento: 86% (381 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,26 (s, 1H); 9,00 (s, 1H); 8,55 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,83 (ddd, *J* = 8,2; 2,4, 1,0 Hz, 1H); 7,71 (ddd, *J* = 8,2; 2,2, 1,0 Hz, 1H); 7,56 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,51 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H); 7,34 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H). RMN ^{13}C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 148,1; 140,9; 138,3; 130,1; 128,7; 125,8; 124,4; 120,1; 116,4; 112,2.

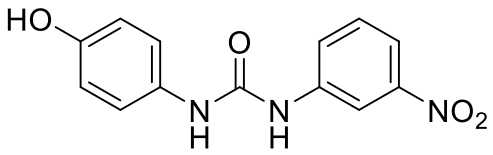
6.1.3. 1-(4-bromofenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7c)**



Sólido amarelo, rendimento: 84% (430 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,26 (s, 1H); 9,00 (s, 1H); 8,55 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,83 (ddd, *J* = 8,1; 2,3; 0,9 Hz, 1H); 7,71 (ddd, *J* = 8,2; 2,2; 1,0 Hz, 1H); 7,56 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,46 (s, 4H). RMN

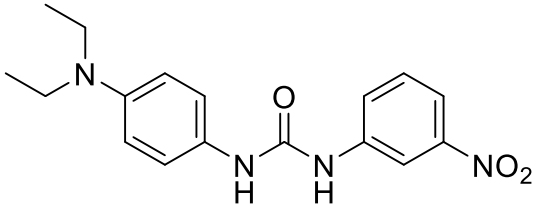
^{13}C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,3; 148,1; 140,9, 138,7; 131,6; 130,1; 124,4; 120,5; 116,5; 113,8; 112,3.

6.1.4. 1-(4-hidroxifenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7d)**



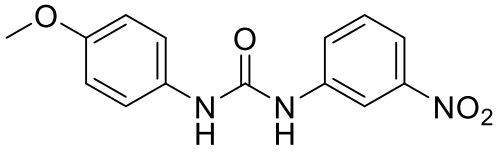
Sólido amarelo-escuro, rendimento: 98% (276 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,42 (s, 1H); 9,10 (s, 1H); 8,81 (s, 1H); 8,57 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,76 (dd, *J* = 8,1; 2,4 Hz, 1H); 7,70 (dd, *J* = 8,1; 2,2 Hz, 1H); 7,48 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,25 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H); 6,66 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,8; 152,7; 148,1; 141,7; 130,9; 129,8; 124,1; 120,8; 115,7; 115,1; 111,8.

6.1.5. 1-(4-(dietilamino)fenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7e)**



Sólido laranja, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,71 (s, 1H); 8,95 (s, 1H); 8,57 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,76 (dd, *J* = 8,2; 2,3 Hz, 1H); 7,71 (dd, *J* = 8,0; 2,1 Hz, 1H); 7,52 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H); 7,25 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 6,61 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 3,27 (q, *J* = 7,0 Hz, 4H); 1,05 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,8; 148,2; 143,7; 141,8; 129,9; 128,0; 123,9; 121,0; 115,6; 112,4; 111,7; 43,9; 12,4.

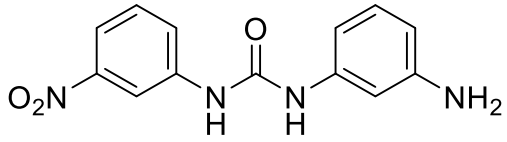
6.1.6. 1-(4-metoxifenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7f)**



Sólido amarelo, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,17 (s, 1H); 8,68 (s, 1H); 8,55 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 7,80 (dd, *J* = 8,3; 2,2 Hz, 1H); 7,70 (ddd, *J* = 8,2; 2,1; 1,0 Hz,

1H); 7,55 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,37 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 6,88 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 3,72 (s, 3H).

6.1.7. 1-(3-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(7g)**

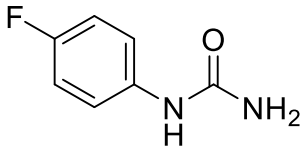


O produto foi recristalizado em acetona, sólido marrom, rendimento: 24% (93 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,09 (s, 1H); 8,59 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 8,53 (s, 1H); 7,80 (ddd, *J* = 8,2; 2,4; 1,0 Hz, 1H); 7,65 (ddd, *J* = 8,2; 2,1; 1,0 Hz, 1H); 7,54 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H); 6,91 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 6,82 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,56 (ddd, *J* = 7,9; 2,0; 0,9 Hz, 1H); 6,22 (ddd, *J* = 8,1; 2,2; 1,0 Hz, 1H); 5,06 (s, 2H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,2; 149,2; 148,2; 141,2; 139,8; 130,0; 129,1; 124,1; 116,0; 111,9; 108,5; 106,3; 104,1.

6.2. Procedimento geral para síntese de monofenilureias. (9a-d)

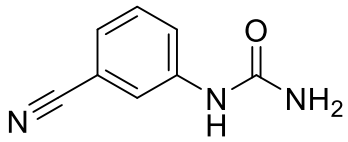
A um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados a respectiva anilina **6g-j** (10,0 mmol) e HCl 1 M (15 mL). Durante 6 horas foi adicionado isocianato de potássio **11** em 6 porções (22 mmol no total). Ao final a mistura foi filtrada, o produto sólido foi lavado com HCl 1 M, coletado e seco sob alto vácuo.

6.2.1. 1-(4-fluorofenil)ureia. **(9a)**



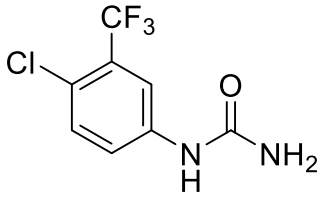
Sólido branco, rendimento: 69% (1074 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,55 (s, 1H); 7,43 - 7,36 (m, 2H); 7,08 - 7,00 (m, 2H); 5,84 (s, 2H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 157,0 (d, *J* = 237,1 Hz); 156,1 (s); 136,9 (d, *J* = 2,3 Hz); 119,4 (d, *J* = 7,6 Hz); 115,1 (d, *J* = 22,0 Hz).

6.2.2. 1-(3-cianofenil)ureia. **(9b)**



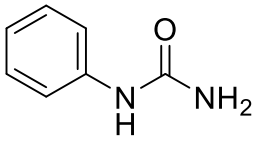
Sólido branco, rendimento: 47% (232 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,90 (s, 1H; 7,96 (t, *J* = 1,9 Hz, 1H; 7,57 (dd, *J* = 8,2; 2,7 Hz, 1H); 7,41 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 7,32 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 6,07 (s, 2H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 155,8; 141,5; 130,0; 124,5; 122,3; 120,2; 119,0; 111,4.

6.2.3. 1-(4-cloro-3-trifluorometilfenil)ureia. **(9c)**



Sólido branco, rendimento: 38% (988 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 9,03 (s, 1H); 8,04 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,59 (dd, *J* = 8,8; 2,6 Hz, 1H); 7,52 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 6,08 (s, 2H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 155,7 (s); 140,2 (s); 131,8 (s); 126,6 (q, *J* = 30,5 Hz); 122,9 (q, *J* = 273,1 Hz); 122,4 (s); 121,4 (q); 116,2 (q, *J* = 5.7 Hz).

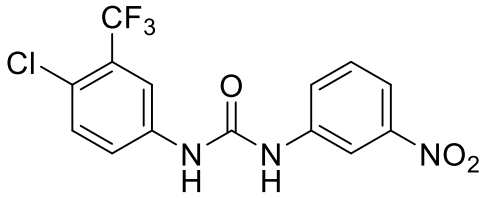
6.2.4. 1-fenilureia. **(9d)**



Sólido branco, rendimento: 99% (556 mg). pf = 149 ºC. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,62 (s, 1H); 7,50 – 7,33 (m, 2H); 7,27 – 7,13 (m, 2H); 6,89 (tt, J = 7.3, 1.2 Hz, 1H); 5,32 (s, 3H).

6.3. Procedimento para síntese de 1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(3-nitrofenil)ureia via rearranjo de Curtius. (7h)

Adaptando o procedimento de Ahmed *et al*,[24] a um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados ácido 3-nitrobenzóico **12** (2,9 mmol), N-metil-morfolina (4,0 mmol), acetonitrila (40 mL) e cloreto de tionila (0,25 mL) e a mistura foi mantida sob agitação por 1 hora. Em seguida foram adicionados DMAP (0,29 mmol) e azida de sódio **13** (4,03 mmol) e a mistura foi mantida sob agitação por mais 5 horas. Após, foi adicionado 4-cloro-3-trifluorometanil-anilina **6i** (3,94 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo *overnight*. Ao final o solvente foi removido via rotaevaporador, foi adicionado água (70 mL) e o sólido formado foi coletado via filtração, recristalizado em etanol (70 mL) e seco sob alto vácuo.



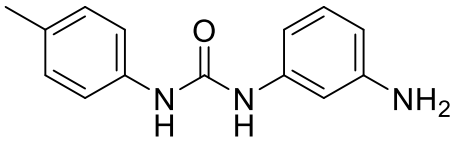
Sólido amarelo, rendimento: 47% (490 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,36 (s, 1H); 9,30 (s, 1H); 8,52 (t, *J* = 2,2 Hz, 1H); 8,08 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,82 (dd, *J* = 8,3; 2,4 Hz, 1H); 7,73 (dd, *J* = 8,0; 2,2 Hz, 1H); 7,66 (dd, *J* = 8,8; 2,5 Hz, 1H); 7,59 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,55 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4 (s); 148,1 (s); 140,6 (s); 139,0 (s); 132,0 (s); 130,1 (s); 126,8 (q, *J* = 30,5 Hz); 124,7 (s); 123,5 (s); 122,9 (q, *J* = 2,2 Hz); 122,8 (q, *J* = 273,0 Hz); 121,5 (s); 118,8 (s); 117,2 (q, *J* = 5,7 Hz); 112,6 (s).

6.4. Procedimento geral para síntese de aminofenil-fenilureias via redução de nitro compostos. (17a-g)

A um balão de fundo redondo de 50 mL contendo uma solução do nitro composto **7a-f,h** (1,0 mmol) em etanol (5 mL) foram adicionados uma solução de NH_4Cl (6,0 mmol) em água (5 mL) e ferro em pó (3,0 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo por 1 a 6 horas sob monitoração via CCD (hexano/acetato de etila 6:4). Ao fim, o pH foi ajustado a > 7 com $NaOH_{(aq)}$ 1 M e a mistura foi filtrada a quente a

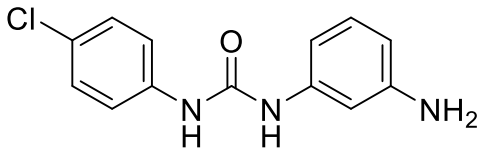
vácuo por uma camada de Celite®. O filtrado foi concentrado via rotaevaporador até remoção do etanol e precipitação do produto. Os produtos foram coletados via filtração, secos sob alto vácuo e utilizados sem purificação adicional.

6.4.1. 1-(3-aminofenil)-3-(p-toluil)ureia. **(17a)**



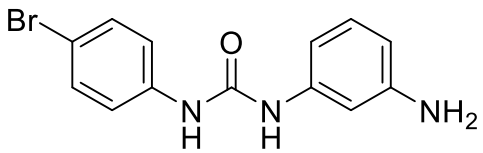
Sólido marrom-claro, rendimento: 49% (83 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,04 (s, 1H); 8,81 (s, 1H); 7,32 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,05 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 6,86 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 6,76 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,57 (dd, *J* = 7,8; 2,1 Hz, 1H); 6,15 (dd, *J* = 7,8; 2,2 Hz, 1H); 4,99 (s, 2H); 2,22 (s, 3H). RMN ^{13}C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 143,7; 140,1; 131,5; 128,5; 121,3; 120,2; 120,0; 109,0; 99,0; 97,1; 94,7; 11,4.

6.4.2. 1-(3-aminofenil)-3-(4-clorofenil)ureia. **(17b)**



Sólido marrom-claro, rendimento: 39% (72 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,69 (s, 1H); 8,40 (s, 1H); 7,46 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H); 7,30 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H); 6,89 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H); 6,75 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,55 (dd, *J* = 7,8; 2,0 Hz, 1H); 6,19 (dd, *J* = 7,9; 2,2 Hz, 1H); 5,03 (s, 2H). RMN ^{13}C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,3; 149,1; 140,0; 138,9; 129,1; 128,6; 125,1; 119,5; 108,3; 106,2; 103,9.

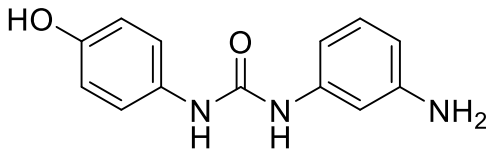
6.4.3. 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia. **(17c)**



Sólido marrom, rendimento: 50% (108 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,70 (s, 1H); 8,40 (s, 1H); 7,44 – 7,39 (m, 4H); 6,89 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 6,75 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,55 (dd, *J* = 7,1, 1,6 Hz, 1H); 6,19 (dd, *J* = 7,9, 1,3 Hz, 1H); 5,03 (s,

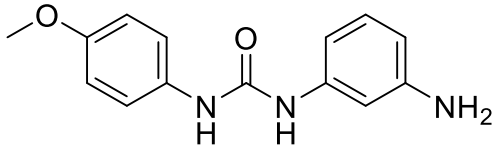
2H). RMN ^{13}C APT (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,3; 149,2; 140,0; 139,3; 131,5; 129,1; 119,9; 113,0; 108,3; 106,2; 103,8.

6.4.4. 1-(3-aminofenil)-3-(4-hidroxifenil)ureia. **(17d)**



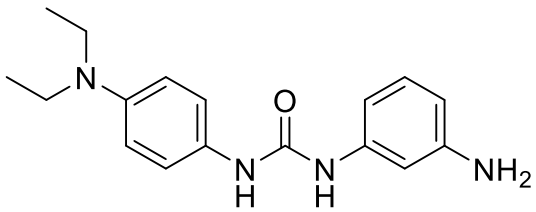
Sólido vermelho, rendimento: 50% (79 mg). pf = 214 ºC (decomposição). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,03 (s, 1H); 8,32 (s, 2H); 7,21 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); 6,86 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 6,76 (s, 1H); 6,67 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); 6,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 6,16 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H); 5,02 (s, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 153,2; 152,8; 149,5; 141,1; 131,9; 129,4; 120,6; 115,6; 108,3; 106,5; 104,1; IV (ν_{max} cm^{-1}): 3294; 1636; 1559; 1304; 1216; 830.

6.4.5. 1-(3-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)ureia. **(17e)**



Sólido marrom-claro, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,36 (s, 1H); 8,27 (s, 1H); 7,34 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 6,86 (dd, *J* = 8,3; 6,0 Hz, 3H); 6,77 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,55 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H); 6,17 (dd, *J* = 7,8; 2,1 Hz, 1H); 5,01 (s, 2H); 3,71 (s, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 154,3; 152,6; 149,1; 140,4; 132,9; 129,0; 119,8; 114,0; 107,9; 106,0; 103,7; 55,1.

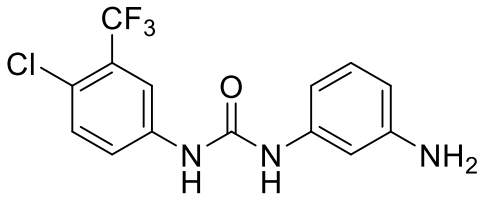
6.4.6. 1-(3-aminofenil)-3-(4-(dietilamino)fenil)ureia. **(17f)**



Sólido cinza, rendimento: 61% (109 mg). pf = 156-160 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,20 (s, 1H); 8,13 (s, 1H); 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 6,87 (t, *J* = 7,9 Hz,

1H); 6,77 (s, 1H); 6,61 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H); 6,54 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 6,16 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 5,00 (s, 2H); 3,26 (q, *J* = 7,1 Hz, 4H); 1,04 (t, *J* = 6,9 Hz, 6H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,8; 149,1; 143,3; 140,7; 129,0; 128,6; 120,5; 112,6; 107,8; 105,9; 103,6; 43,9; 12,4; IV (ν_{max} cm^{-1}): 3340; 3308; 2966; 1647; 1513; 1309; 1223; 773.

6.4.7. 1-(3-aminofenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)ureia. **(17g)**

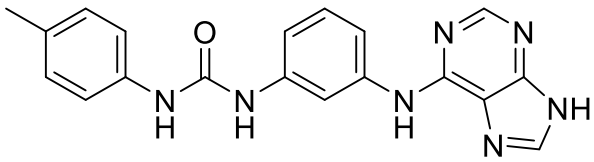


Sólido cor salmão, rendimento: 74% (250 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,03 (s, 1H); 8,52 (s, 1H); 8,13 (s, 1H); 7,57 (s, 2H); 6,90 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H); 6,82 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H); 6,54 (dd, *J* = 7,8; 2,0 Hz, 1H); 6,22 (dd, *J* = 7,9; 2,1 Hz, 1H); 5,05 (s, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,3 (s); 149,2 (s); 139,8 (s); 139,6 (s); 132,0 (s); 129,2 (s); 126,8 (q, *J* = 30,4 Hz); 122,9 (q, *J* = 272,9 Hz); 122,9 (s); 122,1 (q, *J* = 2,1 Hz); 116,6 (q, *J* = 5,6 Hz); 108,6 (s); 106,5 (s); 104,2 (s).

6.5. Procedimento geral para síntese de híbridos via substituição nucleofílica aromática. (18a-h)

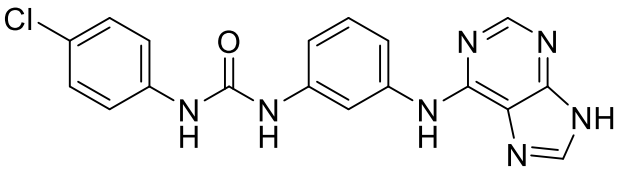
A um balão de fundo redondo de 10 mL foram adicionados 6-cloropurina **1** (0,3 mmol), aminofenil-fenilureia **7g, 17a-g** (0,33 mmol) e isopropanol (3 mL) e a mistura foi mantida sob refluxo por 4 a 18 horas sob monitoração via CCD (diclorometano/metanol 9:1). Ao final a mistura foi filtrada e o produto sólido foi coletado e seco exaustivamente a vácuo. Os produtos foram obtidos suficientemente puros sem a necessidade de purificações adicionais, com exceção do produto **18e** que foi purificado via cromatografia em coluna.

6.5.1. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(p-toluil)ureia. **(18a)**



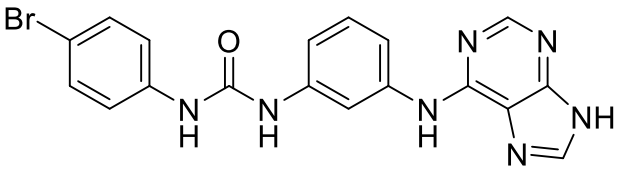
Sólido marrom-claro, rendimento: 62% (53 mg). R_f = 0,40 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 257-260 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10,80 (s, 1H); 9,11 (s, 1H); 8,96 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 8,60 (d, *J* = 3,6 Hz, 2H); 7,95 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 7,52 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H); 7,37 – 7,26 (m, 4H); 7,08 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H); 2,24 (s, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,6; 150,1; 150,0; 149,6; 142,4; 140,4; 138,7; 137,2; 130,5; 129,2; 129,0; 118,1; 114,8; 113,9; 110,8; 20,3; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3278; 3056; 1654; 1550; 1490; 1212; 769.

6.5.2. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-clorofenil)ureia. **(18b)**



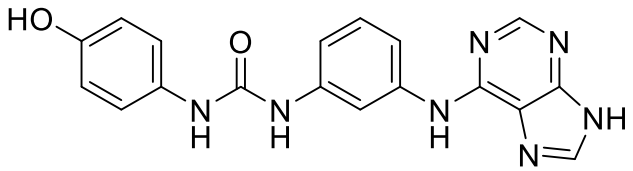
Sólido marrom-claro, rendimento: 80% (61 mg). R_f = 0,25 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 292-296 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10,85 (s, 1H); 9,14 (d, *J* = 14,8 Hz, 2H); 8,63 (d, *J* = 4,5 Hz, 2H); 7,95 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 7,55 – 7,47 (m, 3H); 7,36 – 7,28 (m, 4H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 150,0; 149,5; 149,1; 142,8; 140,1; 138,7; 138,4; 129,2; 128,6; 125,2; 119,5; 115,2; 114,4; 111,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3280; 3063; 1654; 1550; 1490; 1225; 1088; 768.

6.5.3. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-bromofenil)ureia. **(18c)**.



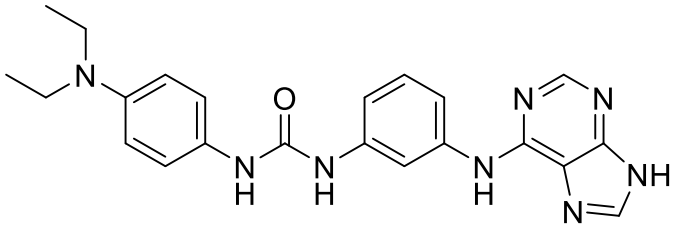
Sólido marrom, rendimento: 68% (82 mg). R_f = 0,30 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 235 ºC (decomposição). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10,87 (s, 1H); 9,18 (s, 1H); 9,14 (s, 1H); 8,64 (d, *J* = 5,4 Hz, 2H); 7,95 (t, *J* = 1,5 Hz, 1H); 7,54 – 7,50 (m, 1H); 7,45 (s, 4H); 7,35 – 7,28 (m, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 150,0; 149,5; 149,2; 142,7; 140,1; 139,2; 138,4; 131,5; 129,2; 120,0; 115,2; 114,3; 113,1; 111,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3277; 3061; 1654; 1546; 1488; 1214; 1071; 776.

6.5.4. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-hidroxifenil)ureia. **(18d)**



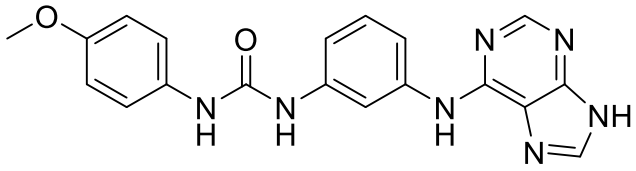
Sólido marrom, rendimento: 55% (47 mg). R_f = 0,10 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 235 ºC (decomposição). pf = 267-271 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10,32 (s, 1H); 9,09 (s, 1H); 8,91 (s, 1H); 8,65 (s, 1H); 8,49 (d, *J* = 11,5 Hz, 2H); 7,94 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 7,50 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 7,31 – 7,18 (m, 4H); 6,69 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,8; 152,5; 150,5; 150,4; 141,7; 140,4; 139,3; 131,3; 128,8; 120,2; 115,2; 114,4; 113,3; 110,5; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3250; 3059; 2812; 1638; 1554; 1487; 1218; 945; 792.

6.5.5. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-(dietilamino)fenil)ureia. **(18e)**



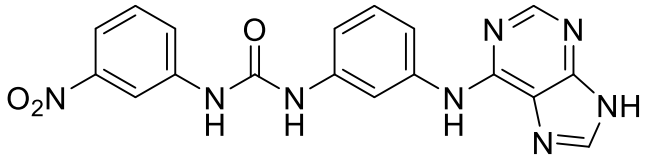
O produto foi purificado via cromatografia em coluna, fase móvel: diclorometano/metanol/NH_4OH 96:3,5:0,5 . Sólido roxo, rendimento: 39% (35 mg). R_f = 0,33 (diclorometano/metanol/NH_4OH 95:4,95:0,05). pf = 200-204 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13,18 (sl, 1H); 9,71 (s, 1H); 8,64 – 8,54 (m, 1H); 8,38 (s, 1H); 8,35 – 8,23 (m, 2H); 7,97 (s, 1H); 7,50 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H); 7,32 – 7,18 (m, 4H); 6,67 (s, 2H); 3,28 (q, *J* = 7,0 Hz, 4H); 1,04 (t, *J* = 6,9 Hz, 6H). IV (υ_{max} cm^{-1}): 3250; 3058; 2962; 2926; 1584; 1517; 1190; 930; 760.

6.5.6. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-metoxifenil)ureia. **(18f)**



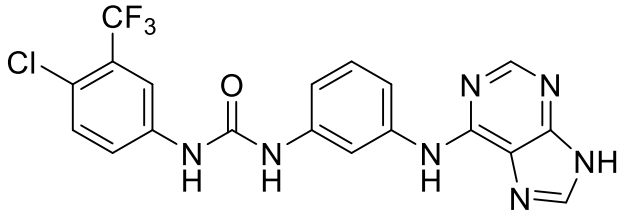
Sólido marrom-claro, rendimento: 83% (95 mg). R_f = 0,23 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 235 ºC (decomposição). pf = 265-267 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11,04 (s, 1H); 9,05 (s, 1H); 8,82 (s, 1H); 8,69 (s, 1H); 8,66 (s, 1H); 7,94 (t, *J* = 2,0 Hz, 1H); 7,50 (dt, *J* = 7,2; 1,9 Hz, 1H); 7,38 – 7,28 (m, 4H); 6,86 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 3,71 (s, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 154,4; 152,7; 149,8; 149,2; 148,8; 143,0; 140,6; 138,1; 132,8; 129,2; 119,8; 114,9; 114,4; 114,0; 111,1; 55,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3282; 3067; 1654; 1550; 1490; 1226; 1028; 830; 776.

6.5.7. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(3-nitrofenil)ureia. **(18g)**



Sólido laranja, rendimento: 73% (97 mg). R_f = 0,20 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 235 ºC (decomposição). pf = 225 ºC (decomposição). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11,04 (s, 1H); 9,69 (s, 1H); 9,35 (s, 1H); 8,70 (s, 1H); 8,67 (s, 1H); 8,58 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H); 7,98 (s, 1H); 7,81 (dd, *J* = 8,2; 2,4 Hz, 1H); 7,70 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H); 7,57 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H); 7,34 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 149,8; 149,1; 148,8; 148,1; 143,0; 141,0; 139,8; 138,2; 130,0; 129,2; 124,1; 116,2; 115,5; 114,7; 111,8; 111,4; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3245; 1617; 1540; 1308; 1232; 748.

6.5.8. 1-(3-((purin-6-il)amino)fenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)ureia. **(18h)**



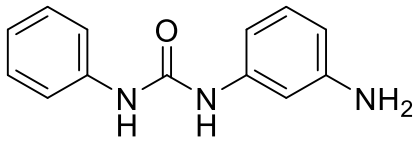
Sólido marrom-claro, rendimento: 84% (150 mg). pf = 209-211 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13,15 (sl, 1H); 9,74 (s, 1H); 9,15 (s, 1H); 8,88 (s, 1H); 8,38 (s, 1H); 8,29 (s, 1H); 8,14 (s, 1H); 8,02 (s, 1H); 7,63 – 7,57 (m, 3H); 7,28 – 7,21 (m, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4 (s); 151,8 (s); 140,3 (s); 139,5 (s); 139,3 (s); 132,1 (s); 128,8 (s); 126,8 (q, *J* = 30,5 Hz); 123,0 (s); 122,9 (q, *J* = 273,1

Hz); 122,2 (q, *J* = 1,6 Hz); 116,6 (q, *J* = 4,8 Hz); 113,0 (s). IV (υ_{max} cm^{-1}): 3065; 1705; 1654; 1549; 1386; 1210; 1112; 879; 783.

6.6. Procedimento geral para síntese de aminofenil-fenilureias. (4a-b)

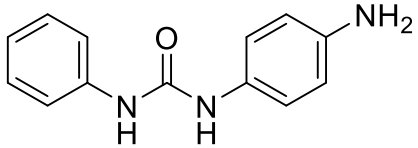
A um balão de fundo redondo de 250 mL sob banho de gelo foram adicionados fenilenodiamina **3a-b** (42,5 mmol), diclorometano (100 mL) e, sob agitação lentamente, uma solução de isocianato de fenila **2** (27,4 mmol) em diclorometano (25 mL). Após a adição a mistura foi mantida sob agitação *overnight*. Ao final, o produto foi coletado via filtração, purificado via recristalização em etanol e seco sob alto vácuo.

6.6.1. 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia. **(4a)**



Sólido branco, rendimento: 71% (4,43 g). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,55 (s, 1H); 8,37 (s, 1H); 7,45 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H); 7,27 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H); 7,00 – 6,87 (m, 2H); 6,80 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,57 (dd, *J* = 7,8; 2,1 Hz, 1H); 6,20 (dd, *J* = 8,0; 2,1 Hz, 1H); 5,03 (s, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,5; 148,5; 140,4; 140,01; 129,1; 128,8; 121,6; 117,9; 108,4; 106,5; 104,1.

6.6.2. 1-(4-aminofenil)-3-fenilureia. **(4b)**

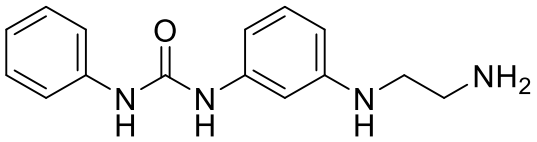


Sólido rosa, rendimento: 83% (861 mg). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,48 (s, 1H); 8,13 (s, 1H); 7,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,25 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H); 7,08 (dd, *J* = 9,1; 2,6 Hz, 2H); 6,92 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,52 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 4,78 (s, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,9; 144,0; 140,2; 128,7; 128,6; 121,3; 120,8; 117,9; 114,1.

6.7. Procedimento geral para substituição nucleofílica de amino-difenilureias com bromo-alquilaminas. (20a-d)

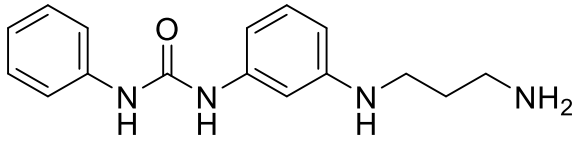
A um balão de fundo redondo de 10 mL foram adicionados amino-difenilureia **4a-b** (2,0 mmol), bromidrato de 2-bromoetilamina **19a** ou bromidrato de 3-bromopropilamina **19b** (1,0 mmol) e acetonitrila (4 mL) e a mistura foi mantida sob refluxo por 24 horas. Ao fim a mistura foi vertida em solução aquosa de NaOH 4 M (20 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila (4 x 10 mL). As fases orgânicas foram secas com Na_2SO_4, evaporadas e o produto foi purificado via cromatografia em coluna com eluição em gradiente: diclorometano/metanol 9:1 a diclorometano/metanol/NH_4OH 8:1,95:0,05. Após a purificação o solvente foi removido via rotaevaporador e sob alto vácuo.

6.7.1. 1-(3-((2-aminoetil)amino)fenil)-3-fenilureia. **(20a)**



Sólido marrom, rendimento: 81% (222 mg). pf 65-66ºC, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,65 (s, 1H); 8,49 (s, 1H); 7,46 – 7,42 (m, 2H); 7,29 – 7,24 (m, 2H); 6,98 – 6,91 (m, 2H); 6,81 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H); 6,57 (ddd, *J* = 8,0; 2,1; 0,9 Hz, 1H); 6,20 (ddd, *J* = 8,1; 2,3; 0,9 Hz, 1H); 5,54 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H); 2,98 (q, *J* = 6,0 Hz, 2H); 2,72 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,5; 149,6; 140,4; 139,9; 129,1; 128,7; 121,6; 118,0; 106,1; 106,0; 102,0; 46,4; 40,9; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3275; 3025; 2953; 2860; 1669; 1540; 1213; 838; 747; 688.

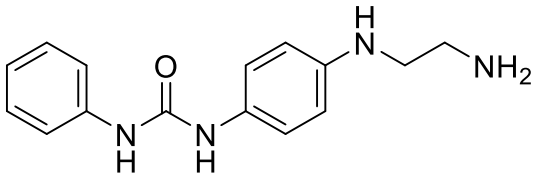
6.*7.2. 1-(3-((3-aminopropil)amino)fenil)-3-fenilureia.* **(20b)**



Sólido branco, rendimento: 69% (394 mg). pf 54-56 ºC, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10,09 (s, 1H); 9,83 (s, 1H); 7,52 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H); 7,26 – 7,18 (m, 2H); 6,94 – 6,88 (m, 3H); 6,68 (dd, *J* = 7,9; 1,9 Hz, 1H); 6,16 (dd, *J* = 8,0; 2,2 Hz, 1H); 5,52 (sl, 1H); 3,04 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H); 2,78 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H); 1,79 (s, 2H); 1,73

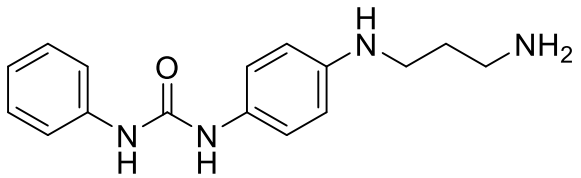
(quint, *J* = 7,1 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ: 153,2; 149,2; 141,3; 140,8; 128,9; 128,6; 121,1; 118,0; 106,4; 105,8; 102,1; 37,9; 28,9; 24,7; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3278; 3019; 2931; 2856; 1669; 1540; 1211; 842; 749; 689.

6.7.3. 1-(4-((2-aminoetil)amino)fenil)-3-fenilureia. **(20c)**



Sólido rosa, rendimento: 62% (127 mg). pf = 132-135 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ: 8,69 (s, 1H); 8,37 (s, 1H); 7,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,24 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H); 7,14 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 6,91 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 5,29 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H); 2,98 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H); 2,71 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ:153,1; 144,7; 140,3; 128,8; 128,8; 121,3; 120,8; 118,0; 112,3; 46,4; 40,8; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3310; 3044; 2932; 2869; 1646; 1546; 1231; 830; 753; 696.

6.*7.4. 1-(4-((3-aminopropil)amino)fenil)-3-fenilureia.* **(20d)**

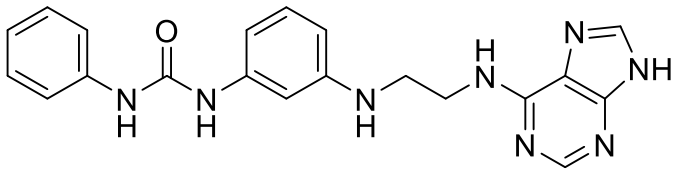


Sólido amarelo, rendimento: 48% (138 mg). pf 123-125 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ: 9,22 (s, 1H); 8,90 (s, 1H); 7,45 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,22 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H); 7,16 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 6,89 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 5,24 (sl, 1H); 3,00 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H); 2,68 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H); 1,64 (quint, *J* = 6,9 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ: 153,3; 144,6; 140,7; 129,1; 128,7; 121,1; 120,7; 118,0; 112,3; 41,1; 39,0; 31,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3308; 3036; 2924; 2852; 1646; 1546; 1230; 827; 752; 696.

6.8. Procedimento geral para síntese de híbridos com *linker* via substituição nucleofílica aromática. (21a-d)

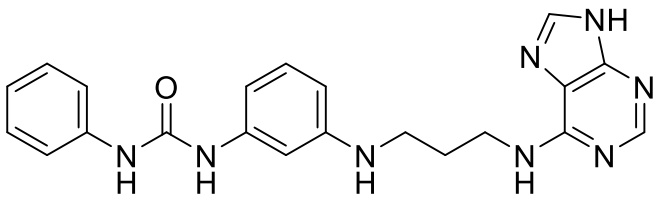
A um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados amino-difenilureia **20a-d, 32a-b** (0,33 mmol), 6-cloropurina **1** (0,30 mmol), DMAP (0,07 mmol) e isopropanol (3 mL) e a mistura foi mantida sob refluxo *overnight*. Ao fim o solvente foi removido e o produto foi purificado via cromatografia em coluna com eluição em gradiente: diclorometano/metanol 94:06 a 8:2. Após a purificação o solvente foi removido via rotaevaporador e sob alto vácuo.

6.8.1. 1-(3-((2-(purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia. **(21a)**



Sólido marrom, rendimento: 18% (21 mg). R_f = 0,30 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 229-232 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,90 (sl, 1 H); 8,60 (s, 1H); 8,43 (s, 1H); 8,22 (s, 1 H); 8,10 (s, 1 H); 7,73 (s, 1 H); 7,43 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H); 7,26 (t, *J* = 7,9 Hz, 2 H); 6,96 (t, *J* = 8,0 Hz, 1 H); 6,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H); 6,83 (s, 1 H); 6,57 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H); 6,27 (dd, *J* = 8,0 e 1,4 Hz, 1 H); 5,78 (s, 1 H); 3,67 (s, 2 H); 3,24 (s, 2 H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,5; 152,4; 149,4; 140,4; 139,9; 138,8; 129,2; 128,8; 121,6; 118,0; 106,2; 105,8; 102,1; 42,7; (ν_{max} cm^{-1}): 3249; 3068; 1600; 1521; 1219; 734.

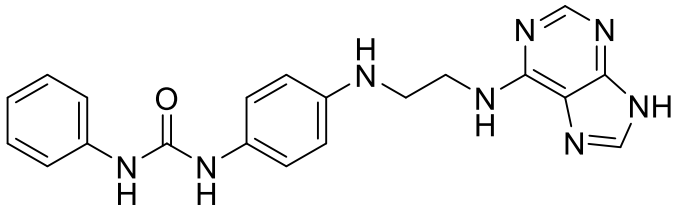
6.8.2. 1-(3-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)-3-fenilureia. **(21b)**



Sólido marrom, rendimento: 17% (55 mg). R_f = 0,23 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 142-145 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,90 (s, 1H); 8,60 (s, 1H); 8,45 (s, 1H); 8,19 (s, 1H); 8,09 (s, 1H); 7,72 (s, 1H); 7,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); 7,26 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H); 6,94 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,79 (s, 1H); 6,57 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 6,20

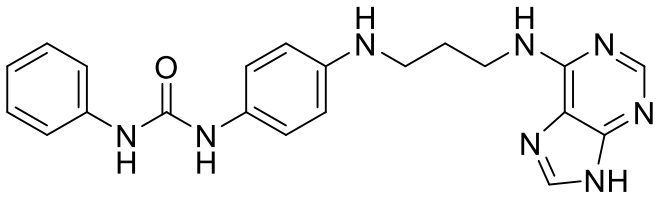
(d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 5,65 (s, 1H); 3,57 (s, 2H); 3,06 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H); 1,94 – 1,82 (m, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,5; 151,8; 149,5; 140,4; 139,9; 138,8; 129,1; 128,8; 121,6; 118,0; 106,1; 106,0; 102,0; 40,5; 37,7; 28,6; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3275; 3047; 1594; 1539; 1212; 748.

6.*8.3. 1-(4-((2-((purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia.* **(21c)**



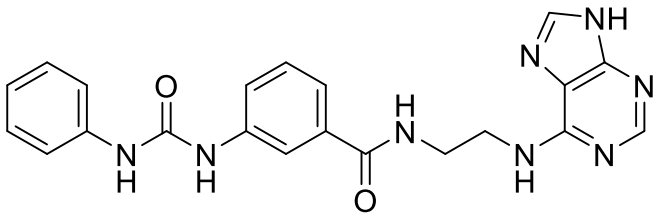
Sólido cor salmão, rendimento: 38% (45 mg). R_f = 0,13 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 245-247 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,93 (s, 1H); 8,49 (s, 1H); 8,22 (s, 1H); 8,18 (s, 1H); 8,10 (s, 1H); 7,72 (s, 1H); 7,44 – 7,40 (m, 2H); 7,27 – 7,22 (m, 2H); 7,15 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 6,92 (tt, *J* = 7,3; 1,2 Hz, 1H); 6,58 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 5,55 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H); 3,66 (s, 2H); 3,23 (q, *J* = 6,4 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 154,5; 152,9; 152,4; 149,5; 144,5; 140,2; 138,8; 128,7; 128,6; 121,4; 120,8; 117,9; 112,2; 43,1; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3293; 3056; 1635; 1597; 1558; 1237; 691.

6.8.4. 1-(4-((3-((purin-6-il)amino)propil)amino)fenil)3-fenilureia. **(21d)**



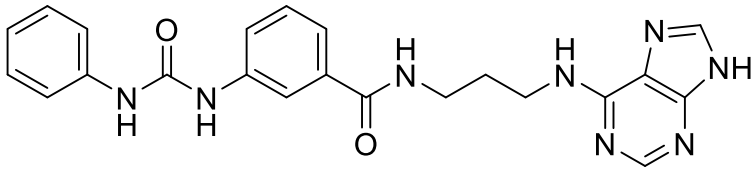
Sólido cor salmão, rendimento: 12% (15 mg). R_f = 0,20 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 192-196 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,90 (s, 1H); 8,48 (s, 1H); 8,24 – 8,13 (m, 2H); 8,09 (s, 1H); 7,72 (s, 1H); 7,43 – 7,39 (m, 2H); 7,27 – 7,22 (m, 2H); 7,12 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 6,92 (tt, *J* = 7,3; 1,2 Hz, 1H); 6,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 5,38 (s, 1H); 3,56 (s, 2H); 3,04 (q, *J* = 5,8 Hz, 2H); 1,86 (quint, *J* = 6,9 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 154,5; 152,9; 152,4; 149,4; 144,7; 140,2; 138,7; 128,7; 128,5; 121,4; 120,8; 117,9; 112,3; 41,0; 37,7; 28,6; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3249; 3068; 1632; 1595; 1550; 1228; 691.

6.8.5. N-(2-((purin-6-il)amino)etil)-3-(3-fenilureido)benzamida. **(33a)**



Sólido branco, rendimento: 47% (40 mg). Rf = 0,57 (diclorometano/metanol 8:2). pf = 252 ºC (decomposição). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,93 (s, 1H); 8,91 (s, 1H); 8,79 (s, 1H); 8,60 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H); 8,21 (s, 1H); 8,09 (s, 1H); 7,90 (t, *J* = 1,9 Hz, 1H); 7,79 (s, 1H); 7,61 (dd, *J* = 7,9; 2,3 Hz, 1H); 7,45 (m, 3H); 7,35 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,28 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,97 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 3,68 (s, 2H); 3,52 (q, *J* = 6,0 Hz, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 166,6; 154,5; 152,6; 152,4; 149,5; 139,8; 139,6; 138,8; 135,3; 131,6; 128,8; 128,7; 121,9; 120,8; 120,4; 118,3; 117,4; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3245; 1617; 1540; 1308; 1232; 794; 749; 691.

6.8.6. N-(3-((purin-6-il)amino)propil)-3-(3-fenilureido)benzamida. **(33b)**

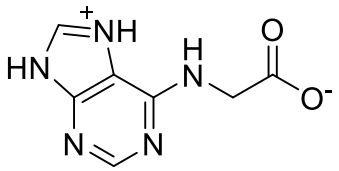


Sólido branco, rendimento: 28% (10 mg). R_f = 0,17 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 193-195 ºC, RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,91 (s, 1H); 8,83 (s, 1H); 8,70 (s, 1H); 8,51 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H); 8,19 (s, 1H); 8,08 (s, 1H); 7,89 (t, *J* = 1,9 Hz, 1H); 7,80 – 7,64 (m, 1H); 7,62 (ddd, *J* = 8,0; 2,3; 1,2 Hz, 1H); 7,48 – 7,42 (m, 3H); 7,36 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,30 – 7,26 (m, 2H); 6,97 (tt, *J* = 7,3; 1,2 Hz, 1H); 3,54 (s, 2H); 1,83 (quint, *J* = 6,8 Hz, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 166,3; 154,4; 152,5; 152,4; 139,8; 139,6; 138,7; 135,5; 128,8; 128,7; 121,9; 120,8; 120,3; 118,3; 117,3; 37,2; 36,8; 29,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3273; 1628; 1540; 1301; 1231; 794; 748; 689.

6.9. Procedimento geral para síntese de intermediários purina-(aminoácidos). (23a-b)

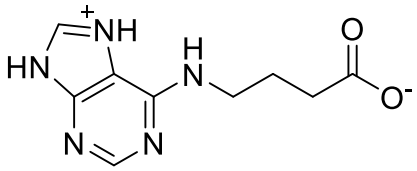
A um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 6-cloropurina **1** (4,0 mmol), o aminoácido respectivo **22a-b** (8,0 mmol), carbonato de sódio (7,0 mmol) e água (10 mL) e a mistura foi mantida sob refluxo por 6 horas sob monitoramento via CCD (diclorometano/metanol 9:1). Ao fim a mistura foi diluída com água (10 mL) e o pH foi ajustado a < 4 com $HCl_{(aq)}$ 2 M. O sólido formado foi coletado via filtração, recristalizado com água e seco sob alto vácuo.

6.9.1. Àcido 2-((purin-6-il)amino)acético. **(23a)**



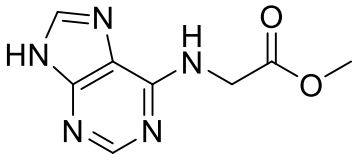
Sólido branco, rendimento: 75% (580 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 70 ºC) δ: 12,20 (sl, 2H); 8,20 (s, 1H); 8,08 (s, 1H); 7,45 (s, 1H); 4,24 (s, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 171,9; 153,9; 152,2; 139,6; 118,4.

6.9.2. Ácido 4-((purin-6-il)amino)butanoico. **(23b)**



Sólido cor salmão, rendimento: 81% (581 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,52 (s, 2H); 8,18 (sl, 1H); 8,10 (s, 1H); 7,69 (s, 1H); 3,49 (s, 2H): 2,29 (t, J = t,5 Hz, 2H); 1,83 (quint, J = 7,2 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 174,4; 154,2; 152,4; 138,9; 118,0; 31,2; 24,7.

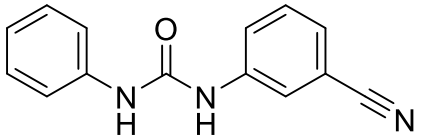
6.10. Procedimento para síntese de 2-((purin-6-il)amino)acetato de metila. (26)



A um balão de fundo redondo de 10 mL foram adicionados metanol (1,2 mL), ácido sulfúrico (2,2 mmol) e ácido 2-((purin-6-il)amino)acético **23a** (1,0 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo *overnight*. Ao fim a mistura vertida em água gelada e o pH foi ajustado a > 8 com solução 20% m/m de Na_2CO_3. O produto foi extraído com acetato de etila 4 x 15 mL e as fases orgânicas foram combinadas, secas com $MgSO_4$ e evaporadas para obter o produto como um sólido branco, rendimento: 58% (114 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 70 ºC) δ: 12,81 (s, 1H); 8,19 (s, 1H); 8,08 (s, 1H); 7,61 (s, 1H); 4,32 (s, 2H); 3,65 (s, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 171,0; 153,6; 152,1; 150,6; 139,6; 118,2; 51,7; 41,6.

6.11. Procedimento para síntese de 1-(3-cianofenil)-3-fenilureia. (28)

A um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 3-aminobenzonitrila **6k** (7,4 mmol), clorofórmio (75 mL) e isocianato de fenila **2** (8,2 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo por 6 horas. Ao fim, a mistura foi concentrada até metade do volume original e foi resfriada *overnight* para recristalizar. Os cristais foram coletados via filtração e seco sob alto vácuo.

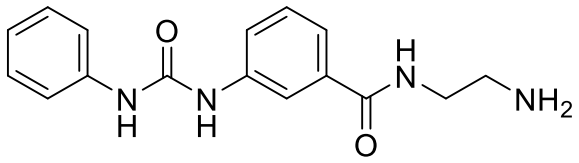


Sólido branco, rendimento: 78% (1,38 g). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,01 (s, 1H); 8,83 (s, 1H); 7,98 (t, *J* = 1,9 Hz, 1H); 7,67 (ddd, *J* = 8,3; 2,3; 1,2 Hz, 1H); 7,51 – 7,44 (m, 3H); 7,41 (dt, *J* = 7,6; 1,3 Hz, 1H); 7,32 – 7,27 (m, 2H); 7,02 – 6,97 (m, 1H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 140,7; 139,3; 130,2; 128,8; 125,3; 122,9; 122,2; 120,8; 118,9; 118,5; 111,6.

6.12. Procedimento geral para síntese em cascata dos intermediários difenilureia-amida-amino. (32a-b)

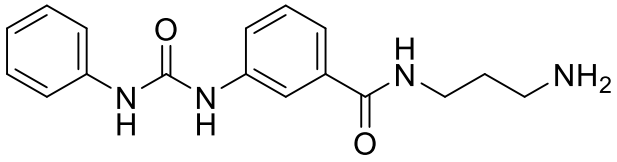
A um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 1-(3-cianofenil)-3-fenilureia **28** (4,0 mmol), *N*-acetil-cisteína **30** (6,0 mmol), a respectiva diamina **29a-b** (6,0 mmol) e metanol (8 mL) e a mistura foi mantida sob refluxo por 24 horas. O solvente foi então removido e foram adicionados isopropanol (16 mL), água (16 mL) e KOH (5,0 mmol) e a mistura foi mantida a 90 ºC por 48 horas. Ao fim, a mistura foi vertida em solução de $HCl_{(aq)}$ 1 M (50 mL), lavada com diclorometano (3 x 20 mL), filtrada e o pH foi ajustado a aproximadamente 10 com solução 20% de Na_2CO_3 causando precipitação do produto. O sólido foi coletado via filtração e purificado via cromatografia em coluna utilizando como eluente uma mistura de diclorometano, metanol e hidróxido de amônio 8:1,95:0,05. Após a purificação o solvente foi removido via rotaevaporador e sob alto vácuo.

6.12.1. N-(2-aminoetil)-3-(3-fenilureido)benzamida. **(32a)**



Sólido branco, rendimento: 23% (69 mg). R_f = 0,16 (diclorometano/metanol/NH_4OH 7:2,95:0,05) pf = 244 ºC (decomposição). RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,91 (s, 1H); 8,79 (s, 1H); 8,37 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H); 7,89 – 7,86 (m, 1H); 7,61 (dd, *J* = 7,9; 2,2 Hz, 1H); 7,46 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,43 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 7,35 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,28 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,97 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 3,26 (q, *J* = 6,4 Hz, 2H); 2,68 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 166,6; 152,7; 139,9; 139,7; 135,6; 128,9; 128,7; 122,0; 120,9; 120,5; 118,4; 117,5; 42,9; 41,3; IV (ν_{max} cm^{-1}): 3304; 3252; 3015; 2919; 2874; 1635; 1236; 694.

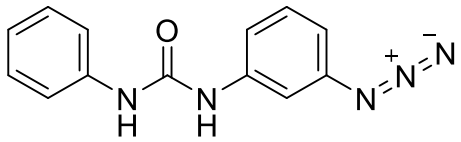
6.12.2. N-(3-aminopropil)-3-(3-fenilureido)benzamida. **(32b)**



Sólido amarelo, rendimento: 25% (307 mg). R_f = 0,17 (diclorometano/metanol/NH_4OH 7:2,95:0,05) pf = 136-139 ºC. RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9,14 (s, 1H); 9,02 (s, 1H); 8,55 – 8,47 (m, 1H); 7,92 – 7,88 (m, 1H); 7,63 – 7,59 (m, 1H); 7,48 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); 7,40 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 7,34 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,27 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,96 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 3,31 (q, *J* = 6,5 Hz, 2H); 2,61 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H); 1,61 (quint, *J* = 6,7 Hz, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 166,6; 152,8; 140,1; 139,9; 135,5; 128,9; 128,8; 122,0; 120,9; 120,3; 118,4; 117,4; 37,0; 31,8; 30,1. IV (υ_{max} cm^{-1}): 3295; 3270; 3042; 2931; 2863; 1635; 1233; 693.

6.13. Procedimento para sequência de diazotação-azidação para obtenção de 1-(3-azidofenil)-3-fenilureia. (35)

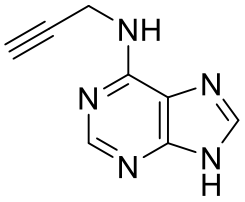
A um becker de 50 mL sob banho de gelo foram adicionados 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia **4a** (0,6 mmol), água (0,6 mL), ácido sulfúrico (0,11 mL) e, lentamente e sob agitação, uma solução de $NaNO_2$ (0,8 mmol) em água (0,6 mL) e a mistura foi mantida sob agitação a 0 ºC por 5 minutos. Em seguida, uma solução gelada de NaN_3 **13** (0,75 mmol) em água (0,5 mL) foi adicionada lentamente e a mistura foi mantida sob agitação *overnight* a temperatura ambiente. Ao fim, o sólido foi coletado via filtração e o produto foi purificado via cromatografia em coluna com hexano/acetato de etila 7:3 como eluente. Após a purificação o solvente foi removido via rotaevaporador e sob alto vácuo.



Sólido amarelo, rendimento: 81% (113 mg). R_f = 0,34 (hexano/acetato de etila 1:1). pf = 169-171 ºC, RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8,92 (s, 1H); 8,76 (s, 1H); 7,47 – 7,43 (m, 3H); 7,33 – 7,26 (m, 3H); 7,12 (ddd, *J* = 8,2; 2,1; 0,9 Hz, 1H); 6,98 (tt, *J* = 7,3; 1,2 Hz, 1H); 6,71 (ddd; *J* = 8,0; 2,3; 0,9 Hz, 1H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 152,4; 141,4; 139,8; 139,4; 130,3; 128,8; 122,1; 118,4; 114,8; 112,3; 108,2; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3292; 3068; 2917; 2103; 1633; 1550; 1222; 1120; 859; 734.

6.14. Procedimento para substituição nucleofílica aromática para obter *N*-(prop-2-in-1-il)-6-amino-purina. (37)

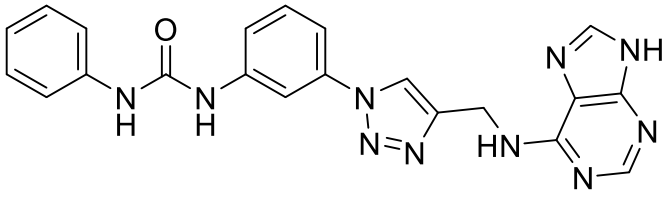
A um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 6-cloropurina **1** (2,0 mmol), propargilamina **36** (2,2 mmol), isopropanol (20 mL) e trietilamina (2,0 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo *overnight*. Ao fim a mistura foi concentrada a metade do volume original e resfriada. O produto cristalino foi coletado via filtração e seco sob alto vácuo.



Sólido marrom, rendimento: 60% (208 mg). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13,01 (sl, 1H); 8,25 (s, 1H); 8,14 (s, 1H); 7,99 (s, 1H); 4,29 (s, 2H); 3,01 (s, 1H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 153,7; 152,3; 150,0; 139,4; 118,9; 82,1; 72,5; 29,3.

6.15. Procedimento para reação *click* para obtenção de 1-(3-(4-(((purin-6-il)amino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)-3-fenilureia. (38)

A um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados *N*-propargil-adenina **37** (0,5 mmol), 1-(3-azidofenil)-3-fenilureia **35** (0,5 mmol), metanol (6 mL), $CuSO_4.5H_2O$ (0,02 mmol), água (4 mL) e ascorbato de sódio (1,0 mmol) e a mistura foi mantida sob refluxo *overnight* sob monitoração via CCD (diclorometano/metanol 9:1). Ao fim, o solvente foi removido via destilação a pressão reduzida e o produto foi purificado via cromatografia em coluna com uma mistura de diclorometano/metanol 9:1 a 8:2 como eluente. Após a purificação o solvente foi removido via rotaevaporador e sob alto vácuo.



Sólido laranja, rendimento: 76% (161 mg). R_f = 0,30 (diclorometano/metanol 9:1). pf = 184-187 ºC, RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12,97 (s, 1H); 9,17 (s, 1H); 8,94 (s, 1H); 8,54 (s, 1H); 8,24 (s, 1H); 8,21 – 8,07 (m, 3H); 7,47 (d, *J* = 7,3 Hz, 3H); 7,45 – 7,40 (m, 3H); 7,28 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H); 6,98 (dd, *J* = 8,1; 6,6 Hz, 1H); 4,86 (s, 2H). ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ: 154,1; 152,8; 152,4; 146,8; 141,4; 139,7; 139,1; 137,1; 130,2; 128,8; 121,93; 121,2; 118,1; 117,7; 113,0; 109,2; 35,4; IV (υ_{max} cm^{-1}): 3278; 3051; 2924; 1636; 1559; 1232; 1066; 780.

6.16. Ensaios biológicos.

6.16.1. Cultura das células MRC-5, PC-12 e HepG2.

As células MRC-5 (fibroblastos diploides) foram cultivadas no meio de cultura DMEM (Sigma-Aldrich) de baixa concentração de glicose suplementado com 10% de soro fetal bovino (Laborclin), 2,5 g/L de ácido 4-(2- hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico (HEPES, Sigma-Aldrich), 3,7 g/L bicarbonato de sódio (Neon), 1% P/S (Sigma-Aldrich) e o pH foi ajustado para 7,2. As células PC-12 (feocromocitoma) foram mantidas em meio de cultura DMEM de alta concentração de glicose suplementado com 10% de soro equino (Laborclin), 5% de soro fetal bovino, 2,5 g/L de ácido 4-(2- hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico (HEPES), 3,7 g/L bicarbonato de sódio, 1% P/S e o pH foi ajustado para 7,2. As células HepG2 (hepatocarcinoma humano) foram cultivadas no meio de cultura DMEM de alta concentração de glicose suplementado com 10% soro fetal bovino, 1% P/S e o pH foi ajustado para 7,2. As culturas permaneceram em incubadora umidificada com atmosfera contendo 5% de CO_2 a 37 °C.

6.16.2. Testes de viabilidade celular.

Seguindo o procedimento de Maurmann *et al*,[56] a viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio direto de MTT. 7.500 células de cada linhagem foram semeadas por poço em placas de cultura de 96 poços. Após 24 horas, 0,2 mL de cada composto final nas concentrações de 1,25; 2,5, 5 e 10 μM foram diluídos em 1% de DMSO e no meio de cultura de cada linhagem celular. Além das amostras, o estudo incluiu um controle de células não tratadas com o composto, somente 1% de DMSO em meio de cultura, e um controle positivo, de células tratadas com

tamoxifeno nas concentrações de 2,5; 5 e 10 µM. O ensaio de MTT foi realizado 24 horas após esse procedimento, utilizando uma concentração de 0,25 mg/mL de MTT em 0,2 mL de meio de cultura, com incubação a 37 °C e atmosfera de 5% de CO_2. Decorridas 3 horas de incubação, o sobrenadante dos poços foi descartado e os cristais de formazan formados foram dissolvidos em 200 µL de DMSO. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro de placa de 96 poços, utilizando os comprimentos de onda de 630 e 570 nm para o cálculo do resultado.

Referências

1 - Ferlay, J.; Ervik, M.; Lam, F.; Laversanne, M.; Colombet, M.; Mery, L.; Piñeros, M.; Znaor, A.; Soerjomataram, I.; Bray, F. *Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer* **2024**. Disponível em: https://gco.iarc.who.int/today. Acesso em 13/04/2026

2 - Abah, M. A.; Oladosu, M. A.; Nnaemeka, N. J.; Agida, O. D. Targeted Therapeutics for Cancer Treatment: A Review of Kinase Inhibitors, Angiogenesis Inhibitors, and Other Molecularly targeted Agents. *Biotechnology Frontiers: An International Journal.* **2025,** *5*, 9 - 20. https://doi.org/10.51470/BF.2025.5.1.09

3 - Li, J.; Gong, C.; Zhou, H.; Liu, J.; Xia, X.; Ha, W.; Jiang, Y.; Liu, Q.; Xiong, H. Kinase Inhibitors and Kinase-Targeted Cancer Therapies: Recent Advances and Future Perspectives. *Int. J. Mol. Sci*. **2024**, *25*, 5489. https://doi.org/10.3390/ijms25105489

4 - *Novel Drug Approvals at FDA*; Estados Unidos, U.S. Food & Drug Administration. Revisado em Fevereiro de 2026. https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/novel-drug-approvals-fda. Acesso em 15/04/2026

5 - Iacob, S.; Stefan, C.-S.; Nechita, A.; Matei, M.-N.; Lisa, E.-L.; Tutunaru, D.; Fulga, I.; Fulga, A.; Cristea, A.-G.; Dragostin, O.-M. Hybrid Molecules with Purine and Pyrimidine Derivatives for Antitumor Therapy: News, Perspectives, and Future Directions. *Molecules* **2025**, *30*, 2707. https://doi.org/10.3390/molecules30132707

6 - Bray, F. Laversanne, M.; Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Soerjomataram, I.; Jemal, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: Cancer J. Clin.* **2024** *74*, 229-263. https://doi.org/10.3322/caac.21834

7 - Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Biologia Molecular da Célula*; Andrade, A. E. B.; *et al*, tradução; ARTMED, 2017 (Originalmente publicado sob o título *Molecular biology of the cell*, 6th edition; Garland Science, 2014). ISBN 9780815344322

8 - Schwartz, P. A.; Murray, B. W. Protein kinase biochemistry and drug discovery. *Bioorg. Chem.* **2011** *39*, 192-210. http://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.07.004

9 - Baldi, S.; Long, N.; Ma, S.; Liu, L.; Al-Danakh, A.; Yang, Q.; Deng, X.; Xie, J.; Tang, H. Advancements in Protein Kinase Inhibitors: From Discovery to Clinical Applications. *Research* **2025** *8*, 0747. https://doi.org/10.34133/research.0747

10 - Cohen, P.; Cross, D.; Jänne, P. A. Kinase drug discovery 20 years after imatinib: progress and future directions. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2021** *20*, 551-569. https://doi.org/10.1038/s41573-021-00195-4

11 - Nussinov, R.; Regev, C.; Jang, H. Kinase signaling cascades: an updated mechanistic landscape. *Chem. Sci.* **2025** *16*, 15815-15835. https://doi.org/10.1039/D5SC04657B

12 - Knighton, D. R.; Zheng, J.; Eyck, L. F. T.; Ashford, V. A.; Xuong, N-H.; Taylor, S. S.; Sowadski, J. M. Crystal Structure of the Catalytic Subunit of Cyclic Adenosine Monophosphate-Dependent Protein Kinase. *Science* **1991** *253*, 407-414. https://doi.org/10.1126/science.1862342

13 - Attwood, M. M.; Fabbro, D.; Sokolov, A. V.; Knapp, S.; Schiöth, H. B. Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2021** *20*, 839-861. https://doi.org/10.1038/s41573-021-00252-y

14 - Hehlmann, R.; Lauseker, M.; Saußele, M.; Pfirrmann, M.; Krause, S.; Kolb, H. J.; Neubauer, A.; Hossfeld, D. K.; Nerl, C.; Gratwohl, A.; Baerlocher, G. M.; Heim, D.; Brümmendorf, T. H.; Fabarius, A.; Haferlach, C.; Schlegelberger, B.; Müller, M. C.; Jeromin, S.; Proetel, U.; Kohlbrenner, K.; Voskanyan, A.; Rinaldetti, S.; Seifarth, W.; Spieß, B. Assessment of imatinib as first-line treatment of chronic myeloid leukemia: 10-year survival results of the randomized CML study IV and impact of non-CML determinants. *Leukemia* **2017** *31*, 2398-2406. https://doi.org/10.1038/leu.2017.253

15 - Jabbour, E.; Kantarjian, H. Chronic Myeloid Leukemia A Review. *JAMA* **2025** *333*, 1618-1629. https://doi.org/10.1001/jama.2025.0220

16 - Panjorian, S.; Iacob, R. E.; Chen, S.; Engen, J. R.; Smithgall, T. E. Structure and Dynamic Regulation of Abl Kinases. *J. Biol. Chem.* **2013** *288*, 5443-5450. https://doi.org/10.1074/jbc.R112.438382

17 - Min, H-Y.; Lee, H-Y. Molecular targeted therapy for anticancer treatment. *Exp. Mol. Med.* **2022** *54*, 1670-1694. https://doi.org/10.1038/s12276-022-00864-3

18 - Nguyen, K-S.; Koboyashi, S.; Costa, D. B. Acquired Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Non–Small-Cell Lung Cancers Dependent on the Epidermal Growth Factor Receptor Pathway. *Clin. Lung Cancer* **2009** *10*, 281-289. https://doi.org.10.3816/CLC.2009.n.039

19 - Wilhelm, S. Carte, C.; Lynch M.; Lowinger, T.; Dumas, J.; Smith, R. A.; Schwartz, B.; Simantov, R.; Kelly, S. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006** *5*, 835-844. https://doi.org/10.1038/nrd2130

20 - Babaei, G. Alibarab, A.; Vostakolaei, M. A.; Hotelchi, M.; Neisari, R.; Aziz, S. G-G.; Bazl, M. R. Crosslink between p53 and metastasis: focus on epithelial–mesenchymal transition, cancer stem cell, angiogenesis, autophagy, and anoikis. *Mol. Bio. Rep.* **2021** *48*, 7545-7557. doi.org/10.1007/s11033-021-06706-1

21 - Ozaki, S. Recent Advances in Isocyanate Chemistry. *Chem. Rev.* **1972** *72*, 457-496. https://doi.org/10.1021/cr60279a002

22 - Vargas, J. A. M.; Mandrekar, K. S.; Echemendía, R.; Burtoloso, A. C. B. Innovations in isocyanate synthesis for a sustainable future. *Org. Biomol. Chem.* **2025** *23*, 487-505. https://doi.org/10.1039/D4OB01598C

23 - Liu, P.; Wang, Z.; Hu, X. Highly Efficient Synthesis of Ureas and Carbamates from Amides by Iodosylbenzene-Induced Hofmann Rearrangement. *Eur. J. Org. Chem.* **2012** *2012*, 1994-2000. https://doi.org/10.1002/ejoc.201101784

24 - Ahmed, R.; Gupta, R.; Akhter, Z.; Kumar, M.; Singh, P. P. TCT-mediated click chemistry for the synthesis of nitrogen-containing functionalities: conversion of carboxylic acids to carbamides, carbamates, carbamothioates, amides and amines. *Org. Biomol. Chem.* **2022** *20*, 4942-4948. https://doi.org/10.1039/d2ob00324d

25 - Padiya, K. J.; Gavade, S.; Kardile, B.; Tiwari, M.; Bajare, S.; Mane, M.; Gaware, V., Harel, D.; Kurhade, S. Unprecedented “In Water” Imidazole Carbonylation: Paradigm Shift for Preparation of Urea and Carbamate. *Org. Lett.* **2012** *14*, 2814-2817. https://doi.org/10.1021/ol301009d

26 - Nagarkar, A. G.; Telvekar, V. N. L-Proline Catalyzed Synthesis of Various N-substituted Urea and Unsymmetrical N,N’ disubstituted Urea. *Lett. Org. Chem.* **2018** *12*, 926-930. https://doi.org/10.2174/1570178615666171212145348

27 - Breitler, S.; Oldenhuis, N. J.; Fors, B. P.; Buchwald, S. L. Synthesis of Unsymmetrical Diarylureas via Pd-Catalyzed C-N Cross-Coupling Reactions. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3262-3265. https://doi.org/10.1021/ol201210t

28 - Meijer, L.; Raymond, E. Roscovitine and Other Purines as Kinase Inhibitors. From Starfish Oocytes to Clinical Trials. *Acc. Chem. Res.* **2003** *36*, 417-425. https://doi.org/10.1021/ar0201198

29 - Coxon, C. R.; Anscombe, E.; Harnor, S. J.; Martin, M. P.; Carbain, B.; Golding, B. T.; Hardcastle, I. R.; Harlow, L. K.; Korolchuk, S.; Matheson, C. J.; Newell, D. R.; Noble, M. E. M.; Sivaprakasam, M.; Tudhope, S. J.; Turner, D. M.; Wang, L. Z.; Wedge, S. R.; Wong, C.; Griffin, R. J.; Endicott, J. A.; Cano, C. Cyclin-Dependent Kinase (CDK) Inhibitors: Structure−Activity Relationships and Insights into the CDK-2 Selectivity of 6-Substituted 2-Arylaminopurines. *J. Med. Chem.* **2017** *60*, 1746-1767. http://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01254

30 - Ragab, A.; Recent advances in the synthesis, reaction, and bio-evaluation potential of purines as precursor pharmacophores in chemical reactions: a review. *RSC Adv.* **2025** *15*, 3607-3645. https://doi.org/10.1039/D4RA08271K

31 - Bendich, A.; Russel, P. J.; Fox, J. J. The Synthesis and Properties of 6-Chloropurine and Purine. *J. Am. Chem. Soc.* **1954** *76*, 6073-6077. https://doi.org/10.1021/ja01652a062

32 - Zatloukal, M.; Gemrotová, M.; Doleza, K.; Havlícek, L.; Spícal, L.; Strnad, M. Novel potent inhibitors of A. thaliana cytokinin oxidase/dehydrogenase. *Bioorg. Med. Chem.* **2008** *16*, 9268 - 9275. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.09.008

33 - Wang, Y-J.; Zhou, D-G.; He, F-C.; Chen, J-X.; Chen, Y-Z.; Gan, X-H.; Hu, D-Y.; Song, B-A. Synthesis and antiviral bioactivity of novel chalcone derivatives containing purine moiety. *Chin. Chem. Lett.* **2018** *29*, 127 - 130. http://doi.org/10.1016/j.cclet.2017.07.006

34 - Qui, G.; Han, S.; Zhang, Z.; Geng, M.; Xue, F. Microwave Assisted Synthesis of 6-Substituted Aminopurine Analogs in Water. *J. Braz. Chem. Soc.* **2006** *17*, 915 - 922. https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000500015

35 - Rafehi, M.; Möller, M.; Al-Khalil, W. I.; Stefan, S. M.; Medicinal Polypharmacology in the Clinic – Translating the Polypharmacolome into Therapeutic Benefit. *Pharm. Res.* **2024** *41*, 411 - 417. https://doi.org/10.1007/s11095-024-03656-8

36 - Pinheiro, P. S. M.; Franco, L. S.; Montagnoli, T. L.; Fraga, C. A. M. Molecular hybridization: a powerful tool for multitarget drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov*. **2024**, *19*, 451 - 470. https://doi.org/10.1080/17460441.2024.2322990

37 - Hu, Q.; Xu, K.; Ran, Q.; Zhang, W.; Gan, C.; Fang, Q.; Hui, A. Hybrid molecules with dual inhibition of acetylcholinesterase and tau hyperphosphorylation: design, inhibitory activity evaluation, apoptosis assessment, and mechanistic exploration. *Chem. Biol. Interact.* **2026** *423*, 111848. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111848

38 - Salma, U.; Ahmad, S.; Alam, Z.; Khan, S. A. A review: Synthetic approaches and biological applications of triazole derivatives. *J. Mol. Struc.* **2024** *1301*, 137240. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137240

39 - Pineda-Casteñeda, H. M.; Rivera-Monroy, Z. J.; Maldonado, M. Copper(I)-Catalyzed Alkyne–Azide Cycloaddition (CuAAC) “Click” Reaction: A Powerful Tool for Functionalizing Polyhydroxylated Platforms. *ACS Omega* **2023** *8*, 3650 - 3666. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06269

40 - Olomola, T. O.; Klein, R.; Lobb, K. A.; Sayed, Y.; Kaye, P. T. Towards the synthesis of coumarin derivatives as potential dual-action HIV-1 protease and reverse transcriptase inhibitors. *Tetrahedron Lett.* **2010** *51*, 6325 - 6328. http://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.09.121

41 - Machado, T. R.; Faro, L. V.; Mello, A. L. N.; Silva, D. O.; Abrahim-Vieira, B. A.; Rodrigues, C. R.; Silva, R. H. S.; Junior, C. S. V.; Sola-Penna, M.; Boechat, F. C. S.; Souza, M. C.; Zancan, P.; Souza, M. C. B. V.; Souza, A. M. T. 4-oxoquinoline-3-carboxamide acyclonucleoside phosphonates hybrids: Human MCF-7 breast cancer cell death induction by oxidative stress-promoting and *in silico* ADMET studies. *J. Mol. Struc.* **2023** *1276*, 134542. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134542

42 - Buchaillot, F. P. Síntese de híbridos contendo os núcleos adenina e 1,3-difenilureia visando a inibição de proteínas quinases associadas à proliferação de células tumorais. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2023**. https://lume.ufrgs.br/handle/10183/265898

43 - Li, X-y.; Zhang, T-j.; Kamara, M. O.; Lu, G-q.; Xu, H-l.; Wang, D-p.; Meng, F-h. Discovery of N-phenyl-(2,4-dihydroxypyrimidine-5-sulfonamido) phenylurea-based thymidylate synthase (TS) inhibitor as a novel multi-effects antitumor drugs with minimal toxicity. *Cell Death Dis.* **2019** *10*, 532. https://doi.org/10.1038/s41419-019-1773-0

44 - Perveen, S.; Mustafa, S.; Qamar, K.; Dar, A.; Khan, K. M.; Choudhary, M. I.; Khan, A.; Voelter, W. Antiproliferative effects of novel urea derivatives against human prostate and lung cancer cells; and their inhibition of β-glucuronidase activity. *Med. Chem. Res.* **2013** *23*, 1099 – 1113. https://doi.org/10.1007/s00044-013-0702-5

45 - Tiwari, L.; Kumar, V.; Kumar, B.; Mahajan, D. Practically simple, catalyst free and scalable synthesis of *N*-substituted ureas in water. *RSC Adv.* **2028** *8*, 21585 - 21595. https://doi.org/10.1039/c8ra03761b

46 - Ahsan, M.J.; Gautam, K.; Ali, A.; Ali, A.; Altamimi, A.S.A.; Salahuddin; Alossaimi, M.A.; Lakshmi, S.V.V.N.S.M.; Ahsan, M.F. Synthesis, Anticancer Activity, and In Silico Studies of 5-(3-Bromophenyl)-*N*-aryl-4*H*-1,2,4-triazol-3-amine Analogs. *Molecules* **2023**, *28*, 6936. https://doi.org/10.3390/molecules28196936

47 - Lee, S.H.; Lee, W.; Bae, J.-S.; Ma, E. Synthesis and *in Vitro* and *in Vivo* Anticoagulant and Antiplatelet Activities of Amidino- and Non-Amidinobenzamides. *Molecules* **2016**, *21*, 676. https://doi.org/10.3390/molecules21050676

48 – Zhang, L.; Qu, Z.; Wu, J.; Yao, S.; Zhang, Q.; Zhang, T.; Mo, L.; Yao, q.; Xu, Y.; Chen, R. SARs of a novel series of s-triazine compounds targeting vimentin to induce methuotic phenotype. *Eur. J. Org. Chem.* **2021** *214*, 113188. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113188

49 - Ward, D. N.; Wade, J.; Wallborg, E. F.; Osdene, T. S. The Synthesis of N-(6-purinyl)amino Acids. Amino Acids with a Single Reactive Amino Group. *J. Org. Chem.* **1961** *26*, 5000 - 5005. https://doi.org/10.1021/jo01070a054

50 - Sečkářová, P.; Marek, R.; Maliňáková, K.; Kolehmainen, E.; Hocková, D.; Hocek, M.; Sklenář, V. Direct determination of tautomerism in purina derivatives by low-temperature NMR spectroscopy. *Tetrahedron Lett.* **2004** *45*, 6259 - 6263. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.06.088

51 - Ghosh, A. K.; Shahabi, D. Synthesis of amide derivatives for electron deficient amines and functionalized carboxylic acids using EDC and DMAP and a catalytic amount of HOBt as the coupling reagents. *Tetrahedron Lett.* **2021** *63*, 152719. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152719

52 - Cherkasov, V.M.; Tret'yakova, G.S.; Kapran, N.A.; . Synthesis of esters of n-6-purinylamino acids. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1967** *3*, 119–121 (1967). https://doi.org/10.1007/BF00944288

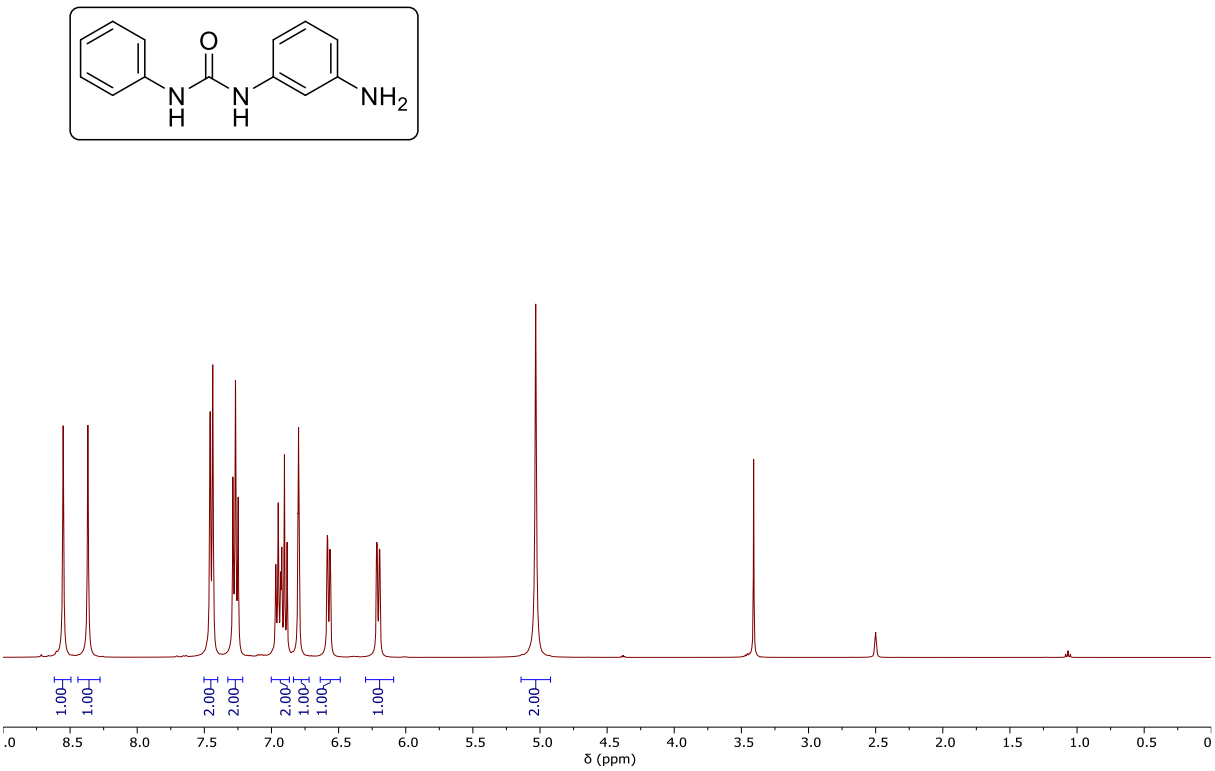
53 - Peñas-Sanjuán, A.; Chica-Armenteros, J. J.; Cruz-Sánchez, R.; Gargía-Gallarín, C.; Melguizo, M. Sequential Nitrile Amidination-Reduction as a Straightforward Procedure to Selective Linear Polyamine Preparation. *J. Org. Chem.* **2023** *88*, 17274 - 17283. https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02128

54 - Tararov, V. I.; Tijsma, A.; Kolyachkina, S. V.; Oslovsky, V. E.; Neyts, J.; Drenichev, M. S.; Leyssen, P.; Mikhailov, S. N. Chemical modification of the plant isoprenoid cytokinin N6-isopentenyladenosine yields a selective inhibitor of human enterovirus 71 replication. *Eur. J. Org. Chem.* **2015** *90*, 406-413. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.048

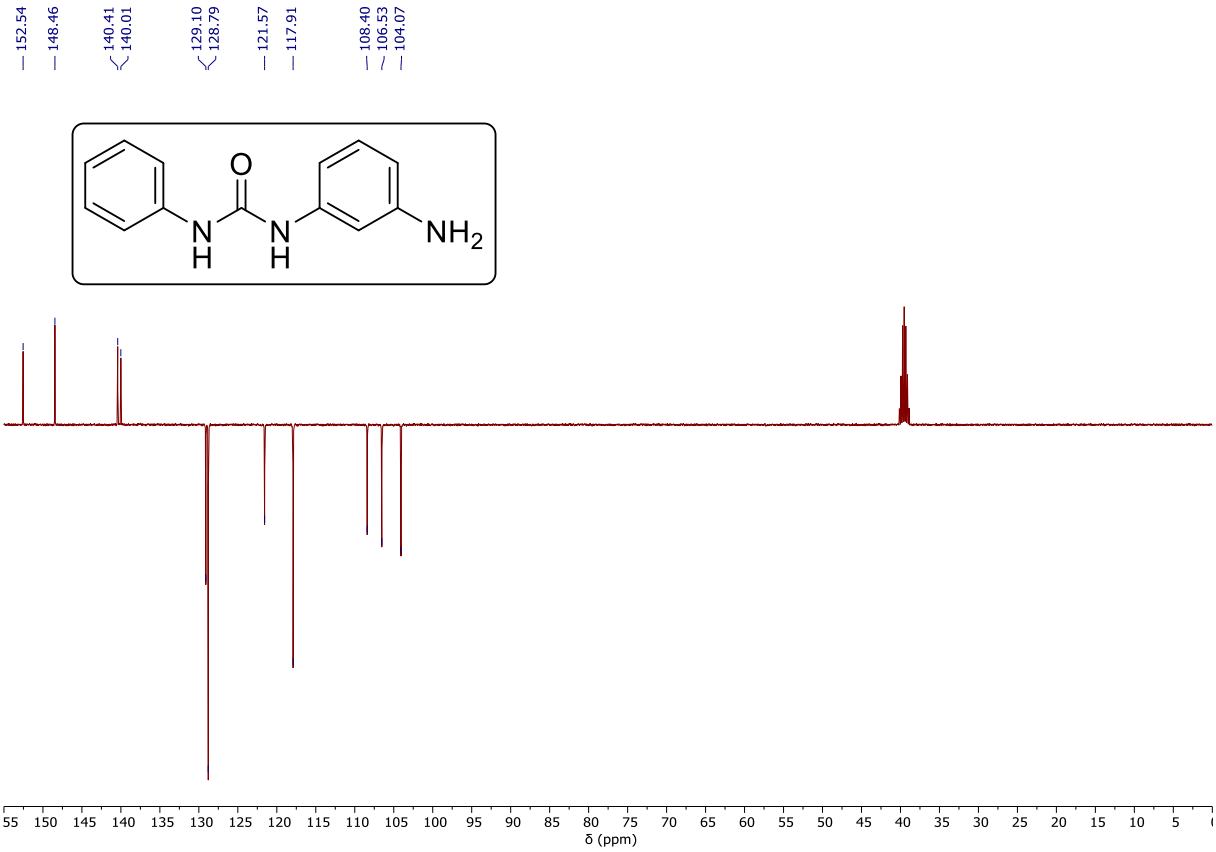
55 – International Organization for Standardization. *Biological Evaluation of Medical Devices—Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity*, ISO 10993-5:2009; ISO: Geneva, Suiça, **2009**. https://doi.org/10.2345/9781570203558.ch1

56 - Maurmann, N.; Machado, G. M.; Kasper, R. H.; Coute, M.; Paz, L.; Oliveira, L.; Bastidos, J. G.; Bottezini, P. A.; Notargiacomo, L. M.; Ferreira, C. A.; Pighinelli, L.; Bavaresco, C. S.; Pranke, P.; Brew, M. Development of New Chitosan-Based Complex with Bioactive Molecules for Regenerative Medicine. *Future Pharmacol.* **2024** *4*, 873 - 891. https://doi.org/10.3390/futurepharmacol4040046

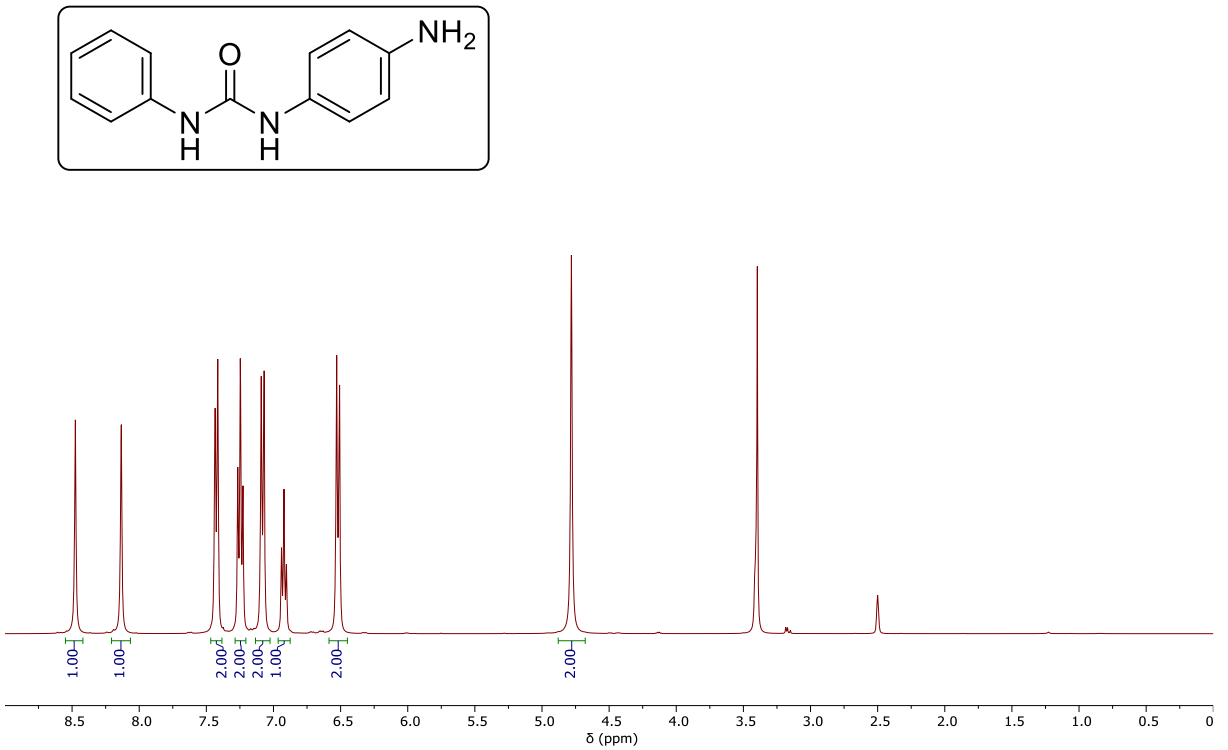
Apêndice



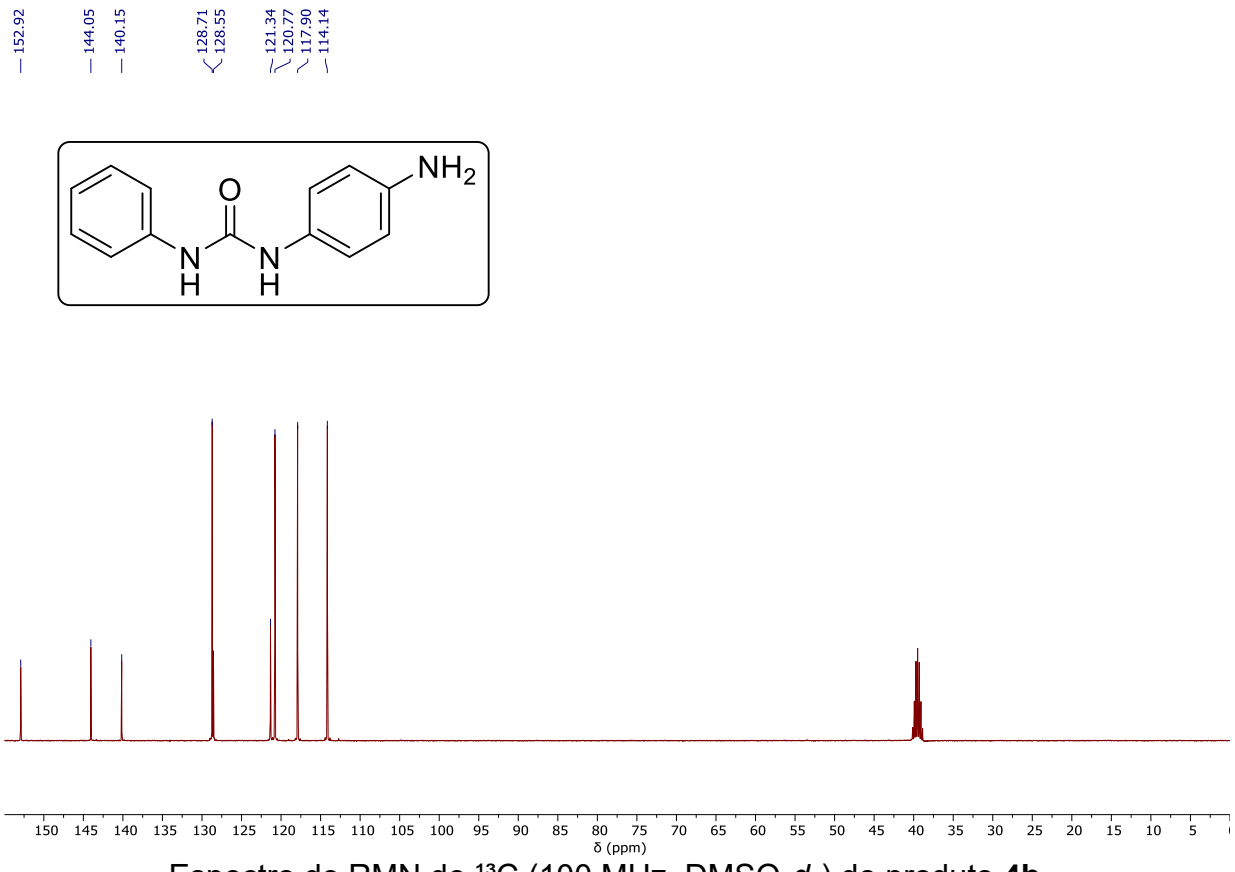
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **4a**.



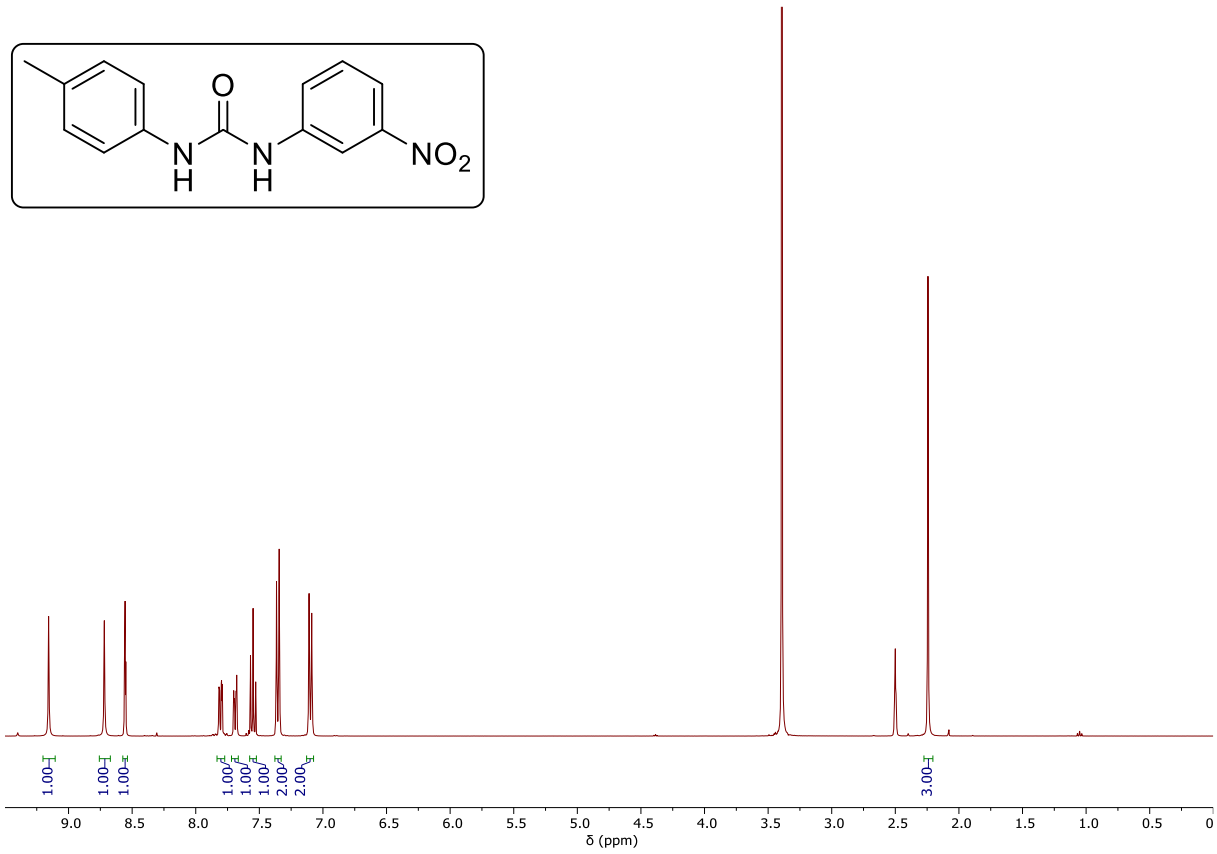
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **4a**.



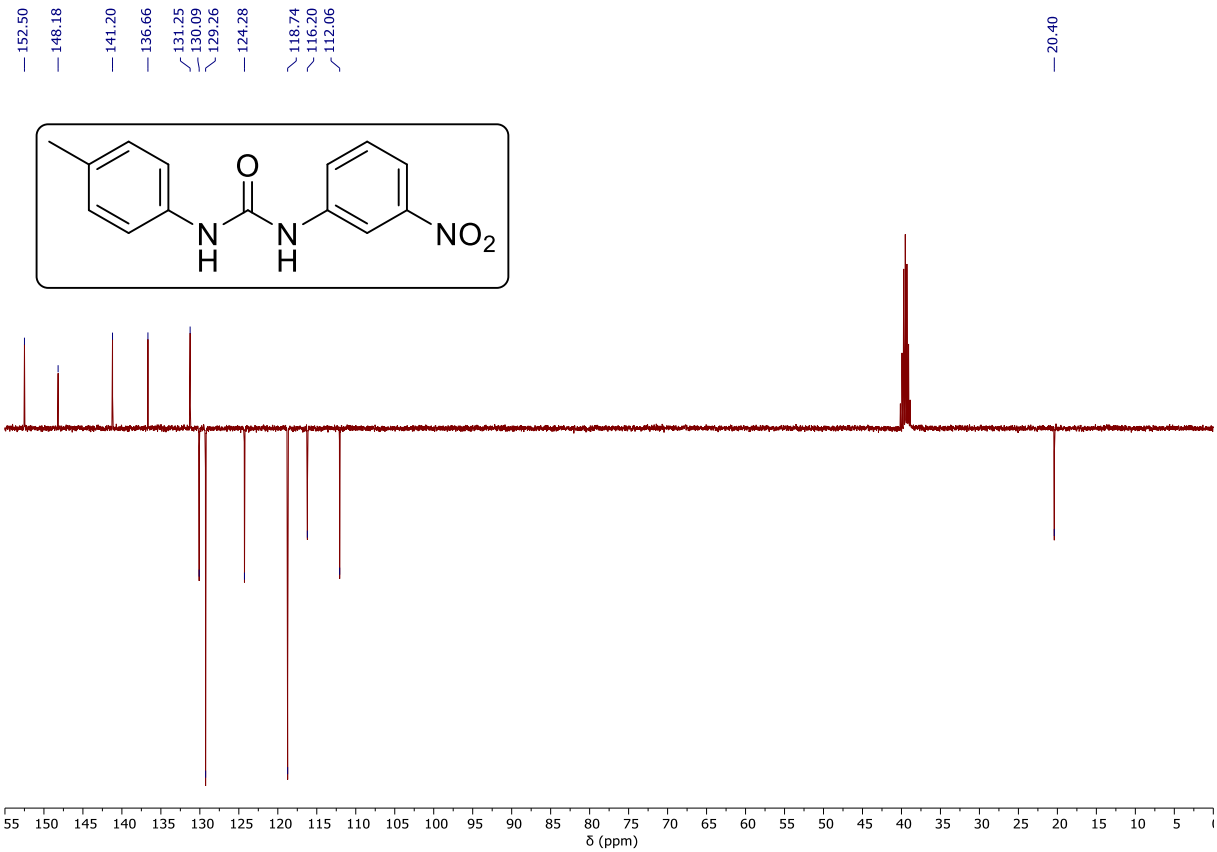
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **4b**.



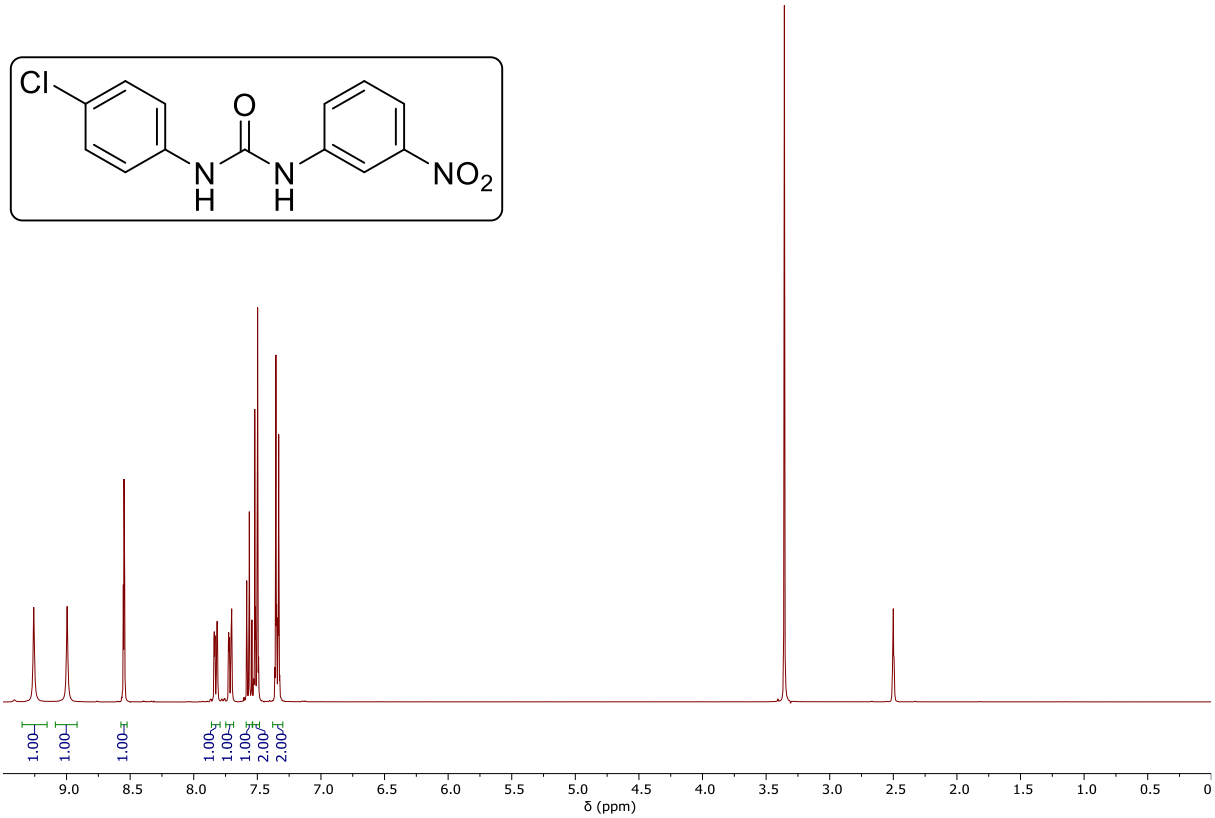
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **4b**.



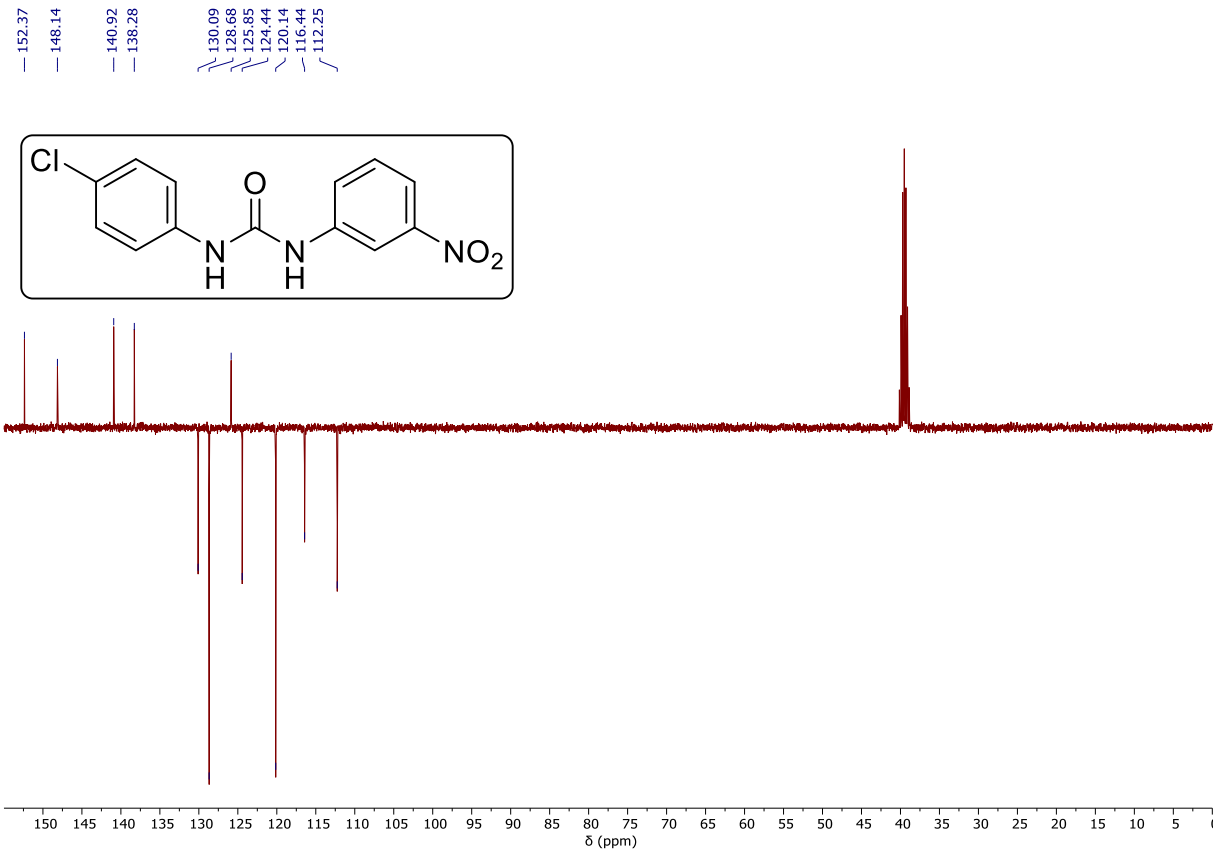
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7a**.



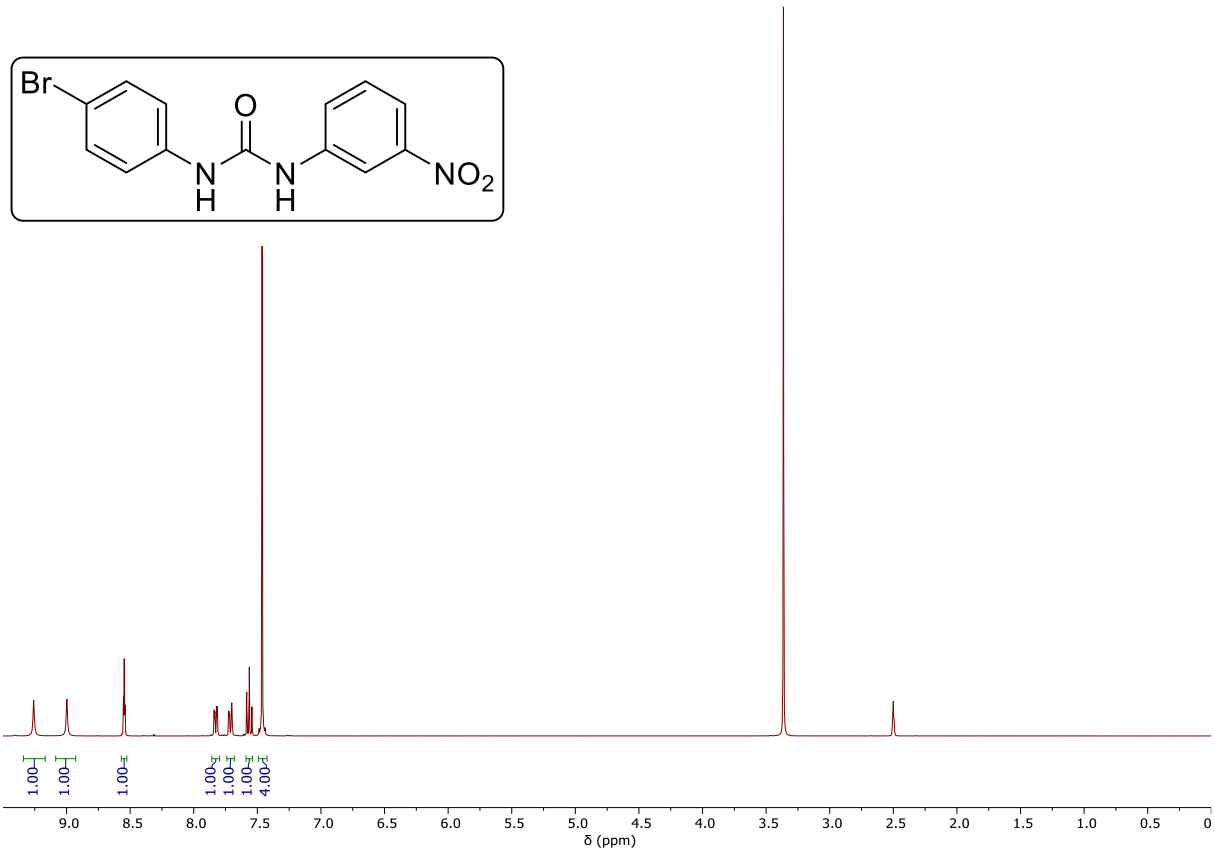
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7a**.



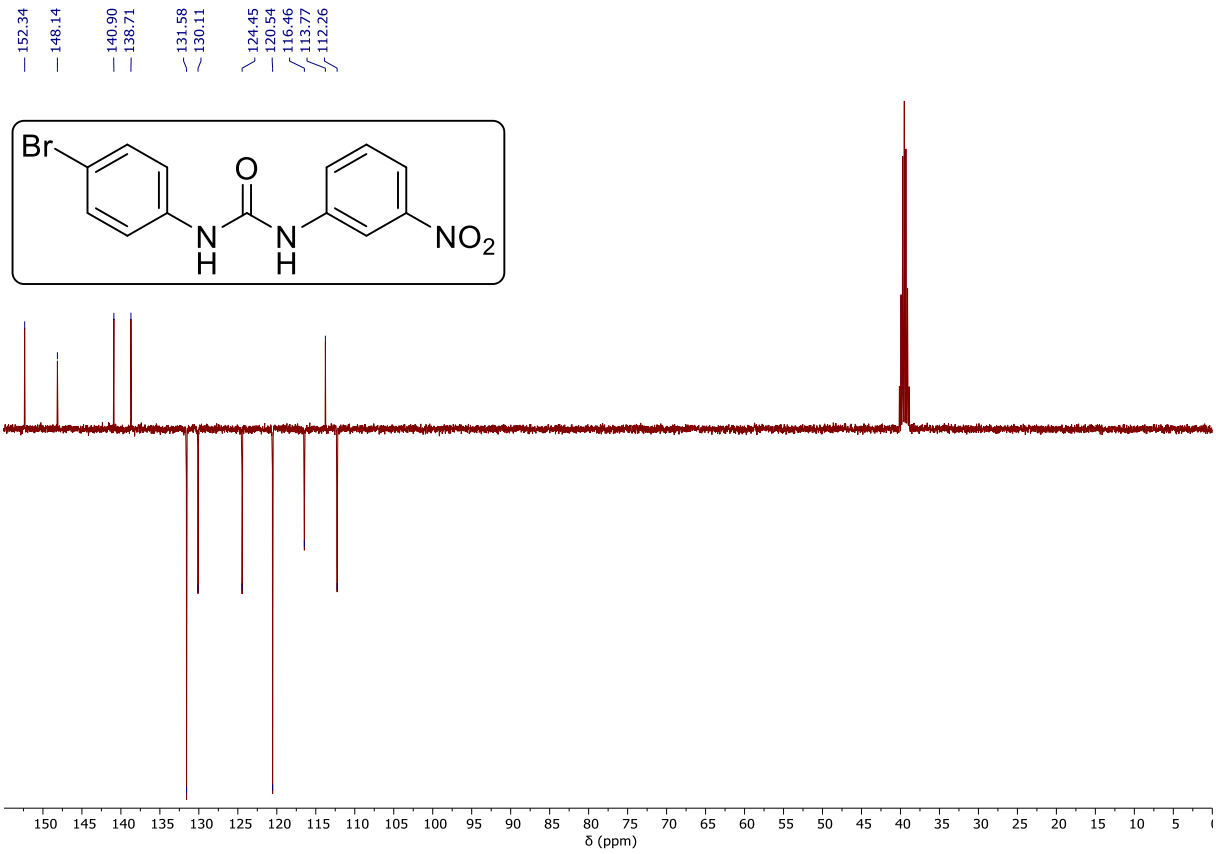
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7b**.



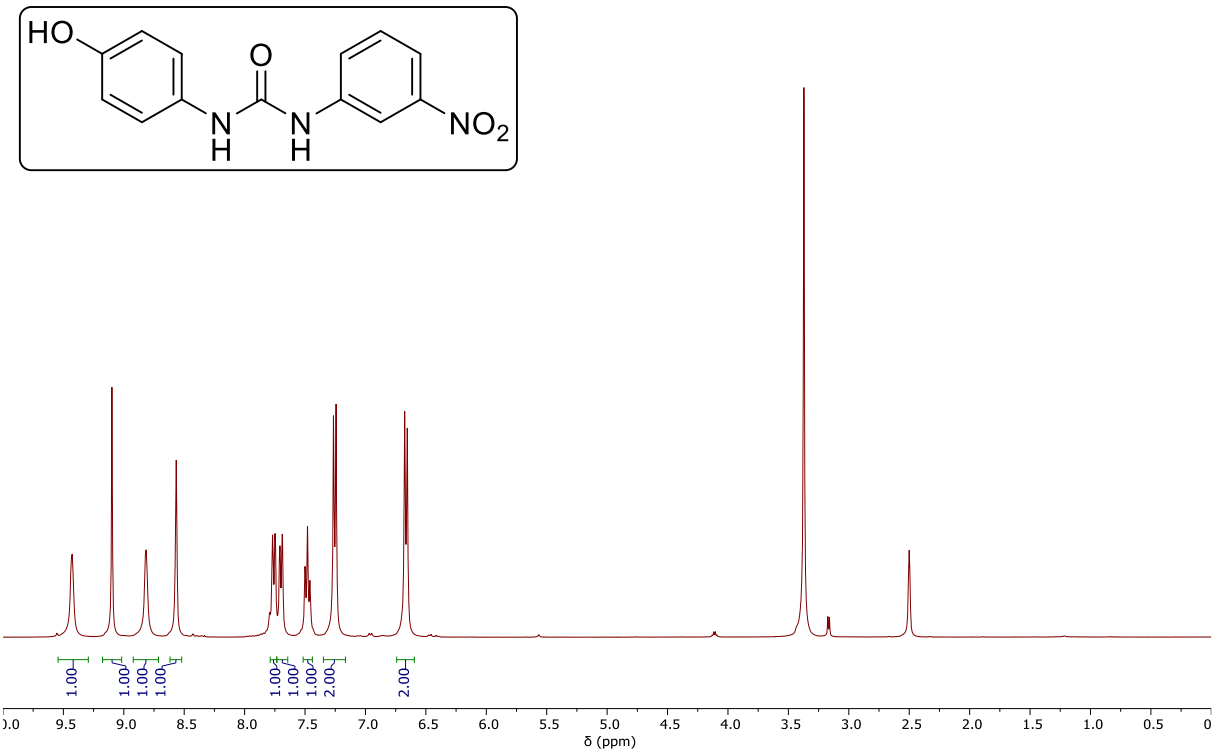
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7b**.



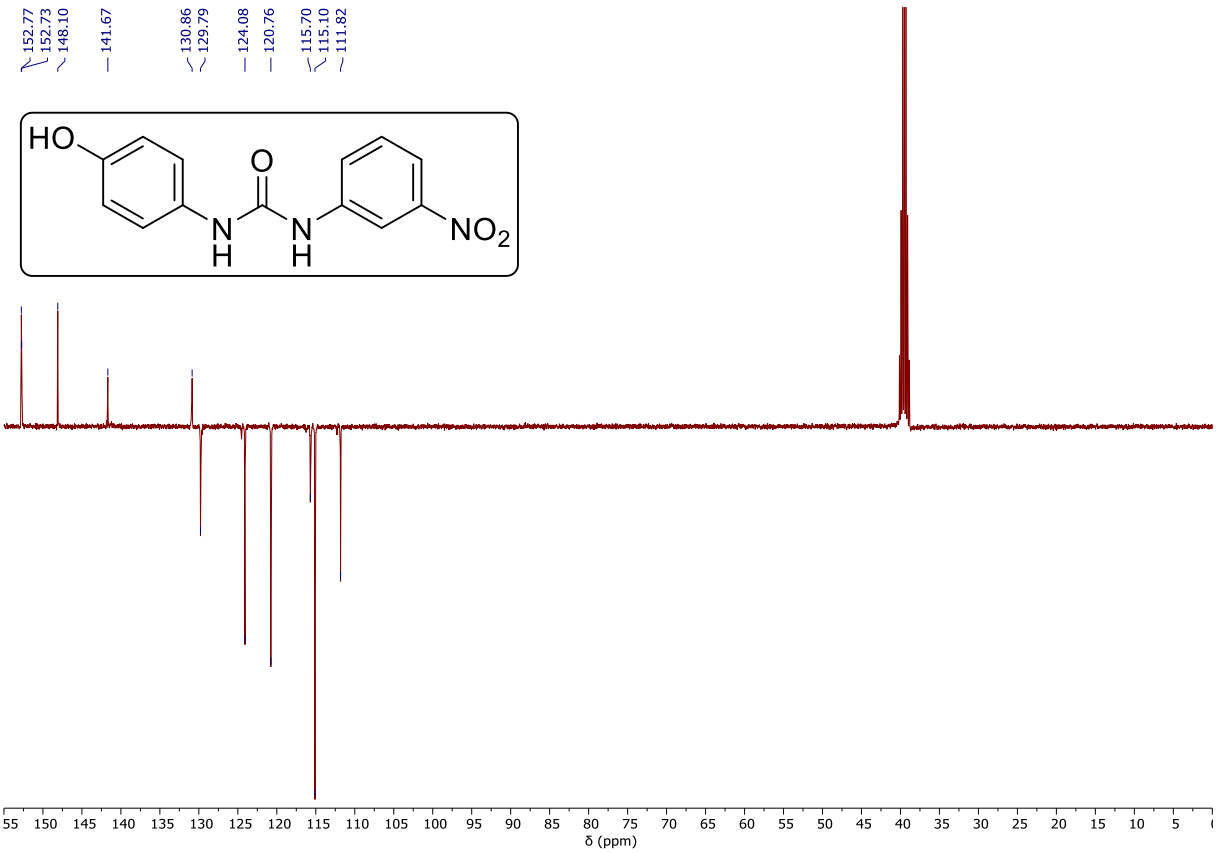
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7c**.



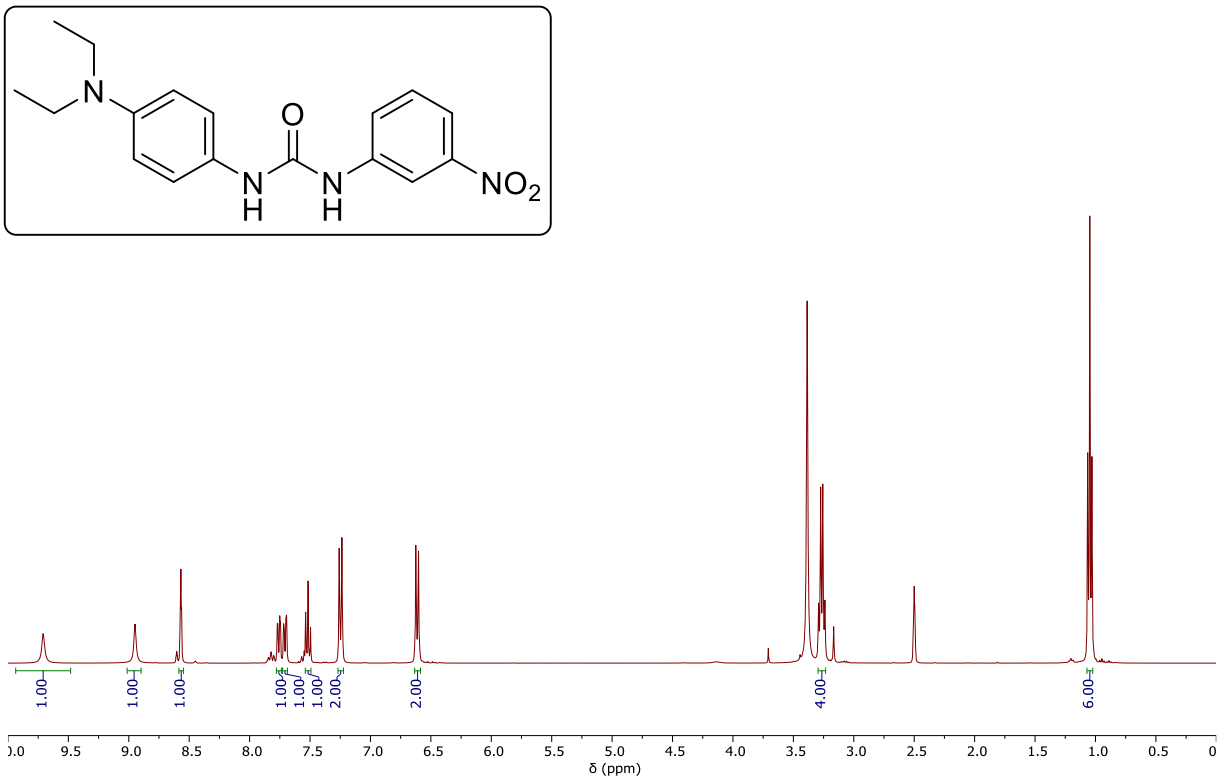
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7c**.



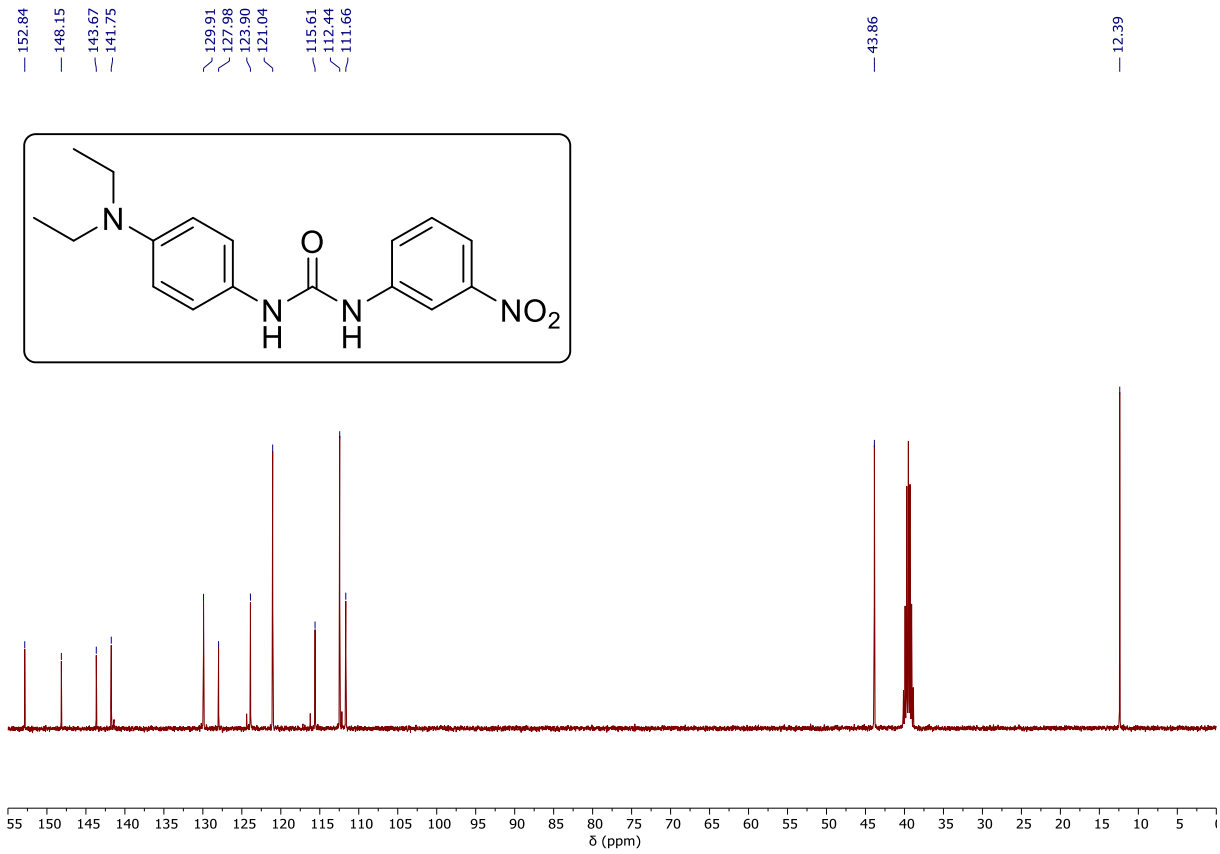
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7d**.



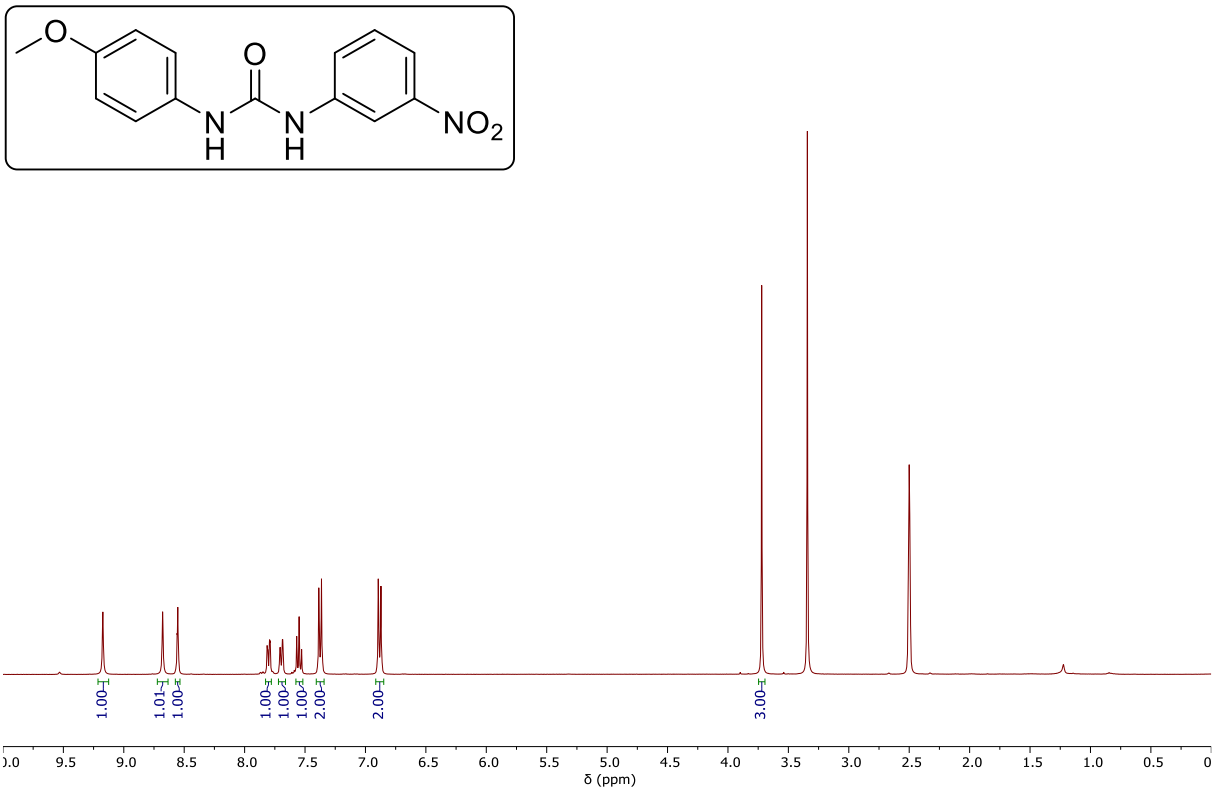
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7d**.



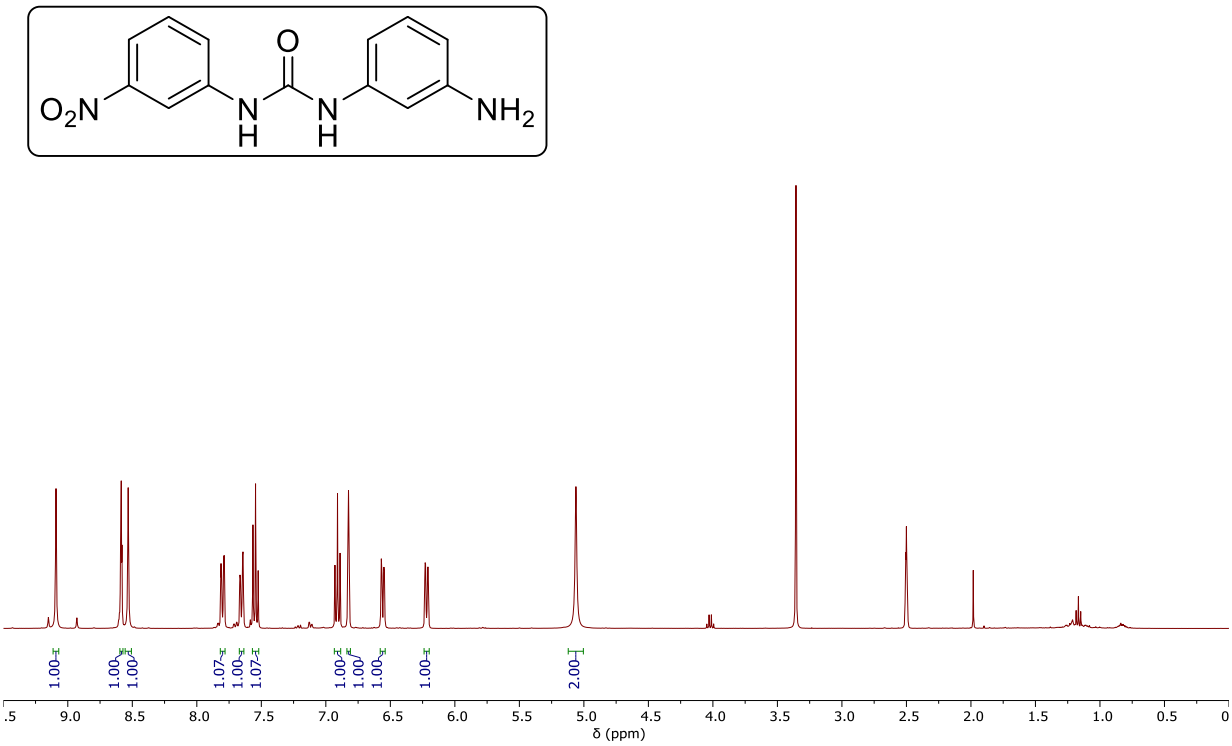
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7e**.



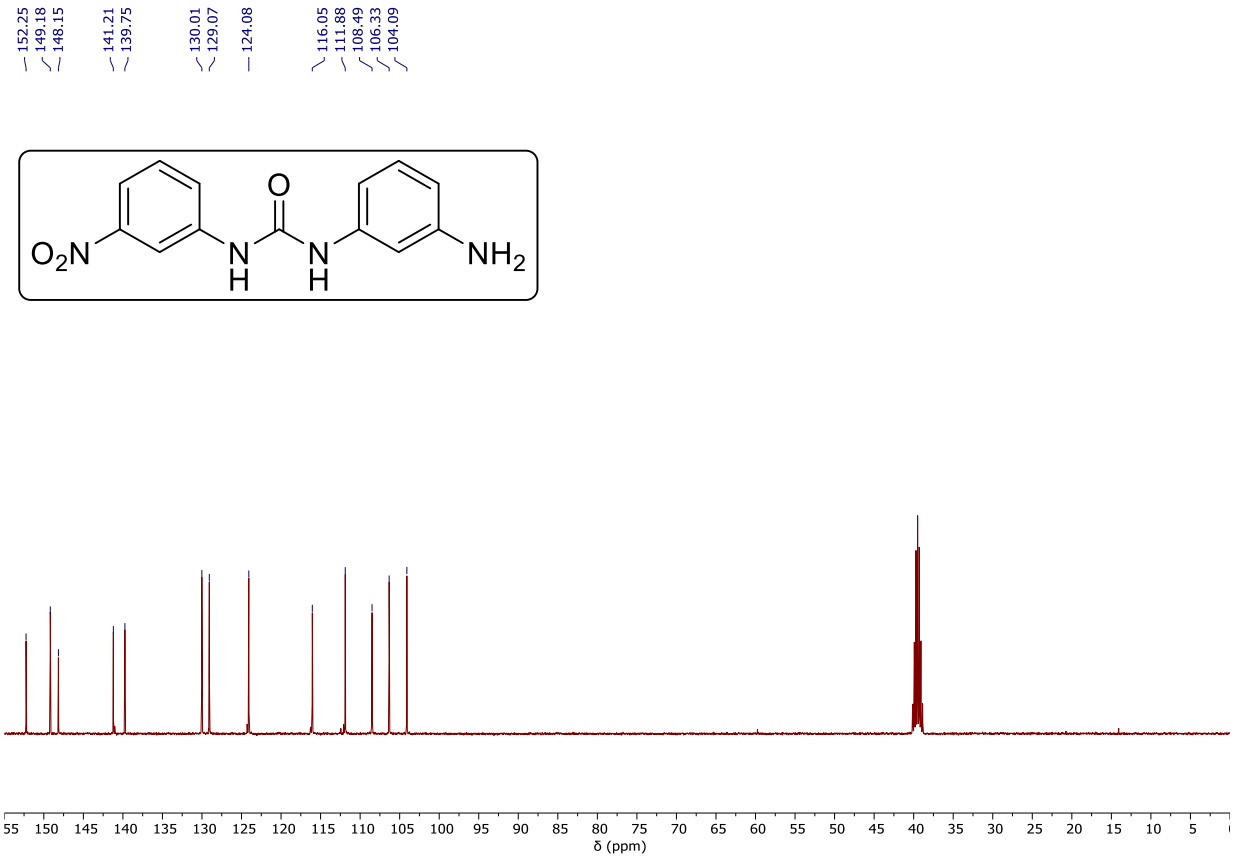
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7e**.



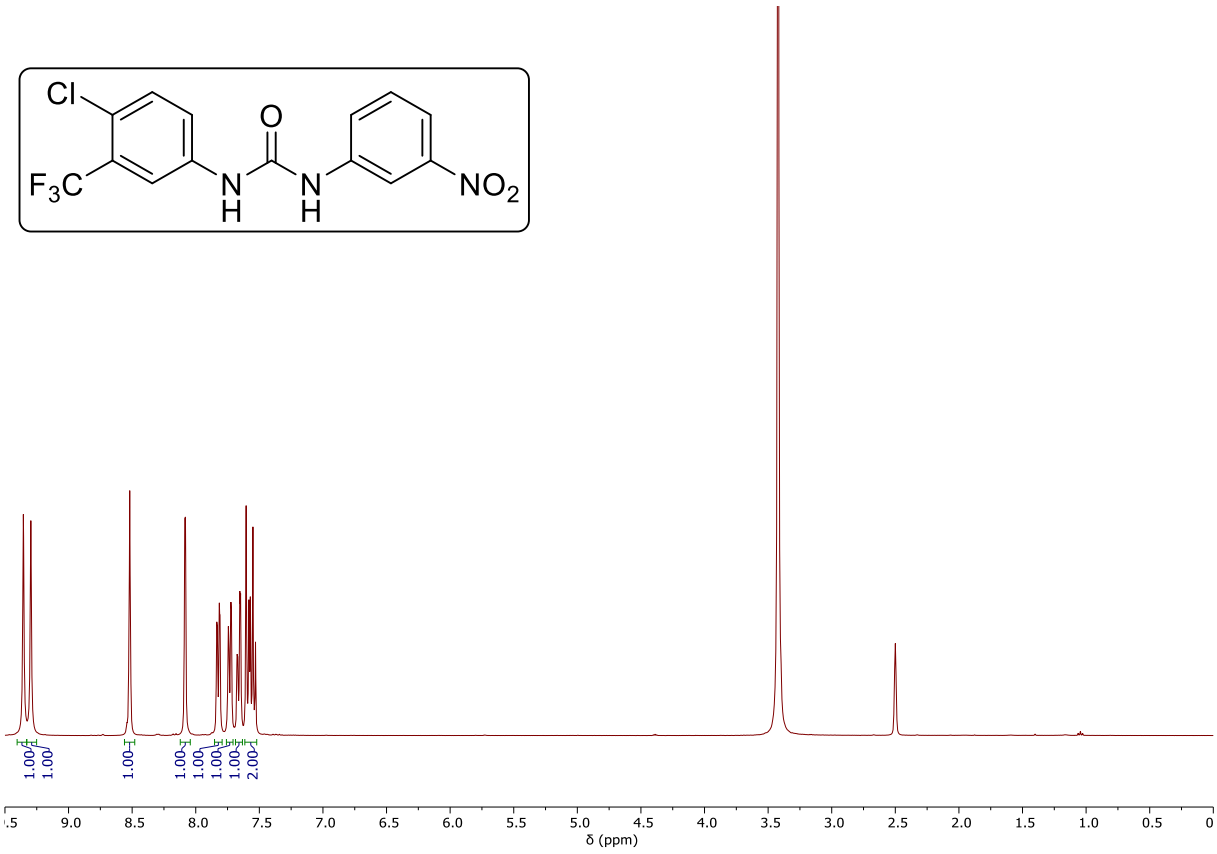
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7f**.



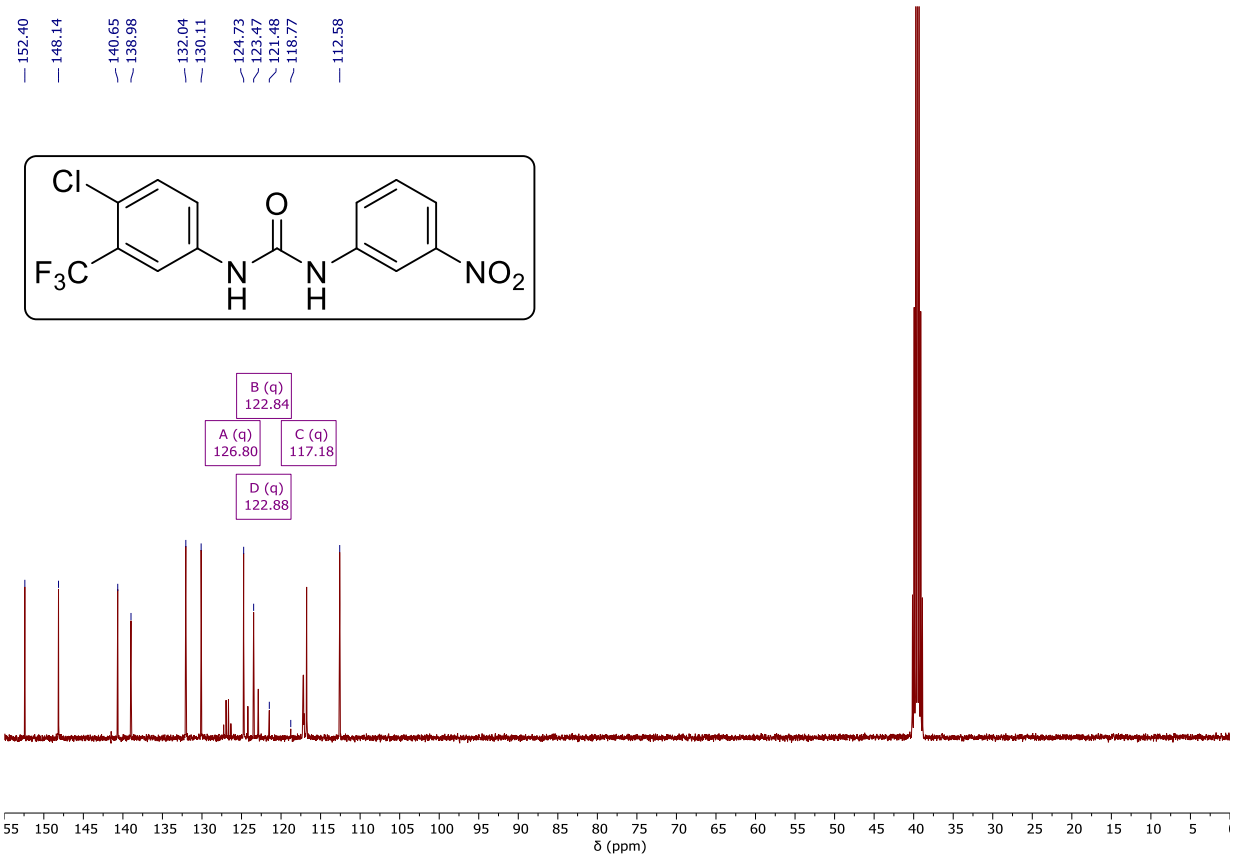
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7g**.



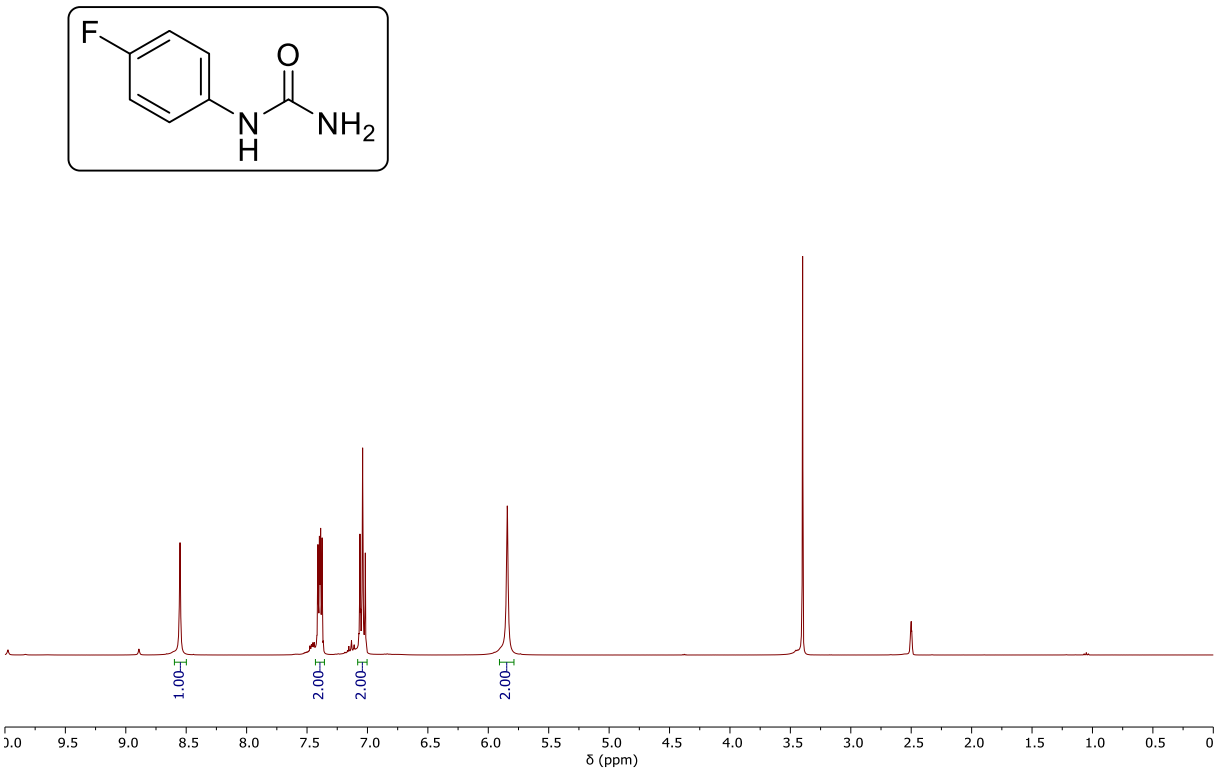
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7g**.



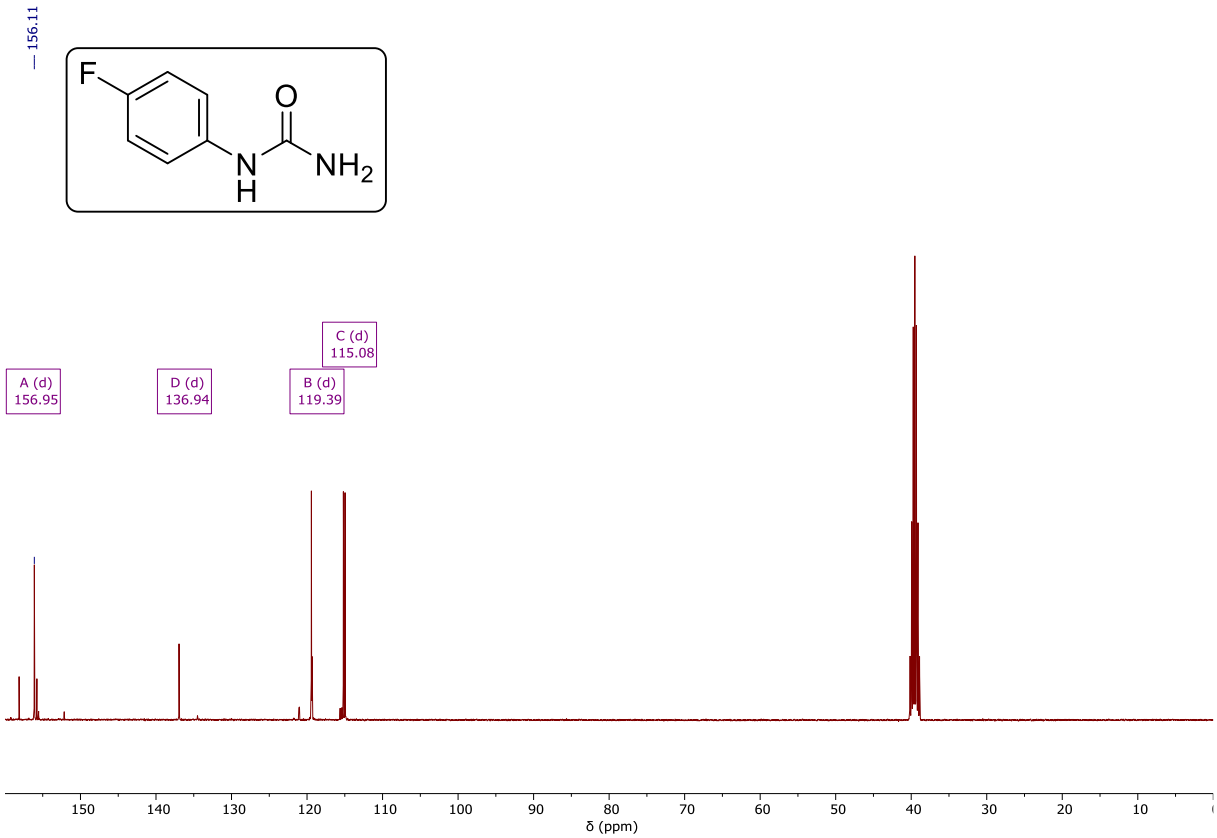
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **7h**.



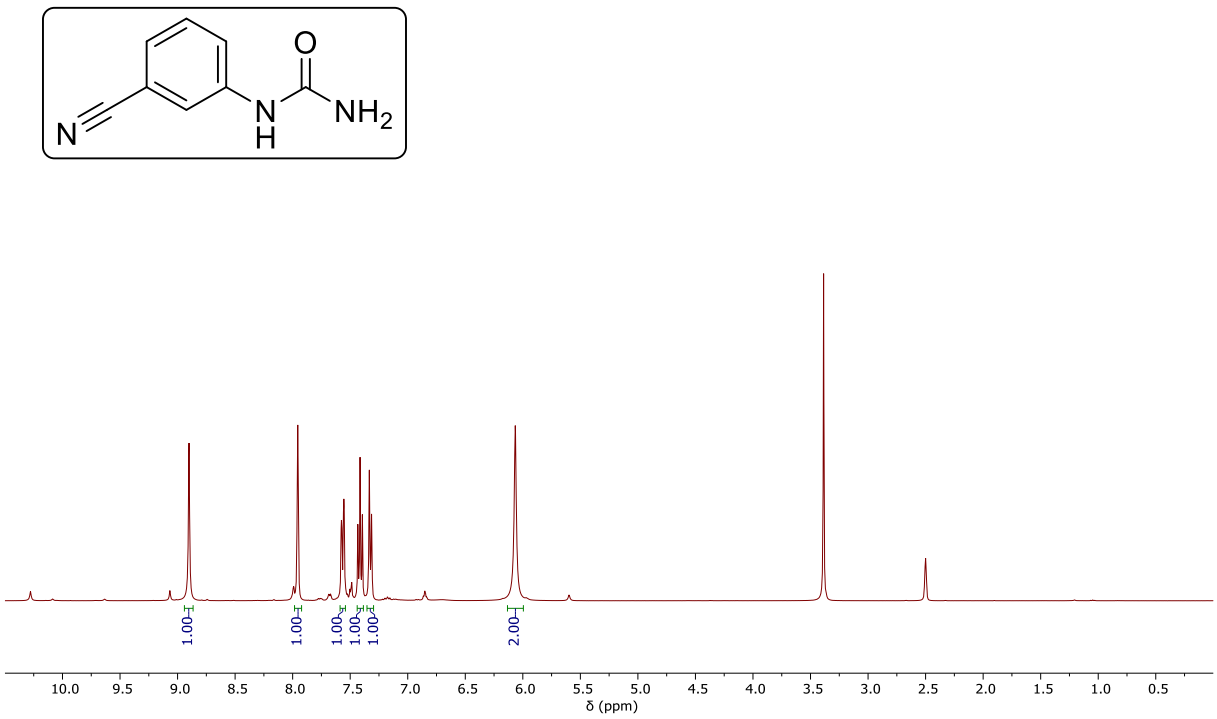
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **7h**.



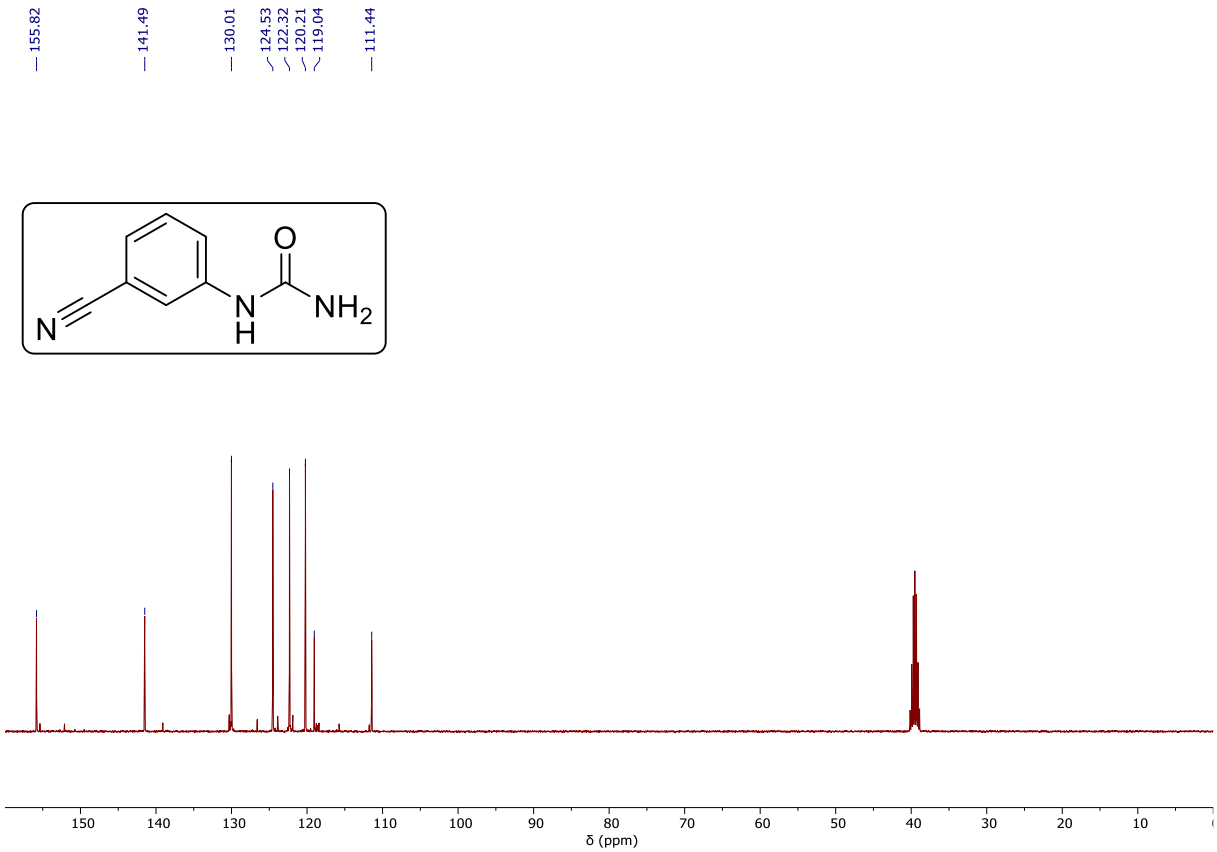
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **9a**.



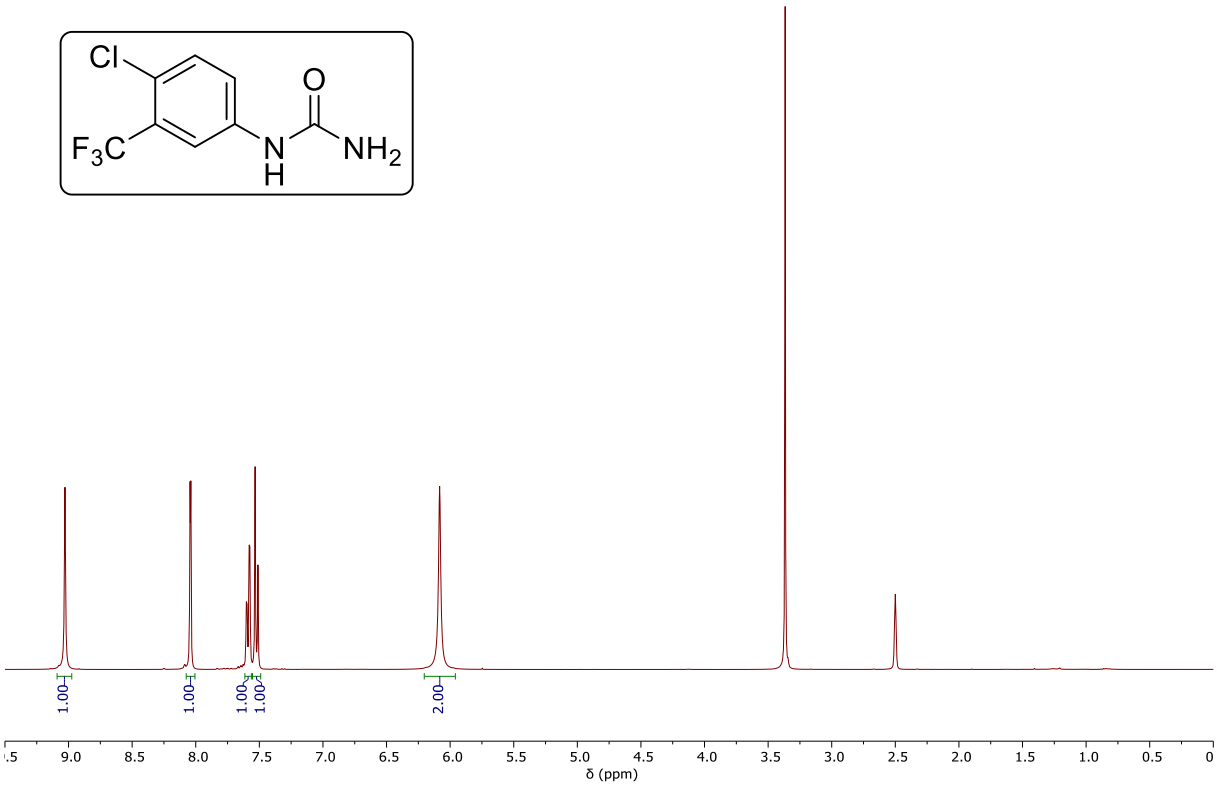
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **9a**.



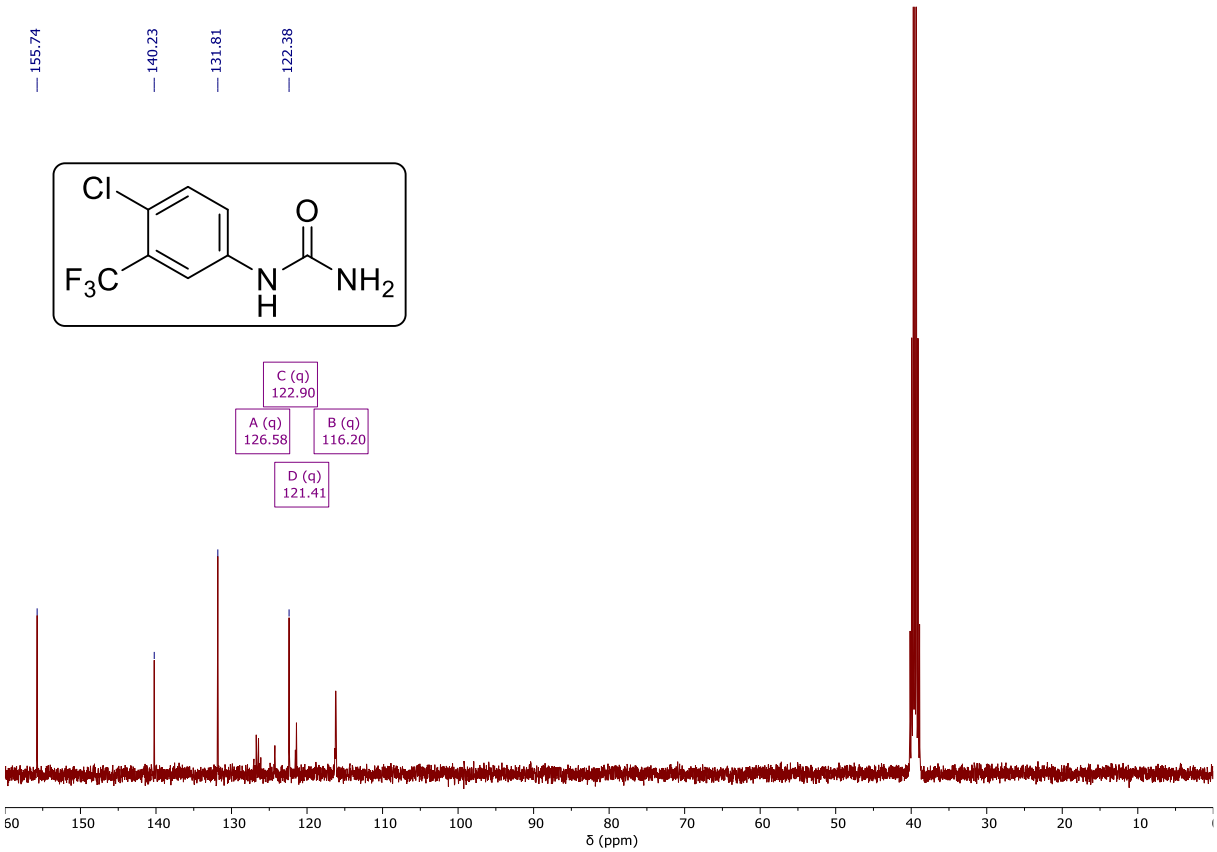
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **9b**.



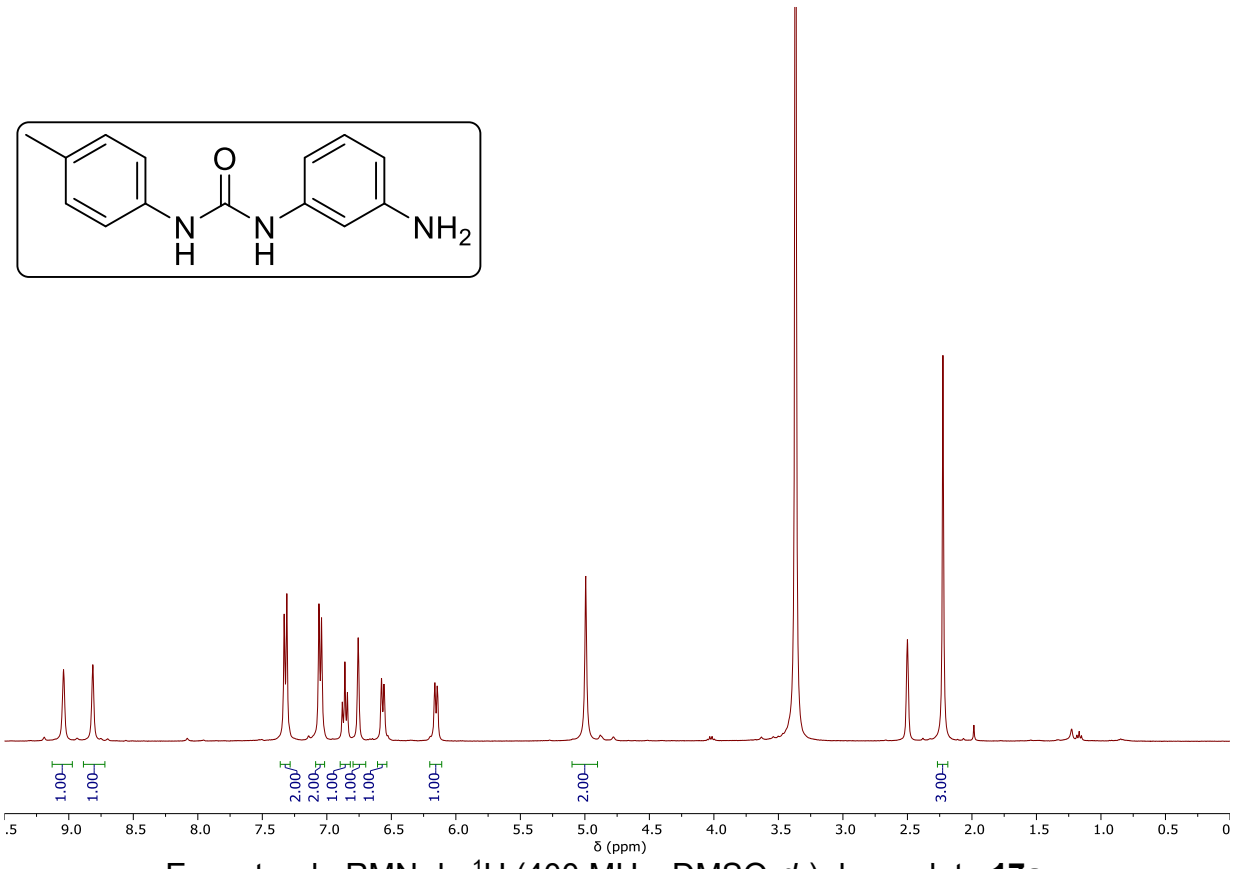
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **9b**.



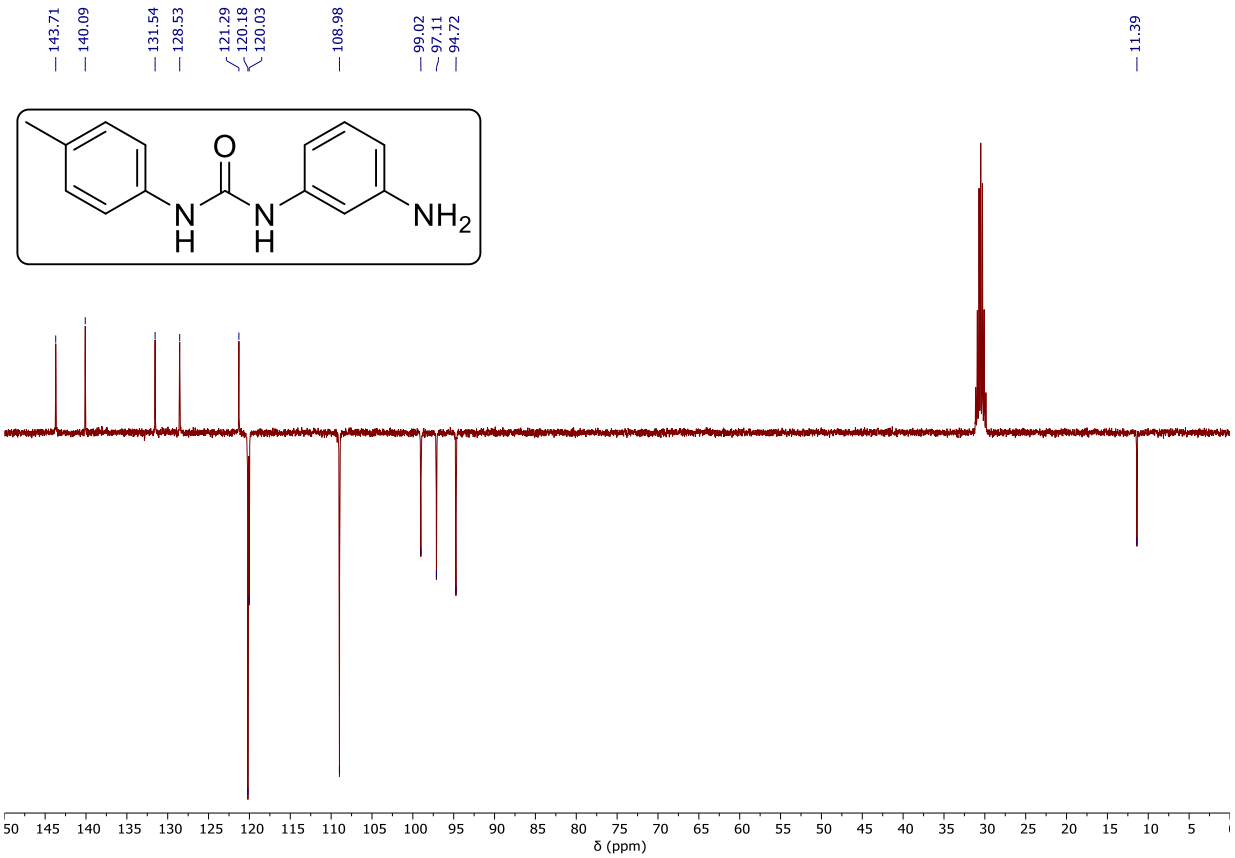
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **9c**.



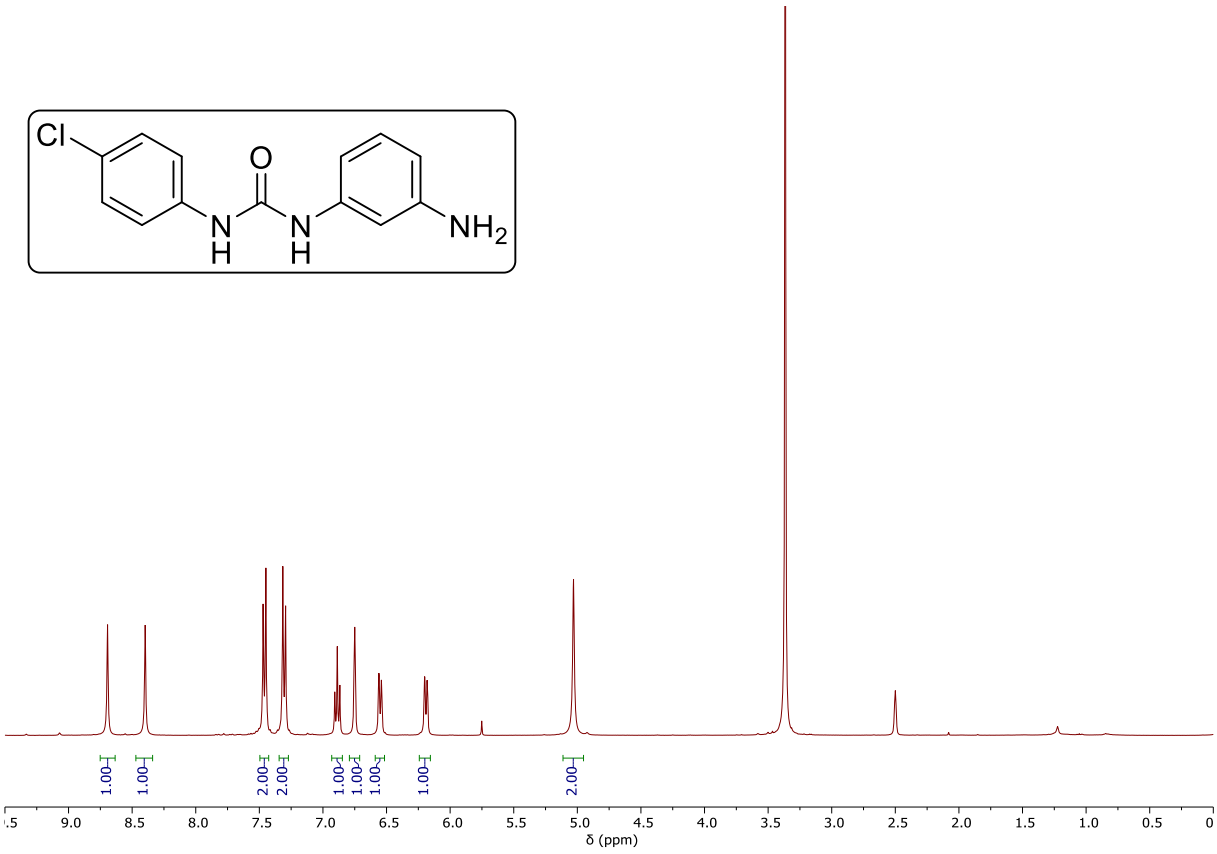
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **9c**.



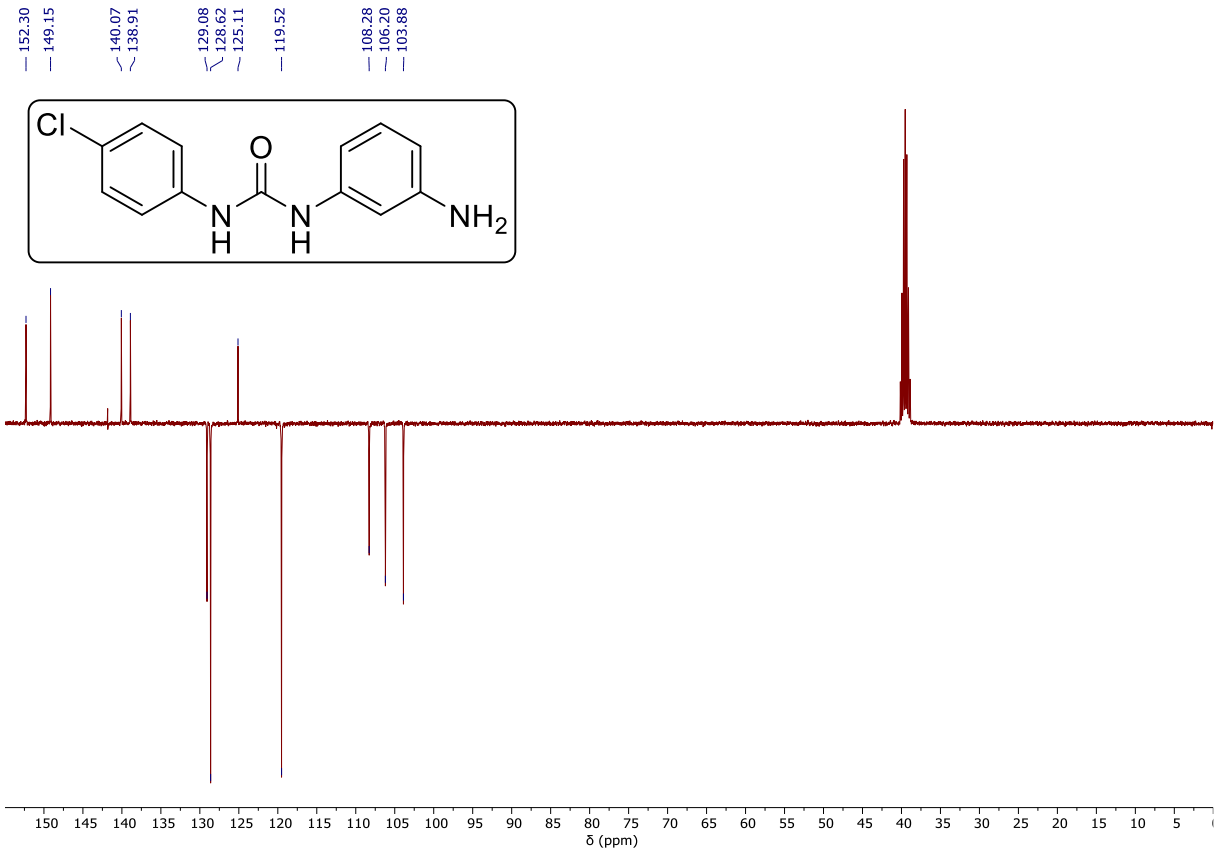
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17a**.



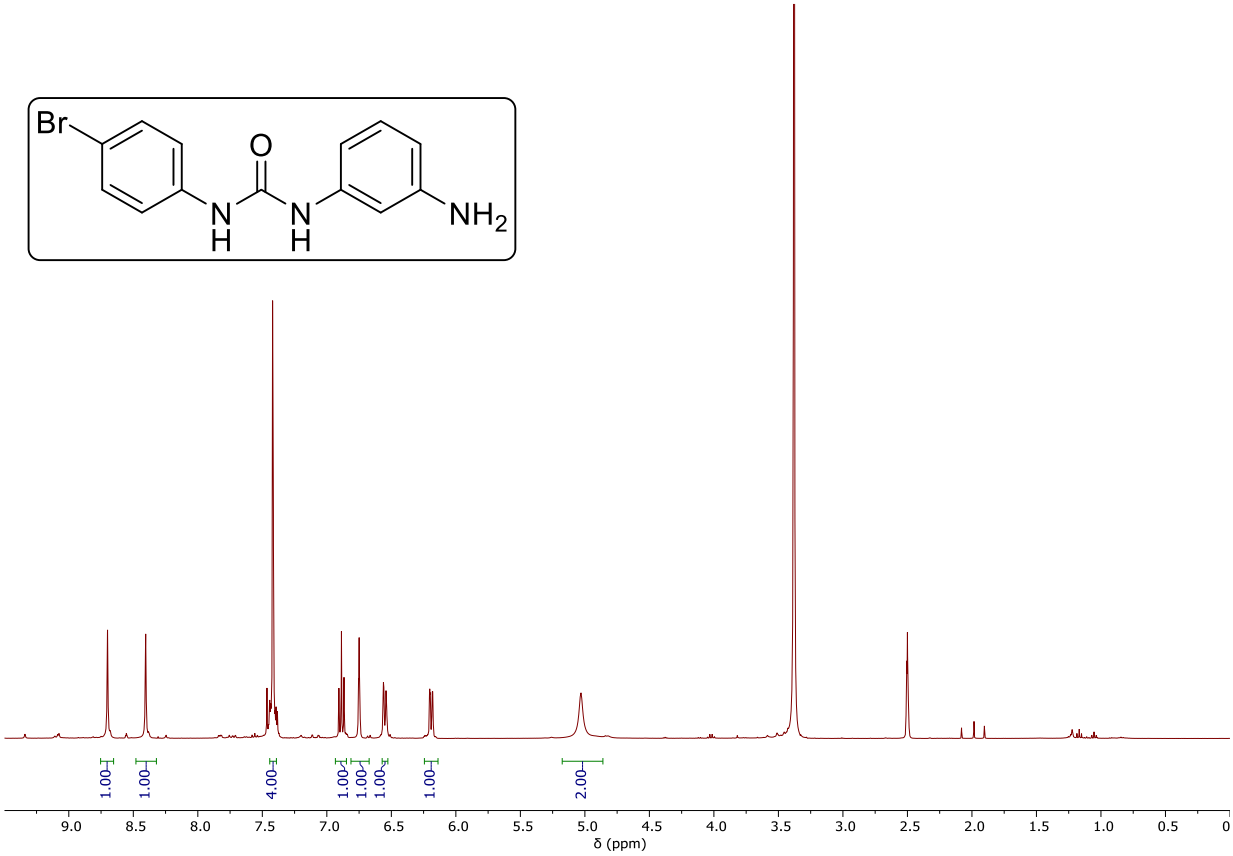
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17a**.



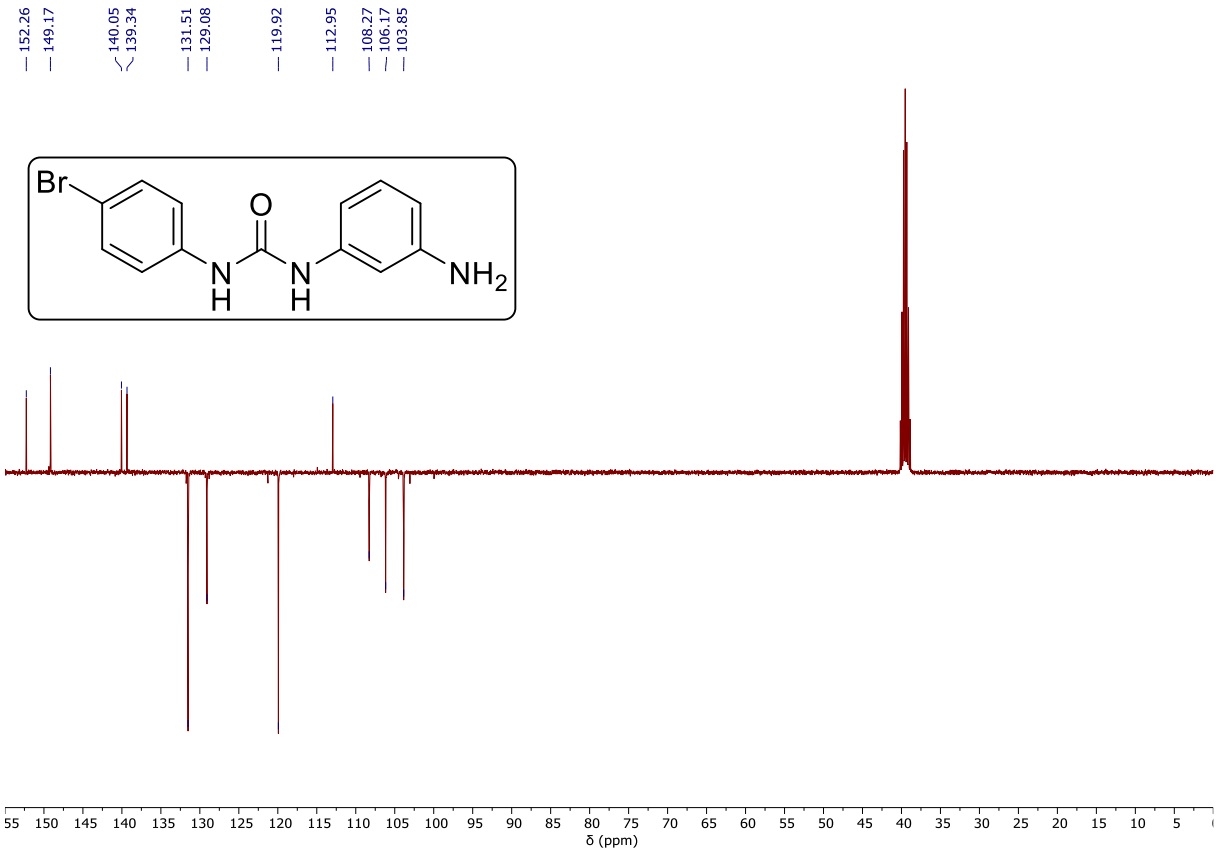
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17b**.



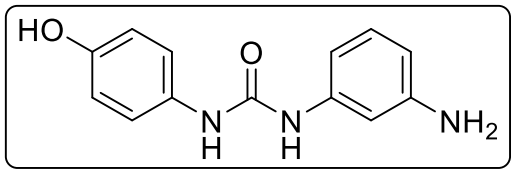
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17b**.

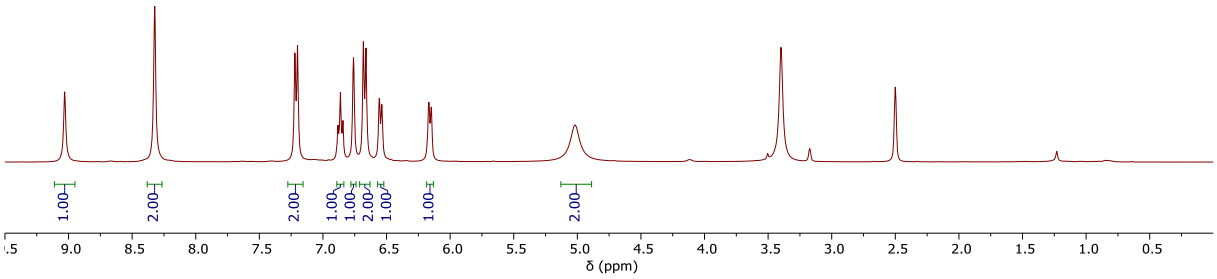


Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17c**.

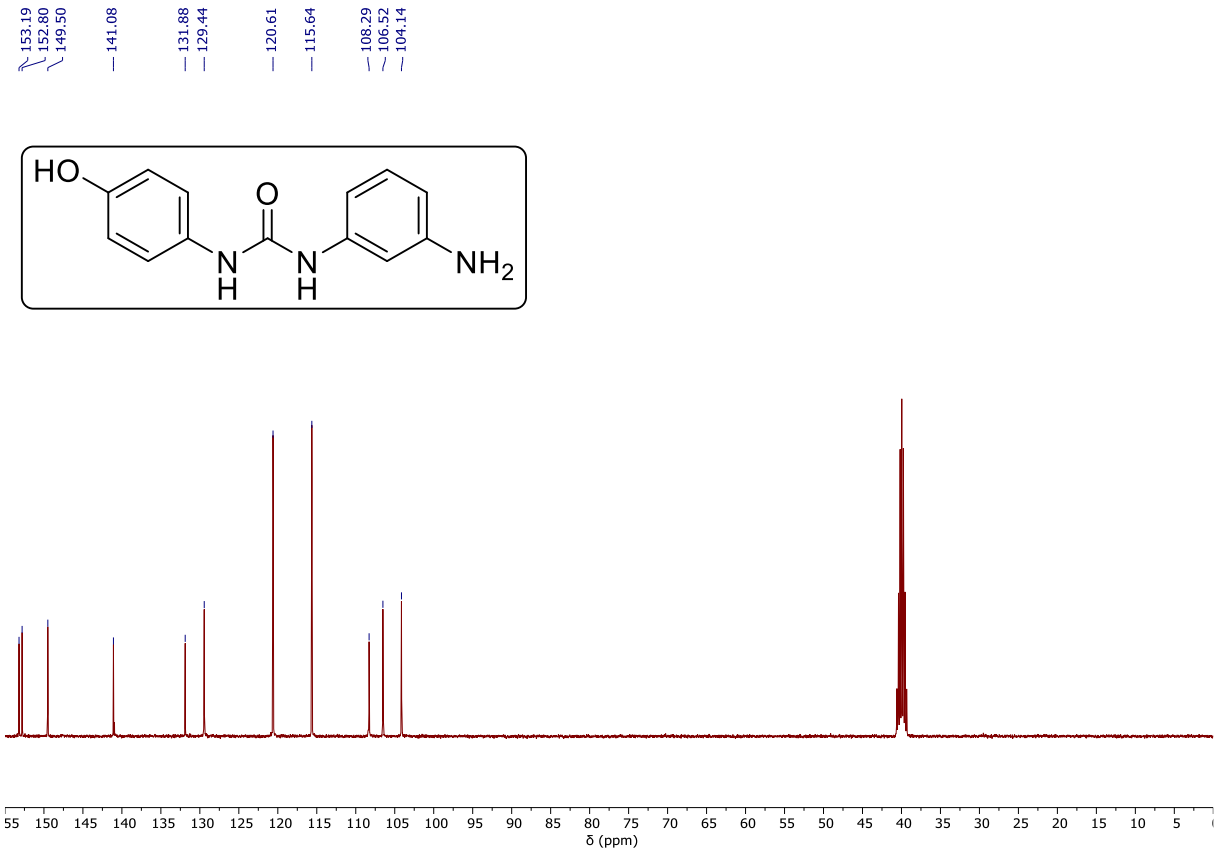


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17c**.

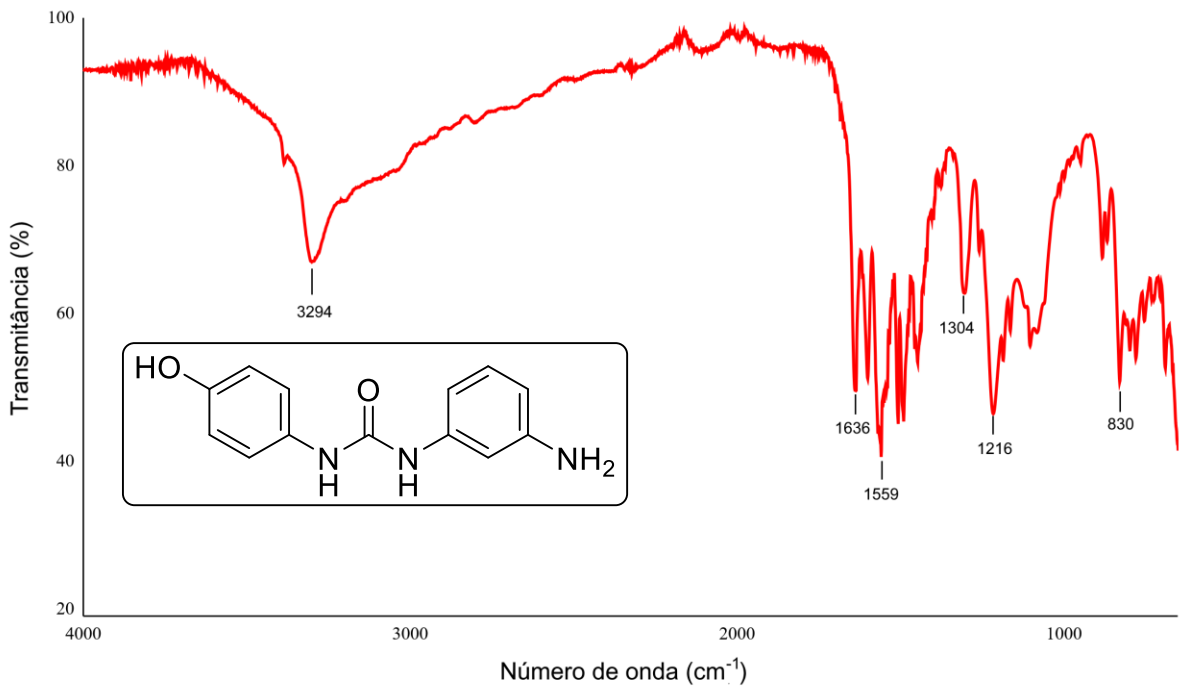




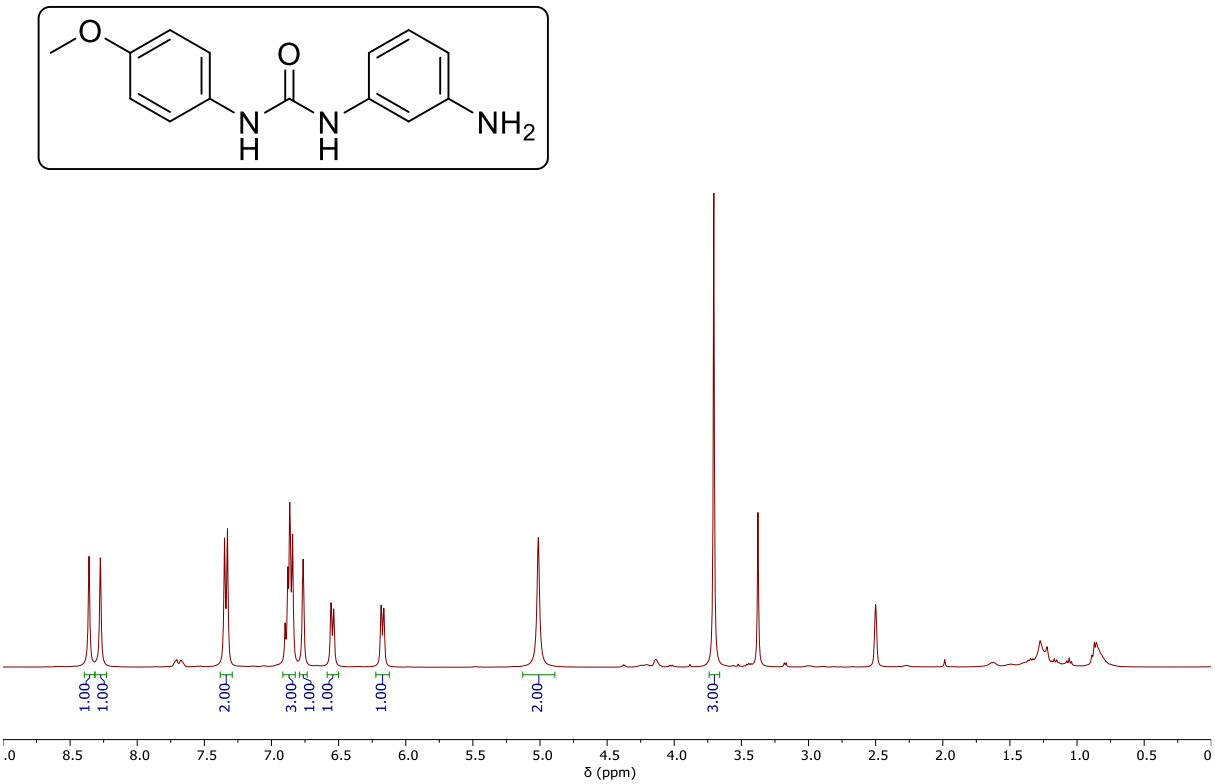
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17d**.



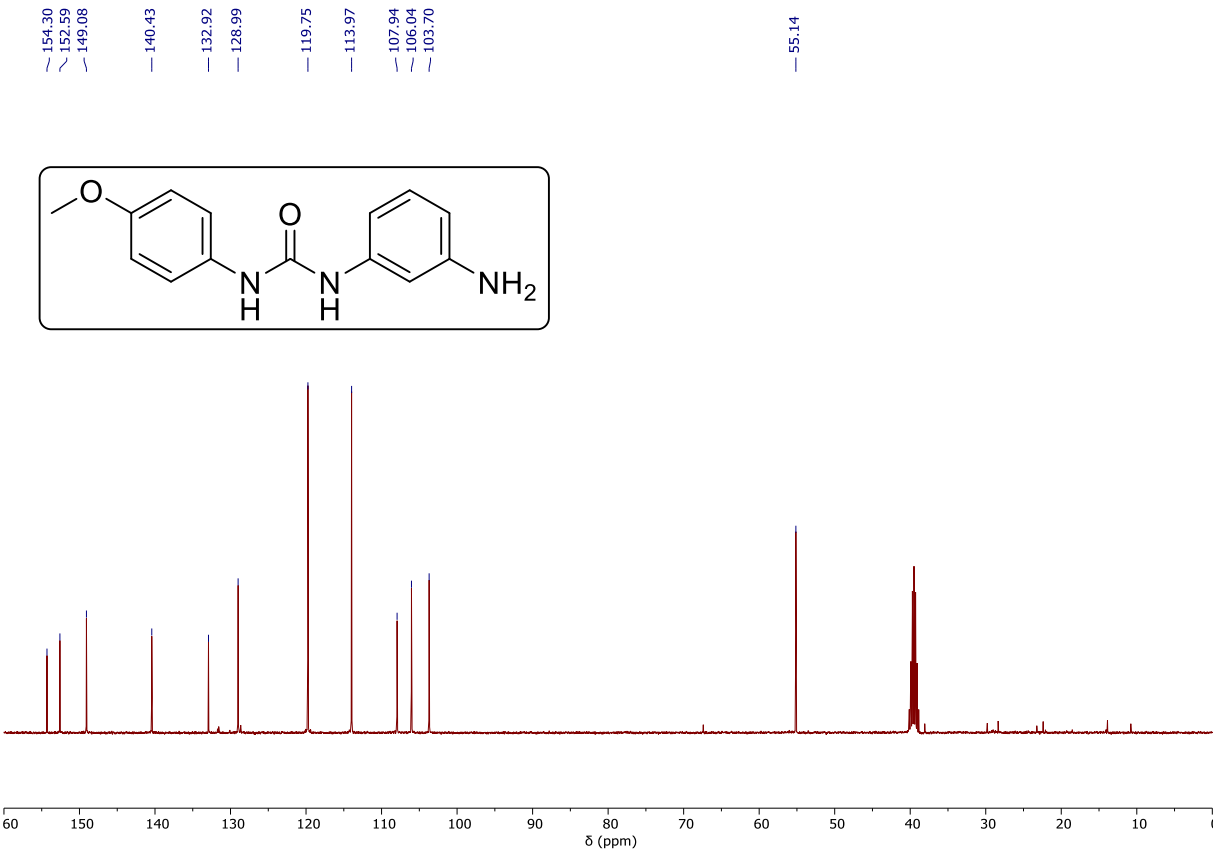
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17d**.



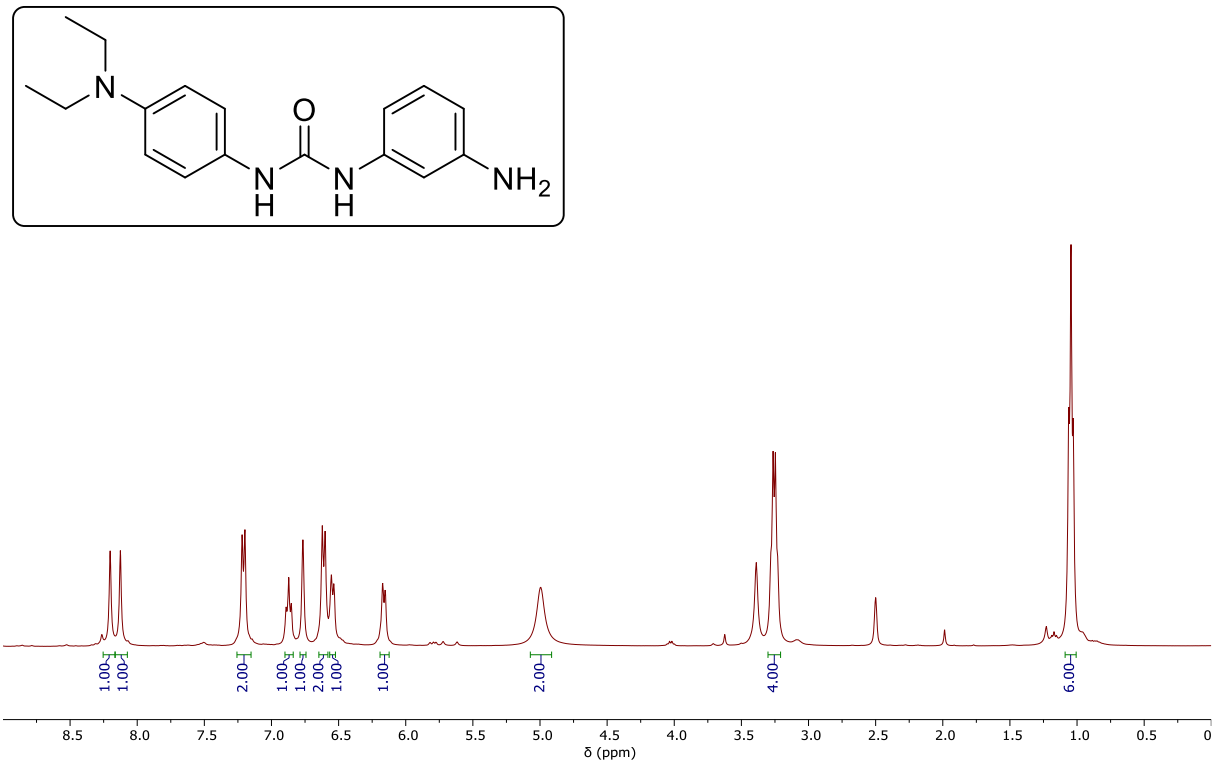
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **17d**.



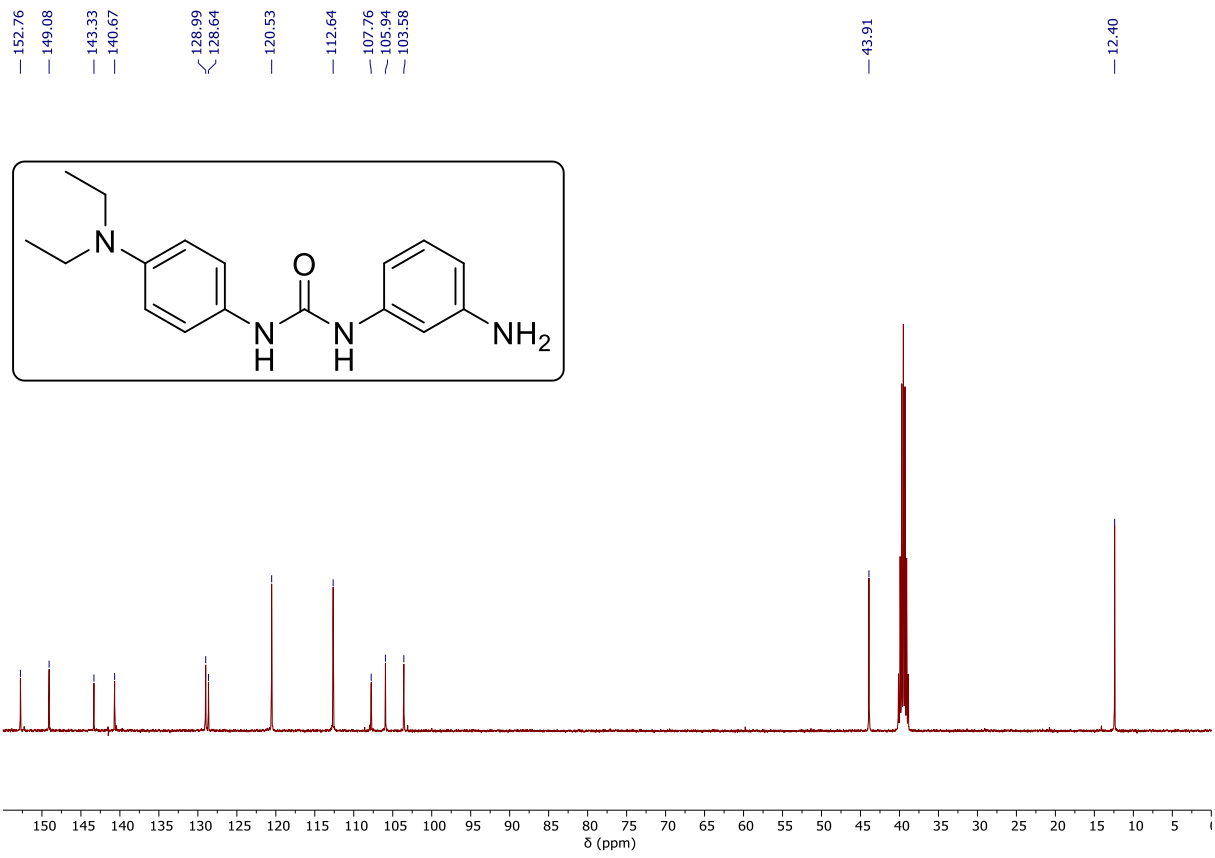
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17e**.



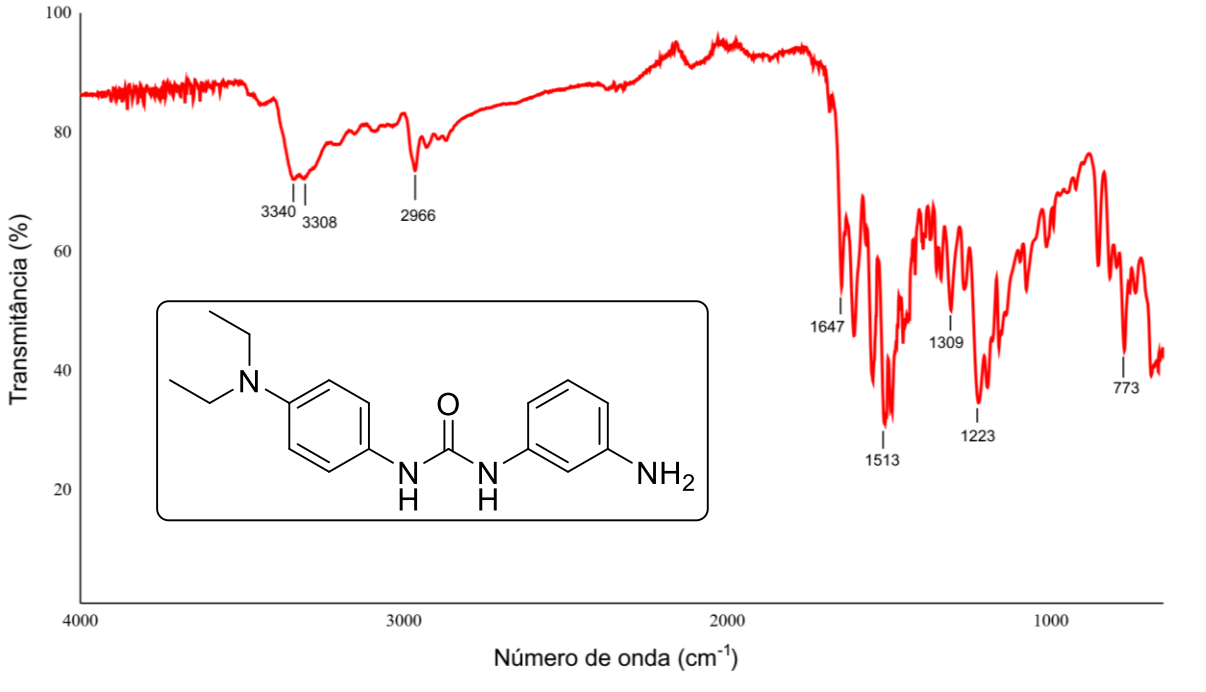
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17e**.



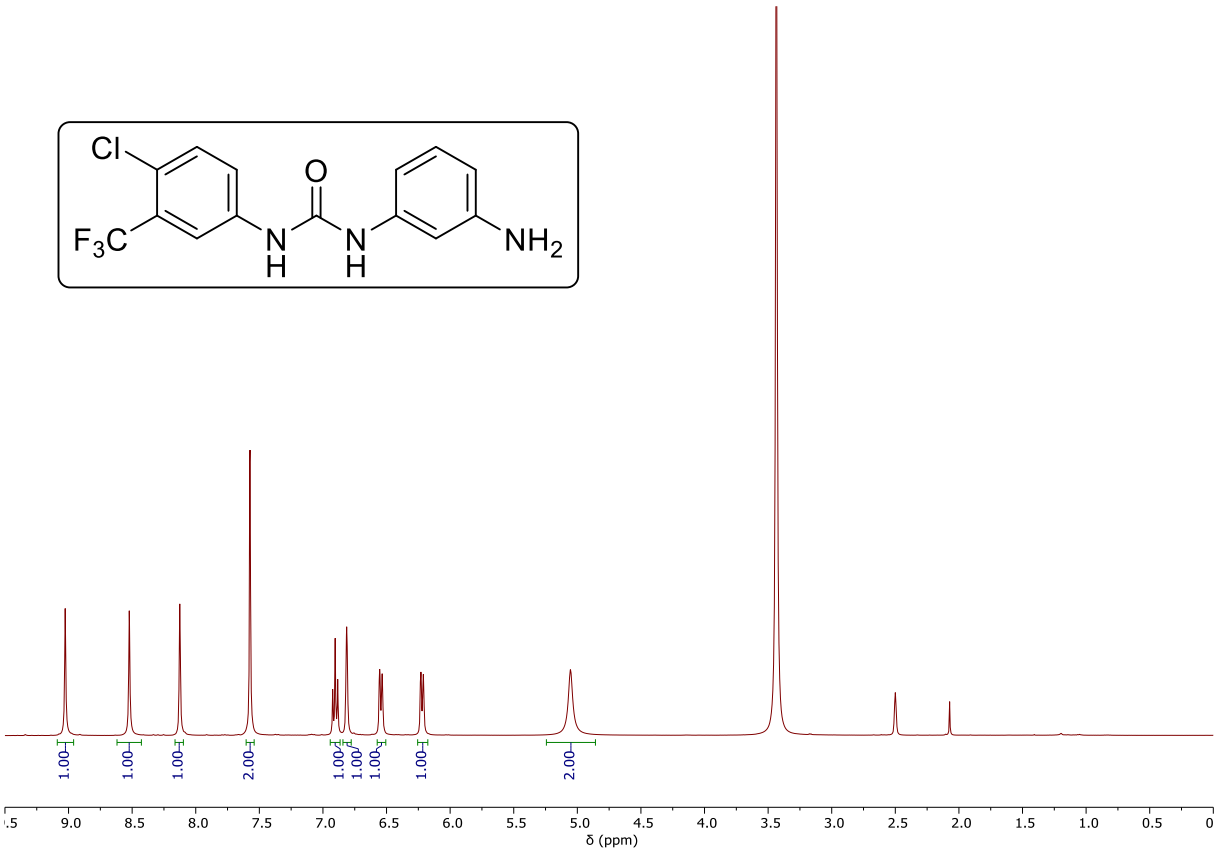
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17f**.



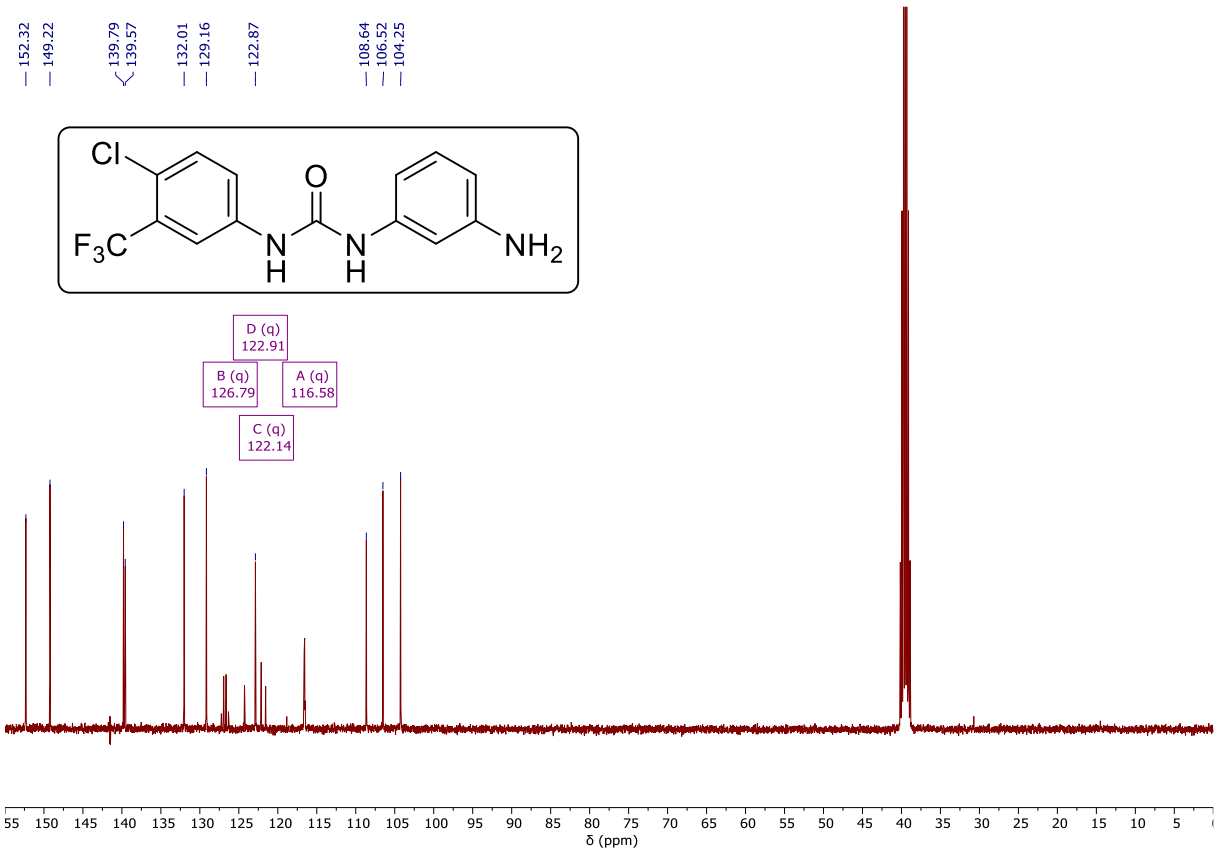
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17f**.



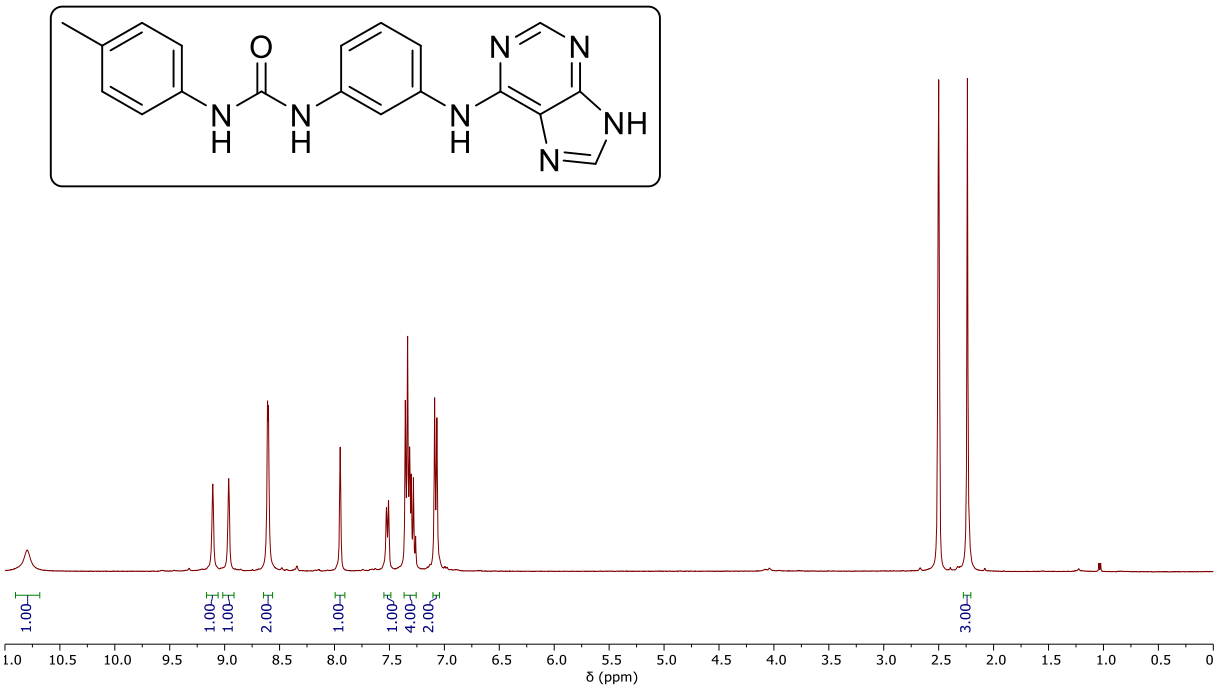
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **17f**.



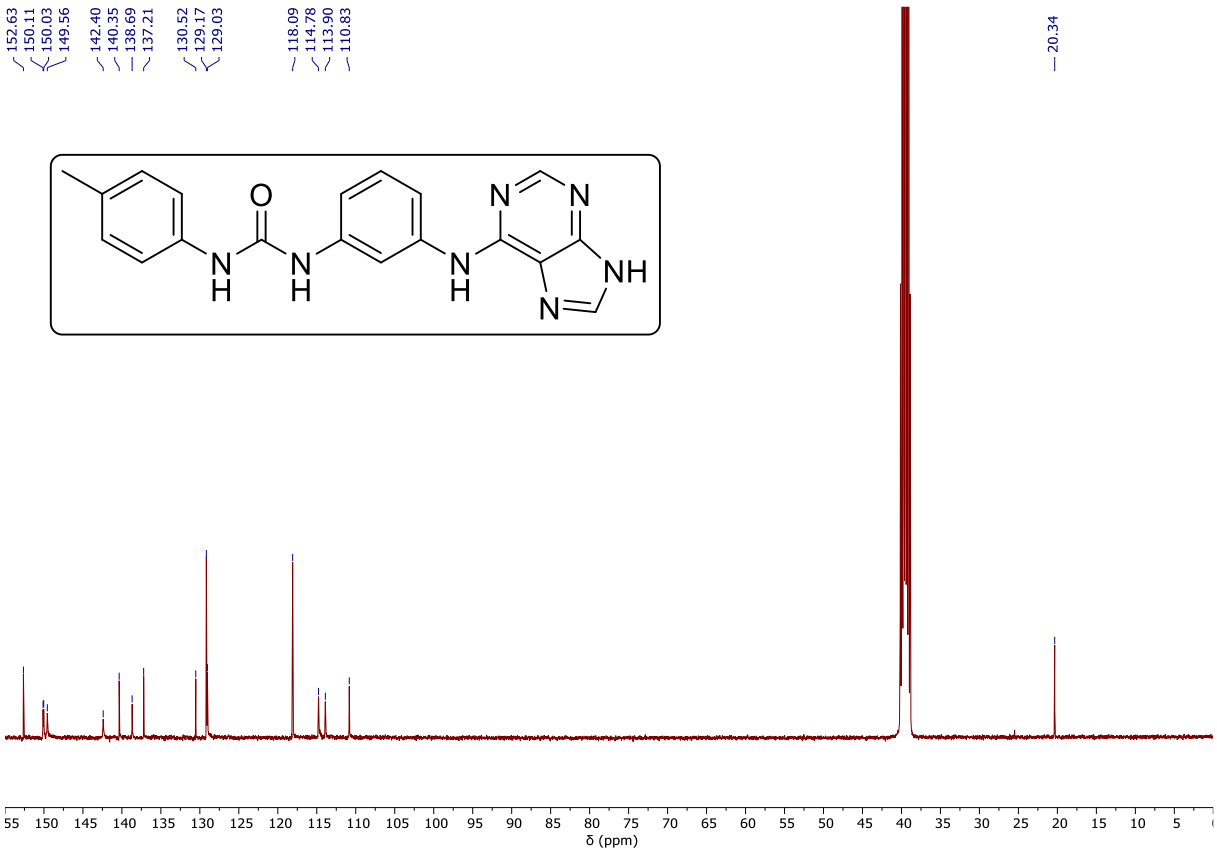
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **17g**.



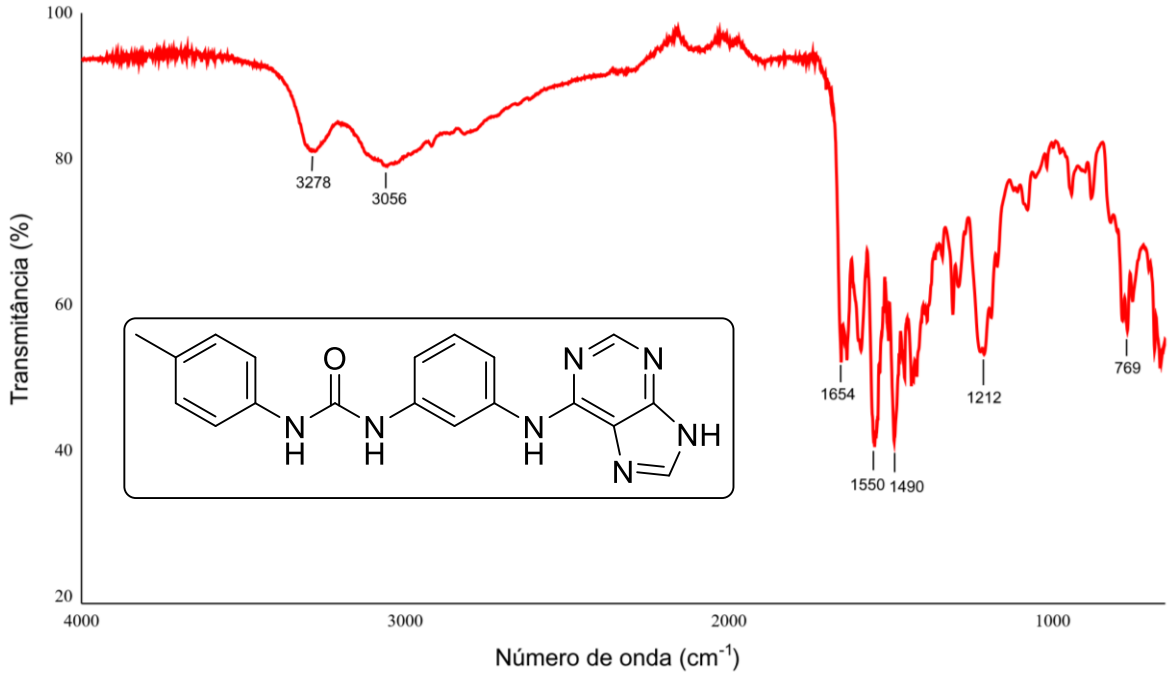
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **17g**.



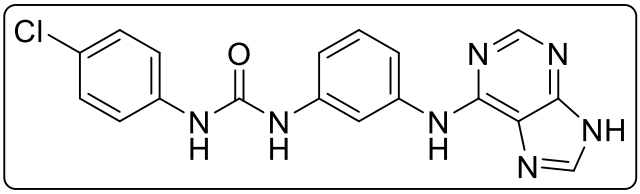
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18a**.

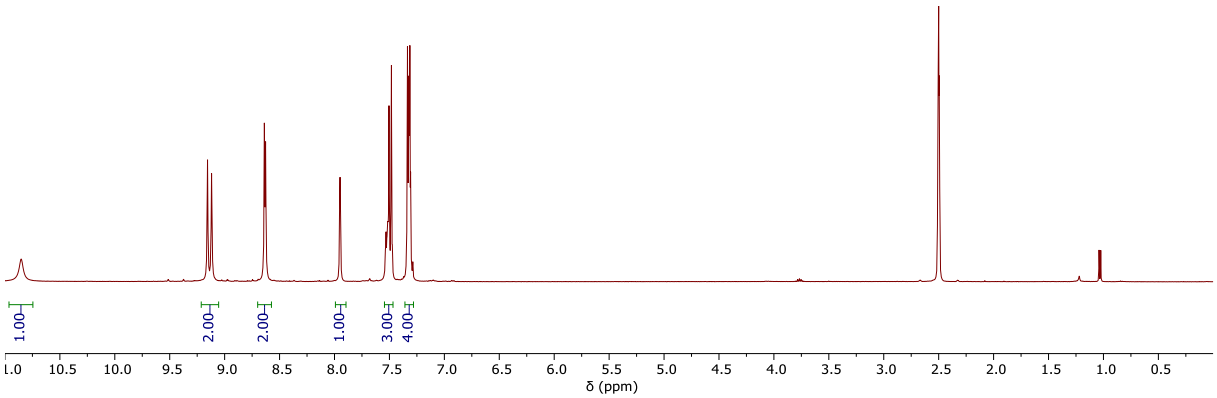


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18a**.

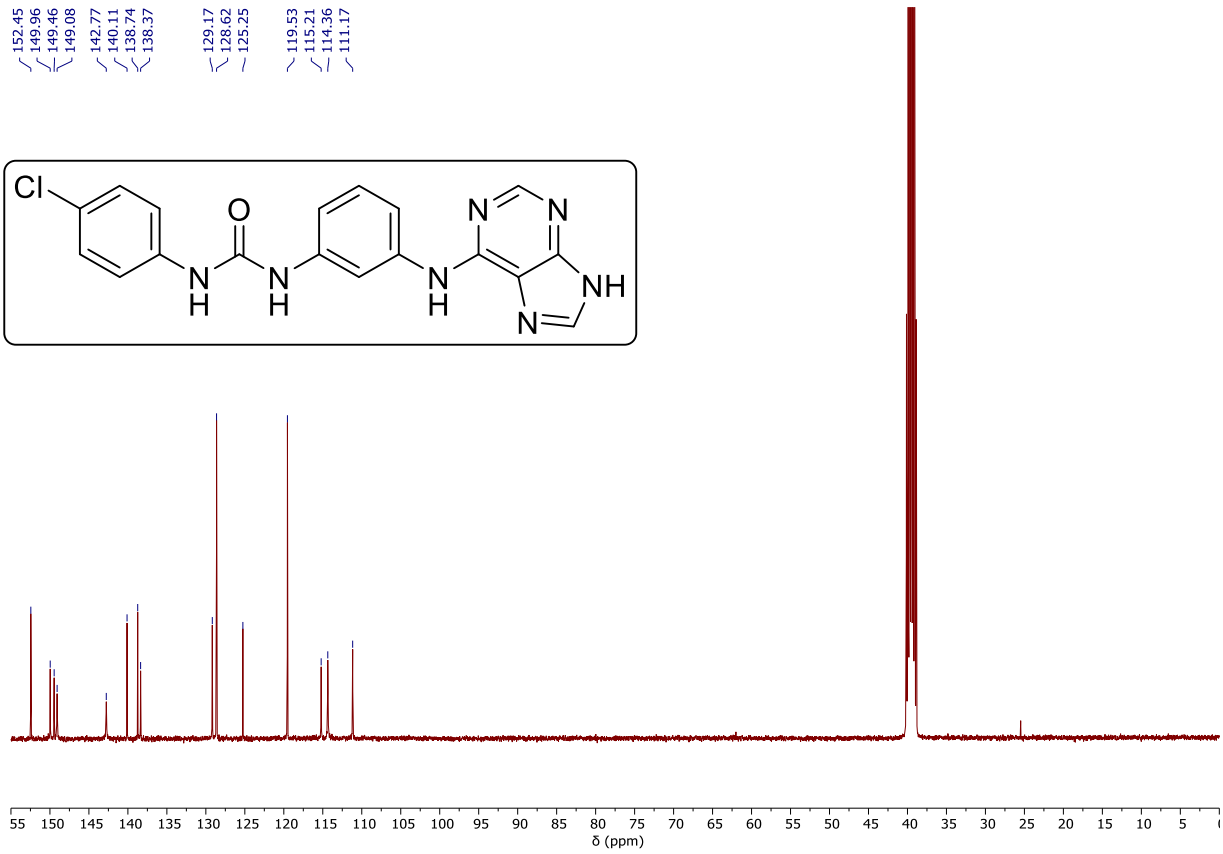


Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18a**.

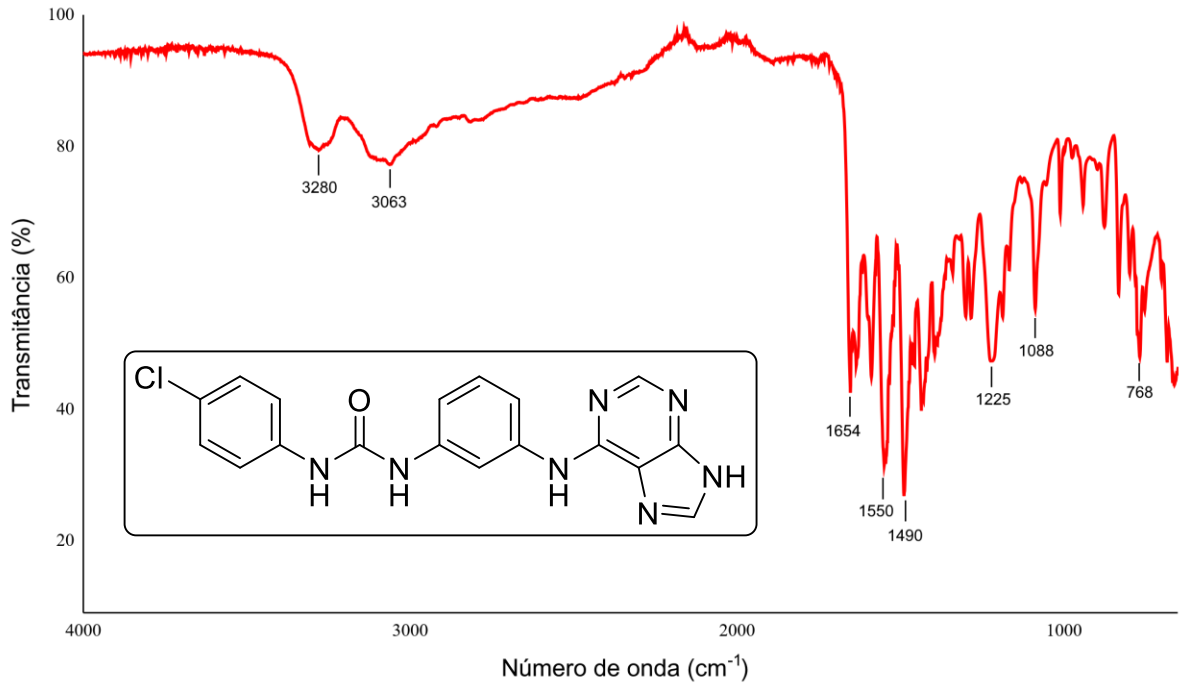




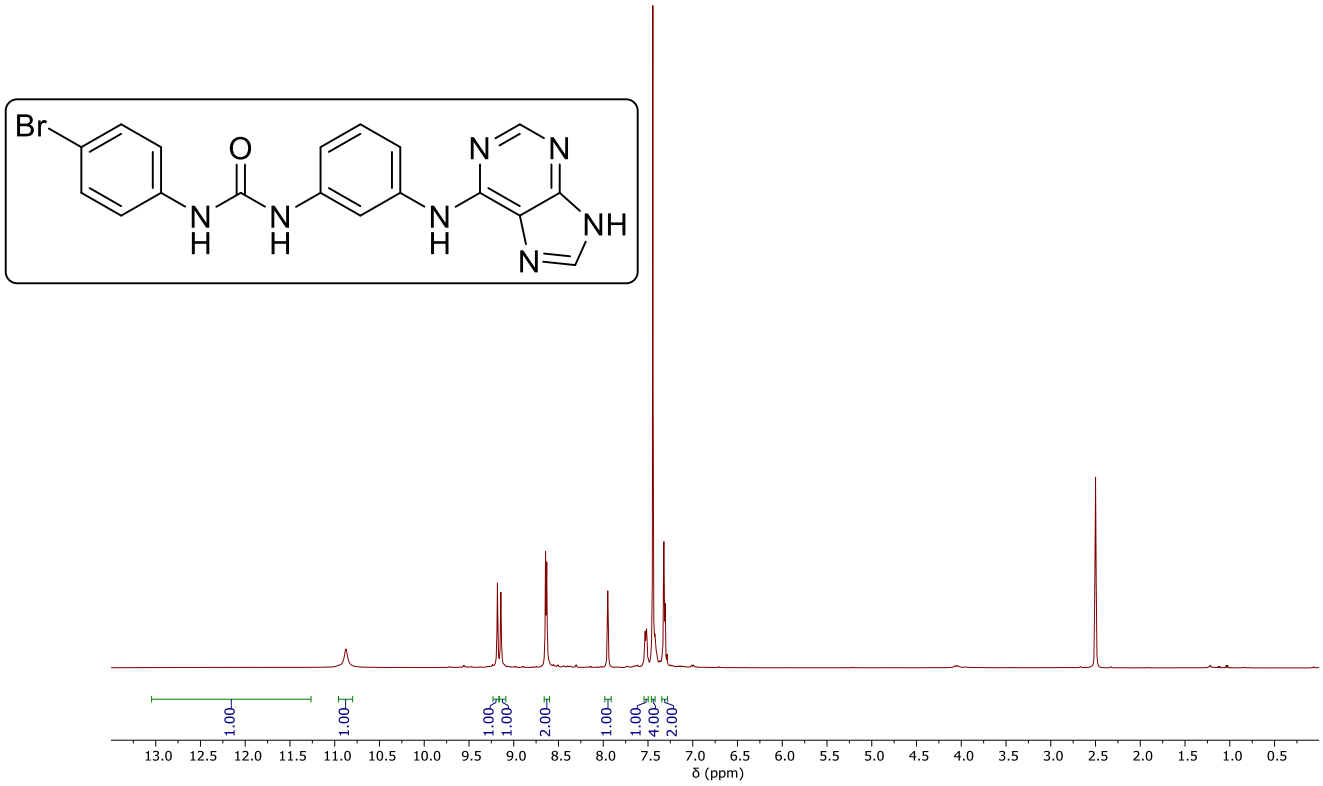
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18b**.



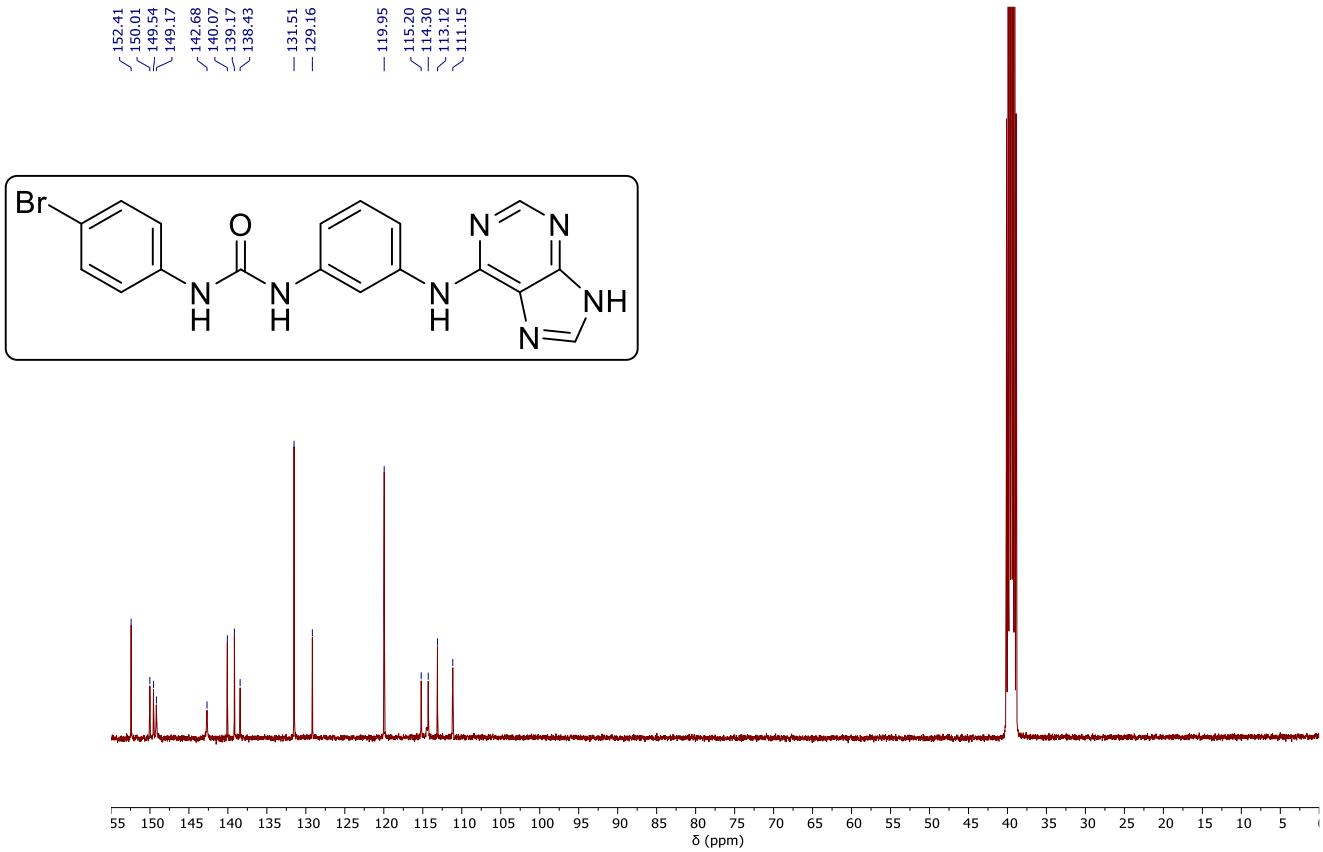
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18b**.



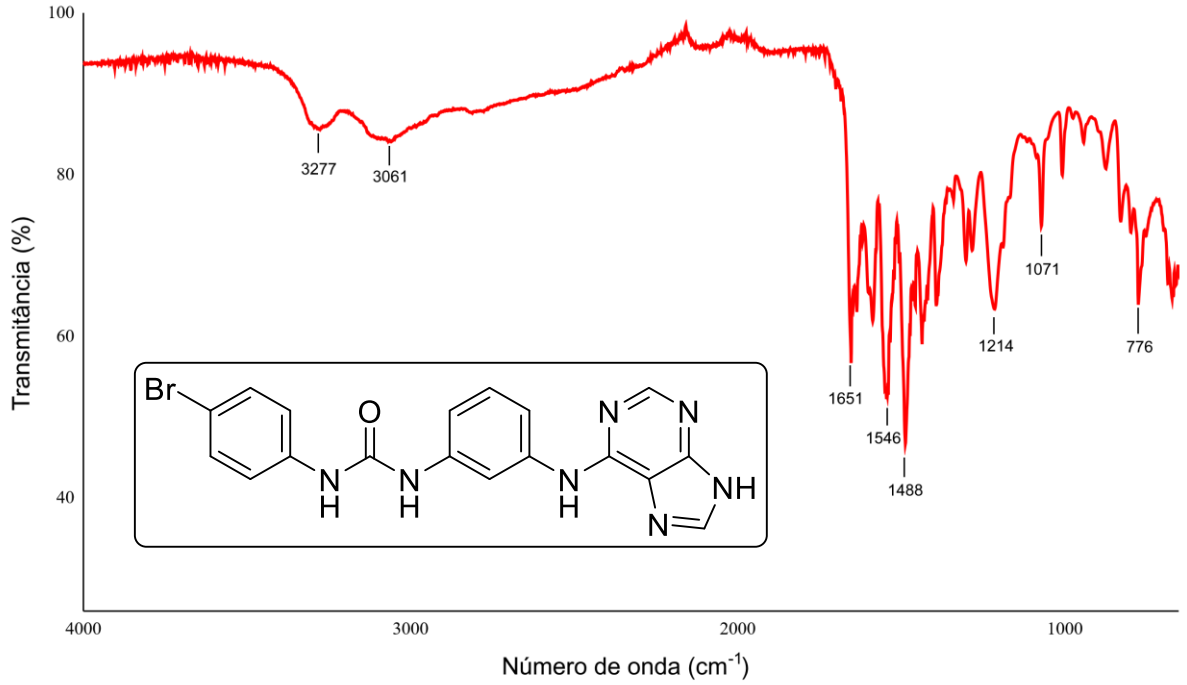
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18b**.



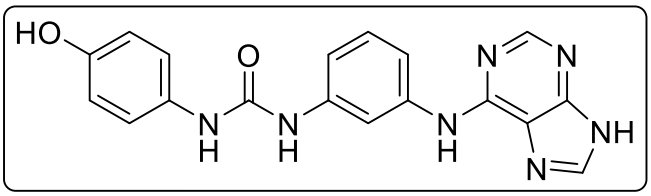
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18c**.

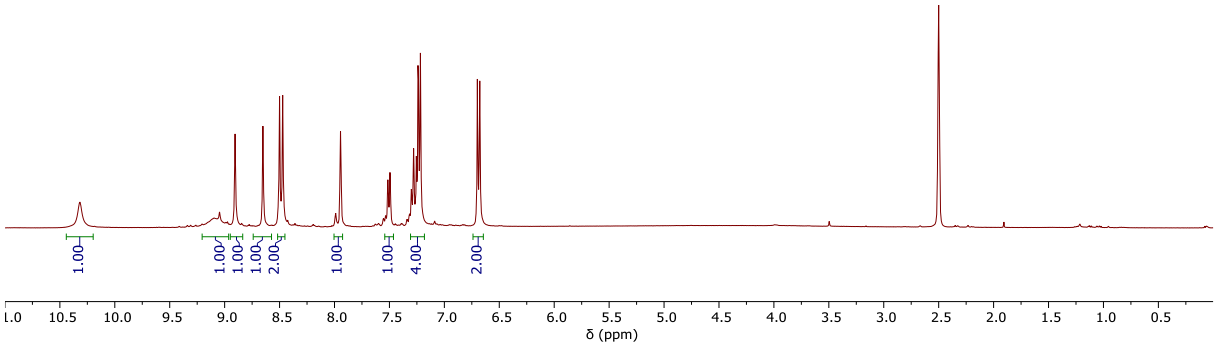


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18c**.

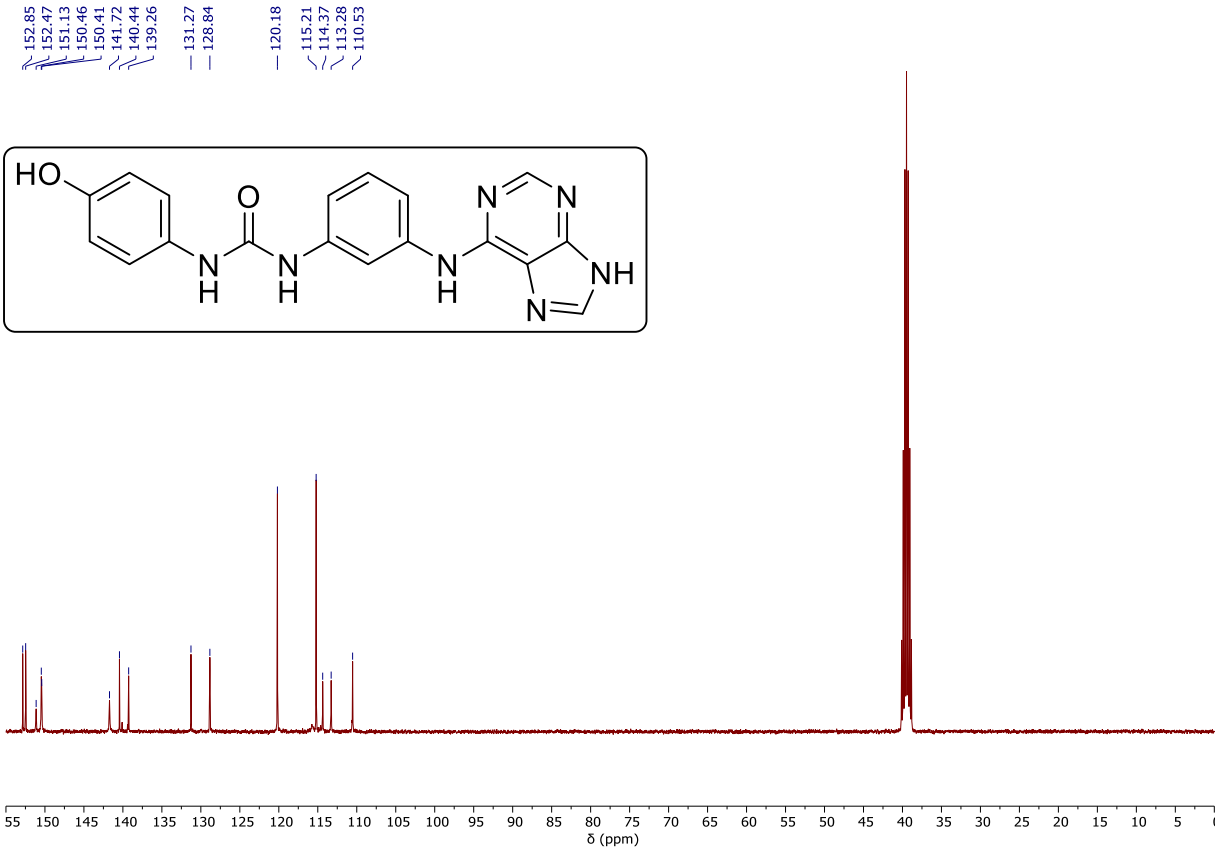


Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18c**.

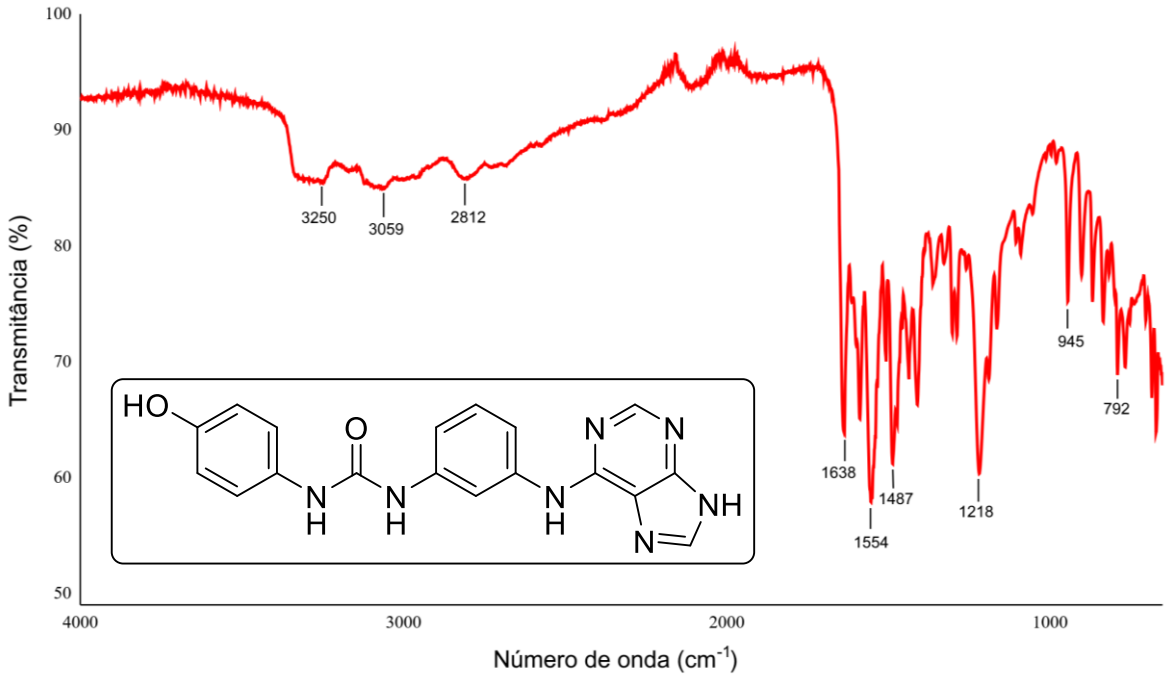




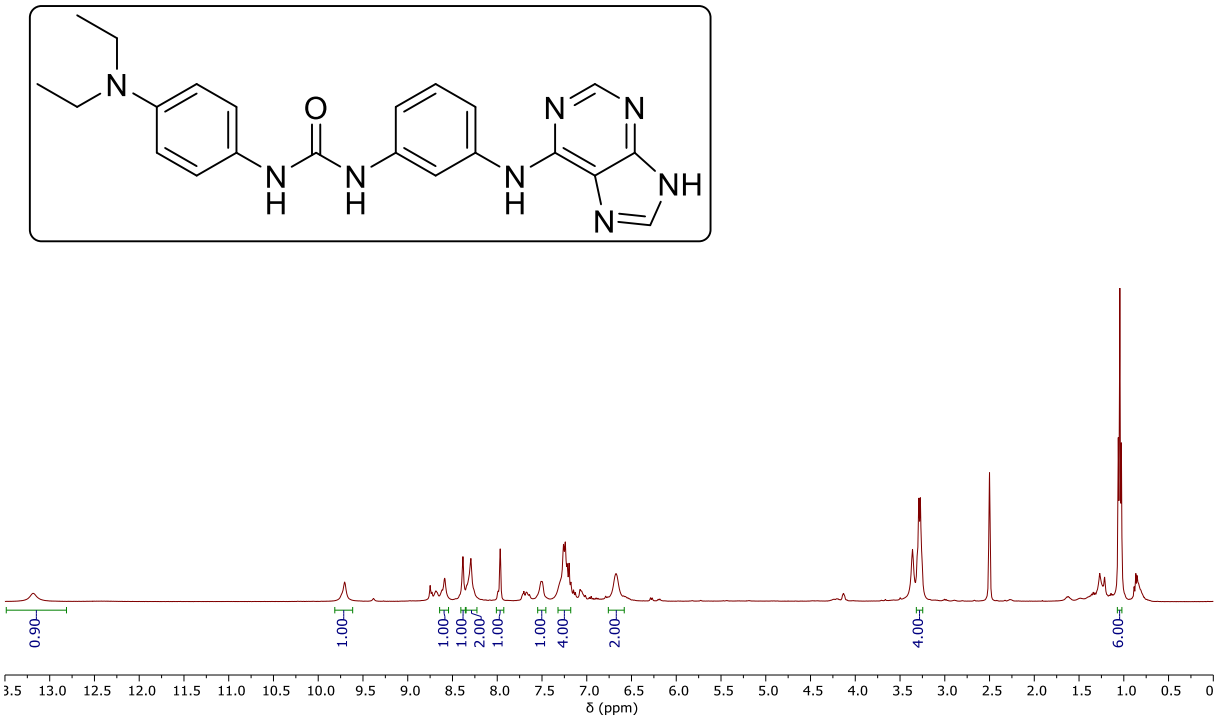
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18d**.



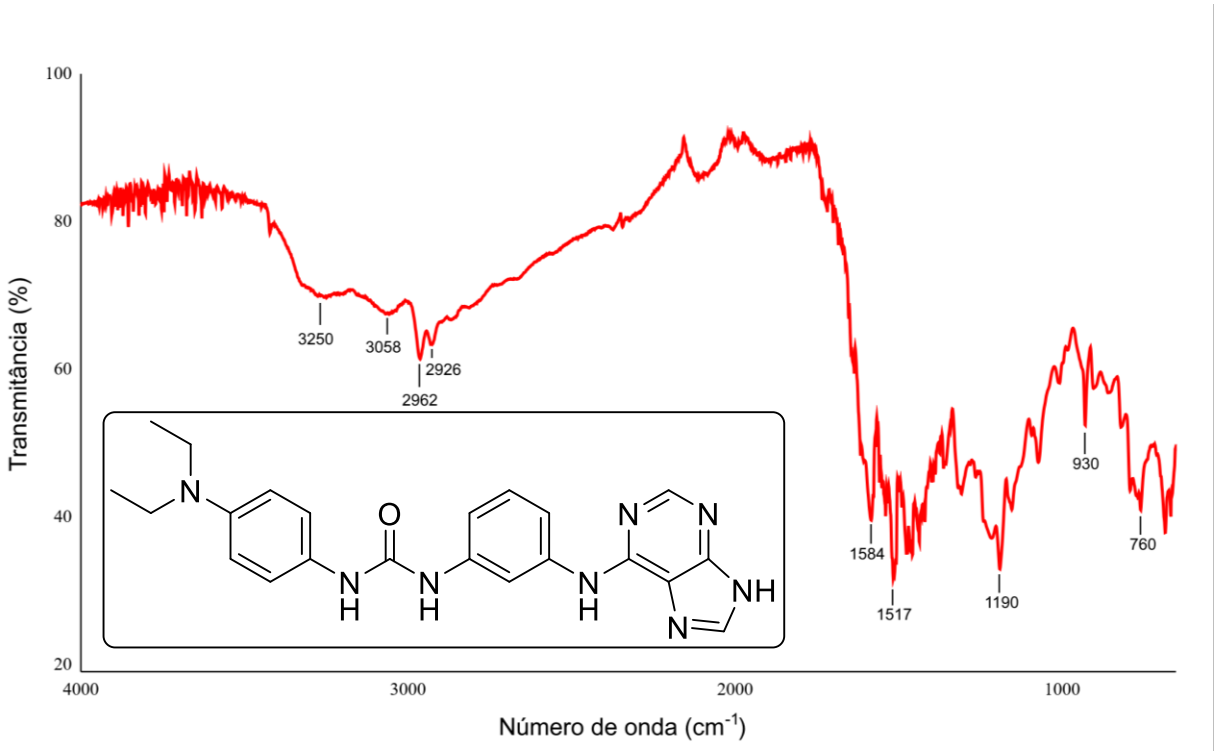
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18d**.



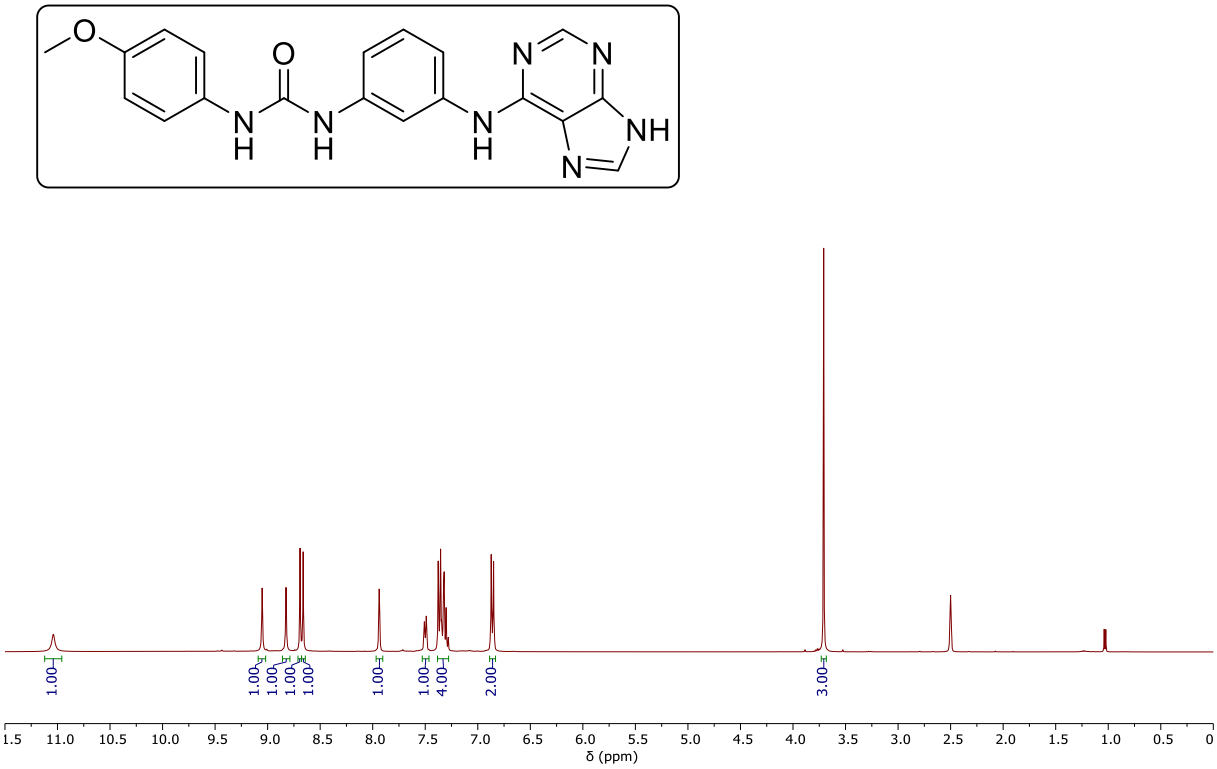
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18d**.



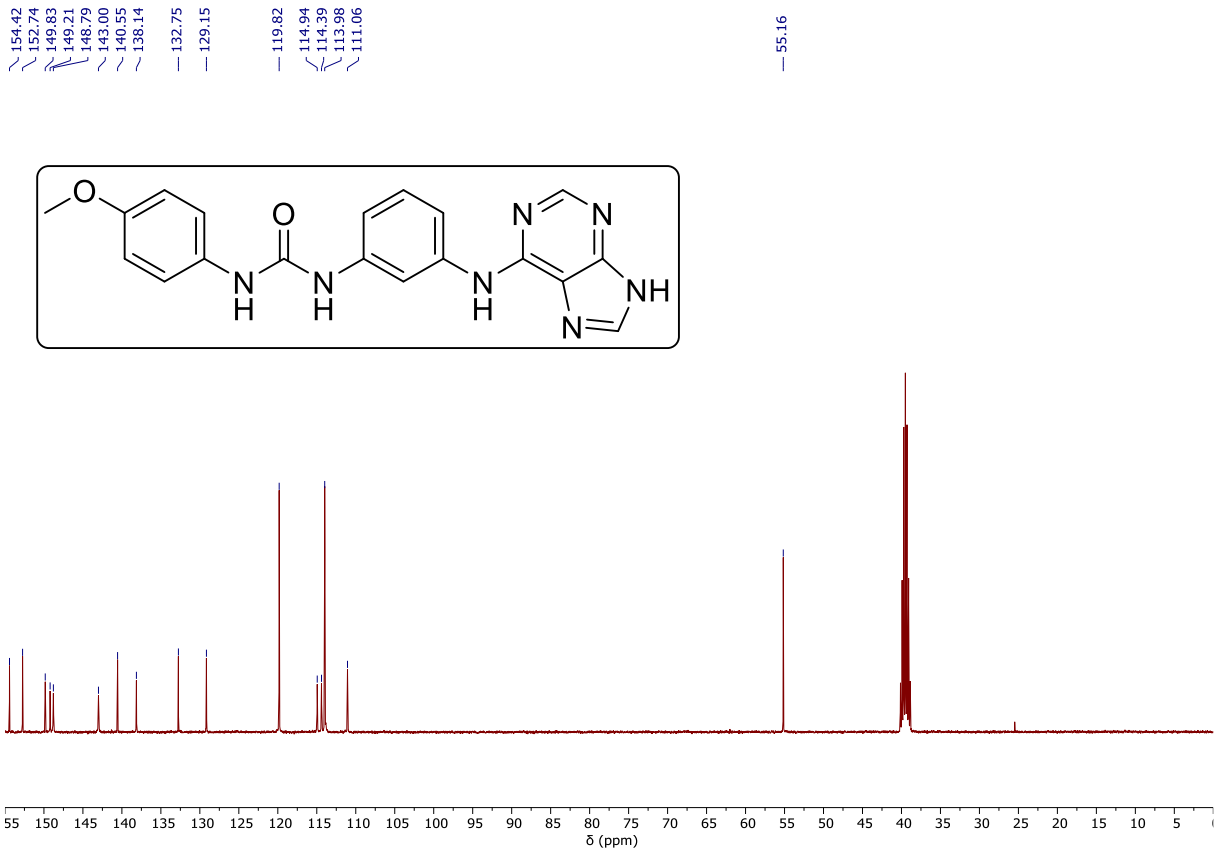
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18e**.



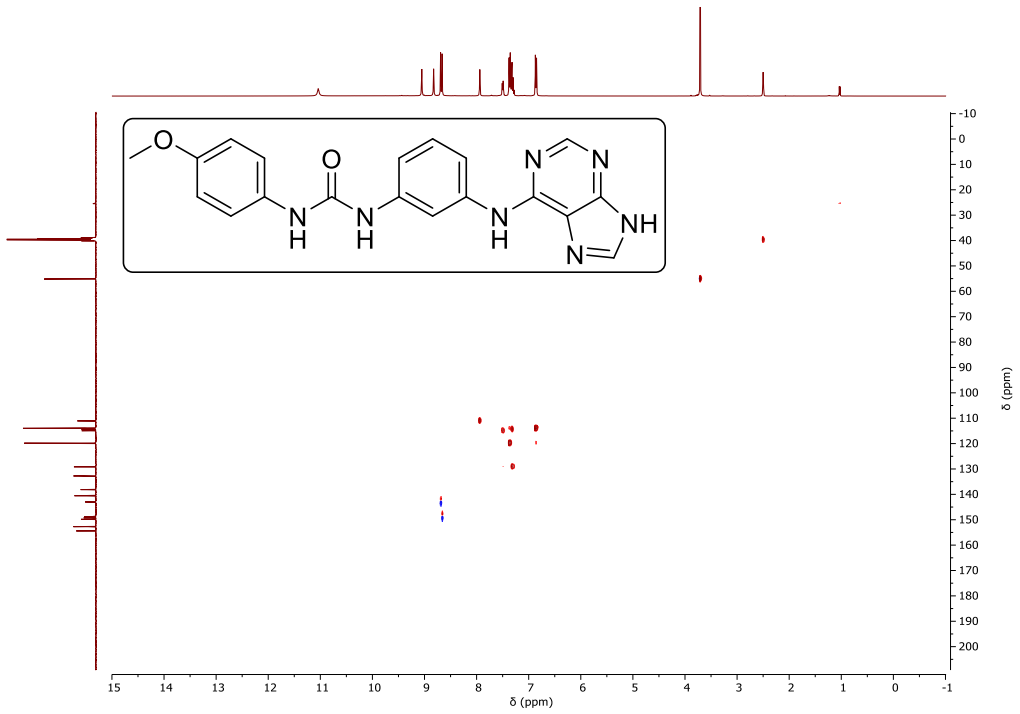
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18e**.



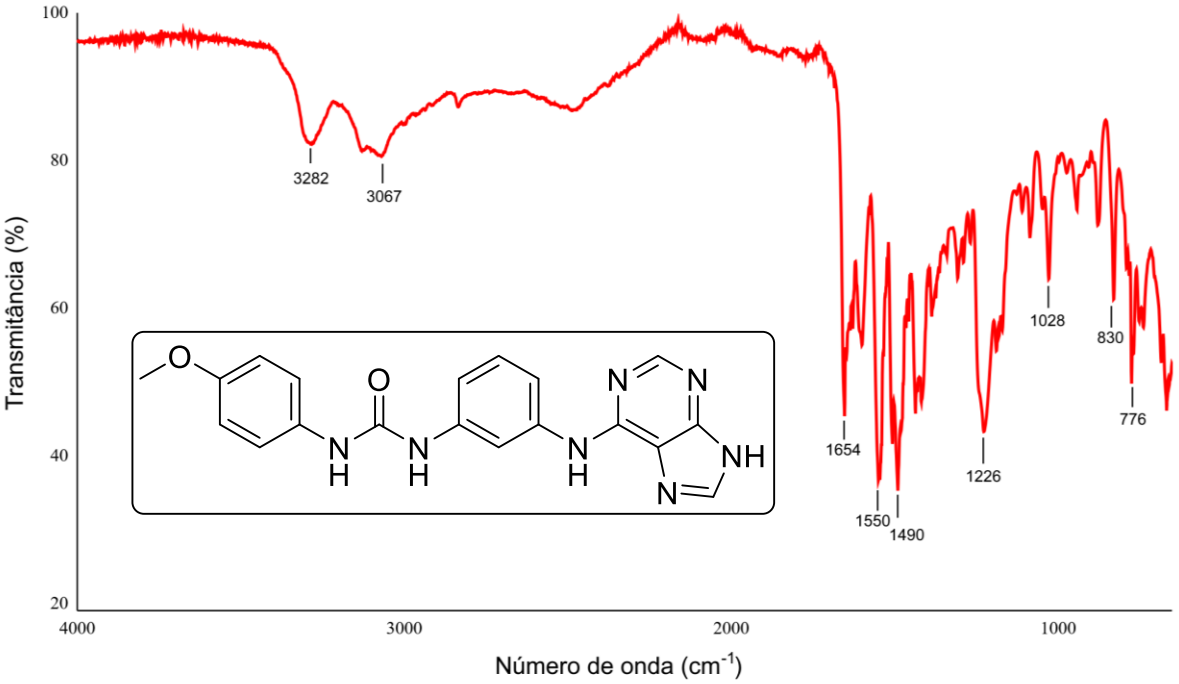
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18f**.



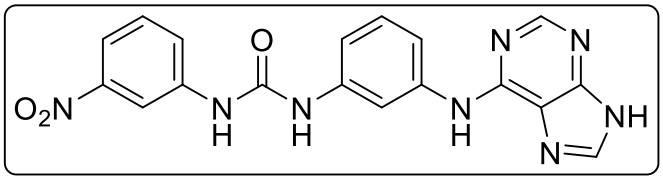
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18f**.

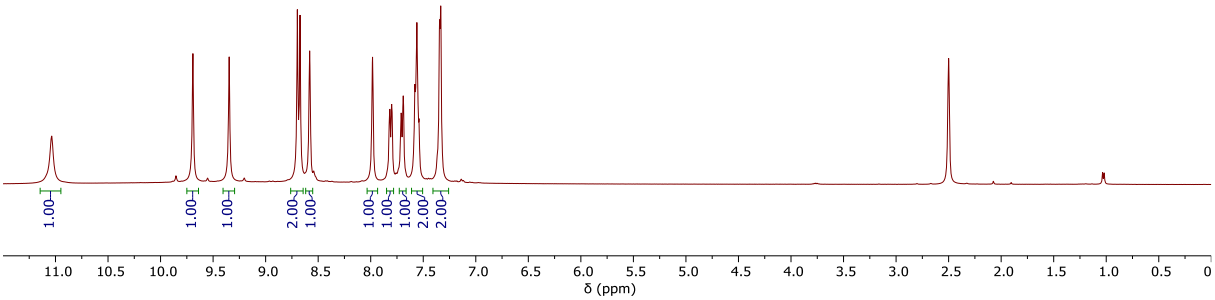


Espectro de RMN HSQC (400 – 100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18f**.

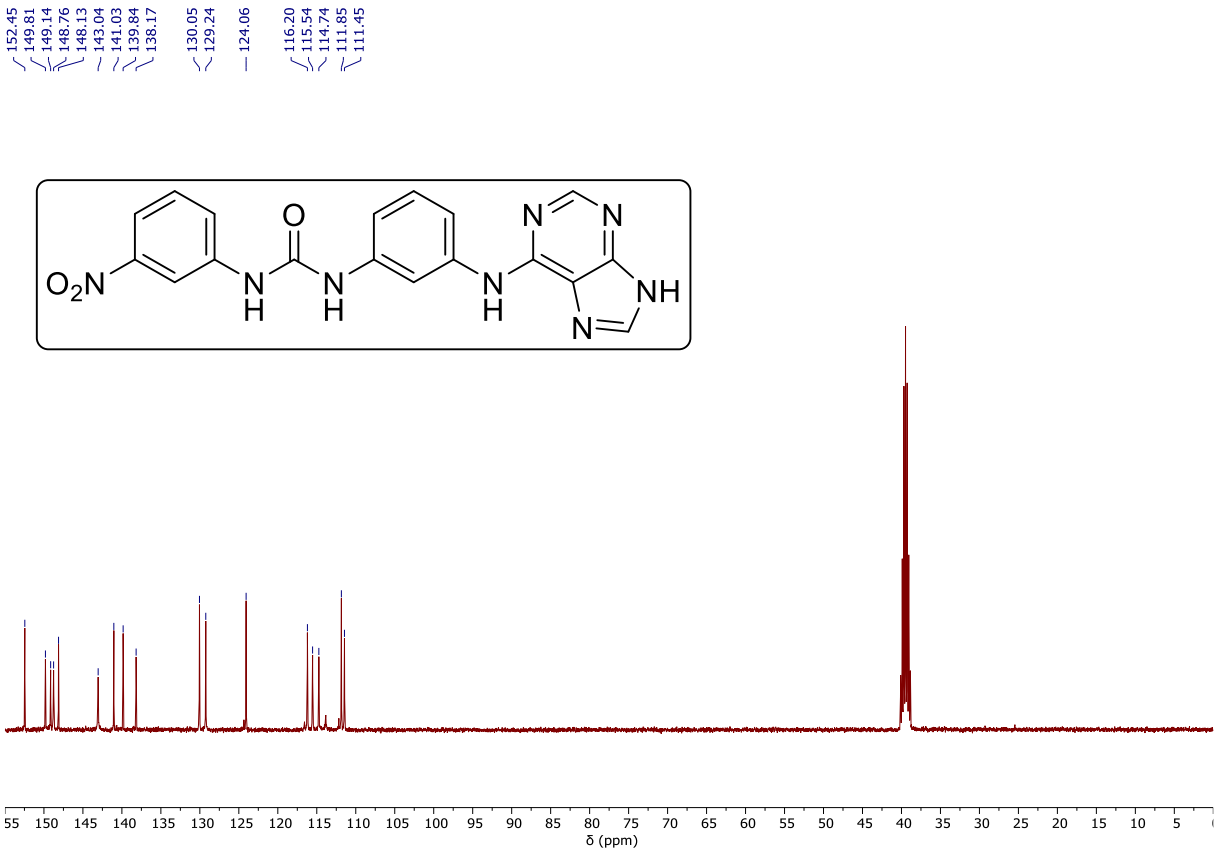


Espectro de infravermelho (ATR) do pr'oduto **18f**.

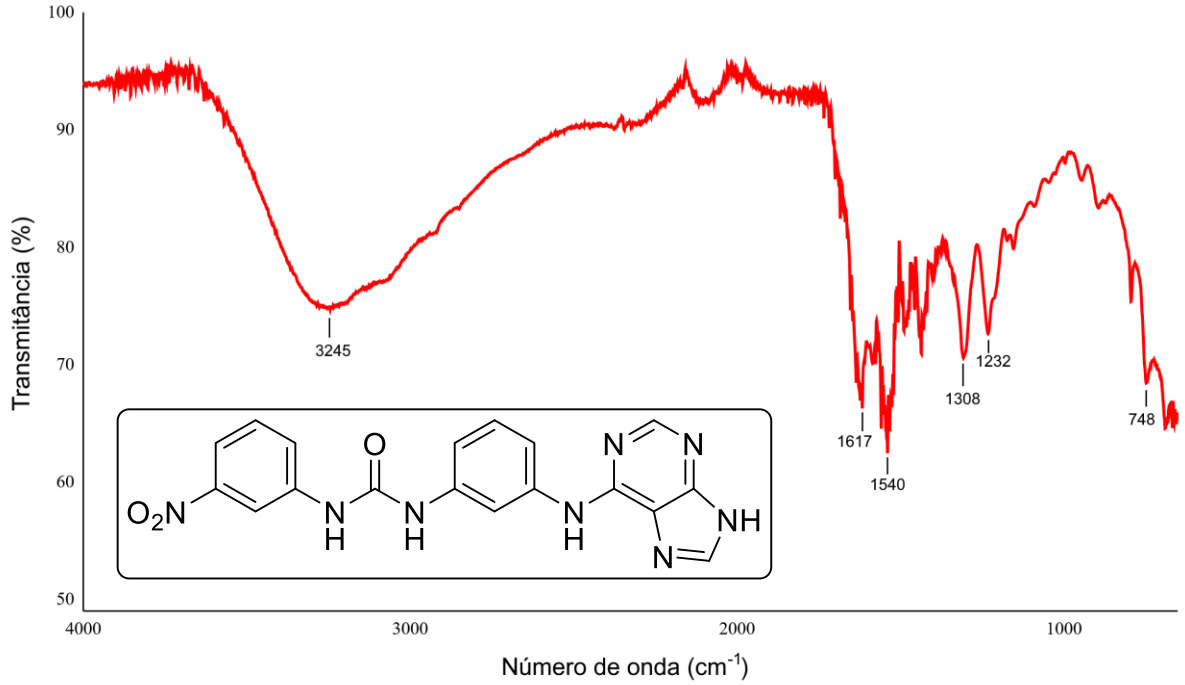




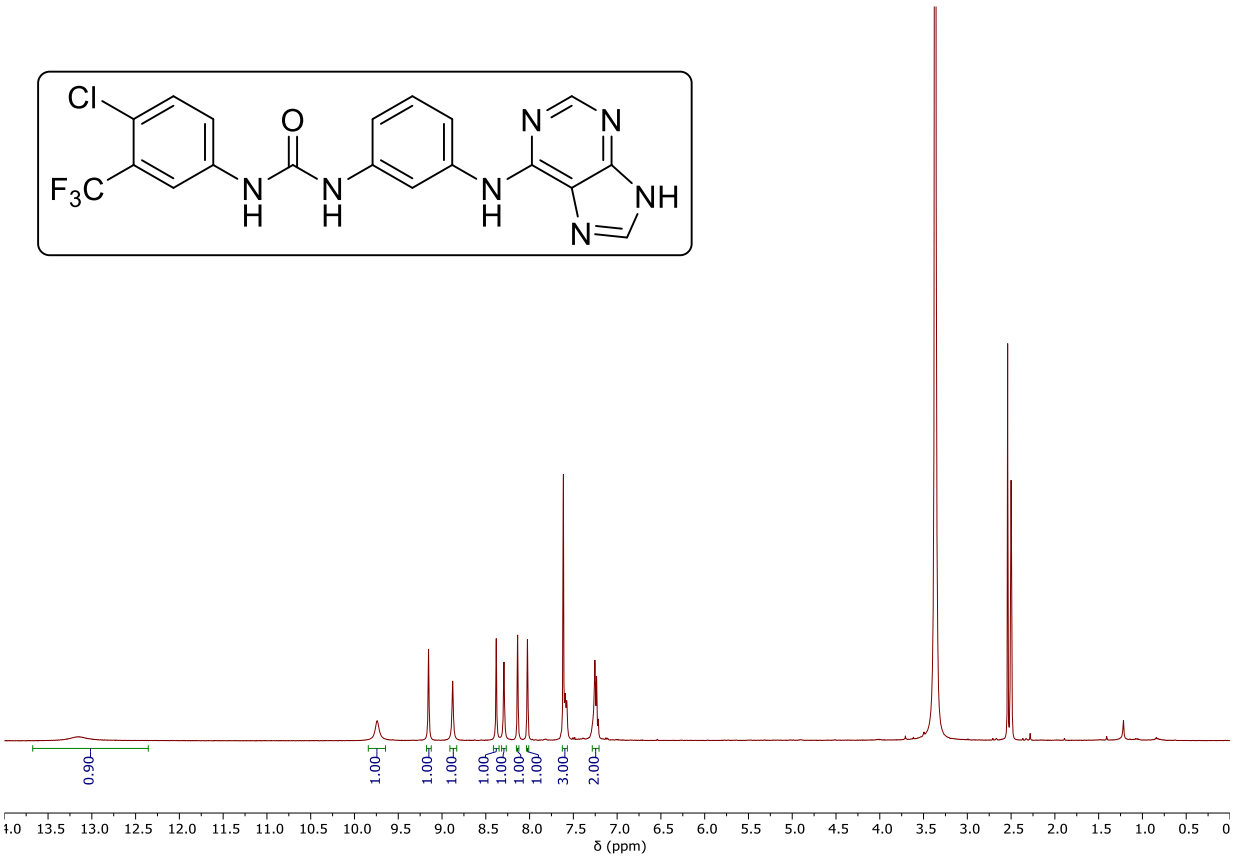
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18g**.



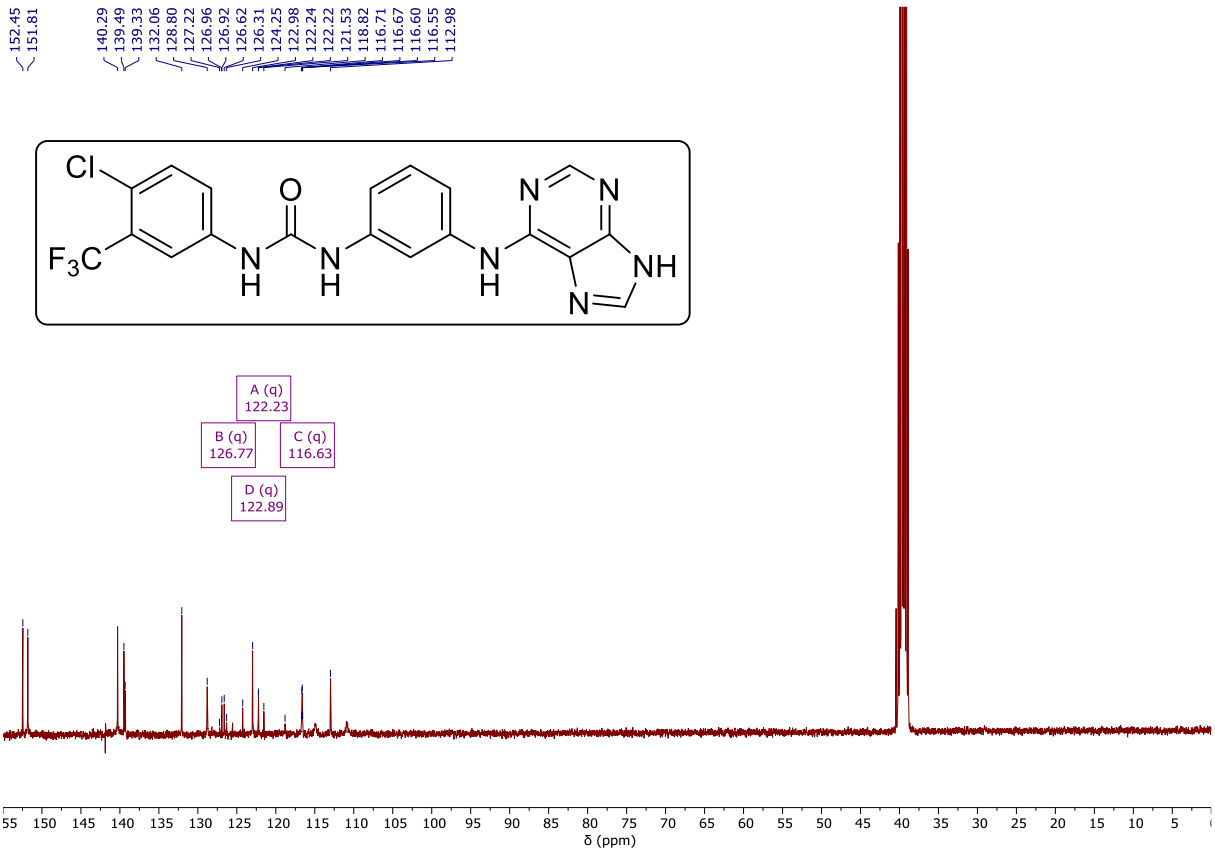
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18g**.



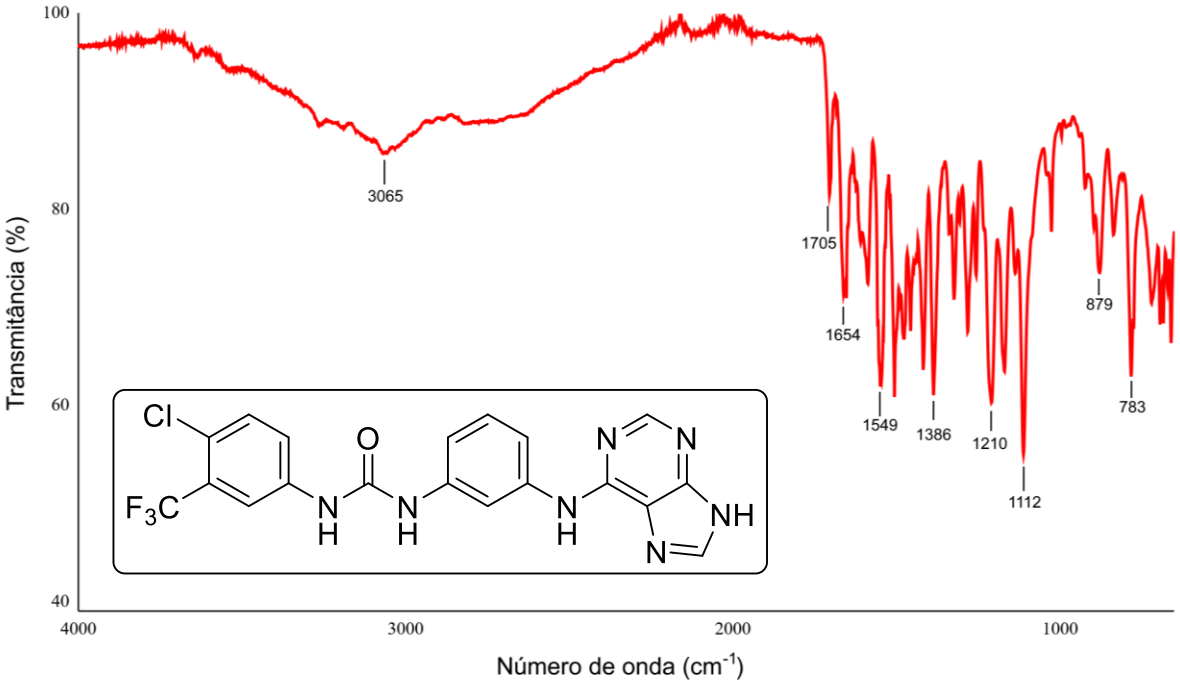
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18g**.



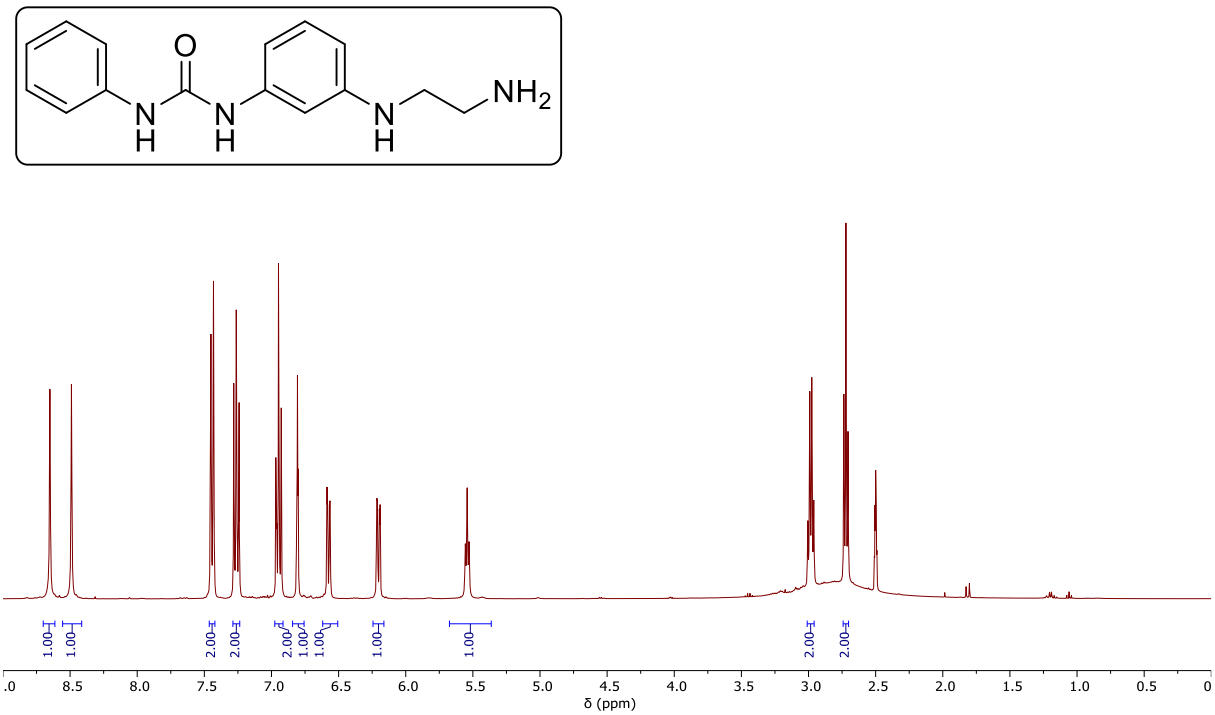
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **18h**.



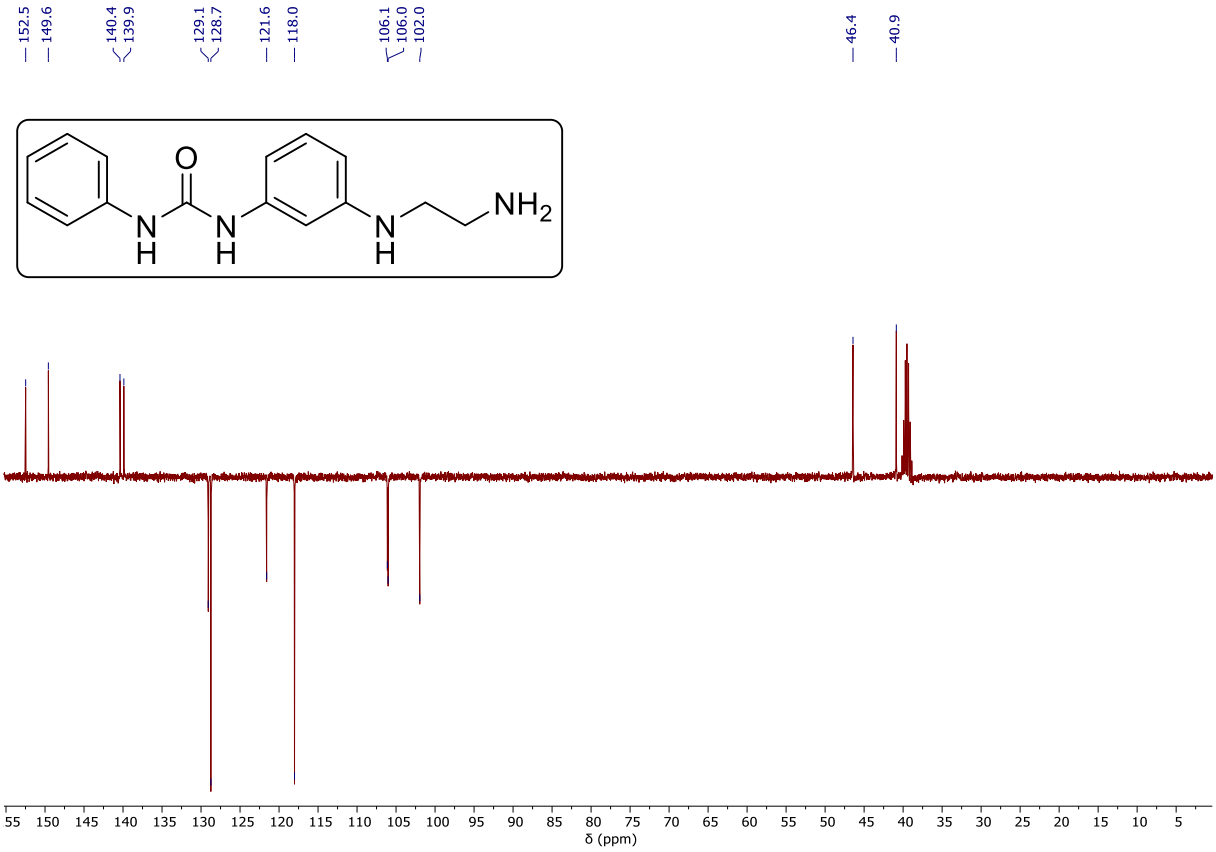
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **18h**.



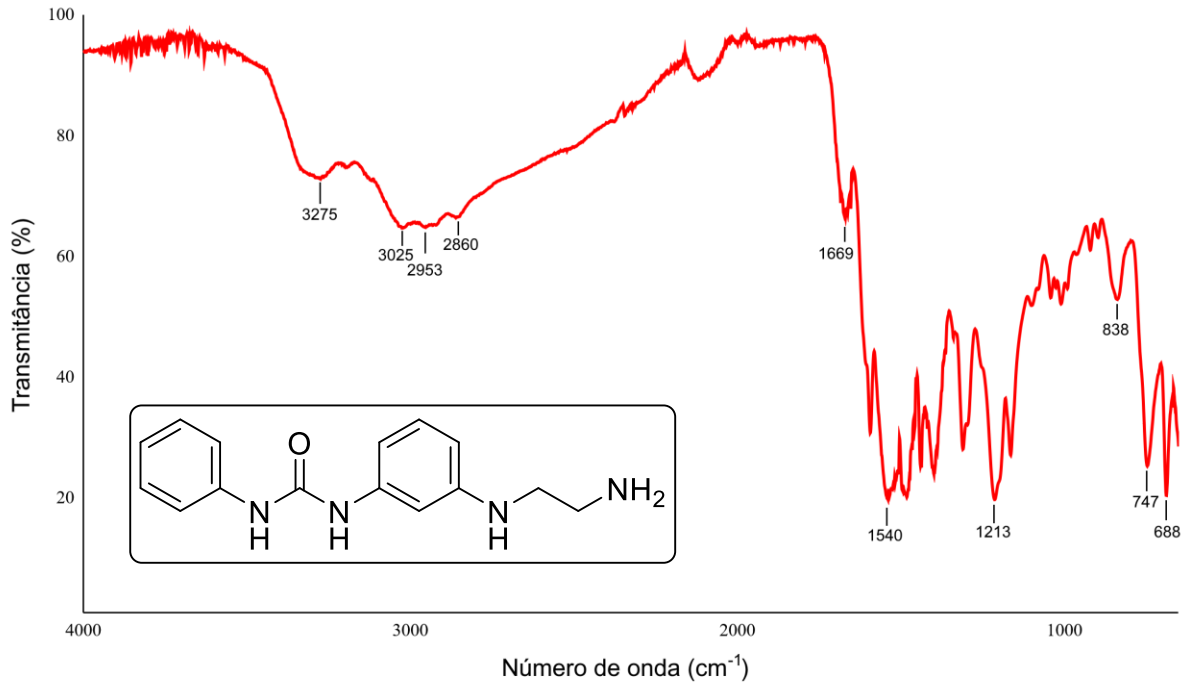
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **18h**.



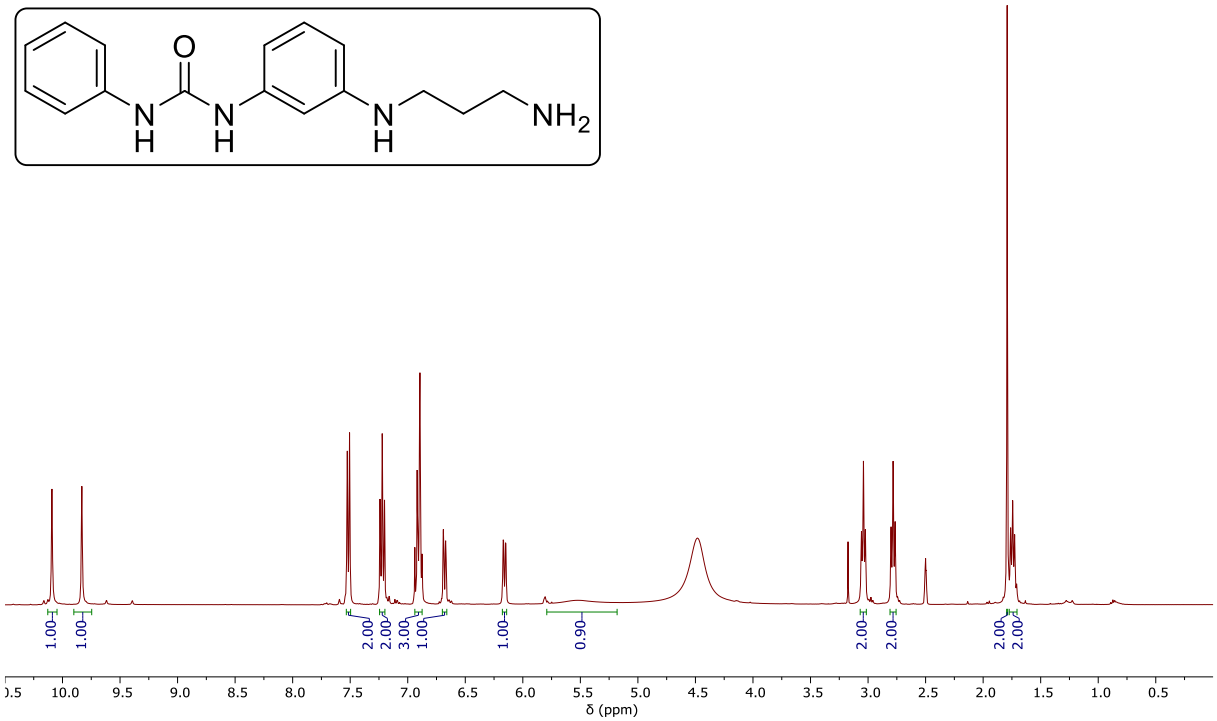
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **20a**.



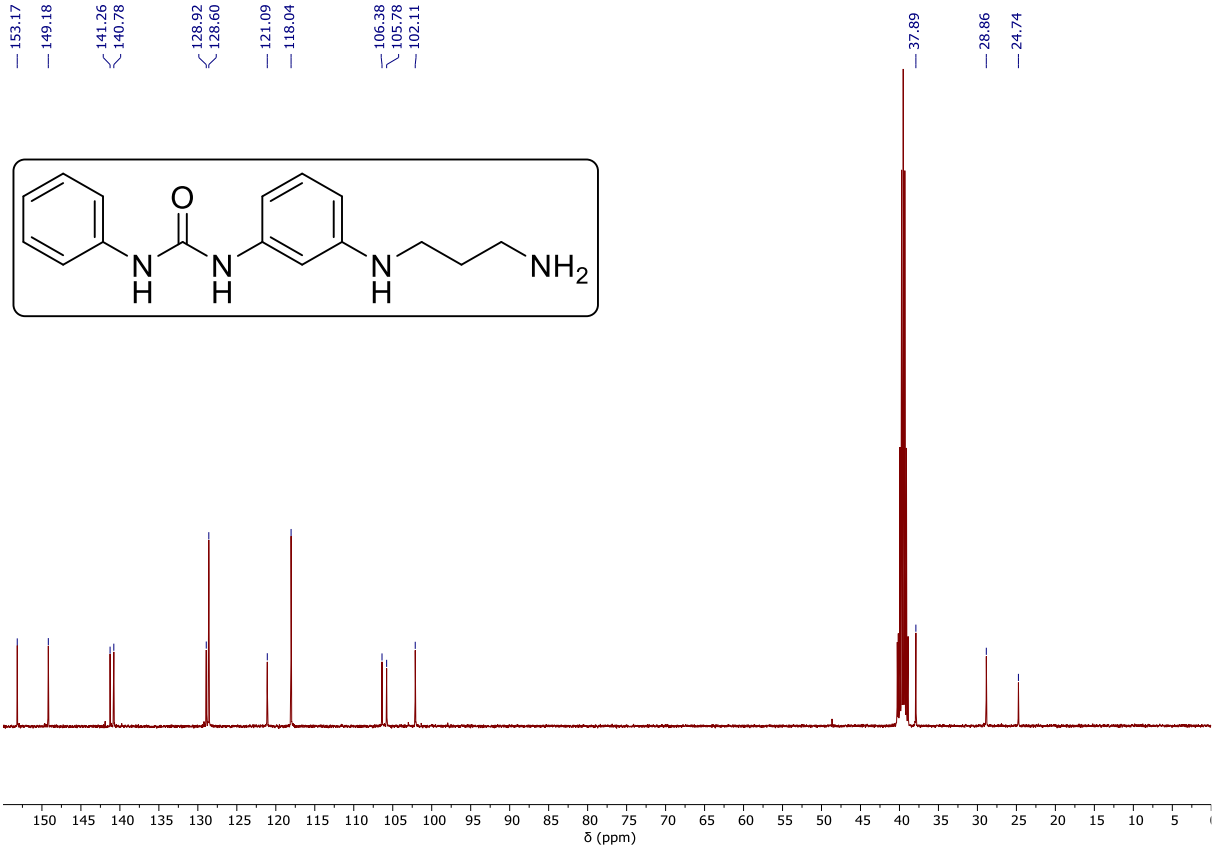
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **20a**.



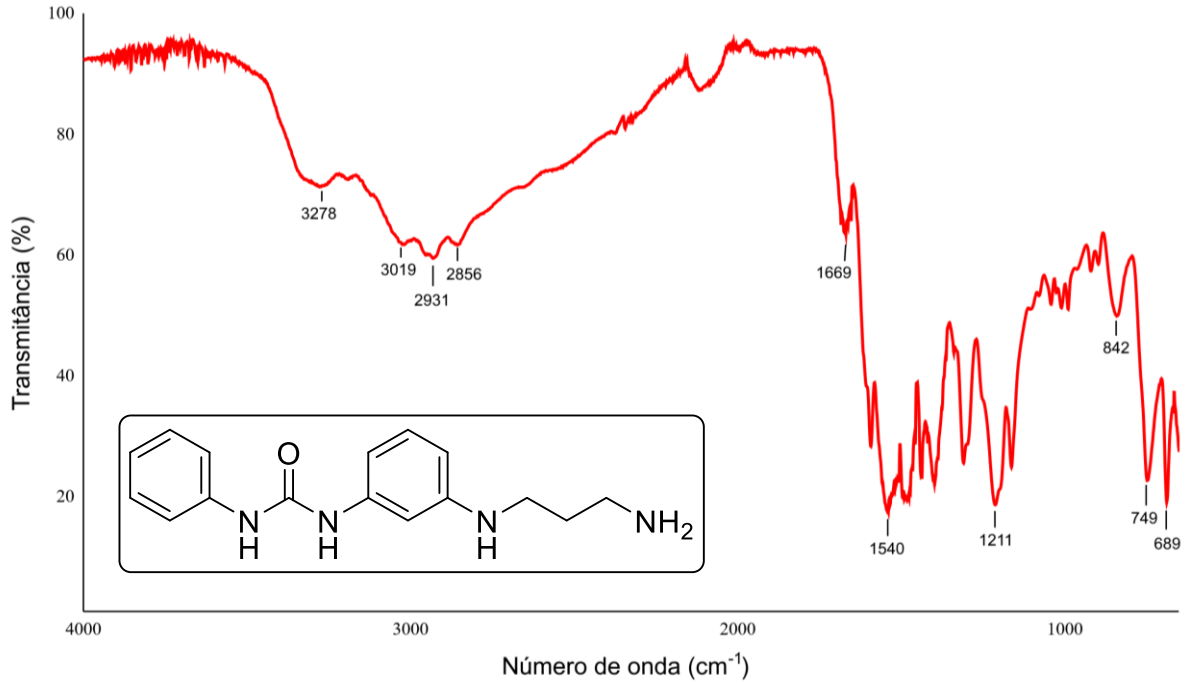
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **20a**.



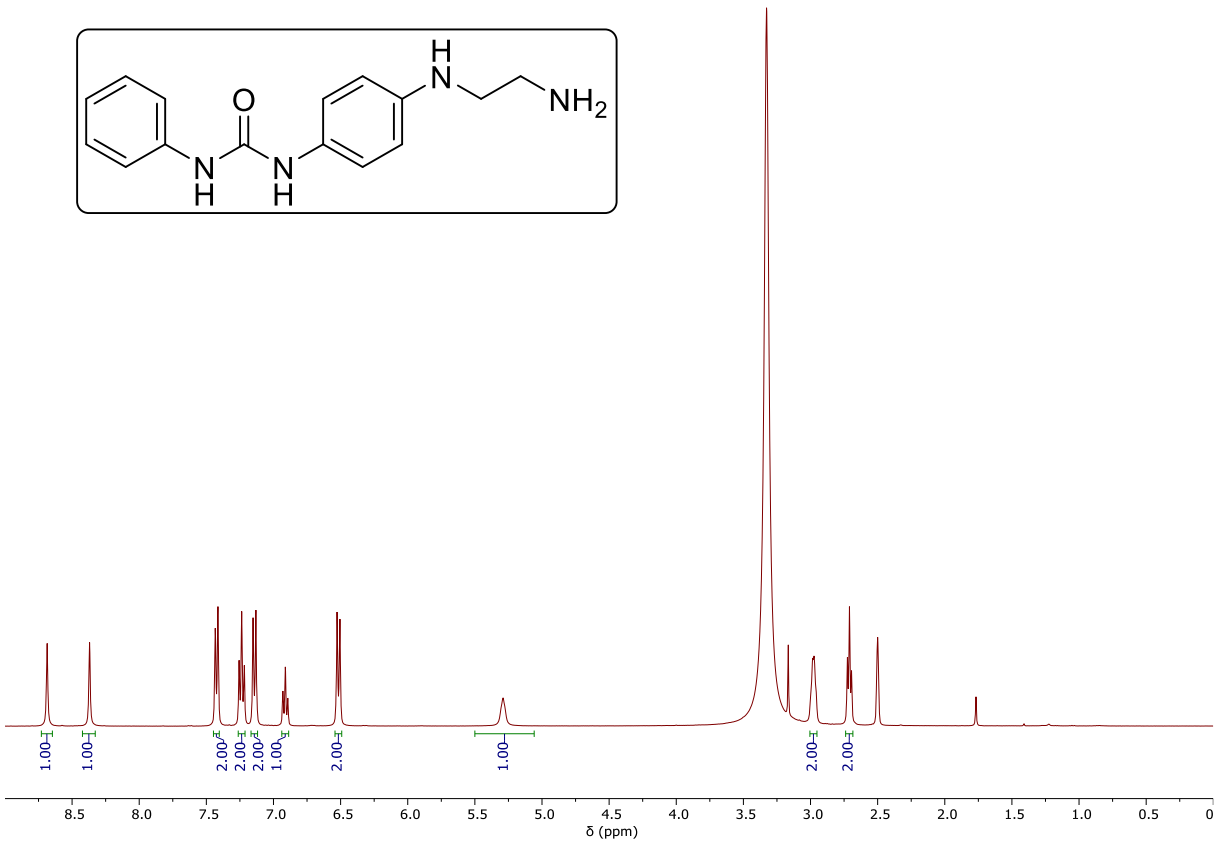
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **20b**.



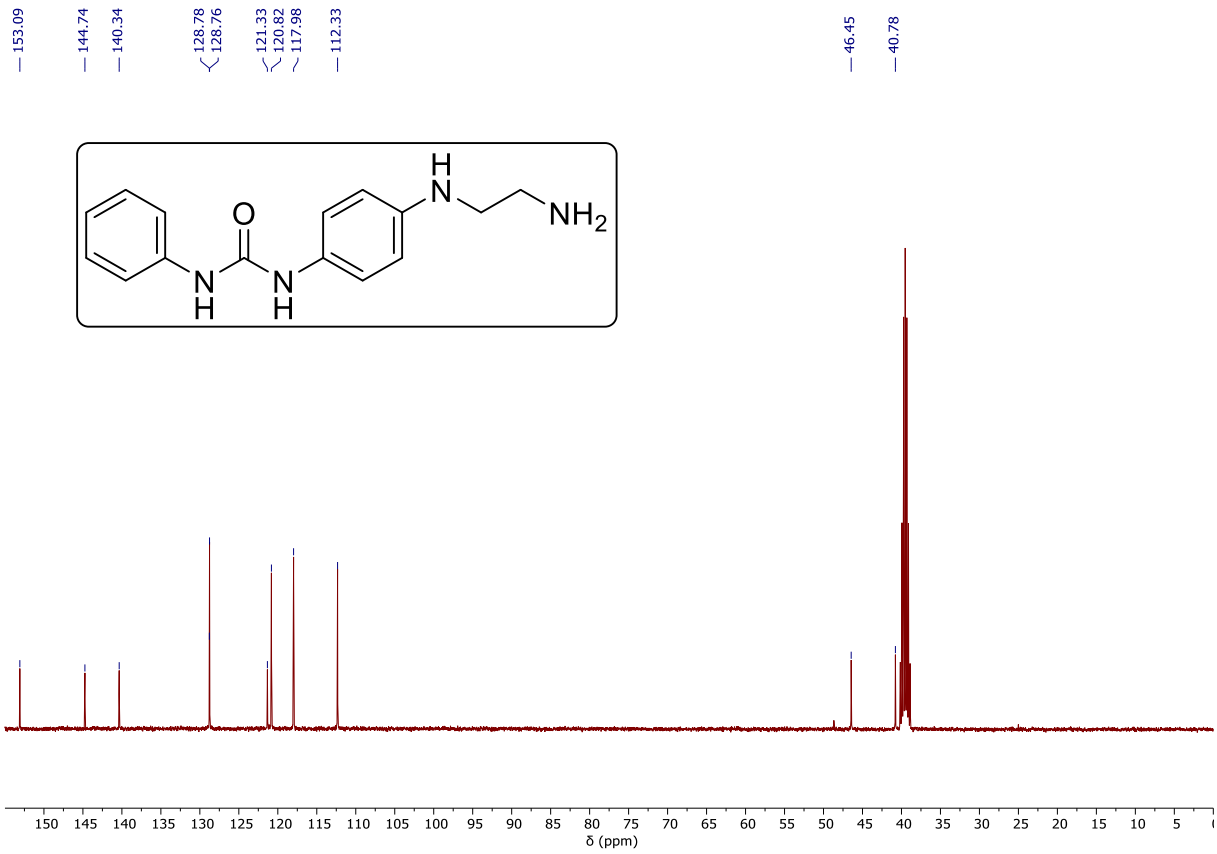
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **20b**.



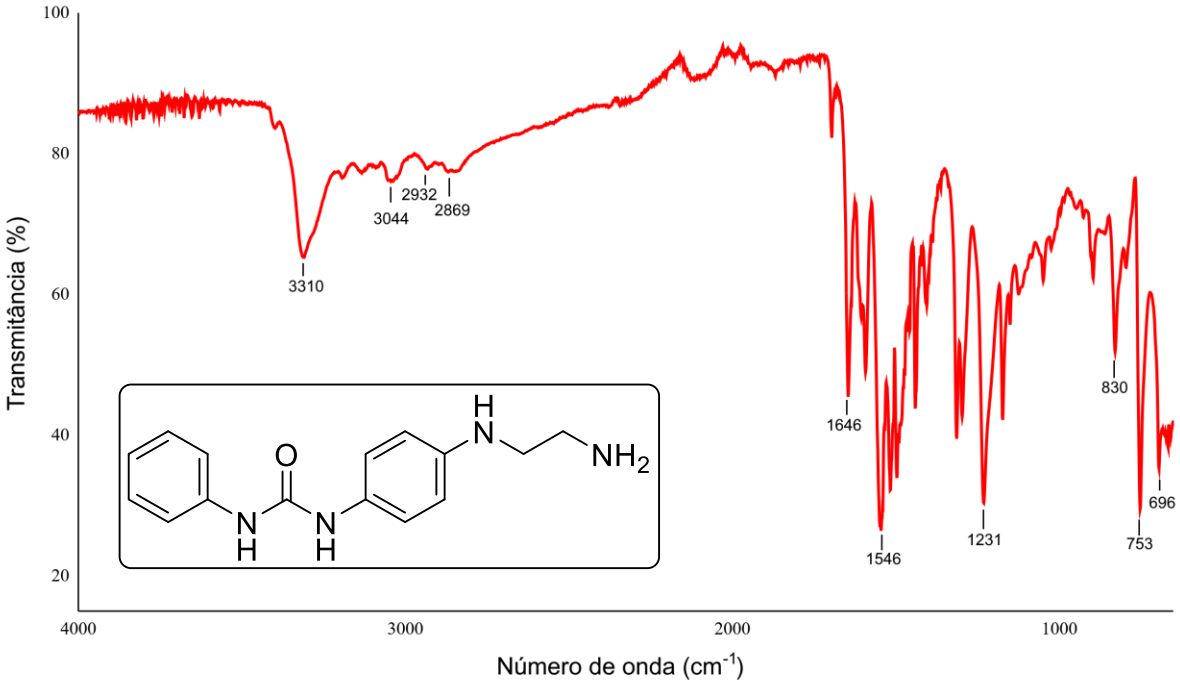
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **20b**.



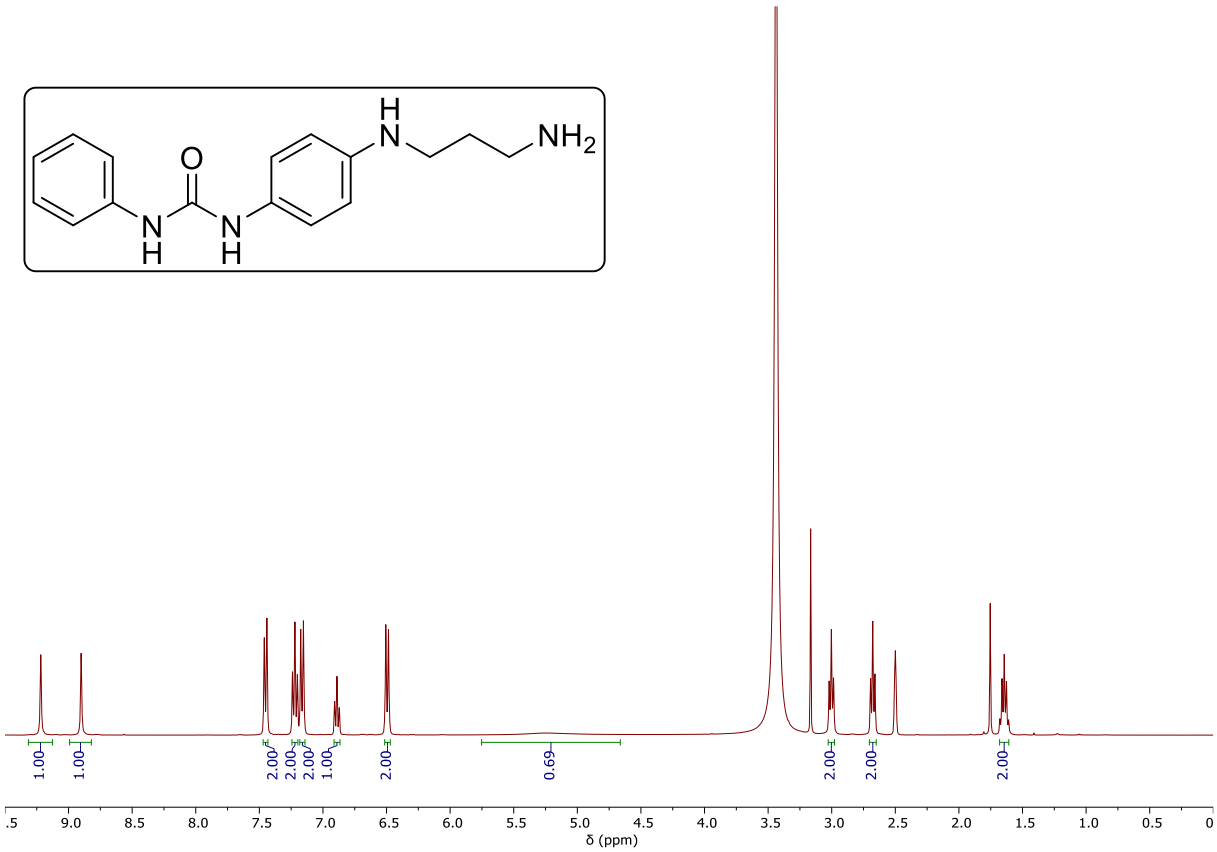
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **20c**.



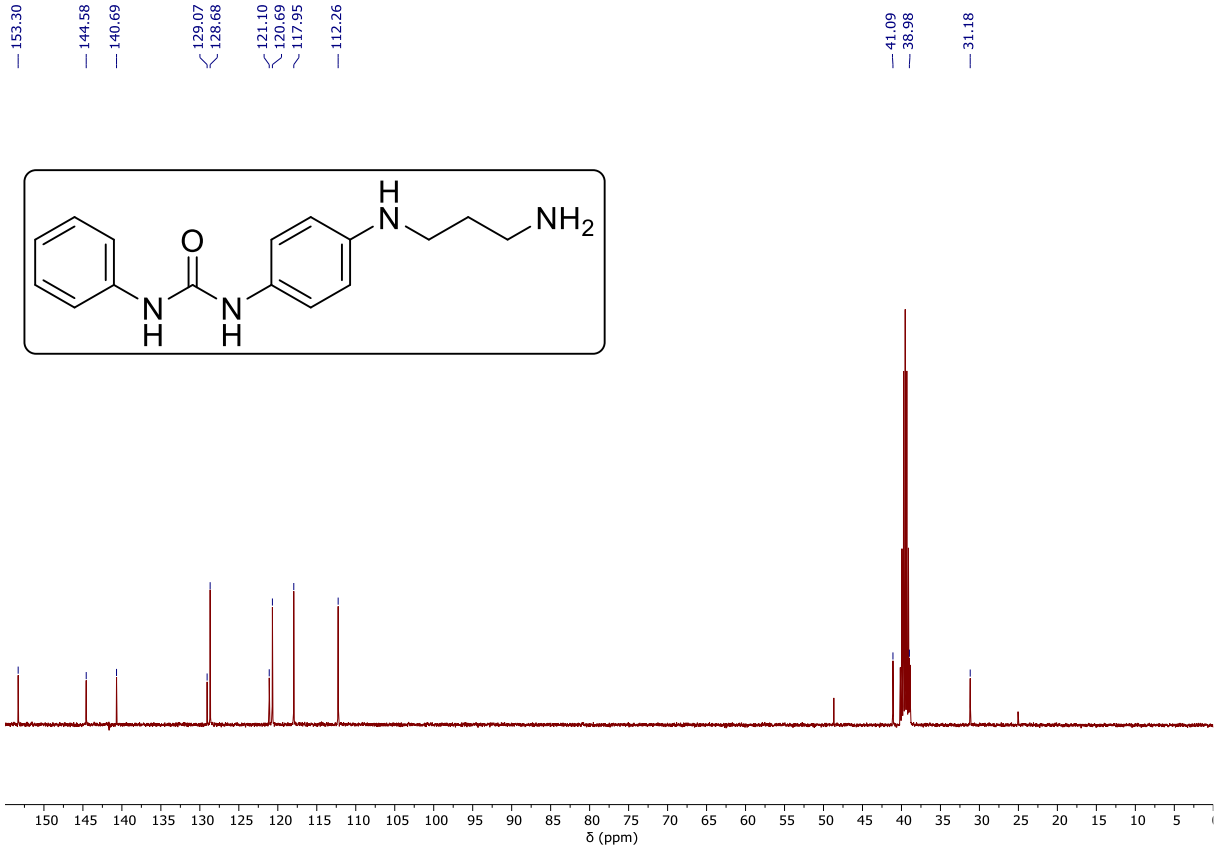
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **20c**.



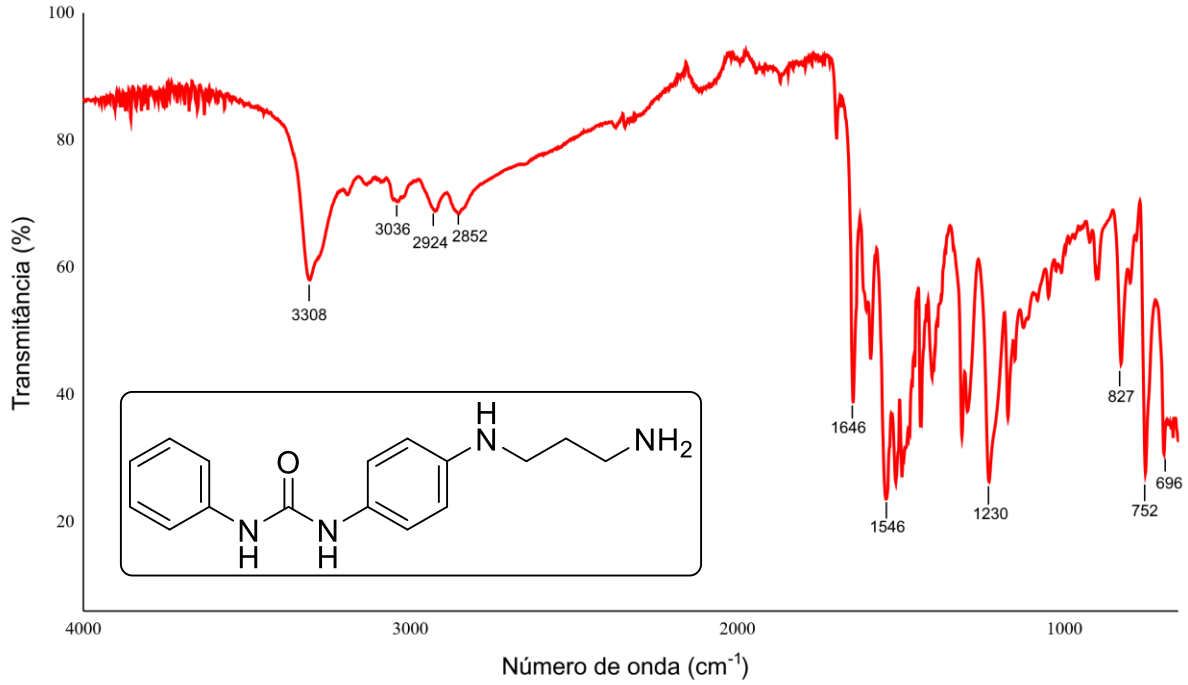
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **20c**.



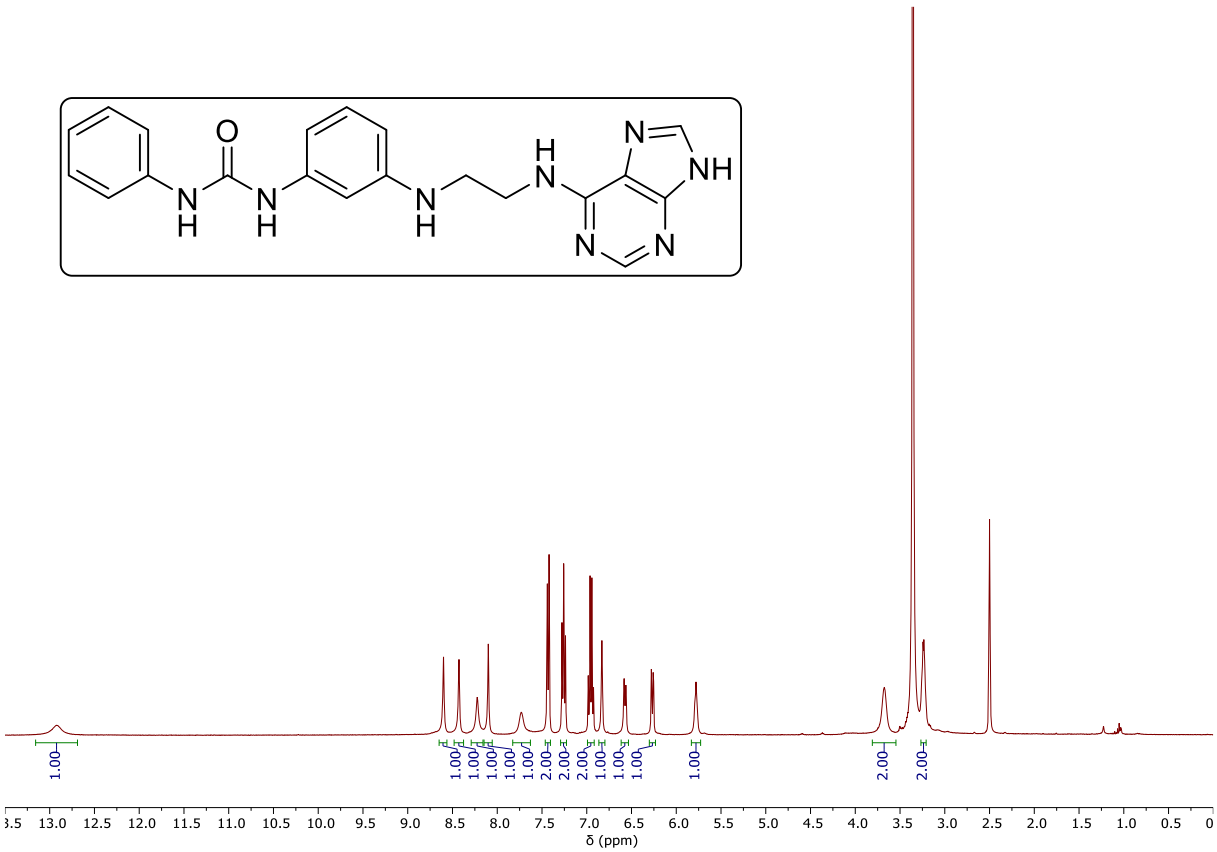
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **20d**.



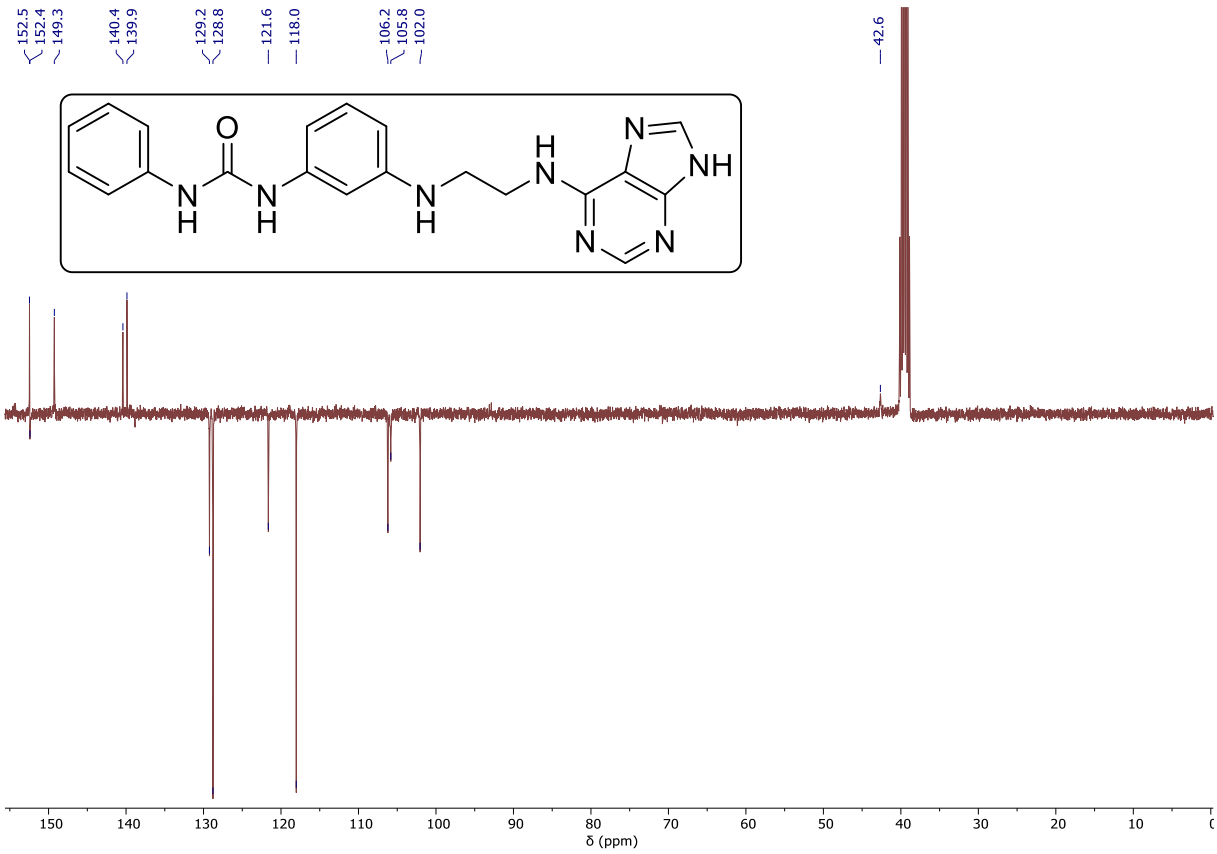
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **20d**.



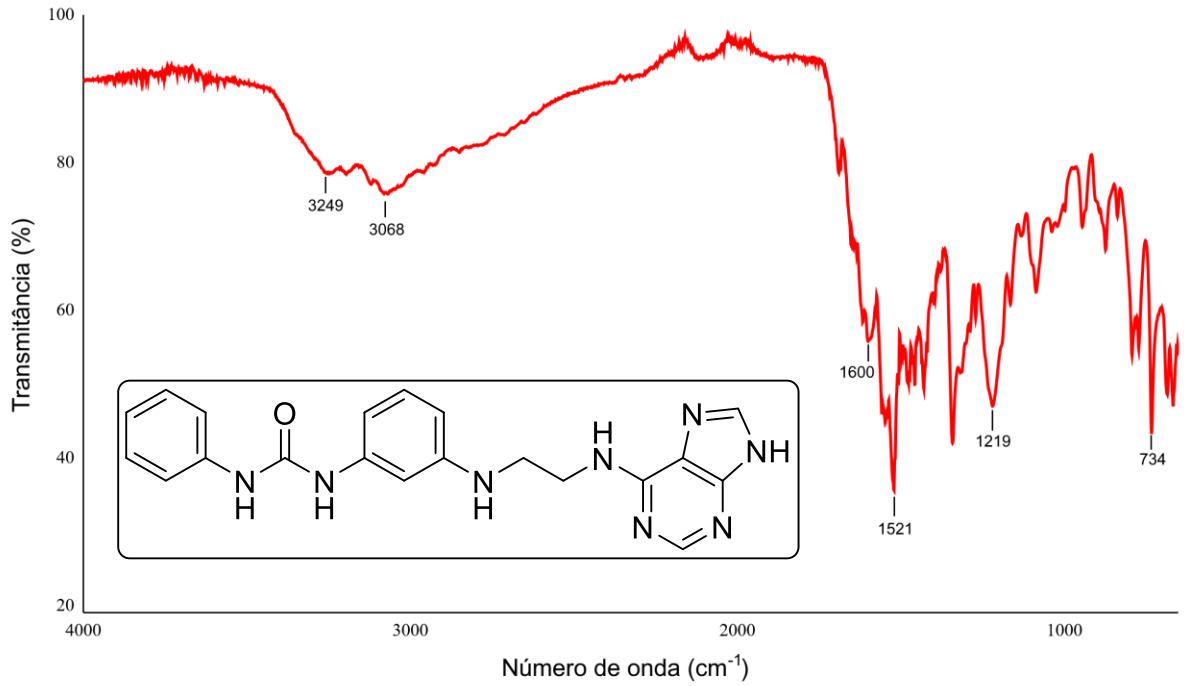
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **20d**.



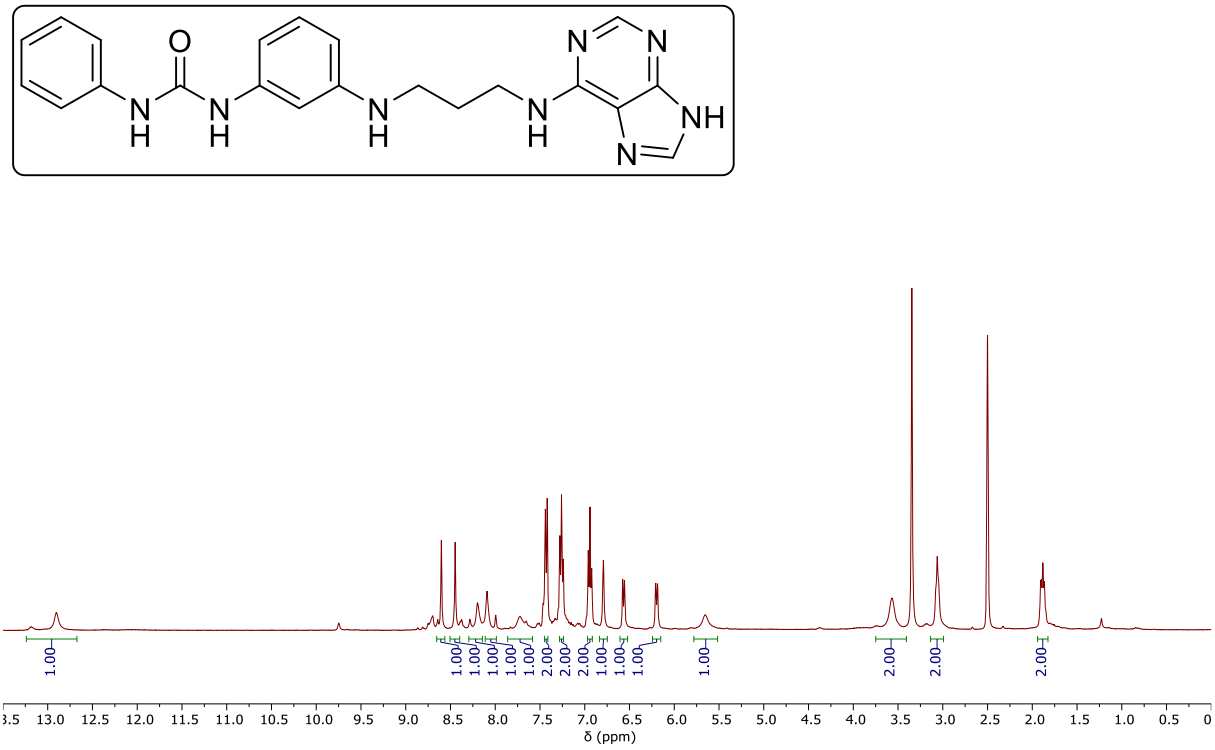
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **21a**.



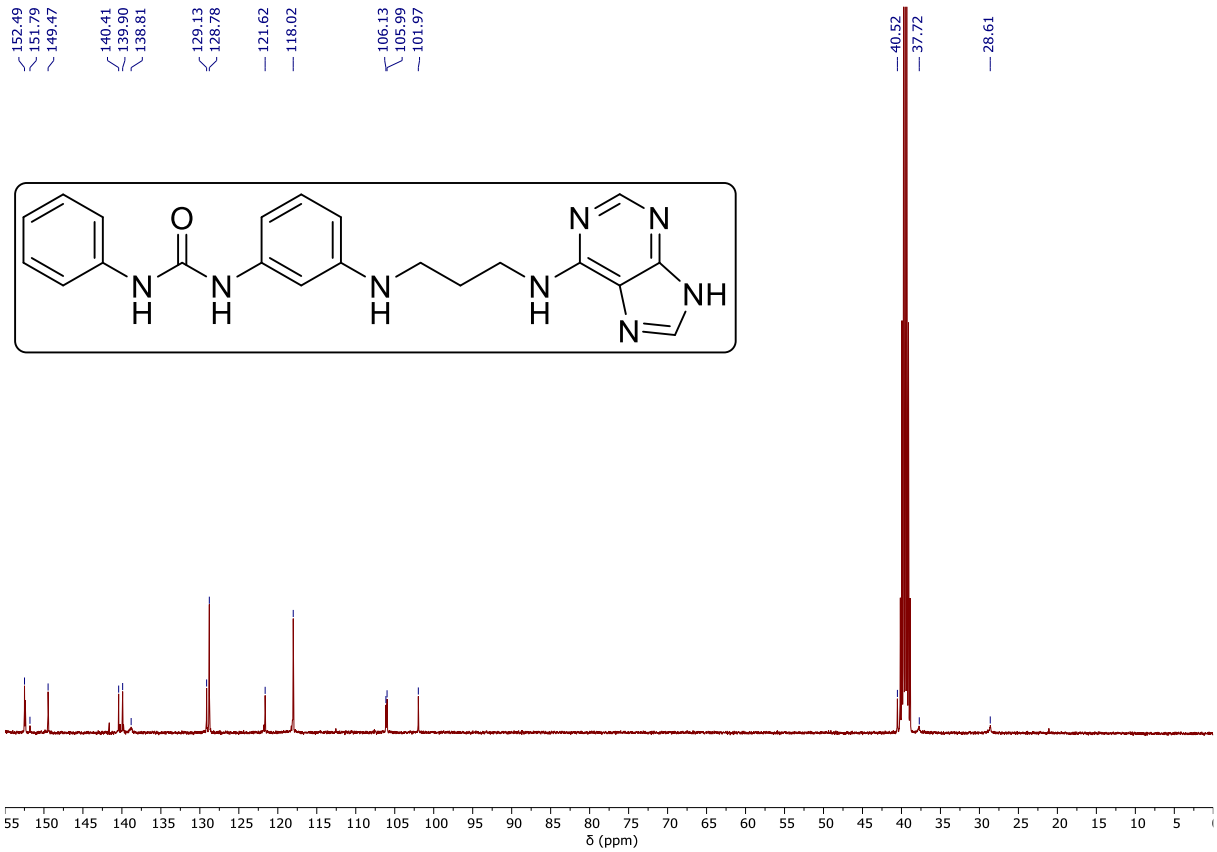
Espectro de RMN APT de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **21a**.



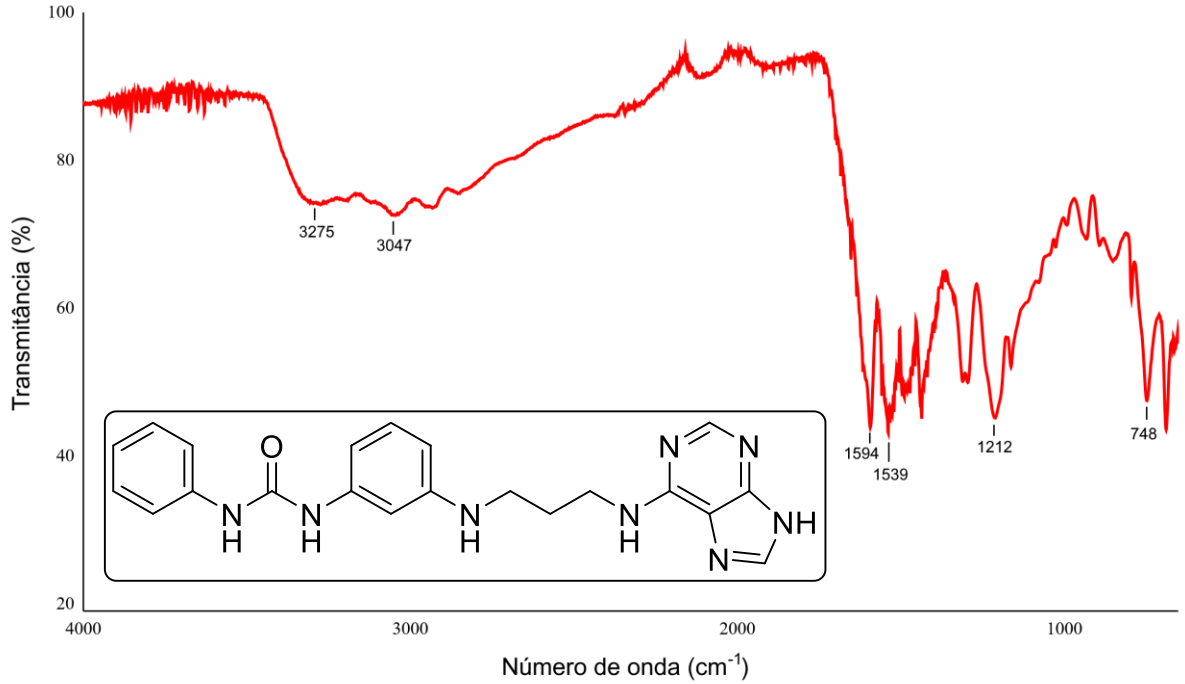
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **21a**.



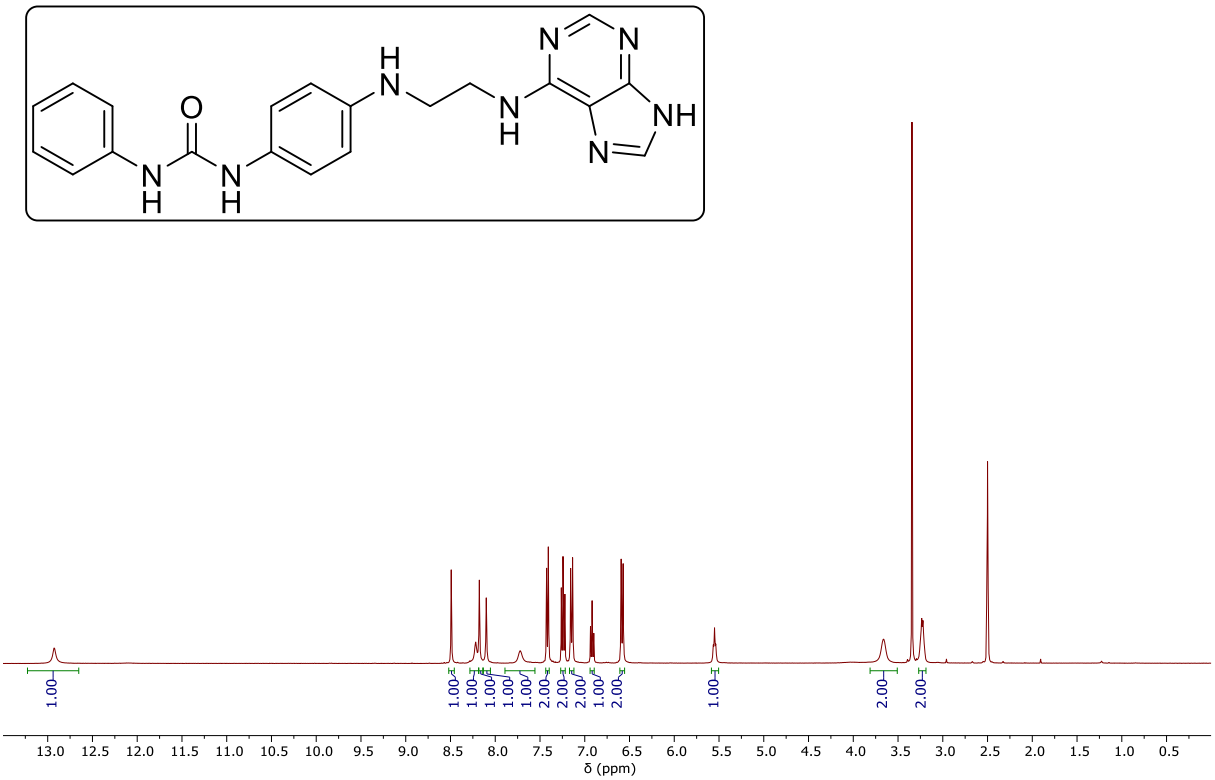
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **21b**.



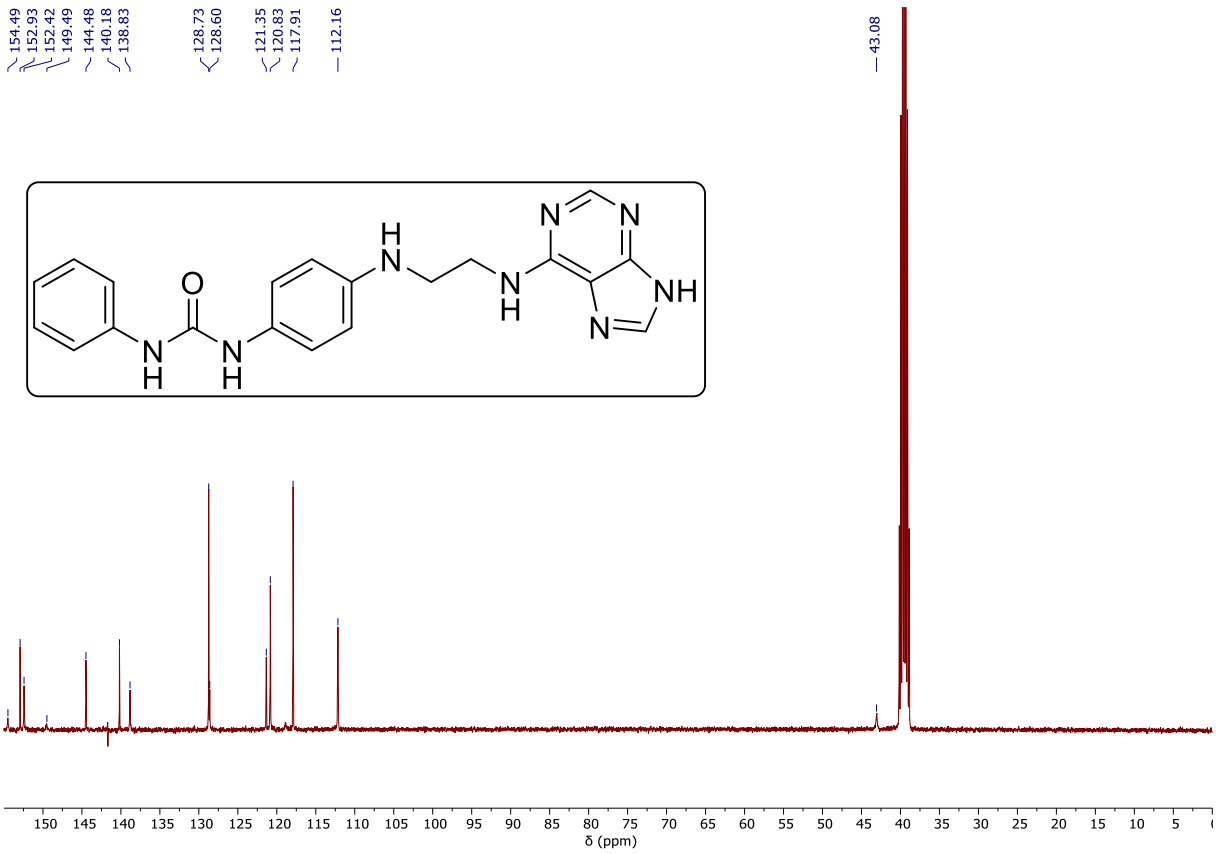
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **21b**.



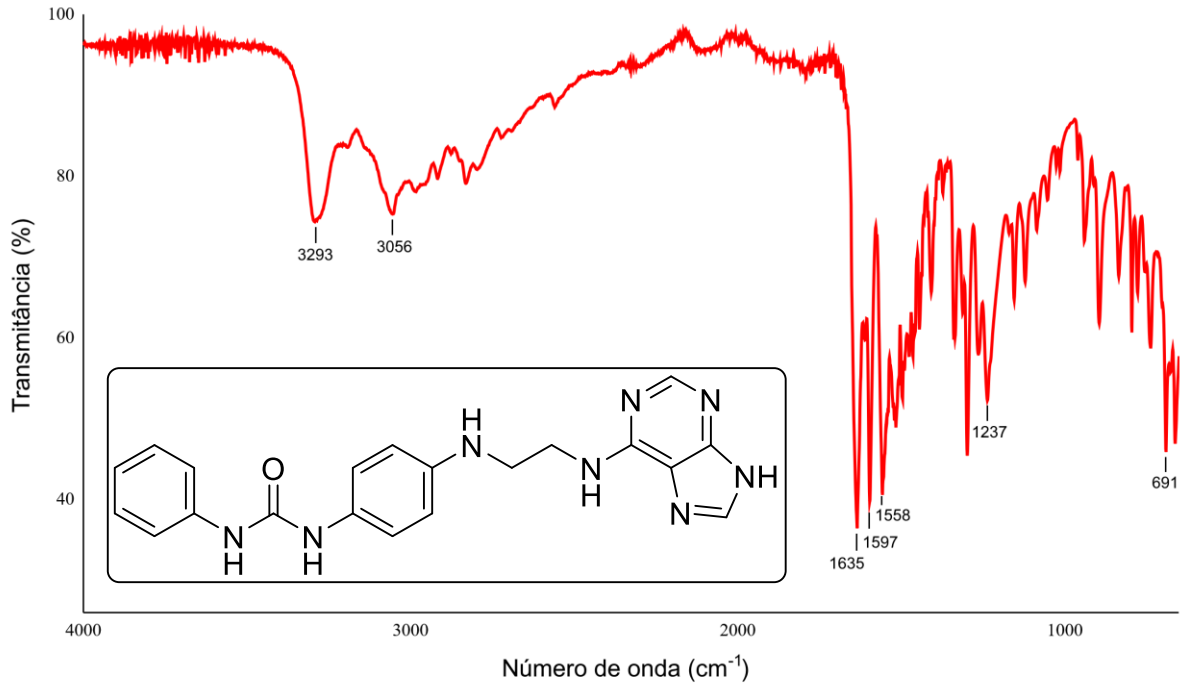
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **21b**.



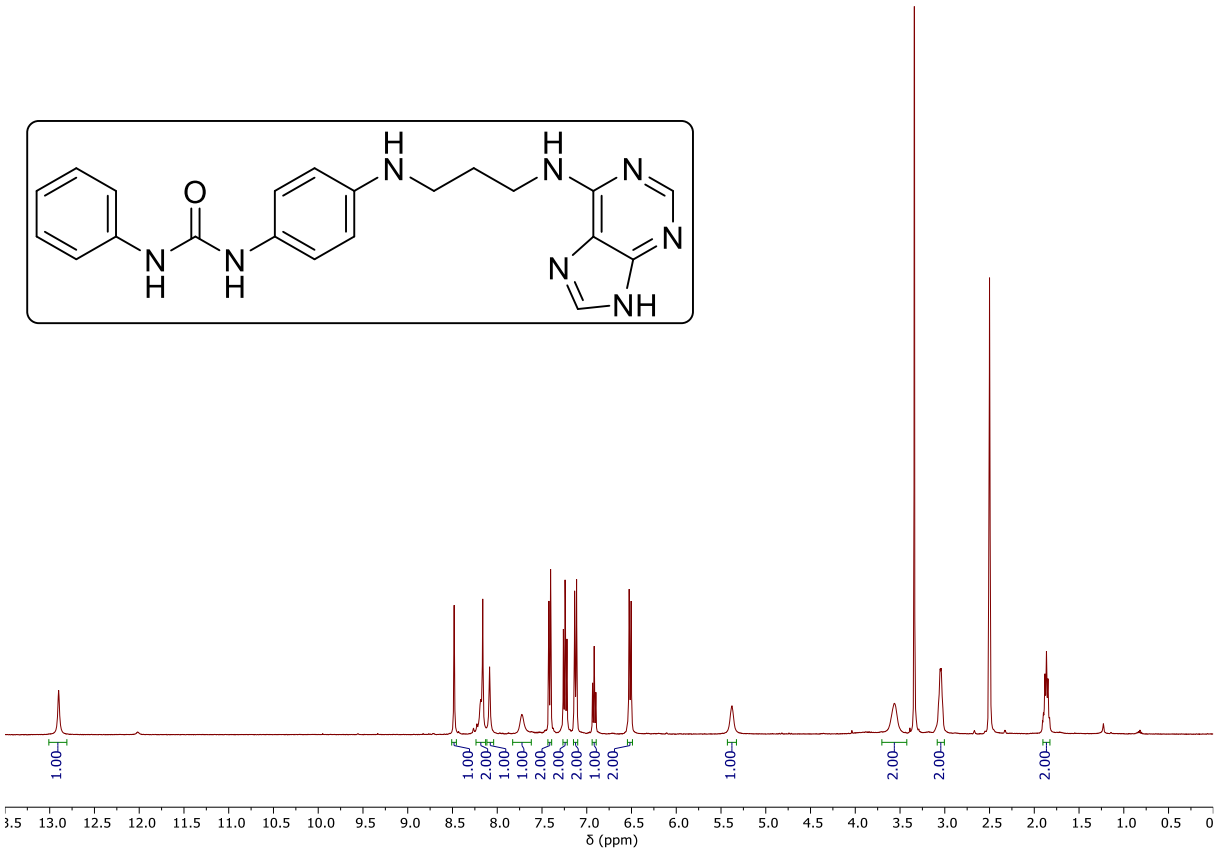
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **21c**.



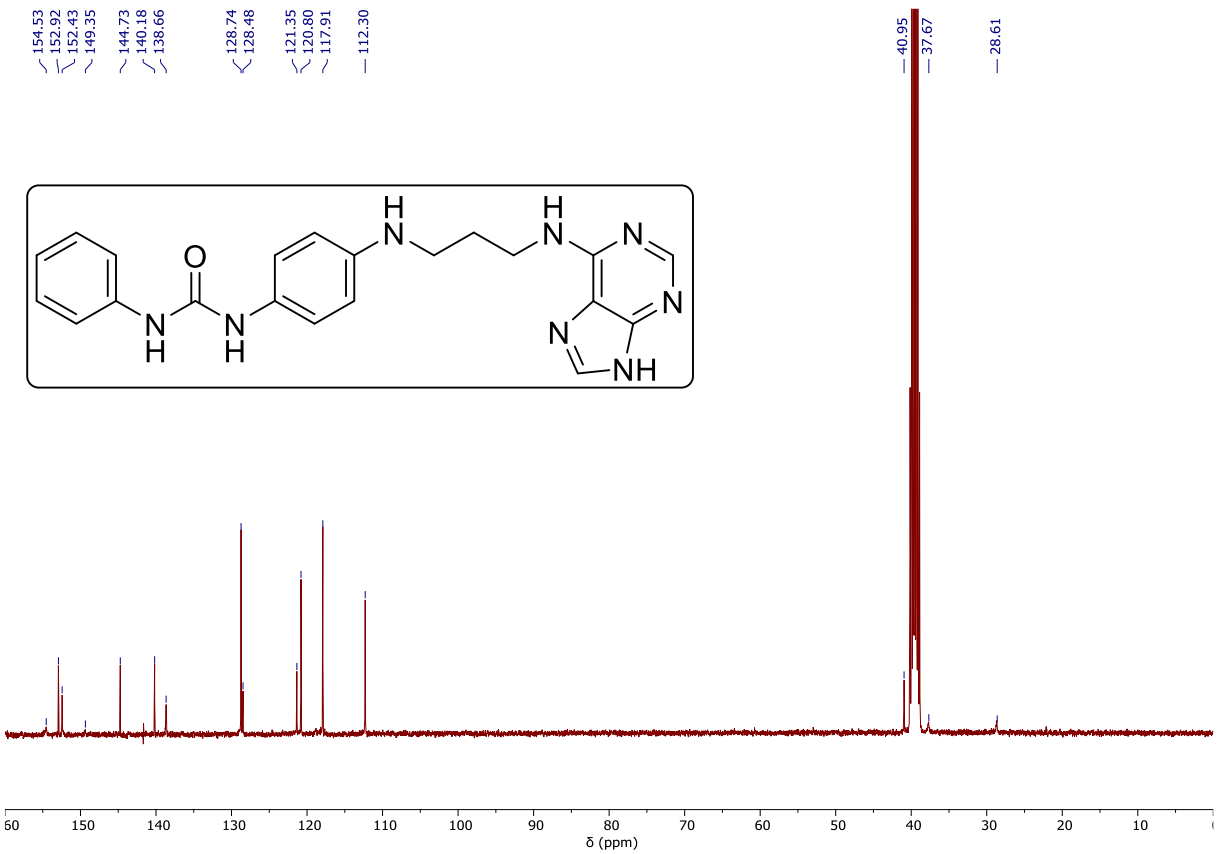
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **21c**.



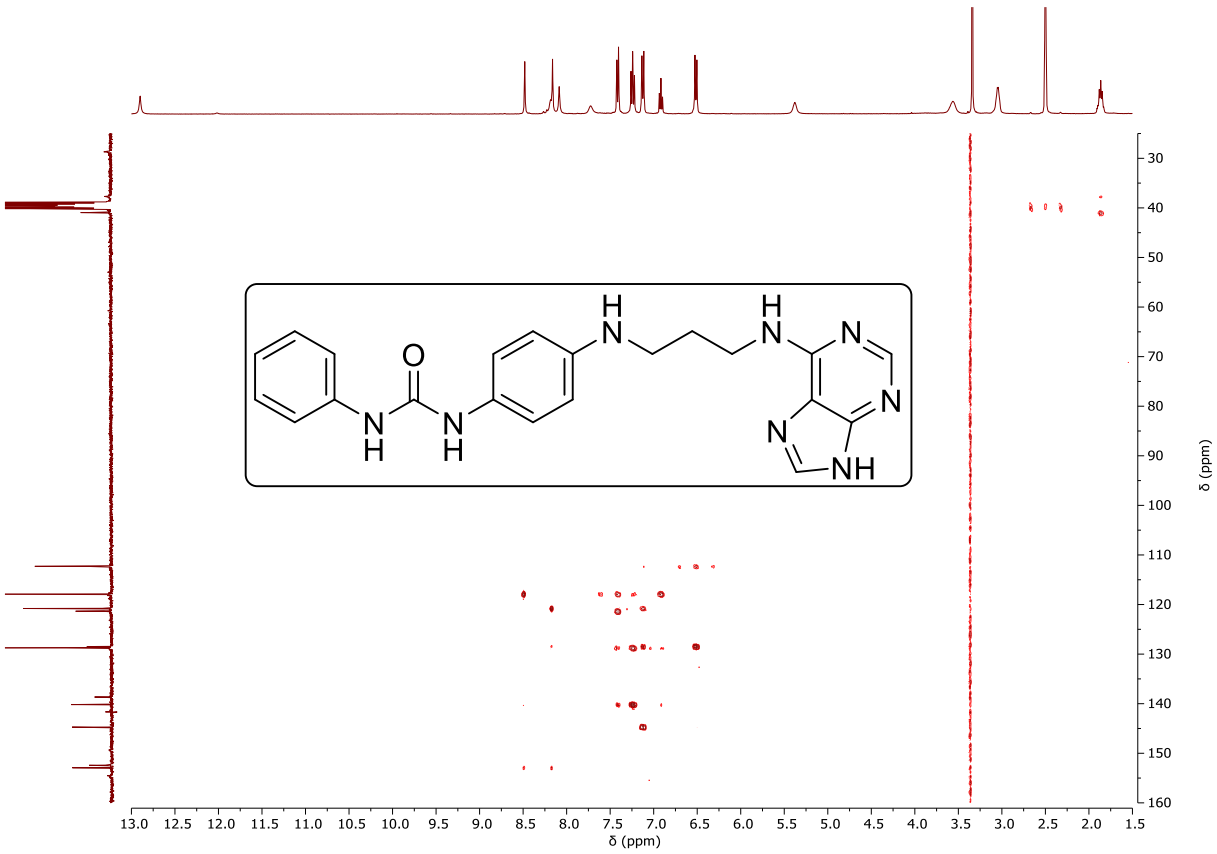
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **21c**.



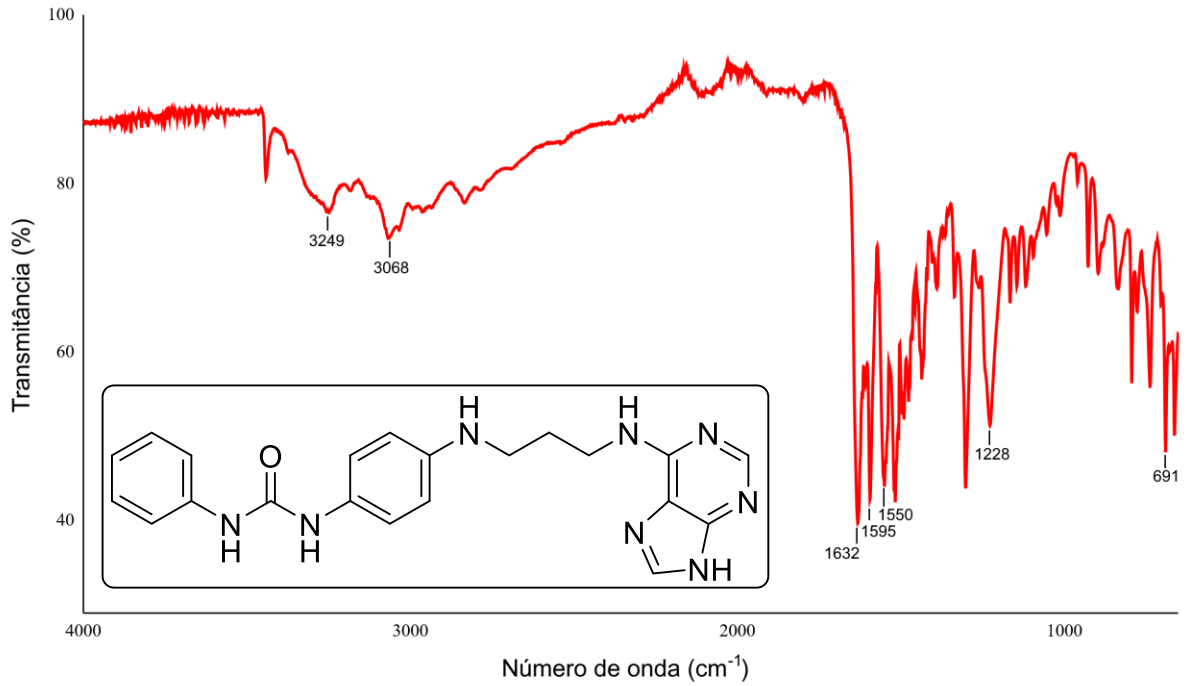
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **21d**.



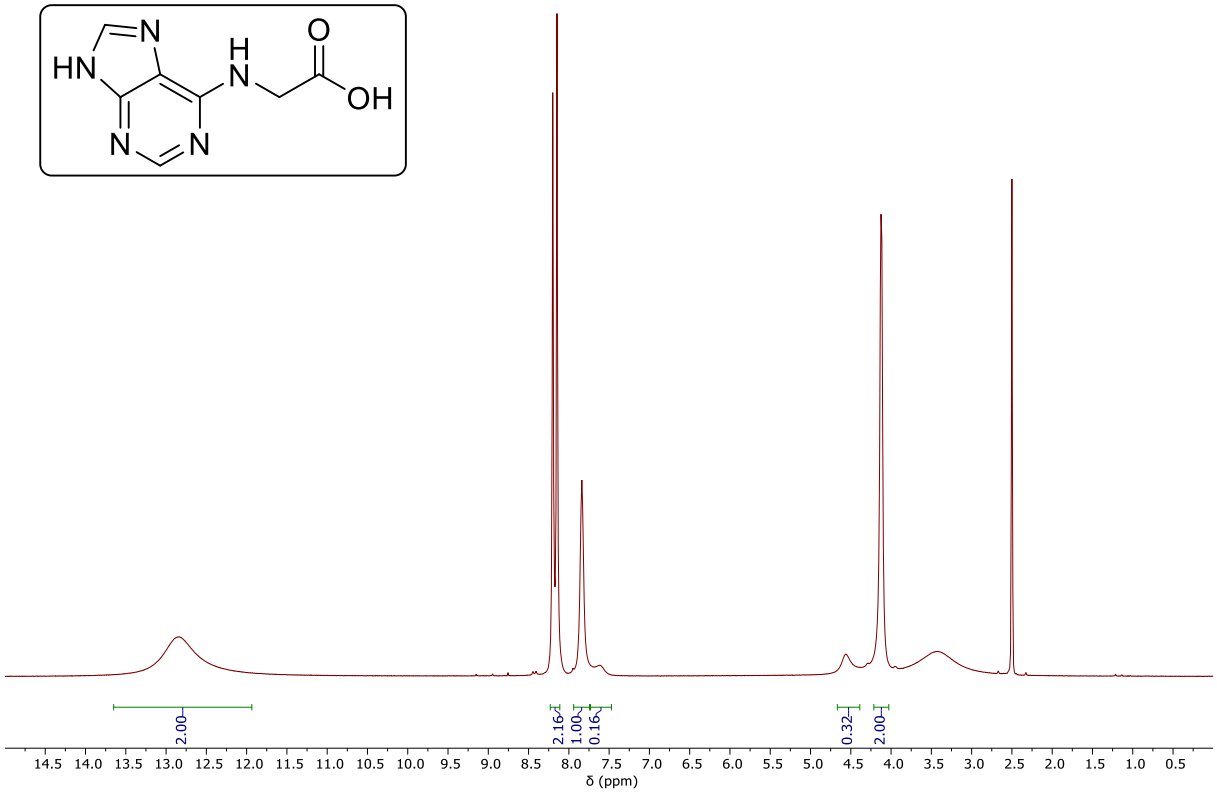
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **21d**.



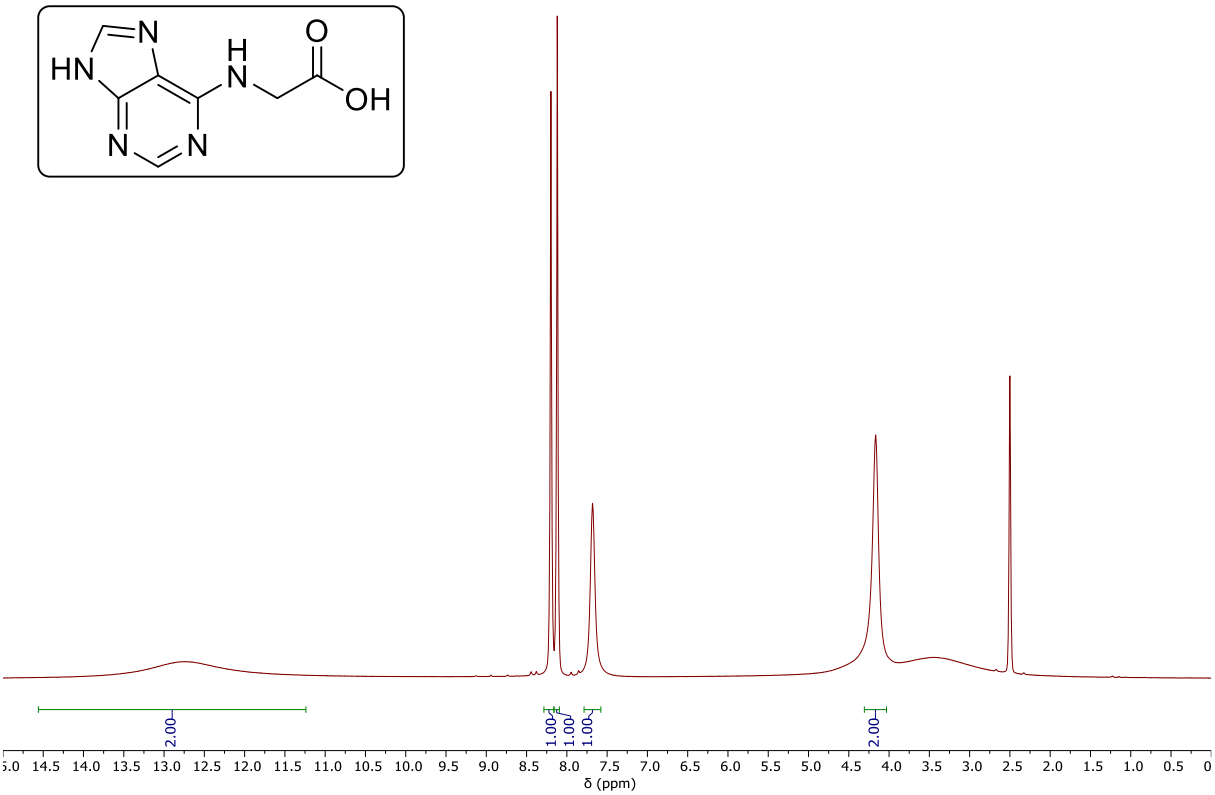
Espectro de RMN HBMC (400 – 100 MHz, DMSO-d_6) do produto **21d**.



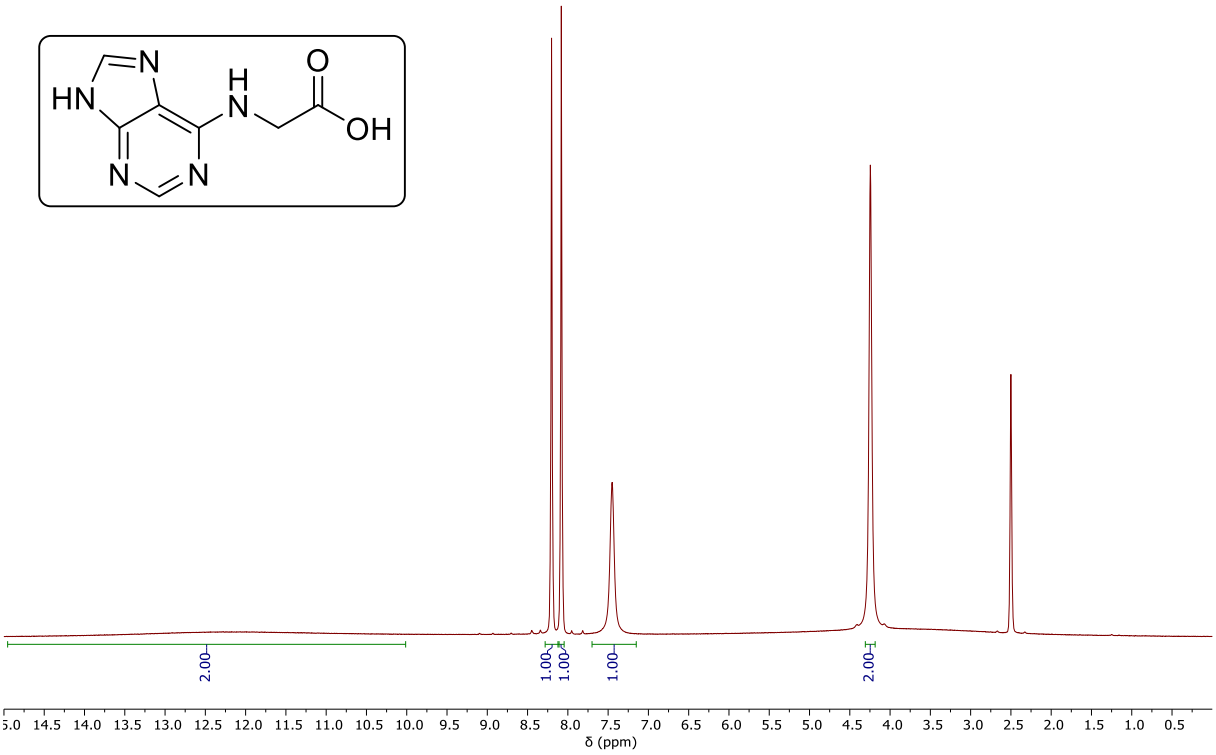
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **21d**.



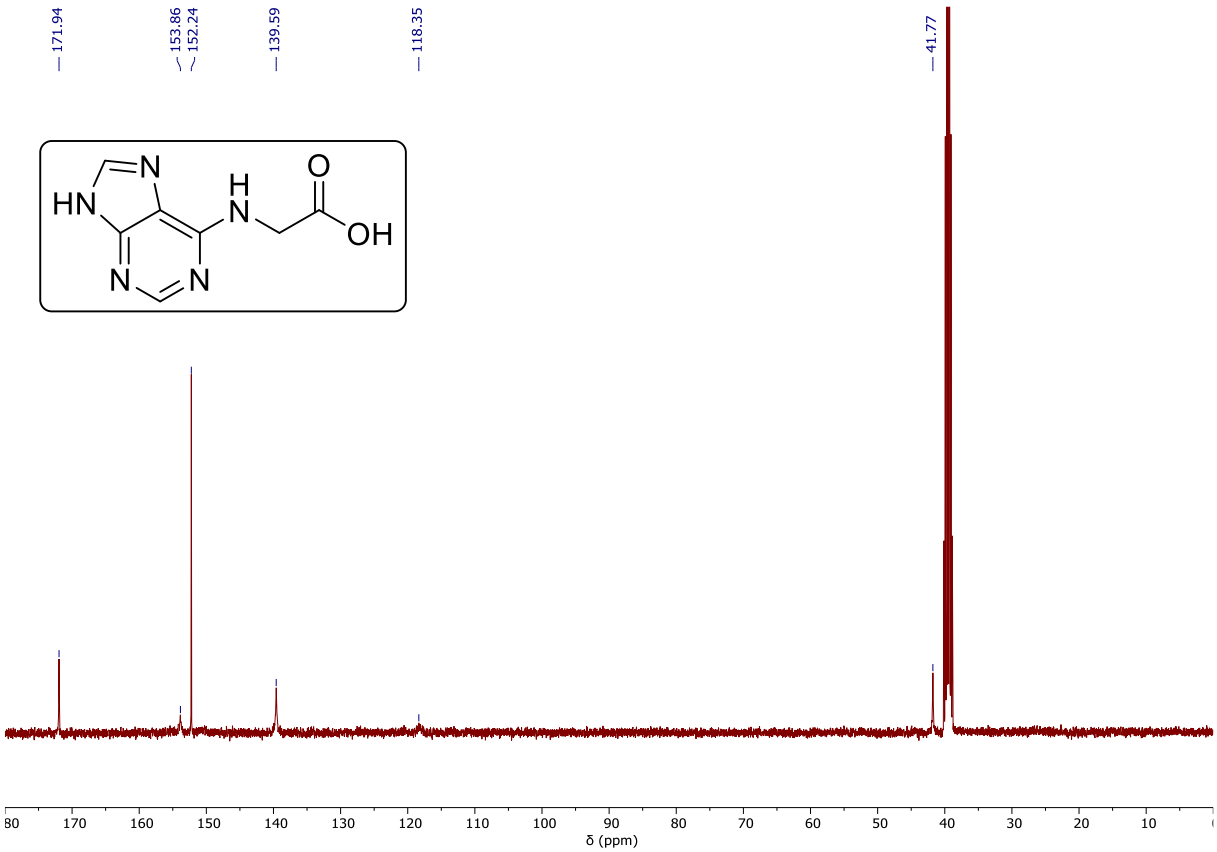
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 20 ºC) do produto **23a**.



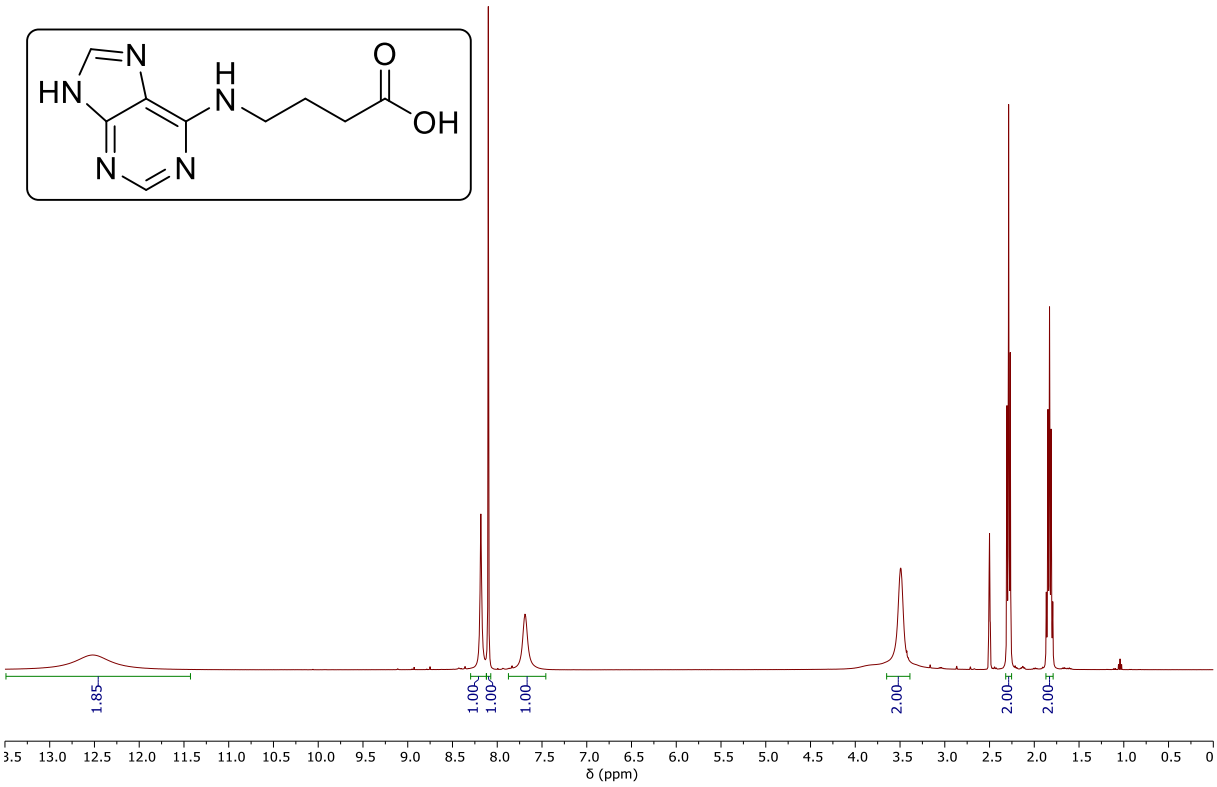
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 40 ºC) do produto **23a**.



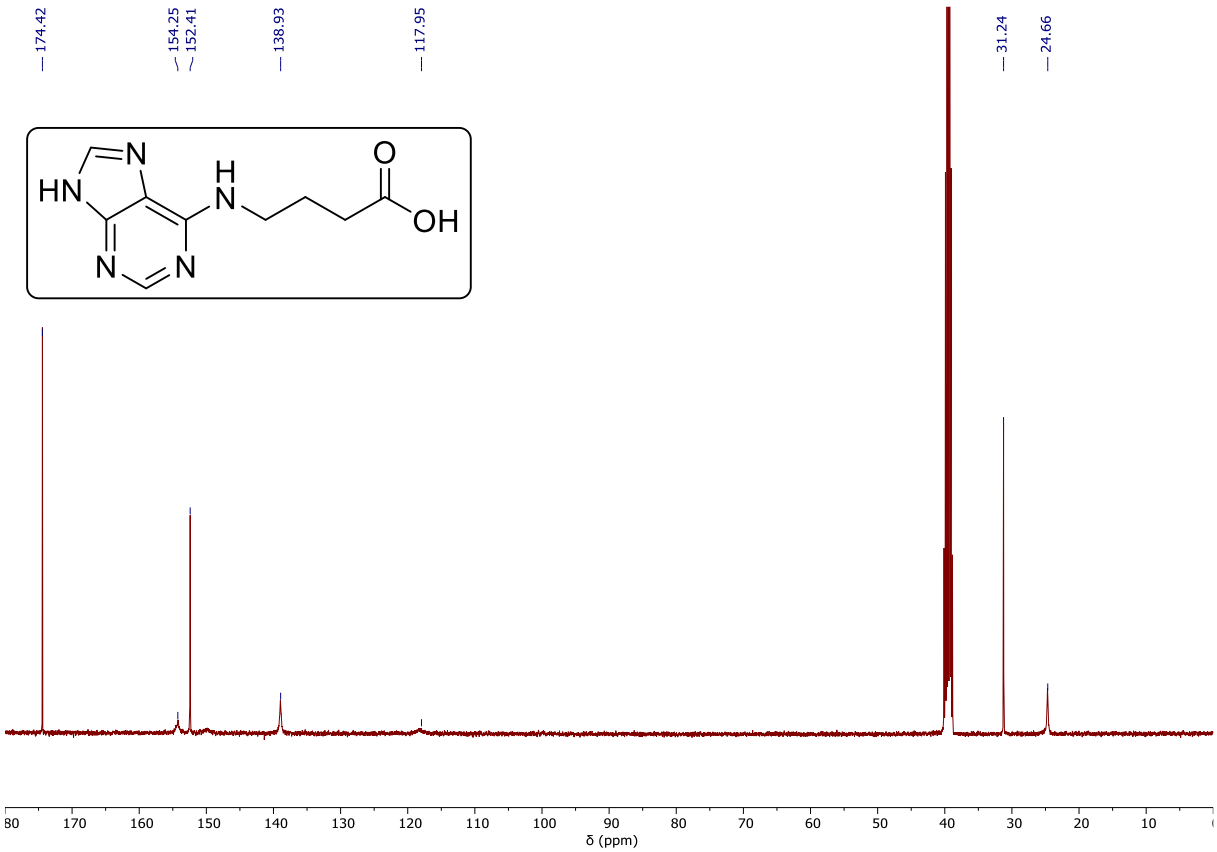
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 70 ºC) do produto **23a**.



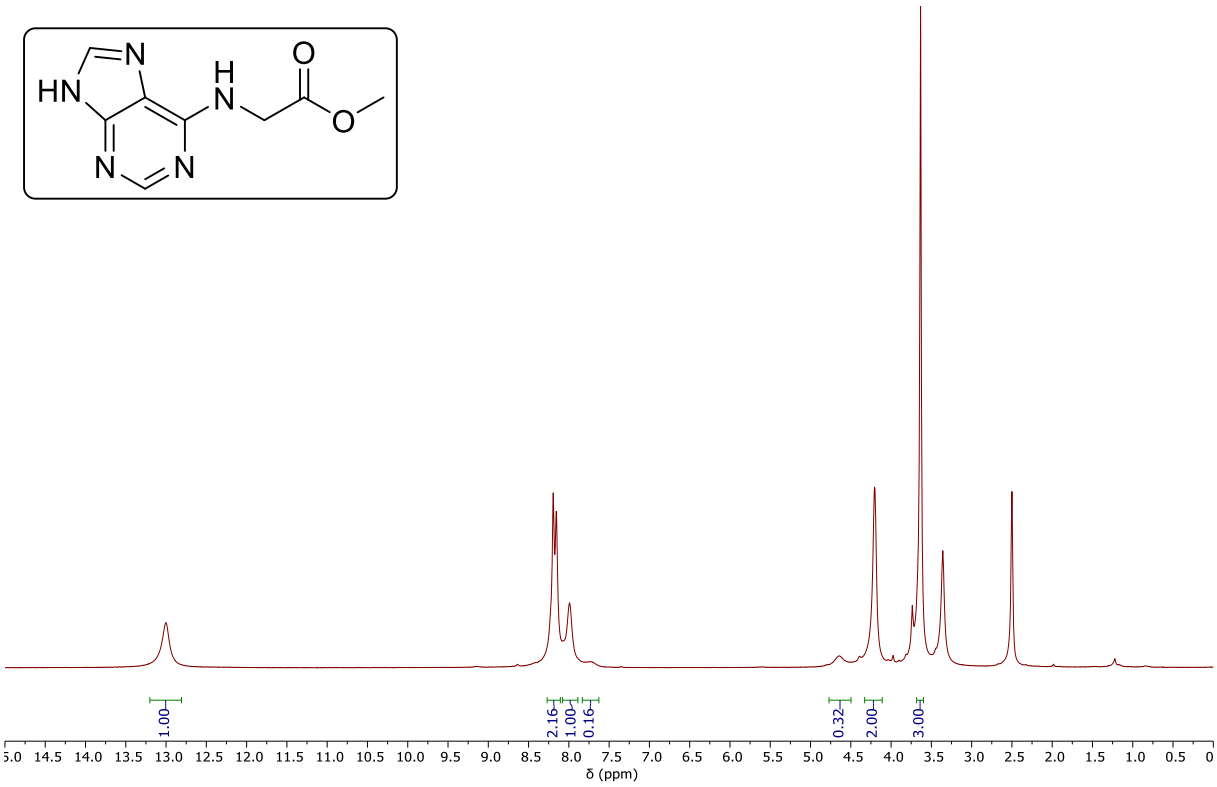
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **23a**.



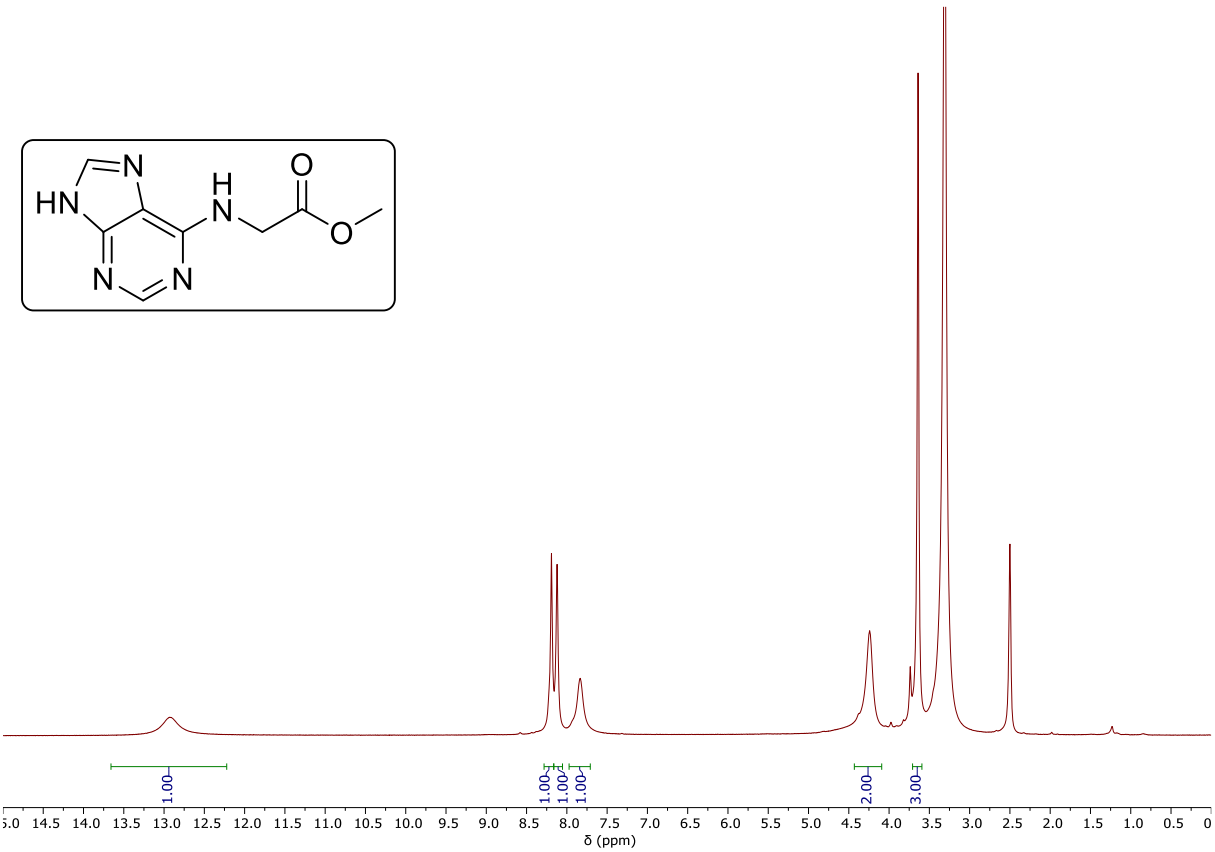
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **23b**.



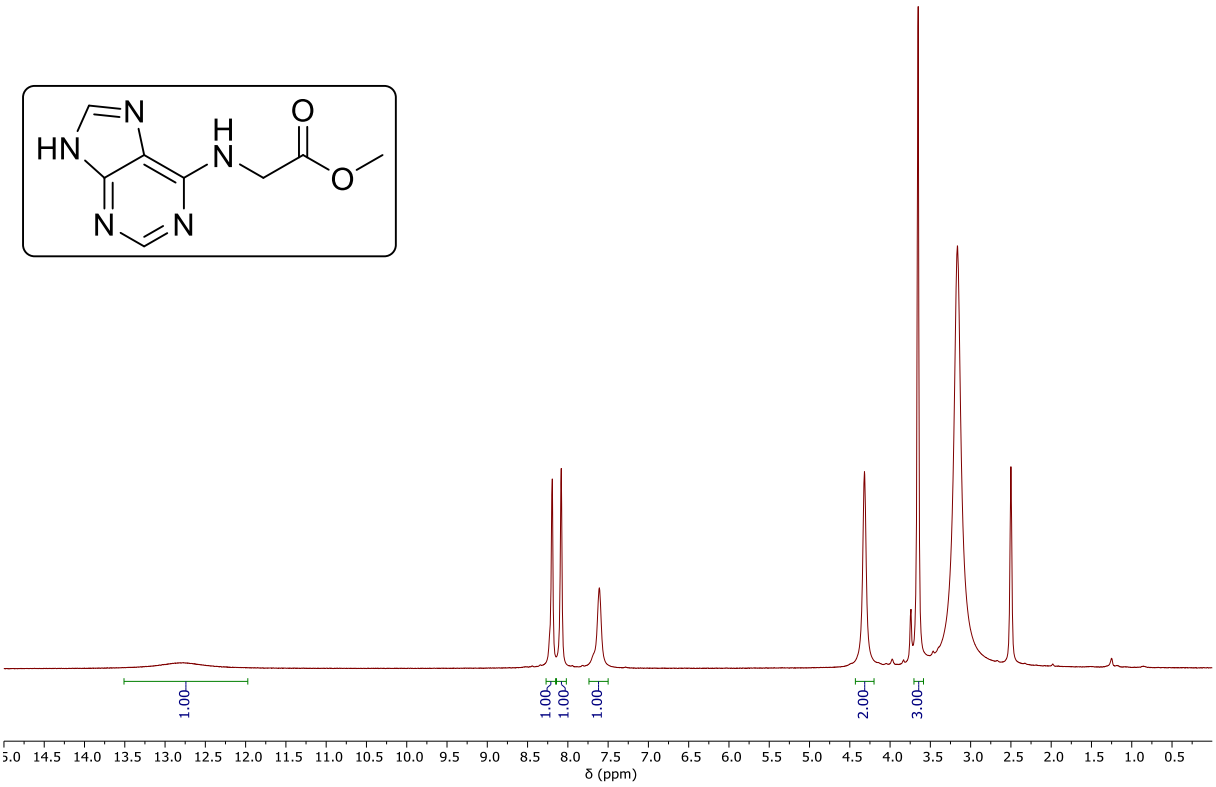
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **23b**.



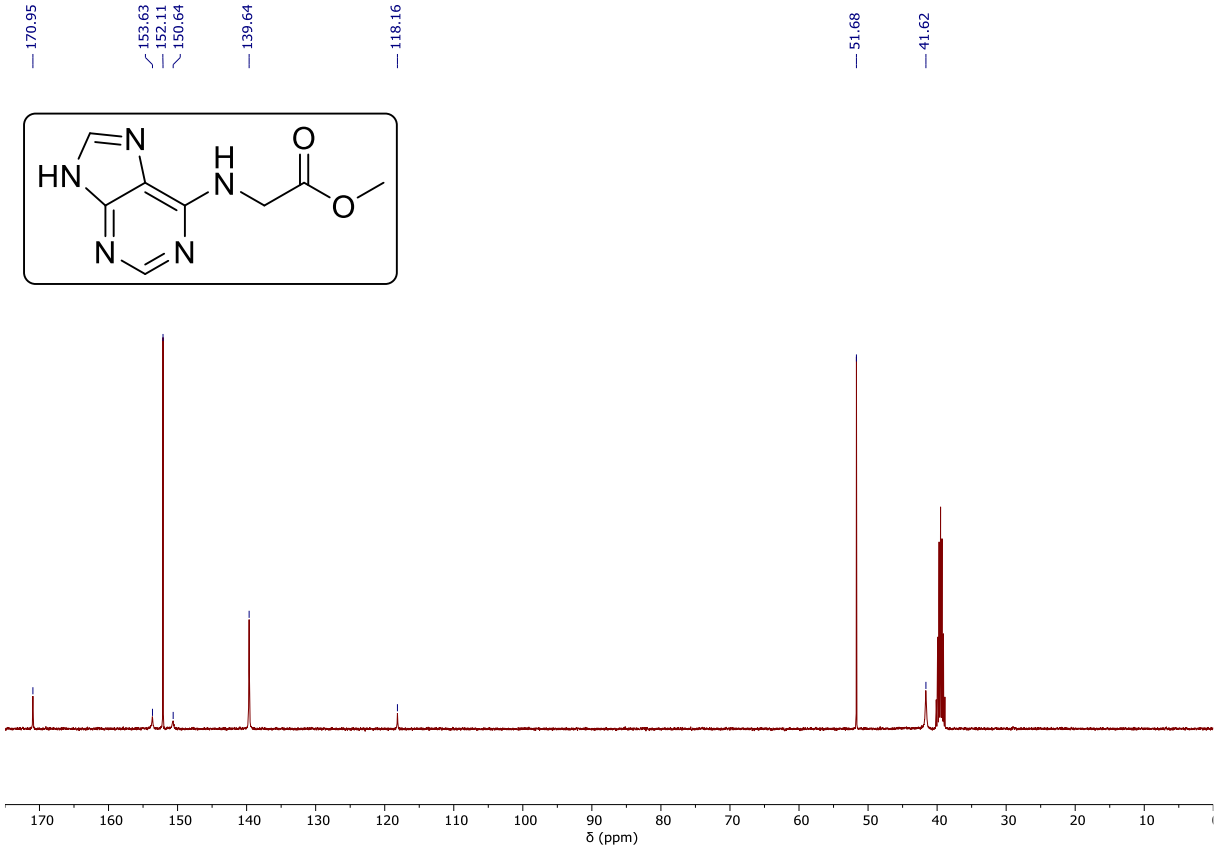
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 20 ºC) do produto **26**.



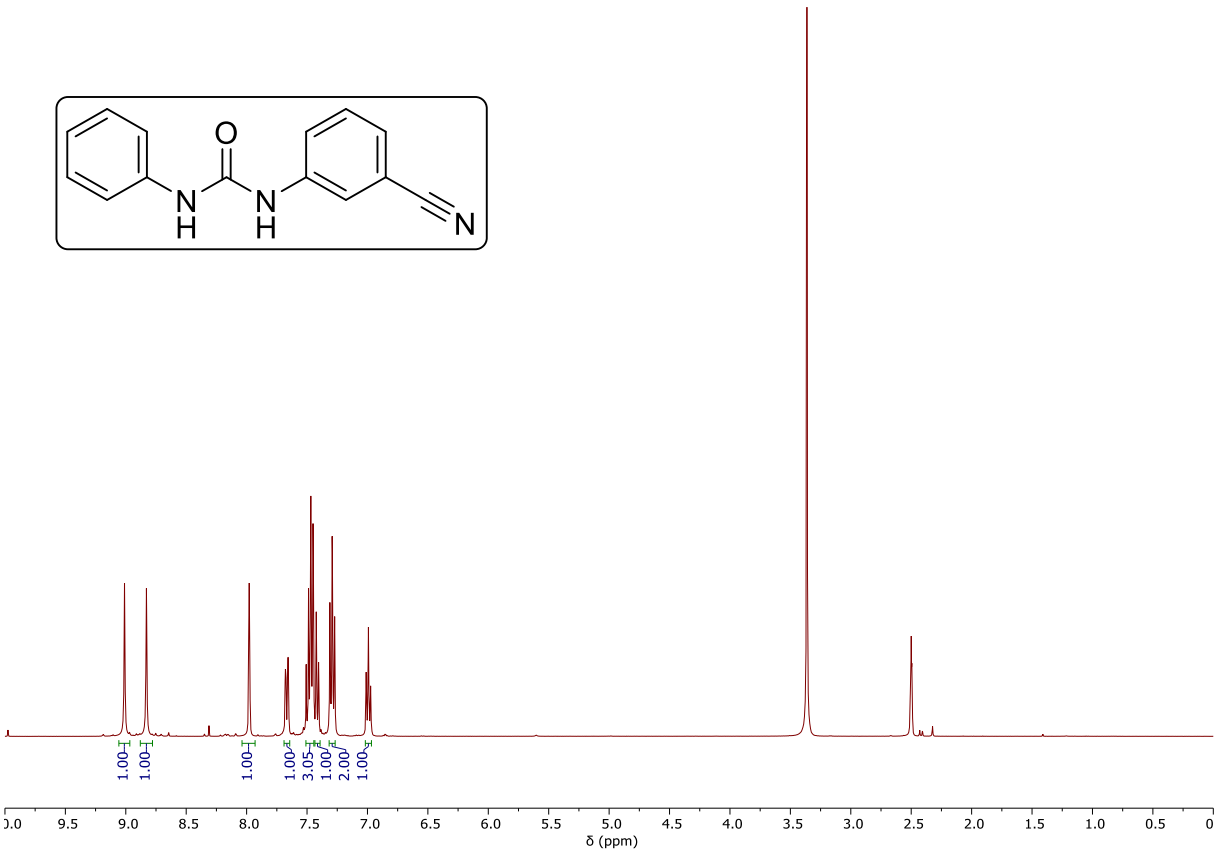
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 40 ºC) do produto **26**.



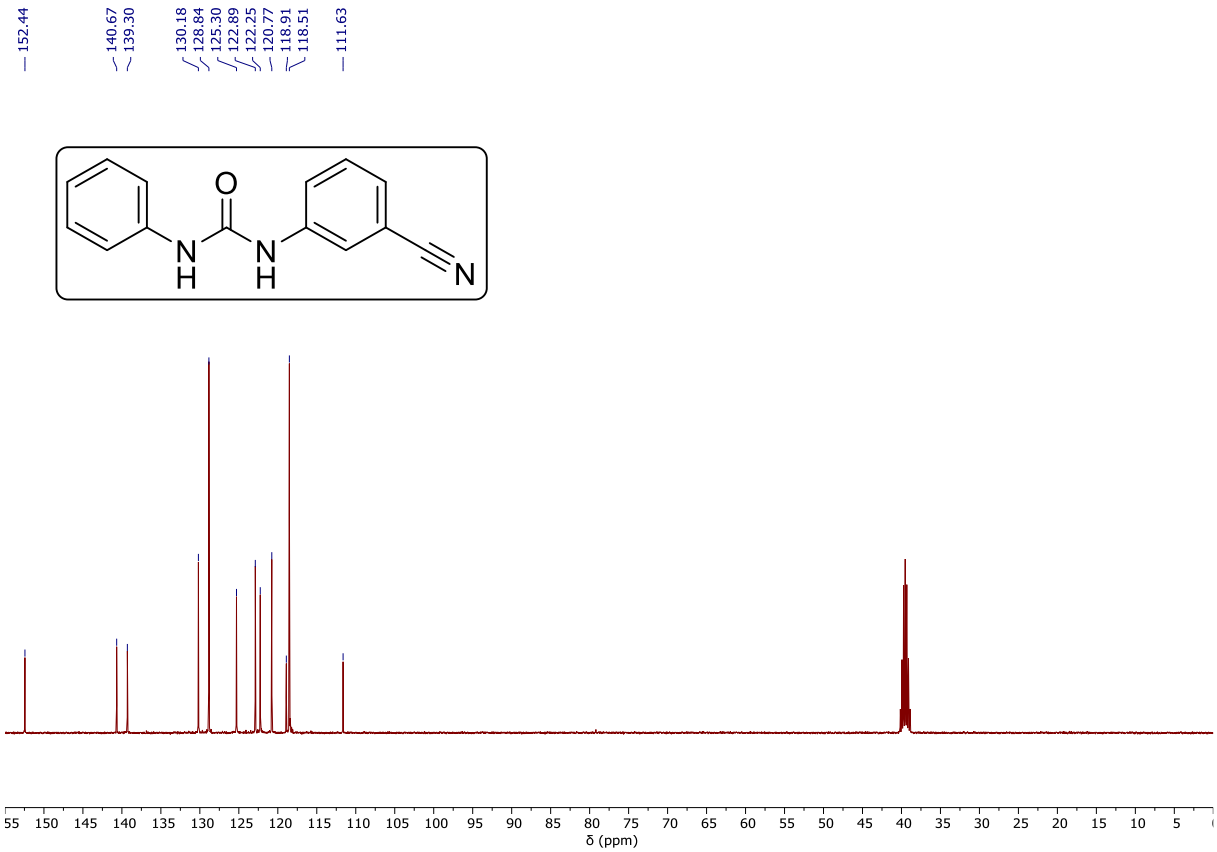
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6, T = 70 ºC) do produto **26**.



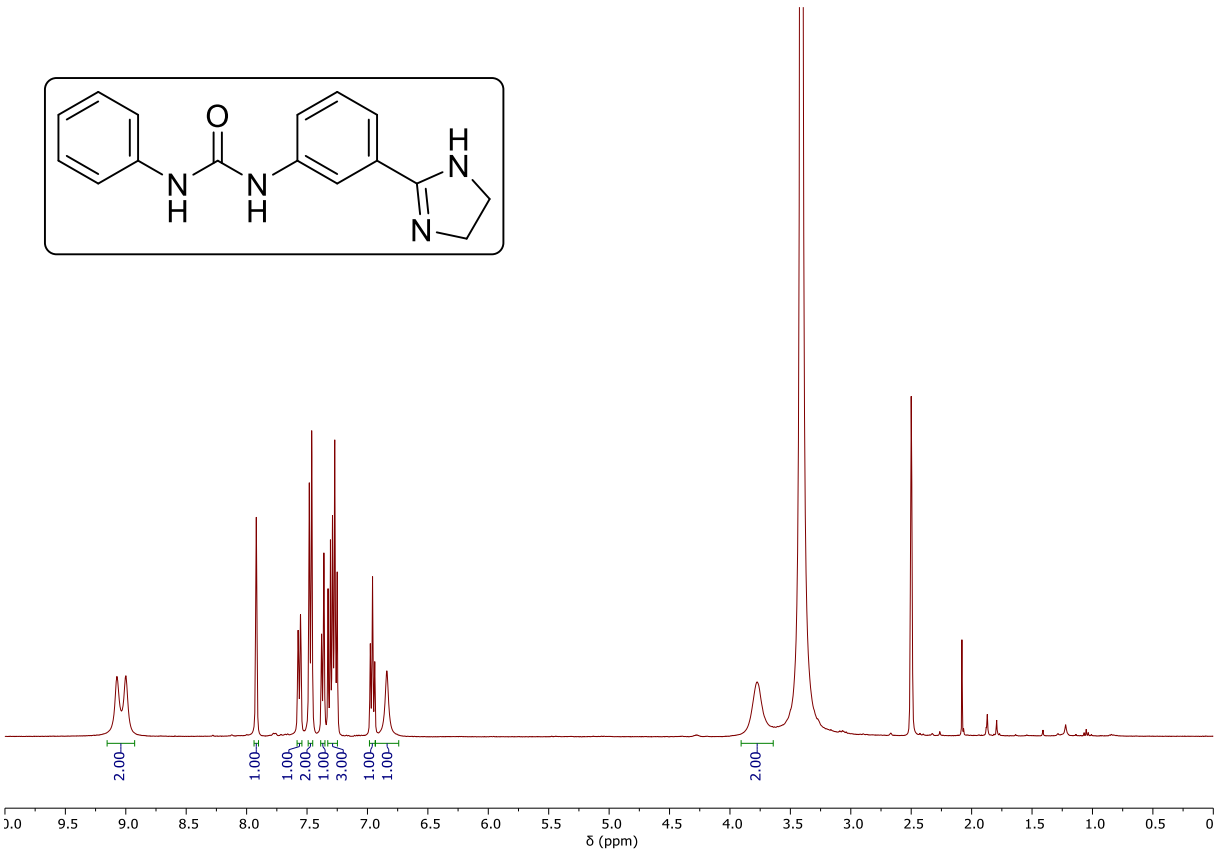
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **26**.



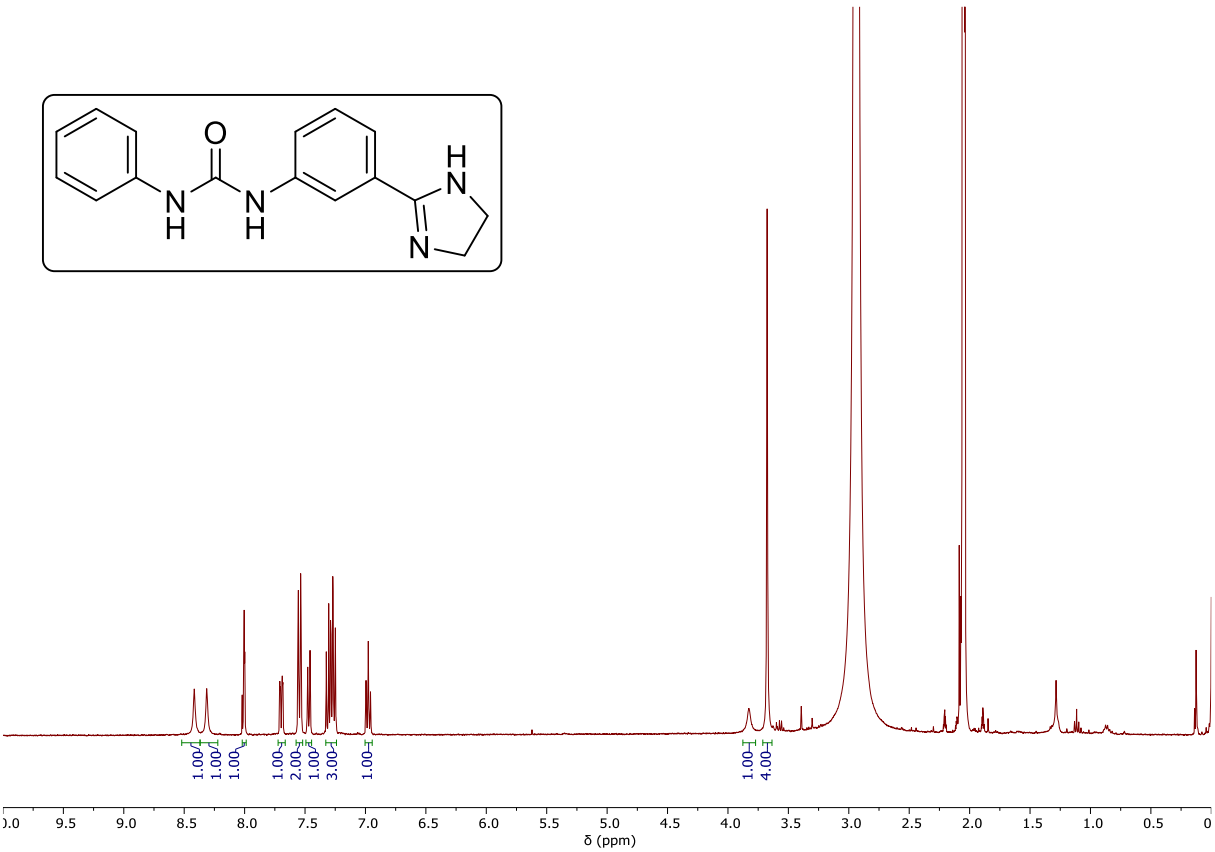
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **28**.



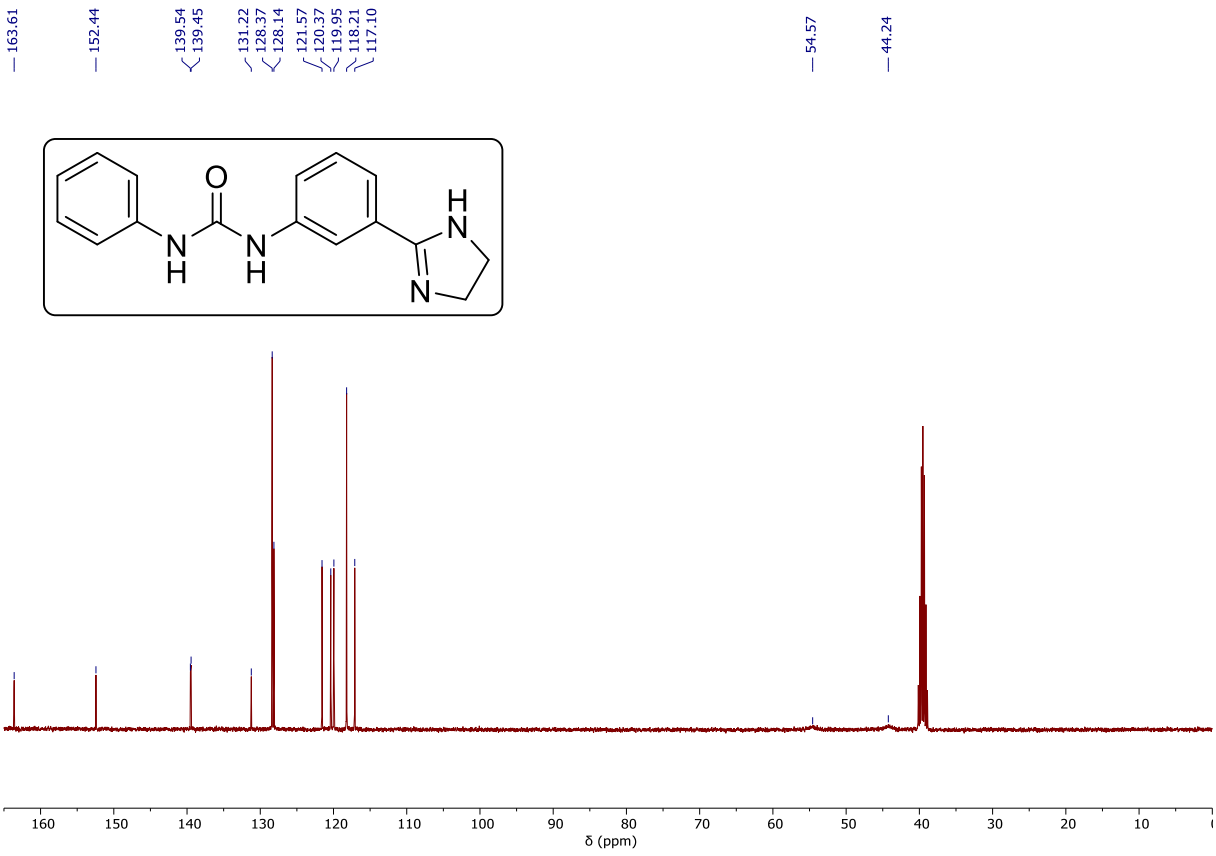
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **28**.



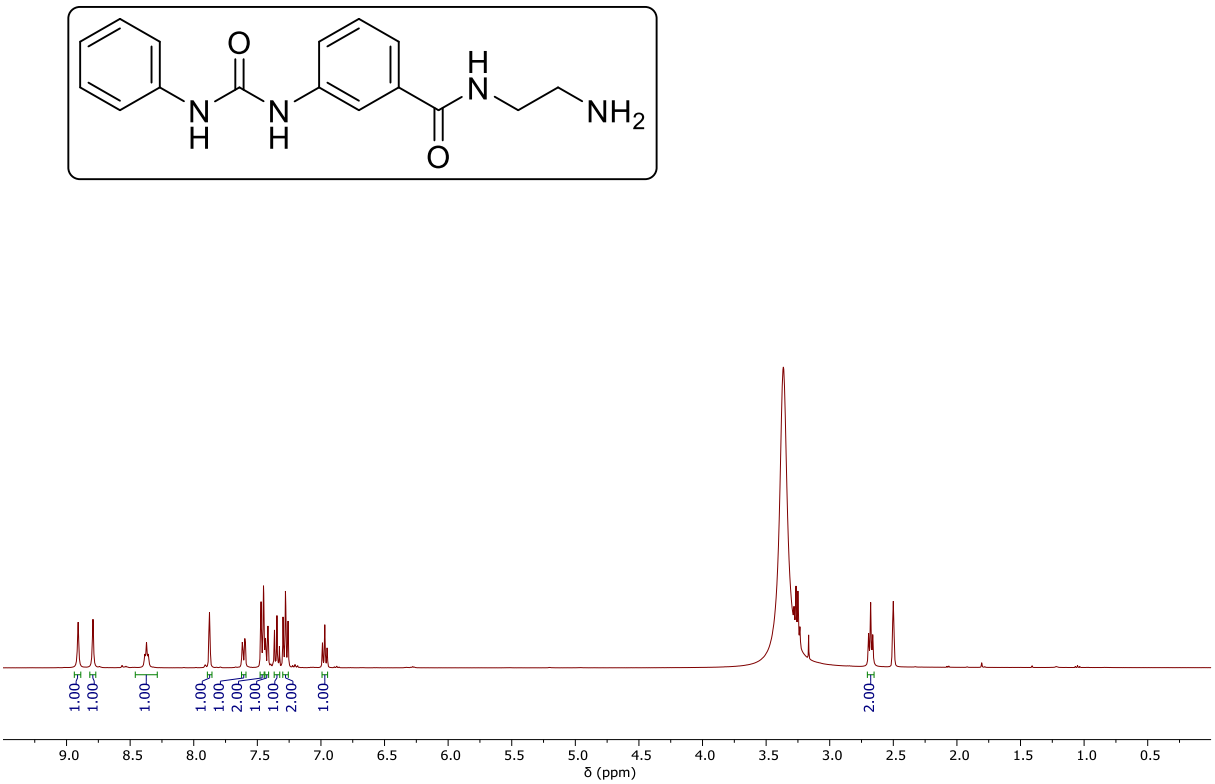
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **31**.



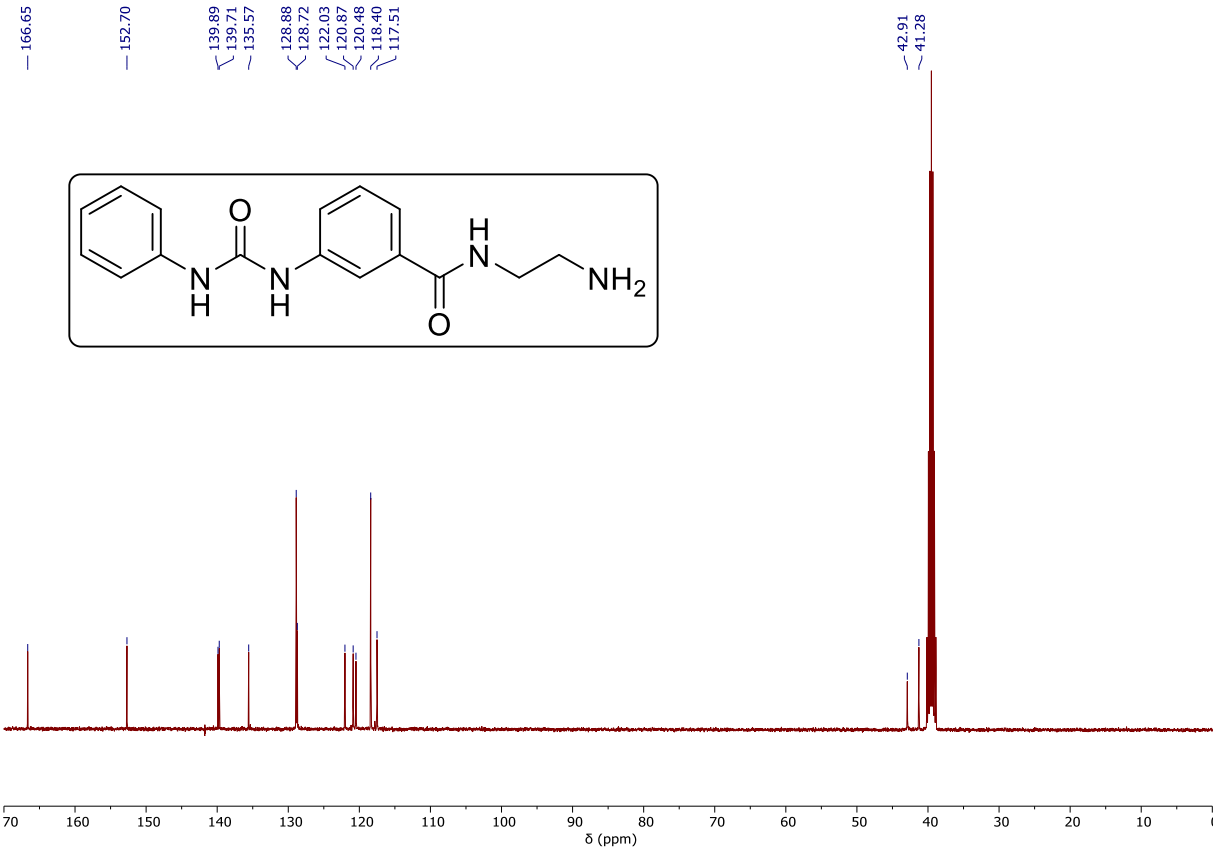
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, Acetona-d_6) do produto **31**.



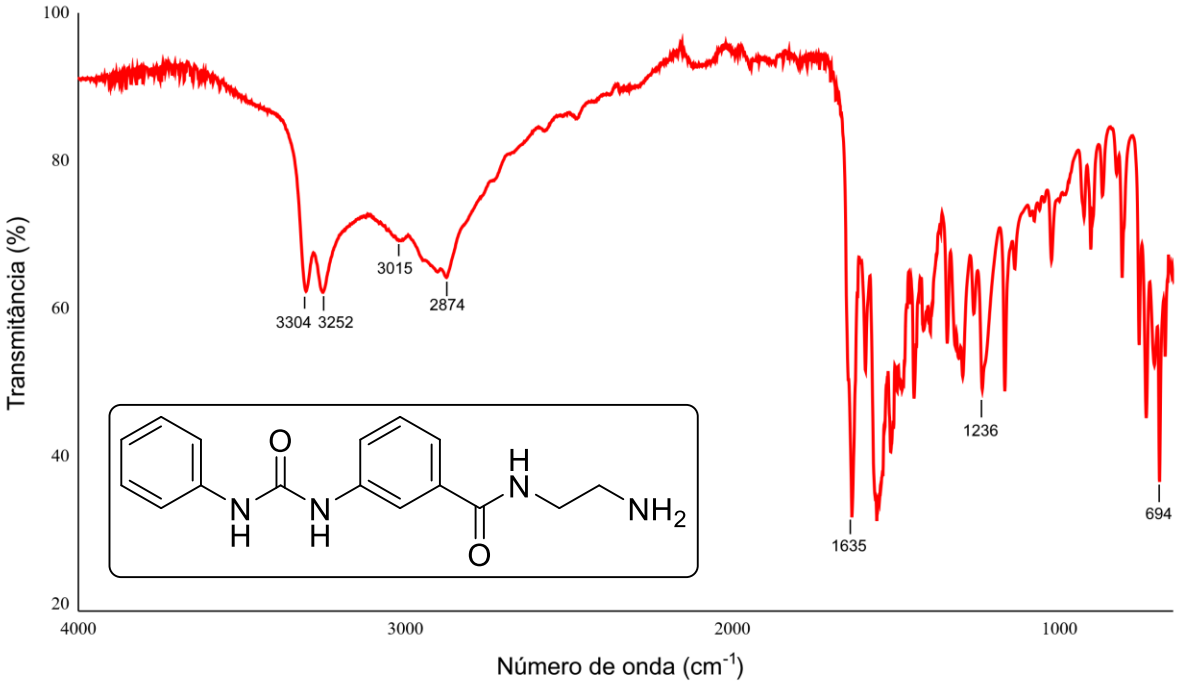
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6,T = 70 ºC) do produto **31**.



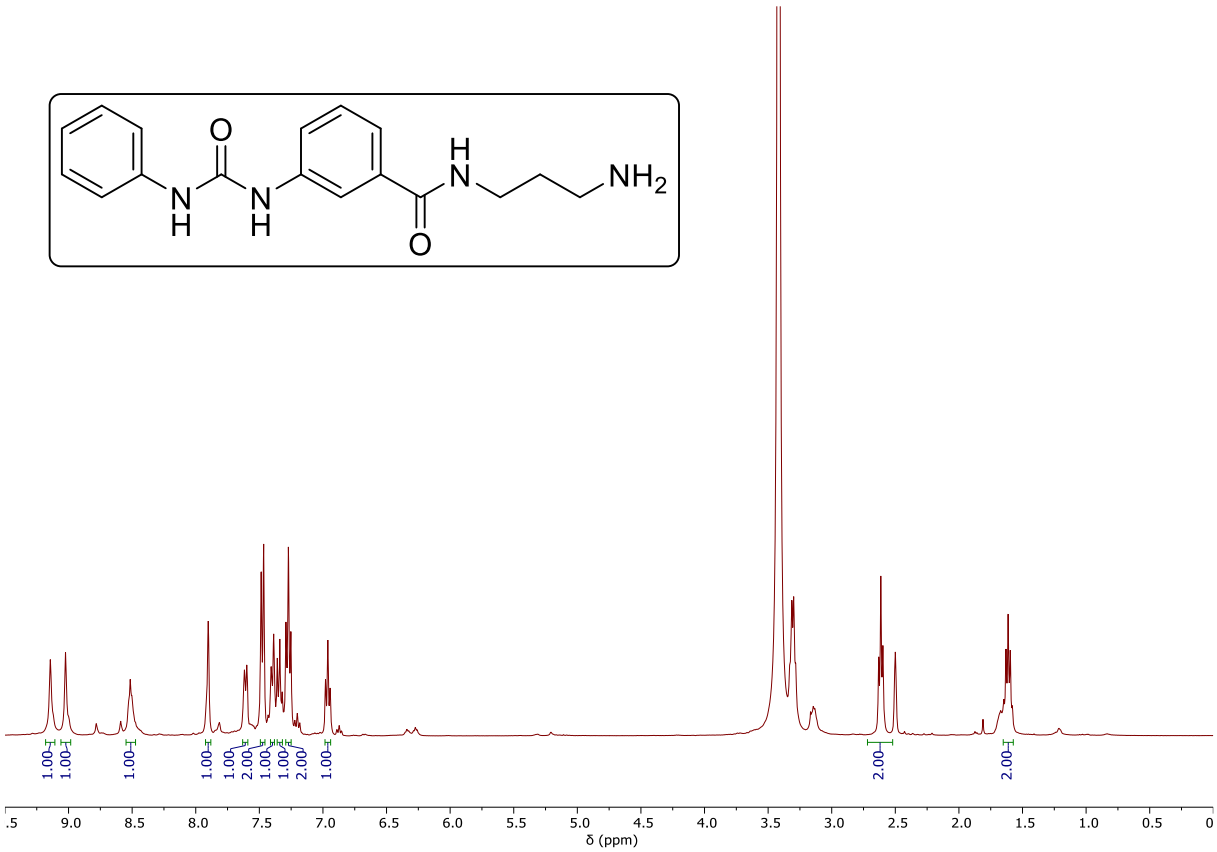
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **32a**.



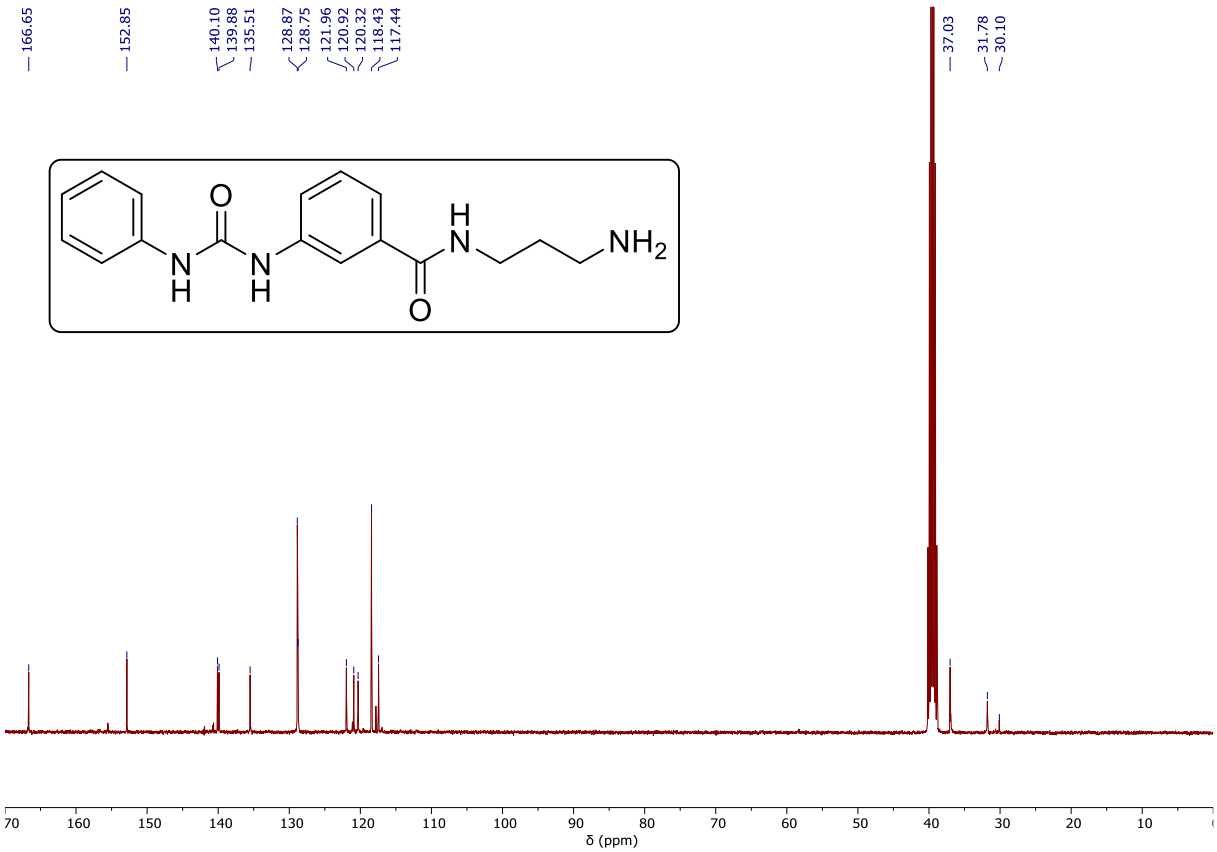
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **32a**.



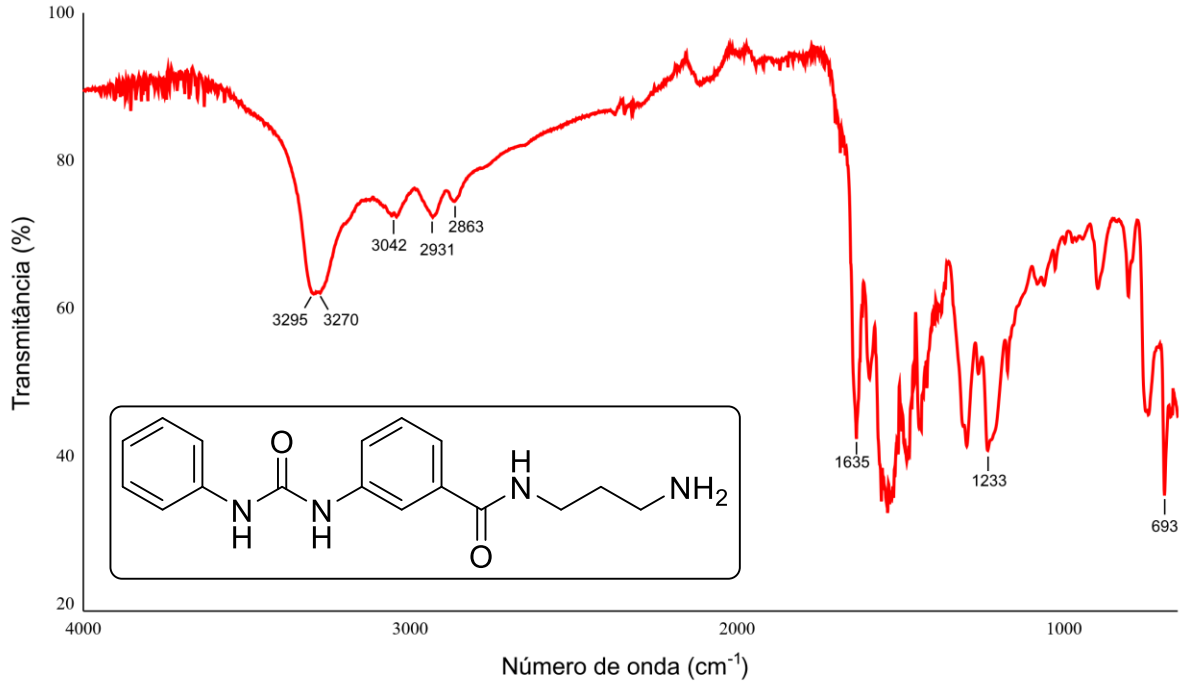
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **32a**.



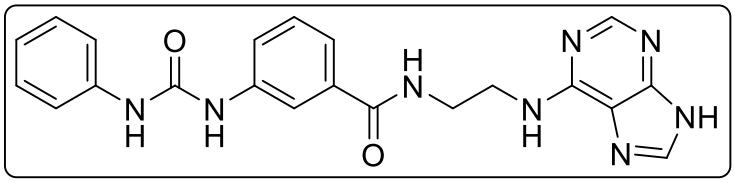
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **32b**.

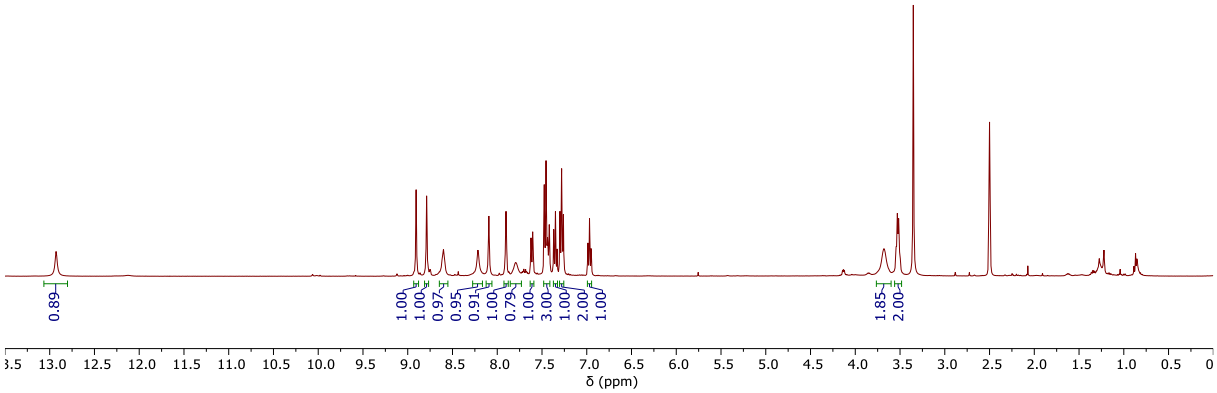


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **32b**.

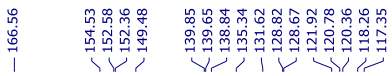


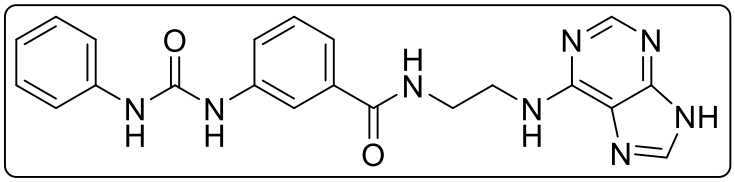
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **32b**.

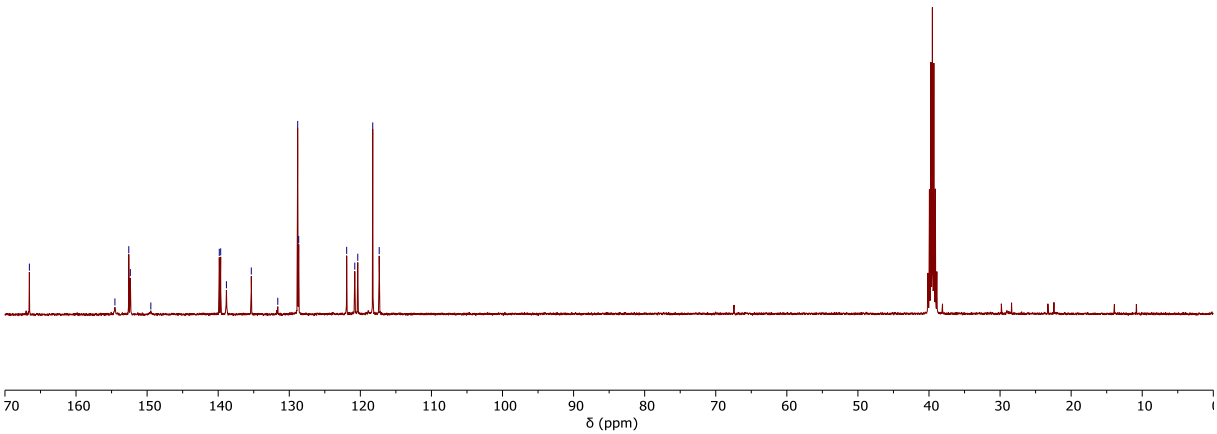




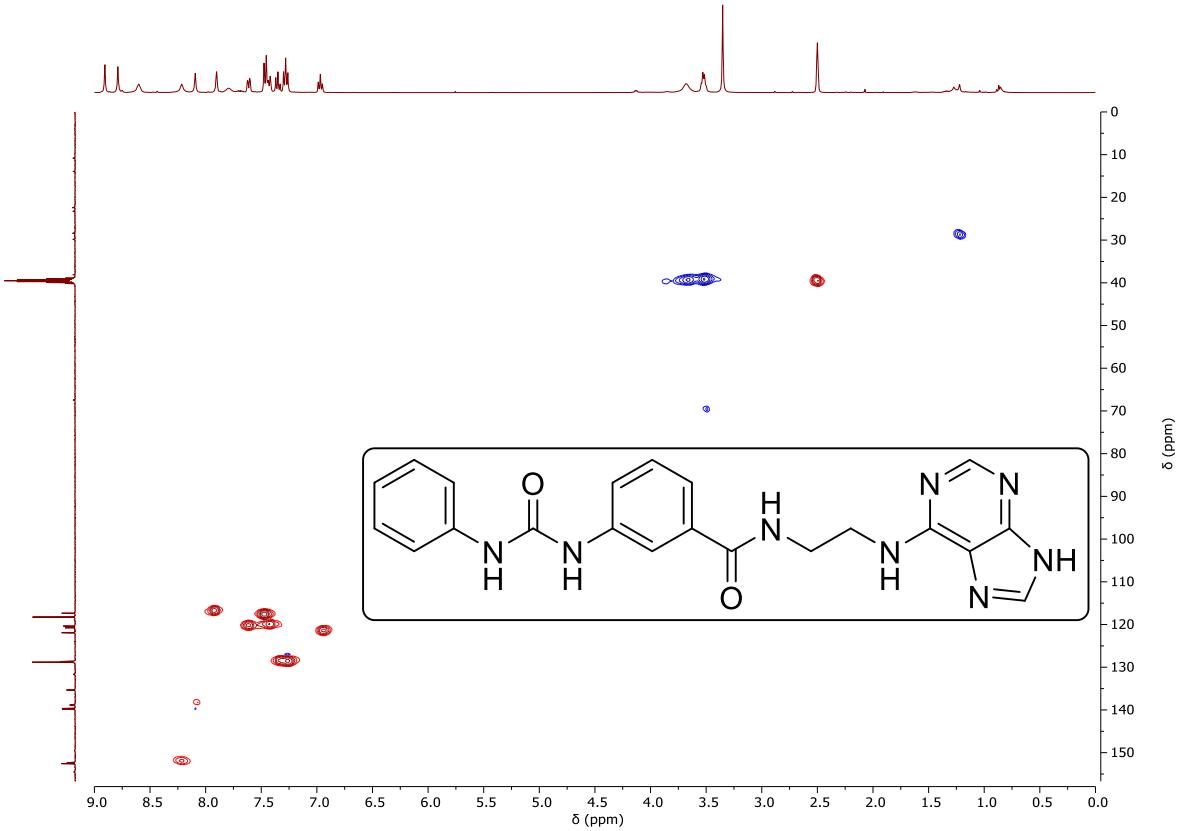
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **33a**.



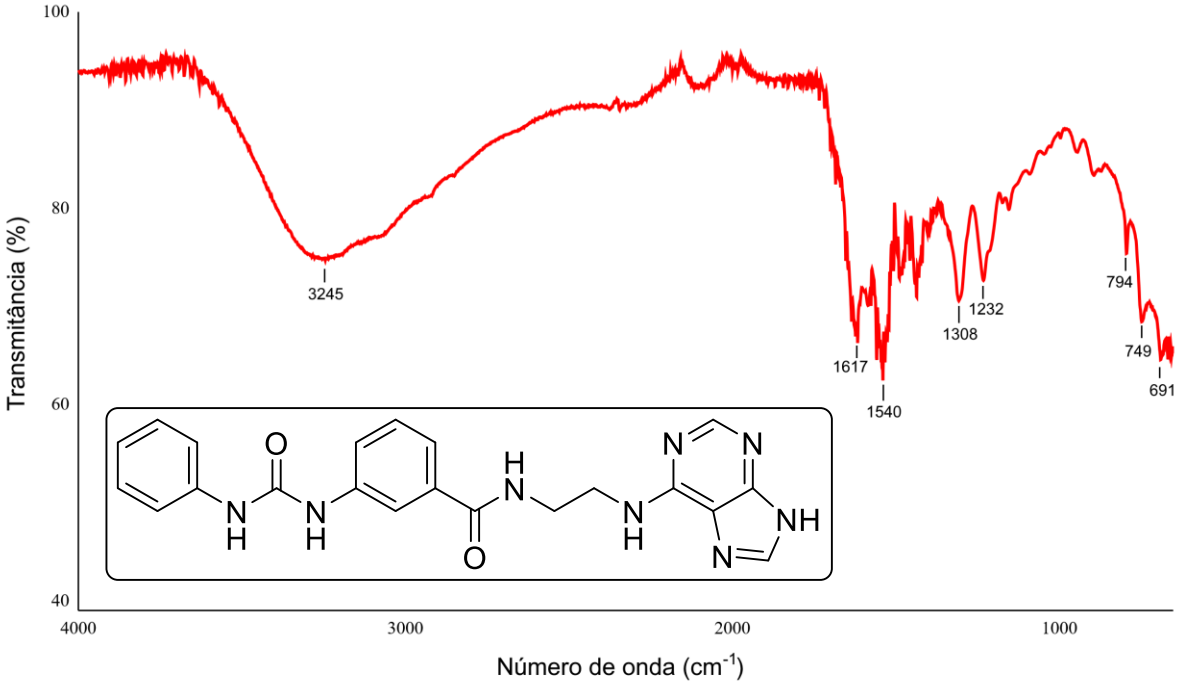




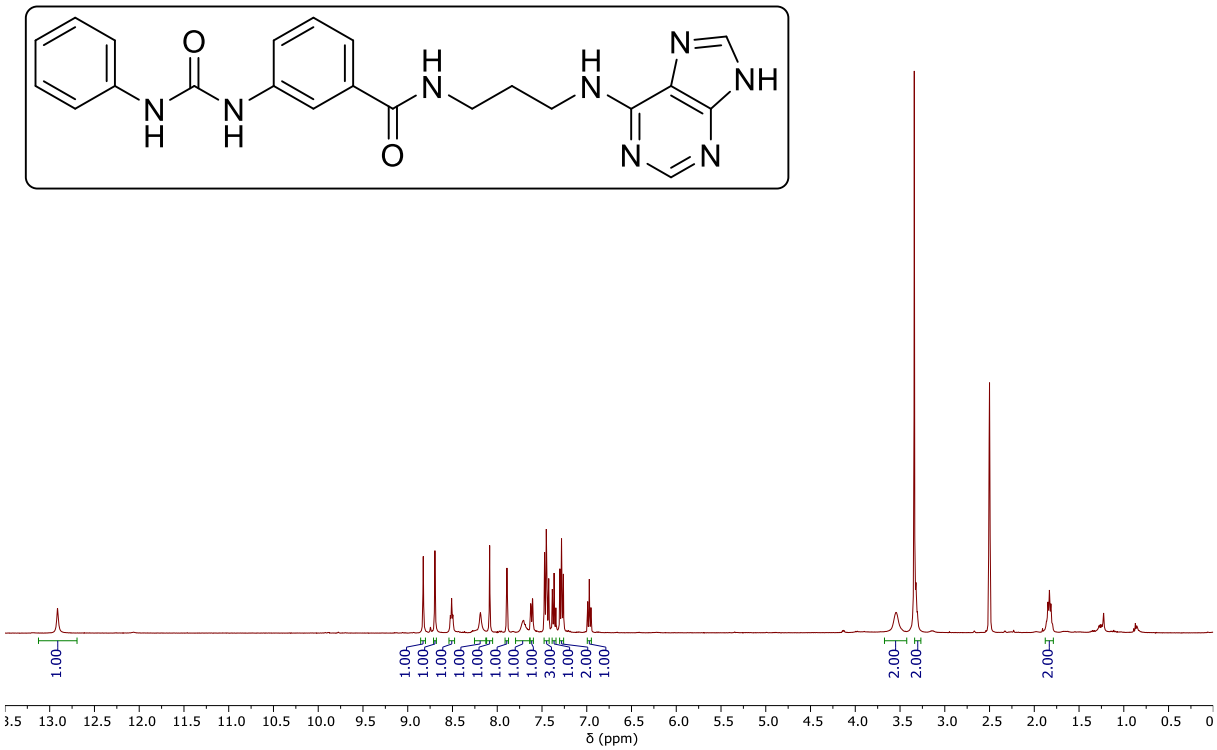
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **33a**.



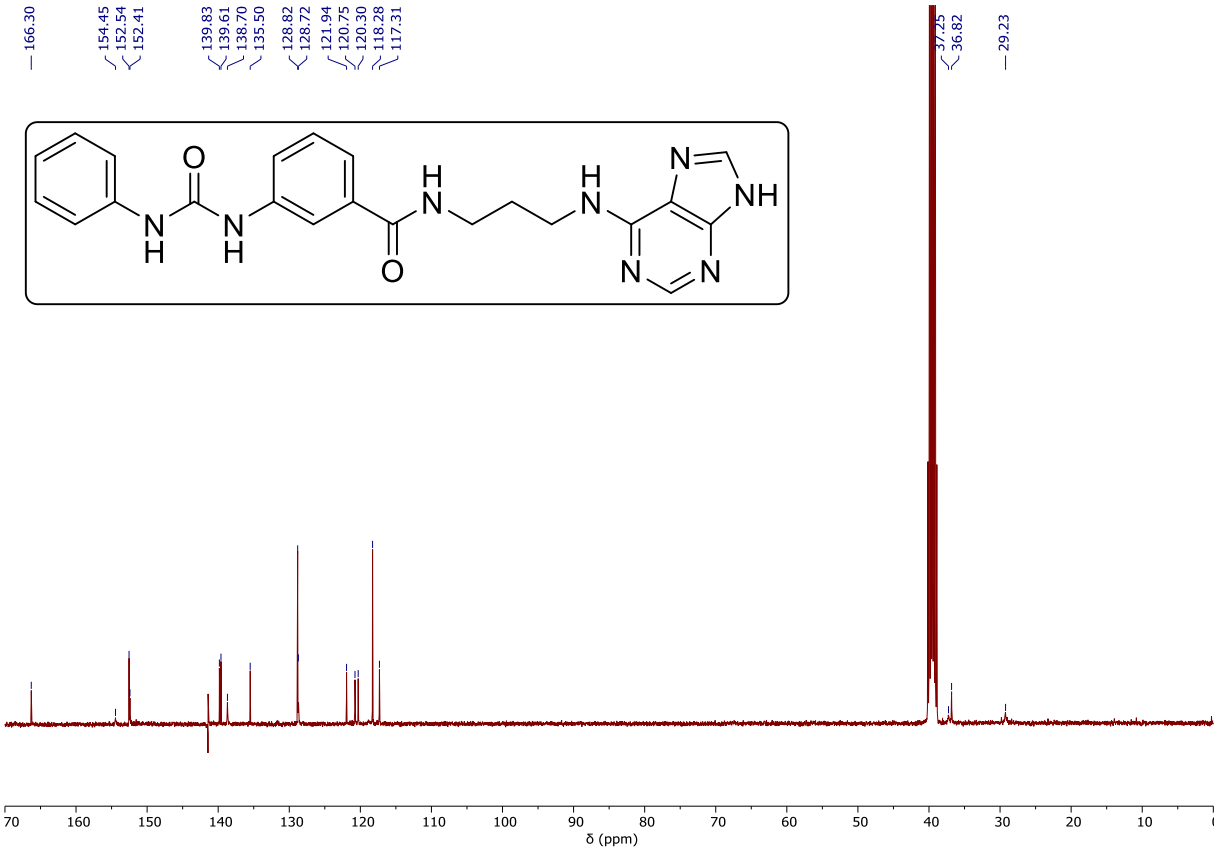
Espectro de RMN HSQC (400 – 100 MHz, DMSO-d_6) do produto **33a**.



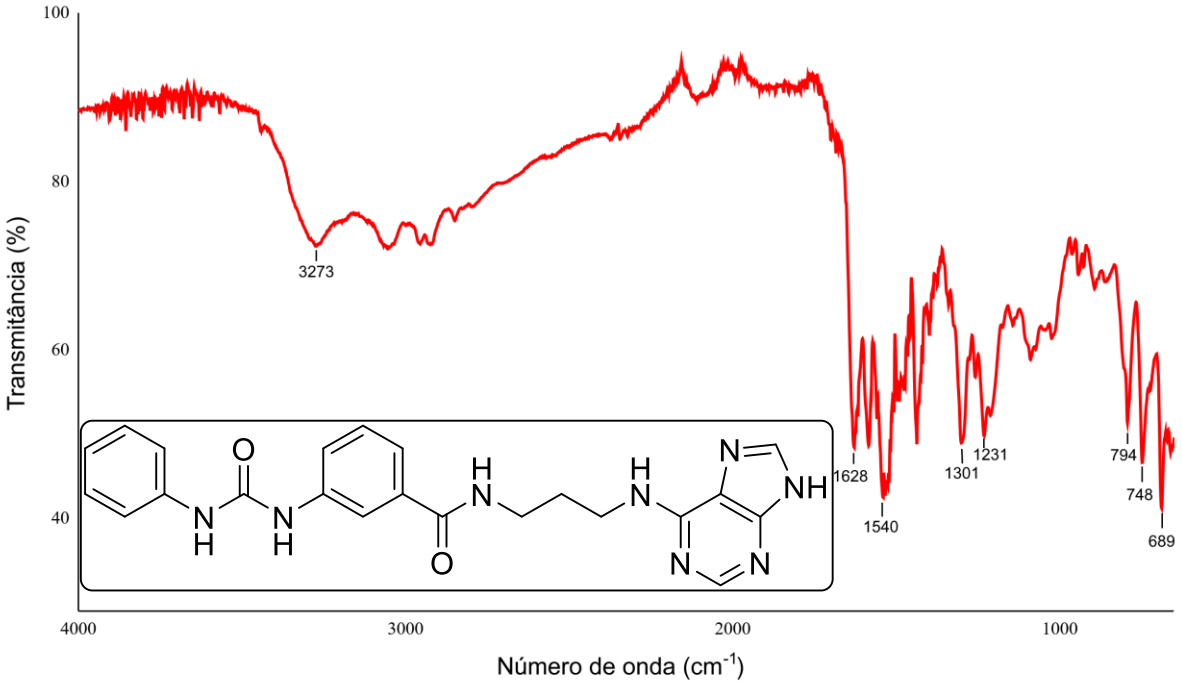
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **33a**.



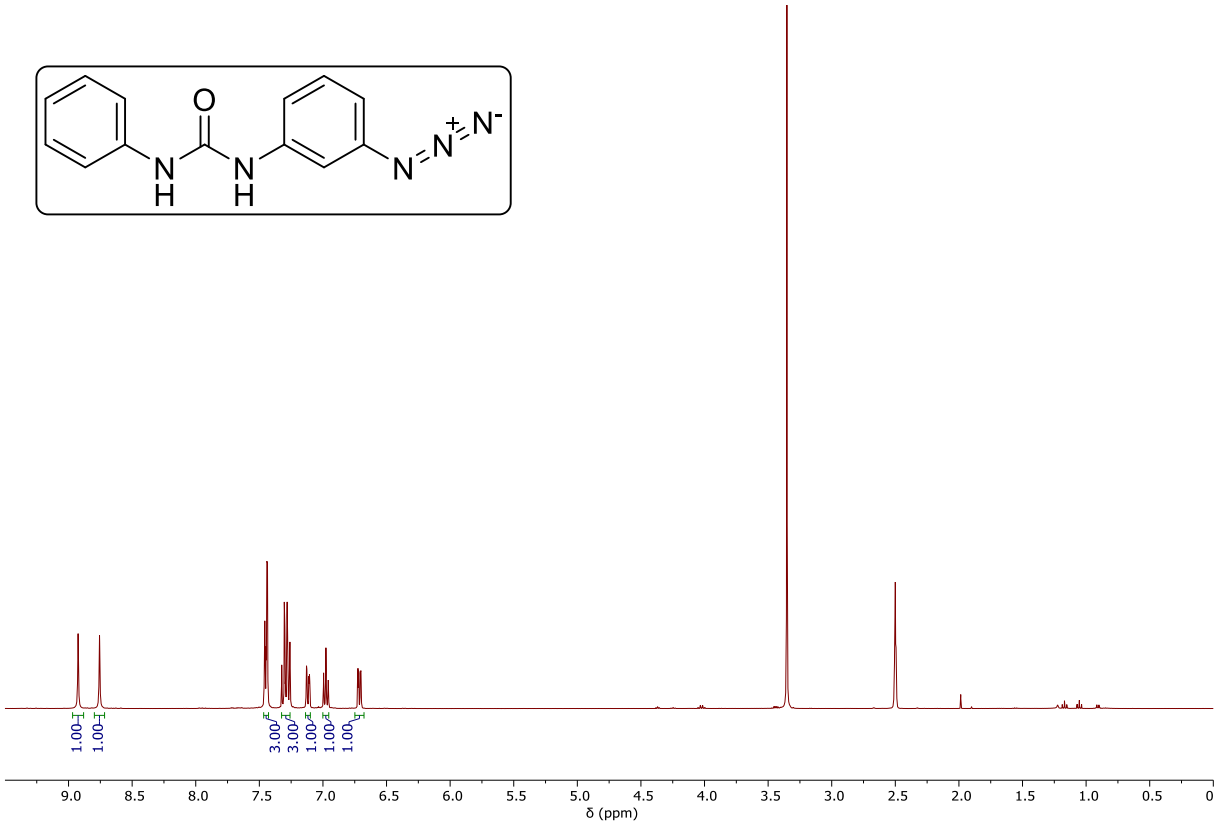
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **33b**.



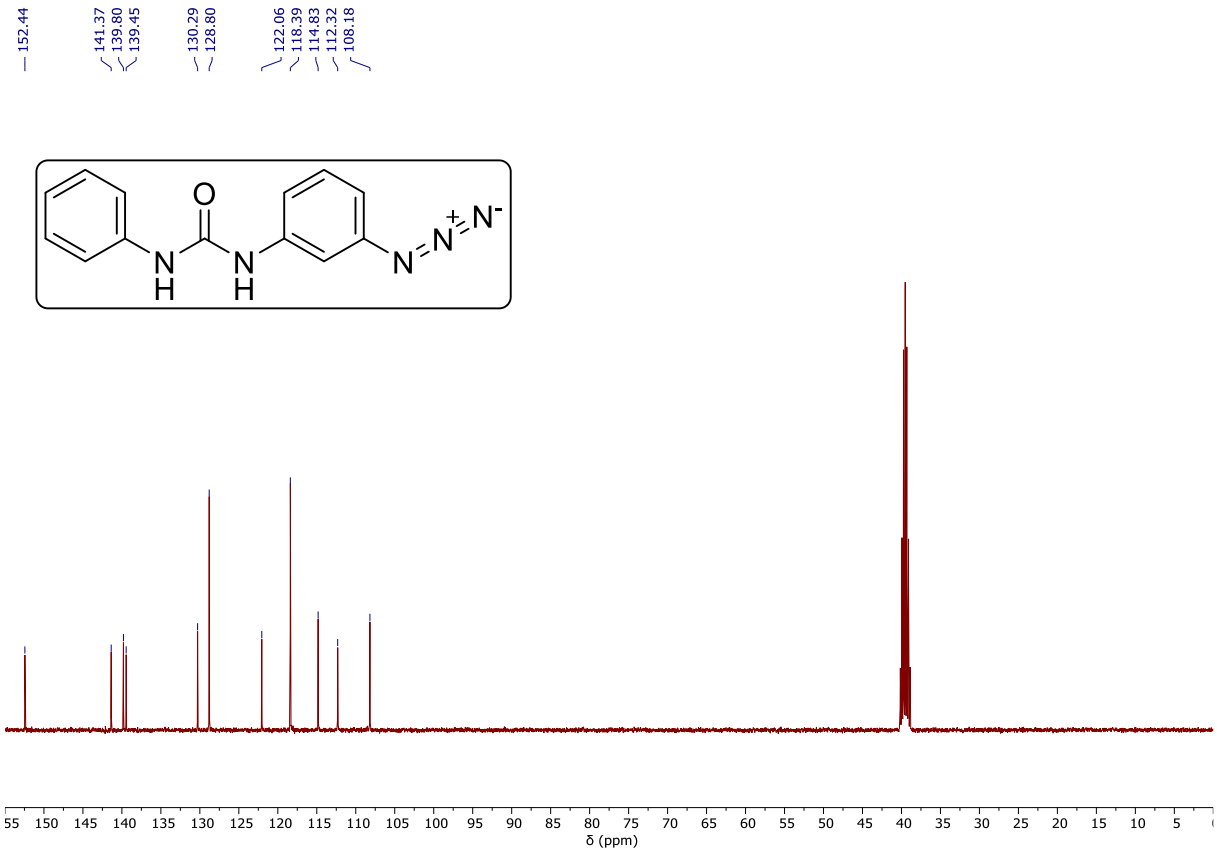
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **33b**.



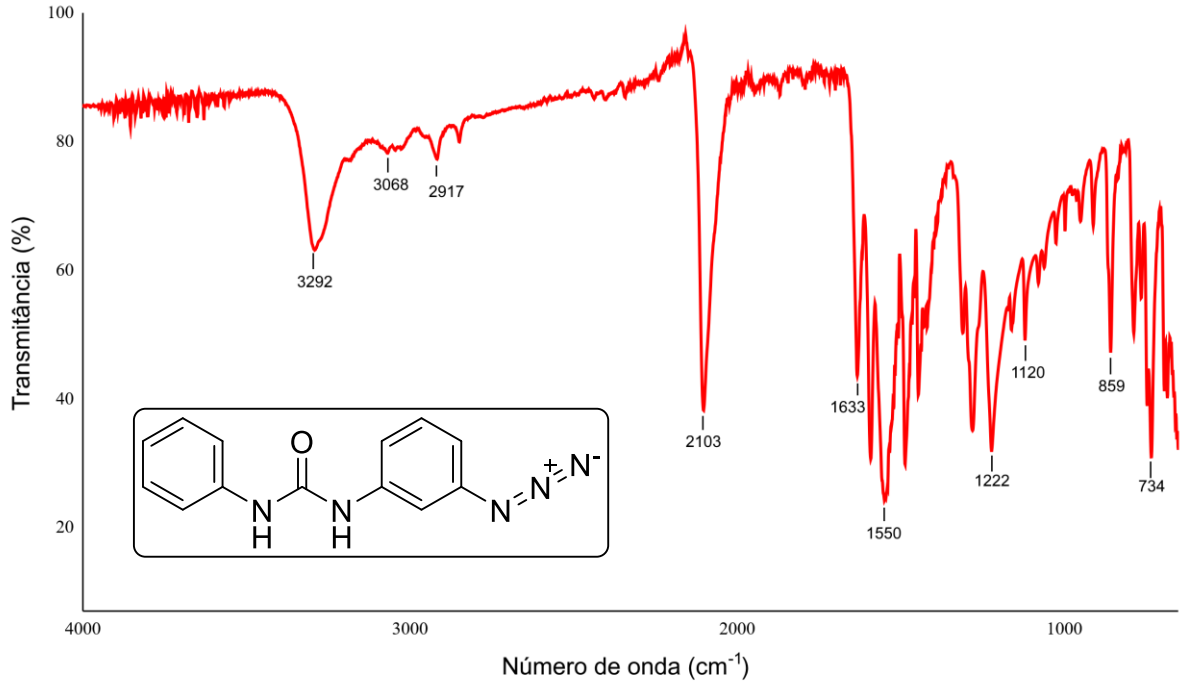
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **33b**.



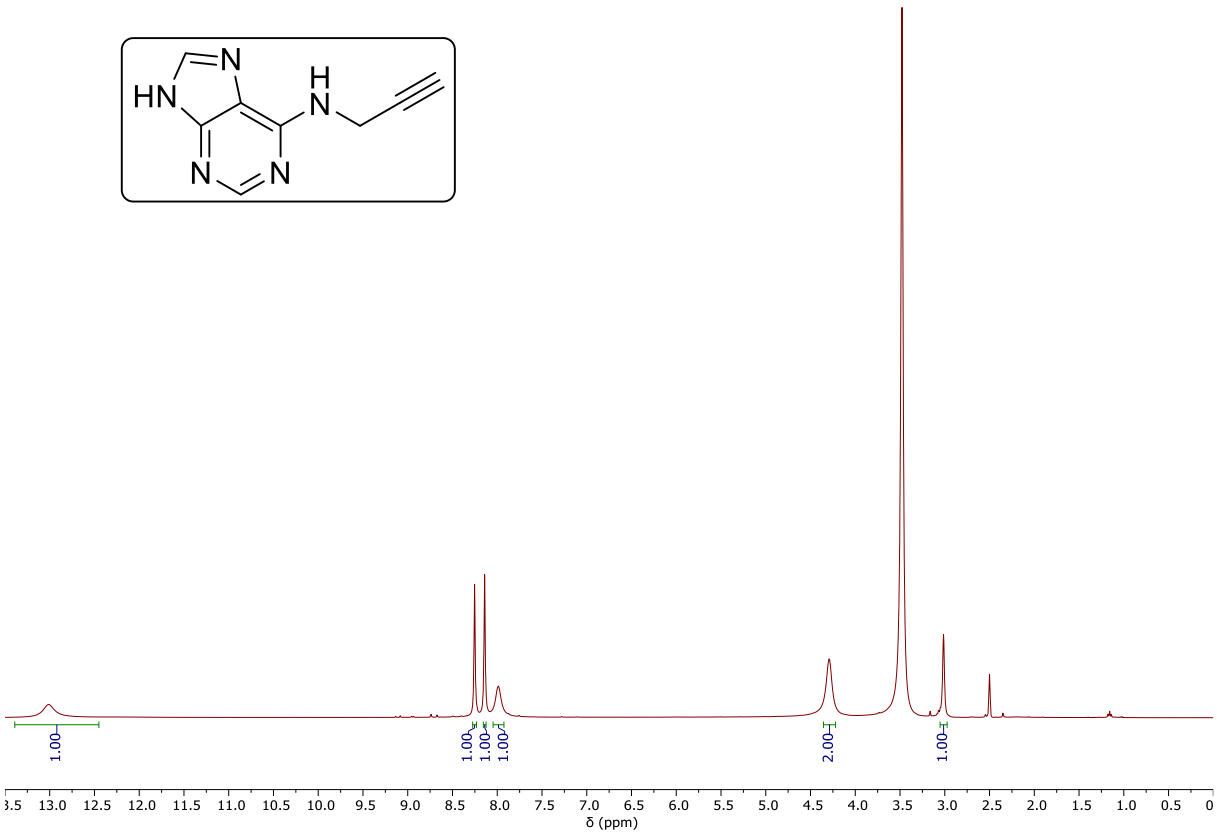
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **35**.



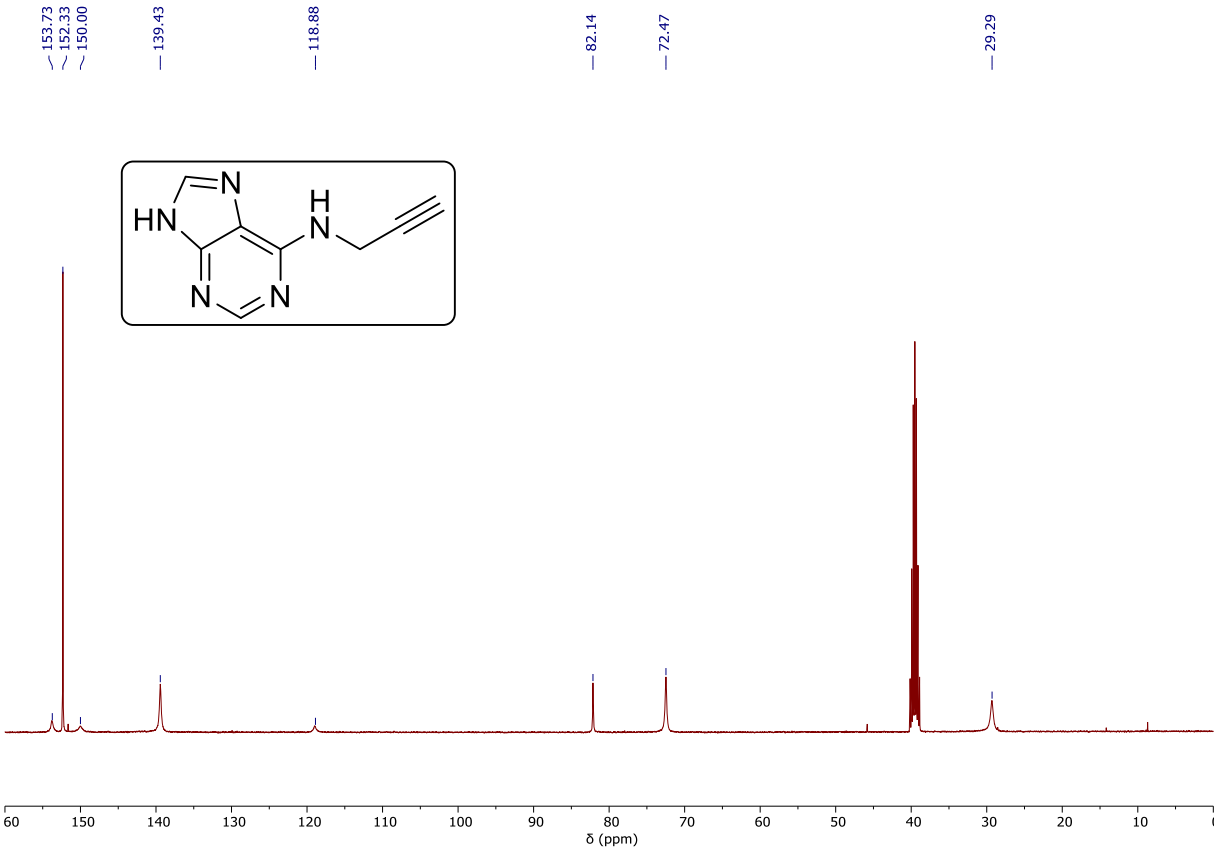
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **35**.



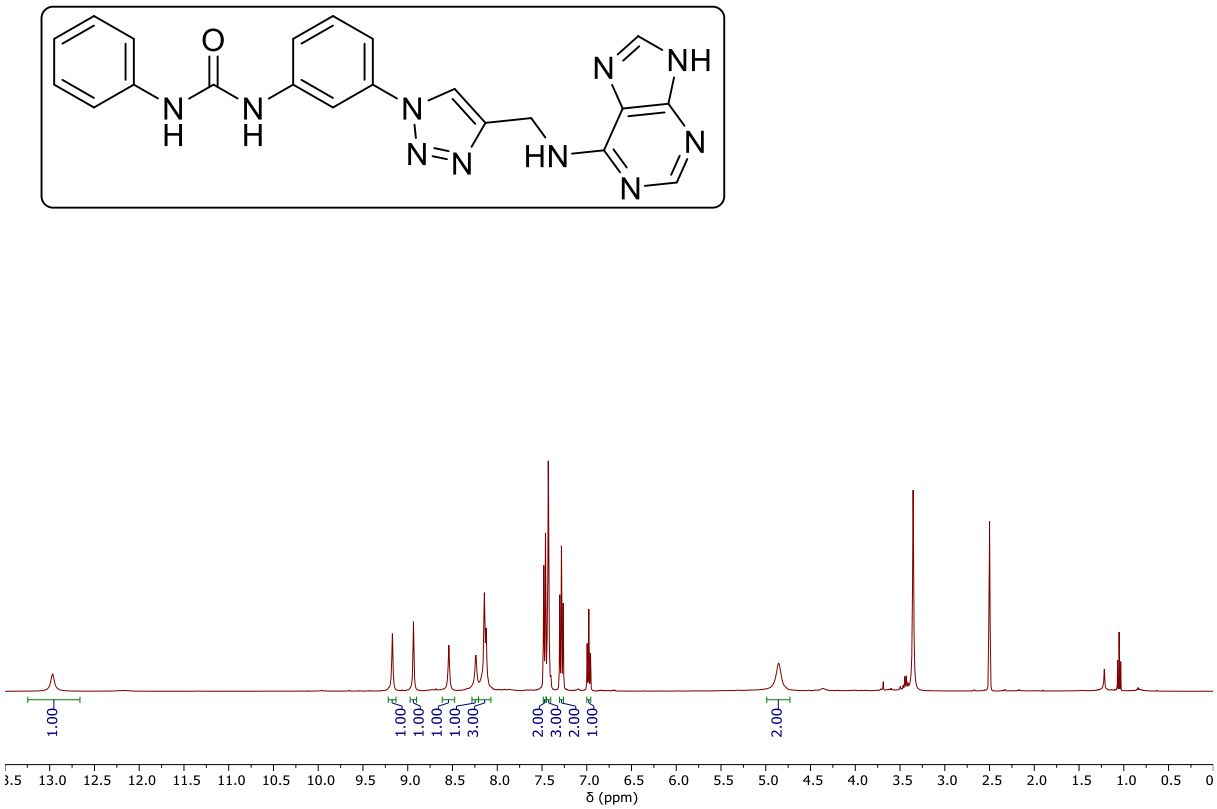
Espectro de infravermelho (ATR) do produto **35**.



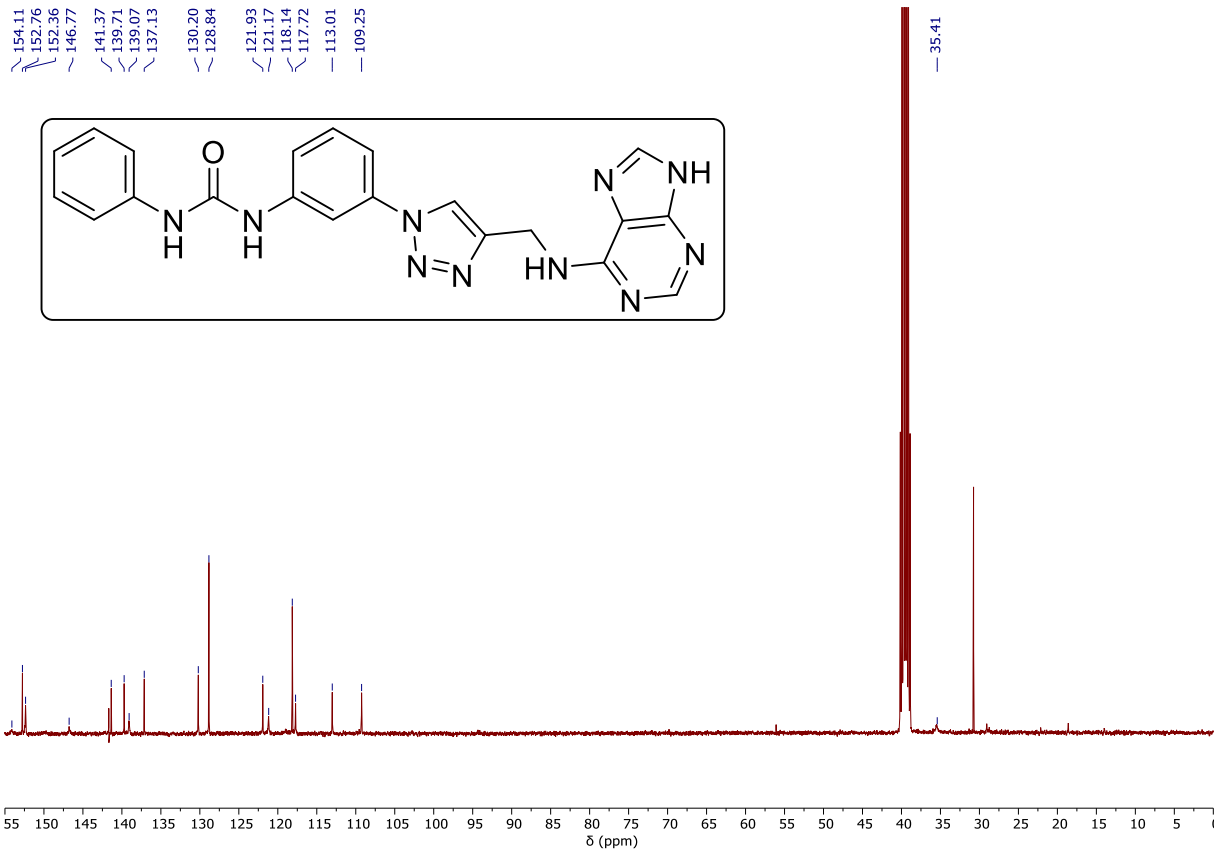
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **37**.



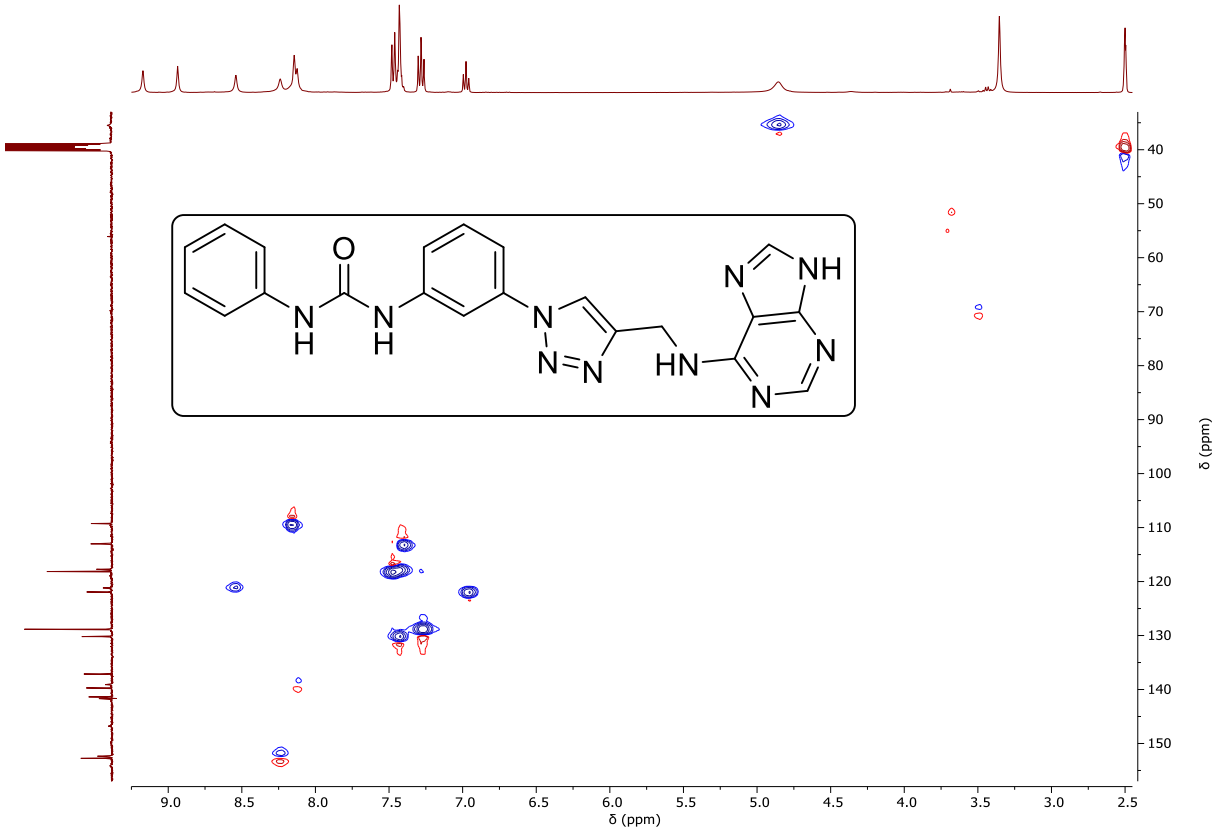
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **37**.



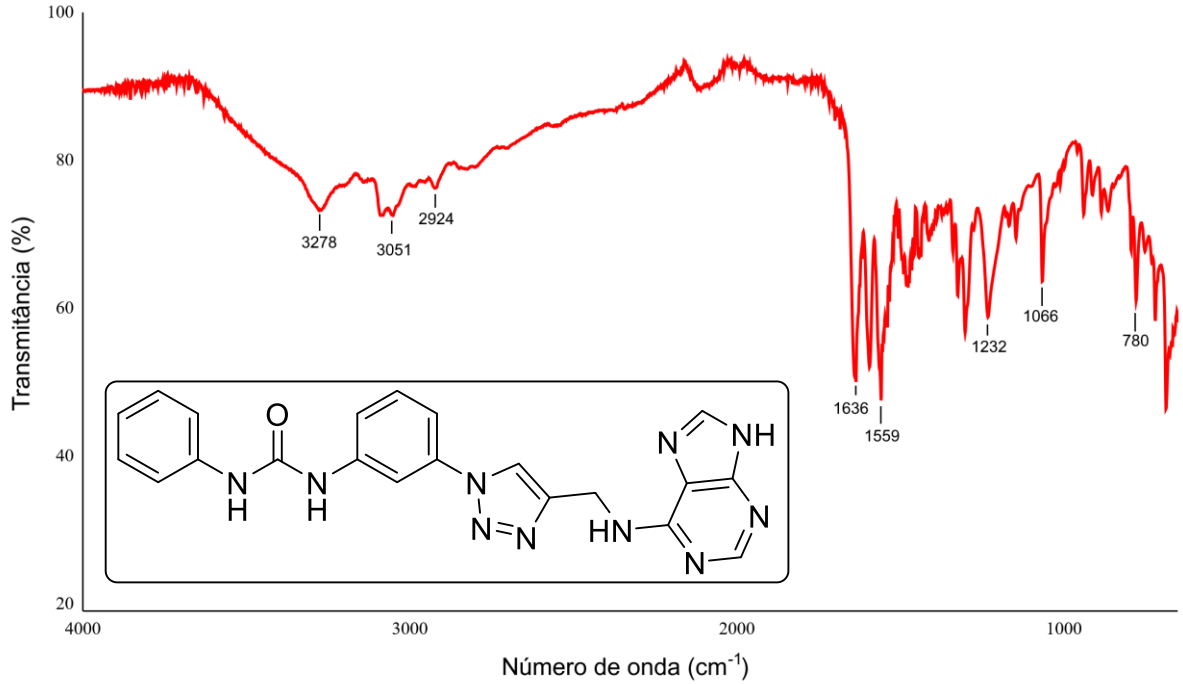
Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do produto **38**.



Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do produto **38**.



Espectro de RMN HSQC (400 – 100 MHz, DMSO-d_6) do produto **38**.



Espectro de infravermelho (ATR) do produto **38**.