

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Design Teórico, Síntese Multicomponente e Comprovação  
Experimental da Atividade Antinociceptiva de Pirimidinonas em  
Camundongos através das vias Intraperitoneal e Oral**

**AUGUSTO DE LIMA XAVIER**

**ORIENTADORES: PROF. DR. ALFREDO MAYALL SIMAS**

**PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS**

Recife, Setembro de 2012.

**AUGUSTO DE LIMA XAVIER**

**Design Teórico, Síntese Multicomponente e Comprovação Experimental da  
Atividade Antinociceptiva de Pirimidinonas em Camundongos através das  
vias Intraperitoneal e Oral**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito final à obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Síntese Orgânica.

**ORIENTADOR: PROF. ALFREDO MAYALL SIMAS**

**CO-ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS**

Recife, Setembro de 2012.

## Catalogação na fonte

Bibliotecário Jefferson Luiz Alves Nazareno, CRB 4-1758

Xavier, Augusto de Lima.

Design teórico, síntese multicomponente e comprovação experimental da atividade antinociceptiva de pirimidinonas em Camundongos através das vias intraperitoneal e oral / Augusto de Lima Xavier. – Recife: O Autor, 2012.

xx, 101 f.: fig.; tab.

Orientador: Alfredo Mayall Simas e Janaina Versiani dos Anjos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2012.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Química farmacêutica. 2. Planejamento experimental. 3. Síntese orgânica. I. Simas, Alfredo Mayall; Anjos, Janaina Versiani dos (orientadores). II. Título.

615.19 22.ed.

2013-10FQ

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:

---

**Prof<sup>a</sup> Janaina Versiani dos Anjos**  
(Co-orientadora)

Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Profa. Nereide Stela Santos Magalhães**

Departamento de Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Marcelo Navarro**

Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

***“Design Teórico, Síntese Multicomponente e Comprovação Experimental da Atividade Antinociceptiva de Pirimidinonas em Camundongos Através das Vias Intraperitoneal e Oral”***

**Por**

**Augusto de Lima Xavier**

Departamento de Química Fundamental  
Centro de Ciências Exatas e da Natureza  
Universidade Federal de Pernambuco  
Recife-PE-Brasil

05 de Setembro de 2012

Dedico este trabalho a Deus, criador dos Céus e da Terra, de todas as coisas visíveis e invisíveis.

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu irmão pelo amor, carinho, atenção é principalmente pelo apoio incondicional.

Dedico este trabalho também a minha futura esposa Simone Carmen da Silva que está presente em mais uma etapa importante da minha vida, pelo carinho, companheirismo, amizade e por nunca me deixar abalar nos momentos mais difíceis dessa jornada.

Dedico também este trabalho a Josefa de Lourdes da Silva, Tia Tita (*in memoriam*).

## Agradecimentos

Ao professor Alfredo Simas, meu orientador, pelas ideias, pelo apoio, pelas discussões científicas, pelo aprendizado e pela amizade.

À professora Janaína Anjos, minha orientadora, por te me aceitar no seu laboratório, por me orientar, por me ensinar muitas coisas, pelas discussões científicas, pela sua dedicação à pesquisa, pelo aprendizado e pela amizade.

Ao professor João Henrique da Costa-Silva e sua aluna de iniciação científica Gisele, pela realização de parte dos ensaios biológicos deste trabalho.

À professora Terezinha Gonçalves e a sua aluna Fernanda, pela realização da outra parte dos ensaios biológicos.

Aos técnicos da Central Analítica do DQF.

Ao meu amigo José Adonias, pelas discussões científicas e pela realização de boa parte dos meus espectros de RMN.

Aos integrantes do Laboratório de Síntese Orgânica: Audrey, Rodolfo, Júlio, Nery, Hugo, Ivangela, Laylla, Gabriela e aqueles que não estão mais presentes: Suseanne e Diana, pelo apoio, por um ambiente saudável e bastante divertido.

Aos colegas do Departamento, em especial aos integrantes da sala F, pelas discussões no período das disciplinas e pelo apoio. Em especial aos amigos desde a graduação na UFRPE: José Adonias, Gustavo Campelo e Paulo Alberto.

Aos colegas e Professores do curso de Licenciatura em química da UFRPE pelo apoio.

Ao programa de Pós Graduação em Química do DQF-UFPE, pelas condições necessárias para realização desta dissertação, aos professores, e aos secretários Maurílio e Patrícia.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Ao PRONEX-FACEPE e ao INCT (INAMI) pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Recentemente, dos Anjos e colaboradores publicaram um trabalho [dos Anjos *et al*, *Molecules*, 2012, 17 (809-819)] em que descreveram a síntese e a atividade antinociceptiva de uma série de nove pirimidinonas. Utilizando estes dados, foi criado um modelo QSAR para esta série. Em seguida buscou-se, através da química combinatória teórica, prever a estrutura de uma substância com atividade antinociceptiva maximizada, ao mesmo tempo em que apresentava boas propriedades previstas de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), e baixas toxicidades. A melhor substância prevista foi a 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59c**), que os modelos teóricos também indicaram que deveria apresentar uma toxicidade aceitável, semelhante àquela observada em fármacos analgésicos presentes na terapêutica. Além desta, foram sintetizados mais 19 derivados pirimidínicos utilizando uma inovadora metodologia multicomponente em micro-ondas, usando água como solvente, na qual a reação acontece mais rapidamente, levando em média 30 minutos. Metodologias usuais para a síntese destes compostos levam 16 a 24 horas de síntese e são realizadas em duas etapas. Esta metodologia sintética inovadora obedece inclusive alguns preceitos de química verde, pois não faz uso de solventes e catalisadores nocivos - apenas água e carbonato de potássio. A atividade antinociceptiva foi avaliada usando o modelo das contorções abdominais em camundongos induzidas pelo ácido acético. A atividade medida para **59c** foi de 99,5%, corroborando com a predita pelo nosso modelo QSAR que foi de 99,6%. Nossos modelos teóricos prediziam também uma alta probabilidade de que **59c** deveria apresentar atividade por via oral, com apenas uma dificuldade, a solubilidade do mesmo foi prevista como pequena. Preparou-se então o sal sódico de **59c** e este foi administrado por via oral, na forma de solução em salina, aos camundongos e foi realizado o teste de antinocicepção. Constatou-se que a atividade antinociceptiva foi de 42%, o que se deve à diferença de biodisponibilidade da droga. Este é um resultado encorajador, pois comprovou o previsto pelo modelo computacional, que **59c** seria também ativa por via oral. Para saber se esta droga atua inibindo a dor de origem central (neurogênica) ou periférica (inflamatória), realizou-se o teste de nocicepção induzida pela formalina por via oral. Como resultado, observou-se que **59c** novamente atuou na inibição da nocicepção por via oral e apresentou uma forte atividade na prevenção da dor de origem neurogênica, além de exibir atividade analgésica na via inflamatória. Concluiu-se assim que o design molecular teórico levou a um composto protótipo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos com atividades analgésicas central e periférica, com farmacocinética e toxicidade teorica aceitável

comparável àquela exibida por medicamentos clássicos usados para o combate à dor disponíveis na terapêutica.

**Palavras-chave:** design molecular teórico; pirimidinonas; síntese multicomponente; atividade antinociceptiva.

## ABSTRACT

Recently, dos Anjos et al. published an article [dos Anjos et al, *Molecules*, 2012, 17 (809-819)] in which they described the synthesis and antinociceptive activities of a series of nine pyrimidinones. From their data, we built a QSAR model for this series. Subsequently, via combinatorial theoretical chemistry, we designed a putative compound with a maximized antinociceptive activity which, at the same time, had good predicted properties of absorption, distribution, metabolism and excretion, as well as low predicted toxicities: 6-oxo-2-phenyl-4-*p*-tolyl-1,6-dihydro-pyrimidina-5-carbonitrile (**59c**). Our theoretical models also indicated that this compound should display toxicities similar to those of known and commercially available analgesics. Furthermore, we also synthesized 19 more pyrimidinic derivative compounds using an innovative multicomponent methodology in a microwave oven, using water as solvent, with the reaction lasting an average of 30 minutes – much faster, when compared to the usual two-step methodologies that last from 16 to 24 hours. This novel synthetic methodology is in accordance with green chemistry, since it does not employ harmful solvents or catalyzers: just water and potassium carbonate. The antinociceptive activity was evaluated using the abdominal contortions model (induced by acetic acid intraperitoneally). The activity for **59c** was 99.5%, fully corroborating our QSAR model prediction of 99.6%. Our theoretical models also predicted a high probability that compound **59c** should also display activity by oral administration, with only one difficulty: its solubility was predicted as a bit too low. We then prepared the sodium salt of compound **59c** and administered its solution orally to mice to verify its antinociceptive activity. We then verified that the antinociceptive activity was 42% this time, due to the difference of bioavailability of the drug. This was an encouraging result, for it proved experimentally the theoretical prediction that compound **59c** would be also active via oral administration. In order to try to better understand the mechanism of action of this drug, more specifically, to know whether it would act inhibiting pain centrally (neurogenic) or peripherally (inflammatory), we run the formaline test (oral route of administration) of compound **59c**. As a result, compound **59c** once again displayed both a marked activity in the prevention of pain of neurogenic origin, indicating that it can also cross the blood-brain-barrier, as well as peripheric analgesia. We thus conclude that the present theoretical molecular design indeed led to a promising prototype compound for the development of new drugs with both central and peripheric analgesia, with theoretically acceptable pharmacokinetics and toxicity comparable to that displayed by classical drugs used to combat pain therapeutics available.

**Keywords:** Theoretical molecular design; pyrimidinones; multicomponent synthesis; antinociceptive activity.

## LISTA DE ANEXOS

**Anexo 1:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **59a** e **59b**.

**Anexo 2:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **59c** e **59d**.

**Anexo 3:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **59e** e **59f**.

**Anexo 4:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **59g** e **59h**.

**Anexo 5:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **59i** e **59j**.

**Anexo 6:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **60a** e **60b**.

**Anexo 7:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **60c** e **60d**.

**Anexo 8:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **60e** e **60f**.

**Anexo 9:** Espectro no infravermelho (pastilha de KBr) das substâncias **60g**, **60i** e **60j**.

**Anexo 10:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59a** e **59b**.

**Anexo 11:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59c** e **59d**.

**Anexo 12:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59e** e **59f**.

**Anexo 13:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59g** e **59h**.

**Anexo 14:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59i** e **59j**.

**Anexo 15:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60a** e **60b**.

**Anexo 16:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60c** e **60d**.

**Anexo 17:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60e** e **60f**.

**Anexo 18:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60g**, **60i** e **60j**.

**Anexo 19:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59a**, **59b** e **59c**.

**Anexo 20:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59d**, **59e** e **59f**.

**Anexo 21:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59g** e **59h**.

**Anexo 22:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59i** e **59j**.

**Anexo 23:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60a**, **60b** e **60c**.

**Anexo 24:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60d**, **60e** e **60f**.

**Anexo 25:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60g**, **60i**.

**Anexo 26:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60j**.

**Anexo 27:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz) e Infravermelho (pastilha de KBr) da substância **107**.

## Lista de Equações

<b>Equação 1:</b> Equação de Hansch . . . . .	4
<b>Equação 2:</b> Equação proposta por Free-Wilson . . . . .	4
<b>Equação 3:</b> Equação que relaciona CL <sub>50</sub> com a equação <b>1</b> . . . . .	5
<b>Equação 4:</b> Equação obtida que explica nosso QSAR. . . . .	34
<b>Equação 5:</b> Cálculo do vetor de auto correlação de segunda ordem do descritor molecular Pi_FPI2 para a molécula de pirimidina <b>87</b> . . . . .	35
<b>Equação 6:</b> Descritor molecular que mostra a fração das espécies zwitteriônicas na molécula da Sulfademetoxina <b>89</b> . . . . .	37

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1:</b> Reação de metilação de uma 4-(3 <i>H</i> )-pirimidinona: rendimentos de 50% e 27% dos isômeros N-3 e N-1 e de 23% para o isômero <i>O</i> -metilado..	11
<b>Esquema 2:</b> Hidrólise de pirimidinonas visando a síntese de $\beta$ -aminoácidos.....	13
<b>Esquema 3:</b> Síntese de Biginelli modificada.....	14
<b>Esquema 4:</b> Síntese de pirimidinonas segundo Naganuma e cols.....	14
<b>Esquema 5:</b> Síntese de 2,6-diaril-4-amino-pirimidina-5-carbonitrilas.....	15
<b>Esquema 6:</b> Síntese de 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas..	15
<b>Esquema 7:</b> Síntese multicomponente de pirimidinas utilizando microondas.....	18
<b>Esquema 8:</b> Esquema de síntese multicomponente de pirimidinas é pirimidinonas.....	20
<b>Esquema 9:</b> Formação do anel da pirimidina. ....	23
<b>Esquema 10:</b> Obtenção do anel pirimidinônico. ....	23
<b>Esquema 11:</b> Segunda proposta mecanística para a formação do heterociclo da pirimidinona..	24
<b>Esquema 12:</b> Proposta de formação de possíveis subprodutos..	25
<b>Esquema 13:</b> Formação do sal sódico pirimidinônico (107)..	55

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Alguns compostos heterociclos biologicamente ativos. ....	2
<b>Figura 2:</b> Tipos de dor. ....	6
<b>Figura 3:</b> Bases nitrogenadas uracila (7), timina (8) e citosina (9). ....	8
<b>Figura 4:</b> Pirimidinonas e algumas das suas formas. ....	9
<b>Figura 5:</b> Estruturas tautoméricas do anel pirimidinônico. ....	10
<b>Figura 6:</b> Chassis pirimidinônico com potenciais atividades analgésicas e anti-inflamatória. ....	11
<b>Figura 7:</b> Pirimidinonas com atividade anti-inflamatória. ....	11
<b>Figura 8:</b> Pirimidinas com atividade frente a bactérias Gram-positivas (30) e Gram negativas (31). ....	12
<b>Figura 9:</b> Substâncias avaliadas sobre a atividade anti-HIV. ....	12
<b>Figura 10:</b> Espectro eletromagnético mostrando a localização das micro-ondas (retirado da referência 70). ....	16
<b>Figura 11:</b> Reator de micro-ondas da marca CEM, modelo Discover SP. ....	17
<b>Figura 12:</b> Estrutura dos adutos derivados do cianoacetato de etila (53) e da malononitrila (49). ....	22
<b>Figura 13:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 59a. ....	27
<b>Figura 14:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância 59a. ....	28
<b>Figura 15:</b> Espectro de infravermelho da substância 59a. ....	28
<b>Figura 16:</b> Espectro de massas (LC/MS) da substância 59a. ....	29
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 60a. ....	29
<b>Figura 18:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância 60a. ....	30
<b>Figura 19:</b> Espectro de infravermelho da substância 60a. ....	31
<b>Figura 20:</b> Espectro de massas (LC/MS) da substância 60a. ....	31
<b>Figura 21:</b> Chassi molecular pirimidinônico do nosso estudo (54). ....	32
<b>Figura 22:</b> Estrutura da pirimidina 87, para demonstrar como funciona um cálculo de autocorrelação de índices atômicos. ....	34
<b>Figura 23:</b> Estrutura da pirimidina 87 com os valores atômicos dos índices $\pi$ de Fukui (+) (-) respectivamente. ....	35
<b>Figura 24:</b> Índice $\pi$ de Fukui (+) de cada átomo na pirimidinona 59c mais ativa do nosso modelo. ....	36
<b>Figura 25:</b> Índice de Fukui $\pi$ (-) de cada átomo na pirimidinona 59c mais ativa do nosso modelo. ....	36

<b>Figura 26:</b> Sulfademetoxina ( <b>88</b> ) neutra e suas espécies zwitteriônicas em equilíbrio <b>89</b> e <b>90</b> .....	37
<b>Figura 27:</b> Percentuais das espécie neutra e zwitteriônica do composto <b>59c</b> .....	37
<b>Figura 28:</b> Representação gráfica da equação <b>4</b> .....	38
<b>Figura 29:</b> Gráfico Sali .....	39
<b>Figura 30:</b> Estrutura da 6-oxo-2-fenil-4- <i>p</i> -toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila <b>59c</b> ...	40
<b>Figura 31:</b> Molécula do ácido acetil salicílico ( <b>106</b> ).....	47
<b>Figura 32:</b> Gráfico para a 1 <sup>a</sup> . fase do teste da formalina .....	53
<b>Figura 33:</b> Gráfico para a 2 <sup>a</sup> . fase do teste da formalina. ....	54
<b>Figura 34:</b> Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) dos compostos <b>59c</b> e <b>107</b> .....	56
<b>Figura 35:</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>59c</b> . ....	57
<b>Figura 36:</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>107</b> .....	57

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Rendimentos e alguns dados experimentais para as pirimidinas ( <b>59a-j</b> ) e pirimidinonas sintetizadas ( <b>60a-j</b> ) .....	21
<b>Tabela 2:</b> Comparativos dos rendimentos sintéticos dos compostos <b>59a</b> e <b>60a</b> nos métodos convencional e em micro-ondas .....	26
<b>Tabela 3:</b> Atividades antinociceptivas dos compostos <b>59a</b> , <b>59d</b> , <b>59f</b> , <b>59g</b> e <b>82-86</b> e da indometacina testadas por indução com ácido acético por dos Anjos e colaboradores <sup>27</sup> ...	32
<b>Tabela 4:</b> Exemplo de como calcular descritores de autocorrelação a partir de índices atômicos individuais F(i) para a molécula de pirimidina .....	34
<b>Tabela 5:</b> Tabela contendo as vinte pirimidinonas analisadas, dentre as quais 11 provenientes da explosão molecular e as outras nove provenientes do estudo anterior, identificadas com os valores em itálico .....	40
<b>Tabela 6:</b> Algumas propriedades ADME-Tox previstas pelo software Simulations Plus de alguns analgésicos comerciais e a pirimidinona mais ativa prevista em nosso estudo.....	43
<b>Tabela 7:</b> Testes de avaliação da atividade antinociceptiva para <b>59a</b> e <b>59c</b> .....	52
<b>Tabela 8:</b> Resultados dos testes de nocicepção induzida pela formalina .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Sigla ou abreviatura</b>	<b>Significado</b>
$\delta$	Deslocamento químico
AcOEt	Acetato de Etila
ADME	Absorção, distribuição, Metabolismo e Excreção
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMP	Monofosfato cíclico de adenosina
CCD	Cromatografia de camada delgada
CI <sub>50</sub>	Concentração capaz de exercer efeito em 50% da população
d	Dupleto
dd	Dupleto de dupleto
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
I.V	Infravermelho
m	Multiplete
MeOH	Metanol
M.O.	Micro-ondas
NGF	Fator de crescimento neural
PAF	Fator de ativação plaquetária
P.F.	Ponto de fusão
ppm	Parte por milhão
Py	Piridina
QSAR	Relações quantitativas entre estrutura e atividade
R <sub>f</sub>	Fator de retenção

<b>RMN</b>	Ressonância magnética nuclear
<b>s</b>	Simpleto
<b>sl</b>	Simpleto Largo
<b>t.a.</b>	Temperatura ambiente
<b>TEA</b>	Trietilamina
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>Tox</b>	Toxicidade

## Sumário

RESUMO .....	VI
ABSTRACT .....	VIII
LISTA DE EQUAÇÕES .....	XII
LISTA DE ESQUEMAS .....	XIII
LISTA DE FIGURAS .....	XIV
LISTA DE TABELAS .....	XVI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	XVII
SUMÁRIO .....	XIX
<b>1- INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1-Planejamento de Fármacos e Química Medicinal.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2- Relações Quantitativas entre Estrutura e Atividade (QSAR) .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3-Descritores .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4-Dor .....</b>	<b>6</b>
<b>1.5- Mediadores químicos e o processo inflamatório .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6-Pirimidinas.....</b>	<b>8</b>
<b>1.7-Pirimidinonas .....</b>	<b>8</b>
<b>1.8- Tautomeria em compostos pirimidinônico .....</b>	<b>9</b>
<b>1.8.-Importância das pirimidinas e pirimidinonas.....</b>	<b>11</b>
<b>1.9.- Principais métodos para a síntese do anel pirimidínico e pirimidinônico .....</b>	<b>13</b>
<b>1.10 – Uso da irradiação de micro-ondas em síntese orgânica.....</b>	<b>16</b>
<b>2- OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 - Objetivos gerais.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 - Objetivos específicos .....</b>	<b>19</b>
<b>3- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1-Síntese das pirimidinas e pirimidinonas potencialmente ativas. ....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 - Caracterização das pirimidinas e pirimidinonas sintetizadas .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4-Explosão combinatória .....</b>	<b>39</b>
<b>3.5-Propriedades ADME-Tox .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4 - Testes de atividade antinociceptiva de algumas 4-(3H)-pirimidinonas sintetizadas.....</b>	<b>50</b>
<b>3.5 - Resolvendo o problema da solubilidade.....</b>	<b>54</b>
<b>3.6-Atividade antinociceptiva do sal sódico por via oral .....</b>	<b>57</b>

<b>6- PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>61</b>
<b>6.1- Procedimentos gerais .....</b>	<b>61</b>
<b>6.2 – Equipamentos utilizados.....</b>	<b>61</b>
<b>6.3 - Síntese das substâncias potencialmente ativas .....</b>	<b>61</b>
<b>6.4 Testes de atividade antinociceptiva .....</b>	<b>68</b>
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>74</b>

## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1-Planejamento de Fármacos e Química Medicinal

Desde a antiguidade o homem recorre às mais diversas substâncias buscando o alívio de seus males. Nos tempos mais remotos, recorria-se às fontes naturais. Entretanto, com o aumento da população e o surgimento de um maior número de patologias, fez-se necessário expandir o conhecimento sobre as formas de tratamento das doenças, bem como entender como estas se processam. A partir daí, há o nascimento das áreas relacionadas à bioquímica, patologia, farmacologia e química.<sup>1</sup>

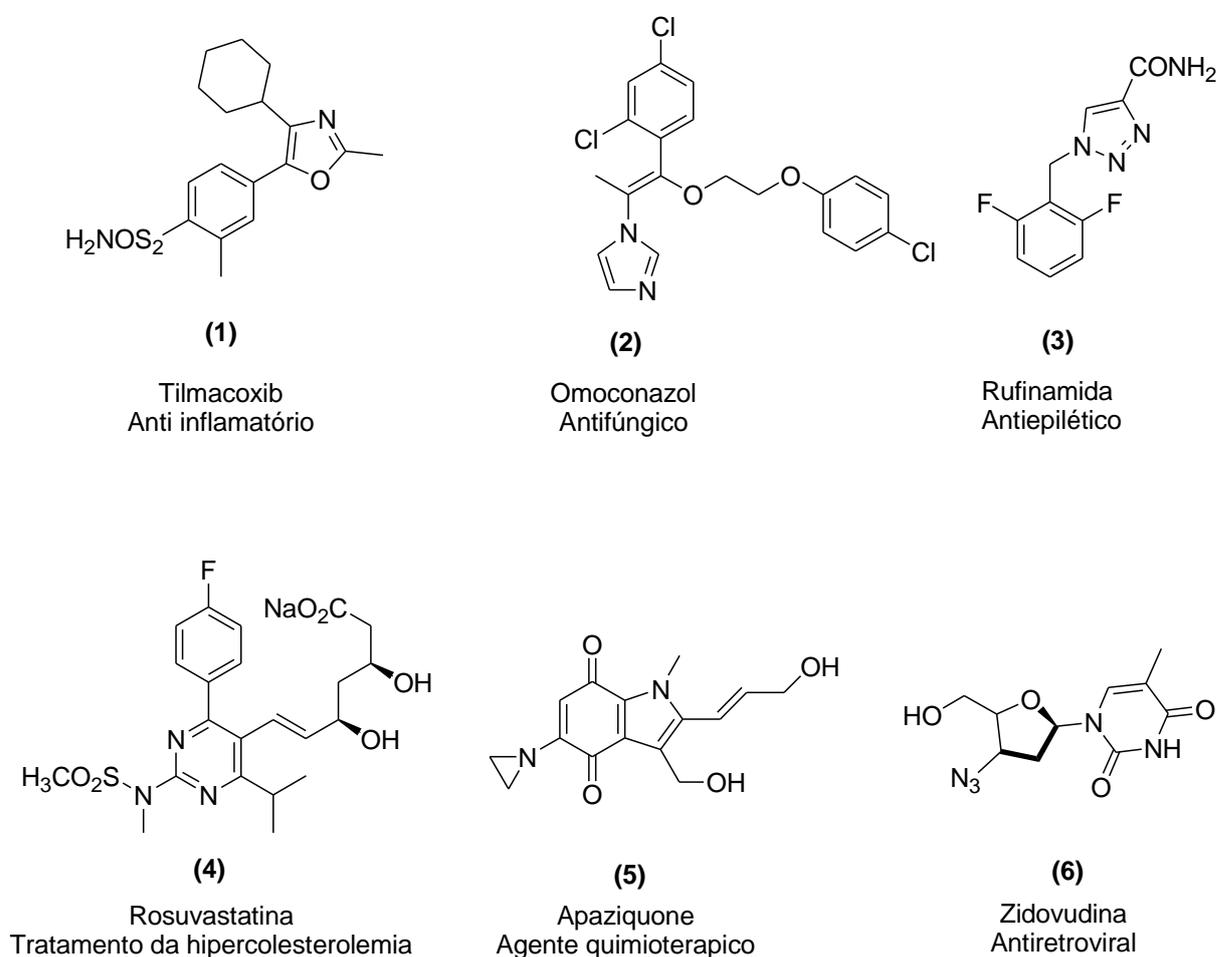
Com o desenvolvimento de diversas áreas da química, em especial a síntese orgânica, muitas substâncias que possuem algum tipo de atividade biológica foram sintetizadas.<sup>1</sup> Com isto, os fármacos de origem sintética passaram a ser cerca de 80% dos fármacos existentes no mercado.<sup>2</sup> De fato, muitas destas substâncias são oriundas de estruturas-protótipo encontradas em produtos naturais. Ou seja: muitas vezes, a síntese orgânica contribui não somente para uma maior produção da substância natural dotada de atividade, mas também para a modificação estrutural desta substância visando a obtenção de produtos farmacologicamente superiores.<sup>2</sup>

Todo o processo para a descoberta e produção de um fármaco se deve aos conhecimentos adquiridos em diversas áreas, tais como síntese orgânica, farmacologia, bioquímica e a química computacional.<sup>3</sup> As contribuições destas áreas para a pesquisa e desenvolvimento de um fármaco, fez com que surgisse uma outra área na química orgânica, conhecida por química medicinal.

Se a síntese de um fármaco é muitas vezes complexa, seu modo de ação é ainda mais. Hoje é sabido que um fármaco pode ter seu modo de ação explicado pelas interações deste ou de seus metabólitos com a molécula-alvo (chamada de receptor) ou ainda ter sua ação explicada de forma indireta, podendo o fármaco atuar em vários sítios simultaneamente.<sup>3</sup> A resposta biológica provocada por uma substância bioativa ocorre por meio de interações ligante-receptor e depende de sua estrutura química e de propriedades físico-químicas intrínsecas.<sup>3</sup> Estas propriedades podem ser de caráter molecular ou atômico e expressam características de efeito eletrônico, reatividade, forma, lipofilicidade, estabilidade e polaridade da molécula, dentre outras.

Muitas substâncias que apresentam algum tipo de atividade contém anéis de heterociclos. Os compostos heterocíclicos são responsáveis por cerca de 55% do total de

publicações em síntese orgânica e estão presentes em mais da metade das moléculas registradas nos últimos anos.<sup>4</sup> A importância destes compostos está além da abundância, já que normalmente são moléculas vitais ou com atividade fisiológica ou terapêutica.<sup>5</sup> Além de fármacos, os heterociclos de origem sintética também possuem outras importantes aplicações práticas, fazendo parte das moléculas de corantes, polímeros, solventes e antioxidantes. Ainda, muitos heterociclos fazem parte de blocos de construção para a síntese de vários compostos. Destes, pelo menos 90% apresentam um átomo de nitrogênio em sua estruturas.<sup>6</sup> Na figura abaixo são mostrados alguns compostos heterociclos biologicamente ativos (Figura 1).



**Figura 1:** Alguns compostos heterociclos biologicamente ativos.

## 1.2- Relações Quantitativas entre Estrutura e Atividade (QSAR)

Em química medicinal, o termo “relação quantitativa entre estrutura e atividade”, QSAR, compreende o estudo de como as estruturas químicas de compostos pertencentes a

uma série que apresenta um chassi molecular comum e vários substituintes em uma ou mais posições (estruturas estas representadas por descritores) correlacionam com a diferenciação da atividade biológica entre os membros da série. É importante esclarecer que a mera existência de uma correlação não implica que haja uma relação de causalidade entre as variáveis independentes, no caso os descritores estruturais e a variável dependente, no caso a atividade biológica. Para confirmar ou não a existência de tal relação de causalidade, é necessário verificar se perturbações nas variáveis independentes levam, de fato, a efeitos previstos na variável dependente. Ou seja, a relação de causalidade vai ficando estabelecida quando, a partir da correlação, se faz o *design* e efetivamente vai se comprovando o previsto pela correlação. Normalmente, quando se executa uma análise estrutura-atividade, há uma série de técnicas estatísticas que buscam rejeitar correlações espúrias e aceitar apenas correlações com alta probabilidade de exibirem uma real relação de causalidade. A primeira a ser feita é a técnica de se remover antecipadamente algumas estruturas, cujas atividades biológicas já são conhecidas, com o fim de verificar se a correlação encontrada sem o uso das mesmas é capaz de prevêê-las. Outra técnica, acessória, é verificar se os resíduos, ou seja, a diferença entre os valores previstos para a variável dependente, no caso a atividade biológica, e os previstos pela regressão, são aleatórios. Se não forem, isto é evidência de que a regressão não está explicando toda a variância da variável dependente – há falta de descritores e funções – e a regressão será neste caso incompleta. Como uma referência geral sobre este assunto, veja o livro de Seber e Lee.<sup>7</sup>

A ação terapêutica de uma determinada substância é resultado das interações destas substâncias com toda a variedade de ambientes biológicos aos quais é exposto. Depende, portanto, principalmente de sua estrutura molecular e também da formulação pela qual é apresentado. Conseqüentemente, suas propriedades físico químicas<sup>8,9</sup> têm muita importância na atividade. Estas propriedades, sejam elas eletrônicas, hidrofóbicas ou estéricas, por exemplo, afetam a interação do fármaco com o ambiente biológico: sua absorção, sua distribuição, sua interação com possíveis receptores, metabolismo, excreção, toxicidade... Este efeito coletivo se traduz na atividade biológica. Assim, dois fármacos estruturalmente semelhantes, diferenciando-se apenas por um átomo ou posição que este ocupa na molécula, apresentam diferenças nas suas propriedades físico-químicas e por conseguinte poderão apresentar diferentes atividades biológicas, tanto do ponto de vista qualitativo, quanto quantitativo.

Em 1964, Corwin Hansch, propôs correlações de energia livre (conhecidas também como abordagem extratermodinâmica) entre as atividades biológicas dos compostos e

parâmetros como o  $\sigma$  de Hammett (baseado nos estudos de acidez de derivados do ácido benzóico) e o emprego do coeficiente de partição octanol/água ( $\log$  de P),<sup>10</sup> demonstrando assim que a atividade dependia de fatores eletrônicos, estéricos e lipofílicos. A equação abaixo mostra os fatores citados acima. Na equação temos os fatores a,b,c que são coeficientes da regressão, e o K como um termo constante:<sup>11</sup>

$$\text{Log}(1/C) = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \dots K$$

**Equação 1:** Equação de Hansch.

Na mesma época vieram as contribuições de Free e Wilson, através de um modelo matemático fazendo uso de equações matriciais com valores lógicos, representados por 0 ou 1, que informam a presença ou ausência de uma determinada subestrutura química com certas características, correlacionando-as a atividade biológica de interesse.<sup>11</sup> Como exemplo, pode ser examinada a equação abaixo que mostra o efeito da atividade biológica em função das contribuições de determinados substituintes  $X_1, X_2, \dots, X_i$  em um determinado chassi molecular, onde AB é a atividade biológica atribuída aos compostos da série:

$$AB = \sum a_i X_i + \mu$$

**Equação 2:** Equação proposta por Free-Wilson.

Até este ponto, busca-se o aumento de uma determinada atividade dentro de um chassis molecular definido. No entanto, não basta apenas a molécula possuir boa atividade biológica se a mesma não possuir boas propriedades relacionadas a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) e/ou altas toxicidades. Este pensamento foi o que proporcionou um grande salto no desenvolvimento de fármacos no início da década de 90, pois as escolhas dos compostos “líderes” – aqueles que apresentavam algum tipo de atividade biológica - eram em sua maioria realizadas a partir de ensaios *in vitro*. Esses compostos líderes mais ativos eram aperfeiçoados por QSAR com o único objetivo de aumentar suas atividades *in vitro* e, em seguida, submetidos a ensaios de fase 1, a partir dos quais dificilmente eram aproveitados, pois essas substâncias em sua grande maioria terminavam por, ou não possuir boas propriedades ADME, ou por serem muito tóxicas. Um dos problemas que impediam esses compostos de apresentarem resultados satisfatórios na fase 1 é que, nos testes *in vitro*, a solubilização dos mesmos é em geral feita em DMSO. Ora, solubilidade em DMSO pouco tem a ver com a solubilidade desses compostos em água, que é o solvente adequado para administração oral.

A partir daí, vários avanços surgiram, dentre os quais destaca-se o trabalho de Lipinski, que reconheceu pela primeira vez o conjunto de características que os compostos químicos devem apresentar para terem uma alta probabilidade de possuir boas propriedades

ADME<sup>12</sup> - importante pré-condição para poderem ser considerados como fármacos no caso em que apresentem alguma atividade biológica. Este conjunto de características ficou conhecido como a regra dos cinco de Lipinski,<sup>12</sup> que será discutida em mais detalhes no capítulo 2. O trabalho de Lipinski representou um grande avanço nas pesquisas em Química Medicinal, tornando assim muito mais eficiente a busca por novos fármacos.

A toxicidade de um modo geral é definida como algum efeito nocivo provocado pela interação de alguma substância química com um determinado organismo. Por isto, é muito importante saber o grau de toxicidade de uma substância. O alquimista suíço Paracelso, considerado o pai da toxicologia, em uma das suas célebres frases, descreve bem o efeito de uma substância química no organismo: “Todas as substâncias são venenos; não existe nada que não seja veneno. Somente a dose correta diferencia o veneno do remédio.”<sup>13</sup> Assim sendo, saber antecipadamente a toxicidade de uma substância é de fundamental importância na avaliação do potencial terapêutico de um composto que possa vir a atuar como um possível fármaco. Para muitos toxicologistas, Hansch é o fundador do chamado “QSAR moderno”, pois em seu artigo em conjunto com Fujita, o mesmo relacionou a sua equação com a toxicidade de um determinado composto<sup>14</sup> como visto na seguinte equação:

$$\text{Log}(1/\text{CL}_{50}) = a (\log P) + b\epsilon + cS + d ;$$

**Equação 3:** Equação que relaciona  $\text{CL}_{50}$  com a equação 1.

onde  $\text{CL}_{50}$ , que é a concentração que mata 50% de uma população de cobaias, está correlacionada com os fatores lipofílicos, eletrônicos e estéricos, como mencionado acima. Atualmente, é possível prever várias medidas de toxicidade de um composto arbitrário com base em sofisticados modelos QSAR.<sup>15</sup>

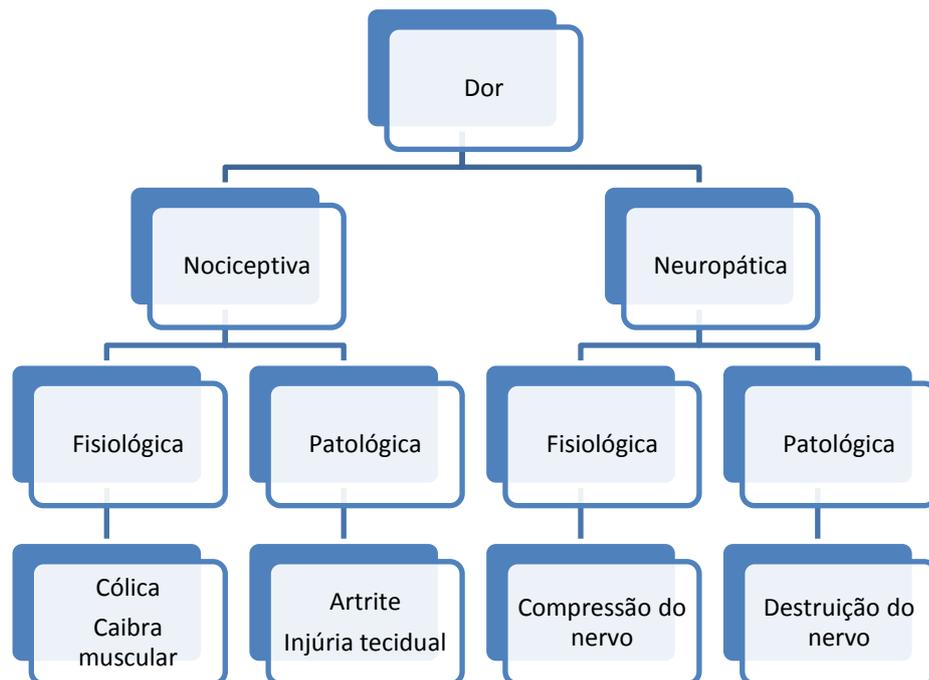
### 1.3-Descritores

Descritores moleculares baseiam-se exclusivamente na estrutura química da molécula e são, principalmente de três tipos: apenas estruturais; obtidos a partir de cálculos de química quântica; ou a partir de modelos clássicos da físico-química. Os descritores utilizados no modelo QSAR a que chegamos neste trabalho foram retirados de um conjunto de 333 descritores calculados pelo software ADMET Predictor versão 5 da empresa SimulationsPlus.<sup>15</sup> Dentre os 333 descritores encontram-se: descritores constitucionais, como por exemplo, o número de átomos de carbono, ou o número de ligações...; descritores eletrotológicos, a partir de cálculos simples de química quântica; descritores de Moriguchi<sup>16</sup> (normalmente utilizados para os modelos de LogP); descritores lógicos para reconhecimento de padrões moleculares, incluindo os de Meylan;<sup>17</sup> descritores derivados de

propriedades eletrônicas; descritores de ligações de hidrogênio; descritores da ionização molecular; e descritores geométricos.

#### 1.4-Dor

O combate à dor ainda é uma das grandes preocupações da comunidade científica. Há uma busca incansável por parte dos pesquisadores em procurar entender as razões que justificam a ocorrência da dor e propor procedimentos para o seu controle.<sup>18</sup> A dor pode ser definida como um dano a pele ou a outros órgãos ou estímulos nocivos que induzem a uma sensação desagradável. A função da dor, de maneira geral, serve como um alerta biológico ao corpo sobre a agressão sofrida. A dor pode ser classificada em dois gêneros; (i) nociceptiva, (ii) neuropática. A dor por nocicepção ocorre por ativação fisiológica dos receptores e está relacionada à lesão de tecidos.<sup>19</sup> Já a dor neuropática é definida como a dor iniciada por lesão ou disfunção do sistema nervoso, sendo melhor compreendida como resultado da ativação anormal da via nociceptiva (fibras de pequeno calibre e trato espinotalâmico).<sup>20</sup> A figura 2 mostra um fluxograma esquemático para os tipos de dor.



**Figura 2:** Tipos de dor.

Substâncias químicas utilizadas para o alívio da dor são comumente chamadas de analgésicos. As drogas analgésicas podem atuar através de várias maneiras sobre os sistema nervoso central e periférico. Na classe de drogas empregadas para o alívio da dor estão inclusos os derivados do *p*-aminofenol (paracetamol), os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) e opiáceos como a morfina e a meperidina.<sup>21</sup>

### 1.5- Mediadores químicos e o processo inflamatório

A dor é um dos sinais que evidenciam a presença de um possível processo inflamatório e isto decorre da sensibilização dos receptores da nocicepção. O processo inflamatório nada mais é do que uma resposta orgânica diante a uma lesão ou infecção. A resposta inflamatória é essencial para sobrevivência, tentando proteger o organismo de estímulos nocivos, em algumas situações e doenças.<sup>22,23</sup>

O processo inflamatório se inicia com a formação de ácido araquidônico, que é responsável por dar origem aos mediadores químicos da inflamação através de duas vias; (i) Via das COXs (ciclo-oxigenases), que produzem prostaglandinas, tromboxanas e prostaciclina e (ii) via das LOXs (lipoxigenases), que por sua vez deriva leucotrienos. As substâncias oriundas destas duas vias, são denominadas como prostanóides, sendo estes as principais citocinas responsáveis por mediar o desenvolvimento no processo inflamatório.<sup>21,23</sup>

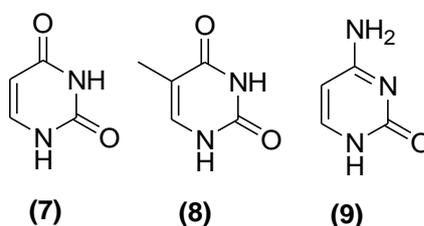
Na agressão do tecido, os mediadores químicos desempenham suas tarefas dentro do organismo, provocando alterações na permeabilidade dos vasos, aumentando o fluxo de sangue no local e possibilitando que os leucócitos possam chegar ao local, para reparar o tecido danificado e enviar sinais aos macrófagos, que por sua vez digerem os antígenos e o tecido morto. Por esse motivo é possível observar os sinais clássicos da inflamação como o rubor (vermelhidão na pele), calor, turgor (inchaço), perda da função do tecido e, por fim, a dor. Todos estes sinais são resultados da liberação destes mediadores químicos.<sup>22,23</sup> As modificações oriundas da liberação destes mediadores levam ao intumescimento do tecido. Isto ocorre devido ao extravasamento de proteínas plasmáticas para o interstício intercelular. Isto faz com que as células percam água, aumentando o volume de líquido no sítio da inflamação. A isto dá-se o nome de edema.<sup>23</sup>

São vários os mediadores químicos do processo inflamatório: acetilcolina, bradicinina, histamina, serotonina, leucotrienos, substância P, fator de ativação plaquetária (PAF), íons potássio, prostaglandinas, tromboxanas, interleucinas, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), fator de crescimento neural (NGF) e monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico).<sup>21</sup>

## 1.6-Pirimidinas

Pirimidinas são compostos heterocíclicos de 6 membros que possuem 2 átomos de nitrogênio em suas estruturas, nas posições 1 e 3 do anel, sendo também chamados de diazinas.<sup>24</sup> Alguns estudos mostram que a origem sintética desses compostos é a reação catalítica do HCN e da formamida em temperaturas moderadas.<sup>25</sup>

As pirimidinas naturais mais importantes são a uracila, a timina e a citosina, que são constituintes dos ácidos nucleicos, substâncias estas que estão presentes em todas as células vivas e são responsáveis pelo armazenamento e transmissão da informação genética e por sua tradução, que é expressa pela síntese de proteínas. Na figura abaixo estão as estruturas destas três substâncias (Figura 3).

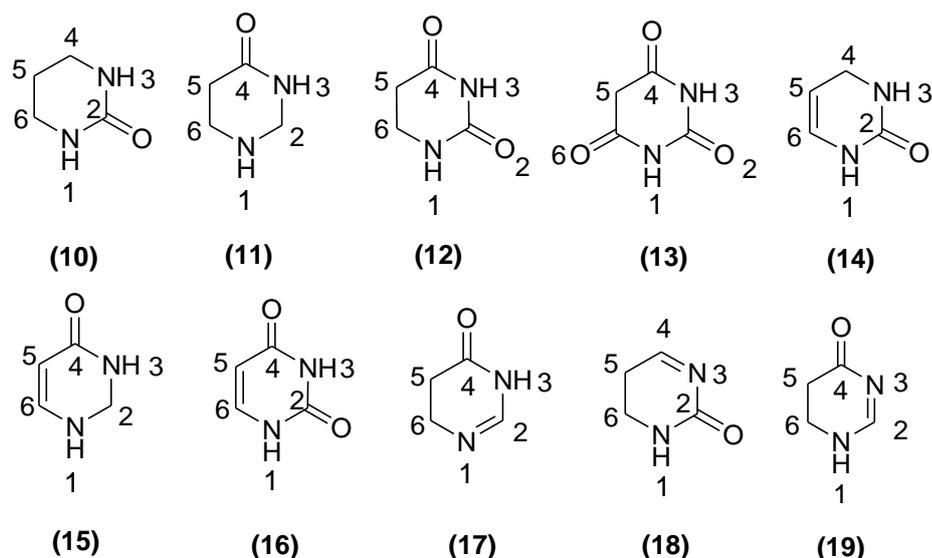


**Figura 3:** Bases nitrogenadas uracila (7), timina (8) e citosina (9).

Devido à importância destas bases nas estruturas dos ácidos nucleicos, a concepção de antimetabólitos destes últimos contendo pirimidinas em suas estruturas é um assunto de grande interesse no desenvolvimento de drogas antivirais, antimicrobianas e antitumorais.<sup>24</sup>

## 1.7-Pirimidinonas

As pirimidinonas são compostos derivados das pirimidinas e que têm pelo menos uma carbonila no heterociclo (Figura 4). As pirimidinonas são classificadas conforme a posição da carbonila (posição 2, 4 ou 6); a quantidade de grupos cetona no anel (nomeadas como pirimidinona, pirimididiona e pirimiditriona); graus de insaturação no anel (tetraidro, diidro ou sem insaturações); e ainda quanto a substituições nas posições N-1, N-3, C-2, C-4, C-5, e C-6.<sup>26</sup> Na figura 4 são mostradas as estruturas pirimidinônicas mais encontradas na natureza e em compostos de origem sintética.



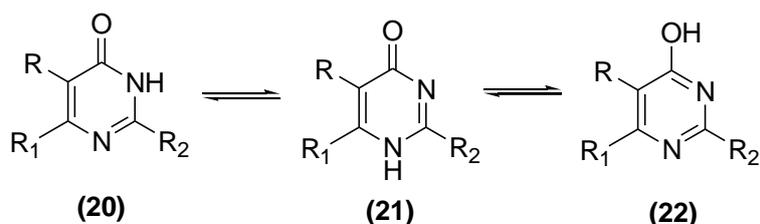
**Figura 4:** Pirimidinonas e algumas das suas formas.

Ainda em relação ao anel pirimidinônico e em termos da posição da carbonila, destacam-se três formas deste heterociclo, são elas: 4-(3*H*)-pirimidinona (17), 2-(1*H*)-pirimidinona (18) e 4-(1*H*)-pirimidinona (19) (três últimas estruturas na figura acima). Neste trabalho será dada ênfase a estruturas contendo a 4-(3*H*)-pirimidinona.

Assim como os compostos pirimidínicos, as pirimidinonas são dotadas de diversas propriedades biológicas tais como antinociceptiva,<sup>27</sup> anti-inflamatória,<sup>28</sup> anticonvulsivante,<sup>29</sup> antimicrobiana,<sup>30</sup> e antitumoral.<sup>28</sup>

### 1.8- Tautomeria em compostos pirimidinônico

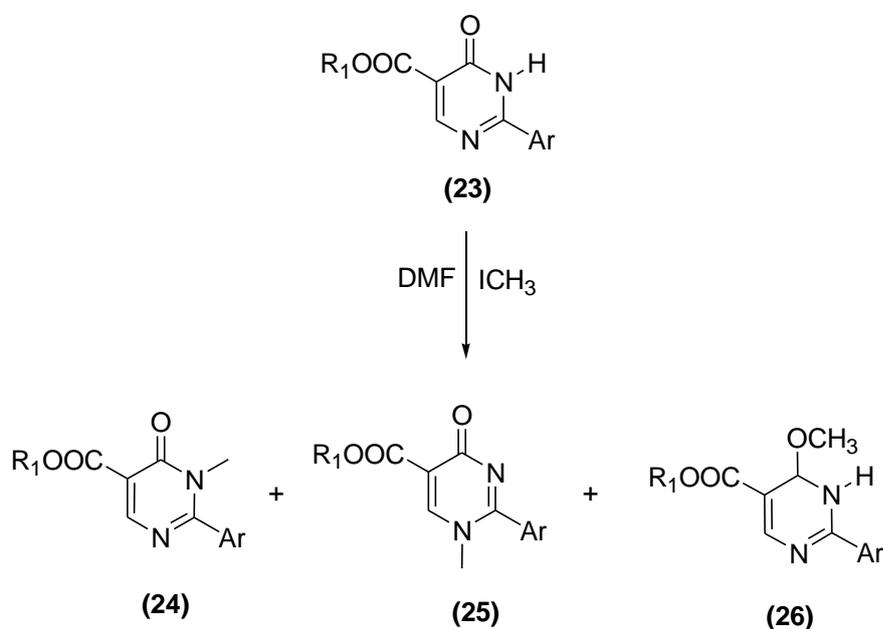
Os compostos pirimidinônicos podem se apresentar em diversas formas, como já mencionado anteriormente. No entanto, além dessas formas, esses compostos podem apresentar outras estruturas de ressonância, sendo chamados de tautômeros. Citando o exemplo da 4-(3*H*)-pirimidinona, pode-se atribuir a esta uma outra estrutura de ressonância, ou seja, um outro tautômero, a 4-hidróxi-pirimidina. Como previsto pela teoria da ressonância, neste equilíbrio ceto-enólico a forma ceto é a mais favorecida e é aquela que mais contribui para o híbrido de ressonância.<sup>31</sup> Adicionalmente, Crâcium e colaboradores<sup>32</sup> propuseram que, além dessas duas formas tautoméricas para o núcleo pirimidinônico, há uma terceira, a 4-(1*H*)-pirimidinona. Na figura 5 estão mostradas estas três formas tautoméricas.



**Figura 5:** Estruturas tautoméricas do anel pirimidinônico.

As informações obtidas por dados espectroscópicos de infravermelho e de RMN de  $^1\text{H}$  confirmam estas hipóteses. Por exemplo, para a banda que corresponde à absorção da carbonila no IV, nestes compostos se apresenta abaixo da região característica. Já no RMN de  $^1\text{H}$  há o aparecimento de um simpleto alargado, referente ao hidrogênio ligado ao NH. Normalmente, este sinal aparece na região compreendida entre 11 e 13 ppm, o que evidencia a transferência deste próton entre os átomos de oxigênio e nitrogênio.<sup>32</sup>

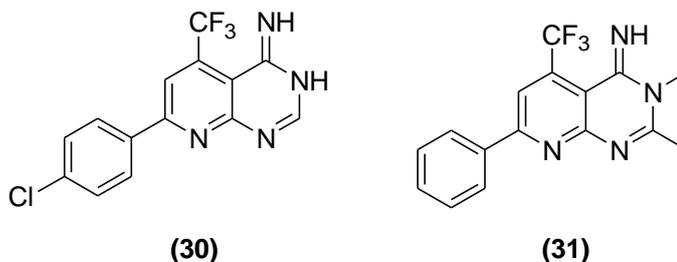
Além dos métodos espectroscópicos, pode-se ainda observar este fenômeno e descrever o equilíbrio existente entre as espécies tautoméricas e suas respectivas proporções em alguns tipos de reação envolvendo o anel da piridinona. Por exemplo, na reação de metilação de 4-(3*H*)-pirimidinonas utilizando iodometano, pode se observar uma mistura de três compostos metilados.<sup>33</sup> No esquema 1 é mostrada esta reação.



**Esquema 1:** Reação de metilação de uma 4-(3*H*)-pirimidinona: rendimentos de **50%** e **27%** dos isômeros N-3 e N-1 e de **23%** para o isômero *O*-metilado<sup>33</sup>.

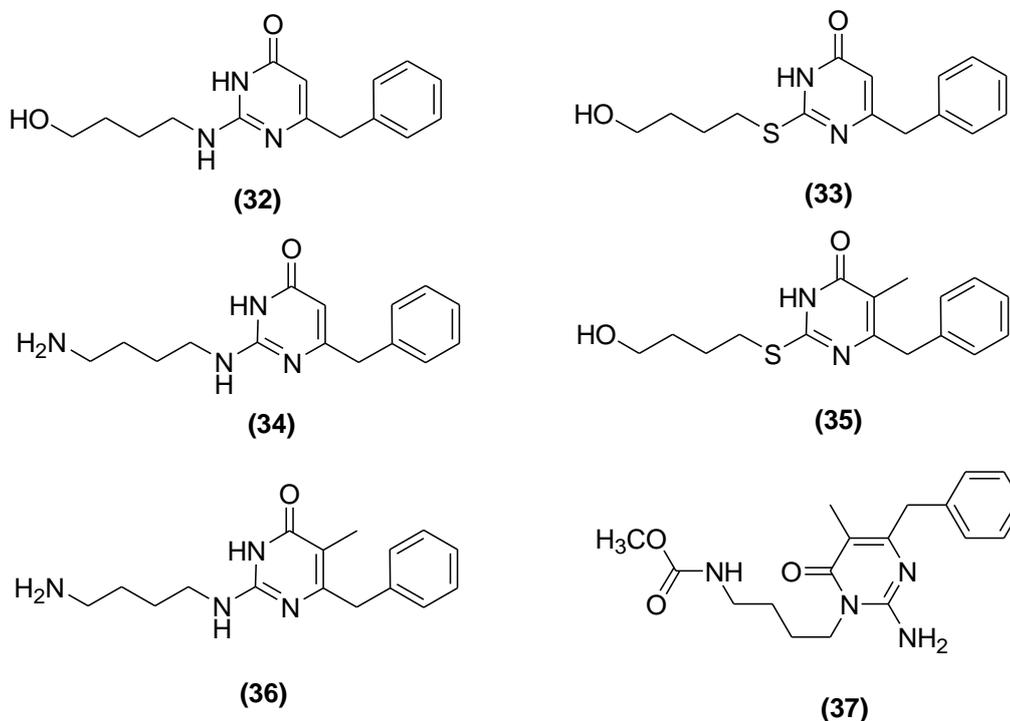


Já Kanth e colaboradores<sup>53</sup> realizaram a síntese de algumas pirido-[2,3d]pirimidinas e avaliaram a atividade antibacteriana destas substâncias contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Figura 8). Duas destas substâncias apresentaram atividade significativa contra bactérias Gram-positivas (**30**) e atividade moderada contra bactérias Gram-negativas (**31**).



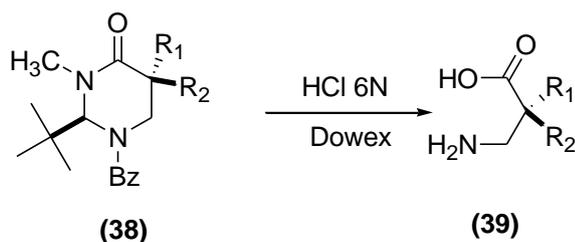
**Figura 8:** Pirimidinas com atividade frente a bactérias Gram-positivas (**30**) e Gram negativas (**31**).

Botta e colaboradores<sup>54</sup> sintetizaram e estudaram a atividade anti-HIV de 4-(3H)-pirimidinonas 2,5,6-trissubstituídas. Eles avaliaram a ação de seis substâncias e observaram que apenas uma delas (**35**) foi considerada como potencial candidato a fármaco (Figura 9).



**Figura 9:** Substâncias avaliadas sobre a atividade anti-HIV.

Além de possuir um amplo espectro de atividades farmacológicas, as pirimidinonas também servem como intermediários sintéticos para obtenção de  $\beta$ -aminoácidos (Esquema 2).



R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>= Alquila, benzila, arila                      ee>98%

**Esquema 2:** Hidrólise de pirimidinonas visando a síntese de β-aminoácidos.

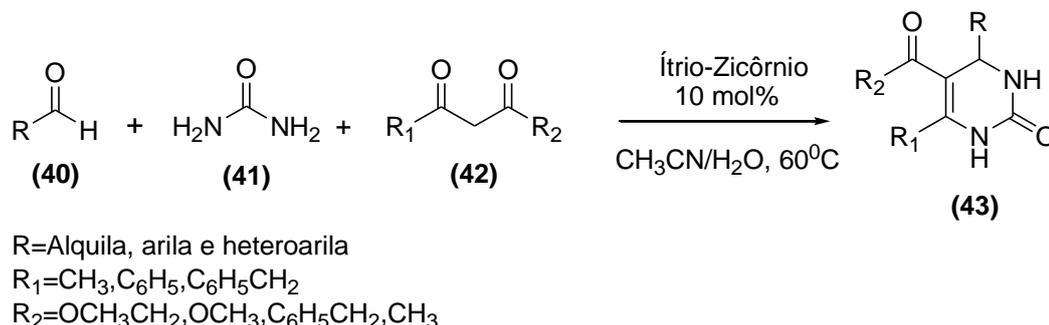
Os β-aminoácidos, embora sejam menos abundantes do que os α-aminoácidos, possuem papéis importantes na natureza. Por exemplo, os β-aminoácidos são importantes blocos de construção para a molécula do paclitaxel (Taxol®), um potente agente antitumoral muito utilizado no tratamento do câncer de ovário, de mama e do sarcoma de Kaposi.<sup>55</sup>

### 1.9.- Principais métodos para a síntese do anel pirimidínico e pirimidinônico

Várias rotas sintéticas foram desenvolvidas para a síntese desta classe de heterociclos.<sup>56</sup> Entretanto, uma das rotas mais utilizadas consiste na reação de condensação de um intermediário de Michael com uma molécula contendo uma porção urônio como: amidinas,<sup>57</sup> guanidinas,<sup>58</sup> uréia,<sup>59</sup> tiouréia,<sup>60</sup> metil-uréia e metil isouréia<sup>61,62</sup> utilizando uma base orgânica como catalisador. Entre as numerosas referências para obtenção desses compostos há as duas publicações de Brown e colaboradores em 1962 e 1984,<sup>56,63</sup> em que são relatadas 17 metodologias diferentes com o objetivo de sintetizar esta classe de heterociclos.

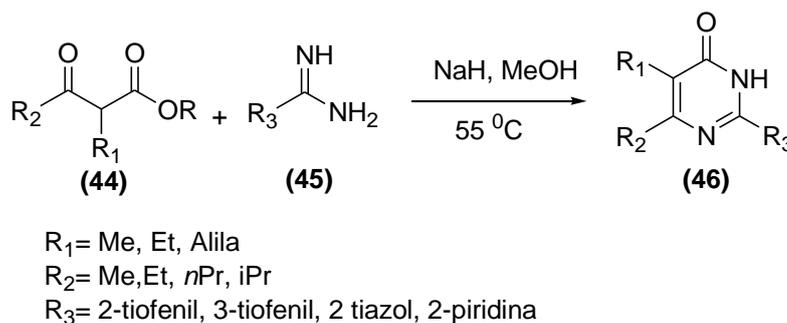
Por outro lado, a combinação entre um aldeído, β-ceto éster e uréia em meio ácido gerando uma diidropirimidinona, foi descrita primeiramente pelo químico italiano Pietro Biginelli em 1893.<sup>64,4</sup> Esta síntese multicomponente produz compostos de alto interesse para a indústria farmacêutica, tendo em vista que o heterociclo obtido está presente em compostos com boas atividades biológicas, como bloqueadores do canal de cálcio, agentes anti-hipertensivos, antivirais, dentre outros<sup>4</sup>. Embora as condições sintéticas originais descritas por Biginelli forneçam, no geral, compostos em baixos rendimentos químicos e imponha limitações para alguns substratos, por conta do interesse por estes anéis, várias metodologias foram descritas para que se obtivesse um melhor rendimento para estes compostos. Por exemplo, em 2009 (Ramalingam e Kumar<sup>65</sup> *apud* Amaral<sup>26</sup>) realizaram a síntese de

diidropirimidinonas utilizando como catalisador um sistema contendo ítrio e zircônio, obtendo bons rendimentos. Abaixo é mostrado o esquema para esta síntese (Esquema 3).



**Esquema 3:** Síntese de Biginelli modificada.

Um outro procedimento clássico para a obtenção de pirimidinonas é a condensação de 1,3-dicetonas com uréia catalisada por ácidos ou bases. Este método é conhecido como a síntese de Pinner. Esta metodologia fornece pirimidin-2-onas substituídas nas posição C-4 e C-6 com grupamentos aril, alquil ou benzil. Este método é muito simples e de baixo custo, entretanto reduz o número de grupos funcionais que podem ser utilizados, devido as reações cruzadas que podem ocorrer entre eles. Sendo assim, Naganuma e colaboradores<sup>66</sup> mostraram a aplicabilidade deste método ao sintetizar diversas pirimidinonas. Para isto utilizaram hidreto de sódio como base e metanol como solvente em refluxo (Esquema 4).

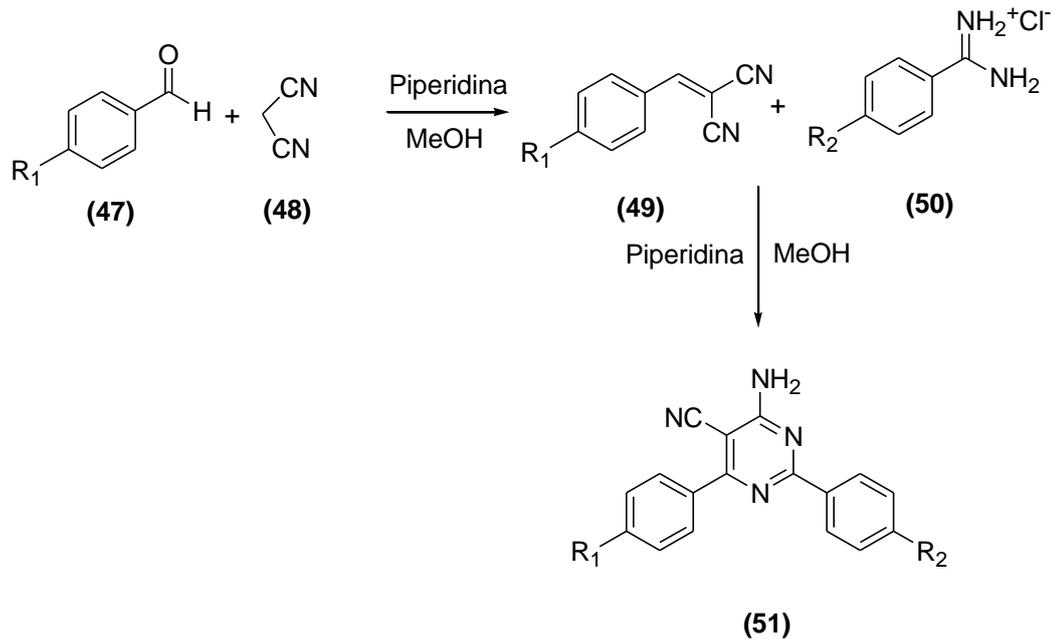


**Esquema 4:** Síntese de pirimidinonas segundo Naganuma e cols.<sup>66</sup>

Um método que tem se mostrando eficaz e que apresenta bons rendimentos é o método preconizado por Nicolle<sup>67</sup> e posteriormente modificado por Melo e colaboradores<sup>68</sup> (*apud* Mendonça Jr<sup>6</sup>).

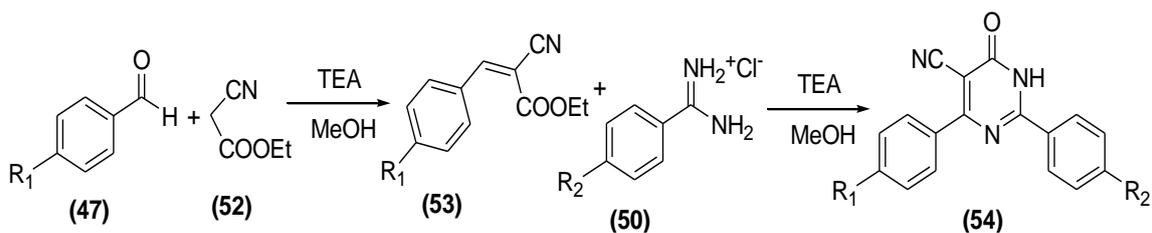
O método consiste na condensação de intermediários de Michael com arilamidinas. A formação destes intermediários de Michael é oriundo da reação de aldeídos aromáticos com a

malonitrila, utilizando base como catalisador. Abaixo o esquema geral para a formação destes compostos (Esquema 5).



**Esquema 5:** Síntese de 2,6-diaril-4-amino-pirimidina-5-carbonitrilas.

Com base na metodologia descrita acima, Mendonça Jr e colaboradores<sup>57</sup> relataram a síntese de 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas também através de duas reações consecutivas. Na primeira etapa há a reação de aldeídos aromáticos com o cianoacetato de etila, em meio básico e em solvente prótico. O produto formado reage então com amidinas aromáticas na segunda etapa para formar o heterociclo desejado (Esquema 6).



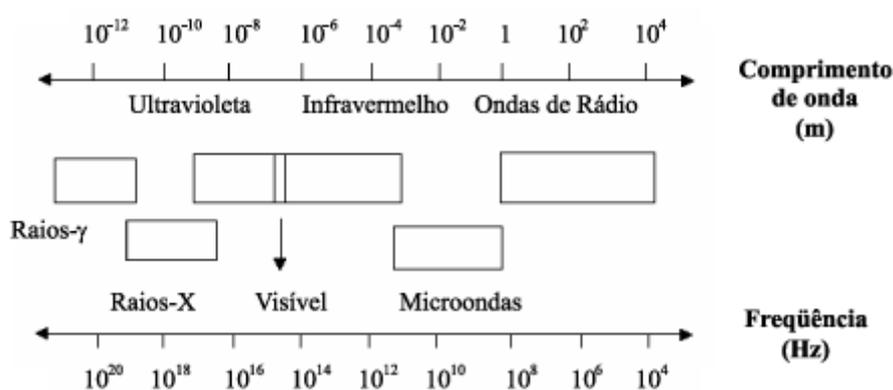
**Esquema 6:** Síntese de 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas.

Sheibani e colaboradores<sup>69</sup>, em 2009, sintetizaram pirimidinas e pirimidinonas análogas às mostradas nos esquemas 5 e 6 de forma multicomponente, utilizando um catalisador de óxido de magnésio com elevada área superficial, utilizando acetonitrila em refluxo. Nesta síntese o preparo do catalisador foi de fundamental importância, pois utilizando o MgO comercial, não é evidenciada a formação de produto. Já Ahmaid e colaboradores<sup>70</sup>

realizaram uma síntese muito semelhante, porém a diferença reside no óxido empregado. Nesta última reação, utiliza-se CuO como catalisador da reação e água como solvente.<sup>70</sup>

### 1.10 – Uso da irradiação de micro-ondas em síntese orgânica

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas não-ionizantes, que possuem uma frequência de 300 a 300.000 MHz, o que corresponde a comprimentos de onda que variam de 1 mm a 1 m.<sup>71</sup> A figura abaixo mostra a região onde estão localizadas as micro-ondas dentro do espectro eletromagnético, compreendida entre a região do infravermelho e as ondas de rádio (Figura 11).



**Figura 10:** Espectro eletromagnético mostrando a localização das micro-ondas (retirado da referência 70).

O uso de micro-ondas é bastante conhecido no cotidiano para o aquecimento de alimentos. Este aquecimento ocorre basicamente devido à quebra de ligações de hidrogênio da água presente nestes alimentos. No entanto, esta não é a única aplicação desta técnica que, a princípio surgiu na segunda guerra mundial como instrumento de identificação de aviões inimigos (RADAR).<sup>72</sup> Em química, o uso da irradiação de micro-ondas já era difundido entre os químicos analíticos desde a década de 70, na digestão de amostras e na extração de diversas substâncias.<sup>71</sup> Já em síntese orgânica é uma aplicação recente, que vem atraindo a atenção pela sua vasta aplicação sintética, como, por exemplo, o uso de reações sem solventes.

Muitos trabalhos foram publicados utilizando forno de micro-ondas doméstico, porém o uso do mesmo não é mais recomendado. Isto se deve por dois motivos principais: a falta de segurança do equipamento, uma vez que este não foi projetado para realizar reações químicas; e a baixa reprodutibilidade dos resultados obtidos, pois a radiação emitida pelo forno de

micro-ondas doméstico não é focada, sendo a distribuição da irradiação eletromagnética não direcionada de maneira eficiente para o sítio de reação<sup>72</sup>. A figura 11 mostra um aparelho de micro-ondas apropriado para uso laboratorial.



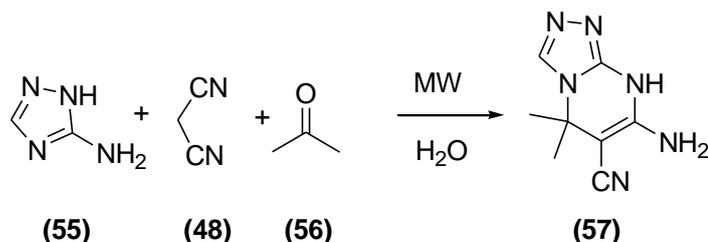
**Figura 11:** Reator de micro-ondas da marca CEM, modelo Discover SP.

A maneira eficaz de aquecimento proporcionado pelo sistema de micro-ondas faz com que reações químicas que levariam dias e horas quando realizadas em metodologias convencionais diminuam o seu tempo para minutos e segundos quando as mesmas são submetidas às micro-ondas. A redução drástica do tempo, acompanhada no aumento dos rendimentos reacionais e a produção mínima de rejeitos, faz com que este tipo de sistema se torne um método “verde” para a síntese de substâncias.<sup>71</sup>

O mecanismo de aquecimento pelas micro-ondas se dá por dois caminhos: rotação de dipolo e condução iônica. O primeiro relaciona o alinhamento das moléculas na presença de um campo elétrico. Quando este campo é retirado, as moléculas voltam a um estado de desordem e a energia absorvida devido ao alinhamento dessas espécies é dissipada em forma de calor. A oscilação deste campo se faz de forma imediata, o que torna o aquecimento das moléculas quase imediato. No mecanismo por condução iônica, o calor é gerado através de perdas por fricção que ocorrem através da migração de espécies iônicas dissolvidas sob a ação de um campo eletromagnético.<sup>72</sup>

Alguns autores relatam ainda a existência de um efeito chamado "efeito micro-ondas" ou "efeito específico de micro-ondas", que tem sido apontado como um efeito não-térmico causado pelo uso da radiação eletromagnética. Este efeito seria o responsável pelo aumento da velocidade de reação realizada com aquecimento por micro-ondas quando a mesma é comparada com o aquecimento convencional.<sup>73,74</sup> Este conceito também tem sido aplicado quando a utilização das micro-ondas leva a um resultado que não foi obtido com o aquecimento convencional, como diferentes quimiosseletividades e rendimentos bem maiores.

Um exemplo de reação visando a formação de pirimidinas utilizando micro-ondas foi feito por Dandia e colaboradores,<sup>75</sup> que sintetizaram pirimidinas contendo porção 1,2,4-triazol de modo multicomponente, utilizando água como solvente. Foram sintetizados 10 compostos com potenciais herbicidas em 4 condições reacionais diferentes e a que apresentou os melhores rendimentos (cerca de 90%) e menores tempos reacionais (5 minutos) é aquela que utiliza irradiação de micro-ondas (Esquema 7).



**Esquema 7:** Síntese multicomponente de pirimidinas utilizando microondas.

Diante das informações supracitadas fica claro que o uso da irradiação de micro-ondas na síntese multicomponente de pirimidinas e pirimidinonas pode ser bastante útil para a formação de bibliotecas de compostos biologicamente ativos. Sendo assim, a finalidade deste trabalho foi sintetizar pirimidinas e pirimidinonas via reação multicomponente, estudar e explorar o chassi molecular de alguns dos heterociclos sintetizados e avaliar a atividade antinociceptiva destes.

## 2- OBJETIVOS

### 2.1 - Objetivos gerais

O objetivo geral deste trabalho é sintetizar 4-amino-2,6-difenil-pirimidinas-5-carbonitrilas e seus derivados oxigenados por meio de síntese multicomponente e fazendo uso de irradiação de micro-ondas. Alguns destes compostos são antinociceptivos e tiveram sua relação estrutura-atividade estudadas. A partir deste estudo, novos compostos mais ativos puderam ser previstos e testados.

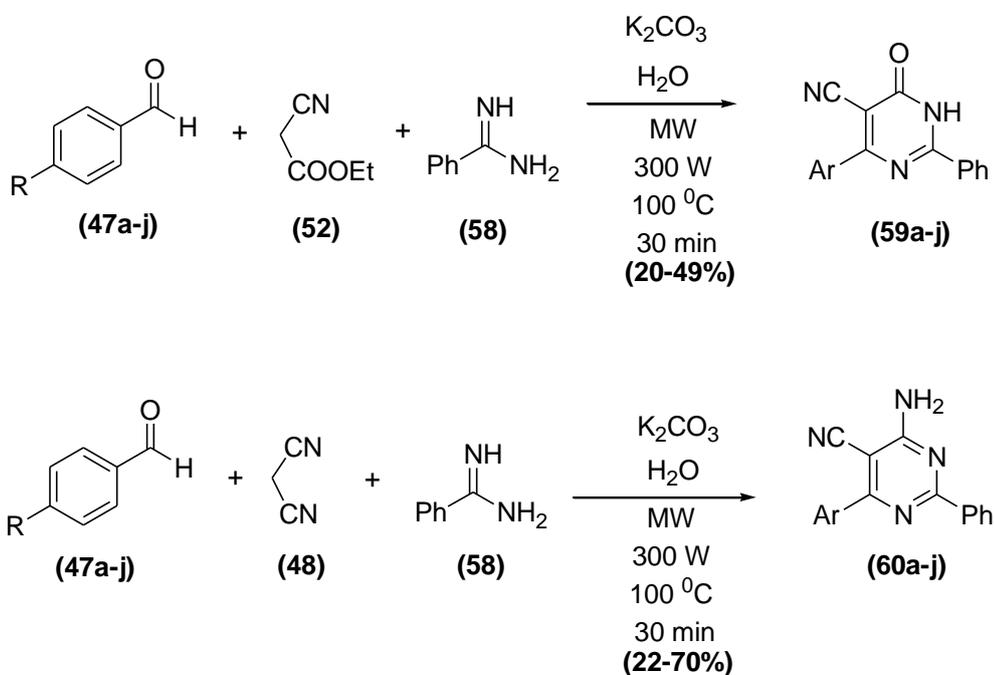
### 2.2 - Objetivos específicos

- Sintetizar 4-amino-2,6-difenil-pirimidina-5-carbonitrilas e 6-oxo-2,4-difenil-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilas através de metodologia multicomponente e utilizando irradiação de micro-ondas.
- Realizar estudos de relação estrutura-atividade (QSAR) de uma biblioteca já conhecida de pirimidinonas antinociceptivas.
- Através de ferramentas de química combinatória computacional realizar previsões acerca de candidatos a fármacos pirimidinônicos mais potentes no combate a dor.
- Avaliar a atividade antinociceptiva dos compostos previstos (administrados por via intraperitoneal) pelos estudos de QSAR através do método da indução de contrações abdominais pelo ácido acético.
- Avaliar a origem da inibição da nocicepção (se neurogênica ou inflamatória) de alguns derivados através do teste da indução da dor pela formalina.
- Melhorar a solubilidade da droga mais potente em água através da formação do sal sódico desta.
- Avaliar a atividade antinociceptiva por via oral do sal de pirimidinona obtido.

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1-Síntese das pirimidinas e pirimidinonas potencialmente ativas.

A síntese das pirimidinas e pirimidinonas relatadas neste trabalho foi realizada através de metodologia multicomponente, ou seja, os três reagentes envolvidos foram adicionados ao mesmo tempo no frasco de reação. Para tal, o aldeído aromático (**47a-j**), a benzamidina **58** e o composto com uma porção metileno ativa (cianoacetato de etila, **52**, ou malononitrila, **48**) foram reunidos e na presença de carbonato de potássio em meio aquoso, forneceram as 6-oxo-2,4-diaril-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (**59a-j**) e 4-amino-2,6-diaril-pirimidina-5-carbonitrilas (**60a-j**) em rendimentos satisfatórios (Esquema 8).



**Esquema 8:** Esquema de síntese multicomponente de pirimidinas e pirimidinonas.

Como pôde ser observado no esquema acima, a reação foi realizada em microondas, em meio aquoso e utilizando uma base inorgânica como catalisador. Na reação, são utilizados dois equivalentes de base: um para neutralizar o cloridrato de benzamidina e outro para realizar a primeira etapa da reação multicomponente. A 100°C, as pirimidinas e pirimidinonas foram obtidas em rendimentos que podem ser visualizados na tabela 1.

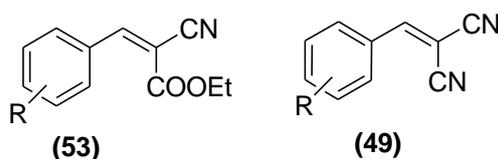
**Tabela 1:** Rendimentos e alguns dados experimentais para as pirimidinas (**59a-j**) e pirimidinonas sintetizadas (**60a-j**).

<b>Substância</b>	<b>Aldeído de partida</b>	<b>Rendimento (%)</b>	<b>Rf (7:3, Hexano:Acetato de Etila, v/v)</b>	<b>P.F (°C)</b>
<b>59<sup>a</sup></b>	Benzaldeído	42	0,43	Acima de 300
<b>59<sup>b</sup></b>	<i>m</i> -Toluil-Benzaldeído	47	0,51	Acima de 300
<b>59<sup>c</sup></b>	<i>p</i> -Toluil-benzaldeído	33	0,49	Acima de 300
<b>59<sup>d</sup></b>	<i>p</i> -Cloro-benzaldeído	49	0,31	Acima de 300
<b>59<sup>e</sup></b>	<i>p</i> -Bromo-benzaldeído	46	0,31	Acima de 300
<b>59<sup>f</sup></b>	<i>p</i> -Flúor-benzaldeído	45	0,31	Acima de 300
<b>59<sup>g</sup></b>	<i>p</i> -Metóxi-benzaldeído	41	0,37	Acima de 300
<b>59<sup>h</sup></b>	<i>m</i> -Nitro-benzaldeído	20	0,40	Acima de 300
<b>59<sup>i</sup></b>	<i>p</i> -Nitro-benzaldeído	43	0,40	Acima de 300
<b>59<sup>j</sup></b>	3,4-Dicloro-benzaldeído	41	0,27	Acima de 300
<b>60<sup>a</sup></b>	Benzaldeído	56	0,60	210-211
<b>60<sup>b</sup></b>	<i>m</i> -Toluil-benzaldeído	36	0,60	196-198
<b>60<sup>c</sup></b>	<i>p</i> -Toluil-benzaldeído	47	0,60	205-206
<b>60<sup>d</sup></b>	<i>p</i> -Cloro-benzaldeído	70	0,57	218-220
<b>60<sup>e</sup></b>	<i>p</i> -Bromo-benzaldeído	48	0,59	252-254
<b>60<sup>f</sup></b>	<i>p</i> -Flúor-benzaldeído	27	0,57	227-229

	benzaldeído			
<b>60g</b>	<i>p</i> -Metóxi-benzaldeído	48	0,55	216-218
<b>60i</b>	<i>p</i> -Nitro-Benzaldeído	67	0,5	198-200
<b>60j</b>	3,4-Dicloro-benzaldeído	22	0,5	Acima de 300

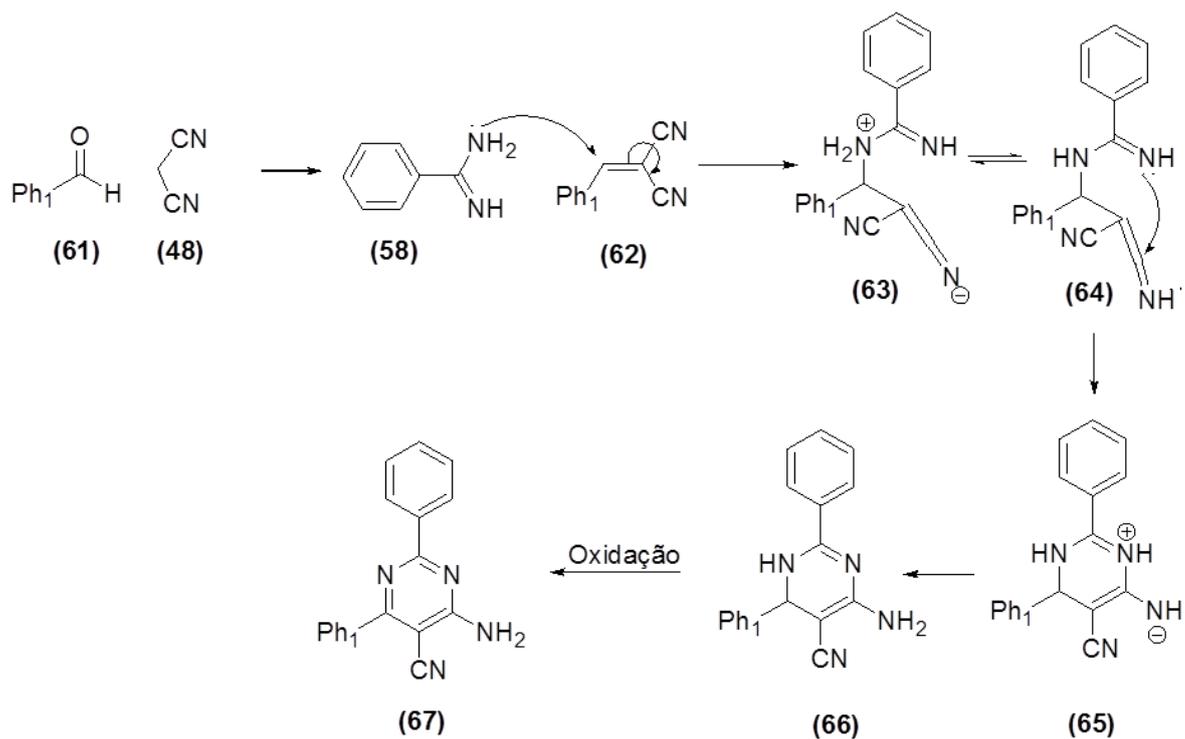
Possivelmente, ocorrem duas reações subseqüentes no meio reacional: na primeira há a condensação do aldeído aromático com o composto “metileno ativo” – assim designado por possuir um grupo metileno central facilmente desprotonável – para formar o intermediário de Michael. Já na segunda etapa há a reação entre o aduto formado na primeira reação e a amidina com a formação do produto.

O intermediário de Michael é formado através da chamada reação de Knoevenagel<sup>69</sup>, em que o composto metileno ativo (ciano acetato de etila ou malonitrila) é desprotonado pela base presente no meio reacional (carbonato de potássio), gerando um carbânion (Figura 12). Há então a adição deste carbânion à carbonila do aldeído aromático correspondente. Por fim, ocorre uma desidratação molecular, gerando o intermediário  $\alpha,\beta$  insaturado, o aduto de Knoevenagel.

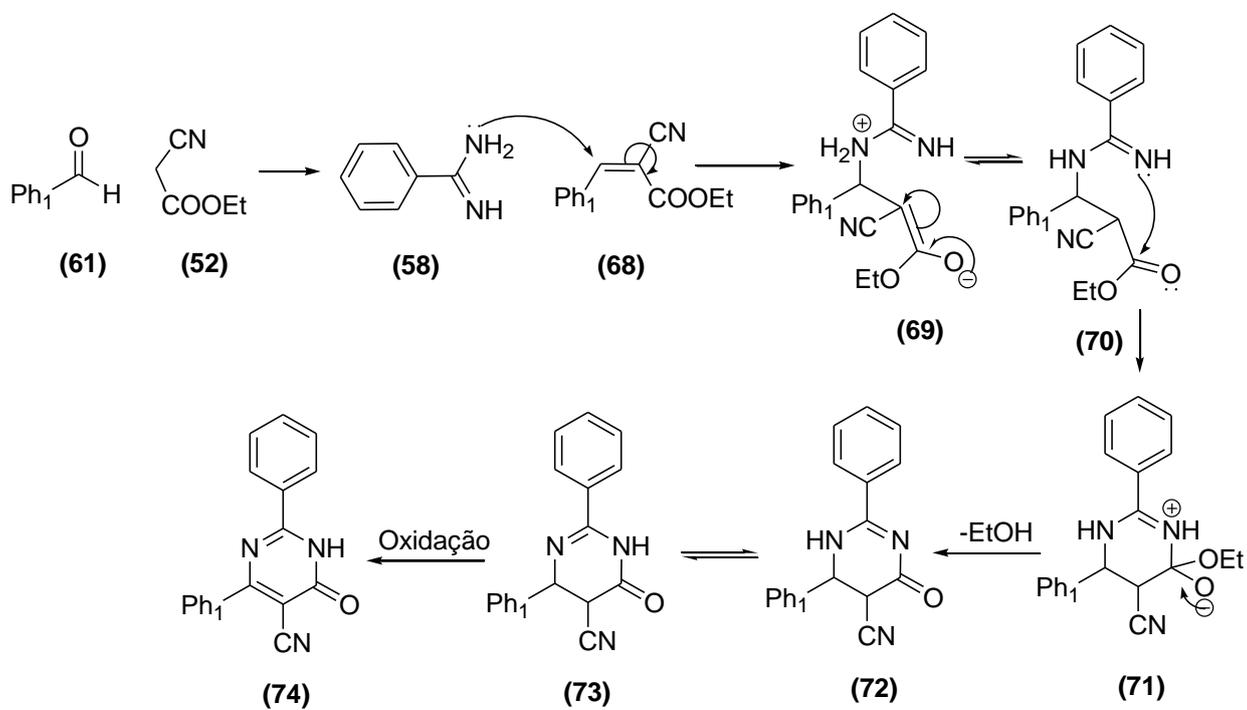


**Figura 12:** Estrutura dos adutos derivados do cianoacetato de etila (**53**) e da malononitrila (**49**).

Uma vez formados, os adutos de Knoevenagel podem então reagir com a amidina presente no meio reacional. O aduto é atacado pelo par eletrônico livre de um dos nitrogênios da porção urônio da benzamidina, devidamente neutralizada por um equivalente de carbonato de potássio (utiliza-se, nesta reação o cloridrato de benzamidina). Ocorre então uma sequência de adições com um posterior fechamento do anel, formando o respectivo heterociclo. Os esquemas a seguir mostram a formação dos heterociclos pirimidínico e pirimidinônico (Esquemas 9 e 10).



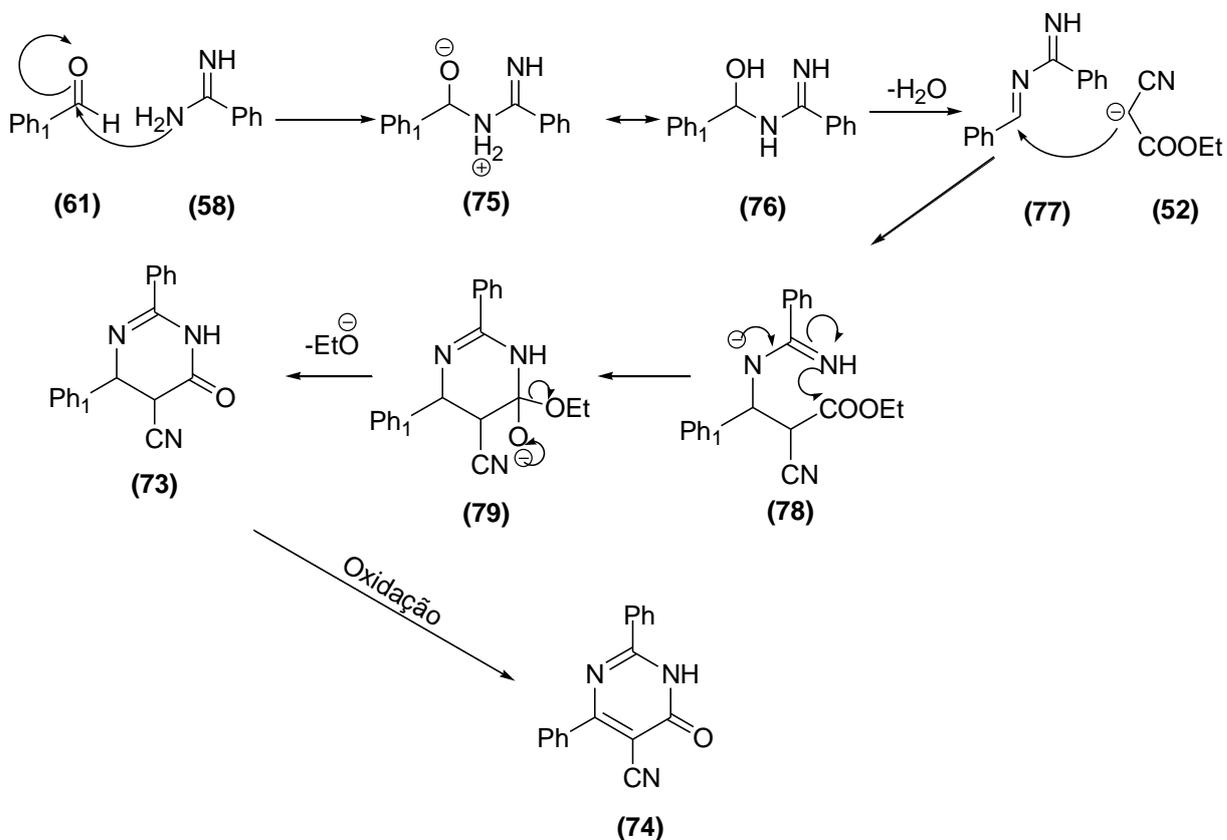
**Esquema 9:** Formação do anel da pirimidina



**Esquema 10:** Obtenção do anel pirimidinônico

A proposta mecanística citada no esquema 10 é de fato a principal rota de obtenção deste tipo de heterociclo, pois a formação do aduto é evidenciada por cromatografia de camada delgada (CCD). Porém, alternativamente outras reações podem ocorrer visando a formação do produto principal (heterociclo) ou a formação de outros subprodutos.

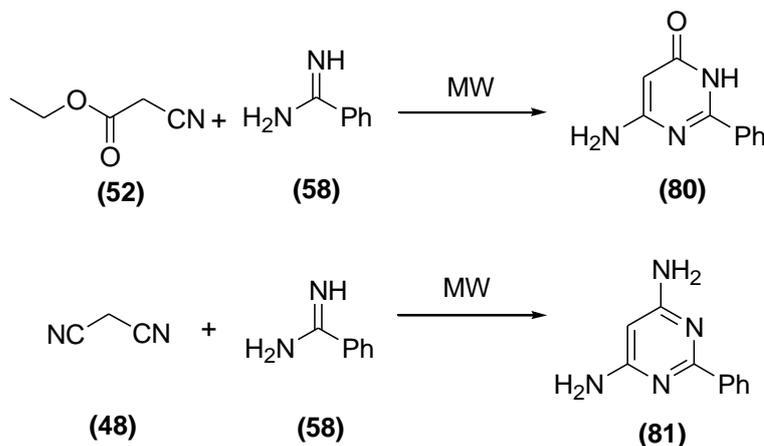
Uma outra explicação para a formação do heterociclo seria a formação de um derivado imina a partir da reação do aldeído com a amidina e a posterior reação desta imina com o composto dito “metileno ativo”, conforme o esquema abaixo para a formação do heterociclo pirimidinônico (Esquema 11).



**Esquema 11:** Segunda proposta mecanística para a formação do heterociclo da pirimidinona

Existe ainda uma terceira reação que pode estar acontecendo simultaneamente, levando a formação de um outro heterociclo. Foi reportado por Goswami e colaboradores<sup>76</sup> a síntese de pirimidinas e derivados utilizando amidinas (guanidina, uréia, tiouréia e ciano-guanidina) e compostos β-dicarbonilados, cianoacetato de etila e malonitrila. A reação é realizada sem solvente, utilizando carbonato de potássio como base e com o uso de micro-ondas doméstico. Pode ser constatado então que esta metodologia se parece bastante com a reportada no presente trabalho, no entanto Goswami e colaboradores não utilizaram a

benzamidina em seu trabalho mas pela semelhança metodológica existe a possibilidade de formação desses subprodutos nas reações de formação das 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (**59a-j**) e das 4-amino-2,6-difenil-pirimidina-5-carbonitrilas (**60a-j**). Este seria, portanto, um dos motivos dos rendimentos obtidos no presente trabalho não serem maiores. No esquema 12 uma proposta de possíveis subprodutos formados.



**Esquema 12:** Proposta de formação de possíveis subprodutos.

Para mostrar a eficiência do método apresentado aqui, pode-se realizar uma breve comparação com as metodologias utilizadas por Cabral<sup>77</sup> e Mendonça e colaboradores<sup>57</sup> para a síntese de 6-oxo-2,4-diaril-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilas (**59a-j**) e 4-amino-2,6-diaril-pirimidina-5-carbonitrilas (**60a-j**). A primeira metodologia envolveu, em média, 12 horas de reação nos quais  $\frac{3}{4}$  da reação foram em sistema de refluxo. Mendonça e colaboradores<sup>45</sup> adaptaram a metodologia utilizada por Cabral,<sup>77</sup> para obter pirimidinonas em temperatura ambiente, no entanto as sínteses apresentaram tempos de reação que variaram de 16 a 24 horas. Ambas as reações utilizavam metanol ou etanol como solvente e bases orgânicas (piperidina e trietilamina), produtos menos tóxicos ao meio-ambiente. Cabral fez uso de sistemas de refluxo, o que gera um enorme desperdício de água, caso o laboratório não seja dotado de sistema de recaptação da água utilizada no resfriamento dos condensadores. Para se ter uma ideia, em 24 horas de reação em refluxo são desperdiçados em média 500 litros de água. Mas o que diferencia o método apresentado aqui dos referenciados acima é que o desenvolvido agora usa uma metodologia multicomponente para a síntese destes heterociclos. Ou seja: a reação se processa em uma única etapa sintética (embora sejam formados intermediários *in situ*). Nas duas outras metodologias há a formação e isolamento do aduto de Knoevenagel para então realizar a síntese do anel heterociclo.

A metodologia aqui descrita não faz uso de refluxo e as reações apresentam tempos reacionais muito abaixo do que aqueles observados nos dois trabalhos acima mencionados. No entanto, faz-se uso da energia de micro-ondas, que provou ser de fundamental importância no sucesso da reação. Para testar a eficiência da radiação das micro-ondas na síntese de 6-oxo-2,4-diaril-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (**59a-j**) e 4-amino-2,6-diaril-pirimidina-5-carbonitrilas (**60a-j**), resolveu-se fazer a mesma reação, nas mesmas condições, exceto pelo uso das micro-ondas. Fez-se então a reação em refluxo, a 100°C, para a pirimidina e a pirimidinona derivadas do benzaldeído. Os resultados para estes testes, em comparação com a síntese em micro-ondas, estão sumarizados na tabela 2.

**Tabela 2:** Comparativos dos rendimentos na síntese da 2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59a**) e 4-amino-2,6-difenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60a**) nos métodos convencional e em micro-ondas.

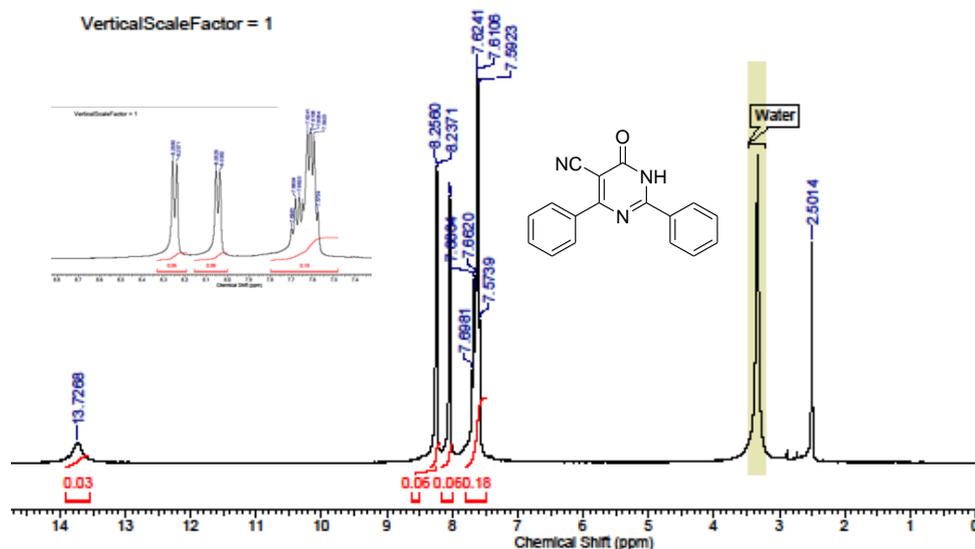
Heterociclo	Metodologia	Tempo de reação	Rendimento
<b>59<sup>a</sup></b>	Micro-ondas	30 Minutos	42%
<b>59<sup>a</sup></b>	Refluxo	8 Horas	18%
<b>60<sup>a</sup></b>	Micro-ondas	30 Minutos	56%
<b>60<sup>a</sup></b>	Refluxo	8 Horas	Não formou produto

Com os dados descritos na tabela acima pode-se concluir que ao síntese em micro-ondas, além de ser mais rápida (cerca de 16 vezes mais rápida), apresenta rendimentos superiores. Ou seja: nas condições reacionais testadas (uso de água e de carbonato), a reação multicomponente somente se processa de maneira eficiente se realizada sob irradiação de micro-ondas.

### 3.2 - Caracterização das pirimidinas e pirimidinonas sintetizadas

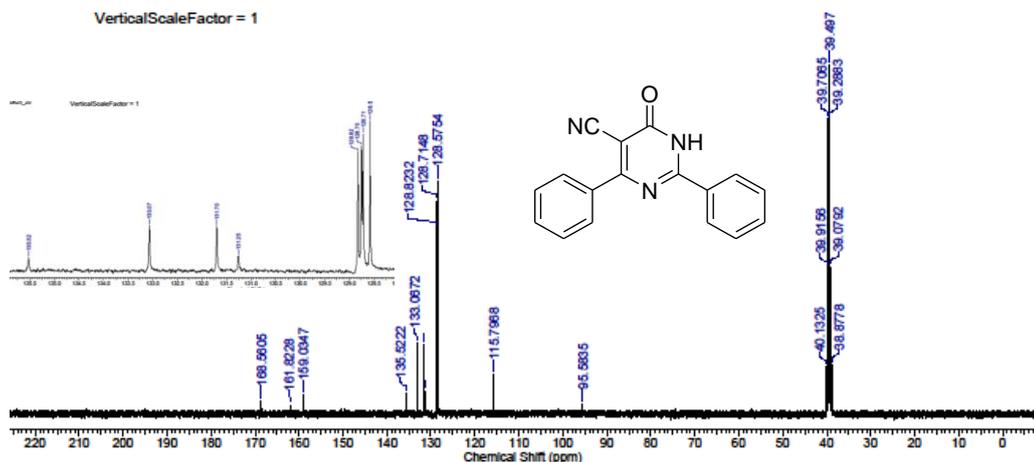
As substâncias sintetizadas neste trabalho, foram caracterizados através das técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e infravermelho além de espectrometria de massas. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **59a** observa-se, na região dos aromáticos, um multipeto entre 7,59 e 7,68 ppm referente aos seis hidrogênios aromáticos mais distantes do anel da pirimidinona. Em seguida, podem ser observados dois dupletos para os hidrogênios mais próximos do heterociclo (com constante de acoplamento  $^3J = 8,0$  Hz). Estes sinais são mais desblindados devido ao efeito retirador de elétrons do núcleo

heterocíclico. Outro sinal característico para esta série de substâncias é um simpleto largo da ligação N-H do anel pirimidinônico com deslocamento em 13,73 ppm. Na figura abaixo pode ser visualizado o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **59a** (Figura 13).



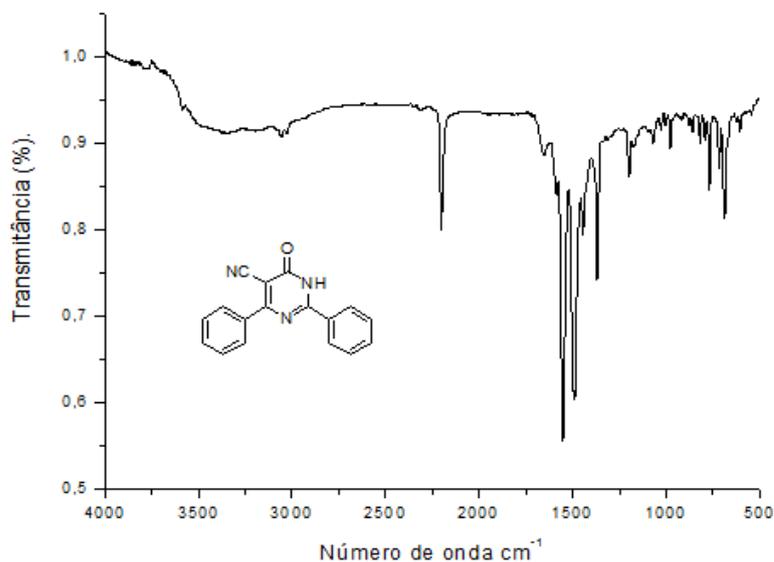
**Figura 13:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **59a**

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mesma substância podem ser visualizados treze sinais (Figura 14). No entanto, esta substância possui dezessete carbonos em sua estrutura. Os dezessete sinais não são observados em sua totalidade pelo fato de alguns carbonos (principalmente os que estão nos anéis arila em C-2 e C-6 da pirimidinona) serem quimicamente semelhantes tendo, portanto, o mesmo deslocamento químico. O sinal em campo mais alto (95,6 ppm) é referente ao C-5 do anel pirimidinônico. Em seguida, tem-se em 115,8 ppm o sinal do carbono do grupo nitrila. Aparecem então os sinais referentes aos carbonos dos grupos fenila em C-2 e C-6 (128,6; 128,7; 128,8; 128,9; 131,3; 131,7; 133,1; 135,5 ppm) e logo adiante os sinais de C-2 (159,0 ppm) e C-6 (161,8 ppm). Finalmente, em campo baixo, o sinal mais desblindado, referente ao carbono da carbonila (C-4) em 168,6 ppm.



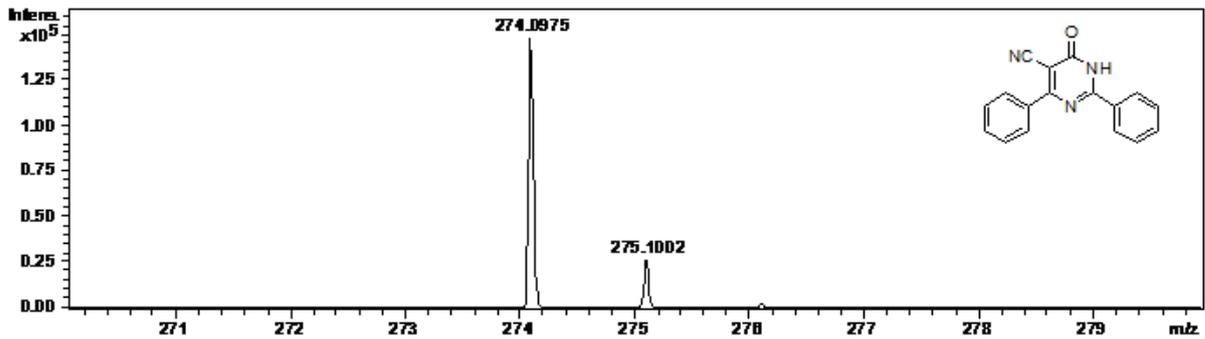
**Figura 14:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **59a**

O espectro de infravermelho da substância **59a** é mostrado na Figura 15. Observa-se a banda de absorção C=O em  $1555\text{ cm}^{-1}$  e o estiramento da ligação C=N do heterociclo em  $1482\text{ cm}^{-1}$ . Observa-se ainda uma banda de absorção com intensidade média de  $2201\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo nitrila, além de uma pequena absorção da ligação N-H em  $3060\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 15:** Espectro de I.V da substância **59a**.

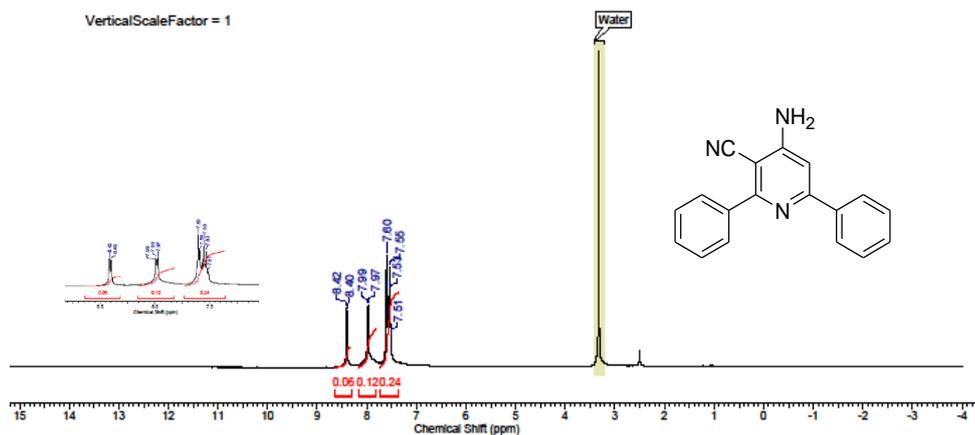
A substância **59a** foi ainda submetida à cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LC/MS) utilizando a técnica de ionização por elétron-spray (ESI). A massa exata para esta substância foi  $274,0980\text{ g/mol}$  segundo este experimento. O valor calculado para a fórmula molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}$   $[\text{M} + \text{H}^+]$  é de  $274,0975\text{ g/mol}$ , confirmando então que a substância analisada é realmente **59a**. A figura abaixo mostra o espectro de massas para esta substância.



**Figura 16:** Espectro de massas (LC/MS) da substância **59a**.

As demais pirimidinonas sintetizadas mostraram padrão espectroscópico semelhante e não serão discutidas aqui em detalhes. Todos os espectros para estas substâncias podem ser visualizados na seção “Anexos” desta dissertação.

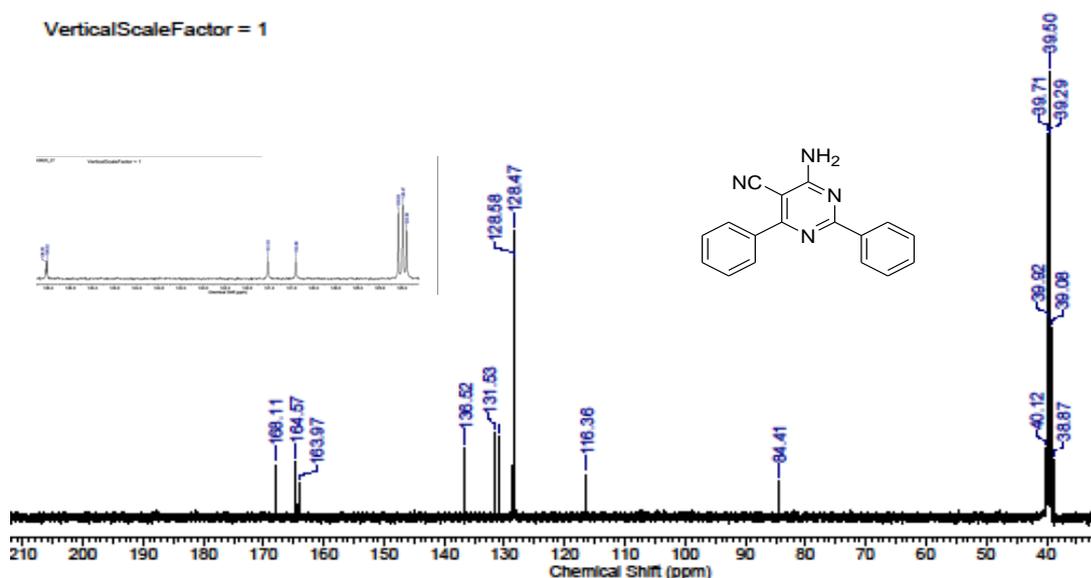
Para os compostos pirimidínicos, a análise espectroscópica é bem semelhante a das pirimidinonas. Por exemplo, no espectro de RMN de <sup>1</sup>H da substância **60a** (Figura 17) observa-se um multipletto da região dos hidrogênios aromáticos (referente a seis prótons aromáticos), de deslocamento químico entre 7,51 e 7,60 ppm. Mais desblindados, podem ser observados dois dupletos. Sobreposto na região do dupletto mais blindado, em 7,99 ppm e com constante de acoplamento <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, está o sinal do NH<sub>2</sub>. O dupletto mais desblindado, é o sinal correspondente na região de 8,41 ppm, com a mesma constante de acoplamento do dupletto anterior.



**Figura 17:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da substância **60a**

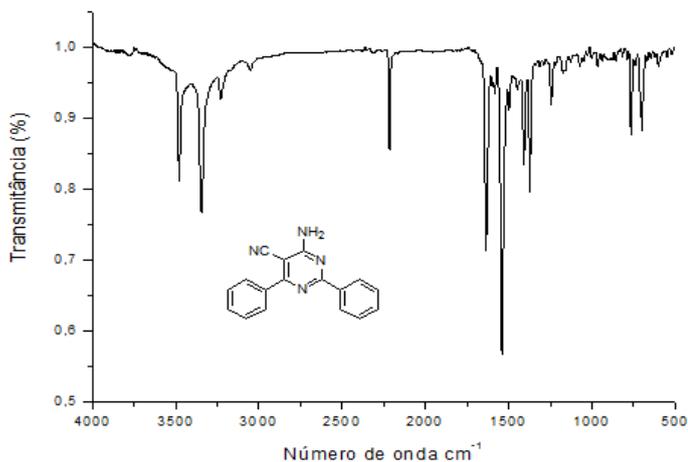
O espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **60a** é mostrado na figura 18. Podem ser visualizados dez sinais. Pelo mesmo motivo exposto para a pirimidinona **60a**, não são observados todos os sinais presentes na molécula. Em 84,4 ppm, observa-se o sinal do carbono C-5 e em seguida,

em 116,4 ppm, o sinal do carbono da nitrila. Na região compreendida entre (128,4; 128,5; 128,6; 130,9; 131,5; 136,5; 136,6) ppm podem ser visualizados os carbonos das fenilas substituídas no heterociclo pirimidínico. Em 164,0 ppm encontra-se o carbono ligado ao grupo amino e em 164,6 e 168,1 ppm, os sinais referentes a C-2 e C-6 da pirimidina.



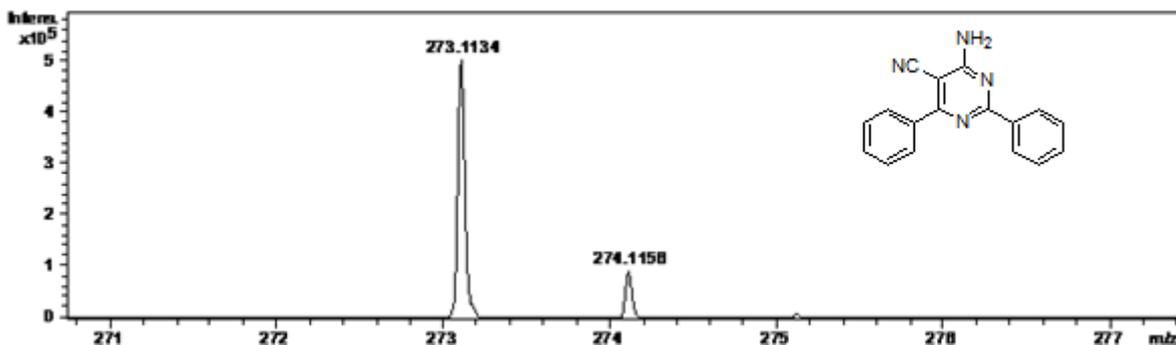
**Figura 18:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **60a**

Já no espectro de infravermelho de **60a**, observa-se dois estiramentos característicos do grupo  $\text{NH}_2$  em  $3479$  e  $3345\text{ cm}^{-1}$ , além do estiramento da ligação  $\text{C}=\text{N}$  do heterociclo em  $1635\text{ cm}^{-1}$ . Visualiza-se também uma banda de absorção com intensidade média em  $2201\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo ciano. O espectro de infravermelho para **60a** é mostrado na figura abaixo (Figura 19).



**Figura 19:** Espectro de I.V da substância **60a**

Analogamente à pirimidinona **59a**, também foi realizado um experimento de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (LC/MS) para a pirimidina **60a**. A massa exata para **60a** foi obtida experimentalmente e é 273,1134 g/mol. Para esta substância, o valor calculado para fórmula molecular  $C_{17}H_{12}N_4$   $[M+H]^+$  é de 273,1135 g/mol. A figura abaixo mostra o espectro de massas para a pirimidina **60a** (Figura 20)



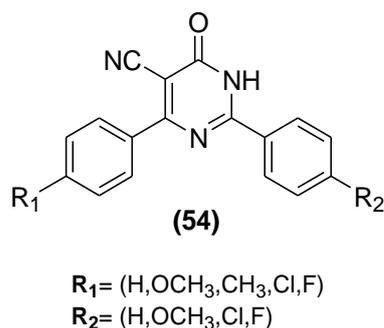
**Figura 20:** Espectro de massas (LC/MS) da substância **60a**.

As demais pirimidinas sintetizadas mostraram padrão espectroscópico semelhante e não serão discutidas aqui em detalhes. Todos os espectros para estas substâncias podem ser visualizados na seção “Anexos” desta dissertação.

### 3.3-QSAR para a série de pirimidinonas 2,6-aryl substituídas

Baseado no trabalho de dos Anjos e colaboradores<sup>27</sup>, utilizou-se seus dados experimentais da atividade antinociceptiva da série de pirimidinonas 2,6-aryl substituídas para realizar um QSAR com o objetivo de aumentar a atividade analgésica desses compostos. O chassi molecular corresponde à 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila e a

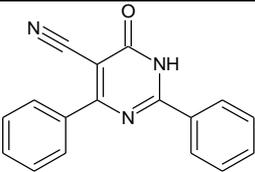
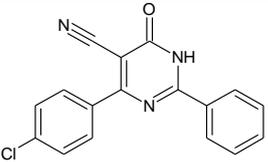
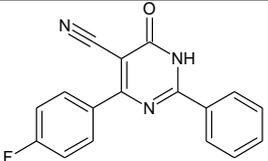
“decoreção” corresponde às substituições na posição *para* dos grupos fenila, tal como mostrado abaixo:

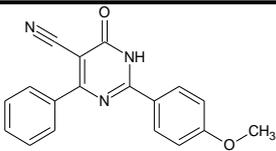
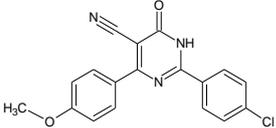
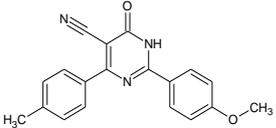
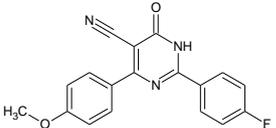
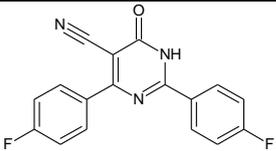
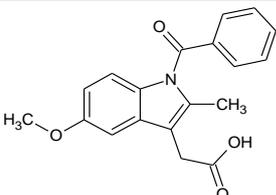


**Figura 21:** Chassi molecular pirimidinônico deste estudo (54)

Abaixo segue a tabela com os compostos sintetizados por dos Anjos e colaboradores (Tabela 3).<sup>27</sup>

**Tabela 3:** Atividades antinociceptivas dos compostos **59a**, **59d**, **59f**, **59g** e **82-86** e da indometacina testadas por indução com ácido acético por dos Anjos e colaboradores.<sup>27</sup> Os dados estão expressos na forma de percentuais de atividade, com seus respectivos desvios-padrão. Os testes foram realizados com seis animais para cada substância.

Composto	Notação Smiles	Código	Atividade Antinociceptiva <sup>27</sup>
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccccc2)c3ccccc3</chem>	<b>59a</b>	88,0±4,0
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccccc2)c3ccc(Cl)cc3</chem>	<b>59d</b>	73,9±10,0
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccccc2)c3ccc(F)cc3</chem>	<b>59f</b>	71,4±8,5
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccccc2)c3ccc(OC)cc3</chem>	<b>59g</b>	86,0±4,1

	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccc(OC)cc2)c3ccccc3</chem>	<b>82</b>	71,5 ±6,9
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccc(Cl)cc2)c3ccc(OC)cc3</chem>	<b>83</b>	88,6±3,4
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccc(OC)cc2)c3ccc(C)cc3</chem>	<b>84</b>	75,1±5,8
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccc(F)cc2)c3ccc(OC)cc3</chem>	<b>85</b>	70,0±5,4
	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccc(F)cc2)c3ccc(F)cc3</chem>	<b>86</b>	61,0±13,7
	<chem>O=C(O)Cc2c1cc(ccc1n(c2C)C(=O)c3ccccc3)OC</chem>	Ind <sup>a</sup>	76,3±4,8

<sup>a</sup>: Código da indometacina (controle positivo) com dose de 10 mg/Kg, enquanto os demais com dose de 50mg/Kg.

A partir dos dados experimentais deste estudo (Tabela 3) gerou-se uma regressão linear múltipla contendo três variáveis, a qual correlaciona descritores obtidos a partir da estrutura molecular dos compostos com a diferenciação da atividade analgésica do chassi molecular devido à presença de substituintes.

A regressão utilizada neste trabalho utilizou o método de mínimos quadrados, técnica esta que consiste em uma otimização matemática que procura encontrar o melhor ajuste para um conjunto de dados, minimizando a soma dos quadrados das diferenças entre o valor estimado e os dados observados; tais diferenças são chamadas resíduos. A regressão múltipla é uma generalização da regressão simples, levando em consideração diversas variáveis explicativas.

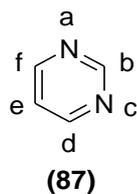
A atividade antinociceptiva percentual da série, AA%, resultou ser uma função linear dos descritores Pi\_FPI2, Pi\_FMi6 e FZwitter, de acordo com a equação (4) abaixo:

$$AA\% = -2,837793 \times Pi\_FPI2 - 0,733689 \times Pi\_FMi6 + 8478,342555 \times FZwitter + 225,906347$$

**Equação 4:** Equação obtida que explica nosso QSAR.

Onde: Pi\_FPI2 é a segunda componente do vetor de autocorrelação do índice  $\pi(+)$  de Fukui; Pi\_FMi6 é a sexta componente do vetor de autocorrelação do índice  $\pi(-)$  de Fukui; e FZwitter é a contribuição das espécies de zwitteriônicas de carga formal zero para a fração ionizada do composto, que independe do pH.

Os índices  $\pi$  de Fukui utilizados são calculados para os elétrons  $\pi$ , para cada um dos átomos que participam do sistema eletrônico  $\pi$  da molécula. Estes índices descrevem a reatividade do sistema  $\pi$  de tal forma que altos valores para o índice  $\pi(+)$  se referem a uma maior suscetibilidade da molécula para sofrer ataques nucleofílicos; enquanto altos valores para o índice  $\pi(-)$  estão relacionados a uma mais alta suscetibilidade da molécula em sofrer ataques eletrofílicos. Como os índices de Fukui são calculados para cada átomo do sistema  $\pi$ , é necessário, a partir dos mesmos, calcular índices que se refiram à totalidade da molécula, uma vez que a atividade biológica é uma função da molécula como um todo. Isto é feito a partir da definição de novos índices moleculares a partir da autocorrelação de índices atômicos. Como exemplo, considere abaixo a molécula de pirimidina (Figura 22), que utilizamos para mostrar como funciona um cálculo de autocorrelação (Tabela 4).



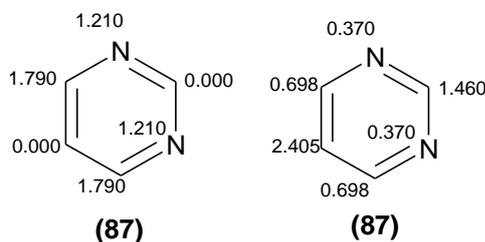
**Figura 22:** Estrutura da pirimidina **87**, para demonstrar como funciona um cálculo de autocorrelação de índices atômicos.

**Tabela 4:** Exemplo de como calcular descritores de autocorrelação a partir de índices atômicos individuais  $F(i)$  para a molécula de pirimidina. O símbolo  $\Sigma$   $n$  significa a soma de todos os produtos da coluna para a qual a distância topológica entre os átomos é igual a  $n$ .

Soma a partir de	Distância topológica			
	0	1	2	3
a	$F(a).F(a)$	$F(a).F(b)$	$F(a).F(c)$	$F(a).F(d)$

b	F(b).F(b)	F(b).F(c)	F(b).F(d)	F(b).F(e)
c	F(c).F(c)	F(c).F(d)	F(c).F(e)	F(c).F(f)
d	F(d).F(d)	F(d).F(e)	F(d).F(f)	F(d).F(a)
e	F(e).F(e)	F(e).F(f)	F(e).F(a)	F(e).F(b)
f	F(f).F(f)	F(f).F(a)	F(f).F(b)	F(f).F(c)
Autocorrelação	$\sum 0$	$\sum 1$	$\sum 2$	$\sum 3$

A pirimidina é uma molécula que possui os valores de  $\text{Pi\_FPI2}$  e  $\text{Pi\_FMi6}$  no valor de 4,67 e 0 respectivamente. Abaixo, a molécula da pirimidina com os valores dos índices  $\pi$  de Fukui (+) e  $\pi$  de Fukui (-) de cada átomo.



**Figura 23:** Estrutura da pirimidina **87** com os valores atômicos dos índices  $\pi$  de Fukui (+), à esquerda e (-), à direita.

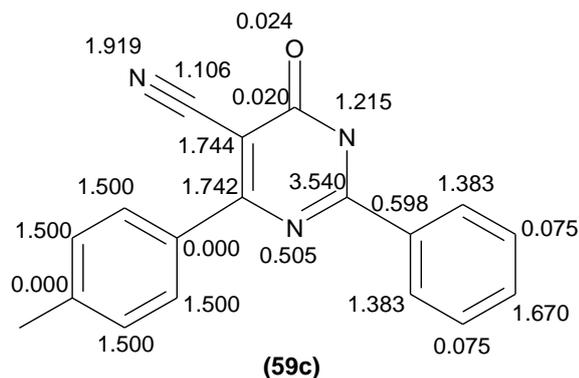
dessas correlações é de 4,67. Abaixo o exemplo do cálculo do descritor  $\text{Pi\_FPI2}$  para a pirimidina:

$$\sum 2 = (1,21 \times 1,21) + (0 \times 1,79) + (1,21 \times 0) + (1,79 \times 1,79) + (0 \times 1,21) + (1,79 \times 0) = 4,67.$$

**Equação 5:** Cálculo do vetor de auto correlação de segunda ordem do descritor molecular  $\text{Pi\_FPI2}$  para a molécula da pirimidina **87**.

Pela definição de autocorrelação, para a pirimidina que é um anel de seis membros, o descritor  $\text{Pi\_FMi4}$  é igual ao descritor  $\text{Pi\_FMi2}$ . Da mesma forma,  $\text{Pi\_FMi5}$  é igual a  $\text{Pi\_FMi1}$  e por fim  $\text{Pi\_FMi6}$  é igual a  $\text{Pi\_FMi0}$ .

Logo abaixo está a molécula mais ativa descrita pelo nosso modelo **59c**, com os valores individuais de cada átomo do índice  $\pi$  de Fukui (+) e do índice  $\pi$  de Fukui (-). Cada átomo tem um índice individual e o vetor de autocorrelação é um número que corresponde à soma dos produtos de cada índice. Por exemplo, o índice  $\pi$  de Fukui (+) da equação expresso como  $\text{Pi\_FPI2}$  é uma segunda componente de vetor de autocorrelação ou seja, para prever uma outra molécula mais ativa dentro do chassi molecular, modificações serão feitas na ordem de 2 ligações de distância, com grupamentos que possuem maior susceptibilidade de sofrer ataques nucleofílicos.

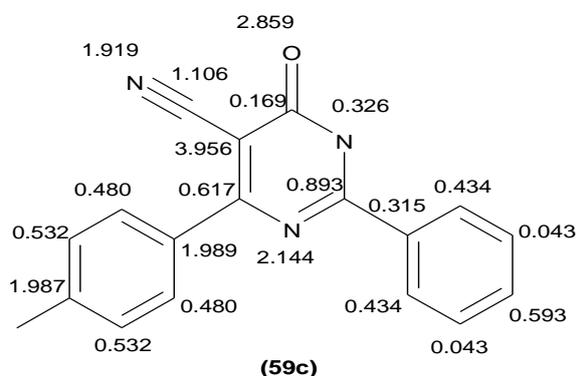


**Figura 24:** Índice  $\pi$  de Fukui (+) de cada átomo na pirimidinona **59c** mais ativa do nosso modelo

Baseado nos valores de Fukui (+), a estrutura de **59c** possui no carbono 2 do heterociclo, a maior susceptibilidade para sofrer ataques nucleofílicos com valor de 3,540, o segundo é o nitrogênio da nitrila com índice de 1,919, depois aparecem os carbono 5 e 6 com os seus respectivos índices 1,744 e 1,742 e por último o carbono 4 do anel benzênico ligado ao carbono 2 do heterociclo, com índice de 1,670.

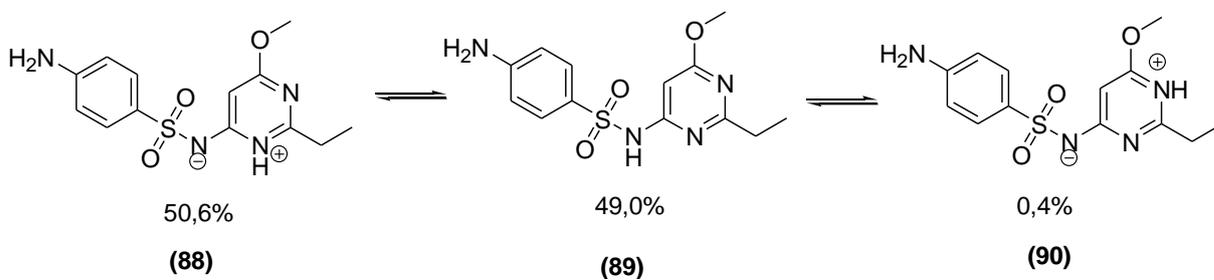
As variações nos valores deste descritor através da série de compostos sob estudo não são tão drásticas quanto as que acontecem nos valores do segundo descritor da equação, aquele que descreve o índice  $\text{Pi\_FMi6}$ , uma autocorrelação de seis ligações do índice de Fukui  $\pi(-)$ .

Baseado nos valores dos índices de Fukui  $\pi(-)$ , o composto **59c** possui no carbono 5 do heterociclo a maior suscetibilidade para sofrer ataques eletrofílicos, com índice de 3,956. O segundo ponto é o nitrogênio da molécula que possui valor de 2,144; em seguida, aparecem, respectivamente o oxigênio da molécula com 2,859 e o nitrogênio 1 com 2,144.



**Figura 25:** Índice de Fukui  $\pi(-)$  de cada átomo na pirimidinona **59c** mais ativa do nosso modelo.

Fzwitter representa a fração independente do pH, no equilíbrio, entre a soma das concentrações das espécies zwitteriônicas e a soma das concentrações das espécies zwitteriônicas e neutra para um determinado composto. As espécies em equilíbrio independentes do pH são aquelas neutra e zwitteriônicas formadas sem a adição de prótons (que apareceriam em pH ácido) ou sem a remoção de prótons (que apareceriam em pH básico). As concentrações das espécies zwitteriônicas são calculadas a partir de valores de pKa fornecidos ou calculados. No caso do nosso trabalho os valores de pKa são preditos pelo programa ADMET Predictor<sup>15</sup>. Para melhor entendimento do que é o descritor Fzwitter, na figura 26 vamos considerar o composto sulfadimetoxina **89**, cujas espécies zwitteriônicas em equilíbrio com a forma neutra e suas respectivas concentrações no equilíbrio são:



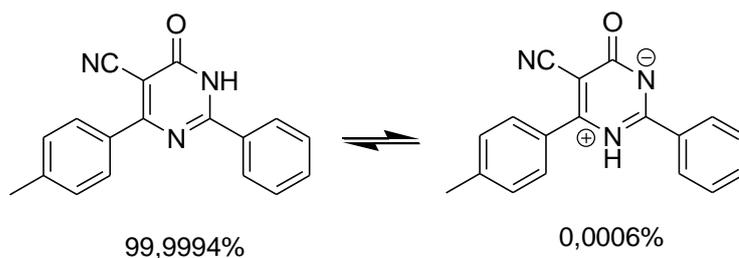
**Figura 26:** Sulfadimetoxina **89** neutra e suas espécies zwitteriônicas em equilíbrio **88** e **90**.

Portanto, a fração representada pelas espécies zwitteriônicas é igual a:

$$F_{\text{zwitter}} = (50.6\% + 0.04\%)/(50.6\% + 0.04\% + 49\%) = 51,0\%/100\% = 0,510$$

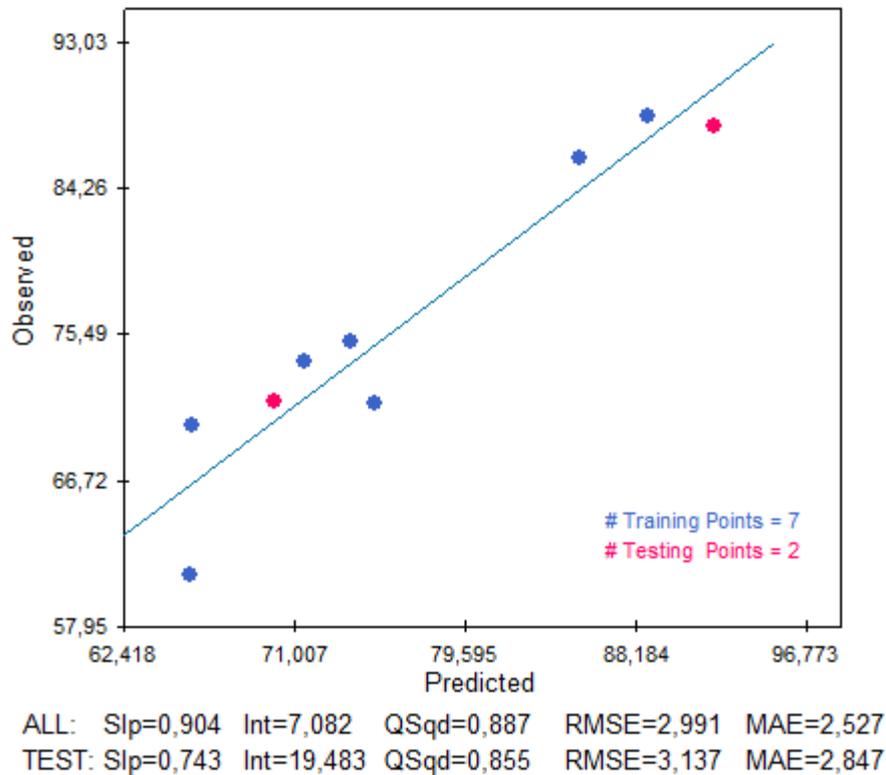
**Equação 6:** Descritor molecular que mostra a fração das espécies zwitteriônicas na molécula da Sulfadimetoxina **89**.

Para a pirimidinona, que será mais ativa prevista no nosso estudo, o descritor Fzwitter possui valor de 0,0006 o que é o próprio percentual da única espécie zwitteriônica desse composto em equilíbrio com sua forma neutra. A figura abaixo mostra as espécies neutra e zwitteriônica do composto **59c**, em equilíbrio.



**Figura 27:** Percentuais das espécie neutra e zwitteriônica do composto **59c**.

Na figura abaixo é apresentado o gráfico das AA% observadas e calculadas para os nove compostos, bem como a reta correspondente à equação 4. Os pontos em azul referem-se a compostos utilizados para obter o modelo representado pela equação 4, e os pontos em vermelho referem-se a compostos utilizados para validar o modelo.

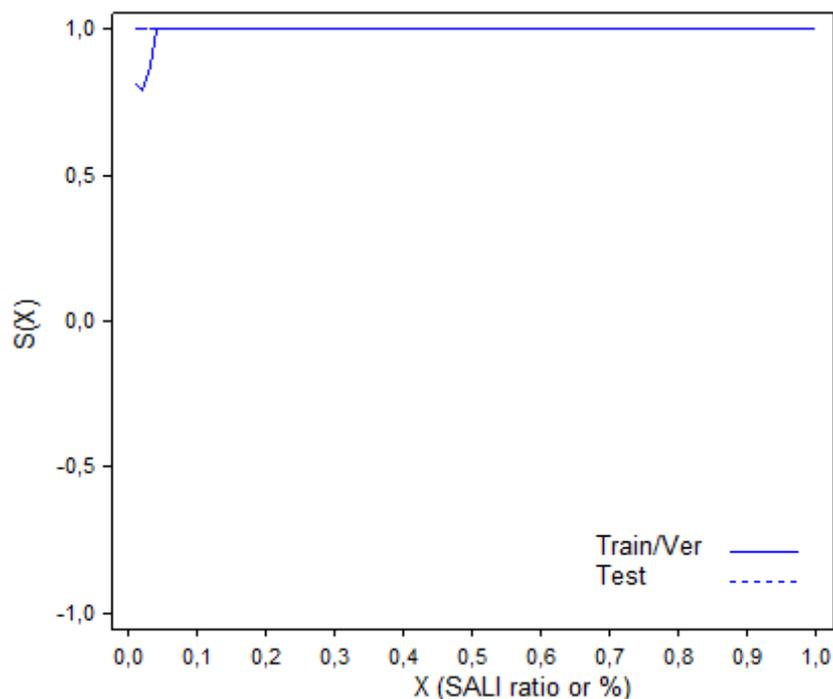


**Figura 28:** Representação gráfica da equação 4.

Na figura 28, a linha ALL se refere à regressão linear entre os valores preditos e observados para todos os nove compostos, onde: Slp é a inclinação da reta, que idealmente deveria ser igual a 1; Int é o coeficiente linear da reta, que idealmente deveria ser igual a 0; QSqd é o coeficiente de determinação – é uma medida de quão bem resultados futuros serão preditos pelo modelo e representa a proporção de variância de um conjunto de dados que é levada em conta pelo modelo; RMSE é a raiz quadrada do erro médio quadrático, que idealmente deveria ser igual a zero; MAE é o erro médio absoluto. A linha abaixo, TEST se refere aos mesmos indicadores porém apenas para os compostos de validação representados pelo círculo vermelho.

Modelos QSAR tendem a falhar quando estruturas muito parecidas possuem atividades muito diferentes, formando penhascos de atividade que são definidos como a razão entre a diferença de atividade de dois compostos e a distância que os separam em um dado espaço químico estrutural. Para verificar se existem penhascos de atividade nos 9 compostos sintetizados, calculamos as curvas do índice SALI, proposto por Guha e colaboradores<sup>78,79</sup>,

que são mostradas na figura 29. O fato de estas curvas estarem próximas ao valor ideal de 1 indica que nosso modelo é um modelo QSAR de alta qualidade com grande probabilidade de funcionar a contento. Na figura abaixo apresentamos o gráfico SALI para a regressão obtida.

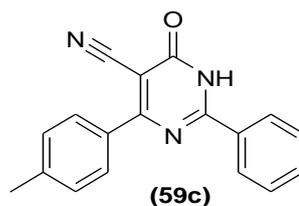


**Figura 29:** Gráfico SALI

### 3.4-Explosão combinatória

As nove moléculas sintetizadas por dos anjos e colaboradores,<sup>27</sup> apresentam o chassi molecular descrito anteriormente na figura 21. com o chassi molecular estabelecido, gerou-se aquilo que se chama de explosão combinatória com o intuito de gerar várias novas estruturas cujas atividades antinociceptivas possam ser previstas pelo modelo de regressão encontrado. ou seja, seriam geradas novas estruturas a partir da combinação de todos os 5 substituintes em  $r_1$  com todos os 4 substituintes em  $r_2$ , para um total de 20 compostos dentre os quais, naturalmente, encontram-se os 9 originais do trabalho de dos anjos.<sup>27</sup> como estes substituintes foram utilizados na geração do modelo, não representando uma novidade para o mesmo, presume-se que as previsões para estes 11 compostos adicionais serão bastante confiáveis.

Assim, calculamos os índices teóricos utilizados no modelo acima para os 11 novos compostos. O modelo então apontou que o composto 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59c**) deveria ser o mais ativo de todos, com valor previsto para a atividade antinociceptiva de 99,6%. Este composto então foi escolhido para ser sintetizado e testado (Figura 30).

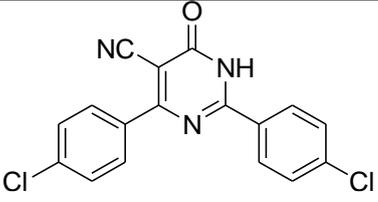
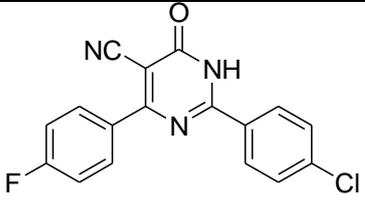
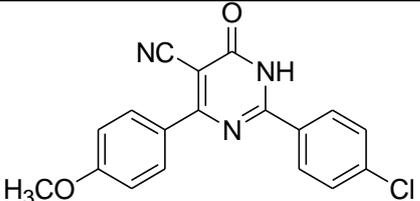
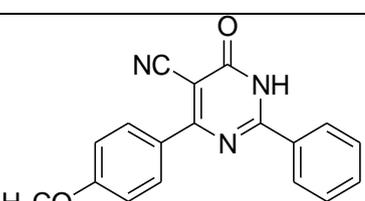
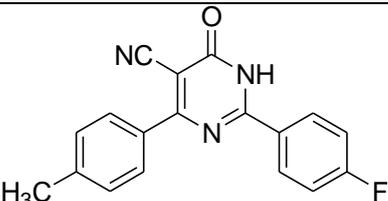
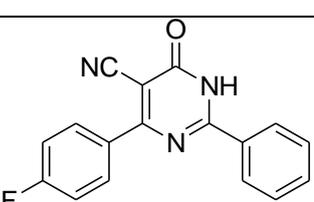
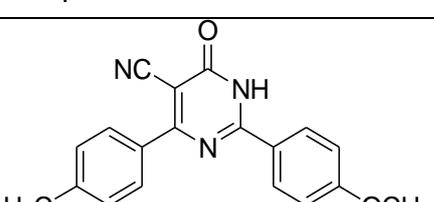
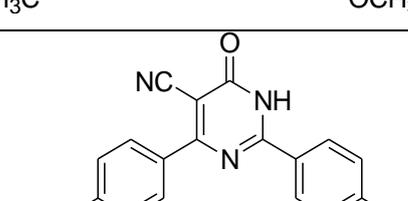


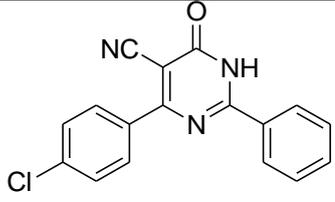
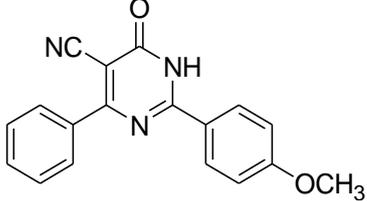
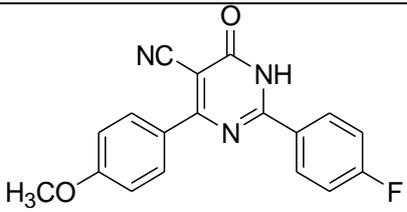
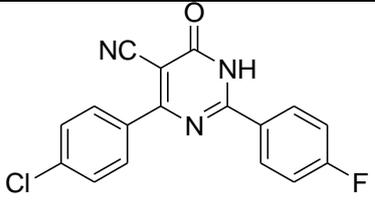
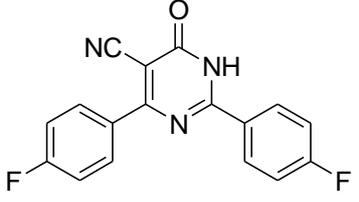
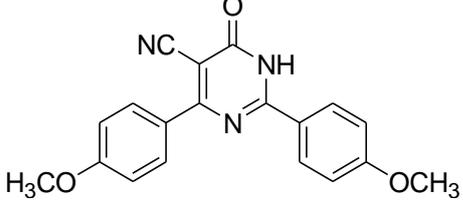
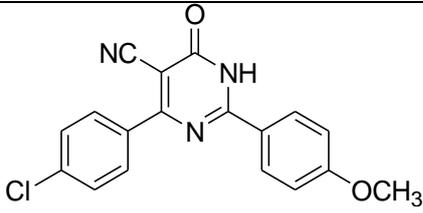
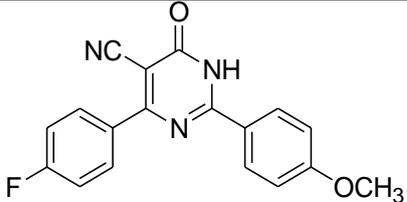
**Figura 30:** 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59c**)

Na tabela 5 estão as 20 moléculas da explosão combinatória molecular, com os três respectivos descritores moleculares que geraram nossa regressão e o percentual da atividade antinociceptiva prevista (AA%).

**Tabela 5:** Tabela contendo as vinte pirimidinonas analisadas, dentre as quais 11 provenientes da explosão molecular e as outras nove provenientes do estudo anterior, identificadas com os valores em itálico. Na tabela estão os valores dos descritores Pi\_FPI2, Pi\_FMi6 e FZwitter além do percentual de atividade antinociceptiva prevista pelo modelo (Eq.1).

Pirimidinona	Pi_FPI2	Pi_FMi6	FZwitter	Código	AA(50)% prevista
	42,43	15,03	0,0006	<b>59c</b>	99,6
	43,9	8,39	0	<b>91</b>	95,3
	44,43	20,18	0,0008	<b>59a</b>	92,2
	45,71	8,34	0	<b>92</b>	90,3

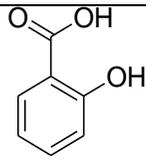
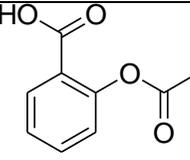
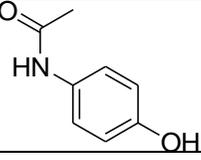
	46,48	5,77	0	<b>93</b>	89,9
	46,48	6,64	0	<b>94</b>	89,3
	46,48	7,55	0	<b>95</b>	88,8
	44,92	40,56	0,002	<b>59g</b>	85,3
	46,98	20,91	0	<b>96</b>	77,6
	44,92	42,47	0,0009	<b>59f</b>	75,1
	47,02	26,66	0,0001	<b>97</b>	73,8
	48,78	21,49	0,0001	<b>98</b>	72,3

	44,92	45	0,0007	<b>59d</b>	71,5
	48,54	26,75	0,0002	<b>99</b>	70,0
	49,6	27,44	0,0001	<b>100</b>	65,8
	49,6	26,93	0	<b>101</b>	65,7
	49,6	27,07	0	<b>102</b>	65,7
	49,73	34,03	0,0002	<b>103</b>	61,6
	49,74	32,97	0,0001	<b>104</b>	61,4
	49,73	33,32	0,0001	<b>105</b>	61,3

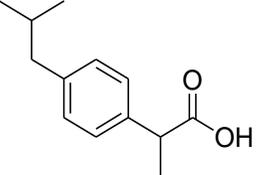
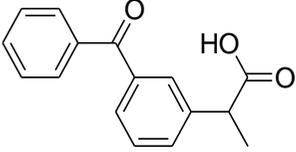
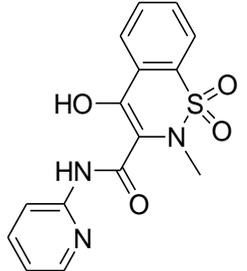
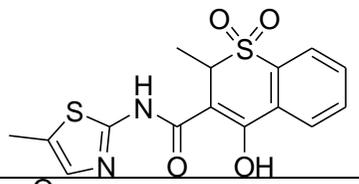
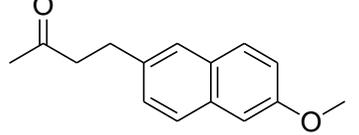
### 3.5-Propriedades ADME-Tox

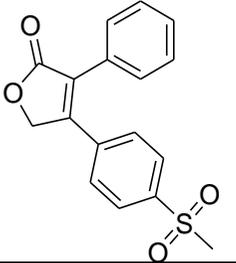
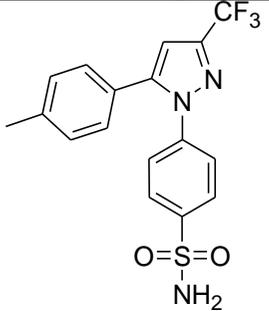
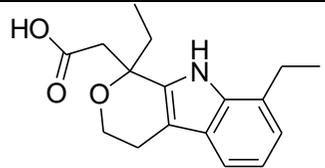
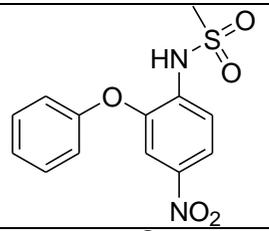
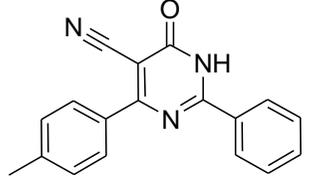
Realizada a explosão combinatória molecular, analisou-se o composto com maior atividade analgésica prevista (**59c**) e comparou-se o mesmo com alguns analgésicos clássicos comerciais, no intuito de comparar as propriedades farmacocinéticas e toxicidade destes compostos com **59c** (Tabela 6).

**Tabela 6:** Algumas propriedades ADME-Tox previstas pelo software simulations plus de alguns analgésicos comerciais e a pirimidinona mais ativa prevista em nosso estudo.

Substâncias	Nome Genérico / Smiles	S LogP	S Sw	Log BBB	PrUn bnd	ADMET Risk	Met Risk	Tox Risk	Tox Mut
	Ácido salicílico <chem>OC(=O)c1ccccc1O</chem>	2,2	2,36	-0,74	24,37	1	0	1	0
	Ácido acetilsalicílico <chem>O=C(C)Oc1ccccc1C(=O)O</chem>	1,42	1,35	-0,71	16,05	2	2	0	0
	Paracetamol <chem>Oc1ccc(NC(C)=O)cc1</chem>	0,33	13,9	0,03	66,3	1	0	1	0

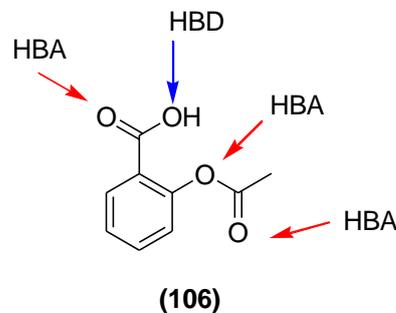
	Indometacina	<chem>O=C(O)Cc2c1cc(ccc1n(c2C)C(=O)c3ccccc3)OC</chem>	3,79	0,0386	-0,55	1,03	2	1	0	0
	Ácido Mefenâmico	<chem>O=C(O)c2ccccc2Nc1cccc(C)c1C</chem>	5,04	0,00526	-0,64	3,25	2	0	0	0
	Diclofenaco	<chem>O=C(O)C1CCn2c(ccc12)C(=C)c3ccccc3</chem>	5,25	0,00452	-0,4	2,21	5	1	1	0
	Cetorelaco	<chem>O=C(O)C1CCn2c(ccc12)C(=C)c3ccccc3</chem>	3,17	0,244	-1,25	2,21	2	0	1	0

	Ibuprofeno	<chem>CC(C(=O)O)c1ccc(CC(C)C)cc1</chem>	3,75	0,0738	-0,63	5,19	0	0	0	0
	Cetoprofeno	<chem>CC(C(=O)O)c1ccc(cc1)C(=O)c2ccc(cc2)</chem>	3,05	0,0464	-0,37	1,72	2	0	1	0
	Piroxicam	<chem>OC=Cc1ccccc1S(=O)(=O)N(C)C=O</chem> <chem>C(=O)Nc3ccccn3</chem>	1,86	0,0544	-1,14	1,93	1	0	0	0
	Meloxicam	<chem>Cc3cnc(NC(=O)C2=C(O)c1ccccc1S(=O)(=O)N2C)s3</chem>	2,39	0,0581	-1,15	1,85	1	0	0	0
	Nabumetona	<chem>CC(=O)CCc1ccc2cc(ccc2c1)OC</chem>	3,46	0,00856	0,21	16,54	0	0	0	0,5

	<b>Rofecoxib</b>	<chem>CS(=O)(=O)c1ccc(cc1)C=2COC(=O)C=2c3ccccc3</chem>	2,71	0,00372	-0,17	6	1	0	0	0
	<b>Celecoxib</b>	<chem>NS(=O)(=O)c1ccc(cc1)n3nc(cc3c2c cc(C)cc2)C(F)(F)F</chem>	3,53	0,00463	-0,09	6,87	5	1	3	1
	<b>Etodolaco</b>	<chem>O=C(O)CC3(CC)OCCc2c3nc1c(cc cc12)CC</chem>	3,19	0,0550	-1,26	2,9	3	1	1	0
	<b>Nimesulida</b>	<chem>[O-][N+](=O)c2cc(Oc1ccccc1)c(cc2)NS(=O)(=O)</chem>	2,61	0,0189	-0,99	7,32	2	1	1	2
	<b>59c</b>	<chem>N#CC1=C(N=C(NC1=O)c2ccccc2) c3ccc(C)cc3</chem>	2,89	0,000870	-0,59	1,44	4	1	1	0,5

A substância **59c** e os demais fármacos comerciais citados acima estão todos dentro da regra dos cinco, proposta por Lipinski e colaboradores.<sup>12</sup> A regra dos cinco nada mais é do que um conjunto de parâmetros usados para avaliação do potencial que uma molécula apresenta de ser farmacologicamente ativa quando administrada por via oral em humanos. O seu sucesso na avaliação do potencial farmacológico deve-se: (i) a razões fundamentadas em pesquisa básica sólida; (ii) fácil entendimento e memorização; (iii) fácil aplicação. Fármacos que não são excluídos pela regra dos cinco têm maior probabilidade de serem bem sucedidos nos aspectos relacionados à ADME na fase 1 dos testes clínicos.

A regra dos cinco de Lipinski baseia-se em critérios físico-químicos que os compostos químicos devem apresentar para poderem ser absorvidas pelo organismo humano, distribuídas pelo organismo, para que apresentem estabilidade frente ao metabolismo e para que possam ser mantidas no organismo pelo tempo necessário para cumprir sua função e não serem sumariamente excretadas. Ou seja, para passar no regra dos 5 de Lipinski, a molécula deve: (i) apresentar massa molar inferior a 500 u.m.a; (ii) apresentar logP inferior a 5; (iii) número de doadores de ligações de hidrogênio (HBD), inferior a 5; (iv) número de receptores de ligações de hidrogênio (HBA), inferior a 10. No exemplo abaixo exemplificamos estes conceitos através da molécula do ácido acetil salicílico, que apresenta um sítio doador (HBD) e três sítios receptores de ligações de hidrogênio (HBA).



**Figura 31:** Molécula do ácido acetil salicílico **106**. Esta molécula possui 1 doador e 3 receptores de ligação de hidrogênio ao mesmo tempo.

O aumento do número de possibilidades de ligações de hidrogênio contribui para a solubilidade em água, mas dificulta a passagem pelas membranas devido ao aumento do número de ligações de hidrogênio que devem ser quebradas para a passagem do fármaco do meio hidrofílico para o meio hidrofóbico representado pela bicamada de fosfolípídeos das membranas celulares e também das membranas das organelas. Outro índice a ser considerado é a lipofobicidade, que representa a tendência de o composto se dissolver em uma matriz

lipídica quando esta entra em contato com uma solução aquosa do referido composto. Uma medida muito utilizada para exprimir a lipofilicidade é o LogP do composto, definido como sendo o logaritmo decimal do coeficiente de partição, que é a razão das concentrações do composto nas fases *n*-octanol e água, no equilíbrio.<sup>10</sup> Em geral, para uma eficaz absorção gastrointestinal após a administração oral da droga, sabe-se que o LogP deve estar na faixa de 0 a 3 para uma situação ótima.<sup>80</sup> Para melhor entender o que é o LogP, note que quando o LogP é 0 então o coeficiente de partição é igual a um, o que significa que as concentrações do composto no equilíbrio do *n*-octanol com a água são idênticas em ambas as fases. Por outro lado, quando o LogP é igual a 3, a concentração do composto em *n*-octanol é mil vezes maior do que a concentração do composto em água, no equilíbrio. Outro índice importante utilizado na regra dos cinco de Lipinski é a massa molecular do composto. Quando a massa molecular do composto é muito elevada, segundo Lipinski, maior do que 500 u.m.a, há uma tendência de ocorrer problemas relacionados a farmacocinética do mesmo.

Muitas vezes, para melhorar a solubilidade em água de um determinado composto, o mesmo é apresentado na forma de um composto iônico (cloridratos, sais sódicos, etc). Dos compostos elencados acima, o composto **59c** apresenta baixa solubilidade aquosa com o valor predito de 0,0009 mg/mL. Normalmente se aceita como satisfatoriamente solúvel para fins de administração oral, uma solubilidade de pelo menos 0,005 mg/mL. Isto significa que a formulação do composto **59c** para administração oral, deverá também ser objeto de desenvolvimento nesta dissertação. Pode-se observar que os compostos apresentados na Tabela 6 todos obedecem razoavelmente a esta regra, à exceção talvez, do composto Rofecoxib (conhecido comercialmente como Vioxx® e já retirado do mercado) que apresenta uma solubilidade aquosa calculada de 0,004 mg/mL.

O logaritmo do coeficiente de partição da barreira hematoencefálica, Log BBB (*blood-brain barrier*), onde BBB é o coeficiente de partição calculado como a concentração do composto no cérebro dividida pela concentração do mesmo composto no sangue.<sup>15</sup> É um índice relevante que também deve ser considerado, pois o mesmo se refere à permeabilidade do composto para ultrapassar tal barreira. A principal função da barreira hematoencefálica é proteger o cérebro de substâncias indesejadas - estima-se que apenas 2% de possíveis compostos que atuam pelo sistema nervoso central podem passar por esta barreira.<sup>81</sup> A substância **59c** possui um valor predito para o Log(BBB) pelo software ADMET Predictor de -0,59, indicando que o mesmo aparentemente não apresenta tendência a passar pela barreira hematoencefálica, da mesma forma que os compostos constantes da Tabela 6 como o

ibuprofeno, cujo valor de LogBBB é -0.63 e ao contrário do composto nabumetona cujo logBBB é +0,21, mas que é uma pró-droga, a qual, uma vez absorvida, é convertida rapidamente no fígado no composto ativo ácido 6-metóxi-2-naftil acético.

Um outro importante obstáculo enfrentado pelos fármacos no organismo são as proteínas de ligação contidas no plasma sanguíneo, tendo em vista que essas proteínas, ao se ligarem ao fármaco, diminuem a biodisponibilidade do mesmo. O PrUnbnd descreve o percentual não ligado de uma substância nas proteínas plasmáticas. Uma fração abaixo de 3,5% do composto livre no plasma é considerado baixo. O composto **59c** possui uma fração não ligada predita de 1,4% indicando que o mesmo está em baixa concentração na corrente sanguínea. Porém, isto em princípio não caracteriza problema pois a indometacina possui uma fração não ligada predita de 1,03%, um valor ainda menor. Por outro lado, a título de comparação, o valor previsto para o ácido salicílico é de 24%.

Como já mencionado neste texto, a chamada regra dos cinco desenvolvida por Lipinski foi um marco nas pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de fármacos. Já o risco ADMET desenvolvido pela empresa Simulations Plus e disponível no software ADMET Predictor pretende ser um aperfeiçoamento da regra dos cinco de Lipinski. Este índice possui agora 0-24 indicadores lógicos para avaliar se uma determinada substância possui boas propriedades ADME e de risco toxicológico (Tox) quando administrada por via oral na forma de comprimidos. O ideal é que as substâncias não sejam reprovadas em nenhuma das 24 regras. No entanto, existem substâncias no mercado que são reprovadas em alguma das 24 regras – afinal, raros são os compostos que são aprovados em todas. Dentro da tabela, os compostos Ibuprofeno e Nabumetona, ambos possuem risco ADMET zero. O composto **59c** possui risco ADMET igual a quatro. Os riscos em que o mesmo é reprovado são: Sw (solubilidade abaixo de 0,005 mg/mL), fu (concentração do composto não ligado às proteínas plasmáticas inferior a 3,5 %), 3A (família da citocromo P450, sendo metabolizando pela mesma) e Hp (hepatotóxico). No entanto, isto não necessariamente representaria um impedimento para o uso do composto **59c**, uma vez que fármacos como o celocoxib e diclofenaco, são também reprovados em 5 das 24 regras.

Outro risco que o software define é o MET Risk (risco metabólico). Com escala variando de 0-7, o MET Risk determina se uma molécula possui risco em ser metabolizada no organismo pela família das proteínas citocromo P450. Isso pode ser bom quando a molécula metabolizada se torna o produto ativo. Porém, normalmente é negativo, pois o metabolismo da substância pode levar a mesma a ser inativada no corpo ou formar algum outro composto

que venha a causar algum efeito adverso no organismo. Na tabela 6, observa-se que boa parte das substâncias possui risco metabólico zero ou um. Comparando, a pirimidinona **59c** também possui MET Risk com valor um. Ela é reprovada apenas no índice 3A, uma das isoformas da família CYP450 responsáveis pela depuração de substâncias. É digno de nota que a indometacina também é reprovada neste mesmo índice 3A. Diclofenaco, rofecoxib, etodolaco e nimesulida também são reprovados uma vez no MET Risk, mas em índices diferentes.

Tox Risk é um outro modelo<sup>15</sup> que indica o risco de toxicidade do composto. Este modelo é um conjunto contendo sete regras (incluindo uma baseado no Tox Mut Risk, um indicador que trata de alguns aspectos do potencial mutagênico da substância). O composto **59c** é reprovado em apenas uma das regras, ainda assim de forma inconclusiva. E, assim como o nosso, alguns compostos da tabela 6 também são reprovados por um dos índices: ácido salicílico, paracetamol, diclofenaco, ceterolaca, cetoprofeno e nimesulida. O celecoxib, por exemplo, é reprovado em três das sete regras. Já o índice Tox Mut Risk é um modelo<sup>15</sup> que busca prever a mutagenicidade esperada para cinco linhagens de *Salmonella typhimurium* com ou sem ativação microssomal em uma escala de 0-6. O composto **59c** é reprovado na regra mU<sup>15</sup>, com valor 0,5. Já os valores do Tox Mut Risk para os compostos nabumetona e celecoxib são iguais a 1 e para a nimesulida é igual a 2.

Em conclusão, pode-se afirmar que todos os riscos ADME-Tox referentes ao composto **59c** não são substancialmente diferentes, nem em valor, nem em quantidade, a compostos analgésicos clássicos comercializados. Portanto, o composto **59c** deve apresentar atividade mesmo quando administrado oralmente, já que suas propriedades ADME são boas, bem como seus níveis de toxicidade não são incomuns e não devem em princípio ser obstáculo para que venha a ser testado com probabilidade de sucesso na Fase 1 dos testes clínicos. Isto, inclusive nos autoriza a prosseguir com testes em camundongos por via oral, apresentando uma perspectiva de atividade.

### **3.4 - Testes de atividade antinociceptiva de algumas 4-(3H)-pirimidinonas sintetizadas**

O núcleo 4-(3H)-pirimidinônico é conhecido por suas diversas atividades biológicas<sup>82</sup>, dentre estas a atividade antinociceptiva<sup>27</sup>, mais conhecida como atividade analgésica. Com isto em mente e tendo como base uma biblioteca de substâncias que

continham em suas estruturas o anel da 4-(3*H*)-pirimidinona substituída nas posições C-2 e C-6 com grupamentos arila, resolveu-se explorar e melhorar o chassis molecular desta classe de substâncias ativas.

Uma vez construído o modelo que explica e é capaz de prever a atividade antinociceptiva das pirimidinonas descritas neste trabalho, fez-se necessário realizar a confirmação de que este modelo funciona. Para tal, foram realizados testes de atividade antinociceptiva para **59a** e **59c**. A molécula **59a**, 6-oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila, já é conhecida e já teve sua atividade antinociceptiva testada, uma vez que esta faz parte da biblioteca utilizada para a construção do modelo computacional que explica a atividade. Já a molécula **59c**, embora disponível comercialmente, não fora descrita na literatura e sua atividade antinociceptiva foi prevista como sendo máxima dentro das mesmas condições experimentais que foram utilizadas para a construção da biblioteca.

Os testes de atividade antinociceptiva foram realizados no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Bioativos do Departamento de Fisiologia e Farmacologia desta Universidade. Para os testes são utilizados grupos de camundongos albinos suíços contendo seis animais cada. A atividade analgésica foi avaliada usando o modelo das contorções abdominais (torções do tronco e extensão dos membros posteriores do camundongo) induzidas pelo ácido acético. Este teste é um modelo para a avaliação da dor periférica e visceral, em que são induzidos estímulos rápidos de alta intensidade e de resposta rápida. Os efeitos da dor induzida neste modelo podem ser neutralizados, por exemplo, por fármacos analgésicos não-esteroidais (AINES)<sup>83</sup>.

As substâncias (**59a** e **59c**) foram testadas na dose de 50 mg/Kg de peso do animal, tendo sido administradas por via intraperitoneal cerca de quinze minutos antes do início do teste. Decorrido este período, o ácido acético foi administrado por via intraperitoneal e é iniciado o teste. Os animais são colocados em gaiolas transparentes individuais e são contadas as contorções abdominais exibidas por cada animal. Além dos dois grupos-teste (animais que receberam **59a** e **59c**), também foram avaliados os números de contorções exibidas pelo grupo controle negativo (animais receberam apenas o veículo) e pelo grupo controle positivo (animais receberam o fármaco analgésico e anti-inflamatório indometacina). Os resultados estão expressos como a média  $\pm$  desvio padrão do percentual da inibição das contorções em relação ao grupo controle negativo. Vale ressaltar que estas são exatamente as mesmas condições em que a biblioteca de substâncias (tabela 3) foi testada. Os resultados para os testes de avaliação da atividade antinociceptiva estão dispostos na Tabela 7.

**Tabela 7: Testes de avaliação da atividade antinociceptiva para 59a e 59c.**

Substância	Atividade Antinociceptiva (%)
<b>59<sup>a</sup></b>	83,1 ± 19,1
<b>59c</b>	99,5 ± 1,0
<b>Indometacina</b>	76,3 ± 5,0

Pode ser verificado que a substância **59a** exibiu um perfil antinociceptivo semelhante àquele observado anteriormente<sup>27</sup>, o que mostra que as condições do teste foram obedecidas. Visto isto, pode ser constatado que **59c** exibiu uma atividade analgésica excelente, com quase total ausência de contorções exibidas pelos animais. Isto mostra que o modelo computacional, de fato, conseguiu prever uma substância com atividade antinociceptiva máxima dentro das condições experimentais descritas neste trabalho.

Não se sabe por quais mecanismos estas drogas atuam inibindo a nocicepção. Trabalhos anteriores sugerem que o núcleo pirimidinônico pode inibir ou ainda modular a migração e a produção de mediadores químicos no local da inflamação.<sup>33,43- 50,84</sup> Desta forma, as pirimidinonas testadas poderiam atuar como inibidores da COX<sup>85</sup> ou ainda como inibidores da síntese do TNF-alfa.<sup>86</sup>

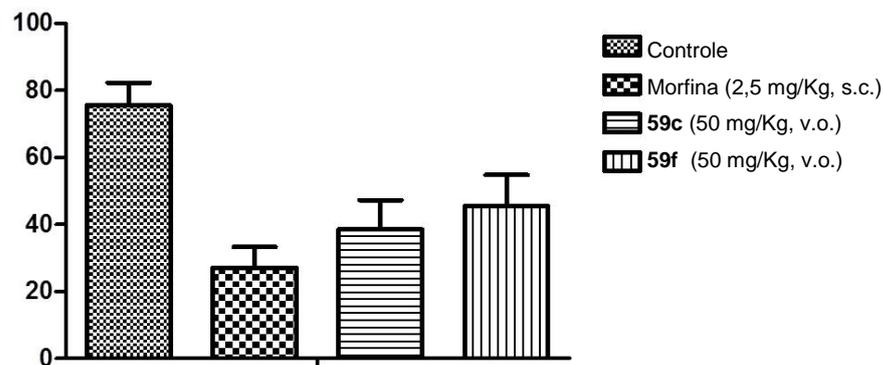
Para tentar entender melhor o mecanismo de ação destas drogas, realizou-se testes mais específicos para a avaliação da natureza da atividade antinociceptiva. O teste da formalina, por exemplo, pode informar se a droga-teste atua inibindo a dor de origem central (neurogênica) ou periférica (inflamatória). O teste da formalina foi realizado no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos do Departamento de Antibióticos desta Universidade. Neste teste, os camundongos albinos suíços (separados em grupos-teste com seis animais cada) recebem uma injeção de solução de formalina a 2,5% na região subplantar direita. As drogas-teste (**59c** e **59f**) foram administradas na dose de 50 mg/Kg de peso cerca de sessenta minutos antes do início do teste por via intraperitoneal. Logo após a injeção da formalina, observa-se o comportamento do animal, Neste período, observa-se o tempo em que o animal lambe ou morde a pata na qual a formalina foi administrada. Há então duas fases distintas: a primeira fase – que compreende os primeiros cinco minutos do teste – é a chamada fase neurogênica, na qual ocorre a ativação direta dos nociceptores locais pela formalina. Já a segunda fase – que compreende o intervalo de 15 a 30 minutos após a injeção – é a fase inflamatória, na qual o comportamento do animal é resultante da ação de mediadores

inflamatórios liberados pelo estímulo da formalina. Como controle positivo foi utilizado um grupo de animais os quais receberam sulfato de morfina. Os resultados para este teste estão expressos como a média do percentual de inibição da dor em relação ao grupo controle negativo (que recebeu apenas veículo) e são mostrados na tabela 6.

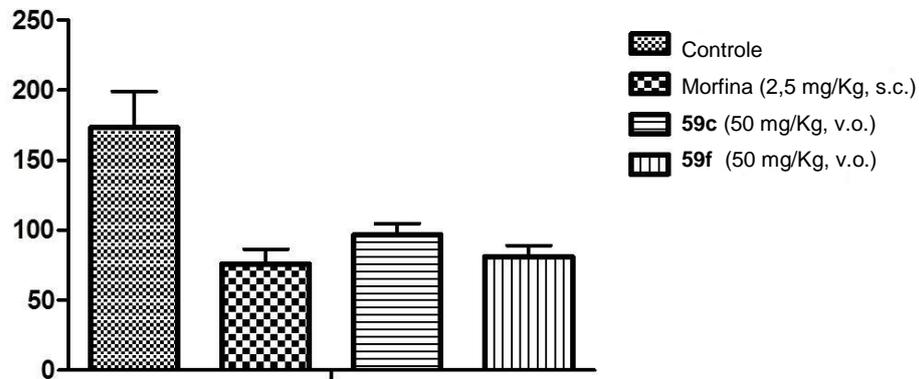
**Tabela 8:** Resultados dos testes de nocicepção induzida pela formalina

Substância	Atividade antinociceptiva (%)	
	1 <sup>a</sup> . Fase (neurogênica)	2 <sup>a</sup> . Fase (inflamatória)
<b>59c</b>	49,0 ± 8,8	44,1 ± 7,0
<b>59f</b>	39,6 ± 9,3	53,0 ± 6,6
<b>Morfina</b>	27,0 ± 6,4	76,0 ± 10,5

Pode ser observado que as drogas-teste (pirimidinonas **59c** e **59f**) atuam das duas fases da dor, o que torna o mecanismo de ação destas drogas mais complexo do que o suposto anteriormente. Para uma melhor visualização destes resultados, foram plotados dois gráficos (Figuras 31 e 32).



**Figura 32:** Gráfico para a 1<sup>a</sup>. fase do teste da formalina



**Figura 33:** Gráfico para a 2ª. fase do teste da formalina.

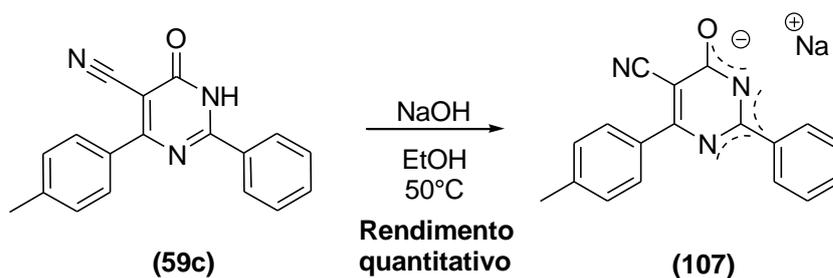
Pode ser verificado que **59f**, a 6-oxo-2-(4-fluorofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila, atua diferentemente de **59c**, 6-oxo-2-(4-toluil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila, na prevenção da nocicepção induzida pela formalina. Enquanto que **59f** atua principalmente na prevenção da dor de origem inflamatória, **59c** atua de maneira análoga nas duas fases. Outro fato interessante pode ser constatado: as duas pirimidinonas detêm percentuais maiores que a morfina na prevenção da dor de origem neurogênica. Um fato comum entre as duas pirimidinonas é que as duas substâncias, assim como a morfina, ultrapassam a barreira hemato-encefálica, já que atuam de maneira significativa na primeira fase do teste.

É claro que os estudos no tocante ao mecanismo de ação destas drogas devem ser estendidos a outros testes mais específicos, como testes de inibição das COX-1 e COX-2 e da síntese do TNF-alfa. Estes estudos estão em andamento.

### 3.5 - Resolvendo o problema da solubilidade.

Um grande problema das pirimidinonas sintetizadas neste trabalho é a sua baixa solubilidade em solventes orgânicos usuais (metanol, etanol, acetato de etila, THF) e em água. Isto é um grande empecilho para o desenvolvimento de um fármaco, pois é de grande valia se as moléculas candidatas a fármacos forem dotadas de boa solubilidade em água. Uma forma de melhorar a solubilidade de um candidato a fármaco é transformá-lo em um sal de maior solubilidade em água e, por este motivo, a maioria dos fármacos comercializados em forma

sólida (comprimidos, pós, cápsulas, drágeas...) estão na forma de sais. Baseado nisto, surgiu a ideia de preparar um sal sódico da pirimidinona mais ativa prevista dentro do modelo teórico-computacional. O anel da 4-(3*H*)-pirimidinona possui um hidrogênio ácido na sua estrutura, que é aquele ligado na posição N-3 do heterociclo. Logo, o sal mais fácil de preparar seria o sal sódico desta substância. Este sal foi preparado a partir da reação de **59c** com hidróxido de sódio em etanol com leve aquecimento. A formação do sal foi evidenciada através de caracterização por técnicas de infravermelho e RMN de  $^1\text{H}$ . No esquema abaixo é mostrada a formação do sal sódico (Esquema 13).

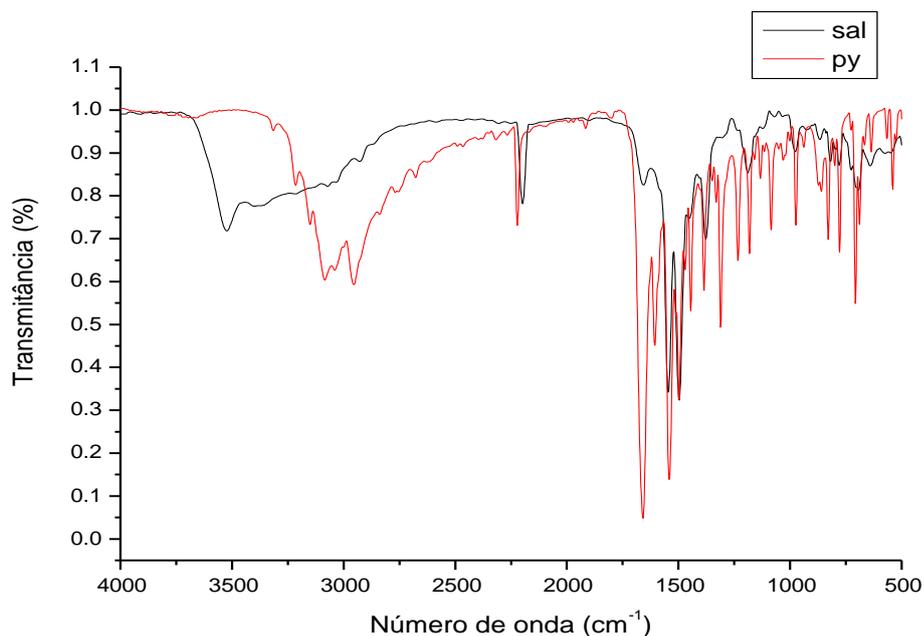


**Esquema 13:** Formação do sal sódico pirimidinônico (**107**).

Na verdade, ao submeter a pirimidinona ao meio fortemente básico contendo o hidróxido, o próton é arrancado e outros sítios podem estar igualmente desprotonados como o N-1 e o oxigênio da carbonila. Isto acontece porque nesta situação, a formação dos outros tautômeros é favorecida. Ou seja, é obtida uma mistura de sais dos tautômeros de proporção desconhecida.

A primeira evidência experimental da formação do sal sódico é o aumento na solubilidade em água. No término da reação, após a evaporação do solvente, uma pequena quantidade de produto foi colocada em água para dissolução e a amostra solubilizou, evidenciando a melhora na solubilidade, já que **59c** não solubiliza em água.

A espectroscopia no infravermelho do sal sódico mostra um desaparecimento na banda de absorção da ligação N-H do sal sódico (em  $3523\text{ cm}^{-1}$ ) contra  $3077\text{ cm}^{-1}$  da substância de partida. Outra banda de absorção afetada foi da ligação C=O, de  $1545\text{ cm}^{-1}$  contra  $1658\text{ cm}^{-1}$  da substância de partida. A banda de absorção da ligação C=N também foi afetada: de  $1496\text{ cm}^{-1}$  contra  $1541\text{ cm}^{-1}$  de **59c**. Estas mudanças nas bandas de absorção nos três possíveis sítios de reação para formação do sal sódico evidencia a formação do mesmo. Abaixo é mostrado o espectro de infravermelho para o sal (Figura 33).



**Figura 34:** Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da pirimidinona **107**. A linha vermelha corresponde a **59c** e a linha preta a **107**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostra uma possível evidência da formação do sal sódico pirimidinônico: o sinal do hidrogênio ácido da ligação N-H que aparece na forma de simpleto largo em 13,81 ppm na substância **59c**, desaparece no sal sódico. No entanto, este hidrogênio ácido pode ter trocado com prótons da água que foi usada como solvente para a realização do espectro, não sendo uma evidência clara da formação do sal. Na região dos hidrogênios aromáticos, o multiplete com integração para cinco prótons originalmente encontrado na região entre 7,58-7,87 ppm (Figura 34), foi deslocado para 7,43-7,63 ppm no sal sódico (Figura 35). O duplete em 8,15 ppm foi deslocado para 7,85 ppm, enquanto que o duplete mais desblindado foi deslocado de 8,42 ppm para 8,18 ppm. Abaixo o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do sal sódico (Figura 35). Este experimento foi realizado em água deuterada.

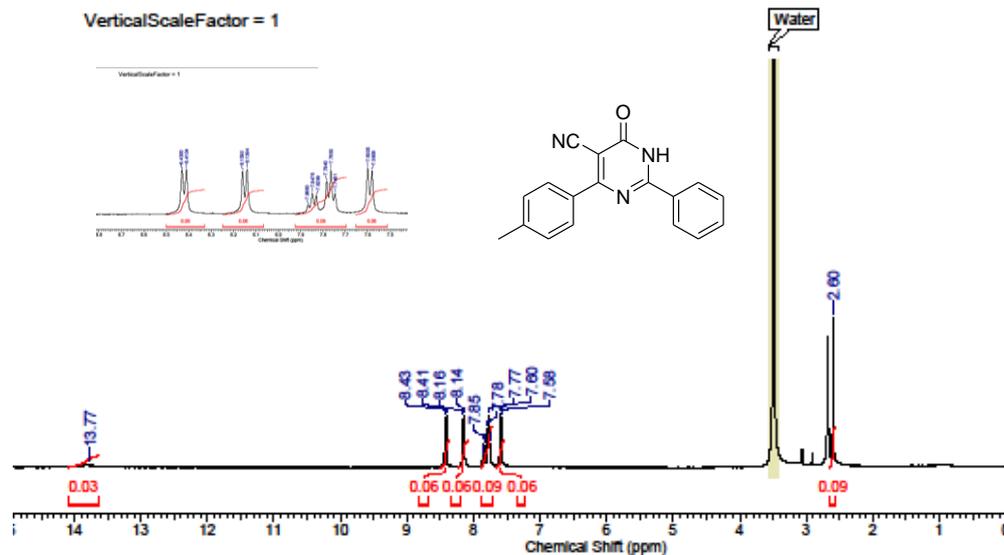


Figura 35: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **59c**

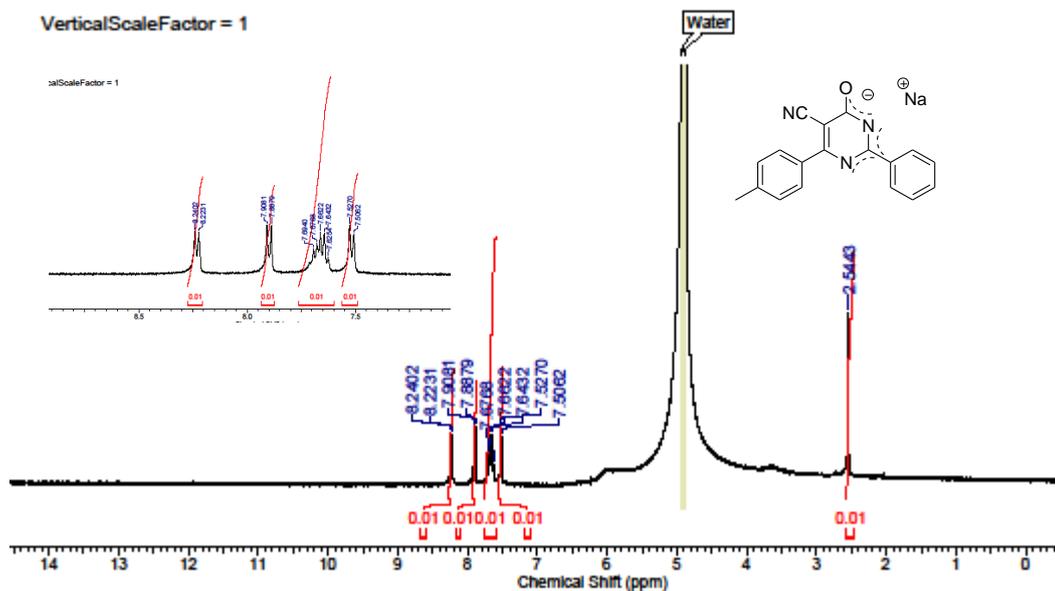


Figura 36: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **107**

### 3.6-Atividade antinociceptiva do sal sódico por via oral

Foi avaliada a atividade antinociceptiva do sal sódico da pirimidinona **59c** por via oral. O procedimento experimental foi realizado com um grupo contendo seis camundongos, sendo que a droga foi dissolvida em solução 0,9% de cloreto de sódio em água e esta solução foi administrada por via oral (gavagem) aos camundongos e esperou-se cerca de uma hora. Após

este período os animais receberam uma injeção da solução 0,8% de ácido acético intraperitonealmente e as contorções foram contadas por 30 minutos, de maneira análoga aos teste de antinocicepção relatado anteriormente para **59a** e **59c**.

O percentual de atividade antinociceptiva para o sal de **59c** foi de 42% em relação ao grupo controle negativo. A droga manteve a atividade antinociceptiva, porém não na mesma magnitude; **59c** intraperitoneal apresentou 99,5% de antinocicepção. Isto pode se dever a vários fatores. O primeiro deles diz respeito ao próprio teste, já que este é um teste preliminar e deve ser realizado com um número maior de animais. O segundo deles diz respeito à biodisponibilidade da droga. Por via intraperitoneal, considera-se que a biodisponibilidade é total, ou seja, 100%. Já por via oral, este valor decai, já que outros fatores como absorção e distribuição devem ser considerados. No entanto, estes resultados são animadores pois provam que o modelo computacional conseguiu prever que a droga é ativa por via oral.

#### 4- CONCLUSÕES

Este trabalho relatou para uma série de compostos uma nova metodologia sintética, multicomponente, utilizando irradiação de microondas. Esta nova estratégia sintética apresentou aspectos interessantes como o baixo tempo reacional (30 minutos), além da economia de reagentes e uso de água como solvente. Foram sintetizadas 19 substâncias entre pirimidinas e pirimidinonas com rendimentos entre 20-70%, entre os quais os compostos **59b**, **59c**, **59e**, **59j** e **60j** são inéditos. Esses compostos foram caracterizados através de espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$ , no infravermelho além de espectrometria de massas.

Apesar de esta metodologia sintética ser bastante simples e rápida e obedecer a alguns princípios da química verde, os rendimentos reacionais não são excelentes. Além disso, estes compostos apresentam baixa solubilidade nos solventes orgânicos usuais, apresentando solubilidade apenas em DMSO e DMF, dificultando assim a purificação destas substâncias, uma vez que os métodos cromatográficos preparativos não podem ser usados. A principal vantagem da metodologia desenvolvida neste trabalho é a praticidade, já que a síntese é realizada em uma única etapa, além da diminuição no tempo de reação.

As pirimidinonas cuja síntese foi relatada neste trabalho são dotadas de atividade antinociceptiva. Com base nisto e em uma biblioteca pré-existente de pirimidinonas antinociceptivas foi realizado um estudo computacional para a geração de protótipos analgésicos ainda mais potentes. Estes estudos envolveram análises da relação quantitativa estrutura-atividade (QSAR) da biblioteca pré-existente, geração de novas substâncias *in silico* via química combinatória e análise estatística auxiliada pelo modelo ADMET para a previsão de candidatos a fármacos com atividade analgésica. Estes estudos computacionais foram capazes de prever que a substância 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluol-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59c**) seria o melhor candidato a fármaco contendo o chassi molecular piridinônico. O modelo teórico-computacional previu uma atividade antinociceptiva para **59c** no valor de 99,6%. O valor experimental foi de 99,5% para a administração intraperitoneal no modelo de nocicepção induzida por ácido acético. Ainda, foi preparada uma nova forma deste candidato a fármaco, mais solúvel em água. Esta nova forma, um sal sódico da pirimidinona **59c**, foi de fato mais solúvel em água e foi ativa quando administrada por via oral (cerca de 42% de indução da analgesia em camundongos).

## 5- PERSPECTIVAS

Como perspectivas para trabalhos futuros, objetiva-se:

- Síntese de uma biblioteca com maior quantidade de substâncias com atividade analgésica.
- Introduzir outras funcionalidades no núcleo pirimidinônico sintetizado como, por exemplo, introdução de um anel triazol, tetrazol, função amidoxima, entre outros.
- Estudar o mecanismo de ação das pirimidinonas antinociceptivas.
- Avaliar a inibição do TNF-alfa nos camundongos tratados com as pirimidinonas sintetizadas e avaliar a possibilidade de estudar os efeitos destas drogas em modelos experimentais de artrite em animais.

## 6- PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 6.1- Procedimentos gerais

Os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram adquiridos de fornecedores como Sigma-Aldrich, Merck, Alfa Aesar, Vetec e Cinética. Os solventes *n*-hexano, acetato de etila, diclorometano, DMF, DMSO, THF, metanol e etanol não sofreram purificação antes de seu uso.

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando-se placas de sílica em suporte de alumínio contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub> da marca Fluka. Para a revelação das mesmas utilizou-se lâmpada ultravioleta operando no comprimento de onda 266 nm.

### 6.2 – Equipamentos utilizados

Para a realização dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foi utilizado o instrumento Varian modelo Unity Plus 400 MHz, utilizando DMSO ou D<sub>2</sub>O deuterados. Para a determinação dos pontos de fusão foi utilizado aparelho Electro-thermal modelo Mel-temp analógico. Para a realização dos espectros de infravermelho foi utilizado o espectrofotômetro Bruker modelo IFS66 FT-IR, em pastilhas de KBr. Para determinar a massa exata foi utilizado o cromatógrafo líquido acoplado ao espectrômetro de massas da Shimadzu (LC-MS-IT-TOF).

Nos procedimentos de síntese das substâncias foi utilizada a balança semi-analítica Marte, modelo AL500; chapas de aquecimento com agitação da marca IKA, modelo C-MAG HS7 e evaporador rotativo IKA, modelo RV10 Control. O reator micro-ondas utilizado para as sínteses foi o aparelho da marca CEM, modelo Discovery SP.

### 6.3 - Síntese das substâncias potencialmente ativas

*Procedimento geral de síntese para o 6-oxo-2,4-diaril-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (59a-j).*

Em um frasco apropriado para uso em reator micro-ondas com capacidade para 35 mL e com tampa de teflon®, foram adicionados 0,147 g de cloridrato de benzamidina (0,94 mmol, 1 eq) e 0,260 g de carbonato de potássio (1,88 mmol, 2 eq). Misturou-se bem os dois sólidos com o auxílio de um bastão de vidro, e em seguida foram adicionados 0,14 mL de ciano-acetato de

etila (1,22 mmol, 1,3 eq) e 0,1 mL de benzaldeído (0,94 mmol, 1 eq). Por fim, foram adicionados aproximadamente 5 mL de água destilada. O frasco contendo a mistura reacional foi levado ao reator de micro-ondas, seguindo os seguintes parâmetros; 100 °C e 300 W de potência inicial, durante 30 minutos. Após este período, foi constatado o término da reação através de CCD (sistema Hexano:AcOEt 8:2, v/v). O frasco contendo a mistura reacional foi resfriado a 0 °C por 15 minutos. O precipitado gerado foi filtrado a vácuo e o sólido lavado com água destilada (cerca de 50 mL). O sólido obtido foi cristalizado em metanol e recristalizado em DMF para fornecer a pirimidinona correspondente. Os dados físico-químicos para estes produtos estão relacionados abaixo.

6-Oxo-2,4-difenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59a**): Sólido branco, Rendimento: 42%;  $R_f$ : 0,43 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,59-7,68 (m, 6H,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,04 (2H, d,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,25 (2H, d,  $J$  8,0 Hz); 13,73 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 95,6; 115,8; 128,6; 128,7; 128,8; 131,3; 131,7; 133,1; 135,5; 159,0; 161,8; 168,6. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 2923 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ); 2201 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1552 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1488 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 274,0975 (Calcd. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 274,0975).

6-Oxo-2-(*m*-toluil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59b**): Sólido branco, Rendimento: 47%;  $R_f$ : 0,51 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,41 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7,35-7,77 (m, 5H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,85 (2H, d,  $J$  7,6 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,28 (2H, d,  $J$  6,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 21,0; 32,3; 118,7; 129,0; 128,1; 128,3; 128,4; 128,9; 130,9; 133,7; 136,5; 137,4; 162,9; 165,9; 168,1 I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 2923 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ); 2221 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1677 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1559 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 288,0650 (Calcd. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 288,1131).

6-Oxo-2-(*p*-toluil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59c**): Sólido branco, Rendimento: 33%;  $R_f$ : 0,59 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,60 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7,59 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,75-7,87 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,15 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,42 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 13,77 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 21,6; 92,8; 116,5; 129,1; 129,3; 129,6; 133,4; 142,5; 159,5; 168,8. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 2954 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ); 2221 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1658 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1541 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 288,1134 (Calcd. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 288,1131).

6-Oxo-2-(4-cloro-fenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59d**): Sólido branco, Rendimento: 49%;  $R_f$  : 0,31 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,58-7,61 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,69 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ) 8,07 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,24 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ), 13,76 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 109,5; 115,7; 128,7; 130,6; 131,2; 133,1; 136,6; 159,2; 161,8; 167,3. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3060 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2203 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1671 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1550 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 308,0585 (Calcd. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OCl}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 308,0589).

6-Oxo-2-(4-bromofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59e**): Sólido branco, Rendimento: 46%;  $R_f$  : 0,31 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,57 (dd, 2H,  $J$  8,0 Hz, 8,0 Hz  $H_{\text{arom}}$ ); 7,66 (dd, 2H,  $J$  8,0 Hz, 8,0 Hz  $H_{\text{arom}}$ ); 7,81 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,97 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,22 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 13,76 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 96,1; 116,0; 125,9; 129,2; 129,3; 131,2; 132,1; 133,5; 135,3; 159,9; 162,3 167,9. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3592 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2220 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1552 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1493 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 352,0080 (Calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OBr}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 352,0078).

6-Oxo-2-(4-fluorofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59f**): Sólido branco, Rendimento: 45%;  $R_f$  : 0,31 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,42-7,69 (m, 6H,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,13 (dd, 2H,  $J$  8,0 Hz, 8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,24 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 13,73 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 95,9; 116,3; 129,2; 129,3; 131,7; 131,9; 132,0; 132,4; 132,6; 133,6; 159,5; 162,3; 165,8; 167,8. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3067 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2222 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1679 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1593 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 292,0889 (Calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OF}$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 292,0881).

6-Oxo-2-(4-metóxfenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59g**): Sólido branco, Rendimento: 41%;  $R_f$  : 0,37 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 3,45 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 7,06 (d, 2H,  $J$  8,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,43-7,45 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,96 (d, 2H,  $J$  8,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,06 (d, 2H,  $J$  8,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ) 8,33 (dd, 2H,  $J$  8,8 Hz,  $J$  2,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 55,3; 90,1; 113,5; 120,4; 127,9; 128,0; 129,8; 130,0; 130,6; 138,6; 160,6; 163,7; 166,7; 171,9. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3500 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3000 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ); 2202 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1555 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1494 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 302,0608 (Calc. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2$  [ $\text{M} - \text{H}^+$ ]: 302,0930).

6-Oxo-2-(*m*-nitrofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59h**): Sólido branco; Rendimento: 20%;  $R_f$  : 0,4 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,60-7,69 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,90 (dd, 1H,  $J$  7,6 Hz,  $J$  7,2 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,22 (d, 2H,  $J$  7,2 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,46 (d, 2H,  $J$  7,6 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,80 (s, 1H,  $H_{\text{arom}}$ ), 13,88 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 96,6; 115,3; 123,4; 126,0; 126,2; 128,7; 128,9; 130,4; 131,0; 133,2; 134,9; 135,0; 136,9; 147,7; 159,6; 161,6; 166,2. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3391 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2212 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1673 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1515 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 317,0342 (Calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_3$  [ $\text{M-H}^+$ ]: 317,0675).

6-Oxo-2-(*p*-nitrofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59i**): Sólido amarelo; Rendimento: 43%;  $R_f$  : 0,4 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,43-7,45 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,15 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,34 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,36 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 91,3; 119,8; 123,4; 128,0; 128,1; 129,6; 130,1; 138,7; 144,6; 148,0; 164,6; 164,5; 172,0. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3622 ( $\nu_{\text{N-O}}$ ); 3419 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3070 ( $\nu_{\text{C-H}}$ ); 2202 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1665 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1561 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 317,0342 (Calc. para  $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_3$  [ $\text{M-H}^+$ ]: 317,0354).

6-Oxo-2-(3,4-diclorofenil)-4-fenil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**59j**): Sólido branco; Rendimento: 41%;  $R_f$  : 0,27 (AcOEt); P.F.: acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,58-7,71 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,90 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,02 (d, 2H,  $J$  1,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,24 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 13,85 (sl, 1H, NH). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 96,8; 116,0; 129,3; 129,4; 131,0; 131,4; 131,6; 132,0; 133,7; 135,0; 136,5; 160,0; 166,5; 170,1. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3409 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2220 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1546 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1495 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 342,0196 (Calc. for  $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{OCl}_2$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 342,0195).

### ***Procedimento geral para a síntese das 4-amino-2,6-diarilpirimidina-5-carbonitrilas (60a-j)***

Em um frasco apropriado para uso em reator de micro-ondas, com capacidade para 35 mL, foram adicionados 0,147 g de cloridrato de benzamidina (0,98 mmol, 1 eq) e foram colocados 0,260 g de carbonato de potássio (1,96 mmol, 2 eq). Misturou-se bem os dois sólidos com o auxílio de um bastão de vidro, e em seguida foram adicionados 0,124 g de malononitrila (1,96 mmol, 2 eq) e 0,1 mL de benzaldeído (0,98 mmol, 1 eq). Por fim, foram adicionados aproximadamente 5 mL de água destilada. O frasco contendo a mistura reacional

foi levado ao reator de microondas, seguindo os seguintes parâmetros; 100 °C e 300 W de potência inicial, durante 30 minutos. Após este período, foi constatado o término da reação através de CCD (sistema Hex:AcOEt, 8:2, v/v). O frasco contendo a mistura reacional foi resfriado a 0 °C por 15 minutos e o precipitado gerado foi filtrado a vácuo e o sólido lavado com água destilada (cerca de 50 mL). O sólido obtido foi recristalizado em metanol, para fornecer a pirimidina correspondente.

4-Amino-2,6-difenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60a**): Sólido branco, Rendimento: 56%;  $R_f$ : 0,60 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 210-211°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,51-7,60 (m, 6H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,97-7,99 (m, 4H,  $H_{\text{arom}}$ ,  $\text{NH}_2$ ); 8,41 (2H, dd,  $J$  8,0 Hz,  $J$  1,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,4; 116,4; 128,4; 128,5; 128,6; 130,9; 131,5; 136,5; 136,6; 164,0; 164,6; 168,1. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3480 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3345 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2217 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1635 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ); 1541 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 273,1134 (Calcd. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_4$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 273,1140).

4-Amino-2-(*m*-toluil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60b**): Sólido cinza, Rendimento: 36%;  $R_f$ : 0,60 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 196-198°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,41 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7,42-7,54 (m, 5H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,77-7,92 (m, 4H,  $H_{\text{arom}}$ ,  $\text{NH}_2$ ); 8,40 (2H, d,  $J$  6,8 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,4; 116,4; 125,7; 128,3; 128,4; 128,5; 129,0; 131,5; 136,6; 137,8; 164,0; 164,6; 168,3. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3445 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3334 ( $\nu_{\text{NH}_2}$ ); 2217 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1642 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ), 1541 1632 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ).

4-Amino-2-(*p*-toluil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60c**): Sólido marrom, Rendimento: 47%;  $R_f$ : 0,60 (hexano: AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 205-206°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,42 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7,39 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,53-7,56 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,91 (4H, m,  $H_{\text{arom}}$ ,  $\text{NH}_2$ ); 8,40 (2H, d,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 21,0; 84,0; 116,5; 128,4; 128,5; 128,6; 129,0; 131,5; 133,7; 138,6; 141,0; 163,9; 164,6; 167,9. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3477 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3341 ( $\nu_{\text{NH}_2}$ ); 2217 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1637 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ), 1539 1637 ( $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 287,1299 (Calcd. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4$  [ $\text{M} + \text{H}^+$ ]: 287,1297).

4-Amino-2-(4-clorofenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60d**): Sólido amarelo, Rendimento: 70%;  $R_f$ : 0,57 (hexano: AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 218-220°C. RMN de  $^1\text{H}$

(DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,53-7,57 (m, 3H, H<sub>arom</sub>); 7,67 (2H, d, *J* 8.0 Hz, H<sub>arom</sub>); 8,01 (4H, m, H<sub>arom</sub>, NH<sub>2</sub>), 8,39 (2H, d, *J* 8.0 Hz, H<sub>arom</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,5; 116,2; 128,4; 128,5; 128,7; 130,5; 131,7; 135,3; 135,9; 136,3; 164,1; 164,5; 166,9. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3473 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3341 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2216 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1638 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ), 1539 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES *m/z*: 307,0749 (Calcd. para C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Cl [M + H<sup>+</sup>]: 307,0750).

4-Amino-2-(4-bromofenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60e**): Sólido amarelo, Rendimento: 48%; R<sub>f</sub>: 0,59 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 252-254°C. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,53 (d, 3H, *J* 7,2 Hz, H<sub>arom</sub>); 7,80 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, H<sub>arom</sub>); 7,93 (d, 2H, *J* 7,6 Hz, H<sub>arom</sub>); 7,93 (sl, 2H, NH<sub>2</sub>); 8,39 (d, 2H, *J* 6,8 Hz, H<sub>arom</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,4; 116,2; 124,7; 128,4; 128,5; 130,7; 131,5; 131,6; 135,7; 136,4; 164,0; 164,5; 167,0. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3477 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3330 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2219 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1633 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1540 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES *m/z*: 352,9649 (Calc para C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>BrN<sub>4</sub> [M + H<sup>+</sup>]: 353,0225).

4-Amino-2-(4-fluorofenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60f**): Sólido amarelo, Rendimento: 27%; R<sub>f</sub>: 0,57 (hexano: AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 227-229°C. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,43 (dd, 2H, *J* 8,4 Hz, *J* 8,4 Hz, H<sub>arom</sub>); 7,51-7,57 (m, 3H, H<sub>arom</sub>); 8,05-8,09 (4H, m, H<sub>arom</sub>, NH<sub>2</sub>); 8,40 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, H<sub>arom</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,3; 115,4; 115,6; 116,3; 128,4; 128,5; 131,1; 131,2; 131,6; 132,7; 133,0; 136,5; 163,9; 164,5; 166,9. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3471 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3347 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2216 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1638 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1542 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES *m/z*: 291,1045 (Calc para C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>F [M + H<sup>+</sup>]: 291,1046).

4-Amino-2-(4-metóxi-fenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60g**): Sólido amarelo; Rendimento: 48%; R<sub>f</sub>: 0,55 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 216-218°C. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 3,86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 7,14 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, H<sub>arom</sub>), 7,51-7,57 (m, 3H, H<sub>arom</sub>); 7,88 (sl, 2H, NH<sub>2</sub>); 8,01 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, H<sub>arom</sub>); 8,41 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, H<sub>arom</sub>). 7.94 (2H, dd, *J* 8.0 Hz, *J* 1.8 Hz, H<sub>arom</sub>); 8.31 (2H, dd, *J* 8.0 Hz, *J* 1.8 Hz). RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 55,4; 83,3; 113,9; 116,8; 128,4; 128,5; 128,7; 130,4; 131,4; 136,7; 161,6; 163,8; 164,8; 167,2. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ : 3473 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3342 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2217 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1639 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1540 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES *m/z*: 303,1246 (Calc para C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O [M + H<sup>+</sup>]: 303,1246).

4-Amino-2-(*p*-nitrofenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60i**): Sólido amarelo, Rendimento: 67%;  $R_f$  : 0,50 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: 198-200°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,43-7,55 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,14- 8,30 (m, 4H,  $H_{\text{arom}}$ ,  $\text{NH}_2$ ); 8,41 (dd, 2H,  $J$  8,2 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 85,7; 115,2; 124,9; 128,4; 128,7; 131,1; 131,6; 131,9; 133,8; 136,1; 148,2; 163,8; 164,1; 167,3. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3493 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3387 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2213 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1622 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1522 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ).

4-Amino-2-(3,4-diclorofenil)-6-fenil-pirimidina-5-carbonitrila (**60j**): Sólido amarelo, Rendimento: 22%;  $R_f$  : 0,50 (hexano:AcOEt, 7:3 v/v); P.F.: Acima de 300°C. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,53-7,55 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,77-8,38 (m, 7H,  $H_{\text{arom}}$ ,  $\text{NH}_2$ ). RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  (ppm): 84,8; 116,0; 128,6; 130,6; 130,8; 131,4; 131,7; 133,7; 136,3; 137,0; 164,0; 164,4; 165,7. I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3487 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 3331 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2220 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1628 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 1535 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ). EMAR-IES  $m/z$ : 339,1246 (Calc para  $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_4$  [ $\text{M} - \text{H}^+$ ]: 339,0204).

***Procedimento geral para a síntese do sal sódico do 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila***

Em um erlenmeyer com capacidade para 50 mL foram adicionados 0,1 g da substância **59c**, a 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (0,35 mmol, 1 eq), e 0,014 g de hidróxido de sódio (0,35 mmol, 1 eq). Em seguida foram adicionados 30 mL de etanol e o erlenmeyer foi levado a uma chapa onde foi mantido a uma temperatura de 50 °C, sob agitação durante 30 minutos com a finalidade de solubilizar toda a amostra. Após este período, o conteúdo foi transferido para um balão de fundo redondo e levado para o rotaevaporador para evaporação do solvente. A amostra foi ainda seca em bomba de alto vácuo para completa secagem.

Sal sódico do 6-oxo-2-fenil-4-*p*-toluil-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrila (**107**): Sólido branco; Rendimento: quantitativo; RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 2,31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 7,28 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ), 7,39-7,46 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ); 7,66 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ); 8,00 (d, 2H,  $J$  8,0 Hz,  $H_{\text{arom}}$ ). I.V. (pastilha de KBr)  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3523 ( $\nu_{\text{N-H}}$ ); 2198 ( $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$ ); 1546 ( $\nu_{\text{C=O}}$ ); 1497 ( $\nu_{\text{C=N}}$ ).

## 6.4 Testes de atividade antinociceptiva

### *Animais*

Na avaliação da toxicidade aguda e da atividade analgésica foram utilizados camundongos Swiss/Webster machos, pesando  $30 \pm 5$  g. Os animais foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e de temperatura ( $23 \pm 2$  °C) recebendo água e dieta (Labina®, Purina, Brasil) *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Processo n° 015683/2005-34) e estão de acordo com as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

### *Testes com indução da nocicepção pelo ácido acético*

O modelo de contorções abdominais foi utilizado para avaliar a atividade antinociceptiva<sup>87,88</sup>. As contorções abdominais (contrações da parede abdominal seguidas de torções do tronco e extensão dos membros posteriores) foram induzidas por uma solução de ácido acético a 0,8 % (1 mL/kg, via intraperitoneal) e registradas durante 30 minutos. Foram utilizados grupos contendo seis animais cada, sendo um grupo destinado ao controle negativo (animais receberam apenas veículo), outro destinado ao grupo controle positivo (animais receberam indometacina) e os demais para as drogas-teste. As drogas-teste foram administradas na dose de 50 mg/kg de peso. Nos experimentos antinociceptivos com administração intraperitoneal, as drogas e o veículo foram administrados 15 minutos antes da administração do ácido acético. O grupo referência (controle positivo) recebeu indometacina por via oral (na dose de 10 mg/kg) 60 minutos antes da administração do ácido acético. Já no experimento antinociceptivo para a avaliação da atividade do sal sódico de **59c** por via oral (por gavagem), a solução contendo a droga-teste foi administrada 60 minutos antes da administração do ácido acético. Os resultados foram expressos como percentual de inibição em relação ao grupo controle negativo. A diferença estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Newman-Keuls. A significância estatística para estes testes foi de 95% de confiança.

### ***Testes com indução da nocicepção pela formalina***

Para o teste de antinocicepção induzido pela formalina<sup>89,90</sup>, os animais também foram divididos em grupo de seis camundongos cada, sendo um grupo destinado ao controle negativo (animais receberam apenas veículo), outro destinado ao grupo controle positivo (animais receberam sulfato de morfina a 2,5 mg/kg) e os demais grupos destinados para as drogas-teste. As drogas-teste foram administradas na dose de 50 mg/kg de peso. Os camundongos receberam uma injeção de 20 µL de formalina (2,5%, v/v) na região subplantar direita. Imediatamente após a injeção, o tempo em que o animal passou lambendo ou mordendo a pata injetada foi registrado. A resposta nociceptiva foi registrada nos primeiros cinco minutos (primeira fase, dor neurogênica) e no intervalo entre 15 e 30 minutos (segunda fase, dor inflamatória) após injeção de formalina. Analogamente ao teste anterior, Os animais foram pré-tratados com **59c**, **59f** (50mg/kg) ou veículo (grupo controle negativo) 60 minutos antes da injeção de formalina por via oral (por gavagem). O sulfato de morfina (2,5 mg/kg, via subcutânea) foi administrado 45 minutos antes da indução da nocicepção. Os resultados foram expressos como percentual de inibição em relação ao grupo controle negativo. A diferença estatística entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Newman-Keuls. A significância estatística para estes testes foi de 95% de confiança.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

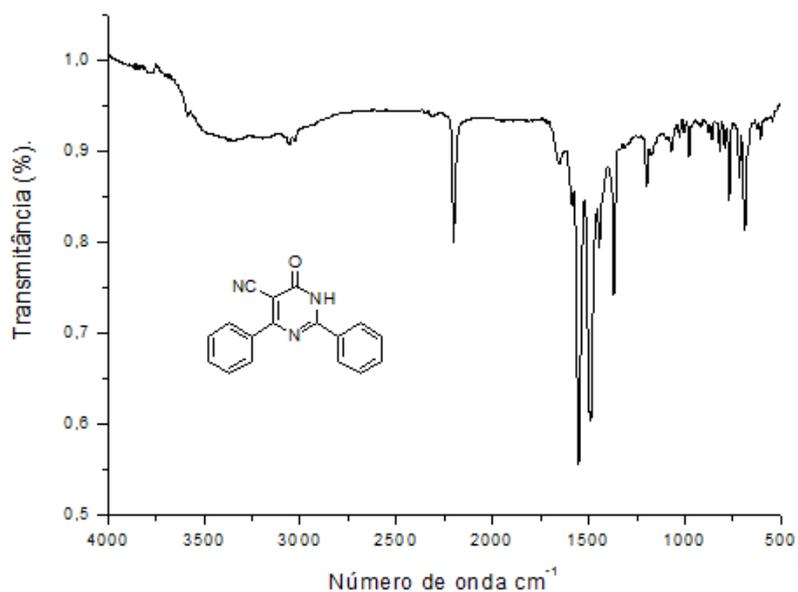
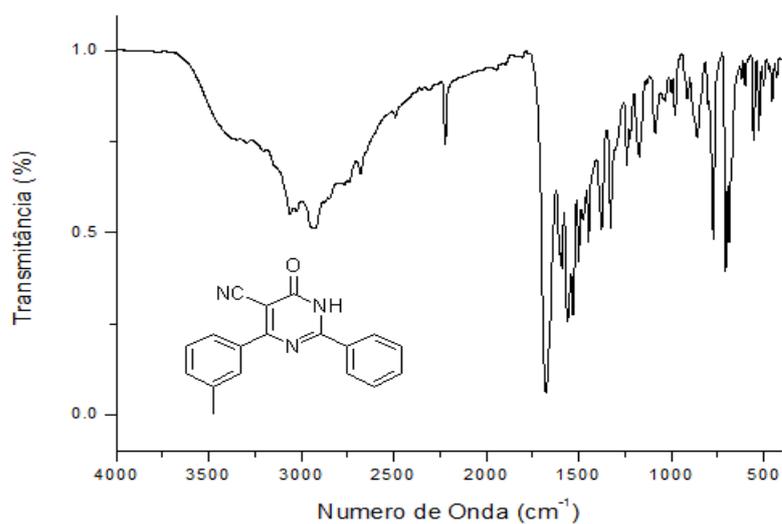
- (1) dos Anjos, J. V. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2004**.
- (2) Filho, V. C.; Campos, F.; Correia, R.; Yunes, A. R.; Nunes, J. R. *Quím. Nova* **2003**, *26*, 230.
- (3) Harfenist, M.; Heuser, D. J.; Joyner, C. T.; Batchelor, J. F.; White, J. L. *J.Med.Chem* **1996**, *39*, 1857.
- (4) Eicher, T.; Hauptman, S. *The Chemistry of Heterocycles: Structure, reactions, synthesis and Applications*, 2 Ed.; John Wiley & Sons, **2003**.
- (5) Joule, J. A.; Milles, K.; Smith, G. F. *Heterocyclic Chemistry*; 4 Ed., Blackwell Publishing, **2000**.
- (6) Mendonça Jr, F. J. B. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2003**.
- (7) Seber, G. A. F.; Lee, A. J. *Linear Regression Analysis*; 2 Ed.; Wiley-Interscience.: New Jersey, **2003**.
- (8) Kubinyi, H. *QSAR: Hansch analysis and related approaches.*; 1 Ed.;VCH.; New York, **1993**.
- (9) Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos.*; Artmed: Porto Alegre, **2001**.
- (10) Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D.; Law, A. H.; Behavior, B. N. *Chem Rev.* **1971**, *71*.
- (11) Kubinyi, H. *Drug. Disc.Today.***1997**, *2*, 457-467.
- (12) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3-26.
- (13) Madea, B.; Mubhoff, F.; Berghaus, G. K. *Verkehrsmedizin: Fahreignung, Fahrsicherheit, Unfallrekonstruktion.*; 1 ED.; Ärzte-Verlag, D., **2007**.
- (14) Hansch, C.; Fujita, T. *J. Am. Chem. Soc* **1964**, *86*, 1616.
- (15) Plus, S. ADMET Predictor, 5, **2012**.
- (16) Moriguchi, I.; Hirono, S.; Liu, Q.; Nakagome, I; Matsushita, Y. *Chem Pharm Bull* **1992**, *40*, 127-130.
- (17) Meylan, W. M.; Howard, P.H and Boethling, R. *Environ.Sci.Technol.* **1992**, *26*, 1560-1567.
- (18) Schmidt, A.; Tort, A. B. L.; Silveira, P.; Bohmer, A; Hansel, G.; Knorr, L.; Schallenberguer, C.; Elisabetsky, E.; Crestena, R.; Lara, D. O.; *Pharm. biochem. beh* **2009**, *91*, 549-53.
- (19) Bennett, M. I.; Smith, B. H.; Torrance, N. L. A. *Pain* **2006**, *122*, 289-94.
- (20) Merskey, H. B. N. *Classification of chronic pain*; IASP Press.; Seattle., **1994**.
- (21) Goodman, L. S.; Gilman, A. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 11 Ed., Artmed, Rio de Janeiro, **2010**.
- (22) Cotran, R. S.; Kumar, V.; Collins, T. *Patologia Estrutural e Funcional*; 6 Ed.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, **2000**.
- (23) Pires, P. A. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, **2009**.

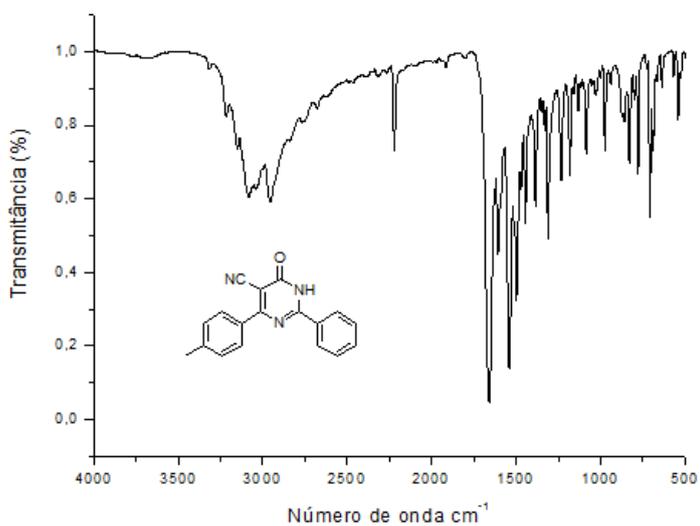
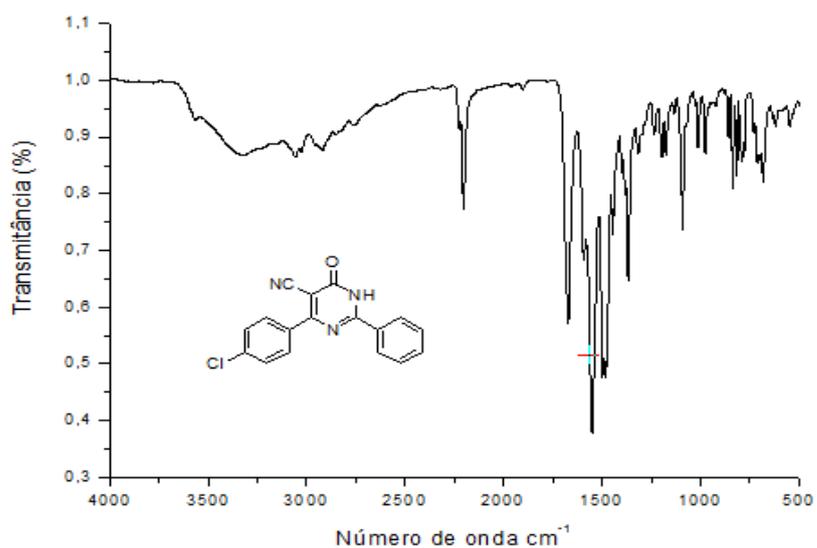
- (24) Modi, V. S.; Basuri, T. S. *Int. J. Pharm. Sci.* **2011**, *3*, 13-25.
- (25) Saladino, R.; Crestini, C.; Palamara, A.T.; Danti, M. C; Manetti, F.; Coreli, F.; Garaci, E.; Botta, M. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4554-4562.
- (26) Amaral, M. F. Z. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, **2010**.
- (27) dos Anjos, J. V.; Srivastava, R. M.; Costa-Silva, J. H.; Scotti, L.; Scotti, M. T.; Wanderley, A. G.; Leite, E. S.; de Melo, S. J.; Mendonça Jr, F. J. B. *Molecules* **2012**, *17*, 809-19.
- (28) Liang, C.; Koenig, M. *International Patent*, WO/2007/081901, 5 January **2007**.
- (29) White, D. C.; Greenwood, T.D.; Downey, A.L.; Bloomquist, J.R.; Wolfe, J. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5711-5717.
- (30) Sedaghati, B.; Fassihi, A.; Arbabi, S.; Ranjbar, M.; Memarian, H. R.; Saghale, L., Omid, A.; Sardari, A.; Jalali, M.; Abedi, D. *Med. Chem. Res* **2011**.
- (31) Boucher, E., Simard, M., Wuest, J. D. *J.Org.Chem* **1995**, *60*, 1406-1412.
- (32) Crăciun, L., Kovacs, D.; Crăciun, R. A. M. *Heterocycl. Commun.* **1998**, *4*, 157-162.
- (33) Skulnick, H. I.; Ludens, J. H.; Wendling, M. G.; Glenn, E. M.; Rohloff, N. A.; Smith, R. J. .; Wierenga, W. *J. Med. Chem* **1986**, *29*, 1499-1504.
- (34) Abd-Elfattah, Hussian, S. M.; El-Reedy, A. M. *Tetrahedron* **1983**, *39*, 3197-3199.
- (35) Li, L. H.; Wallace, T. L.; Wierenga, W.; Skulnick, H. I.; DeKoning, T. F. *J. Biol. Response Mod.* **1987**, *6*, 44-55.
- (36) Stringfellow, D. A.; Wierenga, W.; Skulnick, H. I.; Weed; S. D., Renis; H. E., Eidson, E. E. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, pp. 237-239.
- (37) de Lucca, G.V.; Liang, J.; de Lucca, I. *J. Med. Chem* **1999**, *42*, 135-152.
- (38) Bernhart, C. A.; Haudricourt, F. B.; Assens, J. L.; Gougat, J.; Lacour, C.; Roccon, A.; Cazaubon, C.; Brelière, J. C.; Le Fur, G.; Nisato, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett* **1994**, *4*, 157-162.
- (39) Salimbeni, A.; Canevotti, R.; Paleari, F.; Poma, D.; Caliari, S.; Fici, F.; Cirillo, R.; Renzetti, A. R. .; Subissi, A.; Belvisi, L.; Bravi, G.; Scolastico, C. . G. *J. Med. Chem* **1995**, *38*, 4806-4820.
- (40) Madhavan, G. R.; Chakrabarti, R.; Vikramadithyan, R. K.; Mamidi, R. N.; Balraju, V.; Rajesh, B. M. .; Misra, P.; Kumar, S. K.; Lohray, B. B.; Lohray, V. B.; Rajagopalan, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2671-2680.
- (41) Yamaguchi, M.; Wakasugi, K.; Saito, R.; Adachi, Y.; Yoshikawa, Y.; Sakurai, H.; Katoh, A. *J. Inorg. Biochem* **2006**, *100*, 260-269.
- (42) Temple, D. L.; Yevich, J. P.; Covington, R. R.; Hanning, C. A.; Seidehamel, R.J.; Mackey, H. K. .; Bartek, M. . *J. Med. Chem* **1979**, *22*, 505-510.
- (43) Amr, A.E.G.E.; Sabry, N.M.; Abdullah, M. M. *Monatsh. Chem* **2007**, *138*, 699-707.
- (44) Ranise, A.; Bruno, O.; Bondavalli, F.; Schenone, S.; D'Amico, M.; Falciani, M.; Filippelli, W. .; Rossi, F. *Farmaco* **1994**, *49*, 551-558.

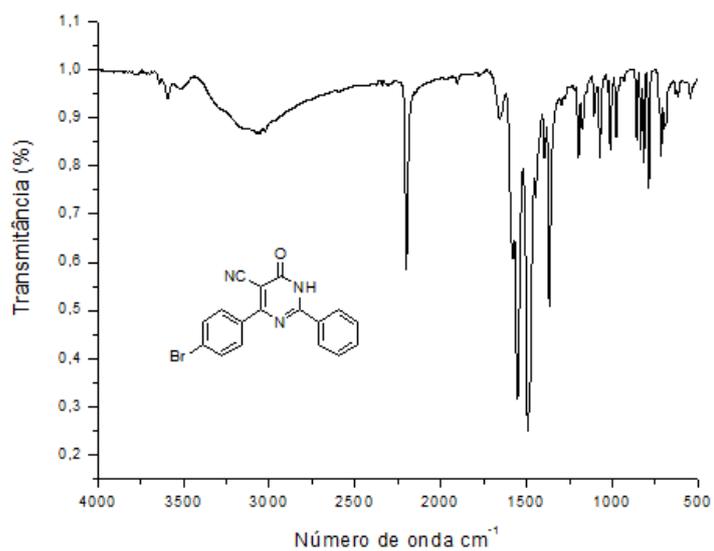
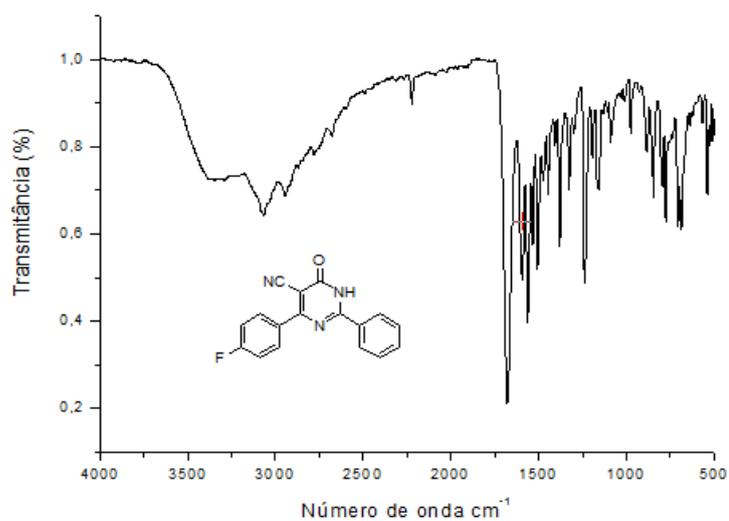
- (45) Abignente, E.; Sacchi, A.; Laneria, S.; Rossi, F.; D'Amico, M.; Berrino, L.; Calderaro, V.; Parrillo, C. *Eur. J. Med. Chem* **1994**, *29*, 279–286.
- (46) dos Anjos, J.V.; Mendonça, F.J.B., Jr.; Costa-Silva, J.H.; de Souza, I.A.; de Melo, S. J. *Lat. Am. J. Pharm* **2008**, *27*, 343.
- (47) Ranise, A.; Bruno, O.; Schenone, S.; Bondavalli, F.; Falcone, G.; Filippelli, W.; Sorrentino, S. *Farmaco* **1997**, *52*, 547–555.
- (48) Alagarsamy, V.; Meenas, S.; Ramses, K V; Solomon, V R; Dhanab AL, K; Murugan, M. *Eur. J. Med. Chem* **2006**, *41*, 1239-1300.
- (49) Agarwal, S.K.; Tadiparthi, R.; Agarwal, P.; Shivakumar, S.; Dey, D.; Nag, B. International Patent WO/2003/084935, 10 April **2003**.
- (50) Devadas, B.; Hartmann, S.J.; Heier, R.F.; Jerome, K.D.; Kolodziej, S.A.; Mathias, J.P.; Norton, M.B.; Promo, M.A.; Rucker, P.V.; Selness, S.R. International Patent WO/2007/091176, 5 February **2007**.
- (51) Lu, Y.; Xiang, T.; Bartberger, M. D.; Bernard, C.; Bostick, T.; Huang, L.; Liu, L.; Siegmund, A.; Sukay, G.; Guo, G.; Elipe, M. S.; Tormos, W.; Dominguez, C.; Koch, K.; Burgess, L. E.; Basil, T. C.; Ibrahim, P.; Hummel, C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11714-11723.
- (52) Zhang, J.; Shen, B.; Lin, A. *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, *28*, 286-295.
- (53) Kanth, SR; Reddy, G V; Kishore, K H; Rao, P S; Narsaiah, B; Murthy, U. S. N. *Eur. J. Med. Chem* **2006**, *41*, 1011-1016.
- (54) Botta, M., Corelli, F., Maga, G, Manetti, F. Renzulli, M. Spandini, S. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8357-8367.
- (55) Juaristi, E.; Soloshonk, V. *Enantioselective Synthesis of  $\beta$ -Amino Acids.*; 2 Ed.; Wiley.: New York, **2005**.
- (56) Brown, D. J; Mason, S. F. *The Pyrimidines*; Intercience Publishers: New York, **1962**; pp. 31-115.
- (57) Mendonça, F.J.B., Jr.; dos Anjos, J.V.; Falcão, E.P.S.; Yamamoto, A.P.; de Melo, S.J.; Srivastava, R. M. *Heterocycl. Commun.* **2005**, *11*, 479–484.
- (58) Wierenga, W. *Pharmacol. Ther* **1985**, *30*, 67–89.
- (59) Kappe, C. *Eur. J. Med. Chem* **2000**, *35*, 1043–1052.
- (60) de Melo, S. J.; Luu-Duc, C.; Thomasson, F.; Narcisse, G.; Gaultier, C. *Ann. Pharm. Fr* **1992**, *50*, 39–51.
- (61) de Lucca, G. V.; Liang, J.; de Lucca, I. *J. Med. Chem* **1999**, *42*, 135–152.
- (62) Saladino, R.; Ciambecchini, U.; Maga, G.; Mastromarino, P.; Conti, C.; Botta, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett* **2002**, *10*, 2143–2153.
- (63) Brown, D.J. Pyrimidines and their benzoderivatives. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A.R., Rees, C.W., Eds.; Pergamon Press: Oxford, UK, 1984; Volume 3, pp. 57–155.
- (64) Kurti, L; Czakó, B. *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Chemistry*; Elsevier Academic Press: California, **2005**.
- (65) Ramalingam, S.; Kumar, P. *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 1299.

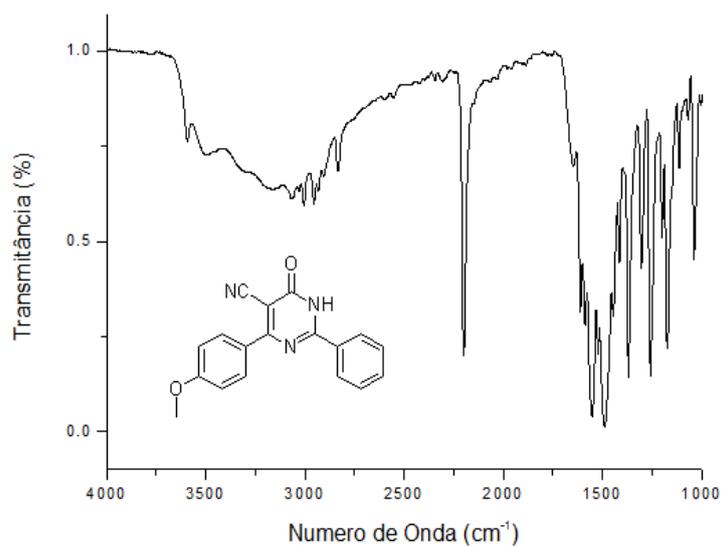
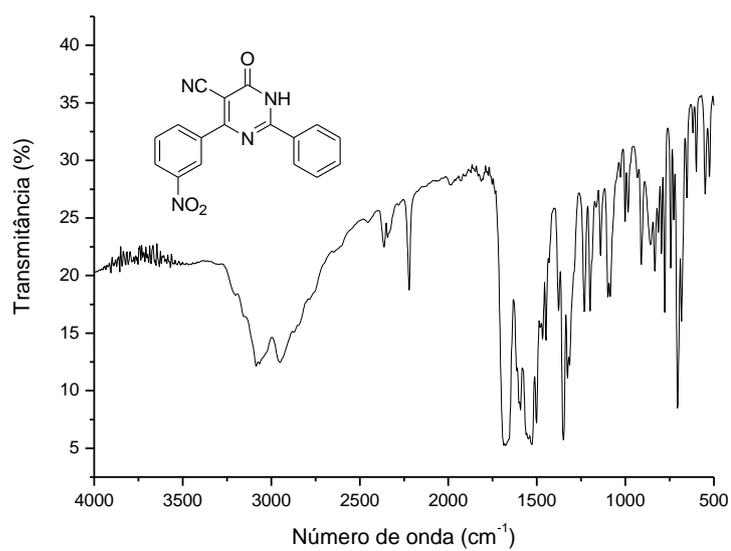
- (66) Naganuma, K.; Omura, A.; Maekawara, N.; Saitoh, M.; Ohkawa, N.; Kubota, T.; Nagumo, H.; Kodama, T.; Takemura, M.; Ohtsuka, Y.; Nakamura, J.; Tsujita, R.; Kawasaki, K.; Yokoi, H.; Kawanishi, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3174-6.
- (67) Nicolle, E. J. Nowelles. *Thèse de doctorat*. L' Université Joseph Fourier, Grenoble, **1990**.
- (68) de Melo, S. J.; Santos, L. C.; Falcão, E. P. S.; Srivastava, R. M.; Luu-Duc, C. *J. Chem. Res.* **2002**, 216-217.
- (69) Sheibani, H.; Seifi, M.; Bazgir, A. *Synth. Comm.* **2009**, *39*, 1055-1064.
- (70) Ahmadi, S. J.; Sadjadi, S.; Hosseinpour, *Chem.inform.* **2012**, *43*, 7-14.
- (71) Zlotorzynski, A. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1995**, *25*, 43.
- (72) Sanseverino, A. M. *Quím. Nova* **2002**, *25*, 660-667.
- (73) Langa, F.; De La Cruz, P.; De La Hoz, A.; Díaz-Ortiz, A.; Díez-Barra, E. *Comtemp. Org. Synth.* **1997**, *4*, 373
- (74) Strauss, C. R.; Trainor, R. W. *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 1665.
- (75) Dandia, A.; Sarawgi, P.; Arya, K.; Khaturia, S. *Arkivoc.* **2006**, *16*, 83-92.
- (76) Goswami, S.; Jana, S.; Dey, S.; Adak, A. K. *Aust. J. Chem.* **2007**, *60*, 120-123.
- (77) dos Santos, L. C. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2000**.
- (78) Guha, R.; Van Drie, J. H. *J. Chem. Inf. Mod* **2008**, *48*, 1716-28.
- (79) Guha, R.; Van Drie, J. H. *J. Chem. Inf. Mod* **2008**, *48*, 646-58.
- (80) Hansch, C.; Leo, A.; Mekapati, S. B.; Kurup, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3391-400.
- (81) Partridge, W. M. *Drug Disc. Today* **2001**, *6*, 1-2.
- (82) Katritzky A. R.; Rees C. W.; *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press: New York, **1997**; vol. 1. pp. 144-148,
- (83) Braggio, M.M.; Lima, M.E.L.; Veasey, E.A.; Haraguchi, M. *Arq. Inst. Biol. (Sao Paulo)* **2002**, *69*.
- (84) Modica, M.; Santagati, M.; Santagati, A.; Cutuli, V.; Mangano, N.; Caruso, A. *Pharmazie* **2000**, *55*, 500-502.
- (85) Dannhardt, G.; Kiefer, W. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 109-126.
- (86) Kayser, C.; Souza, A. W. S. *Rev. Bras. Reumatol* **2007**, *47*, 212-217.
- (87) Koster, R., M. A. & E. J. B. *Fed. Proc.* **1959**, *18*, 412
- (88) Vacher, J., P. D.-M. & P. B. *Med. Exp.* **1964**, *11*, 51-58
- (89) Vaz, Z. R., Cechinel-Filho V, Yunes RA, C. J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *278*, 304-312
- (90) Hunskaar S, H. K. *Pain* **1987**, *30*, 103-114.

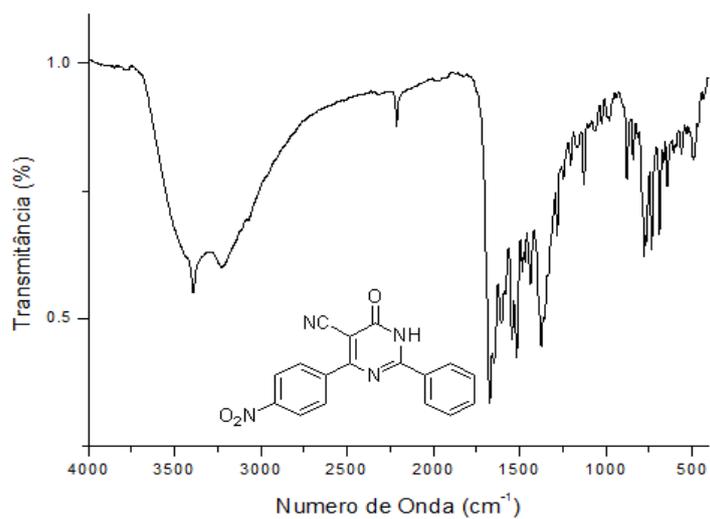
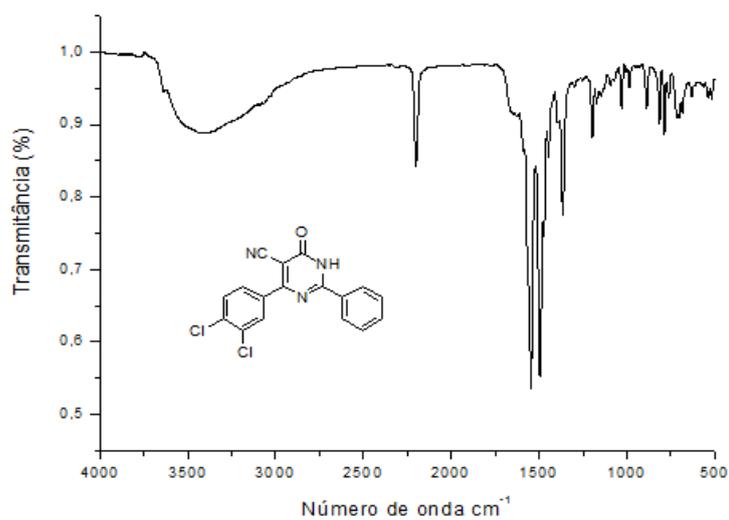
## ANEXOS

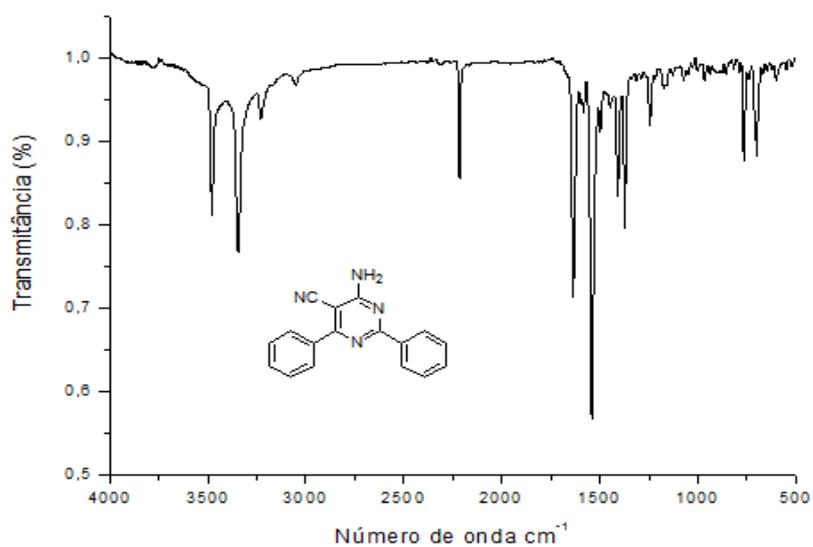
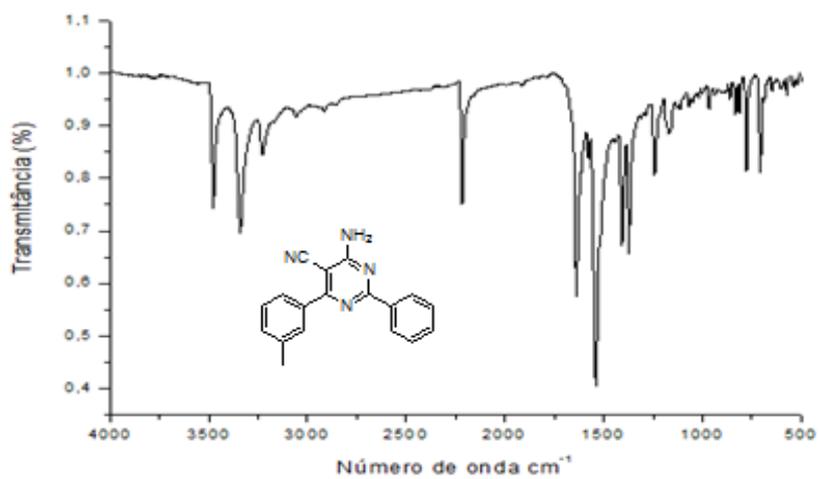
Anexo 1- Espectros de infravermelho das substâncias **59a** e **59b**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59a**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59b**.

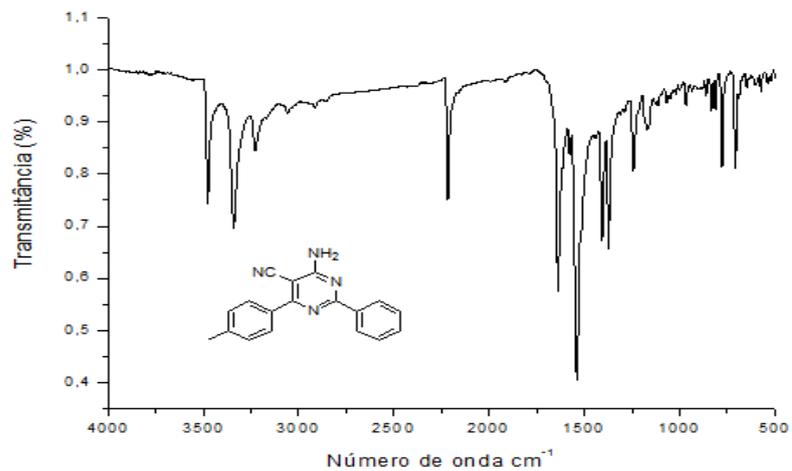
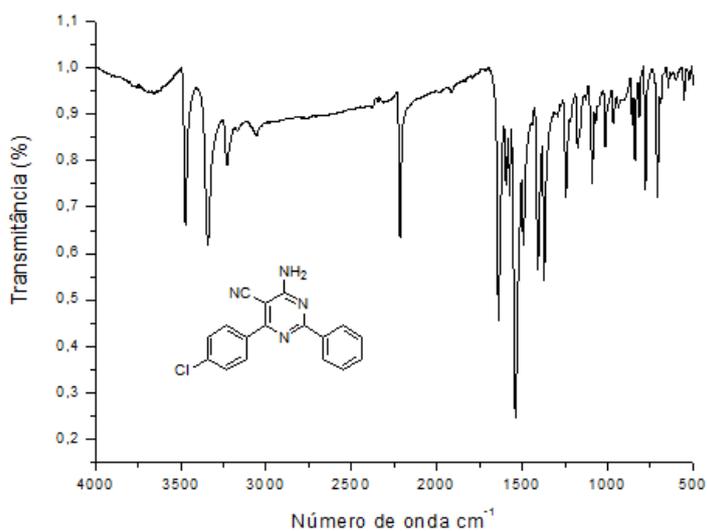
**Anexo 2-** Espectros de infravermelho das substâncias **59c** e **59d**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59c**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59d**.

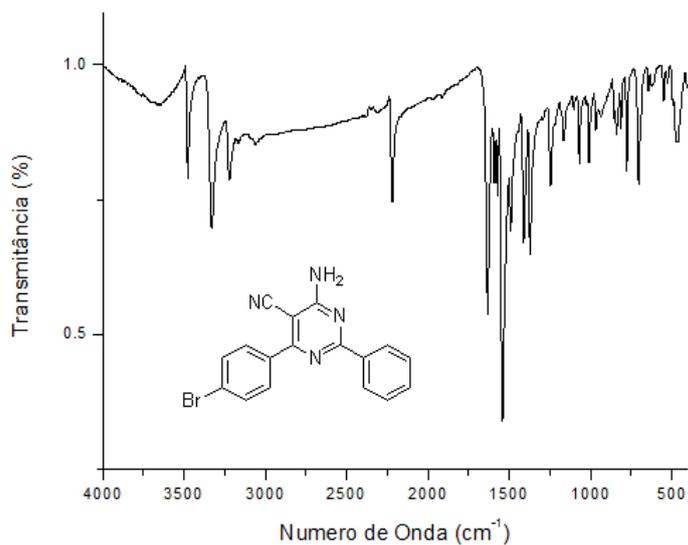
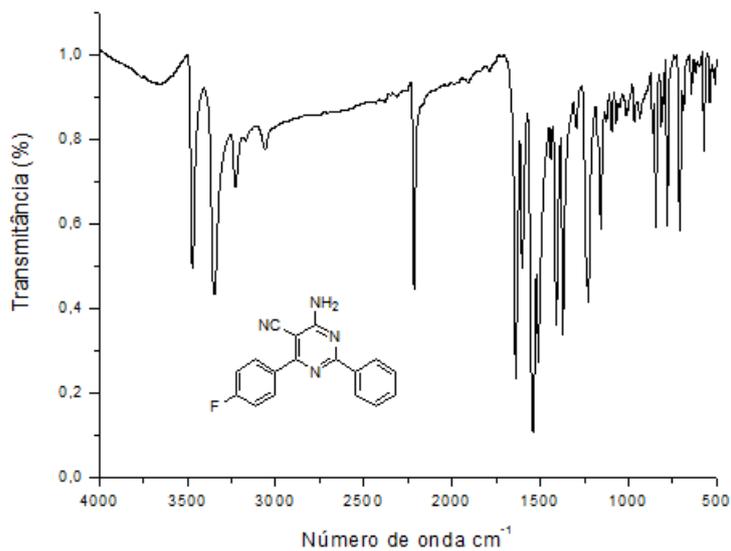
**Anexo 3-** Espectros de infravermelho das substâncias **59e** e **59f**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59e**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59f**.

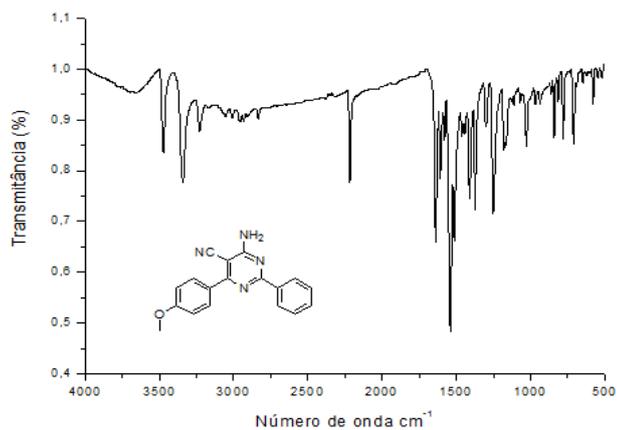
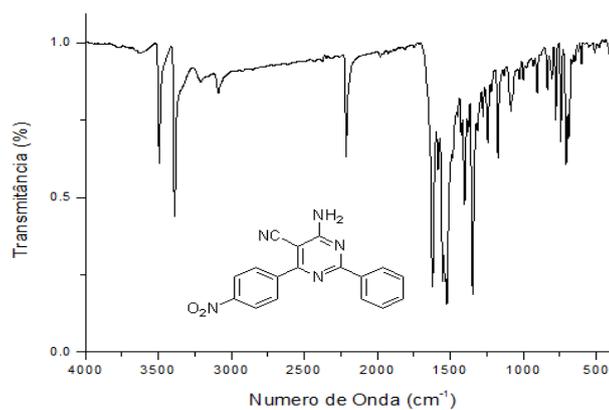
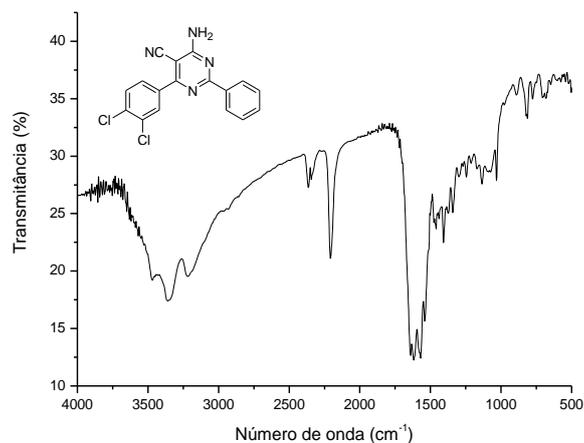
**Anexo 4-** Espectros de infravermelho das substâncias **59g** e **59h**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59g**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59h**.

**Anexo 5-** Espectros de infravermelho das substâncias **59i** e **59j**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59i**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **59j**.

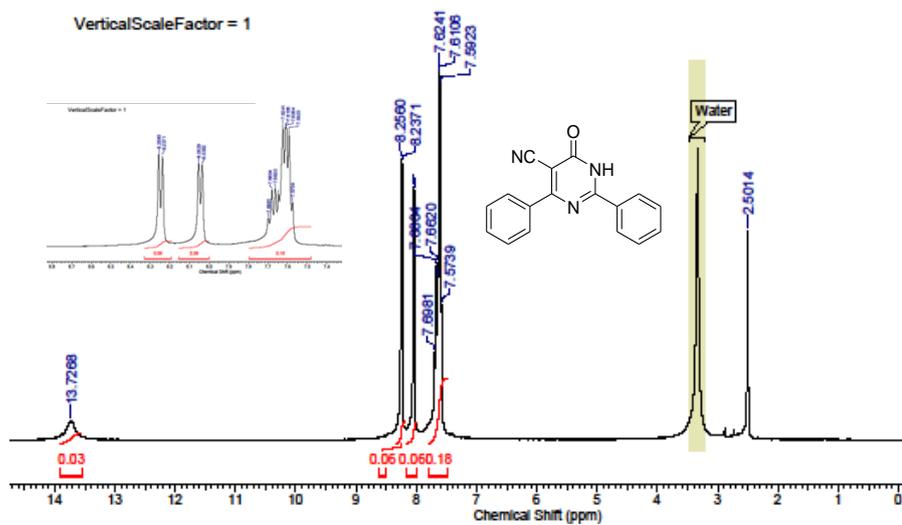
**Anexo 6-** Espectros de infravermelho das substâncias **60a**, **60b**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60a**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60b**.

**Anexo 7- Espectros de infravermelho das substâncias 60c, 60d.**Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60c**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60d**.

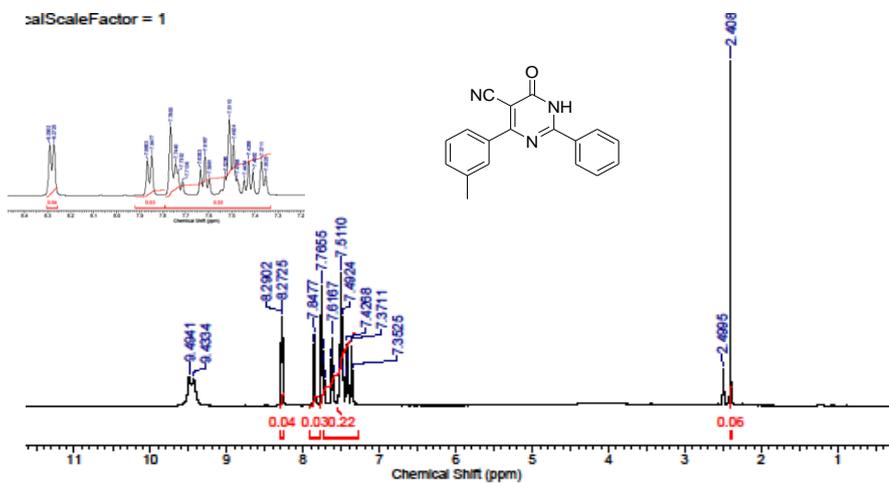
**Anexo 8-** Espectros de infravermelho das substâncias **60e**, **60f**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60e**.Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância **60f**.

**Anexo 9- Espectros de infravermelho das substâncias 60g, 60i, 60j.****Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância 60g.****Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância 60i.****Espectro de infravermelho (pastilha de KBr) da substância 60j.**

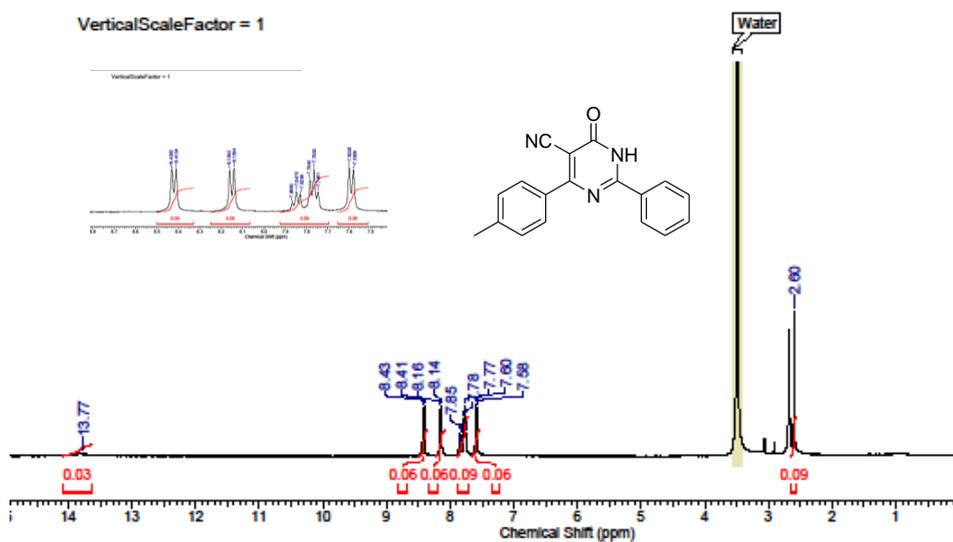
**Anexo 10:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59a** e **59b**.



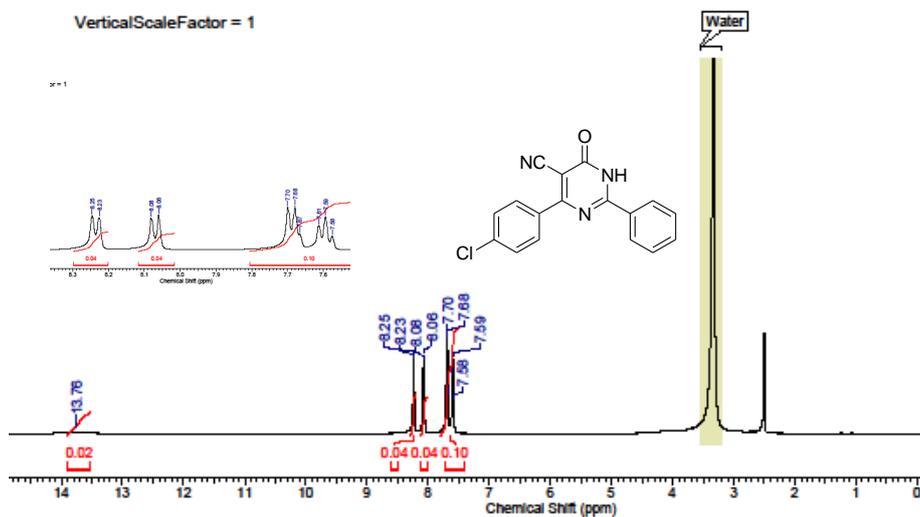
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59a**.



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59b**.

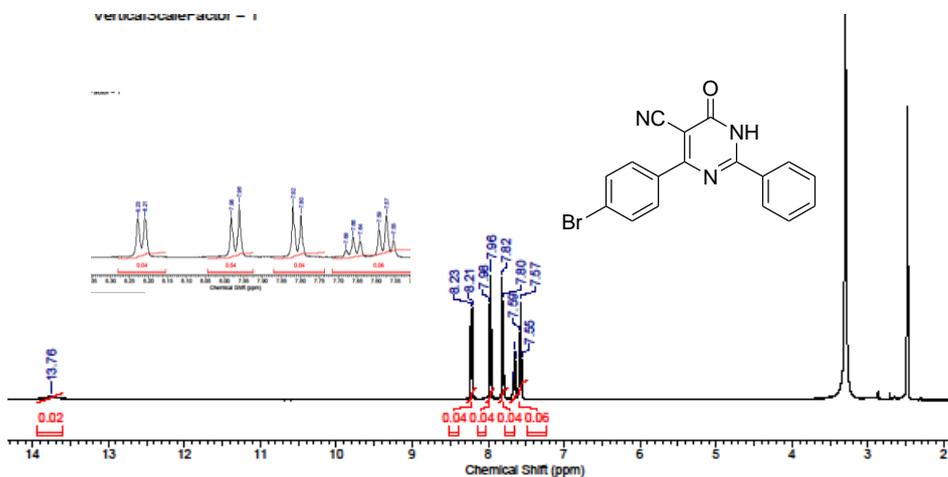
**Anexo 11:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59c** e **59d**.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59c**.

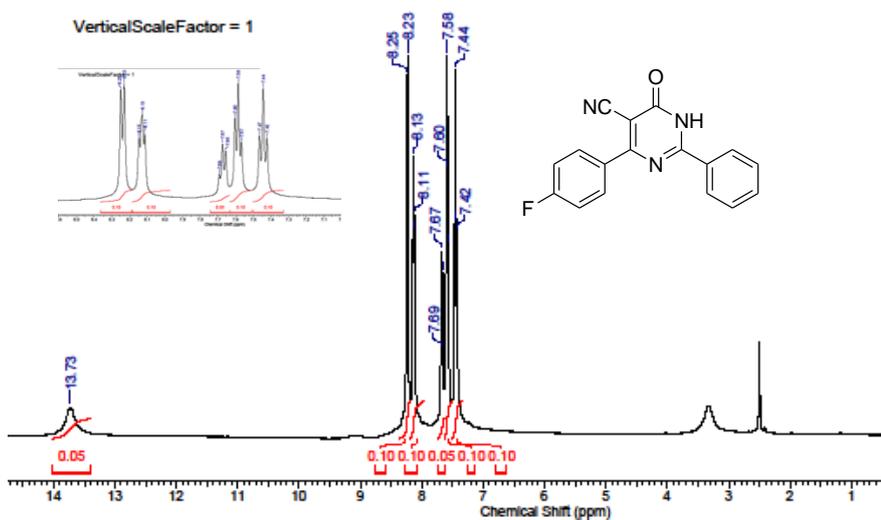


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59d**.

**Anexo 12:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59e** e **59f**.

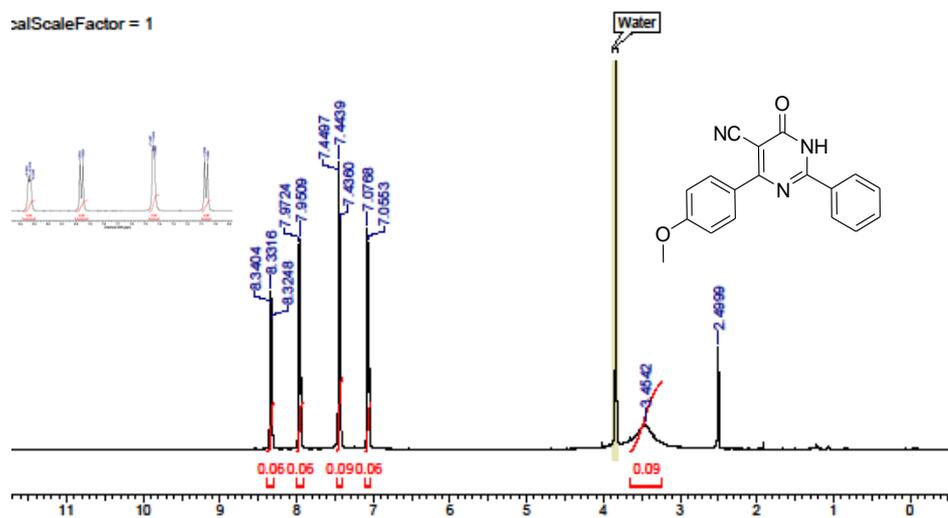


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59e**.

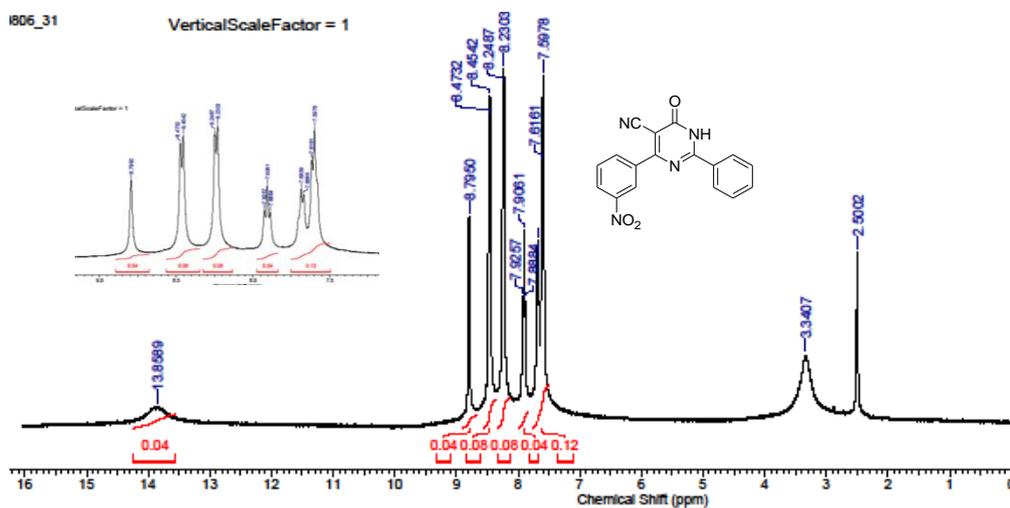


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59f**.

Anexo 13: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59g** e **59h**.

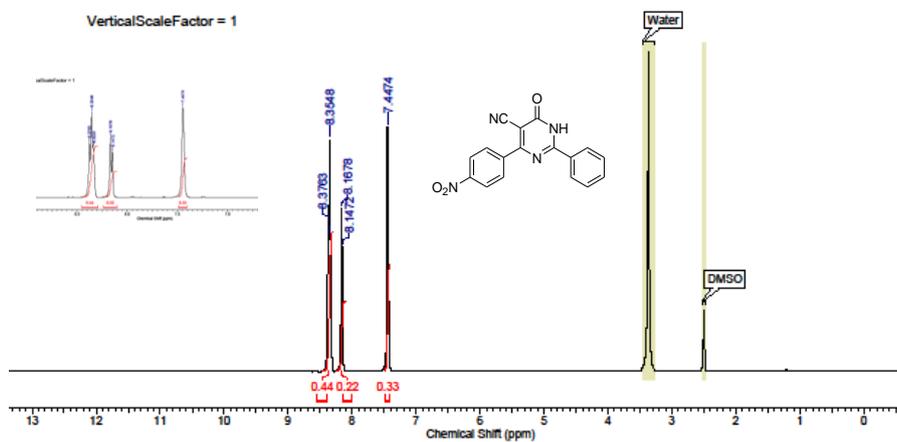


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59g**.

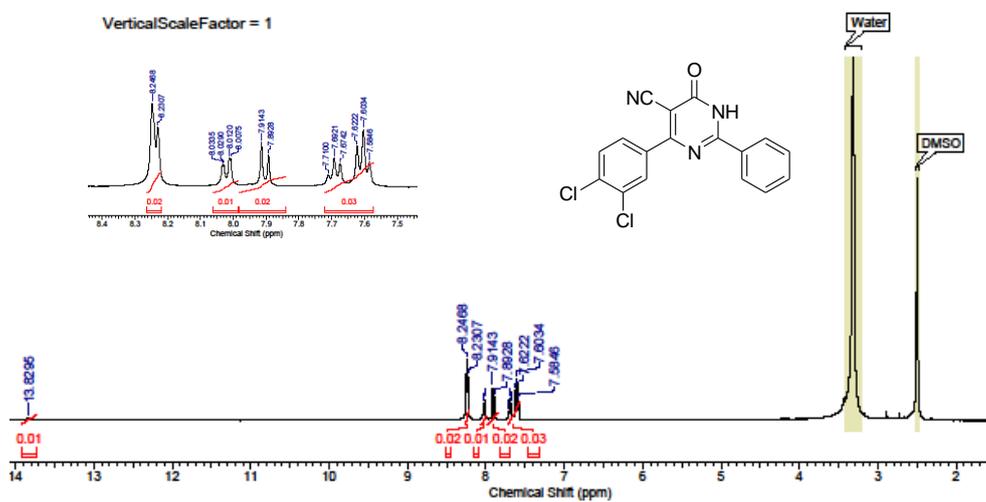


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59h**.

Anexo 14: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **59i** e **59j**.

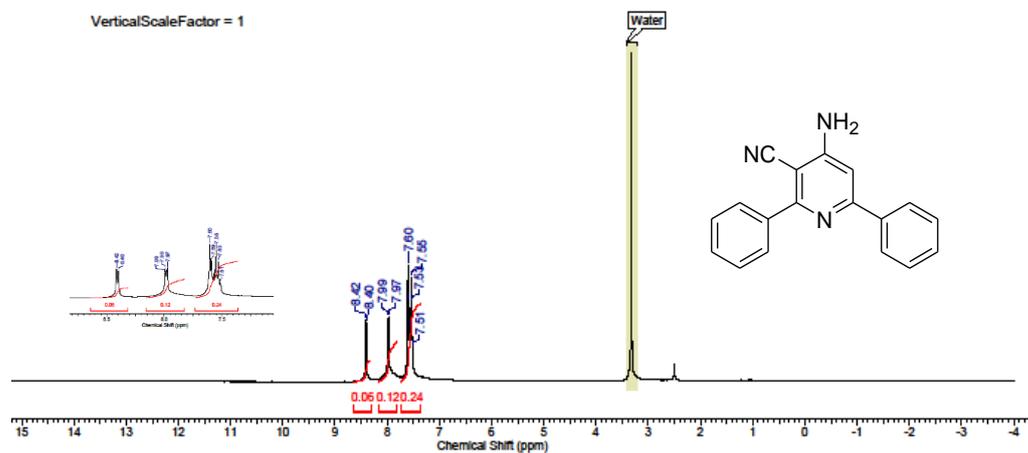


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59i**.

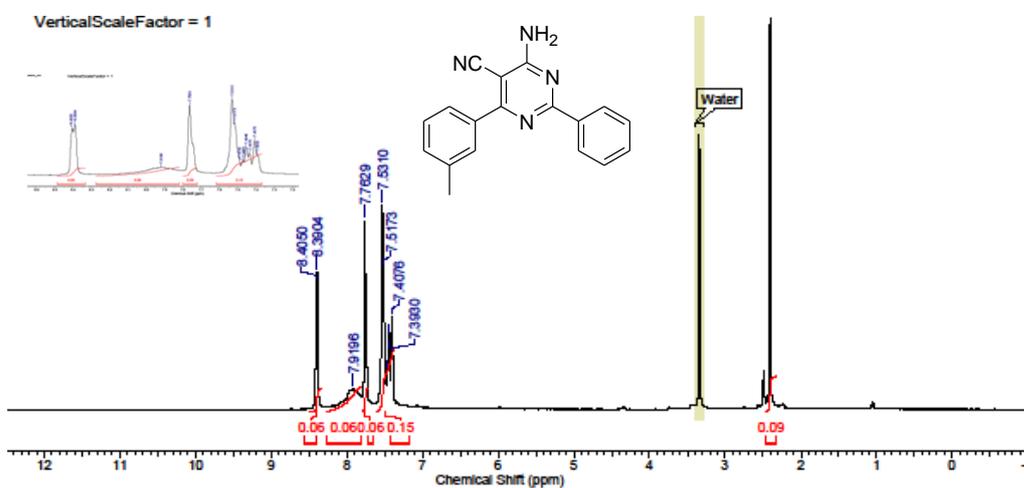


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **59j**.

Anexo 15: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60a** e **60b**.

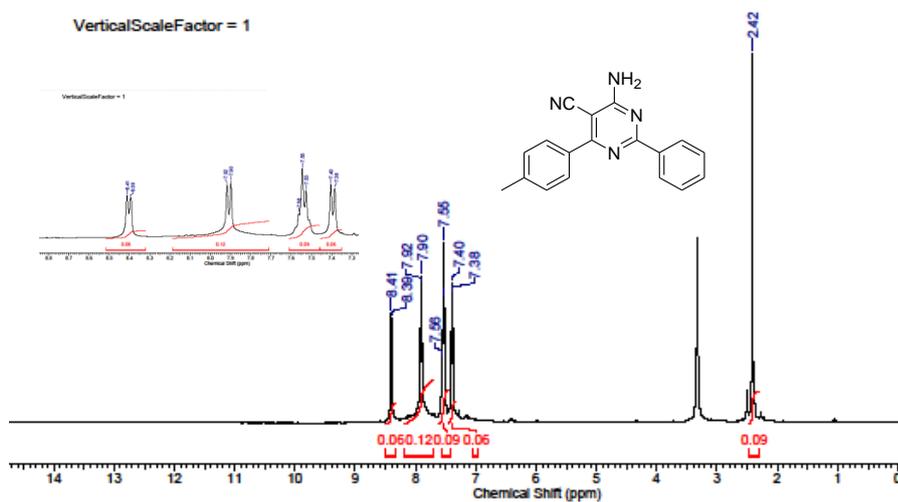


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60a**.

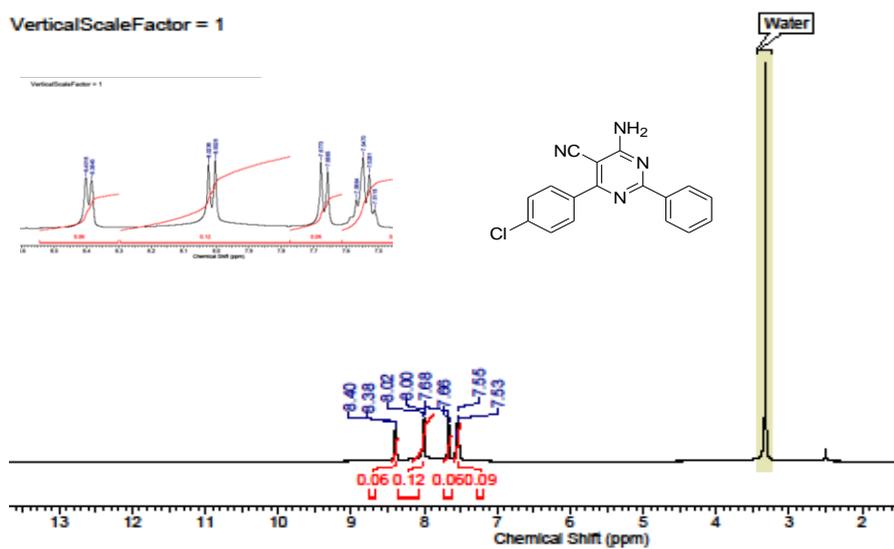


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60b**.

Anexo 16: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60c** e **60d**.

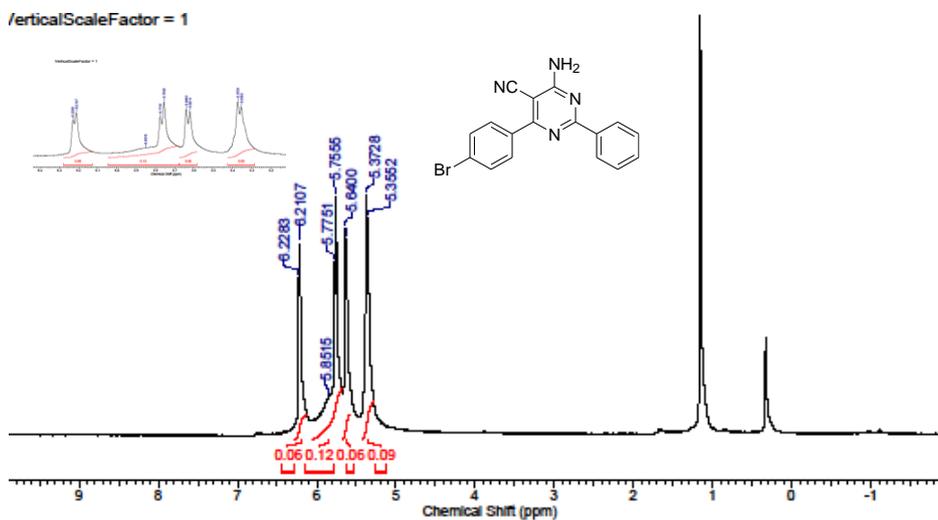


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **63c**.

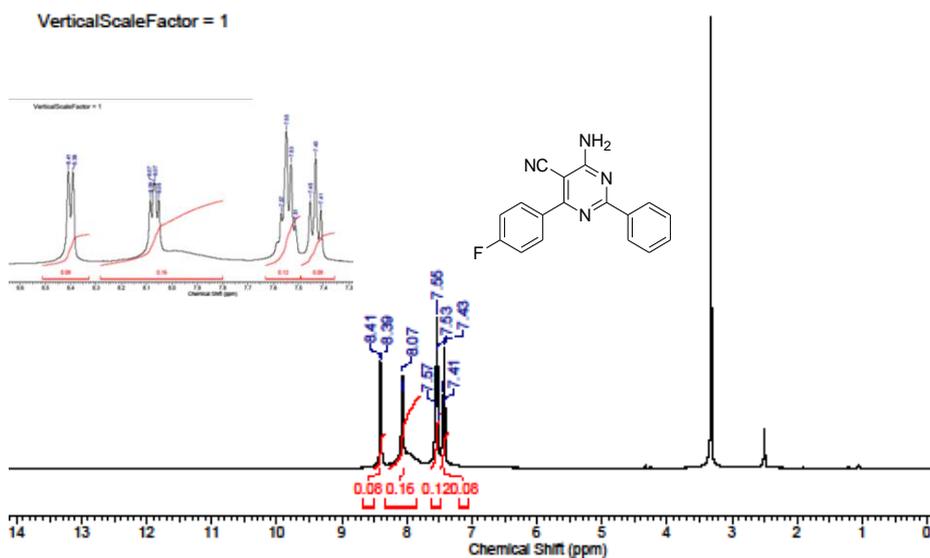


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60d**.

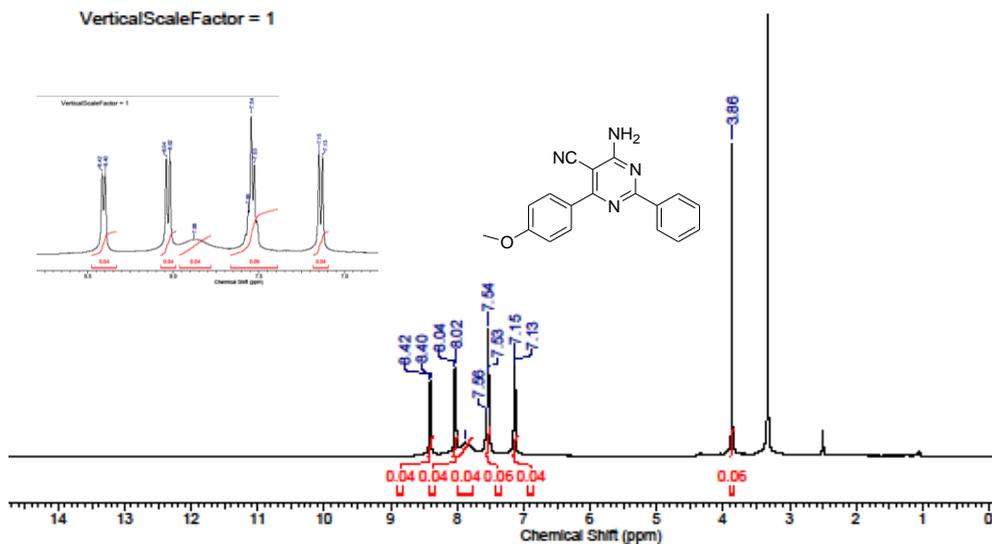
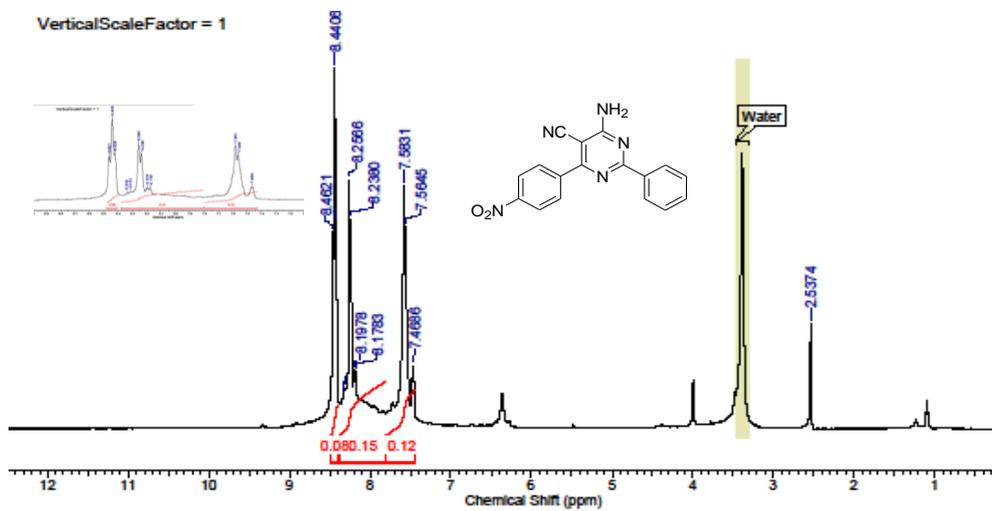
Anexo 17: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60e** e **60f**.

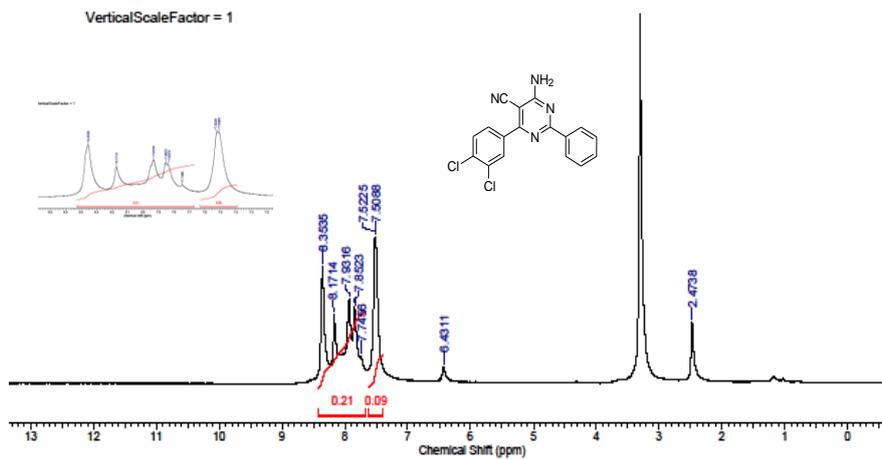


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60e**.



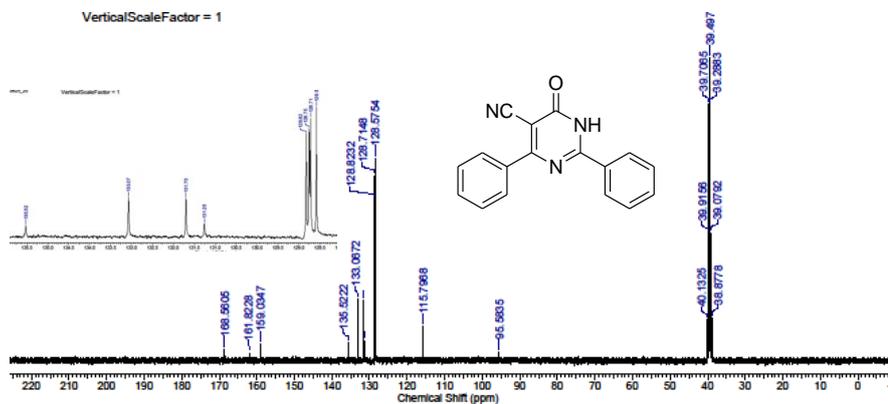
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60f**.

**Anexo 18:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) das substâncias **60g**, **60i** e **60j**.Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60g**.Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60i**.

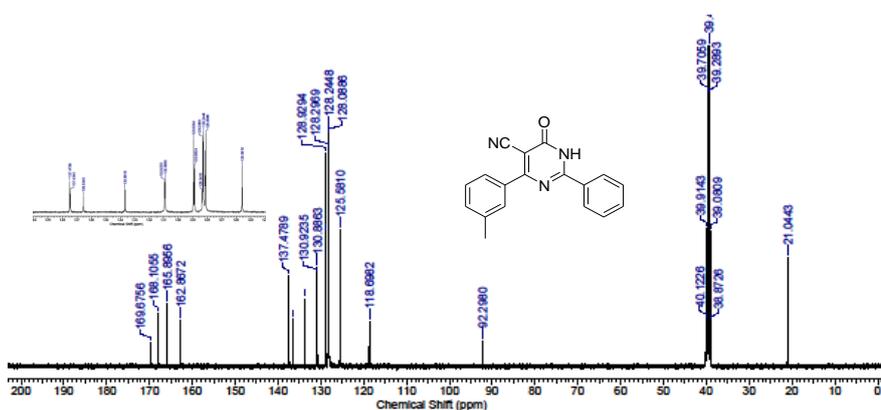


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO, 400 MHz) da substância **60j**.

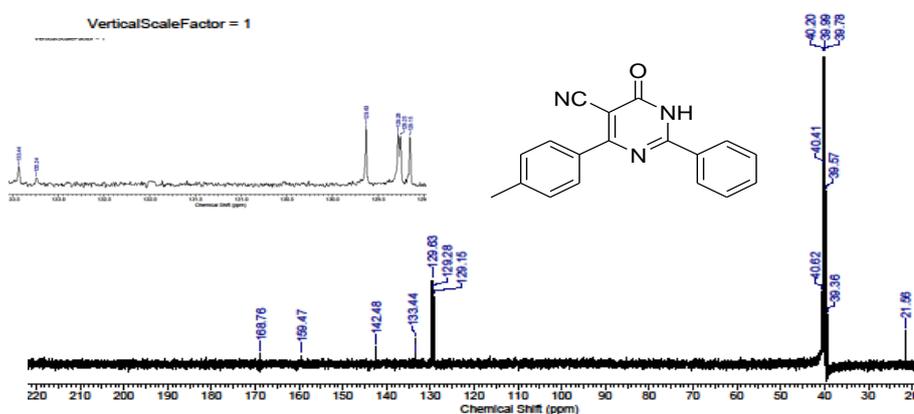
Anexo 19: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59a**, **59b**, **59c**.



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59a**.

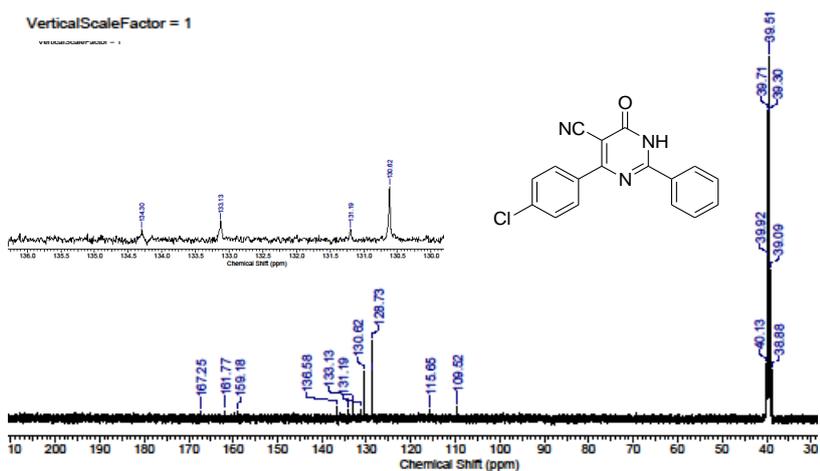


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59b**.

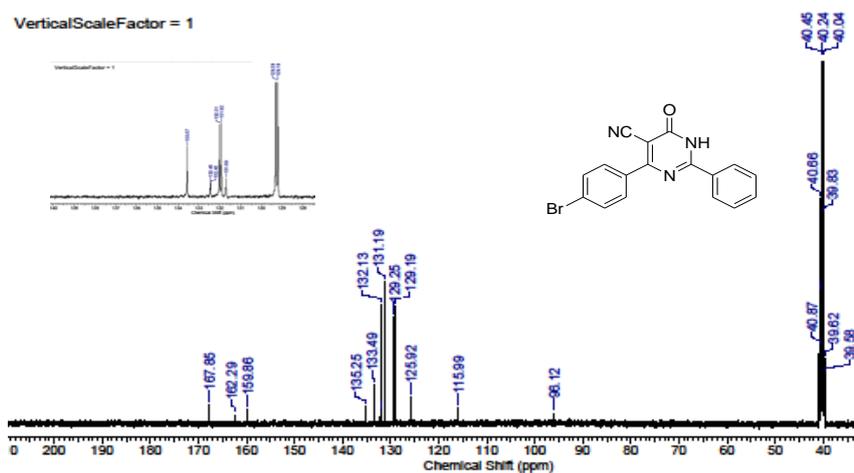


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59c**.

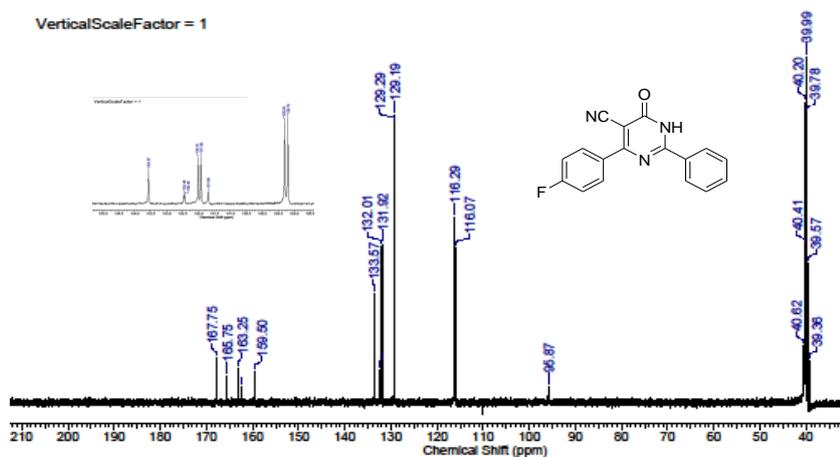
Anexo 20: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59d**, **59e**, **59f**.



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59d**.

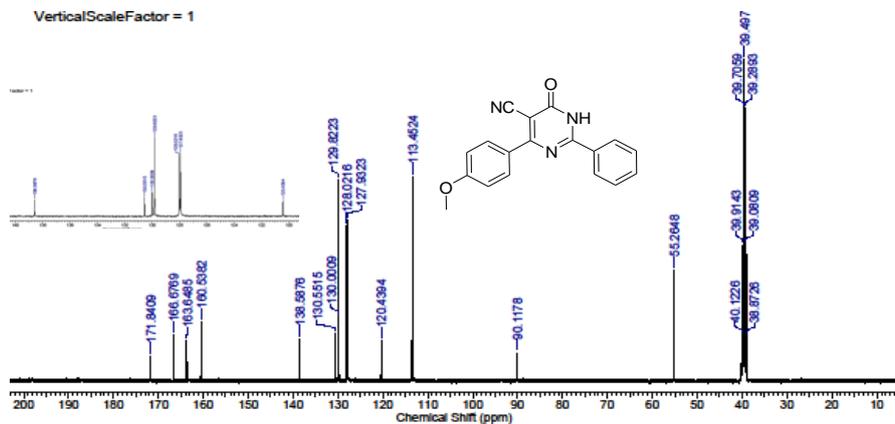


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59e**.

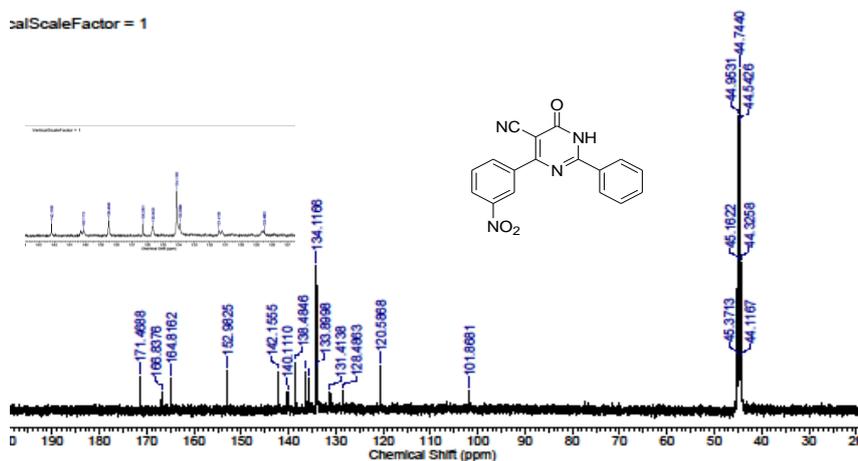


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59f**.

Anexo 21: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59g**, **59h**.

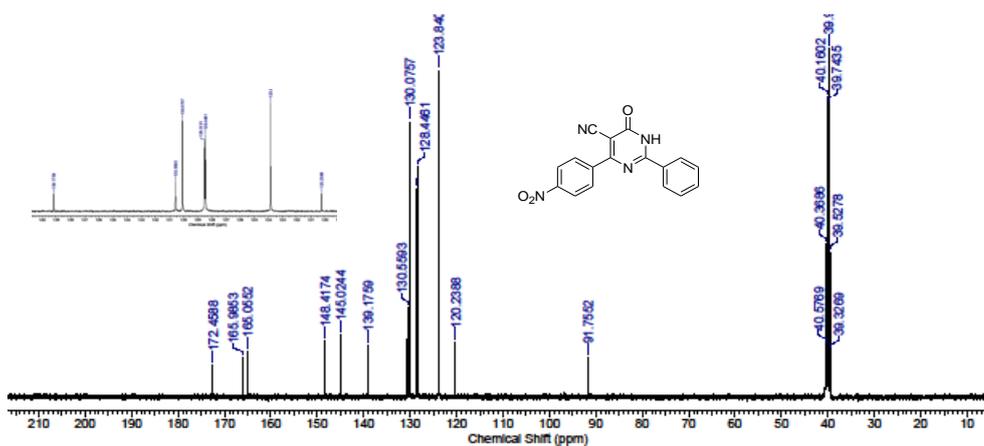


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59g**.

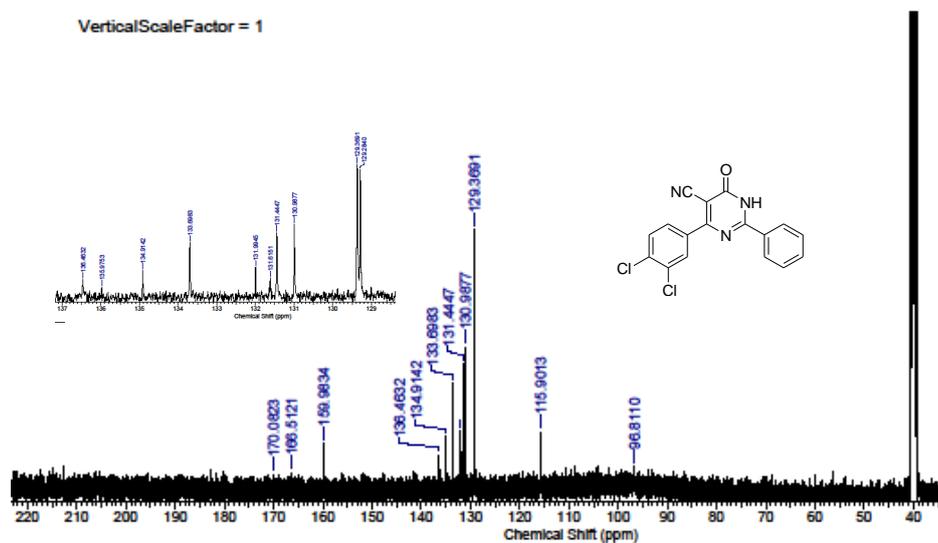


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59h**.

Anexo 22: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **59i**, **59j**.

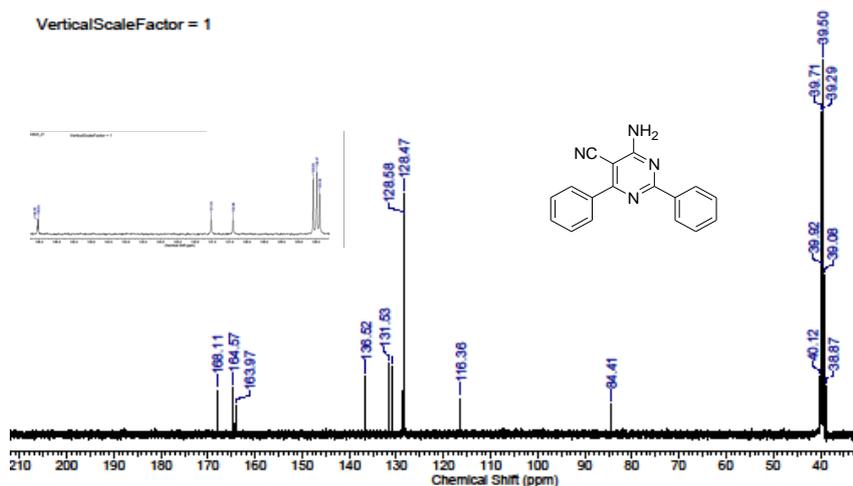


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59i**.

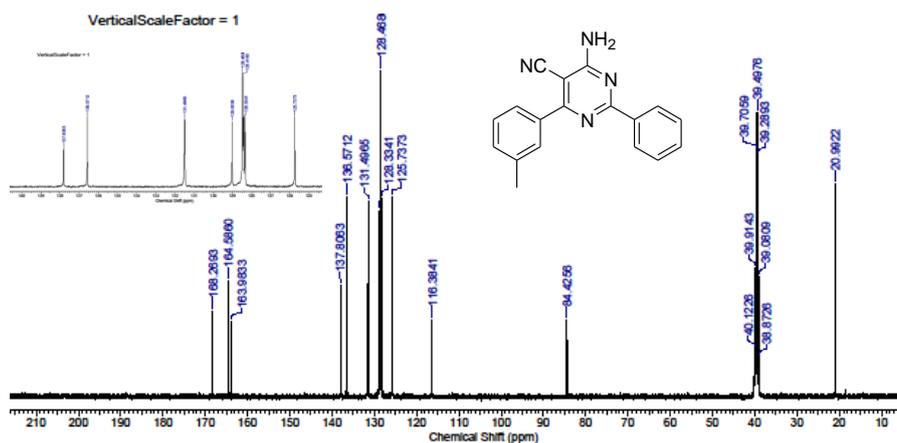


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **59j**.

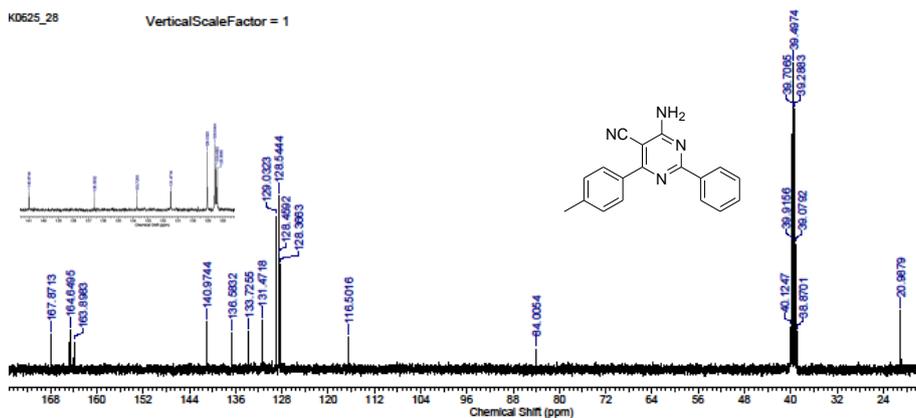
Anexo 23: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60a**, **60b**, **60c**.



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60a**.

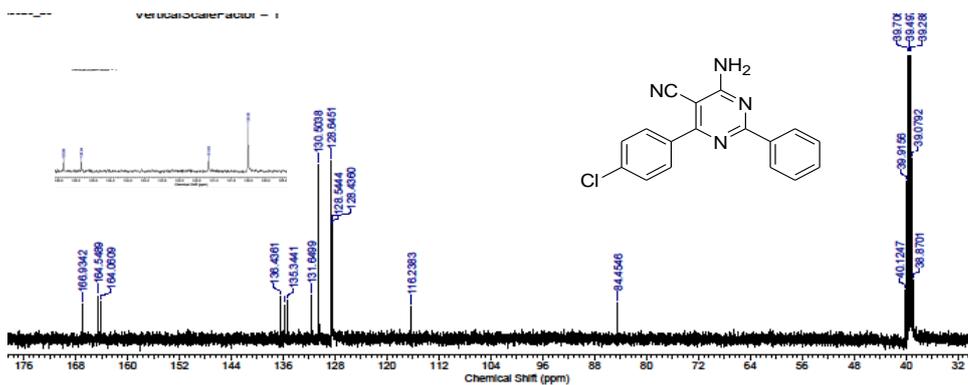


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60b**.

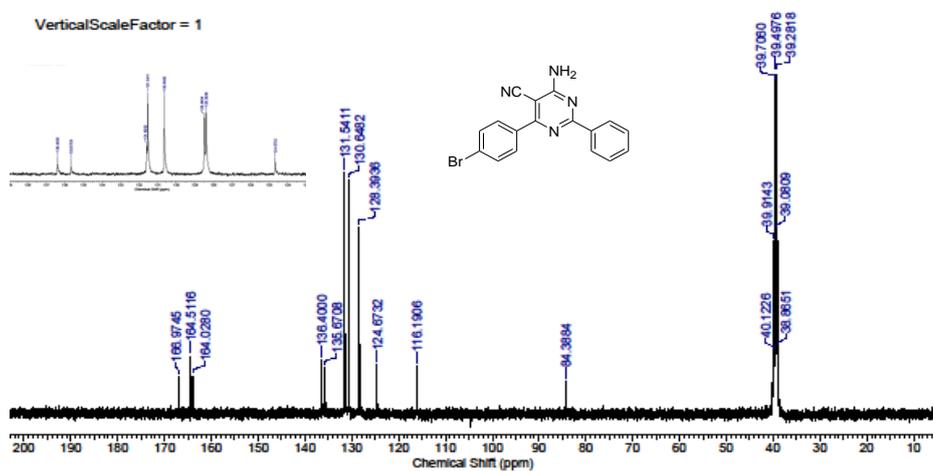


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60c**.

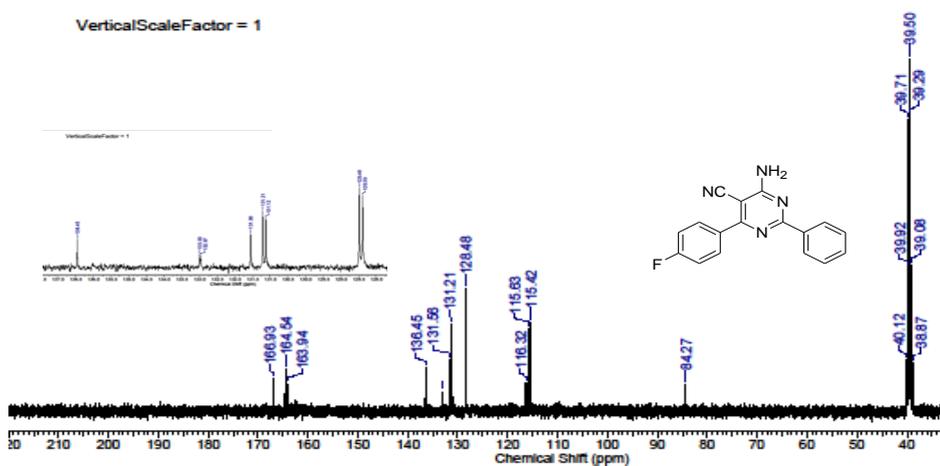
Anexo 24: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60d**, **60e**, **60f**.



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60d**.

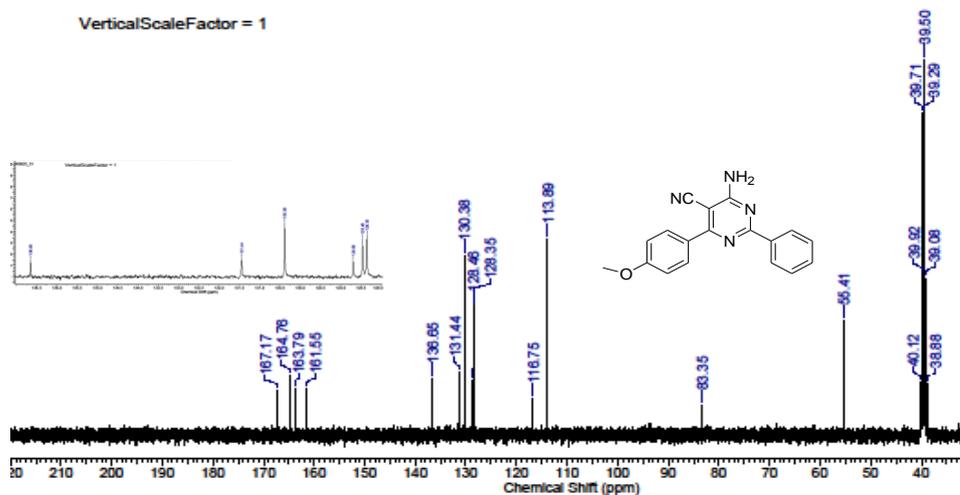


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60e**.

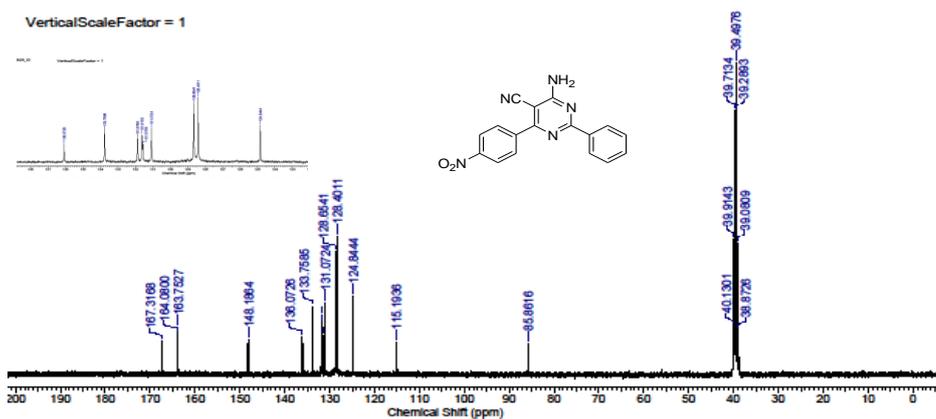


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60f**.

Anexo 25: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) das substâncias **60g**, **60i**.

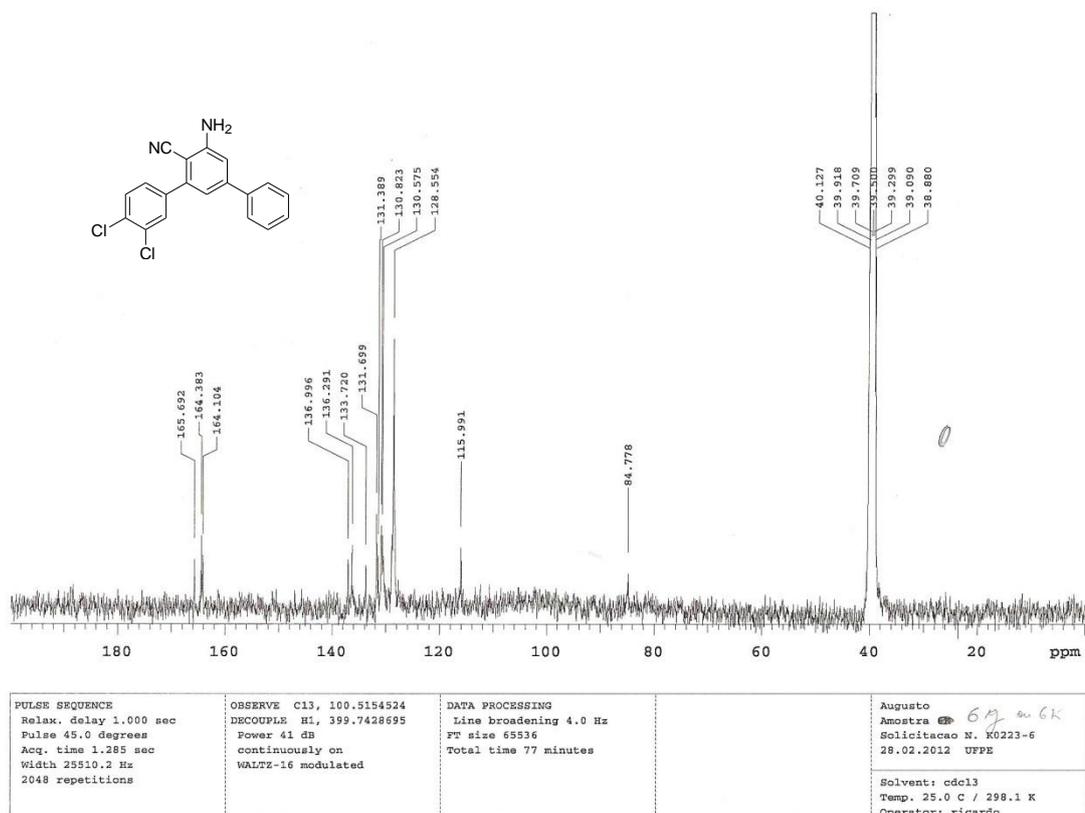


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60g**.



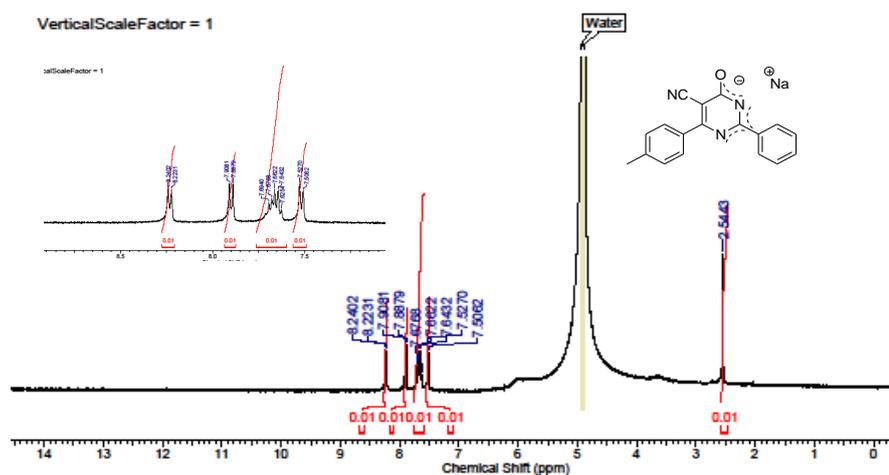
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60i**.

Anexo 26: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) do composto **60j**.

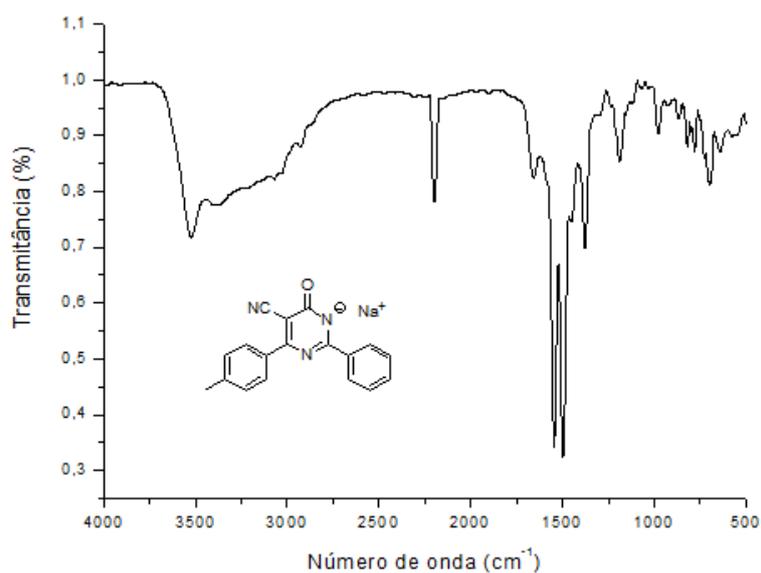


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO, 100 MHz) da substância **60j**.

**Anexo 27:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz) e espectro de Infravermelho (pastilha KBr) da substância **106**.



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz) da substância **106**.



Espectro de Infravermelho (pastilha de KBr) da substância **106**.